تأثير بعض المستخلصات النباتية في التركيب النسجي للمعي الوسطي والمبايض لخنفسائي الطحين الصدئية *Tribolium castaneum* (Herbst). و الخابرا *Trogoderma granarium* (Everts) ♦

نجم شليمون كوركيس وأياد يوسف إسماعيل وعدنان موسى محمد*

قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة الموصل

Abstract

The effect of aqueous plant extracts of (*Capparis spinosa* L., leaves; *Olea europea* L., leaves; *Dianthus chinensis*, flowers; *Mentha longifolia* L., leaves and *Melia azedarach*, leaves and fruits) on the histology of the midgut of larvae and adult of **Rusty flour beetle** *Tribolium castaneum* (Herbst). **& Khapra beetle** *Trogoderma granarium* (Everts was studied. Results showed that the longitudinal muscles bundles began to disintegrate and sometimes disappear. The circular muscle layer became thinner, irregular, deattched from epithelial layer and even it underwent disruption. Also, cells of epithelial layer have undergone a great and clear disintegrator in many places. These effects have been noticed in the midgut of adult stage of khapra beetle. Histological preparations showed the absence of peritrophic membrane in both beetles studied.

The extracts have seriously affected the histological nature structure of the ovaries in khapra beetle reared from larvae previously treated with the extracts. The follicle cells became loose, separate from each other and then began to disintegrate, thus, becoming indistinguishable .Also vacuoles appeared at the peripherye of the oocyte which increases in number and size due to the disappearance of the yolk granules. Morphological abnormality appeared in ovarian follicles. They lose their regular circular or oval form and become irregular, amoeboid, distorted or disintegrated. These effects have led to the decrease of the number of ovarioles. The effect was severe on the fat bodies. Their quantities became greatly decreased, and restricted in certain areas, and finally, almost disappeared around the ovaries.

♦ البحث ملقى في المؤتمر الأول لعلوم الحياة في كلية التربية جامعة الموصل للفترة 4-5 أيلول 2007

*مستل من اطروحة دكتوراة للباحث الثالث.

الخلاصة

تمت في هذه الدراسة التعرف على تاثير المستخلصات النباتية المائية لمستخلص اوراق الكبر (*Capparis spinosa* L.) واوراق الزيتون (*Olea europea* L.) وازهار القرنفل (*Dianthus chinensis* L.) واوراق النعناع (*Mentha longifolia* L.) واوراق السبحبح وثماره (*Melia azedarach* L.)، في التركيب النسجي للمعي الوسطي ليرقات وبالغات خنفسائي الطحين الصدئية.(Herbst) *Tribolium castaneum* والخابرا *Trogoderma granarium* (Everts)، لوحظ اضمحلال او اختفاء للعضلات الطولية احيانا، ورقة او انفصال في طبقة العضلات الدائرية وتقطعها وانفصالها عن البطانة الطلائية، مع حدوث تحلل واضمحلال كبيرين وواضحين في عدة مناطق من خلايا البطانة المعدية. وقد شوهدت هذه التاثيرات نفسها في المعي الوسطي للحشرات الكاملة لخنفساء الخابرا. اظهرت المقاطع النسجية انعدام الغشاء حول الغذاء في خنفسائي الدراسة.

اثرت المستخلصات تاثيرا بالغا في التركيب النسجي لمبايض اناث خنفساء الخابرا الناشئة من اليرقات المعاملة، ومن هذه التاثيرات، تفكك الخلايا الحويصلية وانفصالها، بل صعوبة تمييزها واضمحلالها احيانا. كما ظهرت فجوات محيطية في خلية البيضة، ازدادت عددا وحجما نتيجة اختفاء الحبيبات المحية مع ظهور تشوهات مظهرية في الحويصلات المبيضية التي تفقد شكلها الكروي او البيضوي المنتظم فتظهر بشكل اميبي متعرج غير منتظم. كما لوحظ نقص في عدد الفصوص المبيضية نتيجة للتلف الذي يصيب مكوناتها. كما لوحظ نقص شديد في كمية الاجسام الدهنية، بل واقترابها من الاختفاء التام من جوف الجسم. ان التغيرات المذكورة في اعلاه هي نتيجة للتاثيرات التي احدثتها المستخلصات النباتية المائية التي استخدمت في هذه الدراسة.

