



تقييم الكفاءة الحويوية والسمية لمستخلصي قشور الرمان (*Punica Granatum L.*) الإيثانولي والكلوروفورمي ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدئية (*Tribolium Castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae))

هدى إسماعيل* ورحمة الدليحي

قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة سبها، سبها - ليبيا.

الكلمات المفتاحية:

المستخلص.
الكفاءة الحويوية.
خنفساء الدقيق الصدئية الحمراء.
قشور الرمان.
فترة تعرض.

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم الكفاءة الحويوية والسمية لمستخلصي قشور الرمان (*Punica granatum L.*) الإيثانولي والكلوروفورمي ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدئية الحمراء (*Tribolium castaneum* (Herbst)) بعد يوم ويومين و 7 أيام من المعاملة. أظهرت النتائج أن المستخلصات النباتية كان لها كفاءة حويوية عالية في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة، وكان المستخلص الإيثانولي أكثر كفاءة من مستخلص الكلوروفورمي بأحداث نسب موت مرتفعة في جميع التراكيز وفترات التعرض، فبلغت نسبة الموت 100% للمستخلص الإيثانولي عند التركيز 2.0% بعد 7 أيام من المعاملة مقابل 93.33% لمستخلص الكلوروفورمي عند نفس التركيز وفترة التعرض. كما أشارت الدراسة إلى وجود علاقة طردية قوية بين التركيز وارتفاع نسبة الموت في البالغات المعاملة في كلا المستخلصين، وكذلك بين طول فترة التعرض وفعالية المستخلص في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة، حيث تزداد نسبة الموت بزيادة التركيز وزيادة طول فترة التعرض. كما بينت النتائج بأن نوع المستخلص والتراكيز المستخدمة ومدة التعرض من أهم العوامل التي لها تأثير معنوي عالي على زيادة الكفاءة الحويوية للمستخلصات النباتية. كما أظهرت هذه المستخلصات تأثيراً سميّاً واضحاً ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدئية وكان المستخلص الإيثانولي الأعلى سمية من مستخلص الكلوروفورمي، حيث بلغت قيمة LC_{50} و LC_{90} للمستخلص الإيثانولي 0.71% و 17.99% بعد 24 ساعة من المعاملة بينما في مستخلص الكلوروفورمي بلغت قيمة LC_{50} و LC_{90} عند نفس فترة التعرض 1.35% و 30.69%، وكما لوحظ أن سمية هذه المستخلصات تزداد بزيادة فترة التعرض وذلك من خلال انخفاض قيمة LC_{50} و LC_{90} حيث بلغت 0.13% و 0.59% للمستخلص الإيثانولي و 0.17% و 1.39% للمستخلص الكلوروفورمي بعد 7 أيام مما يعكس قوة التأثير التراكمي للمركبات الفعالة المستخلصة في التأثير مع زيادة فترة التعرض.

Evaluation of the Bioefficacy and Toxicity of Pomegranate Peel (*Punica Granatum L.*) Extracts Against Adults of the Red Flour Beetle *Tribolium Castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Huda Ismail*, Rahma El-Delimy

Department of Zoology, Faculty of Science, Sebha University, Sebha – Libya.

Keywords:

Extract.
Bio Efficacy.
Red Flour Beetle.
Pomegranate Peel.
Exposure Duration.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the bioefficacy and toxicity of ethanolic and chloroform extracts pomegranate peel (*Punica granatum L.*) against adults of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) after 24 and 48 hours, and 7 days of treatment. The results revealed that pomegranate peel extracts exhibited high bioactivity in inducing adult mortality, with the ethanolic extract being more effective than the chloroform extract in causing higher mortality rates across all concentrations and exposure periods. The ethanolic extract achieved 100% mortality at a concentrations of 2.0% after 7 days compared to 93.33% for the chloroform extract at the same conditions. The study also revealed a strong positive correlation between increasing concentrations and adult mortality, as well as between longer exposure time and extract efficacy. Mortality rates increased with both higher

*Corresponding author.

E-mail addresses: hud.ismail@sebhau.edu.ly, (R El-Delimy), Rah.adulimeci@sebhau.edu.ly.

concentration and prolonged exposure durations. Furthermore, the results showed that extract type, applied concentration, and exposure period were the most significant factors influencing the bioefficacy of the tested plant extracts. The extracts also demonstrated clear toxic effects against *T. castaneum* adults, with ethanolic extract being more toxic than the chloroform extract. After 24 hours of exposure, the LC50 and LC90 values for the ethanolic extract were 0.71% and 17.99% for the ethanolic extract, and 1.35% and 30.69% for the chloroform extract, respectively. Moreover, extract toxicity increased with longer exposure periods, as reflected by the reduction of LC50 and LC90 values, reaching 0.13% and 0.59% for the ethanolic extract and 0.17% and 1.39% for the chloroform extract after 7 days. This highlights the strong cumulative effect of the active compounds in the extracts against insects with prolonged exposure.

1. المقدمة

تعد الحشرات من أهم العوامل التي تؤثر على الإنتاج الزراعي، إذ تهاجم المحاصيل الزراعية سواء في الحقل أو أثناء التخزين مما يؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة [1]، ومن بين هذه الحشرات تبرز خنفساء الدقيق الصديئة الحمراء (*Tribolium castaneum*) كواحدة من أخطر الآفات التي تهاجم الحبوب ومنتجاتها المخزونة وتسبب في تدهور جودة الغذاء من خلال استهلاك الحبوب وتلويثها بفضلاتها مما يقلل من قيمتها الغذائية والتسويقية [2]. لقد أدى الاستخدام المفرط للمبيدات الكيميائية إلى ظهور العديد من التحديات مثل تطور المقاومة لدى الآفات والتأثيرات السلبية على البيئة وصحة الإنسان [3، 4] وأمام هذه الإشكاليات تزايد الاهتمام في السنوات الأخيرة بالبدائل الطبيعية الصديقة للبيئة خاصة تلك المستخلصة من النباتات لما تتمتع به من خصائص سامة للحشرات وكونها آمنة نسبيًا للإنسان والحيوان [5].

