The Effect of crude Terpenoids extract of *Chrozophora tinctoria* L. on some biological aspects of house fly *Musca domestica* L (Diptera: Muscidae) and isolation and identification of active compounds by using high performance liquid chromatograph

تأثير مستخلص المركبات التربينية الخام لنبات الزريج *Chrozophora tinctoria* في الاداء الحياتي لحشرة الذبابة المنزلية *Musca domestica* L.(Diptera: Muscidae) مع عزل وتشخيص المركبات الفعالة باستعمال تقنية كروموتوغرافيا السائل عالي الأداء H.P.L.C

أســـيل كريم جبار (1) هادي مزعل خضير الربيعي (2)
كلية العلوم للبنات- جامعة بابل كلية العلوم للبنات-جامعة بابل

المستخلص:

أجريت سلسلة من التجارب لتقييم فعالية مستخلص المركبات التربينية الخام لنبات الزريج *Chrozophora tinctoria* في هلاك بيوض ويرقات وعذارى حشرة الذبابة المنزلية *Musca domestica* بالأضافة للهلاك التراكمي للأدوار غير البالغة كما تضمنت الدراسة عزل وتشخيص المركبات الفعالة في مستخلص المركبات التربينية الخام بأستعمال تقنية H.P.L.C. بلغ أعلى معدل لنسبة هلاك البيوض 90% عند التركيز 1ملغم/مل مقارنة مع 0.4% في معاملة السيطرة، كما بلغت أعلى نسبة للهلاك للطور اليرقي الأول والثاني والثالث (57.64 و54.67 و48.80)% على التوالي عند التركيز 1ملغم/مل بمقارنة مع (0.8 و0.6 و0.8)% في معاملة السيطرة ،.كما أرتفعت نسبة الهلاك في دور العذراء من 0.4% في معاملة السيطرة الى 18.06% عند التركيز 1 ملغم/مل. بلغ معدل نسبة الهلاك التراكمي للأدوار غير البالغة 100% ولجميع التراكيز بالمقارنة مع 15% في معاملة السيطرة. كما تضمنت الدراسة عزل وتشخيص 5 مركبات فعالة من مستخلص المركبات التربينية الخام حيث وجد أن مركب Teter methyl hydrazine والذي يمتلك زمن أحتجاز 1.333 دقيقة هو أول المركبات أنفصالا".

*بحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الأول

Abstract:

Series experiment conducted to evaluate the activity of crude extract of terpenoid compound of *Chrozophora tinctoria* on mortality of egg ,larval instars and pupa of house fly *Musca domestica*, as well as the cumulative mortality of immature stages ,and isolation , identification of active compounds by using H.P.L.C technique . Egg mortality was 90% at concentration 1mg/ml compared with 0.4 % in the control treatment .The mortality of 1^{st},2^{nd} 3^{rd} of larval instars were (57.64,54.67,48.80) % respectively at concentration 1mg/ml compared with (0.8,0.6,0.8)% respectively in the control group , pupal mortality increases from 0.4 % in the control group to 18.06% at concentration 1mg/ml .Cumulative mortality was 100% for all concentration compared with 15% at the control group .The study included isolation and identification of five compounds from crude extract of terpenoid ,it was found Teter methyl hydrazine compound was retention time 1.333 mintue and was the first compound isolation.

المقدمة:

تعد حشرة الذبابة المنزلية *M. domestica* من الحشرات ذات الأهمية الطبية والبيطرية عالميا" لكونها تؤثر على صحة الانسان وحيواناته أضافة الى دورها الكبير في نقل العديد من المسببات المرضية كالبكتريا والديدان الطفيلية والمعوية نقلا" ميكانيكيا"(1و2) . تتواجد هذه الحشرة بأعداد كبيرة في حقول تربية الحيوانات مسببة خسائر وضعف في الانتاج الحيواني . وتعد خطورة هذه الحشرة قدرتها العالية جدا" على التكاثر بالإضافة الى قدرتها على التنقل والانتشار والطيران وكما تعتبر المواد العضوية وأماكن النفايات مواطن ممتازة لتكاثرها (3)

أستخدمت عدة طرق في مكافحة الذبابة المنزلية ومن أقدم الطرق أستخداما" هي أستخدام المبيدات الكيمياوية الحشرية المصنعة ومنها أستخدام مبيد DDT Dichloro Diphenyl Trichloroethane ومبيدات الكارباميت والبيرثرويدات المصنعة (4). لكن نتيجة الاستخدام الواسع والمفرط والغير العقلاني لهذه المبيدات أدى الى تفاقم ظهور مشكلة التلوث البيئي بالأضافة الى ظهور صفة المقاومة لدى الحشرات ومنها الذباب المنزلي (5 و6). ونتيجة لمساوئ أستعمال هذه المبيدات شجع الباحثين الى العودة لأستخدام المستخلصات النباتية كوسائل مكافحة طبيعية فعالة ضد الحشرات ، وذلك لما تمتاز بها من محاسن ومنها تحللها السريع وسميتها القليلة للبائن وعدم ظهور صفة المقاومة لها لحد الان كما أنها مركبات حساسة للضوء والحرارة والرطوبة وعند تحولها تتحول الى مركبات غير سامة وغير ملوثة للبيئة (7 ,8).

