

التغيرات النسجية لمبيدات النواعم (methiocarb) على ديدان الأرض *Lumbricus terrestris* .

خنساء سلمان فرمان *

*مدرس مساعد - قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى . khansaasf@yahoo.com

المستخلص

تعتبر التغيرات النسجية التي تسببها الملوثات أداة حساسة لتحديد التأثير المباشر لتلك الملوثات لذا كان الهدف من الدراسة تحديد التغيرات التي يسببها مبيد الميثيوكارب لديدان الأرض عند تعريضها لتركيزين تحت المميت من المبيد 200 و400 ملغم / كغم لمدة 10 أيام . أظهرت النتائج بان التعرض للمبيد احدث عدة تغيرات كتمزق جدار الجسم وحصول تحلل لطبقة الكيوتكل والطبقة العضلية الدائرية لجدار الجسم كما لوحظ التحام الزغابات في الأمعاء فضلا عن التغيرات السلوكية ابتداء من الأيام الأولى للتعرض كعدم قدرة ديدان الأرض على حفر التربة. **الكلمات المفتاحية:** ديدان الأرض ، تغير نسيجي ، مبيد القواقع ، ميثيوكارب .

المقدمة

المبيدات مركبات كيميائية يجري اختيار مدى فائدتها وفعاليتها قبل استعمالها يمكن أن تكون مؤذية للإنسان والحيوان والبيئة إذا أسيء استخدامها. وهذه المعلومات عن التعرض يمكن الحصول عليها عن طريق الاختبارات التي تحصل لدراسة تأثير المبيدات على الأحياء. ويعد مبيد الميثيوكارب ($C_{11}H_{15}NO_2S$) من المبيدات غير الجهازية تنتمي إلى مجموعة الكربامات التي تقتل الأحياء المستهدفة عن طريق تأثيرها على فعالية إنزيم الاسيتال كولين استريز في الجهاز العصبي (Essawy وآخرون، 2008).

بدا استخدام هذا المبيد بنطاق واسع في الستينيات من القرن الماضي كمبيد للعديد من الآفات اللاقصرية وبشكل أساسي للسيطرة على النواعم (Ozden وآخرون، 2009) كما إن الكربامات تمثل 90 % من مجموع المبيدات الأوربية للمبيدات (Hamamura وآخرون، 2010) ، إلا أن الاستعمال غير الصحيح لهذا المبيد يسبب أضراراً بيئية كبيرة وخاصة بتأثيرها على الأحياء اللاقصرية الأخرى غير المستهدفة ومنها ديدان الأرض التي تشكل الكتلة الحيوية الأكبر بما يقارب 80 % من الكتلة الحيوية للتربة (Vergucht وآخرون، 2006) والتي تلعب دوراً مهماً في هيكلية التربة والمحتوى الغذائي لها من خلال إنتاجها للمادة العضوية التي تعمل على زيادة إنتاجية وخصوبة التربة فضلاً عن عملها في إعادة تدوير المغذيات . كما تعد مهمة بيئياً لأنها تتعرض إلى الكثير من الملوثات بطريقة غير مباشرة لذلك فإنه حتى الديدان الميتة منها يمكن أن تؤثر على الأحياء الأخرى ذات الموقع الأعلى منها في السلسلة الغذائية أثناء تغذيتها على الديدان الملوثة بالمبيد فهي بذلك تعد دليلاً لملاحظة الجاهزية الحيوية للملوثات في التربة فهي تستخدم لتقدير التأثيرات المميتة وتحت المميتة للملوثات (Delahaut و Koval، 2010) كما أنها تؤثر على استمرار وجود الملوثات في التربة وانتقالها إلى طبقات أعمق في التربة من خلال عمليات الحفر التي تقوم بها (Gobi و Gunasekaran ، 2010) فهي تزيد من ارتباط جزيئات التربة بجزيئات المبيد أو عن طريق امتصاص المبيد، فضلاً عن توافرها بصورة مستمرة وسهولة الحفاظ على حيويتها تحت الظروف المختبرية (Aly و Schroder، 2008) . فهي مناسبة لان تكون دليلاً حيوياً للتلوث الكيميائي للتربة في النظم البيئية حيث تمثل الإنذار المبكر لتدهور نوعية التربة (Abd Elrida و Bouche، 1997)، فقد جرى اختيارها من قبل الاتحاد الأوربي (EU) ومنظمة التنمية والتعاون الاقتصادي (OECD) لاستخدامها كإحدى مجموعة الدلائل الحاسمة لتقييم سمية المواد الكيميائية في التربة (Edwards وآخرون ، 2009) .

