

فعالية بعض مستخلصات طحلب الكارا *Chara sp.* على يرقات الطور الرابع لبعوض *Culex quinquefasciatus*

هيا عبد شاكر أريج حسن سليم الظاهر وصال عودة حسن
جامعة البصرة - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

الخلاصة:

أجريت هذه الدراسة لغرض تقييم فعالية المستخلصات المائية والمذيبات العضوية (الكحول الايثيلي والهكسان) والمركبات الثانوية المتمثلة بالمركبات القلوانية والفلافونيدات لطحلب *Chara sp.* اتجاه الطور اليرقي الرابع لبعوض *Culex quinquefasciatus*. اظهرت النتائج فعالية مختلفة للمستخلصات المستخدمة في قتل اليرقات اذ تفوق مستخلص الهكسان بـ LC_{50} و LC_{90} من يرقات البعوض بلغ 1000 و 3000 ppm على التوالي وبعد 24 ساعة من المعاملة وبمعدل نسبة قتل بلغت 65.27%، تلاه المستخلص الكحولي بـ LC_{50} و LC_{90} بلغ 1000 و 4000 ppm على التوالي بعد 48 ساعة من المعاملة وبمعدل نسبة قتل بلغت 62.21% ثم المستخلص القلواني بـ LC_{50} و LC_{90} بلغ 1000 و 6000 ppm بعد 48 ساعة من المعاملة وبمعدل نسبة قتل بلغت 54.70%، وأخيراً كانت المستخلصات الفلافونيدية والمائية هي الأقل تأثيراً ضمن المستخلصات المستخدمة بمعدل نسبة قتل بلغت 36.1% و 4.16% على التوالي.

An assessment for some extracts activity of an algae *Chara sp.* On mosquitoes 4th larval instar of *Culex quinquefasciatus*

Haya Abed Shaker Areeg Hassan Saleem AL-Dhahir Wissal Auda Hassan
Department of Biology - College of Science - University of Basrah - Iraq

Abstract

The study has done for assessment of the activity for aqueous, Organic Solvents (alcoholic and hexane extract) and the Secondary compound alkaloids and flavonoids for an algae *Chara sp.* Against the fourth larval in star of *Culex quinquefasciatus*.

The result showed different activity for the used extracts in larvae killing hexane has the strongest effect with LC_{50} and LC_{90} reached for 1000, 3000 part per million (ppm) after 24 h from the treatment respectively with mortality rate 65.27% , then 1000, 4000 ppm for alcoholic extracts and 1000, 6000 ppm for alkaloids after 48h with mortality rate 62.1% and 54.70% finally, aqueous and flavonoid extracts were the least effects among the used extracts with mortality rate 4.16% and 36.1% respectively.

المقدمة

ان عمليات مكافحة المستمرة بالمبيدات الكيميائية المصنعة قد شكلت ضغطاً مستمراً على المجتمع الحشري، الذي يمتلك قدرة عالية وسريعة لتطوير مقاومة هذه المبيدات وان هذه المقاومة سوف تتطور بسرعة اكبر من كثافة الضغط الانتخابي للمبيدات الكيميائية المصنعة (Stipanovic, 1983)، مما جعل المتخصصين يبحثون عن اتجاهات جديدة في ادارة الافات الزراعية ومنها ما يعرف بمبيدات الجيل الثالث (علي وعبد العزيز، 1986).

وبما ان الطحالب توفر بيئة ملائمة لتكاثر البعوض لأنها تعد جزءاً رئيسياً في تغذية البعوض (جرجيس وامين، 1987)، فبالإمكان استخدامها في مكافحة يرقات البعوض خاصة وقد اكتشفت منذ عام 1924 انواع من الطحالب سامة ليرقات البعوض، ومنذ ذلك الحين ظهرت العديد من البحوث التي اشارت الى امكانية استخدام الطحالب في مكافحة عن طريق التغذية، كما لاحظ Marten (1984) ان الطحلب *Kirchneriella irregularis* له قدرة على قتل يرقات بعوض *Aedus albopictus* عند تغذيتها عليه، او عن طريق تحرير الطحلب لسمومه للبيئة، كما لاحظ Saario *et.al* (1994) ان يرقات *Aedus aegypti* تقتل عند تغذيتها على سلالات من طحلي *Anabaena circinalis* و *Oscillatoria agardhi i* بسبب قدرتهما على تحرير سم Microcystine، وهناك بعض الدراسات التي بينت فاعلية المستخلصات الخام المعزولة من الطحلب اتجاه يرقات البعوض كدراسة (Watanabe *et. al*(1989) اذ وجد ان المستخلص الميثانولي لطحلب *Lauvencia nipponica* له فعالية عالية لقتل يرقات بعوض *Culex pipiens palen*.

وهناك العديد من الدراسات التي قيمت الفعالية البايولوجية للطحالب الخضر في العالم منها دراسة (Dhillon *et. al*,1982 و Marten,1986 و Berger&Schagerl,2004 و Ghazal *et.al*,2004 و Marten,2007). ومنها طحلب الكارا *Chara sp.* الذي يعد جنساً واسع الانتشار في جميع أنحاء العالم وينمو في المياه العذبة اوالمياه نصف المالحة brackish water وهو ذو رائحة غير مرغوبة شبيهة برائحة البصل والناجمة من وجود مركبات الكبريت (المياح وحميم، 1991) ويعود هذا الطحلب الى صنف الطحالب Charophyceae رتبة Charales (Wood&Imahor, 1965).
وبما ان البيئة العراقية غنية بانواع عديدة من الطحالب الخضر لذا اختير هذا الطحلب كمحاولة لإيجاد بدائل طبيعية للمبيدات الكيميائية المصنعة المستخدمة في مكافحة يرقات البعوض.