وفي هذا المجال بينت دراسة (9) تأثير المستخلص الكحولي والمائي لأوراق وسيقان نبات الزريج في أربعة أنواع من البكتريا المرضية حيث ذكر دور المركبات الكيمياوية الثانوية الفعالة في هذا النبات وقابليتها على تثبيط نمو البكتريا . ونظرا" لوجود مواد فعالة في نبات الزريج *C. tinctoria* ضد الكائنات الحية فقد تركزت الدراسة الحالية الى تقصي تأثير مستخلصات المركبات التربينية الخام للنبات في الاداء الحياتي للذبابة المنزلية *M.domestica*

مواد وطرائق العمل

جمعت كاملات حشرة الذبابة المنزلية من حدائق كلية العلوم للبنات/جامعة بابل خلال شهر تشرين الأول لعام 2014 بواسطة شبكة جمع الحشرات القياسية ونقلت الكاملات الى أقفاص التربية والتي هي عبارة عن متوازي مستطيلات بأبعاد (50×50×50) سم ذو قاعدة خشبية أما الأوجه الاخرى للأقفاص والسطح العلوي فقد غطيت بقماش التول وتم عمل فتحة دائرية بقطر 25 سم في أحدى الجهات الجانبية وعلى هيئة كم لتسمح بدخول اليد للتعامل مع الحشرة .غذيت الحشرات بأستخدام أطباق بتري حاوية على قطع من القطن رطبت بمحلول يتكون من الماء والحليب . وتم تربيتها حسب طريقة (10) من أجل الحصول على الأجيال المتعاقبة و بدرجة حرارة 30± 1 ورطوبة نسبية 20- 30% ،حيث تم متابعتها لغرض الحصول على البيوض واليرقات والعذارى وصولا" الى الحشرات الكاملة.

جمعت عينات نبات الزريج *C. tinctoria* خلال شهر ايار وحزيران 2014 من منطقة المسيب في محافظة بابل ثم نقلت الى المختبر ونظفت من الشوائب وغسلت ونشرت على ورق ترشيح مع مراعاة التهوية الجيدة وتركت حتى تجف في ظروف المختبر مع مراعاة التقليب المستمر منعا" للإصابة بالفطريات ولحين الجفاف التام. طحنت بواسطة مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم وحفظ المسحوق النباتي الجاف في أكياس نايلون وحفظت في الثلاجة لحين الأستعمال.

حضر مستخلص المركبات التربينية الخام لنبات الزريج حسب طريقة (11) وذلك بوزن 10 غم من مسحوق أوراق النبات الجاف ووضعها في كشتبان الأستخلاص في جهاز السكسوليت Soxholet extractor وأضيف لها 200 مل من الكلوروفورم بدرجة حرارة 45 م° ولمدة 24 ساعة، ركزت العينة المستخلصة بواسطة المبخر الدوار Rotary evaporator

جففت العينة الحاوية على المركبات التربينية الخام للنبات بأستخدام الفرن الكهربائي و بدرجة 40-45 م° وحفظت المادة الجافة في عبوات زجاجية محكمة الغلق بعد تسجيل وزنها وهي فارغة ثم حفظت بالثلاجة لحين الأستخدام. ولغرض تقدير الفعالية الحيوية لمستخلص المركبات التربينية الخام لنبات الزريج ، تم أذابة 2 غم من المستخلص التربيني الجاف في مزيج من 1.5 مل من الكلوروفورم مع 1.5 مل من الكحول الأثيلي ووأكمل الحجم الى 100 مل بإضافة الماء المقطر وبذلك أصبح تركيز المحلول الأساسي (Stock solution) 2% أو مايعادل 20 ملغم/مل ومنه حضرت التراكيز (0,25, 0.5 , 1) ملغم/مل، أما معاملة السيطرة فكانت 1.5 مل من الكلوروفورم مع 1.5 مل من الكحول الأثيلي وأكمل الحجم الى 100 مل بإضافة الماء المقطر.

لغرض تقدير الفعالية الحيوية لمستخلص المركبات التربينية الخام في هلاك بيض الحشرة حيث أخذ 20 بيضة /مكرر بعمر 12 ساعة ووضعت في طبق بتري حاوي على ورقة ترشيح وبواقع خمسة مكررات ولكل تركيز . عوملت البيوض بالتراكيز المختلفة للمستخلص وذلك عن طريق رش المستخلص على البيض مباشرة بمرشة يدوية .أما بالنسبة لمعاملات السيطرة فعوملت بأستعمال الماء المقطر مع المذيب المستخدم في الاستخلاص .نقلت الأطباق الحاوية على البيض المعامل وأطباق السيطرة الى الحاضنة بدرجة حرارة 30±1 م° ورطوبة نسبية 65±5% . سجلت نسبة هلاك البيض بعد الفقس ب 24 ساعة من المعاملة ،عدلت نسبة الهلاك وفق معادلة Abbott (12).

أما تأثير المستخلص في هلاك الاطوار اليرقية المختلفة للحشرة حيث أخذت 20 يرقة من الطور اليرقي الأول /مكرر بعمر 12 ساعة وبواقع خمسة مكررات لكل تركيز ثم وضعت في أطباق بتري حاوي على (5) غم من الوسط الغذائي المحضر حسب طريقة (10) عوملت الأطباق بالتراكيز المختلفة حيث أضيف 10 مل من كل تركيز على حدة الى الوسط الغذائي . أما معاملات السيطرة فقد أضيف للوسط الماء المقطر مع المذيب المستخدم في الأستخلاص وضعت أطباق المعاملة والسيطرة في الحاضنة وفي الضروف السابقة نفسها سجلت نسبة الهلاك في الطور اليرقي الأول بعد 24 ساعة من المعاملة ، وتم تعديل نسبة الهلاك وفق معادلة Abbott (12). كررت العملية السابقة نفسها للطور اليرقي الثاني والثالث كلا" على حدة وبنفس العدد من المكررات والظروف نفسها.