تاريخ تسلم البحث 2013 / 1 / 7

تاريخ قبول النشر 2013 / 12 / 15

واستخدمت بشكل واسع لاختبار التأثيرات المميتة للملوثات فضلا عن التأثيرات تحت المميتة أو المزمنة كتأثيرها على التكاثر وإنتاج الشرائق (Muthukaruppan وآخرون، 2004) وعلى جهاز المناعة لديها وأحداث تغيرات نسيجية عليها إلا أن الدراسات النسجية التي أجريت كانت قليلة بالرغم من أهميتها وحساسيتها (Booth وآخرون، 2000) .
يهدف هذا البحث إلى تحديد التغيرات النسجية التي تسببها التراكيز تحت المميتة لمبيد الميثوكارب لنسج الجلد والأمعاء في ديدان الأرض لأنها واحدة من أهم الطرق لامتنصاص الملوثات في الأحياء (Mckenny، 1994) .

المواد وطرائق البحث

1 - جمع العينات

جمعت عينات ديدان الأرض البالغة التي تحتوي على تركيب السرج ووضعت في أوعية بلاستيكية تحتوي على (تربة طينية- رمل- غرين- مواد عضوية) بارتفاع 15سم (Jongmans وآخرون، 2001) وحفظت في ظروف مختبرية بدرجة حرارة (25-30) مئوية لمدة أسبوع لأقلمتها قبل إجراء التجربة .

2 - اختبار السمية

عرضت ديدان الأرض إلى تركيزين تحت مميتين تم التوصل لهما بعد إجراء عدة اختبارات أولية 200 و 400 ملغم / كغم لمبيد الميثوكارب خلطت مع التربة ولمدة عشرة أيام تحت الظروف المختبرية وكررت المعاملات ثلاث مرات وكل مكرر عبارة عن 10 ديدان بالغة .

3-التحضيرات النسجية

في نهاية الاختبار غسلت الديدان الحية بالماء المقطر وأجريت عليها عمليات التحضير النسجي الاعتيادية حيث عرضت لتراكيز متزايدة من الكحول ثم طمرت في شمع البرافين وقطعت إلى مقاطع بسمك 5 مايكروميتر ثم صبغت بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (Altinko و Capkin، 2007) .

التحليل الإحصائي

اجري التحليل الإحصائي باستخدام تحليل التباين و استخدم اختبار اقل فرق معنوي لتحديد الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات عند مستوى احتمال 0.05 .

النتائج والمناقشة

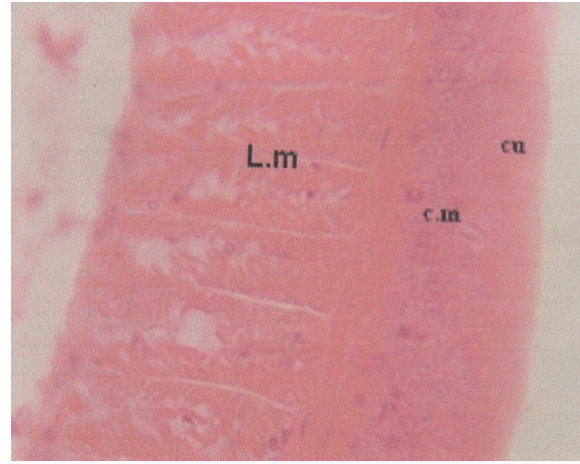
يتكون جدار الجسم في ديدان الأرض من طبقة كيوكتل وطبقة عضلات دائرية ثم طولية (Moore، 2006) كما في الصورة 1. إن التعرض لمبيد الميثوكارب أو أية مادة ملوثة أخرى تعتمد على تركيز الملوث ومدة التعرض (Barker، 2002) ، فقد أظهرت الدراسة النسجية لجدار الجسم في دودة الأرض وجود فروقات معنوية في سمك الجدار بين المعاملات المختلفة، فبعد تعرضها إلى مبيد الميثوكارب بتركيز 200 ملغم / كغم تحلل في طبقة الكيوكتل وعدم تأثر الطبقة العضلية بالمبيد عند هذا التركيز (الصورة 2) .

