

Al-Mustansiriya Journal of Science

Vol. 13

No. 4

Year 2000

***Issued by College of Science
Al-Mustansiriya University***

AL-MUSTANSIRIYA ***JOURNAL OF SCIENCE***

Head Editor
Prof. Dr.
Saad M. Al-Mashhadani
Prof. Biology

General Editor
Dr.
Ridha I. Al-Bayaty
Prof. Chemistry

Editorial Board

Dr. Ramzy R. Ali	Member
Dr. Abdul Aziz M. Al-Kubaisy	Member
Dr. Kais J. Latif	Member
Dr. Hashim H. Jawad	Member
Dr. Mahmood Kh. Al-Shemary	Member

Contents

<u>Item</u>	<u>Page No.</u>
Synthesis of New Cinnolines Redha I.H. Al-Bayati and Olfa A.Al-Janaby	1
Stochastic Model for precipitation in Iraq Hassan H. Salman	9
Enhancement of CR-39 Detector Chemical Etching Using Ultrasonic Environment MUNTHIR A.R. IBRAHIM - ABDULLA A. RASHEED MAHDIM. MUTAR	27
Digital Filters for Hit Noise Reduction in some X-ray Imaging Systems Dr. Hashim H. Jawad , Dr.Ali Abid D. AL-Zuky and Firas Sabih M. AL-Wahieb	33
Speckles Noise Reduction Using Non-Adaptive Filters ALI ABID DAWOOD AL-ZUKY, Dr. AMAL M. AL-HILLOU, and ELHAM J. MOHAMMED	45
Inhibition of (Serum, Testicular, Bacterial) Hyaluronidase By The Morin Compound Abdul Kadir M. N. Jassim	63
The Fuzzy External Direct Sum For Some Types Of Fuzzy Submodules Innam M-A. Hadi , Rabee Hadi Jari	75
Polyvinylpyrrolidone as a prophylactic agent against Klebsiella pneumoniae infection Jamela Ghadban A. Al-Grawy	85

Contents

<u>Item</u>	<u>Page No.</u>
Preliminary Consideration on Few Active Foci of Visceral Leishmaniasis in the central Region of Iraq SHIHAB AHMED SALMAN	95
ACTIVE CMV INFECTION IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS AL- IZI, SANA M. H.; OMAR, ALI R. ; KHAMMAS, KALIL. M.; ABED-AUN ALA'A HUSAIN	101
Preparation of Quality Control Solution for Hematology Tests Sameer .H.Checad , Mussab .F.Omer , Enaam .M.Rasheed	109
Carbonic Anhydrase A Histochemical Substrate for Muscle fiber typing HAKI. I. IBRAHIM AND THURAYA. K. FADHIL HAMMAD SHIHAB HOSPITAL	113

Synthesis of New Cinnolines

Redha I.H. Al-Bayati and Olfa A. Al-Janaby

Dept of chemistry, College of Science,

Al-Mustansiriya Univ.

Baghdad, Iraq

ABSTRACT

Reaction of 4-hydroxy-5-methoxy cinnoline (1) with phosphorus oxy chloride led to the formation of 4-chloro-5-methoxy cinnoline (2). Compound (2) subsequently converted by nucleophilic reaction with thiourea to give 4-thio-5-methoxy cinnoline (3). Compound (3) was used as a good synthon for further formation of cinnoline derivatives (4-8). These compounds were elucidated by using some spectral data (IR, UV) and CHN analysis.

الخلاصة

يؤدي تفاعل ٤- هيدروكسي -٥- ميثوكسي سينولين مع اوكسي كلوريد الفسفور الى تكوين ٤- كلورو - ٥- ميثوكسي سينولين (١) والتي تم تحويله يتفاعل نيكلو فيلي مع الثايوريا الى ٤- ثايو -٥- ميثوكسي سينولين (٣). ان المركب (٣) استخدم كمادة اساسية لتكوين سينولات اضافية (٤-٨). شخّصت المركبات المحضرة باستخدام بعض الطرق الطيفية (IR-UV) والتحليل الدقيق للعناصر .

INTRODUCTION

Many cinnoline derivatives have been found to be considerable interest because of their biological activity¹⁻³. Some of these derivatives are useful antihypertensive agent⁴, analgesic, antipyretic and for their CNS depressant actions and antitubercular activity⁶ Further more, several

derivatives have found to possess antimicrobial, antifungal⁷ and anticancer activities⁹.

In the present work, many 4-substituted (C-Cl, -SH, -CH₂C=CH, CH₂-C=C-CH₂NR₂)-5- methoxy cinnolines were introduced .

EXPERIMENTAL

Melting points were determined on Gallen kamp melting point apparatus and uncorrected IR spectra were recorded on pye Unicam Sp³-100 spectrophotometer as KBr discs or films. The UV spectra were performed on a Hitach/UV-2000 spectrophotometer . Elemental analysis were carried out on CHN analyzer type 1106 (Carlo Erba).

Preparation of 4- hydroxy –5- methoxy cinnoline [1].

A mixture of 2-amino-6-methoxy acetophenone (9.9gm) (0.06 mol) in concentrated hydrochloric acid (250 ml) was diazotised at 0⁰ with sodium nitrite (5 gm) in water (10 ml). Concentrated hydrochloric acid (250 ml) was added and after four days at room temperature, the solution was rapidly evaporated to dryness the residue in boiling water was treated with excess of hot aqueous sodium acetate , and the precipitate was recrystallised (charcoal) from boiling water (table 1).

Preparation of 4- chloro –5- methoxy cinnoline [2].

The pure hydroxy cinnoline (3.4 gm) (0.02 mol) and phosphorus oxy chloride (50ml) were heated on the steam- bath until dissolution occurred and then heated for a further 3 hrs. The cooled solution was decomposed with ice and 4 N-potassium hydroxide and yielded to ether the white product , see (Table 1)

Preparation of 4- Thio –5- methoxy cinnoline [3].

Amixture of compound [2] (5.8 gm) (0.03 mole) and thiourea (0.04) mole in ethanol (50ml) were heated under reflux for (3 hrs) with stirring, the excess of ethanol was removed then under vaccum than a concentrated

solution of Na_2CO_3 was added on cooling the product was obtained, recrystallized from ethanol to give product (3) Table (1).

Preparation of 4-propynyl thio-5-methoxy cinnoline [4]

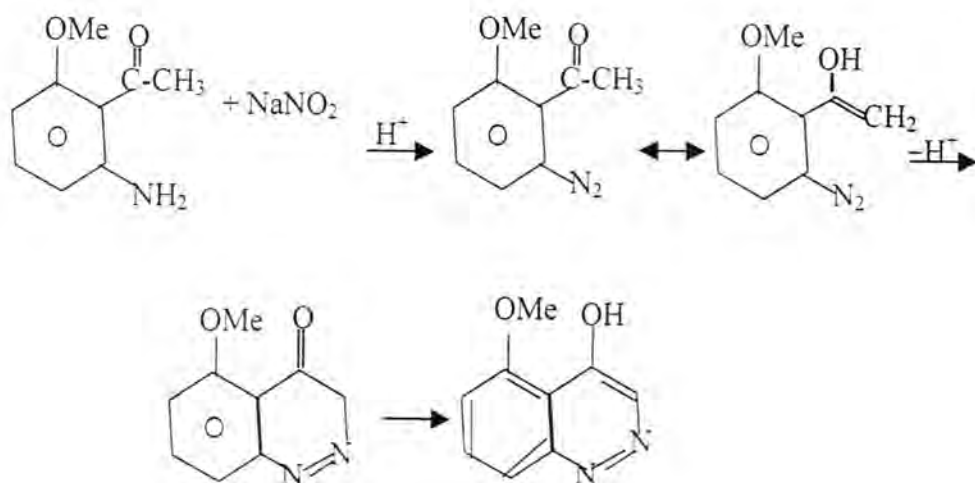
Propargyl bromide (1.92 gm) (0.01 mole) was added dropwise to a mixture of compound [3] (0.01 mole) and triethyl amine (0.01 mole) in ethanol (50 ml) with stirring. The mixture was then refluxed for (2hrs) on steam bath and the excess of ethanol was removed, the residue was extracted by benzene, dried over magnesium sulphate on removing, the product was obtained [4] (table 1)

Preparation of Mannich Bases

A mixture of acetylenic compound [4] (0.001 mole) the appropriate secondary amine (0.001 mole), paraformaldehyde was refluxed (0.001 mole) and cuprous chloride (0.1 gm) in isopropyl alcohol (20 ml) refluxed for (3hrs) filtered off then, poured into crushed ice and extracted with benzene, dried over calcium chloride, filtered. On removing the solvent, the product was obtained (table 1).

RESULTS AND DISCUSSION

The compound 4-hydroxy-5-methoxy cinnoline (1) was firstly prepared by the diazotization of 2-amino-6-methoxy acetophenone with sodium nitrite in acidic media and the mechanism of its formation may be followed as:-



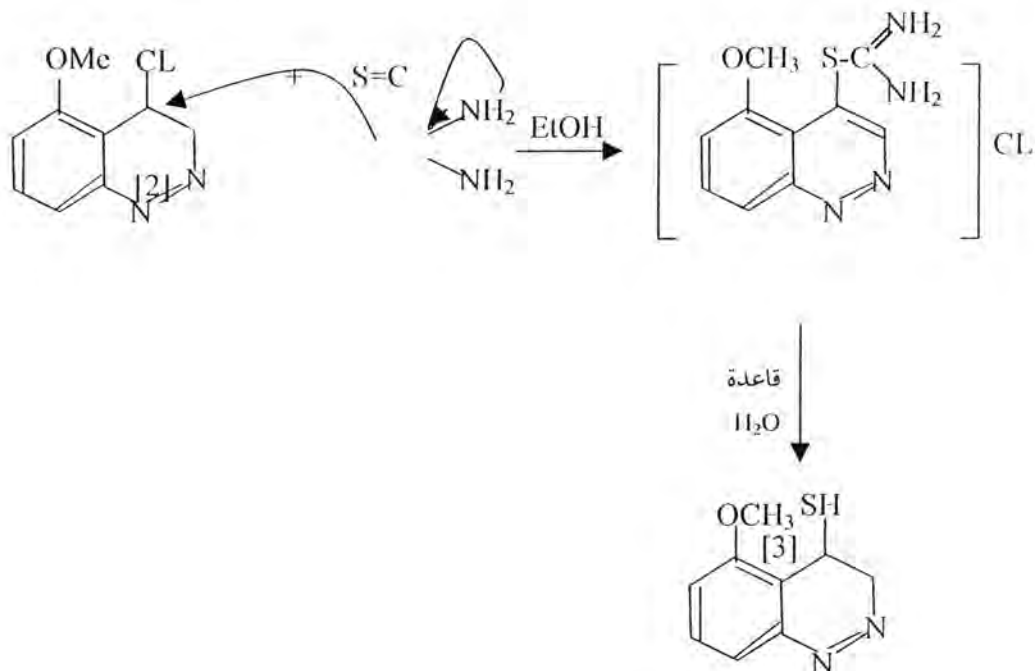
Scheme [1]

This compound is elucidated by its m.p. elemental analysis and, IR spectral, uv spectral data as shown in Table (1-4).

4-chloro-5-methoxy cinnoline (2) is prepared by the reaction of phosphorus oxy chloride with compound [1], the reaction is followed by disappearance of OH absorption band at 3400 cm^{-1} and appearance of C-CL absorption band at 780 cm^{-1} in its IR spectrum (table 3).

The CL group at position (4) in compound (2) is replaced by SH through nucleophilic substitution reaction with thioarea and give 4-mercapto-5-methoxy cinnoline(3). The appearance of IR new bands at 2250 and 780 cm^{-1} were tentatively belonged to VS-H and SC-S respectively.

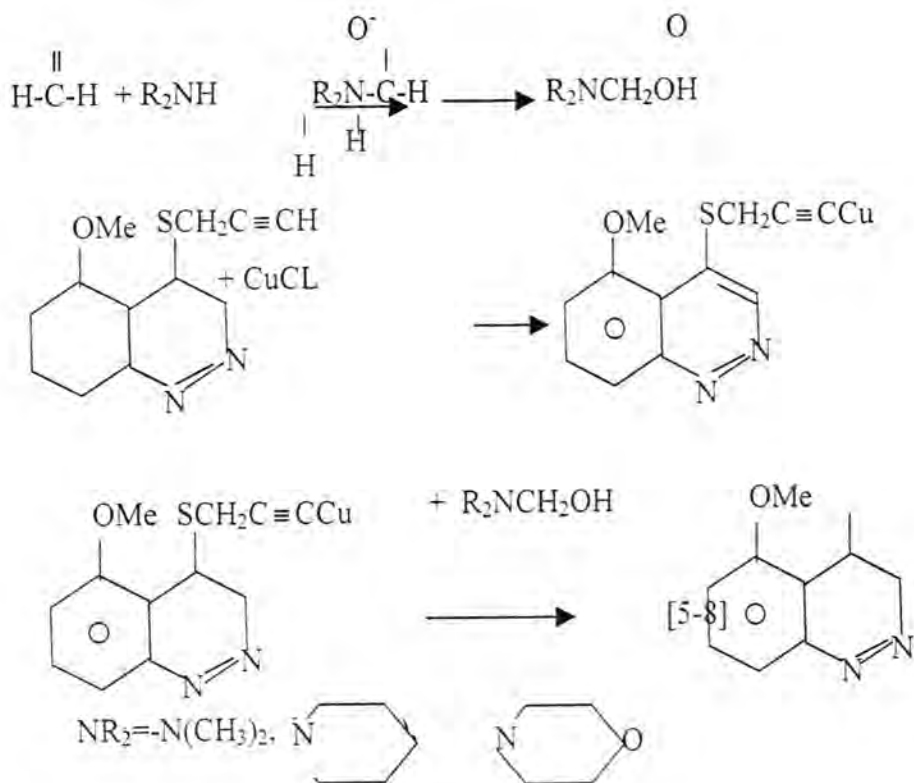
The mechanism of its formation (3) may be followed as:-



Scheme [2]

The chemical reaction of the SH group at position (4) in compound (3) plays a significant role in using this compound as a good synthon in the synthesis of new cinnoline derivatives. So we investigated the reaction of compound (3) with propargyl bromide in the presence of triethylamine where the product (4) with high yield was formed. The reaction is followed by disappearance of SH absorption band at 2250cm^{-1} and appearance of two characteristic bands at 3200 and 2150cm^{-1} in IR spectra, which attributed to $\nu \equiv \text{CH}$ and $\nu \text{C} \equiv \text{C}$ respectively (Table 4).

On the other hand we investigated the reaction of cinnoline derivative (4) with appropriate secondary amines through Mannich reaction in the presence of CuCl as shown in scheme (3).



Scheme (3)

The structure of these compounds (5-8) were confirmed by their m.ps, elemental analysis and some spectral data, the IR showed disappearance of $\nu \equiv \text{CH}$ at 3200 and appearance of new bands formed at 2150cm^{-1}

REFERENCES

1. Kassim E.M, Kamel M.M, Makhoulf A.A, Omer M.T. Die pharmazie 44 62. (1989)
2. Kassim E.M, Kamel M.M, an Khirr Eldin N.Y. pakistan J.Sci Ind 33b 315 (1990)
3. Drain D.J, Seymour D.E. J. chem Soc 852(1955)
4. Drvey J, Ringier BH. Helv Chim Acta 34. 195 (1951)
5. Destovent G. Med R Rev 1 73 (1981)

6. Vingkar sharvani K; Bobude A.S, Khadse B.G. Haffkine Indian J. Hetro cycl chem (2001)
7. Gavini, Elisabtta, Juliano Clandia, Mule Antonio, Pirisino, Dipartimento discienze del farmaco, universita sassari, sassari, Italy J. Arch pharm, 333, 10 (341-346) (2000)
8. Amer, Atefm. Chemistry department faculty of science, university Zagazig Egypt, Monatsh chem, 132(7)(859-870). (2001).

Stochastic Model for precipitation in Iraq

Hassan H. Salman

**Department of Meteorology, College of Science, Al-Mustansiriyah
University-Baghdad, Iraq**

الخلاصة

قدم في هذه الدراسة نموذج للتساقط، تم تطبيقه على أشهر كانون الثاني ونيسان، وتشرين الثاني لثمان محطات في العراق. يتناول النموذج توزيع الاحتمالية لعدد الأيام الممطرة، وتوزيع الاحتمالية الشرطية لعمق التساقط لعدد معين من الأيام الممطرة وتوزيع الاحتمالية عبر الشرطية لعمق التساقط. استعرضت النتائج بهيئة منحنيات الاحتمالية للحالات التي تضمنتها الدراسة.

ABSTRACT

In this study, A stochastic Model for the precipitation is presented applied for January, April and November in eight stations in Iraq. This Model deals with the probability distribution of number of rainy days, Conditional probability distribution, of precipitation depth given a certain number of rain days, and the unconditional probability distribution of the precipitation depth. Results are given as probability curves for different cases.

INTRODUCTION

Knowledge about precipitation distribution on temporal and spatial scales represents a vital step in planning for water resources and practicing better control. Precipitation quantity, variability and behavior represent subject of interest for hydrologists, meteorologists, environmental planners, etc. For Iraq, most of the research work on precipitation was descriptive, yet many publications, especially the recent, concentrate on the quantitative aspects.

Hassan A. and Mashkour M. (1972) studied the question of the mean annual precipitation in Iraq by statistical, theissen and isohyetal methods. Al-Nuaimi A., et.al. (1993) studied the variation in precipitation associated to

the weather systems affecting different parts of Iraq. Al-Arethy F. (2000) used the ARIMA models for predicting the mean annual precipitation for many stations in Iraq. Salman H. et.al. (2002) found and tested the best fit theoretical probability distribution function for many stations in Iraq. In their study, the synoptic analysis of the distribution of the rainfall is included also.

In this paper, analysis of the precipitation events is presented by a stochastic model which include the probability to have a particular number of days with rainfall exceeding 1 mm in a station in one fixed period of time (rain season). The model includes the distribution function of the total precipitation depth during a particular period of time for a certain number of rainy days (conditional probability). The unconditional probability of precipitation depth in on period of time (one month for example) is also given.

Model Formulation

Assuming that the probability that a single day with precipitation exceeding 1 mm ($R > 1 \text{ mm}$) in an interval $(t, t + \Delta t)$ is $\lambda \cdot \Delta t + b(\Delta t)$ where λ is constant for a particular case and $b(\Delta t)$ denotes any function having the

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{b(\Delta t)}{\Delta t} = 0 \dots \dots \dots (1)$$

property of:

With the assumption that the probability of one day of ($R > 1 \text{ mm}$) in $(t, t + \Delta t)$ is $b(\Delta t)$. If the number of days ($R > 1 \text{ mm}$) in any time interval is independent of number of days ($R > 1 \text{ mm}$) at any other non overlapping time interval:

$$P(1 \text{ or more days}) = P(1 \text{ day}) + P(> 1 \text{ day})$$

$$P(1 \text{ day}) = \lambda \Delta t + b_1(\Delta t), P(> 1 \text{ day}) = b_2(\Delta t)$$

$$P(1 \text{ or more day}) = \lambda \Delta t + b_1(\Delta t) + b_2(\Delta t) = \lambda \Delta t + b(\Delta t) \dots \dots (2)$$

But $b_1(\Delta t)$ and $b_2(\Delta t)$ have the same property (eq.1), so their sum will have the same property:

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{b_1 \Delta t + b_2 \Delta t}{\Delta t} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{b_1 \Delta t}{\Delta t} + \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{b_2 \Delta t}{\Delta t} = 0$$

$$P_0(t + \Delta t) = P(0 \text{ day in time } t + \Delta t)$$

$$= P(0 \text{ in time } t). P(0 \text{ day in time } t, t + \Delta t)$$

$$= P_0(t) \cdot [1 - P(1 \text{ or more in } (t, t + \Delta t))]$$

$$= P_0(t) \cdot [1 - \lambda \Delta t - b(\Delta t)]$$

$$\text{Therefore } P_0(t + \Delta t) - P_0(t) = -P_0(t) \cdot (\lambda \Delta t + b_2(\Delta t))$$

$$\frac{P_0(t + \Delta t) - P_0(t)}{\Delta t} = -P_0(t) \cdot \left[\lambda + \frac{b(\Delta t)}{\Delta t} \right]$$

$$\frac{dP_0}{dt} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P_0(t + \Delta t) - P_0(t)}{\Delta t} = -P_0(t) \cdot [\lambda + 0] = -\lambda P_0(t) \dots \dots \dots (3)$$

For the nonoverlapping time intervals $(0, t)$ and $(t, t + \Delta t)$, the only possibilities of getting (n) days of precipitation in the time $(0, t + \Delta t)$ are:

n days in $(0, t)$ and 0 in $(t, t + \Delta t)$

n-1 days in $(0, t)$ and 1 in $(t, t + \Delta t)$

n-2 days in $(0, t)$ and 2 in $(t, t + \Delta t)$ and so on.

For mutually exclusive events their probabilities add to get:

$$P(t + \Delta t) = P(t) \cdot R(\Delta t) + P_{n-1}(t) \cdot P(\Delta t) + P_{n-2}(t) \cdot P_2(\Delta t) + \dots + P(t) \cdot R(\Delta t) \dots \dots \dots (4)$$

$$\text{But } P_0(t) + P_1(t) + P_2(t) + \dots = 1 \dots \dots \dots (5)$$

For small t , $t = \Delta t$, substituting in eq.2 gives:

$$P_0(\Delta t) = 1 - \lambda \Delta t - b(\Delta t) \dots \dots \dots (6)$$

Substituting (eq.6) in (eq.4) gives:

$$P(t + \Delta t) = P(t) \cdot (1 - \lambda \Delta t - b(\Delta t)) + P_{n-1}(t) \cdot (\lambda \Delta t + b_1(\Delta t) + b_2(\Delta t)) \dots \dots (7)$$

$$\frac{dP_n}{dt} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P_n(t+\Delta t) - P_n(t)}{\Delta t} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \left(-P_n(t) \left(\lambda + \frac{b_1(\Delta t)}{\Delta t} \right) + P_{n-1}(t) \left(\lambda + \frac{b_1(\Delta t)}{\Delta t} \right) + \frac{b_2(\Delta t)}{\Delta t} \right)$$

$$\frac{dP_n}{dt} = -\lambda P_n(t) + \lambda P_{n-1}(t) \dots \dots \dots (8)$$

Equations (3) and (8) represent a system of differential equations for which the solution requires the following initial conditions:

$$P_0 = 1, P_1(0) = P_2(0) = \dots \dots \dots P_n(0) \text{ for } n > 1$$

For eq.(3) the solution with $P_0(0) = 1$ is: $P_0(t) = e^{-\lambda t}$, substituting this in eq.(8) with $n=1$ we get :

$$\frac{dP_1}{dt} + \lambda P_1(t) = e^{-\lambda t}$$

This equation is linear in $P_1(t)$ with integration factor $e^{-\lambda t}$ and it can be written as:

$$\frac{d}{dt} (e^{-\lambda t} P_1(t)) = \lambda$$

Integrating the last equation results in:

$$e^{\lambda t} P_1(t) = \lambda t + C_1$$

$C_1 = 0$ with $t=0$, $P_1(0) = 0$, therefore :

$$P_1(t) = \lambda t e^{-\lambda t}$$

This equation can be substituted into eq.(8) with $n=2$ and the result is:

$$\frac{dP_2(t)}{dt} + \lambda P_2(t) = \lambda (\lambda t) e^{-\lambda t}$$

Integration gives:

$$e^{-\lambda t} P_2(t) = \frac{\lambda^2 t^2}{2} + C_2$$

With $P_2(0)=0$ $C2=0$

Proceeding with the same manner gives the generalization:

$$\begin{aligned} P_n(t) &= \frac{(\lambda t)^n}{n!} e^{-\lambda t} \dots n = 0, 1, 2, \dots \dots \dots (9), \\ P_2(t) &= \frac{(\lambda t)^2}{2} e^{-\lambda t}. \end{aligned}$$

The probabilities add up to 1 since:

$$P_0(t) + P_1(t) + \dots = e^{-\lambda t} \left(1 + \frac{\lambda t}{1} + \frac{(\lambda t)^2}{2} + \dots \right)$$

$$P_0(t) + P_1(t) + \dots = e^{-\lambda t} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(\lambda t)^n}{n!} = e^{-\lambda t} e^{\lambda t} = 1$$

If the notation:

$E_n^{t_0, t}$ denotes the number of days with $(R > 1mm)$ during the interval (t_0, t) is exactly n then

$$P(E_n^{t_0, t}) = e^{-\lambda t} \frac{(\lambda t)^n}{n!} \dots \dots \dots (10)$$

which is the mass probability of the Poisson Type and for which λ_1 is given by

$$\lambda_1 = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P(E_1^{t+\Delta t})}{\Delta t}$$

The distribution function will be:

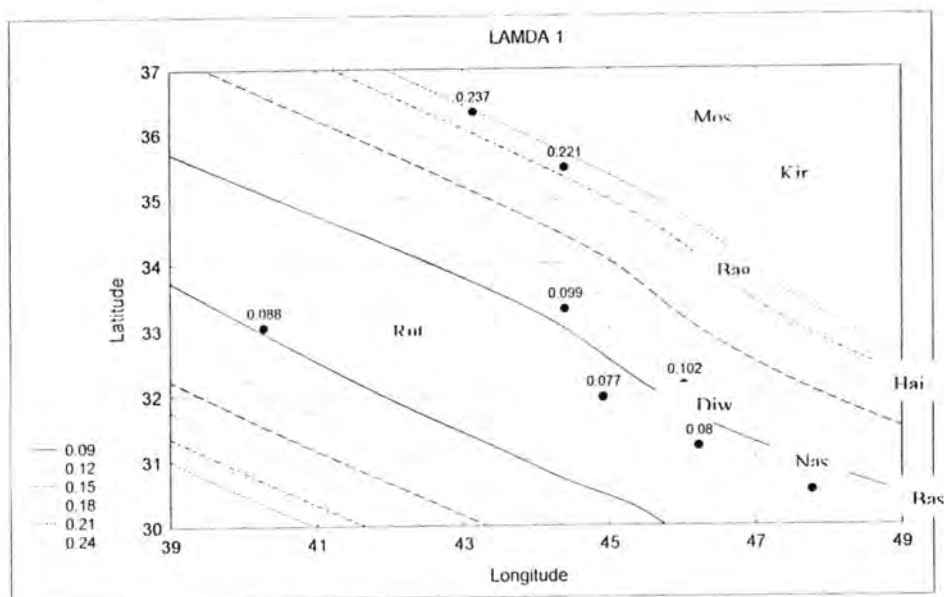
$$F(x) = \sum_{i=1}^n P(E_i^{t_0+\Delta t})$$

Let $G_n^{x_0, x}$ means the total precipitation depth accumulates until the n th day is less than or equal to $(x - x_0)$ and that accumulated precipitation with the $n+1$ days is greater than $x - x_0$ so:

$$\sum_{n=1}^{n\infty} P(G_n^{x_0, x}) = 1$$

Taking

the appropriate alternative especially for design of irrigation and municipal projects.



