دراسة جزيئية ونسجية لتأثير مبيد chlorpyrifos التجاري*

على ذكور الجرذان البيض البالغة

أ.م.د وجدان ثامر مهدي **محمد علي مطلب**

قسم علوم الحياة –كلية العلوم –جامعة القادسية

– الخلاصة

صمم البحث الحالي لدراسة تأثير حقن مبيد الكلوربيرفوس 1/30,1/20,1/10 ملغم / كغم من وزن الجسم من الجرعة القاتلة LD50 للمبيد وبواقع 0.1 مل يومياً ولفترتين 14,7 يوم من الحقن .لدراسة تأثير الكلوربيرفوس فيجميع التغيرات السريريةالعيانية والسلوكية . وتم أخذ منطقة ذيل البربخ لدراسة تركيز ومعالم النطف وكذالك تم استئصال عظام الفخذ وعظمة القصبة للساق لحيوانات التجربة لغرض دراسة معامل الانقسام الخلوي والتشوهات الكروموسومية لنوى خلايا نقي العظم وكانت التضحية على مراحل لتقنية المواضيع الأجزاء المدروسة .بينت النتائج حدوث انخفاض معنوي في وزن الجسم للحيوانات المعاملة بالمبيد وبجرع 1/0,/20 ملغم /كغم من وزن الجسم وللفترة 14 يوم من مبيد الكلوربيرفوس في حين لوحظ انخفاض في معدل الكسب الوزني للمجموعة المعاملة بجرعة 1/30ملغم /كغم من وزن الجسم ولنفس الفترة عند مستوى احتمالية($P<0.05$).لوحظ حدوث انخفاض معنوي في النسبة المئوية لوزن الكبد والكلية للمجاميع الثانية والثالثة والمعاملة بمبيد الكلوربيرفوس لفترة 14 يوم وكذالك عدم تأثر أوزان الكلية للمجاميع كافة لفترة 7 يوم ولوحظ وجود ارتفاع غير معنوي بمستوى احتمالية $P<0.05$ لوزن الدماغ للمجاميع الأولى والثانية لفترة 14 يوم ولوحظ وجود زيادة معنوية بين المجاميع الثانية والثالثة لفترة 14 يوم وبمستوى معنوية $P<0.05$. وبينت الدراسة ظهور واضح بأنخفاض معنوي في معدلات معامل الانقسام لمجاميع الحقن كافة لمدة 14 يوم ولوحظ عدم وجود فرق معنوي بمستوى معنوية $P<0.05$ بين مجاميع الدراسة الأولى والثانية مع مجموعة السيطرة لمدة 7 يوم وكذالك وجود فرق غير معنوي بين المجموعة الثالثة للحقن مقارنة مع مجموعة السيطرة لمدة 7يوم.وكذالك تم فحص الشرائح المدروسة من نخاع العظم وبينت النتائج حدوث تشوهات كروموسومية ،قلة عددالكروموسومات، اضمحلال كروموسومي ،حالات التصاق ،كرموسوم حلقي وتضاعف كروموسومي .أظهرت النتائج أن معدلات إعداد النطف أقل معنوية لمجاميع الحقن كافة لمدة 7 يوم ولوحظ انخفاض معنوي بمستوى معنوية $P<0.05$ في معدلات النطف ولمجاميع الحقن كافة للفترة 14 يوم .وبينت النتائج إن معدلات النسب المئوية لحركة النطف ومعدلات النسب المئوية للنطف السوية ولمجاميع الحقن كافة للفترة 14 يوم أقل معنوية $P<0.05$ مقارنة مع السيطرة وكذالك معدلات النسب المئوية لحيوية النطف معنوياً لم تتأثر في مجاميع الحقن(1/30) الفترة 7 يوم وبينت النتائج انخفاض معنوي $P<0.05$ لمعدلات النسب المئوية لحيوية وحركة ومعدلات النسب المئوية للنطف العيوشة والسوية ولمجاميع الحقن كافة للفترة 14 يوم.

كلمات مفتاحية :

جرذان ، كلوربيرفوس ، نخاع العظم ، نطف

- الذي استل من رسالة ماجستير من الباحث الثاني

- المقدمة

يعتبر مبيد الكلوربيرفوس هو ألأكثر استخداما بالعاملين في مكافحة الآفات لمكافحة الصراصير وغيرها من الحشرات المنزلية وهو من المركبات الحلقية المختلطة وهي جزيئات معقدة وهي بصفة عامة لها متبقيات أطول عمراً من العديد من المشتقات الأليفاتية أو مشتقات الفينيل ولها تأثير سام بتثبيط الإنزيمات الهامة في الجهاز العصبي وهي إنزيمات الكولين إستريز Cholinesterases(ChE) ويسبب تثبيط هذه الإنزيمات تراكم الأستيل كولين (Ach)الذي يتداخل مع الاتصال العصبي العضلي ،مسبباً انتفاضا سريعا للعضلات الإرادية وتسبب الشلل .(جورج وير،2003).يدخل CPF الجسم عن طريق الفم والرئتين والجلد يمر بسرعة من الأمعاء بعد أمتصاصةإلى مجرى الدم حيث يتم توزيعهإلى باقي أجزاء الجسم وقد يمر مباشرة إلى الدم عندما يدخل عن طريق التنفس والتعرض عن طريق الجلد الحالة لاشتمل الرضع والصغار لان النسيج بالنسبة لهم لايشابة البالغين (Asdr, 1998).ذكر (علاء الدين ، 2005).الـ CPF داخل الجسم الحي ويفعل أنزيمات الكبد يتحول إلى CPF-OXON مثلة مثل باقي المبيدات العضوية الفسفورية نتيجة تفاعلات التحولات الحيوية Biotransformation والتي من خلالها يتحول المبيد من مركب قابل في الدهون إلى نواتج أيضية أكثر قابلية للذوبان في الماء ومن ثم تكون هذه المبيدات أكثر قابلية للطرح إلى الخارج.تستخدم التحليلات الوراثية الخلوية بشكل واسع للكشف عن المواد المطفرة و المتسرطنة خارج وداخل جسم الكائن الحي .وتم دراسة تأثير المبيد على الوزن العام للجسم وعلى وزن الأعضاء بالنسبة لجسم الكائن الحي الكبد،الكلية والدماغ يعد تقدير الوزن والوزن النسبي للأعضاء والجسم معيارا مهما لتقيم لسمية العديد من المركبات ومعظم المبيدات الفسفورية العضوية تسبب في نقصان الوزن للجسم ووزن بعض الأعضاء حيوانات التجربة والتي يظهر فيها انخفاض في استهلاك الغذاء . (NahidA.Khtar et al

-المواد وطرق العمل :

أجريت هذة التجربة باستعمال48 جرذ مختبري تم تقسيمها حسب التركيز إلى ثلاث مجاميع وأعطيت جرع عن طريق الحقن IP بمبيد الكلوربيرفوسChlorpyrifos بالتراكيز التالية 1/10,1/20,1/30 mg/kgb.w/day من الجرعة القاتلة LD50لفترتين 7,14 يوم للمجاميع الثانية والثالثة والرابعة على التوالي. أما المجموعة الأولى فهي المجموعة الضابطة إذ تبقى على نظام غذائي (العليقة) إضافة إلى ماء الحنفية. شملت الدراسة التجارب التالية:-

التجربة الأولى :- تم اختيار24 جرذا" من الذكور البالغة بعمر 2-3 أشهر وقسمت هذه الجرذان إلى أربع مجاميع بواقع ستة حيوانات لكل مجموعة وكان الحقن يوميا" وكما مبين في أدناه:-

1- مجموعة السيطرة Control حقنت 0.1 مل /كغم بالمحلول الملحي الفسيولوجي (saline 0.9%) لمدة 7 أيام.

