



ISSN2518-0606

Al-utroha الاطروحة

علمية محكمة

صدرت لأول مرة في آب عام ٢٠٠٢

تصدر عن دار الاطروحة للنشر العلمي www.alutroha.com

للعلوم الصرفة

- ★ دراسة بيئية وتشخيصية للطحالب في مشروع ري العلم
- ★ دراسة الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة لـ (٩) أصناف من الزيتون
- ★ تقييم التأثيرات الجزيئية للسماق على الكبد والكلى لذكور الفئران البيض السويسرية
- ★ دراسة تأثير التلوث بعنصر الرصاص على البيئة الصحية في قضائي بلد والدجيل
- ★ دراسة وبائية عن انتشار الطفيليات المعوية في مدينة سامراء
- ★ قياس تراكيز عناصر الرصاص والمنغنيز والنيكل في حواف طرق مدينة أربيل
- ★ قياس مستوى الهوموستتين وبعض الهرمونات التكاثرية بأمصال النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض
- ★ تنمية مجموعة من البكتريا على الأوساط الزرعية القياسية والأوساط المصنعة محلياً (قشور البادنجان) ومعرفة التغيرات الوراثي بتقنية Finger printing
- ★ تقليل التأثير الضار للبيئة الحرجة (الأجهاد المائي) على نبات الماش (L.Vigna Radiata) باستخدام التسميد البوتاسي



Al-utroha الاطروحة

علمية محكمة صدرت لأول مرة في آب عام ٢٠٠٢

تصدر عن دار الاطروحة للنشر العلمي www.alutroha.com

صاحب الامتياز / المشرف العام

إبراهيم زيدان

معتمة من قبل

جامعة سامراء

جامعة ميسان

وزارة التربية / الكلية التربوية المفتوحة

جامعة غرب كردفان السودانية

جامعة أفريقيا للعلوم الإنسانية والتطبيقية الليبية

الجامعة الليبية الكندية للعلوم الحديثة

جامعة الاستقلال الفلسطينية

جامعة القدس المفتوحة

جامعة الزهراء (س) الايرانية

كلية الإمام الكاظم (ع) للعلوم الإسلامية الجامعة

كلية الحكمة الجامعة

كلية شط العرب الجامعة

كلية المعارف الجامعة

المستشار القانوني

احمد عاصي ابراهيم

العلاقات الخارجية

اشواق جميل الاغا

العلاقات العامة

محمد الصادق ابراهيم

محمد اسماعيل

رقم الايداع في دار الكتب والوثائق ببغداد (٢١٧٧) لسنة ٢٠١٦

رئيس التحرير

ا.د. جليل كريم الخفاجي

جامعة بابل

هيئة التحرير

ا.د. حيدر غازي لازم / جامعة ميسان

ا.د. احمد هاشم عبود / جامعة ميسان

ا.د. نادر فاضل حيوبي / الجامعة المستنصرية

ا.د. حازم لويس منصور / الجامعة المستنصرية

ا.د. هيفاء غازي رشيد / الجامعة المستنصرية

ا.د. فريال محمد علي السلامي / الجامعة المستنصرية

ا.د. زياد محمد عبود / الجامعة المستنصرية

ا.د. هادي مدلول الميالي / جامعة القادسية

ا.د. عبد عون الغانمي / جامعة كربلاء

ا.د. شوكت كاظم جواد الشكرجي / جامعة الكوفة

ا.د. حسين علي خضر العيداني / جامعة البصرة

ا.د. علي حسين حمود الموالي / جامعة البصرة

ا.د. عبيد حسن عبد / جامعة الفلوجة

ا.د. انوار ادريس سليمان / جامعة بغداد

ا.م.د. حسن حسين ابراهيم اسكندر / جامعة تكريت

ا.م.د. ميسون طارق توفيق / جامعة بغداد

ا.م.د. زهراء حسين محمد قدرى / جامعة بغداد

ا.م.د. عواطف رزوقي مزعل الديبسي / الجامعة المستنصرية

ا.م.د. بروج محمد رزوقي / جامعة ديالى

ا.م.د. هناء كاظم موسى غزاي / جامعة البصرة

ا.م.د. بشرى عبد المحسن عبد العزيز / جامعة البصرة

ا.م.د. جنان عدنان عبد اللطيف البيروتي / جامعة بغداد

ا.م.د. ابتسام خليفة جاسم / جامعة بغداد

ا.م.د. مهند سامي العلواني / جامعة الزاوية الليبية

تعنون المراسلات باسم السيد المشرف العام :

العراق / بغداد / مكتب بريد بغداد الجديدة / ص.ب (٢٠٢١٦) al.utroha.magazin@gmail.com

rju@alutroha.com

موبايل (فايبر و واتس آب) : 00964-7713965458 / 00964-7902714258

الهيئة الاستشارية العلمية

- ١.د. موسى جاسم محمد الحميش / رئيس جامعة سامراء
- ١.م.د. علي عبد العزيز الشاوي / رئيس جامعة ميسان
- ١.د. محمد جعفر جواد / عميد الكلية التربوية المفتوحة
- ١.د. جاسم محمد علي خلف التميمي / عميد كلية التربية للبنات/ جامعة ديالى
- ١.د. سيد علي فضل المولى /رئيس جامعة غرب كردفان السودانية
- ١.د.المبروك مفتاح أبو شينة / رئيس جامعة أفريقيا للعلوم الإنسانية والتطبيقية الليبية
- ١.د. عبد السلام عصمان بيت المال / رئيس الجامعة الليبية الكندية للعلوم الحديثة
- ١.د. أنيسة خزعلي / رئيسة جامعة الزهراء (ع) الإيرانية
- ١.د. وائل ابو صالح / عميد البحث العلمي والدراسات العليا / جامعة الاستقلال الفلسطينية
- ١.د. صالح سعيد دقيبينة / عميد كلية التربية العجيلات / جامعة الزاوية الليبية

مجلة الاطروحة العلمية المحكمة

نبذة تاريخية :

تصدر المجلة في بغداد عن (دار الأطروحة للنشر العلمي) بموافقة وإشراف وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، وقد استأنفت إصدارها في آب عام ٢٠١٦ بعد توقفها عام ٢٠٠٣ ، وقد صدرت منها ستة أعداد ما بين عامي ٢٠٠٢ - ٢٠٠٣ حين كانت تصدر ملحقاً لمجلة (كلية المعلمين) بالجامعة المستنصرية ، ثم حصلت موافقة معالي وزير التعليم العالي والبحث العلمي (الأستاذ الدكتور عبد ذياب العجيلي) في عام ٢٠٠٩ على استئناف إصدارها مجلة مستقلة بإشراف الوزارة ، ثم تم تجديد الموافقة في زمن وزير التعليم العالي والبحث العلمي الذي اعقبه الاستاذ علي الأديب ، فصدر عددها الاستثنائي الأول في آب عام ٢٠١٦ بعد اكتمال إجراءات تسجيلها لدى المركز الدولي لتسجيل الدوريات فحصلت على التصنيف الدولي (ISSN2518-0606) ، كما اعتمدت من قبل لجنة الترقيات العلمية في وزارة التربية ، ولدار الأطروحة للنشر العلمي ومجلتها موقع الكتروني (www.alutroha.com).

- تصدر المجلة حالياً الآن بست طبعات متخصصة محكمة في العلوم التالية :

- ١- العلوم الانسانية
- ٢- العلوم الصرفة
- ٣- العلوم التطبيقية
- ٤- العلوم الهندسية والتكنولوجية
- ٥- علوم الرياضة
- ٦- العلوم التربوية والنفسية

- تستعد المجلة لإصدار طبعات متخصصة محكمة في المجالات العلمية التالية :

- ١ - العلوم الطبية والصيدلانية
- ٢ - العلوم الزراعية والبيطرية
- ٣ - العلوم السياسية
- ٤ - الاعلام والعلاقات العامة
- ٥ - العلوم الادارية والاقتصادية
- ٦ - العلوم السياحية والآثار والتراث
- ٧ - علوم اللغات وآدابها
- ٨ - الدراسات التاريخية
- ٩ - العلوم الجغرافية
- ١٠ - الدراسات القانونية
- ١١ - تكنولوجيا الاتصالات والمعلوماتية
- ١٢ - العلوم الاجتماعية
- ١٣ - الدراسات الفلسفية
- ١٤ - العلوم الجغرافية
- ١٤ - العلوم البيئية
- ١٥ - الدراسات الدينية وعلوم القرآن

اهداف المجلة :

- تسعى الى خدمة البحث العلمي وتنميته لدى اعضاء الهيئات التدريسية وطلاب الدراسات العليا من دون تمييز في الجنسية او العرق او الدين او الطائفة او القومية .
- تسعى الى حفظ الحقوق العلمية والفكرية والثقافية للباحثين من خلال نشرها وتوثيقها .

شروط النشر

- تنشر المجلة البحوث العلمية في المجالات المعرفية المتعلقة بجميع العلوم في طبعاتها المتخصصة بمنهجية البحث العلمي وخطواته المتعارف عليها عالميا باللغتين العربية والانكليزية على أن تكون مطبوعة بنظام (Word2007) ولم يسبق نشرها ،وفي حالة قبوله يجب ألا ينشر في أية دورية من دون إذن كتابي من رئيس تحرير الطبعة المتخصصة .
- يجب ألا يزيد البحث في جميع الأحوال عن (٢٠) عشرين صفحة بضمنها المراجع والحواشي والجداول والأشكال والملاحق، ويكون نوع الحرف المستخدم (ايريال – Arial) حجم الحرف للبحث (١٤) وللعنوان الرئيس ٢٤ بولد ولاسم الباحث ١٦ بولد ولاسم الكلية والجامعة ١٤ بولد ، وتكون الهوامش والمصادر في نهاية البحث لأسباب تتعلق بالتصميم بحجم ١٢ بولد ، وفي حال زيادة البحث عن عدد الصفحات المقررة يتحمل الباحث / الباحثة فرقا في الأجور عن كل صفحة زيادة ، اما الصفحة الملونة فتكون أجورها بخمسة آلاف دينار للعراقيين ، وللعرب والأجانب بخمسة دولارات.
- تنشر البحوث الانسانية باللغة العربية مع ملخص بالإنكليزية، او الإنكليزية مع ملخص بالعربية .
- تنشر البحوث العلمية باللغة الانكليزية فقط مع ترجمة للعنوان الرئيس واسم الباحث ولقبه العلمي واسم الكلية والجامعة بالعربية .
- يكتب عنوان البحث بالإنكليزية ايضا ان كان البحث بالعربية .
- تكون الخلاصات مطبوعة باللغة الانكليزية فضلا عن وجودها باللغة العربية في البحوث الإنسانية ، وباللغة العربية فضلا عن وجودها بالإنكليزية بالنسبة للبحوث العلمية .
- ترسل البحوث على البريد الالكتروني للمجلة :

rju@alutroha.com

al.utroha.magazin@gmail.com

- اجور النشر :

- ١- بحث الأستاذ / ١٠٠ ألف دينار
 - ٢- بحث الترقية العلمية للعراقيين:
- ١٢٥ ألف دينار + أجور الاشتراك بنسختين من عدد المجلة ، وان كان البحث مشتركا يكون الاشتراك بنسختين لكل باحث (العدد الذي سينشر فيه البحث) .

يكون التسديد بحوالة لمن هو في بغداد أو خارجها باسم المشرف العام (إبراهيم زيدان خلف) ، أو نقدا من خلال مراجعة مقر المجلة في بغداد / بغداد الجديدة / مجمع سر من رأى (الطابق الأرضي) / مجاور شركة الطيف للتحويل المالي / مقابل مطعم النعمان .

٣- بحث الترقية العلمية للعرب والأجانب / ٢٠٠ دولارا أو ما يعادلها باليورو
ملاحظة : يتحمل الباحث رسوم الحوالة .

- أجور النشر من خارج العراق :

- ١٥٠ دولارا أو ما يعادلها باليورو للباحثين ممن هم بدرجة استاذ .
ملاحظة : يتحمل الباحث رسوم الحوالة .

- يكون التسديد لمن هو خارج العراق بحوالة بنظام (Western Union) باسم المشرف العام : (IBRAHIM ZAIDAN KHALAF).

٢- أجور النشر لبحوث طلبة الدراسات العليا على ألا يتجاوز عدد صفحات البحث عن (١٥) صفحة فوئسكاب بضمنها المراجع والحواشي والجداول والأشكال والمباحث ويكون حجم الحرف (١٤) ، وعند زيادة الصفحات عن العدد المقرر يتحمل الباحث/ الباحثة فرقا في الأجور عن كل صفحة .

- داخل العراق : ١٠٠ الف دينار + أجور الاشتراك بنسختين من المجلة إن كان لباحث واحد ، وبنسختين لكل باحث أيضا ان كان البحث مشتركا (العدد الذي سينشر فيه البحث) .

- من خارج العراق : ١٠٠ دولارا أو ما يعادلها باليورو

٣- اجور نشر (بحث مستل) لطالب الدراسات العليا لغاية ١٥ صفحات ب ٧٥ الف دينار للعراقيين + اشتراك بنسختين من عدد المجلة الذي سينشر فيه المستل ، و٧٥ دولارا للعرب والاجانب .

ملاحظة مهمة جداً

- تخضع البحوث لفحص الاستتال قبل إحالتها إلى الأساتذة المحكمين
- يحال البحث الى محكمين اثنين وفي حال الاختلاف في الرأي يحال الى استاذ محكم ثالث لإبداء الرأي بشأن صلاحيته للنشر، ويعاد البحث الى الباحث للعمل بملاحظات الاستاذ المحكم ليكون صالحا للنشر .
- تعاد الأجور إلى الباحث في حال عدم صلاحية البحث للنشر

للتواصل معنا على هواتفنا ايضا (فايبر و واتس آب ايضا)

٠٠٩٦٤٧٧١٣٩٦٥٤٥٨

٠٠٩٦٤٧٩٠٢٧١٤٢٥٨

او زيارة مقرنا في بغداد الجديدة / مجمع سر من رأى (الطابق الارضي) /

مجاور شركة الطيف للتحويل المالي / مقابل مطعم النعمان .

فهرست العدد

الصفحة	البحوث	ت
١١	سرى سمير عبدالحميد المرزة أ.م.د. علي عبدالوهاب أ.د. موسى جاسم محمد الحميش	١- تأثير المستخلص المائي لنبات البروكلي (<i>Brassica oleracea</i>) على بعض الهرمونات لإناث الجرذان البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين
٢٧	ايفان عبد الرحمن حمزة أ.م.د. ياسين محمد احمد (تغيير الوورد)	٢- دراسة تشريحية لبشرة أوراق جنسين من العائلة الآسية Myrtaceae (الأس واليوكالبتوس) في المناطق الوسطى من العراق
٣٩	أ.د. رياض عباس عبد الجبار أ.م.د. طاووس محمد كامل سابين خضر صالح	٣- دراسة بيئية وتشخيصية للطحالب في مشروع ري العلم
٥٧	حسام نافع شاكر محمود أ.م.د. ياسين محمد احمد أ.م.د. رنا هاشم علوش	٤- دراسة الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة لـ (٩) أصناف من الزيتون
٦٧	فاضل حسن ياسين	٥- أول تسجيل لمرض ذبول الأفرع الهندرسونيولي على أشجار الانكيدنيا <i>iobrotraJapanica</i> في العراق ومكافحتها احيائياً
٧٩	غسان خليفة غريب نبيل جمال عائد الأصلي	٦- تحضير وتشخيص بعض المشتقات الجديدة للأوكسادايازول والثايداايازول من حامضي البيوتارك والستيارك /
٩٣	أ.م.د. فوزي حميد جمعة العبيدي عادل حسين دلف المجعي	٧- تحضير وتشخيص بعض مشتقات 1,3- أوكسازيان 4,7- دايون بالطريقة التقليدية وطريقة المايكروويف وتقييم الفعالية البيولوجية
١٠٩	سلمى زهير عبد الله أ.د. عزيز حميد رشيد أ.م.د. عدنان فاضل نصيف	٨- تقييم التأثيرات الجزيئية للسماق على الكبد والكلى لذكور الفئران البيض السويسرية

١٢٥	م.م. ميسون مصطفى جاسم أ.د. توفيق ابراهيم الالوسي أ.د. عبدالله حسين عبدالله	دراسة كيموحيوية عن قابلية اللبن المحضر بواسطة بكتريا <i>Lactobacillus acidophilus</i> في الوقاية من الاسهال المحدث بطفيلي البويغات الخبيثة <i>Cryptosporidium parvum</i> في ذكور الأرناب	٩-
١٤٧	إياد إسماعيل كاظم أ.د. رياض عباس عبد الجبار	دراسة تأثير التلوث بعنصر الرصاص على البيئة الصحية في قضائي بلد والدجيل	١٠-
١٥٩	د.عهد مزاحم شاكر م.م. نبراس عبد العزيز المبعش م.م. مروة مالك الحيالي	دراسة وبائية عن انتشار الطفيليات المعوية في مدينة سامراء	١١-
١٨١	تميم سليمان الجبوري أ.د. إبراهيم عمر سعيد أ.د. قصي كمال الدين	قياس تراكيز عناصر الرصاص والمنغنيز والنيكل في حواف طرق مدينة أربيل	١٢-
١٩٧	م.د. زبيدة عدنان الجشعمي م.م. نبراس سرحان خضير	دراسة السمية الوراثية لعقاري الاندوميثاسين والكلوكوز أمين على بعض جينات الخصوبة لذكور الجرذان البيضاء	١٣-
٢١٣	شيماء احمد صالح أ.م.د. وسن نزهان حسين العاصي	قياس مستوى الهوموستتين وبعض الهرمونات التكاثرية بأمصال النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض	١٤-
٢٢٧	م.م. ايمن احمد عبد الكريم العباسي	مدى استجابة الذرة الصفراء (<i>Zeamays L</i>) لرش البوتاسيوم والزنك	١٥-
٢٤١	م.م. قتيبة حمادي محمود السامرائي	دراسة تأثير العسل على قيمة السكر في الدم مقارنة مع السكر المصنع في الفئران البيض المستحدث فيها مرض السكري	١٦-
٢٥١	أ.د. رشيد حميد حسن حذيفة ارحيم علوان	تنمية مجموعة من البكتريا على الأوساط الزرعية القياسية والأوساط المصنعة محلياً (قشور الباذنجان) ومعرفة التغيرات الوراثي بتقنية Finger printing	١٧-
٢٦٧	م.د. غسان فارس عطية قسم علوم الحياة/ كلية التربية/ جامعة سامراء	تقليل التأثير الضار للبيئة الحرجة (الاجهاد المائي) على نبات الماش (<i>L.Vigna Radiata</i>) باستخدام التسميد البوتاسي	١٨-

Effect of water extract of broccoli plant (*Brassica oleracea*) on some hormones of female white rats exposed to oxidative stress with hydrogen peroxide

تأثير المستخلص المائي لنبات البروكلي (*Brassica*

oleracea) على بعض الهرمونات لإناث الجرذان البيض المعرضة

للإجهاد التأكسدي بيروكسيد الهيدروجين

Sura Samir Abdul Hamid Al-Marza
Asst.Prof. Dr: Ali Abdul wahab Jasim
Prof.Dr: Mousa Jassim Mohammed Al-Humaish
University of Samarra / Colleg of education
Department of Biology

سرى سمير عبد الحميد المرزة
أ.م.د. علي عبد الوهاب جاسم
أ.د. موسى جاسم محمد الحميش
جامعة سامراء / كلية التربية / قسم علوم الحياة

Abstract

The effect of the water extract of broccoli *Brassica oleracea* on some adult female rats hormones was studied to reduce the oxidativestress developed by hydrogen peroxide. The rats age from (3-4 months) and weights from (100-200 g), The experimeat period was from 2016/12 / 18 until 18/18/2017 . Twenty five rats was divided in to Five groups

(Five rats in each group) as follows:- The negative group (C-) was given water and food only group was the positive group (C +) was given food and H_2O_2 (0.5%) in drinking water (group 3 to group 5) were given food and H_2O_2 (0.5%) in drinking water as well as of the broccoli extract (600,500,400 mg / kg) daily and for 30 days, respectively, results showed that the crude extract contained dclcosides, flavonoids, phenolic compounds, carbohydrates, and tannins, as well as resins. When the alkaloids were detected when the Mayer and Marx detectors were found, broccoli contained alkaloids, while the extract did not contain the serotonin, sterols and triterphenoid. The incidence of elevated progesterone concentration, prolactin, and follicle stimulating hormone ($P \leq 0.05$), female white rats subjected to oxidative stress induced by hydrogen peroxide compared to the control group sound, ($P \leq 0.05$), while the results of the current study and statistical data showed no significant differences ($P > 0.05$) for estrogen compared to the control group.

Keywords: Broccoli, hydrogen peroxide, female hormones

الخلاصة

دُرُس تأثير المستخلص المائي لنبات البروكلي *Brassica oleracea* على بعض الهرمونات من خلال التقليل من الاجهاد التأكسدي والمستحدث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين في إناث الجرذان البيض البالغة التي تراوحت اعمارها 3-4 أشهر واوزانها (100-200غم)، للمدة من 2016/12/18 لغاية 2017/1/18 إذ قسمت إلى (25جرذ) إلى 5 مجاميع ، تضمنت كل مجموعة 5جرذان وكالاتي:

المجموعة الاولى وهي مجموعة السيطرة السالبة (C-) أعطيت الماء والغذاء فقط، المجموعة الثانية هي مجموعة السيطرة الموجبة (C+) اعطيت H_2O_2 0.5% في ماء الشرب الاعتيادي والغذاء، (المجموعة الثالثة ولغاية المجموعة الخامسة) اعطيت الغذاء و H_2O_2 0.5% في ماء الشرب الاعتيادي فضلاً عن إعطاءها المستخلص المائي لنبات البروكلي وبالتركيز (600,500,400 ملغم/كغم) على التوالي، يوميا ولمدة 30 يوم، اظهرت النتائج مايتي:

احتواء المستخلص الخام على الكلايكوسيدات، والفلافونيدات، ومركبات فينولية، والكاربوهيدرات، و التانينات، فضلاً عن الراتنجات، حين تم الكشف عن القلويدات عند اجراء كشف ماير وماركس تبين أن البروكلي يحتوي على القلويدات، بينما لا يحتوي هذا المستخلص على الصابونيات والستيرولات والترايتيربينويد، وأظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع في تركيز هرمون البروجستيرون، والبرولاكتين، و الهرمون المحفز للجريبات وبمعنوية ($P \leq 0.05$) لإنات الجرذان البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة، وحدث انخفاضاً بتركيز الهرمون اللوتيني مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة وبمعنوية ($P \leq 0.05$)، بينما أظهرت نتائج الدراسة الحالية ومن خلال البيانات الإحصائية عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) لهرمون الاستروجين مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة.

الكلمات المفتاحية:- البروكلي، بيروكسيد الهيدروجين، الهرمونات الانثوية.

Introduction

The broccoli is a dark, dark green plant with a white carnation, but it has soft flowers and hard-boiled vegetables. It is a winter vegetable belonging to the crusader or cabbage family and is spread throughout the Mediterranean basin. (Boras et al., 2004). Broccoli is one of the top 20 foods in terms of the (INDI) index, which measures vitamins, minerals, calories, and broccoli. The broccoli is a source of vitamin C, vitamin K and minerals, including selenium, Potassium, Magnesium, Manganese Giniz, iron, zinc, thiamine, niacin, riboflavin, carotene, folic acid according to(USDA, 2015).Broccoli is a bioactive plant. Studies show that a diet rich in cruciferous vegetables, such as broccoli, cauliflower, cabbage, Brussels sprouts, cauliflower, Can significantly reduce the risk of certain forms of cancer (Kohlmeier& Su, 1997). Studies have shown that broccoli works as an antioxidant and a free-radical crusher and can be used as a dietary supplement to reduce oxidative stress because it contains flavonoids and phenolic compounds in the methanolic extract of the plant (Bhagat et al., 2012).Le et al. (2003) noted that broccoli possessed a DIM

compound. This compound has anti-androgen properties that can be used as a testosterone for human androgen androgen antagonist when treating prostate cancer. Broccoli has an important role in the body as it regulates Estrogene because it contains DIM and I3C, which have an effect on the concentrations of estrogen metabolites. They reduce the metabolite of 16-Dihydroxyestrone (16-DHE) and have a detrimental effect on breast cancer. (DIM and I3C) increases the concentration of the body's non-harmful estrogen (DH-2) (Rajoriaetal., 2011). And between (Jeffery and Keck 2008) that eating five or more servings of broccoli every week has a protective effect on bladder cancer.

Materials and methods

The plant used in the research and the method of preparing the broccoli extract:-The water extract of the plant samples is prepared by taking 100 g of dried powder mixed with 1000 ml distilled water using the electric mixer and left for 24 hours at room temperature. The mixture is then filtered using layers of medical gauze and then centrifuged at 3000 cycles per minute for 10 minutes after that the extract was filtered using filtration papers to obtain a clear solution. The extract is dried using the incubator at 38 ° C and then kept in the refrigerator until use (Al-Badri, 2013)

Experminet Design:-First group: (G1) First control group (negative): given water and food only. Second group (G2): Second control group infected (positive): Hydrogen peroxide was given at 0.5% concentration with normal drinking water and prepared daily (G3, G4, and G5). Hydrogen peroxide was given 0.5% with normal drinking water and 0.2 mL of broccoli extract was extracted at a concentration of 400, 500 and 600 mg / kg of body weight)

respectively orally via tubular feeding and fed daily for 30 days.

Estimate the level of sex hormones:-Determination of the level of sex hormones Following the steps accompanying the pre-set analysis of the ELISA manufacturer's instructions, Hormonal concentration (LH, FSH) was assessed in the serum following the method attached to their prepared analysis kit and based on ELISA (Lenton et al., 1982), and progesterone and estrogen by (Tietz,1994)and milk hormone (Maddox et al., 1991)

Results and discussion

Specific data for active compounds in broccoli:-

An empirical study was conducted to detect the active compounds in the raw extract of the broccoli plant. The results showed a clear variation in the ingredients of the extract as in Table (1).The results of the study showed that the raw extract contains clicosides, flavonoids and phenolic compounds. These substances have many biological functions and act as antioxidants against free radicals. These results are consistent with (Villarreal-Garcia & Jacobo-Velazquez 2016) and contain carbohydrates. (Abdel Magiedetal., 2016). Tannins, which are of great importance, are a source of energy consumed by plants in the process of bio-metabolism and protect plants from fungi and harmful insects. This study is compatible with Delimontetal., 2017), as well as resins These findings are consistent with (Thongsook& Barrett 2005).While the alkaloids were detected with three reagents when conducting the Drankdrov test, it was found that broccoli did not contain alkaloids. This was not consistent with (Talreja& Moon (2014). When the Mayer and Marx tests revealed that broccoli contained alkaloids, (Talreja Moon, 2014), while this study does not contain soap and sterols. This study is

consistent with (Talreja & Moon 2014) and triterphenoid. This study was consistent with (Martelancetal., 2007). **Prolactin hormone:** -The results of the present study showed a significant increase in the hormone prolactin ($P \leq 0.05$) for female white rats exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide compared with the control group sound as in Figure (1). The reason for the rise of milk hormone (prolactin) to low levels of progesterone Which inhibits the production of a hormone inhibitor of milk from the hypothalamus leading to the production of milk hormone from the pituitary gland (Akidi, 2009). The presence of effective oxygen, which is produced by the oxidative stress caused by hydrogen peroxide as it inhibits the effectiveness of the neurotransmitter dopamine due to a defect in the pituitary gland and lead to the production of milk hormone in large quantities, and in a study conducted on female infertility, Important causes of infertility are due to high levels of prolactin (Ajibola et al., 2012). This inhibits the ovarian cycle and then prevents the secretion of follicle stimulating hormone (FSH) and gonadotropin hormones. The results of the treatment with the water extract of the broccoli produces a rise in the levels of prolactin compared to the control group, and also in comparison to the control group exposed to oxidative stress Induced by hydrogen peroxide in the group that was injected with 600mg / kg of the water extract. These results were consistent with Eniola et al., 2012). The study was conducted on a group of non-pregnant women found that the high milk hormone may lead to infertility and the reason for the rise to lower levels of progesterone and then not the occurrence of ovarian cycle, as the hormone progesterone a major role in regular menstruation and the occurrence of changes during pregnancy (Berkson, 2016), while significantly decreased in the group of 400mg / kg and 500, due to the flavonoids

contained in the broccoli (Feucht et al., 2016), which activates the neurotransmitter dopamine, which in turn inhibits the production of milk hormone (YE et al., 2010 where both Fitzgerald and Dinan (2008) reported a N The neurotransmitter Dopamine is of great importance as being a major inhibitor of secretion of the milk hormone.

LH hormone:-The results of the present study showed that there was a decrease in the concentration of LH compared with the control group and ($P \leq 0.05$) as in Fig. (2). This study was consistent with Eniola et al., 2012, due to the low levels of LH In the levels of the milk hormone or as a result of damage to the functions of the pituitary due to some diseases (Mancini et al., 2008) as well as a shortage of antioxidants that remove the free radicals caused by hydrogen peroxide (Goud et al., 2008). As for the treatment with the water extract of broccoli, we note a rise in comparison with the control group exposed to oxidative stress by hydrogen peroxide. This is due to the fact that broccoli contains substances such as vitamin E, which plays an important role in the process of pituitary changes. These changes lead to increased concentration of lutein (Hamad, 2013).

Follicle stimulating hormone FSH:-The results of the present study showed an increase in the concentration of follicle stimulating hormone in female rats exposed to oxidative stress by hydrogen peroxide compared with the control group and ($P \leq 0.05$) as in Figure 3. This study is consistent with (Mieroetal .,2004) The reason for the increase in follicle stimulating hormone is that the free radicals affect the ovary and produce the hormone. It is responsible for the weak egg and it affects the reproductive system because it acts as signaling molecules for a number of diseases and infections that affect the body (Raietal., 2015). As for the treatment with the water extract of

broccoli, we note a decrease in the levels of follicle stimulating hormone in the concentration of 500mg / kg in the water extract compared with the control group of female rats exposed to oxidative stress with hydrogen peroxide. This study agreed with(Meissner et a., 2005) Maca, which is one of the types of broccoli for men, and there was a decrease in levels of hormone stimulating follicles and this is because the broccoli contains flavonoids contained in broccoli and works to reduce sex hormones also contain antioxidants and some vitamins such as vitamin E (Kootietal., 2015). In the other concentrations (600,400mg/kg), the statistical results showed no significant differences. This study was consistent with Brooks etal (2008). The study was conducted on women by giving Maca, which is a broccoli. Significant differences.

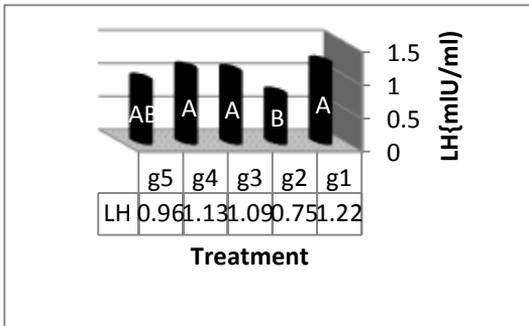
Estrogen hormone:- The results of the current study and statistical data showed no significant differences ($P>0.05$) in estrogen between the group of rats exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide and the control group sound as in Figure (6). As for treatment with water extract, we note that there was an increase in comparison with the negative and positive control groups of rats exposed to oxidative stress in the group of rats, which was 400mg /kg. This result coincided with (Krishnamoorthyetal .,2013). The broccoli contains vitamin E and C (Porter, 2012) or may be due to the flavonoids contained in broccoli that have been detected in the specific qualitative data that activate genes responsible for estrogen production (Jarryetal., 2003) In the group of rats with a concentration of 600mg / kg, there was no significant difference in statistical results, while estrogen concentration decreased in the group of rats with a concentration of 500mg / kg. This result was consistent with(Gavaler ,1998) The hormone to the hormonal imbalance of these groups

due to the hypothalamus affected the oxidative stress caused by hydrogen peroxide and thus adversely affect the production of estrogen.

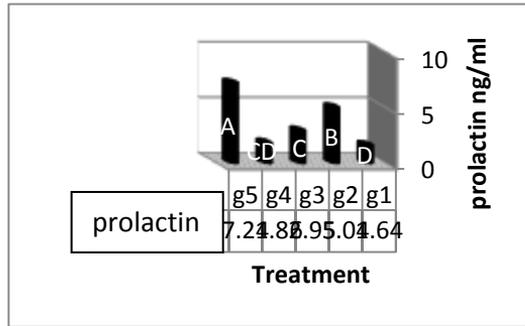
Progesterone:-As shown in Figure 5, the results of the study showed that the progesterone concentration of ($P<0.05$), for females of white rats exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide compared to the control group was good. This study agreed with (Al-Azemi ,2012) Progesterone is due to lower levels of estrogen and thus reduces the risk of pregnancy, which reduces fertility as well as the role played by free radicals on the ovary in reducing the number of follicles in the ovary (Shkolnik et al., 2011) The results of the treated groups of broccoli showed a decrease in progesterone concentration. The group with 600 mg / kg of alcohol extract was the lowest and the results were consistent with the researcher (Saleh, 2015).The study was conducted on the female white rats through the dosage of broccoli juice, which led to the effects of positive reduced the number of objects or zero effectiveness or both and there was a significant decrease in the rate of body weight and ovaries and fatty pillows as well as a significant increase in weight of the uterus, Studies on the use of water and alcohol extract of broccoli in this area, may be attributed to the antioxidants contained in the broccoli plant, which works to fight free radicals and prevent their formation, such as active compounds, such as flavonoids, which is a group of polyphenols and Some vitamins, including vitamin E, which have a sweeping effect of free radicals as well as their ability to inhibit the damage induced by the process of oxidation, including hydrogen peroxide.

Table (1) Specific data for active compounds in broccoli

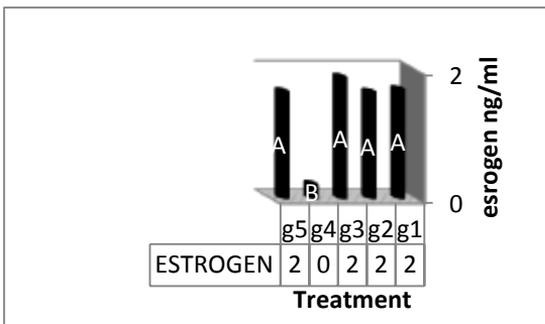
Result of detection of raw extract of broccoli plant	Detection Name	General Statements
+	Molch revealed	Carbohydrate detection
+	Detection of sodium hydroxide	Detection of clicosides
-	Drankdorff revealed	Detection of alkaloids
++	Meyer revealed	
+	Marx revealed	
-	Foam detection	Detection of sapphones
++	Detection of resins	Detection of resins
-	Skalkowski revealed	Detecting sterols
+	Detection of flavonoids and flavonols	Detection of flavonoids
++	Detection of iron chloride	Detection of phenols and phenolic compounds
-	Detection of triterphenoid	Detection of triterphenoid



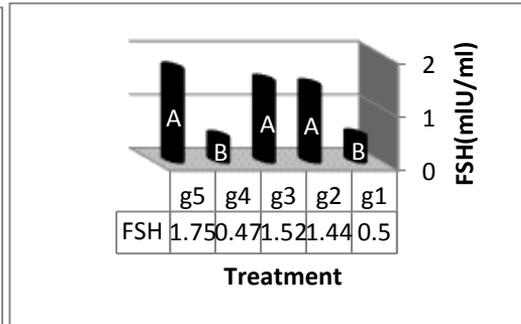
FIG(2) Effect of aqueous extract of Broccoli for (30 days) on LH levels in female rats exposed to hydrogen peroxide (0.5%) in drinking water



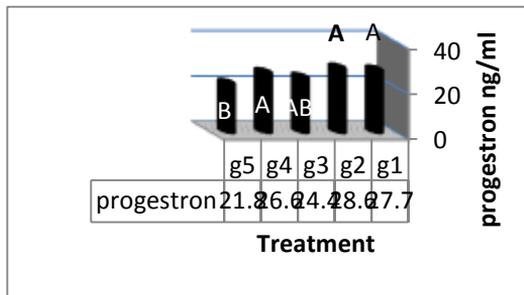
FIG(1) Effect of aqueous extract of Broccoli for (30 days) on prolactin levels in female rats exposed to hydrogen Peroxide (0.5%) in drinking water



FIG(4) Effect of aqueous extract of Broccoli for (30 days) on estrogen levels in female rats exposed to hydrogen peroxide (0.5%) in drinking water



FIG(3) Effect of aqueous extract of Broccoli for (30 days) on FSH levels in female rats exposed to hydrogen peroxide (0.05%) in drinking water



FIG(5) Effect of aqueous extract of Broccoli for (30 days) on progesterone levels in female rats exposed to hydrogen peroxide (0.05%) in drinking water

Estrogen	Progesteron	PRL	LH	FSH	standar
Mean ± s.d	Mean ± s.d	Mean ± s.d	Mean ± s.d	Mean ± s.d	aggregates
1.69± 0.27 A	27.73±1.91 A	1.64± 0.46D	1.22± 0.31 A	0.5± 0.09B	G1
1.65 ± 0.23A	28.56±4.14 A	5.04± 0.27 B	0.75 ± 0.18 B	1.44 ± 0.25 A	G2
1.88 ±1.38 A	24.41 ±3.13 AB	2.95± 0.97C	1.09 ± 0.19 A	1.52 ± 0.26 A	G3
0.22 ±0.24 B	26.56 ±3.49 A	1.86± 0.50CD	1.13 ± 0.11 A	0.47 ± 0.09 B	G4
1.66 ± 0.24 A	21.87 ±1.46 B	7.24±1.66A	0.96 ± 0.11 AB	1.75 ± 0.45 A	G5

Table (2) The rate of female hormones measured in different treatments

_Values represent the mean ± standard deviation.

_The vertically different letters mean a significant difference at a significant level (p <0.05) .

References

المصادر

البدري ، نور عصام عبد الازراق (2013). دراسة كيموحيوية لرايزومات الكركم كمضاد للأكسدة في الارانب المعرضة للإجهاد التأكسدي. رسالة ماجستير، كلية التربية- جامعة سامراء.

بوراس، متيادي ؛ بسام، أبوتراي ؛ ابراهيم، البسيط.(2004). انتاج محاصيل الخضار. جامعة دمشق.ص465 .

حمد، هدى ساجر ناصر(2013). تأثير المستخلص المائي لنبات الميرامية في عدد من المعايير الفسلجية والكيموحيوية والهرمونية في دم الجرذان البيض السليمة والمعرضة للإجهاد التأكسدي. رسالة ماجستير، كلية التربية-جامعة تكريت.

صالح، رقية احمد (2015). تأثير عصارة نبات البروكلي في متلازمة تعدد الاكياس المبيضية المستحثة في الجرذ الأبيض. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، ابن الهيثم- جامعة بغداد.

العكدي، رنا ابراهيم خليل (2009). دراسة التغيرات الحاصلة في مستوى الهرمونات الجنسية وهرمون البرولاكتين وعلاقتها بمكونات الحليب لدى النساء المرضعات. رسالة ماجستير، كلية العلوم- جامعة تكريت.

Abdel Magied, M.M.; Allan, A.M.; Mohamed, N.E. (2016). Evaluation of the bioactive compounds of fresh as well as processed broccoli and cauliflower as hypoglycemic and hypocholestrolemic agent . IOSR-JPBS. 11: 91-100.

Ajibola, M.; Oloruntoba, A.C.; Valeria, O.N.(2012). A study on prolactin hormone and female infertility in national hospital Abuja, Nigeria. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences.2(2):38-41.

Al-Azemi, M.; Kyrou, D.; Kolibianakis, E.M. (2012). Elevated progesterone during ovarian stimulation for IVF. J.rbmo.24:381-388

Berkson, D.L. (2016). Hormone deception. 3rd ed .published by Wakened medicine Albuquerque, NM Austin, TX.

Bhagat, S.V.; Varma, M.E. &Patil, R.N.(2012). Study of free radical scavenging activity and phytochemicals of the methanol extract of broccoli (Brassica oleracea).RJPBCS.3(4):623-628.

Brooks, N.A.;Wilcox, G.; Walker, K.Z. (2008). Beneficial effects of lepidiummeyenii (Maca) on physiological symptoms and measures of sexual dysfunction in postmenopausal women are not related to estrogen or androgen content. Menopause 15(6): 1157-62.

Delimont, N.M.; Haub M.D.; Lindshield, B.L. (2017). The impact of tannin consumption on Iron Bio availability and status: a narrative review. Current development in nutrition no. 17-31.

Eniola, W.O.; Olufemi, A.A.; Adetola, A.A.; Oladipupo, M.A. (2012). Pattern of reproductive hormones (follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, estradiol, progesterone and prolactin) levels in infertile women in sagamu south western Nigeria. Derpharmacia letter 4(2): 549-553.

Feucht, W; Schmid, M.; Treutter, D. (2016). Acclimation changes of flavonoids in Needs of conifers during heat and drought stress. Climate ,4, 35.

- Fitzgerald, P. & Dinan, T.G. (2008). Prolactin and dopamine: What is the connection? A review article. *J Psychopharmacol* .22: 12-19.
- Gavaler, J.S. (1998). Alcoholic beverages as a source of estrogens. *J Alcohol health & research world*. 22: 3.
- Goud, A.P.; Goud, P.T.; Diamond, M.P.; Gonik, B.; Adu-Soud, H.M. (2008). "Reactive oxygen species and oocyte aging : role of superoxide , hydrogen peroxide , and hydrochlorous acid" , *Free radic . Biol . Med* .44. pp:1295-1304.
- Jarry, H.; Spengler, B.; Porzel, A.; Schmidt, J.; Wuttlu, W.; Christoffel, V. (2003). Evidence for estrogen receptor B-Selective activity of *Vitex agnus-castus* and isolated flavones. *Plant Medica*, 69K:645-647.
- Jeffery, E.H. & Keck, A.S. (2008). Translating knowledge generated by epidemiological and in vitro studies into dietary cancer prevention. *Mol Nutr Food Res*, 52(1):S17.
- Kohlmeier, L. & Sum L. (1997). Cruciferous vegetable consumption and colorectal cancer risk: Meta-analysis of the epidemiological evidence. *The J. of the Federation of Amer. Socie. For Expe. Bio.*, 11:2141-2141.
- Kooti, w.; Ghasemi-boroon, M.; Ghaffourian, M. (2015) The effect of celery leaf extract on male hormones in rats . *J. Herb. Med pharmacol*, 4(2): 56-60.
- Krishnamoorthy, P & Sivarajanik. (2013). Effect of *Andrographis paniculata* Wall. Ex Nees root extract fractions on estrogen, FSH, LH, Progesterone and ovary of female albino rats, *Rattus norvegicus*. *Indian J. of Natural products and Resource*. Vol. 4(1). Pp. 42-47.
- Le, H.T.; Schaldach, C.M.; Firreston, G.L. & Bjedanes, L.F. (2003). Plant-derived 3,3-Diindolymethane is a Strong Androgen Antagonist in Human Prostate Cancer Cells. *J. Boil. Chem. U.S.A.* 278(23). pp21136-21145.
- Lenton, E.; Neal, L.; Sulaiman, R. (1982). "Plasma Concentrations of Human Gonadotropin from the time of implantation until the second week of Pregnancy", *Fertility and Sterility*. 37:773-778.

- Maddox, P.R. ; Jones, D.L.; Mansel, R.E.(1991). *ActaEndocrinol.* 125(6) :621-627.
- Mancini, T.; Casanueva, FF.; Giustina, A. (2008). Hyper prolactinemia and Prolactinomas. *EndocrinolMetabClin North America* .37(1) : 67-99.
- Matelanc, M.; Vovk, I.; Simonovska, B. (2007). Determination of three major triterpenoids in epicuticular wax of cabbage (*Brassica oleracea L.*) by high- performance liquid chromatography with UV. And mass spectrometric detection. *J. of chromatography*. 1164. 145-152.
- Meissner, H.O.; Kapczynski, W. (2005). Use gelatinized Maca (*Lepidiumperuvianum*) in early postmenopausal women. *Int J. Biomed Sci* 1:33- 45.
- Miro, F.; Parkerb S.W.; Aspinall, L.J. (2004). Relationship between follicle- stimulating hormone levels at the beginning of the humane menstrual cycle length of the follicular phase and excreted estrogens the freedom study. *The Journal of clinical endocrinology & metabolism* . 89(7): 3270- 3275.
- Porter, Y. (2012). Antioxidant properties of green broccoli and purple – sprouting broccoli under different cooking conditions. *J. Bioscience Horizons* V.5.10- 1093.
- Rai, S.; Basheer, M.; Ghosh, H. (2015). Melatonin attenuates free radical load and reverses histologic architect and hormone profile alteration in female rat: an *In vivo* study of pathogenesis of letrozole induced poly cystic ovary. *J. Clin Cell Immunol.* Vol. 6.
- Rajoria, S.; Suriano, R. &Parmar, S.P.(2011). Pilot study:3,3' - diindolymethane (DIM) modulates estrogen metabolism in patients with thyroid proliferative diseases.*Thyroid*.21(3):299-304.
- Shkolnik, K.; Tadmor, A.; Ben-Dor, Sh. (2011) Reactive oxygen species are indispensable in ovulation . *PNAS.* vol 108, no. 4/ 1463.

- Talreja, K. & Moon A. (2014). Brassica oleracea : phytochemical profiling in search for anticancer compounds. Int. J. of life science&pharma research. Vol.4.
- Thongsook, T. & Barrett D.M.(2005). Purification and partial characterization of broccoli (Brassica oleracea Var. Italica) peroxidases . J. Agric. Food chem . 53, 3206- 3214.
- Tietz, N.W.(1994).Text book of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference.(2015). raw broccoli. Rport 11090.
- Villarreal- Garcia D.&Jacob- Velazquez, D. (2016). Glucosinolates from broccoli: nutraceutical properties and their purification. Current trends in nutraeuticals. Vol. 1, no. 1:5.
- YE, Q.; Zhang, QY.; Zhang, CJ.;Wang, Y.;Qin, LP.(2010). Casticin, a flavonoid isolated from Vitexrotundifolia, inhibits prolactin release in vivo and vitro. Act Pharmacol Sin.31(12):1564-1568.

***Anatomy study for leaves Epidermal
for two Genera from Myrtaceae
family(Eucalyptus and Myrtus).in the
middle region of Iraq.***

**دراسة تشريحية لبشرة اوراق جنسين من العائلة الآسية
Myrtaceae (الأس واليوكالبتوس) في المناطق الوسطى من
العراق**

**Evan Abdul rahman Hamza
Prof. Dr.Yaseen Mohammad Ahmed
Department of Biology/ College of Science/ University of
Tikrit**

ايفان عبد الرحمن حمزة
أ.م. د ياسين محمد احمد
قسم علوم الحياة /كلية العلوم / جامعة تكريت

Abstract

The research included anatomical study for two genera from Myrtaceae family (Eucalyptus and Myrtus coomunis).The research covered the anatomical characteristic of the Epidermis.This research also showed differences in stomatal complex espattern,and the characteristic that related to the shapes of the Epidermal cells have also important taxonomic and diagnostic value in two genera under study.

Introduction

Myrtaceae is an angiosperm family of trees and shrubs that belongs to the order Myrtales containing on most from 5650 species organisation in 130 to 150 genera[1].

The family is divided in to two subfamilies,17 tribes and 142 genera[2].

The family is mainly distributed in the southern hemisphere[3], and is especially diverse in south and central America[4] and Australia[5] and tropical Asia as well as Africa and Europe[6][7].

Eucalyptus is one of the most important genus in the Myrtaceae family, which includes about 500-600 species of trees and shrubs, which present the majority of trees that dominate the forests and most species of genus *Eucalyptus* origin in Australia[8], *Eucalyptus* is one of the largest species in this family[9].

The *Eucalyptus* genus is the source valuable wood and cultivated of the most in the world[10], with 18 million hectares in 90 tropical and sub tropical countries, Africa, south America, Asia and Australia[11].

Myrtus communis are also known as Myrtle true or simple myrtle, which is an evergreen shrub that has been cultivated in the mediterranean region and the middle east where it sowing overland and cultivated including Iraq, Turkey, Iran and Jordan also grows wild in Syria in the mountains of the country's Western-Sham and other countries[12].

Material & Method

Preparation of epidermis sample

Epidermal samples were prepared based on what was stated in the [13]. Models of leaves of each species were selected ,the removal of the upper and lower epidermal was performed using forceps of two sharp ends .The extracted epidermal was then transferred to a petri dish containing safranin by concentration 0.05% and dissolved in ethyl alcohol concentration of 50% and the epidermal was then transferred to a Petri dish containing an ethyl alcohol 70% concentration and several times, and the epidermal is then transferred to glass slide and put a drop of glycerin on it and then covered with the cover slide and then it was ready for examination and the shapes and dimensions of the cells were studied ,as for the stomata, the slides were prepared to study the stomata in the studied species according to the[14]method,In this way, the transparent nail polish was used so that the entire layer of the epidermal was completely painted and then left to dry the coating layer was then carefully cut from the epidermal surface and placed on a clean glass slide .The anatomical study included the following:

Stomatal complexes(Length of the stomata device ,width of the stomata device ,Length of aperture stomata ,width of aperture stomata),Calculation of the stomatal index by equation:

Stomatal index=number of stomata/number of stomata +number of ordinary epidermal cells×100

I took 25 readings for each species and then I took the averages for them.

Results and Discussion

Lamina : Epidermis and stomata

Measurements of epidermal cells and stomata are summarized in **table 1**. There are usually differences in cell form and dimensions between the upper epidermal and lower epidermal surfaces of the leaf as well as between two genera studied.

Where epidermal cells showed a clear difference in their dimensions, where it was observed that the highest extent of the dimensions of epidermal cells in the *Eucalyptus* genus was recorded in the *E.torwood species* (20.5×39.2)um of lower epidermal and (22×38)um of upper epidermal in same species ,While the lowest extent of the dimensions epidermal cells was recorded in the *E.torquata species* (16×22.5)um of the lower epidermal and in both species *E.torquata* and *E.salmanophloia* (17.5×24)um for the upper epidermal as for rest of the species they were intertwined between these two extrnts. When comparing the two genus it was observed that *Myrtus communis* recorded a higher limit than the minimum in the species of genus species for the lower epidermal and less than the upper limit in the species of *Eucalyptus* genus, which reached (12×27.5) um, as for upper epidermal was recorded *Myrtus communis* is a minimum of all species of *Eucalyptus* genus which reached (13.5×21.8)um, as for the mid-rib cells, it was characterized by rectangular shape with straight walls and both genus.

Anticlinal walls of epidermal cells exhibit a little difference between species they are normally straight curved sometimes

Stomata are the narrow elliptical shape of the elongated or Wide elliptical shape on either sides then often more numerous on the abaxial epidermis in the remaining species.

Although ranuncul aceous stomata are present in all species of genus *Eucalyptus* but *Murtus* showed another types in addition to the ranuncul aceous type (**table 2**).Guard cell are kidney shape.[15] supported this truth when they pointed that stomata in Myrtaceae are usually ranuncul aceous except in a few species. Both[16] and [17] found nearly similar types when they observed three types of stomata :anomocytic and anisocytic.

As for the dimensions of the stomata, the highest rate of removal of the stomata in the top surface of the epidemal of the leaf in the *Eucalyptus* genus was recorded in the *E.woodwordii* species (19.3-30.8)um and the lowest rate of recorded in the species *E. torwood*(15.8-21.6) um,as for the lowest rate for the removal of the stomata in the lower surface of the epidermal of the leaf in the species *E.torwood*(15.4-23.6)um and the highest rate for the removal of stomata in the species *E.torquata*(23.2×37.4)um,When comparing the two genus, it was found that the species of *Eucalyptus* genus were higher than the *Myrtus communis* for the holes in the lower surface where it reached the *Myrtus communis*(17.4×18.2)um,as for the stomata in the upper surface, it was in *Myrtus communis*

with a rate similar to the minimum Eucalyptus genus, which reached (13.2x21.6)um. Stomatal complexes can be believed as a significant character in the identification of species.

Table 1. Epidermal cells and stomata dimensions in leaves of two genus (*Eucalyptus* and *Myrtus communis*) in micrometer.

Rate length*Rate width for ordinary cells		Stomatal index on Upper Surface	Stomata in Upper Surface		Stomatal index on Lower Surface	Stomata in Lower Surface		Species
Upper Surface	Lower Surface		Width	Length		Width	Length	
١٤x٣٠	١٣x٢٥	١٨,٣ b	-١٦,٤٤ (١٨) ١٧,٤٣ c	-٢٤٤ (٢٨,٥) ٢٦,٣ b	٢١,٥ c	(٢٦-١٩,٢) ٢٢,٥ b	(٢٨-٢٧,٨) ٣٢,٤ c	<i>E.camaldulens</i> <i>issubsp.camaldulensis</i>
١٦x٢٨	١٥x٢٣	٢٠,٢ a	-١٦ (١٩,٥) ١٧,٤٣ c	-٢٢ (٢٧,٥) ٢٥,٦ b	٢٣,٢ b	(٣٢,٥-٢٥) ٢٩ a	(٣٦,٣-٢٩) ٣٢,٠٧ c	<i>E.camaldulens</i> <i>issubsp.obtusa</i>
٢٠x٢٨,٤٦	٢٤,٥ ١٨	١٤,١ c	-١٧,٥٥ (٢١) ١٩,٤٣ b	-٢٨ (٣٣,٣) ٣٠,٨ a	٢٩,٦ a	(٢٥-٢٠,٤١) ٢٣,٢ b	(٣٩-٣٥,٨) ٣٧,٤ a	<i>E.woodwardii</i>

٢٢x٣٨	x٢٩٤٢ ٢٠٤٥	٢٠٤٧	-١٥) (١٧٤٢	-٢٠) (٢٣٤٥	٢٢	-١٤٤٨) (١٦٤٦	(٢٥-٢٢٤٧)	<i>E.torwood</i>
		a	١٥٤٨	٢١٤٦	bc	١٥٤٤	٢٣٤٦	
			d	c		e	f	
١٧٤٥x٢٤	x٢٢٤٥ ١٦	١٢٤٧	-٢٠) (٢٤٤١	-٢٨٤٦) (٣١	١٥,١	(٢١٤٣-١٩)	-٣٠٤٥) (٣٨٤٥	<i>E.torquata</i>
		d	٢١٤٧	٢٩٤٦	de	٢٠٤٨	٣٣	
			a	a		c	b	
x٢٤٤٣ ١٧٤٥	١٥x٢٦	١٣٤٣	-١٦) (٢٠٤١	-٢٥٤٣) (٣٣٤٢	١٤,١	(١٨٤٤-١٥)	(٣٤٤٣-٢٨)	<i>E.salmanophlo ia</i>
		cd	١٨٤٢	٣٠٤٦	ef	١٦٤٦	٣١٤٥	
			bc	a		de	d	
x٣٠٤٤ ١٨٤٥	x٢٧٤٦ ١٧	١٤٤٧	-١٦٤٦) (١٩٤٥	-٢٥٤٣) (٢٨٤٥	١٦,٠٨	(٢٢٤٥-١٩)	-٢٧٤١) (٣١٤٥	<i>E.microthica</i>
		c	١٧٤٧	٢٦٤٤	d	٢٠٤٦	٢٩٤٤	
			c	b		c	e	
x٢١٤٨ ١٣٤٥	x٢٧٤٥ ١٢	١٢٤٥	(١٥-١٠)	(٢٥-٢٠)	١٣,٦	(١٩٤٣-١٥)	(٢٠-١٦)	<i>Myrtuscommu nis</i>
		d	١٣٤٢	٢١٤٦	f	١٧٤٤	١٨٤٢	
			e	c		d	g	

Note: The numbers out brackets represent average.

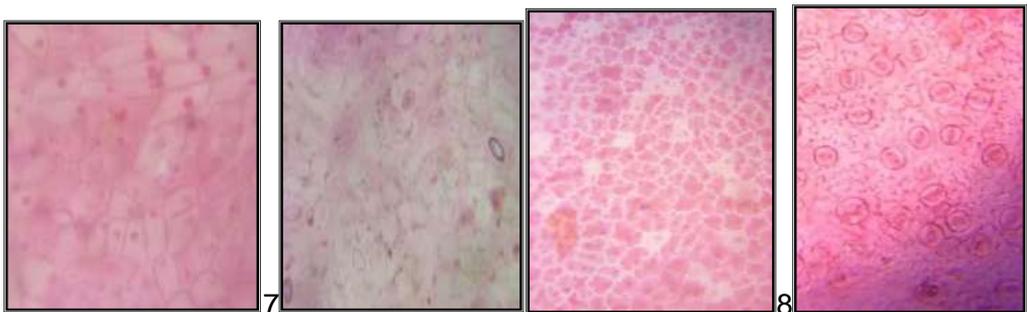
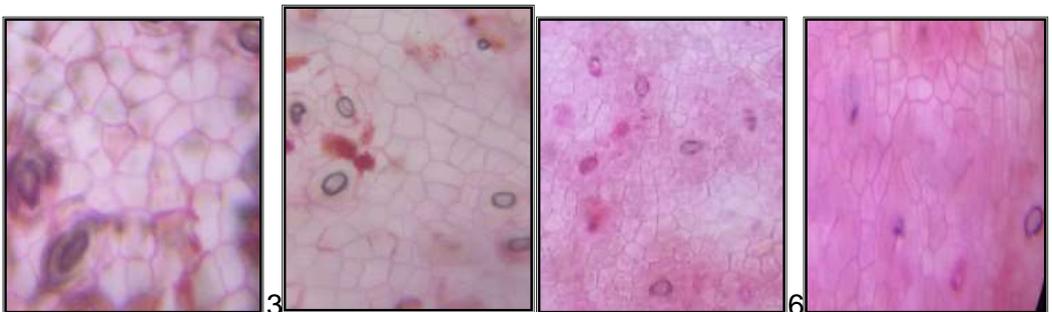
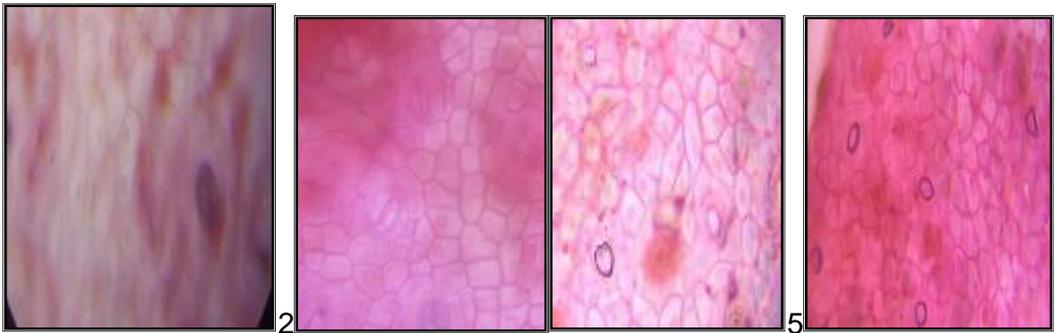
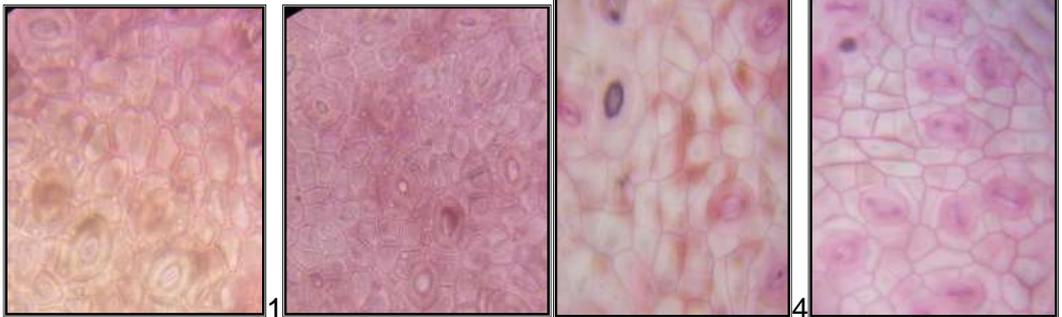
Lower epidermal			Upper epidermal			Species
Number of surrounding epidermal cells	Shape of the guard cells	Stomatal complex type	Number of surrounding epidermal cells	Shape of the guard cells	Stomatal complex type	

5 A	Elongat ed kidney	A	4 A	Elongat ed kidney	A	<i>E.camaldulensis</i> <i>subsp. camaldulensis</i>
5 A	Elongat ed kidney	A	4 A	Elongat ed kidney	A	<i>E.camaldulensis</i> <i>subsp.</i> <i>obtusa</i>
3 A	Kidney	A	4 A	Kidney	A	<i>E.woodwardii</i>
4 A	Elongat ed kidney	A	5 A	Short kidney	A	<i>E.torwood</i>
4 A	Elongat ed kidney	A	4 A	Kidney	A	<i>E.torquata</i>
5 A	Short kidney	A	4 A	Kidney	A	<i>E.salmanophlia</i>
3 A	Kidney	A	4 A	Short kidney	A	<i>E.microthica</i>
3 A	Kidney	A+An	3 a	Kidney	A+An	<i>Myrtuscommunis</i>

Table 2. qualitatively of the guard cells in the leaves of two genus (*Eucalyptus* and *Myrtuscommunis*) in micrometer.

A=Anomocytic type

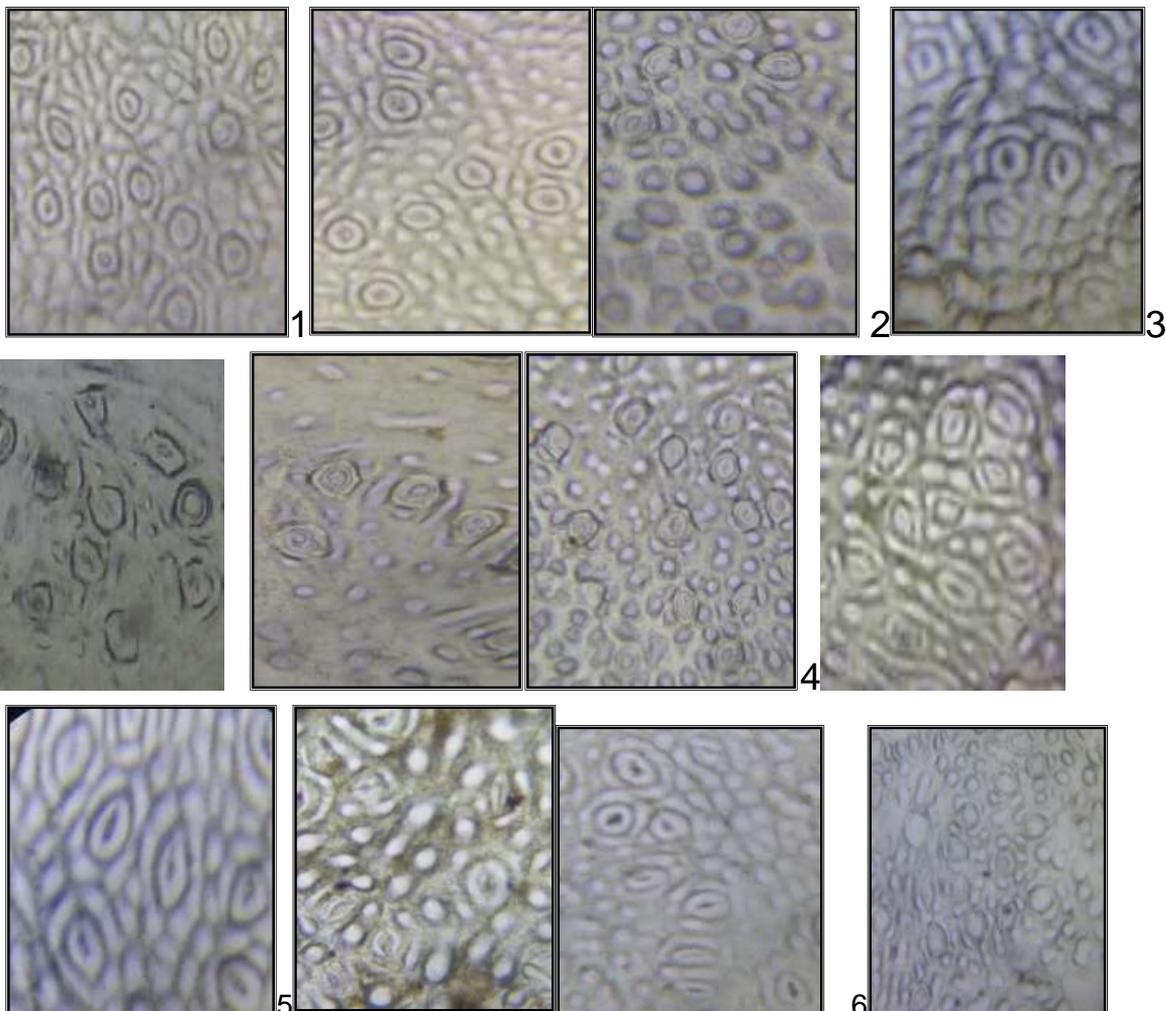
typeAn=Anisocytic

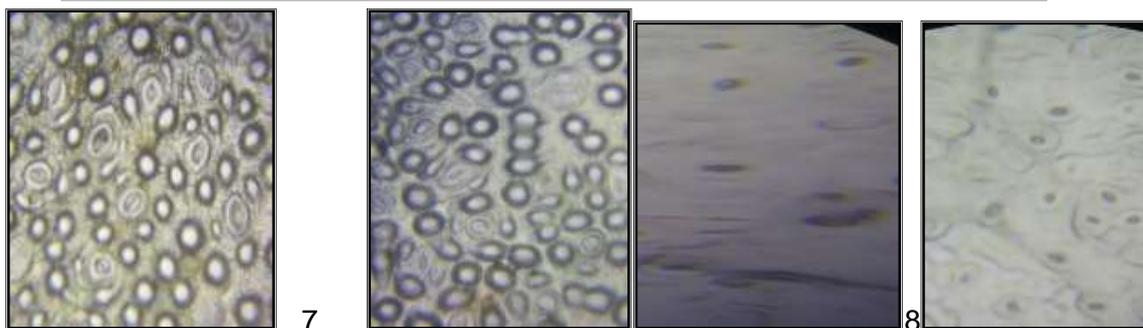


ABAB

Figures 1. Surface view of epidermal cells in leaves of two genus (*Eucalyptus* and *Myrtus communis*). A. Upper epidermis, B. Lower epidermis

1-*E.camaldulensis* subsp.*camaldulensis*, 2- *E.camaldulensis* subsp.*obtusa*, 3-*E.woodwardii* 4- *E.tarwood* ,5-*E.terquata*, 6- *E.salmanophlia* , 7-*E.microthica* ,8- *Myrtuscommunis*





ABAB Figures 2. Surface view of stomata in leaves of two genus (*Eucalyptus* and *Myrtus communis*).

A. Upper epidermis, B. Lower epidermis

1- *E. camaldulensis* subsp. *camaldulensis*,

2- *E. camaldulensis* subsp. *obtusa*,

3- *E. woodwardii*

4- *E. tarwood* ,5- *E. terquata* ,6- *E. salmanophlia* ,7- *E. microthica* ,8- *Myrtus communis*

References

- 1- **Govaerts, R.**, Sobral, M., Ashton, P., Barrie, F., Holst, B. K., Landrum, L. R., Matsumoto, K., Mazine, F. F., NicLughadha, E., Proenca, C., Soares-Silva, L. H., Wilson, P. G., Lucas, E. J. (2008). World checklist of Myrtaceae. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew.
- 2- **Wilson, P. G.**; O'Brien, M. M.; Heslewood, M. M. and Quinn, C. J. (2005). Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. *Plant Systematics and Evolution*, 251, 3–19.
- 3- **Ladiges, P.**, Udovicic, F., Nelson, G. (2003). Australian biogeographical connections and the phylogeny of large genera in the plant family Myrtaceae. *Journal of Biogeography* 30: 989-998.
- 4- **McVaugh, R.** (1968). The genera of American Myrtaceae- An interim report. *Taxon* 17: 354-418.

- 5--**Landrum**, L. (1988). The Myrtle family (Myrtaceae) in Chile. Proceedings of the California Academy of Sciences 45: 277-317.
- 6--**Thornhill**, A., Popple, L., Carter, L., Ho, S., Crisp, M. (2012a). Are pollen fossils useful for calibrating relaxed molecular clock dating of phylogenies? A comparative study using Myrtaceae. Molecular Phylogenetics and Evolution 63: 15-27.
- 7- **Watson** ,L. and Dallwitz, M.J.(1992). The families of flowering plants .
- 8--**Boland**,D.J.,Brooker ,M.I.H., Chippendale,G.M.,Hall,N.,Hyland,B.P.M., Johnston,R.D.,Kleinig,D.A.,Mcdonald,M.W.;Turner,J.D.(1992).)."Forest Trees of Australia Over 200 of Australia's Most Important Native Trees Described & Illustrated Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization(CSIRO),Australia.
- 9 -داؤود، محمود داؤود،(١٩٧٩).تصنيف اشجار الغابات، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.
- 10- **Rockwood**,L.D.,Rudie,W.A.,Ralph,S.A.,Zhu,Y.J.,Winandy,E.J.,(2008). Energy product options for Eucalyptus species grown as short Rotation woody crops. Int.J.Mol.Sci.9(8),1361–1378.
- 11--**Alice**,M.(1992).Coats, Garden shrubs and Their Histories,s.v."Myrtuscommunis".
- 12--**Townsend**,C.C.,andGuest,E.(1980)."Flora of Iraq"Ministry of Agriculture of Iraq,Vol.4.
- 13- العلق، سناريا عباس جعفر(٢٠٠٦). دراسة مظهرية وتشريحية لأنواع برية مختارة من العائلة الباذنجانية (Solanaceae) في العراق. رسالة ماجستير . جامعة بغداد - كلية العلوم.
- 14--**North**,C.(1979).Plant and genetics in Hortics Un win ornamental ,rosaceous plants .Horticulture.Science.17(2):190-191.
- 15--**MetCalfe**, C.R. and Chalk,L.(1950) Anatomy of Dicotyledons. Vol. 2 Clarendon Press.Oxford.1500pp .
- 16--**Kantachot**,C.,Chantaranothai,P.,andThammathaworn,(2007).Contributio to the Leaf Anatomy and Taxonomy of Myrtaceae,*The Natural History Journal of Chu-lalongkorn University*,Vol.7,No.1,pp.35-45.
- 17- **Hussin**,K.H.,Cutter,D.F.,andMoore,D.M.(1992). "Leaf Anatomical Studies in *Eugenia* L.(Myrtaceae) Species from Malay Peninsula,"*Botanical Journal of the Linnean Society*,Vol.110 ,No.2,pp137-156.

Environmental and diagnostic study of algae in irrigation Al-Alam project

دراسة بيئية وتشخيصية للطحالب في مشروع ري العلم

Prof. Dr . Riadh Abas Abdul Jabar

Department of Biology/College of Science/U.O.Tikrit

Asst. Prof. Tawoos mohammed kamel

Kirkuk university-college of education for pure sciences

Sabine khader saleh

Department of Biology/College of Science/U.O. Tikrit

أ.د. رياض عباس عبد الجبار

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة تكريت

أ.م.د. طاووس محمد كامل

جامعة كركوك / كلية التربية للعلوم الصرفة

سابين خضر صالح

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة تكريت

Abstract

The current study was conducted to identify the algae present in the project of irrigation AL-Alam within the province of Salah al-Din and diagnosis and knowledge of the extent and the impact on environmental factors surrounding at four station. The first was Arab region of China within the perimeter of the project area while the last station was Awejelah area. The other stations lie in between the previous two stations. The ecological characteristics (physical, chemical and biological factors) where included during the study period started from November 2016 till June 2017. The study included measurements of some

physical factors as air and water temperature, Turbidity and electrical conductivity, as well as some chemical factors as pH, dissolved oxygen, biological oxygen demand, total alkalinity, salinity, and chloride. Plant nutrition as silicate, nitrite and phosphates were also included and the study covered the types of algae in the study area Diatoms formed the majority types of phytoplankton available at the station followed by green algae and blue-green algae and euglena and Chrysophyta finally comes the peridialalgae. And The results of the algae diagnosis showed 119 species of algae, which were divided into 6 populations divided into 7 species, 12 cultivars and 22 families comprising 54 species.

Keywords: aquatic environment, algae diagnosis, physical and chemical properties, djlah river

الخلاصة

تم إجراء الدراسة الحالية لمعرفة الطحالب المتواجدة في مشروع ري العلم ضمن محافظه صلاح الدين وتشخيصها ومعرفة مدى تأثيرها بالعوامل البيئية المحيطة بها. تم اختيار أربع محطات لإجراء الدراسة كانت أول محطة من منطقه عرب الصين ضمن محيط منطقه المشروع وانتهاء بمنطقه عويجيلة وتقع باقي المحطات بينها. تم دراسة العوامل البيئية الآتية (الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية) خلال مدة الدراسة من شهر تشرين الثاني لعام (٢٠١٦) انتهاء بشهر حزيران لعام (٢٠١٧) شملت الدراسة قياس العوامل الآتية متمثلة بالعوامل الفيزيائية والكيميائية والمغذيات النباتية وهي درجة الحرارة للهواء والماء والكدره وقابلية التوصيل الكهربائي والاس الهيدروجيني والملوحة والكلوريد والقاعدية والسليكا والنترت والفوسفات. كما تم إجراء دراسة نوعيه للطحالب في منطقه الدراسة حيث وجد ان الدايتومات هي النوع الشائع للطحالب المشخصة تلتها الطحالب الخضراء ومن ثم الطحالب الخضراء المزرقة و ثم الطحالب اليوغلينية وتليها الطحالب الذهبية وأخيرا الطحالب البيرية وبينت النتائج

إيجاد 119 نوعا من الطحالب في هذه الدراسة لجميع المحطات المنتخبة للدراسة حيث وجد أنها تعود إلى ٦ شعب من الطحالب موزعة على ٧ أصناف و12 رتبة و22 عائلة تضم 54 جنسا.

