

تأثير المستخلص الكحولي للتربينات لأوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnh.) في مكافحة الدور العذري لخنفساء ثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica* (Fab.)
(Coleoptera:Bostrichidae)

عماد احمد محمود تيسير خالد عبد الكريم
قسم علوم الحياة - كلية العلوم للبنات دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والمياه
جامعة بغداد وزارة العلوم والتكنولوجيا

الخلاصة

تضمن البحث دراسة فعالية مستخلص التربينات لأوراق نبات اليوكالبتوس *E.camaldulensis* في الدور العذري لثاقبة الحبوب الصغرى *R.dominica* وللعمرين 24 و 72 ساعة في ظروف المختبر بدرجة حرارة 2 ± 30 م ورطوبة نسبية $5 \pm 65\%$ ، تضمن البحث اختبار ثلاثة تراكيز 3، 5 و 7% (100 غم/مل)، وأعطى التركيز 7% أعلى نسبة قتل بلغت 25% للعمر 24 ساعة مقارنة بالتراكيز الأخرى، اما بالعمر 72 ساعة فقد تساوت نسب القتل بمعدل 30% للتركيزين 5 و 7% مع زيادة في نسب مجموع البزوغ الجزئي والتشوهات لتبلغ 45% لتتخفض الى 40% للعذارى بعمر 24 ساعة.

الكلمات المفتاحية: ثاقبة الحبوب الصغرى، نبات اليوكالبتوس، التربينات.

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

**The Effect of alcoholic extract (Terpenes) from
Eucalyptus camaldulensis (Dehnh.) leaves in combating
pupa stage in lesser grain borer *Rhyzopertha dominica*
(Fab.)(Coleoptera:Bostrichidae)**

Imad Ahmed Mahmood
Biology department
College of Science for women
Baghdad University

***Taiseer Khalid Abd-Al Kareem**
Directory Research and Technology
of Environment and Water
Ministry of Science and Technology

Abstract

This study was included the effectiveness of the Terpenes extract from *Eucalyptus camaldulensis* leaves in to the pupa stage for Lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* in two ages 24 and 72 hours under conditions at temperature 30 ± 2 C° and relative humidity $65 \pm 5\%$, research has included three test concentrations 3, 5 and 7% (g/100 ml), the concentration 7% gave higher rate of killing 25% of the age 24h. compared with other concentrations, whereas the age 72h. have equal rates of kill by 30% to both concentrations 5 and 7% with increase in the proportion of total partial emergence and distortions 45% and decreases to 40% to pupae at 24 hours.

Keywords: Lesser grain borer, *Eucalyptus camaldulensis*, Terpenes.

*Part of M.Sc. for second author.

المقدمة

تعد ثاقبة الحبوب الصغرى *R.dominica* من الحشرات الخطرة التي تهاجم الحبوب المخزونة وتسبب أضراراً بالغة في الحبوب المصابة ووصفت بأنها عالمية الانتشار حيث يعتقد ان الموطن الأصلي لها هي المناطق الاستوائية ومن ثم انتشرت خلال التجارة إلى المناطق شبه الاستوائية كما أنها آفة معروفة في المناطق المعتدلة وتتواجد بكثرة في باكستان والهند وأمريكا وأستراليا والأرجنتين ومعروفة لدى تجار الحبوب بسوسة الحنطة الأسترالية بسبب إصابتها بشدة لهذا النوع من الحنطة، وفي بعض الدول تعد الآفة التي تلي سوسة الرز من حيث الأهمية وفي مناطق أخرى فأنها تمثل الآفة الأكثر ضرراً من سوسة الرز (1؛ 2؛ 9)، وتشكل النباتات الراقية مصدر غني بالمواد الطبيعية التي يمكن استخدامها في مكافحة الحشرات كواحدة من الطرق الآمنة للبيئة، حيث أظهرت العديد من النباتات فعالية عالية كمبيدات حشرية ضد أنواع عدة من الآفات، ويمكن أن تتجلى فعالية المستخلصات النباتية من خلال تأثيرها بعدة طرق منها فعالية سمية أو منظّمات نمو أو مانعة للتغذية أو خفض الفعالية الإنتاجية والخصوبة (5؛ 6)، ومن هذه النباتات نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus* sp. الذي ينتمي إلى عائلة Myrtaceae الذي يعد مصدراً للعديد من المركبات الأيضية التي تظهر تغيّراً في الفعاليات الحيوية ضد الآفات الحشرية المختلفة (15)، وتشكل التربينات مجموعة كبيرة من منتجات الأيض الثانوي في النبات التي يفترض أنها تساهم في الدفاع كسموم وطاردات للتغذية ضد مجموعة كبيرة من الحشرات التي تهاجم النبات، وتقسم التربينات اعتماداً على جزيئة الأيزوبرين C_5H_5 إلى خمسة مجموعات هي $Monoterpenes(C_{10})$ و $Sesquiterpenes(C_{15})$ و $Diterpenes(C_{20})$ و $Triterpenes(C_{30})$ و $Polyterpenes(C_5)_n$ (10)، وأشارت بعض الدراسات احتواء أوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* على الزيوت الأساسية p -cymen و γ -terpinen و α -pinene و 1,8-cineole و $terpinen-4-ol$ و $carvacrol$ و $thymol$ كمكونات رئيسية (16)، حيث أشير إلى إن الفعالية الحيوية لأوراق نبات اليوكالبتوس ضد الحشرات وخاصة آفات الحبوب المخزونة تكون بنوعين من ناحية التأثير السمي، أما بصورة مباشرة من خلال تأثيره كمبيد حشري يسبب قتل لكل من البالغات واليرقات لخنفساء الفاصوليا *Acanthoscelides obtectus* (17)، أو بصورة غير مباشرة من خلال تثبيط النمو ودورة الحياة للآفات مثل ثاقبة الحبوب

