

## دراسات بيولوجية لتأثير مستخلصات أوراق نبات الدفلة *Nerium oleander*

### على بعوضة *Culex pipiens*

عائشة حامد البوسيفي عبدالله عبدالقادر الزروق طلعت السيد عمارة

قسم علم الحيوان - كلية العلوم - جامعة سبها

#### الملخص

أجريت هذه الدراسة في معامل قسم علم الحيوان - كلية العلوم - جامعة سبها لمعرفة التأثيرات البيولوجية لمستخلص البتروليم إيثر و الإيثانول لأوراق نبات الدفلة على بعوضة *Culex pipiens* عند التراكيز المتدرجة 0.3 , 0.7 , 1.5 , 3.0 , 6.0 و 12.0 جزء في المليون. أظهرت نتائج الدراسة بأن المستخلصات النباتية المستخدمة كان لها تأثير معنوي على النمو و التطور في اليرقات خاصة في عمرها الثاني حيث تمثل هذا في خفض نسبة التعذر (Pupation %) وخفض نسبة خروج البالغات (Adult emergence %) مقارنة بمعاملات الشاهد. ومن ناحية أخرى أوضحت النتائج بأن للاختلاف في درجات الحرارة فيما بين 27 ± 2 و 32 ± 2 م تأثير واضح على اليرقات أيضاً بينت النتائج بأن مستخلص البتروليم إيثر كان أكثر تأثيراً عن مستخلص الإيثانول للنبات قيد الدراسة.

#### المقدمة INTRODUCTION

يعتبر بعوض *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) من أهم الحشرات الواسعة الانتشار ذات العلاقة بصحة الإنسان والحيوان. تتميز الإناث بأجزاء فم ثاقبة ماصة لتمتص دماء الحيوانات الثديية بينما تتغذى الذكور على رحيق الأزهار حيث أجزاء فمها ماصة (Okogun et al, 2003). ونظراً لطبيعة تغذية إناث البعوض لذا فهي مرتبطة بنقل العديد من الأمراض للإنسان والحيوان مثل مرض الفيلاريا , الملاريا , حمى الدنج و الحمى الدماغية إضافة إلى ما تسببه الحشرة من إزعاج لما تصدره من صوت أثناء الطيران والألم الناتج عن الوخز عند التغذية ( Spielman and Dantonio, 2004 ).

تتراوح دورة الحياة في البعوض ما بين 7 أيام الى 4 أسابيع و هذا يختلف باختلاف درجة الحرارة وتوفر الغذاء (Reisen , et al., 1993) , في حين عملية وضع البيض تعتمد على وجبة الدم التي تحصل عليها الإناث البالغة من الحيوانات, و لكي تتمكن الحشرات من أن تنمو و تتكاثر فهي تحتاج إلى كميات كافية من الماء و العناصر المعدنية و المركبات العضوية في غذائها , لذلك فإن نوعية الغذاء من حيث احتوائه على هذه المركبات الضرورية تؤثر على طول عمر الحشرات و خصوبتها و سرعة نموها (الشاذلي, 2000) . أدت الزيادة في استخدام المبيدات الكيميائية بشكل غير مدروس في السنوات الأخيرة إلى ظهور العديد من المشاكل البيئية التي أثرت سلباً على النظام البيئي الأمر الذي أدى إلى حدوث خلل في التوازن الطبيعي بين الأفاع و أعدائها الطبيعية كما صاحبه ظهور صفة المقاومة لفعل هذه المبيدات و بالتالي ازدادت كثافتها العديدة إلى معدلات عالية ( Harshan, et al. 1992). ظهر استخدام المستخلصات النباتية منذ القدم حيث تستخرج المادة الفعالة من النباتات بطرق مختلفة تختلف باختلاف نوع النبات و طبيعته و الغرض المستخدم لأجله (Sharma et al., 2006) كما انها لا تحدث أضرار على البيئة ( Harborn, 1998). المكونات الفعالة

في بعض النباتات ينخفض معها التأثير الجانبي على الإنسان و الحيوانات ذات الدم الحار لأنها قابلة للتحلل الحيوي و ليس لها تأثيرات متبقية لقصر الأمد الذي لا يتعدى أيام إلى أسبوع لذلك تم التوجه إلى إمكانية استخدامها في مجال مكافحة كوسيلة للحد من اتساع التلوث والعمل على استعادة التوازن البيئي ( عفيفي و عطي , 2002 ).

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة مدى إمكانية استخدام مستخلصات أوراق نبات الدفلة *Nerium oleander* (F: Apocynaceae) كبديل طبيعية للمبيدات الكيماوية المصنعة في مكافحة بعوضة *Culex pipiens* تحت ظروف مختلفة من درجة الحرارة و الغذاء عن طريق دراسة تأثير درجة الحرارة المحيطة و نوع الغذاء على فعل المستخلصات النباتية على نمو الأطوار غير الكاملة.

#### MATERIALS المواد و طرائق البحث AND METHODS

##### تربية الحشرة

تم تجميع عدد من يرقات بعوض *Culex pipiens* وعند الوصول إلى طور العذراء يتم نقل العذارى إلى أقفاص التربية المزودة بمحلول سكري 10 % في قطعة قطن مبللة بالمحلول و حفظت عند درجة حرارة 27 م , و رطوبة 70 % . عند خروج البالغات و عند الحاجة للبيوض تم إدخال طائر الحمام لقص التربية لمدة محدودة حتى تتحصل الإناث على وجبة الدم الضرورية لنضج البيض , بعد ذلك تم وضع كؤوس بها ماء مخزن لمدة 4 أيام كبيئة توالد لوضع البيض مع وضع فتات خبز لضمان تغذية اليرقات . تركت الحشرات تتكاثر لعدة أجيال مع المتابعة الدورية لظروف التربية لضمان نقاء المزرعة. تجهيز العينات النباتية للاستخلاص:

تم جمع أوراق نبات الدفلة *Nerium oleander* من مناطق مختلفة من مدينة سبها و نقلها إلى المعمل و تنظيفها بالماء و تركت لتجف بعيداً عن أشعة الشمس ثم طحنها. تمت عملية الاستخلاص بطريقة النقع Soaking حيث تم

