وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل

مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية

تصدر عن كلية التربية الأساسية

دورية علمية محكمة

المجلد الثالث

عدد خاص بأبحاث المؤتمر العلمي الدولي الثالث

(تكامل العلوم نحو تحقيق أهداف التعليم)

١٠ - ١١ نيسان ٢٠١٩

افتتاحية المؤتمر

بسم الله الرحمن الرحيم

((ن وَالْقَلَمِ وَمَا يَسْطُرُونَ))

ايمانا من اللجنة التحضيرية للمؤتمر العلمي الدولي الثالث/ المشترك الاول في رفد الجامعة واكاديميها، وبكافة التخصصات العلمية بكل ما هو من شأنه الارتقاء بالمستوى العلمي والاكاديمي، فقد أقيم مؤتمرنا هذا تحت عنوان "تكامل العلوم نحو تحقيق اهداف التعليم" للفترة من ١٠ – ١١ نيسان ٢٠١٩ ، فالبحث العلمي الدائم والدؤوب والقائم على اسس صحيحة يلعب دورا محوريا في نهوض المجتمع الانساني واصلاحه كونه الوسيلة الاساسية الكفيلة بإيجاد حلول فعالة للمشكلات التي تواجهنا في الحياة اليومية من خلال مواكبة التقدم العلمي على جميع الاصعدة، فالبحث العلمي في الوقت الراهن يحتل مكانة بارزة في تقدم النهضة العلمية حيث تعد المؤسسات الأكاديمية هي المراكز الرئيسة لهذا النشاط العلمي الحيوي لما لها من وظيفة اساسية في تشجيع البحث العلمي وتنشيطه وأثارة الحوافز العلمية لدى الباحث والدارس حتى يتمكن من القيام بهذه المهمة النبيلة على أكمل وجه. والمؤتمر العلمي الدولي الثالث حافل بالعديد من الأبحاث في مجال العلوم التربوية والنفسية، واللغة العربية وآدابها، والعلوم الإسلامية وفروعها، والتاريخ بفتراته القديمة والإسلامية والحديثة والمعاصرة، وعلوم الرياضة والتربية البدنية، والعلوم الصرفة بأنماطها وأنواعها وتخصصاتها .

نأمل أن تُقدم أبحاث هذا المؤتمر الذّي يرومُهُ الباحثون والاكاديميون وطلبة الدراسات العليا من معرفة نظرية وميدانية وتجريبية.

الاستاذ الدكتور

محمد توفيق عثمان محمد توفيق آغا

رئيس اللجنة التحضيرية

ضوابط النشر في مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية

اخلاقيات النشر

بالاشارة الى اخلاقيات البحث العلمي وبنود لجنة اخلاقيات النشر الموضحة في الفقرة (١٤) من كتاب وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/دائرة البحث والتطوير المرقم ٧٩٦١/٤ في ٢٠١٨/١٠/١٥ ، فقد وضعت هيئة تحرير مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية اخلاقيات النشر العلمي الخاص بها وعلى النحو الاتي:

رئيس التحرير

يتولى رئيس تحرير مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية وبالتعاون مع اعضاء هيئة تحرير المجلة مسؤولية اختيار المحكمين المناسبين بسرية تامة.

اعضاء هيئة تحرير المجلة

يعمل اعضاء هيئة تحرير المجلة على اختيار المحكمين المناسبين للابحاث المقدمة للمجلة، والحفاظ على سرية عملية التحكيم، ومتابعة وتقييم البحوث تقيماً اولياً، والنظر في مدى صلاحيتها للنشر او الاعتذار عن النشر قبل ارسالها الى المقومين.

الباحثون

يجب على الباحثين ضمان اصالة ابحاثهم واستيفائها للمعايير الاكاديمية والاخلاقية العالية ويترتب على ذلك الاتي:

١- ان يتمتع البحث المقدم للنشر بمصداقية عالية من حيث اقتباس النصوص أو تقديم البيانات دون تحريف وان يلتزم الباحث بالامانة العلمية

٢- عدم ادراج اسماء لباحثين غير مشاركين فعلياً في انجاز البحث.

٣- على الباحثين مراجعة ابحاثهم وفقاً لمقترحات المحكمين، وفي حالة اعتراض الباحث على ملاحظات المحكمين فيجب عليه تقديم تبرير منطقي بذلك.

٤- اخضاع جميع البحوث المقدمة للنشر الى برنامج الاستلال، والتأكد من ان نسبة الاستلال فيها لا تتجاوز الحد المسموح به (٢٠%) .

٥- يجب على الباحثين عدم تقديم ابحاث سبق وان نشرت في مجلات اخرى، وكذلك عدم تقديم البحث الى اكثر من مجلة في ان واحد، اذ يعد ذلك منافياً لاخلاقيات النشر.

التحكيم والمحكمون

١- يتم اخضاع جميع البحوث المقدمة للنشر الى اثنين من المحكمين.

٢- يلتزم المحكمون بكتابة تقرير مفصل حول سلامة البحث واصالته العلمية وفق نموذج مخصص لذلك.

٣- تتعامل ادارة المجلة مع اسماء خبراء التحكيم بسرية تامة.

٤- في حالة وجود تقرير سلبي من احد خبراء التحكيم يرسل البحث الى خبير ثالث للبت في صلاحيته للنشر.

٥- يجب على خبراء التحكيم تحري الموضوعية في الاحكام الصادرة عن عملية التحكيم.

٦- يفترض من المحكمين الناي بالنفس عن المصالح الشخصية.

٧- يفترض من المحكمين الالتزام بالوقت المخصص لعملية التحكيم.

الانتحال (السرقة العلمية)

١- ترى المجلة في الانتحال او السرقة العلمية سلوكاً غير اخلاقي في مجال البحث والنشر العلمي.

٢- يحق للمجلة اتخاذ كافة الاجراءات اللازمة بحق اولائك الذين يخالفون اسس واخلاقيات البحث العلمي وقواعدها .

حقوق النشر

يتم نقل حقوق النشر الى المجلة عند اخطار الباحث بقبول بحثه المقدم للنشر في المجلة.

جدول النشر

تلتزم المجلة بجدول النشر حيث تقوم باصدار اربعة اعداد في السنة (اذار–حزيران–ايلول–كانون الاول)

حقوق الملكية

تلتزم المجلة بالحفاظ على حقوق الملكية الفكرية للباحثين.

دليل الباحث

هنالك ضوابط للنشر ينبغي ان يلتزم بها الباحث وعلى النحو الاتي:

١. تقديم طلب خطي لنشر البحث ، مع التعهد بعدم إرساله او نشره في مجلة أخرى.
٢. يجب أن يكون البحث مطبوعاً على الحاسوب على شكل ملف **Word** .
٣. متن البحث بحجم ١٤ والهوامش بحجم ١٢ ، نوع الخط للمتن والآيات القرآنية **Deco Type Naskh**، وتباعد الاسطر والفقرات (١.٠) للغة العربية، و**Time New Roman**، وتباعد الاسطر والفقرات (١.١٥) للغة الإنكليزية وتخطيط الصفحة يكون بشكل عمودان.
٤. لا يتجاوز عدد صفحات بحوث العلوم الصرفة عن الـ (١٥) صفحة والعلوم الإنسانية عن الـ (٢٠) صفحة، ويستحصل مبلغ (٢٠٠٠ دينار) لكل صفحة إضافية.
٥. ينبغي أن يطبع عنوان البحث متبوعاً باسم المؤلف (أو المؤلفين) وعنوانه، ومن ثم ملخص البحث باللغة العربية والإنكليزية على أن لا يتجاوز عدد كلمات الملخص عن (٢٥٠) كلمة، يليها كلمات مفتاحية غير واردة في العنوان ثم يليها متن البحث.

٦. دفع أجور النشر البالغة (١٠٠) ألف دينار للقب الأستاذ، و(٧٥) ألف دينار للقب الأستاذ المساعد، و(٥٠) ألف دينار للقب المدرس فما دون بالنسبة للبحوث العلمية، أما البحوث الإنسانية، فيدفع مبلغ (٧٥) ألف دينار للقب الأستاذ و(٦٠) ألف دينار للقب الأستاذ المساعد و(٤٠) ألف دينار للقب المدرس فما دون، يستحصل القسط الأول عند تسليم البحث للمجلة، ويستحصل القسط الثاني عند استلام القبول بالنشر، كذلك دفع مبلغ (٥) آلاف لنسخة المستل من العدد .

٧. بعد قبول البحث للنشر يقدم الباحث نسخة نهائية للبحث مع قرص مدمج (CD) لغرض تنفيذه وفق سياق المجلة .

٨. إذا كان البحث مستلاً من رسالة ماجستير أو أطروحة دكتوراه توضع علامة (*) في نهاية عنوان البحث ثم يذكر في الهامش تفاصيل المشرف و الباحث و عنوان رسالة الماجستير أو أطروحة الدكتوراه.

٩. تقدم الجداول مطبوعة، والأشكال والمخططات على شكل صورة موحدة.

١٠. لا تعاد البحوث الى أصحابها سواء أقبلت للنشر ام لم تقبل .

١١. أن لا يتجاوز عنوان البحث والملخص باللغة العربية وباللغة الإنكليزية صفحة واحدة فقط.

١٢. تكون المراسلات المتعلقة بالمجلة على العنوان التالي :

(مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية / كلية التربية الأساسية /جامعة الموصل)

صيغة النشر

يعتمد في صيغة النشر قالب **Template** وهو قالب موحد لكتابة البحوث ونشرها مثبتاً فيه شعار المجلة ويكون معداً باحدى الصيغتين **Word** او **Latex** .

توثيق المصادر

يجب ان تعتمد المجلة في توثيق المصادر على صيغة **APA** (الجمعية الامريكية لعلم النفس) في توثيق المصادر وتنسيقها وترتيبها .

مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية

جامعة الموصل

الرؤية :

أن تكون المجلة رائدة في ميدان نشر الأبحاث الإنسانية، ولها معامل تأثير، ومصنفة ضمن قواعد البيانات العربية والعالمية.

الرسالة :

نشر الأبحاث العلمية، الرصينة والمحكمة، والتي تعالج قضايا ومشكلات وموضوعات ذوات الصلة بالعلوم اللغوية، والإسلامية، والاجتماعية، والتربوية والنفسية، والتربية البدنية. فضلاً عن العلوم الرياضية والصرفة.

الأهداف :

١- أن تساهم المجلة في نشر أبحاث أعضاء هيئة التدريس والباحثين في عموم المؤسسات الأكاديمية والجامعية، وطنياً وعربياً وعالمياً.

٢- أن تصبح المجلة مرجعاً علمياً للباحثين في العلوم الإنسانية والصرفة.

٣- أن تلتزم المجلة بنشر الأبحاث ذوات المنهج الوسطي في معالجة قضايا الفكر والدين، مع احترام الحرية الأكاديمية للباحثين.

افتتاحية العدد

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿﴿وَقُلِ ٱعۡمَلُواْ فَسَيَرَى ٱللَّهُ عَمَلَكُمۡ وَرَسُولُهُۥ وَٱلۡمُؤۡمِنُونَۖ﴾﴾

بجهود حثيثة من لدن هيئة تحرير المجلة، تواصل المجلة نشر الأبحاث التي حصلت على قبول نشر وفقاً للسياقات العلمية والاجرائية للمجلة، وبفترة قياسية وأعداد كبيرةٍ بغية الانتهاء من النشر الورقي، والتخطيط للالتحاق بالنشر الالكتروني في مواقع عالمية. ونأمل أن يتحقق ذلك مع بداية العام الدراسي القادم إن شاء الله. و المجلة ملتزمة دائماً برسالتها وأهدافها ورؤيتها المستقبلية، فضلاً عن التنوع في الأبحاث الانسانية والعلمية. والعدد الذي بين أيدينا هو العدد الرابع من المجلد الخامس عشر لسنة (٢٠١٩) حافل بالعديد من الأبحاث في مجال العلوم التربوية والنفسية، واللغة العربية وآدابها، والعلوم الإسلامية وفروعها، والتاريخ بفتراته القديمة والإسلامية والحديثة والمعاصرة، وعلوم الرياضة والتربية البدنية، والعلوم الصرفة بأنماطها وأنواعها وتخصصاتها . وخاتمة أبحاث هذا العدد أبحاث في تخصص اللغة الإنكليزية.

نأمل أن تُقدم أبحاث هذا العدد الجديد الذّي يرومُهُ الباحثون والأكاديميون وطلبة الدراسات العليا من معرفة نظرية وميدانية وتجريبية. والمجلة لا زالت مرحبة بأي رأي أو نقد بناء أو تصويب للخطأ . والحمد لله رب العالمين.

الاستاذ الدكتور

فاضل خليل ابراهيم

رئيس تحرير المجلة

((محور دراسات في علوم الفيزياء والكيمياء والاحياءو الرياضيات))

اسماء الباحثين	العناوين	رقم الصفحات
م. دريد حازم احمد الهلالي	توظيف طيف التداخل الضوئي كمتحسس للاستقطاب وتغيرات القدرة	١٢٦٤–١٢٧٣
م. عمار ياسين برجس/ يسرى مال الله عبدالله	تصميم وتنفيذ منظومة تتبع شمسي احادي المحور	١٢٧٤–١٢٨٥
Sahar Abd Alghany Younis	Study of Optical Properties of XLPE Polyethylene Cross – Bonding by the Effect Annealing	١٢٨٦–١٢٩٥
نوار طلال حامد عزيز الصفاوي/ د .خالد دحام احمد / د .عبدالرزاق خضر محمود	تحييد بلازميدات المقاومة للمضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة لبعض الانواع البكتيرية الممرضة للأنسان باستخدام مستخلصات مسحوق حمض الليمون Citric acid powder	١٢٩٦–١٣٢٣
رغد نواف جرجيس/ شمال يونس عبد الهادي	تحفيز التغايرات الجسمية في مزارع كالس اليانسون *Pimpinella anisuml* باستخدام الصوديوم ازايد	١٣٣٢–١٣٤٥
ا.م.د. مِرا اسامة احمد الكاتب / سارة عبدالواحد محمد	فعالية مستخلص السيانوبكتريا *Westiellopsis prolifica* ومركباته الفينولية المعزولة ضد البكتريا والفطريات	١٣٤٦–١٣٦٧
فوز عبد السلام الصفار/ عبد الرزاق خضر/ نجوى ابراهيم البرهاوي	تأثير حذف *nifD gene* وجزء من*nifH* gene و*nifK* gene على انتاج الغشاء الحيوي في بكتريا *Klebsiella pneumoniae*	١٣٦٨–١٣٧٧
م. فرح يونس حسين الخليفة/ أ.د باسمة احمد عبدالله	الحساسية المتماحلة للمحسسات لدى مرضى المجاري البولية في محافظة نينوى	١٣٧٨–١٣٩٤
حنان صديق سعدون/ نبيل عناد صالح/ انتصار رحيم	دور الموت الخلوي المبرمج في خصوبة وعقم الأكياس العدرية في الابقار والاغنام والمعز الخمجة طبيعيا	١٣٩٥–١٤١١

اسماء الباحثين	العناوين	رقم الصفحات
الكناني		
رنى وعد الله يونس/ ياسين حسين عويد/ كركز محمد ثلج	دراسة بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبكتزولوجية لعينات مياه نهر دجلة ومياه الاسالة في محافظة نينوى	١٤١٢-١٤٣١
إناس حازم محمد ، نبيل هادي بطرس	تحضير وتشخيص معقدات متعددة النوى , Ni(II), Cu(II), Sb(II) Co(II)، Bi(III)مع مركبات (0-,0) ثنائي ايزوبيوتيل او البيوتيل الثالثي ثنائي ثايو فوسفات)القصدير(IV)	١٤٣٢-١٤٥٢
سلوان وعدالله يوسف	التاثير الواقي لنبات الجنسنغ *Panax ginseng* في الفئران المعرضة للتسمم بالرصاص	١٤٥٣-١٤٦١
د .هاني مال الله حمودي/ اروى ادريس احمد	تأثير شراب الكوكاكولا الحاوي على الكافيين في احداث التشوهات العيانية والآفات النسجية المرضية في دماغ اناث الفئران البيض *Mus musculus* الحوامل	١٤٦٢-١٤٧٠
د . محمد ابراهيم خليل / دلال عبد الله فتحي	دراسة التغاير الوراثي لنبات الحنطة الناتج عن التلوث بالمعادن الثقيلة	١٤٧١-١٤٨٣
رسمية عمر سلطان الجبوري/ محسن أيوب عيسى العكيدي	تأثير عدد من المواد في انتاج انزيمي البروتييز والايلاستيز لجرثومة ⁎ *Pseudomonas aeruginosa*	١٤٨٤-١٤٩٥
د . فاطمة إبراهيم سلطان الدليمي/ علي أحمد جاسم	فصل وتشخيص عدد من الاحماض الدهنية وبعض المركبات الفينولية من بذور الكتان ودراسة تأثيرها الحيوي على نوعين من البكتريا الممرضة للنبات	١٤٩٦-١٥٢١
م.م. اسيل عصام جمال الدين النوري / رنا إبراهيم خليل / جمال محمد حسين	تأثير المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان على جرثومتي Staphylococcus aureus , Staphylococcus epidermidis	١٥٢٢-١٥٣٣
م.م سجى ضياء الدين	دراسة تشخيصية ووراثية للبكتريا من جنس المتقلبات المعزولة من نماذج مرضية	١٥٣٤-١٥٥٠

اسماء الباحثين	العناوين	رقم الصفحات
مصطفى/ أ.د خالد دحام احمد	للإنسان	
أ.م.د سعيد حسن سعيد النعيمي/ أ.م.د بثينة حاتم السبعاوي/ م. روعة ناجي نايف	الترددات الراديوية وتأثيرها على بعض النواحي الفسلجية للفئران المهق	١٥٥١–١٥٦٦
مي عبد الحافظ عبد القادر العلاف	دراسة حول تأثير المجال المغناطيسي على بعض أنواع الجراثيم المعزولة من بيئات مختلفة	١٥٦٧–١٥٧٦
Laith Rabih, Ghazwan Gh, Ali , Marwan H. Younus, Sudjatmoko, Kuwat Triyana, Pekik Nurwantoro	Effect of oxygen ratio on the Electrical and optical properties of TiO_2 films deposited by DC reactive sputtering technique	١٥٧٧–١٥٨٨
أسماء عماد عبد / د.أحمد نوري محمود/ د . إدريس عيدان	دراسة تأثيرات الحجم الحبيبي لمادة التدعيم على كفاءة مقاومة البلى لمادة متراكبة بوليمرية المادة الأساس	١٥٨٩–١٦١١
أحمد نوري محمود/ أسماء عماد عبد	دراسة تأثيرات الحجم الحبيبي وهيئة الاحتواء على السلوكية الميكانيكية لمادة متراكبة بوليمرية المادة الأساس	١٦١٢–١٦٣٥
اسراء طالب حميدي	التقدير الطيفي لهيدروكلوريد الترايفلوبيرازين في الجرعات الصيدلانية باستخدام كاشف ٤,٢– ثنائي كلوروانيلين	١٦٣٦–١٦٤٩
أ. د. زهور ف. داؤد/ د. رنا ر.ع. البستاني	عدد من المعقّدات الجديدة لمزيج من الليكندات– للنحاس (II) وتشخيصها وفعاليتها الحيوية وتأثير الليزر	١٦٥٠–١٦٧٦
ا.م. ابتهاج زكي سليمان آل	دراسة التحليل الحراري الوزني للمخاليط الفيزيائية لراتنج الأيبوكسي مع N–٢	١٦٧٧–١٦٩٦

اسماء الباحثين	العناوين	رقم الصفحات
حليم / ا .اكرم عزيز محمد	برومو فنيل حامض الماليميك	
ايناس سعدي حسين، سرى سالم أغوان	المقارنة بين محاليل التركيز لتشخيص بيوض الديدان الاسطوانية في الضأن	١٦٩٧–١٧٠٦
Dr. Yusra Majeed Al-shaker	A Study to determine the validity of groundwater for different uses in Semel - Dohuk governorate	١٧٠٧–١٧١٤
Amal abdulEllah Yonis, /Ali Ashgar Abed	Histopathological Changes In Some Organs Of Mosquito Fish *Gambusia holbrooki* Exposed to Cadmium Chloride	١٧١٥–١٧٢٨
Sarah Ali Saeed /Israa Kasim Al-Aubaidi	Role of Interleukin – 17A in Diabetic Type 2 Patients Infected with *Toxoplasma gondii*	١٧٢٩–١٧٤٠
Asst.Prof Dr. Luma abdalmunim Baker, Prof. Dr.Nahida Saieed Hamoodi*,.Prof. Dr. Hazha Jamal Hidayet	Study of paraoxonase3 enzyme for women with breast cancer (Biochemical and molecular genetics study)	١٧٤١–١٧٥٩
منيف عبد مصطفى/خالدة عبدالله /حميد مهدرس رحيل	تأثير مستخلصات الكحول الأثيلي لاجزاء نبات السبحبح *Melia ozedarach* L في بعض جوانب الاداء الحيوي لبعوض الكيولكس *Culex pipiens molestus* Forska	١٧٦٠–١٧٧٥
د . سماء طليع/ علي صالح	تصميم نظام للإجازات ومتابعتها باستخدام أوركل	١٧٧٦–١٧٩٥
د . سعد جليل متي	Elementary semigroups of linear transformations and their generating the equations	١٧٩٦–١٨٠٥

اسماء الباحثين	العناوين	رقم الصفحات
Rana Z. Al-Kawaz Abbas Y. Al-Bayati Marwan S. Jameel	**A New Result of Conjugate Gradient Method with Non-monotone Line Search-Part I**	١٨٠٦–١٨١٦
Dr. Basim A. Hassan Osama M. Taher Hameed M. Sadeq	A New Nonlinear Conjugate Gradient Coefficient Based on the Scaled Rank-One Update	١٨١٧–١٨٢٨
د . أسماء زياد محمد الكاتب	حل الحدوديات الضبابية بطريقة دليل العدد الضبابي	١٨٢٩–١٨٣٩
Saja O. Mohammad T. /Enaam G. AL-taher /Huda Y.Najm	A New Mixed in Sequential Unconstrained Minimization Techniques Cuckoos Search in Constrained Optimization	١٨٤٠–١٨٤٦
Maimoonah Khalid Qasim / Zakariya Yahya Algamal	A QSPR study on melting point of energetic carbocyclic nitroaromatic compounds based on a statistical approach	١٨٤٧–١٨٥٩

توظيف طيف التداخل الضوئي كمتحسس للاستقطاب وتغيرات القدرة

دريد حازم احمد الهلالي

الملخص

تم محاكاة نمط تداخل مثالي لمقياس التداخل الليفي لمصدر ليزر مستمر تردده 193.1THz وذلك لتوظيفه كمتحسس للاستقطاب الضوئي وتغيرات زوايا السمت والاهليجية واتجاه الدوران عبر ملاحظة معالم التداخل كإزاحة التردد و زاوية الطور.

أظهرت الدراسة إمكانية تحسس الهدب المركزي لنمط التداخل لزوايا الاستقطاب والاهليجية وان أدنى قدرة لخرج المقياس عند الزاويتين -90^{o},-270^{o} .

Use of Optical Fiber Interferometer as a Sensor of Polarization and Power Changes

Lect. / Duraid Hazim Ahmed / Science Department
College of Basic Education

ABSTRACT

The production and analysis of an optimal interference pattern for the optical interferometer of a 193.1THz continuous laser source was simulated to investigate the effect of optical polarization and changes of azimuth and elliptic angles on the frequency shift, phase angle .

The study showed that the fringe pattern can be sensed the displacement of central fringe at the angles of polarization and elliptical. While the output power of the meter is lowest at the angles -90^{o}, -270^{o}.

١- المقدمة :-

وظف الليف البصري كمتحسس عبر تقنية الكشف المقارن التي تعتمد على التداخل الضوئي للتحسس بالضغط ، الإجهاد ، درجة الحرارة ، الدوران ، وقياس سرع الجسيمات فضلا عن التحسس بالمجالات الكهربائية والمغناطيسية [1,2,3] لما لمتحسسات الألياف من مواصفات فريدة فهي ذات حساسية ودقة عالية ، خفيفة الوزن ، مضغوطة تتحمل ظروف بيئية مختلفة ، مرنة ، سلبية التفاعل ، محمية من التداخلات الكهرومغناطيسية [1].

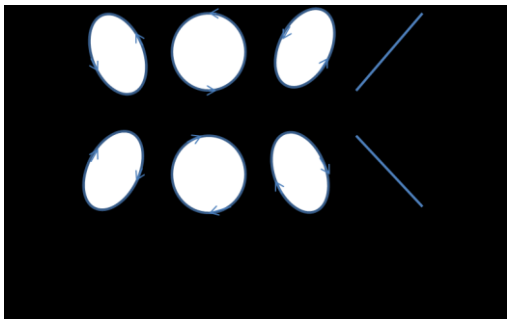
الهدف من هذه الدراسة هو استخدام مجموعة البرامج البصرية Optisystem كمحاكاة لإنتاج نموذج تداخل ضوئي مثالي لمقياس التداخل Delay Interferometer لمصدر ليزر مستمر ذي تردد

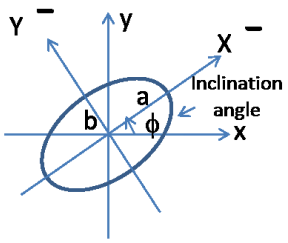
193.1THz لتوظيفه كمتحسس لتغيرات زوايا الاستقطاب الضوئي وتأثيرها في إزاحة نمط الهدب وفرق الطور والتغيرات الطيفية المصاحبة لوصف الاستقطاب كمعاملات ستوكس ونوع الاستقطاب وموقعه واتجاه الدوران وتحسس القدرة الضوئية لخرج المقياس.

٢- الجزء النظري :-

ان دالة التحويل بين فرق الطور وفرق المسار البصري هي $\delta = \frac{2\pi}{\lambda}(O\,PD)$. يتأثر فرق الطور بتغيرات المسار البصري نتيجة لتغير الطول الفيزيائي ، معامل الانكسار ، الطول ألموجي ومن خلال قياس إزاحة الطيف يمكن التحسس بالإجهاد ، الحرارة . ولان مقاييس التداخل تزود معلومات طيفية زمانية ومكانية عن الإشارات المتداخلة فان الكمية المراد تحسسها تحسب عبر تغير الطول ألموجي ، الطور، الشدة ، التردد ، عرض الطيف وهذا يعطي مدى ديناميكي واسع ودقة وحساسية عالية [4] .

يقال للموجة أنها مستقطبة خطيا أو استوائيا في حال تذبذب المجال الكهربائي باتجاه ثابت داخل المستوي xy بفرق طور $(\delta=0,\pi)$ وأنها مستقطبة دائريا عند الدوران المنتظم للمركبتين $(A_x=A_y)$ في المستوي xy باتجاه عقارب الساعة بفرق طور $(\delta=\pi/2)$ وبعكس عقرب الساعة بفرق





الشكل (2) الاستقطاب الاهليجي [4]

طور$(\delta=-\pi/2)$ وأنها مستقطبة بيضاويا أو بشكل اهليجي عند الدوران الغير منتظم للمركبتين $(A_x \neq A_y)$ في المستوي xy وهي الحالة الأكثر عمومية للاستقطاب إذ أن ألاستقطابي الخطي والدائري حالات خاصة للاستقطاب الاهليجي كما أن الوصف الشامل لهذا الاستقطاب يتضمن ميلان الاهليج نسبة للمحاور الإحداثية وشكله وإدراك التفاف المجال الكهربائي [4] $\sin\delta > 0(CW)$ $0 >$ (CCW) . الشكل (1) يوضح أشكال الاستقطاب لفروق طوريه مختلفة .

وتعرف الاهليجية e على أنها $e=\pm b/a$ إذ إن a,b أطوال محاور الاهليج الأساسية ، لاحظ الشكل (2)، فعند الالتفاف يمينا تكون الاهليجية موجبة بينما تصبح سالبة في حالة الالتفاف يسارا وبذلك

تكون اهليجية الاستقطاب الدائري e=±1 فضلا عن زاوية السمت ψ، الميلان نسبة للمحور x [4].الشكل (3) يضع موقع كل حالة من حالات ، وفرق الطور النسبي δ واتجاه الالتفاف لكل حالة . الاستقطاب الاهليجي نسبة للمحاور الأساسية xy

$$S0 = \langle\langle\ Ax^2 + Ay^2\ \rangle\rangle$$
$$S1 = \langle\langle\ Ax^2 - Ay^2\ \rangle\rangle$$
$$S2 = 2\langle\langle\ AxAy\cos\delta\ \rangle\rangle$$
$$S3 = 2\langle\langle\ AxAy\sin\delta\ \rangle\rangle$$

الشكل(3) موقع كل حالة من حالات الاستقطاب الاهليجي نسبة للمحاور الأساسية xy [4]:- (0,0) الاستقطاب الخطي على طول المحورx ،(1,0) الاستقطاب الخطي بزاوية سمت 45^o ، (0,1) الاستقطاب الدائري CW ، (0,-1) الاستقطاب الدائري CCW

يعبر أيضا عن استقطاب الموجة المستوية بمصفوفة متجهات جونس الآتية إذ تضم معلومات كاملة عن سعة المركبات وأطوارها [4].

$$J = \begin{vmatrix} Ax & e^{i\delta x} \\ Ay & e^{i\delta y} \end{vmatrix}$$

ويعبر عن حالة الاستقطاب الاهليجي العام بالمصفوفة

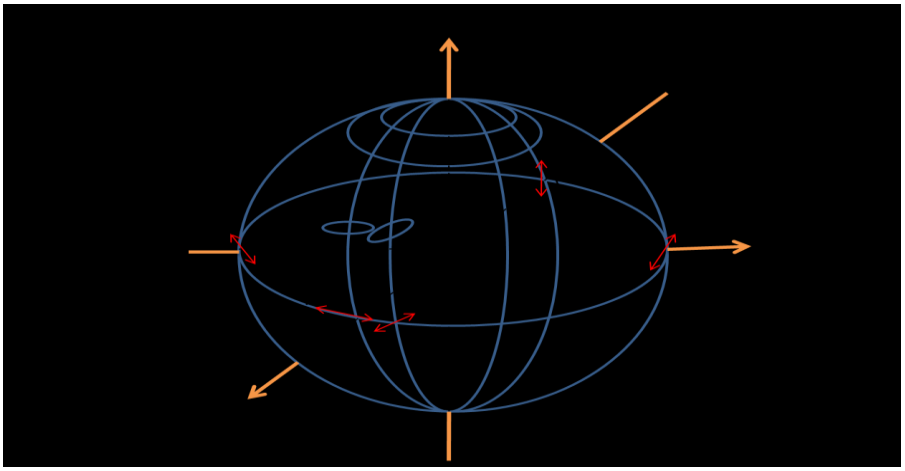
فإذا عير المجال ليصبح S0=1 فان التعبير عن الضوء غير المستقطب هو (1,0,0,0) وللمستقطب أفقيا هو(1,1,0,0) وللمستقطب عموديا (1,-1,0,0) وللدائري (CCW,δ=-π/2) هو (1,0,0,-1) وللدائري (CW,δ= π/2) هو (1,0,0, 1) ، الآتية. لاحظ الجدول (1) الذي يدرج أهم حالات الاستقطاب [4] .

$$J(\psi,\delta) = \begin{vmatrix} cos\psi & . \\ e^{i\delta} & sin\psi \end{vmatrix}$$

استخدمت معاملات ستوكس أو متجهات ستوكس في وصف حالة الاستقطاب وهي أربع معاملات (S0,S1,S2,S3) قابلة للكشف والقياس الضوئي تمثل المعدل الزمني للكميات , Ax , Ay , cosδ sinδ إذ أن:-

لاحظ الجدول (1) ، . وقد مثلت هذه المتجهات رياضيا بكرة ثلاثية الأبعاد محاورها S1,S2,S3 (على اعتبار أن S0=1) تسمى Poincare Sphere ، لاحظ الشكل (4) [4]. إن أي نقطة من نقاط سطح الكرة يمثل حالة من حالات

الاستقطاب فكل النقاط الواقعة على خط استواء الكرة تمثل حالات الاستقطاب الخطي بأنواعه الأفقي والعمودي والمائل بينما تعبر بقية النقاط عن الاستقطاب الاهليجي وأنواعه الدائري والمائل [4].

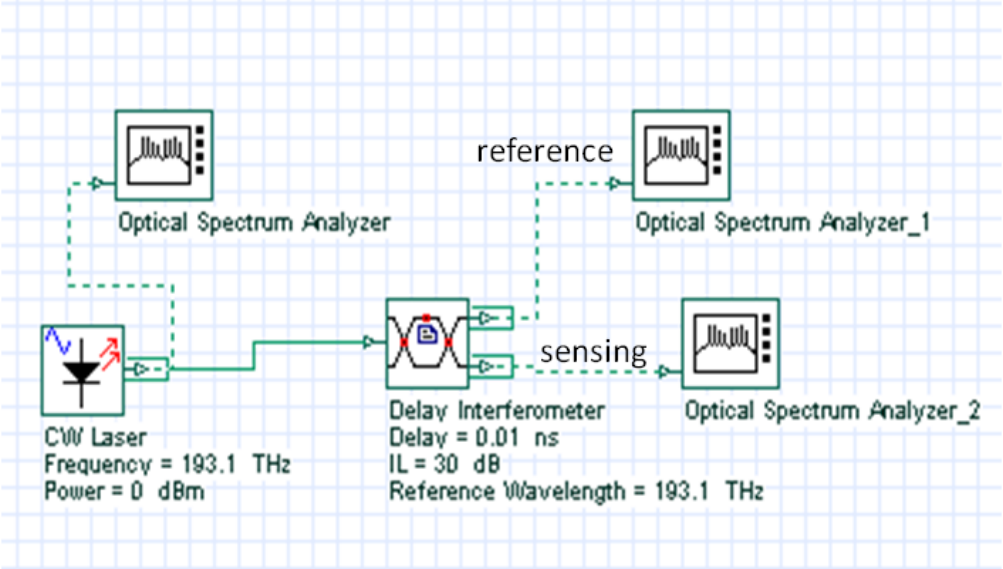


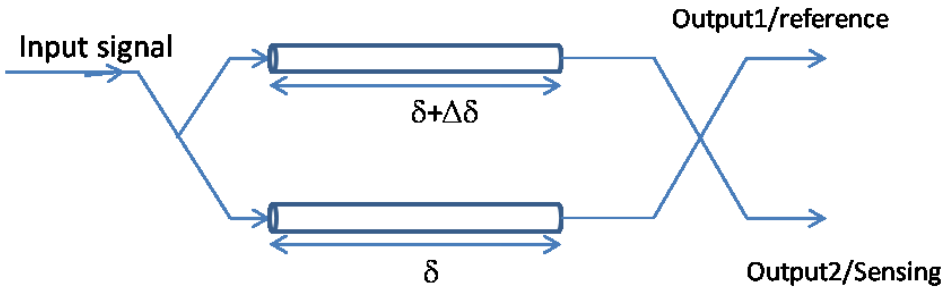
الشكل (4) توزيع مواقع مختلفة لأنواع الاستقطاب على سطح الكرة الافتراضية Poincare Sphere [4]

إن أساس عمل مقياس التداخل الليفي المستخدم في هذه الدراسة يعتمد على الفرق بين ذراعي المقياس وهو يتعلق بالطول ألموجي وتحسس الاستقطاب . الشكل (5) يبين البنية الجوهرية للمقياس إذ انه يتكون من ذراعين من الليف الضوئي عند دخول الإشارة الضوئية فإنها تنشطر باتجاه الأذرع نحو خرجي المقياس وان فرق الإعاقة ألطوريه بين الذراعين $\Delta\delta$ يتناسب والطول ألموجي للإشارة الضوئية وان محاكاة ذلك يتم عبر تطبيق مصفوفة جونس للإشارة الداخلة [5] .

Polarization Ellipse	Jones Vector	(δ,ψ)	(ϕ,θ)	Stokes Parameters
———	$\begin{bmatrix}1\\0\end{bmatrix}$	(0,0)	(0,0)	(1,1,0,0)
|	$\begin{bmatrix}0\\1\end{bmatrix}$	(0,π/2)	(π/2,0)	(1,-1,0,0)
/	$1/\sqrt{2}\begin{bmatrix}1\\1\end{bmatrix}$	(0,π/4)	(π/4,0)	(1,0,1,0)
\	$1/\sqrt{2}\begin{bmatrix}1\\-1\end{bmatrix}$	(π,π/4)	(-π/4,0)	(1,0,-1,0)
◯	$1/\sqrt{2}\begin{bmatrix}1\\-i\end{bmatrix}$	(-π/2,π/4)	(0,π/4)	(1,0,0,-1)
◯	$1/\sqrt{2}\begin{bmatrix}1\\i\end{bmatrix}$	(π/2,π/4)	(0,-π/4)	(1,0,0,1)

جدول (1) يعرض تعابير متنوعة لحالات الاستقطاب [4]
ϕزاوية ميل الاستقطاب الاهليجي ، θ الزاوية الاهليجية $\theta=\tan^{-1}e$



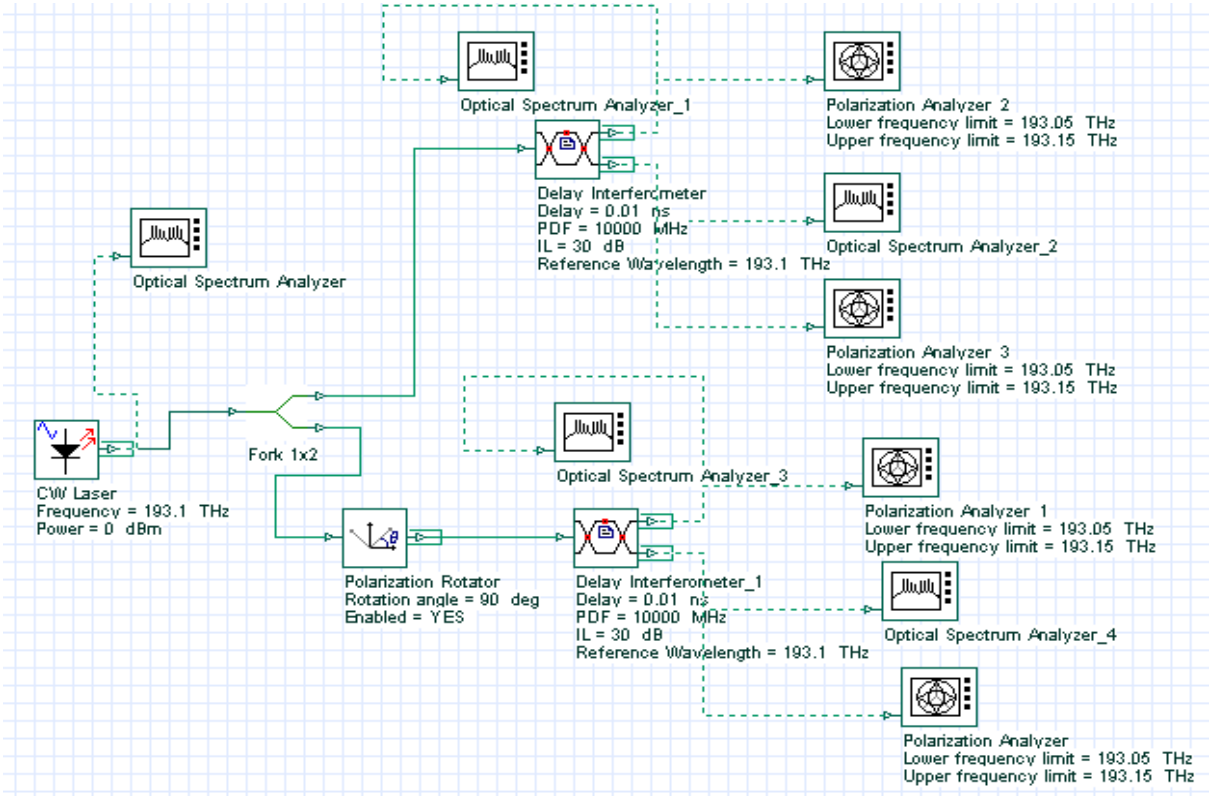


الشكل (5) البنية الجوهرية لمقياس التداخل Delay Interferometer [5]

٣- الجزء العملي

الشكل (6) المخطط الكتلي لدائرة تكوين التداخل الضوئي

الشكل (6) يعرض المخطط الكتلي لدراسة نموذج التداخل لمقياس التداخل Delay Interferometer إذ تم الاعتماد على الليزر المستمر ذي التردد 193.1 THz بقدرة 0 dBm كمصدر ضوئي وحيد الموجة مثالي لتحقيق التداخل ، أما ما يخص معالم مقياس التداخل المستخدم فهي مدرجة في الجدول (2) .



جدول (2) معالم مقياس التداخل المستخدم

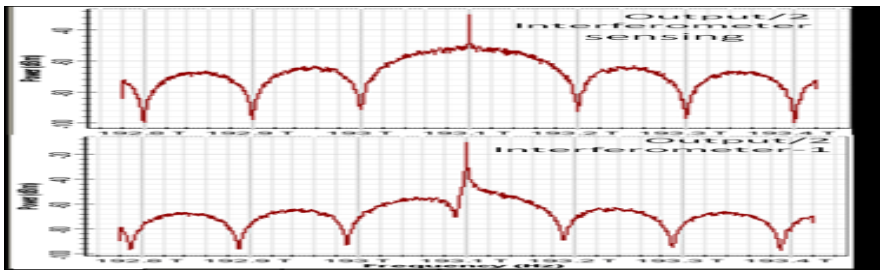
للتقصي عن تحسس طيف الهدب للاستقطاب الضوئي واثر تغير زاوية السمت تم تصميم المخطط الموضح في الشكل (7) ، بشكل مقارنة ، بعد إضافة مدور استقطاب للمقياس

الشكل (7) المخطط الكتلي لدراسة تأثير تغير زاوية السمت على طيف هدب التداخل

الشكلان (8,9) يضعان الأطياف بشكل مقارنة بين نموذج الهدب للخرج المرجعي ونموذج الهدب للخرج المتغير لمقياسي التداخل . كما أن الجدول (3) يعرض

Interferometer-1 يعمل على تدوير نظام المحاور الإحداثية بزاوية مقدارها 90^{o} وتثبيت Time Delay بمقدار 0.01ns وPDF=10000MHz للمقياسين

التغيرات التي رافقت الهدب المركزي في المقياسين عند التردد المرجعي 193.1THz .



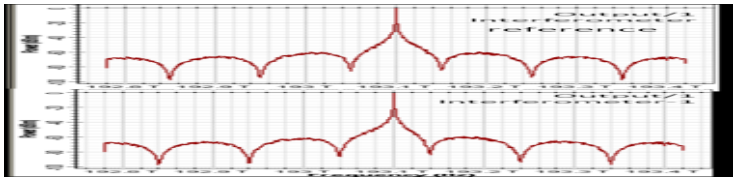
الشكل (8) طيفي الخرج المرجعي للمقياسين

الخرج المرجعي							
	Stokes Parameters				Polarization State		Bandwidth/THz
	S0	S1	S2	S3	Azimuth	Ellipticity	
Output/1 Interferometer	-1.6dBm	1	0	0	0^o	0^o	193.05-193.15
Output/1 Interferometer-1	-2.1dBm	-1	0	0	-90^o	0^o	193.04-193.14
الخرج المتغير							
Output/2 Interferometer	-31.6dBm	1	0	0	0^o	0^o	193-193.2
Output/2 Interferometer-1	-11.7dBm	-1	0	0	-90^o	0^o	192.99-193.19

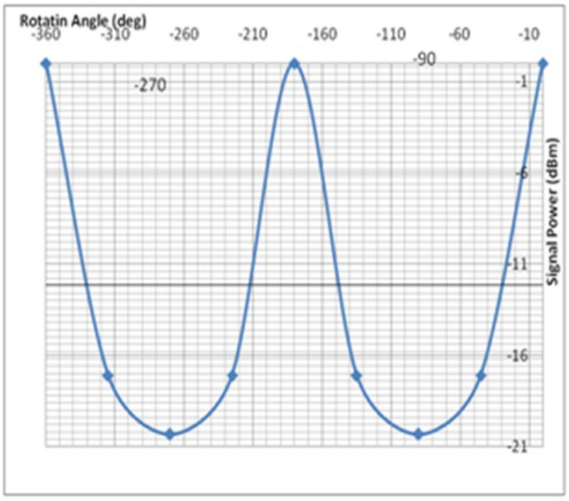
الشكل (9) طيفي الخرج المتغير للمقياسين

جدول (3) نتائج معاملات استقطاب الهدب المركزي بدون تدوير زاوية السمت وبعد تدويرها

نتيجة لدوران زاوية السمت 90^o فان طيف الخرج المرجعي ، الشكل (8) ، سينتقل من المحور X إلى المحور Y في محلل الطيف الضوئي وان التغيرات طفيفة وبخاصة حالة عدم الانتظام للهدب المركزي وعدم تناظره حول التردد المرجعي ونقصان قدرته بمقدار 0.5dBm . أما ما يخص طيف الأهداب للخرج المتغير ، الشكل (9) ، فان تأثير زاوية السمت سيحول الطيف إلى المحور Y أيضا وان التغير ملحوظ بشكل كبير على الهدب المركزي إذ نلاحظ تراوح قدرته بين -11.7dBm و -70dBm نتيجة لانشطاره إلى هدبين واختلاف طوره . فضلا عن الإزاحة الجانبية بمقدار 0.01THz لكل الهدب المعروضة في الشكلين السابقين وهو ما يوافق القيمة النظرية التي ثبتناها في مواصفات المقياسين، PDF=10000MHz ، مع الاحتفاظ بالفاصلة الترددية FSR=100 GHz واعتمادها على الإعاقة الزمنية فحسب . أما بيانات خطوط ستوكس فإنها تدل على تغير نوع الاستقطاب من الاستقطاب الخطي الأفقي HLP(1,0,0) في المقياس الغير مدور إلى الاستقطاب الخطي العمودي (-1,0,0) VLP في المقياس المدور بزاوية دوران -90^o عكس عقرب الساعة CCW .

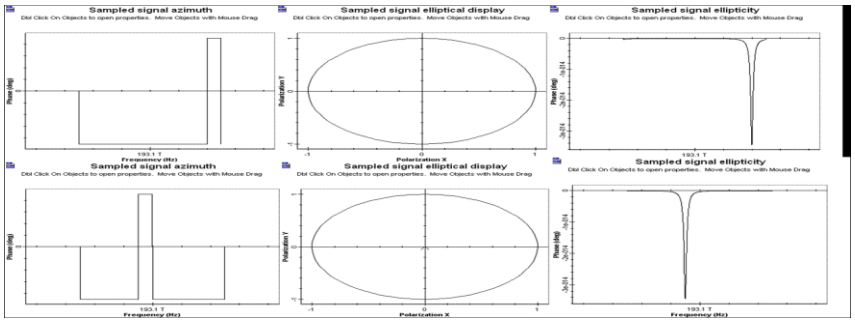


تشير أيضا نتائج محللات الاستقطاب في الشكل (10) أدناه إلى متغيرات زاوية السمت ونوع الاستقطاب بشكله الاهليجي العام والاهليجية لاستقطاب الهدب المركزي بين خرجي مقياس التداخل Interferometer-1 إذ أن الأشكال العليا تشير بان الاستقطاب خطي عمودي وان زاوية السمت - 90° للتردد 193.1THz وأنها تنقلب من -90° إلى +90° عند نهاية الهدب المركزي المضيء وبداية الهدب المظلم الأول بينما الأشكال الدنيا خاصة بالخرج المتغير للمقياس إذ نلاحظ أن الاستقطاب أصبح اهليجي بظهور مؤشر لاتجاه الدوران بعكس



الشكل (15) تغير القدرة الضوئية لخرج مقياس التداخل مع زاوية السمت

عقرب الساعة نتيجة للإعاقة الزمنية وفرق الطور بين الذراعين مما أدى إلى انقلاب جديد لزاوية السمت وحدوث زحف ترددي قدره 0.01THz وهو المسبب في انشطار الهدب المركزي ، نشوء هدب

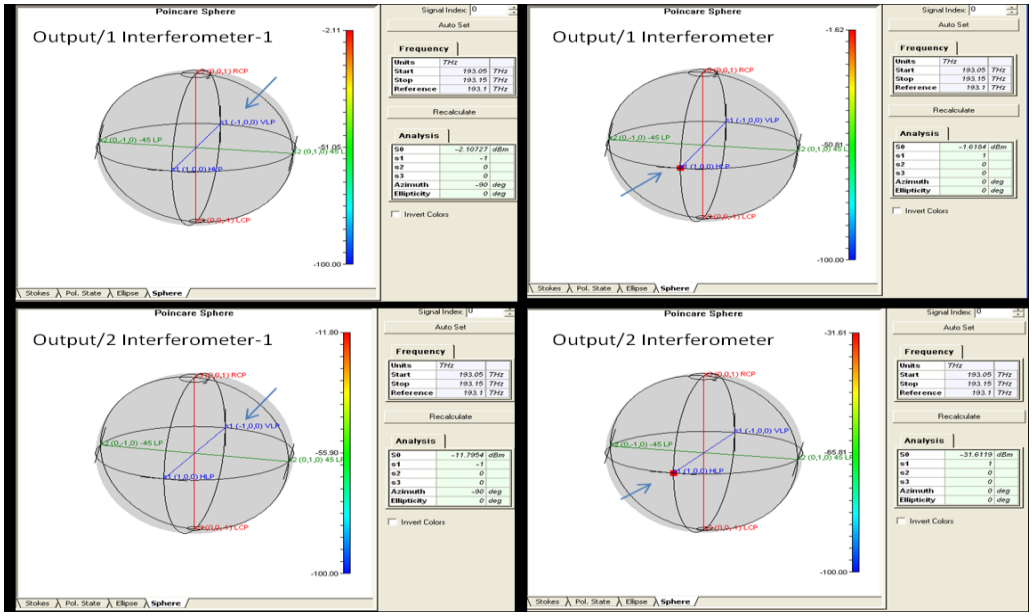


الشكل (10) عرض لمتغيرات استقطاب الهدب المركزي بين خرجي مقياس التداخل 1جديد . كما أن الشكل (11) يعرض كل النتائج لمعاملات ستوكس وزاوية السمت والزاوية الاهليجية لخرجي المقياسين مع بيان مواقع حالات الاستقطاب على السطح الكروي Poincare Sphere .

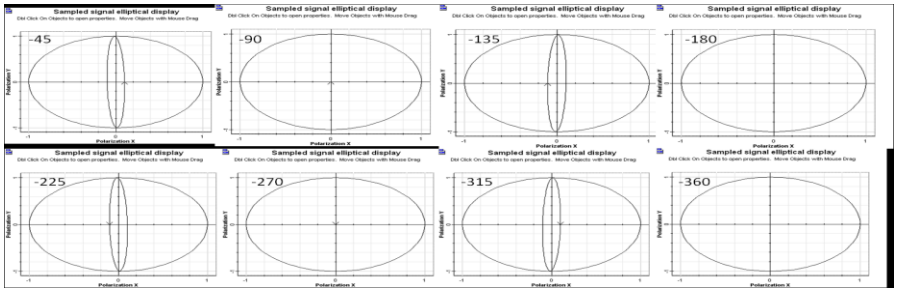
الشكل (11) نتائج محللات الاستقطاب ومواقع حالات الاستقطاب على Poincare Sphere ولبيان تحسس نمط التداخل لتغيرات القدرة الضوئية واعتمادها على زاوية السمت تم مسح زاوية التدوير ضمن المدى 0°-360° . الشكل (12) يبين نتائج المسح إذ لوحظ تفاوت في خسائر القدرة الضوئية بسبب التغير في زاوية الاستقطاب وان أعلى الخسائر

تكون عند الزاويتين270^o- , 90^o-

وهو متوقع كون أن الزاويتين متعامدتين مع الاستقطاب الأفقي . وقد لوحظ تكرار نوع الاستقطاب عند تدوير زاوية السمت ، بزيادة 45^o- ، من الخطي عند 0^o إلى الاهليجي عند 45^o- ثم الدائري عند 90^o- ثم الاهليجي عند 135^o- عودة إلى الخطي عند - 180^o باتجاه CCW . وهكذا يتكرر الاستقطاب وصولا إلى الخطي عند 360^o- ولكن بدوران CW ، لاحظ الشكل (13).



الشكل (13) تغير استقطاب خرج مقياس التداخل عند زوايا سمت مختلفة



٤- الاستنتاج :-

خلصت الدراسة إلى مجموعة من الاستنتاجات تضم تحسس نمط التداخل لما يلي :-

- لزاوية السمت دور في تغير نوع الاستقطاب ، قدرة الهدب ، وفي إحداث إزاحة ترددية وبخاصة الزاويتين (270^o-,90^o-) المتعامدتين مع الاستقطاب الأفقي كونهما تضعان القدرة الضوئية لخرج المقياس في أدنى قيمة وتحدثان فرق طور يمكن

التحسس به من خلال انشطار الهدب المركزي وولادة هدب مظلم جديد .

- اتجاه دوران الاستقطاب الاهليجي ونوعه يحدده مقدار زاوية السمت وانه يظهر بالشكل الخطي أو الاهليجي أو الدائري .
- تأثير الإعاقة الزمنية للمقياس يشاهد بوضوح كتغيرات ترددية لنموذج التداخل .
- طيف التداخل منظومة تحسس دقيقة للتغيرات الاستقطابية و الفروق الطورية والإزاحات الترددية فهو كالمجس للتأثيرات الخارجية أو الداخلية .
-

المصادر :-

1

- B. Ha Lee, Y. Ho Kim ," Interferometric Fiber Optic Sensors", J. Sensors 2012 .

2- S. V. Dhurandhar & W.-T. Ni ," Numerical simulation of time delay interferometry for a LISA-like mission with the simplification of having only one interferometer ", Class. Quantum Grav., 2013.

3- U. Sharma & X. Wei , Fiber Optic Interferometric Devices, Springer Science+Business Media New York 2013.

4- A.Yariv & P. Yeh , Photonics: Optical Electronics in Modern Communications ,6th ed. ,Oxford University Press ,2007.

5- OptiSystem Component Library Optical Communication System Design Software. Version.7,US, Copyright © 2008 Optiwave.

Design and Implementation of one Axis Solar Tracking System

Ammar Yassen Burjes Yusra Malallah Abdulla

Department of Physics, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

In this paper we will design and implement a horizontally moving solar tracking system. The system will follow the sunlight by using one servo motor. The moving motor will rotate (0^0-180^0) from East to West. The system will use Lux meter, voltage sensor, current sensor and two light dependent resistors (LDRs) to measure the (lux, Voltage, Current). The measured values will then be processed by an ATMEGA microcontroller, that is embedded in the Arduino Leonardo board, and the servo motor position will change according to the incident light intensity on the small solar panel which senses the light by the two LDRs connected with it. The system is programmed using Arduino IDE.

Keywords: Arduino, One Axis Solar Tracker, ATMEGA microcontroller, LDR, Servo motor.

تصميم وتنفيذ منظومة تتبع شمسي احادي المحور

عمار ياسين برجس يسرى مال الله عبدالله

الملخص

في هذا البحث قمنا بتصميم وتنفيذ منظومة تتبع شمسي تتحرك بصورة افقية، هذه المنظومة سوف تتبع الشمس باستخدام محرك من نوع سيرفو. هذا المحرك يستطيع الدوران (٠°–١٨٠°) من الشرق الى الغرب. في هذه المنظومة تم استخدام مقياس شدة الاضاءة، حساس قياس الفولطية، حساس قياس التيار ومقاومتين ضوئيتين لقياس كل من (شدة الاضاءة، الفولطية، التيار). القيم المقاسة سوف يتم معالجتها بوساطة المتحكم الدقيق من نوع ATMEGA الذي يكون مدمج في بورد الاردوينو من نوع ليوناردو، وان حركة محرك السيرفو سوف تتغير تبعا لشدة الضوء الساقط على الخلية الشمسية الصغيرة والتي تتحسس الضوء بوساطة المقاومتين الضوئيتين المرتبطتين معها، هذه المنظومة تم برمجتها باستخدام Arduino IDE.

الكلمات المفتاحية: اردوينو، متتبع احادي المحور، متحكم دقيق من نوع ATMEGA، محرك سيرفو.

Introduction

There are three top energy sources of electricity in U.S are coal at 37%, nuclear at 19% and natural gas 30% [1]. In future Solar energy will be more popular than other renewable energy resources to take over the scarcity of hydrocarbon[2]. Earth surface received about 600 w/m^2 of solar energy on average [3]. This value depends on several factors such as the atmospheric conditions and the time of the day [1]. Photo voltaic (PV), is one of the exciting new technologies that is already helping towards a solar future. The PV panels are usually mounted at a near open area to face the sun or on the roof of the house[4]. Some people try seasonally to adjust the module's direction manually towards the sun [5,6], to collect as much solar radiations as possible. It is more efficient and convenient to use a sun tracking system [7]. Sun tracking is a device that keeps photo thermal or photovoltaic panel in an optimized position vertical to the solar radiation during day light hours. This can increase the amount of collected energy from the sun by up to 40% [8]. Generally, fixed PV panels can't tracke the sun motion, will the single axis tracker follows the sun from East to West [9,10]. In 2012 Abdul-Lateef [9] presented a one–axis sun tracking system using PIC 16F4A Microcontroller. The paper shows how to develop and implement a single axis solar tracking system with minimum cost. In 2013 Armendariz et al [11] presented mono centerline solar tracking system dependent on Microcontroller type (8051), and two LDRs which used to revel the difference of solar radiation. The module can be tracking the lux of sun manually & automatically. In 2015 Panerjee [12] presented solar tracking system, the system based on 555 Timer, decade counter, two LDRs and stepper motor. This system tracks max. of light intensity when there is a reduce in intensity, the system change its direction automatically to give us a max. light intensity. The aim of paper is the design and implementation of a solar tracking system in one axis by a movement of small solar panel automatically to get a maximum light.

Electronic components of the Experimental

1.Arduino Leonardo Board

Microcontroller type (ATmega32u4) is embedded in Arduino type (Leonardo). The board hase twenty digital (output/input) pins, a micro USB connection, a reset button, a (16000000)Hz crystal oscillator, the board simply connect it to a computer with a USB cable or power it with a (Dc-to-Ac) adapter or battery to started work. The board includes everything needed to support the microcontroller. Leonardo board unlike other boards because the processor has built in usb communication, eliminating needing for another processer. This makes the Leonardo works as keyboard and mouse when connected with computer,[13]. Shown in Fig.(1).

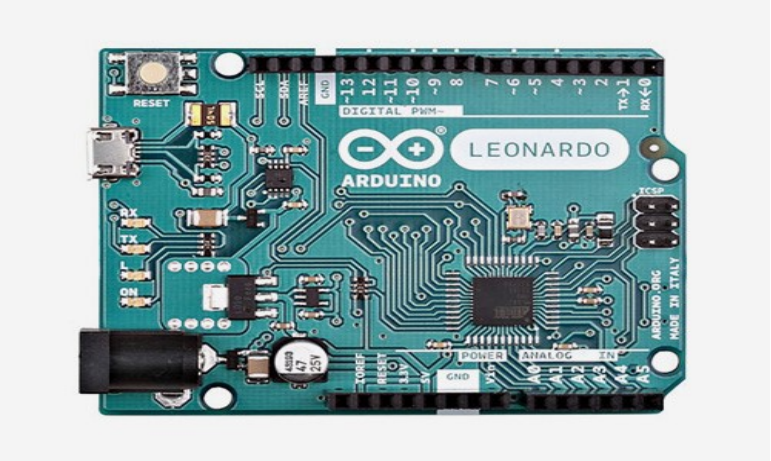


Fig.1 Arduino Leonardo Board

2.Servo Motor

The small motor has an output shaft which can be changed to special angular positions by sending the motor a coded signal. The coded signal is on the input line, the motor will maintain the angular shaft position. The angular position of the shaft change according to the coded signal changes. Servos motor is used for moving by degrees number to an exact location, when using Arduino board, you can inform the motor what degree you needed it to move and also it will move from its current position. Application servo in radio-controlled airplanes to position control surface as rudders and elevators. In addition to they are used in robots and radio-controlled cars[13].

