الجمهورية العربية السورية
جـامـعـة دمـشـق
كلية الهندسة الزراعية
قـسـم المحاصيل الحقلية

دراسة كيميائية وراثية لبعض الأنواع المدخلة من جنس الخزامى Lavender spp. إلى سورية وتحديد فعالية الزيت العطري ومستخلصاته كمبيد حشري ومضاد حيوي

Chemical and Genetic Study for the Introduced Lavender species into Syria and Determining the Activity of their Essential Oils and Extracts as insecticide and Antibiotic.

أطروحة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في علوم المحاصيل الحقلية

إعداد الطالب

مياس نمير جديد

إشراف

الدكتور محمد عصام حسن آغا
الأستاذ في قسم العقاقير
كلية الصيدلة – جامعة دمشق
(مشرفاً مشاركاً)

الدكتورة رُلى يعقوب
الأستاذ المساعد في قسم المحاصيل الحقلية
كلية الهندسة الزراعية – جامعة دمشق
(مشرفاً رئيساً)

دمشق 2018م

كلمة شكر

أودُّ بدايةً أن أتوجه بالشكر الجزيل للأساتذة الكرام محكمي الرسالة: **أ.د.وجيه قسيس، أ.د.أيمن الشحادة العودة، د. رُلى يعقوب، د.سلام لاوند و د.رشا الخطيب** على ما قدموه من تصويبات قيمة تسهم في إزاله للبث الحاصل في بعض التفاصيل وتؤدي إلى إخراج الرسالة بحلة تليق بالسمعة العريقة لكلية الزراعة بجامعة دمشق.

ومع اتمامي لمستلزمات الحصول على درجة الدكتوراه بتقدير" ممتاز" أتقدم بالامتنان والعرفان إلى أستاذاي المشرفين الذين لم يبخلا عليَّ يوماً بوقتهما وعلمهما وجهودهما، **الدكتورة العزيزة رُلى يعقوب والأستاذ الدكتور محمد عصام حسن آغا، دمتما بخير وصحة وعافية.**

وإلى جمع غفير من الأساتذة والزملاء والأخوة الأعزاء والأصدقاء الأوفياء الذين دعموني فنياً اتقدم بالشكر والتحية، أسرة مخبر التقانة الحيوية في كلية الزراعة (الدكتورة سلام لاوند، الدكتور جورج طربين، المهندسة ديمة صبورة)، أسرة مركز بحوث المكافحة الحيوية (د.عبد النبي بشير، د.غسان ابراهيم، المهندس همام برهوم ، المهندس علاء محمد، المهندس فائق عبد الرزاق، و المهندس علاء الصالح)، من هيئة التقانة الحيوية (د.لينا الأمير ود.بسام العقلة، ود. فهد البيسكي، والأستاذ جورجس ناصيف).

من مديرية زراعة اللاذقية (المهندس مهند مليكة والطبيب البيطري ممدوح زنيبة) و مخبر مرفأ اللاذقية (المهندس سائر حسن والمهندس فؤاد النوى).

ولجميع الأصدقاء والزملاء الأوفياء من كلية الزراعة ووزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك ،الذين حرصوا على تحفيزي و مدي بالدعم المعنوي لإكمال مسيرتي العلمية رغم جميع الظروف الصعبة التي مررت بها.

ونهاية أُهدي هذا النجاح الدراسي إلى والداي وأخوتي الأعزاء.

وإلى أرواح طاهرة سكنت السماء لنحيا بسلام على أرض شام السلام.

أرواح شهداء الوطن البررة.

شهادة

نشهد بأنّ العمل الموصوف في هذه الأُطروحة، هو بحث علمي، قام به **المُرشح مياس نمير جديد**، تحت إشراف **الدكتورة رُلى يعقوب**، الأستاذة المساعدة في قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، **والدكتور محمد عصام حسن آغا**، الأستاذ في قسم العقاقير بكلية الصيدلة بجامعة دمشق، وإنّ أيّة مراجع أُخرى ذُكرت في هذه الأُطروحة من قبل الباحث موثقة في النص.

المهندس	الدكتورة	الدكتور
مياس نمير جديد	رُلى يعقوب	محمد عصام حسن آغا
	(المشرف العلمي)	(المشرف المشارك)

Certificate

We hereby certify that the work in this thesis is the result of a scientific research, performed by the researcher **Mayas Gadid** under the supervision of **Dr.Roula Yacoub** , Professor at Field Crops Department, Faculty of Agriculture Damascus University and **Dr.Mhd.Issam Hasan Agha.** Professor at Pharmacognosy Department, Faculty of Pharmacy, Damascus University.

Candidate: **Mayas N.Gadid**

Supervisor:**Dr.Roula Yacoub.**

Co-supervisor: **Dr.Mohammed Issam Hasan Agha.**

تصريح

أصرّح بأنّ البحث الموصوف في هذه الأطروحة تحت عنوان: **دراسة كيميائية وراثية لبعض الأنواع المدخلة من جنس الخزامى Lavender spp. إلى سورية وتحديد فعّالية الزيت العطري ومستخلصاته كمبيد حشري ومضاد حيوي**، هو بحثٌ جديدٌ لم يسبق أن دُرِسَ من قبل أي باحثٍ آخر، ولم يسبق أنْ قُدِّم للحصول على أيّة درجة جامعية أخرى، وهو غير مقدم حالياً لذلك، وأنّ كافة الأعمال والنتائج المذكورة هي جهودي الشخصية، وبتوجيه من المشرفَيْن العلميَيْن، وقد نُسبت أيّة معلومات أو نتائج أخرى ذُكرت في الأطروحة إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وفي قائمة المراجع.

المرشح

ميّاس نمير جديد

Declaration

I declare that the research entitled" *Chemical and Genetic Study for Genera of the Introduced Lavender into Syria and Determining the Activity of their Essential Oils and Extracts as insecticide and Antibiotic*." is a new research work that has never been studied by another researchers for any other degree, and currently it is not submitted by any one for any degree. All works and mentioned results are my personal efforts under guidance of my scientific supervision, and all information or other results cited in this thesis referred to its resource and authors in the text and in references list.

Candidate

Mayas N. Gadid

II

قُدّمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الدكتوراه في علوم المحاصيل الحقلية في كلية الزراعة الهندسة الزراعية، بجامعة دمشق.

This thesis has been submitted as a partial fulfillment of the requirement for Ph.D. Field Crops, Faculty of Agriculture, Damascus University.

لجنة الحكم:

- أ.د.وجيه قسيس. قسم وقاية النبات- كلية الزراعة-جامعة دمشق. (عضواً).
- أ.د. أيمن الشحاذة العودة. قسم المحاصيل الحقلية-كلية الزراعة- جامعة دمشق. (عضواً).
- د. رُلى يعقوب. قسم المحاصيل الحقلية- كلية الزراعة- جامعة دمشق. (عضواً ومشرفاً علمياً).
- د.سلام لاوند. قسم المحاصيل الحقلية-كلية الزراعة-جامعة دمشق. (عضواً).
- د. رشا الخطيب. قسم العقاقير- كلية الصيدلة - جامعة دمشق. (عضواً).

نوقشت هذه الرسالة وأجيزت بتاريخ السابع عشر من تشرين الأول لعام ٢٠١٨م.

III

الفهرس

			الصفحة
المحتويات			
فهرس المحتويات			IV
فهرس الجداول			VI
فهرس الأشكال			VII
فهرس المصطلحات والاختصارات العلمية			IX
الملخص العربي			1
1.	الفصل الأول / المقدمة		
	1	المقدمة	5
	1-1	الموطن الأصلي للخزامى *Lavandula* Spp. و أصل التسمية	6
	1-2	التصنيف النباتي لجنس الخزامى *Lavandula* Spp.	7
	1-3	التواجد الطبيعي للنوع البري (*L.stoechas* L.) في القطر العربي السوري .	8
	1-4	الزيوت العطرية للخزامى Essential oil of Lavender وفعَّاليتها الحيوية .	10
	1-5	اهمية البحث و مبرراته.	13
	1-6	أهداف البحث.	15
2.	الفصل الثاني/الدراسة المرجعية		
	2-1	الخصوصية التصنيفية و المورفولوجية في جنس الخزامى .	16
	2-2	التركيب الكيميائي للزيوت العطرية لأنواع الخزامى.	19
	2-3	الفعَّالية الحيوية لأنواع جنس الخزامى ضد الأحياء الممرضة .	30
	2-4	الفعَّالية المضادة ضد الحشرات والآفات الزراعية لأنواع جنس الخزامى.	35
	2-5	الفعَّالية المضادة للأكسدة في الزيوت العطرية لأنواع جنس الخزامى.	43
	2-6	الدارسات الجزيئية و القرابة الوراثية في جنس الخزامى.	48
3.	الفصل الثالث/مواد وطرائق البحث		
	3-1	مكان وزمان إجراء البحث	52
	3-2	المادة النباتية	52
	3-3	طرائق البحث	53
	3-3-1	الدراسة التصنيفية و المورفولوجية	53
	3-3-2	اعتيان الخزامى البرية (*L.stoechas* L.).	54
	3-3-3	استخلاص الزيوت العطرية والتحليل الكروماتوغرافي	56
	3-3-4	دراسة الفعَّالية المضادة للبكتريا والفطور لأنواع من جنس الخزامى.	57
	3-3-5	دراسة الفعَّالية المضادة للحشرات لأنواع من جنس الخزامى.	63
	3-3-6	دراسة الفعَّالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى.	66
	3-3-7	الدراسة الجزيئية للأنواع والطرز لأنواع من جنس الخزامى.	68

4	الفصل الرابع/النتائج والمناقشة	
	4-1 الدراسة التصنيفية و المورفولوجية.	76
	4-1-1. الدراسة التصنيفية.	76
	4-1-1-1 الخزامى الانكليزية (*L.angustifolia* L) / English Lavender	76
	4-1-1-2 الخزامى الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*)/ Lavandin	80
	4-1-1-3 الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L) / French lavender.	81
	4-1-1-4 الخزامى الهجين مفصص الأوراق (*Lavandula X allardii*)/ Fringed Hybrid Lavender	85
	4-1-1-5 الخزامى من النوع البري (*L.stoechas* L.).	90
	4-1-2. الدراسة المورفولوجية.	96
	4-2. الدراسة الكيميائية للزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى.	99
	4-2-1 النسبة المئوية للزيوت العطرية في أنواع من جنس الخزامى.	99
	4-2-2 التركيب الكيميائي للزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى.	104
	4-3 الفعَّالية الحيوية لأنواع من جنس الخزامى ضد الأحياء الممرضة :	122
	4-3-1 الفعَّالية الحيوية للزيوت العطرية.	122
	4-3-1-1 الفعَّالية الحيوية المضادة للبكتريا.	122
	4-3-1-2 الفعَّالية الحيوية المضادة للفطور.	136
	4-3-2 الفعَّالية الحيوية للمستخلصات النباتية	143
	4-3-2-1 اختبارات التضاد البكتيري والفطري	143
	4-3-2-2 حساب التركيز المثبط الأدنى MIC و التركيز القاتل الأدنى MFC / MBC	146
	4-4 الفعَّالية الحيوية لأنواع من جنس الخزامى ضد الحشرات	149
	4-4-1. فعَّالية الزيوت العطرية ضد فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط *Ephestia kuhniella* Zeller	149
	4-4-2. فعَّالية الزيوت العطرية كمبيد بالتبخير ضد خنفساء الدقيق الصدئية *Tribolium castaneum*	157
	4-4-3. فعَّالية المستخلصات النباتية للخزامى ضد خنفساء الدقيق الصدئية *Tribolium castaneum*	162
	4-5 الفعَّالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى.	165
	4-6 الدراسة الجزيئية والقرابة الوراثية بين أنواع من جنس الخزامى.	168
	4-6-1 التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقانة ISSR	169
	4-6-2 تحديد درجة القرابة الوراثية بين الانواع والهجائن المدروسة	172
	4-6-3 التحليل العنقودي Cluster analysis (شجرة القرابة)	173
5	الاستنتاجات و التوصيات	
	5-1 الاستنتاجات	178
	5-2 المقترحات والتوصيات	181
	ملحق الجداول.	182
	ملحق الأشكال والصور.	189
	المراجع.	203
	Abstract	

فهرس الجداول / Tables List

الرقم	عنوان الجدول		صفحة
جدول (1)	السلالات و الأنواع البكتيرية والفطرية المختبرة، وترميزها.		58
جدول (2)	رموز والتسلسل النكليوتيدي ودرجة الحرارة للبادئات المستخدمة		73
جدول (3)	أهم الصفات المورفولوجية النوعية المميزة للأنواع المدروسة من جنس الخزامى.		96
جدول (4)	درجة التشابه في بعض الصفات الموروفولوجية بين الأنواع والهجائن المدروسة من الخزامى		97
جدول (5)	النسبة المئوية للزيت العطري (مل.100غرام$^{-1}$) في المادة النباتية (رؤوس زهرية أو أوراق) المجففة هوائياً.		99
جدول (6)	التركيب الكيميائي التفصيلي للزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى.		105
جدول (7)	تصنيف مكونات زيوت الخزامى المدروسة تبعاً للنمط الكيميائي للتربين		108
جدول (8)	المركبات العطرية الخمس الأكثر وفرة في كل زيت من زيوت أنواع الخزامى المدروسة.		109
جدول (9)	متوسط قيم أقطار تثبيط النمو البكتيري للزيت العطري و المركبات العطرية النقية.		123
جدول (10)	متوسط قيم أقطار تثبيط النمو البكتيري لمعاملات الشاهد الإيجابي.		129
جدول (11)	معايير توصيف حساسية الأنواع البكتيرية تبعا لقطر التثبيط (ملم) و MIC		130
جدول (12)	متوسط قيم التركيز المثبط الأدنى و التركيز القاتل الأدنى والمسجل للأنواع البكتيرية الأربعة الأكثر حساسية		131
جدول (13)	قيم أقطار تثبيط النمو الفطري بطريقتي الانتشار من القرص و الانتشار من الحفر		137
جدول (14)	متوسط قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MFC) لكل من *C.alb* و*A.niger*		140
جدول (15)	متوسط قيم أقطار تثبيط النمو البكتيري والفطري للمستخلصات النباتية المائية والكحولية		143
جدول (16)	متوسط قيم التركيز المثبط الأدنى MIC و التركيز القاتل الأدنى MBC للبكتريا MFC للفطور		146
جدول (17)	النسبة المئوية للموت بين يرقات الفراشة والمسجلة بعد 24ساعة و 48 ساعة،		150
جدول (18)	النسبة المئوية للموت بين كاملات الفراشة والمسجلة بعد 24ساعة و 48 ساعة		151
جدول (19)	تراكيز الموت النسبية LC50 و LC90 و LC99 في يرقات وبالغات الفراشة عند 24 و 48ساعة.		152
جدول (20)	النسبة المئوية للموت عند يرقات خنفساء الدقيق الصدئية.		157
جدول (21)	التركيز المميت النصفي ليرقات الخنفساء مقدراً الموافق لكل زمن تعريض لبخار الزيت.		158
جدول (22)	زمن الموت النصفي (ساعة) ليرقات الخنفساء و الموافق لكل تركيز زيتي مطبق		159
جدول (23)	النسبة المئوية للموت بين بالغات الخنفساء بعد 14 يوم من زمن التجربة.		162
جدول (24)	التركيز المميت لنصف بالغات الخنفساء الصدئية بعد 14 يوم من تسميم غذائها.		164
جدول (25)	متوسط قيم التثبيط (%) I وقيم التركيز المثبط النصفي (IC50) للزيوت العطرية لأنواع الخزامى المدروسة.		165
جدول (26)	رموز البادئات المستخدمة وعدد الحزم الكلية والمتباينة، والتعددية الشكلية % في الانواع المدروسة.		170
جدول (27)	مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) بين الانواع و الهجائن المدروسة		172
جدول (A).	التصنيف العلمي لجنس الخزامى *Lavandula* L. Scientific classification	ملحق الجداول	182
جدول (B).	التصنيف النباتي لجنس الخزامى.		183
جدول (C).	الأسماء العلمية للأنواع والأصناف النباتية الواردة في الأطروحة.		185
جدول (D).	التصنيف العلمي للنوعين الحشريين المدروسين.		188
جدول (E).	بعض الخواص الكيميائية والفيزيائية الموافقة لكل من الماء والإيثانول و DMSO.		188

فهرس الاشكال* / Figures lists

الرقم	عنوان الشكل	صفحة
شكل (1)	موقع جمع عينات الخزامى البرية (*L.stoechas* L.) من أحد مناطق انتشاره الطبيعي في اللاذقية.	55
شكل (2)	جنبات معمرة من الخزامى البرية (*L.stoechas* L.)على أطراف الغابة .	55
شكل (3)	نبات معمر من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.).	76
شكل (4)	مكونات الزهرة في الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.).	77
شكل (5)	التفاوت لون التويج و الكأس و الورقة ضمن أصناف من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.).	78
شكل (6)	عينات مختلفة تتبع الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) واللافاندين (*L. x intermedia*).	79
شكل (7)	السنابل الزهرية و الحوامل الزهرية في الصنف الممثل للهجين اللافاندين (*L. x intermedia*).	81
شكل (8)	نبات معمر من الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.).	82
شكل (9)	فرع خضري ينبثق منه حامل لسنبلة زهرية من الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.)	83
شكل (10)	الأجزاء الزهرية المختلفة في الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.).	84
شكل (11)	المظهر العام للخزامى الهجين مفصص الأوراق (*L. X allardii*).	85
شكل (12)	السنبلة الزهرية في الهجين مفصص الأوراق (*L. X allardii*).	86
شكل (13)	الحامل الزهري والسنبلة و الأوراق المميزة في الهجين مفصص الأوراق (*L. X allardii*).	86
شكل (14)	مكونات الزهرة والاوراق الزهرية في الهجين مفصص الأوراق (*L. X allardii*)	87
شكل (15)	الحامل الزهري والسنبلة الزهرية والاوراق في النوع (*L. dentata* L.) و الهجين (*L. X allardii*).	88
شكل (16)	الزهرة والأجزاء الزهرية في النوع الفرنسي (*L. dentata* L.) والهجين (*L. X allardii*).	88
شكل (17)	صور لمنطقة انتشار الخزامى البرية (*L.stoechas* L.) و موقع الاعتيان.	90
شكل (18)	جنبة معمرة من الخزامى البرية (*L.stoechas* L.)	91
شكل (19)	السنبلة الزهرية (و لإزهار) في الخزامى البرية (*L.stoechas* L.)	91
شكل (20)	مكونات السنبلة زهرية والزهرة في الخزامى البرية (*L.stoechas* L.)	93
شكل (21)	اشكال السنابل الزهرية في الخزامى البرية (*L.stoechas* L.) خلال مرحلة نموها	94
شكل (22)	شجرة التشابه المورفولوجي بين الأنواع والأصناف المدروسة من جنس الخزامى.	98
شكل (23)	كروماتوغرام الزيت العطري المستخلص من أزهار الخزامى الإنكليزية المزورعة في دمشق .	114
شكل (24)	كروماتوغرام الزيت العطري المستخلص من أزهار الهجين مفصص الأوراق (*L. X allardii*).	117
شكل (25)	مسلك الاصطناع الحيوي للمركبات العطرية الرئيسية في زيت الخزامى البرية (*L.stoechas* L.)	119
شكل (26)	كروماتوغرام الزيت العطري المستخلص من أوراق الخزامى البرية (*L.stoechas* L.)	121
شكل (27)	التأثير المميت لزيت النوع (*L.stoechas* L.) على حياه بالغات ويرقات فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط	155
شكل (28)	التأثير المميت لزيت النوع (*L. angustifolia* L.) على حياه بالغات ويرقات فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط	155
شكل (29)	العلاقة بين نسب الموت اليرقي %، وكل من تركيز وزمن تعريض لزيت النوع (*L. angustifolia* L.).	159
شكل (30)	توزع نُسب الموت % تبعاً للنوع النباتي المختبر ونمط الاستخلاص المتبع.	163
شكل (31)	مخطط بياني يظهر النسب المئوية للتثبيط (%) I و الزمن المثبط النصفي (IC50) لكل زيت عطري.	167

شكل (32)	صورة هلامة الأغاروز 2% لملاحظة التعددية الشكلية الناتجة عن البادئة(ISSR14)	171
شكل (33)	صورة هلامة الأغاروز 2% لملاحظة التعددية الشكلية الناتجة عن البادئة (ISSR26).	171
شكل (34)	التحليل العنقودي للأنواع و الهجن المدروسة، والناتج عن استخدام تقنية ISSR	174
شكل (35)	مقارنة بين شجرة التشابه المورفولوجي و شجرة القرابة الوراثية.	175
ملحق الأشكال والصور		
شكل (A)	النمطين الرئيسين للسنبلة الزهرية في جنس الخزامى،(Tim Upson،2002).	189
شكل (B)	رسم توضيحي لنورة متعددة الأزهار.	189
شكل (C)	التنوع الشكلي للأوراق الحاملة (القنابات) في الأنواع المختلفة من جنس الخزامى.	190
شكل (D)	تنوع الكأس الزهري عند الأنواع المختلفة من جنس الخزامى.	191
شكل (E)	تنوع الأنبوب الزهري في الأنواع المختلفة من جنس الخزامى.	192
شكل (F)	التنوع الشكلي للأوراق النباتية في الأنواع المختلفة للخزامى.	193
شكل (G)	جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC-Agilent(model:7986)	194
شكل (H)	طور اليرقة والبالغة، حشرة الخنفساء الصدئية.	195
شكل (I)	طور اليرقة والبالغة، فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط.	195
شكل(J)	تنفيذ التجربة الحشرية و إفراغ محتوى الإناء الزجاجي لأخذ القراءات.	196
شكل (k)	مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لمركب Eucalyptol	197
شكل (L)	مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لمركب Camphor.	197
شكل (M)	مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لمركب Linalool	198
شكل (N)	مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لمركب Myrtenal.	198
شكل (O)	التثبيط في نمو بكتريا العصوية الشمعية *B.cer*/(1).	199
شكل (P)	التثبيط في نمو بكتريا العصوية الشمعية *B.cer* /(2).	199
شكل(Q)	التثبيط في نمو بكتريا العصوية الشمعية *B.cer* /(3).	200
شكل (R)	التثبيط في نمو بكتريا السالمونيلا *S.typh*	200
شكل (S)	التثبيط في نمو بكتريا العنقودية الذهبية *S.aur2* و بكتريا الزائفة الزنجارية *Ps.aeru.*	201
شكل(T)	التثبيط الحاصل في نمو فطر *A.niger* و الفطر *C.alb*	201
شكل (U)	التثبيط الحاصل في نمو فطر الفطر *C.alb.*	202
شكل (V)	التثبيط الحاصل في نمو فطر *A.niger* .	202

* جميع الصور الضوئية و البرمجية الواردة في الرسالة مأخوذة من قبل الباحث خلال مراحل الدراسة.

.

الاختصارات

Abbreviations

الاختصار	المرادف الأجنبي	المرادف العربي
AC	Absorbance of Control	**امتصاصية الشاهد للضوء عند موجة محددة**
AS	Absorbance of Sample	**امتصاصية العينة للضوء عند موجة محددة**
AFLPs	Amplified Fragment Length Polymorphisms	**تباين أطوال القطع المتضاعفة من الـ DNA**
CAM	Complementary and Alternative Medicine	**العلاج المكمل و البديل**
CAS	Chemical Abstracts Service (CAS)	**هيئة تسجيل مختصة عالمية تقوم بمنح رقم فريد لكل مركب فور وروده في المراجع العلمية**
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute	**معهد المعايير السريرية والمختبرية**
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	**مركب دي ميثيل سلفوكسيد**
DNA	Deoxyribonucleic acid	**الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين**
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	**جذر حر يستخدم في قياس الفعَّالية للأكسدة**
EO	Essential Oil	**الزيت العطري**
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic	**ثنائي أمين الإيثلين رباعي حمض الأسيتيك**
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power	**طريقة لقياس القوة المضادة للأكسدة تبعاً للخواص المؤكسدة للحديد في محلوله ($FeCl_3$)**
GC-MS	Gas chromatography–mass spectrometry	**الكروماتوغرافيا الغازية المربوطة إلى كاشف مطيافية الكتلة**
IC50	Inhibition Concentration 50 %	**التركيز الكابح النصفي (مؤشر لقياس القدرة على كنس الجذور الحرة)**
INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária	**المعهد الوطني للبحوث الزراعية و البيطرية في البرتغال**
IPM	Integrated Pest Management	**المكافحة المتكاملة للآفات**
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat	**تكراريات التسلسل البسيطة الداخلية**
LC50	Lethal concentration 50	**التركيز المميت النصفي**
LT 50	Lethal Time 50	**الزمن المميت النصفي**
MBC	Minimum Bactericidal Concentration	**التركيز القاتل الأدنى (للبكتريا)**
MF	Molecular Formula	**الصيغة العامة**
MFC	Minimum Fungicidal Concentration.	**التركيز المميت النصفي (للفطور)**
MHA	Müller-Hinton agar	**مولر هنتون (وسط مغذي صلب)**
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	**التركيز المثبط الأدنى (للأحياء الدقيقة بأنواعها)**

الحمض الريبي النووي الرسول	Messenger RNA	**mRNA**
الوزن الجزيئي لمركب كيميائي	Molecular weight	**MW**
وسط مغذي سائل (مرق مغذي)	Nutrient Broth	**NB**
المعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا ، الولايات المتحدة الأمريكية	The National Institute of Standards and Technology,USA	***NIST***
تفاعل البلمرة المتسلسل	Polymerase Chain Reaction	**PCR**
آغار دكستروزالبطاطا (وسط تنمية الفطر)	Potato Dextrose Agar	**PDB**
وسط مرق دكستروزالبطاطا(وسط تنمية الفطر)	Potato Dextrose Broth	**PDB**
مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق	Percent Disagreement Values	**PDV**
درجة الحموضة	Potential of Hydrogen	**pH**
جزء بالمليون (وحدة لقياس التركيز)	Parts Per Million	**PPM**
بولي فاينيل بيرليدون	Polyvinylpyrrolidone	**PVP**
تقنية التضخيم العشوائي متعدد الأشكال للـــحمض النووي	Random Amplification of Polymorphic DNA	**RAPD**
أنزيم حلمة الحمض النووي RNA	Ribonuclease	**RNase**
معامل الفصل (مؤشر لزمن لاحتباس)	Retention Index	**RT**
دوديسيل كبريتات صوديوم	Sodium Dodecyl Sulfate	**SDS**
الاستخلاص بالأمواج الميكروية بدون مذيبات	Solvent-Free Microwave Extraction	**SFME**
برنامج تحليل إحصائي	Statistical Package for the Social Sciences	**SPSS**
تقنية التكراريات التسلسل البسيطة (القصيرة)	Simple Sequence Repeats	**SSRs**
محلول موقي يستخدم في التحاليل الجزيئية.	*Tris*-borate-EDTA	**TBE**
محلول موقي يستخدم في التحاليل الجزيئية.	*Tris*-EDTA	**TE**
متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة .	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging.	**UPGMA**
مقابل /أو/ ضد	versus	**VS**

الملخص

أُجري هذا البحث خلال الفترة (2013-2017)م، في مخابر قسم المحاصيل الحقلية بكلية الزراعة، ومركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية والهيئة العامة للتقانة ومخابر وزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك، ويتناول هذا البحث أصناف وأنواع الخزامى المتواجدة في القطر العربي السوري من الناحية التوصيفية النباتية، ومحتواها من الزيوت الطيّارة والتركيب التفصيلي والرئيس لتلك الزيوت، وقد اختبرت فعّالية زيوتِ الأنواع المدروسة من الخزامى ومستخلصاتها كمضادات ميكروبية وحشرية وكمضادات أكسدة، ومن ثمّ تمّت دراسة التقارب بين الأنواع المصّنفة من الخزامى من خلال بعض المعلّمات الجزيئية (ISSR) والمؤشرات الشكلية المهمة.

أظهرت الدراسة توزع النباتات المدخلة من جنس الخزامى إلى سورية بين نوعين (*L. angustifolia* L. و*L.dentata*)، وهجينين (*L.x allardii* و *L.x intermedia*)، وكان النوع (*L.angustifolia* L.) هو الأكثر انتشاراً وشيوعاً، وتمَّ تثبيت وجود بعض جنبات النوع البرّي (*L.stoechas* L.) من الخزامى على أطراف رقعة ناجية من غابة صنوبر بروتي في منطقة السهول الساحلية لمحافظة اللاذقية (سهول وادي قنديل)، مع لفت الانتباه إلى كونه حالياً من النباتات المعرّضة جزئياً لخطر الانقراض، بسبب ازدياد النشاط الزراعي في المنطقة.

شملت الدراسة – ولأوّل مرة في المادة العلمية المحلية – توصيفاً مورفولوجياً مفصّلاً لأنواع وهجن من جنس الخزامى، مدعوماً بالصور الضوئية، ولدى دراستنا لدرجة التشابه المورفولوجية بين أنواع وهجن الخزامى استناداً إلى عددٍ من الصفات النوعية المميزة، تبيَّن انقسام شجرة التشابه الشكلي إلى عنقودين أحدهما ضمَّ كُلاًّ من النوع (*L.angustifolia* L. الخزامى الإنكليزية) والهجين (*L.x intermedia* اللافاندين) والهجين مفصص الأوراق (*L.x allardii*)، وضمَّ العنقود الآخر النوع (*L.dentata* L. الخزامى الفرنسية) والنوع البرّي (*L.stoechas* L.).

زُرعت نباتات مميزة لكل نوع وهجين تمَّ تصنيفه للحصول على المادة النباتية اللازمة للتحاليل المخبرية، وأظهرت النتائج تميّزْ النوع (*L.angustifolia* L.) باحتوائه على أعلى نسبة للزيت العطري (4.23 %) في الأزهار، تلاه الهجين اللافاندين (*L.x intermedia*) والنوع البرّي (*L.stoechas* L.)

بالقيم (4.1% و4.03%) على التوالي، في حين تفوّق النوع البرّي (*L.stoechas* L.) معنوياً على باقي الهجن والأنواع، محققاً أعلى نسبة للزيت العطري في الأوراق (1.37 %) وبفارق معنوي مع باقي الأنواع.

أُجري التحليل الكيميائي بواسطة GC-MS لجميع الزيوت الطيّارة المستخلصة من أزهار الأنواع والهجن المدروسة، وتمَّ تمييز (108) مركباً متواجدة في الزيوت الطيّارة لأنواع الخزامى في سورية، وتبعاً لتوزع المركبات الرئيسة في الزيوت الطيّارة المدروسة، اتصف الزيت العطري لأزهار كُلّ من الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) والهجين اللافاندين (*L.x intermedia*) بكونهما من النمط الكيميائيLinalool، واشترك زيتي أزهار النوع الفرنسي (*L.dentata* L.) والهجين مفصص الأوراق (*L.x allardii*) بكونهما من النمط الكيميائي 1,8 Cineole، وبتميز النوع البرّي (*L.stoechas* L.) عن ما سبق بكونه من النمط الكيميائي(Fenchone/Myrtenol).

وأُجري التحليل الكيميائي لزيتين تمَّ استخلاصهما من الأوراق من نوعين فقط، الأوّل زيت أوراق النوع (*L.angustifolia* L.) وكان من النمط الكيميائي(Camphor/ 1,8 Cineole) ، والثاني زيت أوراق النوع البرّي (*L.stoechas*) وكان من النمط الكيميائي(1,8 Cineole /Fenchone).

أظهرت تجربة التضاد البكتيري، فعّالية الزيوت الطيّارة المستخلصة من أزهار الأنواع (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) لناحية امتلاكها خواصاً مثبطة لنمو البكتريا، ولكن بدرجاتٍ متفاوتة. وكانت بكتريا الزائفة الزنجاريةPseudomonas aeruginosa والمكورة المعوية البرازية *Enterococcuse faecalis* واللستريا المستوحدة .*Listeria monocytogenes* هي الأكثر مقاومةً للزيوت الطيّارة المختبرة، في حين أبدت بكتريا العصوية الشمعية *Bacillus cereus* والعنقودية الذهبية سلالة ثانية (2) *Staphylococcus aureus* والسالمونيلا التيفية *Salmonella Typhimurium* والإيشرشيا كولاي *Escherichia coli* حساسية أكبر اتجاه الزيوت الطيّارة.

كان لزيت النوع البرّي (*L.stoechas*) الفعّالية الأعلى بين زيوت الأنواع الثلاثة على تثبيط نمو *Bacillus cereus* و(2) *Staphylococcus aureus*، وحقق انتشار الزيت العطري للخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) أعلى قطر تثبيط للنوع *Escherichia coli* و*Salmonella Typhimurium*.

حقق انتشار الزيوت الطيّارة تثبيطاً في نمو كل من النوعين الفطريين *Candida albicans* و*Aspergillus niger* وكان قطر منطقة التثبيط الناتج عن انتشار الزيوت الطيّارة من حفر أكبر منه في حالة انتشارها من أقراص.

من بين المركبات الطيّارة الأربعة المختبرة اتجاه فعّاليتها المضادة للبكتريا والفطور، تفوق مركب α-Pinene على مركبات β−Pinene و 1,8 Cineole و Linalool بفعّاليته المضادة للبكتريا والفطريات، وكان مركب 1,8 Cineole هو الأقل فعّالية.

أدى استعمال المستخلصات المائية والكحولية للأنواع المدروسة (*L.stoechas* L.) و(*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) إلى تثبيط ومنع نمو الأنواع البكتيرية والفطرية المختبرة، ولكن بدرجاتٍ متفاوتة، وكانت المستخلصات الكحولية دائماً الأكثر فعّالية.

وتفوقت المستخلصات النباتية للنوع البرّي (*L.stoechas* L.) على باقي المستخلصات في تثبيط أكبر طيف من البكتيريا المدروسة بطريقتي الانتشار من القرص والتخفيفات الميكروية.

أظهرت تجربة تبخير يرقات وفراشات طحين البحر الأبيض المتوسط *Ephestia kuhniella* Zeller ،أنَّ كلا الزيتين العطريين (*L.stoechas* L.) و(*L.angustifolia* L.)، قد سببا موتاً معنوياً في كلا الطورين المختبرين، وتفوق الزيت العطري للنوع البرّي (*L.stoechas* L.) على زيت النوع (*L.angustifolia*)، حيث أنّه في الوقت الذي حقق التركيز(100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) منه موتاً بنسبة (100%) في الفراشات بعد (24 ساعة)، لم يحقق التركيز نفسه من زيت الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) تلك النسبة خلال الفترة نفسها.

وفي تجربة تبخير ثانية، أدّى تبخير يرقات خنفساء الدقيق الصدئية *Tribolium castaneum*، بالتركيز (100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) من زيت أوراق النوع (*L.angustifolia* L.) إلى تحقيق نسب موت معنوية (30% و53.33 % و58.52 % و60.37 %) عند أزمنة التعريض لبخار الزيت (72 و120 و168 و216 ساعة) على التوالي.

اختبرت الفعّالية المضادة للحشرات للمستخلصات المائية والإيثانولية من أوراق النوعين (*L.stoechas* L.) و(*L.angustifolia* L.) ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدئية *Tribolium castaneum* وفقاً لطريقة تسميم الغذاء، فكانت المستخلصات الكحولية هي الأكفأ دوماً، وتحققت أعلى نسب الموت في

الحشرات الكاملة عند تسميم غذائها (56.67%) بالمستخلص الإيثانولي لأوراق النوع البرّي (*L.stoechas* L.) بتركيز (25 %).

اتبعت طريقة الـ DPPH في تقدير الفعّالية المضادة للأكسدة لخمسة من الزيوت الطيّارة المستخلصة من أزهار الأنواع والهجن المدروسة. ازدادت مقدرة الزيوت الطيّارة الخمسة المختبرة على كبح الجذر الحر الـ DPPH مع ازدياد التركيز المطبق من الزيت، وبلغت النسبة المئوية للتثبيط أقصاها (66.95 %) عند تطبيق التركيز (40 ميكروغرام.مل$^{-1}$) من زيت النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) بفارق ظاهري مع الهجين (*L.x intermedia*) (63.8 %)، وبفارقٍ معنوي مع بقية الزيوت، بالمقارنة مع القيمة (94.04 %) التي سجلها الشاهد الإيجابي Vitamin C .

أُجريت التجربة الجزيئية على خمس عينات تمثل الأنواع والهجن المُصنّفة، بلغ عدد الحزم الناتجة عن استخدام 14 مرئسة (70حزمةً)، وتميزت (52 حزمةً) منها بالتعددية الشكلية وبنسبة (74.3%)، وانفصلت شجرة القرابة الوراثية حسب تقنية ISSR إلى عنقودين رئيسيين: ضمَّ العنقود الأول كُلاًّ من الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) والهجين اللافاندين(*L.x intermedia*)، وضمّ العنقود الثاني الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.) والبرّية (*L.stoechas* L.) والهجين (*L.x allardii*). وأثبتت النتائج كفاءة التقنية المتبعة في تمييز أنواع وأصناف الخزامى وتحديد درجة القرابة الوراثية بينها.

أظهرت نتائج القرابة الوراثية توافقاً مع نتائج الدراسة المورفولوجية وتحاليل التركيب الكيميائي الرئيس للزيت العطري، بدرجاتٍ متفاوتة، وتحققت أعلى حالة من التوافق بين الدراسات الثلاث (الجزيئية والمورفولوجية والتركيب الكيميائي الرئيس للزيت العطري) بين الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) والهجين اللافاندين (*L.x intermedia*).

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1- المقدمة

استحسنت بعض الأعشاب منذ القدم لرائحة منها تفوح أو لأثرٍ طبي مُريح، ومع توالي القرون تراكم جراء الملاحظة والتجربة لدى ذاكرة الإنسان عن كل عشبةٍ ذات عطرٍ ونفعٍ مكنون، حَرزٌ مخزون تناقلته الأجيال كسرٍّ للشفاء من جائحات تعمُّ أو أمراض تلمُّ، مما بوأها في تاريخ الشعوب منزلةً مهمةً عند الأطباء وممتهني العطور. وعندما كان التأريخ لاستخدام النباتات الطبية والعطرية متزامناً ومقترناً مع التطور الحضاري في معظم بقاع الأرض (Singh وزملاء،2014)، فإنّ الإشارة إلى تلك الحالة من الوعي الجَمعي والاستشراف العلمي التي ميزَّت الأمم والحضارات المتآلفة مع النباتات الطبية والعطرية عبر العصور هي في جوهرها تأكيد لأهمية ما تتمحور حوله مادتنا العلمية التي تتناول عشباً مزهراً معمراً يعود إلى ما قبل التاريخ، حيث دخلت أزهاره في تحنيط المصريين القدماء وأتى بذكره الطبيب ديسقوريدس 65 م حول استعماله كعلاجٍ لدى قدماء الرومان والإغريق. إنّه الخزامى "اللافندر Lavender" المنقذ الخفي والوفي لجميع المتعاملين به من سكان البلدة الإنكليزية Bucklesbury من الطاعون في جائحة الموت الأسود التي ضربت إنكلترا عام 1347م، الذي استحوذ لاحقاً على كل التقدير في العصر (الإليزابيثي) فأشاد الشهيران الإنكليزي Shakespeare والفرنسي Stéphane Mallarmé برونق أزهاره ودفئها (Pohrib وNistor، 2012)، إلى أنْ تمَّت تسميته عشبة العام ‘Herb of The Year 1999’ من قبل الشبكة الأمريكية لزراعة وتسويق الأعشاب تأكيداً على شعبيته المتزايدة وقيمته التجارية أواخر القرن الماضي(1999)، في وقتٍ كان نصيبنا من الخزامى فقط أنْ ألفنا صغاراً عطره على ثيابنا وأذهلنا جمال أزهاره صيفاً في منازلنا وحدائقنا المنتشرة على الرقعة السورية المُطلَّة على حوض البحر المتوسط، والذي يُعدّ أصلاً مهداً للخزامى (*Lavandula* Spp.) وموطناً أصلياً لها فضلاً عن مناخها المعتدل الذي مهَّد لإحياء فلورة سورية تمتد على (3459) نوعاً نباتياً ضمن (865) جنساً في (131) عائلة (Mouterdo،1970)، للنباتات الطبية والعطرية نصيباً كبيراً منها، حيث يشكّل النوع البرّي من الخزامى (*Lavandula stoechas* L.) إحدى الشجيرات المهمة في الغطاء النباتي الطبيعي المنتشر في السهول الساحلية شمال غرب القطر العربي السوري، (Ghzazal،2008).

1.1. الموطن الأصلي للخزامى .*Lavandula spp* وأصل التسمية :

تُعدّ نباتات جنس الخزامى (Lavender) من العائلة الشفوية(*)، من النباتات المتأصلة في حوض المتوسط وبخاصةّ في شمال أفريقيا ومناطق من آسيا (Piccaglia وزملاؤه، 1993)، وفي موقع آخر يُشار إلى أنّ جنوب أوروبا هو الموطن الأصلي وبخاصة الجزء الغربي من حوض المتوسط الممتد من الشرق حتى الساحل الدالماشي Dalmatian coast واليونان (Pohrib و Nistor، 2012).

إنّ أصل التسمية الإنكليزية Lavender أو الفرنسية Lavande للخزامى هو الكلمة Lavendre في اللغة Anglo−French التي تعود لـ (1300−1400)م، وتُشير المراجع إلى أنّ تلك التسمية ربما تعود للأصل اللاتيني 'lavando' المشتق من فعل 'lavare' بمعنى يستحم "to bathe" أو يغسل "to wash " حيث اعتاد الرومان على تعطير مياههم (Lis −balchin، 2002). وتُشير مراجع أخرى إلى اشتقاقها من الأصل اللاتيني livere' أو lividus بمعنى "مُزرَقْ" "to be bluish" (Longman dictionary 5th Edition، 2009).

وجاء ذكر الخزامى في معجم لسان العرب " الخزامى عشبة طويلة العيدان صغيرة الورق حمراء الزهرة طيبة الريح، لها نور كنور البنفسج ولم يوجد من الزهر زهرةً أطيب نفحة من نفحة الخزامى"، ووردت في قول الشاعر امرؤ القيس: كأنَّ المدام وصوب الغمام وريح الخزامى ونشر القطر.

ورد ذكر الخزامى كتسمية عربية لجنس اللافندر وأنواعه في معظم المراجع العلمية والتصنيفية في المراجع العلمية الطبية (شهاب والنوري،1996)، ومراجع التنوع الحيوي (أطلس النباتات الطبية والعطرية،2012)، ووكذلك ورد اسم اللاوند في (القطب والبطل، 1986)، واسم الضرم في (البار،2001).

ويشيع مؤخراً بكثرة لدى بلاد الشام استعمال الاسم الإنكليزي ملفوظاً باللسان العربي " لاڤِندَرْ Lavender "، ويلفظ الاسم الفرنسي " لاڤند Lavande" بشكلٍ أقل شيوعاً.

---

* **التصنيف العلمي لجنس الخزامى مُبيّن في (الجدول (A)، ملحق الجداول).**

1.2. التصنيف النباتي لجنس الخزامى *Lavandula* spp.:

إنّ نظرة تاريخية سريعة على تصنيف جنس الخزامى، تُظهر أنّه عُرف من قبل قدماء علماء التصنيف النباتي، وتعود أولى الكتابات التي ذكرت الخزامى للعالم اليوناني القديم ثيوفراستوس Theophrastus إلى الفترة (285–370) قبل الميلاد، إلّا أنّ الدراسة الأولى حول الخزامى *De Lavandula* لم تنشر حتى عام (1780م) أعدّها العالم Lundmark وتضمنت ذكراً لخمسة أنواع وثمانية أصناف تتبع جنس الخزامى. وكانت الدراسة الثانية للفرنسي Gingins (1826م) وكانت على قدرٍ من الأهمية –وهي لاتزال كذلك–، حيث سرد فيها إثناعشر نوعاً بالتفصيل مع توصيفها وتوزعها الجغرافي وخصائصها واستخداماتها، وكانت مساهمته الأهم في توزيع الأنواع المدروسة في مجموعات وفي إنشاء تصنيف بين الأنواع توزع بين ثلاثة أقسام. ومع مرور الوقت جاءت الدراسة الثالثة للعالم Chaytor (1937م) "A Taxonomic Study of the Genus *Lavandula*" حيث وصف فيها عدداً من الأنواع والأصناف، تلاها مراجعة علمية متخصصة بأحد أقسام جنس الخزامى "A Revision of Section *Stoechas*" (Rozeira،1949)، ودراسة جنس الخزامى في المنطقة العربية "The Genus *Lavandula* in Arabia and Tropical NE Africa" (Miller،1985).

ونظراً لعدم وجود دراسة شاملة لجنس الخزامى بعد دراسة (Chaytor، 1937) قام عالم التصنيف النباتي Tim Upson في عام (2002م) بتنقيح تلك الدراسة ودمجها مع ما تلاها من مقالات ذات صله ليحصل على معلومات جديدة ومهمة لأوّل مرّة في تقريره (The Taxonomy of the Genus *Lavandula* L.) الذي يُعدّ المرجع التصنيفي الأشمل لجنس الخزامى حتى يومنا هذا، التي قمنا باعتمادها في هذه الأطروحة (الجدول (B)، ملحق الجداول).

قام الباحث في تقريره بترتيب الأنواع وتحت الأنواع في أقسامٍ مستقلة، وكذلك قام بوضع الهجن ضمن القسم نفسه الذي يحوي أصولها(أبويها)، باستثناء الهجن بين الأقسام قام الباحث بسردها بعد الانتهاء من الأقسام جميعها، وتعاملت الدراسة مع الطرز مجهولة التصنيف أيضاً فشغلت فئة مستقلة. وقام بتفصيل المفاتيح التصنيفية الدقيقة التي اعتمدها للتمييز بين الأقسام أولاً وبين الأنواع ضمن القسم الواحد ثانياً، وأخيراً بين الهجن القريبة ضمن الأقسام أو تلك البعيدة بين الأقسام، وقام بذكر المرادفات الأكثر الأهمية لكل نوع ووضعت بين أقواس واستخدمت الاختصارات المتبعة فيها (Brummitt وPowell،1992).

3.1 . التواجد الطبيعي للنوع البرّي من الخزامى (*Lavandula stoechas* L.) في سورية:

تُعدُّ المنطقة الساحلية في سورية من أهمّ المناطق الغابية في سورية، وهي تتألف من ثلاث مناطق رئيسة هي منطقة جبال الباير والبسيط Baer-Bassit Mountain، ومنطقة السهول الساحلية Coastal Plains، ومنطقة الجبال الساحلية Coastal Mountains، في الحقيقة تُعاني مساحات واسعة من الجبال الساحلية من انخفاض مساحات الغابات في معظم أجزاءها إلى درجة أنّ بعضها قد اندثر كلياً، بالإضافة إلى كون الغطاء النباتي في السهول الساحلية فد تغيّر كُلياً خلال فترةٍ طويلة، وإنّ الغطاء النباتي المتدهور يشاهد حالياً بشكل كبير بالقرب من السهول الساحلية بسبب انتشار الاحتطاب والرعي الجائر والحرائق، وتُشكل الخزامى البرّية (*Lavandula stoechas* L.) أحد أهم الأنواع المميزة للغطاء النباتي المتدهور في السهول الساحلية السورية (Ghazal،2008).

تمَّ تصنيف نبات الخزامى البرّية مُنذ عقدين تقريباً كنوع مهدد جزئياً Partially Endangered Species، حيث يتواجد بأعدادٍ قليلةٍ نسبياً في القطر العربي السوري (Global environment facility،1999) في حين تمَّ تصنيفه سابقاً كنوع مميز للمنطقة (Zohary،1973). أشارت دراسات قليلة جداً إلى انتشار الخزامى البرّية في غرب سورية، إحداها دراسة محلية للغطاء النباتي الطبيعي السائد بعد حريق (1991م)، في منطقة كسب شمال اللاذقية في سورية (حاج موسى وآخرون،2011)، حيث شملت منطقة الدراسة الجزء الشمالي الغربي من سورية وسط غابات الباير والبسيط شمال اللاذقية، حيثٌ قاموا بإجراء 35 كشفاً جردياً نباتياً خلال عام (2009م) شملت المنطقة المحروقة ومواقع قريبة غير محروقة من غابات كسب، وقاموا برصد وجود الخزامى البرّي في خمسة مواقع : موقعين من أصل 8 مواقع يسود فيها الصنوبر البروتي *Pinus brutia* Ten على السنديان شبه العذري *Quercus cerris* L. *subsp* الأوَّل كان موقعاً محروقاً (بارتفاع 576 متر بمعرض جنوبي شرقي) والثاني كان مجاوراً للموقع الأول غير محروق (بارتفاع 568م بمعرض شرقي)، في حين لم يلحظ تواجده في (8) كشوفات يسود فيه السنديان شبه العذري على الصنوبر البروتي (في مناطق تتراوح ارتفاعاتها بين 602 – 792متر) ، وفي موقعين آخرين من أصل (12) موقعاً (11 منها محروق) يسود فيها الصنوبر البروتي وكان كلا الموقعين محروقين، كان الموقع الأول بارتفاع (242متر) وبمعرض جنوبي شرقي والموقع الثاني بارتفاع (171 متر) وبمعرض جنوبي. وكان الموقع الخامس محروقاً وعلى ارتفاع (186 متر) وبمعرض شمالي وهو واحد من

أصل أربعة مواقع محروقة يغيب عنها الصنوبر البروتي والسنديان شبه العذري وتكون التغطية الشجرية معدومة (0%) والشجيرية (25%) وعشبية (65%)، حيث تسود القرّيضة البيضاء(*Cistus salviifolius* L) التي تُعدّ دليلاً على تدهور التربة وجفافها، (الجدول (C) في ملحق الجداول ، يحوي الأسماء العلمية للأنواع النباتية الواردة في هذه الأطروحة).

ويورد الباحث السوري Ghazal (2008) أنّه قام بتثبيت وجود الخزامى البرّي (*L.stoechas* L.) في رقعتين مدروستين من اللاذقية في الساحل السوري، تقع الرقعة الأولى في السهول الساحلية شمال اللاذقية في أم الطيور F25 Um-Tuyour 35.52.12/35.46.48 مساحتها (200متر)، ترتفع (50متر) وعلى السفح SW مع انحدار(20%)، ويُشكل الغطاء النباتي (50%) منها، وتواجد الخزامى فيها مرافقاً لأشجار الصنوبر البروتي (*Pinus brutia*) والبطم (*Pistacia lentiscus*) وكلٍّ من شجيرات البلاّن الشوكي(*Poterium spinosum*) واللبّاد الأبيض مريمي الاوراق (*Cistus salviifolius*) وعشبة(*Scilla maritime*)، وتقع الرقعة الثانية بالقرب من سد بلوران M07 Balloran 35.55.12/35.48.36 مساحتها (100متر)، ترتفع (90متر) وعلى السفح NW مع انحدار (40%) ، ويشكل الغطاء النباتي (0%) منها وتُشكل الأشجار(80%) والجنبات (30%) وتواجدت فيها جنبات الخزامى (*L.stoechas* L.) مرافقةً لأشجار الصنوبر البروتي (*Pinus brutia*) والبطم الفلسطيني (*Pistacia palaestina*) والسنديان (*Quercus calliprinos*) وشجيرات الآس(*Myrtus communis*) والسوّيد (*Rhamnus palaestina*) واللبّاد الأبيض مريمي الأوراق (*Cistus salviifolius*)، مع بعض الأنواع العشبية مثل السوسن (*Iris* spp.).

أشارت دراسة غربية للباحثَيْن Dimitrov وVutov (2015) لوجود الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.) سابقاً في عام (2002م) في الضِفَّة السُفلىْ لنهرِ مرقية، (30 كم) عن طرطوس شمالاً، وعلى ارتفاع (300 متر).

وكذلك أشار الباحثان السوريان Al-Mariri وSafi (2013) إلى استخلاصهما للزيت العطري من الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.) المجموعة من طرطوس، وعلى ارتفاع (300 متر)، ولكنَّهما لم يقوما بذكر المكان الذي جمعا منه الأجزاء الهوائية لتقييم فعَّالية زيوتها كمضادٍ لجرثومة البروسيلا (Brucella *spp.*)، كما لم يذكرا نسبة الزيت العطري في النبات ولا تركيبته الرئيسة.

1. 4. الزيوت الطيّارة للخزامى Essential Oil of Lavender وفعّاليتها الحيوية :

هناك العديد من الأسباب المحتملة التي تقف وراء إنتاج النبات للزيوت الطيّارة، حيث يعتقد بأنّها تحمي النبات من مهاجمة الحشرات وآكلات الأعشاب Herbivores وتَقيه من الإصابات البكتيرية والفطرية، وتُسهم في التئام الجروح والخدوش في النبات، كما أنها تجذب النحل والحشرات في سياق الإتمام والإنجاح الطبيعي للتلقيح، وأخيراً يعتقد أنَّ الزيوت الطيّارة تنتج من قبل النباتات للمساعدة على البقاء عندما تشُحُّ أسبابه وأنها تماثل في أهميتها داخل النبات أهمية الدم في جسم الإنسان ولكن حقائق ضئيلة يمكنها أنْ تثبت هذه المقولة (De Rapper، 2014). وتعتبر الزيوت من نواتج الاستقلاب الثانوية Secondary Metabolism التي يتم إنتاجها في أجزاء مختلفة من النبات مثل الأوراق، والجذور، والأزهار والثمار، ثم يتم تخزينها في شعيرات غدّية Trichomes كما في جنس الخزامى، أو غدد قشرية Scales كما في النعناع أو جيوب تخزين Reservoirs كما في الحمضيات، وأحياناً في الفراغات الخلوية. ويتطلب إنتاج الزيوت الطيّارة قدراً كبيراً من الجهد والوقت اللذين يترافقان للأسف بكون الغلة الناتجة عن تقطير المادة النباتية الخام بكميات كبيرةٍ هي مقداراً ضئيلاً جداً من الزيت العطري، كمثال لذلك إنّ (28.35)غرام من زيت الورد تنتجها متضافرة 60 ألف زهرة، ويتعاضد حوالي (100)كغ من المادة النباتية للخزامى من أجل إعطاء (3) كغ من الزيت العطري (Worwood،1991).

استخدمت الزيوت الطيّارة كجزء من استثمار الأعشاب التي تحويها منذ القدم لخواصها العلاجية والتعطرية، ويُعدُّ الصينيون هم المؤسسون الأوائل لاستثمار الخواص العلاجية للزيوت العطرية، وفي تاريخ الهند واليونان هناك العديد من الكتابات القديمة التي ذكرت استخدام الزيوت العطرية (Worwood،1991). وصف الطبيب Arnald de Villanova الزيوت العطرية في الممارسات العلاجية خلال القرن الثالث عشر ومع حلول القرن السابع عشر انتشرت الإرشادات الصيدلانية حول التطبيق الموضعي للزيوت العطرية (Hili، 2001).

جاء في دراسة أجرتها منظمة الصحة العالمية عام (2004م) أنَّ ما يقارب من 80% من سكان الدول النامية يستخدمون العلاج المكمل والبديل* Complementary and Alternative Medicine (CAM)، فضلاً عن ذلك، أظهر استطلاع أجراه المعهد الوطني للصحة في الولايات المتحدة الأمريكية أنَّ أميركا من بين البلدان الأولى في العالم استخداماً للعلاج البديل والمكمل،حيث يعتمد عليه 36% من الأمريكيين (Arias،2004).

وفي دراسة أجريت من قبل Vincent وFurnham (1996) هدفت إلى معرفة الأسباب التي تقف وراء تفضيل الناس للطب البديل والمكمل (CAM) على الطب الأصلي Orthodox Medicine والطب بالتضاد Allopathic Medicine، حيث استفتي 250 شخصاً حول ذلك ممن يستخدمون العلاجات المكملة والبديلة، وتمحورت إجاباتهم بشكل رئيسي حول المنشأ الطبيعي لهذا العلاجات وأدويتها، وبدرجة أقل كون تلك العلاجات قامت بتحسين شعورهم بالراحة اتجاه حالتهم الصحية والزيوت العطرية التي هي جزء مُهمّ من العلاج المكمل والبديل، تمَّ تعريفها في مجلس منظمات العلاج بالعطور في المملكة المتحدة كما يلي:

(Aromatic, volatile substances extracted by distillation or expression from a single botanical species. The resulting oils should have nothing added or removed).

يذكر أنه في عام (1347م) عندما ضرب الطاعون انكلترا في جائحة سُمِّيت " بالموت الأسود " نجت في حينها مدينة *Bucklesbury* من الطاعون نظراً لتعاملها الكبير بنبات الخزامى (Deinenger، 1995) وقيل أنَّ صناع القفازات والعطور قد نجو جراء تعاملهم بالزيوت العطرية للخزامى (Buckle،2003)، خلال هذه الفترة كان الطبيب نوستراداموس Nostradamus ناجحاً في معالجة ضحايا الطاعون بأقراص تحوي الورد المطحون (Guenther،1952). وفي موقعة ليست ببعيدة تعود إلى عشرينات القرن الماضي، تعرض الكيميائي الفرنسي René–Maurice Gattefosse إلى حادث مروع في مخبره سبب حرقاً في ذراعه، دفعه ألمه إلى وضع يده في اقرب عبوة تحوي سائل بارد (تَكَّشفَ لاحقاً أنه زيت اللافندر)، تبعَ ذلك التئام سريع للجروح في يده دون أية ندوبٍ تُذكر، وكان هذا ما دفع الفرنسي Gattefosse لتحديد الخواص الشفائية والعلاجية للزيوت العطرية (Worwood،1991).

*** يعد مصطلح Complementary and Alternative Medicine (CAM) من وجهة نظر مناصريه تعبير عام عن ممارسات علاجية طبية مكملة وبديلة للدواء الحيوي biomedicine، في حين يُعدّ مصطلح الطب الأصلي Orthodox Medicine هو التيار الرئيسي في الطب في العالم حالياً والئي يعتمد على العقاقير والجراحة والأشعة في العلاج، ويشير مصطلح الطب بالتضاد Allopathic Medicine إلى علاج المرض بالمعاكسة (محاربة المرض)، (Wiseman،2004).**

تُستخدم كلٍ من الأزهار المجففة والمستخلصات السائلة والمجففة والزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى للأغراض العلاجية والتجميلية وخصوصاً الزيوت العطرية، التي تدخل في التطبيقات العلاجية لما تتمتع به من فعَّالية حيوية Bioactivity على العديد من المؤشرات الجسدية والنفسية Psychological and Physiological Parameters، وفي تسكين الآلام Sedative وتهدئة التوترات العصبية Antidepressive وتهدئة تشنجات العضلات الملساء في الجهاز الهضمي Carminative وهي فعَّالة أيضاً في التئام الجروح والقروح وتخفيف أعراض لسع الحشرات Dermatological Uses، بالإضافة إلى خواصها المضادة لنمو الميكروبات Antimicrobial agent حيث عُرف عنها كونها تمنع نمو البكتريا والفطور.

كما وأشارت العديد من الدارسات إلى إمكانية استخدام زيوت الخزامى في مكافحة الآفات نظراً لاحتوائها على بعض المركبات التي تمتلك فعَّالية مضادة للحشرات Pesticidal activities، ولوحظ ازدياداً في استخدام نباتات الخزامى في محاليلها المائية لأغراض علاجية، سواء في منقوعها المائي أو في تلك المياه العطرة الناتجة عن عمليات تقطير الزيوت العطرية Hydrosols التي تحتوي على كمية لابأس بها من مكونات الزيوت العطرية، بالإضافة إلى العديد من المركبات الذوابة في الماء(Cavanagh و Wilkinson،2002).

وتُعد الخزامى من الأنواع (*L. angustifolia* L. و*L. x intermedia* L. و*L. Latifolia* L. و *L. Stoechas* L.) ونباتات مهمة تمت دراستها بكثافة وخاصةً من ناحية التركيب الكيميائي للزيت العطري، وتحتوي المراجع العلمية على كم هائل من المعلومات والمعطيات التي تشير إلى الفعَّالية الحيوية لتلك الأنواع، إلاَّ أنَّ المزيد من الدراسات النوعية والدلائل السريرية هي مطلوبة من أجل تأكيد الصحة العلمية.

1. 5. أهمية البحث ومبرراته:

كان لتعدد استخدامات أنواع الخزامى وتزايد مزاياها التطبيقية مؤخراً أثراً كبيراً في عودة الاهتمام الدولي بنباتات جنس الخزامى *Lavandula* spp. والتهافت على زراعتها واستثمارها اقتصادياً، فتوسعت الرقعة المزروعة ببعض أنواع الخزامى الشهيرة، وتعددت الجهات التي تتعامل بنباتات الخزامى ومنتجاتها بين صناعية وبحثية وأهلية، وفي القطر العربي السوري كان للخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) ذلك التواجد القوي تحت مُسمَّى الخزامى أو اللافندر Lavender ضمن ما يزرعه السوريون في حدائقهم لأغراض تزيينيه وطبية، وتقاسمت بضعة أنواع وهجن تتبع الجنس نفسه بشكلٍ خجولٍ ما تبقى من شهرة الخزامى وسمعتها على الصعيد المحلي، جمع فيما بينها الإدخال العشوائي بالإضافة إلى انعدام ذكر معظمها في المادة العلمية المحلية. وتتبع أهمية بحثنا في استجابته لما سبق ذكره عن واقع الخزامى دولياً ومحلياً وفي إدراكه لأهمية هذا الجنس المُهم من الشفويات الذي يُزرع في بعض دول العالم كمحصول اقتصادي، وفي تعامله الميداني مع أنواع وأصناف الخزامى المنتشرة في سورية بنمطيها المُدخل والبرّي وفقاً للطرائق المرجعية المتخصصة في التصنيف المورفولوجي لجنس الخزامى.

لا تنتهي الأذيات الناتجة عن الأمراض المعدية ولا تقف عند حد، بل وتشهد تضاعفاً مستمراً وانبثاق أنواع بكتيرية فتاكة جديدة تطورت بشكلٍ متواصلٍ مما يَجعل الأنواع البكتيرية تكتسب صفة المقاومة المتعددة Multiresistant اتجاه زمر المضادات الحيوية ، وتُعد هذه الآلية المقاومة مُشكلة تواجهها الشركات الصناعية ذات الصلة بإنتاج العقاقير المضادة للإنتانات الجرثومية، وفي سياق البحث عن جزئيات ومركبات كفوءة تسهم في اقتلاع هذه المُشكلة، اقترحت المستخلصات النباتية والزيوت العطرية كمضادات حيوية بفعل محتواها من مركبات كيميائية فعّالة في المجال نفسه، ونظراً لعدم وجود تلك الدراسات الكافية والمتخصصة حول الفعَّالية الحيوية لأنواع الخزامى المنتشرة في سورية فإنّ دراستنا هذه قيَّمت في أحد فصولها فعَّالية المستخلصات النباتية والزيوت العطرية المستخلصة من الأنواع المدروسة عند تطبيقها على الأحياء الدقيقة من بكتريا وفطور.

تزايد خلال السنوات الأخيرة اهتمام الباحثين في اختبار وتقييم مضادات الأكسدة ذات المنشأ النباتي مع غيرها من مضادات الأكسدة الصنعية ذات التأثيرات السمية والسرطانية في جسم الإنسان، حيث دُرست الزيوت الطيارة ومستخلصات العديد من النباتات الطبية من ناحية فعّاليتها المضادة للأكسدة لما لها من تأثير في تخفيض

الضرر التأكسدي داخل الخلايا ووقايتها من حدوث الالتهابات، وتُعد الفعَّالية المضادة للأكسدة من الخواص البيولوجية التي تتمتع بها الزيوت العطرية مما دفع البعض إلى تقييم استخدامها في حفظ الأغذية من التأثيرات السامة للمؤكسدات، وعلاوةً على ذلك فإنّها تمتلك القدرة على كنس الجذور الحُرَّة Reactive oxygen species (ROS) ضمن جسم الإنسان، مما يجعلها عاملاً رئيسياً في الوقاية من تلف الدماغ ووظائفه والسرطانات والاضطرابات القلبية وتدهور الجهاز المناعي في الجسم البشري، وانطلاقاً مما سبق قمنا بتقييم الفعَّالية المضادة للأكسدة التي تتمتع بها الزيوت العطرية للخزامى للحكم على إمكانية استخدامها في الصناعات التجميلية والغذائية.

وعندما كانت الفعَّالية الحيوية للزيوت العطرية تُعزى عموماً إلى خليط واسع من المكونات الرئيسية والثانوية التي تحويها والتي قد يصل عددها في زيوت الخزامى إلى 100 مركب(Stanojević وزملاء،2011)، فقد حظي التركيب الكيميائي لزيت الخزامى باهتمام المنظمات البحثية العالمية، وتجلَّى ذلك باعتماد المواصفة القياسية الدولية ISO 3515:2002 والمتضمنة للمتطلبات الفنية لزيت أزهار الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* Mill) سواء الفيزيائية منها مثل (الكثافة، ومعامل الانكسار) أو الكيميائية مثل (رقم الحموضة والذوبان في الكحول)، ويُشكِّل التركيب الكيميائي للزيت الجزء الأهم من المواصفة القياسية التي تنص على ضرورة كون نسب المركبات الرئيسة في الزيت العطري مثل Linalool وLinalyl Acetate لا تقل عن حدٍ معين، وتُعدّ القيم النسبية للمركبات ضمن التركيب الإجمالي للزيت هي المحدد الرئيس للقيمة التسويقية والتطبيقية والتعطيرية، وهذا كان دافعاً لنا لدراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري لأنواع الخزامى المزروعة والبرّية في سورية، حيث تشير الدراسات إلى حدوث اختلاف في التركيب الكيميائي للزيت العطري مع تغير المنطقة الجغرافية.

ويُعدّ الوقوف عند النوع (*L.stoechas* L.) في سورية من النقاط المهمة التي تتطرق لها الأطروحة، وذلك من خلال تسليط الضوء على نباتاته في أحد مواقع انتشاره طبيعياً في السهول الساحلية لمحافظة اللاذقية التي أضحت أراضٍ مزروعةٍ، مما يعرض مثل هذا النوع لخطر الانقراض بعد أنْ كان من ضمن الأنواع المميزة للغطاء النباتي الطبيعي في تلك السهول المتوسطية. ولأوّل مرّة تقوم دراسة محلية بتوثيق أنواع الخزامى المنتشرة على الرقعة السورية على المستوى الجزيئي، للوقوف على درجة القرابة المحتملة بينها بإجراء بصمة وراثية لكلٍ منها، ما يمكن للهيئات البحثية المسؤولة عن التنوع الحيوي في القطر العربي السوري في الاستفادة منها كمصادر للتنوع الوراثي بعد تقييمها ومن ثم حفظها في البنوك الوراثية المعتمدة رسمياً.

1. 6. أهداف البحث :

تتمثل الأهداف الرئيسة للبحث بالنقاط التالية :

1- التوصيف والتصنيف المورفولوجي لأنواع الخزامى المدخلة المزروعة، والبرّية المنتشرة في القطر العربي السوري (سهول اللاذقية).

2- تقدير نسبة الزيت العطري في أزهار وأوراق الانواع والهجن المدروسة من جنس الخزامى، وتحديد نسب المكونات الكيميائية الداخلة في تركيبه.

3- دراسة الفعَّالية الحيوية للزيوت العطرية والمستخلصات النباتية لأنواع الخزامى ضدّ العوامل الممرضة للإنسان (بكتريا وفطور)، وفعّاليتها كمبيدات حشرية للاستفادة منها في برامج المكافحة الحيوية للآفات الحشرية والصناعات الدوائية.

4- تقييم فعَّالية الزيوت العطرية المدروسة من جنس الخزامى كمضادات للأكسدة.

5- دراسة التنوع الوراثي لكُلٍّ من الأنواع المدخلة والمنتشرة برّياً من جنس الخزامى باستعمال " تقنية التكرارات الترادفية الداخلية البسيطة "Inter Simple Sequence Repeats (ISSR)،.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

Literature Review

2. 1. الخصوصية التصنيفية والمورفولوجية في جنس الخزامى :

قدم السويسري Baron Gingins de la Sarraz لكتابه "Natural History of the Lavenders" المطبوع قبل قرابة المائتي عام، في (1826)م:

'Continuing Progress in the Understanding of Natural History Would Seem to Require also a Constant Revision of Families and Genera Most Familiar to us'

بـ (أنّ ارتقاءً مستمراً في فهمنا للتاريخ الطبيعي يتطلب مراجعة منتظمة للعائلات والأجناس الأكثر ألفة لنا)

إلا أنَّ حدسه العلمي في حينه يعتبر اليوم حقيقة مثبته على الرغم من كل التقدم الحاصل في فهمنا لجنس الخزامى *Lavandula*، الذي يخضع الآن وفي كل لحظة إلى البحث والاهتمام من قبل علماء التصنيف Taxonomy and Systematic، وأهمهم عالم التصنيف الشهير Tim Upson من جامعة كامبريدج الذي قام في عام2002 بنشر أهم ما توصل إليه عن النواحي التصنيفية لجنس الخزامى في تحقيقه المنشور بعنوان The Taxonomy Of The Genus *Lavandula* L. والذي استهله بمقدمة Baron Gingins de la Sarraz ذاتها في إشارة إلى أنَّ أنواع وأصناف وهجائن الخزامى هي في ازدياد مستمر أثناء فترة دراستها وذلك لما لجنس الخزامى ذلك الانتشار الممتد من " جزر الكناري والكاب فيردا والماديرا في الأطلسي إلى المنطقة المتوسطية وشمال أفريقيا وجنوب غرب آسيا والجزيرة العربية والمنطقة المدارية من أفريقيا وصولاً إلى الهند".

كما أردف Tim Upson قائلاً بأن" تناولنا لجنس الخزامى بهذا الشكل يُعدُّ تصوراً مؤقتاً أكثر من كونه تقريراً علمياً مُحدِّداً وجازماً لتصنيفات الجنس ، حيث أنه وعلى الرغم من اكتمال بعض أوجه البحث العلمي الخاص بهذا الجنس إلا أنه لا تزال هناك مناطق صعبة تكون فيها طريقة ومستوى تناولنا للموضوع هو أمر غير كافٍ، كما أنَّ فهمنا للتصنيف غير مكتمل ويتطلب منّا المناقشة عندما نحتاج لذلك".

يُعدّ الخزامى نباتاً مهماً في العائلة الشفوية Lamiaceae (Labiatae) Family وينتمي لتحت العائلة Nepetoideae التي تضم قبائل Tribes مختلفة تمّت ملاحظتها، حيث يعد بحد ذاته قبيلة مستقلة فالزمرة Lavanduleae (Endl.) تحتوي فقط على الجنس *Lavandula*، (Cantino وزملاءه،1992).

ويعود هذا التفرد في تصنيف جنس الخزامى إلى خصوصيته الشكلية التي تميزه عن باقي الشفويات، وهو ما أوضحه Tim Upson(2002) في الإجابة المفصلة عن السؤال الملهِم:

"What makes a Lavender a Lavender?"

حيث أنه هناك الكثير من السمات الشكلية العامة والمشتركة بين نباتات جنس الخزامى، ذلك الجنس الذي يمكن اعتباره مجموعة مختلطة ومتباعدة في آن واحد. ويتميز هذا الجنس بالشفاه الرحيقية المعاكسة للمبايض والتي تكون في أغلب الشفويات متناوبة مع المبايض، وإن التركيبة المتضمنة سنابل زهرية طرفية مضغوطة Compact Terminal Spikes محمولة على حامل زهري طويل Flower Stalk، وأسديه منحنية Declinate Stamens ضمن تويج أنبوبي Corolla Tube بالإضافة إلى أوراق زهرية Bracts تعتبر من المكونات الرئيسة في التركيبة الزهرية المميزة لهذا الجنس أيضاً. كما وتُعدّ معظم أنواع جنس الخزامى عطرية فائقة بسبب محتواها من الزيوت العطرية المتراكم في الشعيرات الغدية التي تغطي معظم مساحة وأجزاء النبات الذي عادة ما يكون جنبات تتخشب مع التقدم بالعمر وتصل في ارتفاعها المتر أو على هيئة أعشاب سنوية قصيرة الأجل.

ويزدحم الإزهار في الجنس عموماً على سنبلة زهرية قمية تعلو الحامل الزهري كما في النوع (*L.angustifolia*) والهجين (*L.X intermedia*)، وقد تكون مزينة في قمتها بمجموعة من الأوراق الزهرية العقيمة الملونة والمتضخمة Enlarged Sterile Bracts (A coma) على هيئة عرف زهري، يمكن تسميته كفشة زهرية، تعطي بعض الأنواع مثل (*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) منظراً مميزاً، كما هو مُبين في (الشكل(A)،في ملحق الأشكال والصور).

ويكون حامل السنبلة بسيطاً أو متفرعاً، تلتف حوله الأزهار التي تجتمع في نورات راسيمية Cyme ويتم تدعيم النورات عموماً والإحاطة بها في هذا الجنس من خلال أوراق حاملة تسمى قنابات Bracts تتواجد عند كل مستوى زهري لتحدد ما يسمى سواراً زهرياً Whorl وتختلف في أشكالها وفي طريقة تموضعها على طول حامل السنبلة وفق أحد نمطين، الأول متقابل متعاكس Opposite Decussate Arrangement والثاني هو حلزوني تبادلي Alternate Spiral Arrangement، وقد تكون النورة الراسيمية بحد ذاتها متعددة الأزهار (3–9 أزهار) ينتهي محورها بزهرة رأسية أو تكون نورة وحيدة الزهرة كماهو مُبين في (الشكل (B)،في

ملحق الأشكال والصور)، وتحيط بالنورة في كلتا الحالتين ورقة حاملة وتسمى اصطلاحاً (القنابة) Subtending Bracts في حين تتضمن النورة متعددة الأزهار وريقات قاعدية صغيرة جداً Bracteoles وتسمى المفرد منها اصطلاحاً (القنيبة) وهي تتموضع على قاعدة كل زهرة ضمن النورة الراسيمية الواحدة.

وتكون القنيبات Bracteoles ناعمة ودقيقة جداً غالباً في حين تكون القنابات Bracts أكبر حجما تنتشر تحتها الأزهار المنتشرة في نوراتها الراسيمية ويتحدد من خلالها المستوى الزهري (أو السوار) Flower whorl، وتتفاوت القنابات في أحجامها وأشكالها وتعرقاتها لتصبح أحد السمات المميزة لبعض الأنواع، كما هو مُبين في (الشكل(C)، ملحق الأشكال والصور).

إلا أنه وكما ذكرنا آنفاً في بعض الأنواع مثل (*L.dentate* L.) و(*L.stoechas* L.) تمتد انتشار القنابات حتى قمة السنبلة لتصبح متحورة ومتضخمة وملونة وعقيمة Sterile Bract مشكلة كفشة زهرية تعرف باسم Coma ولا توجد هذه الكفشة الزهرية في بعض الأنواع مثل النوع (*L.angustifolia L.*) والهجين (*L.X intermedia*).

يكون الكأس مثبتاً على محور السنبلة Persistent Calyx وهو إما كأس منتظم Regular أو كأس ثنائي الشفة Bilabiate (Two-Lipped)، تكون الشفة السفلى بتفصيصين والشفة العليا بثلاث تفصيصات، وقد تتقارب الشفتان بالحجم أو تكون الشفة الخلفية أكبر او تتحور لتعطي زائدة أو لاحقة تكون بحجم الكأس نفسه، ويحتوي الكأس على(8 أو13 أو15) عرقاً طولياً، تمتد العروق من أسفل الكأس (في السبلات السفلى Lower Sepals) لتلتقي مع التسننات الناعمة أعلى الكأس، وتختلف الكؤوس الزهرية ضمن جنس الخزامى بعدد العروق التي تحويها، وشكل التفصيص، ووجود أو غياب اللاحقة (الزائدة) أعلى الكأس، واللون، وتُعدّ صفات الكؤوس الزهرية خصائص مهمة يعتمدها المصنفون العلميون في التعرف على كل من الأقسام التصنيفية والأنواع، كما هو مُبين في (الشكل(D)، ملحق الأشكال والصور).

والتويج أنبوبي أيضاً لا يكاد يتجاوز الكأس أو يعلوه بمقدار ثلاث أضعاف طوله، وتتراوح شدة التفصيص في التويج بين الضعيفة والقوية، وتكون الشفة العليا ثنائية التفصيص والشفة السفلى ثلاثية التفصيص وتختلف أحجام وأبعاد التفصيصات أيضاً ضمن الجنس، وهناك أربع أسديه منحنية للأسفل (الشفع المتقدم أكبر

من الشفع الخلفي) يحتويها الأنبوب التويجي، ويكون الميسم وحيداً ثنائي الشفة أو رأسي، وتكون الشفاه الرحيقية مناظرة ومعاكسة للمبايض، وكذلك يختلف التويج بين الأنواع المختلفة بالأحجام والألوان، كما هو مُبين في (الشكل(E)، ملحق الأشكال والصور).

تختلف أشكال الأوراق في جنس الخزامى وتتفاوت بين الكاملة والمفصصة، وقد تكون لاطئة أو محمولة، وتكون متقابلة متناوبة أو تكون متزاحمة على العقد مع التقدم بالعمر، وينقسم الجنس إلى نباتات ملساء Glabrous لا تغطيها الشعيرات الناعمة وأخرى تغطيها الشعيرات والأوبار الناعمة Indumentum التي تعطي النباتات درجات متفاوتة من اللون الفضي والمظهر الصوفي، كما هو مُبين في (الشكل(F)، ملحق الأشكال والصور).

وتتعدد أشكال بذور الخزامى وألوانها وأحجامها مع وجود ندبة على هيئة خدش تكون إما قاعدية صغيرة Basal Scar أو جانبية Lateral Scar يصل طولها بين 0.25 و0.75 من طول البذرة والتي ذات التركيب اللزج Mucilaginous.

2. 2. التركيب الكيميائي للزيوت العطرية لأنواع الخزامى :

تُعدّ الزيوت العطرية لجنس الخزامى سوائل عطرية طيارة تتركب من مزيج كبير من المكونات المصنعة طبيعياً ضمن النبات والتي تندرج ضمن قائمة التربينات Terperns بين مشتقات التربينات الأوكسيجينية Terpenoids أو الفحوم الهيدروجينية ذات السلسة المفتوحة Aliphatic Compounds و الوزن الجزيئي المنخفض، ويمكن ان يصل عدد مكونات الزيت من (20) إلى (100) مكوناً بتراكيز مختلفة، وتتميز الزيوت العطرية للخزامى بسمة ميزة لكل منها جراء كون مركبين أو ثلاثة تشغل الجزء الأكبر من حجم الزيت ووزنه وتكون بقية المركبات متواجدة بكميات قليلة أو على هيئة آثارTraces،(Andrys وKulpa،2016).وتكون عادة المركبات المميزة للزيوت العطرية للخزامى من التربينات الأحادية ذات الوزن الجزيئي المنخفض (C10) وتتصف زيوت الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) ذات الرائحة المرغوبة في مجال العطور بمحتواها العالي من مركبي Linalool وLinalyl Acetate وبقلة محتواها من مركب Camphor، (Lynam وSmith،2009).

هنالك العديد من الطرق التحليلية التي تستخدم في تحديد مكونات الزيت العطري للخزامى وأهمها الكروماتوغرافيا الغازية المزودة بتقانة مطيافية الكتلة (GC-MS) التي ساهمت في جعل النمط الكيميائي للزيوت العطرية المستخلصة من أنواع جنس للخزامى معروفاً جيداً، الأمر الذي أدّى إلى اعتماد المواصفة القياسية الدولية ISO 3515:2002 والمتضمنة للمتطلبات الفنية لزيت الأزهار المستخلص من النوع الشهير" الخزامى الانكليزية .*Lavandula angustifolia* Mill" سواء المتطلبات الفيزيائية مثل (الكثافة، ومعامل الانكسار) أو المتطلبات الكيميائية مثل (رقم الحموضة والذوبانية في الكحول)، ويشكّل التركيب الكيميائي للزيت الجزء الأهم من المواصفة التي تنص على كون المركبات Linalool وLinalyl Acetate و (*cis* و *trans*-) β-Ocimene (and Terpinen-4-ol و 1,8-Cineole وCamphor هي المركبات الرئيسة في الزيت العطري المستخلص من أزهار الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) وتختلف نسبة كل من المركبات السابقة اختلافا معنوياً في الزيوت المستخلصة من اصناف مختلفة تتبع النوع نفسه، وتُعدّ القيم النسبية للمركبات ضمن التركيب الإجمالي للزيت هي المحدد الرئيس للقيمة التسويقية والتطبيقية والتعطيرية.

تناولت دراسات عديدة النمط والتركيب الكيميائي للزيت العطري للخزامى الانكليزية (*L.angustifolia* L.) المزروع في أوروبا ودول حوض المتوسط حيث تعد بلغاريا وفرنسا وجزء من المغرب في مقدمة الدول التي تزرع الخزامى الانكليزية (Zheljazkov وزملاء،2012)، من أجل الحصول على الزيت العطري من الرؤوس المزهرة خلال الفترة بين بين شهري تموز وآب،(Burdock،1998).

وبسبب ارتفاع ثمن الزيت العطري للخزامى الإنكليزية ولكونه رئيساً في إنتاج العطور، يُمدد زيت أزهار الخزامى ويمزج مع زيوت أرخص لاستخدامها في المجال الصناعي، وهو ما دفع Adaszynska– Skwirzynska وزملاؤه (2014) مؤخراً إلى دراسة التركيب الكيميائي واختبار الفعَّالية الحيوية لزيت الفروع الغضة مع أوراقها المتبقية بعد عمليات التقطير التجاري لأزهار صنفين من الخزامى الانكليزية (*L.angustifolia* L.)، فكان مركب borneol (12.8– 13.4) % و مركب Caryophyllene oxide (8.0–8.7)% هما المركبان الرئيسان في الزيت العطري المستخلص من زيت السوق والأوراق وكانت بكتريا العنقوديات الذهبية *Staphylococcus aureus* هي الأكثر حساسية لزيت كلا الصنفين وكانت الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* هي الأكثر مقاومة ولم تبدي تثبيطاً في حين تحسست المكورة

المعوية البرازية *Enterococcus faecalis* والإيشرشيا كولاي *Escherichia coli* بشكل متوسط، وذلك عند إجراء اختبار الانتشار عبر القرص وبتطبيق الزيت العطري بتركيز(10 ميكرولتر.قرص$^{-1}$).

وفي دراسة برتغالية حديثة أجريت لمقارنة النمط الكيميائي والفعَّالية المضادة للبكتريا والفعَّالية المضادة للأكسدة لعشرة من الزيوت العطرية من بينها زيوت أربعة أصناف من الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) مصدرها كرواتيا وفرنسا (الكرواتي1 وكرواتي2 والفرنسي1والفرنسي الجبلي) بينت التجربة أنَّ مركب Linalool بنسبة (66.9% و79.9%) على التوالي من زيتي الصنفين كرواتي1 و2، وكان مركب Camphor بنسبة (8.9 %) و Linalyl Formate بنسبة (22.1 %) بالمرتبة الثانية من زيتي الصنفين كرواتي 1 و2 على التوالي، وجاء Limonene بالمرتبة الثالثة في كلا الزيتين بنسبة(8.25 %و 14.8 %) على التوالي، ولم يحتوي الزيت الأول على مركب Eucalyptol الذي كانت نسبته في الزيت الثاني (0.74 %) وكان مركب Terpinen-4–ol بنسبة (1.71 % و1.37%) في كلا الزيتين على التوالي. أما الزيوت الفرنسية فكانت الزيت الفرنسي1 يحتوي على المركبين Curcumin aldehyde (41.32 %) وLinalool (37.31%) على التوالي، في حين تمّيز الزيت الفرنسي الجبلي بوجود مركبين رئيسين Linalyl Formate و Linalool بالنسب (41.72 % و23.49 %)، وكان مركب ***α***-Caryophyllene هو المركب الثالث وفرةً بالنسب (4.53 % و7.05 %) في كلا الزيتين الفرنسي 1 والفرنسي الجبلي على التوالي، وتميز الزيت الفرنسي الجبلي عن الزيت الفرنسي1 باحتوائه على نسبة (5.04%) من مركب ***p***-Cymen-7-ol ونسبة (4.02 %) من مركب Terpinen-4-ol وعلى نسبة (5.92%) من ***β***-Ocimene، وكان محتوى كلا الزيتين منخفضا جداً أو معدوماً من مركبي Eucalyptol وCamphor، (Luís وزملاءه،2017).

و تمكن Zhekova و Nedkov (2011)، الباحثان في معهد الورد والنباتات الطبية في بلغاريا من توثيق وجود مركب Linalyl acetate – الأساسي في صناعة العطور– بنسبة (32.63%) كمركب رئيس في الزيت العطري من أزهار محصول الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) المزروعة في بلغاريا، وتلاه مركب Linalool (19.462 %) ومركب *Cis-β*-Ocimene بنسبة (9.589 %).

وبشكل موازي تمكنت دراسة بلغارية قام بها Zagorcheva وزملاؤه (2013) من تحديد 32 مركباً عطرياً ضمن الزيوت لعطرية لـ(7) من الأصناف المزروعة من الخزامى الانكليزية لأغراض تجارية وتصنيعية

في بلغاريا، وأشارت دراستهم إلى أنَّ (11) من هذه المركبات تنص عليها المواصفة القياسية الدولية لزيت اللافندر: 3-Octanone وα-Terpineol وβ-*cis*-Ocimene وβ-Linalool وβ-trans-Ocimene و Camphor و Eucalyptol و D-Limonene و Lavandulyl acetate و Linalool acetate و Terpinen-4-ol وكان مركب Linalool الذي تراوحت نسبته ضمن زيوت الأصناف السبع بين (18.74%-34.43%) ومركب Linalyl acetate بالمجال (20.68 %-32.72 %) هما المركبان الأساسيان في الزيوت العطرية.

كانت النسب المئوية للزيت الطيار هي(4.4%) في أزهار الخزامى الإنكليزية *L.angustifolia* L.النامية في اليونان، وتم تحديد حوالي (42) مركباً كان من بينها مركب Linalool بنسبة (50.63 %) ومركب Linalyl acetate بنسبة (15.72 %) مع نسبة قليلة من كل 1.8 cineole وCamphor، (Chatzopoulou وزملاؤه،2003).

وكذلك كان كلا المركبين Linalool بنسبة (23.10 %) و Linalyl acetate بنسبة (44.45 %) هما المركبان الرئيسان في الزيت العطري المستخلص من الأجزاء الزهرية من الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) المزروعة في إيطاليا، تلاهما مركبي Geraniol وBorneol بالنسب (9.26 % و6.35 %) على التوالي، في حين احتوى الزيت على آثار لاتذكر من الـ 1.8 cineole،(Martino وزملاؤه،2009).

تبين في دراسة فرنسية على زيت الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) الموجود في الأسواق، احتوائه بشكل رئيس على المركبات Linalyl Acetate بنسبة (36%) وLinalool بنسبة (34.0%) و-β Caryophyllene بنسبة (4.5%) و Terpinen-4-Ol بنسبة (1.7%)،(Dohi وزملاؤه،2009).

وكانت المركبات الرئيسة في الزيت العطري المستخلص من القمم المزهرة لأزهار الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) المزروعة في صربيا هي 1.8 Cineole بنسبة (9.15%) و Linalool بنسبة (19.99 %) و Camphor بنسبة (19.91 %) و Linalyl Acetate بنسبة (12.53 %)،(Stanojević وزملاؤه،2011).

كانت التركيبة الرئيسة لزيت أزهار الخزامى الإنكليزية المزروعة في رومانيا مختلفة نوعا ما Caryophyllene (24.1 %) و β−Phellandrene بنسبة (16.0 %) و 1,8−Cineole بنسبة (15.6 %) ومركبي Terpinen−4−Ol و α−Terpineol بالنسب (9.57 % و 6.0 %) على التوالي، (Jianu وزملاؤه،2013).

وأوردت Belhadj Mostefa وزملاؤها (2014) مراجعة شاملة للأنماط الكيميائية لزيوت جنس الخزامى النامية في شمال افريقيا، وفي نفس الدراسة، قام الباحثون بتحديد هويات (32) مركباً تشكل (89.6%) من مجمل الزيت العطري للخزامى الانكليزية المزروعة في الجزائر، بمردود مقداره (2 مل زيت في 100غرام من الرؤوس المزهرة الغضة)، بتميز واضح لنسب كل منCineole 1.8 بنسبة (29.4%) و Camphor بنسبة (24.6%) مما يكسبه النمط الكيميائي المتمثل بـ 1,8−Cineole / Camphor وهو ما يمنحه القدرة على مكافحة الحشرات. وأشارت دراسة قام بها Djenane وزملاؤه (2013) إلى ان الزيت العطري للخزامى الانكليزية المزروعة في نفس البلد إلى احتوائه بشكل رئيس على Cineole 1,8بنسبة (37.8) % و β− Caryophyllene بنسبة (20.9%).