التأثير المانع لوضع البيض للمستخلصات :  
تم استخدام طريقة (Xue, et al 2001) لتطبيق اختبار  
التأثير المانع لوضع البيض , حيث تم إدخال 10 إناث  
ملقحة من بعوضة *C. pipiens* ( عمر 10 أيام بعد 4 أيام  
من التغذية على الدم ) إلى أقفاص التربية مع توفير محلول  
سكري بتركيز 10 % لكل قفص أثناء التجربة . تم  
استخدام اقفاص منفصلة لكل تركيز من التراكيز  
المستخدمة (12 , 6 , 3 , 1.5 , 0.7 و 0.3 جزء في  
المليون) حيث يحتوى كل قفص على كأس المعاملة  
بالتكرار المطلوب وكأس شاهد يحوي ماء مخزن مخلوط  
بالمذيب في جهتين متقابلتين من القفص مع التبديل في  
الأماكن بين المكررات المختلفة لكل تركيز تم إجراؤه  
لاستبعاد أي تأثير للمكان على وضع البيض ليترك للأنتى  
حرية الاختيار لوضع على أي منها لمدة 24 ساعة. وفي  
تجربة اخرى تم وضع كؤوس للمعاملات بالتراكيز  
المختلفة معا بدون خيار الشاهد في قفص أما كؤوس للشاهد  
فقط فقد وضعت في قفص منفصل. كررت كل مجموعة  
اختبار 3 تكرارات و تم حساب عدد البيض الذي وضع بعد  
24 ساعة لكل من المعاملات والشاهد ثم حساب نسبة  
التأثير المانع لوضع البيض لكل تركيز باستخدام معادلة  
آبوت Abbott's formula

التحليل الإحصائي :

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام البرنامج  
الإحصائي (SPSS V. 12.0) استخدم تحليل التباين  
(ANOVA) ومقارنة المتوسطات بحساب أقل فرق  
معنوي LSD باستخدام النموذج:  $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$   
حيث :  $Y_{ij}$  = الصفة المراد قياسها  $\mu$  = المتوسط العام  
 $T_i$  = تأثير التركيز  $e_{ij}$  = الخطأ التجريبي .

## النتائج RESULTS

أوزان المستخلصات المستخلصة من الأجزاء النباتية  
المستخدمة :

يوضح الجدول (1) أوزان المستخلصات المتحصل عليها  
بواسطة كل من مذيب البتروليم إيثر و الإيثانول من وزنة  
قدرها 250 جم من مسحوق أوراق الدفلة. أعطى مذيب  
البتروليم إيثر ناتج استخلاص مركز وقدره 9.5 جم من  
أوراق الدفلة. في حين أعطى مذيب الإيثانول ناتج  
استخلاص قدره 34.0 جم .

وضع 250 جم من مسحوق أوراق الدفلة في زجاجات بنية  
وأضيف لها 1000 مللى من مذيب البتروليم إيثر و أغلقت  
بإحكام و تركت لمدة 72 ساعة مع الرج المستمر بأوقات  
ثابتة أربع مرات يومياً كل 6 ساعات لمدة 10 دقائق و ذلك  
لضمان حدوث تلامس تام بين المذيب و المكونات النباتية.  
بعد 72 ساعة أجريت عملية الترشيح للحصول على  
الراشح المحتوي على المكونات النباتية المستخلصة  
بواسطة مذيب البتروليم إيثر. أجريت عملية التبخير  
باستخدام المبخر Vacuum Evaporator و الذي يعمل  
على تبخير المذيب لينتقى المستخلص الخام المطلوب و  
الذي ينقل إلى زجاجة بنية محكمة الإغلاق بعد وزنه و  
يحفظ بالمبرد لحين الاستخدام. أضيف 1000 مل من مذيب  
الإيثانول إلى المسحوق المتبقي بعد الترشيح و بنفس الكيفية  
السابقة تم الحصول على مستخلص المكونات النباتية لنبات  
الدفلة بهذا المذيب و التي حفظت في المبرد لحين  
الاستخدام (عفيفي و عطفي 2002).

تم تحضير التراكيز (12 , 6 , 3 , 1.5 , 0.7 و 0.3 جزء  
في المليون لكل من مستخلص البتروليم إيثر و الإيثانول)  
بطريقة التخفيف حسب ( Murugesan and Thilgavathy, 2008)  
حيث تم وضع 250 ملجم من  
المستخلص الخام في قارورة وإضافة 4 ملي من المذيب  
المستخدم في تجهيز المستخلص الخام , و كذلك 0.1 مل  
من Tween80 كمستحلب للمساعدة على امتزاج  
المستخلص بالماء و إضافة ماء مخزن لإكمال 250 ملي  
لمحلول الستوك و من ثم إجراء التخفيفات لتحضير  
التراكيز المستخدمة.

تأثير المستخلصات على نمو و تطور اليرقات (عمر ثاني  
) تحت ظروف مختلفة من درجة الحرارة و التغذية:  
تم دراسة تأثير المستخلصات النباتية في ظروف مختلفة  
تمثلت في استخدام الماء المخزن فقط كبيئة توالد و اخرى  
استخدام الماء المخزن مضاف إليه 0.05 جم من الخبز  
الجاف (ليان تأثير التغذية). استخدمت في هذه التجارب  
10 يرقات عمر ثاني في أكواب تحوي 50 مل من التراكيز  
المستخدمة من كل مستخلص بثلاث تكرارات عند درجتى  
حرارة 27 م° و 32 م° و رطوبة 70% و تغطية الأكواب  
بقطعة من الشاش و تسجيل نسبة الموت كل يوم و فترة  
البقاء في الطور اليرقي و عدد العذارى الناتجة من اليرقات  
المعاملة و مدة بقائها في طور العذراء و نسبة خروج  
البالغات. تم إجراء تجربة الشاهد باستخدام ماء مخزن  
مخلوط بالمذيب المستخدم.

جدول (1): أوزان المستخلصات الخام المتحصل عليها بواسطة مذيب البتروليم إيثر و الإيثانول  
من كمية قدرها 250 جم من مسحوق أوراق نبات الدفلة.

