جامعة الموصل
كلية التربية للبنات
قسم علوم الحياة

دراسة تصنيفية كيميائية جزيئية لنباتين من جنس *Euphorbia* وتأثيرهما الحيوي والنانوي على خُنفساء الطحين المحيرة *Tribolium confusum*

ايناس رافع قاسم محمد

رسالة ماجستير علوم
علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ المساعد — الدكتورة جهان يحيى الحاتم
المدرس — الدكتورة لبنى ياسين عباس

1445 هـ — 2023م

الخلاصة:

تضمنت الدراسة الحالية اجراء دراسة تصنيفية لنوعين بريين من جنس *Euphorbia* ناميين في محافظة نينوى هما *Euphorbia helioscopia* و *Euphorbia peplus* ضمن محاور عدة وهي: دراسة الصفات المظهرية والتشريحية والتركيب الجزيئي والتركيب الكيميائي، فضلا عن عمل مستخلصات نباتية منهما لتصنيع مبيدين أحدهما تقليدي والأخر نانوي، ودراسة تأثيرهما على حشرة خنفساء الطحين المحيرة وكما يلي:

- تضمنت الدراسة المظهرية دراسة الصفات العامة للأوراق والساق والازهار والجذر، إذ لوحظ ان الأوراق في كلا النوعين *E. helioscopia* و *E. peplus* تكون لاطئة، والساق يحمل خيمة سوارية منتشرة بشكل افقي، مكونة من خمس أشعة متفرعة تفرعا ثنائيا أو ثلاثيا ، والأوراق متقابلة ذات حواف مسننة، مستدقة عند القاعدة ومثلثية إلى مدورة عند القمة، ولوحظ ان ألاوراق التي تقع أسفل الخيمة في النوع *E. helioscopia* شكلها بيضوي منعكس تقترب لتكون مثلثية، بينما أوراق النوع *E. peplus* شكلها بيضوي اهليجي متعاكس، ولوحظ أن لون الأزهار للنوعين المدروسين اخضر يميل إلى الأصفر الباهت ، والغدة الرحيقية خضراء ، لا تحتوي على بتلات ولا سبلات ، صغيرة الحجم، النورة من نوع (Cyathium) تكون الزهرة الرئيسة أنثوية، ذات شمراخ طويل يجعل الزهرة المؤنثة مدلاة للأسفل، ويوجد تحتها من (4 - 5) قنابات ملتحمة مع بعضها البعض، ويوجد في ابط القنابات عدد من الأزهار المذكرة تتموضع بشكل نورة محدودة النمو عقربية، يتراوح عدد الأزهار المذكرة في النورة الواحدة (3 – 5)، تتموضع بين فصوص القنابات غدد ذات شكل بيضوي او هلالي، متناوبة مع فصوص القناب، تتألف الزهرة المذكرة من سداة، واحدة والزهرة المؤنثة مكونة من مبيض مؤلف من 3 حجر كربلية ملتحمة تحوي كل حجرة على بويضة واحدة.
- تمثلت الدراسة التشريحية بدراسة التركيب التشريحي لأوراق وسيقان النوعين المدروسين، وتبين أن بشرة الورقة للنوعين ذات صف واحد من الخلايا البسيطة، وأن الحزم الوعائية للأوراق جانبية مغلقة، وعددها في العرق الوسطي للنوع *E. helioscopia* ثلاث حزم وعائية بيضوية ومتوازية ذات شكل مثلث مقلوب، بينما في النوع *E. peplus* فيحوي على حزمة وعائية واحدة ومتطاولة. ولوحظ من خلال التركيب التشريحي لساق النوع *E. helioscopia* أن خلايا البشرة مربعة، يليها ثمانية صفوف من خلايا برنكيمية مكونة طبقة القشرة. أما في النوع *E. peplus* فبشرة الساق ذات صف واحد وخلاياها تكون مستطيلة مغلفة بطبقة الكيوتكل، والقشرة ذات خلايا

برنكيمية بيضوية إلى مستطيلة الشكل وبعضها حاوٍ على النشا. فيما لوحظ ان الأسطوانة الوعائية لكلا النوعين محيطية تترتب بشكل دائري بالقرب من منطقة القشرة، وهي من نوع الحزم الوعائية الجانبية Collateral vascular bundles، منفصلة عن بعضها بأشعة لبية، والساق صلد يحتوي في كليهما على منطقة لبية مكون من خلايا برنكيمية كبيرة الحجم غير منتظمة تقريبا متطاولة ذات جدران رقيقة، ولوحظ امتداد تجاويف افرازية حاوية على الحليب النباتي بين انسجة الأوراق والسيقان ولاسيما بالقرب من الحزم الوعائية.