الصغرى (15)، ونظرا لقلّة الدراسات حول تأثير التربيّنات في الأدوار المبكرة لثاقبة الحبوب الصغرى أجريت الدراسة الحالية.

المواد وطرق العمل

1. تهيئة المستعمرة المختبرية لثاقبة الحبوب الصغرى *R.dominica*:

تم الحصول على حشرات ثاقبة الحبوب الصغرى من وزارة التجارة/ الشركة العامة لتجارة الحبوب من بذور شلب مصابة صنف عنبر وبعد التشخيص من قبل د. عماد أحمد محمود في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم للنبات وضعت في قناني بلاستيكية ذات ارتفاع 17 سم وقطر 10 سم مع بذور شلب غير مصابة وأغلقت الفوهة بقماش الموسلين وربطت برباط مطاط ونقلت الى الحاضنة بدرجة حرارة $2 \pm 30^\circ\text{C}$ ورطوبة نسبية $5 \pm 65\%$ لمدة 3 أشهر تقريبا للحصول على عدة أجيال قبل البدء بالتجارب المختبرية، على ان يتم تجديد المستعمرة باستمرار.

2. جمع عينات النبات وتشخيصها:

جمعت الأوراق الناضجة لنبات اليوكالبتوس *E.camaldulensis* في شهر تشرين الثاني في سنة 2011 قبل فترة التزهير من حديقة كلية العلوم/جامعة بغداد وشخصت من قبل د. علي حسن الموسوي في نفس الكلية ومن ثم غسلت الأوراق وجففت بدرجة حرارة الغرفة وطحنت وحفظت بأكياس نايلون محكمة الغلق لحين استخدامها في الاستخلاص.

3. تحضير مستخلص التربيّنات للنبات:

تم استخلاص مادة التربيّنات من أوراق نبات *E.camaldulensis* بإتباع الطريقة الموصوفة من قبل (4) وذلك بأخذ مسحوق الأوراق مع مذيب الكلوروفورم بنسبة 10:1 (نبات: مذيب) ووضع في جهاز Soxhlet بدرجة حرارة 60°C لمدة 6-8 ساعات وجفف لإزالة المذيب من المستخلص في درجة حرارة الغرفة. وأجري الكشف عن التربيّنات باستخدام الكاشف Anis aldehyde- sulphuric acid reagent حيث أعطى نتيجة ايجابية بتكون راسب بني وبلغت نسبة التربيّنات في الأوراق 17.04%.

4. تحضير التراكيز المستخدمة:

تم تحضير التراكيز المستخدمة 3 و 5 و 7%، وذلك بأخذ 3 غم من المستخلص وإذابته بـ 50 مل من الـ DMSO (Dimethyl sulfoxide) ومن ثم اكمال الحجم الى 100 مل باستخدام الماء المقطر (أي بنسبة 1 DMSO: 100 ماء مقطر) وإضافة مادة

Tween-20 بنسبة 0.04 مل لكل 100 مل ليكون التركيز 3%، وهكذا مع بقية التراكيز (3).

