مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
المجلد 41 العدد 1 (2025): 225 – 245

Damascus University Journal of Agricultural Sciences
Vo 41 No.1 (2025): 245 - 225

تأثير الزيوت الطيارة لبعض أنواع جنس الصنوبر في تثبيط نمو الفطريات Alternaria alternate وFusarium solani وRhizoctonia sp. في المخبر

فاديا اليونس[1*]

[1*]مشرف على الأعمال- قسم العلوم الأساسية- كلية الزراعة- جامعة دمشق-
fadia.younis@damascusuniversity.edu.sy

الملخص:

أُجريَ هذا البحث في عام 2022-2023 في كلية الزراعة بجامعة دمشق. لدراسة تأثير الزيوت الطيارة لبعض أنواع جنس الصنوبر في تثبيط نمو الفطريات Alternaria alternate وFusarium solani وRhizoctonia sp. على الوسط المغذي PDA في المخبر. أظهرت النتائج أن الزيوت الطيارة للنباتات المدروسة أدّت إلى تثبيط معنوي لنمو الفطريات المختبرة مقارنة بالشاهد، وأعطى الزيت الطيار للصنوبر الثمري Pinus pinea L والصنوبر الحلبي Pinus halepensis Mill أعلى نسبة تثبيط للفطريات Alternaria alternate (Fr.) Keissl. وFusarium solani(Mart.) Sacc وRhizoctonia sp. حيث بلغت قيم التركيز النصفي (EC_{50}) 18.23 و21.47 و 18.96 $\mu l/L$ (للصنوبر الثمري) و22.26 و24.79 و28.92 $\mu l/L$ (للصنوبر الحلبي) للفطور الثلاثة على الترتيب. في حين أعطى الزيت الطيار للصنوبر البروتي أقل فاعلية في تثبيط الفطريات المدروسة. وعليه فإن الزيوت الطيارة لكل من الصنوبر الثمري والحلبي يمكن أن تستخدم في مكافحة الفطريات.

تاريخ الايداع:2023/7/16
تاريخ القبول: 2023/9/13

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص
CC BY-NC-SA 04

الكلمات المفتاحية: زيوت طيارة، فطريات، الصنوبر.

ISSN: 2789-7214 (online)
http://journal.damascusuniversity.edu.sy

The effect of volatile oils of some species of the Pinus Sp. in inhibiting the growth of Alternaria alternate, Fusarium solani and Rhizoctonia sp. in the laboratory

Fadia Alyounis[1*]

[*1] Business Supervisor- Department of Basic Sciences-Faculty of Agriculture-Damascus University-fadia.younis@damascusuniversity.edu.sy

Received: 2023/7/16
Accepted: 13/9/2023

Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under
A CC BY- NC-SA

Abstract:

These investigations carried out in 2022-2023, at faculty of Agriculture, Damascus University, to determine the antifungal activity of volatile oils of some pine trees in inhibiting the growth of Alternaria alternate, Fusarium solani and Rhizoctonia sp. on PDA in laboratory.

The results showed that volatile oils of studied species gave significant inhibition to growth the tested fungi compared with the control. Volatile oils of Pinus pinea L. and Pinus halepensis Mill. gave the superior inhibition effect to the Alternaria alternate (Fr.) Keissl., Fusarium solani (Mart.) Sacc. and Rhizoctonia sp. fungi, where gave the median effective dose (EC_{50}) values for inhibition of mycelial growth of fungi 18.23, 21.47 and 18.96 $\mu l/L$ (Pinus pinea L) and 22.26, 24.79 and 28.92 $\mu l/L$ (Pinus halepensis Mill.) for three fungi, respectively. While, that volatile oils of Pinus brutia Ten. gave the lower inhibition effect on the tested fungi. However, the volatile oils of P. pinea and P. halepensis could be used to control the fungi.

Key Words: Volatile Oils, Fungi, Pinus.

المقدمة والدراسة المرجعية:

يتبع جنس الصنوبر Pinus الفصيلة الصنوبرية Pinaceae، وهو جنس مهم بيئياً، ويعد من أهم المكونات النباتية في سفوح المناطق الشمالية لجبال الألب وحوض المتوسط والمناطق المعتدلة الحرارة والمناطق الجافة (Gernandt et al., 2005; Barbero et al., 2000).

يُعدّ جنس الصنوبر من الأجناس المهمة اقتصادياً كمصدر متجدد للخشب والورق والراتنج والفحم والغذاء (بذور الصنوبر الثمري) وكأشجار زينة للشوارع والطرق ومصدات للرياح كما يستخدم للحد من التصحر (نحال، 2012). بلغت المساحة المزروعة بالصنوبريات في سورية 64065 هكتاراً، وبلغ عدد الأشجار التقريبي 98049 ألف شجرة (المجموعة الإحصائية السورية، 2018). يُعدّ **الصنوبر البروتي .Pinus brutia Ten** من أهم أنواع جنس الصنوبر المنتشرة في سورية، وتُعدّ كل من تركيا وقبرص واليونان وسورية ولبنان وإيطاليا موطناً أصلياً لهذا النوع. وقد ذكر Boydak (2004) أنّ الصنوبر البروتي يتواجد طبيعياً على الساحل الشرقي للبحر الأبيض المتوسط، وأن أخشابه مهمة في صناعة أعمدة الهاتف وفي صناعة الصناديق والورق وفي صناعة الفحم. تعطي الشجرة الواحدة من (1.5-2.9) كغ من الراتنج الذي يستخدم من قبل السكان المحليين في صناعة العلك. أما **الصنوبر الحلبي .Pinus halepensis Mill** فتُعد منطقة حوض المتوسط ذات التنوع الوراثي الكبير واحدة من أهم مناطق انتشاره الطبيعي (Gómez et al., 1998)، وقد استُخدمت غابات الصنوبر الحلبي في فرنسا واليونان وإيطاليا ولا تزال تستخدم في تركيا واليونان لاستخراج الراتنج (الصمغ) على نطاق واسع. وكذلك **الصنوبر الثمري .Pinus pinea L** الذي ينتشر على نطاق واسع في جميع أنحاء حوض البحر الأبيض المتوسط، وربما تم نشره في وقت مبكر منذ الاستكشافات البشرية الأولى، ويعد الصنوبر الثمري نوعاً متوسطياً وطبيعياً في حوض المتوسط، ممتداً من البرتغال إلى سورية (Bravo et al., 2010). ويزرع من أجل بذوره، إذ يمكن أن ينتج الهكتار الواحد 200–250 كغ من لب البذور. كما يعد الصنوبر الثمري من الأشجار متعددة الفوائد (تزينية، بيئية، اقتصادية، غذائية وطبية). إلا أنه يحتاج إلى أراض خصبة ليعطي إنتاجاً وفيراً من البذور التي تؤكل.