تعتبر المستخلصات النباتية أحد الاتجاهات الواعدة في مجال مكافحة الآفات حيث تحتوي على مركبات فعالة مثل القلويدات، الفلافونويدات، التانينات، والزيوت الطيارة التي ثبت أن لها تأثيرات طاردة، مثبطة للتغذية، أو قاتلة للحشرات [6]. لقد أظهرت العديد من الدراسات الحديثة فاعلية عالية للمستخلصات النباتية في مكافحة آفات الحبوب المخزونة خاصة خنفساء الدقيق الصديئة *T. castaneum*، حيث أوضح [7] بأن مستخلصات أوراق أكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* أحدثت نشاطاً سميماً عالياً ضد بالغات *T. castaneum* خلال فترات تعرض مختلفة 24 و48 و72 ساعة من المعاملة. كما أشار [8] إلى أن مستخلص بذور المورينجا *Moringa oleifera* أظهر فاعلية عالية ضد البالغات خلال 24 ساعة فقط من المعاملة. وفي دراسة أخرى بين [9] بأن مستخلصات القرنفل والليمون أظهرت نشاطاً طارداً وقائلاً ومضاداً للتغذية ضد *T. castaneum*، كذلك أكد [13] على فاعلية المساحيق النباتية لنبات الفلفل الأحمر *Capsicum frutescens* والمورينجا *M. oleifera* والأوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* ضد يرقات وبالغات خنفساء الدقيق الصديئة. كما أفاد [11، 1] بأن مستخلصات قشور الرمان أظهرت فاعلية حشرية عالية ضد بالغات خنفساء الدقيق الصديئة وسببت نسبة موت مرتفعة ازدادت مع زيادة التركيز وفترة التعرض وكذلك بين [12] بأن المستخلص الميثانولي لأوراق نبات *Gliricidia sepium* أظهر فاعلية عالية ضد سوسة الأرز *Sitophilus oryzae* وسبب نفوقاً كاملاً بنسبة 100% خلال 7 أيام من المعاملة. جميع هذه الدراسات تؤكد أن المستخلصات النباتية تمتلك قدرة واعدة كمبيدات طبيعية آمنة سواء للاستخدام المباشر أو كجزء من تراكيب تكاملية ضد آفات الحبوب المخزونة، ومن بين النباتات التي لاقت اهتماماً متزايداً في هذا المجال نبات الرمان (*Punica granatum*) إذ تحتوي قشوره على مركبات فينولية وفلافونويدات وتانينات وقلويدات

لها خصائص مضادة للأحياء الدقيقة ومبيدة للحشرات [7، 8، 13] حيث أشارت عدة دراسات إلى فاعلية قشور الرمان ضد العديد من الآفات الحشرية مما يعزز من أمكانية استخدامها كبديل آمن وفعال للمبيدات الكيميائية [9، 14].

بناءً على ما تقدم تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الكفاءة الحيوية والسمية لمستخلصي قشور الرمان (*Punica granatum L.*) الإيثانولي والكلوروفورم ضد بالغات خنفساء الدقيق الصديئة (*Tribolium castaneum* (Herbst) بهدف استكشاف فاعليتها كمبيدات حشرية طبيعية يمكن استخدامها في برامج مكافحة الآفات الحشرية في المخازن.

2. المواد وطرق العمل

2.1 تجهيز النبات المستخدم في الدراسة

تم جمع قشور ثمار الرمان وغسلها وتجفيفها في الظل وبعد ذلك تم طحها باستخدام خلاط كهربائي للحصول على مسحوق بودرة ومن ثم تم حفظه في أوعية محكمة الإغلاق لحين استخدامها في عملية الاستخلاص.

2.2 تربية حشرة خنفساء الدقيق الصديئة

تم تجميع حشرة خنفساء الدقيق الصديئة من دقيق قمح مصاب وتصنيفها، وتربيتها معملياً في درجة حرارة 28±2م° ورطوبة نسبية 70±5% للحصول على جيل جديد من الحشرة عن طريق وضعها في قناني تحتوي على وسط غذائي مكون من 300 جم من دقيق قمح نظيف مضاف إليه 4 جم خميرة خبز و100 جم حليب بودرة لزيادة القيمة الغذائية لوسط التربية، تم تغطية هذه القناني بقطعة من الشاش لضمان عدم خروج الحشرة، وكما تم تجديد الوسط كل شهر لتجنب نفاد المادة الغذائية [15، 16].

2.3 عملية الاستخلاص

تمت عملية الاستخلاص بطريقة النقع، Soaking حيث تم وزن 100 جم من مسحوق قشور الرمان ووضعها في زجاجات بنية اللون وأضيف إليها (1000 مل) من مذيب الإيثانول والكلوروفورم وقفلت بأحكام وتركت لمدة 72 ساعة مع الرج بأوقات ثابتة كل ست ساعات لمدة 10 دقائق وذلك لضمان حدوث تلامس تام بين المذيب والمكونات النباتية والحصول على أكبر قدر من المركبات الفعالة. ثم أجريت عملية الترشيح للحصول على الراشح المحتوي على المواد الفعالة المستخلصة، وبعدها أجريت عملية التبخير التي تعمل على تبخير المذيب ليتبقى المستخلص المحتوي على المركبات الفعالة والذي يحفظ في زجاجات بنية محكمة الإقفال لحين استخدامه في تجهيز التراكيز المستخدمة في الدراسة [17].