المقدمة

يتركب الجهاز التناسلي الانثوي لخنفساء الطحين الصدئية الحمراء وخنفساء الخابرا من زوج من المبايض التي يتكون كل منها من ستة فصوص مبيضية Ovarioles او انيبيبات مبيضية Ovarian tubules ، ويتكون كل فص مبيضي في خنفساء الطحين الصدئية الحمراء من منطقتين هما المنطقة الجرثومية Germinal zone الحاوية على الخلايا المولدة والمغذية، المرتبطة بالخيط النهائي Terminal filament من جهة، تلتقي الفصوص المبيضية الستة المكونة لكل مبيض في توسع صغير في بداية قناة البيض الجانبية يسمى الكأس Calyx . تمتد قناتا البيض الجانبيتان Lateral oviduct نحو الخلف لمسافة قصيرة، ثم تلتقيان وتكونان قناة بيض واحدة مشتركة Common oviduct تفتح في كيس السفاد Bursa copulatrix ثم

تستمر مكونة المهبل Vagina ، الذي ينتهي بالفتحة التناسلية الانثوية Female genital opening (1).

أثرت المستخلصات النباتية في التركيب النسجي للحشرات، اذ لاحظ Morduc (Luntz) واخرون(2) ان عدد تقلصات الامعاء المعزولة من حوريات الجراد المهاجر *Locusta migratoria* تقل عند اضافة الازادرختين الى وسط الحمام المائي الموجود فيه الامعاء. كما بين ان حقن الامعاء السليمة بالازادرختين بجرعة مقدارها 12 مايكروغرام/غرام من وزن الجسم يقلل من عدد التقلصات ويسبب ذلك في بطء حركة الغذاء المار خلال القناة الهضمية.

تسبب معاملة غذاء الحشرات بعدد من المستخلصات النباتية مثل الازادرختين او منتجات النيم تاثيرات مباشرة في النسيج والخلايا المختلفة للحشرات، ويعد المعي الوسطي من الاعضاء الاكثر تاثرا في اليرقات والحشرات الكاملة، لان هذا الجزء من القناة الهضمية غير مبطن بمادة الكايتين التي تبطن المعي الامامي والخلفي كليهما، اذ تؤثر هذه المواد في عضلات القناة الهضمية فضلا عن خلايا الطلائية لبطانة القناة الهضمية الوسطية

كما ان الازادرختين يعمل على خفض الانتاج الانزيمي للمعي الوسطي، ويؤثر في بناء البروتينات وافرازها فيمنع انتاجها(3).

تعد النباتات مصدرا مهما للعديد من المركبات الطبيعية التي يمكن ان تستخدم في مكافحة الحشرات من خلال تاثيرها في المبايض وعدد البيض الذي تضعه الاناث ، ومن هذه المركبات الكلوكوسيدات والقلويدات التي تستخرج من النبات (4).

اظهر Hassan (5) ان تربية خنفساء الخابرا وسوسة الحبوب على بذور حنطة سبق ان عوملت بـ 5، 10 و 15 مل/1 كغم حنطة بمستخلصات زيوت كل من السمسم والخروع وزهرة الشمس ادت الى تقليل عدد البيض ونسبة فقسه في الحشرتين.

بين Mukherjee واخرون (6) ان المعاملة السطحية لاناث خنفساء الطحين الصدئية الحمراء بعد البزوغ مباشرة بمستخلصات نباتية عديدة، ولاسيما عند التركيز 1 مايكروغرام/حشرة ادى الى انخفاض خصوبة الاناث ومن ثم الى انخفاض في عدد البيض الذي وضعته.