تعد أشجار الصنوبر من الأشجار دائمة الخضرة والمعمرة، التي تعطي مجموعة واسعة من المنتجات الكيميائية كنواتج ثانوية لعملية التركيب الضوئي (Bartwal et al., 2013)، التي تؤدي دوراً مهماً في الدفاع عن النبات ضد عوامل الإجهاد المختلفة. كما تُعدّ الغابات الصنوبرية من أهم مصادر إنتاج المركبات المتطايرة الحيوية، إذ أنها تطلق كميات كبيرة من مركبات التربين مثل: Limonene, α-pinene, β-pinene, camphene (Pokorska et al., 2012). تنتج الصنوبريات تنوعاً كبيراً من التربينات، وقد يختلف تكوينها بين الأنواع وداخلها من حيث تخزين هذه المركبات (Keeling and Bohlmann, 2006). في دراسة أجرتها Marie وآخرون (2016) لمعرفة وتحليل مكونات الزيت الطيّار لأوراق الصنوبر الحلبي المأخوذة من ثلاث مناطق جغرافية في كوستاريكا، وتم تحديد 35 مركباً تمثل ما نسبته (77–100%) من كامل مكونات الزيت، وكانت المركبات الرئيسة هي: (α-pinene, myrcene, α-humulene, 2-phenylethyland (E), β-caryophllene)، في حين كانت التربينات الثنائية مركبات ثانوية. تم تقسيم عينات الزيت الـ 47 المقطرة من أوراق الصنوبر إلى مجموعتين أساسيتين مختلفتين: ضمت الأولى 15 عينة زيت كانت مركباتها الأساسية هي (28.1 myrcene غرام/100 غرام) و (19.0 β-caryophyllene غرام/100غرام)، مع غياب

للتربينات الثلاثية، علماً أن زيوت هذه العينات قد جمعت من منطقة واحدة. أما الـ 32 عينة زيت المتبقية فقد كانت مكوناتها الأساسية هي (β-caryophyllene 28.7 غرام/100غرام) و(α-pinene 12.3غرام/100غرام) و(myrcene 11.7 غرام/100غرام).

وجد الباحث Demirci وآخرون (2015) في الدراسة للزيت العطري المستخلص من أوراق الصنوبر الثمري الموجود بشكل طبيعي على ساحل البحر الأبيض المتوسط في تركيا، أن المركبات الأساسية المكونة للزيت 30 مركب وكانت بشكل أساس:

Limonene (54.6 %), α-pinene (4.0%) myrcene (2.4%) and α-phellandrene (2.4%).

تعد الفطور العائدة للجنس Alternaria من الفطور واسعة الانتشار بصورة رميّة أو ممرضة للنباتات مسببةً مدىً واسعاً من الأمراض ذات التأثير الاقتصادي في العديد من نباتات محاصيل الحبوب والمحاصيل الزيتية والخضروات والحمضيات والعديد من نباتات الزينة ونباتات الأعشاب (Pryor and Michailides, 2002). كما أن الفطور التابعة للجنس A. alternata (Fr.) Keissler من الفطور المصاحبة للبذور وهي مصدر الإصابة الأولية وتنتقل إلى النباتات عن طريق التربة الملوثة (Dubey and Patel, 2000). يتميز الفطر A. alternata بقدرته على إنتاج أنواع مختلفة من السموم التي تسهم في غزو النسيج النباتي وإحداث الإصابة (Thomma, 2003). تحدث الفطور التابعة للجنس Fusarium العديد من أمراض النبات بما فيها أعفان الجذور وأعفان البذور والثمار على العديد من الأنواع النباتية (Agrios, 2005; Horita and Kodama,1996). تنتج بعض أنواع Fusarium سموماً فطرية مثل Fumonisins، Trichothecenes، Zearalenone T-2 toxin وHT-2 toxin مسببةً أمراضاً عديدة للإنسان والحيوان (Cawood et al., 1991). تستخدم المبيدات الفطرية بشكل كبير ومكثف في معاملة البذار أو رشاً على النباتات أو في معاملة الثمار بعد الجني لمكافحة المسببات المرضية الفطرية منذ أن تم إنتاج المبيدات العضوية من مركبات الكرمبيت العضوية (Mann, 2004). غير أنّ التركيز على المبيدات الكيميائية الصنعية كوسيلة رئيسة أو وحيدة لمكافحة الآفات أدى إلى حدوث خلل كبير في التوازن الحيوي بين الكائنات وظهور سلالات مقاومة من الفطريات لبعض المبيدات الفطرية (Maloy, 1993)، وتمتلك بعض المبيدات الفطرية سميةً نباتيةً على بعض المحاصيل وتأثيرات سامة في الإنسان والكائنات الحية البرية والمائية نتيجة تلوث المنتجات الغذائية والتربة والمصادر المائية (Isman and Grieneisen, 2014). ازدادت حديثاً البحوث والدراسات المتعلقة بدراسة تأثير الزيوت الطيارة والمستخلصات النباتية في مكافحة الآفات، وذلك كونها منتجات طبيعية وآمنة بيئياً ونادراً ما يكون لها سميةً على الإنسان أو البيئة، إذ تُعدّ النباتات الطبية والعطرية مصدراً مهماً وطبيعياً لمركبات مهمة في مكافحة الآفات (Marrone, 2019). وتشير العديد من الدراسات إلى فاعلية المستخلصات والزيوت الطيارة للكثير من النباتات في مكافحة الأمراض الفطرية عن طريق تثبيط نمو المشيجة أو إنتاج الأبواغ (سرحان، 2006).