2.4 تجهيز التراكيز المستخدمة

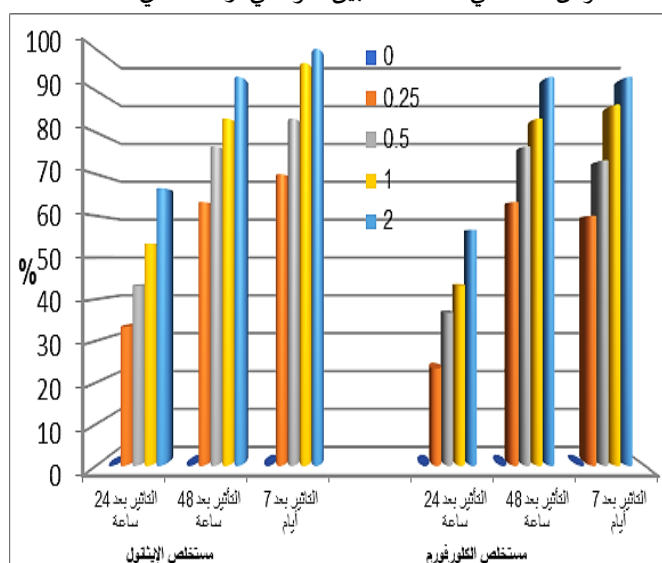
تم تجهيز التراكيز المستخدمة في الدراسة وهي 0.25% و 0.5% و 1.0% و 2.0% وفق المعادلة عن [18].

*المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة تختلف معنوياً ($a \leq 0.05$).

**المتوسطات التي تشترك في نفس الحرف لا تختلف معنوياً.

كذلك أشارت النتائج في جدول (1) إلى وجود علاقة طردية واضحة بين تركيز المستخلص ونسبة الموت في البالغات المعاملة في كلا المستخلصين لقشور الرمان (الإيثانولي والكلوروفورم)، كلما زاد التركيز زادت نسبة الموت، حيث بلغ متوسط نسبة الموت للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان بعد 24 ساعة 33.33% عند تركيز 0.25% ثم أزداد إلى 43.33% عند تركيز 0.5% ثم إلى 53.33% و 63.33% عند تركيز 1.0% و 2.0% على التوالي مقارنة بالشاهد 0.00% بينما في مستخلص الكلوروفورم بلغ متوسط نسبة الموت بعد 24 ساعة 23.33% و 36.66% و 43.33% و 56.66% عند تركيز 0.25% و 0.5% و 1.0% و 2.0% مقارنة بالشاهد 0.00% (شكل 1)، وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار إليه كلا [22,21] إلى أن المستخلصات النباتية عند التركيزات العالية كانت أكثر تأثيراً من التركيزات المنخفضة وتسببت في نسبة نفوق عالية في حشرات المخازن مثل خنفساء الدقيق الصديئة وسوسة الأرز، وكما أكد كل من [24,23] في دراسات قاموا بها على أن فاعلية المستخلصات النباتية ترتبط طردياً بتركيزها، حيث أن زيادة التركيز تؤدي إلى زيادة كمية المركبات النشطة مثل التانينات والقلويدات مما يزيد من كفاءتها الحيوية في التأثير على الحشرات من خلال تأثيرها على الجهاز العصبي أو التنفسي للحشرات.

كذلك كان لفترة التعرض للمستخلص تأثير معنوي عالي على الكفاءة الحيوية للمستخلصات المستخدمة في التأثير على نسبة الموت للبالغات المعاملة، حيث تزداد نسبة الموت بزيادة فترة التعرض للمستخلص، حيث بلغ متوسط نسبة الموت للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان عند تركيز 1.0% 53.33% بعد 24 ساعة ثم ازدادت تدريجياً إلى 83.33% بعد 48 ساعة لتصل إلى 96.67% بعد 7 أيام من المعاملة جدول (1)، بينما في مستخلص الكلوروفورم بلغ متوسط نسبة الموت 46.67% و 73.33% و 86.67% بعد 24 و 48 و 7 أيام من المعاملة عند نفس التركيز (شكل 1)، وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار إليه [26] الذي أوضح أن طول فترة التعرض تزيد من فرصة امتصاص المركبات الفعالة وتراكمها في أجسام الحشرات مما يؤدي إلى موت الحشرة، وكذلك أكد كلا [27,26] على أن فاعلية المستخلصات النباتية تزداد مع طول مدة التعرض خاصة في حالات التطبيق الموضعي أو التلامسي.



شكل 1: يوضح الكفاءة الحيوية لمستخلصات قشور الرمان في التأثير على نسب الموت للبالغات خنفساء الدقيق الصديئة

الحجم المطلوب = التركيز المطلوب x الحجم المعلوم

التركيز الأصلي

5.2 تأثير المستخلصات على البالغات خنفساء الدقيق الصديئة.

في هذه التجربة استخدمت 30 بالغة من البالغات خنفساء الدقيق الصديئة لكل تركيز. تم وضع البالغات في طبق بتري وتم رشها بالمستخلصات النباتية المستخدمة لكل تركيز من التراكيز المستخدمة 0.25% و 0.5% و 1.0% و 2.0% و بثلاثة تكرارات لكل تركيز، وتركت لتجف في الهواء. كما تم رش عدد مماثل من البالغات بمذيب الإيثانول والكلوروفورم فقط لغرض المقارنة. بعد ذلك تم وضع البالغات المعاملة بالتراكيز في أطباق بتري تحتوي على 4 جم من وسط التربية كما تم عمل ثقب دقيقة في الأغشية باستخدام أبرة لضمان دخول الهواء وبعد ذلك تم تسجيل نسبة الموت بعد 24 و 48 ساعة و 7 أيام من المعاملة.

