# دراسة التغييرات المرضية النسجية في سمكة البني *Mesopotamichthys sharpeyi* المعرضة لمبيد الكلايفوسيت اكوا

ماهر عطا الله عبدالعزيز* عبدالمطلب جاسم الرديني**

## الملخص

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة تاثير مبيدكلايفوسيت اكوا في أنسجة سمكة البني *Mesopotamichthys sharpeyi*، وزعت الأسماك عشوائياً بعدد 10 أسماك لكل حوض زجاجي. قسمت الى أربع معاملات فضلاً عن مجموعة السيطرة (من دون اضافة مبيد، المعاملة الاولى بتركيز 0.415 ملغم/ لتر طيلة مدة التعرض البالغة ستة أسابيع والمعاملة الثانية بتركيز 0.415 ملغم /لترأضيف فقط في بداية التجربة، أما المعاملة الثالثة فأضيفت اليها المبيد بتركيز 0.207 ملغم/لتر طيلة مدة التعرض، المعاملة الرابعة بتركيز 0.207 ملغم/لتر أضيف في بداية التجربة فقط. لوحظ في بداية التجربة للمعاملات الاربع ظهور علامات عصبية متمثلة بحركات لا إرادية وغير طبيعية، وقد لوحظ ان علاقة عكسية بين التركيز وعدد مرات التنفس (حركة الغطاء الغلصمي). لوحظ في المعاملتين الاولى والثالثة اللتين استمر فيهما إضافة المبيد طيلة مدة التجربة فقدان تقبل الأسماك لتناول الغذاء، وانخفاض الوزن مع مرور الوقت حتى نهاية التجربة، بينما بدأت أسماك المعاملتين الثانية والرابعة بالتحسن التدريجي من ناحية الاستجابة للمحفزات الخارجية واستعادة وضعها الطبيعي في التنفس والحركة. بينت نتائج الفحص النسجي للمعاملة الاولى حدوث فرط تنسج وارتشاح خلوي في الانسجة المفحوصة جميعها (الغلاصم والكبد والكلى)، تلتها المعاملة الثالثة التي كانت أقل ضرراً من المعاملة الاولى واكثر من المعاملتين الثانية والرابعة ، في حين لم تظهر المعاملة الرابعة تأثيرات مرضية تذكر .

## المقدمة

تعد الأسماك مصدراً مهماً من مصادر الدخل القومي وحلقة مهمة من حلقات الأمن الغذائي لأنها تؤدي عملاً مهما في توفير البروتين الغذائي، تعد سمكة البني *Mesopotamichthys sharpeyi* من الأسماك الحساسة للتلوث البيئي، انخفض مخزونها إلى حد كبير في مناطق الاهوار بسبب التجفيف التي تعرضت له أهوار المنطقة الجنوبية، وكذلك الصيد الجائر وتأثير الأنواع الأخرى التي نافستها في الغذاء، فضلاً عن ذلك التغيير في خواص المياه بسبب التلوث . أظهرت مبيد الكلايفوسيت Glyphosate (8 , 10) بسرعة تحلله وقلة تأثيره في الأحياء المائية الموجودة في البيئة المائية ، لذلك تم استعمال الكلايفوسيت اكو في الدراسة الحالية. يستعمل مبيد كلايفوسيت اكوا لمكافحة القصب والبردي وعدد كبير من الأدغال المعمرة في قنوات البزل وأحواض الأسماك. تهدف الدراسة الحالية الى وصف التغييرات السلوكية بعد تعرضها للمبيد وتتضمن التغذية والحركة والسلوك فضلاً عن دراسة التغييرات المرضية العيانية والنسجية لأعضاء من جسم السمكة (الغلاصم والكبد والكلى).

## المواد وطرائق البحث

أجريت الدراسة الحالية في مختبر أمراض الأسماك في كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، أستعمل 10 أحواض سعة كل منها 70 لتراً. جهزت الأحواض بمصدر أوكسجين مستمر بواسطة مضخات هواء كهربائية، كما تمت

* مديرية الزراعة في محافظة بغداد ،وزارة الزراعة، بغداد، العراق.

** كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، العراق.

السيطرة على درجة حرارة الماء في الأحواض الزجاجية التي تراوحت بين20– 25 °م ، تراوحت معدل أوزان اسماك البني بين 10 - 15غم. وزعت الأسماك بواقع 10 اسماك للحوض الواحد (اربع معاملات ومكررين لكل معاملة) فضلاً عن مجموعة السيطرة (من دون اضافة مبيد)، المعاملة الاولى بتركيز 0:415 ملغم/لتر طيلة مدة التعرض البالغة ستة اسابيع والمعاملة الثانية بتركيز 0.415 ملغم/لتر اضيف في بداية التجربة فقط، أما المعاملة الثالثة فقد أضيف إليها المبيد بتركيز 0,207 ملغم/لتر طلية مدة التعرض، المعاملة الرابعة بتركيز 0.207 ملغم/لتر اضيف في بداية التجربة فقط . غذيت الأسماك بنسبة 3% من وزن الجسم. تم تسجيل التغييرات السلوكية لأسماك التجربة مثل السباحة والتنفس وحركة الغطاء الغلصمي ومدى تناولها للغذاء. سجلت التغييرات العيانية والمرضية للأسماك . قتلت الأسماك ثم أخذت عينات الغلاصم والكبد والكلية من اسماك المعاملات التجريبية وحفظت في محلول الفورمالين بتركيز 10% لتحضير المقاطع النسجية المصبوغة بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (11).

# النتائج والمناقشة

## التغييرات السلوكية

تمت مراقبة سلوك الأسماك المعرضة للمبيد أثناء مدة التجربة البالغة ستة أسابيع ، إذ لوحظ في بداية التجربة وللمعاملات الاربع ظهور علامات عصبية متمثلة بحركات لا إرادية وغير طبيعية ، مثل القفز إلى الأعلى بصورة مفاجئة والنزول إلى اسفل الحوض وتستقر بهدوء وتبقى ساكنة لمدة قصيرة، بعدها تعاود القفز مرات عديدة ثم الاستقرار في قاع الحوض، لوحظ سباحة الأسماك بشكل دائري حول نفسها وتصاب بالخمول وبطء حركة زعانفها، ولا تستجيب للمحفزات الخارجية مع انخفاض التنفس وقد لوحظ ان العلاقة عكسية بين التركيز وعدد مرات التنفس (حركة الغطاء الغلصمي )، إذ يُبطئ التنفس كلما زاد التركيز، لوحظ في المعاملتين الاولى والثالثة اللتين استمر فيهما إعطاء المبيد طيلة مدة التجربة فقدان تقبل الأسماك لتناول الغذاء، وانخفاض الوزن مع مرور الوقت حتى نهاية التجربة، إذ أنخفضت من 10.18 غم في المعاملتين الى 9.75 و10.14 غم في المعاملتين على التوالي، بينما بدأت أسماك المعاملتين الثانية والرابعة بالتحسن التدريجي من ناحية الاستجابة للمحفزات الخارجية واستعادة وضعها الطبيعي في التنفس والحركة والسباحة. أن لسمية مبيد الكلايفوسيت اكوا تأثيرات عصبية متمثلة بالحركات اللاإرادية، أذ يقوم مبيد الكلايفوسيت اكوا بتثبيط عمل انزيم الاستايل كولين استريز Acetyl choline esterase (ACHE) ثم يتجمع هذا الانزيم في النهايات العصبية مؤدياً الى فقدان التوازن (10). أشارت الجواري (1) بان سمية المبيد الكلايفوسيت تؤثر في سباحة اناث سمكة البعوض *Gambosia affinis* التي تكون عشوائية وبمختلف الاتجاهات وان هذه الأفعال تزداد شدة بزيادة تركيز المبيد ، وهي تتفق مع ما ذكره Al-Rudainy et al. (3) بأن السباحة العشوائية هي من أهم التأثيرات المسجلة لمبيد الكلايفوسيت و Lushchak *et al.* (12) بخصوص تعرض أسماك gold fish لمبيدRoun up. ان بطيء حركة غطاء الغلاصم الذي يتناسب عكسياً بزيادة تركيز المبيد يتفق مع ما ذكرته مطر (2) عند تعرض أسماك الكارب العشبي *Ctenopharyngodon idella* لمبيد الكلايفوسيت، إذ لوحظ بطء حركة الغلاصم وانخفاض سرعة حركة الغطاء الغلصمي، وان السبب في ذلك يعود إلى تأثير المبيد في الفعاليات التنفسية ، إذ يعمل على تثبيط الإنزيمات مثل NADH التي تشارك في تنظيم العمليات التنفسية. ذكر Lushchak et al. (13) أن سبب بطء حركة الغلاصم يعود الى تأثر المركز التنفسي في الدماغ اثناء التعرض الطويل الأمد للمبيد وبذلك سبب فشلاً في وظيفة الجهاز التنفسي، أما الانخفاض الملحوظ في تقبل الأسماك المعرضة للمبيد للطعام والذي يزداد بزيادة تركيز المبيد لاسيما في المراحل الأخيرة من التعرض فهو يتفق مع ماذكرته دراسة Kolo *et al.*

(9) بان من أهم التأثيرات الشبه المميتة للكلايفوسيت هي تأثيرات في سلوك تغذية صغار اسماك ***Tilapia zilli***، وإن السبب في ذلك قد يعود إلى حالة الخمول والإجهاد التي أصابت أجهزة الجسم وبالتالي أدت إلى عدم مقدرة الأسماك على تناول طعامها (6 ،8).