أجريت تجارب وبحوث كثيرة من عدة عقود لإنتاج مبيدات حيوية من النباتات ضد الجراثيم والفطريات، إذ أنّ أغلب النباتات تحتوي على مركبات تربينية وفينولات وقلويدات وفلافونات وزيوت طيارة أثبتت الدراسات أنّ لها تضاد ميكروبي وفطري وليس لها آثار سمية في الإنسان، ولا تتراكم في البيئة (Kagale et al., 2005)، إذ تتحلل بسرعة في الظروف الطبيعية (Gakuubi et al., 2017). فقد أثبتت الزيوت الطيارة والمستخلصات النباتية للعديد من النباتات الطبية والعطرية منذ زمن طويل فاعليتها في مكافحة فطريات النبات (Satish et al., 2009). وفي دراسة محلية لإبراهيم وآخرين (2017) تم تحديد 38 مركباً في الزيت الطيار

للصنوبر الحلبي، وكان غنياً بالمركبات التربينية مثل: β-Caryophyllene (19.70%)، Terpinene (15.2%)، α-Humulene (7.88%) و β-Myrcene (7.56%)، تم من جهة أخرى، تحديد أربعة مركبات في المستخلص الميثانولي لأوراق البرختيتون، وكان غنياً بالحموض الدسمة مثل Oleic acid (48.59%) و Palmitoleic acid (29.38%) و Linoleic Acid (11.40%)، ومركب ثنائي التربين وهو Neophytadiene (10.36%). كما تم أيضاً اختبار فاعلية الزيت الطيار للصنوبر الحلبي والمستخلص الميثانولي للبرختيتون كمضادات فطرية بطريقة الوسط المغذي المسمم ضد الفطور Aspergillus niger و Penicillium digitatum و Sclerotinia sclerotiorum، وأظهرت الأبحاث أنّ الزيت الطيار أعطى أعلى فاعلية كمضاد فطري، إذ أدى إلى تثبيط تام لفطر S. sclerotiorum و P. digitatum عند التركيزين 1600 و 2000 ppm على الترتيب.

أهداف البحث:

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير الزيوت الطيارة للصنوبر البروتي Pinus brutia Ten. والصنوبر الحلبي Pinus halepensis Mill. والصنوبر الثمري Pinus pinea L. في تثبيط نمو مشيجة بعض الفطريات (Alternaria alternata و Fusarium solani و Rhizoctonia sp.) في المخبر.

المواد وطرائق البحث:

- **مكان تنفيذ البحث:**

أُجري هذا البحث في عام 2022–2023 في مخابر قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة دمشق. فقد تم جمع أوراق فتية حديثة النمو من أنواع الصنوبر الثلاثة من حدائق محافظة دمشق خلال شهر نيسان لعام 2022، وتم تجفيفها وخزنها على درجة حرارة 4°م.

- **استخلاص الزيوت الطيارة من أوراق الصنوبر للأنواع المدروسة:**

طُحنت الأوراق المجففة باستخدام مطحنة مخبرية، وتم استخلاص الزيت باستخدام طريقة التقطير المائي Water Distillation، إذ تم وضع 500غ من العينة النباتية المطحونة في حوجلة سعة 2000 مل تحوي ماءً مقطراً، وتمت عملية التقطير لمدة 3 ساعات. وفُصل الزيت المستخلص عن الماء، ومن ثم جُفف الزيت بتمريره على طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية، ثم خُزن الزيت الناتج على درجة حرارة 4°م لحين الاستخدام.

- **تحضير المزارع الفطرية:**

تم الحصول على مزارع نقية ومُعرّفَة من الفطريات (Alternaria alternata و Fusarium solani و Rhizoctonia sp.) بعمر سبعة أيام من مخابر أمراض النبات في كلية الزراعة بجامعة دمشق، إذ تم إكثارها بطريقة النقل المتكرر بأخذ أقراص بقطر 5 مم من أطراف المزرعة ووضعها في مركز أطباق بتري تحتوي على مستنبت بطاطا دكستروز أجار (PDA) وتم تحضينها عند درجة حرارة 25±2° م لمدة سبعة أيام.

- تقييم تأثير الزيوت الطيارة لأوراق الصنوبر في نمو الفطور المختبرة في المخبر:

تم اختبار فعالية الزيوت الطيارة لأوراق الصنوبر البروتي والحلبي والثمري في تثبيط نمو المشيجة للفطور المختبرة بطريقة الغذاء المسمم The Poisoned Food Technique (Pandey et al., 1982). تم استخدام التراكيز التالية بعد إجراء تجارب تمهيدية لمعرفة أقل تركيز مثبط من الزيوت الطيارة: 10، 15، 20، 25، 30، 35، 40 (µl/L).

تم وضع 100 مل من الوسط المغذي بطاطا دكستروز أجار (PDA) في دوارق سعة 200 مل، ثم عُقمت في الأوتوكلاف لمدة 30 دقيقة. تُركت الدوارق لتبرد حتى درجة 50 درجة مئوية تقريباً، ثم أضيفت كمية (1 و1.5 و2.5 و3 و4 ميكرو ليتر/100 مل) من الزيت الطيار لأوراق الصنوبر للحصول على التركيز المناسب وقد أضيف للوسط مادة Tween 20 بنسبة 0.04% للمساعدة على الاستحلاب، ثم تمّ رج المستنبت جيداً، وبعد ذلك تمّ صبّه في أطباق بتري بلاستيكية معقمة بقطر 9 مم. كما تم إضافة Tween 20 للشاهد أيضاً. ومن ثمّ تلقيح الأطباق بالفطور المختبرة، وذلك بوضع قرص 5 مم في وسط كل طبق بتري، وبمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز، وبعدها حُضنت الأطباق عند درجة حرارة 24±2°م لمدة سبعة أيام. أُخذت النتائج بقياس متوسط قطرين متعامدين للمستعمرة، كما تم تقدير النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفقاً للمعادلة (Vincent, 1947):

$$\text{تثبيط نمو المشيجة (\%)} = \frac{\text{قطر المستعمرة في الشاهد} - \text{قطر المستعمرة في المعاملة}}{\text{قطر المستعمرة في الشاهد}} \; X \; \mathbf{100}$$

- رسم خطوط السمية وتحديد قيمة التركيز المثبط النصفي (EC_{50}):

تم حساب قيمة تركيز الزيت الطيار المسبب لتثبيط 50% من نمو الميسليوم (المشيجة) للفطر (EC_{50})، عن طريق رسم خطوط السمية التي تربط العلاقة بين التركيز ونسبة التثبيط وفقاً لطريقة رسم منحني السميّة (Finney, 1978).

- التحليل الإحصائي:

صممت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design، وحللت النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS. 20، كما تم تحليل التباين بمستوى معنوية 0.01.

