تاثير مبيد الكلايفوسيت اكوا في الصورة الدمية لسمكة البني *Barbus sharpeyi*

عبدالمطلب جاسم الرديني[1] و ماهر عطاالله عبدالعزيز[2]
[1]كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، [2]مديرية زراعة واسط، وزارة الزراعة، العراق.
E-mail: Alrudainy612003@yahoo.com
مقبول للنشر في: 2015/4/29

الخلاصة

أجريت الدراسة في مختبر امراض الأسماك/كلية الطب البيطري جامعة بغداد للمدة بين 3/1 ولغاية 2103/6/1 لمعرفة مدى تاثير سمية مبيد كلايفوسيت اكوا في عدد كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض وتركيز الهيموغلوبين ونسبة عدد الخلايا المرصوصة، فضلا عن تحديد عدد الأنوية الصغيرة في كريات الدم الحمر في الأسماك التجريبية في سمك البني *Barbus sharpeyi*، تراوحت أوزانها بين 10-15غم، قيست الجرعة النصف قاتلة LC_{50}، كما استعملت أسماك اخرى لمعرفة التأثيرات شبه الحادة والمزمنة للمبيد. وزعت عشوائيا بعدد 10 أسماك لكل حوض زجاجي. قسمت إلى أربع معاملات فضلا عن مجموعة السيطرة (من دون اضافة مبيد) المعاملة الأولى كانت بتركيز0.415 ملغم/لتر طيلة مدة التعرض البالغة 90 يوما والمعاملة الثانية بتركيز0.415 ملغم/لتر لمدة 15 يوماً فقط، أما المعاملة الثالثة فقد أضيف اليها المبيد 0.207 ملغم/لتر طلية مدة التجربة والمعاملة الرابعة 0.207 ملغم/لتر لمدة 15 يوما فقط. بينت نتائج فحص الصورة الدمية وعدد النوى الصغيرة لأسماك التجربة وجود فروقات معنوية ($P<0.05$) في المعاملة الأولى والثالثة مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ اظهرت المعاملة الأولى انخفاضا معنويا واضحا في عدد كريات الدم الحمر ونسبة الهيموغلوبين والنسبة المئوية لحجم خلايا الدم المرصوصة فضلا عن ارتفاع حاد في عدد خلايا الدم البيض مقارنة بباقي المعاملات ومجموعة السيطرة، كذلك وجود تحسن في الحالة الصحية للمعاملتين الثانية والرابعة. نستنتج من هذه الدراسة إنه كلما زاد تركيز مبيد كلايفوسيت اكوا فانه سيؤثر تأثيراً سلبياً في المعايير الدمية للأسماك، ويمكن ان تتحسن الحالة الصحية لسمكة البني عندما تتحسن الظروف البيئية للسمكة ويزول التعرض للمبيد.

الكلمات المفتاحية: أسماك، بني، كلايفوسيت اكوا، الصورة الدمية.

المقدمة

تعد أسماك البني *Barbus sharpeyi* من أنواع الأسماك العراقية الاقتصادية المهمة، إذ تنتشر في نهري دجلة والفرات وفي أغلب المسطحات المائية الداخلية ولاسيما المناطق الوسطى والجنوبية ويقل انتشارها في المناطق الشمالية من العراق، ويكثر وجودها في مياه راكدة نسبيا أو بطيئة الجريان، ونظراً لانتشار الأدغال المائية ولاسيما نباتات القصب *Phargmites austarlts* في مناطق واسعة من العراق، فقد أصبحت من المعوقات الرئيسة لانسياب المياه إنسياباً اعتيادياً، فضلاً عن كونها مأوى للحيوانات الضارة لذلك استعملت مبيدات الأدغال Herbicides للقضاء على الأعشاب غير المرغوب فيها، لكنّ التوسع الحاصل في استعمال المبيدات في السنوات القليلة الماضية بمختلف أنواعها وتباين درجة سميتها جعلها سلاحاً ذا حدين، ويعد مبيد كلايفوسيت اكوا من أكثر المبيدات وفرة في العالم من حيث العدد، إذ تعكس أعداده المدى الواسع من أنواع الأدغال واتساع المواطن التي تعيش فيها في مختلف بقاع العالم (1). قد تتعرض الأسماك في الطبيعة تعرضاً حاداً للمبيدات بجرعة واحدة أو قد تتعرض لجرع تعرضاً متكرراً ازداد استعمال مبيد Glyphosate Aqua حينما أكدت شركة مونسانتو أن الكلايفوسيت مؤثر في الادغال الضارة، وتمكن المزارعون من القضاء على الأعشاب الضارة من دون التأثير في محاصيلهم. تهدف الدراسة الحالية إلى تحديد النسب المقبولة لاستعمال المبيد من دون تأثيرها في الأسماك وحساب التركيز النصف قاتل في الأسماك فضلا عن معرفة مدى تاثير المبيد في عدد كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض وتركيز الهيموغلوبين ونسبة عدد الخلايا المرصوصة فضلا عن تحديد عدد الأنوية الصغيرة في كريات الدم الحمر في الأسماك التجريبية.

