التحليل الكيميائي للزيت العطري لنبات الخزامى *Lavandula officinalis* L. المزروع في النبك– سورية– وتأثيره في بكتيريا *Xanthomonas translucens*.

نورس الأبرص* **محمود أبو غره****

إسماعيل الصالح*

الملخص

جمعت أزهار نبات الخزامى *Lavandula officinalis* L. المزروع في منطقة النبك– سورية، واستخلص الزيت العطري من الأزهار الطازجة بطريقة التقطير، بلغت غلة الزيت العطري فيها 2.7 % (حجم/وزن)، وقد أظهر التحليل الكروماتوغرافي الغازي الملحق بمطياف الكتلة GC/MS للزيت العطري وجود عشرين مركباً تقارب 98.37 % من الزيت، وتبين أن المركبين الرئيسين هما Linaloo l (51.03 %) و Camphor (14.92 %)، كما سجلت لأول مرة أربعة مركبات هي: Linalyl anthranilate ، Linalyl iso-valerate، Butanoicacid، β-Cubebene، بلغت نسبها 3.64 ، 0.62، 0.44، 0.39% على التوالي.

بينت نتائج تجارب السمية أن التركيز 10 ميكرولتر/مل هو أعلى تركيز من الزيت العطري لا يؤدي إلى أثر تثبيطي في إنبات بذور القمح ونمو البادرات، من جانب آخر اختبرت الفعالية الحيوية، حيث حدد التركيز المثبط الأدنى للزيت لعزلتي *Xanthomonas translucens* (Xt10، Xt4.2) حيث بلغ 0.75–1 ميكرو لتر/مل على التوالي.

* الهيئة العامة للتقانة الحيوية– وزارة التعليم العالي.

** قسم وقاية النبات– كلية الزراعة – جامعة دمشق.

كما أظهرت نتائج تأثير زيت الخزامى في بكتيريا *X. translucens* المحمولة على بذار القمح أن التركيز 5 ميكرو لتر/مل هو التركيز الأدنى الذي خفض من التعداد البكتيري قرابة المائة مرة، وفي الوقت نفسه حسّن هذا التركيز من إنبات بذار القمح ونمو بادراته.

الكلمات المفتاحية: Lavandula، Xanthomonas translucens، التحليل الكيميائي، القمح.

Chemical analysis of essential oil of *Lavandula officinalis* L. planted in Nabek, Syria, and its effect on *Xanthomonas translucens* bacteria.

Nawras Al Abrass[*] Abu-ghorrah mahmoud[**] Ismaeel Alsaleh[*]

Abstract

Flowers of *Lavandula officinalis* L. were collected from cultivated plant *Lavandula officinalis* L., hydro-distillation was used to extract essential oil from fresh flowers, the oil yield was 2.7 % (v/w), the chemical analyses using GC/MS, showed that 20 compounds were identified represent 98.37 % of total oil, the main components were Linalool (51.03%) and Camphor (14.92%), four compounds were recorded for the first time: Linalyl anthranilate, Linalyl iso-valerate, Butanoicacid and β-Cubebene (3.64, 0.62, 0.44, 0.39 % respectively). The results of phytotoxicity experiments showed that the concentration of 10 µl/ml was the highest concentration of essential oil, which didn't have a negative effect on wheat seed germination and seedlings growth. On other hand, the bioactivity was investigated, the minimal inhibitory concentration of the oil against two isolates of *Xanthomonas translucens* (Xt10 ،Xt4.2) were determined to be 0.75- 1 µl/ml respectively.

The effect of lavender oil on population size of *X. translucens* on wheat seeds indicated that 5 µl/ml was the lowest concentration reduced the bacterial count about 100 times, and improved the wheat seed germination and seedling growth.

Key words: Lavandula, Xanthomonas translucens, Chemical analysis, wheat.

[*] National commission for biotechnology (NCBT) – Damascus -Syria

[**] Department of plant protection -faculty of agriculture – Damascus University- Syria

المقدمة:

يزرع الخزامى .*Lavandula officinalis* L (Lamiaceae) في القطر العربي السوري لأغراض تزيينية وطبية وعطرية، وهوشجيرة معمَّرة متخشبة الأفرع. يحوي في أوراقه وأزهاره زيت عطري يتكون من العديد من المكونات الكيميائية والتي تختلف نسبها تبعاً للبيئة التي يزرع فيها النبات أو مرحلة النمو التي أخذت خلالها العينات، تشير العديد من الأبحاث إلى نسبة الزيت في الأزهار وتركيبه الكيميائي، فقد وجد Saad (2007) أن نسبة الزيت العطري في الأزهار الطازجة بلغت 3.8 %، وقد تم التعرف على 36 مركباً باستخدام تقنية تحليل الكروموتوغرافيا الغازية (GC)، ووجد أن المركب Cineole– 1,8 كانت نسبته 18.9%، بينما كانت نسبة Linalool 34.2 %، ووصلت نسبة Borneol إلى 12.1%.

تباينت نسب المكونات في شمال غرب إيران في كل من الأزهار والأوراق حيث كان Linalool هو السائد في الأزهار بينما تدنت نسبته في الأوراق وزادت نسبة مادة 1,8– Cineole فيها (Mohammad وزملاؤه، 2011). وقد وجد Najafian وزملاؤه، (2012) أن نسبة المركبين Camphor وLinalool كانت مرتفعة في العينات المأخوذة في مرحلة قمة الإزهار، بينما انخفضت في مرحلة ما قبل الإزهار. وفي دراسةٍ أخرى في صوريا تركزت حول التغير الكمي والنوعي للزيت العطري المستخلص من أزهار جافة من الخزامى تبين بشكلٍ عام ارتفاع نسبة Linalool وكذلك Camphor وكان المركب الذي يليهما Linalyl acetate (Ljiljana وزملاؤه،2011). وفي أصفهان الإيرانية وجد Suleiman وNahid (2006) أن أعلى نسبة من مكونات الزيت العطري لأزهار الخزامى كانت Linalool، تلاه 1,8–Cineole، ثم Borneol.

