جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

التأثير التضادي للمستخلصات المائية والدقائق النانوية لجنسين من الطحالب الخضراء المشخصة في نمو ثلاثة اصناف من الحنطة الناعمة

حلا مزهر يعقوب يوسف

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة / علم النبات

بإشراف

الأستاذ الدكتورة
جنان عبد الخالق سعيد

الأستاذ المساعد الدكتورة
مِرا أسامة أحمد الكاتب

1444هـ

2023م

الخلاصة

هدفت الدراسة إلى اختيار جنسين من الطحالب الخضر هما الـ (الكلادوفورا *Cladophora* والسبايروجيرا *Spirogyra*) والتي تم تشخيصهما مظهرياً وجزيئياً باستعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) وتحديد تسلسل النيوكلوتيدات DNA Sequencing حيث اظهرت الاجناس نسبة تطابق (96%) مع (*Cladophora glomerata* و *Spirogyra maxima*) على التوالي.

اشارت نتائج فصل وتشخيص المركبات الكيميائية الفعالة لكل من الطحلبين باستعمال تقانة كروماتوغرافيا الغاز– مطياف الكتلة إلى وجود (20 و30) مركب لكل من (*C. glomerata* و *S.maxima*) على التوالي، بينما أظهرت نتائج تقانة الكروماتوغرافيا عالية الاداء احتواء المستخلصات الايثانولية لكل من الطحلبين على المركبات الفينولية (Pyrogallol، GallicAcid، Rutin، Kaempferol، Cinnamic Acid، Catechol، Benzoic Acid 4- Hydroxy، Quercetin، Eugenol، Lignans و Chlorogenic Acid) وكان أعلاها تركيزاً المركب Catechol اذ بلغ (0.805 مايكروغرام/غرام) في المستخلص الإيثانولي لـ *C. glomerata* بينما سجل المركب 4-Hydroxy Benzoic Acid التركيز الاعلى (1.131 مايكروغرام/غرام) في المستخلص الإيثانولي لـ *S.maxima* ، واظهرت النتائج المختبرية لتأثير المستخلصات المائية للكتلة الحية الرطبة لكل من الطحلبين وبالتركيزين (1و2)% زيادة معنوية في (انبات البذور، طول الرويشة والجذير والوزن الجاف لكل منهما) لثلاثة أصناف من الحنطة الناعمة (بحوث-22، بركة وشام–6).

بينت الدراسة الحالية امكانية انتاج الدقائق النانوية بالطريقة الميكانيكية والتي تم فيها الحصول على الطحلبين باحجامهما النانوية و تم تشخيصها باستعمال مجهر القوة الذرية واظهرت نتائج الفحص أن حجم الدقائق النانوية لمسحوق الـ *C.glomerata* (68.54 نانومتر) وبالنسبة لـ *S.maxima* كان (68.78 نانومتر)، وعند اختبار تأثير مستخلصاتها المائية بأحجامها المايكروية والنانوية عند التركيزين (0.1 و0.2)% وتحت الظروف المختبرية، لوحظ وجود زيادة معنوية في انبات ونمو أصناف الحنطة بتأثير اغلب المعاملات.

تم انتاج دقائق أكاسيد المعادن النانوية الممثلة بالحديد والمغنيسيوم بالطريقة الخضراء باستعمال المستخلصات المائية للوزن الجاف لكل من الطحلبين وتم الاعتماد على التغير اللوني كمؤشر أولي على تكوينها فضلاً عن تشخيصها باستعمال تقانات التوصيف، اذ لوحظ اللون البني لدقائق الحديد النانوية باستعمال مستخلصات كل من الطحلبين، بينما دقائق أوكسيد المغنيسيوم ذات لون (ابيض شاحب وبني)على التوالي اظهرت نتائج فحص طيف الأشعة فوق البنفسجية المرئية أن الطول الموجي لدقائق اوكسيد الحديد والمغنيسيوم بلغ (306 و306) نانومتر على التوالي باستعمال مستخلص *C. glomerata* وفي حالة استعمال مستخلص *S.maxima* بلغ (332 و316) نانومتر على التوالي كما تم استعمال طيف الأشعة تحت الحمراء لتحديد المجاميع الفعالة المسؤولة عن اختزال وتثبيت دقائق