المواد وطرائق العمل

أجريت الدراسة في كلية الطب البيطري جامعة بغداد للمدة بين 3/1 ولغاية 2103/6/1، استعمل 10 أحواض زجاجية بأبعاد 40x40x70 سم للحوض الواحد سعة كل منها 75 لتراً. جهزت الأحواض بمصدر أوكسجين مستمر بوساطة مضخات هواء كهربائية، تمت السيطرة على درجة حرارة الماء في الأحواض الزجاجية بوساطة أجهزة تدفئة محلية الصنع عند الحاجة ولاسيما في بداية التجربة لإبقاء درجة حرارة الماء ثابتة بين 20-25 ^{0}م. جلبت أصبعيات أسماك البني *Barbus sharpeyi* من مفقس الصويرة، تراوحت معدل أوزانها بين 10-15غم، استعمل 100إصبعية لقياس الجرعة النصف قاتلة LC 50 (2)، واستعمل 200 سمكة لمعرفة التأثيرات السمية الحادة والمزمنة للمبيد، وزعت الأسماك بمعدل 10 أسماك للحوض الواحد (بواقع اربع معاملات ومكررين لكل معاملة)، فضلا عن مجموعة السيطرة (من دون اضافة مبيد)، المعاملة الأولى بتركيز 0.415 ملغم/لتر طيلة مدة التعرض البالغة 90 يوما والمعاملة الثانية بتركيز 0.415 ملغم/لتر لمد 15 يوم فقط ولم يضف إليها هذا التركيز بعد هذه المدة، أما المعاملة الثالثة فكان يضاف إليها المبيد 0.207 ملغم/لتر طلية مدة التعرض، المعاملة الرابعة 0.207 ملغم/لتر لمدة 15 يوما فقط. غذيت الأسماك بنسبة 3% من وزن الجسم الحي الرطب في أثناء مدة التجربة، تنظف الأحواض يومياً قبل تقديم الوجبة الغذائية للتخلص من الفضلات وبقايا الغذاء باستبدال أكثر من 70% من ماء الحوض يوميا وبطريقة السيفون. تم قياس التركيز النصف قاتل وحسب طريقة Probit الإحصائية.

اجريت الفحوصات الدمية حسبت الطريقة التي وصفها Coles (3) والتي شملت كل من: العد الكلي لكريات الدم الحمر والعد الكلي لخلايا الدم البيض وتركيز الهيموكلوبين وقياس حجم خلايا الدم المرصوص وتحديد عدد الأنوية الصغيرة في كريات الدم الحمر(4). خضعت النتائج للتحليل

الإحصائي باستعمال طريقة تحليل ANOVA (Analysis of Variance). استعمل أصغر فرق معنوي LSD (Least Significant Differences) لمعرفة الفروقات المعنوية بين المتوسطات للقيم باستعمال البرنامج الإحصائي المعروف (SPSS version 13) (5).

النتائج والمناقشة

بلغ التركيز نصف القاتل لإصبعيات البني 4.15 ملغم/لتر، أما التركيز القاتل LC_{100} والذي هلكت فيه جميع الأسماك بلغ 6.5 ملغم/لتر، في حين بلغ التركيز غير القاتل 2 ملغم/لتر، وذلك بعد تعريض الأسماك للمبيد لمدة 24 ساعة (جدول، 1). تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه كل من الجواري (6 و 7) عند تعريضهم لأنواع مختلفة من الأسماك لمبيد الكلايفوسيت، إنَ الكلايفوسيت بصورته النقية أكثر سمية من المبيد نفسه بصورته المحورة، إذ كانت قيمة التركيز المميت الوسطي (**LC50**) في إناث أسماك البعوض 16.6 ملغم/لتر(8). عزى Cox (9) الاختلاف في قيمة **LC50** حسب اختلاف أنواع الأسماك وحجمها والظروف المختبرية والبيئية مثل درجة الحرارة وعكورة الماء وحامضية المادة وقابلية ذوبان المركب في الماء وهي تسبب اختلاف في قابلية التأثير السمي للمركب نفسه وتؤثر أيضاً ظروف أخرى في معدل الأيض عند الأسماك وحالة ثبوتيتها في البيئة المائية، كما إن وجود المواد العالقة في الماء تعمل على إمتصاص المبيد، والتقليل من بقائه بصورة حرة، ومن ثم تؤثر في كمية المبيد المأخوذة، وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع كل من (10-12) بدراستهم تاثير مبيد الكلايفوسيت في الأسماك.