المستخلص					
الإيثانول			البتروليم إيثر		
الصفات المميزة		الوزن (جم)	الصفات المميزة		الوزن (جم)
اللون	القوام		اللون	القوام	
أخضر	صلب (باودر)	34	أصفر	لزج	9.5

عند التراكيز 0.3 و 0.7 جزء في المليون على التوالي. هذا بالإضافة الى إطالة عالية المعنوية في فترة البقاء في طور العذراء, حيث بلغت متوسطات فترة البقاء 1.86 و 2.00 يوم عند التراكيز 0.3 و 0.7 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد والذي بلغ 1.83 يوماً. بالمثل أحدثت التراكيز المستخدمة انخفاض معنوي في نسبة خروج البالغات مقارنةً بالشاهد. وكانت النسب 26.66 و 13.33% مقارنةً بالشاهد 96.66% (جدول 2. شكل 1). ومن الناحية الأخرى لم تسجل التراكيز المستخدمة من مستخلص البتروليم إيثر خروج بالغات من اليرقات المعاملة مقارنةً بالشاهد 90.00% (جدول 2).

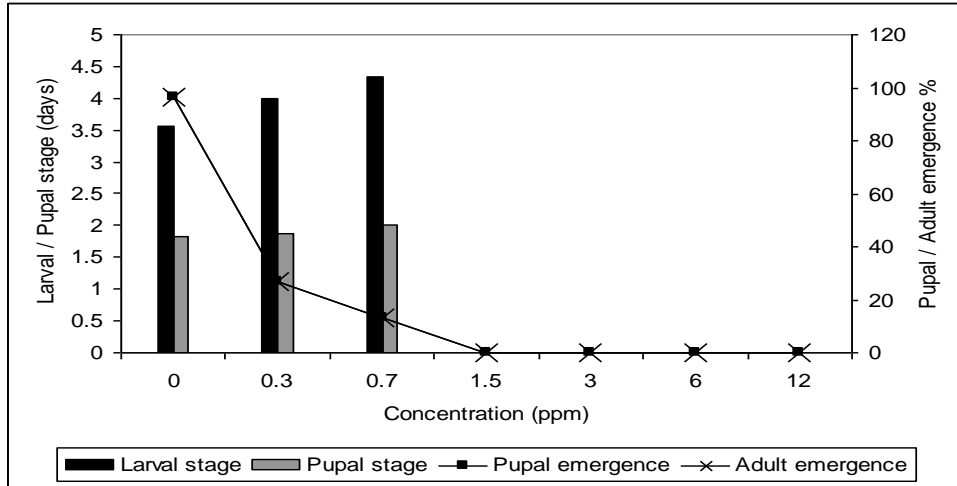
تأثير المستخلصات على نمو و تطور اليرقات (عمر الثاني) تحت ظروف مختلفة من درجة الحرارة والتغذية:  
أ-تأثير درجات الحرارة

عند استخدام درجة حرارة  $27 \pm 2$  م° والماء المخزن فقط أوضحت النتائج بأن التراكيز المختبرة من مستخلص الإيثانول أدت إلى إطالة معنوية في فترة البقاء في طور اليرقي مقارنةً بالشاهد (3.5 يوم) حيث كانت متوسطات فترة البقاء 4.00, 4.33 يوم عند التراكيز 0.3 و 0.7 جزء في المليون على التوالي. كما أدت لانخفاض معنوي في نسبة خروج العذارى مقارنةً بالشاهد (96.66%) حيث كانت نسب خروج العذارى 26.66 و 13.33%

جدول (2): تأثير مستخلصات أوراق الدفلة على النمو والتطور ليرقات العمر الثاني في الماء المخزن عند درجة حرارة  $27 \pm 2$  م°

Extract	Concentration (ppm)	فترة البقاء في طور اليرقي		نسبة خروج العذارى		فترة البقاء في طور العذراء		نسبة خروج البالغات	
		Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D		
الإيثانولي	0	3.567	0.033	96.667	3.333	1.833	0.088	96.667	3.333
	0.3	4.000	0.000	26.667	3.333	1.867	0.088	26.667	3.333
	0.7	4.333	0.333	13.333	3.333	2.000	0.000	13.333	3.333
	1.5	0.0		0.0		0.0		0.0	
	3.0	0.0		0.0		0.0		0.0	
	6.0	0.0		0.0		0.0		0.0	
	12.0	0.0		0.0		0.0		0.0	
F		**		**		**		**	
LSD (P = 0.05)		0.38		6.62		0.14		6.62	
LSD (P = 0.01)		0.53		9.19		0.20		9.19	
C.V. %		12.90		19.36		10.03		19.36	

\*\* : Significant at the 0.01 level. \* : Significant at the 0.05 level. - Ns : Non-Significant. - C.V : Coefficient of Variation



شكل (1): تأثير مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة على النمو والتطور ليرقات العمر الثاني في الماء المخزن عند درجة حرارة  $27 \pm 2$  م°

البتروليم إيثر لأوراق الدفلة, حيث كان للتراكيز المختبرة تأثير عالي أدى إلى موت جميع اليرقات المعاملة في طور اليرقي. في حين تجربة الشاهد سجلت مدة البقاء في طور اليرقي 4.7 يوم و نسبة خروج العذارى كانت 100% و فترة البقاء في طور العذراء بلغت 1.83 يوم و

عند استخدام درجة حرارة  $32 \pm 2$  م° والماء المخزن فقط. أوضحت النتائج أن ارتفاع درجة الحرارة يؤثر على النمو والتطور ليرقات العمر الثاني. حيث لم تسجل النتائج خروج عذارى أو بالغات من اليرقات المعاملة بالتراكيز المستخدمة لكلاً من مستخلص الإيثانول و

40.00 , 26.66 و 13.33 % عند التراكيز 0.3 , 0.7 و 1.5 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد 100 % (جدول 3). أحدثت التراكيز المستخدمة من مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة تأثير معنوي على مدة البقاء في طور العذراء , حيث بلغ متوسط مدة البقاء 2.63 , 1.00 و 1.00 يوم عند التراكيز 0.3 , 0.7 و 1.5 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد و الذي بلغ 2.30 يوم .

سجلت النتائج انخفاض عالي المعنوية في نسب خروج البالغات مقارنةً بالشاهد و ذلك عند استخدام المستخلص الإيثانولي و التي بلغت 40.0 و 3.33 % عند التراكيز 0.3 و 0.7 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد ( 96.66 %).