Introduction :

The term benthic algae refers to all types of algae that are adherent to or in association with surface layers such as sediments and rocks. [1] A term used to distinguish these benthic organisms that coexist in a diverse aquatic environment refers to organisms that are common or common to the substrates. The majority of the organisms that share the substrates in the aquatic environment (bacteria, invertebrates, fish, and subterranean organisms) (2) were also studied in River Avon(3) in Britain. This study indicated that the Bacillariophyceae is the common species also there was environmental factors that has an important impact in the presence of algae such as intensity and duration of light, temperature, levels of nutrients present, grazing (4).And Naharetal. (5) indicates that the variables present in the aquatic environment, such as sediment quality and salinity in the water column, affect the distribution of diatomate communities, and through a comparison with basal invertebrates found that diatoms are very sensitive to water chemistry, besides their short life circle. Kadhimetal.(6)refers that it is possible to use benthic algae as biological indicators for the purpose of assessing the quality of water for use in agriculture and others, and noted the absence of diatoms in some months of the study may be due to the fact that it became obsolete because of wind or water movement. The current study aims to

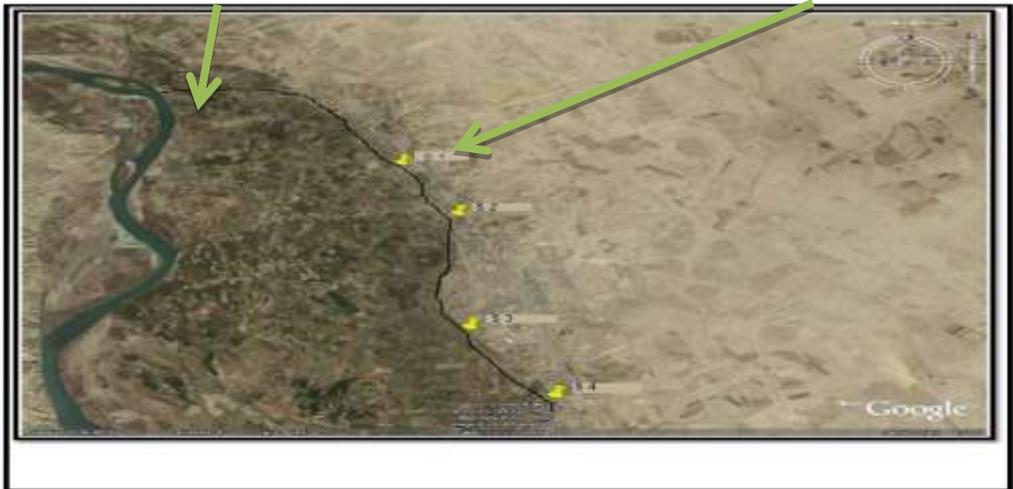
diagnose algae present In the project of irrigation Al-Alam of the impact of water pollution and change its physical and chemical properties during the 8 months of the study.

Materials and methods of work:

Samples of sediments and water were collected monthly from four sites in the irrigation Al-Alam project starting from November 2016 until June 2017 (Figure 1). The algae samples were collected using a tool with a sharp edge and depth ranging from 0.1 to 0.5 cm from the surface and placed in polyethylene bottles and added to the water a small quantity and closed and ordered the bottle well and placed in a dark place until return to the laboratory. The samples were examined within 48 hours. In the laboratory, the bottles were opened and placed in a well-lit place to be ready for examination[7]. The non-diatomical algae were identified using a normal microscope . Water samples were used in the study of some properties such as temperature, pH, acid, dissolved oxygen, nitrates, phosphates and silica. [8]. While diatomaceous algae was taken from the samples and placed in the middle of the glass slide and dried on a plate of temperature reached 70 degrees Celsius, and work was added by adding adiameter of concentrated nitric acid to clarify Diatomate structures and when dried, put a diameter of Canada balsam material on the lid of the glass slide and left for the next day. knew the studied algae species based on the following sources [9,10,11,12,13,14,15] .

Study Area:

The samples was taken from AL-Alam project with in the province of Salah al-Din.The project was established in 1985. And it's one of the irrigation projects that uses its water for the purpose of irrigating agricultural lands from Samra village in the north to the village of Aujaila in the south [16]. The study stations were selected for several reasons, including the few studies and the data related to this project. Four main stations were selected Arab alseen,alahdaljadeed ,alwaealthoryand Aujailah area Figure(1).

DjlahriverAl-Alamproject

figure(1):AL-Alam irrigation project map

Results and discussion:

In this study we found that bacillus algae is the most common among the algae that have been diagnosed. This may be due to its ability to reproduce and grow in different environmental conditions. As for the difference in numbers

and percentages of algae studied, this is due to the difference in the aquatic environment in which it is located or infected with different [17], in addition to having a solid silica husk [18]. This is one of the important species that plays an important role as an initial product in the aquatic ecosystem and is used as an indicator of environmental variables such as salinity, acidity and food richness [19]. The results of the algae diagnosis showed 119 species of algae, which were divided into 6 populations divided into 7 species, 12 cultivars and 22 families comprising 54 species as showed in table (2). The dominant diatoms species were *Cyclotella*, *Triceratium*, *Actinocyclus*, *Bacillaria*, *Gyrosigma*, *Surirella*, *Diatoma*, *Syndra*, *Tabellaria*, *Nitzschia*. And the dominant green algae species were *Chlamydomonas*, *Eudorina*, *Pandorina*, *Oedogonium*, *Closterium*, *spirogyra*, and the blue-green algae species were *Rhabdonema*, *Microcystis*, *Oscillatoria*. *Spirulina* and *euglena* species *Anisonema*, *Euglena*, *Trachelomonas*, *phacus*. The Chrysophyta species diagnosed in the stations were *Dinobryon*, *Ophiocytium*, and the peridial algae have one species: *Peridinium*. As shown in table (1) below which showed the diagnosed algae in the study area. the percentage of *Bacillus* algae was 56.29% of the total percentages of the studied algae, followed by the green algae by 25.96% and the *Euglena* algae by 6.4% followed by the blue-green algae by 6.74% and the golden algae by 3.66% and the peridial algae by 0.92%. While the species of blue-green algae 9.19 and the *euglena* species accounted for 8.06% of the total, The *bacillus* algae species were 52.22% of the total number of studied species. The total

number of cultured species was 54, while the green algae reached 22.06% and accounted for 5.83% of the golden algae species. Finally, the peridian algae which reached 2.61% as showed in table(2).

Table(1) Diagnosed algae	St.1	St.2	St.3	St.4
Kingdom: Monera				
Division : Cyanophycophyta				
Class: Cyanophycophyceae				
Order: Chroococales				
Family: Chroococaceae				
Genus: <i>Merismopediatenuissima</i>	*	*		*
Genus: <i>Rhabdonemaadriaticum</i>	*		*	*
Genus: <i>Microcystisaerugenosa</i>		*	*	*
Order: Oscillatoriales				
Family: Oscillatoriaceae				
Genus: <i>Oscillatorialimosa</i>	*	*	*	
Genus: <i>Oscillatoria Formosa</i>	*	*	*	
Genus: <i>Oscillatoriasubbrevis</i>	*		*	*
Genus: <i>Spirulinalaxa</i>		*	*	*
Kingdom: Protista				
Division: Chlorophycophyta				
Class : Chlorophycophyceae				

Order: Volvocales				
Family: Chlamydomonaceae				
Genus: <i>Chlamydomonas sp.</i>	*	*		*
Family: Volvocaceae				
Genus: <i>Eudorina sp.</i>	*		*	*
Genus: <i>Pandorina sp.</i>	*	*	*	
Order: Chlorococcales				
Family: Scenedesmiaceae				
Genus: <i>Scenedesmusquadricandavarmaximus</i>		*	*	*
Genus: <i>Scenedesmusacuminatus</i>	*		*	
Genus: <i>Scenedesmus sp.</i>	*			*
Family: Dictosphaeriaceae				
Genus: <i>Pediastrumgranulatum</i>		*		*
Genus: <i>Pediastrumpertusum</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Pediastrum simplex</i>	*	*		
Genus: <i>Pediastrum simplex varduodenarium</i>		*	*	
Genus: <i>Pediastrumboryanum</i>	*		*	*
Genus: <i>Pediastrumangulostan</i>	*			*
Order: Ulotrichales				
Family: Ulothricaceae				

Genus: <i>Ulothrixsubtilissima</i>		*	*	*
Genus: <i>Ulothrixvaribilis</i>	*		*	*
Genus: <i>Ulothrixspp.</i>	*	*		*

Family: Microsporaceae				
Genus: <i>Microspora sp.</i>	*	*		*
Order: Oedogoniales				
Family: Oedogoniaceae				
Genus: <i>Oedogonium sp.</i>	*	*	*	*
Order: Zygnematales				
Family: Desmidiaceae				
Genus : <i>Closteriumacerosum</i>		*	*	
Genus : <i>Closteriumlittorale</i>	*	*	*	*
Genus : <i>Cosmariumochthodes</i>	*	*		*
Genus : <i>Cosmariumformulosum</i>	*	*		*
Genus : <i>Cosmariumportianum</i>		*	*	*
Genus : <i>Cosmarium spp.</i>	*		*	
Family: Zygnemiataceae				
Genus: <i>Mougota sp.</i>	*	*	*	*
Genus: <i>spirogyra dubia</i>	*	*	*	

Genus: <i>spirogyra neglectata</i>	*		*	*
Genus: <i>spirogyra nitida</i>		*	*	
Genus: <i>spirogyra sp.</i>		*	*	*
Division: Chrysophycophyta Class: Chrysophycophyceae Order: Chrysomonadales Family: Ochromonadaceae				
Genus: <i>Dinobryonsertularia</i>	*			
Genus: <i>Dinobryondivergens</i>		*	*	
Class: Xanthophycophyceae Order: Heterococcalies Family: Characiopsidaceae				
Genus: <i>Ophiocytiummaius</i>	*	*		*
Division: Euglenophycophyta Class: Euglenophycophyceae Order: Euglenales Family: Euglenaceae				
Genus: <i>Anisonema sp.</i>	*		*	
Genus: <i>Euglena gracilis</i>	*		*	*

Genus: <i>Euglenasanguinea</i>		*	*	*
Genus: <i>Euglena sp.</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Phacus sp.</i>	*	*		
Genus: <i>Trachelomonashispida</i>		*	*	
Genus: <i>Trachelomonaseuchlora</i>	*			
Genus: <i>Trachelomonasvolvocina</i>		*		*
Genus : <i>Trachelomonas sp.</i>	*	*	*	
Division: Bacillariophycophyta Class: Bacillariophycophyceae Order: Centrales Family: Thalassiosiraceae				
Genus: <i>Cyclotellacomensis</i>	*	*	*	
Genus: <i>Cyclotellamenghinian</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Cyclotellaocellata</i>		*		*
Genus: <i>Cyclotella sp.</i>			*	*
Genus: <i>Coscinodiscusovalis</i>	*		*	*
Genus: <i>Coscinodiscus ssp.</i>	*	*	*	
Genus: <i>Triceratiumamoenum</i>		*		*

Genus: <i>Actinocyclusoctonarius</i>		*	*	*
Genus: <i>Actinocyclus sp.</i>	*	*	*	
Genus : <i>Actinoptychus sp.</i>	*	*	*	
Family: Melosiraceae				
Genus: <i>Melosira undulate</i>	*	*	*	
Genus: <i>Melosiravarians</i>	*		*	*
Genus: <i>Melosiraspp.</i>			*	*
Family: Cymbellaceae				
Genus: <i>Amphora marina</i>	*	*		
Genus: <i>Amphora bioculata</i>		*	*	*
Genus: <i>Amphora sp.</i>		*	*	
Genus: <i>Amphicapa sp.</i>	*		*	*
Genus: <i>Aulacoseirasubarctica</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Aulacoseirainslandica</i>		*	*	*
Genus: <i>Cymbellasturii</i>	*	*	*	*

Genus: <i>Cymbellatumidula</i>	*		*	
Genus: <i>Cymbellacistula</i>	*			*
Genus: <i>Cymbellaaffinis</i>		*	*	
Genus: <i>Cymbellaventricosa</i>		*	*	*
Genus: <i>Cymbella sp.</i>	*	*	*	
Genus: <i>Gomphonemaventricosm</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Gomphonema sp.</i>	*		*	
Genus: <i>Bacillariapaxillifer</i>		*		
Family: Navicullaceae				
Genus: <i>Caloneis amphisbaena var. subsalina</i>	*		*	
Genus: <i>Diploniespulla</i>		*	*	
Genus: <i>Gyrosigma hippocampus</i>		*	*	*
Genus: <i>Gyrosigmaacuminatum</i>	*	*		*
Genus: <i>Gyrosigma spp.</i>	*	*	*	
Genus: <i>Mastogloia ovum</i>		*		

			*	*
Genus: <i>Naviculahallophila</i>	*	*		
Genus: <i>Naviculacryptocephala</i>		*	*	*
Genus: <i>Navicularhyncocephala</i>	*	*		
Genus: <i>Naviculatripunctata</i>		*	*	
Genus: <i>Naviculaelginensis</i>	*		*	
Genus: <i>Naviculalaceolat</i>			*	*
Genus: <i>Naviculacapitata</i>	*	*		*

Genus: <i>Navicula spp.</i>	*			*
Genus: <i>Pinnulariaviridis</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Pinnularia sp.</i>		*		
Genus: <i>Rhoicospheniacurvata</i>	*		*	
Family: Surirellaceae				
Genus: <i>Cymatopleuraelliptica</i>	*	*		
Genus: <i>Cymatopleurasolea</i>		*		
Genus: <i>Surirellalineaeis</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Surirellarobusta</i>	*		*	*
Genus: <i>Surirella spp.</i>			*	*

Family: Fragilariaceae				
Genus: <i>Diatomavulgare</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Fragilariacrotonesis</i>	*		*	
Genus: <i>Fragilariacapucina</i>		*	*	*
Genus: <i>Fragilaria sp.</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Fragilariaopsis sp.</i>			*	*
Genus: <i>Meridioncirculare</i> var. <i>constrium</i>	*	*		
Genus: <i>Asterionellaformosa</i>	*	*	*	
Genus: <i>Asterionella sp.</i>	*			
Genus: <i>Syndracapitata</i>		*	*	*
Genus: <i>Syndra ulna</i>	*	*	*	*
Genus: <i>Syndra ulna</i> var. <i>contracta</i>	*	*	*	
Genus: <i>Syndrabacillaris</i>			*	*
Genus: <i>Syndra spp.</i>	*	*		*
Genus: <i>Neosynedra sp.</i>		*	*	*
Genus: <i>Tabellariafenestrata</i>		*		
Genus: <i>Tabellariaflocculosa</i>		*	*	
Genus: <i>Tabellaria sp.</i>	*	*		*
Family: Nitizhiaceae				
Genus: <i>Nitizchiavermicularia</i>		*	*	*

Genus: Nitizchiasigmoidea	*	*	*	
Genus: <i>Nitizchia sp.</i>	*	*		
Genus: <i>Rhopalodiagibba</i>	*	*	*	*
Division: Pyrophycohyta				
Class: Dinophycophyceae				
Order: Peridinales				
Family: Peridiniaceae				
Genus: <i>Peridinium spp.</i>	*		*	

Sections of algae	Classes	The ratio %	Order	The ratio %	Family	The ratio %	Genus	The ratio %	Kind	The ratio%
Cyanophycophyta	1	٥٧.١٣	2	.١٠ ٢٥	2	٥٣.٨	5	١٩.٩	7	٧٤.٦
Chlorophycophyta	1	.28٥1	5	43.75	9	.3١4	12	٥٦.٢2	28	6٩.٥2
Chrysophycophyta	2	٢٨28.	٢	.75٧1	٢	٦٩11.	2	.83٥	٣	6٦.٣
Euglenophycophyta	1	14.28	1	.25٧	1	.84٤	4	8.06	٩	.4٦
Bacillariophycophyta	1	.28١١	١	.5٣1	٧	.76٢٩	30	.22٥٢	71	56.29
Pyrophycohyta	1	.28٧1	1	.5٧	1	3.84	1	.61٢	1	٩٢0.
Totall	7		12		22		54		119	

Table (2) Sections of the registered algae and the number of varieties, grades, families, species and species and their percentages during the study

Reference:

1. Björk-Ramberg, S. 1984. Species composition and biomass of an epipellic algal community in a subarctic lake before and during lake fertilization 7(2): 195–201.
2. Kara, H. and Sahin, B. 2001. Epipellic and epilithic algae of Degirmendere river (Trabzon-Turkey). Turk. J. Bot., 25: 177-186.
3. Aykulu, G. 1982. The epipellic algal flora of the River Avon. British Phycological Journal, 17(1): 27-38.
4. LiLi, B. Z. and Lusan, L. 2010. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. Proc. Environ. Sci. 2: 1510–1524.
5. Nahar, K., Khondker, M., and Sultana, M. 2010. Seasonality and Diatoms in Two Wetlands of Bangladesh. Bangladesh J. Bot. 39(1): 29-36
6. Kadhim, N.F.; Al-Amari, M.J.Y. and Hassan, F.M. 2013. The spatial and temporal distribution of Epipellic algae and related environmental factors in Neel stream, Babil province, Iraq. Int. J. Aqu. Sci; 4(2): 1-10
7. Lianso, R. J. (2002). Methods of calculating. The Chesapeake Bay benthic Index of Biotic integrity. Old Dominion University, Columbia..
8. Kasim, M. and Mukai, H. (2006). Contribution of benthic and epiphytic diatoms to Clam and Oyster production in the Akkeshi-Ko estuary. J. Oceanogr., 62: 267-281.
9. Desikachary, T.V. 1959. Cyanophyta, Indian Council of Agricultural Research. New Delhi, 686 pp.
10. Prescott, G. W. 1982. Algae of the western Great Lakes Area. William, C. Brown Co., Publ. Dubuque, Iowa, 977 pp.
11. Hustedt, F. 1930. Bacillariophyta (Diatomeae). Dr. A. Pascher: Die süßwasser-Flora Mitteleuropas Heft 10: 1-466.

12. Hustedt, F. 1959. The Pennate Diatoms. A Translation of Hustedt'S, Die Kieslalgen. with Supplement by Norman G. Jensen. Printed in Germany By Strauss & Cramer GmbH, 918pp.
13. Hadi, R.A.; Al-Saboonchi, A.A. and Haroon, A.K.Y. 1984. Diatoms of the Shatt All-Arab river, Iraq. Nova HedWigia, 39: 513-557.
14. Nural-Islam, A.K.M. 1985. Some of new and rare freshwater algae from Iraq. Int. Rev. Ges. Hydrobiologia, 70(5): 755-766.
15. Hassan, F. M., Hadi1, R. A., Thaer I. Kassim,T. I., and Al-Hassany1,J.S.2012. Systematic study of epiphytic algal after restoration of Al-Hawizah marshes, southern of Iraq. IJAS, 3(1): 37-57.
١٦. العزاوي ، عامل ماهر خباز فرحان (2009). تغير استعمالات الارض الزراعية في قضاء تكريت ،رسالة ماجستير/أدابجغرافية، كلية التربية ، جامعة تكريت .
17. Muylaert , K. ; Sanches – Perez, M.J.; Teissier , S.S . ; Dauta , A. and Rervier , p.(2009) . Eutrophication and effect on dissolved Si concentration in the Garonne river (France) . J. Limnol. 68(2) : 368-374.
18. Leghari, M.K.; Shah, M. &Leghari, M.Y. (2002). Ecological study of algal flora of Jhelum river-Azad Kashmir. Journal of Drainage and water management, 6 (2).
19. Polge, N.; Sukatar, A.; Neyran, E. and Gönülool, A. (2010). Epipellic algal flora in the Küçükcekmece lagoon. Turkish Journal of fisheries and aquatic sciences, 10: 39-45.

The study of saturated and unsaturated fatty acids of 9 species of olives

دراسة الاحماض الدهنية المشبعة

وغير المشبعة لـ (٩) اصناف من الزيتون

Hussam Nafea Shakir Mahmood AL_ahbaby

Department of Biology

Yaseen Mohammad Ahmed

College of Science / University of Tikrit

Rana Hashim Aloush

Department of Field Crops / College of Agriculture

University of Tikrit

حسام نافع شاكر محمود الاحبابي

ا.م.د. ياسين محمد احمد

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة تكريت

ا.م.د. رنا هاشم علوش

قسم المحاصيل الحقلية / كلية الزراعة / جامعة تكريت

Abstract

The current study aims at diagnosing 8 saturated and unsaturated fatty acids of olives extracted out of 9 fruits of olives species related to olive family (Oleaceae) and the species are (Manzanilla ، Ascolana ، Sorani ، Baashiki ، NabaliMuhasan ، Frantoio ، Jlot ، Kaissy ، Picual). This study showed a difference in the concentration of saturated and unsaturated fatty acids among the studied species. The

highest concentration of unsaturated fatty acid: Liolenic c18 omega 3 – in the species (manzanilla) reached (816.5) , regarding the unsaturated fatty acid :liolenic c 18:2 omega 6 in the species (picaul) . in terms of the total number of saturated and unsaturated, the species no. (6) (manzanilla) recorded varieties and the species (Baashaki, Jiot, Picaul) recorded (7) varieties where the rest of species showed 8 varieties of fatty acids, where the proportion of saturated fatty acids also differed and the fatty acid (palmetric) reached the highest concentration in the species (frantoio) with (233.9). The lowest concentration was recorded in the species (picaul) and reached (3,9). As for the two saturated acids (stearic and myristic), the highest concentration was showed in the two species (Frantoio and Ascolano).

Introduction

OleaEuropea olive belongs to the olive family Oleaceae which includes 30-35 species and it is a subtropical permanent vegetative plant and it is the only plant that provides edible fruits[1]. Olive fruit is a good nutrition source, and very rich in fats where it reaches to 50-75% and contains proteins, sugars, bacterium, salts, vitamins A, B, C. olive have a beautiful scene so it is used in decorating gardens and parks[2]. It is also known in the Islamic Arab Medicine and used by the Arab Doctors, including IbnSina, in treating diseases. The vital and useful benefits of olives and olive fat are proved recently that they contain unsaturated fatty acids and the small compounds which are the most important Sterols and Tocopherol and triterpenoids and phenolic compounds[3]

The name of olive oil comes as a result of its containment of the Oleic acid c18:1 with high rate and it is a monounsaturated fatty acid[4] and its general formula (C18 H36 O2) and it is a kind of Omega-9 fatty acids. This important fatty acid in composing oil olive [4] and [5] and provides it with the status of save and storage for a long time in compare with the other oils reserving its features, and it is desirable acid which increases the nutritive value of olive oil and raises its importance in the treatment nutrition [6] and it reduces the concentration of saturated oils in the body and reduces the level of fats (Peroxidase) and its results like Malondialdehyde [7].

In addition to Oleic acid, olive oil contains acids (Liolenic acid c18:2 and Liolenic c18:3) which are poly unsaturated fatty acids. It also contains saturated fatty acids which arePalmitic acid(C16:0), Myristic acid(C14:0), Stearic acid (C18:0) , Lauric acid (C12:0) , Arachidic acid (C20:0)[8].

Research materials and methods

Preparing samples: (9) species of olives were used which are(Manzanilla ، Ascolana ، Sorani ، Baashiki ، NabaliMuhasan ، Frantoio ، Jlot ، Kaissy ، Picual)planted in some areas of Salah-aldin and some northern areas of Iraq. Fruits were accumulated in the complete ripeness stage from different positions of the tree and 5 trees were selected from each specie.

Extracting olive oil by cold Method

1- isolating the fruits before grinding them from the leaves, small branches and all the impurities existed, then washed by water to get rid of dust and chemicals precipitations.

2-At the beginning, grinding the bulb and then move the grinded olive bulb for an hour to reduce the overlap of oil from the water.

3-(100) ml. of warm water were added to each (1) kilo from the olive with 40 degrees Celsius and continuing moving for an hour.

4- the process of straining is carried out by using a piece of cloth to separate the solution that contains mixed oil and the vegetable water from the solid materials.

5-stable for four hours to separate the oily layer from the water.

6-Centrifuge processis carried out for the oily layer to separate oil from other compounds.

7- pulling the oily layer using a micro-absorbent and the storing it in plastic containers coated with Celifon with modulation.

Isolating the mixture of fatty acids using a HPLC pillar (cromotografia, a high-performance liquid) the size of minutes is 3micro-meter, internal diameter (4.6O 50 ml.), the pillar is C18DB, the moved phase is Asetonitral: Hidrophuran :1.0%, phosphoric acid in the(50.4:21.6:28V/V)UV detector at a wavelength of 250 nm.

The flow velocity is 1.5 ml. /min.

Temperature 40 C.

The separation occurs in (Chromatographic) liquid using a Shimadzu 10AV-LC associated with Shimadzu LC-10A pump, peaks were identified using Shimadzu SPD 10 A vp detector, the concentration of saturated and unsaturated fatty acids were measured in each species depending on the comparison with the standard curve using the following equation:

Calculation

Concentration

$$\text{of sample mg/ml} = \frac{\text{area of sample}}{\text{area of standard}} \times \text{conc. of standard} \times$$

dilution Factor

[10].

Results and Discussion

The study showed a difference in the concentration of saturated and unsaturated fatty acids among the studied species. The highest concentration of unsaturated fatty acid: Linolenic c18 omega 3 – in the species (manzanilla) reached (816.5) , regarding the unsaturated fatty acid :linolenic c 18:2 omega 6 in the species (picaul) .

the fatty acid Oleic C 18:1 Omega 9 wasn't showed in the in Manzanilla specie and also the existence of saturated Archidie wasn't recorded in for species which are (Basashiki, Jiot, Picaul, Manzanilla), while the (Sorani) specie exceeded in giving the highest rate which reached (1512.1), The increase of unsaturated fatty acids rate

indicates the importance of the therapeutic and nutritional oil, where having these oils reduces the concentration of saturated oils in the body [11].

In terms of the total number of the saturated and unsaturated fatty oils, the Manzanilla (6) recorded varieties and the species (Bashaki, Jiot and Picaul) recorded (7) varieties. While the other species, (8) varieties of the fatty acids were showed, the rate of saturated fatty oils differed and the fatty acid Palmetic reached its highest concentration I (Frantoio) specie by (233.9). the lowest concentration was recorded in the (Picual) specie which reached (3.9), while the two saturated acids, Stearic and Mystric acids, the highest concentration has been showed in the (Ascolano and Frantoio) species.

It should be noted that Frantoio specie recorded the highest concentration for the acids, palmetric and mystric with (233.9 and 215.2) respectively. The difference in the number of fatty acids generally and the difference of the concentration of unsaturated and saturated fatty acids has a great systematic indication through which we can infer the species in addition to identifying the features of good oil for each one. The rate of some species were approximate for what is mentioned in [12] and [13].

Table (1): Determination of the percentage and concentration of saturated and unsaturated fatty acids in the studied olive varieties.

NabaliMuhasan		Baashiki		Sorani		Ascolana		Manzanilla		Acids	N
Percentage	Concentration of acid	Percentage	Concentration of acid	Percentage	Concentration of acid	Percentage	Concentration of acid	Percentage	Concentration of acid		
3.2	35.8	4.7	102.5	0.2	3.3	1.6	34.1	3.2	43.3	Lignoceric acid C:12	1
2.3	25.5	2.0	43.2	0.9	20.8	0.63	13.6	6.5	87.9	Palmetic C16:1	2
8.6	95.5	1.4	30.5	0.8	18.0	20.2	434.4	9.6	129.6	Stearic acid C18:0	3
4.9	55.2	5.4	117.4	1.6	35.9	5.4	116.6	8.7	116.9	Myristic acid C14:0	4
19.5	217.1	8.6	185.4	10.3	225.2	11.9	254.7	60.5	816.5	α -linolenic C18:3 omega 3	5
11.6	129.8	2.7	59.9	9.2	200.9	3.5	76.8	11.5	155.4	Linoleic acid C18:2 omega 6	6
40.7	543.96	75.2	1624.69	8.1	178.1	49.7	1068.5	Nan	Nan	Oleic C18:1 omega 9	7
9.2	102.82	Nan	Nan	68.9	1512.1	7.0	149.7	Nan	Nan	Arachidic acid C20:3	8

Table (2): Determination of the percentage and concentration of saturated and unsaturated fatty acids in the studied olive varieties.

Picual		Kaissy		Jlot		Frantoio		Acids	N
Percentage	Concentration of acid								
3.5	38.9	5.0	20.8	29.1	490.3	3.31	73.6	Lignoceric acid C:12	1
0.4	3.9	7.0	29.3	3.2	53.2	10.5	233.9	Palmetic C16:1	2
30.4	336.3	6.8	28.2	0.91	15.3	18.2	403.9	Stearic acid C18:0	3
15.4	170.9	19.8	82.6	0.4	6.9	9.7	215.2	Myristic acid C14:0	4
8.9	98.4	34.2	142.4	12.0	201.4	13.8	307.2	α -liolenic C18:3 omega 3	5
23.1	256.3	12.7	53.0	6.5	110.1	8.5	188.7	Linoleic acid C18:2 omega 6	6
18.3	202.5	13.8	57.4	47.8	804.1	31.4	697.7	Oleic C18:1 omega 9	7
Nan	Nan	0.7	3.0	Nans	Nan	4.5	101.0	Arachidic acid C20:3	8

The References

- ١- أبراهيم ،عاطف محمد و حجاج ، محمد نظيف (2007)، شجرة الزيتون، زراعتها ورعايتها و انتاجها، منشأة المعارف ، الاسكندرية ، 337 ص.
- ٢- جمال ، محمد حسني و السوسو ، مواهب (2009) ،الفاكهة مستديمة الخضرة ، الجزء النظري والعملي ، كلية الهندسة الزراعية ، جامعة دمشق.
- 3- **Suntarl,P; Akkol, E.K, and Baykal T, (2010)**,Assessment of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Olea europaea* L, *J,Med,Food*, 13(2):352-356.
- 4- **Ocakglu, D;Tokatli, F;Ozen,and B.andKorel, F, (2009)**,Distribution of simple phenols,phenolic acids and flavonoids in Turkish mono varietal extra virgin olive oil for two harvest years.*FoodChem* , 113: 401- 410.
- 5- **Eromoccele, C,(2002)**, Fatty acid composition of seed oil of *haematatap-* his barteri and *ximeniaamericana* ,*Tech*, 82(3): 4-303.
- 6-**Mailer, R,(2006)**,Testing olive oil quality, Chemical and sensory meth- ods, NSW Department of primary industries, 1832-6668
- 7- **Assy, N; Nassar, F; Nasser, G, and Grosovski, M, (2009)**,Olive oil consumption and non-alcoholic fatty liver disease, *World ,Gastroenterol*, 15(15): 1809-1815.
- 8- **Priora, R;Summa,D;Frosali, S;Margaritis, A,andDiGiuseppe, D, (2008)**, Administration of minor polar compound-enriched extra virgin olive oil decreases platelet aggregation and the plasma concentration of reduced homocysteine in rats,*J,Nutr*, 138:36-41.
- ٩- الجبوري ، نور أبراهيم عجيل (2013)، دراسة كيميائية وتغذوية للزيت المستخلص بطرق متعددة من صنف الزيتون بعشيق ومنزئيلو المحليان ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت .
- 10- **Chouinard , Y; Corneau, L ,and Barbano , D ,M, (1999) ,** Conjugated linoleic acids alter milk fatty acids composition and

inhibit milk fat secretion in dairy cows , The Journal of Nutrition , v, 129, n, 8,P,1579-1584.

11-**Assy, N; Nassar, F; Nasser, G and Grosovski, M, (2009)**,Olive oil consumption and non-alcoholic fatty liver disease, World ,J,Gastroenterol, 15(15): 1809-1815.

12- **Ohbogge, J,B, and Jaworski, J,G, (1997)** , Regulation of fatty acid synthesis, Annual Review of Plant Biology 48, 109–136.

١٣- **درويش ، منعم عبد (2015)**، شجرة الزيتون تقنيات زراعتها وتصنيع ثمارها ، مشروع تطوير ونشر زراعة الزيتون في العراق ، دائرة البستنة وزارة الزراعة ، جمهورية العراق ص460 .

أول تسجيل لمرض ذبول الأفرع الهنديسونيولي

على أشجار الانكيدنيا *Eriobrotra Japanica*

في العراق ومكافحتها احيائياً

*FIRST RECORD OF HENDERSONULA
BRANCH WILT DISEASE IN ERIOBROTRA
JAPANICA AND ITS IN IRAQ BIOLOGICAL
CONTROL*

فاضل حسن ياسين

كلية العلوم التطبيقية-جامعة سامراء

Albadry_mohamad55@yahoo.com

Fadhil Hasan Yaseen

College of applied science

University of samarra

الخلاصة:

بينت نتائج العزل والتشخيص من عينات نبات انكيدنيا والمأخوذة من ثلاث مناطق في محافظة صلاح الدين هي(سامراء - البدعية وبلد - الضلوعية وتكريت - دجلة) وتبين إن المرض تسبب عن الفطر *HendersonulorulideaNattrass* الذي عزل من جميع العينات بنسبة 100% ، وبذلك يعد التسجيل الأول للمرض على نبات الانكيدنيا في العراق .

لم تتباين عزلات الفطر في معدل النمو اليومي وأبعادها التي كونتها على الوسط PDA . بينت اختبارات القدرة الإمراضية إن عزلات الفطر من المناطق الثلاثة أدت الى زيادة معنوية في شدة المرض تراوحت في معاملات العزلات 80% - 75% - 90% على التعاقب ، في حين كانت في معاملة المقارنة 0% .

كما أظهر عاملا المكافحة الإحيائية *Tricodermaharzianum* و *Bacillus subtilis* كفاءة عالية في حماية النبات من الإصابة ، إذ خفضتا شدة المرض الى

25% و 40% على التتابع مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت شدة المرض 95% .

كما أحدثنا زيادة في الوزن الجاف للمجموع الخضري لمعاملتي العوامل الاحيائية *Bacillus subtilis* و *Tricoderma. harzianum* وبوجود الفطر الممرض 5.6 و 3.03غم / نبات بالتتابع في حين كان وزن المجموع الخضري الجاف في معاملة المقارنة الملوثة بعزلة الفطر الممرض بمفردها 1.40 غم / نبات .

Abstract:

The result of isolation and indentification of samples of *Eriobrotra japonica* . plants revealed wilt and death symptom taken from three Zones of salah AL Deen Tikrit (Deglia) , samarra (Badia) . and Balaid (Doloiaey) showed that the disease caused by the fungus *Hendersonulorulidea* Nattrass which isolated in 100% from all samples . This is regarded as the first record of the disease in loq out plants in Iraq . The isolates of the fungus not showed variation in daily growth rat in the dimentions in PDA . The pathogenicity tests showed that the there isolates SB, BD and TD caused significant increase in disease severaty . The percentage of disease severaty in the treatmant of fungus isolates 80% , 75% and 90% frequently.

While it was 0% in contrel treatment after 45 deys of artificiat in green house .

The tow biological contralagewts *Tricoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* showed efticieney in protection of loqout plants from the disease severity to 25% and 40% respectively compared with the 10% in the treatment of pathogenic fungus only . They also caused inerease in shoot dry weight .

The shoot dry weight in treatment of the two bio contrnlagant (*Tricoderma. harzianum* and *Bacillus. subtilis*) in the presence of pathogenic fungus reached 5.6 and 3.03 g / plant . The shot dry weights in the control treat ment in

oculoted with pathogenic fungus only were 1.4. g / plant respectively .

المقدمة

يعد نبات الأكيدينيا من الأشجار المستديمة الخضرة *Eriobotryajapanical* Natrass ينتمي الى العائلة الوردية Rosaceae . ويختلف عن باقي نباتات هذه العائلة كونها مستديمة الخضرة ولا تمر بطور سكون وتزهر في الشتاء وتنضج في الربيع ، وتعتبر هذه الفاكهة مهمة اقتصادياً وغذائياً وطيباً ، من الناحية الاقتصادية فهي فاكهة عالية المردود ويكمن ذلك لوقت نضجها والذي يكون فيه ثمار الفاكهة الشتوية قد انتهت وقبل بدأ الثمار الصيفية بالنضج ، بالإضافة الى ذلك فإن انتاجها عالي ١٤٠ – ١٥٠ كغم / شجرة بعمر ١٠ سنوات وقد يصل معدل انتاج الشجرة الواحدة ٥٠٠ كغم بعمر عشرون عاماً إذا كانت تربية النبات علمية (طريقة تربية الملك المحور) بحيث تصبح شجرة كأسية الشكل ، ومتوسط سعر الكغم الواحد حوالي ١,٥ دولار ، وذلك لقلّة الثمار المنافسة لها ، أما قيمتها الغذائية فتشبه الى حد ما قيمة التفاح الغذائية ووجد أن كل ١٠٠ غم تحتوي على ٧٢ غم ماء و ١,١ غم بروتين و ٠,٥ غم دهون و ٠,٧ رماد و ٢١,٥ غم كربوهدرات (سكر مختزل ١٢,٨% وسكروز ٧,٢%) ٠,٥ غم ألياف وتحتوي على نسب من حامض الماليك والسيتريكوالاوكزاليك وفيتامين C][1]. أما أهميتها الطبية فهي فاكهة منظمة لضعف الدم وخفض الكولسترول وزيادة مفعول الجهاز المناعي في الجسم .

زراعته في العراق كانت محدودة على مستوى الحدائق ولكن بعد انهيار أشجار الفواكه المهمة مثل الحمضيات واللوزيات وموت البساتين وقلعها على مستوى محافظة صلاح الدين مثلاً بدأ المزارعون يتجهون الى زراعة أشجار فاكهة اقتصادية وذات قيمة تسويقية مثل الرمان الفنزولي والعنب بأصنافه وطرق تربيته والتفاح المهجن وفاكهة الأنكيدينيا ، حيث توسعت زراعتها وعملت لها مشاتل متخصصة وتمت تربية أصول للتطعيم وأصبحت المسألة اقتصادية لأن المردود الاقتصادي لكل شجرة انكيدينيا بعمر ١٠ سنوات يساوي مردود ٥ – ٨ شتلات برتقال ، ناهيك عن تحملها للبرد عكس الحمضيات .

وتصاب أشجار هذه الفاكهة بعدة آفات منها حشرية وعاكسية وفطرية وبكتيرية ، ومن ملاحظاتي الشخصية والزيارات الميدانية لبعض البساتين شاهدت أعراض موت الأفرع وتيبس الأوراق وحتى موت الأشجار بالكامل ، وتبين إن المسبب لهذه الأعراض وعن طريق علامات المرض والفحص المجهرى تبين أنه الفطر *Hendersonul atoruloidea* Natrass .

فمرض ذبول الأفرع الهندرسنيولي لم يلق اهتماماً كبيراً على المستوى العالمي عند مراجعة المصادر ومن الجدير بالذكر أن الأضرار بشجرة أو عدد محدود من الأشجار يكون ذو اعتبار معنوي خلافاً لما هو عليه في المحاصيل الحقلية . كذلك وجد أن زيادة الممرض في مجتمعات الأشجار قد يسبب زيادة في حدوث المرض بدرجة وبائية [2] ، والظروف المناخية لأشجار البساتين والغابات دائمة الخضرة قد تؤثر على التغيرات البيئية وبمساحات واسعة وفترات طويلة [3] .

سجل المرض لأول مرة عالمياً في مصر ١٩٣٣ على الأشجار النفطية (Nattrass، 1933) .

أما في العراق ، فجرت عدة دراسات تناولت تسجيل المرض على عوائل مختلفة كالعنب [4]، والتفاح [5]، [6] ، نبات الجنار في نينوى . وللمرة الأولى تم الكشف عن قابلية الفطر على إنتاج مركبات سامة في الأوساط الزراعية [7] . وقد تم عزل السموم وتشخيصها وآلية تأثيرها [8] . وهما نوعان من السموم الأول يؤثر على الكلوروفيل بمسك أيون المغنيسيوم ، والثاني يعمل على غلق الأوعية الناقلة . هذا ولعدم وجود أبحاث حول هذا الفطر ومقاومته فقد هدفت الدراسة الى أمثل الطرق لمقامته باستخدام بعض عوامل المكافحة الاحيائية حفاظاً على البيئة الأهم هو تجنب متبقيات المبيد على الثمار لأنها سريعة النضج وفي توقيت قد يكون فيه تحلل مبيدات الرش بطيء التلاشي لأنها تزهر بالشتاء وتنضج في فصل الربيع .

المواد وطرائق العمل

مسح المرض :

تم المسح في عدد من البساتين في صلاح الدين (سامراء - البدعية ، بلد - الضلوعية، تكريت - دجلة) شملت البساتين المزروع فيها أشجار الاكيدنيا وتمت ملاحظة الأعراض المرضية [9] جمعت العينات في الأشجار المصابة أما الأشجار اليابسة تماماً أو شدة الإصابة فيها مرتفعة فقد أخذت منها نماذج ووضعت في أكياس نايلون وثبتت عليها بيانات تاريخ الجمع والنسبة المئوية للإصابة ونقلت الى المختبر ، وأعطيت رموز هي TD , BD , SB .

العزل والتشخيص :-

جمعت ثلاث عينات من نبات الاكيدنيا للفحص المباشر ، فقطعت الأجزاء النباتية الى قطع صغيرة بطول 0.25 - 0.5 سم وغسلت بالماء الجاري لمدة نصف ساعة وعقمت سطحياً بغمورها لمدة دقيقتين في محلول هاييوكلورات الصوديوم (1%) ثم

غسلت بالماء المقطر المعقم جفت بورق نشاف . وزرعت 3 قطع في كل طبق يتري بقطر 9 سم حاوي كل ٢٠ سم^٢ من الوسط الزعياكرديكستروزالبطاطات (PDA) Potato Dextrde Agar والمدعم بمعدل 50 ملغم/لتر بمادة المضاد الحيوي ستريتولمايسين وبواقع ٢٥ طبق/عينة . حضنت الاطباق على (25 – 27 م °) لمدة خمس أيام بعدها نفيت العزلات وأجرى التشخيص باستخدام المفتاح التصنيفي المعد من قبل [10] Dyko , Sutton.

اختبار القدرة الامراضية للفطر

تم الاختبار تبعاً لطريقة [11] Vanarsdd, Lewis وذلك باختيار أفرع من أشجار الاكيدنيا غير المصاب بطول 15سم وقطر ٣ – ٥ سم وتم تجريحها بطول ١ سم وبعمق 2 ملم ولوثت بلقاح من مستعمرة الفطر بعمر 5 أيام وبواقع ٣ أفرع ٣ × مكرر ، وغطيت مواقع التلقيح وربطت برباط طبي ، وأخذت النتائج بحساب متوسط الزيادة في طول التفرح الحاصل في الغصن وتيبس الأوراق بعد ٧٢ ساعة من التلويت . صممت التجربة وفق تصميم تام التعشية وجرت مراقبة تطور المرض لمدة ٣٠ يوم من التلقيح .

مدة تقويم كفاءة بعض العوامل الاحيائية في خفض اصابة اشجار الاكيدنيا *Eriobotrya japonica* المصابة بالفطر *Hendersonuloruloidea* تحت ظروف البيت البلاستيكي : وأخذت النتائج بحساب متوسط الزيادة في طول التفرع .

أجريت التجربة في أحد البيوت البلاستيكية المكيف في مشتل في مدينة سامراء بأخذ شتلات بعمر سنتين مزروعة في سنادين فخارية بقطر 25 سم وسعة 4 كغم تربة مزروعة في تربة معقمة بالأوتوكليف وشملت التجربة على المعاملات الآتية وبأربعة مكررات لكل منها وكما يلي :

١. عزلة *Hendersonuloruloidea* منفردة .

٢. عزلة *Hendersonuloruloidea* + الفطر الاحيائي

Trichodermaharzianum

(تم الحصول على عزلة الفطر الاحيائي من مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا) . وتم اختبار القدرة التضادية ضد الفطر المرض باستخدام طريقة الزرع المزدوج وقد أعطانا أعلى تضاد [12].

٣. عزلة الفطر *Hendersonuloruloidea* + بكتريا *Bacillus subtilis*.

(كذلك تم الحصول على عزلة البكتريا من مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا)
ومشخصة كما بينه Buchran و Gibbons [13].

وحدد أعلى تخفيف مثبط للفطر وفقاً لما ذكره [14] Montealegre .

٤. معاملة المقارنة غير معاملة بأي كائن حي .

أضيفت اللقاحات الفطرية كالاتي :-

أضيف لقاح الفطر *H. toruloidea* بعمل معلق من ثلاث أطباق مملوئة بالغزل الفطري وتم خلطها جيداً بعد إضافة ماء مقطر معقم ليصبح الحجم 2 لتر وخلطت بجهاز خلط ولقحت فيه النباتات وسقيت وحسب طريقة [15] Wilson وغلفت الشجيرات بعد المعاملة بأكياس من الروكولين وبعد أسبوع من إضافة الفطر الممرض تمت اضافة الفطر *T. harzianum* على شكل معلق 4×10^6 بوغ / مل عومل به المجموع الخضري وسقي فيه النباتات [16] وأضيف لقاح *B. subtilis* بمعدل 7.5 مل من عالق البكتريا أخذ من مزرعة عمرها 3 يوم [17] بتركيز 5×10^9 (وحدة تكوين المستعمرة/مل).

استخدم التصميم تام التحشية بواقع ثلاثة مكررات لكل عامل أحيائي والعامل الممرض ومعاملة المقارنة .

النتائج والمناقشة

النسبة المئوية لمرض ذبول الأفرع على الأشجار :

بينت نتائج تسجيل أول للمرض في جميع المناطق المشمولة بالمسح (جدول 1) وسجلت النسبة المئوية للإصابة استناداً للأعراض المميزة للمرض إن أشجار الانكيدنيا المزروعة لوحدها تختلف عن المزروعة مختلطة مع أشجار عملاقة مثل النخيل والبرتقال والتفاحيات والتين . إذ بلغت نسبة الإصابة 65% على الأشجار المزروعة لوحدها في حين انخفضت الى 25% في أشجار الزراعة المختلطة . وقد يعود هذا الانخفاض الى الخدمة والتسميد والري وكذلك يجنبها التعرض المباشر

لأشعة الشمس وعوامل الاجهاد البيئية لذلك نشاهد قلة التشققات في الأفرع فيزيد من مقاومتها للإصابة بالفطر.

العزل والتشخيص

بينت نتائج العزل من أفرع وأغصان العائل (انكيدنيا) بالطريقة المباشرة من تحت البشرة وجود مؤشرات استناداً لنمو وشكل *H. torulodea* حيث ظهرت تحت المجهر بشكل سلاسل متفرعة من أبواغ مفصلية بلون بني . أما المستعمرات فتظهر بلون رمادي أبيض ثم يغمق إلى الأخضر الداكن وبمرور الوقت يتحول اللون إلى الأسود نتيجة تحولها إلى الأبواغ ويظهر النمو بشكل منفرد وهذا يشبه ومطابق لمواصفات الفطر *H. troulodea* المثبتة من قبل [19] [18] . وأظهر الفطر المعزول قدرة إمراضية لأفرع وأوراق أشجار الانكيدنيا المصابة بذبول الأفرع السخامي عند تنميتها على وسق PDA بشكلها الصوفي والقطني الخفيف ولونها الشفاف والتي سرعان ما يتحول إلى اللون الزيتوني ثم الأسود الداكن .

بلغ قطر المستعمرة 9 سم بعد 5 أيام من التحضين على درجة حرارة 1+29 م وبالفحص المجهرى وضح أن أبواغ الفطر الكونيدية تتكون من تجرؤ العزل الفطري إلى خلايا متعددة الحواجز *Arthrospore* .

وبعد العدوى الصناعية لأفرع النبات السليم بـ 60 يوم أظهر الفطر المعزول قدرة إمراضية للأفرع الملقحة بالفطر وظهرت أعراض بهيئة ذبول أفرع وتقرح يصحبه لون داكن للنسيج المصاب مع جفاف القلف وسهولة انسلاخه وهذه الأعراض تطابق أعراض الإصابة بالفطر *H. troulodea* . وهذا يؤكد ما جاء به الساعدي [20] .

وأظهرت نتائج العزل من عينات المناطق الثلاثة بلد (B) وسامراء (S) وتكريت (T) وجود فطر واحد به ظهر في جميع القطع بنسبة 100% وقد نمت جميعها على الوسط الزراعي بصورة متساوية في السرعة تقريباً ونوع وتكون الخيط الفطري وكذلك وتكون الابواغ الكونيدية *conidia* وكذلك التجزؤ إلى خلايا متعددة الحواجز *arthrospore* .

اختبارات القدرة الإمراضية وتأثير عزلات الفطر *H. troulodea* في شتلات الانكيدنيا بعد (٤٥) يوم من العدوى .

أظهرت الدراسة (جدول ٢) عدم وجود فروقات معنوية مهمة على مستوى خطأ 0.05 في القدرة المرضية للعزلات المختبرة وكانت شدة الإصابة للعزلات الثلاثة هي SB ، ٨٠% و B.D ، 75% و TD ، 90% على التعاقب في حين كانت شدة الإصابة في معاملة المقارنة 0.0% . واستناداً لطول وتلون القرع ونسيج الخشب نستطيع القول إلى عدم وجود تخصص للإصابة بالفطر وهذا يعود لامتلاك الفطر مدى عائلي واسع وقد جاءت بيانات هذه الدراسة متفقة مع ما أشار إليه كل من [21][22].

تقويم كفاءة عاملي المكافحة الاحيائية *B.su* و *T.h* في خفض إصابة نبات انكيدنيا بالفطر *H.t*.

بينت نتائج هذه الدراسة جدول (3) أن معاملي المقاومة البايولوجية قد وفرت حماية جيدة لشتلات انكيدنيا من الفطر *H.t* . وأحدثنا خفضاً معنوياً ($p=0.05$) في شدة الإصابة بمسبب مرض الأفرع الهندرسينيولي قياساً بمعاملة المقارنة تحت ظروف البيت البلاستيكي قياساً بمعاملة المقارنة الملوثة بعزلة الفطر الممرض (العزلة DT) بمفردها . أدى استخدام الفطر *T.h* وبوجود الفطر الممرض *H.t* إلى خفض شدة الإصابة إلى 25% في حين كانت شدة الإصابة بمعاملة الفطر الممرض 90% إن هذه النتيجة جاءت مطابقة وأثبتت فعالية الفطر ضد فطريات كثيرة كما جاء به [23] 26 [25] [24] .

حيث أن الفطر *T.H* يكون مستعمرات حول الجذور والتي يعمل على زيادة حجم المجموع الجذري وزيادة صلابتها ومن آليات عمل الفطر هو التطفل والتضاد الحيوي [27] ، كذلك أحدثت البكتريا *B. subtilis* خفضاً معنوياً في شدة الإصابة وبوجود الفطر الممرض إلى 10% وهذه النتيجة تتفق مع ما وجدته [28] و [29] من فعالية هذه على الفطريات الممرضة وعلى محاصيل مختلفة .

إن فعالية هذه البكتريا ربما جاءت عن قدرتها على منافسة الفطر الممرض على الغذاء والافرازات الجذرية وبذلك تكون البيئة غير ملائمة للمرض من خلال افراز المضادات الحياتية مثل Bacilin و Bacilomycin التي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطرية وتحدد نحوها .

كما بينت نتائج (جدول 3) إن معاملي المكافحة الاحيائية قد أدتا إلى زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري في المعاملتين الاحيائية مع الفطر الممرض ٥,٦٠% غم

/ نبات في حين كافة الوزن الجاف للمجموع الخضري في معاملة المقارنة الملوثة يعزله الفطر الممرض يمددها 1.4 غم / نبات . هذه النتائج تؤكد ما جاء به [7] و [1] من حقدر عوامل المكافحة البايولوجية على تحسين معايير نمو النبات .

جدول (١) النسبة المئوية للإصابة بمرض ذبول الأفرع للمناطق المشمولة بالمسح :

نسبة الإصابة (%)			
المنطقة	أشجار الانكيدينا زراعة مختلفة	أشجار الانكيدينا زراعة منفردة	
سامراء	23	60	البدعية
بلد	23	65	الضلوعية
تكريت	25	55	دجلة

جدول (2) تأثير الفطر H.t على نمو نبات الاكيدينا بعد 45 يوم من الاصابة

نوع المعاملة	% شدة الاصابة
العزلة S / سامراء / البدعية	80
العزلة B / بلد / الضلوعية	75
العزلة T / تكريت / دجلة	90
المقارنة	0.0
LSD (5%)	18.68

جدول (3) تقويم كفاءة فطر المكافحة الاحيائية T.H والبكتريا B. S في

خفض إصابة نبات انكيدنيا بالفطر H.t تحت ظروف البيت البلاستيكي لعزلة منطقة SB .

نوع المعاملة	% شدة الاصابة	الوزن الجاف الخضري (غم)	المجموع
عزلة الفطر الممرض H.t بمفرده	95.0	1.40	
عزلة الفطر الاحيائي + الفطر الممرض H.t+T.h	25.0	5.60	
عزلة البكتريا الاحيائية S.b بمفردها	40	3.03	
عزلة البكترية الاحيائية + الفطر الممرض	٢٧,٦	3.35	
المقارنة	٠,٠	٣,٣	
LSD (5) %	0.3	0.65	

المصادر:

١- الديري ، نزال . ١٩٩٣ . أشجار الفاكهة المستديمة الخضرة ، منشورات جامعة حلب.

2- Van der Plank J.E. 1960. Analysis os epidemics. In plant Pathology Vol. 3, ed. J.G. Hhorskfall and A.E Dimond. Pp. 229 – 289. New York / Academic .

3- Smith, W. H. 1970 . Tree pathology : A short introduction. New York / Academic 309 pp.

4- Natour, R.M. &H.AI-Haidery1967.Occurrence of branch wilt diseases caused by *Hendersonulaturuloideain* Iraq . PI.Dis.Rept. 51:971-373 .

5- Al-Hassan,K.K.,A.A.Sadic&H.Fahill 1970 Baranch wilt of apple.FAOplpro. Bull,18:115-118.

- ٦- المراد ، نضال يونس . ٢٠٠٦. تسجيل أول لمرض ذبول الأفرع الهندرسونيولي على أشجار الجنار في العراق ، مجلة الرافيدين ٤ (٣٣) : ٣١٦ - ٣٢٧ .
- ٧- كريم ، خالد أحمد . ١٩٨٤ . ذبول أفرع اليوكالبتوس وسمية راشح مزرعة الفطر المسبب للمرض . رسالة ماجستير . جامعة صلاح الدين .
- ٨- القصاب ، عبد المطلب رضا حيدر (١٩٨٦) . تنقية وتشخيص السموم التي يفرزها الفطر *HendersonulaturuloideaNatrass* ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة صلاح الدين - أربيل .
- 9- Wilson, E.E. 1947. The branch wilt of Persian walnut trees and its cause. *Hilgardia* 17:413-430.
- 10-Sutton, B.C.&B.J.Dyko 1989. Revision of *Hendersonula*. *Mycol. Research*, 93:466-488.
- 11-Lewis,R.J.&E.P.Vanarsdel 1978 Development of *Botryodiplodiacankers* in Sycamore at controlled temperatures . *Plant Dis.Reptr.*62:125-126 .
- 12-Bell, D. D.; H. D. Well, and G. R. Markham . 1982 . In vitro antagonism of *Trichoderma* spp. Against six fungi, *Plant pathogens. Phytopathology.* 72: 379-382 .
- 13-Buchnan, R.E. and N.E.Gibbons . 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8thedn. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, pp. 1994.
- 14-Montealegre, J.R., R. Rodrigo, P. M. Luz, H. Rodrigo, S. Polyana, and B. Ximena. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *J. Biotec.* 6 : 115 – 127
- 15-Wilson, E.E. 1947. The branch wilt of Persian walnut tree and its cause – *Hilgardia.* 17:413-436.
- ١٦- المالكي ، بشرى . ٢٠٠١ . تأثير المخلفات الحيوية والمقاومة الاحيائية للفطريات المسببة لموت بادرات الخيار . رسالة ماجستير - قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة بغداد
- 17-Larkin, R. P. 2004 . Development of integrated biological and cultural approaches for control of powdery scab and other soil borne diseases. USDA, ARS, New England, Plant Soil, and Water Lab, Univer. of Maine, Orone, ME 44469 [www. Maine.potatos. Com / pdf / potresgrant – 04 .](http://www.Maine.potatos.Com/pdf/potresgrant-04)

- 18-Barnett,H.L&B.B.Hunter 1972 Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess publishing Co.241 pp.
- 19-Sutton, B.C.&B.J.Dyko 1989. Revision of *Hendersonula*.Mycol. Research, 93:466-488.
- ٢٠- الساعدي ، باسم محمد عجيل ، ١٩٩٩ ، دراسة حيوية ومقاومة الفطر *Hendersonuloruloidea* المسبب لمرض ذبول الأفرع على أشجار الفاكهة. رسالة ماجستير. كلية الزراعة/ جامعة بغداد.
- 21-Shawkat, A. L. B. Tarabeih A. M., Attrackchi, A. A. and Ahmed, J. M. 1979 . species of populus and pinussa new host of *Handersonuloruloidea*Natrrass in Ninevah, Iraq Mesopotamia J. Agric. 14:99-106 .
- 22-Ahmed,J.M.1973. New host of *Hendersonuloruloidea*Natrrass FAO plant protection Bull.220 .
- ٢٣- إبراهيم، بسام يحيى ونضال يونس المراد (٢٠٠٥) . سمية وامراضية الفطر *H.toruloidea* على أشجار الحمضيات . مجلة زراعة الرافدين ٢ (٣٣) : ١١٥-١٢١ .
- ٢٤- المراد ، نضال يونس .٢٠٠٦.تسجيل أول لمرض ذبول الأفرع الهندرسونيولي على أشجار الجنار في العراق ، مجلة الرافدين ٤ (٣٣) : ٣١٦ – ٣٢٧ .
- 25-Van der Plank J.E. 1960. Analysis os epidemics. In plant Pathology Vol. 3, ed. J.G. Hhorsfall and A.E Dimond. Pp. 229 – 289. New York / Academic .
- 26-Wilson, E.E. 1947. The branch wilt of Persian walnut trees and its cause. Hilgardia 17:413-430.
- 27-Harman, G. E. 2000 . The myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichodermaharzianum strain T – 22*. Plant. Dis. 84 : 377 – 393.
- 28-Johannes, S., and M. Tschen . 1988 . Control of plant pathogen fungus *Rhizoctoniasolanib*y microorganisms. [http:// www. Kclc.or. jp / hubold / ostasien / tschen. htm](http://www.Kclc.or.jp/hubold/ostasien/tschen.htm) .
- 29-Muhammad, S. and A. Amusa. 2003. Invitro inhibition of growth of some seeding blight inducing Pathogens by compost – inhabiting microbs. J. Biotech. 2 : 161 – 164 .

تحضير وتشخيص بعض المشتقات الجديدة للأوكسادايازول

والثايداايازول من حامضي البيوتارك والستيارك

*Synthesis, identification some derivatives of
new oxadiazole, thiadiazole of Butaric acid
and Stearic acid*

غسان خليفة غريب

نبيل جمال عائد الأصلي

قسم الكيمياء/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة تكريت

الالكتروني البريد: ghasaan89alany@gmail.com

Ghassan Khalifeh Ghareeb

Nabil Jamal Al-asli

Department of Chemistry, College of Education for
Pure Sciences, Tikrit University

Emile:ghasaan89alany@gmail.com

الخلاصة:

تم في هذا البحث تحضير مشتقات الأوكسادايازول والثايداايازول باستخدام أحماض دهنية مشبعة هما حامض البيوتاريك وحامض الستياريك كمادة اولية.وتحويلها إلى مشتقات الأوكسادايازول ومشتقات الثايداايازول بالطريقة غير المباشرة وذلك بتفاعل الحامض الدهني مع مسحوق السيمييكاربازايد ليعطي مشتقات السيمييكاربازايد وبتفاعل الحامض الدهني مع الثايسيمييكاربازايد ليعطي مشتق الثايسيمييكاربازايد ومن ثم تم تحويلها الى مشتقات ٢-أمينو،٣،٤-أوكسادايازول ومشتقات ٢-أمينو،٣،٤- ثايداايازول على التوالي بطريقة الغلق الحلقي باستخدام أوكسي كلوريد الفسفور(POCl₃) كعامل ساحب لجزئية ماء، ومن ثم تشخيصها باستخدام تقنيات ¹³C NMR, ¹H NMR, IR.

الكلمات المفتاحية: الأوكسادايازول، الثايداايازول، حامض البيوتاريك ، حامض الستيارك.

Abstract:

Was in this search prepared derivative oxadiazole and thiadiazole using acids fatty saturated are Butaric acid and Stearic acid as a primary and turn it into derivatives oxadiazole , derivatives thiadiazole the manner of indirect by interact acid fatty with powder Semicarbazid to give derivative of Semicarbazid and by interact acid fatty with powder Thiosemicarbazide to give derivative of Thiosemicarbazide and then converted to derivatives 2-amino1,3,4 oxadiazole and derivatives 2-amino1,3,4thiadiazole respectively by cyclic closure using Oxy phosphoric chloride (POCl_3) as his of molecule the water , and then diagnosed using techniques IR , H^1NMR , C^{13}NMR .

Keywords: oxadiazole , thiadiazole , Butaric acid , Stearic acid

المقدمة:

اهتم الباحثون في دراسة تركيب وطرائق تحضير المركبات الحلقية غير المتجانسة بما في ذلك المركبات الحلقية الخماسية لما لها من أهمية صناعية كصناعة الادوية والبوليمرات المشتركة والأصبغ والمطاط وعوامل المعالجات الكيماوية.(1) كما يعد البعض من المركبات الحلقية غير المتجانسة مصدراً أساسياً للحياة حيث ان اغلب المركبات الحياتية مثل البروتينات وكذلك الأحماض النووية تحتوي في تركيبها على حلقات غير متجانسة وكذلك الفيتامينات اذ انها مكونة من حلقات غير متجانسة حاوية على النتروجين كما في فيتامين (B6) (بيريدوكسين) والذي يعد أحد مشتقات البيريدين والمهم في عملية التمثيل الغذائي للأحماض الأمينية.(2)

2. الجزء العملي:

1.2-الأجهزة والمواد الكيميائية المستخدمة: -
1.1.2-المواد الكيميائية

جميع المواد المستخدمة في تحضير مشتقات الأوكسادايازول والثايدايازول هي مواد نقية تتراوح نقاوتها (٩٩,٥) الى (٩٩,٩)% وهي من انتاج الشركات: (Fluka , Aldrich, Merck(Ferak ,).

2.1.2-الأجهزة المستخدمة:

أ – مطياف الأشعة تحت الحمراء نوع 500Buck mode
ب – NMR-Bruker ultra shield 300 MHz was used for recording the H¹NMR and C¹³NMR spectra using DMSO₆ as solvents. That mesured in "Al-albait university-Jordan".

2-2-طرق التحضير:

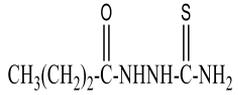
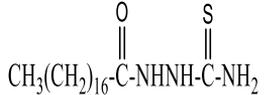
1-2-2-تحضير مشتقات السيميكاربازايد⁽³⁾:اذيب (0.01مول) من احد الاحماض الدهنية مع (0.01مول) من مسحوق السيميكاربازايد في (20مل) داي مثيل فورمومايد وصعد المزيج على(90م⁰) لمدة (٣ساعات)، ثم برد المحلول ورشح الراسب وتم غسله وإعادة البلورة له بمذيب مناسب، والجدول (3) التالي يبين الخواص الفيزيائية :

جدول (2):الخواص الفيزيائية لمعوضات السيميكاربازايد

Comp No	Comp	Molecular formula	Color	m.p°C
1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{-C(=O)-NHNH-C(=O)-NH}_2$	C ₅ H ₁₁ N ₃ O ₂	Yellow	164-162
2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{-C(=O)-NHNH-C(=O)-NH}_2$	C ₁₉ H ₃₉ N ₃ O ₂	Light yellow	187-188

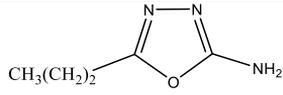
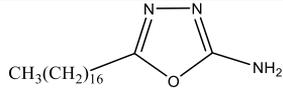
2-2-2- تحضير معوضات الثايوسيميكاربازايد(4): اذيب (٠,٠١ مول) من احد الأحماض الدهنية مع (٠,٠١ مول) من مسحوق الثايوسيميكاربازايد في (25مل) داي مثيل فورمومايد وصعد المزيج على(90°C) لمدة (٣ ساعات)، ثم برد المحلول ورشح الراسب وتم غسله وإعادة البلورة له بمذيب مناسب.

جدول (3): الخواص الفيزيائية لمعوضات الثايوسيميكاربازايد

Comp No	Comp	Molecular formula	Color	m.p°C
1		C ₅ H ₁₁ N ₃ OS	White	88-86
2		C ₁₉ H ₃₉ N ₃ O S	Dark brown	84-82

3.2.2-تحضير مشتقات ٢-أمينو ١،٣،٤-أوكسادايازول(5):

جدول (4): الخواص الفيزيائية لمشتقات ٢-أمينو- 1,3,4- أوكسادايازول:

Comp No	Comp	Molecular formula	Color	m.p°C
1A		C ₅ H ₉ N ₃ O	White	201-202
2A		C ₁₉ H ₃₇ N ₃ O	White	276-278

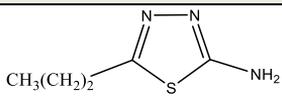
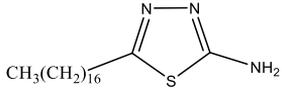
أذيب (٠,٠١ مول) من احد المركبات (1,2) في الجدول(2) في (٢٥مل) دايوكسان، ومن ثم إضافة (٠,٠١ مول) من POCl₃ تدريجيا وعلى درجة حرارة (90م⁰) لمدة

2-4 ساعة، ثم يسكب المزيج على جريش الثلج وبالأحض تكون راسب يغسل وإعادة بلورته بمذيب مناسب.

2.2.4. تحضير مشتقات ٢-أمينو ١،٣،٤-ثايدايازول: (6)

أذيب (٠،٠١ مول) من احد المركبات (1,2) الجدول (3) في (٢٥ مل) دايوكسان، ومن ثم إضافة (٠،٠١ مول) من $POCl_3$ تدريجياً وعلى درجة حرارة (٩٠⁰) لمدة ٤-٦ ساعة، ثم يسكب المزيج على جريش الثلج ويلاحظ تكون راسب يغسل وإعادة بلورته بمذيب مناسب.

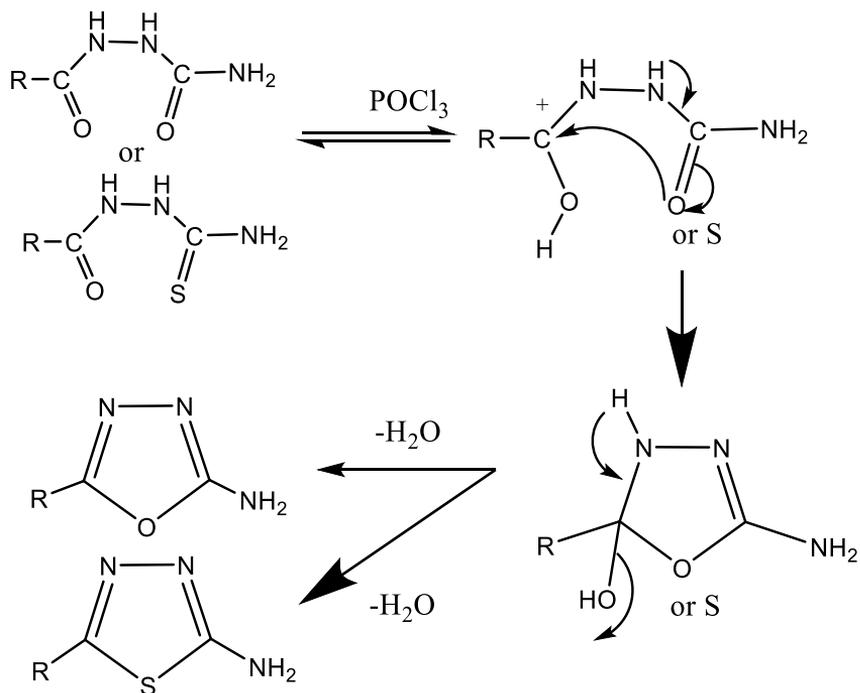
جدول (6): الخواص الفيزيائية لمشتقات ٢-أمينو- 1,3,4- ثايدايازول:

Comp No	Comp	Molecular formula	Color	m.p ^o C
3A		$C_5H_9N_3S$	Yellow	158--160
4A		$C_{19}H_{37}N_3S$	Orange	194-196

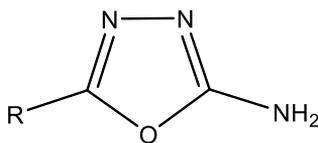
النتائج والمناقشة:

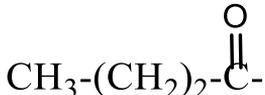
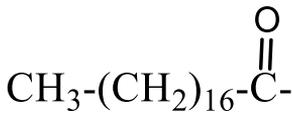
تحضير وتشخيص الأوكسادايازول والثايدايازول:

تم تحضير مركبات الأوكسادايازول والثايدايازول لحامض الستيارك عن طريق تفاعل اوكسي كلوريد الفسفور ($POCl_3$) مع كل من مشتقات السيميكاربازيد ومشتقات الثايسيميكاربازيد إذ تتحول هذه المركبات ضمناً مع حذف جزيئة ماء لتعطي حلقة الأوكسادايازول والثايدايازول على التوالي. ويمكن توضيح ميكانيكية التفاعل المقترحة (7) بالاتي:



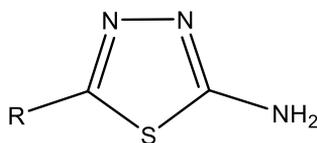
وباستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء تم التأكد من صحة تركيب مركبات الأوكسادايازول الذي تميز بظهور حزمة عند $(1081-1043 \text{ cm}^{-1})$ تعود إلى المط المتناظر لمجموعة $(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ وظهور حزمة $(1271-1205)$ تعود للمط غير التناظر، وكذلك ظهور حزمة مط عند المنطقة $(1588-1643 \text{ cm}^{-1})$ تعود إلى اهتزاز المط لمجموعة $(\text{C}=\text{N})$ فضلاً عن حزمة مط لمجموعة $(\text{N}-\text{H})$ في المدى $(3432-3422 \text{ cm}^{-1})$. مع اختفاء حزمة امتصاص المط لمجموعي الكاربونيل $(\text{C}=\text{O})$. والشكلين (2,1) يبين طيف الأشعة تحت الحمراء للمركبين (1A,2A). والشكلين (5,6) يوضح طيف الرنين المغناطيسي للمركبين (1A,2A). الجدول الآتي يوضح الخصائص الطيفية للأشعة تحت الحمراء للمركبات (1A,2A)

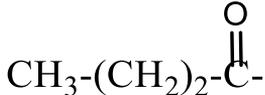
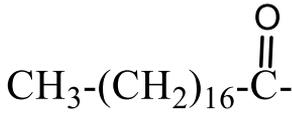


Comp:No	R	NH ₂	(C=N)	C-O-C
1A		3422	1643	1214 1043
2A		3432	1588	١٢٠٥ 1081

وأيضا باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء^(٧٨) تم التأكد من صحة تركيب مركبات الثايدايازول الذي تميز بظهور حزمتي امتصاص أساسيتين الأولى عند مدى (١٠٦٦-١٠٤٤) سم^{-١} حزمة المط المتناظر والثانية عند مدى (١٢٦٤-١٢٧٣) سم^{-١} حزمة المط غير المتناظر لمجموعة (C-S-C) والتي تؤكد تكوين حلقة الثايدايازول .

وحزمة عند ($1609-1604 \text{ cm}^{-1}$) تعود إلى اهتزاز المط لمجموعة (C=N) فضلاً عن حزمة مط لمجموعة (N-H) في المدى ($3349-3450 \text{ cm}^{-1}$). مع اختفاء حزمة امتصاص المط لمجموعة الكربونيل (C=O) ومجموعة الثايون (C=S) وظهور حزمة عند المدى (. والشكل (3,4) يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (4A,3A)، والشكلين (7,8) يوضح طيف الرنين النووي المغناطيسي للمركبين (4A,3A). الجدول الآتي يوضح الخصائص الطيفية للأشعة تحت الحمراء للمركبات (4A,3A):



Comp. No.	R	NH ₂	(C=N)	C-S-C
3A		3349	1604	1273 1066
4A		3387	1609	1264 1044

مناقشة أطياف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (H^1 -NMR) :-

discussion of nuclear magnetic resoanance of spectra

تم دراسة أطياف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (H^1 -NMR) والتي تمت باستخدام (DMSO-d6) كمذيب وباستخدام رباعي مثيل سيلان (Tetramethylsilane:TMS) كمرجع داخلي، وقد تم القياس بالوحدات δ القياسية المعتمدة والتي يعبر عنها بالجزء بالمليون (ppm).