و كانت المركبات Linalyl acetate و Linalool و Methylcyclopentane مرتبة من الأعلى نسبة، هي المركبات الأساسية في الزيت العطري للخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) النامية في تونس،(Errafiy وزملاؤه،2013).

تمكن باحثون من تحديد هوية 35 مركباً في الزيت العطري للخزامى الإنكليزية النامية في المغرب تفوقت فيها المركبات 1,8 cineole بنسبة (23.42 %) و 2−β−Pinene بنسبة (19.81 %) و α−Pinene بنسبة (6.05 %) ومركب cis−α−bisabolene بنسبة (6.25 %)،(El Mis وزملاؤه،2014).

إلا أنَّ أهم مكونات الزيت العطري للخزامى الإنكليزية المزروع في إيران هي مركب 2-Methyl-5-(4-methylphenyl)sulfony ومركب 9,12-Octadecadienoic acid ومركب Borneol حيث بلغت نسبهم (25.63% و11.22% و9.55%)على التوالي،(Mardafkan وزملاؤه،2015).

وأشارت دراسة إيرانية ثانية قام بها Rostami وزملاؤه (2012) إلى كون كل من المركبات α-Pinene و1, 8-cineole وcamphor بالنسب (18.12 % و15.32 % و10.12%) على التوالي، هي المركبات الرئيسة في زيت الخزامى الانكليزية المزروعة في إيران، في حين لم تلحظ الدراسة الأولى وجود المركب α-Pinene.

وفي دراسة لزيوت أوراق وأزهار الخزامى الانكليزية المزروعة في أحد المناطق الباردة شمال غرب إيران على ارتفاع (1476) متر والمقطوفة في فترة الإزهار والمجففة في الظل لمدة (4-5) أيام، كانت نسب الزيت الحاصلة (0.67 % و6.25 %) محسوبة على اساس الوزن الجاف للاوراق والأزهار على التوالي، وتمكن الباحثون من تحديد هوية (34 و37) مركباً في زيوت الأوراق والأزهار على التوالي، كانت مركبات Linalool بنسبة (33.7%) و1,8-Cineole بنسبة (17.1%) وBorneolبنسبة (14.7%) وCamphorبنسبة (7.8 %) وTerpinene-4-ol بنسبة (3.5 %) هي المركبات الرئيسة في زيت الأزهار، في حين كان حضور مركب Linalool ضعيفاً بنسبة (0.7 %) في زيت الأوراق الذي شغلت معظمه المركبات الثلاثة الباقية 1,8-Cineole بنسبة (31.9%) وBorneolبنسبة (24%) وCamphorبنسبة (16.1%)، بالإضافة إلى مركبي Crypton بنسبة (3.5%) وCumin Aldehyde بنسبة (2.2%)،(Hassanpouraghdam وزملاؤه، 2011).

تبين عند جمع أزهار الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) المزروعة في إيران ومن ثم استخلاصها بإحدى الطريقتين الأولى التقطير بالماء والثانية الاستخلاص بالأمواج الميكروية دون مذيبات Solvent-Free Microwave Extraction (SFME) أنَّ تركيب الزيت العطري المستخلص بالطريقة الحديثة (SFME) أغنى بالمركبات الأوكسيجينة التالية 1,8 Cineole وCamphor وBorneol محققة النسب (42.7 % و26.1% و31.2%) على التوالي وبمجموع (100%) من مجمل الزيت، وكانت نسب المركبات الثلاثة في طريقة التقطير المائي هي (37.9% و21.3% و21.6%) على التوالي، وبمجموع (80.8%) من مجمل الزيت، ولكن ذلك التفوق بالمحتوى من المركبات الأوكسيجينة كان حتما على حساب التنوع بعدد المركبات التي تتواجد في الزيت العطري (Abroomand Azar وزملاؤه، 2011).

وفي الدول المجاورة للقطر العربي السوري كانت محاولة تركية لزراعة أربعة من الأصناف الشهيرة عالمياً من الخزامى الانكليزية هي Raya و Vera (من بلغاريا) و Munstead و Silver (من فرنسا) وثلاثة أصناف من الهجين اللافاندين Dutch (من ألمانيا) و Giant Hidcote (من فرنسا) و Super A (محلي من تركيا)، فبلغ متوسط قيم موسمين (2009 و2010) لمحتوى الأزهار المجففة والمفصولة كليّاً عن حامل السنبلة Stemless Flowers من الزيت العطري القيم (1.93% و5.08% و2.20% و9.25%) للأصناف الإنكليزية الأربعة على التوالي، والنسب (6.54 % و5.50 % و7.75 %) لأصناف اللافاندين الثلاثة السابقة على التوالي، وكان مركب Linalool هو المركب الرئيس في جميع زيوت النوع الإنكليزي والهجين اللافاندين المستخلصة من أزهار مجففة ومفصولة عن حواملها بنسب تقع بالمجال (30.7%−46.5%) في عام التجربة 2009، وكانت مركبات Linalyl Acetate بنسبة (28.2%) و Eucalyptol بنسبة (19.8%) وα- Terpineol بنسبة (19.2%) وEucalyptol بنسبة (17.4 %) بالمرتبة الثانية في زيوت الاصناف Raya وVera و Munstead و Silver على التوالي، وكانت مركبات Cymene بنسبة (10.8 %) وCamphor بنسبة (8.14 %) و Cymene بنسبة (7.45 %) و Camphor بنسبة (12.6 %) بموقع المركب الرئيس الثالث في زيوت الاصناف الأربعة على التوالي، في حين كان مركبات Eucalyptol بنسبة (15.6 %) و Eucalyptol بنسبة (21.7 %) و Linalyl Acetate بنسبة (32.8 %) هي بالمرتبة الثانية بعد مركب اللينالول في زيوت الاصناف Dutch و Giant Hidcote و Super A على التوالي، وكان مركب Camphor بنسبة (11.7%) ومركب Borneol بنسبة (7.83%) و Camphor (4.30%) بمكانة المركب الرئيس الثالث في تلك زيوت الاصناف الثلاثة الهجينة على التوالي،(Kara وBaydar، 2013).

أشار Saad (2007)إلى احتواء الأزهار المجففة للخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) المزروعة في الأردن على الزيت العطري بنسبة (3.8%)، وكانت المركبات Linalool بنسبة (33.0%) و1,8 Cineole بنسبة (20.3%) وBorneol بنسبة (11%) هي المركبات الرئيسة.

و تنوع التركيب الكيميائي للزيت العطري المستخلص من الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) النامية في مناطق مختلفة في حوض المتوسط، فقد أشارت دراسات (Dob وزملاؤه،2005) و(Bousmaha وزملاؤه،2006) إلى أنَّ مركب الـ 1,8- Cineole هو المركب الرئيس في الزيت العطري الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) النامي برياً في الجزائر بالنسب (38.4%) و(48.0%) على التوالي، وأشار Imelouane

وزملاؤه (2010) إلى أنَّ مركب β-Pinene بنسبة (30.1%) هو المركب الرئيس في الزيت العطري للخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) في المغرب.

وتمّيز مركبي Linalool بنسبة (47.3 %) و Linalyl Acetate بنسبة (28.7 %) بكونهما المركبان الرئيسان في الزيت العطري للخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) المجموعة من تونس،(Msaada وزملاؤه،2012).

وأشار Mothana وزملاؤه (2012) إلى كون المركبات Camphor بنسبة (12.4%) و-*Trans* Pinocarveol بنسبة (7.5%) و β-Eudesmo بنسبة (7.1%) و α- Guiaol بنسبة (6.1 %) هي المركبات الرئيسة لزيت الخزامى الفرنسية النامية برياً في اليمن.

قام الباحث حسن آغا (2001)، بدراسة محتوى أزهار النوع البري (*L.stoechas* L.) النامي في المغرب من الزيت العطري ودراسة تركيبته ، كانت نسبة الزيت العطري (1.5 %) على أساس المادة الجافة، وكان مركب Fenchone هو المركب الرئيس بنسبة (47.8 %).

قام الباحث Angioni وزملائه (2006) بدراسة متكاملة للتركيب الكيميائي للزيوت العطرية المستخلصة من كل من الأزهار و(الأوراق/السوق) العائدة إلى الخزامى من النوع البري (*L.stoechas* L.) النامي برياً في منطقة سردينيا في إيطاليا، والتغيرات الفصلية التي تطرأ عليها وكذلك فعَّاليتها إلى جانب (9) من مركباتها المستقلة ضد نمو الفطور *Fusarium oxysporum* و*Rhizoctonia solani*و *Aspergillus flavus*، فأشارت النتائج إلى أنَّ (61) مركباً تم تمييزها في تلك الزيوت العطرية تشكل حوالي(79.2% و99.6%) من مجمل مكونات الزيوت العطرية لزيتي (الأزهار) ولـ(أوراق/السوق) على التوالي، وكان مركب Fenchone هو المركب الرئيس في كلا الزيتين (52.6% و66.2%) على التوالي، تلاه Camphor بالنسب (27.08% و13.13%) على التوالي، وكانت المركبات ***R***-Pinene وCamphene وLimonene وBorneol وMyrtenal وBornyl Acetate وMyrtenyl Acetate هي المركبات الاكثر تمثيلاً في كلا الزيتين، كما وأشاروا إلى أنَّ الزيت العطري هو من النمط Camphor/ Fenchone واحتوى كلا الزيتين على نسب لا تُذكر من الـ 1,8-cineole، اما بخصوص النسبة المئوية للزيت% فهي لم تتغير بالنسبة (الأوراق/السوق) خلال العام تغيراً كبيراً، بينما تغيرت النسبة المئوية للزيت في للأزهار بشكل ملحوظ وكبير خلال فترة الإزهار وكانت ذروتها في بدء تفتح الأزهار (2.7% في 5 نيسان)، ثم شهدت انخفاضاً مع التقدم بمرحلة الإزهار، ولم ترتبط نسبة

الزيت بالمحتوى الرطوبي في أجزاء النبات حيث كان متوسط رطوبة الأزهار (71.3% و75.7%) في الموسمين (2004 و2005)م على التوالي، وكان متوسط رطوبة (الاوراق/ السوق) متقاربا في كلا الموسمين أيضاً، وكان المحتوى الرطوبي غير مرتبطاً أيضا بمستوى الهطول سوى أنه يبدأ بالهبوط مع وصول الهطول المطري إلى ادنى قيمة له، وفسّرت الدراسة افتراضياً انخفاض النسبة المئوية للزيت في الأزهار بالانخفاض المستمر الذي يطرأ في إنتاج المركبات العطرية أثناء تفتح الأزهار، وبالتدقيق في مسارات التصنيع الحيوي التي تقود لإنتاج المركبات الرئيسة في الزيت العطري للخزامى (*L. stoechas* L.) أظهرت أنَّ بعض المركبات الرئيسة التي تنتمي إلى نفس تحت المسلك A تملك سلوكاً مغايراً بالمقارنة مع خواص تلك المركبات التي تنتمي لتحت المسلك الآخرB، مما يؤكد تقلب مسارات الاصطناع الحيوي خلال موسم النمو، وقد كان الزيت العطري مفيداً في تثبيط فعَّالية نوعي الفطر (*R. solani* و*F. oxysporum* وأقل فعَّالية ضد *A. flavus*)، ولوحظت أنَّ نسبة التثبيط العليا كانت من الزيوت العطرية للأوراق. ومن بين المركبات المختبر فعَّاليتها ضد الفطور بشكل مستقل، كانت للمركبات Fenchone وLimonene وخصوصاً مركب Myrtenal فعَّالية في تثبيط نمو *R.Solani*، وكانت الزيوت العطرية المتكاملة أكثر فعَّالية ضد الفطور مقارنة من المركبات المستقلة، حتى ضد الفطور الأكثر حساسية، وهذا يمكن تفسيره باعتبار أنَّ تلك الفعَّالية الحيوية ضد الفطور ما هي إلا نتيجة لتآزر Synergism المركبات المختلفة المكونة لأي زيت عطري مجتمعة في خلاصة واحدة هي الزيت العطري.

استطاع Kirmizibekmez H وزملاؤه (2009)، في دراسة لتركيب الزيت العطري المستخلص من أوراق وأزهار الخزامى البرية (*L. stoechas* L.) النامية بريا في تركيا، من تحديد المركبات Fenchone و1,8-Cineole وCamphor و Viridiflorol كمكونات رئيسة في الزيت العطري المستخلص من الأوراق وبالنسب (41.9 % و15.6 % و12.1% و4.1%) على التوالي، وكانت المركبات Fenchone وMyrtenyl Acetate وα−Pinene وCamphor و1,8-Cineole بالنسب (39.2% و9.5% و6.1%و5.9% و3.8%) على التوالي، هي المكونات الأكثر وفرة ضمن الزيت العطري للأزهار، كما قُيمت الزيوت كمضاد بكتيري ومضاد لفطر *Candida*وكانت الزيوت الزهرية أكثر فعَّالية ضد الممرضات البكتيرية والفطرية عموماً مقارنة بالزيوت الورقية، وكانت بكتريا *Staphylococcus aureus* أكثر حساسية لزيت الأزهار وكان التركيز المثبط الأدنى يعادل (31.2 ميكروغرام.مل$^{-1}$) وكذلك اختبرت الفعَّالية المضادة للأكسدة بطريقة TLC-DPPH وكان فعَّالية الزيوت ضعيفة تطبيقها بتركيز (2 ملغ.مل$^{-1}$).

وتبيّن في دراسة لـ Zuzarte وزملائه (2013)، أنّ الزيت العطري للخزامى البرية (*L. stoechas* L.) النامية في إيطاليا (سردينيا) أيضاً، يتألف بشكل رئيس من Fenchone بنسبة (37.0%) و Camphor بنسبة (27.3%) كما واحتوى على Bornyl Acetate و1,8-Cineole بالنسب(6.2%و6%) على التوالي، في حين كانت المركبات Myrtenal Acetate بنسبة (1.7%) و Myrtenol بنسبة(0.5%)، وكانت النسبة المئوية للزيت في الأجزاء الهوائية تعادل (0.7%).

أجريت دراسة لتقييم ثلاثة طرائق متبعة لاستخلاص الزيت العطري من الرؤوس المزهرة للخزامى البرية (*L. stoechas* L.): التقطير بالماء Hydro Distillation، الاستخلاص المائي دون الحرج Subcritical Water Extraction، الاستخلاص بالمذيبات العضوية في جو التشعيع فوق الصوتي Organic Solvent Extraction Under Ultrasonic Irradiation وتأثير كل منها على تركيب الزيت العطري، تبين في التجربة أنَّ المركبات Fenchone و Camphor و Myrtenyl Acetate و Myrtenol و 1,8-Cineol هي المركبات الرئيسة للزيت مع اختلاف النسب الموافقة لكل طريقة، وكانت التربينات الاحادية الهيدروكربونية أعلى في الطريقتين الاولى والثالثة، وحافظت الطريقة الثانية على أكبر قدر من المركبات الأوكسيجينة الخفيفة والثقيلة، وترافق ارتفاع درجة حرارة الاستخلاص مع حدوث ازدياد في غلة الزيت، وتفوق مركب Fenchone بالقيمة (32.03%) على مركب Camphor بالقيمة (14.71%) في طريقة التقطير بالماء في حين كان مركب Camphor بالقيم (29.64%) و(41.09%) هوأعلى نسبةً من مركب Fenchone بالقيم (26.93%) و(34.23%) في الطريقتين الثانية والثالثة على التوالي، (Giray وزملاءه، 2008).

أوضحت دراسة لتركيب الزيت العطري في ثلاث أنواع من جنس الخزامى(*L.coronopifolia L.* و*L.multifida L.* و*L.stoechas L.*) فكان التركيب الرئيس للنوع (*L.coronopifolia L.*) هو *Trans*-β-Ocimene بنسبة (26.9%) و Carvacrol بنسبة (18.5%) و β-Bisabolene بنسبة (13.1%) وكان التركيب الرئيس للنوع (*L.multifida L.*) عبارة عن Carvacrol بنسبة (65.1%) و β-Bisabolene بنسبة (24.7%)، أما في زيت النوع (*L.stoechas L.*) فكان Fenchone بنسبة (34.3%) و Camphor بنسبة (27.4%) هما المركبان الرئيسان (Messaoud وزملاؤه،2012).

وقد أكدت دراسات أخرى أنَّ كلا المركبين Fenchone و Camphor هما المركبان الرئيسان في تركيب الزيت للعطري للخزامى من النوع (*L.stoechas L.*) النامي في كل من المغرب (Zrira وbenjilali،2003)، والهند (Raina و Negi،2003)، واليونان (Hassiotis ،2010).

تمكنت دراسة إيرانية أجريت على الهجين اللافاندين (*L.× Intermedia*) من تحديد 32 مركباً تشكل (90.68 %) من مُجمل المركبات المفصولة في زيت أوراقه المجففة في الظل والمقطوفة في أيار (2014م) من نباتات مزروعة في منطقة ارتفاعها يفوق (1500متر)، كان مركب 1,8-Cineole بالقيمة (35.8%) و Borneol بالقيمة (17.11 %) و Camphor بالقيمة (9.17%) هي المركبات الرئيسة في الزيت، وتواجد مركب α-Pinene بنسبة (3.29%) ومركب Delta-3-Caren بنسبة (2.61%) ومركبβ-Pinene بنسبة (2.59%) وCryptonبنسبة (2.65%)،(Iman Bajalan،2015).

وكان محتوى الأزهار والأوراق المجففة من محصول الهجين اللافاندين (*L.× Intermedia*) بصنفه البلدي الكرواتي ’Budrovka‘ من الزيت العطري قارب القيم (6.8% و0.4%) على التوالي، ولم يتبين احتواء الحوامل الزهرية على أي نسبة تذكر من الزيت العطري، وكان مركب Linalool هو المركب الرئيس في الزيت العطري للأزهار ، (Blazekovic وزملاؤه،2011).

أوضحت دراسة استرالية شهيرة لـ Moon وزملاؤه (2006)، أنَّ مركب Linalyl acetate بالقيم (40.41% و41.3%) ومركب Linalool بالقيم (29.1%و36.2%) يشكلان المركبان الرئيسان في زيت النوع (*L.angustifolia* L) من مصدرين مختلفين وكانت نسبة مركب 1,8-Cineole وCamphor أقل من 2 % في كلا الزيتين، واحتوى زيت النوع (*L.stoechas L.*) كل من مركب Camphor بنسبة (48.6%) ومن ثم مركب Fenchone بنسبة (21.9%) ومركب 1,8-Cineole بنسبة (9.2%)، وكانت المركبات Linalyl acetate وLinalool وCamphor و1,8-Cineole هي المركبات الرئيسة في تركيبة زيوت ثلاثة أصناف 'Grosso' و 'Miss Donnington' و ‘Seal’ من الهجين اللافاندين (*L.× Intermedia*) مع تفاوت واضح في نسب كل منها بين الزيوت الثلاث، وأشارت الدراسة إلى كون مركب 1,8-Cineole هو المركب الرئيس في زيتين من مصدرين مختلفين للهجين (*L.x allardii*) بالقيم (34.2% و38.74%) ومن ثم مركب Camphor بالقيم (13.4% و17.1%) وثالثاً جاء مركب Linalool بالقيم (4.2% و4.9%)، وتبين احتواء أحدهما على آثار من مركب Fenchone بالقيمة (0.4%) وعدم وجوده في الزيت الآخر.

وتتشابه أحياناً نتائج الدراسات السابقة بخصوص التركيب الكيميائي للزيت العطري لأحد انواع الخزامى، وتختلف أحياناً أخرى فيما بينها ـ وهو ما عزاه Iman Bajalan (2015) إلى كون التركيب الكيميائي للزيت العطري يرتبط بالعديد من العوامل الوراثية والبيئية وتداخلاتهما، مثل الجزء النباتي المستخدم في التقطير، طريقة التقطير، والنمط البيئي والموقع الجغرافي والمناخ والارتفاع عن سطح البحر وغيرها من الإحداثيات الطوبوغرافية، حيث أنَّ النباتات النامية في ظروف بيئية مختلفة سوف تنمو بمعدلات نمو متفاوتة وستختلف فيما بينها بالحجم والمرحلة التطورية. وجاء في دراسة de Bona وBiasi (2010)، عن أسباب حدوث اختلافات في تركيب الزيت العطري للخزامى: (أنه ولسوء الحظ يتغير التركيب الكيميائي للزيت العطري لنبات الخزامى على وجه الخصوص بشكل كبير نظراً للتنوع الوراثي الكبير بين أصنافه والتي يعود سببه أصلاً للإنعزالات الوراثية Segregation التي تنتج عن الإكثار الجنسي لأنواع الخزامى، وذلك عندما تم الاعتماد على البذور في الإكثار بسبب وجود مشاكل وصعوبات Recalcitrance تتعلق بالإكثار من العقل تعاني منها بعض نباتات جنس الخزامى).

2. 3. الفعَّالية الحيوية لأنواع جنس الخزامى ضد الأحياء الممرضة :

جاء في دراسة استرالية مهمة أجرتها MA Cavanagh وزميلتها Jenny M Wilkinson (2006) كان الهدف منها التأكد من الفعَّالية الحيوية المضادة للنموات الفطرية والبكتيرية والفيروسية للزيوت العطرية والمحاليل المائية لخمس من الأنواع والهجن التي تتبع جنس الخزامى وتسود زراعتها واستخداماتها في الأغراض العلاجية ضمن القارة الاسترالية، فأظهرت النتائج أنَّ الزيوت العطرية للنوعين (*L. stoechas* L. و *L. angustifolia* L.) والهجن (*L. x allardii* و *L.x intermedia* و *L.x heterophylla*) امتلكت خواصا مضادة للعديد من البكتريا المدروسة ومنها *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *MRSA* وكان للزيت العطري المستخلص من كل من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والهجين اللافاندين (*L.x intermedia*) الفعَّالية الأقوى بين الزيوت المدروسة. ولم تتحسس بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* لزيوت الخزامى المختبرة، ولم تتمتع أي من الزيوت بمستويات عالية من الفعَّالية الحيوية ضد جميع الأنواع البكتيرية المدروسة، ويمكن أن يُعزى ذلك إلى اختلاف التركيب الكيميائي للزيوت وتأثيره المتباين والمستقل على البكتريا المدروسة، إلا أنه لم يكن هناك علاقة للفعَّالية الحيوية ضد النمو البكتيري مع التركيب

الرئيس في الزيت العطري المختبر. ولم يكن للمياه المقطرة والمستخلصات الإيثانوية والمائية لأنواع الخزامى أية فعَّالية تذكر ضد نمو الأنواع البكتيرية المختبرة باستثناء بكتيريا *Proteus vulgaris* التي أبدت تحسساً اتجاه العديد من المستخلصات الكحولية المختبرة، وتحسست *Candida albicans* بشكل بسيط اتجاه المستخلص الكحولي للخزامى من النوع (*L. stoechas* L.) وبينت الدراسة ذاتها أنَّ للزيوت المختبرة تأثيرات مضادة لنمو العديد من الفطريات الممرضة، ولم يكن للمياه المقطرة أية تأثيرات مضادة لنمو الفطور المدروسة.

بيّنت نتائج دراسة عراقية لفعَّالية المستخلصات المائية والكحولية لبراعم أزهار الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) في تثبيط نمو بعض أنواع البكتريا ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية والمعزولة سريرياً، أهمية تلك المركبات الفعَّالة والمستخلصة بالميثانول في تثبيط النمو البكتيري لبعض الأنواع البكتيرية الممرضة مثل الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii* والمكورة المعوية البرازية *Enterococcus faecalis*، فقد أظهر المستخلص الميثانولي فعَّالية تثبيطية عالية إذ أعطى منطقة تثبيط تراوحت مابين (15 ملم و 20 ملم) عند تركيز(200 ملغ.مل$^{-1}$)، في حين لم يظهر المستخلص المائي أية تثبيط مقارنة بمجاميع السيطرة وباستخدام طريقة الانتشار من الحفر، وكان للمستخلص الميثانولي فعَّالية واسعة الطيف ضد البكتريا السالبة والموجبة على حد سواء، إذ بلغ تركيز الحد التثبيطي الأدنى (25 ملغ.مل$^{-1}$)،(Al-Niaame و Aziz، 2013).

اختبرت الفعَّالية الحيوية المضادة للبكتريا للزيت العطري للخزامى (*L.stoechas* L.) عند تطبيقه بطريقة الانتشار من القرص اتجاه نمو العديد من البكتيرية الممرضة، فكانت سلالة الإيشرشيا كولاي *E. coli* ATCC25922 هي البكتريا الأكثر تحسساً للزيت العطري بقطر (8.19 ملم) في حين كانت بكتريا الزائفة الزنجارية المعزولة مخبرياً مقاومة للزيت العطري (0 مم)، وتفاوتت الأنواع البكتيرية المختبرة الأخرى بمقاومتها انتشار الزيت العطري للخزامى من النوع (*L.stoechas* L.) ؛ فتثبطت السلمونيلا التيفية *S. typhi* بقطر (3.67 ملم) واللستريا المستوحدة *L. monocytogenes* بقطر (5.64 ملم) و*S. aureus* ATCC25923 و*S. aureus* ATCC 601. بقيم أقطار تثبيط (5.90 ملم و6.83 على التوالي) والإيشرشياكولاي *E. coli* (SI) بقطر (2.83 ملم) والزائفة الزنجارية *P. aeruginosa* ATCC27853 بقطر تثبيط (0.52 ملم)، (Zohra و Atik، 2011).

حقق الزيت العطري للخزامى الإنكليزية فعَّالية حيوية مضادة لنمو الإيشرشيا كولاي *Escherichia coli* ATCC 8739 والعصوية الرقيقة *Bacillus subtilis* ATCC 6633، وكان التركيز المثبط الادنى بالقيم (1ملغ.مل$^{-1}$) و(0.5ملغ.مل$^{-1}$) للنوعين البكتيريين على التوالي، (abroomand azar وزملاؤه،2011).

كما وجد الباحث التركي Ceyhan وزملاؤه (2013) أنَّ المستخلصات المائية والعضوية للخزامى (*L.officinalis* L. و*L.stoechas* L.) امتلكت نشاطاً مضاداً للبكتريا اتجاه العصوية الشمعية *Bacillus cereus* والعنقودية الذهبية *staphylococcus aureus* والإيشرشياكولاي *Escherichia coli* (O157:H7) والكلبسيلة الرئوية *Klebsiella pneumoniae* وفطر المبيضات المبيضة *Candida albicans*، فكانت للمستخلص الإيثانولي فعَّالية مثبطة (MIC>400 ملغ.مل$^{-1}$) لنمو جميع الأنواع البكتيرية المختبرة، وثبط المستخلص المائي كل من العصوية الشمعية *Bacillus cereus* والعنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، وكذلك كان للمستخلصان المائي والإيثانولي للخزامى *L. stoechas* L. فعَّالية مثبطة لنمو جميع الأنواع البكتيرية، ماعدا بكتريا *Bacillus cereus* بالنسبة المستخلص المائي، و*Candida albicans* بالنسبة للمستخلص الايثانولي.

اختبرت الفعَّالية المضادة لنمو البكتريا للمستخلصات المائية لستة من النباتات الطبية: الريحان (*Ocimum basilicum* L.)، والزعتر (*Thymus vulgaris* L.)، والخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) والمليسة (*Melissa officinalis L.*)، والبقدونس (*Petroselinum crispum* L.)، والثوم (*Allium schoenoprasum* L.). وفقاً لطريقة الانتشار من القرص، فكانت النتيجة أنَّ المستخلصات المائية للخزامى والزعتر قد امتلكت قدرة ضعيفة على تثبيط النمو الجرثومي لعدد من الجراثيم الملوثة الألبان وبكتريا الإيشرشيا كولاي *E. coli* CCM 7929، في حين تحققت الفعَّالية القصوى في التجربة من خلال المستخلصات المائية للثوم المُعمِّر والبقدونس والريحان، وجاء في الدراسة نفسها أنَّ قياس وتحديد الفعَّالية المضادة للبكتريا مخبريا تتأثر بالنوع العشبي المختبر، وعلى التركيز المطبق من المادة الفعَّالة، وعلى نوع وتركيز الميكروب المختبر، وعند قياس فعَّالية مادة أضيفت للمنتجات الغذائية كمضاد بكتري فإن عدة عوامل تؤثر بقوة فعَّالية تلك المادة مثل (محتوى المنتج من الخمائر، وشروط الإضافة والتطبيق في الغذاء، وفي النهاية تؤثر فترة تخزين الغذاء تأثيراً كبيراً في جدوى استخدام المستخلصات العشبية وموادها الفعَّالة) ،(Dostalova وزملاء،2014).

وفي محاولة لدراسة الفعَّالية الحيوية لزيت إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) ولمركباته الرئيسة كمضاد بكتيري، وفقا لطريقة التمديد المكروي، طُبق الزيت الذي يتكون بشكل رئيس من 1,8-Cineole بنسبة (27.23%) و α-Pinene بنسبة (19.43%) و β-Pinene بنسبة (6.71%) وكذلك المادة النقية لكل مركب رئيس على خمس أنوع من البكتريا من بينها العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والإيشرشياكولاي *Escherichia coli* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* فكانت النتائج تشير إلى أنَّ للزيت العطري ولمكوناته فعَّالية ضد الأنواع المذكورة، وكان للزيت العطري ومركب α–Pinene الأكثر فعَّالية ضد الأنواع المذكورة تلاهما مركب β-Pinene ثم مركب 1,8-Cineole وبفعَّالية أقل، مما يجعل من الصعب أن نعزو الفعل البيولوجي للزيت إلى مركب واحد كونه يتكون من مزيج مختلف ومتنوع من المركبات الرئيسة والثانوية الصغيرة وبالتالي فإن الفعَّالية الحيوية هي نتائج التأثير المتحد لجميع المكونات التي يتكون منها الزيت، (Wang وزملاء،2012).

وجدت دراسة صينية أنَّ مركب α-Pinene ومركب Limonene قد ثبطا نمو بكتريا العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والإيشرشياكولاي *Escherichia coli* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* بطريقتي الانتشار من القرص والتمديد المكروي وكان التأثير متقارباً لكليهما في كلتا الطريقتين (Dai وزملاؤه،2013).

وأشار Faleiro (2000) إلى أنَّ مكونات الزيت العطري نفسه تؤثر على البكتريا ويكون التأثير متداخلاً فيما بينها ويأخذ أشكالاً ثلاث (تأثيراً مضافاً Additive/ تأثيراً مؤازراً Synergetic/ تأثيراً مضاداً Antagonist) حيث يكون فعل المركبات مع بعضها (يساوي/ أكبر/ أقل) من مجموع تأثيراتها المستقلة على التوالي.

قام Giordani وزملاؤه (2004) باختبار حساسية فطر المبيضات المبيضة *Candida albicans* كثير من الزيوت العطرية العائدة لعدد من الشفويات: ندغ الجبل (*Satureja montana L.*)، والخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia L.*) واللافاندين (*L.x intermedia*) والبردقوش (*Origanum vulgare* L.) وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) وستة من الطرز الكيميائية للزعتر(*Thymus vulgaris* L.) فكانت الفعَّالية الأكبر عائدة للزيت العطري العائد للزعتر محققا تركيز قاتل نصفي (0.016 ميكروغرام.مل$^{-1}$).

وجد Behmanesh وزملاؤه (2015) أنَّ لزيوت الخزامى (*L.angustifolia* L.) ومناقيعها Brew فعَّاليةً مضادةً لنمو فطر المبيضات المبيضة (*Candida albicans*) تفوق فعَّالية المضاد الفطري Clotrimazole عند إضافة كل منها إلى معلقات تحويها.

وجد Safaei-Ghomi وزميلته Ahd (2010)، أنَّ المستخلصات الميثانولية للأيوكالبتول *Eucalyptus largiflorens* وبعد تكثيفها تم تمديدها إما بالماء H_2O او بمذيب الكلوروفورم $CHCl_3$، ومن ثم اختبار فعَّاليتها ضد (11) نوعاً ميكروبياً بين بكتريا وفطور وخمائر فكانت النتيجة أنَّ المكونات القطبية المحلولة بالماء كان لها القدرة الأكبر في تثبيط نمو (7) من (11) نوعاً ميكروبياً في حين ثبطت المكونات اللاقطبية جرثومة واحدة فقط *E. coli* من (11) نوعاً ميكروبياً.

وجده Blazekovic وزملاؤه (2011)، بأنَّ للمستخلصات الكحولية الايثانولية من أزهار الخزامى الهجين (*L.× intermedia*) تتمتع بفعَّالية مثبطة لنمو فطري المبيضات المبيضة *Candida albicans* و فطر الرشاشية الدخناء *A. fumigatus* عند تطبيقها تلك المستخلصات بطريقة الانتشار من حفر تم إحداثها على الآغار، وكانت أقطار التثبيط (13ملم) لفطر المبيضات المبيضة *Candida albicans*، و(20ملم) لفطر الرشاشية الدخناء . *Aspergillus fumigatus*، وكذلك كان التركيز المثبط الأدنى من المستخلص الايثانولي هو (0.5 و2.5) % والتركيز القاتل الأعلى هو (1 و5)% لكل من *Candida albicans* و *Aspergillus fumigatus* على التوالي.

وجدت Al-Niaame وزميلتها Aziz (2013)، أنَّ المركبات الفعَّالة الموجودة والتي يتم استخلاصها بالميثانول من براعم الازهار للخزامى (*L.officinalis* L.) قد امتلكت فعَّالية مثبطة عالية لنمو طيف بكتيري متعدد، وأعطت تثبيط للمكورة المعوية البرازية *Enterococcus faecalis* بقطر تراوح بين (14) ملم وكان التركيز المثبط الأدنى (25 ملغ.مل$^{-1}$) متفوقاً على نظيرة المائي الذي لم يظهر أي منطقة تثبيط، وكانت فعَّالية المستخلصات الميثانولية متقاربة على كلٍ من البكتريا سالبة وموجبة غرام على حد سواء.

2. 4. الفعَّالية المضادة للحشرات والآفات الزراعية لأنواع جنس الخزامى:

انقضت مع حلول عام (2016م) المهلة الممنوحة للدول النامية ومن بينها سورية لتفي بالتزاماتها حيال التخفيض التدريجي لاستعمال بروميد الميثيل، والتي نصت عليها اتفاقية مونتريال الخاصة والمصادق عليها من الحكومة السورية عام (1997م)، في حين تعهدت البلدان المتقدمة بإزالة بروميد الميثيل مع نهاية (2005م)، توجهت بعدها الجهات المعنية في القطر العربي السوري لاستخدام فوسفيد الألمونيوم كمادة تبخير مبيدة لحشرات الحبوب المخزونة مترافقاً مع تطوير أساليب التخزين وإدارة الآفات من أجل منع تطور مقاومة الحشرات للفوسفين (الرهبان وشهاب، 2011)، لكن الدراسات اللاحقة أشارت إلى تضاده مع الأحياء غير المستهدفة، وضرره على البيئة، بالإضافة إلى القلق المتنامي حيال سلامة الإنسان ونشوء وانبعاث سلالات مقاومة للفوسفين (Saleem وزملاؤه،2014) كل ذلك وجّه الأنظار نحو الزيوت العطرية ومكوناتها بإمكانية محتملة لتطويرها وتطبيقها كمادة تبخير قليلة السُمّية للثدييات سريعة التحطم ومتوفرة محلياً (Isman،2008)، حيث اختبرت الزيوت العطرية المشتقة من (75) نوعاً نباتياً وتم تقييم أثرها القاتل عند تطبيقها بالتبخير ضد حشرات المنتجات المخزونة (Rajendran و Srianjini،2008).

وأشارت تقارير عديدة إلى التربينات الأحادية تسبب موتاً للحشرات ناتجاً عن تثبيط أنزيم Acetyl Cholinesterase (Houghton وزملاء،2006)، وتؤثر أيضاً على الوظائف الحيوية في مواقع أخرى مثل Cytochrome P450−Dependent Monooxygenases*،(Rajendran و Srianjini،2008).

وتشير دراسة قديمة لـ Heal وزملاؤه (1950)، إلى أنَّ 2500 نبات تتوزع ضمن 247 عائلة تملك تأثيراً ساماً ضد الحشرات، وإلى أنَّ النبات المراد استخلاص المبيد الحشري منه يجب أن يكون نباتاً معمراً، وموجوداً بأعداد كبيرة في الطبيعة مع قابلية كبيرة لتنميته وإكثاره زراعياً، بالإضافة إلى العديد من الشروط الواجب تحققها من أجل جعل التفكير في اختيار نبات ما لهذا الغرض، هو أمراً معقولاً.

*** يعتبر Cytochrome P450-Dependent Monooxygenases مجموعة من الانزيمات تشكل نظام استقلابي مُهم، يسهم في استقلاب للمركبات الذاتية – والدخيلة– ضمن جسم الكائن الحي، ويؤدي لدى الحشرات دوراً في النمو والتطور والتغذية والحماية من المكونات Xenobiotic مثل المبيدات والمركبات العضوية نباتية المنشأ (الزيوت العطرية مثلاً)، (Scott وWen،2001).**

تُعدّ فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط (Mediterranean Flour Moth؛ *Ephestia kuehniella*) من فصيلة الفراشات Pyralidae من رتبة حرشفيات الأجنحة Lepidoptera من الآفات الخطيرة والشائعة التي تصيب الغذاء ومنتجاته مثل الحبوب. وكذلك خنفساء الدقيق الصدئية *Tribolium castaneum* (The red flour beetle) من غمديات الأجنحة Coleóptera تعتبر آفة أساسية من آفات الحبوب ومنتجاتها في الجمهورية العربية السورية (الرهبان وشهاب،2011) يرتبط تواجدها مع مجال واسع من منتجات الحبوب والدقيق والفاصوليا والفول والبندق والفاكهة المجففة (Pugazhvendan وزملاء،2009)، التصنيف العلمي لكلا الحشرتين المذكورتين آنفاً مُبيّن في (الجدول (D)، ملحق الجداول) .

تمثل يرقة الفراشة الطور الضار والذي يخفض من جودة المنتج بسبب ما تحدثه من تلف في المادة الغذائية على هيئة تكتلات للمادة الغذائية وأنفاق فضلاً عن الضرر الناتج عن تغذيتها على المنتج وفقدان جزء منه وطرحها الفضلات بها (Ayvaz وزملاء،2010) وإن ما تحدثه يرقات الفراشة من تغير في نوعية الغذاء تجعلها هدفاً للمكافحة الحيوية Biological Control واستراتيجيات المكافحة المتكاملة للآفات Integrated Pest Management (IPM)، حيث يتم الاعتماد على الأعداء الحيوية مثل جنس *Trichogramma* من غشائيات الأجنحة Hymenoptera كمتطفل على بيض فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط ، ويتم التوجه مؤخراً إلى دراسة إمكانية تبخيرها باستخدام الزيوت العطرية لقتلها بالاختناق Fumigant Insecticides،(Sümer Ercan وزملاء،2013).

وتُعدّ النباتات من جنس الخزامى أعشاباً صديقة للبيئة، بسبب خصائصها المنفرة للحشرات (Papachristos وزملاء،2004)، ويمتلك الزيت العطري للخزامى الإنكليزية (*L. officinalis* L.) النامي في شرقي الجزائر القدرة على مكافحة الحشرات كونه من النمط 1,8-Cineole/Camphor، (Belhadj Mostefa وزملاؤها،2014).

في دراسة تركية حديثة قام بها الباحثان التركيان Pandır وBaş عام (2016) باختبار فعَّالية الزيوت العطرية لكل من النعناع الفلفلي (*Mentha x piperita* L.) يحوي Menthol بنسبة 28.4 %، والريحان (*Ocimum basilicum* L.) يحوي Linalool بنسبة 63.1 %، والفليفلة الحلوة (البابريكا) (*Capsicum annuum* L.) يحوي Capsaicin بنسبة 35.4 %، وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) يحوي 1,8-Cineole بنسبة 25.7%) عند تطبيقها كمادة مبخرة ضد فراشات ويرقات وبيض فراشة دقيق البحر

الأبيض المتوسط ضمن الظروف المخبرية، فكان للزيت العطري للفليفلة بتركيز (5 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) الأثر الأكبر في قتل اليرقات خلال (24) ساعة، وبينت تجربتهم أنَّ يرقة الفراشة أكثر مقاومة للتبخير بالزيوت العطرية من الفراشة مكتملة النمو، حيث حققت زيوت كل من الريحان والبابريكا والنعناع الفلفلي وإكليل الجبل موتاً كاملاً في الفراشات بعد (24) ساعة عند التركيز (100 و50 و20 و10 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) على التوالي. كما وبين الباحثان في تجربتهم أنَّ التراكيز المتزايدة قد ارتبطت بنسب موت متزايدة موافقة لها عند كل الأطوار الحشرية المختبرة وقامت الدراسة بتقديم الزيوت لعطرية الأربع كعوامل ممكنة التطبيق في برامج المكافحة المتكاملة لحشرات المخازن.

وجدت دراسة إيرانية حديثة أنَّ يرقات الفراشة كانت أكثر مقاومة من الحشرات الكاملة لبخار زيت الزيزيفورا الشفوية *Ziziphora clinopodioides* Lam. ذو التركيبة Pulegone (49.4%) و Piperitenone (10.7%) و Menthone بنسبة (8.9%) ومركب 1,8 Cineole (6.9 %)، حيث سجُلت بعد (24) ساعة من زمن التطبيق قيمة التركيز القاتل النصفي LC50 (54.6 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) بالنسبة لليرقة، في حين كان التركيز القاتل لنصف بالغات الفراشات LC50(1.39 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$)،(Kheirkhah وزملاء،2015).

أشارت Emamjomeh وزملاؤها(2014)، إلى مقاومة أكبر أبدتها اليرقة منها لدى بالغات فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط لزيت نبات الزعتر الشيرازي (*Zataria multiflora* L.) من العائلة الشفوية، حيث كانت تركيبة الزيت تتميز بمكونيها Thymol (26.3%) ومركب Carvacrol (25.5%) وتحققت قيم تركيز القتل النصفي بعد (24) ساعة LC50 (20.67 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) في حين لم تتجاوز قيمة تركيز القتل النصفي قيمة LC50 (1 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) للفراشة، هذا وبينت التجربة أنَّ النسبة المئوية للموت كانت على علاقة طردية مع التركيز المطبق. وفي نفس السياق أشارت دراسة Khodadoust و Moharramipour (2010) إلى أنَّ بالغات الفراشة كانت أكثر حساسية من اليرقات لزيت الكمون (*Cuminum cyminum* L.).

أجريت دراسة لسُميَّة الزيت العطري للغار النبيل (*Laurus nobilis* L.) المأخوذ من كل من الجزائر ذو التركيبة 1,8 Cineole (34.6%)، و Linalool (12.6%)، وتونس بالتركيبة 1,8 Cineole (24.5%) و Linalool (17.7%) والمطبق وفق أربع تركيزات (11.36و22.73 و34.09 و45.46 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) على بالغات فراشة البحر الأبيض المتوسط بعمر (1) يوم، تبيّن لديهم أنَّ الزيت العطري للغار النبيل من كلا

المصدرين كان ساماً للبالغات مع تفوق زيت الغار الجزائري الذي حقق أعلى نسب الموت%، حيث وصلت (100%) بعد (24) ساعة، في حين حقق التركيز الأدنى منه أخفض نسب الموت في بلغت (40%) بعد (24) ساعة ووصلت قرابة (70%) بعد (120) ساعة، وسجلت LC50 (20.77 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC95 (34.93 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) الموافقة لزيت الغار الجزائري و LC50 (33.75 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC95 (46.98 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) بعد (24) ساعة، كما وأشارت الدراسة أيضاً إلى أنَّ زيادة في نسب الموت المسجلة قد حدثت مع ازدياد التراكيز ومع التقدم في زمن التعرض لبخار الزيت العطري، كما أشارت الدراسة إلى أنَّ الفعَّالية المضادة للحشرات التي يبديها الزيت العطري للغار النبيل يمكن أن تعزى لمكوناته الرئيسة، (Mediouni-Ben Jemâa وزملاؤه،2013). واستشهدت الدراسة نفسها أيضاً بدراسة قديمة (Rozman وزملاؤه،2007) إلى سُمية كل من المركبات التالية 1,8-Cineole و Linalool و Camphor اتجاه للحشرات بالتبخير.

تبيّن في دراسة مميزة قام بها باحثون أتراك Sümer Ercan وزملاؤه (2013)، حول اختبار السمية بالاختناق الناتجة عن تطبيق الزيت العطري لنبات البرنقوس الكلخي *Prangos ferulacea* من العائلة الخيمة Umbelliferae على جميع المراحل العمرية لكل من فراشة البحر الأبيض المتوسط *Ephestia kuehniella* من حرشفيات الأجنحة (Lepidoptera: Pyralidae) وعدوها الحيوي متطفل البيض *Trichogramma embryophagum* من غشائيات الأجنحة (Hymenoptera: Trichogrammatidae)، أنَّ يرقة الفراشة من الطور الثالث كانت الأكثر مقاومة للزيت العطري LC50 (379.6 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC99 (538.7 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) تلاها طور عذراء العدو الطبيعي LC50 (5.947 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC99 (19.568 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) ومن ثم البالغات لكلا من الفراشة وطفيلي البيض، حيث هلكت بالغاتهما بشكل كامل بعد (24) ساعة عند تطبيق التركيزين (1.0 و 0.25 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) للآفة وطفيليها على التوالي. وكانت قيم التراكيز القاتلة للبيض LC50 (320.4 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC99 (486.9 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC50 (2.12 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC99 (5.66 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) في الفراشة وطفيليها على التوالي. ونظراً لفعَّالية الزيت العطري ضد كل من الفراشة وطفيلي البيض، تقترح الدراسة التركية عدم إمكانية استخدام كل من الزيت العطري وبالغات الطفيلي في آن واحد، ولكن يمكن أن تستخدم نتائج الدراسة في تطوير ألية مكافحة حيوية للفراشة، حيث تقترح الدراسة نشر الأعداء الحيوية في فترة ظهور الفراشات ثم بعد (24) ساعة من نشر

الأعداء الحيوية يمكن تبخير الزيت العطري، وإن هذه الآلية من التطبيق المتسلسل لكل من الزيوت العطرية والمتطفلات يمكن أن تخفف من كثافة مجمتعات الآفة الحشرية.

قامت Habibi- Ghozloo وزملاؤها (2012) باختبار فعَّالية الزيوت العطرية للصنوبر الشعاعي *Pinus brutia var. eldarica* عند تطبيقها بالتبخير لمدة (48)ساعة ضد يرقات فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط (بعمر 5 يوم) ، فكانت نسب الموت % تزداد طرداً مع ازدياد التركيز المطبق وزمن التعريض لبخار الزيت، وكان زيت الصنوبر الشعاعي هو الأكثر فعَّالية مسجلاً القيمة التركيز المميت النصفي LC50 (3.11 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$).

أكدت دراسة للباحث Ayvaz وزملائه (2010)، تحقُّقْ السُمّية التبخيرية للزيوت العطرية لكل من الاوريجانو التركي (*Origanum onites* L.) والتي تحتوي (Carvacrol بنسبة 70.27%)، وندغ البساتين (*Satureja thymbra L.*) يحوي (Carvacrol بنسبة53.7%) من الشفويات (Lamiaceae)، ونبات الآس (*Myrtus communis* L.) Linalool (31.3 %) وlinalyl acetate (17.8%) و 1,8 Cineole (14.7 %) من الفصيلة الآسية (Myrtaceae) ضد الفراشة الكاملة بعمر(1يوم)، وكان البردقوش هو الأكثر سُمّية للفراشات مسجلاً أدنى تراكيز القتل LC50 (7.52 ميكرولتر.لترهواء−1) وLC99 (12.72 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) بعد (24) ساعة، وأظهرت التجربة أيضاً ارتفاع نسب الموت مع ازدياد التركيز المطبق من الزيت ومع زمن التعريض للبخار الزيتي المتطاير من قرص الفلتر.

وحظيت الخنفساء الصدئية *T.castaneum* من غمديات الأجنحة (Coleóptera) باهتمام الباحثين في مجال المكافحة الحيوية، حيث تضمنت دراسة Kim وزملاؤه (2012) إيجازاً مختصراً لـ18 محاولة مخبرية حول العالم لمكافحة خنفساء الدقيق *T.castaneum* باستخدام زيوت عطرية مختلفة، انتمى معظمها إلى الفصيلة Asteraceae وطبق كمواد طاردة وللفصيلة الشفوية Lamiaceae التي طُبقت زيوتها العطرية كمواد تبخير تحدث تسمماً حشرياً بالاختناق.

قامت Mohammed (2013) باختبار فعَّالية المستخلصات الكحولية لخمس من الأنواع النباتية المختلفة الأيوكالبتوس(*Eucalyptus gluaca* L.)، والأزدرخت الشائع (*Melia azedarach* L.) والنعناع الحقلي (*Mentha arvensis* L.)، والزيتون (*Olea europaea* L.)، والرمّان (*Punica granatum* L.)، ضد بالغات ويرقات خنفساء الدقيق المتشابهة *Tribolium confusum* Dun، وذلك

بإجراء اختبار الاختيار Choice Test عند تشريب قرص فلتر بعدة تراكيز من كل مستخلص، فأظهرت التجربة أنَّ مستخلص النعناع كان له الأثر الطارد الأكبر للبالغات بنسبة طرد (100%) عند التركيز (2.5%)، وكان لمستخلص نوع (*Eucalyptus gluaca*) من جنس الاوكالبتوس، الأثر الطارد الأكبر لليرقات (100%) عند التركيز (7.5%).

ولم تحقق المادة النقية للمركبات الثلاث 1,8-Cineole وCamphor وLinalool ومركبات أخرى نسبة موت تتجاوز الـ (20%) في بالغات خنفساء الطحين *T. castaneum* عند تبخيرها بتركيز (100.0 ميكرولتر/720 مل.هواء$^{-1}$) بعد (24) ساعة، لكن نسبة الموت وصلت حتى (92.5% و77.5% و70.0%) بعد أسبوع حققتها المركبات السابقة على التوالي، عند نفس التركيز،(Rozman وزملاؤه،2007).

وفي دراسة أخرى حققت سميّة Camphor التبخيرية ضد الخنفساء *T.castaneum* موتاً بنسبة (5.0%) بعد (2) ساعة و(13.2%) بعد (4) ساعة،(Liska وزملاؤه،2010).

و انخفضت قيم التركيز القاتل النصفي بعد (48) ساعة عما كانت عليه بعد (24) ساعة عند تطبيق بخار زيوت لخمس انواع من جنس *Eucalyptus* ضد يرقات خنفساء الطحين المتشابهة *T. confusum* وخنفساء الطحين الصدئية *T. castaneum*، وأظهرت يرقات الخنفساء الصدئية مقاومة أكبر لتأثير بخار الزيوت من يرقات الخنفساء المتشابهة (Fathi وShakaram،2014).

حقق بخار زيت نبات حبة البركة (*Nigella sativa* L.) تأثيراً مميتاً لبالغات *T.castaneum* بنسبة (20.06%) بعد أسبوع، وارتبطت نسب الموت مع كل من تركيز الزيت العطري وزمن التبخير، واختلفت قيمة التركيز القاتل النصفي تبعاً لاختلاف المصدر الجغرافي للسلالة الحشرية(Saleem وزملاؤه،2014).

اختبرت الفعَّالية الحيوية لبعض الشفويات كمبيد لخنفساء الطحين الصدئية *T.castaneum* عند مقارنة تأثيرها بتأثير نبات اللافندر(*Lavandula spica* L.) – كشاهد إيجابي– من خلال مزج مستخلصاتها العضوية (في ديكلور الميتان) ومستخلصاتها المائية مع غذاء الخنفساء بطورها اليرقي الأول بنسبة (5000 جزء بالمليون)، وأظهرت النتائج أنه من بين المستخلصات العضوية للشفويات التالية : الريحان (*Ocimum basilicum* L.) والنعناع (*Mentha rotundifolia* L.)، والبردقوش (*Origanum vulgare* L.)، وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.)، والزعتر (*Thymus vulgaris* L.)، فكان المستخلص العضوي لكل من النعناع والخزامى هما الأكثر فتكاً بيرقات الخنفساء وبنسب هلاك تفوق (73%و 60%) على التوالي،

مع فروق معنوية كبيرة مع المستخلصات العضوية للنباتات الأخرى، في حين حقق المستخلص المائي للخزامى متبوعاً البردقوش نسبة موت تفوق (20 %)، وكان للخزامى التأثير الأقوى في إطالة زمن التشرنق النصفي Pupation Time 50 عند خنفساء الطحين الصدئية *T.castaneum* الأمر الذي يفيد في تقليل عدد الأجيال خلال العام الواحد (Clemente وزملاؤه،2003).

وأبدى زيت الخزامى (*L.officinalis* L.) فعلاً طارداً لبالغات خنفساء الطحين الصدئية *T.castaneum*، وحقق نسبة موت (10±0.84%) بعد (72) ساعة عند التركيز(15 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$)، (Pugazhvendan وزملاؤه،2012).

ازدادت النسبة المئوية للموت مع ازدياد كل من تركيز الزيت العطري للخزامى (*L.stoechas L.*) وزمن تطبيقه بالتبخير على أطوار حشرة الخنفساء الصدئية، بخلاف التركيز المميت النصفي الذي انخفض عند زيادة زمن تعريض الأطوار المختلفة للزيت العطري، وكان التركيز المميت النصفي من زيت للخزامى (*L.stoechas L.*) بعد (72) ساعة هو (18.9 و30.6 و26.8 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) عند تطبيقه على كل من يرقات وعذارى وبالغات الخنفساء الصدئية على التوالي، (Ebadollahi وزملائه،2010).

قام Ebadollahi وMahboubi (2011) باختبار السُمية بالاختناق الناتجة عن تبخير بالغات الطحين الصدئية *T.castaneum* بعمر(1-7يوم) بالزيت العطري لنبات الأزالية (*Azilia eryngioides*) من الفصيلة الخيمية *Apiaceae* والذي يحوي بشكل رئيس على α-Pinene وBornyl acetate بالنسب (63.8% و19.8%) على التوالي، وكان تطبيق الزيت العطري بالتركيز الأعلى (148.14 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) كافياً لقتل جميع البالغات بعد (30 ساعة) من التعريض، في حين استغرق التركيز (37.03 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) حوالي (48 ساعة) لتحقيق الموت الكامل، وكانت التجربة قد أكدت أنَّ كلاً من ازدياد عاملي التركيز وزمن التعريض كان مرافقاً لازدياد نسب الموت % بين البالغات المعاملة.

اختُبرت في دراسة إيرانية الفعَّالية التبخيرية للزيت العطري لشجرة العرعر (*Juniperus communis* L.) يحوي α-Pinene (59.7%) وLimonene (9.7%) ضد بالغات الطحين الصدئية *T.castaneum* وأظهرت التجربة أنَّ للزيت العطري أثراً فعَّالاً في إحداث الموت في بالغات الحشرة خلال زمن التجربة (72) ساعة، سُجلت في نهايتها التراكيز القاتلة التالية LC50 (34.5 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) و LC95 (112.3 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) بعد أن سّجلت بعد (24) ساعة LC50(108.2 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) وLC95(341

ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$)، حيث حقق التركيز الأعلى المطبق في التجربة (65 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) نسبة هلاك تفوق (40%) بعد (24) ساعة، ثم بلغت قرابة (95%) مع انقضاء (72) ساعة، في حين حقق التركيز الأدنى (20 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) نسبة هلاك لا تتجاوز (5%) بعد (24) ساعة، ووصلت قرابة الـ (50%) بعد (72)ساعة، وهو ما أشارت إليه تجربتهم إلى أنَّ عدد الحشرات الميتة خلال الفترات الأولى كان أكبر منه في الفترتين التاليتين فقط في التراكيز العالية، وأشارت التجربة إلى أنَّ نسب الموت كانت تزداد مع ازدياد التراكيز المطبقة من الزيت من جهة ومع التقدم في زمن التجربة من جهة ثانية، (Hashemi وزملاؤه،2014).

قام Mahmoudvand وزملاؤه (2011) باختبار فعَّالية عدد من الزيوت العطرية من بينها أكليل الجيل (*Rosmarinus officinalis* L.) والنعناع (*Mentha pulegium* L.) والبرتقال (*Citrus sinensis* L.) على بالغات خنفساء الطحين الصدئية *T.castaneum* بعمر (1-7يوم) فكانت النتيجة أنَّ الزيت العطري للبرتقال هو الأكثر قدرة على قتل بالغات خنفساء الطحين محققاً القيم LC50 (362.4 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) وLC90 (442.7 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) بعد (24) ساعة من تطبيقه بالمجال (357-471 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$).

كما وتبين في مقالة لـ Epidi وOdili (2009)، أنَّ مزج مساحيق عدة نباتات من بينها الزنجبيل والقرع يقي من تفاقم الإصابة بخنفساء الطحين الصدئية *T.castaneum* ويخفف من ضررها على محصول الفول السوداني المخزن وكانت نسب الموت القصوى قد تم تحقيقها بفعل التركيز العالي من كل من المساحيق سابقة الذكر مع تفوق واضح لمسحوق نباتي الزينة (*Dracaena arborea* و*Vitex grandifolia*) على بقية المساحيق النباتية وعلى الشاهد أيضا بنسبة فوسفيد الألمونيوم (2.5×10^{-5})، مما يعكس أهمية تلك المساحيق في مقاومة الخنفساء الصدئية.

وبين Joel (2015) أنَّ مزج مساحيق كل من النيم الشائع (*Azadirachta indica*)، والحنة (*Lawsonia inermis*)، وأحد انوع جنش القشطة (*Annona senegalensis*)، ونعناع الادغال (*Hyptis suaveolens*) مع بذور الفول السوداني (*Arachis hypogaea* L.) أدى إلى تخفيف الضرر في البذور المخزونة، كما أدى إلى تخفيض في عدد البالغات المتزاوجة فيما بينها والتي وسمت بها كميات من بذور الفول السوداني بالنسب (5 و10 و20 غرام من المساحيق النباتية/ 250 غرام من بذور الفول السودانيّ) قبل أسبوعين من أخذ القراءة، حيث ارتفعت نسب الموت المصححة مع ارتفاع التراكيز المطبقة من كل مسحوق وحقق

التركيز (20 غرام/ 250 غرام) للأزدرخت أعلى قيمة موت بين البالغات (53.5 %)، وكان مسحوق نعناع الأدغال أقلها فعَّالية (16.66%)، في حين كانت نسبة الموت (100%) جراء استخدم نفس الجرعات من فوسفيد الألمونيوم. قامت دراسة عراقية بتقييم فعَّالية أربع مساحيق تستخدم أصلاً كتوابل هي القرفة والزنجبيل وجوزه الطيب والكزبرة ضد خنفساء الدقيق الصدئية عند مزجها مع غذاء اليرقات من القمح المطحون وفق أربع تراكيز (0.5 و1.0 و2.0 و4.0)% المخزونة في مرطبانات زجاجية لمدة أسبوع، فحققت التركيز العالية أعلى قيم الموت بين البالغات حيث كانت نسب الموت المصححة بالقيم (2.53 % و5.050 % و4.350 % و4.350%) ناتجة عن القرفة وجوزة الطيب والكزبرة والزنجبيل على التوالي مع تفوق واضح لبودرة جوز الطيب (الحديدي وآخرون، 2014).

2. 5. الفعَّالية المضادة للأكسدة لأنواع جنس الخزامى:

تُعد الفعَّالية المضادة للأكسدة من الخواص البيولوجية التي تتمتع بها الزيوت العطرية، مما دفع البعض إلى تقييم استخدامها في حفظ الأغذية من التأثيرات السامة للمؤكسدات (Maestri وزملاؤه 2006)، وعلاوة على ذلك فإنها تمتلك القدرة على كنس الجذور الحرة ضمن جسم الإنسان، مما يجعلها عاملاً رئيساً في الوقاية من تلف الدماغ ووظائفه والسرطانات والاضطرابات القلبية وتدهور الجهاز المناعي في الجسم البشري، ويذكر Kamatou و Viljoen (2010) بتزايد الأدلة التي تثبت أنَّ هذه الأمراض ناتجة عن حدوث أذىً على المستوى الخلوي تسببها تلك المركبات التي يطلق عليها الجذور الحرة Free Radicals، ويشير Teixeira وزملاؤه (2013) إلى أنَّ هناك عوامل عديدة تؤثر بالفعَّالية المضادة للأكسدة للنباتات الطبية مثل النوع النباتي والجزء المستخدم وموعد الجمع والموقع الجغرافي وطريقة الاستخلاص المتبعة حيث يؤثر كل ذلك في تركيب الزيت العطري أيضاً.

ترتبط الفعَّالية المضادة للأكسدة التي تتمتع بها المستخلصات النباتية إلى حد كبير بمحتواها من الفينولات وخصوصاً تلك التي تحوي على مجموعة هيدروكسيل (OH-)، فضلا عن حدوث ما يُسمى التأثير التآزري فيما بين المركبات الفنولية (Sariri وزملاؤه،2009)، وقد أشارت دراسة للباحث Dorman وزملاؤه (2003) إلى أنَّ فعَّالية المستخلصات النباتية في كنس الجذور الحرة لا تعتمد على المحتوى الكلي من الفينولات، حيث وجدوا أنَّ الفعَّالية الكانسة للجذور الحرة لكل من مستخلص إكليل الجبل ومستخلص الزعتر كانتا

متشابهان على الرغم من كون المحتوى الفنولي في مستخلص إكليل الجبل يفوق بمرتين محتوى الزعتر من الفينولات الكلية.

قام Brand-Williams وزملاؤه (1995) بتقييم استخدام مركب (-2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl) يرمز له اختصار بـ(DPPH) – وهو يملك الصيغة العامة ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) ووزناً جزيئياً (394.32 غرام.مول$^{-1}$)، في تقدير الفعَّالية المضادة للأكسدة للعديد من المركبات التي تملك نشاطاً مضاداً للأكسدة من فيتامينات ومضادات أكسدة معروفة، وتُعد دراستهم هي الدراسة الأكثر تداولاً بخصوص طريقة DPPH حتى وقتنا هذا، حيث اتبع الباحثين في تحديد التركيز المختبر من كل مادة على النسبة (عدد مولات المادة المختبرة /عدد مولات مادة DPPH).لتر$^{-1}$ مع تثبيت تركيز DPPH على (6×10^{-5} مول. لتر$^{-1}$)، وخلصوا إلى كون طريقة DPPH تتميز بسهولتها وسرعة إعطاءها لقيم تُعبِّر عن الفعَّالية المضادة للأكسدة للمادة المختبرة.

كما أنَّ تطبيق طريقة DPPH المربوطة إلى تقانات أخرى مثل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC سمح للباحثين تحديد المركبات المسؤولة عن الفعَّالية المضادة للأكسدة، حيث تمكن (Dukić وزملاؤه،2010)، من تحديد المركب المسؤول عن الفعَّالية المضادة للأكسدة لزيت الآس (*Myrtus communis* L.) بعد الفصل على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC وهما 1,8-Cineole و Methyl Eugenol عند مقاطعة النتائج المتحصل عليها من استخدام كلا التقنيتين TLC و Spectrophotometer. وتمكن Saleh وزملاؤه (2010) أثناء تقييم الفعَّالية المضادة للأكسدة لـ (248) زيتاً عطرياً من عائلات مختلفة بطريقة الـ DPPH المربوطة على TLC، من تحديد زيوت عطرية تتبع (17) نوعاً نباتياً فقط (5 منها من الشفويات)، أظهرت فعَّالية مثبطة لـ DPPH بنسبة (90%) عند التركيز (5 ملغ.مل$^{-1}$)، وكانت المركبات الفعَّالة والمكتشفة في التقانة TLC تتضمن أشكالاً مختلفة من المركبات الكيميائية من الفينولية وغير الفينولية، والمركبات الأوكسيجينية وغير الأوكسيجينية.

أظهرت زيوت عطرية مختلفة تتبع نوع البردقوش (*Origanum vulgare L.*)، جُمعت من مناطق مختلفة من تونس فعَّالية مضادة للتأكسد جيدة نسبياً، إلا أنها فعَّاليتها المضادة للأكسدة تفاوتت بين المناطق،

وفُسِّر ذلك تبعاً لتغير نسبة مركب الثيمول Thymol وهو المركب الرئيس في الزيت العطري (Mechergui وزملاؤه،2010).

وجد Barra وزملاؤه (2010) أنَّ هناك فعَّالية مضادة للأكسدة ذات درجة مرتفعة يتمتع بها الزيت العطري لشجرة الاوكالبتوس (*E.camaldulensis*) النامية برياً في أجزاء مختلفة من ساردينيا في إيطاليا، وكان تلك الفعَّالية كانت تتغير تبعاً لتغير التركيب الكيميائي الذي كان يتغير هو بدوره بتغير موعد الجمع ومكان انتشار وجمع النبات البري، ولكن بالعموم كانت المركبات التالية ***p***−Cymene و1,8-Cineole و-***β*** Phellandrene و Spathulenol و Crypton هي المركبات الرئيسة.

وكان الزيت العطري للخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) أكثر فعَّالية في منع حدوث ما يُسمى وباتباع طريقة الاكسدة البدائية لليبيدات Lipid Peroxidation، و طريقة كبح الجذر الحرّ الـ DPPH في تقييم الفعّالية المضادة للأكسدة لعدد من الزيوت العطرية، كان الزيت العطري للخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) متفوقاً على زيت النعناع الفلفلي (*M. x piperita* L.) واللبان (*Boswellia carteri*)، وكان لمركب Limonene فعَّالية مشابهة للزيت العطري للخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) على الرغم من عدم كونه المركب الرئيس فيه، في حين لم يُكسب مركب Limonene الزيت العطري لنبات (*Citrus x limon* L.) فعَّالية مضادة للأكسدة على الرغم من كونه المركب الرئيس فيه،(Yang وزملاؤه،2010).

وتمتلك المستخلصات المائية لأوراق أنواع من جنس الخزامى (*L.angustifolia* L. و*L.stoechas* L. و*L.dentata* L. و*L. Latifolia* L.) خواصاً مضادة للأكسدة، وكانت القيم المعبرة عن الفعَّالية المضادة للأكسدة هي (9.2 و12.5 و38.7 و65.1 ميكروغرام.مل$^{-1}$) للأنواع السابقة على التوالي، (Sariri وزملاء،2009).

وفي دراسة اسبانية لتقييم المحتوى الفينولي والفعَّالية المضادة للأكسدة باتباع طريقة كبح الجذر الحُرّ الـ DPPH، لستة نباتات طبية وعطريه تتضمن الخزامى الشمراخية Spike Lavender والخزامى اللافاندين Lavandin، فكان نبات الخزامى اللافاندين هو الأفضل بفعَّاليته المضادة للأكسدة، وخلُصتْ التجربة إلى وجود

علاقة ارتباط بين المحتوى الكُلي من الفينولات والفعَّالية الكابحة للجذر الحرّ الـ DPPH،(Parejo وزملاء،2002).

اختبرت وفق طريقة DPPH الفعَّالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية المستخلصة من الأجزاء الهوائية لأنواع مختلفة من جنس الخزامى (*L.luisieri* و.*L.stoechas* subsp والهجين *L. stoechas* subsp. *lusitanica* x *L. luisieri*) تنتشر جميعها في البرتغال، وبّينت الدراسة أنَّ الزيت العطري للنوع الأول والثاني هما الأكثر كفاءة لجهة الفعَّالية المضادة للأكسدة لكل منها، ولكن بفعَّالية كانت دائماً أقل من مركب BHT،(Matos وزملاؤه،2009).

تبين لدى Odak وزملاؤه (2015) تفوق زيت إكليل الجبلRosemary الغني بالمركبات (α-Pinene وCamphor و1,8-Cineole بالنسب 14.02 % و13.62% و13.02%) على زيت الخزامى Lavender الغني بمركب (1,8-Cineoleبنسبة 40.68 %) والتي بدورها تفوقت على الميرمية Sage (1,8-Cineole بنسبة 28.03%) لناحية القدرة الكانسة للجذر DPPH لكل منها، وكانت نسبة الكبح المئوية للفعَّالية تقارب (20 و15 و3)% عند استخدام التركيز(20 غ.لتر$^{-1}$) من الزيوت الثلاثة السابقة على التوالي، وعلى الرغم من كون المركب 1,8 cineole يتواجد في الزيوت الثلاثة، إلا أنَّ الفعَّالية المضادة لأكسدة الزيت التي تمتع بها زيت إكليل الجبل ربما تعود للتأثير التآزري بين المركبات المكونة للزيت نفسه، مستندين إلى ما بيّنه Dawidowicz وOlszowy (2014) من كون الفعَّالية المضادة للأكسدة لمركب Camphor أحد المركبات الرئيسة في زيت الميرمية هي أُقل أو أضعف من فعَّالية الزيت نفسه في كبح الجذور الحرة عموماً، وفي السياق ذاته أشار دراسة Tepe وزملاؤه (2005)، إلى أنَّ α-Pinene و β-Pinene و Camphor وBorneol تتمتع كل منها بضعف فعَّاليتها كمضاد أكسدة، في حين أشارت دراسة أحدث لـ Raškovi وزملاؤه (2014) إلى أنَّ الزيوت العطرية لإكليل الجبل Rosemary ذات التركيب الوافر من المركبات الثلاث 1,8-Cineole و Camphor وα-Pinene هي مضادات أكسدة قوية. وتشير دراسة Zengin وBaysal (2014) إلى الفعَّالية الضعيفة لمركب 1,8 Cineole كمضاد أكسدة وفقاً لطريقة FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) وإلى انعدام فعَّاليته في كبح الجذر الحر DPPH.

قام Malika وLaib (2012) بتحديد التركيب الكيميائي والفعَّالية المضادة للأكسدة للزيت العطري المستخلص من الأزهار الجافة للخزامى (*L.stoechas* L.) فكانت النتائج تشير إلى احتواء الأزهار الجافة

للخزامى البرية للزيت العطري بنسبة (3.4 مل.100غرام$^{-1}$)، وكان التركيب الرئيس للزيت العطري ممثلاً بالمركبات Linalyl Acetate بنسبة (15.26%) وLinalool بنسبة (10.68%) و 1,8 Cineole بنسبة (10.25%) ومركب γ−Terpinene بنسبة (11.2%) ومركب Camphor بنسبة (11.25%)، فأظهرت النتائج أنَّ للزيت العطري للخزامى (*L.stoechas* L.) فعَّالية مضادة للأكسدة بنسبة (63.01%) هي أقل من فعَّالية فيتامين E بنسبة (90.94%)، حيث اختزل تطبيق فيتامين E من التركيز الكابح النصفي اللازم لتثبيط (50%) من تركيز DPPH الموجودة في المحلول الميثانولي (IC50)، وكذلك خفض من زمن الكبح النصفي اللازم لتثبيط (50%) من تركيز الـ DPPH الموجودة في المحلول الميثانولي(TC50)، وتشير دراستهم إلى أنَّ أحد المركبات الرئيسة في الزيت العطري وهو Camphor يملك خواصاً مضادة للأكسدة، وبأنَّ النسبة المنخفضة (0.9 %) لمركب Carvacrol في زيت الخزامى (*L.stoechas* L.) قد أدّت دوراً مهماً في منح الزيت العطري للخزامى (*L.stoechas* L.) قدرةً على كبح الجذور الحرة لـ DPPH.

وجد Hui وزملاؤه (2010) أنَّ للزيت العطري للخزامى – دون الاشارة للنوع – فعَّالية مضادة للأكسدة تجلت في تثبيطه ومنعه لعمليات الأكسدة الأولية لحمض اللينوليك Peroxidation of Linoleic Acid.

وجد Marín وزملاؤه (2016)، أنَّ لزيت الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) فعَّالية كانسه للجذر الحرّ الـ DPPH وحقق نسبة تثبيط (33.54%)، وكان التركيز المثبط النصفي IC50 (31.3 ملغ.مل$^{-1}$) متفوقاً على زيت الشمرة الذي حقق تثبيطاً مقداره (21.17%) وبتركيز نصفي IC50 (45.89 ملغ.مل$^{-1}$).

أكد Goudjil وزملاؤه (2015) فعَّالية زيت أوراق الغار النبيل (*Laurus nobilis* L.) والذي يحوي (1,8-Cineole(45%)) في تثبيط وكنس (50%) من الجذر الحر DPPH بتركيزIC50 (72.78 ميكروغرام.مل$^{-1}$) في حين كانت القيمة أقل بكثير عند تطبيق حمض الأسكوربيك IC50 (6.42 ميكروغرام.مل$^{-1}$).

أجرى Kazemi (2015) تقييماً للفعَّالية المضادة للأكسدة بطريقة الـ DPPH التي يمتلكها الزيت العطري للقيصوم (*Achillea Wilhelmsii*) من العائلة النجمية والذي يحوي على مركبي Linalool و1,8-Cineole بالنسب (10% و6%)، فكان التركيز المثبط النصفي IC50 (17 و20 و21 و7 ميكروغرام. مل $^{-1}$) لكل من الزيت العطري وLinalool و1,8-Cineole وحمض الأسكوربيك على التوالي.

2. 6. الدارسات الجزيئية والقرابة الوراثية في جنس الخزامى :

تطورت خلال العقدين الأخيرين كل من عمليات تسريع عمليات تضخيم الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين (DNA)، باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) وطرائق السلسلة (اليدوية أو المؤتمتة Manual or Automated Sequencing Systems)، وكذلك تطورت الأنظمة البرمجية الرقمية المرتبطة بكل منها، مما أتاح لتطبيقات المعلمات الجزيئية توضيح الخرائط الصبغية للعديد من الأنواع والمحاصيل الرئيسة وفي مرحلة لاحقة ربط الجين ذو الصلة بالصفات المُهمة وتحديد مواقعه (Mimura وزملائه،2012).

ويُسهم استخدام تطبيقات معلمات الـ DNA في بحوث النباتات في المساعدة في برامج التربية وفي انتقاء الطرز والأنماط الوراثية المميزة، كما أنها تفيد في دراسة التنوع الحيوي وإجراء البصمات الوراثية للأنواع السائدة (Costa،2010)، وحفظ التنوع الوراثي في تلك المحاصيل (Kuma وزملائه،2011).

و استثمرت تقانة المعلمات الجزيئية في مجال النبات العطرية والطبية في تحقيق أغراض مُهمة مثل تقييم التنوع الوراثي في الأنواع المعرضة للخطر Endangered Species، وفي تحديد القرابة بين المحاصيل العطرية المزروعة، وفي معرفة الارتباط بين التركيب الكيميائي والطرز الوراثية للنبات العطري، وكانت أهم التقانات المستخدمة هي SSRs وRAPD وAFLP وISSR وITS التي طبقت على نباتات طبية وعطرية تُعدّ أساسية ضمن من العائلة الشفوية Lamiaceae وغيرها من العائلات النباتية، (Yadav وزملاؤه، 2013).

وتُعدّ طريقة ISSR سريعة وبسيطة والتي تجمع مزايا الطرق الثلاث: تقنية التكراريات التسلسل البسيطة (SSRs) وتقنية التباينات في أطوال القطع المتضاعفة من الـ DNA (AFLPs)، وتقنية التعددية الشكلية لقِطَع الـ DNA المُكاثرة عشوائياً (RAPD)، وتُعد التكرارية العالية لطريقة الـ ISSR والتي تصل (99%) من أهم ميزات تقانة ISSR، إذ تعتمد طريقة ISSR على تضخيم الـ DNA بتفاعلات الـ PCR باستخدام مرئسات Microsatellites as Primers في تفاعل واحد ينتج قطعاً مضخمة من تتابعات ISSR مختلفة الأحجام، وتسمح طريقة الـ ISSR بتقييم درجة القرابة بين الأنواع وهي تفضي إلى نتائج موثقة وهي منخفضة التكاليف مقارنة مع غيرها من طرق المعلمات الجزيئية، كما أنها سهلة التطبيق،(Rodrigues ،2010).

تتمتع أنواع جنس الخزامى المنتشرة طبيعياً بقابليتها للتهجين Capacity for Hybridization فضلاً عن تقلباتها الشكلية، وهذا ما دفع الباحثين Prazeres وزميله Velho لإجراء دراسات تصنيفية وجزيئية انواع الخزامى المنتشرة في البرتغال ومن ثم ربط الصفات المظهرية للطرز السائدة بنتائج الدراسات التصنيفية والجزيئية، تم نشر ملخص باللغة البرتغالية عام (2014)، شملت الدراسة المورفولوجية Morphometric study28 عينة تضم (12 عينة) من المعشبة الوطنية INIAV بمعدل (2 عينة) من كل من الأنواع وتحت الأنواع التالية (*L.angustifolia* L.) و*L.dentata* L. و *L. multifida* L. و *L.pedunculata* L. و *L.stoechas* L. و *L. stoechas luisieri* L.) و(16 عينة) تم جمعها من مناطق مختلفة من البرتغال، حيث قاموا بدراسة الشبه بين العينات المجموعة والمصنفة جميعها بطريقة UPGMA، وبحساب معامل DICE استنادا إلى (50) صفة Characters توزعت بين (10) صفات كمّية Qualitative مثل (طول الحامل الزهري وعدد الأزهار) و(40) صفات نوعيّة Quantitative مثل(نمط القنابات (عقيم/خصب)،الغطاء الشعري، لون الأزهار (أخضر، بنفسجي، بنفسجي مزرق))، أظهرت الدراسة المورفولوجية المعتمدة على طريقة UPGMA وبحساب معامل Dice توزعت (27) من العينات المدروسة في 3 مجموعات وانعزلت إحدى عينتي النوع (*L.dentata L.*) بشكل مستقل، وأظهرت الدراسة اجتماع عينتي النوع (*L.stoechas* L.) مع العينة المتبقية من النوع الفرنسي (*L.dentata L.*) في المجموعة الثالثة، وكانت عينتا النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) قريبتا الشبه إلى تحت النوع (*Lavandula stoechas luisieri*) في المجموعة الأولى وضمت المجموعة الثانية عينات النوعين (*L. multifida* L.) و(*L.pedunculata* L.)، وأجرى الباحثين Prazeres وزميله Velho دراستهم الجزيئية على العينات المجموعة فقط (16)عينة، والتي لم تفصح المقالة عن تصنيفها النهائي– وذلك بتطبيق تقانة الـ ISSR وباستخدام (11) مرئسةً عشوائية، وكانت نواتج التضخيم ضعيفة أو عديمة الوجود في معظمها باستثناء المرئستين الأولىIRSS1 والثانية IRSS2 اللتين تميزنا بعدد الحزم الكلية (15 و18) حزمة على التوالي بتعددية شكلية تفوق (90 %) لكل منهما. وأشارت مخرجات دراستهم الجزيئية لـ (13) من العينات البرية العائدة لجنس الخزامى إلى انقسام شجرة القرابة الوراثية العنقودية لها إلى ثلاث مجموعات رئيسة (1و2 و3) كان التباعد فيما بينها (60%)، توزعت فيها الطرز بمقدار (2 و8 و3) على التوالي.

قام Hnia و Mohamed (2011) بدراسة التنوع الوراثي بين ثمان من التجمعات الطبيعية للخزامى من النوع (*L. multifida* L.) المنتشرة في مناطق مناخية مختلفة من تونس، بإتباع طريقة المعلمات الجزيئية RAPD، استخدموا فيها (7) مرئسات أعطت (84) حزمة متباينة شكلاً من أصل (97) حزمة إجمالية فكانت التعددية شكلية (86.6)% للمرئسات المستخدمة بالمجمل، فكان التنوع الوراثي خلال تلك التجمعات عالياً واختلف باختلاف التجمعات ($0.308<H'<0.459$) دون الإشارة إلى الارتفاعات والمؤشرات الطبوغرافية الأخرى، وكان الاختلاف الوراثي بين التجمعات الوراثية كبيراً أيضا، ($Phi_{ST}=0.318$ $G_{ST}=0.395$)، وأظهرت تحاليل the Neighbor-Joining Cluster Analysis أنَّ الأفراد من كل تجمع قد ارتبطت بشكل عنقودي فيما بينها، وأظهرت تحاليل UPGMA Cluster Analysis أنَّ التجمعات الفئوية Population Groupings ليست محصورة بالتوافق مع المناخات أو المواقع الجغرافية Geographic Location، وإنّ الاختلاف الوراثي Genetic differentiation بين نباتات الخزامى(*L. multifida* L.) يمكن لها أن تحدث في المستوى المحلي بسبب الانزياحات الوراثية.

تمّت دراسة التنوع الوراثي Genetic Diversity وتركيب المجتمع النباتي Population Structure لـ (20) تجمعاً نباتياً تنتمي لنوعين من الخزامى (*L.stoechas* L.) و(*L. multifida* L.) والمجموعة من مناخات حيوية Bioclimates مختلفة، تم تحليلها باستخدام سبعة من الـ *Isozymes* * ، وكان التباين بين تجمعات (*L. multifida* L.) أكبر مقارنة بذاك التباين الملاحظ في النوع (*L.stoechas* L.)، فكان التركيب الوراثي للتجمعات من مناخ واحد غنياً وحقيقاً Substantial، في حين التباعد الوراثي بين الثنائيات منخفضاً، وأظهرت تحليل UPGMA أنَّ التجمعات من كل نوع لم تكن مرتبطة ومتقيدة مع بعضها وفقاً للمناخات الحيوية والتقارب الجغرافي، وتوافقت نتائج التباعد الوراثي بين النوعين المدروسين المتحصل عليها من خلال نظائر الأنزيمات نتائج الدراسة التصنيفية والمعاملات المورفولوجية، (Chograni وزملاؤه،2008).

*** استخدم مصطلح Isozymes لأول مرة في عام (1959) من قبل Markert وزميله Møller، لوصف جزيئات من البروتينات تختلف بالتسلسل الأميني والخواص الفيزيائية ولكنها تظهر نفس التخصص الأنزيمي Enzymatic Specificity وتحفز نفس التفاعل، وتشير الكلمتان "Isozyme و"Isoenzyme " إلى نفس المعنى، ولكن الأولى هي المعتمدة من الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية.**

أظهرت التحاليل الوراثية المعتمدة على تقنية ISSR وباستخدام (12) مرئسةً تمييز وجود (170) حزمة من أصل (176) حزمة كلية فكانت التعددية الشكلية بالنسبة 96.59 % بين (11) نمطاً وراثياً من النعناع Mint تُزرع وتنمو في الصين، وأظهرت شجرة القرابة توزع تلك الأصناف المزروعة في أربع فئات،(Leyunchen وزملائه،2008).

وجد (Mali وزملاؤه، 2009) أنَّ تطبيق تقنية ISSR على (7) أصناف مزروعة من الزعتر Thyme أظهر وجود التعددية الشكلية بنسبة (91.84%) وكان التشابه الوراثي متراوحاً بين (0.34 و0.76)، وانقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى ثلاث مجموعات.

الفصل الثالث

مواد البحث و طرائقه

Methods & Material

3. مواد البحث وطرائقه Materials & Methods

3-1. مكان وزمان إجراء التجارب Time and place of experiments

نُفذَّ هذا البحث في كلية الزراعة بجامعة دمشق خلال الفترة (2013–2017م)، حيث تمَّت أجريت زراعة لعدد من نباتات الخزامى في مزرعة كلية الزراعة خلال فترة التجربة كاملة، وأُجريت عمليات التقطير المائي للزيوت العطرية في قسم المحاصيل الحقلية، واختبرت الفعّالية الحيوية لأنواع من الخزامى كمبيداتٍ حشرية في مخابر مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية في كلية الزراعة بجامعة دمشق، وأُجريت التحاليل الكروماتوغرافية للزيت العطري في مخابر قسم التقانات الغذائية والصناعية بالهيئة العامة للتقانة الحيوية. وأجري الشق الجزيئي من البحث واختبارات القرابة الوراثية بين أنواع جنس الخزامى في مخبر التقانة الحيوية في كلية الزراعة. في حين أُجريت اختبارات التضاد الجرثومي والفطري في مخبر التحاليل الجرثومية في مديرية الشؤون الفنية والجودة والمخابر في وزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك.

3-2. المادة النباتية Plant material

شَغل الحصول على المادة النباتية لأنواع جنس الخزامى وتصنيفها حيزاً كبيراً من زمن البحث كونه ارتبط بحتمية توافر الأزهار أثناء الجمع بغية التصنيف الدقيق، حيث شهدت فترة الربيع وكامل فترة الصيف في الأعوام (2013–2015م) إجراء عمليات متواصلة من الاعتيان النباتي للمادة النباتية المدخلة من جنس الخزامى إلى القطر العربي السوري والمنتشرة في مشاتل مدينة دمشق واللاذقية، والذي أشارت الاستطلاعات الأولية إلى احتمال توزعها بين ثلاثة أنواع (*L. Dentata* L. و *L.angustifolia* L. و*L. latifolia* L.) وثلاثة من الهجن (*L.x allardii* و *L.x intermedia* و *L.x heterophylla*) وتضمَّنت المادة النباتية المنتشرة طبيعياً على النوع (*L.stoechas* L.) فقط، والذي تمَّت دراسته في أحد مواقع انتشاره الطبيعي في سهول وادي قنديل–اللاذقية، ومن أجل جمع المادة النباتية قمنا بتنظيم استمارة اعتيان خاصة، واستخدام كاميرا رقمية عالية الدقة وكذلك تمَّ الاعتماد على خرائط Google الالكترونية وخدمة GPS لتحديد الإحداثيات الجغرافية اللواتي توفرهما الشبكة الخلوية المحلية.

3-3. طرائق البحث:

3-3-1. الدراسة التصنيفية والمورفولوجية Taxonomical and Morphological Study

أرفقت مع كل عينة استمارة اعتيان سجل عليها أهم المؤشرات المورفولوجية لتمييز أصناف الخزامى الموصي بها من قبل الاتحاد الدولي لحماية الأصناف الجديدة (UPOV،2002) والمفاتيح التصنيفية الخاصة بجنس الخزامى (Tim Upson،2002)، وانقسمت البيانات المُسجّلة إلى نوعين: **بيانات حقلية** (الرقم، مكان الاعتيان، تاريخ الاعتيان، ارتفاع النبات، لون الأوراق الفتية والمعمرة، لون النبات عموماً، شكل الأوراق وطولها بالمتوسط، طول الفرع الرئيس الأقدم في النبات مع تقدير العمر، طول حامل النورة، النسبة المئوية لتفرع الشماريخ الزهرية الثلاثية، موقع خروج الحامل الزهري من غصن قديم أم جديد، شكل السنبلة (مخروطي/ مخروطي مقطوع)، طول أكبر زهرة وأصغر زهرة، وجود تباعد بين السيمات، وجود رزمة زهرية بعيدة)، و**بيانات مخبريه** مثل (لون التويج، وطول الورقة الحاملة وشكلها، وجود أو عدم وجود الوريقات القاعدية).

وكذلك قمنا بتوثيق الاعتيان بأخذ الصور الحقلية والمخبرية، وقمنا باعتماد نتائج الدراسة التصنيفية بعد الرجوع إلى أساتذة التصنيف النباتي في كلية الزراعة، ومن ثمَّ ترجمة البينات المجموعة إلى توصيف مورفولجي لكل نوع أو هجين مدروس.