6.2 التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج باستخدام تحليل التباين الثلاثي (Three-way ANOVA) لحساب المتوسطات والانحرافات المعيارية واختبار توكي (Tukey HSD) عند مستوي $a \leq 0.05$ لمعرفة الفروق المعنوية بين المعاملات وكما تم حساب قيم LC_{50} و LC_{90} باستخدام نموذج Probit الإحصائي.

3. النتائج والمناقشة

1.3 الكفاءة الحيوية لمستخلصات قشور الرمان في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة.

أظهرت نتائج الدراسة في جدول (1) بأن المستخلصات النباتية لقشور الرمان (الإيثانولي والكلوروفورم) لها كفاءة حيوية عالية في التأثير على نسب الموت للبالغات خنفساء الدقيق الصديئة المعاملة بعد 48,24 ساعة و 7 أيام من المعاملة، وكان المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان أكثر كفاءة أو فاعلية من مستخلص الكلوروفورم في أحداث نسب موت مرتفعة في جميع التراكيز وأزمنة التعرض، حيث بلغ متوسط نسبة الموت للمستخلص الإيثانولي عند التركيز 2.0% بعد 7 أيام من المعاملة 100% مقارنة بالشاهد 0.00%، في حين بلغ متوسط نسبة الموت للمستخلص الكلوروفورم عند نفس التركيز 93.33% مقارنة بالشاهد 0.00% (شكل 1)، وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه [19] بأن المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان كان أكثر فاعلية من مستخلص الكلوروفورم والمائي ضد خنفساء الدقيق الصديئة وسوسة الأرز، وترجع هذه الفاعلية العالية للمستخلص الإيثانولي لقشور الرمان نتيجة الاستقطاب العالي لمذيب الإيثانول في استخلاص المركبات الفعالة مقارنة بالكلوروفورم [20].

جدول 1: الكفاءة الحيوية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان في التأثير

على نسب الموت للبالغات خنفساء الدقيق الصديئة

المستخلص المستخدم	التراكيز (%)	نسبة الموت بعد 24 ساعة (%)	نسبة الموت بعد 48 ساعة (%)	نسبة الموت بعد 7 أيام (%)
		المتوسط \pm SD	المتوسط \pm SD	المتوسط \pm SD
الإيثانولي	0	0.00 \pm 0.00 ^a	0.00 \pm 0.00 ^a	0.00 \pm 0.00 ^a
	0.25	20.82 \pm 33.33 ^b	15.28 \pm 63.33 ^{bc}	5.77 \pm 70.00 ^b
	0.5	5.77 \pm 43.33 ^b	15.28 \pm 76.67 ^{bc}	5.77 \pm 83.33 ^c
	1.0	5.77 \pm 53.33 ^b	5.77 \pm 83.33 ^{cd}	5.77 \pm 96.67 ^d
	2.0	15.28 \pm 66.67 ^c	5.77 \pm 93.33 ^d	0.00 \pm 100 ^d
الكلوروفورم	0	0.00 \pm 0.00 ^a	0.00 \pm 0.00 ^a	0.00 \pm 0.00 ^a
	0.25	5.77 \pm 23.33 ^b	5.77 \pm 53.33 ^b	10.00 \pm 60.00 ^b
	0.5	5.77 \pm 36.67 ^c	5.77 \pm 66.67 ^c	10.00 \pm 73.33 ^c
	1.0	5.77 \pm 43.33 ^{cd}	10.00 \pm 70.00 ^c	5.77 \pm 86.67 ^d
	2.0	5.77 \pm 56.67 ^d	10.00 \pm 83.33 ^d	5.77 \pm 93.33 ^d

2.3 العوامل المؤثرة على زيادة الكفاءة الحيوية لمستخلصات قشور الرمان في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة.
أشارت نتائج الدراسة في جدول (2) بأن نوع المستخلص والتركيز المستخدم ومدة التعرض من أهم العوامل المؤثرة على زيادة الكفاءة الحيوية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة.

1.2.3 نوع المستخلص

أثر نوع المستخلص المستخدم في الدراسة تأثيراً معنوياً واضحاً على الكفاءة الحيوية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة، حيث بلغت قيمة F لتأثير نوع المستخلص على الكفاءة الحيوية للمستخلصات (21.97) مع قيمة احتمالية ($P=0.000016$) جدول (2)، وهو ما يشير إلى وجود فرق معنوي واضح في كفاءة المستخلصين الإيثانولي والكلوروفورم لقشور الرمان في التأثير على نسب موت للحشرات المعاملة، حيث كان المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان أكثر كفاءة من مستخلص الكلوروفورم في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة، وقد ترجع هذه الفروق في الكفاءة الحيوية للمستخلصات المستخدمة نتيجة الاختلاف في قطبية وقدرة كل مذيب على استخلاص المركبات الفعالة بيولوجياً، حيث يعتبر الإيثانول مذيباً "قطبياً" ذو استقطاب عالي الكفاءة في استخلاص كمية كبيرة من المركبات الفعالة ذات نشاط بيولوجي معروف في التأثير على الحشرات، مثل الفينولات، الفلافونويدات، التانينات، القلويدات، والستيرولات النباتية، والتي تتمتع بخصائص مضادة للأكسدة، أو تعمل كمثبطات للأنزيمات أو سُموم عصبية للحشرات بينما الكلوروفورم مذيب غير قطبي ذو كفاءة أقل في استخلاص المركبات الفعالة [28,4]، وهذا يؤكد ما توصل إليه [29] بأن نوع المذيب المستخدم في استخلاص المركبات الفعالة من النباتات يؤثر على قوة التأثير البيولوجي للمستخلصات ضد الحشرات، إذ تختلف كفاءة الاستخلاص باختلاف قطبية المذيب ومحتواه من المركبات الفينولية والقلويدات، فالمذيبات القطبية تحتوي جزيئات نشطة بيولوجياً أكثر فاعلية في استخلاص المركبات الفعالة من المذيبات الغير قطبية، وكذلك أوضح [30] في دراسة قام بها إلى أن المذيبات القطبية تنتج مستخلصات أكثر فاعلية ضد الحشرات من المذيبات الغير قطبية، وكما أشار كل من [32,31] إلى أن الإيثانول مذيب قطبي ذو كفاءة عالية في استخلاص مركبات فعالة ذات نشاط حشري قوى مقارنة بالمذيبات الغير القطبية مثل الكلوروفورم.