تسبب البكتيريا أمراضاً عديدة على المحاصيل والخضار وأشجار الفاكهة، وهي تنتقل إلى النبات بوسائل متعددة وكثير منها ينتقل عن طريق وحدات الإكثار المختلفة، وأهمها البذور إما على سطحها أو في داخلها كالبكتيريا التي تسبب مرض التخطط الشفاف

على القمح Xanthomonas *translucens* الذي يعد المرض البكتيري الرئيس على القمح في العديد من البلدان (Silva وزملاؤه، 2009)، حيث سُجل على عدة أنواع تتبع الفصيلة النجيلية. يعد بذار القمح عامل أساسي لانتشار المرض في مناطق وبلدان مختلفة (Maraite وزملاؤه، 2007)، وقد سجل لأول مرة في سورية على شكل انتشار وبائي على صنف القمح القاسي المحلي جزيرة 17 (أسعد، 1987)، حيث أُخرج هذا الصنف من الخطة الزراعية برغم صفاته الإنتاجية العالية. يسبب هذا المرض فقد في الغلة قد تصل إلى ما يزيد عن 40 % (Mehta، 1990؛ Maraite وزملاؤه 2007)، يعود هذا الفقد لتأثيره على نوعية الحبوب حيث ينخفض وزن الألف حبة بما يعادل 10– 30 %.

ترتكز مكافحة المرض على اتباع دورة زراعية وزراعة أصناف مقاومة، إضافةً إلى زراعة بذار خالي من الإصابة (Duveiller وزملاؤه، 1997). ونظراً لعدم وجود مبيدات فعالة لمكافحة المرض في الحقل فقد تركزت المكافحة الكيميائية على تطهير الحبوب بالفورمالين وغيرها من المواد (Sands وزملاؤه، 1981)، وهي مواد ذات خطورة متفاوتة على الصحة البشرية، لذلك تتجه الأبحاث لإيجاد بدائل طبيعية التكوين غير ضارة بالصحة العامة، ويعد استخدام المركبات الطبيعية المضادة للبكتيريا في السنوات الأخيرة وخاصة الزيوت العطرية من أوائل الخيارات بعد تفشي أمراض النبات البكتيرية (Ornek وزملاؤه، 2007)، وقد تولّد الاهتمام في الآونة الأخيرة في تطوير مضادات بكتيرية آمنة –تتضمن الزيوت العطرية –لمكافحة أمراض النبات البكتيرية في الزراعة (Nguefack وزملاؤه، 2005؛ Ozturk وEricisli، 2007).

تشير العديد من المراجع إلى الفعالية الحيوية لبعض المستخلصات النباتية على البكتيريا الممرضة للنبات، فقد وجد أن المستخلص المائي لنبات الأجيراتوم *Ageratum conyzoides* أدى إلى منع نمو بكتريا *Clavibacter michigenesis* مخبرياً (Pattnaik وزملاؤه، 2012). كما بين Mbega وزملاؤه (2012) أن المستخلص المائي

لنباتي الصبر *Aloe vera* والقهوة *Coffea arabica* أديا إلى منع نمو البكتيريا *Xanthomonas perforans* المعزولة من بذور البندورة *Solanum lycopersicum*، كما لوحظ التأثير المضاد لزيوت عطرية مأخوذة من براعم مخروطيات للنوعين (*Metasequoia glyptostroboides, Cleistocalyx operculatus*) تجاه أمراض بكتيرية نباتية لأنواع *Xanthomons* spp. مثل *X.campestris* pv. *campestris*، *X.oryzae* pv. *oryzae* و*X.campestris* pv. *vesicatoria* (Bajpai وزملاؤه، 2011).

بين Basim وBasim (2003) تأثير زيت الورد الشامي *Rosa damascene* المضاد للبكتيريا *X.campestris* pv. *vesicatoria* الممرضة للبندورة *S. lycopersicum*.

مما سبق تتضح أهمية استخدام الزيوت العطرية في مجال المكافحة للأمراض البكتيرية المنقولة بالبذار، هذا وقد هدف هذا البحث إلى:

- استخلاص الزيت العطري لنبات الخزامى *Lavandula officinalis* L. وتحديد مكوناته.
- تحديد التراكيز من الزيت التي لا تؤثر على حيوية بذور القمح.
- تقييم تأثيره في البكتيريا *X.translucens* المسببة لمرض التخطط الشفاف على القمح من خلال تحديد التركيز الأدنى المثبط للبكتريا MIC، ودراسة تأثيره في حيوية البكتيريا المحمولة على البذور.

مواد البحث وطرائقه:

المادة النباتية: تم جمع أزهار الخزامى المزروعة في منطقة النبك في طور أواخر الإزهار بتاريخ 2015/7/21. تم التعرف على الوضع التصنيفي للعينات النباتية في قسم التنوع الحيوي في الهيئة العامة للتقانة الحيوية–دمشق.

بذور القمح المختبرة: استخدم صنف شام3 –وزارة الزراعة.