وقد تم إجراء التحاليل لبعض المركبات المختارة على أساس دعم المسارات التحضيرية للدراسة، وقد توافقت نتائج تحليل الرنين النووي المغناطيسي للبروتون مع تلك التي في الأشعة تحت الحمراء وكانت النتائج المبينة في الجدول () وكالتالي:

(١) المركب (3A) :

اظهر المركب حزمة منفردة عريضة عند ٦,٥٦٧ جزء بالمليون تعزى لبروتون مجموعة الأمين (NH)، مع ظهور حزم متعددة عند المدى ١,٦٠- 2.83 جزء بالمليون تعزى لبروتون مجموعة السلسلة الألفاتية (CH_2)، كما ظهرت حزم عند المدى ٠,٨٣- 0.85 جزء بالمليون تعزى لبروتون مجموعة (CH_3)، يلاحظ الشكل (٢٦).

Comp.No.	$1H$ -NMR Spectrum, δ , ppm, 400MHz
3A	6.56(s, 1H, NH), 1.60-2.83(dd9H, C-H), 0.83-0.85(dd, 3H, C-H)

مناقشة أطياف الرنين النووي المغناطيسي للكربون (C^{13} -NMR) :-

Discussion of nuclear magnetic resonance of carbon spectra

تم دراسة أطياف الرنين النووي المغناطيسي للكربون (C^{13} -NMR) والتي تمت باستخدام المذيب (DMSO-d6) باستخدام رباعي مثيل سيلان (Tetramethylsilane:TMS) كمرجع داخلي، وقد تم القياس بالوحدات δ القياسية المعتمدة والتي يعبر عنها بالجزء بالمليون (PPm).

لقد تم إجراء التحاليل لبعض المركبات المختارة على أساس دعم المسارات التحضيرية للدراسة، وقد توافقت نتائج تحليل الرنين النووي المغناطيسي للكربون مع تلك التي في الأشعة تحت الحمراء .

(١) المركب (1A) :

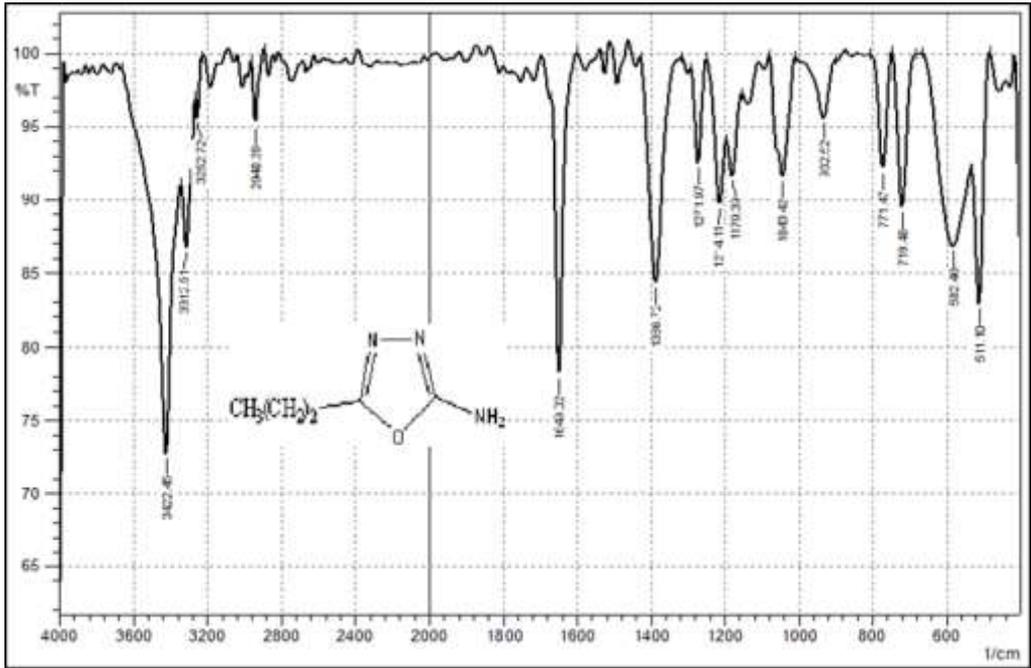
أظهر المركب إشارة عند ١٦٩,١١٥ تود إلى ذرة الكربون (C-NH₂) الحلقة الخماسية المتصلة بمجموعة (NH₂) وإشارة واحدة عند ١٦٤,٣٠٨ تعود لذرة الكربون (C-CH₂) الحلقية المتصلة بالسلسلة الألفاتية، وكذلك ظهور حزم أقل من ١٠٠ تعود لذرات الكربون الأليفاتية وكما في الشكل (30).

(١) المركب (2A) :

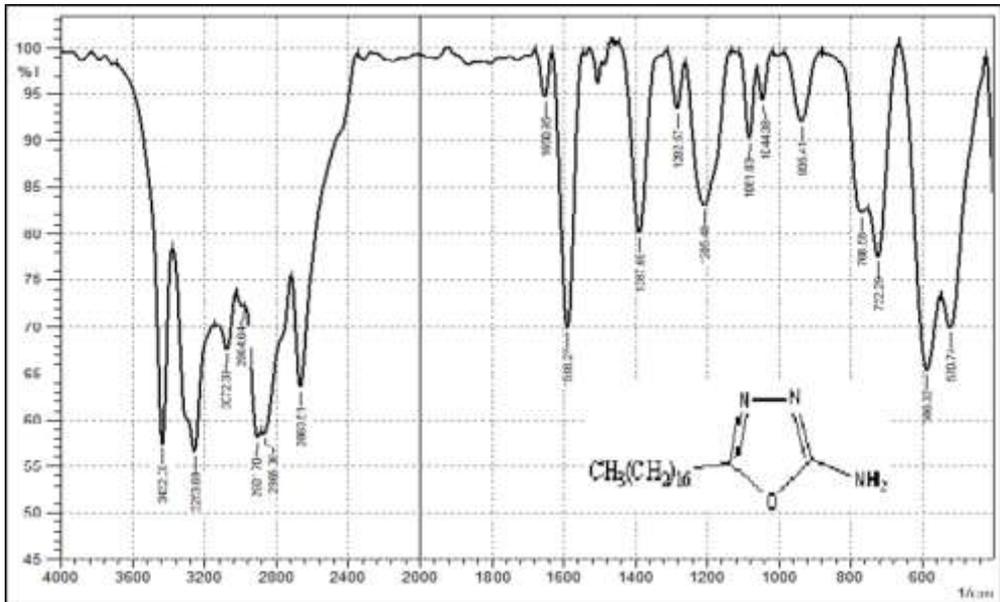
أظهر المركب إشارة عند ١٦٨,٩٨٧ تعود إلى ذرة الكربون (C-NH₂) الحلقة الخماسية وإشارة عند ١٦٣,٧٤١ تعود لذرة الكربون (C-CH₂) الحلقة الخماسية المتصلة بالسلسلة الألفاتية، وظهر إشارات من ١٤,٧١٤-32.012 تعود إلى ذرات الكربون الأليفاتية وكما في الشكل (٣١).

(١) المركب (4A) :

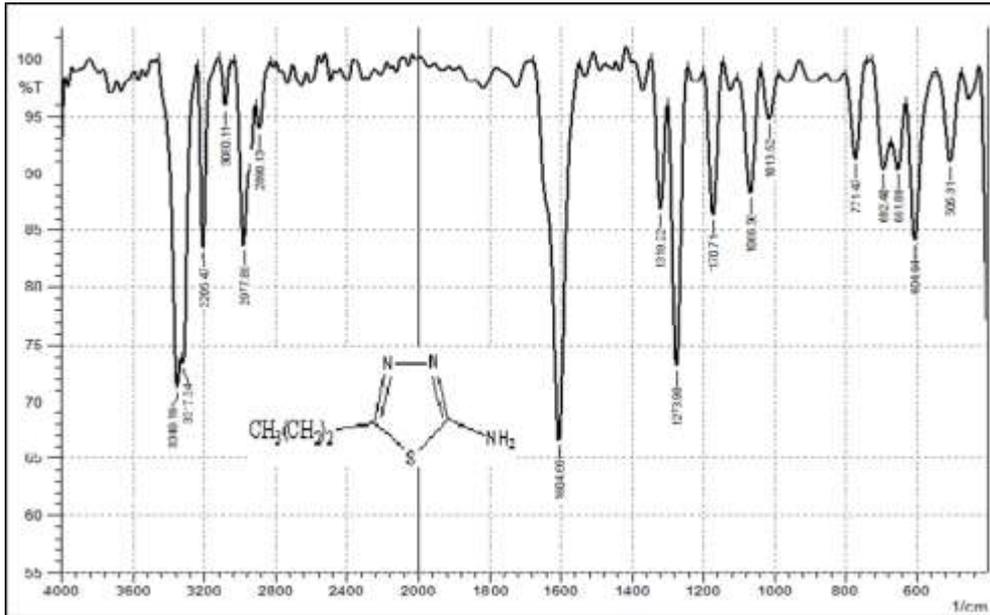
أظهر المركب إشارة عند ١٦٩,١٨٩ تعزى إلى ذرة الكربون (C-CH₂) الحلقة الخماسية المتصلة بالسلسلة الألفاتية وإشارة واحدة عند ١٦٢,٥٨٤ تعود لذرة الكربون (C-NH₂) الحلقية المتصلة بمجموعة (NH₂) وكذلك ظهور إشارات من 31.818-14.287 تعود لذرات الكربون الأليفاتية وكما في الشكل (30).



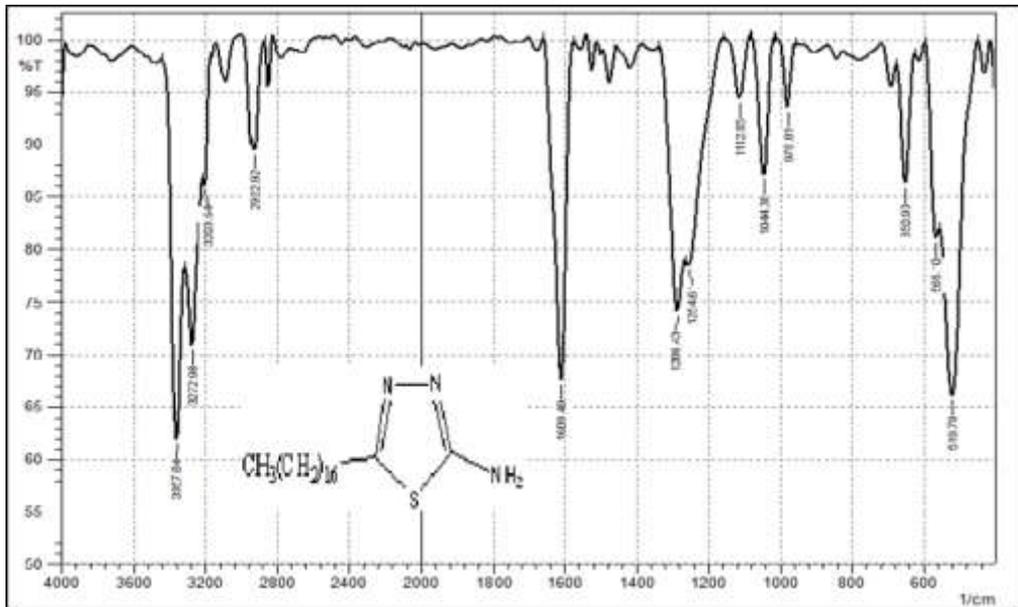
الشكل (1) طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (1)



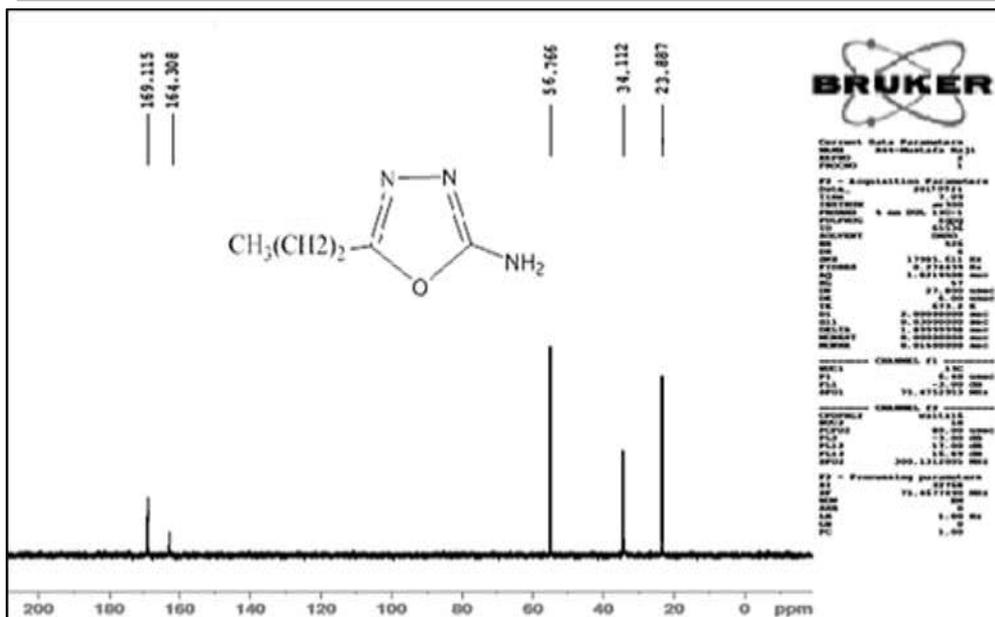
الشكل (2) طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (2)



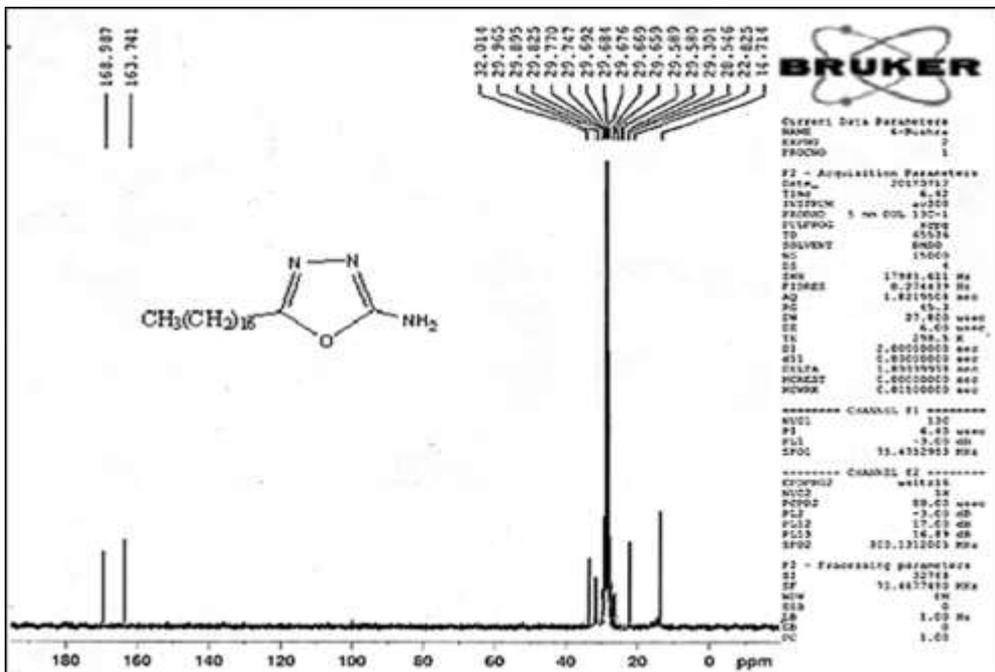
الشكل (3) طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (3)



الشكل (4) طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (4)



الشكل (5) طيف الرنين النووي المغناطيسي (C^{13} -NMR) للمركب (1A).



الشكل (6) طيف الرنين النووي المغناطيسي (H^1 -NMR) للمركب (2A)

REFERENCES

1. Lafta S.J. *Ph.D. Thesis*, University of Al-Musatansiriya, Baghdad, Iraq (1999).
2. Katritzky A. R. and Reez C.W., *Pergamon Press Ltd.*, England, 1, 247(1984).
3. Elderfield R.C. "*Heterocyclic Compounds*" Acadim Press; London(1962).
4. Molina P; Arques A. and Valcarcel M.V; *Synthesis* P.944, (1982).
5. Gehlen H; and Moeekel K; *Ann. Chem*; 685, 176, (1995).
6. Richard, C; Gilmore, J.R; Horton W. *J. Am. Chem. Soc.*73, 1411(1951).
7. R.C. Elderfield, "*Heterocyclic Compound*", John Wiley and Sons, New York, Vol. 7, p. 526, 469, 599(1976).

تحضير وتشخيص بعض مشتقات 3,1- أوكسازبان 7,4- دايون بالطريقة التقليدية وطريقة المايكروويف وتقييم

الفعالية البيولوجية

*Synthesis, Characterization of some 1,3-
Oxazepane -4,7-Dione by Traditional and
Microwave routes method and evaluation of
their biological activity*

ا.م.د. فوزي حميد جمعة العبيدي

عادل حسين دلف المجعي

قسم الكيمياء/ كلية التربية للبنات/ جامعة تكريت

Fawzi Hameed Jumaa AL-Obaidy

Adil Hussein Dalaf Al - Majma'i

**Department of Chemistry, College of Education for
Women, Tikrit University, Tikrit - Iraq**

E-mail: tati_love2003@yahoo.com

الخلاصة:

تم تحضير قواعد شيف [A₅-A₁] من تفاعل معوضات الأمينات الأروماتية مع مشتق الألديهيد ثم تحضير حلقات سباعية لمشتقات 3,1- أوكسازبان 7,4- دايون [A₁₀-A₆] من مفاعلة قواعد شيف المحضرة مع إنهيدريد السكسنيك اللامائي في البنزين الجاف، ثم شخّصت المركبات المحضرة بالطرائق الطيفية مثل طيف الأشعة فوق البنفسجية [UV] وطيف الأشعة تحت الحمراء [IR] وأطياف الرنين النووي المغناطيسي [¹H- NMR] والتحليل الكمي للعناصر (C.H.N.) فضلاً عن تعيين درجات الانصهار والنقاوة للمركبات المحضرة، ومتابعة سير التفاعلات بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC، كما تم تقييم الفعالية البيولوجية لبعض

المركبات المحضرة على نمو أربعة أنواع من العزلات البكتيرية وهي *أشريشيا القولون* و*كلبسيلا الرئوية* و*المكورات العنقودية الذهبية* و*العنقودية البشروية*.
الكلمات المفتاحية: قواعد شيف، 3,1- أوكسازيان 7,4- دايون.

Abstract:

This work included synthesis of schiff base through reaction substituted aromatic amin with aldehyde derivative in ethanol compounds [A₁-A₅] and 1,3-Oxazepines -4,7-Dione derivatives prepared by reaction schiff base with succinic anhydride in dry benzene compounds [A₆-A₁₀], and characterization by using spectroscopic techniques Uv/Vis, FT-IR and H¹-NMR of some the prepared compounds using DMSO-d⁶ a solvent, in addition melting point and determination a purity of TLC, and this thesis consists a study of biological activity for the some prepared compounds against four types of pathogenic bacteria and know to be resistant to anti biotic.

Key words: Schiff's base, 1,3-Oxazepines-4,7-Dione.

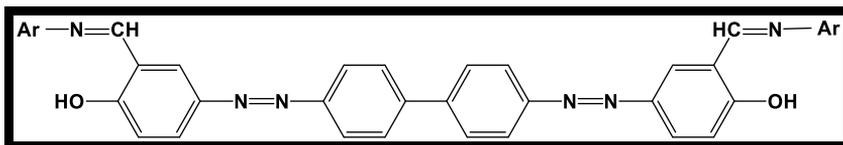
١. المقدمة:

قواعد شيف مركبات عضوية تحتوي على مجموعة الأزوميثين (-CH=N-)، سميت بهذا الاسم نسبة إلى العالم شيف (1)، وتعرف قواعد شيف بأسماء مختلفة مثل الإيمينات والأزوميثينات والأنيلات (2)، وبصورة عامة تعرف قواعد شيف المشتقة من تكاثف الألديهيدات مع الأمينات بالأديمينات، في حين المركبات المشتقة من تكاثف الكيتونات مع الأمينات الأولية تعرف بالكيتيمينات وفي حالة تكاثف الهيدرازيدات مع الألديهيدات فإن الناتج يدعى بالهيدرازونات (3). **مركبات 3,1- أوكسازيبين** هي مركبات غير مشعبة سباعية الحلقة غير متجانسة تحتوي على خمس ذرات كربون وذرة أوكسجين وذرة نتروجين واحدة، وان زيادة حجم الحلقة يجعلها غير مستوية إذا ما قورنت بحلقة البنزين الأروماتية السداسية، وهي بذلك غير أروماتية (4)، ونتيجة لزيادة حجم الحلقة نجد أن معدل تكوين هذه المركبات يزداد ويتم تحضيرها بسهولة بسبب الاختلاف في الأعداد والأنواع ومواقع الذرات ونجد أن هناك عددا هائلا للمركبات غير المتجانسة يتم تحضيرها وإنتاجها في هذا المجال (5)، وقد أثبتت الدراسات بأن الأوكسازيبين يستخدم في علاج الأمراض والاضطرابات النفسية مما دفع العديد من الباحثين لإيجاد طرق جديدة لتحضير الأوكسازيبين (6).

٢. الجزء العملي:**٢-١:- الأجهزة المستخدمة:**

١. سجلت أطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركبات المحضرة بمطيافية نوع - Shimadzu (UV-Vis) Spectrophotometer UV-1800 Pc عند درجة حرارة (٢٥)°م بخلايا من الكوارتز (١ سم) وبمدى (٢٠٠-٨٠٠) نانومتر وباستخدام الإيثانول كمذيب
٢. سجلت اطياف الأشعة تحت الحمراء (IR) للمركبات المحضرة بمطيافية نوع: - FT-IR-600 Fourier- Transform infrared (FT-IR) Spectrophotometer 2002 باستخدام اقراص (KBr) وبمدى (600-4000) سم⁻¹.
٣. سجلت أطياف الرنين النووي المغناطيسي (H-NMR¹) في مختبرات جامعة سلجوق في تركيا وباستخدام جهاز Varian وبقوة 400 MHz وباستخدام (DMSO - d⁶) مذيباً.
٤. سجلت قيم التحليل الكمي للعناصر (C.H.N.) في المختبر الخدمي المركزي - كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم - جامعة بغداد وباستخدام جهاز من نوع EuroEA 3000/Italy.

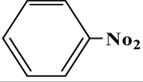
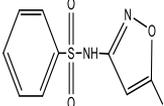
2-2 :- تحضير قواعد شيف بالطريقة التقليدية (7) : أذيب (4.5 mol, 0.01 gm) من مشتق الألددهايد في (50 ml) من الإيثانول المطلق وبعد تمام الإذابة أضيف الى المزيج (0.02 mol) من الأمينات الأروماتية المختلفة وبعد إضافة (4) قطرات من حامض الخليك الثلجي صعد عكسيا لمدة (3-5) ساعات وتم التأكد من انتهاء التفاعل باستخدام تقنية TLC وبعد انتهاء التفاعل برد المزيج الناتج ببطء ومن ثم رشح وجمع الراسب وجفف حتى ثبوت الوزن وأعيدت بلورته بالإيثانول وجفف مرة أخرى.

الجدول (١): بعض الخصائص الفيزيائية لمشتقات قواعد شيف [A₅-A₁].

Comp No.	Ar	Molecular Formula/ M.Wt g/mol	Color	M.P (°C)	Time (h.)	Yield (%)	R f
A ₁		C ₃₈ H ₂₈ N ₆ O ₂ 600.68	Dark green	175-177	3	71	0.60
A ₂		C ₃₈ H ₂₆ N ₈ O ₆ 690.68	Light green	145-147	3	82	0.78
A ₃		C ₃₄ H ₂₄ N ₁₀ O ₂ 604.63	Brown	231-233	5	81	0.80
A ₄		C ₃₈ H ₂₈ N ₆ O ₄ 632.68	Red	259-260	4	57	0.84
A ₅		C ₄₆ H ₃₆ N ₁₀ O ₈ S ₂ 920.98	Brown	270-272	5	66	0.76

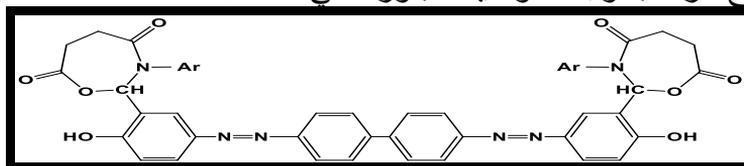
3-2 :- تحضير قواعد شيف بطريقة المايكروويف (8): أذيب (0.01 mol, 4.5 gm) من مشتق الألديهيد في (15 ml) من الإيثانول ثم أضيف الى المزيج (0.02 mol) من الأمينات الأروماتية ثم صعد عكسيا لمدة (6-12) دقيقة في جهاز المايكروويف عند درجة حرارة (78 C⁰) وقدره (400 W) وبعد انتهاء التفاعل برد المزيج الناتج ببطء ومن ثم رشح وجمع الراسب.

الجدول (2): بعض الخصائص الفيزيائية لمشتقات قواعد شيف [A₅-A₁].

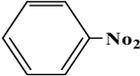
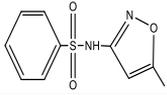
Comp No.	Ar	Color	M.P (°C)	Time (min.)	Yield (%)
A ₁		Dark green	174- 176	10	89
A ₂		Green	144- 145	6	94
A ₃		Dark brown	232- 233	9	94
A ₄		Light red	258- 260	10	90
A ₅		Brown	271- 273	12	95

4-2: - تحضير مشتقات 3,1- أوكسازبان 7,4- دايون بالطريقة التقليدية (9):

مزج (0.001 mol) من قواعد شيف المحضرة [A₅-A₁] في (40 ml) من البنزين الجاف مع (0.002 mol, 0.2gm) من إنهيديريد السكسنيك اللامائي، ووضع في دورق دائري ذو فتحتين الأولى يوضع فيها المكثف للتصعيد والثانية يوضع فيها كلوريد الكالسيوم CaCl₂ ثم صعد المزيج لمدة (4-8) ساعة في حمام مائي، وتم التأكد من انتهاء التفاعل باستخدام تقنية TLC، ثم برد المزيج في حمام ثلجي، ورشح الراسب وجفف وأعيدت بلورته في DMF.



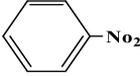
جدول (٣): الخصائص الفيزيائية لمشتقات 3,1- أوكسازبان 7,4- دايون [A₁₀-A₆].

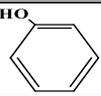
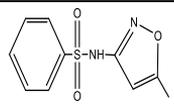
Comp No.	Ar	Molecular Formula/ M.Wt g/mol	Color	M.P (°C)	Time (h)	Yield (%)	R f
A ₆		C ₄₆ H ₃₆ N ₆ O ₈ 800.83	Brown	270- 272	4	70	0.72
A ₇		C ₄₆ H ₃₄ N ₈ O ₁₂ 890.82	Dark orange	263- 265	4	68	0.84
A ₈		C ₄₂ H ₃₂ N ₁₀ O ₈ 804.78	Yellow	250-252	5	57	0.69
A ₉		C ₄₆ H ₃₆ N ₆ O ₁₀ 832.83	Dark orange	229- 231	6	76	0.75
A ₁₀		C ₅₄ H ₄₄ N ₁₀ O ₁₄ S ₂ 1121.12	Brown	288- 290	5	81	0.96

5-2: - تحضير مشتقات 3,1- أوكسازبان 7,4- دايون بطريقة المايكروويف (١٠):

مزج (0.001 mol) من قواعد شيف المحضرة [A₆-A₂] في (10 ml) من البنزين الجاف مع (0.002 mol 0.2 gm) من إنهيديريد السكسنيك اللامائي في دورق دائري، ووضع في جهاز المايكروويف وصعد المزيج لمدة (6-13) دقيقة عند درجة حرارة (80C⁰) وقدرة (400W)، وتم التأكد من انتهاء التفاعل باستخدام تقنية TLC، برد المزيج في حمام ثلجي، ورشح الراسب وجفف.

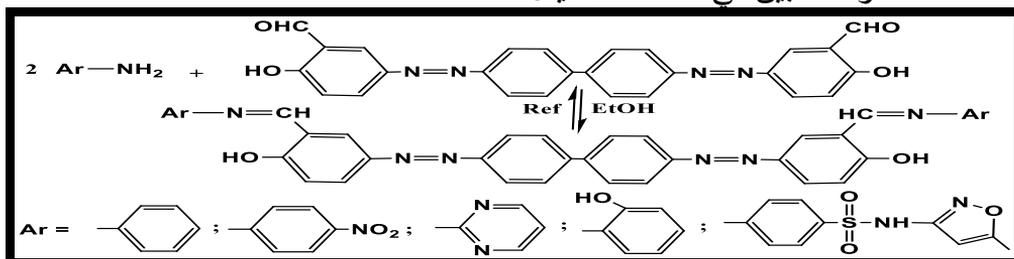
جدول (4): الخصائص الفيزيائية لمشتقات 3,1- أوكسازبان 7,4- دايون [A₁₀-A₆].

Comp. No.	Ar	Color	M.P (°C)	Time (min)	Yield (%)
A ₆		Dark brown	270- 272	8	90
A ₇		Red	264- 265	6	79
A ₈		Dark yellow	250-251	10	88

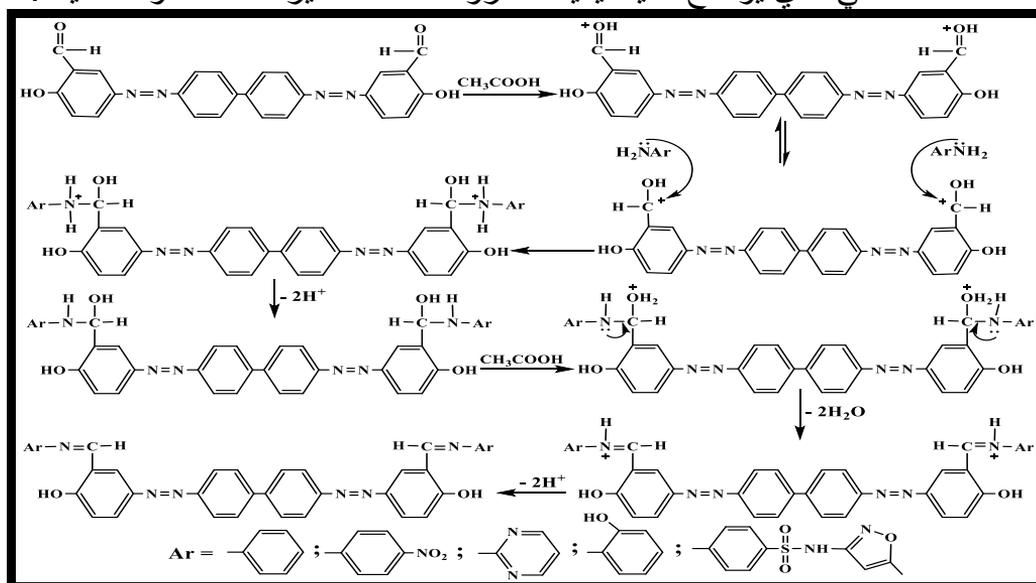
A ₉		Dark orange	233- 234	6	1 ^٧
A ₁₀		Dark brown	288- 289	13	89

٣. النتائج والمناقشة:

٣-١: تشخيص قواعد شيف: تم التحضير من تفاعل مولين من مشتقات الامين الاروماتي مع مول واحد من مشتق الألديهيد بوجود الايثانول كمتذيب (١١) وكما مبين في المعادلة الآتية:



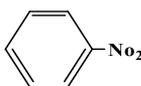
إذ تتلخص ميكانيكية الإضافة بخطوتين: الأولى هي مهاجمة المزدوج الالكتروني غير المشترك لمجموعة الأمين على ذرة كاربون مجموعة الكاربونيل في الألديهيد، أما الخطوة الثانية فتحدث منها جزيئة ماء لتكوين أصرة الأزوميثين (C=N)، وكما في المخطط الآتي الذي يوضح الميكانيكية المعروفة (١٢) لتحضير مشتقات قواعد شيف:

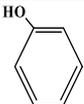
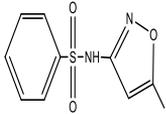


مخطط (١): ميكانيكية تحضير قواعد شيف [A₅-A₁].

وتم التأكد من حصول التفاعل من خلال ملاحظة التغيرات التي حصلت على الصفات الفيزيائية من درجة الانصهار الحادة والتغير الكبير في اللون فضلاً عن التأكد من نقاوة الناتج وأجراء اختبار قياس معدل سرعة الجريان (Rate of flow) على النتائج والذي أظهر بقعة مفردة واضحة على صفيحة كروموتوغرافيا الطبقة الراقية (TLC)، وعند دراسة طيف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (Vis-UV) للمركبات المحضرة [A₅-A₁] باستخدام الايثانول (٩٥%) كمذيب وبتركيز تراوح بين ١٠^{-٤}-١٠^{-٥} مولاري للمركبات المحضرة، حيث أظهرت أطوال موجية قصيرة (λ_{max}) عند (٢١٧ - ٢٦١) نانوميتر تعود إلى انتقالات (π←π*) مع أطوال موجية طويلة (λ_{max}) عند المدى (٣٠٥ - ٣٩٨) نانوميتر تعود للانتقالات الالكترونية من نوع (n←π*) وكانت الحزم مقاربة لما موجود بالأدبيات^(١٣). وعند دراسة طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) لوحظ ظهور حزمة متوسطة عند (١٦٢٢-١٦٧٢) سم^{-١} تعود لمجموعة (C=N) وظهور حزمة قوية عند (١٤٣٥-١٤٨٥) سم^{-١} تعود لمجموعة (N=N) وظهور حزمتي امتصاص عند المدى (١٤٨٥ - ١٥٥٥) سم^{-١} و (١٥٥٩-١٥٩٥) سم^{-١} تعود لمط أصرة (C=C) الأروماتية إضافة لحزم امتصاص عند المدى (٣٠٩٣-٣٠٣٥) سم^{-١} تعود لمط أصرة (C-H) الأروماتية وظهور حزم امتصاص عند المدى (٢٩٥٨-٢٩٠٠) سم^{-١} تعود لمط أصرة (C-H) الأليفاتية مع ظهور حزم امتصاص عند المدى (٣٢٩٩-٣٤٤٦) سم^{-١} تعود لمط أصرة (O-H) وكما في الجدول (٥)، كانت هذه الحزم مقاربة لما موجود بالأدبيات^(١٤).

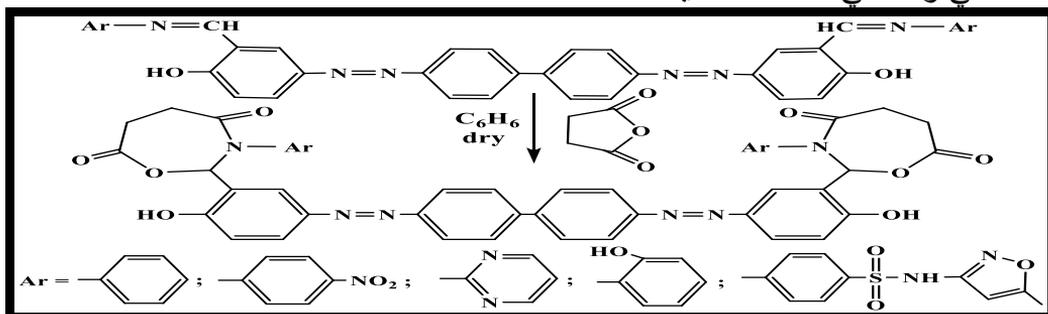
الجدول (٥) نتائج امتصاص الأشعة تحت الحمراء (سم^{-١}) وقيم الامتصاصات في طيف الأشعة فوق البنفسجية لمشتقات قواعد شف [A₅-A₁].

Comp No.	Ar	max λ ₁ max λ ₂ EtOH	IR (KBr) cm ⁻¹						Others
			ν (C=N)	ν (C-H) Arom.	ν (C-H) Aliph.	ν (C=C)	ν (N=N)	ν (O-H)	
A ₁		٢٦١ ٣٩٣	١٦٢٢	٣٠٤١	٢٩١٢	١٥٠٦ ١٥٥٩	١٤٣٥	٣٣٧٣
A ₂		٢٤٨ ٣٩٨	١٦٥٠	٣٠٤٩	٢٩٠٠	١٤٨٥ ١٥٩٤	١٤٣٨	٣٤٠٧	ν (NO ₂). asy.(1565) sym.(1367)
A ₃		٢١٧ ٣٤٢	١٦٧٢	٣٠٣٥	٢٩٤٤	١٤٩٠ ١٥٧٨	١٤٤٠	٣٣٢٠	ν (C-N) ١٣٧٠

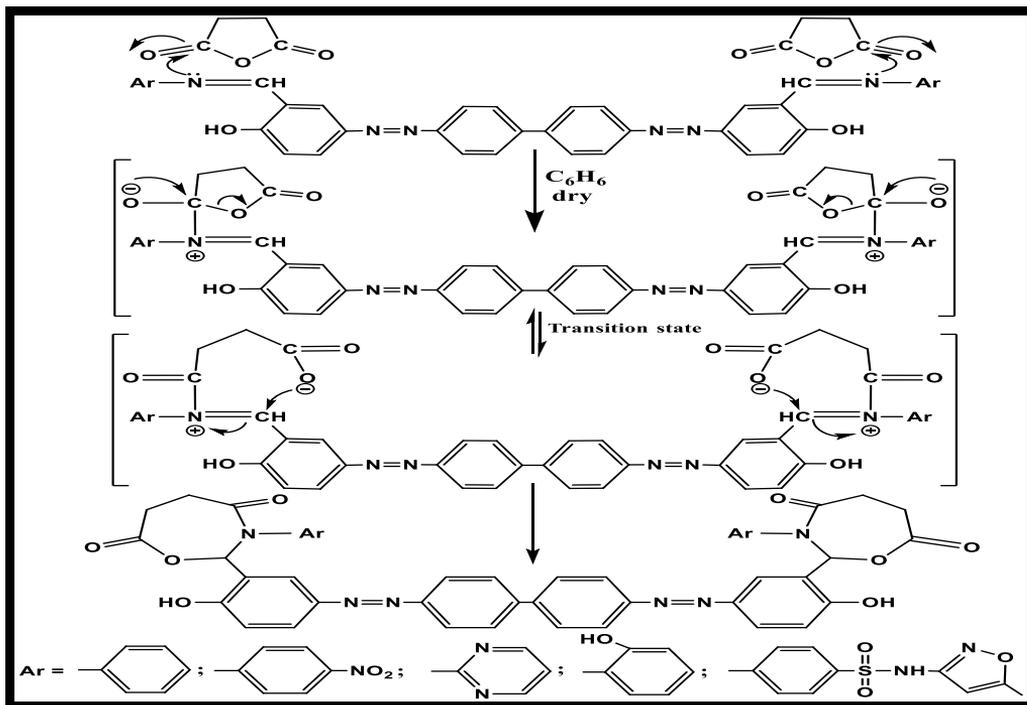
A ₄		٢٣٩ ٣٠٥	١٦٥٩	٣٠٩١	٢٩٥٦	١٥٥٥ ١٥٩١	١٤٨٥	٣٤٤٦
A ₅		٢١٨ ٣٨٤	١٦٤٦	٣٠٩٣	٢٩٥٨	١٤٩٢ ١٥٩٥	١٤٤٨	٣٢٩٩	v (SO ₂). asy.(1360) sym.(1172) v (N-H) ٣١٧٢ v (CH ₃) asy.(2974) sym.(2870)

٢-٣: - تشخيص مشتقات 3,1-أوكسازبان 7,4-دايون:

تم تحضير مشتقات 3,1-أوكسازبان ٧,٤-دايون [A₁₀-A₆] من خلال تفاعل مول واحد من قواعد شيف المحضرة [A₅-A₁] مع مولين من إنهيديريد السكسنيك اللامائي وكما في المعادلة التالية:



إذ تتلخص ميكانيكية التحضير بخطوتين: الأولى هي مهاجمة المزدوج الإلكتروني في أصرة الأزوميثين (C=N) العائدة لقاعدة شيف إلى مجموعة الكربونيل في الإنهيديريد ثم ارتباط النتروجين من مجموعة الأزوميثين مع ذرة الكربون العائدة لمجموعة الكربونيل وإرتباط ذرة الكربون العائدة إلى مجموعة الأزوميثين مع ذرة الأوكسجين في الإنهيديريد وحدث حالة انتقالية غير مستقرة، بعد ذلك تحدث الخطوة الثانية وهي كسرة أصرة الأزوميثين وتكوين الأوكسازبان من الحالة الانتقالية مكونة حلقة سباعية غير متجانسة مكونة من ذرة نيتروجين واحدة وذرة أوكسجين واحدة وخمس ذرات كربون وكما في المخطط الآتي الذي يوضح الميكانيكية المعروفة (1٥) للتحضير:

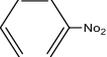
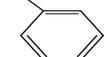


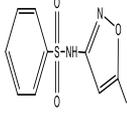
مخطط (٢): ميكانيكية تحضير مشتقات 3,1- أوكسازيان ٤،٧- دايون [A₁₀-A₆].

وتم التأكد من حصول التفاعل من خلال التغير الكبير في الصفات الفيزيائية من درجة الانصهار الحادة والتغير الكبير في اللون فضلاً عن إجراء اختبار قياس معدل سرعة الجريان R_f (Rate of flow) على النتائج والذي أظهر بقعة مفردة واضحة على صفيحة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)، وعند دراسة طيف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV-Vis) باستخدام الإيثانول (٩٥%) كذيب وبتركيز تراوح بين ١٠^{-٤}-١٠^{-٥} مولاري للمركبات، حيث أظهرت أطوال موجية قصيرة (λ_{max}) عند (٢١٢ - ٢٦٩) نانوميتر تعود إلى انتقالات ($\pi \leftarrow \pi^*$) مع أطوال موجية طويلة (λ_{max}) عند المدى (٢٨٠ - ٣٩٦) نانوميتر تعود للانتقالات الإلكترونية من نوع ($n \leftarrow \pi^*$)، أما عند دراسة طيف الأشعة تحت الحمراء لوحظ اختفاء الحزمة المتوسطة عند (١٦٨٩-١٦٥٠) سم^{-١} التي تعود لمجموعة (C=N)، وظهور حزمتين قويتين عند التردد (١٧٠٩-١٧٦٥) سم^{-١} و (١٦٩٣-١٦٣٠) سم^{-١} تعودان إلى مط أصرة الكربونيل (C=O) اللاكتون واللاكتام على التوالي، وظهور حزمة متوسطة عند المدى (١٢٩٤-١٢٥٣) سم^{-١} تعزى إلى مط الأصرة (C-O)، وظهور حزم أخرى عند المدى (١١٩٠-١١٤١) سم^{-١} تعزى إلى مط الأصرة (C-N)، إذ لوحظ ظهور حزمة امتصاص عريضة عند المدى (٣٣٩٦-٣٤٧٥) سم^{-١} تعود لمط أصرة (O-H)، وظهور حزم امتصاص عند المدى (٣٠١٦-٣٠٩٥) سم^{-١} تعود لمط

أصرة (C-H) الأروماتية فضلاً عن ظهور حزم امتصاص عند المدى (٢٩٠٦-٢٩٥٤) سم⁻¹ تعود لمط أصرة (C-H) الأليفاتية، وظهور حزمتين عند المدى (١٥١١-١٥٦٨) سم⁻¹ و (١٥٩٢-١٥٦٤) سم⁻¹ تعود إلى اهتزاز الأصرة (C=C) الأروماتية، وظهور حزمة متوسطة عند المدى (١٤٦٥-١٤٩١) سم⁻¹ تعود لمجموعة (N=N)، وكانت هذه الحزم مقارنة لما موجود بالأدبيات^(١٦)، أما عند دراسة طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون للمركب [A₁₀] لوحظ ظهور إشارة مفردة في الموقع (١١,٦٣) جزء من المليون تعزى إلى بروتون ذرتي النتروجين وظهور إشارة مفردة في الموقع (١٠,٠٠) جزء من المليون تعزى إلى بروتون مجموعتي الهيدروكسيل (OH) وظهور إشارة مفردة في الموقع (٨,٧٤) جزء من المليون تعزى إلى بروتون (CH) للحلقتين السباعيتين كما ظهرت إشارة متعددة عند (٧,٢٨ - ٨,٣٩) جزء من المليون تعود إلى بروتونات الحلقات الأروماتية وظهور إشارة مفردة عند (٦,٦٣) جزء من المليون تعود إلى بروتوني الحلقتين الخماسيتين وكذلك لوحظ ظهور إشارة مفردة عند (٣,٣٠) جزء من المليون تعود إلى بروتوني (CH₂) للحلقتين السباعيتين وكذلك ظهور إشارة قوية ومفردة عند (٢,٥١) جزء من المليون تعود إلى بروتونات مجموعتي المثلث (CH₃).

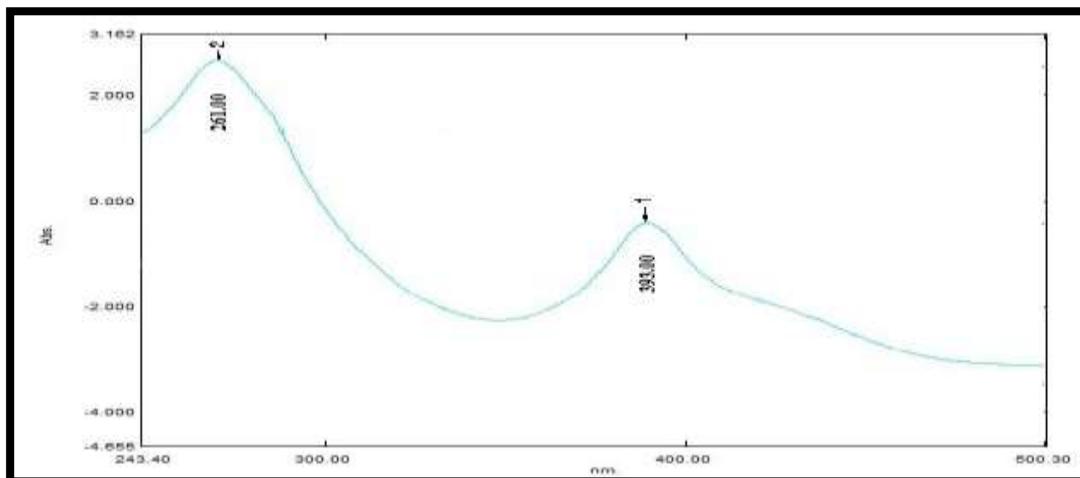
الجدول (٦) نتائج امتصاص الأشعة تحت الحمراء (سم⁻¹) وقيم الامتصاصات في طيف الأشعة فوق البنفسجية لمشتقات 3,1- أوكسازبان ٤،٧- دايون [A₄₁-A₃₂].

Comp No.	Ar	λ max ₁ λ max ₂ EtOH	IR (KBr) cm ⁻¹							Others
			ν (O-H)	ν (C-H) Arom. Aliph.	ν (C=O) Lactone Lactam	ν (C=C)	ν (N=N)	ν (C-O)	ν (C-N)	
A ₃₂		٢٦٣ ٣٥٨	3426	٣٠٤١ ٢٩١٠	1709 1652	١٥٢٧ ١٥٩٠	١٤٧٤	1294	١١٥٣
A ₃₃		٢٢٦ ٢٨٧	٣٤46	٣٠٨٦ ٢٩٢٢	1737 1669	١٥٢١ ١٥٨٧	١٤٦٥	1286	١١٤١	ν (NO ₂). asy.(1510) sym.(1350)
A ₃₄		٢١٥ ٣٨٣	٣٤١٠	٣٠١٦ ٢٩٤٣	1715 1649	١٥٣٧ ١٥٧٨	١٤٨٨	1289	١١٦٥	
A ₃₅		٢٦٦ ٣٥٠	٣٤٠٤	٣٠٧٥ ٢٩١٥	31١٧ 1674	١٥١٨ ١٥٦٤	١٤٧٠	1273	١١٧٥

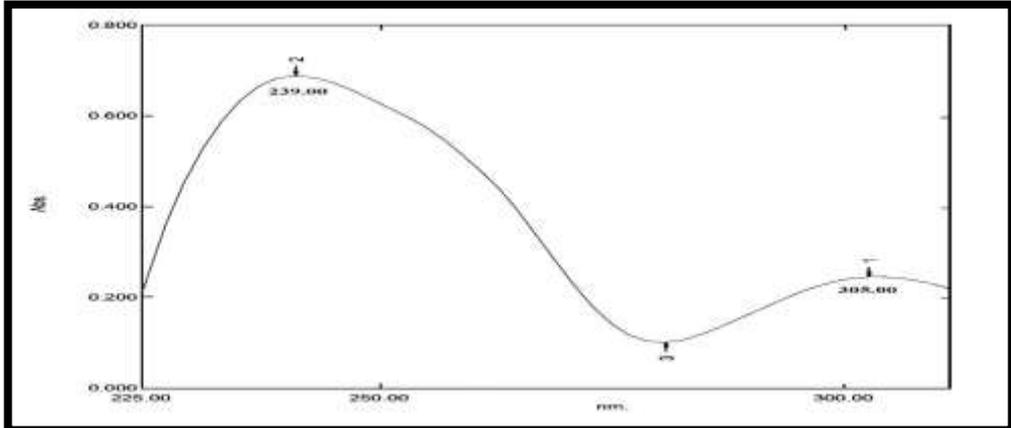
A ₃₆		٢١٢ ٢٨٠	٣٤٧٥	٣٠٨٧ ٢٩٥٠	1765 1693	١٥٦٨ ١٥٩١	١٤٧٩	1257	١١٦١	ν (SO ₂). asy.(1336) sym.(1091) ν (CH ₃) asy.(2950) sym.(2860)
-----------------	---	------------	------	--------------	--------------	--------------	------	------	------	---

جدول (٧): نتائج التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N.) للمركبات [A₁₀, A₄, A₁].

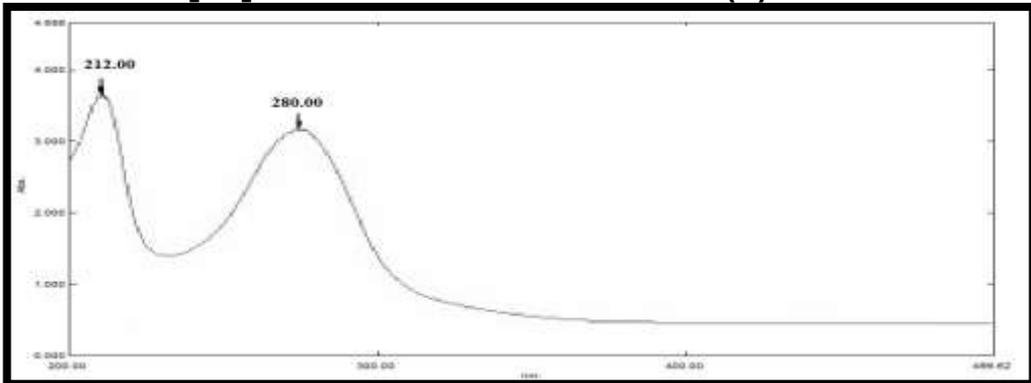
Comp No.	Molecular Formula	Found				Calculated			
		C%	H%	N%	O%	C%	H%	N%	O%
A ₂	C ₃₈ H ₂₈ N ₆ O ₂	٧٥,٨٥	٤,٦٦	١٣,٨١	5.18	٧٥,٩٨	٤,٧٠	١٣,٩٩	٥,٣٣
A ₅	C ₃₈ H ₂₈ N ₆ O ₄	٧٢,٠٥	٤,٢٩	١٣,٠٦	10.00	٧٢,١٤	٤,٤٦	١٣,٢٨	١٠,١٢
A ₁₀	C ₅₄ H ₄₄ N ₁₀ O ₁₄ S ₂	٥٧,٦٦	٣,٨٧	١٢,٣٠	١٩,٨٥	٥٧,٨٥	٣,٩٦	١٢,٤٩	19.98



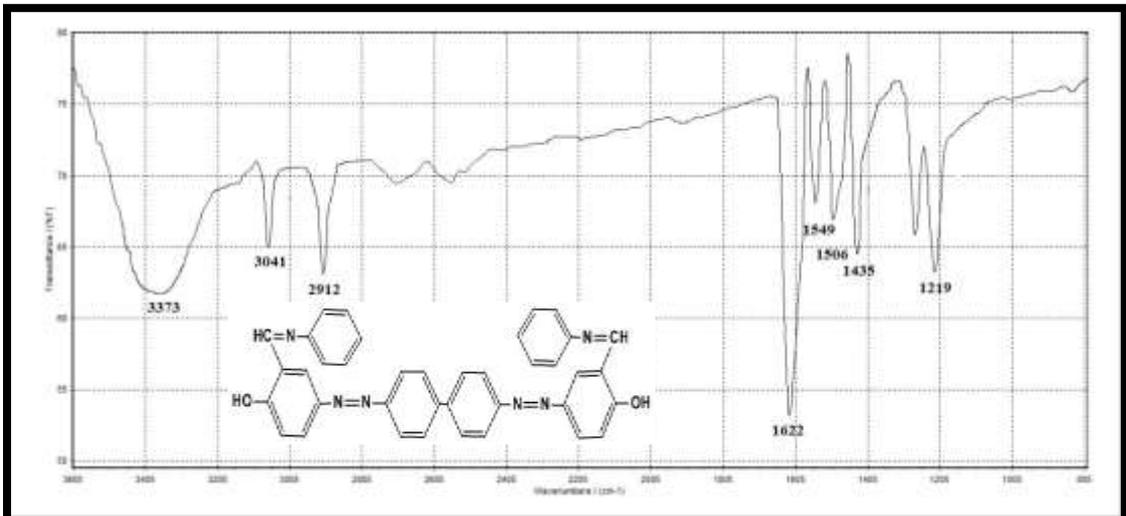
الشكل (١): طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب [A₁].



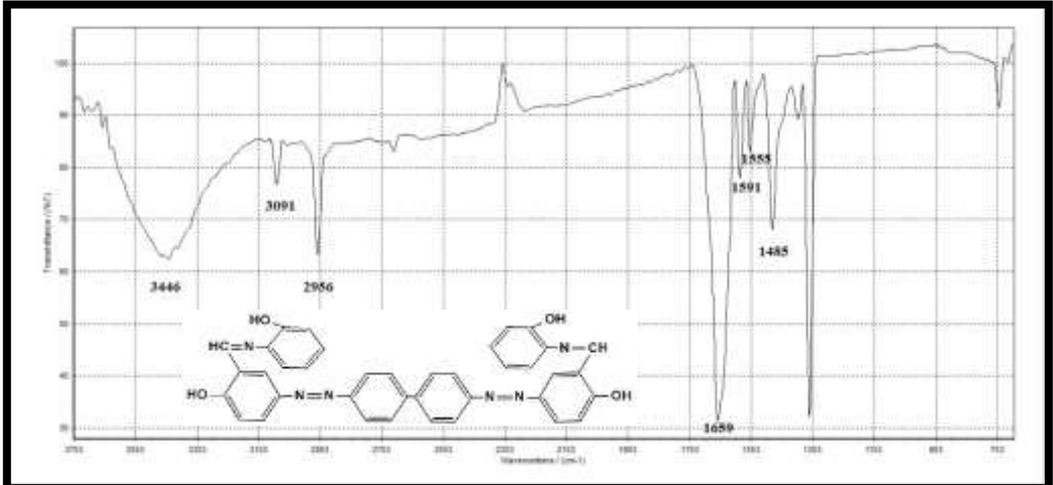
الشكل (٢): طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب [A4].



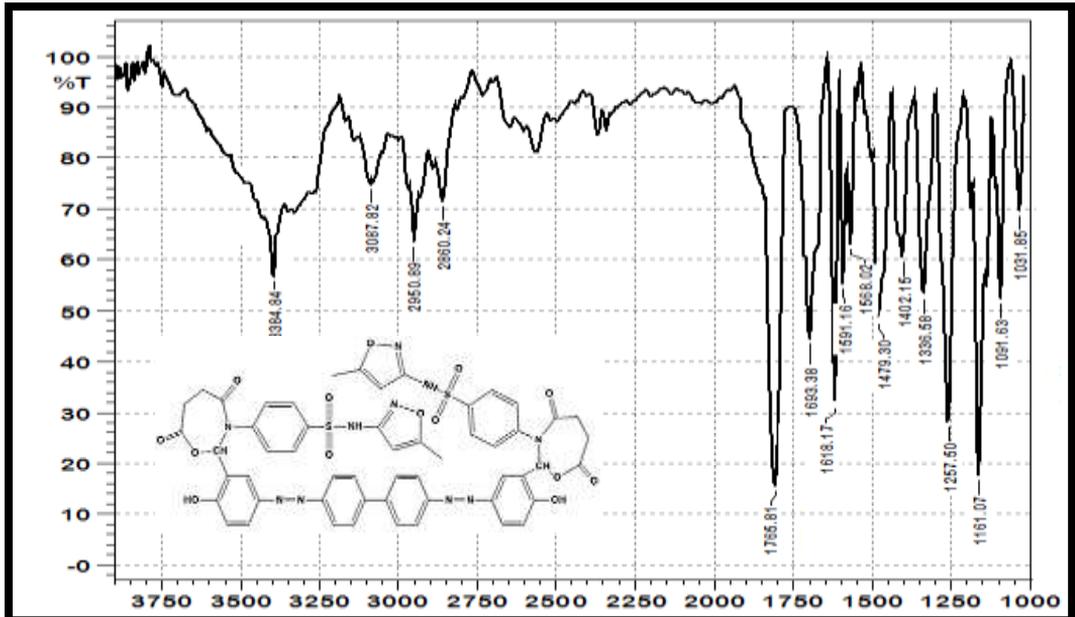
الشكل (٣): طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب [A36].



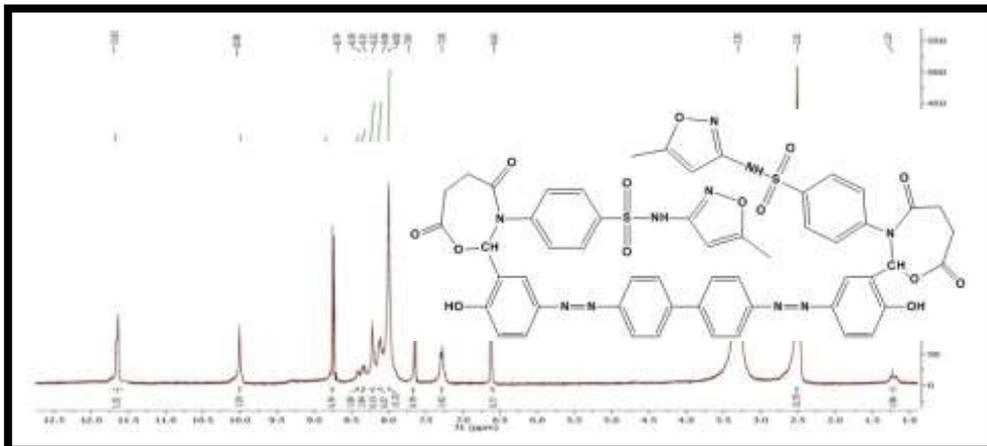
الشكل (٤): طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب [A1].



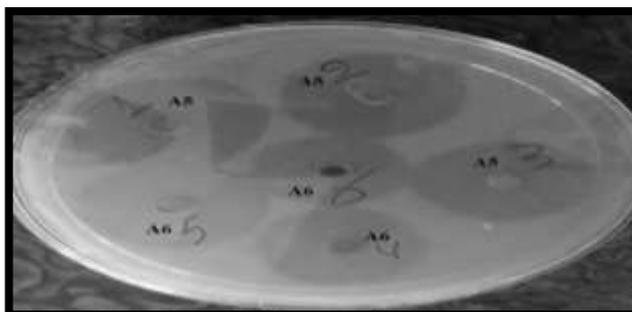
الشكل (٥): طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب [A4].



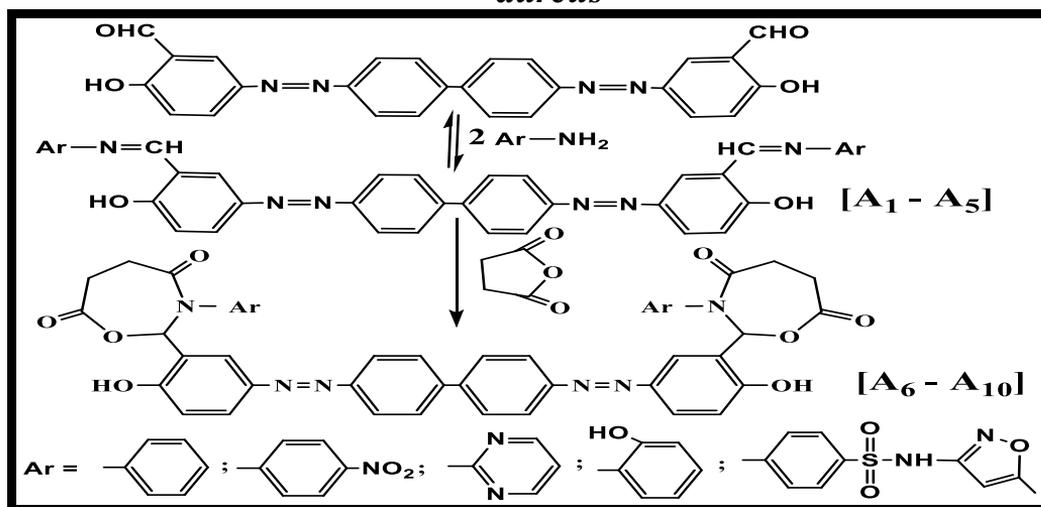
الشكل (٦): طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب [A10].



الشكل (٧): طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون للمركب [A10].



شكل (١): الفعالية التثبيطية للمركبين [A5, A6] ضد بكتريا *Staphylococcus aureus*



مخطط (٣): مخطط عام للمركبات المحضرة

المصادر:

1. J. A. Joule and K. Mills **"Heterocyclic Chemistry at Glance"**, 1st edu. (2007).
2. C. S. Sell, **"Chemistry and the Sense of Smell"**, John Wiley & Sons, (2014).
3. Y. Ali, M. J. A. Habib and K. W. Al-Janabi, **"Iraqi J. Chem."**, 21, 104 (1996).
4. E. Vogel, W. A. Bou, and Gunther, **"Tetra hedron Lett"**, 609, (1965).
5. N. Latif, N. Mishriky and F. M. Assad, **"Aust. J. Chem."**, 35, 1037, (1982).
6. R. Griem, G. Cantos- Liport, M. Amat, J. Bosch and J. Huguat, **"Bio organic and Medicinal Chemistry letter"**, 15225-2517, (2005).
7. F. L. Faraj, W. B. Ali, S. A. Jassim and T. R. Ali, **"Diyala Journal for Pure Science"**, Vol. 13, No. 2, part. 1, pp. 262-277, (2017).
8. B. Chenjie, **"Current Organic Synthesis"**, Vol.14, No.4, pp.582-589, (2017).
9. E. K. Obaid, **"Journal of Babylon University"**, Vol.25, No.2, pp.718-727, (2017).
10. S. Arshadi, **"Beilstein Journal of Organic Chemistry"**, Vol.13, 625, (2017).
11. I. Vogle, Text-book for practical **organic chemistry** Third addition Longman, (1972).
12. Bruce, P, Y. **"Organic Chemistry"** 4th Edition Prentice – hall Inc. Upper Sadale River New Jersey (2008).
13. C. N. R. Rao, **"Ultra Violet and Visible Spectroscopy Chemical Application"** Butter – Wothe Ltd., 52, (1961).
14. B. Stuart, **"Infrared Spectroscopy"**, John Wiley and Sons, Ltd, 4, 80, (2004).
15. P. Sykes **"A guide book to mechanism in organic chemistry"** John Wiley and Sons, Inc., New York, (1986).
16. R. M. Silverstein, **"Spectrometric Identification of Organic Compounds"** 7th ed., John Wiley and Sons, New York, (1998).

تقييم التأثيرات الجزيئية للسماق على الكبد والكلى لذكور الفئران البيض السويسرية

*Assessment of molecular effects of on
Rhuscoriaria on the liver and kidney of Male
Swiss Albino Mice (MusMusculus)*

سلمى زهير عبد الله

أ.د. عزيز حميد رشيد

أ.م. عدنان فاضل نصيف العزاوي

جامعة تكريت - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

Salma zher Abdulla

Pro.Dr. Aziz Khalid Hamid

Asst.Prof. : Adnan Fadhil Al_Azaawie

Aziz k. Hameed

Department of Biology / College of Science

University of Tikrit

الخلاصة

هدف هذه الدراسة تقييم تأثير المستخلص المائي للسماق على الحمض النووي منقوص الأوكسجين ال (DNA) للكبد والكلية لذكور الفئران البيض السويسرية باستخدام تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا ال (RAPD). استخدمت ثلاثون فأرة، قسمت الى ستة مجاميع لكل مجموعة خمس فئران، المجموعة الاولى مجموعة السيطرة وقد جرعت بالماء، أما المجموعة الثانية، الثالثة، الرابعة، الخامسة، والسادسة فجرعت بالسماق بتركيز (١٠٠، ٥٠، ٣٠، ٢٠، ٦، ٢٥ ملغم /كغم) على التوالي لمدة إحدى عشر يوماً. خدرت الحيوانات ثم شرحت للحصول على عينات الكبد والكلية

لاستخلاص ال (DNA) منها، والذي ضخم باستعمال تقنية ال RAPD مع اثنا عشر بادئ عشرية القواعد عشوائيةالتعاقب. اظهرت النتائج ان التعرض للسماق بتراكيز مختلفة قد اثر على الحمض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) لخلايا الكبد والكلية للفئران وسبب تغيرات كبيرة في انماط تقنية ال RAPD بالمقارنة مع مجموعة السيطرة من ناحية الاختلاف في عدد الحزم واحجامها وشدتها. لذلك يمكن القول ان استعمال السماق بتراكيز عالية يمكن ان يؤثر على الحمض النووي منقوص الاوكسجين ال (DNA) وقد يؤدي الى حصول طفرات مضره كما ان تقنية ال RAPD مفيدة جداً في الكشف عن تأثير المواد الكيميائية على المستوى الجزيئي.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of the water extract on the DNA of the liver and kidney of male Swiss white rats by using the polymorphic randomization technique of the RAPD. Thirty groups of mice were divided into six groups for each group of five mice. The first group was the control group and was injected with water. The second group, the third, fourth, fifth, and sixth groups were activated with concentrations of 6.25,20,30,50,100 mg / kg respectively Eleven days. The animals were anesthetized and then explained to obtain liver and kidney samples to extract DNA from them, which was amplified using the RAPD technique with twelve decimal bases. The results showed that exposure to the sumac at different concentrations affected the DNA of the liver and kidney cells of the mice and caused significant changes in the patterns of RAPD technique compared with the control group in terms of the difference in the number, size and intensity of the beams. Therefore, it can be said that the use of high concentrations of sumac can affect DNA, which may lead to

harmful mutations, and RAPD is very useful in detecting the effect of chemicals at the molecular level.

المقدمة

أخذ الاهتمام بالنباتات الطبية يزداد تدريجياً في الآونة الأخيرة في الدول الصناعية وكذلك في البلدان النامية {١}،، ومنها نبات السماق الذي عرف منذ زمن طويل ووجد ما يقارب (120) نوعاً" منه منتشرة تلقائياً في الأراضي الكلسية الجافة أو الطينية الكلسية في المناطق الحارة، يختلف التركيب الكيميائي للسماق حسب نوع السماق ومصدره واليه ترجع سميته والصمغية ورائحته الراتنجية الخاصة به، هذا علماً أن نسبة التركيب تتغير تبعاً لأجزاء النبات نفسه {٢}. نبات السماق من النباتات ذوات الفلقتين (Dicotyledonea) يعود إلى الفصيلة البطمية (Terebinthaceae) يكون بشكل أشجار أو شجيرات صمغية راتنجية ونظراً لوجود العديد من المركبات الفعالة في فقد أجريت عليه العديد من البحوث والدراسات{٣}.

لقد زاد الاهتمام في الآونة الأخيرة بالبحوث التي تحاول الكشف عن عوامل السمية الوراثية الموجودة في البيئة. ونتيجة القلق المتزايد لدى عامة الناس والحكومات من تأثير تلك المواد من ناحية ولكون القياسات الكيميائية المباشرة لتلك العوامل وتفسير مثل هذه القياسات صعبة نوعاً" ما من ناحية أخرى أصبح من الضروري استخدام طرائق حساسة وفعالة للكشف عن أضرار تلك المواد التي يصعب قياسها بالطرق الاعتيادية {٤}. فعندما تتعرض الكائنات الحية باستمرار الى المواد ذات القدرة التطهيرية (المواد المطهرة) فان ذلك قد يؤدي إلى تلف الحمض النووي،لقد استخدمت بعض الطرق المختبرية على نطاق واسع للكشف عن تأثير تلك المواد الا ان التقنيات الجزيئية تعتبر أفضل تلك الطرق لأنها تعطي صورة مباشرة عن تأثير تلك المواد على مستوى الدنا {٥}. ومن تلك التقنيات تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا ال Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) التي

تعد احدى مؤشرات ال DNA المعتمدة على تقنية ال تضاعف البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) والتي ساعدت في تحديد تغيرات الدنا بعد التعرض لعوامل السمية الوراثية {٦}. حيث ادى استعمال تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدن اكمؤشرات وراثية إلى تحسين الكشف عن تعديلات الحمض النووي بعد تأثير العديد من العوامل {٧} اذ تم الكشف عن أنواع مختلفة من أضرار الحمض النووي عن طريق تلك التقنية، فهي من الناحية العملية بسيطة، رخيصة نسبياً، سريعة وتعطي معلومات عن عدد كبير من المواضيع {٨}. تمثل التغييرات التي تحدث في نمط تقنية الدنا المتعدد بعد المعاملة او التعرض للمواد المطفرة التغير في كثافة الحزمة بالإضافة الى فقدان او ظهور حزم جديدة وذلك من خلال مقارنة نمط تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا بين العينات المعاملة او المتعرضة للمطفرات ومجموعة السيطرة او غير المتعرضة للمطفرات {٩} لذلك اجريت هذه الدراسة لتقييم تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي للسماق على الحمض النووي منقوص الأوكسجين ال (DNA) للكبد والكلية لذكور الفئران البيض السويسرية باستخدام تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا ال (RAPD).

المواد وطرق العمل

استخدمت في هذه الدراسة ثلاثين فاراً من الذكور البيض السويسرية تبلغ أوزانهم (٢٣-٢٧) غم وعمرها تراوح بين (٨-١٠) أسابيع تم الحصول عليها من المركز الوطني للبحوث/ بغداد. وتم حفظ كل خمسة فئران في قفص بلاستيكي في البيت الحيواني في كلية الطب البيطري/جامعة تكريت، فرشت الأقفاص بنشارة الخشب مع تبديل نشارة الخشب كل أسبوع مع ضبط درجة حرارة الغرفة بمقدار 25 ± 2 درجة مئوية، استخدمت لتغذية الحيوانات العليقة المتكونة من ٣٥ % حنطة ، ٣٣ % ذرة صفراء ، ٢٠ % فول الصويا ، ١٠ % بروتين حيواني ، ١ % حليب مجفف مضافاً

إليها ١ % من كل من الفيتامينات والأملاح المعدنية، وتم الاحتفاظ بالفئران لمدة أسبوع واحد قبل التجربة للتكيف.

تحضير المستخلص المائي للسماق:

تم تحضير المستخلص المائي للسماق حسب ما ذكره {١٠} وذلك بأخذ ٥٠ غم من المسحوق الجاف من النبات بعد طحنه ووضعه في دورق زجاجي سعته ١٠٠٠ مل يحتوي على ٥٠٠ مل من الماء المقطر المعقم ثم وضع الدورق على سخان معدني مغناطيسي بدرجة ٥٠ م وترك ليمتزج جيداً لمدة ٢٤ ساعة بعدها رشح المحلول باستخدام طبقات عدة من الشاش الطبي اولا ثم باستخدام أوراق الترشيح، ترك الراشح في فرن كهربائي بدرجة ٥٠ م الى ان جف ثم حفظ المسحوق الناتج بعد وزنه في الثلاجة.

تحديد الجرعة الفعالة:

لغرض تحديد الجرعة الأكثر تأثيراً للمستخلص المائي للسماق المستخدم في هذه الدراسة قسمت الحيوانات السليمة عشوائياً الى ست مجاميع ضمت كل مجموعه خمسة حيوانات ورتبت كالاتي:

١. المجموعة الأولى: اعتبرت كمجموعة سيطرة Control تم تجريعها بالماء المقطر والعليقة فموياً لمدة احد عشر يوماً.
٢. المجموعة الثانية: أعطيت المستخلص المائي للسماق بتركيز ٦,٢٥ ملغم /كغم من وزن الجسم فموياً لمدة احد عشر يوماً ومثلت الجرعة تحت العلاجية.
٣. المجموعة الثالثة: أعطيت المستخلص المائي للسماق بتركيز ٢٠ ملغم /كغم من وزن الجسم فموياً لمدة احد عشر يوماً ومثلت الجرعة العلاجية.
٤. المجموعة الرابعة: أعطيت المستخلص المائي للسماق بتركيز ٣٠ ملغم /كغم من وزن الجسم فموياً لمدة احد عشر يوماً ومثلت الجرعة فوق العلاجية.