على النقيض من ذلك أظهرت التراكيز المستخدمة من مستخلص البتروليم إيثر ارتفاع معنوي في مدة البقاء في طور العذراء تمثلت في 2.13 , 2.33 , 2.46 و 2.66 يوم عند التراكيز 0.3 , 0.7 , 1.5 و 3.0 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد 1.80 يوم . بينما أدى مستخلص البتروليم إيثر إلى انخفاض عالي المعنوية في نسبة خروج البالغات مقارنةً بالشاهد حيث بلغت هذه النسب 60.00 , 36.66 , 26.66 و 3.33 % عند التراكيز 0.3 , 0.7 , 1.5 و 3.0 جزء في المليون على التوالي في حين بلغت نسبة خروج البالغات في الشاهد 96.66 % (جدول 3 . شكل 2).

نسبة خروج البالغات كانت 100 % للإيثانول. بالمقابل بلغت مدة البقاء في طور اليرقي 3.5 يوم و نسبة خروج العذارى كانت 100% , في حين بلغت مدة البقاء في طور العذراء للشاهد 2.0 يوم و نسبة خروج البالغات كانت 100 % للبتروليم إيثر

ب-تأثير درجات الحرارة والغذاء

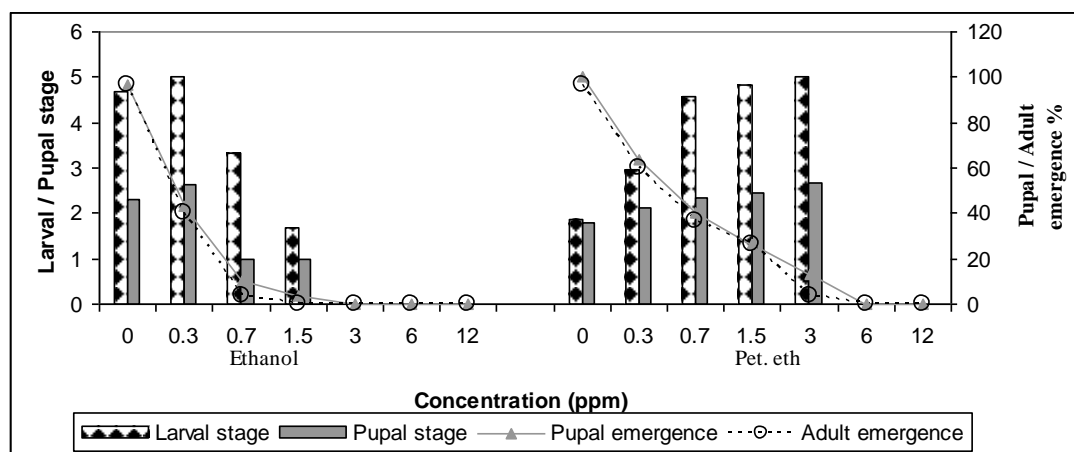
عند اضافة الخبز الى الماء المخزن على درجة حرارة  $27 \pm 2$  م , بلغ متوسط مدة البقاء في طور اليرقي 5 يوم عند التركيز 0.3 جزء في المليون بينما قصرت مدة البقاء عند التراكيز 0.7 و 1.5 جزء في المليون حيث سجلت 3.3 و 1.6 يوم على التوالي مقارنةً بمدة البقاء في الشاهد 4.7 يوم . أظهر مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة انخفاض عالي المعنوية في نسبة خروج العذارى و التي تمثلت في 43.33 , 10.00 و 3.33 % عند التراكيز 0.3 , 0.7 و 1.5 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد 96.66 % (جدول 3).

من الناحية الأخرى , مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة أدى إلى ارتفاع عالي المعنوية في مدة البقاء في طور اليرقي ليرقات العمر الثاني, حيث كانت متوسطات مدة البقاء 2.96 , 4.56 , 4.83 و 5.00 يوم عند التراكيز 0.3 , 0.7 , 1.5 و 3.0 جزء في المليون مقارنةً بالشاهد 1.86 يوم . بالمثل أدت التراكيز المختبرة من مستخلص البتروليم إيثر إلى انخفاض عالي المعنوية في نسبة خروج العذارى و كانت نسب الخروج 63.33 ,

جدول(3): تأثير مستخلصات أوراق الدفلة على النمو والتطور ليرقات العمر الثاني في الماء المخزن و الخبز عند درجة حرارة  $27 \pm 2$  م

Extract	Concentration (ppm)	فترة البقاء في طور اليرقي		نسبة خروج العذارى		فترة البقاء في طور العذراء		نسبة خروج البالغات	
		Mean ± S.D		Mean ± S.D		Mean ± S.D		Mean ± S.D	
الإيثانولي	0	4.70	0.10	96.67	3.33	2.30	0.05	96.67	3.33
	0.3	5.00	0.17	43.33	13.33	2.63	0.20	40.00	15.27
	0.7	3.33	1.67	10.00	5.77	1.00	1.00	3.33	3.33
	1.5	1.67	1.67	3.33	3.33	1.00	1.00	-	-
	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.0	-	-	-	-	-	-	-	-
F		**		**		*		**	
LSD (P = 0.05)		2.71		17.51		1.64		18.33	
LSD (P = 0.01)		3.76		24.31		-----		25.44	
C.V. %		73.74		45.65		94.51		52.33	
البتروليم إيثر	0	1.87	0.26	100.00	0.00	1.80	0.10	96.67	3.33
	0.3	2.97	0.17	63.33	3.33	2.13	0.09	60.00	5.77
	0.7	4.57	0.03	40.00	5.77	2.33	0.09	36.67	3.33
	1.5	4.83	0.17	26.67	3.33	2.47	0.09	26.67	3.33
	3.0	5.00	0.00	13.33	3.33	2.67	0.33	3.33	3.33
	6.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.0	-	-	-	-	-	-	-	-
F		**		**		**		**	
LSD (P = 0.05)		0.40		9.36		0.44		10.11	
LSD (P = 0.01)		0.56		12.99		0.60		14.03	
C.V. %		8.41		15.38		15.28		18.10	

\*\*Significant at the 0.01 level- \*: Significant at the 0.05 level. - Ns : Non-Significant. -C.V: Coefficient of Variation.