النتائج والمناقشة:

- تأثير الزيوت الطيارة لبعض أنواع جنس الصنوبر في تثبيط نمو الفطريات المختبرة في الوسط المغذي:

تمت دراسة فاعلية الزيوت الطيارة لكل من الصنوبر البروتي Pinus brutia Ten. والصنوبر الحلبي Pinus halepensis Mill. والصنوبر الثمري Pinus pinea L. في تثبيط نمو مشيجة بعض الفطريات (Alternaria alternata و Fusarium solani و Rhizoctonia sp.) في المستنبت الغذائي الصناعي (PDA) في المخبر. أظهرت النتائج تباين التأثير المثبط لهذه الزيوت الطيارة في نمو مشيجة الفطر وفقاً لنوع الفطر والنبات والتركيز المستخدم. وبناء عليه تمت دراسة تأثير الزيوت الطيارة في تثبيط مشيجة كل فطر على حدة.

- **تأثير الزيوت الطيارة لكل من الصنوبر البروتي والصنوبر الحلبي والصنوبر الثمري في الفطر Alternaria alternata في الوسط المغذي:**

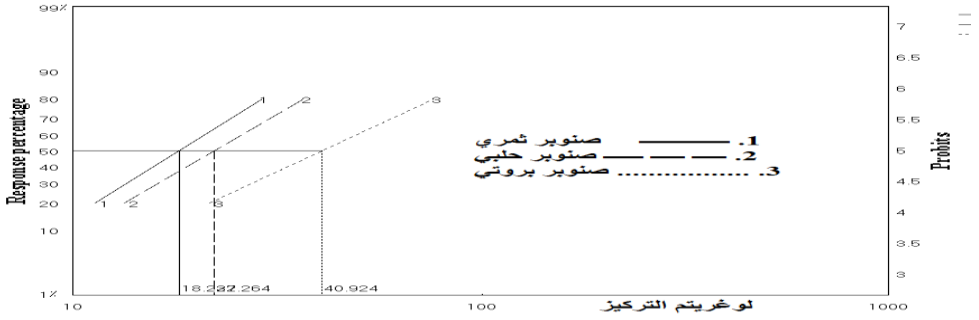
تُظهر النتائج في الجدول (1) والشكل (1) أنّ الزيت الطيار للصنوبر الثمري أعطى أعلى تثبيط للفطر في الوسط المغذي وعند التراكيز جميعها مقارنة بالزيت الطيار للصنوبر الحلبي والثمري، وبفروق معنوية إذ أعطى تثبيط أعلى من 50% عند التركيز 20 (µl/L). وأدى لتثبيط تام لنمو الفطر (100%) في الوسط المغذي عند التركيز 40 (µl/L). تلاه في ذلك الزيت الطيار للصنوبر الحلبي، إذ أعطى تثبيطاً لنمو الفطر أعلى من 50% عند التركيز 20 (µl/L)، وأدى لتثبيط الفطر بنسبة 93.26% في الوسط المغذي عند التركيز 40 (µl/L). في حين أعطى الزيت الطيار للصنوبر البروتي، أقل نسب تثبيط لنمو الفطر بفروق معنوية، إذ أعطى تخفيضاً متدرجاً لتثبيط نمو الفطر المختبر عند جميع التراكيز المختبرة، وبلغت نسبة التثبيط عند أعلى تركيز مستخدم 40 (µl/L) 52.14%.

من جهة أخرى، فقد أعطت الزيوت الطيارة المختبرة تثبيطاً في نمو مشيجة الفطر Alternaria alternata بزيادة التركيز وبفروق معنوية. فقد أعطى التركيز المنخفض 10 (µl/L) نسب تثبيط للفطر بلغت 5.12 و13.25 و19.27% لكل من الزيوت الطيارة للصنوبر البروتي والحلبي والثمري على الترتيب.

الجدول رقم (1): تأثير الزيوت الطيارة للصنوبر البروتي والحلبي والثمري على الفطر Alternaria alternata بعد سبعة أيام من التحضين في المخبر على درجة حرارة (25 ± 2^oC).

التركيز (µl/L)	زيت الصنوبر البروتي	زيت الصنوبر الحلبي	زيت الصنوبر الثمري	L.S.D 0.01
	النسبة المئوية للتثبيط (%)			
10	**5.12**	**13.25**	**19.27**	4.18
15	9.26	23.87	33.65	8.12
20	14.25	38.24	52.36	15.23
25	21.36	57.63	69.25	11.25
30	32.65	65.14	77.14	9.87
35	44.26	72.15	86.23	12.58
40	**52.14**	**93.26**	**100**	5.87
L.S.D 0.01	3.54	8.47	6.34	–

لا يوجد أي تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).



الشكل رقم (1): خطوط السمية للزيوت الطيارة لنباتات الصنوبر المدروسة على فطر Alternaria alternata

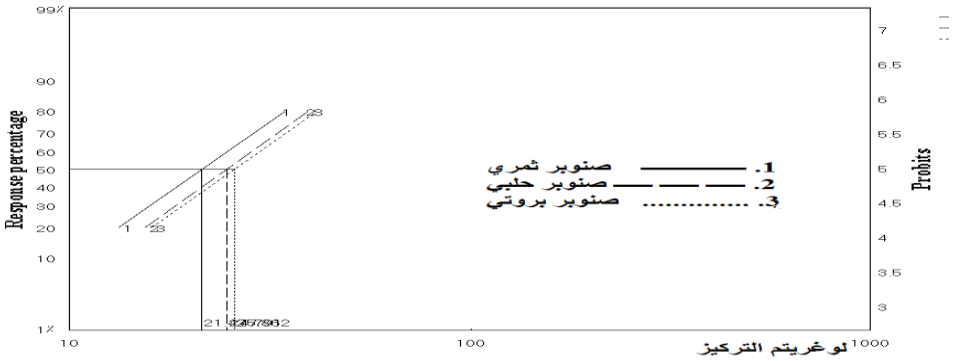
- **تأثير الزيوت الطيارة لكل من الصنوبر البروتي والصنوبر الحلبي والصنوبر الثمري في الفطر F. solani في الوسط المغذي:**

بينت النتائج في الجدول (2) والشكل (2) أنّ الزيت الطيار للصنوبر الثمري تفوّق معنوياً في تثبيط مشيجة الفطر F. solani في الوسط المغذي مقارنة بالزيت الطيار لكل من الصنوبر الحلبي والبروتي. إذ بلغت نسب التثبيط 70.25 و82.14 و93.26% عند التراكيز 30 و35 و40 (µl/L) على الترتيب. في حين لم يعطِ الزيت الطيار للصنوبر الحلبي تثبيطاً معنوياً لمشيجة الفطر F. solani مقارنةً بالزيت الطيار للصنوبر البروتي. وبلغت نسب التثبيط (41.89 و45.89 و52.13%) و(58.26 و60.23 و70.25%) و (73.97و 76.18 و82.14%) عند التراكيز 25 و30 و35 (µl/L) على الترتيب لكل من الزيت الطيار للصنوبر البروتي والحلبي والثمري على التوالي. لقد ازدادت قدرة الزيوت الطيارة على تثبيط نمو الفطر بشكل مضطرد بزيادة التركيز، إذ بلغت نسب التثبيط 82.17 و85.22 و93.26% عند التركيز الأعظمي 40 (µl/L) لكل من الصنوبر البروتي والحلبي والثمري على الترتيب.