البكتريا: استخدم في هذه الدراسة عزلتين معرفتين من بكتيريا *Xanthomonas translucens* (Xt10، Xt4.2) من مخبر الأمراض البكتيرية في قسم وقاية النبات – كلية الزراعة–جامعة دمشق.

الاستخلاص: تم استخلاص الزيت العطري بطريقة التقطير بالبخار بجهاز تقطير مصمم وفق معايير الدستور الأوروبي، حيث تم أخذ العينات النباتية طازجة وزن 100 غ ووضعت في 1000 مل من الماء المقطر، استمر التقطير ثلاث ساعات، بسرعة تقطير 2.5 مل/دقيقة. (منجد وآغا، 1998). جمع الزيت العطري للخزامى وجفف بكبريتات الصوديوم اللامائية، وحفظ على الدرجة 5 س°، كررت التجربة أربع مرات.

التحليل الكيميائي: استخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC من النوع Agilente طراز A 7890، ملحق به مطياف الكتلة MS طراز 5975C، الغاز الحامل هو الهليوم، والعمود الشعري DB-1 (30 م x 0.25 مم) بسماكة فيلم 0.0002 مم. تم التعرف على المكونات من خلال المكتبة (Wiley and NIST library databases).

حُل الزيت العطري في الهكسان بنسبة 4:1، وكانت الكمية المحقونة من مخفف الزيت 1 ميكرولتر (1 µl)، وأجري التحليل وفق البرنامج الحراري التالي: الحرارة الابتدائية 60 س°، لمدة 4 دقائق، ترتفع بعدها إلى الدرجة 64 س° بمعدل 1 درجة في الدقيقة، بعدها تتزايد درجة الحرارة إلى الدرجة 155 س°بمعدل 2.5 س°في الدقيقة، وأخيراً ترتفع درجة الحرارة إلى الدرجة 250 س°بمعدل 5 س°في الدقيقة، وثبتت لمدة 4 دقائق.

كانت حرارة الحاقن والكاشف 250 س°. سرعة تدفق الغاز الحامل الهليوم 1 مل/ دقيقة، نسبة التجزئة 1:80. وكانت درجة حرارة مصدر الأيونات 230 س°، طاقة مصدر الأيونات 70 إلكترون فولت عند التحليل بطيف الكتلة.

تجارب السمية:

تأثير زيت الخزامى على إنبات بذور القمح ونمو البادرات: أجريت هذه التجربة بهدف الوصول إلى التركيز الذي لا يؤثر سلباً على نسبة إنبات بذور العائل (القمح) ولا على نمو بادراته، وبالتالي تحديد الحد الأعلى الممكن استخدامه عند تطبيقه على البذور الحاملة للعامل الممرض. تم تحضير خمسة تخفيفات من زيت الخزامى (40-20-10-5-2.5 ميكرولتر/مل) في ماء مقطر ومعقم مضافاً له توين 20 بنسبة 0.1% كمادة مستحلبة. نقعت بذور القمح في التراكيز المختلفة لمستحلب الزيت لمدة 30 دقيقة ثم وضعت في أطباق بتري تحتوي على ورق نشاف مبللة بماء مقطر ومعقم، استخدم شاهد سلبي لبذور معاملة بماء مقطر ومعقم لمدة 30 دقيقة. وضع في كل طبق بترى 25 بذرة، أجري لكل معاملة ثلاثة مكررات، ثم حضنت الأطباق على درجة 20 س°. أخذت القراءات خلال أسبوع حيث تم تحديد نسبة الإنبات وقياس طول الجذير والسويقة وعدد الجذور كمؤشرات على تأثيره في قوة النمو.

تقييم الفعالية الحيوية لزيت الخزامى على البكتيريا:

تم تقييم تأثير زيت الخزامى على عزلتين للبكتيريا المسببة لمرض التخطط الشفاف على القمح *X. translucens* (Xt10، Xt4.2). حضرت أربعة تراكيز من زيت الخزامى (10-5- 2.5- 1.25 ميكرو لتر/مل) في أنابيب اختبار تحوي وسط زرع سائلYPG (Yeast extract 7 g/l, Peptone 7 g/l, Glucose 7 g/l)، وأضيف إليها التوين 20 بتركيز 0.1% كمادة مستحلبة، تم تلقيح الأوساط في الأنابيب الحاوية على التراكيز المختلفة من الزيت وكذلك معاملة الشاهد الإيجابي بالبكتيريا المستهدفة بتركيز نهائي 10^4 / وحدة مكونة للمستعمرة (cfu)/مل. كما تم تحضير شاهدين الأول الوسط المغذي بوجود التوين 20 (Tween 20) ملقح بالبكتريا المدروسة دون إضافة الزيت إليه، والثاني وسط مغذي مع التوين بدون البكتريا.

تـم تحديـد التركيـز الأدنـى المثـبط لنمـو البكتريـا minimal inhibitory concentration(MIC) حسب الآتي: وهو التركيز الأدنى الذي يكون عنده السائل المغذي المختبر بعد 24 ساعة من التحضين شفافاً دون عكر، وعند زرع عينة منه على طبق بتري يحوي وسط مغذي صلب تنمو عليه البكتيريا. وفي حال عدم نمو أي من البكتيريا يكون هو التركيز الأدنى القاتل minimal bactericidal concentration (MBC). (lethal= قاتل). (Rostami وزملاؤه، 2012).