2-مجموعة المعاملةالأولى (T1)Treated group() حقنت 0.1 مل / كغم في IP من المبيد(CPF) لمدة 7 أيام وبتركيز 1/30 من الجرعة القاتلة .

3-مجموعة المعاملة الثانية(T2)(Treated group) حقنت في IP0.1 مل/ كغم من المبيد لمدة 7 أيام وبتركيز 1/20 ملغم /كغم من وزن الجسم من الجرعة القاتلة.

4-مجموعة المعاملة الثالثة(T3)(Treated group) حقنتفي IP0.1 مل / كغم من المبيد لمدة 7أيام وبتركيز 1/10 من الجرعة القاتلة .

التجربةالثانية :- تم اختيار نفس العدد والعمر في التجربة الأولىونفس تركيز الجرعةوقسمت إلى أربع

مجاميع بواقع ستة حيواناتلكل مجموعة وكان الحقن يوميا" وكما مبين أدناه:-

1- مجموعة السيطرة(GC) حقنت بـ 0.1 ملغم/كغم بالمحلول الفسيولوجي saline 0.9%() ولمدة 14 يوم.

2-مجموعة المعاملة الأولى (T 1) حقنت في IP بـ 0.1 ملغم /كغم بمبيد الكلوربيرفوس لمدة 14 يوم وبتركيز 1/30 من الجرعة القاتلة.

3-مجموعة المعاملةالثانية (T2) حقنت في IP بـ 0.1 ملغم/ كغم بالمبيد لمدة 14 يوم وبتركيز 1/20 ملغم /كغم من وزن الجسم من الجرعة القاتلة .

4-مجموعة المعاملة الثالثة (T3) حقنت في IP بـ0.1 ملغم /كغم بالمبيد لمدة 14 يوم وبتركيز 1/10 من الجرعة القاتلة .

-الاختبارات الوزنية (وزن الجسم ،ووزن الأعضاء)

تم قياس وزن الجسم قبل وبعد أعطاء الجرع ولفترتين 14,7 يوم وسجلت النتائج وكذالك تم أخذ الأعضاء قيد الدراسة (الكبد، الكلية،الدماغ، ذيل البربخ،عظمة الفخذ وعظمتي الساق) ووضعت في طبق بتري petri dish الحاوي على محلول الملح الفسيولوجي حتى لتجف ،بعد ذالك يتم وضعها على ورق ترشيح لتجفيفها من المحلول الفسيولوجي ،وزنت الأعضاء (الكبد،الكلية ، الدماغ) باستعمال ميزان حساس

وحسبت نسبة وزن العضو إلى وزن الجسم (الخزعلي ، 2014)ويتم ذالك حسب المعادلة :

النسبة المئوية لوزن العضو=وزن العضو (بالغرام)/وزن الجسم (بالغرام)×100

-الدراسة الوراثية .

-الدراسة الوراثية للخلايا الجسمية،تمأستأصال عظام الفخذ وعظمتي الساق .(التميمي ، 1996).

-الدراسة الوراثية للخلايا الجنسية ،أستعمل ذيل البربخ لأغراض دراسة معايير النطف ،حساب تركيز النطف ،النسبة المؤوية للنطف المتحركة والنسبة المؤوية لحيوية النطف والنسبة المؤوية للنطف اللاسوية.(Hinting, 1989).

- النتائج : الملاحظات ألسريريهوالعيانيه Clinical observations

أظهرت جميع حيوانات التجربة ولكافة مراحل الدراسة وجود بعض الملاحظات ألسريريه تمثلت بارتجاف تراوحت شدته بين المتوسط إلى الحاد مع ملاحظة وجود رقود جانبي في بعض الأحيان ونقص واضح في النشاط والفعالية وتعب شديد ،كما تم ملاحظة بعض الإعراض المتمثلة بهيجان عصبي شديد وعدوانية حادة لدى حيوانات المجموعة الرابعة مع حصول نزف من الأنف وتهيج العين لكن بدرجة قليلة .أما الفحص العياني للكبد فأظهر وجود نزف قريب للسطح العلوي وكان واضحاً في المجموعة الرابعة وكذالك تم ملاحظة وجود تحببات بيضاء قرب السطح العلوي للكلية واحتقان في الأمعاء الدقيقة لنفس المجموعة ولفترة 14 يوم من التجربة في المجاميع المعاملة بالمبيد.

-التغيرات الوزنية Weight changes

المجموعات كافة لفترة 14 يوم إذ حصل انخفاض معنوي ($p<0.05$)وعلى كافة المستويات في معدلات الفرق في أوزان الحيوانات هرت نتائج الدراسة عدم حصول فرق معنوي ($p<0.05$)في وزن الجسم للحيوانات المعاملة لفترة 7 أيام وللمجموعة الأولى (T1)والثانية (T2)بينما لوحظ انخفاض غير معنوي للمجموعة قبل وبعد الحقن مقارنة مع مجموعة السيطرة وكذالك لوحظ عدم وجود فرق معنوي بين المجموعتين الثانية والثالثة لمدة 14 يوم كما وجد أن هناك فرقا معنوياً لانخفاض الوزن للمجاميع الثانية(T2) والثالثة(T3) مع الأولى لفترة 14 يوم كما في الشكل ( )

-تأثير الكلوربيرفوس في أوزان الأعضاء الداخلية

- الكبد

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فرق معنوي في أوزان الكبد وعند مستوى احتمالية ($p<0.05$) في مجاميع الدراسة(T1)و(T2) ولفترة 7 أيام مقارنة مع مجموعة السيطرة بينما بينت الدراسة حصول انخفاض غير معنوي بين المجموعة الثالثة (T3) مع مجموعة السيطرة (C) ولوحظ عدم وجود فرق معنوي بين المجموعة الثانية(T2) والثالثة(T3) لفترة 7 يوم. وقد لوحظ هنالك فرقا معنوياً لانخفاض الوزن للمجاميع الثانية (T2)والثالثة (T3) مقارنة مع مجموعة السيطرة وبمستوى معنوية ($p<0.05$) عند الفترة 14 يوم.

- الكلية Kidney

بينت الدراسة الحالية عدم تأثر معدلات أوزان الكلية معنوياً لمجموعة الحقن (1/30)(T1)لفترة 7 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة، وكذالك عدم وجود فرق معنوي للمجموعة الثانية(T2)والمعاملة(1/20) ملغم /كغم من وزن الجسم من الجرعة القاتلة مع المجموعة الأولى بمستوى معنوية($p<0.05$) ولفترة 7 يوم .بينما بينت الدراسة أن معدلات أوزان الكلية ولمجاميع الحقن الثانية(T2) والثالثة(T3) لفترة 14 يوم أظهرت انخفاض معنوياً ($p<0.05$) مقارنه مع مجموعة السيطرة وكان الانخفاض معنوياً ($p<0.05$) لمجاميع الحقن كافة للفترة 14 يوم باستثناء مجموعة الحقن (1/30)المجموعة ألأولى مقارنة مع مجموعة السيطرة(C) للفترة نفسها.

