اختبارات سمية المبيدات

العناوين الرئيسية:

- **أهداف الاختبارات الحيوية للمبيدات.**
- **خطوات التحضير للاختبار.**
- **خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة).**
- **مثال تطبيقي لتحليل النتائج وحساب LC50.**

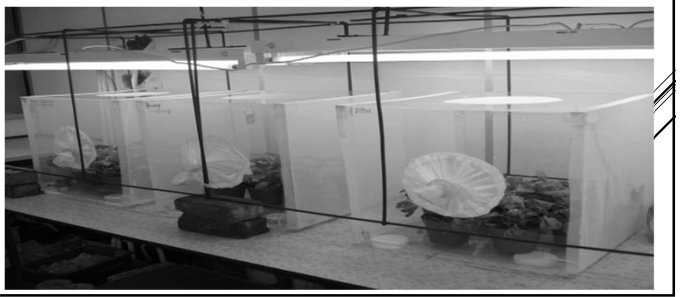
أهداف الاختبارات الحيوية للمبيدات

1. **تحديد مدى فاعلية (سمية) المبيدات على الآفات المستهدفة بالمكافحة وعلى غيرها من الكائنات الحية (نحل, أسماك, ثديات, أعداء حيوية, ...).**
2. **التقصي عن ظهور سلالات مقاومة من الآفات للمبيدات المستخدمة من جراء تكرار الاستخدام.**
3. **دراسة الأثر المتبقي للمبيد في المواد المعاملة وتحديد طبيعة التحورات التي تطرأ على المبيد في الطبيعة.**

خطوات التحضير للاختبار

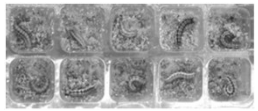
1. **جمع الحشرات من الطبيعة وتربيتها على عوائل طبيعية أو بيئات اصطناعية**

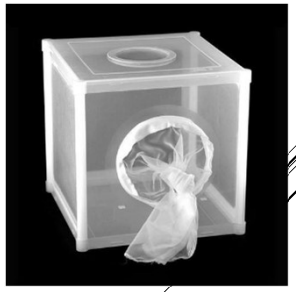
الغرض: الحصول على عدد كبير من الأفراد المتجانسة + تكوين سلالة حساسة



ضبط الظروف البيئية الملائمة لنمو الحشرات

نماذج من أقفاص تربية الحشرات





نموذج تربية فراشة درنات البطاطا

خطوات التحضير للاختبار

2. اختيار الأفراد لإنجاز الاختبارات

- ✓ أكبر عدد من الأفراد: <u>لتقليل الخطأ الناتج عن تباين الاستجابة.</u>
- ✓ تستبعد الحشرات المريضة والمشوهة.
- ✓ اختيار أفراد متجانسة: جنس –حجم – نوع.

3. التخدير (Co_2- إيتر- كلوروفورم- تبريد).

4. تحضير التركيزات وتثبيت عدد المعاملات وعدد المكررات.

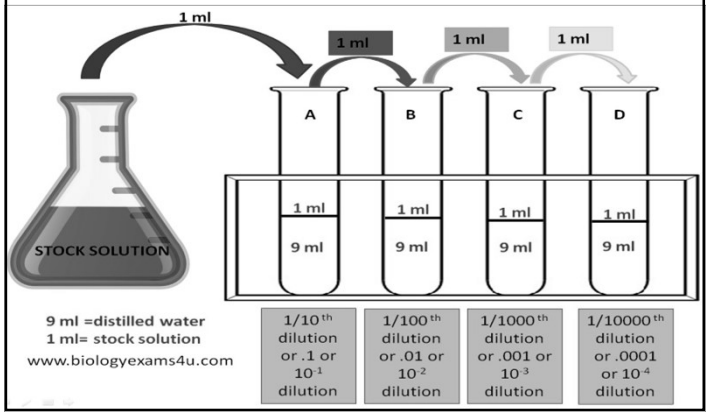
نموذج تربية البعوض

خطوات التحضير للاختبار

4. تحضير التركيزات و عدد المعاملات وعدد المكررات

- **الاختبارات الأولية: تجرب بعض التركيزات المتباعدة على الأفراد لاختيار عدد من التركيزات تسبب قتل 0-100%**
- **عدد المعاملات= عدد التركيزات التي تم اختيارها + معاملة المقارنة (الشاهد).**
- **تثبيت عدد المكررات بحيث لا يقل عن ثلاثة.**
- **تثبيت عدد أفراد المكرر بما في ذلك أفراد مكررات الشاهد.**