تأثير زيت الخزامى في البكتريا المحمولة على بذور القمح:

استخدمت العزلتان Xt10، Xt4.2، كما استخدم لهذه التجربة بذور قمح صنف شام 3. عقمت البذور بهيبوكلوريد الصوديوم تركيز 1.5% لمدة دقيقتان ثم نقعت بماء مقطر ومعقم لمدة دقيقتين، كررت ثلاث مرات ثم جففت على ورق نشاف. نقعت البذور بمعلق بكتيري من Xt تركيزه 10^7 لمدة نصف ساعة ثم جففت على ورق ترشيح، بعد ذلك تم نقع 100 بذرة في 10 مل من تراكيز الزيت العطري (5–10–20 ميكرو ليتر/مل) لمدة نصف ساعة ثم جففت على ورق ترشيح. استخدم شاهد من البذور المعدية بالبكتيريا دون معاملتها بالزيت العطري وشاهد بذور غير معامل بالبكتيريا والزيت. أجري لكل معاملة ثلاثة مكررات. غسل كل مكرر ب 10 مل من الماء المقطر والمعقم ورج لمدة 10 دقائق في حاضنة ذات رجاج دوراني طراز .J p Selcta,sa سرعة 100د/د، مدد بعدها ماء الغسيل ثلاث مرات 100/1,10/1، 1000/1حيث نشر من كل تمديد 100 ميكروليتر على أطباق بتري تحتوي وسط YPGA (Yeast extract 7 g/l، Peptone 7 g/l ، Glucose 7 g/l and Agar 15 g/l) وحضنت الأطباق على درجة 25 سْ لمدة 48 ساعة تم بعدها عد المستعمرات البكتيرية وحسب عدد البكتريا المحمولة على البذرة باستخدام المعادلة:

عدد البكتيريا / البذرة = عدد المستعمرات في الطبق البتري * 10 *مقلوب التمديد *كمية ماء غسيل البذور/عدد البذور.

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج SPSS 17.

النتائج والمناقشة:

استخلاص الزيت العطري:

بينت نتائج الاستخلاص بطريقة التقطير للأزهار الطازجة أن نسبة الزيت العطري فيها 2.7 % (حجم/وزن)، وهذه النسبة عالية مقارنةً مع نتائج دراسة أجريت في رومانيا لأزهار الخزامى الطازجة فقد بلغت نسبة الزيت 1.13 % (حجم / وزن) (Jianu وزملاؤه 2013). فيما كانت نسبة الزيت العطري لأزهار الخزامى الجافة في مرحلة قمة الإزهار 1.97 % (حجم / وزن) (Suleiman وNahid، 2006). أما Mohammad وزملاؤه (2011) فقد وجدوا أن غلة الزيت العطري من الأزهار الجافة عالية، بلغت في مرحلة قمة الإزهار 6.25 % (حجم / وزن). وفي الأردن قطرت أزهار الخزامى فبلغت 1.35 غلة الزيت % (وزن /وزن)، (Saad، 2007).

التحليل الكيميائي بتقنية الكروماتوغرافيا الغازية للزيت العطري لأزهار الخزامى:

سُجل عشرون مركباً تمثل 98.37 % من الزيت العطري الكلي المستخلص من الأزهار الطازجة للخزامى في مرحلة نهاية الإزهار، حيث كانت أعلى نسبة للمركب Linalool بلغت 51.03% تلاه المركبات Camphor 14.92 %-1Cineole-8, 9.09% -Terpinene-4-ol- % 7.96 Linalyl anthranilate- 3.64 %. أما بقية المركبات فكانت نسبها تقل عن 3% (الجدول 1).

الجدول (1): التركيب الكيميائي للزيت العطري للأزهار الطازجة للخزامى *Lavandula officinalis* L. في طور أواخر الإزهار.

الرقم	اسم المركب	النسبة المئوية %	زمن الاحتباس
1	α–Pinene	0.48	4.89
2	Camphene	0.38	5.24
3	β–Phellandrene	0.14	6.01
4	β–pinene	0.39	6.76
5	3–Carene	0.27	7.52
6	1,8–Cineole	9.09	8.23
7	Limonene	1.56	8.35
8	[E]–Ocimene	2.96	8.86
9	y–Terpinene	0.35	11.27
10	Linalool	51.03	12.26
11	Camphor	14.92	13.34
12	Terpinen–4–ol	7.96	15.87
13	α– Terpineol	1.04	16.60
14	Butanoic acid	0.44	17.02
15	Linalyl anthranilate	3.64	20.57
16	Lavandulol acetate	1.47	22.38
17	Caryophllene	0.35	28.89
18	β– Farnesene	0.89	31.29
19	β– Cubebene	0.39	31.89
20	Linalyl iso–valerate	0.62	33.75
	المجموع	%98.37	

لدى مقارنة نتائج هذا البحث مع الأبحاث الأخرى تبين أن أعلى نسبة للمركبات كانت للمركب Linalool حيث بلغت 51.03 %، وهي نتيجة أعلى مما توصل إليه كل من Najafian (2012) وMohammad وزملائه (2011) وSuleiman وNahid (2006) و Saad (2007) و Ljiljana وزملائه (2011) والتي بلغت 19.2، 33.7، 34.1، 34.2، 19.99 % على التوالي، بينما كانت نسبته عبارة عن آثار عند Jianu وزملائه (2013). أما المركب Camphor فقد شكل نسبة عالية تقع في المرتبة الثانية في هذا

البحث حيث بلغت 14.92 %، بينما سجلت نسبة أعلى عند Ljiljana وزملائه (2011)، في حين كانت في أبحاث أخرى أقل مما تم تسجيله في هذا البحث والتي بلغت 10.6، 10.2، 7.8، 4.6 % عند كل من Najafian وزملائه 2012، Suleiman وNahid (2006)، Mohammad وزملائه (2011)، وSaad (2007) على التوالي.