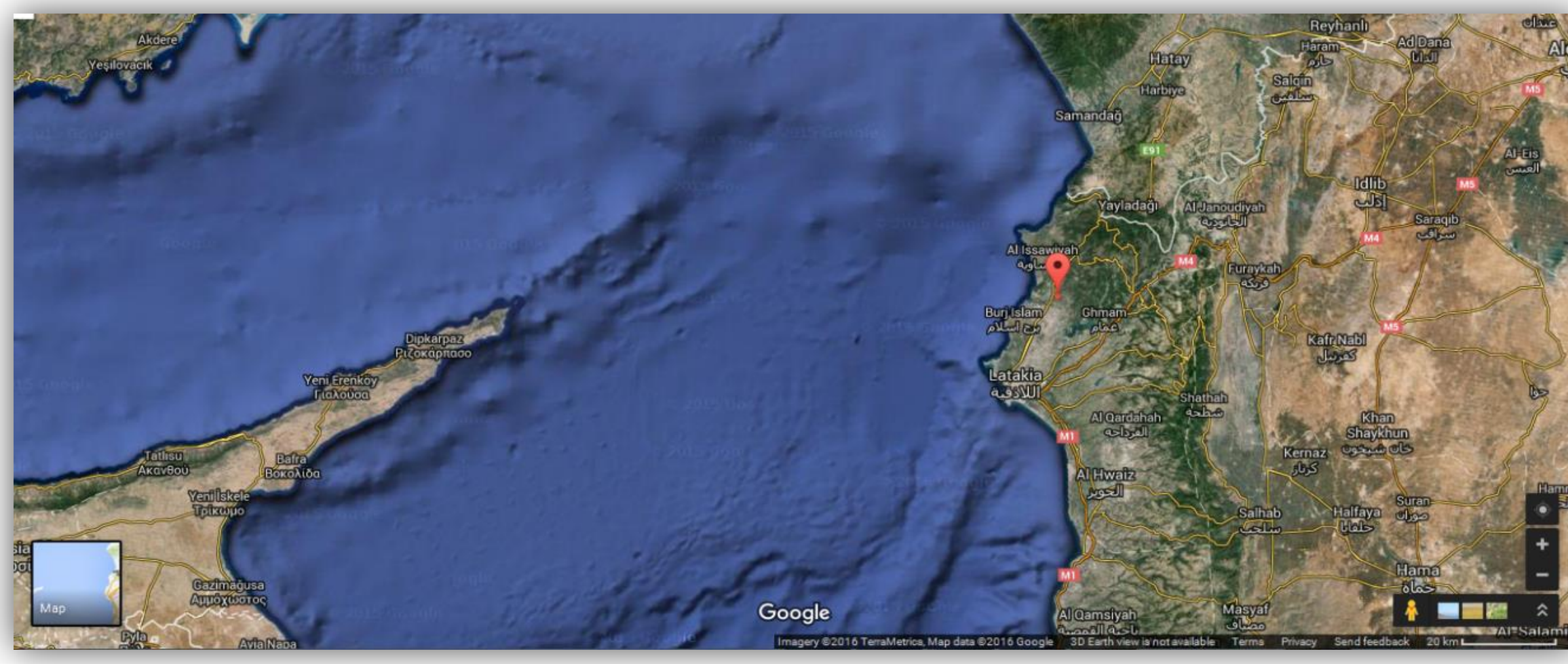
وفي مرحلة لاحقة قمنا بانتقاء أهم الصفات المورفولوجية النوعية المميزة لكل نوع وهجين، وتنظيمها في جدول ومنح الصفة الرمز (1) عند وجودها لدى النوع/ وقيمة (0) عند عدم وجودها، ومن ثمَّ قمنا بتحديد درجة التشابه في بعض الصفات المورفولوجية بين الأنواع والهجن المدروسة بحساب معامل Dice (Dice، 1954)، وبإجراء التحليل العنقودي تمَّ برسم شجرة التشابه بين الأنواع والهجن المدروسة من جنس الخزامى.

3-3-2. اعتيان الخزامى البرية (*L.stoechas* L.):

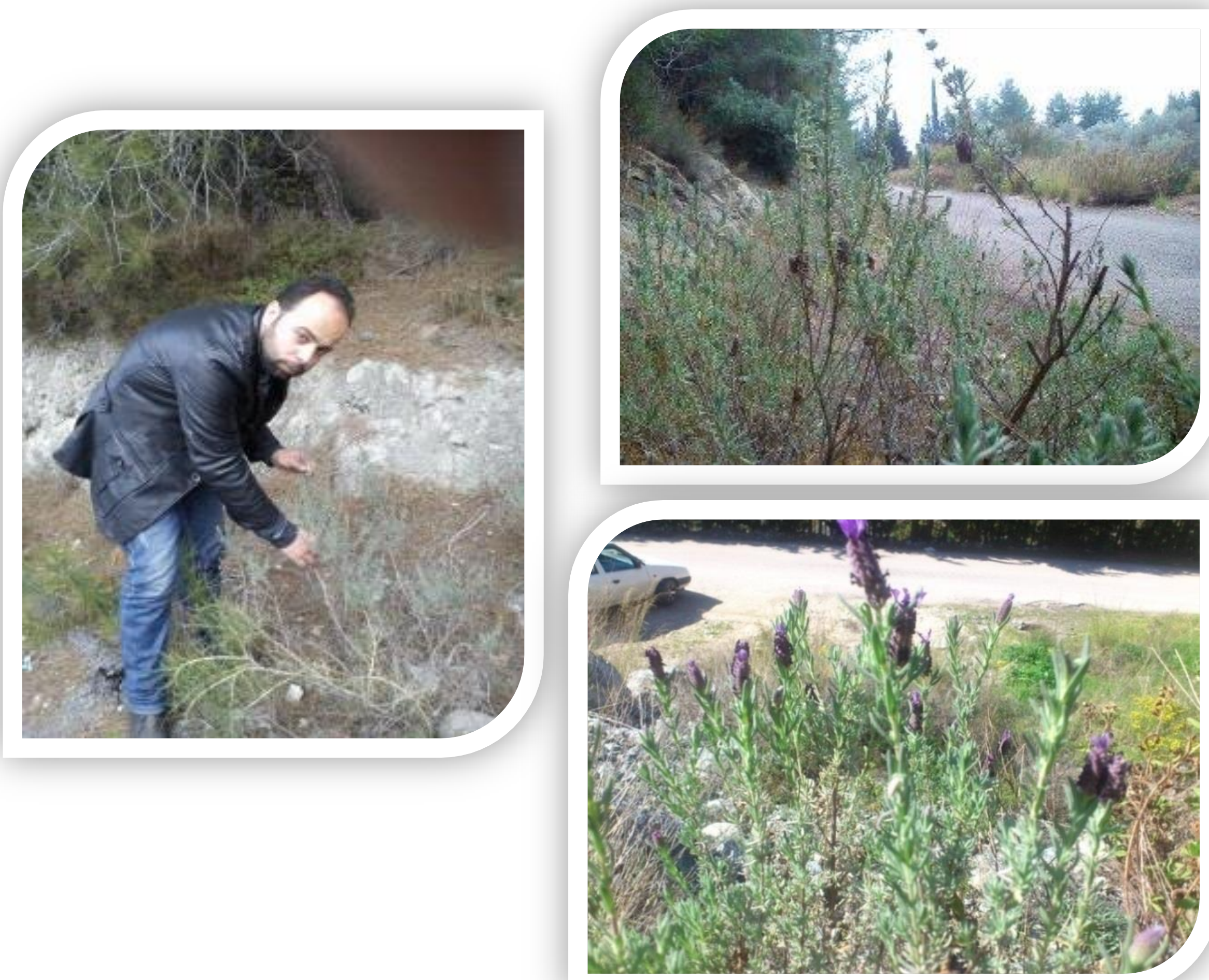
أشارت العديد من الدراسات الحديثة إلى وجود الخزامى البرية (*L.stoechas* L.) في سهول وجبال شمال اللاذقية، لذا قمنا بالتجوال الحقلي ضمن السهول الجبلية لمدينة اللاذقية خلال الفترة (2013-2014م)، وتمكنّا من العثور على جنبات برية من الخزامى البرية في سهول ووادي قنديل (20)كم تقريبا شمال اللاذقية، تصل شرقا حتى (7) كم عن خط الشاطئ، قد انتشرت على أطراف ما تبقى من تجمعات الصنوبر البروتي (*Pinus brutia*) المنتشرة في السهول الساحلية في اللاذقية.

ونظراً لاقتصار دراستنا على النواحي الكيميائية والجزيئية والحيوية لأنواع الخزامى، وابتعاد الدراسة بطبيعتها عن طابع الدراسات البيئية قمنا بانتقاء موقع واحد من القرية نفسها من أجل الاعتيان الذي تمَّ بشكلٍ جزئي وموزع على مدار أعوام الدراسة، وذلك لئلا يؤثر سلباً في توزع وانتشار النبات في أحد مناطق انتشاره الطبيعي ومن أجل نفي التداخلات الحاصلة في التركيب الكيميائي والجزيئي الناتجة عن أخذ عيّنات متباعدة من أكثر من موقع وترك المجال للدراسات القادمة في حصر وتصنيف الطرز الوراثية المتاحة من هذا النوع في دراسات متخصصة تمَّنح هذا النوع الاهتمام الذي يستحق.

تمَّ الحصول في كل مرة على أصغر كمية ممكنة من المادة النباتية (رؤوس مزهرة وأوراق) من ثلاث نباتات متوزعة في الموقع المختار ذو الإحداثيات (35°43'13.4"N, 35°53'44.3"E)، الذي يرتفع (88.25) متر عن سطح البحر ويبتعد (5950) متر عن خط الشاطئ، بحيث تكفي لإجراء التحاليل المخبرية ذات الصلة وتمثّل النوع المدروس في الموقع نفسه (Boti وزملاؤه،2006). ويبيّن الشكل رقم.(1) موقع اعتيان الخزامى البرية، ويبيّن الشكل رقم.(2) جنبات الخزامى البرية (*L.stoechas* L.) المنتشرة ضمن موقع الاعتيان.



الشكل رقم(1). موقع جمع الخزامى البرية (*L.stoechas* L.) من أحد مناطق انتشاره الطبيعي في اللاذقية.



الشكل رقم (2). جنبات معمرة من الخزامى البرية (*L.stoechas* L.) على أطراف الغابة وإلى جانب الطريق.

3-3-3. استخلاص الزيوت العطرية والتحليل الكروماتوغرافي:

3-3-3-1. طريقة العمل:

جُمعت عينات من الرؤوس المزهرة والأوراق الخضراء للأنواع والأصناف المتمايزة تصنيفياً، نُظفت من الغبار والأتربة والأجزاء المصابة والمواد الدخيلة، وتُركت بعدها لتجف في الظل مُدة (5-7)أيام مع التقليب الدوري، وسُجّلت أوزانها. قُطِّرت الرؤوس المزهرة الصغيرة كما هي مع الجزء الذي تغطيه من الحامل الزهري، أمّا الرؤوس المزهرة كبيرة الحجم فقد قُسمت إلى أقسام صغيرة، أمّا الأوراق فقد تمَّ طحنها. وُضعت العينة بوزن (35-50 غرام أزهار/ 50-75 غرام مسحوق أوراق) في حوجلة سعة (2 لتر) وأُضيف لها (1.2 لتر ماء مقطر) وضع بعد ذلك وصلة التقطير والمكثف، رُفعت حرارة السخّان الكهربائي تدريجياً واستمرت عملية التقطير مُدة (2.5-3 ساعة) كانت كافية لتثبت عندها كمية الزيت المفصولة والطافية في الجزء المدرج، سُجّلت القراءة (مل). بعدها أُفرغت الطبقة المفصولة من الزيت العطري في عبوات زجاجية عاتمة اللون، بَعدْ أنْ تمَّ التخلص من الماء العالق مع الزيت العطري باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية (Na_2SO_4)، حُفظ الزيت في حرارة (-20مْ) لحين التحليل الكروماتوغرافي والاختبارات الحيوية الميكروبية والحشرية.

ويُعزى الاختلاف بالكمّية المستعملة أثناء التقطير من كُل من الأوراق والرؤوس المزهرة، إلى انخفاض محتوى الأوراق من الزيت الطيّار مقارنة بمحتوى الرؤوس المزهرة عموماً مما اقتضى استخدام كمّية أكبر من الأوراق، بالإضافة إلى ضرورة توافر حركة منظمة للمادة العشبية أثناء عملية التقطير وهو يتعلق بالحجم المشغول داخل الدورق بعد تشرب المادة العشبية للماء مما أدّى إلى ضبط الكمية تجريبياً، وكذلك فإن صعوبة الحصول على كمية من الرؤوس المزهرة تكفي لإجراء عملية التقطير على ثلاث مكررات وخصوصاً فيما يتعلق بالنوع البرّي.

3-3-3-2. الفصل الكروماتوغرافي للزيوت الطيارة وتحديد هوية مركباتها بتقانة GC-MS:

أُجري التحليل للزيوت العطرية لجنس الخزامى حديثة الاستخلاص على جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC- Agilent (Model: 7986) الموصول على وحدة الكشف بالطيف الكتلي (Inert-MS) من Agilent, USA والمتوافر لدى مخابر قسم التقانات الصناعية الغذائية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، العمود

الشعريHP 5MS من Teknokroma, Spain بالأبعاد 30m * 0.25 mm * film thickness 0.25µm ، مجهز بحاقن آلي، (شكل رقم (G)،في ملحق الأشكال)، وطُبقت الشروط: الهليوم كغاز الحامل بمعدَّل تدفق (1 مل.دقيقة$^{-1}$) حجم الحقنة (1 ميكرولتر) من عينة الزيت الممددة بالهكسان وفق النسبة (80:20)؛(زيت عطري: نظامي الهكسان)؛(حجم:حجم)، وبمعدَّل تجزئة(1:100)، وَحقنت آلياً عند درجة الحرارة (250 مْ)، وطُبق عليها حرارة ابتدائية (60 مْ) ترتفع تدريجياً حتى (64 مْ) بمعدَّل (1 درجة سْ.دقيقة$^{-1}$) ثمَّ ترتفع تدريجيا حتى (155 مْ) بمعدَّل (2.5 درجة مْ.دقيقة$^{-1}$) ثمَّ ترتفع تدريجياً حتى (250 مْ) بمعدل (5 درجة مْ.دقيقة$^{-1}$) ليكون زمن الحقن الإجمالي (63 دقيقة). وضُبط كاشف المطيافية بالشروط : درجة حرارة مصدر الأيونات على حرارة (230 مْ)، وكان مجال المسح ضمن (30-450 إلكترون ڤولت) وطاقة مصدر الأيونات (70 إلكترون فولت)، قُورنت بيانات الطيف الإلكتروني لكل مركب مفصول باستخدام المكتبة الداخلية (Mass (NIST Spectral Library، واعتمدت الخيارات الأكثر احتمالاً مع أخذ معامل الفصل المحسوب Estimated Retention Index ومعامل الفصل المرجعي Reference Retention Index بعين الحسبان عند تشابه نسبة الاحتمالية بين مركبين.

3-3-4. دراسة الفعّالية المضادة للبكتريا والفطور لأنواع من جنس الخزامى:

3-3-4-1. مواد البحث:

الزيوت العطرية للأنواع والهجن من جنس الخزامى، المستخلصات النباتية ويتم تحضيرها وفقاً(Cavanagh وWilkinson،2006)، مواد نقية معيارية من المركبات (1.8 Cineole،Linalool،β-Pinene،α-Pinene،Camphor) من شركة(Sigma-Aldrich)، أوساط زرع وتنمية ميكروبية عامة (وسط مغذي صلب (MHA) Müller-Hinton agar وآخر مغذي سائل Nutrient Broth خاصان بالتنمية العامة للجراثيم، وسط آغار ديكستروز البطاطا (PDA) Potato Dextrose Agar وآخر بلا آغار على هيئة مرق مغذي (PDB) Potato Dextrose Broth يستخدمان لتنمية وإكثار وعزل الفطور والخمائر)، أوساط تنمية ميكروبية انتقائية Selective Media (Salmonella shigella Agar و Triple Sugar Iron Agar متخصصان بتنمية وعزل السالمونيلا،Placam Agar متخصص بتنمية اللستريا المستوحدة، Baird

Barker Agar متخصصة في تنمية العنقودية الذهبية، MYP Agar متخصصة من اجل تنمية العصوية الشمعية، EC Agar لتنمية الايشرشيا كولاي، Cetrimide Agar متخصص في تنمية الزائفة الزنجارية)، محلول تمَّديد ميكروبي Peptone Water ومحلول ملحي عقيم (Saline Solution (% 0.9 NaCl، ومحاليل ماكفرلاند McFarland المعيارية (1.0 و0.5)، أقراص تحسس معيارية للمضادين الحيويين Pefloxacine وAzitromaycin، محلول معياري للمضاد الحيوي Amoxicillin، محلول نقي من Dimethyl Sulfoxide (DMSO)،شريحة ذات 96 حفرة (96-U bottom wells plate) سعة 0.3 مل من شركة (Flacon, Japan)، أقراص فلتر عقيمة (6 ملم)، اسطوانة مجوفة عقيمة لإحداث الحفر ضمن الوسط الصلب، ماء مقطر عقيم، ملاقط، مساحات قطنية، إبرة زرع ميكروبية، مصدر لهب، أنابيب زجاجية عقيمة، رجاج Vortex، أطباق بتري (9 سم).

3-3-4-2. الأحياء المختبرة:

تضمنت الدراسة ثمان عزلات بكتيرية تتبع سبع أنواع بكتيرية مبينة في الجدول رقم(1)، كما وتضمنت الدراسة عزلة من فطر *Aspergillus niger* وعزلة من فطر *Candida albicans*. أجريت اختبارات التحسس الميكروبي في مخبر التحاليل الميكروبية (مديرية الشؤون الفنية والجودة والمخابر بوزارة التجارة لداخلية وحماية المستهلك بدمشق) على عزلات متوفرة لديهم، باستثناء السلالة رقم 8 *Ps.aeru* تمَّ تأمينها من مختبرات الهيئة العامة للتقانة الحيوية – قسم التقانات الصناعية والغذائية.

الجدول رقم (1). السلالات والأنواع البكتيرية والفطرية المختبرة، وترميزها.

البكتريا	**البكـتريا موجـبة غـرام.**
	(1) العصوية الشمعية *Bacillus cereus.;B.cer* (2) العنقوديات الذهبية *. Staphylococcus aureus* NCTC 7464; *S.aur1*. (3) العنقوديات الذهبية. */Staphylococcus aureus.*; ATCC 6538 (4) المكورة المعوية البرازية *S.aur2* / (5) اللستريا المستوحدة. *Enterococcus faecalis.; E.fac* / *Listeria monocytogenes.; L.mono* .
	البكـتريا سالـبة غـرام.
	(6) السالمونيلا التيفية *Salmonella typhimurium.; S.typh* (7) ايشرشيا كولاي */Escherichia coli.; E.coli* (8) الزائفة الزنجارية */Pseudomonas aeruginosa.; Ps.aeru*
الفطور	***Candida Albicans.;C.alb* ،*Aspergillus niger.; A.niger***

3-3-4-3. الأجهزة: حجرة زرع ميكروبي عقيم، حاضنة جرثومية (عدد2) تؤمنان حرارة تحضين (37 مْ) لأنواع للبكتريا عموماً و(25 مْ) للفطور والخمائر، براد لحفظ المحاليل والأوساط المغذية، مجمدة لحفظ السلالات الميكروبية، مكبرة مع عداد ميكروبية، أوتوكلاف للتعقيم ، مُكبرة، كاميرا رقمية.

3-3-4-4. تحضير المستخلصات النباتية، (Cavanagh وWilkinson،2006):

3-3-4-4-1. المستخلص الايثانولي : وضع دورق يحوي (5)غ من مسحوق المادة النباتية المجففة مع (50) مل من الإيثانول النقي على حمام مائي رجاج مُدة 16 ساعة على حرارة (45 مْ) ، بعد انتهاء التحضين، تُرك الدورق ليبرد على حرارة الجو المحيط، وفلتر محتواه بورق الترشيح، ثمَّ وُضِع ناتج الترشيح في دورق صغير(50) مل وأُكمل حتى العلامة، وحُفظ المستخلص ذو التركيز (0.1 غرام.مل $^{-1}$) على حرارة (-20 مْ) لحين الاستخدام.

3-3-4-4-2.المستخلص المائي : غُلي مقدار (25) غ من مسحوق المادة المجففة في (250) مل من الماء المقطر مُدَّة 5 دقائق مع التغطية، بعد انتهاء مُدَّة الغليُ برِّد بعدها الدورق إلى حرارة الوسط المحيط وفُلتر بكل من ورق الترشيح Whatman.1 ومن ثمَّ بالفلتر الغشائي 0.45 ميكرون وأُكمل حتى العلامة في دورق سعة (250 مل)، وحُفظ المستخلص المائي (0.1 غرام.مل $^{-1}$) على حرارة (-20مْ) لحين الاستخدام.

3-3-4-5. طريقة البحث:

اختبرت الزيوت الطيارة لناحية فعّالية كل منها كمضاد لنمو البكتريا والفطور على خطوتين، في المرحلة الأولى اختبرنا تحسس البكتريا للزيت العطري بطريقة Disc–Diffusion Method الانتشار من القرص (Cavanagh وWilkinson،2006)، ومن ثمَّ في المرحلة الثانية قمنا بإخضاع السلالات البكتيرية والفطرية التي كانت الأكثر حساسية بنتيجة اختبارات المرحلة الأولى، وذلك لحساب التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى من الزيوت العطرية والمركبات العطرية لكلٍ من البكتريا والفطور، باتباع طريقة التخفيفات المتسلسلة بالمرق المغذي (Microdilution Broth Method).

3-3-4-5-1. اختبارات التحسس بطريقة Disc-Diffusion Method:

- شُرِّبت أقراص فلتر (6 ملم) معقمة ب (8 ميكرولتر) من كل من الزيت العطري والمركبات الأربعة المختبرة والمُحضَّرة وفقاً لثلاثة تراكيز (100%) و(50%) و(25%) في محلول عقيم من DMSO (10%) في حين غمرت أقراص الفلتر العقيمة في المستخلصات المائية والإيثانولية.
- استخدم نفس الحجم (8 ميكرولتر) من المضاد الحيوي (Amoxicillin) في محلول DMSO (10%) بالتراكيز (500 و250 و125 ملغ.100 مل$^{-1}$) للحصول على أقراص فلتر مشربة تحوي الكميات (10 و20 و40 ميكروغرام.قرص$^{-1}$) من المضاد الحيوي (Amoxicillin)، واستخدمت أقراص تحسس جاهزة لكل من (Azitromaycin؛15ميكروغرام.قرص$^{-1}$) و(Pefloxacine؛ 5 ميكروغرام.قرص$^{-1}$)، من Bioanalyse.
- وُزِّعت الأقراص المشربة على أطباق (9سم) من وسط MHA (19 مل؛ سماكة0.3 سم)، سبق ولقحت حديثاً بالسلالات البكتيرية باستخدام ماسحة قطنية تمَّ غمرها في معلق مغذي لكل سلالة بكتيرية أو فطرية، تركيزه (1.5x 10 ^{8}خلية مكونة مستعمرة.مل$^{-1}$)،تمَّ ضبطه باستخدام محلول معياري 0.5 ماكفرلاند.
- حُضنت الأطباق على حرارة (37مْ) مُدَّة (24 و48) للأنواع البكتيرية و*C.alb* على التوالي، وعلى حرارة (25 مْ) مُدَّة (72 ساعة) لفطر *A.niger*، سُجلت النتائج بعدها باستخدام مسطرة مدرجة بوحدة الـ (ملمتر) وذلك بقياس قطر الدائرة التي لم تنمو فيها البكتريا ناقصاً منه القيمة (6 ملم؛ قطر قرص ورق الترشيح) ومن ثمَّ تقريب قيمة القطر إلى أقرب رقم ملمتري، كررت العملية 3 مرات لكل تركيز وسلالة بكتيرية أو فطرية.
- اعتُبر كل من الصادات (Amoxicillin وAzitromaycin وPefloxacine) بمثابة شاهد إيجابي، قمنا بتطبيق كل من (DMSO وNutrient Broth (Nb) وPotato Dextrose Broth (PDB)) على حدى كشاهد سلبي.

3-3-4-5-2. اختبارات التحسس الفطري بطريقة Agar Well Diffusion :

1) أُضيف (10مل) المعلق الفطري لكل من *A.niger* و*C.alb* ذو التركيز (1.5 x 10^{8+} خلية مكونة مستعمرة.مل$^{-1}$) في مرق PDB المغذي، إلى (190 مل) سائلة من وسط الـ PDA المحضر حديثاً قبيل

تصلبه، ومُزج الخليط جيداً قبيل الصب في أطباق (9 سم؛ بمعدل 19 مل.طبق$^{-1}$؛ بسماكة 0.3 سم)، ليصبح عندها التركيز النهائي ($1.5x 10^{+7}$ خلية مكونة)، وتُترك لتتصلب بدرجة حرارة المخبر.

2) استخدمت اسطوانة بلاستيكية مجوفة في إحداث حفر بقطر (5.5 ملم) في الآغار المتصلب، وبمعدل (حفرة في كل طبق)، وملئت كل حُفرة بـ(50 ميكرولتر) من المادة المختبرة (زيوت عطرية، مركبات عطرية، مستخلصات مائية وكحولية)، وتركت مُدَّة نصف ساعة بدرجة حرارة المخبر، وضعت بعدها الأطباق بدون قلب في حاضنتين، الأولى على حرارة (25 مْ) مُدَّة 120 ساعة بالنسبة لفطر *A.niger* والثانية (37 مْ) مُدَّة 48 ساعة بالنسبة *C.alb* ، كُررت المعاملة ثلاث مرات.

3) بعد انقضاء مدة التحضين قِيس قُطر التثبيط المحيط بالحفرة باستخدام مسطرة مدرجة بواحدة (ملمتر)، وحسب متوسط القراءات الثلاث.

4) اعتبر المضاد الفطري (Clotrimazole) شاهداً إيجابياً، ومرق ((Potato Dextrose Broth (PDB) شاهداً سلبياً.

3-3-4-5-3. تحديد التركيز المثبط الأدنى (Minimum Inhibitory Concentration ;MIC) والتركيز القاتل الأدنى للبكتريا (Minimum Bactericidal Concentration;MBC) وللفطور (Minimum Fungicidal Concentration;MFC) بطريقة التخفيفات المتسلسلة بالمرق المغذي Micro Dilution Broth، واتبعت طريقة التخفيفات المتسلسلة بالمرق المغذي معدلة عن ما جاء في توصيات معهد المواصفات المختبرية والسريرية الأمريكي (CLSI،2012).

- التحضير للتجربة: استخدمت أنابيب عقيمة ومحلولي مائي عقيم من (DMSO 10%) في التحضير المسبق لسلسلة من عشرة تراكيز من محاليل الزيوت العطرية والمركبات الطيارة، بإتباع طريقة التمديد المضاعف الثنائي Two-Fold Dilutions، حيث تراوحت التراكيز ضمن المجال (0.5- 256 ميكرولتر.مل$^{-1}$)، وضمن مجال (0.4- 40 %، حجم/حجم، مستخلص/محلول تمَّديد عقيم).
- طريقة العمل: تنقل حجوم متساوية (50 ميكرولتر) من التراكيز المتتالية إلى الحجر المتتالية ضمن الشريحة ذات الـ 96 حجرة (حفرة)، لُقحت بعدها كل حفرة بحجم (150 ميكرولتر) من المعلق (الجرثومي/الفطري) المُعدّ مسبقاً ذو التركيز ($1x10^{6}$ خلية بكتيرية مكونة مستعمرة. مل$^{-1}$)، ليصبح محتوى سلسلة الحجرات من الزيوت

العطرية بالمجال (0.125-64 ميكرولتر.مل$^{-1}$)، غُطيت الشرائح وحُضنت على حرارة (37 مْ) مُدَّة (24) ساعة للبكتريا و(48 مْ) ساعة للفطور والخمائر، ومن أجل ضبط جودة اختبارات التحسس البكتيري اعتمدت قيم MICs وMBCs الناتجة عن تطبيق Amoxicillin وClotrimazole في تجربة موازية.

- أجريت العملية السابقة بمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز مختبر ومن أجل كل نوع من الأحياء الدقيقة المختبرة.
- من أجل قراءة النتائج وتحديد قيم MICs وMBCs بعد انتهاء فترة التحضين : اعتُبر أول تركيز صعوداً ضمن سلسة التراكيز تثبط عنده النمو المرئي للجراثيم/ الفطور (أي توقف تشكل العكر) هو بمثابة التركيز المثبط الأدنى MIC .
- أمّا من أجل تحديد قيم التركيز القاتل الأدنى MBC/MFC، تمَّ اللجوء عندها إلى فرش (0.1) مل من محتوى الحفرة الموافقة لـ MIC وما يليها من حفر رائقة المظهر صعوداً ضمن سلسلة التراكيز على أطباق MHA للبكتريا/ PDA للفطور (أو أحد الأوساط المتخصصة الانتقائية سابقة الذكر)، ويكون التركيز القاتل الأدنى MBC/MFC موافقاً لأول حجرة رائقة لا تشكل مستعمرات على طبق آغار، وقد يحدث ان ينعدم النمو في حفرة MIC فتكون هي حفرة MBC ذاتها، فيتساوى التركيزان (MIC=MBC).

3-3-5. دراسة الفعّالية المضادة للحشرات لأنواع من جنس الخزامى:

3-3-5-1. الأنواع الحشرية المختبرة : يرقات وحشرات كاملة من فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط، يرقات وحشرات كاملة من خنفساء الدقيق الصدئية (شكل (H) وشكل (I) ، ملحق الاشكال والصور).

3-3-5-2. مواد البحث: الزيوت العطرية المقطرة، المستخلصات النباتية (كحولية ونباتية)، أوعية زجاجية (سعة 780 سم^3) يُحكم إغلاقها بواسطة حلقات معدنية ضاغطة، دقيق القمح والسميد الناعم خاص بالتجربة الحشرية الخاصة بالفراشة والخنفساء، ورق فلتر .(1) Whatman، فيال زجاجية مزودة بأغطية أزيلت سدادتها المطاطية، خيوط وشبكة من النايلون، أبره وخز، ريشة، أطباق بتري.

3-3-5-3. الأجهزة: وحدة تربية نموذجية خاصة بفراشة طحين البحر الأبيض المتوسط *Ephestia kuehniella* Zeller، حواضن حشرية يمكن التحكم في درجة حرارتها ورطوبتها، غرفة تربية يمكن التحكم في درجة حرارتها ورطوبتها وشدة الإضاءة، ميزان حساس، مكبرة مزودة بكاميرا.

3-3-5-4. تقييم فعّالية الزيوت العطرية كمبيدات حشرية بالتبخير:

أولاً. تصميم تجربة تقييم كفاءة الزيت العطري على فراشة طحين الأبيض المتوسط ويرقاتها: دُرس الأثر التبخيري للزيت العطري للخزامى على فراشة الطحين بالطورين اليرقي (يرقات متشابهة ومتجانسة بعمر 8 يوم) والحشرة الكاملة (بعمر 1-2 يوم)، حيث شربت أقراص الفلتر الورقية Whatman.1 بكمياتٍ من الزيوت العطرية تحقق خمس تراكيز (5،10،25،50،100 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$)عند استخدام وعاء زجاجي عبارة عن مرطبان زجاجي شفاف ذو حلقات ضاغطة (حجم فضاءه الداخلي 875 سم^3)، وعُلق القرص المشرب بالزيت على السطح السفلي لغطاء الوعاء الزجاجي، الذي يحتوي بشكلٍ مسبق على (10) من اليرقات (أو الفراشات) و (15) غرام من القمح المطحون، أُغلق المرطبان بإحكام الحلقة الضاغطة، وتُركت معاملة الشاهد بدون إضافة زيتية (اختبرت كل معاملة بواقع ثلاث مكررات)، حُضنت الأوعية الزجاجية في غرفة التربية على حرارة (28 مْ)، أُخذت القراءات عند مضي (24 و48) ساعة من بدء التجربة (في القراءة الأولى فُتح الوعاء الزجاجي لإفراغ محتواه في طبق بتري من أجل إجراء قراءات الموت اليرقي، وأعيد محتواه إليه مجدداً من أجل القراءة الثانية)، واعتمد على عدم تحسس اليرقة أو الفراشة للوخز بالإبرة وعدم تحريك جسمها كمؤشر للموت،

واستخدمت معادلة آبوت المصححة (Abbott ، 1925) المبينة أدناه، من أجل حساب نسب الموت%، (الشكل (J)، توضح التجربة المخبرية).

$$\text{الموت \%} = \frac{(\text{الموت \% في يرقات المعاملة} - \text{الموت \% في يرقات الشاهد})}{(100 - \text{الموت \% في يرقات الشاهد})} \times 100$$

ثانياً. تصميم تجربة تقييم كفاءة الزيت العطري على خنفساء الدقيق الصدئية: دُرس الأثر التبخيري لخمس تراكيز (5،10،25،50،100 ميكرولتر.لترهواء$^{-1}$) من الزيت العطري للخزامى على طور اليرقة بعمر (10 يوم)، بإتباع طريقة التبخير Fumigation Methods وتعديلاتها الموصوفة في (Al–Sarar وزملاؤه،2014) و(Mahfuz وKhalequzzaman،2007)، وذلك باستخدام مرطبان زجاجي شفاف (حجم فضاءه الداخلي 875 سم^3) ذو حلقات ضاغطة، علق فيه على ارتفاع (2سم) من قعره بواسطة خيط بلاستيكي فيال زجاجية Glass Vial (سعة 1.5 مل) مفتوحة ومغطاة بشبكة نايلون (وُضِعَ فيها الزيت العطري المختبر حيث تسمح بتطاير الزيت إلى جو الوعاء)، أفرغ محتوى طبق بتري مجهز مسبقاً يحوي 10 يرقات في 15غرام من القمح المطحون، تلاها مباشرة إضافة كمية الزيت الموافقة للتركيز المتفق عليه، وأغلق المرطبان بإحكام الحلقة الضاغطة، تُركت معاملة الشاهد بدون إضافة زيتية، حُضنت الأوعية الزجاجية في حاضنة على حرارة (28 مْ)، حيث أشارت دراسة حديثه (Singh وPrakash، 2015) إلى نشاط يرقات الخنفساء في المجال الحراري (28-35مْ)، أُخذت القراءات عند مضي (24 و72 و120 و168 و216 ساعة)، ومع نهاية كل فترة كان الوعاء الزجاجي يُفتح لإفراغ محتواه في طبق بتري والإعادة، وكان عدم تحسس اليرقة/الفراشة للوخز بالإبرة وعد تحريك جسمها كمؤشر للموت)، واستخدمت معادلة آبوت المصححة من أجل حساب نسب الموت%،(كل معاملة بواقع ثلاث مكررات)،(الشكل (J)، في ملحق الأشكال والصور، توضح التجربة المخبرية).

3-3-5-5.تقييم الفعّالية الحيوية للمستخلصات النباتية للخزامى على بالغات خنفساء الدقيق الصدئية :

3-3-5-5-1. إعداد المستخلصات النباتية:

أولاً. المستخلص الإيثانولي: وضع دورق يحوي (12.5غ) من مسحوق المادة النباتية المجففة مع (50 مل) من محلول الإيثانول بالماء المقطر(80%) على حمام مائي رجاج مُدَّة 24 ساعة على حرارة (45 مْ)، بعد انتهاء التحضين، ترك الدورق لتبرد على حرارة الجو المحيط، وتمَّ فلترة محتواه بواسطة ورق الترشيح Whatman.1، ومن ثمَّ تركيز محتواه بواسطة مبخر دوراني، جُمع المستخلص بعدها في عبوة زجاجية عقيمة ونظيفة وأُكمل الحجم إلى (25 مل) بالماء المقطر كمحلول أُم تركيزه الحقيقي (50 %)، حيث تمَّ تركيز خلاصة (0.5غرام) من المادة النباتية في (1 مل) من المحلول النهائي، وحُفظ على حرارة (20 مْ) لحين الاستخدام، كُررت العملية عند الحاجة، (إبراهيم وزكريا،2009) مع إجراء بعض التعديلات.

ثانياً. المستخلصات المائية: أُخذ (30 غ) من مسحوق أوراق الخزامى المجففة، وخُلط مع (150 مل) من الماء المُقطر الحار، تُركت على حمام مائي رجاج مُدَّة 24 ساعة، تُركت بعدها لترقد، ثمَّ رشحت بورق ترشح، ثمَّ فصُل الراشح بجهاز الطرد المركزي على سرعة (3000 دورة. ثانية$^{-1}$) حيث تمَّ الحصول بعدها على سائل رائق، أُكمل الحجم مجدداً إلى 150 مل بالماء المقطر، وأعتبر محلولاً أم تركيزه الحقيقي (20%)، حيث تمَّ تركيز خلاصة (0.2 غرام) من المادة النباتية في (1مل) من المحلول النهائي، حفظ مبرداً لحين استخدامه في تجارب الفعّالية الحيوية للخزامى ضد الحشرات، (المنصور،1995) مع بعض التعديلات.

3-3-5-5-2. تصميم التجربة: مُزجت المستخلصات المائية والكحولية لأوراق الخزامى بنوعيها مع غذاء البالغات – عبارة عن قمح مطحون- لتحقيق ثلاث تراكيز (5 و10 و25%) (وزن:وزن) (الوزن الجاف للمسحوق الورقي: وزن الغذاء)، ثمَّ وضعت كمية (3غرام) من المزيج في أطباق بتري (9 سم) وتركت مفتوحة مُدَّة 48 ساعة في درجة حرارة الغرفة لتجف، واحتوت معاملة الشاهد على إضافة الماء فقط. بعد ذلك نُقلت 10 بالغات من خنفساء الدقيق الصدئية إلى كُل طبق، وحفظت الأطباق على حرارة (28مْ) ورطوبة (65-70%)، حُسبت النسبة المئوية للخنافس الميتة بعد (14يوماً) وفقاً لـ Clemente وزملاؤه (2003)؛Epidi وOdili،(2008)؛ Joel،(2015)، بعد تصحيح نسب الموت في الشاهد وفق معاملة أبوت المصححة.

3−3−6. دراسة الفعّالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية لأنواع جنس الخزامى :

3−3−6−1. مبدأ الطريقة : تُقاس الفعّالية المضادة للأكسدة في الزيوت العطرية من ناحية قدرتها على منح ذرة الهيدروجين، أومن خلال قدرتها على كبح الجذور الحرة مثل المركب 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl الذي يُرمز له (DPPH). وتتضمن طريقة تحديد قدرة المادة المختبرة أياً كانت (الزيت العطري مثلاً) على كبح الجذر الحر DPPH من خلال سلوكها في إعطاء ذرة هيدروجين أو إلكترون لـ DPPH مما يُسهم في تحوله بلونه البنفسجي إلى شكله المرجع DPPH-H بلونه الأصفر، وتستخدم أجهزة قياس الامتصاصية الضوئية Spectrophotometer بقياس انخفاض امتصاص اللون البنفسجي لمحلول الـ DPPH وذلك عند طول الموجة (520 نانومتر) ومقارنة هذا الانخفاض بتركز المادة المفحوصة، وبالتالي كُلَّما كان الانخفاض في الامتصاصية أكبر(وهو يترافق مع كون اللون أصفراً فاتحاً) كانت المادة المختبرة ذات كفاءة عالية بفعّاليتها المضادة للأكسدة (Molyneux،2004)، وفي حال إرجاع كامل تركيز المركب في المحلول سوف تنعدم الامتصاصية.

افترضت العديد من الدراسات أنَّ مركب DPPH يتم إرجاعه إلى مركب الهيدرازين عندما يتفاعل مع إحدى المركبات المانحة للهيدروجين، إلاّ أنَّ ما يحدث حقيقةً هو عملية نقل خاطفة للإلكترون من العينة لمركب DPPH وأنَّ فرضية منح الهيدروجين هي أمر هامشي كونها تحدث ببطئ وتعتمد غالباً على الخواص المستقبلة للهيدروجين، التي تتمتع بها معظم المذيبات التي تستخدم أصلاً في تجربة الـ DPPH حيث تعتبر معظمها شرهة جداً للهيدروجين، مما يؤكد النظرية التي تنافي الفرضية القديمة الفرضية الأولى (Miguel،2010)، وقد أوضح الباحث ,Brand−Williams وزملاؤه منذ عام 1994 أنّه يمكن تمَّثيل المبدأ الكيميائي لإرجاع المركب DPPH بفعل أحد مضادات الأكسدة Antioxidant الذي يُرمز له بالرمز (AH) ، أو من خلال أحد الجذور المرجعة Radical ويُرمز له بالرمز (R●)، بالمعادلة:

$$DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$$
$$DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow DPPH\text{-}R$$

3−3−6−2. مواد وأدوات العمل: مذيب الميثانول (CH_3OH; 32.04 g/mol نقاوة HPLC) ومادة معيارية من المركب DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$; 394.32 g/mol) من Sigma Aldrich، الزيوت العطرية المستخلصة من انواع الخزامى المدروسة، مادة معيارية من فيتامين C (حمض الأسكوربيك Ascorbic Acid ؛ أو فيتامين ج) ($C_6H_8O_6$;176.12 g/mol)، أدوات زجاجية (دوارق معيارية، أنابيب سعة 10 مل وحاملها)، ماء مقطر.

3−3−6−3. الأجهزة: ميزان حساس، جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer، موصول إلى PC.

3−3−6−4. طريقة العمل: اتبعت طريقة (Malika وLaib،2012) مع بعض التعديلات حيث يضاف 50 ميكرولتر من محلول الزيت العطري في الميثانول والمحضر وفق ثلاث تراكيز(1000 و2000 و4000 ميكرولتر.مل$^{-1}$) تمَّ مزجها بـ (5 مل) من المحلول الميثانولي للجذر DPPH ذو التركيز (0.004 %) ليصبح التركيز النهائي للمحلول الميثانولي (10 و20 و40 ميكروغرام.مل$^{-1}$) من الزيوت العطرية موجودة برفقة (40 ميكروغرام.مل$^{-1}$) من DPPH، وبعد التحضين لفترة 30 دقيقة على حرارة الغرفة، قِيست الامتصاصية على طول الموجة 517 نانومتر، و أُخذَ فيتامين C كشاهد إيجابي وبالتراكيز نفسه.

سُجلت قراءات التفاعل (وفق ثلاث مكررات) لكل من الزيوت العطرية والشواهد الإيجابية وحُسب مؤشر نسبة التثبيط Inhibitionn% (I %) لـ DPPH في المحلول الميثانولي من خلال تطبيق المعادلة:

$$I (\%) = (AC - AS) / AC \times 100$$

حيث تشير AC (Absorbance of Control) وAS (Absorbance of Sample) لقيمة الامتصاصية عند كل من الشاهد والعينة على التوالي. ومن ثمَّ تمَّ حساب معامل التركيز المثبط النصفي 50% Inhibition Concentration (IC50) بإجراء تحليل بروبيت Probit Regression Analysis لقيم النسبة المئوية لتثبيط الجذر الحر DPPH عند كل تركيز مطبق، وذلك باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS.

3-3-7. الدراسة الجزيئية لأنواع جنس الخزامى :

أُجريت دراسة التوصيف الجزيئي للأنواع المدروسة من جنس الخزامى Lavender في مخبر التقانة الحيوية- كلية الزراعة- جامعة دمشق خلال الفترة 2015- 2016 م.

3-3-7-1. مواد الاستخلاص خاصة باستخلاص الـ DNA: SDS، PVP، β_Mercaptoethanol، Triton،Sucrose، محلول TBE، Tris-HCL، EDTA، Proteinase K، ماء خاص بتفاعلات PCR، TE، بالإضافة إلى المذيبات العضوية خاصة بعمليات استخلاص وتنقية وترسيب DNA (إيثانول- فينول كلوروفورم- إيزوبروبانول)، آزوت سائل لطحن العينات الورقية المجمدة.

3-3-7-2. مواد تفاعل PCR : بادئات مختبرة في تقانة ISSR من مخبر التقانات الحيوية، 2X Master mix من شركة Promega تركيز (2.5 ميكرولتر) لكل تفاعل، ماء خاص بتفاعلات PCR.

3-3-7-3. مواد تصوير هُلامة الأغاروز وتوثيقها: أغاروز نقي، محلول TBE من رتبة 1X، صبغة الإيثيديوم برومايد، معلم جزيئي قياسي يحوي قطع الـ DNA بأوزان معروفة من Promega.

3-3-7-4. أدوات العمل اليدوي: جفنة بورسلان مع هاون لطحن وسحق العينات النباتية، أنابيب ابندروف (1.5 مل) وأنابيب تفاعل PCR (0.2 مل)، ماصات ميكروية مع رؤوس مختلفة الأحجام، زجاجيات معيارية (دوارق واسطوانات مدرجة)، حاملات أنابيب ابندروف، أقلام تخطيط، قفازات مطاطية، ورق تنشيف ومناديل ورقية وورق ألألمونيوم، حاويات للفضلات الملوثة بصباغ التلوين.

3-3-7-5. الأجهزة: جهاز التفاعل التسلسلي للبوليمرازPCR، جهاز الرحلان الكهربائي، جهاز الطرد المركزي مبرد، جهاز تصوير وتوثيق الهلامة مزود بمصباح أشعة فوق بنفسجية 254 نانومتر وبكاميرا رقمية تحوي بطاقة ذاكرة وقارئة ذواكر رقمية، حاسب PC، جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer، مجمدة لحفظ DNA على حرارة (-80 مْ)، براد مع مجمدة (-20 مْ)، رجاج أنابيب Vortex، غرفة زرع ميكروبية مع مُخلّية أبخرة، حمام مائي رطب، فرن تجفيف يمكن التحكم بحرارته، ميكروويف، ميزان حساس.

3-3-7-6. طريقة العمل :

3-3-7-6-1.الاعتيان :

جُمعت عينات نباتية ممثلة لجنس الخزامى في القطر العربي السوري، وهي تضم النوعين الرئيسين، النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) والنوع الفرنسي (*L.dentata* L.) بالإضافة إلى الهجين مفصص الأوراق(*L.x allardii*) والهجين اللافاندين (*L.x intermedia*) حيث أنَّ جميع ما سبق هو مُدخل، وتمَّ الحصول عليه من مشاتل مدينة دمشق. ويُضاف إلى ما سبق النوع الوحيد ذو التواجد الطبيعي في القطر العربي السوري وهو النوع (*L.stoechas* L.) الذي تمَّ جمعه من سهول محافظة اللاذقية. وتضَّمنت كل عينة (20-25 ورقة فتية من كل نبات يُمثل الطراز المدروس بَعد التأكد من عدم إصابتها بأيَّة أمراض)، ثمَّ نُّظفت الأوراق من الغبار باستخدام كُلٍّ من الماء المقطر العقيم والكحول.

3-3-7-6-2. استخلاص الـ DNA وتقدير كميته في محلوله:

أنْ يكون الـ DNA نقي وسليم وعالي النوعية هو أمر في غالية الأهمية، ولكن استخلاصه من النباتات يتعرض غالباً إلى تلوث مفرط بالمستقلبات الثانوية، كل ذلك يزيد من الحاجة إلى ضبط طريقة الاستخلاص الخاصة بكل نوع نباتي وأحياناً لكل نسيج من النبات نفسه، بسبب محتواه من نواتج الاستقلاب الثانوية، وهذا ما لا يحدث في الأنسجة الحيوانية والمادة الميكروبية،(Sangwan وزملاءه، 1998).

وهناك العديد من العوامل التي تتسبب في تأذي وتخرب الـ DNA المستخلص أثناء الاستخلاص، حيث أنَّ تحطم الـ DNA وتفككه بسبب Endonucleases يُعدّ واحداً من أهم المشكلات التي تعترض استخلاص وتنقية الـ DNA النباتي ذو الوزن الجزيئي المرتفع الذي لا يلبث أنْ يتداخل مباشرةً أو لاحقاً مع التفاعلات الإنزيمية Enzymatic Reactions، كما أنَّ عديدات السكر Polysaccharides تصبح مشكلة رئيسة عند وجودها في عينات الـ DNA حيث يثبط وجود عديدات السكر فعّالية أنزيم البوليمراز Polymerase وكذلك فعّالية أنزيمات القطع ويتجلى المحتوى المرتفع من عديدات السكر من خلال اللزوجة المرتفعة لمحلول الـ DNA، وكذلك فإنَّ الفنولات بأشكالها المؤكسدة ترتبط مع الـ DNA مُسببةً اللون الأسمر وتخفض بذلك من زمن صلاحية الـ DNA وتجعله غير صالح للدراسات الجزيئية.

إنَّ البحث في الطرق التي تضمن الحصول على الـ DNA ذو النوعية والكمية المناسبة قد أدى إلى تطوير العديد من البروتوكولات المتخصصة في استخلاص الـ DNA من النباتات التي تحتوي على تركيز عالٍ من تلك النواتج الاستقلابية الثانوية ومن بينها الخزامى، أُتبع البروتوكول الذي اشار إليه Sahu وزملاؤه (2012)، مع إجراء بعض التعديلات، وفق خطوات الاستخلاص الآتية:

1) حُضر بشكل مسبقْ وقبيل الاستخلاص محلول الاستخلاص رقم (1) Extraction Buffer برقم حموضة (pH=8) يحوي (50mM EDTA, 120mM Tris-HCl, 1M NaCl, 0.5M sucrose, 2% Triton-X 100, and 0.2% *β*-mercaptoethanol) وحُفظ في حمام مائي على حرارة (60 مْ) لحين الاستخدام.

2) استخدمت جفنة بورسلان معقمة بالكحول وموضوعة مسبقاً على حرارة (-80 مْ)، في طحن (1غ) من الأوراق النباتية النظيفة – والمجمدة مسبقاً على حرارة (–80 مْ) وبوجود (250 ملغ) من الـ PVP، وتجدر الإشارة هنا إلى أنَّ الحرارة المنخفضة في هذه الحالة تفيد في منع تحطم الـ DNA 'DNA 'Degradation، الذي يُعدّ اللون الأسمر(البني) علامة واضحة على حدوثه.

3) نُقل محتوى الجفنة إلى أنبوب تثقيل سعة (2 مل) وأضيف له ضعف الحجم من محلول الاستخلاص المحضَّر سابقاً والمحفوظ على حرارة (60 مْ)، مُزج المحتوى جيداً بقلب الأنبوب بلطف، ثمَّ حُضن الأنبوب على حرارة (60 مْ) مُدَّة (40) دقيقة.

4) ثُقل الأنبوب بعدها مُدَّة على (15دقيقة) على سرعة (10000 دورة. دقيقة$^{-1}$)، وتمَّ التخلص من الطور الطافي.

5) أُضيف (1.5مل) من محلول الاستخلاص الحاوي على التركيبة (20mM EDTA, 100mM Tris-HCl, 1.5M NaCl, 2% SDS, 1% β-mercaptoethanol) ثمَّ حُضن الأنبوب على حرارة (60 مْ) مُدَّة (30 دقيقة).

6) ثُقل بعدها الأنبوب بسرعة (12000 دورة. دقيقة$^{-1}$) مُدَّة (15 دقيقة)، ثمَّ نُقل بلطف الطور الطافي إلى أنبوب آخر، تمَّ هذا باستخدام ماصة ذات فتحة واسعة تفادياً لحدوث أذى ميكانيكي للـ DNA.

7) أضيف للطور المنقول في أنبوبه الجديد حجم مضاعف من المزيج (Chloroform: Isoamyl Alcohol) (24:1)، ثمَّ أُجري المزج اللطيف (15 مرة)، ثُقل الأنبوب بعدها لـ (15 دقيقة) بسرعة (12500 دورة. دقيقة$^{-1}$)، أعيدت هذه الخطوة في حال كون الطبقة المائية الطافية نصف شفافة Translucent حتى تصبح شفافة Transparent.

8) نُقل الطور الطافي إلى أنبوب جديد وأُضيفَ له حجم مضاعف من إيزوبروبانول Isopropanol المبرد والمحفوظ على حرارة (-20 مْ) مُدَّة ساعة من أجل ترسيب الـ DNA، حُفظ بعدها الأنبوب على حرارة التجميد حرارة (-20 مْ) مُدَّة 24 ساعة، حيث تسهم بالعموم إطالة فترة الترسيب في ظروف مبردة إلى تحسين كفاءة الترسيب.

9) ثُقل بعدها الأنبوب بسرعة (12000 دورة. دقيقة$^{-1}$) مُدَّة (15 دقيقة)، وتم التخلص من الطور الطافي.

10) بعد التثقيل والتجميد ظهرت كتلة من خيوط الـ DNA بشكلٍ واضح Clear DNA Pellet ، أُضيف لها محلول الغسيل من الإيثانول المبرد و تمَّ التثقيل على سرعة (12000 دورة. دقيقة$^{-1}$) مُدَّة (15 دقيقة).

11) تمَّ التخلص من الطور الطافي، وتمَّ تنشيف خيوط الـ DNA (أي تجفيفها من الكحول) بالهواء الجوي على حرارة الغرفة، وهنا تجدر الإشارة إلى ضرورة التأكد من عدم وجود بقايا الإيثانول في خيوط الـ DNA مما يحسن كفاءة استخدامه في تفاعلات الـ PCR، كما أنَّه من الضروري معرفة أنَّ التجفيف الزائد سيُصعب من عملية إعادة حلِّه (Pellet).

12) أُضيف 50 ميكرولتر من محلول (buffer) ((0.5M NaCl, 10mM Tris-HCl, 1mM EDTA لإذابةِ الـ DNA في وسط (pH=8).

13) كما وتم التخلص من الحمض الريبي النووي RNA بإضافة 3 ميكرولتر من أنزيم RNase ذو التركيز (10 ملغ. مل$^{-1}$)، ومن ثمَّ التحضين على درجة حرارة (37 مْ) مُدَّة (30 دقيقة).

14) بعد عملية الاستخلاص أُجريت عملية الرحلان الكهربائي للـ Gel Electrophoresis DNA في محلوله النهائي على هلامه الآجاروز بتركيز (0.8%)، بغية معرفة جودة الحمض النووي DNA حيث يعّبر شكل الحزمة Band عن جودة الـ DNA بينما يكون للـ DNA سيء النوعية توزعاً مبعثراً Unsystematic ومقطّعاً Smear. وبشكل موازي أستخدم جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer، في تسجيل قيم

امتصاصية الـ DNA للأشعة فوق البنفسجية بأطوال الموجات (280 و260 نانومتر) واستخدمت تلك القيم في حساب نقاوة وتركيز الـ DNA من المعادلات المذكور أدناه:

أولاً. لحساب النقاوة: التركيز = O.D 280/ O.D 260 ويجب أنْ تكون حدوده المُثلى (≥1.8).

ثانياً. لحساب التركيز: التركيز (نانوغرام.ميكرولتر$^{-1}$) = O.D 260 x معامل التمديد x 50.

فكانت قيمة النقاوة تعادل (1.7) و قيم التركيز (80−100 نانوغرام.ميكرولتر$^{-1}$) وفق البروتوكول المتبع، وبناءً عليه مُدِّدْ تركيز الحمض النووي الـ DNA من محلوله النهائي إلى تركيز(40 نانوغرام.ميكرولتر$^{-1}$) في محلول العمل اليومي من الـ DNA.

15).حُفظت مركزات ومحاليل عمل الـ DNA على حرارة (-20 مْ) لحين إجراء تفاعلات PCR.

3−3−7−6−3. تضخيم قطع الـ DNA بطريقة ISSR(Inter Simple Sequence Repeats) :

استخدمت مجموعة من (20) مرئسة من نمط الـ ISSR _ يبين الجدول (2) رموزها مع التتابع النكليوتيدي وحرارة الالتحام المحسوبة والمطبقة في تفاعل الـ PCR لكل منها_ في الحصول على منتجات مضخمة من قطع الـ DNA المستخلص من العينات النباتية.

الجدول (2) رموز والتسلسل النكليوتيدي ودرجة الحرارة للبادئات المستخدمة

رقم	رمز المرئسة ة	التسلسل النكليوتيدي	درجة حرارة الالتحام ْس
1	ISSR[2]	$(CA)_8G$	52
2	ISSR[4]	$(GA)_8CG$	56
3	ISSR[6]	$(TC)_8AG$	54
4	ISSR[7]	$(AC)_8GG$	56
5	ISSR[9]	$CCAG(GT)_7$	56
6	ISSR[14]	$(AC)_8GG$	56
7	ISSR[15]	$(TG)_8AA$	52
8	ISSR[16]	$(GA)_8T$	50
9	ISSR[17]	$(AG)_8T$	50
10	ISSR[18]	$(AC)_8T$	50
11	ISSR[21]	$(CT)_8G$	52
12	ISSR[22]	$(TC)_8C$	52
13	ISSR[23]	$(TG)_8AA$	52
14	ISSR[24]	$(TG)_8G$	52
15	ISSR[25]	$(CA)_8AT$	52
16	ISSR[26]	$(AC)_8G$	52
17	ISSR[30]	$(AG)_8TC$	54
18	ISSR[45]	$CGT(CA)_7C$	56
19	ISSR[230/40]	$(GA)_8AGC$	58
20	ISSR[230/6]	$CACC(TC)_7$	56

ومن أجل تضخيم قطع الحمض الريبي منقوص الأوكسجين الـ DNA المستخلص من طرز الخزامى، أُجري تفاعل الـ PCR المعدَّل جزئياً عن (Lawyer وزملاؤه، 1993) حيث كان الحجم النهائي المدخل في التفاعل التسلسلي (25 ميكرولتر) متضمناً المكونات الرئيسة بالنسب التالية: (2 ميكرولتر) من المرئسة بتركيز (10mM)، و(12.5 ميكرولتر) من خليط مكونات تفاعل PCR (2x Master mix مضاعف القوة)، و(8.5 ميكرولتر) ماء مقطر، و(2 ميكرولتر) من محلول الـ DNA بتركيز (40 نانوغرام.ميكرولتر$^{-1}$)، ويتم هذا التفاعل في جهاز التدوير الحراري PCR وفقا للظروف التالية:

1). الانفصال الأولي (وهنا تُحث بشكل مبدئي سلسلتي الـ DNA على الانفصال عن بعضهما) بفعل الحرارة حرارة (94 مْ)، مُدَّة (5) دقائق.

2). ثمَّ تدخل السلاسل المنفردة في دورة متكررة (40 دورة) تتضمن كل منها المراحل الدورية التالية:

– التفكيك الحراري Denaturation: تطبق درجة حرارة (94 مْ) مُدَّة (30) ثانية (انفصال سلسلتي الـDNA).

– الالتحام Annealing: ويتم فيها التحام المرئسة (المرئسة Primer) مع الجزء المكمل لها على سلسلة الحمض النووي DNA، ويتم ذلك بخفض درجة الحرارة تبعاً لطول المرئسة وتركيبتها من الأسس الآزوتية، وتطبق مُدَّة 1 دقيقة في كل تفاعل حرارة الالتحام الموافقة لكل مرئسة وتم ذكرها في الجدول (2).

– الاستطالة Extension: تصل درجة الحرارة في هذه المرحلة إلى حرارة (72مْ)، وهنا يبدأ أنزيم (Taq Polymerase) بالعمل على تركيب السلاسل الجديدة مستفيداً من النكليوتيدات ثلاثية الفوسفات المختلفة (Dctp و dATP و dTTP و dGTP).

3). بعد انتهاء جميع الدورات (40 دورة x 2.5 دقيقة) تطبق درجة حرارة (72 مْ) مُدة (10) دقائق وهي تكفي لإنهاء جميع التفاعلات، بعدها حصلنا على منتجات التضخيم وتُحفظ مبردة على حرارة (-80 مْ)، لحين إجراء الرحلان على هلامه الآجاروز والتصوير بالأشعة فوق البنفسجية.

تضخيم قطع الـ DNA وفق تقنية " التكرارات الترادفية الداخلية البسيطة" ISSR(Inter Simple Sequence Repeats) :

تُفيد عملية الترحيل عُموماً في معرفة فيما إذا كان تفاعلات التضخيم قد لبّتْ الغرض المرجو منها في إعادة إنتاج قطع مختلفة الأحجام من الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين استناداً إلى بادئات ISSR المستخدمة، تظهر لاحقاً تلك القطع من الـ DNA أثناء التصوير على هيئة حُزم (Bands) متفاوتة بالأحجام منتشرة على طول مسار الرحلان بين القطبين (وعدم تجمعها)، ويكمن التفسير العلمي لذلك في اختلاف الوزن الجزيئي لتلك القطع مما يجعل من اندفاع القطع الصغيرة بفعل الحقل الكهربائي المطبق بين القطبين سريعاً مقارنة مع الحركة البطيئة لقطع الـ DNA الكبيرة.

تمَّ الترحيل على هلامة الآجاروز (2%) في المحلول المنظم TBE 1X، تمَّ تحضيره مسبقاً من محلوله الأم المكون من (10X TBE buffer = 108g Tris borate + 55g Boric acid + 9.2g EDTA) والمضبوط على (pH=8)، والمضاف إليها (5 ميكرولتر) من صبغة الإيثيديوم برومايد بتركيز

(10ميكروغرام.ميكرولتر$^{-1}$)، حيث حُملت عينات الـ DNA على هلامة الأغاروز بإضافة (5 ميكرولتر) من سائل التحميل الخاص 1X loading buffer والمكون م : (15%Ficoll 400 + 1.03% bromophenol blue + 0.03% Xglene cyanolff + 0.4% orange G + 10mM Tris-Hcl + 50mM EDTA).

كما تمَّ حقن مؤشر قياسي (Marker) من الحمض النووي الـ DNA (1Kpb) من شركة (Fermentas, Germany)، وكذلك لتحديد الحجم والوزن الجزيئي للحزم الناتجة ليتم بعد ذلك الترحيل بمرور حقل كهربائي قدره 100 فولط، وذلك لفصل حزم الـ DNA الناتجة عن عملية التضخيم. وصُورت الهلامة بجهاز تصوير هلامة الآجاروز Image Analyzer ، موديل(Agle Eye II Staratagene).

3-3-7-6-4. النتائج وتحديد القرابة الوراثية:

تمَّ جمع نتائج عملية الرحلان الكهربائي في جداول اعتماداً على مقارنةً وجود أو غياب حزم الـ DNA بين عينات الخزامى العائدة للطرز المدروسة من جنس الخزامى، حيث أعطي الرقم (1) عند وجود حزمة دنا ذات وزن جزيئي محدد عند أي نوع والرقم (0) لعدم وجودها، وقد نُظِّمت الجداول لكل مرئسة على حدى، وبجمع نتائج المرئسة ات ككُلْ، تمَّكنا أولاً من حساب متوسط التعددية الشكلية% (Polymorphic) التي تحققت جراء استخدام مجموع المرئسات التي أعطت نتائج إيجابية (أي أنّها أنتجت قطعاً مضخمةً من الـ DNA).

دُرستْ العلاقة الوراثية بين الطرز المدروسة بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) Percent Disagreement Values، وتمَّ إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لقطع الـ DNA المشتركة بين الطرز المدروسة والناتجة عن تطبيق تقنية ISSR حيث أنَّ ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدلُّ على وجود اختلاف وراثي، وبازديادها يزداد التباين الوراثي بين الطرز المدروسة، كما وأُجري التحليل العنقودي للنتائج التي تمَّ الحصول عليها بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA؛ Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging)، ورُسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بتطبيق البرنامج الإحصائي Popgene1.31،(Nei ، 1987).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Discussion & Result

4. النتائج والمناقشة Results & Discussion

1-4. الدراسة التصنيفية والمورفولوجية :

1-1-4. الدراسة التصنيفية : أظهرت نتائج الدراسة التصنيفية على المادة النباتية من نباتات جنس الخزامى المدخلة توزعها بين نوعين رئيسين وهجينين مستقلين، تُشكل الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) النوع الأول، وهي الأكثر شيوعاً والأكثر وروداً بين مجموع العينات المدروسة. وكانت الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) هي النوع الثاني، وقمنا بتمييز وجود الهجين (*L. x allardii*) وأُطلق عليه اسم الهجين مفصص الأوراق، والهجين الثاني (*L. x intermedia*) المعروف عالمياً باسم اللافاندين Lavandin. وأُمكن تثبيت وجود النوع البرّي (*L. stoechas* L.) ضمن منطقة وادي قنديل في السهول الساحلية لمحافظة اللاذقية.

4-1-1. 1.الخزامى الانكليزية **English Lavender** / (***L. angustifolia* L.**):

الوصف العام: جنبات خضراء معمرة يصل ارتفاعها إلى(60-70) سم، ذات أوراق شريطية إلى رمحية الشكل، مزغبة بكاملها بالأشعار الناعمة، لونها أخضر إلى أخضر رمادي، طول الورقة المعمرة يتراوح بين(2.5-5) سم وعرضها (0.4-0.8) سم، والأوراق متقابلة متناوبة أو متزاحمة على الأفرع،(الشكل3).



الشكل رقم (3) . نبات معمر من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.).

يحدث الإزهار على حامل زهري يتراوح طوله بين (10-20) سم وهو غير متفرع ويخرج من أفرع قديمة أو حديثة النمو، تعلوه سنبلة زهرية Flower Spike طولها يتراوح بين(4-8)سم، ويتشكل أحياناً في أسفلها عنقود زهري Flower Cluster تكون بعيده عنها قليلاً. وتتكون السنبلة الزهرية من محور السنبلة وعدة مستويات من الأزهار التي تجتمع في نورات راسيمية، وتكون الزهرة لاطئة على محور السنبلة وترافقها وريقه قاعدية ناعمة تُسمّىْ قنيبة Bracteole شريطية الشكل دقيقة جداً تكاد لا تُرى (1) ملم، أما الأوراق الحاملة أو ما يُسمى اصطلاحاً القنابات Bracts فتكون أكبر حجماً وشكلها بيضاوي معيني Ovate−Rhombic أو بيضاوي مقلوب Obovate وتقوم القنابة بتغطية وجمع أكثر من زهرة ضمن النورة الراسيمية الوحدة، وتُحدد القنابات على طول الحامل مستويات زهرية Whorls. تغطي الأشعار الغدية كامل الزهرة. يكون كأس الزهرة أنبوبي يتخلله (13) عرقاً وهو مسنن من الأعلى ويظهر عليه زائدة دائرية صغيرة تضيق قليلاً عند الرأس، والتويج أنبوبي أيضاَ متناظر ثنائياً بشكلٍ واضح Strongly Bilaterally Symmetrical ويبلغ طوله ضعف طول الكأس تقريباً، مع تفصيصات واضحة تفصيصين في الشفة العليا و3 تفصيصات في الشفة السفلى، يتدرج لون التويج بين الأزرق والنهدي Blue/Mauve، (الشكل4).



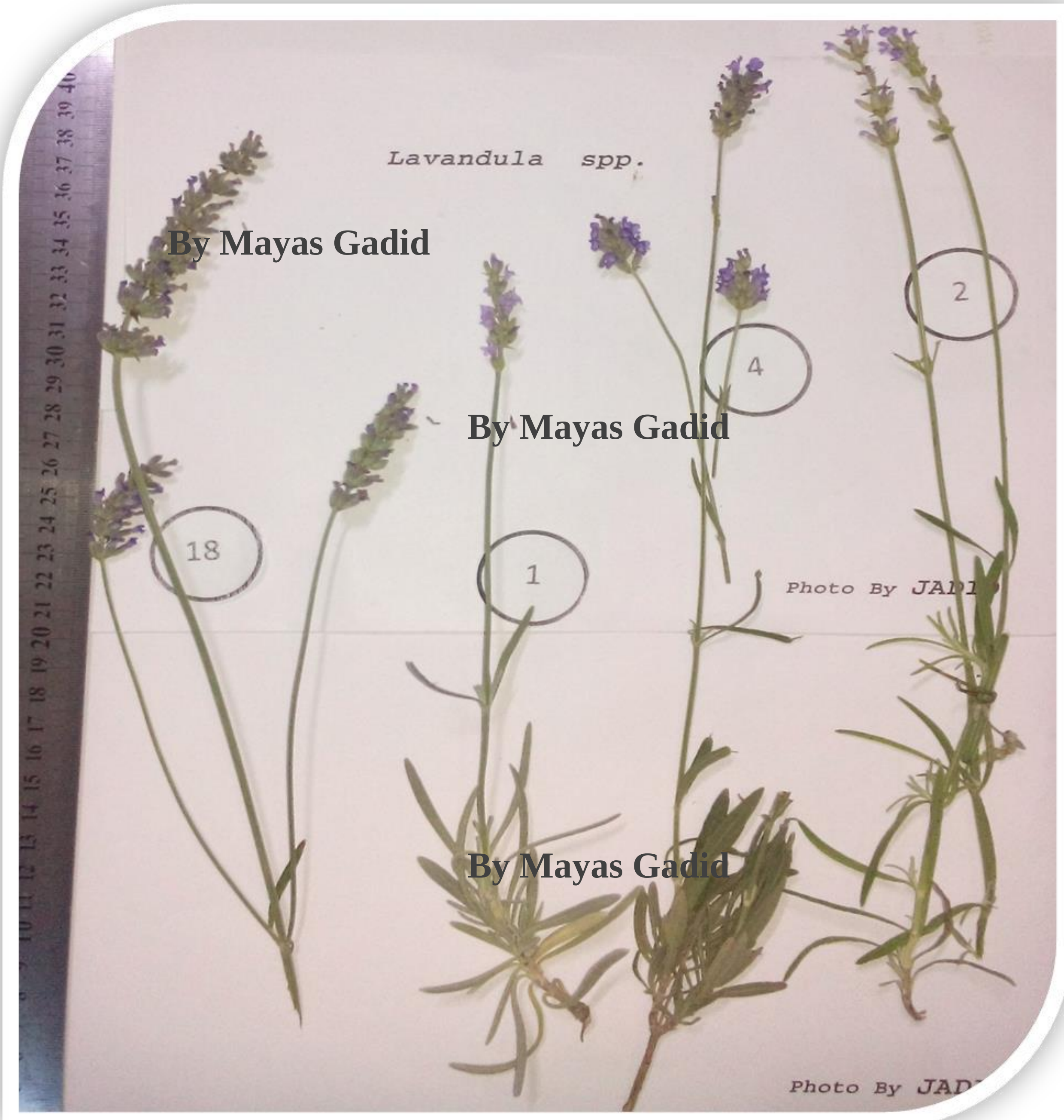
الشكل رقم(4). توضح الصورة (أ) وجود الزائدة (اللاحقة) المميزة للنوع في قمة الكأس وكذلك العروق الطولية وتوضح الصورة (ب) الشفتين والتفصيصات الخمس للتويج كما وتوضح الصورة كون طول التويج يساوي بالحد الأدنى ضعف طول الكأس في حين توضح الصورة (ج) الشعيرات التي تغطي الكأس بكثافة.

يبدأ إزهار هذا النوع في تحت ظروف مدينة دمشق اعتباراً من منتصف شهر أيار إلى منتصف شهر آب وتكون ذروة الإزهار في الفترة من منتصف شهر حزيران حتى منتصف شهر تموز.

وتوافقت ملاحظاتنا بخصوص اختلافات طبيعية كثيرة ضمن النباتات المدخلة من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) مع ما أشار إليه العديد من الباحثين الذين اهتموا بدراسة أصناف الخزامى، قامت Lis-Balchin (2002) بجمع أبحاثهم في كتابها الشهير(Lavender, The *genus Lavandula*)، وأهم تلك الاختلافات البسيطة هي درجة اللون التي تتصف بها أزهاره (نهدي إلى أزرق) ولون أوراقه (الأخضر إلى الأخضر الرمادي الفاتح) وطولها، وكذلك حجم السنبلة الزهرية التي تراوحت بين (4–8)سم وعدد الأزهار ضمن كل نورة وسوار زهري، (الشكل5) و(الشكل6).



شكل رقم (5). التفاوت في لون التويج (موف / أزرق بنفسجي)، وكذلك لون الكأس (أخضر مشوب بالبنفسجي/ بنفسجي أكثر دكانه وانتشاراً)، ولون الورقة (أخضر رمادي/ أخضر) وطولها، بين عينتين ذوات الارقام (2/1) من نباتات الخزامى الإنكليزية المدخلة عشوائياً إلى القطر العربي السوري.



شكل رقم (6). تُمثل العينات ذوات الأرقام (1و2 و4) طُرزْ مختلفة من الخزامى الإنكليزية تتباين فيما بينها بازدحام الأزهار على سنابلها الزهرية وألوان أزهارها وعددها عند كل مستوى زهري وفي كل نورة زهرية، وكذلك في لون الورقة وهي تشترك بشكل القنابات ودقة القنيبات وانعدام التفرع على الحامل الزهري، في حين تمثل العينة رقم (18) حامل زهري متفرع للهجين اللافاندين ذو السنابل الأكبر حجماً والذي سنأتي على ذكره لاحقاً.

وتجدُر الإشارة إلى أنّه لم يُلحظْ وجود أيٍ من الأنواع التي تنتمي للقسم الأول الذي يتضمن إلى جانب الخزامى الانكليزية (*L. angustifolia* L.) كل من الخزامى الشمراخية (*L.latifolia* L.) والخزامى المزغبة من النوع (*L.lanata* L.)، حيث تتميز الخزامى الشمراخية (*L.latifolia* L.) بارتفاعها الذي يصل إلى حتى (100سم) أحياناً، ويتفرع فيها غالباً الحامل الزهري مشكلاً رمح ثلاثي السنابل Trident Shaped Flower Spike يصل طوله حتى (25 سم)، وتكون الوريقات القاعدية (القنيبات) في الخزامى الشمراخية أكبر من تلك التي توجد في الخزامى الإنكليزية وتصل حتى (4 مم)، وتكون القنابات متطاولة، كما يحتوي الكأس فيها على (13)عرقاً، بخمسة أسنان في حين تتميز الخزامى المزغبة من النوع (*L.Lanata* Boiss) بكون كلاً من السوق والأوراق مغطاة بطبقة أشعار غدية صوفية قصيرة بيضاء من الأشعار المتفرعة، ويحتوي الكأس (8)عروق و(8) تفصيصات (أربعة كبيرة تتناوب مع أربعة صغيرة)، كما ويحتوي في أعلاه لاحقة بهيئة زائدة دائرية.

4–1–1. 2.الهجين اللافاندين Lavandin / (*L. angustifolia X L. latifolia*) (*L. x intermedia*):

لُوحظ وجود هجين ينتمي إلى القسم الأول وهو الهجين الشهير المُسمَّىْ باللافاندين Lavandin، حيث ذكر Upson (2002) إلى أنّ اللافاندين ناتج عن تصالب طبيعي بين الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والخزامى الشمراخية (*L.lanata* L.)، وهو يشبه إلى حدٍّ كبير الأب (*L. angustifolia* L.).

الوصف العام : يُعدُّ الهجين اللافاندين من الجنبات المعمرة قوية النمو يصل ارتفاعه (60–120) سم، والأوراق رمحية الشكل وأحيانا برأس مدبب الرأس، طول الورقة المعمرة بين (3.5-6) سم وعرضها (0.4-1) سم، وهي غالباً رمادية شعرية كثة Often Grey Tomentose متناوبة متقابلة، ويخرج حامل السنبلة الزهرية من أفرع حديثة ومعمرة، ويصل طوله (12- 25) سم، ويكون التفرّع على هذا الحامل الزهري موجود غالباً، والسنابل الزهرية غالباً مخروطية الشكل مديدة النمو متهدله يصل طولها مع السوار السفلي حتى (20) سم، القنابات ماسية أو معينية الشكل Rhombic Ovate، أمَّا القنابات الصغيرة فهي تبلغ (1-4) مم طولاً وهي أكبر مما هي عليه في النوع الإنكليزي (*L. angustifolia* L.)، الكأس بشكله الأنبوبي يتضمن (13) عرقاً وهو مسنن من الجانب العلوي مع زائدة علوية مستديرة تضيق عند الرأس، والتويج متناظر ثنائياً مكون من شفتين (شفة علوية بتفصيصن) وسفلية (بثلاث تفصيصات)، تكون ألوانه متراوحة بين البنفسجي الفاتح والموف،(الشكل7).

ولم يُلحظ وجود الهجين الثاني في القسم نفسه الناتج عن التهجين بين الأبوين (*L. angustifolia* L.) و(*L.lanata* L.)، الذي يتميز بكونه مشابهاً للخزامى (*L.lanata* L.) بالشروط والمواصفات العامة، يبلغ ارتفاعه (60-70) سم، أوراقه رمادية إلى فضية رمادية تكسب النبات مظهرا وكأنّه مكسواً بالصوف .



الشكل رقم (7).السنابل الزهرية والحوامل الزهرية في الطراز الممثل للهجين اللافاندين Lavandin، وتُظهر الصورة السنبلة الزهرية مخروطية الشكل، يصل طولها حتى (20) سم عند احتساب السوار الزهري البعيد عنها للأسفل.

<u>4-1-1-3. الخزامى الفرنسية French lavender / (*L. dentata* L.) :</u>

لُوحظ تواجد ضعيفاً للنوع (*L. dentata* L.)، الذي يُشكل بحد ذاته قسما مستقلاً بحد ذاته Dentatae Suárez-Cerv. ويدُعى الخزامى الفرنسية French Lavender، وتُعدّ نباتاته جنبات متخشبة بأوراق متميزة تكون متوازية الحواف عليها تفصيص منتظم كامل قليل العمق (أوراق مسننة)، والسنبلة الزهرية مضغوطة وكثيفة تعلوها خصلة من أوراق زهرية ملونة ضخمة وعقيمة تُدعى (A Coma)، وفيما يلي توصيفاً شكلياً للطراز الموجود في دمشق الذي يتبع النوع الفرنسي من الخزامى.

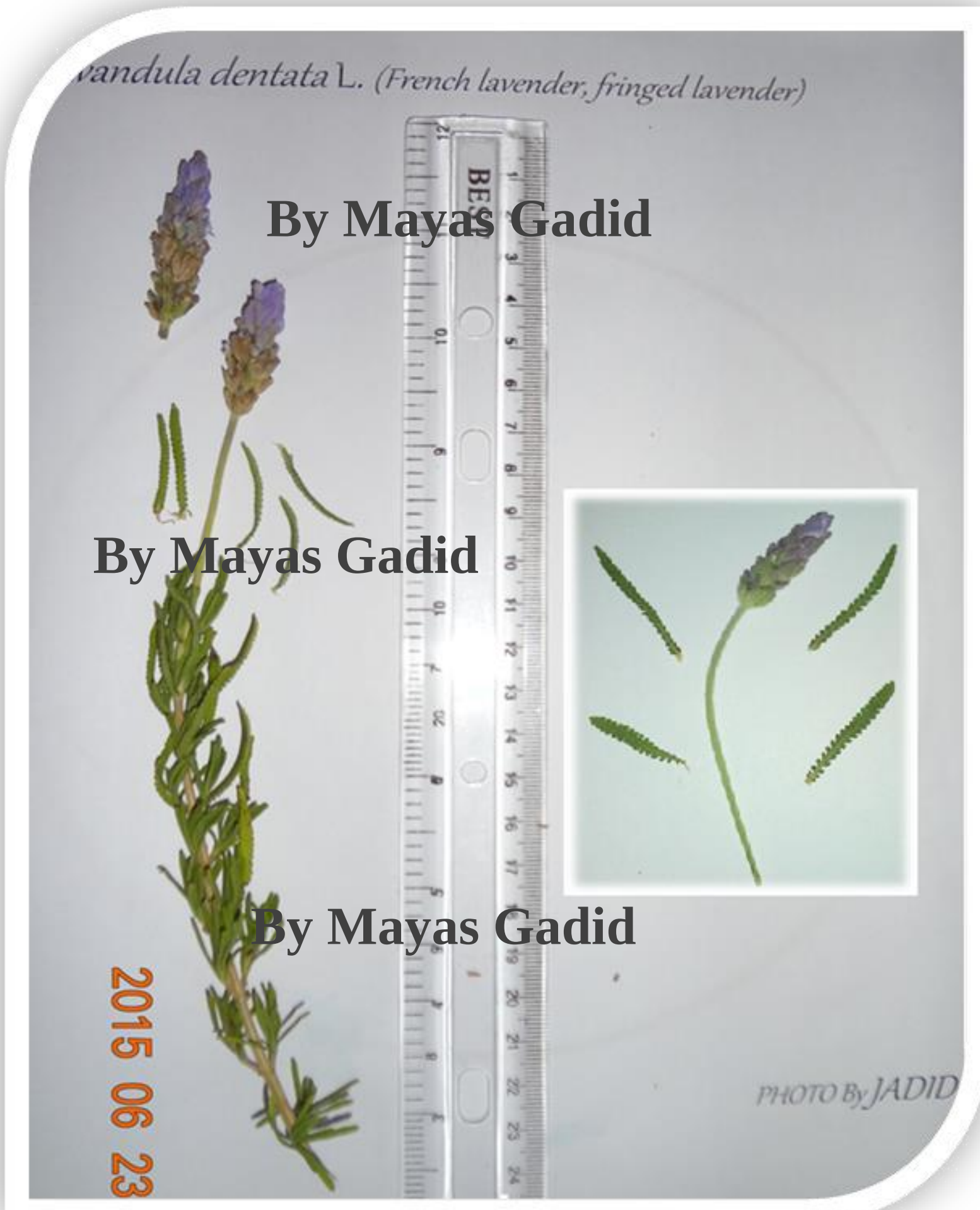
الوصف العام : جنبة متخشبة معمرة، يصل ارتفاعها (50-60) سم، أوراقها شريطية متطاولة مفصصة جزئياً على كامل حوافها مع غطاء شعري يعطيها مظهراً أخضراً يانعاً فاتحاً في الاوراق الفتية تصبح أغمق مع التقدم بالعمر، ويقعْ طولها في المجال (2.5-4.5) سم وعرضها في المجال (2.5-7) سم، وتكون الأوراق متقابلة ومتناوبة على الأفرع الحديثة ثمّ تزدحم نتيجة التقدم بالعمر مع تشكل أوراق إبطيه، (الشكل8).



الشكل رقم(8). نبات معمر من الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.).

وتكون نباتاته سريعة النمو ذات تفرع قوي وإزهار كثيف ومستمر خلال فترة طويلة نسبياً (أوائل نيسان حتى منتصف آب) في الظروف الدمشقية، ويكون فيها الفرع الحامل للسنبلة الزهرية غير متفرع دائماً بطول (6-15) سم ويخرج حامل السنبلة الزهرية من نموات الموسم نفسه أو نموات العام السابق حاملاً سنبلة زهرية زرقاء فاتحة اللون إلى نهدية، طولها (3-5) سم، تعلوها كفشة زهرية (A coma) من الأوراق الملونة معينية الشكل متضخمة عقيمة تتدرج بالحجم واللون من الأعلى إلى الأسفل لتعطي قنابات على هيئة أوراق خصبة محورة غير

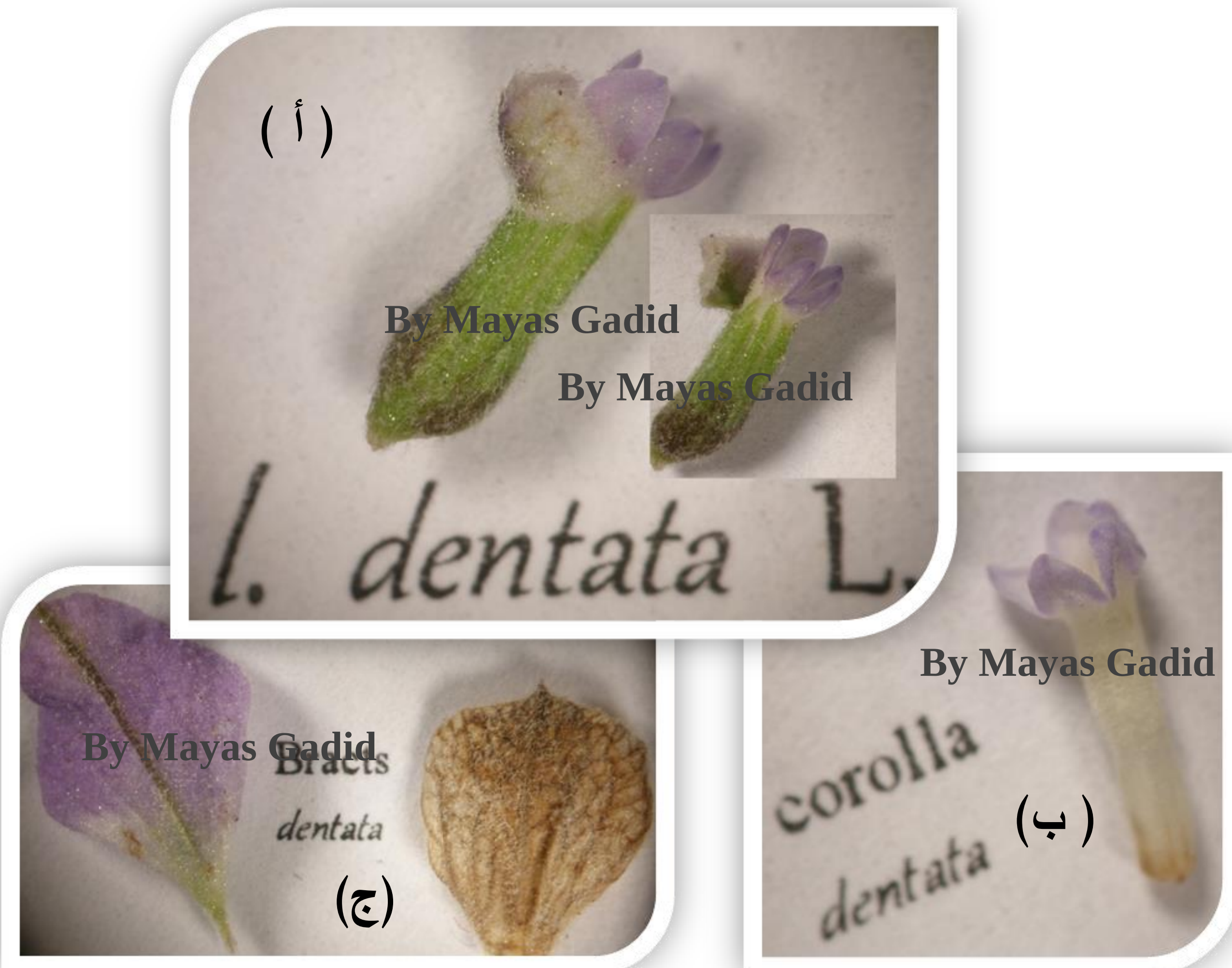
ملونة في الأسفل، تجتمع الأزهار على محور السنبلة بترتيب أفقي يتراوح من (2-8) أزهار في كل صف أفقي واحد، يمكن تسميته اصطلاحاً سواراً (whore) تحيط به ورقة حاملة من كل جانب، مع غياب القنيبات ضمن نورات الخزامى الفرنسية وهي إحدى السمات المميزة لهذا النوع، (الشكل9).



الشكل رقم (9). فرع خضري ينبثق منه حامل نورة زهرية في الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.).

تغطي الزهرة الشعيرات الغدية وتكون أكثر كثافة على الكأس الذي يأخذ شكل الأنبوب القصير جداً، عليه (13) عِرقاً محززاً، يتحور الفص الأوسط من الكأس إلى لاحقة كبيرة يصل عرضها حوالي مرة ونصف من عرض الأنبوب الكأسي، يحتوي الأنبوب الكأسي على الأنبوب التويجي الذي يعلوه قليلاً بحوالي (2) مم، يَميْل التويج بلونه

من الأزرق الفاتح إلى النهدي، وتكون الأوراق الحاملة أو القنابات الخصبة بيضاوية الشكل بقمة حادة وعلى سطحها عروق متشابكة، ويتغطى كامل الكأس والتويج بأشعار ناعمة تكسب الزهرة المفردة المظهر الصوفي تحت المكبرة، وتكون بذور النوع الفرنسي بيضاوية الشكل عليها ندبة ملتئمة كاملة تنتج الصمغ في الرطوبة، ويكون الميسم ثنائي الشفة، (الشكل10).