الجدول رقم (2): تأثير الزيوت الطيارة لكل من الصنوبر البروتي والصنوبر الحلبي والصنوبر الثمري على الفطر F. solani في الوسط المغذي بعد 7 أيام من التحضين في المخبر على درجة حرارة (25 ± 2^oC).

التركيز (µl/L)	زيت الصنوبر البروتي	زيت الصنوبر الحلبي	زيت الصنوبر الثمري	L.S.D 0.01
	النسبة المئوية للتثبيط (%)			
10	8.26	9.12	13.25	3.25
15	14.58	16.25	27.26	4.18
20	29.45	31.69	39.25	4.71
25	41.89	45.89	52.13	7.45
30	58.26	60.23	70.25	9.24
35	73.97	76.18	82.14	5.12
40	**82.17**	**85.22**	**93.26**	6.32
L.S.D 0.01	6.23	7.89	11.78	–

لا يوجد أي تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).



الشكل رقم (2): خطوط السمية للزيوت الطيارة لنباتات الصنوبر المدروسة على فطر F. solani

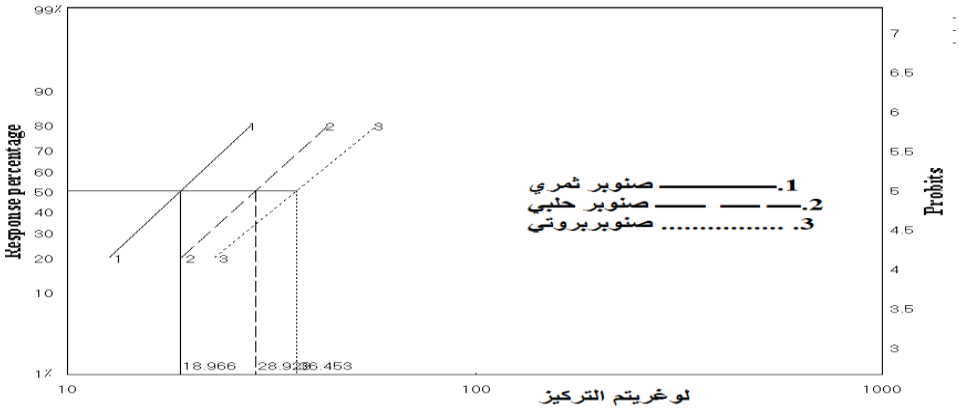
- **تأثير الزيوت الطيارة لكل من الصنوبر البروتي والصنوبر الحلبي والصنوبر الثمري في الفطر.Rhizoctonia sp في الوسط المغذي:**

تظهر النتائج في الجدول (3) والشكل (3) أنّ كلاً من الزيت الطيار للصنوبر البروتي والحلبي أعطيا فاعلية دون فروق معنوية في تثبيط الفطر .Rhizoctonia sp عند التراكيز من 10−30 (µl/L). إذ بلغت نسب التثبيط 31.26 و42.36% عند تركيز 30 (µl/L) لكل من الصنوبر البروتي والحلبي على الترتيب. وازداد التأثير المثبط وبفروق معنوية بين الزيتين بزيادة التركيز، إذ بلغت نسب تثبيط الفطر 63.25 و82.36% عند التركيز 40 (µl/L) على الترتيب. في حين أعطى الزيت الطيار للصنوبر الثمري أعلى فاعلية في تثبيط نمو مشيجة الفطر.Rhizoctonia sp في الوسط المغذي بفروق معنوية مع الزيت الطيار لكل من الصنوبر البروتي والحلبي عند جميع التراكيز المختبرة. فقد بلغت نسب التثبيط (81.23%) و (98.26%) و(100%) عند التراكيز 30 و35 و40µl/L . وقد ازداد التأثير المثبط للزيوت الطيارة المختبرة في نمو الفطر بزيادة التركيز.

الجدول رقم (3): تأثير الزيوت الطيارة لكل من الصنوبر البروتي والصنوبر الحلبي والصنوبر الثمري على الفطر.Rhizoctonia sp بعد سبعة أيام من التحضين في المخبر على درجة حرارة (25 ± 2^oC).

التركيز (µl/L)	زيت الصنوبر البروتي	زيت الصنوبر الحلبي	زيت الصنوبر الثمري	L.S.D 0.01
	النسبة المئوية للتثبيط (%)			
10	2.31	3.96	15.23	4.58
15	5.68	7.26	29.36	8.16
20	12.36	23.56	41.25	9.12
25	23.47	36.25	69.87	14.26
30	31.26	42.36	81.23	13.25
35	47.14	66.89	98.26	15.23
40	63.25	82.36	100	13.25
L.S.D 0.01	5.89	9.67	11.43	-

لا يوجد أي تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).



الشكل رقم (3): خطوط السمية للزيوت الطيارة لنباتات الصنوبر المدروسة على فطر Rhizoctonia sp.

- **قيم التركيز النصفي المثبط لنمو الفطريات المختبرة (EC_{50}) للزيوت الطيارة لكل من الصنوبر البروتي والحلبي والثمري في الفطريات Alternaria alternata و Fusarium solani و Rhizoctonia sp. في المخبر:**

تظهر النتائج في الجدول (4) والأشكال (1 و2 و3) قيم التركيز النصفي (EC_{50}، µl/L) المثبط لنمو الفطريات (Alternaria alternata و Fusarium solani و Rhizoctonia sp.) في المخبر للزيوت الطيارة للصنوبر البروتي والحلبي والثمري. أشارت النتائج وفقاً لقيم EC_{50} أن الزيوت الطيارة تباينت في تأثيرها المثبط لنمو الفطريات المختبرة في الوسط المغذي وفقاً لنوع الصنوبر المستخدم والفطر المختبر. فقد أعطى الصنوبر البروتي أعلى قيم EC_{50} للفطريات المختبرة، إذ بلغت قيم (EC_{50}، µl/L) لكل من Alternaria alternata (40.92%) و Fusarium solani (25.86%) و Rhizoctonia sp. (36.45%) في حين أعطى الزيت الطيار للصنوبر الثمري أقل قيم (EC_{50}، µl/L) (18.23%) للفطر Alternaria alternata و(21.47%) للفطر Fusarium solani و (18.96%) للفطر Rhizoctonia sp. .