تميزت مجموعة السيطرة بانخفاض معدل أعداد كريات الدم الحمر من 1.37×10^6 في مدة 15 يوماً إلى 1.30×10^6 خلية/ملم^3 في نهاية التجربة المتمثلة بـ 90 يوماً (جدول، 2)، ولم تظهر النتائج وجود فروقات معنوية ($P>0.05$) بين مدد هذه المجموعة، كما انخفضت أعدادها في المعاملة الأولى مع زيادة مدة التعرض، وأظهرت نتائج الدراسة وجود فروقات معنوية ($P\leq0.05$) بين مدد التعرض، إذ تراوحت بين 1.15×10^6 في مدة 15 يوماً من التعرض إلى 0.68×10^6 في حين ازدادت أعدادها في المعاملة الثانية مع زيادة مدة التعرض حتى بلغت 1.31×10^6 خلية/ملم^3 بـ 90 يوماً. بينت نتائج الدراسة للمعاملة الثالثة حدوث اختلاف معنوي ($P\leq0.05$) بين المدد تبدا بيوم 30 إلى 90 يوماً، وسجلت المعاملة الرابعة أعلى قيم لمعدلات أعداد كريات الدم الحمر، إذ تراوحت بين 1.28×10^6 في مدة 15 يوماً إلى 1.33×10^6 خلية/ملم^3 في نهاية التجربة، إذ لم تظهر نتائج التحليل الإحصائي أي اختلاف معنوي بين المدد المختلفة للمعاملة الرابعة. يتبين من (جدول، 2) بأن المعاملة الأولى أظهرت انخفاضاً واضحاً في قيمة أعداد كريات الدم الحمر 1.15×10^6 خلية/ملم^3 مقارنة بمجموعة السيطرة وباقي المعاملات تلتها المعاملة الثانية ، ولم تظهر المعاملتان الثانية والرابعة اي اختلاف معنوي مقارنة بمجموعة السيطرة. أظهرت المعاملتان الثانية والرابعة ارتفاعا في عدد كريات الدم الحمر بعد إزالة المبيد وتعريض المعاملتين لمدة 15 يوما فقط، ان التعرض إلى مبيد الكلايفوسيت اكوا أدى إلى حدوث انخفاض في معدل كريات الدم الحمر تناسب طرديا مع زيادة مدة التعرض وتركيز المبيد، ان الانخفاض الظاهر في عدد كريات الدم الحمر كان نتيجة التلف الحاصل في الاعضاء المولدة للدم وهي الكبد والطحال والكلية، وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع كل من (10 و 13)، والذين اقترحوا ان الانخفاض الحاصل في عدد كريات الدم الحمر نتيجة حدوث فقر الدم الناتج عن تلف أو إصابة في بعض الأعضاء مثل الكلية والطحال التي تعد الأعضاء الأساسية المولدة للكريات الحمراء المسؤولة عن نقل الأوكسجين لأنسجة الجسم لتوليد الطاقة اللازمة لقيام الجسم بالفعاليات الحيوية (14). إن عدم حصول فرق معنوي في عدد كريات الدم الحمر في المعاملتين الثانية والرابعة المعرضة للمبيد لمدة 15 يوماً فقط هو لعدم حدوث أي خلل او ضرر في كريات الدم الحمر، أما الفروقات الظاهرة بين المعاملتين الأولى والثالثة بالمقارنة مع المعاملتين الثانية والرابعة المعرضة لمدة 15 يوماً فذلك يعود إلى مدة التعرض وقابلية المبيد على التراكم في جسم السمكة (15).

جدول، 1: نتائج سمية مبيد الكلايفوسيت اكوا في أسماك البني في الظروف القياسية.

التركيز (ملغم/لتر)	عدد الأسماك	عدد الهلاكات	% للهلاكات	Propit No.
2 .0	10	0	0	0
2.5	10	2	20	1
3.0	10	2	20	2
3.5	10	3	30	3
4.0	10	4	40	4
4.5	10	5	50	5
5.0	10	6	60	6
5.5	10	8	80	7
6.0	10	9	90	8
6.5	10	10	100	9

تراوحت معدلات عدد خلايا الدم البيض في مجموعة السيطرة بين 9883 في 15 يوماً إلى 9350 خلية/ملم^3 في 90 يوماً، إذ تميزت بوجود تذبذب نسبي في تلك الأعداد (جدول، 3)، كما يشير الجدول نفسه إلى ارتفاع أعدادها مع زيادة مدة التعرض في المعاملتين الأولى والثالثة، إذ تراوحت بين 12450 إلى 19500 خلية/ملم^3 وبين 12083 إلى 15400 خلية/ملم^3 على التوالي، وعلى العكس من ذلك أشارت نتائج (جدول، 3) إلى حدوث انخفاض في أعداد خلايا الدم البيض في المعاملتين الثانية والرابعة مع مرور الوقت إذ سجلت اقل قيمة لها بعد مرور 90 يوماً بعدد 9050 في المعاملة الثانية و9350 خلية/ملم^3 في المعاملة الرابعة. تبين نتائج الدراسة للمعاملة الأولى وجود فروقات معنوية ($P<0.05$) للمدد المختلفة من التعرض مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما أظهرت المعاملتان الثانية والرابعة انخفاضا معنويا ($P>0.05$) لاسيما في مدة 90 و60 يوماً، أظهرت النتائج حصول ارتفاع معنوي للمعاملة الأولى مقارنة مع باقي المعاملات، كما أظهرت المعاملات الثانية والثالثة والرابعة ارتفاعا معنويا($P\leq 0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة لمدة 30 يوماً من التعرض. تبين من نتائج الدراسة وجود فروقات معنوية ($P\leq 0.05$) بين المعاملات المختلفة في مدة التعرض البالغة 15 يوماً، إذ أشارت إلى وجود فروقات معنوية ($P\leq$ 0.05) بين المعاملة الأولى وباقي المعاملات من جهة وبين

المعاملات الثانية والثالثة والرابعة مع مجموعة السيطرة، يتضح من (جدول، 3) حصول ارتفاع في معدل عدد خلايا الدم البيض للمعاملة الأولى بعدد 16250 وبين أدنى عدد خلايا الدم البيض المسجلة في مجموعة السيطرة، إذ بلغت 9616 خلية/ملم^3 في مدة التعرض البالغة 60 يوماً، استمرت المعاملة الأولى بارتفاع في اعداد خلايا الدم البيض، إذ سجلت أعلى ارتفاعا لها في يوم 90 تلتها المعاملة الثالثة وأخيراً بمجموعة السيطرة. تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات التي فسرت زيادة خلايا الدم البيض متأثر بالعوامل البيئية والحياتية، إذ تتأثر عدد الخلايا العدلة والقاعدية المناعية بنوع وكمية التعرض في حالة التعرض المزمن والحاد (7 و 16).