## التغييرات المرضية العيانيه

لوحظ في الاسبوعين الاخيرين من التجربة ظهور علامات تقوس وانحناء الجسم في المعاملة الاولى، بينما لم يلاحظ حدوث هذه الظاهرة في المعاملتين الثانية والرابعة، لوحظت هذه الظاهرة في دراسة الجواري (1)، إذ يعزى هذا التقوس الى نقص فيتامين C التي تتعرض له الأسماك نتيجة استهلاكه في عملية إزالة سميةdetoxification المبيد وهو يؤثر في نمو عظام الأسماك وتكوينها مما يسبب قلة الكولاجين في العظام واضطراب نموها ، وهذا ما أشارت اليه دراسة مطر (2) لاسيما عند الزعنفة الظهرية في سمكة الكارب العشبي ***Ctenopharyngodon idella*** .

## التغييرات المرضية النسجية

### الغلاصم

أظهر التعرض المزمن للمعاملة الأولى حدوث اندماج صفائحي ثانوي مصحوباً بفرط تنسج للظهارة لاسيما خلايا الكلورايد وانفصالها عن الغشاء القاعدي للصفائح الاولية شكل (1)، تميزت المعاملة الثانية بارتشاح بسيط لخلايا MNCS لاسيما في ظهارة الصفائح الغلصمية الثانوية مع فرط تنسج شكل (2). تبين من الفحص النسجي للمعاملة الثالثة حدوث انفصال لظهارة الصفائح الغلصمية الثانوية مع حدوث الخزب فضلاً عن ارتشاح خلوي Mononuclear cells (MNCS) شكل (3)، بينما ظهر في شكل (4) في المعاملة الرابعة الاستطالة الشديدة للصفائح الغلصمية، وتتفق هذه النتائج مع دراسة Ayoola (4) عند تعريض اصبعيات أسماك الجري الافريقي ***Clarias garipenus*** لمبيد الكلايفوسيت، إذ أظهر انسلاخاً في الصفائح الغلصمية مع وجود فرط تنسج واحتقان الاوعية الدموية، وهذا مشابه مع ما ذكره مطر (2) و***Jiraungkoorskul et al.*** (7) عند تعريض أسماك ***Orenchromis niloticus*** لمبيد الكلايفوسيت، إذ لوحظ حصول اندماج صفائحي ثانوي مصحوباً بفرط تنسج للظهارة لاسيما لخلايا الكلورايد وانفصالها عن الغشاء القاعدي للصفائح الاولية مصحوباً بفرط تنسج بسيط للخلايا المخاطية وارتشاح الطبقة المخاطية ، كما أظهرت العلامات المرضية نفسها في دراسة .**Al-Rudainy *et al*** (3) عند تعريض أسماك الكارب العادي الى مبيد الاندوسلفان، إذ أظهر فرط تنسج للظهارة وانفصالها عن الغشاء القاعدي للصفائح الاولية مع إرتشاح الخلايا البيض. أظهرت المعاملة الثالثة انفصال لظهارة الصفائح الغلصمية الثانوية مع حدوث الخزب في الصفائح الغلصمية الثانوية فضلاً عن ارتشاح خلوي MNCS وفي مقطع اخر للمعاملة نفسها ظهر الارتشاح الخلوي ذاته مصحوباً بفرط تنسج للظهارة الغلصمية، واتفقت هذه النتائج مع دراسة Ayoola (4) لصغار سمكة الجري الافريقي ***Clarias garipenus*** عند تعرضها لمبيد الكلايفوسيت.