أما تأثير المستخلص في العذارى نقلت 10 عذارى حديثة الظهور لكل مكرر وبواقع خمسة مكررات لكل تركيز ووضعت في أطباق بتري حاوية على ورق ترشيح ثم عوملت العذارى برش المستخلص بواسطة مرشة يدوية أما معاملات السيطرة فقد عوملت بالماء المقطر مع المذيب المستخدم في عملية الأستخلاص ، نقلت جميع الأطباق الى الحاضنة بنفس الظروف السابقة المذكورة وسجلت نسبة الهلاك بعد بزوغ أخر عذراء من معاملات السيطرة وعدلت نسبة الهلاك وفق معادلة Abbott (12).

لغرض أختبار الفعالية الحيوية للمستخلص في معدل نسب الهلاك التراكمي للأدوار غير البالغة

أخذت 30 بيضة/مكرر بعمر 12 ساعة وبواقع خمسة مكررات لكل تركيز ،عوملت البيوض بتراكيز المستخلص المختلفة كلا" على حدة وتم متابعة النمو حتى وصولها الى مرحلة خروج الكاملات ، سجلت نسب الهلاك التراكمي للأدوار الغير بالغة للحشرة والمدة الزمنية التي إستغرقتها في نموها وصولا" الى الحشرة الكاملة.

تم عزل و تشخيص المركبات الفعالة المتواجدة في مستخلص المركبات والتربينية الخام بأستخدام تقنية كروموتوغرافيا السائل عالي الأداء في وزارة العلوم والتكنلوجيا /دائرة بحوث المواد والعدد الطبية بأستخدام جهاز HPLC شركة Shimadzu اليابانية موديل LC-10 AV والحاوي على مضخة توزيع ثنائية من شركة Shimadzu موديل LC-10 A والقمم الناتجة روقبت وحددت بأستخدام UV-Vis 10 A-SPD Spectrophotometer

ولحساب تركيز المادة الفعالة في المستخلص أستخدمت المعادلة التالية:

تركيز المادة بالعينة =مساحة المادة بالعينة/مساحة المادة في السيطرة × التركيز في السيطرة ×عامل التخفيف (14, 13).

فصلت المركبات الفعالة المتواجدة في مستخلص المركبات التربينية بأستعمال كروموتوغرافيا السائل عالي الجريان FLC تحت ظروف عمود مثلى C18-DB (50x4.6 mm I.D) وحجم حبيبي 3 مايكروميتر والطور المتحرك عبارة عن تدرج خطي THF (tetrahydrofuran) (**A**) : (**B**) de-ionized water acidified with 0.1% acetic acid ، بأستعمال برنامج التدرج الخطي من 0% B الى 100% B لمدة 10 دقائق وبمعدل جريان 1.2 ml/min وحددت المركبات بأستخدام الأشعة فوق البنفسجية وبطول موجي 262 نانوميتر،(13 و14).

حللت تجارب الدراسة وفق نموذج التجارب العاملية وبتصميم تام العشوائية Factorial experiments with complet randomized design وصححت النسب المئوية للهلاكات وفق معادلة Abbott Formula (12) .

النسبة المئوية للهلاك المصححة= %الهلاك في المعاملة -%الهلاك في معاملة السيطرة ×100

100-% الهلاك في معاملة السيطرة

حولت النسب المئوية للهلاك المصححة الى قيم زاوية لأدخالها في التحليل الأحصائي وتم أستعمال أختبار أقل فرق معنوي Least significant Differences (L.S.D) تحت مستوى أحتمالية $P \leq 0.005$ لبيان معنوية النتائج (15)

النتائج والمناقشة

يوضح الجدول (1) تأثير تراكيز مستخلص المركبات التربينية الخام لنبات الزريج في هلاك البيض والأطوار اليرقية المختلفة وعذارى حشرة الذبابة المنزلية حيث أرتفعت نسبة الهلاك في البيض من 0.4% في معاملة السيطرة الى 90% في أعلى تركيز للمستخلص 1ملغم/مل ،بلغت معدلات نسب الهلاك في الأطوار اليرقية المختلفة (الأول والثاني والثالث) (57.64 و54.67 و48.80)% على التوالي عند التركيز 1 ملغم/مل بالمقارنة مع (0.8 و0.6 و0.8) على التوالي في معاملة السيطرة، أما نسبة هلاك العذارى حيث بلغت 18.06% في التركيز 1 ملغم/مل بالمقارنة مع 0.4% في معاملة السيطرة.