و عند التعرض لتركيز 400 ملغم / كغم لوحظ تحطم طبقتي الكيوكتل والطبقة العضلية الدائرية لجدار الجسم (صورة 3) وهذا ما ظهر أيضا في الدراسة النسجية التي أجراها Reddy و Rao (2008) عند استخدامهما لمبيد profenose على ديدان الأرض فقد لاحظا فشلاً في تنظيم السائل الجوفي مما أدى إلى تجزئة ديدان الأرض وتحطم العضلات في جدار الجسم.

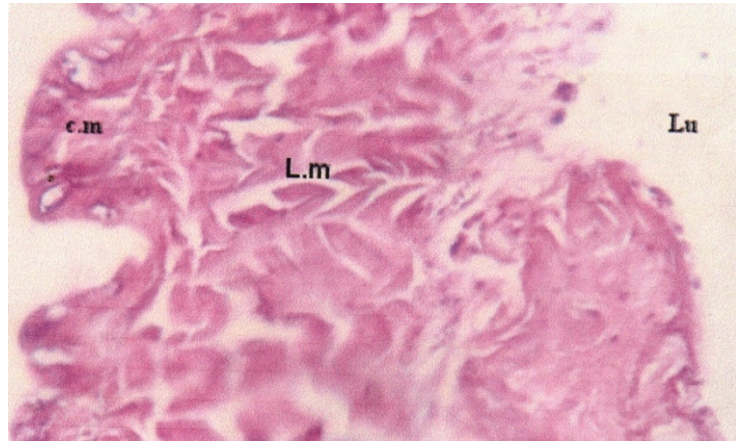
جدول 1. سمك جدار الجسم في دودة الأرض .

المعدل (μ)	R3	R2	R1	المعاملة ملغم /كغم
7.0	7.2	7.3	6.5	control
7.5	7.6	6.9	7.0	200
4.0	4.1	4.2	3.7	400
	0.618			قيمة L.S.D. 0.05

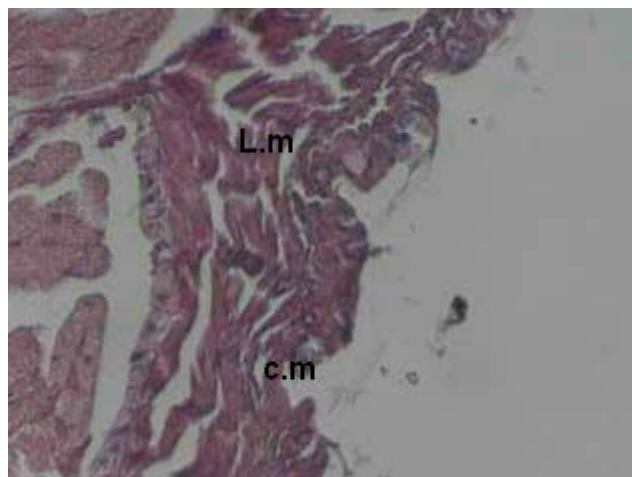
R* مكررات المعاملة



صورة 1. طبقات جدار الجسم لدودة الأرض في الحالة الطبيعية (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين x40) حيث يمكن ملاحظة طبقة الكيوتكل (Cu) وطبقة العضلات الدائرية (C.m.) وطبقة العضلات الطولية (L.m.)



صورة 2 . جدار الجسم في دودة الأرض عند تعرضها لمبيد الميثوكارب بتركيز 200 ملغم / كغم لمدة 10 أيام (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين x40) .
يظهر المقطع الطولي لجدار الجسم تحللاً طفيفاً في طبقة الكيوتكل وبقاء طبقتي العضلات الدائرية (C.m) والطولية (L.m) بدون تغيير وكذلك التجويف المعوي (Lu).