شكل (2): تأثير مستخلصات أوراق الدفلة على النمو والتطور ليرقات العمر الثاني في الماء المخزن والخيز عند درجة حرارة  $27 \pm 2$  م

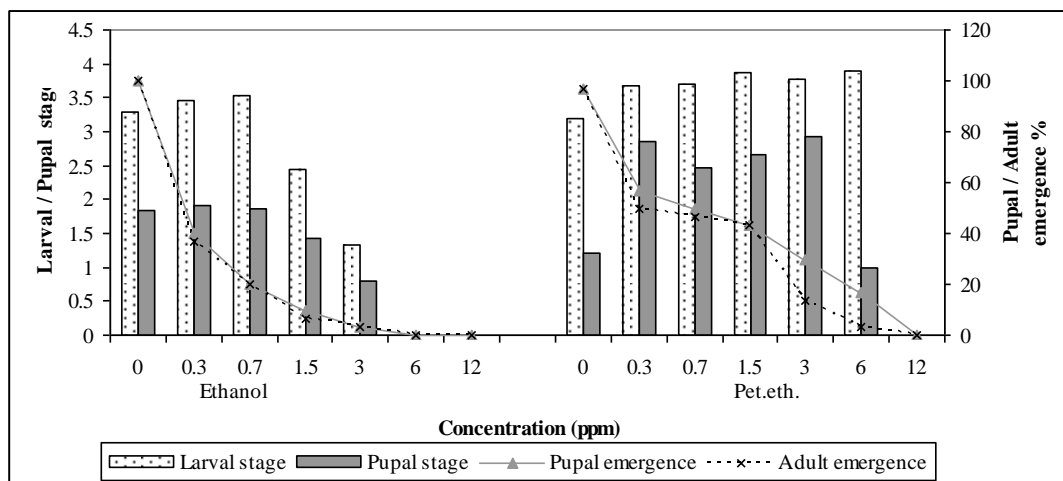
مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة كان له تأثير على مدة البقاء في طور العذراء والتي بلغت 1.9, 1.8 و 1.4 يوم عند التراكيز 0.3, 0.7 و 1.5 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد والذي بلغت مدة البقاء فيه 1.8 يوم. كما أدت التراكيز المختبرة من مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة إلى انخفاض عالي المعنوية في نسب خروج البالغات. هذه النسب بلغت 36.66, 20.00, 6.66 و 3.33% عند التراكيز 0.3, 0.7, 1.5 و 3.0 جزء في المليون على التوالي. في حين بلغت نسبة خروج البالغات 100% للشاهد. بالمثل أدت التراكيز المستخدمة من مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة إلى إطالة معنوية في مدة البقاء في طور العذراء، حيث بلغت متوسطات مدة البقاء 2.8, 2.4, 2.6 و 2.9 يوم عند التراكيز 0.3, 0.7, 1.5 و 3.0 جزء في المليون على التوالي في حين بلغ متوسط مدة البقاء 1.00 يوم عند التركيز 6.0 جزء في المليون أما الشاهد فقد بلغت مدة البقاء فيه 1.2 يوم. التراكيز المختبرة من مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة أدت إلى انخفاض عالي المعنوية في نسب خروج البالغات حيث بلغت هذه النسب 50.00, 46.66, 43.33 و 13.33% عند التراكيز 0.3, 0.7, 1.5, 3.0 و 6.0 جزء في المليون على التوالي بالمقارنة مع نسبة خروج البالغات للشاهد والتي بلغت 96.66% (جدول 4). شكل (3).

عند إضافة الخبز إلى الماء المخزن على درجة حرارة  $32 \pm 2$  م أدى إلى إطالة مدة البقاء في طور اليرقي عند التراكيز 0.3 و 0.7 جزء في المليون حيث بلغت 3.46 و 3.53 يوم على التوالي. في حين أدت التراكيز 1.5 و 3.0 جزء في المليون إلى انخفاض معنوي في مدة البقاء في طور اليرقي والتي بلغت 2.43 و 1.33 يوم على التوالي وذلك بالمقارنة مع الشاهد (3.3 يوم). كذلك سجلت النتائج انخفاض عالي في نسبة خروج العذارى لليرقات المعاملة بمستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة. حيث بلغت نسب خروج العذارى 10.00, 20.00, 40.00 و 3.33% عند التراكيز 0.3, 0.7, 1.5 و 3.0 جزء في المليون على التوالي بينما بلغت نسبة خروج العذارى 100% للشاهد (جدول 13. صورة B 31). بالمثل كان لمستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة تأثير على اليرقات المعاملة. حيث بلغت مدة البقاء في طور اليرقي 3.7 و 3.9 يوم عند التراكيز 3.0 و 6.0 جزء في المليون على التوالي. بينما بلغت مدة البقاء في طور اليرقي للشاهد 3.2 يوم. أدت التراكيز المختبرة من مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة إلى انخفاض عالي في نسبة خروج العذارى. هذا الانخفاض ازداد تدريجياً بزيادة التركيز، حيث بلغت نسب خروج العذارى 56.66, 50.00, 43.33 و 30.00% للتراكيز 0.3, 0.7, 1.5, 3.0 و 6.0 جزء في المليون على التوالي بالمقارنة مع نسبة 96.66% للشاهد (جدول 4. شكل 3).

جدول (4): تأثير مستخلصات أوراق الدفلة على النمو والتطور ليرقات العمر الثاني في الماء المخزن و الخبز عند درجة حرارة  $32 \pm 2$  م°:

Extract	Concentration (ppm)	فترة البقاء في طور اليرقي		نسبة خروج العذارى		فترة البقاء في طور العذراء		نسبة خروج البالغات	
		Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D	Mean ± S.D		
الإيثانولي	0	3.30	0.06	100.00	0.00	1.83	0.092	100.00	0.00
	0.3	3.47	0.09	40.00	5.77	1.90	0.212	36.67	6.67
	0.7	3.53	0.03	20.00	5.77	1.87	0.13	20.00	5.77
	1.5	2.43	1.22	10.00	5.77	1.43	0.72	6.67	3.33
	3.0	1.33	1.33	3.33	3.33	0.80	0.80	3.33	3.33
	6.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.0	-	-	-	-	-	-	-	-
F		**		**		*		**	
LSD (P = 0.05)		2.07		12.09		1.27		11.47	
LSD (P = 0.01)		2.88		16.77		-----		15.91	
C.V. %		58.92		27.87		64.88		27.50	
البيتروليم إيثر	0	3.20	0.06	96.67	3.33	1.20	0.06	96.67	3.33
	0.3	3.67	0.07	56.67	3.33	2.87	0.57	50.00	5.77
	0.7	3.70	0.08	50.00	5.77	2.47	0.18	46.67	3.33
	1.5	3.87	0.07	43.33	6.67	2.67	0.29	43.33	6.67
	3.0	3.77	0.12	30.00	5.77	2.93	0.07	13.33	3.33
	6.0	3.90	0.10	16.67	3.33	1.00	1.00	3.33	3.33
	12.0	-	-	-	-	-	-	-	-
F		**		**		**		**	
LSD (P = 0.05)		0.23		13.78		1.38		16.66	
LSD (P = 0.01)		0.32		19.12		1.91		23.12	
C.V. %		4.15		18.78		41.94		25.61	