يأتي مركب 1,8-Cineole في المرتبة الثالثة فقد بلغت نسبته 9.09 % وهي نسبة تتقارب مع ما تم التوصل إليه في دراسة أجريت في سربيا (Ljiljana وزملاؤه، 2011) والتي بلغت 9.15 %، في حين كانت أقل مما توصلت إليه الدراسات الأخرى عند كل من Najafian وزملائه 2012، وSaad (2007)، وSuleiman وNahid (2006)، وMohammad وزملائه (2011)، وJianu وزملائه (2013) والتي كانت نسبها 29، 18.9، 18.5، 17.1، 15.59 % على التوالي.

شكل المركب Terpinene-4-ol نسبة جيدة حيث بلغت 7.96 %، في حين سجلت نسبة أعلى من ذلك عند Jianu وزملائه (2013) حيث وصلت إلى 9.57 %، بينما كانت النسبة أقل من ذلك في نتائج Suleiman وNahid (2006)، وMohammad وزملائه (2011)، وSaad (2007)، Najafian وزملائه 2012، وLjiljana وزملائه (2011) والتي بلغت على التوالي: 4.5، 3.5، 2.5، 1.7، 0.57 %.

أما المركب [E]-Ocimene فقد سجل في هذه الدراسة بنسبة 2.96 %، أما في الأبحاث الأخرى فقد بلغت نسبته 3.4 % (Saad، 2007)، بينما كانت 0.6 % لدى Najafian وزملائه (2012) فيما لم يسجل في باقي الأبحاث المتاحة.

أما المركب Lavandulol acetate فكانت نسبته في هذا البحث 1.47%، بينما تراوحت نسبته في الأبحاث الأخرى بين 2.32% لدى Ljiljana وزملائه (2011) – 0.3% عند Najafian وزملائه (2012).

بلغت نسبة وجود المركب Limonene في عينات هذا البحث 1.56 %، هذا ولم تسجل هذه المادة سوى في بحث واحد عند Jianu وزملائه (2013) حيث بلغت نسبته 2.1 %.

المركب Terpineol– α كانت نسبته 1.04% في حين تراوحت نسبته في الأبحاث الأخرى بين 6% عند Jianu وزملائه (2013) –1.5% عند Mohammad وزملائه (2011)، فيما لم تسجل لدى Ljiljana وزملائه (2011).

أما المركب Borneol فلم يسجل في عينات هذا البحث بينما كانت نسبه عالية عند كل من Mohammad وزملائه (2011)، Suleiman وNahid (2006)، Saad (2007)، Najafian وزملائه (2012)، Ljiljana وزملائه (2011)، Jianu وزملائه (2013)والتي بلغت 14.7، 14.5، 12.1، 9.3، 7.53، 5.07 % على التوالي.

ومن المركبات التي سجلت في هذا البحث ولم يذكر أن سجلت في الأبحاث الأخرى المتاحة، كانت أعلى نسبة للمركب Linalyl anthranilate والتي بلغت 3.64 %، تلاه المركبات الثلاثة: Linalyl iso-valerate، Butanoicacid، β-Cubebene، وكانت نسبها 0.62، 0.44، 0.39% على التوالي.

نتائج دراسة سمية زيت الخزامى على بذور القمح:

التأثير على نسبة الإنبات:

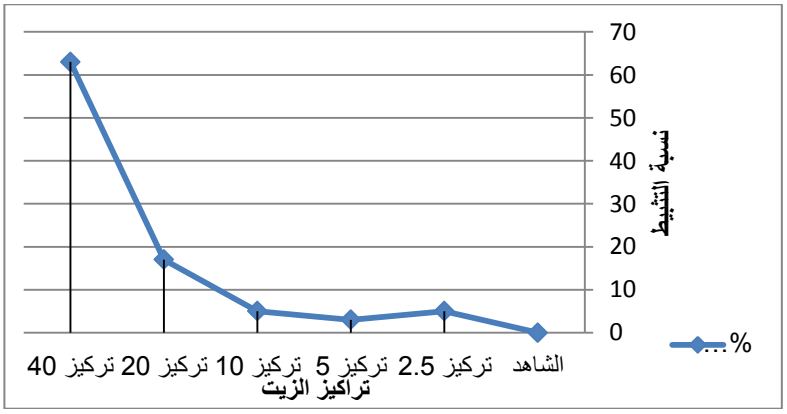
أظهرت نتائج تجارب تأثير الزيت العطري للخزامى في إنبات بذور القمح الجدول (2) أن التراكيز 2.5 و5 و10 ميكرولتر/ مل لم تؤثر في نسبة الإنبات مقارنة مع الشاهد، حيث كانت الفروق غير معنوية بين نسب الإنبات للبذور المعاملة عند هذه التراكيز، وكذلك بينها وبين الشاهد. من جانب آخر تبين أن التركيز 20 ميكرولتر/ مل أدى إلى انخفاض معنوي في نسبة الإنبات حيث بلغ متوسط نسبة الإنبات 19 بذرة بنسبة تثبيط للإنبات 17 % مقارنة بالشاهد، فيما كان التركيز 40 ميكرولتر/ مل أكثر تأثيراً في نسبة الإنبات حيث انخفض متوسط الإنبات إلى 8.5 بذرة بنسبة تثبيط بلغت 63 %.