- الدماغ Brain

أظهرت النتائج الدراسة عدم وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية ($p<0.05$) للمجاميع ألأولى(T1) الثانية (T2)مع مجاميع السيطرة للفترة 7 يوم وكذالك بين المجموعة الأولى(T1) لفترة 14 يوم مع مجاميع السيطرة ولوحظ وجود ارتفاع غير معنوي($p<0.05$) للمجاميع الأولى و الثانية لفترة 14 يوم مع مجموعة السيطرة.

-الدراسة الوراثية

-التغيرات في معامل الانقسام الخلوي للخلايا الجسمية(نقي العظم) للحيوانات المعاملة بالحقن بمبيد CPF لمدة 7 ،14 يوم :- بينت نتائج الدراسة انخفاض معنوي في معدلات معامل الانقسام لمجاميع الحقن كافة لمدة 14 يوم عند مقارنتها بمجاميع السيطرة .ولوحظ عدم وجود فروق معنوية $p<0.05$ بين المجاميع الأولى(T1) والثانية(T2) مع مجاميع

السيطرة(C) لفترة 7 يوم وكذالك وجود فرق معنوي بين المجموعة الثالثة(T3) للحقن مقارنة مع مجموعة السيطرة لفترة 7 يوم.

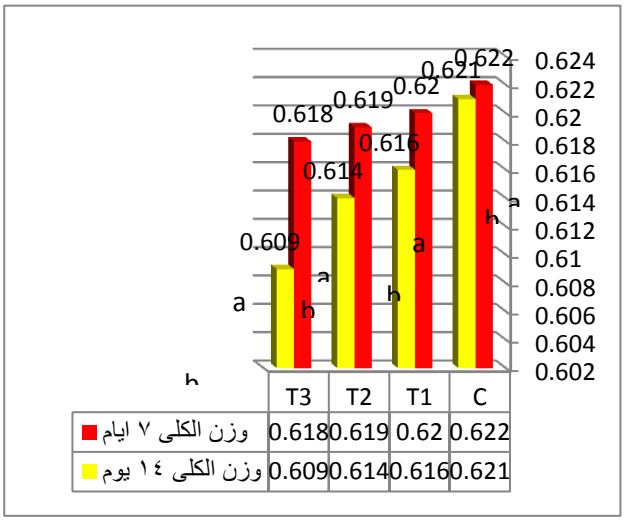
-التغيرات في تركيز النطف للحيوانات المعاملة بمبيد CPF ولمدة 7، 14 يوم :-

أظهرت النتائج أن معدلات إعداد النطف (6x 10) مل) أقل معنوية ($p<0.05$)لمجاميع الحقن كافة لفترة 7 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة. ولوحظ عدم وجود فروق معنوية بين المجاميع الثانية(T2) والثالثة(T3) لفترة 7 يوم.كذالك لوحظ انخفاض معنوي ($p<0.05$)في معدلات أعداد النطف ولمجاميع الحقن (T1)(T2)و(T3) لفترة 14 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة(C) .

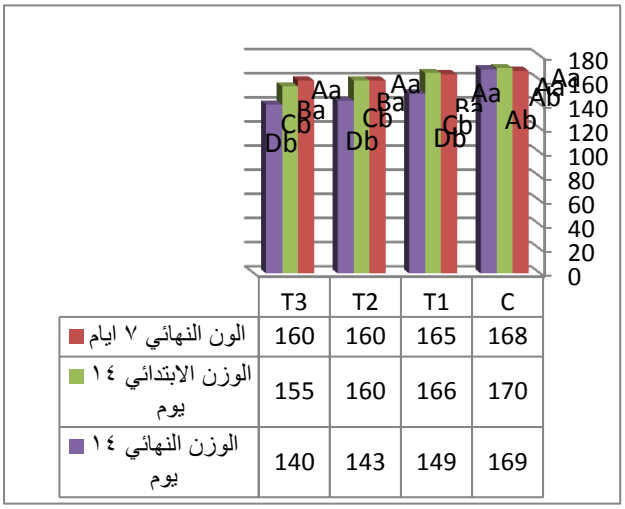
- التغيرات في النسب المئوية لحيوية وحركة وتشوه النطف للحيوانات المعاملة بمبيد CPF ولمدة 7،14 يوم

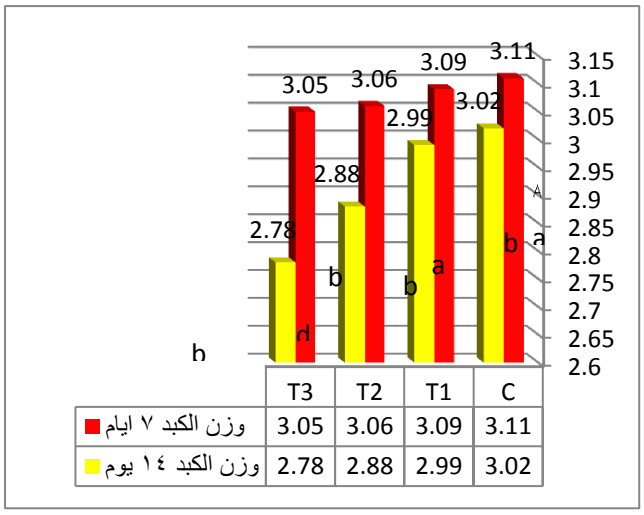
أظهرت النتائج إن معدلات النسب المئوية لحركة النطف ومعدلات النسب المئوية للنطف السوية ولمجاميع الحقن كافة لمدة 14 يوم أقل معنوياً ($P<0.05$)عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة .وكذالك أن معدلات النسب المئوية لحيوية النطف لم تتأثر في مجموع الحقن (1/30) لمدة 7 يوم عند مقارنتها بالسيطرة.وبينت النتائج أن معدلات النسب المئوية لحيوية النطف للمجاميع المعاملة بالحقن (1/20) لمدة 7 يوم انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة ،وبينت الدراسة انخفاض معنوي ($P<0.05$)لمعدلات النسب المئوية لحيوية وحركة النطف لمجاميع الحقن (T1)(T2) و(T3) لفترة 14 يوم مقارنة مع السيطرة.

شكل رقم (1)االتغيرات في معدلات أوزان الكلى المعاملة بمبيد CPF ولفترتين 14,7 يوم.



شكل رقم (2)االتغيرات في معدلات أوزان الجسم المعاملة بمبيد CPF ولفترتين 14,7 يوم.





- C مجموعة السبطرة : حقنت بمحلول الفسيولوجي .
- T1 المجموعة الأولى : حقنت في IP بجرعة 1/30 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 من مبيد الكلوربيرفوس .
- T2 المجموعة الثانية : حقنت في IP بجرعة 1/20 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 .
- T3 المجموعة الثالثة : حقنت في IP بجرعة 1/10 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50.

