التأثير السمي لبعض المبيدات الفوسفورية العضوية في النوع *Arctodiaptomus (Rha bdodiaptomus) bacillifer* (Calanoidae, Copepoda)

شفاء جاويش و محمد ماهر قباقيبي و سحر الخطيب

قسم علم الحياة الحيوانية ــ كلية العلوم ــ جامعة دمشق ــ ــ سورية

تاريخ الإيداع 2010/11/22

قبل للنشر في 2011/10/17

الملخّص

مع الاستخدام المتزايد للمبيدات الزراعية أصبحت المياه السطحية معرضة لخطر التلوث بها، وكذلك الأنواع الحيوانية والنباتية الموجودة فيها، لذا كان تحديد قيمة LC_{50} لبعض أنواع العوالق الحيوانية أمراً مهماً إذ إنّ وجودها ضمن المياه يدلُّ على إمكانية استخدام المياه لري الأراضي الزراعية وتربية الأسماك وإمكانية معالجتها لتصبح صالحة للشرب في بعض المناطق الفقيرة بالمياه.

حُدّدت قيمة الجرعة المنصفة LC_{50} للمبيدات الفسفورية العضوية الآتية: المالاثيون، والديكلوروفوس، ميتيل كلوروبيريفوس على النوع ***Arctodiaptomus (Rhabdodiaptomus) bacillifer*** الذي ينتمي لرتبة **calanoidae** صف مجدافيات الأرجل **Copepoda**. كذلك دُرس الأثر السمي طويل الأمد للمبيدات الفسفورية المذكورة أعلاه في المحتوى البروتيني للنوع ***A. bacillifer***.

كانت قيم الجرعة المنصفة LC_{50} للمالاثيون، والدايكلوروفوس، وميتيل كلوروبيريفوس (0.1µg/L)، (20 µg/L)، (1 µg/L)، على التتالي.

كان تركيز البروتين لدى أفراد النوع المعرضة لأي من المبيدات المدروسة أخفض منها لدى حيوانات الشاهد. وبشكل عام، تناسب تركيز البروتين طرداً مع ازدياد الجرعة غير القاتلة من المبيدات المختبرة. وعليه، فعند تركيز (0.025 µg/l)، ومدة تعرض للمبيد قدرها 4 أيام كان تركيز البروتين (O.0026 g/dl)، و(0.00278 g/dl)، و(0.0024 g/dl) لكل من مبيدات ميتيل كلوربيريفوس، والملاثيون، والدايكلوروفوس، على التتالي مقارنة مع (0.0048 g/dl) للشاهد. في حين أدى تعريض أفراد النوع للتركيز السابق نفسه ولكن مدة 6 أيام إلى انخفاض تركيز البروتين إلى(0.0018 g/dl) في أفراد النوع المعرضة لمبيد الملاثيون، كما كان تركيز البروتين صفراً لدى أفراد النوع المعرضة لكل من مبيد ميتيل كلوربيريفوس والديكلوروفوس.

لدى تعريض أفراد النوع لتركيز أخفض (0.002 µg/L) من كل من المبيدات المختبرة انخفض تركيز البروتين لدى الحيوانات المختبرة إلى (0.004 g/dl)، و(0.002 g/dl)، و(0 g/dl) من أجل كل مبيد ميتيل كلوربيريفوس، والملاثيون، والدايكلوروفوس، على التتالي مقارنة مع (0.0048 g/dl) للشاهد.

الكلمات المفتاحية: الديكلوروفوس، ميتيل كلوربيريفوس، ملاثيون، *Arctodiaptomus bacillifer*، Calanoidae.

Poisonous impact of some organo-phosphoric pesticides on *Arctodiaptomus (Rha bdodiaptomus) Bacillifer* (Calanoidae, Copepoda)

Sh. Jawish; M. M. Kabakibi and S. Al-Khateeb

Department of Animal Biology, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria

Received 22/11/2010

Accepted 17/10/2011

ABSTRACT

The ever increasing use of pesticides in agriculture has meant that surface water, its fauna and floura are increasingly exposed to pollution danger. Hence, the LC_{50} value is considered as a determining factor to the feasibility of using water in agriculture and fisheries and the possibility of treating such water to make it potable in some low resource area.

LC_{50} for the organo-phosphoric pesticides: malation, dichlorophos and chloropyrifos-methyl on *Arctodiaptomus (Rhabdodiaptomus) Bacillifer* (Calanoidae,Copepoda) was determined. Also, the long lasting poisonous impact of the former pesticides on protein mass of *A.bacillifer* was studied.

LC_{50} for malation, dichlorophos and chlorpyrifos-methyl was (0.1 µg/l), (20µg/l) and (1 µg/l), respectively.

Protein concentration was lower in animals exposed to any of the tested pesticides compared to the control. Generally, protein concentration correlated inversely with the sublethal doses for all pesticides tested. Thus, at a concentration of (0.025 µg/l) and a 4 day exposure-period protein concentration was (0.0026 g/dl),(0.00278 g/dl) and (0.0024 g/dl) for chlorpyrifos-methyl, malation and dichlorophos, respectively compared to (0.0048 g/dl) for control treatment.

Whereas, for an exposure period of 6 day to the same concentration (0.025 µg/l) protein concentration decreased to (0.0018 g/dl) for malation and was zero for chlorpyrifos-methyl and dichlorophos.

When exposed to a lower concentration of pesticides (0.002 µg/l) for an exposure period of 6 days, protein concentration decreased to (0.004 g/dl), (0.002 g/dl) and (0 g/dl), respectively compared to (0.0048 g/dl) for the control.

Key Words: Calanoidae, *Arctodiaptomus bacillifer*, Malation, chlorpyrifos-methyl, Dichlorophos.

المقدمة

بالنظر إلى أهمية المياه وقلتها في بعض المناطق التي يعتمد سكانها على تجميع مياه الأمطار، وعلى مياه الآبار في الشرب وري الأراضي الزراعية. وبالنظر أيضاً إلى خطورة تعرض هذه المياه إلى الملوثات الناتجة عن نشاطات الإنسان الزراعية والصناعية المتزايدة لدرجة أن بعض المسطحات المائية فقدت قدرتها على التخلص من هذه المبيدات، وبدأت آثارها السامة تظهر على الكائنات الحية التي تعيش فيها، وخاصة العوالق الحيوانية، مؤدية إلى اختفاء بعض الأنواع الحيوانية، وظهور سلالات من بعض الأنواع الأخرى مقاومة لهذه المبيدات.

ونظراً إلى أن العوالق الحيوانية توجد في الأوساط المائية العذبة والمالحة كلّها وتحتل مركزاً مهماً في السلسلة الغذائية، ولأنّها ذات حساسية عالية لأي تغير في الشروط البيئية، كوجود المبيدات الفسفورية إذ تؤدي التراكيز بحدود (1000-0.0001) µg/l إلى موتها (Sanchez-Bayo, 2006)، لذا يمكن عدّها أحد المشعرات المهمة الدالة على مدى سلامة المياه وعدم احتوائها على الملوثات المختلفة.

رأينا أنه من المفيد القيام بتحديد التأثير السمي للمبيدات الفسفورية في النوع *Arctodiaptomus bacillifer* الموجود في سد المشنف، وسد سهوة الخضر، وسد الروم بمحافظة السويداء، التي تستخدم لري الأراضي الزراعية، كما تُعالج لتصبح صالحة للشرب لسدّ حاجة أهل المنطقة منها. ويمكننا عدّ وجود النوع *A.bacillifer* بغزارة عالية في الأوساط المائية المدروسة مؤشراً أولياً على عدم وجود المبيدات فيها، كما هَدَفَ البحث إلى إبراز خطورة المبيدات على المدى البعيد والقصير على الغزارة والمحتوى البروتيني والكتلة الحيوية والإنتاجية للنوع المدروس الذي يشكل جزءاً من العوالق الحيوانية وعلى إنتاجية الأوساط المائية العذبة والسلاسل الغذائية التي يقف على رأسها الإنسان إذا وجدت في الأوساط المائية بتراكيز متنوعة؛ مع العلم بأن العوالق الحيوانية في تلك المنطقة لم تدرس من قبل.