\*\* : Significant at the 0.01 level - \* : Significant at the 0.05 level. - Ns : Non-Significant. - C.V : Coefficient of Variation



شكل (3): تأثير مستخلصات أوراق الدفلة على النمو والتطور ليرقات العمر الثاني في الماء المخزن والخبز عند درجة حرارة  $32 \pm 2$  م°:

في كؤوس الشاهد المناظرة حيث سجلت 412 و 467 بيضة على التوالي. بينما في الأقفاص المحتوية على التراكيز المنخفضة من المستخلص تم وضع بيض من قبل الإناث، حيث سجلت 23 بيضة في كأس المعاملة لتركييز 0.7 جزء في المليون مقارنةً ب 620 بيضة ل كأس الشاهد المناظر. في كأس المعاملة ب 0.3 جزء في المليون تم وضع 67 بيضة مقارنةً ب 636 بيضة للشاهد. وفي تجربة وضع كؤوس للمعاملات بالتراكيز المختلفة معا بدون خيار الشاهد (جدول 6)، كان

التأثير المانع لوضع البيض للمستخلصات :  
تأثير مستخلص الإيثانول:

يوضح جدول (5) تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة والموضوعة في أقفاص منفصلة لكل تركيز حيث يحتوي كل قفص على كأس المعاملة بالتركيز المطلوب وكأس شاهد على منع وضع البيض لإنات الحشرة المستهدفة. اوضحت النتائج ان التراكيز 12.0 , 6.0 , 3.0 و 1.5 جزء في المليون من المستخلص لم يتم وضع بيوض بها بينما تم وضع بيوض

بيض في كؤوس المعاملات . وفي حالة تواجد كؤوس الشاهد فقط وضع حوالي 1005 بيضة. أظهرت النتائج بأن التراكيز المستخدمة ( 12.0 , 6.0 , 3.0 و 1.5 جزء في المليون) من مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة أدت إلى تأثير مانع لوضع البيض بنسبة(100 %) و أدت التراكيز المنخفضة 0.3 و 0.7 جزء في المليون إلى تأثير مانع لوضع البيض بنسبة 89 و 96 % على التوالي عند إعطاء البالغات فرصة الاختيار بين المعاملة و الشاهد. أما في حال وجود التراكيز المختبرة من المستخلص بدون شاهد لم يلاحظ أي منع لوضع البيض عند التراكيز (0.3 , 0.7 , 1.5 , 3.0 جزء في المليون) في حين لم يتم وضع البيض عند التراكيز المرتفعة(6.0 , 12.0 جزء في المليون). ومن جهة أخرى كان مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة أكثر تأثيراً على منع وضع البيض مقارنةً بمستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة , حيث أدت التراكيز المستخدمة من مستخلص البتروليم إيثر إلى تأثير مانع لوضع البيض بنسبة 100 % للتراكيز (0.3 , 0.7 , 1.5 , 3.0 , 6.0 و 12.0 جزء في المليون ) . أما في حالة وجود التراكيز المختبرة بدون شاهد لم يلاحظ أي منع لوضع البيض عند التراكيز المنخفضة (0.3 و 0.7 جزء في المليون) في حين لم يتم وضع بيض عند التراكيز الوسطى و المرتفعة (1.5 , 3.0 , 6.0 و 12.0 جزء في المليون) , (شكل 4).

أكثر عدد للبيوض ( 250 بيضة ) وضع في كؤوس المعاملة في أقل تركيز (0.3 جزء في المليون) في حين في التراكيز الوسطى ( 0.7 و 1.5 و 3.0 جزء في المليون) سجلت 110 و 93 و 55 بيضة على التوالي . أما التراكيز المرتفعة (6.0 و 12.0 جزء في المليون) لم يتم وضع بيوض في كؤوس المعاملة الخاصة بها . وفي حالة تواجد كؤوس الشاهد فقط وضع حوالي 1175 بيضة.

تأثير مستخلص البتروليم إيثر:

التأثير المانع لوضع البيض للتراكيز المختلفة من مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة والموضوعة في أقفاص منفصلة لكل تركيز حيث يحتوى كل قفص على كأس المعاملة بالتركيز المطلوب وكأس شاهد (جدول 5), لم تسجل النتائج وضع بيوض في كؤوس المعاملات 12.0 , 6.0 , 3.0 , 1.5 , 0.7 و 0.3 جزء في المليون في حين سجلت 354 , 355 , 369 , 372 , 446 و 450 بيضة على التوالي وضعت في كؤوس الشاهد المناظرة . وفي تجربة وضع كؤوس للمعاملات بالتراكيز المختلفة معا بدون خيار الشاهد (جدول 6), كان أكبر عدد للبيض ( 130 بيضة) وضع في أقل تركيز (0.3 جزء في المليون) و أقل عدد للبيض (97 بيضة) وضع في التركيز التالي (0.7 جزء في المليون) . أما التراكيز الوسطى و المرتفعة (1.5 , 3.0 , 6.0 و 12.0 جزء في المليون) لم يتم وضع