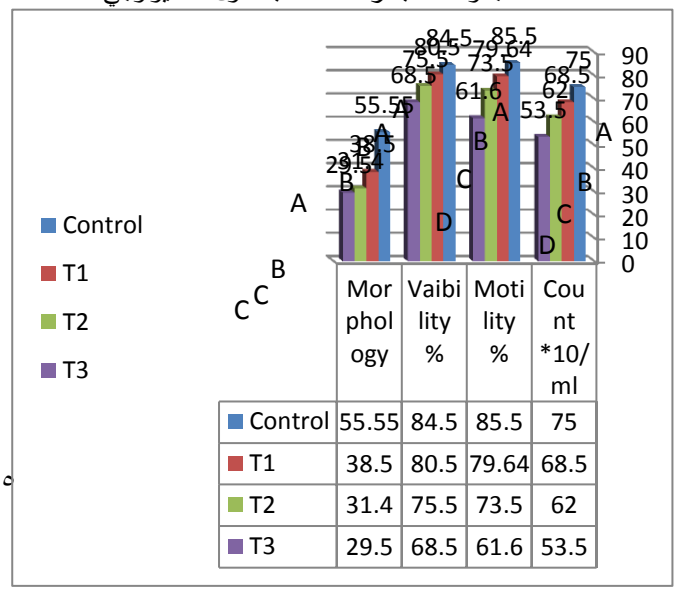
- الحروف الكبيرة تشير إلى القراءة الإحصائية العمودية بين المجاميع في حين الحروف الصغيرة تشير إلى القراءة الأفقية للنتائج بين الاوزان.
- الحروف المتشابه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات تحت مستوى احتمالية (P<0.05)على أن تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات.

شكل رقم (3)االتغيرات في معدلات أوزان الكبد المعاملة بمبيد CPF ولفترتين 14,7 يوم.

- C مجموعة السيطرة : حقنت بمحلول الفسيولوجي .
- T1 المجموعة الأولى : حقنت في IP بجرعة 1/30 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 من مبيد الكلوربيرفوس .
- T2 المجموعة الثانية : حقنت في IP بجرعة 1/20 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 من مبيد الكلوربيرفوس .
- T3 المجموعة الثالثة : حقنت في IP بجرعة 1/10 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 من مبيد الكلوربيرفوس .
- الحروف الكبيرة تشير إلى القراءة الإحصائية العمودية بين المجاميع في حين الحروف الصغيرة تشير إلى القراءة الأفقية للنتائج بين الاوزان .
- الحروف المتشابه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات تحت مستوى احتمالية (P<0.05)على أن تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات .

شكل رقم (4) التغيرات في معدلات أوزان الدماغ المعاملة بمبيد CPF ولفترتين 14,7يوم.

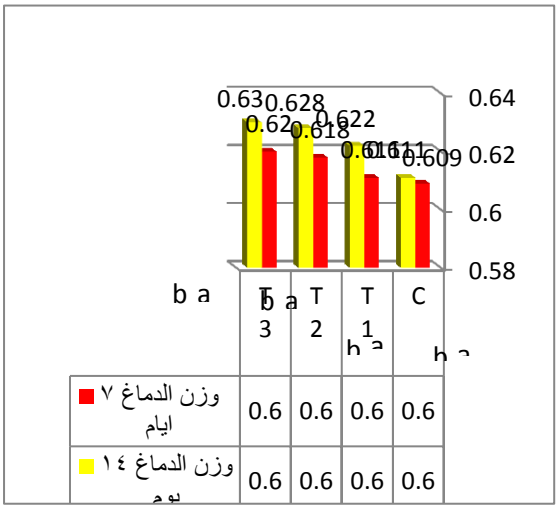
- C مجموعة السيطرة : حقنت بمحلول الفسيولوجي .

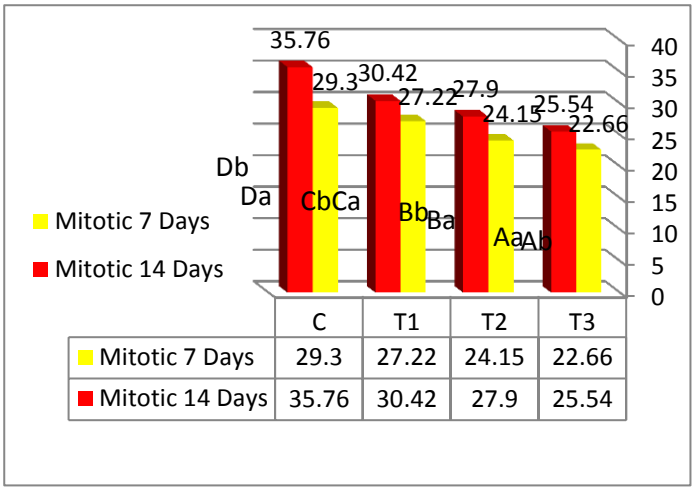


شكل رقم (5) التغيرات في معالم وتركيز النطف المعاملة بمبيد CPF لفترة 7يوم .

- T1 المجموعة الأولى : حقنت في IP بجرعة 1/30 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 من مبيد الكلوربيرفوس .
- T2 المجموعة الثانية : حقنت في IP بجرعة 1/20 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50
- T3 المجموعة الثالثة : حقنت في IP بجرعة 1/10 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50
- الحروف الكبيرة تشير إلى القراءة الإحصائية العمودية بين المجاميع في حين الحروف الصغيرة تشير إلى القراءة الأفقية للنتائج بين الأوزان.
- الحروف المتشابه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات تحت مستوى احتمالية (P<0.05)على أن تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات.
- C مجموعة السيطرة : حقنت بمحلول الفسيولوجي .
- T1 المجموعة الأولى : حقنت في IP بجرعة 1/30 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 من مبيد الكلوربيرفوس .
- T2 المجموعة الثانية : حقنت في IP بجرعة 1/20 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 .
- T3 المجموعة الثالثة : حقنت في IP بجرعة 1/10 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 .
- الحروف الكبيرة تشير إلى القراءة الإحصائية العمودية بين المجاميع وتشير الاختلافات في الحروف الى وجود معنوية فيها.

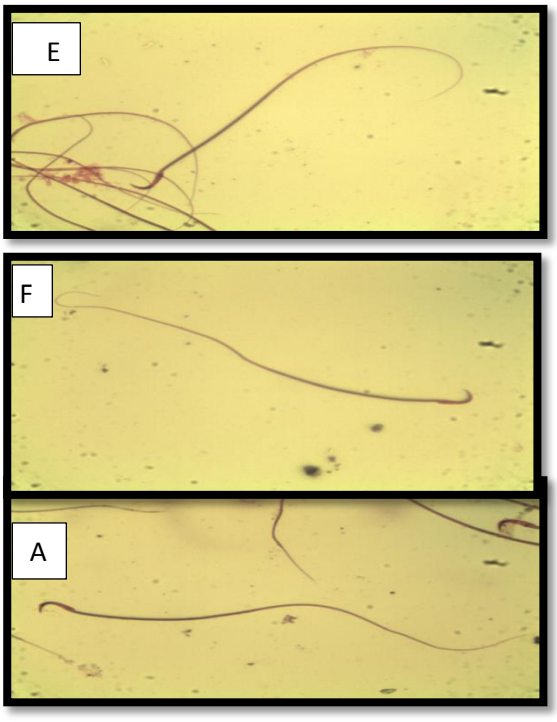
شكل رقم (6) التغيرات في معامل الانقسام الخلوي المعاملة بمبيد CPF لفترة14,7 يوم .