صورة 3. يوضح جدار الجسم لدودة الأرض بعد تعرضها لمبيد الميثوكارب بتركيز 400 ملغم / كغم لمدة 10 أيام (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين $\times 40$). يظهر من المقطع الطولي تحلل طبقة الكيوتكل وتحطم طبقة العضلات الدائرية (C.m).

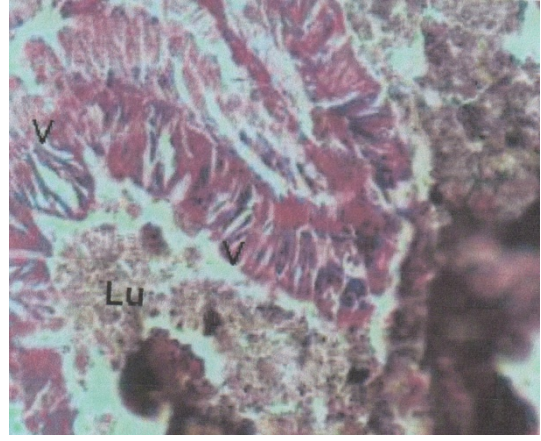
لمبيدات الكاربامات القدرة ومنها مبيد الميثوكارب على الذوبان في الدهون مما يسهل اختراقها للغشاء الخلوي ودخول الخلية وتسبب تحطم أغشية الشبكة الاندوبلازمية الداخلية وجهاز كولجي واستمرار التعرض تسبب تحلل النواة وبالتالي تحطم الخلية بالكامل (Barker، 2002). وأظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي لسماك جدار الأمعاء عند تعرضها للمعاملات المستخدمة من المبيد ، ولوحظ عند تعريضها إلى مبيد الميثوكارب بتركيز 200 ملغم / كغم حدوث التحام للزغابات (الصورة 5)، وعند زيادة تركيز المبيد إلى 400 ملغم / كغم حدث تحطم البطانة الطلائية للأمعاء في أجزاء كبيرة منها (الصورة 6) فالخلايا العمودية المبطنة للأمعاء تكون خازنة للدهون والمبيد يعمل في اختزال الدهون فيها فضلا عن اختراقها الغشاء البلازمي لخلايا البطانة وتحطيم مكوناتها وبالتالي تحطيم خلايا البطانة المعوية (Barker، 2002)، وفي نفس التركيز لوحظ تسبب المبيد بنمو مفرط والتحام في الزغابات وهذا ما ظهر أيضا في دراسة أخرى عند تعريض ديدان الأرض لمبيد Butchler (Gunasekaran و Gobi، 2010).

إن هذه التغيرات التي تحدث في نسيج الأمعاء تؤدي إلى اختزال مساحة سطح الامتصاص للغذاء ، كما أن لهذا المبيد القدرة على التأثير المباشر على النواقل العصبية فهي تثبط عمل إنزيم الاسيتل كولين استيريز وبالتالي تأثيره على نقل الإيعاز العصبي إلى العضلات الجسمية ومنها عضلات الجهاز الهضمي فتسبب شللاً في تلك العضلات وتوقف عملية التغذية (Barker، 2002) كل ذلك يؤدي إلى تقليل الكتلة الحية للديدان.

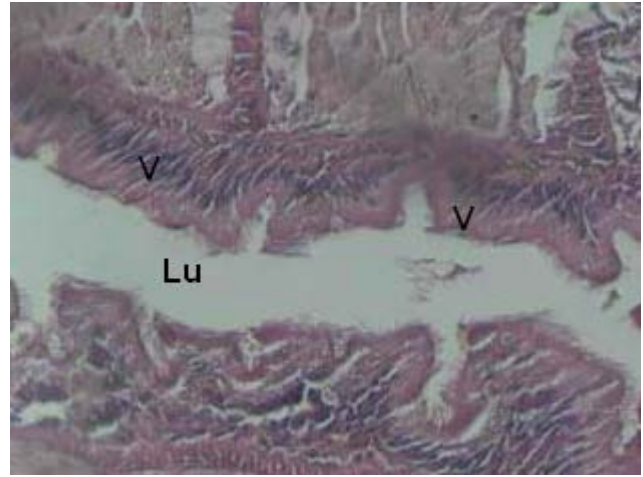
جدول 2. سمك جدار الأمعاء في دودة الأرض .