المواد وطرائق العمل

جمع وتربية بعوض *Cx. quinquefasciatus*

اتبعت طريقة منظمة الصحة العالمية WHO (1970) في تربية البعوض بعد ان جمعت يرقات البعوض من قناة لمجاري مياه مجموعة من البيوت السكنية ومن احد الأفرع النهرية لشط العرب

والتي تصب فيها مجاري البيوت السكنية في منطقة حطين، وشخصت من قبل أ.د.كاظم صالح حسن كلية العلوم - قسم علوم الحياة وأم.د. اياد عبد الوهاب عبد القادر كلية الزراعة - قسم وقاية نبات.

جمع وتشخيص عينات طحلب الكارا *Chara sp.*

تم جمع عينة الطحلب من أحد المستنقعات المجاورة لجامعة البصرة في اكياس من النابليون وأخذت إلى المختبر. غسلت العينة بماء الحنفية لعدة مرات وذلك للتخلص من الأطفان والأحياء الصغيرة العالقة. جففت العينات بعد ذلك عن طريق نشرها على أوراق نظيفة في مكان مظلل. شخص طحلب *Chara sp.* باحتوائه على نوعين من الفروع، الأولى غير محدودة النمو وتمتاز بطولها واحتوائها على عقد وسلاميات إضافة إلى وجود أشباه الجذور، أما الأخرى فهي محدودة النمو ويكون موقعها عند العقد وهي قصيرة عادة" وبشكل دائري حول العقدة (لوحة A-1) وتمتاز هذه الفروع بحملها للأعضاء التكاثرية الأنثوية *nucule* والذكرية *globule* والتي تتحد مع بعضها عند موسم التكاثر لتكون البيضة المخصبة *zygote* سوداء اللون إذ تحمل على تراكيب تدعى القنابات لوحة (B-1)، كما تحتوي الكارا على أشواك ذات أحجام وأشكال مختلفة، وعادةً تختلف المسافة بين العقد كما تختلف أطوال الأشواك وأنواعها مما يكون له الأثر الكبير في التصنيف لتحديد النوع لوحة (C-1).

تحضير المستخلصات المائية:

طحنت عينات الطحلب الجاف ثم حضرت المستخلصات المائية بإضافة 10غم من مسحوق الطحلب إلى 200 مل من الماء المقطر الحار - لارتفاع حرارته عن 50-60 م° في دورق زجاجي سعة 500 مل، واخضع للتحرريك المستمر بواسطة المحرك مغناطيسي *Magnetic stirrer* (IKA- Combimag) لمدة ساعة واحدة، ثم ترك ليستقر 30 دقيقة بعدها رشح المحلول باستخدام قطعة قماش من الململ، و فصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي نوع (Kubota Model Kc-20) بسرعة 3000 دورة/ الدقيقة ولمدة 10 دقائق، ورشح المحلول الناتج باستخدام ورق ترشيح نوع No.1، Whattman، ثم جمع الراشح وبخر المذيب بواسطة المبخر الدوار (Rotary evaporator) وبدرجة حرارة 45 م°، بعد ذلك وضع الراشح المركز في طبق بتري وترك ليحفظ في درجة حرارة الغرفة، وزنت المادة الجافة وحفظت في عبوات زجاجية بدرجة حرارة 20 م° لحين الاستعمال (المنصور، 1995).



A



A



A



A



B



C

لوحة 1: A) الشكل الظاهري بالعين المجردة (B, C) - الشكل المجهرى تحت قوة تكبير $\times 16$
 لطحلب الكارا. Chara sp.

تحضير مستخلصات المذيبات العضوية:

حضرت المستخلصات الكحولية بإضافة 10 غم من مسحوق النبات الى 150 مل من الكحول الايثيلي 70% باستخدام المحرك المغناطيسي لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 40 ° م ، ثم رشح المحلول الناتج باستخدام ورق ترشيح No.1، Whattman بعدها بخر المذيب باستخدام المبخر الدوار وبدرجة حرارة 45 ° م ، ثم وضع الراشح المركز في طبق بتري وترك ليحفظ بدرجة حرارة الغرفة، وزنت المادة الجافة وحفظت في عبوات زجاجية وبدرجة حرارة 20 ° م لحين الاستعمال (Harborne,1984).

اما مستخلص الهكسان فحضر باستخدام جهاز الاستخلاص Soxhlet extractor بشكل مستمر بوضع 10 غم من مسحوق الطحلب الجاف في وعاء ورقي وباستخدام 200 مل من مذيب الهكسان ولمدة 24 ساعة ثم جمع الراشح وبخر المذيب ثم وضع الراشح المركز في طبق بتري وترك ليحفظ في درجة حرارة الغرفة ثم حفظت في عبوات لحين الاستخدام بدرجة حرارة -20 ° م (Harborne,1984).

الكشف الكيميائي عن المركبات الثانوية:

كشفت عن المركبات الثانوية للمستخلصات النباتية المحضرة باستخدام الكواشف الترسيبية الآتية: للكشف عن القلوانيات **Alkaloids** استخدم كاشف ماير Mayer reagent وكاشف دراكندروف Dragendorff reagent وكاشف واكنر Wagner reagent (Silva et al., 1998). وللكشف عن الفينولات **Phenols** استخدم كاشف كلوريد الحديدك Ferric Chlorid (Shihata,1951) و كاشف فولن Folin reagent (Harborne,1984). وللكشف عن الفلافونيدات **Flavonoids** استخدم كاشف هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي KOH (Al- Khazraji,1991). للكشف عن التانينات **Tannins** استخدمت طريقة Shihata (1951). وللكشف عن الصابونيات **Saponins** استخدم كاشف كلوريد الزئبقيك HgCl₂ (1984) (Harborne , وكشف الرغوة (Silva et al , 1998).