جدول (1) تأثير تراكيز مستخلص المركبات التربينية الخام لأوراق نبات الزريج *C.tinctoria* في هلاك البيض والأطوار اليرقية المختلفة والعذارى لحشرة الذبابة المنزلية *M.domestic*

تركيز المستخلص (ملغم/مل)	% لهلاك البيض	% لهلاك الاطوار اليرقية المختلفة			% لهلاك العذارى
		ط1	ط2	ط3	
1.00	90	57.64	54.67	48.80	18.06
0.5	59.68	51.75	49.71	38.49	14.83
0.25	47.05	44.80	42.10	34.82	8.51
0.00	0.4	0.8	0.6	0.8	0.4

قيمة L.S.D تحت مستوى (0.05) لهلاك البيض = 2.30

قيمة L.S.D تحت مستوى (0.05) لعامل تركيز المستخلص لهلاك الأطوار اليرقية المختلفة=1.45

قيمة L.S.D تحت مستوى (0.05) لهلاك العذارى=2.23

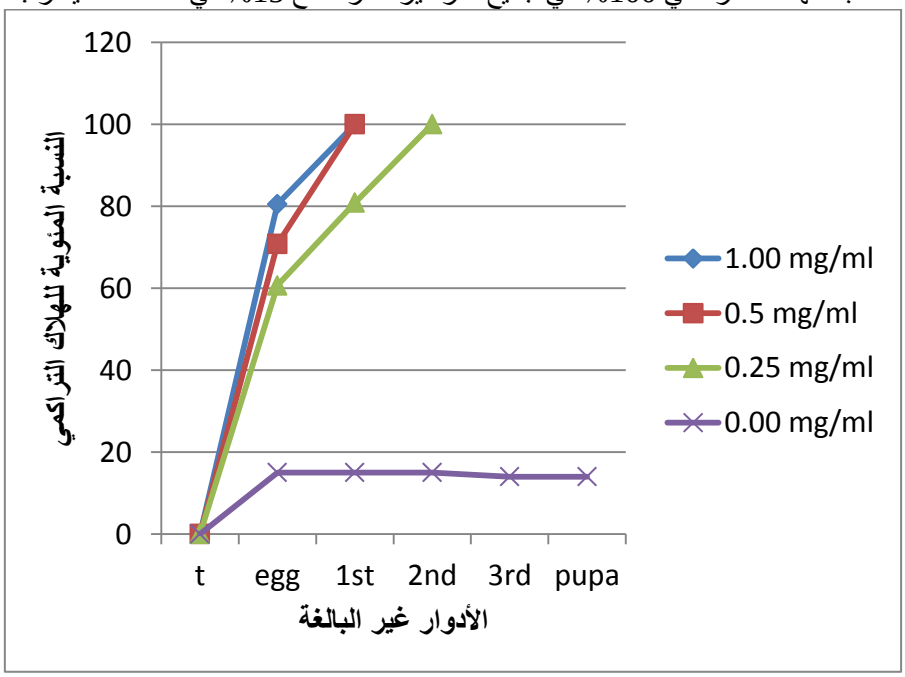
يعود السبب في أتفاع نسبة الهلاك في البيوض الى كون المركبات التربينية هي مركبات سامة ذات تأثير مباشر على الجنين من خلال نفاذها من القشرة الى الداخل مسببة موت الجنين وفشل عملية تطوره وهو بداخل البيضة أو قد يكون تأثيرها على قشرة البيضة وليس على الجنين حيث تسبب تكوين طبقة لزجة على قشرة البيضة تعيق خروج اليرقة منها (16 ,17) وتتفق نتائج الدراسة الحالي مع دراسة (18) من ناحية التأثير مع أختلاف المادة الفعالة حيث أشار الى أن مستخلص المركبات التربينية الخام لأوراق نبات الياسمين الزفر *C.inerme* أثر في بيوض حشرة الذبابة المنزلية وسبب نسبة هلاك بلغت 81.9% عند التركيز 20 ملغم/مل كما بينت دراسة (19) تفوق المستخلصات التربينية الخام لنبات خناق الدجاج في هلاك بيوض حشرة الذبابة المنزلية حيث بلغت أعلى نسبة هلاك للبيض المعامل 90% عند التركيز 20 ملغم/مل مقارنة مع 9.3% في معاملة السيطرة.

سبب المستخلص هلاك في الأطوار اليرقية المختلفة وظهر أن الطور اليرقي الأول أكثر حساسية من باقي الأطوار اليرقية ويمكن أن يعزى السبب في ذلك الى صلابة جدار الجسم في اليرقات المتقدمة في العمر أذ أن اليرقات الحديثة يكون جدار جسمها أقل صلابة بسبب أنخفاض سمك طبقة الكيوتكل مما يساعد على نفاذ المركبات السامة المتواجدة في المستخلص الى جسم اليرقة أو قد يعود السبب في أرتفاع نسبة الهلاك في الطور اليرقي الأول نتيجة المعاملة بالمستخلص الى كون يرقات الطور الأول أكثر كفاءة في تحويل الغذاء مما يظهر التأثير السام للمستخلص بشكل أكبر (20). وقد يعود السبب الى كون المركبات الفعالة والموجودة في مستخلص المركبات التربينية الخام للنبات تعمل كمانعات للتغذية وبالتالي تؤدي الى موت اليرقات جوعا" (21) أضافة الى كون هذه المركبات تؤثر في القناة الهضمية وخاصة الخلايا الطلائية فيها مسببة بذلك حدوث حالات تسمم للحشرة أوقد يكون تأثيرها من خلال أرتباط هذه المركبات مع المواد الدهنية الموجودة في الجهاز الهضمي مسببة طرح المواد الدهنية دون الأستفادة منها وبالتالي هلاك اليرقات (24, 23, 22).