أوكسيد المعادن النانوية وتغليفها لجعلها أكثر استقراراً وهي (المجاميع الفينولية والأمينية والاليفاتية) بينما اظهرت صور المجهر الالكتروني لمسح الانبعاث الميداني شكل الدقائق النانوية المتكونة، حيث كان شكل الدقائق لكل من أوكسيد الحديد والمغنيسيوم (الصفائحي والكروي) على التوالي باستعمال مستخلص *C. glomerata* وفي حالة استعمال مستخلص *S.maxima* اتخذت الشكل (الصفائحي والسداسي) على التوالي، اما في فحص حيود الأشعة السينية وجد ان متوسط الحجم البلوري لدقائق أوكسيد الحديد بلغ (25 و28) نانومتر المحضرة من مستخلصات كل من (*C. glomerata* و*S.maxima*) على التوالي بينما متوسط الحجم البلوري لدقائق أوكسيد المغنيسيوم النانوية كانت (27.7 و54.1) نانومتر على التوالي.

تم اختبار تأثير كل من المحاليل المعدنية والنانوية المذكورة في أعلاه وبالتركيزين (100 و200) جزء بالمليون في انبات البذور والنمو لأصناف الحنطة والتي أظهرت تأثيراً ايجابياً في الصفات المدروسة لأغلب المعاملات، وتفوق محلول دقائق أوكسيد المغنيسيوم النانوية المحضرة باستعمال مستخلص الـ *C. glomerata* على بقية المحاليل في كونها ذات تأثير تحفيزي اعلى في معظم الصفات المدروسة. أشارت نتائج تجارب الظلة إلى وجود تأثيرات متباينة للمستخلصات المائية للكتلة الحية الرطبة لكل من الطحلبين وعند التركيزين (1 و2)% فضلاً عن اضافة كتلها الحية الرطبة إلى التربة بنسبة اضافة (1 و2)% في بعض الخصائص الكيميائية للتربة والتي تم دراستها على فترتين من تاريخ الاضافة، اذ بينت النتائج حصول انخفاض في محتوى التربة من المادة العضوية والنايتروجين والفوسفور بعد فترة اسبوعين من الاضافة، في حين حدثت زيادة في تلك الصفات بعد مرور ثلاثة اشهر من معاملة التربة بالطحالب، كما اظهرت المعاملتان زيادة في (انبات البذور، طول المجموع الخضري والجذري ووزنهما الجاف، مساحة الورقة، محتوى الكلوروفيل وتركيز النايتروجين، الفوسفور، البوتاسيوم والمغنيسيوم) لأصناف الحنطة والتي ترافقت مع زيادة كل من طول السنبلة وعدد حبوبها ووزنها الجاف بتأثير اغلب المعاملات إن الكتلة الحية الرطبة لـ *S.maxima* وعند نسبة الاضافة 2% حققت اعلى طول للسنبلة بقيمة (12 سم) في الصنف بحوث–22، في حين سببت إضافة الكتلة الحية للـ *C. glomerata* بنسبة 2% اعلى زيادة في عدد الحبوب ووزنها حيث بلغت (32.3 /سنبلة و2.1 غم) للصنف نفسه.

Abstract

The study aimed to select two genes of green algae, *Cladophora* and *Spirogyra*), which were phenotypically and molecularly diagnosed using polymerase chain reaction (PCR) technology and sequencing of DNA nucleotides, where the genes showed a percentage of match (96%) with (*Cladophora glomerata* and *Spirogyra maxima*), respectively.

The results of separation and identification of the active chemical compounds for each of the two algae using gas chromatography-mass spectrometry technology indicated the presence of (20 and 30) compounds of (*C. glomerata* and *S. maxima*), respectively, and the results of high-performance chromatography technology showed that the ethanolic extracts contained all of the two algae, the phenolic compounds Pyrogallol, Gallic Acid, Rutin, Kaempferol, Cinnamic Acid, Catechol, 4-Hydroxy Benzoic Acid, Quercetin, Eugenol, Lignans, and Chlorogenic Acid, had the highest concentration of Catechol, reaching (0.805µg/g) in the ethanolic extract of *C.glomerata*. While the compound 4-Hydroxy Benzoic Acid recorded the highest concentration (1.131 µg/g) in the ethanolic extract of *S.maxima*. The laboratory results of the effect of the aqueous extracts of the biomass for each algae at concentrations (1 and 2%) showed a significant increase in (seed germination, plumula and radical length and dry weight of each) for three cultivars of *Triticum aestivum* L. (Bohouth-22, Baraka and Sham-6).