استخلاص المركبات الثانوية

1- استخلاص القلوانيات **Alkaloids**

استخلصت المركبات القلوانية حسب طريقة Agarwal (1976) بوضع 25 غم من المسحوق الجاف للنبات في وعاء ورقي Thumble بجهاز الاستخلاص Soxhlet extractoer بشكل مستمر مع 400 مل من مذيب الهكسان لمدة 24 ساعة لإزالة الدهون من العينة النباتية المستخدمة، وبعد أن رفعت العينة وتركت لتجف بدرجة حرارة الغرفة للتخلص من بقايا المذيب مزجت مع 300 مل من الكحول الايثيلي 96% في دورق زجاجي بحجم 500 مل باستخدام المحرك المغناطيسي Maganetic

stirrer لمدة 24 ساعة، بدرجة حرارة 45 م°، ثم رشح المحلول باستخدام ورق ترشيح نوع. Whattman No.1، بخر المذيب بواسطة المبخر الدوار وبدرجة حرارة 45 م°، بعدها أذيب المستخلص الناتج بالماء المقطر وحمض بـ1% حامض الهيدروكلوريك HCl حتى يصل الأس الهيدروجيني (PH) للمزيج إلى 2، ثم ترك ليستقر لفترة و رشح باستخدام ورق ترشيح، جمع الراشح وأضيف له 20 مل من الايثر diethyl ether وفصل باستخدام قمع الفصل إلى طبقة حامضية وأخرى ايثرية، أضيفت الامونيا المركزة NH₄OH إلى الطبقة الحامضية إلى أن يصل الأس الهيدروجيني للمحلول إلى 9، ثم نقل المحلول إلى قمع الفصل وأضيف إليه 20 مل من الكلوروفورم، رج جيداً وترك ليستقر ثم فصلت طبقة الكلوروفورم السفلى وكررت العملية 4 مرات، جمع المستخلص الكلوروفورمي وبخر باستخدام المبخر الدوار ثم ترك ليحفظ بدرجة حرارة الغرفة، وزنت المادة الجافة وحفظت في عبوات زجاجية وبدرجة حرارة - 20 م° لحين الاستعمال وكشف عن القلوانيات باستخدام كاشف دراكندروف Dragendroff (Silva et al., 1998).

2- استخلاص الفلافونيدات Flavonoids

تم استخلاص المركبات الفلافونيدية حسب طريقة Harborne (1984) اذ مزج 20غم من مسحوق الطحلب الجاف مع 300 مل من محلول حامض الهيدروكلوريك HCl المركز 36% (2m) وأجريت له عملية الاستخلاص بواسطة المكثف العاكس Reflex condenser باستخدام حمام مائي بدرجة حرارة 100 م° لمدة 40 دقيقة، بعد أن ترك المحلول ليبرد رشح باستخدام ورق ترشيح Whattman No.1، ونقل الراشح إلى قمع فصل ومزج جيداً مع 50 مل من خلات الايثيل فتكونت طبقتان عزلت طبقة خلات الايثيل العلوية وكررت العملية ثلاث مرات، جمع مستخلص خلات الايثيل وجفف ثم حفظ في عبوات زجاجية وبدرجة حرارة 20 م° لحين الاستعمال، وتم الكشف عنه باستخدام كاشف فولن Folin وكلوريد الحديدك Ferric Chlorid وهيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي.

دراسة تأثير المستخلصات المحضرة في هلاك يرقات الطور الرابع لبعوض *Cx. quinquefasciatus*

حضرت ستة تراكيز من المستخلصات المائية والكحولية والهكسانية، والمركبات الثانوية (القلوانيات والفلافونيدات) لطحلب الكارا المستخدم في الدراسة وهي 30000 و 10000 و 5000 و 1000 و 500 و 100 ppm عزلت يرقات الطور الرابع من البعوض باستخدام فرشاة رسم ذات حافات رقيقة حسب ما بينه الجبوري (1983) اذ تمتاز اليرقات بكبر حجمها وكون منطقة الرأس اصغر حجماً من المنطقة الصدرية، كما أن القطع الجسمية أثمان مميزة بوضوح، والرأس حامل زوجاً من اللوامس المميزة، وللسيقون شكل أنبوبي طويل. ووضعت في طبق بتري بقطر 15 سم حاوٍ على الماء المقطر أو ماء خالٍ من الكلور.

اتبعت طريقة WHO (1970) في اختبار سمية المستخلصات المحضرة في يرققات البعوض في اختبار سمية المستخلصات المحضرة في يرققات البعوض إذ حضرت ستة أواني بلاستيكية بحجم 150 مل وقطر 5 سم أضيف إلى ثلاثة منها 50 مل من التركيز المحضر أما المكررات الثلاثة الأخرى فاستخدمت للسيطرة أضيف لها نفس الحجم من المذيب المستخدم (الماء المقطر، كحول ايثيلي 96% هكسان) ثم نقل إلى كل إناء 10 يرققات من البعوض (تم انتقائها عشوائياً)، تركت أواني التجربة في درجة حرارة الغرفة، وسجلت عدد اليرقات الميتة في كل إناء بعد 24 ساعة و48 ساعة من المعاملة.

التحليل الإحصائي:

صححت نسب القتل المئوية وفقاً لمعادلة ابوت Abbot formula الواردة في شعبان والملاح (1993). ثم حولت تلك النسب إلى قيم زاوية وأخضعت للتحليل الإحصائي وفق تصاميم التجارب العاملة تامة التعشية Complete Design حسب طريقة اقل فرق معنوي معدل (R.L.S.D.) وتحت مستوى احتمالي $p \leq 0.05$ ثم حسب LC_{50} و LC_{90} لنسب الموت المصححة باستخدام برنامج الكمبيوتر EPA.

