Mesopotamia J. of Agric. ISSN: 2224 - 9796 (Online) مجلة زراعة الرافدين
Vol. (46) No. (3) 2018 ISSN: 1815 - 316 X (Print) المجلد (46) العدد (3) 2018

دراسة تصنيفية كيميائية لأنواع الصنوبر. ***Pinus* sp** النامية في شمال العراق باستخدام تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء **HPLC**

هايس صايل جرجيس الجواري | عبد الرزاق رؤوف سليمان الملاح | يونس محمد قاسم الالوسي
قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل | قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل | قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل
Email: haees_j@yahoo.com

الخلاصة

أجريت الدراسة لتحديد المركبات الفينولية لستة أنواع من الصنوبر .Pinus sp لاستخدامها في التشخيص النباتي، استخدمت طريقة الاستخلاص التعاقبي بواسطة جهاز الاستخلاص المستمر (السوكسليت) Continuous Soxhlet apparatus، لتحضير المستخلصات الخام Crude extracts من المجموع الخضري للأنواع قيد الدراسة باستعمال أربع مذيبات مختلفة ومتسلسلة القطبية (الايثر البترولي والبنزين والكلوروفورم والايثانول) للحصول على مستخلص خال من الدهون والشوائب، وأجريت عملية التحلل ألحامضي للمستخلصات الخام (الكلورفورم والايثانول) لتسهيل تشخيص مركباتها ثم فصلت المركبات بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC ،إذ استعملت هذه التقنية في التحليل الكمي والنوعي لتشخيص نوع المركبات الفينولية والأحماض العضوية والنسب المئوية لوجودها في المستخلص الكلوروفورمي الخام والمستخلص الايثانولي الخام، وقد تباينت أنواع الصنوبر في نوعية المركبات والحوامض المفصولة وعددها ونسبها المئوية ومساحة كل منحن وأظهرت النتائج فصل وتشخيص 15 مركب فينولي وهي Quercetin Hydroquinone. Vanillin. Cinnamic acid. Coumarin. Gallic acid.) Hydroxybenzoic acid. Luteolin. Phenol. Resorcinol. Rutin. Salicylic acid. Querctin-7- glucoside .Catechol. Myricetin). وقد احتوت المستخلصات الايثانولية على عدد من الفلافينويدات بعضها غير سكرية كالمركب Luteolin والبعض الآخر هي كلايكوسيدية. كما أظهرت الدراسة اشتراك أنواع الصنوبر المدروسة في وجود عدد من المركبات الكيميائية مما يعزز من وحدة الجنس وصحة انتماء الأنواع المدروسة إليه وأدت النتائج إلى تشخيص وعزل الأنواع من حيث محتواها من المركبات الفينولية ودعم الصفات المظهرية والتشريحية وتعد هذه الاختلافات بين أنواع الصنوبر في المحتوى الكيميائي خير دليل على إمكانية اعتمادها كمؤشر تصنيفي مهم.

كلمات داله : التشخيص النباتي، الاستخلاص التعاقبي، المركبات الفينولية، phenolic compounds

تاريخ تسلم البحث 20 /2017/9، وقبوله 2017/12/17

المقدمة

يعرف التصنيف الكيميائي chemotaxonomy بالعلم الذي يشمل تصنيف النباتات اعتمادا على طبيعة المركبات الكيميائية التي تحتويها الخلايا والأنسجة النباتية، والتي يمكن عدها أدلة تصنيفية مهمة للتمييز بين الأنواع النباتية المتشابهة في الصفات المظهرية والصعبة التشخيص ومؤشرا جيدا للعلاقات بين المراتب التصنيفية المختلفة والتي تعد جزء مكمل ورئيسي للدراسات التصنيفية المختلفة، إذ تنفرد أجناس وأنواع معينة بوجود أنواع من المركبات الكيميائية كالفينولات والتربينات والتانينات والحوامض الدهنية والكربوهيدرات والدهون والبروتينات والقلويدات وغيرها، وان الخصائص الكيميائية والمنتجات الثانوية في النبات تعد مؤشرا للعلاقات التصنيفية بين المراتب المختلفة أكثر من الصفات المظهرية وتظهر ارتباطا عاليا مع الصفات الأخرى وتساهم في رسم العلاقات الواسعة بين المراتب التصنيفية المختلفة ولكن لا يمكن اعتمادها دليلا تصنيفيا جيدا بعيدا عن الأدلة الأخرى وهذا ما أشار إليه (Davis و Heywood، 1973)، أن الاهتمام باستخدام المركبات الكيميائية في تنقيح نظم تصنيف النباتات الزهرية فكرة حديثة العهد ساعد على تنفيذها التقدم في صناعة أجهزة التحليل الكروماتوغرافي Chromatography خلال القرن العشرين والذي توافق مع تزايد الاعتقاد بأهمية أكبر قدر من الدلائل التصنيفية من شتى المصادر (بدر،2006). تعتبر مركبات التمثيل الغذائي الثانوية من أهم المركبات المستخدمة في التقسيم الكيميائي ومن ضمنها الفلافينويدات Flavonoids إذ اهتم علماء تصنيف النبات بها واعتمادها كأحد الأسس في التصنيف الكيميائي للنبات، وذلك بسبب ثباتها وسهولة الحصول عليها ونسبتها العالية في النبات ولأهميتها الطبية والاقتصادية (Mehrotra وآخرون، 1989) وقد اعتبر Swain وآخرون (1977) كثير من المركبات الكيميائية ومنها الفلافينويدات Flavonoids مميزة لأقسام Division أو فصائل Families، أو أجناس Genera، أو

البحث مستل من أطروحة الدكتوراه للباحث الأول

أصناف Varieties نباتية معينة، ويعتقد Harborne وآخرون (1971) بأن الفلافينويدات هي القاعدة الأساسية في التصنيف الكيميائيChemotaxonomy. وتتباين المستخلصات في قطبيتها فمنها قطبية وأخرى غير قطبية إذ تستخلص المركبات القطبية بواسطة المذيبات القطبية أما المركبات غير القطبية فتستخلص باستعمال مذيبات غير قطبية (Al-Daody،1998). لقد ساعد التصنيف الكيميائي في تحقيق أهداف علم التصنيف،وذلك بمعالجة كثير من المشكلات التصنيفية في المجاميع النباتية المختلفة، ولكن كان لابد من التشديد على المصنفين بالأخذ بعين الاعتبار للنتائج الكيميائية بنفس القدر مع النتائج المتحصل عليها من المصادر الأخرى المختلفة (Cornquist، 1964). وساهمت الدلائل الكيميائية في تصحيح الوضع التصنيفي لعدد من الفئات التصنيفية كما كان لها دوراً بارزاً في توضيح العلاقات التي تربط بين الأنواع والفئات دون النوع في كثير من الأجناس والأنواع، فعلى مستوى الفصيلة تأتي معالجة الوضع التصنيفي لبعض العوائل مثل العائلة القرنفلية Caryophyllaceae والموليوجينية Moylluginaceae فقد تم فصلهما عن رتبة السنتروسبيرمات Centrospermae والتي تبين أن العوائل التي تنتمي إلى تلك الرتبة تحتوي على مركبات بتالينية Betalains لا تحتويها العائلتين القرنفلية والموليوجينية (السحار، 1997). تمتاز النباتات باحتوائها على مركبات كيميائية تختلف باختلاف النباتات لذا فقد أمكن استخدام هذه الصفة في تشخيص أو عزل الأنواع إلى مجاميع، وكذلك معرفة العلاقات التطورية الكيميائية بين النباتات. وفي إطار الكشف عن المستخلصات والمركبات الفعالة في نباتات الأنواع التابعة لعاريات البذور وبضمنها العائلة الصنوبرية حظي جنس الصنوبر باهتمام الباحثين في مجال كيمياء النواتج الطبيعية من اجل تحقيق أهداف عده من أهمها تشخيص المركبات الثانوية التي تنتجها نباتات جنس الصنوبر ومن ثم التعرف على أهميتها التي من بينها معرفة تأثيرها على الكائنات الحية وكذلك استخدامها في فصل وتمييز أنواع جنس الصنوبر عن بعضها البعض. وقارن Kaundun وآخرون (1997) الاختلافات الوراثية بين ثلاثة أنواع من الصنوبر في فرنسا هي الصنوبر البروتي والصنوبر الحلبي وصنوبر الداريكا Pinus eldarica بالاعتماد على فلافينويدات الأوراق الابرية وقد اختلفت هذه الأنواع في محتواها من الفلافينويدات مما ساهم في فصل الأنواع الثلاثة اعتماداً على هذه المركبات الكيميائية. واستخدم التصنيف الكيمياوي Chemotaxonomy كمساعد للتمييز بين خشب صنوبر Pinus strobus وخشب صنوبر Pinus monticola من قبل Margaret وآخرون (1985) ووجد أنه بالإمكان التمييز بينهما بنسبة 95% عن طريق إخضاع مستخلصاتها من الأسيتون Acetone إلى كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)، ودرس Pasqualini وآخرون (2003) محتوى الأوراق الابرية للصنوبر الحلبي من المركبات الفينولية البسيطة في ستة مواقع في فرنسا وتم تشخيص المركبات (Protocatechuic acid و Vanillic acid وp-Coumaric acid و 4-Hydroxybenzoic acid و Vanillin و Syringic acid و Gallic acid). ونظرا لأهمية المركبات الفينولية في التشخيص النباتي فأننا ارتأينا استخدامها كدلائل تصنيفية بين أنواع جنس الصنوبر المدروسة.

مواد البحث وطرائقه

جمعت العينات (الأوراق الابرية) لأنواع الصنوبر قيد الدراسة في ربيع عام 2011 من مواقع الدراسة التي شملت 11 موقعا تتوزع على ثلاث محافظات هي (نينوى ودهوك واربيل) في شمالي العراق وكما موضح في الجدول (1). واستخدمت طريقة الاستخلاص التتابعي للحصول على المستخلصات النباتية للعينات المدروسة، أجريت هذه الدراسة في مختبرات قسم الغابات ومختبرات الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية فرع نينوى وكما يأتي :

طريقة الاستخلاص التتابعي: تمت عملية الاستخلاص باستعمال جهاز الاستخلاص المستمر Continuous Soxhlet Apparatus بعد تجفيف العينات في الظل و طحنها استنادا إلى الطريقة التي ذكرها كل من Harborne (1973) وAL-Daody (1998) وقد استخدمت في عملية الفصل أربعة مذيبات مختلفة القطبية هي: 1- الايثر البترولي (60- 80) م° Petroleum ether 2- البنزين Benzene 3- الكلورفورم Chloroform 4- الايثانول (95%) Ethanol، حيث أخذت (10) غم من كل عينة ووضعت في حاوية من السليلوز النقي (thimble) ثم وضعت في وحدة الاستخلاص في جهاز السكسوليت، وجرت عملية استخلاص كل عينة بشكل منفصل لكل مذيب عضوي وحسب تسلسل القطبية للمذيبات الأربعة آنفة الذكر إذ استعمل (300) مل من كل منها للاستخلاص بشكل تعاقبي للحصول على مستخلص خالي من الشوائب وقد استمرت عملية الاستخلاص من (4-6) ساعات لكل عينة ولحين اختفاء اللون، وهي من أفضل الطرائق للحصول على أعلى مستخلص (Romero وVargas، 2005) بعد ذلك أجريت عملية التركيز لكل

المستخلصات التي تم الحصول عليها في أثناء عملية الاستخلاص التعاقبي تحت الضغط المخلخل باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary Vacuum Evaporator للحصول على (25 مل) من المستخلص الخام، ثم وضعت العينات في قناني معتمة، وأعطيت لها رموز للدلالة على النوع والموقع ثم حفظت في الثلاجة لحين إجراء العمليات اللاحقة عليها وقد رمزت العينات الجدول (2).وقد أجريت عملية التحلل ألحامضي للمستخلصات الخام لكل من الكلوروفورم والايثانول لفصل المركبات المرتبطة بوحدات السكر وفقا لطريقة Harborne (1973) إذ تحتوي الأنسجة النباتية على العديد من المركبات الفينولية التي يوصف بعضها على أنها موانع أكسدة Antioxidants وأهمها الفلافينويدات (Malencic وآخرون، 2007)، والتي توجد أما بصورة حرة أو على شكل كلايكوسيدات من خلال اتحادها مع وحدات سكرية كالكلوكوز أو التانينات (الحمداني والعارف، 1990) لذا تم اللجوء لعملية التحلل الحامضي لفك الارتباط من اجل تشخيص فينولات حرة يمكن اعتمادها في التمييز بين الأنواع النباتية ضمن الجنس الواحد عند تطبيق تقنية CHPL، إذ نقل 5 مل من المستخلص الكحولي الخام وبدون راسب إلى بيكر في حمام مائي وأضيف إليه 50 سم3 من حامض الهيدروكلوريك 1 عياري. سخنت محتويات البيكر لدرجة 90 ° مئوية ولمدة ساعة واحدة. برد المحلول ثم رشح للتخلص من الرواسب. استعمل خمسة عشر مركبا قياسيا تم الحصول عليها من كلية التربية/ قسم علوم الحياة، وكلية العلوم / قسم الكيمياء/ جامعة الموصل ومن شعبة العلوم الأساسية في كلية الزراعة والغابات،ومن كلية طب الأسنان / جامعة الموصل ومن الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية في محافظة نينوى وهي من منتجات شركة فلوكا السويسرية فضلا عن شركة BDH. وقد حضرت بإذابة 0.1 غم من كل مركب قياسي في 10 مل من الايثانول وتم ترشيحها Robert وآخرون (2000). إذ استخدمت محاليل المركبات القياسية الآتية: p-Hydroxybenzoic acid-Salicylic acid Vanillin - - Luteolin - Hydroquinone - Quercetin - Phenol Resorcinol - Catechol -Gallic acid Myricetin - Quercetin 7glucoside - Coumarin - Cinnamic acid - Rutin. وللتشخيص النوعي و الكمي استخدمت تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء High performance liquid chromatography (HPLC)، إذ فحصت العينات التي أجريت لها عملية التحلل الحامضي حيث استخدمت المستخلصات الكلوروفورمية والكحولية التي مثلت عينات الأنواع ولجميع المواقع المدروسة المبينة في الجدول (2)، في مختبرات الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية في محافظة نينوى. في جهاز HPLC من نوع Agilent Technologies 1200 Series أمريكي الصنع، بعد تنقيتها باستعمال مرشحات غشائية نوع (0.1µm). وقد أجريت القياسات تحت ظروف الفصل اذ استخدم عمود فصل نوع L1 (5 مايكرون × 4.60 ملم ×250 ملم)، وقد تمت عملية الفصل في ظروف المختبر باعتماد مبدأ الفصل الذي ذكره Thermo(2009) وذلك باستخدام طور ناقل مكون من 85 % أسيتون و 15 % ماء،وبسرعة جريان 1 مل / دقيقة وكان حجم الخلية 2 مل ونوع الكاشف UV-Vis وحقن 10 µl من المحلول القياسي في جهاز HPLC وكشف عن الاستجابات الكروماتوغرافية عند طول موجي 280 نانوميتر و 360 نانوميتر. فبعد إعداد المحاليل القياسية وتحضيرها تم حقن 10 µl من المحلول القياسي في جهاز الـ HPLC المذكور صفاته آنفا وتمت عملية الفصل في الظروف المبينة آنفا ونتج عن عملية الفصل رسم منحني peak لكل مركب قياسي مقرونا بزمن الاحتباس الخاص به وهي كما موضحة في الأشكال (37-51). ثم اعتمدت قيم زمن الاحتباس للمركبات القياسية لغرض مطابقة المركبات العضوية التي تم فصلها من المستخلصات الخام للكلوروفورم والايثانول للأنواع قيد الدراسة،إذ تم حقن المستخلصات الخام لكل من مستخلصات الكلوروفورم والايثانول كلا على حدا في جهاز HPLC وفصلت المركبات العضوية عند ظروف الفصل نفسها المذكورة آنفا، إلا أن عملية الفصل استمرت لغاية الدقيقة 14 في كل المستخلصات وذلك لمعرفة محتوى هذه المستخلصات من المركبات العضوية هدف الدراسة، وللتشخيص اعتمدت قيم زمن الاحتباس Retention time (Rt) للمركبات القياسية لمطابقتها مع قيم الاحتباس للمركبات التي فصلت من المستخلصات قيد الدراسة بعد أن حقنت في جهاز HPLC تحت نفس الظروف.