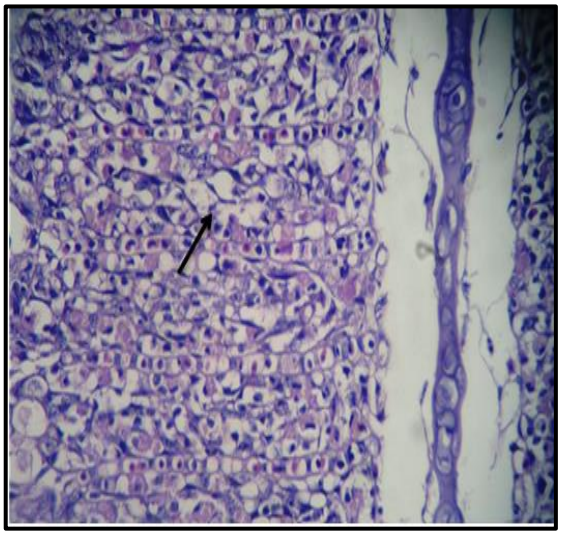
### الكبد

لوحظ من الفحص النسجي لكبد المعاملة الاولى حصول حدوث تنكس إستستقائي Hydropic egeneration للخلايا الكبدية مع حدوث نخر لبعض الخلايا الكبدية single cell necrosis مصحوبة بارتشاح بؤري للخلايا MNCS شكل (5)، أظهرت المعاملة الثانية وجود إحتقان بسيط في الجيبانيات مصحوباً بتنكس استسقائيHydropic degeneration لبعض الخلايا الكبدية فضلاً عن ارتشاح بسيط لخلايا (MNCS) Mononuclear cells حول قناة الصفراء شكل (6) ، وظهر تأثير المبيد في أسماك المعاملة الثالثة بشكل نخر

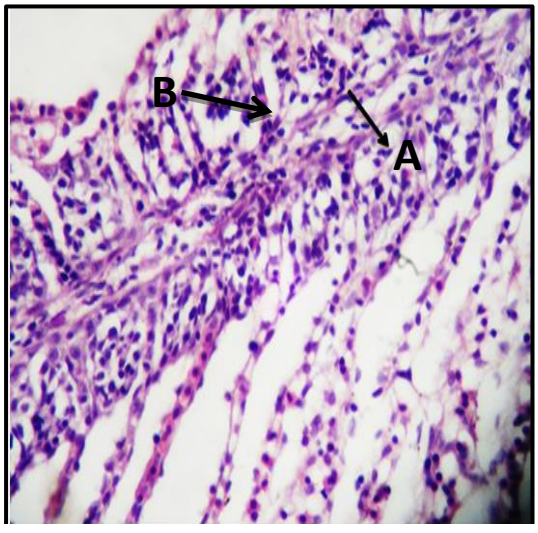
شديد للنسيج الكبدي مع وجود توسع وفرط تنسج شديد لقناة الصفراء مصحوبة بارتشاح بسيط لخلايا MNCS حول القناة فضلاً عن توسع بعض الجيبانيات (شكل 7)، كما يوضح شكل (8) عدم حدوث تغييرات نسجية واضحة للمعاملة الرابعة. يؤدي تأثير المادة السامة (glyphosate aqua) الى عرقلة أيض الدهون مما أدى الى ترسبها داخل الخلايا أو تأتي عن طريق التأثير غير المباشر للكلايفوسيت في الكبد وتأثيره في الغلاصم وعرقلة التبادل الغازي وبالتالي قلة الاوكسجين. ان حدوث احتقان الوريد المركزي الكبدي مع نخر في الخلايا الكبدية فضلاً عن حدوث تنكس دهني في خلايا الكبد مع حدوث نزف في نسيج الكبد سيؤثر في أداء الكبد وانزيماته، إذ تحتوي هذه الخلايا على تراكيب الاستخلاص والبناء الحيوي مثل أجسام كولجي، والشبكة الاندوبلازمية التي تحتوي على انزيمات التحولات الحيوية (4 ،6 ،13).