ومن النتائج الواردة في الجدول نلاحظ تأثير تراكيز المستخلص في هلاك عذارى حشرة الذبابة المنزلية.حيث وجد أن مستخلص المركبات التربينية الخام قيد الدراسة كانت ذات تأثير قليل في نسب هلاك العذارى ويمكن تفسير قلة نسب الهلاك في العذارى المعاملة هو كون العذارى محاطة بغلاف التعذر ولا تقوم بالتغذية فيكون تأثير المستخلص عليها بالملامسة فقط خلاف اليرقات التي يكون تأثير المستخلص فيها بطريقتين وهي الملامسة والسموم المعدية حيث تكون اليرقات متغذية (25).

وفي هذا الصدد أشار (26) الى تأثير مستخلصات نبات *Albizza lebbeck* على معايير الأداء الحياتي للذبابة المنزلية حيث بلغت نسبة هلاك عذارى الحشرة نتيجة المعاملة بالمستخلص التربيني لأزهار وأوراق وبذور النبات (40.0 و43.3 و30.0) % على التوالي عند تركيز 10 ملغم/مل كما أشارت دراسة (27) حصول أرتفاع معنوي في نسب هلاك العذارى الناتجة من معاملة اليرقات بتراكيز مختلفة من مستخلص الكحول الأثيلي لثمار الحنظل حيث بلغت نسب الهلاك 100% عند التركيز 40 ملغم/مل مقارنة 0% في معاملة السيطرة.

يبين الشكل (1) التأثير الواضح لمستخلص المركبات التربينية لنبات الزريج في زيادة معدل نسب الهلاك التراكمي للأدوار غير البالغة لحشرة الذبابة المنزلية، حيث أظهرت النتائج العلاقة الطردية بين نسبة الهلاك وتراكيز المستخلص مقارنة مع معاملات السيطرة ، حيث بلغت نسبة الهلاك التراكمي 100% في جميع التراكيز مقارنة مع 15% في معاملة السيطرة.



حيث:- t تعني المعاملات وتشمل

Egg البيوض ، 1st الطور اليرقي الأول، 2nd الطور اليرقي الثاني، 3rd الطور اليرقي الثالث،pupa العذارى

شكل (1) تأثير تراكيز مستخلص المركبات التربينية الخام لنبات الزريج *C.tinctoria* في الهلاك التراكمي للأدوار غير البالغة لحشرة الذبابة المنزلية

ويمكن أن يعزى سبب أرتفاع نسبة الهلاك التراكمي نتيجة المعاملة بالمستخلص الى حساسية اليرقات للمركبات السامة الموجودة في النبات أو نتيجة تسمم القناة الهضمية بسبب أمتصاص هذه المركبات مؤدية الى أنخفاض التمثيل الغذائي (16).

وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار(28) الى تأثير مستخلصات المركبات التربينية الخام المعزولة من أوراق وأزهار وثمار نبات الداتورة *D.innoxia* في أحداث زيادة في معدلات نسب الهلاك التراكمي للأدوار غير البالغة لحشرة الذبابة المنزلية *M.domestica* كما ذكر (19) دور مستخلصات المركبات التربينية والقلوانية والفينولية الخام لنبات خناق الدجاج في نسب الهلاك التراكمي لحشرة الذبابة المنزلية حيث بلغت نسبة الهلاك نتيجة المعاملة بالمستخلص التربيني 100% عند التركيز 20 ملغم/مل بالمقارنة مع 11% في معاملة السيطرة.

يوضح الجدول (2) و(3) والشكل (2-A) و(2-B) تراكيز كل مركب من المركبات التربينية التي تم عزلها وتشخيصها بواسطة تقنية H.P.L.C حيث لوحظ هناك أختلافات في نوعية المركبات المفصولة ومساحة كل منحني لها ،حيث لوحظ أن مركب Tetre methyl hydrazine والذي يمتلك زمن أحتجاز 1.333min ومساحة منحني 115777µv تحت الظروف المثالية للعمود C18-DB(50×4.6 mm I.D والحجم الحبيبي 3 مايكروميتر والطور المتحرك عبارة عن تدرج خطي THF(tetrahydrofuran)B:de-ionized water acidified with 0.1% acetic acid A وبسرعة جريان 1.2 ml/min حيث بلغ تركيز المركب في عينة المستخلص 78.5147µg/ml كما يظهر الشكل أن أعلى تركيز في عينة مستخلص المركبات التربينية كان للمركب Terpenol -ᾳ الذي يمتلك زمن أحتجاز2.41 min ومساحة منحني179216 µv حيث بلغ تركيزه 97.0410µg/ml كما يظهر الشكل تركيز المركب Terpen-4-ol والذي يمتلك زمن أحتجاز 3.51min ومساحة منحني 2227881µv حيث بلغ تركيزه في العينة 77.1332µg/ml ويوضح الجدول أن هذه المركبات الثلاث السابقة الذكر هي المركبات التي أحتلت أعلى التراكيز في عينة المستخلص بأختلاف زمن الأحتجاز ومساحة المنحني لكل مركب كما يظهر الشكل أن المركبين Linolol والمركب 2,4 dihydroxymethyl benzfuran واللذين يمتلكان زمن أحتجاز(4.25 و5.58)min على التوالي يتواجدان بتراكيز قليلة في عينة المستخلص حيث بلغ تركيز كل منهما(32.4637 و4.4901)µg/ml على التوالي.