المعدل (μ)	R3	R2	R1	المعاملة ملغم /كغم
2.5	2.5	2.0	3.0	control
2.5	2.9	2.6	2.0	200
2.2	2.3	2.4	1.9	400
	لا يوجد فرق معنوي			قيمة L.S.D. 0.05

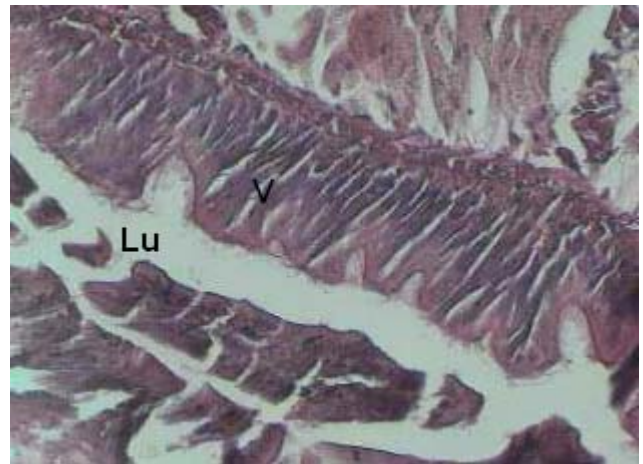
R* مكررات المعاملات



صورة 4. جدار الأمعاء لدودة الأرض في الحالة الطبيعية (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين x40). يظهر في المقطع الزغابات (V) تجويف الأمعاء (Lu).



صورة 5. توضح جدار الأمعاء في دودة الأرض عند تعرضها لمبيد الميثوكارب بتركيز 200 ملغم /كغم لمدة 10 أيام (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين x40) يظهر في المقطع النسيجي التهام للزغابات (V).



صورة 6 . توضح جدار الأمعاء في دودة الأرض عند تعرضها لمبيد الميثوكارب بتركيز 400 ملغم / كغم لمدة 10 أيام (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين x40) ، يظهر من المقطع النسيجي التهام الزغابات (V) فضلا عن تحطم جزء من نسيج الأمعاء إلى التجويف المعوي (Lu).

كما لوحظ أن التعرض للمبيد سبب تضخم الحلقات في منطقة السرج وزيادة الإفرازات المخاطية فيها خاصة وفي باقي الحلقات الجسمية عامة ,ويحدث ذلك كرد فعل لسمية المبيد فهذه الإفرازات تعمل كحاجز يحمي الجسم من الاتصال المباشر مع المبيد إلا إن الجسم خلالها يحتاج إلى صرف الكثير من الطاقة فضلا عن أنها تسبب انخفاضا في مستوى السوائل الجسمية وبالتالي جفافها (Barker , 2002). علاوة على التغيرات النسجية التي تمت ملاحظتها فقد أظهرت الدراسة عدة تغيرات سلوكية في الساعات الأولى من التعرض للمبيد تمثلت بانخفاض معدل الحركة والحفر في التربة وذلك للتأثير المثبط للمبيد على إنزيم الاستيل كولين استريز الذي يؤثر على الاستجابة العصبية وبالتالي على حركة التقلص والانبساط للعضلات الجسمية (EFSA, 2006) .