هدف البحث

- تحديد قيمة LC_{50} (تركيز المبيد المسبب لموت 50% من مجموع أفراد التجربة للنوع *A. bacillifer* وهي: ميتيل الكلوربيريفوس، المالاثيون، الديكلوروفوس).
- دراسة التأثير السمي للمبيدات الفوسفورية السابقة في المحتوى البروتيني للنوع *A. bacillifer* مدة أربعة أيام بتركيزين (0.025-0.002 µg/l)، ومدة ستة أيام بتركيزين (0.025-0.002) µg/l.

مواد البحث وطرائقه

أولاً: اختبار السمية الحادة

يعتمد مبدأ التجربة على تعريض عشرين فرداً من أفراد النوع *A. bacillifer* (Copepoda, Calanoida) لتراكيز مختلفة من المبيد مدة 24 ساعة، وهي لمبيد ميتيل كلوربيريفوس (2.5-2-1.5-1-0.5-0.1-0.05) µg/l، ولمبيد المالاثيون (0.1-0.05-0.02-0.25-0.5-1-2) µg/l، ولمبيد الديكلوروفوس (50-30-20-15-5) µg/l، وإحصاء عدد الأفراد الميتة والحية وحساب نسبة القتل وهي عدد الأفراد الميتة، ولدقة العمل وزعنا العشرين فرداً على أربعة أنابيب حيث وضعنا 5 أفراد في كل أنبوب اختبار، وأعيدت التجربة أربعة مرات للتأكد من صحة النتيجة (Roux, 1987).

ثانياً: تجارب السمية دون الحادة

وتهدف إلى دراسة تأثير المبيدات الفوسفورية (ميتيل كلوربيريفوس، المالاثيون، الديكلوروفوس) في المحتوى البروتيني للنوع *A. bacillifer*.

ويعتمد مبدأ التجربة على تعريض نحو 300 فرد إلى المبيدات الفوسفورية السابقة بتركيزين (0.002-0.025)µg/l مدة أربعة أيام، وبالتركيزين (0.002-0.025) µg/l مدة ستة أيام. ومن ثمَّ قياس تركيز البروتين باستخدام جهاز المقياس الطيفي بطول موجه قدره 540 نانومتراً، وبوجود كاشف بيوريت، (Unuma *et al.*, 2003).

طريقة تحضير العينة لمعايرة البروتين

عُومل أفراد التجربة بأحد المحلات العضوية كثلاثي كلور حمض الخل لترسيب البروتينات، ثم ثفلت مدة 15 دقيقة بسرعة 3000g بدرجة حرارة 4 مْ، وحلّ الراسب بماءات الصوديوم 1 مول/ليتر، ثم جرت معايرته بطريقة بيوريت Biuret (Unuma *et al.*, 2003).

معايرة البروتين الكلي بطريقة البولة المضاعفة Biuret

ويعتمد مبدأ المعايرة على تفاعل فوسفات النحاس في محلول قلوي مع مركبات تحتوي على اثنين أو أكثر من الروابط الببتيدية (البروتينات) لتعطي معقداً بلون بنفسجي يقرأ بطول موجه قدره 540 نانومتراً بواسطة جهاز المطياف الضوئي.

حساب تركيز البروتين

ويحسب تركيز البروتين من المعادلة الآتية =

(قراءة امتصاصية العينة / قراءة امتصاصية العياري) × تركيز العياري g/dl

- علماً بأن تركيز العياري = 7 g/dl ويكون مرفقاً مع الكاشف.

- ولتحديد امتصاصية العينة يضاف 1 ml من كاشف بيوريت إلى 20 µl من محلول البروتين، ويقرأ عند طول الموجه 540 نانومتراً.
- وتحدد امتصاصية العياري بإضافة امل من الكاشف إلى 20 µl من البروتين العياري المرفق مع الكاشف، وتقرأ الامتصاصية عند طول الموجه 540 نانومتراً. (كيالي، 2009)

علماً بأنَّ كلَّ $1\ g = 10^3\ mg = 10^6\ \mu g = 10^9\ ng$، وكل $1\ l = 10\ dl = 10^3\ ml$

وحُسبت الكتلة الحيوية الجافة بالاعتماد على العلاقة بين طول الفرد (L= µm) والكتلة الحيوية الجافة (W= µg) من العلاقة الرياضية الآتية $W=7.9*10^{-7}L^{2.33}$ (Dumont *et al.*, 1975) ولتحديد النسبة المئوية للآزوت نقسم النسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة على عامل التحويل 6.25 (مالو وآخرون، 1986)

أفراد التجربة

تم الحصول على أفراد النوع *A.bacillifer* من سد المشنف وسد سهوة الخضر وسد الروم بمحافظة السويداء (سورية) عن طريق تصفية المياه باستخدام شبكة حجم ثقوبها 200 مكرومتر، ونُقلَ العالق إلى المخبر بواسطة أوعية خاصة حافظة للحرارة. حيث وفرت له الشروط البيئية المناسبة لنموه وازدهاره من درجة الحرارة ودرجة الحموضة واعتمد في تغذيته على الطحالب الطبيعية.

شروط التجربة

أجريت التجارب في الشروط المخبرية المناسبة لنمو النوع بدرجة حرارة 18± 2 مْ، ودرجة حموضة 7.5- 8. ويتكون ماء التجربة من عدة مركبات هي: بيكربونات الصوديوم اللامائية (0.2 g) $NaHCO_3$، وكلور الكالسيوم اللامائي (0.224 g) $CaCl_2$، أو كلور الكالسيوم المائي (0.297 g) $CaCl_2.2H_2O$، وكبريتات البوتاسيوم (0.026 g) K_2SO_4، كلور المغنزيوم اللامائي (0.078 g) $MgCl_2$، وكلور المغنزيوم المائي (0.167 g) $MgCl_26H_2O$ تحل في 1000 ml ماء مقطر، وتبلغ درجة الحموضة (pH) فيه 8±0.2 وقساوته الكلية 250±25 g /l معبّراً عنها بـ($CaCo_3$) ونسبة لـ Mg/Ca تُقارب 1/4 ويجب تهوية الوسط حتى يصل الأوكسجين المنحل فيه درجة الإشباع على أن يتم ذلك قبل الاستعمال، وتحضيره في غرفة درجة حرارتها 20±2 مْ. وتُضبطُ درجة الحموضة pH الوسط باستعمال ماءات الصوديوم وحمض كلور الماء (Roux, 1987)، أمّا درجة الحرارة فتُضبطُ باستخدام غرفة حضن زجاجية مزودة بمنظم لدرجة الحرارة.

المبيدات الفوسفورية المستخدمة

استُخدمت المبيدات الفوسفورية الآتية: مبيد ميتيل كلوربيريفوس تركيز200 g/l، ومبيد المالاَثيون تركيز 500 g/l، ومبيد الديكلوروفوس تركيز200 g/l المسجلة لدى وزارة

الزراعة والاصلاح الزراعي والمرخصة من قبل وزارة الصحة والمصنعة وفقاً لنظام إدارة الجودة AFAQISO-9001-2000 والمستخدمة من قبل المزارعين في سورية. وتُحضّر التراكيز الآتية (0.02-0.05-0.1-0.25-0.5-1-2) µg/l لمبيد المالاثيون من المحلول الأم تركيز 500 g/l، والتراكيز (0.05-0.1-0.5-1-1.5-2-2.5) µg/l لمبيد ميتيل كلوربيريفويس من المحلول الأم تركيز 200 g/l، والتراكيز (5-15-20-30-50) µg/l لمبيد الديكلوروفوس من المحلول الأم 200 g/l. بالاعتماد على قانون التمديد $NV=N_1V_1$ إذ N تركيز المحلول الأم، و V الحجم الذي سيؤخذ من المحلول الأم، N_1 تركيز المحلول المراد تحضيره، V_1 حجم المحلول المراد تحضيره.

الدراسة الإحصائية

حُدّد من خلال الدراسة الإحصائية ما يأتي:

1- **معامل الارتباط** يبيّن لنا قوة الارتباط الخطية بين متغيرين (X-Y)، وتراوح قيمته بين (+1، -1)، وتكون العلاقة ضعيفة كلما اقتربت من الصفر، (ياسين، 1995).