٥. المجموعة الخامسة: أعطيت المستخلص المائي للسماق بتركيز ٥٠ ملغم /كغم من وزن فمويًا لمدة احد عشر يوماً الجسم ومثلت الجرعة السامة.
٦. المجموعة السادسة: اعطيت المستخلص المائي للسماق بتركيز ١٠٠ ملغم /كغم من وزن الجسم فمويًا لمدة احد عشر يوماً ومثلت الجرعة القاتلة.

تشريح الحيوانات وعزل الـDNA:

نقلت الحيوانات الى عبوة مغلقة تحتوي على الكلوروفورم، بعد تخديرها بشكل تام شرحت للحصول على الكبد والكلى ثم غسلت هذه الأنسجة بالمحلول الفسلجي Normal saline ونقلت الى المختبر لعزل الـ DNA منها. استخلص الـDNA من عينات الكبد والكلى باستخدام النتروجين السائل وحسب الطريقة التي ذكرها {١١}، قدرت كمية الدنا الـ DNA ونقاوته بالاعتماد على قراءة الامتصاص لطيف الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي ٢٦٠ و ٢٧٠ نانوميتر باستخدام جهاز (Nanodrop)، خففت العينات للحصول على تركيز (٢٥ نانوغرام) لكل مايكروليتر وهو التركيز المناسب لإجراء تفاعلات تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD).

تحضير تفاعلات الـ RAPD :

أجريت تفاعلات تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) وفقاً لما ذكره {١٢} استعمال بادئات عشوائية (جدول رقم ١) باستخدام العدة (GoTaq Master Green) المجهزة من شركة (Promega, USA). أجريت بعض التجارب الأولية للوصول الى التركيز الأمثل للبادئات المستخدمة والدنا القالب الذي يعطي أفضل نتيجة للتضاعف. لكل عينة من عينات الدراسة استخدمت انبوبة اختبار بحجم (0.2 ml) ووضع فيها (١٠ مايكروليتر) من خليط التفاعل الأساسي الذي يحتوي على المكونات الأساسية لتفاعل البلمرة المتسلسل ثم أضيف إليها الدنا القالب بتركيز (١٠٠ نانوغرام)

والبادئ بتركيز ١٠ بيكومول/ مايكرو لتر ثم أكمل حجم التفاعل بالماء المقطر المعقم الى ٢٠ مايكرو لتر ومزجت مكونات التفاعل جيدا ثم وضعت الأنابيب في جهاز ال Thermocycler بعناية لإنجاز التفاعل التضاعفي بعد أن تمت برمجته حسب البرنامج: دورة واحدة لمدة ٥ دقائق على درجة حرارة ٩٤م° للمسخ الأولي لشريط الدنا تليها ٤٠ دورة تضاعف تتضمن كل دورة دقيقة على درجة ٩٤م° لمسح قالب ودقيقة واحدة على درجة ٣٦م° لربط البادئات بالدنا قالب ودقيقة واحدة على درجة حرارة ٧٢م° للاستطالة مع دورة أخيرة لمدة ١٠ دقائق على درجة ٧٢م° للاستطالة النهائية. حضر هلام الأكاروز بتركيز ٢% ثم أضيف (٥ مايكرو لتر من صبغة Red Save) قبل صب الهلام في حوض الترحيل، رحلت نواتج التضخيم على مع الدليل الحجمي (DNA Ladder) لمدة ٩٠ دقيقة بمقدار (٣ فولت/ سم) ثم فحص الهلام تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV-Light) وصور باستخدام (Gel Documentation System) {١٣}.

تسجيل نتائج الRAPD:

سجلت نتائج تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) بفحص صور أنماط الترحيل الكهربائي لكل بادئ وتسجيل الحزم (Bands) ثم مقارنة نتائج العينات المعاملة بالسماك مع مجموعة السيطرة بالاعتماد على ظهور حزم جديدة او اختفاء حزم كانت موجودة بالإضافة الى الاختلاف في شدة تآلق الحزم (Intensity) التي تنتج من ظهور بعض الحزم المتضاعفة معا" بنفس الوزن الجزيئي مما يؤدي الى ظهورها بشكل حزمة واحدة سميكة والتي قد تنتج من حالة homozygosity اذ يتم فيها تضاعف نفس الموقع على الاليل الآخر وكونها بنفس الوزن الجزيئي تتجمع القطع المتضاعفة معا {١٤} ثم حسب العدد الكلي لحزم ال RAPD التي اظهرها كل بادئ للعينات المدروسة وتحديد الحزم المتباينة (Polymorphic) والمتطابقة (Monomorphic) كما تم حساب النسبة المئوية للحزم المتباينة، كفاءة البادئ والقوة التمييزية حسب ما ذكره {١٥} لكل بادئ كما في الجدول (٤-٢).

النتائج والمناقشة

أجريت هذه الدراسة للكشف عن تأثير السماق على المادة الوراثية الدنا (DNA) للعينات المأخوذة من كبد وكلية لذكور الفئران البيض السويسرية باستخدام تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD)، إذ تم إعطاؤها السماق بتركيز (٦,٢٥,٢٠,٣٠,٥٠,١٠٠ ملغم) ومقارنة نتائج تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) للعينات المأخوذة من الحيوانات المعاملة بالسماق مع غير المعاملة (السيطرة). تم الحصول على نتائج جيدة بعد إجراء بعض المحاولات للوصول إلى الظروف المثلى وحلت نتائج تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) بالاعتماد على ظهور حزم جديدة أو اختفاء حزم كانت موجودة والنتيجة من تضاعف قطع معينة من جينوم الحيوانات المستخدمة وعلى الاختلاف في شدة تآلق الحزم (Intensity).

استخدم في هذه الدراسة اثنا عشر بادئاً عشوائياً لإنجاز تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) والمبينة أسماؤها وتسلسلاتها في الجدول رقم (١)، سبع منها أعطت نتائج تضاعف مختلفة بينما لم تعطي الخمسة الأخرى اي نتيجة.

جدول رقم (١): يبين التسلسل النكليوتيدي للبادئات

المستخدمة في تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) :

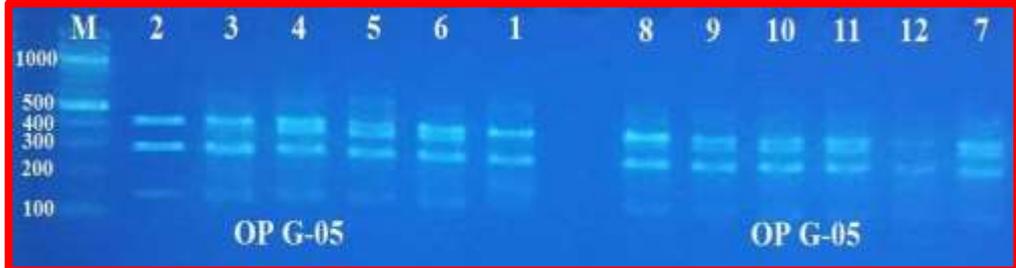
ت	اسم البادئ	التسلسل النكليوتيدي 3 - 5
١	OP G-05	CTGAGACGGA
٢	OP H-14	ACCAGGTTGG
٣	OP M-01	GTTGGTGGCT

GACAGGAGGT	OP O-11	٤
GTGTCTCAGG	OP P-04	٥
TCTGTCCGGTC	OP Q-02	٦
CCATTCCCCA	OP R-10	٧
CAGCATGGTC	OP V-20	٨
TCACCAGCCA	OP U-12	٩
GTCCTGGGTT	OP W-17	١٠
AGAGCCGTCA	OP Y-07	١١
GGGTGGGTAA	OP Z-08	١٢

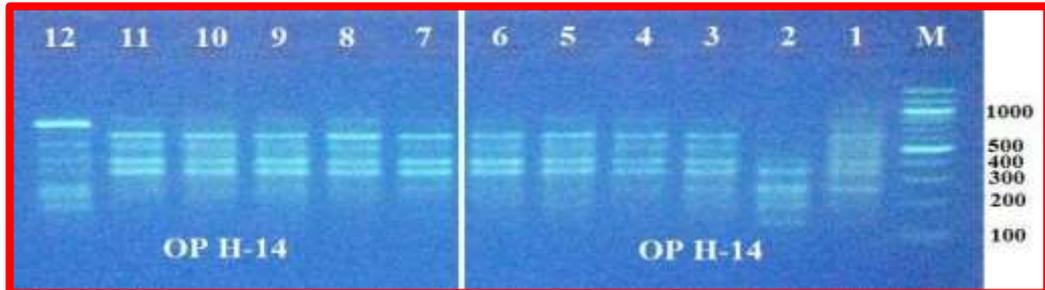
بعض البادئات التي استخدمت لم يُعط أية نتيجة بالرغم من إعادتها أكثر من مرة وهذا قد يعود الى غياب المواقع المكملة لتسلسلات تلك البادئات ضمن جينوم الحيوان المستخدم، اما البادئات التي اعطت نتائج تضاعف مختلفة فتم تفسير نتيجة كل بادئ على حدة اعتمادا" على وجود او غياب حزم الدنا (DNA) المتضاعفة، الاختلاف في الكثافة بين الحزم والاختلاف في عددها وأوزانها الجزيئية باختلاف البادئ المستخدم والنتيجة من الاختلاف في عدد المواقع المكملة لذلك البادئ في جينوم كل عينة من العينات المعرضة لمعاملات السماق في هذه الدراسة وهذا يتفق مع أغلب الدراسات التي استخدمت تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD لتقييم تأثير المواد على الدنا للكائن الحي المستخدم سواء اكان حيوانا ام نباتا وحتى البكتريا والفقارية {١٦}، {١٧}، {١٨}.

أظهرت صور الترحيل الكهربائي لنتائج تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) اختلافا" واضحا" في عدد حزم الدنا (DNA) المتضاعفة وتباينا" واضحا"

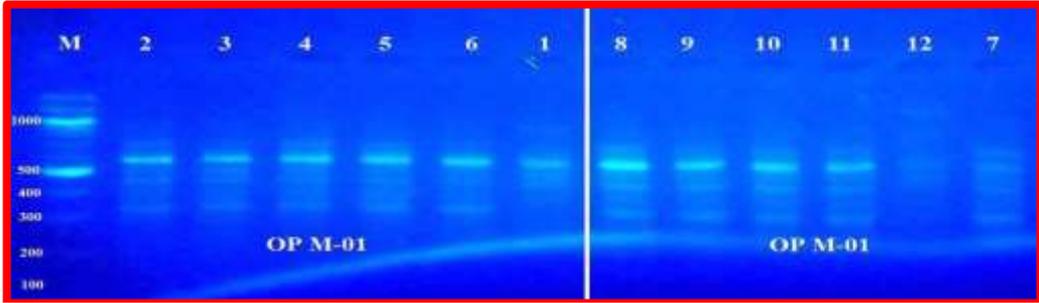
في اوزانها الجزيئية حسب البادئ المستخدم حيث أعطت البادئات التي أظهرت نتائج ٢٣٤ حزمة كعدد كلي كما في الأشكال (١، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦، ٧).



الشكل (١): الترحيل الكهربائي لنتائج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR للبادئ OP G-05 المرحلة على هلام الاكاروز ١,٥% مع الدليل الحجمي DNA Ladder (100 bp) لعينات الكبد (١- سيطرة، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦، ٧) المعاملات، الكلية (٧- سيطرة، ٨، ٩، ١٠، ١١، ١٢ المعاملات)



الشكل (٢): الترحيل الكهربائي لنواتج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR للبادئ OP H-14 المرحلة على هلام الاكاروز ١,٥% مع الدليل الحجمي DNA Ladder (100 bp) لعينات الكبد (١- سيطرة، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦، ٧) المعاملات، الكلية (٧- سيطرة، ٨، ٩، ١٠، ١١، ١٢ المعاملات)



الشكل (٣): الترحيل الكهربائي لنواتج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR للبادئ OP M-01 المرحلة على هلام الاكاروز ١,٥% مع الدليل الحجمي DNA Ladder (100 bp) لعينات الكبد (١- سيطرة، ٢,٣,٤,٥,٦,٧- المعاملات)، الكلية (٧- سيطرة، ٨,٩,١٠,١١,١٢ المعاملات).



الشكل (٤): الترحيل الكهربائي لنواتج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR للبادئ OP Y-07 المرحلة على هلام الاكاروز ١,٥% مع الدليل الحجمي DNA Ladder (100 bp) لعينات الكبد (١- سيطرة، ٢,٣,٤,٥,٦,٧- المعاملات)، الكلية (٧- سيطرة، ٨,٩,١٠,١١,١٢ المعاملات).

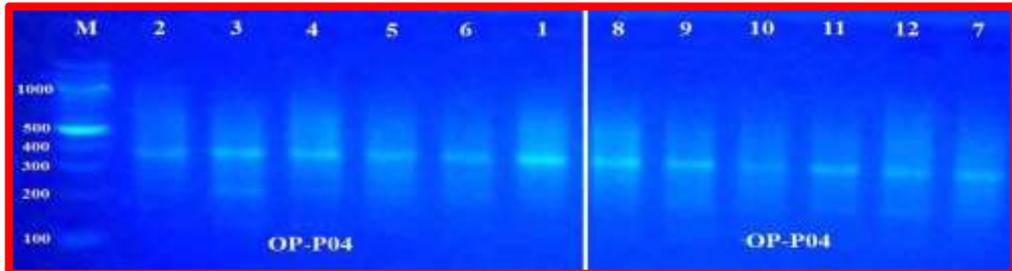


الشكل (٥): الترحيل الكهربائي لنواتج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR للبادئ OP Z-08 المرحلة على هلام الاكاروز ١,٥% مع الدليل الحجمي DNA Ladder

(100 bp) لعينات الكبد (١- سيطرة، ٢،٣،٤،٥،٦،٧) المعاملات، الكلية (٧- سيطرة، ٨،٩،١٠،١١،١٢) المعاملات).



الشكل (٦): الترحيل الكهربائي لنواتج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR للبادئ OP J-01 المرحلة على هلام الاكاروز ١,٥% مع الدليل الحجمي DNA Ladder (100 bp) لعينات الكبد (١- سيطرة، ٢،٣،٤،٥،٦،٧) المعاملات، الكلية (٧- سيطرة، ٨،٩،١٠،١١،١٢) المعاملات).



الشكل (٧): الترحيل الكهربائي لنواتج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR للبادئ OP P-04 المرحلة على هلام الاكاروز ١,٥% مع الدليل الحجمي DNA Ladder (100 bp) لعينات الكبد (١- سيطرة، ٢،٣،٤،٥،٦،٧) المعاملات، الكلية (٧- سيطرة، ٨،٩،١٠،١١،١٢) المعاملات).

بينت نتائج تقنية التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD-PCR اختلافات في عدد الحزم المتضاعفة اعتمدت طريقة تحليل نتائج الدراسة على وجود أو غياب الحزم الناتجة من تضاعف قطع معينة من جينوم العينات المستخدمة وعلى الأوزان الجزيئية لتلك الحزم التي تعتمد على العدد والمواقع المكملة لتسلسلات البادئات على شريط DNA القالب كما في الجدول رقم (٢). يعزى ظهور الحزم الجديدة إلى وجود مواقع oligonucleotide التي تصبح في متناول البادئ بعد التغيير الهيكلي أو لأن بعض

التغيرات في تسلسل الحمض النووي قد حدثت بسبب الطفرات (مما أدى إلى أحداث الصلب الجديدة) أو الحذف أو إعادة التركيب {١٩}.

جدول (٢): يبين الحزم الجديدة والغائبة لنتائج لتقنية التعدد العشوائي لسلسلة الدنا (RAPD) للبادئات التي أعطت نتائج:

اسم البادئ ١	كبد										كلية									
	٢		٣		٤		٥		٦		٨		٩		١٠		١١		١٢	
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
G-5	٤٠	٥٠	٤٠	٥٠	٤٠	٥٠	٧٠	٥٠	٥٠	٧٠	٨٠	٥٠								
	١٣		١٣		١٣		٦٠													
H-14	٢٠	٦٠									٧٠	٢٥	٥٠	٢٥	٥٠	٢٥	٥٠			
																				١٤
M-1																				
Y-7																				
Z-8																				
J-1																				
P-4																				

كما اعتمدت طريقة تحليل نتائج الدراسة على التباين المعتمد على الاختلافات في شدة (Intensity) تآلق الحزم التي تكون ناتجة عادة من ظهور بعض الحزم المتضاعفة معاً في الوزن الجزيئي نفسه فتظهر على شكل حزمة سميكة واحدة (في الحقيقة أكثر من حزمة (Comigrating bands) قد تكون ناتجة من حالة homozygote حيث يتم فيها تضاعف نفس الموقع على الاليل الآخر، وبما أنها بالوزن الجزيئي نفسه لذلك تتجمع القطع المتضاعفة في تلك المواقع معاً وأحياناً زيادة تركيز الدنا (DNA) القالب يؤدي إلى تكرار عدد نسخ DNA الهدف مما يؤدي الى تضاعف الموقع نفسه أكثر من مرة {١٤} ان التغيرات في كثافة الحزم واختفائها قد يكون راجعاً إلى التغيرات في مواقع oligonucleotide ويرجع ذلك أساساً إلى إعادة ترتيب الجينوم وقلة عرضة للطفرات أو تلف الحمض النووي في المواقع الارتباط {٢٠}

بعد تسجيل نتائج تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) للبادئات التي أعطت نتائج تم تحديد العدد الكلي للحزم الناتجة والحزم المتباينة كما تم حساب النسبة المئوية للحزم المتباينة، كفاءة البادئ والقوة التمييزية حسب ما ذكره {١٥} لكل بادئ كما في الجدول (٣).

جدول (٣): يبين البادئات التي أظهرت نتائج لتقنية التعدد العشوائي لسلسلة الدنا متباينة مع عدد الحزم الكلية والمتباينة، كفاءة البادئ والقوة التمييزية (%) لكل بادئ:

ت	اسم البادئ	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة	النسبة المئوية للحزم المتباينة	كفاءة البادئ (%)	القوة التمييزية للبادئ (%)
١	OPG-05	35	35	100	14.95	20.11
٢	OP H-14	44	32	72.72	18.8	18.39
٣	OP M-01	34	22	64.7	9.4	12.64
٤	OP Y-07	35	23	65.71	14.95	13.21

10.34	12.82	60	18	30	OP Z-08	٥
16.09	17.09	70	28	40	OP J-01	٦
9.19	6.83	100	16	16	OP P-04	٧
			174	234	المجموع الكلي	

المصادر:.

- 1) Abere, T. A., Okoto, P. E., Agoreyo, F. O. (2010). Antidiarrhoea and toxicological evaluation of the leaf extract of *Dissotisrotundifolia* Triana (Melastomataceae). *BMC Complement Altern. Med.* 10: 71.
- 2) Lauk, L.; Caccamo, F.; Speciale, A. M.; Tempera, G.; Ragusa, S. and Pantle, G. (1998). Antibacterial activity of *Rhuscoriaria* L. leaf extract. *Microbial Intst. Catania. Italy.* 81: 95-124 .
- 3) Duke, J. A.; Jobogenschutz, G. M.; Ducellier, J. and Duke, K. (2003). *Handbook of Medical Plant* . CRC press, Boca Raton : 269-274. *ecotoxicology. Toxicol. Ecotoxicol. News Rev.*, 3: 110-114.
- 4) Lowry LK (1995). Role of biomarkers of exposure in the assessment of health risks. *Toxicol. Lett.* 77: 31-38.
- 5) Abdelmigid, Hala M.(2009). Risk Assessment of Food Coloring Agents on DNA Damage Using RAPD Markers. *The Open Biotechnology Journal*,3, 96-102.
- 6) Atienzar FA, Cheung VV, Jha AN, Depledge MH (2001). Fitness parameters and DNA effects are sensitive indicators of copper induced toxicity in *Daphnia magna*. *Toxicol. Sci.* 59: 241–250.
- 7) Atienzar FA, Billinghamurst Z, Depledge MH (2002c). 4-n-Nonylphenol and 17-β estradiol may induce common DNA effects in developing barnacle larvae. *Env. Pollut.* 120: 735–738.
- 8) Fontaine, C., Lovett, P.N., Sanou, H., Maley, J., Bouvet, J.M. 2004. Genetic diversity of the shea tree (*Vitellariaparadoxa*C.F. Gaertn), detected by RAPD and chloroplast microsatellite markers. *Heredity*, 93: 639-648.

- 9) Dongre A.B. (2009). Optimization of RAPD-PCR for discrimination of different strains of *Bacillus thuringiensis*. Romanian Biotechnological Letters Vol. 14, No. 2, pp. 4307-4312.
- 10) Harborne, J.B., (1984). Phytochemical methods. London Chapman and Hall Ltd., pp 49-188.
- 11) Pearson, H. and Stirling, D. (2003). PCR protocols: method in molecular biology. 2nd ed. Vol 226. Human Press.
- 12) Williams, J. G., Kubelic, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *nucleic acids Res.* 18 : 6531-6535. 261: 47-58.
- 13) Sambrook, J., and Russel, D.W., (2001). Molecular cloning, a laboratory manual (3ed). Cold spring Harbor laboratory press, New York.
- ١٤) الحسني ، خلود إبراهيم حسن . ٢٠٠٢ . استخدام المؤشرات الجزيئية المعتمدة على التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا في دراسة التنوع الوراثي للبطاطا *Solanum tuberosum L.* أطروحة دكتوراه . كلية العلوم . قسم علوم الحياة . جامعة بغداد . ع . ص ٢٠٠ .
- 15) Megha. Y. J. , Alagawadi, A. R. and Krishnaraj, P. U. (2007). Diversity of fluorescent pseudomonas isolated from the forest soils of the western Ghats of Uttara Kannada. *CURRENT SCIENCE*, Vol 93: No: 10.
- 16) Atienzar FA, Cordi B, Donkin MB, Evenden AJ, Jha AN, Depledge MH (2000). Comparison of ultraviolet-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA with chlorophyll fluorescence and growth in a marine macroalgae, *Palmaria palmate*. *Aquatic Toxicol.* 50: 1-12.
- 17) Savva, D. 1998. Use of DNA fingerprinting to detect genotoxic effects. *Exotoxicol. Environ. Safety*, 41: 103-106.
- 18) Savva D, 1996. DNA fingerprinting as a biomarker assay in ecotoxicology [J]. *Toxicol Ecotoxicol News Rev*, 3: 110-114.
- 19) Atienzar F, Conradi M, Evenden A, Jha A, Depledge M (1999). Qualitative assessment of genotoxicity using RAPD: comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo(a)pyrene. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 2275- 2282.
- 20) Nelson, J.R., C.W. Lawrence and D.C. Hinkle. 1996. Thymine-thymine Newton, C. R., and Graham, G. A. (1997). PCR. 2nd. Edition Introduction to biotechniques. Information press, Eynsham, Oxon, UK.

دراسة كيموحيوية عن قابلية اللبن المحضر بواسطة

بكتريا *Lactobacillus acidophilus*

في الوقاية من الاسهال المحدث بطفيلي البويغات الخبيثة

Cryptosporidium parvum في ذكور الأرانب

A biochemical study on capability of milk that prepared by lactobacillus acidophilus to the prevention of diarrhea induced by Cryptosporidium parvum in male rabbits

م.م. ميسون مصطفى جاسم

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة تكريت

أ.د. توفيق ابراهيم الالوسي

كلية الطب البيطري / جامعة تكريت

أ.د. عبدالله حسين عبدالله

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة تكريت

Assit. lec. Maysoon Mustapha Jasim

Education collage for pure science

Proff. Dr Abdullah Hussain Abdulla

Proff. Dr. Tawfeeq Ibraheem Al-Alusii

Education collage for pure science Veterinary collage

الخلاصة

اجريت الدراسة للمدة من شهر نيسان ٢٠١٦ لغاية اذار ٢٠١٧ ، وقد تضمنت

دراسة قابلية اللبن اللاكتيكي المحضر بواسطة *Lactobacilli acidophilus*

(البروبايتوك) في الوقاية من طفيلي البويغات الخبيثة *Cryptosporidium parvum* المسبب للإسهال ، وذلك بالاعتماد على عدة معايير شملت الكفاءة العلاجية وبعض المعايير الكيموحيوية شملت البروتين الكلي ، الالبومين ، الكلوبولين ، الكالسيوم ، الحديد وانزيمات الكبد GPT و GOT ، وقد اظهرت الدراسة قدرة البروبايتوك في منع الاصابة بطفيلي الكريبتوسبورديوم اذ وصل عدد اكياس البيض في اليوم الخامس بعد التجريع في مجموعة السيطرة الى ٧٤٠٠ كيس/بيض ، في حين كان العدد في المجموعة الممنعة بالمعزز الحيوي لمدة اربعة عشر يوم ٠ كيس /بيض، وفيما يخص الاختبارات الكيموحيوية نرى ارتفاع مستوى البروتين الكلي والالبومين والكلوبولين في الارانب الممنعة بالمعزز الحيوي مقارنة بالسيطرة ، فقد بلغوا ٥,٨٢٠ ، ٣,٣١٦ و ٢,٥٠٤ ملغم/ديسلتر ، وعدم تأثر النسب بالتخميج بالطفيلي بعد التمنيع. فضلاً عن انخفاض مستوى انزيمي الكبد GPT و GOT في الارانب الممنعة بالمعزز الحيوي مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة والموجبة اذ بلغا ٢٩,٠٤ و ١٧,٥٨٩ وحدة / لتر على التوالي، وعدم اختلاف هذين المستويين معنوياً عن مجموعة الارانب التي خمدت بعد التمنيع. اما فيما يخص الكالسيوم والحديد فنرى ارتفاع واضح في مستواههما في مجموعة الارانب الممنعة بالمعزز الحيوي مقارنة بالسيطرة السالبة والموجبة ليصل الى ١٣,٢٣٥ و ٥٢,٠٦ ملغم/ديسلتر على التوالي .

كلمات المفتاح : *Cryptosporidium parvum* ، المعزز الحيوي . البروبايتوك.

Abstract:

A study was done from April 2016 to March 2017 , it was included the study of lactic milk capability that prepared by lactobacillus acidophilus to prevention from *Cryptosporidium parvum* which causing a diarrhea, based on several parameters including , therapeutic efficiency and some biochemical parameters such as, the total protein , albumin , globulin, calcium , iron, and hepatic enzymes (GOT, GPT). The study showed the capability of probiotic to prevent the infection by *Cryptosporidium parvum* , so the number of egg sacs at the fifth day after the dosage in the control group was reached to 7400 sac/egg, while in immunized group with bio-promoted for 14 days was 0 sac/egg. As regarding to biochemical parameters , we noticed that the total protein , albumin, and globulin levels in immunized rabbits was high compared with control

group, it were reached to 5.820 , 3.316 , 2.500 mg/dl respectively , and the proportions were not affected with parasite infections after immunize.As well as , There was a decrease in levels of hepatic enzymes (GOT,GPT) in immunized rabbits , 29.04 , 17.589 unit/ L respectively, compared to negative or positive control group. These two levels didn't different significantly from rabbits group that infected after immunized.As for calcium and iron , we noticed a clear increasing in their levels in immunized rabbits group , it reached to 13.235, 52.06 mg/dl respectively, compared to negative and positive control.

Key words : Cryptosporidium parvam , bio-promoted , probiotic

المقدمة

داء البويغيات الخبيثة cryptosporidiasis هو المرض الحيواني المصدر المُسبب للإسهال البشري الأكثر شيوعاً [١] اذ يعد هذا الداء الثاني بعد فيروس الروتا rotavirus فـي أسباب الوفاة عالمياً بين الأطفال دون سن الثانية حيث يسبب إسهال من معتدل إلى شديد [٢] ويتسبب في ٥-١٠ مليون حالة وفاة سنوياً [٣] . على الرغم من إكتشاف طفيلي الأبواغ عام ١٩٠٧ من قبل العالم Tyzzer إلا أنه لم يُكتشف كمسبب للعدوى للبشر إلا في عام ١٩٧٦ وفي عام ٢٠٠٤ تمت إضافته هذا الطفيل (كربتوسبورديوم) لمنظمه الصحة العالمية "لمبادرة الأمراض المهملة" neglected diseases Initiative والتي تشمل الأمراض التي تؤثر على الناس بشكل رئيسي في الدول النامية [٤].

يمر الطفيلي بدورة حياة معقدة وبإمكان الإنسان أو الحيوان المُخمج طرح الملايين من أكياس البيض في البراز وعلى الرغم من أن أكياس البيض غير قادرة على التكاثر خارج المُضيف إلا أنها قادرة على البقاء على قيد الحياة في البيئة لعدة شهور ومقاومة أشكال التطهير بما في ذلك الكلور [٥] كما أن انتقال وانتشار الخمج يرتبط بالأخص مع الأشخاص الذين لديهم اتصال مُتكرر مع الحيوانات واستخدام روث الحيوانات وغانط الإنسان كأسمدة عضوية [٦] . إذ يحتوي كيس البيض الخمج infective oocyst أربع بويغيات sporozoites تُطرح مع البراز لتنتشر الخمج وعند تناولها من قبل

المُضيف فأن كيس البيض يُحرر ٤ من البويغات التي تتماسك مع الخلايا الظهارية السطحية للمعدة ، الأمعاء الدقيقة والقولون [٧].

تُبت علمياً إن الاستخدام المُفرط والمستمر للمُضادات الجرثومية يؤدي إلى ظهور عثر جرثومية مقاومة لها لذلك تم الاتجاه نحو ايجاد طرائق أخرى بديلة عن المُضادات الحيوية والتي تُستخدم بصورة علاجية أو وقائية أو مُحفزات للنمو وخاصة بالنسبة للمرضى الذين يرغبون في استخدام طرق طبيعية وأمنة في العلاج [٨] . لذا شهدت السنوات الأخيرة توجهاً واسعاً لاستعمال أنواع من بكتريا حامض اللبنيك المعزولة من مصادر بشرية وحيوانية كمُعززات حيوية (probiotic)، وظهور جيل جديد من هذه المُعززات الحيوية سواء بالأشكال الصيدلانية المعروفة أو على شكل مُنتجات غذائية علاجية في بلدان كثيرة في أوروبا وأمريكا الشمالية والشرق الأقصى ومحاولة استعمالها في حل الكثير من المشاكل ذات العلاقة بالغذاء وصحة المستهلك [٩] من هنا جاءت أهداف هذه الدراسة والتي تتضمن :

عزل وتشخيص طفيلي *Cryptosporidium Parvum* من العجول المصابة بالإسهال.

عزل وتشخيص بكتريا حامض اللبنيك *Lactobacillus acidophilus* من اللبن ومن ثم تحضير اللبن اللاكتيكي من هذه البكتريا كمعزز حيوي (بروباويوتك).

دراسة تأثير الطفيلي وتأثير اللبن المحضر من *L.acidophilus* على طفيلي *C.parvam* بعض المعايير الكيموحيوية : البروتين الكلي ، الاليومين ، الكلوبولين، الكالسيوم ، الحديد وإنزيمات الكبد GPT و GOT .

طرائق العمل

تحضير المحاليل والدوائىء والصبغات

صبغة الكاربول فوكسين القاعديه وجضرت حسب [١٠] ، صبغة الملاكيت الخضراء ، المحلول السكروز المشبع وحضر حسب [١١] ، ومحلول داريء الفوسفات PBS حسب [١٢]، محلول ماكفرلاند حسب ما ورد في [١٣] ، محلول ثابت العكورة القياسي [١٣]، وسط تخمر السكريات [١٤] ، وسط MRS-CaCO3 [١٥].

عينة الطفيلي

تم جمع عينات الطفيل *Cryptosporidium parvam* من روث العجول المُصابة بالإسهال من (قرية سمره وقضاء العلم) بتاريخ ١٦/٤/٢٠١٦، وقد تم تشخيص الطفيلي حسب طريقه [١٦]، وكذلك بطريقه التطوير بالمحلول السكري حسب [١٧] ، وتم عزل الطفيلي وجمع أكياس البيض حسب [١٨] ، وتم تحديد جرعه الحقن عن طريق حساب عدد الاكياس وتحديد جرعة الحقن عن طريق حساب عدد الاكياس في كمية ٠,٥ مل وحدد الجرعة بمقدار ٤٠٠٠٠ كيس لكل ارنب يتم تجريعه

فمويًا ، وتم التحري عن اكياس الطفيلي في براز الارانب المصابة يوميا بعد التخميج للتأكد من حدوث الاصابة بالطفيلي عن طريق تحضير عدة مسحات من براز الارانب المصابة على شريحة زجاجية وفحصها تحت المجهر ومشاهدة الاكياس وحسابها باستخدام طريقة التطويف بالمحلول السكري .

عينة البكتريا

تم عزل بكتريا *Lactobacillus acidophilus* وزرعها على وسط (MRS) حسب طريقة [١٩] ،، وتم دراسة الصفات المظهرية للمستعمرات وإجراء الاختبارات المزرعية والبايوكيميائية للبكتريا للتأكد من الصفات التي تمكنها من استخدامها كمعزز حيوي (بروبايوتك) .

الصفات الزرعية Cultural Characters

استخدمت طريقة التخطيط Striking لتلقيح النماذج البكتيرية على الاوساط الانتقائية لها ثم حضنت الأطباق عند درجة ٣٧م لمدة (١٨- ٢٤) ساعة.

- فحص الكاتليز

نميت العزلات في وسط MRS السائل ثم نقل ١ مل منها إلى أنبوبة اختبار معقمة وأضيف ١ مل من بيروكسيد الهيدروجين H2O2 (١٠% ح/ح) ولوحظ ظهور الفقاعات.

- فحص تكوين الأمونيا من الأرجين

أضيف ٠,٣% من Argenine – monohydrochloride إلى وسط MRS السائل وعقم بالموصدة في درجة حرارة ١٢١م لمدة ٢٠ دقيقة ثم لقع بالعزلات وحضن لمدة ٧ أيام في درجة حرارة ٣٧م ثم اخذ ١ مل من الوسط الملقح ووضع في أنبوبة اختبار وأضيف إليه ١ مل من كاشف نسلر ولوحظ تغير اللون.

- اختبار تخمر الكربوهيدرات Sugars fermentation

:test

تم زرع العزلة وتنميتها بعد أن تم إستبدال المصدر الكربوني من وسط تخمر السكريات بإحدى السكريات الأتية : Galactose, Fructose ,Glucose , و Saccharose و Maltose و Raffinose ، Lactose Ribose ، وبنسبة ١% وكانت الإضافة للسكريات بعد تعقيم الوسط الأساسي بالموصدة إذ تم تعقيم السكريات باستخدام أوراق الترشيح Millipor حجم 0.22 ملم ثم حضنت العزلات المزروعة لمدة ٢٤-٤٨ ساعة. وكان الاستدلال على ايجابية التخمر من خلال تغير

اللون إلى الأصفر ، بعد الحصول على العزلات ثم تعليمها للتعرف عليها أثناء استخدامها في الاختبارات اللاحقة .

- اختبار قابلية الالتصاق لعزلات جراثيم *Lactobacillus*

أجري هذا الاختبار حسب [٢٠] كالآتي:

أخذ جزء من أمعاء الحيوان وفي الدراسة الحالية استخدمت الأرانب المخبرية وتحت ظروف معقمة فتحت الأمعاء وغسلت مرتين بواسطة ١٠٠ مل من محلول الداريء الفوسفاتي (PBS) ذي الأس الهيدروجيني ٧,٢ ، قشطت بطانة الأمعاء بواسطة شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة ثم علق ب ١٠ مل من محلول الداريء الفوسفاتي .

تحضير ١٠ مل من مستزرع جراثيم *Lactobacillus acidophilus* على وسط MRS السائل ثم رسبت الخلايا الجرثومية بواسطة جهاز المنبذة وبسرعة ٢٥٠٠ دورة/دقيقة ولمدة ١٠ دقائق ، فصل السائل الطافي عن راسب الخلايا الجرثومية وأكمل الحجم نفسه بمحلول الداريء الفوسفاتي.

أخذ ٠,٤ مل من عالق الخلايا الطلائية ويضاف الى ٠,١ مل من العالق الجرثومي ثم وضع في حمام مائي هزاز لمدة ٣٠ دقيقة وبدرجة حرارة ٣٥°م وبسرعة ٢٠ دورة/دقيقة، بعد فترة الحضان أخذت قطرات وتوضع على شريحة زجاجية وتصبغ باستعمال صبغة كرام او صبغة كمزا وتفحص لتحديد الالتصاقية ، تأخذ الخلايا الجرثومية اللون البنفسجي بينما تبدو الخلايا الطلائية بالأحمر.

بعد اجراء الفحوصات المزرعية تم عد البكتريا من خلال استعمال طريقة أنابيب ماكفيرلاند وكما مشار في [١٣] وحفظت البكتريا المعزولة بوسط (MRS) بالتجميد كما جاء في [٢١] ، ومن ثم تحضير اللبن اللاكتيكي من البكتريا المعزولة وحسب طريقة [٢٢] وقد اعطي اللبن اللاكتيكي عن طريق زرقة في الفم مباشرة بواسطة محقنه خاصه اعدت لهذا الغرض بواقع ملتر منه مرتان يوميا .

الحيوانات المختبرية

استعملت في هذه الدراسة ذكور الأرانب النيوزلندية البيضاء البالغة والتي تم الحصول عليها من (مركز البحوث/ اربيل) ، تتراوح اعمارها بين (١٠-١٨) شهراً وذات اوزان (١٠٠٠-١٨٠٠) غم ، حيث وضعت الحيوانات في أقفاص حديدية وفرشت الأرضية بنشارة الخشب ، مع مراعاة النظافة اليومية للأقفاص وتبديل نشارة الخشب بالإضافة إلى تعقيم الأقفاص بالمطهرات كل يومين، كما غُذيت الحيوانات بالعليقة الجاهزة بالإضافة إلى تزويدها بالماء طوال فترة الدراسة .

تصميم التجربة

أستعمل فيها ٢١ ارنباً، قسمت الى المجاميع التالية :-
المجموعة الاولى السيطرة (Control group (C-ve) تركت هذه المجموعة دون معاملة.

المجموعة الثانية الخمج (Infection group (C+ve) استخدمت هذه المجموعة لملاحظة تأثيرات الإصابة وتطور حالة الإسهال بأكياس طفيلي *Cryptosporidium*.

المجموعة الثالثة أستخدم المعزز الحيوي المحضر لتجريع حيوانات هذه المجموعة. أستمّر الإغذاء الفموي للحيوانات لفترة ١٤ يوماً وبمقدار ١ مللتر كل ١٢ ساعة ، تم بعدها إعطاء اكياس طفيلي *Cryptosporidium* بجرعة مقدارها ٠,٥ مل وبأعداد $١٠^3 \times ٤$ خليه / مل ثم المراقبة وتحليل البراز لفترة ٥ أيام لمتابعة حدوث المرض أو عدمه . و تم متابعة ومراقبة مجاميع الحيوانات خلال فترة المعاملة وذلك بالفحص او المعاينة للتغيرات في كل من: الحالة العامة للحيوان ، طبيعة الشهية ، طبيعة البراز ، معدل الحرارة ، ومقارنة ذلك مع المعدلات الطبيعية المشار إليها في [٢٣]. وحساب عدد اكياس البيض المطروحة كل ٢٤ ساعة

$$\text{عدد أكياس البيوض في الحجرتين} = \frac{\text{عدد أكياس البيوض في الغرام}}{200} \times \text{وزن نموذج البراز}$$

وبما أن وزن النموذج هو ٠,٢غم فإن عدد أكياس البيض $1000 \times$ ، طريقة [٢٤] المُحوّرة. وبعد انتهاء المدة المحددة للتجربة خدرت الحيوانات بوساطة الكلوروفورم، ثم سحبت عينات الدم من القلب مباشرة بطريقة الطعنة القلبية لأجراء الفحوصات الدموية والمناعية .

المعايير المستخدمة في الدراسة :

تم تقدير تركيز البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم باستعمال عدة التحليل Kit الخاصة بشركة BIOLABO SA ,France الخاصة بكل منهما ، و تم احتساب تركيز الكلوبولين في مصل الدم من خلال الفرق بين البروتين الكلي والألبومين، وكما جاء في [٢٥]. و تم تقدير تركيز الكالسيوم في مصل الدم باستعمال عدة التحليل Kit الخاصة بشركة Specam Ispanian. كما تم تقدير مستوى الحديد في مصل الدم باستعمال الطريقة اللونية Colorimetric method with ferene وباستعمال Kit مجهز من قبل شركة Giesse الايطالية ، كذلك وتم قياس

الأنزيمات GOT و GPT باستخدام العدة الجاهزة Randox، المُنتجة من شركة Randox وكما جاء في (Tietz,2005).

إجراء التحليل الاحصائي

النتائج والمناقشة :

تشخيص الطفيلي

تمّ تشخيص الطفيل بصبغة الزيل نلسن المحورة حيث ظهرت أكياس البيض كروية الشكل حمراء وبراقة متميزة عن الخلفية الخضراء ذات الساييتوبلازم الحبيبي ويضم ٤-٦ من البويغات.

تشخيص البكتريا

وقد بدت مُستعمرات جراثيم Lactobacilli مُحذبة دائرية بلون أخضر بسبب وجود الصبغة Bromo Cresol Green في محتويات الوَسط المحور وحواف مُنظمة وكان ذلك ما أشارت [٢٦] أن Lactobacillus من أهم الأحياء المجهرية المُستعملة في البروبيوتك حيث تساهم بشكل فعال في التوازن المثالي للأحياء المجهرية المكونة للفلورا المعوية في القناة الهضمية وهي أحد أنواع بكتريا العُصيات اللبّنية وتلتصق العُصيات بالطبقة الطلائية المبطنّة للقناة الهضمية ولـهذا فهي تستوطن القناة الهضمية [٢٧] ، أبدت بكتريا L.acidophillus نتيجة سالبة لهذا الفحص والتي تتفق مع دراسة [٢٨] في كون النوع Lactobacillus سالبة لهذا الاختبار بسبب عدم قابليتها على إنتاج أنزيم البيروكسيداز Peroxidase الذي يعمل على تحليل جزيئة بيروكسيد لهيدروجين H2O2 مكوناً الماء H2O وغاز الأوكسجين O2 الذي يظهر على شكل فقاعات مُعطياً نتيجة موجبة للفحص.

ولم يعط اختبار إنتاج الأمونيا من الأرجنين نتيجة موجبة عند تعريض Lactobacillus على تحليل الأرجنين وجاءت نتائجنا مُطابقة لنتائج [٢٩] . اما اختبار الكربوهيدرات فقد اعطت جميع السكريات المستعملة نتيجة موجبة ماعدا سكر الرافينوز والرايبوز أعطت نتيجة سالبة. وقد أبدت العزلة قابلية عالية للالتصاق من خلال الزيادة الكبيرة في أعداد الجراثيم المُلتصقة بالخلايا الطلائية. إن المُركب المُسؤول عن التصاق جراثيم L.acidophilus هو بروتين الطبقة S-layer protein المتداخل في جدار الخلية الجرثومية والذي يشترك معها في الالتصاق بالمستقبلات الموجودة على جدران الخلية الطلائية التي تتألف أساساً من سكر المانوز [٣٠].

إن وجود هذه الطبقة البروتينية واحتوائها على البروتينات السكرية glycoproteins والتي تتألف من ٠,٩ - ١,٤% كربوهيدرات و ٣% من الأحماض الأمينية الكارهة للماء يجعلها تقوم بدور اساسي في عملية الالتصاق [٣١].

الدراسة التجريبية:

Clinical Signs العلامات السريرية

ظهرت الإصابة التجريبية في المَجاميع الحيوانية (مجموعة الخَمَج) ببدء ظهور العلامات السريرية التي تلاحظ من خلال التغيرات في شهية الحيوان وحالته العامة وطبيعة البراز وقد كانت نتائج العلامات السريرية واضحة جداً عند مجموعة الخَمَج المعطاة جرعة من أكياس طفيلي الكربتوسبورديوم فقد لوحظ تدهوراً في حالتها الصحية وخمولها وبطئ حركتها ولم تُظهر علامة سريرية مميزة في المَجاميع المُنعة مسبقاً بالمُعزز الحيوي وكذلك الحال في حيوانات مجاميع السيطرة .

لوحظ انخفاض في شهية حيوانات الخَمَج تدريجياً ، بينما زادت الشهية لمَجاميع الوقاية وقد أكد [٣٢] إن استخدام المُعززات الحيوية في تصنيع العلف يعمل على زيادة شهية الحيوانات الحقلية، كما لاحظ الباحث [٣٣] زيادةً في شهية الأرانب المُنعة بجراثيم العصيات اللبنية المحبة للحموضة .

أظهرت نتائج فحص طبيعة البراز بالعين المجردة لمجموعة الخَمَج في الأيام الأولى تغيير حالته من الصلبة إلى أكثر ليونة ثم عند تطور الإصابة كان يبدو البراز سائلاً دليلاً على حدوث الإسهال بشكل قاسي مما يشير إلى شدة ضراوة الطفيلي . ولوحظ في أحد الحيوانات تدهور حالتها الصحية ونفوقها .

عند قياس الدرجات الحرارية لحيوانات التجربة لوحظ ارتفاع واضح منذ اليوم الثالث من التجربة في مجموعة الخَمَج إذ بلغ ٣٩,٤ م° مقارنة باليوم الأول الذي كانت فيه جميع المَجاميع ذات درجات حرارية تتراوح بين ٣٦ – ٣٧,٥ م° ، واستمر الارتفاع في حيوانات مجموعة الخَمَج . ولوحظ خمول وهدوء وبطئ في حركة حيوانات مجموعة الخَمَج ويُعد ذلك علامة مرضية [٣٤].

نتائج دراسة التَمْنيع بواسطة المُعزز الحيوي على مُعدل طرح أكياس بيض طفيل الكربتوسبورديوم في الأرانب:

ولم يلاحظ ظهور العلامات السريرية للإصابة بالمرض في مجموعة الوقاية جدول (١) على الرغم من تجريعها فمويًا الجرعة الخمجية من أكياس طفيلي الكربتوسبورديوم وبدل ذلك على إن استخدام المُعزز الحيوي المُحضر بواسطة بكتريا *L.acidophilus* للوقاية من الإصابة كان ذا أثر فعال في منع أكياس الطفيلي من إحداث المرض حيث نلاحظ عدد الأكياس المطروحة في اليوم الأول بعد التجريع يصل إلى ٦٨٠ كيس/ بيض ويبدأ العدد بالإخفاض والتلاشي وإن هذا الفعل الوقائي قد يكون سببه منع هذه الجراثيم من الالتصاق بالخلايا الطلائية المبطنة للأمعاء [٣٥] من خلال غلق مناطق المستقبلات الموجودة في بطانة الأمعاء وهذا الفعل يعود للخلايا الحية من جراثيم LBA وهي إحدى آليات الاستبعاد التنافسي [٣٦] . أو نتيجة فعل حامضي اللبنيك والخليك اللذين يُعدان المنتج الرئيس لهذه البكتريا ، وأيضاً قد يعود الفعل الوقائي إلى قدرة جراثيم LBA على تقوية النبيت المعوي مما

يؤدي إلى زيادة المقاومة للأمراض [٣٧]، وإلى قابليتها على توفير بيئة داخلية غير ملائمة لنمو المُسببات المرضية من خلال تقليلها للأس الهيدروجيني فتجعل الوسط حامضياً وغير ملائم لنمو الأحياء المرَضية [٣٨] أو لمجموع العوامل أعلاه متأزرة. وأن هذه الدراسة مشابهة لدراسة [٣٩] وقد أثبت من خلال دراسة تأثير اللبن اللاكتيكي المُحضر بواسطة بكتريا *L. casei* والمنتجة للبكتريوسين على الإصابة بطفيلي الأميبا الحالة للنسيج في الفئران البيضاء، أن لهذا اللبن تأثير إيجابي في جعل البيئة المعوية قادرة على مقاومة الإصابة بهذا الطفيلي .

جدول (١) أثر التمنيع بالمُعزز الحيوي على معدل طرح أكياس البيض في الأرانب

الكفاءة %	عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الخامس للعلاج	الكفاءة %	عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الرابع للعلاج	الكفاءة %	عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الثالث للعلاج	الكفاءة %	عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الثاني للعلاج	الكفاءة %	عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الأول للعلاج	
١٠٠ %	٠٠ b	١٠٠ %	٤٠ b	٩٧,٠ %	١٤٠ b	٩٥,٩ %	٣٦٠ b	٩٠,١ %	٦٨٠ b	المُعزز الحيوي
	٧٤٠٠ a		٧٠٢٠ a		٤٨٢٠ a		٨٨٦٠ a		٨٦٢٠ a	السيطرة الموجبة

الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠٥ .

كما يجب أن نذكر أن أكياس طفيلي *c.parvum* تتحفز بالبيئة القاعدية لتجويف الأمعاء الدقيقة ليتحلل جدارها بفعل انزيم التربسين Trypsin وتحدث عملية الإفلات من الكيس Excystation كأول خطوة لإمكانيتها إحداث الإصابة والتي تنتهي بالتضاعف في خبايا الطبقة المخاطية للأمعاء الغليظة وحدوث التفاعل الأيضي مع البكتريا المعوية [٤٠] ، وبالإضافة لهذه الحقيقة وكما هو معلوم أن بكتريا Lactobacilli تنتج أنواع مُتعدد من الأحماض العضوية التي ترفع من مستوى حموضة الأمعاء Intestinal pH [٤١].

والذي يمكن أن يفسر عدم تحقق الإصابة بالطفيلي لعدم توفر البيئة الملائمة لإفلات الأكياس الرباعية، كما أن لبكتريا Lactobacilli والمنتجة للبكتريوسين خاصة دوراً في تعزيز الجانب المناعي للمضيف، فقد أشار [٤٢] إلى قدرة بكتريا المُعززات

الحويية Probiotic bacteria وخصوصاً الجنس Lactobacilli على أستحداث إنتاج السايوتوكينات Cytokines والكيموكينات Chemokines من الخلايا الطلائية للأمعاء في الفئران وبما أن هذه السايوتوكينات والكيموكينات مرتبطة بالاستجابة المناعية للمُضيف فبالتالي ستؤدي إلى تحسنها وزيادتها مما يعني زيادة مقاومة الأنسجة المعوية لأغلب المُمرضات التي تهاجمها.

١- اثر التمنيع في تقدير تركيز البروتين الكلي

يبدو من قياس نسبة البروتين الكلي جدول (٢) في مجاميع الحيوانات قيد الدراسة إرتفاعاً معنوياً في مجموعة الأرناب الممنعه بالمُعزز الحيوي إذ بلغ المستوى في هذه المَجْموعة ٥,٨٢٠ ملغم/ دسيليتر مقارنة مع قيمته في مجموعة السيطرة ٥,١٦٦ ملغم/ دسيليتر، بينما لم يكن هناك تغيراً معنوياً في مستوى البروتين الكلي للمجموعة الممنعة مقارنة بالمجموعة المُخمجة بعد التمنيع وبلغت ٥,٧٥٥ ملغم/ ديسلتر ، وكانت نتائج الدراسة الحالية مقارنة لدراسة [٤٣] إذ إرتفع مستوى البروتين الكلي في دم ذكور الجرذان المُجرعة فموياً بجراثيم *L.acidophilus*، ومع دراسة كل من [٣١،٤٤] الذين أشاروا إلى إن إعطاء جراثيم حامض اللبنيك ونواتجها يؤدي إلى إرتفاع معدل البروتين الكلي في مصل الدم. وقد يعود السبب في إرتفاع معدل البروتين إلى إنتاج البروتين أحادي الخلية من الخلايا الجرثومية الذي يؤدي إلى زيادة البروتين الكلي فضلاً عن تأثير الفيتامينات التي تنتجها جراثيم حامض اللبنيك لاسيما حامض الفوليك Folic acid ومجموعة فيتامينات B التي يمكن أن تُسبب زيادة في الفعاليات الأيضية لتخليق الأحماض الأمينية [٢٥].

وقد أشارت بعض الدراسات الى ان بروتين اللين الرائب اسهل هضماً من مثيله في الحليب الطازج ، وذلك بسبب عملية الهضم الاولي للبروتين التي تقوم بها بكتريا حمض اللكتيك ،ومما يؤكد صحة هذا الامر زيادة محتوى اللين الرائب من الاحماض الامينية الحرة Free amino acids ، وخاصة البرولين والكلايسين ، اذ وجد ان محتوى اللين الرائب من هذه الاحماض الامينية يتضاعف تبعاً مع زيادة مدة التخزين المبرد ، مما يعني ان الانزيمات الهاضمة للبروتين والبيبتيادات يتم افرازها من الخلايا البكتيرية [٤٥].

١- أثر التمنيع في تقدير تركيز الألبومين

وعند استعراض نتائج قياس مُعدل الألبومين في الجدول (٢) لم يلاحظ إرتفاع معنوي لقيمه في المَجْموعة الممنعة بجرعة المُعزز الحيوي مقارنة بمجموعة

السيطرة إذ بلغت قيم الألبومين ٣,٣١٦ ملغم/ديسلتر، مما شكل فرقاً معنوياً عن المجموعة المخمجة التي انخفض فيها مستوى الألبومين إلى ٢,٥٠٥ ملغم / ديسلتر ، ولكن نرى أن قيمه الألبومين لم تختلف معنوياً في حاله إعطاء جرعه من أكياس طفيل الكربتوسبورديوم بعد التمنيع عن مجموعته الأرانب الممنعه إذ بلغت القيمة ٣,٣٢٦ ملغم / ديسلتر وكما مبين إنها تختلف معنوياً عن مجموعة الأرانب المخمجة (السيطرة الموجبة). وجاءت الدراسة الحالية مطابقة لدراسة [٤٦] التي تنص على عدم تغير قيم الألبومين معنوياً في جميع مجاميع الحيوانات المعطاة فموياً مُعزراً حيوياً فيه بكتريا حامض اللكتيك مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة. وجاءت دراسة اخرى [٤٧] تنص بانخفاض قيم الألبومين في مصول الفئران المُجرعة بالمُعززات كألوية تعويضية مع ارتفاع تركيز الكلوبيولين للمحافظة على الضغط الأزموزي.

جدول (٢) أثر التمنيع بواسطة المُعزز الحيوي على مستوى البروتين الكلي والألبومين والكلوبيولين في الأرانب

الكلوبيولين mg/dl			الألبومين mg/dl			البروتين الكلي mg/dl			المتغيرات الكيموحيوية
SD	±	mean	SD	±	mean	SD	±	mean	نوع المعاملة
٠,٣٦٣	±	٢,٠٢٢ b	٠,٢٥٢	±	٣,٢٤ a	٠,١٥١	±	٥,١٦٦ b	سيطرة
٠,٢٥٢	±	٢,١٤٣ b	٠,٢٨٦	±	٢,٥٠ b	٠,١١٨	±	٤,٦٠١ c	مجموعة الخمج
٠,١٧٢	±	٢,٥٠٤ a	٠,١٧٥	±	٣,٣١ a	٠,٠٥٠	±	٥,٨٢٠ a	الوقاية بالمعزز
٠,١٧٢	±	٢,٥٤٨ a	٠,٢٠١	±	٣,٣٢ a	٠,٢٤٦	±	٥,٧٥٥ a	التخميج بعد الوقاية

الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠٥

٢- اثر التمنيع في تقدير تركيز الكلوبولين

ويبين الجدول نفسه (٢) ارتفاع في قيمه الكلوبولين في مجموعة الأرانب الممنعة بالمُعزز الحيوي وبلغت ٢,٥٠٤ ملغم/ديسلتر ، مقارنة مع الحيوانات السيطرة السالبة والمخمجة التي بلغت ٢,٠٢٢ و ٢,١٤٣ ملغم /ديسلتر على التوالي ، ونرى عدم اختلاف النتيجة بعد تخميج الأرانب الممنعة مقارنة بالأرانب الممنعة وكانت النتيجة ٢,٥٤٨ ملغم/ديسلتر .وهذه النتيجة اتفقت مع [٤٨] الذي أشار إلى ارتفاع قيم الكلوبولين في دم الكلاب الممنعة بـ *L.acidophilus* ، إن الزيادة المعنوية في تركيز كل من البروتين الكلي والكلوبولين في دم الحيوانات المختبرية المجرعة بخلايا حامض اللبنيك قد اتفقت مع Oyetayo [٤٩] إذ وجدا في دراستهما عند استخدام *fermentum* في الجرذان يؤدي إلى زيادة في مستوى البروتين الكلي والكلوبولين وانخفاض الألبومين وربما يعود سبب ارتفاع الكلوبولين إلى زيادة إنتاج الأجسام المضادة بسبب تحفيز جهاز المناعة من قبل جراثيم حامض اللبنيك وهذا ما أشار إليه Nwanze [٥٠] من إن زيادة البروتين الكلي يُسبب زيادة نوعية في الكلوبولين مع زيادة رشح الخلايا لاسيما الكلوبيلينات المناعية. كما سجلت الرفاعي [٤٧] زيادة الكلوبولين في الجرذان المعاملة بالمُعزز الحيوي وقد يُعزى سبب الزيادة في تركيز الكلوبولين إلى التحفيز في الجهاز المناعي وإنتاج الأجسام المضادة إذ تعمل المعززات الحيوية على زيادة كاماكلوبولين.

٣- تأثير التمنيع على تركيز الكالسيوم

يظهر من خلال النظر إلى الجدول (٤) تركيز الكالسيوم والحديد، نلاحظ وجود فروقات إحصائية على مستوى ٠,٠١ في قيم تراكيز الكالسيوم إذ انخفض تركيز الكالسيوم في مجموعة الأرانب المخمجة ليصل إلى ١٢,١٣١ ملغم /ديسلتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغت ١٢,٥٤٠ ملغم /ديسلتر ، أما تركيز الكالسيوم في مجموعة الحيوانات الممنعة والتي خُمجت بعد التمنيع فإن تركيز الكالسيوم ارتفع معنوياً مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة إذ بلغا ١٣,٢٣٥ و ١٣,١٢٧ ملغم /ديسلتر على التوالي ، وهذا مطابق تقريبا لدراسة [٥١] والذي بين فيها ان البروبايتوك (المعزز الحيوي) يعمل على تحسين بسيط لسمك قشرة البيض المنتج من الطيور المعاملة بالبروبايتوك .

وقد يكون سبب ذلك إلى قدرة بكتريا *L.acidophilus* على إنتاج حامض اللبنيك وبالتالي تحسين معامل امتصاص كل من الفسفور والكالسيوم والحديد في القناة الهضمية للطيور المعاملة. يُعد اللبن الرائب مصدراً مميّزاً للكالسيوم ، ونتيجة

لانخفاض قيمة دَرَجَة الحموضة pH في اللبن الرائب، تَتَميَّز عناصر الكالسيوم والمغنيسيوم بوجودها على الشكل الأيوني الحر و غير المرتبط، مما يحسن من امتصاصها والاستفادة منها. كما تسهم زيادة الحموضة في مَنع حمض الفايثيك من تثبيط أو تقليل امتصاص الكالسيوم، الذي يرتبط في الظروف العادية بالكالسيوم ويقلل من وفرته الحيوية وامتصاصه. كما أشارت بعض الدراسات التي أجريت على الحيوانات إلى تحسن الوفرة الحيوية للكالسيوم الموجود في اللبن الرائب وزيادة امتصاصه واستعماله في بناء العظام بشكل أكبر مقارنةً بالكالسيوم الموجود في الحليب غير المُخمر [٤٥].

٤- تأثير التَّمْنيع على تركيز الحديد

يُبيِّن الجدول (٤) نتائج قيم الحديد في مصول مجاميع الأرانب حيث نلاحظ وجود ارتفاع معنوي في قيمه الحديد في الأرانب التي جرعت فموياً بالمعزز الحيوي لمدة أسبوعين إذ بلغت ٥٢,٢٣ ملغم / ديسلتر مقارنةً بمجموعة السيطرة التي تبلغ ٥١,٨٠ ملغم / ديسلتر، ونرى أن القيمة لم تتغير في مجموعة الأرانب التي جرعت بالطفيلي بعد التَّمْنيع وبلغت ٥٢,١٦ ملغم / ديسلتر مقارنةً للأرانب التي مُنعت بالمعزز الحيوي ، ولكنها ارتفعت مقارنةً بالسيطرة السالبة ، أما المجموعة المخمجة فإن قيمة الحديد انخفضت انخفاضاً معنوياً كبيراً بلغ ٢٩,٤٨ ملغم / ديسلتر مشكلةً بذلك فرقاً احصائياً واضحاً عن بقية المجاميع بسبب وجود الطفيلي في الأمعاء الذي يمنع امتصاص الحديد بصورة جيدة .

جدول (٤) أثر التمنيع بواسطة المعزز الحيوي على تركيز الكالسيوم والحديد في مصول الأرانب

الحديد (mg/dL)			الكالسيوم (mg/dL)			المتغيرات الكيموحيوية نوع المعاملة
SD	±	mean	SD	±	mean	
٢,٦٧	±	٥١,٨٠ b	٠,٣٧٩	±	١٢,٥٤٠ b	سيطرة
٣,٣٦	±	٢٩,٤٨ c	٠,٦٩٧	±	١٢,١٣١ c	مجموعة الخمج
٢,٧٢	±	٥٢,٠٦ a	٠,٦٠٧	±	١٣,٢٣٥ a	الوقاية بالمعزز
١,٨٣	±	٥٢,١٦ a	٠,٦٥١	±	١٣,١٢٧ a	التخميج بعد الوقاية

الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠١

إن المُعزّزات الحيوية المُحضرة ببكتريا *Lactobacilli* تساعد على تأسيس أمعاء مسكونة بالأحياء المفيدة والمضادة للأحياء المؤذية ، إضافة إلى ذلك فإن بعض الجراثيم المستخدمة في المُعزّز الحيوي تعمل على تحلل المادة الغذائية إلى وحدات صغيرة سهلة الامتصاص في الجسم وتفرز بعض الأنزيمات والمواد المفيدة الأخرى مثل البروتينات والأحماض الأمينية . كما أن له الأثر الفاعل في زيادة هضم وامتصاص العناصر الغذائية والمعدنية [٥٢].

٥- تأثير التَمْنيع على بعض أنزيمات الكبد :

١- قياس مستوى الأنزيم Oxaloacetic Transaminase (GOT)

يوضح الجدول (٣) مستويات أنزيمات الكبد حيث لوحظ تأثير التَمْنيع بالمُعزّز الحيوي المُحظر بجراثيم حامض اللبنيك في وظائف الكبد من خلال قياس مستوى هذه الأنزيمات المتحررة إلى دم الحيوانات المُمنعة . حيث نلاحظ أن أعلى مستوى وصل في هذه المَجَاميع هو مجموعته الخَمَج (السيطرة الموجبة) وصل إلى ٤٨,٩٤ وحدة/لتر ، وهذا يدل على فعالية الطفيلي وحدوث الإلتهاب ، في حين نرى إنخفاضاً ملحوظاً وكبيراً في مَجْموعتي الأرانب المُمنعة والمخمجة بعد التمنيع وصل إلى ٢٩,٠٤ و ٢٨,٩٦ وحدة / لتر مُشكلة انخفاضاً إحصائياً عن مَجْموعة الخَمَج ومجموعة السيطرة السالبة التي تبلغ ٣٢,٩٤ وحدة/ لتر ، أن عدم ارتفاع المستوى بعد تجريب الطفيلي للأرانب فموياً دلالة على عدم إصابة الأرانب بالخَمَج ، وهذه النتائج اتفقت مع السعدي [٢٦] إذ لاحظت انخفاضاً في قيم أنزيمات الكبد GOT في الجرذان الممنعه ببكتريا حامض اللاكتيك ، قد يعود سبب انخفاض مستوى الإنزيمات في المَجْموعة المعاملة بالمُعزّز الحيوي إلى إن هذه الجرعة تحتوي على نسبة لا بأس بها من البروتينات والسكريات المتعددة إضافة إلى الفيتامينات التي تمتلك تأثيراً مُنشطاً للكبد ودوراً مهماً في خفض قيم فعالية هذه الإنزيمات [٥٣] .

٢- قياس مستوى أنزيم Glutamic Pairophec

Transaminase(GPT)

وحصلنا على نتائج مستوى انزيم الكبد GPT مُشابهة إحصائياً لنتائج مستوى الأنزيم GOT ، إذ انخفض الانزيم GPT على مستوى إحصائي ٠,٠٥ في مجموعتي الأرانب المُمنعة والأرانب التي خُمجت بعد التمنيع وصل المستوى إلى ١٧,٥٨ و

١٨,٣٢ وحدة/ لتر على التوالي مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة التي وصل مستواه إلى ٢١,٣٧ وحدة / لتر ، أما مجموعة الخَمَج فشكّلت أعلى مستوى يصل إليه الأنزيم في هذه المجاميع وكان ٤١,٩٥ وحدة / لتر ، جدول (٣).

جدول (٣) أثر التمنيع بواسطة المُعزّز الحيوي على مستوى أنزيمات الكبد GOT و GPT في الأرناب

انزيم الكبد GPT U/L			انزيم الكبد GOT U/L			المتغيرات الكيموحيوية
SD	±	mean	SD	±	mean	نوع المعاملة
٠,٩٤	±	٢١,٣٧ ٦ b	٠,٩٣	±	٣٢,٩٤٣ b	سيطرة
٤,٩١	±	٤١,٩٥ a	٢,٣٠	±	٤٨,٤١٠ a	مجموعة الخمج
٠,٧١	±	١٧,٥٨ ٩ c	٢,٢٦	±	٢٩,٠٤ c	الوقاية بالمعزّز
١,٠٧	±	١٨,٣٢ ٧ c	١,٥٩	±	٢٨,٩٦٥ c	التخميج بعد الوقاية

الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠٥

وانطبقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة داود و ثلج [٤٦] حيث سجلا انخفاضاً معنوياً واضحاً في مستويات أنزيمي الكبد GOT و GPT في الجرذان المُعطاة فمويّاً نوعاً من بكتريا حامض اللاكتيك مع ماء الشرب ، ويمكن أن يُعزى سبب ذلك إلى دور أنواع بكتريا حامض اللاكتيك في تحسّين المؤشرات الأيضية في الكبد ومن ثم تحسّين وظائفه من خلال تحسّين العمليات الأيضية ، وهذه النتائج توافقت مع [٥٤] تُعد أنزيمات GOT و GPT من الدلائل الحساسة لمعظم الأمراض المُتعلقة بحالة الكبد الصحية كتلف أو التهاب الكبد إذ إن زيادة إفرازها في الدم يُعد مؤشراً على حصول الخلل في خلايا الكبد.

المصادر :

- (1) Checkley W, White AC, Jaganath D, Arrowood MJ, Chalmers RM, Chen X, et al. (2015). A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for cryptosporidium. *Lancet Infect Dis*;15:85–94.
- (2) Shirley ,D.A.; Moonah, S.N.; Kotloff, K.L. (2012). Burden of disease from cryptosporidiosis. *Curr Opin Infect Dis* 25(5):555–563.
- (3) Nemes ,Z .(2009). Diarrhea from the infectologist's point of view. *Orv Hetil* 150(8):353–361
- (4) Speich B, Croll D, Furst T, Utzinger J, Keiser J.(2016) Effect of sanitation and water treatment on intestinal protozoa infection: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*;16:87–99.
- (5) Ehsan AM, Geurden T, Casaert S, Parvin SM, Islam TM, Ahmed UM, Levecke B, Vercruysse J, Claerebout E. (2015). Assessment of zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium* between cattle and humans in rural villages in Bangladesh. *PLoS One*, 10(2), 1–11.
- (6) Ya Yang, Yi-Biao Zhou*, Peng-Lei Xiao, Yan Shi ,(2017) Prevalence of and risk factors associated with *Cryptosporidium* infection in an underdeveloped rural community of southwest China, Yang et al. *Infectious Diseases of Poverty*, DOI 10.1186/s40249-016-0223-9
- (7) Bowman, D.D., Lynn, R.C. and Eberhard, M.L. (2003). *Georgis parasitology for veterinarians*. 8th. ed. Saunders, St. Louis, pp: 98-100.
- (8) Maria Jose Saez-Lara; Carolina Gomez-Llorente; Julio Plaza-Diaz; Angel Gil (2015). ["The Role of Probiotic lactic acid bacteria and Bifidobacteria in the Prevention and Treatment of Inflammatory Bowel Disease and Other Related Diseases: A Systematic Review of Randomized Human Clinical Trials"](#). *Biomed Res Int (Systematic review)*. : 15. [doi:10.1155/2015/505878](#). [PMC 4352483](#)  [. PMID 25793197](#)
- (9) Singhi SC, Kumar S (2016). ["Probiotics in critically ill children."](#) *F1000Res (Review)*. 5:407. [doi:10.12688/f1000research.7630.1](#). [PMC 4813632](#)  [. PMID 27081478](#)
- (10) Baxby, D.; Blundell, N. and Hart, C.A. (1984): The development and performance of simple sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *J. Hyg. Camb.*, 192: 317-323.
- (11) John , D . T . & Petri , J . W . A . (2006). *Markell and Voge's Medical Parasitology*. 9ed. Chapter 14: examination of stool specimens. Saunders Elsevier. 401-402.

- (12) Myers, R. L. (1995). Immunology A Laborotry Manual ,2nd Edition. Wm.C.Brown publishers . p 83.
- (13) Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, S. M. (1994): Bailey and Scotts diagnostic Microbiology. 8th ed. Mosby Year book. Inc. America. 792.
- (14) Harrigan, W.F. and McCance, M.F. (1979). Laporatory method in food and dairy microbiology. Academic press. London.
- (١٥) القصاب . عبدالجبار عمر قوجة. (١٩٨٨). التأثير المضاد لبكتريا حامض اللبنيك العضوية على بعض البكتريا المرضية ، رسالة ماجستير ، قسم الصناعات الغذائية ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد .
- (16) Henriksen, S.A. and Pohlenz, J.F.J. (1981). Staining of *Cryptosporidia* by a modified Ziehl-Neelsen Technique. Acta Vet. Scand. 22: 594-596.
- (17) Anderson , B.C.(1981).Petterns of shedding of *cryptosporidial* oocyst in Indah calves.J.Am.Vet .Med. Assoc.,178 (9):982-984.
- (18) Arrowood , M.J. and sterling , C.R.(1987). Isolation of *Cryptosporidium* oocyst and Sporozoite using discontinuous sucrose and isopocnic percoll gradients .J.parasitol.,73:314-319.
- (19) Savage, D.C. (1984). Adherence of the normal flora in: attachment of organism to the gut mucosa.voll.Boedeker, E.C.; Bocaraton crc press.pp. 3-10.
- (20) Fuller, R. (1975). Nature of the determenat responsible for adhesion of *Lactobacillus* to chicken crop epithelial cell Journal of general microbiology; 87(2):245-150.
- (21) Contreras, B.G.L.; Vuyst, L.; Devreese,B.; Busanyova,K.; Raymaeckers,J.; Bosman,F.; Sablon,E. and Vandamme,E.J. (1997). Isolation purification and aminoacids sequence of lactocin A, One of two bacteriocins produced by *Lactobacillus amylovorus* L, MG-P 13139. Appl.environ.microbiol. 63(1):13-20.
- (٢٢) - جندل ، جاسم محمد (٢٠٠٧). مبادئ الالبان. المكتبة الوطنية
- (23) Mohammed, F.K. (2000). Laboratory Guide in Toxicology, 1st Ed, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq.
- (24) Ghazal , A.M.(1974).Experimental epidemiology of dwarf tapeworm *Hymenolepis nan var . fraterna* fection in the mouse .ph.D. Thesis,Univ.Bristol.
- (25) Tietz, N. ed., (2005). Fundamentals of clinical chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia. pp. 723-750.
-)26 السعدي (، دراسة قابلية بكتريا زينب ،) - *Lactobacillus acidophilus* نشأت (٢٠١٠) ، في الوقاية والعلاج من إلتهاب الأمعاء المحدث بالـ *Bifidobacterium bifidum* و

في الجردان ، اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، العراق .

- (27) Miles, R.D. and S.M. Bootwala. (2006). Directfeed ❖
Microbials in animal production "avian". PP., 117-146. In: Direct
- fed Microbials in animal production – A review of Literature.
National feed ingredients Association. West Des Moines, IA.
Bifidobacterium . تشخيص وانتقاء بكتريا 002 (٢٨) نظام الدين ، بهاء نظام عيسى
العلاجية لاستخدامها في تصنيع مثلج قشدي . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- (2٩) Nawaf, M.G. (2005). The use of Lactobacillus acidophilus as a
probiotic for the prevention and treatment of experimental rat
enteritis.Msc.th. College of medicine, Tikrit University.
- (30) Bernet, M.F.; Brassart, D.; Nooser, J.R. and sevin, A (2009).
Cultured human intestinal cell lines and inhibits enterovirulent
bacteria. Downloaded from gut. Bmj. Com; 35: 483-489.
- (31) Bezkorovainy, A. (2001). Probiotics: determinats of Survival and
growth in the gut. J.C lin. Nut. 73(2): 3995-4055.
- ❖ (32) Abas, I.; Kutwy, H.C.; Kagraman, R.; Toker, N.Y.;
OZcelik, D.; Ates, F. and Kacalci,A. (2007) .Effect of organic
acids and bacterial direct-fed microbial on fattening performance
of kivircik male yearling lambs.Pakistan journal of nutrition
;6(2): 149-154.
- (٣)3 محمد ، محمد مجباس. (٢٠٠٨). استخدام العصيات اللبنية المحبة للحموضة
Salmonella كمعزز حيوي للوقاية من الخمج بجرثومة *Lactobacillus acidophilus*
typhimurium. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري ، جامعة القادسية.
(34) Apanavicius,C.J.;Powell,B.M.; Vester ,B.M.; Lilienthal,L.K.;
Po pe,L.L. ; Fastinger, N.D.; Walling,M.A.; Tappenden,K.A. and
Swanson,K.S. (2007). Fructose supplementation and infection after
food intake, fever and epithelial sloughing from salmonella challenge
in weaning puppies. AJ.Nutr. 137:1923-1930.
- (35) Mack, D.R.; Ahrne, S.; Hyde, L.; Wei, S. and Holling_ Swarth,
M.A. (2003). Exteacellular MVC3 nucin secretion follows adherence of
lactobacillus strain to intestinal epithelial cell in vitro .Gut. 52:827-833.
- (36) Pretzer,G.; Snel,J. ; Molenaar ,D.; Wiersma,A. ; Bron,P .A. ;
Lambert,J.; Devos,W.M.; Vandermeer,R.; Smits,M.A. and
Kleerebezem,M. (2005). Biodiversity-based identification and
functional characterization of the mannose-specific adhesion of
Lactobacillus plantarum. Journal of bacteriology. 187(17):6128-6136.
- (37) Stanton, C.; Gardiner, G.; Meehan, H.; Collins, K.; Fitzgerald,
G.; Lyncg, P.B. and Ross, R.P. (2001). Market potential for
probiotics. American Journal of clinical nutrition. 73(2):4765-4835.