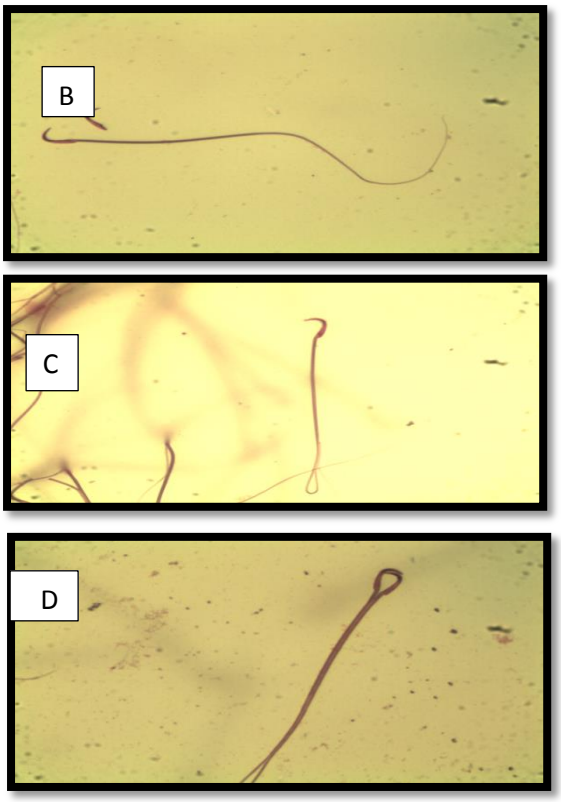




	C	T1	T2	T3
Mitotic 7 Days	29.3	27.22	24.15	22.66
Mitotic 14 Days	35.76	30.42	27.9	25.54

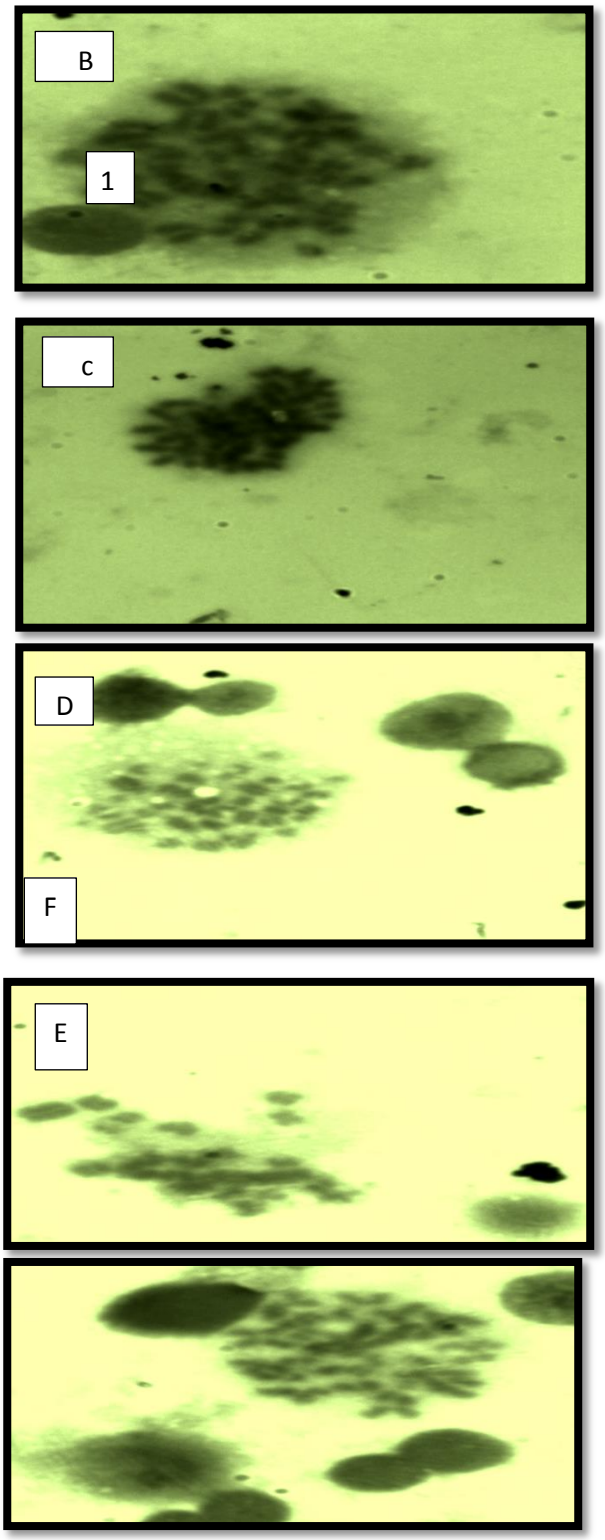
- C مجموعة السبطرة : حقنت بمحلول الفسيولوجي .
- T1 المجموعة الأولى : حقنت في IP بجرعة 1/30 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 من مبيد الكلوربيرفوس .
- T2
- المجموعة الثانية : حقنت في IP بجرعة 1/20 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 .
- T3 المجموعة الثالثة : حقنت في IP بجرعة 1/10 ملغم / كغم من وزن الجسم. من الجرعة القاتلةLD50 .
- الحروف الكبيرة تشير إلى القراءة الإحصائية العمودية بين المجاميع في حين الحروف الصغيرة تشير إلى القراءة الأفقية لنتائج التغير في معامل الانقسام لفترتين14,7 يوم.
- الحروف المتشابه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات تحت مستوى احتمالية (P<0.05)على أن تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات.





الشكل:- (7) أظهر التغييرات في الحيوانات المنوية، للجرذان الذكور الناضجة وتعامل مع (1/30) (1/20) (1/10) ملغم / كغم b.wt من LD50 جرعة من CPF لمدة 14 يوم.

شكل (A) الحيونات المنوية من الجرذان الذكور الناضجة تظهر طبيعية، رأس عادي، قطعة متوسطة وذيل طبيعي normal (مجموعة السيطرة). شكل (B) الحيوانات المنوية من الجرذان الذكورالناضجة تعامل مع CPF بجرعة (1/30) ملغم / كغم b.wt. يوم لمدة 14 يوما. أظهرت تشوهات الحيوانات المنوية ، قطرات الجبلة الذيل ،وقطع في القطعة الوسطية لرأس النطفة .شكل (C): الحيوان المنوي يظهر abnormalities coiled Tail. الحيوانات المنوية (الذيل ملتف) تعامل مع CPF بجرعة (1/20) ملغم / كغم b.wt. كل يوم لمدة 14 يوما. (D) الحيوان المنوي المعاملة معCPF على مستوى الجرعة (1/10) ملغم / كغم b.wt. أيام لمدة 14 يوما، الحيوانات المنوية غيرطبيعيةadhesion (حالة ألتصاق) .شكل(F) الحيوان المنوي يظهر أظهرت تشوهات الحيوانات المنوية ذيل كما المنحني curved tail. المعاملة مع CPF بجرعة (1/10)ملغم / كغم b.wt. لمدة 14يوم.