النتائج:

نتائج الكشوفات الكيميائية:

أظهرت نتائج الكشوفات الكيميائية التي أجريت على طحلب الكارا وجود كل من القلوانيات والتانينات والصابونيات وعدم وجود الفينولات والفلافونويدات في المستخلص المائي ووجودها في المستخلص الكحولي جدول (1).

جدول (1): الكشوفات الكيميائية عن المركبات الثانوية لطحلب الكار

| المركب المستخلص | القلوانيات | الفينولات | الفلافونويدات | التانينات | الصابونيات |
|--------------------|------------|-----------|---------------|-----------|------------|
| المائي | + | - | - | + | + |
| الكحولي | + | + | + | + | + |

+ وجود المركب - عدم وجود المركب

تأثير المستخلصات المعزولة من طحلب الكارا *Chara Sp.* في نسب القتل المئوية ليرقات بعوض *Culex quinquefasciatus*:

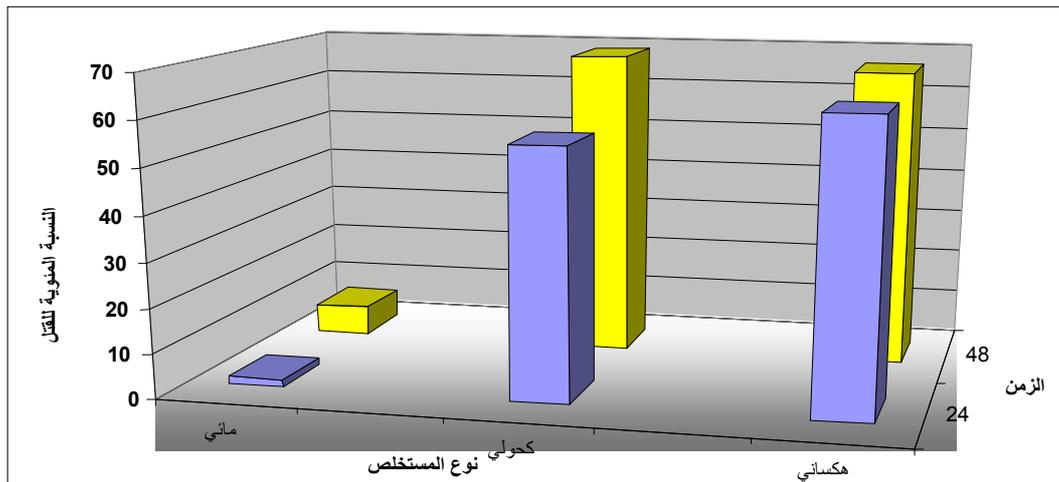
أظهرت نتائج المستخلص المائي والكحولي والهكسان المعزول من طحلب الكارا تفوق مستخلص الهكسان تفوقاً معنوياً وبمعدل نسبة قتل بلغت 63.88% و 66.66% بعد 24 و 48 ساعة من المعاملة على التوالي ثم تلاه المستخلص الكحولي وبمعدل نسبة قتل 55.55% و 68.88% خلال مدتي المعاملة وكان المستخلص المائي اقل تأثيراً (جدول 2).

جدول (2): تأثير المستخلصات المائية والكحولية والهكسانية لطحلب الكارا في نسب القتل المئوية

ليرقات بعوض *Cx. quinquefasciatus*

| معدل نسبة القتل لكل مستخلص | معدل نسبة القتل لكل وقت | التركيز (جزء في المليون) | | | | | | الزمن ساعة | نوع المستخلص |
|----------------------------|-------------------------|--------------------------|-------|-------|------|-------|-------|------------|---------------------------|
| | | 100 | 500 | 1000 | 5000 | 10000 | 30000 | | |
| 4.16 | 1.66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 24 | مائي |
| | 6.66 | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 | 20 | 48 | |
| 62.21 | 55.55 | 13.3 | 20 | 50 | 50 | 100 | 100 | 24 | الكحولي |
| | 68.88 | 20 | 30 | 63.3 | 100 | 100 | 100 | 48 | |
| 65.27 | 63.88 | 10 | 13.3 | 60 | 100 | 100 | 100 | 24 | هكساني |
| | 66.66 | 10 | 20 | 70 | 100 | 100 | 100 | 48 | |
| 43.88 | | 8.88 | 13.88 | 40.55 | 60 | 68.33 | 71.66 | | معدل نسبة القتل لكل تركيز |

R.L.S.D لتأثير نوع المستخلص (0.194) ($P < 0.05$) R.L.S.D لتأثير الزمن (0.162) ($P < 0.05$)
R.L.S.D لتأثير التركيز (0.28) ($P < 0.05$) R.L.S.D لتأثير التداخل (نوع المستخلص × التركيز) (0.486) ($P < 0.05$)
R.L.S.D لتأثير التداخل (الزمن × التركيز) (0.41) ($P < 0.05$) R.L.S.D لتأثير التداخل (نوع المستخلص × التركيز × مدة المعاملة) (0.711) ($P < 0.05$)
R.L.S.D لتأثير التداخل (نوع المستخلص × الزمن) (0.290) ($P < 0.05$)



شكل (1): تأثير نوع المستخلص المعزول من طحلب الكارا في ليرقات بعوض

Cx. quinquefasciatus خلال مدتي المعاملة

أما نتائج التحليل الاحصائي للزمن عند ($P < 0.05$) فبينت أن نسب القتل تزداد بزيادة مدة المعاملة لذا نلاحظ ان على نسبة قتل ظهرت بعد 48 ساعة من المعاملة، كما بين التحليل الاحصائي

للتراكيز ان هناك فروقاً معنوية بين جميع التراكيز المستخدمة وان نسب القتل تزداد بزيادة التركيز وقد تفوق التركيز ppm30000 تفوقاً معنوياً على باقي التراكيز المستخدمة.