الجدول (2): تأثير تراكيز مختلفة من الزيت العطري للخزامى في إنبات بذور القمح

التركيز	متوسط عدد البذور النابتة/ 25 بذرة	متوسط نسبة الإنبات مقارنة بالشاهد %
الشاهد	23.00[a]	100
2.50	21.80 [a]	94.78
5.00	22.30 [a]	96.96
10.00	21.80 [a]	94.78
20.00	19.00 [b]	82.61
40.00	8.50 [c]	36.96
قيمة أقل فرق معنوي L.S.D	1.285	

تشير الأحرف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات

مما سبق نستنتج أن أعلى تركيز من الزيت العطري للخزامى يمكن استخدامه لتعقيم بذور القمح دون أن يؤثر على نسبة الإنبات كان 10 ميكرو لتر/ مل. من جانبٍ آخر يظهر الشكل (1) الزيادة الطفيفة في نسبة التثبيط للإنبات عند مضاعفة التركيز من 10 إلى 20 ميكرولتر/مل، بينما كانت الزيادة حادة في نسبة التثبيط لدى مضاعفة التركيز من 20 إلى 40 ميكرولتر/مل.



الشكل (1): النسبة المئوية لتثبيط إنبات بذور القمح عند تراكيز مختلفة للزيت العطري للخزامى

التأثير في قوة النمو:

بينت نتائج تأثير زيت الخزامى على بادرات القمح الجدول (3) أن التركيزين 2.5 و5 ميكرولتر/مل أديا إلى زيادة معنوية في طول الجذير مقارنة بالشاهد ومتفوقة على باقي التراكيز، حيث بلغ متوسط طول الجذير 136 مم و144.3 مم عند التركيزين 2.5 و5 على التوالي، في حين انخفض طول الجذير وبشكل معنوي عن الشاهد لدى معاملة البذور بالتراكيز 20 و40 ميكرولتر/مل وبلغت 72.3 و71 على التوالي. في حين بلغ طول الجذير عند التركيز 10 ميكرولتر/مل 108 مم وبدون فروق معنوية عن الشاهد الذي بلغ طوله 104 مم.

الجدول (3): تأثير تراكيز مختلفة في نمو السويقة والجذير وعدد الجذور.

المعاملة	متوسط طول الجذير/ مم	متوسط طول السويقة/ مم	متوسط عدد الجذور
الشاهد	104.0[a]	133.7 [a]	3
2.5	136.0[b]	157.7 [b]	3
5	144.3 [b]	157.3 [b]	3
10	108.0 [a]	140.0 [a]	3
20	72.3[c]	117.3 [c]	3
40	71[d]	119.7 [d]	3
LSD	12.21	11.90	1.19

تشير الأحرف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات.

ولدى مقارنة طول السويقة تبين أن أفضل تركيزين هما 2.5 و5 ميكرو لتر/مل مقارنة بالشاهد وباقي التراكيز حيث بلغ طول السويقة 157.7 و 157.3 مم على التوالي، بينما كان في الشاهد 133.7 مم، في حين انخفض طول السويقة عند التركيزين 20 و 40 ميكرولتر/مل إلى 117.3 و 119.7 مم على التوالي وبفروق معنوية عن الشاهد وباقي التراكيز، هذا ولم تكن الفروق معنوية بين هذين التركيزين، أما التركيز 10 ميكرولتر/ مل فقد اقترب طول السويقة (140 مم) من الشاهد دون وجود فروق معنوية بينهما.

مما سبق نرى أن تأثير التراكيز المختلفة في نمو بادرات القمح كان متشابهاً في كل من السويقة والجذير. من ناحية ثانية لم يؤد تغير التراكيز عند معاملة بذور القمح بزيت الخزامى العطري إلى تغير معنوي في عدد الجذور.

نتائج الدراسة الميكروبية:

بينت نتائج تقييم حساسية البكتيريا *X.translucens* تجاه زيت الخزامى أن التركيز الأدنى المثبط (MIC) للعزلة Xt10 بلغ 0.75 ميكرولتر/مل، بينما كانت العزلة Xt4.2 أكثر مقاومة لأثر الزيت حيث كانت قيمة MIC لهذه العزلة 1 ميكرولتر/مل الجدول(4).

الجدول (4): تأثير تراكيز زيت الخزامى (ميكرولتر/مل) في عزلتين ممرضتين من النوع *Xanthomonas translucens*

السلالة	المكررات	تراكيز الزيت							
		0.5	0.75	1	2	5	10	Co−	Co+
X10	م1	+	−	−	−	−	−	−	+
	م2	+	−	−	−	−	−	−	+
	م3	+	−	−	−	−	−	−	+
X4.2	م1	+	+	−	−	−	−	−	+
	م2	+	+	−	−	−	−	−	+
	م3	+	+	−	−	−	−	−	+

تشير معظم المراجع إلى أن مركب Linalool وهو الأعلى نسبةً في الزيت العطري لأزهار الخزامى وأن له دور قوي في الفعالية الحيوية ضد الأحياء الدقيقة، وتؤكد ذلك نتائج الباحثين Najafian وزملاؤه (2012)، وMohammad وزملاؤه (2011)، وهذا يتوافق مع نتائج تحليل الزيت العطري في هذا البحث حيث كان المركب Linalool هو الأعلى نسبةً. وتتوافق نتائج هذا البحث مع الأبحاث الأخرى من حيث قدرة الزيت العطري للخزامى على الحد من نمو بكتريا تتبع الجنس *Xanthomonas*. وفي هذا الصدد يشير Mikiciński وزملاؤه (2012) إلى فعالية زيت الخزامى في الحد من نمو

نوعين من جنس *Xanthomonas*، إلا أنه كان أقل فعالية من زيت الليمون *Citrus limon* والمريمية *Salvia officinalis* والقرنفل *Syzygium aromaticum*.