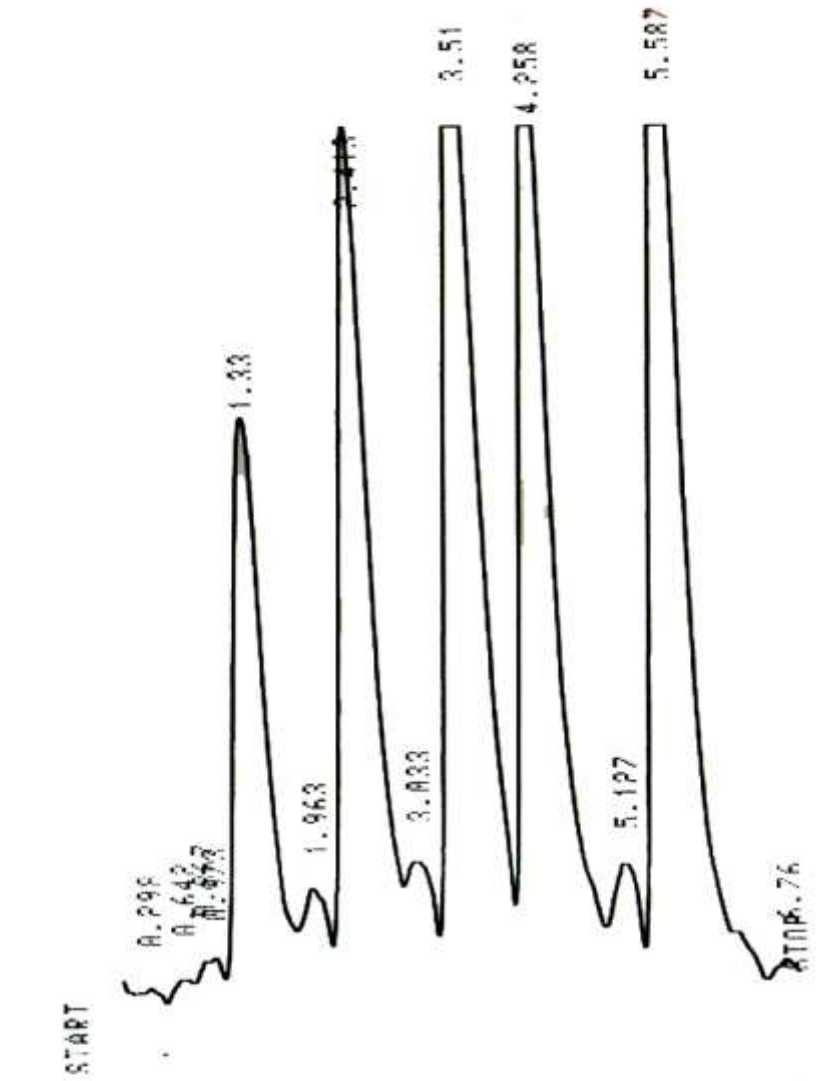
من النتائج السابقة الذكر والتي تم الحصول عليها بأستخدام تقنية الكروموتوغرافيا السائل عالي الأداء H.P.L.C وجد أحتواء أوراق نبات الزريج على 5 مركبات تربينية وهذه المركبات تمتلك زمن أحتجاز متقارب جدا" من زمن الأحتجاز للمركب القياسي كما أظهرت هذه التقنية أن مركب Terpenol -ᾳ هو أكثر المركبات تركيزا "في عينة المستخلص.

جدول (2) تسلسل المركبات القياسية في مستخلص المركبات التربينية الخام لأوراق نبات الزريج *C.tinctoria* بأستعمال تقنية H.P.L.C

seq	subjects	Retention time (min)	Area (µv)	Concentration (µg/ml)
1-	Teter methyl hydrazine	1.333	115777	25
2-	ᾳ- Terpenol	2.41	179216	
3-	Terpen-4-ol	3.51	227881	
4-	Linolol	4.25	209652	
5-	2,4 dihydroxy methyl benzfuran	5.58	222711	

جدول(3) أسم وتركيز المركبات الفعالة المعزولة من مستخلص المركبات التربينية الخام لأوراق نبات الزريج *C.tinctoria* بأستعمال تقنية H.P.L.C