شكل رقم (8) انحراف كروموسومي في خلايا نخاع العظام في الجرذان الذكور الناضجة تعامل مع (1/30) (1/20) (1/10) ملغم / كغم b.wt من LD50 جرعة من CPF لمدة 14 يوما.

شكل. (A): الطور الاستوائي انتشار من نخاع العظام من الجرذان الناضجة الذكور تعامل مع جرعة منخفضة (1/30) جرعة CPF لمدة 14 يوم، والتي تبين كسر كروموسوم (1) وحذف كروماتيد (2). (F) ينتشر نخاع العظم من جرذان ناضجة الذكور تعامل مع جرعة متوسطة (1/20) من CPF كل يوم لمدة 14 يوما، وأظهرت الكروموسومات المسحوقة. (C) الطور الاستوائي نلاحظ أنتشار لكروموسومات في نخاع عظم الجرذان الذكور تعامل مع جرعة عالية (1/10) من CPFتظهربشكل عدد فرداني من الكروموسومات. (D) انتشار لنخاع العظام الجرذان الذكورالبالغة تعامل مع (1/10)، وأظهر، حذف كروماتيدي، نهاية إلى نهاية الرابطة (B) انتشار لنخاع العظم الفئران تعامل مع (1/10)، وظهرت الكروموسومات بشكل حلقي، نهاية إلى نهاية مربوطة وفواصل الكروموسومات.

المناقشة/ التغيرات السريرية والسلوكية .

لوحظ حدوث نزف في نسيج الكبد وعلى مسافات قريبة من السطح في الحيوانات المحقونة بالمبيد وللمجاميع الثانية والثالثة لفترة أسبوعين و بين الفحص العياني للكلية وجود تحببات على جوانب الكلية عائدة لحيوانات المجاميع نفسها .ويفسر ذالك أن النزف والاحتقان والتغيرات في نسيج الكبد قد تعود إلى الضرر الذي سببه مبيد الكلوربيرفوس وسبب التحبب في سطح الكلية قد يكون بسبب رجوع الإدرار والسوائل إلى الكلية بسبب الاحتباس الذي يسببه المبيد CPF من خلال تأثيره على الخلايا المبطنة للنبيبات الملتوية الكلوية وقد أشار (الخزاعي ، 2013) إلى تأثيرالتعرض لمبيد الأبامكتين وبجرعة 10 ملغم /كغم من وزن الجسم ظهور أعراض عيا نية لنسيج الكبد والكلية .وأظهرت نتائج الدراسة الحالية أن التعرض للمبيد العضوي الفسفوري الكلوربيرفوس أدى إلى تغايرات سلوكية ترافقت مع الأعراض الأخرى السمية والمرضية إذ لوحظ خمول الجرذان مع قلة الشهية وانخفاض في معدل استهلاك الغذاء ولوحظ إفراز اللعاب بصورة زائدة عن المعتاد وكذالك وجود حالات من الإسهال وتبين أن هذه الحالات تزداد مع زيادة التراكيز من المبيد وحسب التقدم في المجاميع المعاملة .وتفسر هذه التغيرات السلوكية التي شوهدت في هذه الدراسة على الجرذان إلى تأثير مبيد الكلوربيرفوس (المبيد العضوي الفسفوري) المثبط لأنزيم Acetylcholinesterase والذي ينتج عن هذا التثبيط فرط التحفيز في الجهاز العصبي المحيطي اللاإرادي ويكون له تأثير على الجهاز العصبي الإرادي (Tuormaa, 2003 ,) Eskenazi& Bradman, 1999).وبالتالي يؤدي هذا إلى

تجمع المادة الأساس في الأعصاب المسيطرة والمحركة للعضلات الإرادية مما يسبب الضعف والخمول والتعب وأن تراكم المادة الأساس في الجهاز العصبي المحيطي اللاإرادي تؤدي إلى زيادة في طرح اللعاب وبعض التشنجات اللاإرادية لعضلات جدران الأمعاء بالتالي يسبب قلة الشهية وانخفاض في تناول الغذاء وحدوث الإسهال لعدة مرات (Eskenazi& Bradman, 1999).

- تأثير مبيد الكلوربيرفوس في وزن الجسم .

أن تقدير الوزن والوزن النسبي للأعضاء والجسم يعد معياراً لتقييم سمية العديد من المركبات ومعظم المبيدات الفسفورية العضوية تسبب في نقصان الوزن للجسم ووزن بعض الأعضاء لحيوانات التجربة والتي يظهر فيها انخفاض في استهلاك الغذاء . أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن الحيوانات المعاملة للفترة 7 أيام وللمجموعة الأولى (T1)والثانية (T2)عدم حصول فرق معنوي ($p<0.05$). وكذالك المجموعات كافة لفترة 14 يوم إذ حصل انخفاض معنوي ($p<0.05$)وعلى كافة المستويات في معدلات الفرق في أوزان الحيوانات قبل وبعد الحقن مقارنة مع مجموعة السيطرة.كما في الشكل (8).أن انخفاض الوزن قد يعود إلى انخفاض معدل استهلاك الغذاء بسبب المبيد CPF وهذا يتفق مع دراسة(Baha*etal.*,2006)إذ أكد حدوث انخفاض في الوزن المكتسب للجرذان المعاملة بـCPF لمدة 4 أسابيع .كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما أشارت إلية منظمة (WHO, 1989)في انخفاض معدل الوزن العام للجسم في الحيوانات الفئران المعاملة بمبيد Dichlorvos (مبيد عضوي فسفوري) . وتتفق أيضا مع (NahidA.Khtar*etal* .,2009)الذي بين حدوث انخفاض في وزن الجسم لذكور الجرذان عند تجريعها بمبيد CPF بجرعات 9,6,3 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة 90 يوم عن طريق الفم .وكذالك تتفق مع (TarekM.H.Eik*etal* ., 2013)إذ أكد حصول انخفاض في وزن الجسم للجرذان المجرعة بمبيد الكلوربيرفوس وتشير الدراسة الحالية وللفترة 7 يوم عدم تسجيل أي فقدان في الوزن للجرذان المعاملة بالمبيد CPF وهذه تتفق مع (Radhey*et al* ., 2007) إذ أكد عدم حصول انخفاض في وزن الجرذان المعاملة بمبيد CPF.ويفسر ما يفقدة الجسم من وزن إلى انخفاض في معدل السوائل وكذالك ضعف عام في البنية للجسم ويكون ناتج عن قلة استهلاك الغذاء إذ يعمل جسم الحيوان على تهديم وتحرير الدهون في النسيج الدهني Adipose tissue وقد يرجع السبب إلى عمليات أخرى مثل هدم أحماض أمينية Amino acids ومعظم البروتينات وقد يكون السبب في فقدان الوزن يعود إلى التغيرات التي يسببها الحقن بالمبيد في IP حيث تكون المادة الفعالة للمبيد أكثر فاعلية من التجريع إذ يحدث تغيرات واحتقان في نسيج الأمعاء وبذالك يمنع امتصاص المواد الغذائية أو يكون للمبيد الكلوربيرفوس تأثير الهرمونات فيعمل على قلة الشهية (Baha *et al*., 2006).وأشار (2000 ،القيسي) من أن تعرض حيوانات التجربة لمبيد السومسدين يؤدي إلى التأثير على تكوين الكلايكوجين للعظام ونموها وبالتالي قلة نمو العظام مما يؤدي إلى قلة الوزن للجسم .

