

## المقدمــــة

### INTRODUCTION

يعد مجال استزراع الأسماك واحد من أهم المجالات التي لاقت اهتماماً كبيراً وتطوراً سريعاً " في الآونة الأخيرة وذلك لان الاسماك مصدر بروتيني مهم للاستهلاك البشري (Troell et al., 2014) اذ يستهلك العالم 77% من الانتاج العالمي السمكي بالصورة المباشرة والباقي 23% يستخدمه الانسان بالصورة غير المباشرة (عبدالحميد، 2019).

تعد اسماك الكارب من أهم أنواع الأسماك التي تم استزراعها في العراق منذ سنة 1955 وذلك لما تتمتع به من مقاومتها للظروف البيئية وللأمراض بالإضافة لسرعة نموها وتتميز بمعامل التحويل الغذائي العالي (Kitto et al., 2013)، وتتميز الاسماك بتحملها للظروف البيئية وهذا ما يعرضها للأجهاد الذي يعد من اهم العوامل المؤهبة لحدوث الامراض وبالتالي حدوث خسائر اقتصادية (Mohan & Bhatto, 2002)، هنالك عوامل أساسية ومؤهبة لحدوث المرض وهي مدى حساسية الأسماك للمسببات المرضية ، مسببات الأمراض وضراوته، البيئة المناسبة لنمو وتكاثر هذه المسببات من درجة الحرارة والأكسجين الهيدروجيني ونسبة الأمونيا والمواد العضوية (عبد اللطيف و جماعته ، 2008 ). تصنف امراض الاسماك بالاعتماد على المسببات المرضية الى الأمراض البكتيرية والتي تحدثها البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة الكرام ومن اهم الأمراض البكتيرية التي تصيب اسماك الكارب مرض الحمى النزفية (Hemorrhagic septicemia) ومرض تعفن الزعانف Fin Rot وتصاب الاسماك ايضاً بالأمراض الفطرية والتي تسبب مشاكل اقتصادية كبيرة قد تصل نسبة الهلاكات لبعض الحالات الى 100% ومن اهم الأمراض الفطرية التي تصيب الأسماك عفن الماء Saprolegnia و عفن الغلاصم Branchiomycosis (Chukanhom & Hatai, 2004).

ان للاصابات الطفيلية اهمية اقتصادية كبيرة في تربية الأسماك لأنها تسبب ضعف الأسماك وقلة اوزانها فضلاً عن حدوث الهلاكات العالية خاصة في الأسماك الصغيرة كذلك تلعب دوراً هاماً في نقل بعض الأمراض مثل الأمراض الفيروسية والأمراض البكتيرية، تصاب الاسماك بالطفيليات الخارجية والداخلية وقسم منها قد تنتقل الى الانسان وتسبب حالات مرضية كالديدان الشريطية (عبد اللطيف وجماعته، 2008) .

وتعتبر الأمراض الفيروسية من اكثر الأمراض تأثيراً على صحة الأسماك وتسبب خسائر اقتصادية كبيرة في الثروة السمكية، ومن اهم الأمراض الفيروسية التي تصيب اسماك الكارب الحمى النزفية الفايروسية (Viral hemorrhagic Septicemia.VHS) و (Koi Herpesvirus disease, KHV) (Gilad et

(2003, al. اما بالنسبة للنظام الغذائي فله أهمية كبيرة في تربية واستزراع الأسماك لما لها من تأثير على الصحة العامة للأسماك، ونموها بالإضافة الى تأثيره على الجهاز المناعي ومقاومته ا للأمراض وعوامل الاجهاد (Trachet, 2010).

أجريت دراسات عديدة في العراق على أمراض الأسماك وخاصة الأمراض الطفيلية وبسبب قلة البحوث المقارنة للآفات المرضية العيانية النسجية وبسبب حدوث حالات النفوق الجماعي لأسماك الكارب الشائع في منطقة الفرات الاوسط هدفت هذه الدراسة الى:-

- دراسة التغيرات المرضية العيانية والنسجية لنسيج الغلاصم وبقية الاعضاء في اسماك الكارب الشائع في منطقة الفرات الاوسط والمنطقة الشمالية .
- تحديد اسباب ظاهرة النفوق الجماعي لأسماك الكارب في منطقة الفرات الاوسط .
- تحديد نسبة اصابة الاسماك بالامراض وحسب المنطقة الجغرافية ونوع الاستزراع .
- عزل وتوصيف المسببات المرضية في اسماك الكارب الشائع حسب الحالات المرضية المسجلة في هذه الدراسة.

## استعراض المراجع

### Literature of Review

#### 2-1 اسماك الكارب الشائع

تعد البيئة المائية وخاصة الاسماك مصدراً غذائياً مهماً للإنسان والتي لاقت تطوراً وازدهاراً كبيراً في الآونة الأخيرة (عيسى وعبد الرزاق، 2005) .

ان اسماك الكارب الشائع common carp (*Cyprinus capris L.*) هي من اهم الأسماك العظمية التي تقع ضمن عائلة الشبوطيات (Cyprinidae family)، (Vagarga et al ., 2018) وهي من اسماك المياه العذبة الدافئة Eutrophic fresh water fish. وتعيش في الأنهار والبحيرات وفي مناطق مختلفة (Hedayali, 2018)، بالإضافة الى إمكانية استزراع اسماك الكارب في الأنظمة الإنتاجية مثل الأقفاص والأحواض الأرضية والبحيرات الصناعية ، تصل نسبة انتاج الاسماك بصورة عامة من المزارع السمكية 44% وتعد اسماك الكارب اكثر الأنواع استزراعاً في المسطحات المائية اذ تصل نسبة إنتاجها الى 98% في قارة اسيا (FAO, 2016; FAO, 2009) وهي من أكلات الكائنات الحيوانية Omnivorous وتتغذى على الكائنات القاعية Bentic – dwelling organisms مثل الديدان والفقرات والحشرات وأيضاً ببيض الأسماك (Kottelat & Frehot, 2007) تمتاز اسماك الكارب بسرعة النمو وسهولة تربيتها ا في المناطق المغلقة وقابليتها على البقاء والتعايش في درجات حرارة مختلفة تتراوح من 3-35 م° بالإضافة الى تحملها لنقص الاوكسجين ومقاومتها العالية للأمراض وخصوبتها العالية وسهولة إعادة إنتاجها (Gül et al 2010).

#### 2-2 العوامل المؤهبة لأمراض الأسماك Predisposing factor for: fish disease

يعرف المرض على انه تغيير في السلوك الطبيعي للأسماك نتيجة المؤثرات الخارجية والتغير في الظروف البيئية التي تؤدي الى الإجهاد Stress والذي هو عبارة عن خلل في التوازن الفسيولوجي في الأسماك، ونتيجة التغيرات في الظروف البيئية كوجود الفضلات النتروجينية والامونيا والنترات ، بالإضافة

الى العوامل البيولوجية كالطفيليات الداخلية والخارجية والكثافة العددية Overcrowding، أيضا العوامل الفيزيائية للبيئة المائية كدرجة الحرارة وتركيز الأوكسجين وثنائي أوكسيد الكربون و شدة الاضاءة ....والخ تؤدي الى حدوث الامراض في الاسماك وبالتالي قلة الإنتاج في كل من اسماك البحيرات والأنهار وأيضا الأسماك المستزرعة في المزارع السمكية.

## 2-3 امراض اسماك الكارب الشائع

تقسم امراض الأسماك الى الامراض المعدية وتشمل الامراض البكتيرية، الفطرية، الفيروسية والطفيلية ، والامراض غير المعدية وتشمل امراض سوء الادارة والتغذية فضلا عن وجود الملوثات الكيميائية او العضوية في البيئة المائية (عبد اللطيف وجماعته، 2008 ).

### 2-3-1 الامراض المعدية في اسماك الكارب

#### 2-3-1-1 الامراض البكتيرية Bacterial Disaeses

الامراض البكتيرية لها تاثير كبير على الاسماك في الانهار او المستزرعة على حدا سواء ، تتواجد بعض من أنواع البكتريا بصورة طبيعية في الأسماك او الماء ، وهذه الأنواع يمكن ان تصبح ممرضة اذا ما تعرضت الأسماك الى اجهاد معين ،أي في هذه الحالة تعتبر الإصابات البكتيرية ثانويا لإصابات أولية ، ان اغلب البكتيريا الممرضة في الاسماك تكون سالبة لصبغة الكرام مثل ( *Aeromonas hydrophila* )، وتعد اسماك المياه الدافئة اكثر عرضة للإصابة بالبكتيريا من اسماك المياه الباردة ، بصورة عامة تمتاز الأسماك المصابة بالأمراض البكتيرية بوجود بقع نزفية على الجلد والزعانف مع وجود القرحة وتآكل الزعانف ، انتفاخ البطن وجحوظ العيون (Exophthalmia) بالإضافة الى وجود احتقان في الأعضاء الداخلية (عبد اللطيف وجماعته، 2008) .

#### 2-3-1-2 الامراض الفطرية Fungul Diseases

تصاب اسماك المياه العذبة بالامراض الفطرية والتي تؤدي الى نسبة هلاكات عالية وقلة في النمو والإنتاج وتلعب الظروف البيئية دوراً مهماً في ظهور الامراض الفطرية مثل التغير في درجة حرارة الماء

وتركيز الاوكسجين المذاب ووجود المواد النتروجينية والملوثات في البيئة المائية بالإضافة الى الامراض البكتيرية (Ali, 2005). من اهم الامراض الفطرية التي تصيب اسماك الكارب مرض تعفن الغلاصم والذي يسببه *Branchomyces spp.* ويصيب هذا الفطر الأوعية الدموية للخيوط الغلصمية و لنسيج الغلصمي ، وتعد درجة الحرارة العالية مع وجود المواد العضوية من اهم عوامل انتشار المرض ويحدث بالشكل الحاد ، ويؤدي الى نسبة هلاكات عالية (Judy, 2008; Saint& Erne, 2008). من اهم الآفات العيانية في المرض ظهور الغلاصم بالشكل الموزائيكي Marbled appearance (Ibrahim, 2011) .

### 3-1-3-2 الأمراض الطفيلية Parasitic Diseases

تصاب الاسماك بنوعين من الطفيليات الخارجية والداخلية، ان إصابة الأسماك بالطفيليات الخارجية تؤدي الى خسائر اقتصادية متمثلة بنفوق الأسماك وعدم صلاحية استهلاكه ا بسبب تحطم أنسجتها (Piasechi et al., 2004)، تعد الدودة الكلابية Anchor worm (*Iernaia cyprinacea*) من اهم القشريات مجدافية الأقدام التي تصيب اسماك المياه الدا فئة العذبة وتسبب الإصابة بهذه الطفيليات نزف وتكون القرح والانسلاخ Erosion لطبقات الجلد وفقدان الحراشف، أما في الإصابات الشديدة فان الطفيلي يخترق طبقات الجلد ليصل الى العضلات وقد يصيب الأعضاء الداخلية (El-khatib & El-Hady, 2012). تصاب الأسماك بأنواع مختلفة من الطفيليات التي تصيب الأعضاء الداخلية وتقسّم الى الديدان الخيطية Nematode، والديدان المسطحة كالديدان الشريطية او المفطحة (Cestodes) tapworm من الطفيليات التي تصيب الأسماك ويمكن ان تنتقل الى الإنسان عند تناوله الأسماك المصابة والمطبوخة بصورة غير جيدة (Yera et al ., 2013).

وتعد الظروف البيئية للمزارع السمكية وخاصة تراكم المواد العضوية وفضلات الأسماك من اهم العوامل المساعدة لنمو وتطور يرقات الديدان الشريطية (Muchlisin et al., 2015).

### 4-1-3-2 الأمراض الفيروسية Viral Diseases

تؤدي إصابة الأسماك بالمسببات الفيروسية الى خسائر اقتصادية كبيرة ومن اهم الامراض التي تصيب اسماك الكارب مرض الحمى النزفية الربيعية Spring viremia of carp (SVC) والذي يسببه فايروس

*Rhabdovirus carpio* ويظهر على الأسماك المصابة فقدان التوازن وتوسع البطن مع التهاب الخلب وقد يحدث مع هذا المرض إصابات بكتيرية ثانوية كالبكتيريا المسببة لمرض الاستسقاء النزفي (المعدي)، وأيضاً من الأمراض الفيروسية المهمة الانتان الدموي النزفي الفايروسي Viral hemorrhagic septicemia VHS (عبد اللطيف وجماعته، 2008).

## 2-3-2 الأمراض غير المعدية Non –Infectious Diseases

### 1-2-3-2 أمراض سوء الإدارة Bad Management

العوامل المؤثرة على جودة انتاج الأسماك هو الاس الهيدروجيني pH للماء (Lopes et al ., 2001) اذ أشار الباحث (Heydernejad, 2012) الى ان pH البيئة المائية الملائمة لمعيشة الأسماك تتراوح 7.5-8، وان قدرة الأسماك على البقاء في البيئة المائية ذات الاس الهيدروجيني الحامضي Acidity water يعود الى قدرتها على الحفاظ على التوازن الأيوني بينما تكون لها القدرة على العيش في البيئة المائية ذات الاس الهيدروجيني القاعدي من خلال مقاومتها للأيونات وطرح الفضلات النتروجينية، (Bolner & Baldisserto, 2007) ايضاً يؤدي نقص الاوكسجين الذائب في الماء الى تأثيرات سلبية على تغذية الأسماك والتأثير على نسبة التحويل الغذائي و صحة الأسماك ونموها (Beveridge, 2004).