المواد وطرق العمل

لغرض معرفة تاثير المستخلصات المستخدمة في التركيب النسجي للمعي الوسطي mid-gut والمبايض ovaries في الحشرتين، اتبعت الخطوات الاتية :

تم التثبت Fixation والانكاز Dehydration والترويق Clearing وتبعها التشريب Impregnation : وقد وضعت النماذج المروقة في خليط من الشمع الذائب (درجة ذوبانه

60 °م) والزايلول نسبة 1:1 لمدة نصف ساعة، ثم نقلت النماذج الى شمع البرافين لوحده ومن النوع نفسه ولمدة 6 ساعات.الطمر Embedding: وقد طمرت النماذج بعد عملية التشرب في شمع البرافين المذكور انفا.التشذيب Trimming : وقد ازيل الشمع الزائد عن الحاجة والمحيط بالنماذج المطمورة وبطريقة بحيث يمكن الحصول على مقاطع متسلسلة serial section من النوع المطلوب.القطع Sectioning : وقد قطعت النماذج بواسطة جهاز القطع الدوار microtome من نوع Richert-Jung وكانت المقاطع المتسلسلة serial sections مستعرضة او طولية او سهمية او افقية على حسب الطلب، وبسمك (5-10) مايكرومترات.

الصبغ Staining : وقد صبغت المقاطع بعد ان تم تثبيتها على الشرائح بمادة الالبومين المذاب في الماء بصبغتين، وهما: صبغة الهيماتوكسلين إرلخ والايوسين Ehrlich's Hematoxylin-eosin (H.E) والتي استخدمت بشكل محدود نوعا ما وصبغة الديهايد فوكسين Aldehyde-fuchsine (A.F) وحسب طريقة Ewen (7) وبشكل واسع ورئيس في اغلب المقاطع التي اعدت في الدراسة الحالية وذلك لتفوقها على الصبغة الاولى في مميزاتها التميزية وكونها من الصبغات الثلاثية.

التحميل Mounting : اذ استخدم DPX في عملية التحميل.

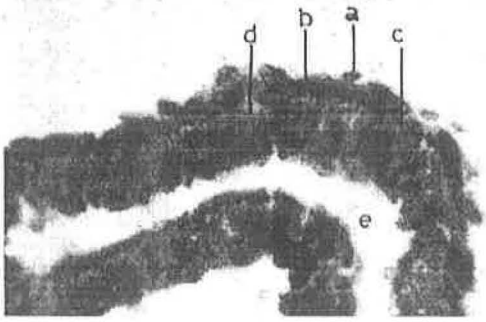
التصوير Photography : وقد استخدم مجهر التصوير من نوع Taiwan ، ALTAY 1007 وبشكل رئيس كما استخدمت الكاميرة الرقمية Digital camera ايضا عند الضرورة وبشكل محدود، لالتقاط الصور للمقاطع او النماذج المطلوبة.

لغرض التعرف على المظهر العام للجهاز التناسلي، ولاسيما المبايض للحشرتين كلتيهما، شرحت الاناث وفصلت المبايض وتمت عملية انكازها وترويقها وصبغها باستخدام عدة صبغات مثل Orange G ، Light green ، Toluidine blue ، Neutral red و Alcian blue (8). واخيرا حملت الاجزاء وتم تصويرها بالمجهر التشريحي من نوع Wild Heerbragg باستخدام الكاميرة الرقمية.

النتائج والمناقشة

اجريت الدراسة النسجية للتعرف على تاثيرات المستخلصات النباتية المائية الستة المستخدمة في الدراسات الحالية في التركيب النسجي للمعي الوسطي للطور اليرقي لخنفساء الطحين الصدئية الحمراء وخنفساء الخابرا، ومما يجدر ذكره ان يرقات خنفساء الطحين الصدئية الحمراء لم تستطع ان تصل الى الطور البالغ بسبب المعاملة بالمستخلصات المائية في الدراسة الحالية.تبين المقاطع المستعرضة للمعي الوسطي في نماذج المقارنة البالغة لخنفساء الخابرا (شكل1) المناطق والطبقات التي تكون المعي الوسطي والمشابهة لتلك