-تأثير الكلوربيرفوس في النسبة المئوية لوزن الأعضاء .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فرق معنوي في انخفاض أوزان الكبد عند مستوى احتمالية ($p<0.05$) في مجاميع الدراسة(T1)و(T2) ولفترة 7 أيام مقارنة مع مجموعة السيطرة. وكذالك لوحظ هنالك فرقا معنوياً لانخفاض الوزن للمجاميع الثانية (T2)والثالثة (T3) مقارنة مع مجموعة السيطرة وبمستوى معنوية ($p<0.05$) ولفترة 14 يوم. وكانت هذه النتيجة متفقه مع دراسة (Banan K. AL-Baggou, 2014) الذي أكد فيه حصول انخفاض في وزن الكبد بشكل ملحوظ حيث عرضت حيوانات التجربة الكتاكيت للكلوربيرفوس بجرعة (100 جزء من المليون)في فترة 28 يوم حيث سجلت انخفاض في وزن الكبد في يوم 14 يوم من المعاملة.وقد يفسر ذالك إلى إنا لأنزيمات المصلية ALT,AST Transaminas إنزيمات مهمة في عمليات الجسم البيولوجية حيث توجد هذه الأنزيمات في الخلية الكبدية وعند إصابة الغشاء الخلوي للخلايا الكبدية تتحرر العديد من الأنزيمات الموجودة في الخلية الكبدية مثل ALP,AST,ALT وهي تعتبر معلمات للإضرار الكبدية. أن المبيدات الفسفورية العضوية تكون سبب في زيادة نشاط الإنزيمات ALT,ALP,AST المصلية وارتفاع MDAالنسجية الناتجة من تفاعل الجذور الحرة مع المكونات الخلوية واهم هذه المكونات أو الجزيئات المستهدفة هي الأحماض الدهنية المتعددة عديمة التشبع إذ يؤدي هذا التفاعل إلى أكسدتها وتكوين مركبات سامة Malondialdehde (MDA)وبذالك يؤدي إلى تدخل آلية الأكسدة اللبيدية،وهي المتسبب الأول في عرقلة التكامل الوظيفي للغشاء الخلوي مما يسبب عدم مراقة النفاذية الخلوية وبالتالي تؤدي إلى تسرب الإنزيمات الكبدية

إلى المجرى الدموي (Suna*etal* ., 2010).كما في الشكل(9). بينت الدراسة الحالية عدم تأثر معدلات أوزان الكلية معنوياً لمجموعة الحقن (1/30)(T1)لفترة 7 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة٠ .بينما بينت الدراسة أن معدلات الكلية ولمجاميع الحقن الثانية(T2) والثالثة(T3) لفترة 14 يوم انخفاض معنوياً $p<0.05$( ) مقارن بمجموعة السيطرة وكان الانخفاض معنوياً ($p<0.05$) لمجاميع الحقن كافة للفترة 14 يوم.باستثناء مجموعة الحقن (1/30)المجموعة ألأولى مقارنة مع مجموعة السيطرة(C) للفترة 14 يوم.أكد (EL– Deeb,A.E.A *et al* ., 2007) وجود انخفاض في النسبة المئوية لوزن الكلى عند التجريع الفموي للجرذان المعاملة بمبيد الكلوربيرفوس وبجرع 10.5 ملغم /كغم ،0.955 ملغم / كغم واعتمادا على الجرعة القاتلة وبتركيز 0.1 من المبيد بمقدار مرة كل يوم لمدة 3 أشهر . وقد يعزى ذالك إلى تأثير المبيد CPF إذ يسبب المبيد بزيادة مستوى Creatinine وهو مؤشر مهم على حدوث أضرار كلوية وإتلاف في الوظيفة التشريحية والإخراج الأنبوبي.(Sameeh and Abdel– Tawab. 2009).كما في الشكل(10).أظهرت الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية ($p<0.05$)لوزن الدماغ للمجاميع ألأولى(T1) الثانية (T2)مع مجاميع السيطرة للفترة 7 يوم .وكذالك بينت دراسة (Banan K,AL– Baggou , 2014)إذ لاحظ زيادة الوزن النسبي للدماغ بشكل كبير لكتاكيت الدجاج المعاملة بمبيد الكلوربيرفوس .والذي يفسر من ملا حضتنا عدم وجود فروقات كبيرة في الوزن وتأثرات قليلة في الدماغ ورغم حساسيتة وتوفر العوامل المساعدة على التقليل من التوتر التأكسدي فيه ،وذالك بسبب تركيب لبيداته الغشائية الغنية بالأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع ،وزيادة استهلاكه للأوكسجين (Bhatti*et al* ., 2010).كما في الشكل (11).

وبينت نتائج الدراسة ظهور أنخفاض معنوي في معدلات معامل الانقسام لمجاميع الحقن كافة لمدة 14 يوم عند مقارنتها بمجاميع السيطرة . إن من أسباب الانخفاض الحاصل في معامل الانقسام (MI) قد تفسر بسبب العرقلة في دورة الخلية والاستقرار في مرحلة G2 وبذالك يمنع الخلية من البدء في الانقسام، وقد يفسر أيضا انخفاض (MI) إلى حدوث ارتفاع معدلات الاختلالات الكروموسومية وهذا ما بينته في هذه الدراسة الحالية و دراسات أخرى بينت على قدرة المبيدات الفسفورية العضوية في التسبب لتلك الاختلالات وبالتالي يسبب انخفاض معامل الانقسام، ذكر *et al*, Madle(1993) قد يكون الانتخاب في الخلايا عند بدء عملية الانقسام الخلوي قد يتسبب في إبعاد تلك الخلايا الحاوية على الاختلالات الكروموسومية وهذا يؤدي إلى خفض معدلات(MI)، وقد يكون السبب المهم هو التأثير الكبير للمبيدات في التداخل مع البروتينات والأنزيمات المهمة بدورة انقسام الخلية والمسب في تثبيط صنع الDNA وقد يؤثر على تكوين خيوط المغزل أو توجيها أو تجمعها(Hidalgo *et al*., 1989) .

و بينت الدراسة أن معدلات إعداد النطف أقل معنوية ($p<0.05$)لمجامع الحقن كافة لمدة 7 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة .كذالك لوحظ انخفاض معنوي ($p<0.05$)في معدلات أعداد النطف ولمجاميع الحقن كافة لمدة 14 يوم .كما هو واضح في الشكلين (12)(13). إن عملية تكوين النطف تحتاج إلى تداخل العديد من الهرمونات سواء ما يخلق ويفرز من الفص الأمامي للغدة النخامية كهرموني FSH و LH أو مانفرزه الخصى كهرمون التستوستيرون(Pineda & Dooley, 2003).