الجدول (1) مواقع الدراسة ونسبة انتشار كل نوع من أنواع الصنوبر .Pinus sp المدروسة

Table (1) locales of studies and rate distributions of Pinus species

نسبة الانتشار Rate distribution %	محافظة اربيل Erbil Governorate		محافظة دهوك Dohuk Governorate					محافظة نينوى Ninavah Governorate				Species الأنواع	ت
	حجران (ح ج) Hujran	مشتل اربيل المركزي (م ا م) nursery of Erbil	اتروش (ش) Atroosh	سواره توكا (س ت) Sowaratoka	القصور (ق) Kosowr	زاويتا 2 (ز2) Zawita 2	زاويتا 1 (ز1) Zawita 1	حديقة الشهداء (ح ش) Kingdom of Mosul	المخيم (م خ) Mokhiam	غابة نينوى (غ ن) Forest OF Ninavah	مشتل غابة نينوى (م غ ن) Forest nursery of Ninavah		
%100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	الصنوبر البروتي Pinus brutia	1
%72.7	+	+		+	+			+	+	+	+	الصنوبر الثمري P. pinea	2
%45.4		+			+			+	+	+		الصنوبر الحلبي P. halepensis	3
%18.18									+	+		صنوبر الداريكا P. eldarica	4
%18.18									+		+	الصنوبر الكناري P. canariensis	5
%18.18		+							+			الصنوبر الشعاعي P.radiata	6

Mesopotamia J. of Agric. ISSN: 2224 - 9796 (Online) مـجلــة زراعــة الـرافـديـن
Vol. (46) No. (3) 2018 ISSN: 1815 - 316 X (Print) المجلد (46) العدد (3) 2018

Table (2) Letters and localities of Pinus species

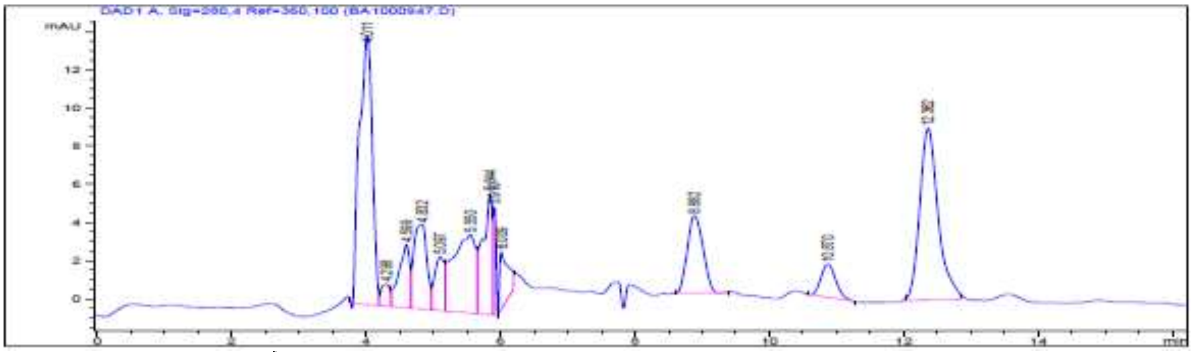
الجدول (2) رموز ومواقع عينات الأنواع المدروسة

locality الموقع	letters of species دلالة الرمز والنوع	Letters الرمز	ت
Forest nursery Of Ninavah مشتل غابة نينوى	الصنوبر البروتي Pinus brutia في موقع مشتل غابة نينوى	bfnn	1
Nursery OF Erbil مشتل اربيل المركزي	الصنوبر البروتي Pinus brutia في موقع مشتل اربيل المركزي	be	2
Forest OF Atroosh غابة اتروش	الصنوبر البروتي Pinus brutia في موقع غابة اتروش	ba	3
Forest Of Zawita 1(1) غابة زاويتا الموقع	الصنوبر البروتي Pinus brutia في موقع (1) غابة زاويتا	bz1	4
Forest Of Zawita 2 ((2) غابة زاويتا الموقع	الصنوبر البروتي Pinus brutia في موقع (2) غابة زاويتا	bz2	5
Forest Of Hujran غابة حجران	الصنوبر البروتي Pinus brutia في موقع غابة حجران	bh	6
Forest Of Ninavah 1(1) غابة نينوى الموقع	الصنوبر البروتي Pinus brutia في موقع (1) غابة نينوى	bf1	7
Forest nursery Of Ninavah مشتل غابة نينوى	الصنوبر الثمري Pinus pinea في موقع مشتل غابة نينوى	Pfnn	8
Nursery OF Erbil مشتل اربيل المركزي	الصنوبر الثمري Pinus pinea في موقع مشتل اربيل المركزي	Pe1	9
Forest Of Hujran غابة حجران	الصنوبر الثمري Pinus pinea في موقع (1) غابة زاويتا	Ph1	10
Forest Of Sowaratoka غابة سواره توكا	الصنوبر الثمري Pinus pinea في موقع غابة سواره توكا	Ps1	11
Forest nursery Of Ninavah مشتل غابة نينوى	الصنوبر الكناري Pinus canariensis في موقع مشتل غابة نينوى	Cfnn	12
Forest Of Ninavah Mokhiam غابة نينوى (المخيم)	الصنوبر الشعاعي Pinus radiata في موقع غابة نينوى(المخيم)	rm1	13
Nursery OF Erbil مشتل اربيل المركزي	الصنوبر الشعاعي Pinus radiata في موقع مشتل اربيل المركزي	re	14
(Dohuk (Kosowr دهوك (قصور)	الصنوبر الحلبي Pinus halepensis في موقع القصور في دهوك	hd	15
Nursery OF Erbil مشتل اربيل المركزي	الصنوبر الحلبي Pinus halepensis في موقع مشتل اربيل المركزي	he	16
Ninavah(Kingdom of Mosul) نينوى (حديقة الشهداء)	الصنوبر الحلبي Pinus halepensis في موقع غابة نينوى (حديقة الشهداء)	hk	17
Forest Of Ninavah Mokhiam غابة نينوى (المخيم)	صنوبر الداريكا Pinus eldarica في موقع غابة نينوى (المخيم)	em	18
Forest Of Ninavah غابة نينوى	صنوبر الداريكا Pinus eldarica في موقع غابة نينوى	ef	19

النتائج والمناقشة

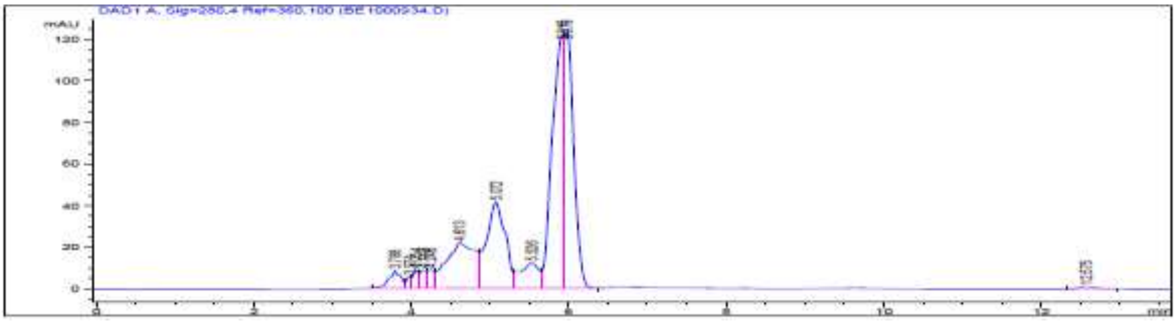
التصنيف الكيمياوي Chemotaxonomy: أظهرت أنواع الصنوبر المدروسة تغايراً ملحوظاً من حيث ما تحتويه من المركبات الفينولية مما يمكن عدَّها كدلائل تصنيفية تدعم الصفات الأخرى المظهرية والتشريحية التي وفرتها هذه الدراسة، وتضمنت هذه الدراسة الكيميائية الكشف عن المركبات الفينولية التي أمكن توفير بعض المركبات القياسية Standards لها فقد أمكن تشخيص 15 مركبا تعود إلى مجاميع فينولية phenolic groups مختلفة في أنواع الصنوبر قيد الدراسة وكما يأتي:

أسفرت عملية الكشف الكروماتوغرافي لهذه التقنية فصل للمركبات الكيميائية وذلك برسم منحنيات قياسية لكل مركب مقرونا بزمن الاحتباس Retention Time (Rt) الخاص به كما ونوعا وكما هو موضح في جداول المنحنيات ذات العلاقة إذ اعتمدت قيم زمن الاحتباس للمركبات القياسية لمطابقتها مع قيم الاحتباس للمركبات المفصولة من المستخلصات قيد الدراسة. إذ يبين الجدول (3) تواجد المركبات الفينولية وزمن الاحتباس بالدقيقة لكل منها في مستخلص الكلوروفورم للأنواع النباتية وتبين الأشكال (1-18) منحنيات المركبات للأنواع النباتية المدروسة في مستخلص الكلوروفورم، اما الجدول (4) فيبين تواجد المركبات الفينولية وزمن الاحتباس بالدقيقة لكل منها في مستخلص الايثانول للأنواع النباتية وتبين الأشكال (19– 36) منحنيات المركبات للأنواع النباتية المدروسة في مستخلص الايثانول، في حين تبين الأشكال (37– 51) منحنيات المركبات القياسية وأظهرت نتائج تحليل كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) لأنواع الصنوبر المدروسة تغايرات من حيث محتوياتها من المركبات الفينولية مما يمكن عدها كدلائل تصنيفية تدعم الصفات الأخرى منها المظهرية والتشريحية واتضح من خلال الدراسة ظهور مركبات فينولية معينة في مستخلصات الأوراق الابرية في أنواع دون غيرها في حين ظهرت مركبات أخرى في بقية الأنواع.



الشكل (1) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (bA) باستخدام تقنية HPLC

Figure (1) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle leaves of sample (bA)



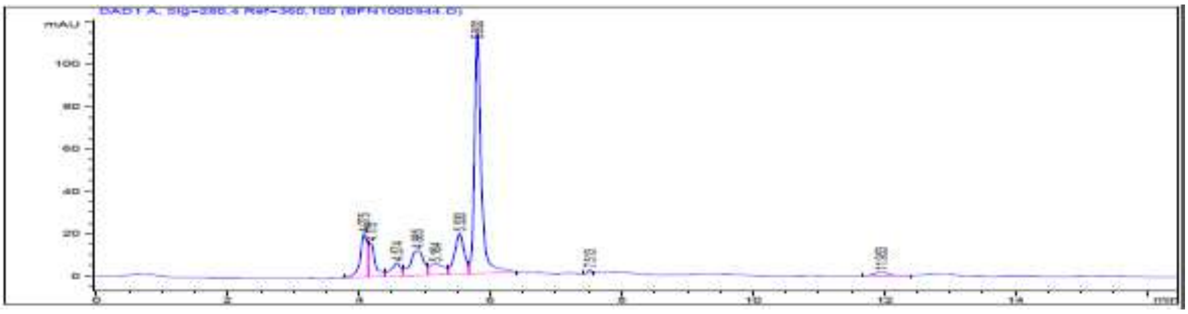
الشكل (2) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (bE1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (2) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (bE1)

الجدول (3) المركبات التي شخصت باستخدام تقنية HPLC من المستخلص الخام للكلوروفورم لـلأوراق الابرية لأنـواع الصـنوبر المدروسـة مع زمن الاحتبـاس R_t والنسبة المئويـة لكل منهـا فضلا عن زمن الاحتباس القياسي

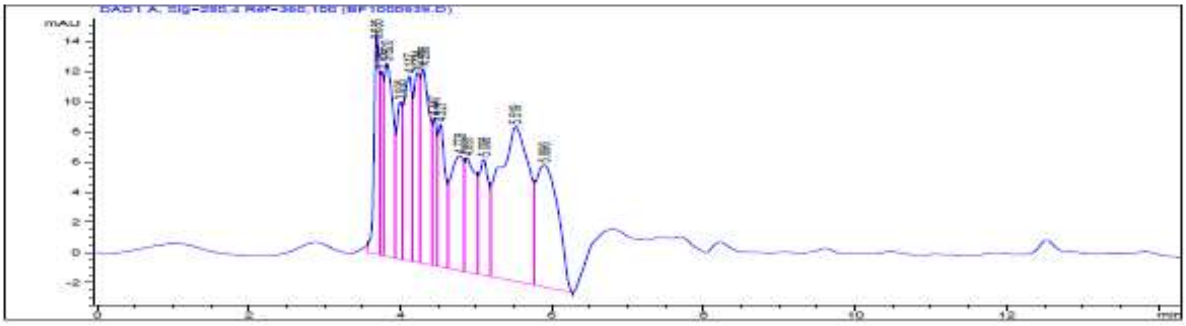
Table (3) Phenolic compounds identification by HPLC from Chloroform crude extract at needles of *Pinus* sp. with Rt, % for each and Rt of standard compounds