2- **علاقة الارتباط** التي تكون من الشكل الآتي: $Y=a+bx$ إذ X المتحول الأول، و Y المتحول الثاني، و a,b ثابتان يمكن حسابهما من علاقات محددة، ويمثل الثابت b ميل المستقيم، وإذا كان ميل المستقيم سالباً، ومعامل الارتباط بين (0-1-) تكون العلاقة بين المتحولين علاقة سلبية، وإذا كان ميل المستقيم موجباً (0-1+) تكون العلاقة بين المتحولين إيجابية (ياسين، 1995).

الدراسة التصنيفية

ينتمي النوع *A.bacillifer* الذي دُرس تأثير المبيدات فيه إلى:

- شعبة مفصليات الأرجل Arthropoda
- تحت شعبة القشريات Crustacea
- صف Maxillioida
- تحت صف مجدافيات الأرجل Copepoda
- رتبة Calanoida
- فصيلة *Diaptomidae*
- جنس *Arctodiaptomus*
- نوع *Arctodiaptomus (Rhabdodiaptomus) bacillifer*

تتميّز أفراد النوع المدروس بجسم بيضوي الشكل، ويتألف من الرأسصدر Cephalosome والبطن، ويشكل طول الرأسصدر Cephalosome نحو 1/3 طول

الجسم، ويحمل الرأس قرينات تمتد حتى نهاية الجسم (الأشكال 1-4)، وتكون الرجل الخامسة عند الأنثى متناظرة (الشكلين 2-3)، في حين تكون عند الذكر غير متناظرة (الشكلين 5-6)، وكانت العلامات التصنيفية المميّزة لأفراد النوع المدروس مطابقة للوصف الذي ذكره العالم (Dussart, 1969). وسُجّل وجوده أول مرة في سد المشنف وسد الروم وسد سهوة الخضر في محافظة السويداء بسورية. وينتشر في بحيرات المياه العذبة الباردة الجبلية التي تراوح درجة حرارتها بين (1-21) مْ، ويتميّز بلونه البرتقالي المائل إلى الحمرة، ويوجد في أوروبا وشمال ووسط مناطق الألب الإيطالية وشمال آسية والقوقاز والهند وشمال أمريكا (Dussart, 1969).

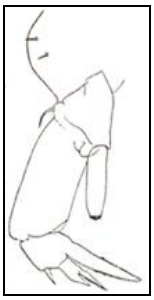
الشكل (1) ذكر النوع *A.bacillifer* (بقوة تكبير 40)

الشكل (2) الرجل الخامسة لذكر النوع *A.bacillifer* (بقوة تكبير 400)

الشكل (3) الرجل الخامسة (P5) لذكر النوع A.bacillifer مأخوذة عن المرجع (Dussart, 1969)

الشكل (4) أنثى النوع A.bacillifer بقوة تكبير (40)

الشكل (5) الرجل الخامسة لأنثى النوع *A.bacillifer* بقوة تكبير (400)



الشكل (6) الرجل الخامسة لأنثى النوع *A.bacillifer* مأخوذة عن المرجع (Dussart, 1969)

النتـــائـــج

أولاً: نتائج السمية الحادة

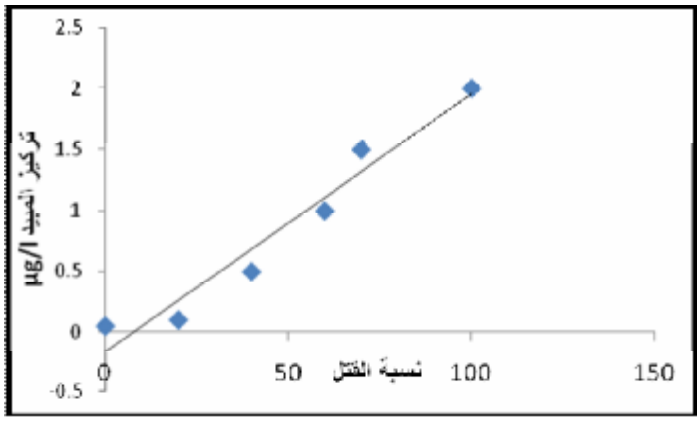
1- المبيد ميتيل كلوربيريفوس

يبين لنا الجدول (1) نتائج تجارب السمية الحادة لمبيد ميتيل كلوربيريفوس على النوع *A. bacillifer* حيث عرضت أفراد التجربة للتراكيز الآتية (2-1.5-1-0.5-0.1-0.05) µg/l مدة 24 ساعة، وقد بلغت قيمة LC_{50} (1) µg/l.

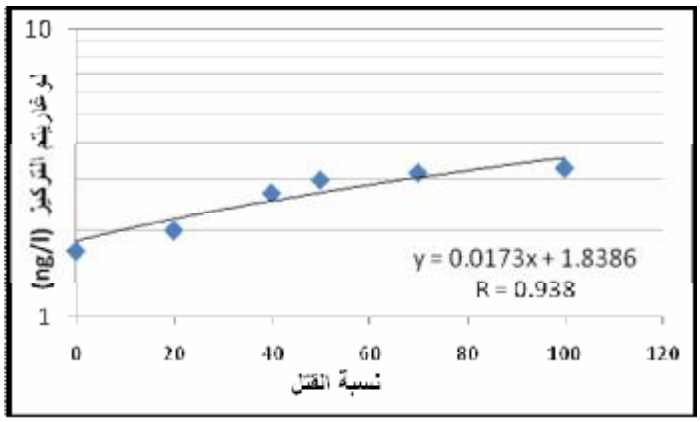
الجدول (1) نتائج تجارب السمية الحادة لمبيد ميتيل كلوربيريفيوس على النوع *A. bacillifer*

تركيز المبيد µg/l	2	1.5	1	0.5	0.1	0.05	0 (الأنبوب الشاهد)
متوسط نسبة القتل للمكررات الأربعة	%100	%70	%50	%40	%20	%0	%0
الانحراف المعياري لنسبة القتل	0	± 4.082	± 4.082	± 5.773	± 9.128	0	0

أجريت التجارب بواقع أربعة مكررات، وضم كل مكرر 5 أنابيب احتوى كل منها على 5 أفراد



الشكل (7) يبيّن العلاقة بين تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد ميتيل كلوربيريفوس



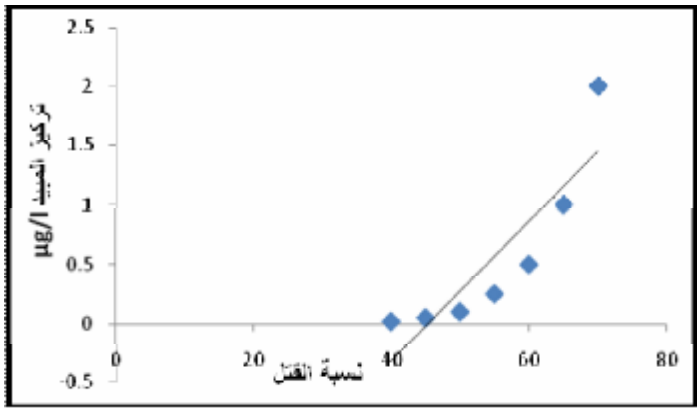
الشكل (8) يبيّن العلاقة بين لوغاريتم تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد ميتيل كلوربيريفوس

ونلاحظ من الشكل (7) أن العلاقة بين تركيز المبيد ونسبة القتل هي علاقة طردية، وفيها تزداد نسبة القتل مع ازدياد تركيز المبيد، وإن وجود أفراد حساسة وأفراد ذات تحمل وأخرى مقاومة للمبيد ضمن مجموعة أفراد التجربة يجعل منحنى السمية في الشكل (7) يبدو بشكل حرف S ويزداد انحناءً بازدياد عدد الأفراد الحساسة، ولتحويله إلى خط مستقيم نقوم برسم الخط البياني (منحنى السمية) بين لوغاريتم جرعة المبيد (Log10) ونسبة القتل، كما نحول تركيز المبيد إلى النانوغرام لصغره (عبد الخالق، 2005) (Randhawa, 2009) (الشكل 8) ونستنتج منه العلاقة الرياضية الآتية $\log Y=0.0173X+1.8386$ إذْ Y لوغاريتم تركيز المبيد بالنانوغرام/مل، و X نسبة القتل و a ثابت وقيمته 1.8386±0.181، وكذلك b ويعادل 0.0173±0.003، وكانت قوة الارتباط

