التأثير السمي لبعض المبيدات الفسفورية العضوية على النوع *Arctodiaptomus(Rhabdodiaptomus) bacillifer* (Calanoidae, Copepoda)

قبل للنشر في مجلة جامعة دمشق سوريا للعلوم الأساسية لعام 2012

الأستاذ المشرف | **الأستاذة المساعدة** | **طالبة الدكتوراه**

الدكتور محمد ماهر قباقيبي | **الدكتورة سحر الخطيب** | **شفاء جاويش**

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 لخطورة 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.

وبما أن العوالق الحيوانية توجد في كل الأوساط المائية العذبة والمالحة وتحتل مركزاً هاماً في السلسلة الغذائية، ولكونها ذات حساسية عالية لأي تغير في الشروط البيئية، كوجود المبيدات الفسفورية حيث تؤدي التراكيز بحدود (0.0001–1000) µg/l إلى موتها(Sanchez-Bayo, 2006)، لذا يمكن اعتبارها أحد المشعرات الهامة الدالة على مدى سلامة المياه وعدم احتوائها على الملوثات المختلفة.

رأينا أنه من المفيد القيام بتحديد التأثير السمي للمبيدات الفسفورية على النوع *Arctodiaptomus bacillifer* الموجود في سد المشنف، وسد سهوة الخضر، وسد الروم بمحافظة السويداء، والتي تستخدم لري الأراضي الزراعية، كما يتم معالجتها لتصبح صالحة للشرب لسد حاجة أهل المنطقة منها. ويمكننا اعتبار وجود النوع *A.bacillifer* بغزارة عالية في الأوساط المائية المدروسة مؤشراً أولياً على عدم وجود المبيدات فيها، كما يهدف البحث إلى إبراز خطورة المبيدات على المدى البعيد والقصير على الغزارة والمحتوى البروتيني والكتلة الحيوية والانتاجية للنوع المدروس الذي يشكل جزءاً من العوالق الحيوانية وعلى انتاجية 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 على المحتوى البروتيني للنوع *A. bacillifer* لمدة أربعة أيام بتركيزين (0.002–0.025 µg/l) ، ولمدة ستة أيام بتركيزين (0.002–0.025) µg/l.

مواد الدراسة وطرائقها

أولاً: اختبار السمية الحادة

يعتمد مبدأ التجربة على تعريض عشرين فرداً من أفراد النوع *A. bacillifer* (Copepoda, Calanoida) لتراكيز مختلفة من المبيد لمدة 24 ساعة، وهي لمبيد ميتيل كلوربيريفوس (0.05-0.1-0.5-1-1.5-2-2.5) µg/l، ولمبيد المالاثيون (0.02-0.05-0.1-0.25-0.5-1-2) µg/l، ولمبيد الديكلوروفوس (5-15-20-30-50) 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 الاختبار 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) على المحتوى البروتيني للنوع *A. bacillifer*.

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

طريقة تحضير العينة لمعايرة البروتين

تم معاملة أفراد التجربة بأحد المحلات العضوية كثلاثي كلور حمض الخل لترسيب البروتينات، ثم ثفلت لمدة 15 دقيقة بسرعة 3000 g 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 نانومتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي.

حساب تركيز البروتين

ويحسب تركيز البروتين من المعادلة التالية:=(قراءة امتصاصية العينة/قراءة امتصاصية العياري)* تركيز العياري g/dl

- علماً بأن تركيز العياري = 7 g/dl ويكون مرفق مع الكاشف.
- ولتحديد امتصاصية العينة يضاف 1 ml من كاشف بيوريت إلى 20 µl من محلول البروتين ويقرأ عند طول الموجه 540 نانومتر.
- وتحدد امتصاصية العياري بإضافة امل من الكاشف إلى 20 µl من البروتين العياري المرفق مع الكاشف وتقرأ الامتصاصية عند طول الموجه 540 نانومتر. (كيالي، 2009)