Myircetin		Quercetin - 7- glugoside		Catechol		Resorcinol		Hydroxy-benzoic acid		Phenol		Gallic Acid		Salicylic acid		Coumarin		Luteolin		Vanillin		Hydroquinone		Rutin		Quercetin		المركبات compounds
%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	العينات
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	12.08	5.55	---	---	---	---	---	---	4.72	4.59	3.71	5.09	7.55	4.83	23.71	4.01	---	---	bA1
---	---	---	---	---	---	---	---	13.99	4.61	5	5.52	---	---	2.24	3.78	---	---	---	---	---	---	17.34	5.07	0.59	3.97	---	---	bE1
---	---	0.42	7.51	---	---	4.97	5.16	---	---	12.19	5.53	6.39	5.17	---	---	---	---	4.05	4.57	4.97	5.16	10.35	4.88	10.1	4.07	---	---	bfn1
3.06	4.44	---	---	---	---	6.98	4.77	---	---	21.5	5.51	---	---	5.32	3.68	---	---	4.85	4.52	5.18	5.09	5.68	4.88	4.06	3.99	---	---	bf1
---	---	0.67	7.85	---	---	10.18	4.79	---	---	11.01	5.54	---	---	1.26	3.66	---	---	---	---	---	---	---	---	6.37	3.98	---	---	bz1-1
---	---	0.35	7.80	---	---	---	---	2.48	4.61	12.39	5.46	---	---	4.15	3.73	---	---	---	---	2.96	5.09	10.23	4.82	9.43	4.06	---	---	bz2-1
11.67	4.47	---	---	---	---	0.81	4.74	---	---	25.36	5.58	---	---	4.65	3.71	---	---	---	---	---	---	21.6	4.92	8.53	4.11	---	---	bH1
2.12	4.4	0.57	7.68	---	---	---	---	2.51	4.61	14.76	5.47	---	---	---	---	---	---	---	---	2.95	5.12	18.67	4.84	12.11	4.03	---	---	cfn1
1.32	4.24	46.52	7.66	---	---	---	---	---	---	12.92	5.46	---	---	---	---	---	---	4	4.57	3.621	5.09	6.98	4.82	4.04	3.94	---	---	hD1
9.17	4.31	---	---	---	---	---	---	---	---	6.95	5.49	---	---	3	3.70	21.71	5.96	4.60	4.23	14.89	5.06	16.72	4.81	22.16	4.04	---	---	hE1
2.39	4.23	1.43	7.64	---	---	---	---	---	---	11.38	5.44	---	---	---	---	3.09	5.92	4.27	4.58	3.41	5.10	8.16	4.80	12.37	3.93	---	---	hK1
---	---	4.83	7.71	---	---	---	---	---	---	17.36	5.45	13.54	5.72	1.03	3.77	5.17	5.95	---	---	---	---	24.86	4.82	3.95	4.01	---	---	pE1
13	4.37	0.83	7.63	---	---	---	---	---	---	16.78	5.46	---	---	---	---	2.94	5.93	---	---	2.27	5.08	19.54	4.84	10.89	3.97	---	---	pFN1
3.63	4.41	---	---	---	---	---	---	1.41	4.21	15.92	5.45	---	---	2.50	3.68	---	---	2.37	4.28	5.19	5.05	6.29	4.805	2.11	3.91	---	---	pH1
2.10	4.21	0.71	7.74	---	---	5.86	4.79	---	---	14.48	5.44	---	---	---	---	---	---	4.86	4.60	4.45	5.09	---	---	2.34	3.94	22.4	6.75	pS1
1.41	4.44	---	---	---	---	---	---	---	---	8.59	5.55	---	---	0.54	3.68	---	---	---	---	2.42	5.25	25.22	4.83	.152	3.97	1.81	6.84	em1
---	---	1.97	7.71	11.49	2.92	---	---	---	---	9.72	5.42	---	---	---	---	2.02	6.01	---	---	6.38	5.26	7.38	4.80	11.61	4.09	---	---	rE1
6.17	4.13	1.29	7.69	---	---	8.00	4.78	---	---	13.30	5.43	---	---	3.10	3.78	3.88	6.01	5.56	4.58	4.91	5.08	---	---	14.29	4.03	---	---	rM1
4.47		7.98		2.79		4.72		4.61		5.49		5.32		3.50		6.33		4.56		5.25		4.80		3.99		6.64		المركبات القياسية Standards



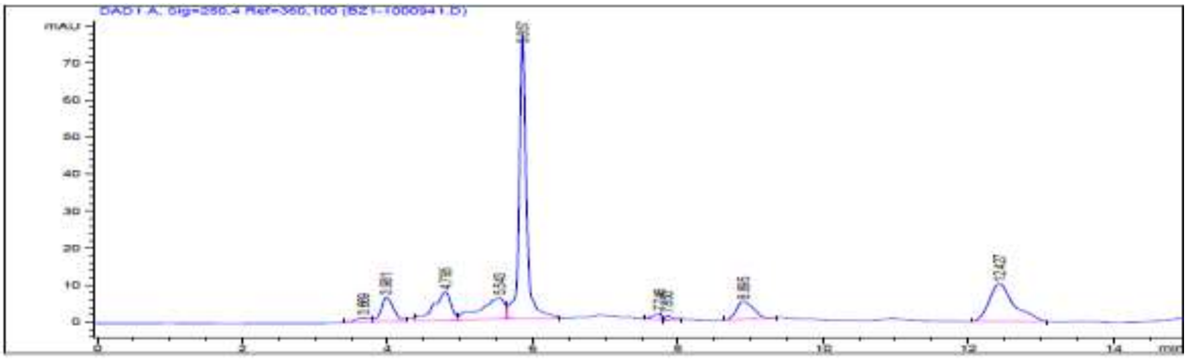
الشكل (3) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (bfn1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (3) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (bfn1)



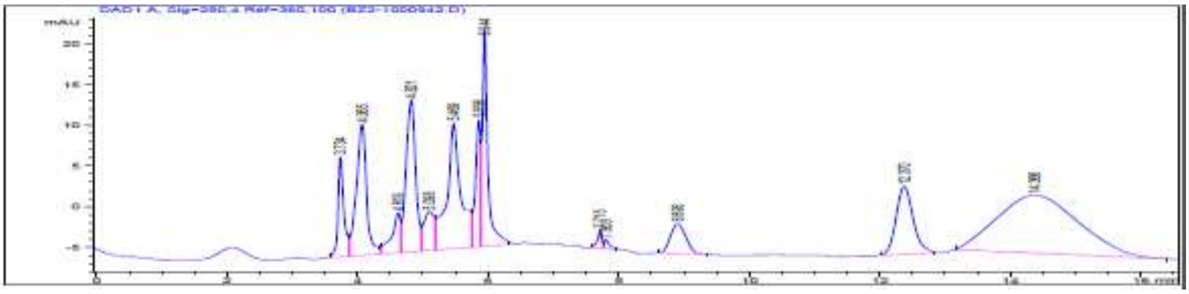
الشكل (4) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (bf1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (4) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (bf1)



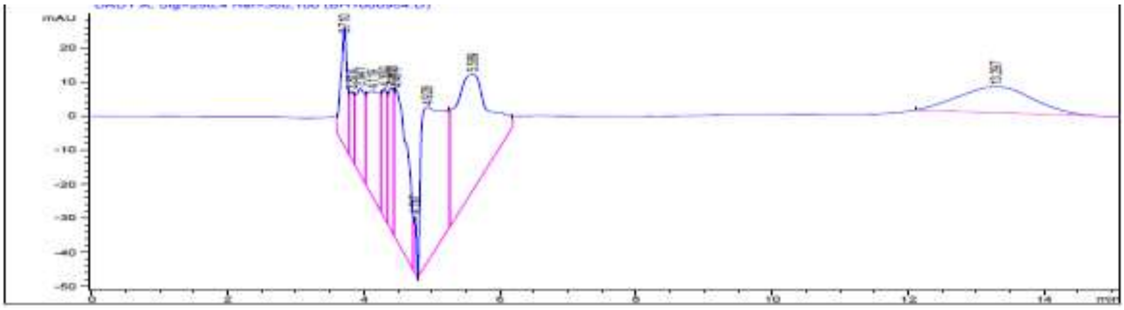
الشكل (5) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (bz1-1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (5) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (bz1-1)



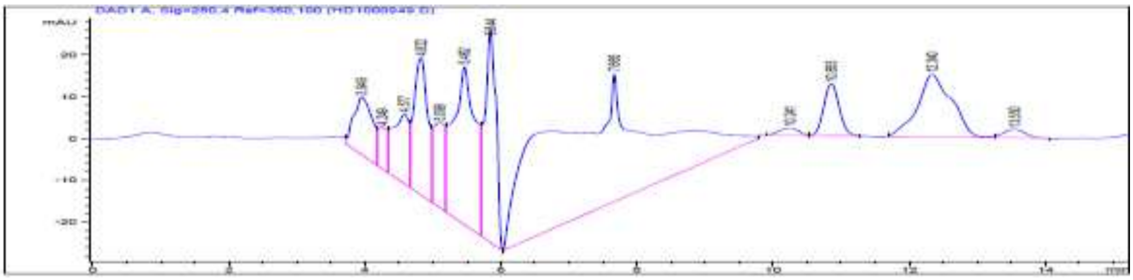
الشكل (6) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (bz2-1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (6) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (bz2-1)



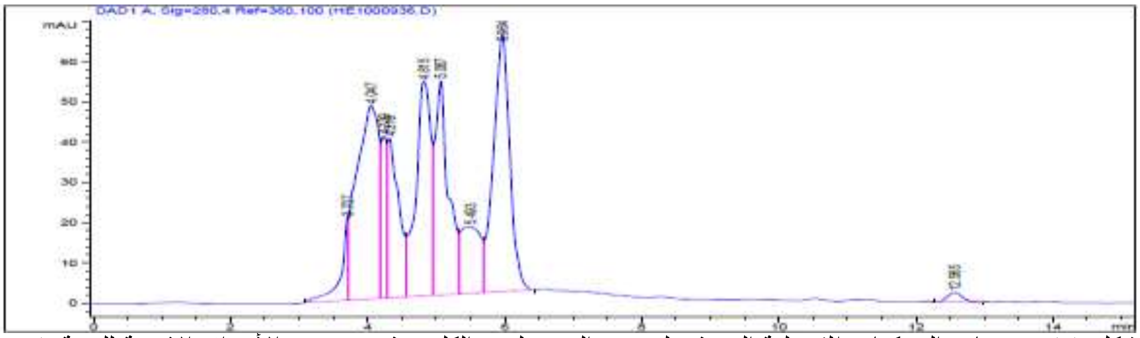
الشكل (7) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (bH1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (7) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (bH1)



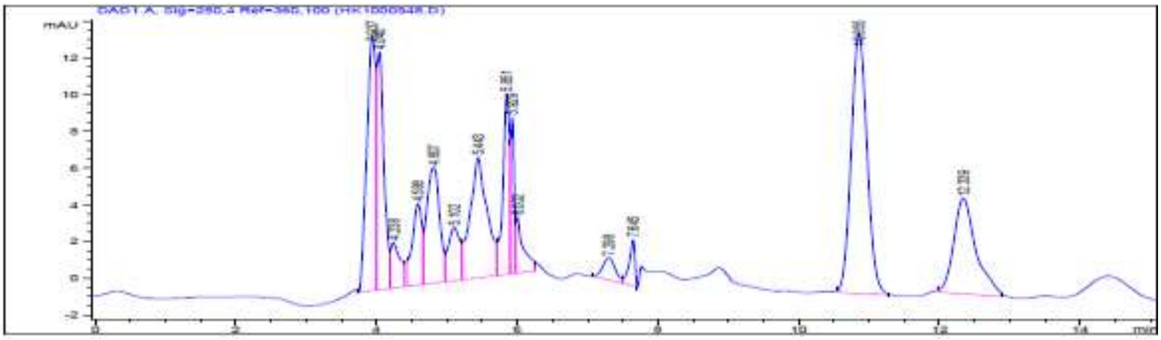
الشكل (8) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (hd1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (8) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (hd1)



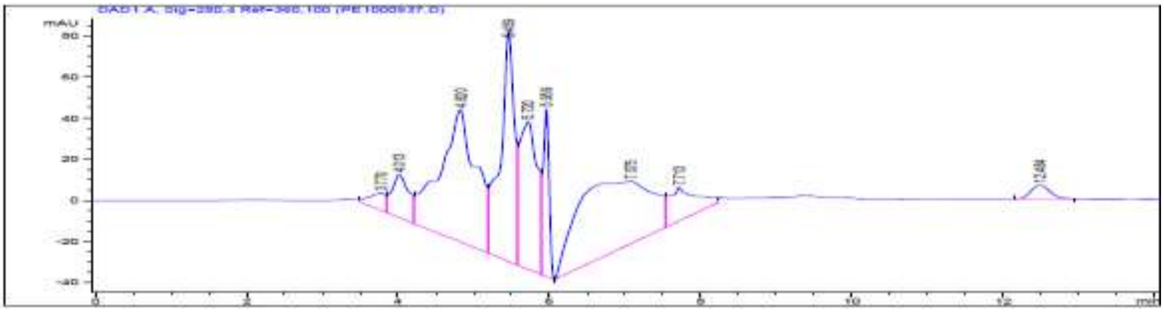
الشكل (9) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (hE1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (9) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (hE1)