(38) **DeVuyst, L. and Leroy, K. (2007).** Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, Purification, and food applications. J. Mol. Microbiol Biothechnon; 13: 194-199.

(٣٩) نجرس، اسامة ناظم : محمود، اسماء عيسى : محمد، مروة جاسم (٢٠١٧) ، دراسة تأثير على الإصابة *Lactobacillus casei* اللبن اللاكتيكي المحضر بواسطة بكتريا في الفئران البيضاء ، كلية العلوم التطبيقية. جامعة سامراء. *Entamoeba histolytica* بطفيلي العراق .

(40) **Kenner, B. M. and Rosen, T. A. (2006).** Contaneous ameiasis in a child and review of the literature. *Pediatry. J. Dermatol.*, 23(3):231-234.

(41) **Jens Walter (2015).** Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research. *Applied and Enviromental Microbiology*. Vol(81), Issue(23).

(42) **Yujun Jianga,b.; Xuena Lüa; Chaoxin Manb; Linlin Hana; Yi Shanb; Xingguang Qua; Ying Liua; Shiqin Yanga; Yuqing Xuea and Yinghua Zhang.(2012).** *Lactobacillus acidophilus* Induces Cytokine and Chemokine Production via NF-κB and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways in Intestinal Epithelial Cells. *Clin. Vaccine Immunol.* vol. 19 (4): 603-608.

(43) **Tsai, C.C.; Chen, M.; Liu, T.; Chau, C.G. and Tsen, H.Y. (2004).** Evaluation of the toxicity of *L.acidophilus* LAP 5 in a 28-day feeding study in Wistar rats. *J. of food safety.* 24: 268-280.

(٤٤) العمري، أسعد جاسم عبد.(٢٠٠٨). دراسة تأثير إستخدام المعزز الحيوي (Probiotic) كمحفز مناعي مع لقاح البروسيلا Rev-1 في الحملان. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.

(٤٥) فارس، عزت (٢٠١٤). اللبن الرائب مستودع البكتريا النافعة. قسم التغذية. كلية الصيدلة والعلوم الطبية. جامعة البترا. الاردن.

(٤٦) تلج، كركز محمد و داود، فلاح سلوم (٢٠١٦) فعالية بعض انواع بكتيريا حامض اللاكتيك في بعض المؤشرات الحيوية والسمنة في الجرذان، مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية – المجلد (١٦) - العدد (١) .

(٤٧) الرفاعي، عهود مزاحم شاكر محمود (2009) مقارنة تشخيص طفيلي داء الابواغ الخبيثة بأستخدام اختبار الاليزا وصبغة كاربول فوكسين مع محاولة الكشف عن تأثير بعض المستخلصات النباتية على الطفيلي. رسالة ماجستير . كلية التربية للبنات . جامعة تكريت.

(48) **Muhsen, R.K. (2007).** The use of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic in the prevention and treatment of *Salmonella*

- typhimurium* infection in puppies'. PH.D. Thesis. College of Veterinary Medicine. University of Baghdad.
- (49) **Oyetayo, V.O. and Oyetayo, F.L. (2005)**. Potential of probiotics as biotherapeutic agent targeting the innate immune system. *African Journal of Biotechnology*, 4(2):123-127.
- (50) **Nwanze, P. I.; Khan, A. U.; Ameh, J. B. and Umoh. J. V. (2006)**. Nutritional studies with *Lentinus squarrosulus* (Mont) Singer and *Psathyrella atroumbonata* Pegler: I. Animal assay. *Afri. J. Biotechnology*.5 (5): 457-460.
- (51) **Haddadin, M.S.Y.; Abdulrahim, S.; E-Hashlamoun and Robinson, R. (1996)**. The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition of hens eggs. *Poultry Sci.*, 75:491-494.
- (52) **Semaskaite, A. and Gruzauskas, R. (2006)** " Effects of lactic acid bacteria, produced from strain *Pediococcus acidilacticus* and prebiotic fructo oligo saccharides on growth performance and digestive processes of broiler chickens" 200-202.
- (53) **Jia, Lin and Zhang, Mei-Hua. (2005)**. Comparison of Probiotics and lactulose in the treatment of minimal hepatic encephalopathy in rats. *World J. Gastroenterol.* 11(6): 908-911.
- (54) **Minellia, E.B.; Beninia, A.; Marzotto, M.; Sbarbatic, A.; Ruzzenanted, O.; Ferrario, R.; Hendriks, H. & Dellaglio, F. (2004)**. Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. *Inter. Dairy J.* 14:723-736.

دراسة تأثير التلوث بعنصر الرصاص

على البيئة الصحية في قضائي بلد والدجيل

*Study of the effect of lead contamination on
the healthy environment in the courts of Balad
and Dujail*

إياد إسماعيل كاظم

أ.د. رياض عباس عبد الجبار

جامعة تكريت \ كلية العلوم \ قسم علوم الحياة

Ayad Ismail Kazem

Prof. Riad Abbas Abed Al Jabbar

**University of Tikrit \ Faculty of Science **

Department of Life Sciences

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في قضائي بلد والدجيل التابعين لمحافظة صلاح الدين لدراسة مستويات عنصر الرصاص في مصل الدم لأربعة فئات مختلفة من المجتمع هي (الفئة الأولى -العاملون في الصناعة لفترة لاتقل عن سبع سنوات، الفئة الثانية -الفلاحون الذين يعملون بتماس مع المبيدات والأسمدة الكيماوية أكثر من عشر سنين، الفئة الثالثة - الموظفون في المستشفيات بمختلف المهن الصحية ولديهم خدمة بالعمل أكثر من خمسة عشر سنة، الفئة الرابعة (المجموعة الضابطة): طلاب المدارس الذين تتراوح أعمارهم من (١٨_٢٠ سنة)،

حيث وجد اختلافات معنوية بين معدلات تركيز عنصر الرصاص في مصل الدم للفئات الأربعة قيد الدراسة بحسب نتائج اختبار المتوسطات بطريقة دنكن المتعدد المدى، حيث بلغ متوسط تركيز الرصاص بين(11.72-24.664 µg/L)

أظهرت بعض تحاليل الدم اختلافات معنوية بين متوسطاتها للفئات الأربع قيد الدراسة وهي كل من عدد كريات الدم البيضاء التي بلغ متوسط عددها بين-5.838 ($10^3 \mu\text{L}$) وكريات الدم الحمراء التي بلغ متوسط عددها بين -5.60 ($4.90 \times 10^6 \mu\text{L}$)

Summary:

This study was conducted in the district of Balad and Dujail in Saladin Governorate to study serum levels of serum lead in four different categories of the society (category I - workers in the industry for at least seven years, the second category - the peasants who work in contact with pesticides and chemical fertilizers more than ten Years, category III - staff in hospitals with different health professions and who have a service for more than fifteen years, category 4 (control group): school students aged 18-20 years. Significant differences were found between the concentration of serum lead in the four groups under study according to the results of the multimodal Duncan method. The mean lead concentration was between 24.664-11.72 $\mu\text{g} / (\text{L})$ A number of blood tests showed significant differences between the mean of the four groups under study. They were the number of white blood cells with an average number of (5.838-9.548 $\times 10^3 \mu\text{L}$) and red blood cells with an average number between 5.60-4.90 $\times 10^6$.

١-المقدمة: Introduction

يواجه العالم في الوقت الحاضر مشكلات بيئية خطيرة ناجمة عن تأثير الانسان في البيئة المحيطة به وقد زادت حدة هذه المشكلات خلال العقود الأخيرة من هذا القرن نظرا للتطور الصناعي الذي يشهده العالم والانفجار السكاني والعوامل الطبيعية كالانفجارات البركانية والهزات الأرضية والفيضانات فضلاً عن الظواهر الكونية

الأخرى، والبشرية المنشأ كالحروب والتفجيرات النووية وحوادث غرق الناقلات الضخمة المحملة بالوقود (1) و(2)

٢- الرصاص

الرصاص عنصر ليّن رصاصي او فضي اللون يذوب بدرجة (٣٢٧,٥) درجة مئوية شديد المقاومة للتآكل لكنّه يذوب في حامض النتريك والكبريتيك الحار حالة التكافؤ لمركبات الرصاص الغير عضوية هي (+٢) ذوبانيته في الماء مختلفة إذ إنّ كبريتيد الرصاص وأكاسيد الرصاص قليلة الذوبان بالماء في حين النترات والكلورات وأملاح الكلوريد لها قابلية الذوبان في الماء البارد (3). وأنّ الرصاص عنصرٌ سامٌ له استعمالاتٍ واسعة الانتشار وسميته تراكمية تؤثر في أجزاء عديدة في الجسم منها الجهاز العصبي، وأمراض الدم، والجهاز الهضمي، والقلب والأوعية الدموية، والجهاز الكلوي، ويمكن للرصاص أن يوجد بهيئة الرصاص المعدني والأيونات غير العضوية والأملاح (4)، وليس له أي وظيفة أساسية في حياة الإنسان.

ونتيجة للنشاط البشري الهائل أصبح للرصاص انتشار واسع في الاستعمال وتمثل النشاط البشري بالتعدين وصهر الرصاص وتكريره وإعادة تدويره فضلاً عن استعمال البنزين المحتوي على الرصاص (الكازولين) وإنتاج بطاريات الرصاص الحامضية ومواد الطلاء وصناعة المجوهرات واللحام والسيراميك والمخلفات الإلكترونية واستعمالها في أنابيب المياه واللحام (5). ويعد الرصاص من أكثر العناصر الثقيلة استخداماً في الصناعة إذ يتصف بقابليته على الطرق وبسبب درجة انصهاره الواطئة زاد من استخدامه المبكر والواسع في العديد من المنتجات المعدنية وهو عنصر غير قابل للحرق وذو كثافة عالية ومقاوم للصدأ لذلك استخدم في تغليف الأسلاك الكهربائية وله قابلية امتصاص الصوت والاهتزازات فاستخدم كعازل للصوت ومادة لتخميد الهزات الأرضية (6). ومن الاستعمالات الأخرى لمركبات الرصاص استخدام أملاح الرصاص في الأصباغ لتميزه ببريق اللون وثباته مثل كرومات الرصاص $PbCrO_4$ (الرصاص الأصفر) الذي يضاف الى الأصباغ التي تستخدم لطلاء أرصفة الشوارع وحافلات نقل الركاب وأوكسيد الرصاص الثلاثي Pb_3O_4 (الرصاص الأحمر) الذي يدخل في صناعة الأصباغ المقاومة للصدأ (7). وقد استخدمت كربونات الرصاص الابيض ($PbCO_3$) بشكل واسع حتى منتصف القرن العشرين كمادة أساسية في طلاء الأبواب الخارجية وكونها مادة شديدة السمية استبدلت بمادة ثاني أوكسيد التيتانيوم (TiO_2)، فضلاً عن استخدام خلاص الرصاص $Lead\ acetate$

كمادة تدخل في صناعة أصباغ الشعر وبعض مساحيق التجميل (8). وتشمل المصادر الأخرى من الرصاص في البيئة الأنشطة الطبيعية مثل: النشاط البركاني، والتجوية الجيوكيميائية ، وانبعاثات رذاذ البحر والرصاص الموجود في التربة والرواسب والمياه من مناطق التعدين ويميل الرصاص إلى الاستقرار لمجرد إطلاقه في البيئة وبسبب هذه الصفة وقدرته على الانتقال في الغلاف الجوي العالمي فإنَّ انبعاثات الغلاف الجوي يمكن أن تؤثر في معظم المناطق البعيدة من العالم (9).

■ التأثيرات الصحية لعنصر الرصاص على الإنسان

يعد الرصاص من العناصر غير الضرورية للكائنات الحية حيث يمكن أن يوصف بأنه عنصر سام بمختلف مستوياته وأشكاله أي ليس هناك مستوى تعرض آمن (Safety level) يظهر فوائد وظيفية لجسم الكائن الحي الذي يدعى بمستوى العتبة (Thereshold) وهو الحد الأدنى من التعرض أو الجرعة التي تسبب تغيراً بيولوجياً لا يضر بقدرة الجسم على الاستتباب (10). وفي دراسة تأثير الرصاص في عدد من المتغيرات الكيموحيوية لـ (١٥٠) عاملاً من العمال الذكور غير المدخنين المعرضين مهنيًا للتلوث بالرصاص أثناء عملهم اليومي في محافظة نينوى وجد ان الرصاص متراكم في دم الصباغين ولمدة تعرض أكثر من ٢٠ سنة بينما وجد تراكم للرصاص أقل في دم مصلحي التلفزيونات وعمال المطابع والمصورين الشعاعين وبنسب متباينة فضلاً عن وجود زيادة معنوية في نسب اليوريا والكوليسترول والكليسريد الثلاثي وفعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي والأستيل كولين أستريز للعاملين أثناء مدة التعرض (١١). و أوضحت نتائج دراسة (12) عن تقدير تركيز الرصاص وتأثيره في بعض معايير دم العاملين المعرضين له في الشركة العامة للبطاريات في الوزيرية في بغداد إذ بينت النتائج وجود علاقة عكسية بين تراكيز الرصاص و معايير الدم الأخرى مثل مستويات الهيموغلوبين Hb والنسبة المئوية لحجم الدم المضغوط PCV وعدد كريات الدم الحمر RBCs ومتوسط تركيز هيموغلوبين الخلايا MCHC ومتوسط حجم الخلايا MCV وأوضحت النتائج تقارب في نتائج مستوى الرصاص في دم المدخنين وغير المدخنين فضلاً عن تأثير الرصاص في جهاز الخصوبة لدى الذكور والجهاز البولي و ظهور عدد من حالات فقر الدم و حالات من السعال والصداع و الإجهاض لدى السيدات و ألم في المفاصل.

■ ومن التأثيرات السلبية للرصاص:

● تأثير الرصاص على الدماغ والجهاز العصبي

يعد الجهاز العصبي المركزي من أكثر الأجهزة تأثراً بالرصاص ومن الحالات المرضية التي تصيب الإنسان نتيجة التعرض للرصاص هي حدوث الاعتلال الدماغية (Encephalopathy) وهو حدوث تلف في الأنسجة الدماغية كذلك يسبب الرصاص العجز الحسي (Sensory deficits) عن طريق قطع وسائل الانتقال الحسي عبر الجهاز العصبي المحيطي وتناقص سرعة الاتصال العصبي أي سرعة نقل المعلومات مما يؤدي إلى بطأ في الفهم والاستيعاب (١٣).

● تأثير الرصاص على جهاز الدوران

إن مركبات الرصاص يمكن أن تسبب تأثيرات ضارة بمختلف أنواع خلايا الدم حيث يؤدي التسمم بالرصاص إلى تكسر كريات الدم الحمر وكذلك حدوث اضطرابات في جهاز تخليق (Heme) نتيجة تأثير الرصاص بصورة مباشرة على أنزيمين مهمين في مسار تخليق (Heme) وبالتالي حدوث النقص في إنتاجه والذي قد يؤدي إلى الإصابة بمرض فقر الدم وتراكم المواد الوسطية والنواتج الثانوية لمسار تخليق Heme وحدث تسمم في الجسم، فضلاً عن زيادة عدد الكريات الحمر غير الطبيعية (المشوهة) (14). كما وجد (15) في دراسته تأثير السلينيوم والرصاص في عدد من معايير الدم منها WBC وRBC وHb وPCV على ذكور الفئران وتوصل الباحث إلى أن حقن الفئران بتراكيز (٠,٥ و ١ و ٢) mg/kg بأكاسيد الرصاص أظهرت انخفاضاً معنوياً في جميع معايير الدم.

● تأثيرات الرصاص على الكلية

يؤثر الرصاص في عمل الكلية إذ لوحظ أن التعرض الحاد للرصاص يؤثر على الأنسجة الحية ولاسيما الأنابيب المتلوية الدانية للكلية وإن التعرض للرصاص يحفز حالة مرضية تدعى (Hyperuricemia) حيث يحدث تناقص في إفراز اليوريا مما يؤدي إلى تراكم الأملاح وحامض اليوريك في المفاصل والإصابة بما يشبه بداء المفاصل (Gout) الذي يؤدي إلى تضخم الأطراف والفشل الكلوي وبالتالي حدوث الوفاة (16).

• تأثير الرصاص على العظام

للرصاص خواص مشابهة لخواص الكالسيوم من حيث الحجم لذا فإنّ الرصاص يترسب في المادة المغذية الموجودة في العظم كما هو الحال بالنسبة للكالسيوم(17).

أشار(14) الى تأثير الرصاص على العظام إذ لاحظ ظهور حالة مرضية مع زيادة تراكم الرصاص في العظم تدعى تنخر العظام (Osteoporosis) وهو انخفاض في كثافة المواد المغذية للعظم مما يؤدي إلى تنخر العظم وسهولة تكسره في فترات متقدمة من عمر الشخص وقد لاحظ هذه الحالة لدى الأطفال والمراهقين المتعرضين لجرعات متكررة من الرصاص دون إجراء المعالجة الطبية وزيادة تراكم الرصاص في العظم حيث يؤدي الرصاص إلى تسارع في نضوج العظم (Bon Maturation لدى الأطفال وأظهرت نتائج الدراسة أنّ أعلى انخفاض في كثافة المواد المعدنية المغذية للعظام في عظام الرأس وعظام العمود الفقري. يتحرك الرصاص المتراكم في العظام نحو الدم وبقية الأعضاء تحت ظروف خاصة مثل حدوث كسر في العظم والحمل وأوقات الرضاعة والإصابات الحادة والمزمنة (18).

المواد وطرائق العمل:

٣- العد الكامل للدم (CBC) Complete blood count

حسبت الصورة الدموية الكاملة (CBC) والتي تضمنت قياس كريات الدم الحمر (RBCs $\times 10^6/\mu\text{L}$) وهيموغلوبين الدم (Hb gm/dL) وحجم كريات الدم الحمر المضغوطة (PCV%) وأعداد الصفائح الدموية ($\times 10^3/\mu\text{L}$) ومتوسط حجم الصفائح الدموية (MPV FL) وكريات الدم البيض ($\times 10^3/\mu\text{L}$) والأعداد التفريقية لها وعرض كريات الدم الحمر (RDW%) ومعدل الحجم الكريبي (MCV FL) ومعدل خضاب الدم الكريبي (MCH picogram) ومعدل تركيز خضاب الدم الكريبي (MCHC g\text{dL}) بواسطة جهاز العد الكامل للدم (HORIBA ABX) وباستخدام المحاليل المجهزة من قبل الشركة، إذ أدخلت نماذج الدم الموجودة في أنبوبة (EDTA) المانعة لتخثر الدم بالجهاز الذي يقوم بسحب (٠,٥ سم^٣) من الدم بواسطة إبرة خاصة في الجهاز.

٤- طريقة قياس عنصر الرصاص

استخدمت الطريقة المحورة التي استخدمت من قبل (19) وطريقة (20). إذ تم اخذ (١) مل من مصّل الدم ووضع في دورق زجاجي حجم (٥٠ مل) ويضاف له (٢) مل من H_2SO_4 إلى حد التقحيم وبعدها إضافة (٢) مل من HNO_3 ليتحول المحلول إلى رائق ووضع على سطح ساخن ويترك إلى أن يصلَ إلى أقل حجم ممكن بعدها يبرد ثم يضاف (١) مل من HCl ويوضع على سطح ساخن للوصول إلى أقل حجم ثم يبرد ويخفف إلى (٥٠) مل من الماء المقطر ويقاس بجهاز المطياف الذري (Atomic absorption) موديل (AA202) المجهز من قبل شركة Spectrolab وبحسب الطول الموجي لقياس كل عنصر حيث يقاس الرصاص على الطول الموجي ٢١٧ نانومتر.

وتقاس هذه العناصر تحت ظروف الجهاز التالية:

- Lamp current = 7.5 mA
- 2- Air press = 1.6 kG\cm²
- 3- Fuel press of C₂H₂ = 0.25 kG\cm²

وتم حساب النتائج بالرجوع إلى المنحنى القياسي لكل عنصر محضّر بالطريقة نفسها وتحت الظروف نفسها. تم تحويل قياس الامتصاص الذري إلى وحدات تركيز وذلك باستخدام معادلات الانحدار المسجلة من تحليل الانحدار الخطي لتراكيز مختلفة من المعادن القياسية المستخدمة.

٥- النتائج والمناقشة:

٥-١- الرصاص

يصل الرصاص إلى جسم الإنسان من الجو من خلال الهواء الجوي الحاوي على هذا العنصر من مصادر التلوث الصناعي ومنها ما تنفثه عوادم المركبات والآليات الأخرى (21) وقد قدر محللو البيئة بان وجود ١ مايكروغرام/م³ سيسهم بمقدار ٣,٠ مايكروغرام/١٠٠ غم دم (22)، يلاحظ من الفئات الأربع المدروسة أنّ أعلى نسبة لعنصر الرصاص بلغت (٢٤,٦٦٤) مايكرو غرام / لتر في دم الأشخاص العاملين في الصناعة وبفارق معنوي عن الفئات الأخرى بحسب نتائج اختبار المتوسطات بطريقة دنكن المتعدد المدى، يليه الأشخاص العاملين في المجال الزراعي ثم العاملين في المستشفيات ثم المجموعة الضابطة وهي فئة الطلاب، إذ سجلت التركيز الأدنى لهذا

العنصر والذي بلغ (١١,٧٢) مايكرو غرام / لتر، وبفارق معنوي إحصائيا عن الفئات الأخرى. وإن سبب ارتفاع تركيز عنصر الرصاص في دم العاملين في الصناعة هو بسبب قربهم الكبير من مصادر التلوث بهذا العنصر، كما في محلات تصليح بطاريات الرصاص الحامضية واللحام وتواجدهم في المناطق المزدحمة بالمركبات التي تستعمل البنزين او غيره من الوقود الحاوي على رابع أثيل الرصاص أو رابع مثيل الرصاص بنسبة تتراوح بين (٠,٨٤-٠,٤٠)غم/لتر وذلك لتجنب فرقة الاحتراق الذي يتحول بعد الاحتراق إلى رصاص يمثل وحده ٩٤% من الرصاص الملوث للهواء الجوي (23). أمّا ارتفاع تركيز عنصر الرصاص في دم العاملين في الزراعة فيعزى إلى التعرض المباشر للأسمدة الفوسفاتية ومبيدات الحشرات والأدغال غير العضوية والتي تحتوي على نسب متفاوتة من عنصر الرصاص (24). ونلاحظ بشكل عام ارتفاع تركيز عنصر الرصاص في دم الفئات الأربع المدروسة وهذا يؤكد أنّ المصدر الرئيس هو ما تنفثه عوادم المركبات، والذي يعد مصدراً لزيادة التلوث في البيئة من جهة وتراكمه في دم المتعرضين من جهة أخرى كلما طالت مدة التعرض (25).

٥-٢ تأثير العناصر الثقيلة في بعض مكونات الدم

٥-٢-١ عدد كريات الدم البيضاء

ان أعداد كريات الدم البيض للفئات الأربع قيد الدراسة يلاحظ وجود اختلافات معنوية بينهم بحسب اختبار المتوسطات بطريقة دنكن المتعدد المدى، إذ سجلت الفئة الثانية (العاملين في الزراعة) المتوسط الأعلى لكريات الدم البيضاء والذي بلغ $(9,548 \times 10^3 \mu L)$ وبفارق معنوي عن فئتي العاملين في المستشفيات والطلاب اللتين سجلتا متوسطات بلغت $(7,38 \times 10^3)$ و $(7,092 \times 10^3)$ لكل منهما على التوالي، وبدون فارق معنوي عن فئة العاملين في الصناعة التي سجلت المتوسط الثاني والذي يبلغ $(5,838 \times 10^3 \mu L)$. ويمكن تفسير هذا الارتفاع على أنّه نوع من الحساسية تولدت لدى المتعرضين نتيجة لتماهم المباشر مع الملوثات عامة والكيميائية خاصة إذ أشارت معظم المصادر إلى ان كريات الدم البيض ترتفع في حالة الحساسية للملوثات (26)، وبالنظر إلى علاقة الارتباط بين عدد كريات الدم البيضاء وعنصر الرصاص نجد أنّ هذه العلاقة غير ثابتة، إذ سلكت سلوكاً موجباً وغير معنوي مع عنصر الرصاص لجميع الفئات باستثناء فئة الطلاب التي كانت العلاقة سالبة غير معنوية، وتتفق هذه النتائج مع ما حصل عليه (25).

٥-٢-٢- كريات الدم الحمراء

يلاحظ وجود اختلاف بسيط في عدد كريات الدم الحمراء ولكنّه وصل إلى الحد المعنوي بحسب اختيار دنكن المتعدد المدى، إذ تراوحت أعداد هذه الكريات بين $10^6 \mu\text{L}$ (٤,٩٠× و ٥,٦٦) لكلا من فئتي الطلاب (المجموعة الضابطة) والعاملين في الصناعة على التوالي، وقد يعود هذا الازدياد في الارتفاع لأعداد كريات الدم الحمر كما في فئة العاملين في الصناعة إلى استمرار التعرض للغازات الملوثة المنبعثة من عوادم المركبات، ويلاحظ من نتائج تحليل الارتباط بين هذه الصفة وعنصر الرصاص هذه الارتباطات تراوحت بين السالب والموجب لعنصر الرصاص ولجميع الفئات ولم تبلغ حدود المعنوية الإحصائية، ماعدا الارتباط مع عنصر الرصاص لفئة العاملين في الزراعة والذي كان معنويا عند مستوى احتمال ٥% وبلغت قيمته (-٠,٤١٨). وتتفق هذه الدراسة مع (26) و(24) و(25)

٦-المصادر

1. Albrito, b. (2012). Making cities resilient: Increasing resilience to disasters at the local level. J. Bus. Contain. Emer. Plan. 5: 219-297.
2. Laumbach R. J. and H. M. Kipen (2012) Respiratory health effects of air pollution: Update on biomass smoke and traffic pollution. J. Allergy. Clin. Immunol. 129: 3-11.
3. Divix, A., (2001). The Olympic Boo of sport Meolicin.Black We, Scientific Publication.P94.
4. Harrison, R. M. (2001). Pollution: Causes, Effects and Control. 4th Ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. pp 579 .
5. UNEP,United Nations Environment Program. (2008). Draft final review of scientific information on lead.Geneva, Chemicals Branch. Availableat:([http://www.chem.unep.ch/Pb and Cd/SR/Draft final reviews/Pb Review/Final UNEP Lead review Nov 2008.pdf](http://www.chem.unep.ch/Pb%20and%20Cd/SR/Draft%20final%20reviews/Pb%20Review/Final%20UNEP%20Lead%20review%20Nov%202008.pdf)).

6. Wallace, H.A. (2001). Principles and Methods of Toxicology. (2): 667-667.
7. Harrison, R. M. (2001). Pollution: Causes, Effects and Control. 4th Ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. pp 579 .
8. IPCS (1995) Carbon Monoxide. Geneva, World Health organization, International Programme on Safety. Environ. Health Criteria: 213.
9. WHO, World Health Organization. (2007). Health risks of heavy metals from long-range trans boundary air pollution. Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe Available at: <http://www.euro.who.int/document/E91044.pdf>.
10. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012).
 - a. Toxicological profile for cadmium. Georgia, USA.
١١. يعقوب، نضال ياس (٢٠٠٦). تقدير تركيز الرصاص وتأثيره في بعض معايير الدم للعاملين المعرضين له في مدينة بغداد. رسالة ماجستير، قسم علوم الحياة، كلية العلوم للنبات، جامعة بغداد، 63 صفحة.
12. Cherian, G-M; and Goyer (1978) Metallothionein and Their role in the Metabolism and Toxicity of metals. Life Sci. 23:1-10.
13. Gosselin, R. E.; Smith, R. P. and Hodge, H. C. (1994) Clinical Toxicology of Commercial products .5th edition Baltimore.
14. AL-Fartosi, K. G. (2008). Effect of Selenium and Lead on some blood parameters of male mice. J. Dohouk Univ., 11(1): 62-66.
15. Ferrante, M.; M. Fiore; C. Ledda; F. Cicciu; E. Alonzo; R. Fallico;; F. Platania , R. Di. Mourow , L. Lavalnti , and S. Seciacca (2013) . Monitoring of heavy metals and trace

- elements in the air, fruits and vegetables and soil in the province of Catania (Italy). Iq. Sanita. Pubb. 69: 47-54 .
16. Nielsen , F, ; Davis , C. ; and Milne , D. (2003) Lowdietary Zinc and Copper negatively affect plasma and Urine indicators of bone health , USDA , ARS , Grand forks Human Nutrition Research center Grand Forks , N.D.
17. Eisler, R. (2000). Chemical Risk Assessment. Lewis. Publ., USA. (1): 99-311.
١٨. احمد ، حنان شهاب (2011)، دراسة عدد من المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية لدى المرضى المصابين بداء النقرس في محافظة صلاح الدين ، رسالة ماجستير، كلية التربية ، جامعة تكريت . الفهادي، نبيل حمد الله عزيز (٢٠٠٢). مقارنة لتأثير أول اوكسيد الكربون والرصاص والكاديوم في دم العاملين بتماس مع هذه الملوثات. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل /العراق.
19. Leman, R.A. (1976). Cancer mortality among cadmium production workers. Ann. New York Sci., 271: 273-276
20. Kunnath S.S and Jean C.M (1981) Arapid Electro thermal atomic absorption spectropho tometrik method for cadmum and lead in human whole blood. Clin. Che. 27(11),1866-1871.
٢١. بودقجي، عامر و كمال ، محمود (١٩٨٢) . التلوث و الامن الصناعي . مديرية الكتب و المطبوعات الجامعية ، حلب / سورية .
22. Harrison R.N. and Laxen D.P. (1978). Natural source of tetra-alkyl lead in air. Nature, 275:738-792.
23. Rapaport , S. I. (1998) Introduction to hematology . 2ed Philadelphia , J B. Lippincott. Raub J.A. (1999) Health Effects of exposure to ambient Carbon Monoxide. Environ. Health criteria.213:6-13.
٢٤. الشمري، أصل غازي حسين (٢٠١٢) دراسة بعض المؤشرات البيوكيميائية والدموية لدى العاملين في بيئة معامل طابوق النهروان .رسالة ماجستير ،كلية العلوم، الجامعة المستنصرية|العراق
٢٥. الحميش، موسى جاسم محمد (٢٠٠٤). تأثير بعض الملوثات المطلقة من صناعة الأسمدة في الخصائص الكيموحيوية ووظائف الدم لدى العاملين فيها. أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة تكريت/العراق.

٢٦. الجنابي ، منيف صعب احمد ساجت ، (2008) ،دراسة فسلجية كيموحيوية و خلوية لتأثير عدد من الملوثات المنبعثة من محطة كهرباء ببيجي الحرارية على العاملين فيها ، اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة تكريت .

دراسة وبائية عن انتشار الطفيليات المعوية في مدينة سامراء

Epidemiological Study for the Spread of Intestinal Parasites in Samarra

د. عهود مزاحم شاكر

م.م نبراس عبد العزيز المباشع

م.م. مروه مالك الحيالي

كلية العلوم التطبيقية، قسم التحليلات المرضية، جامعة سامراء

Dr. Ouhood mozahim Shakir

Assist instructor: Nibras A. almbashaa

Assist instructor: Marwa Malik alhayli

College of Applied Science University of Samarra

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للمدة من 2016/٢/1 ولغاية 2016/12/30 ، وتضمن الجزء الأول من الدراسة فحص 580 عينة من غائط المرضى المراجعين لمستشفى سامراء العام في سامراء وبعض المختبرات الخارجية وتم إجراء الفحوصات المختبرية بالطريقة المباشرة Direct method ، وطريقة التركيز بالتطويق Concentrationmethod بكبريتات الخارصين والمحلول السكري المشيع للتحري عن وجود الاخماج بالالوالي المعوية الممرضة وسجلت المعلومات التي تضمنت العمر والجنس ومنطقة السكن ومصدر المياه المستخدم للشرب وتاريخ الجمع لكل عينة وأظهرت الفحوصات المختبرية ان النسبة الكلية للخمج بالالوالي المعوية كانت % ٣٠ ، منها ٢٦,٨ % اميبا النسيج *Entamoebahistolytica* و ٢,٢ % الجيارديا لامبليا *Giardia lambila* والشريطية القزما *hymenolips nana*

٠,٨% ، وكانت نسبة الذكور الممخجين باميبا النسيج ٢٨,٥% في حين كانت نسبة الإناث ٢١,٤% ، أما نسبة الذكور الممخجين بالجيارديا لامبليا فقد كانت ٢,١% والإناث 2.3% . وأعلى نسبة خمج باميبا النسيج كانت للفئة العمرية (21-30) سنة وبنسبة 29.3% ، وأما أعلى نسبة خمج بالجيارديا لامبليا فقد كانت للفئة العمرية (6-١٠) سنة وبنسبة ٥,٢% ، وأما أعلى نسبة خمج بالدودة الشريطية القزمية فقد كانت للفئة العمرية (١-٥) سنة وبنسبة ٢,٦% وكانت نسبة الخمج في المدينة ٢٤,٩% في حين كانت في الريف ٤٤,٨% ولوحظ ارتفاع في نسبة الخمج بالاولي المعوية لدى المرضى الذين تعد مياه الأنهار المصدر المائي المتاح لهم ، اذ بلغت ٣٩,٩% ، وكانت نسبة الخمج منخفضة للذين كانت مياه الإسالة المصدر المائي المتاح لهم ٢٢,٥% ، وقد سجلت اعلى نسبة باميبا النسيج في شهر ايار ٥٦,١% واقل نسبة ٣,٩% في شهر شباط ، وأما بالنسبة للجيارديا لامبليا فقد كانت أعلى نسبة خمج سجلت في شهر حزيران ٦% واقلها ١,٥% في شهر اذار في حين لم تسجل إصابات في الاشهر شباط وتشرين الأول والثاني وكانون الأول اما الشريطية القزمية سجلت أعلى نسبة إصابة في شهر حزيران ٣% واقل نسبة ٢% في شهر آب في حين لم تسجل إصابة في الكثير من الأشهر.

Summary

This study is done for the duration from 1/2/2016 to 30/12/2016. The first part of the study deals with checking up 580 samples of hospital auditors' stool of infected persons in Samarra' hospital and other laboratories outside it. The checking up was done using both the direct method and concentration method with sulfate of zinc and saturated diabetic solution to investigate the existence of infections in the intestinal pathogens and the information was documented that contains: the age, sex, the accommodation area, source of water the he/she used, and the date of taking the sample. The laboratory checking up showed that the percentage of gastrointestinal infections

was 30%, 26.8% of it was *Entamoebahistolytica* and 2.2% *Giardia lambila* and 0.8 nana

The percentage of males that were infectious with Amiba Textile was 28.5% and 21.4% for females. As for the males that were infected with *Giardia Lambila* was 2.1% and females 2.3% and the highest percentage of infection with *Giardia lambila* was for the rats aged (6-10) years in 5.2% and the highest percentage in infection of tapeworm was for the rats aged (1-5) year in 2.6% and the percentage of infection in the city was 24.9 while in the countryside was 44.8%

It was observed that the percentage of infection with intestinal prophylaxis for the patients who used the water of the rivers and reached 39.9% and the infection percentage was low for those who used the pure water for 22%. The highest percentage for the infections of Amiba Textile was recorded in May 56.1% and the lowest one was 3.9% in February and as for *the Giardia lambila* was recorded as a highest infection in June 6% and the lowest was 1.5% in March and no infections were recorded in February, October, November and December. As for *H. nana*, the highest infections was recorded in June by 3% and the lowest one in August in 2% and no infections were recorded in many months

المقدمة

تنتشر أنواع الطفيليات المعوية والاولالي في المجتمعات البشرية على نطاق واسع وفي معظم أنحاء العالم ، وتعد من المسببات الرئيسية للإسهال وتكون المسبب الثالث للوفيات في العالم اذ يبلغ عدد المتوفين 1.8 مليون شخص سنويا (١) ويعتمد انتشار الإصابات الطفيلية في العالم على عوامل عدة منها النظافة الشخصية والعامة والمستوى الاجتماعي والاقتصادي وعوامل بيئية اخرى وهي من المشاكل الصحية الشائعة في البلدان النامية ، اذ أشارت العديد من الدراسات في تلك البلدان الى مدى تأثير البيئة غير صحية والموقع الجغرافي وقلة الوعي الصحي على انتشار الخمج بالاولالي المعوية (2) ويعد *Giardia lamblia* و *Entamoebahistolytica* هما الطفيليان الاكثر انتشاراً في العالم، ويسهمان في خمج عدد كبير من الأشخاص، لعدم السيطرة عليها بشكل فعال وتعد الكثافة السكانية من العوامل المهمة التي تساهم في تضاعف احتمالات الخمج بالطفيليات اذ بلغ معدل الخمج السنوي في العالم بطفيلي *E. histolytica* بـ ٥٠٠ مليون حالة خمج، وبطفيلي *G. Lamblia* بـ ٢٠٠ مليون حالة خمج (3) تنتقل الاولالي المعوية عن طريق الايدي الملوثة بالبراز (oral-Fecal) وتميل الى إظهار تشابه في دورة الحياة التي تتألف من طور النشطة (Trophozoilte)، والطور المتكيس (Cyst)، ويحدث المرض عادة بالتهام الأكياس الناضجة مع الطعام أو الشراب الملوث (4) ففي حالة الخمج بداء الجيارديات (Giardiasis)، فان أهم الأعراض السريرية التي يمكن ملاحظتها هي الإسهال (Diarrhea) والامساك (Constipation) والغثيان (Nausea) والصداع (Headache) وانتفاخ البطن (Flatulence) (٥). اما داء الاميبات المعوي (Amoebiasis) فيتميز عادة بأربع علامات سريرية تظهر خلال المرحلة الحادة من الخمج وهي الزحار (Dysentery) أو الاسهال الدموي (Bloody diarrhea) والتهاب القولون المفاجئ (Fulminating Colitis) والتهاب الزائدة الدودية الاميبي (Amoebic appendicitis) و ورم اميبي بالقولون (Amoeboma of the Colon) كما يسبب تقرحات في القولون خصوصاً الأعور (Cecum) والقولون السيني (Sigmoid Colon) والمستقيم، وتكون هذه القرحة إما عقدية (Nodular) أو غير منتظمة (Irregular) إذ تكون القرحة العقدية صغيرة بالحجم (١,٠ - ٥,٠) سم، ودائرية الشكل ترتفع قليلا عن الطبقة المخاطية. اما القرحة غير المنتظمة فتتميز بمراكزها المتنخرة التي تكون محاطة بإطار من خبز الانسجة (Edematous tissue) (٦) وعلى الرغم من ان الأمراض

الطفيلية كمشكلة صحية عامة ، تتسم بأهمية كبرى في كثير من البلدان ، إلا أن الجهود التي تبذل لمكافحتها غير كافية ، ففي الوقت الحاضر لا يمكن منع انتشار هذه الأمراض ولا يوجد لقاح ضدها فضلاً عن أن مكافحة هذه الأمراض يعوقها في العادة الجهل بالمعدل الحقيقي لانتشار هذه الطفيليات او الأمراض ، والاستخفاف بمقدار ما تسببه للناس من معاناة واعتلال .

مواد وطرائق العمل

تحضير المحاليل المختبرية المستعملة :-

المحلول الملحي الفسلجي 0.9% Normal Saline Solution:

حضر المحلول بإذابة 9 غرامات من كلوريد الصوديوم sodium chloride في لتر من الماء المقطر ليصبح تركيز الملح 0.9 % (7)

محلول صبغة اليود اللوكالي Lugol s Iodine Solution

حضر المحلول بإذابة 5 غرامات من بلورات اليود Iodine crystals و10 غرامات من ايوديد البوتاسيوم Potassium Iodide في 100مللتر من الماء المقطر ثم وضع المحلول في قنينة زجاجية داكنة بعيداً عن الضوء تم التخفيف قبل الاستعمال بإضافة حوالي 5 اضعاف من الماء المقطر وتم تجديده كل أسبوعين لأنه يفقد فعاليته تدريجياً بعد التخفيف في حين يبقى المحلول الأصلي ثابتاً لشهور (٧)

المحلول السكري المشبع : Saturated Sugar Solution

حضر المحلول بإذابة 350 غراماً من السكر و20 غراماً من الفينول Phenol في 1000مللتر من الماء المقطر . ثم ثبتت الكثافة النوعية Specific Gravity عند 1.12 في درجة حرارة المختبر باستخدام مقياس الكثافة النوعية للسوائل Hydrometer(٧)

طرائق العمل Materials and Methods**جمع العينات Patients and Collection of Samples**

أجريت هذه الدراسة للفترة من 2016/2/1 إلى 2016/12/30 اذ تم جمع ٥٨٠ عينة غائط من الأشخاص المراجعين الى مستشفى سامراء العام ، تضمنت عينات من كلا الجنسين ومن فئات عمرية مختلفة تراوحت ما بين 4 أشهر - 70 سنة وبصورة عشوائية ، وقد كانت عينات الذكور ٣٢٨ عينة في حين كانت عينات الإناث ٢٥٢ عينة

الفحص المختبري Laboratory test

تم فحص عينات الغائط التي جمعت من المراجعين لمستشفى سامراء العام وبعض المختبرات الأهلية حيث كان المراجعون من مدينة سامراء والمناطق التابعة لها بالطرق التالية :

1- طريقة الفحص المباشر Direct method

فحصت العينات بطريقه المسحة المباشرة وذلك بأخذ قطرة من المحلول الملحي الفسلجي ووضعه على الشريحة الزجاجية وأخذت كمية قليلة من الغائط بقدر رأس عود الثقاب ومن أماكن متعددة بوساطة عود خشبي نظيف stick ، وخلطت كمية الغائط مع المحلول الملحي المتوازن الموجود وبعد المزج الجيد ، وُضع فوقها غطاء شريحة بحذر لمنع تكون فقاعات هوائية ، و رُوعي في أثناء الفحص اختيار الأجزاء المخاطية أو الدموية في العينة. هذه الطريقة مفيدة على وجه الخصوص للتحري عن الناشطات الحية المتحركة . على الشريحة، وبعدها وضع غطاء الشريحة وفحصت بالمجهر الضوئي باستخدام العدسة الشيئية 4X ثم 40X للتأكد من وجود الطفيلي (٨).

Iodine Staining Wet Mounts الشرائح الرطبة المصبغة باليود

استعمل في هذه الطريقة محلول يود لوكل بدلاً من المحلول الملحي الطبيعي وحُضرت بالطريقة السابقة نفسها. ان صبغة اليود تساعد على تأكيد وجود الأكياس إذ أنها تصبغ الفجوات الكلايوجينية والأنوية بصورة واضحة

2 طريقة التركيز Concentration method

Zinc sulfate flotation method تقنية التطويف بكبريتات الخارصين

مزج ١-٢ غم من الغائط في كمية كافية من الماء المعقم بواسطة قضيب زجاجي لتحرير الأكياس من الغائط، ثم رشح المزيج من خلال أربع طبقات من الشاش وبعدها ينقل الراشح الى أنابيب الاختبار، وتوضع في جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق بسرعة ١٠٠٠ دورة /دقيقة، ويُطرح الطافي من أنابيب الاختبار ثم أضيف قليلاً من الماء المقطر لإذابة الجزء المترسب ثم يملأ الأنبوب بالماء ويعاد الى جهاز الطرد المركزي وتعاد عملية الترسيب وتعاد عملية الغسل والترسيب حتى يصبح الطافي رائقاً ثم أهمل الرائق وأضيف محلول كبريتات الخارصين إلى الراسب، ثم تعاد أنابيب الاختبار لجهاز الطرد المركزي بالسرعة والمدة نفسها. وسحب الطافي بواسطة ماصة باستور بعناية ويوضع على شريحه زجاجيه مع قطره من محلول يود لوكل وفحص تحت المجهر

Sucrose solution Sucrose solution تقنية التطويف بمحلول السكر

تتبع نفس الخطوات في الفقرة السابقة ويستخدم محلول السكر بدلاً من محلول كبريتات الخارصين. (9)

النتائج والمناقشة

بينت الدراسة الميدانية التي تضمنت اخذ نماذج غائط من المراجعين إلى مستشفى سامراء العام ان نسبة الخمج الكلي بلغت ٣٠% من الاوالي المعوية كما في الجدول (١)، وجاءت نتائج هذه الدراره متوافقة مع (١٠) في تكريت حيث سجلت نسبة

اصابه كليه ٣١% ومع (١) في بيحي بنسبة ٢٩% وكانت هذه النتيجة اقل مما سجله بعض الباحثين (١١) في البصرة بنسبة ٥٠,٩% و (١٢) في تكريت بنسبة ٦٠,٩% وأعلى من (١٣) في الدوز بنسبة ١٧,٧%، ويوضح الجدول ان اميبا النسيج كانت أعلى في نسبة الخمج الكلي أذ سجلت 26.8% في حين سجلت الجيارديا لامبليا نسبة 2.2% في حين الدودة الشريطية القزما بنسبة ٠,٨% وهذه النسب اقل مما سجله (١١) في البصرة حيث كانت اميبا النسيج ٦٥,٢% والجيارديا ٣٠,١% وأعلى مما سجله (١) حيث نسبة الاميبا ٧,٥% والجيارديا ٥% و(١٣) نسبة الاميبا ١٢% والجيارديا ٥%

جدول (1) اعداد المخمجين بالاولي المعوية والنسبة المنوية موزعة بحسب الجنس ونوع الطفيل

نوع الطفيل	الذكور			اناث			الكلي	
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المنوية للخمج	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المنوية للخمج	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة
<i>E.histolytica</i>	٣٢٨	١٠٢	٢٨,٥	٢٥٢	٥٤	٢١,٤	٥٨٠	١٥٦
<i>G.lambila</i>	٣٢٨	٧	٢,١	٢٥٢	٦	٢,٣	٥٨٠	١٣
<i>H.nana</i>	٣٢٨	٢	٠,٦	٢٥٢	٣	١,٢	٥٨٠	٥
المجموع	٣٢٨	١١١	٣٣,٤	٢٥٢	٦٣	٢٥	٥٨٠	١٧٤

يشير التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية حسب الجنس بمستوى ($p < 0.05$)

كما أشارت هذه الدراسة الى ارتفاع نسبة الخمج في الذكور بهذه الاوالي من مجموع العينات المخمجة وبنسبة ٣٣,٤% ، في حين كانت نسبة الخمج في الإناث ٢٥% ، اما بالنسبة للجنس فقد كانت نسبة اخماج الذكور باميبا النسيج والجيارديا لامبليا والدودة الشريطية هي ٢٨,٥% و ٢,١% و ٠,٦% على التوالي هي اعلى من نسبة اخماج الاناث التي كانت ٢١,٤% و ٢,٣% و ١,٢% على التوالي وان ارتفاع نسبة الإصابة بين الذكور في الاوالي يمكن ان يعزى الى كثرة عدد الذكور المراجعين

للمستشفى مقارنة بعدد الإناث وقد يكون للعادات الاجتماعية السائدة دورا في ذلك ، او قد يرجع السبب إلى ان الذكور أكثر فعالية واحتكاكا بالبيئة الخارجية من الإناث .

ان الاختلاف في نسبة الخمج المسجلة في الدراسة الحالية إلى الدراسات المذكورة أعلاه ربما يعود إلى الاختلاف في مستوى الصرف الصحي، والنظافة الشخصية، والكثافة السكانية والموقع الجغرافي، والظروف المناخية، والعدد الكلي من العينات المفحوصة، وطرق الفحص، ومدة الدراسة، والفئات العمرية من سكان الدراسة، كذلك طريقة حساب النسبة المئوية للخمج (14).

يظهر جدول (٢) ان نسبة الخمج الكلي باميبا النسيج كانت ٢٦,٨% توزعت بين ٢٨,٥% من الذكور و ٢١,٤% من الاناث ، وقد كان اعلى خمج في الفئة العمرية ١١-٢٠ سنة من الذكور وبنسبة ٣٨,٣% واقله كان ٢٣% في الفئة العمرية ٣١-٤٠ سنة ، اما بالنسبة للإناث فقد كانت الفئة العمرية ١-5 سنة هي الاعلى في نسبة الخمج 32.8% واقله في الفئة ٤١-٥٠ سنة حيث لم تسجل اصابة .

جدول (٢) أعداد المخمجين بـ *E.histolytica* موزعة بحسب الجنس والفئات العمرية

العمر (سنة)	الذكور			اناث			الكلي		
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %
٥-١	٨٠	٢٢	٢٦,٨	٧٠	٢٣	32.8	١٥٠	٤٥	١٦,٦
10-6	٧٢	٢٠	٢٧,٧	٤٢	١١	٢٦,١	١١٤	٣١	٢٧,١
20-11	٧٣	٢٨	٣٨,٣	٥٠	٩	١٨	١٢٣	٣٧	٣٠
30-21	٤٢	١٦	٣٨	٣٣	٦	١٨,١	٧٥	٢٢	٢٩,٣
40-31	٢٦	٦	٢٣	٢١	٢	٩,٥	٤٧	٨	١٧
50-41	١٦	٥	٣١,٢	١٥	-	-	٣١	٥	١٦,١
<٥٠	١٩	٥	٢٦,٣	٢١	٣	١٤,٢	٤٠	٨	٢٠
المجموع	٣٢٨	١٠٢	٢٨,٥	٢٥٢	٥٤	٢١,٤	٥٨٠	١٥٦	٢٦,٨

يشير التحليل الإحصائي على وجود فروق معنوية حسب الفئات العمرية بمستوى
($p < 0.05$)

وتتفق هذه الدراسة مع (١٥) حيث بلغت الإصابة ٢٠% ومع (١٦) في بغداد حيث بلغت ٢٢,٣% وتختلف مع (١٢) في تكريت حيث بلغت الإصابة ١٨,٦% ومع (١٧) في الطوز بلغت ١٩,٨% و (١٨) بنسبة ١٧,٣% و (١٩) في ديالى، إذ بلغت نسبة الإصابة بالاميبيا الحالة للنسيج ١٨,٧% ، اما من ناحية الجنس فان ارتفاع نسبة الخمج باميبيا النسيج في الذكور أكثر من الإناث وهذا متفق مع نتيجة دراسة (١٣,٢٠) ومخالف مع (١٥) وقد يرجع السبب كما ذكرنا في السابق إلى ان الذكور أكثر فعالية واحتكاكا بالبيئة الخارجية من الإناث

ان نسبة الخمج العالية بطفيلي *E. histolytica* هي ٢٦,٨% في الدراسة الحالية يعكس مدى التلوث البرازي للماء والغذاء حيث يسود هذا الطفيلي في البلدان النامية ذوات الثقافة الصحية الواطئة ، وقلة الاهتمام بالنظافة الشخصية وطرق انتقاله المباشرة عن طريق الماء والغذاء والخضروات الملوثة، ويقوم الذباب المنزلي بنشر الخمج وذلك بنقله للأكياس (٢١).

اما الجدول (3) فيظهر نسبة الخمج الكلي بالجيارديا لامبليا اذ كانت ٢,٢% توزعت بين ٢,١% في الذكور و ٢,٣% في الاناث ، وقد كان أعلى خمج في الفئة العمرية 6-١٠ سنة من الذكور وبنسبة ٥,٥% في حين كان اقل خمج في الفئة العمرية ١-٥ سنة وبنسبة 1.2% في حين لم تسجل الفئة العمرية ١١-20 و ٤١-٥٠ سنة أي خمج ، اما بالنسبة للإناث فقد كانت الفئة العمرية ٢١-٣٠ سنة هي الأعلى في نسبة الخمج ٦% واقله كان الفئة العمرية 11-20 سنة وبنسبة ٢% في حين لم تسجل الفئة العمرية ١-٥ و ٤١-٥٠ سنة أي خمج

وتتفق هذه الدراسة مع (٢٠) وتختلف مع (١٣،١٠،١) ويعزى السبب بهذا النسبة إلى وجود خلل في الجهاز المناعي بسبب تقدم العمر وعدم قدرة المريض مقاومة المرض وكذلك يعزى الى ان دورة حياته مباشرة فهو ينتقل أيضا كما في اميبيا النسيج عن طريق الماء والغذاء الملوثين والخضروات والفواكه الملوثة بالأكياس عن طريق تلوث الأغذية من خلال الحشرات والأيدي الملوثة ، ولاسيما أيدي عمال الأغذية وكذلك هناك سبب آخر هو ان أكياس الجيارديا لامبليا تكون اكثر مقاومة لظروف البيئة والتعقيم بواسطة الكلور للمياه

جدول (٣) أعداد المخمجين بـ *G.lambila* موزعة حسب الجنس والفئات العمرية

العمر (سنة)	الذكور			اناث			الكلية		
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %
٥-١	٨٠	١	١,٢	٧٠	-	-	١٥٠	١	٠,٦
10-6	٧٢	٤	٥,٥	٤٢	٢	٤,٧	١١٤	٦	٥,٢
20-11	٧٣	-	-	٥٠	١	٢	١٢٣	١	٠,٨
30-21	٤٢	١	٢,٣	٣٣	٢	٦	٧٥	٣	٤
40-31	٢٦	١	٣,٨	٢١	١	٤,٧	٤٧	٢	٤,٢
50-41	١٦	-	-	١٥	-	-	٣١	-	-
<٥٠	١٩	-	-	٢١	-	-	٤٠	-	-
المجموع	٣٢٨	٧	٢,١	٢٥٢	٦	٢,٣	٥٨٠	١٣	٢,٢

يشير التحليل الإحصائي على وجود فروق معنوية حسب الفئات العمرية بمستوى
($p < 0.05$)

اما الجدول (٤) فيظهر نسبة الخمج الكلية للذودة الشريطية القزمة كانت ٠,٨% توزعت بين ٠,٦% في الذكور ١,٢% في الاناث ، وقد كان أعلى خمج في الفئة العمرية 6 - ١٠ سنة من الذكور وبنسبة ١,٣% في حين كان اقل خمج في الفئة العمرية ٥-١ سنه وبنسبة 1.2% في حين لم تسجل الفئة العمرية ١١-٥٠ سنة أي خمج ، اما بالنسبة للإناث فقد كانت الفئة العمرية ٥-١ سنة هي الاعلى في نسبة الخمج ٤,٢% واقله كان في بقية الفئات العمرية حيث لم تسجل اي خمج وجاءت هذه النتائج مقاربه (١٠) وغير متوافقة مع (٢٢)

قد يعزى وجود هذه النسبة للشريطية القزمية في الدراسة الحالية والدراسات الأخرى إلى طرق الانتقال المباشرة ، وعدم الاهتمام بالنظافة ولاسيما الأيدي ، فقد تنتقل الى الفم عن طريق الأيدي الملوثة بالبراز ، او عن طريق الإصابة الذاتية بتفقيس البيوض داخل

أمعاء الشخص المصاب مباشرة ،او عن طريق تلوث الطعام ببراز الفئران المصابة في الأماكن الملوثة ،ويزداد انتشاره في الأطفال بعمر من ٦-١٤ سنة ،ويقل بتقدم العمر نتيجة لنمو وتطور جهاز المناعة ،فضلا عن الوعي بأهمية النظافة

جدول (٤) أعداد المخمجين بـ *H.nana* موزعة حسب الجنس والفئات العمرية

العمر (سنة)	الذكور			اناث			الكلية		
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للمخج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للمخج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للمخج %
٥-١	٨٠	١	١,٢	٧٠	٣	٤,٢	١٥٠	٤	٢,٦
10-6	٧٢	١	١,٣	٤٢	-	-	١١٤	١	٠,٨
20-11	٧٣	-	-	٥٠	-	-	١٢٣	-	-
30-21	٤٢	-	-	٣٣	-	-	٧٥	-	-
40-31	٢٦	-	-	٢١	-	-	٤٧	-	-
50-41	١٦	-	-	١٥	-	-	٣١	-	-
<٥٠	١٩	-	-	٢١	-	-	٤٠	-	-
المجموع	٣٢٨	٢	٠,٦	٢٥٢	٣	١,٢	٥٨٠	٥	٠,٨

يشير التحليل الإحصائي على وجود فروق معنوية حسب الفئات العمرية بمستوى ($p < 0.05$)

يظهر الجدول (٥) نسبة المخج بالاولي موزعة بحسب منطقة السكن ، اذ بلغت أعلى نسبة انتشار في الريف وبنسبة ٤٤,٨ % ، في حين سجلت اقل نسبة انتشار في المدينة وبنسبة ٢٤,٩ % ، وقد لوحظ ان نسبة المخج بأميبا النسيج في الريف كانت ٣٨ % في حين في المدينة كانت ٢٣ % ، اما الجيارديا لامبليا فقد كانت نسبته في الريف ٤,٧ % وفي المدينة ١,٣ % ، اما الشريطية فقد كانت نسبته في الريف ٢ % وفي المدينة ٠,٤ %

وقد اتفقت هذه النتيجة مع ما سجله (٢٣) في قضاء بيجي ، وما سجله (١٥) في مدينة سامراء، وما سجله (١٨،٢٠) في مدينة تكريت وما سجلته (١) في قضاء بيجي. ومع (١٠) ولم تتفق مع ما سجله (٢٤) حيث سجل نسبة خمج في المدينة أعلى من الريف ٢٦,٩٣% و ٢١,٧٦%. والسبب في ذلك ربما يعود إلى أن السكان الذين يقطنون الريف لا تتوفر فيهم الشروط الصحية والوعي الصحي، أي عدم عنايتهم بالنظافة الشخصية في المأكل والمشرب والملبس، كذلك كثرة وجود الحشرات الناقلة ميكانيكا للأكياس وقد يلعب المناخ وكثرة المزارع والأمراض الزراعية وطبيعة المهنة التي يزاولها سكان الريف، بالإضافة إلى عدم وصول ماء الإسالة إليهم بصورة كافية مما يؤدي إلى اعتمادهم على مياه الآبار والأنهار والتي تكون غير معقمة مع انتشار الحيوانات في هذه المنطقة وبشكل كبير وتربيتها داخل المنازل وبذلك يكون مصدر الخمج بالطفيليات أما سكان الحضر فيتم فيها تصريف مياه المجاري بصورة صحيحة بالإضافة إلى اعتماد الأطفال في المدينة على مياه الإسالة وبعضهم على المياه المعقمة للشرب.

جدول (٥) توزيع الاوالي المعوية حسب منطقة السكن

مكان المفحوصة نوع الطفيل	الريف		المدينة	
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة %
<i>E.histolytica</i>	١٤٧	٥٦	٤٣٣	٢٣
<i>G.lambila</i>	١٤٧	٧	٤٣٣	١,٣
<i>H.nana</i>	١٤٧	٣	٤٣٣	٠,٤
المجموع	١٤٧	٦٦	٤٣٣	٢٤,٩

يشير التحليل الإحصائي على وجود فروق معنوية حسب السكن بمستوى ($p < 0.05$)

اما عند متابعة انتشار الاوالي المعوية وعلاقته بمصدر الماء المستخدم للشرب كما يظهره جدول (٦) فقد كانت أعلى نسبة خمج للأشخاص الذين يعتمدون على مياه البئر والنهر وبنسبة ٣٩,٩% ، وفي حين سجلت اقل نسبة خمج للأشخاص الذين يعتمدون على مياه الإسالة وبنسبة ٢٢,٥% ، هذه النتيجة توافق (١٣،٢٠،٢٥،٢٣،١٠،١) ، ويتعارض مع ما توصلت اليه (٢٦،٢٧) إذ تعزى هذه النتيجة إلى تلوث مياه النهر والآبار بمختلف الملوثات الطبيعية والصناعية فضلاً عن ان اغلب الأشخاص يستخدمون هذه المياه بدون معالجته بالغليان او إضافة الكلور إلى مياه البئر مباشرة للشرب ، مما يؤدي إلى حدوث اوبئة والعديد من الأمراض وتعد مياه الآبار عادة معقمة لأنها تمر خلال طبقات أرضية متعددة ، وذلك كمرشح لتنقية المياه من الأحياء المجهرية ، والمواد الأخرى القابلة للترشيح ، ومع ذلك فإنها تكون معرضة للتلوث بملوثات عدة، قد تتلوث بالغايط وكثيراً ما تعد مصدر لنشر الكائنات التي تصيب الإنسان وتسبب له العديد من الأمراض وذلك لكون الآبار التي استعملت في المناطق التي أجريت فيها الدراسة آبارها سطحية مفتوحة وقربيتها من النهر (٢٠)

جدول (٦) توزيع الاوالي المعوية بحسب مصادر المياه

نوع المياه		مياه معقمة			غير معقمة	
نوع الطفيل	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المفحوصة	النسبة المئوية %	عدد العينات المفحوصة	النسبة المئوية %	نوع المياه
<i>G.lambila</i>	٣٢٢	٨	٢,٤	٢٤٨	٢	
<i>H.nana</i>	٣٢٢	١	٠,٣	٢٤٨	١,٦	
المجموع	٣٣٢	٧٥	٢٢,٥	٢٤٨	٣٩,٩	

يشير التحليل الإحصائي على عدم فروق معنوية حسب مصدر المياه السكن بمستوى

$$(p < 0.05)$$

أما بالنسبة لتوزيع الخمج الكلي بأميبا النسيج كما تظهر من الجدول (٧) حسب أشهر الدراسة، فقد تبين من نتائج العامة للخمج خلال الأشهر المشمولة بالدراسة ان هناك نسبة خمج عالية بلغت ١,٦% خلال شهر ايار وادناها ٩,٣% خلال شهر شباط، اما بالنسبة للذكور فقد كانت اعلى نسبة خمج ٤,٦٨% خلال شهر ايار واكلها خلال شهر شباط ٦,٦% في حين سجلت الاناث اعلى نسبة ٧,٤% خلال شهر ايار وادنى ٥,٥% في نيسان اما شهر تشرين الأول والثاني وكانون الاول لم تسجل أية اصابة، على الرغم من هذا التباين الا انه يلاحظ الخمج بالطيفي كانت اكثر انتشاراً في شهر ايار وتفق مع (١٥ و ٢٨) وتختلف مع (١٠ و ١٣) ان هذا التباين او الاختلاف في نسب الخمج وحسب أشهر السنة ربما يعود إلى التغيرات الفصلية والموسمية التي لها دور في اختلاف هذه النسب، من خلال نتائج الدراسة الحالية يتضح ان ازدياد نسبة الإصابة كانت خلال أشهر الصيف وربما يعود السبب في ذلك إلى توفر الظروف البيئية الملائمة لنمو وانتشار الطفيلي حيث ان الطفيليات المعوية تكون أكثر انتشاراً في المناطق الحارة كذلك يعزى السبب الى الزيادة الحاصلة في استهلاك مياه الشرب خلال فصل الصيف وبالتالي ازدياد احتمالية تناول المياه الملوثة بالأطوار المتكيسة للطفيليات المعوية كما ان فرص إصابة الإنسان بالأميبا الحالة للنسيج تزداد بدرجة كبيرة خلال أشهر الصيف الحارة نتيجة تكاثر الحشرات الناقلة للأمراض وانتشارها ومنها الذباب المنزلي الذي يعد ناقلاً آلياً لأكياس الاوالي الطفيلية وبيوض بعض الديدان الشريطية والاسطوانية، وقد بينت نتائج دراسات بعض الباحثين أهمية الظروف البيئية كالحرارة والرطوبة والرياح في انتشار الإصابة بالطفيليات المعوية وان أعلى نسبة إصابة سجلت خلال أشهر الصيف كما تمت الإشارة إلى ان الظروف الباردة تقلل من الإصابة بالطفيلي من خلال قتلها لأكياس الطفيلي المعوية (29,30)

جدول (٧) النسبة المئوية للخمج بـ *E.histolytica* موزعة على أشهر الدراسة

الشهر	الذكور			اناث			الكلي		
	عدد العينات الكلي	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات الكلي	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات الكلي	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %
شباط	٣٠	٢	٦,٦	٢١	-	-	٥١	٢	٣,٩
اذار	٢١	٧	٣٣,٣	٤٣	٥	١١,٦	٦٤	١٢	١٨,٧

نيسان	٣٠	١٤	٤٦,٦	٢٧	٤	٥,٥	٥٧	١٤	٢٤,٥
ايار	٣٨	٢٦	٦٨,٤	٥١	٢٤	٤٧	٨٩	٥٠	٥٦,١
حزيران	٣١	١٠	٣٢,٢	٣٦	١٥	٤١,٦	٦٧	٢٥	٣٧,٣
تموز	٣٢	١٣	٤٠,٦	١١	٢	١٨,١	٤٣	١٥	٣٤,٨
اب	٤٠	٦	١٥	٨	٢	٢٥	٤٨	٨	١٦,٦
ايلول	٢١	١٠	٤٧,٦	١٤	٢	١٤,٢	٣٥	١٢	٣٤,٢
تشرين الاول	٢٢	٢	٩	١٣	-	-	٣٥	٢	٥,٤
تشرين الثاني	٣٤	٣	٨,٨	١٥	-	-	٤٩	٣	٦,١
كانون الاول	٢٩	٩	٣١	١٣	-	-	٤٢	٩	٢١,٤
المجموع	٣٢٨	١٠٢	٣١	٢٥٢	٥٤	٢١,٤	٥٨٠	١٥٦	٢٦,٨

يشير التحليل الإحصائي على عدم فروق معنوية حسب أشهر الدراسة بمستوى
($p < 0.05$)

اما عند ملاحظة جدول (٨) فنجد ان الجيارديا لامبليا قد سجلت أعلى نسبة خمج كلي ٦% في شهر حزيران وأدنى نسبة ١,٥% خلال شهر أذار ، وقد سجلت نسبة ٥,٢% في الذكور وهي الأعلى في شهر ايار وأدنى نسبة 2.5% في شهر آب ، اما في الإناث فقد كانت أعلى نسبة ٩% في شهر تموز وأدناه ٢,٣% في شهر أذار

جدول (٨) النسبة المنوية للخمج بـ *G.lambli* موزعة على أشهر الدراسة

الشهر	الذكور			اناث			الكلي		
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المنوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المنوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المنوية للخمج %
شباط	٣٠	-	-	٢١	-	-	٥١	-	-

أذار	٢١	-	-	٤٣	١	٢,٣	٦٤	١	١,٥
نيسان	٣٠	١	٣,٣	٢٧	-	-	٥٧	١	١,٧
ايار	٣٨	٢	٥,٢	٥١	-	-	٨٩	٢	٢,٢
حزيران	٣١	١	٣,٢	٣٦	٣	٨,٣	٦٧	٤	٦
تموز	٣٢	١	٣,١	١١	١	٩	٤٣	٢	٤,٦
أب	٤٠	١	٢,٥	٨	-	-	٤٨	١	٢
ايلول	٢١	-	-	١٤	١	٧,١	٣٥	١	٢,٨
تشرين الاول	٢٢	-	-	١٣	-	-	٣٥	-	-
تشرين الثاني	٣٤	-	-	١٥	-	-	٤٩	-	-
كانون الاول	٢٩	١	٣,٤	١٣	-	-	٤٢	١	-
المجموع	٣٢٨	٧	٢,١	٢٥٢	٦	٢,٣	٥٨٠	١٣	٢,٢

يشير التحليل الإحصائي على عدم فروق معنوية حسب أشهر الدراسة بمستوى
($p < 0.05$)

جاءت هذه النتائج متوافقة مع (١٣) ولا يتفق مع (٢٠،٣١) ، نستدل من ذلك ان ارتفاع درجة الحرارة لها دور في انتشار جيارديا لامبليا ومع زيادة درجات الحرارة تؤدي الى زيادة فرصة الإصابة بالطفيلي نتيجة زيادة تواجد الحشرات الناقلة للمرض وكذلك تعرض المواد الغذائية ومياه الشرب بأكياس الطفيلي اكثر في فصل الصيف وذلك من خلال الدراسة لاحظنا ان المراجعين المصابين بالإسهال الدهني والشحمي يكون في زيادة مع بداية فصل الصيف

اما عند ملاحظة جدول (٩) فنجد ان الدودة الشريطية القزمية قد سجلت اعلى نسبة خمج كلي ٣% في شهر حزيران وادنى نسبة ٢% خلال شهر آب ، وقد سجلت نسبة ٢,٦% في الذكور وهي الأعلى في شهر ايار وأدنى نسبة 2.5% في شهر آب ، اما في الإناث فقد كانت اعلى نسبة ٥,٥% في شهر حزيران وادناه ١,٩% في شهر ايار

جدول (٩) النسبة المئوية للخمج بـ *H.nana* موزعة على أشهر الدراسة

الشهر	الذكور			اناث			الكلية		
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المخمجة	النسبة المئوية للخمج %
شباط	٣٠	-	-	٢١	-	-	٥١	-	-
أذار	٢١	-	-	٤٣	-	-	٦٤	-	-
نيسان	٣٠	-	-	٢٧	-	-	٥٧	-	-
ايار	٣٨	١	٢,٦	٥١	١	١,٩	٨٩	٢	٢,٢
حزيران	٣١	-	-	٣٦	٢	٥,٥	٦٧	٢	٣
تموز	٣٢	-	-	١١	-	-	٤٣	-	-
اب	٤٠	١	٢,٥	٨	-	-	٤٨	١	٢
ايلول	٢١	-	-	١٤	-	-	٣٥	-	-
تشرين الاول	٢٢	-	-	١٣	-	-	٣٥	-	-
تشرين الثاني	٣٤	-	-	١٥	-	-	٤٩	-	-
كانون الاول	٢٩	-	-	١٣	-	-	٤٢	-	-
المجموع	٣٢٨	٢	٠,٦	٢٥٢	٣	١,٢	٥٨٠	٥	٠,٨

يشير التحليل الإحصائي على عدم فروق معنوية حسب أشهر الدراسة بمستوى ($p < 0.05$)

المصادر

- ١- الكيز ، فاطمة ستار جبار فرج (٢٠١١) ، دراسة وبائية الطفيليات المعوية بين طلبة المدارس الابتدائية والإعدادية في مدينة بيجي مع دراسة بعض المعايير السريرية والكيموحيوية .رسالة ماجستير ، كلية التربية / جامعة تكريت .
- 2-Pham , P.; Nguyen, H.; Hattendorf, J.; Zinsstag, J.; Dac Cam, P.and Odermatt, P. (2011). Risk factors for *Entamoebahistoltytica* infection in an agricultural community in Hanam province, Vietnam. Parasit Vectors, 4:102-110.
- 3-Hugo, D.L. and Staffan, S. (2011). Giardia (A Model Organism) . Springer Wien NewYork. 3-26 pp.
- 4-Pritt, BS. and Clark, CG.(2008). Amebiasis. Mayo Clinic Proceedings. 83(10):1154-1160.
- 5- Ankarklev, J. ; Jerlstrom-Hultqvist, J. ; Ringqvist, E. ; Troell, K. and Svard, S.G. (2010). Behind the smile : cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. Nat. Rev. Microbiol., 8(6):413–22
- 6-Shannon, N.; Moonah, N.; and William, A. (2013). Host Immune Response to Intestinal Amebiasis. PLOS Pathoge. (9) -85-71
- 7- Markell ,E.K, John ,D.T. and Krotoski ,W.A.(2006).Medical parasitology .8thedW.B.Saunders Company Philadelphia
- 8-. Singh, A .; Ericttouft, B.H. and William, A.C. (2009). Rapid diagnosis of intestinal parasitic protozoa .J. Infect. Dis.,61(3): 280-286
- 9- Minvielle, M.C.; Molina, N.B.; Polverino, D. and Basualdo, J.A. (2008). First genotyping of Giardia lamblia from human and animal feces in Argentina, South America. Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. Rio de Janeiro, 103(1): 98–103
- ١٠- الصافو ،فاطمة حسين يوسف زينل .(٢٠١٢). دراسة وبائية طفيلي *l dispar Entamoebahistoltytica* والطفيليات الاخرى والاحياء المجهرية المرافقة وتأثير خمج الطفيلي على بعض الفحوصات المختبرية لدى الأطفال في مدينة تكريت . رسالة ماجستير ،كلية التربية، جامعه تكريت.
- ١١- الاسدي ، حيدر عبد الجليل راضي الهزام .(٢٠٠٧). دراسة وبائية لبعض الطفيليات المعوية مع التركيز على حيوية طفيلي الاميبا الحالة للنسيج

Entamoebahistolytica في مدينة البصرة . أطروحة دكتوراه، كلية العلوم ، جامعة البصرة.

١٢- الجبوري ، امين خزعل علي عيسى (2009) ، دراسة وبائية عن الطفيليات المعوية في مدينة تكريت وضواحيها .رسالة ماجستير ، كلية التربية /جامعة تكريت.