الجدول رقم (4): قيم التركيز النصفي المثبط لنمو الفطريات المختبرة EC_{50} (µl/L) للزيوت الطيارة المستخلصة من أشجار الصنوبر.

الزيت الطيار	Alternaria alternata	F. solani	Rhizoctonia sp.
	EC_{50} (µl/L)		
الصنوبر البروتي	40.92	25.86	36.45
الصنوبر الحلبي	22.26	24.79	28.92
الصنوبر الثمري	18.23	21.47	18.96

A: حسبت القيم على أساس تركيز الزيت الطيار في المستنبت المسبب لتخفيض 50% لنمو مشيجة الفطر مقارنة بنمو المشيجة على المستنبت دون مستخلص (الشاهد).

تنتشر أشجار الصنوبريات في سورية بشكل طبيعي أو تزرع في الحدائق العامة وجوانب الطرق لأغراض تزينية وكمصدات رياح. وتتميز بأوراقها الإبرية الكثيفة والتي يمكن استخلاص الزيوت الطيارة منها التي قد تكون فعالة في مكافحة مسببات أمراض النبات. فقد ذكر العديد من الباحثين أنّ المكون الرئيس للزيوت الأساسية من أنواع الصنوبر هو هيدروكربونات التربينات الأحادية monoterpene المتمثلة بـ: α-pinene, camphene, β-pinene, δ-3-carene, β-myrcene, limonene and β-phellandrene، وتمثل ما نسبته (60-70%) من مكونات الزيت، تليها التربينات الأحادية المؤكسجة وبعدها التربينات الأحادية والنصف والثنائية المؤكسجة وأخيراً المركبات عديدة التربين (Amri et al.,2012; Amiri et al.,2005; Petrakis et al.,2001) واليونس (2020).

ذكر العديد من الباحثين أنّ فعالية الزيوت الطيارة في تثبيط نمو الفطريات تعتمد على التركيب الكيميائي للزيت وتركيز الزيت والنوع الفطري وزمن التعرض للمعاملة (Droby et al., 2008; Wang et al., 2012). تؤثر الزيوت الطيارة في الجدار الخلوي وتخفض الاصطفائية، مما يسمح بدخول تراكيز عالية من العناصر، كما تؤثر بعض الزيوت في تنفس الخلية (Fadli et al., 2012). وجد Amri وآخرون (2012) أنّ الزيت الطيار للصنوبر الثمري غني بالمركبات التربينية الأحادية بنسبة 73.1%، وأهمها limonene و α-pinene و β-pinene. وأثبت أنّ الزيت الطيار للصنوبر الثمري أعطى فعالية ضد فطريات F.avenaceum و F.

oxysporum و .Alternaria sp . وذكر Demirc وآخرون (2015) عند تحليل الزيت الطيار لأوراق الصنوبر الثمري المجموع من تركيا أن أهم المركبات هي: Limonene و β-phellandrene و α-pinen و myrcene و α-phellandrene. وأعطى هذا الزيت تثبيطاً قوياً لفطر Candida parapsilosis، إذ بلغت قيمةEC_{50}=375 ملغ/ ليتر.

وجد Ustun وآخرون (2012) أنّ أهم المركبات في الزيت المستخلص من الصنوبر الحلبي هي: α-Pinene و β-Pinene و E-β-Caryophyllene و Germacrene D و Caryophyllene oxide. وأشار Abi-Ayad وآخرون (2011) إلى أن نسبة الزيت في أوراق أشجار الصنوبر الحلبي المجموعة من منطقة Ghazaouet في الجزائر كانت 0.3%، وتم تعريف 22 مركباً أهمها: caryophyllene oxide و thumbergol و humulene oxide وكان له فعالية ضد فطريات Aspergillus flavus و Aspergillus niger و Fusarium oxysporum.

وجد Fekih وآخرون (2014) أنّ نسبة الزيت المستخلصة من خليط الأجزاء الهوائية (أوراق وبراعم وأزهار) من الصنوبر الحلبي المجموعة من مناطق عدة في شمال الجزائر تراوحت بين 0.13 و0.63% وكان عدد المركبات 49 مركباً أهمها: myrcene (15.2–32%)و α-Pinene (12.2–24.5%)و E-β-caryophyllene (7–17.1%) و terpinene-4-ol (1–8.2%) و Sabinene (1.5–6.3%). وقد يعود التأثير الفعال للزيت الطيار لأوراق الصنوبر الحلبي إلى وجود المركبات التربينية بتراكيز عالية مثل: Alpha-Pinene و Beta-pinene و Sabinene و Beta- Caryophyline و Myrcene و Caryophyllene oxide و dl-Limonene بنسبة أعلى منها بالزيت الطيار للصنوبر الثمري. فقد أثبت العديد من الباحثين تضافر العديد من المركبات التربينية والفينولات في تثبيط نمو الفطور الممرضة للنباتات (Dellavalle et al., 2011; Cowan, 1999)