## الكلى

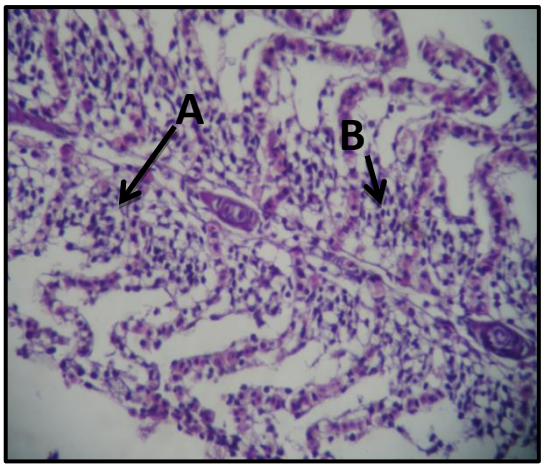
اتضح من الفحص النسجي لكلى المعاملة الاولى حدوث تحطم شديد للنسيج الكلوي متمثل بحدوث انسلاخ شديد للظهارة المبطنة للنبيبات مصحوبة بتدمير مماثل للمة الشعرية للكبيبة الكلوية Severe destruction of glomerular tuft (شكل 9)، لوحظ من الفحص النسجي لكلى المعاملة الثانية حدوث فرط تنسج بسيط للنسيج المكون للدم و تثخن جدار الوعاء الدموي نتيجة لحدوث تلف مصحوباً بارتشاح في الخلايا الالتهابية في تجويفها (شكل 10)،كما أظهرت نتائج الفحص للمعاملة الثالثة حدوث فرط تنسج الخلايا Melanoacrophage center (MMC) البلاعم الميلانية في النسيج مع احتقان الاوعية الشعرية في الكبيبة الكلوية (شكل 11). بينت المعاملة الرابعة وجود فرط تنسج بسيط للنسيج المكون للدم (شكل 12)، تظهر نتائج الدراسة الحالية توافقاً مع نتائج دراسات أخرى (5، 10، 14، 15). ان اختلاف التغييرات المرضية النسجية في المعاملات المختلفة نتيجة اختلاف تركيز المبيد ومدة التعرض، إذ أظهرت الدراسات وجود علاقة عكسية بين التركيز ومدة التعرض( 5 ، 8 ،13 ، 14).



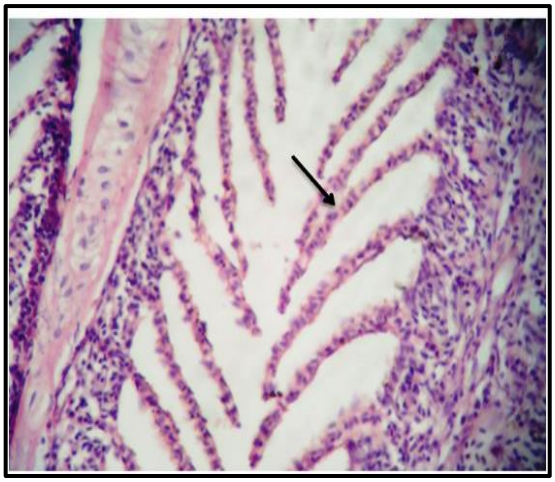
شكل 1: مقطع نسجي لغلاصم أسماك المعاملة الاولى يوضح حصول اندماج صفائحي ثانوي مصحوبا بفرط تنسج للظهارة( )لاسيما خلايا الكلورايد وانفصالها عن الغشاء القاعدي للصفائح الاولية (H&E 40X).



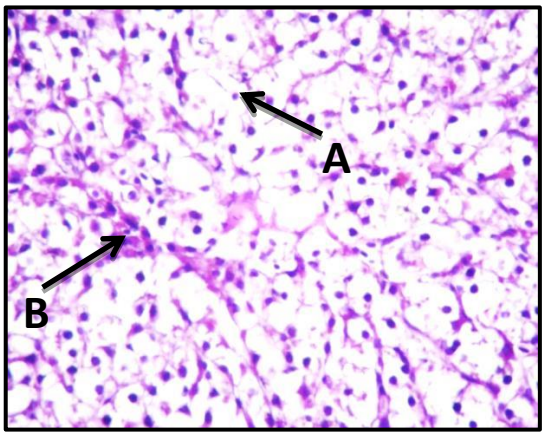

شكل 2: مقطع نسجي لغلاصم أسماك المعاملة الثانية يوضح A ارتشاح بسيط لخلايا Mononuclear cells MNCSفي ظهارة الصفائح الغلصمية الثانوية مع B فرط تنسج للظهارة (H&E 40X).