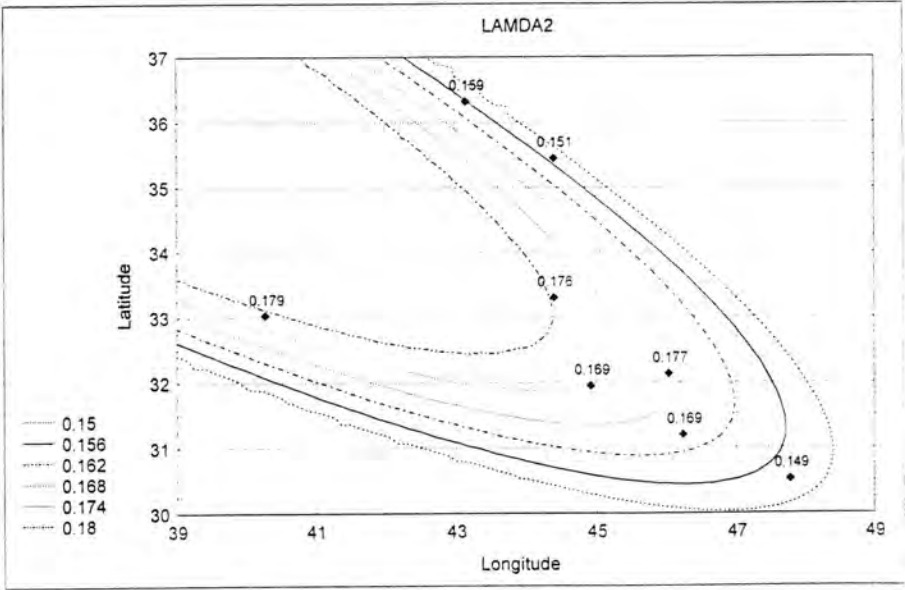


Fig.1 Contour Plots of Model Parameters λ_1 and λ_2

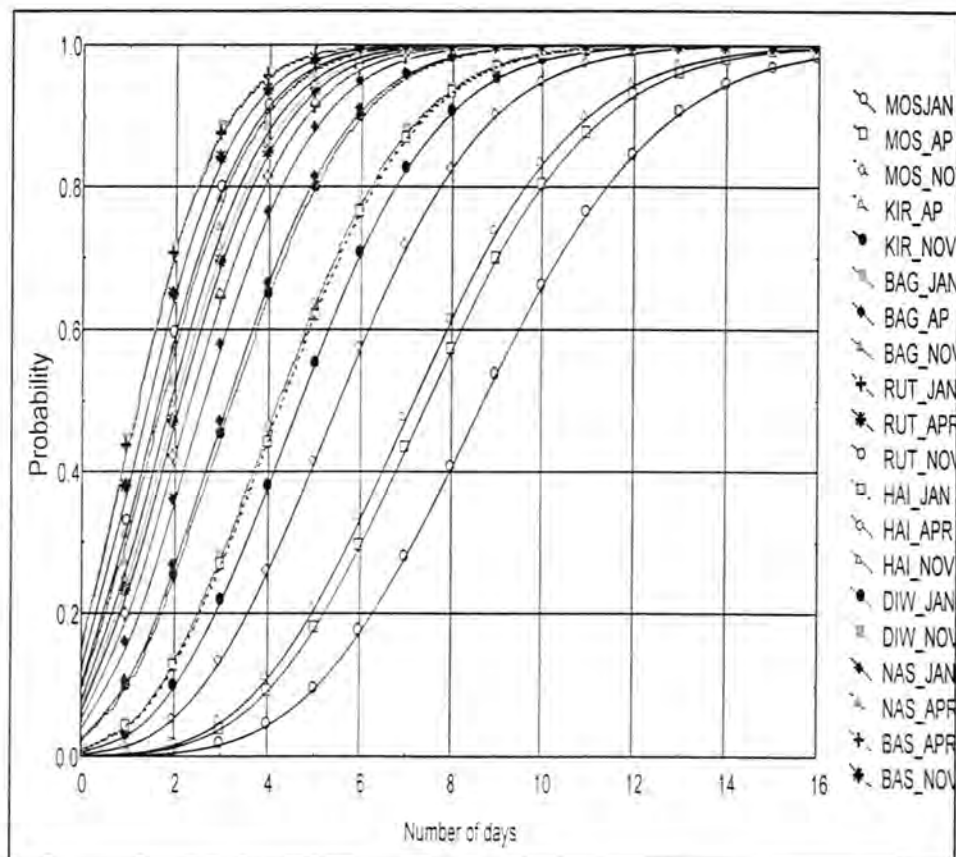
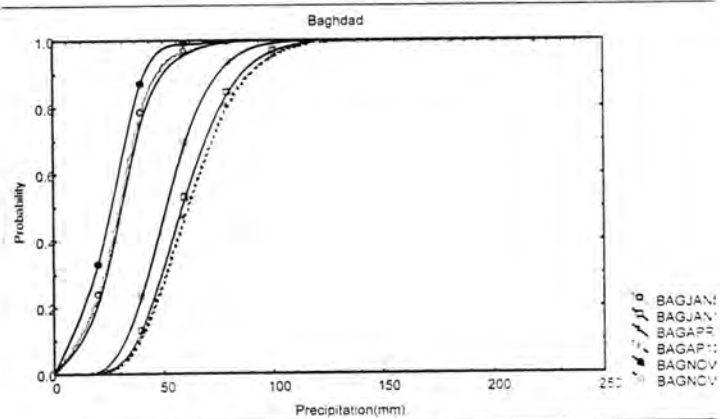
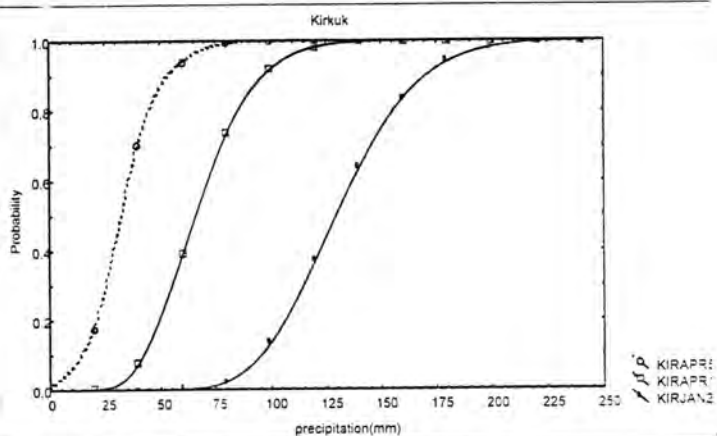
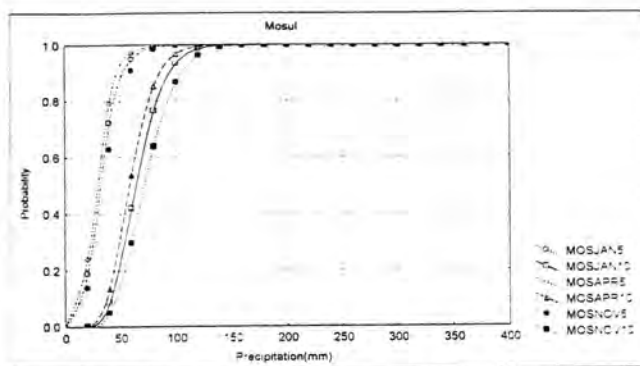


Fig. 2 Probability distribution of number of rainy days



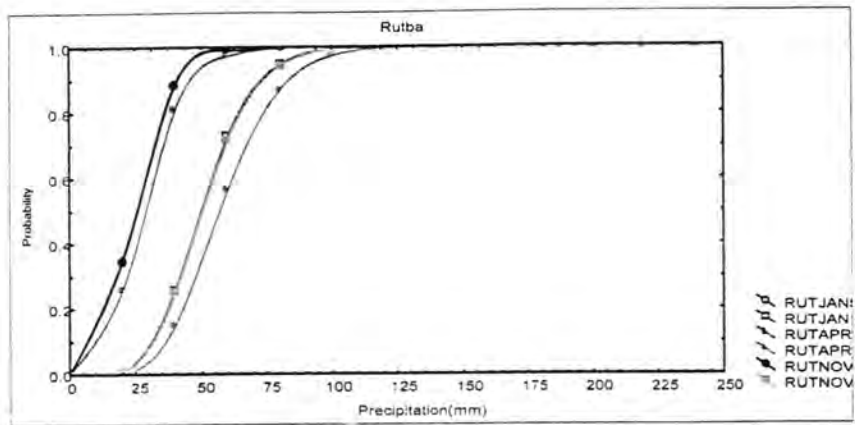


Fig. Conditional Probability of precipitation in Mosul ,Kirkuk, Baghdad and Rutba

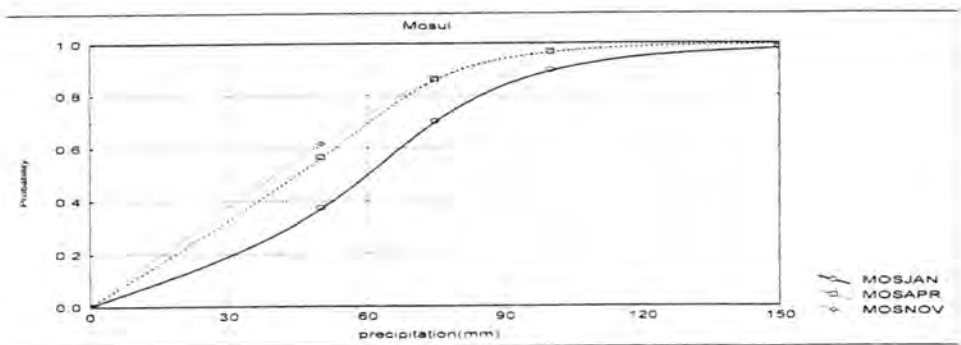
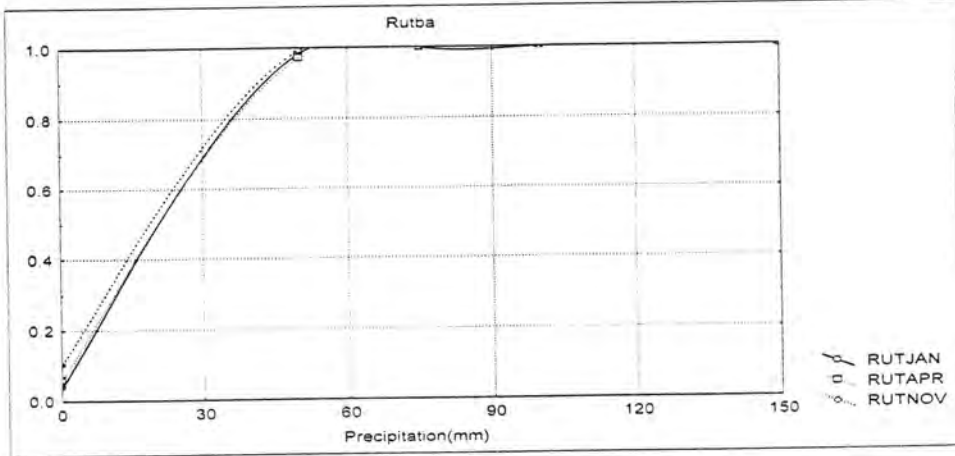
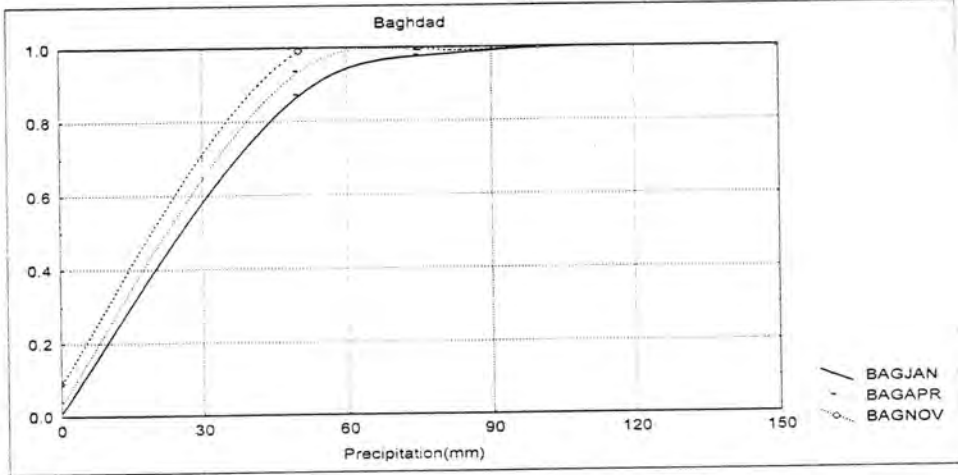
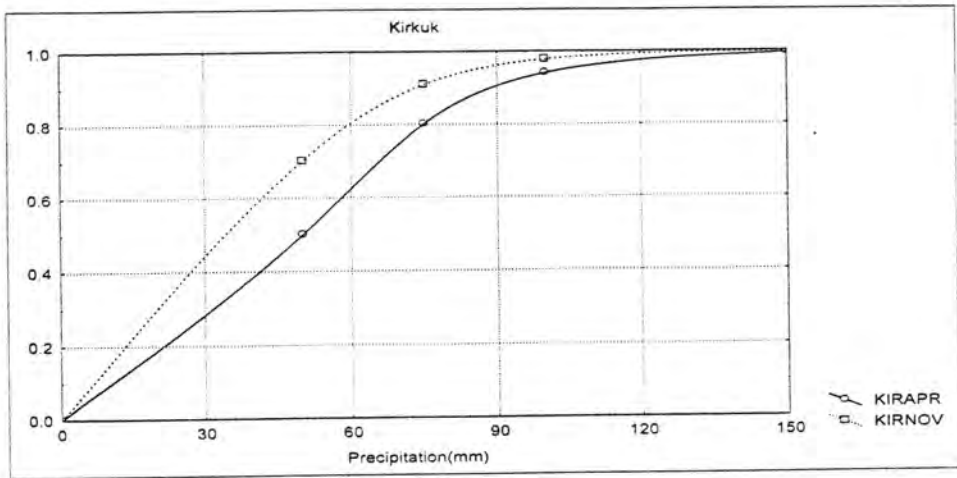
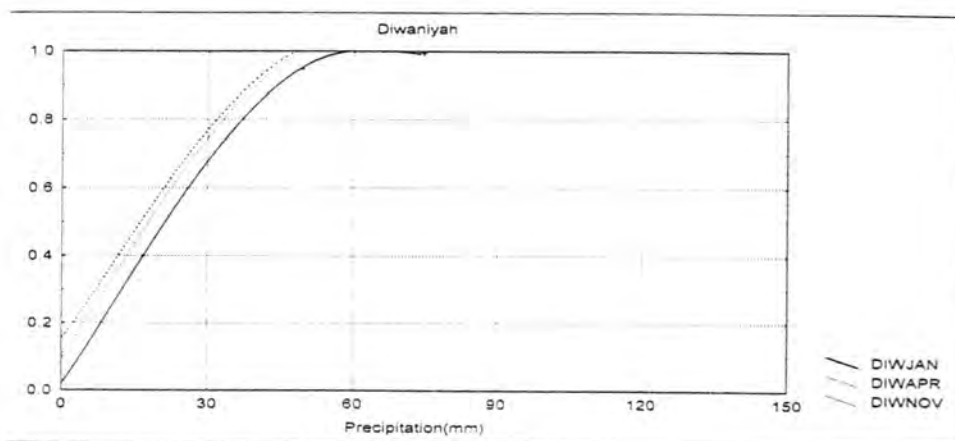
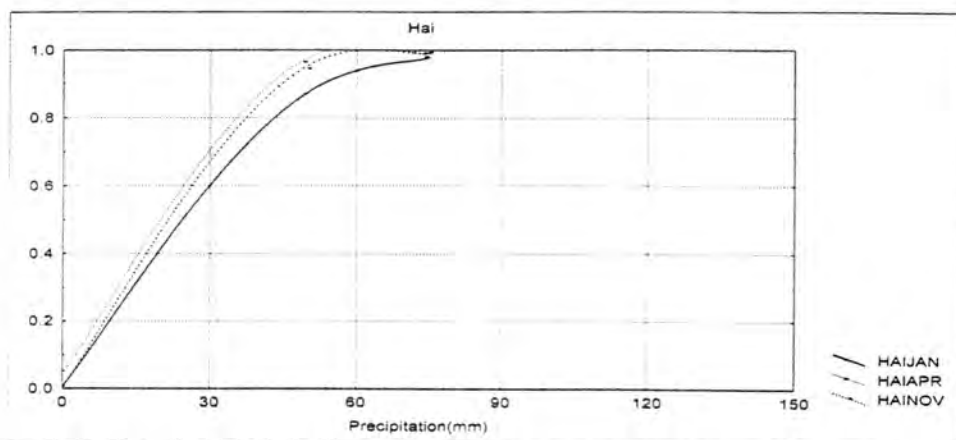


Fig.3 Unconditional probability distribution of precipitation of Mosul,Kirkuk,Baghdad and Rutba.





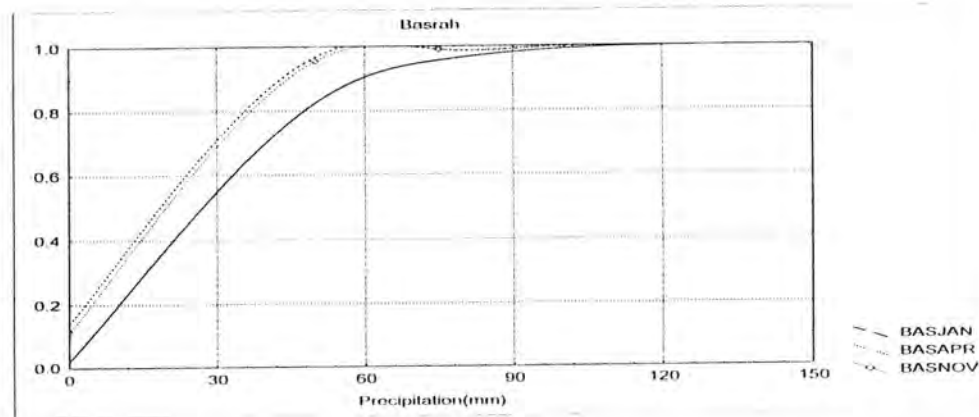
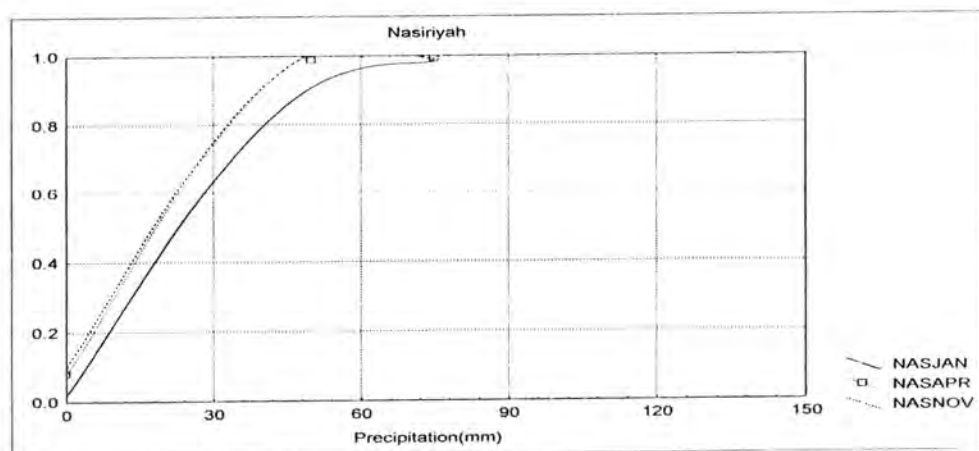


Fig.6 Unconditional probability distribution of precipitation of Hai, Diwawaniyah, Nasiriyah and Basrah

Table 1 Model Parameters λ_1 (upper) and λ_2 (lower) for the studied stations

	Mos	Kir	Bag	Rut	Hai	Diw	Nas	Bas
Jan	.303	.303	.158	.097	.161	.126	.123	.123
	.151	.152	.165	.195	.171	.181	.150	.125
Feb	.329	.329	.143	.111	.157	.107	.118	.111
	.148	.139	.169	.182	.198	.170	.188	.162
Mar	.310	.287	.119	.103	.116	.077	.094	.087
	.151	.142	.163	.172	.168	.177	.184	.163
Apr	.263	.253	.110	.093	.100	.073	.083	.063
	.166	.147	.157	.170	.142	.160	.185	.132
May	.097	.087	.032	.068	.048	.042	.042	.026
	.168	.156	.192	.173	.219	.186	.161	.170
Oct	.090	.065	.023	.052	.032	.020	.023	.017
	.190	.194	.199	.158	.207	.127	.161	.174
Nov	.200	.173	.077	.073	.090	.060	.073	.070
	.135	.134	.189	.193	.143	.154	.170	.129
Dec	.307	.274	.126	.103	.113	.107	.081	.103
	.159	.143	.174	.181	.169	.199	.151	.137
Average	.237	.221	.099	.088	.102	.077	.080	.075
	.159	.151	.176	.179	.177	.169	.169	.149

Acknowledgements

Great thanks are due to Proff.Dr.Rasheed H.Al-Nuaimi and Dr. Natiq A.Zaki of the Dept. of Meteorology, for reading the manuscript.

REFERENCES

- Al-Arethy F.A.A., An analytical study for the rainfall time series in Iraq. Unpublished M.Sc. thesis, Department of Meteorology, College of Science, Al-Mustansiriyah University.78P.(In Arabic). (2000).
- Al-Nuaimi A.,Zaki, N.A, and Lafta N.M., The variation in the amount of precipitation associated with the weather systems affecting Iraq. AlMustansiriyah Jou.Sci.,vol.4.no.1 , pp.7-11. (1993).
- Hassan A.H And Mashkour M., Mean annual precipitation in Iraq, Jou.Geo.Soc.Iraq.vol.5, pp.119-127. (1972).

Iraqi Meteorological Organization Climatological Normals, Climatological Section, Publication No.18. (1994).

McGrew J.C.Jr., and Monrde C.B., An introduction to statistical problem solving in geography.WCB McGraw-Hill.305P. (1993).

Pereda M., and Llamas J., Mathematical model of the preeipitation in Madrid Region Jou.Wat.Resou.,vol. 3, No.1, pp.254-273. (1984).

Salman H.H.,Zaki N.A. and Hassan S.A., Rainfall distribution in Iraq.

Al- Mustansiriyah Jou.Sci.,vol.12.no.3 , pp.155-173. (2001)

Enhancement of CR-39 Detector Chemical Etching Using Ultrasonic Environment

MUNTER A.R. IBRAHIM* - ABDULLA A. RASHEED
MAHDI M. MUTAR***

*** IAEC - physics and Material Department**

****AL-Mustansiriya university - College of Science**

ABSTRACT

In this work an ultrasonic environment was used during CR-39 detector chemical etching. The detector was irradiated using ^{241}Am point source. The experimental results shows that the ultrasonic environment enhanced the chemical. This method is a promise in revelation of alpha-tracks in SSNTDs

INTRODUCTION

The application areas of SSNTDs are specially in radiation dosimetry, fast beam detection in plasma focus system fusion reaction product as time integrated tools, and radiation environment have been grown rapidly.

The detection of nuclear particles by SSNTDs is generally thought to involve the process of creating a radiation damage caused by light and heavy particles.

The revelation of nuclear tracks in SSNTDs is generally made by chemical etching.

Many auxiliary methods were used to enhance chemical etching process such as exposing the detector to X-ray, an high-energy electron, γ -ray irradiation, UV-irradiation and etching in the presence of O_2 or Oxidizing agent (1, 2, 3, 4).

Todorovic and Antanasijevic R. (5) have described the application of ultrasonic environment to accelerate chemical etching process and rising to identify low-energy and light fragment ions in gelatin.

Ching - Shen Su (6) was gelatin films to detect alpha-particles. The etching process was done with pure alcohol under the effect of ultrasonic wave environment, in the same year this method was used to reveal the alpha-particle tracks in lexan and LR-115.

In our work the chemical etching of irradiated CR-39 detector in ultrasonic water bath was performed to study the effect of the ultrasonic wave on alpha - particle tracks revealing and etch induction time.

EXPERIMENTAL RESULT AND DISCUSSION

Six CR-39 detectors (Pershore Moulding Limited - England) of 250 μm thickness and $1 \times 1 \text{ cm}^2$ area were irradiated by ^{241}Am radioactive source of 9 μCi activity.

The detectors were irradiated at different distances from the source (1, 1.5 and 2 cm).

Each two samples were irradiate at the same conditions, then one of them was etched chemically in NaOH (6.25N) at 60°C while the second detector etched chemically in the presence of ultrasonic water bath with output power of 125 W and 1.81 liters capacity. The etching time was 8 hrs which is the optimum etching time.

The previous porsseder was done for each set of detectors which irradiated at different distances for one minute.

Table 1 shows the relation between etching time and track density for both etching methods.

Table 2 represent the parameters of CR-39 detectors obtained in case of chemical etching and in presence of ultrasonic environment.,

Figs. (1, 2, 3) shows etching time Vs track density for six detectors irradiated at different distances and etched chemically in present and without ultrasonic medium.

The experimental results shows that the ultrasonic environment reduced etch induction time and accelerate the etching process from 3 hr. to 2 hr., also the result shows that the tracks density revealed by the ultrasonic etching process were larger in comparison with the standard one, also this method enhanced the detector parameters with respect to the values obtained by chemical etching.

The above results was obtained due to the mechanism effect of the ultrasonic etching process for the alpha track revelation in CR-39 detector. Thje chemical etching process can be considered as the competing chemical reaction of the etchant with the radiation-damaged material in the track core region and with the detector material in the bulk. If the quantity of NaOH solution is limited then the concentration of the solution reduced due to the

chemical reaction of it with Cr-29 material, and consequently, the detector etching rate will decrease, this means that the conventional chemical etching process is quite retracted method to reveal nuclear tracks in CR-39 detector.

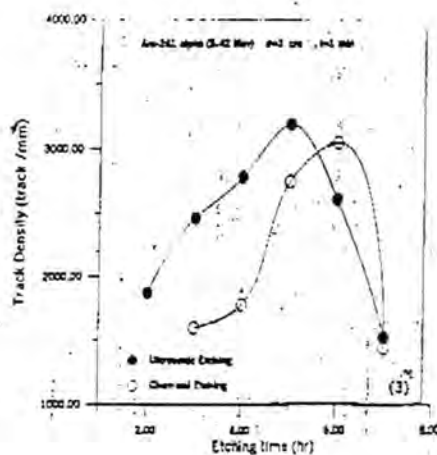
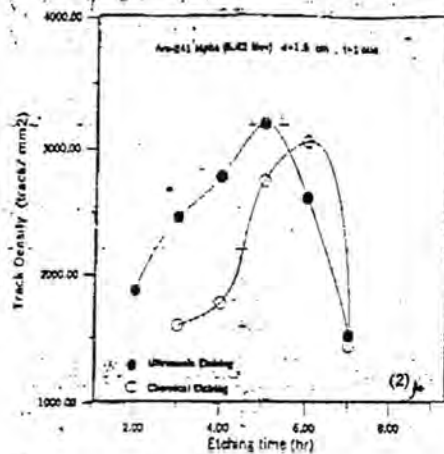
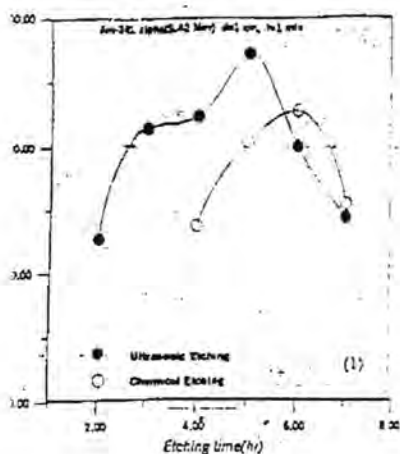
The ultrasonic etching process proceeds via a cavitation - implosion process generated by ultrasonic wave in the etchant solution also the mechanical wave will suck out the diluted NaOH etchant solution resulting from chemical reaction with radiation - damaged area of the detector and replace it with fresh NaOH solution, therefore the track etching rate can be maintained at the same level during the optimum etching condition, and alpha tracks can be revealed if the track etching rate is higher than V_B . Finally the ultrasonic chemical etching of CR-39 detector achieved very promising results.

Table 1: The relation between etching time and track density for both detectors etching methods

Etching Time (hr)	Track density (p) track /mm ²					
	t=1min, d=1 cm		t=1min, d=1.5cm		t=1min, d=2cm	
	Ultrasonic Etching	Chemical Etching	Ultrasonic Etching	Chemical etching	Ultrasonic Etching	Chemical Etching
1	0	0	0	0	0	0
2	4553.6±81.3	0	3241.6±55	0	1872±30	0
3	6293.3±107	3939.2±63	3624±65	2881.6±49	2456±44	1600±27
4	6496±101	4768±81	4096±66	3366.4±57	2776±47	1776±28
5	7440±126	6086.4±103	5120±87	4484.8±72	3184±54	2440.8±39
6	6008±108	6564.8±112	3272±56	4800±77	2600±44	3041.6±52
7	4899.2±78	5120±87	2944±47	3043.2±52	1520±27	1440±23
8	----	3448±58	----	1920±33	----	480±9

Table 2: CR-39 detector parameters values obtained in case of Chemical etching and in present of ultrasonic environment

Etching Parame	t=1min, d=1cm		t=1min, d=1.5cm		t=1min, d=2cm	
	Ultrasonic Etching	Chemical Etching	Ultrasonic Etching	Chemical Etching	Ultrasonic Etching	Chemical Etching
V_B	1.753	2.10	1.755	1.69	1.30	1.908
V_i	3.022	2.74	1.10	1.85	3.98	2.1
V	1.723	1.304	1.253	1.094	3.061	1.10
II	0.419	0.233	0.202	0.086	0.673	0.091
D	21.3	9.066	18.88	9.519	23.88	4.731
L	18.13	16.44	13.2	11.1	23.88	12.6
Θ_c	35.74	50.07	52.94	66.07	19.06	65.38
II	10.518	12.6	10.53	10.14	7.8	11.448



Fig's (1,2,3) Shows etching time Vs. track density for irradiated detectors using chemical and ultrasonic chemical etching

REFERENCE

1. L. Tommasion, Proc. 7th Conf. Corpuscular Photg. Solid Detectors., Barcelone, CNEN Report RTLPROT, 1 (1970).
2. M. Varnagy, J. Csikai and S. Szegedi Nucl. Instrum. Meth. 119, 216-267 (1974)
3. Khan H.A. Nucl. Instrum. Meth. 173, 55-62 (1980).
4. Somogyi G., Varnagy M. and Medveczky L. Radiat. Effects, 111-116 (1970).
5. Todorovic Z. and Antanasijevic R. Nucl. Instrum. Meth. 212, 217-219 (1983).
6. Ching - Shen Su. Nucl. Tracks Radiat.Meas. Vol. 10. No. 1 PP. 61-64 (1989).
7. Ching-Shen Su. Nuclear Instrum and Methods in Physics Research B₄₄, 97-102 (1989).

Digital Filters for Hit Noise Reduction in some X-ray Imaging Systems

**Dr. Hashim H. Jawad , Dr.Ali Abid D. AL-Zuky and
Firas Sabih M. AL-Wahieb**

Univ. of AL-Mustansiriya, College of Science, Physics Dept.