المصادر

- Abdel Rida ,A. and M. Bouche . 1997. Heavy metal linkages with mineral, organic and living soil compartments .*Soil Bio. and Biochem.*, 29(3-4):649-655.
- Altinko,I. and E. Capkin .2007.Histopathology of Rainbow trout exposed to sublethal concentration of methiocarb or endosulfan .*Toxico. Patho.* 3(3):405-410.
- Aly ,A. and P. Schroder. 2008. Effect of herbicides on glutathion S- transferase in the earthworm *Eisenia fetida*. *Envir. Scie. Poll. Res.*, 15 (2) :143 –149.
- Barker,G.M.2002. Molluscus as crop pests.guildford and lynn,UK.
- Booth .L. H., V. J. Heppelthwaite, and K.O. Halloran.2000.Growth development and fecunadity of the earthworm *Aporrectodea callginosa* after exposure to two an organophosphat .*Newz. Plant Prot.* 53: 221 -225
- Delahaut, K. A. and C. F. Koval.2010. Alabrotory study of earthworm mortality to select insecticides. <http://wihort.uwex.edu.truf/labstady.htm>
- Edwards,C. , N.Arancon, M. Vasko-Bennett , and A. Askar. 2009. The relative toxicity of metaldehyde and iron phosphate-based molluscicides to earthworms.*Crop Prot.* ,28(4): 289-294.
- EFSA, 2006. Conclusion regarding the reviw of the pesticide risk assesme-nt of the active substance.*EFSA Scientific Report* .79:1-82 .
- Essawy,A.,N.Abdelmeeguied, M.Radwan, S.Hamed and A.Hegaz. 2008.Neuropathological effect of carbamate molluscicide on the land snail *Eobania vermiculata* . *Cell bio. Toxic.*, 25(3):275-290.

- Gobi, M. and P. Gunasekaran. 2010. Effect of Butchler herbicide on earthworm *Eisenia fetida* –its histological perspicuity. *Appl. and Envir. Soil Sci.* 82-84.
- Hamamura, N., S. Suzuki, S. Mendo, C. Barroso, and H. Iwata. 2010. Interdisciplinary studies on environmental chemistry -biological responses to contaminants. *Brandt.* pp.139-147.
- Jongmans, A.G., M.M. Pulleman, and J.C. Mavinissen. 2001. Soil structure and earthworm activity in marine silt loam under pasture versus arable land. *Bio. and Fert. of Soil.* 33(4):279-285.
- Mckenny, F.A. 1994. The toxicity, absorption and elimination of chromium and selenium compounds. Thesis. San Jose State University.
- Moore, J. 2006. An introduction to the Invertebrates 2nd ed. Cambridge University press.
- Muthukaruppan, G., S. Janardhanan, and G. Vijayalakshmi. 2004. Sublethal toxicity of the herbicide butachlor on the earthworm *Perionyx sansibaricus* and its histological change. *J. of Soil and Sed.* 5(2) :82-86.
- Ozden, S., B. Catalgol, S. Gezginci-Oktayoglu, P. Arda-Pirincci, and S. Blken. 2009. Methiocarb-induced oxidative damage following and subacute exposure: the protective effect of vitamin E and Taurine in rats. *Food and Chem. Toxic.* 47 (7):1676-1684.
- Reddy, N.C. and J. Venkateswara Rao. 2008. Biological response of earthworm *Eisenia fetida* (savigny) to an organophosphorous pesticide fenofos. *Ecotox. and Envir. Saf.* 71 (2) : 574- 582.
- Vergucht, S., S. Vogel, C. Missom, Urancken and K. Callebaut. 2006. Health and environmental of pesticide type 18 biocides (HEEPEBI). *Environmental Consultancy and Assistance (Ecolas).*

HISOLOGICAL CHANGE CAUSED BY THE MOLLUCICIDE ,METHIOCARB, ON EARTHWORMS *Lumbricus terrestris* .

Khansaa Salman Farman

* Biology dept.- College of Education for Pure Sciences – University of Diyala.
khansaa@yaho.com

ABSTRACT

The histological change caused by pollutants is considered as a sensitive tool to determine the direct effect of those chemical pollutants on the test organism. This study was done to determine changes caused by pesticide methiocarb in earthworms.

Exposure of earthworm to sublethal concentration (200 and 400) mg / kg for 10 days, caused several histological changes, including tearing the body wall, lysis cuticle and circular muscle layer of the body wall and fusion of villi , as well as decreasing their ability of soil burrowing .

Key words: Earth worm , Histological change , molluscicide, Methiocarb