علماً بأن كل 1 g = 10^3 mg = 10^6 µg = 10^9 ng ، وكل 1 l = 10 dl = 10^3 ml

وتم حساب الكتلة الحيوية الجافة بالاعتماد على العلاقة بين طول الفرد (L= µm) والكتلة الحيوية الجافة(W= µg) من العلاقة الرياضية التالية $W=7.9*10^{-7}L^{2.33}$ (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 (سوريا) عن طريق تصفية المياه باستخدام شبكة حجم ثقوبها 200 مكرومتر، وتم نقل 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) $NaHCO_3$، كلور الكالسيوم اللامائي (0.224 g) $CaCl_2$، أو كلور الكالسيوم المائي (0.297 g) $CaCl_2.2H_2O$، كبريتات البوتاسيوم (0.026 g) K_2SO_4، كلور المغنزيوم اللامائي (0.078 g)$MgCl_2$، كلور 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 معبر عنها بـ($CaCo_3$) ونسبة لـ Mg/Ca تقارب 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. ويتم ضبط درجة الحموضة pH الوسط باستعمال ماءات الصوديوم وحمض كلور الماء (Roux, 1987)، أما درجة الحرارة فتم ضبطها باستخدام غرفة حضن زجاجية مزودة بمنظم لدرجة الحرارة.

المبيدات الفوسفورية المستخدمة

تم استخدام المبيدات الفوسفورية التالية: مبيد ميتيل كلوربيريفوس تركيز 200 g/l، مبيد المالاثيون تركيز 500 g/l، مبيد الديكلوروفوس تركيز 200 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 سوريا. وتم تحضير التراكيز التالية (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 $NV=N_1V_1$ حيث 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

تمَّ من خلال الدراسة الإحصائية تحديد ما يلي:

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

2– **علاقة الارتباط** والتي تكون من الشكل التالي: $Y=a+bx$ حيث X المتحول الأول، Y المتحول الثاني، و a,b ثابتين يمكن حسابهما من علاقات محددة، ويمثل الثابت b ميل المستقيم، وإذا كان ميل المستقيم سالب، ومعامل الارتباط بين(0–1–) فتكون العلاقة بين المتحولين علاقة سلبية، وإذا كان ميل المستقيم موجب (0–1+) فتكون العلاقة بين المتحولين إيجابية (ياسين، 1995).

الدراسة التصنيفية

ينتمي النوع *A.bacillifer* الذي تمَّت دراسة تأثير المبيدات عليه 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*

تتميز أفراد النوع المدروس بجسم بيضوي الشكل، ويتألف من الرأسصدر Cephalosome والبطن، ويشكل طول الرأسصدر Cephalosome حوالي 1/3 طول الجسم، ويحمل الرأس قرينات تمتد حتى نهاية الجسم الشكل (1-4)، وتكون الرجل الخامسة عند الأنثى متناظرة الشكل (2-3)، بينما تكون عند الذكر غير متناظرة الشكل (5-6)، وكانت العلامات التصنيفية المميزة لأفراد النوع المدروس مطابقة للوصف الذي ذكره العالم (Dussart, 1969). **وتم تسجيل وجوده لأول مرة في سد المشنف وسد الروم وسد سهوة الخضر في محافظة السويداء بسوريا.** وينتشر في بحيرات المياه العذبة الباردة الجبلية التي تتراوح درجة حرارتها بين (1-21) مْ، ويتميز بلونه البرتقالي المائل إلى الحمرة، ويوجد في أوروبا وشمال ووسط مناطق الألب الإيطالية وشمال آسيا والقوقاز والهند وشمال أمريكا (Dussart, 1969).

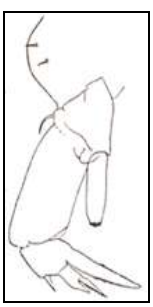
الشكل رقم (1) ذكر النوع *A.bacillifer* (بقوة تكبير 40)

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

الشكل رقم (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)