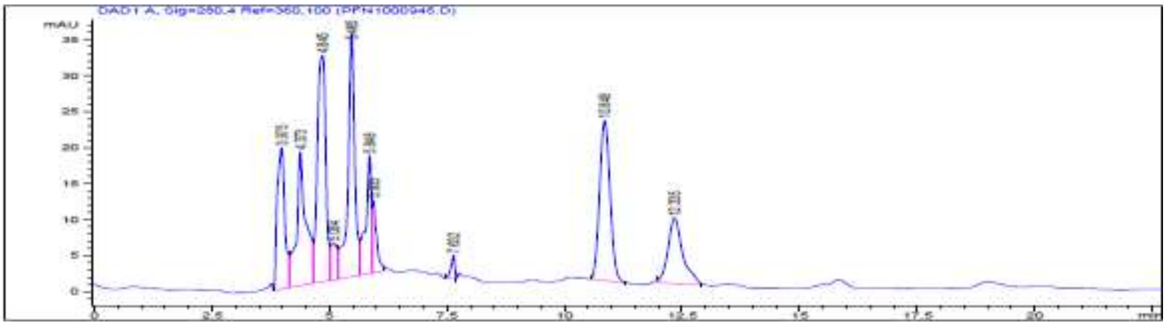
الشكل (10) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (hK1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (10) HPLC chromatogram of phenolic csompounds of chloroform extract from needle of sample (hk1)



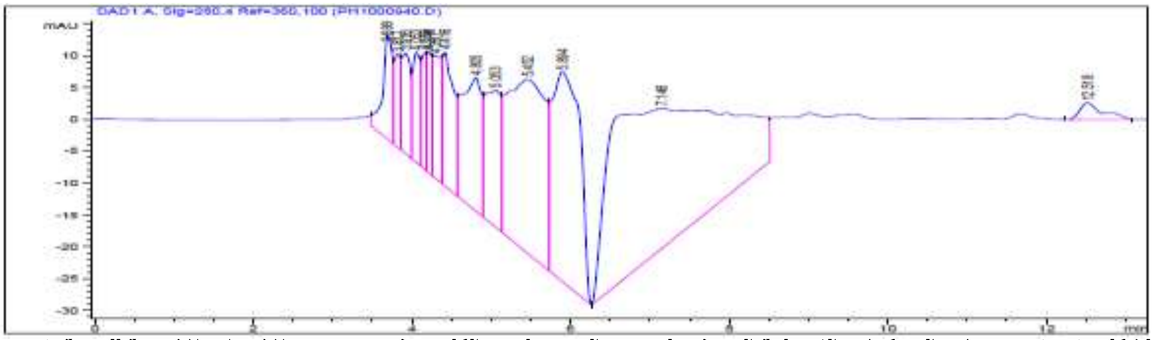
الشكل (11) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (pE1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (11) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (Pe1)



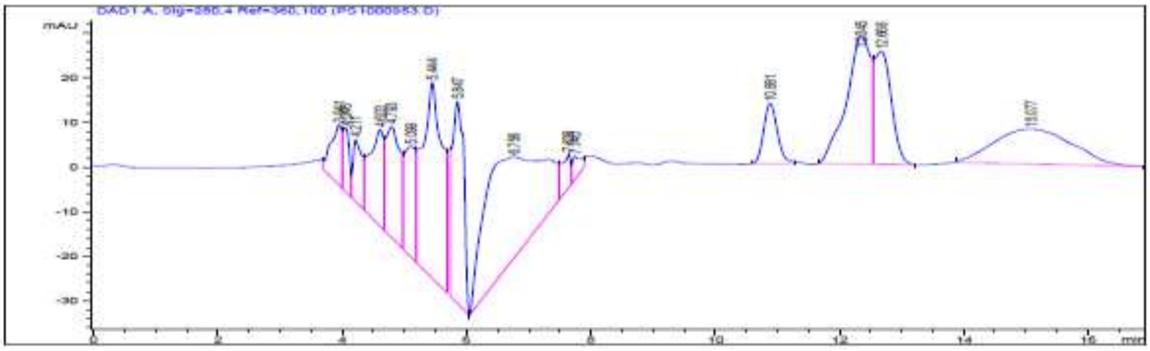
الشكل (12) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (pfn1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (12) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (pfn1)



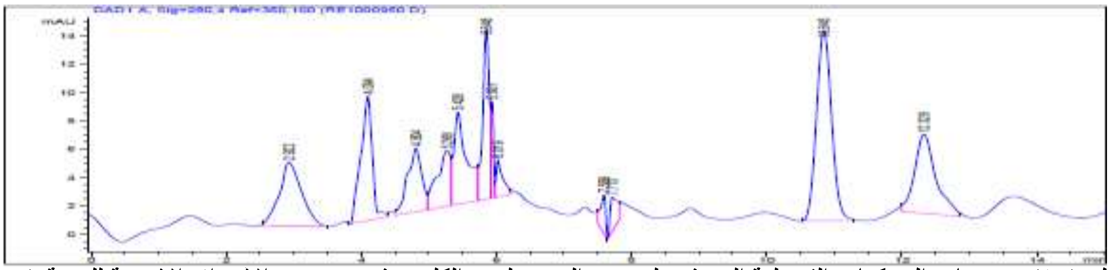
الشكل (13) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الاوراق الابرية للعينة (pH1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (13) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (pH1)



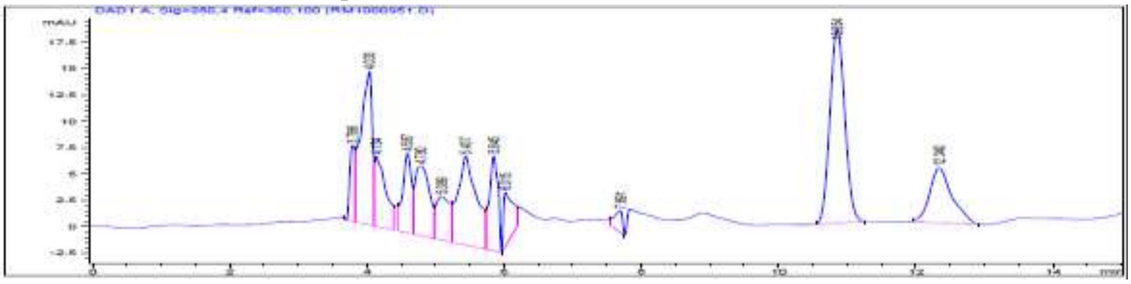
الشكل (14) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة (pS1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (14) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needles of sample (pS1)



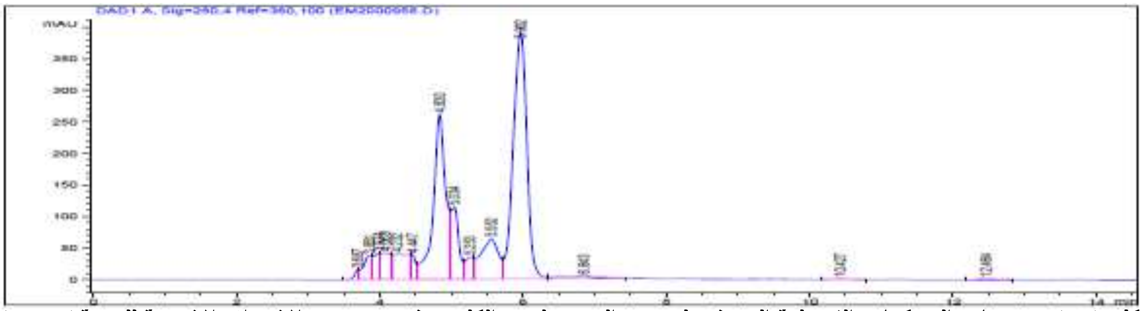
الشكل (15) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الاوراق الابرية للعينة (rE1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (15) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needles of sample (rE1)



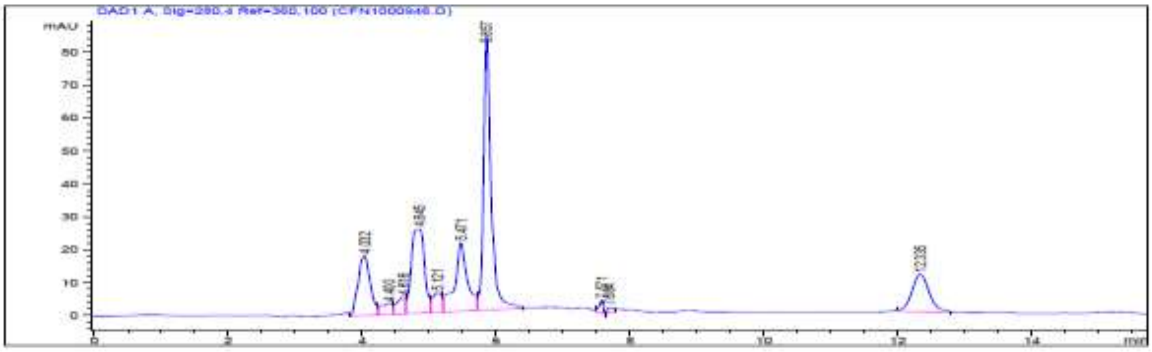
الشكل (16) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة(r m1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (16) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needles of sample (rm1)



الشكل (17) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الاوراق الابرية للعينة(e m1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (17) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needles of sample (em1)



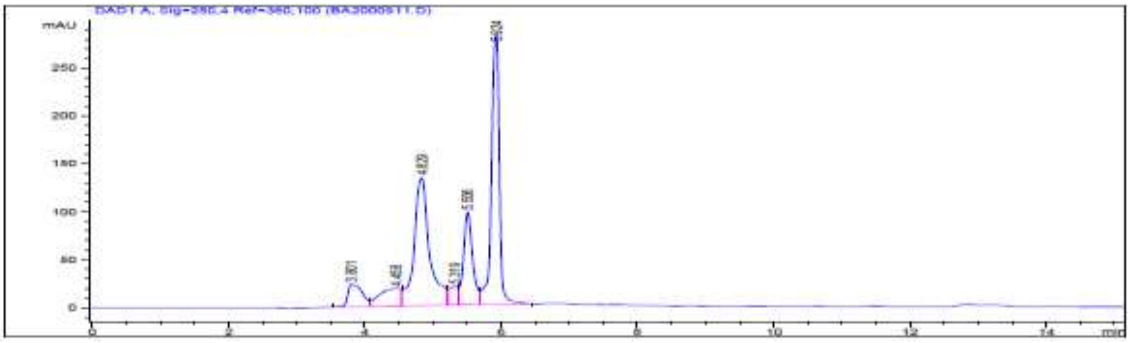
الشكل (18) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الكلوروفورمي من الأوراق الابرية للعينة(cFN1) باستخدام تقنية HPLC

Figure (18) HPLC chromatogram of phenolic compounds of chloroform extract from needle of sample (cFN1)

الجدول (4) المركبات التي شخصت باستخدام تقنية HPLC من المستخلص الخام الايثانولي للأوراق الابرية لأنواع الصنوبر المدروسة مع زمن الاحتباس R_t والنسبة المئوية لكل منها فضلا عن زمن الاحتباس القياسي

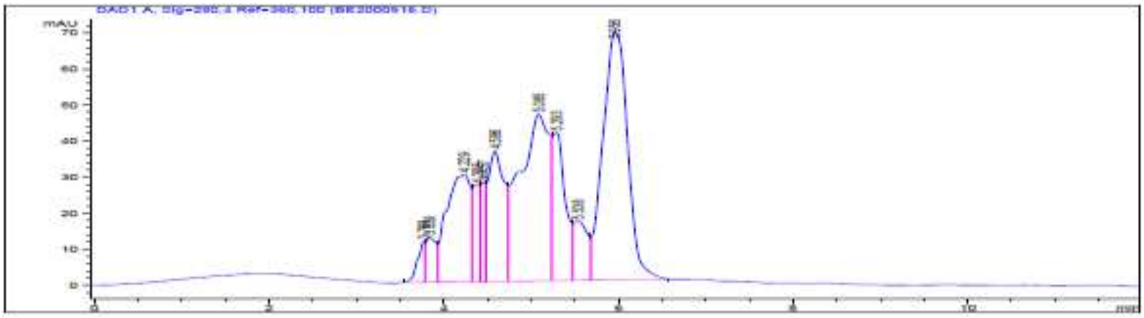
Table (4) Phenolic compounds identification by HPLC from Ethanol crude extract at needles of *Pinus* sp. with Rt, % for each and Rt of standard compounds

Myircetin		Resorcinol		Hydroxy-benzoic acid		Phenol		Gallic acid		Salicylic acid		Coumarin		Luteolin		Cinnamic acid		Vanillin		Hydroquinone		Rutin		Quercetin		المركبات compounds
%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	العينات
6.39	4.45	---	---	---	---	14.62	5.50	---	---	---	---	36.5	5.92	---	---	---	---	2.64	5.31	34.22	4.82	5.60	3.80	---	---	bA2
2.49	4.45	3.26	4.38	12.47	4.22	4.01	5.53	---	---	1.48	3.76	30.06	5.95	10.6	4.58	---	---	9.332	5.29	23.98	5.08	2.24	3.83	---	---	bE2
5.62	4.48	---	---	---	---	32.09	5.47	12.67	5.62	---	---	7.93	6.11	---	---	---	---	---	---	14.46	4.97	1.1	4.09	---	---	bfn2
10.7	4.43	6.68	4.78	---	---	---	---	---	---	---	---	43.94	5.99	5.09	4.57	---	---	30.82	5.08	---	---	1.02	3.87	1.09	6.79	bf1-2
---	---	---	---	---	---	67.44	5.41	---	---	---	---	---	---	8.04	4.51	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	bz1-2
24	4.47	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	40.23	5.97	5.08	4.24	---	---	25.78	5.09	---	---	4.83	3.87	---	---	bz2-2
1.96	4.41	---	---	6.84	4.60	---	---	---	---	4.96	3.68	16.51	5.95	14.94	4.51	---	---	13.5	5.27	20.38	5.07	4.81	3.90	---	---	bH2
18.49	4.46	---	---	5.73	4.65	3.15	5.48	2.56	5.32	---	---	41.04	6.00	---	---	---	---	20.7	5.09	3.58	4.80	1.42	4.00	---	---	cfn2
1.41	4.44	---	---	---	---	8.59	5.55	---	---	0.574	3.68	---	---	4.83	4.23	6.58	5.034	2.42	5.25	25.22	4.83	2.15	3.97	1.18	6.84	eM2
23.67	4.44	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.19	6.73	---	---	---	---	30.19	5.10	---	---	2.69	3.96	1.19	6.73	HD2
5.90	4.37	---	---	5.24	4.60	---	---	---	---	22.47	3.76	8.38	5.92	4.10	4.51	---	---	7.27	5.23	---	---	10.64	4.02	---	---	HE2
6.84	4.38	---	---	19.69	4.61	8.75	5.63	8.98	5.33	---	---	11.28	5.96	7.83	4.23	10.66	4.712	6.41	5.13	12.02	4.88	7.49	3.95	---	---	HK2
18.69	4.42	---	---	--	---	---	---	---	---	3.50	3.83	17.22	6.03	9.2	4.31	---	---	23.17	5.25	13.03	5.08	2.04	3.92	---	---	PE2
9.31	4.30	---	---	10.23	4.60	28.97	5.49	---	---	21.97	3.76	---	---	9.53	4.50	---	---	---	---	---	---	19.96	3.98	---	---	PFN2
23.37	4.35	---	---	31.98	4.67	---	---	4.87	5.37	---	---	3.52	6.21	12.31	4.50	---	---	3.22	5.16	---	---	16.41	3.89	---	---	PH2
24.27	4.43	---	---	---	---	---	---	10.86	5.30	---	---	26.06	6.01	20.39	4.53	---	---	---	---	15.13	5.06	2.82	3.89	---	--	PS2
---	---	----	---	1.72	4.67	27.49	4.50	---	---	0.47	3.72	35.2	6.02	27.49	4.50	---	---	---	---	34.86	5.08	---	---	---	---	RE2
19.27	4.47	---	---	---	---	---	---	---	---	1.86	3.74	9.04	5.96	6.6	4.35	---	---	36.04	5.28	---	---	4.44	3.84	---	---	RM2
4.47		4.72		4.61		5.49		5.32		3.50		6.33		4.56		4.71		5.25		4.80		3.99		6.64		المركبات القياسية standard