5. اختبار فعالية المستخلص في الدور العذري للعمرين 24 و 72 ساعة لثاقبة الحبوب الصغرى:

لغرض اختبار فعالية المستخلص الكحولي (التريينات) لاوراق نبات اليوكالبتوس *E.camaldulensis* ضد الدور العذري لثاقبة الحبوب الصغرى عزلت العذارى من المستعمرة من كلا الجنسين في أطباق بتري صغيرة بقطر 6 سم وب 5 مكررات بواقع 4 عذارى لكل مكرر وتم التمييز بين العمرين عن طريق اللون، إذ تكون العذراء بالعمر 24 بيضاء شفافة ولون العيون بني فاتح أما العمر 72 فتكون العيون والفكوك متلونه بلون بني غامق، أما التمييز بين الجنسين يكون بواسطة النهاية البطنية حيث تكون في الاناث وجود زائدتين صغيرتين وانعدامها في الذكر، بعدها رشت العذارى بالتراكيز السابقة الذكر بالمستخلص باستخدام مرشة يدوية سعة 15 مل وعلى مسافة 10 سم من العينات المعاملة، أما معاملة السيطرة فرشت فقط بـ DMSO والماء المقطر بنسبة 1:1 وبإضافة مادة Tween-20، ثم نقلت الاطباق الى الحاضنة بدرجة حرارة 2 ± 30 م ورطوبة نسبية $5 \pm 65\%$ ، تمت متابعة نسب قتل العذارى ومدة الدور العذري ونسب البزوغ الطبيعي والجزئي والتشوهات للبالغات ومدة عمر البالغات ذكور واناث ومعدل عدد البيض لفترة أربعة أشهر تقريباً (3).

5. التحليل الإحصائي:

استخدم البرنامج الإحصائي SAS في تحليل البيانات لدراسة تأثير التراكيز المختلفة في الصفات المدروسة حيث قورنت الفروق المعنوية ما بين المعدلات باختبار اقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمالية مقداره $(P < 0.05)$ (14).

النتائج والمناقشة

يبين (الجدول، 1) فعالية المستخلص الكحولي للتربينات لاوراق نبات اليوكالبتوس *E.camaldulensis* في الدور العذري المبكر بعمر 24 ساعة لثاقبة الحبوب الصغرى، إذ أعطى التركيز 7% أعلى معدل نسبة قتل للعذارى بلغ 25% والذي اختلف معنوياً عن السيطرة والبالغة 0%، كما يبين الجدول عدم وجود فرق معنوي في مدة الدور العذري لجميع المعاملات مع السيطرة والبالغة 4 يوم، أما مجموع نسبة البزوغ الطبيعي للبالغات كانت اقل نسبة بتركيز 7% بلغت 35% (20% للذكور و15% للإناث) بفارق معنوي عن معاملة السيطرة والبالغة 100% (50% للذكور و50% للإناث)، كما لوحظ ارتفاع مجموع نسبة البالغات ذات البزوغ الجزئي والمشوهة من العذارى المعاملة الى 40% في التركيز 7% في حين لم تسجل معاملة السيطرة اي بزوغ جزئي او تشوهات، فضلاً عن تساوي النسب في التركيزين 3 و 5% لختلف معنوياً عن التركيز 7% من جهة وعن معاملة السيطرة من جهة أخرى، وكان أعلى معدل لعمر البالغات في معاملة السيطرة بعمر 123 و 110 يوم لكل من الذكور والإناث على التوالي لينخفض انخفاض ملحوظ في التركيز 5% بمعدل 21 و 9.37 يوم للذكور والإناث على التوالي، اما معدل عدد البيض فقد كان مرتفعاً في معاملة السيطرة ليصل الى 302 بيضة بفارق معنوي عن باقي المعاملات وانخفض ليصل الى 33 بيضة في التركيز 7%.

يتضح من (الجدول، 2) ارتفاع نسبة القتل في التركيزين 5 و 7% الى 30% وبفارق معنوي عن معاملة السيطرة والبالغة 0%، كما لم يسجل معدل مدة الدور العذري اي فارق معنوي ما بين المعاملات والسيطرة والبالغ 4 يوم، وأثرت التراكيز المستخدمة في مجموع نسبة بزوغ البالغات الطبيعي لينخفض الى 25% (10% للذكور و15% للإناث) في التركيز 7% مقارنة بمعاملة السيطرة التي أعطت مجموع نسبة بزوغ طبيعي بلغ 100% (50% للذكور و50% للإناث) يقابلها ارتفاع في نسبة البالغات ذات البزوغ الجزئي والمشوهة من معاملة العذارى بالتركيز 7% ليصل الى مجموع 45% (بواقع 25% بزوغ جزئي و 20% تشوهات)، كما كان معدل عمر البالغات منخفض في التركيز 5% لكل من الذكور والإناث (15.87 و 12.33 يوم) على التوالي لكن لم يختلف معنوياً عن التركيز 7% (30.6 و 25.4 يوم) على التوالي وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي فروق معنوية بين التركيزين عن معاملة السيطرة، إذ بلغ معدل عمر البالغات (102 و 119 يوم) للذكور والإناث على التوالي، ولوحظ انخفاض في معدل عدد البيض في التركيزين 5 و 7% بمعدل

112 و 100 بيضة على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة والبالغة 344 بيضة، بينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ما بينها وبين معاملة السيطرة.

الجدول (1): تأثير المستخلص الكحولي للتربينات لأوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* بالتراكيز 3 و 5 و 7% في الدور العذري لثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica* بعمر 24 ساعة.