### 2-2-3-2 Malnutrition سوء التغذية

الامراض الناتجة من سوء التغذية واحدة من اهم المشاكل التي تواجهها عملية استزراع الاسماك ويظهر على الاسماك علامات سريرية مشابهة لبعض الامراض كانخفاض معدل النمو، (Shefat, 2018) فقدان الشهية، قلة مقاومتها للامراض وزيادة حساسيتها للمسببات المرضية والتي قد تؤدي الى النفوق، ان الامراض الناتجة من سوء التغذية قد تكون نتيجة زيادة او نقصان في فعاليتها الايضية مثل الدهون، البروتينات، الكربوهيدرات، الفيتامينات، الاملاح والمعادن .

### 2-3-3 السموم والملوثات البيئية

تدخل السموم الغذائية الى اجسام الأسماك عن طريق تلوث العلائق الغذائية والمخزونة بظروف تخزين رديئة كالرطوبة والحرارة، تعد السموم الفطرية Mycotoxin من اهم وخطر السموم التي تفرز من قِبل أنواع الـ *Aspergillus spp.* وتؤدي الى حدوث هلاكات وتغيرات مرضية عند التراكيز المنخفضة (Hoole et al ., 2001) بالإضافة الى تراكم المعادن الثقيلة في أنسجة الأسماك، وتدخل هذه الملوثات البيئة المائية بصورة مباشرة او غير المباشرة والتي قد تتفاعل مع المواد الموجودة في البيئة المائية وتؤدي الى تكوين مركبات سامة او قد تؤدي الى ازدياد سمية بعض المواد الموجودة في البيئة المائية (Aadt & Erdmann, 2005) تعد الأسماك من اهم السلاسل الغذائية للإنسان ، لذا فان تراكم المعادن الثقيلة في عضلات الأسماك قد تسبب حدوث حالات مرضية في الإنسان (Coasta& Hart's, 2009).

## المواد وطرائق العمل

### Mterials &Methods

#### 1-3 الاسماك

جمعت اسماك الكارب المصابة خلال الفترة الزمنية 2018/11/10 - 2019/3/1 من خلال الحالات الواردة الى مختبر الدواجن والاسماك /المستشفى التعليمي/كلية الطب البيطري/جامعة الموصل، او من خلال الزيارات الميدانية الى مزارع الاسماك المصابة وفي مناطق جغرافية مختلفة وبعد أخذ تأريخ الحالة من صاحب المزرعة والتي تعاني من مشاكل صحية تم تسجيل الحالات من خلال الجدول رقم (1) .

الجدول (1) نوع الاستزراع وتأريخ الحالة المرضية وحسب الموقع الجغرافي.

ت	التاريخ	نوع الاستزراع	الموقع	الحالة المرضية

#### 2-3 الاجهزة والمواد المستخدمة

#### 1-2-3 الاجهزة المستخدمة

1. مجهضوئي ثنائي العدسة Olympus.
2. حمام مائي water path انتاج شركة Memert، المانيا.
3. جهاز التقطيع النسيجي Microtome انتاج شركة ASCO، الهند.
4. حاضنة
5. جهاز طيف الامتصاص الذري/اسبانيا/مركز الدنا العدلي/ جامعة النهرين/ بغداد.
6. كاميرا رقمية (Scope Image 9.0-China)/فرع الانسجة والتشريح/كلية الطب البيطري/جامعة الموصل.



### 3-2-2 المواد المستخدمة

1. الفورمالين 40%
2. كحول الايثيلي
3. الزايلول
4. صبغة الهيماتوكسلين
5. صبغة الايوسين
6. صبغات خاصة (PAS, Gomori's).

### 3-3 الفحص العياني للأسماك.

فحص المظهر الخارجي للأسماك بالعين المجردة وسجلت الآفات المرضية في الاسماك المصابة.

### 3-4 تخدير الاسماك واجراء الصفة التشريحية.

تم تخدير الاسماك بطريقة إتلاف النخاع الشوكي ( Lucky, 1977 ) لغرض إجراء الصفة التشريحية وذلك بعمل شق طولي من فتحة المخرج باتجاه غطاء الغلاصم ثم عمل شق مستعرض باتجاه الخط الجانبي وامتد الشق طويلاً باتجاه غطاء الغلاصم أيضاً وموازياً للشق الأول. سُجلت الآفات المرضية للأعضاء الداخلية، تم ازالة غطاء الغلاصم لغرض الفحص السريري للغلاصم.

### 3-5 جمع العينات

جُمعت اعضاء الاسماك المصابة والتي ظهرت عليها آفات مرضية (الكبد والكلية والامعاء والغلاصم والعضلات) وقسمت الى قسمين:-

**القسم الاول** منها حفظت بالفورمالين الدارئ 10% لغرض الفحص المجهرى النسجي.

**القسم الثاني** منها فحفظت في الوسط المغذي مرق الدماغ والقلب Brain Heart Infusion Broth (BHI) لغرض اجراء الزرع البكتيريوالفطري.

اما بالنسبة للعضلات وضع جزء منها في ورق الالمنيوم وحفظت بالتجميد لغرض قياس التركيز التراكمي الحيوي للمعادن Metals Accumulative Concentration.

### 3-6 الفحص المجهرى النسجى

وضعت العينات بتراكيز تصاعدية من الكحول الايثيلي ثم وضعت في الزايلول وبعدها نقلت العينات الى قوالب الشمع لغرض تحضير المقاطع النسجية بسمك 5 مايكرون وباستخدام جهاز التقطيع النسجى Microtom ثم صبغت بصبغة الهيماتوكسلين-ايوسين، قسم من المقاطع النسجية للغلاصم صبغت بصبغة Gomoroi's Methiamine stain وصبغة PAS لغرض تشخيص الفطريات (Luna, 1968).

### 3-7 الفحص البكتيري والفطري

اجريت عملية الزرع البكتيري والفطري للغلاصم المصابة في مختبر التشخيصات/ فرع الطب الباطني الوقائي / المستشفى التعليمي/ كلية الطب البيطري / جامعة الموصل . وضعت العينات المحفوظة في المرق المغذي في الحاضنة بدرجة حرارة 24 م° ولمدة 1-2 يوم وبعد ظهور النمو في الوسط السائل تم اخذ نقلة من الوسط بواسطة الناقل الحلقي Sterilized loop الى اطباق Sabouraud Dextrose Agar (S.D.A) وضعت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 24 م° ولمدة 7 ايام ومتابعتها لحين ظهور المستعمرات الفطرية فيها. ولغرض اجراء الفحص المجهرى للعزلات تم اخذ جزء صغير من المستعمرة الفطرية باستعمال طريقة الشريط اللاصق (Qunin et al., 2011).

تم تشخيص العزلات البكتيرية بعد تنميتها على اكار الماكونكي واكار الدم باستعمال جهاز الفايترك Vitek-2 التابع لمختبر الاحياء المجهرية /كلية الطب/ اربيل بعد التأكد منه بواسطة الاختبارات الكيموحيوية الاولية البسيطة.

### 3-8 قياس التراكم الحيوي للمعادن في الانسجة.

#### 3-8-1 هضم الانسجة

استخدم جهاز الجانسة الكهربائية في سحن ومجانسة اوزان معلومة من العضلات ولمدة نصف دقيقة عند سرعة (400) دورة /دقيقة وضعت انبوبة جهاز الجانسة في الثلج اثناء عملية المجانسة، بعدها حفظت العينات في انابيب زجاجية جافة ومعقمة ومغمورة بالثلج المجروش إلى حين استخدامها في القياسات الخاصة (البكوع، 2002)، استخدم في عملية هضم العضلات حامض النتريك المركز 65% (Lamhpere et al., 1984) اذ اضيف 1مل من حامض النتريك لكل 0.1 غم من وزن العضلات في انابيب اختبار زجاجية وضعت في حمام مائي بدرجة حرارة 70 م° لتسريع عملية الهضم ولمدة 24 ساعة، وبعدها تركت الانابيب لمدة 72 ساعة لاستكمال الهضم ثم اضيف الماء المقطر الى كل انبوبة لاكمال احجام المحاليل

لتعويض الفقدان الحاصل بعملية التبخير. فحصت بعدها العينات بجهاز طيف الامتصاص الذري Atomic absorption spectrometer / مركز الدنا العدلي/ جامعة النهرين/ بغداد لقياس تراكيز المعادن في العضلات والتي كانت تقابل المجموعة القياسية لكل عنصر ( الحديد والنحاس والخرصين والرصاص والزرنيخ) الملاحق (1-5) .

## النتائج

## Results

### 4-1 الأمراض ونسبة الإصابة.

سُجِلت من خلال هذه الدراسة عشر حالات مرضية مختلفة في أسماك الكارب الشائع مستزرعة بمزارع سمكية مختلفة ( أحواض ترابية، أحواض كونكريتية، الأقفاص العائمة) تم تصنيفها الى أ لأمراض المعدية وغير المعدية وذلك بالاعتماد على تأريخ الحالة، الأعراض السريرية وآفات المرضية التي ظهرت على الأسماك بالإضافة للعزل البكتيري والفطري. شملت الإصابات المرضية المعدية تعفن الغلاصم، وتعفن الماء في أسماك الأقفاص العائمة في قضاء الصقلاوية والمسيب في منطقة الفرات الأوسط وتكريت في المنطقة الشمالية والتي سجل فيها حالتين للالتهاب الكلية الوتدي في الأسماك المستزرعة بالأحواض الترابية، لوحظ من خلال هذه الدراسة ان الزيادة في الكثافة العددية للأسماك لها دور في حدوث الأمراض غير المعدية اذ سجلت ثلاث حالات لظاهرة الاختناق وتعرض الأسماك للحامضية او القاعدية وسوء التغذية في الأحواض الكونكريتية في اربيل وفي الأسماك المستزرعة في الأحواض الترابية في تل عفر وحمام العليل في المنطقة الشمالية، في حين سجلت ثلاث حالات لسوء التغذية وخلل في انتظام العليقة في الأسماك المستزرعة في الأحواض الترابية في كل من حمام العليل وتل عفر والأسماك المستزرعة في الأحواض الكونكريتية في اربيل والتي سجلت فيها ايضا حالة لالتواء العمود الفقري Scoliosis.

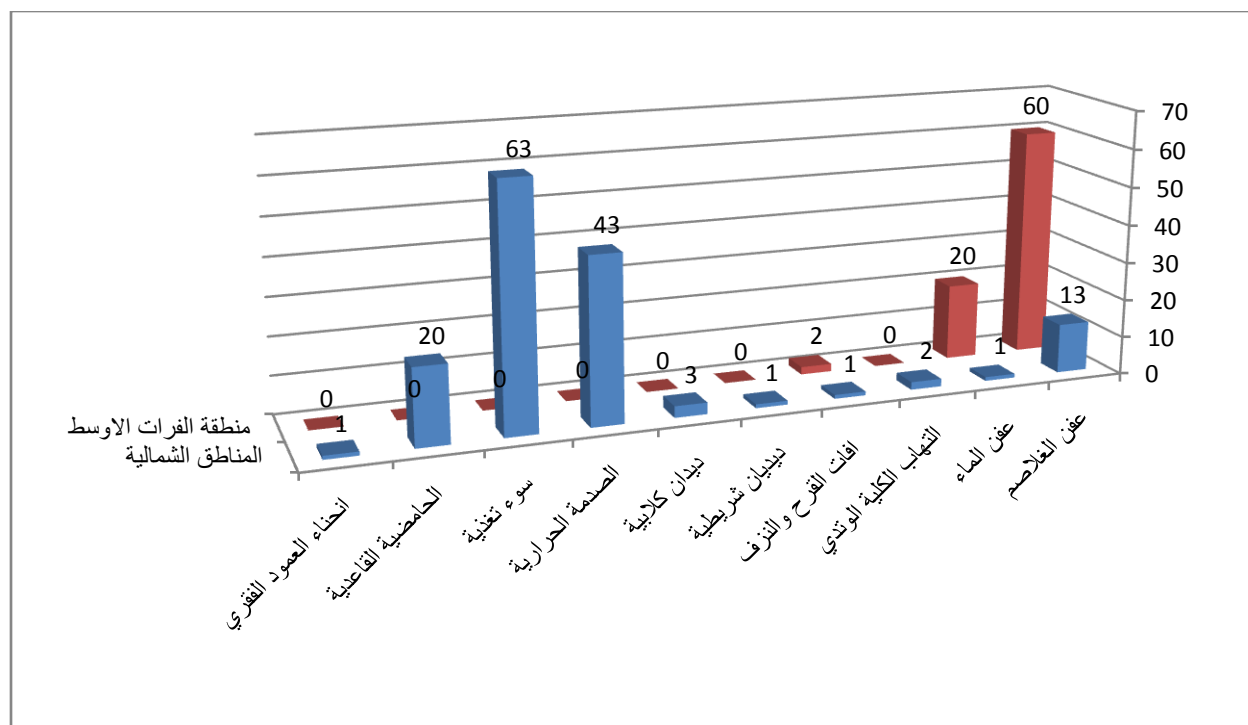
تتعرض الأسماك بعد النقل ولمسافات بعيدة الى ما يسمى بالصدمة الحرارية Heat Shock اذ تبء ظاهرة نفوق الأسماك بعد ثلاثة ايام من النقل وبدون ان تظهر عليها اي علامة مرضية هذا النوع من المرض غير المعدي تم تسجيله في مزرعتين سمكيتين في المنطقة الشمالية شملت أسماك الأقفاص العائمة في منطقة حاوي الكنيسة والأسماك المستزرعة في الأحواض الترابية في منطقة قرقوش.