Fig.2 Servo Motor

3. Voltage Sensor

The sensor Module (0-25)V is dependent on resistance points pressure

principle, it able the input voltage reduced 5 times of original voltage[14].

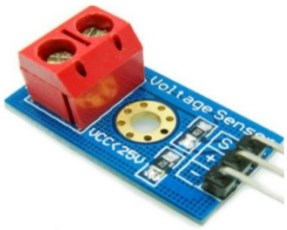


Fig.3 Voltage Sensor

4.Current Sensor

Current Sensor 5A range module ACS712 is a breakout board for the fully integrated Hall Effect based linear ACS712ELC-5A current sensor. The sensor gives acurrent measurement for both (Dc and Ac) signals. The module can measure the positive and negative 5A[15].

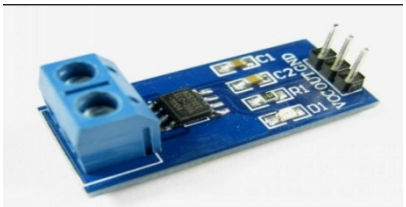


Fig.4 Current Sensor

5-Light intensity sensor (light Meter)

BH1750FVI is a digital 16bit Serial Output Type Ambient Light Sensor IC for I2 C bus interface. This IC is the most suitable to get the ambient data for fit LCD and Keypad power of backlight of a Mobile phone. It is suitable to revel a wide range signal at high resolution[16].

Fig.5 Light intensity sensor

6. Solar Panel

Small solar panels are used in this paper with the Features of good conversion and good efficiency output and very good effect of light. Specification: Output power (1w), working voltage (6V), Working current (0-200)mA and product size (2.5 x 60 x 110)mm. It is used to charge cell of phones for the lighting of home for DIY solar power toys and suitable for solar power system, etc.

The simplest sensor for detecting light is a photoresistor. It's not uncommon to also encounter another name for the exact same sensor: light-dependent resistor (LDR). The component works by changing its resistance based on the amount of light hitting it [17], light dependent resistor is useful in circuits of light sensor because it has a high resistance, sometimes used for measures some physical amount and convert it in to a signal which can be calculated by an instrument or by observer [12].

7. Light Dependent Resistor

Fig.6 Light Dependent Resistor

Experimental work & Setup

The proposed tracking system, tracks the sun light by rotating the small solar panel in one axis. The system is able to track and follow sun light intensity from East to West in order to collect maximum sun light incident on solar cell. The proposed model for one axis tracker is shown in Fig. (7). The tracker model is composed of Arduino board type Leonardo, Servo motor, Voltage sensor Module (0-25 V), Current sensor Module (ACS712), small solar panel, two light dependent resistance (LDRs) sensors, four LEDs and two switch push button. The two LDRs sensors and servo motor are used to track the Sun's East to West (0^0–180^0) movement. The servo motor and sensor are interfaced with a microcontroller which embedded in Arduino board which controls the servo motor on the basis of sensor's input. Fig. (8) shown the module of block diagram of the tracking system and flowchart of the control program are given in Fig. (9). The LDR sensor senses the light intensity and sends signal to the microcontroller. The microcontroller compares the signals received from the LDRs and decide the rotation direction of the servo motor according to the stored program. Now the system is able to follow sun light intensity in order to collect maximum sunlight incident on the cell. When there is reduce in the light intensity, automatically the system will change its direction to give us a max. light intensity, and then sends the signal to the Arduino board which processes the signal by the Microcontroller embedded in an Arduino board. We then start calculating the Lux incident on the solar cell and record the (Lux, V, I, Pin, Pout, Time, Temperature, Efficiency) Parameters by Lux sensor, Voltage sensor and current sensor which are connected to the Arduino board that has been programmed to calculate values listed above, and the time is taken directly for each reading from the computer that was connected to the system and the temperature is taken manually by a thermometer.

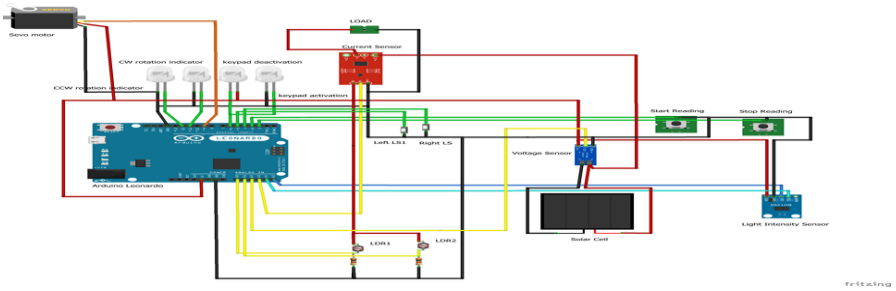


Fig.(7) The proposed model for one Axis Tracking System

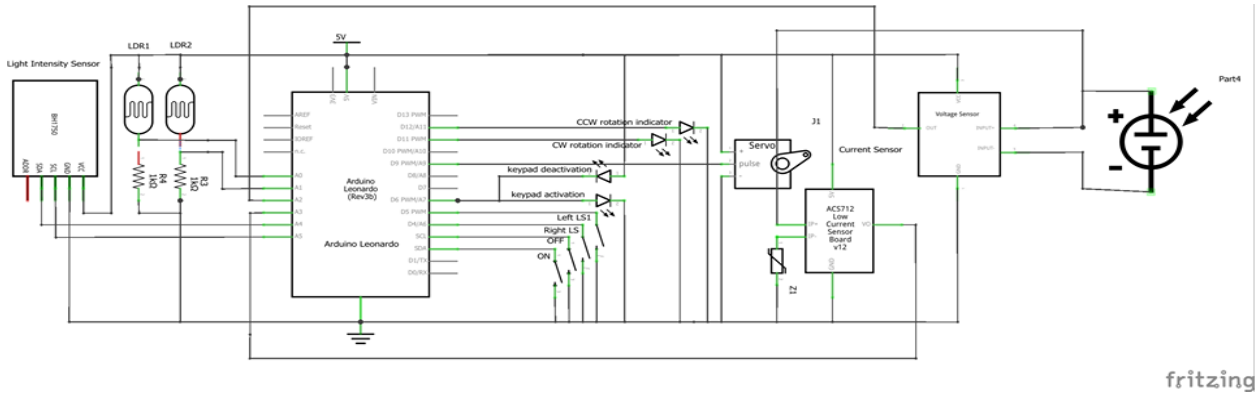


Fig.(8) Block Diagram of the Tracking System

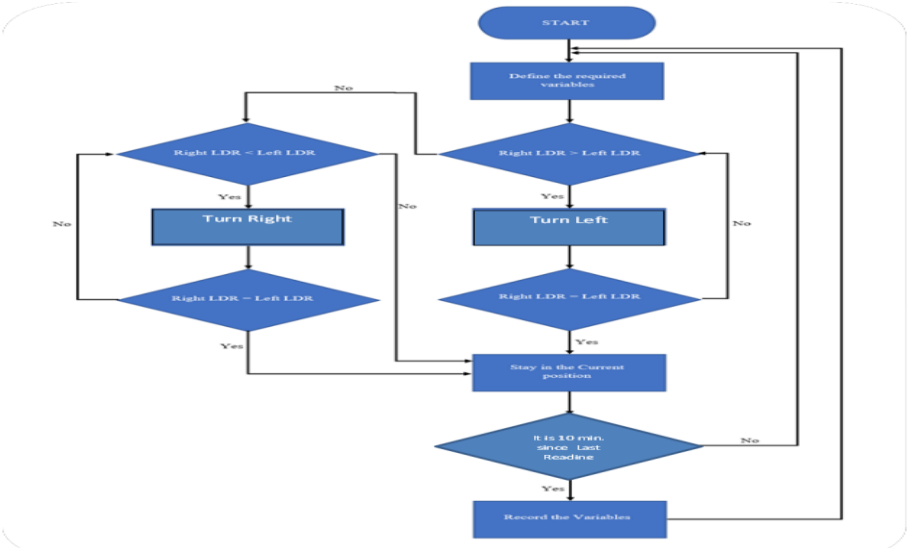


Fig.(9) Flowchart of the Control Program

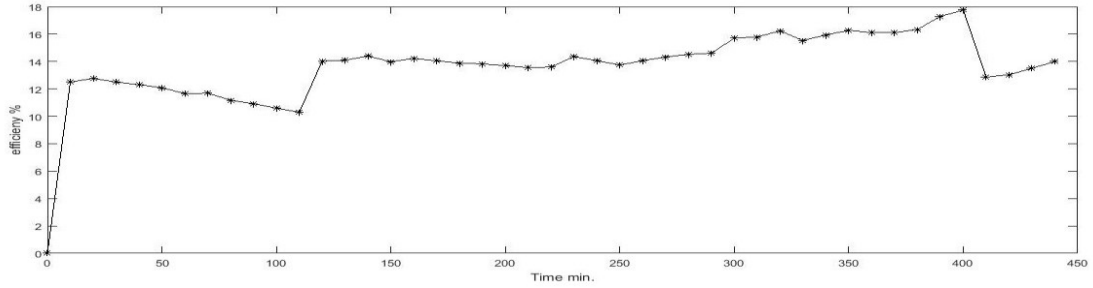
Experimental Results

After we prepared the module of tracking system. We have conducted to test the system of solar tracking in mono centerline- from East to West in the city of Mosul /Iraq in 20 February(2018), and the time testing of the experiment was between (9) am to (4) pm, the test was during a sunny day and as shown in the table(1). The data in table (1) includes time of reading, Lux, Temperature, output voltage, output current, output power, input power and efficiency, where we note the measurements in which cell efficiency ranges from (10.29%) as small value to a higher value of (17.75%) as described in table(1). Fig.10 shows that the fluctuation in efficiency values is due to the fact that measurements were made in winter noted that readings may increase with light intensity or decrease due to the passage of the cloud in front of the sun at the moment of reading, or birds may be pass In front of the sun at the moment of reading , which affects the value of the intensity of the light incident on the solar cell, hence there was somewhat a reading fluctuation. Fig.11 shows that the Lux increases gradually and becomes maximum and semi-stable between (10:45 am – 1:35pm) then decreases gradually with sunset. Fig.12 shows that the output power increases gradually and becomes semi-stable between (10:45am – 3:25pm) with increased temperature, as show in the table (1), within the time period mentioned above.

Time (hh:mm)	Lux	Temp. ^{0}C	V. volt	I. Amp.	Pin	Pout	Eff.%
9:00	46319	10	3.2	0.1	2.54	0.32	12.5
9:05	50393	10	3.54	0.1	2.77	0.354	12.77
9:15	54134	12	3.71	0.1	2.97	0.371	12.49
9:25	57452	12	3.89	0.1	3.152	0.389	12.31
9:35	60361	12	4.01	0.1	3.319	0.401	12.08
9:45	65544	12.5	4.2	0.1	3.6	0.42	11.66
9:55	66724	13	4.28	0.1	3.66	0.428	11.69
10:05	75218	13.5	4.62	0.1	4.136	0.462	11.17

10:15	78545	14	4.72	0.1	4.319	0.472	10.92
10:25	82680	15	4.81	0.1	4.547	0.481	10.59
10:35	87829	17	4.94	0.1	4.83	0.494	10.29
10:45	96243	17	5.16	0.15	5.29	0.774	14.03
10:55	102298	17	5.28	0.15	5.62	0.792	14.09
11:05	99540	17.5	5.25	0.15	5.47	0.787	14.39
11:15	104524	17.5	5.35	0.15	5.74	0.802	13.98
11:25	101762	17.5	5.3	0.15	5.59	0.795	14.22
11:35	104377	18.5	5.38	0.15	5.74	0.807	14.05
11:45	105252	19	5.35	0.15	5.78	0.802	13.88
11:55	104209	19	5.28	0.15	5.73	0.792	13.82
12:05	105486	19	5.33	0.15	5.8	0.799	13.7
12:15	107709	19	5.35	0.15	5.92	0.802	13.55
12:25	107369	19	5.35	0.15	5.9	0.802	13.6
12:35	103596	19	5.45	0.15	5.69	0.817	14.36
12:45	104888	20	5.4	0.15	5.76	0.81	14.06
12:55	106340	21	5.35	0.15	5.84	0.802	13.74
1:05	103379	21	5.33	0.15	5.68	0.799	14.06
1:15	98710	21	5.18	0.15	5.42	0.777	14.33
1:25	97436	21	5.18	0.15	5.35	0.777	14.52
1:35	95301	21	5.11	0.15	5.24	0.766	14.61
1:45	87321	21	5.03	0.15	4.8	0.754	15.7
1:55	86306	21.5	4.99	0.15	4.74	0.748	15.79
2:05	84332	22	5.01	0.15	4.63	0.7515	16.23
2:15	86793	21	4.94	0.15	4.77	0.741	15.53
2:25	83660	20	4.89	0.15	4.6	0.7335	15.94
2:35	79100	20	4.72	0.15	4.35	0.705	16.27
2:45	78700	20	4.64	0.15	4.32	0.696	16.11
2:55	79100	20	4.67	0.15	4.35	0.7005	16.1
3:05	75400	20	4.52	0.15	4.147	0.678	16.34
3:15	67800	20	4.3	0.15	3.729	0.645	17.29
3:25	61600	20	4.01	0.15	3.388	0.6015	17.75
3:35	51180	20	3.62	0.1	2.814	0.362	12.86
3:45	49105	20	3.52	0.1	2.7	0.352	13.03
3:55	41982	19	3.13	0.1	2.309	0.313	13.5
4:00	38584	19	2.98	0.1	2.122	0.298	14

Table (1) The Obtained Data from the Experiment



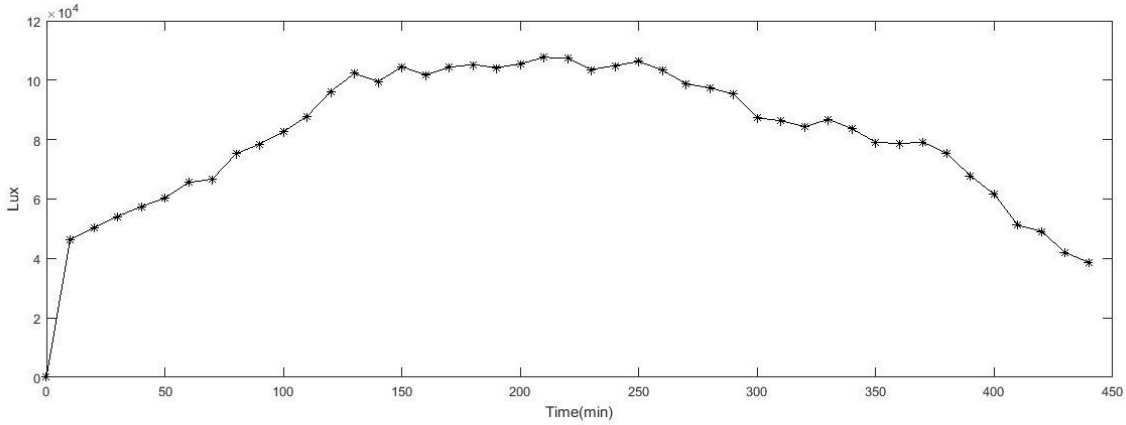
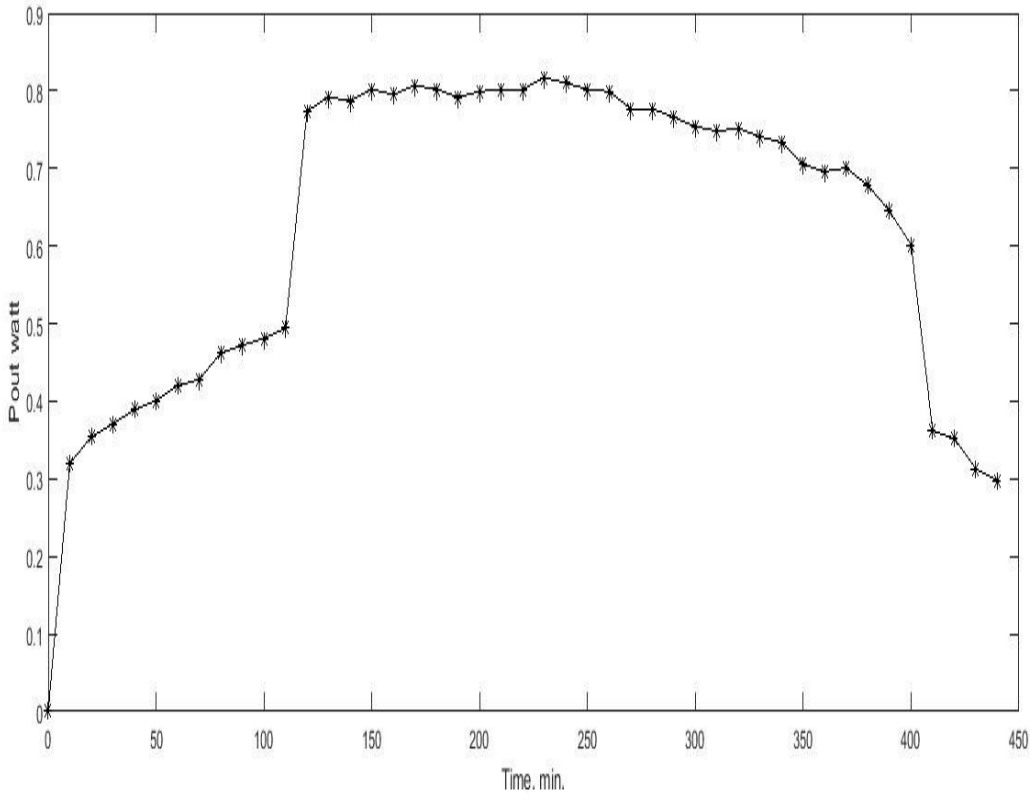


Fig.(10) The variation of efficiency and Time

Fig.(11) The variation of Lux and Time



Conclusions

This paper proposed a solar tracking system based on Arduino Leonardo board supported by Lux sensor, Voltage sensor, Current senor, Small Solar cell, Two LDRs, Servo motor, two switch(pushbutton) and four leds. Mono centerline of

solar tracing system design model is successfully implemented with low cost components. This module has the ability to follow lux of light and determine its intensity in order to collect maximum sunlight incident on the solar panel. When there is a reduce in the light intensity, the system is changed automatically its direction to get us max. lux of light as possible, and then sends the signal to the Arduino Leonardo board which processes the signal by a Microcontroller embedded in the Arduino board. We then started to calculate the Lux incident on the solar panel and record the (Lux, V, I, Pin, Pout, Efficiency, Time), by (Lux, Voltage, Current) sensors which were connected with the Arduino board that has been programmed to calculate the values listed above. The time was taken directly with each reading of the computer that was connected to the system, and the temperature was taken manually by a thermometer for each reading.

Reference

1.Faq-U.S. energy Information Administration (EIA). (n.d.) U.S. Energy
Information Administration (EIA). Retrieved August 29. (2013).

www.eia.gov./tools/faqs/faq.cfm.

2.Zin, P.E. and Phyo. W.E. " Dual Axis Solar Tracking control system by using
Microntroller ", IJSETR, Volume3,issue19, pp.3956-3961.(2014).

3.Kotheri,, D. P. and Nagrath, I.J. Modern Power system Analysis (3rd.ed).
New Delhi. Tata McGraw-Hill, pub. Co.(2003).

4.Chiras, D.D." The Homeowner's Guide to Renewable Energy". 1st ed.
Canada, New Society puplisher.(2006).

5.Eicker, U.E. "Solar Technologies for Buildings". 1st ed. Englang, John Wiley
&Sons, Ltd.. (2003).

6.Lynn, P, A, "Electricity from Sunlight: An Introduction to Photovoltaics". 1st.
ed. UK, John Wiley &Sons, Ltd. (2002).

7.Huang. Y. J., Kuo. T. C., Chen. C. Y., Chang, C. H., Wu. P. C. and Wu. T. H.
"The Design and Implementation of a Solar Tracking Generation Power
System" November (2009).

8.Francisco. D., Pedro. D. G. and Luis. G. G.,"Two Axis Solar Tracker Based
On Solar Maps controlled by a low power Microcontroller". Procceding of the
international conference on renewable energies and power quality. Grand
(Spain), 23rd to 25th March, (2010).
9.Abdul-Lateef.K.I.," A Low Cost Single-Axis Sun Tracker System using Pic
Microcontroller".Diyala Journal of Engineering Sciences,Vol.5.No.1.pp.65-
78,(2012).
10.Sharma. M.," An Efficient Low Cost Solar Tracker using Microcontroller".
IOSR Journal of Electric and Electronics Engineering.(IOSR, IEEE), V.9.
ISSUE4, pp.37-40,(2014).
11.Armendariz. J. C., Ortega-Estrada. F. M. , and Cesare. H. E., "Dual Axis
Solar Tracing Controller Based on Fuzzy-Rule Emulated Networks and
Astronomical Year book Records", Proceedings of the world congress on
Engineering. V.1.,July 3-5, London. U.K.,(2013).
12.Banerjee. R. "Solar Tracking System", International Journal of scientific and
Research publications, V.5. ISSUE.3, March(2015).
13.www.tutorialspoint.com
14.www.electrical4u.com/voltage-sensor.
15.www.electrow.com/wiki/index.php?title=ACS712-current-sensor-5A.
16. www.mousser.com/ds/2/348/bh1750fvi-e-186247.pdf.
17.Karvinen. K. & Karvinen. T." Measure the world with Electronics, Arduino,
and Raspberry Pi". www.it books-info.

Study of Optical Properties of XLPE Polyethylene Cross – Bonding by the Effect Annealing

Sahar Abd Alghany Younis

College of Basic Education / Department of Science

Abstract

The research dealt with the effect of annealing on optical properties to the XLPE polyethylene in the degrees of temperature at the range 25 – 100 C° through the study of the absorption coefficient in the visible light area and ultraviolet (100-200 nm) from the transparent waves and absorption, then calculating the absorption coefficient (α) as a function to the falling photon energy and for the different degrees of annealing. One of the results, it is has calculated the" light energy gap $E_{pot"}$ at the annealing temperature degree mentioned above.

The results showed that the transparent value and the light energy gap decreasing at the annealing degree 45 – 65 C° from the degree of room temperature 25 C°, then begins increase when raise of the annealing temperature to the 85 – 100 C°. However, the results have analyzed depended upon" Law of Touc".

نبذة مختصرة

تناول البحث تأثير التلدين على الخواص البصرية لبولي إيثيلين XLPE في درجات حرارة تتراوح بين ٢٥ و ١٠٠ درجة مئوية من خلال دراسة معامل الامتصاص في منطقة الضوء المرئي والأشعة فوق البنفسجية (١٠٠–٢٠٠ نانومتر) من

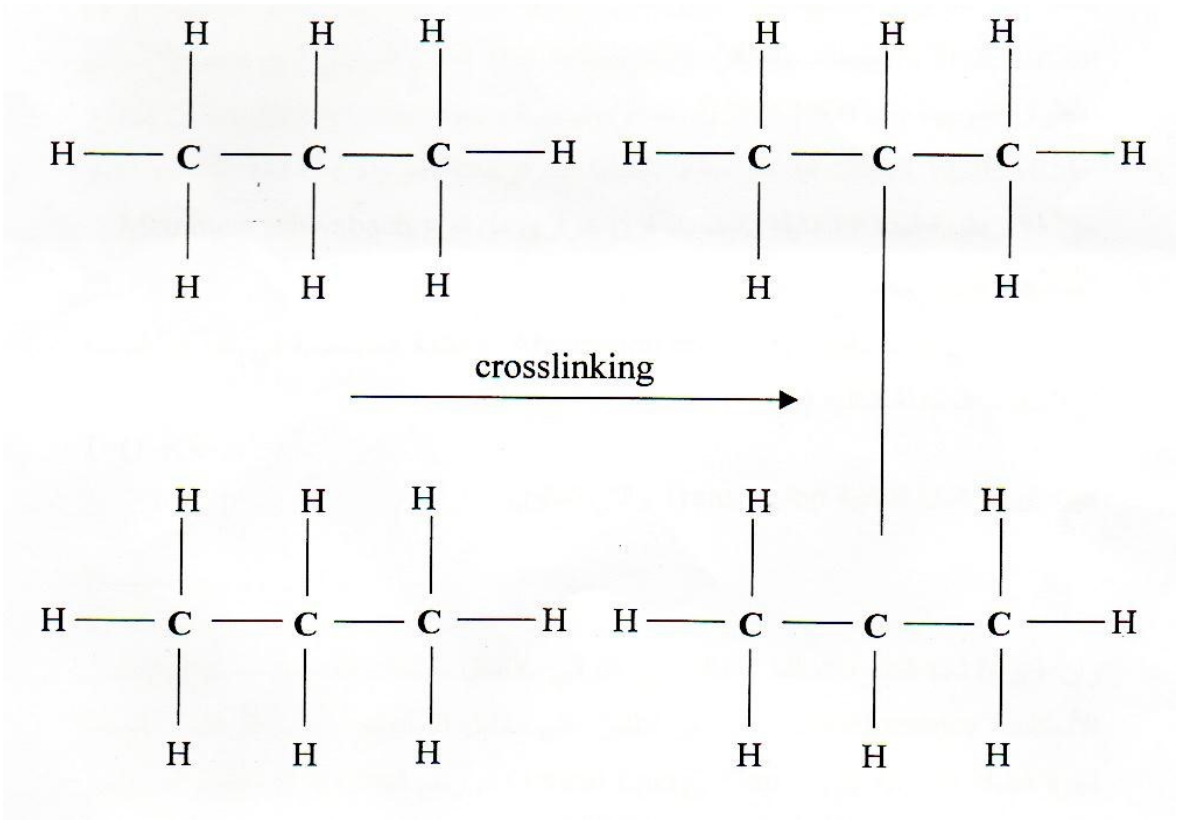
الأمواج الشفافة والامتصاص ، ثم حساب معامل الامتصاص (α) كدالة لطاقة الفوتون المتساقطة وبدرجات مختلفة من الصلب. إحدى النتائج ، تم حساب "فجوة الطاقة الضوئية "Epot في درجة حرارة الصلب المذكورة أعلاه.

أظهرت النتائج أن القيمة الشفافة وفجوة الطاقة الضوئية تتناقص عند درجة التليين ٤٥ – ٦٥ درجة مئوية من درجة حرارة الغرفة ٢٥ درجة مئوية ، ثم تبدأ الزيادة عند رفع درجة حرارة الصلب إلى ٨٥ – ١٠٠ درجة مئوية. ومع ذلك ، فقد تم تحليل النتائج يعتمد على "قانون توك."

The Preface:

The polyethylene has perfect physical properties qualify it for use as insulation in transport cables of electric power (1)(2). The polyethylene is manufacture by ethylene polymerization which two kinds; the first is the high density polyethylene manufactured at low pressures (1-100 atm), the second one is the low density polyethylene manufactured by" heated polymerization at high pressures" (1000-2000 atm) (3).

In addition, there is a polyethylene of intersect bonds (XLPE) which is manufactured by polyethylene cross bond, so during the operation of intersecting the bonds make the linear molecular structure of polyethylene transforms into a multi-directional molecular structure where molecular chains separate a number of intersecting bonds. This occurs by removing some hydrogen atoms and forming strong bonds of carbon-carbonate (1, 3) as in the following form:



peroxide crosslinking of polyethylene (XLPE)

between (115 – 150 C°)" (4, 5,6), therefore it be determined a highest degree of temperature suitable to it as 70 C°.

Most of the former study are focused on the electric properties of the polyethylene, and for the technological important to this

"The polyethylene has a high electric isolator, high quality resistance, qualified resistant of the weather circumstances and it is from the thermoplastic. Moreover, it deforms under the mechanical tension at about 75 C° and has a degree of softness

research as they form an important section in study to improve its electrical properties.

Scientific Section:

polymer, and in order to make a deep understand for its physical properties, we decide to study its optical properties through our

degrees 45 C°, 65 C°, 85 C°, and 100 C°, centesimal in 20 minutes period by using oven type Memmert Schwabach.

The Results and Discussion:

In order to calculate the absorption coefficient to the membranes used in this study, it is used the following equation (7):

"T= (1-R) e-α^{t}"

So T represents Transmission equal:

The samples of the study have got them from the cables of a commercial high power. Then, in order to study the optical properties of the polyethylene as a function to the annealing heat degree, it be cut samples with 1 × 1 cm dimensions, then fixed on the glass slices to measure the" transmission" (T) and absorption (A) as a function of wave length (λ) within the scope of the wave lengths 200 – 1000 nm by using the spectrophotometer type of CECIL 1021. The samples of the study were annealing in the heat

$$"T= \frac{I}{I_0} "$$

% at the wave length 0.065 Mm, whereas begins to decrease when rising the temperature to 45 C° and 65 C° then increase after that to 80 % and 90% when rising the temperature to 85 C° and 100 C° successively.

It can be interpreting that when rising the temperature, the polymer series movement increase leading to increase the absorption and decreasing the transmission of the polymer material, that in the beginning of rising the temperature at 45 C° the series movement are randomly and when continuity in rising the temperature at 85 C° and 100C°, the series starting regularity and taking forms more static so the interlacements

Also I and I_0 represent the strength of dropped and transmitted light successively, t represents the thickness of membrane, whereas R represents the Reflectance to study the effect of annealing on absorption coefficient, and then on the value of" Optical Energy Gap (E_{opt})", then drawing the transmission as a function to the dropped light wave length to the XLPE samples that annealed at the different heat degrees as illustrated in the fig. (1).

We notice in the figure there is a wide bundle arose at the annealing temperature 45 C° and 65 C°, also we notice that the highest value of transmission at the room temperature (RT) is 65

The value of light energy gap has calculated by "Tauc's low" (8).

"$(\alpha hv)^{1/2} = B\ (hv-E_{opt})$"

So B is fixed and hv is the falling photon.

Tauc's curved has calculated from the practical results to the figure (2) has drown by the above equation in the figure (3) and for the different annealing degrees. We notice from the figure that the values of energy gap to the samples are not annealing equal 1.7ev proximately, and the value of annealing decreasing to 45 C° and 65 C° then the value of energy gap begins increase to reach to 1.85ev at the annealing degree 100 C°, this affirm the above interpreting that the polymer series static and the distances between the series are increase.

decreasing among them and the distance increasing between the series leading to increase the transmission.

By the way," the degree of transmitting glas (Tg) is about 60 C° – 70 C°", that it transmits from interlacements complex series material to the material has flexible series with easy movement (6). Figure (2) illustrates the relation the absorption coefficient with the energy of falling photon to the polymer XLPE, we can notice in the figure that the absorption coefficient is increased by increasing of the annealing temperature to the degrees at 85 C° and 100 C° to the all the values of falling photon that ascribe to the change happened in the polymer compound.

2- The absorption coefficient of this polymer become high with increasing of the temperature to 65 C°, then begins decreasing gradually at increasing the heat degree of annealing to 85 C° and 100C° to the all values of photon energy.

3- "The gap of optical energy $E_{op"t}$ becomes low when the annealing the material at 45 C° and 65 C°, then start increasing.

The Results:

From the results that we have got them, we can conclude the following:

1- The transmission is decreasing to the polymer XLPE in increasing the heat of annealing to 45 C° and 65 C°, then the transmission become high at increasing the temperature of annealing to 85 C° and 100 C°.

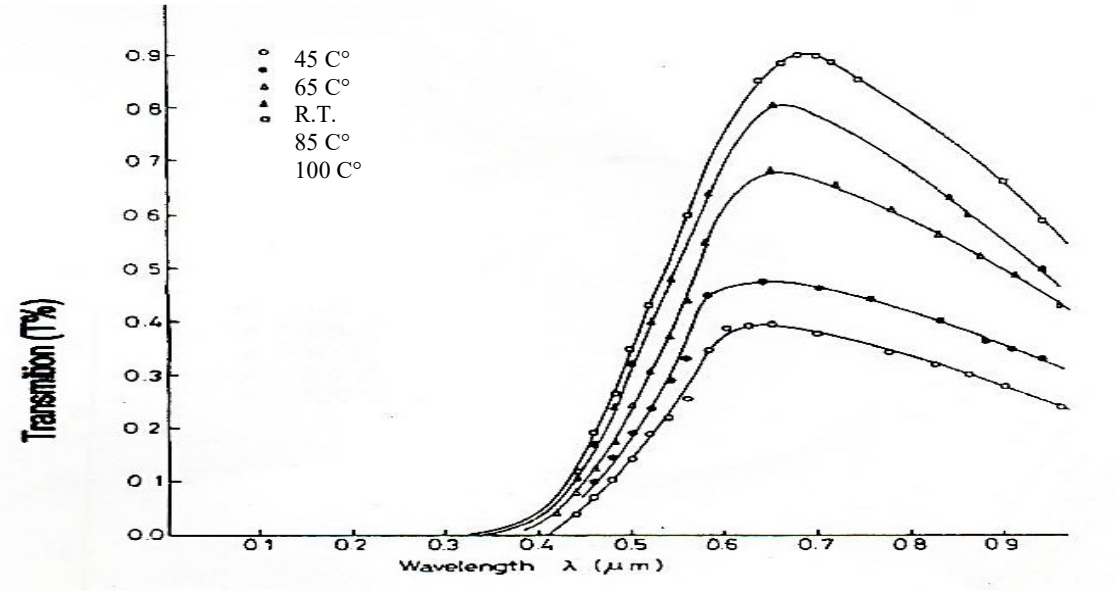


Fig. (1) Changing the Transmission with Wave Length of Falling Light to the Polymer XLPE.

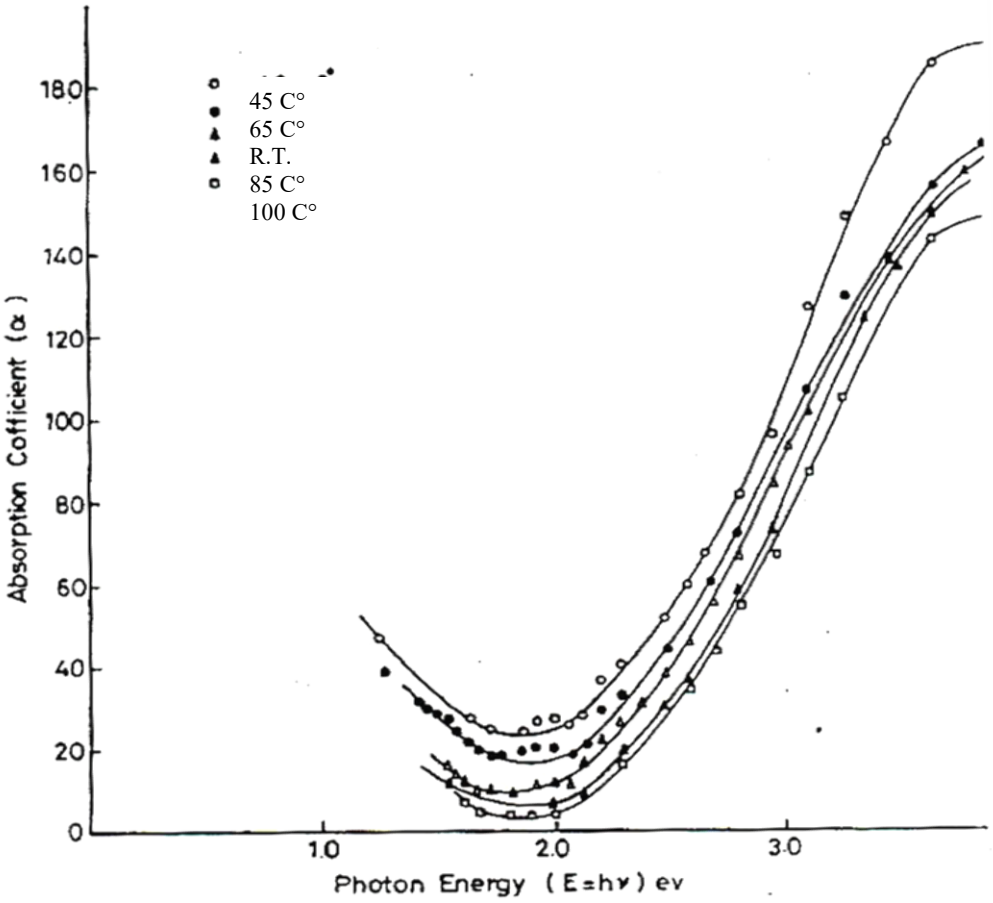


Fig. (2) The Relationship Absorption coefficient with Falling Photon Energy to the Polymer XLPE.

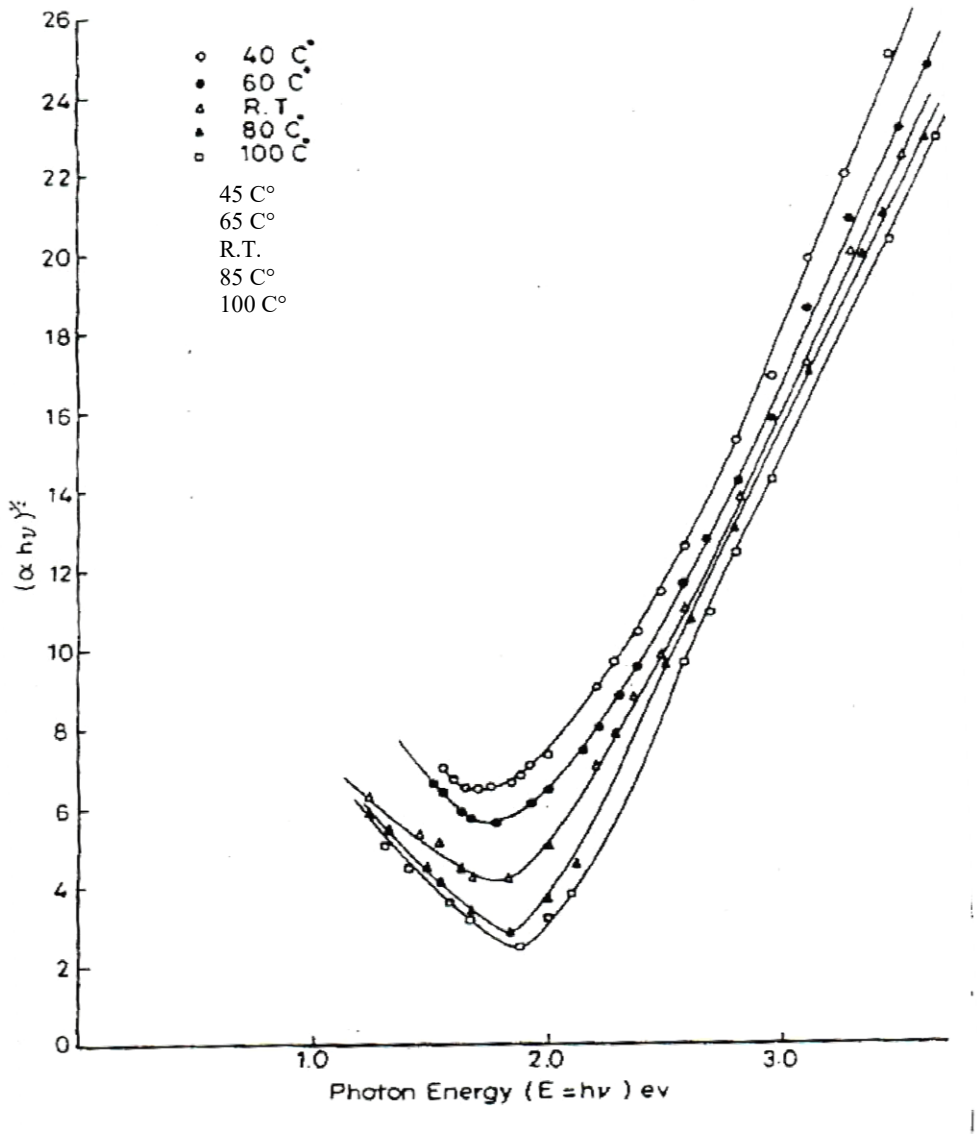


Fig. (3) The Relationship between (ahv) $^{1/2}$ and Falling Photon Energy to the Polymer XLPE.

References:

1- Pirili. (1979). General Booklet, High Voltage Elastomeric Cable Systems.

2- Matej Velicky, peter.s. Toth. (2017) from Two-dimensional materials to their heterostructures: An electro chemist's perspective Applied materials to day 8 : 68-103, ELSVIER.

3- Tanaka T. & A. Green Wood, (1983) Advanced Power Cable Technology- Basic Concepts and Testing, Vol. 1, CRC. Press.

4- A. Delaar, (1989). "Silone Crosslinked Power Cable – An Investigation of Cable Properties," Cigre 21-1, PP 1-7.

5- Yahagi K., (1980). Dielectric Properties and Morphology in polyethylene, IEEE. Irans., Vol. EI-15, No. 3, PP 241-149.

6- Al-Najar. M. A. (1993). XLPE. Insulant under Functioning of 132 KV. Power Cables. M. Sc. Thesis, Mosul University, Iraq.

7- Mekhael Essa Mansur, Muhammed S. Abid & Nawaf Ballo Mallah. The Optical properties of Poly-vinyl chloride (PVC) used as a local substitute for imported polymer in Sharp photocopiers, The Education & Science Magazine, No., (1), Vol. (14), 2002 A. D.

8- Al-Hadidi, K.S., (2012). "study the physical properties of silver Doped zine oxide thin films". Thesis M.Sc., Mosul university.

تحييد بلازميدات المقاومة للمضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة لبعض الانواع البكتيرية الممرضة للأنسان باستخدام مستخلصات مسحوق حمض الليمون Citric acid powder

نوار طلال حامد عزيز الصفاوي د .خالد دحام احمد د .عبدالرزاق خضر محمود

الخلاصة

تم جمع مائه وعشر عينة مرضية من مرضى من داخل وخارج مستشفيات السلام وابن سينا والجمهوري خلال فترة ثلاثة اشهر من سنة ٢٠١٢ .اخذت العينات من مرضى يعانون من التهابات الاذن والحروق والجروح والتهابات المجاري البولية والاسهال.

تم عزل البكتريا وتشخيصها باستخدام الصفات المورفولوجية والزرعية والاختبارات البايوكيميائية بالأضافة الى اختبار API20 والاختبار بنظام Vitek2 .

تم الحصول على ٧٦ عزلة بكتيرية تنتمي الى انواع مختلفة تم الحصول عليها لكن ٥٣ منها والتي تعود الى خمس انواع من البكتريا تم اختيارها للدراسة .البكتريا هي الزوائف الزنجارية pseudomonas aeruginosa ٢٠ (٢٥,٦%)، والايشريشيا القولونية Escherichia coli بنسبة ١٤ (١٧,٩%) .والمكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus ١٣ (١٦,٧%) و بكتريا المتقلبات الرائعة Proteus mirabilis ٥ (٦,٤%) .وبكتريا التايفوئيد Salmonella typhi ١ (١,٣%) .بالاضافة الى عزلتين لبكتريا Bacillus cereus والتي تم الحصول عليها من بنك العزلات البكتيرية التابع لقسم علوم الحياة،كلية العلوم ،جامعة الموصل.

اختبرت حساسية ومقاومة العزلات البكتيرية قيد الدراسة لـ ١٠ مضادات حيوية وهي Amoxicillin و Ampicillin،Chloramphenicol ،Erythromycin ،Gentamicin ،Refampicin و Streptomycin ،Tetracycline و Trimethoprim ،Nalidixic acid و ٤ املاح للمعادن الثقيلة وهي HgCl2 ،NiCl2 ،CoCl2 و CdCl2. اظهرت العزلات البكتيرية مقاومة متباينة لاغلب المضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة .علاوة على ذلك تم اختيار عزلة واحدة من كل نوع من البكتريا والتي اظهرت مقاومة متعددة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة لاجراء التجارب اللاحقة.

حضرت المستخلصات المائية والايثانولية لمسحوق حمض الليمون Citric acid powder . تم التحري عن التأثير التثبيطي للنمو للمستخلصات المحضرة على انواع البكتريا المختارة وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالآكار Agar wells diffiuision method وطريقة قياس العكارة Turbidity measurement method . المستخلصات المحضرة اظهرت بشكل واضح فعالية مثبطة للنمو تم تقديرها بقياس منطقة التثبيط بلمليمتر للبكتريا المدروسة.واوضحت النتائج التي تم الحصول عليها ان قيمة الفعالية المثبطة للنمو تزداد بزيادة تركيز المستخلصات .

التركيز تحت المثبط الادنى (Sub-MIC) Sub minimum inhibition concentration للمستخلصات المحضرة استخدم كعامل محيد لازالة مقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة للانواع البكتيرية قيد الدراسة. تم الحصول على قيم متباينة لنسبة فقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة كنتيجة لفعالية المستخلصات لكن لم تظهر بعض التراكيز فعالية محيدة.

دعمت نتائج تجارب التحييد من خلال توصيف الحمض النووي البلازميدي على هلام الآكاروز للعزلات المحيدة. الهجرة الكهربائية اظهرت اختفاء لحزم الحمض النووي البلازميدي من هلام الآكاروز مقارنة مع العزلات غير المحيدة.

Abstract

A hundred and ten pathogenic samples were collected from in and out patients of Al –Salam and Ibn- Sena hospitals within a time period lasted three months 2013. These patients suffering from otitis, wounds, burns, urinary tract infections and diarrhea.

Bacteria were isolated from these samples and identified using morphological, cultural characters and biochemical tests. In addition, the API 20 and the Vitek 2 compact systems were utilized for this purpose.

Seventy six bacterial isolates belonging to various species were obtained but fifty three of them related to five species were chosen for this study. These are *Pseudmonas aeruginosa* 20(25.6%), *Echerichia coli* 14(17.9 %), *Staphlococcus aureus* 13(16.7%),*Proteus mirabilis* 5(6.4%), and *Salmonella typhi* 1(1.3%) . Moreover, two isolates of *Bacillus cereus* were taken from Bacterial Isolates Bank in Biology Department , College of Science, Mosul University.

The resistance and sensitivity of the isolates understudy were tested for 10 antibiotics , Amoxicillin, Ampicillin, Chloramphenicol, Erythromycin, Gentamycin, Rifampicin, Streptomycin, Tetracyline,Trimethprim and Nalidixic acid and 4 heavy metals salts, HgCl2, NiCl2, CoCl2 and CdCl2. Variation in resistance appeared by the isolates. Moreover, one isolate from each bacterial species with multiple resistance to antibiotics and heavy metals was chosen for the following experiments.

The aqueous and ethanol extracts were prepared from Citric acid powder.The growth inhibitory action of this extracts were examined on the chosen bacterial species by using agar diffusion and turbidity measurments methods. Most of the prepared extracts apear clear growth inhibitory actions which estimated in millimeter of the inhibitory zone on the tested bacteria . It is obvious from the results obtained that the inhibitory action values increased as the concentrations of the extracts raised.

The sub-inhibitory concentrations of the prepared extracts were used as curing agent to remove the antibiotics and heavy metals resistance of the bacterial species understudy. Various percentages values of losing antibiotics and heavy metals resistance were obtained as the result of most extracts actions but still some of the extracts had no curing action.

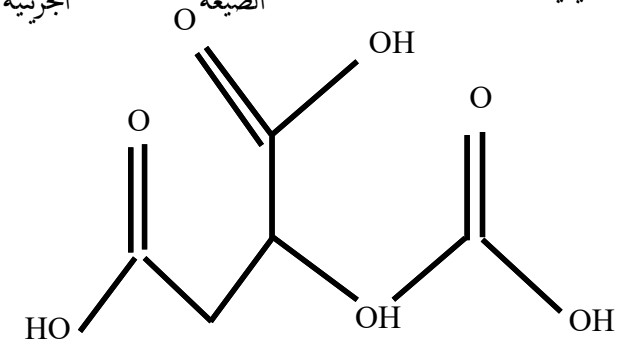
The results of the curing experiment were supported by characterizing the plasmid DNA in agarose gel from the cured isolates . Plasmid DNA bands disappear from the gel after electrophoresis as compared with those in uncured isolates.

المقدمة:-

يعد ظهور المقاومة للمضادات الحيوية عملية تطورية تعتمد على الكائنات التي عززت القدرة على البقاء على قيد الحياة مع جرعات المضادات الحيوية والتي كانت قاتلة لها قبل ذلك. والمضادات الحيوية التي اعتادت ان تكون علاجات معجزة هي الآن أقل فعالية لأن البكتيريا أصبحت أكثر مقاومة لها وتعمل المضادات الحيوية أنفسها بمثابة ضغط انتقائي يسمح بنمو سلالات بكتيرية مقاومة لطيف واسع من المضادات الحيوية الأمر الذي يتطلب ستراتيجيات جديدة لمنع او تأخير المقاومة البكتيرية ومنها استخدام المستخلصات النباتية وبعض المواد الكيميائية (المرجاني) .

حمض الليمون او حمض الستريك (بالانكليزية Citric acid) او ملح الليمون او سترات الهيدروجين هو حامض عضوي ضعيف يوجد في الموالح. وهو مادة حافظة طبيعية ويستخدم لإضافة مذاق حمضي للأطعمة داخل الاتحاد الأوروبي يرمز له بالرمز EnumberE330 .

الصيغة الجزيئية $C_6H_8O_7$



مأخوذ عن Frank(2005)

الاسم النظامي 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid وهو عبارة عن عن بلورات عديمة اللون او شفافة او عبارة عن حبيبات بيضاء لمسحوق بلوري ناعم ، شديد الانحلال بالماء، وينحل بسهولة في الكحول، ويمتاز بطعمه الحامضي الشديد . تحفظ المادة في عبوات محكمة الاغلاق في أماكن جافه وباردة https:en.wikipedia.org/wiki.citric acid . عزل حامض الستريك اول مرة عام ١٧٨٤م من قِبل كارل ميلهلم شيل الكيميائي الذي استطاع بلورته من عصير الليمون (Frank, 2005) .يستعمل حمض الليمون صيدلانياً كمادة محمضة

ومضادة للأكسدة ومنكه حيث يضاف إلى بعض الأغذية لغرض اضافة الطعم الحامضي، وكذلك يوضع في الصوص الخاص بالزلطات لتعزيز النكهة كما يضاف إلى المشروبات وخاصةً المشروبات الغازية (Frank,2005) ويعد عاملاً مؤثراً في تنظيم مستوى الرقم الهيدروجيني في السلع المعلبة وحفظ الاغذية لمنع نمو الخمائر والممرضات البكتيرية (Ananou,*et al.* 2007; Nielsen and Arneborg, 2007). إذ يعد مضـــــــاداً للمايكروبات (Antimicrobia Graham and Lund,1986). والـ Citrate يمثل عنصراً حيوياً في العظم حيث يساعد على تنظيم حجم بلورات الكالسيوم والتي تُعد احد اهم المكونات المعدنية للعظام والاسـنان (HU *et al.* 2010).

المواد وطرائق العمل:-

مسحوق مادة حمض الليمون Citric acid تم الحصول عليه من الاسواق المحلية لمدينة الموصل.

العزلات البكتيرية:-

تم جمع مائه وعشرة عينة مرضية من المرضى المراجعين لمستشفيات السلام وابن سينا والجمهوري لمدينة الموصل خلال فترة ثلاثة اشهر (أب وايلول وتشرين الاول) من سنة ٢٠١٢. أخذت العينات من مرضى مصابين بالتهابات الأذن، والحروق، والجروح، والتهابات المجاري البولية، والاسهال. تضمنـت كل من *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi* . وتم الحصول على عزلتين لبكتيريا *Bacillus cereus* من بنك البكتريا التابع لقسم علوم الحياة كلية العلوم/ جامعة الموصل. شخصت البكتريا بالاعتماد على الاختبارات المجهرية والبايوكيميائية (Collee *etal*.,1996 و).وحسب Harley and Prescott ,2002; Morello, *etal*.,2007)

اختبار مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة

حضرت اوساط المضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة حسب ماجاء في (Grant and Pittard.,1974) وبتراكيز نهائية (مايكروغرام /مل) شملت كل من المضادات Refampicin, Amoxicillin, Ampicillin (50 µg/ml), Gentamicin, Streptomycin (25 µg/ml), Nalidixic acid (30 µg/ml), Erythromycin, Tetracycline (15 µg/ml),

Chloramphenicol, Trimethoprim (10 µg/ml), واملاح المعادن الثقيلة $HgCl_2$, $NiCl_2$, $CoCl_2$, $CdCl_2$ (25 µg/ml).

تحضير المستخلصات المائية والكحولية

Preparation of Aqueous and Alcoholic Extracts

حُضرت المستخلصات المائية بالاعتماد على طريقة (Riose *et al.*, 1987). وأتبعت طريقة الباحث (Grand *et al.*,1988) والمحورة عن طريقة الباحث (Verpoorte *et al.*,1982) في تحضير المستخلصات الكحولية.

أختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات

أُختبرت الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية على نمو البكتريا قيد الدراسة باستخدام طريقة الحساسية (الانتشار في حفر الآكار) حسب طريقة (Perez *et al.*,1990) إذ تم تلقيح وسط المرق المغذي بمستعمرات مفردة من البكتريا وحضنت بدرجة ٣٧°م ولمدة (١٨–٢٤) ساعة، خُفف العالق البكتيري باستخدام المحلول الملحي الفسلجي Normal saline وبالمقارنة مع أنبوبة السيطرة القياسي لمحلول ماكفرلند الذي يعادل 10^8 خلية/مل ثم نشر ٠,١ مل من العالق البكتيري المخفف على وسط الآكار المغذي وبشكل متجانس باستخدام ماسحة قطنية معقمة Cotton swab حُضنت الاطباق مدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة ٣٧°م لكي يحصل التشرب. أُعتمدت طريقة الحفر Agar Wells Diffusion Method لدراسة تأثير المستخلصات على البكتريا قيد الدراسة إذ تم عمل ثقوب في الآكار المغذي باستخدام Stainless steel borer بقطر٦ملم ، وضع في كل حفرة مقدار ٠,١ مل من كل تركيز من المستخلصات الكيميائية. حُضنت الاطباق بدرجة ٣٧ °م ولمدة ١٨–٢٤ ساعة، قيست بعدها اقطار مناطق التثبيط (Inhibition Zones) بالملم حول كل حفرة (Vandepitte *et al.*,1991) . تم تحديد تأثير المستخلصات في نمو البكتريا مقارنة بعينة السيطرة المكونة ٩,٨ مل من المرق المغذي و٠,١ مل من المذيب المستخدم لإذابة المستخلص و ٠,١ مل من العالق البكتيري وبتركيز ١٠ ^{8} خلية / مل (Pessin, *et al.*,2003) .

تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز تحت المثبط الادنى(Sub-MIC) للمستخلصات الكيميائية

Determination of Minimum Inhibitory Concentration Sub-minimal (MIC) and inhibitory concentration (SIC) of chemical extracts

اتبعت طريقة التراكيز المتضاعفة بالأكار لحساب التركيز المثبط الأدنى (MIC) وماتحته (SIC) للمستخلصات المستخدمة في الدراسة وحسب طريقة (Ongsakul *et al*.,2009) مع اجراء بعض التحويرات. حضرت تراكيز متضاعفة متسلسلة للمستخلصات الكيميائية تراوحت قيمتها مابين (١٢,٥–٢٠٠) ملغم/مل واضيفت نسب مختلفة من هذه المستخلصات الى وسط مولر–هنتون أكار، وبعد تصلب الأوساط تلقح الأطباق كقطرة واحدة بمعلقات البكتريا وتحضن الأطباق بدرجة حرارة ٣٧°م ولمدة ٢٤ ساعة. يقدر بعدها التركيز المثبط الأدنى بعد ٢٤ ساعة والذي يمثل اقل تركيز من المستخلص الكيميائي لم يلاحظ فيه نمواً بكتيرياً مرئياً، اما (Sub-MIC) فيمثل ماتحت التركيز المثبط الأدنى الذي تستطيع البكتريا النمو فيه والذي استخدم في تجارب تحييد البـــــــــلازميد Lorian.,1991 و Shrirama *etal*.,2010 .( ).

اختبار تحييد البلازميدات باستخدام المستخلصات الكيميائية Curing test by Using chemical Extractes

أُتبعت طريقة Deshpandem *et al*.,(2001)، حضرت مزرعة من البكتريا المعزولة قيد الدراسة حيث جرى تنميتها بوجود المستخلص وبالتركيز تحت الادنى Sub-MIC المطلوب لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٣٧°م، بعدها حُضرت عدة تخافيف عشرية للمزرعة البكتيرية وأخذ ٠,١ مل من التخافيف الثلاثة الاخيرة ونُشرت على أطباق الأكار المغذي وحضنت بدرجة حرارة ٣٧°م ولمدة ٢٤ ساعة. ولتحضير الطبق الرئيسي Master plate تم نقل ١٠٠ مستعمرة من المستعمرات المعاملة بالمادة المحيدة على وسط الأكار المغذي تحضن الاطباق بدرجة حرارة ٣٧°م ولمدة ٢٤ ساعة بعدها نُقلت المستعمرات على أوساط غذائية حاوية على المضادات الحيوية المستخدمة قيد الدراسة كلاً على

حدى فضلا عن اوساط الاكار المغذي الحاوي على المعادن الثقيلة المستخدمة قيد الدراسة وحُضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٧°م ولمدة ٢٤ ساعة. المستعمرات التي تفشل في النمو على أوساط المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة تعد مستعمرات محيدة. تحسب النسبة المئوية للمستعمرات البكتيرية الفاقدة لمقاومة المضادات والمعادن الثقيلة. عزل الـ DNA البلازميدي بطريقة التحلل القاعدي وحسب ماجاء في (Brinboim and Doly,1979). الفقد الفيزيائي للبلازميدات المحيدة يستدل عليها عن طريق عملية الترحيل الكهربائي على هـــــلام الاكـــــــــــــاروز (Lee *et al.*,1994) . ولحساب العدد الحي للبكتريا Viable Count قبل وبعد التحييد بالمستخلصات المائية والكحولية الذي يساوي

عدد المستعمرات ×مقلوب التخفيف ×١٠ (Stukus.,1997).