الجدول (2): تأثير المستخلص الكحولي للتربينات لأوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* بالتركيزات 3 و 5 و 7% في الدور العذري لثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica* بعمر 72 ساعة.

يعود السبب في نسب القتل التي سجلت للعذارى بالعمرين 24 و 72 ساعة الى الخصائص الفعالة لمركبات التربينات المستخلصة من اوراق نبات اليوكالبتوس، إذ ان المستخلص عبارة عن خليط لانواع مختلفة من المركبات الكيميائية التي تدخل ضمن مجموعة التربينات من اهمها saponin ومركب 1,8- cineol (11)، كما إن نسب قتل العذارى بالتراكيز السابقة الذكر قد يعود الى التداخل الذي يحصل بين المركبات الكيميائية وهرمون الانسلاخ في جسم العذراء (12)، إذ يتضمن تثبيط افراز الهرمون مؤديا الى تاخير او منع الحشرة من البزوغ عن طريق تاخير عمليات النمو والتي ينتج عنها ظهور تشوهات في جسم الحشرة او بزوغها بصورة جزئية، كما قد يعود السبب الى ان مستخلص التربينات اثر على هرمون 20-hydroxyecdysone الذي يعد احد هرمونات الانسلاخ (7)، اما تأثير الـ monoterpenoids والتي هي مركبات زيتية وقابلة للأختراق داخل جسم الحشرة يكون عن طريق تداخلها مع الوظائف الفسيولوجية التي يكون تأثيرها عصبي، إذ يعطي اعراض مشابهة للاعراض الناتجة من استخدام المبيدات نوع Organophosphates و Carbamates (5؛ 8) أو تثبيط انزيم acetylcholinesterase (AChE) وبالتالي يؤدي الى شلل الحشرة وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها (13) على حشرة *Tribolium castaneum* والتي بينت تأثير التربينات مثل: pulegone و gossypol و citral و Linalool و Cineol من شلل الحشرة ومن ثم قتلها عن طريق تأثيرها في تثبيط انزيم AChE.

المصادر

1. العراقي، رياض احمد. (2010). أفات الحبوب والمواد المخزونة وطرائق مكافحتها. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي-جامعة الموصل.
2. العزاوي، عبد الله فليح ومهدي، محمد طاهر. (1983). حشرات المخازن. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي - جامعة الموصل.
3. الكبيسي، هند مظفر ممدوح. (2011). تأثير المستخلص الكحولي والمائي البارد لثمار نبات السبج *Melia azedarach* على بعض الجوانب الحياتية لخنفساء ذات الصدر المنشاري *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera : Salvanidae). رسالة ماجستير، كلية العلوم للنبات، جامعة بغداد.
4. Harborn, J. B. (1984). Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plants Analysis. 2nded., London, New York, Champan and Hall.
5. Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest diseases management. Crop.Prot. 19: 603-608.
6. Jbilou, R.; Ennabil, A. and Sayah, F. (2006). Insecticidal activity of four medicinal plant extracts Against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera:Tenebrionidae). African Journal of Biotechnology. 5(10): 936-940.
7. Klein, R. (2004). Phytoecdysteroids. J.Amer.Herb.Guid. 5: 18-28.
8. Lee, S.; Peterson, C. J. and Coats, J. R. (2003). Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. J. of Stored Prod. Research. 39: 77-85.
9. Mahulikar, P. P. and Chaven, K. M. (2007). Botanicals as Ecofriendly Pesticides. In: Repellent Activity of Water and Organic Extracts Against *Tribolium castaneum* and *Rhizopertha dominica*.
10. Mazid, M.; Khan, T. A. and Mohammad, F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Biology and Medicine. 3(2): 232-249.
11. Rajendran, S. and Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research. 44: 126-135.
12. Rembold, H. (1984). Secondary plant products in insect control with special reference to the azadirachtin. Adv. Invertebr. 3: 481-491.

13. Ryan, M. F. and Byene, O. (1988). Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinestrase. J.Chem.Ecol. 14: 1965-1975.
14. SAS. (2004). SAS / STAT Users Guide for Personal Computers. Release 7.0. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
15. Singh, H.; Mrig, K. K. and Mahla, J. C. (1996). Efficacy of different plant products on the fecundity and emergence of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) in wheat grains. Annals of Biology. 12: 96-98.
16. Siramon, P. and Ohtani, Y. (2007). Antioxidative and antiradical activities of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand. J. Wood Sci. 53: 498-504.
17. Stamopolous, D. C. (1991). Effect of four essential oil vapours on the oviposition and fecundity of *Acanthoscelides obtectus*(Say) (Coleoptera:Bruchidae): laboratory evaluation. Journal of Stored Product Research. 27: 199-203.