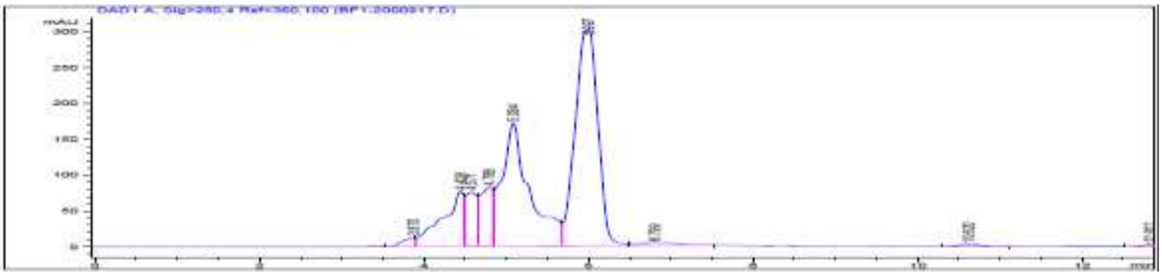
الشكل (19) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(bA2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (19) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (bA2)



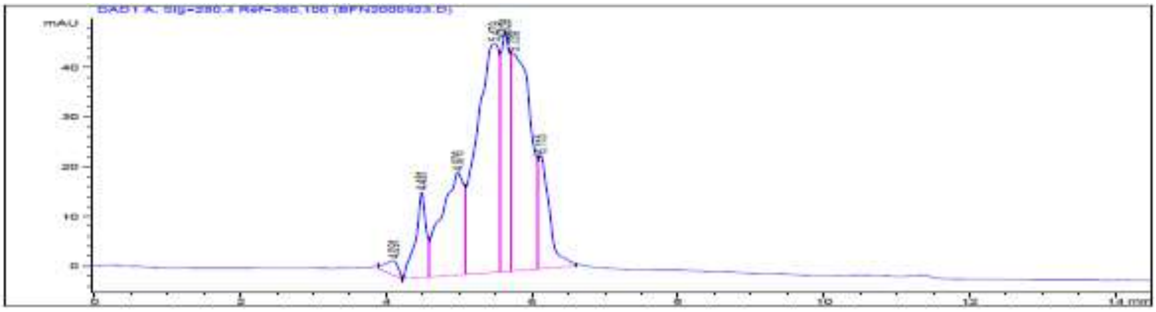
الشكل (20) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(bE2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (20) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (bE2)



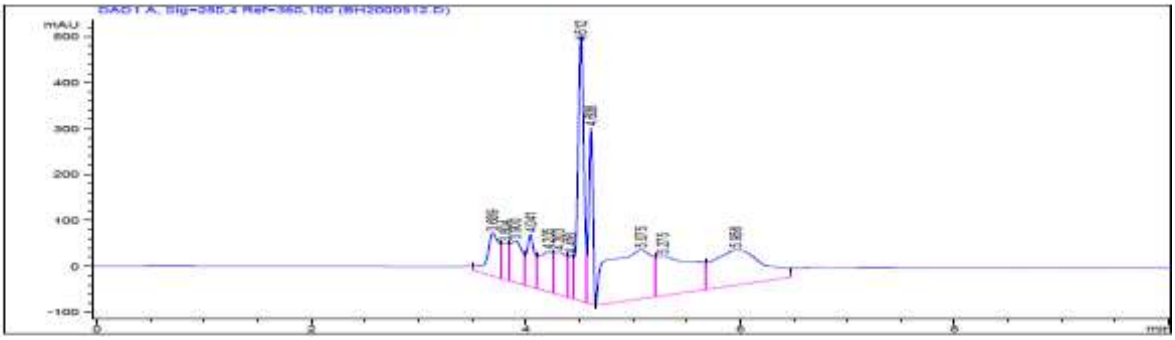
الشكل (21) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(bF2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (21) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (bF2)



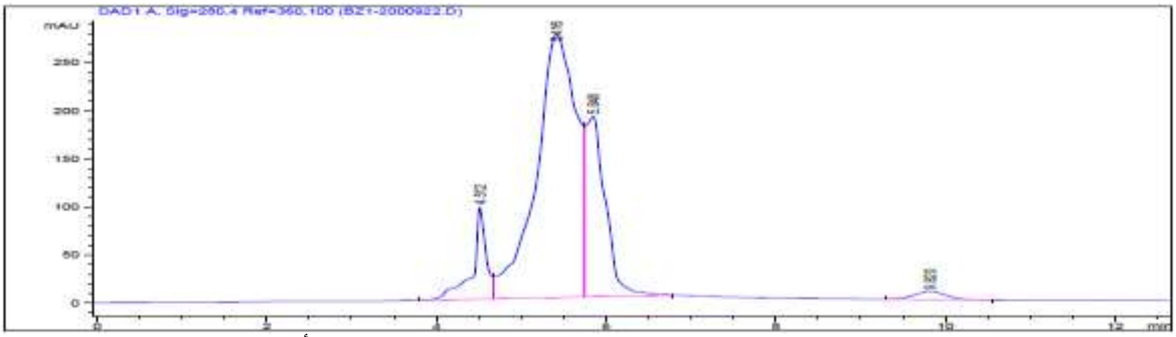
الشكل (22) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(bFN2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (22) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (bFN2)



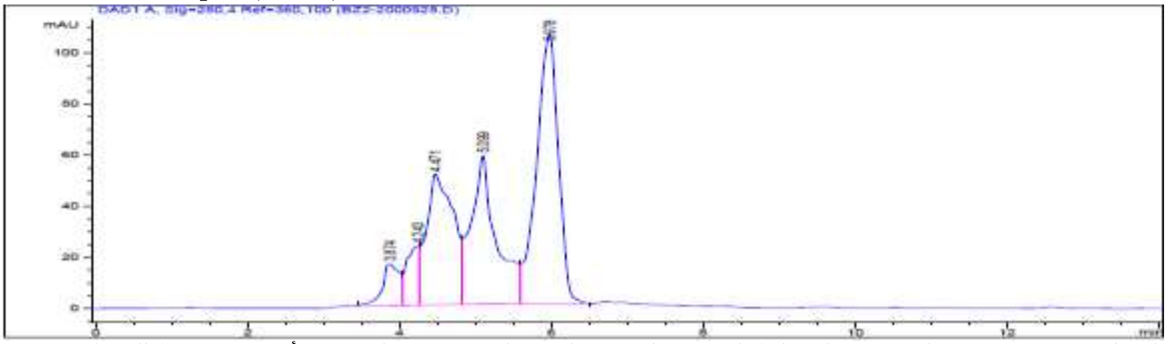
الشكل (23) منحنيـات المركبـات الفينوليـة التـي فصـلت مـن المسـتخلص الايثـانولي مـن الأوراق الابريـة للعينـة(bH2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (23) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (bH2)



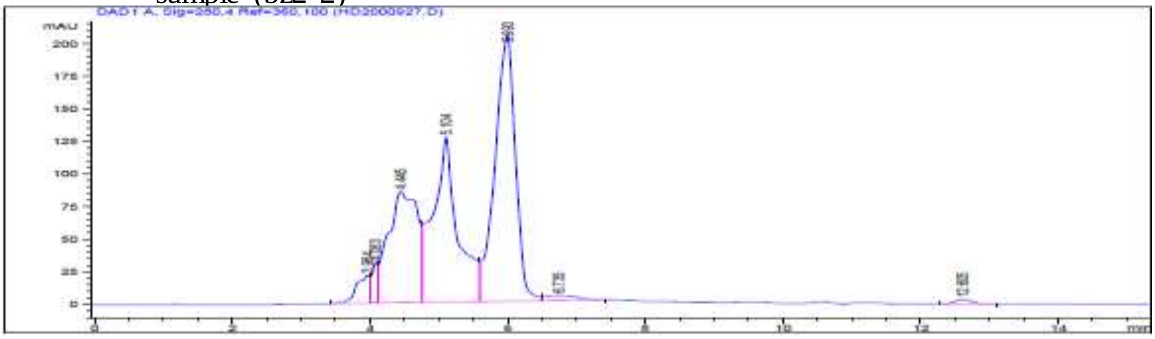
الشكل (24) منحنيـات المركبـات الفينوليـة التـي فصـلت من المسـتخلص الايثـانولي مـن الأوراق الابريـة للعينـة(bz1-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (24) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (bz1-2)



الشكل (25) منحنيـات المركبـات الفينوليـة التـي فصـلت مـن المسـتخلص الايثـانولي من الأوراق الابريـة للعينـة(bz2-2) باستخدام تقنية HPLC

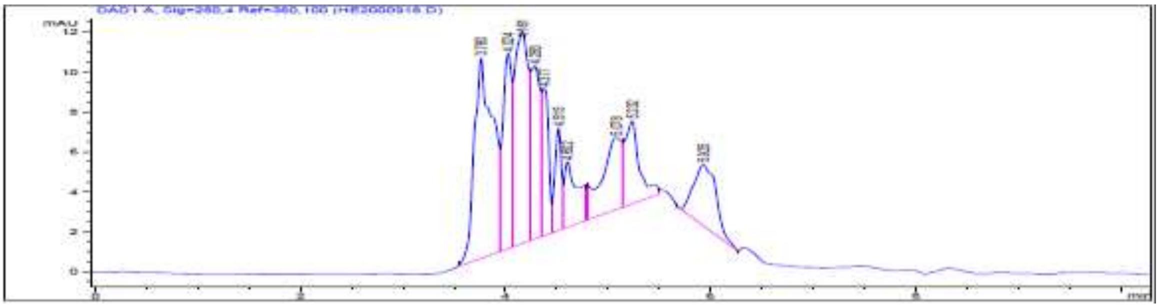
Figure (25) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (bz2-2)



الشكل (26) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(hD-2) باستخدام تقنية HPLC

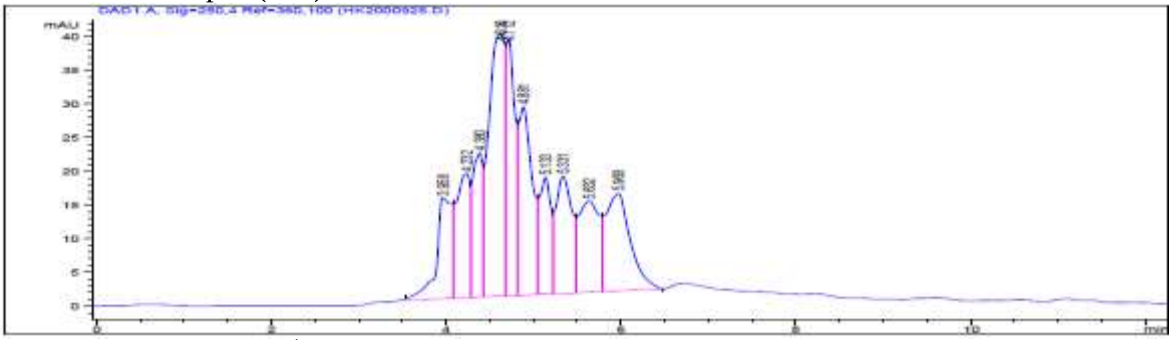
Figure (26) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (hD-2)

Mesopotamia J. of Agric. ISSN: 2224 - 9796 (Online) مجلـــة زراعـــة الـرافـديـن
Vol. (46) No. (3) 2018 ISSN: 1815 - 316 X (Print) المجلد (46) العدد (3) 2018



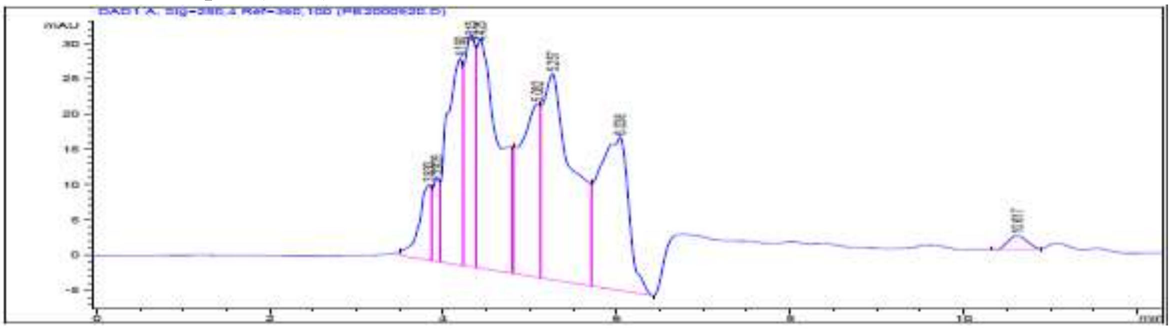
الشكل (27) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(hE-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (27) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (hE2)