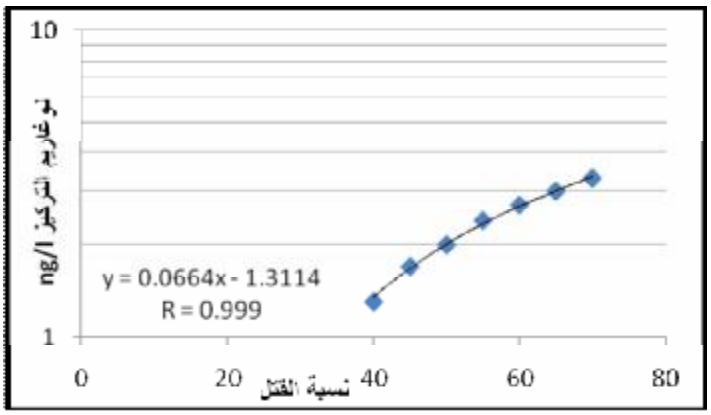
(R) تساوي 0.938 وتدلُّ على وجود علاقة إيجابية قوية جداً بين تركيز المبيـــد ونـــسبة القتل (الشكل7)

2- مبيد المالاثيون:

يعدُّ مبيد المالاثيون من المبيدات الشائعة الاستخدام في المجالات الزراعية؛ ولذلك قمنا بدراسة أثره في النوع *A.bacillifer* وقد عرضت أفراد التجربة للتراكيـــز (0.02-0.05-0.1-0.25-0.5-1-2) µg/l مدة 24 ساعة، ولاحظنا أن قيمة LC_{50} المسببة لمـــوت 50% من أفراد التجربة تعادل (0.1) µg/l (الجدول 2).



الشكل (9) يبين العلاقة بين تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد المالاثيون



الشكل (10) يبين العلاقة بين لوغاريتم تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد المالاثيون

ويتبيّن من الشكل (9) ازدياد نسبة القتل مع ازدياد تركيز مبيد المالاثيون ومن الشكل (10) يمكننا استنتاج العلاقة بين لوغاريتم تركيز المبيد ونسبة القتل ولها الـــشكل الآتـــي:

Y=0.0664X-1.3114 إذ Y لوغاريتم تركيز المبيد بالنانوغرام/ل، وX نسبة القتل وa ثابت وقيمته 0.083± 1.3114-، وكذلك b ويعادل 0.001±0.0664، وكانت قوة الارتباط (R) تساوي 0.999 وتدلُّ أيضاً على وجود علاقة إيجابية قوية جداً بين تركيز المبيد ونسبة القتل.

الجدول (2) نتائج تجارب السمية الحادة لمبيد المالاثيون على النوع *A. bacillifer*

تركيز المبيدµg/l	2	1	0.5	0.25	0.1	0.05	0.02	0 (الأنبوب الشاهد)
متوسط نسبة القتل للمكررات الأربعة	%70	%65	%60	55%	%50	%45	%40	%0
الانحراف المعياري لنسبة القتل	± 4.082	0	± 4.082	± 4.082	0	0	± 4.082	0

أجريت التجارب بواقع أربعة مكررات، وضم كل مكرر 5 أنابيب احتوى كل منها على 5 أفراد

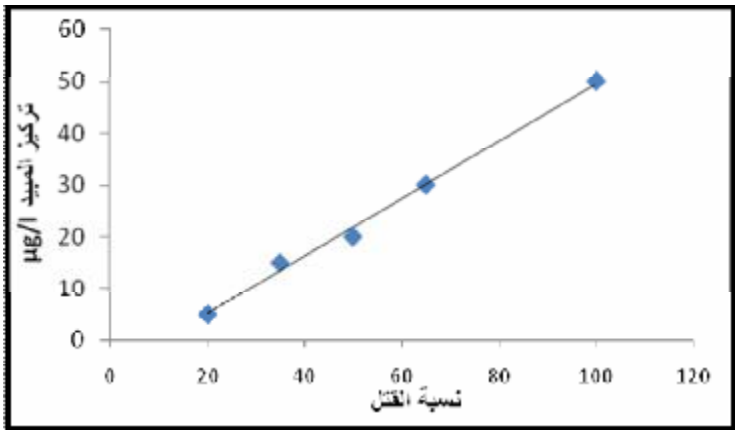
ثالثاً: مبيد الديكلوروفوس:

كما عرضنا النوع *A. bacillifer* إلى مبيد الديكلوروفوس مدة 24 ساعة بتراكيز (50-30-20-15-5) µg/l وبلغت قيمة LC_{50} في دراستنا (20) µg/l مبينة في الجدول (3).

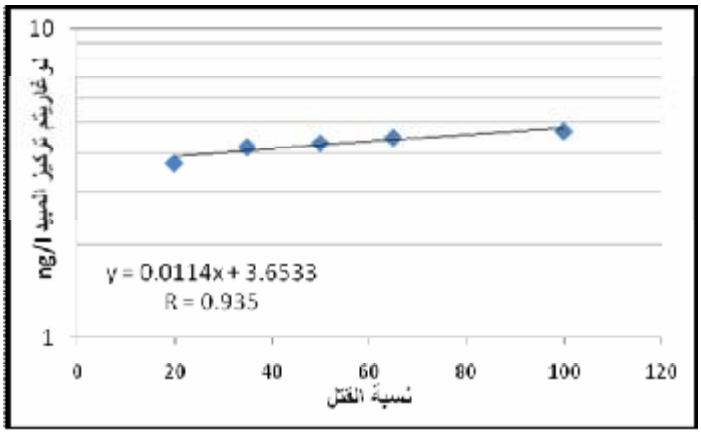
الجدول (3) نتائج تجارب السمية الحادة لمبيد الديكلوروفوس على النوع *A.bacillifer*

تركيز المبيدµg/l	50	30	20	15	5	0 (الأنبوب الشاهد)
متوسط نسبة القتل للمكررات الأربعة	%100	%65	%50	%35	%20	%0
الانحراف المعياري لنسبة القتل	0	± 4.082	0	± 4.082	± 4.082	0

أجريت التجارب بواقع أربعة مكررات، وضم كل مكرر 5 أنابيب احتوى كل منها على 5 أفراد



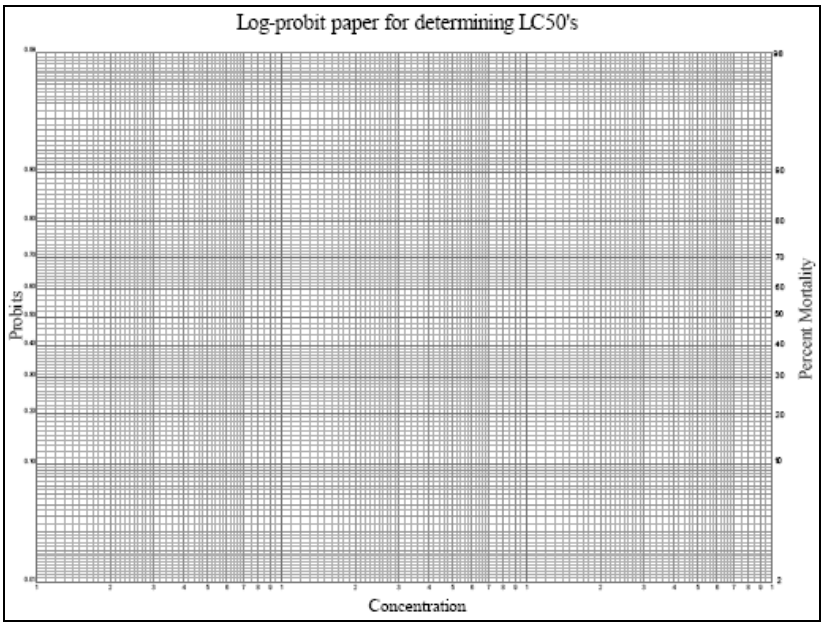
الشكل (11) يبيّن العلاقة بين تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد الديكلوروفوس



الشكل (12) يبيّن العلاقة بين لوغاريتم تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد الديكلوروفوس

ونلاحظ من الشكل (11) أن العلاقة بين نسبة القتل وتركيز المبيد كانت نموذجيـــة، إذْ تزداد نسبة القتل مع ازدياد تركيز المبيد. ويمكننا اســتنتاج العلاقــة بــين نــسبة القتــل ولوغاريتم تركيز مبيد الديكلوروفوس من الشكل (12) وهي Y=0.0114X+3.6533 إذ Y لوغاريتم تركيز المبيد بالنانوغرام/ليتر، وX نسبة القتل وa ثابت وقيمته3.6533 ±0.151، وكذلك b ويعادل 0.0114±0.002، وكانت قوة الارتباط (R) تعادل 0.935 وتدلُّ أيــضاً على وجود علاقة إيجابية قوية جداً بين تركيز المبيد ونسبة القتل (الشكل 12).