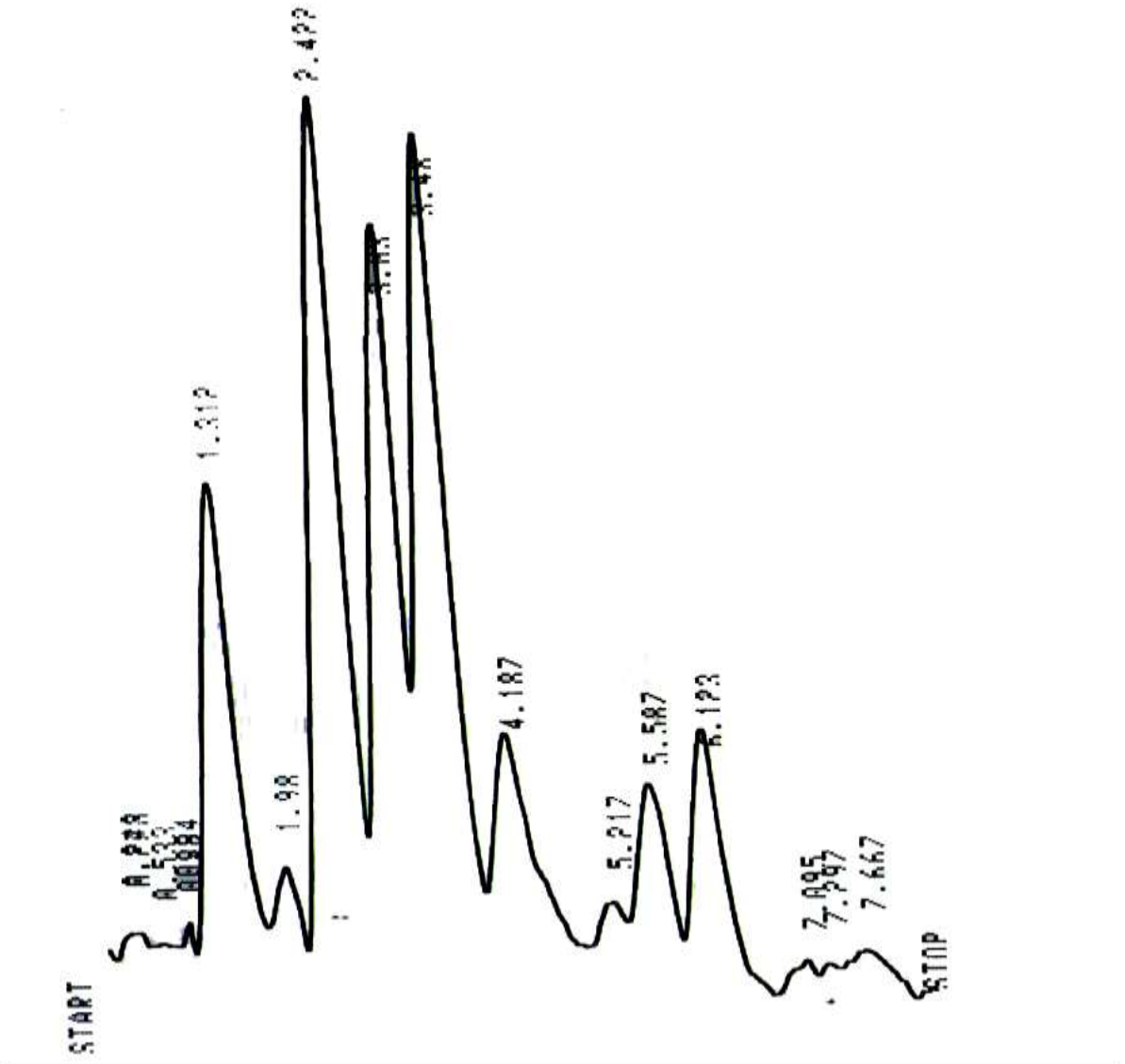
seq	subjects	Retention time (min)	Concentration(µg/ml)
1-	Teter methyl hydrazine	1.31	78.5147
2-	ᾳ- Terpenol	2.42	97.0410
3-	Terpen-4-ol	3.48	77.1332
4-	Linolol	4.187	32.4637
5-	2,4 dihydroxy methyl benzfuran	5.58	4.4901



SAMPLE NO P METHOD 41
REPORT NO P4

PKNO	TIME	AREA	MK	TANO	CONC	NAME
1	1.33	115777	V		12.1282	
2	2.413	179216	V		18.7614	
3	3.51	227881	V		23.856	
4	4.258	209659	V		21.9477	
5	5.587	222711	BV		23.3147	
	TOTAL	955237			100	

شكل (2-A) المركبات القياسية في مستخلص المركبات التربينية الخام لأوراق نبات الزريج *C.tinctoria* بأستعمال تقنية H.P.L.C



SAMPLE NO	A				METHOD	41
REPORT NO	25					
PKNO	TIME	AREA	MK	TYNO	CONC	NAME
1	1.312	98982	V		13.1553	
2	2.422	173913	V		25.1685	
3	3.03	131567	V		19.0482	
4	3.48	175772	V		25.4376	
5	4.187	68861	V		9.8497	
6	6.123	50788	V		7.3488	
	TOTAL	698994			100	

شكل (2-B) أسم وتركيز المركبات الفعالة من مستخلص المركبات التربينية الخام لأوراق نبات الزريج *C.tinctoria* بأستعمال تقنية H.P.L.C

المصادر:-

1) **Bennett ,S .M. (2000) .** *Musca domestica* (the common house fly cycle ,description , economic ,injury level and management .Acadimic press . London .520 pp.

2) **Forster , M . ; Klimped , S. ; Mehlhom , H. ; Sievert , K. ; Messler ,S. And Pfeffer , K. (2007) .** pilot studies on synantroic flies (e.g. *Musca* ,*Sarcophagi* , *Calliphora* , *Fania* , *Lucilia* , *Stomoxys*) as vectors of pathogenic microorganism . parasitol. Res . 101: 243-246.

3) **Thomas , G. D. and Skoda , S.R. (1993) .** Rural flies in the urban environment . North cent . Reg .Res.Publ . 335: Unversity of Nebraska , Lincoln.

4) **Theiling ,K.M. and Croft, A.B. (1988)**.pesticide side effects arthropod natural enemies : adata base summary .Agric . Ecosys. Environ. 21:191-218.

5) **Kaufman , P.E.; Scott , J. G. and Rutz ,D. A. (2001) .**Monitoring insecticide resistance in house flies (Diptera : Muscidae) from New York dairies .pest Management Science .57 :514-521.