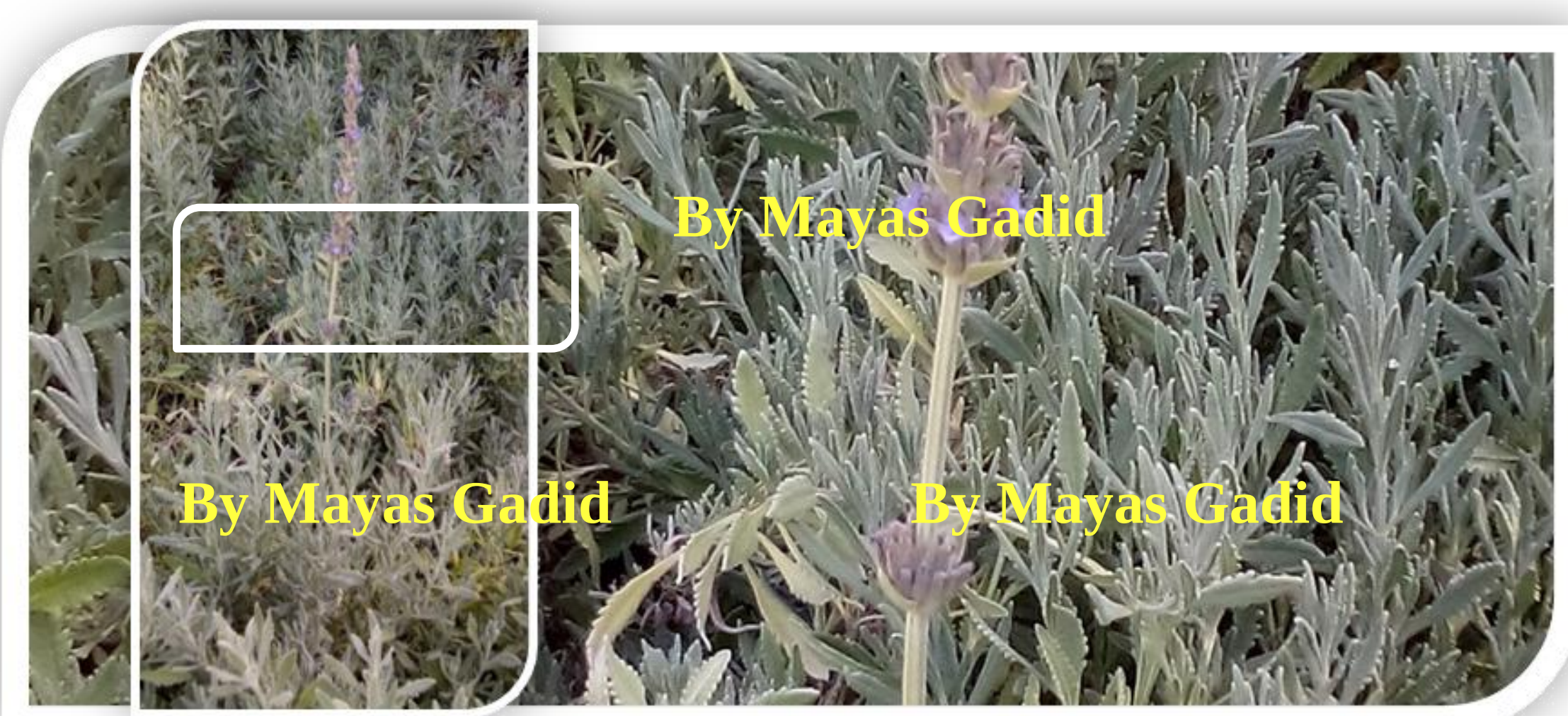


الشكل رقم (10). الأجزاء الزهرية المختلفة في الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.)، وتظهر الصورة (أ) تُظهر الشكل العام للزهرة مع توضيح اللاحقة المتحورة الضخمة نسبياً والتي تعلو الكأس، وتُظهر الصورة (ب) التويج الأنبوبي ذو الشفاه الخمس الملونة وتُظهر الصورة (ج) القنابات بنمطيها الملون والمتحور عديم اللون.

4-1-1-4. الخزامى الهجين مفصص الأوراق Fringed Hybrid Lavender / (*L. x allardii*):

كشفت استطلاعاتنا الميدانية عن نبات يدعوه عاملوا المشاتل والحدائق "خزامى الزينه" ويستخدم كنبات تحديد نظراً لمظهره الخارجي ذو اللون الرمادي، ونموه القوي وتخشب سوقه، ويجهل العامة قرابته مع الخزامى، وما هو بالحقيقة إلا الهجين (*L. x allardii*) والذي لوحظ لأوّل مرة عام (1890م) في حدائق Maulevrie القريبة من أنجيه Angers في فرنسا حيث كان كلا النوعين، الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) والخزامى الشمراخي (*L. latifolia* L.) يزرعان هناك،(Lis–Balchin، 2002).

الوصف العام: جنبات متخشبة معمرة، يصل ارتفاعها حتى المتر الواحد في الظروف السورية (في مناطق أخرى من العالم تصل 4 متر) تكون فيها المسافات بين العقد على الأفرع كبيرة، الأوراق لاطئة ورمحية الشكل مع نهاية ملعقية مكسوة بالأشعار الناعمة، تكون معظم أوراق النبات مفصصة (6-7 تفصيصات بسيطة على كل جانب) وبدرجة أقل هناك أوراق بـ (1-2 تفصيصات على كل جانب) وأوراق بلا تفصيص، وتتواجد معظم التفصيصات على الورقة في نصفها العلوي من كل جانب، يقع طول الورقة بين (3-7) سم وعرضها (0.6-1)سم، ويُكسب اللون الأخضر الرمادي لكل من الأوراق والأفرع الفتية النبات مظهره العام الباهت، (الشكل11). يبدأ إزهاره من أواخر شهر أيار ويستمر حتى أوائل شهر آب، وتكون الحوامل الزهرية طويلة نسبياً (30 سم)، وتكون السنابل الزهرية بطول (5-12) سم تضيق نحو القمة غالباً.



الشكل رقم (11). المظهر العام للخزامى الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*).

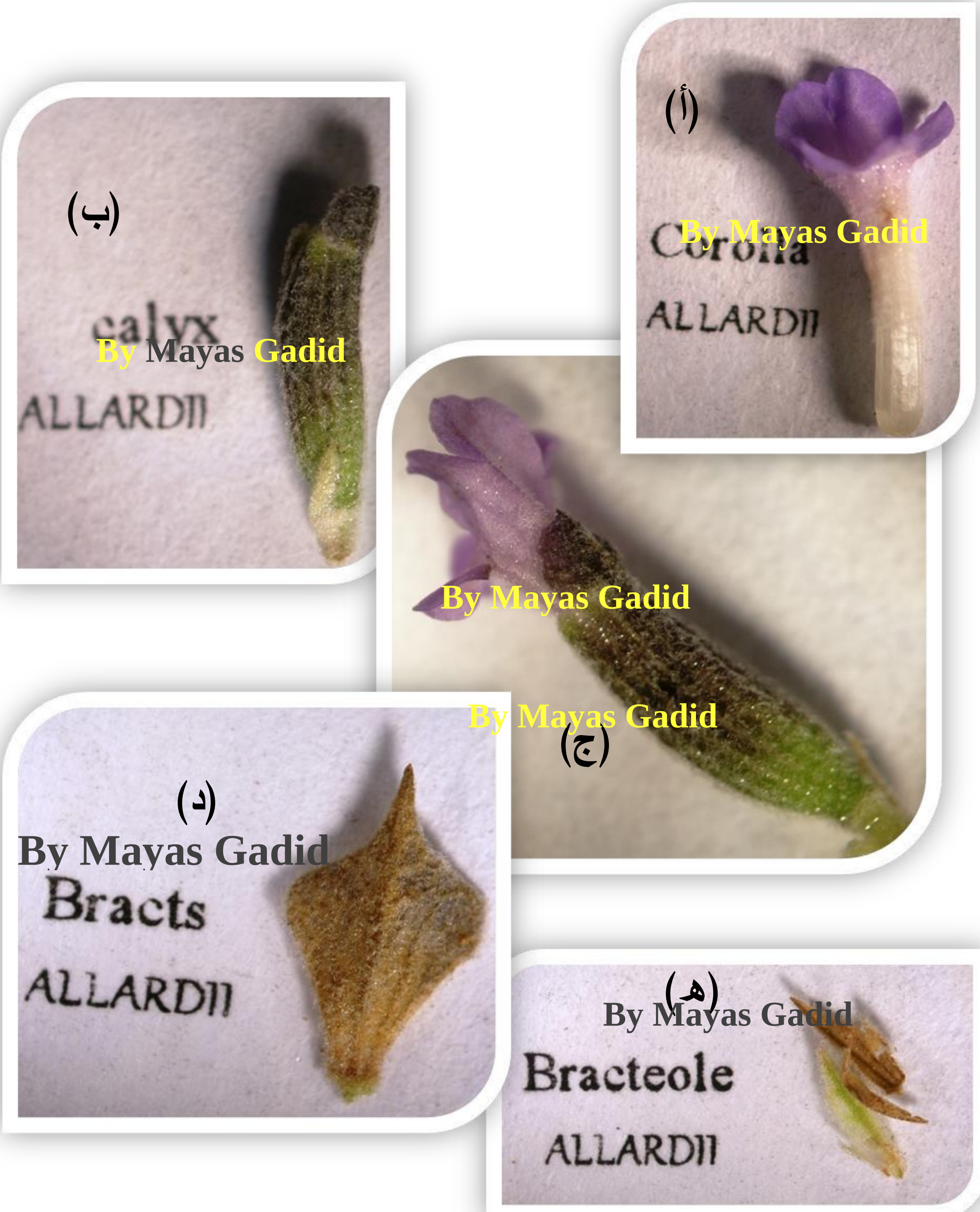
تتألّف السنبلة الزهرية من مستويات زهرية، ويحوي السوار الواحد على اثنتان أو ثلاث من القنابات، وهو يحتوي عدداً متفاوتاً من الأزهار(4-6) أزهار تجتمع في نورات راسيمية، كما وتتواجد رزمة زهرية على هيئة سوار بعيد قليلاً أسفل السنبلة الرئيسية، وتكون القنيبات صغيرة ولكنها تُرى بالعين المجردة، أمّا القنابات فهي معينية تدق عند قمتها، وتكون القنابات كبيرة في أسفل السنبلة (بأبعاد 1.5 سم عرضاً و1.5 طولاً) وتنخفض مساحتها صعودا باتجاه القمة، (الأشكال 12 و 13 و 14).



الشكل رقم (12). السنبلة الزهرية في الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*)،القنابات الحاملة للأزهار بتوضعها المتناوب والمتقابل (2) قنابة / السوار الزهري وتحدد كل قنابة نورة راسيمية تضم من (3-5) زهرة.



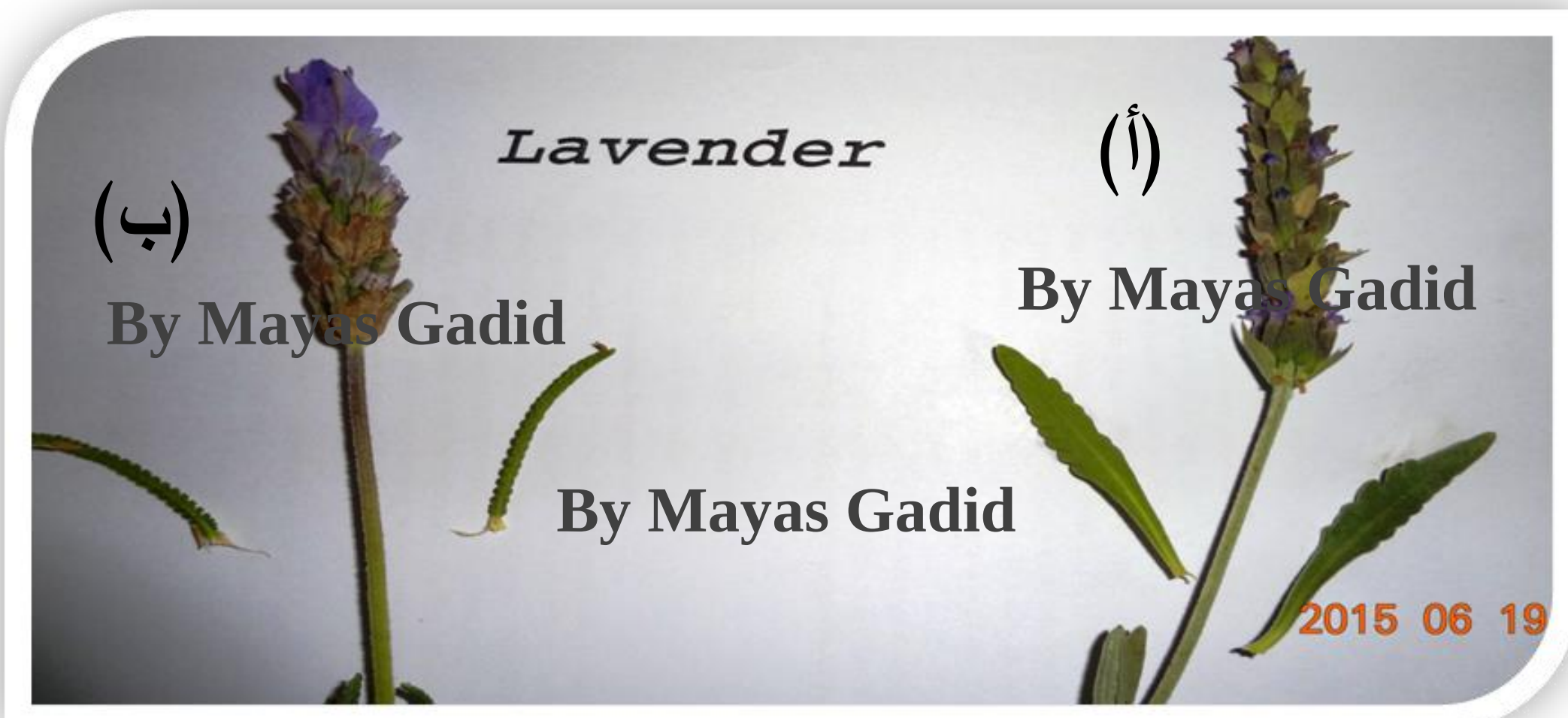
الشكل رقم (13). الحامل الزهري للهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) قد يصل طوله حتى 30 سم والسنبلة الزهرية (حتى 12سم) تتناقص فيها أعداد الأزهار ضمن النورات صعوداً، ويظهر أيضاً الأوراق المفصصة والكاملة.



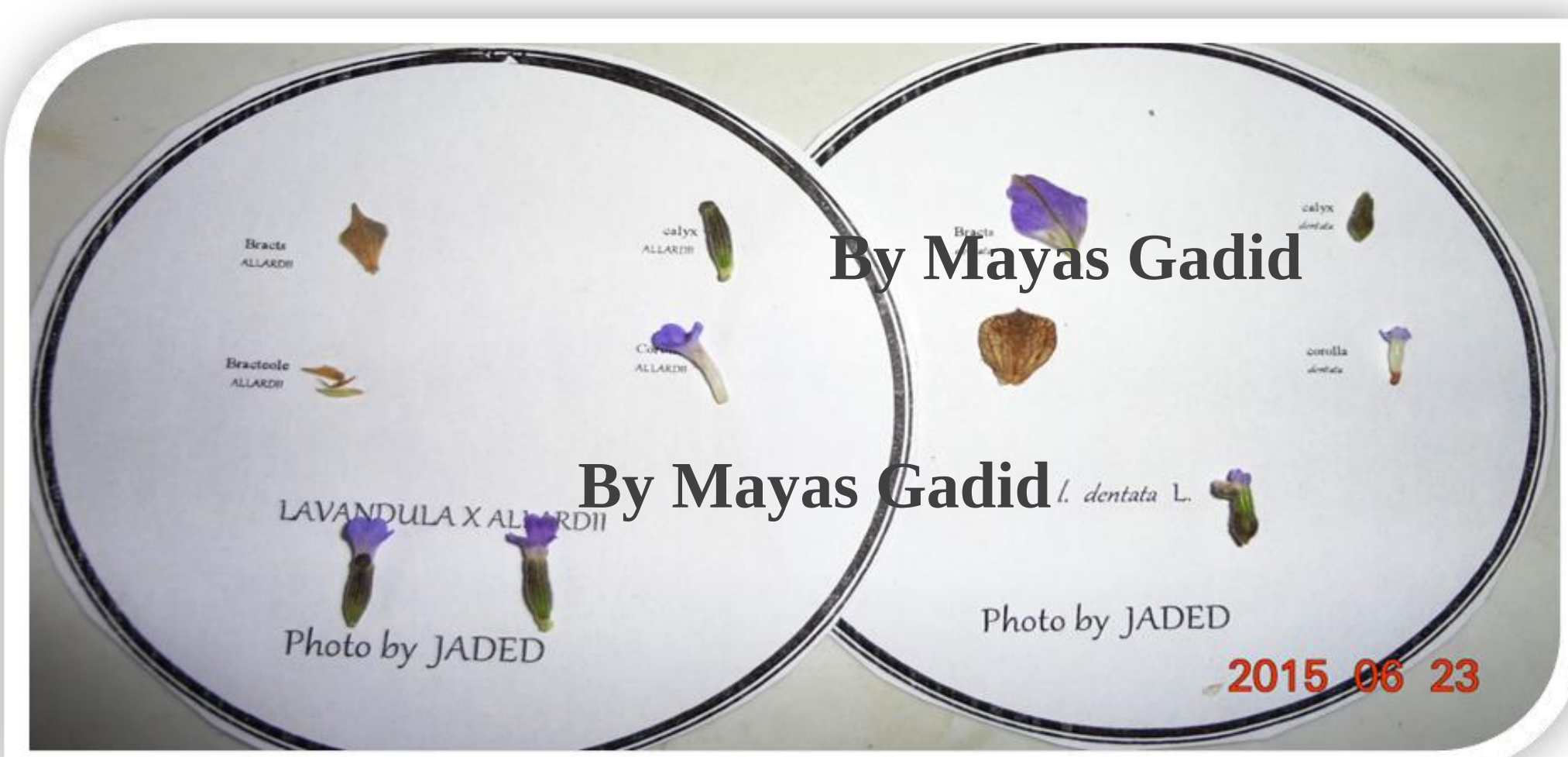
الشكل رقم (14). الزهرة والأوراق الزهرية في الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*)

(أ) التويج،(ب) الكاس،(ج) الزهرة،(د) قنابة،(هـ)قنيبات.

ويشترك الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) مع الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) بوجود التفصيص على الورقة – مع اختلاف عمق التفصيص والشكل العام للورقة وأبعادها– وبوجود القنابات المتحورة عديمة اللون، ويختلفان من حيث أنّ تلك الأوراق الملونة العقيمة التي تعلو السنبلة في الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) لا تتواجد في الهجين مفصص الأوراق، (الشكل15). وكذلك يختلفان فيما بينهما بشكل الزائدة على رأس الكأس وبحجم الجزء الظاهر من الأنبوب التويجي خارج الكأس وبشكل القنابات، كما وتتميز الخزامى الفرنسية بعدم وجود القنيبات، (الشكل 16).



شكل رقم (15). الحامل الزهري والسنبلة الزهرية والاوراق، (أ). الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) و(ب) الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.)



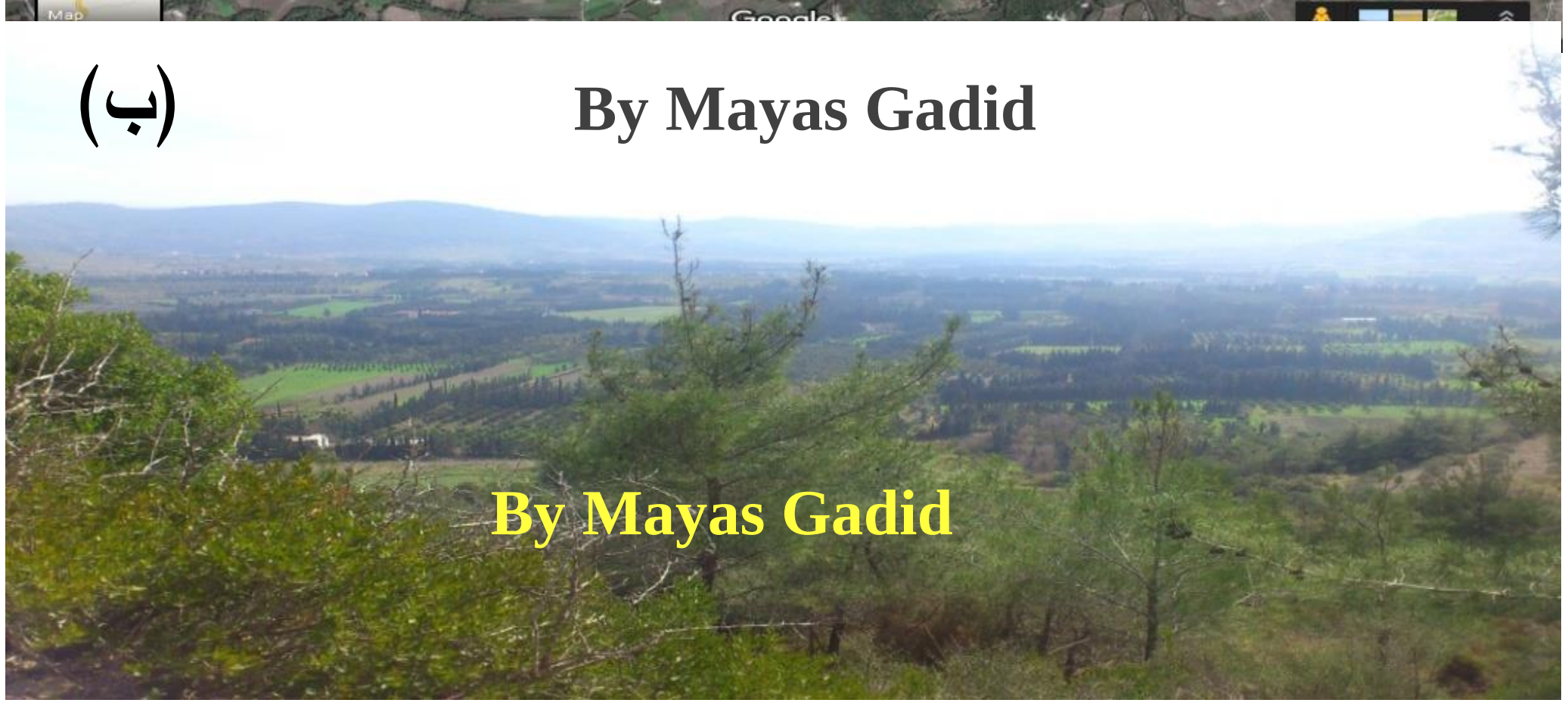
شكل رقم (16). الزهرة والأجزاء الزهرية في الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) والهجين (*L. x allardii*) .

وتجدر الإشارة إلى أنّ كُلا من الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) والهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) لا يُعدّان من الخزامى المتحملة للعطش وأشعة الشمس المباشرة خلال فترة الصيف (حزيران وتموز)، وهذا ما قمنا بملاحظته أثناء فترة التجربة على نباتاتهما المزروعة في أصص حيث أظهرت التجربة حاجتهما الماسة لـ (2 رية. الأسبوع$^{-1}$)، في حين أنّ الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) أكثر تحمُلّاً للعطش وكانت (رية واحدة.الأسبوع$^{-1}$) كافية، لذا يُعدّ النوع الإنكليزي من النمط قوي التحمل The Hardy Lavenders في حين يعد النوع الفرنسي من النمط الغضْ The Tender Lavender، (Chu وزملاؤها، 2001).

4-1-1-5. الخزامى من النوع البرّي *L. stoechas* L.)/ Wild Lavender):

أشاد الأهالي في منطقة الانتشار الطبيعي للنوع (*L.stoechas* L.) في اللاذقية بأهمية هذا النبات واستخدام أزهاره في الطب الشعبي في شفاء نزلات البرد وكمضاد للمغص وكمقشع، وذهب بعضهم لقدرتها في علاج لسعات العقارب، ويعرف لديهم باسم (برابخون/ بريخون)، وأكدوا لنا انخفاض عدد نباتاته عموماً بعد أن كانت تحيط بمنازلهم، المترافق بانحسار رقعة الغطاء النباتي الطبيعي وزيادة مساحة السهول الزراعية جراء تحويل تلك الأراضي للاستثمار الزراعي في العقود الأربعة الأخيرة، في حين تبقى من الغطاء الطبيعي الأصلي مناطق صغيرة متفرقة ومختلفة الأحجام من غابات الصنوبر البروتي التي تحتوي على أطرافها جنبات الخزامى البرّية مع العديد من النباتات المرافقة مثل الآس (*Myrtus communis*)، وهذا ما تؤكده الصور الفضائية والضوئية للمنطقة حول وجود موقع الاعتيان على أطراف رقعة ناجية من غابة الصنوبر، (الشكل17).





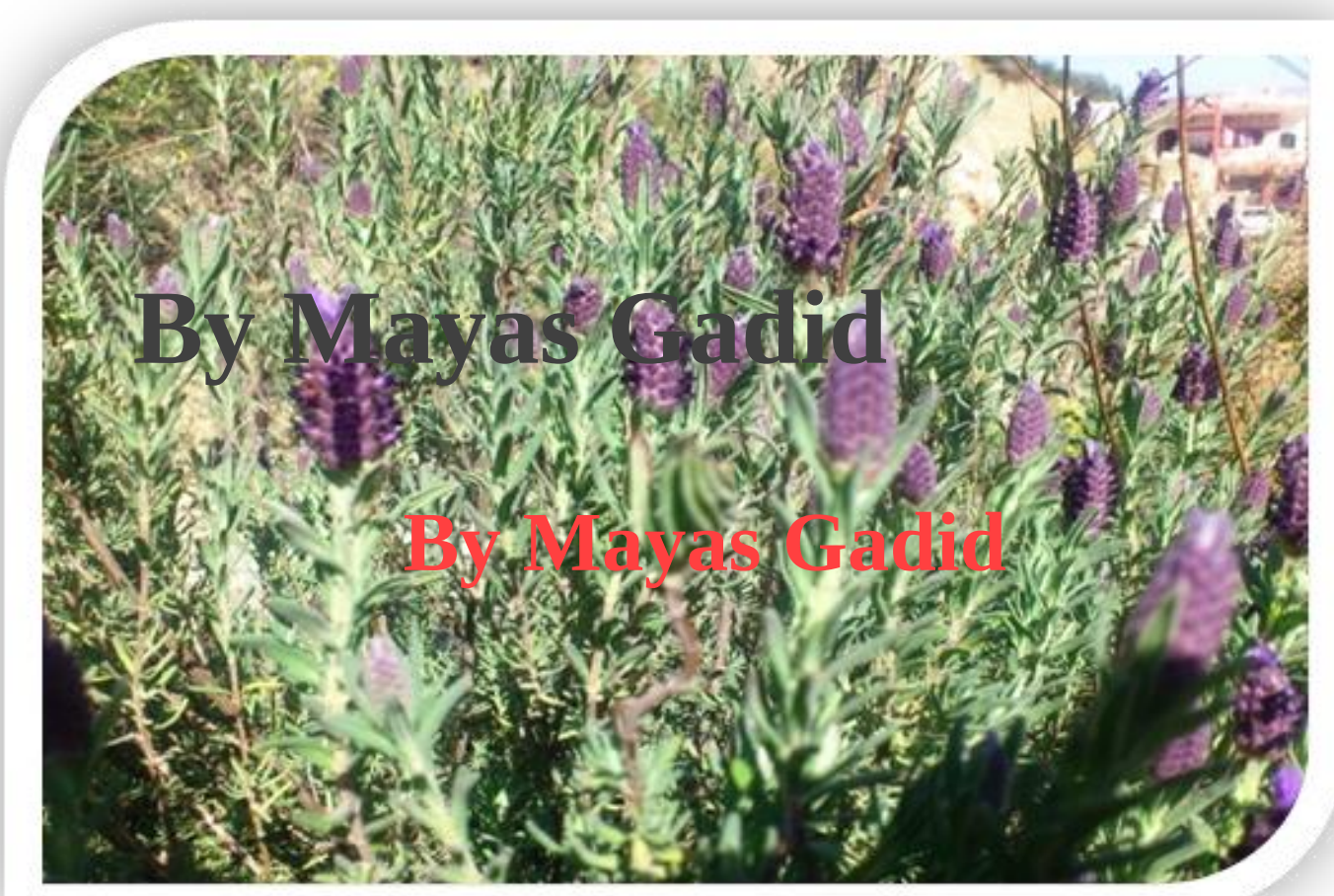
الشكل رقم (17). (أ) صورة فضائية للمنطقة التي تحوي موقع الاعتيان الملاصق لمساحة غابية صغيرة من الصنوبر البروتي محاطة بمساحات واسعة بالحقول المزروعة، وتظهر الصورة الضوئية، (ب) إزالة للغطاء النباتي للقيام بنشاط زراعي في حين نباتات الصنوبر (*Pinus brutia*) والآس (*Myrtus communis*)، لاتزال موجودة .

الوصف العام : جنبة خضراء إلى خضراء رمادية ارتفاعها يصل لـ(40-100) سم في الظروف الساحلية السورية (الشكل18)، تكون أوراقها لاطئة، بنموات شعرية ناعمة غير مرئية وأوراقها متوازية الحواف رمحية الشكل، ولوحظ صغر مساحة سطحها نسبياً (1.2-4) سم طولاً و(0.3- 0.5)سم عرضاً، ولاحظنا انكماشها والتفاف حوافها للأسفل وللداخل، وكذلك ازدحامها على العقد والتي بدورها تكون متقاربة فيما بينها. ويكون الإزهار غزيراً في النباتات المعمرة، وهو على شكل سنبلة كثيفة ومضغوطة تعتلي الفرع الذي ينطلق منه حامل السنبلة (وهو قصير 3-8) سم حيث لايتجاوز طوله طول السنبلة أحياناً، وبالتالي تكون السنبلة الزهرية قريبة جداً من أعلى ازدحام للأوراق على الفرع، ويكون هذا الفرع بعمر عام على الأقل، (الشكل19).

.



الشكل رقم (18). جنبة معمرة من النوع البرّي للنوع الخزامى البرّية (*L. stoechas* L.)





الشكل رقم (19). السنبلة الزهرية (و الإزهار) في الخزامى البرّية (*L. stoechas* L.).

تتربع على قمة السنبلة Apex خصلة (كفشة) من الأوراق الزهرية المتضخمة (Acoma) العقيمة والملونة (نهدي إلى بنفسجي فاتح)، تكون رمحية الشكل متطاولة يصل طولها (2-3) سم وعرضها (0.3-0.5) سم، في حين تكون القنابات الخصبة لاطئة على حامل السنبلة وتأخذ شكلا بيضاوياً بسيطاً مقلوبا بأبعاد (0.3 x 0.4) سم^2 وهي أقل مساحة من تلك الملونة العقيمة (1 x 1.5) سم^2 وتقوم كل قنابة بحمل وتغطية أربع (4-5) أزهار تشترك معها بنقطة التقائها اللاطئ على حامل السنبلة، وتتوزع القنابات على مستويات منتظمة ضمن السنبلة مشكلة ما يسمى سوار Whorl، يحتوي كل سوار (2-3-4) قنابات وفقاً لاتساع السنبلة (2 في الطبقة ما تحت القمة Apex و4 قنابات في اسفل السنبلة)، ولوحظت القنيبات الصغيرة جداً أيضاً والمرافقة للأزهار المتزاحمة داخل القنابات الخصبة.

ويتميز هذا النوع بكون التويج الزهري أنبوباً ملوناً (بلون بنفسجي غامق) بشفاه متماثلة تكاد تكون ظاهرة من الكأس الملون أيضاً (بلون بنفسجي) وذو الشفاه المتماثلة في الحجم، والذي يحتوي ثلاث عشر عِرقاً مع وجود تفصيص متوسط ومتحور على هيئة لاحقة (زائدة) Appendage واضحة وكبيرة يتخللها تعريقات مميزة أيضاً، والتويج بنفسجي فاتح أو غامق والقنابات الحاملة تكون بيضاوية بسيطة مقلوبة، والميسم عبارة عن كتلة رأسية الشكل Capitate Stigma،(الشكل20).



الشكل رقم (20). مكونات السنبلة الزهرية في النوع البرّي (*L. stoechas* L.) (أ) سنبلة زهرية في المرحلة الثانية تكون تفقد ألوانها تدريجياً وتذبل أزهارها، (ب) مكونات السنبلة الزهرية، (ج) النورة الزهرية (3-5) أزهار ترتبط جميعها بقاعدة القنابة، (د) الكأس مع الزائدة المميزة وعروقه الطولية والبذور، (هـ) القنابة وعروقها المميزة .

ومن خلال دراستنا للإزهار في هذا النوع تمكّنا من ملاحظة وجود ثلاث مراحل شكلية تتعاقب على السنبلة الزهرية، (الشكل21). في المرحلة الأولى (مدتها التقريبية 30 يوماً) تتشكل بداءة السنبلة الزهرية التي تأخذ اللون البنفسجي باكراً، ويزداد حجمها تدريجياً بالتزامن مع تمايز الأزهار وتجمعها ضمن النورات وتمايز القنابات واكتمال الشكل العام للسنبلة الزهرية وتفتح الزهرة الأولى، وتبدأ مرحلة ثالثة (15يوم تقريباً) بذبول أول زهرة (يذبل التويج) ليتعاقب الذبول بالتناوب أيضاَ وتبدأ التويجات بالتساقط معلنة انتهاء فترة الإزهار ويبدأ اللون لعام للسنبلة بالتحول التدريجي من البنفسجي إلى الاخضر الفاتح تترافق تلك الفترة بالمحافظة على الكفشة الزهرية وزهوها مع بدء تشكل البذور داخل الكأس اللاطئ (حيث تظهر أربع بذور خضراء مستقرة في قعر الكأس).

وتتزامن المرحلة الثانية (15 يوماً تقريباً) بتلون كامل السنبلة باللون البنفسجي المتدرج، ويكون التويج هو الأغمق والأوضح تمايزاً لونياً، حيث تتفتح الأزهار بشكلٍ متناوب وأحياناً بشكلٍ منتظم على هيئة خط على طول السنبلة، ويكون لون القنابات أفتح من لون التويج ويمكن تسميتها مرحلة النضوج التام للسنبلة.



By Mayas Gadid

اشكل رقم (21). (أ) سنابل زهرية للنوع (*L. stoechas* L.) في المرحلة الأولى وتبدو بنفسجية نضرة، (ب) سنابل زهرية في المرحلة الثانية حيث تبدأ بفقدان اللون البنفسجي وتساقط بعض التويجات الزهرية، (د) سنابل زهرية في المرحلة الثالثة، تفقد السنبلة والأزهار اللون وتتحول إلى سنبلة جافة تحوي بذوراّ ناضجة.

ولا تلبث بعدها الكفشة الزهرية طويلاً، فتتساقط ويظهر على السنبلة مظاهر الجفاف التام، ولكن تبقى الأزهار بكؤوسها اللاطئة مثبتة على محور السنبلة بشكلٍ قوي حيث كنا نلاحظ أنّ السنابل تبقى على النبات حتى منتصف بدء موسم الأزهار في العام التالي. ليكون بذلك عمر الزهرة الواحدة شهرين تقريباً اعتباراً من تشكلها وتمايزها داخل النورة مروراً بتفتحها ومن ثمّ تساقط تويجها وتشكل بذورها ضمن الكؤوس اللاطئة المتشبثة على حامل السنبلة.

يتأقلم النوع البرّية (*L.stoechas* L.) في البيئة الساحلية وينمو معطياً أزهاراً وبذوراً بما يضمن استمراره، وتؤدي الظروف المحيطية السائدة من حرارة وهطولات وضوء دوراً هاماً في دخوله طور الإزهار، حيث أظهرت الزيارات المتعاقبة إلى موقع الاعتيان المحدد دخول جنبات النوع البرّي في طور الأزهار اعتباراً من منتصف شهر كانون الثاني عام (2014) ومن أواخر شهر شباط خلال الاعوام (2015 و2016)، وهو ما تعكسه التقلبات السنوية في الحرارة وعدم انتظام معدلات الهطول المطري في المنطقة الساحلية، حيث تميل النباتات البرّية في حالات العطش للتوجه نحو إنتاج الأزهار.

<u>4-1-1. الدراسة المورفولوجية :</u>

يسمح التحليل العنقودي Cluster Analysis ورسم شجرة التشابه المورفولوجي بتقييم الأنواع والأصناف عن طريق تقسيمها إلى مجموعات استناداً الى الصفات المورفولوجية ومن ثم في مرحلة لاحقة دراسة الارتباط بين نتائج دراسة التشابه المورفولوجي ونتائج دراسة وراثية تُجرى بشكلٍ موازٍ على نفس الأنواع والأصناف، بغية تقصي وجود أيّة علاقة بين الطرز الشكلية والطرز الوراثية الناتجة، ومن أجل ذلك قمنا بتحديد أهم الصفات المورفولوجية النوعية Qualitative Characters المميزة لكل منها، (الجدول3).

الجدول رقم (3). أهم الصفات المورفولوجية النوعية المميزة للأنواع والهجائن المدروسة من جنس الخزامى*

	المؤشر المورفولوجي	*L.angustifolia*	*L.x intermedia*	*L.dentata*	*L.x allardii*	*L.stoechas*
1	الكفشة الزهرية	0	0	1	0	1
2	سوار زهري متطرف	1	1	0	1	0
3	وجود قنيبات	1	1	0	1	1
4	القنابات المتحورة عديمة اللون	0	0	1	1	0
5	القنابات الملونة	0	0	0	0	1
6	سنبلة زهرية مضغوطة	0	0	1	0	1
7	تفرع الحامل الزهري	1	1	0	0	0
8	الأوراق المسننة	0	0	1	1	0
9	الأوراق كاملة الحواف	1	1	0	1	1
10	التويج متناظر ثنائياً	1	1	0	1	0
11	اللاحقة متحورة متضخمة على الكأس	0	0	1	0	1
12	كأس لاطىء معلق	0	0	0	0	1
13	وجود لاحقة (زائدة) على الكأس	1	1	1	1	1
14	الكأس يحتوي 13 عرق	1	1	1	1	1

*** قمنا بمنح القيمة (1) للنوع الذي يتمتع بالصفة المذكورة / والقيمة (0) في حال غيابها .**

يُظهر من الجدول (3)، أنّ الصفتين (13) و(14) تُدلان على تشابه الأنواع والاصناف المدروسة جميعها فيما بينها بوجود لاحقة (زائدة) وعروق على الكأس، ونعزو قيامنا بإدراج هذين الصفتين لوجود أنواع غير موجودة لدينا تتبع الجنس نفسه لكنها لا تحوي لاحقة على الكأس كما في النوع (*L. bipinnata* L.) والنوع (*L. multifida* L.)، وهناك أنواع أخرى يحتوي الكأس فيها 8 عروق كما في النوع (*L. lanata* L.).

كما لم نقم بإدراج صفتي(عقم البذور في الهجين (*L.x intermedia*) والهجين (*L x allardii*)) و(ندرة أزهارهما الحاوية على بذور)، وذلك تلافياً لحدوث تداخل ذو منشأ وراثي ضمن دراسة التشابه المورفولوجي وليتسنى لنا مقارنة النتائج بين كلتا الدراستين المورفولوجية والوراثية لاحقاً.

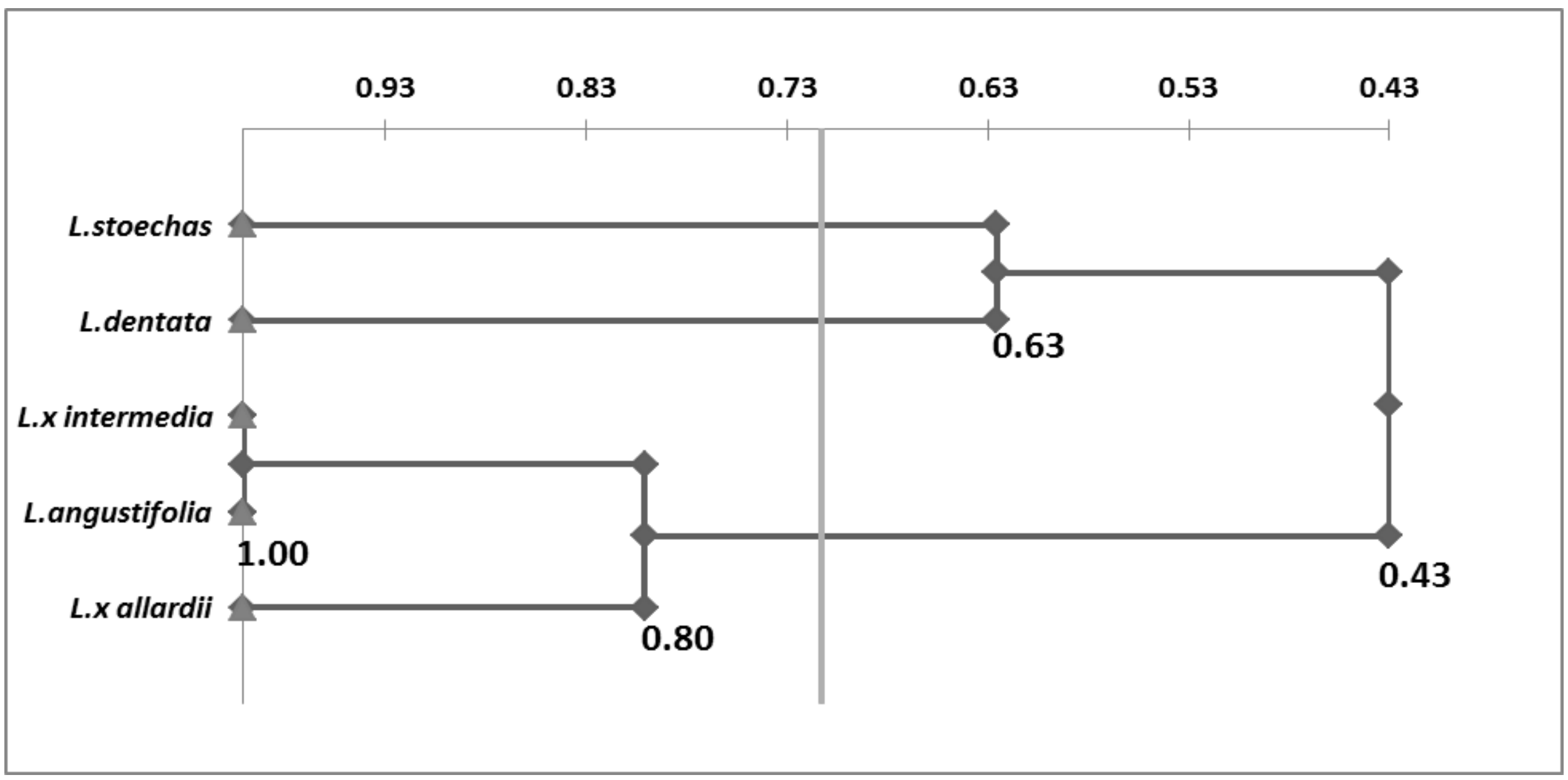
ويُبيّنْ الجدول رقم (4) قيم معامل (Dice coefficient) المحسوب باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Genstat software .

الجدول رقم (4). درجة التشابه في بعض الصفات الموروفولوجية بين الأنواع والهجن المدروسة من الخزامى.

L.stoechas	***L x allardii***	***L.dentata***	***L.x intermedia***	***L.angustifolia***	
				1	***L.angustifolia***
			1	1	***L.x intermedia***
		1	0.29	0.29	***L.dentata***
	1	0.53	0.8	0.8	***L.x allardii***
1	0.47	0.62	0.5	0.5	***L.stoechas***

يُظهر من الجدول أعلاه، أنّ أعلى درجة للتشابه الشكلي بالقيمة (1) بين النوع (*L. angustifolia* L.) والهجين (*L.x intermedia*)، فيما كانت أدنى درجات التشابه بالقيمة (0.29) بين الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.)، وكُلٍّ من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والهجين (*L.x intermedia*).

أظهر التحليل العنقودي انقسام شجرة التشابه المورفولوجي إلى عنقودين رئيسين بلغت درجة التشابه بينهما حوالي (0.43)، وضم العنقود الأول الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والهجين (*L.x intermedia*) بدرجة تشابه كبيرة جداً (0.99)، ويقترب منهما في الشبه المورفولوجي الهجين (*L x allardii*) لتصل درجة الشبه حتى (0.80). ويندرج في العنقود الثاني النوعين البرّي (*L.stoechas* L.) والخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) بنسبة تشابه (0.63)، (الشكل22).



الشكل رقم (22). شجرة التشابه المورفولوجي بين الأنواع والأصناف المدروسة من جنس الخزامى.

من بين المؤشرات النوعية المدروسة، تُعدُّ مؤشرات الإزهار عموماً وتركيبة السنبلة الزهرية خصوصاً هي الأكثر تحديداً لدرجة الشبه بين الأنواع والأصناف المدروسة من جنس الخزامى، وهذا يُفسر اقتراب الهجين مفصص الأوراق (*L x allardii*) في الشبه من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) على الرغم من اقتراب الشكل العام للزهرة وتفصيص الأوراق في الهجين (*L x allardii*) إلى ما هو عليه في النوع الفرنسي (*L. dentata* L.).

4-2. الدراسة الكيميائية للزيوت العطرية في الأنواع *المدروسة من جنس الخزامى

4-2-1. النسبة المئوية للزيت الطيار في أنواع وهجن من جنس الخزامى: أُجريت عمليات التقطير المائي للزيت العطري خلال فترة ذروة الإزهار الخاصة بكل نوع مدروس، وكان الزيت العطري للخزامى المدروسة بالعموم سائلاً أصفراً شفافاً باهتاً. وأظهرت نتائج التقطير المائي اختلافاً في النسبة المئوية للزيت الطيّار بين الأنواع والهجن المدروسة من جنس الخزامى من جهة، وارتفاع النسبة المئوية للزيت العطري في الأزهار بالمقارنة بنسبة الزيت العطري في الأوراق من جهة ثانية.

الجدول رقم (5). نسبة الزيت العطري (مل.100غرام$^{-1}$) في المادة النباتية (رؤوس زهرية/أوراق) المجففة هوائياً.

النوع المدروس		فترة التقطير (فترة الإزهار)	نسبة الزيت العطري (%)	
			الأزهار	الأوراق
الخزامى المزروعة	(*L. angustifolia* L.)	تموز (منتصف أيار- منتصف آب)	4.23^{a}	1.07^{b}
	(*L.x intermedia*)	تموز (منتصف أيار- منتصف آب)	4.10^{a}	1.03^{b}
	(*L. dentata* L.)	أيار (أوائل نيسان- منتصف آب)	1.30^{b}	1.00^{b}
	(*L x allardii*)	تموز (أواخر أيار- أوائل آب)	1.50^{b}	1.10^{b}
البرّي	(*L.stoechas* L.)	نيسان (آذار- منتصف نيسان)	4.03^{a}	1.37^{a}
L.S.D (5%)			**0.316**	**0.115**

كانت نسبة الزيت العطري في الرؤوس المزهرة الأعلى معنوياً لدى الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والهجين (*L.x intermedia*) يظهر الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.) وبدون فروقات معنوية فيما بينها (4.23 % و 4.10% و 4.03% على التوالي، في حين كانت القيم الأدنى معنوياً لدى الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) والهجين (*L x allardii*) وبدون فروق معنوية فيما بينها (1.30% و 1.50% على التوالي).

*** إنّ عبارة (أنواع جنس الخزامى المدروسة) الواردة في العناوين الرئيسة نقصد بها مجمل الأنواع والهجن المدروسة.**

وكانت نسبة الزيت العطري في الأوراق الأعلى معنوياً لدى النوع البرّي (1.34%)، في حين كانت الأدنى معنوياً لدى باقي الأنواع والهجن (*L x allardii*) و(*L. angustifolia* L.) و(*L.x intermedia*) و(*L. dentata* L.) و بدون فروقات معنوية فيما بينها (1.1% و1.07% و 1.03% و 1.00% على التوالي).

ويمكن أن يُعزى الارتفاع الكبير بمتوسط الزيت العطري في الرؤوس المزهرة للخزامى مقارنة بالأوراق، بالدرجة الأولى جمع الأوراق والرؤوس المزهرة في آنٍ معاً حيث يتركز حينها نقل المركبات العضوية من المصدر (الأوراق) إلى المصبْ (الأزهار)، وبشكل آخر يتم استثمار الكمّ الأكبر من الكتلة الحية في تراكم نواتج الاستقلاب الثانوي في الأزهار التي تكون فيها كثافة الشعيرات والغدد الزيتية أكبر(عدد الغدد الزيتية. ملم$^{-2}$)، وبالتالي فإنَّ نسبة الزيت العطري في الأوراق تتفاوت خلال موسم النمو و فترة الإزهار.

كانت النسبة المئوية للزيت في أزهار الخزامى الإنكليزية المزروعة في سورية (4.23%) قريبة من (4.4%) في أزهار النوع ذاته المزروع في اليونان (Chatzopoulou وGoliari،2003)، و كانت متفوقة على نسبة الزيت في أزهار النوع الإنكليزي المزروع في الجزائر(Belhadj Mostefa وزملاؤه،2014)،والأردن (Saad،2007) (2.0% و3.8%) على التوالي، كما أنّها تقع موقعاً وسطاً بين القيم (1.93% و5.08% و2.20% و9.25%) الممثلة للمحتوى الزيتي لأزهار مفصولة عن حواملها تعود لأربع أصناف شهيرة من الخزامى الإنكليزية Raya وَ Vera و Munstead وَ Silver على التوالي، تمَّ إدخالها إلى تركيا من بلغاريا وفرنسا البلدان الرائدان في إنتاج الزيت العطري للخزامى الإنكليزية (Kara وBaydar،2013)، مما يعكس جدوى زراعة الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) في الظروف المحلية الدمشقية للحصول على زيته العطري بمردود يفوق أو يضاهي الغلال المتحصل عليها من نباتات (*L.angustifolia* L.) في بلدان مجاورة.

أمّا بالنسبة للهجين اللافاندين (*L.x intermedia*)، حيث بلغت نسبة الزيت في الرؤوس المزهرة (4.1%)، في حين كانت النسبة (6.54% و5.50% و7.75%) المتحصل عليها من أزهار ثلاثة أصناف عالمية شهيرة من اللافاندين هي (Dutch من ألمانيا، وGiant Hidcote من فرنسا، وSuper A من تركيا) على التوالي، عند زراعتها في تركيا(Kara وBaydar،2013)، ويلُاحظ أنَّ نسبة الزيت في الرؤوس المزهرة في الهجين اللافاندين كانت أدنى بكثير بالمقارنة مع الهجين نفسه المزروع في تركيا.

وكانت النسبة المئوية للزيت في الرؤوس المزهرة للهجين مفصص الأوراق (*L x allardii*) (1.5%)، ولا تشير أيّة من الدراسات المرجعية المحلية والعالمية إلى غلَّته من الزيوت العطرية.

وبلغت النسبة المئوية للزيت العطري المستخرج من الرؤوس الزهرية المجففة هوائياً للخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) (1.30%) في حين بلغت (1.41% و2.18%) في نباتات النوع ذاته النامية في المملكة المغربية وفقاً لـ (Imelouane وزملاؤه،2010) وَ(N'Dédianhoua وزملاؤه،2014) على التوالي، و(0.58%) في النوع (*L. dentata* L.) النامي بشكل برّي في اليمن وفقاً لـ (Mothana وزملاء،2012).

وفي إشارة إلى النسبة المئوية للزيت العطري المسجلة لدينا من أجل الرؤوس المزهرة المجففة هوائياً للخزامى البرّية السورية (*L.stoechas* L.) والتي بلغت (4.03%)، فقد كانت أعلى من مثيلاتها للنوع ذاته (*L.stoechas* L.) المجموعة من الجزائر(3.41 %) (Malika وImegrave،2012)، ومن المغرب (1.5%) (حسن آغا،2001)، في حين كانت نسبة الزيت في النوع نفسه النامي برّياً في ساردينا قد تراوحت بين (3.1 % في 5 نيسان، 1.4% في 4 أيار، و0.7 % في 8 تموز)(Angioni وزملاء،2006).

وتختلف النسبة المئوية للزيت العطري في أوراق الأنواع المدخلة المدروسة عن مثيلاتها في بلدانٍ أُخرى، حيث كانت النسبة المئوية للزيت العطري في الأوراق المجففة لمحصول اللافاندين (*L.x intermedia*) بالصنف الكرواتي Budrovka (0.4%) فقط، وكان محتوى الحوامل الزهرية من الزيوت العطرية غير مرئياً (آثار لاتذكر) (Blazekovicوزملاؤها،2011). وتفوقت نسبة الزيت في أوراق النوع (*L.stoechas* L.) النامي في الساحل السوري (1.37%) على النسبة المئوية للزيت العطري في الأوراق المجففة للخزامى (*L.stoechas* L.) النامية في تونس (0.77%) وفقاً لـ (Bouzouita وزملاء،2005). وتساوت القيمة المُسجلة لدينا مع القيمة المتحصل عليها من أوراق النوع النامي طبيعياً في تركيا (1.33%) (A. C. Gören وزملاء،2002)، في حين تأرجحت النسبة المئوية للزيت العطري في المزيج (أوراق/السوق) العائد للنوع (*L.stoechas* L.) النامي طبيعياً في إيطاليا في عام (2004) (1.6% في 22 آذار/ و1.2 % في 5 نيسان/ إلى 2.1 % في 14 تموز / و1.2 % في 27 تموز/2.1 % في 18 تشرين أول)،(Angioni وزملاء،2006).

يُعزى التباين في نسبة الزيت العطري في الرؤوس المزهرة والأوراق من أنواع وهجن الخزامى النامية في سورية، إلى كون إنتاج الزيت العطري داخل النبات يعتمد على التداخلات الوراثية والتطورية والفيزيولوجية للنبات وعلاقاتها مع الظروف البيئية التي يوجد ضمنها، كما وإنّ تنظيم تراكم المركبات الطيارة في أنسجة النبات يرتبط بشكلٍ معقد مع العديد من المكونات الديناميكية للعوامل الفيزيائية الجوية (الرطوبة النسبية الجوية، شدة الإشعاع الشمسي، درجة الحرارة ... إلخ) والأرضية مثل الخصائص الكيميائية للتربة (Lee وDing،2006)، وكذلك فإنّ لاختلاف مواعيد فترة الإزهار وأوجها الموافق للأنواع والهجن المدروسة تأثيراً مهماً ومحدداً لنسب الزيت العطري في النبات، لا وبل يتعدى أثره إلى تغييرات في تركيب الزيت نفسه (Angioni وزملاؤه،2006)، وكمثال لتلك التداخلات؛ تؤثر الظروف الجوية والفترة الضوئية في طول فترة الإزهار ومن ثمَّ في عدد الأزهار وطول السنبلة الزهرية وحجم الأزهار وعدد الغدد الزيتية فيها، ولذلك تؤثر في معدّل التمثيل الضوئي ومن ثم تصنيع المركبات العضوية اللازمة للتصنيع الحيوي للزيت العطري وبالنهاية في الغلّة الزيتية الناتجة، وبالتالي فإنَّ تفاوت نسبة الزيت العطري بين الأصناف والأنواع المختلفة النامية ضمن المنطقة البيئية ذاتها، يمكن تفسيره لاختلافات وراثية فيما بينها بقدرتها على تحويل المادة الجافة إلى مكونات الزيت العطري.

وفي الوقت الذي تُثبت فيه التقارير العلمية القديمة والحديثة تغير محتوى وتركيب الزيت العطري في النوع العطري ذاته تبعاً للاختلافات الفصلية، تُعدُّ التغيرات المناخية التي تحدث خلالها من حرارة وتوزعات الهطول المطري من الأمور المهمة التي تؤدي دوراً في ذلك، فإنّه لا يمكن إغفال دور الخصائص الجغرافية للمنطقة وخصوصاً الارتفاع عن سطح البحر (Lee و Ding؛2006). ويظهر أثر ما سبقَ ذكره من عوامل بوجه الخصوص على النوع البرّي (*L.stoechas* L.) الذي يتكيف مع البيئة المتوسطية السائدة في منطقة الساحل السوري وينمو معطياً أزهاراً ليضمن استمراره وبقاءه، وتؤدي الظروف المحيطة السائدة من حرارة وهطولات وضوء دوراً مهماً في دخوله طور الإزهار، حيث أظهرت الزيارات المتعاقبة إلى موقع الاعتيان المحدد دخول جنبات النوع البرّي في طور الإزهار اعتباراً من منتصف كانون الثاني خلال العام (2014م) ومن أواخر شباط خلال الأعوام (2015م و2016م)، وهو ما تعكسه التقلبات السنوية في الحرارة وعدم انتظام معدلات الهطول المطري في المنطقة الساحلية، حيث تميل النباتات البرّية في حالات العطش للتوجه نحو انتاج الأزهار منتهجةً للعديد من آليات تحمُّل الجفاف مثل تقليل طول وعرض الورقة (Reduced Leaf area) للتخفيض من مساحة السطح النباتي المعرض

لأشعة الشمس (العودة وخيتي، 2008)، وهو ما قمنا بملاحظته على جنبات النوع (*L.stoechas* L.) من صغر مساحات أوراقها عموماً، وانكماشها والتفاف حوافها للأسفل (Leaf Rolling) خلال شهري نيسان وأيّار وبدرجة أكبر خلال شهري الصيف تموز وآب، وإنّ تفوق النوع (*L.stoechas* L.) بمحتوى أوراقه من الزيت على الأنواع المدخلة، ربما يعود للعطش الذي يتعرض له النبات عند انحباس الهطولات المطرية خلال الربيع وانخفاض قيمة السعة الحقلية في المنطقة، حيث تُشير دراسة إيرانية لـ (Farahani وزملاؤه،2009) أُجريت على نبات المليسة (*Melissa officinalis* L.) المزروع والمروي وفق خمس مستويات من الرطوبة (100و80 و60 و40 و20) % من السعة الحقلية إلى أنّ عجزاً في كمية المياه المتوافرة للنبات قد أثّر بشكلٍ معنوي سلبي في الغلة الحيوية (كغ.هكتار$^{-1}$) والغلة الورقية (كغ.هكتار$^{-1}$) وغلة السوق (كغ.هكتار$^{-1}$) وارتفاع النبات والمسافة بين العقد على السوق والفروع وعدد التفريعات في النبات، مسبباً انخفاض كل مما سبق مع انخفاض قيمة الري المطبق، في حين ارتفعت النسبة المئوية للزيت العطري (مل.100غرام$^{-1}$)، وكذلك نصف قطر السوق والفروع الرئيسة في النبات مع انخفاض كمية المياه المخصصة للري، في حين تموضعت الغلة الزيتية (كغ.هكتار$^{-1}$) للملّيسة موضعاً وسطاً حيث تفوقت المعاملات (60% ثمّ 40% ثمّ 80% ثمّ 100% ثمّ 20%) كونها لا تتعلق فقط بنسبة الزيت، وإنّما بالمؤشرات الوزنية للنبات، حيث أنَّ النسبة المئوية للزيت والغلة من الأزهار أو الأوراق هما المكونان الرئيسيان للغلة الزيتية، وهو أمر مهم حيث أنَّه بازدياد عطش النبات تزداد الغلة الزيتية ثمّ تبدأ بالانخفاض، وتتشابه نتائجهم مع بحث قديم أجري على النوع النباتي نفسه (Munne-Bosch وAlegre،1999)، ومع بحث آخر أُجري على نبات الكزبرة Coriander (*Coriandrum sativum* L.) (Aliabadi Farahani وزملاء،2008).

أخيراً، وبالرغم من التباين في طول فترة الإزهار وعدد النورات الزهرية وحجمها وعدد الغدد الزيتية في الأزهار والأوراق، والتباين في الكتلة الحيّة للنبات بين النوع البرّي وباقي الأنواع المزروعة، فقد كانت نسبة الزيت في الرؤوس المزهرة مرتفعة وبدون فروقات معنوية مع الخزامى الإنكليزية واللافاندين، وكانت الأعلى معنوياً في الأوراق، إلاّ ان المقارنة على أساس نسبة الزيت لا تُعدّ منصفة، حيث لابُدَّ من إدخال مؤشرات الغلة الزيتية (كمية الزيت (مل). نبات$^{-1}$) و(كمية الزيت (مل). وحدة المساحة$^{-1}$) من أجل المفاضلة بين الأنواع والأصناف المدروسة.

4–2 –2. التركيب الكيميائي للزيوت الطيارة لأنواع من جنس الخزامى:

أُجري التحليل الكروماتوغرافي المربوط إلى مطيافية الكتلة GC-MS لخمسة من الزيوت العطرية المستخلصة من أزهار جميع الأنواع والهجن المدروسة كُلٍّ على حدى (5 زيوت عطرية زهرية)، ولزيتين تم استخلاصها من أوراق النوعين (*L.angustifolia* L.) و(*L.stoechas* L.) (2 زيتين ورقيين) نظراً لدخولهما في التجارب المخبرية المتعلقة بفعّالية الزيوت التبخيرية ضد الحشرات. ويبيّن الجدول رقم (6)، التركيب التفصيلي للزيوت العطرية المستخلصة من أزهار وأوراق أنواع الخزامى المدروسة، رُتبت فيه المكونات تبعاً لوزنها الجزيئي، وهنا تجدر الإشارة إلى أنّ النسبة المئوية المذكورة إلى جانب كل مركب تمثل النسبة المئوية لمساحة القمة الخاصة بالمركب (Area%) منسوبة إلى المجموع الكلي للمساحات في المخطط الكروماتوغرافي الخاص بالعينة.

بلغ عدد المركبات في الزيوت العطرية لأنواع الخزامى المجموعة من القطر العربي السوري (108) مركباً مختلفاً، واختلفت تلك المركبات فيما بينها بتكرار تواجداها ضمن تلك الزيوت، حيث تميزت (3) من مركبات فقط وهي (Camphor و1,8-Cineole وLinalool) بتواجدها في جميع الزيوت المختبرة (7) زيوت، وتكرر تواجد كل من المركبات (α-Pinene وβ-Pinene وLimonene وα-Terpineol و4-Terpineol وBorneol) على حدى في (6) زيوت عطرية، في حين تكررت المركبات (Fenchone وCarvone و*ρ*-Cymen-8-Ol وMyrtenal وCaryophyllene Oxide) (4) أربع مرات لكل منها، وتراوح تكرار بقية المركبات كالتالي (12 مركباً تكرر كل منها (3) مرات، 22 مركباً تكرر كل منها (2) مرّتين فقط، 60 مركب غير متكررة)، ويُشير ما سبق إلى تنوع في التركيب الكيميائي بالعموم للزيوت العطرية لأنواع الخزامى من سورية، بغض النظر عن وفرة (نسبة%) المركبات في كل منها. وتبين الاشكال (N-M-L-K) في ملحق الأشكال، مخرجات المكتبة الإلكترونية لعدد من المركبات العطرية المفصولة ، متضمنة (الصيغتان العامة والفراغية للمركب ،عدد الشظايا الأكثر وفرة للمركب Largest beaks،تسمياته التوافقية Synonyms ورموزه في المراجع الكيميائية الدولية CAS Number وNIST، وقيم احتماليات التشابه Similarity Probability مع مماكبات ومركبات أخرى، ومعاملا الفصل (المرجعي Retention Index والمحسوب Estimated Retention Index).

الفصل الرابـع ـــ

الجدول رقم (6). التركيب الكيميائي التفصيلي للزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى*.

stoe.		*allar.*	*dent.*	*inte.*	*angu.*		المركب			no.
LV	FL	FL	FL	FL	LV	FL	MF	Mw	الاسم	
-	-	-	-	-	-	0.11	$C_8H_{16}O$	128	2-Octen-1-Ol-(Z)	1
-	1.65	-	-	-	-	-	C_9H_8O	132	(E)-Cinnamaldehyde	2
-	-	-	-	-	0.16	-	$C_{10}H_{14}$	134	*P*-Cymene	3
0.4	-	-	-	-	0.71	0.18	$C_{10}H_{14}$	134	*O*-Cymene	4
-	-	-	-	-	-	0.12	$C_{10}H_{16}$	136	3-Thujen	5
0.66	2.32	0.38	-	0.34	0.18	1.10	$C_{10}H_{16}$	136	α-Pinene	6
0.47	-	-	-	-	0.16	0.31	$C_{10}H_{16}$	136	Camphene	7
0.06	-	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}$	136	*β*-Terpinene	8
-	-	0.40	-	-	-	0.11	$C_{10}H_{16}$	136	*3*-Caren	9
0.23	-	0.98	1.89	0.29	0.31	0.30	$C_{10}H_{16}$	136	*β*-Pinene	10
-	-	0.14	-	-	-	0.24	$C_{10}H_{16}$	136	Sabinene((4(10)- thujene)	11
-	-	0.14	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}$	136	*β*-Mercyne	12
-	-	-	-	-	0.23	0.14	$C_{10}H_{16}$	136	Fenchene	13
0.25	0.79	0.96	-	0.79	0.97	1.05	$C_{10}H_{16}$	136	Limonene	14
-	-	-	-	1.04	1.9	2.40	$C_{10}H_{16}$	136	*β-Trans*-Ocimene	15
-	-	-	-	-	-	0.32	$C_{10}H_{16}$	136	*m*-Cumenol	16
-	-	0.99	-	-	1.61	-	$C_9H_{14}O$	138	Crypton	17
-	-	0.21	-	-	-	-	$C_{10}H_{12}O$	148	Estragole	18
-	-	0.96	-	-	1.88	-	$C_{10}H_{12}O$	148	Cumic Aldehyde	19
0.28	-	0.55	-	-	0.31	-	$C_{10}H_{14}O$	150	Pinocarvon	20
0.15	0.23	0.36	-	-	1.35	-	$C_{10}H_{14}O$	150	*ρ-Cymen*-8-Ol	21
0.32	2.19	1.03	-	-	0.38	-	$C_{10}H_{14}O$	150	Myrtenal	22
0.23	0.17	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{14}O$	150	*cis*-Verbenone	23
-	-	0.21	-	-	-	-	$C_{10}H_{14}O$	150	*3,5*-Heptadienal, *2*-ethylidene-*6*-methyl.	24
0.26	0.37	0.57	-	-	0.52	-	$C_{10}H_{14}O$	150	Carvone	25
-	-	0.33	-	-	0.35	-	$C_{10}H_{14}O$	150	Cuminic Alcohol	26
-	-	-	-	0.28	-	-	$C_{10}H_{14}O$	150	Carvacrol	27
-	-	-	-	-	0.27	-	$C_{10}H_{14}O$	150	*D*-Verbenone	28
38.4	23.3	-	0.16	-	-	1.76	$C_{10}H_{16}O$	152	Fenchone	29
0.2	0.3	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	152	*D*-Verbenol	30
-	-	0.17	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	152	*5*-Carenol	31
-	0.7	-	-	-	0.66	0.65	$C_{10}H_{16}O$	152	Camphenol,6	32
-	-	0.96	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	152	*α*-Campholenal	33
-	0.31	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	152	*trans-2*-Caren-4ol	34
0.34	1.1	-	-	-	0.69	-	$C_{10}H_{16}O$	152	*E*-3(10)-Caren-4-Ol	35
-	-	1.03	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	152	L-pinocarveol	36
10.6	6.99	0.57	0.78	10.3	26.7	9.97	$C_{10}H_{16}O$	152	Camphor	37
-	-	0.52	1.67	-	0.68	-	$C_{10}H_{16}O$	152	*Cis-P*-Mentha-6,8-Dien-2-Ol,cis-	38

stoe.		allar.	dent.	inte.	angu.		المركب			تتمة
LV	FL	FL	FL	FL	LV	FL	MF	Mw	الاسم	
-	-	-	3.68	-	-	0.35	$C_{10}H_{16}O$	152	*Trans*-3Carene-2-Ol	39
-	7.88	0.72	-	-	0.37	-	$C_{10}H_{16}O$	152	Myrtenol	40
-	-	-	-	0.56	-	0.42	$C_{10}H_{16}O$	152	*cis-p*-Mentha-*2,8*-dien-1-ol	41
0.6	0.3	0.28	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	152	*L*-Carveol	42
-	-	0.19	-	-	0.21	-	$C_{10}H_{16}O$	152	Piperiton	43
41.1	0.61	71.67	66.18	10.1	21.9	7.67	$C_{10}H_{18}O$	154	(*1,8* Cineole) Eucalyptol	44
-	-	-	-	-	-	0.23	$C_{10}H_{18}O$	154	*cis-2*-Thujen-4-ol	45
0.51	-	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	*4*-Thujanol	46
-	-	0.42	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	*p-Mentha-2*-en-1-ol	47
-	-	-	-	-	-	0.40	$C_{10}H_{18}O$	154	*Cis*-Sabinene Hydrate	48
0.08	-	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	*4*-ethyl-*1-4*-diemthyl-2-cyclohexen-1-ol	49
0.31	0.3	0.83	2.21	44.6	1.29	50.05	$C_{10}H_{18}O$	154	Linalool	50
0.34	-	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	*Exo*-fenchol	51
-	1.08	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	*(1R)-Endo*-(+)-Fenchyl alcohol	52
0.1	-	1.14	1.22	3.32	4.55	4.33	$C_{10}H_{18}O$	154	(-)-Borneol	53
0.53	-	1.35	-	-	0.66		$C_{10}H_{18}O$	154	Santolina Alcohol	54
-	-	-	-	1.06	-	0.77	$C_{10}H_{18}O$	154	Lavandulol	55
0.38	0.25	1.40	-	7.04	0.9	7.97	$C_{10}H_{18}O$	154	*4*-Terpineol	56
0.33	-	1.10	9.82	1.16	0.98	1.03	$C_{10}H_{18}O$	154	*α*-Terpineol	57
-	0.49	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	*cis-β*-Terpineol	58
-	0.27	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	Dihydrocarveole	59
-	0.23	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	154	*cis*-Geraniol	60
-	-	-	-	0.28	-	0.47	$C_{10}H_{18}O$	154	*Z)-3,7*-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol	61
-	0.21	-	-	-	-	-	$C_{11}H_{18}O$	166	Nopol	62
-	-	0.15	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O_2$	168	Lilac aldehyde	63
-	-	-	-	-	0.11	-	$C_{10}H_{16}O_2$	168	*α*-Limonene Diepoxide	64
0.24	-	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O_2$	170	Linalool Oxide	65
-	-	0.23	-	-	-	-	$C_{12}H_{14}O$	174	*5,7*-dimethyl-1-tetralone	66
-	-	-	-	-	0.68	-	$C_{11}H_{18}O$	182	Isobornyl Format	67
-	1.99	-	-	-	-	-	$C_{13}H_{18}O$	190	Oxacyclotetradeca-4,11-diyne	68
0.12	14.4	-	-	-	-	-	$C_{12}H_{18}O_2$	194	(+)-Myrtenal acteate	69
-	0.34	-	-	-	-	-	$C_{12}H_{18}O_2$	194	*(-)-trans*-pinocarvyl acetate	70
-	-	-	4.88	2.05	-	1.65	$C_{12}H_{20}O_2$	196	Linalyle Acetate	71
0.14	-	-	1.59	-	0.1	-	$C_{12}H_{20}O_2$	196	Isobornyl Acetate	72
-	-	-	-	0.33	-	-	$C_{12}H_{20}O_2$	196	Lavandulyl Acetate	73
-	-	0.10	-	-	-	-	$C_{15}H_{18}$	198	Cadalene	74
-	-	-	-	1.74	-	-	$C_{15}H_{18}$	198	Azulon	75
-	3.5	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{22}$	202	*β*-Vatirenene	76
-	-	-	-	-	0.37	-	$C_{15}H_{24}$	204	*Trans*-α-Bergamotene	77
-	-	-	0.76	-	0.56	-	$C_{15}H_{24}$	204	Caryophyllene	78

stoe.		allar.	dent.	inte.	angu.		المركب			تتمة
LV	FL	FL	FL	FL	LV	FL	MF	Mw	الاسم	
-	-	-	-	-	0.08	-	$C_{15}H_{24}$	204	*Cis-α*-Bisabolon	79
-	-	-	-	0.93	-	0.82	$C_{15}H_{24}$	204	*β*-Farnesene	80
-	-	0.24	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	*δ*-Elemene	81
-	-	-	-	-	0.47	-	$C_{15}H_{24}$	204	Germacrene D	82
-	-	-	-	-	0.5	-	$C_{15}H_{24}$	204	*Υ*-Elemene	83
0.69	4.5	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	Aromadendren	84
-	-	-	-	-	0.07	-	$C_{15}H_{24}$	204	α-Seliene	85
0.11	0.81	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	*cis-α*-Bisabolene	86
-	2.4	-	-	-	0.68	-	$C_{15}H_{24}$	204	*β*-Cuvebene	87
-	2.35	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	*α*-Gurijunene	88
-	1	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	*(+)-δ*-Cadinene	89
-	-	-	1.72	-	5.56	-	$C_{15}H_{24}$	204	*Δ*-Cadinene	90
-	2.09	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	*(+)*-Valencene	91
-	0.97	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	*α*-Copaene	92
-	0.77	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	*β*-Guaiene	93
-	1.86	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	Seychellene	94
0.22	-	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	204	Cedrene	95
0.32	-	-	-	-	-	-	$C_{14}H_{22}O$	206	Benzyl alcohol,*α*-isobutyl-*2*,*4*,*5*-trimethyl-	96
-	-	-	-	-	0.7	-	$C_{13}H_{18}O_2$	206	3-Oxo-B-Ionone	97
-	-	0.88	-	2.92	-	-	$C_{13}H_{18}O_2$	206	*4*-*(2*-acetyl-*5*,*5*-dimethylcyclopent-2-enylidene)butan-*2*-one	98
-	-	0.18	-	-	1.46	-	$C_{15}H_{24}O$	220	Calamenene	99
-	1.9	1.48	-	1.09	9.42	-	$C_{15}H_{24}O$	220	Caryophyllene Oxide	100
0.16	-	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}O$	220	*cis*-Lanceol	101
	-	-	-	-	0.44	-	$C_{15}H_{24}O$	220	Cedr-*13*-Ol,*8*-	102
0.09	-	-	-	-		-	$C_{14}H_{22}O_2$	222	Rishitin	103
-	-	1.31	1.54	-	5.8	-	$C_{15}H_{26}O$	222	α-Bisabolol	104
-	2.08	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}O_2$	236	Bicyclo(4.4.0)dec-2ene-4-ol,2-methyl-9(prop-1-en-3-ol-2-yl)	105
-	-	0.48	-	-	0.91	-	$C_{15}H_{26}O_2$	238	α-Bisabolol Oxide B	106
-	-	-	-	0.66	-	0.57	$C_{15}H_{30}O_2$	242	Methyl 12-Methyl-Tridecanoate (Myrstic Acide, methyl acter)	107
-	0.97	-	-	-	-	-	$C_{17}H_{24}O$	244	Falcarinol	108
99.2	94.0	95.6	98.1	90.9	98.8	95.5	(مجموع النسب المئوية للمركبات) %			
34	39	39	14	21	45	29	(عدد المركبات المفصولة ضمن لكل زيت)			

* دلالات الرموز: *angu.* الخزامى الإنكليزية /*Dent.* الخزامى الفرنسية /*inte.* الهجين اللافاندين /*allar.* الهجين مفصص الأوراق / *stoe.* الخزامى البرّية /(FL؛ Flower؛زيت الأزهار) /(LV؛Leaves؛زيت الأوراق) /(Mw؛Molecular Weight الوزن الجزيئي (غرام.مول-1) محسوباً على أساس (H=1،C=12،O=16)) /(Mf؛Molecular Formula، الصيغة الجزيئية).

ويظهر من الجدول السابق (6)، أنّ معظم مكونات الزيوت العطرية لأنواع الخزامى المدروسة هي تربينات بنمطيها أحادية التربين Monoterpene (C_{10})، التربين ونصف Sesquiterpenes (C_{15})، وكذلك يُشير الجدول نفسه إلى طبيعة كل مركب بين إحدى الفئتين: الأولى، تربيناً بهيئة فحم هيدروجيني Hydrocarbons (وهو عبارة عن مضاعفات صافية ودقيقة من وحدات Isoprene Units (C_5H_8) مشكلة المركبات $C_{10}H_{16}$ أو $C_{15}H_{24}$). والثانية، تربيناً أوكسيجينياً Oxygenated terpenes، يملك إضافة عن ما يملكه الفحم الهيدروجيني زمرة وظيفية Functional Groupsمثل (COOH،OH وغيرها) تحوي عنصر الأوكسيجين، مما يكسبها الاسم المرادف لها Terpenoids. وللوقوف على النسبة المئوية لكل فئة ضمن كل زيت، وبالنظر إلى الجدول رقم (7) أدناه، نجد أنّ نمط التربينات الأحادية (Mono) هي الأكثر تواجداً في الزيوت المدروسة، حيث بلغ عددها (61) تربيناً أحادياً مقابل (30) من التربين ونصف (Sesqui)، وأنّ فئة المركبات أحادية التربين الأوكسيجينة (Oxy.Mono) هي الأعلى نسبة ضمن كل زيت، وهي الأكثر تكرراً ضمن الزيوت المختبرة عموماً.

الجدول رقم (7): تصنيف مكونات زيوت الخزامى المدروسة تبعاً للنمط الكيميائي للتربين*.

stoe.		***allar.***	***dent.***	***inte.***	***angu.***		**عددها الكلي**	**ترتيبها في جدول (6).**	**فئة التربين تبعاً لـ $(C)_n$ ولوجود زمر وظيفية تحويO**	
LV	**FL**	**FL**	**FL**	**FL**	**LV**	**FL**				
2.07	3.11	3	1.89	2.46	4.62	6.27	**14**	**16-3**	**Mono.Hydro**	**Mono.**
95.3	47.07	86.72	85.72	78.7	64.76	86.07	**47**	****65-18**	**Oxy. Mono**	
97.37	**50.18**	**89.72**	**87.61**	**81.16**	**69.38**	**92.34**	**61**	**مجموع Mono**		
1.02	20.25	0.34	2.48	2.67	8.29	0.82	**22**	**95-74**	**Sesqui .Hydro**	**Sesqui**
0.16	3.98	3.45	1.54	1.75	18.03	0.57	**8**	****107 -*99**	**Oxy. Sesqui**	
1.18	**24.23**	**3.79**	**4.02**	**4.42**	**26.32**	**1.39**	**30**	**مجموع Sesqui**		
0.67	**19.56**	**2.1**	**6.47**	**5.3**	**3.09**	**1.76**	**17**	**بقية المركبات Others**		
99.2	**94.0**	**95.6**	**98.1**	**90.9**	**98.8**	**95.5**	**108**	**مجموع (Others + Sesqui+ Mono)**		

*** دلالات الرموز: *angu.* الخزامى الإنكليزية /*Dent.* الخزامى الفرنسية /*inte.* الهجين اللافاندين /*allar.* الهجين مفصص الأوراق / *stoe.* الخزامى البرّية /(FL ؛Flower؛زيت الأزهار) / (LV؛Leaves؛زيت الأوراق)/(Mono.Hydro؛ Monoterpene Hydrocarbons؛ تربين أحادي من نمط الفحم الهيدروجيني)، (Oxy. Mono؛Oxygenated Monoterpene؛ تربين أحادي أوكسيجيني)/ (Sesqui .Hydro ؛ Sesquiterpenes Hydro؛ تربين ونصف من الفحم الهيدروجيني)/(Oxy. Sesqui ؛ Oxygenated Sesquiterpenes؛ تربين ونصف أوكسيجيني).**

**** باستثناء المركب رقم (62)، والمركب رقم (103).**

ولتحديد المركبات الأكثر وفرة ضمن كل زيت على حِدى، قمنا بانتقاء المركبات الخمسة الأعلى نسبة في كل زيت من الزيوت الـ(7) المختبرة،(الجدول 8).

الجدول رقم (8). المركبات العطرية الخمسة الأكثر وفرة في كل زيت من زيوت أنواع الخزامى المدروسة*.

stoe.		***allar.***	***dent.***	***inte.***	***angu.***		اسم المركب، ترتيب وروده في الجدول (6) و صيغته العامة		
LV	**FL**	**FL**	**FL**	**FL**	**LV**	**FL**			
41.1	-	71.67	66.18	10.1	21.9	7.67**	$C_{10}H_{18}O$	**(1,8-Cineole)**	**44**
-	-	-	2.21	44.6	-	50.05	$C_{10}H_{18}O$	**Linalool**	**50**
10.6	6.99	-	-	10.3	26.7	9.97	$C_{10}H_{16}O$	**Camphor**	**37**
38.4	23.3	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	**Fenchone**	**29**
-	-	1.4	-	7.04	-	7.97	$C_{10}H_{18}O$	***4*-Terpineol**	**56**
-	-	-	-	3.32	-	4.33	$C_{10}H_{18}O$	**(-)-Borneol**	**53**
-	14.4	-	-	-	-	-***	$C_{12}H_{18}O_2$	**(+)-Myrtenal acteate**	**69**
-	-	-	9.82	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	***α*-Terpineol**	**57**
-	-	1.48	-	-	9.42	-	$C_{15}H_{24}O$	**Caryophyllene oxide**	**100**
-	7.88	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	**Myrtenol**	**40**
-	-	1.31	-	-	5.8	-	$C_{15}H_{26}O$	**α-Bisabolol**	**104**
-	-	-	4.88	-	-	-	$C_{12}H_{20}O_2$	**Linalyle Acetate**	**71**
-	-	-	-	-	5.56	-	$C_{15}H_{24}$	***Δ*-Cadinene**	**90**
0.69	4.5	-	-	-	-	-	$C_{15}H_{24}$	**Aromadendren**	**84**
0.66	-	-	-	-	-	-	$C_{10}H_{16}$	**α-Pinene**	**6**
-	-	-	3.68	-	-	-	$C_{10}H_{16}O$	***Trans*-3Carene-2-Ol**	**39**
-	-	1.35	-	-	-	-	$C_{10}H_{18}O$	**Santolina Alcohol**	**54**
90.1	**38.17**	**74.42**	**81.9**	**75.3**	**48.6**	**80.0**	**مجموع التربينات الأحادية الأوكسيجينية (%)**		
91.45	**57.07**	**77.21**	**86.77**	**86.77**	**69.38**	**80.0**	**مجموع نسب المركبات الخمس (%)**		

*** دلالات الرموز: *angu.* الخزامى الإنكليزية /*Dent.* الخزامى الفرنسية /*inte.* الهجين اللافاندين /*allar.* الهجين مفصص الأوراق / *stoe.* الخزامى البرّية /(FL ؛Flower؛زيت الأزهار)/ (LV؛Leaves؛زيت الأوراق).**

*** * تشير الصفوف المظللة إلى التربينات الأحادية الأوكسيجينية، وتشير القيم الموسومة اسفلها بتسطير إلى المركبات الرئيسة.**

لا تعني عدم تواجد المركب ضمن الزيت في العمود الموافق، وانما هو ليس أحد المركبات الخمس الأكثر وفرة لهذا الزيت.

ويظهر من الجدول رقم (8) أعلاه أنَّ مركب 1,8-Cineole كان أحد المركبات الخمسة الأكثر وفرة ضمن (6) زيوت، وهو مركباً رئيساً في (5) زيوت، وممثلاً للنمط الكيميائي للزيت في (4) زيوت منها. وتكرر مركب Linalool في (3) زيوت، وكان مركباً رئيساً وممثلاً للنمط الكيميائي للزيت بنفس الوقت في (2) زيتين منها. وكان

مركب Camphor كأحد المركبات الخمس الأكثر وفرة قد تكرر في (4) زيوت، وكان مركباً رئيساً وممثلاً للنمط الكيميائي للزيت في (1) زيت واحد منها فقط. ومركب Fenchone كان أحد المركبات الخمس الأكثر وفرة في زيتي (أزهار، وأوراق) النوع البرّي فقط، ومركباً رئيساً فيهما وممثلاً لنمطيهما الكيميائي. في حين كانت نسب بقية المركبات ضمن كل زيت، قليلة وغير كافية لتجعل منها مركبات رئيسة أو ممثلة للنمط الكيميائي للزيت الذي يحويها، باستثناء مركبي Myrtenal acteate-(+) و Myrtenol في زيت النوع البرّي.

يؤكد الجدول رقم(7)، أنَّ المركبات أحادية التربين الأوكسيجينية (Oxygenated Terpenes؛ Monoterpenoids) هي الأكثر وفرةً في الزيوت عدداً وكماً، ويؤكد الجدول (8) أنّ تلك المركبات هي الأكثر تكراراً كمركبات رئيسة وكمركبات ممثلة للنمط الكيميائي للزيوت العطرية المختبرة.

وتتفق نتائجنا مع العديد من الدراسات التي أُجريت على أنواع من جنس الخزامى وأشارت إلى أنّ المركبات أحادية التربين الأوكسيجينية هي المركبات الأكثر وفرة في زيوت جنس الخزامى (Angioni وزملاؤه،2006؛ Soković وزملاؤه،2008؛ Smigielski وزملاؤه،2009 ؛ Kara وBaydar،2013؛ Mostefa وزملاؤه،2014).

وإنَّ المحتوى المرتفع من المركبات أحادية التربين الأوكسيجينة في الزيوت العطرية المختبرة من جنس الخزامى من سورية، يعكس الفعّالية الحيوية لهذه الزيوت، حيث تشير العديد من الدراسات إلى أن المركبات أحادية التربين الأوكسيجينة مسؤولة عن فعّالية الزيوت العطرية ضدّ البكتريا (Trombetta وزملاؤه،2005؛ Kotan وزملاؤه،2007)، وضد الحشرات (Yıldırım وزملاؤه، 2013).

أولاً. التركيب الكيميائي للزيت العطري لأزهار وأوراق الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.):

أمكن من خلال استعمال تقنية التحليل الكروماتوغرافي الغازي المربوطة بكاشف مطيافية الكتلة من تحديد هوية (60) مركباً تدخل في تركيب الزيوت العطرية المستخلصة من أزهار وأوراق الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.)، وكان عدد المركبات المفصولة في زيت الأزهار (29) مركباً تشكل (95.5 %) من مجمل مكونات الزيت، و(45) مركباً في زيت الأوراق، تشكل ما نسبته (98.8%) من مجمل مكونات الزيت، واشتركت تركيبة الزيتين بمحتواهما من (14) مركبا مشتركاً،(الجدول6).

أولاً. زيت الأزهار: بدءاً بتركيب الزيت العطري للأزهار وهوية مركباته، وبالنظر للجدول رقم (8)، نجد أنّ مركب Linalool (50.05%) يبرز كمكون رئيس في زيت أزهار النوع (*L. angustifolia* L.) ويمنح الزيت نمطه الكيميائي (Linalool Chemotype)، يليه تباعاً أربع مركبات يبلغ مجموعها (30.03%) من مجمل الزيت، وهي مركبات Camphor (9.97%) و4-Terpineol (7.97%) و1,8-Cineole (7.76%) وBorneol (4.33%)، ويبيّن الشكل رقم (23) مخطط التحليل الكروماتوغرافي لزيت أزهار الخزامى الإنكليزية.

على الرغم من أنّ مركب Linalool يُشكل نصف الزيت العطري لأزهار الخزامى الإنكليزية المزروعة في سورية، إلاّ أنّ دراسات عديدة ذكرت وجوده في زيت الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) بنسب أكبر تصل حتى (79.9%) من زيوت كرواتية مشابهة (Luís وزملاؤه،2017)، وتتشابه نتائجنا بخصوص Linalool مع ما أشار إليه Chatzopoulou وزملاؤه (2003)، عن وجود مركب Linalool (50.63%) في زيت أزهار الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) المنتشرة في اليونان، وتبدو نتائجنا قريبة من نتائج دراسة تركية أشارت إلى كون مركب Linalool بالنسب (30.7% و44.5% و46.1% و44.9%) هو المركب الرئيس في الزيوت العطرية المستخلصة من أربع أصناف عالمية من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) تمَّت زراعتها في تركيا (Kara وBaydar،2013).

وتتفق نتائجنا مع بعض الدراسات التي أثبتت أنّ مركب Linalool هو المركب الأعلى نسبة بين جميع مكونات الزيت العطري لأزهار الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.)، بغض النظر عن نسبته ونسبة المكونات الأخرى (Saad،2007؛ Hassanpouraghdam وزملاؤه،2011 ؛ Stanojević وزملاؤه،2011).

وتتفق نتائجنا جزئياً مع أبحاث عديدة تضمن كل منها إشارة إلى أنّ مركب Linalool هو مركب رئيس في زيت ازهار النوع (*L. angustifolia* L.) ولكَّه ليس المركب الاكثر وفرة حيث يفوقه مركب Linalyle acteate الذي أظهرت نتائج تجربتنا وجوده بنسبه صغيرة (0.47%)، (Martino وزملاؤه،2009؛ Zhekova وNedkov،2011؛ Errafiy وزملاؤه،2013؛Zagorcheva وزملاؤه،2013؛Luís وزملاؤه،2017).

وتختلف نتائجنا إلى حدٍّ كبيرٍ مع عدد من الدراسات التي لم تذكر وجود Linalool بين المركبات الرئيسة في الزيت العطري لأزهار الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) (Abroomand Azar وزملاؤه،2011؛ Rostami وزملاؤه،2012؛ Jianu وزملاؤه،2013؛ Djenane وزملاؤه،2013؛ El Miz وزملاؤه،2014؛ Belhadj Mostefa وزملاؤه،2014؛Mardafkan وزملاؤه،2015).