بين Vancheva وزملاؤه (2014) فعالية مجموعة من الزيوت العطرية في تثبيط نمو نوعين من البكتيريا يتبعان الجنس *Xanthomonas* حيث بلغت قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC للزيت العطري لنبات *L. angustifolia* (*L. officinalis* L.) على البكتيريا (10b) *X. euvesicatoria* 0.78 % (حجم/حجم) أي ما يعادل 7.8 ميكرولتر/مل وعلى النوع (44M) *X. vesicatoria* 1.56 % (حجم/ حجم) وهو يعادل 15 ميكرولتر/ملم وهي أعلى بكثير مما توصل إليه هذا البحث. إن الاختلافات بين الأبحاث المختلفة في درجة تأثير الزيت العطري للخزامى على البكتريا يمكن ردها للاختلاف على مستوى النوع البكتيري وبالتالي اختلاف الحساسية تجاه المضادات بسبب التباينات المحتملة في التركيب الوراثي لتلك البكتيريا، ومن جانبٍ آخر يختلف التركيب الكيميائي للزيت العطري بين عينات أزهار الخزامى المدروسة في الأبحاث المختلفة وهذا ما أظهرته الدراسة المرجعية، هذه الاختلافات في التركيب الكيميائي تعود للاختلاف في المصدر الجغرافي للعينات في الأبحاث المختلفة، وكذلك التباين الوراثي المحتمل بين العينات المدروسة للخزامى واختلاف البيئات التي تنمو فيها تلك النباتات، كل ذلك من الأسباب التي تؤدي للتباين في التركيب الكيميائي مما ينعكس في النهاية على تأثيره في البكتريا المعاملة.

تأثير زيت الخزامى في البكتيريا المحمولة على بذار القمح:

بينت نتائج تأثير زيت الخزامى على التعداد البكتيري المحمول على بذور القمح وجود فروق معنوية بين تراكيز الزيت المستخدمة والشاهد وذلك عند قيمة F= 72.77 حيث كانت قيمة P-value < 0.01.

خفضت تراكيز الزيت المستخدمة من تعداد البكتيريا المحمولة على بذور القمح حوالي 100 مرة مقارنة بالشاهد الإيجابي الجدول (5).

الجدول (5): تأثير تراكيز مختلفة من زيت الخزامى في الحمولة البكتيرية على بذور القمح

التركيز	cfu/ml	cfu/grain
الشاهد السلبي	0^{c}	0^{c}
الشاهد الإيجابي	$2.5*10^{5\ a}$	$2.5*10^{4\ a}$
تركيز زيت 5	$4.1*10^{3\ b}$	$4.1*10^{2\ b}$
تركيز زيت 10	$6.9*10^{3\ b}$	$6.9*10^{2\ b}$
تركيز زيت 20	$1.6*10^{3\ b}$	$2.1*10^{2\ b}$

تشير الأحرف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات

وجد أن الفروق معنوية بين الشاهد الايجابي (المعدي بالبكتيريا دون معاملته بالزيت) وبين باقي المعاملات، بينما كانت الفروق ظاهرية فيما بين تراكيز الزيت المختبرة (20، 10، 5 ميكرولتر/مل)، حيث انخفضت الحمولة البكتيرية على البذرة الواحدة من $2.5*10^{4}$ عند الشاهد غير المعامل بالزيت إلى $4.1*10^{2}$ عند التركيز 5 ميكرولتر/مل أي ما يقارب 100 ضعف، وهو التركيز الأخفض الذي تميز بعدم تأثيره السلبي على نسبة الإنبات وفي الوقت نفسه أدى لتحسن بعض مؤشرات النمو.

ذكر Mareite وزملاؤه (2007) أنه يمكن تخفيض من وبائية مرض التخطط الشفاف بتخفيض حجم المجتمع البكتيري الأولي المسبب للعدوى.

كما بين Schaad (1987) أن البذور التي تكون حمولتها البكتيرية أقل من 1000 خلية مكونة للمستعمرة (بكتيريا/غرام) لا تحدث إصابة مرضية في الحقل. كما انه ليس من الضروري الوصول إلى صفر بكتيريا/غرام في البذور المعدة للزراعة الحقلية (Schaad، 1988).

وبناءً على ما سبق ينصح باستخدام التركيز 5 ميكرولتر/مل، وهو التركيز الأدنى الذي خفض من التعداد البكتيري قرابة ال 100 مرة بالوقت نفسه حسّن من نسبة إنبات بذار القمح ونمو بادراته في تجربة السمية.

الاستنتاجات:

1– وجود تباين في نسب بعض المواد الفعالة بين هذا البحث والأبحاث الأخرى لزيت الخزامى بسبب تباين ظروف زراعته، مما سيؤثر في شدة فعاليته الحيوية.

2– إمكانية استخدام الزيت العطري للخزامى في تحسين نسبة الإنبات وقوة نمو بادرات القمح.

3– يمكن استخدام زيت الخزامى عند تراكيز محددة كمادة فعالة في تطهير بذور القمح من البكتيريا *Xanthomonas translucens*.