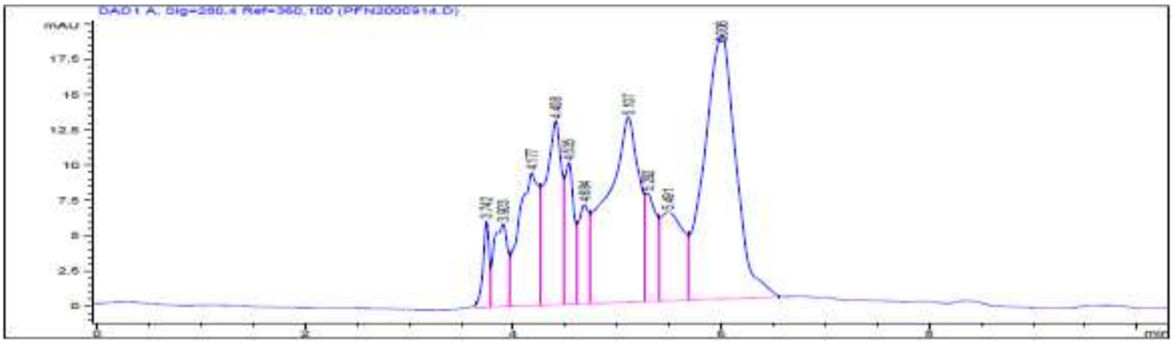
الشكل (28) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(hK-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (28) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (hk-2)



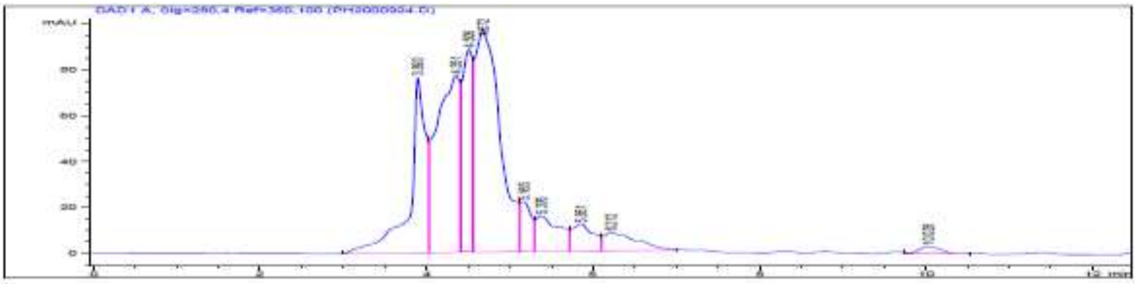
الشكل (29) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(pE-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (29) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (pE-2)



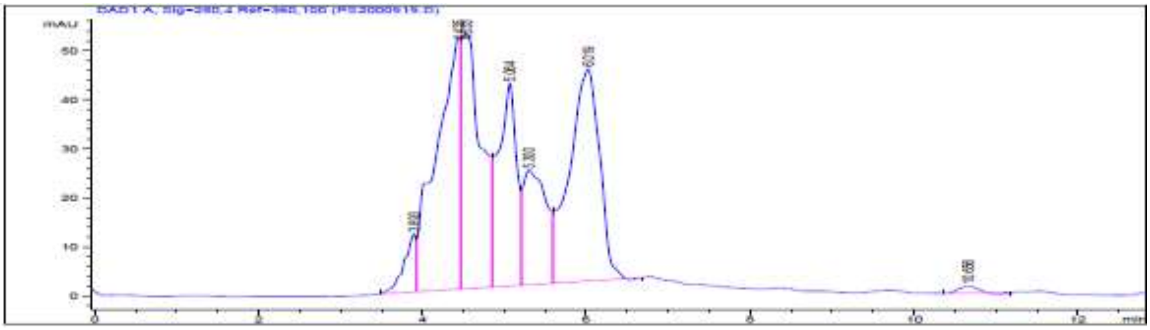
الشكل (30) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(pFN-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (30) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (pFN-2)



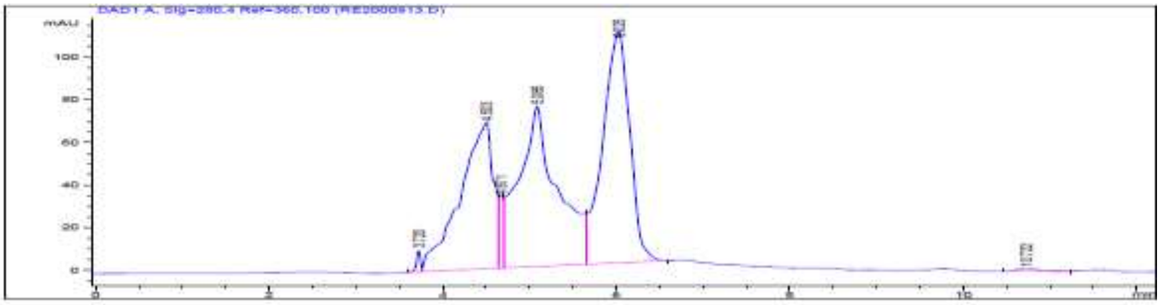
الشكل (31) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(pH-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (31) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (pH-2)



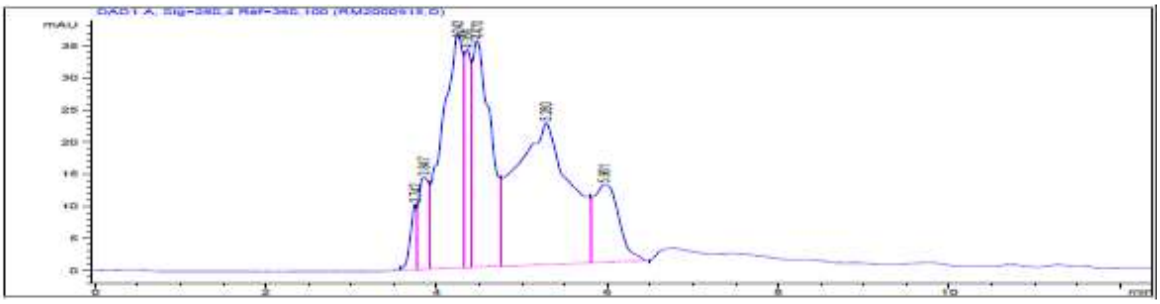
الشكل (32) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(pS-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (32) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (ps-2)



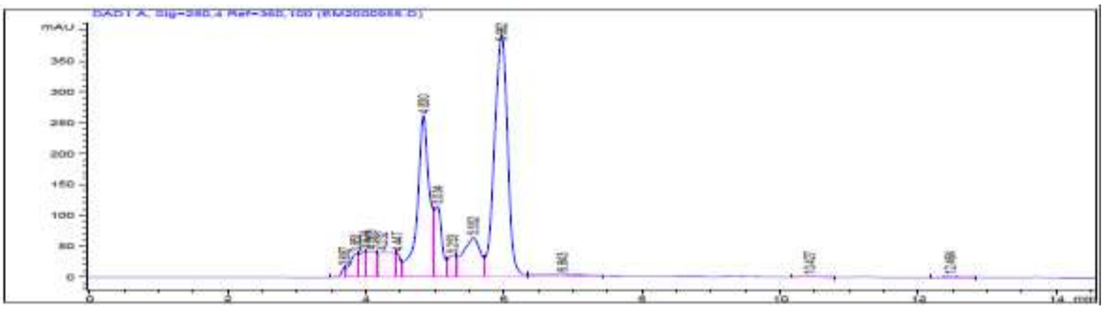
الشكل (33) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(rE-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (33) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (rE-2)



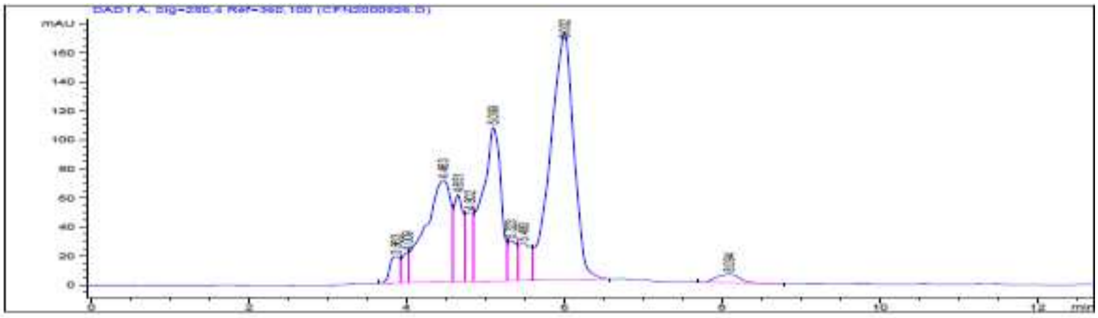
الشكل (34) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(rM-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (34) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (rM-2)



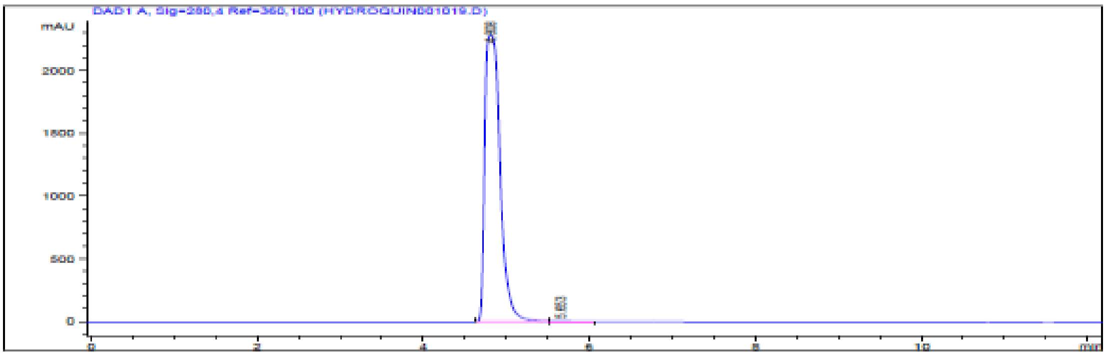
الشكل (35) منحنيات المركبات الفينولية التي فصلت من المستخلص الايثانولي من الأوراق الابرية للعينة(eM-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (35) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (eM-2)



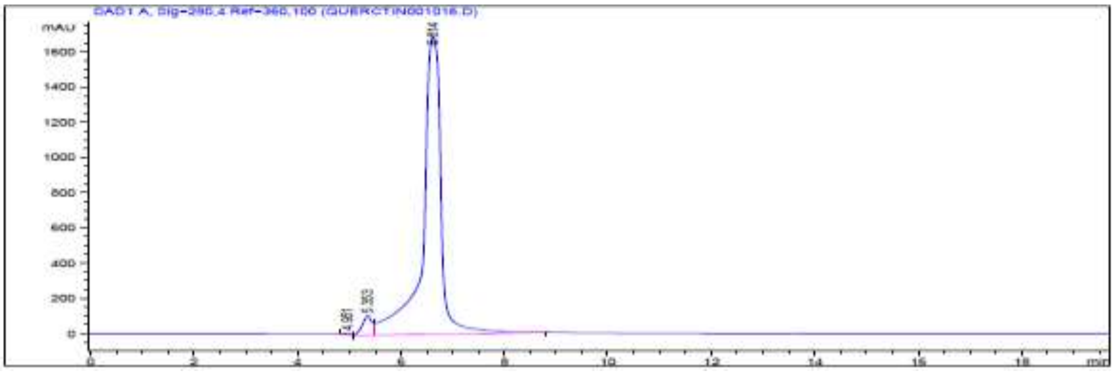
الشكل (36) منحنيـات المركبـات الفينوليـة التـي فصـلت مـن المستخلص الايثـانولي من الأوراق الابريـة للعينـة(cFN-2) باستخدام تقنية HPLC

Figure (36) HPLC chromatogram of phenolic compounds of Ethanol extract from needle of sample (cFN-2)



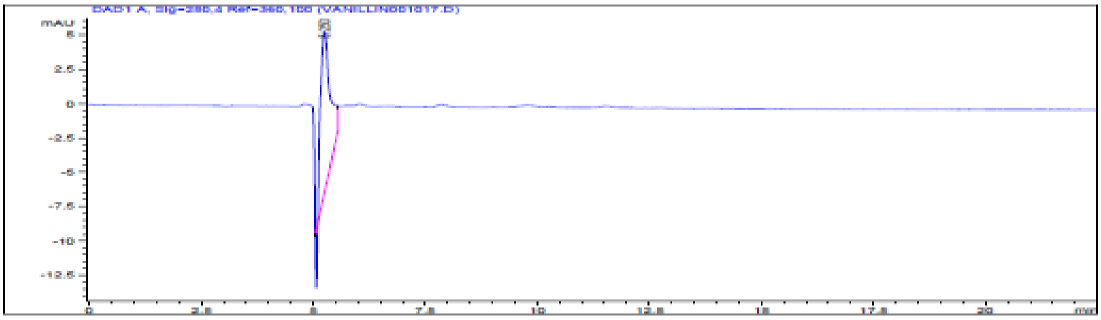
الشكل (37) منحنى المركب الفينولي القياسي Hydroquinone باستخدام تقنية HPLC

Figure (37) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Hydroquinone



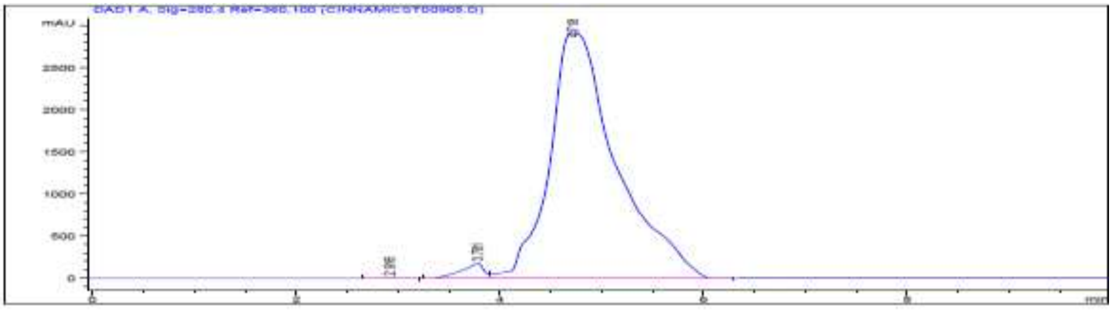
الشكل(38) منحنى المركب الفينولي القياسي Quercetin باستخدام تقنية HPLC

Figure (38) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Quercetin.