ABSTRACT

The imaging system we have investigating suffer from the appearance of scattered bright points. A usual solution to reduce this noise can be achieved by an increase in exposure but it is very difficult to prevent the hits. In present study, we have investigating algorithms to reduce noise with out an increase in exposure by adopting four digital filters for noise reduction and comparing between efficiency of each filter to determine an efficient method. The resulting images and fidelity criteria showed that the median filter smoothes hit noise while maintaining edge information, but the mean filter image is a blurred version of the noisy image.

INTRODUCTION

In the medical imaging and other similar applications including industrial x-ray inspection, X-ray imaging detectors (such as a charge coupled device or CCD) may produce variation in both intensity and position, this will causes displaying random manner spots that degraded the images.

The originality of the hit noise is that some x-ray photons penetrate through or get around the converting screen (i.e. dose not converted all the x-ray photons to the visible light). Then this penetrated x-ray photos strike the light sensitive array, where this portion of the x-ray photons when strike the light sensing array will create a signal in the array, which will be much larger than that of a visible light photon due to the much higher energy of the x-ray photons [1]. The result is a bright (white) spots in some locations on the resulted image, which look like a salt has been shaken onto a photograph. so that the generic name for this type of noise is (salt noise). In those detectors (i.e. CCD) where white spots are a problem, many means are usually used to reduce the likelihood of the unwanted x-rays striking the detectors. . One such means is to add shielding in the form of lead or other high-atomic number material to block scattered radiation from striking the detector while allowing the visible light to strike the detector. These means typically add cost and complexity to the overall detectors system. After the image has been captured, image processing is applied to remove the

offending spots. It is remarkable comment on the advance of technology. For our purpose, this study discuss the steps require to reducing noise, where the image enhancement operations are perform after the basic image has been formed.

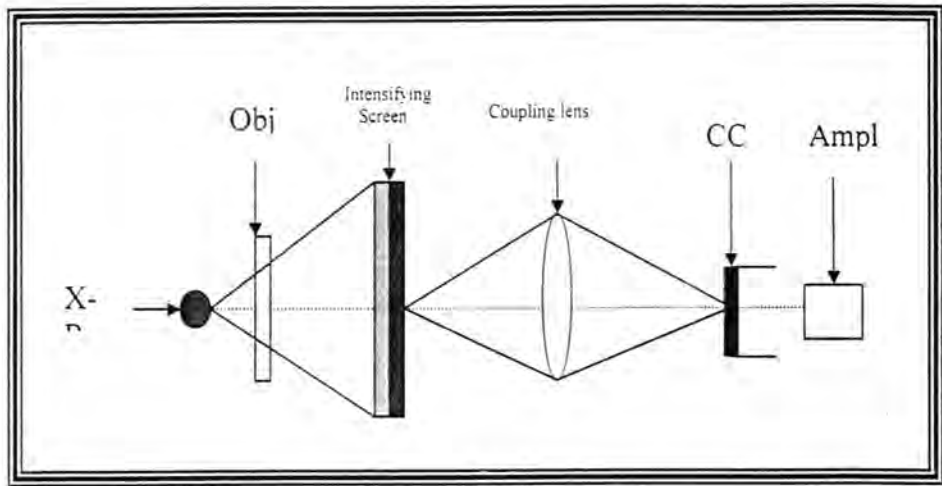


Fig. (1) CCD x-ray detector.

2- Digital Image Smoothing filters

There many filters, which could directly apply to enhance the noisy images as, follow:

a) Minimum filter

The minimum-filter selects the smallest value within the ordered of smoothing window of pixel values [2].

b) Mean filter

The mean filter technique operates by reducing the statistical fluctuations in each pixel by averaging the pixel with its closest neighbors. Mean-filter can be implemented directly to replace the image pixel values $I(i,j)$ by their mean values $\hat{I}(i,j)$, over sliding window [2,3].

c) Median filter

This filter replace the gray level of each pixel by the median of the gray levels in a neighborhood of that pixel. Recall that the median M of a set of values is such that half of the values in the set are less than M and half are greater than M . In order to perform median filtering in a neighborhood of a pixel must be sort the values of the pixel and its neighbors, then determine the median, and assign this value to the pixel. For example, in a 3×3 neighborhood the median is the 5th largest value [2,4]:

$$\begin{bmatrix} 20 & 40 & 15 \\ 25 & 70 & 10 \\ 90 & 55 & 85 \end{bmatrix}$$

First sort the values in order set as follow:

(10,15,20,25,40,55,70,85,90)

Here the median value is (40).

d) Mode filter:

Mode-filter is another example of the smoothing filters in which the window's central pixel value is replaced by the point's value of the greatest repeated in the sliding mask. The mode filter is defined in the same way as the median filter, but instead of taking the median of the pixels in a neighborhood, that take the value of highest repetition in the sliding mask. A definite disadvantage of the mode filter is that it need not be unique, as is illustrated by the following data [5]:

1 2 3 6 3 4 9 8 5 8

Here 3 and 8 both occur with the highest frequency (The fact that there is more than one mode is sometimes an indication that the data are not homogenous, that is, they constitute a combination of several sets of data). Another disadvantage of the mode filter is that if on two values are alike, the mode does not exist [5].

3- Fidelity Criteria

To measure the quality of the results images that has been obtained by applying enhancement techniques the following measurements can be adopted.

a) mean and variance

The mean (μ) of a set of values is it's statistical average, such that, if I represents a set of N values the mean can be written as:

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N I_i \quad (1)$$

The mean of a set of values locates only the average value [6]. It is helpful to know how much the data varies from its mean. The variance V^2 of a random variable I with expected value μ is given by:

$$V^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (I_i - \mu)^2}{N - 1} \quad (2)$$

The smallest value of V^2 can be assumed is zero, and that would occur if all the I -samples take the same value. When the variation between the samples increase, the variance will be increased.

Since the variance is expressed in square units, more useful value is the square root of the variance, which is expressed in units, and can be related back to the original values [6]. The standard deviation (STD) of a random variable I is the square root of the variance as follows:

$$STD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (I_i - \mu)^2}{N - 1}} \quad (3)$$

b) Signal to Noise Ratio (SNR)

Signal-to-noise (SNR) measures are estimates of the quality of a reconstructed image compared with an original image. The basic idea is to compute a single number that reflects the quality of reconstructed image [7]. The amount of useful image information (signal) compared to non-useful

information (noise). In digital x-ray systems, as noise decreases, or SNR increases, object detectability increases very rapidly [8]. Calculation of the Signal-to-Noise Ratio (SNR) defined as the mean over the standard deviation [6];

$$\text{SNR} = \frac{\mu}{\text{STD}} \quad (4)$$

c) Normalize Root mean square error (RMSE)

The comparison between a source image that contains (N×M) pixels and the processed or noisy image gives one measure of quality, however, the error between the two images is easier to compute by using the parameter (NRMSE).

First we compute the normalized mean squared error (NMSE) of the processed or noisy image that has (N×M) pixels as follows [7,9];

$$\text{NMSE}_1 = \frac{1}{N \times M} \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} \frac{(\hat{I}_{(i,j)} - I_{(i,j)})^2}{255} \quad (5)$$

$\hat{I}$ = the original image

I = the processed image

In this work a new criteria has been suggested, this measure compute NMSE between pdf of histogram region in original image and processed image this given by :

$$\text{NMSE}_2 = \frac{1}{256} \sum_{i=0}^{256} [\text{pdf}_1(i) - \text{pdf}_2(i)]^2 \quad (6)$$

Where pdf = is the probability density function of the image.

The summation is over all pixels. The root mean squared error (RMSE) is the square root of MSE:

$$\text{NRMSE} = \sqrt{\text{NMSE}} \quad (7)$$

Typically the NRMSE values range between (0) and (1).

4- Results and Discussion

As it has been mentioned previously. Four smoothing filters have been adoptive to reduce the hit noise in the x-ray Image . It should be noted that all these mentioned filters have been perform by utilizing a smoothing window of size (5X5).

One image have been adopt to demonstrate the smoothing effects, this is:

x-ray Chest image: have size (256X256) and grays ranged between 0 (dark) to 256 (bright). The generation noise of this image produced two images with noise ratio 0.01 and 0.02, respectively.

The results obtained by perform each of smoothing filters are demonstrated as follows:

Figure (1) represent, chest x-ray images (i.e. the original, noisy, and the smoothed images) smoothed by window of size (5X5).

The histograms of the original and smoothed x-ray chest image are shown in figures (2). The histograms were results are for original and filtered images that have noise (0.01) .

Three homogenous regions have been selected to compute the mean (μ) and signal-to-noise ratio (SNR), for each image region within all original, noisy (0.01), and filtered images. These values have been used to judge the performance of the adopted filters, by comparing the results of the noisy and filtered images with that of the original image. An optimum filter is pronounced which give highest SNR values, and preserved μ values constant. Another quality test has been carried on the selected regions of all noisy and filtered images to demonstrate the performance of the adopted filters: i.e. the normalized of root mean-square-error (NRMSE¹-NRMSE²). The results of the above mentioned tests are tabulated in tables (1).



Original image



Noisy image (0.01)



Minimum filter



Mean filter



Median filter



Mode filter

Fig. (1-1) Original, Noisy (0.01) and smoothing images for chest image.

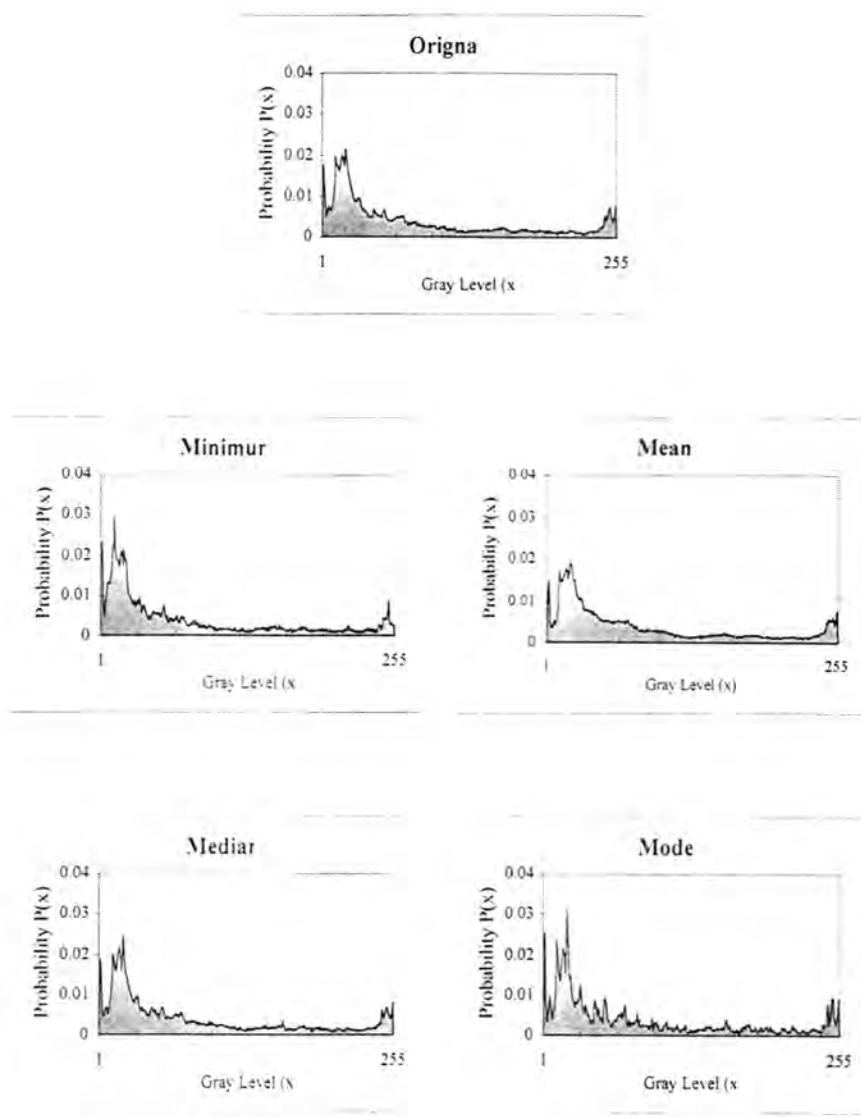


Fig. (1-2) Histograms of original chest image and their smoothed Images.

Table (1): Mean, SNR, NRMSE₁ and NRMSE₂ obtained for chest image with noise ratio (0.01), by different smoothing filters, using window of (5 x5).

Original image		
Region	μ	SNR
DARK	12.06	4.36
GRAY	151	5.9
BRIGHT	251	108

Minimum filter				
Region	μ	SNR	NRMSE ₁	NRMSE ₂
DARK	9	4	0.01447	0.0168
GRAY	137.5	5.26	0.0584	0.00415
BRIGHT	247	93.35	0.0084	0.01483

Mean(box) filter				
Region	μ	SNR	NRMSE ₁	NRMSE ₂
DARK	15	2.78	0.2257	0.00826
GRAY	152	6	0.0152	0.00328
BRIGHT	251	114.6	0.00336	0.00567

Median filter				
Region	μ	SNR	NRMSE ₁	NRMSE ₂
DARK	12	4.4	0.0075	0.00658
GRAY	151	5.9	0.013	0.00168
BRIGHT	251	108	0.00388	0.0026

Mode filter				
Region	μ	SNR	NRMSE ₁	NRMSE ₂
DARK	12	4.2	0.0072	0.0068
GRAY	150	5.28	0.0244	0.0042
BRIGHT	250	106	0.0035	0.0022

a) Tables Conclusion

According to the quantitative measures given in table (1), in which the mean, the signal-to-noise ratio, and the normalized root mean square error of the homogenous regions were examined, the adopted filters can be discussed as follows:

Minimum filter: This filter gave smaller signal-to-noise ratio, and smaller mean values for all homogenous regions than that of the original and author smoothed images. However, this filter produces a high normalized root mean square error (NRMSE₁ and NRMSE₂).

Box (mean) filter: This filter gave a high signal-to-noise ratio but less than that of the original image. Whereas the mean values was not preserved, it's few higher than that of the original image. This filter produce a high NRMSE₁ and NRMSE₂ than that of all smoothed images.

Median filter: This filter gave highest signal-to-noise ratio for all homogenous regions with conserved mean values, approaches to those obtained in the original image. Also, this filter produced small NRMSE₁ and NRMSE₂ in all regions compare with that of the author smoothed images.

Mode filter: this filter gave mean values, and signal-to-noise ratio approaches to that of median filter or may be slightly smaller. But the results of NRMSE₁ and NRMSE₂ are higher than that of median filter.

b) Histograms Conclusion

From the image histograms shown in figure (2), for the original, noisy, and soothed images, respectively, we can conclude the following:

The chest image histograms have continuous range of gray-level values also we can see that the main peak in the original chest image in the dark region.

Comparing the image histograms of smoothed images with that of the original image, it can be seen that;

Minimum filter: The produced image histogram by this filter, shows that the main peak is slightly deviated toward the dark side, and the probability of the tails value of this filter is higher than that of original image.

Box (mean) filter: When we perform this filter on the noisy image, we have seen that the main peak is slightly deviated toward the bright side. Moreover, the probability of the tail values

is decreased to smaller value compare with that of the original and author smoothed images.

Median filter: The image histogram of this filter is very similar to that of the original image, so that we can see a better smoothing performance is achieved when this filter is implemented on the nosy image.

Mode filter: The image histogram of this filter will create a secondary and sharp peaks along histogram range, and the main peak of this filter is higher than that of the original image.

Conclusion

The methods used for noise removal that apply on the x-ray image are simple and represent effective filtering techniques.

The median filter smoothes hit noise (white noise) while maintaining edge information, but the mean filter image is a blurred version of the noisy image. All methods of smoothing x-ray noisy image sacrifice some resolution in the process of smoothing the image.

REFERENCES

- 1-William J. Dallas, and Hans Roehrig, "Hit Noise Reduction in Portal Images : a Comparison between Wavelet and Rank-Order Based Methods", SPIE, Vol. 3034,(1996).
- 1-S.E. Umbaugh, " Computer Vision and Image Processing: a practical approach using CVIptools", Prentice Hall, Inc., (1998).

- 2-A.C. Frery, and S.J.S. Sant'Anna, " Non-adaptive Robust Filters for Speckle Noise Reduction ", Anaise do SIBRAPIVI, PP.165-174,(1993).
- 3-Scott T. Acton, "Image and Video Processing Handbook", site of Oklahoma State Uni. (*.pdf) received in July (2001).
- 4-John E. Freund, " Modern Elementary Statistics", Forth Edition, Prentice-Hall, Inc.U.S.A., (1973).
- 5-Elham J. Mohammed, " Digital filter for speckle noise reduction", M.Sc. Thesis, Submitted in physics Dept., Collage of science, AL-Mustansiriyah Univ., (2001).
- 6-Netravali N., and Haskell B.G., "Image Quality Computation DigitalPicture", Multimedia System and Applications, (*.pdf) New York (1995).
- 7-"Digital X-ray Image Quality Parameters for Digital Detector" , <http://GE Medical system>, received February (2002).
- 8 - J. Ahumada, and Jr., " Simplified Vision Models for Image Quality Assessment", (*.pdf) site of NASA Ames Research Center, (1996).

Speckles Noise Reduction Using Non-Adaptive Filters

ALI ABID DAWOOD AL-ZUKY, Dr. AMAL M. AL-HILLOU, and
ELHAM J. MOHAMMED

Department of Physics, College of Science, Al-Mustansiriya University,
Baghdad, Iraq

ABSTRACT

Non-adaptive filters are typically used for noise removal or to performing some type of image enhancement. Study the characteristic of removing speckle noise using non-adaptive filters, in this work adopt four filter types that are (Mean, STD, Median, Mode). Where these filter applied to remove speckle noise from *Amplitued SAR* image. The result show that the best filters can be used is Median filter that preserves the edges and produce high smoothing in homogeneous image regions.

الخلاصة

تم في دراستنا هذه بحث استخدام عدة أنواع من المرشحات التقليدية في إزالة الضوضاء التشاكهية (البقعية) في الصور إذ استخدمت أربعة أنواع مختلفة من المرشحات وهي مرشح المعدل و مرشح الانحراف المعياري و مرشح الوسيط و مرشح المنوال. وتم تقييم كفاءة كل مرشح والمقارنة فيما بين هذه المرشحات التي طبقت على صورة رادارية سعوية، ولقد بينت النتائج المستحصلة أن الأفضل بين هذه المرشحات هو مرشح الوسيط، بسبب قابليته العالية على حفظ الحافات واعطائه تنعيم عالي في المناطق المتجانسة.

Keywords

non-adaptive filters, SAR image, speckle removal, spatial filters, frequency filters.

INTRODUCTION

Satellite and airborne imaging systems provide an essential information for environmental studies and for monitoring earth resources. Focusing generates most images of the earth and recording reflected solar radiation, and / or the thermal and microwave radiation emitted from the earth surface [1,2]. To extract information from these images must be used pre-processing to enhance the images and remove degradation noise. This is done by smoothing filters. It is well known that speckle is a signal-dependent noise in the sense that the root mean square amplitude of the

speckle noise is proportional to the signal. Fully developed speckle, which appears in the images of diffuse objects illuminated with coherent waves, is multiplicative noise in the sense that the speckle noise is proportional to the signal [3,4]. Speckle filtering techniques involved in estimating the true reflectivity as a function of the intensity of the image pixel and some local statistic calculated on a neighborhood must contain a sufficient number of pixels, but it is equally important that the image is stationary in the neighborhood. The problem of estimating the underlying reflectivity is consequently closely related to the detection of non-stationarities, such as edges, lines and textural transitions. It is in general necessary to include structural detectors in the filtering process to the element on which the local statistics are estimated [5].

Various techniques had been suggested to reduce the speckle effects. Some of these methods are use-filtering techniques. Some of the filters are implemented in the frequency domain, while other are performed in the spatial domain. Practically, the filters that utilized the spatial domain are more preferable than those utilize the frequency domain, because they are; easier, simpler and faster. However, various non-adaptive smoothing methods are adopted in this work. The contents of this paper are organized as follows:

In section two SAR image and speckle noise information will be reviewed. Smoothing filters will be presented in section three. The experimental results and conclusion will be evaluated in section four and five respectively.

2- SAR Images

Primary Radar (Radio Detection and Ranging) is an active system. It is used for aircraft that involves a similar pulse-echo technique except that it uses Electric Magnetic Waves (EMW) [6], which, in its simplest form, relies upon the time of-flight of microwave echoes to reveal the presence and range of remote radio-opaque objects. Although there has always been a strong desire to use this sensing strategy to acquire images of remote objects, Such images are commonly achieved by using a rotating antenna to scan the emitted microwave energy across the field-of view to be imaged [7].

A more recent innovation in the exploitation of radar is Synthetic Aperture Radar (SAR) where SAR is considered as an active microwave imaging system that uses a side-looking antenna to transmit pulses and receive the returned microwave echoes [8]. This development of the sideways-looking airborne radar is used from aircraft and orbiting vehicles to survey large strips, or swathes, of terrain. The inherent properties of radar make it good for assessing surface smoothness (e.g. seastate, oil pollution), ground structure underlying vegetation, ice, snow and even very dry sand, moisture content, forest cover, etc [7].

The operational and applicative contribution of SAR imagery is heavily affected by the possibility of extracting some desired features. Probably the most significant benefit of radar imaging is its all-weather, day or night capability, this allows it to be used together data efficiently about remote locations, and especially those prone to extensive cloud-cover like rain forests [7,9]. SAR processing requires that the microwave pulses must be coherent; this brings with it the inherent problem of 'speckle', which is a highly descriptive term for the effect that this type of noise has on the image. The amount of speckle is inversely proportional to the square root of the number of looks. Generally, SAR images (see fig.(1)) can be presented in three different formats, these are; Amplitude format, Intensity format, and Square Root of Intensity format [7,10].



Fig.(1) Synthetic Aperture Radar (SAR) Amplitude Image

3- Speckle Removal Filters

In almost all application of image processing, the process of filtering is involved. Traditional linear filtering, with its simplicity in design and calculations, has been widely used in many applications. However, the

results are not always satisfactory and during the latest years a large amount of research has been undertaken towards more powerful filters. These new filters exhibit non-linear characteristics: while they behave like linear filters only locally. In several applications, these filters have shown a better performance [11]. The approaches discussed in this section may be divided into two broad categories:

- 1- Spatial-domain techniques.
- 2- Frequency-domain techniques [12].

Processing approaches in the first category are based on modifying the Fourier Transform of an image then reconstruct the image. Spatial domain methods, on the other hand, refer to the image plane itself, and approaches in this category are based on direct manipulation of the pixels in an image plane.

The image-enhancement methods presented in this paper are based on spatial-domain techniques.

The term spatial domain refers to the aggregate of pixels composing an image. Spatial-domain methods are procedures that operate directly on these pixels. Image-processing function in the spatial domain may be expressed as [13].

$$O(x, y) = T\{I(x, y)\}$$

where $I(x, y)$ is the input image, $O(x, y)$ is the output image, and $T\{\}$ is a function of processing on $I(x, y)$, defined over some neighborhood of (x, y) .

The principal approach used in defining a neighborhood about (x, y) is to use a square or rectangular subimage area centered at (x, y) , as shown in fig.(2). The center of the subimage is moved from pixel to pixel stating, say, at the top left corner, and applying the operator at each image location point (x, y) to yield the value of $O(x, y)$ at that location. Although other neighborhood shapes, such as a circle, are sometimes used, square arrays are by far the most predominant because of their ease of implementation.

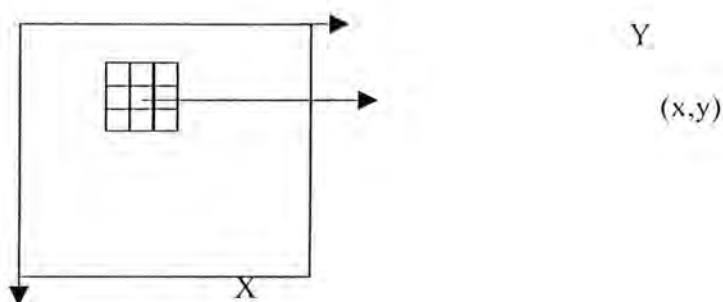
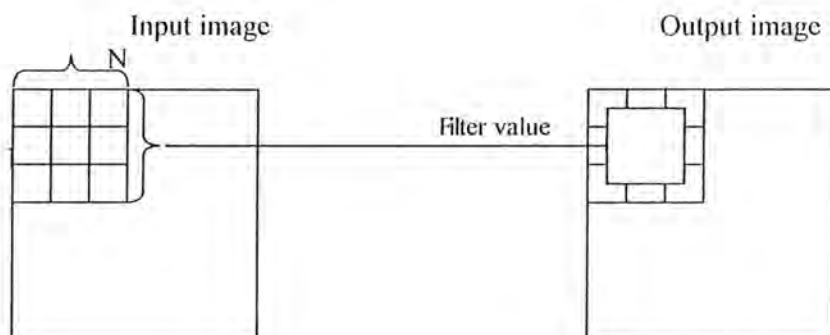


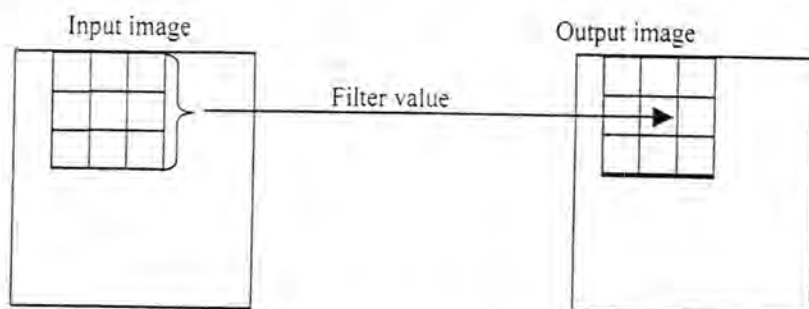
Fig. (2) A 3×3 neighborhood about a point (x, y) in an image.

One of the principal approaches in this formulation is based on the use of so-called masks. Basically, a mask is a small two-dimensional array (eg. 3×3), such as the one shown in fig.(2), whose coefficients are chosen to detect a given property in an image. As indicated above, the masks have a number of uses besides image enhancement. Some of these uses include image restoration, object segmentation, and computing the skeleton of a binary region [13].

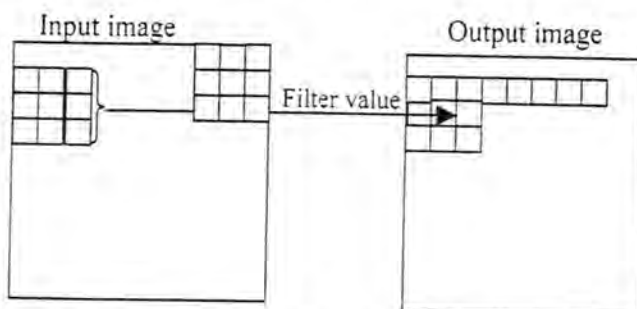
Spatial filters can be effectively used to remove various types of noise in digital images. These spatial filters typically operate on small neighborhoods, and some can be implemented as convolution masks [14].



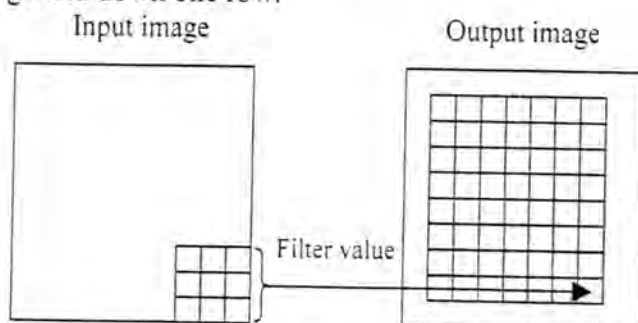
- a. The input image is overlaid with an $N \times N$ window and the value of the pixels covered by the window is placed in the output image at location x .



- b. The window is moved one pixel to the right and the filter value of the pixels now covered by the window is placed in the output image at location x .



- c. when the end of a row is reached, the window is moved back to the left edge of the image and down one row.



- d. The entire image has been processed. Note the unprocessed outer rows and columns.

Fig.(3) Spatial filtering with sliding window [15].

In fig.(a), the window is overlaid on the upper-left corner of the image, and the filter is determined. This value is put into the output image corresponding to the center location of the window. The window is then slide one pixel over, and the process is repeated fig.(b). When the end of the row is reached, the window is slide back to the left side of the image and down one row, and the process is repeated fig.(c). This process continues until the entire image has been processed fig.(d). Note that the outer rows and columns are not replaced [15]. In what follows we shall discuss some of these, well known filters.

3.1- Mean Filter

The Mean-filters (sometimes called Averaging or Box-filters) operate on a local groups of pixels in a sliding window that replace the windows central pixel value by the average of the neighborhoods in the window. Mean- filter can be implemented directly to replace the image pixel values $I(x,y)$ by their mean values $\mu(x,y)$, over given window [16];

$$\mu(x,y) = \frac{1}{N^2} \sum_{i=-\frac{N-1}{2}}^{\frac{N-1}{2}} \sum_{j=-\frac{N-1}{2}}^{\frac{N-1}{2}} I(x+i, y+j)$$

where $(N \times N)$ the number of pixels in smoothing window [1,15].

3.2- Standard Deviation Filters-STD

A STD-filter is simply a non-linear operator. It is convenient to work in terms of the standard deviation or (σ) [17,18]. The STD-filter is a non-adaptive filter, where the window's center is replaced by the point's value that have a smallest standard deviation in the local sliding mask [19,20,21].