وسجلت حالتين لإصابة الأسماك بالديدان الشريطية والديدان الكلابية في الأسماك المستزرعة بالأحواض الترابية في حمام العليل بالإضافة الى ملاحظة إصابتها بالقرح والنزف والتي سجلت هذه الإصابة أيضا في قضاء الصقلاوية، وهذا ما موضح في الجدول رقم (2) والشكل (1).

الجدول (2) تصنيف امراض الكارب حسب نوع الاستزراع والمنطقة الجغرافية.

الامراض غير المعدية				الامراض المعدية									
المنطقة	نوع الاستزراع	العدد الكلي	العدد المفحوص	عفن الغلاصم	عفن الماء	التهاب الكلية الوتدي	التقرح و النزف	ديدان شريطية	ديدان كلابية	الصدمة الحرارية	سوء التغذية	الحامضية والقاعدية	انحناء العمود الفقري
حمام العليل	احواض ترابية	2000	16	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
قرقوش	احواض ترابية	2500	21	0	1	0	0	0	0	20	0	0	0
تل عفر	احواض ترابية	2000	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
حاوي الكنيسة	اقفاص عائمة	3700	25	0	0	0	0	0	2	23	0	0	0
اربيل	احواض كونكريتية	7000	21	0	0	0	0	0	0	0	20 (*)	20 (*)	1
تكريت	احواض ترابية	1500	15	13	0	2	0	0	0	0	0	0	0
الصقلاوية	اقفاص عائمة(أ)	60000	22	20	0	0	2	0	0	0	0	0	0
الصقلاوية	اقفاص عائمة(ب)	40000	20	20 (*)	20 (*)	0	0	0	0	0	0	0	0
المسيب	اقفاص عائمة	24000	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

الرمز (\*) يعنى تنوع الحالات المرضية لنفس العدد من الاسماك



الشكل (1) يوضح توزيع الامراض وعدد الحالات في منطقة الفرات الاوسط والمنطقة الشمالية.

وكانت نسبة اصابة اسماك الكارب الشائع بالامراض المعدية وغير المعدية مختلفة باختلاف المناطق الجغرافية وباختلاف نوع الاستزراع، اذ سجل اعلى نسبة اصابة في الاسماك المصابة بمرض تعفن الغلاصم وفي كلا المنطقتين الشمالية والفرات الاوسط وكانت (70.87%)، وقد سجلت حالات لمرض عفن الماء في المنطقة الشمالية اما في منطقة الفرات الاوسط فقد سجلت حالة الاصابة بعفن الماء في احد الاقفاص العائمة في الصقلاوية لذا كانت نسبة الاصابة (20.39%)، وكانت اعلى نسبة الاصابة في المنطقة الشمالية هي تعرض الاسماك للصدمة الحرارية وسوء التغذية (33.8%) و(49.6% ) على التوالي، وقد كانت نسبة تعرض الاسماك للحامضية والقاعدية في المنطقة الشمالية (15.75%)، وكانت النسب المتبقية (2.91%) نتيجة اصابة الاسماك بالنيدان الكلابية ووجود افات القرع والنزف، اما النسبة (1.94%) فكانت لحالة اصابة الاسماك بالتهاب الكلية الوبائي Corynebacterial Kidney disease في المنطقة الشمالية والتي سجل فيها ايضا نسبة اصابة الاسماك بالنيدان الشريطية (0.97%) وسجلت نسبة (0.79%) لحالة اصابة الاسماك بانحناء العمود الفقري الجدول رقم (3).

الجدول ( 3 ) يوضح نسبة إصابة اسماك الكارب الشائع بالامراض المعدية وغير المعدية

الامراض غير المعدية				الامراض المعدية						
انحناء العمود الفقري	الحامضية القاعدية	سوء تغذية	الصدمة الحرارية	ديدان كلابية	ديديان شريطية	افات القرع والنزف	التهاب الكلية الوتدي	عفن الماء	عفن الغلاصم	
1	20	63	73	3	1	3	2	21	73	عدد المصاب
0.79	15.75	49.6	33.8	2.91	0.97	2.91	1.94	20.39	70.87	النسبة

#### 2-4 الاعراض السريرية

تم تسجيل الاعراض السريرية للأسماك المريضة بالاعتماد على تأريخ الحالة من صاحب المزرعة السمكية او من خلال الزيارات الميدانية للمزارع السمكية اذ لوحظ على الاسماك فقدان الشهية ، سباحتها بصورة غير طبيعية مع ظهور علامات عصبية على الاسماك ومحاولتها للقفز فوق سطح الماء (Gaspings)، هذه الاعراض المرضية تم ملاحظتها في اغلب الاسماك المصابة في م نطقتي الفرات الأوسط والمنطقة الشمالية ولاغلب الامراض.

#### 3-4 الفحص العياني والنسجي

اظهر الفحص العياني للغلاصم الاسماك المصابة بمرض تعفن الغلاصم في الاقفاص العائمة في منطقة الفرات الاوسط وجود نمو فطري على الغلاصم وشحوب في بعض مناطق نسيج الغلاصم والاحتقان على التوالي مما اعطى للغلاصم الشكل الموزائكي Marbled appearance الشكل ( 2a ) وعند اجراء الفحص النسجي للغلاصم لوحظ تثخن في القواعد الغلصمية الاولى بسبب ارتشاح الخلايا الالتهابية وفرط تنسج Hypreplasia في خلايا الكلورايد والخلايا غير المتخصصة Undifferentiated cells الشكل (2b) هذه الافة كانت اكثر شدة في الاسماك المصابة بتعفن الغلاصم في منطقة الفرات الأوسط وايضا لوحظ فرط تنسج الخلايا المبطنة لقمة الصفائح الغلصمية الثانوية مما اعطاها الشكل الهراوي Clubbing وحدوث الالتصاق والخزب وعدم استقامة الخيوط الغلصمية الثانوية الشكل ( 2c ) مع انتفاخ وفرط تنسج في الخلايا المخاطية Mucus cell وتتكس فجوي في الخلايا السائدة Pillar cells، لوحظت هذه الآفة

ايضا والمتمثلة بفرط تنسج في الخلايا المخاطية وخلايا الكلوريد في الاسماك المعرضة للحامضية والقاعدية. وعند استخدام الكيمياء النسجية وباستخدام صبغة (PAS) وصبغة (Gomori's) لوحظ وجود الخيوط والابواغ الفطرية مع حدوث نخر في الخيوط الغلصمية الاولى والثانوية الشكل (2d,2e).

تم ملاحظة مراحل مختلفة من تكوين الابواغ للفطر في نسيج غلاصم الاسماك في منطقة الفرات الأوسط الشكل (2f) وفرط تنسج ك ثيف للخلايا المخاطية وخلايا الكلوريد في الصفائح الغلصمية الاولى وتنخن في قواعد الصفائح الغلصمية الثانوية وارتشاح الخلايا الالتهابية.

سُجلت آفات عيانية أيضاً لمرض تعفن الماء water mold الذي يسببه الفطر *Saprolegnia parasitica*، اذ لوحظ وجود نمو فطري بشكل Cotton-Wall في المنطقة الظهرية خلف الرأس للأسماك المستزرعة بالمنطقة الشمالية مع حدوث النزف وبداية تكون القرحة، لوحظ انتشار هذا المرض كاصابة ثانوية للأسماك المستزرعة في الاقفاص العائمة في منطقة الفرات الاوسط وخلال شهري كانون الثاني وشباط الشكل (3a).

تم تشخيص مرض الانتان الدموي Hemorrhagic septicemia بعد عزل المسبب المرضي وملاحظة الافات المرضية على الاسماك والتي تمثلت بالنزف الشديد على الجسم وتكون القرحة في الحالات شديدة الاصابة مع انحناء العمود الفقري الشكل (3b). وكانت الافة المرضية النسجية للمقاطع الماخوذة من القرحة متمثلة بنخر العضلات البيضاء والعضلات المخططة Zenker's necrosis وارتشاح الخلايا الالتهابية مع وجود الخبز والابواغ الشكل (3c).

عند اجراء الصفة التشريحية والفحص العياني للأسماك المصابة لوحظ شحوب الكبد وفي كلا المنطقتين وحسب الحالة المرضية المسجلة، اظهر الفحص النسيجي لكبد الاسماك وفي كلا المنطقتين افة مرضية اختلفت في شدتها ما بين حدوث التكتس الفجوي Vacuolar degeneration وتوسع الجيانيات Sinusoid وارتشاح بسيط للخلايا الالتهابية في كبد الاسماك المستزرعة في بعض مزارع المنطقة الشمالية الشكل (4a) الى افة مرضية شديدة تمثلت بحدوث الفخر في نسيج الكبد وارتشاح شديد للخلايا الالتهابية الشكل (4b) سجلت هذه الافة في كبد الاسماك المستزرعة في الاقفاص العائمة في منطقة الفرات الاوسط.

تمثلت الافة عيانياً في كلية الاسماك المصابة بوجود بقع بيضاء مرتفعة منتشرة على السطح الخارجي للكلية الشكل (5a) في حين كانت الافة نسيجياً متمثلة بحدوث التهاب الكلية الخلالي Interstitial Nephritis وتضيق تجويف النبيب الكلوي بشكل نجمي مع مراحل النخر التجلطي اذ لوحظ تغلظ بعض



انوية الخلايا الظهارية المبطنه للنبيب الكلوي وتجزء البعض الآخر الشكل (5b) وحدوث النخر التجلطي Coagulative Necrosis في نسيج الكلية مع ارتشاح الخلايا الالتهابية وملاحظة مستعمرات بكتيرية في نسيج الكلية الشكل (5c).

بالنسبة للطفيليات الخارجية فقد تم تسجيل حالات لاصابة اسماك الكارب المستزرعة في الاحواض الطينية في منطقة حمام العليل بالدودة الكلابية واختلفت الآفة بوجود الطفيلي على جسم السمكة على شكل خيوط بيضاء متدلّية من الجسم الى اختراق الطفيلي لطبقات الجلد وتكون آفة تشبه البثور مع الاحتقان الشكل (6a,6b) وعند اجراء الصفة التشريحية لبعض الاسماك في نفس الحوض لوحظ وجود الديدان الشريطية في التجويف البطني مع وجود الديدان البالغة في تجويف الامعاء بأعداد كبيرة وشحوب الكبد الشكل (7a)، عند اجراء الفحص النسيجي للامعاء لوحظ التهاب الامعاء الشديد Sever Enteritis المتمثل بارتشاح الخلايا الالتهابية مع فرط تنسج للخلايا الظهارية المبطنه ل جدار الامعاء والاختلاف بين اطوال الزغابات، الشكل (7a,7b).

#### 4-4 العزل الفطري و البكتيري

تم عزل المسبب المرضي لمرض تعفن الغلاصم *Branchiomyces spp.* من عينات غلاصم الاسماك المصابة وفي كلا المنطقتين منطقة الفرات الاوسط والمنطقة الشمالية، اذ لوحظ نمو المستعمرات الفطرية على وسط SDA والتي تميزت بلونها الابيض المصفر ولمسها المخملي الشكل (8a).

وعند اجراء الفحص المجهرى للمسحة المعزولة من المستعمرات الفطرية وصبغها بصبغة كيمزا لوحظ تمييز خيوطها الفطرية بكونها غير مقسمة non-septial وبعد اخذ قياسات اقطار الخيوط والابواغ الفطرية بواسطة الكاميرا الرقمية اتضح ان معدل قياس قطر الخيوط الفطرية ( 17 مايكرون) وقطر الابواغ (5مايكرون) الشكل(8b).