١٣-البياتي، شجعان رضا حسن ولي. (٢٠١١). دراسة وبائية عن بعض الاوالي المعوية الممرضة للأشخاص في قضاء الطوز مع دراسة تأثير الخمج بالجيارديا على انسجة الاثني عشري في الفئران المختبرية (Balb-c). رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت.

14-Kurt ,O. Demirel ,M. Ostan ,I., etal.(2008). Investigation of the prevalence of amoebiasis in Izmir Province and determination of *Entamoeba* Species using PCR and ELIA New. Microbiol.,31:393-400.

15- السامرائي،صلاح عبد حسن .(٢٠٠٨). دراسة بعض مظاهر إمراضية الخمج بالمتحولة النسيجية بين الأشخاص في مدينة سامراء،رسالة ماجستير ،كلية العلوم ،جامعه تكريت.

١٦- رؤوف، شذى عبد الوهاب. (٢٠١٢). انتشار الاميبيا المعوية *Entamoebahistolytica/ E.dispar* في مناطق جنوب بغداد، مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري، المجلد ١١، العدد ١.

١٧- الالوسي ،توفيق ابراهيم و البياتي ، شجعان رضا حسن (2008)، دراسة وبائية اميبيا الحالة للنسيج للمرضى المصابين في قرية بسطاملي /قضاء طوز /محافظة صلاح الدين ، مجلة العلوم الصرفة ،كلية العلوم /جامعة تكريت، العدد 2 ، المجلد ١4 .

١٨- الناصر،علي محمد عبد.(٢٠١٠). دراسة تشخيصية وحياتية لطفيلي اميبيا الزحار *Entamoebahistolytica* اميبيا دسبار *Entamoebadipar*. رسالة ماجستير،كلية العلوم،جامعة تكريت .

١٩- خضير، محمد خليفة؛ جواد، صبا جاسم و نزال، مها فالج. (٢٠١١). دراسة عن مسببات الاسهال الطفيلي لدى الاطفال في قرية الحديد محافظة ديالى، مجلة بغداد للعلوم، مجلد ٨ (٤).

٢٠- الدوري ،رقية ويس خضر (2009) ، دراسة بعض الجوانب الوبائية للاخماج الطفيلية وتأثيرها على بعض معايير الدم لدى المراجعين لمستشفى تكريت التعليمي ،رسالة ماجستير ،كلية التربية للبنات /جامعة تكريت.

٢١-الاعبادي،اسماء ابراهيم.(٢٠٠٠). وبائية الطفيليات المعوية بين تلاميذ عدد من المدارس الابتدائية ورياض الاطفال في مدينة الموصل ومحاولة اصابة الفئران المختبرية بالدودة الدبوسية *EntrobilusVermicularis* .رسالة ماجستير،كلية التربية،جامعة الموصل

22-Kanoa,B.;George ,E. Abed,Y.;Al-Hindi,A.(2006).Evaluation of the relation Ship between intestinal parasitic infection and health education among School children in Gaza City ,Deitlahia Village and Jabalia refugee .Gaza Strip ,Palastine .The Islamic University,. J. (Series of National Studies and Engineering). ,14(2) :39-49

23- الناصري ، مبدّر عواد اسعد (2007) ، دراسة وبائية عن اميبا الزحار لدى الاطفال في قضاء بيجي مع تاثير بعض المستخلصات النباتية عليها .رسالة ماجستير ،كلية التربية /جامعة تكريت

24-AL-Bayati, Z.M. (2009). Study on Prevalence of *Entamoebahistolytica* and *Entamoebadispar* in Kiruk city using Enzyme linked Immunosorbent Assays.M.Sc.Thesis,Collega,ofScience,Tikrit University

25- الجبوري ،علي حمد طلال (2008) ، دراسة وبائية وسريرية لمرض الجيارديا في اطفال مدينة الشرفاظ وضواحيها ، رسالة ماجستير كلية التربية /جامعة تكريت.

٢٦- الجبوري، ضمياء ابراهيم علوان. (٢٠٠٧). مسح للطفيليات المعوية في بعض المراكز الصحية في مدينة كربلاء، مجلة جامعة كربلاء العلمية، المجلد الخامس، العدد الرابع علمي.٨٠-٨٦.

٢٧- الجنابي، مروان عبد الهادي .(٢٠١٤). تأثير الكافيين والمستخلصات المانية والكحولية للشاي الاخضر على الاصابة التجريبية للأميبا الحالة للنسج في الفئران المختبرية مع دراسة وبائية الطفيلي في مستشفى الطفل المركزي في بغداد. رساله ماجستير ،كلية التربية، جامعه تكريت.

٢٨- الخفاجي،معاني سهر عبد.(٢٠١٠). بعض المعايير المناعية للمرضى المصابين بطفيلي الأميبا الحالة للنسج *Entamoebahistolytica* والتغيرات النسيجية في الفئران البيض .رسالة ماجستير .كلية العلوم للبنات .جامعه بابل

29-John,D.T. and Petri W.A.(2006).Medical Parasitology. 9th ednElsevier,Amstdan,Thewatherlands: 461

30-Clark,C.G.;Alsmark,U.C.M. and Trzreiter,F.A.(2007). "Structure and content of the *Entamoebahistolytica*" a dvanace in parasitology, 65 (2): 51-190

31- الصميدعي ،انتصار غانم عبد الوهاب .(٢٠١٢). تحديد تجمعات *Giardia lamblia* ومعقد *Entamoebadispar /Entamoebahistolytica* بالتشخيص الجزيئي (PCR) للمصابين في تكريت. أطروحة دكتوراه كلية التربية جامعة تكريت.

قياس تراكيز عناصر الرصاص

والمنغنيز والنيكل في حواف طرق مدينة أربيل

*Measuring the concentrations of Lead,
Manganese and Nickel in the roadsides of
Erbil city*

تميم سليمان الجبوري

أ.د. إبراهيم عمر سعيد الحمداني

قسم علوم الحياة- كلية العلوم- جامعة تكريت

أ.د. قصي كمال الدين الأحمدي

كلية علوم البيئة- جامعة الموصل

Tamem Sulaiman Al-Jibory

Prof. Dr. Ibrahim Omar Saeed

**Department of Biology-College of Sciences-University
of Tikrit**

Prof. Dr. Qusay kamal Alden Al-Ahmady

College of Environmental Sciences

الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية قياس بعض تراكيز المعادن الثقيلة حول حواف بعض الطرق الرئيسية في مدينة أربيل/شمال العراق، إذ تم اختيار ستة عشر موقعاً موزعة على ثلاثة طرق رئيسية هي (شارع ٦٠ متر في مركز المدينة- وشارع ١٠٠ متر شبه خارجي- وطريق حولي -خارجي-) ، تم جمع عينات من تربة هذه المواقع ولمدة ثلاثة أشهر (بمعدل عينة واحدة شهريا لكل موقع)، ابتداءً من شهر كانون الأول ٢٠١٦ ولغاية شباط ٢٠١٧، تم قياس تراكيز سبعة معادن ثقيلة هي (عنصر الرصاص والكروم والمنغنيز والنيكل والنحاس والزنك والكاديوم)، إضافة الى قياس الدالة الحامضية للتربة في هذه المواقع قيد الدراسة الحالية. أظهرت النتائج وجود تغيرات واضحة في تراكيز هذه المعادن خلال أشهر الدراسة وفي جميع مواقع للطرق الثلاثة وكما يلي: أظهر عنصر الرصاص اختلافاً واضحاً ومعنوي احصائياً

في تركيزه للمواقع الستة عشر وخلال أشهر الدراسة إذ بلغت معدلات هذا العنصر ما بين (٦,١٨ - ٢٨,٧) ppm، وسجل الطريق الأول (شارع ٦٠ متر) أعلى تركيز لهذا العنصر بلغ (١٩) ppm، ولأشهر الدراسة بلغ أعلى تركيز لعنصر الرصاص (١٥,٨٧) ppm خلال شهر كانون الأول. أما عنصر المنغنيز فقد أظهر معدلات تراوحت ما بين (٢٨١,٨٧ - ٣٦٤,٣١) ppm في جميع المواقع وخلال أشهر الدراسة الثلاثة، وسجل الطريق الأول أعلى تركيز تلاه الطريق الثاني ثم الثالث، ولأشهر الدراسة حقق شهر كانون الثاني أعلى المستويات لهذا العنصر تلاه شهر كانون الأول بدون فارق معنوي بينهما ثم شهر شباط الذي اختلف معنويًا عن سابقه. وبينت نتائج الدراسة لعنصر النيكل أن أعلى تركيز له بلغ (٢٣٣,٠٦) ppm للموقع الحادي عشر كمعدل لأشهر الدراسة، وبينت متوسطات الطرق أن شارع ١٠٠ متر سجل أعلى التراكيز لعنصر النيكل، وأقل تركيز كان للطريق الحولي، فيما سجل شهر كانون الأول أعلى معدل لتراكيز هذا العنصر خلال أشهر الدراسة.

Abstract:

This study has addressed monitoring the change in the concentration of some heavy metals on the side of some of the main roads in Irbil city-North of Iraq. Sixteen sites distributed on the main roads we selected for data collection. The chosen main roads were the 60 m road situated in the city centre, the 100 m road (arterial road) and the peripheral road. Soil samples were collected from the aforementioned sites for a period between December 2016 and February 2017. The concentration of seven heavy metals namely Lead, Manganese, Chromium, Nickel, Copper, Zinc and Cadmium were measured in the samples along with the pH. The study has shown that there was a noticeable change in the concentration of the heavy metals in the selected sites during the measurement period. The observed changes can be summarised as follows:

There was a pronounced and statistically significant change in the concentration of Lead in all the 16 sites during the

period of data collection. The concentration varied between 6.18 and 28.7 ppm. The first road (the 60 m one) has the highest concentration of this metal (19 ppm), while month wise, December registered the highest concentration of 15.87 ppm. The concentration of Manganese varied between 281.87 and 364.31 ppm for all the selected sites during the data collection period. The first road had the highest concentration of this metal followed by the second road and then the third one. Month wise, January registered the highest concentration of this metal followed by December then February, which was significantly different from the aforementioned months. The collected data has also shown that the observed highest concentration of Nickel in this study was about 233.06 ppm. The 100 m street had the highest average concentration of this metal whilst the peripheral road had the lowest. December had witnessed the highest concentration of this metal among all the months of the study.

١-المقدمة

يعرف التلوث على انه التغيرات غير المرغوبة التي تطرأ على الصفات الكيميائية والفيزيائية والبيولوجية في محيطنا الهوائي والمائي والتربة والتي تسبب تغيرات مؤذية للحياة البشرية، لذلك كانت اهم افرازات وتوجهات الحضارة الحالية هي مشكلة البيئة لأنها مشكلة متصاعدة تحتاج الى دراسة جديّة وموضوعية، وقد باتت تهدد كافة مقومات الحياة والتوازنات الطبيعية بالخطر الكبير، لذلك اصبح الاهتمام بالتلوث البيئي من بديهيات وأوليات اهتمامات الانسان في كل الاقطار ومنها قطرنا العراقي كبلد نامي لديه طموحات كبيرة من التوسع الصناعي والاقتصادي (علي، ١٩٨٧) و(العمر، ٢٠٠٠).

مشكلة التلوث بدأت منذ بدأ الانسان يُسخر المصادر البيئية الطبيعية من اجل خدمته، غير ان المشاكل تعددت وخاصة في القرنين الاخيرين بسبب الاستخدام المفرط للفحم الحجري في مجالات الصناعات المتنوعة والمتعددة، كذلك ازدادت مشكلة التلوث مع

بداية الثورة الصناعية عام ١٩٥٠ والتي ادت الى تحرر الابخرة المتصاعدة نتيجة للعمليات المتعددة وهذه الابخرة تكون عادة حاوية على اكاسيد الكبريت واكاسيد النتروجين الناتجة من حرق الوقود في المصانع والسيارات ومحطات توليد الطاقة الكهربائية (العمر، ٢٠١٠).

للرصاص تأثير سلبي على التطور الجسمي والنمو ويسبب نقص في دقة البصر وعتبة السمع، والتعرض المستمر للرصاص يسبب اضراراً للدماغ وامراض عصبية وقد يؤدي الى الموت (Simenov وآخرون، ٢٠١٠). كما سجلت دراسة أجريت بواسطة (Atiemo وآخرون، ٢٠١١) ان مستويات الرصاص في تربة حواف الطرق تتراوح بين (٣٣,٦٤ – ١١٧,٤٥) ملغم/كغم، وفي دراسة اخرى وجد كلاً من (Momani و Jaradat، ١٩٩٩) ان مستويات الرصاص في تربة حواف الطرق وبمسافات مختلفة من الطريق تراوحت بين (٩٣,٧ – ٢٧٢,٢) ملغم/كغم، اذ ان الانبعاثات من حركة المرور المزدهمة على الطرق تحتوي على الرصاص والكاديوم والزنك والنيكل، والتي توجد في الوقود كعوامل محسنة للوقود ضد القرقة في محركات السيارات وهذه تؤدي الى تلوث الهواء والتربة والنباتات المزروعة على جانب الطريق (Ikeda وآخرون، ٢٠٠٠). المنغنيز عنصر ضروري للفعالية الفسيولوجية للإنسان والحيوان ويعتبر التعرض الى مستويات منخفضة منه في الغذاء ضرورياً في الإنسان، بينما التعرض الى الجرعات العالية له تأثيراً سلبياً على صحة الإنسان (Calkins، ٢٠٠٩)، عند الجرعات العالية يصبح المنغنيز ساماً وتختلف هذه السمية تبعاً لطريقة التعرض والصف الكيماوي للمنغنيز إضافة الى العمر والجنس والنوع الحيواني (EPA، ٢٠٠٤) و(Kohl and Medlar، ٢٠٠٧). تم تحديد الجهاز العصبي على انه الهدف الاول حيث تم ملاحظة التأثيرات العصبية عليه بصورة عامة، قد تحدث متلازمة تسمى متلازمة المنغنيز نتيجة التعرض المزمن للمستويات العالية للمنغنيز (EPA، ٢٠٠٤) و(Calkins، ٢٠٠٩)، ان التسمم بالمنغنيز يؤثر على الجهاز العصبي المركزي وعدم التنسيق بين الرأس والعينين ومشاكل في البصر، وتم ملاحظة نوع من المتلازمات سُميت بمتلازمة (Manganism)، وتتميز بالشعور بالضعف والتحسس والوجه الشبيه بالقناع واضطرابات نفسية، كما تم ملاحظة تأثيرات على التنفس للعاملين الذين يتعرضون له بصورة مزمنة كما تم ملاحظة فقدان الرغبة الجنسية عند الذكور المتأثرين بالمنغنيز (Calkins، ٢٠٠٩). يتواجد المنغنيز في المياه السطحية والجوفية نتيجة لتآكل التربة ووصولها الى هذه المياه او نتيجة للنشاطات البشرية (EPA، ٢٠٠٤). ويعتبر النيكل من العناصر التي تتواجد في البيئة بمستويات واطئة جداً ويعتبر ضروري وجرعات صغيرة للكائنات الحية ولكن يمكن ان يكون خطراً عند تجاوز الحد الاعلى المسموح به، اذ انه يمكن ان يسبب مختلف انواع السرطانات وبمختلف مناطق الجسم للحيوان والانسان وخصوصاً في الكبد (USEPA، ٢٠٠٧)، ان اكثر استخدامات النيكل

شيوعاً هي طلاء الحديد وبعض المنتجات المعدنية الأخرى، وان المصدر الأكبر لتلوث التربة بالنيكل هي معامل طلاء المعادن واحتراق الفحم الحجري وعمليات التنقيب في المناجم لاستخراج المعادن وبضمنها عنصر النيكل والطلاء الكهربائي (Khodadoust، ٢٠٠٤). ان الكمية الأكبر من النيكل المتحرر الى البيئة يتم امتزازها من قبل المترسبات او جزيئات التربة ويصبح بالنتيجة غير متحرك، وفي المحاليل الحامضية يصبح النيكل متحركاً ونتيجة لذلك يترسب الى المياه الجوفية المجاورة، اذ تعاني الاحياء المجهرية في البداية من انحدار في النمو نتيجة التعرض للنيكل ولكن سرعان ما تتطور مقاومة هذه الاحياء المجهرية لعنصر النيكل وتستعيد نشاطها، لم يُعرف ان النيكل يتراكم في النباتات او اجسام الحيوانات ولذلك لم يعرف ان النيكل يتراكم في السلسلة الغذائية (Raymond و Felix، ٢٠١١). وفي دراسة اجراها (Atiemo وآخرون، ٢٠١١) على تقييم انبعاثات المعادن الثقيلة من المركبات على الطرق في اسكتلندا وجدوا بأن تراكيز عنصر النيكل تراوحت بين (٣ - ٣٣) ppm، وفي دراسة اخرى اجراها الباحث (Aslam وآخرون، ٢٠١٣) على تلوث التربة بالمعادن الثقيلة على جانب الطريق بالقرب من اشارات المرور المختلفة في مدينة دبي في الامارات العربية المتحدة وجدوا انه في الطريق الذي يحتوي على اكثر من اشارتين مرور فان تراكيز عنصر النيكل تراوحت بين (١٣,٣١ - ٩٨,١٣) ppm، اما في الطريق الذي يحتوي على اشارة مرور واحدة فان تراكيز عنصر النيكل تراوحت بين (١٨,٢٩ - ٥٩,٣٦) ppm، والطريق الذي لم يكن فيه اشارات مرورية فان تراكيز النيكل تراوحت بين (٣,٣٤ - ٧٨,٨٠) ppm.

تهدف الدراسة الحالية لمعرفة تراكيز الرصاص والكاديوم والنيكل حول حواف الطرق في مدينة أربيل ومعرفة اعلى واوطأ التراكيز لهذه العناصر الثقيلة وخلال فترات زمنية مختلفة واجراء مقارنة ما بين تراكيز هذه المعادن الثقيلة لمعرفة اي المواقع أكثر تلوثاً بها.

٢- مواد وطرق العمل

٢-١- وصف منطقة الدراسة

مدينة أربيل هي واحدة من محافظات العراق وهي أقدم من مدينة بابل ومتعددة القلاع وتقع على سهل رحب وهي رابع أكبر مدينة من حيث المساحة في العراق بعد بغداد والبصرة والموصل والسادسة من حيث عدد السكان، وتبعد عن مدينة بغداد بحوالي ٣٦٠ كم وتقع مدينة أربيل الى شرق مدينة الموصل والتي تقع شمال القطر العراقي وكما مبين في الشكل رقم (١)، وهي واحدة من أقدم المجتمعات المأهولة بالسكان في العالم والتي وجدت قبل ٢٣٠٠ عام قبل الميلاد (Atlas، ٢٠٠٠).

٢-٢- اختيار مناطق الدراسة

تضمّنت الدراسة الحالية اجراء مسح ميداني على ثلاثة طرق رئيسية في مدينة اربيل ولمدة ثلاثة أشهر ابتداءً من كانون الأول ٢٠١٦ ولغاية شباط ٢٠١٧، حيث ان عملية المسح تضمّنت ستة عشر موقع مختلف وعلى طول الطرق الثلاثة الرئيسية في مدينة أربيل وكانت المسافة بين كل عينة واخرى على طول الطريق هي (٢,٥ - ٣ كم)، وهذه المناطق وصفاتها هي: المنطقة الاولى: طريق رئيسي ويسمى شارع (٦٠ متر) ويصل طوله حوالي (١٠) كم، وهو الأقرب الى مركز المدينة حسب الشكل (٢) ويتميز بأن ٩٥% من السيارات التي تمر عليه تستخدم البنزين، وان ما معدله ٨٠٠٠ سيارة تستخدمه يوميا. المنطقة الثانية: طريق رئيسي ويسمى شارع (١٠٠ متر) ويصل طوله حوالي (٢٢) كم، وهذا الطريق ابعد عن مركز المدينة من الطريق الأول كما موضح في شكل (٢)، ويصل معدل السيارات التي تستخدمه يوميا الى ٨٠٠٠ سيارة ٥٠% منها تستخدم البنزين و٥٠% تستخدم زيت الغاز (كاز أول). المنطقة الثالثة: طريق حولي يربط بين طريق (اربيل-مخمور) و (طريق اربيل-موصل)، ويصل طوله حوالي (١٠) كم، يقع خارج المدينة وتحيط به أراضي زراعية من الجانبين، وتمر عليه ما معدله ٢٠٠٠ سيارة يوميا ٨٠-٩٠% منها تستخدم زيت الغاز وهي مركبات حمل تنقل الوقود الخفيف والثقيل والاسمنت وغيرها من المواد الصناعية.

٢-٣- جمع عينات التربة

تم اخذ نماذج التربة من مسافة (٣ متر) عن حافة الطريق ومن المواقع المختارة الموضحة في الشكل (٢). وأخذت ثلاثة عينات من التربة من كل موقع من المواقع الستة عشر المُختارة من طبقة التربة العليا من عمق (١٠-٠ سم) باستخدام مثقاب من الفولاذ المقاوم للصدأ و وضعت عينات التربة في اكياس البولي أثيلين المعزولة وسُجّلت المعلومات والملاحظات على كل كيس ولكل عينة من التربة (Mmolawa وآخرون، ٢٠١١)، وتم تجفيف عينات التربة بالهواء لأن محتوى الرطوبة في التربة يمكن ان يؤثر على دقة تحليل العينة اذ ان الرطوبة في العينة تمتص الأشعة السينية (X-ray) (Singhri and Kalnicky، ٢٠٠١)، وأزيلت جميع الكتل الترابية والفتات وتم خلطها بشكل جيد في المختبر، ثم نُخلت العينات خلال منخل ٢ ملم (EPA method 3052) لإزالة الجسيمات الخشنة (USEPA، ١٩٩٥)، قبل أخذ العينات الى الفحص المختبري بواسطة جهاز (XRF) او (X-Ray Florescence) وذلك لان التأثيرات الفيزيائية المختلفة مثل تغير حجم الحبيبات وتجانس العينة وتغاير وجود حبيبات للمعادن بتراكيز عالية مثل الرصاص والجسيمات المعدنية او قطع الاصباع المحتوية على الرصاص لها تأثيرات مهمة في اختلاف نتائج العينات (USEPA، ١٩٩٨) و (VanCott وآخرون، ١٩٩٩).

٢-٤- قياس تراكيز المعادن الثقيلة في عينات التربة

تم قياس تراكيز المعادن الثقيلة قيد الدراسة بواسطة جهاز XRF نوع Genuis 9000 Handheld X-ray Fluorescent Spectrometer من منشأ امريكي والذي يظهر في الشكل (١)، اذ تم تعريض العينات للأشعة لمدة ٩٠ ثانية وبقوة (٢٤) eV.



٢-٥- الاجهزة المستخدمة في الدراسة

تم استخدام اجهزة متنوعة لقياس العديد من المتغيرات في الدراسة الحالية وكما مبين في جدول رقم (١).

جدول رقم (١): الأجهزة المستخدمة في الدراسة.

المنشأ	الاجهزة المستخدمة
USA	Handheld X-ray Fluorescent Spectrometer Genius9000
China	منخل ٢ ملم
China	Hot plate

China	فرن كهربائي (Oven)
Germany	جهاز قياس الأس الهيدروجيني pH-meter
Germany	ميزان حساس Sensitive Balance
China	جهاز تحريك كهربائي Magnetic Stirrer

٦-٢- التحليل الإحصائي

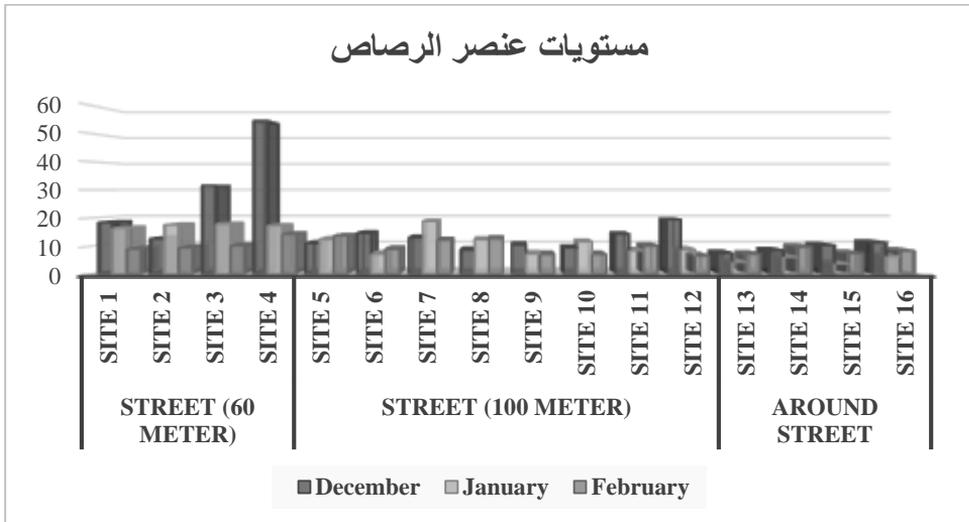
حُلَّت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (Statistical Analysis system) (SAS) حيث تم إجراء تحليل التباين (ANOVA) لعوامل التجربة الثلاث وهي ستة عشر موقع وثلاث مناطق وثلاث أشهر للمتغيرات الثلاثة (العناصر الثقيلة) وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) الذي حدد معنوية أغلب المتغيرات حسب اختبار (F)، ومن ثم تم اختبار المتوسطات باستخدام اختبار دنكن المتعدد المدى (Duncan Mutable Range Test) لتحديد الاختلافات الإحصائية بين المجموع المختلفة وكان الاختلاف المعنوي لجميع الاختبارات عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$).

٣- النتائج والمناقشة

١-٣- تراكيز عنصر الرصاص Pb

أظهرت نتائج الدراسة الحالية اختلافات واسعة في تراكيز عنصر الرصاص Pb وخلال أشهر الدراسة الثلاثة، ويلاحظ هذا الاختلاف من الشكل (٢) الذي يبين المستويات التي تم تسجيلها لتراكيز هذا العنصر للمواقع الستة عشر ضمن المناطق الدراسة الثلاثة وخلال ثلاثة أشهر، إذ يلاحظ ان الموقع الرابع الواقع ضمن منطقة شارع ٦٠ متر وخلال شهر كانون الأول سجلت أعلى مستوى لتراكيز هذا العنصر، وجاءت هذه النتيجة مدعومة إحصائياً كما يتضح من نتائج جدول (١) إذ حقق هذا الموقع (٤) ضمن منطقة شارع ٦٠ متر التركيز الأعلى لعنصر الرصاص والبالغ (٢٨,٧) ppm كمعدل لأشهر الدراسة الثلاثة، وبفارق معنوي عن بعض المواقع وغير معنوي عن مواقع أخرى حسب اختبار دنكن المتعدد المدى. فيما بلغ أقل مستوى لتراكيز عنصر الرصاص (٦,١٨) ppm للموقع الثالث عشر الواقع ضمن منطقة الطريق الحولي وكمعدل لأشهر الدراسة الثلاثة. كما يظهر جلياً من الشكل (٢) ان تراكيز هذا العنصر ذات مستويات عالية في المنطقة الأولى (منطقة شارع ٦٠ متر) والتي هي الأقرب الى مركز المدينة وبالتالي الأقرب الى النشاط السكاني والصناعي والكثافة المرورية لسارات البنزين والذي يحتوي على رابع أكسيد الرصاص، ثم

تتخض مستويات هذا العنصر في المنطقة الثانية (منطقة شارع ١٠٠ متر) الأبعد عن مركز المدينة، وكانت الأدنى في المنطقة الثالثة (منطقة الطريق الحولي) وهذه المشاهدات جاءت معززة بما أظهرته نتائج التحليل الإحصائي الموضحة في جدول (٢) والتي حققت فيها المنطقة الأولى (شارع ٦٠ متر) المتوسط الأعلى (١٩,٠٣) ppm وبفارق معنوي عن المنطقتين الثانية والثالثة اللتان لم تختلف معنويا عن بعضهما (Ediin وآخرون، ٢٠٠٠) و(Simenov وآخرون، ٢٠١٠). أما زمنيا فيلاحظ نظريا من الشكل (٥) واحصائيا من الجدول (٣) تفوق شهر كانون الأول بالمستويات الأعلى لتراكيز عنصر الرصاص، إذ أعطى هذا الشهر المتوسط الأعلى احصائيا والذي بلغ (١٥,٨٧) ppm وبفارق معنوي عن شهري كانون الثاني وشباط الذين اختلفا معنويا عن بعضهما، وحل شهر كانون الثاني ثانيا ثم تلاه شهر شباط، وهذا سببه ان تراكيز العناصر ترتفع خلال اشهر الصيف وتتنخفض شتاءً، ولكون شهر كانون الأول هو الأول في دراستنا وهو أيضا يعتبر اول اشهر الشتاء حافظ على التراكيز العالية لعنصر الرصاص ثم انخفضت تراكيز هذا العنصر مع التقدم في فصل الشتاء،



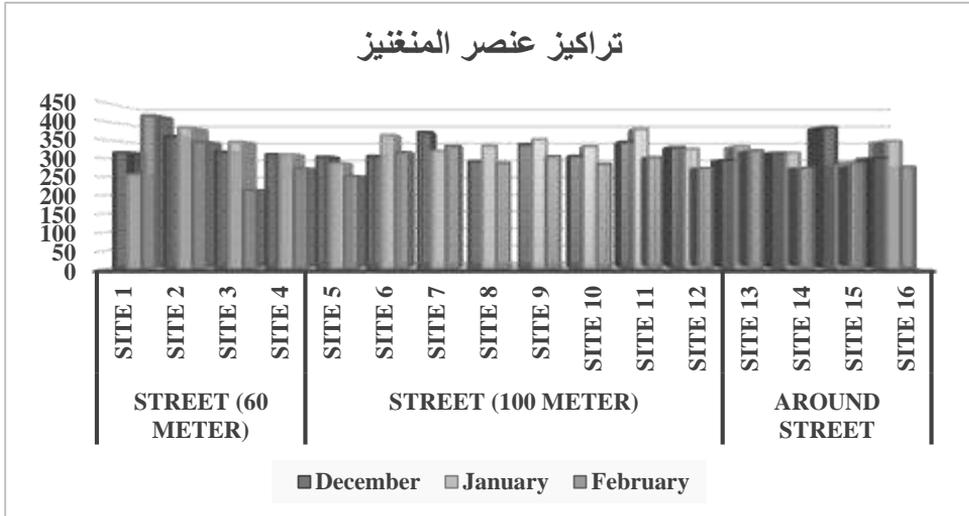
شكل (٢) تراكيز عنصر الرصاص لمواقع وأشهر الدراسة

وعند مقارنة نتائج هذه الدراسة مع دراسات سابقة تبين ان جميع تراكيز عنصر الرصاص هي اقل من سابقتها من الدراسة ، حيث بينت دراسة (خليل وآخرون، ١٩٨٩) لشوارع مدينة الموصل ان تركيز عنصر الرصاص كان يتراوح بين (١٠-٢٧٢,٥) ppm، في حين وجدت (العلي، ١٩٩٦) ان تراكيز الرصاص في التربة داخل مدينة الموصل تراوحت بين (١٣-٢٧٢) ppm، اما دراسة (سعيد، ١٩٩٨) فقد توصلوا فيه الى ان تراكيز الرصاص في التربة حول مصافي بيجي

تراوحت بين (١٥٩-٢١٠) ppm، اما في دراسة كل من (Guney، ٢٠١٠) و(Alloway، ٢٠١٣) فقد توصلوا فيها الى ان العنصر الرئيسي الملوث على حواف التراب هو الرصاص نتيجة حركة المرور والملوثات الصناعية في تلك المناطق.

٢-٣- تراكيز عنصر المنغنيز Mn

اوضحت النتائج المعروضة في شكل (٣) ان الموقع الأول والذي يقع ضمن منطقة شارع ٦٠ متر سجل اعلى تركيز لهذا العنصر بلغ (٤١٧,٩٥) ppm خلال الشهر الثالث من الدراسة (شهر شباط)، فيما حقق الموقع الثاني والواقع ضمن منطقة شارع ٦٠ متر أيضا اعلى معدل لمستويات تركيز هذا العنصر بلغ (٣٦٤,٣١) ppm حسب نتائج اختبار المتوسطات بطريقة دنكن المتعدد المدى المبينة في جدول (١) كمعدل لأشهر الدراسة الثلاثة، والذي اظهر أيضا عدم وجود اختلافات معنوية بين مواقع الدراسة الستة عشر. اما بالنسبة للمناطق فيلاحظ من خلال نتائج اختبار المتوسطات بطريقة دنكن المتعدد المدى المبينة في جدول (٢) ان منطقة شارع ٦٠ متر حققت اعلى مستوى لتركيز عنصر المنغنيز بلغ (٣٢١,٧٩) ppm على الرغم من عدم وجود اختلافات معنوية مع متوسطات المناطق الأخرى وتلتها منطقة شارع ١٠٠م، وهذه النتائج مشابهة لنتائج العناصر السابقة، والتي أظهرت ارتفاعا ملحوظا في مستويات العنصر كلما اتجهنا نحو مركز المدينة، والذي يمثل ذروة النشاط السكاني والصناعي وكثافة الحركة المرورية للمركبات (EPA، ٢٠٠٤) و(Aslam وآخرون، ٢٠١٣).

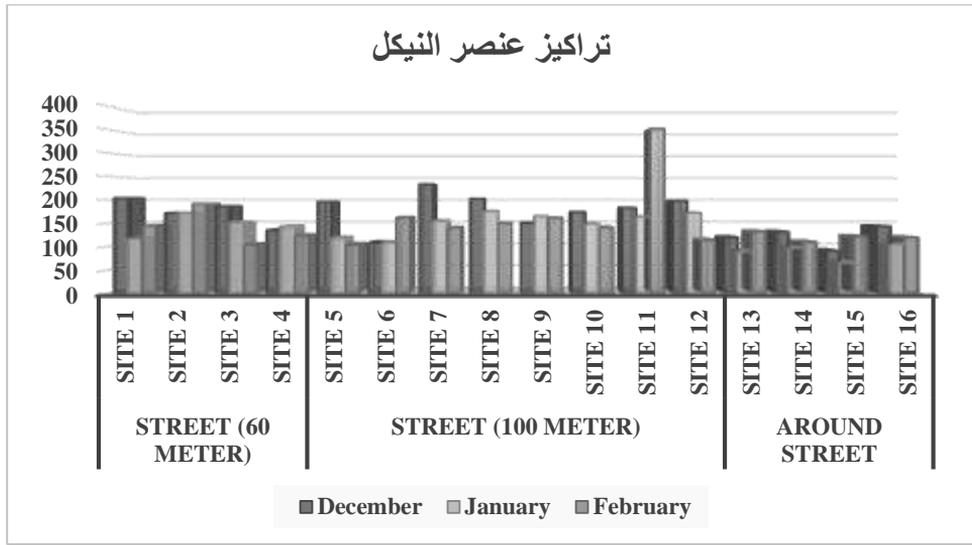


شكل (٣): تراكيز عنصر المنغنيز لمواقع وأشهر الدراسة.

زمنياً حقق الشهران الأولان من الدراسة أعلى المعدلات لتركيز عنصر المنغنيز إذ بلغت (٤٧, ٣٣٠ و ٣٢٦) ppm لشهري كانون الثاني وكانون الأول على التوالي بدون اختلاف معنوي بينهما كما يظهر في جدول (٣)، وأعطى شهر شباط أقل تركيز مختلفاً معنوياً عن الأشهر الأولى، وهذا سببه كما ذكرنا سابقاً عملية غسل العناصر من التربة بمياه الأمطار والتي تزداد كلما تقدمنا في الشتاء، وهناك العديد من الدراسات التي بينت أن تواجد هذه العناصر في التربة يكون إما نتيجة تحولات من مصادرها الأساسية أو من المعادن الأولية وتحرير هذه المعادن بفعل الفعاليات الكيميائية أو الفيزيائية (الخطيب، ١٩٩٥) و(الحمداني، ١٩٨٧).

٣-٣- تراكيز عنصر النيكل Ni

بيّنت تراكيز عنصر النيكل خلال أشهر الدراسة الثلاثة للمواقع الستة عشر والموضحة في الشكل (٨) اختلافات واضحة في تراكيز عنصر النيكل، إذ بلغ أعلى تركيز لهذا العنصر (٤١, ٣٥٢) ppm في الموقع الحادي عشر والذي يتبع للمنطقة الثانية (شارع ١٠٠ متر) وخلال شهر شباط، وهذه النتيجة جاءت مطابقة لما أظهرته نتائج التحليل الإحصائي المبينة في جدول (١) وكمعدل لأشهر الدراسة الثلاثة، إذ بلغ تركيز عنصر النيكل (٠٦, ٢٣٣) ppm وبفارق معنوي عن معظم مواقع الدراسة الأخرى. ويلاحظ من الشكل (٤) أن منطقة شارع ١٠٠ متر حققت أعلى المستويات لتراكيز عنصر النيكل تلتها منطقة شارع ٦٠ متر ثم الطريق الحولي، وهذه النتائج جاءت مدعومة بنتائج اختبار متوسطات المناطق إحصائياً حسب اختبار دنكن المتعدد المدى المبينة في جدول (٢) والتي يظهر من خلالها أن أعلى المتوسطات بلغت (٤٦, ١٦٥ و ٤٣, ١٥٣) ppm لمنطقتي شارع ١٠٠ متر وشارع ٦٠ متر على التوالي واللذان لم يختلفان عن بعضهما معنوياً، فيما سجل الطريق الحولي أدنى مستوى لتركيز عنصر النيكل وبفارق معنوي عن المناطق الأخرى، مما سبق نلاحظ ارتفاع تراكيز عنصر النيكل في المناطق القريبة من مركز المدينة عنها في المنطقة الخارجية (الطريق الحولي) وهي طبيعية بسبب تلوث التربة بمخلفات حرق الوقود المستخدم في السيارات المارة في تلك المواقع (صادق وآخرون، ٢٠٠٨) و(Mohsen و Mohsen، ٢٠٠٨)، في حين بينت دراسات أخرى أنه قد يعود إلى الانبعاثات الحاوية على العديد من العناصر الثقيلة من ضمنها النيكل أو قد يرجع إلى نوعية هذه التربة التي قد تكون حاوية على نسبة من الكوارتز وهذا الأخير يكون حاوي على نسبة من النيكل إضافة إلى صبغ وسمكرة السيارات (Nies، ١٩٩٩).



شكل رقم (٤) تراكيز عنصر النيكل لمواقع وأشهر الدراسة.

تظهر في جدول (٣) نتائج اختبار المتوسطات لأشهر الدراسة حسب اختبار دنكن المتعدد المدى، ومنه يلاحظ ان شهر كانون الأول سجل اعلى متوسط لتركيز عنصر النيكل بلغ (١٦٣,٩٩) ppm وبفارق معنوي عن شهر كانون الثاني، وبدون فارق معنوي عن شهر شباط الذي تلاه في مستوى تركيز هذا العنصر، وهذه النتائج تشير الى تباين غير واضح في سلوك هذا العنصر خلال فترة الدراسة.

جدول (١): معدلات تراكيز المعادن الثقيلة في حواف الطرق للمواقع قيد الدراسة.

Site	Sample	Pb (PPM)	Mn (PPM)	Ni (PPM)	Site	Sample	Pb (PPM)	Mn (PPM)	Ni (PPM)
Street (60 meter)	Site 1	bc14.517	ab330.53	bc154.75	Street (100 meter)	Site 9	bc8.14	ab333.3	bc158.39
	Site 2	bc13.113	a364.31	ab178.33		Site 10	bc9.193	ab309.4	bc154.22
	Site 3	ab19.793	ab293.26	bc147.12		Site 11	bc10.797	ab344.05	a233.06
	Site 4	a28.713	ab299.06	bc133.53		Site 12	bc11.457	ab311.06	bc161.39
Street	Site 5	bc12.243	a281.87	bc139.19	und Stre	Site 13	c6.183	ab317.47	bc113.25

Site 6	bc10.113	ab329.94	bc125.79		Site 14	bc7.947	ab302.71	bc112.52
Site 7	bc14.583	ab343.3	ab176		Site 15	c7	ab319.79	c92.2
Site 8	bc11.117	ab305.98	ab175.68		Site 16	bc8.53	ab309.53	bc122.07

* القيم ذات الحروف المتشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً.

جدول (٢): معدلات تراكيز المعادن الثقيلة لمناطق الدراسة.

	Pb (PPM)	Mn (PPM)	Ni (ppm)
Street (60 meter)	a19.034	a321.79	a153.434
Street (100 meter)	ab10.95	a319.86	a165.466
Around Street	b7.415	a312.37	b110.011

* القيم ذات الحروف المتشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً.

جدول (٣): معدلات تراكيز المعادن الثقيلة والذالة الحامضية لأشهر الدراسة.

	Pb (PPM)	Mn (PPM)	Ni (ppm)
December	a15.87	a326	a163.99
January	b10.911	a330.47	b133.89
February	b9.487	b298.95	ab147.9

* القيم ذات الحروف المتشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً.

يستنتج مما تقدم تفاوت واضح في تراكيز هذه الملوثات من المعادن الثقيلة في مواقع الدراسة الستة عشر، إذ تراوحت قيم معدلاتها بين (٦,١٨ - ٢٨,٧) لعنصر

الرصاص، وبين (٢٨١,٨٧ - ٣٦٤,٣١) ppm لعنصر المنغنيز، ولعنصر النيكل بلغ أعلى تركيز (٢٣٣,٠٦) ppm، كما لوحظ ازدياد تراكم العناصر الثقيلة قيد الدراسة حول حواف الطرق كلما اقتربنا من مركز المدينة، إذ سجل شارع ٦٠ متر أعلى المستويات لتراكيز هذه العناصر يليه شارع ١٠٠ متر ثم الطريق الحولي. كما وجد انه مع تقدم فصل الشتاء تنخفض مستويات وتراكيز العناصر الثقيلة السبعة المدروسة، إذ سجل شهر كانون الأول أعلى المتوسطات لتراكيز هذه العناصر تلاه شهر كانون الثاني ثم شهر شباط. لذلك نوصي بمتابعة نوعية الغازات المنبعثة من عوادم السيارات المختلفة واجراء المزيد من الدراسات لتقليل من تأثيراتها الضارة وبشكل دوري. كما نوصي بإجراء دراسات احيائية على النباتات المزروعة حول حواف هذه الطرق لتحديد مدى حساسيتها وتأقلمها للعناصر الثقيلة والسامة.

المصادر

الحمداني، راندة اسماعيل عبد الله (١٩٨٧). التلوث الصناعي للعناصر الصغرى والثقيلة على التربة والنبات، رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات/جامعة الموصل.

الخطيب، مروان عبد المهدي محمود (١٩٩٧). تعيين تركيز بعض المعادن الثقيلة الملوثة في مياه وتربة ونباتات مناطق سيل الزرقاء زسد الملك طلال ودير علا-رسالة ماجستير-كلية العلوم-جامعة آل البيت.

خليل، نبيل فاضل وخالد فتحي الشهاري ومروان الشاروك (١٩٨٩). التقصي عن بعض العناصر الثقيلة والنادرة الموجودة في التربة والغبار المستقر في الشوارع الرئيسية لمدينة الموصل. مجلة التربية والعلم. المجلد ٦ العدد ٧.

سعيد، بدران عدنان (١٩٩٨). التلوث الصناعي بالعناصر الثقيلة وتأثيره في الغطاء النباتي المحيط بالمواقع الصناعية في بيجي، أطروحة دكتوراه-كلية التربية -جامعة الموصل.

صادق، علي حسين وكاظم مهند كامل (٢٠٠٨). التغييرات الشهرية في تراكيز العناصر النزرة في قناة نهر الغراف الرئيسية لنهر دجلة، قسم الاسماك والثروة الحيوانية. كلية الزراعة. جامعة البصرة.

العلي، فائزة عزيز محمود (١٩٩٦). تأثير المياه الملوثة في نمو ومحتوى النباتات في بعض العناصر الصغرى والثقيلة. أطروحة دكتوراه - كلية العلوم - جامعة الموصل.

علي، لطيف حميد (١٩٨٧). التلوث الصناعي لمصادر كيميائ التلوث وطرق السيطرة. جامعة الموصل، دار الكتب للطباعة والنشر.

العمر. منى عبد الرزاق (٢٠٠٠). التلوث البيئي. دار وائل للنشر - عمان الاردن.

العمر. منى عبد الرزاق (٢٠١٠). التلوث البيئي. دار وائل للنشر - عمان الاردن.

Alloway B J (2013). Heavy Metals in Soils Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability, Springer, 3rd Edition p. 396.

- Aslam J., Khan S. A., Khan S. H., (2013). Heavy metals contamination in roadside soil near different traffic signals in Dubai, United Arab Emirates. *Journal of Saudi Chemical Society*, Volume 17, Issue 3, Pages 315–319.
- Atiemo, S.; Ofuso, F.; Mensah, K.; Tutu, O.; Palm, L. and Blackson, A. (2011). Contamination assessment of heavy metals in road dust from selected roads in Accra Ghana. *Rese. Jour. of Environmental and Earth sciences*; 3: 473-480.
- Atlas. World Atlas (2000). Compact Disk England.
- Calkins, M. (2009). *Materials for sustainable sites: A complete guide to the evaluation*. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons. Pp 451.
- Calkins, M. (2009). *Materials for sustainable sites: A complete guide to the evaluation*. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons. Pp 451.
- Ediin, G.; Golantu, E. and Brown, M. (2000). *Essentials for health and wellness*. Toronto, Canada: Bartlett Publishers. Pp 368.
- EPA. (2004). *Drinking water health advisory for Mn*. Accessed from <http://www.epa.gov/safewater/>.
- Guney M, Onay T T, Copty N K (2010). Impact of overland traffic on heavy metal levels in highway dust and soils of Istanbul, Turkey. *Environ Monit Assess*164(1-4):101-110.
- Ikedo, M., Z. W. Zhang, S. Shimbo, T. Watanabe, H. Nakatuska, C. S. Moon, N. Matsuda. Inoguchi and K. Higashikawa (2000). Urban population exposure to lead and cadmium in east and south-east Asia. *Science of the total Environment* 249:373-384.
- Jaradat, M. and Momani, A. (1999). Contamination of roadside soil, plants and air with heavy metals in Jordan, a comparison study. *Turk jour. of Chem.*; 23: 209-220.
- Kalnicky, D., and Singhri, R. (2001). Field Portable XRF analysis of Environmental Samples. *Journal of Hazardous Materials*, 83, pp 93-122.
- Khodadoust, A. P., K. R. Reddy, and K. Maturi (2004). "Removal of nickel and phenanthrene from kaolin soil using different

- extractants,” *Environmental Engineering Science*, vol. 21, no. 6, pp. 691–704.
- Kohl, P. and Medlar, S. (2007). Occurrence of Mn in drinking water and Mn control. New York, USA: IWA Publishing. Pp 16-18.
- Mmolawa, K. B., Likuku, A. S., Gaboutloeloe, G. K. (2011). Assessment of heavy metal pollution in soils along major road sides in Botswana, *African Journal of environmental science and technology*. Vol. 5(3), pp 186-196.
- Mohsen, B. and Mohsen, S. (2008). Investigation of metals accumulation in Some vegetables irrigated with waste water in share Ray- Iran and toxicological application. *American-Eurasian. J. Agric. Environ. Sci.* 4(1): 86-92.
- Nies, D. H., (1999). *Apple. Microb. Biotech.* 51, 730-750.
- Raymond A. Wuanal and Felix E. Okieimen (2011). *Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources*,
- Simeonov, L.; Kolhubovski, M. and Simeonov, B. (2010). *Environmental heavy metal pollution and effects on child mental development*. Dordrecht, Netherlands: Springer. Pp 114-115.
- U.S Environmental Protection Agency (USEPA) (1995). *Test methods for evaluation solid waste*. Vol. IA: Laboratory manual physical/chemical methods, SW 846, 3rd ed. US Gov. Print, Office, Washington D.C.
- USEPA (1998) *Field Portable X-ray Fluorescence Spectrometry for the Determination of Elemental Concentrations in Soil and Sediment. Method 6200. Revised 2007.*
- USEPA (2007) “Treatment technologies for site cleanup: annual status report (12th Edition),” Tech. Rep. EPA-542-R-07-012, Solid Waste and Emergency Response (5203P), Washington, DC, USA.
- VanCott R., McDonald, B. and Seelos, A. (1999). Standard Soil Sample Preparation Error and Comparison of Portable XRF to Laboratory AA Analytical Results. *Nuclear Instruments and Methods in Physical Research A*, 422, pp 801-804.

دراسة السمية الوراثية لعقاري الاندوميثاسين والكلوكوز أمين

على بعض جينات الخصوبة لذكور الجرذان البيضاء

A study of cytogenetic effects of Indomethacin and glucosamine drugs in some fertility genes in male Albino rats

م.د. زبيدة عدنان الجشعمي

قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة تكريت

م.م. نبراس سرحان خضير

قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة تكريت

Lecturer : Zubaida Adnan Aljashammi

Biology Department /college of education and science

Applied/Tikrit university

Assistant Lecturer: Nibras Sirhan Kudair

Biology Department/college of science /Tikrit university

الخلاصة

درست السمية الوراثية لعقاري الاندوميثاسين والكلوكوز أمين في اربعة جينات تعد من جينات الخصوبة في ذكور الجرذان وهي ($PTGR_2, GSTP_1, HSP70$) و $IGFBP_3$)، وبتركيز 7 ملغم/كغم ، 21 ملغم/كغم للعقارين على التوالي لمدة 21 يوم، وبواقع 4 مجاميع تضم كل منها 4 جرذان من ضمنها مجموعة السيطرة والتي جرعت بالماء المقطر . استخلص الحامض النووي DNA لخلايا نسيج كل من الخصى والبرابخ، شخّصت الجينات بأستعمال تقنية التسلسل المتبلر PCR والترحيل الكهربائي على جل الاكاروز. لوحظ تأثير كبير للعقارين على الجينات المعزولة من خلايا البربخ مقارنة بالخصى في جميع الجينات قيد الدراسة باستثناء الجين $HSP70$ اذ لم يكن للعقارين أي تأثير يذكر في كل من الخصى والبرابخ .

Abstract

The genotoxicity of Indomethacin and glucose amine was studied in four genes of the fertility genes of male rats (PTGR2, GSTP1, HSP70, IGFBP3) and at 7 mg / kg, 21 mg / kg respectively for two drugs , drunked for 21 days and 4 groups each 4 rats, including the control group, which was drunked with distilled water. DNA was extracted for the tissue cells of both the testes and epididamises ,genes was studied by pcr technique and electrophoreses on agarose gel . A significant effect was observed on the genes isolated from the epididymal cells compared to the testes in all the genes under study except for the HSP70 gene, its not been any effect in both the testes and the epididymises.

Introduction

Indomethacin is a non-specific anti-inflammatory drug (NSAID) that was developed specifically to abate the inflammatory responses to the indolic hormones, serotonin and tryptophan , It was introduced in 1963 for the treatment of rheumatoid arthritis, degenerative joint diseases, ankylosing spondylitis, gout, acute musculoskeletal disorders, inflammation and oedema following surgical technique and pain associated with primary dysmenorrhea [1,2]. Glucosamine and chondroitin sulfate (CS), both components to the extracellular matrix of articular cartilage, have been used for medicinal purposes for nearly 40 years^[3,4] After gaining popularity in Europe and Asia for the treatment of arthritis for the last 20 years, they gained popularity in the United States after the release of several lay publications in the late 1990s.both drugs was used to treatment Osteoarthritis^[5,6]. Many of the toxic effects of indomethacin in experimental animals may be due to inhibition of prostaglandin synthesis^[7] but afew studies related this effected with fertility gene defected.

(PTGR₂, GSTP₁, HSP70 , IGFBP₃) four genes was classified as fertility genes in rat or have roles in spermatogenesis and maturation of sperms^[8] . Prostaglandin-endoperoxide synthase (PTGS), also known as cyclooxygenase, is the key enzyme in prostaglandin biosynthesis, and acts both as a dioxygenase and as a peroxidase. There are two isozymes of PTGS: a constitutive PTGS1 and an inducible PTGS2, which differ in their regulation of expression and tissue distribution^[9]. This gene encodes the inducible isozyme. It is regulate

d by specific stimulatory events, suggesting that it is responsible for the prostanoid biosynthesis involved in inflammation and mitogenesis.. A single-nucleotide polymorphism at position 313 in The resulting isoleucine^[10] . Glutathione S-transferases gene polymorphisms could impair the capability of defense against oxidative stress and result in the development of some cancers One of the determinant factors of susceptibility of spermatozoa to oxidative damage ^[11] . Heat shock protein 70 (HSP70)is produced by the HSP70 gene, The HSP70 gene is encoded by a single exon. The open reading frame the gene is 1926 bp and its protein includes 641 amino acids and includes a family of HSPs which range in size from 68 to 73 KDa^[12]. HSP70 plays a protective role in reaction to hyperthermia as well as other stress conditions by providing a balance between synthesis and degradation of cellular proteins .Elliott et. al. (2009) found that HSP70, as sperm-binding oviduct AL proteins, increase longevity and viability of sperm in bull and boar,It was reported that semen quality may be influenced by levels of HSP70 protein in boars ^[13]. Govin et al.(2006)found

association between HSP70 function and spermatid DNA-packaging proteins during spermatogenesis^[14]. Insulin-like growth factor binding protein- 3 (IGFBP-3) is a multifunctional molecule with many mechanisms of action, their receptors, and their binding proteins play key roles in regulating cell proliferation and apoptosis^[15]. Among the several roles of IGFBP3 are its function as the major carrying protein for IGF1 and IGF2 in the circulation, and its action as a modulator of IGF bioactivity and as a direct growth inhibitor in the extravascular tissue compartment, where it is expressed in a highly regulated manner ^[16]. The effects of the GST genes (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) on male factor infertility have not been well elucidated. A case-control study was performed to investigate the association between functionally important polymorphisms in GST genes and idiopathic male infertility^[17,18]. The present study aims to study the effect of indomethacin and Glucoseamine on the four genes under study using pcr technique to determine the risk of these drugs on male fertility.

Materials and methods

Chemicals

Indomethacin tablets in (25 mg/tablet) was obtained from sigma chemical company.

Glucose amin gelatinous [capsules](#) (500 mg/capsule) was obtained from sigma

chemical company.

Experimental animals

Sixteen adult male [albino](#) rats , age from (12-16) weeks and their weights (200–250 gm) were brought at the National Center for Control and Pharmaceutical Research in Baghdad... The animals were acclimatized for two weeks prior to the experiment. They were kept in plastic cages under adequate temperature and [ventilation](#). All rats were provided with free access to water and food with a 12 h light/dark cycle.

Experimental design

The rats were classified into four groups:

- Group I (control group): Comprised of 4 rats. They are received saline

orally by gavage in a daily for 4 weeks.

- Group II: (Indomethacin group): Included 4 rats fed on basal diet and given Indomethacin dissolved in saline orally by gavage in a daily dose (7 mg/kg) for 4 weeks.

Group III: (Glucose Amin group): Included 4 rats fed on basal diet and given Glucose Amin dissolved in saline orally by gavage in a daily dose (21 mg/kg) for 4 weeks.

Group IV: (Indomethacin and Glucose Amin group): Included 4 rats fed on basal diet and given both drugs dissolved in saline orally by gavage in a daily for 4 weeks.

At the end of the fourth weeks, animals were anesthetized and decapitated and the the testes with epididymis was harvested by careful rapid dissection and was immediately extracted DNA by DNA Extraction Kit was equipped by Gene aid Total DNA Mini Kit.

The quality of the DNA was also reported by passing the samples on the agarose gel by electrophoresis ^[19].

Genetic analysis was carried with sample PCR .

Four Primers equipped with Bioneer company (showed in table no.1) were used to amplify products. Applied Biosystem Veriti™ Thermal Cycler was used for deoxyribonucleic acid (DNA) amplification .The polymerase chain reaction (PCR) cycling condition consisted of an initial denaturation for 2min at 95C°, followed by 1 cycle of 95 C° for 5 min, 95C° 20 sec ,and 60 C° for 1min, and a final extension at 72 C° for 2 min .polymerase chain reaction products were electrophoresed on a 2% agarose gel and visualized under ultraviolet(figur1) .

Primers		Sequences	Size
IGFBP -3	F	3'CTGCAAGGCAACACCATTCA 5'	845 Pb
IGFBP -3	R	3'ATGGGGGTGCCAATCATCTG 5'	
HSP70	F	3'TTCTCCCAGTGCTTGTTGGA 5'	1005pb
HSP70	R	3'GGTAGGAAGGCATTAGGACGA 5'	
GSTP1	F	3' TCTGGCCGTTGTTCTGTAA 5'	1176pb
GSTP1	R	3'TGACCTGAGGTTGCTTTGAGG 5'	
PTGR2	F	3' AGTGTGTGGTTACGGCTTTCA 5'	1027pb
PTGR2	R	3'GCATGCCAAATGGCAGAAAAA 5'	

Table 1: showed the four primers used with their sequences and size of bands.

Results

DNA samples isolated from both the testis and the epididymis showed high purity when measured with a Nano drop(1.8 - 2) with concentrated 25 to 125 nm / μ l in Fig.1

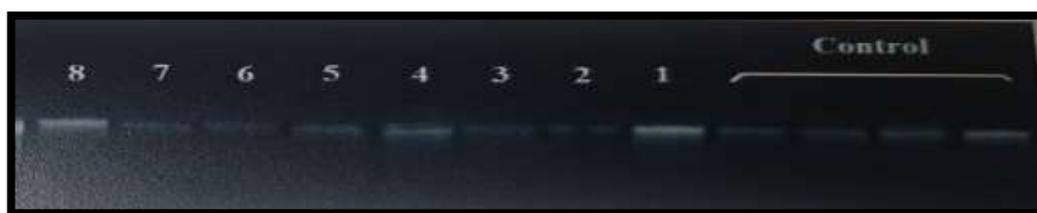


Fig1:the electrophoreses of hole DNA extracted from testis and epididymis for four groups of animals with control.

The results of the polymerase chain reaction(pcr) of multiplying the IGFB3 gene in the 854 Pb in the DNA samples from the testis and epididymis for the experimental animals under study with the three treatment (indomethacin, glucose amine and indomethacin with glucose amine) were reported to be electrophoresed on agarose gel 2% after staining by ethidium bromide stain , The occurrence and dispersion of the band in each of the testes and epididymis in three treatments compared to the standard sample as shown in Figures 22 and 3 respectively.



Fig.2:show the IGFP3 gene in
IGFP3 gene in
Bands size 845pb for DNA extracted
DNA extracted
from testes(1:indomethacin
(1:indomethacin2:glucose amine 3:indomethacin
3:indomethacin
with glucose amine and C:control)
and C:control)

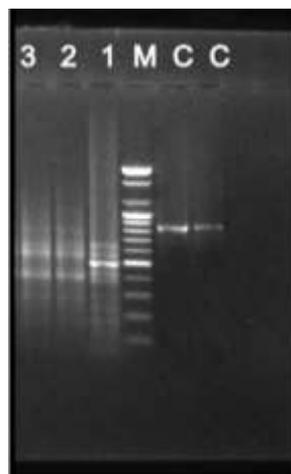


Fig.3:show the
Bands size 845pb for
from epididymis
2:glucose amine
with glucose amine

fig.4 and fig.5 in respectively was showed the HSP70-2 gene pcr with band in size 1005 pb ,NO effect for the all treatment you can see both testes or epididymis samples .

There was no effect on the GSTP1 gene for DNA samples of the testis tissue, while primer did not recognize the gene in the samples of the nucleic acid of the epididymis as the gene was affected by the two drugs under study show fig.6 and 7.Same results we can see in PTGR2 gene as fig.8,9

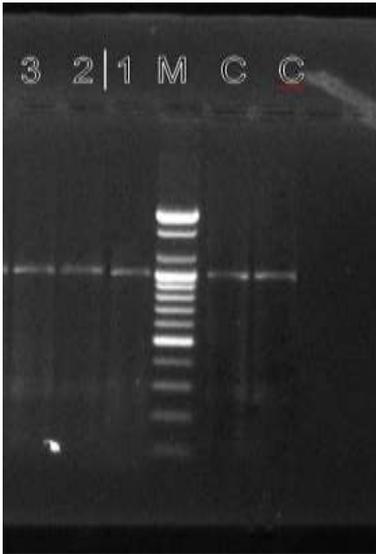


Fig.4:show the HSP70-2 gene in gene in
Bands size 1005pb for DNA extracted
DNA extracted
from testes(1:indomethacin
(1:indomethacin
2:glucose amine 3:indomethacin
3:indomethacin
with glucose amine and C:control)
C:control)

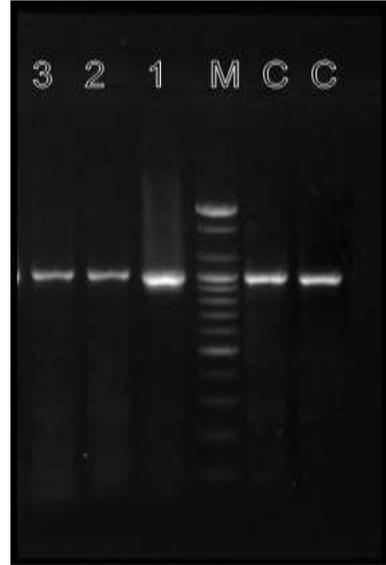


Fig.5:show the HSP70-2
Bands size 1005pb for
from epididymis
2:glucose amine
with glucose amine and

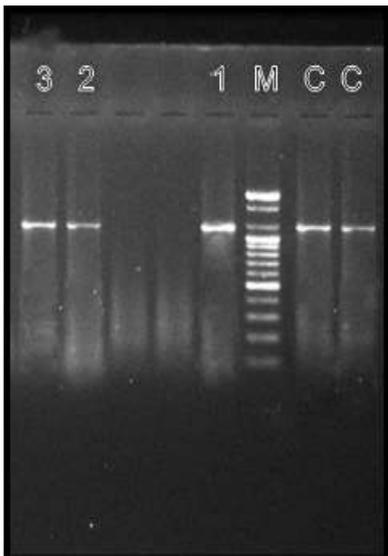


Fig.6:show the GSTP1 gene in gene in DNA extracted

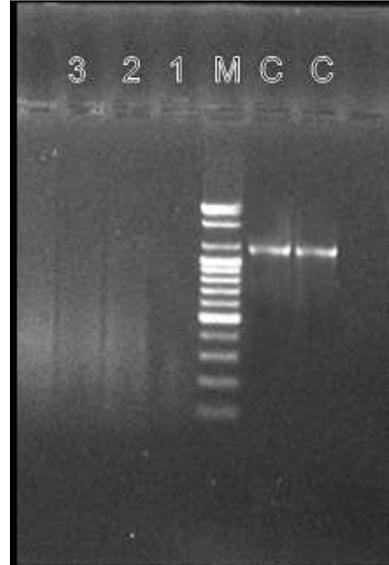


Fig.7 :show the GSTP1 Bands size 1176 pb for DNA extracted from testes(1:indomethacin 2:glucose amine 3:indomethacin with glucose amine and C:control)

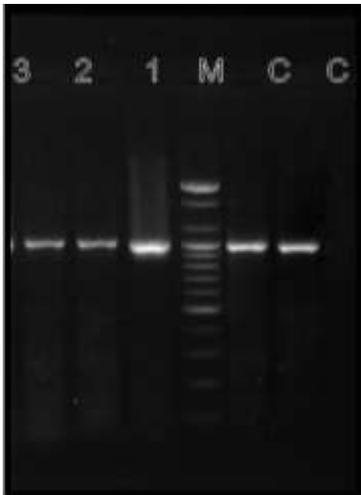


Fig.8:show the PTGR2 gene in gene in



Fig.9 :show the PTGR2

Bands size 1027 pb for DNA extracted DNA extracted from testes(1:indomethacin (1:indomethacin 2:glucose amine 3:indomethacin 3:indomethacin with glucose amine and C:control) C:control)	Bands size 1027 pb for from epididymis 2:glucose amine with glucose amine and
---	--

Discussion

Several previous studies have indicated that there is no hereditary toxic effect of indomethacin and glucose amine but indomethacin inducers of apoptosis and inhibitors of cell proliferation^[20,21], but used both drugs as cofactor for treatment of number of cancers [22] . while the present study showed genetic variability of the two drugs on four genes under study. The result of electrophoreses of four genes (IGFP3, HSP70-2, GSTP1 and PTGR2) clear effects of both drug on this gene specially on epididymis DNA samples comparative with testes DNA samples , only HSP70 gene no effected was showed in both samples . This may refer to the effect of both drugs on the shape and effectiveness of sperm as previous studies indicate The increased HSP 70 expression has positively correlated to DNA damage detected in mice sperm^[13]. This is what the current study has shown for the other three genes, which have shown that the DNA of the epididymis has been

destroyed. The reason for the non-susceptibility of the genes to the testicular specimens may not be due to the high protection of the individual by increasing the specificity of the material being carried from the cell into the cells. Effect of the two drugs on the composition of the sperm to the extent of their ability to fertilize. The previous study have indicated to the role of IGFBP-3 and BAX interaction activates germ cell apoptosis via the mitochondria-dependent pathway and this regulating germ cell homeostasis that may have significance for male fertility testicular disease^[19]. Indomethacin and glucose amine also showed a clear effect on the GSTP1 gene ,which proved its role in maintaining the integrity of the sperms and its germ cells as an antioxidant gene^[21,22,23]. The gene PTGR2 was also affected by the both drugs and showed several breakdowns in DNA samples of the epididymis of this gene plays an important role responsible for producing an enzyme PTGR2 is an enzyme involved in the metabolism of prostaglandins. The encoded protein catalyzes the NADPH-dependent conversion of 15-keto-prostaglandin E2 to 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin E2. This protein may also be involved in regulating activation of the peroxisome

proliferator-activated receptor. Alternative splicing results in multiple transcript variants^[24,25].

Conclusion

We conclude from this study that the two drugs have a hereditary effect on these genes and the long-term use may cause fertility problems in males in further.

References

1. **HARDMAN J. G., LIMBIRD L E and GILMAN A G . (2001). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutics. 10th International Edition, The McGraw-Hill Companies Inc.**
2. **BRANDT, K. D. (1991): The mechanism of action of NSAIDs. J. Rheumatol. 18: 120-121.**
3. **Vangsness C , William spiker M D and Juliana Erickson B A .(2009) .A Riview of Evidenece-Based Medicine for Glucosamin and Chondroitin Sulfate Use in Knee Osteoarthritis .J. Arthro. Rel.Sur.,Vol. 25, No.1:86-94.**
4. **Jamialahmadi K , Soltani F, NabaviFard M, Behravan J and Mosaffa F. (2014) Assessment of protective effects of glucosamine and N-acetyl glucosamine against DNA damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. Drug Chem. Toxicol. ,37(4):427-32.**

5. Lucio C, Rovati M D , Pharm F G ,Massimo D. and Giacobelliph D .(2016) Effects of glucosamine sulfate on the use of rescue non-steroidal anti-inflammatory drugs in knee osteoarthritis: Results from the Pharmaco-Epidemiology of GonArthroSis (PEGASus) study.[Seminars in Arthritis and Rheumatism .Vol. 45, Issue 4, : S34-S41.](#)
6. [Froder J G](#), [Dupeyrón D](#), [Carvalho J C](#) and [Maistro E L](#)(2016) .In vitro study of the cytotoxic and genotoxic effects of indomethacin-loaded Eudragit(®) L 100 nanocapsules.[Genet. Mol. Res.](#), 12;15(3): 15038727
7. TAIWO V. O and CONTEH O L.(2008) The rodenticidal effect of indomethacin: pathogenesis and pathology .[VeterinarskiarhiV 78 \(2\): 167-178.](#)
8. [Chou WL](#), [Chuang LM](#), [Chou CC](#), [Wang AH](#), [Lawson JA](#), [FitzGerald GA](#) and [Chang ZF](#).(2007) Identification of a novel prostaglandin reductase reveals the involvement of prostaglandin E2 catabolism in regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation.[J Biol Chem.](#) ,282(25):18162-72.
9. Ahmad H, Wilson DE, Fritz RR.(1990) Primary and secondary structural analyses of glutathione S-transferase pi from human placenta. [Arch Biochem. Biophys.](#) ,278:398-408.
10. [Dargenio R](#), [Corbucci MG](#), [Lamanna MA](#) and [Garcea N](#).(1992). Indomethacin and fertility in experimental endometriosis. [ActaEurFertil.](#) , 23(2):85-8.
11. [YuB](#) and [Huang Z](#). (2015) Variations in Antioxidant Genes and Male Infertility.[Biomed Res Int.](#): 513196.
12. [Hiyama G](#), [Matsuzaki M](#), [Mizushima S](#), [Dohra H](#), [Ikegami K](#), [Yoshimura T](#), [Shiba K](#), [Inaba K](#) and [Sasanami T](#).(2013). Sperm activation by heat shock protein 70 supports the migration of sperm released from sperm storage tubules in Japanese quail (*Coturnix japonica*).[Reprod.](#) ,147(2):167-78.
13. [Zeng XC](#)¹, [Bhasin S](#), [Wu X](#), [Lee JG](#), [Maffi S](#), [Nichols CJ](#), [Lee KJ](#), [Taylor JP](#), [Greene LE](#), [Eisenberg E](#).(2004) Hsp70 dynamics in vivo: effect of heat shock and protein aggregation.[J Cell Sci.](#) ,117(Pt 21):4991-5000.
14. Rajoriya J K ,Prasad S K , Ghosh P, Perumal, Anujkumar, Shobhanakaushal S S and Ramteke(2014) .Studies on effect of different seasons on expression of HSP70 an d

- HSP90 gene in sperm of Tharparkar bull semen. [Asian Pacific Journal of Reproduction](#), Vol. 3, Issue 3 : 192-199.
15. [Jia Y](#), [Lee KW](#), [Swerdloff R](#), [Hwang D](#), [Cobb LJ](#), [Sinha Hikim A](#), [Lue YH](#), [Cohen P](#) and [Wang C](#). (2010) Interaction of insulin-like growth factor-binding protein-3 and BAX in mitochondria promotes male germ cell apoptosis. [J Biol Chem](#) .,285(3):1726-32.
 16. Lakpoura N , Mirfeizollahib A, Farivarb S, Akhondic M M , Hashemid S B , Amirjannatic N, Heidari-Valac H and Sadeghie M R .(2013). The association of seminal plasma antioxidant levels and sperm chromatin status with genetic variants of GSTM1 and GSTP1 (Ile105Val and Ala114Val) in infertile men with oligoasthenoteratozoospermia . *Disease Markers* 34 : 205–210.
 17. [Millar D S](#) ,, [Ow k k](#), [Paul C L](#), [Russell P J](#), [Molloy P L](#) and [Clark S J](#) .(1999)..Detailed methylation analysis of the glutathione S-transferase π (*GSTP1*) gene in prostate cancer. *Oncogene* 18, 1313–1324.
 18. World Health Organization (WHO).(2002) . Weight control and physical Activity .International Agency for Research on Cancer, Vol. 6:158.
 19. Al-jashammy Z A .(2014). Molecular genetic study of the gene for the serotonin transporter 5-HTT for patients with autism in Iraq. *Kirkuk univer. j., Sci. Stud. (KVJSS)*,Vol.9,Issue 3,Issn1992-0849:1-40.
 20. Maity P , Bindu S , Dey S , Goyal M , Alam A ,Pal C ,Mitra K and Bandyopadhyay U .(2009). Indomethacin, aNon-steroidal Anti-inflammatory Drug, Develops Gastropathy by Inducing Reactive Oxygen Species-mediated Mitochondrial Pathology and Associated Apoptosis in Gastric Mucosa ANOVEL ROLE OF MITOCHONDRIAL ACONITASE OXIDATION. *J. BIOLOGICALCHEMI.*,VOL. 284,No.5: 3058-3068.
 21. Kapitanović S, Čačev T, Antica M , Kralj M ,Cavrić K ,Pavelić K and Spaventi R.(2006). Effect of indomethacin on *E-cadherin* and β -*catenin* expression in HT-29 colon cancer cells. [Experim. Mol. Pathol.](#) **Vol. 80, Issue 1**: 91-96.
 22. Al srivstava D S , Mandhani A, Mittal B and Mittal R D.(2005) . Genetic polymorphism of glutathione S-transferase genes (*GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1*) and

- susceptibility to prostate cancer in Northern India. *BJU INTERNAT* , 95: 170–173.
23. Bolan Yu and Zhaofeng Huang.(2015) Variations in Antioxidant Genes and Male Infertility. *Bio. Med. Research. International. Vol. 513196: 10 pp.*
24. Chou WL, Chuang LM, Chou CC, Wang AH, Lawson JA, FitzGerald GA and Chang ZF.(2007) Identification of a novel prostaglandin reductase reveals the involvement of prostaglandin E2 catabolism in regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation. *J Biol Chem.* 282(25):18162-72.
25. Safarinejad M R, Dadkhah F, Asgari M A, Hosseini S Y, Kolahi A A and Iran-Pour E .(2012). Glutathione S-Transferase Polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and Male Factor Infertility Risk. *Urology Journal, Vol.9, No.3:541*

قياس مستوى الهوموسستين وبعض الهرمونات التكاثرية بأمصال النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض

*Measuring the level of homocysteine and
some reproductive hormones in the serology
of women with PCOS*

شيماء احمد صالح

أ.م.د. وسن نزهان حسين العاصي

* جامعة تكريت – كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم الكيمياء

Shaymaa Ahmed Salih

Wasan Nazhan Hussien

**Department of Chemistry, College of Education
for Pure Sciences, Tikrit University**

الخلاصة:

هدفت الدراسة الحالية إلى تحديد عدد من العوامل المسببة لإصابة النساء بمتلازمة تكيس المبايض ومعرفة مدى تأثير الهوموسستين بأحداث تغيرات بالجسم مؤدية الى إصابة النساء بمتلازمة تكيس المبايض. وقد تم قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية للنساء المصابات ومقارنتها مع مجموعة السيطرة، وتم جمع عينات الدم من (٤٠) امرأة مصابة بمتلازمة تكيس المبايض و(٣٠) امرأة غير مصابة وتراوحت أعمارهن من (١٧_٤٠)، وقد شخّصت الإصابة بالمتلازمة وذلك على أساس حمل المرأة لأثنين على الأقل من أعراض متلازمة تكيس المبايض. وقد حملت النساء المصابات عدد من الصفات المظهرية إذ كانت ٨٢% منهن تعاني قلة بالإباضة ٧٥% تعاني من الشعرانية Hirsutism. وقيست تراكيز الهرمونات للمصابات بمتلازمة تكيس المبايض ولمجموعة السيطرة وقد شملت الهرمونات الهرمون اللوتيني فقد بلغ تركيزه للنساء المصابات (3.40_+9.84) mlU/ml مقارنة مع النساء الغير مصابات كان تركيزه (1.67_+4.98) mlU/ml وارتفاع بهرمون الحليب ng/ml (37.18_+) بالمقارنة مع تركيزه لمجموعة السيطرة ng/ml (6.26_+20.06) وارتفاع

بالهرمون الذكري (Testosteron) فقد كان تركيزه للنساء المصابات بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وكان تركيزها (1.45 ± 0.49 mlU/ml) ولكن هذا الارتفاع لم يكون ارتفاعا معنويا، الهوموستتين (1.30 ± 5.05 mlU/ml) كان مستواه بالمرضى (21.05 ± 2.55) $\mu\text{mol/L}$ بالمقارنة مع السيطرة (2.12 ± 6.27) $\mu\text{mol/L}$ وكان الارتفاع معنويا . وقد استنتجنا من خلال هذه الدراسة علاقات ارتباطية موجبة بين مستويات الهوموستتين والهرمون اللوتيني وعلاقة ارتباطية سالبة عكسية بين مستويات الهوموستتين وتراكيز الهرمون الذكري وهرمون البرولاكتين.