- وتضمنت دراسة المؤشر الوراثي الجزيئي للنوعين المدروسين إستعمال تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا (*RAPD-PCR*) ، إذ تم مكاثرة قطع الـ DNA وتضمينها من خلال تفاعل البلمرة المتسلسل ، وأظهرت نتائج مناظرة القواعد النتروجينية التي ثبتت في المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية Gen Bank Graphics باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase-Chain Reaction(*PCR*) من النوعين المدروسين باستخدام زوج البوادئ ITs_1 وITs_4 ، ولوحظ تطابق تسلسل النيوكليوتيدات مع العزلات العالمية ودخل النوع *E. helioscopia* تحت رقم انضمام ON ON989202.1 ، إذ بلغت نسبة التطابق 99% مع العزلة العالمية المودعة في بنك الجينات، وكذلك بالنسبة للنوع *E. peplus* اودعت في بنك الجينات تحت رقم انضمام ON989203.1 اذ بلغت نسبة التطابق 99% مع العزلات العالمية.
- وفي الجانب الكيميائي تم تقدير وتشخيص عدد من المركبات الكيميائية للمستخلص الخام لكلا النوعين ***E. helioscopia*** و***E. peplus*** باستعمال تقنية التحليل الكروماتوغرافيا السائل العالي الاداء High Performance Liquid Chromatography(HPLC) ،اذ تبين وجود ما يقارب عشرين مركبا قلويديا فيهما، وكان ثلاثة مركبات قلويدية منها مشتركة في المستخلصات الخام لكلا النوعين وهي Scopalamine و Colchicino وHeobromine ، فيما لوحظ وجود القلويدات الآتية في المستخلص الخام للنوع *E. helioscopia* وهي (Metamfepramone، Phencyclidine، Tramadol، 3-Caffeoylquinic، Limpramine، Iso quinolone، Coniine and Psilocybin)، بينما لوحظ وجود القلويدات الاتية في المستخلص الخام للنوع ***E. peplus*** وهي (Benzfetamine، Di phenhydramine، MethaquaIone ، QuinoIine ، Atropine ، Thebaine ، Iupinine، Catechin، Noscapine). وبعد إجراء التحلل الحامضي للمستخلصات

النباتية المستخدمة للنوعين المدروسين، لوحظ وجود ما يقارب 12 مركب فينولي في المستخلص الخام لكلا النوعين ولكن بتراكيز مختلفه (Rutin، Gallic acid،Pyrogallol ، Eugnol، Qurctin، Cinnamaldehyde، Catechol، Cinnamic،Kaempferol ، Chlorogenic،Lignan ، 4-hydroxy benzoic).