وجد Lahlou (2003) أنّ قيم ($LC_{50} = 1.53$ & $175\ ppm$) لكل من الزيت الطيار للصنوبر الحلبي والثمري على الترتيب، ($LC_{50} = 1.66,\ 1.59,\ 0.69,\ 0.49,\ 0.56\ ppm$) لكل من المركبات التربينية beta-Caryophyllene و Limonene و Cymene و Pinene و Myrcene الموجودة في الزيت الطيار للصنوبريات على الترتيب. وأشار Chang وزملاؤه (2008) إلى أنّ مركبات ألفا وبيتا Pinene و limonene لها فعالية ضد فطري Fusrium solani و Colletotrichum gloeosporioides، وتتوافق هذه النتائج مع العديد من الباحثين. فقد ذكر Krauze-Baranowska وآخرون (2002) أن الزيوت الطيارة للجنس Pinus لها فعالية كبيرة في تثبيط نمو فطور أعفان التخزين. وجد الناصر وحميد (2011) أنّ مستخلص الإيثانول/ سيكلوهكسان للخشب القلبي للصنوبر الثمري P.pinea أعطى تثبيطاً معنوياً للفطرين A.alternate و F.solani في الوسط المغذي وازداد تأثيرها بزيادة تركيز الزيت في الوسط المغذي. وأثبت Mohareb وآخرون (2017) أنّ المستخلص الأسيتوني لأوراق الصنوبر الحلبي الغني بالمركبات التربينية Caryophyllene و α-Caryophyllene و Caryophyllene oxide أعطى فعالية عالية ضد فطر B.cinerea حيث بلغت قيمة $EC_{50} = 134.2\ mg/L$. ووجد إبراهيم وزملاؤه (2017) أنّ الزيت الطيار للصنوبر الحلبي في سورية كان فعالاً في تثبيط الفطرين P.digitatum و Sclerotinia sclerotiorum . وذكر Krauze-Baranowska وآخرون (2002) أن الزيوت الطيارة للجنس Pinus لها فاعلية كبيرة في تثبيط نمو فطور أعفان التخزين.

الاستنتاجات والمقترحات:

أظهرت النتائج أن كلاً من الزيوت الطيارة للصنوبر الثمري والحلبي لها فعالية قوية في تثبيط نمو الفطريات (Alternaria alternata و Fusarium solani و Rhizoctonia sp.) في المخبر. إذ كانت نسبة تثبيط الفطريات المختبرة أعلى من 90% عند التركيز 40 µl/L، ويمكن ترتيب الزيوت الطيارة وفقاً لفاعليتها في تثبيط الفطر المختبر الصنوبر الثمري > الصنوبر الحلبي > الصنوبر البروتي. بالتالي نستنتج إمكانية استخدام الزيوت الطيارة لكلٍّ من الصنوبر الثمري والصنوبر الحلبي في مكافحة الفطريات في المختبر، إلا أنّ هذه الدراسات تحتاج إلى دراسات أخرى لمعرفة التركيب الكيميائي لها وإمكانية عزل المواد الفعالة والتراكيز المناسبة في التطبيقات العملية.

معلومات التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

المراجع :

1. إبراهيم، ثروت، المصري، محمد سعيد، الناصر، زكريا، وقربيصة، محمد. (2017). التحليل الكيميائي للزيت الطيار لأوراق الصنوبر الحلبي (Pinus halepensis) والمستخلص الميثانولي لأوراق البريختونيا (Brachychiton populneum) وتأثيرها في تثبيط نمو بعض الفطور في المخبر. قبل للنشر في مجلة أكساد.
2. سرحان، عبد الرضا طه. (2006). تداخل إضافة مستخلصات أوراق النعناع مع الفطور ذات الخاصية التضادية على بعض الفطور المرافقة لحبوب البقوليات. مجلة وقاية النبات العربية، عدد 24 ص – ص118–124.
3. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. (2018). الجمهورية العربية السورية وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي مديرية الإحصاء والتخطيط، قسم الإحصاء. سورية.
4. الناصر، زكريا، ومحمود أحمد حميد. (2011). تأثير مستخلص الايثانول/سيكلوهكسان لخشب القلب Heartwood لبعض الأنواع الخشبية في تثبيط النمو الميسليومي لفطري Alternaria و Fusarium ومقارنتها بالمبيدات الفطرية في المخبر. مجلة بحوث جامعة حلب. العدد.93.
5. اليونس، فاديا. (2020). دراسة بيئية كيميائية وراثية لبعض الأنواع التابعة لجنس الصنوبر في سورية وتقويم كفاءة زيوتها الطيارة في إدارة فطريات أعفان التفاح في المخزن. رسالة دكتوراه. قسم الموارد الطبيعية المتجددة والبيئة. كلية الزراعة. جامعة دمشق. قاعدة بيانات مديرية البحث العلمي.
6. نحال، إبراهيم. (2012). موسوعة الثروة الحراجية في سورية (ماضيها، حاضرها، آفاق مستقبلها). منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة FAO.
7. Abi-Ayad M, Abi-Ayad FZ, Lazzouni HA, Rebiahi SA, Ziani-Cherif C, and Bessiere JM.(2011) . Chemical composition and antifungal activity of Aleppo pine essential oil. J Med Plant Res. 5(22): 5433-5436.
8. Agrios, G.N. (2005). Plant Pathology. fifth Edition. Printed in the United States of America (New York)., 948.
9. Amiri, A., and Bompeix, G. (2005). Diversity and population dynamics of Penicillium spp. on apple in pre- and postharvest environments: consequences for decay development. Plant Pathol. 54:74-81.
10. Amri, I., Gargouri, S., Hamrouni, L., Hanana, M., Fezzani, T.,and Jamoussi, B. (2012). Chemical composition, phytotoxic and antifungal activities of Pinus pine essential oil. Journal of Pest Science, 85(2), 199-207.
11. Barbero, M, Loisel R, QuezelP, Richardson MD, and Romane F. (2000). Pines of the Mediterranean basin; Richardson DM, editor. Cambridge, Cambridge University Press.
12. Bartwal, A., Mall, R., Lohani, P., Guru, S.K., and Arora, S., (2013). Role of secondary metabo-lites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. J. Plant Growth Regul. 32, 216–232.
13. Boydak, M. (2004). Silvicultural and natural regeneration of Pinus brutiaTen. -a review. Plant Ecol. 171:153-163.