Although the mentioned filter is considered the simplest form of smoothing techniques and can be used efficiently for reducing noise in homogenous image regions. But, it often produces blurring effects, especially in regions at which edges, lines, strong target points, and high textured regions are existed [19,20].

3.3- Median Filter

Order statistics filters are non-linear filters that are useful for impulsive noise removal and edge preservation. Additionally, order statistics techniques allow the design of filters that also suppress Gaussian noise (i.e., they have low-pass, linear characteristics) [22]. The most common filter for various application. It may be used, instead of the Box-filter because of the Box-filter's principal difficulties in blurring edges and other sharp detail. The Median-filter, in which that replace the value of central pixel of sliding mask by the median value between the gray level values in that mask [23]. The Median-filter capability to remove impulse noise without smearing edges in imagery is extremely desirable. Median-filters have also been suggested for use at removing lines of specific widths that distorted the image [23,24]. As an example of Median-filter using sliding window (3×3) the following (3×3) neighborhoods:

$$\begin{pmatrix} 110 & 110 & 114 \\ 104 & 100 & 104 \\ 95 & 88 & 85 \end{pmatrix}$$

First sort the values in order set as follow:

$$(85, 88, 95, 100, \boxed{104}, 104, 110, 110, 114)$$

Then select the median values in this case it is (104) i.e. the value has index order (5). This (104) is then placed in the center location in the mask [15,25].

3.4- Mode Filter

Mode-filter is another example of the non-adaptive filters in which the window's central pixel value is replaced by the point's value of the greatest repeated in the sliding mask. The Mode-filter is defined in the same way as the Median-filter, but instead of taking the median of the pixels in a neighborhood, it takes the value of highest repetition in the sliding mask. A definite disadvantage of this filter is that it does not take a unique value, as

is illustrated by the following data [26]:

5 8 3 6 3 4 9 8 5 8 3

Here 3 and 8 both occur with the highest frequency of three. (The fact that there is more than one mode is sometimes an indication that the data are not homogeneous, that is, they constitute a combination of several sets of data). Another disadvantage of the mode filter is that if no two values are alike, the mode does not exist [26].

EXPERIMENTAL RESULTS

As it has been mentioned previously, four smoothing techniques have been adopted to reduce the speckle effects in speckly image. The non-adaptive smoothing filters are (i.e. Box, Median, STD, and Mode filters). The results obtained by performing each of these filters will be demonstrated below. It should be noted that; all the above mentioned filters have been performed by utilizing a smoothing window of size (5×5) and (7×7). The grays ranged between 0 to 255 image by using with window size (5×5) and (7×7) respectively, with the histograms of this smoothing SAR images.

The results are demonstrated in fig.(4) and fig.(5), where these represent the smoothing results for SAR the original image used is a (ASAR) image, polarization, amplitude data, three nominal looks and resolution of approx., obtained on 9/26/96 [27].

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Tables Discussion:

- 1- **Box-filter:** - This filter gave a highest equivalent number of looks and a highest signal to noise-ratio for all selected homogenous image regions.
- 2- **Median-filter:** - Produced a little far values of equivalent number of looks and signal to-noise ratio than the Box-filter. However this filter produce a better subjective quality images than the Box-filter. Its performance can be improved by adopting a larger size of smoothing window.
- 3- **STD-filter:** - This filter gave a little far values of equivalent number of looks than the Box-filter.

- 4- **Mode-filter**: - This filter gave smaller equivalent number of looks for all selected homogenous image regions than the previous filters.

Histogram Discussion: -

- 1- **Box-filter**: - When comparing the image histograms shown in figs.(4.b), (5.b) for the original and smoothed images, respectively, it can be seen that the main peak in the original histogram is splitted in to two smaller peaks which represent a dark and bright regions in the smoothed image histogram. Consequently, one can conclude that a highly smoothing operation is performed.
- 2- **Median-filter**: - The processed image histogram, by this filter, is shown in figs.(4.c), (5.c). Two main peaks have appeared, which is the same as in the Box filter. However, this filter produces a little smoothing effect on histogram curves other than the Box-filter.
- 3- **STD-filter**: - The processed histograms, see figs.(4.d), (5.d), are very similar to those obtained by the Median-filter.
- 4- **Mode-filter**: - If the filter performance is compared with the histogram of the original image, shown in Figs. (4.e),(5.e), the better smoothing performance is achieved when the filter is implemented on SAR image.

It is clear that when comparing the images shown in fig.(4) and fig.(5), the median-filters are used efficiently for reducing noise in homogenous image regions. It may be used, instead of the others filters (Box, STD, Mode) because of their principal difficulties in that it blurring edges and other sharp details. Therefore the result show that the best filter that can be used is the Median filter which preserves the edges and produce high smoothing in homogeneous image regions.

Tables (1)- Mean, Variance, Equivalent Number Of Look (ENL), and The Signal To Noise Ratio (SNR) Values for Original Image and Smoothing Images Obtained By Difference Smoothing Filters

Original Synthetic Aperture Radar Image				
Block No	Block color =Dark Block		Block Size = 20	
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	75.360	241.505	6.419	2.533
2	70.597	274.684	4.953	2.225
3	71.300	279.974	4.957	2.226
4	71.207	272.304	5.083	2.254
5	71.107	242.971	5.681	2.383
6	63.482	179.220	6.138	2.477

Original Synthetic Aperture Radar Image				
No;Block	Block color = Bright Block		Block Size = 20	
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	115.405	820.491	4.431	2.105
2	114.500	707.264	5.060	2.249
3	113.145	757.844	4.611	2.147
4	112.000	745.355	4.594	2.143
5	106.580	586.448	5.287	2.299
6	103.795	618.268	4.757	2.181

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Box Filter					
Block Size = 20		Window size = (5×5)			
Block No	Block color = Dark Block				
	Mean	Variance	ENL	SNR	
	1	75.036	15.817	97.177	9.85788
	2	72.145	29.988	47.382	6.88353
	3	71.266	17.640	78.599	8.86566
	4	70.639	19.609	69.468	8.33474
	5	70.009	25.884	51.693	7.18983
6	63.396	12.329	88.990	9.43350	

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Box Filter					
Block Size = 20		Window size = (5×5)			
Block No.	Block color = Bright Block				
	Mean	Variance	ENL	SNR	
	1	115.788	54.405	67.275	8.202
	2	114.267	86.205	41.349	6.430
	3	113.152	72.198	48.413	6.957
	4	112.411	66.653	51.523	7.178
	5	106.197	39.403	79.137	8.839
6	104.103	30.862	95.863	9.791	

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Box Filter				
Block Size = 20		Window size = (7×7)		
Block No	Block color = Dark Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	74.802	9.570	159.606	12.633
2	72.398	15.141	94.507	9.721
3	71.450	10.977	126.958	11.267
4	70.554	11.280	120.465	10.975
5	69.954	13.568	98.458	9.922
6	63.355	7.124	153.814	12.402

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Box Filter					
Block Size = 20		Window size = (7×7)			
Block No.	Block color = Bright Block				
	Mean	Variance	ENL	SNR	
	1	116.003	26.330	139.523	11.811
	2	114.166	64.398	55.253	7.433
	3	113.054	36.797	94.823	9.737
	4	112.529	30.630	112.859	10.623
	5	104.242	12.430	238.642	15.448
6	106.196	24.332	126.530	11.248	

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Median Filter				
Block Size = 20		Window size = (5×5)		
Block No	Block color = Dark Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	73.920	21.353	69.856	8.358
2	70.682	25.536	53.410	7.308
3	70.640	35.860	37.988	6.163
4	69.110	22.298	58.475	7.646
5	68.350	24.072	52.980	7.278
6	62.365	12.306	86.279	9.288

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Median Filter				
Block Size = 20		Window size = (5×5)		
Block No.	Block color = Bright Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	112.977	54.757	63.636	7.977
2	111.672	106.570	31.946	5.652
3	110.450	84.323	39.495	6.284
4	109.892	65.931	50.005	7.071
5	104.272	66.803	44.432	6.665
6	101.330	35.855	78.177	8.841

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Median Filter				
Block Size = 20		Window size = (7×7)		
Block No	Block color = Dark Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	73.540	13.758	107.310	10.359
2	70.820	15.042	91.021	9.540
3	70.710	21.620	63.132	7.945
4	68.917	12.580	103.069	10.152
5	68.245	12.934	98.299	9.914
6	62.350	6.827	155.437	12.467

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Median Filter				
Block Size = 20		Window size = (7×7)		
Block No.	Block color = Bright Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	112.940	28.046	124.161	11.142
2	111.507	76.720	44.244	6.651
3	110.202	44.666	74.226	8.615
4	109.540	31.728	103.247	10.160
5	104.187	36.947	80.206	8.955
6	101.365	13.722	204.416	14.297

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use STD Filter				
Block Size = 20		Window size = (5×5)		
Block No	Block color = Dark Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	74.910	16.471	93.006	9.643
2	72.147	30.865	46.039	6.783
3	71.267	18.990	73.014	8.544
4	70.660	20.404	66.802	8.173
5	69.962	26.326	50.758	7.124
6	63.365	13.341	81.900	9.049

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use STD Filter				
Block Size = 20		Window size = (5x5)		
Block No.	Block color = Bright Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	115.690	57.217	63.859	7.991
2	114.180	87.017	40.901	6.395
3	113.130	74.653	46.802	6.841
4	112.457	67.939	50.818	7.128
5	106.092	42.029	73.110	8.550
6	104.012	34.568	85.438	9.243

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use STD Filter				
Block Size = 20		Window size = (7×7)		
	Block color = Dark Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	74.825	9.844	155.255	12.460
2	72.302	15.456	92.334	9.609
3	71.517	11.429	122.168	11.052
4	70.535	11.158	121.721	11.032
5	69.897	13.846	96.323	9.814
6	63.345	7.700	142.248	11.926

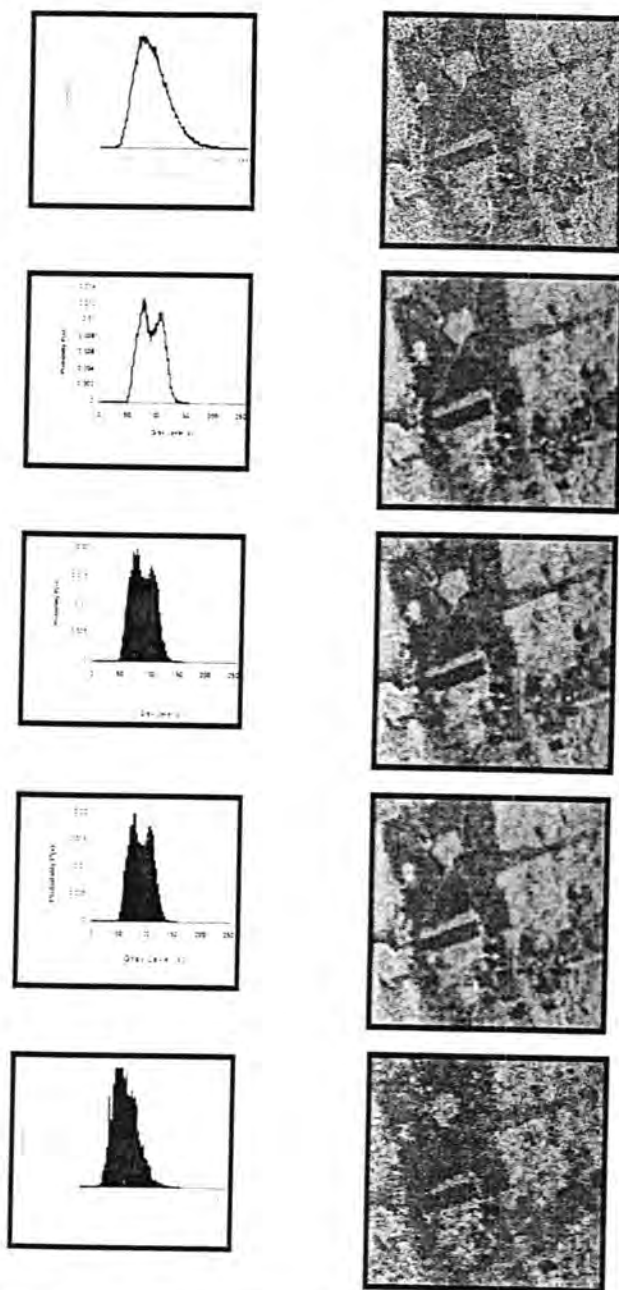
Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use STD Filter				
Block Size = 20		Window size = (7×7)		
Block No.	Block color = Bright Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	115.967	27.587	133.085	1.536
2	114.260	66.512	53.585	7.320
3	113.035	38.363	90.922	9.535
4	112.515	30.924	111.757	10.571
5	106.222	25.012	123.152	11.097
6	104.252	13.372	221.878	14.895

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Mode Filter				
Block Size = 20		Window size = (5×5)		
	Block color = Dark Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	67.327	127.140	9.733	3.119
2	63.940	118.561	9.413	3.068
3	63.230	123.302	8.851	2.975
4	60.915	84.132	12.040	3.469
5	60.050	91.232	10.790	3.284
6	57.195	76.931	11.608	3.407

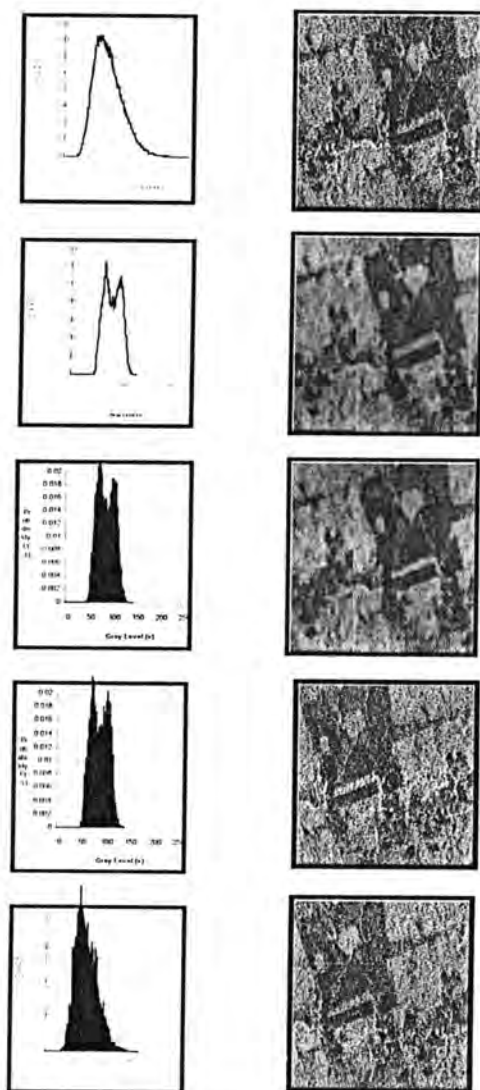
Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Mode Filter				
Block Size = 20		Window size = (5×5)		
Block No.	Block color = Bright Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	100.890	242.342	3.130	1.769
2	100.555	348.477	7.921	2.814
3	99.680	263.049	103.120	3.211
4	95.322	325.168	7.628	2.761
5	93.027	314.292	7.517	2.741
6	89.062	201.543	10.744	3.277

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Mode Filter				
Block Size = 20		Window size = (7×7)		
Block No	Block color = Dark Block			
	Mean	Variance	ENL	SNR
1	69.792	128.993	10.308	3.210
2	65.980	100.239	11.856	3.443
3	65.185	131.110	8.847	2.974
4	63.245	61.975	17.619	4.197
5	62.232	77.628	13.619	3.690
6	58.665	48.157	19.509	4.417

Smoothing Synthetic Aperture radar Image By Use Mode Filter				
Block Size = 20		Window size = (7×7)		
Block No.	Block color = Bright Block			
	Mean	Variance	ENI,	SNR
1	103.780	185.987	15.809	3.976
2	103.632	222.832	13.157	3.627
3	102.065	238.959	11.901	3.449
4	98.742	238.405	11.164	3.341
5	96.207	323.255	7.816	2.795
6	89.945	208.672	10.584	3.253



Figs.(4)-The smoothing result of the ASAR image with window size (5×5) :-(a)- The original image. (b)- The smooth image by use Box-filter. (c)- The smooth image by use Median-filter. (d)- The smooth image by use STD-filte.(e)- The smooth image by use Mode-filter.



Figs 9- The smoothing result of the ASAR image with window size 5×5 :-(a)- The original image (b)- image by use Box-filter. (c) The smooth image by use Median-filter. (d)- The smooth image by use Smooth image by use Mode-filter.

References

- [1]- A. C. Frery, S. J. S. Sant'Anna; "Non-Adaptive Robust Filters for Speckle Noise Reduction", *Anais do SIBRAPIMI*, pp.165-174, (1993).
- [2]- E. Hervet, R. Fjørtoft, P. Marthon, & A. Lopes; "Comparison of Wavelet-Based and Statistical Speckle Filters", *SPIE*, (1998).
- [3]- H. H. Arsenault & Gibert V. April; "Information Content of Images Degraded by Speckle Noise", *Optical Engineering*, Vol. 25, No. 5, May (1986).
- [4]- M.-Suen Shyu and Jin-Jang Leou; "A Genetic Algorithm to Color Image Enhancement", *Pattern Recognition*, Vol.31, No.7, pp.871-880, Great Britain, (1998).
- [5]- R. Fjørtoft, Fabien Lebon, Franck Sery, A. Lopes, Philippe Marthon, & Eliane Cubero-Castan; "A Region Based Approach to the Estimation of Local Statistics in Adaptive Speckle Filters", *LIMA/ENSEEIH and CESBIO on Contract 833/CNES*, (1994).
- [6]- T. S. Al-Samarraie; "Adaptive JPEG technique for Image Data Compression" M.S.C. thesis, College of Science, Dept. of Physics, Al-Mustansiriyah University, (1998).
- [7]- G. J. Awcock; "Technology and Applications of Radar and Tomographic Medical Image Acquisition Systems", *Electronics and Communication Engineering Journal*, June (1998).
- [8]- M. D. Desai, W. Kenneth Jenkins; "Convolution Backprojection Image Reconstruction for Spotlight Mode SAR", *IEEE Transaction on Image Processing*, Vol. 1, No. 4, October (1992).
- [9]- A. Iodice, Maurizio Migliaccio, & Denicle Riccio; "SAR Imagery Classification: The Fractal Approach", *SPIE*, Page 540-550, Vol. 1, Paper 2315, (1994).
- [10]- R. Fjørtoft, A. Lopes, Jérôme Bruniquel, & Philippe Marthon; "Optimal Edge Detection and Edge localization in Complex SAR Image With Correlated Speckle", *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, Vol. 37, No. 5, September (1999).
- [11]- P. Wambacq, L. Van Eycken, J. Rommelaera, A. Costerlinck; "Fast Adaptive Filtering With Special Hardware", *Applications of Digital Image Processing VIII*, 220, *SPIE Vol. 575*, (1985).

- [12]- F. J. Martin, & R. W. Turner; "SAR Speckle Reduction By Weighted Filtering", *INT. J. Remote Sensing*, Vol. 14, No. 9, PP. 1736-1758, (1993).
- [13]- R. C. Gonzalez, & Paul Wintz; "Digital Image Processing", Second Edition, Canada, USA, November (1987).
- [14]- A. C. Frery, Hans J. Müller, Corina da Costa Freitas Yanasse, & Sidnei J. Sant 'Anna; "A model for Extremely Heterogeneous Clutter", *IEEE. Transaction on Geoscience and Remote Sensing* GE- 35, No. 3, PP. 1-12, (1997).
- [15]- S. E. Umbaugh, "Computer Vision and Image Processing: A Practical Approach Using CVIP Tools", Prentice Hall PTR, Upper Saddle River, NJ 07458, (1998).
- [16]- Ali-Zuky, "Quantitative Analysis of Synthetic Aperture Radar", Ph.D. Thesis, Submitted in Physics Dept., College of Science, Baghdad Univ., (1998).
- [17]- H. J. J. Braddick, P. M. S.; "The Physics of Experimental Method", Printed in Great Britain at the Aberdeen University Press, London, (1966).
- [18]- M. L. Boas; "Mathematical Methods In The Physical Sciences", Second Edition, Singapore, (1983).
- [19]- A. Lopes, E. Nezery, R. Touzi, & H. Lanr; "Structure Detection and statistical Adaptive Speckle Filtering In SAR Images", *Int. J. Remote Sensing*, Vol. 14, No. 9, PP. 1735-1758, (1993).
- [20]- Z. Shi, & K. B. Fung; "A Comparison of Digital Speckle Filters", Author Address: Canada Center For Remote Sensing, 588 Both Street, Ontario, Canada, USA.
- [21]- H. A. Panofsky, & Glenn W. Brier; "Some Applications of Statistics to Meteorology", First Edition, The Pennsylvania State University, (1965).
- [22]- M. Belohlavek, & James F. Greenleaf; "Detection of Cardiac Boundaries In Echocardiographic Images Using A Customized Order Statistics Filter", *Ultrasonig Imaging* 19, 127-137, (1997).
- [23]- J. Steven Mott, & James A. Roskind; "An Object-Pass Filter for Image Processing", *SPIE. Vol. 575 Application of Digital Image Processing VIII*, (1985).
- [24]- P. M. Dare & Ian J. Dowman; "An Automated Procedure for Registering SAR and Optical Imagery Based on Feature Matching", In *Proceedings of Elropem Symposim a Satellite Remote Sensing III*, Taarmina, 23-26, Sept. (1996).

- [25]- V. S. Frost, Josephine Abbott Stiles, K. S. Shanmugan, & Julian C. Holtzman; "A Model for Radar Images and Its Application To Adaptive Digital Filtering of Multiplicative Noise", IEEE. Transaction on Pattern Analysis & Machine Intelligence, Vol. PAMI-4, No. 2, March (1982).
- [26]- J. E. Freund; "Modern Elementary Statistics", Fourth Edition, Prentice-Hall, Inc. USA, (1973).
- [27]- A. C. Frery, Corina DA C. F. Yanasse, Pedro R. Vieira, Sidnei J. S. Sant'Anna , and Camilo D. Renno; "A User-Friendly System for Synthetic Aperture Radar Image Classification Based on Grayscale Distributional Properties and Context", Annis do X SIBGRAPI. Outubro de (1997).

Inhibition of (Serum, Testicular, Bacterial) Hyaluronidase By The Morin Compound

Abdul Kadir M. N. Jassim

Department of chemistry, College of Science, Al- Mustansiriyah
University, Baghdad- Iraq.

الخلاصة

تضمن البحث تعيين مستوى فعالية انزيم الهيالورونديز (المصلي، الخصوي، والهاضم للهيالورونات) بطريقة قياس الكدوره والبحث عن العلاقة بين التركيب والفعالية ودراسة تأثير مركب المورين (احد مركبات الفلافونويدات) على هذه الانزيمات الثلاثة (دراسة خارج جسم الكائن الحي *In Vitro*) كما اجريت دراسة حركية لهذا المثبط على انزيم الهيالورونديز الخصوي واطهرت النتائج ان التثبيط هو من النوع التنافسي وقد تم اقتراح الية تثبيطه لعمل هذا المثبط مع هذا النوع من الانزيمات. اما المواقع الفعالة وتركيب المورين والتي اعطت قوة تثبيطية عالية هي: الأصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون رقم 2 و 3 ، مجاميع الهيدروكسيل في المواقع 7,5 و 4' ووجد ان النسب المئوية للتثبيط لانزيمات الهيالورونديز هي (58,3% ، 57%، 16,7%) على التوالي.

ABSTRACT

The turbidimetric method described here, was used for determination of the (Serum, testicular and hyaluronate lyase) hyaluronidase activity and designed to investigate the structure-activity relationship and effects of the Morin compound (type of flavonoids) *in vitro* on these enzymes. Kinetic studies of this inhibitor with testicular hyaluronidase showed that their mode of inhibition was competitive and the mechanism of the inhibition process for this enzyme was proposed. The following Morin structure conferred potent inhibitor effect: a double bond between carbon 2 and 3; hydroxyl groups at 5,7 and 4'. The percentage of inhibition for the three enzymes were (58.3%, 57.0%, 16.7%), respectively.

INTRODUCTION

The hyaluronidase [Hyase] family of enzymes have, until recently, been neglected [1]. They are general term used to describe enzyme that are able to breakdown the substrate hyaluronan (hyaluronic acid, HA), however, some of these enzymes are also able to cleave chondroitin sulfate [2], albeit at a slower rate.

The hyaluronidase can be subdivided into three types, Hyaluronate-4-glycanohydrolases (EC 3.2.1.35) are the testicular-type hyaluronidases found in mammalian spermatozoa, lysosomes, serum and the venoms of various insects and snakes. The second group are hyaluronate-3-glycanohydrolases (EC 3.2.1.36) produced by leeches and some hookworms. The third group are the bacterial hyaluronidases or hyaluronate lyases

(EC 4.2.2.1 or EC 4.2.99.1), act as endo-N-acetyl hexosaminidases by elimination across the (β 1-4) linkage [3].

Our interest has been focused on finding a synthetic competitive inhibitor of Hyase, since: (1) Hyase depolymerizes the amorphous component of the interstitial connective tissue and it is this component which normally acts as a barrier to the migration of small cells. (2) As the surrounding of a tumor becomes more liquid the concentration of the substrate of Hyase decreases. Thus the effectiveness of competitive inhibitors will increase with enhanced progress of the disease. (3) Synthetic inhibitors can easily modified with regard to biological activity and negative side effects. One of these inhibitors are flavonoids.

The flavonoids are a group of naturally occurring low molecular weight benzo - γ -pyrone derivatives, ubiquitous in plants [4]. Their pharmacological and pharmaceutical function have been reviewed by Havsteen [5]. The effects exerted by flavonoids on animal systems include anti-inflammatory and anti-allergic activity, lipid peroxidation, RNA, DNA and protein synthesis antiviral activity capillary fragility and inhibition of tumor promotion [4,6]. There have been a limited number of earlier report describing the effects of a few flavonoids on the action of Hyase *in vivo* and *in vitro* [4,6-10]. However, the present study was designed to investigate the structure- activity relationship and effects of one class of flavnoids as flavonol derivative (Morin compound (Fig.1)) *in vitro* on different types of Hyases.

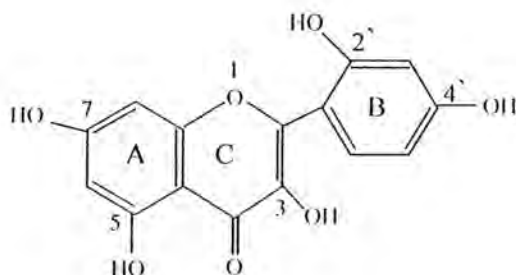


Fig.(1): Chemical structure of the Morin

In view of the important role played by Hyase in the aetiology and / or development of disease [4,6] it would be very useful to find potent inhibitors of this enzyme for they could be used to develop new therapeutic agents.

MATERIALS AND METHOD

Acetic acid, sodium acetate, sodium chloride, hyaluronatelyase (EC 4.2.2.1) from (BDH Co.); human umbilical cord hyaluronic acid and cetyltrimethylammonium bromide (Cetrimide, CTAB) from the (Sigma Chemical Co.); the flavonoid (Morin) compound was gift supplied from Dr.Mohammed Mustafa Radi.

Human blood samples from normal healthy individuals were obtained, The blood samples were left to coagulated and centrifuged and the sera were frozen at -20°C until used

Determination of hyaluronidase activity

Hyase activity was determined turbidimetrically by the method of Kuppusamy *et al.* [4] and XU *et al.*[5] with some modification which was made by this laboratory.

Assay system:

- 1- $100\mu\text{l}$ of Hyase ($15\mu\text{g/ml}$ of testicular or $12\mu\text{g/ml}$ of lyase or $100\mu\text{l}$ of serum) was made up to $900\mu\text{l}$ with 0.1M acetate buffer (pH 5.0 containing 0.15 M NaCl , for testicular and hyaluronate lyase, and pH 3.7 containing 0.15 M NaCl for serum sample), then incubated for 15 min at 37°C

- 2- After preincubation, the assay was commenced by added HA ($100\mu\text{l}$ " $50\mu\text{g/ml}$ ") to each tube and incubated for 45min. All incubations were carried out in triplicate.
- 3- In the case of serum sample, other tube was prepared for the initial HA in sample, contained ($100\mu\text{l}$ " $50\mu\text{g/ml}$ ") of substrate and the volume was made up to $900\mu\text{l}$ with acetate buffer of pH 3.7 and a $100\mu\text{l}$ of serum sample was then added after 45min of incubation time with a total volume of 1ml.
- 4- The blank which was contained $100\mu\text{l}$ of enzyme were prepared and the volume was made up to 1ml with acetate buffer, but in the case of serum sample the blank contained only 1ml acetate buffer pH 3.7.
- 5- Reaction were terminated by the addition of 2ml of Cetrimide (CTAB) (2.5% w/v) in 2% (w/v) NaOH solution ("stop reaction" solution) and produced the turbidity.