الموجودة في المعي الوسطي لخنفساء الطحين الصدئية الحمراء، باستثناء انعدام المفارخ في الخابرا،



الشكل (1): جزء من مقطع مستعرض للمعي الوسطي لنماذج المقارنة لخنفساء الخابرا الكاملة يبين المناطق والطبقات النسجية الرئيسة التي يتكون منها جدار المعي الوسطي ابتداءا من الخارج الى الداخل، وهي العضلات الطولية (a) ، العضلات الدائرية (b) ، الغشاء القاعدي (c) ، البطانة الطلائية (d) ، تجويف المعي الوسطي (e) . المثبت، محلول بوين الكحولي. الصبغة، الديهايد فوكسين. التكبير 615 مرة.

على الرغم من كثرة المقاطع النسجية ودقة الفحص المجهري لم يعثر ابدا على الغشاء حول الغذائي Peritrophic membrane(Matrix) ، لذا يمكن ان يعد هذا الغشاء غير موجود او مفقودا في خنفسائي الطحين الصدئية الحمراء والخابرا كلتيهما.لقد تأثر التركيب النسجي للمعي الوسطي للطور اليرقي في خنفساء الطحين الصدئية الحمراء وخنفساء الخابرا كلتيهما وبشكل واضح بالمستخلصات النباتية المائية التي استخدمت في الدراسة الحياتية، الا ان التاثيرات كانت اشد فعلا واكثر وضوحا في يرقات خنفساء الطحين الصدئية الحمراء منها في يرقات خنفساء الخابرا (الشكلان 2 و 3)، لقد تسبب التركيز 5% من المستخلص المائي لاوراق الزيتون في انفصال طبقة العضلات الدائرية عن البطانة الطلائية، لكن العضلات الطولية مازالت واضحة المعالم كما لم يؤد الى تحلل واضح وتلف في الخلايا الطلائية في المعي الوسطي ليرقات خنفساء الخابرا (الشكل 2). اما في المعي الوسطي ليرقات خنفساء الطحين الصدئية الحمراء، فقد احدث التركيز نفسه، ومن المستخلص ذاته، تاثيرات بالغة منها انفصال العضلات الدائرية عن الطبقة الطلائية واختفاء الغشاء القاعدي في عدة اماكن، ليس هذا فحسب بل قد ادى المستخلص الى تقطع في طبقة العضلات الدائرية، مع اختفاء العضلات وصعوبة التعرف عليها، هذا فضلا عن احداث تحلل واضمحلال كبيرين وواضحين في عدة مناطق من خلايا البطانة الطلائية (الشكل 3).

التاثيرات النسجية التي احدثتها المستخلصات النباتية المائية في المعي الوسطي لليرقات في الحشرتين، وللمعي الوسطي والمبيض في كاملات خنفساء الخابرا فقط، حيث لم تتمكن يرقات خنفساء الطحين الصدئية الحمراء من الوصول الى الطور البالغ وذلك بسبب التاثير البالغ الذي احدثته المستخلصات في انسجة المعي الوسطي من انفصال الطبقة العضلية وتحلل واضمحلال الطلائية نفسها، في حين كانت هذه التاثيرات اخف وطأة بكثير في المعي الوسطي ليرقات خنفساء الخابرا وهذا يتوافق مع ما اكدته Helen (9)