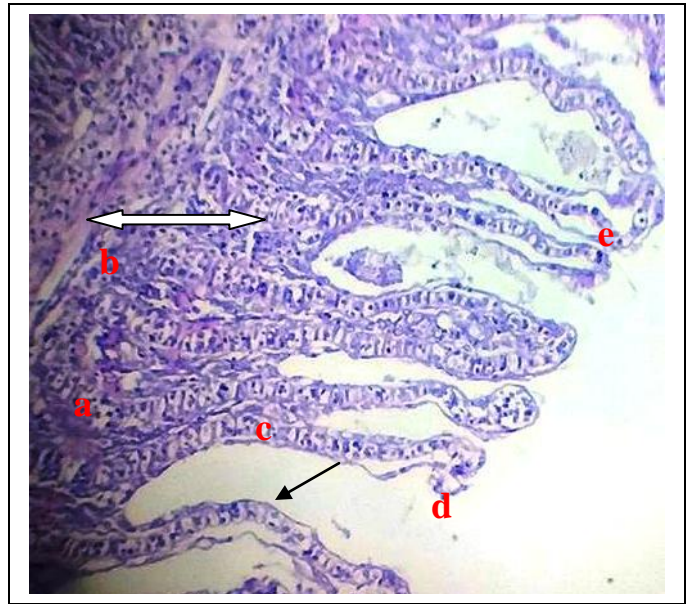
اظهرت نتائج العزل البكتيري لعينات الغلاصم والكلية في الاسماك المصابة وفي كلا المنطقتين منطقة الفرات الاوسط والمنطقة الشمالية وجود نمو بكتيري لـ *Aeromonas hydrophila* بالاعتماد على مواصفاتها الشكلية والتي امتازت بكونها بكتيريا عصوية سالبة لصبغة الكرام فضلا عن الاعتماد على النتائج الكيموحيوية في تشخيص البكتريا، الشكل (9a)

ايضاً تم عزل *Corynebacterium renale* بعد الاعتماد على مواصفاتها الشكلية والتي امتازت بكونها بكتيريا عصوية ثنائية موجبة لصبغة الكرام غير متحركة وغير مكونة للابواغ ولا تحتوي على المحفظة وايضا بعد الاعتماد على النتائج الكيموحيوية، الشكل (9b)

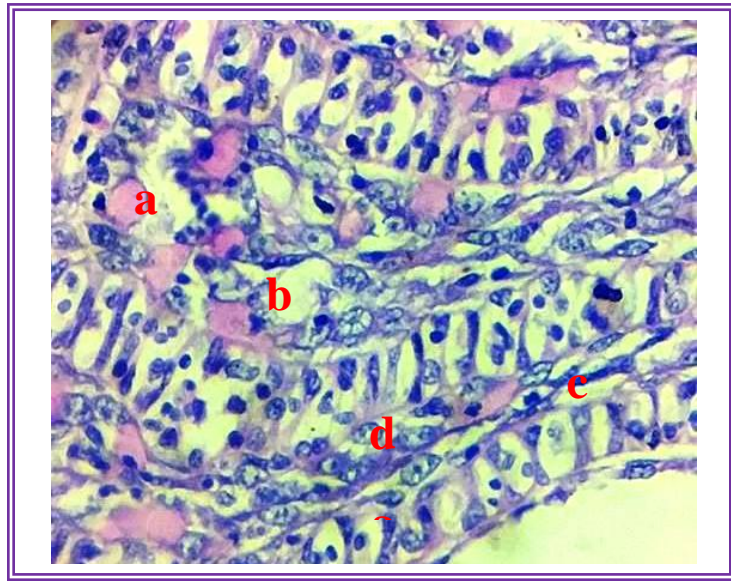
الشكل (2a) الشكل الموزائيكي لغلصم اسماك الكارب المصابة بتعفن الغلصم في منطقة الفرات الاوسط.



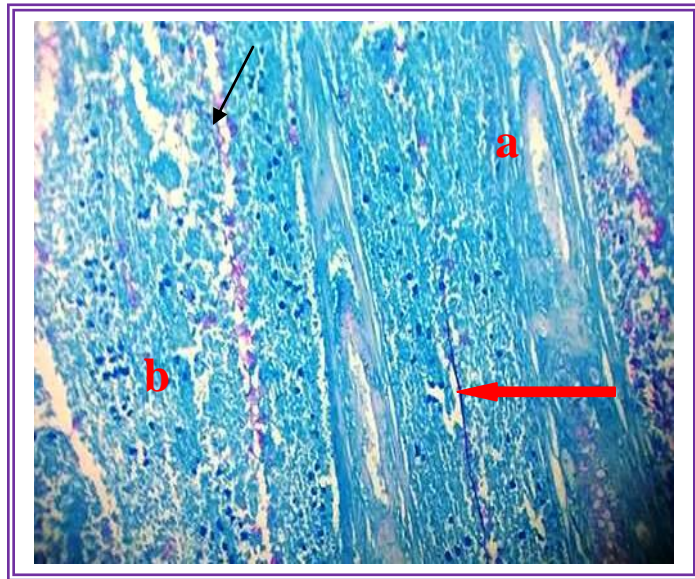
الشكل (2b) مقطع نسيجي لغلصم اسماك مصابة بتعفن الغلصم يظهر فيه تنخر بقواعد الصفائح الغلصمية الاولى ( ) وارتشاح الخ-لاي التهابية (a) وفوط تنسج للخلايا غير المتخصصة (b) فرط تنسج الخلايا الساندة (c) الشكل الهرابي بقم الصفائح الغلصمية الثانوية (d) والخرب (e) وعدم استقامة الخيوط الغلصمية الثانوية (e) (X1.7\*10, H&E, (



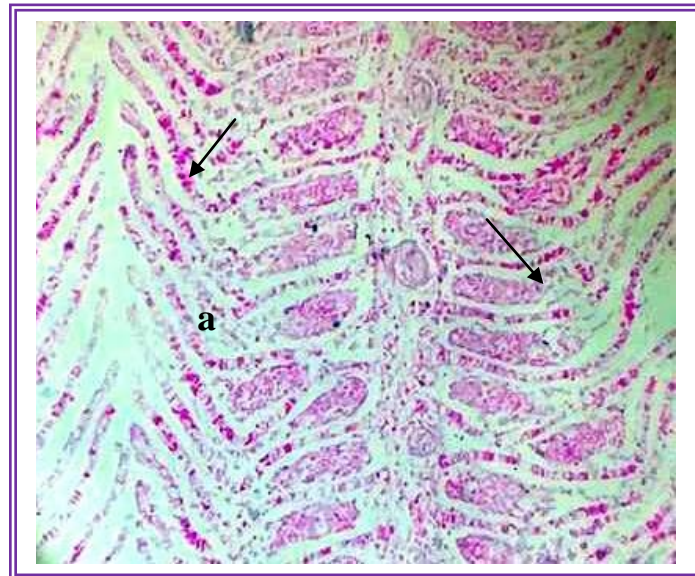
الشكل (2c) مقطع نسجي لغلاصم اسماك مصابة  
بتعفن الغلاصم يظهر فرط تنسج وانتفاخ في الخلايا  
المخاطية (a) وتتكس فجوي في الخلايا  
الساندة (b) والتصاق الصفائح الغلصمية الثانوية مع  
بعضها (c) وضخامة الخلايا الظهارية المبطنة  
للفصائح الغلصمية الثانوية (d) H&E 10\*3.6 X



الشكل (2d) مقطع نسجي لغلاصم اسماك مصابة  
بتعفن الغلاصم يظهر نخر الخيوط الغلصمية  
الاولية والثانوية (a) مع وجود الابواغ المكونة  
لفطر (b) والخيوط الفطرية (→) PAS،  
40 X.

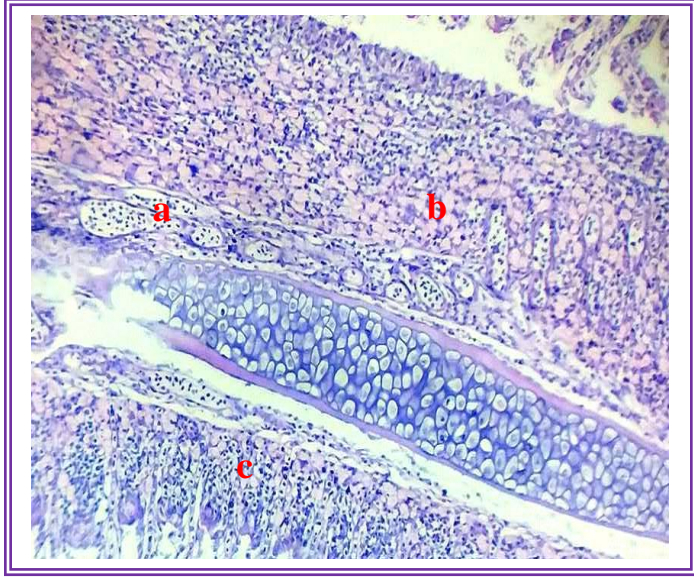


الشكل (2e) مقطع نسجي لغلاصم اسماك مصابة  
بتعفن الغلاصم يظهر نخر الخيوط الغلصمية  
الاولية والثانوية (a) مع وجود الابواغ المكونة  
لفطر (↓) وباستخدام صبغة GMS 10X

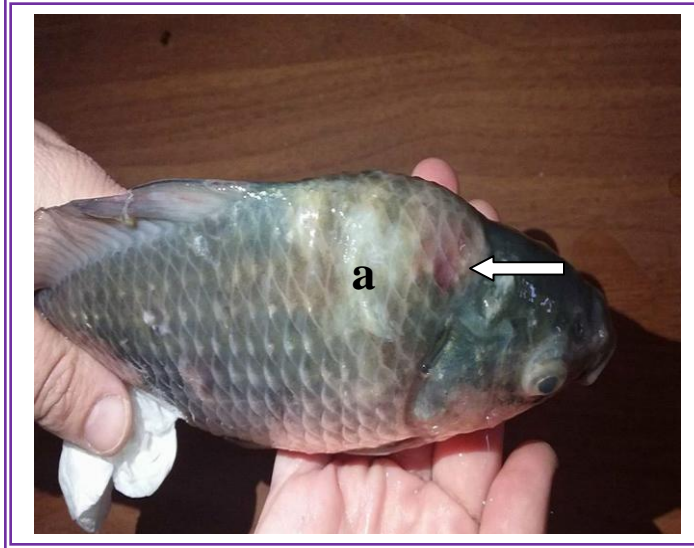




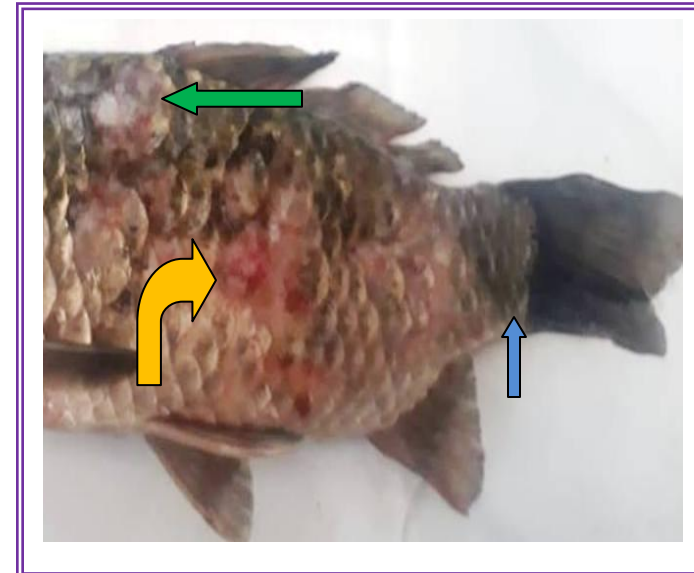
الشكل (2f) غلاصم اسماك مصابة بتعفن الغلاصم  
 يلاحظ يوضح مراحل تكوين الابواغ (a) وفرط تنسج  
 شديد بالخلايا المخاطية (b) وتنخن قواعد الصفائح  
 الغلصمية الثانوية (c) وارتشاح الخلايا الالتهابية (d)  
 10 H&E



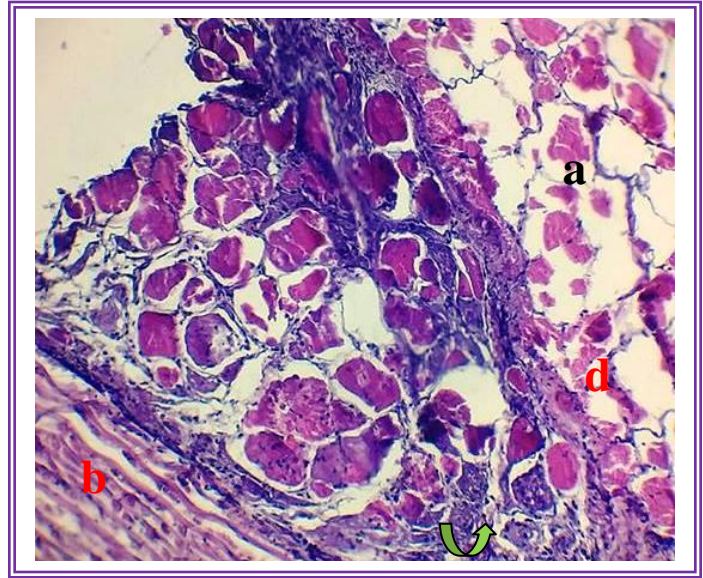
الشكل (3a) مظهر عياني لسمكة كارب مصابة  
 بتعفن الماء وبداية تكون القرحة (a) مع وجود  
 النزف (←). (←)



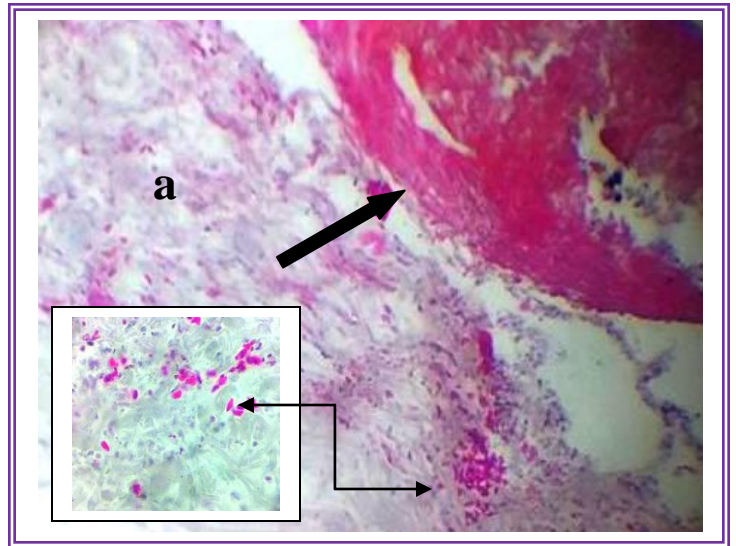
الشكل (3b) مظهر عياني لسمكة كارب مصابة بتعفن  
 الماء يلاحظ وجود قرحة شديدة (←) مع وجود  
 النزف الشديد (↪) التواء الذيل (↑) ، H&E