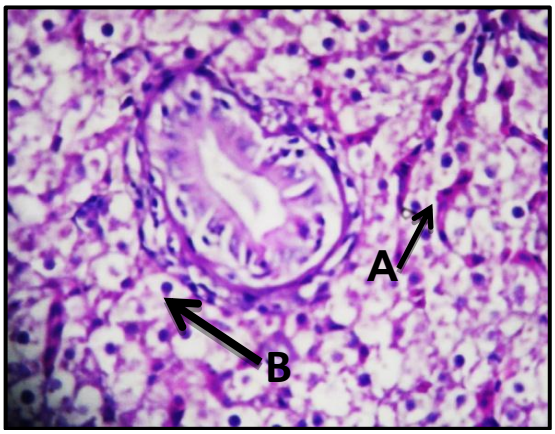

شكل 3: مقطع نسجي لغلاصم أسماك المعاملة الثالثة A يوضح حدوث انفصال لظهارة الصفائح الغلصمية الثانوية B حدوث الخزب فضلاً عن إرتشاح خلوي (H&E 40X)



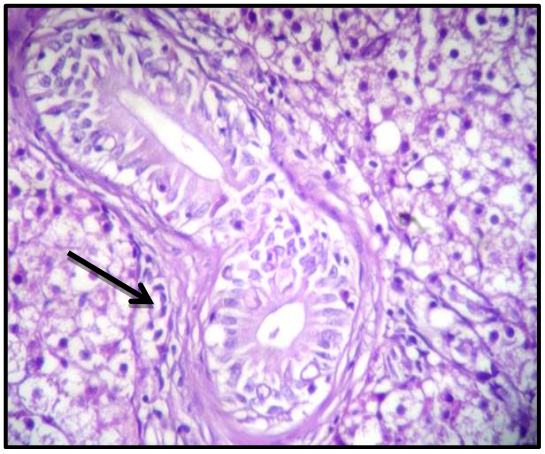
شكل 4: مقطع نسجي لغلاصم أسماك المعاملة الرابعة يوضح ( ↘ ) الاستطالة الشديدة للصفائح الغلصمية (H&E 40X).



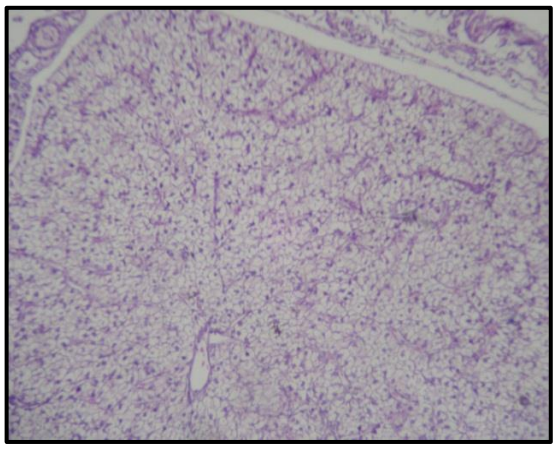

شكل 5: مقطع نسجي لكبد أسماك المعاملة الاولى A يوضح حدوث تنكس استسقائي للخلايا الكبدية B حدوث نخر لبعض الخلايا الكبدية مصحوباً بارتشاح بؤري لخلايا MNCS (H&E 40X).



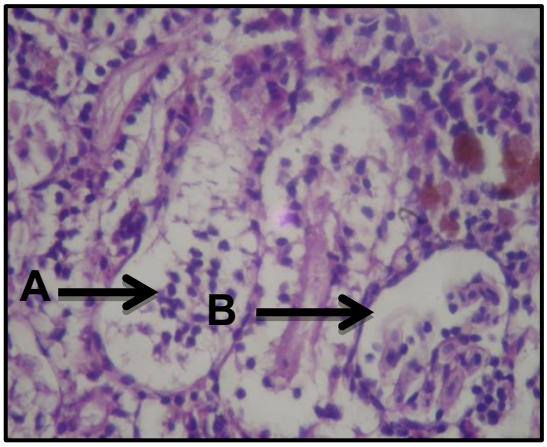

شكل 6: مقطع نسجي لكبد المعاملة الثانية A يوضح حدوث إحتقان بسيط للجيبانيات مصحوباً بتنكس استسقائي لبعض الخلايا الكبدية B ارتشاح بسيط لخلايا MNCS حول قناة الصفراء (H&E 40X).



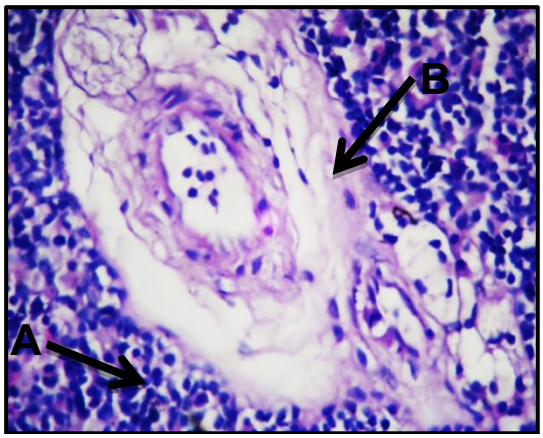
شكل 7: مقطع نسجي لكبد المعاملة الثالثة يوضح حدوث توسع مع فرط تنسج شديد لقناة الصفراء مصحوباً بارتشاح بسيط لخلايا MNCS (↘) حول القناة (H&E 40X).