The current study showed the possibility of producing nanoparticles by mechanical method obtained on the two algae, diagnosed using its microscope, and The results of the examination showed that the size of the nanoparticles of *C.glomerata* powder was (68.54 nm) and for *S. maxima* it was (68.78 nm)., and when testing the effect of its aqueous extracts in both micro and nano sizes at concentrations (0.1 and 0.2)% and under laboratory conditions, a significant presence was observed in the germination and growth of wheat cultivars with effects for most treatments.

The metal oxide nanoparticles represented by iron and magnesium were produced by the green method using aqueous extracts of the dry weight of each of the two algae, and the color change was relied on as a primary indicator of its formation, in addition to its diagnosis using characterization techniques. The brown color of the iron nanoparticles was observed using the extracts of both algae. Whereas, while the magnesium oxide particles had a color (pale white and brown) respectively. The results of the UV-visible examination showed that the wavelength of iron and magnesium oxide particles reached (306and 306)nm, respectively, using *C. glomerata* extract. In the case of using *S.maxima* extract, it reached (332and 316)nm respectively. Infrared spectroscopy was used to determine the effective groups responsible for reducing and stabilizing metal oxide nanoparticles and coating them to make them more stable (phenolic, amino and aliphatic groups), While the field emission scanning electron microscope images showed the shape of the formed nanoparticles, where the shape of the particles was for each of iron oxide and magnesium (lamellar and spherical) respectively using *C.glomerata* extract, In the case of using *S.maxima* extract, it took the shape (lamellar and hexagonal) respectively. In the X-ray diffraction examination, it was found that the average crystal size of iron oxide particles was (25 and 28) nm prepared from extracts of (*C.glomerata* and *S. maxima*), respectively, while the average crystal size of magnesium oxide nanoparticles was (27.7 and 54.1) nm, respectively.

The study examined the effect of each of the above mentioned mineral and nano solutions at concentrations (100 and 200) ppm on seed germination and growth of wheat cultivars, which showed a positive effect on the studied properties of most treatments. The solution of magnesium oxide nanoparticles made using *Cladophora* extract was having a higher stimulating effect in most of the studied traits.

The results of the canopy experiments indicated the presence of different effects of the aqueous extracts of the wet biomass of each of the two algae at the

concentrations (1 and 2)%, as well as the addition of its wet masses to the soil with an addition of (1 and 2)% on some chemical properties of the soil, which were studied over two periods from the date of the study. The addition, as the results showed a decrease in the soil content of organic matter, nitrogen and phosphorous after a period of two weeks of addition, while there was an increase in those characteristics after three months of treating the soil with algae. The two treatments also showed an increase in (seed germination, shoot and root length and dry weight, leaf area, chlorophyll content and nitrogen concentration, phosphorous, potassium and magnesium) for wheat cultivars, which was associated with an increase in spike length, number of grains and dry weight by the effect of most treatments. For *S.maxima* and at the rate of 2% addition, it achieved the highest spike length of (12 cm) in the cultivar Bohuth-22, while adding the live mass of *C.glomerata* by 2% caused the highest increase in the number of grains and their weight, which reached (32.3 / spike and 2.1 g)) of the same cultivar.

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
Mosul University / College of Science
Department of Biology

Allelopathic Effect of Aqueous Extract and Nanoparticales for Two Genuses of Identified Green Algae in Growth of Three Wheat Cultivars *Triticum aestivum*

Hala Muzher Yaqoub Yusief

Ph.D. Thesis

Biology /Botany

Supervised By

Prof. Dr. Janan Abdul Khalik Saeed

Assist. Prof. Dr. Mira Ausama Ahmed Al-Katib

1444 A.H. **2023 A.D.**