CALCULATIONS:

In the case of testicular or hyaluronate lyase enzyme, the activity (V) was expressed as $\mu\text{g/ml/min}$ of HA hydrolysed. The optical density (O.D.) of the various "standard" incubations i.e. assay tubes which did not contain the enzyme was plotted against the corresponding initial amount of substrate added. Amount of substrate hydrolysed was determined from this standard curve by subtracting the residual amount of substrate from that originally presented in each tube, whilst in the case of serum sample the activity (V) was calculated by the following:

$$C_{\text{Res.}} (\mu\text{g/ml}) = \frac{A_{\text{Res.}}}{A_{\text{Ini.}}} \times C_{\text{Ini.}}$$

$$C_{\text{Hyd.}} (\mu\text{g/ml}) = C_{\text{Ini.}} - C_{\text{Res.}}$$

$$\text{The Activity} (\mu\text{g/ml/min}) = \frac{C_{\text{Hyd.}}}{45\text{min}} \times F$$

Where: $C_{\text{Res.}}$ = Conc. of residual HA in sample ($\mu\text{g/ml}$)

$C_{\text{Ini.}}$ = Conc. Of initial HA in sample ($\mu\text{g/ml}$)

$C_{\text{Hyd.}}$ = Conc. Of HA hydrolysed by the serum enzyme ($\mu\text{g/ml}$).

$A_{\text{Res.}}$ = Absorbance of residual HA in sample

$A_{\text{Ini.}}$ = Absorbance of initial HA in sample

F = Factor.

For the measurement of the percentage of inhibition, the method described above was followed with exception that the enzyme 100 μ l (15 μ g/ml of testicular Hyase, 12 μ g/ml hyaluronate lyase, normal serum) was preincubated with 50 μ M (30 μ l) of the inhibitor (Morin) for 15min at 37°C and the volume was made up to 900 μ l with acetate buffer (Morin was dissolved in dimethylsulfoxide "DMSO", stock solution "freshly prepared for each assay" had concentration 25mM and aliquots "30 μ l" of the Morin solution was used in the assay to give a final concentration of 50 μ M).

The control tubes contained, the enzyme plus 30 μ l (DMSO) and a buffer at a final volume of 900 μ l, then the procedure was followed as in assay system. The activity was expressed as μ g/ml/min for HA hydrolysed which determined from the standard curve. The percentage of inhibition was calculated for the three enzymes according to this equation:

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Activity of control} - \text{Activity in the presence of Inhibitor (Morin)}}{\text{Activity of control}} \times 100\%$$

RESULTS AND DISCUSIONS

The Morin compound was examined for their effects *in vitro* on bovine testicular Hyase , Hyaluronate Lyase and normal serum Hyase (Table (1)).

Table (1): Inhibition of bovine testicular Hyase, hyaluronate layse and normal serum Hyase by the Morin compound.

Flavonoid compound	Testicular hyase		Hyaluronate lyase		Serum hyase	
	Activity % HA hydrolysed	% Inhibition	Activity % HA hydrolysed	% Inhibition	Activity % HA hydrolysed	% Inhibition
Control (nil) containing DMSO (solvent used)	60.50	-	60	-	59	-
Morin	26	57	49.94	16.7	24.39	58.3

* The assays were carried out as described in Materials and Methods. The Morin compound was present at 50 μ M concentrations. Percentage was carried out in triplicate.

The percentage of inhibition (%I) of the Morin was determined with respect to control assays run simultaneously. The amount of DMSO used in the assay system did not cause any significant inhibition of the three enzymes. The Morin compound was present at 50 μ M concentrations (Fig. 2).

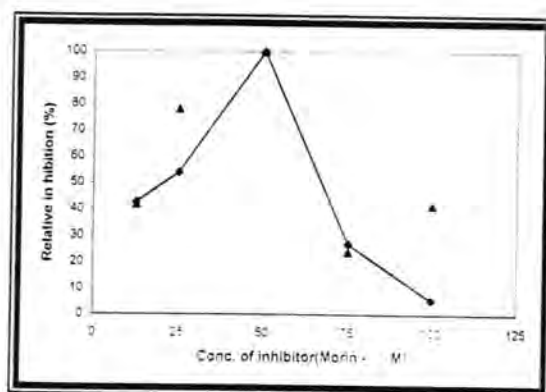


Fig. (2): Effect of inhibitor concentrations (Morin) on the activity of testicular Hyase and hyaluronate lyase.

The results of the tests (table (1)) indicate that the hydroxyl substituents at positions 5, 7 and 4' contributed to a more potent inhibitory effect for the Morin compound on the both testicular and serum Hyase and less effective on hyaluronate lyase. Similar effects were reported for Hyases [4, 6, 9, 10] and a few other enzymes [4, 6]. The double bond between carbons 2 and 3 exhibited to a more potent inhibitory effect for the Morin compound. These results were agreed with results of other studies [4, 9], which they found that the $C_{2,3}$ double bond flavonoids exhibited higher potency than those flavonoids lacking the double bond. The 3-hydroxyl substitution in ring C was reported by kuppusamy et al. [4] to be an important. Ketone group at position 4 and hydroxide substituents at position 2' require more studies to understanding the nature of the effect of these positions.

Analysis of these structure – activity data reveals a module (Fig. 3) of the minimal essential features required for Hyase inhibition by Morin. This module suggests that a free hydroxyl substituent at the 4' and 5, 7 – positions and the double bond between carbons 2 and 3 are essential.

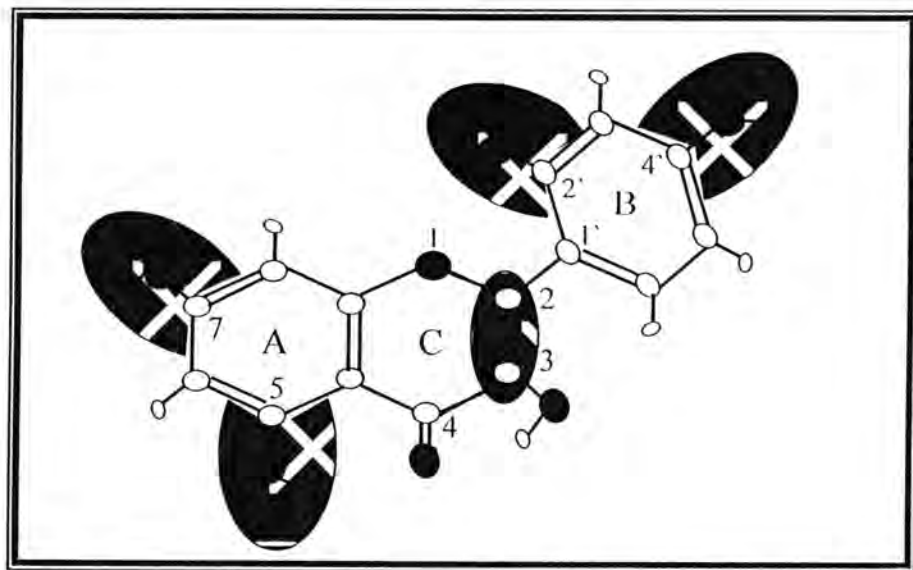


Fig. (3): Module of the required (hatched lines) features for the Hyase inhibition by the Morin compound.

Lineweaver-Burk equation and plot are used (Fig. 4) to determine K_i (Inhibition constant) and V_{max}^{app} (apparent maximum velocity) for the Morin inhibitor, which V_{max}^{app} is the same as V_{max} for testicular Hyase enzyme ($1.538 \mu\text{g/ml/min}$), because of the mode of inhibition is competitive. K_i determine from equation (2), which shows in table (2) for testicular Hyase by the Morin compound.

$$\frac{1}{K_m^{app}} = \frac{1}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} \dots\dots\dots(1)$$

$$X = \frac{1}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} \dots\dots\dots(2)$$

X = intercept with X-axis

Table (2): Kinetic properties of inhibited testicular Hyase by the Morin compound using Lineweaver-Burk plot.

Inhibitor	[I] (μM)	K_i (μM)	K_i ($\mu\text{g/ml}$)	V_{max} ($\mu\text{g/ml/min}$)
Morin	25	100	30.30	1.538
	50	116.6	35.33	1.538

Lineweaver-Burk plot was used to determine values of K_m (Michaelis constant) and V_{max} (Maximum velocity) directly (Fig. 4), for testicular Hyase the values of K_m , V_{max} equal to ($50 \mu\text{g/ml}$), ($1.538 \mu\text{g/ml/min}$), respectively. And (Fig. 5) for hyaluronate lyase equal to ($100 \mu\text{g/ml}$), ($3.070 \mu\text{g/ml/min}$), respectively. Different values for k_m , V_{max} were mentioned by Jassim [6].

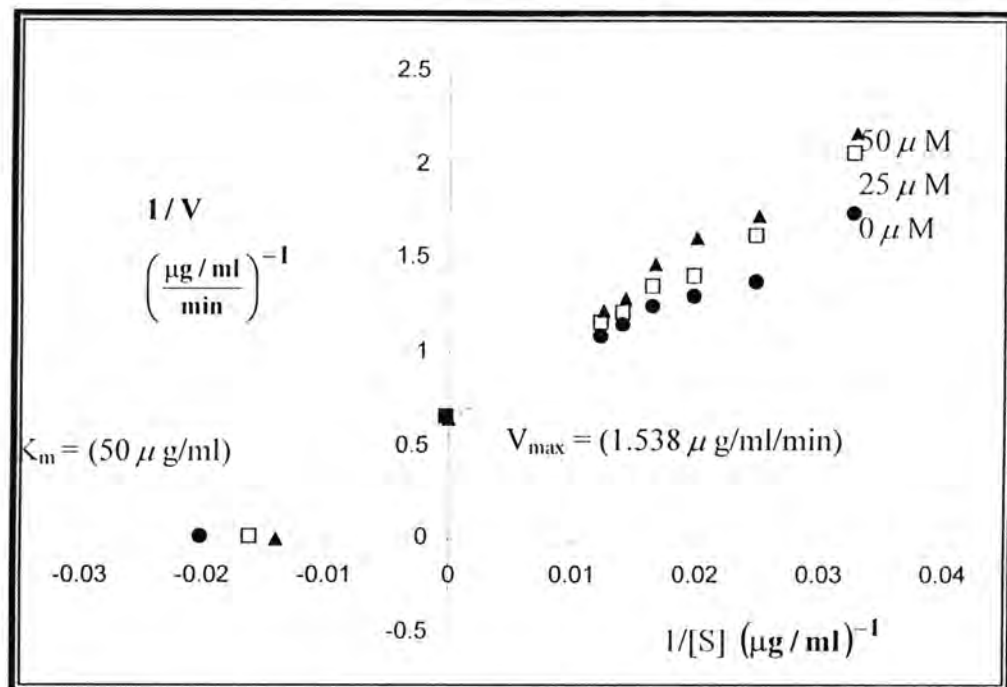


Fig. (4): *Lineweaver-Burk plots for determination k_m , $V_{\max}$ values of testicular Hyase and k_i , $V_{\max}^{app}$ values of inhibited testicular Hyase by the Morin compound at concentrations indicated.*

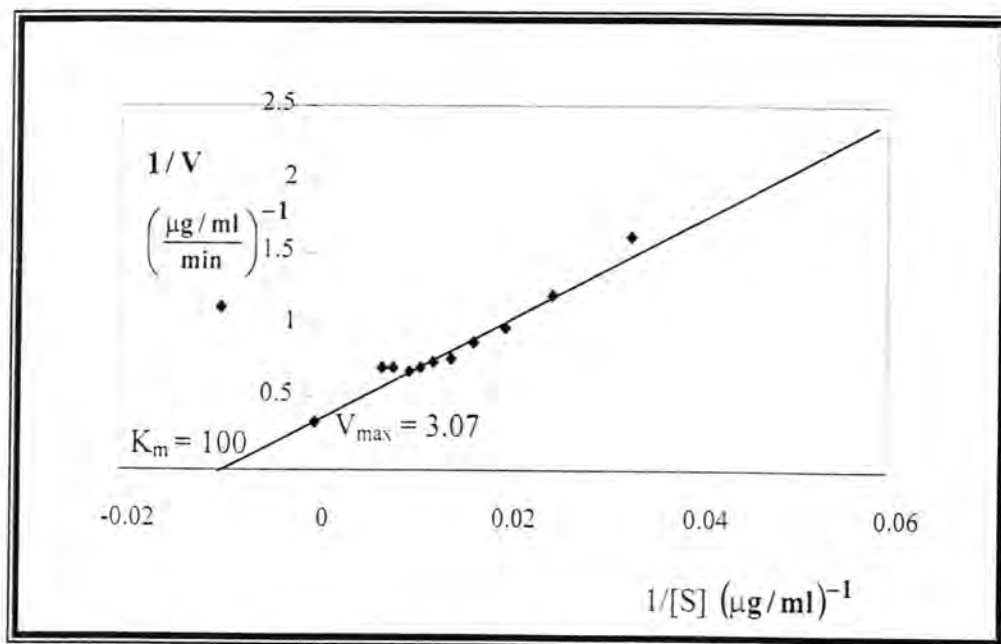
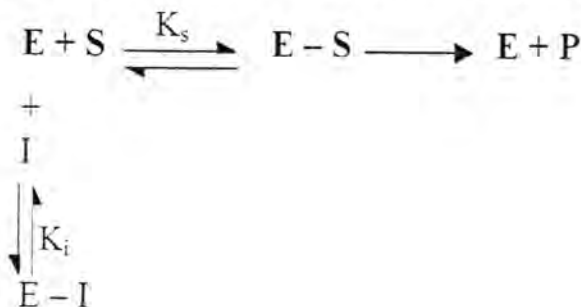


Fig.(5): Lineweaver-Burk plot for determination K_m , $V_{\max}$ values of hyaluronate lyase.

It should be stress that different preparations of HA yield different kinetic constant, however, the shape of the plots do not change, but with in each inhibitor compound there are no important differences in the maximal enzyme velocities ($V_{\max}$) determined at each inhibitor concentration. The same observation showed with other investigators [4,6]. Fig. (1) shows that this Morin is an extremely effective a competitive in inhibitor of testicular Hyase. The competitive inhibition could be represented as follows[11]:



However, It is interesting to note that the Morin used in the present study having no structural similarities to the substrate could also exert competitive inhibition on the testicular Hyase. Asquith and Butler [12] reported that proteins with high contents of proline and other hydrophobic amino acids have high affinity for condensed tannin compound (a polymer of flavan-3-ols, type of flavonoids) involved hydrogen bonding and hydrophobic interaction .

Considering the numerous benzene rings and hydroxyl groups in the Morin structure (Fig. 1), it is pertinent to suggest that the inhibitory effect may have resulted through conformational change or denaturation of the enzyme, caused by hydrogen bonding and / or hydrophobic interactions between the enzyme and the inhibitor. Therefore, one can proposed such a mechanism for this inhibitor with testicular Hyase (Fig. 6).

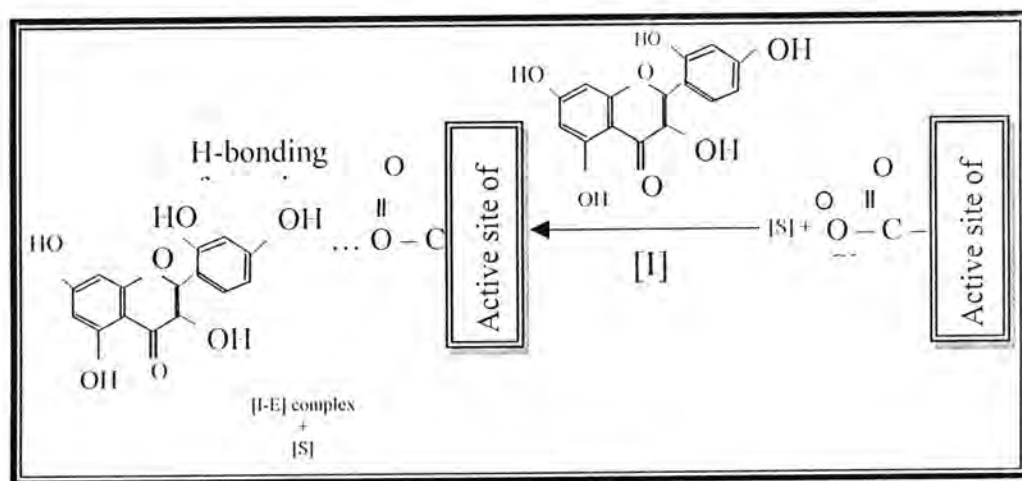


Fig. (6): *Propose mechanism of the Morin inhibitor with testicular Hyase.*

REFERENCES

- 1- Frost G.I. and Cso'ka T., Stern R., the hyaluronidase: a chemical, biological and clinical overview, Trends Glycosci. Glycotechnol., 8,419-434, (1996).
- 2- Kreil G., Hyaluronidase- a group of neglected enzymes, protein science, 4, 1666-1619, (1995).
- 3- Hynes W.L., Walton S.L., Hyaluronidases of gram-positive bacteria, FEMS Microbiology letters, 183, 201-207, (2000).
- 4- Kuppusamy, U.R. Khoo, H.E. and Das, N.P., structure – activity studies of flavonoids as inhibitors of hyaluronidase, Biochem. Pharm., 40,397-401, (1990).
- 5- Havsteen B., Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency, Biochem. Pharmacol. 32, 1141-1148, (1983).
- 6- Jassim, A.M.N., M.Sc. thesis, college of science, Univ. of Al-Mustansiriyah, (2001).
- 7- Beiler J.M. and Martin G.J., Inhibition of hyaluronidase action by derivatives of hesperidin, J. Biol. Chem., 174, 31-35, (1948).
- 8- Rodney G., Swanson A.L., Wheeler L.M., Smith G.N. and worrel C.S., the effect of a series of flavonoids on hyaluronidase and some other related enzymes, J. Biol. Chem., 183, 739-741, (1950).
- 9- Al-Sheikly, S.A., M.Sc. thesis, college of science, Univ. of Al-Mustansiriyah, (2000).
- 10- Kuppusamy, U.R. and Das, N.P., Inhibitory effects of flavonoids on several venom hyaluronidases, Experientia, 47, 1196-1200, (1991).
- 11- Copeland, R. A.; "Enzymes"; Wiley-VCH; New York; (1996); pp. 187-200.
- 12- Asquith, T.N. and Butler, L. G., Interaction of condensed tannins with selected proteins, Phytochem., 25, 1591-1593, (1986).
- 13- Xu,X. Wang, X., Xi. X., Liu. J. Huang, J. and Lu, Z., purification and characterization of Hyaluronidase from five pace snake (*Angkistrodom acutus*) venom, Toxicon, 20,973-981, (1982).

The Fuzzy External Direct Sum For Some Types Of Fuzzy Submodules

*Innam M-A. Hadi , **Rabee Hadi Jari

*Department of Mathematics, Ibn- Al- Haitham College of Education
University of Baghdad

**Department of Mathematics, Thi-Qar College of Education,
University of Basrah.

الخلاصة

تم في هذا البحث دراسة المجموع المباشر الخارجي للموديولات الجزئية الضبابية (شبه الأولية، الضعيفة، الأولية التامة والقوية). كذلك درسنا تماثل الصورة والصورة العكسية للموديولات الجزئية الضبابية الأولية التامة.

ABSTRACT

In this paper we study the fuzzy external direct sum for (semi, weakly, completely and strongly) prime fuzzy submodules. Also we study the homomorphic image and inverse image of completely prime fuzzy submodules.

INTRODUCTION

The concept of fuzzy external direct sum of fuzzy modules (fuzzy submodules) was first introduce in [1], and some results about fuzzy external direct sum of prime fuzzy submodules are presented. In this paper we prove that the external direct sum of (semi, completely and strongly). Prime fuzzy submodules is (semi, completely and strongly) prime fuzzy submodule respectively. Homomorphic image and inverse image of (semiprime and prime) fuzzy submodule are presented by [2, 1] respectively in this paper we prove that the homomorphic image and inverse image of completely prime fuzzy submodule is a completely prime fuzzy submodule.

Throughout the paper R is a commutative ring with unity and M is an R -module.

PRELIMINARIES

In this section we give some basic definitions to be used later on.

Definition 2.1^{[3], [4]}:

Let X be a fuzzy set in M ($X : M \rightarrow [0,1]$) which associates with each point $x \in M$ its grade or degree of membership $X(x) \in [0,1]$, the set $X_t = \{x \in M \mid X(x) \geq t\}$ is called a level subset of X .

Definition 2.2^[5]:

A fuzzy set X in R -module M is called a fuzzy R -module if and only if for each $x, y \in M, r \in R$.

- 1- $X(x - y) \geq \min\{X(x), X(y)\}$.
- 2- $X(rx) \geq X(x)$
- 3- $X(0) = 1$ (0 is the zero element of M).

Definition 2.3^[4]:

Let A and X be two fuzzy modules of an R -module M , A is called a fuzzy submodule of X if and only if $A \subseteq X$. In particular if $X = \chi_M$, then we say A is a fuzzy submodule of M .

Definition 2.4^[2]:

A fuzzy submodule A of a fuzzy module X is called semiprime fuzzy submodule if $r_t^2 a_s \subseteq A$ for a fuzzy singleton r_t of $R, a_s \subseteq X$ then $r_t a_s \subseteq A$.

Definition 2.5^[6]:

A fuzzy submodule A of an R -module M is said to be weakly prime fuzzy submodule of M if $A(ra) > A(a)$ for $r \in R$, $a \in M$ implies that $A(rm) \geq A(ra)$ for all $m \in M$.

Definition 2.6^[11]:

Let A be a proper fuzzy submodule of a fuzzy module X . Then A is called completely prime if $r_1 a_s \subseteq A$, $r_1 \neq 0_1$ implies that $a_s \subseteq A$ for all fuzzy singleton r_1 of R , $a_s \subseteq X$.

Definition 2.7^[7]:

A fuzzy submodule of R -module M is said to be strongly prime if $A(ra) = A(a)$ for all $a \in M$, $r \neq 0$.

For getting more definitions and results about prime fuzzy submodules, we refer to [1].

THE FUZZY EXTERNAL DIRECT SUM FOR SOME TYPES OF FUZZY SUBMODULES.

Definition 3.1^[11]:

Let X and Y be two fuzzy modules of M_1, M_2 respectively. Define $X \oplus Y : M_1 \oplus M_2 \longrightarrow [0, 1]$ by:

$$(X \oplus Y)(a, b) = \min \{X(a), Y(b)\}, \text{ for all } (a, b) \in M_1 \oplus M_2.$$

$(X \oplus Y)$ is called a fuzzy external direct sum of X and Y .

If A and B are two fuzzy submodules of X, Y respectively. Define $A \oplus B : M_1 \oplus M_2 \longrightarrow [0, 1]$ by:

$$(A \oplus B)(a, b) = \min \{A(a), B(b)\}, \text{ for all } (a, b) \in M_1 \oplus M_2.$$

Proposition 3.2:

Let X and Y be two fuzzy modules of R -modules M_1 and M_2 respectively then:

- 1- If A and B are a semiprime fuzzy submodules of X and Y , then $A \oplus B$ is a semiprime fuzzy submodule of $X \oplus Y$.
- 2- If A and B are completely prime fuzzy submodules of X and Y , then $A \oplus B$ is a completely prime fuzzy submodule of $X \oplus Y$.
- 3- If A and B are a strongly prime fuzzy submodules, then $A \oplus B$ is a strongly prime fuzzy submodule.

Proof (1):

Let $r_t^2(a, b)_k \subseteq A \oplus B$ for a fuzzy singleton r_t of R and $(a, b)_k \subseteq X \oplus Y$.

Then $(r^2a, r^2b)_\lambda \subseteq A \oplus B$, where $\lambda = \min \{t, k\}$.

This implies that $(r^2a, r^2b) \in (A \oplus B)_\lambda$, hence $(r^2a, r^2b) \in A_\lambda \oplus B_\lambda$ by [1, lemma 2.3.3].

Thus, $r^2a \in A_\lambda$ and $r^2b \in B_\lambda$. It follows that $(r^2a)_\lambda \subseteq A$ and $(r^2b)_\lambda \subseteq B$.

Hence $r_t^2 a_k \subseteq A$ and $r^2 b_k \subseteq B$.

But, A and B are semiprime fuzzy submodules of X and Y , then $r_t a_k \subseteq A$ and $r_t b_k \subseteq B$.

This implies that $(ra)_\lambda \subseteq A$ and $(rb)_\lambda \subseteq B$. Hence $A(ra) \geq \lambda$ and $B(rb) \geq \lambda$.

Thus, $\min \{A(ra), B(rb)\} \geq \lambda$, implies that

$(A \oplus B)(r(a, b))_\lambda \subseteq A \oplus B$.

Therefore, $r_t(a, b)_k \subseteq A \oplus B$.

So, $A \oplus B$ is a strongly prime fuzzy submodule of $X \oplus Y$.

Proof (2):

Let $r_t(a, b)_k \subseteq A \oplus B$ for a fuzzy singleton r_t of R and $(a, b)_k \subseteq X \oplus Y$ such that $r_t \neq 0_t$.

Then $(ra, rb)_\lambda \subseteq A \oplus B$, where $\lambda = \min \{t, k\}$.

Hence $(A \oplus B)(ra, rb) \geq \lambda$, so $\min \{A(ra), B(rb)\} \geq \lambda$.

Consequently, $A(ra) \geq \lambda$ and $B(rb) \geq \lambda$, which implies that $(ra)_\lambda \subseteq A$ and $(rb)_\lambda \subseteq B$.

Therefore, $r_t a_k \subseteq A$ and $r_t b_k \subseteq B$.

But, A and B are completely prime fuzzy submodules and $r_1 \neq 0$, hence $a_k \subseteq A$ and $b_k \subseteq B$, so $(a, b)_k \subseteq A \oplus B$, that is $A \oplus B$ is completely prime.

Proof (3):

To prove $(A \oplus B)(r(x, y)) = A(x, y)$ for all $r \in R$ and $(x, y) \in M_1 \oplus M_2$.
Since:

$$\begin{aligned} (A \oplus B)(r(x, y)) &= (A \oplus B)(rx, ry) \\ &= \min \{A(rx), B(ry)\} \\ &= \min \{A(x), B(y)\}, \text{ since } A \text{ and } B \text{ are strongly} \\ \text{prime} & \\ &= (A \oplus B)(x, y). \end{aligned}$$

Remark 3.3:

The external direct sum of weakly prime fuzzy submodule is not necessary weakly prime fuzzy submodule. For example:

Let $M_1 = M_2 = Z$ as a Z -module and let $A : M_1 \longrightarrow [0, 1]$ and $B : M_2 \longrightarrow [0, 1]$ be defined by:

$$A(x) = \begin{cases} 1 & \text{if } x \in (3) \\ \frac{1}{4} & \text{if } x \notin (3) \end{cases}$$

$$B(x) = \begin{cases} 1 & \text{if } x \in (2) \\ \frac{1}{4} & \text{if } x \notin (2) \end{cases}$$

A and B are weakly prime fuzzy submodules of M_1 and M_2 by [8, example 2.2.11].

Then $A \oplus B : Z \oplus Z \longrightarrow [0, 1]$

$$(A \oplus B)(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{if } (x, y) \in (2) \oplus (3) \\ \frac{1}{4} & \text{if } (x, y) \notin (2) \oplus (3) \end{cases}$$

$A \oplus B$ is not weakly prime fuzzy submodule since

$$(A \oplus B)(2(1, 3)) = (A \oplus B)(2, 6) = 1 > (A \oplus B)(1, 3) = \frac{1}{4}.$$

$$\text{But } (A \oplus B)(2(2, 2)) = (A \oplus B)(4, 4) = \frac{1}{4} \not\geq (A \oplus B)(2(1, 3)) = 1.$$

Proposition 3.4:

Let X be a fuzzy module of R -module M , if A is a weakly prime fuzzy submodule of X , then $A^2 = A \oplus A$ is weakly prime of $X^2 = X \oplus X$.

Proof:

Let $(A \oplus A)(r(x, y)) > (A \oplus A)(x, y)$ for $r \in R$ and $(x, y) \in M_1 \oplus M_2$. Suppose that $(A \oplus A)(rx, ry) = t$. This implies $(rx, ry) \in (A \oplus A)_t$, hence $(rx, ry) \in A_t \oplus A_t$, by [1, lemma 2.3.3].

Thus, $rx \in A_t$ and $ry \in A_t$.

But A is weakly prime, then A_t is prime by [1, proposition 2.2.9].

Hence (either $r \in A_t$ or $x \in A_t$) and (either $r \in A_t$ or $y \in A_t$).

Thus, either $r \in A_t$ or $(x \in A_t$ and $y \in A_t)$.

So, if $x \in A_t$ and $y \in A_t$, then $(x, y) \in A_t \oplus A_t = (A \oplus A)_t$, implies that:

$$(A \oplus A)(x, y) \geq t = (A \oplus A)(rx, ry), \text{ which is a contradiction.}$$

So, $r \in A_t$. But A_t is a submodule of M by [8].

Therefore, $rm_1 \in A_t$ and $rm_2 \in A_t$.

Hence $r(m_1, m_2) \in A_t \oplus A_t = (A \oplus A)_t$.

Thus, $(A \oplus A)(r(m_1, m_2)) \geq t = (A \oplus A)(r(x, y))$, for all $m_1, m_2 \in M_1, M_2$.

So, $A \oplus A$ is a weakly prime fuzzy submodule of $X \oplus X$.

Proposition 3.5:

Let $T = X \oplus Y$ be a direct sum of two fuzzy modules X and Y , then:

1. If L is a semiprime fuzzy submodule of X , then $L \oplus Y$ is a semiprime fuzzy submodule of T .
2. If L is a completely prime fuzzy submodule of X , then $L \oplus Y$ is a completely prime fuzzy submodule of T .