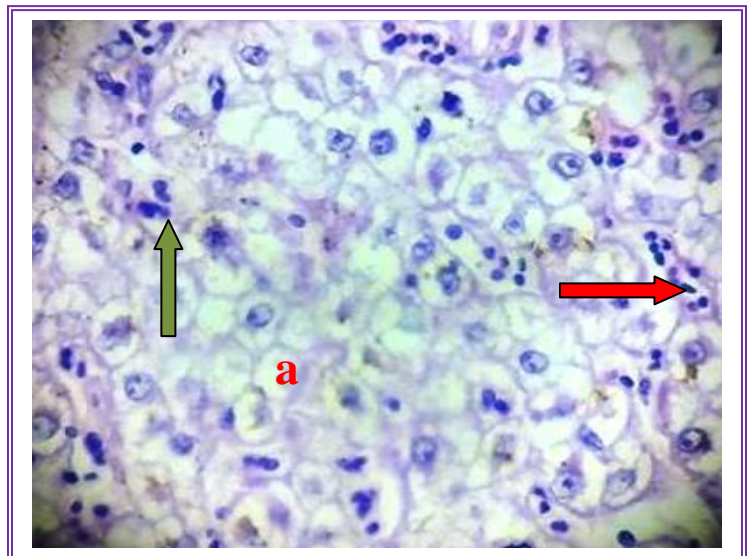
الشكل (3c) مقطع نسجي للعضلات البيضاء في اسماك الكارب مصابة بالتقرح يظهر فيها نخر العضلات البيضاء (a) والعضلات المخططة (b) وارتشاح الخلايا الالتهابية (c) ووجود الخبز (d)، (H&E 1.2 \* 10 X



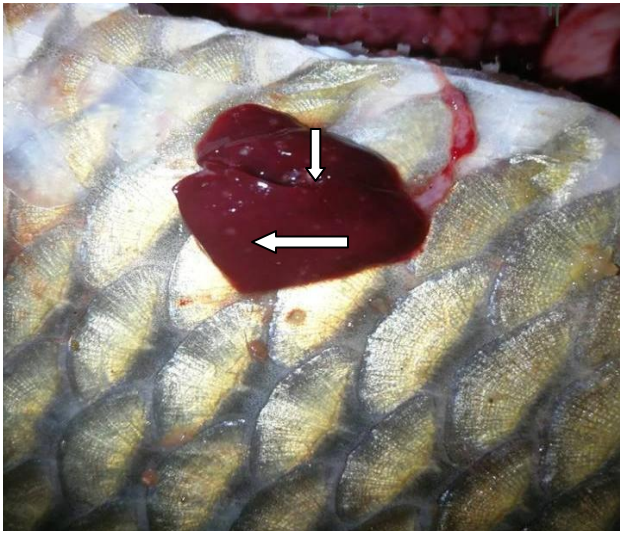
الشكل (3c) مقطع نسجي لجلد الاسماك المصابة بالتقرح وتعفن الماء يظهر فيها الخثرة (a) ونخر الجلد (b) ووجود الابواغ (c)، (Gomori's 1.8 X 40X ،



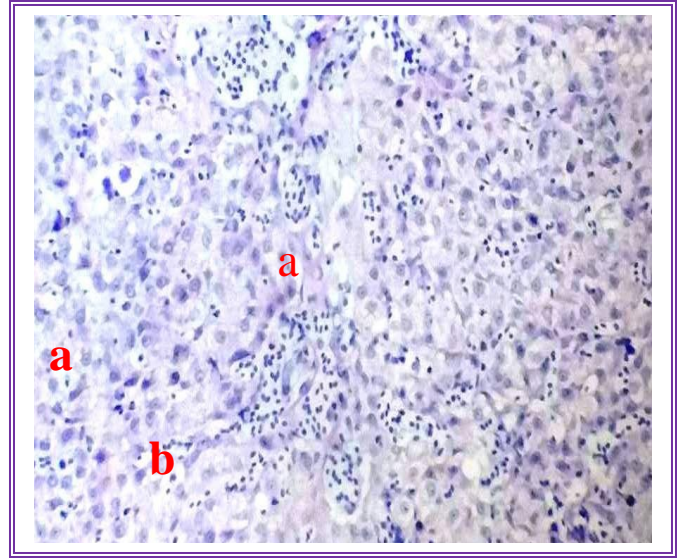
الشكل (4a) مقطع نسجي لكبد اسماك مصابة يوضح التكتس الفجوي (a) وارتشاح للخلايا الالتهابية (b) مع وجود مستعمرات جرثومية (c)، (H&E 40X



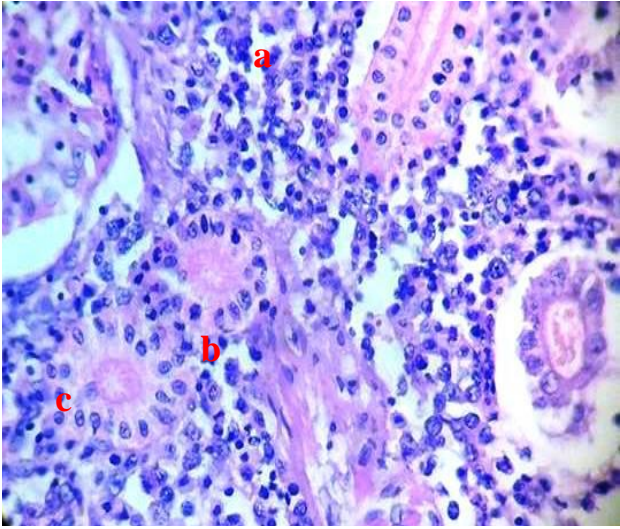




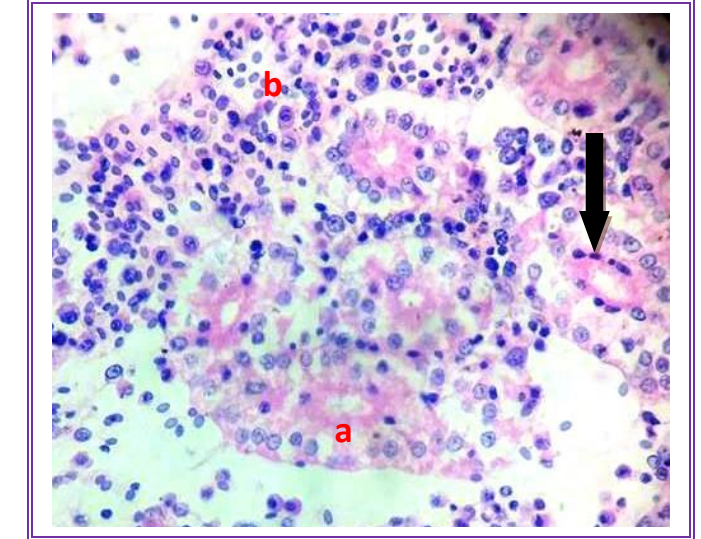
الشكل (5a) مقطع عياني لكلىة اسماك مصابة بالتهاب الكلىة الوتدي يوضح انتشار بقع بيضاء نخرية على الكلىة ( ← )



الشكل (4b) مقطع نسجي لكبد اسماك يوضح النخر (a) وارتشاح الخلايا الالتهابية (b) 1.8X \*10 H&E .



الشكل (5b) مقطع نسجي لكلىة اسماك مصابة بالتهاب الكلىة الوتدي يوضح التهاب اللطية الخلالي (a) تضيق تجويف النبيب الكلوي بشكل نجمي (b) تغلظ بعض ارفوية الخلايا الظهارية المبطننة للنبيب الكلوي وتجزء البعض الاخر (c) 1.2X \*40، H&E



الشكل (5c) مقطع نسجي لكلىة اسماك مصابة بالتهاب الكلىة الوتدي النخر التجلطي في النبيبات الكلوية (a) ارتشاح الخلايا الالتهابية (b) جراثيم ( ↓ ) 1.2X \*40 H&E

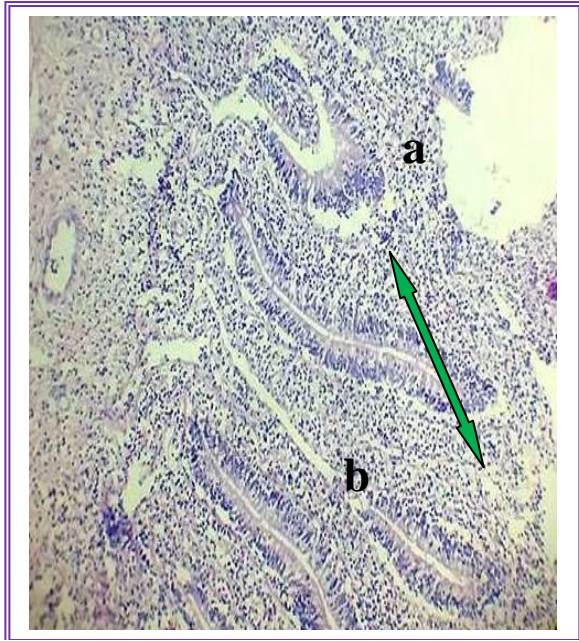




الشكل (6b) مظهر عياني لسمكة مصابة  
بالدودة الكلابية



الشكل (6a) مظهر عياني لسمكة مصابة بالدودة  
الكلابية مختلطة لطبقات الجلد ومكونة للبثور



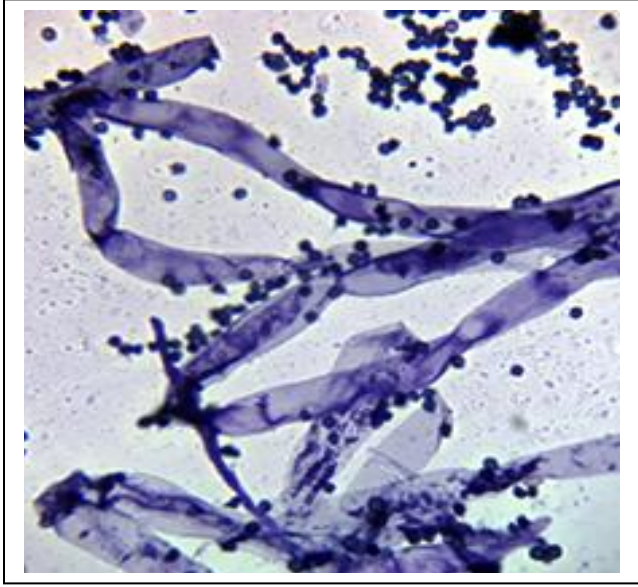
الشكل (7b) مقطع نسيجي لامعاء سمكة كارب مصابة بالدودة  
الشريطية، يوضح ارتشاح الخلايا التهابية الشديدة (a) فرط تنسج  
لخلايا الظهارية المبطننة لجدار الامعاء (b) اختلاف في اطوال



الشكل (7a) مقطع عياني لسمكة كارب مصابة  
بالدودة الشريطية، وشحوب الكبد (a).

الزغابات (←→) H&E، 1.2X \* 10





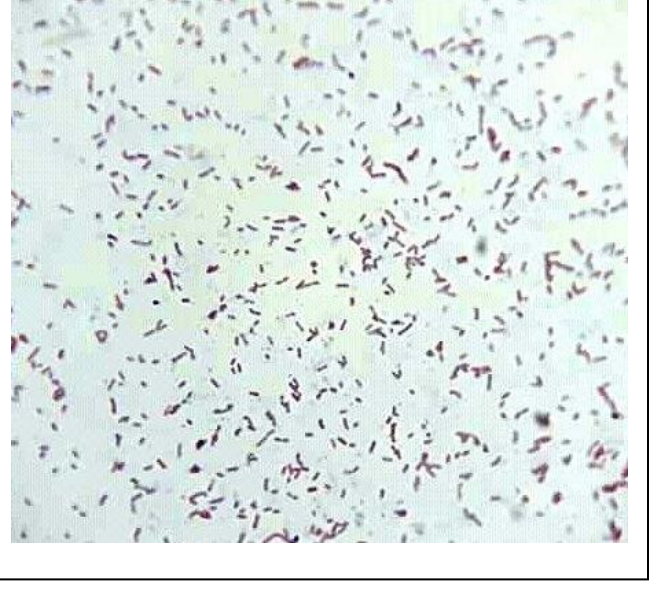
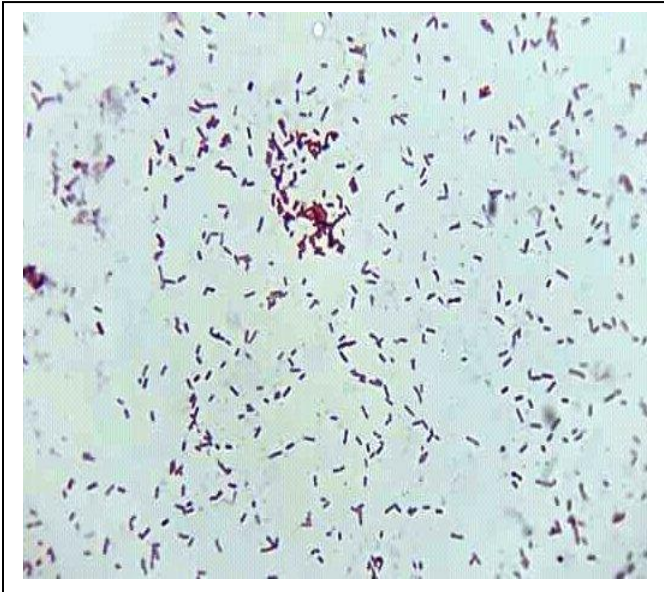
الشكل (8b) مقطع مجهرى للخيوط الفطرية Branchiomyces

تظهر فيها الخيوط غير مقسمة 17 مايكرون وقطر الابواغ 5 مايكرون

الشكل (8a) نمو المستعمرات الفطرية للـ Branchiomycosis

spp. والتي تميزت بكونها مستعمرات مخملية ذات لون ابيض

المصفر



الشكل (9a) مقطع مجهرى لعزلات Aeromonas

hydrophila سالبة لصبغة الكرام 10X

الشكل (9b) مقطع مجهرى لعزلات

Corynebacterium renale عصبية ثنائية

موجبة لصبغة الكرام 10X



#### 5-4 التركيز التراكمي للمعادن الثقيلة

من خلال هذه الدراسة تم قياس التركيز التراكمي لبعض المعادن الثقيلة في عضلات الاسماك ولكلا المنطقتين منطقة الفرات الاوسط والمنطقة الشمالية اذ كان اعلى معدل تركيز تراكمي لعنصر الزرنيخ ولكلا المنطقتين الا انه اكثر معدل في منطقة الفرات الاوسط اذ كان ( 425.6 ) جزء بالمليون و اما في المنطقة الشمالية فقد كان معدل تركيزه في عضلات الاسماك ( 192.5 ) جزء بالمليون، اما معدل التركيز التراكمي لبقية العناصر في العضلات (الحديد، الرصاص، الخارصين، النحاس والمنغنيز) فقد كان اقل من المعدل المسموح به الجدول رقم (4) والملاحق (1-5).