ويظهر من الجدول رقم (8) أنّ مركب الـ Camphor (9.97%) هو ثاني المركبات وفرةً بعد المركب الرئيس Linalool الذي يفوقه بخمسة أضعاف (500%)، وتقترب نسبة الـ Camphor لدينا مع نسبته ضمن الزيت الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) مصدر (كرواتي1) الذي يحويه بنسبة (8.9%) إلى جانب مركب Linalool (66.9%)(Luís وزملاؤه،2017). وتتفق نتائجنا مع نتائج الدراسات (Kara وBaydar،2013؛ Stanojevićوزملاؤه،2011؛ Hassanpouraghdam وزملاؤه،2011)، حيث ذكرت كل منها Camphor كمركباً رئيساً في زيت أزهار الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) إلى جانب مركب Linalool الأكثر وفرة.

وتختلف نتائجنا مع الدراسات (Chatzopoulou وGoliaris،2003؛ Saad،2007؛ Martino وزملاؤه،2009؛ Dohi وزملاؤه،2009 ؛ Jianu وزملاؤه،2013؛ Djenane وزملاؤه،2013؛ El Miz وزملاؤه،2014؛Mardafkan وزملاؤه،2015)، حيث لم تُشير أيّ منها إلى كون Camphor هو أحد المركبات الرئيسة، بل كانت نسبته أحيانا منخفضة جداً (0.06%) في زيت أزهار الخزامى (*L. angustifolia* L.) النامية في اليونان كما أشار Chatzopoulou وزملاؤه (2003).

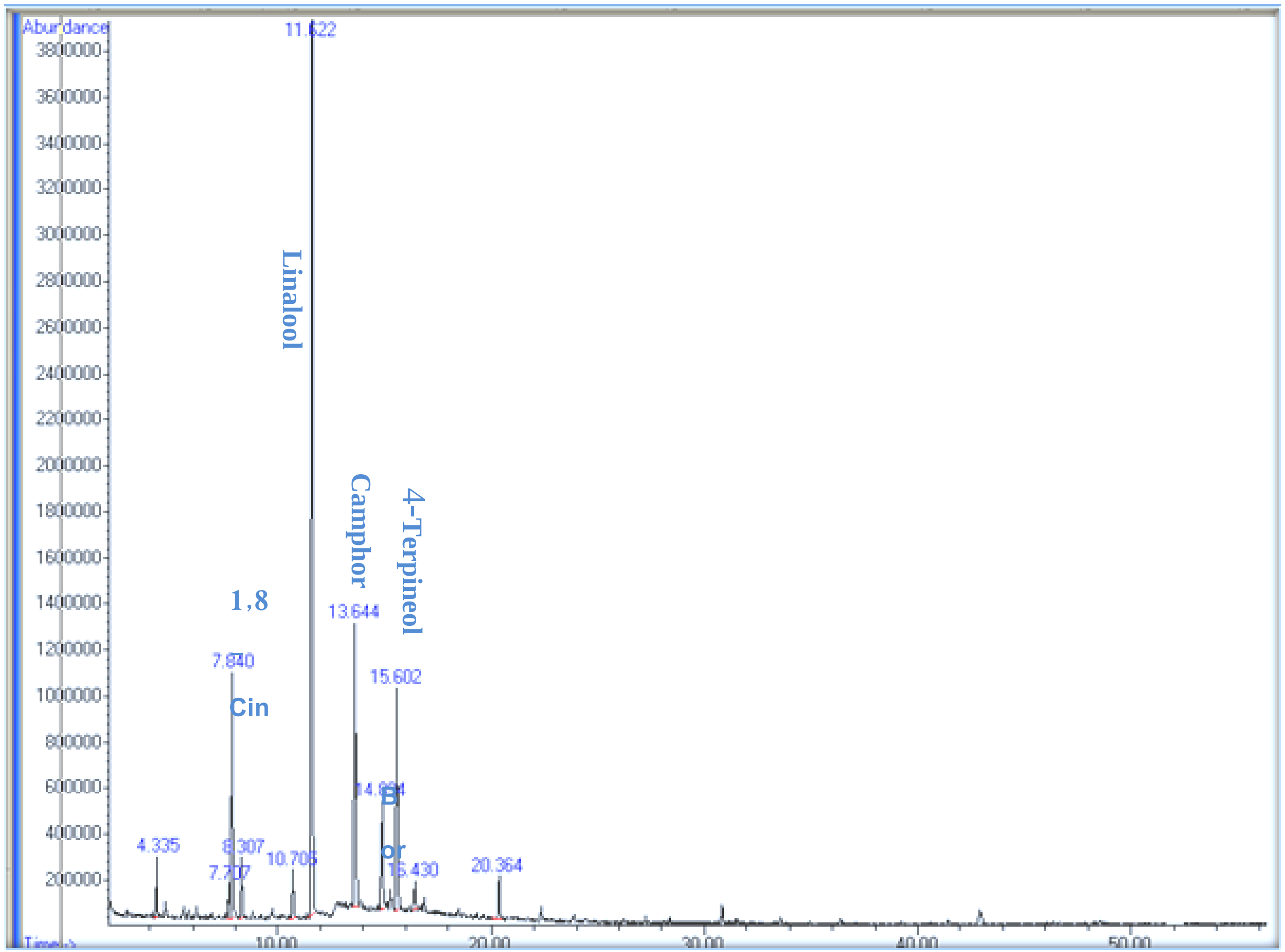
ويُعدّ تواجد مركب 4-Terpineol (7.97%) من السمات المميزة للزيت العطري المستخلص من أزهار الخزامى الانكليزية المزروع في سورية، حيث تُشير دراسات مشابهة إلى وجوده بنسب أقل في زيوت الخزامى

الإنكليزية من كرواتيا وفرنسا وإيران وبلغاريا وتركيا (Dohi وزملاؤه،2011؛ Hassanpouraghdam وزملاؤه،2011؛ Kara وBaydar،2013؛ Luís وزملاؤه،2017)، ويشير Jianu وزملاؤه (2013)، إلى وجوده بنسبة (9.57 %) ضمن زيت أزهار الخزامى الإنكليزية المزروعة في رومانيا.

أمّا مركب 1,8−Cineole أو ما يُطلق عليه الاوكالبتول Eucalyptol فهو يُشكل (7.76 %) من زيتنا، في حين أشارت دراسات أخرى إلى كونه المركب الأكثر وفرة في زيت أزهار النوع (*L. angustifolia* L.) النامي في إيران (37.9 %)(Abroomand Azar وزملاؤه،2011)، وكثاني المركبات وفرة بعد Linalool (20.3%) من زيت النوع نفسه مصدره الأردن (Saad،2007)، نزولاً إلى موقعه كثالث أكثر المركبات وفرة بعد Caryophyllene وβ-Phellandrene (15.6%) في زيوت مشابهة مصدرها رومانيا (Jianu وزملاؤه،2013)، وإلى كونه رابع أكثر المركبات وفرة (9.15%) في زيت النوع نفسه مصدره صربيا بعد مركبات Linalool و Camphor وLinalyl Acetate (Stanojević وزملاءه،2011)، واحتوى زيت النوع (*L. angustifolia* L.) من اليونان على كمية قليلة (0.66%) من مركب الاوكالبتول 1,8-Cineole وفقاً لـ Chatzopoulou وزملاؤه (2003)، في حين احتوى الزيت الإيطالي على آثار لاتذكر من مركب 1,8-Cineole وفقاً لـ (Martino وزملاؤه،2009).

ويتواجد مركب Borneol (4.33%) في زيت أزهار النوع (*L. angustifolia* L.) المجففة والمزروعة في سورية، في حين كانت (31.2% و11% و6.35%) في زيت أزهار الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) المنتشر في إيران والأردن وإيطاليا على التوالي، (Abroomand Azar وزملاؤه،2011؛ Saad،2007؛ Martino وزملاؤه،2009).

وتقترب نتائجنا بخصوص المركبات الخمسة Linalool وCamphorو1,8−Cineole و-Terpinene 4-ol وBorneol والتي تشكل بمجموعها (80%) من مكونات الزيت العطري لأزهار الخزامى (*L. angustifolia* L.) المزروع لدينا مع نتائج أشارت اليها دراسة إيرانية عن كون المركبات الخمس نفسها قد شكلت (76.8%) من مجموع الزيت العطري لأزهار النوع نفه مجموعة من نباتات منتشرة في إيران مع اختلاف نسبة كل منها وتشابه في سيادة مركب Linalool على باقي المركبات في كلا الزيتين (Hassanpouraghdam وزملاءه،2011).



الشكل رقم (23). كروماتوغرام الزيت العطري المستخلص من أزهار الخزامى الإنكليزية المزروعة في دمشق.

ثانياً. زيت الأوراق: وبالنظر مجدداً إلى الجدول رقم (8) ونلاحظ سيادة مركبي Camphor بنسبة و1,8-Cineole(21.92%) على جميع المكونات الأخرى، ليُشكل مجموعهما قرابة نصف الزيت (50%)، مما يجعل النمط الكيميائي للزيت العطري المستخلص من أوراق النوع (*L. angustifolia* L.) متلائماً مع النمط (Camphor/1,8-Cineole Chemotype) على خلاف النمط الكيميائي لزيت أزهاره التي سيطر على عطرها مركب Linalool في حين انخفضت نسبة تمثيله في زيت الأوراق حتى (1.29%) . ثمّ تبرز وبشكلٍ لافت ثلاثة مركبات من عديدات التربين تُشكل بمجموعها ما يفوق (20%) من الزيت العطري وهي مركبات Caryophyllene Oxide (9.42%) وα-Bisabolol (5.80%) وΔ-Cadinene (5.56%) متفوقة على مركبات Borneol (4.55%).

ثانياً. التركيب الكيميائي للزيت العطري لأزهار الخزامى الهجين اللافاندين (*L x intermedia*) :

تم تحديد هوية (21) مركباً كيميائياً في زيت أزهار اللافاندين (*L x intermedia*) وتُشكل بمجموع مساحاتها ما نسبته (90.93)% من مجمل مكونات الزيت، (الجدول 6).

ويظهر الجدول رقم(8)، تميّزْ مركب Linalool بكونه المركب الأكثر وفرة (44.63%) ويكسب زيت أزهار اللافاندين نمطه الكيميائي (Linalool Chemotype)، وتتوافق نتائجنا مع دراسات أشارت إلى Linalool كمركب رئيس في زيوت اللافاندين في استراليا وكرواتيا، (Cavanagh وWilkinson،2006؛ Blazekovic وزملاؤها،2011).

وتتشابه نتائجنا بخصول Linalool مع نتائج Kara وBaydar (2013)، حيث توصلا إلى وجود Linalool كمركب رئيس ضمن زيوت أزهار ثلاثة اصناف عالمية شهيرة تتبع اللافاندين Dutch و Giant Hidcote و Super A (46.5 % و43.1 % و36.5 % على التوالي).

ويستحوذ وبقدر متساوي تقريباً مركبا Camphor (10.3%) و1,8-Cineole (10.12%) على خمس (20%) حجم الزيت العطري للأزهار المجففة من الهجين للافاندين، ويتلوهما مركب 4-Terpineol (7.04%) ثمّ مركب Borneol (3.32%).

ويكون بذلك تركيب الزيت العطري للخزامى الهجينة اللافاندين مشابهاً لتركيب الزيت العطري للخزامى الإنكليزية لناحية المركب الرئيس Linalool والمركبات الأكثر وفرة Camphor و1,8-Cineole و4-Terpineol وBorneol ولكن مع وجود اختلاف في نسب كل منها ضمن الزيتين، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Kara وBaydar (2013) من تكرار كون المركبات الثلاث Linalool و Camphor و1,8-Cineole هي المركبات الرئيسة في زيوت أزهار صنفي النوع الإنكليزي (Silver وVera) وصنف الهجين اللافاندين (Dutch) عند زراعتها في تركيا، إلا أنّ الدراسة ذاتها تضمنت نتائج مغايرة تتعلق باختلاف التركيب الرئيس لزيوت أصناف تتبع النوع نفسه والهجين نفسه من الخزامى، ويلجأ الباحثون إلى المؤشرات الانتاجية الأخرى مثل الغلة الزهرية (كغ.هكتار$^{-1}$) أو المحتوى من الزيت العطري (مقدراً كنسبة مئوية بالوزن الجاف أو الرطب) في تحديد الصنف الملائم للزراعة في منطقة ما، والبدء بالعملية الإنتاجية لزيت يتناسب مع المواصفات الفنية المطلوبة .

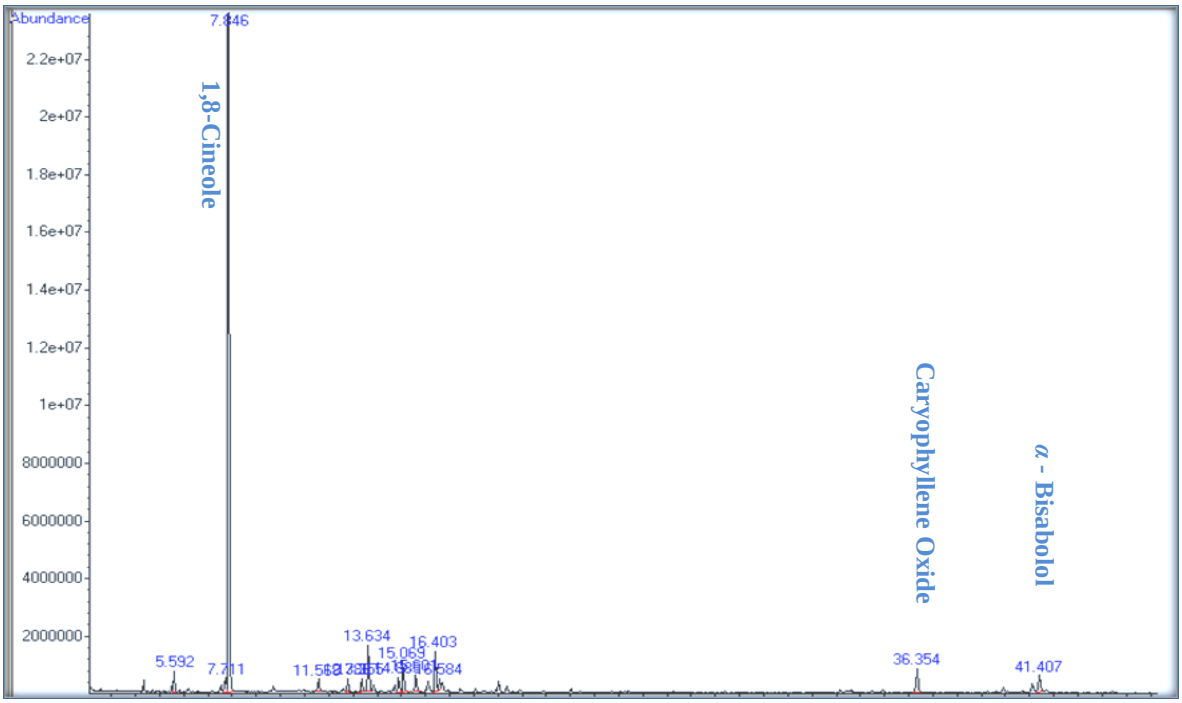
ثالثاً. التركيب الكيميائي للزيت العطري لأزهار الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.):

تم تحديد هوية (14) مركباً كيميائياً في الزيت العطري المستخلص من الأزهار المجففة للخزامى الفرنسية ، تُشكل بمجموع مساحاتها ما نسبته (98.1%) من مجمل مكونات الزيت،(الجدول 6).

وتشير النتائج في الجدول رقم (8)، إلى أنّ أكثر مكونات زيت أزهار الخزامى الفرنسية وفرةً، كان مركب 1,8-Cineole، حيث بلغت (66.18%) وهو بذلك يمثل النمط الكيميائي للزيت (Chemotype 1,8-Cineole)، تلاه مركب α-Terpineol (9.82%) ومركب Linalyl Acetate (4.88%)، وهذا يتطابق مع الدراسات (Dob وزملاؤه،2005) و(Bousmaha وزملاؤه،2006) حول كون مركب الـ 1,8-Cineole هو المركب الرئيس في الزيت العطري للخزامى الفرنسية النامي برّياً في الجزائر (38.4 % و48.0%) في الدراستين على التوالي، ولكنه يختلف عما توصل إليه كل من Imelouane وزملاؤه (2010) بأنّ مركب β-Pinene (30.1%) هو المركب الرئيس في الزيت العطري للخزامى الفرنسية النامية في المغرب.

وكذلك لم تتفق نتائجنا مع نتائج Msaada وزملاؤه (2012) الذين أثبتوا أنّ مركب Linalool (47.3%) ومركب Linalyle Acetate (28.7%) هما المركبان الرئيسان في الزيت العطري للخزامى الفرنسية النامية في تونس، كما بيّنت نتائجنا عدم وجود α-Pinene في تكوين الزيت العطري علماً أنّه أحد المركبات الرئيسة (8.4%) في الزيت العطري للخزامى الفرنسية النامي في المغرب (Imelouane وزملاؤه،2010). كما وتختلف مع Mothana وزملاؤه (2012) في كون Camphor (12.4%) ومركب *trans*-Pinocarveol (7.5 %) وβ-Eudesmo بنسبة (7.1 %) وα-Guiaol (6.1 %) هي المركبات الرئيسة في الخزامى الفرنسية في اليمن.

ولا بُدَّ من الإشارة إلى أنّ هذا التفاوت والاختلاف في التركيب الكيميائي للزيت العطري للخزامى الفرنسية النامية في مناطق مختلفة يعود إلى تغير المنطقة الجغرافية وغيرها من العوامل المناخية وفقاً لـ (Pourohit وVyas،2004؛ Rahimmalek وزملاؤه،2009؛ Imelouane وزملاؤه،2010).

الفصل الرابـع ـــ


الشكل رقم (24).كروماتوغرام الزيت العطري المستخلص من أزهار الهجين مفصص الأوراق (*L.x allardii*).

رابعاً. التركيب الكيميائي للزيت العطري لأزهار الهجين مفصص الأوراق (*Lavandula x allardii*):

أسفرت نتائج التحليل الكروماتوغرافي للزيت العطري للهجين مفصص الأوراق (*L.x allardii*) عن تحديد هوية (39) مركباً تشكل قرابة (95.6%) من مجمل المركبات المفصولة، (الجدول6)، (الشكل24).

ويبدو وبشكلٍ مُلفت من الجدول رقم (8)، سيادة مركب 1,8 Cineole على باقي مركبات الزيت شاغلاً أكثر من ثُلثا حجم الزيت العطري (71.67%) ومانحاً له نمطه الكيميائي (1,8-Cineole Chemotype)، في حين لا تزيد نسبة كل من المركبات الأربعة Caryophyllene Oxide و4-Terpineol و α-Bisabolol و Santolina Alcohol التي تتلو مركب 1,8 Cineole بالوفرة عن (1.5%). وتتوافق نتائجنا بخصوص-1.8 Cineole مع ما ذكره Cavanagh وWilkinson (2006) بكونه المركب الرئيس في زيت أزهار الهجين مفصص الأوراق (*L.x allardii*) المجموعة من مصدرين مختلفين (34.2 % و38.74%)، وتختلف معهما من حيث ميّزت الدراسة آنفة الذكر مركبي Linalool و Camphor كمركبين رئيسين في حين تضمّنت نتائجنا انخفاض نسبة تمثيل المركبين Linalool و Camphor دون (1%).

خامساً.التركيب الكيميائي للزيت العطري لأزهار وأوراق النوع البرّي (*Lavandula stoechas* L.):

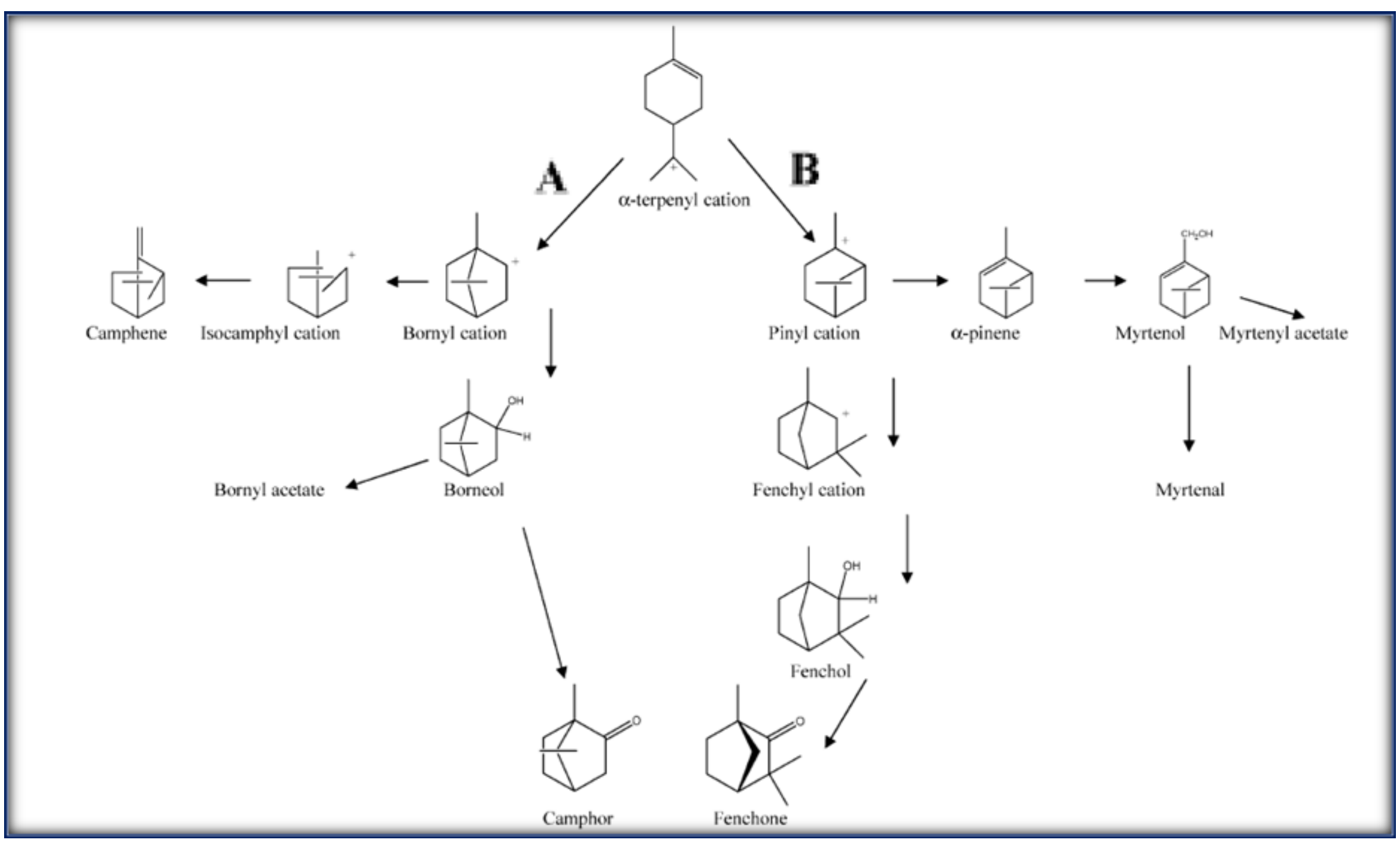
أظهرت نتائج التحليل الكروماتوغرافي المربوط إلى مطيافية الكتلة، تنوعاً في التركيب الكيميائي للزيت العطري المستخلص من الخزامى من النوع البرّي السوري حيث احتوت زيوت أزهاره وأوراقه على (56) مكوناً، وتوزعه بين (39) مركباً في زيت الأزهار لتشكل (94%) من المجموع الكلي للمكونات، و(34) مركباً في زيت الأوراق تشكل ما مساحته (99.2 %) من مجمل مكوناته، هذا وتشابهت تركيبة الزيتين من خلال (17) مركباً، (الجدول 6).

أولاً. زيت الأزهار: ويظهر الجدول رقم (8) إنَّ أربعة من المركبات المفصولة تشكل أكثر من (50%) من مجمل تركيب الزيوت العطري Fenchone (%23.27) وMyrtenal acetate (%14.41) وMyrtenol (%7.88) وCamphor (%6.99) وتختلف النتائج المسجلة لدينا عن الخزامى (*L. stoechas* L.) المنتشر طبيعياً في سورية مع النتائج المُسجلة عن الخزامى المنتشر في جزيرة ساردينا في إيطاليا (Angioni وزملاؤه،2006)، و(Zuzarte وزملاؤه، 2013) وخصوصاً بما يتعلق بنسب المركبين Myrtenol و Myrtenal Acetate حيث أشارت الدراسة الأولى إلى أنّ المركب الرئيس في الزيت هو Fenchone (%72.97) وتلاه مركب Camphor (%9.25)، وكانت نسبة Myrtenal Acetate قليلة (3.69%) ولم تشر دراستهم إلى وجود Myrtenol. أمّا الدراسة الثانية فتضمنت إشارة إلى توفر المركبات الاربعة بالقيم Fenchone (%37.0) و Camphor (%27.3) وMyrtenal Acetate (1.7%) وMyrtenol (%0.5). وتختلف نتائجنا أيضاً مع نتائج دراسة (حسن آغا، 2001) الذي أشار إلى كون مركبي Fenchone (47.8 %) و Eugenol (%8.21) هما المركبين الأعلى نسبة ضمن الزيت العطري لأزهار النوع المجموع من المغرب، ولم تُشر دراسته إلى وجود أي من Myrtenal acetate وMyrtenol .

وكذلك فقد اشارت دراسات عديدة أجريت في كل من المغرب (Zrira وbenjilal،2003)، الهند (Raina وNegi،2003)، وفي اليونان (Hassiotis،2010) إلى أنّ مركبي Fenchone وCamphor هما المركبين الرئيسين في زيوت أزهار النوع البرّي (*L. stoechas* L.). وكذلك فإنّ مركبي Fenchone وCamphor يشكلان المركبان الرئيسان للزيت العطري للنوع النامي في تونس، (Mssada وزملاؤه،2012).

وبالمقابل فإن نتائجنا تقدم اختلاف جوهري مع نتائج (A. C. Gören وزملاؤه،2002) التي أكدت كون المركبات Pulegone (40.4%) و Menthol (18.1%) و Menthone (12.6%) من الزيت العطري لأوراق النوع البرّي المنتشر في تركيا، في حين كانت كل من المركبات Fenchone وCamphor و Myrtenal Acetate و Myrtenol غائباً. وكذلك فقد احتوى الزيت العطري للنوع البرّي (*L. stoechas* L.) المنتشر في سورية، وجود التربينات الأحادية مثل 1,8-Cineole وLinalool (0.61% و0.3% على التوالي)، في الوقت الذي كانت خمسة من عديدات التربين موجودة بنسب جيدة Aomadendrene (4.5%) وα-Gurijunene (2.35%) وSeychellene (1.86%) وβ-Cuvebene (2.4%) وβ-Vatirnerene (3.5%) و Caryophellene oxide (1.90%) وتمثل بجموعها حوالي (16.50%) من المجموع الكلي.

ويبيّن الشكل رقم (25) مسلك التصنيع الحيوي للمكونات الرئيسة لزيت النوع البرّي (*L. stoechas* L.) وفقاً لـ(Dewick,1997)، حيث يبدأ الاصطناع الحيوي من المركب A-Terpinyl Intermediate وذلك من خلال مسلكين ثانويين الأول هو (A) Pinyl Cation، والثاني (B) Bornyl Cation.



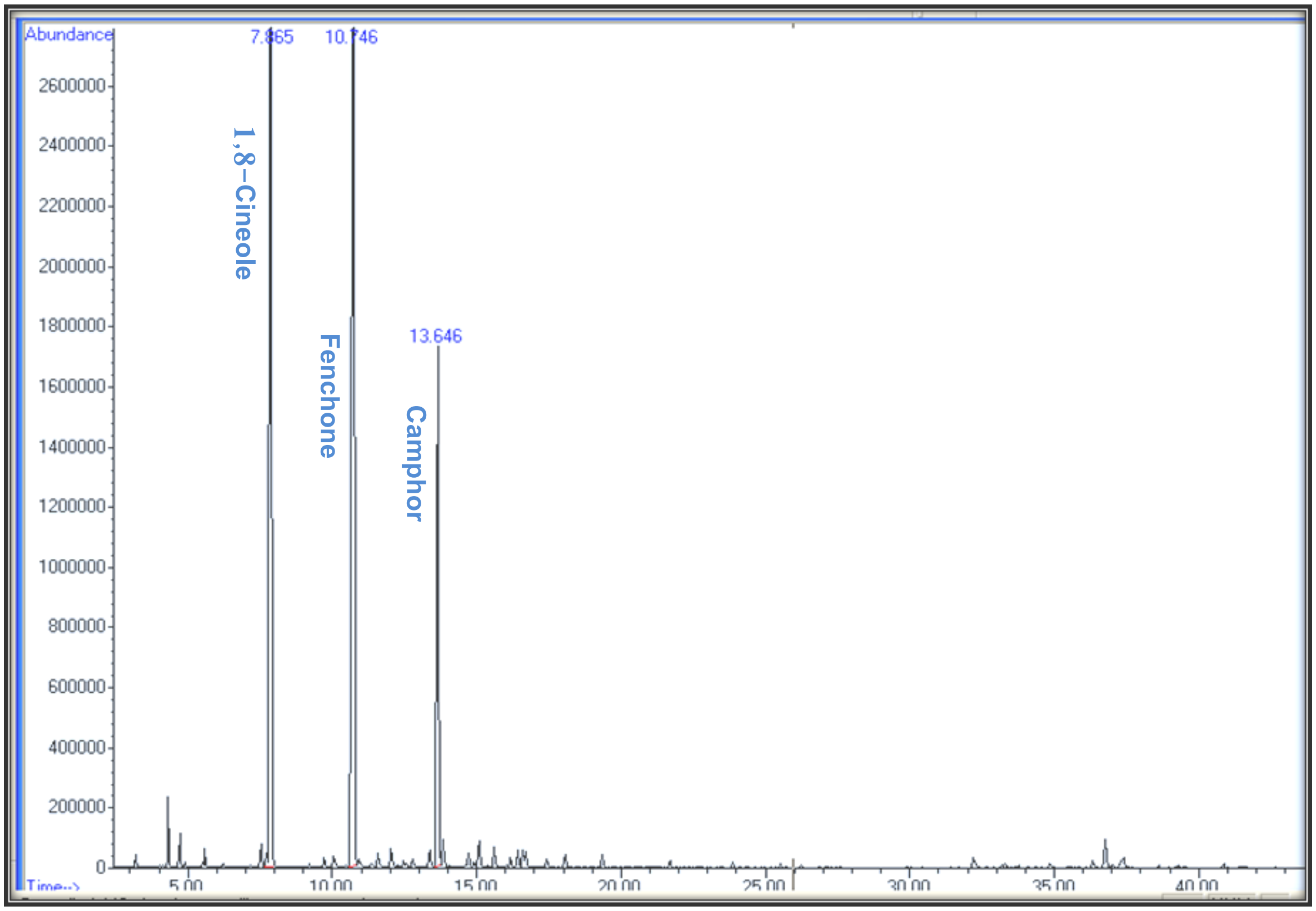
الشكل رقم (25). مَسلك الاصطناع الحيوي للمركبات العطرية الرئيسية في زيت النوع البرّي (*L. stoechas* L.).

ويظهر من الشكل أنّ مركب Camphor (6.99 %) يتم تصنيعه ضمن المسلك الثانوي الأول (A) و pinyl cation في حين نجد أنّ كل من المركبات α-Pinene وMyrtenol وMyrtenal Acetate و Fenchone و Fenchyl Alcohol-(+) يتم تصنيعها ضمن المسلك الثاني (B) وتشكل حوالي (51.15%) من المجموع الكلي وإنّ هذا السيادة لمكونات المسلك الثاني ربما يرتبط مع الظروف البيئية التي ينمو بها النوع البرّي في الساحل السوري.

وبالرجوع إلى جدول التركيب التفصيلي للزيت رقم (6)، نجد أنّ نتائجنا تظهر أنّ المركبات الثلاث Myrtenol ذو الترتيب (No.40) وMyrtenal ذو الترتيب (No.22) وMyrtenal Acetate بالترتيب (No. 69) تمثل بمجموعها (24.48%) من مجمل الزيت، وكذلك ومن جهة أُخرى تمثل المركبات Fenchone بالترتيب وFenchyl alcohol بالترتيب (No. 52) تمثل (24.35%) من مجمل الزيت، وإنّ هذه النسبة المتوازنة (1:1) لكل من (مشتقات Fenchone:مشتقات Myrtenol) ربما تشير إلى أهمية النمط الكيميائي للزيت العطري للنوع البرّي السوري، حيث لا تشير الدراسات المجراة على زيوت من بلدان مجاورة إلى نتائج مشابهة.

ثانياً. زيت الأوراق: أمّا بالنسبة للتركيب الكيميائي لزيت الاوراق، فنلاحظ معاودة مركب 1,8-Cineole للظهور مجدداً كمركب رئيس في زيوت الخزامى السورية ولكن هذه المرة بنمطها الورقي البرّي، وبنسبة (41.1 %) يدانيه نسبةً مركب Fenchone (38.43%) يليه مركب Camphor (10.58%) ولتشكل قرابة (90%) من مجمل مركبات الزيت العطري، ومن ثُم تقاسم قرابة (31 مركباً) مُعرف الهوية ما تبقى من مجمل المركبات المفصولة وهو حوالي (9.12%) لم يتجاوز أي منها (1%)، (الجدول 6)، (الشكل 26).

وبذلك يكون التركيب الكيميائي لزيت أوراق الخزامى البرّية البرّي (*L. stoechas* L.) لدينا يندرج ضمن النمط الكيميائي (1,8-Cineole/Fenchone Chemotype)، وتختلف نتائجنا بخصوص المركب الأكثر وفرة في زيت الأوراق لدينا وهو مركب 1,8-Cineole مع ما أشار إليه Angioni وزملاؤه (2006)، عن وجوده بنسب ضئيلة جداً (0.04%) في زيت أوراق النوع ذاته يتمتع بالنمط Fenchone/Camphor Chemotype، وتتفق نتائجنا جزئياً مع ما أشار إليه Kirmizibekmez وزملاؤه (2009) عن كون 1,8-Cineole (15.6%) ثاني المركبات وفرة بعد مركب Fenchone (41.9 %) في زيت أوراق جنبات النوع ذاته النامية برّياً في تركيا.



الشكل رقم (26). كروماتوغرام الزيت العطري المستخلص من أوراق الخزامى البرّية البرّي (*L. stoechas* L.)

4- 3. الفعّالية الحيوية لأنواع من جنس الخزامى ضد الأحياء الممرضة :

4-3-1 . الفعّالية الحيوية للزيوت العطرية لأنواع من جنس الخزامى :

استناداً إلى نتائج التركيب الكيميائي للزيوت العطرية قمنا باختبار الفعّالية الحيوية لثلاثة زيوت مأخوذة من أزهار الأنواع (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) كونها تختلف فيما بينها بالمركب الرئيسي في كل منها وهو Linalool و1,8-Cineole وFenchone في الزيوت الثلاث السابقة على التوالي، وبشكلٍ موازي أُختبرت أربعة مكونات عطرية تتواجد في زيوت جنس الخزامى،و توزعت تلك المركبات بين مكونين ثانويين (α-Pinene وβ- Pinene) ومكونين عطريين رئيسين (1,8-Cineole وLinalool) ولم نتمكن من اختبار فعّالية Fenchone لعدم توفر المادة المعيارية له.

4-3-1-1. الفعّالية الحيوية المضادة للبكتريا :

أولا. نتائج اختبارات التضاد البكتيري وأقطار هالات التثبيط :

يُظهر الجدول رقم (9) أنّ الزيوت الثلاثة بالعموم قد امتلكت فعلاً مثبطاً لنمو معظم الأنواع والسلالات البكتيرية المختبرة باستثناء المكورة المعوية البرازية *E.fac* التي قاومت انتشار جميع الزيوت المختبرة حتى عند التركيز الأعلى (100%)، ويضاف لها بكتريا الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* عند التركيزين الأوسط (50%) والأدنى (25%) من زيتي (*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.)، ويُضاف لكلا النوعين البكتيريين السابقين جرثومة اللستريا المستوحدة *L.mono* التي قاومت انتشار الزيوت العطرية الثلاث عند التركيز الأدنى (25%) ومن ثمّ جاءت العنقودية الذهبية سلالة أولى *S.aur1* التي قاومت انتشار زيت الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.) بالتركيز(25%).

وكان الأثر التثبيطي لزيت الخزامى عند تطبيقه بتركيز(100%) واضحاً وبقوة على البكتريا سالبة الغرام الإيشرشيا كولاي *E.coli* بأقطار تثبيط (28.67 و15.67 و12.33) ملم حققتها زيوت (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) على التوالي، تلاها كلاً من العنقودية الذهبية سلالة ثانية *S.aur2* بأقطار (12.0 و10و8.67) ملم بفعل زيوت كل من (*L.stoechas* L.) و(*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) على التوالي والعصوية الشمعية *B.cer* بأقطار تثبيط (12.67 و7.67 و7.0) ملم ناتجة عن تطبيق الزيوت (*L.stoechas* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.angustifolia* L.) على التوالي، ومن ثمّ جاءت السالمونيلا التيفية *S.typh* بأقطار تثبيط (8.33 و6.0 و3.33) ملم ناتجة عن التركيز النقي (100%) من الزيوت

(*L.angustifolia* L.) و(*L.stoechas* L.) و(*L.dentata* L.) على التوالي، ويمكننا أنْ نُلاحظ من القيم السابقة أنّ الأنواع والسلالات الأربعة *E.coli* و*S.aur2* و*B.cer* و*S.typh* كانت الأكثر تحسساً للزيوت العطرية بحالتها النقية (100%) والمنتشرة عبر القرص الورقي إلى سطوح مغذية صلبة فُرِشْ عليها مسبقاً معلقات مركزة لتلك البكتريا.

الجدول رقم (9). متوسط قيم أقطار تثبيط النمو البكتيري للزيت العطري والمركبات العطرية النقية [1]، (مقدراً بـ الملمتر مطروحا منه طول قطر القرص 6 ملم).

بكتريا سالبة غرام			بكتريا موجبة غرام					التركيز [2]	المعاملة	
Ps.aeru	***E.coli***	***S.typh***	***L.mon***	***E.fac***	***S.aur2***	***S.aur1***	***B.cer***			
2.67	28.67	8.33	6.0	0	10.00	4.00	7.00	% 100	الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.)	الزيـــوت العـــطرية
2.00	13.0	4.33	4.33	0	6.67	4.00	2.33	%50		
2.00	7.00	2.00	0	0	2.00	2.00	2.00	%25		
2.00	15.67	3.33	4.00	0	8.67	2.33	7.67	% 100	الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.)	
0	5.67	2.00	2.33	0	6.00	2.0	4.33	%50		
0	6.33	5.33	0	0	6.33	0	2.00	%25		
2.33	12.33	6.00	2.66	0	12.0	2.0	12.67	% 100	الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.)	
0	6.67	4.00	2.0	0	7.0	2.0	9.67	%50		
0	2.33	1.33	0.0	0	3.67	2.0	6.00	%25		
0	**13.67**	3.33	4.67	6.67	6.0	2.67	**40.33**	% 100	**α-Pinene**	المكونـــات العـطرية
0	7.33	0	2.33	5.67	2.67	0	16.67	%50		
0	3.0	0	0	0	0	0	6.67	%25		
3.67	**2.67**	**26.67**	0	0	8.67	3.33	**12.00**	% 100	**β- Pinene**	
0	2.0	11.0	0	0	4.67	2.33	9.330	%50		
0	0	3.33	0	0	2.33	2.00	5.66	%25		
1.33	**3.67**	**2.33**	0	0	0	0	0	% 100	**1,8 cineole**	
0	0	0	0	0	0	0	0	%50		
0	0	0	0	0	0	0	0	%25		
0	**20.67**	**4.67**	0	0	**8.67**	**30.67**	0	% 100	**Linalool**	
0	11.00	2.33	0	0	6.0	16	0	%50		
0	0	0	0	0	2.0	5.67	0	%25		

[1] يحتوي ملحق الصور صوراَ ضوئية لبعض الأطباق.

[2] تمثل النسب 100 %و 50 %و 25 % تركيز محلول المادة المختبرة المشربة على القرص ؛ وهي تعادل (8 و4 و2 ميكرولتر مادة مختبرة. قرص$^{-1}$) على التوالي من اصل (8 ميكرولتر محلول المادة المختبرة.قرص$^{-1}$).

وكانت المكورة المعوية البرازية *E.fac* البكتريا الوحيدة التي قاومت انتشار زيوت الخزامى ضمن وسط MHA وعلى اختلاف أنواعه وتراكيزه، وهذا يتطابق مع ما أشار إليه Gören وزملاؤه (2002) إلى عدم حدوث تثبيط في نمو *E.fac* نتيجة تطبيق الزيت العطري للخزامى (*L.stoechas* L.)، في حين تثبط نمو *S.aur* و*E.coli*، واختلفت نتائجنا مع ما توصلت إليه Benbelaid وزملاؤه (2012)، عندما تبين لديهم قدرة الزيت العطري للخزامى (*L.multifida* L) على تثبيط بكتريا المكورة المعوية البرازية **E.fac* ATCC 29212 دون إشارتهم لتركيبة هذا الزيت.

وتثبط نمو الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* بفعل انتشار الزيوت النقية (100%) للأنواع (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) وكان ذلك التثبيط ضئيلاً بالقيم (2.67 و2.0 و2.33) ملم للزيوت الثلاثة السابقة على التوالي، ولم يتثبط نمو الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* حول قرص يحتوي زيتي (*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) بأحد التركيزين (50%و25%)، مما يشير إلى انعدام حساسية السلالة *Ps.aeru* مع تناقص التركيز المطبق من الزيت العطري إلى النصف ومن ثمّ إلى الربع، وتختلف نتائجنا مع ما توصلت إليه Aly وزملاؤها (2013)، حول قدرة الزيت العطري للخزامى (*L.dentata* L.) النامية في السعودية على إحداث تثبيط واضح في نمو *Ps.aeru* بقطر تثبيط (15) ملم **و تثبيط ضعيف في نمو *S.aur* بهالة تثبيط متوسط قطرها (6.7) ملم حيث تضمنت القيمتان السابقتان قيمة قطر الحفرة (6) ملم التي أُحدثت على وسط MHA الملقح مسبقاً بـ (0.1) مل من معلق بكتيري ذو تركيز(1.5×10^8 خلية مكونة مستعمرة.مل$^{-1}$) وهو مشابه للتركيز البكتيري المطبق لدينا إلا أنّ التركيز المختبر من زيت (*L.dentata* L.) لديهم كان موحداً ويساوي (50 ميكرولتر.حفرة$^{-1}$)، وكذلك تختلف نتائجنا معهم كونهم لم يلحظوا تثبيطاً في نمو *E.coli* والتي ترافقت لدينا مع أعلى قيم متحصل عليها لقطر منطقة التثبيط لدينا (28.67 و15.67) ملم عند التركيز 100 % من الزيت العطري (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) على التوالي.

*** يمثل الرمز ATCC الذي يتبع النوع البكتيري اختصاراً للتصنيف المعتمد من المنظمة الأمريكية American Type Collection Cultures ويمثل الرقم 29212 كود سلالة المكورة المعوية البرازية في التصنيف الامريكي نفسه .**

**** لا تتضمن قيم هالات التثبيط المذكورة كإسناد مرجعي في الأطروحة قيمة قطر القرص أو الحفرة وفقا للطريقة المتبعة سواء طريقة الانتشار من الأقراص Disc Diffusion أو طريقة الانتشار من الحفرAgar Well Diffusion.**

وأيضا تتفق نتائجنا وتختلف في آنٍ مع ما توصل إليه Imelouane وزملاؤه (2009)، بأنّه من أصل (22) سلالة بكتيرية مختبرة كان لبكتريا *Ps.aeru* ATCC12228 سلوكاً مغايراً لباقي السلالات مثل *S.aur*ATCC25923 و*E.coli* و*L.mono* ، حيث لم تتحسس *Ps.aeru* ATCC12228 لديهم تجاه الزيت العطري للخزامى (*L.dentata* L.).

وتتفق نتائجنا مع نتائج دراسة (Cavanagh وWilkinson،2006)، عندما تثبط نمو *S.aur* و *E.coli* عند تعريضها لـ (12) زيت عطري تتبع أنواع مختلفة من جنس الخزامى بطريقة الانتشار من القرص وكانت *Ps.aeru* مقاومة لانتشار (11) زيت عطري وتمكن زيت النوع (*L.angustifolia* L.) من تحقيق تثبيط في نموها مقداره (0.6)ملم، ولم يتمتع أي من الزيوت بأعلى مستويات الفعّالية الحيوية ضد جميع الأنواع البكتيرية. وتتفق نتائجنا أيضاً مع توصل إليه Moon وزملاؤه (2006) عندما وجدوا أنّ *Ps.aeru* هي البكتريا الوحيدة من مجموعة تضم /11/ نوع بكتيري مثل *S.aur* و*E.coli* التي لم تتحسس لـ8 من الزيوت العطرية المختبرة والتي تعود لأنواع من جنس اللاڤندر وأشارت دراستهم إلى أنّه لم يكن أي من الزيوت المختبرة هو الأفضل في منع نمو جميع الجراثيم المختبرة. وتتقارب نتائجنا مع Mothana وزملاؤه (2012)،الذين وجدو أنّ الزيت العطري للخزامى (*L.dentata* L.) النامي في اليمن لم يمتلك أية فعّالية حيوي ضد نمو بكتريا *Ps.aeru*. وتختلف نتائجنا عموماً مع توصل إليه Zohra وAtik (2011)، في مقاومة الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* لزيت الخزامى البرّي (*L.stoechas* L.) المشرّب على اقراص فكان قطر التثبيط معدوماً (0) ملم، وتتفق معهم بخصوص كون إحدى سلالتي *E.coli* المختبرتين هي الأكثر حساسية بقطر تثبيط (8.19) ملم من بين عدة أنواع بكتيرية مثل *S.aur* و*L.mono* و*S.typh*. وتتفق نتائجنا عموماً مع توصل إليه Mardafkan وزملاؤه (2015)، عن قدرة زيت الخزامى (*L.angustifolia* L.) المنتشر من اقراص مشربه به على تثبيط نمو *E.coli* التي كانت أكثر حساسية بين البكتريا المختبرة، وتختلف معهم في كون (+) *S.aur coagolase* و*Ps.aeru* قاومت انتشار الزيت لديهم ولم تخضع لأي تثبيط.

ويظهر الجدول رقم (9) أنّ (7) من أصل (8) سلالات بكتيرية قد تثبطت بفعل التركيز (100%) من مركب α-Pinene، وهو المركب الذي لم تثبت نتائجنا تواجده في الزيت العطري (*L.dentata* L.) وكانت نسبته لا تتجاوز (3%) في زيتي (*L.angustifolia* L.) و(*L.stoechas* L.)، ويتميز تأثير هذا المركب بكونه المعاملة

الوحيدة التي ثبطت نمو المكورة المعوية البرازية *E.fac* بأقطار (6.67 و5.67) ملم في التركيزين (100 % و50%) منه على التوالي، وهو المركب الذي حقق أعلى تثبيط لنمو *B.cer* بين معاملات التجربة بقطر تثبيط (40.3) ملم عند التركيز (100%) منه، وهذا يتطابق مع نتائج Soković وزملاؤه (2007)، حول فعّالية α– Pinene في تثبيط نمو الجراثيم *S.aur* و*S.typh* و*E. coli* و*L.mono*، ويتطابق أيضاً مع ما أشار إليه الدراسات (Wang وزملائه،2012؛ Dai وزملائه،2013) في فعّالية α–Pinene في تثبيط نمو *S.aur* و *E. coli* و*Ps.aeru* .

ومن جانب آخر يظهر أيضاً الجدول (9)، أنّ 6 من أصل 8 سلالات بكتيرية قد تثُبط نموها بفعل التركيز (100%) من مركب β-Pinene، وكان تأثيره المثبط واضحاً على بكتريا السالمونيلا التيفية *S.typh* بقطر (26.67) ملم والعصوية الشمعية *B.cer* بقطر تثبيط (12.0) ملم، وتتفق نتائجنا هنا مع نتائج الصربي Soković وزملاؤه (2007)، حول فعّالية β-Pinene في تثبيط نمو الجراثيم *S.aur* و*S.typh* و*E. coli*، وتختلف معهم في كون مركب β-Pinene بالتركيز (100%) لدينا قد ثبط نمو *Ps.aeru* بقطر (3.67) ملم، ولم يحقق أي تثبيط في نمو اللستريا المستوحدة *L.mono* في حين لم يتثبط المركب β-Pinene لدينا نمو الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* وثبط نمو اللستريا المستوحدة *L.mono* بقطر تثبيط (2) ملم في الدراسة الصربية. كما وتتطابق نتائجنا مع Wang وزملاؤه (2012) في فعّالية β-Pinene في تثبيط نمو في تثبيط نمو *S.aur* و *E. coli* و*Ps.aeru*، وتتطابق نتائجنا عموماً مع ما أشار إليه Dorman وDeans (2000) بأنَّ التربينات الأحادية الهيدروكربونية من نمط Pinene اتصفت بكونها قاتلة للجراثيم.

وأظهر Linalool – المركب الرئيس في زيت (*L.angustifolia* L.) وبنسبة تفوق (50%) – عند تطبيقه نقياً بتركيز(100%) فعّالية حيوية في تثبيط نصف السلالات البكتيرية المختبرة (4 من أصل 8 سلالات)، ولم تحقق التراكيز الثلاثة من Linalool أي تثبيط يُذكر ويُرى في نمو البكتريا *L.mono* و*E.fac* و*Ps.aeru* و*B.cer*، وتختلف نتائجنا مع نتائج Sokovic وزملاؤه (2007)، الذين توصلوا إلى فعّالية Linalool في تثبيط كل من *L.mono* و*Ps.aeru*. وحقق مركب Linalool بالتركيز (100%) أعلى قيمة تثبيط في نمو *S.aur1* بين معاملات التجربة بقطر تثبيط (30.67) ملم، وأثّر التركيز (100%) في نمو *E.coli* محدثاً تثبيطاً واضحاً بالقيم (20.67) ملم، وتتفق نتائجنا مع نتائج دراسة الباحث Sokovic وزملاؤه (2007)، حول ما تم إثباته لدينا

من فعّالية Linalool في تثبيط بكتريا *S.typh* و *E. coli* عند التركيزين (100% و50%)، وفي تثبيطه للعنقودية الذهبية بسلالتيها المختبرتين *S.aur1* و *S.aur2* وبتراكيزه الثلاثة .

وجاء مركب 1,8-Cineole أخيراً وقد اقتصرت فعاليته اتجاه البكتريا سالبات غرام *S.typh* و*E.coli* و*Ps.aeru* على الرغم من كونه الأوكسيد الأكثر انتشاراً في عالم الزيوت العطرية (Carson وHammer، 2011)، وهذا يتوافق معه ما خلص إليه Sokovic وزملاؤه (2007) عن فعّالية 1,8-Cineole في تثبيط نمو كل من *S.typh* و *E.coli* و *Ps.aeru* ويختلف معهم في ما توصلوا إليه بتثبيطه لكل من موجبات غرام *S.aur* و*L.mono*.

وفي نظرة أشمل للجدول (9) نجد أنّ (7) سلالات بكتيرية تتبع (6) انواع بكتيرية قد تثبط نموها بانتشار المادة النقية 100% لكل من الزيوت العطرية، والمركب العطري أحادي التربين الكربوني α-Pinene وهو وفقاً لنتائج التحليل الكيميائي لدينا مكون ثانوي في زيت (*L.angustifolia* L.) و(*L.stoechas* L.) ويفتقر لوجوده زيت (*L.dentata* L.). في حين أنّ (3) أنواع بكتيرية فقط قد تثبطت جراء تطبيق نفس التركيز من أحادي التربين الكحولي Linalool وأحادي التربين الكيتوني 1,8-Cineole (ويشكلان المركب الرئيس في الزيتين (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) على التوالي، وبالتالي نجد تفاوت في الفعّالية المضادة للبكتريا لمركبي Linalool و1,8-Cineole بين تطبيق كل منهما مستقلاً في مادته المعيارية المصنعة من جهة، وبين تطبيق كل منهما برفقة مركبات عطريه عديدة ضمن زيت عطري طبيعي يحتوي أحدهما بنسب عالية– حيث يحتوي زيت (*L.angustifolia* L.) لدينا على مركب Linalool (57.7%)، ويحتوي زيت (*L.dentata* L.)على مركب 1,8-Cineole (66.18%)–، ومن جهة اخرى نستنتج بأنّ تفوق α-Pinene بفعاليته ضد البكتريا على مركبي Linalool و1,8-Cineole يعكس أهمية المكونات الاقل نسبة في إكساب الزيت العطري فعاليته في تثبيط نمو البكتريا، وهذا ما قد أشارت إليه دراسة قديمة (Cowan،1999) بأنّ الفعّالية الحيوية للزيوت العطرية ضد الجراثيم يمكن أن تُعزى للتأثيرات التآزرية Synergistic Effects لخليط من المكونات الرئيسية والثانوية Major and Minor Constituents في الزيت العطري والتي تعمل فيما بينها على تمزيق الغشاء الخلوي البكتيري من خلال مواقعه المحبة للدسم. كما ويتقاطع ما سبق إيجاباً مع توصل إليه Oyedemi وزملاؤه (2009) عن فعّالية مركب α−Terpineol في قتل بكتريا *L.mono* و *E.coli*، وهو مركب لم نتمكن من اختبار فعاليته المضادة للبكتريا

– لعدم توفر مادته المعيارية لدينا – علما أنّه يتلو مركب 1,8-Cineole بنسبته في تركيب الزيت العطري (*L.dentata* L.) لدينا، ويتواجد بنسبة (1%) أو أقل في زيت (*L.angustifolia* L.). وكذلك مع ما أورده Imelouane وزملاؤه (2009)، حول صعوبة إرجاع الخصائص المضادة للبكتريا التي تتمتع الزيوت العطرية بها إلى مكونات محددة بسبب محتواها المعقد والمتعدد من المكونات الفعّالة.

وبالتالي فإنّ زيادة تركيز مركبي Linalool و1,8-Cineole ضمن زيتي النوعين (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) لم تنعكس على زيادة الفعّالية المضادة للزيت العطري، وإنّ هذا المحتوى العالي من المركب الرئيس سيكون حتماً على حساب نقصان نسب مركبات أخرى قد تكون أكثر فعّالية في تثبيط البكتريا أو على حساب انعدام وجودها أصلاً، ويؤكد ذلك كون المركب α-Pinene قد حقق تثبيطاً في نمو *E.fac* بقطر (6.67) ملم و(5.67) ملم بالتركيزين (100% و50%) على التوالي، في حين أنّ البكتريا ذاتها *E.fac* قد قاومت انتشار جميع المواد العطرية المختبرة (زيوت ومكونات عطرية) وعند جميع التراكيز المستخدمة.

وإنّ ما يسري على مركبي Linalool و1,8-Cineole قد يسري على Fenchone وهو المركب الأعلى وفرة في زيت النوع (*L.stoechas* L.) لدينا، ولا سيّما في ظل ما أثبتته دراسة Kotan وزملاؤه (2007) التي شملت تقييما لفعّالية (21) تربيناً احادياً ضد (63) سلالةً بكتيريةً تتبع (54) نوعا من (38) جنساً بكتيرياً، حيث كانت الفعّالية المثبطة للبكتريا والتي أظهرها التربين الأوكسيجيني الكيتوني Fenchone نفسه اضعف من مشتقه الأوكسيجيني الكحولي Fenchol ، والذي تشكل نسبته في زيت النوع (*L.stoechas* L.) لدينا قرابة (1%)، وكذلك فلقد ثبط مركب 4-terpineol بكتريا *E.fac* و*S.typh* و*E.coli*، في حين لم يظهر مركب Fenchone أي تثبيط لتلك البكتريا وعلى اختلاف نسبتهما في زيت النوع البرّي لدينا، وتؤكد الدراسة نفسها أنّه من بين 21 تربيناً احاديا كان المركبان 1,8-Cineole وCamphor هما الأضعف بفعّالية التثبيط.

وفي الجدول اللاحق رقم (10)، نجد أنّ جميع السلالات البكتيرية المدروسة قد تثبط نموها بتطبيق الصادين (Pefloxacine،5 مكروغرام.قرص$^{-1}$) و(Azithromycin،15مكروغرام.قرص$^{-1}$)، في حين حقق الصاد (Amoxicillin) وبتراكيزه الثلاثة عموماً (10 و20 و40 مكروغرام.قرص$^{-1}$) تثبيطاً في نمو جميع السلالات البكتيرية المدروسة باستثناء الزائفة الزنجارية *Ps.aeru*.

الجدول رقم (10). متوسط قيم أقطار تثبيط النمو البكتيري لمعاملات الشاهد الإيجابي.
(مقدراً ب الملمتر مطروحاً منه طول قطر القرص (6) ملم).

المعاملة		بكتريا موجبة غرام					بكتريا سالبة غرام		
		B.cer	*S.aur1*	*S.aur2*	*E.fac*	*L.mon*	*S.typh*	*E.coli*	*Ps.aeru*
Amoxicillin	40 مكروغرام.قرص$^{-1}$	12.67	26.33	37.00	8.67	13.33	26.66	37.00	0
	20 مكروغرام.قرص$^{-1}$	11.67	13.33	17.33	2.33	11.33	15.33	24.66	0
	10 مكروغرام.قرص$^{-1}$	11.67	9.67	8.0	0	8.33	15.33	14.67	0
Pefloxacine	5 مكروغرام.قرص$^{-1}$	16.67	15.33	19.33	8.67	17.33	24.67	20.67	10.67
Azithromycin	15 مكروغرام.قرص$^{-1}$	19.67	19.67	22.33	19.67	10.33	13.67	23.67	13
DMSO & NB		0	0	0	0	0	0	0	0

ومن كلا الجدولين السابقين (9) و(10) وعلى اختلاف درجة التراكيز المطبقة من الزيوت العطرية ومكوناتها (وهي ميكرولتر وتعادلها وزناً واحدة ملغرام)، وتلك التراكيز المطبقة من المضادات الحيوية (ميكروغرام وهي تعادل ملغرام$^{-3}$)، نجد أنّه (7) من أصل (8) سلالات بكتيرية مختبرة قد تثبطت بتطبيق التركيز (100%) لكل من الزيوت العطرية ومركب α-Pinene والتركيز(40 ميكروغرام.قرص$^{-1}$) من الصاد الحيوي (Amoxicillin)، حيث كانت بكتريا الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* هي البكتريا الوحيدة التي قاومت تطبيق الصاد الحيوي (Amoxicillin) والمركب α-Pinene بالمستويات الثلاث من كل منهما، في حين تثبط نمو البكتريا ذاتها بشكلٍ ضعيف (2) ملم عند جميع مستويات زيت (*L.angustifolia* L.)، وعند التركيز (100%) من الزيتين (*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.)، وتتفق نتائجنا هنا مع ما توصلت إليه Tarek وزملاؤها (2014)، عن مقاومة الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* لـ Amoxicillin، ولكنها تختلف مع Nkang وزملاؤه (2009). وفي خضم ما أشار إليه باحثون كثر حول كون البكتريا موجبة غرام هي أكثر تأثراً وحساسية للزيوت العطرية من تلك سالبة غرام (Okoh وزملاؤه،2010)، إلا أنّنا لم نلحظ مقاومة فائقة للبكتريا سالبة غرام لانتشار الزيت العطري مقارنة بتلك بكتريا موجبة غرام، بل تفاوتت مقاومة الأنواع حتى ضمن الفئة الواحدة، في حين برزت بكتريا *E.fac* على موجبات وسالبات غرام لتكون البكتريا الوحيدة التي قاومت تأثير الزيت العطري للخزامى عموماً. وعلاوة على ذلك تفاوتت الفعّالية الحيوية للزيت العطري بتفاوت السلالة البكتيرية، حتى ضمن النوع الواحد، حيث

اختلفت استجابتا سلالاتي *S.aur1* و *S.aur2* لانتشار الزيت العطري وهذا يتطابق مع ما توصل إليه N'Dédianhoua وزملاؤه (2014).

ثانياً. حساب التركيز المثبط الأدنى MIC **والتركيز القاتل الأدنى** MBC:

تم حساب مؤشري التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) من الزيوت العطرية ومكوناتها النقية ضد أربع من السلالات والأنواع البكتيرية المختبرة وهي *B.cer* و*S.aur2* و *S.typh* و*E.coli* كونها كانت الأكثر تحسساً للزيوت العطرية وفقا لنتائج طريقة الانتشار من القرص، وأظهرت تثبيطاً لا تقل قيمته عن (8) ملم عند تطبيق واحد على الأقل من الزيوت العطرية الثلاث المختبرة، حيث تعتبر القيمة (14) ملم (متضمنة قطر القرص بواحدة ملم) نقطة المقاومة الحدية Resistant breakpoint ،وتُعدّ القيمة (20) ملم هي نقطة التحسس الحدي Susceptible breakpoint وذلك وفقاً لـ (CLSI،2006)، ويظهر الجدول رقم (11) معايير توصيف حساسية الأنواع البكتيرية للمضادات البكتيرية تبعا لمؤشري قطر منطقة التثبيط (ملم) والتركيز المثبط الأدنى MIC،(ميكروغرام.مل$^{-1}$) .

الجدول رقم (11). معايير توصيف حساسية الأنواع البكتيرية تبعا لقطر التثبيط (ملم) و MIC (ميكروغرام.مل$^{-1}$).

التوصيف	قطر مناطق التثبيط (ملم)	التركيز المثبط الأدنى (ميكروغرام.مل−1)
Susceptible **سلالة حساسة**	≥20	≤4
Intermediate **سلالة متوسطة الحساسية**	15–19	8–16
Resistant **سلالة مقاومة**	≤14	≥32

ويظهر الجدول اللاحق رقم (12)، أنَّ الجرثومة سالبة جرام *E.coli* هي الجرثومة الأكثر حساسية للزيوت العطرية بين الأنواع البكتيرية المختبرة بنمطيها سالبة وموجبة غرام، حيث أنّ إضافة زيتي النوعين (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) إلى أوساط سائلة تحوي *E.coli* ثبط نموها بدءاً بالتركيز (MIC= 4 ميكرولتر. مل$^{-1}$)، ومن ثمّ قتلها في التركيز اللاحق (MBC= 8 ميكرولتر. مل$^{-1}$)، حيث تبين خلو حجرات الـ (8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) من الخلايا المكونة لمستعمرات *E.coli*، فلم يظهر أيّ منها عند زرع محتوى الحجرة ذاتها على أطباق الوسط المغذي الصلب، وكانت فعّالية زيت (*L.stoechas* L.) في تثبيط نمو أو قتل *E.coli* بالقيم

(MIC = 8 و16=MBC ميكرولتر.مل$^{-1}$) وهي أقل بمرتين من فعّالية الزيتين (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.). هذا وتضمنت دراسات أجريت على فعّالية زيوت الخزامى عموماً في تثبيط الجرثومة *E.coli* في معلقاتها السائلة قيماً مختلفة للتأثير المثبط الأدنى MIC واستخدمت في التعبير عن النتائج والتراكيز واحدات كيميائية مختلفة (51 ملغ. مل$^{-1}$ في (Hui وزملاؤه، 2010)؛ 150< ميكرولتر. مل$^{-1}$ في(Aly وزملاؤه، 2013)؛ 6 ميكروغرام.مل$^{-1}$ في(Soković وزملاؤه، 2007))، وكانت قيمة التركيز القاتل الأدنى MBC (6 ميكروغرام .مل$^{-1}$ في(Soković وزملاؤه،2007)؛ 100ميكرولتر.مل$^{-1}$ في (Mardafkan وزملاؤه،2015)).

الجدول رقم (12). متوسط قيم التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى والمسجل للأنواع البكتيرية الأربعة الأكثر حساسية مقدراً بواحدة (ميكرو لتر.مل$^{-1}$ بالنسبة للزيوت ومكوناتها) و(ميكروغرام.مل$^{-1}$ للأموكسيسيلين).

بكتريا سالبة غرام		بكتريا موجبة غرام		MIC/ MBC	المادة المختبرة	
E.coli	*S.typh*	*S.aur2*	*B.cer*			
4	**8**	**8**	**8**	**MIC**	الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.)	الزيوت العطرية
8	16	16	16	**MBC**		
4	**16**	**8**	**16**	**MIC**	الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.)	
8	16	16	16	**MBC**		
8	**16**	**8**	**4**	**MIC**	الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.)	
16	16	16	16	**MBC**		
8	**16**	**16**	**8**	**MIC**	**α-Pinene**	المكونات العطرية
16	32	16	16	**MBC**		
8	**8**	**16**	**16**	**MIC**	**β- Pinene**	
16	16	32	32	**MBC**		
32	**16**	**32**	**32**	**MIC**	**1,8-Cineole**	
64	32	>64	64	**MBC**		
8	**16**	**16**	**16**	**MIC**	**Linalool**	
16	**16**	**32**	**32**	**MBC**		
0.125	**0.125**	**0.125**	**0.25**	**MIC**	**Amoxicillin** (ميكروغرام.مل$^{-1}$)	
0.125	**0.250**	**0.250**	**0.5**	**MBC**		

* **للحصول على القيمة بواحدة % (حجم/ حجم) يمكن ضرب القيمة بمعامل 10^{-1} .**

ويظهر من الجدول رقم (12) أنّنا تمكنّا بعد (24 ساعة) من التحضين من تمييز حدوث تثبيط في نمو جرثومة السالمونيلا التيفية *S.typh* ضمن وسط مغذي سائل يحويها برفقة الزيوت العطرية (*L.angustifolia* L.)

و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) وابتداءً من التراكيز (MIC= 16،16،8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على التوالي، ومن ثمّ في (24 ساعة) لاحقة تمكنّا من تثبيت التركيز(16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) من الزيوت العطرية الثلاثة كقيمة لأدنى تركيز قاتل MBC للسالمونيلا التيفية *S.typh* في معلقاتها المغذية والممزوجة بتلك الزيوت، وتضمنت دراسات سابقة للتركيز المثبط الأدنى للسالمونيلا التيفية *S.typh* في أوساطها السائلة قيماً مختلفة ومتفاوتة (16< ميكرولتر. مل$^{-1}$ في (Tarek وزملاؤه،2014)؛ 0.16 ملغ. مل$^{-1}$ في (melouane وزملاؤه،2009))، وكانت قيمة التركيز القاتل الأعلى MBC للسالمونيلا التيفية *S.typh* (5 ميكروغرام.مل$^{-1}$ في (Soković وزملاؤه،2007). أمّا بالنسبة للبكتريا موجبة لغرام، بيّنت النتائج المعروضة في الجدول السابق أنّ السلالة الثانية من العنقودية الذهبية *S.aur2* قد تحسست للزيوت الثلاثة بشكلٍ متعادل وكان التركيز المثبط الأدنى لها (8 ميكرولتر.مل$^{-1}$) من كل زيت عطري مختبر، أمّا التركيز القاتل الأدنى MBC للعنقودية الذهبية فقد بلغ (16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) من كل زيت عطري مختبر، ولدى الرجوع لدراسات مشابهة اتبعت نفس الطريقة في تطبيق زيوت عطرية تتبع الجنس نفسه على الجرثومة نفسها، تبين وجود تفاوت بين قيمة التراكيز المثبطة الدنيا لدينا مع بعض النتائج المسجلة سابقاً (51 ملغ.مل$^{-1}$ في (Hui وزملاؤه، 2010)؛ 16< ميكرولتر.مل$^{-1}$ في (Tarek وزملاؤه،2014)؛ 0.04 ملغ. مل$^{-1}$ في (Imelouane وزملاؤه 2009)؛50 ميكرولتر. مل$^{-1}$ في (Aly وزملاؤه، 2013)؛ 5 ميكروغرام.مل$^{-1}$ في (Soković وزملاؤه،2007))، وكانت قيمة MBC (5.5 ميكروغرام. مل$^{-1}$ في (Soković وزملاؤه،2007)؛ (100 ميكرولتر. مل$^{-1}$ في (N. Mardafkan وزملاؤه،2015)).

وثبطت زيوت كل من نباتات (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) نمو العصوية الشمعية *B.cer* في معلقاتها السائلة بشكلٍ واضح ومرئي للعين المجردة، وكانت قيم التركيز المثبط الأدنى MIC الموافقة هي (4،16،8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) من الزيوت الثلاثة على التوالي، وتسبب التركيز(16 ميكرولتر.مل$^{-1}$) من كل منها بتحقيق الموت الكامل للعصيات الشمعية *B.cer* في مرقها المغذي، فلم يُظهر عند فرش محتوى حجر التركيز (16ميكرولتر.مل$^{-1}$) على أوساط تنمية صلبة نمو أية مستعمرة شمعية المظهر الخارجي، وتشير دراسات أجريت سابقاً على فعّالية زيوت الخزامى وزيوت أخرى من الشفوية نفسها في تثبيط العصوية الشمعية *B.cer* في معلقاتها السائلة إلى اختلاف في قيم MIC الموافقة لتلك الزيوت (0.03 ميكرولتر.مل$^{-1}$ في (Benbelaid وزملاؤه،2012)؛2 ميكرولتر.مل$^{-1}$ في (Mahboubi وKazempour،2009)).

ويظهر الجدول (12) ذاته أنّ قيم التركيز المثبط الأدنى من مركب 1,8-Cineole لكل من *S.aur2* و*E.coli* و*B.cer* هي الأعلى بين قيم MIC في التجربة (MIC = 32 ميكرولتر. مل$^{-1}$) باستثناء البكتريا *S.typh* فقد تفوق β- Pinene بالقيمة (MIC = 8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على كل من α-Pinene وLinalool و1,8-Cineole (MIC=16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) بقدرته على تثبيط *S.typh*، وتتفق نتائجنا مع ما أورده Mahboubi وKazempour (2009) عن إخفاق 1,8-Cineole في تثبيط الأنواع من *S.aur* و*E.coli* و*B.cer* عند التركيز الأعلى في تجربتهم (MIC وMBC< 8 ميكرولتر.مل$^{-1}$)، وتتقاطع نتائجنا إيجاباً مع نتائج Saxena وزملائها(2011)، حيث أشاروا إلى عدم قدرة 1,8-Cineole بالتركيز (MIC > 18100 جزء بالمليون وهي تعادل 18.1 ميكرولتر.مل$^{-1}$) على تثبيط *S.aur* وهو ما تحقق لدينا بالتجربة عندما تثبطت بالتركيز (32 ميكرولتر. مل$^{-1}$).

وتساوت قيم MIC من المركبات α-Pinene وβ- Pinene وLinalool لدى إضافتها إلى معلقات سائلة تحوي *S.aur2* و*E.coli*، حيث بلغت MIC (16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) لأجل *S.aur2* و(8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) لأجل *E.coli*، وتتفق نتائجنا مع Wang وزملائه (2012) حيث أشاروا إلى تساوي الأثر المثبط لكلا المركبين α-Pinene وβ-Pinene (MIC = 0.31 ميكرولتر. مل$^{-1}$) اتجاه *S.aur* و*E.coli*، في حين كان الأثر المثبط من المركب 1,8-Cineole (MIC = 12.5 ميكرولتر. مل$^{-1}$) لكلا الجرثومتين *S.aur* و*E.coli* لديهم. وتختلف نتائجنا مع نتائج Saxena وزملاؤها (2011)، حيث تفوق Linalool (MIC = 1700 جزء بالمليون وهي تعادل 1.7 ميكرولتر. مل$^{-1}$) علىα-Pinene (MIC>16800 جزء بالمليون وهي تعادل 16.8 ميكرولتر.مل$^{-1}$) في تثبيط نمو *S.aur* لديهم، وتختلف نتائجنا مع ما سجله Mahboubi وKazempour (2009)، عندما أخفق مركب α-Pinene لديهم في تثبيط *E. coli* عند التركيز (MIC > 8 ميكرولتر.مل$^{-1}$) في حين ثبط مركب α-Pinene لدينا جرثومة *E. coli* عند التركيز (MIC =8 ميكرولتر. مل$^{-1}$).

وتفوق مركب α-Pinene بقدرته التثبيطية لبكتريا *B.cer* والمتمثلة بالقيمة (MIC = 8 ميكرولتر.مل$^{-1}$) على مركبي β- Pinene وLinalool بالقيمة (MIC = 16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) لكل منهما، وبشكلٍ مغاير تفوق β- Pinene (MIC = 8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على α-Pinene وLinalool (MIC = 16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) بقدرته على تثبيط *S.typh*، وتتفق نتائجنا جزئياً مع ما سجله Mahboubi وKazempour عام (2009)، عن

قدرة α-Pinene في تثبيط وقتل العصوية الشمعية *B.cer* ولكن بتراكيز أقل مما تحصلنا عليها (MIC = 4 ميكرولتر. مل$^{-1}$ و MBC =8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) وكذلك تثبيط وقتل العنقودية الذهبية *S.aur* عند تركيز(MIC = MBC= 4 ميكرولتر.مل$^{-1}$).

وتختلف نتائجنا مع Zengin و Baysal (2014)، حيث لم يحقق مركب α-Pinene لم يحقق تثبيطاً في نمو O157:H7 *E.coli* و *S.aur* و *S.typh* في حين حقق كل من مركبي 1,8-Cineole و Linalool تثبيطاً في نمو الأنواع الثلاثة مع تفوق لمركب Linalool. وتتوافق نتائجنا مع نتائج Saxena وزملاؤها (2011) من حيث تفوق Linalool (MIC = 1700 PPM = 1.7 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على 1,8-Cineole (MIC = 9100 PPM = 9.1 ميكرولتر. مل$^{-1}$) في تثبيط نمو *E.coli*، وتختلف معهم من حيث تفوق المركبين السابقين على مركب α-Pinene الذي لم يحقق تثبيطاً في نمو *E.coli* (MIC < 16800 جزء بالمليون وهي تعادل 16.8 ميكرولتر. مل$^{-1}$).

وفي نظرة اشمل للجدول رقم (12) يتبين لنا أنّ زيوت الخزامى المختبرة _ خصوصاً النقية (100%)– قد تفوقت بفعاليتها المثبطة لنمو البكتريا في أوساطها السائلة على فعّالية بعض مكونات تلك الزيوت سواء كانت رئيسة (1,8–Cineole و Linalool) أو ثانوية (α-Pinene و β- Pinene)، ووقعت قيم MIC للزيوت العطرية ضمن مجال (4-16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) في حين كان مجال MIC للمكونات العطرية هو (8-32 ميكرولتر. مل$^{-1}$)، وتجلى ذلك بوضوح عندما ثبط زيت الخزامى (*L.dentata* L.) نمو *E.coli* اعتباراً من (4 ميكرولتر. مل$^{-1}$) فقد لزم تثبيط نموها بفعل مركب 1,8-Cineole وجوده بتركيز (32 ميكرولتر. مل$^{-1}$) كحد أدنى وهذا يعادل ثمانية اضعاف التركيز المثبط الأدنى MIC من زيت (*L.dentata* L.) (800%) والذي يشكل 1,8-Cineole جّل قوامه، وكذلك الحال بالنسبة لمركب Linalool الذي ثبط نمو الأنواع البكتيرية المختبرة *E.coli* و *S.typh* و *S.aur2* و *B.cer* عند التراكيز (8،8،4 و 8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على التوالي، وهي تعادل حسابياً نصف التراكيز المثبطة الدنيا للبكتريا بالترتيب نفسه (16،16،8 و 16 ميكرولتر. مل$^{-1}$) من زيت الخزامى (*L.angustifolia* L.) والذي يشكل Linalool نصفه.

وتقودنا المقارنة السابقة بين فعّالية زيتي أزهار النوعين (*L.angustifolia* L.) و (*L.dentata* L.) وفعّالية المركب الرئيسي في كل منهما Linalool و 1,8-Cineole من خلال قيم MIC لكل منهما على التوالي مجدداً

إلى الاستدلال إلى أنّ للزيوت العطرية مزايا تثبيط بكتيري لا يملكها المركب الرئيس فيها، ويعود ذلك إلى وجوده داخل الزيت برفقة مركبات ثانوية عديدة فعّالة حيويا ضد البكتريا تآزره وتعزز من تأثيره Synergistic Action أو يضاف تأثيرها إلى تأثيره Additive Effect، ويتطابق ما نشير إليه هنا مع أوردته العديد من الدراسات (بدر الدين وزملاؤه، 2013)؛ (Zengin وBaysal،2014).

وتشير نتائج الشاهد الإيجابي (Amoxicillin) في الجدول رقم (12) إلى أنّ جميع الأنواع البكتيرية المختبرة هي سلالات حساسة للمضاد البكتيري (Amoxicillin)، حيث تراوح تركيز التثبيط الأدنى MIC من (Amoxicillin) ولجميع الأنواع البكتيرية المختبرة بالمجال (0.125- 0.250 ميكروغرام.مل$^{-1}$) وقتلت تراكيز دنيا MBC من (Amoxicillin) تقع بالمجال (0.125-0.5 ميكروغرام.مل$^{-1}$) جميع الأنواع البكتيرية المختبرة، هذا وقد اختبرت دراسات عديدة حساسية الأنواع البكتيرية اتجاه الصاد الأموكسيسيلين (Amoxicillin)، وجدت Andrews (2006) في دراستها الشاملة لعدد هائل من الصادات الحيوية أنّ قيمة التأثير المثبط الأدنى من (Amoxicillin) اتجاه سلالتين من *E.coli* هي (MIC=2 و4 ميكروغرام.مل$^{-1}$)، وهي (MIC =0.25 و0.12 ميكروغرام.مل$^{-1}$) اتجاه سلالتين من *S.aur* في حين كانت الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* مقاومة لدرجة أنّها لم تتثبط بالتركيز العالي (MIC >128 ميكروغرام. مل−1). وجد Mothana وزملاؤه (2012) أنّ التركيز المثبط الأدنى *S.aur*هو (MIC=3.5 ميكروغرام. مل-1). كما وتثبطت (61) من أصل (73) سلالة من السلمونيلا التيفية *S.typh* عند تعريضها للأموكسيسيلين (Amoxicillin) بقيم MIC تقع بالمجال (0.25-1ميكروغرام. مل$^{-1}$) في حين تجاوز التركيز المثبط الحد الأعلى (MIC > 128 ميكروغرام. مل$^{-1}$)، (Matsumoto وزملاؤه،1999).

ويمكن أن يُعزى اختلاف نتائجنا مع نتائج باحثين آخرين إلى العديد من العوامل التي تم تمييزها من قبل Faleiro (2000)، كمؤثرات حقيقية في اختبار فعّالية الزيوت العطرية ضد الميكروبات الممرضة، مثل تركيبة الوسط المغذي Culture Medium Composition، التقنية المتبعة Assay Technique، النوع الميكروبي تحت الاختبار Microbial Species under Study، طريقة استخلاص الزيوت العطرية Extraction Method، درجة حموضة الزيت pH Value وذوبانيته Solubility في الوسط المغذي ودرجة الحرارة Temperature المطبقة خلال التجربة. حيث تعد معظم التقنيات المستخدمة في تقدير فعّالية الزيوت العطرية كمضادات بكتيرية تم تطويرها اصلا من طرق تقدير فعّالية الصادات الحيوية نفسها، ومع اختلاف خواص الزيوت

العطرية عن الصادات الحيوية، كان لا بُدّ أن توضع قابليتها للتطاير بالإضافة إلى درجة ذوبانيتها بالماء بعين الاعتبار، حيث تميل معظم الزيوت العطرية أن تكون من النمط الكاره للاتحاد بالماء Hydrophobic بالإضافة إلى لزوجتها العالية High Viscosity مما يجعل من انتشارها عبر الأوساط المغذية غير منتظماً ويفرض استخدام عامل تشتيت Dispersing Agent وبعثرة من أجل منع الانتشار غير المنتظم للزيت.

4-3-1-2. الفعّالية الحيوية المضادة للفطور:

أولا. نتائج اختبارات التضاد الفطري وأقطار هالات التثبيط بطريقتي الانتشار من أقراص وحفر الآغار:

يبين الجدول رقم (13)، نتائج اختبارات تحسس النوعين الفطريين *C.alb* و *A.niger* للزيوت والمكونات العطرية المختبرة المنتشرة عبر الآغار من أقراص فلتر Disk Diffusion أو من حفر محدثة بالآغار *Agar* Well Diffusion، ويظهر من الجدول أنّ الزيوت العطرية للأنواع الثلاثة (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) بالعموم قد ثبطت نمو *C.alb* خلال فترة التحضين (24 ساعة) عند انتشارها من أقراص مشربه بها أو من حفر تحويها، وكان للتركيز النقي من الزيوت الثلاثة (100%) القدرة المثبطة الأكبر لنمو *C.alb*، حيث أخفقت الزيوت الممددة بمقدار أربع اضعاف (تركيز 25%) في تحقيق أي تثبيط في نمو *C.alb*، وحققت الزيوت الممددة للضعفين (50 %) تثبيطا ضعيفاً في معاملتي الزيتين (*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) ومعدوماً في معاملة الزيت الانكليزي (*L.angustifolia* L.)، وتتفق نتائجنا مع نتائج الباحثتين Cavanagh وزميلتها Wilkinson (2006) حيث توصلتا إلى تقارب فعّالية الزيوت العطرية من النوع (*L.angustifolia* L.)، والنوع (*L.stoechas* L.) في تثبط نمو *C.alb* عند انتشار كلا الزيتين من أقراص مشربه بها، وتتفق نتائجنا مع Benbelaid وزملاؤه (2012)، عندما توصلوا إلى فعّالية الزيت العطري للخزامى (*L. multifida* L.) في تثبيط *C.alb* بطريقة الانتشار من الأقراص.

الجدول رقم (13). قيم أقطار تثبيط النمو الفطري بطريقتي الانتشار من القرص والانتشار من الحفر .

	المعاملة [1]	التركيز [3]	الانتشار من القرص C.alb	الانتشار من القرص A.niger	الانتشار من الحفر [2] C.alb	الانتشار من الحفر [2] A.niger
الزيـوت العطرية	الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.)	100%	6.33	1.67	25.0	29.0
		50 %	0	0.67		
		25%	0	0		
	الخزامى الفرنسية (*L.dentata L.*)	100%	7.67	1.67	15.33	20.0
		50 %	1.33	0		
		25%	0	0		
	الخزامى البرّية (*L.stoechas L.*)	100%	8.0	2.0	12.33	19.33
		50 %	3.67	1.67		
		25%	0	0		
المـكونات العـطرية	α-Pinene	100%	10.0	2.0	21.67	22.67
		50 %	5.67	1.33		
		25%	0	0		
	β-pinene	100%	8.67	1.0	20.0	24.33
		50 %	2.0	0		
		25%	0	0		
	1,8-cineole	100%	4.67	1.0	11.67	16.3
		50 %	0	0		
		25%	0	0		
	Linalool	100%	10.33	1.0	19.67	21.37
		50 %	2.33	0		
		25%	0	0		
	Clotrimazole	10 مكغ.قرص$^{-1}$	6	3.67	15	12
	PDB و DMSO		**0**	**0**	**0**	**0**

[1] يحتوي ملحق الصور صوراً ضوئية لبعض الأطباق (الأشكال T،U،V).

[2] استخدم تركيز وحيد في طريقة الانتشار من الحفر وهو (50 ميكرولتر. حفرة$^{-1}$) من الزيوت والمكونات العطرية النقية الصرفة، و(50 ميكرولتر/ حفرة$^{-1}$) من الشاهد الإيجابي Clotrimazole ذو التركيز 1 ملغ.مل$^{-1}$).

[3] تمثل النسب 100 %و 50 %و 25 % تركيز محلول المادة المختبرة المشربة على القرص ؛ (8 و4 و2 ميكرولتر مادة مختبرة. قرص$^{-1}$) على التوالي من أصل (8 ميكرولتر. قرص$^{-1}$) من محلول المادة المختبرة في DMSO .

وتختلف نتائجنا مع Gören وزملاؤه (2012)، حيث تبين لديهم عدم فعّالية زيت النوع (*L.stoechas* L.) في تثبيط *C.alb* بطريقة الانتشار من الأقراص، في حين أشار Agarwal وزملاؤه (2010)، إلى أنّ زيت الخزامى الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) قد حقق فعّالية ضعيفة جداً في تثبيط *C.alb* عند انتشاره من أقراص واقتصر التثبيط على (1.2) ملم. وتتوافق نتائجنا مع دراسة أشارت إليه دراسة Patturaja (2017) عن فعّالية الزيت العطري لنبات إكليل الجبل (*R.officinalis* L.) في تثبيط *C.alb* بطريقة حفر الآغار محققاً تثبيطا قدره (37) ملم يحيط بحفرة قطرها (4) ملم.

وبالنظر إلى قيم تثبيط الفطر *A.niger* نلاحظ مقاومته لانتشار الزيوت الثلاثة من الأقراص فكانت قيم أقطار التثبيط صغيرة جداً بلغت اقصاها (2) ملم (هالة تثبيط تحيط بالقرص قطرها ملمتر واحد فقط) لدى التركيز النقي من كل من زيت (*L.stoechas* L.) ومركب α-Pinene، في حين تثبط نمو الفطر عند انتشار الزيوت العطرية من الحفر بدرجة أكبر من انتشارها عبر الاقراص، وبلغ قطر التثبيط حده الأدنى (19.33) ملم عند نبات (*L.stoechas* L.)، وأقصاه (29.0) ملم عند النوع (*L.angustifolia* L.) بطريقة حفر الآغار، ويمكننا أن نعزو ذلك التفاوت في جدوى كلا الطريقتين في تثبيط نمو *A.niger* لصالح طريقة الانتشار من الحفر بشكلٍ رئيسي، إلى ارتفاع الكمية الزيت المخصصة لكل حفرة، حيث مُلئت حفرة اسطوانية نصف قطرها (0.3 سم وارتفاعها 0.3 سم بـ50 ميكرولتر من الزيت) في حيت كانت حصة القرص الواحد من الزيت هي (8 ميكرولتر) من الزيت النقي بالحد الأقصى، ويضاف لاختلاف عامل الحجم (50 ميكرولتر Vs 8 ميكرولتر)، عامل التبخر حيث ترتفع قابلية التبخر في حالة الأقراص عما هو عليه في الحفر ولا سيما في ظل ارتفاع زمن تحضين أطباق الفطر لمدة (120 ساعة) في حرارة (25 مْ) تبين فيها أن الشاهد السلبي قد استغرق خلال الـ (48 ساعة) الأولى لإظهار مستعمرات الفطر على سطح الآغار وأكثر من (72 ساعة) لتغطي مستعمرات الفطر كامل الطبق، وتتوافق نتائجنا مع ما توصلت إليه دراسة هندية لـ Veena Uniyal وزملاؤه عام (2012)، أكدت فعّالية زيت الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) في تثبيط نمو فطر *A.niger* بطريقة الانتشار من حُفر الآغار محققاً تثبيطاً بقطر(14) ملم، ولكن زيت القرفة (*C.zeylanicum*) الذي يتكون من مركب Cinnamaldehyde بنسبة (95%) حقق تثبيطاً مضاعفاً بقطر (44) ملم، وكذلك أشار Mekonnen وزملاؤه (2016)، إلى فعّالية زيت إكليل الجبل (*R.officinalis* L.) (يحوي على مركب α-Pinene بنسبة (51%) و1,8-Cineole (24%)) وزيت

الاوكالبتوس (*Eucalyptus globulus*) الذي يحتوي المركبات α-Pinene بنسبة (16%) و1,8-Cineole بنسبة (63%)، في تثبيط *A.niger* بقطر تثبيط (11 و5) ملم عند انتشارها من حفر أحدثت ضمن وسط (PDA).

وحققت المكونات العطرية α-Pinene وβ-Pinene وLinalool و1,8-Cineole تثبيطاً في نمو *C.alb*، وكانت أقطار التثبيط ضمن المجال (4.67– 10.33) ملم بطريقة الأقراص وضمن المجال (11.67 – 21.67) ملم في طريقة حُفر الآغار، مع تقارب في فعّالية المركبات الثلاثة α-Pinene وβ-Pinene وLinalool في تثبيط *C.alb* بضمن كل طريقة، في حين حقق مركب 1,8-Cineole التثبيط الأضعف بين المواد المختبرة من زيوت ومكونات عطرية، وتختلف نتائجنا مع ما أشار إليه Dai وزملاؤه (2013) بأنّ تشريب قرص عقيم بمركب α-Pinene قد ثبط نمو الفطر *A.niger* بمقدار (15.4) ملم، وتتفق مع ما وجده Safaei-Ghomi وزميلته Ahd (2010)، عندما أخفق لديهم مركب 1,8-Cineole في تثبيط الفطر *A.niger* بطريقة الانتشار من الأقراص، في حين كانت *C.alb* أكثر تحسساً لـ 1,8-Cineole فتثبطت بقطر(5) ملم، كما وتتفق نتائجنا بالعموم مع دراسة محلية لـ AL-Naser وAL-Abrass عام (2014)، تبيّن فيها قدرة الزيوت العطرية لأوراق وأزهار الخزامى الإنكليزية النامية في سورية على تثبيط نمو عدة فطور أحدها *A.niger* مخبرياً بتطبيق طريقة تسمم الغذاء Food Poisoning Technique، وكان زيت الأزهار أكثر فعّالية في تثبيط *A.niger* مقارنة بزيت الأوراق وهو ما عُزيَ إلى محتوى زيت الأزهار من Linalool وBorneol.