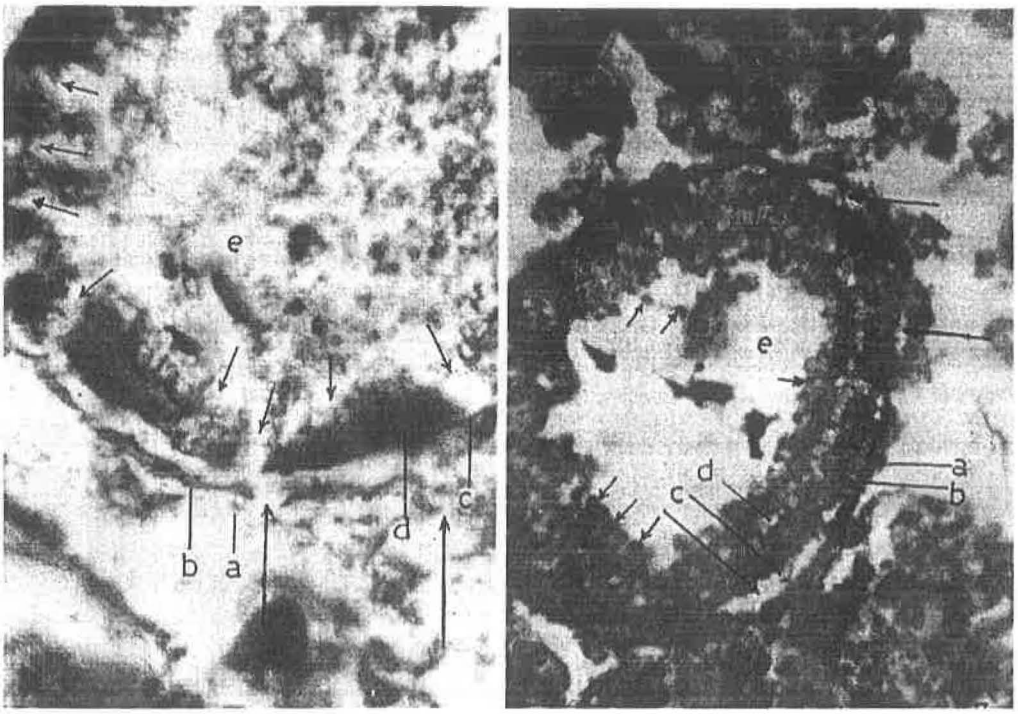
من ان معاملة يرقات سوسة الرز وخنفساء اللوبيا بمستخلص الفلفل الاحمر تسببت في عدم وصول هذه اليرقات الى الطور البالغ.اثرت المستخلصات النباتية المائية المستخدمة في الدراسة الحالية في التركيب النسجي للمعي الوسطي للطور اليرقي لخنفساء الطحين الصدئية الحمراء وخنفساء الخابراوللطور الكامل لخنفساء الخابرا.تبرز من السطح الخارجي للمعي الوسطي لخنفساء الطحين الصدئية الحمراء امتدادات اصبعية نحيفة لجداره ويطلق عليها Regenerative cells بالمفارخ او المنابت

وهي مواقع تحوي الخلايا الطلائية المولدة الطلائي للمعي الوسطي (1). ومن الجدير بالذكر ان هذه التراكيب معدومة في المعي الوسطي لخنفساء الخابرا ، وقد تم في الدراسة الحالية التعرف ولاول مرة على التشريح الداخلي لخنفساء الخابرا، حيث لم تشر اية مصادر سابقة الى تشريحها الداخلي وتركيبها النسجي للمعي الوسطي والمبايض أيضا، بعكس خنفساء الطحين الصدئية الحمراء التي تناولتها الابحاث بوفرة(1). وبسبب انعدام المفارخ في خنفساء الخابرا تشاهد الخلايا المولدة بهيئة تجمعات من خلايا مخروطية او بيضوية صغيرة مجاورة للغشاء القاعدي والخلايا الطلائية العمودية الكبيرة المكونة للنسيج الطلائي للمعي الوسطي.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان المستخلصات النباتية بتراكيزها المختلفة تسببت في تاثيرات واضحة في تركيب ووظيفة المعي الوسطي ليرقات خنفسائي الطحين الصدئية والخابرا وللكاملات في الخابرا. فقد اظهرت المقاطع النسجية للمعي الوسطي ان المستخلصات النباتية المائية المستخدمة في الدراسة الحالية، سببت زيادة في حجم الخلايا العمودية وفي تطاولها مع حصول زيادة في الامتدادات السايتوبلازمية كما في شكل 2 و3، واحدث عدد من المستخلصات تحطما في الروابط بين الخلايا، أي تسببت في تفككها، بل ادت الى تحللها واضمحلالها وتحطم عدد منها مما ادى الى ظهور فراغات وفجوات بين الخلايا الطلائية التي تبدوا متراصة في الحالة الطبيعية. وتتوافق هذه النتائج مع ما توصل اليه مصطفى (10) الذي اكدا حصول تحلل في الخلايا الطلائية وكذلك انفصال الطبقة العضلية عن الطلائية للمعي الوسطي.