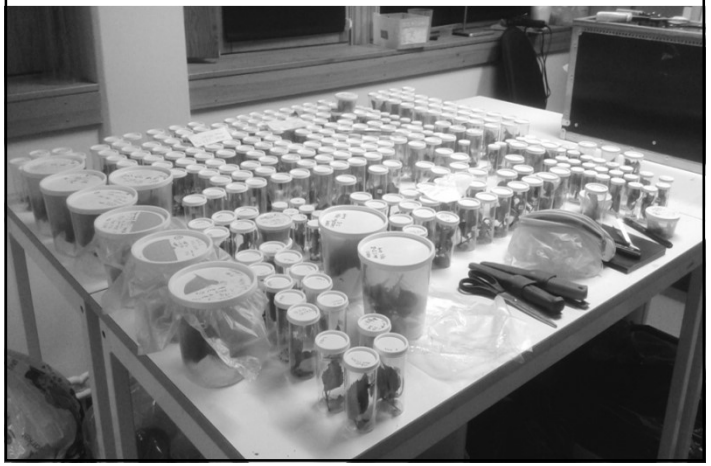
تحضير التراكيز بالتخفيف



خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

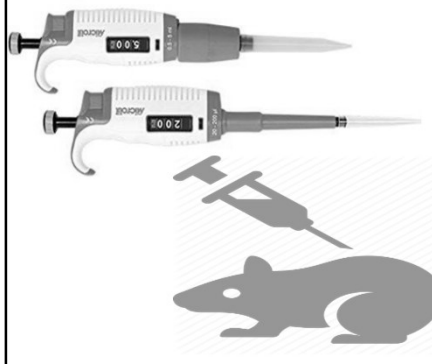
1) معاملة الحشرات بالتركيزات المدروسة من المبيدات.
2) تصحيح نسب الموت.
3) استبدال التركيز بلوغاريتم ذلك التركيز (X).
4) استبدال النسب المئوية للموت بدرجات الاحتمال(Y).
5) تنظيم جدول ورسم خط الانحدار.

كلما ازداد عدد المكررات وعدد الأفراد في كل مكرر ازدادت دقة النتائج



خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

1) معاملة الحشرات بالتركيزات المدروسة من المبيدات



- المعاملة الموضعية (Micropipette).
- الحقن.

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

1) معاملة الحشرات بالتركيزات المدروسة من المبيدات

- مزج المبيد مع البيئة الغذائية.
- تغذية الحشرات أو سقيها بكميات محددة من المبيد.
- الغمر.

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

1) معاملة الحشرات بالتركيزات المدروسة من المبيدات

- الرش و التعفير.
- التدخين.

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

2) تصحيح نسب الموت

- نظرياً: يجب عدم حدوث الموت لأي من أفراد التجربة المقارنة.
- عملياً: قد يموت بعض الأفراد و ضمن الحدود المقبولة (5-10 %).

لذلك يجب أن تصحح نسبة الموت الواقعة في المعاملات المختلفة مع المبيد بحسب معادلة **Abbot**

$$\%\ \text{للموت المصححة} = 100 \times \frac{\text{م} - \text{م ق}}{100 - \text{م ق}}$$

م : النسبة المئوية للموت في المعاملة.

م ق: النسبة المئوية للموت في تجربة المقارنة.

- استجابة الحشرات عند معاملتها بالتركيزات المختلفة للمبيدات تتناسب طرداً مع لوغاريتم التركيز أو الجرعة وليس مع التركيز نفسه.
- التغير على مقياس لوغاريتمي يكون أبطأ, كما هو معروف من خصائص اللوغاريتمات مما يقرب المنحني من الخط المستقيم.

3- ترفع لوغاريتمات التركيز على المحور اللوغاريتمي أما وحدات الاحتمال Brobits المقابلة لنسب الموت فترتفع على الإحداثي الآخر.

- تستبدل النسب المئوية للموت بوحدات درجات الاحتمال الخاصة.
- تحسب نقاط التقاطع فتقع جميعها على خط مستقيم يسمى خط سمية المبيد المختبر.