Proof:

1- Let $r_i^2(a, b)_k \subseteq L \oplus Y$ for a fuzzy singleton r_i of R and $(a, b)_k \subseteq X \oplus Y$

Then $(r_i^2 a, r_i^2 b)_\lambda \subseteq L \oplus Y$, where $\lambda = \min \{t, k\}$

Hence $(L \oplus Y)(r_i^2 a, r_i^2 b) \geq \lambda$, so $\min \{L(r_i^2 a), Y(r_i^2 b)\} \geq \lambda$

So, $L(r_i^2 a) \geq \lambda$ and $Y(r_i^2 b) \geq \lambda$ which implies that $(r_i^2 a)_\lambda \subseteq L$ and $(r_i^2 b)_\lambda \subseteq Y$.

Therefore; $r_i^2 a_k \subseteq L$ and $r_i^2 b_k \subseteq Y$.

But, L is a semiprime fuzzy submodule of X , hence $r_i a_k \subseteq L$.

Since $b_k \subseteq Y$ and Y is fuzzy module, then $r_i b_k \subseteq Y$.

Thus, $r_i(a, b)_k \subseteq L \oplus Y$.

Therefore; $L \oplus Y$ is a semiprime fuzzy submodule of $X \oplus Y$.

2- Let $r_i(a, b)_k \subseteq L \oplus Y$ for a fuzzy singleton r_i of R , $r_i \neq 0_i$ and $(a, b)_k \subseteq X \oplus Y$.

Then $(ra, rb)_\lambda \subseteq L \oplus Y$, where $\lambda = \min \{t, k\}$.

Hence $(L \oplus Y)(ra, rb) \geq \lambda$, so $\min \{L(ra), Y(rb)\} \geq \lambda$.

Which implies $L(ra) \geq \lambda$ and $Y(rb) \geq \lambda$.

Therefore; $L(ra)_\lambda \subseteq L$ and $Y(rb)_\lambda \subseteq Y$.

Thus, $r_i a_k \subseteq L$ and $r_i b_k \subseteq Y$

But, L is a completely prime fuzzy submodule of X , then $a_k \subseteq L$.

Thus, $(a, b)_k \subseteq L \oplus Y$.

So, $L \oplus Y$ is completely prime of $X \oplus Y$.

HOMOMORPHIC IMAGE AND INVERSE IMAGE OF COMPLETELY PRIME FUZZY SUBMODULES.

Definition 4.1^[9]:

Let f be a mapping from a set M in to a set N . Let A be a fuzzy set in M , the image of A denoted by $f(A)$ is the fuzzy set in N , defined by:

$$f(A)(y) = \begin{cases} \sup \{A(z) \mid z \in f^{-1}(y)\} & \text{if } f^{-1}(y) \neq \emptyset, \text{ for each } y \in N \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

where $f^{-1}(y) = \{x : f(x) = y\}$, and let B be a fuzzy set in N , then the inverse image of B , denoted by $f^{-1}(B)$ is the fuzzy set in M defined by:

$$f^{-1}(B)(x) = B(f(x)), \text{ for all } x \in M.$$

Definition 4.2^[10]:

Let f be a function from a set M to a set N . A fuzzy subset A of M is called f -invariant if $A(x) = A(y)$, whenever $f(x) = f(y)$, where $x, y \in M$.

Proposition 4.3:

Let X and X' be two fuzzy modules of R -modules M and M' , respectively, and let f be an epimorphism from M to M' . If A and B are two completely prime fuzzy submodules of X and X' , then the following statements are true.

1. $f(A)$ is completely prime fuzzy submodule of X' provided that A is f -invariant.
2. $f^{-1}(B)$ is completely prime fuzzy submodule of X .

Proof (1):

$f(A)$ is a fuzzy submodule of X' by [3, proposition 3.2].

Suppose that $r_i y_k \subseteq f(A)$ for a fuzzy singleton r_i of R and $y_k \subseteq X'$ such that $r_i \neq 0_i$, then $(ry)_i \subseteq f(A)$, where $\lambda = \min \{t, k\}$, which implies that $f(A)(ry) \geq \lambda$. But f is an epimorphism, so there exists $a \in M$ such that $y = f(a)$. Hence $f(A)(rf(a)) \geq \lambda$.

Thus $f(A)(f(ra)) \geq \lambda$, that is $(f^{-1}(f(A)))(ra) \geq \lambda$.

So, $A(ra) \geq \lambda$ by [8, lemma 1.1.12]; that is $(ra)_i \subseteq A$, thus $r_i a_k \subseteq A$.

But A is a completely prime fuzzy submodule of X , hence $a_k \subseteq A$, then $A(a) \geq k$. This implies that $y_k \subseteq f(A)$ since $(f(A))(y) = f(A)f(a) = f^{-1}f(A)(a) = A(a)$ since A is f -invariant, see [8, lemma 1.1.12 (2)].

Thus, $f(A)(y) \geq k$; that is $y_k \subseteq f(A)$.

So, $f(A)$ is completely prime of X' .

Proof (2):

$f^{-1}(B)$ is a fuzzy submodule of X by [3, proposition 3.2].

Let $r_i a_k \subseteq f^{-1}(B)$ for a fuzzy singleton r_i of R and $a_k \subseteq X$, $r_i \neq 0_i$.

Then $(ra)_\lambda \subseteq \Gamma^{-1}(B)$, where $\lambda = \min \{t, k\}$

This implies that $(\Gamma^{-1}(f(B))(ra) \geq \lambda$. Then $B(f(ra)) \geq \lambda$; that is $B(rf(a)) \geq \lambda$.

Hence $(rf(a))_\lambda \subseteq B$. It follows that $r_t(f(a))_k \subseteq B$. But B is completely prime of X' , so $(f(a))_k \subseteq B$, then $B(f(a)) \geq k$.

Thus $(\Gamma^{-1}(B))(a) \geq k$, hence $a_k \subseteq \Gamma^{-1}(B)$.

Therefore, $\Gamma^{-1}(B)$ is completely prime of X .

REFERENCES

- [1] Jari R. H., "Prime Fuzzy Submodule and Prime Fuzzy Modules", M.Sc. Thesis, University of Baghdad, College of Education, Ibn-Al-Haitham, (2001).
- [2] Hadi I. M-A., "Semiprime Fussy Submodules of Fuzzy Modules", Accepted in Ibn-Al-Haitham J. for Pure and Applied Science, (2001).
- [3] Martines L., "Fuzzy Modules Over Fuzzy Rings in Connection with Fuzzy Ideal of Fuzzy Ring", J. Fuzzy Mathematics, Vol.4, pp.843-857, (1996).
- [4] Mashinchi M. and Zahedi M. M., "On L-Fuzzy Primary Submodules", Fuzzy Sets and Systems, Vol.49, pp.231-236, (1992).
- [5] Nanda S., "Fuzzy Modules Over Fuzzy Rings", Bull. Col. Math. Soc., Vol.18, pp.197-200, (1989).
- [6] Mukejee T. K., Sen M. K. and Roy D., "On Fuzzy Submodules and their Radicals", J. Fuzzy Math., Vol.4, pp.549-558, (1996).
- [7] Bhambert S. K., Kumar R. and Kumar P., "Fuzzy Prime Submodules and Radical of Fuzzy Submodules", Bull. Col. Soc., Vol.87, pp.163-168, (1995).
- [8] Alyass G. A., "Fuzzy Spectrum of a Module Over Commutative Ring", M.Sc. Thesis, University of Baghdad, College of Education, Ibn-Al-Haitham, (2000).
- [9] Yue Z., "Prime L-Fuzzy Ideals and Primary L-Fuzzy Ideals", Fuzzy Sets and Systems, Vol.27, pp.345-350, (1988).

- [10] Kumar R., "Fuzzy Semiprimary Ideals of Rings", Fuzzy Sets and Systems, Vol.42, pp.263-272, (1991).

Polyvinylpyrrolidone as a prophylactic agent against *Klebsiella pneumoniae* infection

Jamela Ghadban A. Al-Grawy
Microbiology Dept., AL-Kindy College of Medicine,
Baghdad University

الخلاصة

درس تأثير مادة Polyvinylpyrrolidone (pvp) في الوقاية ضد خمج الجرثومي الجهازى ما حيث حقنت اربع مجاميع من ذكور الفئران البالغة وريديا بجرثومة *Klebsiella Pneumoniae* لاحداث الخمج ، كانت ثلاثة مجاميع منها قد حقنت مسبقا داخل الغشاء البروتيني بجرع 0.1, 0.2, 0.3 ملغم 100/pvp من وزن الجسم و لمدة ثلاثة ايام متوالية قبل احداث الخمج . تم حساب نسبة وزن كل من الكبد و الطحال الى وزن الجسم و اجري الفحص النسيجي بعد 24 ساعة و 48 ساعة من احداث الخمج . و اظهرت النتائج ان كل من الكبد و الطحال قد ازدادت اوزانها بعد 24 ساعة من الخمج لجميع المعاملات ، و قد انخفضت هذه الزيادة بعد 48 ساعة من الخمج . اما الدراسة النسيجية لكل من الكبد و الرئة و الكلية للفئران المحقونة بالجرثيم فقط كما ظهر فيها تغيرات و افات قححية شديدة ، بينما اظهرت انسجة الفئران المعاملة مسبقا بمادة pvp تغيرات و افات نسيجية اقل مع تماسك الانسجة اكثر مما يؤكد الدور الوقائي المناعي لمادة pvp ضد الاصابة بالجرثيم الممرضة .

ABSTRACT

The efficacy of polyvinylpyrrolidone (pvp) against systemically challenge with *Klebsiella Pneumoniae* was studies. Suspension of *K Pneumoniae* were intravenously injected into four groups of adult male mice, alone in control group, and three days after intraperitoneal preinjection of 1.0 , 0.2 and 0.3 mg pvp/100 mg body weight in the other groups. Both liver and spleen weights to body weight was calculate and histological sections for liver, Kidney , and lung was examined. The results revealed that pvp have reversible effects on liver and spleen weights. The

histological study have demonstrated suppurative lesions and abscesses in the liver, kidney, and lung due to *K. Pneumoniae* infection, while pretreated mice with pvp have clearly demonstrated more less effects and more integrity of the tissues than the control mice, that confirmed the protective effect of pvp against bacterial infection.

INTRODUCTION

Polyvinylpyrrolidone (pvp) a synthetic Polymer ($C_{48} H_{72} O_{14}$), cause proliferation and infiltration of histiocytes in the reticuloendothelial system₁. PVP-treated rats were favorable to erythroid development in the bone marrow and spleen₂. In combination with iodine, proved superior antiseptic to prevent ocular infection 3,4,5 and in wound care treatments 6. Intratumoral injected mice with pvp pulsinterferon-alpha cause %100 inhibition of tumor growth 7.

Klebsiella pneumoniae the major cause of hospitals-acquired infections of the urinary tract, lower respiratory tract, biliary tract, and surgical wounds, many of these infections are associated with bacteremia and life threatening septic shock 8. In hospitals, strains of *K. pneumoniae* among the most antimicrobial-resistant microbes isolated 8.

The aim of this study to investigate the prophylactic role of pvp in protection of mice tissues against systemic infection with *K. pneumoniae*.

MATERIALS AND METHODS

- Polyvinylpyrrolidone :Stock solution of pvp (BDH) was prepared in sterile distilled water. Three doses of pvp 0.1, 0.2, and 0.3 mg /100 g body weight of mice were injected intraperitoneally at three successive days to each dose.
- *K. pneumoniae* was isolated from patient with wound infection. A single colony was inoculated into sterile brain-heart infusion medium, after overnight incubation at 37°C, the culture was centrifuged and washed three times with sterile saline. Bacterial suspension diluted in sterile saline to provide 10^4 viable cell per 0.1 ml and injected intravenously (0.1 ml per mouse) after two days from the last pvp injection 9.

- Mice : Twenty adult male mice (18-20 g) body weight were breeding in a relatively controlled environment at room temperature (25°C), and divided into four groups, each group included four mice. Three groups of them pretreated with 0.1, 0.2, and 0.3 mg pvp /100g body weight by intraperitoneally injection, then challenged intravenously with *K. pneumoniae* . The fourth group challenged with bacteria only. Half of all groups were killed at 24 h. after infection , and the remaining half was killed at 48 h. after infection .Body weight of all mice were determined and then the weights of liver and spleen was also determined , and calculated the ratio of the organ weight (mg) to the body weight (g).
- Statistical analysis: Using F-test₁.
- Histological examination: All mice were dissected and the lung , liver , and kidney were taken and fixed in 10% formaline , sections for all these organs were prepared and stained with hematoxylin-eosin₁₁.

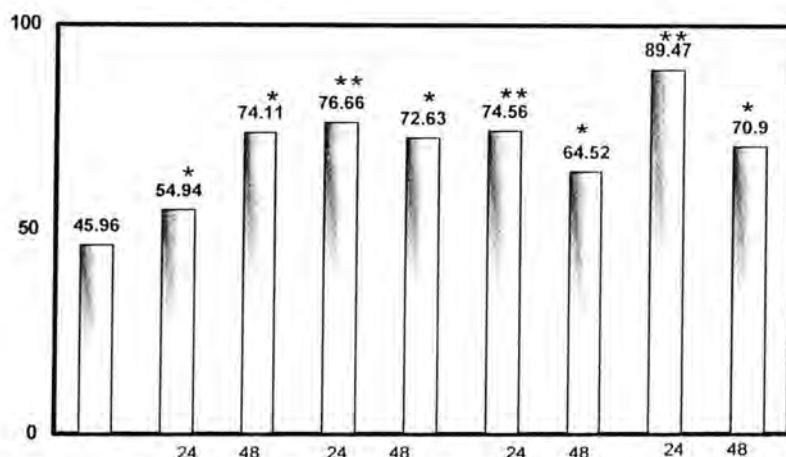


Fig.1 : Liver weight (mg) to body weight (g) of infected mice intravenously with *K. pneumoniae* and pre-injected intraperitoneally with 0.1 , 0.2, and 0.3 mg pvp/100g. body weight (*: significant; $p > 0.05$).

RESULTS

Liver and spleen weight to day weight of infected and pretreated mice with pvp show significant increasing (Fig 1 & 2), especially after 24 h. , but with reversible effects after 48h. In pvp-pretreated mice only.

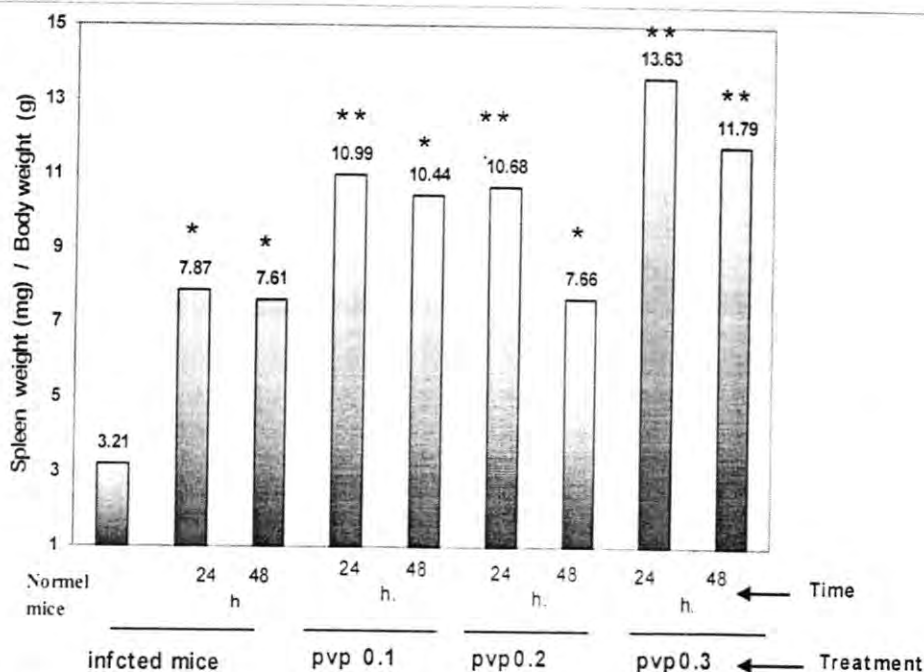
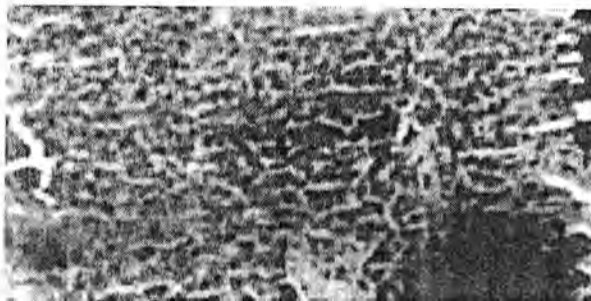


Fig.2 : Spleen weight (mg) to body weight (g) of infected mice intravenously with *K. pneumoniae* and pre-injected intraperitoneally with 0.1, 0.2. and 0.3 mg pvp /100g. body weight (* :significant; $p > 0.05$).

Histological examination showed that infected mice tissues with *K. pneumoniae* after 24 and 48 h. suffered marked pathological changes in the liver, kidney, and lung. The liver showed small micro abscesses

(Fig.3A), while these changes more less in the pre-treated mice with pvp (Fig.3B).

[A]



[B]

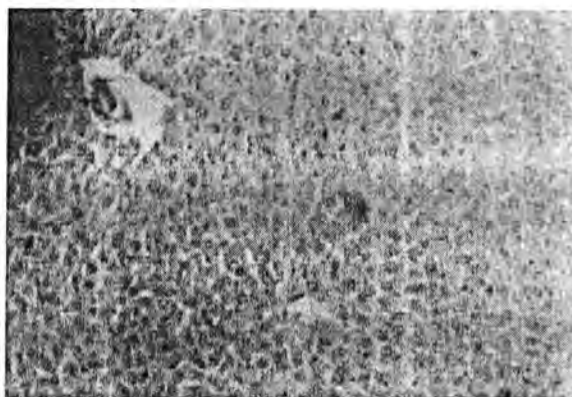


Fig.3: Liver of (A), mice 48 h. post *K. pneumoniae* intravenously injection showing micro - abscesses ; (B), mice pre-injected intraperitoneally with 0.3 mg pvp /100g. body weight showing mild changes. Hematoxylin-Eosin (330X).

The kidney sections from infected mice only showed acute inflammatory changes with enlargement of glomeruli and presence of pus cells in the renal tubules (Fig.4A), while these changes more less with more integrity of the interstitial tissues in pre-injected mice with pvp (Fig.4B).

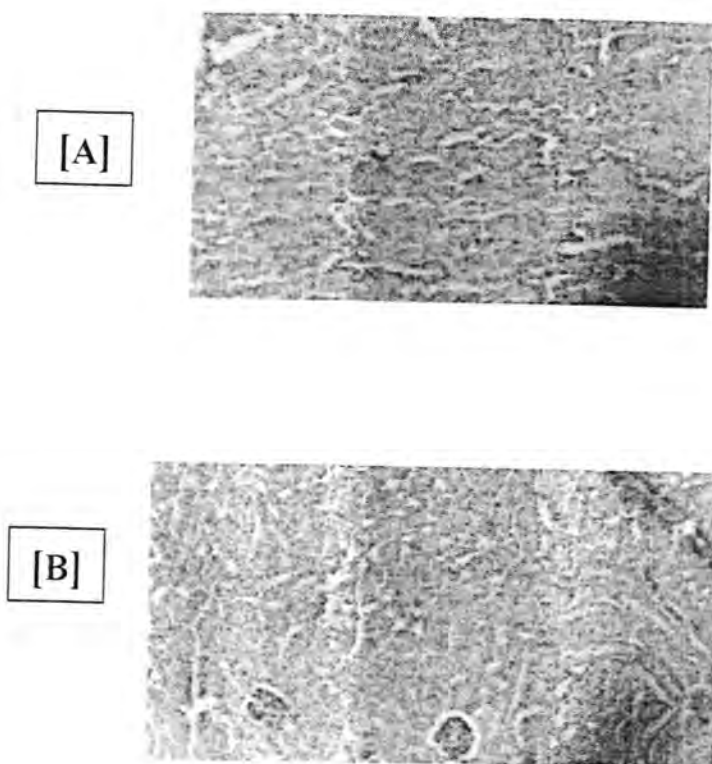


Fig. 4: Kidney of (A), mice 48 h. post *K. pneumoniae* intravenously injection showing acute inflammatory changes ; (B), mice pre-injected intraperitoneally with 0.3 mg pvp /100g. body weight showing less pathological effects and more tissue integrity . Hematoxylin-Eosin (330X).

The sections from lung of infected mice with *K. pneumoniae* showed a diffuse acute inflammation with congestion of small blood vessels and hemorrhage (Fig.5A), and pre-injection with pvp reduce these changes (Fig. 5B).

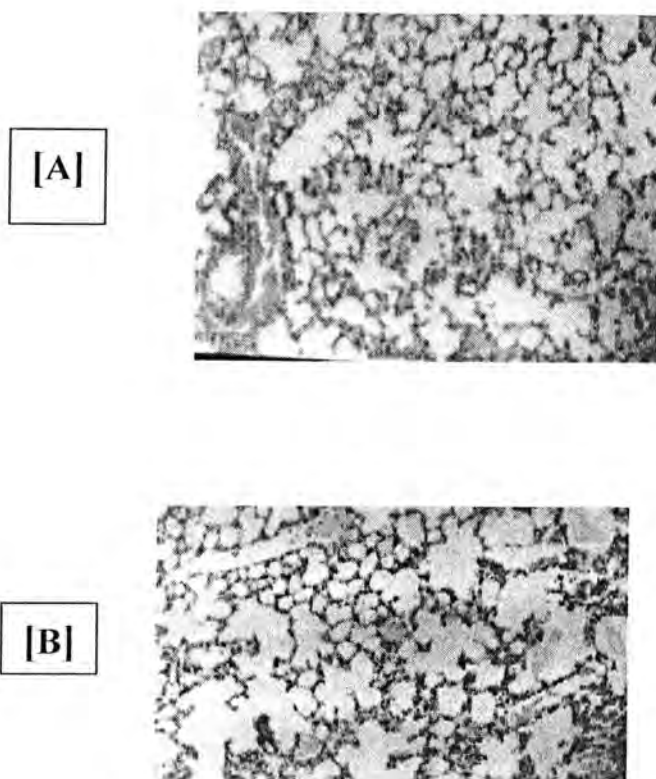


Fig.5: Lung of (A), mice 48 h. post *K. Pneumoniae* intravenously injection showing diffuse inflammation with congestion and heamorrhage; (B), moce pre-injected intraperitoneally with 0.3 mg pvp /100g. body weight showed reducing of inflammatory changes. Hematoxlin-Eosin (330X).

DISCUSSION

All treated mice showed hepatosplenomegaly this may be due inflammatory response caused by *K. pneumoniae* inspite of pvp effects. Previous studies have shown that pvp cause proliferation and infiltration of histiocytes in the reticuloendothelial system, and cause significant increases in the number of splenic mature and immature erythroid progenitors ^{1,2}. This may explain the enlargement of the liver and spleen after 24h., but the reversible effect after 48h. in pretreated mice with pvp in comparison to control group, may be due the protective effect of pvp against infection.

Histological examination of *K. pneumoniae* challenged control mice after 24h. and 48h. revealed moderate to severe changes in almost tissues, similar to other studies ¹². The pathological effects more less and more integrity of the tissues when pvp was used before challenge. Those because pvp reduces the inflammatory changes and have protective effect against development of infection due to increasing infiltration of histiocytes in the RES₁.

In conclusion our observations confirmed the protective effects of pvp on animal tissues against systemic bacterial infection. So the possibility of using pvp as a prophylactic and therapeutic agent for human against serious diseases may need extensive studies in the future.

REFERENCES

- 1- Dunn, P.; Kuo, T.; Shih, L.Y.; Wang, P.N.; Sun, C.F.; and Chang, M.J. Bone marrow failure and myelofibrosis in a case of pvp storage disease. Am. J. Hematol. 57(1):68-71. (1998).
- 2- Patakov, M.; Biljanovic-Paunovic, L.; Jovicic, G.; Stojanovic, N.; Todorovic, V.; and Jelkmann, W. The influence of acute sterile

- inflammation on erythropoiesis in rats. *Exp. Hematol.* 26(3):222-227. (1998).
- 3- Chavdhary, U.; Nagpal, R.C.; Malik, A.K.; and Kumar, A. Comparative evaluation of antimicrobial activity of polyvinylpyrrolidone (pvp) –iodine versus topical antibiotics in cataract surgery. *J. Indian. Med.Assoc.* 96(7):202-204. (1998).
 - 4- Oechsner, M.; and Keiperts, S. Polyacrylic acid/polyvinyl pyrrolidone bipolymeric systems .I. Rheological and mucoadhesive properties of formulations potentially useful for the treatment of dry-eye-syndrome. *Eur.J. Pharm. Biopharm.* 47(2):113-118. (1999).
 - 5- Kramer, A.; and Behrens-Baumann, W. 1997. Prophylactic use of topical anti-infectives in ophthalmology. *Ophthalmologica.* 211(suppl.1): 68-76.
 - 6- Burks, R.I. Povidone –iodine solution in wound treatment. *Phys. Ther.* 78 (2):212-218. (1998).
 - 7- Coleman, M.; Mu;er, S.; Quezada, A.; Mendiratta, S.K.; Wang, J.; Thull N.M.; Bisho, J.; Matar, M.; Mester, J.; and Pericle, F. Nonviral interferon alpha gene therapy inhibits growth of established tumors by eliciting a systemic immune response. *Hum. Gen. Ther.* 9(15) :2223-2230. (1998).
 - 8- Braunwald, E.; Fauci, A.S.; Kasper, D.L.; Hauser, S.L.; Longo, D.L.; and Jamson, J.L. 2001. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* Vol.2, (15th ed.), McGraw Hill, Medical Publishing Division.
 - 9- Cruickshank, R.; Duguid, J.P.; Mermion, B.P.; and Swain, R.H.A. 1975. *Medical Microbiology.* Vol.2, (12th ed.), Churchill Livingstone (Publ.) Edinburgh , London , NewYork.
 - 10- Zar, J.H. *Biostatistical analysis*, 2nd (ed.), Chap.5. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J. (1984).

- 11- Stevens, A. The hematoxylin *In* : Theory and Practice of Histological Techniques. 2nd (ed.), eds.: Bancroft, J. ; and Stevens, A. Churchill, Livingstone. NewYork. P.114. (1982).
- 12- Black, J. G. Microbiology , Principles and Application. Prentice-Hall, Inc. NewJersey, U.S.A. (1996).

Preliminary Consideration on Few Active Foci of Visceral Leishmaniasis in the central Region of Iraq

SHIHAB AHMED SALMAN

Tropical Disease Research Unit,

Al-Kindy College of Medicine - University of Baghdad.

ABSTRACT

This is a contribution to map 439 cases of visceral leishmaniasis, which were reported from Saddam Hospital of Children from 1997 to 2001. Also, to determine the foci in the endemic area.

INTRODUCTION

Many investigators were interested in the studies of leishmaniasis in Iraq during the 20th century (1). The pioneer one was Newstead in the 1st world war (2) also, studies were oriented on vectors, reservoirs and epidemiological aspect (3).

The main endemic area with visceral leishmaniasis is the rural area around Baghdad (4). High numbers of the patients were from the traditional foci as Sowira, Mahmodiya and Nomaniya (5).

Visceral leishmaniasis was reported in Iraq for the first time in 1954 (3). The reported cases per year in Iraq estimated as (5000) case (3). The problem of both vectors and reservoirs in Iraq still not clear, and this is due probably to the geographical situation of the country (2). After the war in 1991 and the problems caused by the sanction the image of the disease was modified.

Therefore the aim of this study is to map the cases of kala-azar from the main Hospital of Children in Baghdad (Saddam Hospital of Children) and to assess the prevalence of disease in the traditional foci in order to perform a new data in the studies of leishmaniasis in Iraq.

METHOD AND MATERIALS

- All cases were reported from Saddam hospital of children/Baghdad from 1997 to 2001.

- All previous studies were used as a base line data.
- Many foci were visited regularly during the last four years.

RESULT AND DISCUSSION

About 9439) case of kala-azar was reported from Saddam hospital of children in Baghda from 1997 to 2001. The cases were proved as kala-azar with clinical diagnosis and laboratory examination.

The distribution of cases (Figure 1) showing that the prevalence of cases takes a form like (K) letter parallel to the Tigris, Euphrates and Diala rivers. This fact is closely related to the cultivated area and the orchard of date palms, which irrigated from these rivers. Also, the prevalence were represented in isolated regions as Thi-Qar province in the south of the country and Moqdadiya in Diala province. Also, few cases were reported in Al-Tamim province in the north. No cases were reported from Ninawa province or the other province of north Iraq. However, the rural area around Baghdad still the highest.

The more active foci in the central region were (Figure 2): Balad (1) and Taji (2) in the north of Baghdad. Faloja in the north-west (3). Abo-Graeb (4) in the west. Rhdwaniya, Rashid, Youssifiya, Mahmodiya, Latifiya and Mash'roa (5) in the south Mossiab (6) and Karbala (7). Hilla (8) Najaf (18) Qhdasiya (17) Mouthana (19) and Thi-Qar (20) in the south region. In Diala province were the following foci Moqdadiya (9), Baqouba (10) and Ka'an bani-s'aad (11). From Baghdad to Kut we have five active foci as the following: Salmanpak (12), Sowira (13), Aziziya (14) Kut (15) and Nomania (16). In fact the foci (12, 13, 14, 15 and 16) were one endemic area in the east of Tigris.