6) **Jayaraj , S.(2005).** Use and abuse of chemical pesticides : need for safer pesticides for sustainable integrated Insect pest management In: Sustainable pest management . (Eds:s .Ignacimuthu and S. Jayaraj) . Narosa Publishisng House Delhi . 265pp.

7) **Peterson , C. j. ; Tsao , R. ; Eggler , A. L. and Coats , J. R.(2000).** Insecticidal activity of cyanohydrins and mono terpenoid compounds .Moleculs 5:648-654.

8) **Isman, M . B . (2006) .** The role of botanical insecticides , deterrents , and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world . Annual Review of Entomol .51: 45-66.

9) صالح ، ثائر عبد القادر والراوي ،عادل خير الله والجبوري ،وقاص محمود والمحمدي ، علي فدعم .(2009) . تأثير مستخلصات نبات الزريج .L *Chrozophora tinctoria* في بعض انواع البكتريا المرضية . مجلة الانبار للعلوم الزراعية 7 (1) :369 - 378 .

10) **عبد الفتاح، نهاد مصطفى.(1989).** تأثير درجات الحرارة الثابتة والمتبادلة والرطوبة النسبية في نمو وبقاء وتكاثر الذبابة المنزلية *Musca domestica* .رسالة ماجستير، كلية العلوم/جامعة بغداد .85 صفحة.

11) **Harborne, J.B.(1984)**. Phytochemical method .Chapman and Hall. NewYork 2nd Ed. 288pp.

12) **Abbott , W. S .(1925)**. A method of computing the effectiveness of an insecticide . J. Econ. Entomol . 18 : 65- 67 .

13) **Suarez, B.; Palacios, N.; Fraga ,N. and Rodriguez,R.(2005).** Liquid chromatographic method for quantifying polyphenols inciderd by direct injection .j. of Chromatography,1066,:105-110.

14) **Pacômel, O.A. and Bernard ,D. N.(2014).** Phytochemical and antioxidant of roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) petal extracts .R.J.of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.,4(5),p 1454.

15) الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز محمد(2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .دار الكتب للطباعة والنشر .جامعة الموصل /الطبعة الثانية.488 صفحة.

16) Rockstein , M . (1978). Biochemistry of insect. Academic Press. London .430 pp.

17) **Harborne, J.B. (1982**) .Intrduction to ecological biochemistry Academic press. London 2nd Ed .278pp.

18) الربيعي، هادي مزعل والعارضي ،جبار عبادي.(2007). الفعالية الحيوية لمستخلصات مختلفة من أوراق نبات الياسمين الزفر *Clerodendrum inerme* في بعض جوانب الأداء الحياتي للذبابة المنزلية *Musca domestia* . مجلة جامعة بابل / سلسلة العلوم الصرفة والتطبيقية . 14 (2) :71-83 .

19) الشريفي، أزدهار عباس علوان .(2010). تأثير مستخلص المركبات التربينية و الفينولية و القلوانية الخام لنبات خناق الدجاج *Euphorbia helioscopia* L. في بعض جوانب الأداء الحياتي للذبابة المنزلية *Musca domestica* (Diptera:Musidae).رسالة ماجستير كلية العلوم للبنات/جامعة بابل ،78 صفحة.

20) Good win, T.W and Mercer , E.I .(1985). Introduction to plant biochemistry .Pergamon Press. UK.2nded 677 pp.

21) **Fraenkel ,G.(1969**). Evalution of our thought on secondary plant substance .Entomol .Exp Appli.12:473-486.

22) **Pederson , M.W; Barne , D .K; Sorensen ,E.I; Griffin ,G.P ;Nickon, M and Howath .E.(`1976) .**Effect of low and high Saponin selection in alfa on organomic and pest Resistance traits and the interrelationship of these traits .Crop.Sci.,15:254-256.

23) **Metspalu , L ; Hiiesaar , K ; Joudu, J and Kuusik , A. (2001) .** The effects of certain toxic plant extracts on the larva of Colorado potato beetle Leptinotrasa decemlineala(say).Institute of plant protectio ,Estonian Agriculture University. Pp.93-100.

24) **Kelany, I. M.(2001).** Plant extract and utilization of their products for safe agricultural production and reduction environmental pollution . Plant Protection Dept. Faculty of Agriculture, Zagazig University ,Egypt .370 pp.

25) **Floore,T**.(**2003)**. .Mosquito Information .public Heath Entomology Research and Education center .Florida Agricultural and Mechanical University.

26) **AL- Zubaidi, E.S.J.(2010).** The effect of extracted alkaloids ,phenols and terpenoid of *Albizzia lebbeck* (L.) Benth. On biological perpormance of house fly *Musca domestica* L. (Diptera :Muscidae)thesis Master .College of sciens \Unversity of Baghdad 68 pp.

27) **اللهيبي، هالة فليح حسن.(2015).** تقييم فعالية بعض العوامل الحياتية والكيميائية في بعض جوانب الأداءالحياتي للذبابة المنزلية (Diptera:Muscidae) *Musca domestica* رسالة ماجستير كلية التربية للبنات/ جامعة الكوفة، 131 صفحة.

28) الزبيدي، فوزي شناوة والربيعي ،هادي مزعل والعقيلي، ليلى نجم.(2007). تأثير المركبات التربينية المعزولة من نبات الداتورة *Datura innoxia* في الأداء الحياتي للذبابة المنزلية *Musca domestica*. مجلة جامعة الكوفة.18(1) :264-268.