مقاومة المضادات الحيوية Antibiotic resistance

تم اختبار مقاومة الانواع البكتيرية للمضادات الحيوية

وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول ادناه:

النتائج والمناقشة Results and Discussions

الكشف عن بعض الصفات المظهرية للانواع البكتيرية قيد الدراسة Detection of some phenotypic traits for bacteria isolates under study

جدول(١) اللأعداد والنسب المئوية للانواع البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية

Antibiotics / Bacteria	No. Species	AX (%)	Am (%)	Cm (%)	Ery (%)	GN (%)	AX (%)	Sm (%)	TE (%)	Tri (%)	Nal (%)
Ps.aeruginosa	٢٠	(٨٠)١٦	(٨٥)١٧	(٩٥)١٩	(٧٥)١٥	(٨٠)١٦	(٧٥)١٥	(٥٠)١٠	(٩٠)١٨	(١٠٠)٢٠	(٧٠)١٤
S.aureus	١٥	(٥٣)٨	(٦٦)١٠	(٦٠)٩	(٣٣)٥	(٣٣)٥	(٤٠)٦	(٤٠)٦	(٣٣)٥	(٧٣)١١	(٩٣)١٤
E.coli	١٤	(٧١)١٠	(٥٧)٨	(١٤)٢	(٨٥)١٢	(٤٢)٦	(٧١)١٠	(٢٨)٤	(٥٧)٨	(٧١)١٠	(٥٧)٨
Pr.mirabilis	٥	(٨٠)٤	(٨٠)٤	(٦٠)٣	(٦٠)٣	(٨٠)٤	(٨٠)٤	(٤٠)٢	(٨٠)٤	(١٠٠)٥	(٦٠)٣
B.cereus	٢	(١٠٠)	(١٠٠)	(٥٠)١	(٥٠)١	(٥٠)١	(٥٠)١	(٥٠)١	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)
S.typhi	١	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	

heavy metal / Bacteria	No. Species	$HgCl_2$ (%)	$NiCl_2$ (%)	$CoCl_2$ (%)	$CdCl_2$ (%)
Ps.aeruginosa	٢٠	(٢٠)٤	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)
S.aureus	١٥	(٢٦)٤	(٨٦)١٣	(٩٣)١٤	(٨٠)١٢
E.coli	١٤	(٢٨)٤	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)
Pr.mirabilis	٥	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)
B.cereus	٢	(٥٠)١	(٥٠)١	(١٠٠)	(١٠٠)
S.typhi	١	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)	(١٠٠)

جدول (٢) اللأعداد والنسب المئوية للانواع البكتيرية المقاومة لأملاح المعادن الثقيلة

من نتائج الجدولين (٢،١) اظهرت العزلات استجابات مختلفة للمضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة مابين مقاومة وحساسة حيث اظهرت بكتريا *S.typhi* مقاومة لـ١٠ مضادات واربعة معادن ثقيلة وبنسبة 100% بينما قاومت بكتريا *B.cereus* لخمسة مضادات وبنسبة ١٠٠% ولـ CoCl2 و CdCl2 وبنسبة ١٠٠% . بكتريا *Pr.mirabilis* كانت متباينة في مقاومتها للمضادات الحيوية بينما اعطت مقاومة لأملاح المعادن الثقيلة وبنسبة ١٠٠% . بكتريا *E.coli* وبكتريا *Ps.aeruginosa* اعطت مقاومة مختلفة تجاه المضادات الحيوية بينما اعطت مقاومة لثلاثة معادن ثقيلة وبنسبة ١٠٠%. بكتريا *S.aureus* كانت الاقل مقاومة للمضادات الحيوية ولأملاح المعادن الثقيلة.

ربما يعود التباين في مقاومة الانواع البكتيرية للمضادات الحيوية إلى الاختلاف في آلية عمل المضادات الحيوية حيث توجد مضادات تؤثر على تخليق الجدران الخلوية للبكتريا Cell wall synthesis وبشكل ادق على طبقة الببتيدوكلايكان (المرجاني، ٢٠١١) ومضادات تؤثر على الاغشية الخلوية Cell membrane synthesis (الخفاجي، ٢٠٠٨) ومضادات مثبطة

لعملية تخليق البروتين Inhibition of protein synthesis حيث تعمل هذه المضادات على تثبيط تصنيع البروتين داخل الخلية البكتيرية حيث ترتبط هذه المضادات بالوحدات الرايبوسومية بطريقة تسبب دخول سلالات خاطئة من الاحماض الامينية مما ينتج بروتينات غير طبيعية متراكمة داخل الخلية البكتيرية وبالتالي توقف نمو البكتريا (Heritage, 2003) اضف الى ذلك هناك مضادات تؤثر على تخليق وتركيب الحمض النووي Nucleic acid synthesis حيث تعمل على تثبيط تخليق الـ DNA البكتيري من خلال اعاقة انزيم DNA gyrase ومن ثم تثبيط عملية اللف الفائق Super coiling لشريطي DNA (Hardy *et al*., 2000) .

ومضادات مثبطة لمسارات الايض Antimetabolite antibiotics تعمل على عرقلة الايض من خلال تثبيط انزيم Dihydrofolate reductase (DHFR) المهم في صناعة حامض الفوليك Folic acid الذي يدخل في صناعة الاحماض الامينية والنيكلوتيدات الداخلة في تكوين الحمض النووي (Laurence *et al*., 1997) .

عزى Chukwuani *et al*., 2002 و Pereria *et al*., 2004 اسباب انتشار المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية إلى الاستعمال الخاطيء والعشوائي وغير المنطقي لهذه المضادات من قبل المرضى المراجعين للمستشفيات وكذلك للراقدين فيها . وقد تحدث المقاومة نتيجة اكتساب بلازميدات حاملة للمقاومة عن طريق الاقتران البكتيري أو التحول الوراثي أو التوصيل (Martinez-Martinez *et al*., 1998) .

أما مقاومة النيكل Ni^{+2} تكون من خلال نظام الضخ للخارج معتمدا على طاقة ATP إذ يتم طرح ايون النيكل من الخلية فيقل تركيزه داخل الخلية. يعد الكادميوم والنيكل بين اكثر الملوثات انتشارا في البيئة المـــــــائية (Nies, 1999) . كما تمتلك البكتريا نظام اوبرون مقاوم للنيكل والكوبلت يرمز له بـ Cnr ويحوي نظام اوبرون CnrcBA المشفر لبروتين مرتبط بالغشاء يحفز الضخ للخارج وبهذا تستطيع البكتريا النمو بتراكيز واطئة من النيكل (Park *et al*., 2004) . تعتمد البكتريا السالبة لصبغة كرام في مقاومتها للكوبلت Co^{+2} على أساس الضخ عبر الاغشية عن طريق مقاومة انقسام الخلية وعادة ما ينتج عن مقاومة الكوبلت مقاومة لمعادن اخرى مثل المقاومة للنيكل

Nickel والزنك Zince

Nies *et al*., 1987; Liesegang *et*) *al*., 1993; Schmidt and Schlegel, 1994) .

تكهن العديد من الباحثين إلى ان هناك علاقة ما بين مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية والمقاومة للمعادن الثقيلة بسبب احتمال ان الجينات المقاومة للمضادات والمعادن قد تكون موجودة معا وبشكل وثيق على نفس بلازميدات البكتريا ولذلك فهذه الصفة اكثر عرضة للانتقال معا في البيئة عن طريق عملية الاقتران Conjugation أو ان تحدث المقاومة نتيجة طفرة وراثية (Spain and Alm, 2003) .

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لأملاح حامض الليمون

تم اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية على نمو البكتريا قيد الدراسة باستخدام اختبار الحساسية باستخدام طريقة الأنتشار بالحفر وطريقة قياس العكارة

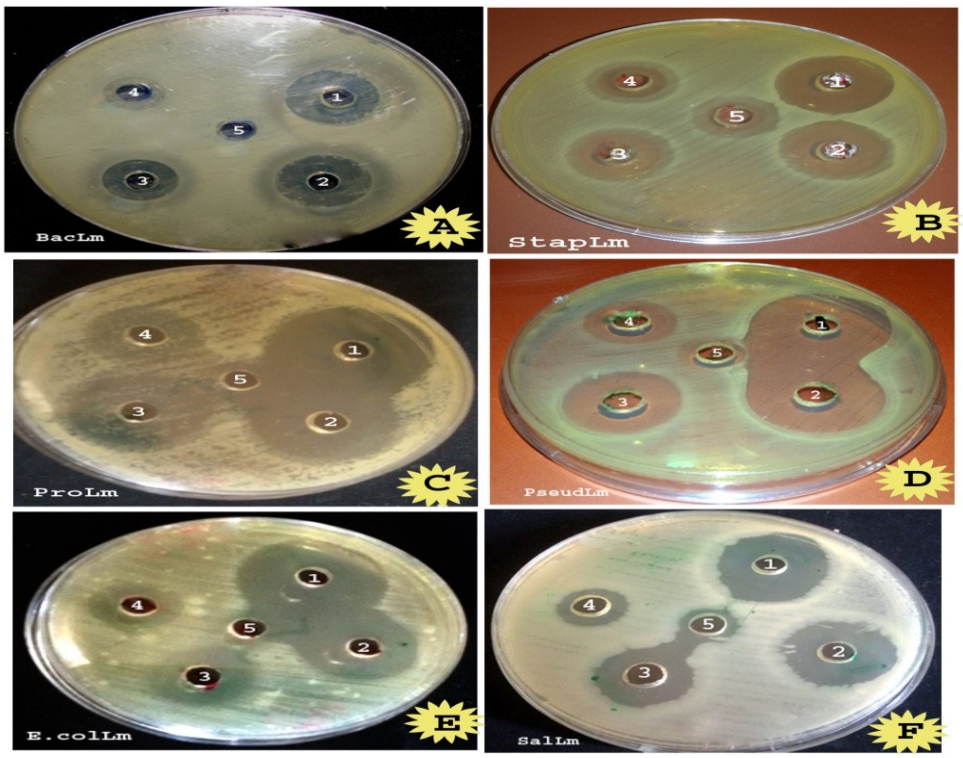
جدول (٣) التأثير التثبيطي لمستخلصات مسحوق حمض الليمون بتراكيز مختلفة على الانواع البكتيرية قطر دائرة التثبيط مقاسا (بالملم)

البكتريا	نوع المستخلص	تركيز المستخلص (ملغم/سم٣)				
		١٢,٥	٢٥	٥٠	١٠٠	٢٠٠
S.aureus	المستخلص المائي	١٤	١٤	٢٥	٢٩	٣٠
	المستخلص الكحولي	١٤	١٨	٢٠	٢٩	٣١
B.cereus	المستخلص المائي	٨	١٢	١٥	٢١	٢٢
	المستخلص الكحولي	١١	١١	١٤	١٧	٢٠
E.coli	المستخلص المائي	١٢	١٥	٢٣	٢٧	٣٢
	المستخلص الكحولي	٨	١١	١٥	١٨	٢٠
Ps.aeruginosa	المستخلص المائي	١٣	١٩	٢١	٢٨	٣١
	المستخلص الكحولي	١١	١٢	١٣	١٨	٢٢
Pr.mirabilis	المستخلص المائي	١٦	٢٠	٢٨	٣٠	٣٤

	المستخلص الكحولي	١٨	١٨	٢٥	٢٥	٢٧
S.typhi	المستخلص المائي المستخلص الكحولي	١٢	١٤	٢٠	٢٥	٢٧

(-) تشير إلى عدم وجود فعالية تثبيطية

يبدو من النتائج ان اعلى تاثير للمستخلصات كان عند التركيز ٢٠٠ ملغم/سم^{٣} حيث اعطت بكتريا *Pr. mirabilis* اعلى قطر تثبيط للمستخلص المائي بلغ ٣٤ ملم تلـــــتها بكتريا *E. coli* بقطر ٣٢ ملم ثم بكتريا *Ps. aeruginosa* ٣١ ملم تلتها بكتريا *S.aureus* بقطر تثبيط ٣٠ ملم بينما كان قطر التثبيط لبكتريا *S.typhi* ٢٧ ملم و *B. cereus* ٢٢ ملم شكل(4-10). بينما كانت اقطار التثبيط للمستخلص الكحولي لحمض الليمون عند التركيز ٢٠٠ ملغم/سم^{٣} على النحو التالي: بكتريا *S. aureus* اعلى قطر للتثبيط بلغ٣١ ملم ثم بكـــــتريا *Pr. mirabilis* ٢٧ ملم، بكتريا *Ps. aeruginosa* ٢٢ ملم بينما كان قطر التثبيط لكل من بكتريا *E. coli*،*S. typhi* و*B. cereus* (٢٠) ملم شكل( ) .



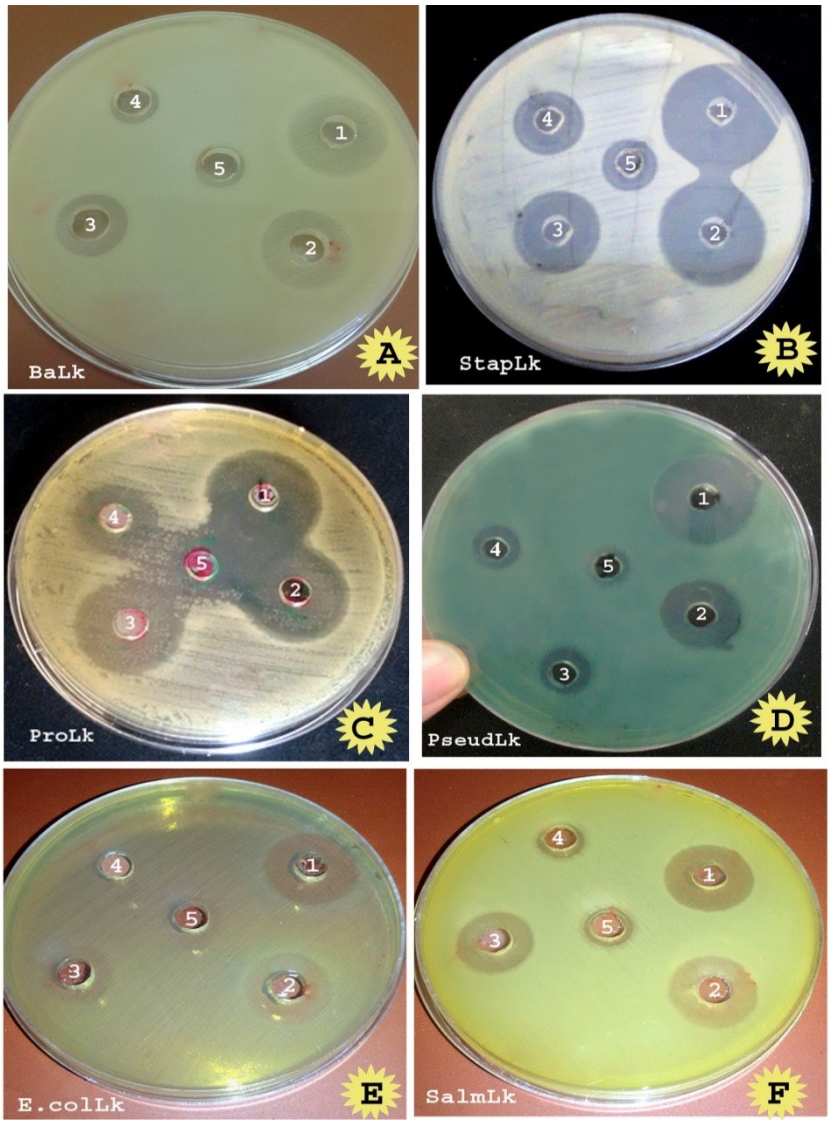
الشكل (١) صور لتاثير المستخلص المائي لمسحوق حمض الليمون بتراكيز مختلفة على البكتريا النامية على وسط الآكار المغذي N.agar

A. *B. cereus* ***B.*** *S. aureus* ***C.*** *Pr. mirabilis*

D.*Ps. aeruginosa* ***E.*** *E. coli* ***F.*** *S. typhi*

التراكيز١(٢٠٠ ملغم/سم٣) ،٢(١٠٠ ملغم/سم٣) ،٣(٥٠ ملغم/سم٣)،٤(٢٥ ملغم/سم٣)،

٥ (١٢,٥ ملغم/سم٣)



الشكل (٢) صور لتاثير المستخلص الكحولي لمسحوق حمض الليمون بتراكيز مختلفة على البكتريا النامية على وسط الاكار المغذي N.agar

A. *B. cereus* ***B.*** *S. aureus* ***C.*** *Pr..mirabilis*

D.*Ps. aeruginosa* ***E.*** *E. coli* ***F.*** *S. typhi*

التراكيز١(٢٠٠ ملغم/سم٣) ،٢(١٠٠ ملغم/سم٣) ،٣(٥٠ ملغم/سم٣)،٤(٢٥ ملغم/سم٣)،

٥ (١٢,٥ ملغم/سم٣)

من الجدولين اعلاه فالفعالية التثبيطية العالية لمسحوق حمض الليمون المائي والكحولي على البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام قيد الدراسة ربما يعود إلى القابلية الذوبانية العالية لهذا المسحوق في الماء والكحول. وربما يعزى سب تفوق المستخلص المائي لحمض الليمون على المستخلص الكحولي الى سرعة ذوبان حمض الليمون في الماء وسهولة نفاذه عبر اغلفة البكتريا (Panel, 2015).

ان الفعالية التثبيطية لمستخلصات حمض الليمون تتناسب تناسبا طرديا مع التركيز حيث اعلى فعالية تثبيطية كانت عند التركيز ٢٠٠ ملغم/سم٣ وبها اتفقت نتائجنا مع Sagong واخرون (٢٠١١) الذي ذكر ان عند زيادة تركيز حمض الليمون ربما يقلل هذا من نمو البكتريا ومنها بكتريا *E. coli*.

ان فعالية حمض الليمون تعود إلى احتوائه على ستة من الحوامض وبالتالي فان قيمة الـ pH سوف تتجه نحو الحامضية وان هذه القيمة ستؤثر على شحنة الحوامض الامينية المكونة للبروتينات المتداخلة مع الببتيدوكلايكان المكون لجدار الخلية البكتيرية كما وانه يؤثر على المواقع الفعالة لانزيمات الجدار مما يؤدي إلى حدوث خلل في وظائف الانزيمات (Atlas, 1995).

كما وافقنا وخالفنا نتائج Del Rio واخرون (٢٠٠٧) الذي بين ان استخدام Citric acid بنسبة ٢% يكون له تاثير عالي على البكتريا الموجبة لصبغة كـــــــــــــــــــــــــــــــرام مثل

S. aureus و*B. cereus* مقارنه بالبكتريا السالبة لصبغة كرام مثل *E. coli* و*Salmonella enteritidis*. كذلك جاءت نتائجنا متوافقة ومخالفة لما توصل إليه Abu–Ghazaleh (٢٠١٣) الذي استخدم Citric acid بنسبة ٠,٠٣ % ووجد ان هذا التركيز قادر على تثبيط نمو بكتريا *S. aureus* وبنسبة ٩١% بينما لم يكن له تأثير على نمو بكتريا *E. coli* التي كانت مقاومة لهذا التركيز. ولكن عند ارتباط Citric acid بتركيز ٠,٠٣% مع NaCl ٣% فانه يستطيع ان يقلل من نمو بكتريا *E. coli* ويثبطها بنسبة ٧٠%.

تحديد التركيز المثبط الادنى Minimum Inhibitory Concentration

قدر التركيز المثبط الادنى (MIC) للمستخلصات النباتية والتي اظهرت تأثيرا تثبيطيا على البكتريا قيد الدراسة وكانت النتائج كما موضح في الجدول ( ) .

الجدول (٤): قيم التراكيز المثبطه الدنيا MIC للمستخلصات النباتية المختلفة في الانواع البكتيرية قيد الدراسة مقدرا بـ (ملغم/سم٣)

نوع المستخلص	*S. aureus*	*E. coli*	*Ps. aeruginosa*	*Pr .mirabilis*	*S. typhi*	*B. cerus*
المستخلص المائي لأزهار للكجرات	٠,٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥
المستخلص الكحولي لأزهار للكجرات	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥
المستخلص المائي لبذور للحرمل	٠,١٢٥	٠,٥	–	–	٠,٢٥	٠,٢٥
المستخلص الكحولي لبذور للحرمل	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥
المستخلص المائي لأوراق فرشاة البطل	٠,١٢٥	–	–	–	٠,١٢٥	٠,١٢٥
المستخلص الكحولي لأوراق فرشاة البطل	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥

المستخلص المائي لمسحوق حمض الليمون	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥
المستخلص الكحولي لمسحوق حمض الليمون	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥	٠,١٢٥

(-) تشير إلى عدم وجود فعالية تثبيطية

اظهرت النتائج ان قيم MIC للمستخلص المائي والكحولي لحمض الليمون كان مساويا لـ ٠,١٢٥ ملغم/سم^{3} لجميع الانواع البكتيرية.

تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي في الانواع البكتيرية قيد الدراسة باستخدام مستخلصات املاح حامض الليمون

Curing of plasmid DNA content in bacterial species understudy by using the extracts of Citric acid

اجريت عملية تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي للتحري عن النسب المئوية للمستعمرات البكتيرية الفاقدة لمقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة. بعد ذلك جرى توصيف لمحتوى DNA البلازميدي وذلك باجراء الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز قبل وبعد عملية التحييد للانواع البكتيرية قيد الدراسة والجداول ادناه توضح النتائج.

التحييد باستخدام المستخلص المائي والكحولي لمسحوق حمض الليمون

Curing by using aquous and alcohol extracts of citric acid powder

جدول (٥): قيم النسب المئوية لازالة مقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة من الانواع البكتيرية بعد المعاملة بمستخلص حمض الليمون المائي

البكتريا	اوساط المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة المضافة بالمايكروغرام/مل													
	Am 50	Ax 50	TE 15	Ery 15	Cm 10	Tri 10	St 25	GN 25	Nal 30	RA 50	$HgCl_2$ 25	$NiCl_2$ 25	$CdCl_2$ 25	$CoCl_2$ 25
S. aureus	R	100	100	100	76	100	R	92	R	100	100	R	R	R
E. coli	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	36	100	R	R

100	100	100	100	100	R	S	S	R	R	R	R	R	R	***Ps.aeruginosa***
R	R	R	48	92	24	S	R	R	R	R	R	R	R	***Pr. mirabilis***
R	R	R	84	72	R	100	100	R	100	82	84	R	R	***S. typhi***
R	R	R	88	92	R	68	88	R	100	96	96	R	R	***B. cereus***

(S) حساسة للمضاد (R) مقاومة

جدول (٦): قيم النسب المئوية لازالة مقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة من الانواع البكتيرية بعد المعاملة بمستخلص حمض الليمون الكحولي

البكتريا	اوساط المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة المضافة بالمايكروغرام/مل													
	Am 50	Ax 50	TE 15	Ery 15	Cm 10	Tri 10	St 25	GN 25	Nal 30	RA 50	$HgCl_2$ 25	$NiCl_2$ 25	$CdCl_2$ 25	$CoCl_2$ 25
S. aureus	36	24	24	24	72	76	84	88	R	24	68	R	R	R
E. coli	R	R	S	12	S	100	S	S	S	S	12	72	R	R
Ps.aeruginosa	R	R	R	72	R	R	S	S	56	R	100	24	32	32
Pr. mirabilis	R	R	R	R	R	R	100	S	36	100	52	R	R	R
S. typhi	R	R	R	56	80	4	40	72	24	24	40	R	R	R
B. cereus	R	R	76	100	88	R	88	96	84	96	64	R	R	R

(–) حساسة (R) مقاومة

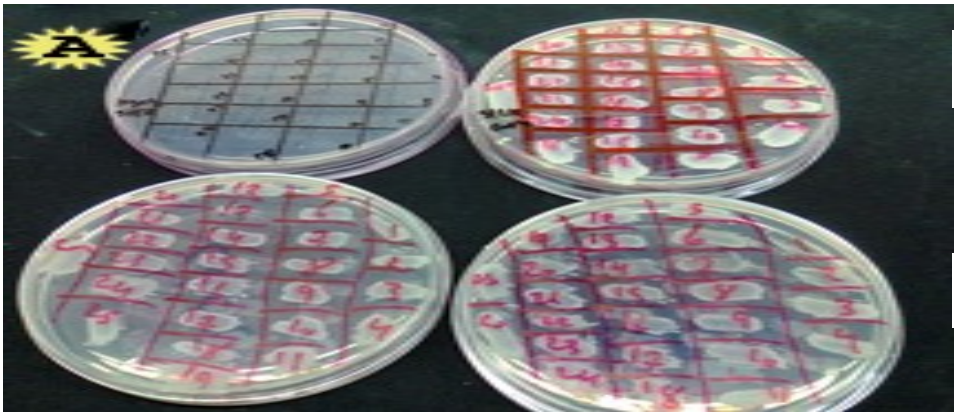
من نتائج الجداول السابقة يلاحظ ان اغلب الانواع البكتيرية بقيت مقاومة لعدد من المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة بعد التحييد ومنها مقاومة (Am وTri ,Ax) والمعادن الثقيلة ($NiCl_2$ و$CdCl_2$ و$CoCl_2$) ولعل ذلك يدل على ان الجين المسؤول عن مقاومة هذه المضادات والمعادن واقع على الكروموسوم وانه غير متأثر بهذه المعاملة.

كما يلاحظ ان هناك تقارب في النسب المئوية لازالة مقاومة المضادات والمعادن الثقيلة لبعض الانواع البكتيرية فمثلا ان بكتريا *S.typhi* كان كفاءة التحييد فيها ١٠٠% لكل من المضادات TE وEry وCm وSt وGN وNal وRA و$HgCl_2$ عند استخدام المستخلص المائي للكجرات كعامل محيد. وكذلك لبكتريا *B. cereus* عند معاملتها بمستخلص الحرمل الكحولي حيث لوحظ ان نسب ازالة المقاومة بلغ١٠٠% لكل من مضاد (ET وEry وCm وSt وGN وNal وRA و$HgCl_2$ وغيرها وهذا ربما يعزى إلى ان الجينات المقاومة لهذه المضادات تقع على جزيئة بلازميد واحدة.

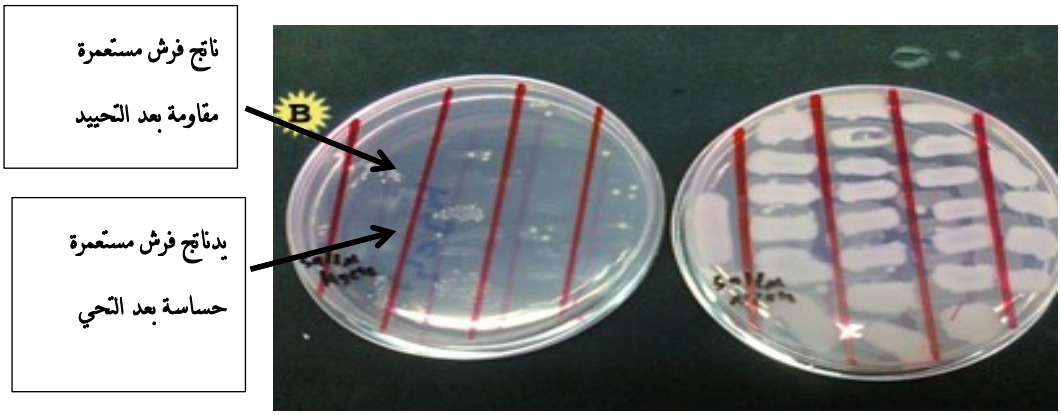
كما ان التباين الواضح بين الانواع البكتيرية بعد التحييد من حيث مقاومتها للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة يكون بسبب ان البلازميد الذي يحمل المقاومة للمضادات الحيويةهو من نوع R-plasmid حيث يكون على هيئة جزيئتين وكل جزيئة تحمل مورثات مسؤولة عن المقاومة.

ويلاحظ من النتائج ان بكتريا *Ps.aeruginosa* عند معاملتها بمستخلص حمض الليمون المائي فقدت مقاومتها للمعادن الثقيلة المستخدمة قيد الدراسة وبنسبة ١٠٠% وبنسب مختلفة عند استخدام مستخلص حمض الليمون الكحولي. بينما كانت نسبة ازالة المقاومة للمضادات الحيوية ضعيفة وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (Chakrabarty, 1976). بان بلازميد بكتريا *Pseudomonas sp.* يشفر لمقاومة المعادن الثقيلة وانحلال المركبات العضوية. نتائج التحييد اظهرت ان بكتريا *S.aureus* و*B.cereus* و*S.typhi* هم الأكثر تأثرا بعملية التحييد بالمستخلصات المائية والكحولية بينما كانت استجابة كل من بكتريا *Pr.mirabilis* و*Ps.aeruginosa* و*E.coli* ضعيفة ولعل ما تحتويه هذه المستخلصات من مركبات Phytochemical مثل القلويدات والفينولات والتانين وغيرها له دور في عملية التحييد.

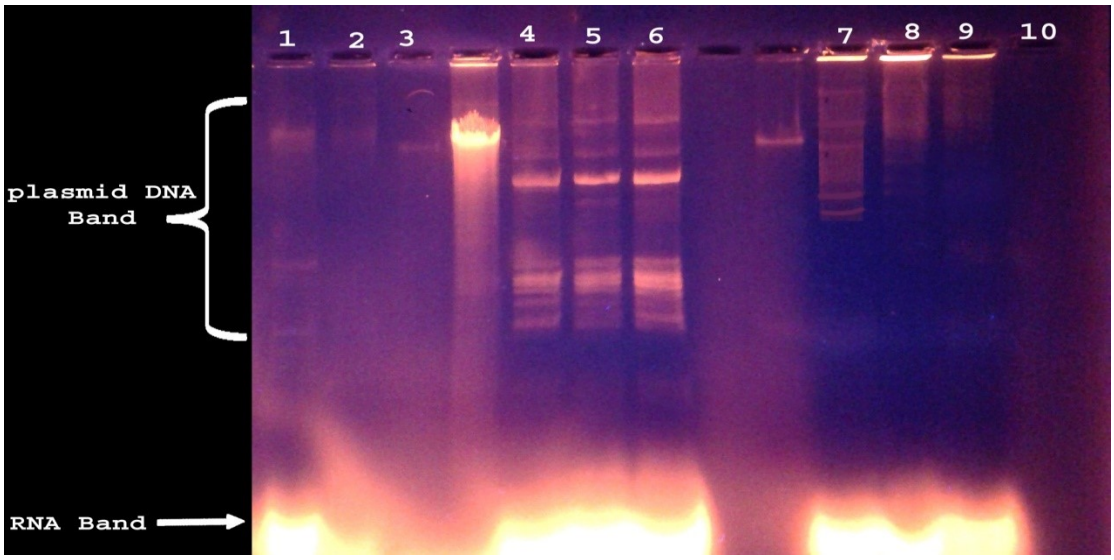
ونظرا للمقاومة المتعددة للمضادات الحيوية من قبل الكائنات المجهرية والكلف العالية الانتاجية للمركبات الصناعية كان لا بد من البحث عن مواد محيدة تعمل على ازالة بلازميدات المقاومة. رغم ان الخلايا البكتيرية يمكن ان تفقد البلازميدات تلقائيا وبترددات واطئة بعملية تسمى التحييد التلقائي إلّا ان البحث عن عوامل محيدة آمنة شديدة التأثير على البكتريا وقليلة السمية هو ما تبحث عنه شركات الادوية (Shriram *et al*., 2010) .



شكل (٣) تأثير المستخلص المائي لحمض الليمون كعامل محيد على بكتريا *S.aureus* النامية على اوساط المعادن الثقيلة



شكل(٤) تاثير المستخلص المائي لمسحوق حمض الليمون كعامل محـيدعلى بكتـريا *S.typhi* النامية على اوساط المعادن الثقيل



شكل (٥) الترحيل الكهربائي لمحتوى DNA البلازميدي للانواع البكتيرية قيد الدراسة قبل وبعد التحييد بمستخلصات مسحوق حمض الليمونCitric acid

العمود

١. بكتريا *S.aureus* قبل التحييد بمستخلصات مسحوق حمض الليمون.

٢. بكتريا *S.aureus* بعد التحييد بالمستخلص المائي.

٣. بكتريا *S.aureus* بعد التحييد بالمستخلص الكحولي.

٤. بكتريا *E.coli* قبل التحييد بمستخلصات مسحوق حمض الليمون .

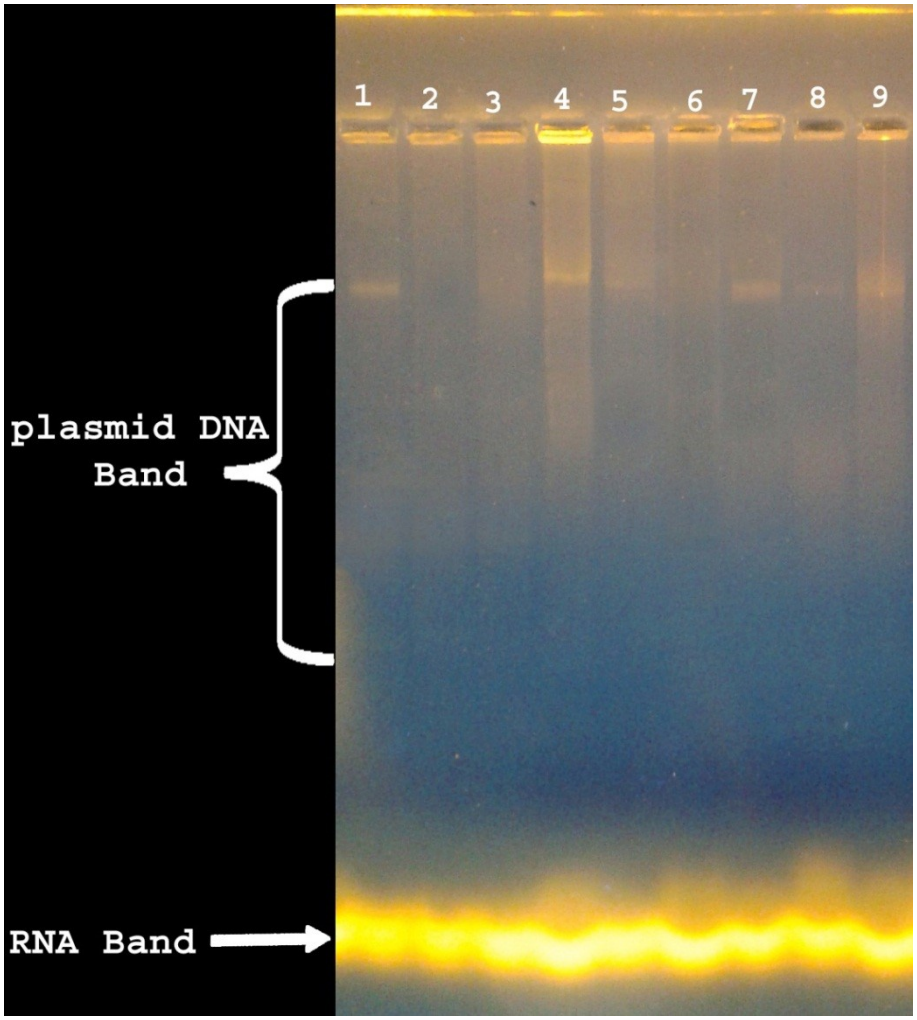
٥. بكتريا *E.coli* بعد التحييد بالمستخلص المائي.

٦. بكتريا *E.coli* بعد التحييد بالمستخلص الكحولي.

٧. بكتريا *B.cereus* قبل التحييد بمستخلصات مسحوق حمض الليمون.

٨. بكتريا *B.cereus* بعد التحييد بالمستخلص المائي.

٩. بكتريا *B.cereus* بعد التحييد بالمستخلص الكحولي.



شكل (6) الترحيل الكهربائي لمحتوى DNA البلازميدي للانواع البكتيرية قيد الدراسة قبل وبعد التحييد بمستخلصات مسحوق حمض الليمون Citric acid

العمود

١. بكتريا *Ps.aeruginosa* قبل التحييد بمستخلصات مسحوق حمض الليمون.

٢. بكتريا *Ps.aeruginosa* بعد التحييد بالمستخلص المائي.

٣. بكتريا *Ps.aeruginosa* بعد التحييد بالمستخلص الكحولي.

٤. بكتريا *S.typhi* قبل التحييد بمستخلصات مسحوق حامض الليمون.

٥. بكتريا *S.typhi* بعد التحييد بالمستخلص المائي.

٦. بكتريا *S.typhi* بعد التحييد بالمستخلص الكحولي.

٧. بكتريا *Pr.mirabilis* قبل التحييد بمستخلصات مسحوق حامض الليمون.

٨. بكتريا *Pr.mirabilis* بعد التحييد بالمستخلص المائي.

٩. بكتريا *Pr.mirabilis* بعد التحييد بالمستخلص الكحولي.

ومن نتائج جداول التحييد اعلاه نجد بان نسب كفاءة التحييد بالمستخلصات كانت اعلى من نسب التحييد التلقائي التي كانت نتائجه واطئة ولا تتجاوز فيه كفاءة التحـــــييد عن (١-٣)%. كما ان عملية التحييد باستخدام المستخلصات النباتية والكيميائية على البكتريا قيد الدراسة اظهرت تباينا في نسب التحييد وفقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة حيث ظهرت لدينا نسب تحييد عالية في الطراز المظهري للبكتريا على اوساط المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة ولربما يعود هذا التباين الى حدوث تثبيط او خلل في عملية تضاعف الـ DNA البلازميدي للخلية الام وتوزيع هذه البلازميدات خلال عملية انقسام الخلية فيؤدي ذلك الى انتاج خلايا بنوية قليلة البلازميدات وفي احيان اخرى فاقدة للبلازميدات وبالتالي تتحول البكتريا الفاقدة للبلازميدات من مقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة الى حساسة (كودانيوف،١٩٨٥) .

كما ان التباين في النتائج ربما يعود الى اسباب تتعلق بالخلية البكتيرية وقابلية اغشيتها الخلوية على تنافذ المستخلصات الى داخل الخلية او قد تعود الاسباب الى عوامل بيئية كدرجة التحضين والرقم الهيدروجيني (Grindley *et al.*,1970) .وقد يكون للمستخلص وتركيزه وعدد نسخ البلازميد وتاثير الأجهاد المسلط على الخلية البكتيرية دور في هذا التباين(الخفاجي،٢٠٠٨) .او ربما ان المستخلص النباتي يؤثر على البكتريا من خلال التقليل من تطوير اي ميكانيكية للمقاومة .كما وان بعض مركبات النباتات الفعالة تعمل كمضادات للمايكروبات حيث بأمكانها القضاء على البكتريا بنجاح(Klancnik *et al.*,2012) .

تعمل مركبات اخرى على تثبيط اوقتل انواع عديدة من البكتريا من خلال عمل خلط وتآزر بين المستخلصات والمضادات الحيوية. او قد تعمل على تثبيط وظيفة النقل عبر الغشاء البلازمي(Coutinho *et*

al.,2009) . ربما ان المواد الفعالة في المستخلصات النباتية سواء كانت مائية أو كحولية وبعد نفوذها إلى داخل الخلايا البكتيرية قد تعمل على تثبيط فعالية البروتينات المشفرة من قبل Par operon والمسؤولة عن تنظيم عمل الآوبرون par الذي يعد المسؤول عن عملية انتقال البلازميدات من الخلية الام إلى الخلايا البنوية اثناء عملية انقسام الخلية. وربما ان البروتين الكابح Par R المشفر من قبل أحد جينات الاوبرون par قد تغير شكله بعد عملية ارتباطه بالمواد الفعالة في المستخلصات واصبح غير قادر على ارتباطه بتسلسلات الـ DNA في الاوبرون par. ان هذا التغيير في عمل البروتين الناتج ربما سوف ينعكس على عملية تنظيم انعزال البلازميد إلى الخلايا البنوية.

من الملاحظ ان المستخلصات المستخدمة قيد الدراسة اظهرت فعالية مضادة للبلازميدات وهذا يعني بان هذه المستخلصات بامكانها تحييد جينات المقاومة للمضادات الحيوية الواقعة على البلازميدات.

References

المرجاني، محمد فرج (٢٠١١). المضادات الحيوية، المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية، دار دجلة، المملكة الاردنية الهاشمية.

Frank,H.V.(2005). " citric acid" , Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry , Weinheim: Wiley- VCH. Germany

Ananou,S.; Maqueda,M.; Martinez-Bueno,M. ; Galvez,A. and Valdivia, E. (2007). Bactericidal synergism through enterocin As-48 and chemical preservatives against *Staphylococcus aureus*. Letters in Applied Microbiology 45:19-23.

- Nielsen,M.K. and Arneborg,N.(2007). The effect of citric acid and pH on growth and metabolism of anaerobic *Saccbaromyces cerevisiae* and *Zygosaccbaromyces bailii* cultures. Food Microbilo.,24:101-105.
- Graham,A.F. and Lund,B.M.(1986). The effect of citric acid on growth of proteolytic strains of clostridium botulinum. J. of Appl. Microbiol. 61:39-49.
- Hu,Y.Y.; Rawal,A. and Schmidt-Rohr,K.(2010). Strongly bond citrate stabilized the apatite nanocriystals in bone . Proc. Nat. Acad. Sci.,107(52):22425-22429.

Collee,J.G.;Fraser,A.G.;Marmion,B.P. and Simmons,A. (1996). Mackie and McCarteny "Practical Medical Microbiology" 14th .ed. Chhurchill Livingstone Inc.New York. U.S.A. pp.245-260.

Harley,J.P. and Prescott ,L.M.(2002). Laboratory expercises in microbiology. 5th ed., McGraw-Hill Companies,USA.

Morello,J.A. ; Mizer,H.E. and Granato,P.A. (2007). " Labortory manual and work book in microbiology : Application to patient care" 8th ed., McGraw-Hill Companies,INc., New York. U.S.A.

Grant,A.J. and Pittard,D.J. (1974). Incompatibility reactions of R. plasmid isolated from *Escherichia coli* of animal origin. J. Bacteriol. ,120:185-188.

Riose,J.L.;Recio,M.C. and Villar,A.(1987). Antimicrobial activity of selected plants employed in sponish Mediterranean area. J.Ethnopharmacol., 21:139-152.

Grand,A. ; Woudergem,P.A. ; Verpoorte,R. and Pousset,J.L. (1988). Anti-infections phytotherapies of tree-savannah sengal (west –Afriacl),II-Antimicrobial activity of 33 species. J. Ethnopharmacol.,22:25-31.

Verpoorte,R.;Tginastoni,A.;Vandoorn,H. and Svendsen,A.B. (1982). Medicinal plant of sevinam,1-antimicrobial activity of some medicinal plants. J. Ethnopharmacol.,5:221-226.

Perez,C.;Poaul,M. and Bazerque,P.(1990). An antibiotic assay by the agar well diffusion method. Acta Biol. Med. Exp.,15:113-115.

Vandepitte,J. ; Engback,K. ; Piot,P. and Heuk,C. (1991). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. World Health Organization,Geneva. Switzerland.

Pessini,G.L.; Dias Filho,B.P.; Nakamura,C.V. and Cortez,D.A.G. (2003). Antibacteria activity of extracts and neolignans from piper regneni. Var. pallescens yunck. Mem. Inst. Oswaldocruz, Riode, Janeire,98(8):1115-1120.

Ongsakul,M.;Jindarat,A. and Rojanaworarit,C.(2009). Antibacterial effect of crude alcoholic and aqueous extracts of six medicinal plants against

Staphylococcus aureus and *Escherichia coli.* J.Health Res. 23(3): 153-156.

Lorian,V.,(1991).Antibiotics in laboratory medicine,The Williams and Wilkins company,Baltimore. U.S.A. PP.1-51.

Shrirama, V., Jahagirdarb, S., Lathac, C., Kumard, V., Dhakephalkarb, P., Rojatkare, S., and Shitolea, M. G. (2010). Antibacterial and antiplasmid activities of Helicteres isora L. Indian J. Med Res. 132, 94-99.

Deshpande,N.M.;Dhakephalkar ,P.K. and Kanckar,P.P. (2001). Plasmid-mediated dimethoate degradation in *Pseudomonas aeruginosa* MCMB-427. Lett.App. Microbiol. 33:275-279.

Brinboim,H. and Doly,J.(1979).Rapid alkaline extraction procedure for screening recombination plasmid DNA. Nucleic Acid Res.,7:1513-1524.

Lee,S.Y.;Yim,K.S.:Chang,H.N. and Chang,Y.K.(1994). Construction of plasmids, esitimation of plasmid stability , and use stable plasmids for the production of poly (3-hydroxybu tyric acid) by recombinant *Escherichia coli* . J. Biotechnol.,32:203-211.

Stukus, Ph(1997). Investigating Microbiology, A Laboratory Manual for General Microbiology Saunders College Publishing, Fortworth, USA.

الخفاجي، زهرة محمود ناصر(٢٠٠٨). التقنيات الحيوية المايكروبية (توجهات جزيئية) . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد، العراق.

Heritage , J. (2003). Antibiotics. University of Leeds.England.

Hardy, D., Amsterdam, D., Mandell, L. A., and Rotstein, C. (2000). Comparative in vitro activities of ciprofloxacin, gemifloxacin, grepafloxacin, moxifloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, trovafloxacin, and other antimicrobial agents against bloodstream isolates of gram-positive cocci. Antimicrob. Agents Chemother., 44(3), 802-805.

Laurence, D. R., and Bennett, P. N. and Brown, M. J. (1997). Clinical pharmacology. 8th ed. Churchill Livingstone. London. U.K.

Chukwuani, C. M., Onifade, M., and Sumonu, K. (2002). Survey of drug use practices and antibiotic prescribing pattern at a general hospital in Nigeria. Phar. world and Sci. 24(5), 188-195.

- Liesegang, H., Lemke, K., Siddiqui, R. A., and Schlegel, H. G. (1993). Characterization of the inducible nickel and cobalt resistance determinant cnr from pMOL28 of Alcaligenes eutrophus CH34. J. of Bacteriol., 175(3), 767-778.
- Schmidt, T., and Schlegel, H. G. (1994). Combined nickel-cobalt-cadmium resistance encoded by the ncc locus of Alcaligenes xylosoxidans 31A. J. of Bacteriol., 176(22), 7045-7054.
- Spain, A., and Alm, E. (2003). Implications of microbial heavy metal tolerance in the environment. Rev. Undergra. Res., Vol. 2, 1-6.
- Panel, E. F. (2015). Scientific Opinion on the safety and efficacy of citric acid when used as a technological additive (acidity regulator) for all animal species. EFSA J., 13(2), 4010.
- Atlas,R. ; Brown ,A. and Parks,L.(1995). Laboratory manual, Experimental microbiology. Mosby-Year book, INC.USA.
- del RÍO, E. L. E. N. A., Muriente, R., Prieto, M., Alonso-Calleja, C., and Capita, R. (2007). Effectiveness of trisodium phosphate, acidified

Pereira, L. M. P., Phillips, M., Ramlal, H., Teemul, K., and Prabhakar, P. (2004). Third generation cephalosporin use in a tertiary hospital in Port of Spain, Trinidad: need for an antibiotic policy. BMC Infectious Diseases, 4(1), 59.

Martínez-Martínez, L., Pascual, A., Hernández-Allés, S., Alvarez-Díaz, D., Suárez, A. I., Tran, J., and Jacoby, G. A. (1998). Roles of β-lactamases and porins in activities of carbapenems and cephalosporins against Klebsiella pneumoniae. Antimicrob. Agents and Chemothe., 43(7), 1669-1673.

Nies, D. H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. Applied Microbiol. Biotech., 51(6), 730-750.

Park, J. E., Schlegel, H. G., Rhie, H. G., and Lee, H. S. (2004). Nucleotide sequence and expression of the ncr nickel and cobalt resistance in Hafnia alvei 5-5. Internat. Microbiol., 7(1), 27-34.

Nies, D., Mergeay, M., Friedrich, B., and Schlegel, H. G. (1987). Cloning of plasmid genes encoding resistance to cadmium, zinc, and cobalt in Alcaligenes eutrophus CH34. J. Bacteriol., 169(10), 4865-4868.

sodium chlorite, citric acid, and peroxyacids against pathogenic bacteria on poultry during refrigerated storage. J. of food Protec., 70(9), 2063-2071.

❖ Abu-Ghazaleh, B. M. (2013). Effects of ascorbic acid, citric acid, lactic acid, NaCl, potassium sorbate and Thymus vulgaris extract on Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Afri.J.of Microbiol. Rese. 7(1), 7-12.

❖ Chakarvarty,H.L.(1976). Plant wealth of Iraq. Vol.1, ministry of agriculture and agrarian reform, Baghdad,Iraq.p.505.

❖ Shrirama, V., Jahagirdarb, S., Lathac, C., Kumard, V., Dhakephalkarb, P., Rojatkare, S., and Shitolea, M. G. (2010). Antibacterial and antiplasmid activities of Helicteres isora L. Indian J. Med Res. 132, 94-99.

❖ كودراينوف، اورسولا(١٩٨٥). علم الوراثة. الجزء الثاني،جامعة هارفارد،مترجم. جامعة الموصل.

❖ Grindley, J.N.; Grindley, N.D. and Anderson, E.S. (1970). Acridine treatment of F^+ and Hfr strains of *Escherichia coli* K-12 carrying aneomycin-kanamycin resistance determinat. Genet. Res. Camb., 15:327-334.

❖ Klančnik, A., Možina, S. S., and Zhang, Q. (2012). Anti-

Campylobacter activities and resistance mechanisms of natural phenolic compounds in Campylobacter.J.L. PloS one, 7(12), e51800.

❖ Coutinho, H. D., Costa, J. G., Lima, E. O., Falcão-Silva, V. S., and Júnior, J. P. S. (2009). Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin–resistant Staphylococcus aureus by Turnera ulmifolia L. BMC Complement. and Alternat. Medicine, 9-13.

تحفيز التغايرات الجسمية في مزارع كالس اليانسون *Pimpinella anisuml*

باستخدام الصوديوم ازايد

رغد نواف جرجيس شمال يونس عبد الهادي

الخلاصة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان للمعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم تأثير على نسبة الاستحداث للاجزاء النباتية لنباتات اليانسون وبنسبة (١٠٠)% لكالس الجذور و (٨٥)% لكالس الأوراق المعاملة بالتركيز (٣,٠) ملي مولر و (٩٠)% لكالس السيقان تحت الفلقية عند المعاملة بالتركيز (٩,٠) ملي مولر فضلاً عن خفضها المدة اللازمة للاستحداث، كما أظهرت نتائج الدراسة التحفيز الواضح لازايد الصوديوم في احداث التغايرات الجسمية على مزارع الكالس والنباتات الناتجة منه والمتمثلة في زيادة الوزن الطري لكالس السيقان تحت الفلقية والجذور عند التركيز (٣,٠) ملي مولر، وتحفيز الكالس على التمايز وتكوين الافرع الخضرية على اوساط الاستحداث، إذ بلغت اعلى معدل لتمايز الافرع الخضرية في كالس الأوراق عند التركيزين (٣,٠، ٦,٠) ملي مولر والتي بلغت (١٢، ١٥) فرع خضري و(٢٨، ٣٠) لكالس السيقان تحت الفلقية على التوالي. فضلاً عن زيادة النسبة المئوية لنسب الزيت الطيار في الاجزاء النباتية للبذور المعاملة والكالس الناتج منها، إذ تراوحت الزيادة في محتوى الزيت الطيار ما بين (٠,٠٢- ٠,١)% عند التركيزين (٣,٠- ٦,٠) ملي مولر، كما شملت الزيادة في محتوى البروتين (٥٦)% من مجموع المعاملات في هذه الدراسة، وتم فصل مركب الانيثول من الزيت الطيار لكل من السيقان تحت الفلقية والاوراق والكالس الناتج منها باستخدام تقنية الـ TLC وقيست سرعة الجريان لكل عينة من العينات المفصولة كل على حدى و مقارنتها مع سرعة جريان المركب القياسية والتي بلغت (٠,٣٥) .

Induction of Somaclonal Variation on in Vitro Callus Culture *Pimpinella anisuml* by using Sodium Azide

Raghad Nawaf Zarzis Shemal Younis Abdel Hadi

Abstract

The results of the current study showed that chemical mutagens treatment sodium azide effect on plant parts development ratio of anise plants (100)% roots callus and (85)% leaves callus by using concentration (3.0) Mm and (90)% hypocotyls callus by using concentration (9.0) mM as well as reduced time required for development , The results of the study also showed a clear stimulus sodium azide in soma clonal vartion

on resulting plants from callus culture are so of mild weight gain hypocotyls by using concentration (3.0)Mm ,results also showed stimulus sodium azide to development community green branches from callus culture,with the highest rate of differentiation of green branches on leaves callus of two concentration (3.0, 6.0) Mm at (12, 15) branches and(28, 30) hypocotyls callus respectively, As well as increase the percentage of oil on plant parts of treatment seed and callus product, The increase in oil content ranged from (0.02-0.1)% when the concentrations (3.0-6.0)mM, It also included an increase in protein content (56)% of total treatment in this study.

Anathol composite were separated from volitile oil t for both hypocotyls, leaves and callus resulting from these using the technique of TLC and measured the rate flow of each sample individually separated and compared with standard composite flow speed (0.35).

المقدمة

يعـود نبـات اليانسـون *Pimpinella anisuml* إلى العائلة الخيميـة Umbelliferae وهـو مـن النباتات الصليبية المهمـة كونه يحتـوي على الزيوت الطيارة (Asie & Mehri, 2012) والايثرات الفلافوتيدية والفينولية (Varroe *et al*., 1988) واهتمـت العديـد مـن الدراسـات ومنـها الدراسـة الـتي اجراهـا (النعيمـي ومحمـود، ٢٠٠٥) لاستحداث الكالس من اجزاءه المختلفة، كما تناولت العديد من الدراسات النباتات العائدة لهـذه العائلة، فقد تمكنت (الزيدي، ٢٠١٠) من استحداث مزارع كالس نباتات الكرفس *Apium graveolensl* من اجـزاءه المختلفة باسـتخدام تداخلات مختلفة من منظمات النمو، في حين تناولت الدراسـة التي اجراهـا (النعيمي والزيدي، ٢٠٠٩) تأثير اشـعة كامـا و UV على مـدى زيـادة نسـبة الاسـتحداث وتكوين الافـرع الخضـرية لنباتـات البقـدونس *Petroselinum crispuml*.

وتعد تقانة زراعة الانسجة من اهم التقانات الحيوية لتوليد التغايرات الوراثية في النباتات باسـتخدام المطفرات الكيميائية أو الفيزيائية (Humera & Javed, 2010; Haq, 2007).

إذ أثبتت نتائج البحوث التي وظفت المطفرات الكيميائيـة في المـزارع النسـيجية لكـثير مـن النباتـات، نجاحات كبيرة في مجال التغايرات الوراثية لتلك المزارع مـن خـلال التـأثير علـى نسـبة الاسـتحداث والـوزن الرطب للكالس ومحتواه من المركبات الفعالة وقدرته على تكوين الاجنة (Kahirzie *et al*., 2013; Keskin & Kunter, 2010; Pavadai *et al*., 2009).

وتعد المواد الكيميائية كأزايد الصوديوم والكولجسين وثنائي ايثايل الكبريتات من اهم المواد المستخدمة كمطفرات كيميائية (Marcelina, 2010; Ganesan *et al*., 2005)، ويعتبر Sodium azide من اهم المطفرات الكيميائية واقواها على المستوى الحقلي أو على مستوى التجارب الزراعة النسيجية (Dhanavel *et al*., 2008; Al. Qurainy & Khan, 2010).

وتوصلت الدراسة التي اجراها (Turkan *et al*., 2006) إلى رفع نسبة الانبات وارتفاع البادرات وعدد الأوراق لنباتات البازلاء Pisum Sativum باستخدام تراكيز مختلفة من ازايد الصوديوم، بينما أدى استخدام تراكيز عالية منه إلى موت الخلايا وانخفاض نسبة الانبات نتيجة لتغييره وعرقلته لسير العمليات الفسلجية للنبات (Al-Qurainy & Khan, 2009; Mostafa, 2011).

بينما تناولت الدراسة التي اجراها (Ahamd *et al*., 2010) تأثير استخدام تراكيز مختلفة من ازايد الصوديوم على تمايز كالس البطاطا Solanum tubersuml وعدد الافرع الناتجة منه.

مواد وطرائق العمل

أولاً: الزراعة النسيجية:

استخدام وسط MS في زراعة بذور اليانسون *Pimpinella anisum* التي مصدرها الاسواق المحلية والمعقمة مختبرياً وكذلك في تنمية البادرات واستحداث وادامة الكالس واعادة تكوين النباتات من الكالس.

استخدام التركيز (١ حجم هايبوكلولات الصوديوم القاصر التجاري: ٢ حجم ماء مقطر) لمدة (١٥) دقيقة لتعقيم البذور (النعيمي ومحمود، ٢٠٠٥) واستخدمت البادرات السليمة بعمر (١٥) يوماً والنامية في ظروف معقمة كمصدر للاجزاء النباتية بمعدل (١) سم للسيقان تحت الفلقية والجذور و (٠,٥) سم^{٢} للاوراق، وضعت قطع الاجزاء في دوارق أو قناني زجاجية حجم (١٠٠– ٢٥٠) مل حاوية كل منها على (٢٠– ٥٠) مل من وسط MS الحاوي على BA (١,٥) ملغم/لتر و NAA (٠,٥) ملغم/لتر للاوراق و BA (١,٠) ملغم/لتر و NAA (٠,٥) ملغم/لتر للسيقان والجذور (العقراوي، ٢٠٠٦) لاستحداث الكالس وتحفيزه نشوء الافرع الخضرية والذي تمت ادامته دورياً كل (٣– ٤) اسابيع تقريباً، علماً ان جميع عينات الدراسة المماثلة لما تقدم وغير المعاملة بالمحاليل الكيميائية اعتمدت كمعاملات للمقارنة

وحدد الوزن الطري للكالس الناتج بعمر (٤٥) يوماً من زراعة (١) غم لنشوء الافرع الخضرية.

ثانياً: تحضير المحاليل الكيميائية:

حضرت محاليل ازايد الصوديوم أنياً باربعة تراكيز مختلفة (٣,٠، ٦,٠، ٩,٠، ١٢,٠) ملي مول وضبط الرقم الهيدروجيني لهذه المحاليل عند (٣,٥-٤,٠) باستخدام Orthophosphoric acid (Mostafa, 2011).

ثالثاً: معاملة البذور كيميائياً:

حضرت بذور اليانسون للمعاملة الكيميائية وذلك بنقعها بالماء المقطر ساعة ونصف وبعدها جففت باستخدام أوراق الترشيح المعقمة ثم عوملت البذور بالمحاليل الكيميائية المحضرة وبمختلف تراكيزها الواردة اعلاه ولمدة ساعتين، وبعد ذلك غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت باستخدام أوراق الترشيح المعقمة.

رابعاً: زراعة البذور المعاملة:

زرعت البذور المعاملة كيميائياً في نفس يوم معاملتها كما ورد في الفقرة (أولاً) الخاصة بزراعة البذور.

خامساً: انشاء مزارع الكالس:

تم انشاء مزارع الكالس للعينات المعاملة كما ذكر في الفقرة (أولاً) الخاصة بانشاء مزارع الكالس.

سادساً: استخلاص وتقدير نسب الزيوت الطيارة:

تمت عملية استخلاص الزيت الطيار لعينات الدراسة (الاجزاء النباتية، الكالس) غير المعاملة والمعاملة بالمطفر الكيميائي باستخدام جهاز التقطير البخاري Steam distillation (هيكل، ١٩٧٧)، وقدرت نسب الزيت الطيار لعينات الدراسة باستخدام القانون التالي:

$$\text{نسبة الزيت} = \frac{\text{حجم الزيت}}{\text{وزن العينة}} \times 100\%$$

سابعاً: تقدير كميات البروتين:

استخدمت طريقة Lowry وآخرون (١٩٥١) والمحورة من قبل Schacterle و Polleck (١٩٧٣) في استخلاص وتقدير محتوى البروتين للاجزاء النباتية الناتجة من البذور غير المعاملة والمعاملة بالمطفر الكيميائي والكالس الناتج منها واعتمد البومين مصل البقر (BSA) كمحلول قياسي في رسم المنحني القياسي الذي اسقطت عليه امتصاصية العينات المذكورة اعلاه عند الطول الموجي ٦٥٠ نانوميتر.