What are the results of this study ?

1. The reported cases are not representative to Iraq.
2. The reported cases increased year after year due to the degradation of ecological factors.
3. Infection risks were increased also.
4. High number of reported cases were from Baghdad area.
5. The south district of Baghdad forms a part from the endemic area.
6. It seems that the reported cases in Baghdad City were imported cases.

7. Faloja was one of the active foci.
8. No reported cases were represented from Ninawa province in spite of the prevalence of disease in al-Shikan district.
9. Thi-qar was an active focus in the south.
10. Foci can be divided into hypo, meso and hyper endemic according to the reported cases.

To complete this study an epidemiological map of visceral leishmaniasis to Iraq based on the reported cases from all Hospitals seems necessary.

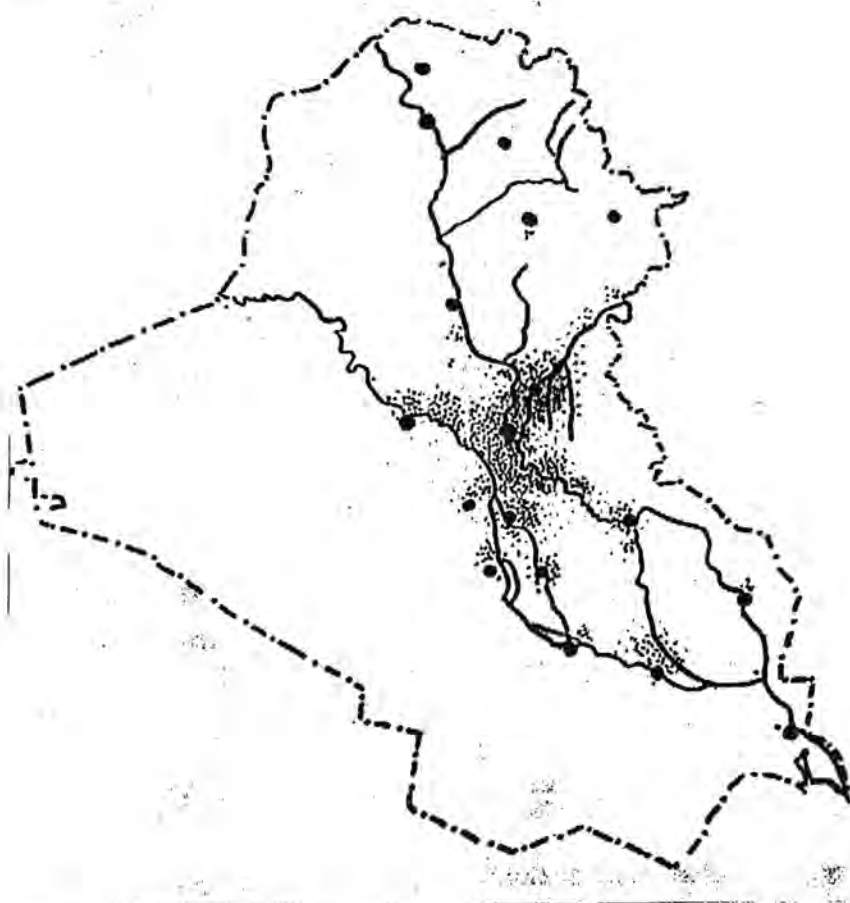


Figure (1): Map of Iraq showing the geographical distribution of (433) cases of visceral Leishmaniasis from 1990 to 2001 (cases reported from Saddam Hospital of Children / Baghdad).



Figure (2): Map of Iraq showing the main active foci of visceral leishmaniasis (433 cases reported from Saddam Hospital of Children / Baghdad from 1990 to 2001).

REFERENCE

1. Al-Alak S.F.: Study in the epidemiology of visceral leishmaniasis (KALA-AZAR) in Al-Maggar district-Missan province. VET.COLLEGE. Thesis, M. Sc. PP. 77 (1996).
2. Pringle, G.: kala-azar in Iraq, Preliminary Epidemiological consideration. Bull.End. Dis.Baghdad. 1(4), PP. 275 - 294. (1956).
3. Sukkar F.: Visceral leishmaniasis in Iraq. Bull. End. Dis Baghdad. 13(4), PP. 77 - 83. (1972).
4. Al-Shanawi F.A. (and others): Experimental infection of dogs with *Leishmania donovani*. J. Biol. Scie. Res. 17(3), PP. 47 - 54. (1986).
5. Jawdat S.Z., Ali N.A., Rifaat L. Kh. and Rutha K.Y.: The incidence of kala-azar in an endemic focus in central Iraq. J.B.S.R., 148: 81 - 87. (1983).

ACTIVE CMV INFECTION IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS

AL- IZI, SANA M. H. ^{*}; OMAR, ALI R. ^{**}; KHAMMAS, KALIL.
M. ^{***}; ABED-AUN ALA'A HUSAIN ^{****}

^{*} Central Public health Lab., Baghdad-Iraq

^{**} AIDS Studies & Research Center, Baghdad-Iraq

^{***} Biology Department, College of Science, Al-Mustansiriyah
University, Baghdad-Iraq.

^{****} Medical Saddam City, Baghdad-Iraq

الخلاصة

تم استقصاء انتشار الإصابة بالفيروس المضخم للخلايا في 68 مريضاً من مرضى زرع الكلية و 122 شخصاً من الأصحاء (مجموعة السيطرة) وذلك للتحري عن الإصابة بهذا الفيروس بوقت مبكر، تم استخدام اختبار التآلق المناعي غير المباشر (IFA) للكشف عن مستضدات الفيروس بخلايا الدم البيضاء و اختبار الاليزا (ELISA) لكشف أضداد الفيروس. وكانت نسبة انتشار أضداد هذا الفيروس صنف IgG، IgM عند مرضى زرع الكلية تساوي 100% و 11.8% على التوالي و كان هناك فرق معنوي عند مقارنتها مع النسب المستحصلة من مجموعة السيطرة و التي كانت 92.6% و 0.8% على التوالي. من جهة أخرى كانت نتائج الكشف عن مستضدات الفيروس بخلايا الدم البيضاء عالية وبنسبة (80%) عند المرضى الذين كانوا يعانون من الإصابة الفعالة بهذا الفيروس بينما اظهر 30% منهم نتيجة موجبة للأضداد النوعية صنف IgM و لنفس المجموعة المرضية كما أظهرت هذه الدراسة إمكانية الكشف عن مستضدات هذا الفيروس في خلايا الدم البيضاء قبل ظهور أو ارتفاع الأضداد بالمصل. كذلك أظهرت هذه الدراسة علاقة واضحة بين الإصابة الفعالة بالفيروس المضخم للخلايا و رفض الكلية.

ABSTRACT

The prevalence of Cytomegalovirus (CMV) infection in 68 kidney transplant patient and 122 healthy persons (control group) were investigated for early diagnosis of active CMV infection by ELISA for detection of CMV antibody and IFA for detection of antigens in blood leukocytes. The prevalence of CMV IgG and IgM antibodies was 100% and 11.8% in kidney

transplant patients respectively. This found to be significantly different from that found in control group which were 92.6% and 0.8 % respectively. On other hand high percentage of CMV antigens was detected in blood leukocyte among (80%) of active CMV infected patients , while only 30% of the same group of patients were showing a positive titer of CMV IgM antibodies. In addition this study showed that CMV antigens in blood leukocytes were the first marker detected in active CMV infected patients and it were detected before any appearance or rising of CMV antibody in blood. Also, in this study a clear association was found between active CMV infection and renal allograft rejection.

INTRODDUCTION

Cytomegalovirus (CMV) is an important cause of morbidity and mortality in kidney transplant recipients and has bad influence on graft survival ⁽¹⁾. Demonstration of CMV in blood sample is particularly important because CMV viremia is considered to be a reliable marker for diagnosis of active CMV infection and has been shown to correlate well with significant CMV disease ⁽²⁾. Both polymorphonuclear cells (PMNCs) and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) are good candidates for harboring CMV ⁽³⁾.

The rapid confirmation of suspected CMV infection in this risk group is particularly important because it can provide the bases for reduction or change of immunosuppressive therapy or the administration of CMV hyperimmunoglobulin. However, the rapid diagnosis of active CMV infection presents a considerable problem in such patients because the virus specific antibodies response develops slowly. Seroconversion of CMV IgG antibodies and CMV IgM antibodies may remain undetectable for several weeks even by the most sensitive test system ⁽⁴⁾.

The detection of CMV antigens can serve as a rapid diagnostic procedure and so eliminating the need to wait for the development of cytopathic effect. This study was conducted to investigate the level of type specific IgG and IgM antibodies in a comparison with the presence of CMV antigens in blood leukocytes. As this, would be useful to guide the initiation of antiviral therapy when needed. This is the first study in Iraq as regarding CMV infection in relation to kidney transplant patients.

MATERIAL AND METHODS

Patients and control group: -

Sixty-eight hospitalized patients were monitored serologically up to (6) months post transplantation, and all patients received standard immunosuppressive drugs consisted of cyclosporin, steroids and azathioprine.

Twenty of the above patients were studied to evaluate the utility of the presence of CMV antigens in blood leukocytes, in relation to serological and clinical data on CMV infection. In addition, (122) subjects not exposed to immunosuppressive drugs were tested as a control group and all of them without any evidence of active CMV infection.

Collection of blood sample: -

Blood samples were collected from each subject included in this study. Serum then stored at (-20⁰C) in tightly closed capped tubes until tested by ELISA within two weeks.

For detection of CMV antigens in blood leukocytes, additional (3) ml of collected blood was placed in a sterile EDTA tube with mixing to avoid clotting for separation of PMNCs⁽⁵⁾.

Samples for all diagnostic procedures were obtained every month after transplantation.

Serological test: -

Specific CMV antibodies (IgG and IgM) were determined as described in the leaflet of commercial kit (biokit, Spain). Then all positive cases of anti CMV IgM were tested for rheumatoid factor to eliminate the possibility of false positive due to the presence of rheumatoid factor.

IFA for detection of CMV antigens in PMNCs: -

IFA staining was used for direct detection of CMV antigens with polyclonal antibodies^(5,6). Negative control was included in each slide for each run, which prepared from blood of a healthy that was examined by ELISA and gave negative results for both IgG and IgM CMV antibodies. A positive result giving apple green fluorescence while negative result did not show any fluorescence.

Statistical analysis: -

Z test was used for detection of statistical significant difference⁽⁷⁾.

RESULTS

Table (1) shows that the prevalence of CMV IgG antibodies was (100%) in kidney transplant patients and it is significantly different ($p < 0.01$) from that found in control group (92.6%).

Table (1): The prevalence of CMV (IgG, IgM) antibodies in kidney transplant patients compared with control group.

Groups	Total no.	Anti CMV IgG		Anti CMV IgM	
		+	(%)	+	(%)
Patients with rejection	46	46	(100)	7	(15.2)
Patients without rejection	22	22	(100)	1	(4.5)
Total	68	68	(100)	8	(11.8)
Control	122	113	(92.6)	1	(0.8)

On the other hand, highly statistically significant difference ($P < 0.01$) was found in the prevalence of CMV IgM antibodies between kidney transplant patients (11.8 %) and control group (0.8 %). However, CMV IgM antibodies was (15.2%) in patients with allograft rejection and it was significantly different ($p < 0.01$) from that found in control group, while it was (4.5%) in patients without allograft rejection and had no difference from that found in control group and patients with allograft rejection.

Table (2) shows that an active CMV infection was detected serologically in (10) out of (20) patients, either by seroconversion of CMV IgG antibodies or any appearance of CMV IgM antibodies. However, all patients with active CMV infection were suffered from renal dysfunction. CMV antigens in blood leukocytes were detected in (8) out of (10) patients (80%) with active CMV infection. While only (1) out of (10) patients with non-active infection was positive for CMV antigens (10%).

Table (2): CMV antigens in blood leukocytes of kidney transplant patients with active and non-active CMV infection.

Group	Total no.	CMV antigens in blood leukocytes			
		+	(%)	-	(%)
*Active CMV infection	10	8	(80)	2	(20)
Non active CMV infection	10	1	(10)	9	(90)
Total no.	20	9	45.8)	11	(54.2)

- Active CMV infection was detected serologically either by seroconversion of CMV IgG or any appearance of CMV IgM in blood.

There was a high prevalence rate for CMV antigens in blood leukocytes of (80%) patients with active CMV infection when compared with CMV IgM antibodies in (30%) of the same group. In this study CMV IgM antibodies was detected for as long as the patients was followed up. All positive cases had showed a low level of the titer of CMV IgM antibodies.

Regarding the rapidity of the different methods, the following results were obtained: -

First, the time required for the direct detection of CMV antigens in blood leukocytes usually yielded results within a short time (2-3 weeks) before any serological markers could be observed in patient serum.

DISCUSSION

Recently, the time required for demonstration of infectious CMV in blood has been successfully reduced by using the rapid method that use monoclonal antibodies for detection of CMV Early antigens in cell cultures⁽⁸⁾. In this study the utility of using specific IgM polyclonal antibodies in direct detection of CMV antigens in blood leukocytes be investigated in relation with serological and clinical date. Correct demonstration of CMV by antigens staining in blood leukocytes was supported by serological tests during the same period. Significant difference of CMV IgG antibodies was

appeared between Kidney Transplant patients and the control group. This result indicated high prevalence of CMV infection among kidney transplant patients. The result of the prevalence of CMV IgM antibodies in this study are in agreement with several other studies, which indicated that the treatment of kidney transplant patients with immunosuppressive drug can lead to reactivation of latent CMV⁽⁹⁾. The titer of CMV IgM antibodies in the present study was still in low level that was in agreement with Rasmussen⁽¹⁰⁾. The deficiencies in synthesis of CMV IgM antibodies were associated either with severe CMV disease or may be related to the use of immunosuppressive drugs because the immunosuppressive combination that had been used commonly with kidney transplant patients can induce a profound suppression of cellular immunity as well as some reduction in antibody synthesis^(10,11).

Clear association was found between active CMV infection and renal dysfunction that may lead to allograft rejection because high prevalence of CMV IgM antibodies were found in patients with allograft rejection when compared with those without rejection. This result is in agreement with Lopez et al.,⁽¹²⁾. Detection of CMV antigens in blood leukocytes could be regarded as a good indicator for diagnosis of an active CMV infection (80 %) when compared with CMV IgM antibody (30%) in the same group.

In addition, CMV antigens were detected in blood leukocytes before any appearance or rising titer of antibody in sera. These findings are consistent with those other studies^(5,13,14,15). Possible explanation for negative results which were obtained in 20% of patients with active CMV infection may be due to a very short viremia period or a non systemic (local) infection⁽¹²⁾.

Previous results considered CMV antigens in blood leukocytes as a very useful early marker for CMV infection or CMV reactivation, which may not lead to systemic infection. This technique has certain advantages because the test is sensitive, easy to perform, and provides a result within seven hours. Lastly detection of CMV antigens in blood leukocytes is a useful diagnostic tool for proper management of kidney transplant patients when compared with serological markers.

REFERENCES

- 1-Peterson P.K., Balfour J.r., Marker S.C., Fryd D.S. Howard R.J., Simmons R.L. Cytomegalovirus disease in renal allograft recipients. A prospective study of the clinical features, risk factors and impact on renal transplantation. *Medicine*, (59): 283 – 300. (1980).
- 2-Gadler H., Tillegard A. Groth C.G. Studies of Cytomegalovirus infection in renal allograft recipients. *J. Infect. Dis.*, (14): 81 –7. (1982).
- 3-Einhorn L., Ost A. Cytomegalovirus infection of Human blood cells. *J. Infect. Dis.*, (149): 207-14. (1984).
- 4-Pass R. F., Griffiths P.P., August A.M. Antibody response to Cytomegalovirus after renal transplantation. Comparison of patients with primary and recurrent infections. *J. Infect. Dis.*, (147): 40 –6. (1983).
- 5- Van Der Bij W., Schirm J., Torensma R., Van son W. J., Tegzess A. M., The T.H. Comparison between viremia and antigenemia for detection of CMV in blood *J. Clin. Microbiol.*, 26 (12): 2531 –35. (1988).
- 6-Gerna G., Reveno M.G., Percivalle L., Morini F.. Comparison of different immunostaining techniques and monoclonal antibodies to the lower matrix phosphoprotein antigenemia *J. Chin. Microbiol.*, (30): 1232 –37. (1992)
- 7-Daniel W.W. Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences. 3rd. Ed. USA. Pages: 161-205. (1983).
- 8- Paya C.V., Wold A. D., Smith T. F. Detection of Cytomegalovirus infections in specimens other than urine by the shell vial assay and conventional cell cultures *J. Clin. Microbiol.*, (25): 755 –57. (1987).
- 9-Dowling J. N., Saslow A.R., Armstrong J. A., Ho M. Cytomegalovirus infection in patients receiving immunosuppressive therapy for rheumatologic disorders *J. Infect Dis.* (133): 99 – 108. (1976).
- 10-Rasmussen L., Kelsall D., Nelson R., Carney W., Hirsch M., Winston D. , Preiksaitis J. , Merigan T. C. Virus specific IgG and IgM antibodies in normal and immunocompromized subjects infected with CMV. *J. Infect Dis.* 145 (2): 191 – 199. (1982).
- 11-Swanson M.A., Schwartz R.S. Immunosuppressive therapy: the relation between clinical response and immunologic competence. *N. Engl. J. Med.*, (277): 163 –70. (1969).
- 12-Lopez C., Simmons R. L., Maver S.M., Najarian J. S., Good R. A., . Association of renal allograft rejection with virus infections. *Am. J. Med.*, . (56). : 280 –89. (1974)

- 13-Schirm J. , Timmerije W. , Van der bij W. , The T. H. Wilterdink J. B. , Tegzess A. M. , Van son W.J. , Schroder F. P. Rapid detection of infectious CMV in blood with the aid of monoclonal antibodies. *J. Med Virol.* (23): 31-40. (1987).
- 14-Tanobe K., Tokumoto T., Ishikawa N. Comparative study of CMV antigenemia assay, palymerase chain reaction, serology, shell vial assay in the early diagnosis and monitoring of CMV infection after renal transplantation. *Transplantation*, (64): 1721 -25. (1997)
- 15-Kraupp T. P. and Kunz C. Detection of CMV in clinical specimens by virus isolation and by a monoclonal antibody against the early nuclear antigen. *J. Med. Virol.*, (24) : 275 -82. (1988).

Preparation of Quality Control Solution for Hematology Tests

Sameer .H.Cheead* , Mussab .F.Omer** , Enaam .M.Rasheed**

*Ministry of Industrial and Mineral /Al-Razee Center for Research and Production Diagnostic Kits

**Ministry of Industrial and Mineral /Al-Razee Center for Research and Production Diagnostic Kits

***Al- Mustansyria University /Collage of Science/Chemistry Department

الخلاصة

يهدف البحث الى تحضير محلول Cyanohameglobin من الدم البشري بتركيز معين (قياسي) و الذي يستخدم كمحلول سيطرة أثناء إجراء فحوصات الدم (قياس مستوى الهيموكلوبين) في المختبرات للتعرف على كفاءة هذه الفحوصات و إعطاء النتائج الدقيقة و تصحيح الانحرافات في النتائج بين المختبرات حيث ان لهذا المحلول أهمية كبيرة في تتبع حالة المريض بصورة دقيقة و لكثرة الاختلافات في نتائج الفحوصات المختبرية التي يشكوها منها الأطباء و المرضى على حد سواء و لكون هذه المادة مستوردة و إنتاجها حكر على شركات عالمية محدودة و لها تاريخ نفاذية وجيز و يتطلب حفظها بدرجة حرارة 4 °م أثناء نقلها من خارج القطر . لذا كانت الفكرة من إجراء البحث و إيجاد الطريقة المثلى لتحضير هذه المادة محلياً و التي تتميز بمطابقتها لمواصفات و وضعت من قبل منظمة الصحة العالمية . و لتخدم بالتالي مسيرة السيطرة النوعية و تحقيق جزء من الأمن الدوائي في القطر .

INTRODUCTION

In the hospitals and private laboratories for Hematology using materials and instruments for Hb measurement ,found that value of result difference from lab. To lab . so to control these laboratories for best result, world health organization (WHO) suggest the identical principles to prepare a control and stander solution used in laboratories to control the result of heamatology test by heamatology quality assessment program constituent of hemoglobin , white blood cells , red blood cells , MCV , MCH , MCHC, platelets^[1] .

Every laboratory must ensure that the right patient is returned to right clinical at the right time. The quality control material is a substance used in routine practice for checking the concurrent performance of analytical process for instrument, it must be similar in properties to and be analysed along with patient specimens, it may or may not have a pre-assigned value^[3].

Hemoglobin is a tetramer made of two almost identical subunits. The function of hemoglobin is threefold: to transport CO_2 from the lungs to the tissues where it is consumed, to transport CO_2 from tissues where it is produced to the lungs, where it is expelled, and to maintain the blood pH over a narrow range.

The structure of hemoglobin is designed so that it will pick up the maximum amount of oxygen at high oxygen tensions in the lung tissue and will deliver the maximum amount of oxygen in the oxygen consuming tissue.^[4]

The purpose of this paper is to describe the method to prepare cyanohemoglobin solution which are used as a control solution for hemoglobin measurement according to WHO method. The blood used in this technique collected from blood bank (the blood tested for HIV and HBV, only non infected blood should be processed).^[5]

Prepare of Reagents :

I

((Drabkin's solution))

1. Potassium ferricyanide 0.9 gm .
2. Potassium Cyanide 0.05 gm .
3. Potassium Dihydrogen orthophosphate 0.149 gm .
4. Sterox SE 0.5 ml .
5. Cyanmethaemoglobin standard .
6. Distilled water 1000 ml .

II

i) Anti Coagulant solution :-

- Glucose 18.66 gm .
- NaCl 4.18 gm
- Citric acid Tri sodium salt 5.76 gm .
- D. W 1000 ml .

ii) Sterile saline (0.154 mol/L)

iii) Sterile water :- D.W in 0.6 μ m glass filter .

Preparation of Cyanohaemoglobin^[6,2] :

- Collect blood from a healthy donor into 3.2 % citrate solution (1.5 by volume)
- Centrifuge the blood and decant the supernatant plasma .
- Wash cells twice with NaCl (0.154 mol / L) (1: 9 by VOL .) and again twice with NaCl (0.2 mol / L) 1: , BY VOL -)
- Add an equal volume of distilled water to the packed cell volume and add 0.4 volume of toluene .
- Stir cell suspension thoroughly and place it in the refrigerator for 12 hours .
- Centrifuge the mixture at high speed . Remove the toluene layer by section decant the red hemoglobin layer from the precipitated cell debris .
- Filter the haemoglobin . Solution through a Jena glass G – 3 filter .
- Determine the haemoglobin concentration by the (Drabkin's Method) .
- Dilute the haemoglobin with reagent solution . so that the desired concentration is 0.55 to 0.6 g/L .
- For sterilization ; the cyanohaemoglobin solution is filtered through a 0.22 μ m membrane filter under a septic condition and filled into 10 ml ampoules of brown borosilicate glass .
- The cyanohaemoglobin solution should be stable for 1 –2 year .

RESULTS

Date	Concentration Cyanohaemoglobin g/dl	Standard error
1 st week	0.6	± 0
2 nd week	0.58	± 0.02
3 rd week	0.59	± 0.01
4 th week	0.6	± 0
5 th week	0.57	± 0.03
6 th week	0.59	± 0.01
7 th week	0.6	± 0
8 th week	0.58	± 0.02

P < 0.05 from t – test

DISCUSSION

The result above is fite to the procedure which maintain in the WHO program and the P value is accepted by using t-test. The stability of the cyanohe moglobin were extend for tow years to checking up the expir date and the solution is very stable and qualified by the central health laboratory.

REFERENCES

- 1) De cedie (N,Deom A, H,11 PG,sarkara AK et.al Haemoglobin method haemoglobircyanide, Methods recommended for essential clinical chemistry and haematological test for intermediate hospitals laboratory .LAB/86.3,Geneva, WHO (1986).
- 2) Frei .J, heack. C.C a production of basic diagnostic lab. reagent, WHO, P.P. 150-159. (1995).
- 3) R.M. ROWAN & J.M. ENGLAND Automation and Quality Assurance in Haematology. Black well scintific puplications. (1986)
- 4) GEOFFREY ZUBAY BIOCHEMISTRY vol. 1 . Wm. C. Brown Communications ; Inc. (1993)
- 5) Van Assendelft OW,Hoptz AM and lewis SM .Recommended method for the determination of Haemoglobin concentration of blood, WHO/ LAB/84.10, Geneva,WHO/ (1984).
- 6) Practical Hematology, Dacie & Lewis (1995) .

Carbonic Anhydrase A Histochemical Substrate for Muscle fiber typing

HAKI. I. IBRAHIM AND THURAYA. K. FADHIL

HAMMAD SHHAB HOSPITAL

College of Scientific – Biology Department

الخلاصة

هناك طرق عديدة لتأمين هذه الغاية ولكن معظمها غالي الثمن أو أن المواد المستخدمة قسم منها شحيح. عملنا في هذه الدراسة على إيجاد طريقة بسيطة وغير مكلفة وموادها متوفرة لغرض تأمين تلوين الاليف العضلية الما هذه الغاية من اهمية في تشخيص بعض امراض العضلات . ان الدراسة الحالية استهدفت تلوين انظيم الكربونك (رقم III) في الخلايا العضلية وقد لوحظ تواجدده فقط في النمط الاول (I) من الخلايا العضلية (الحمراء) وعدم وجوده في النمط الثاني (البیضاء) وبذلك يمكن استخدامه لتأمين الغاية.

ABSTRACT

Fiber typing of the muscle plays important role in the diagnosis of various muscle diseases, many methods is available but either expensive or their materials are not available. So in this work, anew, less expensive method was used, using carbonic anhydrase enzyme for muscle fiber - typing. Carbonic anhydrase III isoenzyme was demonstrated histochemically in the muscle taken by biopsy. CA-III isoenzymes was demonstrated in type I muscle fibers mainly and not in type II. This technique can be used for muscle fibers typing

INTRODUCTION

More than three centuries ago, muscle fibers were recognized to fall into types according to their characteristics. Much later, Romanul classified muscle fibers into three main groups: I, II & III, according to their utilization of glycogen, lipid metabolism, oxidative metabolism and their myoglobin content. A plethora of classifications appeared since then (1). They used acid and alkali pre-incubation, followed by Padykula and Herman classical procedure for Ca^{++} activated Adenosine triphosphatase (ATP-ase) histochemical reaction. Their method of discriminating the two classes of muscle fibers and further subclassifying type II into II a, b & c.

has since become generally accepted. Type II c are normally not present in mature human muscle, but do occur in fetal muscle and under pathological conditions (2).

Other methods of fiber typing were those of (3,4) lastly the method employed by (1) using esterase against α - naphthyl acetate which was general use in Al - Azzawi's lab, Department of Anatomy, University of Baghdad. In this pupilages it is tried to find a new mothed for fiber typing depending on carbonic anhydrous (CA) activity by using simple techniques with available cheep materials. Carbonic anhydrase (CA) shows CO_2 hydration and / or hydroxylation in addition to an esterase and phosphates activities (5) that might have and important keyrole in combating insect of medical or economic importance. However there are at least four isoenzymes of CA (6,7). Thus for the above reasons the enzyme CA was chosen against it available cheep substrate, sodium bicarbonate. CA is a zinc metalloenzyme (8), cell membrane bound (9) with the exception of one of its isoenzymes namely CA - III (the cytoplasmic form). It is present in the cytoplasm of muscle fibers in this setting - up emphasis is made on the main fact that when the specific activity of a coenzyme increases, its susceptibility to inhibition by specific inhibitor increases. Consequently, the weakest co enzyme needs higher concentration of inhibitor. Acetazolamide (Daimox) is specific inhibitor for CO_2 hydration hydroxylation activity of CA (10). Since CA - III is the weakest coenzyme, it will be the last one to be inhibited and need high concentration of acetazolamide. Thus it is tried to find the specific concentration of this inhibitor that can inhibit other coenzymes leaving the cytoplasm coenzyme (CA - III) that is more or less specific to muscle tissue. This novel procedure expectedly can give different shades of staining indifferent fiber types, i.e. anew method of fiber typing which might be of great value in applied histochemistry.

MATERIALS & METHODS

Fresh frozen sections of normal muscles from both rat and man were used. They were subdivided into there groups. Groups I & II are controls, they were stained for SDH (11) and for ATP - ase as well (12) serially for routine muscle fibers typing.

Group III - were preincubated in serial incubation media containing 10^{-5} -M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M of acetazolamide (Diamox, lederle. pearl. River, NY. 10965) for 15 minutes, then processed for CA staining using the modified (13, 14).

RESULT AND DISCUCTION

Various degree of black discolouration was found in the Group III muscle fibers stained for carbonic anhydrase seen in the area of activity of CA enzymes (fig 1).

This activity is abolished by high concentration of Diamox (above 10^{-6} M). But at concentration of 10^{-8} M. The cytoplasmic form is left. Occasional black dots seen in the connective tissues and capillary- bed.