النتائج

أولاً: نتائج السمية الحادة

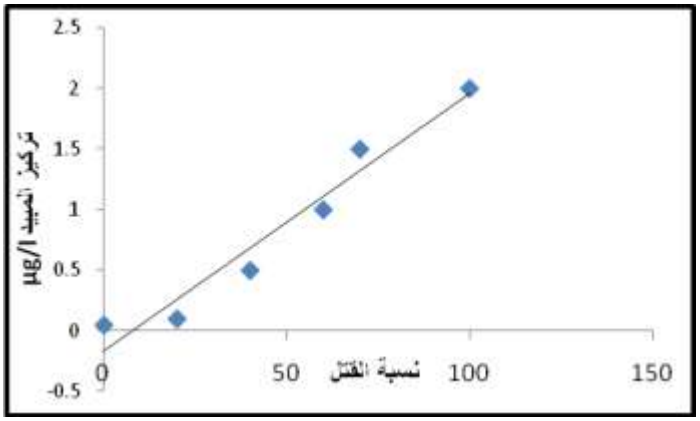
1- المبيد ميتيل كلوربيريفوس

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

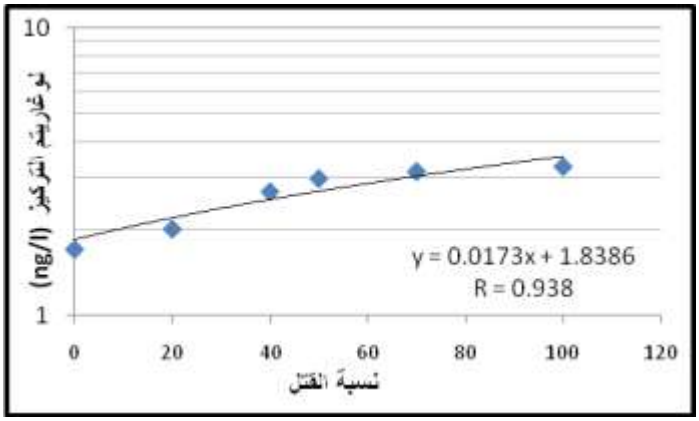
تركيز المبيد µg/l	2	1.5	1	0.5	0.1	0.05	0 (الأنبوب الشاهد)
متوسط نسبة القتل للمكررات الأربعة	%100	%70	%50	%40	%20	%0	%0
الانحراف المعياري لنسبة القتل	0	± 4.082	± 4.082	± 5.773	± 9.128	0	0

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

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



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

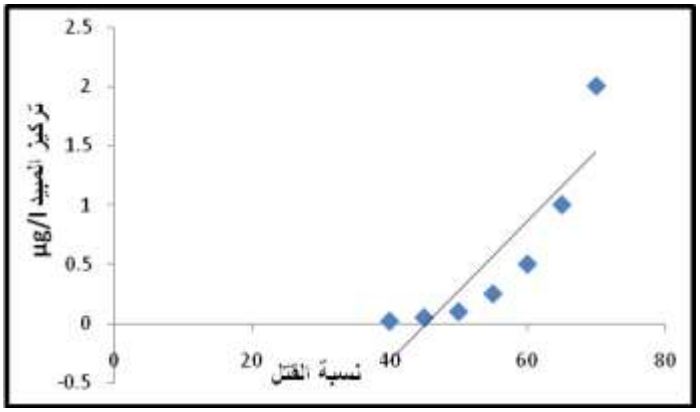


الشكل (8) يبين العلاقة بين لوغاريتم تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد ميتيل كلوربيريفوس

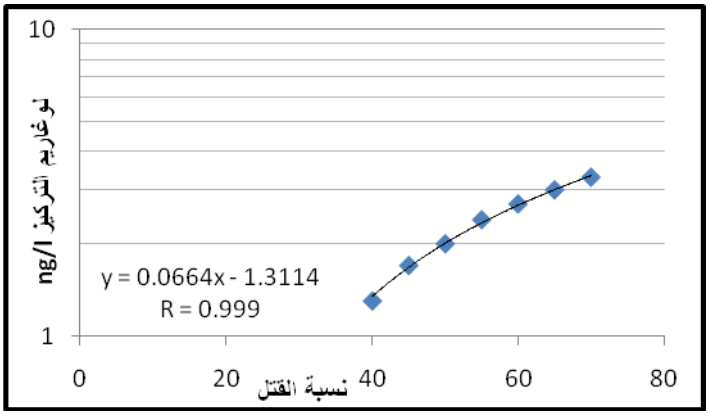
ونلاحظ من الشكل (7) أن العلاقة بين تركيز المبيد ونسبة القتل هي علاقة طردية وفيها تزداد نسبة القتل مع ازدياد تركيز المبيد، وإن وجود أفراد حساسة وأفراد ذات تحمل وأخرى مقاومة للمبيد ضمن مجموعة أفراد التجربة يجعل منحني السمية في الشكل (7) يبدو بشكل حرف S ويزداد انحناءً بازدياد عدد الأفراد الحساسة، ولتحويله إلى خط مستقيم نقوم برسم الخط البياني (منحني 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 التالية $logY=0.0173X+1.8386$ حيث 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 وتدل على وجود علاقة إيجابية قوية جداً بين تركيز المبيد ونسبة القتل(الشكل رقم:7)