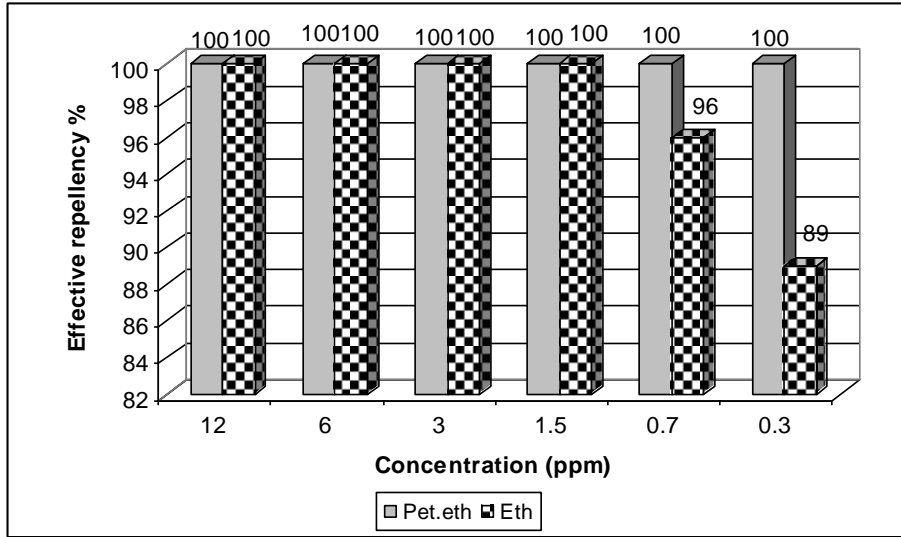
جدول(5): يبين التأثير المانع لوضع البيض لمستخلصى الإيثانول و البتروليم إيثر لأوراق الدفلة مع وجود خيار الشاهد معا .

Dose (ppm)	Eth			Pet.eth		
	Cont.	Treat.	ER (%)	Cont.	Treat.	ER (%)
12	412	0	100	354	0	100
6	467	0	100	355	0	100
3	515	0	100	369	0	100
1.5	525	0	100	372	0	100
0.7	620	23	96	446	0	100
0.3	636	67	89	450	0	100

ER. = Effective repellency

جدول(6): يبين التأثير المانع لوضع البيض لمستخلصى الإيثانول و البتروليم إيثر لأوراق الدفلة بدون وجود خيار الشاهد معا

Dose (ppm)	Eth	Pet.eth
12	0	0
6	0	0
3	55	0
1.5	93	0
0.7	110	97
0.3	250	130
Cot.	1175	1005



شكل (4): التأثير المانع لوضع البيض لمستخلصات أوراق الدفلة

انخفاض في نسب خروج العذارى و نسب خروج البالغات . هذه النتائج تشابهت من حيث التأثير على فترة البقاء في طور اليرقي و فترة البقاء في طور العذراء مع ما توصل إليه (Pushpalata and Muthkrishnan,1995) الذي خلص بأن مستخلص البتروليم إيثر و مستخلص إيثيل اسيتات لنبات الدفلة و نباتي *Vitex negundo* و *Syzygium jumbolanum* أدى إلى إطالة فترة البقاء في طور اليرقي و فترة التعذر لبعوض *A. stephensi* و *C. quinquefasciatus* و أيضاً منع تطور العذارى و خروج الحشرة الكاملة .

كما تتفق نتائج هذه الدراسة من حيث التأثير على معدل خروج البالغات مع ما توصل إليه ( Olga and David , 2005) بأن المستخلص الميثانولي لنبات الدفلة يمنع تطور العذارى و خروج الحشرة الكاملة لبعوض *A. aegypti* . في الاختبارات العملية للنشاط المانع لوضع البيض عند استخدام التركيزات المختلفة للمستخلصات قيد الدراسة , كان لمستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة تأثير معنوي عند التراكيز المرتفعة , حيث أدت المعاملة بالمستخلص إلى انخفاض عدد البيض الموضوع بنسبة 100% كما وُجد للتراكيز المنخفضة (0.3 جزء في المليون) أيضاً تأثيراً مانعاً لوضع البيض , في حين أدت التراكيز المستخدمة من مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة إلى تأثير مانع لوضع البيض بلغ 100%

هذا المستوى من النشاط المانع لوضع البيض الذي تم التحصل عليه من خلال الدراسة الحالية يكافئ نتائج الدراسة التي أجراها (المحمادي و الخلف , 2008) حيث أظهر نبات الشبج *Artemisia herba* نشاطاً مانعاً لوضع البيض بنسبة 100% عند جميع التركيزات المستخدمة ضد إنسان بعوض *C. quinquefasciatus* . كفاءة المستخلصات قيد الدراسة و نشاطها المانع لوضع البيض يرجع للمكونات الفعالة في هذه النباتات و التي من بينها الجليكوسيدات حيث وجد (Evans , 1992) أن كفاءة

## المناقشة DISCUSSION

العديد من الدراسات أوضحت بأن المواد الفعالة المستخلصة من بعض النباتات لها تأثير على نمو و تطور الحشرات , هذه المستخلصات تعمل من خلال تداخلها مع هرمونات الحشرة (عفيفي و عطي, 2002).

أشارت الدراسات إلى أن المركبات الفعالة في بعض النباتات مثل الستيرويدات (Steroids) و المواد الصابونية (Saponins) قابلة للذوبان في كل من الماء و المذيبات العضوية و هذه المركبات تعمل عن طريق التفاعل مع كيوئكل اليرقة و الذي يعتبر السبب الأكثر احتمالية لموت اليرقات المعاملة بهذه المستخلصات ( Hostettman and Marston ,1995). كما وجد أن مركبات البريكوسينات (Precocenes) المستخلصة من نبات البرجمان *Ageratum houstonianum* أدت إلى التحول إلى حشرات كاملة عقيمة صغيرة الحجم , حيث تعمل هذه المركبات الفعالة على تثبيط تخليق هرمون الشباب (الزميتي, 2005)

نتائج الدراسة الحالية توضح أن المستخلصات النباتية المستخدمة كان لها تأثير على نمو و تطور يرقات العمر الثاني لبعوضة *Culex Pipiens* . حيث كان لمستخلص أوراق الدفلة تأثير معنوي على نمو و تطور اليرقات , حيث أدى مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة إلى إطالة معنوية في فترة البقاء في طور اليرقي و فترة البقاء في طور العذراء , كما أدت التراكيز المستخدمة من مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة إلى انخفاض عالي المعنوية في نسب خروج العذارى و نسب خروج البالغات من اليرقات المعاملة بالمستخلص . كما أدت التراكيز المستخدمة من مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة إلى انخفاض معنوي في فترة البقاء في طور اليرقي و طور العذراء في حالة عدم إضافة الخبز لبيئة التربية . أما في حالات إضافة الخبز فقد أدى المستخلص إلى إطالة معنوية في فترة البقاء في طور اليرقي و طور العذراء كما أدى إلى