ثامنا:فصل مركب الانثيول

فصل المركب الفينولي (الانثيول) باستخدام زيت اليانسون وحسب ما أشار إليه (Muthanna, 2009) وذلك باستخدام تقنية الـ TLC بابعاد (٢٠×٢٠) وبسمك (٠,٢٥) ملم، إذ

وضعت (٥)مايكروليتر من الزيت على خط البداية للوحة TLC ثم وضعت في الجار الحاوي على (هكسان: CH_2CL_2) بنسبة (١:٥) حجم: حجم، وحددت مواقع البقع المنفصلة وذلك برش لوحة TLC بمحلول (١% من الفانلين في ٢% Sulphuric acid في الايثانول) حجم إلى حجم ثم جففت في فرن حراري بدرجة ١٠٠ °C لمدة ١٠ دقائق لتحديد مواقع البقع المنفصلة لمركب الانيثول للعينات اعلاه.

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الجدول (١) ان للمعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم تأثير على نسبة الاستحداث للاجزاء النباتية إذ بلغت نسبة استحداث الاجزاء النباتية لنبات اليانسون ١٠٠% لكالس الجذور وشملت هذه النسبة جميع المعاملات، كما لوحظ ان نسب الاستحداث زادت في قطع الأوراق والسيقان تحت العقلية وجاءت متفوقة على معاملات المقارنة إذ بلغت اعلى نسبة لاستحداث كالس الأوراق (٨٥%) عند المعاملة بالتركيز (٣,٠) ملي مولر، في حين بلغت اعلى نسبة لاستحداث كالس السيقان تحت الفلقية (٩٠%) عند المعاملة بالتركيز (٩,٠) ملي مولر، من جهة أخرى بينت نتائج الدراسة الحالية تأثير المطفر الكيميائي ازايد الصوديوم على مدة الاستحداث الكالس.

الجدول (١): استحداث الكالس من الاجزاء النباتية الناتجة من بذور اليانسون *Pimpinella anisuml* الاعتيادية والمعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم

الأجزاء النباتية	المقارنة		تراكيز ازايد الصوديوم (ملي مولر)							
	٠,٠		٣,٠		٦,٠		٩,٠		١٢,٠	
	نسبة الاستحدا ث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحدا ث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحدا ث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحدا ث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحدا ث (%)	المدة الزمنية (يوم)
الأوراق	٧٥	٢٠	٨٥	١٧	٧٩	١٧	٧٥	٢٠	٧٦	٢٠
السيقان تحت العلقة	٨٥	٣٣	٨٥	٢٩	٨٧	٢٨	٩٠	٣١	٨٦	٣٢
الجذور	١٠٠	١٢	١٠٠	١٠	١٠٠	١٠	١٠٠	١٢	١٠٠	١٢

ونلاحظ من خلال الجدول (١) ان التركيز (٣,٠) ملي مولر قلل المدة الزمنية اللازمة لاستحداث كالس الأوراق بمقدار (٣) أيام، وكذلك الحال للتركيزين (٣,٠، ٦,٠) بالنسبة لكالس الأوراق، بينما انخفضت المدة الزمنية لاستحداث كالس الجذور ولنفس التراكيز اعلاه بمقدار يومين.

اظهرت نتائج الدراسة نجاح المطفر الكيميائي ازايد الصوديوم في تحفيز التغايرات الوراثية خارج الجسم الحي على مزارع الكالس والنباتات الناتجة من الكالس.

إذ اظهرت النتائج التأثيرات الواضحة لتراكيز ازايد الصوديوم المستخدمة على مزارع الكالس، وجاء اختيار البذور بوصفها الجزء النباتي المعامل، سبباً رئيساً في ظهور هذه التأثيرات، لان نجاح الاستحداث لاحداث التغايرات الوراثية يعتمد بالدرجة الأساس على استخدام الجزء النباتي المناسب والمتمثل بالبذور (Owais *et al*., 1983; Vagera *et al*., 2004).

لم تظهر التراكيز المستخدمة تأثيراً سلبياً على استحداث الكالس للاجزاء النباتية (الأوراق، والسيقان تحت الفلقية والجذور) لنبات الياسون وقد يعزى ذلك إلى امتلاك نباتات الياسون قابلية عالية في استحداث الكالس واستجابتها العالية للمزارع النسيجية (العقراوي، ٢٠٠٦) ولكن هذه المزايا مكنتها من عبور جسر الاستحداث فقط، فقد لوحظ التأثير السلبي لازايد الصوديوم وبشكل واضح على نمو حيوية الكالس المستحدث وذلك من خلال النقصان في معدل الوزن الرطب لكالس جميع الاجزاء النباتية، حيث سجل كالس الأوراق اقل معدل للوزن الرطب عند التركيز (١٢,٠) ملي مولر وبفارق كبير جداً بلغ (٢,٠) غم ، والتركيزين (٩,٠، ١٢,٠) ملي مولر والتي انخفض فيها معدل الوزن الطري بمقدار تتراوح ما بين (٢,٣– ٣,٤) لكالس السيقان تحت الفلقية، وبفارق (٣,٥– ٣,٩) لكالس الجذور عند التركيزين اعلاه الجدول(٢) .

ويفسر هذا الانخفاض في معدلات الوزن الطري للضرر الذي يحدثه ازايد الصوديوم من خلال تأثيره على عمليات الاكسدة والفسفرة التأكسدية المجهزة لطاقة الانقسام الخلوي أي هدم لجزيئات الطاقة من ATP اللازمة لعمليات الانقسام الخلوي، وتثبيطه لبعض الانزيمات المتعلقة بتصنيع الهورمونات الداخلية المحفزة للانقسام وتغيير مستوى فعاليتها عند التراكيز العالية من ازايد الصوديوم (Aruna *et al*., 2010; Gulfishan *et al*., 2010; Kumar and Ratnam, 2010).

وعلى العكس من ذلك تفسر الزيادة القليلة الحاصلة في الوزن الرطب لكالس السيقان تحت الفلقية

والجذور عند التركيز (٣,٠) ملي مولر إلى تأثير ازايد الصوديوم في تصنيع الاوكسينات وبالتالي زيادة النمو عند استخدامه بتراكيز واطئة (North, 1979) .

الجدول (٢): معدل الوزن الرطب (غم) لكالس اجزاء نباتات الياسنون *Pimpinella anisuml* الناتجة من البذور الاعتيادية والبذور المعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم على الاوساط MS القياسية بعمر (٤٥) يوماً

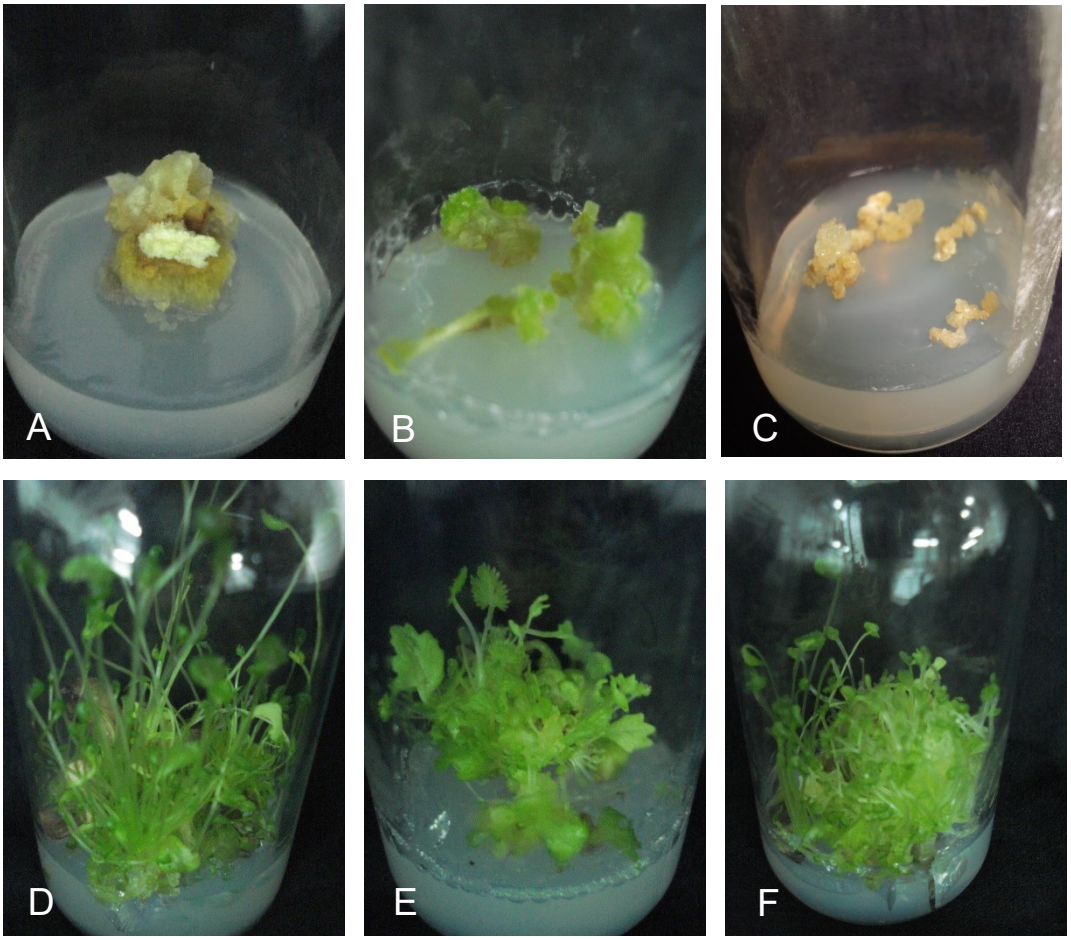
الوزن الرطب (غم)*					
مصدر الكالس	المقارنة	تراكيز ازايد الصوديوم (ملي مولر)			
	٠,٠	٣,٠	٦,٠	٩,٠	١٢,٠
الأوراق	٤,٠	٤,١	٢,٥	٢,٢	٢,٠
السيقان تحت العلقة	٥,٤	٦,٢	٣,٨	٢,٧	٣,١
الجذور	٦,٥	٦,٨	٤,٧	٣,٦	٣,٢

* معدل ٣ مكررات (١) غم كالس عند الزراعة/ جزء نباتي

من جانب آخر اظهرت نتائج الجدول (٣) التأثير المميز لازايد الصوديوم على تحفيز الكالس على التمايز وتكوين الافرع الخضرية على اوساط الاستحداث، إذ سجل اعلى معدلات لتمايز كالس الأوراق عند التركيزين (٣,٠، ٦,٠) ملي مولر وبلغت (١٢، ١٥) فرع، في حين سجلت جميع التراكيز على تمايز كالس السيقان الفلقية وتمييز التركيزين (٣,٠، ٦,٠) ملي مولر في تسجيل اعلاها والتي بلغت (٢٨، ٣٠) فرع، وترجع الزيادة بازايد الصوديوم إلى التأثير التحفيزي للاخير لصبغة الزانثوفيل المسؤولة عن زيادة تفرعات المجموع الخضري (لصفته المميزة في احداث الطفرات الكلوروفيلية) واحداث حالة التزهير المبكر في بعض النباتات (Kechagia *et al*., 1994; Mostafa, 2011) .

الجدول (٣): تمايز كالس الاجزاء النباتية لنبات اليانسون *Pimpinella anisuml* الناتجة من البذور المعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم على أوساط MS القياسية

الكالس	المقارنة		تراكيز ازايد الصوديوم (ملي مولر)							
	٠,٠		٣,٠		٦,٠		٩,٠		١٢,٠	
	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)
الأوراق	٥	٢٤	١٢	١٠	١٥	١٠	١٠	٨	١١	٧
السيقان تحت العلقة	٢٣	٥٦	٢٨	٤٠	٣٠	٣٩	٢٦	٣٧	٢٤	٤٣
الجذور	١٨	٣٠	١٢	٣٢	١٠	٣٤	٧	٣٥	٨	٣٢



الشكل (١) استحداث وتمايز كالس الاجزاء المختلفة لنبات اليانسون *Pimpinella anisuml* الناتجة من البذور المعاملة وغير المعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم

A- استحداث كالس الأوراق الناتجة من البذور المعاملة بازايد الصوديوم بتركيز (٣,٠) ملي مولر

B- استحداث كالس السيقان تحت الفلقية الناتجة من البذور المعاملة بازايد الصوديوم بتركيز (٦,٠) ملي مولر

C- استحداث كالس الجذور الناتجة من البذور المعاملة بازايد الصوديوم بتركيز (٩,٠) ملي مولر

D- تمايز كالس الأوراق الناتجة من البذور المعاملة بازايد الصوديوم بتركيز (٦,٠) ملي مولر

E- تمايز كالس السيقان تحت الفلقية الناتجة من البذور المعاملة بازايد الصوديوم بتركيز (٦,٠) ملي مولر

F- تمايز كالس الجذور الناتجة من البذور المعاملة بازايد الصوديوم بتركيز (٣,٠) ملي مولر

من جانب آخر اظهرت نتائج تقدير البروتين الجدول (٤) في الاجزاء النباتية للبادرات الناتجة من البذور المعاملة والكالس الناتج منها، إذ اظهرت النتائج حصول زيادة في محتوى البروتين في (٥٦)% من مجموع معاملات الاجزاء النباتية والكالس الناتج منها، ولوحظت ان الزيادة في محتوى البروتين تراوحت ما بين (٠,٠٤- ٠,٤٨)% ولوحظ تفوق التركيزين (٣,٠، ٦,٠) ملي مولر في رفع محتوى البروتين لمختلف العينات على بقية التراكيز ولوحظ اعلى معدل لمحتوى البروتين في الأوراق (٠,٤٨)% عند التركيز (٣,٠) ملي مولر وكالس السيقان الفلقية (٠,١٩١) عند نفس التركيز وتطابقت هذه النتائج وفق ما جاء في نتائج الدراسة التي اجراها (Hussain *et al*., 2017).

الجدول (٤): المحتوى البروتيني لمزارع كالس نباتات اليانسون *Pimpinella anisuml* الناتجة من البذور المعاملة وغير المعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم

العينات	المقارنة	تراكيز ازايد الصوديوم (ملي مولر)			
كميات البروتين (ملغم/غم)	٠,٠	٣,٠	٦,٠	٩,٠	١٢,٠
الأوراق	١,١	١,٥٨	١,٣٦	١,٠٩	١,٠٢
كالس الأوراق	٠,٢٦	٠,٣٠٢	٠,٤٥	٠,٣٥	٠,١٢٩

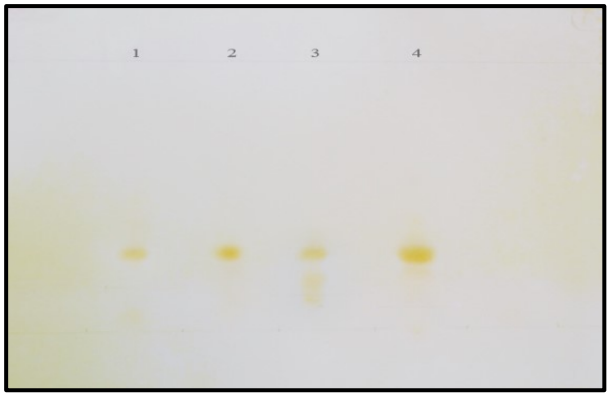
السيقان تحت العلقة	٠,٣٩	٠,٤٧	٠,٦٢	٠,٣٨	٠,٣٦
كالس السيقان تحت الفلقية	٠,٣١	٠,٥٠١	٠,٣٧	٠,٣٠٣	٠,٢٧

ويظهر نتائج الجدول(٥) تأثير مختلف التراكيز من ازايد الصوديوم على محتوى الزيت الطيار في اجزاء الكالس الناتج منها، ويظهر واضحاً ان الزيادة في محتوى الزيت الطيار ما بين (٠,٠٢-٠,١١)% ولوحظ تفوق التركيزين (٣,٠، ٦,٠) ملي مولر في رفع نسبة الزيت الطيار في الاجزاء النباتية وكالسها على بقية التراكيز ولوحظت اعلى زيادة في نسبة الزيت الطيار في السيقان تحت العلقية عند التركيز (٣,٠) ملي مولر وكالسها (٠,٠٨)% عند نفس التركيز وجاءت هذه النتائج مطابقة لما ورد في ارتفاع نسب الزيت لنبات *Brassicam nafus* عند المعاملة بتراكيز مختلفة من ازايد الصوديوم بالمطفر الكيميائي (Rehman *et al*., 1994; Hajduch *et al*., 2000).

الجدول (٥): نسب الزيت الطيار من مزارع نباتات اليانسون *Pimpinella anisuml* الناتجة من البذور المعاملة وغير المعاملة بالمطفر الكيميائي ازايد الصوديوم

مصدر الكالس	المقارنة	تراكيز ازايد الصوديوم (ملي مولر)			
	٠,٠	٣,٠	٦,٠	٩,٠	١٢,٠
الأوراق	٠,٢٢	٠,٢٦	٠,١٩	٠,١٦	٠,١٥
كالس الأوراق	٠,٥٨	٠,٦٣	٠,٦	٠,٥٤	٠,٤٩
السيقان تحت العلقة	٠,٢	٠,٣١	٠,٢٣	٠,١٧	٠,١٦
كالس السيقان تحت الفلقية	٠,٥٣	٠,٦١	٠,٥٩	٠,٥١	٠,٤٧

كما أظهرت النتائج الشكل (٢) ان سرعة جريان البقع المفصولة من الزيت الطيار للسيقان والاوراق والكالس الناتج منها كانت متطابقة مع سرعة جريان RF القياسية لمركب الانثيول والتي بلغت (٠,٣٥) ،وجاءت هذه النتائج مطابقة لما اشارت اليه الدراسة التي اجراها(Muthanna,2009)والتي اظهرت ن سرعة جريان مركب الانيثول المفصول من زيت البذور بلغت (٠,٣٥) .



الشكل (٢) مركب الانثيول المفصول من الزيت الطيار لنباتات اليانسون *Pimpinella anisuml* بطريقة TLC

١- مركب الانثيول المفصول من الزيت الطيار للأوراق. ٢- مركب الانثيول المفصول من الزيت الطيار كالس الأوراق. ٣- مركب الانثيول المفصول من الزيت الطيار للسيقان تحت الفلقية. ٤- مركب الانثيول المفصول من الزيت الطيار كالس السيقان تحت الفلقية.

المصادرالعربية

الزيدي، رغد نواف جرجيس (٢٠١٠). الزراعة النسيجية لنباتات الكرفس *Apium graveolensl* خارج الجسم الحي، مجلة تكريت للعلوم الصرفة، المجلد (١٥)، عدد (٢).

العقراوي، هاوزين صلاح خليل (٢٠٠٦). تعريض بذور وأعضاء كالس نبات اليانسون *Pimpinella anisuml* للاشعة فوق البنفسجية وتقدير محتوى الانثيول بواسطة كروموتوكرافيا السائل عالي الاداء، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.

النعيمي، عبدالله نجم والزيدي، رغد نواف جرجيس (٢٠٠٩). تأثير التداخل بين تقنيتي الزراعة النسيجية والاشعائية على محتوى البروتين والاحماض النووية لكالس سيقان البقدونس *Petroselinum crispuml* والنباتات الناتجة منه، مجلة تكريت للعلوم الصرفة، المجلد (١٤)، العدد (١).

النعيمي، عبدالله نجم ومحمود،سهام أحمد (٢٠٠٥). الزراعة النسيجية لنبات اليانسون *Pimpinella anisuml* خارج الجسم الحي، مجلة التربية والعلم، المجلد (١٧)، العدد (١): ١-١٣.

هيكل، محمد السيد وعمر، عبدالله عبد الرزاق (١٩٧٧). النباتات الطبية والعطرية كيمياؤها- انتاجها- فوائدها، مركز الدلتا للطباعة والنشر.

المصادر الاجنبية

Ahmad, I.; Nasir, I.A.; Haider, M.S.; Javed, M.A.; Latit, Z. and Husnain, T. (2010). In vitro

Thilagarathi, C. (2008). Effectiveness and efficiency of chemical mutagens in cawpen (*Vigna unguiculata* L. walp). Afro, J. Biotechnol., 7 (22): 4116- 4117.

Ganesan, M.; Bhanumathi, P. and Jay obalan, N. (2005). Mutagenic effect of sodium azide on somatic embryo regeneration and root growth of cotton (*Gassypium hirsutum* L. CV. SVPRZ). J. Agr. Sci. Tech., 1 (2): 365-380.

Hajduch, M.; Debre, F.; Bohmora, B.; Dolesova, p. and Pretova, A. (2000). Two soybean mutants with increased total and sulphur amino acid content induced by sodium aziide. JGen Breed 54: 83-87.

Haq. N. (2007). In Vitro production of bio active compounds from medical and aromatic plants. Agriculture, 38 (1): 112-119.

Humera, A. and Javed, I. (2010). In Vitro techiniques and mutagenesis for the genetic induction of mutation in potato cultivars, Pak. J. phyto pathol., 22 (1): 51-57.

Al- Qurainy, F. and khan, S. (2010). Mutationa approach for enhan cement of artemisin in *Artemisia annua*. J. Med. P. Res., 4 (7): 1714-1726.

Al- Qurainy, F. and Khang, S. (2009). Mutagenic of sodium azide and its application crop improvement. world App. Sci. J., 6 (12): 1589-1601.

Arnna, J.; Prakash, M. and Sunil, B. (2010). Study on effect of mutagens in MI. population of brinjal (Solanum melongena L.). Res. J. Agriculture Sci., 1 (4): 470- 471.

Asie, S. and Mehri, A.F. (2012). Review of pharmacological properties and chemical concstituenntsof *pimpinella anisam* international scholary research network. Vol. 51 (8).

Dhanarel, D.; Pavadai, P.; Mullainathan, L.; Mohana, D.; Raju, G.; Girija, M. and

response to ultraviolet- c irradiation. J. Anim. pl. Sic., 20 (3): 197-200.

Kumar, P.R.R. and Ratnam, S.V. (2010). Mutagenic effectiveness and efficiency in varieties of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by separate and combined treatment with gamma- rays and sodium azide. Afr. J. Biotechrol. 99 (39): 6517-6591.

Lowry, O.H., Roiseb, rough, N.J., Farr, A.L. and Randad, R.J. (1951). Protein measurement with folin reagent. J. Biol. chem. 193: 265-257.

Marcelina, K.M. (2010). Influence of chmical mutagenes on morphological traits in kalanchoe influence of chemical mutagens on morphological traits in kalanchoe (*Kalancho hybrida*). Agric., Aliment., Pisc z, otech., 279 (15): 11-18.

Mostafa, G.G. and Alframay, A.M. (2011). RAPD analysis for detection and fingerprinting of sunflower mutants induced by improvement of potato. Pak. J. Bot., 42(3): 1629-1637.

Hussain, S.; Ali, S.; Akhtar, N.; and Ahmed, S. (2017). Mutagenic effect of sodium azide (NaN_3) on M_2 generation of *Beassicanapus* (variety Dunkled). Pure Appl. Biol., 6(1): 226-236.

Kahrizi, D.; Chegh amirza, K.; Akbari, L. and Rostami- Ahmad vandi, H. (2013). Effect of magnetic field on cell dedifferentiation and callus induction derived from embryo culture in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes, Mol. Biol., 40: 1651-1654.

Kechagia, V.; Xanthopoulos, F. and sarropolon, M. (1994). Development of improved cotton cultivars by induced mutations. In: mutation breeding of oil seed crop: IAEA. Vienna: 159-162.

Keskin, N. and Kunter, B.C. (2010). Production of trans-resveratrol in callus tissue of okuzogzu (*vitis vinifera* L.) in

mutagens in soybean (Glycine max LL. merr.) J. phytol., 6:444-447.

Rehman, S. M.; Takagi, Y.; Kubota, K.; Miyamoto K and Kawakita, T. (1994). High oleic acid mutant in soyabean induced by x-ray irradistion. Bio. Sci. Tech Bio chem. 58: 1070-1071.

Schacterle, G. R., and Pollack, R.L. (1973). A simpified method for the quantitative assay of small amounts of protein in biological material. Anal. Biochem. 51: 654-655.

Turkan, A. Khawar, K. Ciftcl, C. and Ozcan, S. (2006). Effects of mutagenic sodium azide (NaN_3) on in vitro development of four pea (*Pisum sativum* L.) cultivates. Int. J. Agr. Bio., 8 (3): 349-353.

Vagera, J.; Northny, J. and Ohnoutkova, L. (2004). Induced androgenesis in vitro in mutated populations of barley, Hordeum vulgare. Plant cell Tiss. organ cult. 77: 55-61.

sodium azid. Int. J. Plants Breed. Genet., 5 (3): 277-285.

Mostafa, G.G. and Alfrmawy, A.M. (2011). RAPD analysis for detection and fingerprinting of sunflower mutants induced by sodium azide. Int. J. Plant Breed. Genet., 5 (3): 277- 285.

Muthanna, J. Mohammed. (2009). Isolation and identification of anethole from *Pimpinella anisume L*. fruit oil. An antimicrobial study. Research Article, 2(5): 915-919.

North, C. (1979). Plant breeding and genetics in horticulture. Macmillan Press LTD. London, England.

Owais, W.M.; Rosichan, J.I.; Ronald, R.C.; Kleinhofs, A. and Nillah, R. A. (1983). Amutagenic metabolitc synthesized in the presence of azide is azidoalanine. Mit. Res., 118: 229-239.

Pavadai, P., Girija, M. and Dhan avel, D. (2009). Effectiveness efficiency and biochemical content of physical and chemical

فعالية مستخلص السيانوبكتريا Westiellopsis prolifica ومركباته الفينولية المعزولة ضد البكتريا والفطريات

أ.م.د. مِرا اسامة احمد الكاتب

سارة عبدالواحد محمد

الملخص

تم في هذه الدراسة تناول مجال حديث ومهم ضمن البحوث الحديثة التي تركز حاليا على امكانية ايجاد بدائل صديقة للبيئة في مجالات الحياة المختلفة ومنها المضادات الحيوية التي تقل فعاليتها وتزداد مخاطرها بسبب ظهور مقاومة الميكروبات لها وقابلية تطوير دفاعات ضدها من قبل البكتريا والفطريات نظرا للاستخدام المفرط لها .اغلب الاتجاهات ركزت على النباتات والمواد الايضية الناتجة منها وياتي هنا التركيز على افضل مصدر للمواد الفعالة ضد البكتريا والفطريات وهي الطحالب وتعد السيانوبكتريا (الطحالب الخضر المزرقة) الافضل والاغنى بالمركبات الفعالة والتي يمكن ان تنتج تجاريا. استخدام المستخلص الايثانولي الطحلب السياني Westiellopsis prolifica وكذلك المركبات الفينولية المعزولة منه ضد نوعين من البكتريا الموجبة لصبغة كرام Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis ونوعين من البكتريا السالبة لصبغة كرام Pseudomonas aeroginosa و Escherichia coli كما تم اختبارها ضد انواع من الفطريات Aspergillus ، Fusarium solani ، Trichoderma viride ،Trichoderma harzianum flavus و Penicillum notatum .كما تم تشخيص نوع المركبات الفينولية المكونة للمستخلص الفينولي للطحلب وذلك بطريقة الفصل بكروماتوكرافيا الفصل السائل ذو الاداء العالي HPLC (شخصت خمسة انواع : Rutin–٥٨,٤ % ، Luteolin–١٩,١ %، Quercetin–٩,٦% ، Apigenin–٥,٣ % وKaempferol –٢,٥ %) . من النتائج يتبين ظهور فعالية كبيرة للمواد الفينولية المعزولة من الطحلب ضد نوعي البكتريا الموجبة S. aureus و B. subtilis وبقطر تثبيط ٣٧ و ٣٥ ملم على التوالي وكذلك حساسية البكتريا السالبة لصبغة كرام P. aeroginosa و E. coli وبقطر تثبيط ٤٠ و ٣٠ ملم على التوالي وهي نتيجة ممتازة لان اغلب الدراسات تسجل الحساسية للبكتريا الموجبة فقط اوالتاثير القليل على البكتريا السالبة .اما المستخلص الايثانولي للطحلب فلم يظهر اي فعالية مع كل انواع البكتريا قيد الدراسة. وبينت النتائج

حساسية الفطريات وبشكل مميز للمكونات الفينولية المعزولة من الطحلب عند مقارنتها بتثبيط المستخلص الايثانولي له ،فقد سجلت فعالية مضادة لجميع الفطريات قيد الدراسة مع المكونات الفينولية واكبر تثبيط ظهر مع نوعي Fusarium و Trichoderma viride بقطر تثبيط حوالي ٥٠ ملم مقارنة مع المستخلص الايثانولي الذي ثبط ثلاثة انواع فقط Fusarium، Aspergillus و T. viride وبدرجة اقل جدا من الفينولات.

The Activity of Cyanobacteria *Westiellopsis prolifica* Extract and Its Phenolic Compound as Antibacterial and Antifungal

Abstract

This study focus on new and important field of recently researches that attend to find ecofriendly materials to use in various fields of life, that one of it an antibiotics which activities reduce and it risks increased because of microbes resistance with its bacterial and fungal abilities to develop new defenses against that compounds. The most researches concentrated on plants and its metabolites, thus an algae generally and cyanobacteria with microalgae particularly can consider as best resources of this active compounds. The ethanolic extract of *Westiellopsis prolifica* and its phenolic compounds is used against two types of gram positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, as well as two gram negative bacteria *Pseudomonas aeroginosa* and *Escherichia coli* .Additionally that extracts is using upon kinds of fungi include *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* and *Penicillum notatum*. In HPLC technique , phenolic compounds type is detected (five types: Rutin-58.4 % , Luteolin-19.1% ,Quercetin-9.6% , Apigenin-5.3% and Kaempferol-2.5%) and show high content of phenols for cyanobacterium extract that cause high antibacterial activity for *S. aureus* and *B. subtilus* (G+) with inhibition zone reach 37 and 35 mm respectively ,as well as sensitivity of (G-) *P. aeroginosa* and *E. coli* at inhibition zone 40 and 30 mm respectively .In constant , the antifungal activity of phenolic extract is very high compared with its ethanolic extract due its inhibition zones with *Fusarium solani* and *Trichoderma viride* that reach approx 50 mm , while ethanolic extract that inhibited just three kinds *Fusarium ,Aspergillus* and *T. viride* at less grade than phenols.

المقدمة

تضمنت الدراسة الحالية احد انواع السيانوبكتريا وهو *Westellopsis prolifica* حيث يعود هذا الطحلب الى الطحالب الخضر المزرقة بدائية النواة وهي من اقدم الطحالب عمرا حيث يقدر عمرها ٢٥٠٠ مليون سنة منذ العصر البركاني (مولود واخرون ١٩٩٠،)،يمتاز بشكله الخيطي وله تفرعات حقيقية تتالف من عدد من الخلايا يتكاثر خضريا بطريقة التجزئة او الهرموكونيا hormognia يتحمل الظروف البيئية القاسية وهو من الطحالب المثبتة للنتروجين له القابلية على النمو في بيئات مختلفة (Dash and Mishrah,١٩٩٩) .ان من المجالات الحديثة في بحوث الطحالب هو انتاج مواد ايضية ذات فائدة في مجالات الحياة المختلفة ومنها الفينولات ،حيث ان المركبات الفينولية هي مجموعة فعالة من مركبات الايض الثانوية التي لها استخدامات متعددة وهناك دراسات لفصلها من المصادر النباتية وتعد الطحالب والسيانوبكتريا من افضل هذه المصادر ، اذ ينتجها التحلل الحامضي للمستخلصات النباتية (Teixeia *et al.* 2013)، كما ان المواد الايضية الفعالة حيويا المستخلصة من الكائنات تكون محدودة ولايمكن الحصول عليها بكميات كبيرة من العمليات الكيموحيوية اضافة الى المحدود للكائنات الذي هو احد المعوقات للحصول الكفوء على مثل هذه المركبات من اجل الاستخدام الطبي (Hildebrand *et al.*,2004) ومن اجل التغلب على عائق المصدر للنواتج الطبيعية فان الكائن المختار يجب ان يملك كلفة واطئة بالتنمية له مع كميات عالية لمحتواه من هذه المواد الايضية الثانوية الفعالة حيويا، وهي بطبيعتها تكون مثبطة للبكتريا والفطريات وتكون ذات اوزان جزيئية منـــــــــــــــخفضة Ollerstam and Larsson ,2003 ;Sugiyama and Hirota,2009; Harbone,1973) .تم عزل الفينولات من الطحلب المدروس ، حيث تعد الفينولات من المركبات الكيميائية العضوية تتالف من ارتباط مجموعة هيدروكسيل وظيفية بشكل مباشر مع هيدروكاربوني عطري ، يرجع اسمها الى ابسط هذه المركبات وهو الفينول C_5H_5OH ،وتكون الفينولات بشكل بلورات بيضاء في حالة الصلابة وعديم اللون في حالة السيولة يمتاز برائحة تشبه رائحة المنظفات والمعقمات (Khoddamia *etal.* , 2013) .ان الاهمية للطحالب وما تملكه من منتجات اولية وثانوية لها فعالية حيوية Bioactive وهي

مهمة في الصناعات الدوائية لان منها مضاد للبكتريا ، مضاد للفطريات، مضاد للطفيليات ، مضاد لطحالب اخرى. وتكون المواد المنتجة من الطحالب اما داخل خلوية Entracellular او خارج خلوية Extracellular ، وان اهمها الطحالب الخضراء مثل *Chlorella vulgaris* والطحالب الخضر المزرقة التي لها استخدامات كبيرة كمضاد للسرطان خاصة التي تكون ضمن عائلة Oscillatoriaceae (Thummajitsakul *et al.*,2012: الحسيني ، ٢٠١٦). النواتج الطبيعية المستخلصة من الطحالب والسيانوبكتريا تبدو مفيدة جدا ولها عدة فعاليات حيوية منها ضد بكتريا، ضد الفطريات، ضد التجلط anti-coagulant، ضد تكوين الصفائح anti-platelet وضد السل anti-tuberculosis وفعالية ضد فايروسية anti-viral (Abed *et al.*,2009 ; Mayer and Humann, 2002) ، فضلا عن احتواء السيانوبكتريا على عدة مكونات تجعلها ناجحة في تثبيط فايروس HIV بوساطة تثبيط انزيم وتكون anti-HIV reverse-transcriptase وذلك بفعالية مستخلصات الطحالب الدقيقة (Kwei, 2012). كما ان للطحالب استخدامات في انتاج العقاقير الطبية وعلاج العديد من الامراض وكذلك في الابحاث البيولوجية وذلك لصغر دورة حياتها وسهولة تنميتها مجموعة السيانوبكتريا هي بكتريا سالبة لصبغة كرام انزلاقية ولها تاريخ عالمي، ولها تنوع حيوي كبير على الرغم من غياب التكاثر الجنسي . هذا التنوع الحيوي الكبير ربما منعكس في الطيف الواسع في مركباتها الايضية الثانوية السيانوبكتيرية هي مصنعة حيويا بوساطة عدة طرق ، بشكل خاص بوساطة انظمة تصنيع الببتيد غير الرايبوسومي او انظمة تصنيع البولي كيتايد ، وتظهر مدى واسع لفعاليات حيوية بضمنها فعاليات مضادة للسرطان anticancer ،ضد البكتريا antibacterial ، مضاد للفايروسات antivirus ، وتثبيط البروتييز protease inhibition . هذه الدرجة العالية للتنوع الكيميائي للمواد الايضية الثانوية السيانوبكتيرية ربما لذلك تشكل مصدر منتج لكيانات جديدة تقود الى تطور علاجات (ادوية) جديدة (الخفاجي ،٢٠٠٨ ؛ السعدي وسليمان ،٢٠٠٦)، ولاجل الخواص التي تملكها مستخلصات السيانوبكتريا ازداد عدد البحوث والتقارير بهذا المجال من اجل تطوير صناعة الادوية (Kwei ,2012) . كما تعد السيانوبكتريا مصدرا

مهما لهذه المركبات الطبيعية ذات التاثير العلاج والفسيولوجي والمنتجة بكميات قليلة كنواتج لعمليات الايض الثانوي (Zorica *et al.*,2008) .ان للطحالب نفس الوظائف الحيوية والبيئية التي تملكها النباتات، ورغم انها تنتمي الى فصيلة تطورية مميزة منفردة فان استجاباتها الدفاعية الكيميائية مماثلة للنباتات ومنها تصـــــــنيع المواد الايضية الثانوية Potin) (2008,.

تتواجد الفينولات بشكل واسع الانتشار في الاجزاء النباتية المختلفة وتشكل المجموعة الأكبر منها الفلافونويدات وكذلك الفينولات ذات الحلقات البسيطة، والمركبات الفينولية تكون ذائبة في الماء وتزداد قابلية الذوبان لها بزيادة عدد مجاميع الهيدروكسيل وتكون موجودة بشكل مرتبط مع وحدة السكر بشكل كلايكوسيدات في النسيج النباتي (Harborne ,1973;Mahdi *etal.*,2011) .تكون الفينولات الاحادية من Ortho dihydroxy phenols استرات سكرية وكلايكوسيدات واشكال عديدة وبشكل مركبات غير سامة للكائنات لكن يحدث فيها تحلل مائي داخل النبات متحولة الى مركبات فينولية سامة ومضادة للكائنات الدقيقة، والفينولات التي تملك اكثر من مجموعة هيدروكسيل مرتبطة بحلقة البنزين هي Polyphenols وتتأكسد بوساطة انزيمات الأكسدة مثل انزيمات البيروكسيديز Peroxidase و فينول اوكسيديز Phenoloxidase و لاكيز Laccase (Vincenzo *et al.* ,2006) . الفينولات احيانا تسمى مركبات متعددة الفينول Polyphenolic compounds وهي موجودة في انواع نباتات ارضية ومائية ويستفاد منها كمكونات مهمة لكل من غذاء الانسان والحيوان بسبب خواصها المضادة للاكسدة وقد ذكر اكثر من ٨٠٠٠ نوع معروف الان (Bravo,1998) ،حيث تظهر الفينولات المتعددة مدى واسع من التاثيرات الحيوية كنتيجة لصفاتها المضادة للاكسدة ،وان التركيز العالي نسبيا للمركبات الفينولية في انواع الطحالب البحرية يعطيها خواصها المضادة للاكسدة والتي يمكن ان تفيد في تقليل مخاطر تفاعلات الأكسدة على الصحة ولقد ذكر الخواص الكيميائية والحيوية لفينولات الطحالب البحرية كمواد مضادة للاكسدة وطبيعة تاثيراتها الوقائية في الانظمة الحيوية وفعاليتها الكامنة في المنتجات الغذائية (Freile– Pelegrin and Robledo,2014) .

المواد وطرائق العمل

تمت الدراسة في مختبرات قسم علوم الحياة –كلية التربة للعلوم الصرفة – جامعة الموصل وفيها استخدمت سلالة من الطحالب الخضر المزرقة وهي ***Westiellopsis prolifica*** تم الحصول عليها من جامعة بغداد– كلية العلوم– قسم علوم الحياة (Abed,2013) .

تم تجفيف الكتلة الحية للعينة بعد تنميتها في الوسط الزرعي Chu 10 .تم تحضير مستخلص الكحول الاثيلي لعينات الطحلب المختارة باخذ ١,٥ غم من الوزن لجاف للطحلب واضيف اليه ١٥ مل من الايثانول (Grand *et al.* ,1988) . ثم اخذ المستخلص الايثانولي وضع في حمام مائي ثلجي باستخدام المحرك الكهربائي لمدة ١٠ ساعات وترك لمزيج في الثلاجة للنقع لمدة ٢٤ ساعة ورشح المزيج باستخدام رقة ترشيح Whatmann No.1 واخذ الراشح وتم تبخير الايثانول الموجود فيه باستخدام جهاز المبخر الدوار اذ يعمل هذا الجهاز تحت ضغط مخلخل ودرجة حرارة لا تزيد عن ٤٠ ° م واخذت الطبقة المتكونة من المستخلص الخام وحفظت في قناني زجاجية معقمة ذات غطاء محكم لحين استخدامها .

تم اجراء تحلل حامضي للمستخلص الكحولي باستخدام طريقة (Harborne ,1973) حيث اخذ ٢مل من المستخلص واضيف له حامض الهيدروكلوريك بتركيز ٢ مولاري وبحجم ٢٠٠ مل من الحامض ثم سخن المزيج في حمام مائي بدرجة (٩٠ – ١٠٠ ° م) لمدة نصف ساعة مع التحريك ثم برد المزيج واضيف له خلات الاثيل بحجم ١٠٠ مل ويفصل باستخدام قمع الفصل ، ثم تعاد العملية مرتين ويلاحظ تكون طبقتين ، العليا تمثل خلات الاثيل وتحتوي على الحوامض الفينولية الحرة تركز بجهاز المبخر الدوار وحفظ في الثلاجة ، اما السفلى تهمل لكونها طبقة مائية.

استخدم الفصل بجهاز HPLC (High Performance Liquid Chromatography) من اجل فصل وتشخيص المركبات الفينولية الموجودة في المستخلص الايثانولي للطحلب وذلك في مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة البيئة والمياه وكان الجهاز من نوع (SYKAM) الالماني المنشا وبسرعة جريان ١مل / دقيقة اما الطور المتحرك (A:B)

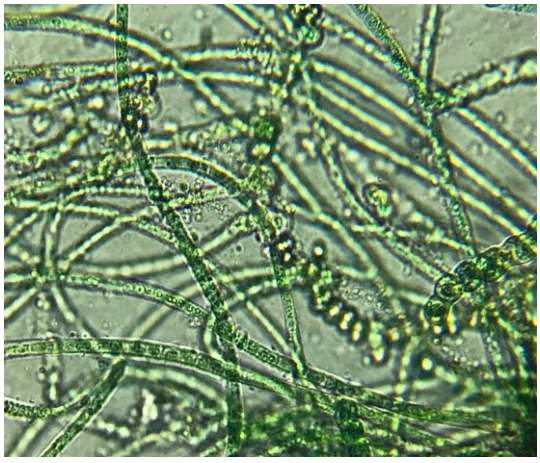
A =(methanol:
D.W.: acetic acid) (85:13:2).

B=(methanol: D.W.: acetic acid) (25: 70:5).

ان العمود (ODS –18) وبأبعاد (25 4.6 mm *cm) وتم الكشف عن الاستجابات عند طول موجي 360 nm. وسجلت النسبة المئوية للمساحة والتي تشير الى نسبة كل مكون من المركبات في العينة المقاسة وحضرت المركبات القياسية (Kaempferol, Quercetin, Luteolin, Rutin, Apigenin)، ومن ثم تم عمل تجربة المستخلص الخام للطحلب والمستخلص الفينولي وذلك بطريقة الانتشار في حفر الآكار وحضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٧ وسجل قطر التثبيط لكل نوع على نوعين من البكتريا السالبة لصبغة كرام , ***Escherichia coli*** ونوعين (***Pseudomonas aeroginosa***) من البكتريا الموجبة لصبغة كرام (***Bacillus subtilis*** ,***Staphylococcus aureus***) وملاحظة التأثير المضاد لها ، كما ودرست الفعالية المضادة للفطريات لهذه المستخلصات على انواع الفطريات (***Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Fusarium solani , Aspergillus flavus , Penicillum notatum***) (Pereze *et* ;Magaldi et al. ,2004; *al.*, 1990) .

النتائج و المناقشة

فحصت عينة طحلب *Westellopsis prolifica* التي نميت في المختبرات ولوحظ تركيب الثالوس الخيطيي المتفرع والخلايا الخضرية وكما موضح في الشكل (١):



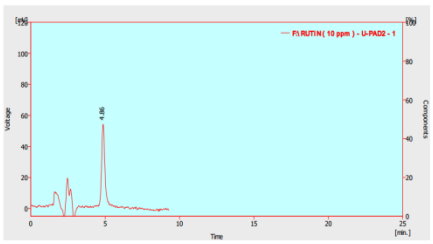
مزرعة الطحلب صورة مجهرية للطحلب

الشكل (١) : صورة لمزرعة وطحلب *Westellopsis prolifica*

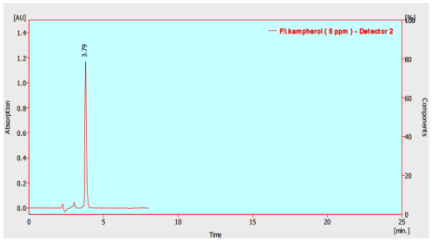
تشير نتائج الفصل باستخدام تقنية HPLC والتي تعد من اهم طرق فصل وتشخيص المركبات الفعالة ومنها المركبات الفينولية الموجودة في المستخلص الايثانولي للسيانوبكتيريا وبعد اجراء عملية التلل الحامضي لها كونها توجد في الطحلب بكل مركبات الكلايكوسيدات ، حيث شخص فيها خمس مركبات فينولية وكما موضح في نتائج الجدول (١) والشكل (٢) .

الجدول (١): المركبات الفينولية القياسية والمشخصة في عينة السيانوبكتريا بجهاز HPLC

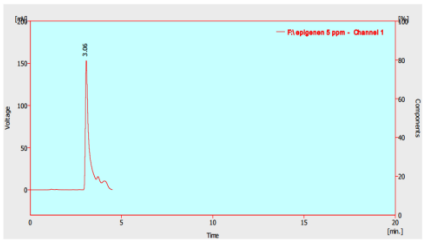
ت	المركب الفينولي القياسي	زمن الاحتجاز (دقيقة)	زمن الاحتجاز في العينة (دقيقة)	% المساحة (نسبته في العينة)
١	Apigenin	٣,٠٦	٣,٤٠	٥,٣٠
٢	Kaempferol	٣,٧٩	٣,٨٦	٢,٥٠
٣	Rutin	٤,٨٤	٤,٦٩	٥٨,٤٠
٤	Luteolin	٥,١٨	٥,١٥	١٩,١٠
٥	Quercetin	٦,٥٦	٦,٠٥	٩,٦٠



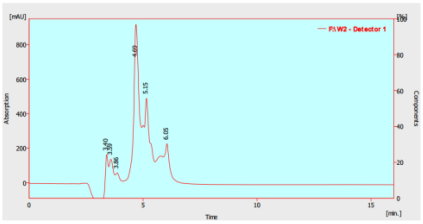
Rutin

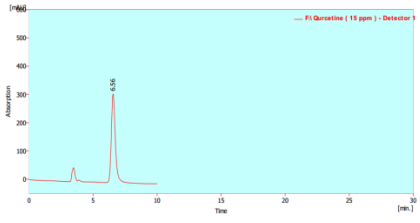


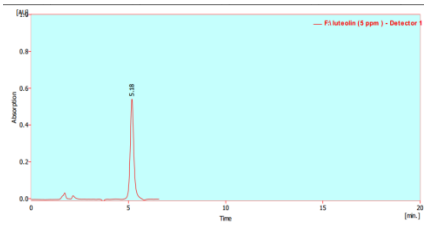
Kaempferol



Apigenin







Luteolin Quercetin مستخلص السيانوبكتريا

الشكل (٢): قياسات المركبات الفينولية القياسية والموجودة في عينة السيانوبكتريا بتقنية HPLC

لوحظ من نتائج الجدول (١) والشكل (٢) احتواء السيانوبكتريا قيد الدراسة على المركبات الفينولية المشخصة الموضحة في اعلاه وكان النسبة الاعلى للمركب الفينولي روتين Rutin (٥٨,٤ %) ، وهذا المركب شائع في العديد من النباتات وله وظيفة وقائية من اشعة الشمس للنبات اضافة الى استخدامات عديدة له منها الفعالية المضادة للاكسدة والمضادة للاورام وللالتهابات وموسع للاوعية ويعمل كذلك على خفض مستوى السكر في الدم (Al-Dhabi *et al.*,2015) .

ان التطورات الحديثة المستجدة في المركبات الفينولية الناتجة من الطحالب اشارت حديثة الى اكتشاف الفينولات المتعددة في الطحالب البنية وتكون بشكل Phlorotannins متراكمة وهي اكبر مجموعة مدروسة للمركبات الفينولية من الطحالب وهي تملك تركيب فريد غير موجود في النباتات الارضية والتي تولف ربما اكثر من ٢٥% من الوزن الطري للطحالب البنية لذلك يتباين تركيزها مع الموطن ، زمن الحصاد ، الكثافة الضوئية المتعرض لهـــــــــــا ، والمغذيـــات المتـوفرة (Ragan and Glombitza,1989;Targett and Arnald,1998) . كما ان الفينول في طحلب نوستوك *Nostoc* اظهر فعالية ضد اربعة انواع من البكتريا المرضية (Singh *et al.*,2011) اما المركب الفينولي Luteolin فان زمن الاحتجاز له عند ٥,١٥ دقيقة في العينة وبنسبة مئوية بلغت (١٩,١%) في المرتبة الثانية للمركبات المشخصة، ولقد اشارت دراسة (Machu *et al.*,2015) الى انت المحتوى الفينولي في منتجات الطحالب والمشخصة كذلك بجهاز HPLC قد تم تقدير فعالية المضادة للاكسدة لها وان هذا المحتوى لطحالب المياه العذبة يعتمد على ظروف الاستخلاص المختلفة المستخدمة لذلك لايمكن مقارنتها بشكل دقيق فهي تعتمد على الطريقة المتبعة من حيث المستخلص مائي ، مستخلص الميثانول-كلوروفورم ، مستخلص ايثانولي ، هكسان ، خلات الاثيل والماء .

كما بينت احدى الدراسات الحديثة (Singh *et al.*,2017) الى ان المستخلصات الخالية من الخلايا لعشرين سيانوبكتريا ارضية وباختبار فعاليتها المضادة

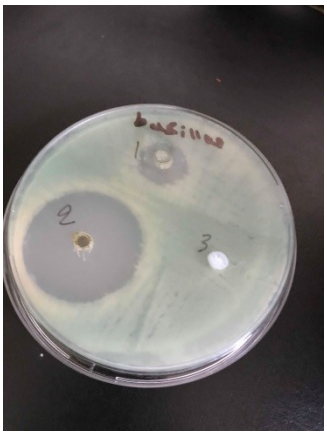
للاكسدة كانت حاوية على كميات عالية من الفينول الكلي والفلافونويد الكلي والتي تملك صفات مضادة للاكسدة بارزة وسجلت كميات متفاوتة من فينولات متعددة مثل احماض Gallic ، Chlorogenic ، Caffeic ، Vanillic ، Feralic و الفلافونويدات Rutin ، Quercetin ، Kaempferol في المستحلصات السيانوبكتريا ، والاخيرة قد شخصت في هذه الدراسة في عينة السيانوبكتريا وكانت بنسب مئوية (٥٨,٤ ، ٩,٦ ، ٢,٥) على التوالي.

تم خلال هذه الدراسة اجرء الفعالية المضادة للبكتريا باستخدام المستخلص الايثانولي الخام وكذلك المركبات الفينولية المعزولة منه وعينة السيطرة لكل مذيب مستخدم ودراسة التاثير المضاد لكل منهم ولوحظ عدم وجود اي فعالية للمستخلص الايثانولي الخام للسيانوبكتريا وضد اي نوع من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام المستخدمة في الدراسة وكذلك عينة السيطرة ، في حين ظهر تثبيط واضح وحيد للمستخلص الفينولي من الطحلب وفي كل الانواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام وكان التاثير الاكبر على بكتريا *aeuroginosa Pseudomonas* بقطر تثبيط ٤٠ ملم ، وكذلك بكتريا (G+) *Staphylococcus* بقـــطر تثبيط ٣٧ ملم وبكتريا (G+) *Bacillus* بقـــطر تثبيط ٣٥ ملم وبكتريا (G–) بقطر ٣٠ ملم وبحسب ما موضح في الجدول (٢) والشكل (٣) واللذان يبينان نتائج الدراسة للفعالية الضد بكتيريا .

الجدول (٢) : تاثير المستخلصات الايثانولية والفينولية على البكتريا المرضية

البكتريا المرضية	قطر التثبيط (ملم)/معدل ٣ مكررات		
	عينة السيطرة	المستخلص الخام	المستخلص الفينولي
بكتريا G+			
Staphylococcus aueus	---	---	٣٧
Bacillus subtillus	---	---	٣٥
بكتريا G–			
Pseudomonas aeroginosa	---	---	٤٠
Escherichia coli	---	---	٣٠

S. aureus



B. subtillus

P.aeroginosa

E. coli

الشكل (٣): صور تبين الفعالية المضادة للمستخلص الفينولي(رقم ٢) على البكتريا المرضية

تناولت احدى الدراسات اختبار عشرة اجناس لطحالب دقيقة من حيث الفعالية المضادة للاكسدة وبتقدير المحتوى الفينولي الكلي والكاروتينويدات ، واظهر المستخلص الايثانولي لطحلب *Oscillatoria* sp. اعلى فعالية مضادة للاكسدة (٦٩,١ %) ، في حين سجل طحلب *Chlorella* اعلى محتوى فينولي ٣٩,١ غم / ملغم وزن جاف وسجل *Scenedesmus obliquus* اعلى محتوى كاروتينويدي وتلعب الكتلة الحية فضلا عن نوع السيانوبكتريا دور كبير كمصدر كامن للمواد المضادة للاكسدة وليس بسبب الكاروتينويدات Carotenoids فقط ولكن كذلك بسبب محتوى المركبات الفينولية (Ali etat. , 2014). يتضح مما سبق من النتائج للدراسة

الحالية الفعالية الكبيرة نسبيا للمركبات الفينولية المعزولة من السيانوبكتريا ضد البكتريا المرضية بنوعيها الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهذه نتيجة ممتازة مقارنة مع بقية المراجع التي تشير الى مقاومة البكتريا السالبة لاغلب المستخلصات النباتية حتى الطحلبية في عدة دراسات ، اذ يشار الى الى مقاومة البكتريا السالبة وخاصة نوع *Pseudomonas aeroginosa* ويعزى ذلك الى طبيعة جدارها وتطور الياتها للمقاومة في حين انه بدراستنا الحالية كان اكبر تاثير للمستخلص الفينولي هو على هذه البكتريا المرضية وباكبر قطر تثبيط مقارنة مع البكتريا المرضية الاخرى المستخدمة في الدراسة مما يتوجب اخذه بنظر الاعتبار للتوصية باستخدام المركب الفينولي لهذا الطحلب من اجل انتاج علاج ضد هذه البكتريا المرضية. وقد اعزت الدراسات السابقة فعالية المستخلص الايثانولي الى تحليله جدران الخلايا البكتيرية مما يثبط نموها من خلال تعريضها للمؤثرات الخارجية المختلفة مع زوال الجدار الخلوي واختلاف وتباين حساسية البكتريا لهذه المستخلصات قد يعود الى تباين كثافة ولزوجة المواد الهلامية التي يفرزها كل نوع من البكتريا والتي تعد من عوامل المقاومة للبكتريا المرضية (Ghashemi *et al.*,2004) .كما اشارت دراسة (حموشي ،٢٠١٢) الى مقاومة بكتريا *Staphylococcus aureus* للمستخلص البروتيني لسيانوبكتريا *Oscillatoria chlorine* ، *Microcystis rubusta* وكانت بحساسية متوسطة لمستخلص *Anabaena spiroides* .لقد فسرت اغلب الدراسات اختلاف فعالية المستخلصات تجاه البكترية المرضية الى سبب وجود اكثر من مادة فعالة والتي تتوزع بحسب المذيب الملائم لها (Ghashemi *et al.*,2004; Kreitlow *et al.*,1999)، والاكثر استخداما في الدراسات هو المستخلص الايثانولي وربما بسبب عزله لمركبات الفينول والتي هي اهم المركبات المثبطة للبكتريا (Shoko *et al.*,1999) .هناك عوامل تؤثر على فعالية المستخلص الضد بظظكتيرية منها عوامل بيئية وفسلجية وطريقة الحفظ وظروف التنمية ونوع المستخلص وطريقة الاستخلاص (قاسم واخرون ،٢٠٠٣: Tüney *et al.*,2006) .توجد دراسات اخرى تضمنت انواع سيانوبكتيرية وتاثيرها عظلى البكتريا المرضية (Shareef ,2008) اشار الى ان المستخلص الميثانولي لـ *Tolypothrix nodosa* له فعالية تثبيطية عالية ضد عدة انواع بكتيرية وان مركبه الفعال احد

مشتقات مركب ببتيدي Tubercidin ،وفي دراسة (المازني،٢٠٠٧) زادت فعالية المضاد الحيوي بعد تنقيته من مستخلص *Nostoc muscorm* تجاه البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، واشير كذلك الى ان المستخلص الميثانولي لنفس الطحلب المذكور وطحالب اخرى اعطت فعالية مضادة للبكتريا *S. aureus* و *Bacillus subtilis* (Cannell *et al.*,1988) .اشارت دراسة (Thummajitsakul *et al.*,2012) الى ان مستخلصات الايثانول ٨٠% لطحلبي *Microcoleus* و *Phormidium* اظهرت زيادة فعالية ضد بكتريا *Streptococcus enteritidis* (+G) وبكتريا *E. coli* (−G) .

ان الفينولات لها قابلية على تحليل الغشاء الخلوي للبكتريا والنفاذ الى الخلية وبالتالي تحطيمها وخروج مكوناتها الى الخارج، ومن الفينولات الشائعة Qurcetin الذي يثبط النمو بتاثيره على الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الرئيسة (Andrade *et al.*, 2006; Manson and Wasseman, 1987) . عند دراسة تاثير الاجهاد غير الحيوي لتحفيز الفينولات والفلافونويدات والخواص المضادة للاكسدة لافراد الطحالب الدقيقة والسيانوبكتريا، تبين ان اجهاد النحاس ادى الى زيادة فينولات *Tetraselmis* sp. و *Nannochloropsis* sp. كما ارتفع المحتوى الفلافونويدي الكلي وزادت فعالية ضدالاكسدة لطحلب *Anabaena* باجهاد الملح NaCl (Azim *et al.*,2018) .تم دراسة الفينولات في الطحالب الكبيرة Macroalgae لخمسة اجناس من الطحالب الخضراء والحمراء ووجد فيها فينولات بمعدل ١١٠–٥٢٠ مايكروغرام/غم (Sarojini *et al.*,2016) .