14. Bravo, F., M. Luca, R. Mercurio, M. Sidari and A. Muscolo. (2010). Soil and forest productivity: a case study from Stone pine (Pinus pinea L.) stands in Calabria (Southern Italy), iForest - Biogeosciences and Forest, 4: 25-30.
15. Cawood, M. E., W. C. A. Gelderblom, R. Vleggaar, Y. Behrend, P. G. Thiel, and W. F. O. Marasas. (1991). Isolation of the fumonisin mycotoxins—a quantitative approach. J. Agric. Food Chem. 39:1958–1962.
16. Chang HT, Cheng YH, Wu CL, Chang ST, Chang TT,and Su YC (2008). Antifungal activity of essential oil and its constituents from Calocedrus macrolepis var. formosana Florin leaf against plant pathogenic fungi. Bioresour Technol 99:6266–6270.
17. Cowan, M.M., (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12(4), 564-582.
18. Dellavalle PD, Cabrera A, and Alem D.(2011) Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus alternaria spp. Chilean Journal of Agricultural Research.71(2):1–9.
19. Demirci, F., P. Bayramiç , G. Göger, B. Demirci , and K. H. Can Başer. (2015). Characterization and Antimicrobial Evaluation of the Essential Oil of Pinus pinea L. from Turkey. Nat. Volatiles & Essent. Oils, 2015; 2(2): 39-44.
20. Droby, S.; Eick, A.; Macarisin, D.; Cohen, L.; Rafael, G.; Stange, R.; Mccolum, G.; Dudai, N.; Nasser, A.; Wisniewski, M.; and Shapira, R.(2008) . Role of citrus volatiles in host recognition, germination and growth of Penicillium digitatum and Penicillium italicum/j.postharvbio.01.016.
21. Dubey, S. C. and B. Patel. 2000. Mode of perpetuation and spread of alternaria blight of broad bean, Indian Phytopathology, 53, 2, 175-177.
22. Fadli, M.; Saad, A.; Sayadi, S.; Chevalier, J.; Mezrioui, N.-E.; Pagès, J.-M.;and Hassani, L.(2012). Antibacterial activity of Thymus maroccanus and Thymus broussonetii essential oils against nosocomial infection-bacteria and their synergistic potential with antibiotics. Phytomedicine, v.19, p.464-471.
23. Fekih N, Hocine Allali, Salima Merghache, Faïza Chaïb, Djamila Merghache, Mohamed El Amine, Nassim Djabou, Alain Muselli, Boufeldja Tabti, and Jean Costa. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of Pinus halepensis Miller growing in West Northern of Algeria. Asian Pac J Trop Dis 2014; 4(2): 97-103.
24. Finney, D.J. (1978). Statistical method in biological assay. 3rd ed. Charles Griffin and Company LTD, London and High Wycombe.
25. Gakuubi، M.M., Maina, A.W. and Wagacha, J.M. (2017). Antifungal Activity of Essential Oil of Eucalyptus camaldulensis Dehnh. against Selected Fusarium spp. International Journal of Microbiology. Volume 2017, Article ID 8761610, 7 pages.
26. Gernandt, D. S., Gretel Geada López, Sol Ortiz García and Aaron Liston.(2005) . Phylogeny and classification of Pinus. TAXON, 54 (1): 29-42.
27. Gómez A., (1998). Analysis of Pinus halepensis in Spain through DNA markers: RAPDs and Cp-Microsatellites). Ph.D. Thesis, UPM, Madrid.

28. Horita, H. and F. Kodama. (1996). Bud rot of chrysanthemum caused by Fusarium avenaceum. Annual Report of the Socitey of Plant Protection of North Japan, 47, 75-77.
29. Isman MB, and Grieneisen MJ. (2014).Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. Trends Plant Sci .19:140–145.
30. Kagale, S. T. Marimuthu, B. Thayumanavan, R. Nandakumar, and R. Samiyappan. (2005). Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of Datura metel against Rhizoctonia solani and Xanthomonas pv oryzae. Physiological and Mole. Plant Pathol., 65: 91-100.
31. Keeling, C.I., and Bohlmann, J., (2006). Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens. New Phytol. 170, 657–675.
32. Krauze-Baranowska M., Mardarowicz M., Wiwart M., Pobłocka L., and Dynowska M., (2002). Antifungal activity of the essential oils from some species of the genus Pinus. Z NaturforshC. 57(1): 478-482.
33. Lahlou, M., (2003). Composition and Molluscicidal Properties of Essential Oils of Five Moroccan Pinaceae. Pharmaceutical Biology. Vol. 41, No. 3, pp. 207–210.
34. Maloy, O., (1993). Plant disease control, principles and practice, fungicide characteristics. John Wiley, New York, 346.
35. Mann, P.J., (2004). The Pesticide Manual. 3th ed. Database Right © 2004 BCPC (British Crop Protection Council.
36. Marrone PG., (2019) Pesticidal natural products – status and future potential. Pest Manag Sci. 75:2325–40.
37. Marie, A. Nam, Felix Tomi, Marc Gibernau, Joseph Casanova, and Ange Bighelli., (2016), Composition and Chemical Variability of the Needle Oil from Pinus halepensis growing in Corsica., Hem. Biodiversity,13, 380 – 386.
38. Mohareb ASO, Kherallah IEA, Badawy MEI, Mohamed ZM Salem and Hamedaa Yousef. (2017) Chemical composition and activity of bark and leaf extracts of pinus halepensis and olea europaea grown in AL-Jabel AL-Akhdar region, Libya against some plant phytopathogens. J Appl Biotechnol Bioeng. 3(3):331–342.
39. Pandey, D. K., Tripathi, N. N., Tripathi, R. D., Dixit, S. N. (1982) Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz 89, 344-349.
40. Petrakis PV, Tsitsimpikou C, Tzakou O, Couladis M, Vagias C, and Roussis V. (2001). Needle volatiles from five Pinus species growing in Greece. FlavourFragr J. 16: 249-252.
41. Pokorska, O., Dewulf, J., Amelynck, C., Schoon, N., Šimpraga, M., Steppe, K., and VanLangenhove, H., (2012). Isoprene and terpenoid emissions from Abies alba: identificationand emission rates under ambient conditions. Atmos. Environ. 59, 501–508

42. Pryor, B.M., and T.J. Michailides. (2002) Morphological, pathogenic and molecular characterization of Alternaria isolates associated with Alternaria late blight of Pistachio. Phytopathology, 92, 406-416.
43. Satish, S, Raghavendra, M.P., and Raveesha, K.A. (2009). Anti-fungal Potentiality of Some Plant Extracts against Fusarium spp. Archives of Phytopath and Pl. Prot.; 42:618-625.
44. Thomma, Bart P. H. J., (2003). Alternaria spp. from general saprophyte to specific parasitie. Molecular Plant Pathology, 4, 225-236.
45. Ustun O, SezerSenol F, Kurkcuoglu M, Erdogan Orhan I, Kartal M,and Husnu Can Baser K. (2012). Investigation on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant activities of extracts and essential oils of Turkish Pinus species and pycnogenol. Ind Corp Prod 2012; 38: 115-123.
46. Vincent, J. M. (1947). Distortion of fungal hyphae in presence of certain inhibitors. Nature,850-853.
47. Wang, H.; Tao, N.; Huang, S.; and Liu, Y. (2012). Effect of Shatangju (Citruseticulata Blanco essential oil on spore germination and mycelium growth of Penicillium digitatum and P. italicum. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, v.15, p.715-723.