ثم أسقطنا نتائج تجارب السمية الحادة السابقة على ورقة البروبيت (الشكل 13) لنتبين ظهور صفة مقاومة النوع للمبيدات المدروسة، وتحديــد درجــة ســميتها علــى النــوع المدروس، واستنتجنا أن مبيد المالاثيون هو أكثر سمية للنوع المدروس *A.bacillifer* من بقية المبيدات، ثم مبيد ميتيل كلوربيريفوس، ثم الديكلوروفوس. ويؤكــد ذلــك قــيم LC_{50} للمبيدات المدروسة التي استنتجناها من خلال نتائج تجارب السمية الحــادة الــواردة فــي الجداول (1-2-3)، إذ كانت لمبيد المالاثيون تعادل (0.1) µg/l، ثم تلتهــا قيمــة LC_{50} لمبيد ميتيل كلوربيريفوس وتساوي (1) µg/l، ثم مبيــد الــديكلوروفورس وبلغــت (20) µg/l. كما يتبيّن وجود أفراد حساسة لمبيد المالاثيون وميتيل كلوربيريفوس، وبدأ ظهــور أفراد مقاومة للمبيدات بأعداد قليلة جداً.



الشكل (13) العلاقة بين نسبة القتل ولوغاريتم تركيز المبيد علـــى ورق لوغـــاريتم البروبيـــت لتحديد قيم LC_{50}

(Ch-M ميتي كلوربيريفوس، Mala المالاثيون، Diclo الديكلوروفورس)

ثانياً: نتائج السمية دون الحادة ومناقشتها:

كما قمنا بتعريض 3000 فرد من النوع *A.bacillifer* إلى المبيدات السابقة بتركيزين (0.002-0.025) µg/l مدة أربعة أيام وستة أيام، ثم بعد قياسنا لتركيز البـــروتين فيهـــا، حسبنا تركيز البروتين لمئة فرد (النسبة المئوية لتركيز البروتين).

الجدول (4) نتائج السمية دون الحادة للنوع *A.bacillifer* مدة أربعة أيام وستة أيام

	تركيز البروتين (g/dl)			
تركيز المبيد وزمن التعرض	الشاهد	مبيد الدايكلوروفوس	مبيد ميتيل كلوربيريفوس	مبيد المالاثيون
0.025 µg/l – 4 أيام	0.0048	0.0024±0.00045	0.0026±0.0001	0.00278±0.00028
0.025 µg/l – 6 أيام	0.0048	0	0	0.0018±0.00011
0.002 µg/l – 4 أيام	0.0048	0.0026±0.0003	0.0028±0.0002	0.0034±0.0004
0.002 µg/l – 6 أيام	0.0048	0	0.0004±0.000004	0.002±0.00037

نلاحظ من الجدول (4) انخفاض المحتوى البروتيني لأفراد النوع *A.bacillifer* مع ازدياد زمن التعرض للمبيد حيث انخفض تركيز البروتين من 0.0048 g/dl (480 µg/l) في التجربة الشاهدة إلى 0.0024 g/dl (240 µg/l) بعد أربعة أيام من تعرض أفراد التجربة لمبيد الديكلوروفوس بتركيز (0.025)µg/l، وإلى (0) g/dl بعد ستة أيام من تعرض الأفراد لتركيز المبيد نفسه. في حين انخفض تركيز البروتين من 0.0048 g/dl (480 µg/l) في التجربة الشاهدة إلى 0.0026 g/dl (260 µg/l) بعد أربعة أيام من تعرض أفراد التجربة لمبيد ميتيل كلوربيريفوس بتركيز (0.025) µg/l، وإلى (0) g/dl بعد تعرضها لتركيز المبيد نفسه مدة ستة أيام. ولدى تعريض أفراد التجربة لمبيد المالاثيون بتركيز (0.025) µg/l انخفض تركيز البروتين من 0.0048 g/dl (480 µg/l) في التجربة الشاهدة إلى 0.00278 g/dl (278 µg/l) بعد أربعة أيام وإلى 0.0018 g/dl (180 µg/l) بعد ستة أيام.

كما لاحظنا انخفاض المحتوى البروتيني مع ازدياد تركيز المبيد في تجارب السمية دون الحادة لدى تعريض أفراد النوع *A.bacillifer* لمبيد الديكلوروفوس بتركيز (0.002) µg/l مدة أربعة أيام انخفاض تركيز البروتين من 0.0048 g/dl (480 µg/l) في التجربة الشاهدة إلى 0.0026 g/dl (260 µg/l)، في حين انخفض إلى 0.0024 g/dl (240 µg/l) بتركيز (0.025) µg/l. وبعد ستة أيام من تعرض أفراد التجربة للمبيد نفسه بتركيزين (0.025-0.002) µg/l انخفض تركيز البروتين إلى 0 g/dl.

كما انخفض المحتوى البروتيني من (0.0048) g/dl (480 µg/l) إلى (0.0028) g/dl (280 µg/l) بعد أربعة أيام من تعرض أفراد النوع *A.bacillifer* لمبيد ميتيل كلوربيريفوس بتركيز (0.002) µg/l، وإلى (0.0026) g/dl (260 µg/l) بتركيز (0.025) µg/l. ولدى تعرضها للمبيد نفسه مدة ستة أيام انخفض المحتوى البروتيني إلى (0.0004) g/dl (40 µg/l) بتركيز (0.002) µg/l، وإلى 0 بتركيز (0.025) µg/l.

في حين نلاحظ انخفاض المحتوى البروتيني إلى (0.0034) g/dl (340 µg/l) لدى تعرض أفراد النوع المدرس إلى مبيد المالاثيون بتركيز (0.002) µg/l مدة أربعة أيام، وإلى (0.00278) g/dl (278 µg/l) بتركيز (0.025) µg/l، وبعد ستة أيام انخفض إلى (0.002) g/dl (200 µg/l) بتركيز (0.002) µg/l وإلى (0.0018) g/dl (180 µg/l) بتركيز (0.025) µg/l.

كما تبيّن أن تركيز البروتين لدى أفراد النوع *A.bacillifer* المعرضة لمبيد الديكلوروفوس بتركيزين (0.025-0.002) µg/l كان أكثر انخفاضاً من تركيز البروتين للمبيدين الآخرين، يليه مبيد الميتيل كلوروبيريفوس ثم مبيد المالاثيون.

الجدول (5) الكتلة الحيوية الجافة وتركيز البروتين في تجارب السمية دون الحادة

التجربة الشاهدة	تركيز البروتين (لمئة فرد) µg/l				الكتلة الحيوية الجافة (لمئة فرد) µg			
	µg/l 480				µg 1215.3			
	4أيام		6 أيام		4أيام		6 أيام	
تركيز المبيد µg/l	0.025	0.002	0.025	0.002	0.025	0.002	0.025	0.002
الديكلوروفوس	240	260	0	0	607.65	658.287	0	0
ميتيل كلوربيريفوس	260	280	0	40	658.28	708.925	0	101.275
المالاثيون	278	340	180	200	703.861	860.836	455.737	506.375

الجدول (6) النسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة ونسبة الآزوت في جسم النـــوع *A.bacillifer* لتجارب السمية دون الحادة

التجربة الشاهدة	النسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة				النسبة المئوية للآزوت (النسبة المئوية للبروتين/6.25)			
	%39.496				%6.319			
	4أيام		6 أيام		4أيام		6 أيام	
المبيد	0.025	0.002	0.025	0.002	0.025	0.002	0.025	0.002
الديكلوروفوس	%19.748	%21.392	0	0	%3.159	%3.422	0	0
ميتيل كلوربيريفوس	%21.392	%23.038	0	%3.291	%3.422	%3.686	0	%0.526
المالاثيون	%22.873	%27.975	%14.81	%16.456	%3.659	%4.476	%2.369	%2.632

وبالاعتماد على نتائج السمية دون الحادة السابقة وعلى العلاقة الموجودة بين تركيـــز البروتين في جسم الكائن الحي وكتلته الحيوية الجافة ونسبة الآزوت في جـــسمه، إذ بلـــغ متوسط الكتلة الحيوية الجافة للفرد في التجربة الشاهدة 12.153 µg، ومتوســـط تركيـــز البروتين للفرد في التجربة الشاهدة 4.8 µg، ومن ثمّ فالنسبة المئوية للبروتين من الكتلـــة الحيوية الجافة تعادل (39.496%)، كما يمكننا استنتاج نسبة الآزوت في جـــسم الكـــائن الحي بتقسيم النسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة على العامـــل 6.25 وتبلـــغ (6.319%) من جسم الكائن الحي.