تبين عند تشخيص المكونات بتقنية GC–MS ظهور عدة مركبات منها مشتقات الفينول ومشتقات الاحماض الدهنية وهي مسؤولة بصورة رئيسية على السيطرة بتثبيط البكتريا الموجبة لصبغة كرام *P. aeroginosa* وبتثبيط ١٦ ملم للمستخلص الايـــــــثانولي الخام لطحلب *Oscillatoria* sp. (Mansor *et al.*,2013) . لقد اشار (Jerez –Martel *et al.*,2017) الى اختبار مستخلصات ميثانولية ومائية لعدة طحالب دقيقة وسيانوبكتيرية وبينت نتائجه بانه رغم ان حقيقة الماء هو المذيب الأكثر كفاءة لاستخلاص اكبر كمية من المواد فقد اظهر الميثانول كفاءة اكبر لاستخلاص

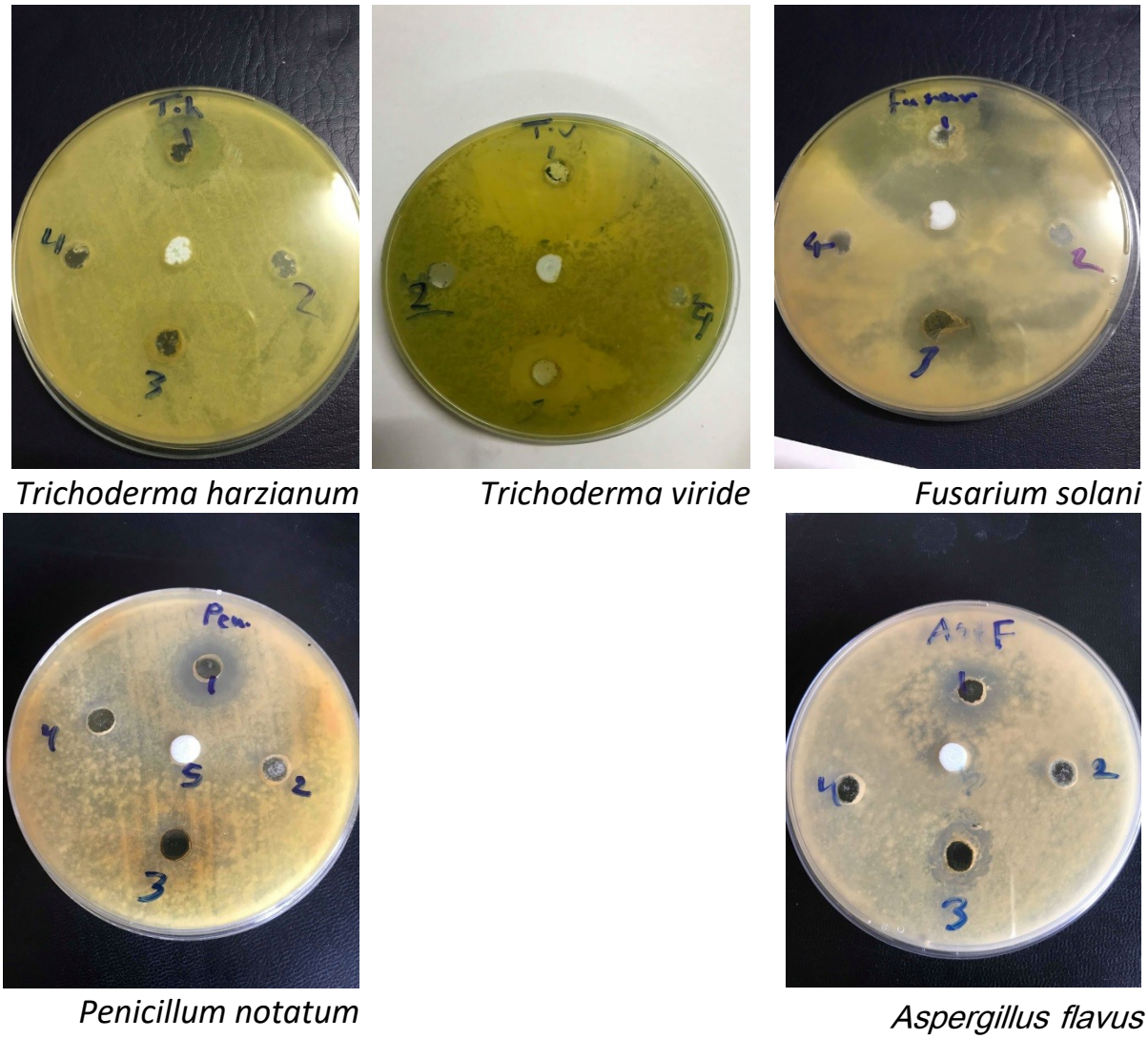
مجموعة مختارة من المركبات تملكك اعلى فعالية مضادة للاكسدة مع تشخيص مركبات بتقنية HPLC التي اكدت ان منها اربعة مركبات فينولية بسيطة وفلافونويدات وسجلت *Euglena cantabrica* اعلى تركيز للفينولات خاصة Gallic acid و Protocatechuic واعطت مستخلصات الطحلب المذكور اعلى فعالية مضادة للاكسدة ربما تعزى الى المحتوى العالي للفينولات فيه.لاهمية الفينولات في جميع الطحالب كذلك تم دراستها في الطحالب الحمراء ومنها *Gracilaria bursa-pastoris* ،اذ ظهر فيه اعلى قيمة للمكون الفينولي ،فيتامين E و C ويوصى بانه يستفاد منه كمصدر لجزيئات مضادة للاكسدة طبيعية ويمكن ان تفيد في الصناعات الغذائية (Yildiz *et al.*,2011)

تبين عند دراسة تاثير المستخلصات السابقة الخام والفينولية للطحلب ضد الفطريات يتضح من نتائج الجدول (٣) والصور في الشكل (٤) بان للمستخلص الخام للطحلب له فعالية مضادة كبير للفطر *Fusarium solani* اذ بلغ قطر التثبيط (١٩ ملم) وكذلك ضد فطر *Aspergillus flavus* بقطر تثبيط (١٥ ملم) ولم يظهر المستخلص الخام فعالية ضد الفطريات الاخرى.

اما فيما يخص المستخلص الفينولي فقد تفوق بشكل واضح واظهر فعالية ضد جميع الفطريات المستخدمة وباقطار تثبيط كبيرة وصلت الى ٥٠ و٤٩ ملم مع كل من فطري *Fusarium* و *Trichoderma* .

الجدول (٣): تاثير المستخلصات الايثانولية والفينولية على الفطريات المرضية

نوع الفطر	قطر التثبيط (ملم) / معدل ٣ مكررات لكل عينة			
	السيطرة(ايثانول)	السيطرة(خلات الاثيل)	المستخلص الخام	المستخلص الفينولي
Fusarium solani	---	---	٢٢	٥٠
Trichoderma viride	---	---	١٢	٤٩
Trichoderma harzianum	---	---	---	٢١
Aspergillus flavus	---	---	١٥	٢٦
Penicillum notatum	---	---	---	٢٧



الشكل (٤): يوضح الفعالية المضادة لمستخلصات الايثانولية والفينولية على الفطريات المختلفة

ان عدد كبير من المستخلصات السيانوبكتيرية والطحالب الدقيقة ومنتجاتها الخارج خلوية وجدت لها فعالية ضد بكتيرية وضد فطرية نواشير الى العديد منها للمستخلصات المائية والعضوية والموضحة في الفحص الحيوي باستخدام كائنات مجهرية للاختبار (Falch *et al.*,1995). في القرن الاخير تم الاشارة الى الفعالية المضادة للفطريات، ففي دراسة (De Cano *et al.*,1990) ذكر انه لمركبات الفينول في السيانوبكتريا الارضي *Nostoc muscorum* فعالية ضد الفطر *Candida albicnus*، كما قدرت الفعالية الضد ميكروبية لطحالب خضرمزرقة مختلفة وبمستخلصاتها المائية والعضوية ضد سلالات بكتريا مرضية للانسان ومنها المستخلص الكلوروفورمي اضافة الى فعاليته ضد الفطر

Aspergillus terreus في حين ان اي مستخلص من هذه الانواع السيانوبكتيرية اظهر فعالية ضد *Trichoderma viride* وان المستخلص الايثانولي لاربعة انواع منها اظهرت فعالية ضد فطرية لكل من سلالات الخميرة *Candida tropicalis* و *Saccharomyces cerevisiae* واخيرا مستخلص خلات الاثيل لكل انواع السيانوبكتريا اظهر فعالية ضد *Saccharomyces cerevisiae* (Abo- State *et al.*,2015).كما شخص مواد فعالة في السيانوبكتريا *Nostoc muscorum* اذ انه يملك مركبات ايضية فعالة حيويا متعددة وقياس الفعالية المضادة للاكسدة والمضادة للبكتريا والمضادة للفطريات وتبين اكبر تاثير لها على بكتريا *P. aeroginosa* وبتثبيط ٢٠ ملم للمستخلص الميثانولي ومقاومة بكتريا *B. sublillus* واعزيت الفعالية المضادة للاكسدة الى وجود المركبات الفينولية فيه وكانت الفعالية الاقل له مع الفطريات (Rimsha *et al.*,2014)، ودرس تاثير المحتوى الفينولي كذلك لطحلب *Anabaena* المعزول من حقول الارز في الهند (Pant *et al.*,2011)، في حين انه عند تقدير المواد الايضية المفرزة للخارج لجنسين من السيانوبكتريا *Nodularia haveyana* و *Nostoc insulare* ولمركبين فيهما حددت فعالية ضدسيانوبكتيرية جيدة (تركيز ٨-٨٠ مايكروغرام / مل) وضد بكتيرية متوسطة (١٦-١٦٠ مايكروغرام/ مل) وضد فطرية (٣٢-٤٠ مايكروغرام/ مل) لكل من المركبين (Volk and Furkert,2006).

المصادر

الحسيني ، احمد عيدان .(٢٠١٨) . الطحالب في العراق بيئتها وتصنيفها .ط١ . بغداد . سلسلة علوم . دار الشؤون الثقافية العامة. وزارة الثقافة العراقية .

حموشي ، رواء محمود داؤود .(٢٠١٢) . تأثير بعض النواتج الحيوية والعلاقة الوراثية للسيانوبكتريا المثبتة للنتروجين الجوي على بعض انواع البكتريا الممرضة . أطروحة دكتوراه. كلية التربية. جامعة تكريت .

الخفاجي ، زهر محمود . (٢٠٠٨) . التقنية الحيوية الماكروبية (توجيهات جزيئية) . معهد الهندسة الوراثية التقنية الحيوية للدراسات العليا . جامعة بغداد – العراق .

السعدي ، حسين علي وسليمان ، نضال ادريس .(٢٠٠٦) . علم الطحالب Phycology . الطبعة

العربية ، دار اليازوردي العلمية للنشر والتوزيع . عمان – الاردن .

الصالحي ، سهام شكور عبيد .(١٩٩٩) .تأثير بعض المستخلصات المعزولة من السيانوبكتريا على بعض انواع البكتريا والفطريات . رسالة ماجستير. كلية التربية للبنات – جامعة تكريت .

قاسم،ثائر ابراهيم؛الكبيسي ،حارث كامل ويوسف، سامرة يونس(٢٠٠٣) .فعالية مستخلص الايثانول للطب العصري المحلي *Nitzschia palea* تجاه البكتريا . مجلة الدراسات للعلوم الزراعية،٣٠(٢):٢٤ – ٢٤٥

المازني ، منى عبد الامام احمد .(٢٠٠٧) .انتاج المضاد الحيوي ال Cryptophycin من السيانوبكتريا *Nostoc muscorum* المعزولة من تربة عراقية ودراسة فاعلية الضد مايكروبية . رسالة ماجستير. كلية العلوم – جامعة البصرة .

محمد،عبد العظيم كاظم.(١٩٨٥) .علم فسلجة النبات.ج٢. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.جامعة الموصل .

مولود ، بهرام خضير وسليمان،نضال ادريس والبصام ، ابراهيم توفيق.(١٩٩٥) الطحالب والاركيكونات ، مطبعة دار الحكمة . بغداد .

Abed , Ibrahim J.; Jawad , Abdul latif; Abdulahasan, M . J; Al – Hussieny , G.A .; Ahmed Aidan and Moushib , Laith Ibrahim .(2013) . Moleculer Detection of Toxigenic New Record Cyanobacterium , Westiellopsis prolifica In Tigris River . International Journal of Scientific Technology Research . V(2) , Issue 11: 87 – 91 .

Abed ,J.I. (2013).Environmental and Identification Study of Algae in Three Drinking Water Plants in Baghdad and Molecular Detection of Some Toxigenic Cyanobacteria .Ph. D. thesis . Collage of Science .Univercity of Baghdad . Iraq.

Abed, R.M.M.; Dobrestove ,S. Sudesh ,K. (2009). Application of Cyanobactria in Biotechnology ,Journal of Applied Microbiology,V. 106:1-12 .

Abo- State ,M.A.M. ; Shanab, S.M.M. ; Ali , H. E. A. and Abdulla , M. A. (2015) .Screening of antimicrobial activity of selected Egyptian

cyanobacteria species . Journal of Ecology of Health and Environment .v.3 ,no1; 7- 13 .

Al – Dhbi , N. A. , Arasu , M. V. , Park , C. H. and Park , S. U. (2015). An up – to . date review of rutin and its biological and pharmacological activities , Excli J. (Experimental and Clinical Sciences) , 14 : 59 – 63 .

Al- Wathnani ,H.; Ara, I. ; Tahmaza, R.R. ; Al- Dayel , T. h. and Bakri ,M.A. (2012) .Bioactivity of natural compounds isolated from cyanobacteria and green algae againtes human pathogenic bacteria and yeast . Journal of Medical Plants Research , v. 6(18) :3425- 3433.

Ali , H . E . A. , Shanab , S. M. M. , Abo – State , M. A. M , Shadaby , E. A. A. , El Demerdash , U. M. N. and Abdullah , M. Z.(2014). Screening of Microalgae for Antioxidant Activities , Carotenoids and Phenolic Contents . Applied Mechanics and Materials , V. (625) : 156 – 159 .

Andrade , R. G. , Ginani , J. S. , Lopes , G. K. B. Butra , F. ;Alonso , A. and Hermes – lima , M. (2006) . Tannic acid inhibits in vitro iron – dependent free radical formation . Biochemic . , 88 : 1287 – 1296 .

Azim , N. H. , Subki , A. and Yousf , Z. N. B. (2018). Abiotic Stresses induce total phenolic , total flavonoid and antioxidant properties in Malaysian indigenous microalgae and Cyanobacterium . Malaysian Journal of Microbiology , V. 14(1) : 25 – 33 .

Bravo, l. (1998) .Polyphenoles : chemistry , dietary sourses , metabolism and nutritional signicance . Nutritional Reviewes , v. 56:317-333.

Cannel, R.J.P. ; Owsianka , A.M. and Wolker ,J.M. (1988) . Results of a large – scale screening programs to detect antibacterial activity from fresh water algae . Br. Phycol. J., 23: 41-44.

Dash ,A.K. and Mishra , P. C. (1999).Response of blue- green alge *westillopsies prolific* in sewage enriched paper mill waste water .Rev. Int. Contam .Ambinet ,v. 15(2) : 79- 83 .

De Cano,M.M.S.;De Mule,M.C.Z.;De Caire,C.Z. and Halperine ,D.R.(1990). Inhibition of *Candida albicans* and *Staphylococcus___aureus* by

Harborn , J. B. (1973) . Phytochemical Methods : A guid to Modern Technigue of plant Analysis 1st ed . Cox and Wyman . London , P. 52 – 73 .

Hildebrand , M. , Waggoner , L. E. , Lim , G. E. , Sharp , K. H. , Ridlly , C. P. and Haygood , M. G. (2004). Approaches to indentify , Clone , and express symbiont bioactive metalolite genes . Natural product Reports , V. 21 : 122 – 42

Jeres- Martei , I.; Garcia-Poza, S.;Rodrigues –Martel; Rico-Milagros ;Afonso –Olivares, C.and Gomes –Pinchetti, J. l.(2017) . Phenolic profile and anti oxidant activity of crud extracts from microalgae and cyanobacteria strains. Journal of Food Quality , v. 2017 . Hindawi , http://doi. Org 110.1155/ 2017/ 2924508.

Khoddami; *etal* .(2013).Techniques for analysis of plant pheolic compounds molecuies.18(2):2328-75

Kreitlow , S. M; Mundt , S. and Lindequist ,U.(1999). Cyanobacteria a Potential source of new biologically active phenolic compounds from the terresteial cyanobactrium *Nostoc muscorum* .J.Appl. Phycol. ,v.2: 79- 82 .

Filch, B.S. ; Konig ,G. M. ; Wright, A.D. ; Sticher ,O.; Angerhofer, K. ;Pezzuto , J.M. Bachmann , H. (1995) .Biological Activites of cyanobacteria : evalution of extractes and pure compounds . Planta . Med. ,v. 61: 321- 328.

Freile – pelegrin , Y . and Roblrdo , D..(2014) . Bioactive Compounts From Marine Foods : Plant and Animal Sources , Frist ed . . 6 Bioactive Phenolic Compounds . John Wiely & Sons , ltd. UK .

Ghasemi , Y. M. , Tababaei , A. , Shafiee , A. , Amini , M. , Shokravi , Sh. and Zarrini , G . (2004) . Parasiguine , a novel antimicrobial substance from Fischerella ambiua . Pharm . Biol. , 2 : 318- 322 .

Grand, A.; Wondergem, P. A.; Verpoorte, R.; Pousset, J.L.(1988). Anti-infection phytotherapies of the tree-Savannah 0f Senegal (West-Africa)II. Antimicrobial Activity of 33 species. J. Ethnopharm, 22(1):25-31.

substances , J. Biotechnol. , 30 (3) : 61 – 3 .

Kulik, M.M. (1995). The potential of using cyanobactria (blue green algae) and algae in te biological center of plant pathogenic of bactria and fungi . Eeur. J. Plant Path . , v. 101 (6) : 585- 599 .

Kwei, C. K. (2012). Elucidation and isolation of specific bioactive compounds in cyanobactria isolates. Doctor Thesis . The University of Adelaide .Australia

Machu , l. , Misurcova , L. , Ambrozova , J. V. , Orsavova , J. , Mlcek , J. , Sochor , J. and Jurikova , T. , (2015) . Phnnclic Content and Autioxidant Capacity in algal food Products Molecule , 20 , 1118 – 1133 , WWW.mdpi.com/journal/molecules .

Magaldi,S.;Mata-Essayag,C.;DeCapriles,H.;Perez, C.;Collela,M.T.;Olaizola,C. (2004).Well diffusion for antifungal susceptibility testing.Int.J Infect.Dis.,v 8:9-45.

Mahdi,V.;Khanavai,M.;manazadeh, Y.and Hajimedipoor(2011). uantification of gallic acid in fruits of three medicinal Plants

.Biol. Pharm. Bul. ,10 (2) :23-236.

Mansor , R.; Rahman, N.S.;Mohammed,S. F.;Kuppusamy ,P.;Yusoff ,M.M. and Govindan ,N.(2013). Isoliation and identification of marine algae (*oscilatoria sp.)*from kuantan costal region Malaysia and studies on their bioactivites and antibacterial proprites.World Applied Science Journal,28(2) :200- 204 .

Marino , M. , Bersani , C. , and Comi , G. (2001) . Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and compound Int. J. Food Microbial , @140 : 1 – 9 .

Mason,T.L.and Wasserman,B.P.(1987).Inactivation of red beta Glacan synthase by native and oxidized phenolic compound.Phytochemistry ,26:2197– 2202 .

Mayer ,A.M.S. and Hamann ,M.T.(2002).Marine pharmacology in 1999: compounds with antibacterial ,anticoaguient, antifungul,anthelminitic, anti-infiammatory antiplatelete, antiprotozoal and antiviral activites affecting the

Ragon , M.A and Glombitza,K.W.(1986).Phlorotannins,brown algal polyphends . In :progress in phycological Research , Biopress Ltd : Bristol , UK : 129 – 241

Rimsha, R; Richa, J.; Sheela, K. ; Shrivastava ,P. N. and Manju, J. (2014) Bioactive substances of cyanobactria(*Nostoc muscorum)* :a review International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR), v.5, no.7 :320-322.

Sarojini ,Y. ;Sujatha, B. and Santha Rao , P. (2016). The variation in the distribution of total phenols and antioxidant activity in five species marine macro algae . Der Pharmacia Letter , v.8 (1) : 30- 37.

Shareef ,A.A.(2008) . Screening of antibiotics for same of cyanobacteria , green algae and aquatic plant in basrah governorate .a disseratation doctorate collage of education of basrah university .

Shoko , T. , Soich , T. , Megumi , M. M. , Eni , E. , Jun , K. and Michika , W. (1999). Isolation and identification of an antibacterial Compound from grape and its application to foods . Noppon nogeikagakukaishi , 73 : 125 – 128 .

cardiovasicular endocrine immune and nerves system and other miscrllaneous mechanisnes of action , compayive biochemistry and physiology c: Toxioiogy and Pharmacology , v.132: 315- 39

Medina- Jaritez ,N.B. ; Perez-Solis, D.R. ;Ruliboa De leon F. , S.l. and Olivera – Rameriz , R. (2011). Antibacterial activity of aqueous and methanolic extracte from *Arthrospira maxima* , sciences againtes micr*o*bial pathogenis community research and technological advances ,A Mendes–Vials (Ed) FORMATEX 2011.

Ollestram ,O. and Larsson ,S. .(2003) . Salicylic acid mediates resistance in the willow salix viminals againtes Gall Midge Dasineura.

Perez, C.; Poaul, M. and Bazaerque ,P., (1990) . An antibiotic assay by the agar well diffusion method . Acta. Boil. Med. Exp. , v. 15 : 113-115.

Potin ,P. (2008) .Oxidative burst and related responses in biotic interaction of algae in: algal chemical ecology (ed. C.D. Amsler) .Springer –Verlage : Berline , Heidelberg ,Germany : 245.

Singh , D. P. , Prabha , R. , Verma , S. , Meena , K. K. and Yandigeri , M.. (2017) Antioxidant Properties and polyphenolic Content in terrestrial Cyanobacteria . 3 Biotech , 7 : 134 .

Singh , R. K. ; Tiwari, S. P. ; Rai , A. K. and Mohapatra , T. M. (2011) . cyanobacteria: an emerging source for drug discovery . The Journal of Antibiotics , 64 : 401 -412.

Sugiyama ,Y.,and Hirota ,A. (2009) .New potent DPPH radical scavengers from marine – derived actinomycetes strain USFTC 31 .Biosci . Biotechnol .Biochem , v. 37: 2731- 2734.

Targett , N. M. and Arnold , T. M. , (1998). Predicting on manine hervibores in tropical and temperate Ocean . Journal of Phycology , 34 : 195 – 206 .

Teixeira, J.; Gasper ,A.; Garrido, E.M. ;Garrido ,J and Borges ,F. (2013) Hydroxy – cinnamic acid antioxidant : an electrochemical overview .BioMed Research International, 11.

Thummajitsakul ,S.; Silprasit ,K. and Sittipraneed , S. (2012). Antibacterial activity of crude extracts of cyano bacteria phormidium and microcoleus spiecse . African Journal of Microbiology Research , v.6 (10) : 2574- 2579.

Vincenzo ,l.;Veronica, M.; Lattanzio,T. and Angila ,C.(2006).Role of phenolics in the resistance mechanisemes of plant against fungal pathogen and insects . research sign post 37/66(2), fort p.o. ,Trivandrum - 695023, Kerala , India .

Volk ,R. –B. and Furket ,F. H. (2006).Antialgal , antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreated by cyanobacteria during growth . Microbiological Research , 161: 180- 185.

Waterman , P. G. and Mole , S. (eds.) (1994). Methods in Ecology = Analysis of phenolic plant Metabolites . Blackwell Scientific publications : Qxford .

Yildis, G.;Vatan ,O;Celiklre ,S.and Dere ,S.(2011).Determination of the phenolic compounds and antioxidative capacity in red algae *Gracilaria bursa –pastries* international journal of food properties .http:// www,tandfonline .com /loi /ljfp20.

Zorica ,S. ; Dragana ,C. ; Jelica,S.; Maja, K. ;Dejan ,S. (2008). Antibacterial , antifungal and cytotoxic activity of teriterral cyanobacterial strains from Serbia. Sciences in China Series , 51(10) : 941-947.

تأثير حذف *nifD gene* وجزء من *nifH* gene و *nifK* gene على انتاج الغشاء الحيوي في بكتريا *Klebsiella pneumoniae*

فوز عبد السلام الصفار ، عبد الرزاق خضر، نجوى ابراهيم البرهاوي

الملخص:

اجري هذا البحث بهدف معرفة قابلية البكتريا *Klebsiella pneumoniae* (التي تم الحصول عليها من Prof. Jean-Marc / جامعة Leicester البريطانية) وبنوعيها العزلة الطافرة Mutant والعزلة غير الطافرة Wild type على انتاج الغشاء الحيوي **او**السكر المتعدد الخارجي Exopolysacharides (EPS) ، وباستخدام وسطي المرق الخالي من النتروجين Nitrogen-free broth (NF) و Bertani –Luria (LB) ، ومن ثم قياس كميته بواسطة جهاز الـ Spectrophotometer ، دلت النتائج ان العزلة البكتيرية الطافرة وغير الطفارة تمكنتا من انتاج EPS على وسط LB ولم يلاحظ وجود فروقات معنوية بينهما، في حين تبين عند استخدام الوسط الخالي من النيتروجين (NF) ان العزلة البرية وباستثناء العزلة المطفرة كان لها القدرة على انتاج هذا السكر.

Effect of *nifD* gene deletion and part of *nifH* gene and *nifK* gene on biofilme production in *Klebsiella pneumoniae*

Abstract:

This study was conducted to investigate the susceptibility of the bacteria *Klebsiella pneumoniae* (obtained from Prof. Jean-Marc / Leicester University of Britain), mutant isolates and wild type isolates on the production of exopolysacharides (EPS), using Nitrogen-free (NF) and Luria-Bertani (LB) media, then quantified it by Spectrophotometer. The results showed that mutant and non-mutant bacterial isolates were able to produce EPS on the LB medium, no significant differences were observed,while When using a nitrogen-free medium (NF) the isolated wild type except the isolation mutagens, have the ability to produce this sugar.

المقدمة:

ينصب اهتمام الباحثين على عملية تثبيت النيتروجين الجوي N_2 لما لعنصرالنيتروجين من اهمية كبرى بوصفه أحد العناصر الأساسية الداخلة في تركيب المادة الوراثية والبروتينات وتكوين كلوروفيل وهرمونات من اوكسينات وسايتوكانينات في الخلية الحية ، (Miyawak *et al.* ،٢٠٠٦) .والمعروف عن غاز النيتروجين الجوي N_2 (الجزيئي) انه غاز خامل غير فعال و عملية تثبيته يقصد بها اختزاله وتحويله الى الشكل الفعال بصورة امونيوم وبمساعدة انزيم Nitrogenase الناتج من التعبير الجيني لثلاث جينات من اصل *nif* genes ٢٠ من الجينات المثبتة للنيتروجين Nitrogen fixation (Freiberg *et al.*,2012; Latysheva, *et al.*,1997) والمتواجدة في بعض الكائنات الحية الدقيقة والتي يطلق عليها (Diazotrophs) ذات الاهمية البالغة في الحفاظ على دورة النيتروجين الكيموحيوية في الطبيعة،علما بان هذاالانزيم يتكون من نوعين من البروتينات المعدنية النوع الاول عبارة عن بروتين يحتوي على الموليبدنم والحديد Mo-Fe-protein ويُشفر من قبل الجين *nifD* و الجين *nifK* اما النوع الثاني فهو عبارة عن البروتين المحتوي على الحديد Fe-protein ويُشفر من قبل الجين *nifH*

(Jenkins *et al.*, 2004; Rosado *et al.*, 1998; Rösch *et al.*, 2002)

يمتاز جنس *Klebsiella* العائد للعائلة المعوية Enterobacteriaceae وبنوعيه *K.pneumoniae* و *K. Oxytoca* (Brisse *et al* .,2006) ، بقدرته على تثبيت النيتروجين الجوي في التربة والمياه وعلى المواد العضوية المتفسخة و جذور النباتات واوراقها (Raymond,2004) ،وباحتوائه على السكر المتعدد الخارجي Extracellular (EPS) Polysaccharides الذي يفرز الى خارج البكتريا اما بشكل محفظة Capsule تحيط بالخلية او يفرز للوسط الغذائي الذي تتواجد فيه خلال فترة النمو (Yuan,2005)، ويعد هذا المركب واحداً من أهم عوامل الضراوة في هذه العائلة أذ تكفي الكميات القليلة منه لمقاومة العوامل المناعية لجسم المضيف (Evrard, 2010; Rehm,2009)،لذلك اشارت دراسات كثيرة الى دور EPS واهميته في تجميع

والتصاق الخلايا وبالتالي تكوين البايوفيلم (Dogsa,2005

Wingender and Flemming,2010)، الذي يساعد على ابقاء الخلايا البكتيرية حية في الظروف القاسية (Khan,2011) ، كما انه يعمل على تحسين تثبيت النيتروجين التعايشي للبقوليات وله اثار بعيدة المدى ذات انعكاس ايجابي لتحسين خصوبة التربة (Lopez-Garcia *et a.,2002l*) .

تهدف الدراسة الحالية لبيان الاثر التطفيري لثلاثة جينات من نوع nif في بكتيريا *K.pneumoniae* على تكوين الغشاء الحيوي في هذه البكتيريا .

المواد وطرائق العمل:

ظروف تنمية وحفظ البكتريا قيد الدراسة:

Growth Conditions and Maintenance of Bacteria Understudy

زرعت العزلات البكترية قيد الدراسة (*Klebsiella pneumoniae* التي تم الحصول عليها من Prof. Jean-Marc /جامعة Leicester البريطانية وبنوعيها العزلة الطافرة Mutant والعزلة غير الطافرة Wild type)على وسط المرق المغذي LB لغرض تنشيطها باخذ حملة لوب من المزرعة البكتيرية لكل ١٠٠سم^{٣} من الوسط في انابيب اختبار وتم تحضينها ٢٤ ساعة عند درجة حرارة ٣٧ °م في الحاضنة الهزازة بمعدل ٢٠٠٠ دورة /دقيقة ، ثم تم زرعها في اطباق زجاجية حاوية على وسط LB الصلب وحضنت في الحاضنة Growth incubator لمدة ٢٤ ساعة عند درجة ٣٧±١ °م، وحفظت في الثلاجة عند درجة (٤°م) لحين استخدامها في التجارب اللاحقة.

الاوساط الزرعية: Culture Media

وسط المرق المغذي (LB)Medium : Bertani –Luria

حضرت مكونات وسط المرق المغذي (LB) كما موضح في الجدول (٣) ثم اكمل الحجم الى ١ لتر بالماء المقطر، ضبط الاس الهيدروجيني على ٧ وعقم الوسط بالمؤصدة تحت ضغط ١ جو ودرجة حرارة ١٢١°م لمدة ١٥دقيقة ثم صب في اطباق بتري وحفظت في درجة حرارة 4°م لحين استخدامها (Sambrook,1989) .

الجدول (١) مكونات وسط LB.

المكونات	التركيز غرام/لتر
Tryptone	١٠
Yeast Extract	٥
NaCl	١٠
Agar-Agar	٨

حرارة ٢١ °م لمدة ١٥دقيقة ثم وزع الوسط على انابيب اختبار بسداد محكم سعة ٣٠ سم^{٣} بواقع ١٥ سم^{٣} لكل انبوب واستخدمت هذه الانابيب لتنمية البكتريا ومعرفة قدرتها على تثبيت النيتروجين (Knight and Wilson,1952).

وسط المرق الخالي من النيتروجين :-Nitrogen free broth (NF)

حضرت مكونات وسط المرق الخالي من النيتروجين كما في الجدول (2) ثم اكمل الحجم الى ١ لتر من الماء المقطر ، ضبط الاس الهيدروجيني على ٧ وعقم الوسط بالمؤصدة تحت ضغط ١ جو ودرجة

الجدول (٢) مكونات وسطNF

المكونات	التركيز غرام/لتر
Glucose	١٠
K_2HPO_4	٠,٥٢

KH_2PO_4	٠,٤١
NaCl	٠,٢٠
$CaSO_4.2H_2O$	٠,٢٠
$Na_2MoO_4.2H_2O$	٠,٠٠٢
$FeSO_4.7H_2O$	٠,٠٠٥
MgSO4.7H2O	٠,١

٣• اضيف حوالي ٥ سم^3 من البفر PBS للراسب ومزجا جيدا بجهاز الـ vortex.

٤• تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي ٦٠٠ nm مع مراعاة اضافة الدارئ لكي نحصل على قراءة تساوي1 .

٥• حضرت الاوساط الغذائية في ستة انابيب اختبار وعلى النحو الاتي :

• انبوب حاوي على وسط LB (Control) .

•انبوب حاوي على وسط NF(Control) .

• انبوب حاوي على وسط LB ملقح ببكتيريا *Klebsiella pneumoniae* غير الطافرة (Wild type) .

الكشف عن قابلية بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* على تكوين الاغشية الخلوية (البايوفيلم):

اعتمدت طريقة الباحث Hatkoff وجماعته (٢٠١٢) في الكشف عن قابلية بكتيريا *K. pneumoniae* على انتاج متعدد السكريات الخارجي EPS او مايسمى بالبايوفيلم كما هو موضح ادناه:

• لقح ٥ سم^3 من وسط LB والوسط الخالي من النيتروجين NF بمقدار ٥ µl من البكتريا الطافرة وغير الطافرة كلا على حدا لمدة ٢٤ ساعة.

٢• اجري لها نبذ مركزي على سرعة ٨٠٠٠ دورة /دقيقة لمدة ١٥ دقيقة واهمل الراشح وتم الاحتفاظ بالراسب.

٩• وضعت الاطباق في الحاضنة على درجة ٣٠°م لمدة ٣٠ دقيقة لغرض تجفيفها .

١٠• اضيف ٢٠٠ µl من صبغة Crystal Violet بتركيز ٠,٢ % الى الحفر في الطبق وتركت لمدة ١٥ دقيقة.

١١• غسل الطبق بالبفر ثلاث مرات متتالية للتخلص من الصبغة، وتركت لتجف لمدة ٣٠ دقيقة تقريبا .

١٢• اضيف الاسيتون الممزوج مع ايثانول بنسبة٢٠:٨٠ الى الحفر.

١٣•تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي ٥٩٥ nm.

النتائج والمناقشة:

أظهر طيف الامتصاص كما موضح في الشكل (١) ان العزلة البكتيرية غير الطافرة والطافرة تمكنتا من انتاج البيوفيلم على وسط LB ولم يلاحظ وجود فرق معنوي بينهما،و في الوسط الخالي من النيتروجين (NF) Nitrogen-free broth (الشكل ٢) تبين فيه ان العزلة البرية كان لها القدرة على انتاج البايوفيلم في حين ان العزلة الطافرة لم تتمكن من انتاجه.

يمكن ان يعزى سبب ذلك الى ان استخدام وسط LB الحاوي على النيتروجين اغنى البكتريا الطافرة

•انبوب حاوي على وسط NF ملقح ببكتيريا *Klebsiella pneumoniae* غير الطافرة (Wild type).

• انبوب حاوي على وسط LB ملقح ببكتيريا *Klebsiella pneumoniae* الطافرة (Mutant) .

• انبوب حاوي على وسط NFملقح ببكتيريا *Klebsiella pneumoniae* الطافرة (Mutant)

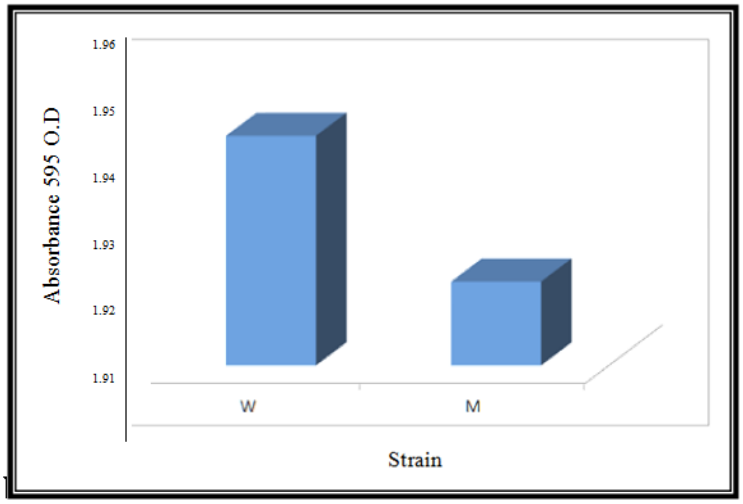
6 • وضع ٢٠٠ µl من كل عينة (الخطوة ٥)في الحفر الموجود في طبق بلاستيكي خاص cell culture cluster مع ملاحظة عمل ثلاث مكررات لكل عينة، ثم وضع الغطاء على الطبق.

٧• حضنت العينات لمدة ٢٤ ساعة على درجة ٣٧ °م.

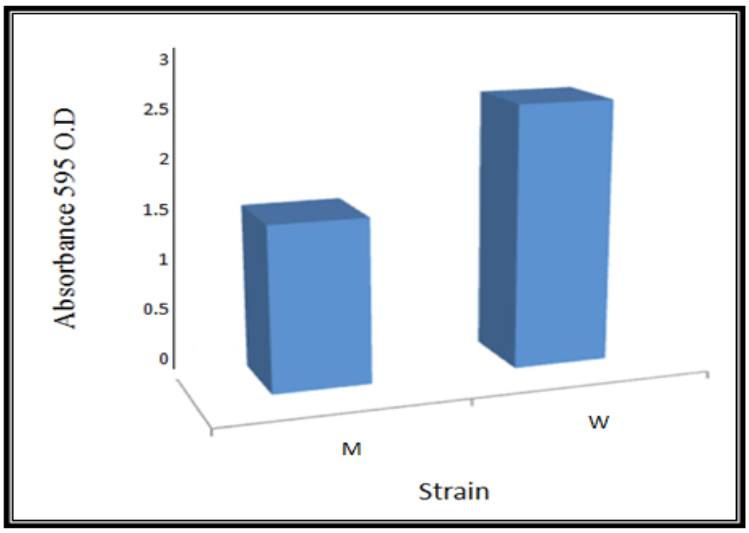
٨• تم التخلص من الاوساط الموجودة في الحفر مع مراعاة الاحتفاظ بحلقة النمومتكونة وغسلت هذه الحفر بحوالي ٢٠٠ µl من البفر PBS مع تحريك الطبق حركة خفيفة باليد ومن ثم سكب الدارئ واعيدت عملية الغسل لمرتين.

من الواضح ان هناك حاجة لدراسات طويلة المدى والتي تعد مطلب بالغ الاهمية ينبغي المضي بها قدما على امل التوصل للدور الذي يلعبه السكر المتعدد الخارجي على نمو وتشكل البايوفيلم مثل تاثير الاحماض الامينية والتي اكد عباس واحمد (٢٠١٤) على دورها الكبير في تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا *Staphylococcus aureus*.

باحتياجها النيتروجيني، وجاءت دراسة (Sabra,2008) مدعمة لدراستنا عندما اشارا الى ان اضافة مادة الامونيوم بوصفها المصدر النيتروجيني الافضل زاد من انتاج المادة السكرية (البايوفيلم)، في حين اثرعدم توفر المصدر النيتروجيني بالوسط بشكله الميسر كالملاحظ في الوسط الخالي من النيتروجين للبكتريا الطافرة وبشكل سلبي على قدرتها للتشفير لانزيم النيتروجينيز المهم لتثبيت النيتروجين و وبالتالي جعلها غير قادرة على تكوين البايوفيلم.



الشكل (١) مقارنة تكوين الغشاء الحيوي بين العزلة البرية والطافرة في وسط LB



الشكل (٢) مقارنة تكوين الغشاء الحيوي بين العزلة البرية والطافرة في الوسط الخالي من النيتروجين

المصادر:

عباس ، حسين محمود واحمد، محمد فخري). 2014). تأثير بعض الاحماض الامينية الغشاء الحيوي (Biofilm) لبكتريا Staphylococcus aureus. مجلة ديالى للعلوم الزراعية6 .(2) : 27-38.

Burris, R. H. (1991). Nitrogenases. J. Bio. Chem ., 266: 9339-9342.**Dogsa**, I.; Kriechbaum. M.; Stopar,. D. and Laggne, P. (2005). Structure of bacterial extracellular polymeric substances at different pH values as determined by SAXS. J. Biophys .,89(4): 2711–2720.

Evrard, B.; Balestrino, D.; Dosgilbert, J. L.; Gachancard,J. B.; Charbonnel, N. , Forestier,C. and Tridon ,A. (2010) . Roles of capsule and lipopolysaccharide O antigen in interactions of human monocyte-derived dendritic cells and *Klebsiella pneumoniae* .J. Infection . Immun., 78(1):210-219.

Flemming, H. C. and Wingender, J.(2010) . The biofilm matrix. J. Nat. Rev. Microbal., 8:623-633.

Freiberg, C.; Fellay, R.; Bairoch, A.; Broughton, W. J.; Rosenthal, A.; and Perret, X. (1997) . Molecular basis of symbiosis between Rhizobium and legumes .J. Nature., 387(6631): 394-401.

Hatkoff, W.; . Runco, M. L.; Pujol, C.; Jayatilaka, I.; . Furie, B. M.; Bliska, B. J. and Thanassi, G. D. (2012) . Roles of chaperone usher pathways of *Yersinia pestis* in a murine model of Plague and adhesion to

transferases and tRNA isopentenyl transferases in cytokinin biosynthesis . J.PNAS ،. ١٦٦٠٣-١٠٣:١٦٥٩٨.

Raymond, J.; Siefert, J . L .; Staples, C.R.; and Blankenship, R.E. (2004) .The natural history of nitrogen fixation . J. Molecular Biology and Envolution., 21 (3): 541-554.

Rehm, B. H. A. (2009). Microbal exopolysacchrides. Varity and Potential Application. In Microbal Production of Biopolymers and Polymer Precursors and Perspectives. Caister. Academic. Norfolk, UK. p. 229-254.

Rosado, A. S.; Duarte, G. F.; Seldin, L.; and Van Elsas, J. D. (1998). Genetic diversity of nifH gene sequences in *Paenibacillus azoto fixans* strains and soil samples analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR amplified gene fragments. J. Appl. Environ. Microbiol., 64(8): 2770-2779.

Rösch, C.; Mergel, A.; and Bothe, H. (2002) . Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil. J. Appl. Environ. Microbiol ., 68(8): 3818-3829.

Sabra,W. and Hassan, M.(2008) . exopolysaccharide yield as a kinetic parameter for the statistical optimization of eps production by host cells. J. Infect. and Immun., 80(10): 3490-35 .

Jenkins, B. D.; Steward, G. F.; Short, S. M.; Ward, B. B.; and Zehr, J. P. (2004). Finger printing diazotroph communities in the chesapeake bay by using a DNA macroarray. J. Appl. Environ.Microbiol., 70: 1767-1776.

Khan, F.; Shukla, I.; Rizvi, M.; Mansoor, T. and Sharma, S. C. (2011) . Detection of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* . Does it have a role in treatment of MRSA infiction . J. Trends Medical. Res., 6:116-123.

Latysheva, N.; Junter,V.L.;Palmer,W.J.; Codd,G. and Baker.D. (2012). The evolution of nitrogen fixation in cyanobacteria.J. Bioinformatics., 2 8 (5) 603-606.

Lopez-Garcia, S.L; Vazquez ,T.E.E; Favelukes, G and Lodeiro, A.R. (2002) .Rhizobial position as a main determinant in the problem of competition for nodulation in soybean. J. Environ . Microbiol ., 4: 216-224.

Miyawak ،K ؛.Tarkowski ،P.; Kitano, M.M; Kato, T.; Sato, S ؛. Tarkowska ، D ؛.Tabata,S ؛. Sandberg , G. and Kakimoto ،T. (2006) . Role of *Arabidopsis* ATP/ADP isopentenyl

Klebsiella pneumoniae. J. Biotechnol ., 7 (1): 27-34 .

Sambrook, J.; Fritgah, E. and Maniatis, T. (1989). Molecular Cloning: A laboratory Manual. Cold spring Harbour laboratory, New Yor.

Wilson, P.W. and Knight, S.C. (1952) . Experiments in Bacterial Physiology. Burguess, Minneapolis, USA. 49.

Yuan, Z. C.; Zaheer, R. and Finan, T. M. (2005) . Phosphate limitation induces catalase expression in *Sinorhizobium meliloti*, *Pseudomonas aeruginosa, Agrobacterium tumefaciens*. J. Mol. Microbiol., 58(3):877-94.

الحساسية المتماحلة للمحسسات لدى مرضى المجاري البولية في محافظة نينوى

م. فرح يونس حسين الخليفة[*] أ.د باسمة احمد عبدالله

الخلاصة

تضمنت الدراسة (51) فردا تراوحت اعمارهم (5-71) سنة ممن راجعوا استشارية المجاري البولية ولديهم اعراض الاصابة بالمجاري البولية. جمعت عينات الادرار وخضعت للفحص المجهري وزرعت على الاوساط الغذائية المناسبة لعزل وتشخيص الجراثيم المسببة لالتهاب المجاري البولية Urinary tract infection (UTI). اجري اختبار الحساسية للمحسسات باجراء اختبار الجلد وقدر تركيز IgE بطريقة ELISA.

أظهرت النتائج ان (82.4 %) كانوا مصابين بالحساسية والتهاب المجاري البولية و(17.6%) غيرمستجيبين للحساسية والمجاري البولية وكانت النساء اكثر إصابة من الذكور وسكان الريف اكثر إصابة من سكان المدينة وان اعلى نسبة استجابة للمحسسات كانت لنوعي حلم الغبار المنزلي *Dermatophoides Farinae* ، *Dermatophoides Pteronyssinus* وكانت اكثر البكتريا المعزولة من المصابين بالتهاب المجاري البولية والحساسية هي *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* ، *Proteus mirbilis* ، *pnemoniae Klebsiella* ، *Pseudomonus aerogenossa*

كما واظهرت النتائج ارتفاع نسبة الاجسام المضادة من نوع IgE لدى الاشخاص المصابين بالتهاب المجاري البولية والحساسية؟

الكلمات المفتاحية: التهاب المجاري البولية، الحساسية المتماحلة، المحسسات.

[*] البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الاول.

Atopic Allergy to Allergens, of Patient Urinary Tract Infection in Ninevah Governorate

Farrah Y. H. Z. Al-Khalifa Prof. Dr. Basima A. A. Ellias

SUMMARY

The study included (51) persons whose ages between 5 and 71 year who has registered the UTI department showing symptoms of UTI. Samples of the urine were subjected to general urine examination. Appropriate media were used to isolate and identify bacteria causing UTIs. Chected the skin test to allergens.

The result apparent that (42%) exhibited allergies and UTI and (17.6%) don't response to allergic and UTI.

The UTIs among allergies was more common in women than in men. The highest allergy response was to two species of mites namely, *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* and there more bacteria isolated. The result appear that increase total IgE.

المقدمة

تعد الحساسية من الامراض المنتشرة والاكثر شيوعاً في كافة انحاء العالم، حيث يتعرض الكثير من الاشخاص لامراض الحساسية المتنوعة، وان نسبة الاصابة بها اصبحت في تزايد مستمر (AAAA-I, 2003; Roitt *et al.*, 2001).

ان الحساسية هي رد فعل الجسم تجاه المحسسات حيث يعتبر الباحث Von pirauet في سنة (١٩٠٦) اول من استخدم هذا المصطلح للتعبير عن كون هذه المحسسات هي مواد غريبة تدخل الجسم وتحدث الاستجابة وهي بذلك مستضدات. وصف الهستامين (Histamine) من قبل الباحثان Dale وLaidlaw في سنة (1910) حيث لاحظا انه يسبب تقلص العضلات في الجسم، واصبح واضحاً ان ليس فقط الهستامين هو مادة كيمياوية تتحرر من الخلايا البدينة التي وصفت من قبل الباحث Paul Ehrlich حيث تم التعرف على الصفات الاساسية للخلايا البدينة (Roitt *et al.*, 2001). كما وصفت ميكانيكية الحساسية من قبل Praustnitz و Kustner في سنة (1921)

فقد اوضح Praustnitz ان الحساسية يمكن ان تنتقل من شخص الى اخر عبر المصل، وان المسؤول عن هذه الظاهرة هو عامل موجود في المصل ولم يعرف هذا العامل إلا في سنة (1967) في امريكا والسويد، ولقد عرف بانه IgE في سنة (١٩٧٠) من قبل الباحث Ishizaka (Miller *et al.*, 1991).

تعتبر الحساسية من الامراض المحيرة والمربكة لكل العلاجات والادوية كما يظهر بعض الأشخاص استجابة لها وبعضهم لا يظهروا ذلك، بالاضافة الى تداخل امراض الحساسية مع غيرها من الامراض وارتباط تطورها بالعوامل الوراثية والبيئية (Prescott, 1996; Dey, 2001).

تمثل UTIs مشكلة صحية عامة للمجتمع حيث تصيب الملايين كل سنة فضلاً عن التكاليف المادية الباهظة المتطلبة للشخص والعلاج التي بلغت ٩ بليون دولار سنوياً في أمريكا، وتعتبر أحد اكثر الامراض شيوعاً في المجال الطبي وتأتي بالدرجة الثانية بعد التهابات المجاري التنفسية العليا، حيث تصل الاصابة بـ UTIs إلى اكثر من (٨,٣) مليون اصابة، وان نسبة الوفيات عالية حيث تشير البحوث إلى ان ما يقارب ٧ مليون مريض يقعون ضحية UTIs (Bethesda, 2002; Bacheller and Bernstein, 1997).

لقد وجد ان جرثومة *E. coli* مسؤولة عن ٩٠% من حالات الـ UTIs التي تحدث لدى الاشخاص الذين لا يعانون من اختلال في المجاري البولية من ناحية التركيب والوظيفة، تليها *Staph. saprophyticus* حيث كانت نسبتها (١٠–٢٠%) من هذه الاصابات كذلك *Staph. aureus*، اما في التهابات المجاري البولية المعقدة الناتجة عن وجود اختلال في التركيب والوظيفة للمجاري البولية فان المسببات الشائعة هي *E. coli* و*K. pneumoniae* و*P. mirabilis* والتي تسبب الحصوات البولية و *Strept.* و *Pseudo. aeruginosa* كذلك تسبب خمائر *Candida albicans* التهاب المجاري البولية عند مرضى السكري، ويعتبر كلً من *K. pneumoniae* و*Pseudo. aeruginosa* مسؤول عن UTI الناتجة من عدوى المستشفيات (Bethesda, 2002).

تعتبر حساسية المجاري البولية (Urinary tract allergy) نوعاً من انواع الحساسية، وهي حالة نادرة تصيب المجاري البولية وتوصف بحدوث تكرار في الادرار والم في التبول والزحير المثاني الذي

يعني بانه احساس ملح بضرورة التبول ولكن من غير القدرة على ذلك، الآم متعددة ومستمرة على المثانة وبشكل خاص البيلة المخاطية والوذمة المتحسسة انواع من الالام المزعجة التي تجعل المريض يرقد في المنام لمدة اشهر (Frazier, 1978). ان الوظيفة الاساسية للجهاز البولي هو التخلص من أية مواد غير مرغوب فيها اذ ما وجدت تسبب مشاكل عديدة للجسم وان الاعراض العامة لاصابة المثانة والاحليل هو الالحاح او تكرار التبول للتخلص من البول وهذه اعراض شائعة لحساسية الغذاء (Health and Age, 2003; Alpha ENF, 2003).

أوضحت دراسات عديدة اسباب وتاثير العلاقة ما بين سلس البول او تدفقه لا اراديا وUTI وكذلك الحساسية وسلس البول وان المثانة تصبح هدفاً للمحسسات بانواعها المستنشقة والمهضومة وتسبب تشنج وانقباض وتقلص وقلة وظائف المثانة واستيعابها فضلاً عن ان الانقباض والتقلص للعضلات يؤدي إلى ارخاء او تراخي الاحليل الاقرب Proximal urethra ويؤدي ذلك الى حدوث سيل البول واصابات المجاري البولية (Frazier, 1978; Siegel *et al*., 2001).

ولقد ادى انتشار الحساسية بشكل واسع في شتى انحاء العالم إلى التوجه لدراسة الحساسية ولاغرو في ذلك ان هدفت الدراسة ولاول مرة في العراق إلى التحري عن الاصابة بالحساسية لدى المصابين بالـ UTI، عزل وتشخيص الانواع الجرثومية المسببة للـ UTI، ومعرفة امراض الحساسية ذات العلاقة بالـ UTI.

المواد وطرائق العمل

تم اختيار (٥١) شخصاً من الذين راجعوا الاستشارية البولية لنفس المستشفى، ويعانون من التهاب المجاري البولية (Urinary tract infection) واجري لهم اختبار الجلد للتأكد من إصابتهم أو عدم إصابتهم بالحساسية. أخُذت عينات الادرار والدم من كلا الجنسين وباعمار مختلفة تراوحت بين (٥–٧١) سنة، ودونت المعلومات عنهم.

عزل الاحياء المجهرية من عينات الادرار

جمعت عينات الادرار في الصباح لانه افضل وقت جمع لاجراء التحليل الروتيني عليه، حيث يكون الادرار في اعلى تركيز بمكوناته من أي وقت اخر. تم اخبار المريض على ضرورة جمع الادرار الوسطي (Clean-catch Midstream urine) الذي يعد اقل تلوثاً كذلك غسل اليدين والمنطقة واعطي للمريض حاويات نظيفة

معقمة ومحكمة الغطاء، لحفظ عينة الادرار بداخلها مع تنبيه المريض بضرورة احكام غطاء الحاوية بعد جمع العينة للحفاظ عليها من التلوث (Collee *et al*., 1996; Vandepitte *et al*., 1991). نقلت عينات الإدرار بعد جمعها مباشرة الى المختبر، وخلال فترة اقل من ساعتين عملت مسحات وصبغت بصبغة كرام لملاحظة وجود الجراثيم، زرعت على وسط اكار الدم (Blood agar) وعلى وسط الماكونكي (MacConkey agar)، وحضنت في درجة حرارة (٣٧) م° ولمدة (٢٤–٤٨) ساعة، وبعدها تم حساب عدد المستعمرات على الوسط، (Cruickshanke *et al*., 1975) ثم زرعت على موائل الاكار المغذي واكار الدم، وحضنت في درجة حرارة (٣٧) م° ولمدة (١٨–٤٨) ساعة، وحفظت في الثلاجة لحين اجراء الفحوصات التشخيصية (Vandepitte *et al*., 1991).

اختبار حساسية الجلد Skin Test

اجري اختبار حساسية الجلد بطريقة الحقن تحت الجلد، باستخدام المستضدات القياسية من انتاج شركة Biomereiux الفرنسية والمخففة بنسبة (1:1000.000) في الفينول، اذ حقنت كمية (٠,٠٥) سم^{٣} من كل مستضد باستخدام حقن طبية (Tuberclean) حجم (١)سم^{٣} وقياس (٠,٥ × ٢٦) انج بعد تعقيم منطقة الحقن بالكحول الاثيلي (٧٠%) وتجفيفها جيداً.

استخدم في الاختبار محسسات تضم الانواع الشائعة والقياسية المستخدمة في اختبار حساسية الجلد في الاستشارية الطبية الحساسية وحسب توصيات منظمة الصحة العالمية (WHO, 2000)، كما اجريت طريقة Prick باستخدام المحسسات الغذائية المتوفرة، حيث وضعت نفس كمية المستضد (٠,٠٥) على الجلد وباستخدام المحقنة تم ادخال المستضد.

المواد او المحسسات المستخدمة في اختبار الجلد Allergens

يوضح الجدول (١) انواع المحسسات المستخدمة قيد الدراسة.

الجدول (١) انواع المحسسات المستخدمة في الدراسة الحالية.

المحسس	الاسم الشائع	الاسم العلمي
– غبار المنزل	House dust (HD)	*Holister Stire*

الاسم العلمي	الاسم الشائع	المحسس
Dermatophagoides pteronyssinus	House dust mites (HDM) (DP) &	– حلم الغبار المنزلي ويحوي نوعين
Dermatophagoides farinae	(Df)	
Cynodon dactylon	Bermuda grass	– حشائش Bermuda
	Grass mixture (5 grasses)	– أعشاب Grasses
Anthexanthum odoratum	Sweet vernl grass	
Dactylis glomerata	Orchard grass	
Lolium perenne	Rye grass	
Phleum pratense	Trimothygrass	
Poa pratensis	Meadow grass	
Artemisia vulgari	Mug wort	الشيح Mugwort
Plantago lanceolata	Plantain	لسان الحمل Plantain
Chenopodium album	Fathen or lambsqurters	رجل الاوز Chenopodium
	Feather	الريش Feather
	Wool	الصوف Wool
		أربع مجاميع من الفطريات
Penicillium mixture *Aspergillus mixture* *Cladosporium* *Alternaria*		فطريات النوع الاول M1 المجموعة الاولى
Botrytis *Mucor* *Rhizopus* *Stemphylium*		فطريات النوع الثاني M2 المجموعة الثانية
Furasium		فطريات النوع الثالث M3

المحسس	الاسم الشائع	الاسم العلمي
المجموعة الثالثة		*Chaetomium* *Neurospora* *Pullularia*
فطريات النوع الرابع M4		*Helminthosporium*
المجموعة الرابعة		*Epicoccum*
		Trichothecinm
أشجار النوع الاول	خشب الزان Beech	*Fugus sylratica*
	خشب الكستناء Chestnut	*Castaneq vulgaris*
	اشجار البلوط Oak	*Ouercus robur*
اشجار النوع الثاني T2	Mediterranean	
	Or Oleaceae	
	خشب السرج Cypress	*Cupressus sempervirens*
	Muberry	*Morus alba*
	شجرة الزيتون Olive	*Olea europaea*
	Privel	*Ligustrum vulgare*
اشجار النوع الثالث T3	Betulaceae	
	شجر جار الماء Alder	*Alnus glutinosa*
	خشب التبولة Birch	*Betula alba*
	شجر البندق Hazel	*Corylus avellana*
	قرن الفاصوليا Hornbean	*Carpinus betulus*
المحسسات الغذائية:	قهوة، سبانخ، بصل، سمك، مكسرات، تفاح، برتقال، دجاج، فول سوداني، باقلاء فرنسية، باذنجان، حبوب، بيض، بطاطا، كاكاو، موز، شعير والجوكليت	

تحديد تركيز الكلوبيولين المناعي IgE الكلي في الدم بطريقة اليزا (غير المباشرة)

(Indirect immuno sorbent assay)

جمعت عينات دم من جميع الأفراد وذلك عن طريق سحب الدم باستخدام محقنة طبية سعة (٥) سم^{٣} من الوريد الرأسي (Cephalic vein) او الوريد الملكي (Basilic vein)،

اجري العمل بها بالاعتماد على ادمصاص المستضد على سطح حفرة البولي ستيرين وبعد التحضين غسل الفائض من المستضد غير المدمص ثم أضيف مصل الاختبار إلى الحفر لكي تتحد الاضداد مع المستضدات المتخصصة لها، ثم أزيل الفائض من مصل الاختبار ثم الكشف عن الاضداد باضافة مضاد الكلوبيولين المعلم بالانزيم وباستخدام مولد الصبغ (Chromagene) وعند التفاعل يكون ناتجاً ملوناً تناسب شدة لونه طردياً مع كمية الانزيم المرتبط بمضاد الكلوبيولين والذي بدوره يناسب طردياً مع كمية الاضداد المستخدمة مع المستضدات، قيس اللون المرئي بوساطة جهاز الطيف الضوئي الدقيق Micro spectrophotometer وقد استخدمت في البحث عدة عمل جاهزة من قبل شركة Biomagrab الفرنسية.

طريقة العمل :

- أضيف (١٠٠) مايكروليتر من الدارئ المعير إلى كل حفرة من حفر طبق البولي سيترين.
- أضيف (٢٠) مايكروليتر من المحلول القياسي، محلول السيطرة، وعينات المصل الى الحفر وكما يأتي:

أضيف إلى الحفر A_1 و A_2 (٢٠) مايكروليتر من المحلول القياسي بتركيز (٠)، ثم أضيفت بقية المحاليل القياسية الى الحفر B_1 و C_1 إلى H_1 على التوالي حسب تركيز المحاليل من (٥-٥٠٠).

- غطي طبق البولي سيترين بغطاء بلاستيكي، واجري له طرد مركزي بسرعة (٣٠٠٠) دورة/دقيقة (هزاز افقي) وحضن في حاضنة لمدة (٩٠) دقيقة بدرجة حرارة (٣٧)م^{o}.
- سحب السائل غير الملتصق من كل حفرة، وأضيف (٣٠٠) سم^{٣} من محلول الغسل، وكررت العملية ثلاث مرات، وترك الطبق ليستقر لمدة دقيقة واحدة.
- أضيف (١٠٠) مايكروليتر من سائل الاقتران (Conjugate).
- غطي الطبق بغطاء بلاستيكي، وحضن لمدة (٩٠) دقيقة في درجة حرارة (٣٧)م^{o}.
- حضر محلول مولد الصبغة في وعاء زجاجي نظيف وذلك باذابة حبيبة واحدة pNPP في

(٣,٥) سم^{3}، وحفظت في الظلام لمدة نصف ساعة.