الجدول (4) معدل التركيز التراكمي للعناصر الثقيلة (ppm) في عضلات اسماك الكارب في منطقة الفرات الاوسط والمنطقة الشمالية

ت	المنطقة	Fe الحديد	Pb الرصاص	Zn الخارصين	Cu النحاس	Mn المنغنيز	As الزرنيخ
1	المطقة الشمالية	23.9	1.27	0.21	0.34	UDL	192.5
2	منطقة الفرات الاوسط	60.7	UDL	6.8	20.3	UDL	425.6
الحد المسموح ppm		100	2	100	30	1	1

## المنـاقشة

### Discussion

#### 1-5 نسبة الإصابة

من خلال هذه الدراسة تم تحديد نسبة إصابة الأسماك بالأمراض المعدية و غير المعدية والمسجلة خلال الفترة 2018/11/10-2019/3/1 اذ ظهرت اعلى نسبة إصابة بمرض تعفن الغلاصم والتي كانت (70.87%) وجاءت هذه الدراسة متطابقة مع نتائج الباحث (Ibrahim,2011) الذي اشار الى حدوث مرض تعفن الغلاصم في اسماك الكارب بنسبة إصابة عالية في محافظة دهوك، أيضا سجل من خلال هذه الدراسة نسبة إصابة الأسماك بمرض الانتان الدموي وعفن الماء (2.91 % ) ، (20.39 %) على التوالي وهذه النتائج جاءت متطابقة مع نتائج الباحث (Al-Jubouri,2017) الذي أشار الى نسبة الإصابة في اسماك الكارب في الأقفاص العائمة في محافظة بابل وظهور نمو اشبه بالفطر على راس وجسم الأسماك كذلك أشار الى حدوث مرض الانتان الدموي بنسبة (8.2%).

ان هذا التطابق او الاختلاف في نسبة الإصابة لمرض معين ولدراسات مختلفة قد يعود الى عدة عوامل منها إعداد الأسماك المفحوصة ،الحالة الصحية للأسماك فضلا عن الموقع الجغرافي، نوع الاستزراع وشدة التلوث (Reza et al .,2014) بالإضافة الى موسم الدراسة فمثلاً درجة الحرارة المنخفضة في فصل الشتاء تعد من اهم العوامل المثبطة للإصابة بالدودة الكلابية (كاظم والزبيدي ، 2009) وهذا قد يكون تفسيراً مهم لنتائج هذه الدراسة وانخفاض نسبة الإصابة بالدودة الكلابية بصورة عامة فإن انتشار وظهور المرض يتأثر بعوامل عديدة منها جودة الماء (الصفات الفيزيائية والكيميائية ) و التي تشمل قيمة الاس الهيدروجيني كذلك درجة حراره الماء ووجود الفضلات البيئية فضلاً عن الفضلات النتروجينية (Ali, 2005) ان تراكم هذه الفضلات في البيئة المائية تؤدي الى تغير في قيمة الاس الهيدروجيني المتعادل الى الحامضية والقاعدية، في بعض الاحيان وكنتيجه الكثافة العددية العالية وتراكم المواد العضوية مع زيادة تركيز CO<sub>2</sub> وقلة الاوكسجين قد تتغير قيمة pH الى ال حموضة وبالتالي كلا الحالتين تؤثر على الصحة العامة للأسماك.

تعد درجة حرارة البيئة المائية من العوامل الخارجية المؤثرة على الفعاليات الكيميائية والايضية للأسماك وتختلف الأسماك بقدرتها على الاقلمة Adaptation للتغيير بدرجة الحرارة (Lankford et al., 2003) وعلى الرغم من ان اسماك الكارب الشائع تعد من اسماك المياه الدافئة التي لها القدرة على تحمل درجة حرارة

عالية اكثر من 30 م ° (Hedayali, 2018)، الا ان التغير المفاجئ بدرجات الحرارة يؤدي الى تعرضها للصدمة الحرارية، في هذه الدراسة سجلت نسبة تعرض الأسماك المستزرعة في مزارع المنطقة الشمالية للصدمة الحرارية ( 46.50%) جاءت نتائج هذه الدراسة متطابقة مع نتائج الباحثين (Al-Hamdany & Al-Tae, 2009). ان ارتفاع درجة حرارة الماء تؤدي الى قلة تركيز الاوكسجين المذاب في الماء (Frisch & Anderson , 2005) وبالتالي يزداد احتياج الأسماك للاوكسجين (إسماعيل، 2005) وهذا يعطي تفسيراً لمحاولة الأسماك القفز فوق سطح الماء للحصول على الاوكسجين الحر.

## 2-5 العلامات السريرية

من خلال هذه الدراسة تم ملاحظة وتسجيل علامات مرضية مختلفة بأختلاف الامراض وذلك من خلال المشاهدات العيانية او بالاعتماد على تأريخ الحالة من صاحب المزرعة السمكية تمثلت هذه الاعراض بفقدان الشهية والتوقف عن التغذية وظهور علامات عصبية على الاسماك، سرعة حركة غطاء الغلاصم وقد يعود السبب الى تعرض الاسماك للاجهاد والذي قد يكون اجهاد بايولوجي ، كيميائي او اجهاد فيزيائي والذي له دور في احداث ومقاومة الاسماك للمرض (Winton, 2001).

ان الية الاستجابة الفسلجية الداخلية لظهور الاعراض المختلفة تنقسم الى ثلاث استجابات ، الاستجابة الاولى وهي افراز الهرمونات الى الدورة الدموية وهذه الهرمونات تؤثر على الاعضاء الهدف فتحدث الاستجابة الثانية المتمثلة بزيادة ضربات القلب، زيادة جريان الدم في الغلاصم وزيادة معدل الايض مع قلة ايون الكلوريد ، الصوديوم والبوتاسيوم ( Port et al., 2006 ) اما الاستجابة الثالثة فتتضمن قدرة الاسماك لمقاومة المرض، تغير في سلوك الاسماك وقلة معدل نمو (Barton & Iwana , 1991) .

## 3-5 الفحص العياني والنسجي والعزل المايكروبي

تتعرض الاسماك في البيئة المائية لعوامل اجهاد مؤهبة لحدوث المرض ويمكن الاستدلال على المرض من آليات العيانية والمقاطع النسجية بالاضافة الى العزل المايكروبي للمسبب المرضي ، لذا تم من خلال هذه الدراسة تشخيص حالة اصابة الاسماك بتعفن الغلاصم في المنطقة الشمالية ومنطقة الفرات الاوسط والتي كانت نسبة الاصابة فيها مرتفعة جداً ادت الى نسبة هلاكات عالية في الاسماك المستزرعة في الاقفاص العائمة في الصقلاوية والمسبب وتمثلت الآفة ب ظهور الغلاصم بالشكل الموزائيكي وجاءت هذه

النتائج مطابقة لنتائج الباحث (Khalil et al.,2015) والذي اشار الى نمو الفطر في نسيج الغلاصم والالوعية الدموية والذي يعمل كخثرة Thrombus فيؤدي الى انقطاع التجهيز الدموي وحدوث حالة الذوى Ischemia وشحوب النسيج والاحتقان ثم النخر (McGavin & Zackary,2007).

ان حدوث التغيرات النسيجية لنسيج الغلاصم كفرط تنسج الخلايا الساندة وت ضخم الخلايا الظهارية المبطنة للصفائح الغلصمية الثانوية مع تثخن قواعد الصفائح الغلصمية الأولية قد تكون استجابة التهابية لحدوث المرض او تعد آلية تعويضية عن فقدان الحاصل في الأنسجة ، كما ان فرط تنسج الخلايا المخاطية تؤدي الى زيادة افراز المخاط الذي يعمل كحاجز لتركيز المواد الضرورية للأسماك من المحيط او يعمل كحاجز فيزيائي لتقليل الاذى (Thophonon et al., 2003) ان حدوث التكتس الفجوي Vacuolar degeneration قد يكون سبب حدوث خلل في التنظيم الايوني Osmoregulation لذا يتم احتباس أيون الصوديوم  $Na^+$  داخل الخلية وخروج ايون البوتاسيوم  $K^+$ ، وبالتالي زيادة كمية الماء داخل الخلية (McGavin & Zackary, 2007). تتطابقت نتائج استخدام صبغات الكيمياء النسيجية PAS و GMS مع نتائج الباحث (Mousavi , et al.,2005) سجل وجود الخيوط الفطرية مع الالبواغ في نسيج الغلاصم. من خلال هذه الدراسة تم تشخيص الفطر Branchiomycosis spp. من خلال نمو المستعمرات الفطرية على وسط SDA كذلك من خلال المواصفات القياسية للخيوط الفطرية والالبواغ، وجاءت هذه النتائج متطابقة مع نتائج دراسة الباحث (Khalil et al.,2015).

بصورة عامة كاستجابة للادى يحدث تحفيز للجهاز الصماوي العصبي والذي يؤثر على الاعضاء الهدف فيحدث مثلاً في الكبد زيادة بايض الكلايكوجين glycogenesis وتحلله glycogenolysis لتوفير الطاقة وبالتالي قد يزداد ترسب الكلايكوجين بالكبد.

عند إجراء الفحص العياني لكلية الاسماك المستزرعة في الاقفاص العائمة في المسيب لوحظ وجود بقع نخرية بيضاء منتشرة على السطح الخارجي للكلية، وجاءت هذه النتيجة متفقة مع نتائج دراسة الباحث (Austin & Austin,2012) الذي اشار الى ان وجود البقع البيضاء على الكلية مؤشر لإصابة الاسماك بمرض التهاب الكلية الوتدي.

وقد تم عزل المسبب المرضي *Corynebacterium renale* وهي جراثيم موجبة لصبغة كرام وتعد هذه النتيجة الاولى في جامعة الموصل لعزل هذا المسبب المرضي في اسماك الكارب الشائع.

ان ظهور الآفة بشكل بقع بيضاء قد يكون كنتيجة للتغيرات المرضية النسجية المتمثلة بارتشاح الخلايا الالتهابية الخلالي مع حدوث النخر التجلطي للنبيبات الكلوية.

من خلال الفحص العياني واجراء الصفة التشريحية للاسماك تم ملاحظة اصابتها بالديدان الشريطية والتي قد تكون السبب في حدوث التهاب الامعاء ، كذلك الإصابة بالديدان الكلابية ، تطابقت هذه النتيجة مع الباحثين (رحيمو ونور الدين ، 2008 ، حسين ، 2017) اذ اشاروا الى اصابة اسماك الكارب في العراق بالديدان الشريطية والديدان الكلابية والتي تتغذى متدلية من الزعانف او تخترق غشاء الزعانف لتشكل بثور ، ان السبب الرئيسي لاصابة الدودة الكلابية للزعانف وعدم اصابة ا جزء اخرى من الجسم قد يكون لسهولة اختراق الديدان للزعانف وبسبب ما تشكله من مكان حماية للديدان الكلابية من التيارات المائية *Bart et al* (2002).

تبين من خلال نتائج هذه الدراسة تنوع الاصابات المرضية في اسماك الكارب وجائت هذه النتائج ممتقة مع نتائج الباحثين (Abud & AbdulWahab, 2011) اذ سجلت بعض الحالات لاصابة الاسماك بالديدان الكلابية مع وجود القرحة التي قد تكون احد المراحل المتقدمة لبعض الاسماك المصابة بعفن الماء او قد تكون الشكل المزمن لمرض الان بثن الدموي اذ تم عزل المسبب المرضي والتي هي *Aeromonas hydrophila* وهي جراثيم سالبة لصبغة الكرام.

