

المحاضرة السادسة :- عنوانها (الخطوات التمهيديّة لإجراء الدراسة المختبرية)

- ان نجاح اي دراسة مختبرية يعتمد بالدرجة الأساس على توفر مستلزمات تلك الدراسة والتي من اهمها:-
1. جمع وتربية حيوانات الاختبار: اذ تعتبر المقياس الحيوي لمعظم الاختبارات التي يمكن اجراها لمعظم المواد الكيماوية لذلك من الضروري ان تتوفر باعداد كبيرة وباستمرار ، ومن افضل الحيوانات القوارض والارانب ومفصليات الارجل (الحشرات والعناكب) اذ تتم تربيتها في غرف خاصة ويتم تربية سلالات حساسة ومقاومة منها لاستخدامها في دراسة المقارنة ومن اهم مشاكل التربية هو عدم توفر الغذاء الطبيعي على مدار السنة لذلك تغذى على بيئات صناعية.
 2. اختيار أفراد النوع أو السلالة المعدة للدراسة: وفيها يحدد نوع الكائن وطوره والعمر والجنس وقد يستعمل الجنسان معا اذ تلعب هذه العوامل دورا مهما في التأثير على نتائج الدراسة لذا ينبغي ابعاد الافراد المريضة وغير الطبيعية وكذلك تجنب استخدام الاطوار التي على وشك الانسلاخ أو الخارجة للتو ولزيادة دقة التجربة يجب ان تكون الافراد متماثلة بالحجم والنوع وطريقة التغذية مع ضرورة خلطها بصورة جيدة قبل الاختبار.
 3. تحضير محاليل المبيدات وعمل التراكيز المطلوبة: اذ يتم اعداد محلول مركز معلوم التركيز Technical sample وذلك اما باخذ وزن أو حجم معين من المبيد النقي stock solution في حجم مناسب من المذيب العضوي ويختلف نوع المذيب المستخدم باختلاف نوع المبيد المستخدم وطريقة تعرض حيوانات الاختبار مثل استعمال مذيب سريع التطاير كالاسيتون مع أما في حالة Topical application المبيدات عند المعاملة الموضعية أو السطحية المبيدات الجاهزه للاستعمال الحفلي فيتم اخذ حجم معين من المبيد واذابته ويتم التعبير عن التراكيز اما بشكل نسب مئوية على اساس الصورة الجاهزة للاستعمال الحفلي فمثلا لتحضير 1% من مبيد الديازنون 50 % يتم حساب ذلك على اساس المادة الفعالة:-

المادة الفعالة	المبيد	
50	100	0
1	X	

$$X = 2 \text{ ml اذن}$$

أو قد يتم حساب التراكيز بالاجزاء في المليون (ppm) part per million وهي الاجزاء من المادة المذابة لكل مليون جزء من المذيب فبأذابة 1 مل من المبيد في 999 مل من الماء يعطي المحلول تركيز المبيد 1000 جزء في المليون ويمكن بعد ذلك عمل التخفيفات حسب التراكيز المطلوبة.

4. اختيار التصميم المناسب : من الضروري قبل تنفيذ اي دراسة تحديد نوع التصميم الاحصائي لكي يسهل تحليل النتائج بعد انتهاء الدراسة ويعتمد نوع التصميم على اهداف الدراسة والامكانيات المتاحة وعدد العوامل المطلوب دراستها فمثلاً لدراسة عامل واحد أما لدراسة اكثر من عامل يستخدم التصميم ، C.R.D. يعتمد التصميم العشوائي الكامل مع تحديد اعداد المكررات. Factorial C.R.D. العشوائي الكامل العملي

5. تثبيت درجة الحرارة والرطوبة : ان تغيير درجات الحرارة والرطوبة يؤثر بلا شك على دقة النتائج وتتوفر في المختبرات الحديثة غرف مكيّفة او حاضنات يمكن التحكم بدرجة الحرارة والرطوبة

6 - تخدير حيوانات التجربة :

ويتم ذلك باستخدام غاز CO والكوروفورم والايثر ودرجات الحرارة المنخفضة

7. الاختبارات الأولية : ان تنفيذ الدراسة او التجربة دون اجراء الاختبارات الأولية قد يؤدي الافشل التجربة مما يضطرنا الى اعادة تنفيذها ، لذا يجب اجراء اختبار اولي بسيط وبعده قليل من المكررات لكي يساعد على تحديد التراكيز المناسبة للاستخدام.

الطرق المستخدمة في تعريض حيوانات الاختبار للمبيدات

ان تحديد طريقة التعريض اثناء الدراسة المختبرية يعد من الامور المهمة لمقارنة النتائج مع الباحثين الاخرين اذ انه من الضروري ان تتماثل الطرق المستخدمة في الاختبار وخاصة لافراد النوع الواحد واختلاف هذه الطرق قد يرجع لاحد الاسباب التالية:-

أ. نوع الاختبار المستخدم

ب. طبيعة تأثير المبيد

ت. صور تجهيز المبيد

ث. اهداف وطريقة البحث

ومن اهم طرق التعريض Exposure methods

1. المعاملة الموضعية Topical application:

واساس هذه الطريقة هو وضع المبيد على جزء من السطح الخارجي لجسم الحيوان واكثر الطرق شيوعا وذلك لسهولتها ودقة نتائجها وقلة تكاليفها مع امكانية استعمال القليل من المبيدات وعدد قليل من الاختبارات وتستخدم Micro pipette وال Micropipette العديد من الادوات لاجراء مثل هذا النوع من لمعاملة وقد يؤثر نوع المذيب المستخدم وحجم قطرة المحلول ومكان وضع القطرة application على كفاءة اجراء المعاملة.