جدول، 2: معدل أعداد كريات الدم الحمراء 10^6 خلية /ملم^3(± الخطأ القياسي)لأسماك البني.

مدة التعرض / المعاملة	15 يوم	30 يوم	45 يوم	60 يوم	90 يوم
مجموعة السيطرة	0.03±1.37 A a	0.04±1.34 A a	0.02±1.34 A a	0.01±1.33 A a	0.01±1.30 A a
المعاملة الأولى	0.01±1.15 B a	0.09±1.02 B b	0.03±0.78 B b	0.04±0.73 B b	0.03±0.68 B b
المعاملة الثانية	0.01±1.18 B a	0.08±1.19 B a	0.04±1.23 B a	0.03±1.29 B a	0.01±1.31 A a
المعاملة الثالثة	0.03±1.23 B a	0.02±1.1 7 B b	0.30±0.80 B b	0.02±0.76 B b	0.02±0.70 B b
المعاملة الرابعة	0.03±1.28 B a	0.04±1.22 B a	0.04±1.30 A a	0.01±1.32 A a	0.03±1.33 A a

الأحرف الكبيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوية ($p\leq 0.05$)
الأحرف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين مدد التعرض للمعاملة الواحدة عند مستوى معنوية ($p\leq 0.05$)

جدول، 3: معدل خلايا الدم البيض خلية/ملم^3 (± الخطا القياسي) لأسماك البني.

مدة التعرض / المعاملة	15 يوم	30 يوم	45 يوم	60 يوم	90 يوم
مجموعة السيطرة	88.19±9880 A a	120.18±9683 A a	145.45±9583 A a	142.40±9616 A a	230.94±9350 A a
المعاملة الأولى	86.60±12450 B a	57.73±12450 C a	86.60±15700 C b	132.28±16250 C b	180.00±19500 C b
المعاملة الثانية	60.90±12333 B a	218.00±12316 B a	120.18±1383 B a	169.14±11266 B a	145.92±9050 A b
المعاملة الثالثة	60.09±12083 B a	132.28±13300 B a	176.33±13216 B a	217.94±14600 C b	104.80±15400 B b
المعاملة الرابعة	72.64±12166 B a	72.64±11833 B a	115.47±11750 B a	269.27±10016 A b	152.72±9350 A b

الأحرف الكبيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوي($P\leq 0.05$).
الأحرف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين مدد التعرض للمعاملة الواحدة عند مستوى معنوي ($P\leq 0.05$).

تراوحت معدلات تراكيز الهيموغلوبين في أسماك مجموعة السيطرة بين 13.99 في نهاية التجربة إلى 14.33غم/100ملليتر دم في مدة 15 يوماً (جدول، 4)، كما تبين من نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروقات معنوية ($P>0.05$) للمدد المختلفة لمجموعة السيطرة، وانخفض تركيز الهيموغلوبين في المعاملة الأولى من 10.66 في مدة 15 يوماً إلى 5.66 غم/100ملليتر دم بعد مرور 90 يوماً من مدة التعرض، إذ تناسب تركيزه عكسيا مع زيادة مدة التعرض، أظهرت نتائج الدراسة للمعاملة الأولى فروقات معنوية ($P\leq 0.05$) للمدد المختلفة ولاسيما بين مدد التعرض القصيرة والمتوسطة (15-45 يوماً) وبين مدة التعرض الطويلة (60 - 90 يوماً)، في حين ازداد تركيزها في المعاملة الثانية مع زيادة مدة التجربة التي تراوحت بين 10.33 بعد مرور15 يوماً إلى 13.00غم/100 ملليتر دم بعد مرور 90 يوماً من مدة التجربة (جدول، 4). تشير نتائج الدراسة إلى عدم وجود فروقات للمدد المختلفة من التعرض للمعاملة الثانية، في حين انخفضت في المعاملة الثالثة مع زيادة مدة التعرض لتسجل أدنى قيمة لها (6.33 غم/ 100 ملليتر دم) بعد مرور 90 يوماً، إذ أوضحت نتائج الدراسة وجود فروقات معنوية ($P\leq 0.05$) للمدد المختلفة للمعاملة الثالثة، تراوحت قيم لمعدلات تركيز هيموغلوبين الدم في المعاملة الرابعة بين 11.33 إلى 13.00غم/100ملليتر دم، يتضح من نتائج الدراسة عدم وجود فروقات معنوية ($P>0.05$) للمدد المختلفة للمعاملة الرابعة. أظهرت المعاملة الأولى انخفاضا واضحا في معدل تركيز هيموغلوبين الدم مقارنة ببقية المعاملات في مدة تعرض 15 يوماً تلتها المعاملة الثانية مقارنة بمجموعة السيطرة، يستدل من نتائج الدراسة وجود فروقات معنوية بين مجموعة السيطرة وبقية المعاملات لمدة التعرض البالغة 15 يوماً، مع وجود فروقات معنوية بين المعاملتين الأولى والثالثة ومجموعة السيطرة في حين لم تظهر اختلافا بين مجموعة السيطرة والمعاملتين الثانية والرابعة لمدة التعرض البالغة 90 يوماً. يعزى الانخفاض الحاصل في هيموغلوبين الدم للمعاملتين الأولى والثالثة إلى تحطيم كريات الدم الحمر وتحللها بسبب التأثير السمي للمبيد مما يؤدي إلى فقر الدم مع قلة الهيموغلوبين وإن سبب تحلل الهيموغلوبين نتيجة النزف الحاصل بسبب