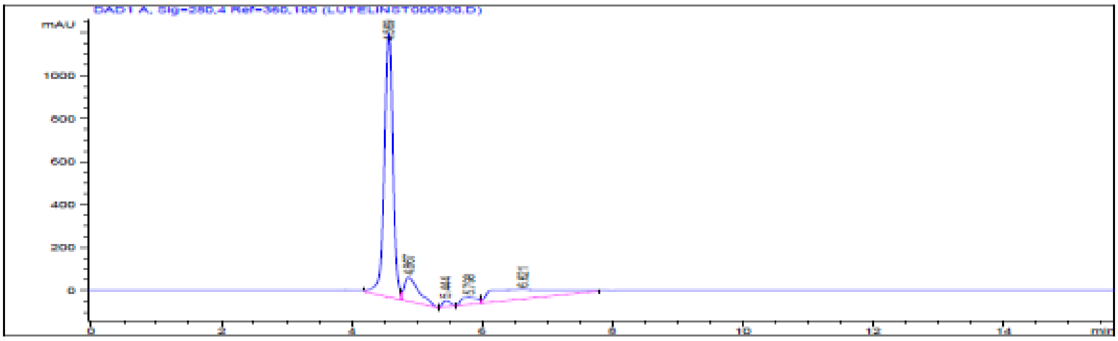
الشكل (39) منحنى المركب الفينولي القياسي Vanillin باستخدام تقنية HPL

Figure (39) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Vanillin



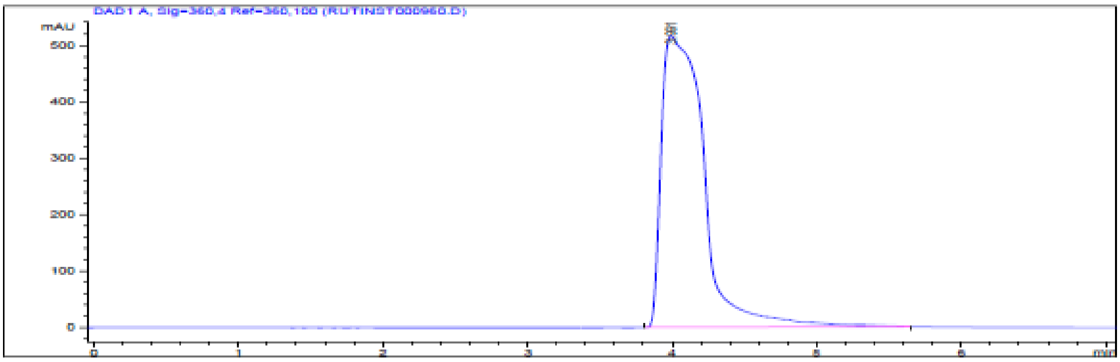
الشكل (40) منحنى المركب الفينولي القياسي Cinnamic acid باستخدام تقنية HPLC

Figure (40) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Cinnamic acid



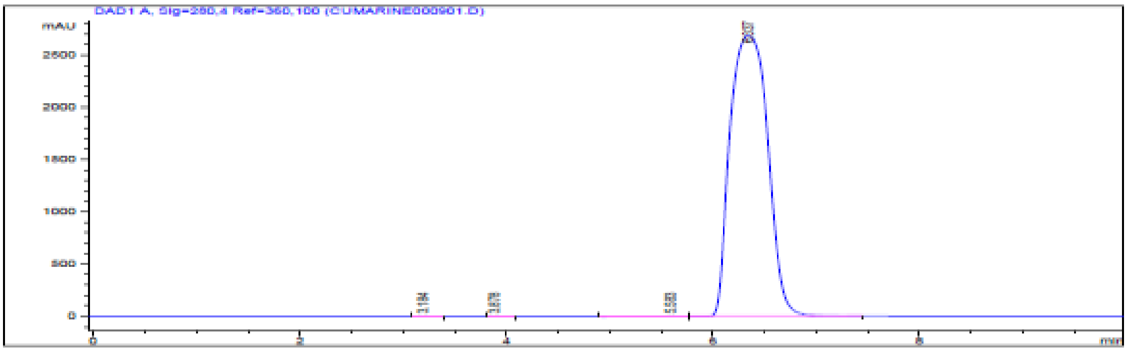
الشكل (41) منحنى المركب الفينولي القياسي Luteolin باستخدام تقنية HPLC

Figure (41) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Luteolin



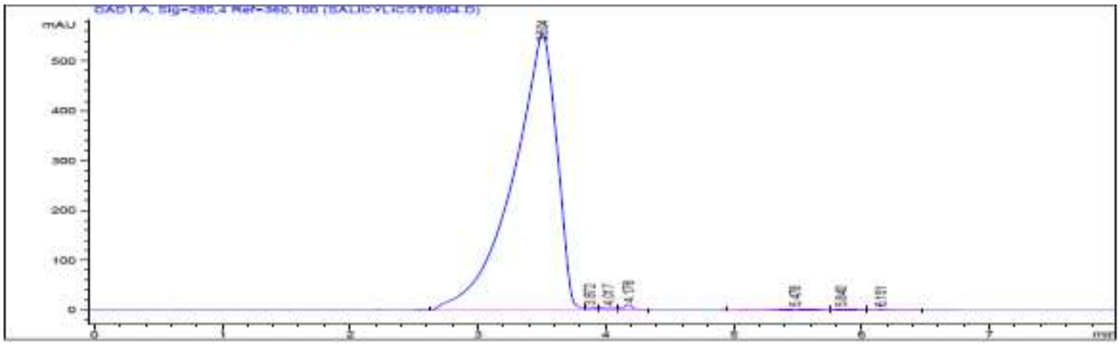
الشكل (42) منحنى المركب الفينولي القياسي Rutin باستخدام تقنية HPLC

Figure (42) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Rutin



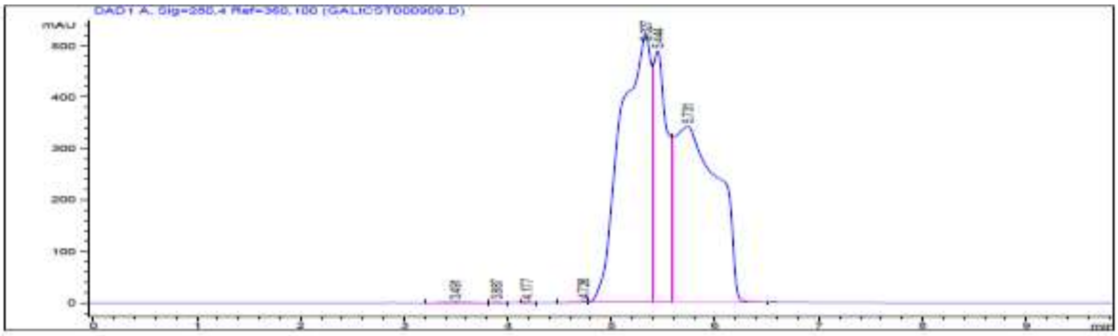
الشكل (43) منحنى المركب الفينولي القياسي Coumarin باستخدام تقنية HPLC

Figure (43) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Coumarin



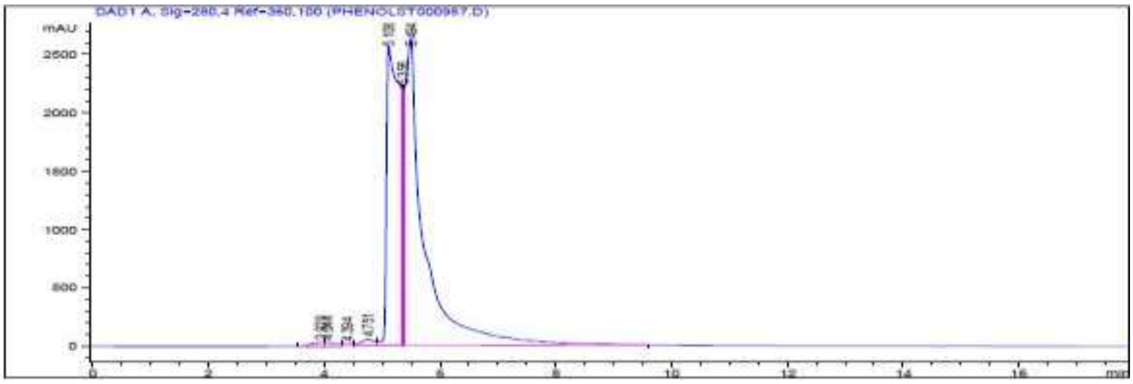
الشكل (44) منحنى المركب الفينولي القياسي Salicylic acid باستخدام تقنية HPLC

Figure (44) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Salicylic acid



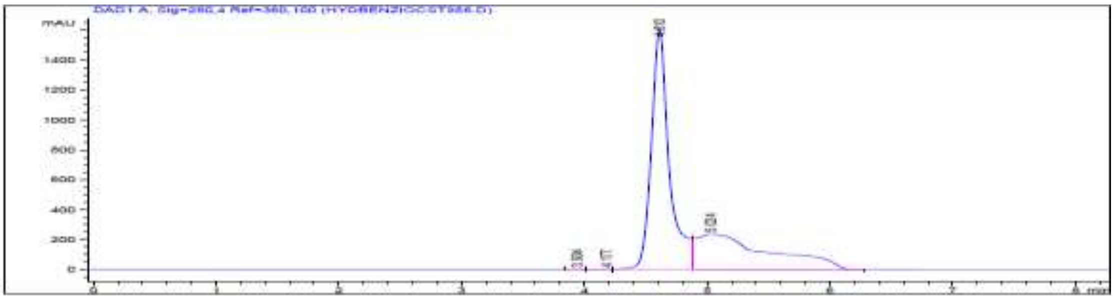
الشكل (45) منحنى المركب الفينولي القياسي Gallic acid باستخدام تقنية HPLC

Figure (45) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Gallic acid



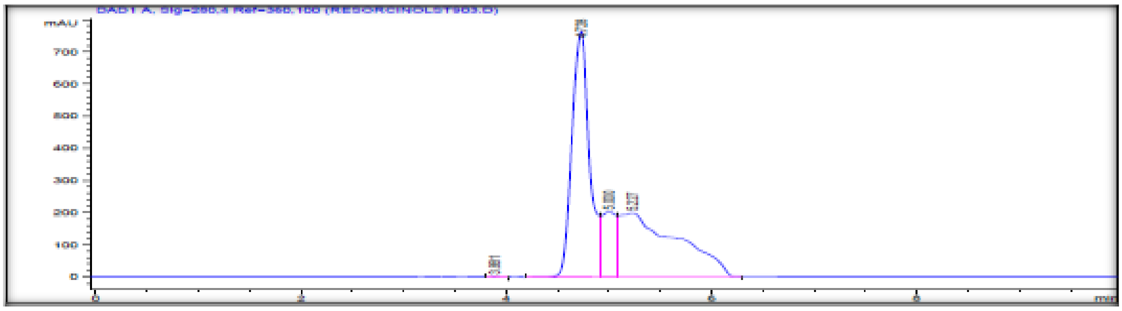
الشكل (46) منحنى المركب الفينولي القياسي Phenol باستخدام تقنية HPLC

Figure (46) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Phenol



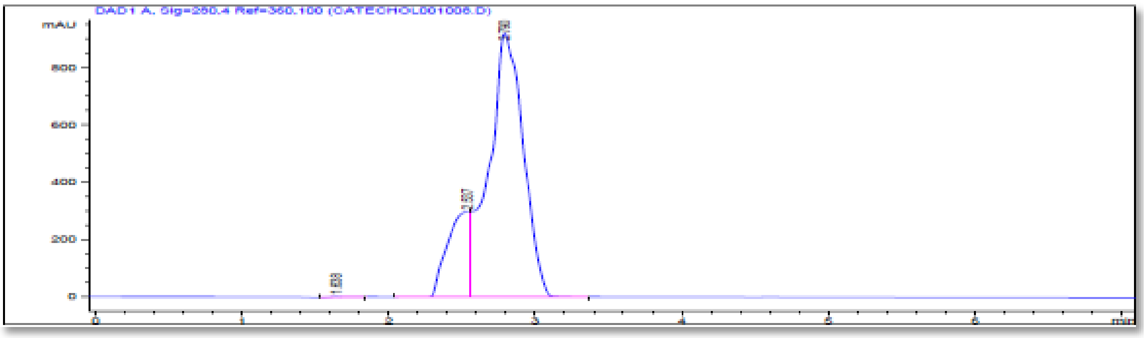
الشكل (47) منحنى المركب القياسي P- Hydroxybenzoic acid باستخدام تقنية HPLC

Figure (47) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of P- Hydroxybenzoic acid



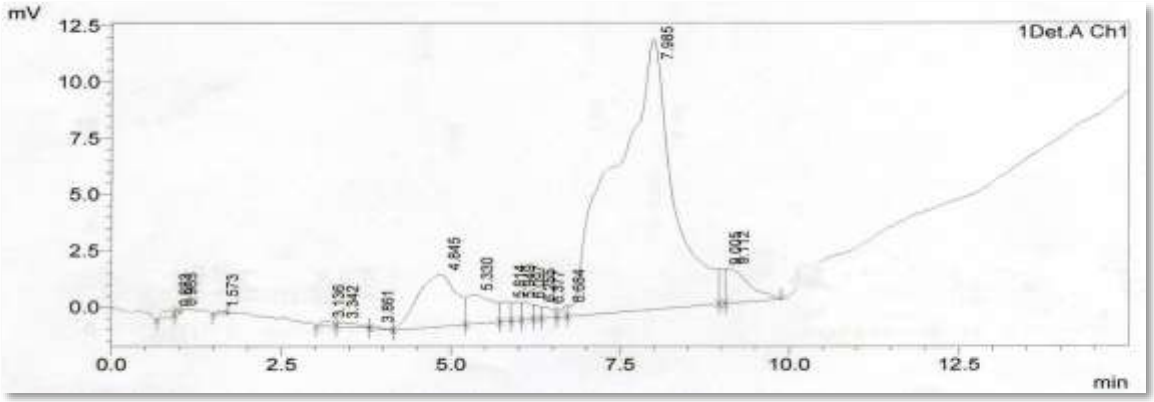
الشكل (48) منحنى المركب الفينولي القياسي Resorcinol باستخدام تقنية HPLC