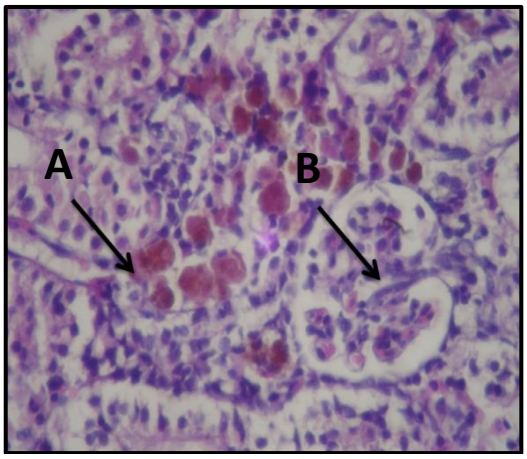
شكل 8: مقطع نسجي لكبد المعاملة الرابعة يوضح عدم حدوث تغييرات نسجية واضحة (H&E 10X).



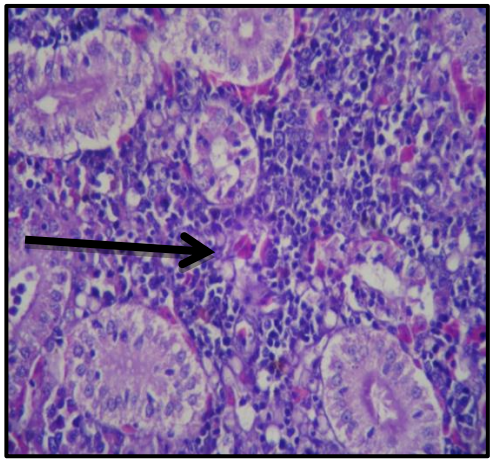

شكل 9: مقطع نسجي لكلى المعاملة الاولى A حدوث تحطم شديد للنسيج الكلوي متمثل بانسلاخ شديد للظهارة المبطنة للنبيبات B تلف للمة الشعرية للكبيبة الكلوية (H&E 40X).




شكل 10: مقطع نسجي لكلى أسماك المعاملة الثانية A يبين حدوث فرط تنسج النسيج المكون للدم B حدوث تليف بسيط في جدار الوعاء الدموي مع مشاهدة الخلايا الالتهابية في تجويفه (H&E 40X).




شكل 11: مقطع نسجي لكلى أسماك المعاملة الثالثة يوضح حدوث A فرط تنسج الخلايا MMC البلاعم الميلانيه في النسيج B مع احتقان بسيط للأوعية الشعرية في الكبيبة الكلوية (H&E 40X).



شكل 12: مقطع نسجي لكلى أسماك المعاملة الرابعة يوضح ظهور فرط تنسج بسيط ( ⟶ ) لنسيج مكون الدم ( H&E 40X).

خلصت الدراسة في ضوء النتائج المستحصلة، إن استمرار تعرض الاسماك للمبيد يؤدي الى فقدان شهيتها ووزنها، ولدى زوال وجود المبيد في وسطها المائي تسترجع الاسماك وضعها الطبيعي في الحركة والتنفس، ومع ذلك تترك اثراً سلبياً في الانسجة الخلوية للأسماك .

## المصادر

1- الجواري، سهى عبد الخالق عبد الستار (2005). دراسة سمية مبيد الادغال الكلايفوسيت في بعض النواحي الحياتية والتكاثرية لإناث اسماك البعوض ،كلية التربية ابن ،الهيثم جامعة بغداد،ص: 94.

2- مطر، امل جبار (2000). التأثيرات المرضية والوراثية الخلوية لمـبيد الكلايفوسيت في سمكة الكارب العشبي *Ctenopharyngodon idella*. رسالـة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، ص:85.