2.2.3 التركيز

أظهرت التراكيز المستخدمة في الدراسة تأثيراً معنوياً عالياً على الكفاءة الحيوية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان في التأثير على نسب الموت للحشرات المعاملة حيث بلغت قيمة F لتأثير التركيز (285.14) مع قيمة احتمالية ($P < 0.00000001$) جدول (2)، وهذا يدل على وجود علاقة طردية قوية بين زيادة التركيز والكفاءة الحيوية للمستخلص، حيث كلما زاد التركيز زادت فاعلية المستخلص وارتفعت نسبة الموت، وهذه النتيجة تتفق مع أشار إليه [5] على أن الفاعلية الحشرية للمستخلصات النباتية تكون مرتبطة مباشرة بتركيز المكونات النشطة المستخلصة، وكذلك أكد [4] على أن تركيز المستخلص النباتي يعد محدداً رئيسياً لفعالته الحشرية، وكما أشار أيضاً [33] إلى أن الزيادة في الجرعة ترتبط بزيادة القدرة القاتلة ضد الافات، وهذه النتائج تتوافق مع القاعدة الفسيولوجية للجرعة-

الاستجابة Dose-response relationship والتي تشير إلى أن زيادة تركيز المادة الفعالة تعني وجود كمية أكبر من المركبات النشطة مثل القلويدات أو الفينولات التي تتفاعل مع النظام الحيوي للحشرة مثل الجهاز العصبي أو الأنزيمات الحيوية مما يزيد من احتمالية حدوث التأثير السمي أو الفسيولوجي المميت [35,34].

3.2.3 فترة التعرض

كان لفترة التعرض تأثير معنوي واضح على الكفاءة الحيوية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان في التأثير على نسب الموت للحشرات المعاملة حيث بلغت قيمة F لتأثير فترة التعرض (114.63) مع قيمة احتمالية ($P < 0.000001$) جدول (2)، مما يشير إلى أن مدة التعرض للمستخلص لها دور فعال جداً في زيادة الكفاءة الحيوية للمستخلصات وزيادة نسبة الموت حيث كلما زادت فترة التعرض للمستخلص زادت فاعلية المستخلص وزادت نسبة التأثير، وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار إليه [37,36] من أن فاعلية المستخلصات النباتية تعتمد بشكل كبير على زمن التعرض، وأن المركبات النشطة تتطلب مدة طويلة نسبياً لأحداث التأثير القاتل مما يتطلب فترات تقييم تتجاوز 24 ساعة لضمان دقة الحكم على الفاعلية البيولوجية للمستخلصات، هذا التأثير قد يرجع إلى الطبيعة الخاصة للمركبات النباتية النشطة التي لا تحدث تأثير سمي فوري كما تفعل المبيدات الكيميائية ذات التأثير السريع بل تعتمد على آلية تراكمية أو تأثيرات فيزيولوجية مؤجلة تؤثر على عمليات حيوية مهمة في الحشرة مثل التغذية، الهضم، التنفس، التمثيل الغذائي، والنمو مما يؤدي إلى اضطرابات تؤثر على الحياة تدريجياً ثم في النهاية تؤدي إلى الوفاة [37,4] وكذلك أشار [38,41] إلى أن استمرار التلامس أو التغذية على المادة المعالجة يساهم في تراكم المادة الفعالة داخل أنسجة الحشرة مما قد يعيق وظائفها الحيوية ببطء ويضعف من كفاءتها الحيوية و يؤدي بها في النهاية إلى الموت.

4.2.3 التفاعلات بين العوامل

لم يكن هناك تأثير معنوي لتفاعل بين نوع المستخلص والتركيز ($P=0.2399$) ولا بين نوع المستخلص وفترة التعرض ($P=0.950$) في التأثير على الكفاءة الحيوية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان جدول (2)، مما يشير إلى أن تأثير كل من العاملين مستقل عن الآخر بحيث لا يوجد تأثير متداخل بين هذه العوامل في هذه الدراسة وهذا يدل على أن تأثير التركيز كان ثابتاً تقريباً في كلا المستخلصين الإيثانولي والكلوروفورم وأن فاعلية التراكيز لم تختلف باختلاف نوع المستخلص، وكذلك اختلاف فترة التعرض (الزمن) لم يحدث فرق واضح في فاعلية المستخلصين في التأثير على نسب الموت، بمعنى أن كفاءة كل من المستخلصين ازدادت مع الزمن بشكل متشابه وهي نتيجة طبيعية عند استخدام مركبات مستقلة التأثير، وهذا يتفق مع ما أشار إليه [6] إلى أن بعض المستخلصات النباتية تظهر تأثيراً فردياً واضحاً دون تدخل معنوي عند دمجها مع متغيرات أخرى مثل التركيز أو الزمن وكذلك أكد [39,38] على أن التأثيرات الفردية للمركبات النباتية قد تكون واضحة دون تفاعل قوي عند الجمع بين أكثر من متغير.