اشار الباحث (E L-Khatib & El\_hady, 2012) الى ان الطفيليات الخارجية تعمل كناقل او احد العوامل المساعدة لحدوث إصابات ثانوية اما من خلال الجروح التي تحدثها في جسم السمكة او من خلال ما تسببه من ضعف الاسماك وقلة مقاومتها لأمراض.

سُجلت أيضاً من خلال هذه الدراسة نتائج تدل على حدوث حالات تعرض الاسماك لأمراض سوء التغذية كالتقرن وتوقف النمو بالإضافة الى ظهور حالة انحناء العمود الفقري والذي قد يكون سببه نقص في بعض

مكونات العليقة وخاصة التريتوفان (عبد اللطيف وجماعته، 2008) او قد يكون سبب هذا التشوه هو اصابة الاسماك بمرض الدوران Whirling disease والذي تسببه *Myxobolus cerebralis* .

#### 4-5 التراكم الحيوي للمعادن

تم قياس التراكم الحيوي لبعض المعادن في عضلات الاسماك في منطقة الفرات الاوسط والمنطقة الشمالية قد لوحظ ارتفاع لبعض المعادن في عضلات الاسماك وخاصة الزرنيخ، تمثل الاسماك مؤشر حيوي لبيولوجية البيئة المائية ودليل على وجود الملوثات في البيئة المائية (Türkmen et al., 2010). تطابقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج الباحث (Gholami,et al., 2016) اذ اشارو الى تركيز بعض المعادن الثقيلة في عضلات الاسماك.

يعتمد التراكم الحيوي للمعادن في الجسم على الفعالية الايضية لذلك كلما زادت الفعالية الايضية كلما زاد التركيز التراكمي للمعادن في الاعضاء المختلفة،لذا فان التركيز التراكمي الحيوي يكون في العضلات البيضاء اقل مما هو عليه في العضلات الحمراء، بالاضافة الى نوع التغذية اذ يلاحظ ان الاسماك التي تغذيتها قاعية تكون اكثر عرضة لتركيز المعادن الثقيلة في اجسامها من الاسماك التي يكون نظام تغذيتها ضمن عمود الماء (AL-Najar, 2015).

## 1-6 الاستنتاجات

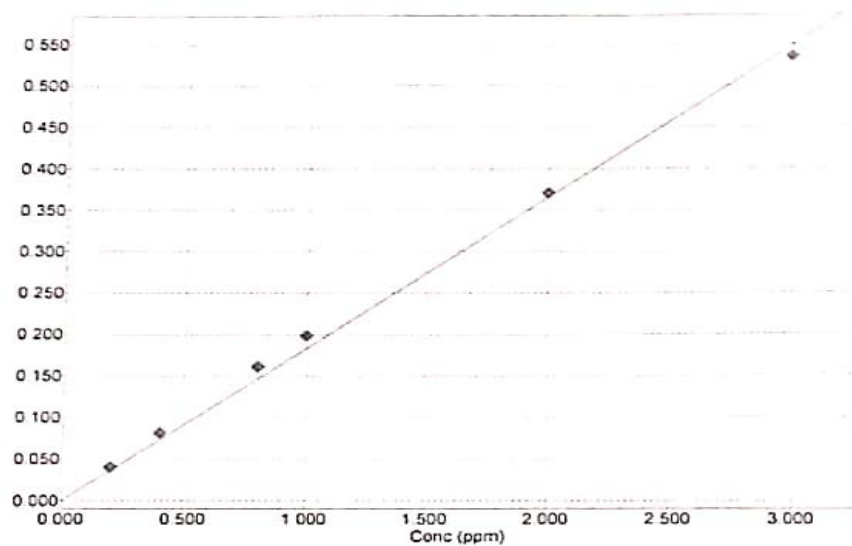
1. يستنتج من هذه الدراسة بان نسب الاصابة في اسماك الكارب الشائع وانتشار المرض يختلف بالاعتماد على نوع الاستزراع والظروف البيئية والمنطقة الجغرافية.
2. ان عفن الغلاصم كان احد الاسباب المؤدية لظاهرة النفوق الجماعي في منطقة الفرات الاوسط.
3. ان للملوثات البيئية وتراكم العناصر الثقيلة في عضلات الاسماك قد تكون ايضا احد الاسباب المؤدية لضعف مناعة الاسماك وبالتالي اصابتها بالمرض.
4. اتضح من هذه الدراسة بان المنطقة الشمالية خالية من وباء تعفن الغلاصم على الرغم من تسجيل حالات طفيفة للاصابة.
5. ان الظروف البيئية والتغيرات المناخية مع الادارة غير الجيدة ادت الى اضعاف مناعة الاسماك واصابتها بالامراض الفطرية وحدوث اصابات بكتيرية ثانوية.
6. ان تربية الاسماك بالاقفاص العائمة وبدون الالتزام بالمبادئ الاساسية للتربية يؤدي الى تعرض الاسماك للاجهاد وبالتالي اصابتها بالامراض .
7. ان اعداد الاسماك المستزرعة في الاحواض الترابية والكونكريتية والذي يتناسب طرديا مع مساحة الحوض له دور في منع حدوث حالات الاختناق وعدم حدوث حامضية او قاعدية البيئة المائية.

## 2-6 التوصيات

1. عزل وتوصيف المسببات المرضية في الاسماك باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل فضلا عن الزرع الفطري والبكتيري .
2. اجراء دراسة موسعة على نطاق نهري دجلة والفرات في المناطق التي سجلت اصابة مرضية ونفوق جماعي للاسماك.
3. قياس نسبة الملوثات والعناصر الثقيلة في نهري دجلة والفرات وبشكل دوري.
4. اجراء مسح دوري للمزارع السمكية للكشف المبكر عن الامراض .
5. عدم رمي الاسماك النافقة في الانهار وذلك لمنع انتشار الامراض وتلوث الانهار.
6. تفعيل دور الاطباء البيطريين في الاشراف ومتابعة الحالات المرضية واقامة دورات توعوية وتنقيفية لمربي الاسماك .