ثانياً. حساب التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MFC :

يُظهر الجدول رقم (14) أدناه، تقارب فعّالية الزيوت الثلاثة في تثبيط *C.alb* و*A.niger* عند القيمة (MIC= 8 ميكرولتر.مل$^{-1}$) باستثناء زيت النوع (*L.dentata L.*) كان أقل فعّالية، حيث ثبط نمو الفطور عند التركيز الأدنى (MIC= 16 ميكرولتر.مل$^{-1}$). وتتوافق نتائجنا بالعموم مع ما توصلت إليه Tarek وزملاؤها (2014)، إلى فعّالية زيت الخزامى (*L. officinalis* L.) في تثبيط نمو *C.alb* و*A.niger* وبتركيز مثبط أدنى (MIC ≤1 ميكرولتر.مل$^{-1}$)، وكذلك تتفق نتائجنا مع نتائج DeRapper (2013)، حول كون زيت النوع (*L.angustifolia* L.) يمتلك فعّالية ضد نمو *C.alb* في معلقاتها السائلة (MIC=3 ملغ.مل$^{-1}$)، وتختلف نتائجنا مع ما بيّنه Agarwal وزملاؤه (2010)، حول عدم فعّالية زيت النوع (*L.angustifolia* L.) في تثبيط *C.alb*

في معلقاتها السائلة ضمن مجال التجربة (MIC > 3% أي MIC > 30 ميكرولتر.مل$^{-1}$). وتختلف نتائجنا أيضاً مع Mothana وزملاؤه (2012)،الذين توصلوا إلى عدم فعّالية الزيت العطري للخزامى الفرنسية (*L.dentata L.*) في تثبيط *C.alb* بطريقة التمديدات المخففة.

الجدول رقم (14). متوسط قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MFC) لكلا الفطرين، مقدراً بواحدة (ميكرو لتر.مل$^{-1}$ بالنسبة للزيوت ومكوناتها، وميكروغرام.مل$^{-1}$ للمبيد الفطري Clotrimazole).

	المادة المختبرة	**التركيز * (ميكرولتر.مل$^{-1}$)**		
		MFC/MIC	***C.alb***	***A.niger***
الزيوت العطرية	**الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.)**	**MIC**	**8**	**8**
		MFC	8	16
	الخزامى الفرنسية (*L.dentata L.*)	**MIC**	8	16
		MFC	16	16
	الخزامى البرّية *L.stoechas L.*	**MIC**	8	8
		MFC	8	8
المكونات العطرية	**A-Pinene**	**MIC**	8	8
		MFC	8	8
	B- Pinene	**MIC**	8	8
		MFC	8	8
	1,8-Cineole	**MIC**	16	32
		MFC	32	32
	Linalool	**MIC**	16	16
		MFC	16	16
شاهد	**Clotrimazole**	**MIC**	32	32
		MFC	128	128

*** للحصول على القيمة بواحدة النسبة المئوية الحجمية %، يمكن ضرب القيمة المذكورة بمعامل 10^{-1} لمعاملات الزيت والمكونات العطرية، و10^{-4} لمعاملة Clotrimazole.**

وتميز زيت النوع البرّي (*L.stoechas* L.) على زيت كلا النوعين (*L.angustifolia* L.) و (*L.dentata* L.) بقدرته على تثبيط وقتل *C.alb* و *A.niger* المختبرين عند أدنى تركيز قاتل مسجّل في التجربة (MIC=MFC =8 ميكرولتر.مل$^{-1}$)، وبتساوي فعاليته المثبطة والقاتلة للفطور مع المركبين α-Pinene و β-Pinene، وتتوافق نتائجنا هنا مع ما توصلت إليه Zuzarte وزملاءها في أبحاثهم المنشورة على دفعتين (2011

و2013)، أنّ لزيت الخزامى (*L. viridis* L.) الذي يحتوي المركبات 1,8-Cineole (34.5–42.2%) و Camphor (13.4%) و α-Pinene (9%) خواصا مثبطة لنمو *C.alb* (MIC =1.25-2.5 ميكرولتر. مل$^{-1}$) ولـ *A.niger* (MIC=2.5 ميكرولتر.مل$^{-1}$) وكذلك حال زيت الخزامى (*L.stoechas* L.) الحاوي على المركبات Fenchone (37%) و Camphor (27.3%) و 1,8-Cineole(6%) الذي أظهر خواصاً مثبطة لنمو *C.alb* و *A.niger* (MIC = 2.5 ميكرولتر. مل$^{-1}$).

وبدورها أظهرت المكونات العطرية α-Pinene و β-Pinene و Linalool و 1,8-Cineole قدرة على تثبيط وقتل *C.alb* و *A.niger* ، ووقعت قيم MIC و MFC لها مجتمعة بالمجال (8-32 ميكرولتر.مل$^{-1}$)، وتفوق مركبا α-Pinene و β-Pinene بفعاليتهما المثبطة والقاتلة لكلا النوعين الممرضين *C.alb* و *A.niger* بالقيم (MIC = MFC = 8 ميكرولتر.مل$^{-1}$) على مركب Linalool حيث كانت فعاليته في تثبيط وقتل *C.alb* و *A.niger* أقل بمرتين (MIC=MFC =16 ميكرولتر.مل$^{-1}$). وتساوت فعّالية Linalool المثبطة للـ *C.alb* مع مركب 1,8-Cineole (MIC=16 ميكرولتر.مل$^{-1}$) الذي يعتبر بموجب نتائجنا هو الأضعف بفعاليته المثبطة والقاتلة لفطر *A.niger* (MIC=MFC =32 ميكرولتر.مل$^{-1}$) والقاتلة لـ *C.alb* (MFC=32 ميكرولتر.مل$^{-1}$) بين الزيوت والمكونات العطرية المختبرة . وتتفق نتائجنا من حيث المضمون مع ما أشار إليه Dai وزملاؤه (2013) بأنّ مركب α-Pinene قد ثبط نمو الفطر *A.niger* وكان التركيز المثبط الأدنى لـ *A.niger* من α-Pinene يعادل (MIC =125 ميكروغرام.مل$^{-1}$).وتتفق نتائجنا مع ما توصلت إليه Zuzarte وزملاؤها (2011 و2013)، عن تفوق α-Pinene بفعاليته الحيوية ضد *C.alb* و *A.niger* محققا (MIC = 0.32 -1.25 ميكرولتر. مل$^{-1}$) و(MIC=2.5 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على المركب Linalool (MIC=5-10 ميكرولتر. مل$^{-1}$) و(MIC= 5 ميكرولتر. مل$^{-1}$) لـ *C.alb* و *A.niger* على التوالي، في حين كانت فعّالية 1,8-Cineole في تثبيط كل من *C.alb* و *A.niger* (MIC=5- 10 ميكرولتر. مل$^{-1}$ و MIC = 10 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على التوالي.

وكذلك تتفق نتائجنا مع وجده الباحثان Mahboubi و Kazempour (2009)، بأنّ التراكيز المثبطة الدنيا من كل من 1,8-Cineole و α- Pinene هي (MIC <8 و8 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على التوالي من أجل *C.alb*، و(MIC <8 و4 ميكرولتر. مل$^{-1}$) على التوالي، من اجل *A.niger*، في حين كان التركيز المثبط الأدنى من زيت الميرمية الروسية (*Perovskia abrotanoides*) تعادل (MIC 8 و8 ميكرولتر.مل$^{-1}$) لكل لـ

C.alb و*A.niger* على التوالي، على الرغم من كونه يتكون بشكلٍ رئيس من 1,8-Cineole وα-Pinene وCamphor. وتختلف نتائجنا عموماً مع وجدته Saxena وزملاؤها (2011)، من تفوق واضح لـ Linalool على α-Pinene، حيث كان التركيز المثبط الأدنى لـ *C.alb* من المركبات 1,8-Cineole وα- Pinene وLinalool هو (MIC= 9100 و3400 و1300 PPM) على التوالي.

وتتفق نتائجنا مع وجده Safaei-Ghomi وزميلته Ahd عن كون مركب 1,8-Cineole قد أخفق في تثبيط *A.niger* بطريقة التخفيفات المتعددة حيث تجاوز التركيز المثبط الأدنى عتبة التجربة، في حين كانت *C.alb* أكثر تحسساً للمركب 1,8-Cineole حيث استجابت بتركيز مثبط أدنى (MIC=31.3 ميكروغرام.مل$^{-1}$)، وتشير دراستهم إلى أنّ زيوت من *Eucalyptus* species تحوي على 1,8-Cineole كمركب رئيس امتلكت فعّالية حيوية تفوق فعّالية 1,8-Cineole مستقلاً مما يذكر بوجود تأثيرات تآزريه بين المركبات.

على الرغم مما أشار إليه Nuzhat وVidyasagar (2013)، بأنّ الفعّالية المضادة للالتهابات التي تتمتع بها زيوت الخزامى تعود للمحتوى العالي من مركب 1,8-Cineole والذي يملك القدرة على تغيير رطوبة وتركيب الغشاء المخاطي للخلايا الفطرية معيقاً العمليات التنفسية مؤديا إلى إزاحة الفطر الممرض وإبادته، حيث يلعب المركب 1,8-Cineole دوراً في تغيير تركيبة الطبقة الليبيدية وكذلك الطبقة المتقرنه من بشرة الإنسان مسبباً زيادة في نفاذية البشرة والطبقة المتقرنة لدى جسم المصاب بالعدوى الفطرية، كل ما سبق يفسر قدرة تللك الزيوت على علاج الجسم الحي من العدوى الفطرية، ولكن لا بد من إعادة التأكيد على ما أشارت إليه دراسة Friedman وزملاء،2002)، حول تأثر الفعّالية الحيوية للزيوت العطرية تبعاً طريقة تحضير وتمديدها في محاليلها الأم، كما أنّه ليس هناك من طريقة مرجعية أو نموذج ثابت لعرض نتائج الفاعلية الحيوية للزيوت العطرية ضد الاحياء الممرضة.

2-3-4. الفعّالية الحيوية للمستخلصات النباتية من جنس الخزامى :

وكذلك اختبرت الفعّالية الحيوية المستخلصات النباتية للخزامى ضد الأحياء الدقيقة الممرضة من بكتريا وفطور، كما في اختبارات الزيوت العطرية وفق مرحلتين (اختبارات التضاد البكتيري على وسط صلب، ومن ثمّ في مرحلة لاحقة حساب التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MFC/MBC من كل زيت أتجاه السلالات البكيرية والفطرية).

4-3-2-1. نتائج اختبارات التضاد البكتيري والفطري وأقطار هالات التثبيط :

نظراً لكون أزهار الخزامى أكثر استخداماً وشيوعاً من أوراقها في الطب الشعبي وخاصة بعد تجفيفها، فلقد أجريت اختبارات التضاد البكتيري على مستخلصات مائية وكحولية تم تحضيرها من أزهار مجففة تعود للأنواع (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) اتجاه الأنواع البكتيرية والفطرية المختبرة، ويتضمن الجدول رقم (15)، متوسط قيم أقطار التثبيط الموافقة لكل نوع بكتيري وفطري مختبر، اتجاه كلا النوعين من المستخلصات.

جدول.(15) متوسط قيم أقطار تثبيط النمو البكتيري والفطري للمستخلصات النباتية المائية والكحولية (مقدراً بـ الملمتر مطروحا منه طول قطر القرص 6 ملم).

المعاملة		البكتريا[1]								الفطور	
		بكتريا موجبة غرام				بكتريا سالبة غرام					
النوع	المستخلص	***B.cer***	***S.aur1***	***S.aur2***	***E.fac***	***S.typh***	***E.coli***	***Ps.aeru***		***C.alb***	***A.niger***
الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.)	المائي	1.33	0	0	0	0	0	0		1.67	1.33
	الكحولي	8.67	7.0	7.76	0	5.33	4.33	1.67		4.33	3.33
الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.)	المائي	0	0	0	0	0	0	0		1.0	0
	الكحولي	5.33	5.67	4.33	0	0	5.0	2.0		4.67	5.0
الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.)	المائي	2.0	0	0	0	0	1.67	0		2.0	1.33
	الكحولي	6.0	5.0	6.67	1.33	4.0	5.67	1.0		5.67	4.33
الشاهد		0	0	0	0	0	0	0		0	0

(1) لم يتم إدراج الجرثومة *L.mon* لعدم حدوث تثبيط في نموها في جميع المعاملات المستخلصات .

ويظهر من الجدول (15) أعلاه، أنّ المستخلصات المائية لأزهار الأنواع الثلاثة (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) لم تحقق فعّالية مجدية في تثبيط نمو البكتريا المختبرة، واقتصر أثرها على جرثومتين فقط الأولى هي العصوية الشمعية *B.cer* التي أظهرت تثبيطاً تجلى بهالة قطرها (1.33) ملم وأخرى قطرها(2.0)ملم تُحيط بأقراص غُمرت بمستخلصات مائية للنوعين (*L.angustifolia* L.) و(*L.stoechas* L.) على التوالي، وكانت الجرثومة الثانية الايشرشيا كولاي *E.coli* عندما تثبط نموها بمقدار(1.67) ملم جراء انتشار المستخلص المائي للنوع (*L.stoechas* L.)، وتتفق دراستنا مع ماتوصل إليه Dostalova وآخرون (2014)، عندما وجدو أنّ المستخلص المائي للنوع (*L.angustifolia* L.) والمحضر وفق إحدى النسبتين (5:1) و(10:1) يمتلك فعّالية ضعيفة ضد *E.coli*، وتتفق نتائجنا بالعموم مع Cavanagh وWilkinson (2006)، بتوصلهم لفشل المستخلصات المائية Water Extract ومياه التقطير Hydrosol لبعض أنواع الخزامى في تثبيط نمو كل من الـ *S.aur* و*E.coli* و*Ps.aeru* عند اختبار حساسيتها بطريقة الانتشار من الاقراص. وكذلك تتفق نتائجنا مع ما توصلت إليه الباحثة Al-Niaame وزميلتها Aziz (2013)، عن إخفاق المستخلصات المائية لبراعم ازهار الخزامى (*L. officinalis* L.) في تثبيط المكورة المعوية البرازية *E.fac*.

وكان المستخلص الايثانولي للأنواع الثلاثة (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) قادراً على تثبيط طيف بكتيري أوسع مما حققه المستخلص المائي للأنواع ذاتها وبهالات ذوات أقطار أكبر، فقد حقق المستخلص الكحولي للنوع (*L.stoechas* L.) تثبيطاً لـ(7) سلالات تتبع (6) أنواع بكتيرية، ووقعت أقطار التثبيط ضمن المجال (1− 6.67) ملم، ثمّ جاء المستخلص الكحولي الايثانولي للنوع (*L.angustifolia* L.) حيث حقق انتشاره عبر القرص تثبيطاً في (6) سلالات بكتيرية تتبع (5) أنواع بكتيرية (2 موجبة غرام / 3 سالبة غرام) وتراوحت قيم اقطار التثبيط ضمن المجال (1.67-8.67) ملم، وعلى درجةٍ أقل من الفعّالية كانت مستخلصات النوع (*L.dentata* L.) التي ثبطت نمو (5) سلالات من (4) أنواع بكتيرية انقسمت مناصفة بين سالب وموجب لغرام، وتتفق نتائجنا بشكلٍ جزئي مع ما توصلت إليه Blazekovic وزملاؤها (2011)، من تأكيدات على فعّالية جيدة تمتع المستخلص الايثانولي لأزهار الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) في تثبيط *S.aur* و*B.cer* و*E.coli* و*Salmonella spp.* عند تقديرها بطريقة الانتشار من الحفر وتختلف معهم في قدرة المستخلص الايثانولي لديهم في التثبيط الفعال لـ *L.mon* و*E.fac* وبقطر تثبيط (9 و13) ملم على التوالي.

وتتفق نتائجنا بالعموم مع دراسة Salve و Bhuktar(2013)، في كون المستخلص الايثانولي للخزامى (*Lavandula bipinnata*) قد ثبط جرثومتي *Ps.aeru* و*S.aur* بأقطار تثبيط (3 ملم و32 ملم) على التوالي، وتختلف معهما عندما فشل المستخلص الميثانولي لديهم في تثبيط الزائفة الزنجارية بطريقة الانتشار من الأقراص.

وتختلف نتائجنا مع Cavanagh وWilkinson (2006)، بتوصلهم لفشل المستخلصات الايثانولية لبعض انواع الخزامى في تثبيط نمو كل من الـ *S.aur* و*E.coli* و*Ps.aeru* عند اختبار حساسيتها بطريقة الانتشار من الاقراص، وكذلك تختلف نتائجنا مع ما توصلت إليه Al-Niaame وAziz (2013)، عن فعّالية المستخلصات الميثانولية لبراعم أزهار الخزامى (*L.officinalis L.*) في تثبيط *E.fac* بتطبيق طريقة الانتشار من الحفر. وبمقارنة نتائج تثبيط كل من المستخلصان المائي والإيثانولي نجدها متفقة مع كل الدراسات التي اشارت إلى أنّ فعّالية المستخلصات الايثانولية للخزامى في تثبيط البكتريا تفوق فعّالية المستخلصات المائية،(Al-Niaame وAziz،2013؛ Salve وBhuktar،2013).

أمّا عن فعّالية المستخلصات المائية والكحولية لأنواع الخزامى في تثبيط الفطور من لنوعين *C.alb* و *A.niger* نجد أنّ النتائج المدرجة في الجدول رقم (15) تشير إلى فعّالية منخفضة للمستخلصات المائية للأنواع المدروسة من الخزامى عموماً في تثبيط النوعين *C.alb* و*A.niger*، ووقعت قيم أقطار التثبيط ضمن مجال ضيق جداً (1-2) ملم وتقاربت استجابة النوعين الممرضين للمستخلص المائي من الأنواع الثلاثة باستثناء المستخلص المائي للنوع (*L.dentata* L.)، حيث لم يحقق أية تثبيط لـ *A.niger*، وتقترب الفعّالية المنخفضة المتحصل عليها هنا مع ما اشارت إليه الباحثتان Cavanagh وWilkinson (2006)، عن فشل المستخلصات المائية لأنواع مختلفة من الخزامى في تثبيط *C.alb* بطريقة الانتشار من الأقراص.

وكانت المستخلصات الايثانولية أكفأ من المائية في تثبيط كلا النوعين *C.alb* و *A.niger* بأقطار تثبيط تقع ضمن المجال (4.33-5.67) ملم لـ *C.alb* والمجال (3.33-5.0) ملم لـ *A.niger* وتقاربت المستخلصات الايثانولية الثلاثة في تأثيرها المثبط لكلا لنوعين *C.alb* و*A.niger*، وتتوافق نتائجنا مع ما وجده Blazekovic وزملاؤها (2011)، بأنّ للمستخلصات الكحولية الايثانولية من أزهار الخزامى الهجين(*L. x intermedia*) فعّالية مثبطة لنمو كل من *C.alb* و *A.niger* عند تطبيقها بطريقة الانتشار من حفر تم إحداثها على الآغار، وكانت أقطار التثبيط (7) ملم لـ *C.alb* و(4) ملم لـ *A.niger*، وكذلك تتوافق نتائجنا مع نتائج Krumina وزملاؤها

(2015)، عن فعّالية المستخلص الايثانولي (70%) في تثبيط *C.alb* بمقدار (17.5) ملم بطريقة الانتشار من الحفر، وتخالف نتائجنا ما توصلت إليه Cavanagh وزميلتها Wilkinson(2006)، إلى عدم فعّالية المستخلصات الكحولية لعدة أنواع وهجن مختلفة من الخزامى في تثبيط *C.alb* بطريقة الانتشار من القرص باستثناء النوع (*L.stoechas* L.) الذي حقق تثبيطاً ضعيفاً جداً قدره (0.2) ملم.

4-3-2-2. حساب التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MFC/ MBC:

تُشير النتائج المدرجة في الجدول (16) أدناه، أنّ المستخلصات المائية للأنواع الثلاثة (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) قد ثبطت الأنواع البكتيرية الأربعة *B.cer* و*S.aur1* و*S.typh* و*E.coli* في معلقاتها السائلة بتراكيز دنيا MICs تقع بالمجال (6-10) %، وتتفق نتائجنا مع ما أورده Ceyhan وزملاؤه (2012)، عن فعّالية المستخلصات المائية للخزامى الإنكليزية في تثبيط نوعي البكتريا *B.cer* و*S.aur* وتختلف معهم في ارتفاع قيمة التركيز المثبط الأدنى لديهم (400 ملغ.مل$^{-1}$ و200 ملغ.مل$^{-1}$ وهو يكافئ 40% و20%) لـ *B.cer* و*S.aur* على التوالي، مقارنة بما توصلنا إليه (8 % و10%) كحد اقصى من اجل *B.cer* و*S.aur* على التوالي.

الجدول (16). متوسط قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنىMBC للبكتريا وMFC للفطور(مقدراً بواحدة النسبة المئوية الحجمية % (مستخلص/ معلق))*.

المعاملة		البكتريا				الفطور	
		بكتريا موجبة غرام		بكتريا سالبة غرام			
النوع	المستخلص	*B.cer*	*S.aur1*	*S.typh*	*E.coli*	*C.alb*	*A.niger*
الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.)	المائي	(10)6	(10<)10	(10<)8	(6)6	(10<)8	(10<)6
	الكحولي	(1)0.6	(1)0.8	(1)0.8	(0.8)0.6	(4)2	(8)4
الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.)	المائي	(10)8	(10<)10	(10<)10	(8)8	(10<)10	(10<) 10<
	الكحولي	(1)0.8	(2)1	(1)1	(1)0.8	(4)4	(8)6
الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.)	المائي	(10)6	(10)6	(10)8	(8)6	(10<)6	(10<)8
	الكحولي	(0.8)0.6	(1)0.8	(1)0.8	(0.6)0.4	(4)2	(8)6

*** تشير الارقام ضمن الأقواس إلى قيم التركيز القاتل الأدنى الموافقة MIC(MBC) أو MIC(MFC) على التوالي.**

وحققت المستخلصات المائية الثلاثة موتاً كاملاً لكل من *B.cer* و*E.coli* في معلقاتها، في حين أخفق المستخلص المائي لكل من (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) في قتل النوعين *S.aur1* و *S.typh* وكان المستخلص المائي للنوع (*L.stoechas* L.) قادراً على قتل على الأنواع الأربعة بالمجال (6-8)%. وكان المستخلص الكحولي الايثانولي للأنواع المدروسة قادراً على تثبيط جميع الأنواع البكتيرية المختبرة عند إضافته إلى معلقات تحويها بتراكيز تقع ضمن المجال (0.4-1)% ومن ثمّ قتلها ضمن المجال (0.6-2) % مع تفوق المستخلص الكحولي للنوع (*L.stoechas* L.)على مستخلصي النوعين (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.)، وتتفق نتائجنا مع العديد من الدراسات التي أثبتت فعّالية المستخلصات الكحولية من جنس الخزامى في تثبيط الأنواع البكتيرية بنوعيها موجبة وسالبة غرام حيث اثبت Ceyhan وزملاؤه (2012)، عن فعّالية المستخلص الايثانولي للخزامى (*L.officinalis L.*) في تثبيط *B.cer* و *S.aur* عند تركيز(50 ملغ. مل$^{-1}$ أو5%) و*E.coli* عند تركيز(12.5 ملغ.مل$^{-1}$)، كما وبيّنت الدراسة زيادة فعّالية المستخلصات الكحولية مقارنة بفعّالية المستخلصات والمناقيع المائية في تثبيط البكتريا في معلقاتها السائلة وهو ما نستدل عليه من خلال نتائجنا.

ويظهر الجدول السابق أيضاً أنّ المستخلصات المائية للأنواع الثلاثة (*L.angustifolia* L.) و(*L.dentata* L.) و(*L.stoechas* L.) ضمن مجال (6-10) % من التراكيز قد ثبطت نمو الفطور من النوعين *C.alb* و*A.niger* باستثناء المستخلص المائي للنوع (*L.dentata* L.) الذي لم يتمكن من ثبيط *A.niger* حتى بالتركيز العالي 10%، كما وأخفقت المستخلصات المائية للأنواع الثلاثة جميعها في قتل كلا النوعين *C.alb* و*A.niger* في معلقاتها حتى بالتركيز الأعلى في التجربة، وتتوافق نتائجنا هنا مع ماتوصل إليه Baptista وزملاؤه (2015)، بأنّ التركيز المثبط الأدنى لنمو كلا النوعين *C.alb* و*A.niger* من المستخلصات المائية لتحت النوع (*L. stoechas subsp. Luisieri*) والنوع (*L. pedunculata*) يفوق القيمة (0.1 ملغ.مل$^{-1}$).

وبالمقابل فإنّ المستخلصات الكحولية الايثانولية قد حققت تثبيطا مضاعفاً لما هو عليه في المستخلصات المائية وعند كلا النوعين *C.alb* و*A.niger* وبتراكيز(2−6)%، وكانت التراكيز القاتلة من المستخلصات الكحولية ولكلا النوعين واقعة بين (4−10)%، وتتفق نتائجنا مع ما وجدته Blazekovic وزملاؤها (2011)، بأنّ للمستخلصات الكحولية الايثانولية من أزهار الخزامى الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) تتمتع بفعّالية مثبطة

لنمو كل من *C.alb* و *A.niger* وكذلك كان التركيز المثبط الأدنى هو (0.5% و2.5%) والتركيز القاتل الأدنى هو (1%و 5%) لكل من النوعين *C.alb* و*A.niger* على التوالي.

وتتفق نتائج دراستنا هذه مع ما توصلت إليه Krumina وزملاؤها (2015)، عن انخفاض التركيز المثبط الأدنى من مستخلص الخزامى الايثانولي إلى ما دون (0.3 %). وتتفق نتائجنا مع العديد من النتائج التي تضمنت تأكيداً عن فعّالية المستخلصات الكحولية في تثبيط كلا من النوعين *C.alb* والنوع *A.niger* مقارنةً بتلك المائية ومنها ما توصل إليها Ceyhan وزملاؤه (2012)،حيث ثبط المستخلص الكحولي للنوع (*L.officinalis L.*) لديهم نمو *C.alb* عند التركيز (20%) في حين عجز عن تثبيطه مستخلصه المائي بتركيز(40%).

ولا بُدّ من التذكير بأنّ اختلاف نتائجنا هنا مع بعض الدراسات السابقة التي تناولت أنواع وهجائن من جنس الخزامى هو أمر طبيعي حيث أن الفعّالية المضادة للبكتريا المحسوبة مخبرياً تعتمد على النوع العشبي المختبر وهو يختلف باختلاف المصدر الجغرافي، وعلى تركيز المادة الفعّالة وعلى نوع وتركيز الميكروب المختبر، وآلية تطبيقها أي الطريقة المتبعة في حساب الفعّالية (Dostalova وزملاؤه،2014)، كما أشار Chew وزملاؤه (2011)، إلى أنّ عملية الاستخلاص تعد أمراً هاماً لفصل الخلاصة الخام من المواد الكيميائية في النبات، ونظراً لتميُّز كل نبات بمحتواه من الفنولات والمجموعات الفعّالة، فإنّ النباتات المختلفة تتطلب طرقا مختلفة من طرق الاستخلاص بما يضمن الحصول على أكبر نسبة من المحتوى لهذا النبات، وهنالك العديد من العوامل التي تُسهم في التأثير في معدلات الاستخلاص ونوعية وجودة وفعّالية المركبات الفنولية المستخلصة وتتضمن تلك العوامل، حجم الجزيئات النباتية، حرارة وحموضة وسط الاستخلاص، وزمن الاستخلاص، نوعية ونمط المذيب المستخدم في الاستخلاص،(الجدول (E)،ملحق الجداول).

4-4. الفعّالية الحيوية لأنواع من جنس الخزامى ضد الحشرات:

استخدم في هذا البحث الجزء الورقي فقط في الحصول على المستحضرات الفعّالة (زيوت عطرية ومستخلصات عضوية ومائية) اللازمة للاختبارات الفعّالية الحيوية المضادة للحشرات، وذلك لكون الأزهار هي الجزء الأقل توافراً خلال العام فضلاً عن استعمالها في العلاج وصناعة العطور، حيث تُشير المراجع إلى أنّ الأوراق تُعدّ من مخلفات التقطير التي يمكن استخدامها في استخراج الزيوت الفعّالة حيوياً (Adaszyńska-Skwirzyńska وزملاؤه،2014). حيث اختبرت فعّالية الزيوت العطرية لكل من (*L.angustifolia* L.) والخزامى البرّية (*L. stoechas* L.) على يرقات وبالغات فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط، وبشكلٍ منفرد طُبقت زيوت النوع الانكليزي (*L.angustifolia* L.) لوحده لاختبار فعاليتها على يرقات الخنفساء الصدئية، وذلك لصغر رقعة انتشار النوع البرّي (*L. stoechas* L.) وانحسار انتشاره الطبيعي هو ما جعلنا نختبر فعاليته بشكلٍ أقل من النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) حفاظاً على ما تبقى من جنباته ذات الأعداد المنخفضة، وبشكلٍ موازي أُجري اختبار لتأثير المستخلصات العضوية والمائية لكلا النوعين (*L.angustifolia* L.) و(*L. stoechas* L.) على بالغات الخنفساء الصدئية عند تسميم غذائها بتلك المستخلصات بنسب مختلفة.

4-4-1. فعّالية الزيوت العطرية كمبيد بالتبخير ضد يرقات وبالغات فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط :*Ephestia kuhniella Zeller*

يبين الجدول رقم (17) نِسب الموت % المسجلة مخبرياً بين اليرقات المعاملة ببخار الزيوت العطرية، حيث حقق التركيز (100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) أعلى نسب الموت في اليرقات المعاملة ، حيث بلغت (63.3 % و70.0 %) بعد (24 ساعة) و(96.7% و100%) بعد (48 ساعة) عند تطبيق زيت (*L.angustifolia* L.) و(*L. stoechas* L.)على التوالي، وتفوق التركيز (100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) على التركيز (50 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) بشكلٍ معنوي في معاملات زيت النوع البرّي (*L. stoechas* L.)، ولم تُلحظ فروق معنوية بين نسب الموت اليرقي % الناتجة عن تطبيق زيت (*L.angustifolia* L.) بالتركيزين (100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) و(50 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) وهذا يتوافق مع دراسة الباحثين التركيين Pandır وHatice (2016)، حول عدم وجود فروق معنوية بين فعّالية نفس التركيزين من الزيت العطري للنعناع ضد يرقات الفراشة نفسها.

الجدول رقم (17). النسبة المئوية للموت اليرقي والمسجلة بعد (24 ساعة و48 ساعة)، (*).

(*L. stoechas* L.)		(*L.angustifolia* L.)		التـركيــز
48 ساعة	**24 ساعة**	**48 ساعة**	**24 ساعة**	
41.1^{de}	23.3^{de}	27.0^{e}	16.67^{de}	**5 ميكرولتر. لتر $^{-1}$**
48.1^{d}	26.67^{d}	41.5^{cd}	26.67^{d}	**10 ميكرولتر. لتر $^{-1}$**
58.5^{c}	43.3^{c}	55.2^{c}	40.0^{c}	**25 ميكرولتر. لتر $^{-1}$**
83.0^{b}	50.0^{b}	86.3^{ab}	53.3^{ab}	**50 ميكرولتر. لتر $^{-1}$**
100.0^{a}	70.0^{a}	96.7^{a}	63.3^{a}	**100 ميكرولتر. لتر $^{-1}$**
8.68	**8.13**	**14.33**	**12.42**	**L.S.D**

* **إنّ المتوسطات ضمن العمود الواحد المتبوعة بأحرف متشابهة غير مختلفة معنوياً.**

ولوحظت الفروق المعنوية في تأثير التركيزين(5 ميكرولتر.لتر $^{-1}$) و(10 ميكرولتر.لتر $^{-1}$) من زيت (*L.angustifolia* L.) على اليرقات بعد (48 ساعة)، في حين لم تُلحظ أية فروق معنوية بين تأثير التركيزين من الزيت نفسه بعد (24 ساعة) وكذلك من زيت (*L. stoechas* L.) بعد (24 ساعة) و(24 ساعة). وبدا واضحاً أنّ تزايد التراكيز المطبقة ترافق مع ازدياد واضح في النسبة المئوية للموت بين اليرقات وهذا يتوافق مع دراسات أشارت لذلك (Pandir وBaş،2016؛ Emamjomeh وزملاؤه،2014؛ Ercan وزملاؤه،2013).

ويُبيّن الجدول رقم (18) نسب الموت % المسجلة مخبرياً بعد (24 ساعة) و(48 ساعة) والناتجة عن تعريض بالغات (كاملات) فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط لتأثير الزيوت العطرية للخزامى الإنكليزية والبرّية ، ويظهر من النتائج أنّ الموت الكامل (100%) لوحظ بعد (24 ساعة) في معاملة الزيت العطري للخزامى (*L. stoechas* L.) بالتركيز (100 ميكرولتر. لتر $^{-1}$) في حين حقق عندها نفس التركيز من زيت (*L.angustifolia* L.) نسبة الموت (89.3 %). وعند أخذ القراءة الثانية ومع انقضاء مدة (48 ساعة) من تعريض الفراشات للبخار الزيتي، تبين لنا حدوث هلاك كامل الفراشات في معاملة التركيز(50 ميكرولتر.لتر $^{-1}$) من كلا الزيتين، ومعاملة التركيز(25 ميكرولتر.لتر $^{-1}$) من زيت (*L. stoechas* L.)، ولم يكن هناك فروق معنوية بين فعّالية كل من

التركيز (100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) و(50 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) من كلا الزيتين بالعموم، باستثناء معاملتيهما من زيت (*L. stoechas* L.) بعد (24 ساعة) حيث كان الفرق معنوياً بالقيم (100% و89.6%) على التوالي.

الجدول رقم (18). النسبة المئوية للموت بين الفراشات والمسجلة بعد (24 ساعة و48 ساعة)، (*).

التـركيــز	(*L.angustifolia* L.)		(*L. stoechas* L.)	
	24 ساعة	**48 ساعة**	**24 ساعة**	**48 ساعة**
5 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	30.4^{e}	44.8^{d}	34.4^{e}	51.85^{c}
10 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	58.1^{bcd}	79.26^{C}	61.9^{d}	79.3^{b}
25 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	75.6^{abc}	93.0^{b}	82.6^{bc}	100^{a}
50 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	82.2^{ab}	100^{a}	89.6^{b}	100^{a}
100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	89.3^{a}	100^{a}	100^{a}	**-
L.S.D	**24.52**	**6.52**	**9.03**	**2.81**

*** إنّ المتوسطات ضمن العمود الواحد المتبوعة بأحرف متشابهة غير مختلفة معنوياً.**

*** * وتشير الإشارة (–) إلى أنّ الموت الكامل 100% قد سُجل مسبقاً في هذه المعاملة .**

وكان التركيز (5 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) من كلا الزيتين هو الأقل كفاءة في قتل فراشات التجربة، حيث كانت نسب الموت% المحققة فيه، منخفضة معنوياً عن نسب الموت% في معاملة التركيز(10 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) من كلا الزيتين أيضاً، وهو يخالف مع نتائج حصل عليها الباحثين التركيين Pandır وBaş (2016) عند تطبيق التركيزين (10 و5 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) من زيت البابريكا على الفراشات مكتملة النمو فكانت الفروق بين نسب الموت % الموافقة غير معنوية.

وكان للتراكيز المتزايدة والمطبقة من الزيوت العطرية للخزامى (*L.angustifolia* L.) و(*L. stoechas* L.) عموماً أثراً متزايداً في زيادة النسبة المئوية للقتل % لدى الفراشة ويرقاتها، وهذا يتطابق مع الدراسات (Pandir وBaş،2016؛ Emamjomeh وزملاؤه،2014؛ Ercan وزملاؤه،2013؛ Jemâa وزملاؤه،2013؛ -Habibi Ghozloo وزملاؤه،2012؛ Ayvaz وزملاؤه،2010).

ويبين الجدول رقم (19) قيم للتراكيز (LC 50 و LC 90 و LC 99) اللازمة لقتل (50% و 90% و 99%) كل من مجتمع اليرقات والفراشات المعاملة على التوالي، المحسوبة إحصائياً لكلا الفترتين (24 ساعة و 48 ساعة) بأبخرة الزيت العطري المستخلص للخزامى الانكليزية (*L.angustifolia* L.) والبرّية (*L. stoechas* L.)، والموافقة لكل طور حشري مختبر.

الجدول رقم (19). تراكيز الموت النسبية LC50 و LC90 و LC99 المحسوبة لكل فترة ولكل طور حشري.

الطور الحشري	تركيز القتل (ميكرولتر.لتر $^{-1}$)	(*L.angustifolia* L.) 24 ساعة	(*L.angustifolia* L.) 48 ساعة	(*L. stoechas* L.) 24 ساعة	(*L. stoechas* L.) 48 ساعة
اليرقة	**LC 50**	46.80	13.6	37.41	10.0
	LC 90	644.0	74.8	837	75.78
	LC 99	5460	301.3	10561	359.4
الفراشة	**LC 50**	9.14	5.40	7.77	5.07
	LC 90	86.56	17.06	37.89	12.35
	LC 99	542.7	43.55	137.8	25.7

ويُلاحظ وقوع التراكيز القاتلة النصفية LC50 جميعها ضمن المجال التجريبي المختبر في التجربة مما يؤكد جدوى التطبيق المخبري للزيوت العطرية بالتبخير لأغراض الدراسة ضمن المجال (5- 100 ميكرولتر. لتر $^{-1}$) وهو يتفق جزئياً مع دراسة Pandır و Baş (2016)، التي قامت بتطبيق الزيوت العطرية وفق التراكيز التالية (0.1،1، 5، 10، 20، 50، 100 ميكرولتر. لتر $^{-1}$) لمدة (24 ساعة)، ويختلف مع العديد من الدراسات التي طبقت تراكيز تبخيرية من الزيوت العطرية لنباتات أخرى ضمن مجالات أضيق كما هو الحال في دراسة Habibi-Ghozloo (2012)، التي قامت بتعريض بالغات الفراشة (بعمر 5 أيّام) لزيت الصنوبر(*Pinus eldarica*) بالمجال (1-7 ميكرولتر. لتر $^{-1}$) وزيت السرو (*Cupressus Arizonica*) بالمجال (20-75 ميكرولتر. لتر $^{-1}$) لمدة (48 ساعة)، فكانت قيمة التركيز المميت النصفي حوالي (LC50=3.11 ميكرولتر.لتر $^{-1}$) للصنوبر و(LC50= 38.0 ميكرولتر. لتر $^{-1}$) للسرو وتقابلهما لدينا القيم (LC50= 5.40 و 5.07 ميكرولتر. لتر $^{-1}$) لزيت كلا النباتين (*L.angustifolia* L.) و(*L. stoechas* L.) على التوالي، مما يشير إلى فعّالية الزيوت العطرية للخزامى في تحقيق الموت النصفي (50%) في الفراشات من خلال تراكيز قليلة من الزيوت العطرية.

أمّا قيم LC50 لليرقات بعد (24 ساعة) لدينا (LC50=46.80 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) لزيت النوع (*L.angustifolia* L.) و(LC50 = 37.41 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) للنوع (*L. stoechas* L.) فهي مقاربة أو أقل من تلك التي أشارت إليها دراسة Kheirkhah وزملائه (2015)، التي اختبرت السمية التبخيرية لزيت النبات الشفوي (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) على يرقات الفراشة ذاتها حيث كانت قيمة التركيز المميت النصفي (LC50 = 54.6 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) بعد (24 ساعة).

وبالنظر إلى القيم المحسوبة لتركيز الزيت الكافي لقتل (90%) من مجموع اليرقات المعاملة بعد (24 ساعة) عن المجال المجدي والمختبر في التجربة، نجد أنّها قد سجلت القيم (LC90= 644.0 و837 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) عند كل من (*L.angustifolia* L.) و(*L. stoechas* L.) على التوالي وهي تقع خارج مجالنا التجريبي مما يؤكد وجود مقاومة كبيرة لدى اليرقات لأبخرة الزيت العطري لنوعي الخزامى والمتطايرة من أقراص الفلتر إلى الفضاء الداخلي للوعاء الزجاجي خلال الـ (24 ساعة) الأولى في حين انخفضت تلك القيم إلى (LC90= 74.8 و75.78 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) المتقاربتان للنوعين السابقين على التوالي مع انقضاء كامل زمن التجربة (48 ساعة) وهي ضمن المجال التجريبي المطبق (5-100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$).

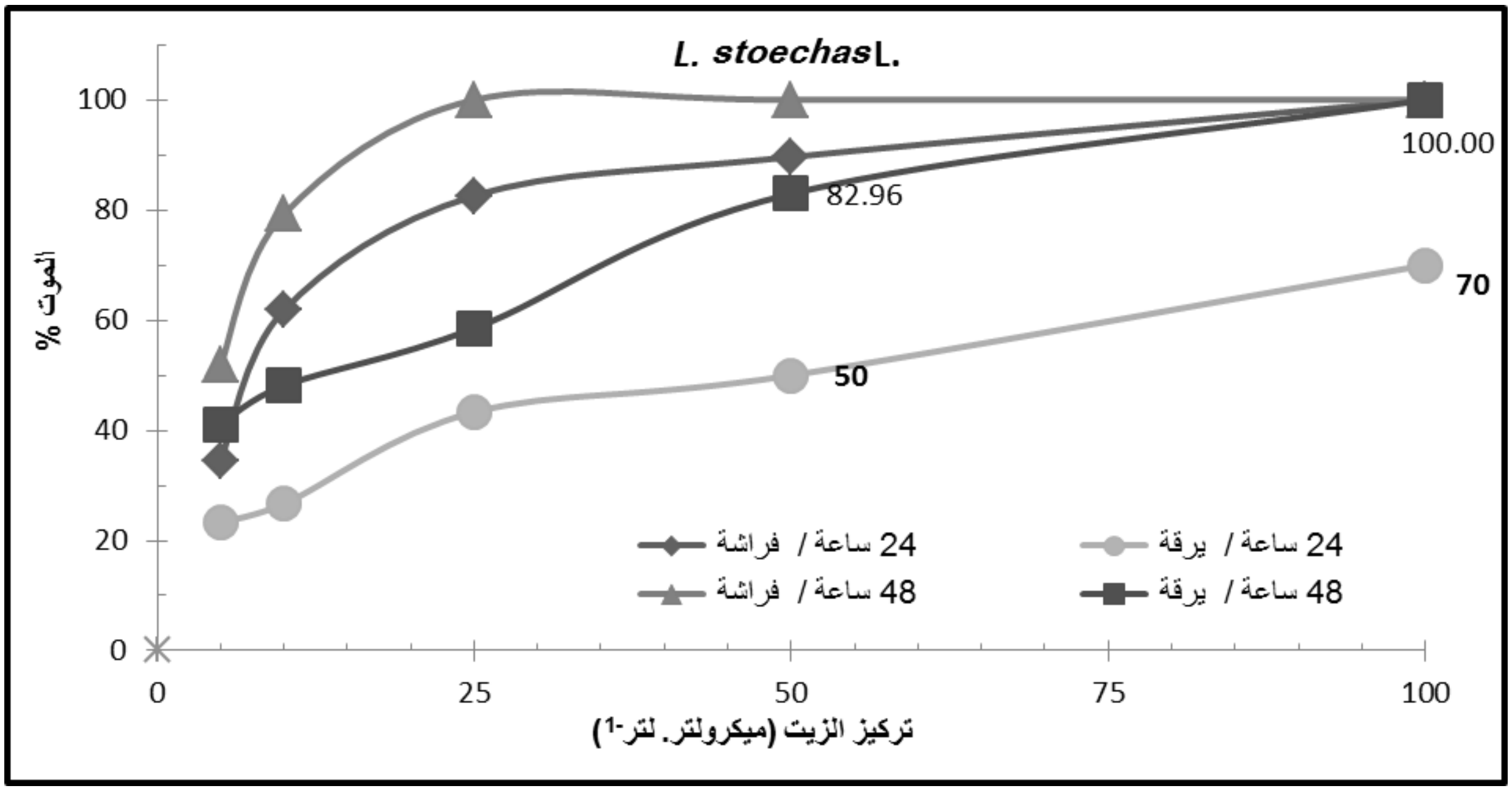
وكانت جميع القيم المحسوبة للتراكيز القاتلة لـ (90%) من الفراشات المعاملة واقعة ضمن المجال التبخيري المطبق في تجربتنا المخبرية مع تفوق واضح للزيت (*L.stoechas* L.) على الزيت (*L.angustifolia* L.)، حيث تحقق قتل (90%) مجموع البالغات عند القيم (LC90= 86.56 و17.06 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) في معاملات الزيت (*L.angustifolia* L.) بعد (24 ساعة) و(48 ساعة) على التوالي، وبالقيم (LC90 = 37.89% و12.35 %) في معاملات الزيت (*L. stoechas* L.) بعد (24 ساعة) و(48 ساعة) على التوالي.

وإنّ انخفاض قيم LC50 و LC90 التي يتضمنها الجدول رقم (19)، الموافقة لليرقات عن تلك الموافقة للفراشات الكاملة يشير بوضوح إلى أنّ يرقات فراشة البحر الأبيض المتوسط هي أكثر مقاومة من البالغات اللواتي كُنَّ أكثر حساسية للزيوت العطرية المختبرة والمستخلصة من أوراق الخزامى بنوعيها (*L. stoechas* L.) و (*L.angustifolia* L.) وتجلّى ذلك بانخفاض قيم التراكيز القاتلة المشار إليها آنفاً، وتُفيد قيم التركيز القاتل لـ (99%) من مجتمع اليرقات والبالغات المعاملة بالزيوت العطرية في تأكيد هذه النتيجة حيث شذت جميع قيم

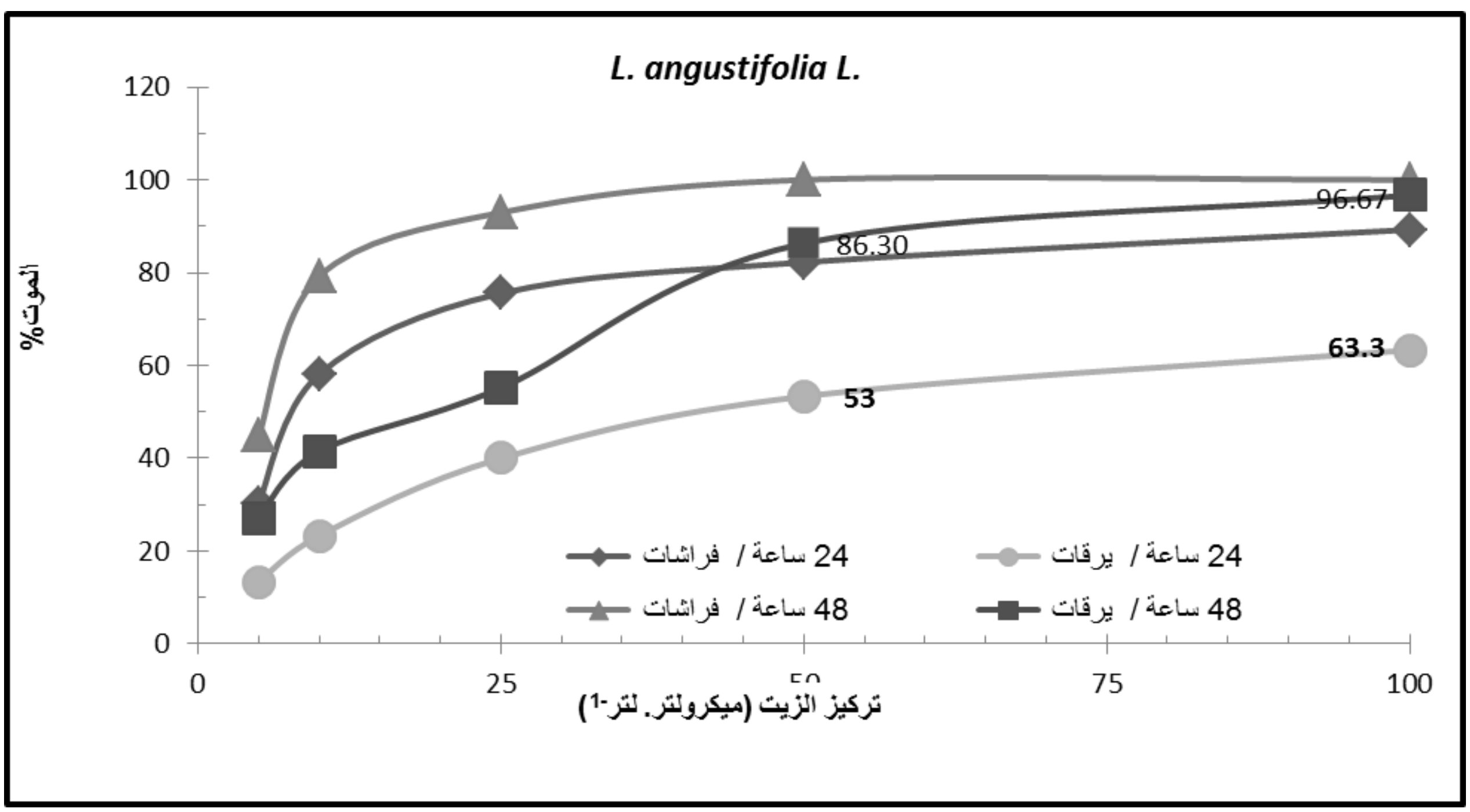
LC99 المحسوبة عن المجال باستثناء القيم الموافقة للفراشات بعد (48) ساعة (LC99 = 43.55 و25.7 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) للزيتين للزيت (*L.angustifolia* L.) و(*L. stoechas* L.)على التوالي. وتتفق نتائجنا مع ما أكدته الدراسات (Pandir وBaş،2016؛ Kheirkhah وزملاؤها،2015؛ Emamjomeh وزملاؤه،2014؛ Ercan وزملاؤه،2013؛ Habibi-Ghozloo وزملاؤه،2012) من كون بالغات عثة البحر الأبيض المتوسط أكثر حساسية لأبخرة الزيوت العطرية من يرقاتها.

وفي نظرة اشمل لنتائجنا المشمولة بالجداول (17) و(18) و(19) نجد أنّه مع أخذ قراءة الموت الثانية ارتفعت نسب الموت % بين الأفراد المعاملة عما كانت عليه في القراءة الأولى، وتتفق نتائجنا هذه مع العديد من الدراسات التي تضمنت تأكيداً على ازدياد نِسب الموت مع التقدم بزمن تعريّض الحشرة للأبخرة (Jemâa وزملاؤه،2013؛ Habibi− Ghozloo وزملاؤه،2012؛ Ayvaz وزملاؤه،2010).

التمثيل البياني لنسب الموت% المحققة بين يرقات وبالغات فراشة البحر الأبيض المتوسط والتي حققها الزيتين (*L. stoechas* L.) و(*L.angustifolia* L.) مبيّنة في (الشكل 27 و الشكل 28). ونجد من كلا الشكلين تشابهاً في الشكل العام لاستجابة الموت لدى كل من الفراشات واليرقات تبعاً لسلسة التراكيز المطبقة في التجربة. وما الفرق الظاهر في الارتفاع بين قيمتي الموت% في الفترتين (24 و48) ساعة عند كل تركيز زيتي مختبر إلاّ انعكاساً لعدد الأفراد التي اختنقت خلال الفترة الثانية جرّاء تطبيق هذا التركيز.



الشكل رقم (27). التأثير المميت لزيت الخزامى البرّية (*L. stoechas* L.) على حياه بالغات ويرقات فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط، بعد (24) و(48) ساعة من زمن التجربة.



الشكل رقم (28). التأثير المميت لزيت الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) على بالغات ويرقات فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط، بعد (24) و(48) ساعة من زمن التجربة.

عموماً، يُمكن أن يُعزى تأثر الفراشات بأبخرة الزيوت العطرية للخزامى بشكلٍ أكبر من اليرقات من جهة، وكذلك اختلاف درجة تحسس يرقات الفراشة لزيوت الخزامى لدينا مع حساسية اليرقات لزيوت أخرى في دراسات مشابهة لدراستنا من جهة أخرى، من خلال ما أشار إليه Rajendran وSriranjini (2008)، عن افتقار الزيوت العطرية المطبقة في مثل هذا النوع من التجارب إلى الضغط البخاري الذي يؤمن للزيت نفسه اختراقاً للمادة الحبية (في تجربتنا :15 غرام من القمح المطحون) التي تتحرك وتختبئ فيها وتتغذى عليها آفة المواد المخزونة (وهي يرقة في تجربتنا في حين تبقى الفراشات داخل الفضاء الداخلي والذي يمتلئ بأبخرة الزيت وخصوصاً في المراحل الأولى للتجربة) ، وكذلك لم تُشر معظم الدراسات إلى ترفيق اليرقات المختبرة من حشرة فراشة البحر الأبيض المتوسط بكمية من المادة الغذائية الحبية والتي يمكن أن تمتص جزء من الزيت العطري وتخفيض فعّالية التراكيز المنخفضة مقارنة مع التراكيز الأعلى.

وأظهر الزيت العطري لكلا النوعين المختبرين(*L. stoechas* L.) و(*L.angustifolia* L.) قدرة على تخفيض عدد الأفراد الحشرية الحية (يرقات وبالغات) مخبرياً مقارنة بالشاهد، مع تفوق الزيت العطري المستخلص من أوراق الخزامى البرّية (*L.stoechas* L.) والذي يتكون بشكلٍ رئيسي من المركبات 1,8-Cineole و Fenchone وCamphor، ويتكون الزيت العطري لأوراق الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) بشكلٍ رئيسي من (1,8-Cineole وCamphor ويفتقر لـ Fenchone) والتي تملك جميعها خواصا مضاد للحشرات (Maga وزملاؤه،2000؛Nukenine وزملاؤه،2010؛ Badreddine و زملاؤه،2015). إنّ التفسير يكمن في التركيبة المتنوعة لكل منها من المركبات الرئيسية والثانوية حيث تمتلك المركبات الثانوية فعّالية مضادة للحشرات لا تقل أهمية عن الفعّالية الحيوية للمركبات الرئيسة (Nukenine وزملاؤه،2010).

2-4-4. فعّالية الزيوت العطرية كمبيد بالتبخير ضد يرقات خنفساء الدقيق الصدئية *T.castaneum*:

اختبرت فعّالية القتل بالتبخير المتحققة جراء تعريض يرقات خنفساء الدقيق الصدئية لبخار زيوت أوراق الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.)، وحُسبت نسب الموت (%)لدى يرقات الخنفساء الصدئية المعاملة (الجدول20).

و يُظهر الجدول أنّ بخار الزيت العطري للخزامى الانكليزية (*L.angustifolia* L.) لم يحقق عند تطبيقه على يرقات الخنفساء *Tribolium castaneum* بالمجال (5-100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) خلال الـ (24) ساعة الأولى أي أثر مميت معنوي، ولكنه كان معنويا بالفترة (25-216) ساعة محققاً فروقا معنوية مع الشاهد، وهذا يتوافق جزئياً مع (Rozman وزملاؤه،2007) حول انعدام قدرة المركبات 1,8-Cineole وCamphor وLinalool على تحقيق نسب موت تفوق (20%) خلال الـ (24) الأولى في طور البالغات لنفس الحشرة.

الجدول رقم (20) . النسبة المئوية للموت المسجلة بين يرقات الخنفساء خلال فترة التجربة *.

التركيز	24 ساعة	72 ساعة	120 ساعة	168 ساعة	216 ساعة
5 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	3.33	10.00^{D}	20.00^{CD}	20.7^{DE}	21.11^{E}
10 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	3.33	10.00^{D}	23.33^{C}	27.41^{D}	28.52^{D}
25 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	13.33	20.00^{BC}	33.33^{C}	37.78^{C}	38.89^{C}
50 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	13.33	23.33^{B}	50.00^{AB}	55.19^{AB}	57.04^{AB}
100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$	13.33	30.00^{A}	53.33^{A}	58.52^{A}	60.37^{A}
LSD (0.05)	**	4.69	8.14	6.72	13.89

** إنّ المتوسطات ضمن العمود الواحد المتبوعة بأحرف متشابهة غير مختلفة معنوياً.

* لا يوجد معنى للفروق بين متوسطات نسب الموت % المتحققة خلال الفترة الـ 24 ساعة الأولى، حيث ($P \leq 0.05$).

ومع انقضاء الـ (72 ساعة) كانت أعلى قيمة للموت (30%) قد حدثت في معاملة التركيز (100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) محدثةً فرقاً معنوياً مع قيم الموت % في باقي التركيزات، ومع مرور الوقت حقق التركيزان (50 و100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) أعلى قيم الموت وبفارق معنوي مع باقي التراكيز قيم الموت وهي على التوالي (50%

و53.33%) بعد (120ساعة)، و(55.19% و58.52%) مع مرور (168 ساعة)، و(57.04% و60.37%) مع نهاية زمن التجربة وانقضاء مدة تعريض لبخار الزيت ،(216 ساعة).

باستخدام تحليل بروبيت Probit Analysis الذي يوفره برنامج التحليل الإحصائي (SPSS) قمنا بحساب التركيز المميت النصفي، عند كل فترة تعريض لبخار الزيت العطري، وكذلك تم حساب زمن الموت النصفي (50%) عند كل تركيز للزيت العطري للخزامى، ولوحظت قيم التركيز المميت النصفي بعد (24 ساعة و72 ساعة) خارج المجال المجدي للتركيز في التجربة، مما يشير إلى عدم كفاية زمن (72 ساعة) تبخيرية لقتل نصف يرقات الخنفساء الصدئية بواسطة بخار زيت الخزامى الانكليزية (*L.angustifolia* L.) بالمجال (5-100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$)، ويظهر الجدول رقم (21) التركيز المميت النصفي الموافق لكل زمن تعريض لبخار الزيت.

الجدول رقم (21) . التركيز المميت النصفي مقدراً بـ (ميكرولتر. لتر$^{-1}$) الموافق لكل زمن تعريض لبخار الزيت.

	24 ساعة	72 ساعة	120 ساعة	168 ساعة	216 ساعة
LC 50*	**خارج المجال المجدي للتجربة**		70.13	48.36	43.3

*** التركيز المميت النصفي Lethal concentration 50 ويقدر بـ ميكرولتر. لتر$^{-1}$ ، محسوبة وفقاً Probit Analysis,.**

ويُلاحظ من الجدول رقم (21) أيضاً حدوث انخفاض في قيمة التركيز القاتل النصفي خلال الفترات الثلاثة الأخيرة لتبلغ أدنى قيمة لها بعد (216 ساعة) القيمة (43.3 ساعة)، مما يشير إلى زيادة فعّالية بخار الزيت العطري في قتل نصف يرقات الخنفساء الصدئية، وهذا يتطابق مع العديد من الدراسات (Ebadollahi وزملاؤه،2010؛ Theouوزملاؤه،2013؛ Fathi و Shakarami،2014؛ Saleem وزملاؤه،2014)، حيث سجّلت جميعها انخفاضاً بقيم التركيز القاتل النصفي مع زيادة زمن تطبيق بخار الزيوت العطرية.

و يظهر الجدول رقم (22) أزمنة الموت النصفي (LT 50; Lethal Time 50)، حيث وقعت قيم كل من أزمنة الموت النصفي عند التراكيز الثلاثة الدنيا (5 و10 و25 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) خارج المجال الزمني المجدي للتجربة، وتواجدت أزمنة الموت النصفي للتركيزين (50 و100 ميكرولتر.لتر$^{-1}$) ضمن الفترة (120-168 ساعة) ، مما يجعل من مدة (168ساعة) هي الحد الزمني الأدنى الذي يتحقق عندها موت نصف يرقات بفعل التطبيق المخبري التجريبي لبخار زيت اوراق الخزامى الانكليزية (*L.angustifolia* L.) على يرقات الخنفساء الصدئية

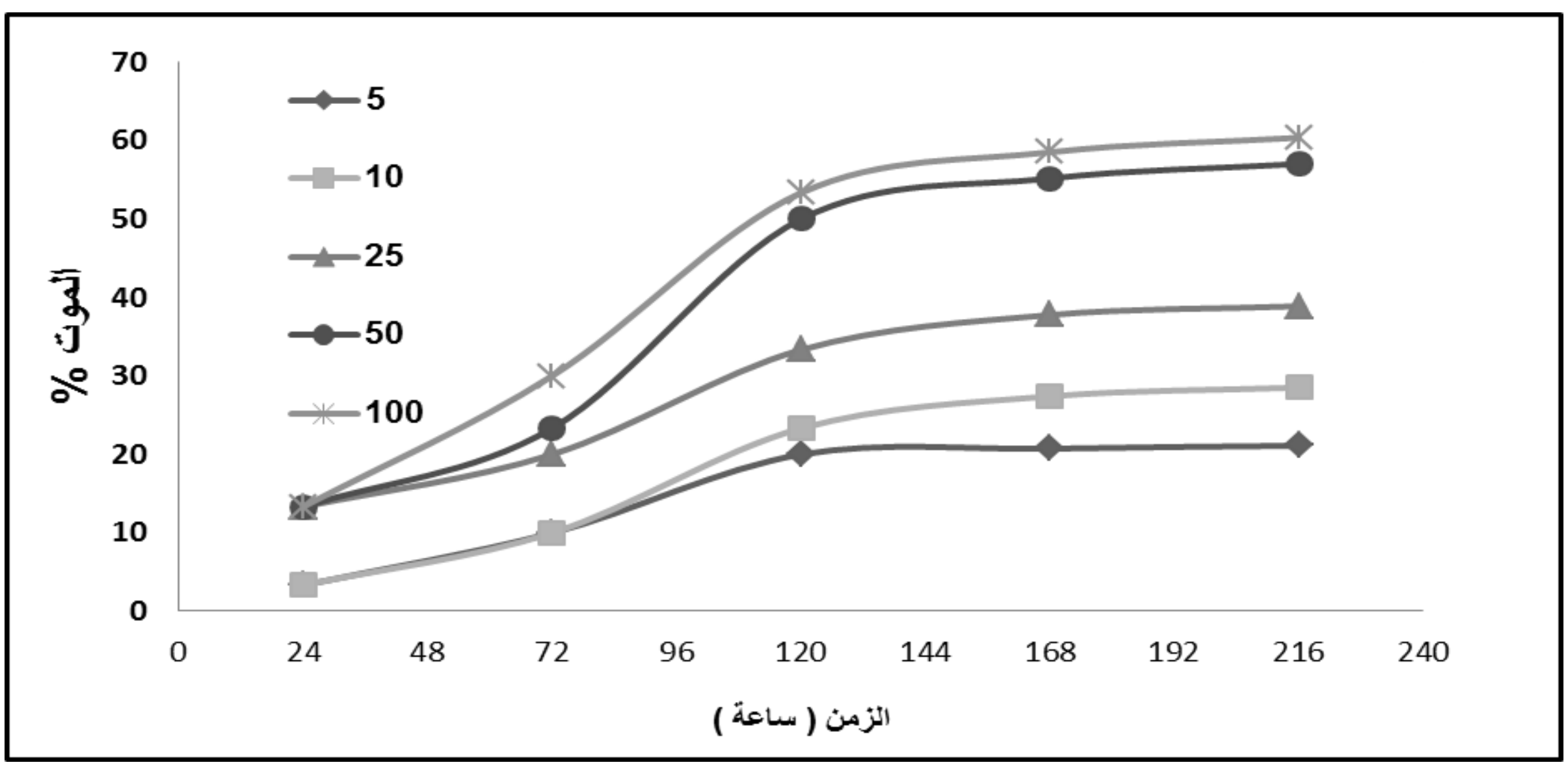
ذوات العمر (10-12 يوم)، وهو يتوافق مع (Jemâa وزملاؤه،2012) بأنّ قيم أزمنة القتل النصفي قد انخفضت من (56 ساعة إلى 43 ساعة) عند تطبيق تراكيز متزايدة من زيت الغار النبيل ضد الخنفساء الصدئية.

الجدول رقم (22) . زمن الموت النصفي (مقدراً بـ ساعة) الموافق لكل تركيز زيتي (ميكرولتر.لتر $^{-1}$).

LT 50*	5	10	25	50	100
	خارج المجال المجدي للتجربة			150.8	129.8

* زمن الموت النصفي Lethal Time 50 ويقدر بوحدة الزمن (ساعة)، Probit Analysis, SPSS.

ويظهر المخطط البياني المُبيّن في الشكل رقم (29)، أنّ نسبة الموت بين اليرقات قد بدأت بالارتفاع مع ازدياد زمن التعريض لبخار الزيت بعد انقضاء الـ (24 ساعة) الأولى، وهو يتفق مع العديد من الدراسات (Rozman وزملاؤه،2007؛ Ebadollahi وزملاؤه،2010؛ Saleem وزملاؤه،2014؛ Liska وزملاؤه،2010؛ Russo وزملاؤه،2015)، التي بينت أنّ نسب الموت في كل من خنفساء الدقيق المتشابهة وخنفساء الدقيق الصدئية ارتبطت مع التقدم بزمن التعريض لبخار الزيت العطري المطبق.



الشكل رقم (29). العلاقة بين نسب الموت % وكل من تركيز الزيت العطري وزمن التعريض لبخار الزيت العطري المستخلص من أوراق الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.).

إنّ تقارب تأثير التركيزين (50 و100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) مع التقدم في زمن التجربة ، يُشابه ما حدث تجريباً لدى Russo وزملاؤه (2015)، حيث حقق تطبيق تركيزات عالية جداً (0.5، 0.75، 1.0،1.25 ميكرولتر.سم$^{-1}$) من كل من المادة النقية لمركب 1,8-Cineole والزيت العطري لنبات الاوكالبتوس (*Eucalyptus globules*) زيادة في نسبة موت % بالغات الخنفساء الصدئية خلال (0.5 ساعة) من زمن التجربة، وتحققت نسبة الموت الكاملة (100%) بعد (2.0 ساعة) عند التركيز (1.25 ميكرولتر. سم$^{-1}$)، في حين حققت التركيزات الأدنى نسبة الموت الكاملة (100%) تدريجياً مع التقدم التدريجي في زمن التطبيق، مما يشير إلى الدور الإيجابي لزمن تطبيق الزيت وتركيزه على نسبة الموت (100%)، وإنّ التداخلات المحتملة الحدوث بين مكونات تجربتنا – على بساطتها– يمكن أن يساهم في تفسير بعض النتائج، ولابد من اخذ بعض العوامل المهمة بعين الاعتبار مثل الخواص الانتشارية للزيوت العطرية في مكافحة آفة المواد المخزونة، حيث أشارت دراسات عديدة إلى أنّ امتصاص الزيوت العطرية من قبل مادة القمح المخزون يمكن أن يحدث (Shaaya وزملاؤه،1997)، وأظهرت التجارب المخبرية المجراة بوجود السلعة المخزنة فعّالية أقل للزيوت العطرية في مكافحة حشرات المنتجات المخزونة بسبب تشرّبها من قبل السلعة نفسها (Lee وزملاؤه،2003)، فضلاً عن بخار الزيت العطري المستخدم في تصميم هذه الأنواع البسيطة من التجارب يفتقر للضغط البخاري اللازم لتجانس البخار داخل وعاء التجربة، وليؤمن اختراقاً للمادة الحّبية التي تتحرك فيها وتتغذى عليها آفة المواد المخزونة (Rajendran وSriranjini، 2008).

وكذلك فإنّ خصوصية كل من يرقة خنفساء الدقيق الصدئية وزيت أوراق الخزامى الإنكليزية لعبت دروراً هاماً، وهذا ما أورده Theou وزملاؤه (2013)، بأنّ السُمية التبخيرية لزيت الخزامى (*Lavandula hybrid*) وزيوت عطرية أخرى *في* الخنفساء المتشابهة *T.confusum*، كانت متفاوتة حسب نوع الزيت العطري وطور الخنفساء وعمرها وجنسها أيضاَ، فكانت اليرقات بعمر (10أيام) أكثر حساسية من اليرقات المعمرة (25 يوم) و(31 يوم) اللواتي كُن الطور الأكثر مقاومة من بين جميع أطوار الحشرة المختبرة (بالغات وعذارى)، حيث بلغت قيمة التركيز القاتل النصفي LC 50 من زيت الخزامى (*Lavandula hybrid*) القيم (1.8 و59.7 و109.9 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) لليرقات بعمر(10 و25 و31 يوم) على التوالي، و(37.3 و38.7 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) لعذارى الإناث والذكور على التوالي، و(81.0 و46.3 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) للإناث و(61.0 و29.8 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) للذكور

في البالغات بعمر(10 و60 يوم) على التوالي. كما وأشار Saleem وزملاؤه (2014)، إلى اختلاف نسب الموت % عند بالغات خنفساء الطحين الصدئية *Tribolium castaneum* عند اختلاف مصدر السلالة الحشرية.

وتضمّنت الفترة (120- 168) ساعة قيمتان محسوبتان لزمن الموت النصفي للتركيزين (5 و10 ميكرولتر. لتر$^{-1}$)، وهذا يتناغم مع تحقيقهما خلال الفترة نفسها أعلى قيمتان للموت % وبدون فارق معنوي بين المتوسطات مما يؤكد أنّ تطبيق زيت أوراق الخزامى العطرية لمدة أسبوع بظروف التجربة أدى لتخفيض عدد اليرقات الحية بنسبة (50 %)، مما يقلل عدد الأجيال المتوقع تطورها وحدوثها خلال العام الواحد.

ونستنتج في تجربتنا أنّه قد ازدادت متوسطات قيم الموت % المُسجَّلة مع ازدياد التركيز الزيتي المختبر من زيت الخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) حيث كانت الفروق معنوية بين متوسطات قيم الموت% باستثناء الـ (24 ساعة الأولى)، وازدادت متوسطات قيم الموت % مع التقدم ضمن المجال الزمني للتجربة ولكن مع اختلاف في شدة استجابة اليرقات للتراكيز المتزايدة.

إنّ النتائج المتحصل عليها ونتائج أخرى سابقة لباحثين آخرين، أظهرت بوضوح اختلافات بفعّالية الزيوت العطرية تبعاً لطور الحشرة ولسلالاتها، ونوع الزيت العطري المستخدم، ولم يكن للزيوت العطرية جميعها نفس الفاعلية ، إلا أنّ الزيت العطري لأوراق الخزامى الانكليزية الدستورية (*L.angustifolia* L.) المزروع في سورية يمكن أن يكون عاملاً واعداً في التطبيقات العملية والتقانات الحديثة المستخدمة في المكافحة الحيوية الطبيعية لحشرات المواد المخزونة.

4-4-3. فعّالية المستخلصات المائية والكحولية للخزامى ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدئية، *T. castaneum* :

حُضرت الخلاصات المائية والكحولية (الايثانولية) من مسحوق الأوراق الجافة لكلا النوعين الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) والبرّي(*L. stoechas* L.)، ومن ثُمّ اختبرت فعاليتها ضد بالغات الخنفساء الصدئية *Tribolium castaneum* التي تتغذى على مادة القمح المطحون الممزوجة بتلك الخلاصات بالنسب (5% و10% و25%) وبنوعيها المائي والإيثانولي على حدٍ سواء، وأخذت قراءات الموت بعد (14 يوم) في جميع معاملات التجربة والشاهد، ويتضمن الجدول رقم (23) نسب الموت المسجلة لدى بالغات الخنفساء الصدئية .

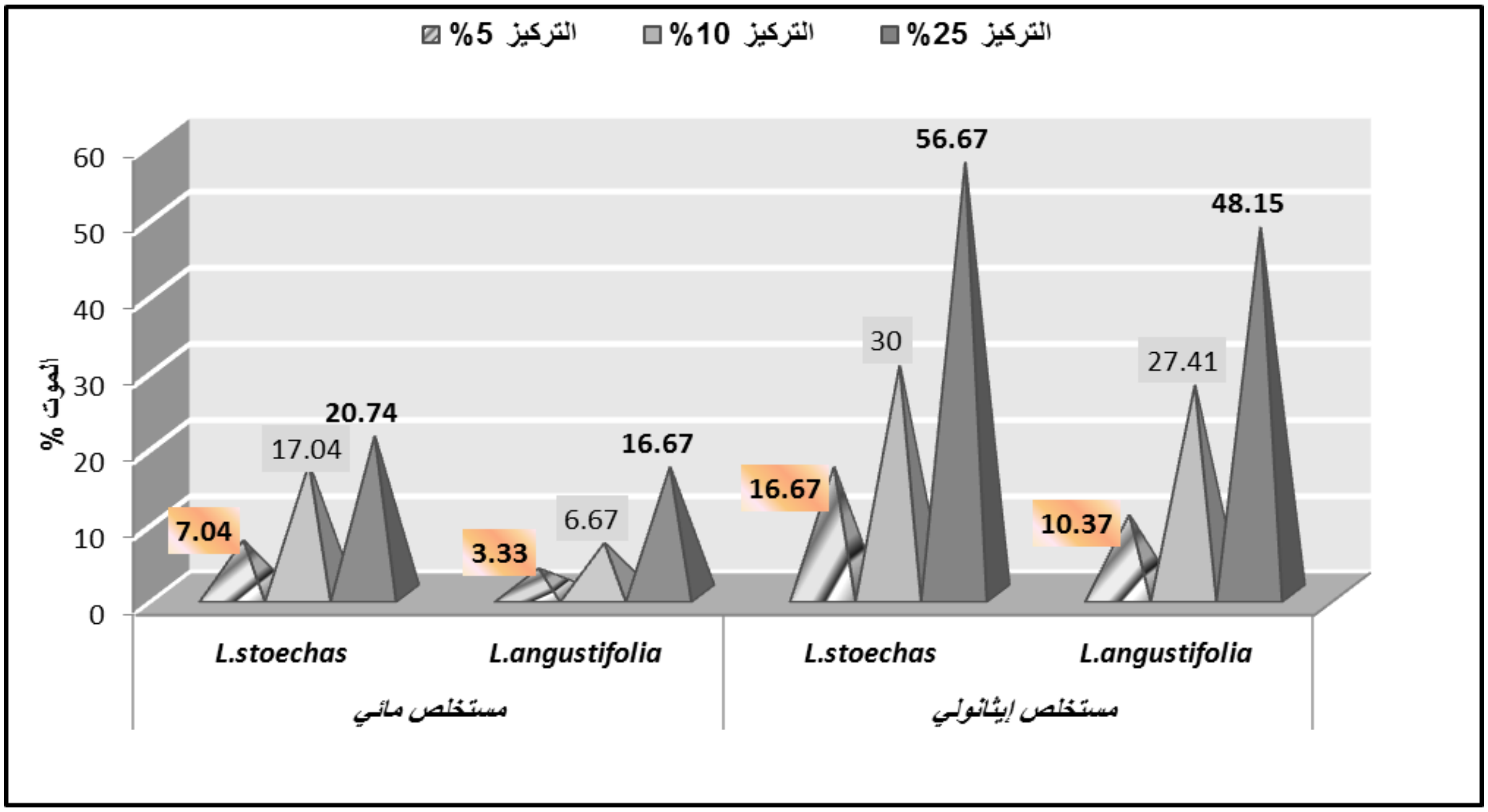
الجدول رقم (23). النسبة المئوية للموت بين بالغات الخنفساء بعد انقضاء زمن التجربة (14 يوم)*.

التركيز %	(***L.angustifolia* L.**)		(***L. stoechas* L.**)	
	مستخلص مائي	**مستخلص إيثانولي**	**مستخلص مائي**	**مستخلص إيثانولي**
5 (%)	3.33[bc]	10.37[c]	7.04[c]	16.67[bc]
10 (%)	6.67[ab]	27.41[b]	17.04[ab]	30.00[b]
25 (%)	16.67[a]	48.15[a]	20.74[a]	56.67[a]
L.S.D	11.53	6.17	9.30	14.89
LC50	147.4	25.54	200.4	20.1

***إنّ المتوسطات ضمن العمود الواحد المتبوعة بأحرف متشابهة غير مختلفة معنوياً.**

ويظهر من الجدول أعلاه، أنّ أعلى نسب الموت % الناتجة عن تطبيق كلا النوعين من المستخلصات (العضوية والمائية) سُجلت عند التركيز (25%) وفي كلا النوعين (الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) والبرّي (*L. stoechas* L.))، حيث حقق التركيز (25%) من المستخلص المائي للنوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) والنوع البرّي (*L. stoechas* L.) نسب الموت التالية (16.67% و20.74%) على التوالي، ولم تكن الفروق معنوية بين قيم الموت % المسجلة عند التركيزين (25% و10%) من المستخلص المائي وعند كلا النوعين، وحقق التركيز الأدنى (5%) من المستخلص المائي للنوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.)و النوع البرّي (*L. stoechas* L.) النسب التالية للموت % (3.33 % و7.04%) على التوالي . وكانت نسبة الموت % المسجلة في معاملات المستخلص الايثانولي للنوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) بالقيم (10.37% و27.41%

و48.15%) عند التراكيز (5% و10%و25%) على التوالي، في حين حقق لمستخلص الايثانولي للنوع البرّي (*L.* *stoechas* L.) موتاً بالنسب (16.67% و30.0% و56.67%) عند التراكيز السابقة نفسها، على التوالي .



الشكل رقم (30). توزع نُسب الموت % تبعاً للنوع النباتي المختبر ونمط الاستخلاص المتبع.

و يظهر من الشكل التوضيحي (30) أعلاه، تميُّز طريقة الاستخلاص بالمذيبات العضوية (الإيثانول مثلاً) بقدرتها على الاستفادة من المركبات الفعّالة الموجودة بشكلٍ طبيعي في الأنسجة الورقية لنبات الخزامى ضد الخنفساء الصدئية وذلك مقارنة بفعّالية طريقة الاستخلاص بالماء، حيث تسهم المذيبات العضوية عموماً بالحصول على اغلب المركبات الفعّالة بنوعيها القطبية وغير القطبية (شبع،2011)، وتتطابق نتائجنا مع دراسة قديمة (Clemente وزملاؤها،2003) التي أشارت إلى فعّالية استخدام مذيب ديكلوروميتان Dichloromethane في استخلاص المادة الفعّالة من عدة شفويات– من بينها الخزامى– في تحقيق نسبة هلاك في بالغات الخنفساء الصدئية Lethal Effect On Adults وتأخيراً في تطور اليرقات Larval Development Stages مقارنة بالمنقوع المائي الذي اقتصر تأثيره فقط على تحقيق نسبة قتل بلغ أقصاها (20)% ، وتتفق نتائجنا مع دراسة

(الغزالي وآخرون،2009) عن فعّالية المستخلصات النباتية للياسمين الزفر (*Clerodendrum inerme*) في طرد بالغات الخنفساء الصدئية وكانت مستخلصات الفلافونيدات أكثر فعّالية من مستخلصات التربينات أو المستخلصات المائية، وكذلك تتفق نتائجنا مع شبع (2011) التي أشارت إلى أنّ للمستخلصات النباتية لنبات الداتورة (*Datura innoxia*) تأثيراً طارداً وقاتلاً لحشرة المخازن الشهيرة (الخابرة) (*Granarium Trogoderma*) من (*Coleoptera*) بلغ أعلاه في المستخلص الإيثانولي تلاه المستخلص المائي.

و يؤكد الجدول رقم (24) أدناه، نتيجتنا السابقة، حيث كانت قيمتا التركيز المميت النصفي من المستخلص المائي (LC50 = 147.4 و200.4%) من اجل النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) والنوع البرّي (*L. stoechas* L.) على التوالي، أكبر بكثير من قيمة التركيز المميت النصفي من المستخلص الإيثانولي (LC50 = 25.54% و20.1 %) من أجل النوعين (*L.angustifolia* L.) و(*L. stoechas* L.) على التوالي.

الجدول رقم (24). التركيز المميت لنصف بالغات الخنفساء الصدئية بعد (14يوم) من تسميم الغذاء بمستخلصات أوراق الخزامى *.

LC50	المستخلص مائي		المستخلص الايثانولي	
	(*L.angustifolia* L.)	(*L. stoechas L*.)	(*L.angustifolia* L.)	(*L. stoechas L*.)
	147.4	200.4	25.54	20.1

و يشير الجدول أيضاَ، إلى تفوق مستخلص النوع البرّي (*L. stoechas L*.) على مستخلص النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) بنمطه الايثانولي، في حين أنّ النمط المائي من المستخلصات قد أبدىْ سلوكاً مختلفاً فتفوق النوع الإنكليزي على النوع البرّي بمستخلصه المائي، وهو ما يمكن تفسيره بتفاوت محتوى المستخلصات من المواد الفعّالة بتفاوت النوع ونمط الاستخلاص، حيث يسمح النمط المائي من الاستخلاص بزيادة المحتوى من المركبات الفعّالة ذات النمط القطبي .

4- 5. الفعّالية الحيوية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية من جنس الخزامى :

اختبرت الزيوت العطرية المستخلصة من أزهار الأنواع والهجائن المدروسة لناحية فعاليتها في كبح وتثبيط الجذر الحر DPPH في محلوله الميثانولي . ويظهر الجدول رقم (25) نتائج التجربة التي أُجريت على خمسة زيوت عطريه مُزجت في محلول ميثانولي من الـ DPPH وفق ثلاثة تراكيز (10و 20 و 40 ميكروغرام.مل$^{-1}$)،حيث كان تركيز الجذر الـ DPPH ثابتاً في كل مرة (0.004 % أو 40 ميكروغرام.مل$^{-1}$).

الجدول رقم (25). متوسط قيم التثبيط (%) I وقيم التركيز المثبط النصفي (IC_{50})

الزيت المختبرة	التركيز (ميكروغرام. مل$^{-1}$)			(IC_{50}) *
	10 ميكروغرام. مل$^{-1}$	20 ميكروغرام. مل$^{-1}$	40 ميكروغرام. مل$^{-1}$	(ميكروغرام. مل$^{-1}$)
(*L.angustifolia* L.)	**24.17^{b}	38.60^{b}	66.95^{b}	25.09
(*L. x intermedia*)	25.09^{b}	37.92	63.80^{bc}	26.57
(*L.dentata* L.)	21.53^{b}	36.43	58.88^{d}	30.3
(*L. x allardii*)	20.73^{b}	35.28	55.56^{d}	33.27
(*L.stoechas* L.)	22.79^{b}	36.20	59.79^{cd}	29.70
vitamin C	50.29^{a}	73.31^{a}	94.04^{a}	10.30
(%1) L.S.D	5.88	2.85	4.38	

* حسبت قيمة التركيز المثبط النصفي لكل مادة مختبرة بتطبيق تحليل بروبيت على قيم نسب التثبيط % الناتجة عن المكررات جميعها (وليس على المتوسطات المذكورة في الجدول)، ثمّ نسبت القيم إلى قيمة التركيز المثبط النصفي للشاهد الإيجابي .

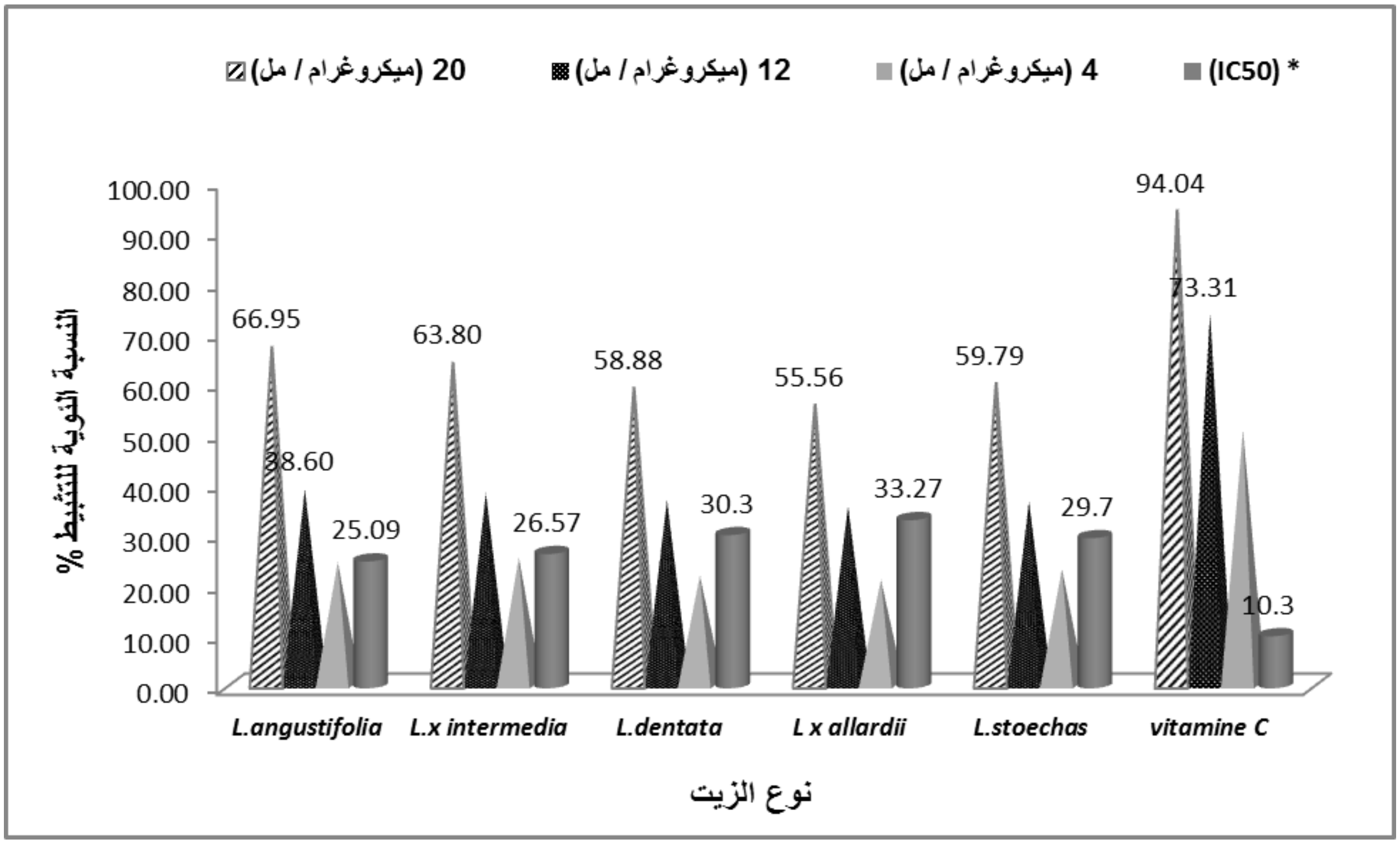
** إنّ المتوسطات ضمن العمود الواحد المتبوعة بأحرف متشابهة غير مختلفة معنوياً.

ويظهر من الجدول أعلاه أنّ التراكيز المختلفة من الزيوت العطرية قد حققت تثبيطاً في فعّالية الجذر الـ DPPH ولكن بنسب متفاوتة ولكنها متناسبة طرداً مع التركيز المطبق من الزيت العطري ، حيث تراوحت النسب المئوية للتثبيط عند تطبيق الزيوت العطرية بتركيز(10 ميكروغرام.مل$^{-1}$) ضمن المجال (20.73%-25.09%)، وعند تطبيق التركيز الأعلى (20 ميكروغرام.مل$^{-1}$) كانت نسب التثبيط أعلى (35.28%- 38.60%)، وبلغت قدرة الزيوت العطرية على كبح الجذر الحر الـ DPPH أقصاها عند تطبيقها بتركيز (40 ميكروغرام.مل$^{-1}$) واقعة ضمن المجال (55.56%- 66.95%)، وتتفق نتائجنا بالعموم مع عدة دراسات اكدت الفعّالية المضادة للأكسدة

والخصائص الكانسة للجذور الحرة التي تتمتع بها زيوت من جنس الخزامى (sariri وزملاءه،2009؛ Matos وزملاؤه ،2009؛ Hui وزملاؤه،2010؛Malika و laib،2012؛ Odak وزملاؤه، 2015).