كما أوضح [41,40] أن الاستجابات البيولوجية للحشرات تجاه العوامل الفردية تكون مستقلة إذا لم يكن هناك تعزيز كيميائي أو بيولوجي متبادل، وبالمقابل كان هناك تأثير معنوي لتفاعل بين التركيز والزمن وبين زيادة الكفاءة الحيوية لمستخلصات قشور الرمان في التأثير على نسب الموت للبالغات المعاملة حيث بلغت قيمة F لتأثير التفاعل بين التركيز والزمن (7.53) مع قيمة

المتأخرة (بعد 7 أيام من المعاملة) تعكس تزايد حدة العلاقة بين التركيز والاستجابة وهو ما يدل على أن التأثير السام للمستخلص يزداد بزيادة فترة التعرض نتيجة التأثير التراكمي للمستخلص وهذا النمط من الاستجابة الطردية يرتبط بالتراكم التدريجي للمركبات الفعالة داخل جسم الحشرة، وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار إليه [35] إلى أن زيادة زمن التعرض تؤدي إلى انخفاض تدريجي في قيم LC_{50} مما يعكس زيادة فاعلية المادة النشطة نتيجة تراكمها داخل الأنسجة الحيوية للحشرة، وكذلك أشار [44,43] في دراسة قام بها أن العديد من المستخلصات النباتية أظهرت كفاءة سمية عالية في التأثير على الحشرات بعد 72 ساعة من المعاملة مقارنة بـ 24 ساعة وذلك بسبب تراكم المركبات النشطة وتأثيراتها المتأخرة على الجهاز العصبي للحشرة وهذه التأثيرات قد تكون بطيئة ولكنها فعالة عند التراكم وتتميز بكونها ذات انتقائية عالية مقارنة بالمبيدات الكيميائية التقليدية.

جدول 3: الكفاءة السمية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدفية بعد 24 و 48 ساعة و 7 أيام من المعاملة.

نوع المستخلص	فترة التعرض	LC_{50} (%)	LC_{90} (%)	Slope	Intercept
الإيثانولي	24 ساعة	0.71	17.99	0.91	0.137
	48 ساعة	0.16	1.53	1.20	1.060
	7 أيام	0.13	0.59	2.24	1.1800
	24 ساعة	1.35	30.69	0.94	0.124-
الكوروفورم	48 ساعة	0.20	5.24	0.90	0.635
	7 أيام	0.17	1.39	1.40	1.082

4.4 الاستنتاجات:

- المستخلصات النباتية لقشور الرمان كان لها كفاءة حيوية عالية في التأثير على نسب الموت لبالغات خنفساء الدقيق الصدفية المعاملة وتزداد نسب الموت بزيادة التركيز وزيادة فترة التعرض للمستخلص.
- المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان كان أعلى كفاءة من مستخلص الكوروفورم في التأثير على نسب الموت مما يشير إلى أهمية نوع المذيب المستخدم في استخلاص المركبات الفعالة في التأثير على فاعلية النشاط البيولوجي للمستخلص ضد الحشرات.
- نوع المستخلص المستخدم والتركيز المستخدمة وفترة التعرض من أهم العوامل التي لها تأثير معنوي عالي على زيادة الكفاءة الحيوية للمستخلصات المستخدمة.
- أظهرت المستخلصات النباتية لقشور الرمان تأثيراً سميماً واضحاً ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدفية عبر جميع فترات التعرض وتمثل ذلك في قيم LC_{50} و LC_{90} . وكما أن الانخفاض التدريجي في قيم LC_{50} و LC_{90} مع زيادة فترة التعرض يعكس قوة فاعلية التأثير التراكمي للمركبات الفعالة المستخلصة في التأثير على الحشرات مع زيادة فترة التعرض.

5. التوصيات

- أجراء دراسات أكثر على مستخلصات قشور الرمان وزيادة أثبات فاعليتها كمبيدات طبيعية آمنة على البيئة وصحة الإنسان.
- عزل المركبات الفعالة من قشور الرمان ودمجها مع مستخلصات نباتية أخرى لزيادة الكفاءة الحيوية للمستخلصات في مكافحة الآفات.
- دراسة فاعلية هذه المستخلصات ضد أنواع أخرى من آفات الحبوب المخزونة والحقلية.
- توجيه البحوث المستقبلية نحو التعرف على المركبات النشطة المسؤولة عن التأثير السمي لقشور الرمان.

احتمالية ($P=0.0000007$) جدول (2)، مما يدل على أن فاعلية أو كفاءة التراكيز في التأثير على الحشرات تتغير باختلاف فترات التعرض وتزداد مع زيادة فترة التعرض، وقد تكون بعض التراكيز فعالة على المدى القصير وأخرى فعالة على المدى الطويل وهذا مهم في تحديد الجرعة المثلى للموت حسب الزمن وهو ما أكدته [43,42] في دراسة قام بها على أن فاعلية الجرعة ومدة التعرض تعد حاسمة في تحديد فاعلية المبيد الحيوي. في حين أن التفاعل الثلاثي بين نوع المستخلص والتركيز والزمن لم يظهر تأثير معنوي على نسب الموت في البالغات المعاملة ($P=0.99999$) مما يشير إلى أن الجمع بين العوامل الثلاثة لم ينتج عنه أي تأثير إضافي على الكفاءة الحيوية للمستخلصات في التأثير على نسب الموت.