اما التداخلات الاحصائية بين نوع المستخلص والزمن فبينت ارتفاع نسب القتل عند اطالة مدة المعاملة للمستخلصين المائي والكحولي اذ ارتفعت نسبة القتل من 1.66% و 55.55% على التوالي بعد 24 ساعة من المعاملة الى 6.66% و 68.88% بعد 48 ساعة من المعاملة في حين لم يلاحظ ان هنالك فروق معنوي ($P < 0.05$) خلال مدتي المعاملة لمستخلص الهكسان، كما لم تسجل فروقات معنوية بين مستخلص الهكسان والمستخلص الكحولي عند 48 ساعة شكل (1).

في حين دلت التداخلات الاحصائية بين نوع المستخلص والتركيز عدم وجود فروق معنوية عند التركيزين 30000 و ppm10000 للمستخلص الكحولي ومستخلص الهكسان اذ بلغت معدلات نسب القتل 100% لكلا المستخلصين في كلا التركيزين كما لم تسجل فروقات معنوية للتراكيز الثلاثة الاخيره (100، 500، 1000) ppm للمستخلص المائي، اما التداخلات الاحصائية بين الزمن والتركيز فبينت ان اعلى نسبة قتل سجلت عند التركيز ppm30000 بعد 48 ساعة من المعاملة ولم تسجل فروق معنوية عند التركيزين 30000 و ppm 10000 خلال مدتي المعاملة.

ومن خلال هذه النتائج بلغ اقل LC_{50} و LC_{90} من يرقات بعوض *Cx. quinquefasciatus* 1000 و ppm3000 خلال مدتي المعاملة لمستخلص الهكسان ثم تلاه المستخلص الكحولي وبتركيز 1000 و ppm4000 خلال 48 ساعة من المعاملة (جدول 3).

جدول (3): قيم التراكيز القاتلة LC_{50} و LC_{90} من يرقات بعوض *Cx. quinquefasciatus*

للمستخلصات المعزولة من طحلب الكارا *Chara Sp.*

| نوع المستخلص | الوقت | LC_{50} | LC_{90} |
|--------------|-------|------------------------------|--------------------------------|
| المائي | 24 | 10×957 ₃ | 10×28191 ₃ |
| | 48 | 10×215 ₃ | 10×375 ₄ |
| الكحولي | 24 | 3000 | 10×14 ₃ |
| | 48 | 1000 | 4000 |
| الهكساني | 24 | 1000 | 3000 |
| | 48 | 1000 | 3000 |

اما نتائج تأثير المركبات القلوانية والفلافونويدية المعزولة اظهرت تفوق المستخلص القلواني الخام تفوقاً معنوياً على المستخلص الفلافونويدي وبمعدل نسبة قتل بلغت 52.76% و 56.65% بعد 24 و 48 ساعة من المعاملة (جدول 4).

كما بينت نتائج التحليل الاحصائي عند ($P < 0.05$) للتركيز ان هناك فروق معنوية بين جميع التراكيز المستخدمة باستثناء الركيذين 500 و 100 ppm، ولوحظ زيادة نسب القتل بزيادة التراكيز المستخدمة اذ ارتفعت نسبة القتل من 60% عند التركيز 5000 ppm الى 95.82% عند التركيز 10000 ppm كما دل التحليل الاحصائي للزمن ان اطالة مدة المعاملة ادت الى زيادة معدلات نسب القتل زيادة معنوية.

اما التداخلات الاحصائية بين التركيز والزمن لم تسجل اي فرق معنوي في نسب القتل عند نفس التركيز بزيادة مدة المعاملة فنلاحظ ان معدل نسبة القتل عند التركيز 30000 ppm بلغ 100% خلال مدتي المعاملة وهذا مالم لوحظ ايضاً بين نوع المستخلص والزمن اذ لم تلاحظ اي فروقات معنوية بينها (شكل 2)، في حين بينت التداخلات الاحصائية بين نوع المستخلص المستخدم والتركيز عدم وجود فرق معنوي بين المستخلص القلواني والفلافونويدي عند التراكيز 30000 و 10000 ppm مع ملاحظة تفوق هذين التراكيز على باقي التراكيز المستخدمة. وبهذا فقد بلغت قيم LC_{50} و LC_{90} 1000 و 6000 ج.ف.م للمستخلص القلواني بعد 48 ساعة من المعاملة (جدول 5).

ومن خلال هذه النتائج دلت التداخلات الاحصائية تفوق مستخلص الهكسان على جميع المستخلصات المستخدمة وبمعدل نسبة قتل بلغت 65.27% ثم تلاه المستخلص الكحولي و القلواني وبمعدل نسبة قتل بلغت 62.21% و 54.70% على التوالي كما في الشكل (3).