- كررت عملية الغسل كما في الخطوة أعلاه.
- أضيف (١٠٠) مايكروليتر من المادة المولدة للصبغة المحضرة انياً الى كل حفرة.
- غطي الطبق بغطاء بلاستيكي، وحضن في درجة حرارة الغرفة في الظلام لمدة نصف ساعة.
- أضيف (١٠٠) مايكروليتر من محلول الايقاف هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) عياري (2N) لكل حفرة، ورسب في سرعة (٢٠٠) دورة/دقيقة، ومن ثم قرئ في جهاز الطيف الضوئي الدقيق وعند الطول الموجي (٤٠٥).
- قدرت النتائج من مقارنة امتصاصية الضوء للعينات مع الامتصاصية للمحاليل القياسية بعد رسم منحني قياس لها.

النتائج والمناقشة

كانت نتائج الاختبارات الشكلية والكيمياحياتية التي اجريت على العزلات مطابقة لما ورد في انظمة التشخيص المعتمدة (Koneman *et al*., 1997; Collee *et al*., 1996; Baron and Finegold, 1990).

اذ كانت جراثيم العائلة المعوية بشكل عصيات الى عصيات قصيرة سالبة لصبغة كرام نامية على وسط الماكونكي، وظهرت مستعمرات النوع *E.coli* وردية جافة وبكتريا و*K. pnenmoniae* وردية مخاطية اما بكتريا *Pseudo. aeroginosa* و *M. morgani* و*P. mirabilis* و *P.vulgaris* فقد ظهرت مستعمرات شاحبة على وسط الماكونكي ويتميز النوعان الاخيران بظاهرة العج على وسط اكار الدم. بينما اضاف النوع الاول لوناً اخضراً مزرق على وسط اكار الدم بسبب افراز صبغة Pyocyanin فضلاً عن Fluorecinen التي تعتبر صفة تشخيصية لها، بينما ظهرت كل من بكتريا *Staph. epidermidis* و *Staph. aureus* و *Staph. saprophyticus* بشكل مكورات عنقودية موجبة لصبغة كرام ومستعمراتها تكون دائرة منتظمة للوسط اكار الدم، وانفرد النوع الاول مستعمرات لماعة وذات لون ذهبي على وسط اكار الحليب، في حين اعطى النوع الثاني مستعمرات بيضاء على نفس الوسط اعطى *Strept. faecalis* فقد ظهرت خلاياها بشكل سلاسل قصيرة موجبة لصبغة كرام وكانت مستعمرات ناعمة على وسط اكار الدم، وقد شخصت الانواع الجرثومية المعزولة بالاعتماد على نتائج الاختبارات الكيمياحياتية الموضحة في الجدول (٢)

الجدول (٢) يوضح نتائج الاختبارات الكيمياحياتية المستخدمة في تشخيص الجراثيم المعزولة.

الاختبارات الكيمياحياتية / الانواع الجرثومية	اختبار الكاتاليز	اختبار الاوكسيديز	*IMVIC*				اختبار الحركة	اختبار اليوريز	اختبار التجلط	TSI	
			الاندول	المثيل الاحمر	فوكس بروس كدر	السترات				H_2S	B/S
E. coli	+	-	+	+	-	-	+	-	/	-	**A/A**
Staph. aureus	+	-	/	/	/	/	/	/	+	/	/
Staph. Saprophyticus	+	-	/	/	/	/	/	+	-	/	/
Staph. epidermidis	+	-	/	/	/	/	/	/	-	/	/
K. pneumoniae	+	-	-	-	+	+	-	+	/	-	**A/k**
Strept. faecalis	-	-	/	/	/	/	/	/	/	/	/
P. mirabilis	+	-	-	+	-	+	+	+	/	+	**A/k**
P. vulgaris	+	-	+	+	-	+	+	+	/	+	**A/k**
M. morganii	+	-	+	+	-	-	-	+	/	-	**A/k**
Pseudo. aeruginosa	+	+	-	-	-	+		+	/	-	**k/k**

+ موجب Triple Sugar Iron Agar (TSI) Acid (A)

– سالب Alkaline (K) Butt (B)

/ لم يجر الاختبار Different (D) Slant (S)

يبين الجدول (٣) النسب المئوية للمستجيبين وغير المستجيبين من الذكور والاناث المصابين بـ UTIs ، حيث بلغت نسبة المستجيبات للحساسية (٧٨,٦%) والمستجيبين (٢١,٤%) بينما لدى غير المستجيبين للحساسية فان نسبة الاناث (٤٤,٤%) والذكور (٥٥,٦%)، حيث ان استجابة الاناث اكثر من الذكور في حالة وجود الحساسية مع UTIs، حيث ظهر فرق معنوي بين الذكور والاناث عند مستوى احتمالية ($p<0.05$)، ويعزى السبب الى كون الاناث اكثر عرضة للاصابة بالحساسية نتيجة التعرض المستمر داخل المنزل للمحسسات المختلفة الناتجة من العمل المنزلي والتعرض للغبار وحبوب الطلع في حديقة المنزل والمحسسات الفطرية المتواجدة داخل الغرف ومع الاغذية وفي المناطق الباردة والرطبة من المنزل مثل السراديب.

الجدول (٣) العلاقة بين الاستجابة للمحسسات مع الجنس والسكن والمهنة لافراد السيطرة الموجبة.

الافراد المصابين بـ UTIs	الجنس*				السكن				المهنة			
	ذكر		انثى		ريف		مدينة		موظف		غيرموظف	
	عدد	%	عدد	%	عدد	%	عدد	%	عدد	%	عدد	%
المستجيبين للحساسية (n=42)	٩	٢١,٤	٣٣	٧٨,٦	٦	١٤,٣	٣٦	٨٥,٧	٢٠	٤٧,٦	٢٢	٥٢,٤
غير المستجيبين للحساسية (n=9)	٥١	٥٥,٦	٤	٤٤,٤	٥	٥٥,٦	٤	٤٤,٤	٦	٦٦,٧	٣	٣٣,٣
المجموع الكلي (n=51)	٦٠	٦١,٩	٣٧	٣٨,١	١١	٢١,٦	٤٠	٧٨,٤	٢٦	٥١,٠	٢٥	٤٩,٠

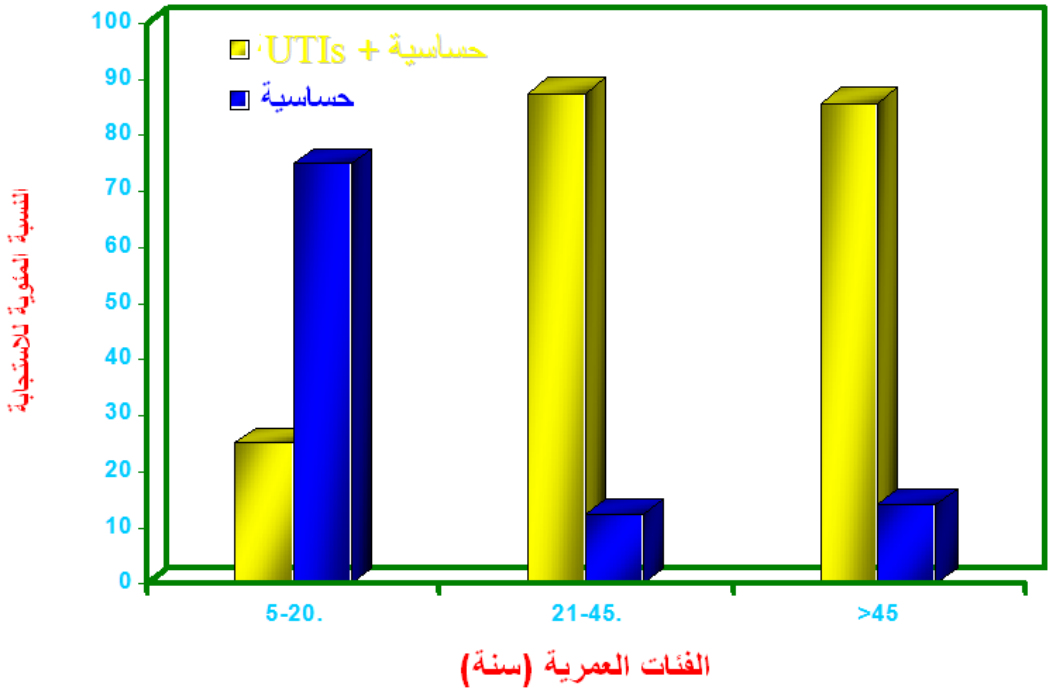
ويبين الجدول (٣) ايضا علاقة السكن مع الاصابة بـ UTIs والحساسية حيث ظهر فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($p=0.001$) في حالة الاستجابة للحساسية فان استجابة سكان المدينة اكثر من سكان الريف اذ بلغت نسبة استجابة سكان المدينة (٨٥,٦%) بينما الريف (١٤,٤%) اما في حالة الاشخاص غير المصابين بالحساسية فان نسبة استجابة سكان المدينة (٤٤,٤%) والريف (٥٥,٦%) ان ارتفاع نسبة استجابة سكان الريف لدى غير المستجيبين للحساسية والمصابين بالـ UTIs ويعود

ذلك إلى انعدام الوعي الصحي لدى سكان الريف مقارنة بالمدينة وقلة الاهتمام بالنظافة مما يؤدي الى اصابات المجاري البولية بشكل كبير بالاضافة الى اختلاف طبيعة التغذية والعادات وغير ذلك. يعود هذا الاختلاف في الاستجابة للمحسسات بين سكان الريف والمدينة الى طبيعة معيشة اهل الريف وتكيفهم للتعرض للمحسسات منذ الصغر وابتعاد اهل المدينة عن هذه المحسسات ولكن زيادة التلوث في المدينة نتيجة كثرة المصانع والمعامل ربما ادى الى حدوث هذا الاختلاف، ولقد اشار الباحث العاني في سنة (٢٠٠٢) في دراسة اجراها على افراد من سكنة مدينة الموصل حيث ظهر لديه اختلاف وفرقا معنويا في نسبة الاستجابة بين سكان الريف والمدينة اذ كانت نسبة الاستجابة في سكان المدينة (٦٢,٩%) بينما في الريف (٣٧,١%)، كما اشار الباحث Riedle واخرون في سنة (٢٠٠٠) الى ان الاصابة بحمى الكلا والتهاب الاغشية الانفية والربو قليلة في سكان الريف مقارنة مع سكان المدينة وبذلك فان طبيعة وزيادة التعرض للمحسسات يزيد من التحسس ومن دخول المحسسات الى جسم الشخص وبالتالي الاصابة بامراض الحساسية المختلفة التي تؤدي عند الكثير من الاشخاص إلى الاصابة بـ UTIs.

كذلك يبين الجدول (٣) النسب المئوية للمستجيبين للحساسية وغير المستجيبين من الموظفين وغير الموظفين حيث ظهر ان نسبة غير الموظفين من المستجيبين للحساسية (٥٢,٤%) بينما لدى الموظفين (٤٧,٦%) وفي المستجيبين للحساسية كانت نسبة الموظفين (٦٦,٧%) اما غير الموظفين (٣٣,٣%) ولم يظهر فرق معنوي بين المستجيبين وغير المستجيبين للحساسية على الرغم من انه في حالة غير المستجيبين والمصابين بـ UTIs فقد كانت نسبة الموظفين اكثر من غير الموظفين ويعود السبب الى طبيعة العمل الذي يقوم به الشخص فقد يكون الشخص يعمل في مختبرات معرض للاصابة بالجراثيم كذلك الاجهاد في العمل والضغط على المثانة نتيجة الجلوس ساعات طويلة وعدم تفريغ المثانة المنتظم.

يبين الشكل (١) الفئات العمرية للمستجيبين للحساسية وغير للمستجيبين من افراد السيطرة الموجبة وظهر ان الفئة (٢١–٤٥) سنة كانت اعلى في المصابين بـ UTIs مع الحساسية إذ بلغت النسبة (٨٧,٥%) اما غير المصابين بالحساسية فقد كانت (١٢,٥%) تليها الفئة العمرية الثانية إذ بلغت نسبة الاشخاص المصابين بـ UTIs مع الحساسية (٨٥,٧%) وفي غير المستجيبين للحساسية (١٤,٣%) اما الفئة العمرية الاولى فان المستجيبين للحساسية

كانت نسبتهم (٢٥%) في حين ان غير المستجيبين للحساسية كانت النسبة (٧٥%) .



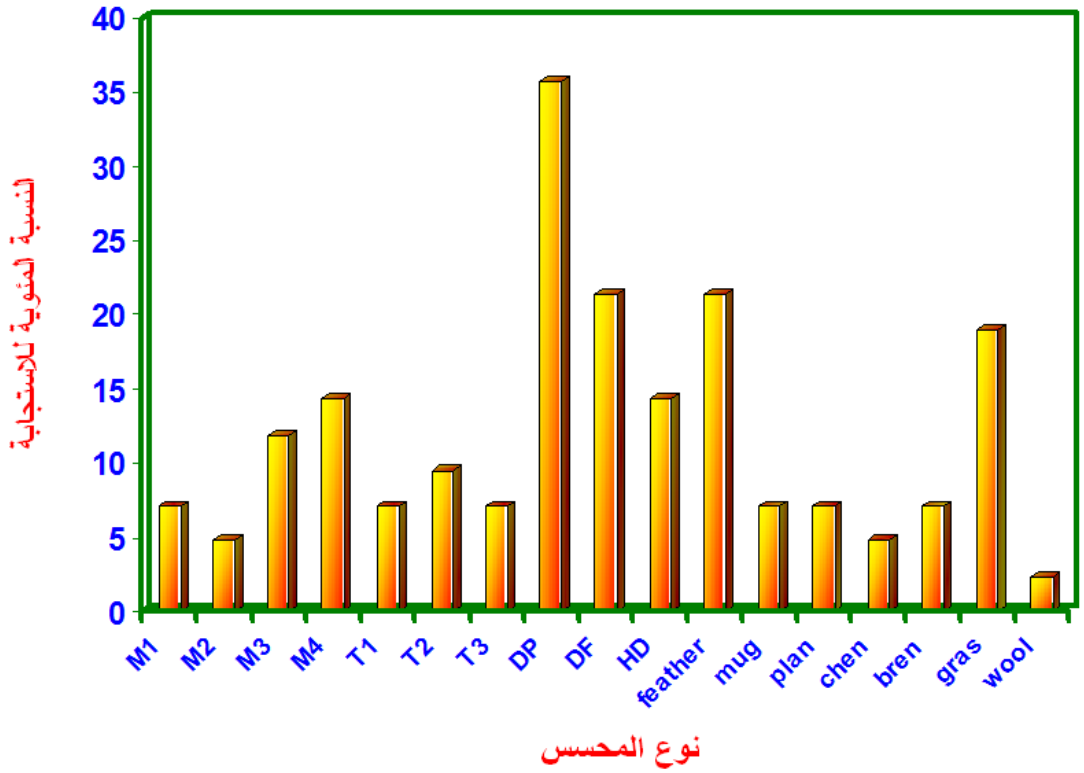
الشكل (١) النسبة المئوية للمستجيبي للحساسية وغير المستجيبين ضمن الفئات العمرية للافراد المصابين بالـ UTIs

اظهر الباحث العاني في سنة (٢٠٠٢) ان اعلى نسبة استجابة كانت في الفئة العمرية (٢١-٤٠) سنة بلغت (٤١,٢%) كذلك الباحث Al-Taie في سنة (٢٠٠٢) اوضح ان اصابات الحساسية بالربو كانت في الفئة العمرية (٢٠-٣٤) سنة وبنسبة استجابة بلغت (٥٧,٩%) .

اظهر الباحث Barbee واخرون في سنة (١٩٨٧) ان اعلى نسبة استجابة للمحسسات كانت في الفئة العمرية (٢٥-٣٤)سنة بينما قلت بعد سن الـ ٥٥ سنة وهذا ما توصلت اليه الدراسة الحالية ايضا .

يبين الشكل (٢) نسبة الاستجابة للمحسسات من المصابين بـ UTIs و المستجيبين للحساسية حيث يظهر من الشكل ان اعلى نسبة استجابة لمحسس حلم الغبار المنزلي وخاصة النوع Derp بلغت (٣٥,٧%) ثم Derf والريش (٢١,٤%) والاعشاب (١٩,٠%) وM_4 والغبار المنزلي (١٤,٣%) و M_3 (١١,٩%) و T_2 (٩٥,٥%) وإن كلا من حشائش البرمودا ونبات لسان الحمل ونبات الشيح و T_3 وT_1 و M_1 بنسبة (٧,١%) ثم M_2 ونبات رجل الاوز (٤,٨%) والصوف (٢,٤%) حيث كانت هذه النسبة مشابهة لما ظهر .

تتجسد العلاقة بين المحسسات والـ UTIs في نواحي عديدة منها ارتفاع نسبة الاستجابة لحلم الغبار المنزلي المسبب الرئيس للربو وارتشاء الانف ربما يصاحبه حدوث اصابة بالـ UTIs نتيجة لاحتواء براز حشرة حلم الغبار المنزلي على كثير من البكتريا والفطريات التي قد تدخل الجسم مع المحسس وتحدث الاصابة. كما ان الغذاء الرئيس للحشرة هو الفطريات الجلدية، وكذلك تعرض الحشرة نفسها للاصابة بالبكتريا والفطريات التي ربما تكون عاملا اضافيا لحدوث الاصابة عند انتقالها مع المحسس نفسه إلى الجسم وقد تكون المحسسات الاخرى كالريش والصوف وحبوب الطلع والاعشاب والاشجار والبذور نفسها ملوثة بالبكتريا والفطريات فتدخل الجسم معها وتحدث الاصابة بالـ UTIs (منظمة الصحة العالمية، ١٩٨٧ ;Sties, 1994).

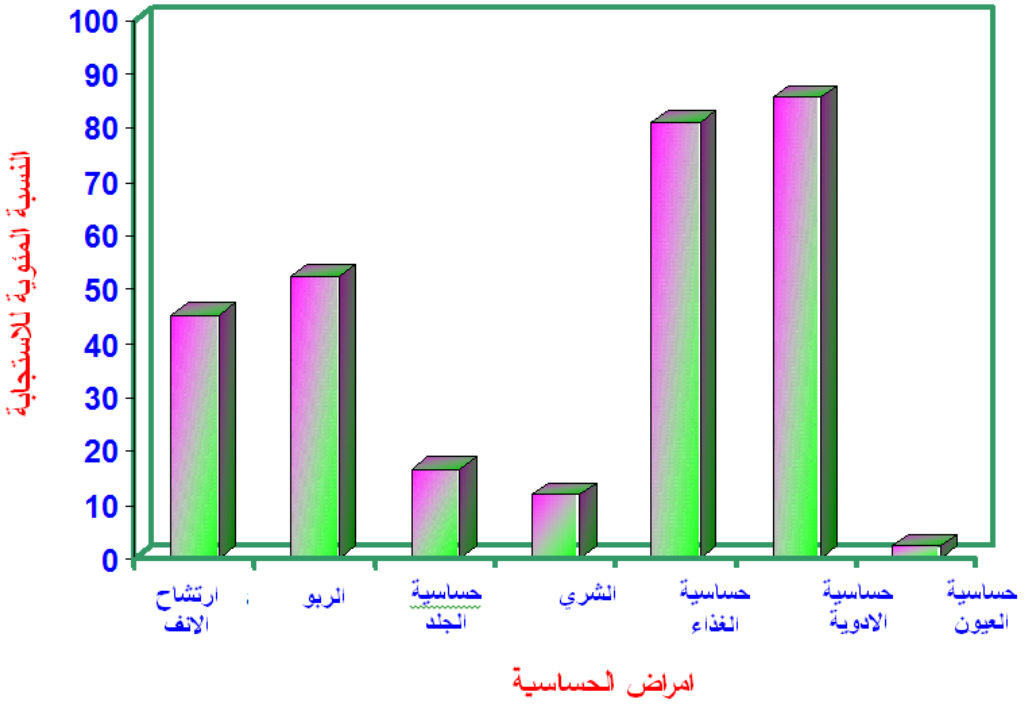


الشكل (٢) نسبة ظهور المحسسات لدى الاشخاص المصابين بالـ UTI والمستجيبين للمحسسات.

يبين الشكل (٣) نسبة ظهور امراض الحساسية لدى المصابين بـ UTIs والمستجيبين للحساسية في أفراد السيطرة الموجبة، حيث ظهرت نسبة الاصابة بارتشاح الانف (٤٥,٢%) والربو فكانت (٥٢,٤%) والاكزيما (١٦,٧%) والشري (١١,٩%)

وحساسية العيون (٢,٤%) وحساسية الغذاء (٨١,٠%) وحساسية الادوية (٣٥,٧%) .

يعد ارتشاح الانف من اكثر امراض الحساسية انتشاراً وشيوعا حيث يصاب (٣٥) مليون امريكي به وربما يعود ذلك حاليا إلى زيادة تلوث البيئة وكثرة المعامل والمصانع وما تنتجه من ابخرة ومواد بالاضافة إلى زيادة تعرض ربات البيوت لحلم الغبار المنزلي بينما التهاب الجلد المتماحل اقل شيوعا (AAAAI, 2003; Rogers, 2003; Roitte, 2001). اما حساسية الغذاء فانها منتشرة بكثرة ولكن يصعب تشخيصها ومعالجتها . كذلك ازدياد حساسية الادوية نتيجة سوء استخدام هذه الادوية حيث ان بعضها اذا ما وجدت مع مادة غذائية تسبب تكوين معقدات تحدث الحساسية (بيسيرت، ١٩٩٠)، وان قلة الاصابة بالشري وخاصة غير المتعلقة بالحساسية فقد يكون نتيجة الحرارة او البرودة كما اشار الباحث Abingdon في سنة (2003) إلى ان الشري هو اصابة فسيولوجية مسببة لحساسية العيون نتيجة ارتباط المحسس مع غشاء العين Eyelide membrane محدثاً احمرارا وحكة فيها وتعتبر اقل شيوعاً من الربو وارتشاح الانف والتهاب الجلد المتماحل.



الشكل (٣) نسبة ظهور امراض الحساسية لدى الاشخاص المصابين بالـ UTI والمستجيبين للحساسية.

ان امراض الحساسية ذات علاقة مع اصابات الـ UTIs ومع بعضها البعض حيث ظهرت علاقة معنوية بين الحساسية بارتشاح الانف مع الربو وقيمة (r = - 0.395 وP<0.0001) وظهر علاقة معنوية بين حساسية الجلد والربو حيث (r = – 0.144)والربو مع ارتشاح الانف (r = – 0.187). اشار الباحث Oggero في سنة (١٩٩٤) إلى ان اصابات حساسية الجلد المتماحلة تعتبر اكثر العوامل خطورة لحصول التهابات المجاري البولية كما ان الربو وارتشاح الانف يسبب تكرار الادرار والماً اثناء التبول ويؤدي إلى الـ UTIs (Frazier, 1978). اشار الباحث Jenner في سنة (٢٠٠٣) إلى ان المصابين بالربو أو حساسية الجلد أو ارتشاح الانف لديهم حساسية للغذاء مثل الرز والحنطة والبطاطا كما اشار الباحث Reddy في سنة (٢٠٠٠) إلى ان حساسية الجلد المتماحل تحدث لوحدها ولكن يبدو ان بعض المشاكل من حساسية الجلد تتطور لدى الاطفال بحدوث اصابات الربو وحساسية الجهاز التنفسي.

المصادر

العاني، يزن مهلب (٢٠٠٢). الحساسية المتماحلة لبعض المحسسات والعفنيات وغيرها السائدة في محافظة نينوى وعلاقتها بمستوى الضد E وبعض المتغيرات الاخرى، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

نشرة منظمة الصحة العالمية (١٩٨٧). مستأرجات سوس الغبار ومرض الربو. مشكلة ذات انتشار عالمي. المكتب الاقليمي لشرق البحر المتوسط. المجلد الاول، الصحفات ١–٣٣٢.

AAAA-I American Academy of Allergy Asthma & Immunology (2003). Indoor Allergens. http://www.Aaaa:org.

Abdullah, A. and Chani, M. (1986). Estimation of total serum IgE. in normal Iraqi subjects J. Fac. Med. , 2, 3.

Alpha ENF Alpha Nutrition Information (2000). Chronic and Interstitial cystitis, www.healthworks.com.

Bacheller, C.D. and Bernstein, J.M. (1997). Urinary tract infection. Med. Clin. North. Am. 81(3): 719-730.

Bethesda, A. (2002). Urinary tract infection in adults. NIH Publication No. 02-2097.

Collee, J; Fraser, A.; Marmion, B. and Simmons, A. (1996). Practical Medical Microbiology. 14th, ed. Churchill Livingston Inc., New York, pp. 84-90, 361-381.

Cruickshank, R.; Duguid, J.; Marmion, B. and Swan, R.

(1975). Medical Microbiology. 2nd ed., Practice of Medical Microbiology. 12th ed., Churchill Livingstone, Edinburg, pp. 184, 403, 429-438.

Dey, L.P. (2001). How allergies affect the body? http:/www.ep.pen.com.

Frazier, C.A. (1978). Current Therapy of Allergy. 2nd ed., Henry Kimpton Publishing, pp. 403-404, 446.

Health & Age (2003). Allergic rhinitis (Hay fever and Rose fever) and chronic nasal congestion, http://www.novatis foundation for gerontology.com.

Koneman, E; Allen, S; Jana, W.; Schreckenberger, P. and Winn, W. (1997). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed., Lippincott Raven Publishers, pp. 136-142.

MacFaddin, J.F. (1980). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. Williams and Wilkins, London, 2nd ed., pp. 346-464.

Miller, L.E.; Ludke, H.R.; Peacock, J.E. and Tomar, R.H. (1991). Manual of Laboratory Immunology. Lea & Febiger, Philadelphia, London, pp. 313-324.

Norrby, S. (1994). Useful agents in the management of urinary tract infection. Inter. J. of Antimi. Agents, 4(2): 129.

Plats-Mills, T.A.E. and Chapman, M.D. (1989). House dust mites: Immunology, allergy disease, and environmental control. J. Immunol., 2: 100-150.

Prescott, L.M.; Harley, J.P.; and Klein, D.A. (1996). Microbiology, 3rd ed., W.M.C. Brown Publishers London, pp. 656-669.

Rogers, R. (2003). Colloidal silver for rhinitis. http/www.atopiasilver. com.

Roitt, I.; Brostoff, J. and Mal, D.(2001). Immunology. 6th ed., Harcout Publishers Limited, 6th edition, pp. 323, 324, 325, 326, 329, 333, 334, 335.

Roitt, I; Brostoff, J and Mal, D. (1998). Immunology. 5th ed., Mosby International Limited, London, pp. 301-314.

Siegel, S.; Rwitt. L.; Sokoloff , B. and Isigel, B. (2001). Relationship of allergy. Enuresis and urinary infection in children 4 to 7 year of age. Peditrics 57(4): 552-553.

Stites, D.P; Terr, A.I. and Parslow, T.G. (1994). Basic and Clinical Immunology. Appleton and Lange, pp. 314-346, 339-342, 370.

Vandepittle, J.; Engbaek, K.; Piot, P. and Heuck, C.C. (1991). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. World Health Organization, Geneva, pp. 31-33, 92.

دور الموت الخلوي المبرمج في خصوبة وعقم الأكياس العدرية في الابقار والاغنام والمعز الخمجة طبيعيا

حنان صديق سعدون[١]، نبيل عناد صالح[١] وانتصار رحيم الكناني[٢]

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لمعرفة دور الموت الخلوي المبرمج في عقم وخصوبة الأكياس العدرية من اصل ابقار واغنام ومعز الخمجة طبيعيا بالمشوكات الحبيبية عن طريق عزل الحامض النووي منقوص الاوكسجين من الطبقة المولدة للاكياس العدرية الخصبة والعقيمة باستخدام العدة الجاهزة DNeasy tissue kit المقدمة من شركة QIA GEN واستخدام تقانة الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز ، اذ تم ملاحظة عملية تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين بشكل واضح في الأكياس العدرية العقيمة بينما كانت غائبة في الأكياس الخصبة ، كما تم استخدام اختبار التعليم الانزيمي تنل لتحديد النسبة المؤية للانوية التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج ، فقد ظهرت انوية الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة (الابقار) نسبة اعلى مما هو عليه في الأكياس الخصبة (الاغنام والمعز) ، واستخدم في هذه الدراسة بعض الملونات الخاصة مثل ملون فولجين لتحديد الضرر الحاصل في الحامض النووي منقوص الاوكسجين للاكياس العدرية الخصبة والعقيمة.

The role of programmed cell death in the fertility and infertility of Hydatid cysts in cow, sheep and goats naturally infected

[1]H.S.Saadoon,N.E.Salih[1]and E.R.AL-Kennany[2]

[1]Department of Bioblogy ,College of Education for Pure Sciences,[2] Department of Pathology and Puoulttry Disease , College of Veterinary Mediccine, Mosul,Iraq

Abstract

This study was carried out to investigate the role of programmed cell death in the infertility and fertility of naturally-occuring hepatic hydatidosis in cow ,sheep and goats by isolating DNA from the fertile and sterile germinal layer using the DNeasy tissue kit prepared by QIA GEN and using the agarose gel electrophoresis technique، The process of fragmentation of the DNA was clearly observed in the sterile cysts while absent in the fertile cysts. The tunel enzymatic test was also used to determine the percentage of the nucleus undergo to programmed cell

death, in the sterile cysts (cow) was higher than in the fertile cyst (sheep and goats). In this study, certain special colors, such as volgyn, were used to determine the damage of oxygen-deficient DNA to fertile and sterile cysts.

المقدمة

داء الأكياس العدرية Hydatid cystic disease او داء المشوكات الكيسي Cystic echinococosis من الامراض الطفيلية المشتركة بين الانسان والحيوان التي تحدث الكثير من المشكلات الصحية والاقتصادية الخطيرة على مستوى الانسان والحيوان (McManus واخرون ، 2003 ؛ Samad Mosaddeghi واخرون ، ٢٠١٤) وهو من الامراض المتوطنة في العراق وينتشر بشكل واسع بين الاعمار جميعها وفي الجنسين كليهما(الكناني واخرون ،٢٠١١) . ويتسبب داء الأكياس العدرية عن الاصابة بالطور اليرقي للمشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* ، المضيف النهائي لهذا الطفيل هو اكلات اللحوم التي تعود للعائلة الكلبية، تتواجد الديدان البالغة لطفيل المشوكات في الامعاء الدقيقة للكلاب ، اما المضائف الوسطية فهي اكلات الاعشاب (مثل الاغنام و الابقار و الماعز.....الخ) ويعد الانسان مضيفاً وسطياً يصاب عن طريق الصدفة نتيجة لتناول الطعام والشراب الملوث ببيوض الطفيل. يحدث المرض بعد ابتلاع بيوض المشوكات الحبيبية التي تفقس الى جنين سداسي الاشواك اذ يستقر في اعضاء الجسم المختلفة متحولا الى كيس عدري ، ويبدأ المرض من دون اعراض ويستمر بدون اعراض الى عدة اعوام ، وتعتمد الاعراض والعلامات السريرية على موقع الكيس وحجمه ، ويبدا المرض عادة في الكبد ولكن يمكن ان ينتشر الى اجزاء اخرى من الجسم مثل الرئتين والدماغ واعضاء اخرى من الجسم (WHO ، ٢٠١٤) ، ويعود السبب في انتشار المرض في العراق الى انتشار الكلاب السائبة ، وذبح الحيوانات خارج المجازر ورمي فضلات ما بعد الذبح دون اتلافها بالحرق خارج المجزرة مما يؤدي الى اكمال دورة الحياة بتغذية الكلاب السائبة عليها (Mahmoud ، ١٩٨٠) . وتختلف نسبة تطور الكيس باختلاف المضيف الوسطي ونوع الطفيل ، ويعتمد تطور الرؤيسات الاولية على تكاثر محافظ الحضنة brood capsules من الطبقة الجرثومية germinal layer في تجويف الكيس اذ لوحظ لاسباب مجهولة ان قسماً من الاكياس تكون عقيمة infertile ولاتنتج رؤيسات اولية وبذلك ينهي الطفيل دورة الحياة

، وعلى الرغم من اصابة الابقار بسهولة الا انها عموما تنتج اكياساً عدرية عقيمة بينما في الاغنام اغلبية الاكياس تكون خصبة (McManus واخرون ، 2003) . والاليات التي تقوم عليها العمليات التي تؤدي الى عقم الاكياس العدرية او خصوبتها غير معروفة (Paredes واخرون ، ٢٠٠٧) . وكذلك الاليات على المستوى الجزيئي المسؤولة عن خصوبة الاكياس العدرية وعقمهاغير معروفة (Gonzalo واخرون ، ٢٠٠٨) . الموت الخلوي المبرمج هو شكل من اشكال موت الخلية الذي يمكن التعرف اليه بالعديد من الصفات الشكلية والتغيرات الكيموحيوية التي تؤدي الى حدوث سلسلة من الخطوات المنظمة التي تؤدي في النهاية الى تدمير ذاتي Self destruction وتعد عملية الموت الخلوي المبرمج من اهم عمليات التنظيم الفسلجي والاتزان النسيجي Tissue homeostasisلبقاء الجسم في حالة سوية (Wylli وArends ، ٢٠١٤) .

المواد وطرائق العمل Material and methods

جمع الاكياس Collection of hydatid cyst

تم الحصول على 75عينة اكباد خمجة بالاكياس العدرية من اصل اغنام ، معز وابقار (25 عينة لكل نوع) مصابة طبيعيا بداء المشوكات بعد ذبحها في مجزرة الموصل، واستخدمت الاكياس من اكباد الاغنام والابقار المصابة اذ وضعت في حاوية مبردة من الفلين ونقلت الى المختبر في كلية التربية ، غسلت الاعضاء المصابة من الخارج بالماء الجاري لغرض ازالة الدم والمواد العالقة بها اثناء الذبح.

التثبيت Fixation و تحضير المقاطع النسيجية Preperation of Microscopic Slides.

اخذت قطع صغيرة من العضو المصاب مع الكيس العدري ووضعت في قناني صغيرة حاوية على المحلول المثبت المستخدم وهو فورمالين الدارئ المتعادل Buffered neutral formalin (Luna، 1968) وحضرت المقاطع النسجية كما جاءت به (الكناني ،٢٠١٣) .

تقانة ملون تنل Tunel stain technique:

استعملت تقانة ملون تنل (Terminal TUNEL deoxy uridine phosphate nick end labiling) للكشف عن عملية الموت الخلوي

المبرمج وتحديد النسبة المئوية للخلايا التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج.واستعملت في هذه الدراسة عدة الاختبار الجاهزة للمقاطع النسجية المطمورة بشمع البارافين وهي من المنتجات التي قدمتها شركة GenScript (USA) ، Cat. No. L00297 وهو يكشف عن الحامض النووي منقوص الاوكسجين المتجزئ في النواة في عملية الموت الخلوي المبرمج عن طريق تعليم Labeled النيوكليوتيدات biotinylated nucleotide في نهاية الحامض النووي `3-OH منقوص الاوكسجين . وباستعمال هذا الاختبار تظهر الانوية التي فيها موت خلوي مبرمج بلون بني داكن.

عزل الحامض النووي المنقوص الاوكسجين من الطبقة المولدة للاكياس العدرية للاغنام والمعز والابقار

عُزِل الحامض النووي منقوص الاوكسجين من الطبقة المولدة للاكياس العدرية من اصل اغنام والمعز والابقار بالعدة الجاهزة DNeasy tissue kit ، التي صنعتها شركة QIAGEN وهذه العدة تستعمل تقانة غشاء هلام السيليكا المتقدمة للتنقية السريعة والكفوءة لعزل الحامض النووي منقوص الاوكسجين الخلوي الكليّ بدون استخلاص للمادة العضوية او ترسب للكحول . تم قياس نقاوة وتركيز عينات الحامض النووي منقوص الاوكسجين المعزول من الطبقة الجرثومية من اصل اغنام ومعز وابقار باستخدام جهاز Nanodrop وذلك عن طريق اضافة قطرة من (DNA Rehydration solution) لتصفير الجهاز ثم اضافة قطرة من DNA فيقوم الجهاز بقياس تركيز ونقاوة الDNA وكانت درجة نقاوة ال DNA للعينات تتراوح بين (٠,٧ – ١,٢ نانوميتر) .

الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز Agarose Gel electrophoresis :

استعملت تقانة الترحيل الكهربائي لعزل الجزيئات بحسب معدل حركتها تحت تأثير المجال الكهربائي واستعملت هذه التقانة لتحديد التجزء او التهتك الذي يحدث في الحامض النووي منقوص الاوكسجين للخلايا المولدة المكونة للاكياس العدرية لكل من الاغنام والمعز والابقار على هلام الأكاروز.

تقانة ملون فولجين Feulgen stain (F) :

تم استخدام ملون فولجين للكشف عن الحامض النووي منقوص الاوكسجين وذلك لملاحظة التغيرات

الحاصلة في الحامض النووي منقوص الاوكسجن وحضرت الشرائح النسجية ولونت وفقا لطريقة (Culling واخرون ، 1985) .

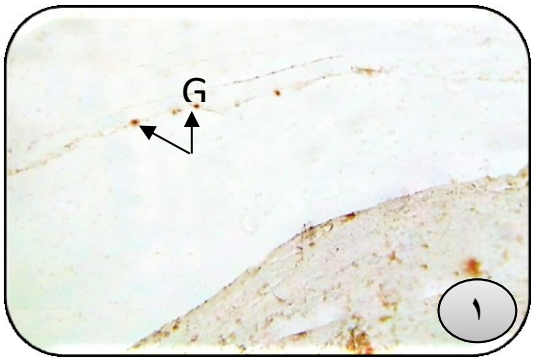
النتائج

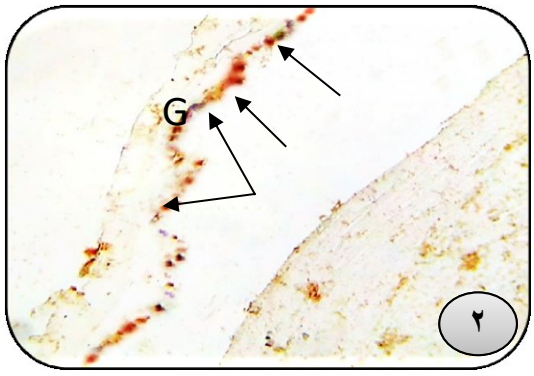
تفاعل تنل الانزيمي :

اظهرت المقاطع النسجية لأكباد الابقار الخمجة بالأكياس العدرية العقيمة والاغنام والمعز الخمجة بالأكياس العدرية الخصبة والخاضعة لاختبار التعليم الانزيمي تنل TUNEL تفاعل ايجابي لملون تنل والذي تم مشاهدته في كل من الأكياس العدرية الخصبة والعقيمة ، فقد اظهرت انوية الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة (الابقار) نسبة اعلى لعملية الموت الخلوي المبرمج (الشكلان ١ و٢) من الأكياس العدرية الخصبة (الاغنام ، المعز) (الشكلان ٣ و ٤)، فقد كانت النسبة المؤية للموت الخلوي المبرمج في الأكياس العدرية العقيمة 43. 3 % ، اما بالنسبة للاكياس العدرية الخصبة فقد كان 2.3 % و 3.2% لكل من الاغنام والمعز على التوالي (جدول ١) .

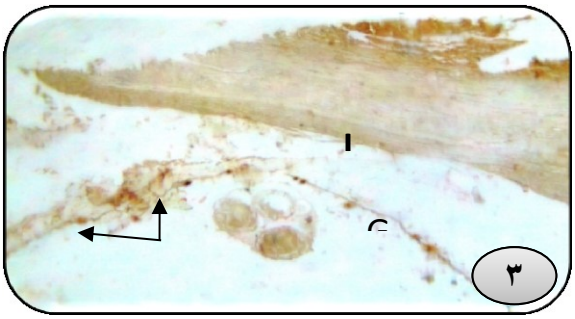
وقد اظهرت هذه الدراسة ان عملية الموت الخلوي المبرمج في الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة تحدث على شكل رقع (patches) فقد لوحظ وجود منطقتين في نفس العينة التي خضعت لتفاعل تنل الانزيمي فهناك منطقة تظهر نسبة عالية من الموت الخلوي المبرمج 43. 3% (الشكل٢) ومنطقة اخرى تظهر نسبة واطئة من الموت الخلوي المبرمج ٢,٠٣ % (الشكل ١) .

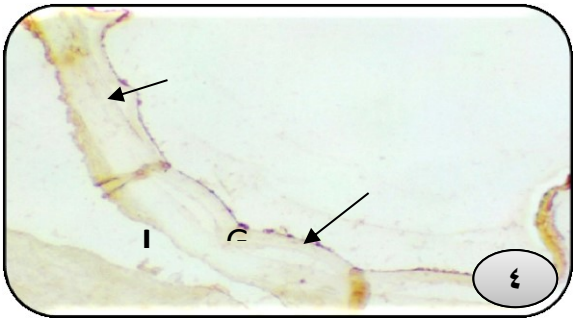
ملحوظة: المناطق الموضحة في الاشكال ١ و٢ تظهر نسبة عالية وواطئة من الموت الخلوي المبرمج للطبقة المولدة نفسها .





الشكل ١ و٢ مقطع نسجي لكبد الابقار المخمجة طبيعيا بالاكياس العدرية يوضح الموت الخلوي المبرمج في الاكياس العدرية العقيمة في الطبقة المولدة (G) للكيس العدري (السهم) حيث يظهر الشكلان رقع الانوية التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج والموجبة لصبغة تنل (ملون تنل قوة تكبير ٤٠٠x) .





الشكل ٣ مقطع نسجي لكبد معز مخمجة طبيعيا بالاكياس العدرية يوضح الموت الخلوي المبرمج (السهم) في الطبقة المولدة (G)، L الطبقة الصفائحية (ملون تنل قوة تكبير x ٤٠٠) .

الشكل ٤ مقطع نسجي لكبد الاغنام مخمجة طبيعيا بالاكياس العدرية يوضح الموت الخلوي المبرمج في الطبقة المولدة للكيس (G) (ملون تنل قوة تكبير 400x)

النسبة المئوية لعدد خلايا الموت الخلوي المبرمج في الاكياس العدرية العقيمة والخصبة :

اوضحت النتائج ان النسبة المئوية للموت الخلوي المبرمج في الاكياس العقيمة (الابقار) باستعمال اختبار التعليم الانزيمي تنل TUNEL في الطبقة المولدة اعلى ممافي الاكياس العدرية الخصبة (الاغنام و المعز) فقد كانت النسبة المؤية للموت الخلوي المبرمج في الاكياس العدرية العقيمة عند مستوى احتمالية $P < ٠,٠٥$ اما النسبة المؤية للموت الخلوي المبرمج في الاكياس العدرية الخصبة فقد كانت النسبة ٣,٢ % ± 2.3% و ٤٣,٣ % ± 16.1 ٦,٣ % في المعز والاغنام، على التوالي (جدول ١) .

الجدول ١ النسبة المئوية لعدد خلايا الموت المبرمج للخلايا الطبيعية % والتي حددت بواسطة اختبار التعليم الانزيمي تنل TUNEL في الطبقة المولدة للكيس العدري لكل من الاغنام والمعز والابقار.

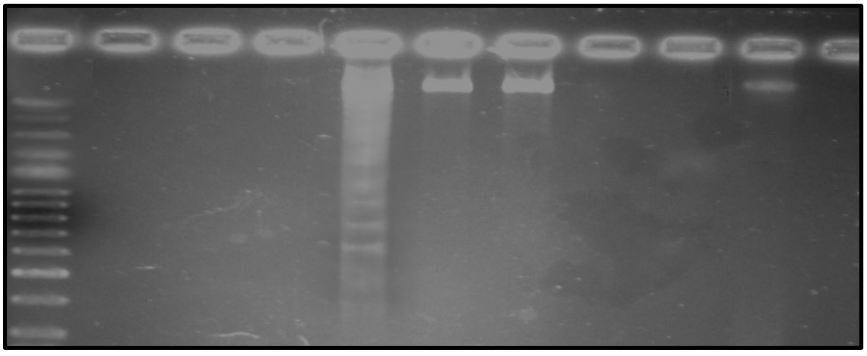
النسبة لعدد الخلايا التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج في الطبقة المولدة للكيس العدري	الاغنام %	المعز %	الابقار %
	٦,٣±5.5a	٣,٢ ± 2.3b	43.3 ± 16.1 c ab

الحروف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ٠,٠٥ > P

ab = وجود فرق معنوي في الابقار عن الاغنام والمعز

تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين في خلايا الطبقة المولدة للاكياس العدرية الخصبة والعقيمة:

من الطرق الاخرى المستعملة لاثبات حدوث الموت الخلوي المبرج في الطبقة المولدة للكيس العدري هي تقدير تجزئة الحامض النووي المنقوص الاوكسجين DNA fragmentation الناتجة عن فعالية انزيمات endonucleases، وتعمل هذه الانزيمات على قطع شريط الحامض النووي منقوص الاوكسجين عند مواقع internucleosomal sites، لذلك ينتج وبانتظام اجزاء من الحامض النووي منقوص الاوكسجين والتي يمكن ملاحظتها بشكل واضح بالترحيل الكهربائي للحامض النووي منقوص الاوكسجين على هلام الاكار، وعند استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين من الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة والخصبة شوهد عملية تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين في الاكياس العدرية العقيمة التي كانت غائبة في الاكياس العدرية الخصبة (شكل ٥).

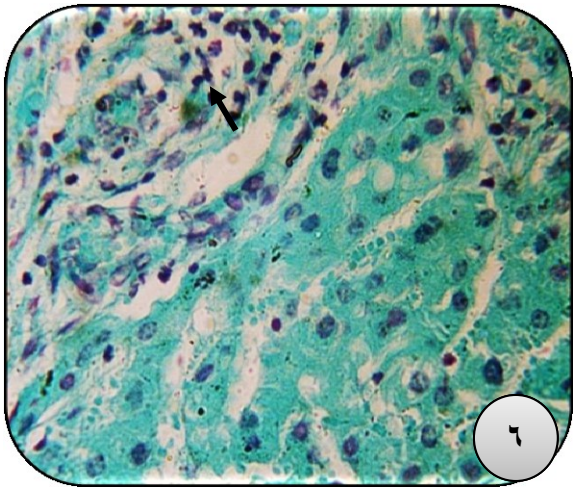


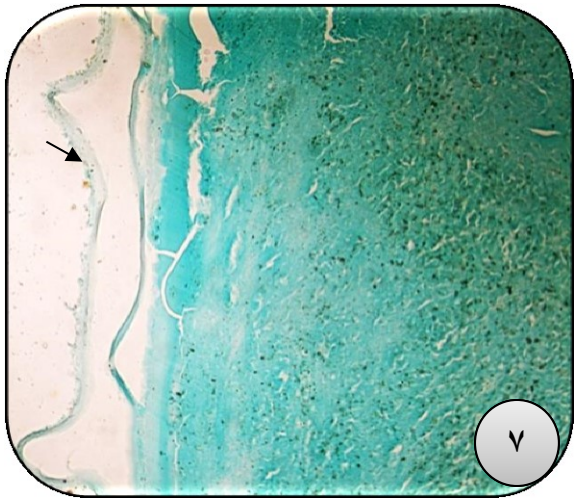
يوضح الشكل ٥ عملية الترحيل الكهربائي لحامض الحامض النووي منقوص الاوكسجين المستخلص من الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة والخصبة M الدليل الحجمي القياسي المتكون من الحامض النووي منقوص الاوكسجين، 1 الحامض النووي منقوص الاوكسجين المستخاص من الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة (الابقار)، 2 و3 الحامض النووي منقوص الاوكسجين المستخاص من الطبقة المولدة للاكياس العدرية الخصبة (الاغنام)، 4 الحامض النووي منقوص الاوكسجين المستخاص من الطبقة المولدة للاكياس العدرية الخصبة (المعز) .

ملون فولجين:

الاغنام:

اظهرت المقاطع النسجية لكبد الاغنام الخمجة بالاكياس العدرية طبيعيا لطفيل المشوكة الحبيبية تفاعلا موجبا لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين لخلايا الكبد فضلا عن التفاعل الموجب لملون فولجين مع الطبقة المولدة للكيس العدري (الاشكال ٦، ٧) .



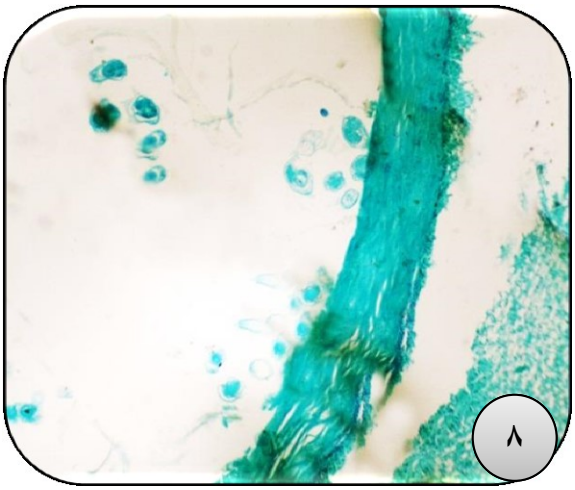


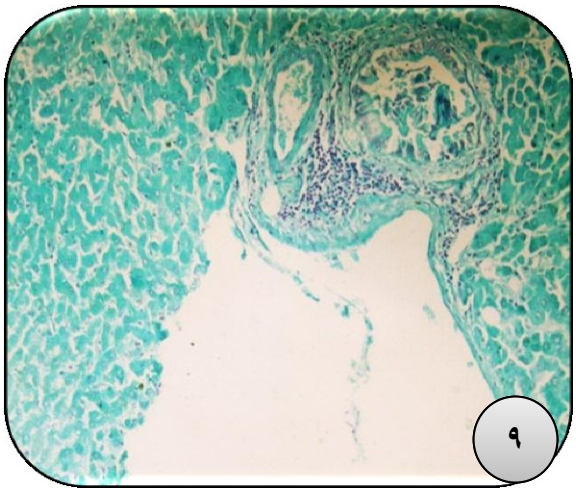
الشكل ٦ مقطع نسجي في كبد اغنام خمجة بالمشوكة الحبيبية يوضح التفاعل الموجب لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين لخلايا الكبد (السهم) (ملون فولجين تكبير X٤٠٠) .

الشكل ٧ مقطع نسجي في كبد اغنام خمجة بالمشوكة الحبيبية يوضح التفاعل الموجب لملون فولجين مع الطبقة المولدة للكيس العدري (السهم) فضلا عن خلايا الكبد (ملون فولجين تكبيرX ١٠٠) .

المعز:

اظهرت المقاطع النسجية لكبد المعز الخمجة طبيعيا بالأكياس العدرية لطفيل المشوكة الحبيبية وجود تفاعل موجب ضعيف لملون فولجين مع مكونات الكيس العدري ومن ضمنها الطبقة المولدة والرويسات الاولية، واظهرت المقاطع النسجية لأكباد المعز التفاعل الموجب الشديد لملون فولجين مع الخلايا الالتهابية المرتشحة حول الكيس العدري والحامض النووي منقوص الاوكسجين لخلايا الكبد (الشكلان ٨،٩



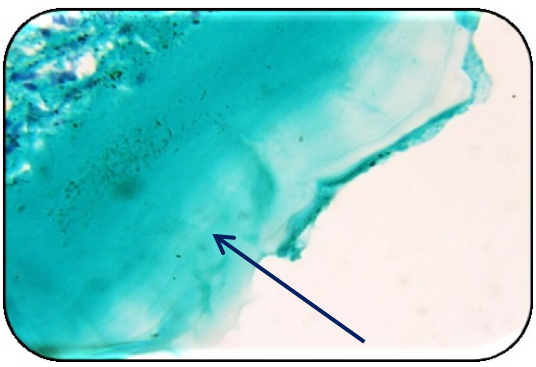


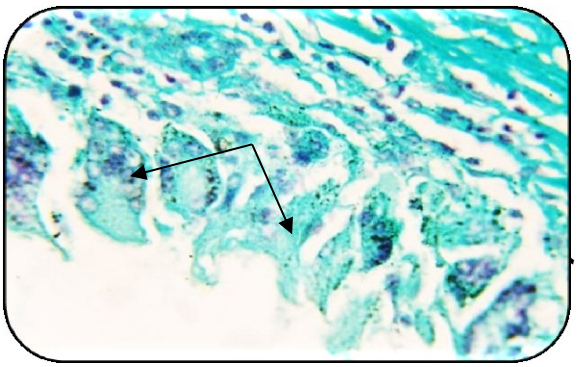
الشكل ٨ مقطع نسجي لكبد معز خمجة طبيعيا بالمشوكة الحبيبية يوضح التفاعل الموجب الضعيف لملون فولجين مع مكونات الكيس العدري بما فيه الطبقة المولدة والرويسات الاولية (ملون فولجين تكبير 100x)

الشكل ٩ مقطع نسجي لكبد معز خمجة طبيعيا بالمشوكة الحبيبية يوضح التفاعل الموجب الشديد لملون فولجين مع مكونات الكيس العدري والخلايا الالتهابية المرتشحة حول الكيس العدري (ملون فولجين تكبير 100x)

الابقار :

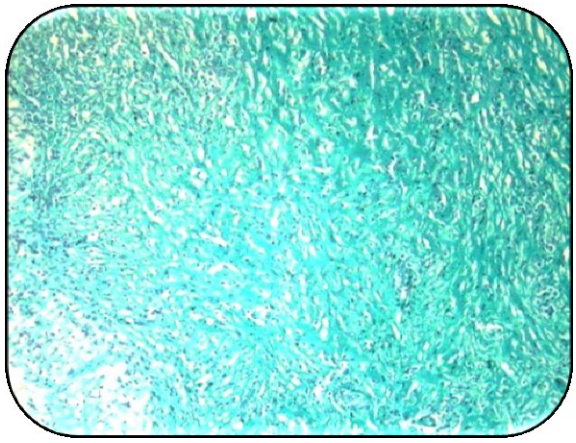
اظهرت المقاطع النسجية لكبد الابقار الخمجة بالأكياس العدرية لطفيل المشوكة الحبيبية هناك تفاعلا موجبا ضعيف لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين للخلايا المكونة للطبقة المولدة وكذلك مع الخلايا الالتهابية في الطبقة البرانية للكيس العدري واظهرت المقاطع النسجية لأكباد الابقار التفاعل الضعيف لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين للخلايا الكبدية (الاشكال ١٠، ١١، ١٢) .





الشكل١٠ مقطع نسجي لكبد ابقار خمجة طبيعيا بالمشوكة الحبيبية يوضح التفاعل الموجب الضعيف لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين في الخلايا المكونة للطبقة المولدة (السهم) (ملون فولجين تكبير 400x)

الشكل ١١ مقطع نسجي لكبد ابقار خمجة طبيعيا بالمشوكة الحبيبية يوضح التفاعل الموجب الضعيف لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين في الخلايا الالتهابية في الطبقة البرانية للكيس العدري (السهم) (ملون فولجين تكبير 400x) .



الشكل ١٢ مقطع نسجي لكبد ابقار خمجة طبيعيا بالمشوكة الحبيبية يوضح التفاعل الموجب المعتدل لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين في الخلايا الكبدية (ملون فولجين تكبير 40x)

المناقشة:

تحديد الاستماتة بواسطة اختبار التعليم الانزيمي تنل TUNEL Detection Kit:

اختبار التعليم الانزيمي تنل من تقانات كيمياء النسج المناعية التي تحدد الاستماتة اذ ظهرت الانوية التي فيها الحامض النووي منقوص الاوكسجين مجزأ وتعاني من موت خلوي مبرمج بلون بني داكن ، ومن عد الخلايا التي حدثت فيها الاستماتة واحتساب النسب المؤية اتضح ان اعلى نسبة لعملية الموت الخلوي المبرمج كانت في الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة في الخمج الطبيعي واكدته اختبارات الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز وتجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين وضحت هذه الدراسة الانحراف العالي high deviation لمعامل الموت الخلوي المبرمج للطبقة المولدة الماخوذة من الاكياس العدرية العقيمة (الابقار) مقارنة لمعامل الموت الخلوي المبرمج للطبقة

المولدة الماخوذة من الاكياس العدرية الخصبة (الاغنام والمعز) .

تحدث الاستماتة بسبب العديد من العوامل منها الاجهاد التاكسدي والتعرض للعوامل الممرضة عبر تراكم الجذور الحرة التي تؤدي الى تلف الحامض النووي منقوص الاوكسجين (Ozawa ، ١٩٩٧) .

وقدمت هذه الدراسة الادلة الكيموحيوية والشكلية على حدوث عملية الاستماتة في الطور اليرقي (الكيس العدري) للمشوكات الحبيبية *E.granulosus* ، ولم يلحظ وجود عملية تغلظ النواة pyknotic nuclei واجسام الاستماتة في الطبقة المولدة للكيس العدري ، ولكن عملية تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين شوهد بشكل واضحاً من خلال اختبار تنل الانزيمي ومن خلال عملية الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز ، ومن المثير للاهتمام ان النسبة المؤية لعملية الموت الخلوي في الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة التي قيست باستعمال تنل الانزيمي اعلى مما هي علية في الطبقة المولدة للاكياس العدرية الخصبة وهذة النتجة تتفق مع ماتوصل اليه Paredes واخرون (٢٠٠٧) .

٣,١,٥ تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين :

ان عملية الاستماتة في الشريطيات مثل المشوكات الحبيبية هي عملية متوقعة الحدوث ، وعلى ما يبدو تحدث هذه العملية بشكل طبيعي في الديدان المسطحة لتجديد الانسجة كما تلعب دورا رئيس في تنظيم عدد الخلايا والقضاء على الخلايا والانسجة غير المرغوب فيها وفي اعادة بناء الانسجة القديمة في الجسم (Paredes واخرون ، ٢٠٠٧ ؛ Wylli ، ٢٠٠٧) .

و من الطرق المستعملة لاثبات حدوث الموت الخلوي المبرج في الطبقة المولدة للكيس العدري هي تقدير تجزئة fragmentation الحامض النووي المنقوص الاوكسجين والناتج عن فعالية انزيمات endonucleases ، وتعمل هذه الانزيمات على قطع شريط الحامض النووي منقوص الاوكسجين عند مواقع internucleosomal sites ، لذلك ينتج وبانتظام اجزاء من الحامض النووي منقوص الاوكسجين التي يمكن ملاحظتها بشكل واضح بالترحيل الكهربائي للحامض النووي منقوص الاوكسجين على هلام الأكاروز (Hunhua واخرون

، ٢٠١١) ، قدمت هذه الدراسة وصفا لعملية الاستماتة في الأكياس العدرية العقيمة والخصبة فعند استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين من الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة والخصبة شوهدت عملية تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين في الأكياس العدرية العقيمة والتي كانت غائبة في الأكياس العدرية الخصبة و تتفق هذه الملحوظة مع النسبة العالية من عملية الاستماتة التي لوحظت في الطبقة المولدة للاكياس العدرية العقيمة عن طريق تفاعل تنل الانزيمي ، وكذلك مع النسبة الواطئة من عملية الاستماتة للانوية في الطبقة المولدة للاكياس العدرية الخصبة، وتثبت هذه النتيجة حدوث عملية الاستماتة بشكل فعال في الأكياس العدرية العقيمة ويعود ذلك الى فعل المؤكسدات (الجذور الحرة) التي اكدتها هذة الدراسة ان نسبتها في الأكياس العقيمة اكثر من الخصبة.