جدول 2: العوامل المؤثرة على زيادة الكفاءة الحيوية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان في التأثير على نسبة الموت للبالغات المعاملة.

العامل	قيمة F	القيمة الاحتمالية (P-value)	الدالة المعنوية
نوع المستخلص	21.97	0.000016	****
التركيز	285.14	0.000001>	****
الزمن	114.63	0.000001>	****
التفاعل (المستخلص × التركيز)	1.42	0.2399	NS
التفاعل (المستخلص × الزمن)	0.05	0.950	NS
التفاعل (التركيز × الزمن)	7.53	0.0000007	***
التفاعل الثلاثي (المستخلص × التركيز × الزمن)	0.03	0.99999	NS

* تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية 0.05

** تدل على وجود فرق معنوي قوي عند مستوى معنوية 0.01

*** تدل على وجود فرق معنوي قوي جداً عند مستوى معنوية 0.001

**** تدل على وجود فرق معنوي قوي جداً "جدا" عند مستوى معنوية 0.0001

NS تدل على عدم وجود فرق معنوي

3.3 الكفاءة السمية للمستخلصات النباتية لقشور الرمان ضد بالغات خنفساء الدقيق الصدفية.

أشارت النتائج في جدول (3) بأن المستخلصات النباتية لقشور الرمان المستخدمة في الدراسة كان لها تأثيراً ساماً واضحاً على بالغات خنفساء الدقيق الصدفية بعد 24 و 48 ساعة و 7 أيام من المعاملة وتمثل ذلك في قيم LC_{50} و LC_{90} للمستخلصات المستخدمة، وكان المستخلص الإيثانولي لقشور الرمان الأعلى سمية من مستخلص الكوروفورم حيث بلغ قيمة LC_{50} و LC_{90} للمستخلص الإيثانولي 0.71% و 17.99% والمستخلص الكوروفورم 1.35% و 30.69%، وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار إليه [32] بأن المستخلصات النباتية المستخلصة بمذيبات قطبية مثل الإيثانول أظهرت تأثيراً ساماً أعلى من تلك المستخلصة بالهكسان أو الكوروفورم.

كما لوحظ أن سمية هذه المستخلصات زادت بزيادة فترة التعرض وذلك من خلال انخفاض قيمة LC_{50} و LC_{90} بعد 48 ساعة من المعاملة إلى 0.16% و 1.53% للمستخلص الإيثانولي و 0.20% و 5.24% للمستخلص الكوروفورم واستمرت قيم LC_{50} و LC_{90} في الانخفاض بعد 7 أيام لتصل إلى 0.13% و 0.59% للمستخلص الإيثانولي و 0.17% و 1.39% للمستخلص الكوروفورم مما يشير إلى زيادة كفاءة المستخلصات النباتية لقشور الرمان في أحداث السمية مع زيادة فترة التعرض ومع كفاءة أعلى للمستخلص الإيثانولي حيث أن القيم العالية للميل (Slope) للمستخلص الإيثانولي (2.243) في الأزمنة