الكلمات المفتاحية: الهوموستتين ، متلازمة تكيس المبايض.

Abstract

This study was aimed to assessment a number of causative factors to infection with polycystic ovarian syndrome (POCS) in women. The effect of homocystien on other parameters that occur in the body leading to infection with POCS. In oddinanto some biochemical parameters were measured in compare with control. Foruty blood samples from women with POCS and 30 samples from healthy individual were collected with aged group between (17-40years). The infection with syndrome was diagnosed based on a women who have at least two of symptoms of POCS. The infected women have a number of phenotypic characteristics. They were 82% suffered from oligomenorrhea and 75% Hirsutism. Hormones concentration in women with POCS and control was also measured. Luteining human was reached to (9.84 ± 3.40) mlU/ml in infected women compared with healthy women was ($4.98 + 1.67$) mlU/ml). While , prolactin was elevated to (37.18 ± 9.28) ng/ml compared with control (20.06 ± 6.26) ng/ml also, there was anelevation in testosterone in infected women (1.45 ± 0.49) compared with control (0.30 ± 5.05) but these elevations were insignificant and was level homocystien in patina $\mu\text{mol /L}$ (21.05 ± 2.55) and compared

with control $\mu\text{mol} / \text{L}$ (6.27 ± 2.12) . It was we concluded that , there were a positive correlation between the levels of homocystein and lutein level , while there was negative correlation between homocystien level and testosterone and prolactin concentrations.

المقدمة:

ان متلازمة تكيس المبايض ،تعد من احد الأمراض الشائعة التي تصيب مبيض النساء خلال عمر الأنجاب (١) ،حيث يتم تشخيص هذا المرض سريريا ومن الذين وصفوه هم ستين وليفنثال بالاعتماد على أعراض تظهر على المريضة حيث تجتمع اثنين من الأعراض او اكثر ومن هذه الأعراض هي انقطاع الطمث او عدم انتظام التبويض وظهور حب بالوجه والشعرانية وزيادة الوزن (٢).وان الأسباب التي تؤدي للإصابة بمتلازمة تكيس المبايض تكون غير ثابتة بين النساء المصابات ولكن من اكثر الأعراض الموجودة بالنساء المصابات هو اختلال بالهورمونات ويحدث هذا المرض غالبا بسن المراهقة بسبب الزيادة السريعة التي تحدث بالوزن بهذا العمر خاصة وكذلك فإن طبيعة الجسم تحدث فيه تغيرات هرمونية وجسمانية وان هذه الأعراض تتباين بين النساء المصابات بمرور الوقت (٣) .

اقترحت نظريتين أساسيتين لتوضيح مسببات متلازمة تكيس المبايض:-

١-نظرية (LH-TIC) Luteinizing hormone-Theca Interstitial Cell:

تقترح ان ارتفاع تركيز الهرمون اللوتيني LH عن المستوى الطبيعي يكمن وراء ظاهرة تكيس المبايض . فهو يسبب الزيادة بنمو خلايا القراب الخلالية TIC وتطورها الى الحويصلات والتي تؤدي إلى الإفراط بإنتاج الاندروجين وحدوث التكيس للمبايض (٤)

٢- نظرية (GC) Follicle Stimulating Hormone-Granulosa Cell- (FSH)

هذه النظرية تقترح ان الانخفاض بمستوى هرمون FSH يؤدي الى القصور بتحفيز انزيم سايتوكروم P450 الاروماتي Cytochrome P450 aromatase للخلايا الحبيبية ممايؤدي الى الارتفاع بمستوى الاندروجين. تفترض هذه النظرية ان متلازمة تكيس المبايض من الممكن ان تنتج عن حدوث تغير بنظام عمل الانسولين لحدوث خلل بعامل النمو (IGF) IGFInsulin Growth Factor ، وان IGF هو احد عوامل النمو التي تحد منفعالية الغدد التناسلية ، ويكون له دور فعال بعملية نمو الحويصلات المبيضية وتمايزها عن طريق دوره بالتأثير على الهرمونات المعتمدة بعملية نمو الحويصلات المبيضية حيث يقوم بمضاعفة الاستجابة البايولوجية لمنظمات Selectogenic & atretogenic او تخفيفها . تسهم عدة مسارات بالإصابة بمتلازمة تكيس المبايض وتتضمن مسارات أيض وتنظيم بناء الهرمونات الستيرويدية

، المسارات التنظيمية لعمل الغدد التناسلية ، مسارات تنظيم الطاقة والسمنة بالجسم ومسارات عمل الأنسولين^(٥).

الهرمونات المسؤولة عن متلازمة تكيس المبايض :
الهرمون اللوتيني:

هرمون ينتج من قبل خلايا β الموجودة بالفص الأمامي للغدة النخامية وذلك استجابة لافراز الهرمون المحرر لتحت المهاد او المحرر لمحفزات المناسل (gonadotropin releasing hormone) (GnRH) من تحت المهاد ، وهو من الهرمونات البروتينية السكرية وزنه الجزيئي يصل الى (٢٦,٠٠٠) دالتون . هذا الهرمون يقوم بتنظيم عملية التبويض بعد ان تنضج الحويصلات بعد الوصول الى سن البلوغ لذا يسمى هذه الهرمون بهرمون الاباضة ويشارك في تكوين الجسم الاصفر بعد عملية الاباضة وايضا يشارك في افراز هرمون الاستروجين مشتركاً مع هرمون (FSH) Follicle Stimulating Hormone^(٦).

هرمون البرولاكتين

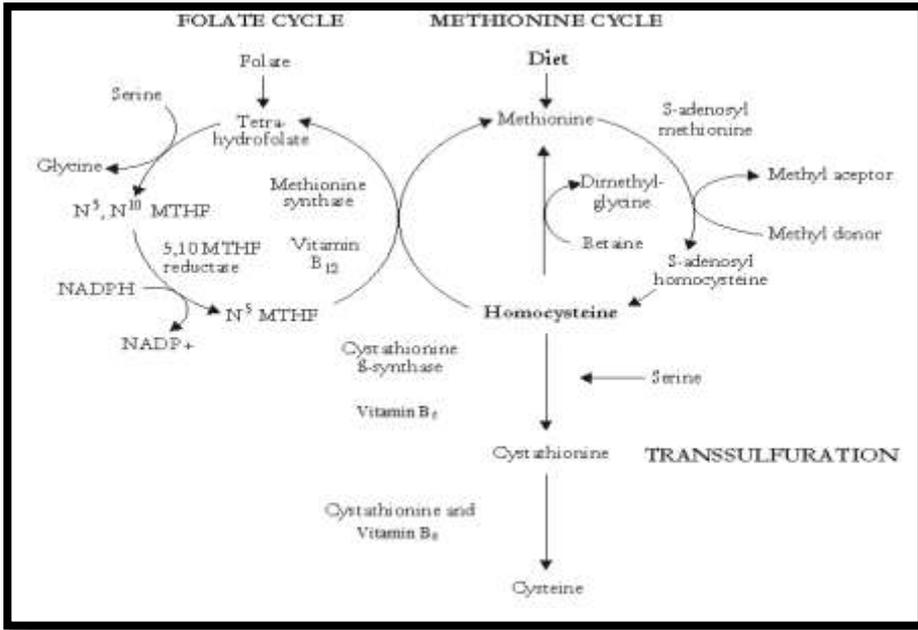
يفرز البرولاكتين بواسطة خلايا حامضية تدعى (Lactotrophs) من الغدة النخامية الامامية gland Anterior pituitary ويكون هذا الهرمون ذا استجابة لهرمونات الاستروجين. وان لهذا الهرمون دور كبير في تطور ونمو الخلايا والغدد اللبنية ، ويزداد مستواه في الجسم خلال النوم عند كل الجنسين. وحالة الجسم تاتير على مستوى هذا الهرمون ومنها الاضطراب النفسي ، الاجهاد ، القلق حيث كلها تزيد من افراز هرمون البرولاكتين. ففي حالة الاصابة بمتلازمة تكيس المبايض يزداد مستوى هرمون البرولاكتين وقد يؤدي الى ان يفرز الحليب من الصدر او اضطراب الدورية الشهرية^(٧).

الهرمون الذكري Testosterone

احد الهرمونات الستيرويدية وينتمي الى مجموعة الاندروجينات ، ان الهرمون الذكري يفرز بكميات قليلة من الغدة الكظرية ، وكميات كبيرة من الخصيتين ، وان الغدة النخامية تقوم بالسيطرة على افراز الهرمون الذكري عن طريق افراز هرمون LH^(٨). ويوجد الهرمون الذكري في جسم الاناث ولكن بنسب قليلة جدا ، ويتواجد نتيجة تحول Androstanedione الذي يتم إفرازه من المبيضان والادرنايين الذي يفرز من الغدة الكظرية^(٨) ، ويرتفع مستواه في الجسم في حالات ومنها أورام الخصيتين التي تفرز التستستيرون (Testosterone)، وأورام الغدة الكظرية ، وعند الاصابة بمتلازمة تكيس المبايض بينما ينخفض مستواه في حالات المداواة بالأسترودجيين للرجل وعند حدوث قصور في الغدة النخامية وكذلك عند تشمع الكبد أحيانا^(٩).

الهوموسستين

هو حامض اميني حاوي على الكبريت ولا يوجد في البروتينات ولكنه يشتق من مركبات وسطية لأيض الحامض الأميني الميثيونين Methionine، وبالخطوة الأولى من المسار يحفز أنزيم ادينوسايل ترانسفيريز (adenosyl transferase) عملية نقل ثمالة الادينوسين من ATP إلى الميثيونين ، فيتولد مركب S-ادينوسايل ميثيونين (S-AMT) ، أن مجموعة المثل بعد ذلك يمكن أن تنتقل إلى عدد كبير من المركبات المستقبلية ومن ضمنها DNA و RNA والبروتينات والليبيدات ، وهذا التفاعل يعد مفتاحاً لعدة عمليات ايضية، بشكل خاص مثيلة DNA والذي له أهمية بعملية التعبير الجيني^(١٠). ان الفسلفة المرضية لهذه المتلازمة معقدة لكونها تسبب العديد من العلامات المظهرية ، حيث ترتبط مع العديد من الامراض المزمنة مثل السكري وارتفاع ضغط الدم واضطراب دهون الدم Dyslipidemia وأمراض القلب والأوعية الدموية (أمراض القلب الوعائية) والأورام الخبيثة التي تظهر في سن مبكر^(١١) .

المسار الأيضي للهوموسستين^(١٢)

تشير الدراسات الحديثة الى ان المؤشرات الحيوية لمصل الدم في أمراض القلب الوعائية تكون غير طبيعية في النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض مثل الحساسية العالية للهوموسستين وبروتين سي C-reactive protein ، والاديبونكتين Adiponectin وبما ان فرط الهوموسستين في الدم يعد حامل خطورة لأمراض القلب الوعائية لذا فإن مستوياته تكون عالية في النساء المصابات بمتلازمة

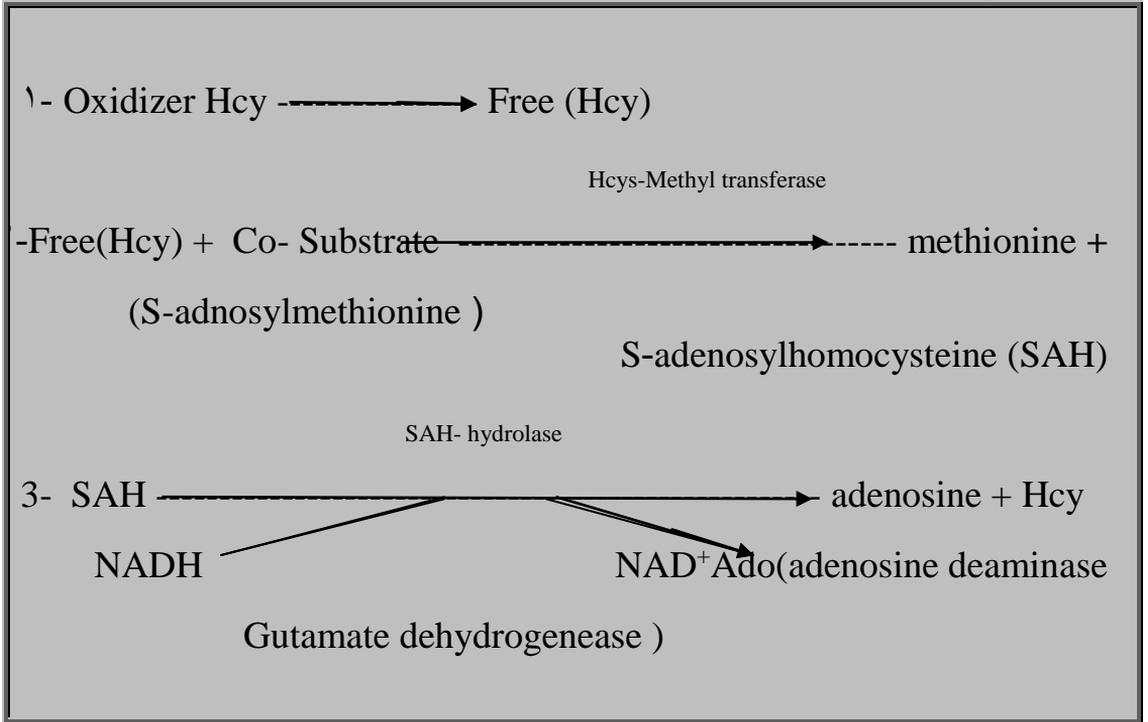
تكيس المبايض اكثر من السليمات . بينت العديد من الدراسات أن مستويات الهوموستتين العالية في النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض يمكن ان يحدث بسبب عيوب وراثية بالأنزيمات المشاركة في أيض الهوموستتين ، مثل انزيم (Methylene tetrahydra folate reductase MTHFR) . او النقص في المجاميع المرافقة للأنزيمات (الفيتامينات) مثل فيتامين B₆ , B₁₂ و حامض الفوليك ،ايضا عوامل إضافية تتضمن بعض الامراض المزمنة وتعاطي أدوية معينة والظروف الصحية (١٣). لقد أوضحت دراسة Framing Lam بأن فرط الهوموستتين يرتبط مع فرط الانسولين أذ يقوم الانسولين بتنشيط نشاط أنزيم Cysta thionine B- Synthetase (CBS) الكبدية الذي يزيد من مستويات الهوموستتين في مصل الدم(١٤).

طرائق العمل:

تم جمع العينات من النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض المراجعات للمستشفيات بمحافظة صلاح الدين والعيادات الطبية وكذلك جمع العينات من النساء السليمات من عامة المجتمع وكان جميعهن من محافظة صلاح الدين. شملت الدراسة الحالية على (٧٠) عينة (٣٠) عينة منها لمجموعة سيطرة و(40) عينة منها هي عينات لنساء مصابات بمتلازمة تكيس المبايض، وتراوحت أعمارهن ما بين (17_40) سنة. وهذا بعد التأكد من إصابتهن بمتلازمة تكيس المبايض وذلك عن طريق تشخيص الطبيبة المختصة لهن استنادا الى الأعراض السريرية الموجودة لكل مريضة، بالإضافة إلى الفحص بالموجات فوق الصوتية(السونار) وقد تم اعتماد استمارة استبيان لكل مصابه تدون فيها معلومات خاصة لكل منهن

الفحوصات السريرية: تم قياس الهرمونات ذات العلاقة بمتلازمة تكيس المبايض وهي الهرمون اللوتيني وهرمون البرولاكتين والهرمون الذكري Testosterone باستخدام عدة الفحص الخاصة بالهرمونات والمستوردة من شركة Biomerieux واعتمد مبدأ قياس تراكيز الهرمونات المطلوب قياسه على أساس Combines enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection اذ يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة والمستضد المعلم ب anti-LH antibodies المغطية ال SPR1 وفي النهاية يتكون ناتج مشع ويتم قياس كمية الاشعاع هذا عن طريق الجهاز وبشكل اوتوماتيكي. ويتم قياس كمية الإشعاع عند طول موجي ٤٥٠ نانومتر(١٥) وتعتمد شدة الإشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود بالعينة. تم تقدير مستوى الهوموستتين في مصل المصابات بمتلازمة تكيس المبايض المحضر باستخدام العدة التشخيصية (Kit) المجهر من الشركة (CRYSTAL CHEM, INC. USA) بطريقة الحلقة الانزيمية إذ إن مبدأ الفحص يعتمد على تحليل المادة الأساس المساعدة وتحويلها إلى ناتج Co-Substrate وهي جزيئة ليست المادة الأساس التي يحولها الانزيم وهي لا تحتوي

على الهوموسستين بهذا التحليل . حيث ان النسبة الطبيعية هي (١٢-٧) $\mu\text{mol/L}$ وكما في المعادلات الآتية (١٦)



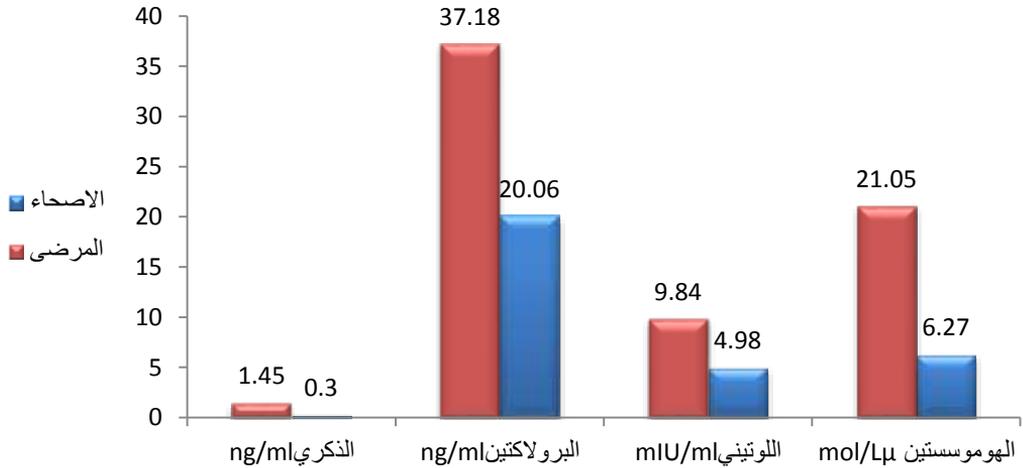
شكل (١) يوضح تفاعل التحولق الأنزيمي للهوموسستين

المناقشة:

لقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان ٧٥% من مجموع النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض يمتلكن الشعرانية ، وان ٨٢% منهن كانت تعاني من عدم انتظام أوقات الطمث وقلة الاباضة ، وان ٤٠% من مجموعة النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض لديهن تكيسات على مبايضهن حيث شخصن عن طريق اجتماع اثنين من الأعراض ، و٤٥% منهن شخصن عن طريق اجتماع ثلاثة من الأعراض المذكورة سابقا . حيث ان صفة عدم انتظام الاباضة تعتبر الصفة الأولى ومن بعدها تأتي صفة السمنة والشعرانية وادرار الحليب هذا يتطابق مع ماجاء بدراسة (عمير)^(١٧).

جدول (١) يبين قياس مستوى الهرموسستين وتراكيز الهرمونات المتأثرة بمتلازمة تكيس المبايض

Cases Parameters	Mean ± ST.PTV	
	المرضى	الاصحاء
الهرموسستين	21.05±2.55	6.27±2.12
الهرمون اللوتيني	9.84±3.40	4.98±1.67
هرمون البرولاكتين	37.18±9.29	20.06±6.26
الهرمون الذكري	1.45±0.49	.30 ± 5.05 ^o



شكل (٢) يمثل تراكيز الهرموسستين والهرمونات التكاثرية لمجموعة النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض ومجموعة السيطرة

ان جدول (1) يبين لنا ارتفاع بتركيز الهرمون اللوتيني. بأمصال المصابات بمتلازمة تكيس المبايض (9.84_+3.40 mIU/ml) مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث كان تركيزه (4.98_+1.67 mIU/ml) عند مستوى احتمالية $p < 0.01$ وهذا يتفق مع ما جاء بدراسة عبد الرزاق^(١٨) ودراسة Spuy و Dyer^(١٩) ولايتوافق مع ما جاء

بدراسة عباس Sultana^(٢٠) الذي بين ان هنالك انخفاضاً معنوياً بتركيز الهرمون اللوتيني بأمصال النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض. حيث أن الزيادة بمستوى إفراز الهرمون اللوتيني LH تقوم بتحفيز خلايا القراب الموجودة بالمبيض على إفراز الاندروجين وهو بدوره يزيد من إفراز هرمون LH بالوقت نفسه حيث يقوم الاندروجين بتنشيط إنتاج SHBG وهذا يؤدي الى ارتفاع نسبة الاندروجين الحر بدم المصابات بمتلازمة تكيس المبايض وهذا يكون سبب ظهور الشعرانية بجسم النساء المصابات وهذا ماجاء به دراسة Braide^(٢١) وجماعته الذين اشاروا الى وجود ارتفاع بتركيز الهرمون اللوتيني بأمصال النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، وقد يعود ذلك الى ارتفاع بهرمون الأنهين B بأمصال المصابات بمتلازمة تكيس المبايض (PCOS) لأن الأرتفاع بهرمون الأنهين يرافقه ارتفاع بالهرمون اللوتيني وهذا الاختلال الحاصل بالهرمونات يسبب اضطراب بأوقات الطمث او انعدام التبويض وهذا يتفق مع ماجاء بدراسة hFischtag^(٢٢). كما يمكن تفسير الزيادة المعنوية بتركيز الهرمون اللوتيني على اساس وجود اختلال بمحور النخامية تحت المهاد حيث ان هذا يؤدي الى زيادة التحرير النبضي للهرمون اللوتيني ويتطابق مع دراسة (Taylor)^(٢٣). ويمكن أن يعود سبب ارتفاع مستوى تركيز الهرمون اللوتيني أيضاً على اساس انخفاض مستوى هرموني البروجسترون والاستروجين لان مستوى الهرمون اللوتيني يثبط بارتفاع هذين الهرمونين عن طريق التغذية الراجعة السالبة وفي حالة الاصابة بمتلازمة تكيس المبايض . كما ان جدول (1) يبين ارتفاع مستوى تركيز هرمون البرولاكتين ارتفاعاً معنوياً بمصل دم النساء المصابات عند مستوى احتمالية $p < 0.01$ وان تركيز هرمون البرولاكتين هو $(37.18 \pm 9.28) \text{ ng/ml}$ للنساء المصابات مقارنة مع مجموعة السيطرة $(20.06 \pm 6.26) \text{ ng/ml}$. أن الزيادة بمستوى تركيز هرمون البرولاكتين لدى النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض عن المستوى الطبيعي قد يعود الى زيادة تحفز الخلايا المسؤلة عن افراز الهرمون الموجودة بالفص الامامي للغدة النخامية وتدعى Lactotrophes مما يؤدي الى زيادة إفرازه وتكون زيادته مرتبطة دائماً مع در الحليب لدى النساء وهذا ما تعانيه بعض النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض وهذا يتوافق مع ما جاء بدراسة Eskandari⁽²⁴⁾. حيث ان الارتفاع بمستوى هرمون البرولاكتين قد يؤدي الى تحفيز الغدة الكظرية على افراز Dehydroepiandrosterone (DHEA-S) وهو من أحد أنواع الاندروجينات حيث يرتفع مستواه بحاله اصابة النساء بمتلازمة تكيس المبايض ، وان افراز هذا الهرمون يكون متحكم غالباً بواسطة التأثير التثبيطي لـ تحت المهاد (Hypothalamus) ومن خلال واحد او اكثر من العوامل التي تثبط البرولاكتين Prolactin inhibitory Factor (PIF) والتي قد تصل الى النخامية عن طريق الأوعية البوابية Portal Vessels لغدة تحت المهاد، وأن التراكيز العالية من البرولاكتين تقوم بتنشيط إنتاج منشطات القند (gonadotrophins) في كل من الذكور

والاناث ، على الرغم من أن افرازه شائع بكثرة بالنساء (Goblla)⁽²⁵⁾، وأن التراكيز العالية من هرمون البرولاكتين من الممكن ان تؤدي الى عدم انتظام الدورة الشهرية Irregular menstruation ، و كذلك نقصان بالجسم الأصفر (Corpus luteum)، وزيادة بتراكيز الاندروجينات او منشطات الذكورة (Androgens). يبين الجدول (1) تركيز الهرمون الذكري بأمصال النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض (1.45 ± 0.49 mlU/ml) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغ تركيزه (1.30 ± 0.05 mlU/ml) لا توجد فروقات معنوية بأمصال النساء المصابات ومجموعة السيطرة ، وهذا يتوافق مع دراسات أجريت لفترات طويلة والتي أكدت ارتباط ارتفاع مستوى الأندروجين بضعف الخصوبة والانجاب عند النساء ، وعند الإصابة بمتلازمة تكيس المبايض قد يصاحبها في بعض الاحيان ارتفاع بتراكيز الهرمون الذكري والاصابة بالبدانة و ظهور الشعر وانقطاع او ندرة الحيض وهذا يتفق مع دراسة (Maha)^(٢٦) وان هذه النتائج تشير الى حدوث اضطراب بالهرمونات المفترزة من المبيض والتي تؤثر على هرموني الاستروجين والبروجسترون ، ومن الممكن تفسير الفروقات الغير معنويه بين المصابات ومجموعة السيطرة على ان النساء المصابات يتناولن علاج المتفورمين ولمدة لا تقل على ثلاثة أشهر مما يدل على أستجابتها للعلاج والذي يتميز بتقليله لعملية تصنيع الكلوكوز من مصادر غير كاربوهيدراتية (gluconeogenesis) والتي تحدث بالكبد وتقل امتصاص الكلوكوز بالامعاء وبالتالي خفض مستوى الانسولين ويقلل من اندروجينات المبيض لذلك فهو يساعد على تقليل احتمال الإصابة بمتلازمة تكيس المبايض^(٢٧). أظهرت الدراسة الحالية ان هنالك ارتفاعا معنويا في مستوى الهوموستتين بأمصال النساء النصابات بمتلازمة تكيس المبايض والذي كان مستواه عند المصابات $21.06 \pm \mu\text{mol} / \text{L}$ مقارنة مع مجموعة السيطرة $(6.27 \pm 2.12) \mu\text{mol} / \text{L}$ عند مستوى الاحتمالية $P \leq 0.01$ وتدل النتائج على ان مستوى الهوموستتين يرتفع عند النساء المصابات ب PCOS ، وبالرغم من الدراسات العديدة حول مسييات متلازمة تكيس المبايض لدى بعض النساء الا ان السبب الحقيقي لهذه المتلازمة ما زال مجهولا ، لذا فإن العديد من الدراسات أشارت الى ان المستويات العالية من الهوموستتين تلعب دورا مهما في إمرضيه هذه المتلازمة ، فقد بينت الدراسة ان المستويات العالية من الهوموستتين تلعب دور وظيفي في الاضطرابات الأيضية التي تحدث في تراكيز الأندروجين وأضعاف عملية الإباضة^(٢٨) وبينت الدراسات ارتباط PCOS مع المستويات العالية من الهوموستتين له علاقة بمقاومة الانسولين Ensulin Rosistance فقد لوحظت مستويات الهوموستتين المرتفعة في حالات الارتفاع المفرط للانسولين ، لذا فقد أقترح بأن الهوموستتين له دور كبير كعامل خطورة للإصابة بأمراض القلب الوعائية لدى النساء المصابات ب PCOS^(٢٩). وأوضحت الدراسات بأن عوامل النمو المرتبطة بالانسولين كعامل نمو IGF - 1 والانسولين المرتبط بالبروتين 3-IGFBP بالسيطرة والتنظيم على نضوج (بلوغ) الجريبات

المبيضية وعلى عملية بناء الستيرويدات Steroideo gensiiss لذا فإن التأثيرات المباشرة والغير مباشرة لهذه العوامل IGF – 1 و IGFBP -3 تشترك وبشكل مستقل مع تكوين خثرات في الأوعية الدموية مما يجعل المصابات بمتلازمة تكيس المبايض أكثر عرضة للإصابة بأمراض الأوعية القلبية، يرتبط ارتفاع الهوموستتين مع تخثر الأوعية الدموية وهذا يكون السبب رئيسي في الاسقاطات المبكرة وتحطم الاوعية الدموية المزمن للنساء المصابات (١٣) .

المصادر

1. Legro , R.S . and Strauss, J.F(2002) . Molecular progress in infertility : polycystic ovarian syndrome . Fertil and Steril . 78;569 – 576 .
2. Battaglia , C. ; Regnani , C. ; Mancini , F .; Iughetti , ; Flamigni , C . and Venturoli, S. (2002) . Polycystic ovaries in childhood : a common finding in daughters of PCOS patients .A pilot study . Human Reproduction . 17 : 771 -776 .
3. Azziz , R.; Carmina, E.; Dewailly, D.; Diamanti – Kandarakis , E.; Escobar – Morreale , H. F . and Futterweit , W. (2006). Positions statement : criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome : an Andrpngen Excess Society guideline. J . Clin . Endocrinol . Metab . 91(11) :4237 – 45 .
4. Nazir, F.(2008). Clinical and genetic studies of polycystic ovarian syndrome. Ph.D. Thesis, Univer. of Quaid-I-Azam.
5. Urbanek , M. ; Legro, R. S. ; Drisoll , D. A. ; Azziz , R. ; Ehrmann , D. A. ; Norman, R.J.; Strauss, J.F. ; Spielman, R.S. and Dunaif, A.(1999). Thirty seven candidate genes for polycystic ovary syndrome : strongest evidence for linkage is with follistatin. Proc Natl. Acad. Sci. 96: 8573-8578.
6. Graaff, K.M.V.& Rhee, R.W.(2001). Human anatomy and physiology. Mc Graw – Hill . PP : 97-104.
7. Beltran, L; Fahie-Wilson, MN; McKenna, T.J; Kavanagh, L; Smith, T.P (2008). "Serum total prolactin and monomeric prolactin reference intervals determined by precipitation with

- polyethylene glycol: evaluation and validation on common immunoassay platforms". Clin. Chem. 54 (10): 1673–81.
8. Clarke R, Stansbie D. Assessment of homocysteine as a cardiovascular risk factor in clinical practice Ann clin Biochem 2007;(6):624-632.
 9. Bassil N , Alkaade S, Morley JE (2009), " The benefits and risks of testosterone replacement therapy : a review" ,Ther Clin Risk Manag , 5 (3) : 427 _ 448 .
 10. Rodrigo R, Passalacqua W. Araya J, Orellana M, Rivera G. Implications of oxidative stress and homocysteine in the pathophysiology of essential hypertension J Cardiovasc Pharmacol 2008; 42(4):453-461.
 11. Clap BR, Hirschfeld GM, Storry C, et al. Inflammation and endothelial function: direct vascular effects of human C-reactive protein on nitric oxide bioavailability. Circulation 2005; 111:1530-1536.
 12. Rassoul F, Richter V, Janke C, Purschwitz K, Klötzer B, Geisel J, Herrmann W. 2000. "Plasma homocysteine and lipoprotein profile in patients with peripheral arterial occlusive disease". Angiology 51:189-96.
 13. Pratio C , Coswami SK , et al . Recurrent pregnancy loss in polycystic ovary syndrome : Role of Hyperhomocysteinemia and Insulin Resistance . PLoS one . 2013 ; 8(5) .
 14. Salchpour S, Taherzade P , Neisani Samani E . Homocysteine and Insulin resistance related to PCOS . International Journal of fertility and sterility (IJFS) 2016 ; 3(3) : 101 – 104 .
 15. Morimoto, Y.; Oku , Y.; Sonoda, M.; Haruki, A.; Ito, K.; Hashimoto , S . and Fukuda , A. (2007) . High oxygen atmosphere improves human follicle development in organ cultures of ovarian cortical tissues in vitro . Human Rep . 22(22) :3170- 3177 .
 16. Melcan.R.et al N. Engl.J.Med.(2004) ,350:2042-2049 .
١٧. عمير ، هديل عبد الهادي (٢٠١٣) " الكشف عن تعدد اشكال الجينات المشفرة للبناء الحيوي للهرمونات الستيرويدية لدى النساء المصابات بمتلازمة تكيس

المبايض في محافظة صلاح الدين. أطروحة دكتوراه علوم حياة كلية العلوم/جامعة تكريت .

١٨. عبد الرزاق، لينا قيس ياسين (٢٠١٠) ،دراسة عدد من المعايير الدموية والكيموحيوية وبعض الهرمونات لدى النساء العقيمات في محافظة صلاح الدين. رسالة ماجستير، كلية العلوم/جامعة تكريت .

19. Spuy, Z.M. and Dyer, S.J.; (2004). The pathogenesis of infertility and early pregnancy loss in polycystic Ovary syndrome. Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynecol. 18 : 755-771 .

٢٠. عباس ، مادلين قاسم . (٢٠٠٨). التأثير الفسلجي لمستويات عدد من الهرمونات ومكونات الدم في النساء العقيمات من المراجعات لمستشفى تكريت التعليمي ، رسالة ماجستير . كلية التربية/ جامعة تكريت

21. Braide, A. S; Adegoke, O. A;, Bamigbowu, E. O. and Ayodele, Martins, B.O. (2011). Gonadotrophic Hormones, Progesterone and Prolactin Levels among Infertile Women Attending University of Port Harcourt Teaching Hospital. Europ.J.of Scientific Research Vol.57 (2) , pp.366-372 .

22. Fischtach , ; Boazhir Shterg. M.D. ; Michael , ; Conn, PhD ; Gabriel , I. and Lynnette (2000) Ectopic luteinizing hormone secretion and Anovulation , J. England Medicin Vol.(23) p:348-4 .

23. Taylor , A. E.; Mc Court, B . and Martin, K. A.(1997) .Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. J . Clin. Endocrinol. Metab. 82:2248-2256.

24. Eskandrali and Z. pcos woman show significantly higher homocysties level , indepenedent to glucose E2 level " Reprod Bio ued 2010 ; 14 (8) PP: 495-500.

25. Goblla, C ; Bolognani, F; Della-sota, R. L. and Goya, R. G. (2001) .Luteinizing hormone in an oestrous crossbred bitches .Reprod. Domest. Anim, 36: 41-45.

26. Maha F . (2016) " Assessment of leptin levels in the different genotypes and teptin receptor genes in the woman with polycystic ovary syndrome and diabetes mellitus type 2 in Iraq population .

27. Ehramann, D. A.; Liljenquist, D. R.; Kasza, K.; Azziz, R.; Legro, R.S. & Ghazzi, M. N. (2006) :Prevalence and Predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. J. Clin. Endocrin. Metab.; Jan ; 91(1); 48-53.
28. Rekha , S., Patel M.L., pooja , G ., Amita, D., pushplata , S atei . Correlataion between elevated homocysteine levels and insulin resislance in infertile women with or without polycystic ovary syndrome in North Indian population . Academic Journal 5 (3) : 116 – 123 .
29. Temel I , Celik O, Sahin I , . Serum nonesterified fatty acids , ghrelin , and homocysteine levels in women with polycystic ovary syndrome . Turk J med sic 2010 ; 40 (2) : 221-228.

مدى استجابة الذرة الصفراء. (Zeamays L)

لرش البوتاسيوم والزنك

The Response of Maize (Zeamays L.) to Spraying of Potassium and Zinc

م. م. ايمن احمد عبد الكريم العباسي
مديرية تربية ديالى

Assistant teacher: Aiyemen Ahmed A.K. Al-Abassi
Education directory of Diyala
aiymenahmed@yahoo.com

المستخلص

نفذت تجربة حقلية لدراسة مدى استجابة الذرة الصفراء Zeamays L. للرش البوتاسيوم والزنك خلال الموسم الخريفي ٢٠١٦. بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبثلاث مكررات، رشت اربع تراكيز من البوتاسيوم (0، 500، 1000، 2000) ملغم K-لتر¹ بهيئة كبريتات البوتاسيوم واربع تراكيز من الزنك (0، 75، 150، 225) ملغم Zn-لتر¹ بهيئة كبريتات الزنك ، اظهرت النتائج وجود فروق معنوية عند رش البوتاسيوم بتركيز 2000 ملغم K لتر¹ في دليل الكلوروفيل وتركيز البوتاسيوم و الزنك في الاوراق، كما اظهر رش الزنك فروق معنوية ، إذ تفوق التركيز 150 ملغم Zn-لتر¹ في دليل الكلوروفيل وتركيز البوتاسيوم في الاوراق ، بينما اظهر التركيز 225 ملغم Zn-لتر¹ تفوق في تركيز الزنك في الاوراق . وقد اعطت معاملات التداخل عند * K2000 Zn150 افضل النتائج في دليل الكلوروفيل وتركيز البوتاسيوم ، كما ان معاملات التداخل قللت من التأثير السلبي لتركيز الزنك العالي بصورة واضحة .

الكلمات المفتاحية : الرش . البوتاسيوم . الزنك . الذرة الصفراء .

Abstract

A field experiment was conducted to determine the response of maize (*Zeamays L.*) to spraying of potassium and zinc in during autumn season 2016. Random Compleat Block Design was used in this study with three replications. Spraying four concentrations of potassium (0,500,1000,2000) mgK.L⁻¹ as potassium sulfate and four concentrations of zinc (0,75,150,225) mg Zn.L⁻¹ as zinc sulfate . The result showed that the suitable K-spraying treatment was 2000 mg K.l⁻¹ which caused significant differences in chlorophyll index ,K-concentration and Zn-concentration as compared with control . Using Zn-spraying treatment 150mg Zn.L⁻¹ caused significant differences in chlorophyll index and K- concentration, While 225mgZn.L⁻¹ caused significant differences in Zn-concentration. The interaction between potassium and zinc K2000 * Zn150 was significant effect in traits parameters of chlorophyll index and (K)concentration compared with control treatment, use (K) decreased high level of (Zn) monitor form.

Keywords : spraying , potassium , zinc , maize.

المقدمة

تسمى الذرة الصفراء ملكة المحاصيل لأنها تعتبر واحدة من اهم محاصيل الحبوب الاقتصادية في العالم إذ تحتل المرتبة الثالثة من حيث المساحة المزروعة والانتاج(Licence،٢٠08). هذا راجع للاستعمالات العديدة للمحصول (Mandia واخرون، ٢٠١٥) . لاسيما الغذائية والصناعية إذ تستخدم كغذاء للانسان وعلف اخضر للحيوانات(USAD،٢٠١٤). يعد البوتاسيوم من العناصر الكبرى المهمة للنبات فهو ينظم الهرمونات النباتية كالجبرلين والاكسين وينقل المواد المصنعة من الاوراق الى

الحبوب وينظم عملية غلق وفتح الثغور (Cakmak، ٢٠٠٥). يزيد من مقاومة الفطريات والبكتيريا (Wang واخرون، ٢٠١٣). ينقل مركبات الطاقة ATP (Rafat واخرون، ٢٠١٢). ينشط انزيم تصنيع البروتين Protense (Sharma واخرون، ٢٠١٣). فضلا عن دوره في تقليل التأثير السلبي لنقص الماء (عبد الامير واحمد، ٢٠١٣). اما العنصر المغذي الاخر الضروري فهو الزنك من العناصر الصغرى المهمة لكل الاحياء، فهو يوجد في عمليات ايض النبات كمنشط لعدة انزيمات ويعد انزيم carbonic anhydrase اول انزيم اكتشف يحتوي على الزنك وينشط الزنك انزيم نقل الفوسفات مثل Hexose kinase (Davis، ١٩٨٣). وينظم (pH) درجة تفاعل الخلية النباتية (Tony، ٢٠٠٦). كما يوجد الزنك في الرايبوسومات وفي اندول حامض الخليك (Hafeezetal.، ٢٠١٣). فضلا عن انه يوجد في بناء الحامض الاميني RNA (Uchida، ٢٠٠٠). كما يساعد على امتصاص المغنسيوم المهم للكلوروفيل (Hristozkova واخرون، ٢٠٠٥). تعد عملية الرش الورقي او التسميد الورقي واحدة من الطرق المستخدمة لتعويض النبات بالمغذيات رشا على الجزء الخضري للنبات ومن ثم النفاذ الى الاوراق والتحرك الى اجزاء النبات الاخرى معتمدا على الانواع النباتية ونوع التسميد والتركيز وعملية تكرار التسميد ومرحلة نمو النبات (Haytova، ٢٠١٣). كما انها من أكفا الطرق لتزويد النبات بالمغذيات في حالة نقصها والتي تعجز الجذور عن تعويضها (Martin، ٢٠٠٢). كما في حالة وجود معوقات للامتصاص مثل حالة الجفاف او حالة الديدان (EL-Fouly وRomhold، ٢٠٠٠). ان الهدف من الدراسة هو تحديد انسب التراكيز لكل من البوتاسيوم والزنك والتداخل بينهما.

طريقة العمل

نفذت تجربة حقلية خلال الموسم الخريفي ٢٠١٦ في تربة ذات نسجة مزيجية طينية غرينية في حقل تابع لناحية بني سعد / محافظة ديالى. صممت التجربة وفق القطاعات العشوائية الكاملة بثلاث مكررات. جمعت عينة عشوائية من الحقل قبل الزراعة وقدر فيها الصفات الفيزيائية والكيميائية للتربة بحسب جدول (١). زرعت بذور الذرة الصفراء صنف

بحوث ١٠٦ في ٢٠١٦/٧/١٤ يدويا في خطوط وكانت المسافة بين الجور ٣٠سم والمسافة بين الخطوط ٧٥سم وبكثافة نباتية ٤٤٤٤٤ نبات.هـ-١ (الساھوكي،١٩٩٠). بلغ عدد الوحدات التجريبية ١٦ وحدة وكانت مساحة الوحدة التجريبية (١,٥ * 25. 2م²).سمدت تربة الحقل لجميع الوحدات التجريبية باليوريا بمعدل 320كغم.هـ-١ ٤٦%N وبالفسفور بمعدل ١٠٠كغم . هـ-١ بهيئة سوبر فوسفات الثلاثي 20%P₂O₅ وبالبيوتاسيوم بمعدل 160 كغم. هـ-١ بهيئة كبريتات البوتاسيوم ٤١,٥%K. (الموسوي وابوضاحي،٢٠١٢) . خفت النباتات الى نبات واحد في كل جورة و كوفحت حشرة ساق الذرة الصفراء باستخدام مبيد الديازينون المحبب ١٠% نثرا وسط النبات بمعدل ١,٥ كغم . دونم -١ بعد ٢٠ يوم من الزراعة كمكافحة وقائية اما المكافحة الثانية فكانت بعد ١٠ ايام من المكافحة الاولى (اليونس،٢٠١٢) . حلت الصفات الفيزيائية والكيميائية لماء الري بحسب جدول(٢) .

جدول(1): بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل قبل الزراعة.

الوحدة Unite	القيمة Value	الصفة Character
-	8.02	pH
ملغم.م ³ -	1.66	الكثافة الظاهرية
ملغم . كغم ⁻¹ تربة	2.02	الحديد الجاهز
ملغم.كغم ⁻¹ تربة	182.7	البوتاسيوم الجاهز
ملغم.كغم ⁻¹ تربة	٤٣,٥	النتروجين الجاهز

مفصولات التربة	الرمل	١٩٦	غم.كغم- ¹ تربة
	الغرين	٤٨٠	غم.كغم- ¹ تربة
	الطين	٣٢٩	غم.كغم- ¹ تربة
النسجة	مزيجية طينية غرينية		

قُدرت صفات التربة بحسب الطريقة الواردة في (Black، ١٩٦٥a) و (Black، ١٩٦٥b) و (Richards، ١٩٥٤) (Page وآخرون، ١٩٨٢).

جدول (٢) : بعض الصفات لمياه الدراسة المستعملة في الري .

الوحدة Unit	القيمة Value	الصفة Character
-	7.9	pH
دسي سيمنز.م- ¹	1.44	الايصالية الكهربائية
ملي مكافئ.لتر- ¹	3.01	الكالسيوم
ملي مكافئ.لتر- ¹	2.60	البيكاربونات

قُدرت صفات الماء بحسب الطريقة الواردة في (بشور والصايغ، ٢٠٠٧).

تضمنت معاملات التجربة رش أربعة تراكيز من البوتاسيوم (٠، ١٠٠٠، ٢٠٠٠، ٤١.5%K لتر-¹ بهيئة كبريتات البوتاسيوم ٢٠٠٠، ١٠٠٠، ٢٠٠، ٤١.5%K لتر-¹ بهيئة كبريتات الزنك (35%Zn) بهيئة كبريتات الزنك (٠، ٢٢٥، ١٥٠، ٧٥) ملغم Zn.لتر-¹ . رشت المحاليل على الجزء الخضري في الصباح الباكر خلال مرحلة الاستطالة والتزهير وملئ الحبة بحسب جدول (٣) ، واضيفت مادة ناشرة من مسحوق الصابون السائل بمقدار ٥،١سم³ لكل ١٠ لتر مع المحاليل المغذية (العبادي وآخرون،

(٢٠٠٧). تم حساب دليل الكلوروفيل بعد أسبوعين من التزهير الأنثوي (Felix وآخرون ، 2000). اما تركيز البوتاسيوم والزنك فكان في مرحلة النضج التام بعد قطع ورقة العلم وهضمها في المختبر و قدر البوتاسيوم بواسطة جهاز اللهب بينما قدر الزنك بواسطة جهاز الامتصاص الذري (Haynes، 1980). كل الصفات المقاسة اجريت لخمس نباتات من كل وحدة تجريبية ، تم تحليل البيانات احصائيا وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي عند مستوى ٥% (الساهاوكي ووهيب ، ١٩٩٠) باستخدام برنامج Genstat.

جدول (٣) : مواعيد الرش الورقي للزنك للموسم الزراعي الخريفي 2016 .

عدد الرشوات	مرحلة الرش	مواعيد الرش	تاريخ الرش
الرشة الاولى	الاستطالة	بعد 30 من الزراعة	2016 / 8 / 14
الرشة الثانية	التزهير	بعد 60 من الزراعة	2016 / 9 / 14
الرشة الثالثة	ملئ الحبوب	بعد 90 من الزراعة	2016/ 10 / 14

النتائج والمناقشة

١- دليل الكلوروفيل في الاوراق (وحدة SPAD)

يبين الجدول (٤) ان لكل من تراكيز رش البوتاسيوم والزنك والتداخل بينهما تأثير معنوي في زيادة دليل الكلوروفيل في اوراق الذرة الصفراء ، فقد بلغت نسبة الزيادة عند رش البوتاسيوم ٧،٧٢ و ٢٠،٢٥ و ٢٦،٦٤% للتراكيز ٥٠٠ و 1000 و 2000 ملغم K.لتر^{-١} على التوالي ، اذ تفوق التركيز ٢٠٠٠ ملغم K.لتر^{-١} بأعلى معدل في هذه الصفة بلغ ٥١،٣٤ وحدة SPAD قياسا بمعاملة المقارنة والتي اعطت اقل معدل بلغ ٤٠،٥٤ وحدة SPAD ويرجع ذلك لدور البوتاسيوم في تنشيط العناصر الصغرى والمحافظة على الكلوروفيل من خلال تنظيم عملية غلق وفتح الثغور (Cakmak، 2005) كما يساعد البوتاسيوم على امتصاص الحديد والذي ينعكس بدوره على تكوين الكلوروفيل (مهدي ، ٢٠١٤) .

الجدول (٤): تأثير مدى استجابة الذرة الصفراء لرش البوتاسيوم والزنك والتداخل بينهما في متوسط دليل الكلوروفيل (SPAD).

Mean	تراكيز رش البوتاسيوم (ملغم. كغم-١)				K / Zn	
	2000	1000	500	0		
43.00	47.67	45.67	41.00	37.67	0	تراكيز رش الزنك ملغم. لتر-١
46.46	51.33	48.00	44.67	41.83	75	
50.08	56.00	54.33	46.67	43.33	150	
44.76	50.37	47.00	42.33	39.33	225	
	51.34	48.75	43.67	40.54	Mean	
Zn * K	Zn		K		L.S.D	
2.267	1.134		1.134		0.05	

Zn=KZinc= Potassium

اما رش الزنك فقد تفوق التركيز ١٥٠ ملغم Zn لتر-١ بأعلى معدل بلغ ٥٠,٠٨ وحدة SPAD في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ ٤٣,٠٠ وحدة SPAD ، السبب هو ان الزنك يساعد على امتصاص المغنسيوم المهم لتكون الكلوروفيل (Hristozkova واخرون ، 2005) وبناء الحامض النووي RNA (Hafeez واخرون ، ٢٠١٣ ; Uchida ، 2000) . اما الانخفاض عند التركيز ٢٢٥ ملغم Zn لتر-١ الذي بلغ ٤٤,٧٦ وحدة SPAD فيعود الى بداية التأثير السلبي للزنك ، اما التداخل فقد ادى الى الحصول على أعلى معدل بلغ ٥٦,٠٠ وحدة SPAD عند معاملة التداخل ١٥٠ K*Zn 2000 ملغم.لتر-١ مقارنة بمعاملة المقارنة والتي كانت اقل معدل بلغ ٣٧,٦٧ وحدة SPAD.

٢- تركيز البوتاسيوم في الاوراق (%)

يلاحظ في الجدول (٥) ان تركيز البوتاسيوم في الاوراق قد ازدادت معنوياً مع زيادة تراكيز رش البوتاسيوم اذ اعطى التركيز ٢٠٠٠ ملغم K لتر-١ أعلى معدل في نسبة البوتاسيوم بلغ ٣,٠٠٣ % ، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ ٢,٠٤٤

% ، ان سبب زيادة نسبة البوتاسيوم في الاوراق يرجع لدور التغذية الورقية في التجهيز المباشر للبوتاسيوم عند رشه مما زاد من تركيزه في الورقة ومن ثم الانتقال الى اجزاء النبات الاخرى (Kannan ، ١٩٨٦) . كما يوضح الجدول (٥) وجود فروق معنوية عند رش الزنك ، إذ اعطى التركيز ١٥٠ ملغم Zn لتر^{-١} اعلى معدل في نسبة البوتاسيوم بلغت ٢,٩٢٨٤% ونسبة زيادة بلغت ٣٠,٢٨% عن معاملة المقارنة والتي كانت اقل معدل بلغ ٢,٢٤٧٧% ، ويرجع ذلك لدور الزنك في تنظيم امتصاص البوتاسيوم في النبات (فرحان والدليمي ، ٢٠١١). اما الانخفاض عند التركيز ٢٢٥ ملغم Zn لتر^{-١} فيعود الى بداية التأثير السلبي للزنك . ان التداخل بين البوتاسيوم والزنك قد اثر بشكل معنوي في نسبة البوتاسيوم وتم الحصول على اعلى معدل عند معاملة التداخل ١٥٠*ZnK2000 ملغم.لتر^{-١} بلغ ٣,٢٥١٠% مقارنة بمعاملة المقارنة والتي كانت اقل معدل بلغ 1.7403 % والذي لم يختلف معنويا عن معاملات التداخل ١٥٠* Zn 150K1000 ملغم.لتر^{-١} و ٧٥* ZnK2000 ملغم.لتر^{-١} و ٧٥* ZnK1000 ملغم.لتر^{-١} .

الجدول (٥):تأثير مدى استجابة الذرة الصفراء لرش البوتاسيوم والزنك والتداخل بينهما في متوسط تركيز البوتاسيوم (%).

Mean	تراكيز رش البوتاسيوم ملغم.لتر ^{-١}				K / Zn	
	2000	1000	500	0		
2.2477	2.7553	2.4927	2.0023	1.7403	0	راكيز رش الزنك ملغم.لتر ^{-١}
2.6654	3.1100	3.0103	2.5120	2.0293	75	
2.9284	3.2510	3.1217	2.8893	2.4517	150	
2.5015	2.8957	2.7177	2.4377	1.9550	225	
	3.0030	2.8356	2.4603	2.0441	Mean	
Zn * K		Zn		K		L.S.D
0.8249		0.04124		0.04124		0.05

Zn=KZinc= Potassium

٣- تركيز الزنك في الاوراق (ملغم.كغم^{-١})

يشير الجدول (٦) ان تركيز الزنك قد زاد معنوياً مع زيادة تراكيز رش البوتاسيوم وبنسبة زيادة بلغت ٨,٧٢٤ و ١٥,٠٨٤ و ٢٠,٥٤١ % للتركيز ٥٠٠ و 1000 و 2000 ملغم.لتر^{-١} عن معاملة المقارنة على التوالي، اذ اعطى التركيز ٢٠٠٠ ملغم.لتر^{-١} أعلى معدل بلغ ١٤٥,٣٦ ملغم.كغم^{-١} في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ ١٢٠,٥٩ ملغم.كغم^{-١} وان سبب زيادة تركيز الزنك يرجع لدور البوتاسيوم في تشجيع امتصاص الزنك (مهدي، ٢٠١٤). اما رش الزنك فقد أعطى التركيز ٢٢٥ ملغم Zn.لتر^{-١} أعلى معدل في تركيز الزنك بلغ ١٨٨,١٨ ملغم.كغم^{-١} بينما أعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ ٨٥,١٦ ملغم.كغم^{-١}، ان سبب زيادة تركيز الزنك في الأوراق يرجع للتجهيز المباشر لعنصر الزنك عند رشه (Kannan, 1986) الذي زاد من تركيز العنصر في الورقة بشكل كبير الا انه بقي ضمن حدود النبات (علي وشرقي، ٢٠١٠) ومن ثم الانتقال الى اجزاء النبات الاخرى، من جهة اخرى زاد محتواه نتيجة رشه في وسط الزراعة القاعدي الذي يعيق الامتصاص للزنك رغم وفرته في التربة بحسب جدول (١). بالرغم من ان هذا المستوى من الزنك (٢٢٥ ملغم.لتر^{-١}) يفوق حاجة نبات الذرة الصفراء مما سبب حدوث خلل في امتصاص وتوازن العناصر المغذية اي حدوث التضاد بين العناصر مثل الفسفور والحديد والمنغنيز والنحاس وغيرها لكنه قل كلما زاد تراكيز رش البوتاسيوم كونه يساعد في علاج التراكيز العالية للزنك (Yamauchi, 1989) لانه رش البوتاسيوم يساعد على توازن الايونات كالزنك داخل الخلية النباتية (عيسى، ١٩٩٠) من خلال تنشيط امتصاص المنغنيز الذي له دور في عملية الاكسدة والاختزال الخاصة بالزنك في النبات، فضلا عن ان البوتاسيوم يساعد على زيادة امتصاص الكالسيوم الذي بدوره يقلل من امتصاص الزنك وهذا ما يعرف بالتضاد الكمي mass antagonism (سكري واخرون، ١٩٨٨). فضلا عن امتصاص النحاس الذي له دور كبير كعامل منشط في البناء الضوئي (Davis, ١٩٨٣) فضلا عن انه يزيد من امتصاص النتروجين الذي يساعد على بناء البروتينات (طه، ٢٠٠٧) كما يحفز البوتاسيوم امتصاص الفسفور الذي يدخل في بناء مركبات الطاقة ATP مما يعكس في زيادة طاقة النبات لنقل المركبات (El-Sayed وآخرون، ٢٠٠٠).

الجدول (٦): تأثير مدى استجابة الذرة الصفراء لرش البوتاسيوم والزنك والتداخل بينهما في متوسط تركيز الزنك (ملغم. كغم^{-١}).

Mean	تراكيز رش البوتاسيوم (ملغم. كغم ^{-١})				K / Zn	
	2000	1000	500	0		
85.16	103.90	91.57	82.57	62.60	0	تراكيز رش الزنك (ملغم. لتر ^{-١})
112.54	135.70	123.63	104.13	86.70	75	
149.95	164.40	154.10	145.57	135.73	150	
188.18	177.43	185.80	192.17	197.33	225	
	145.36	138.78	131.11	120.59	Mean	
Zn * K	Zn		K		L.S.D	
5.962	2.981		2.981		0.05	

Zn =KZinc= Potassium

لهذا تعد الذرة الصفراء من النباتات ذات الكفاءة العالية في الاستفادة من الزنك و مقاومة سميته لوجود جين رئيسي مع جينات متنحية تؤثر على هذه الصفة (عواد ، ٢٠٠٩) وهذا ماكداه (Sarrwy وآخرون، 2012) إذ اشاروا ان سمية الزنك تعالج بإضافة البوتاسيوم بتركيز عالية. لهذا نجد ان أعلى معدل بلغ ١٩٧,٣٣ ملغم.كغم^{-١} عند معاملة التداخل Zn KO*٢٢٥ ملغم.لتر^{-١} مقارنة بمعاملة المقارنة والتي كانت اقل معدل بلغ ٦٢,٦٠ ملغم.كغم^{-١} وان هذه النسبة قلت كلما زاد تركيز البوتاسيوم المرشوش وصولا الى مستوى ملائم لتركيز الزنك في أوراق نبات الذرة الصفراء وهذا راجع لدور البوتاسيوم المشار له اعلاه .

الاستنتاجات

- ١- اظهرت طريقة الرش الورقي زيادة معنوية في الصفات المدروسة .
- ٢- ان اعلى حاصل تم الحصول عليه من عند معاملة التداخل Zn١٥٠*K٢٠٠٠ ملغم.لتر^{-١} .
- ٣- ان رش الزنك بتركيز ٢٢٥ ملغم.Zn.لتر^{-١} ادى الى انخفاض في دليل الكلوروفيل وتركيز البوتاسيوم بسبب التأثير السلبي للزنك .

- ٤- ان استجابة النبات في حالة التداخل لرش البوتاسيوم بالتراكيز الثلاثة مع التركيز العالي للزنك (٢٠٠ ملغم. لتر⁻¹) كان اكبر من استجابته عند رش التركيز العالي للزنك لوحده الامر الذي ادى الى تقليل التأثير السلبي للزنك تدريجيا.
- ٥- ان جميع التداخلات للصفات المدروسة كانت اكبر من معاملة المقارنة.

التوصيات

- ١- اضافة البوتاسيوم بتركيز ٢٠٠٠ ملغم. K. لتر⁻¹ في جميع مراحل نمو النبات.
- ٢- اضافة الحديد المخلي بتركيز ١٥٠ ملغم Zn. لتر⁻¹ في جميع مراحل نمو النبات.
- ٣- تطبيق نتائج هذه الدراسة على محاصيل اخرى مثل الذرة البيضاء وزهرة الشمس.

المصادر

- الساھوكي ، مدحت مجيد وكريمة محمد وهيب . ١٩٩٠ . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد .
- الساھوكي ، مدحت مجيد . ١٩٩٠ . الذرة الصفراء انتاجها وتحسينها . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد .
- الموسوي ، احمد نجم عبدالله و يوسف محمد ابوضاحي . 2012 . تأثير تجزئة السماد البوتاسي والماء الممغنط في نمو وحاصل الذرة الصفراء. *Zea mays L* . مجلة جامعة كربلاء العلمية. 10(1):222-228.
- العبادي ، جليل سباهي؛ حمد محمد صالح و حسن شلش سعدون . 2007 . العناصر النادرة واستخدامها رشا على جميع المحاصيل الزراعية . نشرة ارشادية رقم (41) . جمهورية العراق . وزارة الزراعة . الهيئة العامة للارشاد والتعاون الزراعي .
- اليونس ، عبد الحميد احمد . ٢٠١٢ . زراعة الذرة الصفراء في العراق . الانترنت .
- بشور، عصام وانطوان الصايغ . ٢٠٠٧ . طرق تحليل ترب المناطق الجافة وشبه الجافة. منظمة الاغذية والزراعة الدولية. روما.
- سكري ، فيصل عبد القادر؛ فهيمة عبد اللطيف ؛ احمد شوقي و عباس ابوطبيخ . ١٩٨٨ . فسيولوجيا النبات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . كلية العلوم . جامعة بغداد .
- طه ، اوراس محي . ٢٠٠٧ . تأثير اضافة النتروجين والبوتاسيوم الى التربة وبالرش في تراكم المادة الجافة وتراكيز النتروجين في المجموع الخضري لنبات الحنطة *Triticumaestivium* L. مجلة كلية التربية الاساسية . العدد (٥٢) :٤٥٥-٤٦٨ .

- عبد الامير، اسامة قاسم و شذى عبدالحسن احمد .٢٠١٣. تأثير الشد المائي والبيوتاسيوم في الحاصل ومكوناته وكفاءة استخدام الماء لزهرة الشمس .مجلة العلوم الزراعية العراقية .٤٤(٥):٥٨٨-٥٩٩.
- علي ، فوزي محسن و حنين شرتوح شرقي .٢٠١٠. تأثير التسميد الورقي بالزنك والحديد في نمو وحاصل الذرة البيضاء *Sorghum bicolor* L. ومحتوى الاوراق والبذور من الزنك والحديد .مجلة الانبار للعلوم الزراعية .٨(٤):١٣٩-١٥٠. عدد خاص بالمؤتمر .
- عواد ، حسن عودة .٢٠٠٩. وراثه وتربية المحاصيل لتحمل الاجهاد البيئي(الجزء الثاني). المكتبة المصرية للنشر والتوزيع.مصر.
- عيسى ، طالب احمد.١٩٩٠. فسيولوجيا نباتات المحاصيل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.جامعة بغداد. (مترجم).
- فرحان ، حماد نواف و ثامر مهدي بدوي الدليمي . 2011 . تأثير التسميد الورقي ببعض المغذيات الصغرى على نمو وانتاجية القمح (*Triticumaestivum*L.) . المجلة الاردنية في العلوم الزراعية .7(1):105-118.
- مهدي ، عمار صادق .٢٠١٤. تأثير رش الحديد والزنك في نمو وحاصل السمسم. مجلة العلوم الزراعية العراقية .٤٥(١):١٨-٢٥.
- Black,C.A.1965a.Methods of soil analysis part (1).Physical and mineralogical soil properties. American Societed of Agronomy Inc.puplisher ,Madison,Wisconsin,USA.
- Black,C.A.1965b.Methods of soil analysis part (2).Chemical and microbiological soil properties . American Societed of Agronomy Inc.puplisher ,Madison,Wisconsin,USA.
- Cakmak ,I. 2005.The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plant .Journal of plant nutrition .Soil Sciences .168:521-530.
- Celik,H.;Asik,B.B.;Gurel,S. and Katkat,A.V. 2010 a .Effect of Potassium and Iron on macro element uptake ofMaize.TurkijosUludag Universitetas.zemdirbyste-Agriculture.97(1):p.11-22.
- Celik,H.;Asik,B.B.;Gurel,S. and Katkat,A.V. 2010 b .Potassium as an Intensifying Factor for Iron Chlorosis.International Journal of Agriculture and Biology. TurkijosUludag Universitetas.12:364-359.
- Davis,F.R.1983.Micronutrients and plant nutrition.J.American Rhododendron Society.37(1).75-82.
- EL-Sayed,A.A ; Fawzi,A. and Khalifa,K.E.2000.Balnced nutrition of lentil:Role potassium and micronutrients foliar spray.proc. of the 2^{ed} Intl. Workshop of foliar fertilization .Bangkok.Thailand.p210-227.
- Felix,L. ؛Grabosky ,J.andBassuk.N. 2000. Use of the Minolta SPAD-502 to determine chlorophyll concentration in *Ficusbenjamina*L. and *Populus deltoids* Marsh leaf tissue .Hort Sci. 35(3):423-424.

- Gul , H.; Said , A. ; Saeed , B. ; Mohammad , F. and Ahmad ,I. 2011 . Effect of foliar application of nitrogen ,potassium and zinc on wheat growth. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science.6(4):56-58.
- Hafeez ,B.; Khanif ,Y.M. and Saleem ,M. 2013 .Role zinc in plant nutrition – A Review. American Journal of Experimental Agriculture .3(2):374-391.www.sciencedomain.org.
- Hanyes,R.L.1980.A Comparison of two modified kjeldhal digestion techniques for Multi-element plant analysis with conventional wet and dry ashing methods Comm.SoilSci.Plant Analysis.11(5):459-467.
- Haytova , D.2013.Areview of foliar fertilization of some vegetables crop.Annual Review and Research in Biology .3(4):455-465.
- Hristozkova ,M.; Stancheva ,I. and Geneva ,M. 2005 .Responses of inoculated pea plant (*Pisumsativum* L.) to foliar fertilizer application with elevated concentration .Ecology and Future .1:14-17.
- Kannan, S. 1986. A foliar absorption and transport of inorganic nutrient. C.R.C. Crit. Rev. plant. Sci. 4: 341-375.
- License, S. A. 2008. Maize from new world encyclopedia .Organizing knowledge for happiness,prpsperity and world peace.[http://www.New world enclopedia. Org](http://www.Newworldenclopedia.Org) . maize.
- Mandic , V. ; Krnjaja,V. ; Bijelic, Z. ; Tomic,Z. ; Simic, A. ; Stanojkovic,A. ; Petricevic,M. and Caro-Petrovic ,V. .2015.The effect of crop density on yield of forage maize .Biotechnology in animal husbandry. Belgrado-Zemun. 31(4):567-575.
- Martin,P.2002.Micronutrient deficiency in Asia and the pacific Borax Europe limited.UK .AT.2002.IFA.Regional Conference for Asia and the Pacific . Singapore .Novermber.18-20 .
- Page,A.L.;Miller,R.H. and Kenney,D.R.1982.Methodes of soil analysis part (2).Chemicaland microbiological properties , American.Societed of Agronomy.Madison.Wisconsin.
- Rafat ,N;Yarnia ,M. and Panah,D.H.2012.Effect of drought stress and potassium humat application on grain yield related traite of corn (CV.604).J. of food Agic .and Environment. 10(2):580-584.
- Richards ,L.A.1954 .Diagnosis and improvement of saline and alkaline soile .USDA.Hand book .No.60.USDA,Washington DC.

- Romhold, V. and El-Fouly, M.M. 2000. Foliar Nutrient application challenge and limits in crop production (Publ) 2nd. International Workshop on foliar fertilization. Bangkok, Thailand. p.1-33.
- Salem, H.M. and El-Gizawy. 2012. Importance of Micronutrients and its Application Methods for Improving Maize (*Zeamays* L.) Yield in Clay Soil. American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci. 12(7):954-959.
- Sarawy, S.; El-Sheikh, M.; Kabeil, S. and Shamse, A. 2012. Effect of foliar application of different potassium forms supported by zinc on leaf mineral contents, yield and fruit quality of "Balady" Mandrinetrees. Middle-East J. of Sci. R. 12(4):490-498.
- Sharma, T.; Dreyre, I. and Riedelsberger, J. 2013. The role of K⁺ channels in uptake and redistribution of potassium in the model plant *Arabidopsis thaliana*. Frontiers in Plant Science. 4: 1-9.
- Tony, W. 2006. Growing food. A guide to food production. pp. 333.
- U.S.D.A. 2014. World agricultural supply and demand estimates. The world agricultural outlook board. U.S.A.
- Uchida, R. 2000. Essential nutrients for plant growth: nutrient functions and deficiency symptoms. Univ of Hawaii at Manoa. chapter 3. pp. 32.
- Vazin, F. 2012. Effect of zinc sulfate on quantitative and qualitative characteristics of corn (*Zea mays* L.) in drought stress. Cercetariagronomice in Moldova. 45(3):15-24.
- Wang, M.; Zheng, Q.; Shen, Q. and Guo, S. 2013. The critical role of potassium in plant stress response. INTERNATIONAL J. of Molecular Sc. 14:7370-7390.
- Yamauch, M. 1989. Rice bronzing in Nigeria caused by nutrient imbalances and its control by potassium sulfate application. Plant and Soil. 117(2):275-286.

دراسة تأثير العسل على قيمة السكر في الدم مقارنة مع السكر المصنع في الفئران البيض المستحدث فيها مرض السكري

*Study the effect of honey on the value of sugar
in the blood compared with the sugar plant in
the white mice that developed diabetes*

م.م. قتيبة حمادي محمود السامرائي

جامعة سامراء- كلية العلوم التطبيقية – قسم التحليلات المرضية

Assistant teacher: Qutaiba Hommadi Mahmood Al-Samarraie

University of Samarra- Col. of Applied Sciences-Dep. of Pathological Analytical

qutaiba.hommadi@gmail.com

الخلاصة

في بحثنا هذا استخدمنا عسل النحل الهجين (الكرينولي والايطالي) المربى على ازهار الحمضيات بتركيز ١٠٠% وتركيز ٥٠% (٥ مل من العسل مع ٥ مل من الماء المقطر) والسكر المصنع (المذاب في الماء) على عدد من الفئران والمكررات فيها كان لكل حالة ثلاث فئران وكانت هذه الفئران معزولة عن بعض لضمان عدم حصول خلط بين انواع الأغذية والفئران، وفي هذه الدراسة تم استخدام مجموعتين مجموعة تعطى علاج لمرض السكري قبل التغذية وأخرى لا تعطى علاج. وكان استحداث مرض السكري في الفئران بواسطة استخدام مادة الالوكسان Alloxan التي تعمل على تعطيل خلايا بيتا في جزر لانكرهانز في البنكرياس وبذلك يتوقف انتاج الأنسولين.

وكانت النتائج تدل على ان العسل ١٠٠% هو لا يعمل على ارتفاع نسبة السكر في الدم ويكون اقرب للنسبة قبل التغذية في العسل سواء كان ذلك بأخذ العلاج ام بغير

علاج، العسل بتركيز ٥٠% فقد رفع نسبة السكر في الدم ولكن كان هذا الارتفاع طفيفاً، أما السكر فقد رفع نسبة السكر في الدم بشكل كبير جداً ولمحوظ وكان هذا الارتفاع في حالة استخدام العلاج او عدم استخدامه.

Abstract

Study the effect of honey on the value of sugar in the blood. In our research, we used hybrid bee honey (Crisol and Italian) citrus flowers mixed on 100% , 50% concentration (5 ml of honey with 5 ml of distilled water) and processed sugar (dissolved in water) on a number of mice. These mice were isolated from each other to ensure that there was no mixing between kinds of mice and kinds of food. In this study, two groups were used to treat diabetes before nutrition and others were not treated. The development of diabetes in rats by the use of Alloxan, which works to disrupt the beta cells in the Islands of Langerhans in the pancreas and thus stop production of insulin.

The results indicated that honey 100% is not working on high blood sugar and be closer to the proportion before nutrition in honey, Whether by taking the treatment or not, honey concentration of 50% has raised the proportion of sugar in the blood, but this increase was slight, Sugar raises the blood sugar level very much and was noticeable whether we use the treatment or not.

المقدمة:-

العسل مركب معقد يحتوي على أكثر من (٦٨) عنصر أساسياً والبيعض الآخر أكد أنه يحتوي على (٨٨) عنصراً منها السكريات (Carbohydrate) ومائيات الكربون والبروتين (Protean) والأملاح المعدنية (Material salt) والبوتاسيوم

(Potassium) والكالسيوم (Coliseum) وبعض الدهون معقدة التركيب الكيميائي. وهو بشكل عام يميل إلى اللون الذهبي الصافي أو اللون البني أو اللون المائل إلى السواد ويعتبر مادة محلاة أكثر من ضعفي السكر العادي نسبة لنفس الحجم أو المقدار وإضافة إلى احتوائه على هرمونات (Hormone) وفيتامينات (Vitamins) وأحماض أمينية (Amino acid) ومواد عطرية ومضادات أكسدة (Antioxidation). والعسل لا يصبح عسلاً طبيعياً إلا بعد تخميره وتجهيزه في معدة النحلة لأنه يختلط بالعديد من الإنزيمات كما يفقد نسبة كبيرة من رطوبته. ولا يدعى العسل بالعسل إلا إذا مر في معدة النحلة وإلا فهو لا يحمل أسم العسل وإنما إسم المواد الأخرى أي يصبح دبساً. والدبس هو المادة المستحضرة من الفواكه والتمور والمواد الغذائية الحلوة الأخرى (شاكر، ١٩٨٦).