2- مبيد المالاثيون:

يعد مبيد المالاثيون من المبيدات الشائعة الاستخدام في المجالات الزراعية ولذلك قمنا بدراسة أثره على النوع *A.bacillifer* حيث عرضت أفراد التجربة للتراكيز (2-1-0.5-0.25-0.1-0.05-0.02) µg/l لمدة 24 ساعة، ولاحظنا أن قيمة LC_{50} المسببة لموت 50% من أفراد التجربة تعادل (0.1) µg/l الجدول رقم (2).



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



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

ويتبين لنا من الشكل (9) ازدياد نسبة القتل مع ازدياد تركيز مبيد المالاثيون ومن الشكل (10) يمكننا استنتاج العلاقة بين لوغاريتم تركيز المبيد ونسبة القتل ولها الشكل التالي: Y=0.0664X-1.3114 حيث Y لوغاريتم تركيز المبيد بالنانوغرام/ل، وX نسبة القتل و a ثابت وقيمته 0.083± 1.3114-، وكذلك b ويعادل 0.001±0.0664، وكانت قوة الارتباط (R) تساوي 0.999 وتدل أيضاً على وجود علاقة إيجابية قوية جداً بين تركيز المبيد ونسبة القتل.

تركيز المبيد µg/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

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

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

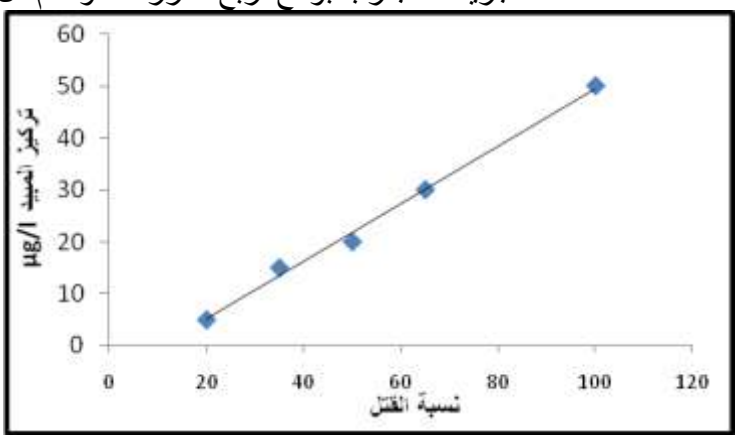
ثالثاً: مبيد الديكلوروفوس:

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

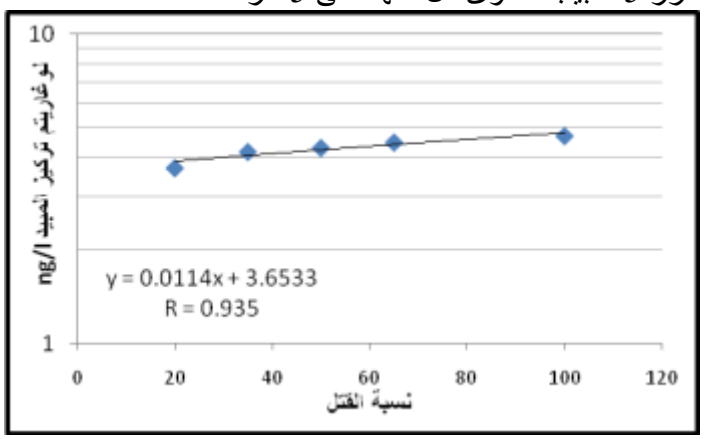
تركيز المبيد µg/l	50	30	20	15	5	0 (الأنبوب الشاهد)
متوسط نسبة القتل للمكررات الأربعة	%100	%65	%50	%35	%20	%0
الانحراف المعياري لنسبة القتل	0	± 4.082	0	± 4.082	± 4.082	0