جدول(4): تأثير المركبات الفعالة المعزولة من طحلب الكارا. *Chara Sp* في نسب القتل المنوية

ليرقات بعوض *Cx. quinquefasciatus*

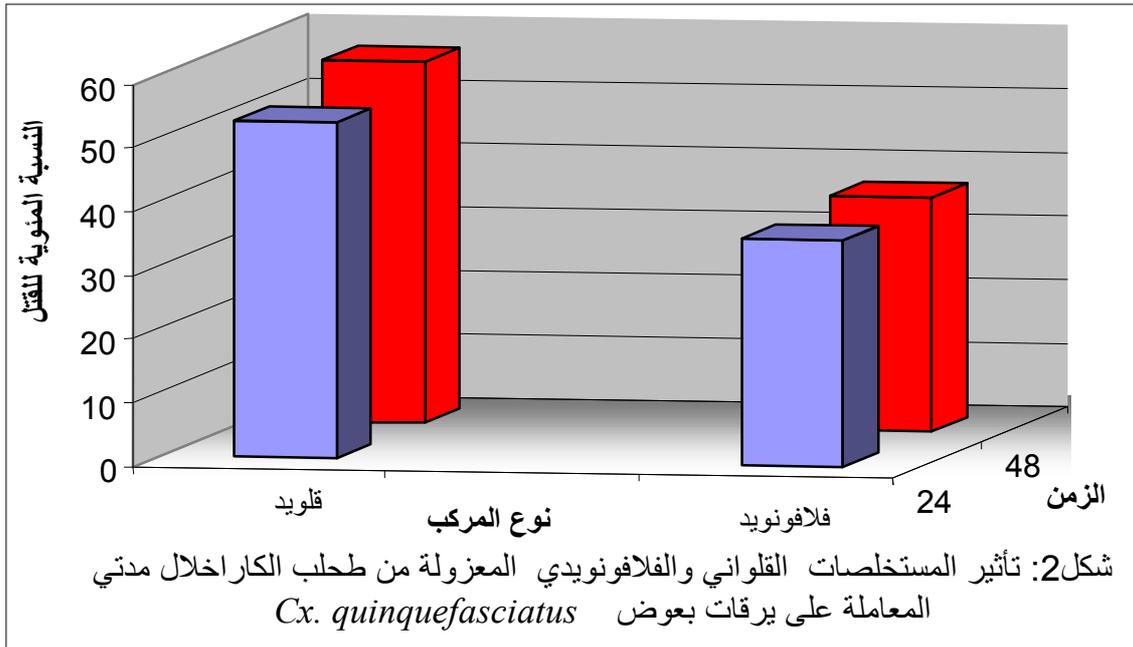
| معدل نسبة القتل لكل مركب | معدل نسبة القتل لكل وقت | التراكيز (جزء في المليون) | | | | | | الزمن ساعة | نوع المركب |
|--------------------------|-------------------------|---------------------------|------|------|------|-------|-------|------------|---------------------------|
| | | 100 | 500 | 1000 | 5000 | 10000 | 30000 | | |
| 54.70 | 52.76 | 3.3 | 3.3 | 10 | 100 | 100 | 100 | 24 | القلواني |
| | 56.65 | 13.3 | 13.3 | 13.3 | 100 | 100 | 100 | 48 | |
| 36.1 | 35.55 | 0 | 0 | 3.3 | 20 | 90 | 100 | 24 | الفلافونويد |
| | 36.65 | 0 | 0 | 6.6 | 20 | 93.3 | 100 | 48 | |
| 45.4 | | 4.15 | 4.15 | 8.3 | 60 | 95.82 | 100 | | معدل نسبة القتل لكل تركيز |

R. L.S.D لتاثير التركيز 0.387 ($P < 0.05$)

R. L.S.D لتاثير التداخل (نوع المستخلص × التركيز) 0.547 ($P < 0.05$)

R. L.S.D لتأثير نوع المستخلص (P < 0.05) 0.233

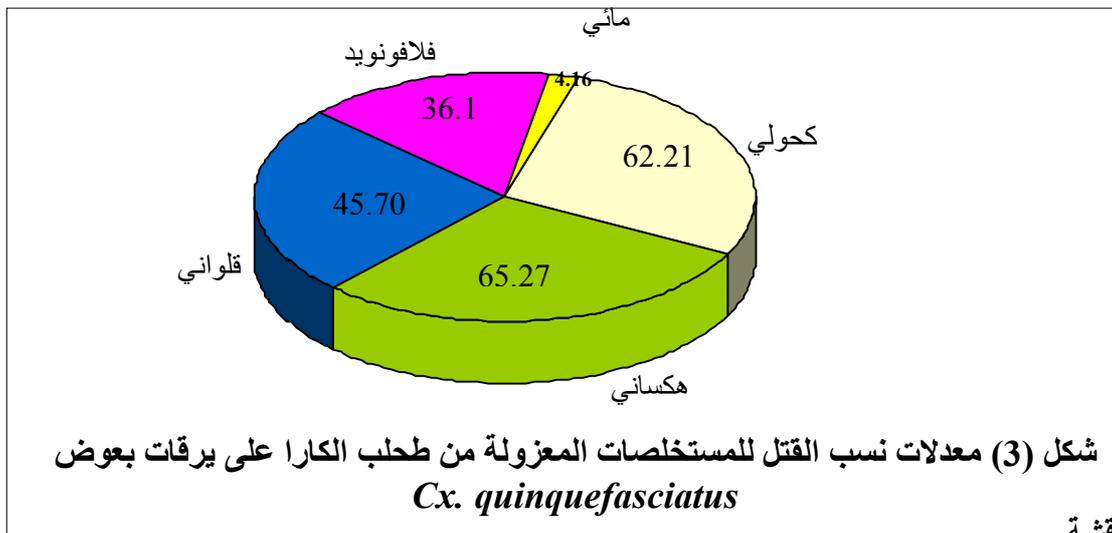
R. L.S.D لتأثير الزمن (P < 0.05) 0.248



جدول (5): قيم التراكيز القاتلة لـ LC₅₀ و LC₉₀ من يرقات بعوض *Cx. quinquefasciatus*