ونجد من الجدول رقم (25) أيضاَ، أنّ زيتي كل من النوع (*L.angustifolia* L.) والهجين (*L. x intermedia*) وعند مختلف التراكيز قد تفوقا على باقي الزيوت العطرية بفعاليتهما المضادة للأكسدة وتقاربت قدرتهما الكابحة للجذر الحر الـ DPPH بدون فروق معنوية عند جميع التراكيزين، وتقاربت نسب كبح الـ DPPH % الناتجة عن تأثير الزيوت الثلاثة (*L.dentata* L.) و(*L. x allardii*) و(*L. stoechas L.*) عند التركيزين (10 و40 ميكروغرام.مل$^{-1}$) بدون فروق معنوية فيما بينها، لكن في معاملات التركيز (20 ميكروغرام.مل$^{-1}$) كانت نسبة التثبيط الناتجة عن تطبيق زيت الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) هي الأدنى بين معاملات التجربة وبفارق معنوي مع زيتي (*L.dentata* L.) و(*L. stoechas L.*).

إلا أنّه ومن خلال الجدول رقم (25) والمخطط البياني (الشكل31)، نجد أنّ الشاهد الإيجابي فيتامين سي (حمض الأسكوربيك) تفوّق معنوياً على جميع الزيوت العطرية بتأثيره الكابح للجذر الحر الـ DPPH، وعند مختلف التراكيز المطبقة حيث حقق تثبيطاً قيمته (50.29% و73.31% و94.04%) عند التراكيز (10،20،40 ميكروغرام.مل$^{-1}$) على التوالي .



الشكل رقم (31). مخطط بياني يظهر النسب المئوية للتثبيط (%) I والتركيز المثبط النصفي (IC_{50}) الموافقة لكل تركيز من كل زيت.

واذا ما قِيسَ الفرق بين أعلى نسبتي تثبيط % عند كل تركيز (حيث أنّ القيمة الأعلى تعود لحمض الأسكوربيك دائماً) نجد أنّ الفرق بلغ أقصاه (34.71-)% عند التركيز المتوسط (20 ميكروغرام.مل$^{-1}$)، حيث كانت أعلى قيمة تثبيط بين الزيوت هي لدى النوع (*L.angustifolia* L.) (38.6%) مقابل (73.31%) للشاهد الإيجابي (حمض الأسكوربيك). ربما يتوافق ما سبق ذكره مع كون قيم التركيز المثبط النصفي (IC_{50}) من جميع الزيوت تفوق قيمة التركيز المتوسط (20 ميكروغرام.مل$^{-1}$) وتقع جميعها في المجال (20–40 ميكروغرام.مل$^{-1}$)، في حين كانت قيمة التركيز المثبط النصفي (IC_{50}) من الشاهد الايجابي أقل من ذلك وبلغت (10.30 ميكروغرام.مل$^{-1}$)، وتتفق نتائجنا مع دراسة (Sharififar وزملاؤه،2007)، حيث أشاروا إلى أنّ التركيز المثبط لنصف كمية الـ DPPH من حمض الأسكوربيك كان أقل من نظيره من زيت نبات الـ (*multiflora Zataria*) المكوّن بشكلٍ رئيس من المركبين العطريين (Thymol و Carvacrol).

ولتفسير التفاوت والفروق المعنوية في الفعّالية المضادة للأكسدة للزيوت المدروسة من جنس الخزامى المتمثلة في قدرتها على كنس الجذر الحر الـ DPPH وتثبيطه في محلولة الميثانولي لا بُدَّ لنا من الرجوع مجدداً إلى التركيب الكيميائي للزيوت المختبرة، حيث يظهر لنا أنّ الزيتين العطريين للنوع (*L.angustifolia* L.) والهجين (*L. x intermedia*) اللذين تفوقا على باقي الزيوت العطرية بفعاليتهما المضادة للأكسدة يتكونان بشكلٍ رئيسي من مركب اللينالول Linalool (مركب أوكسيجيني، أحادي التربين من النمط الكحولي)،وهو يتفوق بفعاليته المضادة للأكسدة على المركب الرئيس في زيتي (*L.dentata* L.) و(*L. x allardii*) وهو1,8-Cineole (مركب أوكسيجيني، أحادي تربين من نمط الأوكسيد يحتوي ذرة أوكسجين مرتبطة بذرتي كاربون ذوات الارقام 1 و8) وفقاً للعديد من الدراسات (Aazza وزملاؤه،2011؛ Kazemi وزملاؤه،2015)، بالإضافة إلى ذلك فإنّ مركباً رئيساً في زيوت النوع (*L. stoechas* L.) هو مركب أوكسيجيني آخر هو الفنشون Fenchone (أحادي تربين كيتوني). إلا أنّه وفي الوقت الذي تشير فيه الدراسات إلى أنّ المركبات الرئيسة في الزيوت العطريه، هي وحدها من تمنح الزيوت العطرية تلك الخواص المضادة للأكسدة، فان هناك من يؤكد أن المركبات الأقل نسبة تتداخل بشكلٍ مؤازر أو معارض لتأثير المركبات الأخرى، (Tepe وزملاؤه،2005؛ Sing وزملاؤه،2006؛ Raškovi وزملاؤه،2014؛ Dawidowicz وOlszowy،2014)، وأنّه لا ترابط بين نسبة المكونات الرئيسة (Linalool وLinalyl Acetate) في زيت النوع (*L.angustifolia* L.) وفاعلية الزيت نفسه كمضاد أكسدة.

ويظهر الشكل البياني السابق أنّ التركيز (40 ميكروغرام.مل$^{-1}$) من الزيوت العطرية للخزامى قد حقق أعلى نسب التثبيط المحققة في التجربة ووقعت ضمن المجال (55.56%-66.95%) وهي تشكل ما نسبته (59%-71.2%) من قيمة التثبيط % المحققة عند الشاهد الإيجابي (حمض الأسكوربيك)، وعليه فان للزيوت العطرية المستخلصة من أزهار الأنواع والهجن المدروسة من الخزامى المنتشرة في سورية تمتلك فعّالية مضادة للأكسدة، وقدا ازدادت الفعّالية المضادة للأكسدة التي تتمتع بها الزيوت العطرية مع ازدياد التركيز المطبق من كل منها.

6-4. الدراسة الجزيئية والقرابة الوراثية في جنس الخزامى

4–6–1. التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقانة ISSR:

اختبرت الأنواع والهجائن المدروسة باستخدام (20) مرئسة ISSR، ويبين الجدول رقم (26)، أنّ (14 مرئسة) فقط من المرئسات المستخدمة قد أثبتت مقدرة على الالتحام في مواقع من سلسلة الحمض النووي DNA فأعطت قطعاً مضخمةً كنواتج لتفاعلات البلمرة المتسلسلة PCR، وبلغ عدد الحزم (70 حزمة)، وتميزت (52 حزمة) منها بالتعددية الشكلية مما يعكس التعددية الشكلية Polymorphic بين الأصناف المدروسة والتي بلغت نسبتها (74.3%).

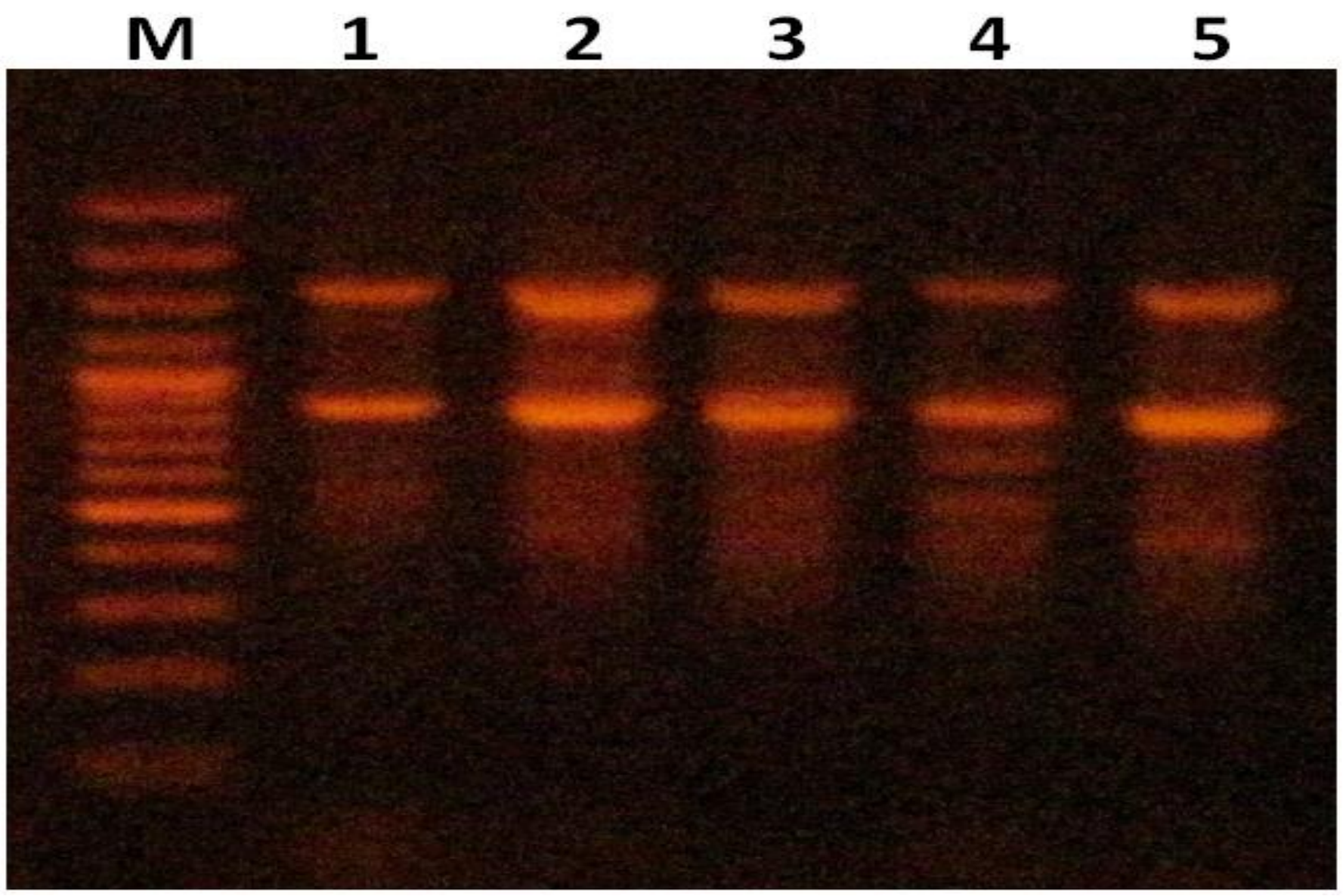
كما تراوح عدد الحزم لكل مرئسة بين (2 حزمة) كأقل عدد مع المرئسة($ISSR^{15}$) و(7 حزم) كأعلى عدد مع المرئسة ($ISSR^{23}$) وبمتوسط يعادل (5 حزمة. مرئسة$^{-1}$) ، وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية أقل قيمة لها في المرئسة ($ISSR^{4}$) بالقيمة (33%) وحققت المرئسة ($ISSR^{15}$) أعلى نسب التعددية الشكلية بالقيمة (100%) تلتها المرئسة ($ISSR^{23}$)، والصور المبينة في الشكلين رقم (33) و(34)، تمثل النماذج التي تم الحصول عليها من أليلات DNA.

ولا تتفق نتائجنا مع Prazeres وVelho(2014)، حيث كانت نواتج التضخيم ضعيفة أو عديمة الوجود في معظم المرئسات المستخدمة باستثناء مرئستين لديه IRSS1 وIRSS2 تميزنا بعدد الحزم الكلية (15 و18 حزمة)على التوالي، وبنسبة تعددية شكلية تفوق (95 %) لكل منهما في الأنواع المدروسة.

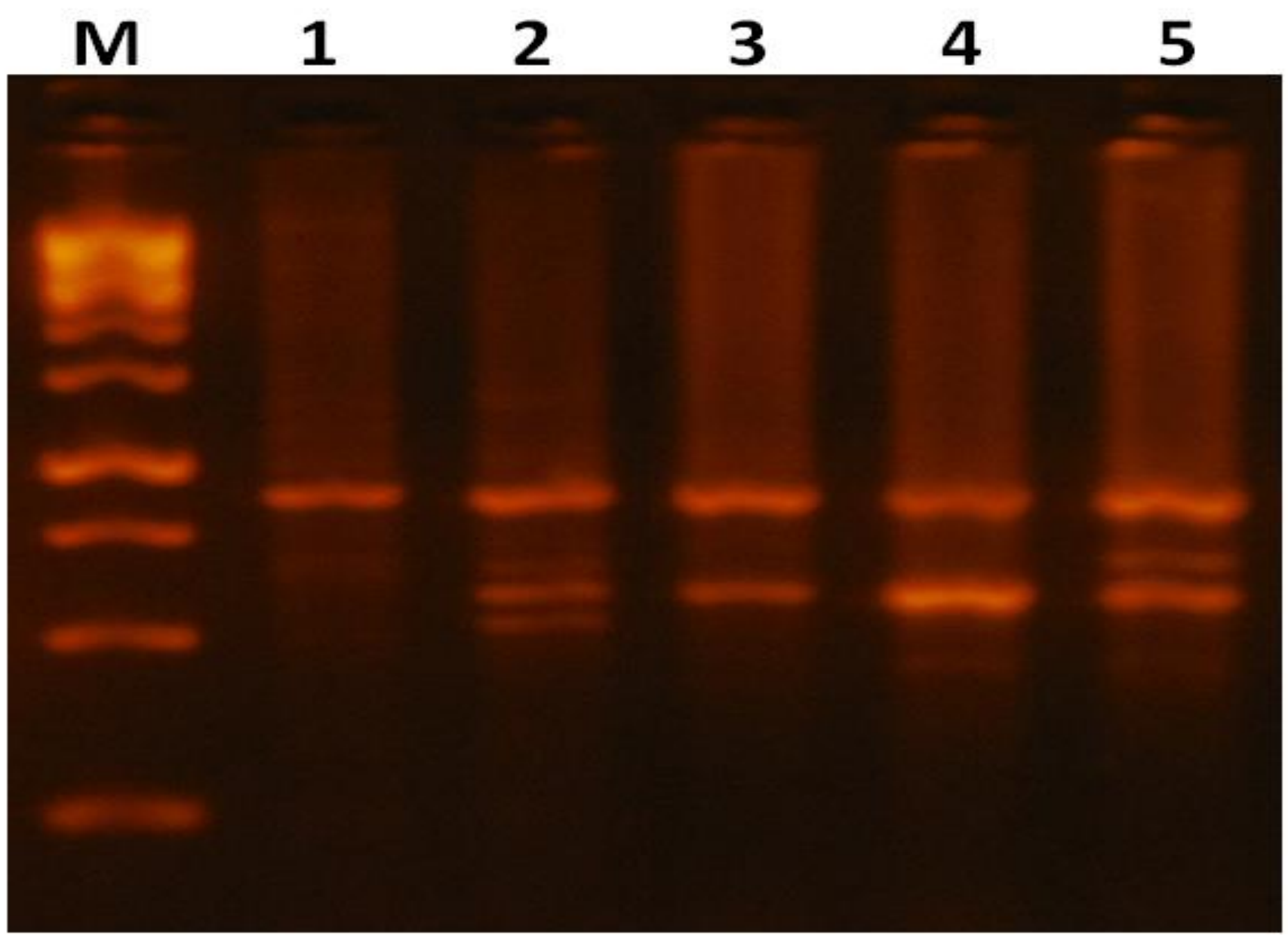
وكذلك هو الحال لم تتفق نتائجنا مع نتائج دراسة Hnia وMohamed (2011)، على التجمعات الطبيعية للخزامى من النوع *L. multifida*، المنتشرة في مناطق مناخية مختلفة بإتباع طريقة المعلمات الجزيئية RAPD حيث استخدموا فيها (7مرئسات) أعطت (84 حزمة) متباينة شكلاً من أصل (97 حزمة) إجمالية فكانت التعددية شكلية (86.6%) للمرئسات المستخدمة بالمجمل.

الجدول رقم (26). رموز المرئسات المستخدمة، عدد الحزم الكلية والمتباينة، النسبة المئوية للتعددية الشكلية % في الأنواع المدروسة من جنس الخزامى.

الرقم	المرئسة	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة شكلياً	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %
1	ISSR^{2}	5	3	% 60
2	ISSR^{4}	3	1	% 33
3	ISSR^{6}	-	-	-
4	ISSR^{7}	-	-	-
5	ISSR^{9}	6	3	% 50
6	ISSR^{14}	6	4	% 66.7
7	ISSR^{15}	2	2	% 100
8	ISSR^{16}	-	-	-
9	ISSR^{17}	-	-	-
10	ISSR^{18}	4	3	% 75
11	ISSR^{21}	5	4	% 80
12	ISSR^{22}	6	5	% 83.3
13	ISSR^{23}	7	6	% 85.7
14	ISSR^{24}	5	4	% 80
15	ISSR^{25}	4	3	% 75
16	ISSR^{26}	5	4	% 80
17	ISSR^{30}	6	5	% 83.3
18	ISSR^{45}	6	5	% 83.3
19	ISSR$^{230/40}$	-	-	-
20	ISSR$^{230/6}$	-	-	-
المجموع		**70**	**52**	
المتوسط		**5**	**3.7**	**% 74.3**



الشكل رقم (33). صورة هُلامة الأغاروز (2%) لملاحظة التعددية الشكلية الناتجة عن المرئسة (ISSR^{14})، حيث تمثل الارقام (1)(*L.angustifolia* L.)، (2)(*L. x intermedia*)، (3)(*L.dentata* L.)، (4)(*L. x allardii*)، (5)(*L. stoechas* L.)، ويشير الرمز M إلى المؤشر الجزيئي Marker المستخدم لتحديد أوزان وأحجام الحزم.



الشكل رقم (34). صورة هُلامة الأغاروز (2%) لملاحظة التعددية الشكلية الناتجة عن المرئسة (ISSR^{26})، حيث تمثل الارقام (1)(*L.angustifolia* L.)،(2)(*L. x intermedia*)، (3)(*L.dentata* L.)، (4)(*L. x allardii*) ، (5)(*L. stoechas* L.)، ويشير الرمز M إلى المؤشر الجزيئي Marker المستخدم لتحديد أوزان وأحجام الحزم.

4-6-2- تحديد درجة القرابة الوراثية بين الأنواع والهجائن المدروسة:

يُفيد تحديد درجة القرابة الوراثية ضمن الأنواع في برامج تربية النبات في تأمين قاعدة وراثية كبيرة، للاستفادة منها في برامج التهجين. وتمت دراسة العلاقة الوراثية بين الأنواع المدروسة من جنس الخزامى بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق Percent Disagreement Values (PDV)، كما هو مبين في الجدول رقم (27)، حيث أنّ ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود اختلاف وراثي، وبازديادها يزداد التباين الوراثي بين الطرازين المدروسين، ويتم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة بينها.

الجدول رقم (27). مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) بين الأنواع والهجائن المدروسة والناتجة عن تطبيق تقنية ISSR حسب Nei (1987).

L.stoechas	***L x allardii***	***L.dentata***	***L.x intermedia***	***L.angustifolia***	
				0	(***L.angustifolia*** **L.**)
			0	0.12	(***L. x intermedia***)
		0	0.67	0.61	(***L.dentata*** **L.**)
	0	0.19	0.64	0.59	(***L. x allardii***)
0	0.39	0.54	0.56	0.56	(***L. stoechas L.***)

نلاحظ من خلال الجدول السابق أنّ أقل قيمتين لـ (PDV) قد بلغتا (0.12 و0.19)، حيث سُجلت القيمة الاولى في الثنائية (النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) / الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*))، وسُجلت القيمة الاخيرة بين الثنائية (النوع الفرنسي (*L.dentata* L.)) / الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*))، هذا

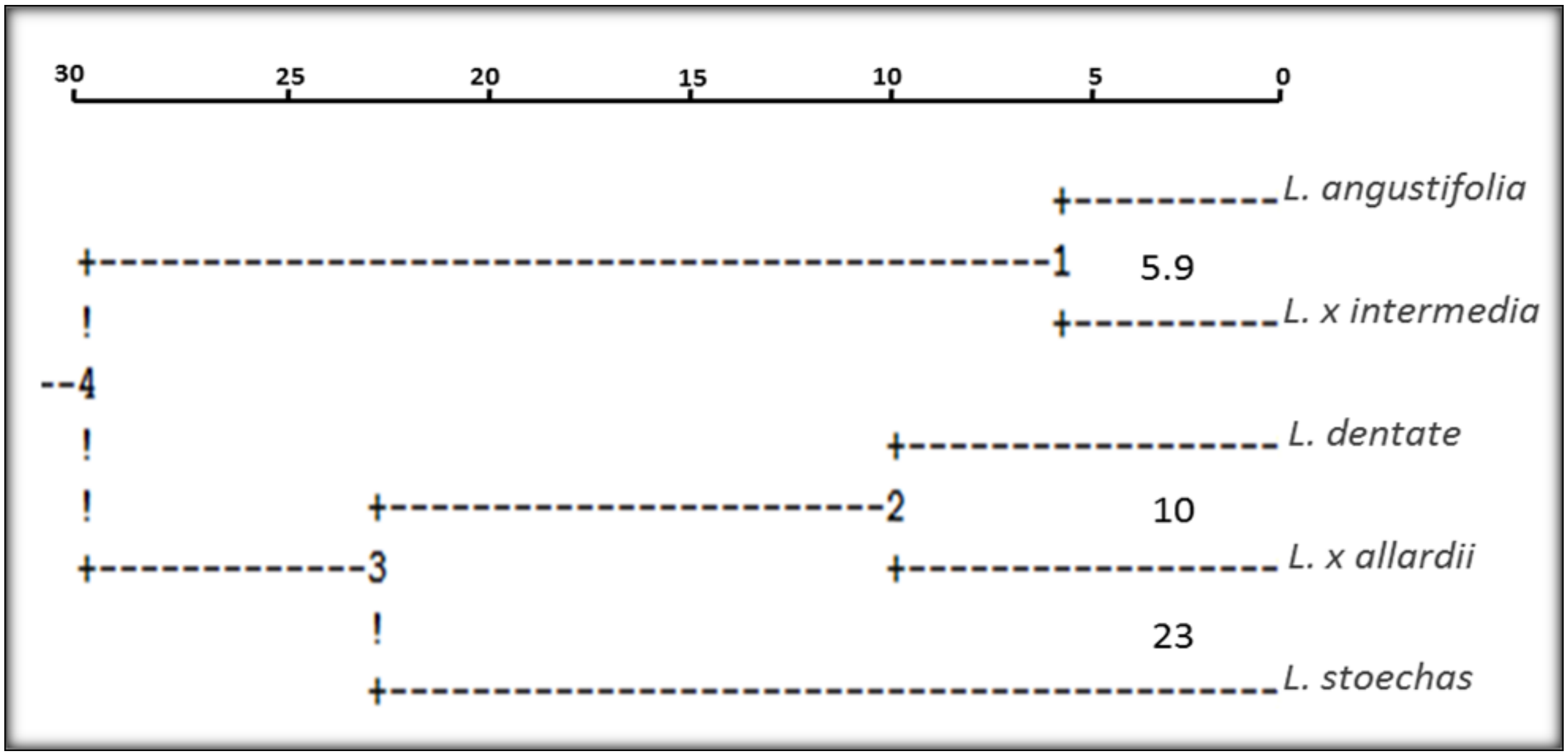
وتعكس كلا القيمتين درجة كبيرة من القرابة الوراثية والتي تشير لها المراجع التصنيفية (Upson،2002) إلى أنّها قرابة درجة أولى (حيث يُعدّ النوع ضمن كل ثنائية هو أحد أصول الهجين ضمن الثنائية نفسها).

ثمّ سجلت القيمة (0.39) في ثنائية (الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*)/ النوع البرّي (*L. stoechas L.*)). وبلغت قيمة (PDV) في الثنائية (النوع الفرنسي (*L.dentata* L.)/النوع البرّي (*L. stoechas L.*)) (0.54) وهي قريبة جداً من القيمة (0.56) في كل من الثنائية (النوع الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) / النوع البرّي *L.stoechas*) والثنائية (الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) / النوع البرّي(*L. stoechas L.*)). ويظهر الجدول السابق (26) أيضاً أنّ أعلى قيمتين لـ (PDV) كانتا (0.67 و0.64) في الثنائية (الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*)/ النوع الفرنسي (*L.dentata* L.)) والثنائية (الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*)/ الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*)) على التوالي .

4-6-3- التحليل العنقودي Cluster analysis (شجرة القرابة):

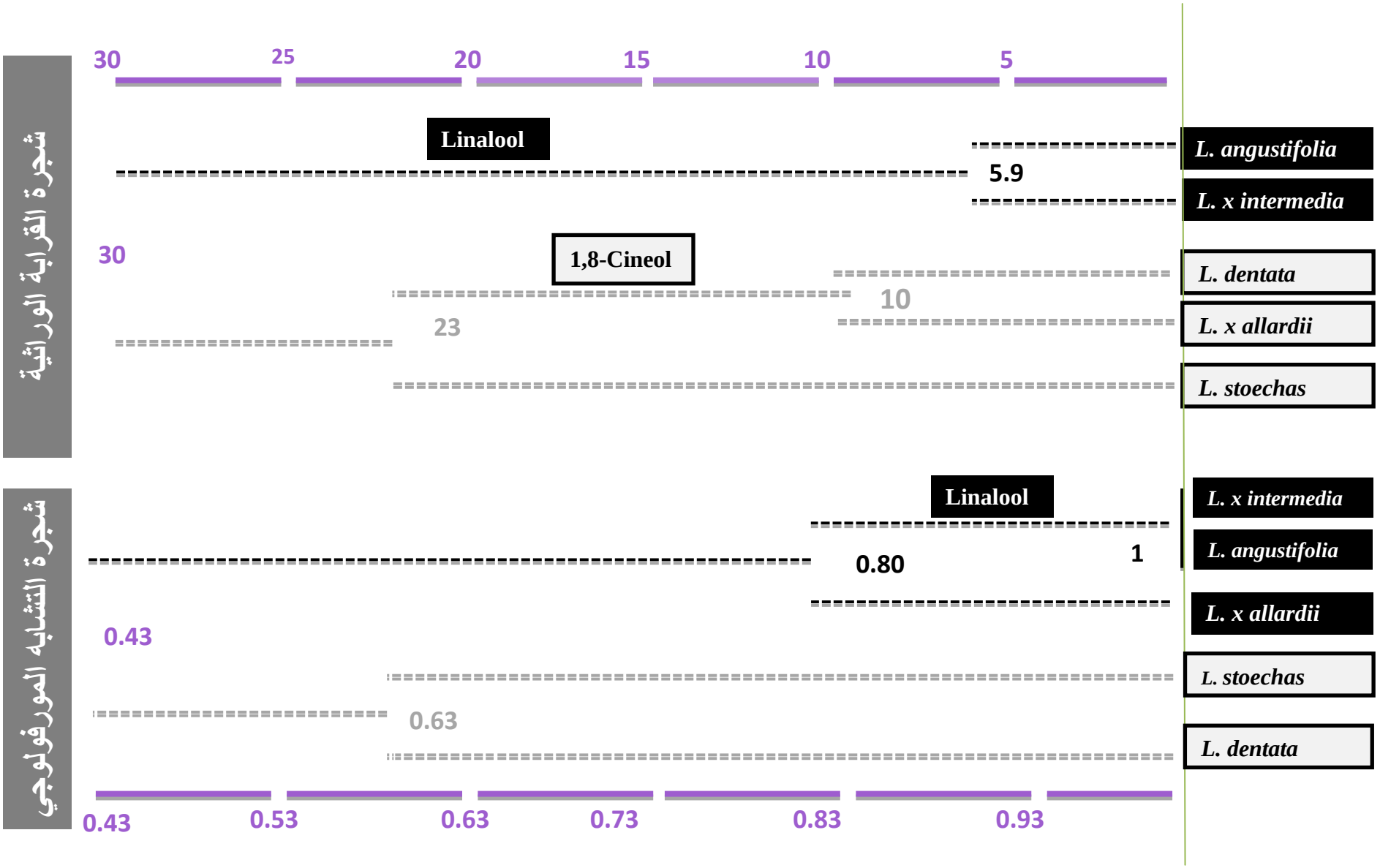
يسمح التحليل العنقودي بتقسيم الطرز الوراثية المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة القرابة الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها الأصلي أو بناءً على أصلها ونسبها. وأجري التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها وذلك لإنشاء شجرة القرابة الوراثية لتحديد درجة القرابة الوراثية حيث أظهر هذا التحليل وجود عنقودين رئيسيين، بلغ التباعد الوراثي فيما بينهما حوالي(30)، الشكل رقم (34).

ضم العنقود الأول كُلاً من الخزامى الإنكليزي (*L.angustifolia* L.) والهجين اللافاندين(*L. x intermedia*) بمسافة (5.9). في حين ضم العنقود الثاني النوعين الفرنسي (*L.dentata* L.) والبرّي (*L. stoechas L.*) والهجين (*L. x allardii*)، وكان النوع (*L.dentata* L.) والهجين (*L. x allardii*) هما الأقرب وراثياً ضمن العنقود الثاني بمسافة (10). وتختلف نتائج التحليل العنقودي لدينا مع نتائج دراسة Prazeres وVelho (2014)، حيث انفردت شجرة القرابة الوراثية بين الاصناف المدروسة لها إلى ثلاث مجموعات رئيسة (1و2و3) كان التباعد فيما بينها (60%)، توزعت فيها الطرز بمقدار(2 و8 و3) على التوالي.



الشكل رقم (34). التحليل العنقودي للأنواع والهجن المدروسة، والناتج عن استخدام تقنية ISSR

وعلى الرغم من كون الأنواع والأصناف المدروسة على المستوى المورفولوجي والكيميائي والجزيئي في دراستنا هذه تنتمي لأنواع وهجائن شهيرة من جنس الخزامى إلا أنّ معظمها مدخل إلى القطر العربي السوري وهو مجهول المنشأ الجغرافي، وبالتالي فإنّ نظرة أدق لشجرة القرابة الوراثية في ظل النتائج التي قمنا باستعراضها وتثبيتها خلال عملية التوصيف المورفولوجي ودراسة التشابه المورفولوجي للأنواع والهجن المدروسة، مضافاً لها نتائج التركيب الكيميائي لزيوتها العطرية يمكن أنّ تكشف عن حالة من التوافق بين نتائج الدراسات الثلاث (الجزيئية والمورفولوجية والتركيب الكيميائي الرئيس للزيت العطري)، كما يبيّن الشكل رقم (35) مقارنة بين شجرة التشابه المورفولوجي وشجرة القرابة الوراثية، مع الإشارة إلى التركيب الكيميائي الرئيس لزيوت أزهار الأنواع والهجن المدروسة.

الفصل الرابـع ـــ


الشكل رقم (35). مقارنة بين شجرة التشابه المورفولوجي و شجرة القرابة الوراثية، مع الإشارة إلى التركيب الكيميائي الرئيس لزيوت أزهار الأنواع والهجن المدروسة.

ويظهر الشكل (35). أنّ الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) والخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) هما الأقرب وراثياً فيما بينهما من بين الأنواع المدروسة بمسافة (5.9)، وربما يعود هذا إلى ان النوع (*L.angustifolia* L.) هو أحد أبوي الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) وفقاً لـ (Upson،2002)، ويتوافق قربهما وراثياً بمسافة (5.9) مع تشابههما مورفولوجيا بنسبة (0.99) وكذلك فان كليهما تميّزا بالاصطناع الحيوي لأحادي التربين الكحولي Linalool ليكون المركب الرئيس في زيوت أزهارهما، وهذا يتوافق مع ما افترضه Boeckelmann (2008) عن ارتباط وفرة Abundance مركب Linalool في اللافندر بشكلٍ مسبق مع الأنواع المتقاربة أصلاً بظروف تطورها ونموها، وكذلك ارتباط وفرة التربينات الأحادية مثل Linalool مع عمليات النسخ الجيني Gene Transcription، وهو ما اشار إليه من قبله (Dudareva وزملاؤه،2003) بارتباط mRNA والبروتين والفعّالية الأنزيمية لاصطناع Linalool كانت مرتبطة بمستويات انبعاثه Emission levels في أزهار النبات المدروس.

وكذلك نجد في الشكل رقم (35). أنّ كلاً من النوع الفرنسي (*L.dentata* L.) والهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) قد اجتمعا وفقاً للقرابة في عنقود واحد وبمسافة (10)، وهذا يمكن تفسيره بكون النوع الفرنسي(*L.dentata* L.) هو أحد الأبوين المفترضين للهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) (Upson،2002)، إلا أنّ الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) لم يجتمع مع النوع الفرنسي (*L.dentata* L.) في شجرة التشابه المورفولوجي، على الرغم من تشابههما بوجود قنابات متحورة عديمة اللون وبوجود تفصيص بدرجات مختلفة على حواف الأوراق (5 مؤشرات موروفولوجية مشتركة من أصل 14) ، واشتراكهما بكون مركب السينيول Cineole 1,8 هو المركب الرئيس في زيتي أزهارهما. بل كان الهجين (*L. x allardii*) أكثرا شبهاً باللافاندين (*L. x intermedia*) والخزامى الإنكليزية (*L.angustifolia* L.) وخاصة تركيبة السنبلة الزهرية (11 مؤشر موروفولوجي مشترك من أصل 14).

ويضم أيضاَ العنقود الثاني في شجرة القرابة الوراثية النوع البرّي (*L. stoechas L.*) بالإضافة للنوع الفرنسي (*L.dentata* L.) والهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*)، وبذلك يكون الصنف المدروس من النوع البرّي (*L. stoechas L.*) هو النوع الأبعد وراثياً عن باقي الأنواع المدروسة بمسافة (23)، حيث يشابه الشكل

العام للسنبلة الزهرية في هذا النوع مع شكلها لدى النوع الفرنسي (*L.dentata* L.) في العنقود نفسه، ويختلف عنهما بأوراقه ذات الحواف الكاملة وبكون مركب فنشون Fenchone هو المركب الرئيس في زيت أزهاره .

تبين لنا مما سبق، أنّ نتائج دراسة القرابة الوراثية اتفقت جزئياً مع دراسة التشابه الكلي والتركيب الكيميائي الرئيس للأزهار، وذلك تبعاً لأنواع محددة بعينها، احياناً يعزى الشبه لأسباب القرابة (كما في الثنائية (*L. x intermedia*) و(*L.angustifolia* L.) التي تشابهت شكلاً وتقاربت وراثياً بنفس الدرجة، وتارة لا يمكن ردّ الشبه لأسباب القرابة الوراثية كما حدث في حالة (قرابة الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) مع النوع الفرنسي (*L.dentata* L.)، ومحاكاته الشكلية للنوع الانكليزي *L.angustifolia* L.)، وربما يعود السبب في هذه النتيجة إلى أسباب أخرى لم نتمكن من الإحاطة بها وفق الإمكانيات المتاحة لدينا أهمها كذلك قلة المعلومات المتوفرة لدينا عن الطرز البيئية التي تنتمي إليها أنواعنا المدروسة – باستثناء النوع البرّي *L.Stoechas* –، حيث تشير دراسة Andrews (2002)، إلى أنّه في نسختي الهجين (*L. x allardii*) المجموعتين من منطقتين متباعدتين أصلاً، هما شمال أفريقيا (Clone A ,South Africa) واستراليا (Clone Australia)، تميز الهجين بنسخته الأولى (Clone A) بوجود نمطي الاوراق (كاملة الحواف ومفصصه) ولكن احتوت نسخة استراليا على أوراق مفصصة فقط، وكلاهما يحتوي اختلافاً عن ذلك الهجين (*L. x allardii*) المصنف سابقاً منذ عام 1895، من قبل الباحث Monsieur F.C., Hy, (1853–1918).

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Rrecommendations

5-1.الاستنتاجات:

1) توزّعت الخزامى المدخلة إلى سورية بين نوعين وهجينين، النوعين هما الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.)، والهجينين هما الهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) والهجين اللافاندين (*L. x intermedia*)، ويُعدّ النوع (*L. angustifolia* L.) الأكثر انتشاراً بين الأنواع المدخلة، كما تم تأكيد الوجود الطبيعي للنوع (*L. stoechas* L.) في السهول الساحلية لمحافظة اللاذقية.

2) انفصلت شجرة التشابه المورفولوجي إلى عنقودين رئيسيين، ضمّ العنقود الأول كُلاً من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) والهجين الهجين (*L. x allardii*)، وضمّ العنقود الثاني النوعين الخزامى الفرنسية (*L. dentata* L.) والبرّية (*L. stoechas* L.).

3) تميّز النوع (*L. angustifolia* L.) باحتوائه على أعلى نسبة للزيت العطري (4.23%) في الأزهار تلاه الهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) والنوع البري (*L. stoechas* L.) بالقيم (4.1% و4.03%)، في حين تميز النوع البري (*L. stoechas* L.) بأعلى نسبة للزيت العطري في الأوراق (1.37%).

4) حُددت هوية (108) مركب كيميائي في الزيوت العطرية لأنواع جنس الخزامى في سورية، (3) مركبات منها تواجدت في جميع الزيوت العطرية المحللة (7 زيوت عطرية)، و(60) مركباً لم تتكرر، حيث تواجد كل منها في واحد من الزيوت المختبرة فقط.

5) اتصف الزيت العطري لأزهار كل من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والهجين اللافاندين (*L. x intermedia*) بكونهما من النمط Linalool، وكان زيتي أزهار النوع الفرنسي (*L. dentata* L.) والهجين مفصص الأوراق (*L. x allardii*) من النمط 1,8-Cineole، وتميّز زيت أزهار النوع (*L. stoechas* L.) عن ما سبق بكونه من النمط (مشتقات Fenchone / مشتقات Myrtenol).

6) كان للزيوت العطرية المستخلصة من أزهار للخزامى بأنواعها (*L. angustifolia* L.) و(*L. dentata* L.) و(*L. stoechas* L.) خواصاً مثبطة لنمو البكتريا مخبرياً *in vitro*، وبدرجات متفاوتة، وكان لتركيبة الزيوت العطرية المفصلة من مركبات عطرية رئيسة وثانوية، الدور الأساسي في تلك الفعّالية المضادة لنمو البكتريا، وليس لمحتواها الكبير من المركب الرئيس الذي منح كل من تلك الزيوت نمطه الكيميائي.

7) كانت الأنواع البكتيرية *Ps. Aeru* و*E.fac* و*L.mon* هي الاكثر مقاومة للزيوت العطرية الثلاثة في حين اعتبرت الأنواع البكتيرية *B.cer* و*S.aur2* و*S.typh* و *E.coli* هي الأكثر تحسساً.

8) تفوق α-Pinene على مركبي 1,8-Cineole و Linalool بفعّاليته المضادة للبكتريا و الفطريات.

9) كان لانتشار زيت النوع البري (*L. stoechas* L.) الفعّالية الأعلى بين زيوت الأنواع الثلاثة في تثبيط انتشار *B.cer*، وحقق انتشار الزيت العطري للخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) أعلى قطر تثبيط للنوع *E.coli*.

10) حقق انتشار الزيوت العطرية تثبيطاً في نمو كل من النوعين الفطريين *C.alb* و *A.niger* وكان التثبيط الناتج عن انتشار الزيوت العطرية من حفر أكبر منه في حالة انتشارها من أقراص.

11) تفوق النوع البري (*L. stoechas* L.) على كل من النوع الإنكليزي (*L. angustifolia* L.) و النوع الفرنسي (*L.dentata* L.) لناحية فعّالية مستخلصاته بطريقة الانتشار من القرص.

12) أدّى استخدام المستخلصات النباتية للأنواع المدروسة إلى منع نمو معظم أنواع البكتريا المدروسة، وتفوق المستخلص الكحولي للنوع البري (*L. stoechas* L.) على باقي المستخلصات، خاصةً في معاملات *B.cer* و *E.coli*.

13) حقق التبخير التجريبي للزيوت العطرية لكل من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) و الخزامى البرية (*L. stoechas* L.) في قتل يرقات وبالغات فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط عند تطبيقها مخبرياً وفق التراكيز (5، 10، 25 ، 50 و 100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) مُدّة (24 ساعة و48 ساعة)، وتفوق الزيت العطري للخزامى البرية (*L. stoechas* L.) على زيت الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) حيث حققت معاملة التركيز (100 ميكرولتر. لتر$^{-1}$) منه موتاً كاملاً (100%) في يرقات فراشة الطحين بعد (48 ساعة) وموتاً كاملاً في الفراشات الكاملة بعد (24 ساعة).

14) أدى تعريض يرقات خنفساء الدقيق الصدئية لبخار زيت أوراق الخزامى العطرية مخبرياً إلى تخفيض عددها إلى النصف بعد (129.8 ساعة).

15) تحققت أعلى نسب الموت (56.67%) في الحشرات الكاملة لخنفساء الدقيق عند تسميم غذائها بالمستخلص الايثانولي لأوراق النوع البري (*L. stoechas* L.) بتركيز (25%).

16) حققت عمليات التبخير بالزيوت العطرية للخزامى مخبرياً، تخفيضاً ملموساً في عدد أفراد حشرتي المواد المخزونة المخبرتين (خنفساء الدقيق الصدئية و فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط) ، وبالتالي فإن التطبيق

المجدي والكفوء لتبخير مخازن الحبوب بزيوت الخزامى قد يضمن تخفيض مستوى الإصابة من خلال تخفيض عدد أجيال الخنفساء (أو الفراشة) ضمن العام الواحد.

17) امتلكت الزيوت العطرية المستخلصة من أزهار الأنواع و الهجن المدروسة من الخزامى فعّالية مضادة للأكسدة، وقدا ازدادت هذه الفعّالية مع ازدياد التركيز المطبق من كل منها.

18) بلغ عدد الحزم الناتجة عن استخدام 14 مرئسة (70حزمة)، تميزت (52 حزمة) منها بالتعددية الشكلية وبنسبة (74.3%).

19) انفصلت شجرة القرابة الوراثية حسب تقنية ISSR إلى عنقودين رئيسيين، ضمّ العنقود الأول كُلاً من الخزامى الإنكليزية (*L. angustifolia* L.) والهجين اللافاندين (*L. x intermedia*)، وضمّ العنقود الثاني النوعين الخزامى الفرنسية (*L.dentata* L.) و البرّية (*L. stoechas* L.) والهجين (*L. x allardii*).

20) أظهرت نتائج القرابة الوراثية توافقاً مع نتائج الدراسة المورفولوجية و تحاليل التركيب الكيميائي الرئيس للزيت العطري، بدرجات متفاوتة، وتحققت أعلى حالة من التوافق بين الدراسات الثلاث (الجزيئية والمورفولوجية و التركيب الكيميائي الرئيس للزيت العطري) بين النوع (*L. angustifolia* L.) والهجين اللافاندين (*L. x intermedia*).

5-2.المقترحات والتوصيات:

1) يُوصى بإجراء دراسة شاملة للنوع البري (*L. stoechas* L.)، ودراسة الواقع البيئي لهذ النوع في سبيل المحافظة عليه، بعد حصر أماكن وجوده وانتشاره الطبيعي، ومن ثم تعميم زراعته كباقي الأنواع والهجن نظراً لما تحتويه مجاميعه الزهرية و الورقية من الزيت العطري الفعّال حيوياً.

2) يُوصى باستخدام المستخلصات الكحولية للخزامى من النوعين؛ البري (*L. stoechas* L.) و الإنكليزي (*L. angustifolia* L.)، من قبل المختصين ضمن التطبيقات الطبية والصناعية لعقاقير طبيعية معدة كمضادات جراثيم وفطريات .

3) يُوصى بزراعة الخزامى من النوع الإنكليزي (*L. angustifolia* L.) والهجين اللافاندين *L.x intermedia* ضمن الظروف السورية للحصول على الزيت العطري من أزهاره، نظراً لمحتواها المرتفع من الزيت الغني بمركب Linalool المهم في صناعة العطور.

4) نقترح الاستثمار المستقبلي للمجموع الخضري الورقي والأفرع الغضة ومخلفات التقطير في انتاج المستخلصات الجافة و الزيوت العطرية، لاستخدامها في مجال المكافحة الحيوية للحشرات.

5) نقترح تعميق الدراسات البيولوجية الجزيئية التي سيتم إجراءها لاحقاً على نباتات الخزامى من أجل تحديد مواقع المورثات المسؤولة عن تحسين انتاجيتها من الزيوت كماً ونوعاً.

ملحق الجداول

Tables Appendices

جدول (A). التصنيف العلمي لجنس الخزامى *Lavandula* spp. Scientific classification

kingdom المملكة	**Plantae (Plants) النباتية**
Subkingdom القسم	Tracheobionta (Vascular plants) نباتات وعائية
Superdivision فوق الشعبة	Spermatophyta (Seed plants) بذريات
Division الشعبة	Magnoliophyta (Flowering plants) النباتات الزهرية
Class صف	Magnoliopsida (Dicotyledons) ثنائيات الفلقة
Orderرتبة	Lamiales الشفويات
Family العائلة	Lamiaceae الشفوية
subfamily تحت عائلة	Nepetoideae القطراماوات
Tribe القبيلة	Lavanduleae الضرماوية
Genus الجنس	الخزامى ،اللافندر . *Lavandula*

جدول (B). التصنيف النباتي لجنس الخزامى ،(Upson عام 2002)

Section *Lavandula* (section *Spica* Ging.) **القسم الأول**

***1. L. angustifolia* Mill.** subsp. *Angustifolia*
subsp. *pyrenaica* (DC) Guinea
2 *L. lanata* Boiss.
3. *L. latifolia* Medik.
Hybrids.
L. x intermedia Emeric. ex. Loisel.
L. lanata Boiss. X *L. angustifolia* Mill.

3 نوع ، 2 هجين.

Section *Dentatae* Suarez-Cerv. & Seoane-Camba **القسم الثاني**

4. L. dentata* L. var. *dentata
forma *rosea* Maire . forma *albiflora* Maire
L. dentata L. var. *candicans* Batt.

1 نوع .

Section *Stoechas* Ging. **القسم الثالث**

5. L. stoechas* L. subsp. *Stoechas
forma *leucantha* Ging. forma *rosea* Maire
subsp. *pedunculata* (Mill.) Samp. ex Rozeira , **subsp**. *sampaiana* Rozeira .
subsp. *lusitanica* (Chaytor) Rozeira subsp. **subsp**. *luisieri* (Rozeira) Rozeira
subsp. *atlantica* Braun-Blanq. .**subsp**. *maderensis* (Benth.) Rozeira
subsp. *cariensis* (Boiss.) Rozeira .
6. *L. viridis* L'Hér
Hybrids
L. stoechas L.X *L. viridis* L'Hér.

2 نوع ، 1 هجين.

Section *Pterostoechas* Ging **القسم الرابع**

7. *L. multifida* L.
8. *L. canariensis* Mill.
9. *L. pinnata* L.f.
10. *L. buchii* Webb & Berthel. var. *buchii*
var. *gracile* M.C. León, var. *tolpidifolia* (Svent.) M.C. León
11. *L. minutolii* Bolle var. *minutolii*, var. *tenuipinna* Svent.
12. *L. maroccana* Murb.
13. *L. tenuisecta* Coss. ex. **Ball**
14. *L. maroccana* Murb.
15. *L. mairei* Humbert var. *mairei* , var. *antiatlantica* Maire

16. ***L. antineae*** **Maire**
17. ***L. coronopifolia*** **Poir.**
18. ***L. pubescens*** **Decne.**
19. ***L. citriodora*** **A.G. Miller**
<u>Hybrids</u>
L. x christiana Gattef. & Maire
L. x murbeckiana Emb. & Maire
L. canariensis Mill.X *L. buchii* Webb & Berthol var. *buchii*

13 نوع ، 3 هجين.

Section *Subnudae* Chaytor القسم الخامس

20. ***L. subnuda*** **Benth.**
21. ***L. macra*** **Baker**
22. ***L. dhofarensis*** **A.G. Miller**
Subsp.*Dhofarensis* **, subsp.***ayunensis* **A.G. Miller**
23. ***L. setifera*** **T. Anderson**
24. ***L. nimmoi*** **Benth.**
25. ***L. galgalloensis*** **A.G. Miller**
26. ***L. aristibracteata*** **A.G. Miller**
27. ***L. somaliensis*** **Chaytor**

8 نوع .

Section *Chaetostachys* Benth. القسم السادس

28. ***L. gibsonii*** **Grah.**
29. ***L. bipinnata*** **(Roth) Kuntze**

2 نوع .

Unclassified taxa

30. ***L. hasikensis*** **A.G. Miller**
31. ***L. atriplicifolia*** **Benth**
32.***L.erythreae*** **(Chiov.) Cufud.**

3. نوع .

Intersectional Hybrids

L. x allardii **Hy**
L. x heterophylla **Poir.**
L. dentata **L.X** ***L. lanata*** **Boiss**

هجائن بعيدة ناتجة عن تصالب بين الأقسام . 3 هجين.

جدول رقم (C). الأسماء العلمية للأنواع والأصناف النباتية الواردة في الأطروحة،
مع مقابلاتها الشائعة باللغة العربية و الإنكليزية

(A)		
***Achillea Wilhelmsii* L.**	**-**	
***Allium schoenoprasum* L.**	**Chives**	**الثوم المعمر**
***Annona senegalensi* L.**	**African Custard-Apple**	**أحد انواع القشطة**
***Arachis hypogaea* L.**	**Peanut, Groundnut**	**الفول السوداني**
***Azadirachta indica* L.**	**Neem**	**النيم**
***Azilia eryngioides* L.**	--	--
(C)		
Capsicum annuum L.	**Paprika**	**الفليفلة الحلوة**
***Cistus salviifolius* L.**	**Sage-Leaved Rock-Rose, Salvia Cistus,**	**القرّيضة البيضاء**
***Citrus sinensis* L.**	**Orange**	**البرتقال**
***Cupressus arizonica* L.**	**Smooth Cypress**	**السرو الفضي**
(D)		
Dracaena arborea L.	**--**	--
(E)		
Eucalyptus camaldulensis L.	**The river Red Gum**	**أحد انواع الاوكالبتوس من الفصيلة الآسية**
***Eucalyptus gluaca* L.**	**Grey Buloke**	**أحد انواع الاوكالبتوس من الفصيلة الآسية**
***Eucalyptus largiflorens* L.**	**Black Box**	**أحد انواع الاوكالبتوس من الفصيلة الآسية**
(H)		
***Hyptis suaveolens* L.**	**Bushmint**	**النعناع الدغلي**
(I)		
Iris spp.	**Iris**	**جنس السوسن**
(J)		
***Juniperus communis* L.**	**The Common Juniper**	**العرعر الشائع**
(L)		
Lavandula.x heterophylla	**Lavender**	**خزامى (لافندر) مفصص الأوراق**
***Laurus nobilis* L.**	**Bay Laurel, Laurel**	**الغار النبيل**

Tables Appendix ملحق الجداول ـــ
***Lavandula angustifolia* L.** ***(Syn)Lavandula officinalis* L.**	**True Lavender, English Lavender**	**الخزامى الإنكليزية / الخزامى الحقيقة (لافندر إنكليزي)**
***Lavandula coronopifolia* L.**	**Lavender**	**الخزامى (لافندر)**
***Lavandula dentata* L.**	**French Lavender**	**الخزامى الفرنسي ، (لافندر فرنسي) الضرم المسنن**
Lavandula latifolia L.	**Spike Lavender**	**الخزامى الشمراخية (لافندر شمراخي)**
***Lavandula multifida* L.**	**Fernleaf Lavender / Egyptian Lavender**	**أحد انواع الخزامى (لافندر)**
***Lavandula stoechas* L.**	**Topped Lavender, Spanish Lavender**	**برابخون أو الخزامى البرية**
Lavandula. x allardii.	**Fringed Hybrid Lavender**	**الخزامى المفصصة (لافندر)**
***Lavandula. x intermedia* .**	**Lavandin**	**اللافاندين**
***Lawsonia inermis* L.**	**The Henna Tree**	**شجرة الحناء**
	(M)	
***Melia azedarach* L.**	**Chinaberry**	**الازردخت**
***Melissa officinalis* L.**	**Lemon Balm, Balm,**	**المليسة**
***Mentha arvensis* L.**	**Field Mint**	**نعناع الحقل**
***Mentha pulegium* L.**	**European Pennyroyal**	**النعناع الأوروبي**
Mentha rotundifolia L. ***(Syn) Mentha suaveolens L.***	**Round-Leafed Mint,**	**النعناع مستدير الورق**
***Mentha* x *piperita* L.**	**Peppermint**	**النعناع الفلفلي**
***Myrtus communis* L.**	**Myrtle**	**الآس**
	(N)	
***Nigella sativa* L.**	**Black Cumin, Black seed**	**حبة البركة**
	(O)	
***Ocimum basilicum* L.**	**Sweet Basil**	**الريحان**
***Olea europaea* L.**	**olive**	**الزيتون**
***Origanum onites* L.**	**The Cretan Oregano**	**الاوريجانو**
Origanum vulgare L.	**Oregano**	**البردقوش، الاوريجانو**
	(P)	
***Petroselinum crispum* L.**	**Parsley**	**البقدونس**
***Pinus brutia* Ten.**	**Calabrian Pine, Brutia Pine**	**الصنوبر البروتي**

Pinus brutia var. *eldarica*	**Mondell Pine**	**الصنوبر الشعاعي**
Pistacia lentiscus **L.**	**Mastic Tree**	**البطم**
Poterium spinosum **L.**	**Thorny Burnet, Pricky Burnet, Brushwood**	**البلّان**
Prangos ferulacea **L.**	**Ribbed Cachrys**	**البرنقوس الكلخي**
Punica granatum **L.**	**Pomegranite**	**الرمان**
	(Q)	
Quercus calliprinos **L.**	**Palestine Oak,**	**السنديان العادي**
Quercus cerris **L.**	**Turkey Oak**	**السنديان شبه العذري**
	(R)	
Rhamnus palaestina **L.**	**Buckthorn**	**السوّيد الفلسطيني**
Rosmarinus officinalis **L.**	**Rosemary**	**إكليل الجبل ، حصالبان**
	(S)	
Satureja montana L.	**Winter Savory / Mountain Savory**	**ندغ الشتاء ، ندغ الجبل**
Satureja thymbra L.	**Thyme-Leaved Savory.**	**ندغ البساتين**
Scilla maritima **L.**	**Sea Onion**	**العنصل**
	(T)	
Thymus vulgaris **L.**	**Thyme , German Thyme, Garden Thyme**	**الزعتر**
	(V)	
Vitex grandifolia L.	-	-
	(Z)	
Zataria multiflora **L.**	**Avishan-EL-Shirazi**	**الزعتر الشيرازي**
Ziziphora clinopodioides **Lam.**	***Ziziphora***	**الزيزيفورا**

جدول (D). التصنيف العلمي للنوعين الحشريين المدروسين.

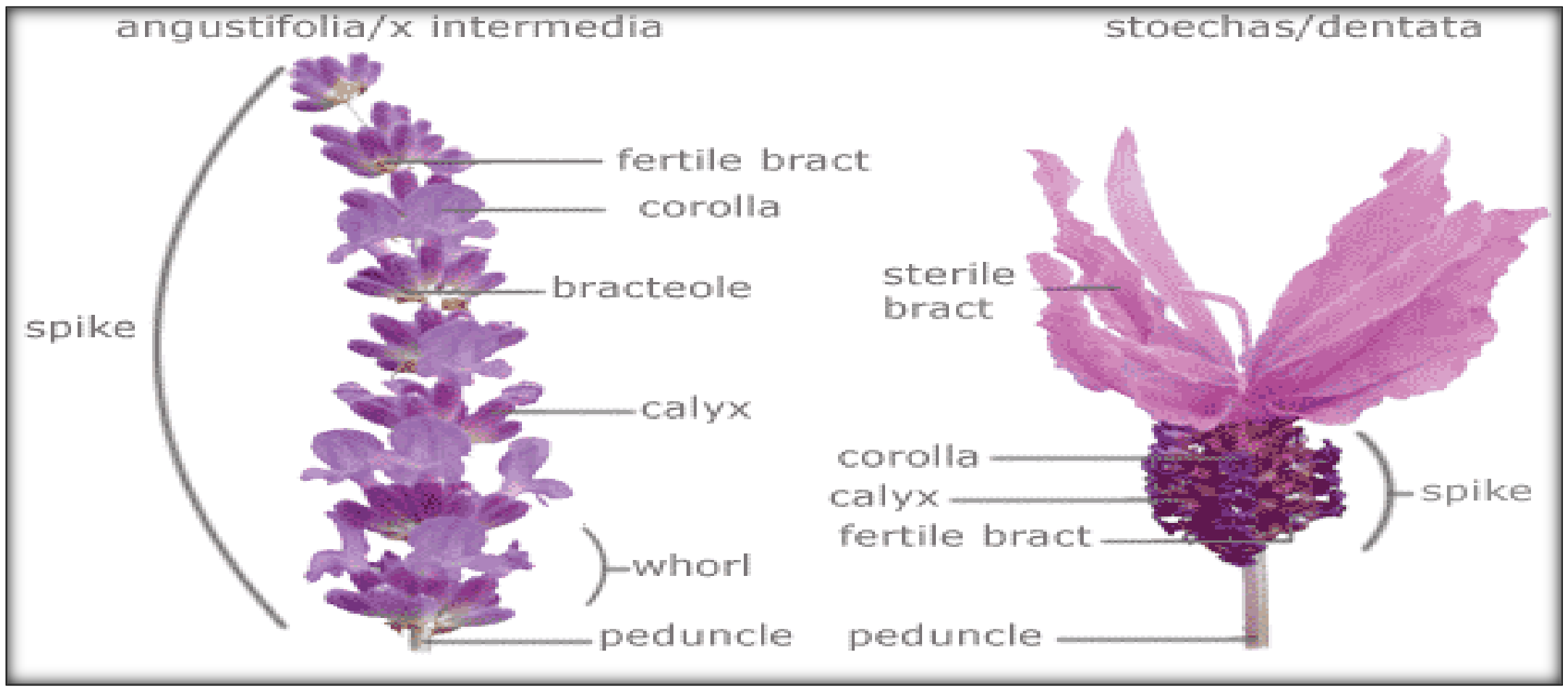
Insects (Insecta)		Class صف
butterflies and moths (Lepidoptera)	Beetles (Coleóptera)	Order رتبة
Pyralid and Crambid Snout Moths (Pyraloidea)	Darkling and blister beetles (Tenebrionoidea)	فوق عائلة Superfamily
Pyralid Moths (Pyralidae)	Darkling beetles (Tenebrionide)	Family العائلة
Phycitinae	(Tenebrioninae)	تحت عائلة subfamily
Phycitini	(triboliini)	Tribe القبيلة
Ephestia	*Tribolium*	Genus الجنس
Mediterranean Flour Moth *Ephestia kuehniella*	Red flour beetle *Tribolium castaneum*	النوع Species

ملحق (E). بعض الخواص الكيميائية والفيزيائية الموافقة لكل من الماء والإيثانول و DMSO،
(2012،Smallwood).

DMSO	الإيثانول	الماء	الخاصية
78	46	18	الوزن الجزيئي / Molecular weight (غرام.مول$^{-1}$)
C_2H_6OS	C_2H_5OH	H_2O	الصيغة المجملة / Empirical formula
(189 مْ)	(78 مْ)	(100 مْ)	درجة حرارة الغليان/ Boiling point (درجة مئوية)
(18.5 مْ)	(114 مْ)	(0 مْ)	درجة حرارة التجمد / Freezing point (درجة مئوية)
1.101	0.789	0.997	الكثافة النوعية / Specific gravity (غرام.سم$^{-3}$)
44.4	65.4	100	القطبية منسوبة للماء / Polarity (water 100)
% 100			الذوبانية في الماء (25 مْ) Solubility in water

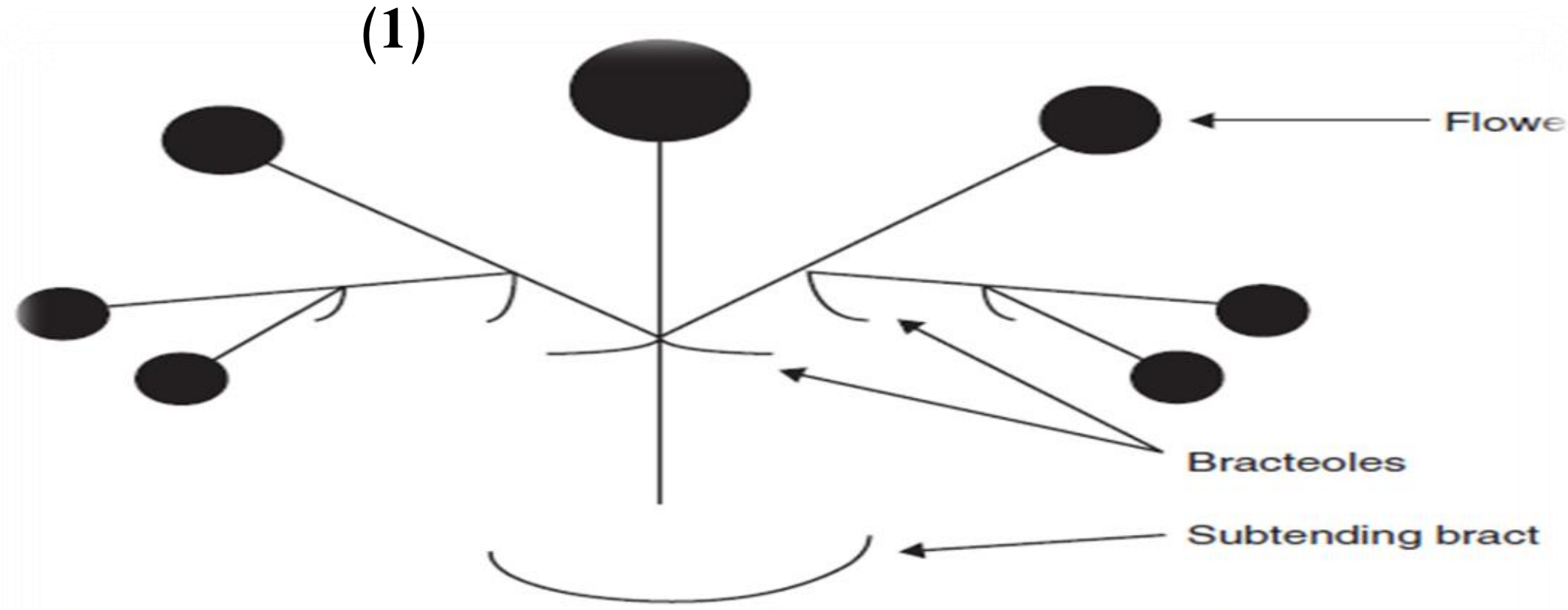
ملحق الأشكال والصور

Figures Appendices



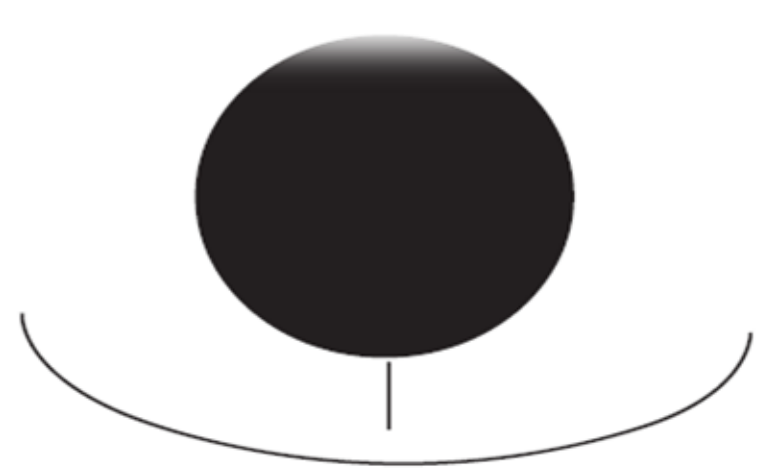
شكل رقم (A). النمطين الرئيسين للسنبلة الزهرية في جنس الخزامى،(Tim Upson،2002)..

(1)



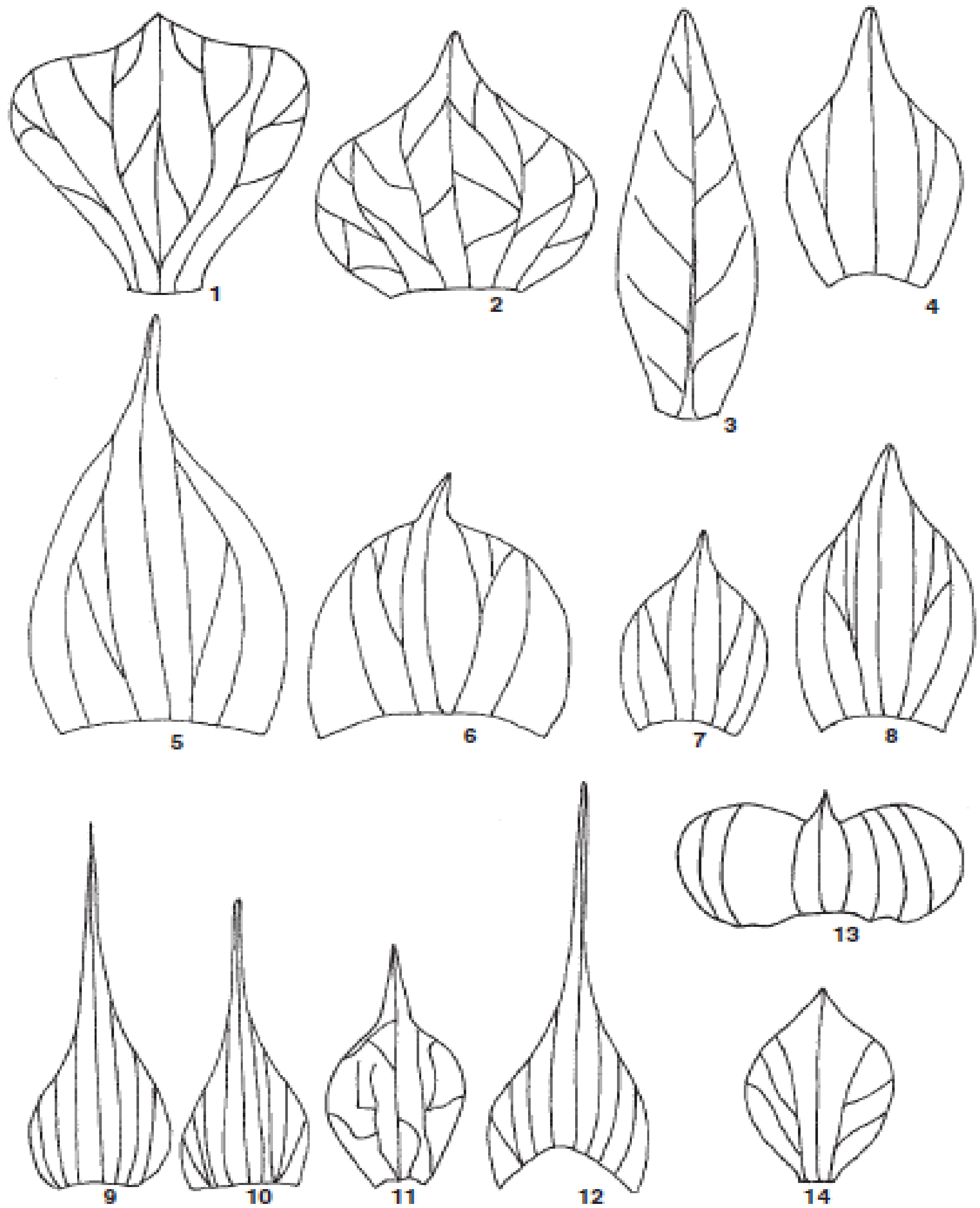
A bicincinnus cyme illustrating the branching pattern and position of bracteoles and bracts

(2)



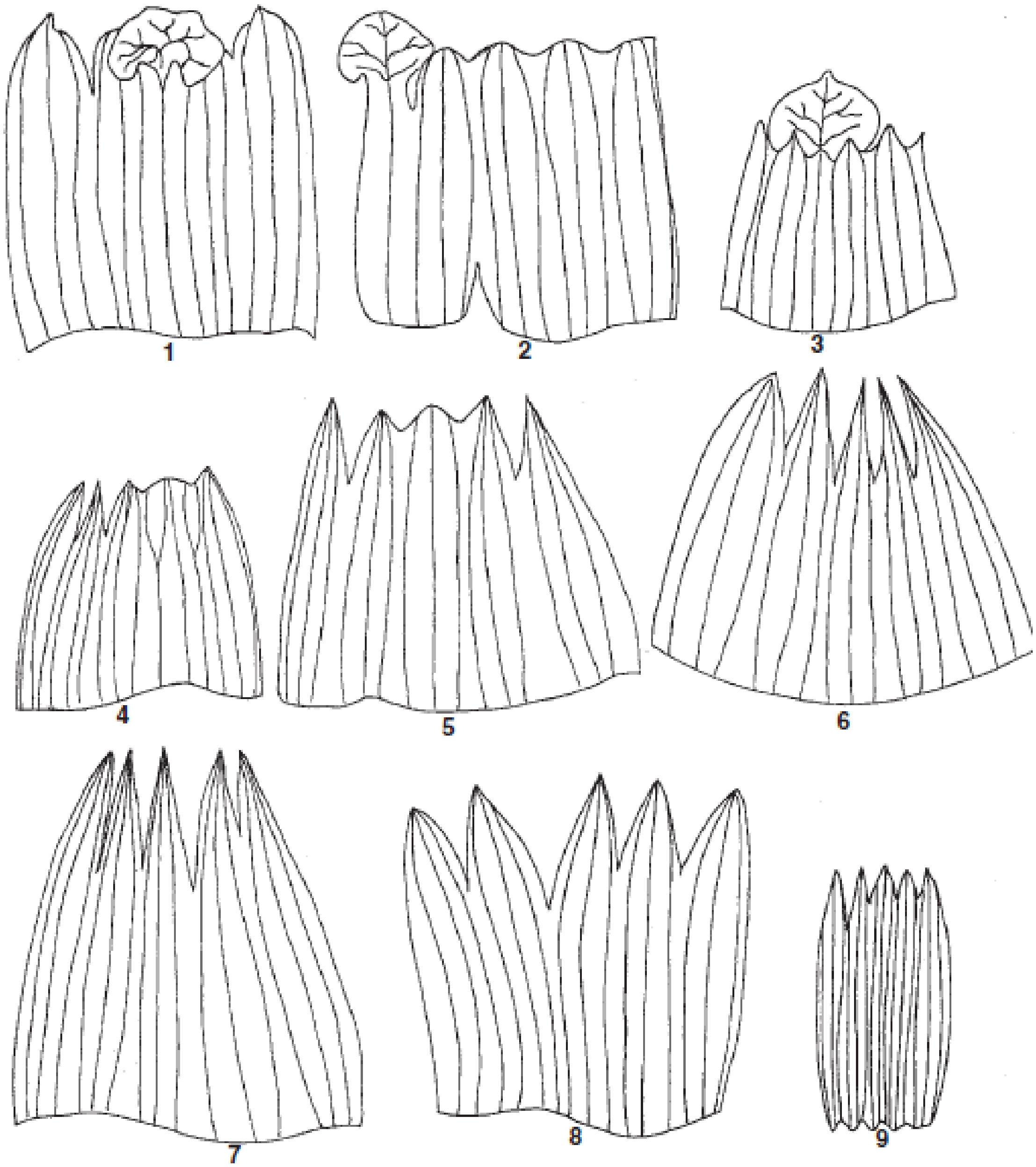
A single flowered cyme, with subtending bract

شكل رقم (B)، (1). رسم توضيحي لنورة متعددة الأزهار ويظهر فيها النمط التفرعي وهنا تلاحظ الوريقات القاعدية عند كل قواعد الأزهار وتلاحظ ورقة حاملة فقط تحيط بكل نورة . (2) رسم توضيحي للنورة مفردة الزهرة مع ورقة حاملة واحدة،(Tim Upson،2002).



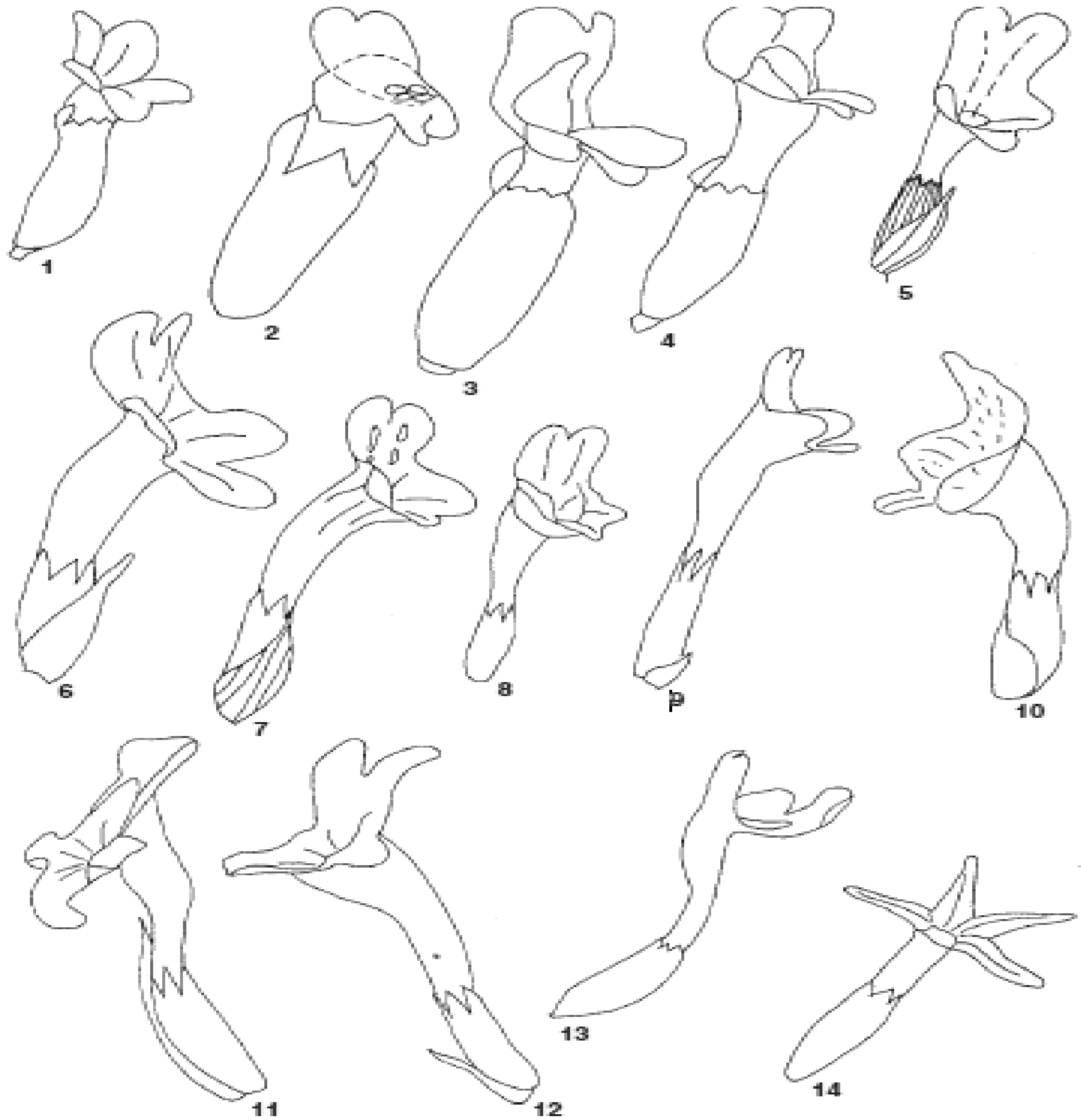
1. *L. dentata* var. *dentata* ×100
2. *L. viridis* ×60 (upper bract)
3. *L. latifolia* ×160
4. *L. multifida* ×160
5. *L. canariensis* ×250
6. *L. maroccana* ×250
7. *L. coronopifolia* ×250
8. *L. mairei* var. *mairei* ×100
9. *L. aristibracteata* ×160
10. *L. subnuda* ×160
11. *L. somaliensis* ×160
12. *L. bipinnata* ×160
13. *L. hasikensis* ×100
14. *L. atriplicifolia* ×100

شكل رقم(C). رسوم توضيحية تبين التنوع الشكلي للأوراق الحاملة (للقنابات) في الأنواع المختلفة من جنس الخزامى، والمساحة النسبية للورقة في كل نوع (منسوبة إلى مقياس مساحي معين)، وكذلك عدد العروق الموجودة على سطح كل منها،(Tim Upson،2002).



1. *L. stoechas* subsp. *stoechas* ×250
2. *L. angustifolia* ×250
3. *L. dentata* var. *dentata* ×160
4. *L. multifida* ×160
5. *L. mairei* var. *mairei* ×250
6. *L. pubescens* ×250
7. *L. subnuda* ×250
8. *L. bipinnata* ×250
9. *L. hasikensis* ×75

شكل رقم (D) رسوم توضيحية للكأس الزهري عند الأنواع المختلفة من جنس الخزامى ، وتظهر هذا الرسوم المساحة النسبة للكأس في كل نوع (منسوبة إلى مقياس مساحي معين) مع عدد العروق الموجودة على سطح الكأس ومن التفصيصات واللاحقة التي تعلوه،(Tim Upson،2002).



1. *L. dentata* var. *dentata* ×160
2. *L. viridis* ×160
3. *L. latifolia* ×160
4. *L. lanata* ×100
5. *L. multifida* ×100
6. *L. canariensis* ×100
7. *L. pubescens* ×100
8. *L. tenuisecta* ×100
9. *L. coronopifolia* ×100
10. *L. maroccana* ×100
11. *L. aristibracteata* ×100
12. *L. subnuda* ×160
13. *L. bipinnata* ×100
14. *L. atriplicifolia* ×100

شكل رقم (E) رسوم توضيحية للأنبوب الزهري في الأنواع المختلفة من جنس الخزامى، ويُظهر الشكل عدد التفصيصات التويجية، و الارتفاع النسبي لكل من الكأس والجزء الظاهر من التويج في كل زهرة ، كما يُظهر الشكل وجود وريقات زهرية ترتبط بقاعدة الكأس الزهري عند بعض الأنواع،(Tim Upson،2002).



All leaves are shown life size with the exception of numbers 20 and 21 shown at 2 × life size.

1. *L. mairei* var. *mairei*
2. *L. pubescens*
3. *L. citriodora*
4. *L. maroccana*
5. *L. antineae*
7. *L. multifida*
8. *L. coronopifolia*
9. *L. rotundifolia*
10. *L. minutolii* var. *minutolii*
11. *L. pinnata*
12. *L. canariensis*
13. *L. buchii* var. *gracile*
14. *L. bipinnata*
15. *L. subnuda*
16. *L. dhofarensis*
17. *L. nimmoi*
18. *L. somaliensis*
19. *L. galgalloensis*
20. *L. hasikensis*
21. *L. atriplicifolia*
22. *L. lanata*
23. *L. latifolia*
24. *L. angustifolia*
25. *L. stoechas* subsp. *stoechas*
26. *L. viridis*
27. *L. dentata* var. *dentata*

شكل رقم (F) رسوم توضيحية قياسية تبين التنوع الشكلي للأوراق النباتية في الأنواع المختلفة للخزامى ، و تظهر هذا الرسوم المساحة الكاملة والقياسية للورقة في الأنواع المختلفة والمنسوبة إلى بعضها وفق مقياس معتمد،(Tim Upson،2002).



شكل (G). جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC-Agilent(model:7986) الموصول على وحدة الكشف بالطيف الكتلي (Inert-MS) من Agilent, USA والمتوفر لدى مخابر قسم التقانات الصناعية الغذائية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية.

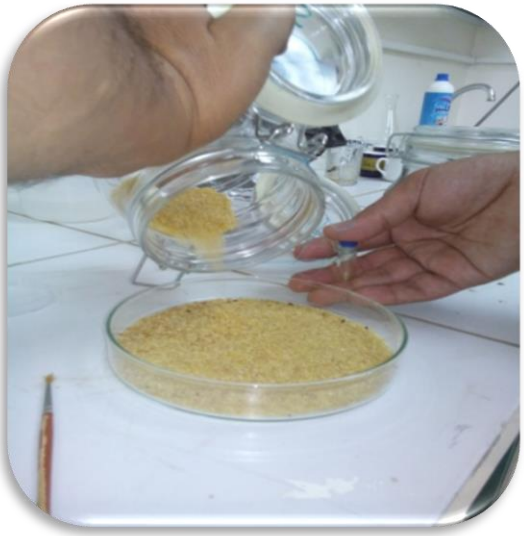


الشكل (H). حشرة الخنفساء الصدئية، اليرقة يميناً , والبالغة يساراً.



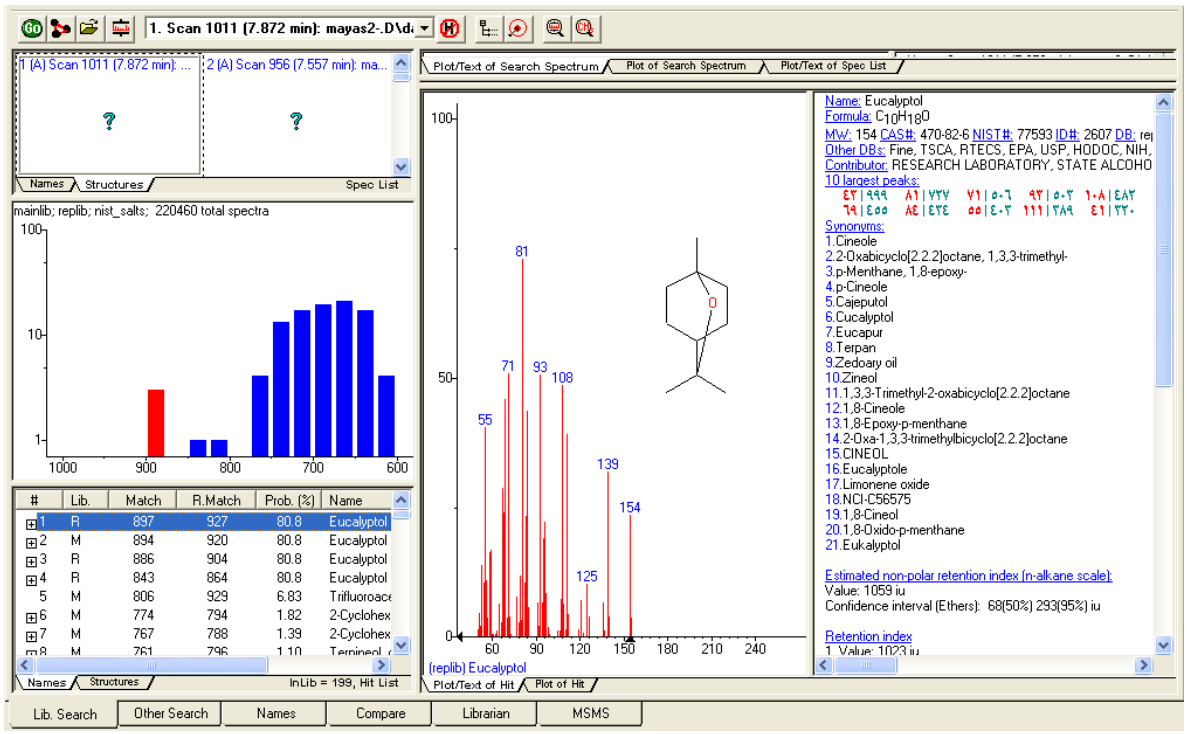
الشكل (I). فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط ، اليرقة يميناً والبالغة يساراً.



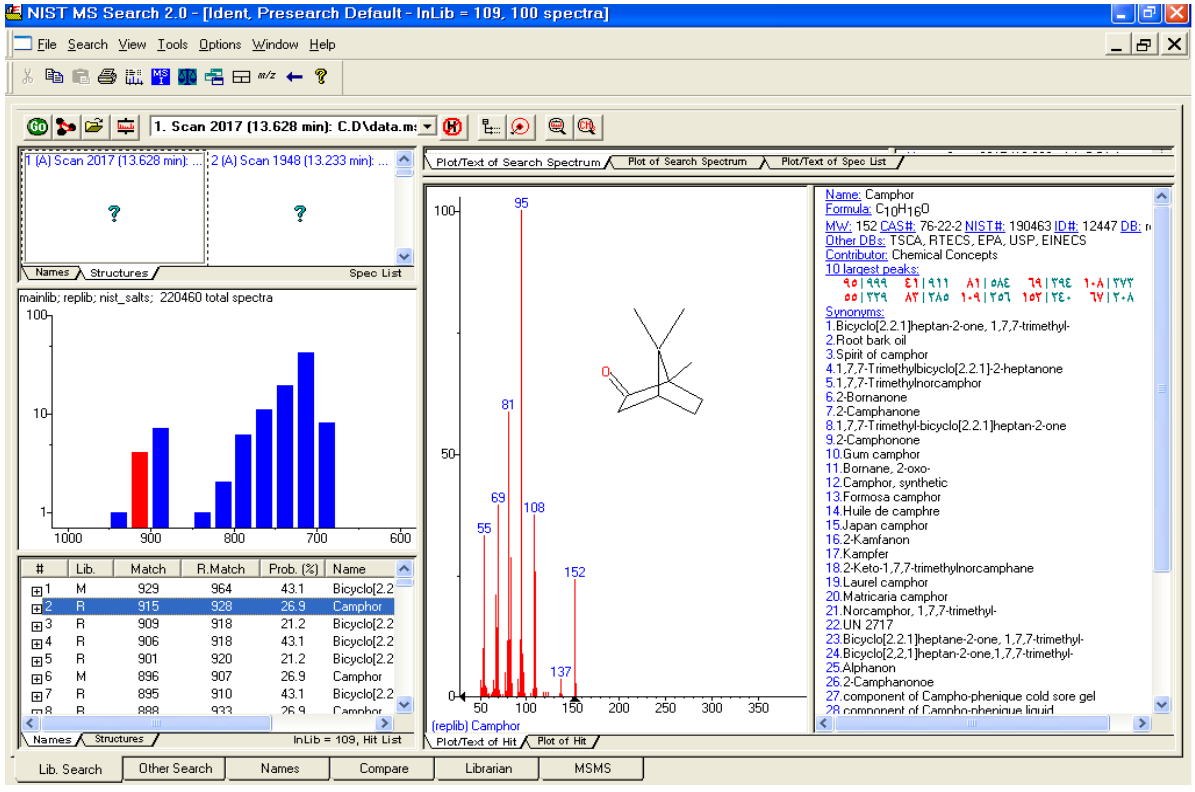




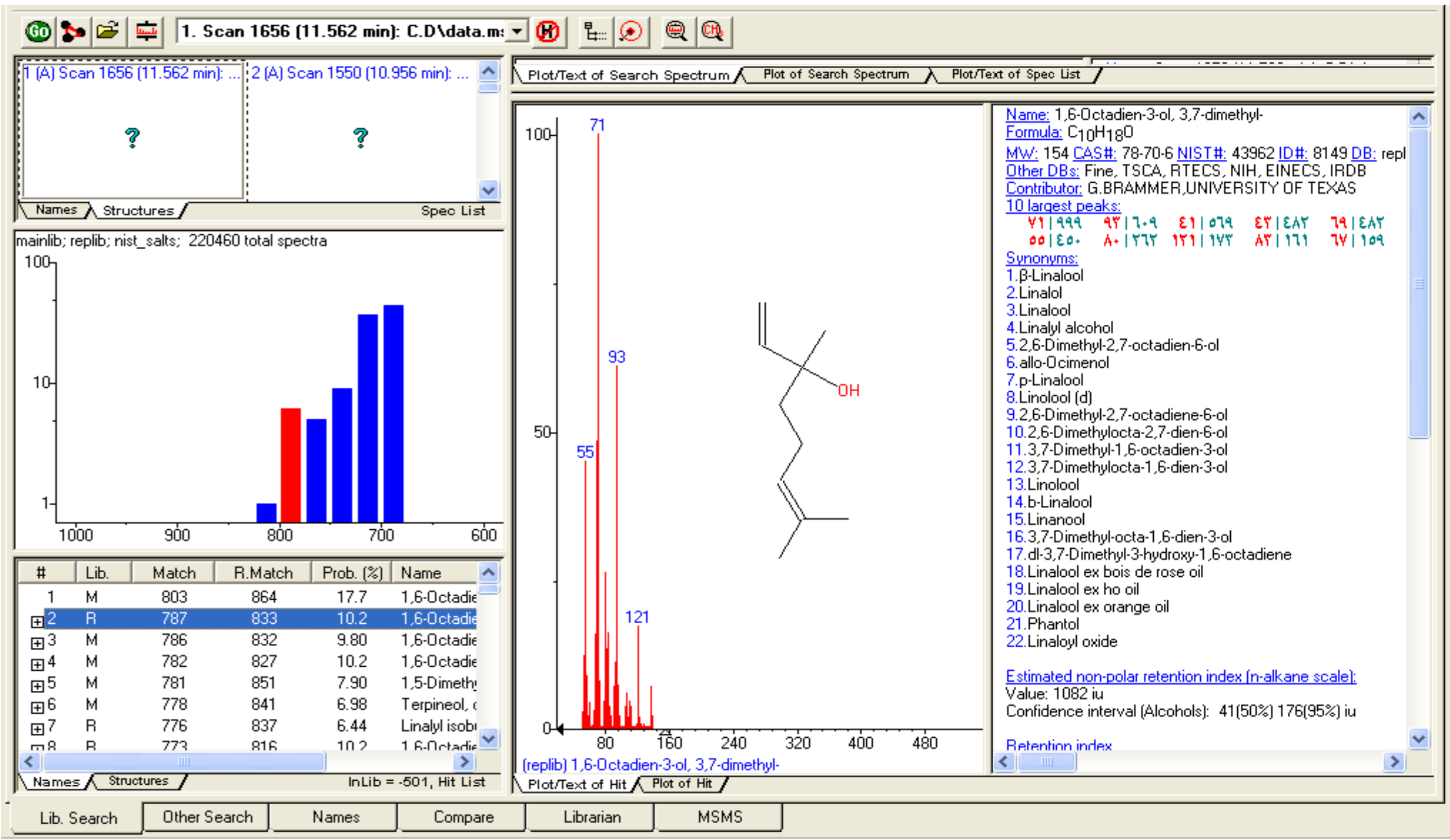
الشكل (J).تنفيذ التجربة الحشرية وإفراغ محتوى الإناء الزجاجي لأخذ القراءات.