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

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



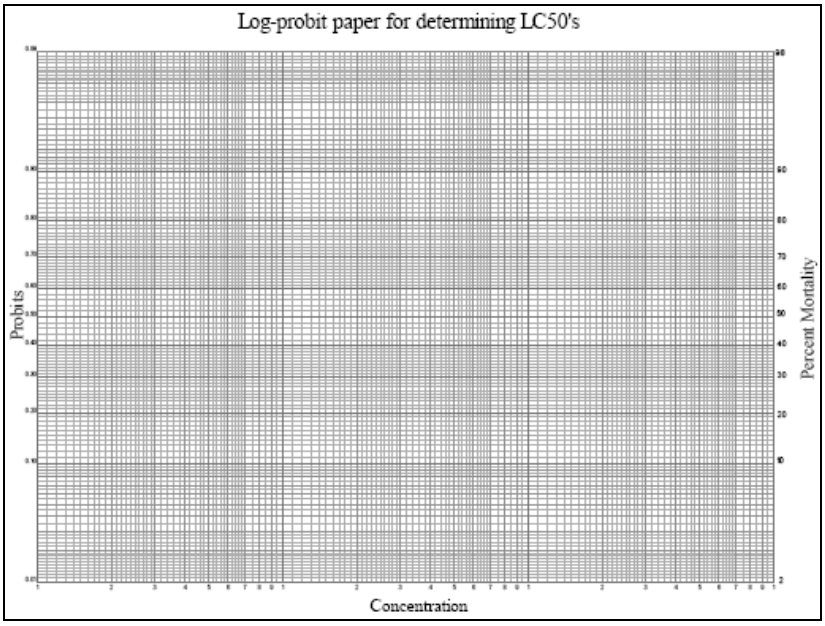
الشكل (11) يبين العلاقة بين تركيز المبيد ونسبة القتل لمبيد الديكلوروفوس



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

ونلاحظ من الشكل (11) أن العلاقة بين نسبة القتل وتركيز المبيد كانت نموذجية، حيث تزداد نسبة القتل مع ازدياد تركيز المبيد. ويمكننا استنتاج العلاقة بين نسبة القتل ولوغاريتم تركيز مبيد الديكلوروفوس من الشكل (12) وهي Y=0.0114X+3.6533 حيث Y لوغاريتم تركيز المبيد بالنانوغرام/ليتر، و X نسبة القتل و a ثابت وقيمته 3.6533 ±0.151، وكذلك b ويعادل 0.0114±0.002، وكانت قوة الارتباط (R) تعادل 0.935 وتدل أيضاً على وجود علاقة إيجابية قوية جداً بين تركيز المبيد ونسبة القتل الشكل (12)

ثم اسقطنا نتائج تجارب السمية الحادة السابقة على ورقة البروبيت الشكل (13) لنتبين ظهور صفة مقاومة النوع للمبيدات المدروسة، وتحديد درجة سميتها على النوع المدروس، واستنتجنا أن مبيد المالاثيون هو أكثر سمية للنوع المدروس *A.bacillifer* من بقية المبيدات، ثم مبيد ميتيل كلوربيريفوس، ثم الديكلوروفوس. ويؤكد ذلك قيم LC_{50} للمبيدات المدروسة والتي استنتجناها من خلال نتائج تجارب السمية الحادة الواردة في الجداول (1-2-3)، حيث كانت لمبيد المالاثيون تعادل (0.1) µg/l، ثم تلتها قيمة LC_{50} لمبيد ميتيل كلوربيريفوس وتساوي (1) µg/l، ثم مبيد الديكلوروفورس وبلغت (20) µg/l. كما يتبين لنا وجود أفراد حساسة لمبيد المالاثيون وميتيل كلوربيريفوس وبدأ ظهور أفراد مقاومة للمبيدات بأعداد قليلة جداً.



الشكل 13 العلاقة بين نسبة القتل ولوغاريتم تركيز المبيد على ورق لوغاريتم البروبيت 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 (0.025-0.002) µg/l لمدة أربعة أيام وستة أيام، ثم بعد قياسنا لتركيز البروتين فيها، حسبنا تركيز البروتين لمئة فرد (النسبة المئوية لتركيز البروتين).