للمركبات القلوانيه والفلافونويديه الخام المعزولة من طحلب الكارا *Chara Sp.*

| LC90 | LC50 | الوقت | نوع المستخلص |
|-------|------|-------|--------------|
| 6000 | 2000 | 24 | القلواني |
| 6000 | 1000 | 48 | |
| 14000 | 6000 | 24 | الفلافونويد |
| 14000 | 6000 | 48 | |



المناقشة

تفوق مستخلص الهكسان والمستخلص الكحولي لطحلب الكارا على باقي المستخلصات (شكل 3) قد يعود الى طبيعة المركبات الحاوي عليها هذان المستخلصان اذ بين (Marten, 2007) ان المستخلص الكحولي لطحلب *Chara contraria* حاوي على 9 دهون مشبعة و 5 دهون غير مشبعة بنسبة 43.82% و 15.063% و اظهر هذا المستخلص فعالية عالية كمضاد للفطريات عند اختبار فاعليته اتجاه 10 عزلات فطرية مرضية، كما بينت الظاهر (2005) تفوق مستخلص الهكسان على المستخلصات الكحولية والقلوانية والفلافونويدية لعدد من النباتات في قتل يرقات بعوض *Culex pipiens molestus* وقد يعزى السبب الى الدهون المتواجده في مستخلص الهكسان خاصة وان مذيّب الهكسان يعمل على اذابة المركبات لا قطبية كالدّهون كما ان اشد المبيدات الحشرية تتأثير عن طريق الملامسة هي تلك المواد التي تذوب في مذيبات الدهون فطبقة بشرة الكيوتكل السطحية epicutical وظيفتها استبعاد الماء والمواد المحبة للماء Hydrophilic ولكنها تسمح بدخول المواد التي تذوب في الدهون او المحبة للزيت Lipophilic وبالتالي تعمل على احداث تأثيرها داخل جسم الحشرة بعد دخولها (زيد، 1964) وهذا يتفق مع ما بينه (Dhillon et al., 1982) من ان الجزء الميثانولي من مستخلص البتروليم ايثر للطحلب الاخضر *Rhizoctoniumhieroglyphicum* كان الاشد سمية من مستخلص البنزين و مستخلص البتروليم ايثر في قتل يرقات *Cx quinquefasciatus* و *Aedes aegypti* و *Culiseta incidens* والذي اظهر فعالية مشابهة لهرمونات الصبا (Juvenile hormone) وسبب تغيرات جينية للبالغات حديثة البروغ وتأخير في معدلات نمو اليرقات لمدة من 2-5 ايام، وهذا ما لوحظ من قبل Choochate وجماعته (1999) من ان مستخلص الهكسان لنبات *Kaempferia galangal* كان الاكثر فاعلية من المستخلص الميثانولي لنفس النبات في قتل يرقات الطور الرابع لبعوض *Cx. Quinquefasciatus* .

اما التفوق الذي اظهره المستخلص القلواني على المستخلص الفلافونويدي فقد تعزى الفاعلية العالية للقلوانات الى ان هذه المواد تمنع عملية الايض الحيوي في اليرقات (Jang et al., 2002) من خلال تكوين معقدات مع البروتين او مع الانزيمات المحللة او يمكن ان تحتوي هذه المركبات على مثبت على خلايا الافراز العصبي neurosecretory او تؤثر بشكل مباشر على خلايا البشرة المسؤولة عن انتاج الانزيمات المسؤولة عن tanning او تؤثر على عملية Cuticular oxidatio process (Jeyabalan & Murugan, 1999) وهذا ما اشير اليه في العديد من الابحاث منها المنصور وجماعته (2002) والسعدي (2001)، اما قلة فعالية المستخلص المائي فقد يعزى الى عدم احتوائه على المركبات الفينولية والفلافونويدية كما دل اختبار الكشف عن هذه المركبات (جدول 1) فقد لاحظ Gross (2000) ان الفينولات المتعددة للـ *Myriophyllum spicatum* لها القدرة على تقليل نمو Phytoplankton.

المصادر العربية:

- الجبوري، شهاب احمد (1983). دراسة وراثية وبيولوجية لبعوض *Culex pipiens molestus* ثنائية الاجنحة (Culicidae). رسالة ماجستير. قسم علوم الحياة. كلية العلوم - جامعة الموصل.
- السعدي، ثريا عبد العباس. (2001). تأثير بعض المستخلصات النباتية على انتاجية وهلاك بالغات خنفساء اللوبياء الجنوبية (*Callsobruchus maculates* (Coleoptera:Bruchidae)). رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة البصرة 85 صفحة.
- الظاهر، اريج حسن سليم (2005). تأثير المستخلصات النباتية في هلاك يرقات الطور الرابع وبالغات بعوض *Culex pipiens molestus* (Forsk.) (Forsk.). رسالة ماجستير. قسم علوم الحياة. كلية العلوم - جامعة البصرة.
- المنصور، ناصر عبد علي. (1995). تأثير مستخلصات مختلفة من نبات قرن الغزال *Ibicella lutea* في الاداء الحياتي للذبابة البيضاء *Bomisia tabaci*. رسالة دكتوراه فلسفة. كلية العلوم. جامعة البصرة. 124 صفحة.
- المنصور، ناصر عبد علي و فياض، محمد عامر واليوسف، عقيل عدنان. (2002). عزل المركبات الثانوية لنباتي قرن الغزال واليوكالبتوس ودراسة فعاليتها البيولوجية كمبيدات في مكافحة حشرة دودة اوراق التفاح الجنوبية (*Taragama siva* (Lepidoptera:Lasiocampidae)) المجلة العراقية لعلم الاحياء. المجلد 2. عدد 1 صفحة 55-63.
- المياح، عبد الرضا اكبر علوان والحميم، فريال حميم ابراهيم (1991). النباتات المائية والطحالب. مطبعة دار الحكمة. جامعة البصرة. 455 صفحة.
- جرجيس، سالم جميل وامين، عادل حسن. (1987) الحشرات والعنكبوتيات الطبية والبيطرية. كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل. الموصل. دار الكتب للطباعة والنشر 288 صفحة.
- زيد، محمود. (1964). مبيدات الافات، تركيبها وخواصها الطبيعية والكيمياوية وتأثيرها السام على الحيوانات الراقية والاستفادة منها في المقاومة للافات الاقتصادية، دار المعارف. كلية الزراعة. الاسكندرية.
- شعبان، عواد والملاح، نزار مصطفى. (1993). المبيدات. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. 520 صفحة.
- علي، عبد الستار عارف، وعبد العزيز، فؤاد، (1986). اساس مكافحة الافات الزراعية. مطبعة هيئة المعاهد الفنية. بغداد. 314 صفحة.