التعرض للسموم او التلوث بالمبيدات، مما يؤدي إلى حدوث خلل في إنتاج الكريات الحمراء والهيموغلوبين وتحطم كريات الدم الحمر في الأنسجة المولدة لها واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات الاخرى (17 - 19).

جدول ، 4: معدل تركيز هموغلوبين الدم (غم/100ملليتر دم) (± الخطا القياسي) لأسماك البني المعرضة للمبيد.

مدد التعرض / المعاملة	15 يوم	30 يوم	45 يوم	60 يوم	90 يوم
مجموعة السيطرة	0.88±14.33 A a	0.57±14.00 Aa	0,51±14.00 A a	1.15±14.00 A a	1.20 ±13.99 Aa
المعاملة الأولى	0.88±10.66 Ba	0.88±10.33 Ba	0.33±9.33 B a	0.66±7.66 B b	0.88 ±5.66 Bb
المعاملة الثانية	0.33±10.33 Ba	0.88 ±10.66 Ba	0. 66±11.3 Aa	0. 88±12.66 Aa	0.58±13.00 Aa
المعاملة الثالثة	0.66±11.66 Ba	0.33±10.66 Ba	0.88±10.33 Ba	0.5 7±7.00 Bb	0.88 ±6.33 Bb
المعاملة الرابعة	0.88±11.33 Ba	0.57±11.66 Ba	0.88±12.33 Aa	0.88±12.66 Aa	0.57±13. 00 Aa

الأحرف الكبيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوي (P≤ 0.05).
الأحرف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين مدد التعرض للمعاملة الواحدة عند مستوى معنوي (P≤ 0.05).

يتضح من (جدول، 5) حصول تذبذب طفيف في قيم حجم خلايا الدم المرصوصة لسمكة البني في مجموعة السيطرة، إذ تراوحت بين 37.33 – 38.00، ولم تظهر نتائج الدراسة أي فروقات معنوية بين مدد التجربة لهذه المجموعة. ويستدل من الجدول نفسه انخفاض معدلات حجم خلايا الدم المرصوصة لأسماك التجربة في المعاملتين الأولى والثالثة مع زيادة مدة التعرض، لمدة التعرض 30 و 90 يوماً على التوالي. أشارت النتائج إلى وجود فروقات معنوية (P≤0.05) بين مدة التعرض 15 و30 يوماً ومدد التعرض الأعلى في المعاملتين الأولى والثالثة. تراوحت معدلات حجم خلايا الدم المرصوصة لأسماك البني في المعاملتين الثانية والرابعة المعرضتين لمدة 15 يوماً فقط بين 32.00-35.33 و 33.00 -37.00 على التوالي ولمدة التعرض 15 و90 يوماً على التوالي، إذ لم يلاحظ حصول فروقات بين تلك المدة لهذه المعاملات. يشير (جدول، 5) إلى حصول اختلافات طفيفة بين المعاملات المختلفة عند مدة تعرض الأسماك للمبيد بلغت 15 يوماً، إذ تراوحت بين 30.00 في المعاملة الأولى و34.00 في المعاملة الثالثة واستمرت بنفس الظاهرة في مدة التعرض 30 يوماً، في حين تشير النتائج نفسها إلى عدم وجود فرق بين المعاملة الرابعة ومجموعة السيطرة، وهذه الحالة تنطبق بشكل واضح في مدة التعرض البالغة 60 يوماً عدا وجود تحسن في معدلات حجم خلايا الدم المرصوصة في المعاملة الثانية والتي بلغت 34.33 والتي بدورها أشارت إلى وجود فروقات معنوية (P<0.05) لهذه المعاملة مع المعاملتين الأولى والثالثة ،ونتيجة لهذا التحسن في معدلات حجم خلايا الدم المرصوصة فقد انعدمت الفروقات لهذه المعاملة مع المعاملة الرابعة و مجموعة السيطرة، لتستمر حالة التحسن في معدلات حجم خلايا الدم المرصوصة مع زيادة في التعرض للمبيد (لمدة 90 يوماً) في أسماك البني، إذ ارتفعت من 34.33 إلى 35.33 في المعاملة الثانية لمدة التعرض 60 و90 يوماً على التوالي، ومن 36.00 إلى 37.00 في المعاملة الرابعة لنفس المدد أعلاه على التوالي. (جدول، 5)، وعلى العكس من ذلك فقد تناسب حجم خلايا الدم المرصوصة عكسيا مع زيادة مدة التعرض إلى 90 يوماً فقد انخفضت من 19.00 إلى 18.00 ومن 22.66 إلى 19.33 للمعاملتين الأولى والثالثة على التوالي ولمدة التعرض 90 و60 يوماً على التوالي، تنخفض النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة عند تعرض الأسماك إلى الأمراض أو السموم أو فقدان الشهية (19)، ويعزى هذا الانخفاض إلى حدوث فقر الدم anemia أو قلة نسبة الهيموغلوبين نتيجة التخفيف hemodilution تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج كل من(10 و20)، إذ يعزو الباحثون هذا الانخفاض إلى أنه ناتج عن تلف الخلايا الكبدية والكلى والطحال والموت ألمبرمج لها باعتبارها المصدر الرئيسي للدم في تكوين الدم مما يودي إلى خلل في أيض الحديد وهذا ما أشارت اليه بعض الدراسات (21 و 22).