	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

جدول (4) نتائج السمية دون الحادة للنوع *A.bacillifer* لمدة أربعة أيام وستة أيام

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 لنفس تركيز المبيد. بينما 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 لنفس تركيز المبيد لمدة 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 لمدة أربعة أيام انخفاض تركيز البروتين من 0.0048 g/dl (480 µg/l) في التجربة الشاهدة إلى 0.0026 g/dl (260 µg/l)، بينما انخفض إلى 0.0024 g/dl (240 µg/l) بتركيز (0.025) µg/l. وبعد ستة أيام من تعرض أفراد التجربة لنفس المبيد 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 لنفس المبيد لمدة 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 لمدة 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 تبين لنا 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.

	تركيز البروتين (لمئة فرد) µg/l				**الكتلة الحيوية الجافة (لمئة فرد) µg**			
التجربة الشاهدة	**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 (5) الكتلة الحيوية الجافة وتركيز البروتين في تجارب السمية دون الحادة

	النسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة				النسبة المئوية للآزوت (النسبة المئوية للبروتين/6.25)			
التجربة الشاهدة	%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

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

وبالاعتماد على نتائج السمية دون الحادة السابقة وعلى العلاقة الموجودة بين تركيز البروتين في جسم الكائن الحي وكتلته الحيوية الجافة ونسبة الآزوت في جسمه، حيث بلغ متوسط الكتلة الحيوية الجافة للفرد في التجربة الشاهدة 12.153 µg، ومتوسط تركيز البروتين للفرد في التجربة الشاهدة 4.8 µg، وبالتالي فالنسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة تعادل (39.496%)، كما يمكننا استنتاج نسبة الآزوت في جسم الكائن الحي بتقسيم النسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة على العامل 6.25 وتبلغ (6.319%) من جسم الكائن الحي.

ويبين لنا الجدولان (5–6) الكتلة الحيوية والنسبة المئوية لتركيز البروتين من الكتلة الحيوية الجافة ونسبة الآزوت في جسم النوع *A.bacillifer* في تجارب السمية دون الحادة. ونستنتج من الجدولين السابقين انخفاض الكتلة الحيوية والنسبة المئوية للبروتين من الكتلة الحيوية الجافة ونسبة الآزوت في جسم العالق في تجارب السمية دون الحادة بازدياد تركيز المبيد وزمن التعرض للمبيد.

المناقشة

بلغت قيمة LC_{50} المسببة لموت 50% من أفراد النوع *A.bacillifer* لمبيد ميتيل كلوربيريفوس في تجاربنا للسمية الحادة 1 µg/l وهي قريبة للقيمة التي ذكرها العالم (Hyghes, 1977) لدى تعريضه أفراد النوع *Diaptomus* لمبيد ميتيل كلوربيريفوس لمدة 48 ساعة، وكذلك للقيمة المسجلة لدى تعريض أفراد الجنس *Daphnia sp.* لمدة ست ساعات (Hughes, 1977)، بينما كانت تعادل 0.21 لمدة 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 و رتبة Cladocera 10 µg/l (Hughes, 1980) الجدول (7).

المبيد ميتيل كلوربيريفوس Chlorpyrifos-methyl						
الجنس	تاثير المبيد على	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)

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

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 العالم .Rawash et al (1975) حين عرض أفراد النوع *Daphnia magna* إلى مبيد المالاثيون لمدة 24 ساعة. وقد تراوحت ما بين (1.8–2.5) µg/l في دراسة العالم Naqvi, Hawkins (1989) على الجنس *Diptomus sp.* لمدة 48 ساعة. وقد ذكر العالم Blythe وزملاؤه (1979) أن قيمة EC_{50}، تركيز المبيد المسبب لفقدان 50% من أفراد التجربة القدرة على الحركة، للنوع *Ceriodaphnia dubia* تتراوح بين (1.4–1.6) µg/l عند تعريضها للمبيد لمدة 24 ساعة، وبين (0.4–0.6) µg/l لمدة 48 ساعة. بينما بلغت 200 µg/l عند التعرض للمبيد لمدة 24 ساعة، و100 µg/l عند التعرض للمبيد لمدة 48 ساعة في دراسة العالم Santharam وزملاؤه (1976) على النوع *Daphnia carinata*. وتراوحت بين (0.07–0.13) µg/l عند التعرض للمبيد لمدة 24 ساعة في دراسة العالم Rawash وزملاؤه (1975) على النوع *Daphnia magna*. وكانت تساوي 0.9 µg/l لمدة 26 ساعة في دراسة العالم Crosby وزملاؤه (1966) الجدول (8).