ملحق رقم (1) المنحنى القياسي لعنصر النحاس

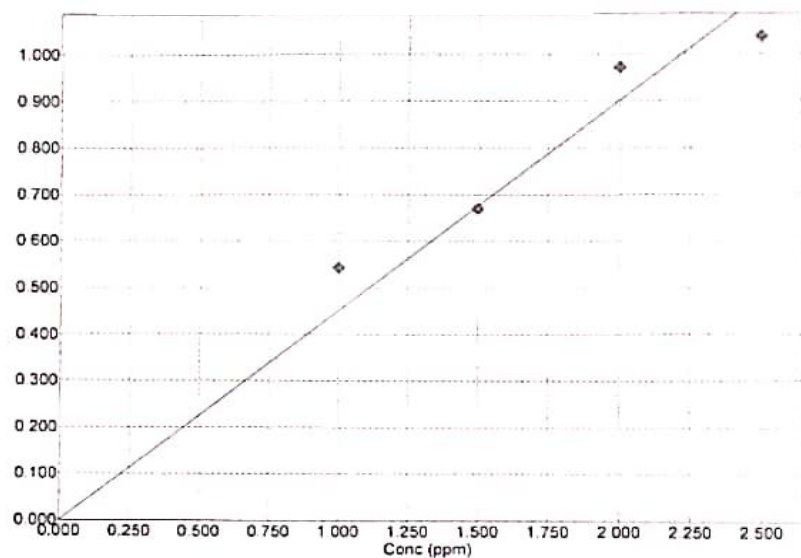


$$\text{Abs} = 0.18289 \text{Conc} + 0.00000$$

$$r = 0.9993$$

CONC	ABS
0.2000	0.0401
0.4000	0.0811
0.8000	0.1609
1.0000	0.1982
2.0000	0.3704
3.0000	0.5353

ملحق رقم (2) المنحنى القياسي لعنصر الزنك

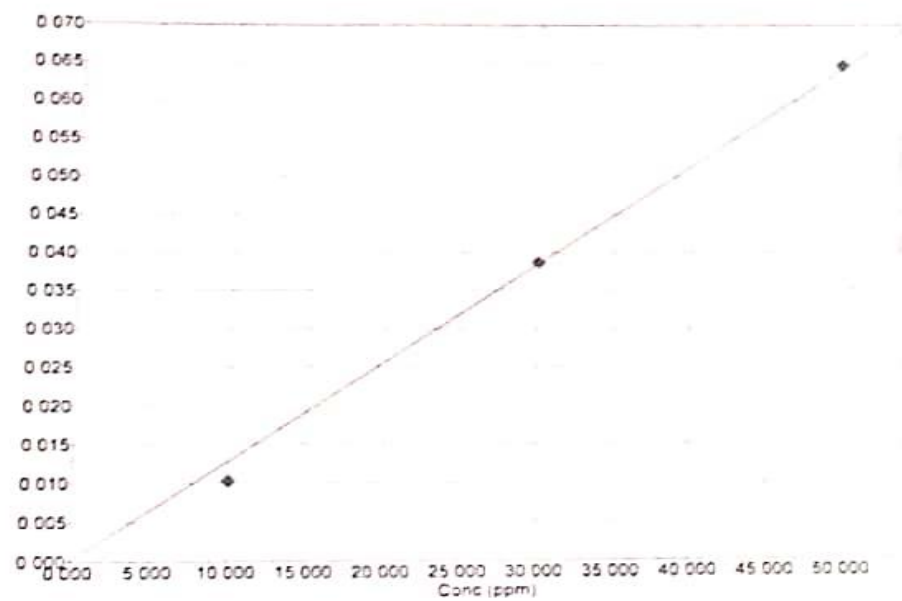


$$Abs=0.45083Conc+0.00000$$

$$r=0.9715$$

CONC	ABS
1.0000	0.5429
1.5000	0.6700
2.0000	0.9724
2.5000	1.0374

ملحق رقم (3) المنحنى القياسي لعنصر الزرنيخ

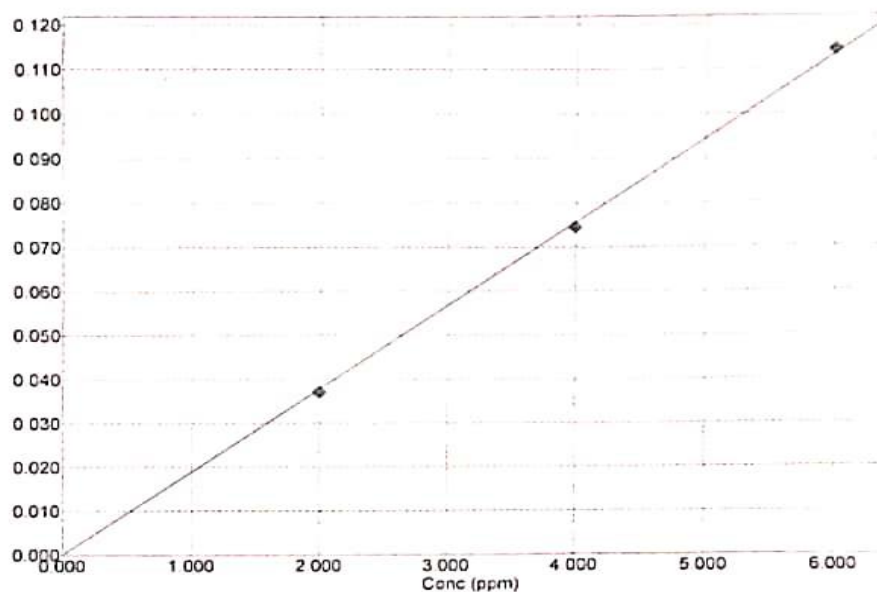


$$\text{Abs} = 0.0012829 \text{Conc} + 0.00000$$

$$r = 0.9997$$

CONC	ABS
10.0000	0.0102
30.0000	0.0386
50.0000	0.0646

ملحق رقم (4) المنحنى القياسي لعنصر الرصاص

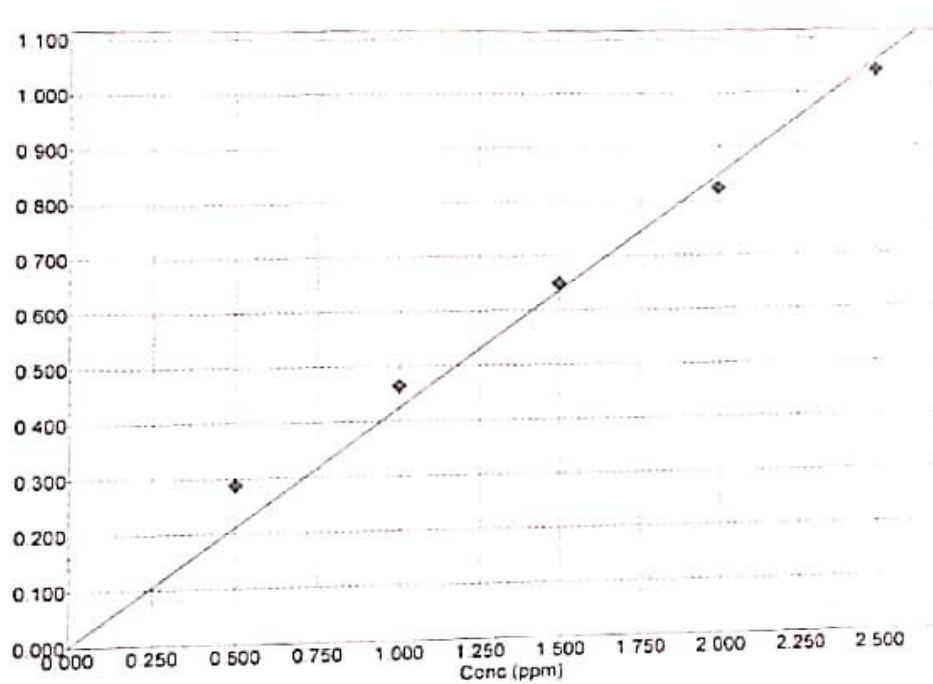


$$\text{Abs} = 0.018882 \text{Conc} + 0.00000$$

$$r = 0.9999$$

CONC	ABS
2.0000	0.0371
4.0000	0.0745
6.0000	0.1142

ملحق رقم (5) منحنى القياسي لعنصر المنغنيز



$$\text{Abs} = 0.42424 \text{Conc} + 0.00000$$

$$r = 0.9992$$

CONC	ABS
0.5000	0.2877
1.0000	0.4639
1.5000	0.6489
2.0000	0.8247
2.5000	1.0411

## المصادر العربية

- البكوع، بنان خالد عبد الرحمن فتاح. ( 2002 ). التغيرات العصبية والسلوكية والكيموحياتية المحدثة بالتداخل بين الكادميوم وبعض المبيدات الحشرية في الفئران. اطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق.
- اسماعيل، عبد المنعم عيسى. (2005). امراض الاسماك ،كلية الطب البيطري، جامعة السويس، مصر.
- حسين ، ت خليل حسين . (2017). انتشار الالصابة بالطفيليات الخارجية في اسماك احدى المزارع الخاصة في ناحية الإسكندرية في محافظة بابل ،العراق .مجلة جامعة بابل العلوم الصرفة التطبيقية-4(25).
- رحيمو، ابراهيم زهير فتوحى ونواب الدين، فانتن محمد ) (2008). ديدان اسماك المياه العذبة من المناطق الريفية في محافظة كركوك ،العراق.مجلة جامعة كركوك -الدراسات العلمية.3(2).
- عبد الحميد ، محمد عبد الحميد. ( 2019 ).الثورة الزرقاء (الاستزراع السمكي ).كلية الزراعة -جامعة المنصورة.
- عبد اللطيف، شوكت محمد فتحي، حمودة، السيد الديب مهني والضبيب، احمد عبدالله. ( 2008 ). صحة الاسماك.جامعة القصيم.
- عيسى، هدى حسين وعبد الرزاق، ابراهيم احمد فؤاد. (2005). التلوث البيئي وأثره على الاسماك .مجلة أسبوط للدراسات البيئية. العدد الثامن والعشرون.
- كاظم، رائد عباس والزبيدي، علي بناوي. (2009). التأثيرات الامراضية للدودة الكلابية *Lernaea cyprinus* في اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. جامعة بابل العلوم الصرفة التطبيقية.3(17).

## Referance

**Aadt**, W. V., & Erdmann, R. (2004). Heavy metals (Cd, Pb, Cu, Zn) in mudfish and sediments from three hard-water dams of the Mooi River catchment, South Africa. *Water Sa.* 30(2), 211-218.

**Abd**, A. A. A.; Abul Wahab,H.M. (2011). Investigation of some diseases of carp at Al-Shamiya city/Iraq. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences.* 2(2), 51-59.

**Al-Hamadany**, A. H. A. ; Al-Taee, S. K. I.(2009).Effect Thermal stress on fish *carassiusauratus*.*Basrah Journal of veterinary research.*2(8).

**Ali**, E. H. (2005). Morphological and biochemical alterations of oomycete fish pathogen *Saprolegniaparasitica* as affected by salinity, ascorbic acid and their synergistic action. *Mycopathologia*, 159(2), 231-243

.

**Al-Jubouri**, M. O., Al-Niaeem, K. S., &Taher, M. M. (2017). Clinical diagnosis of some diseases and parasites infected common carp (*Cyprinus carpio*) cultivated in floating cages at Babylon province. In *Euph. J. Agric. Sci.*(Second Vet. Conf.) (pp. 229-244).

AL-Najare, G.K.; Jabir, A. & Hantoush, A.A. (2015). The concentration of heavy metal(copper,nickel, lead, cadmium, iron, manganese) in Teualosailisha(Hamilton,1822) hunted from Iraqi marine water. Mesopotamina Environmental Journal.1(3):31-43.

**Austin, B.,** Austin, D. A., Austin, B., & Austin, D. A. (2012). Bacterial fish pathogens (p. 652). Heidelberg:: Springer.

**Bart, W.;** Durham, B. W., Bonner, T. H., & Wilde, G. R. (2002). Occurrence of Lernaeacyprinacea on Arkansas River shiners and peppered chubs in the Canadian River, New Mexico and Texas. The Southwestern Naturalist, 47(1), 95-98.

**Barton, B. A., &Iwama, G. K.** (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of fish diseases, 1, 3-26.

**Beveridge ,M.**(2004) . Cage aquaculture, third black wells ,Oxford,pp.368.Biomedical and Pharmacology Journal. 7(1): 333.



**Bolner, K. C. S.; Baldisserto, B.**(2007).Water pH and urinary extraction in silver catfish *Rhamdia quelen*.J Fish Biol.,70:60-64.

**Chukanhom, K., &Hatai, K.** (2004). Freshwater fungi isolated from eggs of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Thailand. Mycoscience, 45(1), 42-48.

**Costa, S. D. C., &Hartz, S. M.** (2009). Evaluation of trace metals (cadmium, chromium, copper and zinc) in tissues of a commercially important fish (*Leporinus obtusidens*) from Guaíba Lake, Southern Brazil. Brazilian archives of biology and technology, 52(1), 241-250.

**El-Khatib, N.R. and El-Hady ,M.A.** (2012). The relationship between *Lernaea cyprina* infestations in *Cyprinus carpio* and its concurrent bacterial disease Egypt-Abbassa Into J-Aqua.5(1).

**Food and Agriculture Organization** FAO.(2016).The state of world aquaculture contributing to food security & nutrition for all food & agriculture organization of United Nations.Rome,Italy.

**FAO,**(2009). Fishstat plus , food and Agriculture Organization of the United national,Rome.

- Frisch, A., & Anderson, T.** (2005). Physiological stress responses of two species of coral trout (*Plectropomus leopardus* and *Plectropomus maculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 140(3), 317-327.
- Gholami, S., Aghanajafizadeh, S., & Naderi, M.** (2016). Measurement the heavy metals content (Cd, Ni and Pb) in the muscle tissue of *Psettodes erumei* and *Psettodes erumei* of the Qeshm Island (Persian Gulf). *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 2(2), 25-33.
- Gilad, O., Yun, S., Andree, K. B., Adkison, M. A., Zlotkin, A., Bercovier, H., ... & Hedrick, R. P.** (2003). Initial characteristics of koi herpesvirus and development of a polymerase chain reaction assay to detect the virus in koi, *Cyprinus carpio* koi. *Diseases of aquatic organisms*, 48(2), 101-108.
- Gül, A.M.Yilmaz;A. Kusçu and S.Benzer** (2010) feeding properties of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) living in Hirfanlı dam loke. *kastamonu Eğitim Derg.*, 18(2):545-556.
- Hedayali, A.** (2018). Growth performance and hemato-immunological response of common carp to fermented *Aspergillus*. *Iranian Journal of Fisheries Science.*, 17(1), 1–10.

**Heydarnejad, M.S.** (2012). Survival & growth of Common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to different water pH levels. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 36(3):245-249.

**Hoole, D., Bucke, D., Burgess, P., & Wellby, I. (Eds.).** (2008). Diseases of carp and other cyprinid fishes. John Wiley & Sons.

**Hotties, Y.K. And Al-Khatib, A.**(2008). Hittis new medical Dictionary. Librairie Duliban.

**Ibrahim, K. S.** (2011). Isolation and pathological study of Branchiomycosis from the commercial pond of common carp (*Cyprinus carpio*) fish, in Governorate of Duhok/Iraq. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 35(1), 1-9.

**Judy, S.** (2008). comparative pathology of fish's ,leger, sea world, Sandiego. Last access 20, October 2010.

**Khalil, R. H., Saad, T. T., Selema, T. A., & Abdel-Latif, H. M.** (2015). Branchiomyces demigrans infection in farm-reared Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) and Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) at different localities in Egypt, with special emphasis to the role of environmental

stress factors. International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries, 1, 15-23.

**Kitto**, M. R. Sadi, R. E. and Tabish, M. (2013). Aquaculture and Food Security in Iraq. Gulf International. 1(1):31-34.

**Kottelat**, M., & Freyhof, J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat.

**Lamphere**, D.N.; Dorn, C.R.; Reddy, C.S. & Meyer, A.W.(1984). Reduced cadmium body burden in cadmium exposed calved fed supplemental Zinc. Environ. Res.,33:119-129.

**Lankford**, S. E., Adams, T. E., & Cech Jr, J. J. (2003). Time of day and water temperature modify the physiological stress response in green sturgeon, *Acipenser medirostris*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 135(2), 291-302.

**Lopes**, J. M., Silva, L. V. F., & Baldisserotto, B. (2001). Survival and growth of silver catfish larvae exposed to different water pH. Aquaculture International, 9(1), 73-80.

**Lucky, Z.** (1977). The diagnosis of bacterial disease by infection experiments. In Hoffman G.L.(ed.) methods for diagnosis of fish disease,Amerind New Delhi p40.

**Luna, L. G.** (1968). Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Company.

**McGavin, M.D.** and Zackary, J.F. (2007). Pathologic Basis of Veterinary Disease , 4th (ed.). Mosby Elsevier, China.

**Mohan, C. V., & Bhatta, R.** (2002). Social and economic impacts of aquatic animal health problems on aquaculture in India. FAO Fisheries Technical Paper, 63-75.

**Mousavi, H. A., Khosravi, A. R., Firouzbakhsh, F., Mokhayer, B., Sasani, F., Mirzargar, S. S., & Rostami, M. I. N. A.** (2005). A case report of Branchiomyces infection in common carp (Cyprinus carpio) from Iran. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 5(1), 105-112.

**Muchlisin, Z. A., Fuadi, Z., Munazir, A. M., Fadli, N., Winaruddin, W., Defira, C. N., & Hendri, A.** (2015). First report on Asian fish tapeworm (Bothriocephalus acheilognathi) infection of indigenous mahseer (Tor

tambra) from Nagan Raya District, Aceh Province, Indonesia. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 18(4), 361-366.

**Piasechi, W.**, Goodwin, A. E., Eiras, J. C., & Nowak, B. F. (2004). Importance of Copepoda in freshwater aquaculture. Zoological Studies, 43(2), 193-205.

**Port, D.E.** , Woodly,C.M.; CechJr,J.J.(2006). Stress associated impacts of short-time holding on fishes . Reviews in fish biology and fisheries.16:125-170.

**Quinn, P. J.**, Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S., & Fitzpatrick, E. I. (2011). Veterinary microbiology and microbial disease. John Wiley & Sons.

**Reza, L.S.**; Mohebn, F.; Houshang ,J.; Hossein, S. N. J. and Mohammad, F. (2014). Infection Rate of common carp (*Cyprinus carpio L.*) to *Lernaea cyprinacea* parasite in Warm Season of Year in farming pond of Shushtar Region Khuzestan Province. Biomedical & Pharmacology Journal.7(1):333.

**Saint -Erne, N.**(2008).disease of koi (Cyp.capr).abstract obstructed from infectious-parasit disease of koi international associations for aqua.

**Shefat, S. H. T. & Karim, M. A. (2018).** Nutritional disease of fish aquaculture & their mangment : Areview . Acta Scientific Pharmaceutical Sciences,2(2581-5423).

**Tophonon, S.S.; Kruatrachue, M.; Upatham, E.S.; Pokethiti Yook,P.; Sahphong. S. & Jaritkhuan,S. (2003).** Histopathological alteration of white seabass Lates calcorifer in culture & subchronic cadmium exposure. Environmenral Pollution.121, 307- 320.

**Trachet, V. V. (2010).** Nutrition and immunity: an update. Aquaculture Research, 41(3), 356-372.

**Troell, M., Naylor, R. L., Metian, M., Beveridge, M., Tyedmers, P. H., Folke, C., &Gren, Å. (2014).** Does aquaculture add resilience to the global food system?. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(37), 13257-13263.

**Türkmen, A., Türkmen, M., Tepe, Y., &Çekiç, M. (2010).** Metals in tissues of fish from Yelkoma Lagoon, northeastern Mediterranean. Environmental monitoring and assessment, 168(1-4), 223-230.

- Vajargah, M., MohamadiYalsuyi, A., Hedayati, A., &Faggio, C. (2018).** Histopathological lesions and toxicity in common carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) induced by copper nanoparticles. *Microscopy research and technique*, 81(7), 724-729.
- Winton,J.R.(2001).**fish health management.In:Wedemeyer GA(ed.) fish hatchery management,PP.559-639.American fishers Society,Bethesda,MD.
- Yera, H., Kuchta, R., Brabec, J., Peyron, F., &Dupouy-Camet, J. (2013).** First identification of eggs of the Asian fish tapeworm *Bothriocephalusacheilognathi* (Cestoda: Bothriocephalidea) in human stool. *Parasitology international*, 62(3), 268-271.