ويبيّن الجدولان (5-6) الكتلة الحيوية والنسبة المئوية لتركيز البـــروتين مـــن الكتلـــة الحيوية الجافة ونسبة الآزوت في جسم النوع *A.bacillifer* فـــي تجـــارب الـــسمية دون الحادة. ونستنتج من الجدولين السابقين انخفاض الكتلة الحيوية والنسبة المئويـــة للبـــروتين من الكتلة الحيوية الجافة ونسبة الآزوت في جسم العالق في تجارب الـــسمية دون الحـــادة بازدياد تركيز المبيد وزمن التعرض للمبيد.

المناقشة

بلغت قيمة LC_{50} المسببة لموت 50% من أفراد النـــوع *A.bacillifer* لمبيـــد ميتيـــل كلوربيريفوس في تجاربنا للسمية الحادة 1 µg/l وهي قريبة للقيمة التـــي ذكرهـــا العـــالم

(Hyghes, 1977) لدى تعريضه أفراد النوع *Diaptomus* لمبيد ميتيل كلوربيريفوس مدة 48 ساعة، وكذلك للقيمة المسجلة لدى تعريض أفراد الجنس *Daphnia sp.* مدة ست ساعات (Hughes, 1977)، بينما كانت تعادل 0.21 مدة 48 ساعة للنوع *Daphnia* sp. و0.058 µg/l للنوع *Ceriodaphnia dubia* في دراسة العالم (Lee he, 2008)، في حين بلغت قيمة LC_{50} المسببة لانخفاض غزارة أفراد الأنواع المنتمية لرتبة Calanoida ورتبة Cladocera 10 µg/l (Hughes, 1980) (الجدول 7).

الجدول (7) قيم LC_{50} المسجلة في تجارب السمية الحادة التي أجريت من قبل علماء آخرين لمبيد ميتيل كلوربيريفوس

المبيد ميتيل كلوربيريفوس Chlorpyrifos-methyl						
الجنس	**تاثير المبيد فى**	**زمن الدراسة**	**LC_{50}(yg/l)**			**المرجع**
			عظمى	**متوسطة**	**دنيا**	
Diaptomus sp.	القتل	48 ساعة	-	-	1	Hughes(1977)
رتبة Copepoda order-Calanoida	الغزارة	-	-	-	10	Hughes *et al* (1980)
Daphnia sp.	القتل	6 ساعة	-	-	1	Hughes (1977)
رتبة Cladocera	الغزارة	-			10	Hughes *et al* (1980)
Daphnia sp.	-	48 ساعة	-	-	0.21	Lee he (2008)
Ceriodaphnia dubia	-	48 ساعة	-	-	0.058	Lee he (2008)

وكانت قيمة LC_{50} المسببة لموت 50% من أفراد التجربة المعرضة لمبيد المالاثيون في دراستنا 0.1 µg/l وهي مطابقة لمتوسط القيمة التي توصل إليها (Rawash *et al.*, 1975) حين عرض أفراد النوع *Daphnia magna* إلى مبيد المالاثيون مدة 24 ساعة. وقد راوحت بين (1.8-2.5) µg/l في دراسة (1989) Naqvi and Hawkins على الجنس *Diptomus sp.* مدة 48 ساعة. وقد ذكر (Blythe *et al.*, 1979) أن قيمة EC_{50}، تركيز المبيد المسبب لفقدان 50% من أفراد التجربة القدرة على الحركة، للنوع *Ceriodaphnia dubia* تراوح بين (1.4-1.6) µg/l عند تعريضها للمبيد مدة 24 ساعة، وبين (0.4-0.6) µg/l مدة 48 ساعة. في حين بلغت 200 µg/l عند التعرض للمبيد مدة 24 ساعة، و100 µg/l عند التعرض للمبيد مدة 48 ساعة في دراسة (Santharam *et al.*, 1976) على النوع *Daphnia carinata*. وراوحت بين (0.07-0.13) µg/l عند التعرض للمبيد مدة 24 ساعة في دراسة (Rawash *et al.*, 1975) على النوع *Daphnia magna*. وكانت تساوي 0.9 µg/l مدة 26 ساعة في دراسة (Crosby *et al.*, 1966) (الجدول 8).

الجدول (8) يبين قيم LC_{50} - EC_{50} المسجلة في تجارب السمية التي أجريت من قبل علماء آخرين لمبيد المالاثيون

مبيد المالاثيون Malathion						
الجنس أو النوع	تاثير المبيد في	زمن الدراسة	LC_{50}(yg/l)			المرجع
			عظمى	دنيا	متوسط	
Diaptomus sp.	نسبة القتل	48 ساعة	2.5	1.8	2	Naqvi (1989)
			EC50 (yg/l) تركيز المبيد المسبب لعدم القدرة على الحركة 50% من حيوانات التجربة والمسبب لتثبيط التركيب الضوئي للعوالق النباتية بنسبة 50%			
Ceriodaphnia dubia	عدم القدرة على الحركة	24 ساعة	عظمى	دنيا	متوسط	Blythe *et al* (1979)
			1.6	1.4	1.5	
Ceriodaphnia dubia	عدم القدرة على الحركة	48 ساعة	0.6	0.4	0.5	Blythe *et al* (1979)
Daphnia carinata	عدم القدرة على الحركة	24 ساعة	-	-	200	Santharam *et al* (1976)
Daphnia carinata	عدم القدرة على الحركة	48 ساعة	-	-	100	Santharam *et al* (1976)
Daphnia magna	عدم القدرة على الحركة	24 ساعة	0.13	0.07	0.1	Rawash *et al* (1975)
Daphnia magna	عدم القدرة على الحركة	26 ساعة	-	-	0.9	Crosby *et al* (1966)

ولدى تعريض أفراد النوع *A.bacillifer* لمبيد الديكلوروفوس مدة 24 ساعة بلغت قيمة LC_{50} المسببة لموت 50% من أفراد التجربة في دراستنا 20 µg/l، وهي قريبة من القيمة التي توصل إليها Dreibach (1959) في دراسته على الجنس *Mesocyclops sp.* وتعادل 40 µg/l مدة 24 ساعة. وكان متوسط تركيز المبيد المسبب لموت 95% من أفراد النوع *Diaptomus forbrsi* مدة 48 ساعة 123 µg/l في دراسة(Naqvi *et al.*, 1989). في حين كانت قيمة LC_{50} المسببة لفقدان 50% من أفراد النوع *Daphnia magna* القدرة على الحركة 0.09 µg/l مدة 48 ساعة (Mass, 1982). وراوحت بين (0.11-0.17) µg/l في دراسة Ankley (1991) على النوع *Ceriodaphnia dubia* مدة 48 ساعة (الجدول 9).