المصادر الأجنبية:

- Agarwal, O.R. (1976). Chemistry of organic Natural Products. Vol 14th ed. Geol. Publishing house, Subhash, bazar, India. 648pp.
- Al-Khazraji, S. M. (1991). Biopharmacological study of *Artemisis herbaalb* Thesis. pharmacy College - Baghdad University. Cited by Al-Saeed. M. Sc. ,A. H. M. Study the effect of some extract of *Haloxylon Sp.* on blood glucose level

in normal and hyperglycemic rabbits induced by alloxan .M.Sc. Thesis College of science. Basrah Univ.

- **Berger,J .and Schagerl,M.(2004).** Allelopathic activity of Characeae. *Biologia*. Bratislava 59(1):9-15.
- **Choochate,W.;Kanjanapothi,D.;A.Taesotikul,T.;Jitpakdi,A.;Chaithong,U. and Pipasawat,B.(1999).**Lavical,Adulticidal and repellent effects of *Kaempferia galangal* Southeast. *Asian.J.Trop.med.Public.health*.30 (3):470-476.
- **Dhillon,M.S.;Mulla,M.S.and Hwang,Y. (1982)** .Biocidal activity of algal Toxins against Immature Mosquitoes.*J.Chem.Eco*.Vol.8 No.2(Abstract).
- **Ghazala,B.;Naila,B.;Shameel,M.;Shahzad,S.and Leghari, S.M. (2004).**Phycochemistry and Bioactivity of two stonewort algae (Charophyta) of Sindh.*Pak.J.Bot*.36(4):733-743.
- **Gross,E.M.(2000)**Seasonal and spatial dynamics of allelochemicals in the Submersed macrophyta *Myriophyllum spicatum* L.*Verh. Internat .verein. Limnol*.27:2116-2119.
- **Harborne ,J.B.(1984).** Physiochemical Methods Chapman an Hall. New York. 2nd ed. pp 288.
- **Jang,Y.S.;Kim,M.K.;Ahn,Y.J. and Lee,H.S.(2002).**Larvicidal activity of Brazilian Plants against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). *Agric. Chem. Biotech*. 45(3): 131-134.
- **Jeyabalan,D.&Murugan,K.(1999).**Effect of Certain Plant extracts against the mosquito *Anopheles stephensi* Liston ,*Curr.Sci*.76:631-633.
- **Marten,G.G.(1984).**Impact of the Copepodmesocyclops leuckarti piwsa and the green alga *Kirchnerilla irregularis* upon larval *Aedes albopictus* (DIPTERA: CULICIDAE). *Bull. Soc. Vector Ecol.*, 9(1): 1-5.
- **Marten,G.G.(1986).** Mosquito control by plankton management: the potential of indigestible green algae. *J. Tropic. Med. Hygiene*. 89: 213-222.
- **Marten,G.G.(2007).** Larvicidal algae.*J.Am.Mosq.control Assoc. Bulletin* 7:177-182.
- **Saario,E.; Abdel-Hameed, A; Kiviranta,J. (1994).** Larvicidal microcystin toxins of cyanobacteria affect midgut epithelial cells of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Med.Vet.Entomol.J*. 8 (4):398-400.
- **Shihata,I.M.(1951).**Pharmacological Study of *Anagallis arvensis* M.D. Thesis Cairo Univ. Cited by Al-Saddi ,T.A.M.(2001).Effect of some plants extracts on fecundity and mortality of southern cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Bruchidae :Coleoptera) M.sc. Thesis Agriculture college - Basrah University.
- **Silva,G.L.;Lee,I.K.and Kinghorn,A.D.(1998).**Special problems with Extraction of plants .In: Cannell ,R. J.P.(Eds.) *Natural Product Isolation Methods in Biotechnology* (Vol.4).Humana press. Totowa, New Jersey.pp:343-633.
- **Stipanovic,R.D.(1983).**Function and chemistry of plant Trichomes and Gland in Insect Resistance In Al-Salami ,W.M.(1998).The Effects Of *Convolvulus arvensis* L.and *Ipomoea cairica* (Linn) Sweet, extract on the Biological

performance of Greenbug *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae). Ph.D. Thesis College of science, Babylon Univ.

- **Watanabe, K. ; Umeda, K. and Miyakado, M. (1989).** Isolation and Identification of Three Insecticidal Principles from the Red Algae *Laurencia nipponica* Yamada. Agric. Biol. Chem. 53 (9): 2513-2515.
- **W. H. O. (1970).** Insecticide Resistance and Vector control. 17th report WHO. expert committee on insecticides. WHO Tech. rep. Ser. pp47-79.
- **Wood, R. D. and Imahori, K. (1965).** The revision of the characeae. Verlag J. Cramer, Weinheim.