موت الخلايا المبرمج يمكن تشخيصه من عدد من الصفات الشكلية والكيموحيوية التي تميزه عن غيره من أشكال موت الخلية ، وواحدة من هذه الميزات، وهي السمة المميزة لموت الخلايا المبرمج ، هي تجزئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين في الخلايا الى شظايا صغيرة من قبل انزيم اندونكلياز , الذي يعمل على تجزئة المادة الكروماتينية الى nucleosomal units ، التي هي مضاعفات الاوليغمرات حوالي 180 bp، تظهر عند مقارنتها بسلم الحامض النووي القياسي المنقوص الاوكسجين DNA ladder على هلام الأكاروز ، واستعملت هذة الطريقة لتحديد نوع الخلايا التي تعاني الاستماتة (Matassov واخرون ، ٢٠٠٤) ولم يوصف موت الخلية المبرمج في المشوكات الحبيبية في دراسات سابقة ، واظهرت الدراسات ذات الصلة على الشريطيات الطفيلية التي تعود الى جنس *T.solium* ان 0.3Gy من الاشعاع قادر على حث عملية الاستماتة التي اثبتت باستعمال كل من الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز والتفاعل الموجب مع صبغة تنل. ووصف Merchant واخرون (١٩٩٧) توقف نمو الطفيل عند منطقة العنق في المنطقة المولدة عند تعرضه للاشعاع ولذلك اقترح المنطقة المولدة المتواجدة في منطقة العنق هي كانت هدفاً للاشعاع ، وهذا الأكتشاف كان مؤشر كون ان الاشعاع يعمل على تثبيط النمو الطبيعي للطفيل

من الطور اليرقي الى الطور البالغ عن طريق تحفيز الاستماتة (Carneiro–Santos واخرون ، ٢٠٠٠ ؛ Flores–Perez واخرون ، ٢٠٠٣) .

ووصف Hwang واخرون (٢٠٠٤) حدوث عملية الاستماتة في اثناء عملية التجدد في البلاناريا فضلا عن وجود ثلاثة جينات مماثلة لجينات انزيمات الكاسبيسس تدعى بDjclg ،ان عملية الاستماتة تؤدي دوراً مهماً في المشوكات الحبيبية ، وبصورة رئيسة في تنظيم انتاج الرويسات الاولية في الطبقة المولدة للاكياس العدرية ، لذلك يعد هذا النوع من الاستماتة الآلية الخلوية المسؤولة عن عقم الاكياس العدرية ، التي تلحظ في عدد من اكلات الاعشاب في الانسان كذلك ففي دراسات سابقة اثبت كل من الباحثون (Zhang واخرون ، ٢٠٠٣ ؛ Yildiz و Gurcan ، ٢٠٠٣ ؛ Tato واخرون ، ٢٠٠٤) ان قطاعات معينة للطبقة المولدة تظهر زيادة اولية في تكاثر الخلايا التي تتطور فيما بعد الى براعم متطاولة و ثم الى رويسات اولية ، وتكون هذه القطاعات من الخلايا المتكاثرة على شكل رقع منتشرة في الطبقة المولدة للاكياس العدرية الخصبة (Galindo و اخرون ، ٢٠٠٣) لذلك من الممكن الية الاستماتة أثيرت فقط في بقع نوى المتكاثرة وبالتالي ادت الى توقف عملية التبرعم ومن ثم تكوين الاكياس العدرية العقيمة . اخيرا الية الاستماتة من الممكن ان يكون لها صلة في الاستجابة الفعالة للمضيف ضد الطفيل

أظهرت الدراسة التي اجراها Spotin واخرون (٢٠١٢) المستوى المعنوي لتعبير TRAIL وفاس–L ان التعبير أعلى في الطبقة المولد للكيس العقيم مما في الطبقة المولدة للكيس العدري والأنسجة الطبيعية للمضيف واستنتج Spotin وجماعته ان انسجة المضيف تعمل على تحفيز عملية الاستماتة في الطبقة المولدة للاكياس الخصبة هي على الارجح احدى الاليات المسؤولة عن عقم الكيس في الاشخاص المصابين بداء الأكياس العدرية .

تفاعل فولجين Feulgen reaction :

تفاعل فولجين من ملونات كيمياء النسج التي تستعمل في تشخيص العديد من الامراض ويعمل على

صبغ الحامض النووي منقوص الاوكسجين بالاعتماد على ردود فعل كاشف شيف مع مجموعة الالديهايد المتولدة في جزيئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين بواسطة التحلل المائي للحامض النووي منقوص الاوكسجين بوجود حامض الهيدروكلوريك HCL عند درجة حرارة ٦٠ م° و تتناسب كثافة الاصطباغ مع كثافة تركيز الحامض النووي منقوص الاوكسجين (Chieco و Derenzini ، ١٩٩٩) و استعمل تفاعل فولجين في هذه الدراسة لاثبات الآفات الامرضية في خلايا الكبد الخمجة بطفيل المشوكة الحبيبية في كل من الاغنام والمعز والابقار وذلك لشرح التغيرات التي تحدث في الحامض النووي منقوص الاوكسجين في حالة الخمج بالطفيل ، واظهرت المقاطع النسجية لكبد الاغنام الخمجة بالاكياس العدرية لطفيل المشوكة الحبيبية تفاعلا موجبا لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين لخلايا الكبد ، فضلا عن التفاعل الموجب لملون فولجين مع الطبقة المولدة للكيس العدري وكشفت نتائج الفحص النسجي لكبد الاغنام ان هناك تفاعلا موجبا شديدا بين ملون فولجين و الحامض النووي منقوص الاوكسجين للخلايا الظهارية المبطنة للقنيوات الصفراوية فضلا عن التفاعل الموجب لملون فولجين الموجب الشديد مع مكونات الكيس العدري ومن ضمنها الطبقة المولدة والرويسات الاولية ، واظهرت المقاطع النسجية لأكباد المعز التفاعل الموجب الشديد لملون فولجين مع الخلايا الالتهابية المرتشحة حول الكيس العدري والحامض النووي منقوص الاوكسجين لخلايا الكبد . وفي الابقار اظهرت المقاطع النسجية لكبد الابقار الخمجة بالأكياس العدرية لطفيل المشوكة الحبيبية تفاعلا موجبا ضعيفاً لملون فولجين مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين للخلايا المكونة للطبقة المولدة وكذلك مع الخلايا الالتهابية في الطبقة البرانية للكيس العدري . يشير تفاعل فولجين الضعيف مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين المتواجد في خلايا الطبقة المولدة للكيس العدري والخلايا الكبدية للابقار الخمجة بداء بالمشوكات الحبيبية الى الانخفاض الشديد في كمية الحامض النووي والتي يمكن تفسيرها بتأثير سموم الطفيل الذي يؤثر في تخليق البروتين في الخلايا المضيفة ، ويفسر هذا الانخفاض من محتويات الحامض النووي منقوص الاوكسجين في هذه الدراسة إلى تدهور المحتويات

النووية فضلا عن الضرر في نوى الخلايا المضيفة الخمجة بالطفيل وهذا يتفق مع ماتوصل الية Sarhan واخرون (٢٠١٣) الذين اشاروا الى تفاعل فولجين الضعيف في أكباد الفئران المصابة بداء المقوسات كان بسبب الانخفاض في كمية الحامض النووي منقوص الاوكسجين في خلايا المضيف الناتج عن المواد السامة التي ينتجها الطفيل .

واشارت دراسات سابقة الى أن الانخفاض في الحامض النووي يمكن أن يعزا إلى اختلال اغشية الاجسام الحالة تحت تأثير المواد السامة المختلفة مما يؤدي إلى تحرير الانزيمات الحالة (DNase & RNase) الخاصة بالحامض النووي منقوص الاوكسجين وRNA في السيتوبلازم مما أدى إلى تحلل ملحوظ وانحلال المواد المستهدفة (Saber وآخرون2004) ، ويؤدي التعرض الطويل لطفيل المشوكة الحبيبية الى زيادة المستوى الكلي للجذور الحرة التي تعمل على تلف الجزيئات الحيوية داخل الخلايا ومن ضمنها الحامض النووي منقوص الاوكسجين ، الذي يكون مسؤولاً عن التفاعل الضعيف لملون فولجي

المصادر

الكناني ، انتصار رحيم ؛ علي ، فواز فاضل ؛ عبدالله ، دنيا عبد الرزاق (٢٠١١). دراسة وبائية لداء الاكياس العدرية المشخصة في محافضة نينوى ، مجلة البحوث الصحية واالطبية ، بغداد : ٤٩- ٥٥ .

الكناني، انتصار رحيم عبيد (2013) . تقنات في علم الامراض النسجي، كلية الطب-البيطري، جامعة الموصل ، العلا للطباعة والنشر ، الطبعةالاولى : 105-110.

Carneiro-Santos, P.; Martins-Filho, O.; ves-Oliveira, L.F.; Silveira, A.M.; Cura-Filho, P. ;Vana, I.R.; Wilson, R.A. and Correa-Oliveira, R. (2000). Apoptosis mechanism of immunoregulation during human *Schistosomiasis mansoni*. Parasite Immunol. ; 22:267-277.

Chieco, P. and Derenzini, M.(1999) .The Feulgen reaction 75 year. Son Cell Biol. ,11(5):345-58.

Hwang, J.S. ; Kobayashi, C.,Agata, K.;Ikeo, K. and Gojobori; T. (2004). Detection of apoptosis during planarian regeneration by the expression of apoptosis –related genes and TUNEL assay .Gene, 333:15-25.

Mahmoud, R.; Sharif, M.; Abdullah, R. and Mhommad, R. (2008). Comparison of some electrolytes in hydatid cyst fluid and serum of liver hydatidosis of sheep . Jundish. J. Microbiol.; 1(1): 10-14.

Matassov, D. ; Kagan, T.; Leblanc, J.; Sikorska, M. and Zakeri, Z.(2004). Measurement of apoptosis by DNA fragmentation. Methods Mol. Biol. ;282:1-17.

McManus ,D.P.; Zhang, W.;Li ,J. and Bartley, P.B.(2003). Echinococcosis. Lancet, 362:1295–1304.

McManus ,D.P.; Zhang, W.;Li ,J. and Bartley, P.B.(2003). Echinococcosis. Lancet, 362:1295–1304.

Ozawa , T. (1997) . Oxidative Damage and Fragmentation of Mitochondrial DNA in Cellular Apoptosis . Biosci.. Rep., (17) 237-250.

Paredes, R.; Jimenez, V. ; Cabrera, G. ; Iraguen, D. and Galanti, N.(2007). Aopotosis as

Culling, C. F. A. ; Allisocn, R. T. and Barr, W. T. (1985) . Cellular pathology technique. 4th end . Mid – Country Press , London.

Flores-Perez , I. ; Fragoso, G.G. and Sciutto, E. (2003). Apoptosis induced by gamma irradiation of *Taenia solium* metacestodes. Parasitol. Res. , 90-203-208.

Galindo, M. ;Paredes, R. ; Marchant, C.; Mine, V. and Galanti , N. (2003). Regionalization of DNA and protein synthesis in developing stages of parasitic platyhelimnth *Echinococcus granulosus* , J. Cell. Biochem., 90:294-303.

Gonzalo, C.;Mari A. C.;Alessandra L. M.;Carolina C. N.;Juana, O. ; Hellman, Ulf.; Arnaldo Z. and Norbel G. (2008). DNA Damage, RAD9 and Fertility/Infertility of *Echinococcus granulosus* Hydatid Cysts.J. Cell. Physiol.216 (2) :498-506.

Hunhua, H.; Jinfeng, K., Rong, C.,Wulamu, M.,Guizhen W. and Wumei Y. (2011). Drug induced apoptosis of *Echinococcus granulosus protoscoleces.* Parasitol Res. 109(2): 453-9.

Possible Mechanism of Infertility in *Echinococcus granulosus* Hydatid cysts. J. Cell. Biochem., 100:1200-1209

Saber, A.S; Hany, A.A and Maha, E.S.(2004) . Exploring Hepatotoxicity of Benomyl: Histological and Histochemical Study on Albino Rats. J Med. Sci.,4(1) 77-83.

Samad Mosaddeghi, K.; Hengameh, K.; Amorllah - Bayat,H. and Zahra, M. K.(2014). Capsulorrhaphy in the management of liver hydatid cyst . Ann.. Hepatol. ; 13 (3) : 378-383.

Sarhan, O.M.; Osman , A.M.A. and Abdel-Aziz, A. M. (2013). hepatic histochemical alteration induced by ulraviolet-exposed *Toxoplasma gondii* in murine model. Egypt.J.Zool,53:263-282.

Spotin, A.; Mokhtari A.M.; Sankian, M.; Varasteh, A. and Vahedi, F. S. (2012). Expresstion of apoptosis inducing-ligands,TRAIL-in hydatid cyst germinal layer and normal tissue. Ardabil University of Medical Sciences, (43) ;7-16.

Tato, P.;Fernandez, A.M.; Solano, S.; Borgonio, V.;Garridio, E., Sepulveda, J. and Molinari, J.L. (2004) . A cysteine protease from *Taenia solium* metacestodes induced apoptosis in human CD4+ T-cells . Parasitol .Res., 92:197-204.

World Health Organization.(2014) . Echinococcosis Fact sheet N°377 Retrieved From Internet 19 March 2014.

Wylli ,A.H (2007). Agency for science , Tochnology and research . Lecture Abstract .Archived from the original on 2007 – 11-13.

Wylli ,A.H and Arends,M.J. (2014) . Apoptosis in health and diease . Oxford Textbook of Medicine , 5th.ed.,Oxford.

Yildiz ,K. and Gurcan, S.(2003) . Prevalence of hydatidosis and fertility of hydatid cyst in sheep in Kirikkale ,Turkey. Acta Vet. Hung., 52:181-187.

Zhang, W. ; Li, J. and McManus, D.P. (2003) .Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. Clin. Microb., 16(1):18-36.

دراسة بيئية وبكتريولوجية للبكتريا المكونة للاغشية الحيوية في بعض محطات الاسالة

م.م. رنى وعد الله يونس

أ.م .د. ياسين حسين عويد

أ.د. كركز محمد ثلج

الخلاصة:

تمت دراسة الصفات الفيزيائية والكيميائية لمياه نهر دجلة في مناطق تمثلت في مجرى النهر قرب محطات التصفية في الموصل والقيارة وكذلك ماء المحطات نفسها، وبعد التصفية في البيوت، فضلا عن عزل وتشخيص الاحياء المجهرية الملوثة ، تبين من النتائج أن درجة الحرارة للمياه في النهر ومحطات التصفية وفي البيوت كانت متشابهة في اماكن اخذ العينات جميعها وكان اكثرها في فصل الصيف ماعدا مدينة الموصل وفي فصل الصيف إذ كان انخفاضها أكثر من بقية فصول السنة. اما التوصيلية فكانت اقلها في فصل الصيف وتدرجت لتكون أكثرها ارتفاعا في فصل الربيع إذ تراوحت بين ٤١٠-٧٠٠ µs/cm . وكانت قيم العكورة أقلها في فصل الصيف في عينات المياه واكثرها في فصل الشتاء إذ كانت في مدينتي الموصل والقيارة ١٣,٣ و ١٠,٧N.T.U على التوالي.ولم تختلف المواد الصلبة الكلية اعتمادا على المناطق ولكنها كانت أقل مايكون في فصل الصيف وارتفعت في الفصول الاخرى ولا سيما في فصلي الربيع والشتاء، ولوحظ ان الدالة الحامضية لم تتغير في جميع حالات الدراسة ، وتراوحت قيم الأوكسجين المذاب بين (٣,٥-٧,٣١) mg/L حيث أظهرت ارتفاعاً في فصل الشتاء وانخفاضاً في فصل الصيف.

كما كشف عن ستة عشر نوع بكتيري من الأحياء الدقيقة المتضمنة الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام وتم تحديد خمسة أنواع مهيمنة من كلا النوعين وتبين أن النوع السائد هو *Bacillus cereus* والأقل سيادة هو *Salmonella paratyphi* ،وتضمنت الأنواع البكتيرية المعزولة البكتريا المعوية والمكورات العنقودية والمكونة للسبورات وكانت أعدادها الكلية هي الأكثر في عينات الماء المأخوذة في فصلي الشتاء والربيع وفي مدينة القيارة وصلت الى ١٩٣٧ (و ت م/ مل) من البكتريا المعوية في فصل الشتاء

abstract

The physical and chemical characteristics of the Tigris River water were studied in the areas of the riverbed near the filtering stations in Mosul and Qayyarah as well as the water of the plants themselves, and after the filtering in the houses, as well as the isolation and diagnosis of contaminated microorganisms, the results show that the temperature of the water in the river and the filtering stations. The houses were similar in all sampling places and most of them were in summer except Mosul city and in summer it was more than the rest of the year. Conductivity was the lowest in the summer and progressed to be the highest in the spring, ranging from 410-700 □s / cm. Turbidity values were lowest in summer in water samples and most in winter, in Mosul and Qayyarah 13.3 and 10.7NTU respectively. Total solids did not differ depending on regions but were lower in summer and rose in other seasons, especially in the two seasons. The values of dissolved oxygen ranged between (3.5-7.31) mg / L where it showed an increase in winter and a decrease in summer.

Sixteen dominant species of both species were identified, Bacillus cereus and less dominant is Salmonella paratyphi. Is the most in the water samples taken in the winter and spring and in the city of Qayyarah reached 1937 (and mt / ml) of intestinal bacteria in the winter

المقدمة:

يغطي الماء ٧٠% من مساحة الكرة الأرضية ويحتل بما يقدر 1.38×10^{9} كيلومتر مكعب، معظم الماء يكون على شكل محيطات والتي تقدر بـ ٩٧% من المياه العالمية ويشكل الباقي ٣% مياه عذبة (Sigee, 2005)، ويعد الماء من الحاجات الأساسية للإنسان، وإن استهلاك المياه من أجل الفعاليات المختلفة يعتمد على الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية (Tomar, 1999). ويعد التزود الكافي من مياه الشرب الآمنة أحد المتطلبات الأساسية لحياة صحية، إذ أن الأمراض المتعلقة بمياه الشرب تبقى سبباً رئيساً في وفيات الكثير من السكان في مناطق العالم وبشكل خاص الأطفال (Fawell and Nieuwenhuijsen, 2003) إذ أن مياه الشرب غير الآمنة تسبب ١,٧ مليون حالة وفاة في كل عام أي ما يعادل ٣,١% من مجموع الوفيات حول العالم (Ashbolt, 2004). إن الماء المستخدم للاستهلاك البشري يجب أن يكون خالياً من الأنواع البكتيرية ذات المخاطر الصحية ووجود الأغشية الحيوية في أنظمة توزيع

مياه الشرب تلعب دوراً في وجود امراضية كامنة في تزويد مياه الشرب، فضلاً عن أنها تعد أساس الكتل في شبكة توزيع المياه (September *et al.*, 2007)، فالمياه غير المعاملة تحتوي العديد من البكتريا والابتدائيات والفطريات والفيروسات، بعض منها تدخل إلى مياه الشرب وتكون ثابتة في الأغشية الحيوية التي تتكون على السطوح الداخلية في أنظمة توزيع مياه الشرب. (Juhna *et al.*, 2007) ومن الأمور الناجمة عنها هي الأمراض المعوية مثل الكوليرا، الحمى التيفوئيدية وعصيات الديزنتري التي غالباً ما تصبح أوبئة (Benson, 2002).

جمع العينات:

بعد أن جمعت العينات المائية في قناني زجاجية حجم ٢٥٠مل ذات غطاء محكم ومعقمة بجهاز المؤصدة، تم استخدام جهاز Millipore filter وهذه الطريقة تعطي عد مباشر لاشباه القولونيات الكلية واشباه القولونيات المتطرفة للحرارة في الماء وتتميز بانها دقيقة وتعطي نتيجة في وقت قليل وترشح أحجام كبيرة من العينات (Tomar,1999).

تم عزل الأنواع البكتيرية الملوثة لعينات الماء بعد صب كمية ٢٠ مل من كل عينة، واستخدم معه أوراق ترشيح خاصة بالجهاز بقطر µm ٠,٢٢ بعد أن تم تعقيم الجهاز بالمؤصدة بعد تغطية الجهاز كاملا بالسيلوفين نقلت أوراق الترشيح إلى الأوساط الزرعية الملائمة لكل نوع بكتيري باستخدام الملقط المعقم بالتلهيب الكحولي، ثم حضنت عند الدرجات الحرارية الملائمة لكل منها وكما في (Benson, 2002).

العزل والتشخيص:

الاختبارات الشكلية والفحص المجهري:

لوحظت المستعمرات على الأوساط المستخدمة للعزل وسجلت أشكالها وأقطارها وألوانها، حضرت مسحات من البكتريا المعزولة وصبغت بصبغة كرام وفحصت مجهرياً باستخدام العدسة الزيتية لملاحظة شكل الخلايا وطبيعة الأصباغ.

الصفات الزرعية:

درست صفات العزلات على الأوساط الزرعية المستعملة ولوحظت قابليتها على النمو عند درجات حرارية مختلفة ومستوى من الأس الهيدروجيني المختلف، واجريت لها الاختبارات الكيموحيوية.

النتائج والمناقشة:

١- درجة الحرارة:

تبين من نتائج الجدول (١) ان معدلات درجة الحرارة للمياه في النهر وفي محطات الإسالة وفي البيوت قد تشابهت في مناطق الدراسة في كل من مدن الموصل والقيارة وتراوح معدلها في فصل الصيف بين ٢٢,٩-٢٣,٩ °م ماعدا درجة حرارة المياه في البيوت في مدينة الموصل التي كانت عند معدل ٢٢°م التي يمكن ان تعود إلى نوعية شبكات المياه في المدينة وعمق الأنابيب في الأرض. أما في فصل الخريف فقد انخفضت الحرارة لتكون عند معدل بين ٢١-٢٢,٨°م في جميع المناطق قيد الدراسة وكان اشد انخفاض لها في مناطق الدراسة لتكون بين ١٣-١٣,٢،١٤,٢-١٤,٩ ،١٣,٢-١٤,٦ و ١٣-١٥,٢°م على التوالي في فصل الشتاء في كل من الموصل، القيارة تبعها الارتفاع في درجة الحرارة ليتراوح بين ١٨,٥-٢٠,٥ °م في فصل الربيع، تبين من النتائج تدرج الانخفاض في درجة الحرارة مع التغير في فصول السنة من الصيف إلى الربيع والتي تعد حالة طبيعية ومتوافقة مع الدراسات في هذا المجال (السنجري ٢٠٠١؛السامرائي،٢٠٠٩)، كذلك لوحظ عدم الاختلاف الواضح في درجات الحرارة بين المدن المنتخبة للدراسة، الا في حالة مدينة الموصل وفي فصل الصيف إذ كان انخفاضها أكثر من بقية فصول السنة. إن درجة حرارة المياه هي من أكثر عوامل السيطرة وتنظيم النمو الميكروبي سواء كانت بصورة مباشرة او غير مباشرة(Lechevallier, 1989)، اذ انها تؤثر في نوع النباتات الموجودة ونسبة النمو الميكروبي الذي ينخفض مع زيادة درجة الحرارة عن المثلى منها نتيجة تحطيم الإنزيمات، كذلك تؤثر على كفاءة عمل المعقمات او المطهرات سواء في ارتفاعها او انخفاضها (ولكنسون،١٩٧٥؛EPA, 1989) .إذ أن الجراثيم الانتهازية تتمكن من البقاء فترة أطول في الماء البارد ،لأن العمليات الأيضية تكون أبطأ (Atlas and Bartha,1993) وتؤثر على قدرة الماء في حمل الغازات المذابة خاصة الأوكسجين ،حيث تقل نسبته مع زيادة درجة الحرارة في الماء (Kumar, 2012). وان هناك فعالية ميكروبية متميزة في درجة حرارة ١٥°م (WHO, 2003)، إذ أن وجود أشباه القولونيات يكون مميزاً عند هذهِ الدرجة وهذا يتطابق مع ما تم عزله في هذهِ الدراسة خلال فصل الشتاء، حيث تم عزل اجناس من أشباه القولونيات وهي *Citrobacter* و*Proteus* و*Providencia* و*E. Coli*.

جدول (١) قيم درجات الحرارة لعينات الماء المأخوذة من مواقع محطات تصفية مختلفة على نهر دجلة

فترة سحب العينات / المواقع		قيم درجات الحرارة عند فصول السنة المختلفة (° م)			
		الصيف	الخريف	الشتاء	الربيع
موصل	١	٢٣,٧	٢١	١٣	١٩
	٢	٢٣,٧	٢١	١٣,٥	١٩
	٣	٢٢	٢١	١٤,٢	١٨,٥
قيارة	١	٢٣,٥	٢٢	١٤,٢	٢٠
	٢	٢٣,٥	٢٢	١٣,٢	٢٠
	٣	٢٢,٩	٢٢	١٤,٩	٢٠

١= عينة ماء النهر٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت.

2- التوصيلية:

تعرف بانها عبارة عن قياس قابلية الماء لتوصيل التيار الكهربائي (Sigee, 2005)، وتعتمد هذهِ القيمة على تركيز وتكافؤ الأيونات الذائبة الموجودة في الماء وعلى درجة حرارة الماء، يوضح الجدول (٢) قيم التوصيلية الكهربائية حسب فصول السنة لمناطق الدراسة المختارة التي لوحظ ان هذه القيم كانت اقلها في فصل الصيف وتقاربت في عينات الماء الماخوذه من كل من مدن الموصل والقيارة التي تراوحت عندمعدلات ٣٢٠-٣٥٣µs/ ازدادت قيم التوصيلية في فصل الخريف وكانت اقلها في مدينة الموصل عند ٣٥٠-٣٦٢µs/cm . تزداد كمية الأملاح في الشتاء، بسبب السيول الواردة نتيجة لتساقط الأمطار حيث أن السيول تذيب الأملاح وفي حالة عدم وجود الأمطار فإن مياه البزل والارتشاح تذيب هذهِ الأملاح وهذا يوضح سبب ازدياد قيم التوصيلية في المواقع قيد الدراسة وهذا

يتطابق مع الدراسة التي قام بها (السنجري ،٢٠٠١; البدري،٢٠١٢) .

جدول(٢): قيم التوصيلية µs/cm لعينات الماء المأخوذة من مواقع محطات تصفية مختلفة على نهر دجلة

فترة سحب العينات / المواقع		قيم التوصيلية µs/cm لعينات الماء من محطات تصفية وفصول مختلفة			
		الصيف	الخريف	الشتاء	الربيع
موصل	١	353	362	425	700
	٢	٣٤٨	٣٥١	412	450
	٣	٣٤٠	٣٥٠	415	٥٤٠
قيارة	١	٣٥٣	٤٠٤	497	٥٤٠
	٢	٣٤٥	٤٢٥	٤٦٠	٤٣٢
	٣	٣٥٠	٤٠٠	٤٠٠	٤١٠

١= عينة ماء النهر٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت

-

3العكارة:

تنتج العكارة عن وجود مواد صلبة عالقة في الماء وهي إحدى الدلالات على حالة الماء وإمكانية استخدامه للشرب من قبل الإنسان إذ أن قيمتها تزداد مع زيادة حمولة الماء من المواد العضوية الملوثة، وهناك حاجة دائمة إلى جعلها بمستوٍ منخفض من خلال إزالة الجزيئات العالقة ومعها العوامل الممرضة، إن مستوى العكارة يجب أن يكون عندً 1.0NTU أو أقل، إذ إن هذهِ المواد العالقة سوف تحمي الكائنات الدقيقة مثل البكتريا والفيروسات

والابتدائيات من تأثير المعقمات (Smethrst, 1988; WHO, (1984). تبين من النتائج في الجدول (٣)ان قيم العكورة كانت اقلها في فصل الصيف في عينات المياه التي جمعت من جميع مناطق الدراسة وكانت كفاءة محطات التصفية واضحة في تقليلها إلى الحدود الدنيا لها التي تجعل من الماء ممكنا للاستخدام. ان قيم العكورة قد ازدادت في فصلي الشتاء والربيع في مدينتي الموصل والقيارة إلى قيم ١٣,٣ و ١٠,٧ على التوالي والتي يمكن ان تكون بسبب موسم الأمطار في تلك المدينتين في هذا الفصل الذي يسبب في زيادة حمولة الماء من الغرين ،وبالتالي ارتفاع قيمة العكارة عينات الماء المأخوذة

جدول (٣): قيم العكارة لعينات الماء المأخوذة من مواقع محطات تصفية مختلفة على نهر دجلة

فترة سحب العينات / المواقع		قيم العكورة بوحدات NTUلعينات الماء حسب الفصول			
		الصيف	الخريف	الشتاء	الربيع
موصل	١	٥	٥,٨	١٣,٣	٩,٠
	٢	٢,٣	٥.٢	٦,٢	٢,٨
	٣	٢,٣	٢.٢	٦,٢	٢,٧
القيارة	١	٥,٥	٤	١٠,٧	١٠
	٢	٤,٨	٣.٢	٨,٥	٤,٥
	٣	٤,٦	٢	٨	٤

١= عينة ماء النهر٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت

٤ - المواد الصلبة الذائبة T.D.S:

تعد قيم المواد الصلبة الذائبة متوافقة مع قيم العكورة والتي يكون وجودها سببا في زيادة العكورة في الماء . وقد بينت النتائج الحالية هذا التوافق من خلال كونها في اقل ما يكون في فصل الصيف وارتفاعها في الشتاء والربيع والخريف، الذي يمكن ان يكون بسبب سقوط الأمطار وكذلك حصول الفيضانات التي يمكن ان تجرف المواد الذائبة معها مسببة زيادتها في عينات الماء المأخوذة جدول(٤) . إن المواد الموجودة بالماء في شكلها الذائب مكونة من مواد عضوية وأملاح لا عضوية وهي تتمثل في المواد الصلبة الكلية، إن المواد الصلبة اللاعضوية تسهم فيها بشكل سائد ستة أيونات رئيسة وهي الكالسيوم، المغنيسيوم، الصوديوم، الكاربون الحيوي، الكلور والكبريت (Thirumalini and Joseph, 2009) .

تؤدي المواد الصلبة الذائبة إلى تأثيرات سلبية على التفاعلات الوظيفية للمستهلك وقد حُددت نسبة المواد الصلبة الذائبة التي توصف لمياه الشرب بـ ٥٠٠ mg/L والماء الذي تكون فيه المواد الصلبة الذائبة قليلة يكون خالياً من الطعم، كذلك فإن القيمة العالية من المواد الصلبة الذائبة تكون مترافقة مع التآكل في الأنابيب وتم تقسيم الماء اعتماداً على تركيز المادة الصلبة الذائبة فيه (Bruvold and Daniels, 1990) .

الجدول(٤):قيم المواد الصلبة T.D.S الذائبة لعينات الماء المأخوذة من مواقع محطات تصفية مختلفة على نهر دجلة

فترة سحب العينات / المواقع		قيم المواد الصلبة الذائبة بوحدات mg/L حسب الفصول			
		الصيف	الخريف	الشتاء	الربيع
موصل	١	٢٢٠	٢٣٢	٢٦٨	٢٧٦
	٢	٢١٨	٢٤٦	٢٥٨	٢٧٠

	٣	٢١٠	٢١٥	٢٠٠	٢٥٠
قيارة	١	٢٢٢	٢٩٨	٢٣٥	٣٢٨
	٢	٢٢٠	٢٧٠	٢٠٥	٣١٨
		٢٠٥	٢٢٠	٢٠٠	٣٢٨

١= عينة ماء النهر٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت

٥

– الدالة الحامضية :

إن الرقم الهيدروجيني هو قياس الحامضية أو القاعدية الطبيعية في المحلول، (Kumar and Puri, 2012). تعد قيم الدالة الحامضية ذات علاقة وثيقة مع نوعية المايكروبات التي يمكن ان تستوطن في المادة الموجودة فيها، ومن النتائج في الجدول (٥) تبين ان الدالة الحامضية لعينات الماء في مناطق الدراسة كانت عند(٧,٢–٨,٢٨) وفي جميع فصول السنة مما يشير إلى ملاءمة الماء في جميع حالاته لنمو معظم أنواع االبكتريا (Prescott, 2010) ، إن انخفاض قيمة الـ pH يؤدي إلى رفع مستوى التآكل للمعادن (Stone, 1987)، وكذلك يكون تأثيره سلبيا على صحة المستهلكين من البشر، فعندما يكون pH للماء أقل من ٤ فانه سوف يسبب الاحمرار والحساسية للعين ،كذلك يكون الرقم الهيدروجيني مرتبطاً بكفاءة عمل المعقمات، إذ إن الدالة الحامضية يجب أن تكون أقل من ٨ من أجل كفاءة التعقيم بالكلور وإذا كان الرقم الهيدروجيني منخفضاً دون الحد الأدنى فإنهُ سوف يؤدي إلى تآكل الأنابيب (WHO, 2003; WHO, 2008). وتقوم البكتيريا بتحليل المادة العضوية لتنتج غاز كبريتيد الهيدروجين الذي يتحلل هوائيا الذي يؤدي الى خفض الدالة الحامضية (مصطفى ومعاذ،٢٠٠٧).

الجدول (٥): قيم الدالة الحامضية لعينات الماء المأخوذة من مواقع محطات تصفية مختلفة على نهر دجلة

فترة سحب العينات / المواقع		قيم الدالة الحامضية حسب الفصول			
		الصيف	الخريف	الشتاء	الربيع
موصل	١	٨	٧,٩٨	٧,٨٦	٨,٠٦
	٢	٧,٨٤	٧,٨٧	٧,٧٤	٧,٨٥
	٣	٧,٨٤	٧,٨٧	٧,٤	٧,٨٥
قيارة	١	٨,٢	٨,٢٨	٧,٦٦	٨,١٦
	٢	٨,٠	٧,٨٧	٧,٠٢	٨,٢
	٣	٨,٢	٧,٨٠	٧,١٢	٨,٢

١= عينة ماء النهر ٢= عينة ماء محطة التصفية ٣=عينة ماء البيوت

٦- قيم الكلور:

تعد قيم الكلور من الأهمية أكثر من جميع المعايير في عينات الماء، إذ أن الكلور يضاف لغرض قتل المايكروبات الملوثة للماء، أن فاعليته تكون من خلال التأثير على الجدار الخلوي للأحياء المجهرية، وان زيادة تركيزه في الماء يؤدي إلى حصول تأثيرات سلبية على الإنسان. إن الكلور يوجد في مياه الشرب المعقمة بتركيز ١-٠,٢ mg/liter إن أعلى قيمة للكلور الكلي هي ٥ mg/liter وأقل قيمة لتركيز الكلور هي٠,٠٢ mg/liter(White, 1978). وفي الماء يتفاعل الكلور حتى يكون Hypochlorous acid وHypochlorites ، هذهِ الأنواع الثلاثة تخرج متوازنة فيما بينها، وهذهِ الكميات المتنوعة مترابطة مع الدالة الحامضية ففي المحاليل عند الدالة الحامضية حوالي ٤,٠ تكون كمية جزيئات الكلور قليلة في المحلول. إن تركيز حامض Hypochlorous وأيون الهايبوكلورايت Hypochlorites هو تقريباً متساو في pH الذي يساوي ٧,٥ في درجة ٢٥°م (WHO,

(1982 . أن الكلور الحر المتبقي يؤثر ويسيطر على mg/L

أشباه القولونيات عندما يكون تركيزه أكثر من ١٠٠ .

الجدول (٦): قيم الكلور لعينات الماء المأخوذة من مواقع محطات تصفية مختلفة على نهر دجلة

فترة سحب العينات / المواقع		قيم الكلورايد لعينات الماء المأخوذةmg/L			
		الصيف	الخريف	الشتاء	الربيع
موصل	١	١٦	١٦	١٦,٨	١٩
	٢	١٨	٢٠	١٩,٧	٢١
	٣	٢٠	١٦	٢٣,٢	٢١
قيارة	١	٢٠	٢٠	٢٠,٤٧	٢١,٤٥
	٢	٢٢	٢٠	١٩,٥	١٩,٥
	٣	٢٢	٢٠	١٩,٥	٢٣,٤

١= عينة ماء النهر٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت

٧- الاوكسجين المذاب

إن تركيز الأوكسجين المذاب يؤثر في عملية الالتصاق الأولي للخلايا وإنتاج السكريات المتعددة الخارجية (Skolimowki,2010) . إذ وجد في احدى الدراسات أن مدى قابلية التصاق *Pseudomonas aeruginosa* على المادة الأساس يتغير مع الانحدار في تركيز الأوكسجين المذاب. إن شبكة توزيع المياه تكون ذات تهوية جيدة، وهذا سوف يضعف خطر الأحياء الدقيقة ويحث حدوث التآكل، وإنتاج الكبريت على أية حال (WHO, 2004).

يتغير الأوكسجين موسمياً وكذلك يتغير خلال فترة ٢٤ ساعة وهذا يعود إلى أن تحلل المواد العضوية عن طريق الأحياء أو إنتاج الأوكسجين من قبل النباتات

والطحالب في الماء ، وقد لوحظ أن الماء البارد يحوي على مستوى عالٍ من الأوكسجين مقارنة بالماء الدافئ (APHA 1992) وهذا يظهر بشكل واضح في الجدول (٧) أن قيم الأوكسجين كانت مرتفعة في فصلي الشتاء والربيع إذ تراوحت بين(٤,٧٥-٧,٣١) . مقارنة مع الصيف والخريف حيث تراوحت بين (٣,٥-٤,٦٥)

الجدول (٧) قيم الأوكسجين المذاب المأخوذة من مواقع محطات تصفية مختلفة على نهر دجلة

فترة سحب العينات / المواقع		قيم الأوكسجين المذاب لعينات الماء المأخوذة mg/L			
		الصيف	الخريف	الشتاء	الربيع
الموصل	1	3.39	3.20	٥,٩٨	5.71
	2	3.27	3.16	٦,٣٦	4.81
	3	3.12	3.5	٥,٨٠	5.35
قيارة	1	3.53	3.40	٧,١١	4.22
	2	3.45	3.36	٧,٣١	4.73
	3	3.10	3.17	٧,١٢	4.33

1= عينة ماء النهر٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت

8 – عزل وتشخيص الأنواع المايكروبية:

تم استخدام وسط الآگار المغذي للكشف عن الأنواع المايكروبية الكلية الهوائية من البكتريا كونه من الأوساط العامة للنمو البكتيري لاسيما عندما يكون النمو عند ٣٧ °م وفي ظروف هوائية التي تعد مناسبة لأغلب أنواع البكتريا في نموها ولذلك فان الأنواع التي ظهرت تعد من الأنواع الهوائية من البكتريا ، وان تقدير العدد الكلي للبكتيريا في المياه يعد مهما في معرفة مدى التلوث(الشواني،٢٠٠٩) .

اما الاختبارات المثبتة في الجدول (8) فانها تعد من أهم الاختبارات التي يتم من خلالها الى تشخيص أنواع البكتريا المعوية بعد تنميتها على وسط MacConkey agar وملاحظتها على الوسط الزرعي من ناحية الشكل والقطر، وكذلك شكلها تحت المجهر وقابليتها على الاصطباغ بصبغة كرام. فضلاً عن اختبارات IMViC واختبار الكاتاليز والاوكسيديز وقابليتها على الحركة وكذلك قابليتها على إنتاج انزيم اليوريز وإنتاج كبريتيد الهيدروجين إضافة إلى قابليتها على تخمير بعض أنواع السكريات. ان الفحوصات المشار إليها تعد كافية للوصول إلى مستوى النوع من البكتريا المعوية وإكمال التشخيص. وبعد المقارنة من خلال الاختبارات المشار إليها لغرض التشخيص فقد تبين بان *E.coli*، *S.paratyphi*، *pseudotuberculosis*، *Pro.Mirabilis*، *Y. enterocolitica*، *Cit. freundii* ، *Cit. diversus* و *Pro.alcalifaciens*. أما لتشخيص الأنواع المايكروبية من المكورات العنقودية فإن عزلها كان من خلال تنميتها على وسط Mannitol Salt Agar إذ تم اختبار قابلية العزلات على تخمير سكر المانيتول، وبعد التأكد من أنها موجبة لصبغة كرام فقد اجري اختبار قابليتها على إنتاج إنزيم الكاتاليز والاوكسيديز الجدول وقابليتها على الحركة وإنتاج اليوريز وإنتاج كبريتيد الهيدروجين والقابلية التخميرية لبعض أنواع السكريات. وبعد المقارنة لنواتج التنمية على الأوساط والاختبارات المشار إليها فان الأنواع التي تم تشخيصها تضمنت الأنواع من البكتريا التالية *Staph. aureus*، *Staph.epidermidis*، *Staph.saprophyticus*، *B.ceres*، *Str.pyogenes*، *Str.mutans* و *Pse.aeruginosa* ان الانواع المشار إليها تظهر غالبيتها في إنها مكونة للغشاء الحيوي عند تنميتها على الأوساط الملائمة لنموها .

الجدول (٨): نتائج الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص عزلات العائلة المعوية المعزولة من مواقع مختلفة من نهر دجلة

الأنواع الجرثومية	IMVC	الكاتاليز	الأوكسيديز	الحركة	اليوريز	TSI	H_2S	تخمر السكريات					
								كلوكوز	لاكتوز	سكروز	سوربيتول	رابينوز	زايلوز

E. coli	++ – –	+	–	+	–	+	A/A	–	+	+	+	v	+
S.paratyphi	– + – –	+	–	+	–	+	AIK/A	–	+	+	+	–	–
Pro. Mirabilis	– + vv	+	–	+	+	+	AIK/A	+	+	+	–	v	–
Y. pseudotuberculosis	– + – –	+	–	+	–	–		+	+	–	–	–	+
Y. enterocolitica	v + – –	+	–	+	–	–		V	+	+	+	+	v
Cit. freundii	– + – +	+	–	+	+	+	A/A	V	+	+	+	v	+
Cit. diversus	++ – +	+	–	+	v	+	A/A	V	+	+	+	v	+
Pro. alcalifaciens	++ – +	+	–	+	–	v	AKV/A	–	+	–	–	+	–

+ نتيجة موجبة – نتيجة سالبة v متغايرة

الجدول (٩):نتائج الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص البكتيرية العنقودية والسبحية والمكونة للسبورات والزوائف المعزولة من مواقع مختلفة من نهر دجلة

الأنواع الجرثومية	الكاتاليز	الأوكسيديز	الحركة	اليوريز	Bactracin	TSI	H_2S	تحلل السكريات					
								كلوكوز	لاكتوز	سكروز	سوربيتول	ارابينوز	زايلوز
Staph.aureus	+	–	-	v	+	-	-	+	+	+	+	–	–
Staph.epidermidis	+	–	–	+	–	+	-	+	v	+		–	–
Staph.Saprophyticus	+	–	+	+	–	+	-	+	+	+	–	–	–
B. cereus	+	–	+	-	-		–	–	–	–	+		–

Str.Pyogenes			-.				+	+		−		
Str.Mutans			....		−			+	+	+	+	
Pse.aeruginosa	+	+	−	V	+	+	AIK/AK	−	+	−	−	

نتيجة سالب − + نتيجة موجبة .... لم يجرى لها اختبار

الجدول (١٠) أعداد أنواع البكتريا الملوثة لعينات المياه المأخوذة من مواقع مختلفة في مدينة الموصل

الأنواع البكتيرية / فترة أخذ العينات		العدد الكلي لأنواع البكتريا(و ت م/ مل)			
		العدد الكلي Total) (count	المعوية	المكورات العنقودية والسبحية	المكونة للسبورات
الصيف	١	336	١٤٤٠	١٦٠	٥١٢
	٢	٢٣٨	٤	Zero	Zero
	٣	٣	٣	Zero	Zero
الخريف	١	٣٥٢	٢٨٨	٥٠	٧٠٠
	٢	٣	Zero	Zero	١٨
	٣	٣	Zero	Zero	١٠
الشتاء	١	٧٤٢	١٢٠٠	١٥٢	١٢٤٤

	٢	٣	٢	Zero	٢
	٣	٢	٢	Zero	Zero
الربيع	١	٨٢٥	١٣٢٠	١٩	٩٩٠
	٢	٢٢	٤	٨	٤٧
	٣	١٤	٣	١٢	١١

١= عينة ماء النهر ٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت

الجدول(١١):أعداد أنواع البكتريا الملوثة لعينات المياه المأخوذة من مواقع مختلفة لنهر دجلة في منطقة القيارة

الأنواع البكتيرية / فترة أخذ العينات		العدد الكلي لأنواع البكتريا (و ت م/ مل)			
		العدد الكلي Total) (count	المعوية	المكورات العنقودية والسبحية	المكونة للسبورات
الصيف	١	٣٨٤	٢٥٦	١٧٦	752
	٢	١٢٨	١٤٤٠	Zero	192
	٣	٤	3	٢	2
الخريف	١	١٠٨٨	٢٢٤	٣٥٢	٧٢٠
	٢	٣٨٤	١٢٨	١١٣٦	٤٧٢
	٣	٥	٨	٦	١٢

الشتاء	١	1289	١٩٣٧	٩٦	859
	٢	٦٣١	597	٦٦١	١٠٤٠
	٣	٤٦٤	٧٩	39	827
الربيع	١	١١٣٢	٦٦٠	٣١	١٣٢٥
	٢	١٤٨٥	١١٣٩	٢٠	١٨١٥
	٣	١١٣٢	٨٢٥	٢٤	١٤٤٠

١= عينة ماء النهر٢= عينة ماء محطة التصفية٣=عينة ماء البيوت

الأنواع المايكروبية الملوثة لعينات الماء:

تبين من النتائج في الجدول (١٠)و(١١) وجود تلوث عالٍ من أنواع الأحياء المجهرية في مياه نهر دجلة وفي جميع مواقع الدراسة، وتبين أن أكثرها هي من أنواع البكتريا المعوية لاسيما في فصول السنة من الصيف والشتاء والربيع التي كانت أعدادها عند ١٤٤٠، ١٢٠٠ و ١٣٢٠**(و ت م/ مل)** على التوالي، وأقلها في موسم الخريف إذا كانت أعدادها عند ٢٨٨ (و ت م/ مل)ويعود سبب ازديادها في الشتاء والربيع الى زيادة تساقط الامطار وبالتالي زيادة الجريان السطحي وغسل الميكروبات ونقلها الى النهر اما في الصيف فيعود شحة تساقط الامطار وازدياد تركيز الملوثات وهذا يوافق ما ذكره طليع (١٩٨٣) أن الحمل العضوي لمياه نهر دجلة قد تجاوز الحدود القياسيه الدولية المعتمدة في تصنيف مياه الشرب وهذا لم يتوافق مع دراسة الجبوري ٢٠٠٥ الذي وجد انها انخفضت في فصل الشتاء عدا شهر شباط واتفقت مع دراسة البدري ٢٠١٢ الذي اظهر ارتفاعها في فصل الشتاء والربيع. واتفقت مع دراسة العكيدي ٢٠٠٩ لمياه الشرب في محافظة نينوى في أن معظم الجراثيم المعزولة تعود الى العائلة المعوية ولم تتوافق مع دراسة السامرائي ٢٠٠٩ التي سجلت انخفاضاً في اعداد بكتيريا القولون في فصل الصيف في محطة اسالة بيجي واظهرت دراسة (النعيمي والراوي، ٢٠٠٤) ارتفاع اعداد البكتريا الهوائية والمعوية في مركز مدينة الموصل

وسيادة النوع *E.coli* تلتها في الأعداد الأنواع من البكتريا المكونة للسبورات وفي جميع فصول السنة إذ كانت عند ٥١٢، ٧٠٠ ، ١٢٤٤ و ٩٩٠ (و ت م/ مل) على التوالي تلتها في الأعداد البكتيرية من الأنواع البكتيرية الهوائية والأنواع من المكورات العنقودية. أما في حالة عينات الماء المأخوذة من محطات التصفية فقد لوحظ أيضاً تلوثها بأنواع من الأحياء المجهرية ولاسيما في فصل الصيف ومن البكتريا الهوائية التي كانت بأعداد ٢٣٨ (و ت م/ مل)، وتواجدت كذلك ولكن بأعداد قليلة في بقية فصول السنة، كما تواجدت الأنواع الاخرى من البكتريا المعوية والمكونة للسبورات في عينات الماء المأخوذة من محطة التصفية. ولم تخلُ عينات الماء المأخوذة من البيوت في مدينة الموصل من أنواع البكتريا الملوثة لها،حيث احتوت على أنواع المايكروبات الملوثة من المجاميع الهوائية والمعوية والمكورات العنقودية والبكتريا المكونة للسبورات وفي جميع فصول السنة، ولكن أكثرها التي كانت ملوثة للعينات المأخوذة في فصل الربيع التي كانت بأعداد من المجاميع المذكورة عند ١٤،٣، ١٢ و١١ (و ت م/ مل) وعلى التوالي

المصادر:

اوغلو، شفق طارق برهان (٢٠١٠).دراسة فيزيائية وكيميائية ومايكروبايولوجية للاغشية الحيوية المتكونة في محطة اسالة مياه الشرب في جامعة تكريت. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت.

البدري، افراح طعمة خلف (٢٠١٢). دراسة تأثير مياه مجاري سامراء على نوعية المياه في نهر دجلة. رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة تكريت.

الراوي، اميرة محمود والنعيمي، اسامة محمد سعيد (٢٠٠٤). دراسة على خط التلوث المار في مركز مدينة الموصل، مجلة علوم الرافدين١٥(٥):١١٨-١٢٦.

الجبوري، محيميد مدالله (١٩٩٠). علم البكتريا الطبية. دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل.الراوي، اميرة محمود والنعيمي، اسامة محمد سعيد (٢٠٠٤). دراسة على خط التلوث المار في مركز مدينة الموصل، مجلة علوم الرافدين١٥(٥):١١٨-١٢٦

السامرائي، بيداء عبد القادر (٢٠٠٩). دراسة بيئية مايكروبيولوجية لمياه الإسالة في محافظة صلاح الدين. رسالة ماجستير.

السنجري، مازن نزار (٢٠٠١). دراسة بيئية لنهر دجلة ضمن مدينة الموصل. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل

الشواني، طاووس محمد كامل(٢٠٠٩). الدلائل الجرثومية للتلوث الاحيائي وعلاقتها ببعض العوامل الفيزيائية والكيميائية المؤثرة عليها لبعض الانظمة البيئية المائية في محافظة كركوك، اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة تكريت.

طليع، عبد العزيز يونس(١٩٨٣). دراسة التأثيرات الموسمية للفضلات المائية المطروحة من مدينة الموصل على نوعية مياه نهر دجلة ومدى صلاحيتها للري والشرب والصناعة، رسالة ماجستير، كلية التربية ،جامعة الموصل.

العكيدي، أنغام جبار (٢٠٠٩). التلوث الجرثومي لمياه الشرب في محافظة نينوى والتحري عن السلالة E.Coli وعلاقتها بحالات إسهال الأطفال دون 0157: H7 سن الخامسة، رسالة ماجستير ،كلية العلوم .جامعة الموصل.

مصطفى، معاذ حامد ومنى حسين جانكير(٢٠٠٧) .التباين النوعي لموقعين على نهر دجلة ضمن مدينة الموصل، مجلة علوم الرافدين١٨(١): ١٣٣– ١٢٥.

APHA (American Public Health Association) (1992). Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. Washington, D.S.

Atlas, R. N. and Barth, R. (1993). Microbial Ecology Fundamental and application. U.S.A

Benson, H. J. (2002). Microbiological Applications: Laboratory Manual inGeneral Microbiology. 8th ed. McGraw Hill Companies. USA.

Bruvold,W.H.& Daniels.j.I.(1990).Standards for mineral content in drinking water.Journal of the American water works association ,82:59-65.

Kumar, M. and Puri, A. (2012). A review of permissible limits of drinking water. Jordian J. Occup. Environ. Med. 16: 4-40.

Prescott, L. M.; Harely, T. P. and Klein, D. A. (2010). "Microbiology" 8th ed. McGraw-Hill Companies, Inc., USA.

Sigee, D. C. (2005). Fresh water Microbiology. John Wiley and Sons.

Skolimowski, M.; Nielsen, M. W.; Emneus, J.; Molin, S.; Taboryski, R.;Stevnberg,C.; Dufva, M. and Geschke, O. (2010). Microfluidic dissolved oxygen gradient generator biochip as a useful tool in bacterial biofilm studies labchip. 10:2162-2169.

Smethurst, G. (1988). Basic water treatment for Application World-

WHO (World Health Organization) (2003). pH in drinking water: Background document for development of who guidelines for drinking water quality.

WHO (World Health Organization) (2004). Guidelines for drinking water quality, 3rd ed. Geneva.

WHO (World Health Organization) (2008). Guidelines for drinking-water quality (electronic resource): incorporating 1st and 2nd, Vol.1,–3rd .

World Health Organization (2003). Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water SafetyA. Glasmacher. Published by IWA Publishing, London, UK

Wide. 2nd ed. Redwood-Great Britain

Stone, A. (1987). The effects of short term changes in water quality on Copper and Zinc corrosion rates. Journal of the American Water Works Association (AWWA). 79(2): 75-82.

Thirumalini, S. and Joseph, K. (2009). Correlation between Electrical Conductivity and total dissolved solids in natural water. Malaysian Journal of Science. 28(1): 55-61.

Tomar, M. (1999). Quality Assessment of Water and Wastewater. CRC press of Congress.

WHO (World Health Organization) (1984). Guide lines for drinking water quality. Vol.2-Geneva.

Perparation and Characterization of multi nuclear complexes of,Co(II Ni(II), Cu(II), Sb(II) , Bi(III) with(di Iso . ter. Butyl di thiophosphate) Tin (IV) .

Enas . Hazim Mohammed , Nabeel Hadi Buttrus

ABSTRACT

My Reserch include preparation of the ligand bis (dithiophosphoryl disulfide) fom the oxidative addition reaction then react this ligand with tin metal to prepare (o,o di iso or ter. butyl dithiophosphate)tin(IV) and prepare18 complexes in molar ratio (2:1) , (4:1) , (M:L) with general formula : $[M_2Sn\{S_2P(OBu^{i-t})_2\}_4Cl_4]$, $[M_4Sn\{S_2P(OBu^{i-t}\}_4Cl_8]$ M= Ni, Co, Cu And preparation complexes with formula $[SnSb_2\{S_2P(OB^{i-t}\}_4Cl_6]$, $[SnBi_2\{S_2P(OBu^{i-t}\}4\ (NO_3)_6]$with meatel Salts: $NiCl_2.\ 6H_2O$, $CuCl_2.4H_2O$, $SbCl_3$, $Bi(No_3)_3.\ 5\ H_2O$.

The prepared compounds adducts and complexes were characterized by spectral measurements (I.R, U.V), atomic absorption, magnetic and conductivity measurement.

تحضير وتشخيص معقدات متعددة النوى Co(II)، Ni(II), Cu(II), Sb(II) , Bi(III)مع مركبات

(O,O-) ثنائي ايزوبيوتيل او البيوتيل الثالثي ثنائي ثايو فوسفات)القصدير(IV)

إناس حازم محمد نبيل هادي بطرس

تضمن البحث تحضير الليكاندات بس(ثنائي ثايوفوسفورايل ثنائي الكبريتيد) من خلال تفاعل الاضافة المؤكسدة ومن ثم مفاعلة فلز القصديرمع الليكندات اعلاه لتحضير المركب (O,O-) ثنائي ايزوبيوتيل او البيوتيل الثالثي ثنائي ثايو فوسفات)القصدير(IV) وكذلك تحضير المعقدات ذو الصيغة التالية $[M_2Sn\{S_2P(Bu^iO)_2\}_4Cl_4]$, $[M_2Sn\{S_2P(Bu^tO)_2\}_4Cl_4]$ ،وبنسبة مولية ٢:١ ليكاند – فلز من خلال التفاعل المباشر مع $MCl_2.6H2O$حيث ان M=Co(II),Ni(II)و$CuCl_2.4H_2O$وكذلك تحضير المعقدات من النوع $[M_4Sn\{S_2P(Bu^iO)_2\}_4Cl_8]$وكذلك المعقدات بالصيغة $[M_4Sn\{S_2P(Bu^tO)_2\}_4Cl_8]$ وبنسبة مولية٤:١ ليكاند– فلز وتحضير المعقدات بالصيغة $[M^-{}_2Sn\{S_2P(Bu^{ti}0)_2\}_4X_6]$، اذ ان (M=Sb،X=Cl)، $[Sn\{S_2P(Bu^{ti}O)_2\}_4]$ مع $SbCl_3$و(M^-=Bi، $X=NO_3$)من خلال تفاعل المعقدات بالصيغة

$Bi(NO_3)_3$ وتم تشخيص المعقدات المحضرة بواسطة الطيف الذري وطيف الاشعة تحت الحمراء وفوق البفسجية وقياسات التوصيلية والقياسات المغناطيسية

المقدمة

ان الليكاندات الحاوية على الكبريت لها اهمية واستخدامات كبيرة جدا . اذ تم استعمال هذه المواد بوصفها مثبتات لاجزاء البوليمر(2،1)، ومعجلات لعملية فلكنة المطاط(4،3) كما استخدمت مضادات للتآكل والاكسدة اذ تعمل على تكوين طبقة قوية على السطوح الفلزية لان لديها معامل احتكاك واطئ(5)، وتستخدم مضافات في الصناعات النفطية لتحسين نوعية الوقود وزيوت التشحيم(7،6) ويوجد طرق تحضير ليكاندات ذوات الصيغة $X_2P(S)SSP(S)X_2$: اذ ان R = X ، RO

١. **الاكسدة باليود**[8]:

تعد هذه الطريقة من الطرق السائدة وتتضمن هذه الطريقة اكسدة حوامض ثنائي ثايوفوسفوريك او احد املاحه في محاليل مائية تحوي على اليود وبوجود ١٠% من KI وتكون نسبة الناتج المستحصلة (٧٣-٨٨%)، وكما هو موضح في المعادلات الاتية:

$$2(RO)_2P(S)SNa + I_2 \rightarrow (RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2 + 2NaI$$

bis(thiophosphoryl) disulfide

$$2HS(S)PR_2 + I_2 \rightarrow R_2P(S)SSP(S)R_2 + 2HI$$

bis(thiophosphinyl) disulfide

R = Me, Et, Pr, Bu, ^{i}Bu

ويمكن استعمال اليود في محاليل تحوي على CH_2Cl_2 في حالة استبعاد الماء من التفاعل.

٢. **الاكسدة باستعمال بيروكسيد الهيدروجين**[9]: تعد طريقة جيدة لاكسدة حامض ثنائي ثايوفوسفوريك فضلا عن انها تعتبر طريقة لتحضير الليكاند $(Pr = R)\ (RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2$ فانها تعد مبحثا لايجاد العلاقة في الية عمل مانع الاكسدة لمركبات ثنائي ثايوفوسفات في زيوت التشحيم.