الجدول (9) قيم LC_{95} – EC_{50} - LC_{50} المسجلة في تجارب السمية التي أجريت من قبل علماء آخرين لمبيد الديكلوروفوس

المبيد: الديكلوروفوس Dichlorvos						
	LC_{50} (yg/l)					
Ceriodaphnia dubia	عدم القدرة على الحركة	48 ساعة	0.17	0.11	0.13	Ankley *et al* (1991)
Daphnia magna	عدم القدرة على الحركة	48 ساعة	-	-	0.09	Maas (1982)
			LC_{95} (yg/l) تركيز المبيد المسببة لموت 95% من حيوانات التجربة			
Diaptomus forbrsi	القتل	48 ساعة	عظمى	دنيا	متوسط	Naqvi and Hawkins (1989)
			-	-	123	
			LC_{50} (yg/l)			
Mesocycops sp.	القتل	24 ساعة	-	-	40	Dreibach (1959)

كما تبيّن أن مبيد المالاثيون هو أكثر سمية للنوع المدروس *A.bacillifer* من بقية المبيدات، ثم يليه مبيد ميتيل كلوربيريفوس، ثمَّ الديكلوروفوس، لأن تركيز مبيد المالاثيون المسبب لموت 50% من الأفراد كان أقل من تركيز المبيدين الآخرين الشكل (13)، يليه خط سمية مبيد ميتيل كلوربيريفوس ثم الديكلوروفوس (عبد الحميد وآخرون، 1988)، ويؤكد ذلك انخفاض قيمة LC_{50} لمبيد المالاثيون حيث تساوي 0.25 µg/l يليه مبيد ميتيل كلوربيريفوس إذ كانت قيمة LC_{50} تساوي 1 µg/l ثم مبيد الديكلوروفورس وقيمة LC_{50} تعادل 20 مكروغراماً/ ليتر. ولا بدَّ من الأخذ بالحسبان أن أفراد النوع *A.bacillifer* تبدي اختلافاً من حيث وجود أفراد حساسة وأفراد ذات تحمل وأفراد أخرى مقاومة للمبيد؛ مما يعلّل سبب تأرجح خطوط السمية (عبد الخالق وآخرون، 2005).

ويفسر موت 50% من أفراد النوع *A.bacillifer* بتثبيط المبيدات الفوسفورية لنشاط الأنزيمات التي تدخل في التفاعلات الحيوية الضرورية لاستمرار حياة الكائن الحي، وخاصة أنزيم الأستيل كولين استيراز مؤدية إلى موت الكائن الحي (Wong, *et al.*, 1994). وهذا ما لاحظه العالم (Bond and Bradly, 1996) والعالم (Anderson *et al.*, 2004) بدراستهم على النوع *Daphnia magna* إذ وجدوا مجموعة من الأنزيمات تؤدي دوراً مهماً في إزالة سمية المبيدات الفوسفورية، وتضم الترانسفيراز، والاستيراز، والأوكسيداز، والكربوكسيل استيراز، والغلوتاثيون س ترانسفيراز. وأثبتوا ازدياد تثبيط النشاط الأنزيمي مع ازدياد تركيز المبيد.

كما يفسر الاختلاف في قيمة LC_{50} بين الأنواع وبين أفراد النوع الواحد في مناطق مختلفة من أنحاء العالم، باختلاف مقاومتها الطبيعية، (وهي قدرة النوع على الحياة بصورة طبيعية مع تحمل تراكيز منخفضة أو مرتفعة من مادة سامة معينة لم يتعرض لها سابقاً)، ويمكن ملاحظتها عند استعمال المبيد أول مرة، وتسمى هذه الظاهرة بالتحمل tolerance. وبظهور ذراري جديدة للنوع نفسه أكثر مقاومة للمادة السامة من السلالات السابقة، وتدعى هذه المقاومة بالمقاومة المكتسبة (Varo *et al.*, 2002، الأحمدي وآخرون، 1977).

ويتبيّن من التجارب السابقة أن المبيدات الفوسفورية تسبب انخفاضاً في المحتوى البروتيني للنوع *A.bacillifer* ويزداد انخفاضه بازدياد تركيز المبيد، وبازياد مدة تعرض أفراد النوع للمبيد. وربما يعود ذلك لارتباط نواتج التفاعلات الحيوية التي تتم داخل جسم الكائن الحي لإزالة سمية المبيد مع وسيط داخلي موجود داخل جسم الكائن الحي مشتق من الكربوهيدرات أو البروتينات كالغلوتاثيون (Beasley and Poppenga., 1999؛ Hodgson, 2004؛ محمد، 2002) وهذا ما أثبته (Bond and Bradly, 1996) و (Damasio *et al*., 2007) بدراستهم على النوع *Daphnia magna*.

وتعلّل السمية العالية لمبيد الديكلوروفوس في تجارب السمية تحت الحادة بأن المبيدات الفوسفورية منخفضة قيمة السمية الحادة (التي لها مستويات مرتفعة من قيم الجرعة المميتة النصفية) تكون موادَّ في غاية الخطورة إذا ما تمَّ تناولها أو تعاطيها بشكل مزمن(عبد الخالق، 2005). وهذا ما لاحظناه خلال التجارب التي قمنا بها، إذ بلغت قيمة LC_{50} لمبيد الديكلوروفوس 20 µg/l، ولمبيد ميتيل كلوروبيريفوس ميتيل 1 µg/l، ولمبيد المالاثيون 0.1 µg/l.

وقد كانت النسبة المئوية للآوزت في التجربة الشاهدة في دراستنا (6.319%)، والنسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة 39.496% مطابقتين للقيمة التي ذكرها العالم (Carrillo *et al.*, 2001) في دراسته على النوع *Mixodiaptomus laciniatus* (Copepoda,Calanoida) إذ بلغ متوسط النسبة المئوية للآزوت من الكتلة الحيوية الجافة 6.21±2.1 %، في حين تساوي النسبة المئوية للبروتين 13.125%±37 وحُسبت بضرب النسبة المئوية للآزوت بعامل التحويل 6.25 (مالو وآخرون، 1986) ولاحظنا في تجارب السمية دون الحادة انخفاض الكتلة الحيوية والنسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة والنسبة المئوية للآزوت للنوع *A.bacillifer* بازدياد تركيز المبيد ومدة تعرض أفراد التجربة له، ويترافق ذلك مع انخفاض إنتاجية الأوساط المائية العذبة، وخاصة التي تستخدم في تربية الأسماك، مما يؤثر في المردود الاقتصادي وخاصة في المناطق التي تعتمد على الأسماك كمصدر رئيسي للغذاء.

الاستنتاجات

- ارتباط درجة سمية المبيدات الفوسفورية (نسبة القتل عدد الأفراد الميتة) بعلاقة إيجابية مع تركيز جرعة المبيد حتى الوصول إلى مرحلة الجرعة القصوى (نسبة القتل 100%)، التي يقابلها ظهور أقصى تأثير (موت أفراد التجربة جميعاً)، وذلك إذا كانت جرعة المبيد تفوق مقدرة الكائن الفيزيولوجية على تحملها.
- كما أن المبيدات الفوسفورية تؤثر في المحتوى البروتيني للعوالق الحيوانية، وتؤدي إلى انخفاضه، وذلك عند وجودها بتراكيز منخفضة، تستطيع فيها الأنواع إزالة سميتها.
- كما نلاحظ أيضاً أن المبيدات الفوسفورية تؤثر في غزارة العوالق الحيوانية عند وجودها بتراكيز عالية، لتثبيطها نشاط الأنزيمات المسؤولة عن إزالة سمية المبيدات، وخاصة أنزيم الأستيل كولين استيراز، مما يؤدي إلى تراكم مادة الأستيل كولين عند النهايات العصبية مسببة استمرار التنبيه العصبي، وحدوث خلل في عمل الجملة العصبية العضلية، منتهية بموتها.