- ولتصنيع نوع جديد من المبيدات الحشرية يختلف عن المبيدات المألوفة تضمنت الدراسة الحاضرة تصنيع المبيد النانوي من اضافة جسيمات ثنائي اوكسيد السليكا النانوية SiO2 NPs إلى المستخلصات المائية للنوعين المدروسين *E. helioscopia, E. peplus* وتقدير سميتها وسمية المستخلصات الكحولية ضد يرقات الطورين الثالث والخامس وبالغات خنفساء الطحين المحيرة *Tribolium confusum* بطريقة المعاملة السطحية وبالاعتماد على قيم التراكيز القاتلة النصفية LC50 بعد(24 و48 و72) ساعة من المعاملة، فضلا عن ذلك استخدام المبيد (WDG 40% HERO) بالتخافيف (0.09, 0.07 ,0.05 ، 0.03, 0.01) مايكروغرام /مل كمعيار للمقارنة، بالإضافة الى مجموعة السيطرة Control التي عوملت بالماء المقطر فقط. تغايرت قيم LC50 مع اختلاف نوع المبيد، والمستخلص، والمرحلة التطورية، وفترة التعرض. اذ اظهرت النتائج أن لكل من المبيدين النانويين والمستخلصات الكحولية للنوعين تأثيرا ساما ضد اليرقات والبالغات على حد سواء ولاسيما بعد 72 ساعة. ومن مقارنة سمية المبيدين النانويين ضد يرقات وبالغات خنفساء الطحين كانت قيم LC50 للمبيد النانوي المحضر من نبات *E. peplus* كان افضل من قيم LC50 للمبيد النانوي المحضر من النبات *E. helioscopia*، وبشكل عام كانت يرقات الطور الثالث هي الأكثر حساسية واسرع أستجابة للسمية من يرقات الطور الخامس والبالغات بعد(24 و48 و72) ساعة من المعاملة. ومن مقارنة قيم LC50 للمستخلصات الكحولية للنباتين تبين ان المستخلص الكحولي للنوع *E. helioscopia* كان أكثر السمية للحشرات بنحو (2.4 و4.3 و6.6) مرة بعد (24و48 و72) ساعة على التوالي. اما عند مقارنة قيم LC50 للمبيد النانوي للنوع *E. peplus* مع قيم الـ LC50 للمستخلص الكحولي للنوع *E. helioscopia* ولاسيما بعد 72 ساعة من المعاملة اظهرت النتائج ان المبيد النانوي لجسيمات اوكسيد السيلكا النانوية مع المستخلص المحضر من النوع *E. peplus* كانت الافضل والاكثر سمية بنحو 3.4 مرة بعد 72 ساعة، وقد لوحظ بعض الثاثيرات المظهرية والسلوكية الواضحة على الحشرات المعاملة بالمستخلصات الخام

Abstract

A taxonomic study of the two wild species of *E. helioscopia* and *E. peplus* that are found in the Nineveh Governorate was conducted as part of the current study، within several topics:

Studying the morphological and anatomical characteristics، molecular structure and chemical composition، as well as making plant extracts from them to manufacture two pesticides، one conventional and the other nano، and studying their effect on the confused flour beetle.

- The phenotypic study included the study of the general characteristics of the root، stem and leaves، as it was noted that the leaves are of the type *E. helioscopia* oval، reflected، flattened or approaching to be triangular، sessile، the stem leaves located at the bottom of the tent are peduncles spread horizontally، and the leaves forming the tent are composed of (5) branched rays that branch bilaterally or triple، and have a serrated edge. While the leaves of the genus *E. peplus*، which are located below the tent، have an opposite elliptical shape، tapering at the base and triangular to rounded at the top، and opposite، it was noted that the flowers of the two studied genera *E. helioscopia* and *E. peplus*، their color is green tending to pale yellow، the nectary is green، it does not contain pet.als or sepals، small in size، the inflorescence is Cyathium. The main flower is female and has a long raceme that makes the female flower dangling

downward and there are (4-5) bracts fused to each other under it، and in the axils of the bracts there are a number of male flowers placed in the form of a scorpion-limited inflorescence، the number of male flowers in one inflorescence ranges from (3-5)، and between the lobes of the bracts there are glands of oval or crescent shape that alternate with the lobes of the bracts، the male flower consists of one stamen and the female flower consists of an ovary composed of 3 fused carpels، each one containing one ovule.

- The anatomical study consisted studying the anatomical structure of the leaves and stems of the two studied species، and it was found that the leaf epidermis of the two species has one row of simple cells، and the lateral vascular bundles are closed، and their number in the middle vein of the species *E. helioscopia* is three oval and parallel vascular bundles with an inverted triangle shape، while in *E. peplus* is a single، elongated vascular bundle. It was noted from the anatomical structure of the stem of *E. helioscopia* that the cells of the epidermis are square، followed by eight rows of parenchyma cells forming the cortex layer، and the peripheral vascular cylinder arranged in a circular manner near the cortex area and the type of vascular bundles is collateral، their number is (14-36) bundles، discontinuous، separated from each other by pulpy rays، and the stem is solid، contains a pulpy region composed of large، almost irregularly sized، elongated، parenchyma cells with thin walls. In *E.*

peplus، the epidermis of the stem has a single row and its cells are rectangular covered with a cuticle layer. It was noted that the cortex has oval to rectangular parenchyma cells، some of which contain starch، and the collateral vascular bundles are organized in a circular manner near the cortex and are called cortical vascular bundles.