٣. الاكسدة باستعمال ثنائي مثيل سلفوكسيد DMSO[10] لحامض ثنائي ثايوفوسفوريك (RO)2P(S)SH اذ تعد طريقة ممتازة لتحضير الليكاندات (RO)2(S)PSSP(S)(OR)2

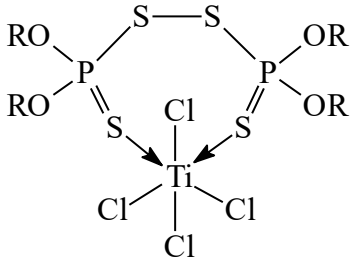
٤. استعمال بعض العناصر الفلزية ذات التأكسد العالي مثل Cu(II) و Au(III) و Tl(III) التي تختزل الى حالات تأكسدية اوطأ باستعمال ايونات ثنائي ثايوفوسفينايت والتي بدورها تعود لتتأكسد الى مركبات bis(thiophosphinyl)disulfide وكما موضح في المعادلات الاتية[11]:

$$4Cu^{2+} + 8R_2PS_2^- \longrightarrow [CuS_2PR_2]_4 + 2R_2P(S)SSP(S)R_2$$
(R = Et, ^{n}Pr, Ph)

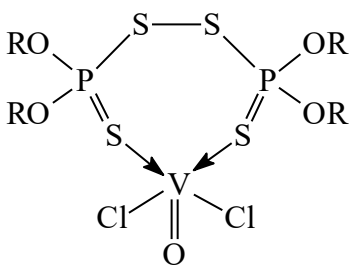
$$Tl^{3+} + 3R_2PS_2^- \longrightarrow TlS_2PR_2 + R_2P(S)SSP(S)R_2$$
(R = Et, ^{n}Pr)

وتعد فعالية الفلزات تجاه الثايورام ثنائي الكبريتيد طريقة مشابهة لتحضير دايثايوكارباميت الفلزات اذ ان الثايورام ثنائي الكبريتيد وبس (ثايوفوسفورايل) ثنائي الكبريتيد $(RO)_2(S)PSSP(S)(OR)_2$ تحتوي على المجموعة الفعالة S–S والتي توحد الفعالية الكيمياوية للعناصر الانتقالية اذ من الممكن ان تتفاعل هذه الليكاندات بكسر او بعدم كسر الاصرة S–S.

وعلى غرار ما ذكر، فقد اثبت كادرايدوCuadrado وموران Moran[12] ان ليكاندات ثنائية الكبريت ذوات الصيغة $(RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2$ تكون معقدات مع الاملاح الفلزية بعدم كسر اصرة S–S مثل تحضير المعقدين $TiCl_4L$ و $VOCl_2L$ الناتجين من تفاعل $TiCl_4$ و$VOCl_3$ مع الليكاند اذ ان (L = $(RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2$ ، R = Pr ، Et) اذ يسلك هنا الليكاند سلوك ثنائي السن ويكون مركبات حلقية حول ايون الفلز المركزي وقد اثبتت دراسة الاشعة تحت الحمراء والاطياف الالكترونية وبعض الخواص الفيزياوية ان المركب (I) يمتلك شكل ثماني السطوح حول ايون الفلز المركزي والمركب (II) ياخذ شكل هرم مربع القاعدة.



(I)

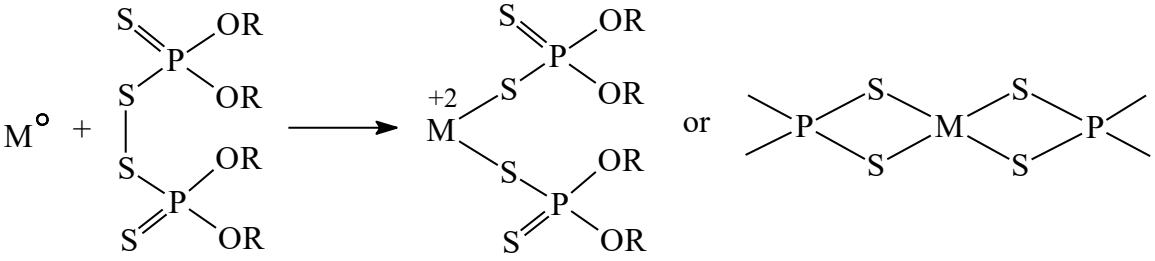


(II)

I : المعقد $[TiCl_4\{(RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2\}]$

II : المعقد $[VOCl_2\{(RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2\}]$

كما يمكن لليكاندات بس (ثايوفوسفورايل) ثنائي الكبريتيد ذوات الصيغة $(RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2$ ان تكون معقدات مع الاملاح الفلزية من خلال كسر حراري متجانس لاصرة S–S وحدوث تفاعل الاضافة المؤكسدة (Oxidative–addition reaction) مع بعض العناصر الفلزية سواء الرئيسية او الانتقالية، اذ تزداد حالة التأكسد في التفاعلات بمقدار وحدتين او اكثر وبهذه العملية يزداد العدد التناسقي وذلك بتآصر اجزاء مكونات الجزيئة المؤكسدة[13-15] كما هو مبين في المعادلة الاتية:



في ضوء ما ذكر فقد حضر العالم كزمان Kuzmin وجماعته[16] معقدات من النوع $[Co\{S_2P(OR)_2\}_3]$ من خلال اكسدة المعقد $[Co\{S_2P(OR_2)\}_2]$ واختزال الليكاند $(RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2$. وكذلك اثبتت الدراسة ان وجود اليود يسرع من عملية الأكسدة وتكوين الناتج كما هو موضح في المعادلة الاتية:

$$2[Co\{S_2P(OR)_2\}_2] + (RO)_2P(S)SSP(S)(OR)_2 \rightleftharpoons 2[Co\{S_2P(OR)_2\}_3]$$

(اذ ان R = 2-ethylhexyl)

ثانيا: الجزء العملي

٢-١- تحضير الليكاند

$(Bu^iO)_2PSSP(O^iBu)_2$[8]:

يمزج (٠,٠٢ مول،٥,٢٨ غم) من ليكاند ثنائي اثيل ثنائي ثايوفوسفات الصوديوم والمذابة في ٢٠ مللتر من الماء المقطر مع (٠,٠١ مول، ٢,٥٤ غم) من اليود المذاب في (١٠ مللتر) من الايثانول ثم يصعد

المزيج لمدة ساعة في دورق زجاجي سعة (٢٥٠ مل) . بعد ذلك يتم اضافة محلول (١٠%) من يوديد البوتاسيوم الى مزيج التفاعل. يستمر تصعيد المحلول الناتج لمدة ساعتين مع التحريك المستمر وبعد ذلك يترك المحلول ليبرد في درجة حرارة الغرفة لمدة ٢٤ ساعة ليتم الترسيب. بعد ذلك يتم ترشيح الراسب المتكون ويتم غسله بالايثر لعدة مرات ويجفف تحت الضغط المخلخل، اذ يتم الحصول على راسب اصفر.

.

$(Bu^tO)_2PSSP(O^tBu)_2$

٢-٢ تحضير الليكاند :

يحضر هذا الليكاند بالطريقة السابقة نفسها باستثناء استخدام (٠,٠٢ مول، ٥,٢٨ غم) من ثنائي البيوتيل الثالثي ثنائي ثايوفوسفات الصوديوم والمذاب بـ ٢٠ مللتر من (ميثانول–ماء) بنسبة (١:١ / V:V) والحصول على راسب برتقالي محمر. والمعادلة العامة للتحضير مبينة كما في ادناه:

$$2NaS_2P(OR)_2 + I_2 \longrightarrow (RO)_2PSSP(OR)_2 + 2\,NaI$$

اذ ان (R = ايزوبيوتيل، بيوتيل الثالثي)

الجدول (١): بعض الخواص الفيزياوية للليكاندات المحضرة

الليكاندات	الصيغة الوضعية $(RO)_2PSSP(OR)_2$	اللون	النسبة المئوية (%)	درجة التفكك (م°)	التوصيلية المولارية Λ_M سم^2.اوم$^{-1}$.مول$^{-1}$
L_1	R = ايزوبيوتيل	اصفر	٧٢	١٩٨–٢٠٠	٢٥
L_2	R = البيوتيل الثالثي	برتقالي محمر	٧٦	١٢٤–١٢٦	١١

٢-٣ تحضير المركبات من النوع $[Sn\{S_2P(OR)_2\}_4]$:

يتم تقطيع فلز القصدير الحر الى قطع صغيرة جدا ثم يؤخذ (٠,٠١ مول، ١,١٩ غم) ويمزج مع (٠,٠٢ مول، 9.64غم) من الليكاند (L_1) في دورق

زجاجي دائري سعة (١٠٠ مل) وباستخدام (٤٠ مل) من التولوين الجاف بوصفه مذيبا . بعد ذلك تجرى عملية تصعيد حراري شديد لمزيج التفاعل مع التحريك المستمر لمدة (١٢) ساعة. بعد ذلك يتم تبريد المحلول عند درجة حرارة الغرفة ويتم التخلص من الفلز المتبقي عن طريق الترشيح البسيط. ثم يركز المحلول الى (١/٣) حجمه ويرشح الراسب المتكون ويتم غسله عدة مرات بالايثر ويجفف تحت الضغط المخلخل.

٢-٤ تحضير المركبات من النوع : $[M`_2Sn\{S_2P(OR)_2\}_4X_6]$

يتم تحضير هذا النوع من المركبات بمزج (٠,٠٠١ مول، ١,٠٨ غم) من المركب $[Sn\{S_2P(OR)_2\}_4]$ عندما (R =ايزوبيوتيل ، البيوتيل الثالثي) والمذاب في (٢٠) مل من الايثانول مع (٠,٠٠٢ مول، ٠,٤٦ غم) من كلوريد الانتمون ($SbCl_3$) و (٠,٠٠٢ مول، ٠,٩٧ غم) من نترات البزموث $Bi(NO_3)_3.5H_2O$. والمذاب في (١٠) مل من الماء المقطر في دورق زجاجي سعة (١٠٠ مل) ويصعد المزيج مع التحريك المستمر لمدة ساعتين .

٢-٥ تحضير معقدات من النوع : $[M_2Sn\{S_2P(OR)_2\}_4Cl_4]$

اذ ان (M = Co(II) ، Ni(II) ، Cu(II))

يتم تحضير هذا النوع من المعقدات باضافة (٠,٠٠١ مول، ١,٠٨ غم) من المركب $[Sn\{S_2P(OR)_2\}_4]$ عندما (R = ايزوبيوتيل والبيوتيل الثالثي والمذاب في (٢٠) مل من الايثانول الى (٠,٠٠٢ مول، ٠,٢٦ غم) من (MCl_2) (اذ ان M = Co ، Ni) المذاب في (١٠) مل من الميثانول او (٠,٠٠٢ مول، ٠,٤٣ غم) من كلوريد النحاس المذاب في (١٠) مل من الماء المقطر في دورق زجاجي سعة (١٠٠ مل)، يتم تصعيد المزيج مع التحريك المستمر. بعد اكمال التصعيد لمدة ساعتين يتم تسخين المحلول للتخلص من المذيب اذ يتكون راسب يغسل عدة مرات بالميثانول ومن ثم بالايثر وبعد ذلك يتم تجفيفه تحت الضغط المخلخل لمدة ٣ ساعات.

٢-٦ تحضير معقدات من النوع : $[M_4Sn\{S_2P(OR)_2\}_4Cl_8]$

اذ ان [M = Co(II), Ni(II), Cu(II)]

يتم تحضير هذا النوع من المعقدات بمزج (٠,٠٠١ مول، ١,٠٨، غم)) من المركب

$[Sn\{S_2P(OR)_2\}_4]$ عندما (R = ايزوبيوتيل وبيوتيل الثالثي)،

والمذاب في (٢٠) مل من الايثانول مع (٠,٠٠٤ مول غم) من كلوريد النحاس ($CuCl_2.2H_2O$) والمذاب في (٢٠) مل من الماء المقطر في دورق زجاجي دائري سعة (١٠٠ مل) ويصعد المزيج مع التحريك المستمر لمدة (٤) ساعات. يبرد مزيج التفاعل ويرشح الراسب المتكون ويغسل عدة مرات بالايثانول ومن ثم بالايثر وبعد ذلك يتم تجفيفه تحت الضغط المخلخل لمدة ثلاث ساعات.

جدول (٢): الصيغ الوضعية وقيم التحليل الدقيق للعناصر والنسب المئوية للنواتج مع بعض الخواص الفيزياوية للمعقدات المحضرة

رقم المعقد	الصيغة الوضعية	اللون	النسبة المئوية %	درجة التفكك م°	النسبة المئوية (القيمةالعملية)/القيمة النظرية	
					Sn	M
1	$[Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4]$	اصفر قهوائي	76	162-164	(11.17) 10.98	
2	$[Co_2Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4Cl_4]$	اخضر فاتح	82	155-158	(8.59) 8.86	(8.38) 8.78
3	$[Ni_2Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4Cl_4]$	اخضر فاتح	65	209-211	(9.15) 8.86	(8.29) 8.74
4	$[Cu_2Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4Cl_4]$	قهوائي غامق	76	169-171	(8.35) 8.79	(9.09) 9.39
5	$[Co_4Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4Cl_8]$	خاكي غامق	66	158-160	(7.79) 7.42)	(14.67) 14.65
6	$[Ni_4Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4Cl_8]$	اصفر مخضر	71	219-221	(7.21) 7.42	(14.25) 14.65
7	$[Cu_4Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4Cl_8]$	بني غامق	85	183-185	(7.80) 7.33	(15.72) 15.42
8	$[Bi_2Sn\{(isobutyl)_2dtp)_4(NO_3)_6]$	برتقالي محمر	74	212-214	(16.13) 16.34	
9	$[Sb_2Sn\{(isobutyl)_2dtp\}_4Cl_6]$	برتقالي	83	113-115	(7.47) 7.70	
10	$[Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4]$	اصفر	78	223-225	(11.26) 10.98	
11	$[Co_2Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4Cl_4]$	برتقالي غامق	77	170-172	(9.08) 8.86	(8.98) 8.78
12	$[Ni_2Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4Cl_4]$	اصفر فاتح	73	212-214	(8.41) 8.86	(8.37) 8.74

13	$[Cu_2Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4Cl_4]$	خاكي	64	196-198	(8.49) 8.79	(9.64) 9.39
14	$[Co_4Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4Cl_8]$	خردلي غامق	78	152-154	(7.63) 7.42	(14.80) 14.65
15	$[Ni_4Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4Cl_8]$	اخضر فاتح	83	156-158	(7.79) 7.42	(14.40) 14.65
16	$[Cu_4Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4Cl_8]$	شذري	76	240-242	(7.82) 7.33	(16.00) 15.42
17	$[Bi_2Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4(NO_3)_6]$	حليبي	72	> 400	(6.64) 6.34	
18	$[Sb_2Sn\{(tert\text{-}butyl)_2dtp\}_4Cl_6]$	ابيض مسمر	65	> 400	(7.39) 7.70	

ثنائي ثايوفوسفات = dtp

M= Co(II), Ni(II), Cu(II)

٣- النتائج والمناقشة:

٣-١ الامتصاص الذري: **Atomic Absorption**

تم تقدير كل من القصدير والكوبلت والنيكل والنحاس لقسم من المعقدات ومقارنة النسب المئوية لهذه العناصر على اساس الصيغ التركيبية المقترحة، وكانت النتائج العملية مطابقة لتحليل هذه العناصر كما موضح في الجدول (٣) .

٣-٢ التوصيلية الكهربائية المولارية: **Molar Conductivity**

وقد تبين من نتائج قياسات التوصيلية الكهربائية انها تتفق مع الصيغ التركيبية للمعقدات المحضرة، اذ وجد ان ليكاندات بس (ثايوفوسفورايل) ثنائي الكبريتيد وجميع المعقدات المحضرة تقع ضمن مدى صنف المعقدات ذات السلوك المتعادل غير الالكتروليتية او ضعيفة التوصيلية وقيم التوصيلية للمعقدات تتراوح بين (٨-٢٣ سم^{٢} .اوم$^{-١}$.مول$^{-١}$) .[18,17] وكما موضح في الجدول (3) .

الجدول (٣): قيم التوصيلية الكهربائية المولارية (سم^{٢} .اوم$^{-١}$.مول$^{-١}$) للمعقدات المحضرة في درجة حرارة (٢٥ °م) وتركيز (10^{-3} M) في مذيب (DMSO)

رقم المعقد	التوصيلية الكهربائية
1	11
2	20

3	19
4	9
5	19
6	12
7	9
8	9
9	10
10	16
11	18
12	16
13	14
14	20
15	23
16	17
17	8
18	13

-٣ القياسات المغناطيسية: **Magnetic Measurements** اضهرت معقدات الكوبلت (II) المحضرة(2،5، 11، 14) عزوما مغناطيسية مساوية لـ (2.35, 2.58, 2.12, 2.10 B.M) على التوالي كما في الجدول (٤) . وهذه القيم تتفق مع معقدات الكوبلت (II) ذات شكل المربع المستوي[19،20]اما معقدات النيكل (II) المحضرة (3، 12) فقد اظهرت عزوما مغناطيسية مساوية لـ (٢,٩٢ B.M، ٣,٢٠) على التوالي. وهذه القيم تتفق على نحو عام مع معقدات النيكل ثمانية السطوح عالية البرم[22،21]. في حين اظهرت معقدات النيكل (II) المحضرة(6، 15) خواص دايامغناطيسية[23-25] وعليه فهي تسلك سلوك معقدات النيكل ذوات شكل المربع المستوي.

واخيرا فقد اظهرت معقدات النحاس (II) المحضرة (13،4) عزوما مغناطيسية مساوية لـ (2.02, 2.30, B.M) على التوالي، وهذه القيم تتفق مع معقدات النحاس (II) ثمانية السطوح[27،26]. في حين ان معقدات النحاس (II) المحضرة (16،7) اعطت عزوما مغناطيسية مساوية لـ (1.81, 1.91, B.M) على التوالي وهذه القيم تتفق مع معقدات النحاس (II) رباعية السطوح[29،28].

الجدول (٤): نتائج القياسات المغناطيسية للمعقدات المحضرة بدرجة حرارة الغرفة

رقم المعقد	الحساسية الغرامية $\chi_g \times 10^{-6}$ (c.g.s.u)	معامل التصحيح الدايامغناطيسي $D \times 10^{-6}$ (c.g.s.u)	الحساسية الذرية $\chi_A \times 10^{-6}$ (c.g.s.u)	العزم المغناطيسي الفعال μ_{eff} (B.M)
2	5.709	771.04	8451.819	2.10
3	10.13	771.04	14396.45	2.92
4	5.9923	771.04	8885.065	2.30
5	4.1917	877.04	7596.3351	2.12
6	-	-	-	دايامغناطيسي
7	3.2587	877.04	6165.993	1.91
11	1.5018	877.04	2801.231	2.58
12	3.1469	877.04	4313.339	3.20
13	4.4288	877.04	6869.262	2.02
14	5.348	877.04	9261.6732	2.35
15	-	-	-	دايامغناطيسي
16	2.8506	877.04	5503.610	1.81

٣-٤ الاطياف الالكترونية: **Electronic Spectra**

الجدول (٥): قيم طيف الاشعة فوق البنفسجية/المرئية لليكاندات الحرة

الليكاندات	Band (1)		Band (2)		Band (3)	
	λ_{max} (nm)	ν (cm^{-1})	λ_{max} (nm)	ν (cm^{-1})	λ_{max} (nm)	ν (cm^{-1})
L_1	227	44052	269	37174	339	29498
L_2	263	38022	320	31250	355	28169

وعند قياس طيف الاشعة فوق البنفسجية للمركبات المحضرة في هذا البحث لوحظ اختلاف في مواقع هذه الحزم عن تلك العائدة لليكاندات الحرة مما يؤكد حدوث التناسق بين ليكاندات بس (ثايوفوسفورايل) ثنائي الكبريتيد مع كل من القصدير والانتمون والبزموث. اذ وجد ظهور حزم جديدة للمركبات المحضرة عند المواقع (٣٥٧-٤٠٥ نانوميتر) كما في الجدول (٦) وهي تعزى الى طيف نقل الشحنة Charge transfer transition (C.T) من اوربيتال الليكاند الممتلئ الى اوربيتال الفلز الفارغ،

وتكون شديدة الامتصاص وتقع عادة في المنطقة فوق البنفسجية ولكن نهايتها تقع في المنطقة المرئية غالبا وهذا يتفق مع ما نشر من بحوث في هذا المجال[30-32].

وفيما ياتي جدولا بقيم طيف الاشعة فوق البنفسجية/المرئية للمركبات المحضرة.

الجدول (٦): الطيف الالكتروني (سم$^{-1}$) لمركبات بعض العناصر الرئيسية في مذيب DMSO

رقم المركب	Band (1)		Band (2)		Band (3)	
	λ_{max} (nm)	ν (cm^{-1})	λ_{max} (nm)	ν (cm^{-1})	λ_{max} (nm)	ν (cm^{-1})
1	258	38759	302	33112	390	25641
8	232	43103	325	30769	363	27548
9	269	37174	343	29194	-	-
10	235	42553	-	-	371	26954
17	254	39370	329	30395	372	26881
18	228	43859	354	28248	405	24691

اظهرت معقدات/لكوبلت (II) المحضرة (2، 5، 11، 14) حزمة امتصاص واسعة وقوية عند (١٣٧١٧–١٨١١٥ سم$^{-1}$)، الجدول (٩)، وهي تعزى الى الانتقال الالكتروني ($^2A_1g \rightarrow {}^2E`g$) مما يدل على اتخاذ هذه المعقدات شكل المربع المستوي، اما الحزم الاخرى فلم تظهر لانها تقع خارج مدى الجهاز المستخدم.[34,33]

الجدول (٧): الطيف الالكتروني (سم$^{-1}$) لمعقدات الكوبلت (II) رباعية التناسق باستخدام مذيب (DMSO)

رقم المعقد	$^2A_1g \rightarrow {}^2E`g$	$^4A_2$ (F) $\rightarrow {}^4T_1$ (P)	حزم انتقال الشحنة (C.T)
2	14367, 15243		24813
5	14705, 16286		23809
11	15748, 16077		25641, 33898
14	13717, 15060, 18115		23201, 28060

ولقد تم قياس الطيف الالكتروني لمعقدات النيكل، اذ اظهرت معقدات النيكل (II) المحضرة (12،3) حزم امتصاص بجدود (٢٢٠٧٥-٢٥٥١٠ سم$^{-١}$) وتعزى الى الانتقال الالكتروني ^3A_2g (F) $\rightarrow$ ^3T_1g (P) (ν_3) ، وحزم امتصاص اخرى بجدود (١٤١٨٤-١٩٢٣٠ سم$^{-١}$) وتعزى الى الانتقال الالكتروني ^3A_2g (F) $\rightarrow$ ^3T_1g (F) (ν_2) ، وحزم امتصاص اخرى بجدود (١١٠٤-١٢٤٥٣ سم$^{-١}$) وتعزى الى الانتقال الالكتروني ^3A_2g (F) $\rightarrow$ ^3T_2g (F) كما في الجدول (8)، وان هذه القيم تتفق مع ترتيب النيكل (II) ثماني السطوح[35-37].

الجدول (٨): الطيف الالكتروني (سم$^{-١}$) لمعقدات النيكل (II) سداسية التناسق باستخدام مذيب (DMSO)

رقم المعقد	^3A_2g (F) $\rightarrow$ ^3T_2g (F)	^3A_2g (F) $\rightarrow$ ^3T_1g (F)	^3A_2g (F) $\rightarrow$ ^3T_1g (P)
3	11049	19230, 17108	22075, 25510
12	12453	14184, 16155	24813

اما معقدات النيكل (II) المحضرة (6، 15) فقد اظهرت حزمتي امتصاص عند (١٥٣٢٦-١٨٢٤٨ سم$^{-١}$) وهي تعود للانتقال الالكتروني ^1A_1g $\rightarrow$ ^1A_2g (ν_1) وحزمة امتصاص اخرى عند (٢٤٣١٢-٢٦٢٠٥ سم$^{-١}$) وتعود للانتقال الالكتروني ^1A_1g $\rightarrow$ ^1B_1g (ν_2) كما هو موضح في الجدول (١١) . وان مواقع هذه الحزم تتفق مع ترتيب النيكل (II) شكل المربع المستوي[39,38] .

الجدول (9): الطيف الالكتروني (سم$^{-١}$) لمعقدات النيكل (II) رباعية التناسق باستخدام مذيب (DMSO)

رقم المعقد	$^1A_1g \rightarrow {}^1A_2g$	$^1A_1g \rightarrow {}^1B_1g$	$^3T_1$ (F) $\rightarrow$ $^3T_1$ (P)
6	16752	24312, 26205	
15	15326, 18248	25188	

وقد تم قياس الطيف الالكتروني لجميع معقدات النحاس (II) ، اذ اظهرت معقدات النحاس (II) المحضرة (4، 13) حزم امتصاص بجدود (١٦٢٠٧-١٩٨٤١ سم$^{-١}$) تابعة الى ν_1 و ν_2) وحزم

امتصاص اخرى بجدود (٢٤٨١٣-٢٩٩٢٣ سم$^{-١}$) تعزى الى حزم انتقال الشحنة كما في الجدول (١٢)، وان هذه الحزم تتفق على نحو عام مع معقدات النحاس (II) ثمانية السطوح[41,40] .

الجدول (١٠): الطيف الالكتروني (سم$^{-١}$) لمعقدات النحاس (II) سداسية التناسق باستخدام مذيب (DMSO)

رقم المعقد	$^2B_1g \rightarrow {}^2A_1g$	حزم انتقال الشحنة (C.T)
4	16583, 19841	24813, 28602
13	16207	27624, 29923

اما معقدات النحاس (II) المحضرة (16،7) فقد اظهرت حزم امتصاص في المنطقة (١٠٨٩٣-١١٦٢٧ سم$^{-١}$) والتي تعزى الى الانتقال الالكتروني $^2E \rightarrow {}^2T_2$ ، وحزم اخرى بجدود (٢٦٤٠١-٢٩٣٢١ سم$^{-١}$) تمثل حزم انتقال الشحنة كما هو موضح في الجدول (١٣)، وان هذه الحزم تتفق على نحو عام مع معقدات النحاس (II) رباعية التناسق بترتيب رباعي السطوح[42] .

الجدول (١١): الطيف الالكتروني (سم$^{-١}$) لمعقدات النحاس (II) رباعية التناسق باستخدام مذيب (DMSO)

رقم المعقد	$^2T_2 \rightarrow {}^2E$	حزم انتقال الشحنة (C.T)
7	10893	26401, 29321
16	11627	27300, 28615

٣-٥ طيف الاشعة تحت الحمراء **(IR) : Infrared Spectra**

. اهتزازات مط المجموعة (S–S) ν :

اعطت الليكندات المحضرة (L_1 و L_2) في طيف الاشعة تحت الحمراء حزمة امتصاص ضعيفة ومتوسطة في المواقع (و ٤٥٠ و ٤٧٥ سم$^{-١}$) وعلى التوالي وهي تعود الى مط الاصرة (S–S)[43]، كما موضح في الجدول (١٤) .

٢. اهتزازات مط المجموعة (P=S) ν :

اعطت الليكاندات المحضرة (L_1 و L_2) حزم امتصاص قوية ومتوسطة في المواقع (٦٥٠و٦٥٥ سم$^{-١}$) والتي تعود الى مط المجموعة (P=S)[43] . ويلاحظ ان مواقع هذه الحزم في طيف الاشعة تحت الحمراء

للمعقـدات المحضـرة (1،10) لم تعطـي تغـيرات ملحوظة، اما بالنسبة لبقية المعقدات المحضرة فقد ظهرت في المواقع المحصورة (٦٠٢–٦٤٥ سم$^{-١}$) بشكل حزم متوسطة او قوية وفي بعض الاحيان ضعيفة كما موضح في الجدول (١٥)، ويلاحظ ان هناك نقصا في قيم الترددات في المعقدات المحضرة عن تلك في الليكاندات مما يؤكد حدوث التناسق بين الليكاند والفلزات، وهذا ما اكدته الدراسات والبحوث المنشورة[١٢٦،١٢٧].

٣. اهتزازات مط المجموعة ν (P–S) :

من قياسات اطياف الاشعة تحت الحمراء لليكاندات والمعقدات المحضرة لوحظ ظهور نوعين من الحزم للاصرة (P–S) ، المتناظرة (Symmetry stretching) وغير المتناظرة (Asymmetric stretching) ، اذ كانت ترددات الحزم المتناظرة لليكاندات (L_1 و L_2) المحضرة عند المواقع (٥٦١–٥٨٠ سم$^{-١}$). اما الحزم غير المتناظرة فظهرت في المواقع (٦١٦–٦٢٥ سم$^{-١}$)[43]. بينما كانت ترددات الحزم المتناظرة للمعقدات المحضرة في المنطقة المحصورة (٥١٧–٥٦٣ سم$^{-١}$)، وغير المتناظرة في المنطقة المحصورة بين (٥٧٩–٦٢٥ سم$^{-١}$)، كما مبين في الجدول (١٢)، اذ لوحظ انخفاض في ترددات المعقدات عن ترددات الليكاندات، مما يدل على ان الليكاندات قد ارتبطت مع الفلزات عن طريق ذرة الكبريت[46].

٤. اهتزازات مط المجموعة ν (P–O–C) :

اظهرت قياسات الاشعة تحت الحمراء لليكاندات المحضرة (L_1 و L_2) حزم امتصاص ضعيفة ومتوسطة او قوية احيانا في المواقع (٩٨٤–١٠٣٦ سم$^{-١}$) التي تعود الى مط المجموعة (P–O–C)[47]، كما هو موضح في الجدول (١٤)، اما في المعقدات المحضرة فلم تتغير مواقع هذه الامتصاصات.

٥. اهتزازات مط المجموعة ν (Sn–S) :

عند قياس طيف الاشعة تحت الحمراء للمركبات المحضرة في هذا البحث ظهرت حزمة امتصاص المجموعة (Sn–S) في المنطقة المحصورة ما بين (٣٢١–٣٦٦ سم$^{-١}$)[48] على شكل حزم متوسطة وضعيفة وقوية احيانا (كما مبين في الجدول ١٥)، كما ان اختفاء حزمة الامتصاص (S–S) في طيف هذه المعقدات يدل على حدوث كسر الاصرة وتناسق الكبريت مع فلز القصدير[١٦]

٦. اهتزازات مط المجموعة ν (M–S) :

اعطت المعقدات المحضرة حزم امتصاص ضعيفة او متوسطة او قوية احيانا في المواقع (٣٤٧–٤٠٠ سم$^{-١}$)، كما مبين في الجدول (١٥)، مما يدل على تناسق الفلزات مع الكبريت الطرفية. وهذه النتائج تتفق مع ما نشر من بحوث في هذا المجال[49].

الجدول (١٢): قيم الترددات للحزم المهمة في طيف الاشعة تحت الحمراء لليكاندات الحرة

الليكاندات	ν (P=S)	ν (P-S)		ν (P-O-C)	ν (S-S)
		Sym.	Asym.		
L_1	655 (m)	561 (w)	616 (w)	984 (s)	450 (w)
L_2	650 (s)	580 (m)	625 (m)	1035 (s)	475 (m)

الجدول (13): قيم الترددات للحزم المهمة في طيف الاشعة تحت الحمراء للمعقدات المحضرة

رقم المعقد	ν (P=S)	ν (P-S)		ν (Sn-S)	ν (M-S)	ν (M-Cl)
		Sym.	Asym.			
1	653 (s)	529 (m)	609 (vw)	329 (w)	-	-
2	616 (s)	519 (m)	595 (w)	366 (m)	380 (vw)	253 (s)
3	639 (m)	538 (vw)	586 (s)	344 (w)	360 (m)	315 (m)
4	619 (s)	517 (w)	602 (m)	323 (m)	375 (w)	239 (m)
5	627 (m)	524 (w)	585 (vw)	321 (w)	389 (m)	279 (s)
6	602 (s)	522 (w)	579 (vw)	362 (w)	392 (w)	230 (s)
7	616 (w)	540 (vw)	600 (m)	352 (m)	366 (m)	282 (s)
8	645 (s)	535 (m)	605 (s)	364 (w)	400 (m)	-
9	605 (vw)	542 (s)	600 (m)	325 (vw)	347 (w)	258 (s)
10	650 (m)	555 (w)	585 (s)	355 (w)	-	-
11	622 (m)	537 (s)	615 (vw)	338 (m)	388 (m)	302 (w)
12	627 (w)	546 (w)	587 (m)	345 (vw)	372 (m)	269 (s)
13	618 (w)	561 (w)	616 (vw)	323 (m)	379 (w)	293 (vw)
14	613 (m)	559 (vw)	602 (m)	335 (w)	383 (w)	238 (s)
15	632 (s)	552 (w)	593 (m)	342 (vw)	371 (m)	239 (s)
16	620 (s)	563 (m)	590 (s)	352 (s)	368 (w)	289 (m)
17	610 (w)	539 (vw)	589 (m)	345 (w)	379 (m)	-
18	602 (s)	548 (m)	613 (m)	354 (s)	392 (m)	245 (w)

s : حزمة قوية، w : حزمة ضعيفة، vw : حزمة ضعيفة جدا، m : حزمة متوسطة.

٧. اهتزازات مط المجموعة (M-Cl) ν :

عند قياس طيف الاشعة تحت الحمراء للمعقدات المحضرة ظهر امتصاص اصرة (M-Cl) الطرفية ضمن المدى (٢٣٠–٣١٥ سم$^{-١}$)[50] بشكل حزم امتصاص ضعيفة ومتوسطة وقوية احيانا كما موضح في الجدول (١٣) وهذا يتفق مع ما نشر من بحوث في هذا المجال[51].

٨. اهتزازات مط المجموعة ($Bi–NO_3$) ν :

وقد اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان حزم مط المجموعة ($Bi–NO_3$) للمعقدات المحضرة (٣، ١٦،

٢٦) اخذت المواقع الاتية ν_1 (١٠٥٠–١١٦٠ سم$^{-١}$) و ν_2 (١٣١٠–١٣٦٨ سم$^{-١}$) و ν_3 (١٤٢٢–١٤٨٢ سم$^{-١}$) وكما هو مبين في الجدول (١٤). اذ تتناسق مجموعة (NO_3) مع البزموث بشكل احادي السن عن طريق احدى ذرات الاوكسجين ($Bi–O–NO_2$) في حال الفرق بين اعلى ترددين $\geq$ (١١٥ سم$^{-١}$) وهذا يتفق مع ما نشر من بحوث في هذا المجال[53,52].

الجدول (١٤): اهتزازات مط المجموعة ($Bi-NO_3$) ν للمعقدات المحضرة

رقم المعقد	ν_1 ($Bi-NO_3$)	ν_2 ($Bi-NO_3$)	ν_3 ($Bi-NO_3$)	$\Delta\nu$
16	1105 (m)	1368 (s)	1482 (m)	114
26	1160 (m)	1310 (s)	1422 (s)	112

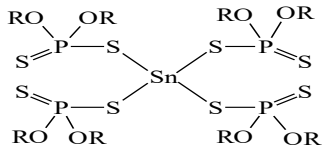
s : حزمة قوية، w : حزمة ضعيفة، vw : حزمة ضعيفة جدا، m : حزمة متوسطة.

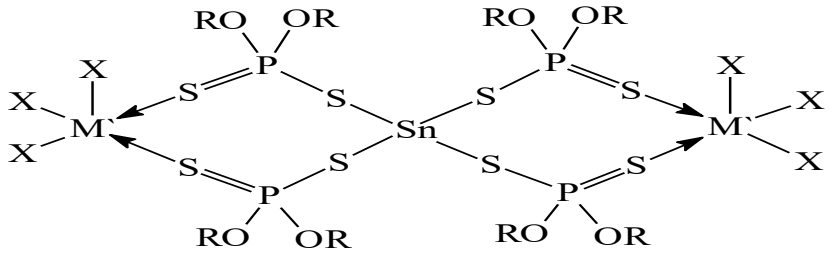
الاستنتاجات:

في ضوء ما ورد من نتائج يمكن استنتاج اشكال المركبات المحضرة الناتجة من تفاعل فلز القصدير مع ليكاندات بس (ثايوفوسفورايل) ثنائي :

الشكل (١): مركبات القصدير (1،10)

مركبات البزموث (8، 17) والانتيمون (9، 18) الناتجة من تفاعل مركبات القصدير اعلاه مع املاح $SnCl_2.2H_2O$ ، $SbCl_3$ ، $Bi(NO_3)_3.5H_2O$ بنسبة مولية (٢:١) فكانت غير موصلة وتتناسق من خلال ذرات الكبريت الطرفية اذ ان مركبات القصدير لها شكل رباعي السطوح، اما مركبات الانتيمون والبزموث فلها شكل ثنائي الهرم المثلثي الكبريتيد وبنسبة مولية (٢:١) وهي ذات تاصر رباعي بترتيب رباعي السطوح ولها الصيغة العامة الاتية





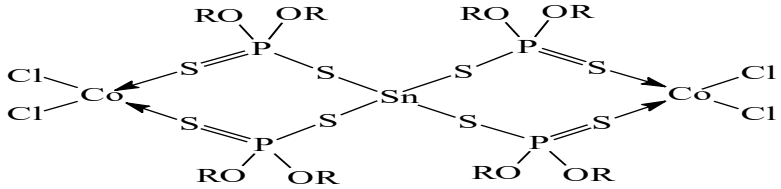
الشكل (2): المعقدات (،8، 9، 17،18)

M` = Sb, X = Cl
M` = Bi, X = O-NO_2

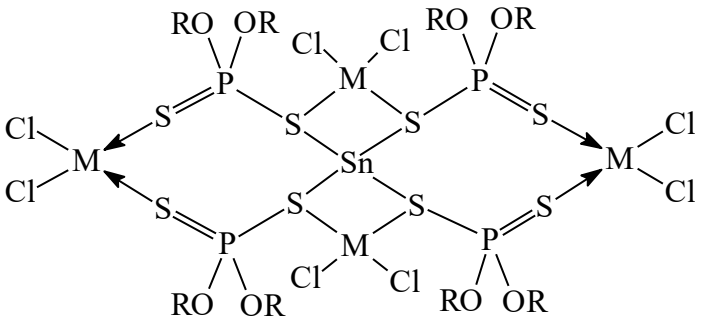
١. معقدات رباعية التناسق: فتتخذ شكل المربع المستوي وكما موضح في الاشكال

وتتضمن المعقدات (٧، ١٦) التي تتخذ شكل الاتية:

رباعي السطوح، اما المعقدات (٥، ٦، ١٤، ١٥)



الشكل (٣): المعقدات (٢، ١١)

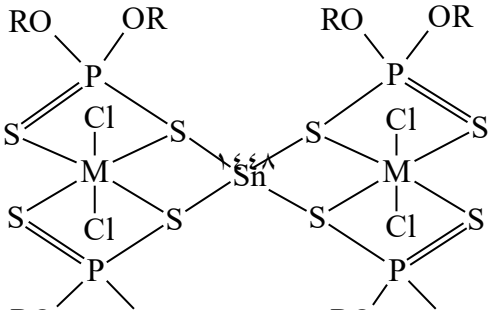


الشكل (٤): المعقدات (٥، ٦، ١٤، ١٥)

M = Co, N

٢. معقدات سداسية التناسق:

وتتضمن المعقدات (٣، ٤، ١٢، ١٣) التي تتخذ شكل ثماني السطوح وتمتلك الصيغة العامة الاتية:



الشكل (٥): المعقدت (٣، ٤، ١٢، ١٣)

اذ ان : (R= isobutyl, tert-butyl)

Refernces

1. A.F. Kopacki and J. Horodecky, U.S. Patent, 3, 549, 588, (1970); Chem. Abstr., 74, 64973, (1971).
2. A.F. Kopacki and J. Horodeky, U.S. Patent, 3, 424, 715, (1969); Chem. Abstr., 70, 69059, (1969).
3. B.T. Ashworth and D. Haper, Ger. Offen DE 1906765, (1969); Chem. Abstr.71, 125745, (1969).
4. T. Biswas, N. Naskar and D.K. Basu, J. Appl. Polym. Sci., 58, 981, (1995).
5. J.A. McCleverty, S. Gill, R.S.J. Kowalski and N.A. Bailey, J. Chem. Soc. Dalton Trans. 493, (1982).
6. R. Wang and K. Li, Runhua yu Mifeng, 22, (1999); Chem. Abstr., 131, 7588, (1999).
7. V. Dinoiu, D. Florescu and C. Stanescu, Rev. Chem. (Bucharest) 47, 725, (1996); Chem. Abstr., 125, 280341, (1996).
8. B.A. Khashin, Usp. Khim, 53, 1325, (1984); Russ. Chem. Rev. (Engl. Transl.) 53, 768, (1984).
9. J. Kalil, Ger. Offen. DE 2 223 000, (1972); Chem. Abstr., 78, 42851, (1973).
10. M. Mikolajczyk and M. Para, Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Chim., 16, 295, (1968).
11. H. Keck, W. Kuchen, J. Mathow, B. Meyer, D. Mootz and H. Wunderlich, Angew. Chem., 93, 1019,

(1981); Chem. Int. Ed. Engl., 20, 975, (1981).

12. I. Cuadrado and M. Moran, Trans. Met. Chem., 9, 96, (1984).
13. A.W. Gal, J.W. Gosselink and F.A. Vollenbroek, Inorg. Chim. Acta., 32, 235, (1979).
14. I. Haiduc, D.B. Sowerby and S.F. Lu, Polyhedron, 14, 3389, (1995).
15. I. Haiduc and D.B. Sowerby, Polyhedron, 15, 2469, (1996).
16. V.I. Kuzmin, T.A. Klimkina and O.A. Logutenko, Zh. Neorg. Khim, 43, 877, (1998).
17. M.N. Hyghes and K.J. Rutt, J. Chem. Soc. Dalton. Trans., 1311, (1972).
18. J.V. Quagliano, J. Fujita, G. Franz, D.J. Philips, J.A. Walmsley and S.Y. Tyree, J. Amer. Chem. Soc., 81, 3770, (1961).
19. R.C. Aggarwal, N.S. Singh and S. Singh, Polyhedron, 4, 343, (1985).
20. F.A. Cotton and G. Wilkinson, “Advance, Inorganic Chemistry”, 5th Ed., Interscience, New York, (1988).
21. R.N. Murly, R.N. Dash and D.V. Raman, J. Indian. Chem. Soc., 61, 943, (1984).
22. R.L. Lintvedt, J.W. Guthrie and M.D. Glick, Inorg. Chem., 19, 2949, (1980).
23. N. Singh, N.K. Singh and C. Kaw, Bull. Chem. Soc., (Jpn), 62, 3328, (1989).
24. R.C. Aggarwal, B. Singh and S. Singh, Indian, J. Chem., 21A, 268, (1982).
25. R.C. Aggarwal, B. Singh and S. Singh, Indian, J. Chem., 21A, 161, (1983).
26. N. Saha and N.C. Gayen, J. Indian. Chem. Soc., 60, 317, (1983).
27. A.C. Massey, B.F.G. Johnson “The Chemistry of Copper, Silver and Gold”, Pergamon Press, Oxford, 41, (1975).

28. D.K. Dwived, R.K. Shukla and B.K. Shukla, Asian, J. Chem., 2, 286, (1990).
29. P.K. Bhattacharya, J. Indian Chem. Soc., LIX, 505, (1982).
30. M.M. Al-Neemi, M. Sc. Thesis, University of Mosul, (1994).
31. I.A. Mustafa and A.A. Taka, Synth. React. Inorg. Metal Org. Chem., 31(4), 517, (2001).
32. F. Ando, T. Hayashi, K. Ohashi and J. Koketsu, J. Inorg. Nucl. Chem., 37, 2011, (1975).
33. Y. Nishida and S. Kida, Inorg. Nucl. Chem. Lett., 7, 325, (1971).
34. H. Nishikawa and S. Ymada, Bull. Chem. Soc., Jpn., 37, 8, (1964).
35. H.S. Verma, R.C. Saxena and J.L. Vats, J. Indian. Chem. Soc.. LIX, 1184, (1982).
36. N.R. Gandhi and K.N. Mushi, J. Indian Chem. Soc., LIX, 1290, (1982).
37. I.J. Sallomi and A.J. Shaheen, Polyhedron, 17, 142, (1998).
38. D. Nicholls “The Chemistry of Iron, Cobalt and Nickel” Pergamon Press, Oxford, 1st Ed., 1090, (1973).
39. K.B. Pandeya, T.S. Warich, R.C. Gaur and R.P. Singh, J. Inorg. Nucl. Chem., 43, 3159, (1981).
40. P.L. Maurya, C.P. Dube and B.V. Agarwala, J. Indian Chem. Soc., LIX, 1400, (1982).
41. M.A. Ali and S.G. Teoh, J. Inorg. Nucl. Chem., 40, 451, (1978).
42. R.K. Verma, B.K. Mishar and K.C. Satplathy, Asian J. Chem., 2, 365, (1997).
43. C.N.R. Rao, “Chemical Application of Infrared Spectroscopy”, New York, (1963).

44. J. Haiduc, Rev. Inorg. Chem., 3, 353, (1981).
45. W.E. Slinkard and D.E. Meek, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1024, (1973).
46. S.E. Livingston and A.E. Mihkelson, Inorg. Chem., 9, 2545, (1978).
47. L.J. Bellamy and L. Beecher, J. Chem. Soc., 475, (1952).
48. D. Dekternnieks, B.F. Hoskins, E.R.T. Tickink and G. Winter, Inorg. Chim. Acta., 85, 215, (1984).
49. A.C. Villa, C. Guastin, P. Porta and A.A.G. Tomlinson, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 956, (1978).
50. K. Nakamoto, “Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds”, Translated by I.J. Sallomi, (1982).
51. L.J. Bellamy, “Infrared Spectra of Complex Molecular”, John Wiley and Sons, Inc., New York, 356, 427, (1956).
52. G. Xinmin, T. Ning, W. Xin, Z. Yin and T. Minyu, Polyhedron, 8, 933, (1989).
53. M. Vidali, Coord. Chem. Rev., 35, 184, (1981).

التأثير الواقي لنبات الجنسنغ *Panax ginseng* في الفئران المعرضة للتسمم بالرصاص

سلوان وعدالله يوسف

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة التأثيرالواقي لزيت نبات الجنسنغ بتركيز(200 ملغم/ كغم) من العلف على بعض المتغيرات الفسيولوجية مثل مكونات الدم والتي شملت تركيز الهيموكلوبين Hb وعدد خلايا الدم الحمر والبيض RBC وWBC ، وبعض المتغيرات الكيموحيوية والتي شملت قياس انزيمات الكبد AST وALT وانزيمات الأكسده مثل الكلوتاثيون GSH و المالونداياالديهايد MDA لذكور الفئران البيض السويسرية المعرضة للتسمم بالرصاص من خلال ماء الشرب بتركيز (50 ملغم/ لتر) لمدة (4 اسابيع) حيث قسمت الحيوانات الى (4 مجاميع) وبواقع (5 فئران) لكل مجموعة. اظهرت النتائج ان لزيت نبات الجنسنغ تاثير واقي ضد التسمم بالرصاص، فقد ادى الى تحسن في مكونات الدم حيث رفع من تركيز الهيموكلوبين Hb وزيادة عدد خلايا الدم الحمر RBC والى انخفاض في عدد خلايا الدم البيض WBC مقارنة مع المجاميع المعاملة بالرصاص والسيطرة. أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$)، كذلك ادت المعاملة بزيت نبات الجينسنغ الى حدوث انخفاض في فعالية انزيمات الكبد AST وALT وارتفاع مستوى الكلوتاثيون GSH وانخفاض في مستوى انزيم المالونداياالديهايد MDA في المجاميع المعاملة بالنبات مقارنة مع المجاميع المعاملة بالرصاص والسيطرة وعند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

Protective effect of *Panax ginseng* in mice exposure to lead toxicity.

Salwan Wadalla Yousif

Abstract

The present study was conducted to determine the protective effect of ginseng oil with concentration of (200 mg/kg) of feed on some pysiological parameters such as blood components, which included

hemoglobin concentration Hb and the number of red and white blood cells, and some biochemical variables which included measuring liver enzymes ATS and ALT, oxidative enzymes like glutathion GSH and malondialdehyde MDA for albino swiss mice exposedto lead poisoning through drinking water with concentration (50 mg/l) for (4 weeks) where the animals were devided to (4 groups), (4 animal in each group). The results showed that ginseng oil had a protective effect against lead poisoning, This led to an improvement in the blood components, Which increased the concentration of hemoglobin Hb and increased the number of red blood cells RBC and decreased the number of white blood cells WBC compared to the groups treated with lead and control. The results showed significant differences at the level of probability ($P\leq0.05$), and the treatment of ginseng oil resulted in a decrease in the effectiveness of liver enzymes ATS and ALT, a rise in the level of glutathion GSH and a decrease in the level of malondialdehyde MDA in ginseng treated groups compared to the groups treated with lead and control at the level of probability ($P\leq0.05$).

المقدمة

تلعب الاطعمة والاعشاب دور مهم في الوقايه من العديد من الامراض والاضرار الناتجه من التلوث البيئي والتعرض للتسمم بالملوثات المختلفه وخاصه المعادن الثقيله (Fabricant and Fransworth, 2001).

وقد اثبتت الابحاث العلميه الحديثه الفاعليه الدوائيه لكثير من النباتات الطبيه والاعشاب المنتشره بكل انحاء العالم ومعالجة العديد من الامراض مثل السرطان cancerوالسكري diabetesوالزهايمر alzaheimer وامراض القلب الوعائيه وكذلك تلعب النباتات دورا في تعزيزجهاز المناعه من خلال ازالة الجذور الحره في الجسم وازالة الضرر التاكسدي oxidative damages للخلايا والانسجه المعرضه التلوث والتسمم والكرب التاكسدي (Aronson, 2008).

ومن هذه النباتات نبات الجنسنغ (GINSENG) وهو نبات معمر ينتمي الى الفصيلة الارالية Araliaceae ويمتلك جذور حنطية اللون مدببة الشكل ويتراوح طولها بين 5-35 سم وتستخدم للاغراض الطبية ويتوفر هذا النبات في شمال امريكا

وفي مناطق شرق اسيا مثل كوريا وبوتان وشرق سيبيريا (Attele, *et.al.*, 1999).

يوفر الجنسنغ العديد من الفوائد الصحية لجسم الانسان ونذكر منها تعزيز الطاقة في الجسم من خلال زيادة النشاط العقلي والحركي عند الاشخاص الذين يعانون من التعب والارهاق ويمتلك النبات العديد من الخصائص المضادة للالتهابات حيث يحتوي الجنسنغ على مركبات تسمى الجنسينوسيدات Ginsenosides التي تمتلك خصائص مضادة للالتهابات وذلك لانها تؤثر في الجهاز المناعي بطريقه تقلل من الالتهابات كما له فوائد في تقليل مستويات السكر بالدم ويعد الجنسنغ من اغلى الاعشاب بالعالم (Choi, *et.al.* 1995).

كما يعد الجنسنغ من النباتات المضاده للاكسده لاحتوائه على العديد من المركبات والمواد والزيوت التي تتمتع بالعديد من الخصائص التي تقاوم التلوث وازالة الجذور الحره والمواد السامة في الجسم وخاصه التلوث بالمعادن ومن هذه المعادن الرصاص الذي يعد من احد الملوثات البيئية والتسمم بالرصاص هو نوع من انواع التسمم المعدني الناجم عن تراكم الرصاص في الجسم ويعتبر الدماغ اكثر الاعضاء حساسيه للرصاص وقد تشمل اعراض التسمم الام البطن والصداع ومشاكل الذاكرة والعقم وفقر الدم الحاد وخاصه عند الاطفال وقد يتعرض الشخص للرصاص عن طريق الهواء والماء الملوث او الطعام والمنتجات الاستهلاكية و لعب الاطفال (Francis, 2004) (Kim, 2012). من هنا جاء الهدف من الدراسة وهو ايجاد او معرفة التاثير الواقي لنبات الجنسنغ ضد التلوث والتسمم بمعدن الرصاص في الفئران البيض السويسرية من خلال ملاحظة تاثير زيت نبات الجنسنغ بتركيز 200 ملغم/كغم من العلف ودراسة تاثيره على مكونات الدم وبعض انزيمات الكبد وانزيمات الاكسده .

المواد وطرق العمل

نبات الجنسنغ : تم الحصول على كبسولات نبات الجنسنغ الامريكي من الاسواق المحليه والتي تحتوي على الماده الغعاله الجنسينوسيد بتركيز (200 ملغم) .

حيوانات التجربة : اجريت الدراسة على ذكور الفئران البيض من سلالة Balb/c التي تم الحصول عليها

من كلية طب الاسنان / جامعة الموصل بعد التأكد من خلوها من الامراض وضعت في اقفاص بلاستيكية بواقع (5 فئران) لكل قفص تراوحت اوزانها مابين (35-30 غم) اعمارها (5-4) اشهر وقد وفرت لها الظروف المختبرية المناسبة من درجة الحرارة والرطوبة

تصميم التجارب

١- مجموعة السيطرة: اعطيت عليقه قياسية وماء اعتيادي .

٢- المجموعة الثانية : اعطيت عليقة قياسية مضافا لها زيت نبات الجنسنغ بتركيز 200 ملغم/كغم وماء اعتيادي.

٣- المجموعة الثالثة : اعطيت عليقة قياسية مضاف لها زيت نبات الجنسنغ بتركيز 200 ملغم/كغم وماء مضاف اليه خلات الرصاص بتركيز 50ملغم/ لتر.

٤- المجموعة الرابعة : اعطيت عليقة قياسية وماء مضاف اليه خلات الرصاص بتركيز 50 ملغم/ لتر فقط.

الفحوصات الدموية

بعد تخدير الفئران تم سحب الدم من زاوية العين بوخز الجيب خلف الحجابي Retro orbital sinusوذلك باستخدام انابيب شعريه خاصه للحصول على عينات الدم لاجراء الفحوصات عليها حيث تم حساب عدد كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض وتركيز الهيموجلوبين وحسب طريقة (Jain,1986)

الفحوصات الكيموحيوية

١- تقدير فعالية ناقل الامين الالنين (ALT) Alanin amino transferase

تم تقدير فعالية انزيم ناقل الامين الالنين (ALT) باستخدام عدة التحليل الجاهزه من شركة Randoxالانكليزيه اعتمادا على الطريقه اللونيه المتبعه من قبل (Reitman and frankel, 1957) وحددت فعالية الانزيم مقدره بالوحده العالمية / لتر بالاعتماد على المنحنى الخاص بعدة التحليل الجاهزه المستخدمه لقياس فعالية انزيم (ALT) .

٢- تقدير فعالية ناقل الامين الاسبارتيت(AST) Aspatate amino transferase

تم تقدير فعالية انزيم ناقل الامين الاسبارتيت باستخدام عدة التحليل الجاهزه من شركة Randoxالانكليزيه اعتمادا على الطريقه اللونيه المتبعه من قبل(Reitman and frankel, 1957) وحددت فعالية الانزيم مقدره بالوحده العالميه /لتر بالاعتماد على المنحنى القياسي الخاص بعدة التحليل الجاهزه المستخدمه لقياس فعالية الانزيم (AST) .

٣- تقدير مستوى الكلوتاثيون في انسجة الكبد بطريقة المان المحوره (James, *et.al.*,1982) قدر ايضا مستوى المالونداياالديهايد في انسجة الكبد مقدره بالنانومول/غم باستخدام الطريقه المتبعه من قبل الباحثين (Volken, *et.al.*, 2001) .

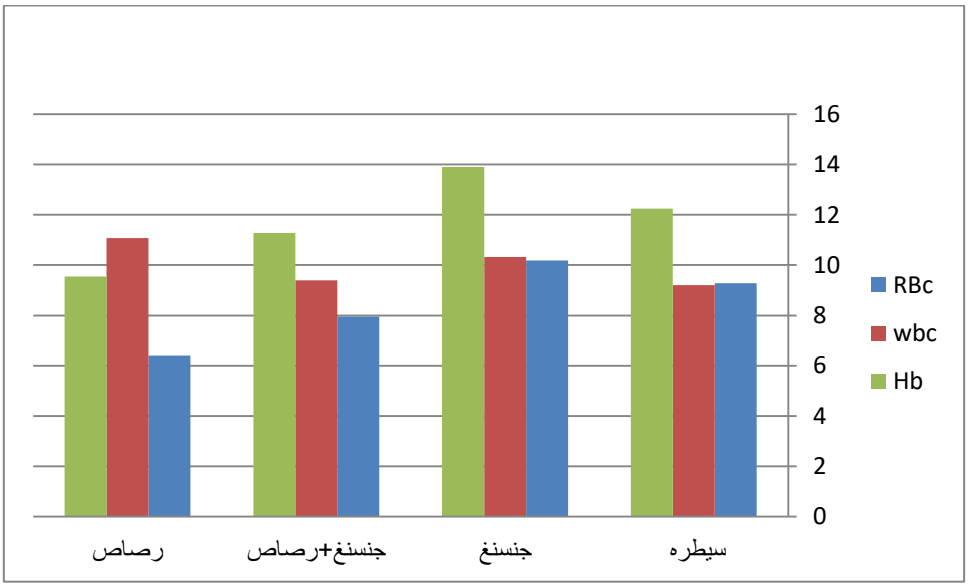
التحليل الأحصائي :

تم تحليل البيانات عن طريق تحليل التباين باتجاه واحد (one way Anova) من ثم وضحت النتائج على شكل اعمدة بيانية باستخدام برنامج (Excell 2010) (Daniel, 2010).

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج البحث فعالية نبات الجنسنغ ودوره في خفض التاثير السام لمعدن الرصاص حيث يبين الشكل (١) تاثير زيت نبات الجنسنغ على بعض مكونات الدم فقد حدث انخفاض معنوي ($P\leq 0.05$) في عدد خلايا الدم الحمر RBC وتركيزالهيموكلوبين Hb وارتفاع في عدد خلايا الدم البيض WBC عند تعريض الحيوانات للرصاص بتركيز50 ملغم/ لتر في ماء الشرب مقارنه بمجموعه السيطرة في حين حدث تحسن في نفس مكونات الدم في المجاميع التي عوملت بزيت الجنسنغ بعد خلطه مع العلف بتركيز 200 ملغم/ كغم حيث ارتفع عدد خلايا الدم الحمر وتركيز الهيموكلوبين وانخفض عدد خلايا الدم البيض مقارنه مع مجموعة السيطرة هذه النتائج جاءت متفقه مع ماقام به (Ali and Levent, 2008) حيث استخدم نبات الجنسنغ وتاثيره على مكونات الدم في الفئران المعرضه للتسمم بمعدن الفلور نستنتج من هذا ان لنبات الجنسنغ القدره على ازالة جزء من الضرر الذي احدثه الرصاص وحالة فقر الدم التي ظهرت نتيجه معاملة الحيوانات بالرصاص حيث ان لنبات الجنسنغ القدرة على تنشيط الدوره الدمويه ورفع معدل نشاط

الجسم وهو يعتبر مقوي عام ويرجع تاثيره العلاجي الى احتوائه على مادة والجنسينوسايدز Ginsinosides وكلوكسيدات ستيرويديه Steroid Glycoside ومواد صابونيه وزيوت طياره تعمل على تقوية جهاز المناعه ومعالجة فقرالدم (Stavro, *et.al.*, 2006) .



شكل (1) تاثير زيت الجنسنغ بتركيز 200ملغم/كغم من العليقه على بعض مكونات الدم في الفئران

كذلك اظهر الشكل (٢) الى حدوث ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية انزيم ناقل الامين AST وانزيم ناقل الالنين ALT في نسيج كبد الفئران المعرضه للرصاص مقارنه مع مجموعة السيطرة في حين انخفضت فعالية الانزيمين في المجموعة المعاملة بالنبات فقط ومجموعة النبات مع الرصاص انخفاضا معنويا مقارنة مع مجموعة الرصاص لوحده ويعزى هذا الانخفاض في فعالية الانزيمين نتيجة المعاملة بزيت نبات الجنسنغ الى احتوائه على المواد الفعالة التي ذكرت سابقا والتي تعمل كمواد مضاده للاكسده والتي لها دور كبيرفي كبح الجذور الحرة وحماية خلايا الكبد من التلف نتيجة الاجهاد الناتج من تفاعلات الجذور الحره ومن ثم تحسين وظيفة الكبد وزيادة نشاط الانزيمات المضاده للاكسده والتي تمنع تكون الجذور الحرة وبالتالي تحافظ على المستوى الطبيعي للانزيمات الكبدية في مصل الدم(Tapsell, *et.al.*, 2006) (Mi, *et.al.*, 2017) .