- [17] Azwanida, N., Mohamed, F., Arrmanian, N., Saidin, S. and Roslan, J. (2018). Solvent Extraction of Bioactive Compound from plants. *Industrial Crops and Products*,123,668-679.
- [18] Harris, D. C. (2016). Quantitative Chemical Analysis.W.H. Freeman and Company, New York, USA,19th,Chapter 2:pp35-37.
- [19] Ibrahim, S. S., El-Aswad, A. F., Badawy, M. E. L. and Mohamed, A.H. (2022). Comparative toxicity of *Punica granatum* against stored product insects :focuson *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*. *industrial Crops and products*,187:1-12.
- [20] Zhang,Y., Liu,Z., Wang,L. and Chen, X. (2021). Comparative solvent extraction efficiency in phytochemical analysis Ethanol vs.Chloroform. *Journal of chromatographyA*, 1655:118- 132.
- [21] Salim, A. M., Al-Zahrani,S.A. and Alotibi,M. K. (2022). Influence of extract concentration on insecticidal efficacy. *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(1), 89–97.
- [22] Mwangi, M. J., Ndegwa, P. N. and Mbugua, R. W. (2023). Plant extract dosage and pest mortality correlation in grain storage. *African Entomology*, 31(2), 233–240.
- [23] Ragavendran, C., Natarajan, D. and Kandasamy, A. (2020). Phytochemical concentration and insect mortality: A linear correlation. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 12–18.
- [24] Kavitha, S., Mani, R. and Senthil-Nathan, T. (2021). Dose-response analysis of plant extracts against *Tribolium castaneum*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(4), 1102–1109.
- [25] Khalil, A. H. and Dhoubi, M. A. (2021). Effect of exposure time on insecticidal activity of botanical oils. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 16(1), 37–45.
- [26] Obeng-Ofori, D. (2019). Plant-derived insecticides and exposure time: An entomological review. *Pest Management Science*, 75(8), 2010–2018.
- [27] Habib, R. A. and Khalil, N. M. (2023). Temporal efficacy of *Punica granatum* and *Azadirachta indica* extracts on mortality of *Tribolium castaneum*. *International Journal of Entomology Research*, 8(1), 45–52.
- [28] Copping, L. G. and Duke, S. O. (2007). Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, 63(6), 524–554.
- [29] Al-Mohammed, H. I., Al-Shammari, A. M., Al-Jassani, R. S. and Al-Farhan, S. A. (2022). Influence of solvent polarity on insecticidal efficacy of botanical extracts. *Journal of Stored Products Research*, 99, 102056.
- [30] Singh, P., Mishra, S.K., Pandey, R. and Singh, A. (2020). Solvent-dependent variability in the bioactivity of botanical insecticides. *Industrial Crops and Products*, 145, 111991.
- [31] Zhao, Y., Wang, L., Zhang, X. and Liu, H. (2021). Comparative efficacy of Ethanol and Chloroform extracts of plants against stored grain pests. *Crop Protection*, 139, 105353.
- [32] Nenaah, G. E. (2023). Botanical insecticides: Extraction methods and bioactivity. *Journal of Pest Science*, 96(2): 467–480.
- [33] Abdelgaleil, S. A. M., Mohamed, M. I. E., Badawy, M. E. I., and El-Arabi, S. A. A. (2016). Fumigant and contact toxicities of monoterpenes against *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum*. *Journal of Pest Science*, 89(2), 219-229.
- [34] Isman, M. B. (2020). Bioinsecticides based on plant essential oil: a short overview. *Zeitschrift für Naturforschung C Journal of Biosciences*,75(7-8):179-182.
- [35] Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K., and Khanuja, S. P. S. (2009). Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 31, 64–70.
- [1] Ali, H. M., Salem, M. Z. and Abel-Megeed, A. (2021). Potential use of pomegranate peel extracts against Scribed-product insects. *Insects*, 12(3):201-212.
- [2] Rajendran, S. and Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, 44(2), 126–135.
- [3] Sparks, T. C. and Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and Insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 122–128.
- [4] Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51(1):45-66.
- [5] Regnault-Roger, C., Vincent, C., and Arnason, J. T. (2012). Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57, 405–424.
- [6] Koul, O., Walia, S. and Dhaliwal, G. S. (2008). Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International*, 4(1), 63–84.
- [7] Al-Zahrani, H. S., Al-Fassi, M. A., Al-Malki, M., Al-Ghamdi, M. A. and Alghamdi, F. A. (2011). Antimicrobial and insecticidal activity of *Punica granatum* peel extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(18), 4504–4508.
- [8] Ghosh, A. K., Chandra, G. and Chatterjee, S. N. (2012). Niagr plant extracts as potential mosquito larvicides. *Indian Journal of Medical Research*, 135(5), 581–598.
- [9] El-Tarabily, K. A., (2020). Natural pesticides from pomegranate peel: Apromising approach for stored grain pest control. *Industrial Crops and Products*,145,112128.
- [10] Hisham, S. M., Mohammad, A. M. and Mohmmmed, M. J. (2022). The effect of extracts and phenolic compounds isolation from *Rosmarinus officinalis* plant Laves on *Tribolium castaneum* mortality. *International Journal of Drug Delivery Technology*,12(2)814- 819.
- [11] Gada, B.K., Marwa, R., Sahah,T.A., Dabiellil,M., Dawoud,T.,Bourhia, M., Tebra, T., Hadami, C., Tarek, S. and Chiraz, C. (2025). Phytochemical composition, antioxidant potential, and insecticidal activity of *Moringa oleifera* extracts against *Tribolium castaneum*: a sustainable approach to pest management. *BMC plant Biology* ,25(579):1-14.
- [12] Aboelhadid, S. M. and Youssef, I. M. (2021). Control of flour beetle (*Tribolium castaneum*) in feeds and commercial poultry diets via using a blend of clove and lemongrass extracts. *Environmental Science and Pollution Research*,28(23):30111-30120.
- [13] Abdullah, M. A., Elhadeeti, A. K. and Alshammari, N. S. (2025). Role of some plant powder in controlling the red flour beetle, *Tribolium castaneum* in the laboratory. *Nongye Jixie Xuebao/Trasactions of the Chinese Society Agricultural Machinery*, 56(1):35-44.
- [14] Mohammad, M. Y., Haniffa, H. M., and Shakya, A. K. (2024). Evaluation of five medicinal plants for the management of *Sitophilus oryzae* in stored rice and identification of insecticidal compound, *Heliyon*,10(10),e30793.
- [15] Sokoloff, A., Saylor, L. W. and LaBrecque, G. C. (1960). A simplified medium for rearing *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera:Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*,53(5):622-657.
- [16] Bakhshwain, A. A. and Alqurashi, A. D. (2010). Repellent and Inesectidal effects of some plant extracts on flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera:Tenebrionidae). *Alexandria Science Exchange Jornal*, 31(3):248-254.

(2011). Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. *Annual Review of Entomology*, 56, 43–62.

[41] Ahmad, M., Ghaffar, A. and Razaq, M. (2019). Toxic and repellent effects of plant extracts on *Tribolium castaneum*. *Pakistan Journal of Zoology*, 51(1), 211–218.

[42] Pimentel, D. (2005). Environmental and kind economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7(2), 229–252.

[43] Rani, N., Thakur, M. and Chauhan, A. (2021). Bioefficacy of plant-based extracts against stored grain pests. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2), 1201–1208.

[44] Rani, S., Bhat, M. Y. and Qayoom, A. (2021). Insecticidal potential of selected botanical extracts against stored grain pests. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1–7.

[36] Pavela, R., Maggi, F. and Benelli, G. (2016). Plant-derived insecticides: A review of their activity, mechanisms and commercial applications. *Trends in Plant Science*, 21(11), 905– 917.

[37] Rattan, R. S. (2010). Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection*, 29(9), 913–920.

[38] Al-Sharook, R. A., Alkeridis, K. M., Al-Deeb, M. A. and Muhammad, N. (2021). Evaluating interaction effects among botanical insecticide variables. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 54(7–8), 786–798.

[39] Hassan, M. Y., Ibrahim, S. A. and El-sayed, A. M., (2022). Synergistic versus independent action of plant-derived compounds on insect pests. *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 38(2): 97–106.

[40] Guedes, R. N. C., Smagghe, G., Stark, J. D. and Desneux, N.