المراجع References:

- **أسعد، سهام. 1987**. مكافحة مرضي التفحم المغطى وتخطيط الأوراق البكتيري على القمح باستخدام كاسيات البذار. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة حلب، (قسم وقاية النبات). 149 صفحة.
- **منجد، حسان؛ آغا،حسن، محمد عصام 1998**. كيمياء العقاقير والاستخلاص، منشورات جامعة دمشق، صفحة (151–152).
- **Bajpai, V.K., Kang, S., Xu, H., Lee, S., Baek, K and Kang, S.C. 2011**. Potential roles of essential oils on controlling plant pathogenic bacteria *Xanthomonas* species: A Review. Plant Pathol. J. 27(3) : 207-224
- **Basim, E. and Basim, H. 2003**. Antibacterial activity of *Rosa damascene* essential oil. Fitoterapia 74:394–396.
- **Duveiller, E., Fucikovsky, L and Rudolph, K, eds. 1997**. The bacterial diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.: CIMMYT. 78 pp.
- **Jianu C., Georgeta P., Alexandra T. G., Florin G. H. 2013**. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of Lavender (*Lavandulaangustifolia*) and Lavandin (Lavandula x intermedia) Grown in Western Romania. Int. J. Agric. Biol., 15: 772-776.
- **Ljiljana S., Mihajlo S., Milorad C., Vesna N., Ljubiša N., Dušica Il., Niko R. 2011**. The Effect of Hydrodistillation Techniques on Yield, Kinetics, Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Flowers of *Lavandulaofficinalis*L..Hem. ind. 65: 455–463.

- **Maraite, H., Bragard, C., and Duveiller, E. 2007**. The status of resistance to bacterial diseases of wheat.In wheat production in stressed environments. Springer, New York. 37-49
- **Mbega, E. R., Mortensen, C. N., Mabagala, R. B., and Wulff, E. G. 2012**. The effect of plant extracts as seed treatments to control bacterial leaf spot of tomato in Tanzania. *Journal of General Plant Pathology*, *78*(4), 277-286.
- **Mehta, Y.R. 1990**. Management of *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* and hordei through cereal seed testing. Seed Science and Technology. 18(2):467-476.
- **Mikiciński A., Sobiczewski P., Berczyński S. 2012**. Efficacy ofFungicides and Essential Oil Against Bacterial Diseases of Fruit Trees. Journal of Plant Protection Research, Vol.52, No. 4: 467- 471.
- **Mohammad B..H., Abbas H., Lamia V., Behjat H.A., Ali R. 2011**.Essential oil constituents of *Lavandulaofficinalis*Chaix. from Northwest Iran. chemija. 22: 167–171.
- **Najafian Sh., Vahid R., Ameneh T. 2012.** Comparing Essential Oil Composition and Essential Oil Yield of *Rosemarinus officinalis*and *Lavandula angustifolia*Before and Full Flowering Stage. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. 3: 212-218.
- **Nguefack, J., Somda, I., Mortensen, C. N. and Amvam Zollo, P. H. 2005.** Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling seed-borne bacteria of rice (Oryza sativa L.). Seed Sci. Technol. 33:397−407.
- **Ornek, H., Aysan, Y., Mirik, M. and Sahin F. 2007**. First report of bacterial leaf spot caused by *Xanthomonas axonopodis pv. begoniae*, on begonia in Turkey. Plant Pathol. 56:347−352.
- **Ozturk, S. and Ercisli, S. 2007**. Antibacterial activity and chemical constitutions of Ziziphora clinopodioides. Food Cont. 18:535−540.
- **Pattnaik, M. M., Kar, M., and Sahu, R. K. 2012**. Bioefficacy of some plant extracts on growth parameters and control of diseases in Lycopersicum esculentum. Asian J. Plant Sci. Res, 2(2), 129-142.
- **Rostami H., Kasemi M., Shafiei S. 2012**. Antibacterial Activity of *Lavandulaofficinalis*and *Melissa officinalis*Against some Human Pathogenic Bacteria. Asian Journal of Biochemistry, DOI: 10.3923/ajb.
- **Saad A. I. 2007**. Essential Oil Composition of *Lavandulaofficinalis*L. Grown in Jordan. Jornal of Kerbala University, 5: 18-21.
- **Sands, D.C., Kim, H.K., and Hall, V. 1981**. *Xanthomonas* leaf streak of barley. In: Proceedings of the Barley Diseases and Associated Breeding Methodology Workshop, Rabat, Morocco. 173-182.

- **Schaad, N.W. 1987**. The use and limitations of methods to detect seed borne bacteria. In: Seed Pathology, International Advanced Course. Passo Fundo, RS, Brazil. 2:324-332.
- **Schaad, N.W. 1988**. Bacteria. In: Symposium on Inoculum Thresholds of Seed-borne Pathogens. 76th Annual Meeting of the American Phytopathological Society. Phytopathology 78:872-875.
- **Silva, I.T., Rodriggues ,F.A., Oliveira, J.R., Pereira ,S.C., Andrade, C.C.L., and Coneicao, M.M. 2009**. Wheat resistanse to bacterial leaf streak mediated by silicon. Journal of Phytopathology. 158(4):253-262
- **Suleiman A., Nahid A. 2006**. Chemical Constituents of the Flower Essential Oil of *Lavandulaofficinalis*Chaix. from Isfahan (Iran). Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences Summer. 2: 169-172.
- **VanchevaT. , Malinova M. E., Tatyozova M., Gochev V., StoyanovaM., MonchevaP., BogatzevskaN. 2014**. Antimicrobial Activity of Essential Oils Against Pepper Bacterial Spot Agents. First National Conference of Biotechnology, Sofia. Vol, 100, pp. 200-207.