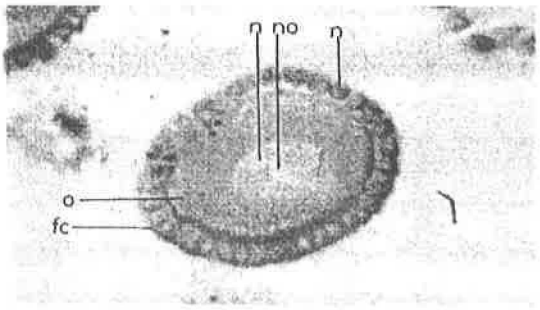
وقد سببت المعاملة بالمستخلصات النباتية المائية المستخدمة في الدراسة الحياتية تاثيرات نسجية مهمة في المبيض.يتضح من الشكل (4) الذي يمثل مقطعا لاحد الفصوص المبيضية، من نماذج المقارنة لخنفساء الخابرا، مارا في الحويصلة المبيضية الحاوية على خلية بيضة Oocytes في بداية مرحلة التطور، وهي كروية الى بيضوية الشكل تقريبا ومنتظمة ومحاطة بصف واحد من الخلايا الحويصلية المكعبة الشكل المتميزة بنواها الكروية الكبيرة التي تحتل معظم حجم الخلية الحويصلية المكعبة. تحيط هذه الخلايا الحويصلية بخلية البيضة احاطة تامة، وتكون في تماس مباشر بها. يظهر سايتوبلازم خلية البيضة حبيبات محية كثيفة ناعمة متجانسة الى حد كبير، وللخلية البيضية نواة كبيرة نوعا ما ولها نوية واضحة، وغالبا ما تكون النواة والنوية غير مركزيتين.

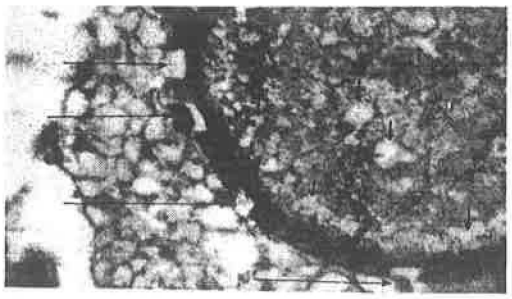
تظهر نتائج الدراسة الحالية ان الخلايا البيضية قد تعرضت الى تشوهات عديدة وتاثرت تاثرا كبيرا بالمستخلصات النباتية المائية المستخدمة. يبين الشكل (5) خلية بيضية في مراحل تطورية متقدمة في مبيض انثى ناشئة من طور يرقي تمت تربيته على غذاء معامل بالمستخلص المائي لاوراق النعناع وبتركيز 2.5 ومما يلفت النظر عند فحص مقاطع المبايض في النماذج المعاملة بالمستخلصات المائية هو ان الاجسام الدهنية قد تأثرت هي ايضا تأثرا بالغا بهذه المستخلصات، فبدأت تظهر بشكل تجمعات تفصلها فجوات كبيرة ، وفي بعض الاحيان اقتصر وجودها على زوايا معينة من جوف الجسم الدموي، واحيانا تكاد تختفي لقلتها ولشدة تاثرها بالمستخلصات المستخدمة.