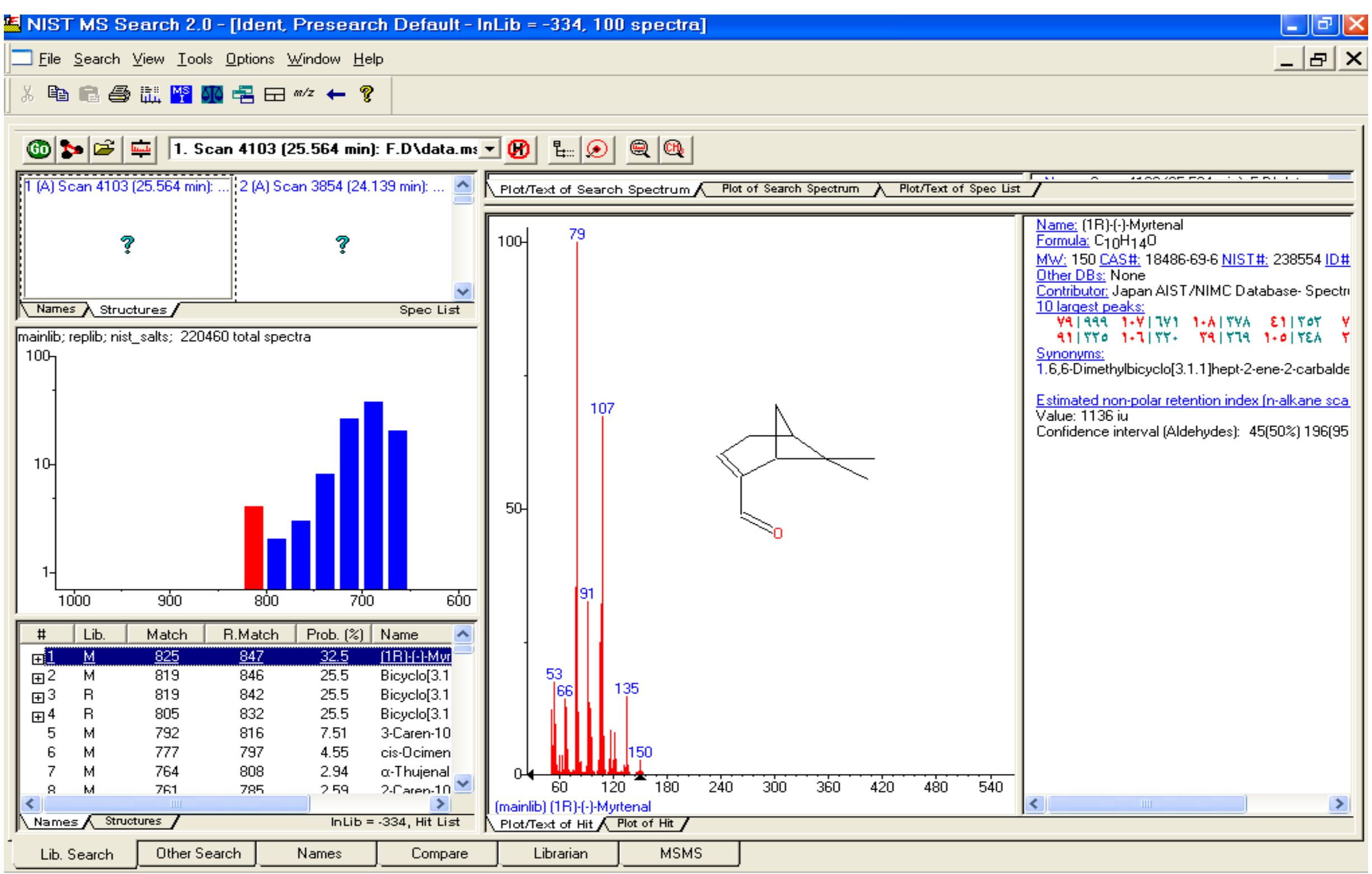
شكل (K)، مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لـ Eucalyptol،(أحادي تربين أوكسيجيني، وحيد الحلقة، استر)



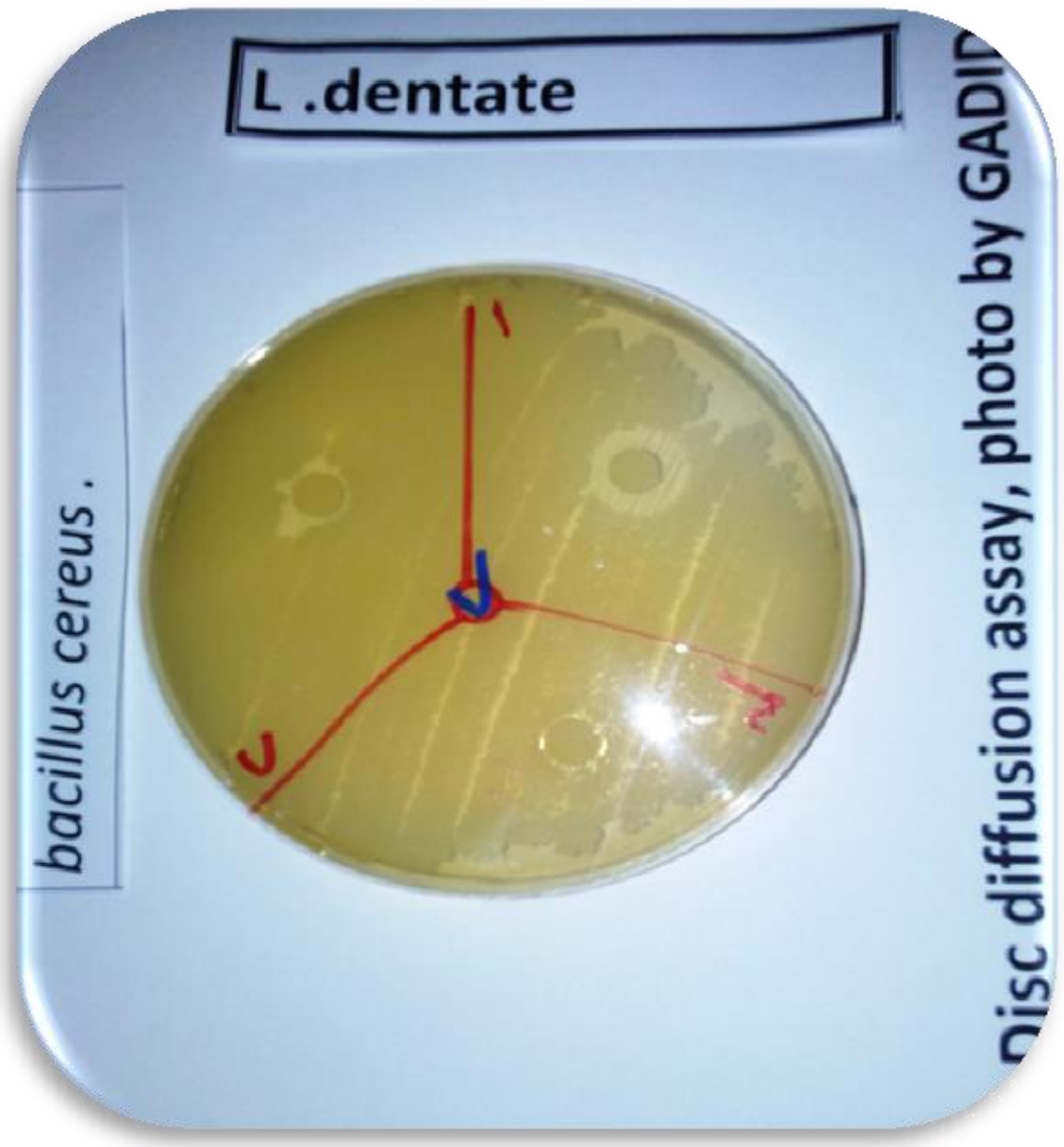
شكل (L)، مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لـ Camphor،(أحادي تربين أوكسيجيني، ثنائي الحلقة، كيتون)

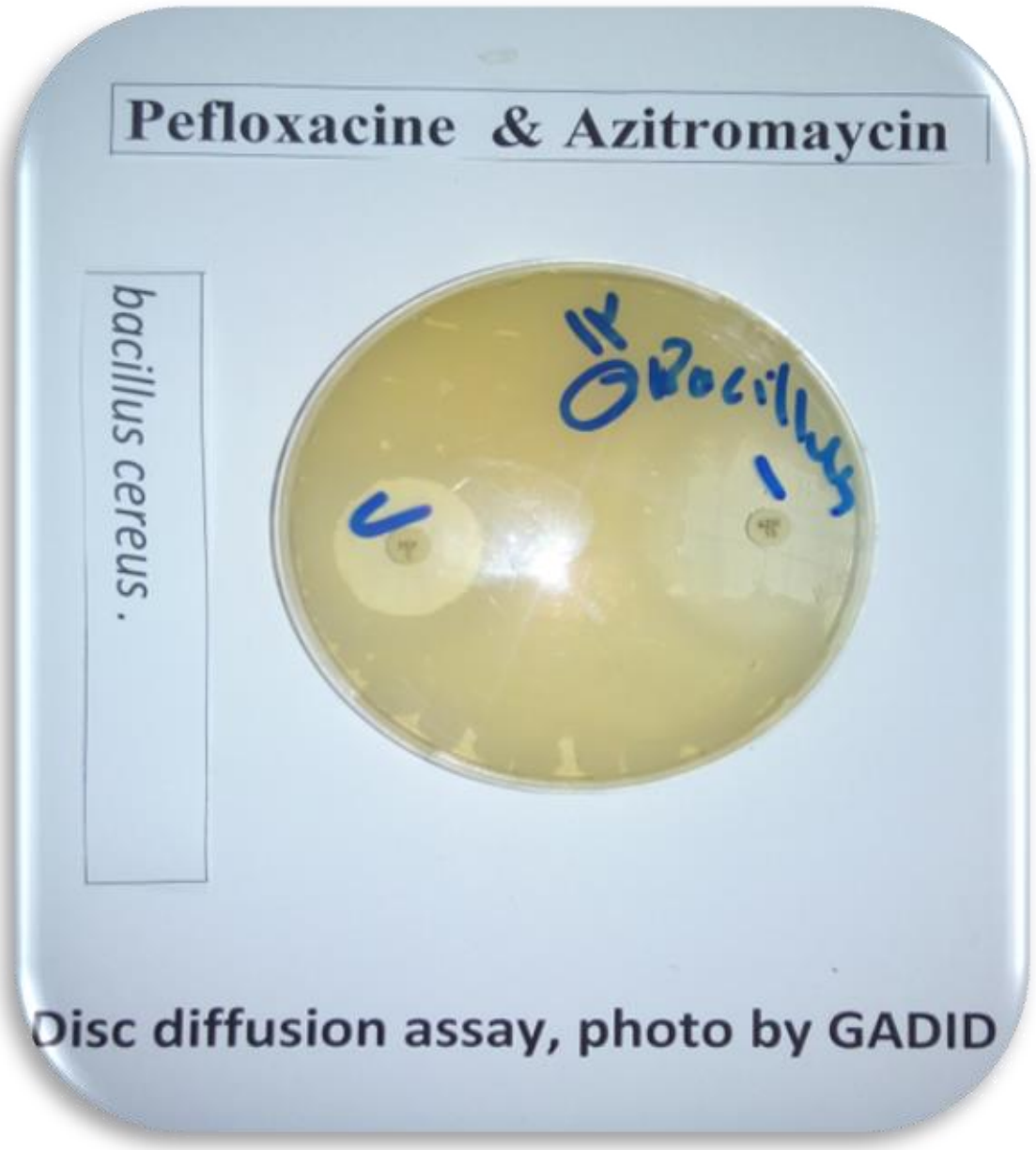


شكل (M)، مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لمركب Linalool، (أحادي تربين أوكسيجيني، لاحلقي، كحول)

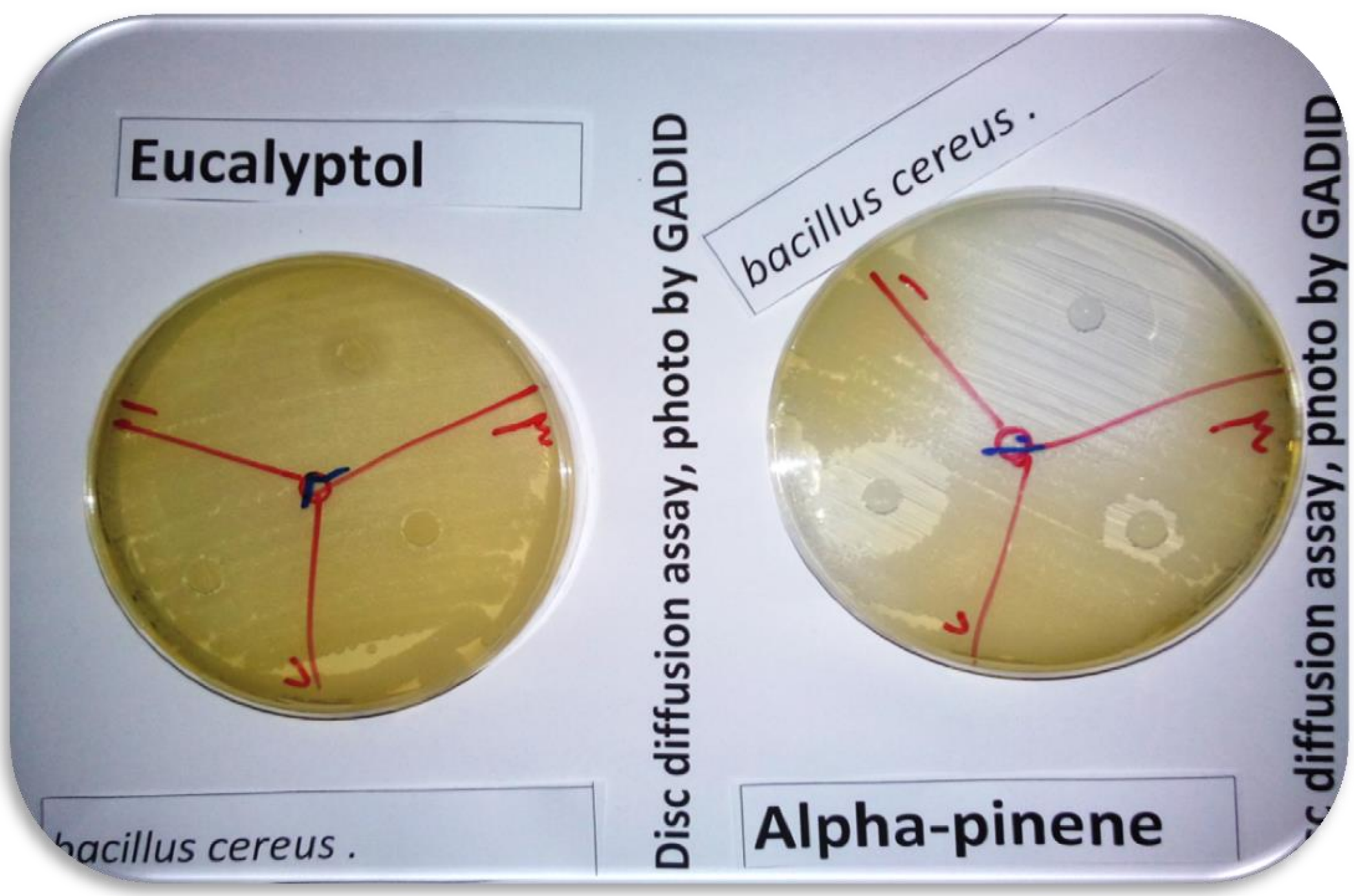


شكل (N)، مخرجات المكتبة الإلكترونية NIST لـ Myrtenal، (أحادي تربين أوكسيجيني، ثنائي الحلقة ،ألدهيد)

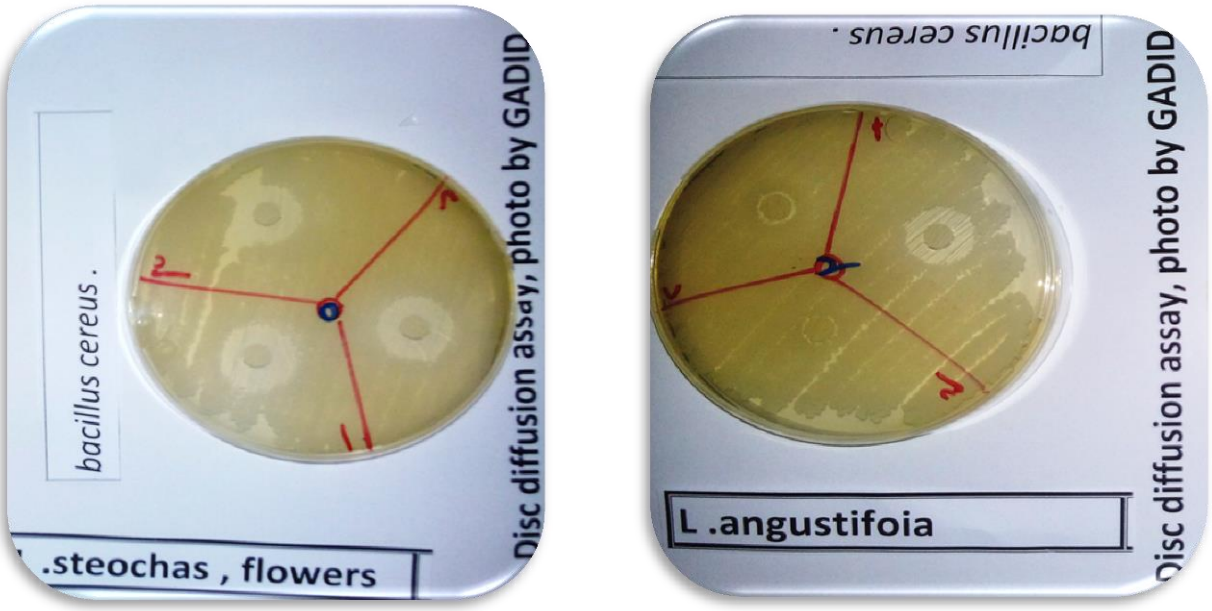




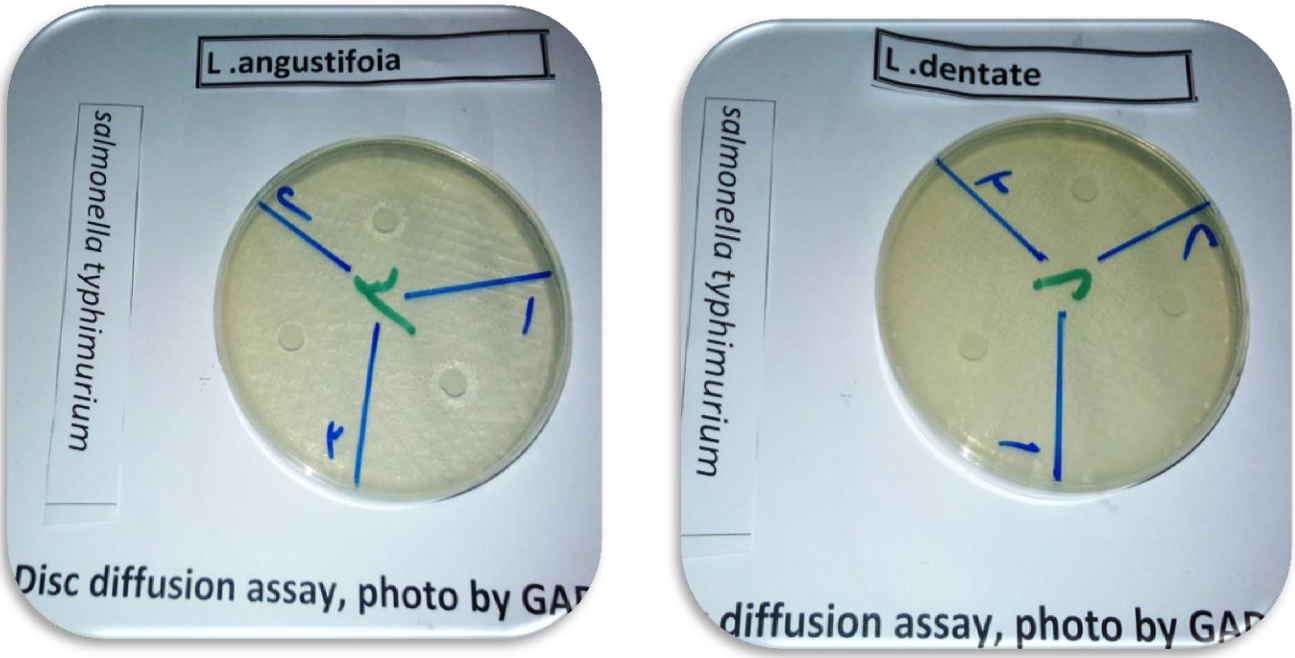
شكل (O).الطبق على اليمين يظهر التثبيط في نمو العصوية الشمعية *B.cer* المحيط بثلاث أقراص (1 و2 و3) انتشر منها زيت (*L.dentata* L.) بالتراكيز الثلاث (100% و50 % و25 %) على التوالي، والطبق على اليسار يظهر تثبيط الجرثومة نفسها بقرصي تحسسAzithromycin (اليمين)، وPefloxacine (اليسار).



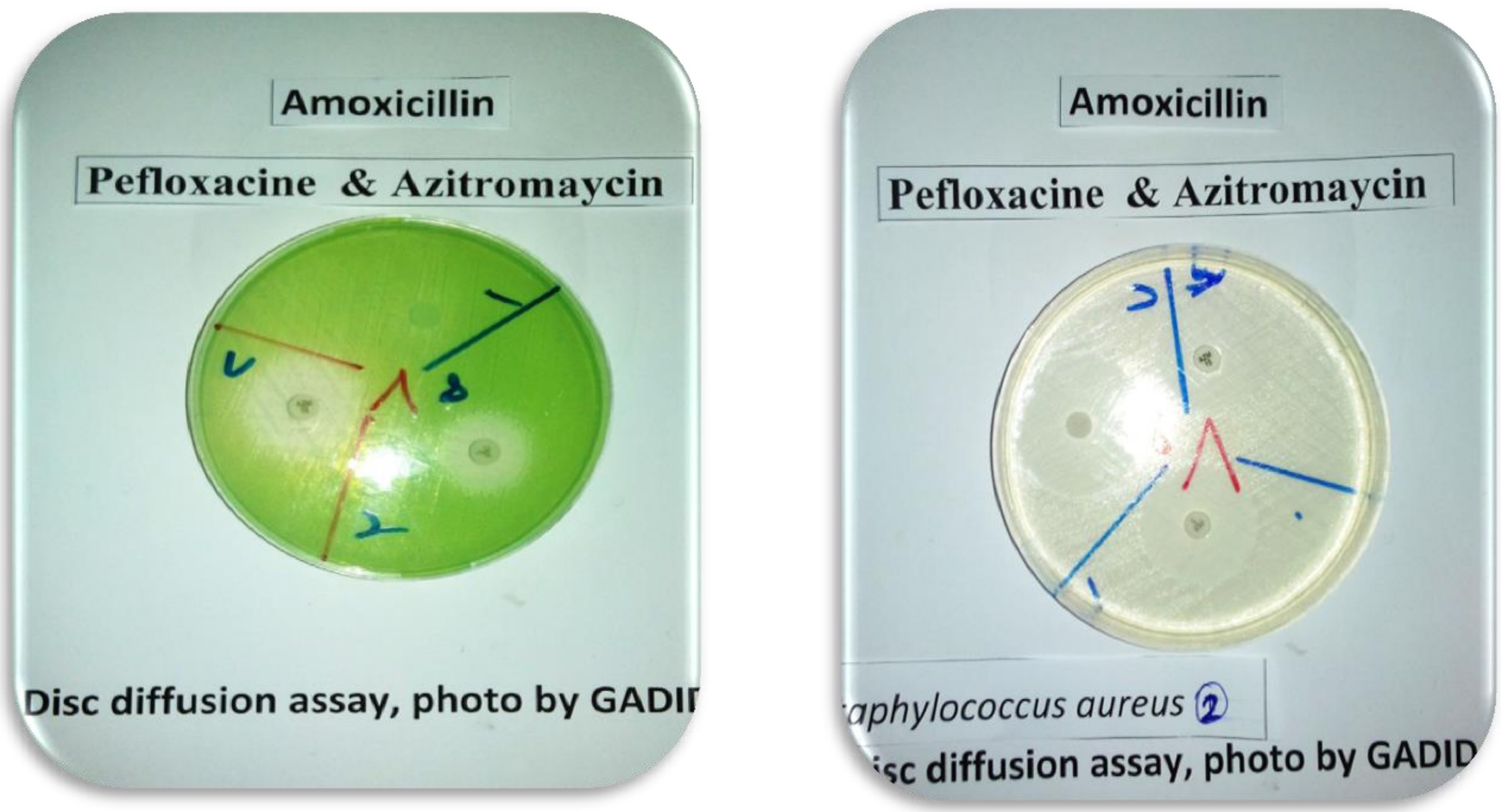
شكل (P).التثبيط الحاصل في نمو *B.cer* المحيط بثلاث أقراص (1 و2 و3) انتشر منها مركبي α-Pinene (الطبق الأيمن) و 1,8-Cineole (الطبق الأيسر) بالتراكيز الثلاث (100 % و50 % و 25 %)، على التوالي.



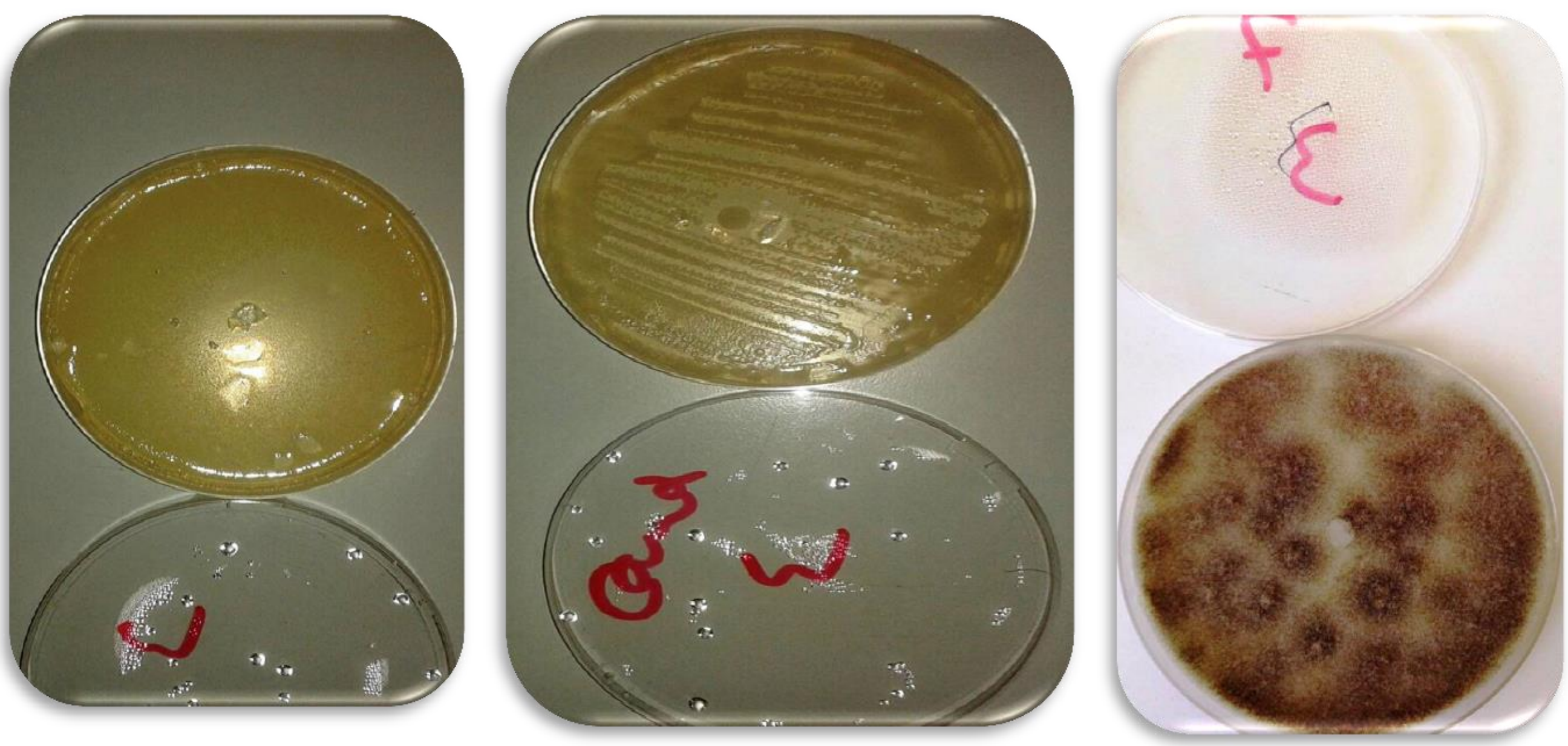
شكل (Q).التثبيط الحاصل في نمو *B.cer* المحيط بثلاث أقراص (1و2و3) انتشر منها زيت (*L.angustifolia* L.)(الطبق الأيمن)، وزيت (*L.stoechas L.*) بالتراكيز الثلاث(1) 100 % و(2) 50 % و(3) 25 %،على التوالي.



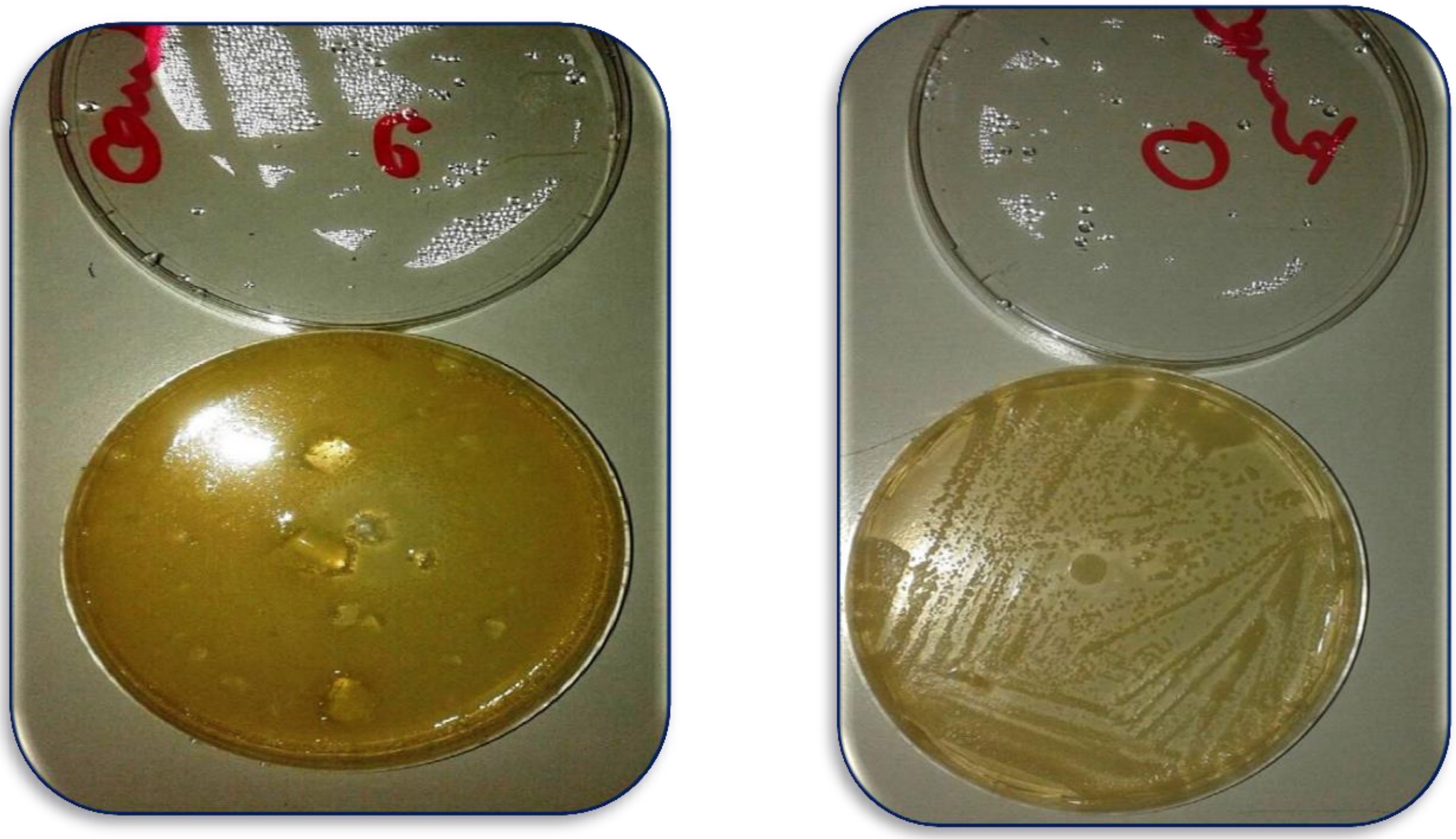
شكل (R).التثبيط الحاصل في نمو *S.typh* المحيط بثلاث أقراص (1و2و3) انتشر منها زيت (*L.angustifolia* L.) (الطبق الأيمن)، وزيت(*L.dentata L.*). بالتراكيز الثلاث (1) 100 % و(2) 50 % و(3) 25 %.



شكل (S).الطبق الأيمن يظهر التثبيط في نمو بكتريا العنقودية الذهبية *S.aur2* المحيط بأقراص تحسس 1) Pefloxacine و 2 Amoxicillin و 3 Azithromycin)، الطبق الأيسر يظهر التثبيط في نمو بكتريا الزائفة الزنجارية *Ps.aeru* المحيط بأقراص تحسس (1)Azithromycin و(2)Amoxicillin و(3) Pefloxacine.



شكل (T).الطبق الأيمن يظهر ضعف التثبيط الحاصل في نمو فطر *A.niger* حول قرص مشرب بمركب -β *Pinene*، في حين تثبط نمو الفطر *C.alb* بنفس التركيز من المركب نفسه في الطبق الأوسط، في الطبق الأيسر يظهر تثبط فطر *C.alb* حول حفرة احتوت لحظة بدء الحضانة على (50 ميكرولتر) من نفس المركب.



شكل (U).الطبق الأيمن يظهر التثبيط في نمو فطر *C.alb* ناتج عن انتشار مركب 1,8-Cineole من القرص بالتركيز (100%)، الطبق الأيسر يظهر التثبيط في نمو الفطر نفسه بفعل المركب نفسه المنتشر من حفرة ملئت مع بدء الحضانة بـ (50 ميكرولتر.حفرة$^{-1}$) من المركب 1,8-Cineole.



شكل (V).الطبق الأيمن يظهر التثبيط في نمو فطر *A.niger* ناتج عن انتشار زيت (*L.angustifolia* L.) من القرص بالتركيز (100%)، الطبق الأيسر يظهر التثبيط في نمو الفطر نفسه بفعل المركب نفسه المنتشر من حفرة، (50 ميكرولتر.حفرة$^{-1}$).

الفصل السابع

المراجع

References

المراجع العربية:

(1) **إبراهيم، محمد والناصر، زكريا (2009).** دراسة كفاية بعض المستخلصات والزيوت النباتية والمساحيق الخاملة في الوقاية من خنفساء اللوبياء (Coleoptera :Bruchidae) (.Fab) *Callosobruchus maculates* على بذور الحمص. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد (25) – العدد 1- الصفحات :107-120 .

(2) **أطلس النباتات الطبية والعطرية (2012).** المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد)، دمشق، سوريا .

(3) **البار، حسن بن عبد القادر حسن (2001).** المكونات الكيميائية للزيت الطيار في سبعة نباتات برية من العائلة الشفوية تنمو في المنطقة الغربية بالمملكة العربية السعودية. ورقة بحث في مؤتمر العلوم الأول، مسجلة بالرقم **(BIO11)**.

(4) **الحديدي ، سناء و عزيز، خماس و ومطني ، حسين (2014).** تأثير استعمال بعض التوابل في مكافحة بالغات حشرة الصدئية الطحين خنفساء (الحمراء) *Tribolium castaneum* (Herbest) (Coleoptera:Tenebrionidae). مجلة ديالى للعلوم الزراعية. 6(2):(248-257).

(5) **العودة، أيمن الشحاذة و خيتي، مأمون (2008).**فسيولوجيا المحاصيل الحقلية.(الجزء النظري). كلية الهندسة الزراعية .منشورات جامعة دمشق.(317 صفحة).

(6) **القطب، محمد عدنان و البطل، نبيل (1986).** مقرر النباتات الطبية و العطرية.الجزء العملي. كلية الزراعة، جامعة دمشق، منشورات جامعة دمشق.

(7) **المنصور، ناصر عبد علي حليفي .(1995)** تأثير مستخلصات مختلفة من نبات الغزال في الأداء الحياتي للذبابة البيضاء. رسالة دكتوراه .كلية العلوم–جامعة البصرة.(126 صفحة).

(8) **الغزالي، مشتاق طالب ؛ الخفاجي، رافع شاكر؛ ألشكري، بيداء محسن (2009).** الفاعلية الحيوية لمستخلصات أوراق نبات الياسمين الزفر في حياتية بالغات خنفساء الطحين الصدئية . مجلة الكوفة لعوم الحياة ، عدد خاص المؤتمر العلمي الثاني لجامعة الكوفة للعلوم الصرفة و التطبيقية .

(9) **الرهبان، بهاء و شهاب، عدوان (2011).** آفات الحبوب المخزونة في سورية طرائق الوقاية والتعقيم، منشورات مشروع الإزالة التدريجية لغاز بروميد الميثيل ببدائل آمنة في تعقيم الحبوب في الجمهورية العربية السورية، MP/SYR/01/182، 163 صفحة.

(10) **بدر الدين، رضوان و العقلة ، بسام و الأمير، لينا (2013).** دراسة التركيب الكيميائي و التضاد البكتيري للزيوت العطرية المستخلصة من قشور ثمار الحمضيات. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية. المجلد (29).العدد (2).83-100.

(11) **حسن آغا، محمد عصام،(2001).** دراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري في نبات الخزامى .*L.Stoechas* L من الفصيلة الشفوية Lamiaceae المنتشر في المغرب. مجلة جامعة دمشق، المجلد (17). العدد (2). 131-140.

(12) **شبع، سهاد حميد حسن (2011).** تأثير مستخلصات ثمار نبات الداتورة *Datura innoxia* في بعض جوانب الأداء الحياتي لحشرة الخابرا *Trogerderma granarium* .مجلة الكوفة للعلوم، المجلد (3) . العدد (29).

(13) **شهاب، هيام والنوري، سمير (1996).** علم العقاقير (2) النباتات الطبية، كلية الصيدلة بجامعة دمشق، منشورات جامعة دمشق.

References:

(1) Aazza, S., Lyoussi, B. and Miguel, M.G.,(2011). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds. *Molecules, 16*(9), pp.7672-7690.

(2) Abroomand Azar P., Torabbeigi M., Sharifan A., Tehrani M. S.,(2011). Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Lavandula angustifolia* Isolated by Solvent Free Microwave Assisted Extraction and Hydrodistillation. *Journal of Food Biosciences and Technology 1*, 19-24.

(3) Abbott, W.S.,(1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol, 18*(2), pp.265-267.

(4) Adaszyńska-Skwirzyńska, M., Swarcewicz, M. and Dobrowolska, A.,(2014). The potential of use lavender from vegetable waste as effective antibacterial and sedative agents. *Med. Chem, 4*(11), pp.734-737.

(5) Agarwal, V., Lal, P. and Pruthi, V.,(2010). Effect of plant oils on *Candida albicans*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 43*(5), pp.447-451.

(6) Aliabadi FH, Lebaschi MH, Hamidi A (2008). Effects of *Arbuscular Mycorrhizal* Fungi, hosphorus and water stress on quantity and quality characteristics of Coriander. *J. Adv iNat Appl. Sci. 2*(2): 55-59.

(7) Al–Naser, Z. and Al-Abrass, N.,(2014). Chemical composition and fungitoxic activities of *Lavandula officinalis* L. oil and comparison with synthetic fungicide on the growth some fungi in vitro. *International Journal of ChemTech Research, 6*(11), pp.4918-4926.

(8) Al-Niaame, A.E. and Aziz, R.A.,(2013). Study of *Lavandula officinalis* L. buds of flowers extracts activity against some species of multi-drug resistant clinical isolates of bacteria. *Iraqi Journal of Biotechnology*, *12*(2), pp.82-91.

(9) Al-Sarar, A.S., Hussein, H.I., Abobakr, Y., Bayoumi, A.E. and Al-Otaibi, M.T.,(2014). Fumigant toxicity and antiacetylcholinesterase activity of Saudi *Mentha longifolia* and *Lavandula dentata* species against *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae). *Turkish journal of entomology, 38*(1), pp.11-18.

(10) Aly, M.M., Al-Ghamdi, M., Bafeel, S.O. and Khedr, A.M., 2013. Antimicrobial activities and phytochemical analysis of the essential oil of *Lavandula dentata* and *Plectranthus tenuiflorus*, collected from Al Baha region, Saudi Arabia. *Life Science Journal, 10*(4).

(11) Andrews, S.,(2002). *Lavandula x heterophylla* and *L. x allardii*: a puzzling complex. Lavender: the genus *Lavandula*.(*Medicinal and aromatic plants: industrial profiles, 29*).

(12) Andrys, D. and Kulpa, D. (2016). *Lavandula* spp. essential oils-its use, composition and genetic basic of production. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. 328*. 7-22. 10.21005/AAPZ2016.39.3.01.

(13) Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S. and Cabras, P.,(2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of Lavandula stoechas L. ssp. stoechas essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of agricultural and food chemistry, 54*(12), pp.4364-4370.

(14) Aprotosoaie, A.C., Spac, A., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V.F., Dorneanu, V. and Stanescu, U.,(2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Farmacia, 58*(1), pp.46-53.

(15) Arias, D.C.,(2004). Alternative medicines' popularity prompts concern. *Nation's Health, 34*(6), pp.6-6.

(16) Ayvaz A, Sagdic O, Karaborklu S, Ozturk I.(2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. 13pp. *Journal of Insect Science 10*:21

available online: insectsicence.org/10.21.

(17) Badreddine, B.S., Olfa, E., Samir, D., Hnia, C. and Lahbib, B.J.M.,(2015). Chemical composition of *Rosmarinus* and *Lavandula* essential oils and their insecticidal effects on *Orgyia trigotephras* (Lepidoptera, Lymantriidae). *Asian Pacific journal of tropical medicine*, *8*(2), pp.98-103.

(18) Baptista, R., Madureira, A.M., Jorge, R., Adão, R., Duarte, A., Duarte, N., Lopes, M.M. and Teixeira, G.,(2015). Antioxidant and Antimycotic activities of two native *Lavandula* species from Portugal. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.pp.1-10.

(19) Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. and Angioni, A.,(2010). Chemical variability, antifungal and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil from Sardinia. *Natural product communications*, *5*(2), pp.329-335.

(20) Behmanesh, F., Pasha, H., Sefidgar, A.A., Taghizadeh, M., Moghadamnia, A.A., Adib Rad, H. and Shirkhani, L.,(2015). Antifungal effect of lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) and clotrimazole on Candida albicans: an in vitro study. *Scientifica*, , 5 pages.

(21) Benbelaid, F., Bendahou, M., Khadir, A., Abdoune, M.A., Bellahsene, C., Zenati, F., Bouali, W. and Abdelouahid, D.E.,(2017). Antimicrobial activity of essential oil of *Lavandula multifida* L. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, *2*(2), pp.244-247.

(22) Blazekovic, B., Stanic, G., Pepeljnjak, S. and Vladimir-Knezevic, S.,(2011). In vitro antibacterial and antifungal activity of *Lavandula x intermedia* Emeric *ex Loisel*.'Budrovka'. *Molecules*, *16*(5), pp.4241-4253.

(23) Boeckelmann, A.,(2008). Monoterpene production and regulation in lavenders (Lavandula angustifolia and Lavandula x intermedia) *(Doctoral dissertation, University of British Columbia).*

(24) Bona, C.M.D. and Biasi, L.A.,(2010). Influence of leaf retention on cutting propagation of *Lavandula dentata* L. *Revista Ceres*, *57*(4), pp.526-529.

(25) Boti J. B., A. Bighelli., C. Cavaleiro., L. Salgueiro and J. Casanova.(2006). Chemical Variability of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* Berry and Leaf Oils from Corsica, Analysed by Combination of GC, GC–MS and 13C-NMR. *Flavour Fragr. J.,21*: 268–273.

(26) Bouayed, J. and Bohn, T.,(2010). Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative medicine and cellular longevity*,*3*(4), pp.228-237.

(27) Bousmaha, L., Boti, J.B., Bekkara, F.A., Castola, V. and Casanova, J.,(2006). Infraspecific chemical variability of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *Flavour and fragrance Journal*, *21*(2), pp.368-372.

(28) Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M.M., Aissa, R.B., Zgoulli, S., Thonart, P., Carlier, A., Marlier, M. and Lognay, G.C.,(2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, *17*(5), pp.584-586.

(29) Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T.,(1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, *28*(1), pp.25-30.

(30) Brummitt, R.K. and Powell, C.E. (1992). Authors of Plant Names. Royal Botanic Gardens, Kew.

(31) Buckle, J.,(2003). Care of the elderly (Chapter 15)—essential oils in practice. *Clinical Aromatherapy*, 2nd edition. Elsevier Ltd., Amsterdam, The Netherlands.

(32) Burdock, G.A.,(2016). Fenaroli's handbook of flavor ingredients. CRC press.

(33) Cantino, P.D., Harley, R.M. and Wagstaff, S.J. (1992). Genera of Labiatae: Status and Classification.In R.M. Harley and T. Reynolds (eds), *Advances in Labiate Science: 511*–22. Royal Botanic Gardens, Kew.

(34) Cavanagh, H.M.A. and Wilkinson, J.M.,(2002). Biological activities of lavender essential

oil. *Phytotherapy research*, *16*(4), pp.301-308.

(35) Cavanagh, H.M.A. and Wilkinson, J.M.,(2006). Bioactivity of Lavandula Essential Oils, Hydrosols and Plant Extracts. *Rural Industries Research and Development Corporation*.

(36) Ceyhan, N., Keskin, D. and Ugur, A.,(2012). Antimicrobial activities of different extracts of eight plant species from four different family against some pathogenic microoorganisms. *J. Food Agric. Environ*, *10*(1), pp.193-197.

(37) Chatzopoulou, P.S., Goliaris, A.H. and Katsiotis, S.T.,(2003). Contribution to the analysis of the volatile constituents from some lavender and lavandin cultivars grown in Greece. *Scientia Pharmaceutica*, *71*(3), pp.229-234.

(38) Chaytor, D.A. (1937). A Taxonomic Study of the Genus *Lavandula*. *Journal of the Linnean Society – Botany 51*: 153–204.

(39) Chew, K.K., Khoo, M.Z., Ng, S.Y., Thoo, Y.Y., Aida, W.W. and Ho, C.W.,(2011). Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*, *18*(4), p.1427.

(40) Chu, C.J. and Kemper, K.J.,(2001). Lavender (Lavandula spp.). *Longwood Herbal Task Force*, *32*.

(41) CLSI. (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility.Tests for Bacteria That Grow Aerobically;Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute**.**

(42) Cowan, M,M., (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*, *12*: 564–82.

(43) Dai, J., Zhu, L., Yang, L. and Qiu, J.,(2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from *Wedelia prostrata*. *EXCLI journal*, *12*, p.479.

(44) Dawidowicz, A. L., & Olszowy, M. (2014). Does antioxidant properties of the main component of essential oil reflect its antioxidant properties? The comparison of antioxidant properties of essential oils and their main components. Natural product research, 28(22), 1952-1963.

(45) De Martino, L., De Feo, V. and Nazzaro, F.,(2009) . Chemical composition and in vitro antimicrobial and mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils. *Molecules*, *14*(10), pp.4213-4230.

(46) De Rapper, S.,(2014). Synergistic interactions of lavender essential oil (Doctoral dissertation). the University of the Witwatersrand., Johannesburg.185page.

(47) Deinenger, E.,(1995). The spectrum of activity of plant drugs containing essential oils. In *Conference Proceedings, Holistic Aromatherapy. San Francisco: Pacific Institute of Aromatherapy* (pp. 15-43).

(48) Dewick, P.M.,(2002). Medicinal natural products: a biosynthetic approach. *John Wiley & Sons*.

(49) Dice, L.R.(1945). Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology.26*: 297-302.

(50) Dimitrov, D.S. and Vuttov, V.M.,(2015). Flora of the Basalt tuffs in the NW Syria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, *21*(4), pp.757-760.

(51) Djenane, D., Lefsih, K., Yangüela, J. and Roncalés, P.,(2011). Composition chimique et activité anti-*Salmonella enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à 7±1 C. *Phytothérapie*, *9*(6), pp.343-353.

(52) Dob, T., Dahmane, D., Tayeb, B. and Chelghoum, C.,(2005). Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, *15*(2), pp.110-114.

(53) Dohi, S., Terasaki, M. and Makino, M.,(2009). Acetylcholinesterase inhibitory activity and chemical composition of commercial essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, *57*(10), pp.4313-4318.

(54) Dorman, H.J.D. and Deans, S.G.,(2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, *88*(2), pp.308-316.

(55) Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R. and Tikkanen, M.J.,(2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. *Food chemistry*, *83*(2), pp.255-262.

(56) Dostalova, L.E.N.K.A., Detvanova, L.E.N.K.A. and Kalhotka, L.I.B.O.R.,(2014). Antimicrobial activity of aqueous herbal extracts. *In Proceedings of International PhD Students Conference Mendelnet* (pp. 403-406).

(57) Dudareva, N. and E. Pichersky (2000). Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. Plant Physiology 122:627-633.

(58) Ebadollahi, A. and Mahboubi, M.,(2011). Insecticidal activity of the essential oil isolated from *Azilia eryngioides* (Pau) Hedge et Lamond against two beetle pests. *Chilean Journal of Agricultural Research*, *71*(3), p.406.

(59) Ebadollahi, A., Safaralizadeh, M.H., Pourmirza, A.A. and Ghosta, Y.,(2010). Contact and fumigant toxicity of essential oils of *Lavandula stoechas* L. and *Eucalyptus globulus* Labill grown in Iran against *Lasioderma serricorne* F. *Biharean Biologist*, *4*(1), pp.31-36.

(60) El Miz, M., Salhi, S., El Bachiri, A., Wathelet, J.P. and Tahani, A.,(2014). Adsorption of essential oil components of *Lavandula angustifolia* on sodium modified bentonite from Nador (North-East Morocco). *African journal of biotechnology*, *13*(33).

(61) Emamjomeh, L., Imani, S., Talebi, K., Moharramipour, S. and Larijani, K.,(2014). Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss.(*Lamiaceae*) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *European Journal of Experimental Biology*, *4*(3), pp.253-257.

(62) Epidi, T.E. and Odili, E.O.,(2009). Biocidal activity of selected plant powders against *Tribolium castaneum* Herbst in stored groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *African Journal of Environmental Science and Technology*, *3*(1), pp.001-005.

(63) Ercan, F., BAŞ, H., Koc, M., Pandir, D. and Öztemiz, S.,(2013). Insecticidal activity of essential oil of *Prangos ferulacea* (Umbelliferae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: *Pyralidae*) and *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *37*(6), pp.719-725.

(64) Errafiy, N., Ammar, E. and Soukri, A.,(2013). Protective effect of some essential oils against oxidative and nitrosative stress on *Tetrahymena thermophila* growth. *Journal of essential oil research*, *25*(4), pp.339-347.

(65) Faleiro, M.L.,(2011). The mode of antibacterial action of essential oils. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, *2*, pp.1143-1156.

(66) Faleiro, M.L.,(2011). The mode of antibacterial action of essential oils. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, 2, pp.1143-1156.

(67) Farahani, H.A., Valadabadi, S.A., Daneshian, J. and Khalvati, M.A.,(2009). Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. *Journal of Medicinal Plants Research*, *3*(5), pp.329-333.

(68) Fathi, A. and Shakarami, J.,(2014). Larvicidal effects of essential oils of five species of Eucalyptus against *Tribolium confusum* (du Val) and *T. castaneum* (Herbest). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *7*(5), p.220.

(69) Ferraro, G., Martino, V., Martín, M.S.C., Mareggiani, G. and Broussalis, A.,(2003). Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, *29*(3), pp.421-426.

(70) Friedman, M., Henika, P.R. and Mandrell, R.E.,(2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia*

coli, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of food protection*, *65*(10), pp.1545-1560.

(71) Ghazal, A.(2008). *Landscape ecological, phytosociological and geobotanical study of Eu-. Mediterranean in West of Syria*. – Ph.D. *thesis*, University of Hohenhiem (320), 70593 Stuttgart, Germany.

(72) Gingins De La Sarraz, F.C.J. (1826). Histoire Naturelle des Lavandes. Paris.

(73) Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L. and Portugal, H.,(2004). Antifungal effect of various essential oils against *Candidaalbicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*, *18*(12), pp.990-995.

(74) Giray, E.S., Kırıcı, S., Kaya, D.A., Türk, M., Sönmez, Ö. and Inan, M.,(2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, *74*(4), pp.930-935.

(75) Global environment facility.(1999).syria – beodiversity conservation and protected area.project proposal for PDF block-B grant. available on internet as RTF file. 17 pp.

(76) Gören, A.C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmusç, Z. and Pezzuto, J.M.,(2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. stoechas. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *57*(9-10), pp.797-800.

(77) Goudjil, M.B., Ladjel, S., Bencheikh, S.E., Zighmi, S. and Hamada, D.,(2015). Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis Lauraceae*. *J Chem Pharm Res*, *7*(1), pp.379-85.

(78) Guenther E. (**1952**) The Essential Oils. Malabar Florida: *Krieger Publishers.*

(79) Habibi, G.F., Moarefi, M. And Rafiei, K.Z.,(2012). Fumigant Toxicity And Repellency Effect Of Essential Oils Of Pinus Eldarica And *Cupressus Arizonica* On Adults Of Flour Moth, *Ephestia Kuehniella* Zeller.(Lep., Pyralidae). *Journal Of Entomological Research. 3 (15)*; Page(S) 215- 225

(80) Haj Mousa, F., Laykah, S.and Ali, M.,(2011). Studying Natural Vegetation after 1991 Fire in Kassab – North of Lattakia – Syria..*Damascus university journal of basic sciences..volume.(2).* 273-289 pp.

(81) Hashemi, S.M. and Rostaefar, A.,(2014). Insecticidal Activity of Essential Oil from *Juniperus communis* L. *subsp*. *hemisphaerica* (Presl) Nyman against Two Stored Product Beetles. *Ecologia Balkanica*, *6*(1).

(82) Hassanpouraghdam, M.B., Hassani, A., Vojodi, L., Asl, B.H. and Rostami, A.,(2011). Essential oil constituents of *Lavandula officinalis Chaix* from Northwest Iran. *chemija*, *22*(3), pp.167-171.

(83) Hassiotis, C.N.,(2010). Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region. *Biochemical Systematics and Ecology*, *38*(4), pp.493-501.

(84) Heal, R.E., 1950. A survey of plants for insecticidal activity. *Lloydia*, *13*, pp.89-162.

(85) Hili. P. (2001). The antimicrobial properties of essential oils. Kent: *Winter Press Publishers.*

(86) Hnia, C. Mohamed, B.(2011). Genetic diversity of *Lavandula multifida* L. (Lamiaceae) in Tunisia: implication for conservation. *African Journal of Ecology, 49*: 1, 10-20.

(87) Houghton, P.J., Ren, Y. and Howes, M.J.,(2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*, *23*(2), pp.181-199.

(88) Hui L, He L, Huan L, XiaoLan L, Aiguo Z (2010). Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitisrelated bacteria. *Afr. J. Microbiol. Res. 4*(4):309-313.

(89) Iman Bajalan. (2015). Chemical.Composition of Lavandin Essential Oil (Case Study: Borujerd from Iran). *J. Appl. Sci. & Agric., 10*(4): 12-14.

(90) Imelouane, B., El Bachiri, A., Wathelet, J.P., Dubois, J. and Amhamdi, H.,(2010) . Chemical Composition, Cytotoxic and Antioxydant Activity of The Essential Oil of *Lavandula dentata*. *World Journal of Chemistry*, *5*(2), pp.103-110.

(91) Imelouane, B., Elbachiri, A., Ankit, M., Benzeid, H. and Khedid, K.,(2009). Physico-chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern Moroccan *Lavandula dentata. International Journal of Agriculture and Biology, 11*(2), pp.113-118**.**

(92) Isman, M.B.,(2008). Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, *64*(1), pp.8-11.

(93) Jemâa, J.M.B., Tersim, N., Boushih, E., Taleb-Toudert, K. and Khouja, M.L.,(2013). Fumigant control of the Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* with the noble laurel *Laurus nobilis* essential oils. *Tunisian Journal of Plant Protection*, *8*(33), p.e44.

(94) Jianu, C., Pop, G., TGruia, A. and Horhat, F.G.,(2013). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. *International journal of agriculture and biology*, *15*(4).

(95) Joel, O.O.,(2015). Efficacy of selected plant extracts against *Tribolium castaneum* Herbst in stored groundnut (*Arachis Hypogaea* L.). *African Journal of Plant Science*, *9*(2), pp.90-96.

(96) Kamatou, G.P. and Viljoen, A.M.,(2010). A review of the application and pharmacological properties of α-Bisabolol and α-Bisabolol-rich oils. *Journal of the American oil chemists' society*, *87*(1), pp.1-7.

(97) Kara, N. and Baydar, H.,(2013). Determination of lavender and lavandin cultivars (*Lavandula* sp.) containing high quality essential oil in Isparta, Turkey. *Turk J Field Crops*, *18*, pp.58-65.

(98) Kazemi, M.,(2015). Antioxidant Activity And Evaluation Essential Oil Of *Achillea Wilhelmsii* From Iran. *Trakia Journal of Sciences*, *13*(1).

(99) Kheirkhah, M., Ghasemi, V., Yazdi, A.K. and Rahban, S.,(2015). Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Ziziphora clinopodioides* Lam. used against the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Journal of plant protection research*, *55*(3), pp.260-265.

(100) Khodadoust M., Moharramipour S.(2010). Insecticidal effects of essential oil of *Cuminum cyminum* L. and *Carum copticum* C.B. Clarke on *Ephestia kuehniella* Zeller. Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran, 31 July–3 August 2010, 205 pp.

(101) Kim, S.I., Ahn, Y.J. and Kwon, H.W.,(2012). Toxicity of aromatic plants and their constituents against coleopteran stored products insect pests. In *New Perspectives in Plant Protection*. InTech.

(102) Kirmizibekmez, H., Demirci, B., Yeşilada, E., Başer, K.H. and Demirci, F.,(2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. *ssp. stoechas* growing wild in Turkey. *Natural product communications*, *4*(7), pp.1001-1006.

(103) Kotan, R., Kordali, S. and Cakir, A.,(2007). Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *62*(7-8), pp.507-513.

(104) Krumina, G., Ratkevicha, L., Nikolajeva, V., Babarikina, A. and Babarykin, D.,(2015). Influence of plant extracts on the growth of oral pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* in vitro. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, *64*(1), p.62.

(105) Kumar, T.V., Bindu, K.H., Suryanarayana, M.A., Lokesha, A.N. and Sukanya, D.H.,(2011). Genetic diversity in herbal spices. *Souvenir and Abstracts*, p.63.

(106) Lee, Y.L. and Ding, P.,(2016). Production of essential oil in plants: Ontogeny, secretory structures and seasonal variations. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews*, *2*(1).

(107) Lis-Balchin, M. ed.,(2003) . *Lavender: the genus Lavandula*. CRC press.

(108) Liška, A., Rozman, V., Kalinović, I., Ivezić, M. and Baličević, R., (2010), January. Contact and fumigant activity of 1, 8-cineole, Eugenol and camphor against Tribolium castaneum (Herbst). In *10th International Working Conference on Stored Product Protection*.

(109) Luís, Â., Duarte, A.P., Pereira, L. and Domingues, F.,(2017). Chemical Profiling and Evaluation of Antioxidant and Anti-Microbial Properties of Selected Commercial Essential Oils: A Comparative Study. *Medicines*, *4*(2), p.36.

(110) Lundmark, J.D. (1780). De *Lavandula*. Dissertatio Academica. *Uppsala*.

(111) Lynam, K. and Smith, D.,(2014). Lavender oil characterization using agilent J&W DB-1ms Ultra InertCapillary GC Columns. *Agilent Technologies, Inc*.

(112) Maestri, D.M., Nepote, V., Lamarque, A.L. and Zygadlo, J.A. (2006) Natural Products as Antioxidants. In: *Phytochemistry*: *Advances in Research, Research Singpost, Kerala*, 105-135.

(113) Maga, R., Broussalis, A., Clemente, S., Mareggiani, G. and Ferraro, G.,(2000). 1, 8 cineol: responsible for the insecticide activity of *Lavandula spica* Mill (lavender). *Revista Latinoamericana de Quimica*, *28*(3), pp.146-149.

(114) Mahboubi, M. and Kazempour, N., (2009). The antimicrobial activity of essential oil from *Perovskia abrotanoides karel* and its main components. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, *71*(3), p.343.

(115) Mahfuz, I. and Khalequzzaman, M.,(2007). Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. *University Journal of Zoology, Rajshahi University*, *26*, pp.63-66.

(116) Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Basij, M., Hosseinpour, M.H., Rastegar, F. and Nasiri, M.B.,(2011). Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. *Chilean Journal of Agricultural Research*, *71*(1), p.83.

(117) Malika, B. and Imegrave, L,(2012). Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, *4*(7), pp.96

(118) Markert, C.L. and Møller, F.,(1959) . Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *45*(5), pp.753-763.

(119) Mardafkan, N., Iranmanesh, M., Larijani, K., Mahasti, P., Nazari, F. and Zojaji, M.,(2015). Chemical components and antibacterial activities of essential oils obtained from iranian local *Lavandula officinalis* and *Thymus vulgaris* against pathogenic bacteria isolated from human. *Journal of Food Biosciences and Technology*, *5*(1), pp.31-36.

(120) Matos, F., Miguel, M.G., Duarte, J., Venâncio, F., Moiteiro, C., Correia, A.I., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Pedro, L.G.,(2009). Antioxidant Capacity of the Essential Oils From *Lavandula luisieri*, *L. stoechas* subsp. lusitanica, *L. stoechas* subsp. *lusitanica x L. luisieri* and *L. viridis* Grown in Algarve (Portugal). *Journal of Essential Oil Research*, *21*(4), pp.327-336.

(121) Matsumoto, Y., Ikemoto, A. and Tawara, S.,(1999). Antibacterial activity of cefixime against *Salmonella typhi* and applicability of E test. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *5*(3), pp.176-179.

(122) Mayor, M. ed.,(2009) . *Longman dictionary of contemporary English*. Pearson Education India.

(123) Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Lamine, S.B., Boukhchina, S. and Khouja, M.L.,(2010). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(10), pp.1745-1749.

(124) Messaoud, C., Chograni, H. and Boussaid, M.,(2012). Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species. *Natural product research*, *26*(21), pp.1976-1984.

(125) Miller, A.G. (1985). The Genus Lavandula in Arabia and Tropical NE Africa. *Notes of the*

Royal Botanic Garden, Edinburgh 42(3): 503–28.

(126) Mimica-Dukić, N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Orčić, D., Jovin, E. and Couladis, M.,(2010). Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules, 15*(4), pp.2759-2770.

(127) Mimura, Y., Inoue, T., Minamiyama, Y. and Kubo, N.,(2012). An SSR-based genetic map of pepper (*Capsicum annuum* L.) serves as an anchor for the alignment of major pepper maps. *Breeding science*, *62*(1), pp.93-98.

(128) Mohammad, H.H.,(2013). Repellency of Ethanolic extract of some indigenous plants against *Tribolium confusum* (du val)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, *2*, pp.27-31.

(129) Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.*Songklanakarin J Sci Technol*, *26*(2), 211-219.

(130) Moon, T., Wilkinson, J.M. and Cavanagh, H.M.A.,(2006). Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp. *International Journal of Aromatherapy, 16*(1), pp.9-14.

(131) Mostefa, M.B., Kabouche, A., Abaza, I., Aburjai, T., Touzani, R. and Kabouche, Z.,(2014). Chemotypes investigation of *Lavandula* essential oils growing at different North African soils. *J Mater Environ Sci, 5*, pp.1896-1901.

(132) Mothana, R.A., Alsaid, M.S., Hasoon, S.S., Al-Mosaiyb, N.M., Al-Rehaily, A.J. and Al-Yahya, M.A.,(2012) . Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa Wall*. ex Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. *Journal of Medicinal Plants Research, 6*(15), pp.3066-3071.

(133) Mouterdo, P.,(1970) . Dar el-Machreq (Ed.) La Nouvelle Flore du Liban et de la Syrie,Vol. 2, *text and atlas, Beyrouth, Liban*.

(134) Msaada, K., Salem, N., Tammar, S., Hammami, M., Jamal Saharkhiz, M., Debiche, N., Limam, F. and Marzouk, B.,(2012). Essential oil composition of Lavandula dentata, *L. stoechas* and *L. multifida* cultivated in Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *15*(6), pp.1030-1039.

(135) Munné-Bosch, S. and Alegre, L.,(1999). Role of dew on the recovery of water-stressed *Melissa officinalis* L. plants. *Journal of Plant Physiology, 154*(5-6), pp.759-766.

(136) N'dédianhoua, K.S., Majdouli, K., Khabbal, Y. and Zaïr, T.,(2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula* species *L. dentata* L*., L. pedunculata Mill* and *Lavandula abrialis* essential oils from Morocco against food-borne and nosocomial pathogens. *International Journal of Innovation and Applied Studies, 7*(2), p.774.

(137) Nei, M.,(1987). Average distance method (UPGMA). *Molecular evolutionary genetics*, pp.293-298.

(138) Nkang, A.O., Okonko, I.O., Fowotade, A., Udeze, A.O., Ogunnusi, T.A., Fajobi, E.A., Adewale, O.G. and Mejeha, O.K.,(2009). Antibiotics susceptibility profiles of bacteria from clinical samples in Calabar, Nigeria. *Journal of Bacteriology research, 1*(8), pp.089-096.

(139) Nukenine, E.N., Adler, C. and Reichmuth, C.,(2010). Bioactivity of fenchone and *Plectranthus glandulosus* oil against *Prostephanus truncatus* and two strains of *Sitophilus zeamais*. *Journal of Applied Entomology*, *134*(2), pp.132-141.

(140) Nuzhat T and Vidyasagar GM.(2013). Antifungal Investigations on Plant Essential Oils: A Review. *Int J Pharm Pharm Sci. 5*(2): 19-28.

(141) Odak, I., Talić, S., & Martinović Bevanda, A. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of three *Lamiaceae* species from Bosnia and Herzegovina.. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina 45*, 23-30.

(142) Okoh, O.O., Sadimenko, A.P. and Afolayan, A.J.,(2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by

hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food chemistry*, *120*(1), pp.308-312.

(143) Oyedemi, S.O., Okoh, A.I., Mabinya, L.V., Pirochenva, G. and Afolayan, A.J.,(2009). The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol,∝-terpineol and g-terpinene against *Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes, Proteus vulgaris* and *Escherichia coli. African Journal of Biotechnology*, *8*(7).

(144) Pandir, D. and Hatice, B.A.Ş.,(2016). Compositional analysis and toxicity of four plant essential oils to different stages of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, *40*(2).

(145) Papachristos, D.P., Karamanoli, K.I., Stamopoulos, D.C. and Menkissoglu-Spiroudi, U.,(2004). The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, *60*(5), pp.514-520.

(146) Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J. and Codina, C.,(2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(23), pp.6882-6890.

(147) Patturaja, K. and Geetha, R.V.,(2017). Evaluation of Antimycotic Activity of Three Essential Oils on *Candida Albicans*-An *Invitro* Study. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *9*(4), p.480.

(148) Piccaglia, R., Marotti, M., Giovanelli, E., Deans, S.G. and Eaglesham, E.,(1993). Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants. *Industrial crops and Products*, *2*(1), pp.47-50.

(149) Pohrib, E.L. and Nistor, E.,(2012). Spikes of azure bloom: lavender–history... and stories. *Scientific Papers. Series A. Agronomy*, *55*, pp.397-405.

(150) Prazeres, L.I.R.C.D. and Velho, C.,(2014). *Revisão do género Lavandula presente em Portugal Continental* (Doctoral dissertation, Faculdade de Ciências e Tecnologia).

(151) Pugazhvendan, S.R., Elumalai, K., Ross, P.R. and Soundarajan, M.,(2009). Repellent activity of chosen plant species against *Tribolium castaneum*. *World Journal of Zoology*, *4*(3), pp.188-190.

(152) Pugazhvendan, S.R., Ross, P.R. and Elumalai, K.,(2012). Insecticidal and repellant activities of plants oil against stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *2*, pp.S412-S415.

(153) Purohit, S.S. and Vyas, S.P.,(2004). Medicinal Plant Cultivation: A Scientific Approach: Including Processing and Financial Guidelines. *Agrobios* (India).

(154) Rahimmalek, M., Tabatabaei, B.E.S., Etemadi, N., Goli, S.A.H., Arzani, A. and Zeinali, H.,(2009). Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. *Industrial Crops & Products*, *2*(29), pp.348-355.

(155) Raina, A.P. and Negi, K.S.,(2012). Comparative essential oil composition of *Lavendula* species from India. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, *18*(3), pp.268-273.

(156) Rajendran, S. and Sriranjini, V.,(2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, *44*(2), pp.126-135.

(157) Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Ćebović, T., Vukmirović, S., & Mikov, M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC complementary and alternative medicine*, *14*(1), 1.

(158) Rostami, H., Kazemi, M. and Shafiei, S.,(2012). Antibacterial activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* against some human pathogenic bacteria. *Asian J. Biochem*, *7*(3), pp.133-142.

(159) Rozeira, A. (1949). A Secciao Stoechas Gingins do genero *Lavandula* L. *Brotéria Série de Ciências Naturais 18*(46): 1–82.

(160) Rozman, V., Kalinovic, I. and Korunic, Z.,(2007). Toxicity of naturally occurring compounds of *Lamiaceae* and *Lauraceae* to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, *43*(4), pp.349-355.

(161) Russo, S., Cabrera, N., Chludil, H., Yaber-Grass, M. and Leicach, S.,(2015). Insecticidal activity of young and mature leaves essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill. against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). *Chilean journal of agricultural research*, *75*(3), pp.375-379.

(162) Saad, A.,(2007). Essential oil composition of *Lavandula officinalis* L. grown in Jordan. *journal of kerbala university*, *5*(1), pp.81-21.

(163) Safaei-Ghomi, J. and Ahd, A.A.,(2010). Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacognosy magazine*, *6*(23), p.172.

(164) Safi, M. and Al-Mariri, A.,(2014). In vitro antibacterial activity of several plant extracts and essential oils against *Brucella melitensis*. *Herba Polonica*, *60*(1), pp.29-38.

(165) Sahu, S.K., Thangaraj, M. and Kathiresan, K.(2012). DNA extraction protocol for plants with high levels of secondary metabolites and polysaccharides without using liquid nitrogen and phenol. *ISRN Molecular Biology*.

(166) Saleem, S., ul Hasan, M., Sagheer, M. and Sahi, S.T.,(2014). Insecticidal activity of essential oils of four medicinal plants against different stored grain insect pests. *Pakistan J. Zool*, *46*(5), pp.1407-1414.

(167) Saleh, M.A., Clark, S., Woodard, B. and Deolu-Sobogun, S.A.,(2010). Antioxidant and free radical scavenging activities of essential oils. *Ethnicity & disease*, *20*(1), p.78.

(168) Salve S. D. and Bhuktar A. S.(2013).Antibacterial study of *Lavandula bipinnata* **O. Ktze.** *Asian Journal of Plant Science and Research*, *3*(4):159-161.

(169) Sangwan, N.S., Sangwan, R.S. and Kumar, S.,(1998). Isolation of genomic DNA from the antimalarial plant *Artemisia annua*. *Plant Molecular Biology Reporter*, *16*(4), pp.365-365.

(170) Sariri R., S. Seifzadeh and R.H. Sajedi.(2009). Anti-Tyrosinase And Antioxidant Activity Of Lavandula Sp. Extracts. *Pharmacologyonline 3*: 319-326.

(171) Saxena, G.O.L.D.Y., Kalra, S.S. and Gupta, N.E.E.R.J.A.,(2011). Antimicrobial activity pattern of certain terpenoids. *Int. J. Pharm. Bio Sci*, *2*(1), pp.87-91**.**

(172) Scott, J.G. and Wen, Z., 2001. Cytochromes P450 of insects: the tip of the iceberg. *Pest management science*, *57*(10), pp.958-967.

(173) Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C.,(1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, *33*(1), pp.7-15.

(174) Shabba, S.H.H. (2011). The effectiveness of plant extracts of *Datura innoxia* L. fruits on some biological aspects of Khapra beetle *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae). *Magazin Of Al-Kufa University For Biology, 3*, No 2 (2011).

(175) Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. and Khoshnoodi, M.,(2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food control*, *18*(7), pp.800-805.

(176) Sing R, Marimuthu P, De Heluani CS, Catalan Ceser AN (2006). Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, Oleoresin, and their selected components. *J. Agric. Food Chem. 54*:174-181.

(177) Singh, D., Gawande, D.Y., Singh, T., Poroikov, V. and Goel, R.K.,(2014) . Revealing pharmacodynamics of medicinal plants using in silico approach: a case study with wet lab validation. *Computers in biology and medicine*, *47*, pp.1-6.

(178) Singh, S. and Prakash, S.,(2015). Effect of Temperature and Humidity on the Culture of *Tribolium castaneum*, Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. *International Journal of Scientific and Research Publications, 5*(7), pp.1-6.

(179) Smigielski, K., Raj, A., Krosowiak, K. and Gruska, R.,(2009). Chemical composition of the essential oil of Lavandula angustifolia cultivated in Poland. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 12*(3), pp.338-347.

(180) Sokovic, M., Marin, P.D., Brkic, D. and van Griensven, L.J.,(2008). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils against human pathogenic bacteria. *Food, 1*(2), pp.220-226.

(181) Song, Y.R., Choi, M.S., Choi, G.W., Park, I.K. and Oh, C.S.,(2016). Antibacterial activity of cinnamaldehyde and estragole extracted from plant essential oils against *Pseudomonas syringae pv. actinidiae* causing bacterial canker disease in kiwifruit. *The plant pathology journal, 32*(4), p.363.

(182) Stanojević, L., Stanković, M., Cakić, M., Nikolić, V., Nikolić, L., Ilić, D. and Radulović, N.,(2011). The effect of hydrodistillation techniques on yield, kinetics, composition and antimicrobial activity of essential oils from flowers of *Lavandula officinalis* L. *Hemijska industrija*, *65*(4), pp.455-463.

(183) Tarek, N., Hassan, H.M., AbdelGhani, S.M., Radwan, I.A., Hammouda, O. and El-Gendy, A.O.,(2014). Comparative chemical and antimicrobial study of nine essential oils obtained from medicinal plants growing in Egypt. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 3*(2), pp.149-156**.**

(184) Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products, 43*, 587-595.

(185) Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of food engineering, 66*(4), 447-454.

(186) Theou, G., Papachristos, D.P. and Stamopoulos, D.C.,(2013). Fumigant toxicity of six essential oils to the immature stages and adults of *Tribolium confusum*. *Hellenic Plant Protection Journal, 6*(1), pp.29-39.

(187) Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Bisignano, G. (2005). Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49*(6), 2474–2478.

(188) Turek, C. and Stintzing, F.C.,(2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12*(1), pp.40-53.

(189) Uniyal, V., Bhatt, R.P., Saxena, S. and Talwar, A.,(2012). Antifungal activity of essential oils and their volatile constituents against respiratory tract pathogens causing *Aspergilloma* and *Aspergillosis* by gaseous contact. *Journal of Applied and Natural Science, 4*(1), pp.65-70.

(190) UPOV.(2002). Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability., *Lavandula*. *International Union for the Protection of New Varieties of Plants*..*G*/194/1.Rev.

(191) Upson, T. (2002). The taxonomy of the genus Lavandula L. In *Lavender* (pp. 16-48). *CRC Press*.

(192) Verma, R.S., Rahman, L.U., Chanotiya, C.S., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A., Singh, A. and Yadav, A.K.,(2010). Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. *Journal of the serbian chemical society, 75*(3), pp.343-348.

(193) Vincent, C. and Furnham, A.,(1996). Why do patients turn to complementary medicine? An empirical study. *British Journal of Clinical Psychology*, *35*(1), pp.37-48.

(194) Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y. and Efferth, T.,(2012). Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main

components. *Molecules*, *17*(3).

(195) Wiseman, N.,(2004). Designations of medicines. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *1*(3), pp.327-329.

(196) Wormwood, V.A.,(1991). The Fragrant Pharmacy: A Complete Guide to Aromatherapy and Essential Oils. *London: Bantam.*

(197) Yadav S S, R. Kumar, S. K. Mishra., A. K Srivastav and Madhu Tripathi.(2013). Molecular Markers Of Aromatic And Medicinal Plants: A Review. *Pharma Science Monitor.Vol - 4*, Issue - 4, Jul-Sept

(198) Yang, S.A., Jeon, S.K., Lee, E.J., Shim, C.H. and Lee, I.S.,(2010). Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural product research*, *24*(2), pp.140-151.

(199) Yıldırım, E., Emsen, B. and Kordali, S., (2013). Insecticidal effects of monoterpenes on Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae*). Journal of Applied Botany and Food Quality 86*, 198 - 204

(200) Zagorcheva, T., Stanev, S., Rusanov, K. and Atanassov, I.,(2013). Comparative GC/MS analysis of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) inflorescence and essential oil volatiles. *Agricultural Science & Technology (1313-8820)*, *5*(4).

(201) Zengin, H. and Baysal, A.H., (2014). Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules*, *19*(11), pp.17773-17798.

(202) Zhekova, G. and Nedkov, N.,(2011). Profile of lavender oil from second harvest. *Agricultural Science and Technology*, *3*(2), pp.121-122.

(203) Zheljazkov, V.D., Astatkie, T. and Hristov, A.N.,(2012). Lavender and hyssop productivity, oil content, and bioactivity as a function of harvest time and drying. *Industrial Crops and Products*, *36*(1), pp.222-228.

(204) Zohary, M.,(1973) . Geobotanical foundations of the Middle East.Geobotanica Selecta Band III - *Gustav Fischer Verlag , Stuttgart : 2* Volumes , 739 pp.

(205) Zohra,M.and Atik F.(2011). Antibacterial activity of essential oils from *Cistus ladaniferus* L.and *Lavandula stoechas* L. *International Journal of PharmTech Research*. *Vol.3*, No.1, pp 484-487.

(206) Zrira, S. and Benjilali, B.,(2003). The constituents of the oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *atlantica* Br.-Bl. and *L. stoechas ssp. stoechas* from Morocco. *J. Essent. Oil Res.*, *15*(2), pp.68-69.

(207) Zuzarte, M., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Benzarti, A., Marongiu, B., Maxia, A., Piras, A. and Salgueiro, L.,(2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Ind Crops Prod. 44*, pp.97-103.

The end

Abstract:

This Research was conducted through a period (2012-2017), at Labs of field crops in Faculty of Agriculture, biological and control studies and research centre, National Commission for Biotechnology, Damascus University. and Directorate of Labs, Ministry of Internal Trade and Consumer Protection. Our Thesis is dealing with the Local Growing Genera of Lavender. Firstly, Botanical Classification of collected samples was carried out. Secondly, Essential Oil (EO) from Aerial Parts of studied Lavenders Plants were extracted, measured and analysed to define the detailed Chemical Composition and main components. Thirdly, Biological Activity of EOs and Botanical Extracts from Classified Lavender plants was investigated to be used as Antimicrobial Agents, Anti-Insect Agents and Antioxidant Agents. Finally, Similarity among the Studied Species and Hybrids was studied by using Molecular Marker (ISSR) and most Important Morphological Characters.

Our Results demonstrated that introduced plants of Lavender into Syria, were distributed among two Species (*L.angustifolia* L. and *L.dentata* L.),and two Hybrids (*L.x allardii* and *L.x intermedia*), with Mention to (*L. angustifolia* L.) as the Most Well-Known Lavenders by Syrians, with the Most Spreading. Moreover, Existence of Wild (*L.stoechas* L.) in Coastal Plains Region of Latakia was Verified, Whereas a Small Remaining Patches of Different Sizes of *Pinus Brutia* Vegetation were containing a few bushes of (*L.stoechas* L.) Also, our Research made a Special Mention of Current Statues of Syrian *L.stoechas* L. which is trending now to be Endangered Species due to the Agriculture Activities through the Syrian Coastal Region.

Furthermore, our Thesis is Considered the First Locally Study, which Including Detailed Morphological Description for Lavender Species, Supported by Digital Photos. Morphological Similarity Study was Carried out, Based on Some of the most Characteristic Traits. as a Result ,the Dendrogram was Separated into two Main Clusters ,the First one, consisted of (*L.angustifolia* L., English Lavender),(*L.x intermedia, Lavandin*) and (*L.x allardii* ,Fringed Hybrid Lavender), the other Cluster Contained (*L.dentata* L., French Lavender) and (*L.stoechas* L.; wild Lavender).

A few Classified Lavender Plants have formerly grown, to obtain the Plant Material for Labs Experiments, Results showed that Flower of (*L.angustifolia* L.) gave the Highest EO percentage value (4.23%), followed by (*L.x intermedia* and *L.stoechas* L.) with values (4.1% and 4.03%) respectively. Whereas, (*L.stoechas* L.) Presented Significantly the Uppermost EO percentage value (1.37%).

All Flower's EOs were analysed by using GC-MS, Regarding the main components in the studied Lavender EOs, (108 compounds) were separated. both Flower's EOs of (*L.angustifolia* L.and *L.x intermedia*), were Categorised as Linalool Chemotype. While, both Flower's EOs of (*L.dentata* L.and *L.x allardii*) were Featured by 1,8-

Cineole Chemotype. in contrast, a Unique Chemotype (Fenchone derivatives/Myrtenol derivatives), was presented by Flower's EO from (*L.Stoechas* L.).

Two Leaves' EOs were analysed, first EO belonged to (*L.angustifolia* L.),was characterized by (Camphor/1.8 Cineol) Chemotype, second EO was extracted from (*L.stoechas* L.), was featured by (1.8 Cineol /Fenchone) Chemotype.

Results of Antibacterial Assay confirmed a varied Antibacterial and Antifungal Activities of the three tested EOs of (*L.angustifolia* L.) and (*L.dentata* L.) and (*L.stoechas* L.). the most resistant bacteria were *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* and *Listeria monocytogenes*. whereas *Staphylococcus aureus* (2),*Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* were more sensitive.

EO of (*L.stoechas* L.) presented the Highest Inhibition Zone value (12.0mm and 12.67 mm) in *Staphylococcus aureus* (2) and *Bacillus cereus* Plates, Respectively. Where EO of (*L.angustifolia* L.) presented the Highest Inhibition Zone value (8.33 mm and 28.67 mm) in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*, respectively.

Infusion of tested EOs through agar has significantly inhibited the growth of *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. The obtained Inhibition Zones Diameters at Agar-Well Diffusion Assay was higher than those obtained by Disc Diffusion Assay.

Antibacterial and Antifungal Activity of four Reference Aromatique Compounds (α-Pinene, β-Pinene , Linalool and 1,8-Cineole) were Examined. α-Pinene was the Most Effective Compounds. In Contrast, 1,8-Cineole was the Weakest.

Aqueous and Alcoholic extracts of three species (*L.angustifolia* L., *L.dentata* L. and *L.stoechas* L.) has variously inhibited and killed the tested Bacteria and Fungi. Whatever, Ethanolic Extracts were the most efficient.

Generally, spectra of bacteria which inhibited and killed by Aqueous and Alcoholic extracts of (*L.stoechas* L.), was wider than that inhibited and killed by other tested extracts, in Both Disc Diffusion Methods and Microdilution Methods.

Results of fumigation assay, showed that both EOs of (*L. angustifolia* L. and *L.stoechas* L.) have significantly killed adults and larvae of *Ephestia Kuehniella*. however, EO of (*L.stoechas* L.) at a concentration (100 µl.L^{-1}) caused a complete adults mortality (100%) after 24 hours , the same concentration of EO of *L. angustifolia* L. didn't.

In second fumigation assay, EO of (*L. angustifolia* L.) at a concentration (100 µl.l^{-1}) has significantly exhibited fumigant toxicity against larvae of *Tribolium castaneum*,

causing mortality' rates (30%, 53.33%, 58.52% and 60.37%) after exposure time (72,120-168 and 216 hours),respectively.

Food Poisoning Methods was carried out to examine the insecticidal activity of Water and Ethanolic Extracts from (*L. angustifolia* L.) and (*L.stoechas* L.) against adults of *Tribolium Castaneum,* results showed that Ethanolic Extracts were more efficient the Aqueous Extracts. the highest mortality value (56.67 %) were Recorded at Ethanolic Extracts treatment of *L.stoechas* L. at a concentration (25%).

The Antioxidant Properties of the five Lavender EOs was measured by the DPPH Free Radical Scavenging Assay, it was noticed that the more concentrations of EOs increase, the more inhibition percentage of the free radical increases (I%). the highest inhibition percentage (66.95%) were recorded of *L.angustifolia* EO with a significant difference with those (58.88%,55.56% and 59.79 %) obtained by EOs of (*L.dentata* L., *L.x allardii* and *L.stoechas* L.) respectively, at higher concentration (40 $\mu g.ml^{-1}$) for all.

A Total of (20) ISSR primers and five Lavender sample (represent the classified species and hybrids) were used in the genetic study, (14) primers were able to give Polymorphic ISSR products, (52 out of 70 Bands) were Polymorphic, with a Polymorphism percentage (74.3%).the Dendrogram of the studied samples was separated into two main clusters : the first one include (*L.angustifolia* L. and *L.x intermedia*), the second cluster contains (*L.dentata* L., *L.x allardii* and *L.stoechas* L.). The result indicates that ISSR technique is an efficient method to separate of Lavender species and taxa, and to evaluate the genetic relationship among them.

Results of Genetic Relationship among studied Lavender samples, showed different degrees of agreement with results those obtained by morphological study, and EOs Main Chemical composition analysis. Upper agreement among the three studies was in the case of (*L.angustifolia* L. and *L. x intermedia*).

The End.