3- **Al-Rudainy, A.J.; B.F. Enaam and M.H. Kadhim (2013). Pathological effects of Endosulfan pesticide toxicity on common carp *Cyprinus carpio*. The Iraqi J. Vet. Med. Coll., Univ. of Baghdad, 37(1):134-143.**

4- **Ayoola, S.O. (2008). Histopathological effects of glyphosate on juvenile frican cat fish (*Clarias garipenus*). Am. Eur. J. Agric. & nviron. Sci., 4(3):362-367.**

5- **Haloi, K.; M. Kalita; R. Nath and A. Borkotoki (2014). A study on histopathological impact of endosulfan on liver of *Channa punctatus*, Bloch. Int. J. Res., in Zool., 4(2):19-23.**

6- **Hashimoto, T.; T. Perlot; A. Rehman; J. Trichereau; H.Ishiguro; M. Paolino; V. Sigl; T. Hanada; R. Hanada and S. Lipinski (2012). ACE2 links amino acid Malnutrition to microbialecology and intestinal inflammation. Nature, 487: 477- 483.**

7- **Jiraungkoorskul, W.; E.S. Upatham; M. Kruatrachue; S. Sahaphong; S. Vichasri -Grams, and P. Pokethitiyook (2002). Histopathological effects of Roundup, aglyphosate herbicide,on Nile tilapia *(Oreochromis niloticus)*. Sci. Asia, 28:121-127.**

8- **Kamal, R.A. (2017). Comparative study of the herbicides toxicity 2,4-D and Round up Ultra in mosquito fish *Gambusia affinis*. M.Sc. Thesis, Coll. of Science for women; Univ. of Baghdad, p:92.**

9- **Kolo, R.J.; T.A. Yisa and S.A. Esogban (2009). Acute toxicity of Round up (Glyphosate) on Juvenile *Tilapia zilli*. J.Appl. Agric., 18(1):11.**

10- **Larsen, K.; R. Najle; A. Lifschitz and G. Virkel (2012). Effects of sub-lethal exposure of rats to the herbicide glyphosate in drinking water: glutathione transferase enzyme activities, levels of reduced glutathione and lipid peroxidation in liver, kidneys and small intestine. Environ. Toxicol. Pharmacol.,3: 811–818.**

11- **Luna, L.G. (1968).Manual of histological staining methods of armed forces institute of pathology . 3rd ed. McGroaw. HilBook. New York , p:58.**

12- **Lushchak, O.V.; O.I. Kubrak J.M. Storey; K. B. Storey and V.I. Lushchak (2009). Low toxicherbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. Chemosphere, 76(7):932-937.**

13- **Micah, A.D. (2015). Toxicity of the herbicide glyphosate round-up on fingerlings of *Hetero clarias* (hybrid). M.Sc. Thesis , Faculty of Sci. Univ. of Ahmadu Bello, Nigeris, 152P.**

14- **Sadeghi ,A. and A. Hedayati (2014). Investigation of Lc50 Noce and Loce of glyphosate, Deltamethrin and Pretilachlor in Guppies *Poecillia reticlata* Iran. J. of Toxic., 8(26): 1124-1129.**

15- **Sunanda, M.; J. Rao ; P. Neelima and G. Simhachalam (2016). Toxicity and effects of chlor pyrifos in a non-target organism (Fish), A review. J. of Atoms and Molecules, 6(3):966.**

# STUDY OF THE HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN MESOPOTAMICHTHYS SHARPEYI EXPOSED TO THE PESTICIDE GLYPHOSATE AQUA

**M. A. bdul Azeez*** **A. J. Al-Rudainy****

## ABSTRACT

**The present study was conducted to determine the effect of herbicide glyphosate aqua on *Mesopotamichthys sharpeyi* .The experiment was comprised of four treatments as well as control treatment(without addition of herbicide), fish were randomly distributed as 10 fish for each aquarium. The first treatment with a concentration of 0.415 mg/l for a duration of six weeks exposure, the second treatment with a concentration 0.415 mg/l added only at the beginning of experiment, while the third treatment was treated with 0.207mg/l for a duration of exposure, the forth treatment was exposed to 0.207mg/l only at the beginning of experiment. At the beginning of the experiment, the four treatments showed that the emergence of neurological signs of involuntary and abnormal movements. A negative relationship were noticed between the concentration and the number of breathing, the first and third treatments which the addition of the pesticide continued for the duration of the experiment showed lack of food appetite and decreasing in fish weight during experimental period, while the second and fourth treatments were gradually improved in responding to external stimuli and restoring their normal breathing and movement. The results of histopathological studies showed that the first treatment characterized with significant histopathological changes in all test tissues (gills, liver and kidney), followed by third treatment which showed more than second and fourth treatments, no histopathological lesion were observed in examined organs of the fourth treatment.**

***Directorate of Wasit Agric. , Ministry of Agric. ,Wasit, Iraq**

****Coll. of Vet. Med., Univ. of Baghdad, Baghdad, Iraq.**