(جدول، 6) الارتفاع البسيط والمتذبذب في أعداد النوى الصغيرة في مجموعة السيطرة، إذ تراوحت أعدادها من 1.00 في 30 يوماً من التعرض إلى 1.66 في 90 يوماً من التعرض، بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروقات بين المدد المختلفة لمجموعة السيطرة، في حين أظهرت المعاملة الأولى ارتفاعاً في أعداد النوى الصغير والذي يتناسب طردياً مع زيادة مدة التعرض، إذ تراوحت معدلات الزيادة بين 2.66 في مدة 15 يوماً إلى 7.33 في 90 يوماً من التعرض. أوضحت نتائج التحليل الإحصائي وجود اختلاف معنوي (P<0.05) بين المدد 15 و30 يوماً من جهة وبين 45 و60 و90 يوماً من جهة أخرى للمعاملة الأولى، كما أظهرت المعاملة الثانية انخفاضاً في أعداد النوى الصغيرة، إذ تراوحت بين 2.33 في 15 يوماً إلى 1.33 في يوم 90 من التعرض، بينت نتائج الدراسة عدم وجود اختلاف في المدد المختلفة للمعاملة الثانية، عاودت عدد النوى الصغيرة في المعاملة الثالثة بالارتفاع إذ سجلت أعلى عدد لها في 5.33 في 90 يوماً مقارنة بيوم 15 وباقي المدد. أشارت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوي بين مدة التعرض 15 يوماً والمدد الأخرى، في حين لم تسجل فروقاً معنوية بين كل من مدد التعرض 30 و45 و60 و90، ولم تسجل المعاملة الرابعة ارتفاعاً ملحوظاً إلا في يوم 15، مع ذلك لم تحصل فروقات بين المدد المختلفة لهذه المعاملة، أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية (P<0.05) بين المعاملات المختلفة لمدة تعرض 90 يوماً. تراوحت معدلات أعداد النوى الصغيرة بين 1.33 في المعاملة الثالثة إلى 2.66 في المعاملة الأولى بعد 15 يوماً

من التعرض. أشارت نتائج التحليل الإحصائي وجود اختلاف معنوي (P<0.05) بين المدد 15 و30 يوماً من جهة وبين 45 و60 و90 يوماً من جهة اخرى للمعاملة الثالثة. لم تسجل نتائج الدراسة فروقاً بين مجموعة السيطرة والمعاملتين الثانية والرابعة، في حين تميزت تلك المعاملات بوجود فروق معنوية (P<0.05) مقارنة مع المعاملتين الأولى والثالثة. سجلت المعاملة الأولى أعلى قيم لعدد النوى الصغيرة في مدة 45 يوماً، إذ بلغت 5.66 تلتها المعاملة الثالثة 3.33 وأخيراً المعاملة الرابعة بعدد 1.33. يتضح من نتائج الدراسة عدم وجود فروق بين المعاملتين الأولى والثالثة من جهة، وبين المعاملتين الثانية والرابعة ومجموعة السيطرة من جهة اخرى، واستمرت الحالة بالوتيرة نفسها تماما بعد مرور 60 و90 يوماً إذ تراوحت بين 1 و6.33 بعد مرور 60 يوماً وبين 1 و7.33 بعد مرور90 يوماً في المعاملتين الأولى والرابعة على التوالي. لم يلاحظ وجود فروق بين مجموعة السيطرة والمعاملتين الأولى والرابعة، في حين سجلت (P<0.05) عند مقارنة مجموعة السيطرة مع المعاملتين الأولى والثالثة. بينت الدراسة الحالية وجود النوى الصغيرة بنسب قليلة جدا حتى في الأسماك غير المعاملة بالمبيد وهذا يتفق مع ما توصل إليه (10 و22)، حول وجود النوى الصغيرة في أسماك مجموعة السيطرة، كما أظهرت النتائج أنّ مبيد كلايفوسيت اكوا يؤدي إلى زيادة عدد النوى الصغيرة وذلك بسبب تاثير المبيد في الارومة الحمراء Erythroblast الموجودة في الكبد والكلية والطحال وهي من الأعضاء التي تتأثر وبشدة بالمبيد ولاسيما بالمعاملة الأولى، من المعروف أنّ النوى الصغيرة تنشا عن طريق الكروموسومات المتكسرة الخالية من السنترومير أو كروموسوم كامل غير مرتبط بالمغزل في عملية الانقسام الخلوي وتبقى سائبة في السايتوبلازم خارج النواة ثم تكور نفسها وتأخذ شكل النواة (23 و24).