2- طريقة الحقن Injection وتعد من اهم الطرق التي تضمن دخول جرعة المبيد بالكامل الى جسم الحيوان مع ضبط تركيز المبيد الداخل ويستخدم لهذا الغرض Micro syringe.

3- طريقة الرش الدقيق Proccession spraying وفي هذه الطريقة يتم اخراج المبيد بشكل سائل رش ذو قطرات صغيرة الحجم او على شكل ضباب وتعريض حيوانات الاختبار لها اما بشكل مباشر او بشكل غير مباشر (اي تعريضها لسطوح معاملة بالمبيد) وتستخدم عدة اجهزة مختبرية لهذا الغرض مثل potter tower او webs spray .tower

. خلط المبيد بالبيئة الغذائية Mixing with food media 4 ويتم ذلك بخلط المبيدات : بالبيئة الغذائية لحيوانات الاختبار وفي هذه الحالة يحيط المبيد بالحيوانات فضلا عن تغذيتها على الطعام الملوث (المعامل) بالمبيد هنا سيؤثر المبيد بطريقتين هما الملامسة contact و تأثير معدي stomach او تأثير تنفسي respiratory تستخدم هذه الطريقة عند دراسة . تأثير المبيدات على افات المواد المخزونة وافات التربة كما قد يضاف المبيد الى الماء لدراسة تاثيره ومن مزايا هذه الطريقة سهولة اجراءها وعدم الحاجة الى استخدام ادوات او اجهزة معقدة.

وهنا يخلط المبيد مع غذاء : Feding or Drinking 5. تغذية أو سقي الحيوانات بالفم الحيوان كما في الطريقة السابقة ولكن يتم السيطرة على عملية تناوله عن طريق الفم فقط دون تعرض الحيوان له عن طريق جدار الجسم او الجهاز التنفسي وهناك عدة طرق لاجراء ذلك مثل:-

تستخدم مع الحيوانات التي تتغذى : sandwich method أ. طريقة الساندوج

بقرض المواد الغذائية والنباتات اذ يتم وضع طبقة من المبيد بين طبقتين من المادة الغذائية (مثل الشطيرة أو الساندوج).

ب. ادخال المبيد للفم :يتم عن طريق عرض قطرات من المحلول الغذائي المخلوط مع المبيد للافة باستخدام حقنة حيث تلامس هذه القطرات اجزاء فم الافة فتشربها.
ت. طريقة الغشاء : وتستخدم مع الافات التي تتغذى بالامتصاص بعد ثقب نسيج العائل اذ يتم وضع محاليل المبيدات في وعاء مغطى بغشاء.

وتعتمد هذه الطريقة على : Exposure to pesticides residue 6. التعرض لمتبقي المبيد تعريض الافات او حيوانات الاختبار للعديد من المواد التي سبق معاملتها بالمبيد مثل شرائح الزجاج او ورق الترشيح او اطباق بتري او انابيب الاختبار وغيرها اذ تبقى طبقة من المبيد على المواد السابقة ثم تعرض لها الافات التي يراد اجراء الاختبار لها ، من اهم طرق التعريض :-

أ. تعريض غير مستمر : تعرض الافات للمبيد لفترة قصيرة فقط.

ب. تعريض مستمر : تعرض الافات للمبيد طوال فترة الدراسة.

ت. تعريض متحكم : تعرض الافات للمبيد لفترة معلومة ثم يتم نقلها الى اقفاص غير معاملة.

تمتاز هذه الطريقة بسهولةها وعدم الحاجة لاجهزة معقدة كما يعاب عليها عدم دقتها لصعوبة تحديد جرعة المبيد الذي تتعرض لهكل افة مما يؤثر على دقة النتائج.

وفي هذه الطريقة يتم غمر حيوانات : Dipping method 7. طريقة الغمر او التغطيس الاختبار في محاليل المبيدات لفترات معينة ثم تنتقل الى اواني خاصة وهنا يحدث للمبيد تأثيره اما باللامسة او عن طريق المعدة أو الجهاز التنفسي أو باكثر من طريقة للافات التي تعيش في الماء او الطفيليات الخارجية التي تتطفل على حيوانات المزرعة ويراعى في هذا الاختبار قابلية الحيوانات للغمر وضرورة اخذ النتائج بعد زوال الصدمة.

D وتستخدم مع المبيدات المجهزة بشكل : Precession Dusting 8. طريقة التعفير الدقيق مساحيق تعفير ويكون التعريض اما بغمر الافة او تعريضها لسحابة من المسحوق او الطبقة Dusting tower و Duting المترسبة منه ومن الاجهزة المستخدمة لاجراء التعريض وهذه الاجهزة تعتمد على استخدام ضغط الهواء لدفع سحابة مسحوق التعفير الى tunnel داخل حيز مقفل يحوي حيوانات الاختبار.

تستعمل مع المبيدات التي توجد بصورة غازية : Fumigation method 9. طريقة التدخين اذ تتاثر الافة عن طريق الفتحات التنفسية ويتم تعريض عدد من افراد الافة الى المبيدات الغازية داخل حيز مقفل معلوم الحجم.