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

4) استبدال النسب المئوية للموت بدرجات الاحتمال(Y)

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

5) تنظيم جدول وحساب الجرعة القاتلة النصفية

حساب مجموع مربعات الانحرافات:

$$SSX = \sum(X^2) - \frac{(\sum X)^2}{n}$$

n عدد المعاملات

في المثال السابق:

مجموع مربعات الانحرافات

30-25=5

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

5) تنظيم جدول وحساب الجرعة القاتلة النصفية

التركيز PPM	لوغاريتم التركيز (X)	نسبة الموت المصححة	وحدات الاحتمال (Y)	X.Y	x2
X1=10000	4	88	6.18	24.72	16
X2=1000	3	70	5.6	16.8	9
X3=100	2	65	5.39	10.78	4
X4=10	1	55	5.13	5.13	1
المجموع	10		22.3	57.43	30
المتوسط	$\bar{X}$=2.5		$\bar{Y}$= 5.575		

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

5) تنظيم جدول وحساب الجرعة القاتلة النصفية

انحدار الخط= ميل خط السمية

$$b = \frac{\sum xy - \frac{(\sum y)(\sum x)}{n}}{SSx}$$

في المثال السابق:

b=(57.43-223/4)/5=0.336

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

5) معادلة خط السمية

انحدار الخط= ميل خط السمية

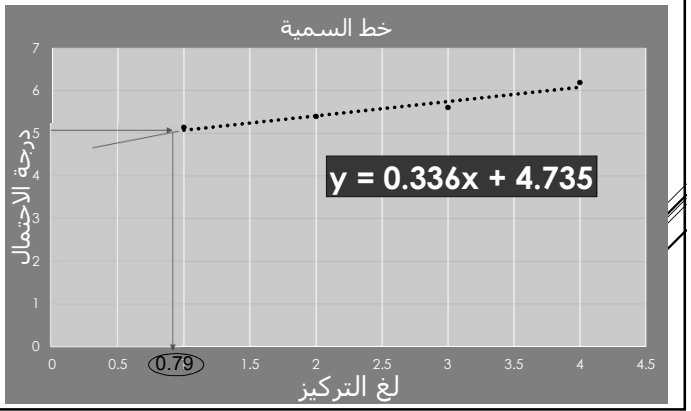
$$Y1 = \bar{Y} - b\bar{X} + bX1$$

في المثال السابق:

لتحديد قيمة الجرعة القاتلة النصفية تكون قيمة درجة الاحتمال المقابلة 5 مقابلة لقيمة x=0.789 وبالتالي قيمة الجرعة القاتلة النصفية هي عكس اللوغاريتم لهذه القيمة (shift $10x = 6.152$)

خطوات الاختبار (وإجراء المعاملة)

5) رسم خطوط الانحدار



اختبار سمية المبيدات الفطرية والبكتيرية:

هنالك عدة طرق لاختبار كفاءة وسمية المبيدات الفطرية مخبريا على الفطريات والبكترية الممرضة للنبات, ومن أهم الطرق المستخدمة لاختبار المبيدات الفطرية هي طريقة الغذاء المسمم:

- **يتم تخضير عدة تراكيز من المبيد باستخدام طريقة التخفيفات المتتالية التي سبق ذكرها.**
- **يضاف محلول المبيد إلى أطباق بتري والتي تحتوي على الوسط الغذائي PDA أو غيره من الأوساط حسب الكائن المستهدف.**
- **يتم وضع قرص فطري (بقطر 6 مم ، عمره 5 أيام) في وسط طبق البتري**
- **التحضين على درجة حرارة 25- 27 م° لمدة 4-7 أيام.** و T هو قطر المختبر

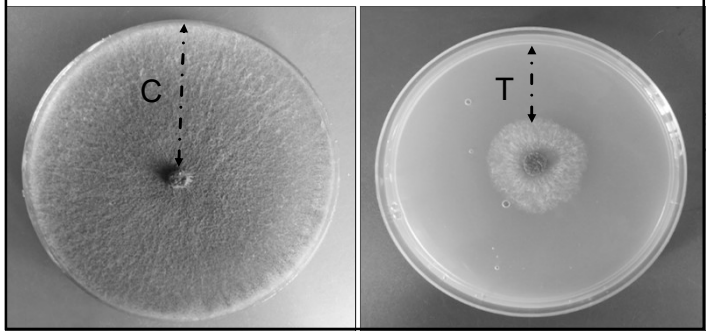
بالنسبة للمبيدات البكتيرية يتم استخاد طريقة الأقراص القطنية (Disk Diffusion):