وقد يفسر هذا الانخفاض في تركيز النطف إلى الانخفاض الحاصل بمستوى هرمون التستوستيرون الذي له الدور الكبير في عملية تكوين النطف وانقسام الخلايا الجرثومية في الخصى (guyton& Hall , 2001) وللهرمون المحفز للجريب FSHدور مهم من خلال التأثير على خلايا سرتولي في الخصى حيث يزيد من عملية تكوين النطف Huang). (1991 , *et al.* وما هو معروف أن مستقبلات هرمون FSH تقع على أغشية خلايا سرتولي والخلايا الجرثومية الذكرية . وكذالك يزيد من مستقبلات الهرمون اللوتيني(LH) الموجوده على أغشية خلايا لايدك وبذلك يرفع من تأثير هذا الهرمون Simoni*et al*)(1997,.. وقد ذكر(T.K.Mandal&N.S.Das ,2012) إن التعرض إلى المركبات العضوية الفسفورية ومنها الكلوربيرفوس يؤدي إلى انخفاض هرمون التستوستيرون و إنخفاض تركيز هرمون الـ LH,FSH في الجرذان. وهذا مايفسر أن لهذه المركبات تأثيراً على عملية تكوين النطف إذ يؤثرعلى مستوى هرمونات الغدة النخامية ومنها المحرضة للقند(ICSH,FSH) .

-المصادر العربية :

– التميمي ، وجدان ثامر مهدي (1996).بعض التأثيرات النسيجية والوراثية للرصاص على التكاثر في الفأر الأبيض.كلية التربية –جامعة القادسية .ص66 .

- عبد الخالق، علاء الدين .(2005).سمية المبيدات والمعادن . الطبعةالأولى.دارالنشرللجامعات .القاهرة .مصر.
- جورج وير،2003 ،مبيدات الآفات ،النشر العلمي والمطابع – جامعة الملك سعود.ص ب .68953 . 624 ص.
- الخزاعي ،حسين صباح حسين .(2013)التغيرات المرضية النسجيةوالفسلجية لمبيد الابامكتين في ذكور الجرذان البيض.كلية العلوم .جامعة القادسية.ص81 .
- القيسي ، بشرى إبراهيم مصطفى (2000) . التغايرات المرضية والخلوية الوراثية في اسماك الكارب الاعتيادي والجرذان البيض الناجمة عن تأثير السمي لمبيد السومسدين ومتبقيته . دكتوراه ، كلية الطب البيطري أطروحة ، جامعة بغداد صفحة. 209 .

المصادر الأجنبية :

-
Baha.O,Mehmet.G,Hilmi.D,Meltem.O,Seren.G ,Gulnur.T,Tamer M &Irfan A.(2006).Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant ,vitamins E and C ,Reproduction Toxicology. 22.pp 783-790.
- NahidAkhtar,M.K.Srivastav and R.B.Raizada.(2009).Assessment of chlorpyrifos toxicity on certain organs in rat,Rattusnorvegicus.Journal of Environmental Biology.30.6.pp 1047-1053.
- Hinting ,A.(1989).Methods of semen analysis .In Assessment of human SPERM Fertilizing Ability. Ph. D. thesis by Hinting ,A. ,University of Michigan State.
- WHO (1989). Dichlorvos. Environmental Health Criteria 79, International Programme on Chemical Safety, World health Organization, Geneva
-TarekM.Heikal,Abdel-TawabH.Mossa,MonaA.Abdel.Rasoul and GehanI.Kh.Marei.(2013).the ameliorating effects of green tea extract against cyromazing and chlorpyrifos induced liver toxicity in male rats.Academic Sciences Asian journal of Pharmaceutical and clinical Research.6.1.pp1-8.
- Radhey. S, Verma, A .M, Nalini, S.(2007) In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins Pesticide Biochemistry and Physiology 88 191–196.
-Tuormaa, T.E. (2003). The adverse effects of agrochemicals on reproductive health.Foresight, the association for the promotion of pre-conceptual care.
-Trottman, C.H. &Desaiah, D. (1979). Adenosine triphosphatase activities in brain, kidney and liver of mice treated with toxaphene. J. Environ. Sci. Health, B14(4):393-404.
-Banan K.AL-Baggou(2014).Subacute cholinesterase inhibition and behavioral effect of chlorpyrifos experimentally supplied via drinking water in chicks.Human&Veterinary Medicine In .ju.of the Bioflux Society.6.2.pp70.
-EL-Deeb,A.E.A,Abd EL-Aleem.I.M.&Sherin.S.Ghaleb(2007). Harmful effect of some insecticides on vital parameters of Albino Rats.J.Egypt.soc.Toxical.36.pp53-60.
- Sameeh A. M & Abdel-Tawab, H. Mossa. (2009).Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. Pesticide Biochemistry and Physiology 93 34–39.
-Bhatti. G K, Kiran. R, &Sandhir, R. (2010).Modulation of ethion-induced hepatotoxicity and oxidative stress by vitamin E supplementation in male Wistar rats. Pesticide Biochemistry and Physiology 98 26–32.
-Tuormaa, T.E. (2003). The adverse effects of agrochemicals on reproductive health.Foresight, the association for the promotion of pre-conceptual care.
-Eskenazi, B. & Bradman, A. (1999). Longitudinal investigation of pesticide and allergen exposures to children living in agricultural communities in California, in: Eskenazi, B.; Bradman, A. &Castorina, R. Exposures of children to organophosphate pesticides and their adverse health effects. Environ. Health perspect, 107:409-41.

Molecular and Histological Study of the Effect of Trade Pesticide Chlorpyrifos on Mature Male Rats .

Mohammed A.M. -A.T.P.Dr.Wijdan.Th.

University of Al-Qadisiya \ College of science

Abstract

study the concentration and parameters of sperm and also the area was femurs eradicated and the greatness of the tibia of the leg to the test animals for the purpose of the study of cell division coefficient and chromosomal aberrations of the nuclei of the bone marrow cells were sacrificed on the stages of technology topics studied parts .pent results occurrence of a significant decrease in body weight of animals treated with pesticide the doses 1/0, / 20 mg / kg of body weight and for a period of 14 days from the pesticide Chlorpyrifos while there was a decrease in the gain weighted for the group treated at a dose of 30.1 mg / kg of body weight rate for the same period at a level of probability ($P < 0.05$) . for the weight of the brain first and second groups for a period of 14 days, it was noted the existence of a significant increase between the second and third groups for a period of 14 days and a significant level of $P < 0.05$. The study showed a clear appearance of a decrease significantly in the division coefficient totals injections all rates for 14 days and observed no significant difference level of significance $P < 0.05$ between the totals for the first study and the second with a control group for a period of 7 days,. were examined studied segments of the bone marrow and the results showed deformities chromosomal, few chromosomal number, the decay of chromosomal, cases of adhesion, chromosome annular chromosomal . results doubled to prepare sperm rates of less significance to the totals for the injection of all for a period of 7 days was observed significant decrease significantly the level of $P < 0.05$ in sperm rates and totals for the injection of all for the period 14 days.

Key words :Rats,chlorpyrifos, bone marrow, sperm

- The research is the apart of on ph. D dissertation in the case of the second researcher