إن التعرض المزمن لمبيد الكلايفوسيت اكوا يؤدي إلى زيادة في معدل النوى الصغيرة ولاسيما في المعاملة الأولى والثالثة، وهذا يتفق مع دراسة كل من (10 و25)، فيما يخص المعاملة الثانية والثالثة فان الانخفاض الحاصل في عدد النوى الصغيرة نتيجة الانقسامات التي تمر بها كريات الدم الحمر قبل دخولها مجرى الدم (25)، وبتكرار هذه الانقسامات فإن النوى الناضجة ذات النوى الصغيرة الموجودة في مجرى الدم أقل من التعرض المزمن وفقدان هذه النوى يعني فقدان جزء من المادة الوراثية التي تكون مسؤولة عن صفات معينة للكائن الحي وهذا ما اكده (25).

جدول، 5: معدل حجم خلايا الدم المرصوصة %(± الخطا القياسي) لأسماك البني.

مدة التعرض / المعاملة	15يوم	30 يوم	45 يوم	60 يوم	90 يوم
مجموعة السيطرة	1.15±38.00 A a	0.66±36.66 A a	0.66±36.33 A a	1.33±37.33 A a	0.66±37.33 A a
المعاملة الأولى	0.66±30.60 B a	0.09±28.00 B a	1.15±24.00 B b	0.66±19.33 B c	1.15±18.00 B c
المعاملة الثانية	1.15±32.0 B a	0.66±30.66 B a	0.66±32.66 B a	1.89±34.33 A a	1.67±35.33 A a
المعاملة الثالثة	1.76±34.33 B a	1.33±28.66 B b	1.33±25.33 B b	1.76 ±22.66 B c	1.76 ±19.33 B c
المعاملة الرابعة	1.15±33.00 B a	1.33±33.15 B a	1.76±33.33 A a	1.15 ±36.00 A a	1.33±37.00 A a

الأحرف الكبيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوية(P≤ 0.05).
الأحرف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين مدد التعرض للمعاملة ذاتها عند مستوى معنوية (P≤0.05).

جدول ، 6: معدل أعداد النوى الصغيرة (خلية /1000) (± الخطأ القياسي)لأسماك البني.

مدة التعرض / المعاملة	15 يوم	30 يوم	45 يوم	60 يوم	90 يوم
مجموعة السيطرة	0.33±1.66 A a	0.57±1.00 A a	0.33±1.33 A a	0.33±1.33 A a	0.66±1.66 A a
المعاملة الأولى	0.66±2.66 B a	0.88±3.33 B a	0.66 ±5.66 B b	0.33 ±6.33 B b	0.88±7.33 B b
المعاملة الثانية	0.33±2.33 A a	1.37±2.00 A a	1.00±2.00 A a	0.33±1.66 A a	0.33±1.33 A a
المعاملة الثالثة	0.88±1.33 A a	0.33±1.33 B a	1.00±3.33 B b	0.88 ±4.33 B b	0.88 ±5.33 B b
المعاملة الرابعة	0.57±1.88 A a	0.33±1.66 A a	0.76±1.33 A a	0.66 ±1.00 A a	0.33±1.00 A a

الأحرف الكبيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوية (P≤ 0.05).
الأحرف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فرق معنوي بين مدد التعرض للمعاملة ذاتها عند مستوى معنوية (P≤ 0.05).