نظراً لما تمتاز به هذه المستخلصات بكونها منتجات طبيعية متوفرة و غير مكلفة و فعاليتها العالية ضد الحشرات المستهدفة. هذا بالإضافة الى إجراء دراسات مكثفة على نبات الدفلة لمعرفة ميكانيكية تأثير المستخلصات النباتية لهذا النبات للتوسع في استخدامها في مجال مكافحة الآفات. ايضا إجراء العديد من الدراسات عند الظروف المعملية و التطبيقية لمعرفة سمية هذه المستخلصات على الثدييات و الكائنات غير المستهدفة مع إجراء دراسات شاملة لتحديد فترة البقاء البيئي لهذه المستخلصات .

نبات البابونج في منع البيض ترجع إلى أن مكوناته تحوي العديد من أنواع الجليكوسيدات (Glycosides) ومن خصائصها أنها ثابتة و ذات وزن جزيئي مرتفع , بالإضافة إلى احتوائه على أنواع مختلفة من الزيوت الطيارة (Swiden , 1995). و قد ذكر – Renault Rogerand Hamraoui (1993) بأن مكونات عديدة في النبات قد تعمل متحدة مع بعضها البعض , تؤثر في الحشرة مؤدية إلى إحداث تأثير عالي بمنع وضع البيض , و هذا التأثير قد يفسر الكفاءة العالية للمستخلصات النباتية المستخدمة في الدراسة الحالية .

واخيرا يمكن القول ان استخدام المستخلصات النباتية في برامج مكافحة الحشرات كبديل آمن للمبيدات الكيميائية

## BIOLOGICAL STUDIES OF THE EFFECT OF *Nerium oleander* LEAVES EXTRACT ON *Culex pipiens*

Aisha, H. Elbosify; A. A. ALZarog and T.E. Omarah  
Zoology Dept., Fac. of Sci, Sebha Univ., Sebha, Libya

**ABSTRACT:** The present study was carried out at the laboratory of the Animal Zoology Department, Faculty of Science, Sebha University, Libya, to evaluate the bio efficacies of petroleum ether and ethanol extracts from *Nerium oleander* (Leaves) against *Culex pipiens* mosquito by using sex concentrations 0.3 , 0.7 , 1.5 , 3.0 , 6.0 and 12.0 ppm. The results revealed that extracts elicited significant effect on growth and development of larvae (2<sup>nd</sup> instar) represented by decrease the rate of pupation and adult emergence compared with control. On the other hand, the results showed that the deference of temperatures between 27 and 32 C° elicited on larvae sensitivity. Moreover, petroleum ether extracts elicited the highest effect on larvae than ethanol extracts.

### المراجع

الشاذلي , محمد محمد (2000) . مبادئ علم بيئة الحشرات , ط1, الدار العربية للنشر و التوزيع القاهرة / مصر, 508 ص .  
عفيفي , فتحي عبدالعزيز و عطي , محمود السيد (2002) . المستخلصات النباتية و الفاعلية البيولوجية . ط1 . مكتبة الثقافة الدينية . مصر . 388 ص.

Evans , W.C.(1992). Trease and Evans pharmacognosy. Thirteenth Ed . ELBS 832. Harborne,J.B.(1998). Phytochemical methods: Aguide to modern Techniques of plants Analysis. Chapman&Hall, London. 295 PP.  
Harshan, V.; Saxena,A. and Saxena,R.C.(1992). Mosquito larvicidal and growth disturbing activity of *Annona squomosa* extract. Trop. Dis. 397-402.

المراجع العربية:  
الزميتي , محمد سعيد الصالح (1997) . تطبيقات مكافحة المتكاملة للأفات الزراعية , ط1 , دار الفجر للنشر و التوزيع , مصر , 455 ص.

المراجع الانجليزية:  
Hostettman K.;Marston A(1995). Saponins (chemistry and pharmacology of Natural products). Cambridge: Cambridge University: 132.  
Murugesan.S.; and Thilagavathy .D. (2008) Evaluation of certain insecticidal plants for the control of vector mosquitoes viz. *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. Appl .Entomol. Zool. 43(1) : 57-63.

Okogun G.R.;Nwoke B.;Okere A.;Anosike J. and Esekhegbe A. (2003) . Epideminological implications of preferences of breeding sites of mosquitoes species in Midwestern Nigeria . Ann. Agric. Environ. med.;10(2):217-222.

Olga L. O. and David L. L.(2005). Poisonous plants and their uses as Insecticides in cajamarca, Peru, Economic Botany Sa(2) : 166-173.

Pushpalatha .E.,and Muthukrishnan.J. (1995). Larvicidal activityof a few plants extracts against *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles stephensi*. Indian J Malariol; 32(1) : 14-23.

Regnault-Roger, C. and Hamraoui , A. (1993). Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* say(Coleoptera), akidney bean (*phaseolus vulgaris*)bruchid , by aromatic essential oils . crop. Protection 13:624-628.

Reisen, W.R.; Meyer,S.and Presser,J.H.(1993). Effect of temperature on

the transmission of western equine encephalomyelitis and St. Louis encephalitis Viruses by *culex tarsalis* (Diptera : Culicidae) J. med. Entomol., 30 (1) : 151-160.

Sharma , P.; Mohan L. and Srivastava C.N. (2006). Phytoextract-induced developmental deformities in malaria vector . Biores. Technol. , 97, 1599-1604.

Spielman,A. and Dantonio,M. (2004). Mosquitoes. Makays of chatham, ple chatham .Kent. 247 PP .

Swidan, M.H.(1995). Effects of eleven plant extracts on the oviposition activity of *Spodoptera littoralis* (Biosduval) (Lepidoptera: Noctuidae)J.Egypt . Ger.Soc. Zool. Entomol 1.17: 161-171.

Xue R.D.; Barnard D.R. and Ali A. (2001) . laboratory and field evaluation of insect repellents as oviposition deterrents against the mosquito *Aedes albopictus* . Med. and veterinary entomol . 15:126-131.