مبيد المالاثيون Malathion						
الجنس أو النوع	تاثير المبيد على	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)

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

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

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 et al (1989)
			–	–	123	
			LC_{50} (yg/l)			
Mesocycops sp.	القتل	24 ساعة	-	-	40	Dreibach (1959)

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

كما تبين لنا 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 حيث كانت قيمة LC_{50} تساوي 1 µg/l ثم مبيد الديكلوروفورس وقيمة LC_{50} تعادل 20 مكروغرام /ليتر. ولا بد من الأخذ بعين الاعتبار أن أفراد النوع *A.bacillifer* تبدي اختلافاً من حيث وجود أفراد حساسة وأفراد ذات تحمل وأفراد أخرى مقاومة للمبيد مما يعلل سبب تأرجح خطوط السمية (عبد الخالق، 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, 1994). وهذا ما لاحظه العالم (Bond et al., 1996) والعالم (Anderson et al., 2004) بدراستهم على النوع *Daphnia magna* حيث وجدوا مجموعة من الأنزيمات تلعب دوراً هاماً 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 لأول مرة، وتسمى هذه الظاهرة بالتحمل tolerance. وبظهور ذراري جديدة لنفس النوع أكثر مقاومة للمادة السامة من السلالات السابقة، وتدعى هذه المقاومة بالمقاومة المكتسبة (Varo et al., 2002، الأحمدي وآخرون، 1977).

ويتبين لنا من التجارب السابقة أن المبيدات الفوسفورية تسبب انخفاضاً في المحتوى البروتيني للنوع *A.bacillifer* ويزداد انخفاضه بازدياد تركيز المبيد، وبازياد فترة 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 et al., 1999، Hodgson, 2004، محمد، 2002) وهذا ما أثبته العالم (Bond et al., 1996) والعالم Damasio وزملاؤه (2007) بدراستهم على النوع *Daphnia magna*.

وتعلل 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 مواداً في غاية الخطورة إذا ما تمَّ تناولها أو تعاطيها بشكل مزمن(عبد الخالق، 2005).. وهذا ما لاحظناه خلال التجارب التي قمنا بها، حيث 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) حيث بلغ متوسط النسبة المئوية للآزوت من الكتلة الحيوية الجافة 2.1±6.21 %، بينما تساوي النسبة المئوية للبروتين 13.125%±37 وتم حسابها 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 وفترة تعرض أفراد التجربة له، ويترافق ذلك مع انخفاض انتاجية الأوساط المائية العذبة وخاصة التي تستخدم في تربية الأسماك، مما يؤثر على المردود الاقتصادي وخاصة في المناطق التي تعتمد على الأسماك كمصدر رئيسي للغذاء.

وأخيراً نستنتج مما سبق:

- ***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%)، والتي يقابلها ظهور أقصى تأثير (موت جميع أفراد التجربة)، وذلك إذا كانت جرعة المبيد تفوق مقدرة الكائن الفيزيولوجية على تحملها.***
- ***كما أن المبيدات الفوسفورية تؤثر على المحتوى البروتيني للعوالق الحيوانية، وتؤدي إلى انخفاضه، وذلك عند وجودها بتراكيز منخفضة، تستطيع فيها الأنواع إزالة سميتها.***
- ***كما نلاحظ أيضاً أن المبيدات الفوسفورية تؤثر على 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 ونسبو الآزوت في جسم العالق مما يؤدي إلى انخفاض إنتاجية الأوساط المائية التي تستخدم لتربية الأسماك التي تعد مصدراً غذائيا أساسياً للإنسان.***
- ***وأخيراً وبالاعتماد على الدراسة السابقة يمكننا أن نعتبر 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 مع الدراسات السابقة يتبين لنا أن أفراد النوع A.bacillifer الموجود في سوريا بمحافظة السويداء هو أكثر حساسية للمبيدات المدروسة من أفراد الأنواع المنتمية لتحت صف Copepoda ولرتبة Calanoida المتواجدة في مناطق أخرى من العالم.***

التوصيات والمقترحات:

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

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. 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: Anin 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.
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.
22. Randhawa, M. A. 1944. 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.
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. 2002. 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. سوريا.

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. سوريا.