- The study of the molecular genetic index of the two studied species using RAPD technology (Random amplification of polymorphic DNA)، as the fragments of DNA were multiplied and included through the polymerase chain reaction، and the results showed the corresponding nitrogenous bases installed in the National Center for Biotechnology Information (Gen Bank Graphics) using Polymerase chain reaction (PCR) of the two studied species using the primers pair ITs_1 and ITs_4، it was observed that the nucleotide sequence matched the global isolate، as the match rate of *E. helioscopia* was 99% with the global isolate deposited in the GenBank and entered under the accession number ON989202، as well as for the type and *E. peplus*، as the match rate reached 99% with the global isolate deposited in the GenBank under accession number ON989203.
- In the chemical aspect، a number of chemical compounds were evaluated and diagnosed in the crude extract of both *E. helioscopia* and *E. peplus* species، as it was noted that there were about twenty alkaloid compounds in them، and it was noted that there were three alkaloid compounds present in the extract of both *E. helioscopia* and *E. peplus*، the highest concentration was for Scopalamine، Colchicino and Theobromine. While

the presence of the following alkaloids was observed in the species *E. helioscopia*، namely metamfepramone، phencyclidine، tramadol، caffeoylquinic، in addition to that، it was noted that the following alkaloids were found in the crude extract of the species *E. peplus*، which arebenzfetamine Di phenhydramine، theobromine، Methaqualone، colchicine، atropine quinoline، thebaine، lupinine، scopaiamine، catechin and noscapine، in addition to that، the presence of a number of phenols was noted، as after conducting the acid analysis of the plant extracts used in the study، the results of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) analysis showed that there were changes in terms of their content of phenolic compounds and their concentration، there were about 12 phenolic compounds، as the following compounds were found in both species، but with different concentrations، including Pyrogallol، Gallic acid، Rutin، Kaempferol، Cinnamic، Catechol، Cinnamaldehyde، Qurctin، Eugnol، Lignan، Chloroge، 4-hydroxybenzoic.

- To synthesis a novel insecticide different from the usual pesticides، the study included the manufacture of nanoparticles by adding SONP silica oxide nanoparticles to the alcoholic extracts of the plants *E. peplus* and *E. helioscopia* and estimating its toxicity against the third and fifth instar larvae and adults of the confused flour beetle *Tribolium confusum* by topical application and depending on the values of Lc50 concentrations after 24، 48 and 72 hours of treatment . HERO 40% WDG was used in

dilutions (0.01 ،0.09، 0.07،0.05،0.03 / ml) as a comparison insecticide ، in addition to the treatment of the control group، which was treated with distilled water only.And by comparing the Lc50 values of the alcoholic extract of two plants with the Lc50 values، it was found that the alcoholic extract of *E. helioscopia* was more toxic to insects by about 2.4، 4.3 and 6.6 times after 24، 48 and 72 hours، respectively.When comparing the LD50 values of the plant nanocide E.Pupleswith the values of the LD50 of the alcoholic extract of *E. helioscopia*، especially after 72 hours of treatment. While the results showed that the nanoparticles of silica oxide nanoparticles with the extract prepared from the plant E.Pupleswere the best and the most toxic with about 3.4 µl / m.

University of Mosul

College of Education for Girls
Department of Biology

Ataxonomic ،chemical and molecular study of two plants of the genus *Euphorbia* and their biological and Nanoeffect on the flour beetle *Tribolium confusum.*

Enas Rafaa Qasim Mohammad

M.Sc. Thesis

Biology

Supervised by

Assist. Prof
Dr. Jehan Yehya Al-Hatem

Lecturer
Dr. Lubna Yassin Abbas

2023 A.D **1445 A.H**