- **يتم غمس أقراص قطنية دائرية بقطر6 ملم في محلول المبيد المحضر بالتركيز المطلوب (غمس عدة أقراص لكل تركيز من المبيد).**
- **في طبق بتري يحوي الوسط الغذائي فقط توضع الأقراص المبللة بتراكيز مختلفة من المبيد على البيئة.**
- **تغمس أقراص بالماء المقطر (أو المذيب) بدون مبيد وتستخدم كشاهد مقارنة.**
- **يتم حساب نسبة فعالية كل تركيز من المبيد بقياس قطر الهالة المتشكلة حول القرص و مقارنتها بالشاهد وباقي التراكيز كما في الشكل:**

ومن ثم يتم حساب نسبة تثبيط النمو الميسليومي باستخدام المعادلة:

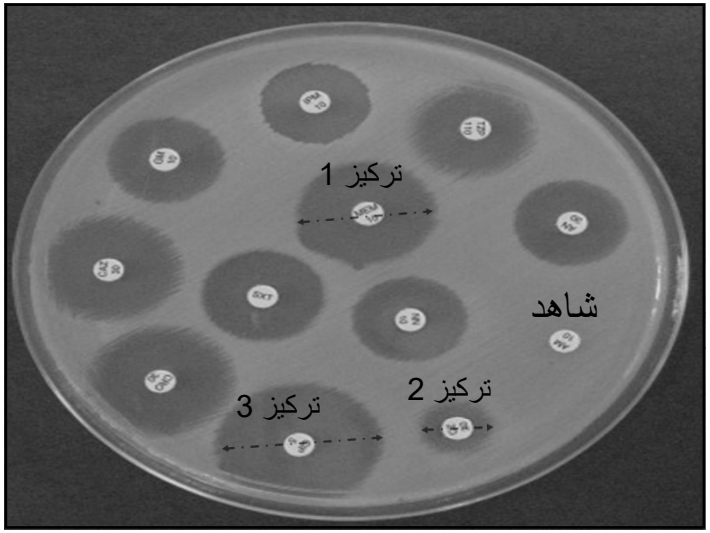
نسبة التثبيط= [(C-T) / C] × 100

حيث C هو قطر (مم) النمو اليسليومي الفطري في الشاهد و T هو قطر (مم) النمو الميسيليمومي الفطري بوجود المركب كما في الشكل:



بعض أعراض سمية المبيدات

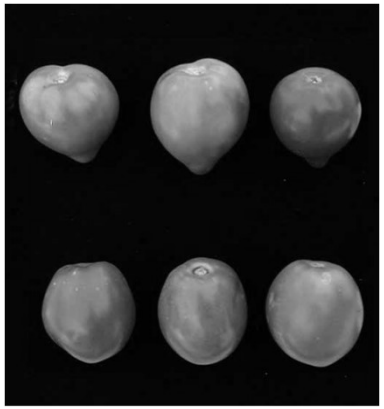
تشوه أوراق البندورة بمبيد عشبي



تضخم عروق أوراق البندورة وتشوه عام بمبيد عشبي

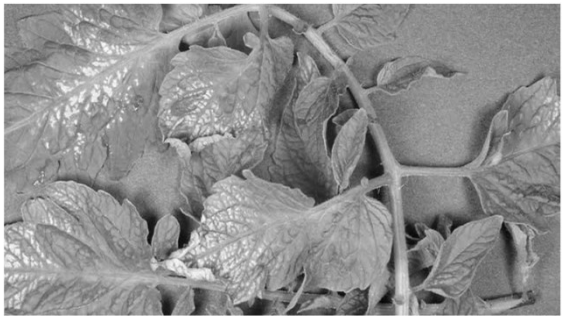
ابيضاض عروق أوراق البندورة بمبيد عشبي

نقص الكلوروفيل في قاعدة أوراق البندورة بمبيد عشبي



تشكل حليمات على ثمار البندورة بمبيد عشبي (غليفوسات)

تورم وانتفاخ ساق البندورة بمبيد عشبي (تريفلورالين)



تجعد أوراق البندورة وموت المنطقة بين العروق بمبيد عشبي (أسيفات)

موت حواف أوراق البندورة – مبيد عشبي (أوكساميل)

أعراض صدأ على ثمار التفاح – ناتج عن مواد مساعدة مضافة لمبيد فطري

أعراض على ثمار التفاح – ناتج عن تطبيق مبيد Azoxystrobin

أعراض على ثمار التفاح – ناتج عن مواد مساعدة
مضافة لمبيد فطري أو زيوت مع مبيد فطري

سمية مركبات النحاس على أوراق الدراق

تشوه أوراق البطيخ بمبيد عشبي (2, 4, D)