الشكل (2): مقطع مستعرض للمعي الوسطي ليرقات خنفساء الخابرا يبين تاثير التركيز 7.5% من المستخلص المائي لاوراق الزيتون (قارنه مع تاثيره البالغ في المعي الوسطي للخنفساء الثانية، في التركيب النسجي للمعي الوسطي. لاحظ انفصال (الاسهم الطويلة) الطبقتين العضليتين الطولية (a) والدائرية (b) من جهة عن الغشاء القاعدي (c) والبطانة المعدية (d) من جهة اخرى. لاحظ الافرازات (الاسهم القصيرة) الموجودة في قمم الخلايا الطلائية والمطروحة خارجها في التجويف المعوي (e) . المثبت، محلول بوين الكحولي. الصبغة، الديهاد فوكسين. التكبير 155 مرة.

الشكل (3): جزء من مقطع مستعرض للمعي الوسطي ليرقات خنفساء الطحين الصدئية الحمراء يبين تاثير التركيز 7.5% من المستخلص المائي لاوراق الزيتون في التركيب النسجي للمعي الوسطي. لاحظ التحلل والاضمحلال الواضحين في خلايا الطبقة الطلائية (الاسهم القصيرة) مع حدوث الانفصال (الاسهم الطويلة) في الطبقة العضلية الدائرية عن الطلائية. المثبت، محلول بوين الكحولي. الصبغة، الديهاد فوكسين. التكبير 615 مرة.





الشكل (4): مقطع مستعرض في مبيض النماذج المقارنة من خنفساء الخابرا يوضح التركيب النسجي للحويصلة المبيضية الطبيعية لاحظ الخلية البيضية (o) شبه الكروية او البيضوية الشكل مليئة بالحبيبات المحية الصغيرة ذات النواة (n) كبيرة والنوية الصغيرة (no) كما تلاحظ الخلايا الحويصلية (fc) المكعبة المحيطة بالخلية البيضية احاطة تامة ومباشرة ذات النوى (n) الكروية الكبيرة التي تشغل معظم حجم السايتوبلازم هذه الخلايا. المثبت محلول بوين الكحولي. الصبغة، الديهاد فوكسين (AF) . التكبير 615 مرة.

الشكل (5): جزء من خلية بيضية لخنفساء الخابرا الكاملة في مراحل متقدمة يبين تاثير التركيز 2.5% من المستخلص المائي لاوراق النعناع في تركيبها النسجي. لاحظ انفصال وتفكك عدد من الخلايا الحويصلية (الاسهم الطويلة) مع ظهور فجوات كبيرة متباينة الاحجام (الاسهم القصيرة) بسبب اختفاء الحبيبات المحية واضمحلالها. ويزداد عدد هذه الفجوات عادة عند محيط الخلية البيضية، أي قرب الخلايا الحويصلية. المثبت، بوين الكحولي. الصبغة، صبغة الالديهايد فوكسين. التكبير 615 مرة.

المصادر

1-Sokoloff, A." The Biology of Tribolium". Oxford, The Clarendon Press, Vol. 1, 2. (1974).

2-Mordue (Lantz), A.J.; Cottee, P.K. and Evans, K.A , Physiol. Entomol., 10: 431-437. (1985).

3-Mordue (Luntz), A.J. and Nisbet, A.J.,An. Soc. Entomol. Brasil., 29: 616-632. (2000).

4-El-Hag, A.E., Inter. J. Pest Manag., 46(2): 109-113. (2000).

5-Hassan, A.A., M.Sc. Thesis, Ain Shams University, Egypt. (2004).

6-Mukherjee, S.N.; Joseph, M.; Suchil, K. and Hasan, S., Aromatic Plant Sciences, 22-23. . (2001).

7-Ewen, A.B. ,Tran. Amer. Micro. Soc., 81: 94-96. (1962).

8- كوركيس، نجم شليمون ،أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل(1996).

9-Helen, C.F., J. Econom. Entomo., 70(1): 18-21. (1977).

10- مصطفى، منيف عبد. ، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل(2002).