Figure (48) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Resorcinol



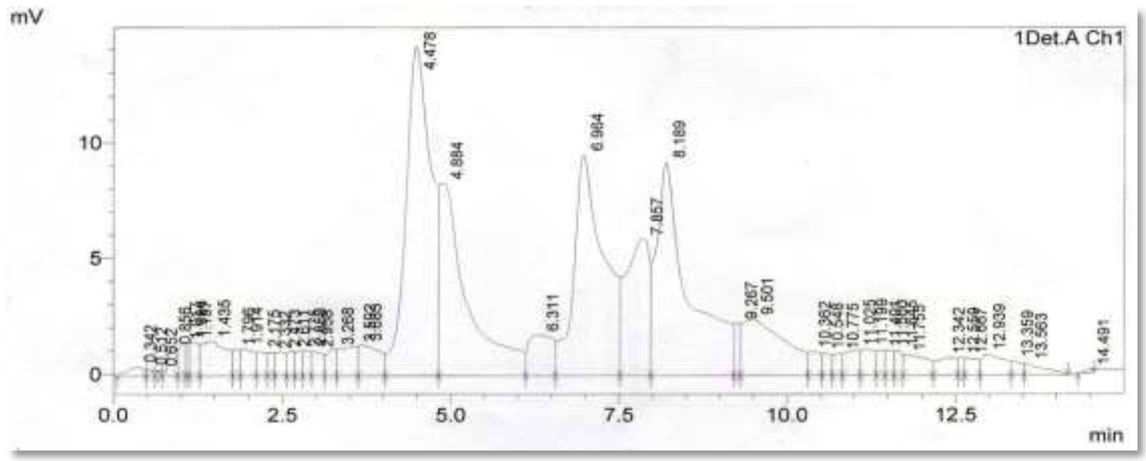
الشكل (49) منحنى المركب الفينولي القياسي Catechol باستخدام تقنية HPLC

Figure (49) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Catechol



الشكل (50) منحنى المركب الفينولي القياسي Quercetin -7- glucoside باستخدام تقنية HPLC

Figure (50) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Quercetin -7- glucoside



الشكل (51) منحنى المركب الفينولي القياسية Myricetin باستخدام تقنية HPLC
Figure (51) HPLC chromatogram of standard phenolic compound of Myricetin

من النتائج السابقة نجد أن أنواع الصنوبر تختلف كثيراً من حيث احتوائها على المركبات الفينولية المختلفة حيث أعتمدت هذه التغايرات كأدلة تصنيفية مهمة أسهمت في حل العديد من الإشكالات والاختلافات بين الأنواع ذات التشابهات المظهرية الكبيرة والتي يصعب التمييز بينها من دون الرجوع إلى الدراسات المتعددة ومنها النتائج الكيميائية. فمثلا النوعين الصنوبر البروتي *P. brutia* والصنوبر الحلبي *P. halepensis* والمتشابهين كثيراً في المظهر أمكن فصلهما كيميائياً باحتواء النوع الأول على المركب Resorcinol . في حين لم يشخص هذه المركب في النوع الثاني. كما شخص المركب Cinnamic acid في النوع الثاني ولم يشخص في النوع الأول. كذلك الحال بالنسبة لبقية الأنواع المدروسة حيث شخصت مركبات في بعض الأنواع في حين لم تشخص في الأنواع الأخرى، اذ شخص المركب Catechol في النوع *P. radiata* ولم يشخص في الأنواع الأخرى، كما شخص المركب Resorcinol في الأنواع *P. brutia* و*P. pinea* و *P. radiata* ولم يشخص في الأنواع الأخرى، وشخص المركب Cinnamic acid في النوعين *P. eldarica* و *P. halepensis* ولم يشخص في بقية الأنواع المدروسة. أما فيما يخص المركبات الفينولية نفسها فهي تختلف أيضاً في نسبة انتشار كل منها بين الأنواع المدروسة، وبالرجوع إلى الجدولين (3 و 4) نلاحظ تواجد المركبات Rutin و Hydroquinone وPhenol وMyricetin في معظم الأنواع المدروسة وان هذه الحالة تشكل ظاهرة تطورية على جانب كبير من الأهمية حيث أن مثل هذا التواجد للمركبات السابقة وفي معظم أنواع جنس الصنوبر المدروسة يؤيد وجود رابطة تطورية مشتركة بين الأنواع المدروسة من حيث خصائصها الكيميائية فعلى سبيل المثال نجد الأنواع (*P. brutia* و*P. pinea* و *P. canariensis* و*P. radiata* و *P. eldarica* و *P. halepensis*) والمتشابهة في بعض الصفات المظهرية جميعها تحتوي على المركب Rutin مما يدل على ترابطها تطورياً لأصل واحد ضمن جنس الصنوبر *Pinus* L. ومما يعزز كونها تعود لمرتبة تصنيفية واحدة وهي جنس الصنوبر *Pinus* L. (الزبيدي، 1998 والمعاضيدي، 2003 والجواري، 2009 (ومن النتائج الأخرى التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة وحسب ما ذكر سابقاً أنها أثبتت جدواها في أنواع الصنوبر قيد الدراسة وأنها ذات قيمة تصنيفية عالية في عزل الأنواع ولاسيما المتشابهة مظهرياً منها وكذلك في إيجاد الروابط التطورية بينها. وتجدر الإشارة هنا إلى انه كلما تناولت هذه الدراسة مركبات كيميائية أكثر كلما أظهرت لها علاقة كيمياوية تصنيفية أكثر تساعد في عزل المراتب التصنيفية أو في استخدام تلك المواد الفعالة للأغراض الطبية والصناعية وفي بعض المجالات العلمية الأخرى. لقد توافقت نتائج هذه الدراسة الكيميائية مع نتائج الدراسة المظهرية والتشريحية لنفس الأنواع في توضيح الفروق بين الأنواع قيد الدراسة وقد تبين أن هناك أنواع غنية بالمركبات الكيميائية كالنوع *P. brutia* في حين أن هناك أنواع لم تكن غنية بها كالنوع *P. pinea* وتتفق هذه النتائج مع ما وجده Panshin و De Zeeuw(1980) وPasqualini وآخرون (2003) الذين أكدوا على إمكانية استخدام فينولات الأوراق الابرية في تشخيص الأنواع التابعة لصف معراة البذور Gymnosperms. هذا وان التغاير الذي لوحظ في المركبات الفينولية بين الأنواع قد يعزى إلى ارتباطها بالنظام الجيني، وبذا فهي تعطي مؤشرات تصنيفية مهمة لكونها ليست مركبات أولية ومن ثم توفر معطيات جديدة لدراسة علاقة النباتات بعضها بالبعض الآخر وهذه

النتـائج مبـدئياً تتوافـق مـع الدراسـات التـي قـام بهـا كـل مـن (Harborne، 1966 و Samuelو Luchsinger، 1987). علما أن هذه النتائج يتم تسجيلها لأول مرة في القطر العراقي حسب مـا متوفر من مصـادر إذ لـم يسبق دراسة ستة أنواع من الصنوبر دراسة كيميائية شمولية. لقد حظيت المركبـات الفينوليـة بالقدر الأكبـر من اهتمـام العلمـاء المشـتغلين فـي مجـال كيميـاء النبـات والتـي من ضـمنها الفلافينويـدات، وذلك بسـبب الـدور الـذي تلعبـه الفينـولات فـي حمايـة النبـات ضـد هجمـات الميكروبـات والحيوانـات آكـلات النبـات، ومـن أهـم مركبـات الفلافينويدات التي تم فصلها وتشخيصـها فـي الدراسـة الحاليـة هـو مركب Luteolin من الأوراق الابريـة لنبـات الصـنوبر وقد بين Krag Hwa وآخرون (2010) أن هـذا المركب فعال من الناحية الصيدلانية إذ انـه يلعب دوراً فـي معالجـة أمـراض الحساسـية Allergy، كمـا أن المركـب Luteolin يمكـن أن يعيـق تطـور الخلايـا السرطانية وذلك من خلال الحماية التي يعطيها هذا المركب ضد المسببات السرطانية Carcinogenic.

TAXONOMIC CHEMICAL STUDY OF *Pinus* sp. GROWING IN NORTHERN OF IRAQ.

Haees S. J. AL- Jowary
University of Mosul
College of Agri. And Forestry
Forestry Department

Abdulrazak R. S.AL- malah
University of Mosul
College of Agri. And Forestry
Forestry Department

Younis M. Q. AL-alousy
University of Mosul
College of Agri. And Forestry
Forestry Department

Email:haees_j@yahoo.com

ABSTRACT

The study was conducted to determine the kind of the phenolic compounds for six species of *Pinus* sp. for used in plant identification and In the chemical study extraction used method cascade by device extraction constant Continuous Soxhlet apparatus. for the preparation of the crude extracts from the vegetative species under study using four different solvents and sequential polarity (petroleum ether. benzene. chloroform and ethanol) to obtain the extract free of fat and impurities. then separated compounds by High performens liquid chromatography(HPLC) technique. and then carried out the process of acid hydrolyses on crude extracts of (chloroform and ethanol) to facilitate the identification of their compounds. and the results showed the isolation and identification of 15 phenolic compounds inclouding (Quercetin. Hydroquinone. Vanillin. Cinnamic acid. Coumarin. Gallic acid. Hydroxybenzoic acid. Luteolin. Phenol. Resorcinol. Rutin. Salicylic acid. Catechol. Myricetin. and Querctin-7-glucoside). The results also showed many differences in the number. type and rates of these phenolic compounds between the Pinus species.

The results of the present study was to ethanol extracts contain a number of non-sugary Flavonoids such as Luteolin. and others are glycoside. The study showed the involvement of pine species studied in the presence of a number of chemical compounds which enhances the unity of genes and health of the species studied belong to him and contributed to the study of chemical in the identification and separation of the species studied in terms of the content of phenolic compounds and support the phenotypic characteristics and anatomy. and these differences in chemical compounds between the pinus species could be used as an indicator for plant taxonomic.

Key words: plant identification. extraction constant apparatus . phenolic compounds.

Received: 20\9\2017, Accepted 17\12\2017

المصادر

الجواري، هايس صايل جرجيس (2009). دراسة تشخيصية مقارنة للصفات المظهرية والكيميائية لأصناف الفستق *Pistacia vera* L. في محافظة نينوى. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

الحمداني، رعد إسماعيل وأيوب، مقداد توفيق العارف (1990). الكيمياء العضوية المتقدمة. مطابع التعليم العالي، جامعة الموصل، العراق : 236 صفحة.

الزبيدي، عادل موحان عداي (1998). دراسة تصنيفية للأجناس (*Ajugqa* L. و *arrubium* L. و *Lallemantia* Fisch و *Lamium* L.) العائدة للعائلة الشفوية Labiatae في العراق، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بغداد، العراق.

السحار، قاسم فؤاد (1997). تقسيم النباتات. الطبعة الثانية. المكتبة الأكاديمية،القاهرة، مصر.

المعاضيدي، عامر محسن (2003). دراسة تصنيفية مقارنة لأنواع الجنس *Prunus* L. (Rosaceae) في العراق، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

بدر، عبد الفتاح (2006) . تصنيف النباتات الزهرية. دار الأندلس للنشر والتوزيع. حائل.

AL- Daody. A. CH. (1998). Chemical Study On Some Iraqi Plants. PhD. Thesis In Organic Chemistry (Natural Products). College of Science. University of Mosul.Iraq.

Cornquist. A. (1964). The Natural Geography of Plants. Columbia University Press. New York.

Davis. P.H. and V.H. Heywood(1973). Principle of Angiosperms Taxonomy Olive and Boyd. Edinburgh and London. 556php.

Harborne. J. B. (1973). Photochemical Method A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.1st ed. Cox and Wyman. London. New York Chapman and Hall. 278 pp.

Harborne. J.B. (1966). The Evolution of Flavonoid Pigments In Plants. In Swain. T. Comparative Phytochemistry. Academic Press. London: 271: 295.

Harborne. J.B.. D. Boulter. B.L. Turner.(1971). Chemotaxonomy Of The *Leguminosae*. Academic Press. London. New York.

Hwa Kang. Jang-Gi Choi. John-Hwa Lee and Dong –Yeul Kwon(2010). " Luteolin isolated from the flowers of *Lonicera japonica* suppress inflammatory mediator release by blocking NF- KB and MAPKs activation pathways in HMC – 1 *Cells " Molecules.15: 385- 398.*

Kaundun. S.S.. F. Bruno. and L. Philippe (1997). Genetic differences between *Pinus halepensis*. *Pinus brutia* and *Pinus eldarica*. Based on needle flavonoids. *Biochemical Systematic and Ecology..25. (6) : 553 – 562.*

Malencic. D. popovic. M. & Miladinvic. J.(2007). Phenolic content and antioxidant properties of soybean *Glycine max* (L.) Merr. seeds " *Molecules ". 12: 576- 581.*

Margaret. K.. S.Stan. C. Linda. and C. Robert. (1985).Chemotaxonomy as an aid in differentiating wood of Eastern and Western with pine American. *Journal of Botany. 52(10): 1046-1049.*

Mehrotra. R.; B. Ahmed. R. A. Vishwakarma. R.S.Thakur. (1989). Verbaco side: a new luteolin glycoside from verb scum Thapsus. *Journal of Natural Product Pittsburgh. 52(3):640-643.*

Panshin. A.J. and C. DeZeeuw(1980).Textbook of Wood Technology th ed. McGraw- Hill. New York.

Pasqualini. V.. C. Robles. S. Garzino. S. Greff. A. Bousquet -Melou. G. Bonin (2003). Phenolic compounds content in *Pinus halepensis* Mill. needles: a bioindicator of air pollution. *Chemosphere52(2003 : 239- 248.*

Robbert. W.O.. Walter. M.. Attilio. G.. Williama. E. H. Bertold. S. phenolic fraction of olive oil. *Clinical chemistry. 46(7): 976-988.*

Romero. C.. and M. Vargas (2005). Extraction de la ceite de la semilla delneem (*Azadirachta indica*). *Ciencia. 13:464- 474.*

Samuel. B.J. and A. E. Luchsinger. (1987).Plant Systematic. 2nd. Ed. Me Graw – Hillbook Co. New York. 512pp.

Swain. T.. Harborne. J.B.. and C.F. Sumer (1977). Biochemistry Of Plant Phenolics. Recent Advances in Phytochemistry. Plenum Press. New York. London.

Thermo. S. (2009). "Organic Acid in Highly Aqueous Mobile Phase " Thermo Fisher Scientific Inc. www. Thermo.com / columns.

Ugar. G. and Fengel. D. (2000). Variation of Composition of Extractive Wood of *Pinus nigra* Varieties. University of Istanbul. Forestry Faculty Turkey. Phytochemistry.