المصادر

1. Aldhous, J. R. (2000). Pesticides, pollutants, fertilizers and trees: their role in forests and amenity wood lands. Res. Stud. press, Hertford, P: 588.
2. Hamilton, M. A.; Russo R. C. and Thurston, R.V. (1977). Trimmed spearmen Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays, Environ. Sci. Technol., 11: 714-719.
3. Coles,E.H.(1986). Veterinary Clinical Pathology. 4thed. Saunders, W.B. Company, Philadelphia. Pp: 110-115, 122.
4. Fagr, A.; El-shehawi, A. M. and Seehy, M. A. (2008). Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution, African J. Biotechnol., 7: 606-612.
5. SPSS (2008). Statistical package for Social Science Version No 17 (Win/Mac/Linut) User‹s Guide SPSS Inc. Chicago3, USA. Website.
6. Al-Gawari, S. A. A. (2005). Study toxicity pesticide jungles glyphosate in some aspects of life and reproductive female mosquito fish. College of Education, Ibn, Haitham Baghdad University, P: 94.
7. Kolo, R. J.; Yisa, T. A. and Esogban, S. A. (2009). Acute toxicity of Round up (Glyphosate) on Juvenile Tilapiazilli. J. Appl. Agric., 18(1):11-25.
8. Cox, C. (1995). Glyphosate, Part 2: Human exposure and ecological effects. J. Pest. Reform, 15: 9-15.
9. Cox, C. (1998). Glyphosate (Roundup). J. Pesticide Reform, 18: 3–17.
10. Mater, A. J. (2000). Effects of pathological and cytogenetic pesticide glyphosate in grass carp *Ctenopharyngodon idella*. M.Sc. Thesis, College of Veterinary Medicine, Baghdad University, P: 85.
11. Pérez, G. L. (2007). Effects of the herbicide Roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study. Ecol. Appli., 17: 2310- 2322.
12. Vera, M. S. (2012). Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor® on freshwater microbial communities. Ecotoxicology, 21: 1805-1816.
13. Al-Kuraizi, M. H. K. (2010). Pathological and Hematological Effects of Endosulfan Pesticide on Common Carp *Cyprinus carpio* L., P: 120.
14. Rao, D. S. (2010). Carbaryl induced changes in the haematological, serum biochemical and immunological responses of common carp, *Cyprinus carpio* (L.) with special emphasis on herbal extracts as immunomodulators. Ph. D. Thesis, Andhra University, India. P: 235.
15. Kolo, R. J.; Yisa, T. A. and Esogban, S. A. (2009). Acute toxicity of Round up (Glyphosate) on Juvenile Tilapiazilli. J. Appl. Agric., 18(1):11-25.
16. Alkindi, A.Y.A.; Brown, J. A.; Waring, C.T. and Collins, J. E. (1996). Endocrine, osmoregulatory, respiratory and haematological parameters in flounder exposed to the water soluble fraction of crude oil. J. Fish Biol., 49: 1291-1305.
17. Seth, M. and Sexena, K. K. (2003). Effect of acid stress (pH4±0.02) on the blood of *Clarius batrachus* (Linn.). J. Freshwater Biol., 4: 233-234.
18. Najem, E. S. (2013). Assessment the effect of β- glucan against toxicity of copper sulfate in Common carp *Cyprinus carpio*. M.Sc. Thesis, Coll. Vet. Med. Uni. Bagh., P: 115.
19. Salbego, J.; Pretto, A.; Gioda, C. R.; de Menezes, C. C.; Lazzari, R.; RadünzNeto, J.;Baldisserotto, B. and Loro, V. L. (2010). Herbicide formulation with glyphosate affects growth, acetylcholine esterase activity, and metabolic and hematological parameters inpiava (*Leporinuso btusidens*). Archi. Environ. Contamin. Sci., 3(6): 69-75.
20. Kim, Y. H.; Hong, J. R.; Gil, H. W.; Song, H. Y. and Hong, S.Y. (2013). Mixtures of glyphosate and surfactant TN20 accelerate cell death via mitochondrial damage-induced apoptosis and necrosis. Toxicol. In Vitro, 27: 191–197.
21. Séralini, G. E.; Clair, E.; Mesnage, R.; Gress, S.; Defarge, N.; Alatesta, M.; Hennequin, D.; Spirouxde and Vendˆomois, J. (2012). Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. Food Chem. Toxicol., 50: 4221–4231.
22. Sivikova, K. and Dianovsky, J. (2006). Cytogenetic effect of technical glyphosate on cultivated bovine peripheral lymphocytes. J. Appl. Agric., 18(2): 40-55.
23. Cavas, T. and Könen, S. (2007). Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral

roundup herbicide. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 167: 35-120.

25. Dimitrov, B. D.; Gadeva, P. G.; Benova, D. K. and Bineva, M. V. (2006).Comparative genotoxicity of the herbicide roundup stomp, 37: 5-12.

erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to glyphosate formulation using the micronucleus test and comet assay. Mutagenesis, 22: 263-268.

24. Giesy, J. P.; Dobson, S. and Solomon, K. R. (2000). Ecotoxicological risk assessment for

Effect of pesticide Glyphosate Aqua in blood picture of *Barbus sharpeyi*

Abdulmotalib J.Al-Rudainy[1] and Maher Atta bdul Azeez[2]

[1]College of Veterinary Medicine, Baghdad University, [2]Wasit Agriculture Corporation, Ministry of Agriculture, Iraq.

E-mail: Alrudainy612003@yahoo.com

Summary

The present study designed in fish diseases laboratory, College of Veterinary Medicine/Baghdad University for a period between 1/3 to 1/6/2013 to investigate the toxicity of the herbicide glyphosate aqua on *Barbus sharpeyi* fish. Fish ranged between 10-15g. in weight were used to measure the (LC50), fingerlings were used to determine the acute and chronic toxic effect for the herbicide. The fingerlings were randomly distributed as 10 fish for each aquarium. Fish were divided into four treated and control group (without addition of herbicide). The first and second treated groups were exposed to 0.415mg/l of the herbicide for 90 and 15 days respectively, while fishes in the third and fourth treated groups were exposed to 0.207mg/l of the herbicide for 90 days and 15 days respectively. The present study aims to determine the effect of the pesticide on the number of red blood, white blood, hemoglobin concentration and the ratio of the number of packed cells volume, as well as to identify the small number of nuclei red blood cells in the experimental fish. The results of blood picture for the experimental fish showed that there are significant differences ($P<0.05$) in the first and third treatments compared with the control group. The first treatment showed a significant decrease ($P<0.05$) in the number of red blood cells and hemoglobin, and the percentage of the size of the compacted blood cells as well as the sharp rise in the number of white blood cells compared to the rest of the treatments and the control group. The results of the experiment reveal an improvement in the health status of the second and fourth treatments. In conclusion of this study the greater the concentration of pesticide Glyphosate Aqua, it would have a negative impact on the blood parameters for fish, and could improve the health status of the Bunni when improving environmental conditions for fish and removes exposure to a pesticide.

Keywords: Fish, *Barbus sharpeyi*, Glyphosate Aqua, Blood picture.