- و نلاحظ انخفاض تركيز البروتين في السمية دون الحادة بازدياد تركيز المبيد، وبازياد الزمن، وانخفاض الكتلة الحيوية ونسبة الآزوت في جسم العالق؛ مما يؤدي إلى انخفاض إنتاجية الأوساط المائية التي تستخدم لتربية الأسماك التي تعدُّ مصدراً غذائياً أساسياً للإنسان.
- وأخيراً وبالاعتماد على الدراسة السابقة يمكننا أن نعدَّ النوع A.bacillifer مؤشراً على خلو مياه السدود (سد الروم، سد سهوة الخضر، وسد المشنف)، التي يوجد فيها هذا النوع بغزارة عالية، من المبيدات السابقة. ومن خلال مقارنة دراستنا بالدراسات السابقة يتبيّن أن أفراد النوع A.bacillifer الموجود في سورية بمحافظة السويداء هو أكثر حساسية للمبيدات المدروسة من أفراد الأنوع المنتمية لتحت صف Copepoda ولرتبة Calanoida الموجودة في مناطق أخرى من العالم.
-

التوصيات والمقترحات

- متابعة دراسة أثر المبيدات في الفاعلية الأنزيمية، وفي العمليات الحيوية الأخرى كالتنفس والتصفية وغيرها.
- متابعة تجارب تحديد الأثر السمي لأنواع العوالق الحيوانية المنتشرة في سورية.
- استخدام العوالق الحيوانية كمؤشرات حيوية على مدى تعرض المياه للتلوث بالمبيدات الفوسفورية من خلال تحديد قيمة الجرعة المميتة النصفية لبعض العمليات الحيوية، إذ لوحظ أن قيمها تزداد مع ازدياد مقاومة النوع للمبيد.
- وأخيراً ننصح بالعودة إلى المكافحة الحيوية نظراً إلى خطورة المبيدات الزراعية على العوالق الحيوانية، التي تعدُّ الغذاء الأساسي للأسماك.

REFERENCES المراجع

1. **Anderson, T. Wollenberger, L. Tjornhoj, R. Slothuus, T. and Baun, A. 2004. Pluse exposure to ACHE inhibitors cause chronic in Daphnia magna. SETAC.**
2. **Anderson, B. G. 1960. The Toxicity of organic insecticides to Daphnia. Engineering center, Cincinnati, OH: 94-95.**
3. **Ankley, G. T. Dierkes, J. R. Jensen, D. A. and Peterson, G. S. 1991. Piperonyl butoxide as a tool in aquatic toxicological research with Organophosphate Insecticides. Ecotoxicol. Environ.Sat. 21(3): 266-274.**
4. **Beasley, V. and Poppenga, R. H. 1999. Veterinary Toxicology. IVIS. Itahaca. NewYork, USA.**
5. **Blythe, T. O. Grooms, S. M. and Frans, R. E. 1979. Determination and characterization of the effects of Fluometuron and MSMA on Chlorella. Weed Sci. 27 (3): 294-299.**
6. **Bond, J-A. and Bradley, B. P. 1996. Resistance To malathion in heat-shocked Daphnia magna. SETAC. P: 705-712.**
7. **Carrillo, P. Villar-Argaiz, M. and Medina-Sanchez, J. M. 2001. Relationship between N:P ratio and growth rate during the life cycle of Calanoid Copepoda: An in situ measurement. Journal of Plankton research. 23(5): 537-547.**
8. **Crosby, D. G. Tucker, R. K. and Aharonson, N. 1966. the detection of acute toxicity with *Daphnia magna.* Food Cosmet. Toxicol. 4: 503-514.**
9. **Damasio, J. Guilhermino, L. Soares, A. M. V. M. Riva, M. C. and Barata, C. 2007. Biochemical mechanisms of resistance in Daphnia magna exposed to the insecticide fernitrothion. Science Direct. 70. P: 74-82.**
10. **Dreisbach, R. R. 1959. Physical properties of compounds (II and III). Am. Chem. Soc., Adv. in Chem. Ser. 22:491.**
11. **Dumont, H. J. and Van de Velde, I. and Dumont, S. 1975. The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the Plankton, periphyton and benthos of continental waters. Oecologia (Berl) 19: 75-97.**
12. **Dussart, B. 1969. Les copepods des eaux continentals d'europe occidentale (tomeI,II). N.Boubee&cie Paris.**
13. **Hodgson, E. 2004. A texbook of modern toxicology. A John Wiley et Sons, Interscience publication, Hoboken, New Jersey, Canada. 672.**
14. **Hughes, D. N. 1977. The Effects of Three Organophosphorus Insecticides on Zooplankton and Other Invertebrates in Natural and Artificial Ponds. M. S.Thesis, York Uni, Toronto: 100P.**
15. **Hughes, D. N. Boyer, M. G. Papst, M. H. Fowle, C. D. Rees, G. A. V. and Baulu, P. 1980. Presistence of Three Organophosphorus Insecticides in Artificial pond and some biological implications. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 9(3): 269-279.**
16. **Jemec, A. 2007. The applicability of acetylcholinesterase and glutathione S-transferase in Daphnia magna toxicity test. Scince Direct. Part 3C 144. P: 303-309.**
17. **Lee-He, L. M. 2008. Statewide urban pesticide use and water quality monitoring. Departement of Pesticide Regulation Environmental Monitoring Branch. California**

18. Maas, J. L. 1982. Toxicity of pesticides. Rep. No. 82, Lab. for Ecotoxicol., Inst. for Inland Water Manag. And Waste Water Treatment 15: 4p. (DUT).
19. Naqvi, S. M. and Hawkins, R. H. 1989. Responses and LC_{50} value for selected Microcrustaceans exposed to Spartan, malathion, sonar, weedtrine-d, and oust pesticides. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 43(3): 386-393.
20. Nishiuchi, Y. 1979. Toxicity of pesticides to animals in freshwater. LXII. The aquiculture (Suisan Zoshoku). 27(2): 119-124.
21. Pal, A. K. 1983. Acute toxicity of DDVP fish, plankton and worm. Environment and Ecology, Kalyani. 1(1): 25-26.
22. Randhawa, M. A. 2009. Calculation of LD_{50}values from the method of miller and tainter. J. Ayub Med Coll. Abbottabad. 21(3).
23. Rawash, I. A. Gaaboub, F. M. El-Gayar, F. M. and El.Shazli, A. Y. 1975. standard curves for Nuvacron, Malathion, Sevin, DDT and Kelthane Tested against the Mosquito Culex pipiens L.and the Microcrustacean *Daphnia magna* Straus. Toxicology 4(2): 133-144.
24. Roux, m.1987. Analyse biologique de l'eau. Paris. Etude de Synthese, Association Francaise pour l'etude des eaux. Paris. France. 225.
25. Sanchez-Bayo, F. 2006. Comparative acute toxicity of organic pollutants and reference values for Crustaceans. I. Branchiopoda, Copepoda and Ostracoda. Environmental Pollution, 139. P: 385-420.
26. Santharam, K. R. Thayummanavan, B. and Krishnaswamy, S. 1976. Toxicity of some insecticides to Daphnia carinata King an important link in the food chain in the fresh water ecosystems. Indian J. Ecol. 3(1): 70-73.
27. Unuma, T. 2003. Quantitative change in yolk protein and other components in the ovary and testis of the sea urchin Pseudocentrotus depressus. Biology. 206. P: 365-372.
28. Varo, I. Navarro, J. C. Amat, F. and Guilhermino, L. 2002. Characterisation of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and diclorvos to Artemia salina and Artemia parthenogenetica. Chemosphere 48. P: 563-569.
29. Wong, C. K. ChumK. H. and Shum, F. F. 1994. Acute and chronic toxicity of malathion to the freshwater Cladoceran *Moina macrocopa.* Water Air and Soil Pollution. 84. P: 399-405.
30- الأحمدي، أحمد زياد. حورية، عادل. 1977. الحشرات الضارة ومقاومتها والمبيدات. المطبعة التعاونية. دمشق.
31- زاهر، أمين.حمزة، صلاح. صادق، إخلاص. 1973. المبيدات الحشرية وأثرها السام على الإنسان والحيوان والدواجن. القاهرة. الجمعية الطبية البيطرية.
32- سلهب، عبد العظيم سمور. 1990. علم السموم الحديث. دار المستقبل. عمان.
33- عبد الحميد، زيدان هندي. 2000. السمية البيئية والتفاعلات الحيوية للكيميائيات والمبيدات. الدار العربية. القاهرة.
34- عبد الخالق، علاء الدين. 2005. سمية المبيدات والمعادن.دار النشر للجامعات.القاهرة.مصر.
35- كيالي، نجيب. 2009. الكيمياء السريرية. دار شعاع للنشر والعلوم. سورية.
36- مالو، أحمد. البحرة، مروان. العظمة، هيفاء. شمس الدين، نور الدين. 1986. الكيمياء الحيوية الجزء العملي. جامعة دمشق.
37- محمد، عبد الله. 2002. علم السموم. جامعة قزيونس. بنغازي.
38- ياسين، محمد.شفيق. 1995. الرياضيات. مطبعة دار الكتاب، جامعة دمشق. سورية.