ويتميز العسل بعدة مميزات منها كونه حلو المذاق، قوامه يتراوح بين الجامد والسائل حسب نوع العسل ودرجة الحرارة السائدة في الجو ومحتواه من الماء، بشكل عام تقدر كثافة العسل النوعية بـ(١،٤٢) فهو أثقل من الماء بـ(٠،٤٢) % وهذه الكثافة تختلف باختلاف نوع الرحيق وتركيبه الكيميائي، ويكون تأثير العسل حامضي والأس الهيدروجيني له (٢،٣-٤،٥)، لا تزيد نسبة رطوبته على (٢٥) %، وله قابلية كبيرة على امتصاص الرطوبة من الجو ويكون لونه ناتجا عن مكونات ذائبة في الماء من أصل نباتي مفرزة من الرحيق وهي عبارة عن الكلوروفيل والكاروتين والزانثوفيل وغيرها ويتوقف وجودها على نوع النبات والظروف الجوية ويغمق لون العسل إذا اشتدت حرارة الشمس في موسم الرحيق أو إذا حزن في أوراق شمعية داكنة، ويتغير لون العسل إذا حفظ في أوعية تسمح بمرور الضوء من خلالها، وتتراوح ألوان العسل من عسل عديم اللون كعسل البرسيم الحجازي إلى عسل أسود كعسل السمير (السامرائي، ٢٠١٢).

ويتكون العسل من مكونات كثيرة حيث وجد العلماء والباحثين إن العسل يختلف في تركيبه الكيميائي ومن حيث نسب السكريات (Carbohydrate) والرطوبة والأحماض (Acids) والأملاح (Salts) والفيتامينات (Vitamins) وبعض المركبات الأخرى باختلاف مصادر الغذاء التي تجمع منها العسل، كما يختلف أيضا في لونه وطعمه ودرجة الحموضة (Acidic) فيه. إلى إن بعض الباحثين أضافوا لهذه الاختلافات عوامل أخرى مثل سلالة النحل، والظروف الجوية، والبيئية، وخواص التربة. وقد تبين إن النتائج التي أوردها الباحث جاءت مقاربة للنتائج التي أوردها

الدكتور ديمي شوفان مع اختلاف بسيط في بعض النسب، والحقيقة إن كلا الباحثين كان مصيبا في تحليله، وان الفروق في النسب إنما تعود لسبب وجيه هوة اختلاف المرعى ونوع الزهور وسلالة النحل التي تغذت على تلك المصادر وقد أورد الأستاذ علي المصري في كتابه مملكة النحل نتائج الباحث براون على النحو التالي:

سكر الفركتوز أو سكر الفاكهة (Fructose)	٤٠,٥%
كلوكوز أو سكر عنب (Glucose)	٣٤,٠٢%
سكروز أو سكر قصب (Sucrose)	١,٩%
ماء (Water)	١٧,٧%
دكسترين و صموغ (Decstrin)	١,٥%
رماد (حديد، نحاس، سيلكا، منغنيز، كلورين، كالسيوم، بوتاسيوم، فوسفور، كبريت، المنيوم، مغنيسيوم)	٠,١٨%
مواد غير معروفة	٤,١٩%

(أبو عيانة والمزين، ٢٠٠٩؛ عبد الغني، ٢٠٠٩؛ الحسنواوي، ٢٠١٠؛ النجار، ٢٠١٠).

الجزء العملي :-

تم اخذ ٣٦ فأرة بيضاء مقسمة على طيل فترة الدراسة حيث كان لكل عينة دراسة ٣ فئران (مكررات) معزولة على حدى لضمان عدم حصول اختلاط بينها من ناحية العلاج والتغذية، وكان تجهيز مادة الالوكسان Alloxan بأذابة ٠,٠٠٣ غم من المادة في ٥ مل من الماء المقطر مع التحريك المستمر لحين تحول لون الخليط الى اللون الشفاف وبعد هذا التحول اللوني يتم حفظها في ظروف مظلمة وجافة لضمان عدم تغير فعالية هذا الخليط. وتم حقن الفأر بكمية ٠,١٢ مل من هذا الخليط تحت الجلد في اسفل البطن وتم قياس السكر في الدم لضمان حصول تعطيل عمل الانسولين. وكان تجهيز تراكيز العسل (عسل الحمضيات) بإذابة ٢,٥ مل من العسل في ٢,٥ مل من

الماء المقطر وبذلك تم الحصول على تركيز ٥٠% من العسل، أما التركيز ١٠٠% فهو بدون أي إضافة. والسكر المذاب كان تجهيزه بإذابة ٢٠ غم من الكلوكوز في ١٠ مل من الماء وتم وضعه على سطح حار مع التحريك المستمر لضمان حصول التجانس بين الخليط.

النتائج والمناقشة :-

تم قياس نسبة السكر في الدم لـ ١٥ فأرة تم اختيارهم بشكل عشوائي وكانت معدل نسبة السكر في الدم هي ٥٧ ملغم/دسل وبعدها تم حقن نفس الفئران التي تم قياس نسبة السكر في الدم فيها بمادة الالوكسان ثم قمنا بقياس نسبة السكر لها بعد ٢٤ ساعة من الحقن وكانت نسبة السكر هي ١٦٤ ملغم/دسل وبذلك تم ضمان فعالية مادة الالوكسان لان هذه المادة تعمل على ابطال عمل الانسولين من خلال تعطيل عمل خلايا بيتا في جزر لانكرهانز في البنكرياس (السامرائي، ٢٠١١).

*نسبة السكر في الدم عند التغذية بدون استخدام العلاج :-

تم الحصول على نسب السكر في الدم كما موضح في الجدول ادناه وكانت هذه القراءات بدون اعطاء الفئران علاج مرض السكري قبل التغذية.

القياس بعد ثلاث ساعات		القياس بعد ساعتين		بدون العلاج
التغذية بالسكر	التغذية بالعسل ١٠٠%	التغذية بالسكر	التغذية بالعسل ١٠٠%	نسبه السكر قبل التغذية
٢٣٢	١٥٦	٢٠١	١٦٤	١٦٠

تم تجويع الفئران لمدة ٦ ساعات ثم بعد ذلك تمت التغذية بالعسل ١٠٠% حيث كانت نسبة ارتفاع السكر بالدم في الفئران المتغذية على العسل ١٠٠% هي ١٦٤ ملغم/دسل وهي اقرب لنسبة السكر في الدم قبل التغذية ١٦٠ ملغم/دسل واقل بكثير في الفئران المتغذية على السكر ٢٣٢ ملغم/دسل وكان هذا القياس بعد ساعتين من التغذية وقد يعزى ذلك لأحتواء العسل على نسبة عالية من السكريات السريعة التمثيل الايضى مثل الفركتوز والكالكتوز وكانت هذه النتيجة قريبة لما حصل عليه kadiruelu & gurtu في ٢٠١٥ عندما أجروا بحثهم تأثير عسل نحل الحمضيات على نسبة السكر في الدم في ماليزيا وكان هناك فرق طفيف في النسب عما حصل عليه Enginyurt وجماعته في ٢٠١٧ عندما استخدموا عسل اليوكالبتوس وقد يعزى هذا الأختلاف الى ان عسل اليوكالبتوس نسبة اقل من الفركتوز والكالالكتوز. اما خليط السكر المذاب فإنه

قد رفع نسبة السكر في الدم أكبر بكثير من العسل حيث كانت النتيجة هي ٢٠١ ملغم/دسل وكان هذا الارتفاع الكبير في نسبة السكر هو نتيجة صعوبة تمثيله الغذائي بسبب انعدام الأنسولين بفعل مادة الالوكسان وكانت هذه النسب نفس ما حصل عليه Erejuwa وجماعته في ٢٠١٢ عندما استخدموا السكر مقارنة مع العسل الماليزي على فعالية بعض هرمون الأنسولين وبالتالي حصلوا على ارتفاعات عالية في نسب السكر في الدم. وتم القياس لنسب السكر في الدم بعد ثلاث ساعات من التطعيم وكانت النسبة هي ١٥٦ ملغم/دسل وهذه مطابق لما حصل عليه Abdallrhman في ٢٠١٦ عندما درس التغيرات الحاصلة في نسب السكر في الدم لعسل النحل المربي على الحمضيات حيث حصل على نتيجة مشابهة لنفس النتائج التي تم الحصول عليها في بحثنا وقام بقياس نسبة السكر في الدم بعد ثلاث ساعات لضمان التمثيل الغذائي الكامل للعسل. اما بالنسبة لقياس لسكر بعد ثلاث ساعات ٢٣٢ ملغم/دسل وهذا يدل على أنعدام الانسولين في الدم وزاد تركيز السكر في الدم وقد تم ملاحظة موت هذه الفئران بعد ساعات قليلة نتيجة ارتفاع السكر وهذا ما حصل عليه (Shariff et al, 2011) عندما استخدموا الكلوكوز المصنع في تأثيره على نسبة السكر.

كانت النتائج عند التغذية بتركيز العسل ٥٠% والسكر المذاب كما موضحة في الجدول ادناه مع عدم اعطاء الفئران علاج السكري قبل التغذية.

القياس بعد ثلاث ساعات		القياس بعد ساعتين		بدون العلاج
التغذية بالسكر	التغذية بالعسل ٥٠%	التغذية بالسكر	التغذية بالعسل ٥٠%	نسبه السكر قبل التغذية
٢٣٢	١٧٧	٢٠١	١٨٤	١٦٠

كانت نسب السكر في الدم عند التغذية بالعسل ٥٠% اعلى من نسب السكر عند التغذية بالعسل ١٠٠% حيث كانت نسبة السكر في الدم عند القياس بعد ساعتين من التغذية هي ١٨٤ ملغم /دسل لأن التمثيل الغذائي كان أقل من التمثيل العسل ١٠٠% لأن عند تجانس العسل مع الماء المقطر فقد دفع ذلك الى حصول تفكك أو تحلل لبعض المركبات التي قد كانت بشكل جزيئات أكبر مثل السكريات الثنائية التي حصل لها تحلل مائي تنتج عنها سكريات أحادية وهذه القيم السكر في الدم التي تم الحصول عليها كانت مطابقة لما حصل عليه Bobis وجماعته في ٢٠١٤ عندما استخدموا التراكيز المختلفة للعسل الروماني لنوعي مرض السكري الأول والثاني وكانت النتيجة للقياس بعد ثلاث ساعات هي ١٧٧ ملغم/دسل وكانت مقارنة لما حصل عليه Enginyurt

وجماعته في ٢٠١٧ عندما استخدموا عسل اليوكالبتوس وقد يعزى هذا الاختلاف الى ان عسل اليوكالبتوس نسبة اقل من الفركتورز والكالاكوتوز.

*نسبة السكر في الدم عند التغذية مع استخدام العلاج :-

في الجزء من البحث تم أخذ علاج مرض السكري الشائع في الأسواق وكان من اخذ المادة الفعالة لعلاج من الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية – سامراء والتي هي Glibenclamide BP وكانت بشكل مسحوق وتم اذابة ١٠٠ مليغرام من العلاج في ١٠ مل من الماء المقطر وتم وضعها مع الماء الشرب الخاص في الفئران وفي هذا الجزء تم تعطيش وتجويع الفئران ثم بعد ذلك تعطى الماء والعلاج ثم بعدها بنصف نبدأ بالتغذية بالعسل ذو التركيز ١٠٠% والسكر المذاب وكانت النتائج التي تم الحصول عليها لقياس نسبة السكر في الدم هي كما موضحة في الجدول ادناه.

مع العلاج		القياس بعد ساعتين		القياس بعد ثلاث ساعات	
نسبه السكر قبل التغذية	التغذية بالعسل ١٠٠%	التغذية بالسكر	التغذية بالعسل ١٠٠%	التغذية بالسكر	التغذية بالعسل
١٥٥	١٥٨	١٨٥	١٤٩	١٨٠	

كانت نسب السكر في الدم المقاسة بعد أخذ العلاج والتغذية على العسل بتركيز ١٠٠% بعد التغذية بساعتين قريبة من النسبة قبل التغذية دل على ان التمثيل الغذائي للعسل سواء كان العلاج موجوداً أو غير موجود كان كاملاً وكانت النسبة للسكر في الدم هي ١٥٨ ملغم/دسل، وهذه النسب مطابقة لما حصل عليه Naznin وجماعته في ٢٠١٧ عندما استخدموا أنواع العسل وتأثيرها على قيمة السكر في الدم وكان عسل الحمضيات أقلها تأثيراً، وكانت مقارنة لما حصل عليه Kadervelu & Gurtu في ٢٠١٣ و Abdulrahman في ٢٠١٣ عنما استخدموا عسل السدر وتأثيره على مرض السكري. أما بالنسبة للتغذية على السكر فقد كانت النسبة هي ١٨٥ ملغم/دسل وهذه تعتبر أقل بكثير من النسبة من دون علاج وهذا الذي دل على ان التمثيل للسكر كان اكثر من السابق بسبب علاج الأنسولين الصناعي المعطى عن طريق الفم وهذا النتيجة مما حصل عليه Erejuwa وجماعته في ٢٠١٢ عندما تأثير السكر باستخدام العلاج على مرضى السكري. وكانت النتائج لنسب السكر في الدم بعد ثلاث ساعات اقل من النسبة قبل التغذية وهذا يدل على ان العسل ساهم في خفض السكر من تمثله نهائياً وهذا يدل على ان العسل سريع التمثيل وهذا مطابق لما حصل عليه

Hemmati وجماعته في ٢٠١٥ عندما استخدموا تأثير العسل على بعض المتغيرات الكيموحيوية في الجسم. أما التغذية على السكر فقد زاد تمثيله على ما هو قبل ساعتين وكانت النسبة هي ١٨٠ ملغم/دسل وهذا يدل على مفعول الدواء في تقليل النسبة للسكر في الدم وهذه مقارنة لنتيجة Shariff وجماعته في ٢٠١١ عندما استخدموا السكر المصنع في تغيير نسبة السكر مقارنة مع العسل باستخدام بعض الاعشاب.

أما بالنسبة لاستخدام العسل بتركيز ٥٠% في التغذية بعد تطعيم العلاج فقد كانت النتائج كما موضحة في الجدول أدناه

القياس بعد ثلاث ساعات		القياس بعد ساعتين		مع العلاج
التغذية بالسكر	التغذية بالعسل ٥٠%	التغذية بالسكر	التغذية بالعسل ٥٠%	نسبه السكر قبل التغذية ١٥٥
١٨٠	١٦٦	١٨٥	١٦٩	

كانت الفارق ما بين النسبتين (قبل التغذية وبعدها) اقل من الفارق بينهما في حالة عدم وجود علاج وكانت النسبة بعد ساعتين من التغذية ١٦٩ ملغم/دسل وهذا دل على ان العلاج ساعد في زيادة التمثيل الغذائي للعسل بتركيز ٥٠% وهذا مقارب لما حصل Kosternoy & Bayumi في ٢٠١٥ عندما اعتمدوا تخافيف العسل للحفاظ على مستوى السكر في الدم خشية الأنخفاض نتيجة العمليات الجراحية فكان ذو فعالية ايجابية على الحفاظ على مستوى السكري، وكانت النتائج بعد ثلاث ساعات من التغذية هي ١٧٧ ملغم/دسل اقل من القراءة قبل ساعتين لان ذلك دل على ان التمثيل الغذائي زاد عما سبق وكانت هذه النتائج مطابقة لما حصل عليه Enginyurt وجماعته في ٢٠١٧ عندما استخدموا عسل اليوكالبتوس وقد يعزى هذا الاختلاف الى ان عسل اليوكالبتوس نسبة اقل من الفركتوز والكالاكروز عندما استخدموا العلاج السكري للملاحظة الأختلافات في نسب السكر.

المصادر:-

- أبو عيانة، رمزي عبد الرحيم؛ المزين، جمال علي(٢٠٠٩). منتجات نحل العسل غذاء ودواء. إبداع للإعلام والنشر، القاهرة، جمهورية مصر العربية.
- الحسنوي، منتصر صباح (٢٠١٠). عسل النحل غذاء كاف وشفاء شاف. الطبعة الثانية. دار المعارف الحديثة، الإسكندرية، جمهورية مصر العربية.
- السامرائي، قتيبة حمادي محمود (٢٠١٢) . الخصائص المنطقية لعسل النحل الهجين وبعض الصفات الكيموحيوية التثبيطية له على بعض الأحياء المجهرية الممرضة للإنسان . كلية العلوم. جامعة تكريت.
- السامرائي، محمد حميد محل (٢٠١١). دراسة تأثير المستخلصين المائيين لبذور نباتي العنب والحلبة على بعض المتغيرات الكيموحيوية في الفئران المستحدث فيها داء السكري وفرط الحديد. كلية العلوم. جامعة تكريت.
- شاكر، نوال (١٩٨٦). العسل غذاء ودواء. مطابع البيان التجارية، دبي، الإمارات العربية المتحدة.
- عبد الغني، وليد (٢٠٠٩). نحل العسل ومنتجاتها وفوائدها الطبية. دار الرضوان، حلب، سوريا.
- النجار، زغلول راغب محمد (٢٠١٠). الحيوان. جار المعرفة للطباعة والنشر، بيروت، لبنان.
- **Abdulrhman, Mamdouh (2013). Honey Therapy in a Patient Volunteer with Type 2 Diabetes Mellitus: Case Report. Clinical Trials. Volume 3 . Issue 4 .**
- **Abdulrhman, Mamdouh Abdulmaksoud (2013). Honey as a Sole Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. Endocrinology & Metabolic Syndrome. Volume 5 . Issue 2.**
- **Bobiş, Otilia ; Daniel S. Dezmirean; Adela Ramona Moise (2013). Honey and diabetes: the importance of natural simple sugars in diet for preventing and treating different type of diabetes. International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health. Vol. 5 No. 4.**
- **Enginyurt, Ozgur; Lutfullah Cakir; Ahmet Karatas; Soner Cankaya; Yasemin Kaya; Handan; Tugcu H; Dogan Iscanli M; Necda Cankaya & Seyma Yarilgac (2017). The role of pure honey in the treatment of diabetes mellitus. Biomedical Research. India. Volume 28 Issue 7.**

- Erejuwa, Omotayo O.; Siti A.Sulaiman; Mohd S. Ab Wahab (2012). Honey A Novel Antidiabetic Agent. International journal of biological sciences.
- Hemmati, Mina; Mehdi Karamian and Mohammad Malekaneh (2015). Anti-atherogenic Potential of Natural Honey: Anti-diabetic and Antioxidant Approaches. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 3 (2015) 278-284.
- Kadirvelu, Amudha& Sunil Gurtu (2013). Potential benefits of honey in type 2 diabetes mellitus: A review . International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health. Vol. 5 No. 4.
- Kosternoy, Alexander and Emad K. Bayumi (2015). Use of Honey in Management of Diabetic Foot Infection: Patient's Satisfaction and Outcome. Journal of Surgery 3(2-1): 42-47 .
- Lubna Naznin; Muhammad Rabiul Hossain; Debashish Saha; Sarmin Sultana and Mreenal Kanti Sarkar (2017). Glycemic Effects of Honey Compared to Glucose Using Standard OGTT. Journal of Enam Medical College. Vol 7 No 2 May 2017.
- Sheriff, M.; M. A. Tukur; M.M. Bilkisu; S. Sera and A.S. Falmata (2011). The effect of oral administration of honey and glucofage alone or their combination on the serum biochemical parameters of induced diabetic rats. Research in Pharmaceutical Biotechnology Vol. 3(9), pp.118-122, October 2011.

تنمية مجموعة من البكتريا على الأوساط الزراعية
القياسية والأوساط المصنعة محلياً (قشور الباذنجان)
ومعرفة التغيرات الوراثي بتقنية Finger printing

Developing a group of bacteria on the standard cultural media and the manufactured local medium (Eggplant Aubergine) and detecting the genetic changes by using finger printing technology .

ا.د. رشيد حميد حسن

حذيفة ارحيم علوان

كلية التربية / جامعة سامراء

Rasheed H.Hassan

College of Education/Samarra university

Huthaifa R.Alwan

College of Education/Samarra university

الملخص

اجريت الدراسة في مختبرات قسم علوم الحياة في كلية التربية – جامعة سامراء للمدة من 5 ايلول 2016 الى 1 ايار 2017 . وتضمنت استخدام وسط قشور الباذنجان *Solanum melongena* في تنمية الاحياء المجهرية . حيث استخدم خمسة انواع من البكتيريا، وهي *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* و *Streptococcus pneumoniae* و *Staphylococcus aureus*

والمايكروبات على الوسط المصنع. وكان اعلى معدل نمو لبكتريا *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* حيث بينت النتائج امكانية تنمية هذه البكتريا على الوسط المصنع. وكان اعلى معدل نمو لبكتريا *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* (+++) وتليها بكتريا *S.aureus* (++) و *S.pneumonia* (+). فضلاً عن استخدام تقنية Finger printing لمعرفة التغيرات الوراثية لبكتريا *K.pneumoniae* و *E.coli* من خلال النتائج بين عدم وجود تغيرات وراثية لهذه الانواع مقارنة بالاوساط القياسية .

Abstract

This study has done in the laboratories of the Department of the biological Sciences in the College of Education – university of samarra , for the period from September 5 - 2016 to may 1 - 2017 it is included using the medium of *Eggplant Aubergine* (*solanum melongena*) in the development of microorganism . Five species of bacteria are used ; *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*,,The results showed the possibility of developing these microorganism on the manufactured medium.The highest growth ratio of bacteria occurred in *Klebsiella pneumonia* , *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*(+++),and followed by *Staphylococcus aureus* (++) , and followed by *Streptococcus pneumonia*(+). it is also used a Finger printing *K. pneumonia* and *E. coli* – the results also appeared there are a few changes in these species in comparison with the standard media

المقدمة :

تعتمد تنمية الأحياء المجهرية وخصوصاً البكتريا المرضية والفطريات على استعمال أوساط زرعيه غذائية بسيطة أو معقدة توفر الطاقة اللازمة للعمليات الحيوية لهذه الأحياء (الزبيدي، 2000) حيث قادت العديد من الدراسات وخاصة دراسة العالمين Koch وPastor إمكانية تنمية البكتريا بإستخدام أوساط زرعيه مناسبة خارج جسم الكائن الحي (Stanier.,1987) إن عملية تنميه الاحياء المجهرية في المختبر تتطلب توفر جميع الاحتياجات الغذائية التي تحتاجها هذه الكائنات وهذه الاحتياجات موجودة في الأوساط الزرعوية (Culturemedia) الداخلة في تكوين مجموعة من المركبات بشكل خليط متوازن من المواد الغذائية التي تحتاجها الأحياء المجهرية بنسب معينة وتسمح بنمو جيد (الزبيدي،2000) وتعتبر الأوساط الزرعوية الخاصة بتنمية الاحياء المجهرية ذات أهمية في عزل وتشخيص هذه الاحياء ودراستها (Difco manuell.,1999) إن بداية الاهتمام بهذه الأوساط كان في النصف الثاني من القرن التاسع عشر ولايزال الباحثون حتى الوقت الحاضر يعملون على تخليق او تصنيع أوساط جديده سواء كانت أوساط طبيعية (Synthetic media) او نصف تركيبية (Semi synthetic media) مصنعة (Pirt.,1999;Cruckshank.,1975). إن الاحياء المجهرية تنمو وتتكاثر أينما تتوفر الظروف الملائمة لذلك من عناصر كبيرة (C,H,O,N,P) ورقم هيدروجيني PH ودرجة حرارة (الخفاجي، 1990) . تقسم الأوساط الزرعوية لقسمين رئيسيين: الأوساط الطبيعية (Nutural media) والأوساط التركيبية (Synthetic media) وتستخدم الأوساط الطبيعية على الغالب بتنمية الجراثيم متغايرة التغذية (Heterotroph) فهي تتكون من مواد كيميائية وعضوية غير محدد التركيب مثل البروتينات والكاربوهيدرات حيث تحتاج البكتريا إضافة مواد كالدّم والمصل والفيتامينات وغيرها من المواد أما الأوساط التركيبية وتستخدم بتنمية الجراثيم ذاتية التغذية (Autotroph) حيث تتكون هذه الأوساط من مواد كيميائية ذات تراكيز معروفة

(Prescott.,2005;Cruckshank.,1980) وإن التراكيز العالية للمركبات والعناصر الدخلة في تركيب الوسط الزرعوي ليس شرط في الحصول على نمو أفضل لأن العديد من المواد ذات تأثير سلبي إذا زاد تركيزها في الوسط الزرعوي(الزبيدي

،(2000) وعند تحضير هذه الاوساط في دراستنا هذه تم مراعاة أن تكون كفاءة ومن مواد متوفرة ورخيصة الثمن وبمتناول اليد ولهذا.

هدفت الدراسة الى تنمية انواع بكتيرية مختلفة على الاوساط القياسية (Normal)والاوساط المصنعة (Manufactory) محليا (قشور الباذنجان)،دراسة التغيرات الوراثية التي يمكن أن تحصل للأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة بتقنية الـ (Finger printing)

المواد وطرائق العمل

تحضير الأوساط الزرعية

حضرت الأوساط الزرعية حسب ما جاء في تعليمات الشركة المصنعة بالإعتماد على التعليمات المثبتة على العبوات الخاصة بالأوساط الزرعية وعقمت بالمؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121 م° وتحت ضغط 15 باوند/انج² ولمدة 15 دقيقة ثم صببت بأطباق بتري وحضنت عند درجة حرارة 37 م° ولمدة 24 ساعة لغرض التأكد من عدم تلوثها . وحفظت عند درجة حرارة 4 م° في الثلاجة حتى إستخدامها ، أما الأوساط الزرعية التالية حضرت حسب ما جاء عن (Macfaddin.,2000).

انواع الأوساط الزرعية القياسية التي تم استخدامها في التجربة

وسط أكار الماكونكي MacConkey agae medium

وسط الأكار المغذي Nutrient agar medium

وسط أكار Blood agar medium

وسط بكتريا الزوائف الزنجارية Pseudomonas agar medium

وسط المانيتول الصلب Mannitol salt agar

وسط المثيل الازرق (EMB) Eosin Methylene Blue Agar

وسط مولر هنتون Muller Hinton Agar Medium

وسط قشور الباذنجان المحلي

حضر هذا الوسط حسب طريقة (السامرائي 2013)، تم وزن 60 غم من قشور الباذنجان منزوعة الماء dehydrated مجففة ومطحونة بشكل جيد . وضعت في بيكر وأضيفت لها 1 لتر من الماء المقطر وغلّيت لمدة 5 دقائق ثم ترك ليبرد ثم رشح بعد ذلك بالشاش والقطن ثم غلي مرة ثانية أيضاً ولمدة 5 دقائق ثم ترك ليبرد رشح بالشاش والقطن وأكمل الحجم الى 1 لتر من الماء المقطر أضيف له 15 غم من الأكار لتحويل الوسط الى الحالة الصلبة عقم الوسط بالمؤصدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 1.5 باوند / انج 2 ولمدة 15 دقيقة ثم ترك ليبرد قليلاً صب بأطباق بتري نظيفة ومعقمة ثم ترك لمدة 24 ساعة في الحاضنة للتأكد من خلوها من التلوث .

تقدير النمو البكتيري بجهاز المطياف الضوئي Spectro photo mete للوسط القياسي Nutrient agar والوسط المصنع قشور الباذنجان عند الطول الموجي 24/ 600 nm ساعة.

1- يحضر الوسط الزراعي Nutrient broth بعد عملية التعقيم ويحضر مستخلص قشور الباذنجان *Solanum melongena* بدون اضافة الاكار agar.

2- يوضع في تيوبات Plain tubes معقمة ونظيفة 5 مل من المرق المغذي Nutrient broth ومستخلص قشور الباذنجان *Solanum melongena* وتترك في الحاضنة لمدة 24 ساعة الاجل التاك من عدم تلوثها .

3- بعد عملية التحضين يتم تلقيح الانابيب Plain tubes الحاوية على المرق المغذي Nutrient broth ومستخلص قشور الباذنجان *Solanum melongena* بالبكتريا المستخدمة ولمدة 24 ساعة لأجل الحصول على نمو .

4- نضع 1 مل في Cuvette الخاصة بجهاز المطياف الضوئي من المزرعتين وبواقع ثلاثة مكررات .

5- نضع Cuvette في جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer ويثبت مقدار الامتصاصية عند 600 nm ويقارن مع Blanck الغير مزروع من الوسطين لمعرفة مقدار وكمية النمو الحاصل وتسجل القراءات . (الطائي، 2008)

Molecular characteristic: الخصائص الجزيئية**تنمية بكتريا الكليبيسيلا والاشريشيا القولونية لإستخلاص DNA**

حضر وسط الأكار المغذي Nutrient Agar الوسط القياسي ووسط قشور الباذنجان المصنع في دوارق زجاجية نظيفة بإذابة 23 غم للوسط القياسي في 1 لتر من الماء المقطر، و60 غم للوسط المصنع قشور الباذنجان في 1 لتر من الماء المقطر ثم عقم بالمؤصدة وبرد في ظروف المختبر إلى 40 م° تقريبا، وقسم الوسط في أطباق بلاستيكية معقمة، ثم أخذت مسحة صغيرة بوساطة الناقل من مستعمرة مفردة نقية لكل من عزلة *Klebsiella pneumonia* و *Escherichiacoli* وزرعت بطريقة التخطيط، ثم حضنت الأطباق في 37 م° لمدة 24 ساعة وبعد الحضانة وظهور النمو، لقمح وسط المرق المغذي Nutrient broth السائل الموزع في مجموعة أنابيب اختبار والمعقم بالمؤصدة، بمسحة نشطة من النمو الجديد للأطباق المزروعة سابقا لضمان نقاوة العزلات، ثم حضنت الأنابيب الملقحة في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 37 م° وسرعة اهتزاز 100 دورة/ دقيقة لمدة 24 ساعة، وبعد الحضانة قيست الامتصاصية بالمطياف عند الطول الموجي 600 نانوميتر لمعرفة أعداد الخلايا التي تكون مناسبة في الحصول على كمية جيدة من المادة الوراثية DNA .

استخلاص الحامض النووي (الدنا): DNA extraction

أجري استخلاص DNA من بكتريا *Klebsiella pneumonia* و *Escherichia coli* وفق طريقة (AL- Samarra T H., 2000) و كما يلي:

1- نقل حجم 1.5 مل من المزرع البكتيري في وسط المرق المغذي ووضع في أنابيب ابندورف بلاستيكية معقمة سعة 2 مل.

2- فصلت الخلايا في أنابيب الابندورف بعملية الطرد المركزي Centerifugation بسرعة 13000 دورة / دقيقة ولمدة 5 دقائق لترسيب وتجميع الخلايا والتخلص من الراشح.

3- أعيد تعليق وحل الخلايا المترسبة في أنابيب الابندورف بإضافة 500 مايكرو لتر من المحلول المحلل lysis buffer solution والمحضر بتراكيز 40 ملي مولر من مادة Tris - acetate و 20 ملي مولر من مادة خلات الصوديوم Sodium acetate و 1 ملي مولر من Ethylene diamine tetra acetic (EDTA) acid مع 1% من مادة Sodium dodecyl sulfate (SDS) وزن/ حجم .

مزج الخليط بلطف لعدة مرات، ثم أضيف 165 مايكروليتر من محلول كلوريد الصوديوم NaCl ٥ مول / لتر، ثم قلبت أنابيب الابدورف رأساً على عقب يدويا عدة مرات لتجانس المزيج، ثم طرد مركزياً بسرعة 13000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق.

4- نقل الراشح الى أنابيب ابدورف جديدة، ثم أضيف حجم 500 مايكروليتر من الكلوروفورم المبرد، ثم قلبت أنابيب الابدورفات رأساً على عقب يدوياً برفق بما لا يقل عن 50 مرة حتى يصبح المحلول حليبي اللون، ثم طرد المزيج في الأنابيب مركزياً بسرعة 1200 دورة / دقيقة لمدة 3 دقائق.

5- نقلت الطبقة العليا (المائية) إلى أنابيب ابدورف جديدة أخرى، ثم أضيف الايثانول المبرد بتركيز 95% مع التقلب لترسيب الدنا، وطرد مركزياً بسرعة 13000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق والتخلص من الرائق.

6- كررت عملية غسل الراسب في قاع أنابيب الابدورفات بإضافة ايثانول مبرد مخفف بتركيز 70% وطرد مركزياً بسرعة 13000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق أيضاً.

7- بعد التخلص من الايثانول جففت الأنابيب بوضعها مقلوبة على ورق نشاف نظيف لضمان زوال الاثر المتبقي للكحول.

8- أذيب الدنا المستخلص والخالي من الكحول الايثيلي في 20 مايكروليتر من Tris EDTA buffer – (TE). قدر تركيز الدنا الناتج ونقاوته باستعمال جهاز المطياف الضوئي Nanodrop في قياس امتصاصية طيف الأشعة فوق البنفسجية للعينات عند الطولين الموجبين 260 و280 نانوميتر. وتم التأكد من نجاح عملية الاستخلاص بترحيل الدنا على هلام الاكروز بتركيز 0.5 % تم حفظ الانابيب في الثلجة عند 4م° لحين الاستعمال لاحقاً او عند - ٢٠ م° للحفظ لمدته اطول.

ترحيل DNA باستخدام هلام الاكروز

تم خلط 3ml من صبغة التحميل (Intron/korea) مع ٥ ml استخدام الترحيل الكهربائي لتحديد قطع الدنا بعد عملية الاستخلاص وفق Sam brocket (al., 1989) تم تحضير هلام الاكروز بتركيز 0.5 بإذابة 0.5 غرام من الاكروز

في 100ml من 1XTBE buffer المحضر مسبقا . يسخن الاكاروز حتى الغليان ويترك ليبرد لدرجة 45-50 م°. يضاف 5ml من محلول صبغة الاثيديوم برومايد (10 mg/ml) . ويسكب الهلام في الطبق المخصص له بعد تثبيت المشط . ويسكب هلام الاكاروز برفق ويترك لمدة 30 دقيقة ليتصلب تماما ثم يوضع في خزان ويضاف 1X TBE buffer بكمية بحيث تغطي سطح الهلام ثم يزال المشط برفق لمنع تكون الفقاعات . وتم ترحيل العينات عند تيار كهربائي 7v لمدة من نصف ساعة او الى ان تصل الصبغة الى قرب نهاية الجانب الاخر من الهلام . تم اختبار الهلام على مصدر الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 336nm .

تحديد التغيرات في البصمة الوراثية باستخدام الانزيم القاطع

تم تقطيع الدنا باستخدام انزيم Nco1 طبقا لطريقة عمل الشركة المصنعة وحسب الجدول التالي

المادة	الحجم
DNA	5 µl
R. E.	3 µl
Buffer	1.5 µl
DW	2. µl
Temperature/Time	hour\ 37° C /

Reaction condition of Restriction Enzyme (Nco I) (500U) (Biolab/newengland)

ترحيل الدنا باستخدام هلام boly acrylamide

1- تم تحضير 30% w/v من اكرلاميد - بس اكرلاميد وذلك بوزن 29غم من اكرلاميد و 1غم من بس اكرلاميد وذوب في ماء مقطر واكمل الحجم الى 100 مل

2- رشح خليط الاكرلاميد – بس اكرلاميد من خلال استخدام فلتر دقيق ($0.45 \mu\text{m}$) للحصول على خليط نقي تم حفظ المحلول الاساسي في قنينة معتمة عند 4°C

طريقة تحضير هلام الفصل

هلام الفصل المستخدم في هذه التجربة ذات تركيز (٨%) حيث تم اخذ ٤مل اكرلاميد بس اكرلاميد (٣٠%) واكمل الحجم الى ١٥ مل TEB 0.5X ثم اضيف ١٥٠ مايكرو ليتر من ١٠% امونيوم برسلفيت المحضر انياً . و ٢٠ مايكرو ليتر من مادة TEMD ويخلط المزيج جيد وبسرعة لفترة محدودة ويسحب المزيج باستخدام ماصة ويتم صب المزيج بين الوجهين الزجاجيين باستخدام اسرنجة الى ان يصل الى حافة اللوح الزجاجي السفلي ويوضع المشط ويترك يتصلب من ٢٠-٣٠ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة

تحميل العينات

يتم اضافة بفر الترحيل 1X TBE في الخزان الداخلي لحين وصوله الى المشط . يتم رفع المشط ببطء وحذر لمنع تكون فقاعات وتخلط العينات مع حجم مماثل من بفر التحميل ، او محلول التحميل Loading solution ثم ياخذ ٢٠ مايكرو ليتر وتحمل على العينة .

ظروف الترحيل الكهربائي

تم اجراء الترحيل الكهربائي باستخدام جهاز Mini-slab gel provided بدرجة حرارة الغرفة باستخدام بفر الترحيل المبرد مسبقاً 1X TEB . باستخدام 100V لمدة ساعتين بعد انتهاء عملية الترحيل ثم نقل الهلام الى حجمين التصبيغ وغمره في محلول الصبغة 1X TEB مع ١٠٠ مايكرو ليتر من الاثيديوم بروميد 1mg/ml لمدة ٣٠ دقيقة مع التحريك برفق . تم اجراء ازالة الصبغة بغسل الهلام بتعريضه للاشعة فوق البنفسجية بطول موجي 336nm وتم تصوير الجل باستخدام Document .system

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حللت البيانات إحصائيا باستخدام تحليل التباين (ANOVA) (F test) ، وقورنت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود Duncun Multiple Range بمستوى معنوية ($P < 0.05$) بتطبيق البرنامج الإحصائي Minitab

النتائج والمناقشة

١- كفاءة وسط قشور الباذنجان

اغلب الأحياء المجهرية تتسم بكونها ذات متطلبات غذائية بسيطة. ان احتواء الوسط الجديد على العناصر الاساسية إضافة لمصدر النايروجين والكاربون والتي تعتبر من اهم المكونات التي تجعل البكتريا قادرة على القيام بالفاعليات الحيوية الأساسية والتكاثر والنمو. ان معدل نمو الانواع البكتيرية الموجبة والسالبة المستخدمة في الدراسة وكذلك الانواع الفطرية نمت بشكل جيد مقارب و احيانا اعلى في بعض الانواع الفطرية في الوسط المصنع قشور الباذنجان مقارنة بالوسط القياسي ان معدلات النمو الجيدة تفسر احتواء وسط قشور الباذنجان على مكونات اساسية تلائم نمو البكتريا السالبة والموجبة والانواع الفطرية ذات التباين في احتياجاتها الغذائية (Cruickshank., 1975).

ان كمية 60غم من قشور الباذنجان اللازمة لتحضير لتر من الوسط كافية لحدوث نمو مقارب للاوساط القياسية اوساط السيطرة حيث تشير النتائج الى ان طريقة تحضير هذا الوسط ملائمة وتحتوي على المصادر الضرورية للفاعليات الحيوية لنمو البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام والفطريات . اضافة الى ان هذا الوسط غير مدعم بأي مادة اضافية في تشجيع نمو البكتريا . و التحليل الكيميائي الذي اجري على قشور الباذنجان يشير الى محتوى جيد من المواد الكاربوهيدراتية والبروتينية بالإضافة الى العناصر الاساسية للنمو

٢- نمو الانواع البكتيرية على الاوساط القياسية والمصنعة بطريقة طيف الامتصاص (Spectrophotometer)

اختبرت الانواع البكتيرية لمعرفة مدى قدرتها على النمو وكفاءة الوسط المصنع للأنواع السالبة والموجبة لصبغة كرام . حيث كان اعلى متوسط امتصاص لبكتريا *E. coli* ، 0.350 nm للوسط القياسي والوسط المصنع وبكتريا *S.aureus* و *P.aeruginosa* بمتوسط امتصاص 0.190 nm وبكتريا *S.pneumoniae* 0.128 nm بينت النتائج وجود زيادة في نمو بكتريا *E.coli* على الوسط المصنع عند طيف امتصاص 600nm مقارنة بالانواع البكتيرية الاخرى . وبقية الانواع كانت اقل نمو ومتقاربة فيما بينها من حيث النمو ، اختلاف نمو الانواع البكتيرية يعود لقابلية وقدرة كل بكتريا على النمو ومدى قدرتها على التكاثر وتمثيل المواد الغذائية والعناصر المعدنية ، ان زيادة نمو بكتريا القولونية *E.coli* يعود لأحتياجاتها البسيطة للمواد الغذائية ومتطلبات النمو والتكاثر (Pellet.,1976).

ما متوسط الوسط ، فقد كانت امتصاصية بكتريا *S.aureus* 0.204 عند طول موجي 600 nm للوسط القياسي و0.178 للوسط المصنع قشور الباذنجان ، وبكتريا *P.eaeruginosa* 0.202 للوسط القياسي و0.164 للوسط المصنع واعطت بكتريا *K.penuomoniam* 0.137 للوسط القياسي و0.118 للوسط المصنع وابتد بكتريا *E.coli* 0.349 للوسط القياسي و0.352 للوسط المصنع ، أما بكتريا *S.penuomoniam* اعطت نمو 0.202 للوسط القياسي و0.161 للوسط المصنع . وبينت نتائج معدلات النمو للأنواع البكتيرية *S.aureus* و *P.eaeruginosa* و *S.penuomoniam* عدم وجود فروق معنوية عند مستوى $P < 0.05$ اما بكتريا *K.penuomoniam* و *E.coli* من خلال معدلات النمو حيث بينت وجود فروق معنوية عند مستوى $P < 0.05$ مع الانواع البكتيرية الأخرى . ان معدلات النمو المتباينة بين الوسطين من حيث الامتصاص دلت على امكانية استخدام مستخلص قشور الباذنجان كوسط لتنمية البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام . ان مستخلص قشور الباذنجان يحتوي على مكونات فعالة وخاصة ومشابهة للمكونات التي يحتويها الوسط القياسي فهو يحتوي على أملاح وبروتينات وعناصر معدنية ساعدت لجعله وسط تنمو عليه البكتريا بكفاءة عالية (Dagleish.,2008)

جدول (1) معدل نمو الانواع البكتيرية السالبة والموجبة لصبغة كرام على الأوساط القياسية المرق المغذي (Nutrient broth) والأوساط المصنعة مستخلص قشور الباذنجان بجهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) عند طول موجي 600 nm خلال 24 ساعة.

متوسط نوع البكتريا	متوسط الوسط	الزمن خلال/24 ساعة			نوع الوسط	نوع البكتريا
0.191 B	0.204	0.202	0.203	0.208	قياسي	<i>S.aureus</i>
	0.178	0.180	0.174	0.180	مصنع	
0.183 B	0.202	0.209	0.197	0.200	قياسي	<i>p.aeruginosa</i>
	0.164	0.155	0.184	0.153	مصنع	
0.128 C	0.137	0.132	0.132	0.146	قياسي	<i>k.pnumoniae</i>
	0.118	0.118	0.120	0.116	مصنع	
0.351 A	0.349	0.355	0.348	0343	قياسي	<i>E.coli</i>
	0.352	0.359	0.348	0.348	مصنع	

0.182 B	0.202	0.201	0.205	0.200	قياسي	<i>S.pneumoniae</i>
	0.161	0.117	0.170	0.195	مصنع	

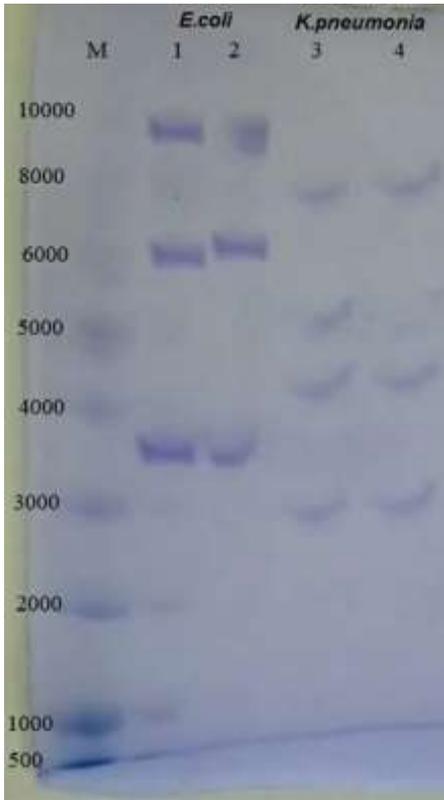
* الاحرف المتشابهة عامودياً تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى $P < 0.05$

* الاحرف المختلفة عامودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى $P < 0.05$

3- تأثير الوسط الزراعي على النمط الحزمي

من خلال تنمية بكتريا *Klebsiella penumonia* و *Escherichecoli* على كل من للوسط القياسي والوسط المصنع واستخلاص الدنا والتقطيع بواسطة انزيم (Nco I) والترحيل على هلام البولي اكرلاميد. حيث بينت النتيجة عدم وجود تغير في النمط الحزمي بين كلا الوسطين للنوعين سابقين الذكر. وعلى ذلك فإن هذا الوسط المصنع لا يؤثر على النمط الحزمي لهذه البكتريا عند اجراء فحص البصمة الوراثية Fingerprinting، على نقيض ذلك أظهرت نتائج التقطيع في دراسة جديدة (الدلوش، ٢٠١٧) لبكتريا *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* النمطة على وسط قياسي ووسط مصنع اخر (النخالة) تبايناً ملحوظاً في النمط الحزمي مما يدل على عدم ثبات نمط البصمة الوراثية عند تغير الوسط لكلا النوعين للبكتريا حيث ظهرت حزمة جديدة لبكتريا *Staphylococcus aureus* على الوسط المصنع بحجم ٢٠٠٠ pb تقريباً، مما يدل على ظهور موقع قطع جديد على الوسط المصنع. واختفت حزمة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على الوسط المصنع، بحجم 2400 pb تقريباً، مما يدل على إختفاء موقع القطع في تلك المنطقة. وهنا نستنتج ان تغير نوع المغذيات والظروف البيئية لعدة انواع بكتيرية يؤدي الى تغير النمط الحزمي عند إجراء تحليل البصمة الوراثية. ومن هنا لا يمكن

تعميم النمط الحزمي لأنه يتغير بتغير الوسط الزراعي ويعد خاص لمجموعة البكتريا قيد الدراسة في ظروف التجربة المحددة . مثال على ذلك تحليل البصمة الوراثية التي اجريت من قبل (AL- Samarria T H. *etal.*, 2000) على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* . وحسب علمنا تعد هذه النتيجة الاولى من نوعها حيث لم يتم التطرق سابقا الى تأثير مكونات الوسط الزراعي على نتائج التباير في النمط الحزمي عند اجراء تجارب البصمة الوراثية للبكتريا .



شكل (١) نمط التقطيع الحزمي بأستخدام انزيم (Nco 1) لبكتريا *E. coli* و *K. Pneumonia* للوسط القياسي والمصنع .

٣،١ الوسط القياسي Nutrint agar ٤،٢ الوسط المصنع قشور الباذنجان .



شكل (٢) نمط التقطيع الحزمي بأستخدام انزيم (Nco 1) لبكتريا *S.aureus* و *P.aeruginosa* للوسط القياسي والمصنع .

٣،١ الوسط القياسي Nutrint agar ٤،٢ الوسط المصنع من نخالة الحنطة. (الدلوش، ٢٠١٧)

٥- المصادر:

- الخفاجي ، زهرة محمود. (١٩٩٠). التقنية الحيوية .جامعة بغداد .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .دار الحكمة للطباعة والنشر .
- الدلوش ، صباح جمال صباح.(٢٠١٧) تنمية مجموعة من الفطريات والبكتيريا على الاقياضية والاوساط المصنعة من نخالة الحنطة وفحصها جينيا بتقنية Finger brinting . رسالة ماجستير قيد الدراسة ، كلية التربية جامعة سامراء .
- الزيدي ، حامد مجيد . (2000) . علم الأحياء المجهرية . جامعة بغداد . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . دار الحكمة للطباعة والنشر .
- السامرائي ، ياسمين حميد جاسم محمد. (2013). دراسة كيميائية حيائية لأنتج أوساط غذائية زرعية ميكروبية من مصادر نباتية محلية ودراسة أهم المكونات الكيميائية لها . رسالة ماجستير. كلية التربية . جامعة سامراء .
- الطائي ، محمد ابراهيم (2008) دراسة مدى تحمل بكتريا Rizobium Leguminosarum bv.viciae مجلة التربية والعلم – مجلد 21 العدد ٤ كلية علوم البيئة وتقاناتها ،جامعة الموصل.
- **Cruickshank, R.;** Duguid., J.P.; Marmion., B.P. and Swain. R.H. (1980). Medical Microbiology (The practice of medical microbiology) 12th ed. Churchill Livingstone , England.
- **Cruickshank, J.P.** Medical Microbiology 12th .VOL.2. Edinburgh London and New York. Published by Churchill Livingstone (1975).
- **Difco,.** Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical laboratory Procedures. 9th-ed. Difco laboratories incorporated, Detroit, Michigan, (1999).
- **Macfaddin , J.F.** (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria. 3^{ed} ed. The Williams and Wilkins- Baltimor USA. PP. 51- 482.
- **Al-Samarrai ,T. H., and Schmid,J.**(2000). A simple method for extraction of fungal genomic DNA. *Letters in applied microbiology*, 30(1): 53-56.

- **Stanier**, R.Y.; Ingrahm, J.L.; Weelis.M.L., and Painter, P.R" General Microbiology".5th ed. MacMillan Education LTD. London. (1987).
- **Pirt**, S.,I. principle of Microbe and Cell Cultivation. Blackweel. Scientific Publication , Oxford ,London.1999.
- **Al-Samarrai** ,T. H., and Schmid,J.(2000). A simple method for extraction of fungal genomic DNA. *Letters in applied microbiology*, 30(1): 53-56.
- **Prescott** ,L .M .Hearley ,J.P.Klein,D.A.Microbiology.W.M.C.New York. Brown publisher, (2005) Published by Difco Laboratories Inc., Detroit.
- **Pellet**, P.L and Shadarevian, S. Food Composition-2-nd-ed. American university of beriut , beriut , Lebanon.(1976).
- **Dagleish**,M.P. ;Barley,J.J; Finlayson, R.J and Foster,G.*Brucella ceti* associated pathology in the testicle of harbour porpoise.J.ofComparative pathology , 139(1) 54-59 (2008).
- **Sambrook**, Joseph ,Edward F.Fritsch, and tom Maniatis. Molecular cloning: a laboratory manual. No . Ed.2.Cold spring harbor laboratory press,(1989).

*Minimizing Harmful Effect of Extreme Environment (Water Stress) on Mungbean (*Vigna Radiata L.*) by using Potassium Fertilization*

تقليل التأثير الضار للبيئة الحرجة (الاجهاد المائي) على نبات
الماش (*L.Vigna Radiata*) باستخدام التسميد البوتاسي

م.د. غسان فارس عطية

قسم علوم الحياة/ كلية التربية/ جامعة سامراء

Ghassan .F .Al-Samarai

Department of Biology, College of Education

University of Samarra, Samarra, Iraq

Abstract

A field experiment carried out in summer season 2010, to study the effect of two irrigation period (7-14) days, and three levels of potassium (0, 50, 100) Kg/ha on growth and yield of Mung Bean (*Vigna Radiata L.*). The results of irrigation period showed a superiority of the plants which irrigated every 7 dayshighest rate of number of branch ,Length of plant and number of pods/plant(10, 73 and 23)respectively.While the Level of fertilization using potassium with (100) kg\ harecorded higher percentage of all characteristics under study compared with 0 and 50 kg/

ha. Interaction between irrigation and fertilization (7 days and 100 hg/ha) by given maximum value of branch number and plant length while, treatment (7 days and 50 hg/ha) recorded higher number of pods/plant .

Keywords: Water Stress, Potassium fertilizing, Mung bean, Extreme Environment.

1. Introduction

The water resources are considered to be one of the most important natural resources the life depends on, and to preserve these resources is considered to be granted, aggregation sector is considered to be the main consumer of these resources and there is an increasing worries concerning these resources future, considering its limitation many calls focused on keening on the optimum use of these Irrigation resources. Recently, some of the agricultural applications were followed, aiming to overcome the physiological syndromes that could happen to the plants growing in the hard environment; thirst, Drought, groundwater shortage, that all contribute to supply the plants with the water need [1]. It is noticed that that the plants that are exposed to severedrought gradually in its growing season would be more resistant when exposing to another drought era if we compare it with other plants that have never experienced drought ever before [2].

The mungbean (*Vignaradiata L.*) is a summer legume that is widely planted in Iraq field, because it has a short growing season (90-120) days, and it can bear the drought

in all growing phases except for blossoming phase[3].The mung bean is planted to get its seeds that have an high nourishment values for humans and animals, because it is rich with the alimentary elements, protein percentage in its seeds (20%), Carbohydrate (65%) whereas oil percentage (1.5%), as well as the usage of mung beanas a green grass, and for feeding the animals, and using it as a green fertilizer to enhance the quality of the soil, and considering the importance of this harvest, it become important to thoroughly study the requirement of its growth and production[4].Iraqi soils are generally characterized by low organic matter content, high pH and high concentrations CaCo3[5]. This leads to a decrease in the availability of most of the nutrients found in the soil, including potassium. Which has proved that studies have an important role to influence directly or indirectly in the activation of more than 120 enzyme, including responsible for energy activation and representation of nitrogen and breathing[6].Considering all above importance, a field study has been carried out to study the effect of the irrigation periods and the potassium fertilizingon growth and yield mungbean.

2. Materials and Working Methods

2.1 Experiential

A field experiment was held in summer season 2013 in the field of one of the farmers on the banks of the Euphrates river inIraq. Soil with physical and chemical characteristics illustrated in the Table.1

Table.1: Physical and chemical characteristics of the field soil before planting.

The Characteristic	Value
Electrical conductivity ds.m^{-1}	2.35
The degree of soil interaction	7.35
Nutrients	
Instant nitrogen PPM	64.2
WP-ready PPM	13.7
Organic matter g/kg	1.09
Apparent density mg.g/m^3	1.22
Volumetric distribution of separate soil (G. kg^{-1} soil)	
Sand	144
Clay	320
Silt	536
Conception	clay alluvial Fusion
Percentage soil moisture when pulling 33 KPa	31.4
Percentage soil moisture when you lift 1500 kPa	16.6

The phosphate fertilizer was added at one time before planting in a form of triple superphosphate (45% P) with the reality of 75 Kg /h (Alfahdawi, 2004). Whereas the Nitrogen fertilizer was added as urea (46% N) Kg /h with four doses, the first dose was added directly after the germination, the second dose after 21 days from the first dose, the third with the start of flowering, and the fourth dose when starting forming the pods /plant. R.C.B.D design was used in three duplications. The experimental field was plowed, softened, straightened and divided to trial units to 3x3m every single

trial unit has 6 lines with 0.50m, between the lines and the distance between the hole 0.25 with leaving a safe distance of 2 meters between a duplicates, and 1.5m between a treatment units to control the movement of the water.

2.2 Characteristics of Study

The characteristics where studied were number of branches per plant, number of leaves per plant and the seed yield.

2.3 Statistical Analysis

The experimental data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA). The significant differences between mean values were determined using LSD multiple range test ($P \leq 0.05$). The ANOVA statistical analysis was performed using SPSS version 19-2012 (SPSS Inc, Chicago, USA).

3.Results and Discussion

3.1Number of Branches /Plant

Results indicated in Table.1 and Figure 1, It was shows the influence of water deficit and potassium fertilizer on the number of branches per plant. It was showed that irrigation treatment a significantly influenced on the plant height. The results showed the superiority of the plants it was irrigated every (7) days at with (100kg/hg)with recorded highest rate for number of branches per plant was (10)branch/plant, with a significant difference from the plants was irrigated other treatments.Whilelawest rate registerd with irrigated plant after 14 dayes with dosge(0) kh of potassium with vaule(7.33)branch/plant.

Table 1: Effect of Potassium and Potassium Application on Number of branchesin Mungbean

Potassium kg/ha			
100	50	0	Irrigation(days)
10a	9.65b	8.50d	7
9.33b	8.95c	7.33e	14

*Means sharing the same letters do not differ significantly, at 5% probability level by LSD test

The reason of that the availability of the soil moisture through the stages of growth has led to increased photosynthesis speed and increase the number of absorbed elements from the root which reflected positively in increased cell division and elongation thereby increasing the total plant growth and plant height of it, this result is consistent with who was found a decrease in the plant height when exposed to water deficit [7].Also may be availability of the soil humidity and potassium in the soil may be led to increase the photosynthesis and that reflected positively growth [8].

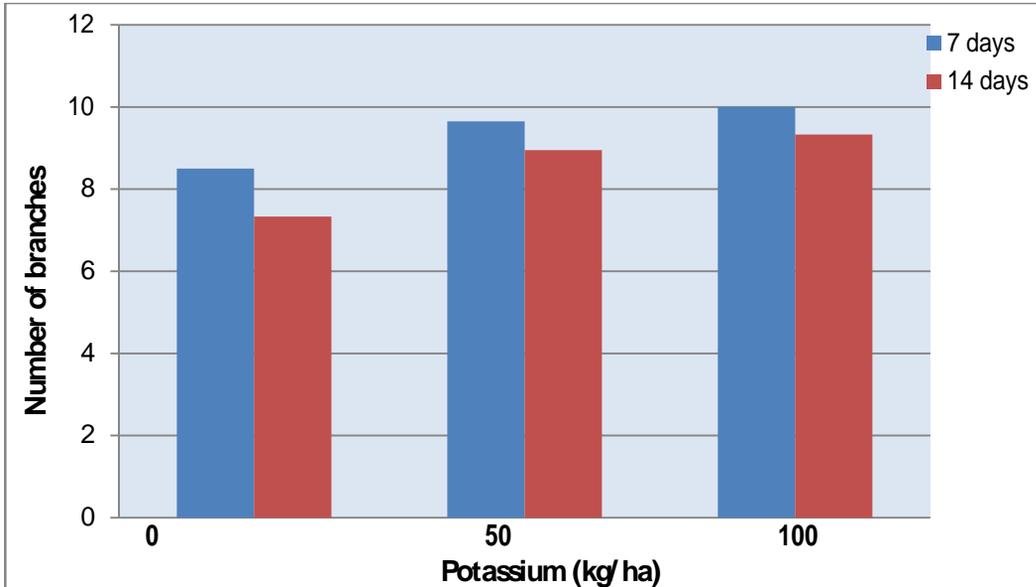


Figure.1 effect of Irrigation (days) and potassium fertilizer(kg/gh)on the number of branches per plant.

3.2 Length of Plant(cm).

The results of the table2and Figure.2 showed the impactof water deficit and potassium fertilizer on the Length of branches (cm).That irrigation treatments showed a significantly influenced on the Length of branches (cm). The plants it was irrigated every (7) days recorded the highest rate for Length of branches (73), with a significant difference from the plants that was irrigated every 14 days it has given (63). From other hand the lengh of plant showed increase with increasing amount of potassium The water shortage is causing a slowdown in the member growth may be reduced of leaf area under the influence of water deficit is the behavior of the plant was shown to avoid drought[9].

Table 2: Effect of Irrigation and Potassium Application on Length of Mungbean

Potassium kg/ha			
100	50	0	Irrigation(days)
73a	68c	63d	7
70b	61e	60ef	14

*Means sharing the same letters do not differ significantly, at 5% probability level by LSD test

The finding current study come out the long length of plant reached with interactions of (7 days) and (100 kg/h) potassium which, significant difference from all other interactions, while the lowest (65cm) length were with treatment of (14 days) and (0 kg/ha) of potassium. The positive effect of potassium in increasing the length of branches, perhaps due to the importance in the collecting of food was manufactured by photosynthesis, which led to increased division and elongation in the branches cells[10].

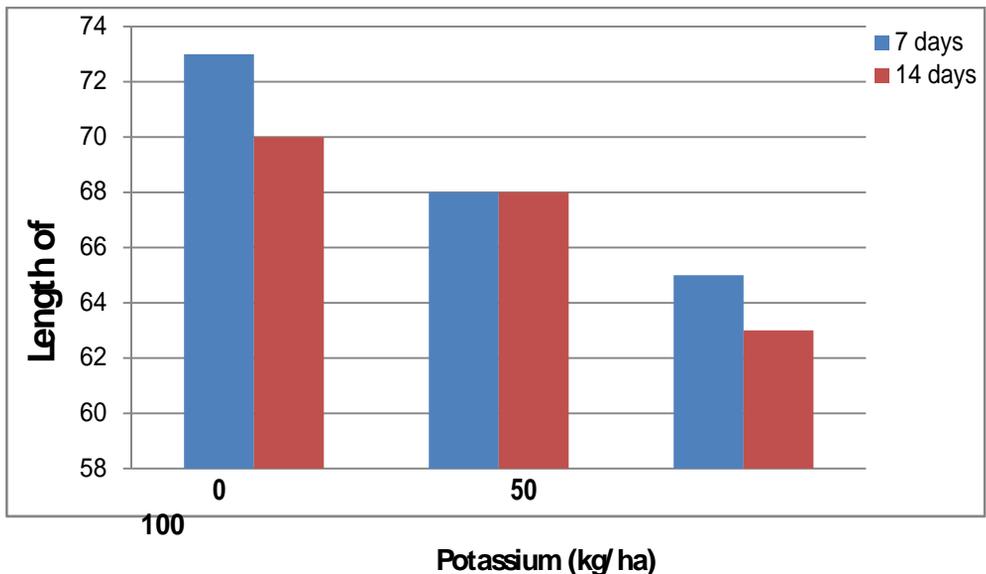


Figure.2 Effect of Irrigation (days) and potassium fertilizer(kg/gh) on the Plant Length(cm).

3.3 Number of pods/plant

It can be seen from the results in the table 3 and Figure 3 the impact of water deficit and potassium fertilizer on Number of seeds/branches. That irrigation treatments showed a significantly influenced on the Number of seeds in plants irrigated every 7 days (23), compared with 14 days it has given (16). While the amount 50 kg/ha of potassium recoded highest and statistically from (0 and 100 kg/ha) which differences between theme.

Table 1: Effect of Irrigation and Potassium Application on Number of pods/plant.

Potassium kg/ha			Irrigation(days)
100	50	0	
21b	23a	17e	7
19c	18d	14f	14

***Means sharing the same letters do not differ significantly, at 5% probability level by LSD test**

That the lack of water may be has led to an imbalance in the physiological processes of the plant [11], where the drought lead to a reduction of the vegetative and proliferative growth, thus the plant growth is negatively affected under water deficit conditions, which directly affects the cell division process in the plant, which in turn leads to a lack of cells and the inhibition of cell-widening process [12].

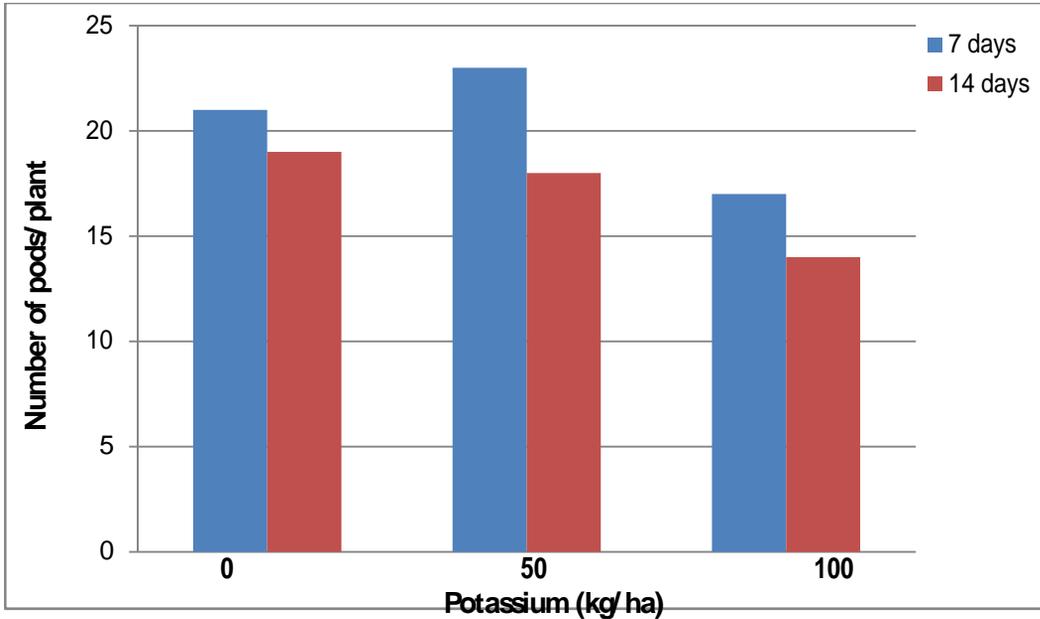


Figure.3 Effect of Irrigation (days) and potassium fertilizer(kg/gh) on nNumber of pods/plant

The results in the Table 3 showed the outweigh that interactions 7 days and 50 (Kg/h) potassium in the highest rate of the number of Number of pods/plant () with a significant difference from the other interactions, while the lowest rate Number of pods/plantat the interactions 14 days and (0) potassium. This may be due to the direct effect of potassium in the control of plant hormones ,which have a relationship with the composition and pollinate on the flowers and fertilized,in addition to the positive effect in facilitating the movement of manufactured materialswich industrialize in the photosynthesis of their manufacturing nutrientsto the sites of new development in the reproductive stage of plants (flowers), which increases the rate of fertilization and thus increase the number of seeds[13, 14].

4.conclusion

The current study concluded to possibility reducing of effect drought under extreme environment with using high level of potassium in agricultural land planted with mung bean. In future research need focus on more studies to decrease the negative impact of water stress with the emergence of the problem of lack of water resources and then need to find suitable solutions.

References

1. Islam, m., et al., gentic diversity analysis in mungbean [*vigna radiata* (L.) Wilczek] under water stress. International journal of agriculture environment & biotechnology, 2015. **3**(2).
2. Nur, a., isolation and characterization of nodule bacteria from mungbean and investigation its to drought water stress on soybean plant. 2014.
3. Alzarqaa, a., et al., he physiological response of mungbean (*vigna radiata*) to water deficit stress and meloidogyne javanica infection. Sustainable irrigation and drainage v: management, technologies and policies, 2014. **185**: p. 89.
4. Das, s. And r.k. Kar, role of hormones in differential growth responses of mung bean *vigna radiata* L. Wilczek seedlings under water stress. 2013.
5. Abdullah, a.s., minimum tillage and residue management increase soil water content, soil organic matter and canola seed yield and seed oil content in the semiarid areas of northern iraq. Soil and tillage research, 2014. **144**: p. 150-155.
6. Majid, s.n., analysis of organic functional groups and some trace heavy metals in the settleable dust particles (dustfall) of sulaimani city/kurdistan region-iraq. 2016.

7. Holzman, m.e., r. Rivas, and m. Piccolo, estimating soil moisture and the relationship with crop yield using surface temperature and vegetation index. International journal of applied earth observation and geoinformation, 2014. **28**: p. 181-192.
8. Shahzad, n., et al., foliar application of potassium mitigates negative impact of water deficit stress and improves physiological growth of mungbean (*vigna radiata*), 2014: p. 402-402.
9. Boyle, r., i. Dodd, and m. Mcainsh, effects of deficit irrigation frequency on plant growth, water use and physiology of pelargonium x hortorum and tomato (*solanum lycopersicum* L. Cv. Ailsa craig). 2015, lancaster university.
10. Saa, s., et al., foliar application of microbial and plant based biostimulants increases growth and potassium uptake in almond (*prunus dulcis* [mill.] Da webb). Frontiers in plant science, 2015. **6**.
11. Krashes, m.j., physiology: forecast for water balance. Nature, 2016. **537**(7622): p. 626-627.
12. Ghadami firouzabadi, a., et al., non-destructive estimation of sunflower leaf area and leaf area index under different water regime managements. Archives of agronomy and soil science, 2015(ahead-of-print): p. 1-11.
13. Battie-laclau, p., et al., influence of potassium and sodium nutrition on leaf area components in eucalyptus grandis trees. Plant and soil, 2013. **371**(1-2): p. 19-35.
14. Osakabe, y., et al., osmotic stress responses and plant growth controlled by potassium transporters in arabidopsis. The plant cell, 2013. **25**(2): p. 609-624.

13-A study of cytogenetic effects of Indomethacin and glucosamine drugs in some fertility genes in male Albino rats

**Lecturer : Zubaida Adnan Aljashammi
Applied/Tikrit university**

Assistant Lecturer: Nibras Sirhan Kudair

14-Measuring the level of homocysteine and some reproductive hormones in the serology of women with PCOS

**Shaymaa Ahmed Salih
Wasan Nazhan Hussien**

15-The Response of Maize(Zeamays L.) to Spraying of Potassium and Zinc

Assistant teacher:Aiyemen Ahmed A.K. Al-Abassi

16-Study the effect of honey on the value of sugar in the blood compared with the sugar plant in the white mice that developed diabetes

Assis.:Qutaiba Hommadi Mahmood Al-Samarraie

17-Developing a group of bacteria on the standard cultural media and the manufactured local medium (Eggplant Aubergine)and detecting the genetic changes by using finger printing technology .

**Rasheed H.Hassan
Huthaifa R.Alwan**

18-Minimizing Harmful Effect of Extreme Environment (Water Stress) on Mungbean (Vigna Radiata L.)by using Potassium Fertilization

Ghassan .F .Al-Samarai

7-Synthesis, Characterization of some 1,3-Oxazepane - 4,7-Dione by Traditional and Microwave routes method and evaluation of their biological activity

**Fawzi Hameed Jumaa AL-Obaidy
Adil Hussein Dalaf Al - Majma'i**

8-Assessment of molecular effects of on Rhuscoriaria on the liver and kidney of Male Swiss Albino Mice (MusMusculus)

**Salma zher Abdulla
Pro.Dr. Aziz Khalid Hamid
Asst.Prof. : Adnan Fadhil Al_Azaawie
Aziz k. Hameed**

9-A biochemical study on capability of milk that prepared by lactobacillus acidophilus to the prevention of diarrhea induced by Cryptosporidium parvam in male rabbits

**Assit. lec. Maysoon Mustapha Jasim
Proff. Dr Abdullah Hussain Abdulla
Proff. Dr. Tawfeeq Ibraheem Al-Alusii**

10-Study of the effect of lead contamination on the healthy environment in the courts of Balad and Dujail

**Ayad Ismail Kazem
Prof. Riad Abbas Abed Al Jabbar**

11-Epidemiological Study for the Spread of Intestinal Parasites in Samarra

**Dr. Ouhood mozahim Shakir
Assist instructor: Nibras A. almbashaa
Assist instructor: Marwa Malik alhayli**

12-Measuring the concentrations of Lead, Manganese and Nickel in the roadsides of Erbil city

**Tamem Sulaiman Al-Jibory
Prof. Dr. Ibrahim Omar Saeed
Prof. Dr.Qusay kamal Alden Al-Ahmady**

Content

1- Effect of water extract of broccoli plant (Brassica oleracea) on some hormones of female white rats exposed to oxidative stress with hydrogen peroxide

**Sura Samir Abdul Hamid Al-Marza
Asst.Prof. Dr: Ali Abdul wahab Jasim**

2- Anatomy study for leaves Epidermal for two Genera from Myrtaceae family(Eucalyptus and Myrtus).in the middle region of Iraq.

**Evan Abdul rahmanHamza
Prof. Dr.Yaseen MohammadAhmed**

3-Environmental and diagnostic study of algae in irrigation Al-Alam project

**Prof. Dr . Riadh Abas Abdul Jabar
Asst. Prof. Tawoos mohammed kamel
Sabine khader saleh**

4-The study of saturated and unsaturated fatty acids of 9 secies of olives

**Hussam Nafea Shakir Mahmood AL_ahbaby
Yaseen Mohammad Ahmed
Rana Hashim Aloush**

5-First record of hendersonula branch wilt disease in eriobrotra japonica and its in iraq biological control

Fadhil Hasan Yaseen

6-Synthesis, identification some derivatives of new oxadiazole, thiadiazole of Butaric acid and Stearic acid

**Ghassan Khalifeh Ghareeb
Nabil Jamal Al-asli**

الاطروحة
Al-utroha
Refereed Journal Int.



www.alutroha.com

Published on House Al-utroha for publication of scientific

Pure Science

ISSN2518-0606

الاطروحة Al-utroha

First issued in August 2002 **Refereed Journal**

www.alutroha.com

Published on House Al-utroha for publication of scientific



Pure Science

- ★ *Environmental and diagnostic study of algae in irrigation Al-Alam project*
- ★ *The study of saturated and unsaturated fatty acids of 9 species of olives*
- ★ *Assessment of molecular effects of *Rhus coriaria* on the liver and kidney of Male Swiss Albino Mice (*Mus Musculus*)*
- ★ *Study of the effect of lead contamination on the healthy environment in the courts of Balad and Dujail*
- ★ *Epidemiological Study for the Spread of Intestinal Parasites in Samarra*
- ★ *Measuring the concentrations of Lead, Manganese and Nickel in the roadsides of Erbil city*
- ★ *Measuring the level of homocysteine and some reproductive hormones in the serology of women with PCOS*
- ★ *Developing a group of bacteria on the standard cultural media and the manufactured local medium (Eggplant Aubergine) and detecting the genetic changes by using fingerprinting technology .*
- ★ *Minimizing Harmful Effect of Extreme Environment (Water Stress) on Mungbean (*Vigna Radiata L.*) by using Potassium Fertilization*

The eighth - the second year -2018 - 1439b