3 types of fibers can be recognized by this stain (Fig 1), one was dark black and this when compared with stain for SDH and ATPase was Type I. (fig 2,3)

And other was white (no reaction for CA)(fig. 1) and this was type II. (fig. 2,3) Another intermediate fibers take intensity of stain in between. (fig. 1)

The aim of this study was to find a chief, easily way of muscle fibers classification and typing. And carbonic anhydrase enzymes was tried, because it can a chief the aim.

3-4 Isozymes for this enzymes are present and our aim is to demonstrate the cytoplasmic form (Isozymes III), which have the lowest activity. According to the fact proven by (10), the activity of all isoenzymes was inhibited by Diamox at concentration of 10^{-8} M except the activity of the cytoplasmic isoenzymes (type III) since it possesses the weakest activity.

From the result of CA activity, we found it is high in type I muscle fibers which depend on oxidative enzyme for metabolism.

This mean that either CA-III may have oxidative activity, or due to its esterase or phosphate activity (5) within the muscle fiber.

Low, or negligible activity of cytoplasmic CA present in type II fibers that depend on glycogenolysis for their activity.

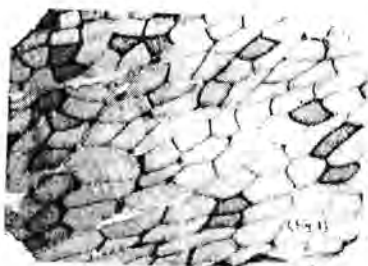


Fig 1 : section of muscle stained for carbonic anhydrase. Type 1 (deep).
Type 2 (light)

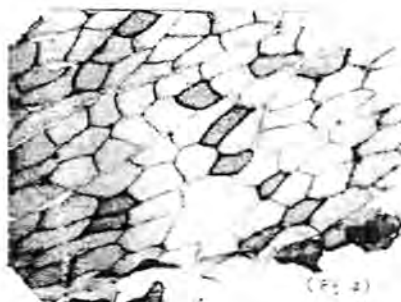


Fig II: serial section of muscle stained for SDH. Showing the same fibre types as in Fig. I.



Fig III : serial section of muscle stained for ATPase. Showing the same fibre typing.

This mean that the cytoplasmic form of CA has no role in glycogenolysis and not needed by this type of muscle fiber's.

From all the above and what is in favour of our aim is the cytoplasmic form of CA is present in high concentration in type I muscle fiber and not in type II and in between in the intermediate fibers so can be used for muscle fibers typing.

Abbreviation

ATPase = Adenosine triphosphatase .

CA = Carbonic anhydrase.

SDH = succinate dehydrogenase.

REFERENCES

- 1- AL- Salhi AR. Histochemical studies in Duchenne muscular. MSc thesis (1988).
- 2- Dubowitz V. Histochemical aspects of muscle Disease in : Walton J, Ed Disorder of Voluntary muscles 4 th ed.; 261-295. (1981).
- 3- Mabuchi S, Sreter L. Muscle fibres types new tech. J Histochem cytochem; 13; 1160- 1165. (1980).
- 4- Lester MD, Keilin D, Kito S, Muscle fibre typing. Clin. Chem Acta; 13. 611- 630. (1982).
- 5- Mehana SH . Some histochemical studies on the choroid plexus of Rabbit. Msc thesis; 169- 170. (1986).
- 6- Maren TH. CA chemistry. Physiol Rev; 47, 595- 781. (1967).
- 7- Pullan LM, Noltmann EA. Discovery, Ann NY Acad sci; 429, 152- 164. (1984).
- 8- Keilin D, Mann J. CA purification . Biochem J.; 34, 1163- 1176. (1940).
- 9- Karler R, Woodburg DM. Intracellular distribution of carbonic anhydrase Biochem J.; 75, 538- 543. (1960).
- 10- Sanyal G. Comperative CO₂ hydration , kienetic and inhibition of CAisozymes Ann NY Acad Sci; 429, 165- 168(1984).
- 11- Nachlas MM, Tsou KC , Seligman AM. Cytochemical demonstration of SDH . J Histochem cytochem; 5, 420- 436. (1957).
- 12- Matano S, Ishii S. The fine structural localization of ATP- ase in the choroid plexus. J Electr Microse; 22, 357- 359. (1973).
- 13- Brown, O. corbonic anhydrase localization stain Technol., 55, 115-118. (1980)
- 14- Haki IB. A histochemical study on zinc and zinc- metalloenzymes in some muscle disease. Msc thesis (1988).

Deep Atomic Binding (DAB) Approach in Interpretation of Fission Products Behavior in Human Body and Health Consequences

ABSTRACT

According to models used to predict health effects of fission products enter the human body, a large number of fatalities, malignancies, thyroid cancer, born defects genetic... etc.. But the actual data after Chernobyl and TMI accidents, and nuclear detonations in USA and Marshall Islands, were not consistent with these models. *According to DAB, these data could be interpreted, and conflicts between former models predictions and actual field data explained.*

INTRODUCTION

The movement of radionuclides from its source, within fuel cladding in- and ex-vessel, inside reactor containment, and in the environment has been studied for years, with the principal objective of tracing the routes by which they accumulate in the food chain and become available for human consumption.

According to IAEA report on Chernobyl accident [IAEA —1996], no sustained severe impacts on populations or ecosystem have been observed, and a low risk was associated with the present radiation levels in most of the contaminated areas.

Of 7.1 Million resident of contaminated territories, it was expected by many predictive models, one of them is DOE [1988], 470 fatalities, due to leukemia. But to the year 1996, no consistent attributable increase has been detected either in the rate of leukemia or in the incidence of any malignancies in regions in which the levels of fallout exceeded 550 kBq/m^2 , other than thyroid carcinomas. Future increase over the natural incidence of all cancers

among the public would be difficult to discern [UNSCEAR-1993, WHO-1995, Eisenbud -1997, IAEA-1961].

Of 200.000 persons were responding to the Chernobyl accident during 1986 —1987 (liquidators), it was expected 200 fatalities due to leukemia (150 within 10 years), but nothing occurred [IAEA-1996]. 237 of the liquidators were admitted to hospital after they were suggested to suffering from clinical syndromes attributable to radiation exposure. 134 of them were diagnosed as acute radiation syndrome. 28 person of the 134 died as a consequence of radiation injures within three months. 26 person (of the 28) associated with skin lesions that affected over 50% of the total body surface area. Although gastrointestinal damaged was a serious concern among 11 of them. Over ten years of the accident, 14 persons died. they were not directly attributable to radiation exposures. The other 2 deaths resulted of trauma [UNSCEAR-1993, WHO-1995, Eisenbud -1997, IAEA-1996].

The increases of thyroid cancer have been observed in children who were born before or within six months of the accident. The incidence of thyroid cancer in children born before more than six months of the accident drops dramatically to low level expected in unexposed population. To date, 3 children died. For the future: thyroid cancer incident is very difficult to predict. There is a major discrepancy between the number of thyroid cancer appearing in those who were children at the time of accident, and the predicted number of such cancers on the bases of standard thyroid dosimetry and current risk projection models. This difference may be result of several factors unique to the accident, which are not typically incorporated into standard models. The increase of incidence of thyroid cancer will most probably persist for several decades [UNSCEAR-1993, WHO-1995, Eisenbud-1997, IAEA.-1996].

This leaded Rohn [1995] to conclude after a pooled analysis of seven studies that "the thyroid gland in children has one of the highest risk coefficients of any organ. Also it has been shown that ^{131}I is less effective ip producing thyroid cancer than X-rays, with a carcinogenicity of ^{131}I is no more than one third that of external radiation.

Studies in regions affected ^{131}I releases from Chernobyl accident suggest that thyroid cancer is occurring in children at a rate equivalent to that seen in other studies from external radiation [Beral-1996].

Over the following years of the accident the principle pathways by which humans were exposed were ingestion of ^{137}Cs and ^{134}Cs in food especially milk and potatoes [UNSCEAR-1993, IAEA-1991, Eisenbud-1997, IAEA-1996]. Although the transfer for radionuclides from soil to milk of cows grazing on meadows varies by a factor of several hundreds [UNSCEAR-1993, Eisenbud-1997, IAEA-1996].

Pre-accident data on occurrence of abnormalities in farm animals have been analyzed, and comparisons have been made between the frequency of such abnormalities in clean areas and their frequency in areas contaminated by Chernobyl accident. No statistically significant increase in frequency in the contaminated areas has been noted [Alexakhin-1996].

Eye tissues of rats from the 30-km zone around Chernobyl have been studied using the eyes of intact rats of the same age from Odessa as controls. Significant changes have been found both in cellular elements of the tissues studies and in their extra cellular component of 30 km zone rats [Bushneva-1996].

Investigation of birth defect among animals revealed that the incidence of such anomalies in agriculture animals in non contaminated areas did not differ statistically from analogous from area contaminated by the Chernobyl accident [IAEA-1996].

After TMI accident, the doses from ingested radionuclides were less than that from external radiation [Eisenbud-1997]. Acting on the assumption that a major radioiodine release occurred, during (1-4) April potassium iodide was supplied (after 5 days of accident). Fortunately, there was no need for it [Eisenbud-1997].

2.Data from Nuclear Weapons Tests

During the period 1960-1965 the U.S public health services conducted a study of resident who were children during the area of open-air weapon testing. The children were presumed to have consumed fresh milk. Which would have been the major source of radioiodine. The highest exposures were assumed to have been in Washington county, Utah, and Lincoln county, Nevada. The results of the survey showed no elevation in neoplasms or other thyroid diseases among the more heavily exposed children [Eisenbud-1997].

After the thermonuclear weapons test of 1 March, 1954 in Bikini Island, the 23 fishermen exposed to fallout from this test were externally affected, Itching and burning sensation, and some of them, adiminution in white blood counts was marked. Internal effects were followed-up for 2 person, one died, after 6 month of exposure, of a liver diseases, the result of radio chemical analysis of his tissues were so low, less than 0.1 —2 pCi/g, compared with radioactivity content of environmental samples 50Ci/m² in their boat. The second died 21 years later, radiochemical analysis of lung, liver, spleen, kidney, pancreas, and bone were negatively for two long lived nuclides of concern ⁹⁰Sr, ²³⁹PU [Kumatori 980, able 1) represents radioactivity distribution in the second diseased person. This particularly noteworthy in view of the heavy deposition on their boat. Follow-up studies of the surviving fishermen were negative for 28 years post accident [Eisenbud-1997, SCOPE 28-88].

Table (1)
Distribution of radio activity (pCi/g) in deceased man

Tissue						
Fraction	Nuclide	Liver	Kidney	Lung	Muscle	Bone
Ru + Te	¹⁰⁸ Ru + ¹⁰⁶ Rh + ¹²⁹ Te	<0.1	0.9	<0.1	0.2	2
Zr + Nb	⁹⁶ Zr + ⁹⁵ Nb	1	1	0.4	0.3	2
Rare earths	¹⁴¹ Ce + ¹⁴⁴ Pr	2	1	0.5	0.5	20
Sr	⁹⁰ Sr + ⁹⁰ Y	0.6	0.4	~0.1	<0.1	1

The nuclear weapons are extremely efficient killing, devastation, and incendiary devices. The deaths in Hiroshima and Nagasaki resulted in 20-30% of the cases from primary burns, 50-60% from mechanical injuries, secondary burns, and approximately 15% from the radiation injuries. 120,000 persons were killed out right in both cities. In Hiroshima and Nagasaki, 13 and 7 km² were destroyed respectively. The blast pressure wave caused a sever damage to structures at distance of 2-3km. Individuals who were close enough to ground zero, to receive a lethal dose of prompt nuclear radiation, were more likely to have been killed out right by the blast or thermal flash [SCOPE28-1988, Eisenbud-1997].

Among the Japanese atom bomb survivors, the incidence of leukemia reached a peak in the early 1950s, and returned to near normal by 1970. By 1987, half of the irradiated population is still alive, a total of 231 deaths from leukemia were reported among a study sample of about 93000 survivors who comprised the "life-span study". Of these cases 156 would have been expected in an unexposed population, leaving an excess of 75 due to radiation induction [Cember-1987, Eisenbud-1997, UNSCEAR.1993].

An excess of 30 cases of thyroid cancer has been reported among Japanese survivors [UNSCEAR-1993].

The 25-year experience of 1292 children who were in utero during bombings, were studied. Although the estimated dose received by part of them was about 2.5 Sv, no increase was found in the incidence of leukemia or other cancers during the first 25 years of life [UNSCEAR-1993, Eisenbud-1997].

The genetic effects of radiation have not been seen in irradiated human populations, even among the two large populations of the atom bomb survivors. Also, experiments with rats indicated that the genetic effects of radiation were less than had been believed, and the studies in Japan could find no genetic effects among the offspring of survivors of the atomic bombing. The data indicate that acute radiation effects to moderate doses has a negligible adverse, although the gonads doses are 0.4-2.5 Sv. So a shift of thinking took place and the cancer induction risk became the main concern of - health effects of ionizing radiation [UNSCEAR-1993, Eisenbud-1997].

In Nagasaki, many individuals, were in the lower floors of earthquake proof concrete buildings, were survived with radiation-only injuries, although these buildings were 500m from the ground zero [Cramer anth4Slater-1993]

3. The aim of the New proposal

The present assume that the ionization states of the new born atoms and the long term high temperature were not dealt with in an appropriate way and they were the reasons of former models failure (corsor, Oxidation release models. so he introduced a new approach to interpret F.P behavior which is the DEEP ATOMIC BINDING (DAB) based on the followings:

- 1- A new approach of ionization states of the fission newborn atoms called High Ionized Atoms (HIA).

According to this approach, the fission atom destroys completely, during fission process, due to the large energy released during the process, and differences in electrons binding energy between the initial, and final states released during the process which occurs via three stages. The newborn atoms are highly ionized, 10-12 electrons associated with each nucleus as a result of electrons inertia.

The newborn atoms have a large probability to create bonds between them to form molecules. These bonds are at the L. or M shells, and it is called Deep Atomic Binding.

- 2- The molecules stay in the reactor at high temperatures for long periods, so they undergo many stages of composition and decomposition to form giant molecules.

According to DAB highly attached molecules and giant molecules are formed in the fuel material and released to the environment, as ordinary or accidental releases.

4-(DAB) and Fission Products Behavior Models, A Comparison

According to the former models, radionuclides of F.P behavior in human body, is determined by the initial chemical form of the radionuclide entering the ecosystem. The behavior which has been found is that, a vertical movement in soil, plant uptake via foliage absorption and root uptake, and lastly transfer to, and metabolism in animals and humans. It is expected, according to these models, a very reactive chemical species moves according soil type and gradients, and high uptake ratios by plants, animals, and humans of the radionuclides. But, in contrast, deposition of F.P after Chernobyl accident was often in non-exchangeable forms. Also a considerable fraction of deposited radionuclides was presented as insoluble in water or neutral solutions [SCOPE50-1993].

These field observations from Chernobyl, are similar to others from other accidents, highlighted a fact that, there were no ordinary chemical elements, or compounds which undergo ordinary chemical reactions [SCOPE50-1993]. and stress the failure of former models and give an evidence to the priority of DAB to interpret this behavior with more reliability.

In the cases of animal, and human uptake of radionuclides, it is noticed that, a part of uptaken nuclides is absorbed within the body and remainder is released outside the body.

Despite of the efforts made by former models to use the chemical similarity between some nuclides with radionuclides, e.g. ^{90}Sr with Ca, and ^{137}Cs with K, to interpret and assess the quantities of these radionuclides absorption in animal and human bodies, the field observations are always against them. This is, in addition to the difference of absorption between different species, which they refer it to parameters not always understood [SCOPE50-1993].

But if DAB criterion-which assumes a strong attraction between atoms in the molecule, and between the molecules in the giant molecule, make these molecules in non-exchangeable forms- is applied assuming the passive simple diffusion process in the gut, it is easy to understand all non-understandable issues. Then if particles enter the gut (with irradiation through passage), and diffuse through guts wall to blood vessels, the main parameter affect this diffusion is the size of particle. If it is equal or smaller than the gut wall entrics,

it will pass to blood vessels, as the particle size is smaller, there is a possibility to reach many parts of the body with a rare ionic-exchange process. If it is of larger size, it will never go through guts wall, but release outside the body, with the only risk is irradiation through passing, like what was happened to Chernobyl 14 damaged gastrointestinal tract liquidators.

This explains the differences in measured biological half-lives of the nuclides, and the difference in radionuclide absorption between different animal species, e.g. mono- and poly - gastric animals, where the first is better absorber than the latter.

This also explains the milk contamination, that small particles may distribute in milk, when infants drink this milk it already have fine particles which will distribute in infant body and this is the case in small animals. During milk ingestion the contaminating radionuclides irradiate all parts of gastrointestinal tract and other organs, the most sensitive is the thyroid especially in babies who are below six months old. The radionuclides distribution differences in infants and very young animals may guide to different distribution behavior of nutrient nuclides in animals and humans.

RESULTS AND DISCUSSION

1. According to DAB, the reactor accident radiological impact in the environment is reduced. The particles in the atmosphere will precipitate, in soil will stay in the upper layers, and in water will be sedimented, even during a major accident like Chernobyl, concerning radiation safety directly. Lastly the radionuclides will stay on soil surface and on sea bedrock as particles, and will never be available in ionic forms which reduces its mobility and then it is danger on living species. This also reduces the expected potential risk associated with nuclear energy industry, and, for faraway, the radiophobia.

Radiation protections measures during and after accident (e.g. evacuation of affected people, providing relief... etc) may be directed in a better way, and the expenses at these measures will reduced.

2. According to DAB, we can differentiate between the chemical behavior of

F.P, irradiation products, and natural radioactive materials. The latest are the most easily to deal with, while the second is a little difficult arises when dealing with, whereas it is too difficult to deal chemically with F.P. Ignoring these differences in chemical behavior of different radionuclides is the most important reason of failure of the former models during F.P modeling in the laboratory.

3. As a result of the former comparisons and field observations, one may notice the high sensitivity of newborn babies, below six months, to radiation, and the difference between animals and humans metabolisms of nuclides.
4. Derived air concentrations, annual limits of intake, and biological Half-lives for radioactive materials should be revised.

REFERENCES

1. Ajlouni, A.W., "DEEP ATOMIC BINDING HYPOTHESIS, a New Approach of Fission Products Behaviors Interpretation", M. Sc. Thesis, Al Mustansiriya Univ., Bagdad, Iraq. (2000).
2. Mexakhin, R.M. Discussions During the mt. Conf. on: One Decade After Chernobyl, Summing Up the sequences of the Accident", Vienna, 1996, Dreicer, M., (principal author), IAEA Publications. (1996).
3. Beral, V., "Thyroid Cancer Around Chernobyl", Proc. 32nd Annual meeting of the National Council on Radiation Protection Measurements, Bethesda, Maryland, April, 3-4. (1996).
4. Bushueva, N.N. Discussions During the mt. Conf. on: One Decade After Chernobyl, Summing Up the sequences of the Accident", Vienna, 1996, Dreicer, M., (principal author), IAEA Publications. (1996).
5. Cember, H. "Introduction to Health Physics", 2nd Edition, 3rd Printing, Pergamon Press. (1987).
6. Cramer, S.N., Slater, C.O., "Investigation of Radiation Effects in Hiroshima and Nagasaki Using a General Monte Carlo-Discrete Ordinates Coupling Scheme", Nucl. Sci. Eng., 114. (1993).
7. DOE: "U.S.D.O.E", "DOE Report on Chernobyl Impacts", Nucl. Saf., 29.

- (1988).
8. Eisenbud M, Gesell, M., "Environmental Radioactivity", 4th edition, Academic Press, London. (1997).
9. I-A. "Summary of the Results of the Int. Conf On: One Decade After (1996).
10. Chernobyl, "Summing Up the sequences of the Accident", Vienna, 1996, IAEA Publications, (1996).
11. Ku-tori, T., Ishihara, T., Herashima, K., "Follow-Up Studies Over a 25-Year Period on the Japanese Fishermen Exposed to Radioactive Fallout in 1954", In: "The Media Basis for Radiation Accident Preparedness", international council of scientific union, Elsevier/North-Holland, New York, *SCOPE-28, 1988, Scientific Committee on Problems of the Environment, "Environmental Consequences of Nuclear war" Vol. : "Physical and Atmospheric Effects", 2nd Edition. John Wiley and Sons, Chichester, UK. (1980).
12. scope 50 "Rad(oecology after Chernobyl". Edited by Sir Fredrick Warner, and Roy Harrison. John Wiley and Sons. Chichester, UK. (1993).
13. IJNSCEAR "Sources and Effects of Ionizing Radiation", United Nations, (1993).
14. WHO. "Report on the Pilot Phase of the International Program on the Health Effects of the Chernobyl accident", World Health Organization, Geneva. (1995).



مجلة علوم المستنصرية

السنة ٢٠٠٢

عدد ٤

مجلد ١٣

تصدرها كلية العلوم بالجامعة المستنصرية - بغداد - العراق

مجلة علوم المستنصرية

مدير التحرير

الدكتور رضا ابراهيم البياتي

استاذ - كيمياء

رئيس التحرير

الدكتور سعد محمود المشهداني

استاذ - علوم حياة

هيئة التحرير

عضو

د. رمزي رشيد علي

عضو

د. عبد العزيز مجيد الكبسي

عضو

د. قيس جميل لطيف

عضو

د. هاشم حميد جواد

عضو

د. محمود خالد الشمري

المحتويات

رقم الصفحة

الموضوع

- ١ تأثير مستخلصات اوراق نبات القات على فعالية انزيم الكولين استريز (ChE) في مصل دم الانسان

منصور محسن محمد المدح، رضا ابراهيم حسين البياتي، نزار احمد ناجي

- ١٣ كفاءة عزلات محلية من خميرة *Candida utilis* في إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين عند تنميتها في وسط مخلفات الرز .

د. عيد الواحد باقر د. خالد عباس العبيدي نديم ميخائيل يسرى خالد

- ٢٥ قة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل في المادة ما بين النجوم مع الزيادة اللونية د. ليث محمود كريم و د. هزار عبد الغني يوسف الملاح

- ٤١ تطوح الطاقة للأيونات الثقيلة في الأهداف الصلبة باستخدام النظرية الحركية، المتذبذب التوافقي ونموذج غاز الالكترون الحر

نضير جاسم محمد، خالد عبد الوهاب احمد، عبد الله احمد رشيد

- ٤٩ دراسة تأثير المحاليل الحامضية على الخصائص الفيزيائية لمواد بوليمرية متراكبة

بلاقيس محمد ضياء و محمد سهام رشيد

- ٥٩ استخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد

خميدة عوده مزيان الحميدي و عيد الستار جابر علي السيف

رقم الصفحة

الموضوع

- ٧٧ استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية
وتشخيص الانواع التابعة لجنس *Azospirillum*
خليل مصطفى خماس ، ندى زكي مهدي ، ليلى عبد الحميد سعيد
- ٩١ التحليل المناعي الاشعاعي باستخدام الطور الصلب للهرمون الذكري في مصل
دم الذكور
فلاح ح. الدفاعي
- ٩٧ تأثير الاشعة السينية على بعض مكونات دم المصورين الشعاعيين
فلاح حسن الدفاعي، محمد شمخي جبر
- ١٠٣ استخلاص وتنقية انزيم البنسيلينيز من بكتريا *E.coli* المعزولة محلياً
سعود رشيد العاني، سوسن ساجد الجبوري، ايلاف اسامة المقدادي
- ١١٣ التأثير التثبيطي للسموم القاتلة المنتجة من خميرة *Saccharomyces cerevisiae*
عند تنميتها تحت ظروف بيئية مختلفة في نمو بعض انواع
البكتريا المرضية
عبد الواحد باقر ، زينب محمد، رعد كاظم المصلح
- ١٢٣ دراسة تحليلية للاعراض المرضية لداء النوكادريا الرئوي
ابراهيم اسماعيل الشهد، امال حسين سلمان التميمي وناحية عبد الحسين علي
- ١٣٥ دراسة بيئية وحياتية لذبابة البطل الزرقاء الاوربية
نبيل عبد القادر مولود، بشير عبد الله نصر الله، يتول عبد الأمير باقر

تأثير مستخلصات اوراق نبات القات على فعالية انزيم الكولين استريز (ChE) في مصل دم الانسان

منصور محسن محمد السدح، رضا ابراهيم حسين البياتي، نزار احمد ناجي
قسم الكيمياء - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية بغداد - العراق

ABSTRACT

In this study The effect of crude extract of catha edulis Forsk (Qat Leaves) on the activity of Acetyl cholinesterase and study the Effect of the crude showed re-activation of inhibited Acetyl cholinesterase enzyme by eserine sulphate

الخلاصة

تضمن البحث دراسة تأثير المستخلصات لاوراق نبات القات على فعالية انزيم الكولين استريز (ChE) في مصل دم الانسان . حيث اظهرت النتائج ان لمستخلص اوراق النبات بنوعيه الجاف والطازج تأثيراً منشطاً حيث تعمل على زيادة فعالية انزيم (ChE) . كذلك تم دراسة تثبيط الانزيم (ChE) بواسطة مادة سلفات الايسرين حيث اظهرت هذه المادة تثبيطاً غير تنافسيا للانزيم وتمت دراسة تأثير هذه المستخلصات على فعالية الانزيم المثبط حيث اظهرت هذه المواد اعادة تنشيط للانزيم في مصل دم الانسان .

المقدمة

القات نبات دائم الخضرة طول شجرته ١-٢ م وقد يصل احيانا الى ٦ م اغصان القات خضراء اللون اسطوانية ومفلطحة قليلا عند الاطراف ،الاوراق خضراء محمرة بسيطة التركيب ، ومتقابلة الترتيب في الجزء العلوي ومتعادلة الترتيب في اسفل الغصن ولها اذيانان صغيران وعنق قصير والنص ببيضاوي الشكل وله قمة مستقيمة وحافة مسننة وقاعدة غير متمائلة وان تعرق الورقة شبكي الشكل. [١]

تأثير مستخلصات اوراق نبات القات على فعالية انزيم الكولين استريز (ChE) في مصل دم الانسان
منصور محسن محمد السداح وجماعته

والقات يدعى باللاتيني (كاثا أودليس فورسك) Catha edulis forsk المنسوب الى عالم
النبات السويدي فورسكال احد اعضاء بعثة نيبور الدانمركية الى اليمن بين عامي ١٧٦١ ،
١٧٦٧ وتزرع شجرة القات في كافة مناطق اليمن الزراعية فيما عدى سهل سهل تهامة في
الغرب والجهات الرملية المنخفضة في الشرق وتكثر بصفة خاصة في المدرجات وعلى جوانب
الاودية والسهول الجبلية [٢] [٣] .

ويمكن تعريفه باختصار كالتالي [٤][٥] .

الاسم الانكليزي : Arabian tea .

الاسم اللاتيني : Catha edulis Forsk .

الفصيلة : Celastraceae

موطن النبات : اليمن والحبشة والسعودية .

الجزء الطبي : الاوراق الخضراء الداكنة

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على نبات القات من اليمن من محافظتي صنعاء واب وتم تجفيف الاوراق ظلياً ثم
طحن الى مسحوق

تحضير المستخلص المائي

تم استخدام (250 g) من مسحوق اوراق نبات القات واطيف اليها (1L) من الماء المقطر
بدرجة حرارة الغرفة . حرك المزيج باستخدام محرك كهربائي لمدة (١٢ ساعة) ثم رشح واعيد
غسله مرتين بالماء المقطر واجريت عليه نفس الخطوات اعلاه . جمعت الرواشح الناتجة من
عمليات الغسل معا وتم تركيزها باستخدام التجفيد (Rotary Lyophilizer) واستخدام الماء
المقطر كمذيب للمستخلص الجاف والطازج [6]

• تقدير فعالية انزيم الكولين استريز

تم الحصول على نماذج دم الانسان (serum) من المتطوعين وكذلك بمساعدة المركز الوطني
لنقل الدم في بغداد بعد تهيئة المعلومات حول العمر والجنس والحالة الصحية مع استبعاد النماذج
الحاوية على كمية قليلة من الهيموكلوبين وتم تقدير فعالية انزيم الكولين استريز كما يلي :

المحاليل المستخدمة

المحلول المنظم (Buffer Solutions)

تم تحضير المحلول المنظم phosphate buffer (pH= 7.3, 0.2M) وذلك بإذابة (2.89 gm) من (NaH₂PO₄, Na₂HPO₄) في (100 ml) من الماء المقطر ثم عدلت pH بإضافة بضع قطرات من حامض الفسفوريك H₃PO₄ وتم استخدامه مباشرة .

٢- الكاشف DTNB (Ellman's reagent) :

تم تحضير الكاشف (DTNB) 0.001M (5,5-Dithio -2- nitrobenzoic acid) وذلك بإضافة (0.01 gm) من ال (DTNB) (MW = 396.36) في ٢٥ml من الماء المقطر مع التحريك المستمر باستخدام التسخين وقد تم اضافة كمية قليلة من بيكربونات الصوديوم (NaHCO₃) وذلك لضمان الذوبان التام ثم حفظ في قنينة معتمة بسبب حساسيته للضوء وحفظ في الثلاجة وقد تم تحضير هذا المحلول مرتين في الاسبوع [٧] .

٣- محلول المادة الاساس (S- Acetylthio choline Iodide) :

تم تحضير محلول المادة الأساس وذلك بإذابة 0.01735gm من (Aschl MW=189.18) في 1ml من الماء المقطر حيث يتم تحضير هذا المحلول يومياً ويستخدم مباشرة. [7]

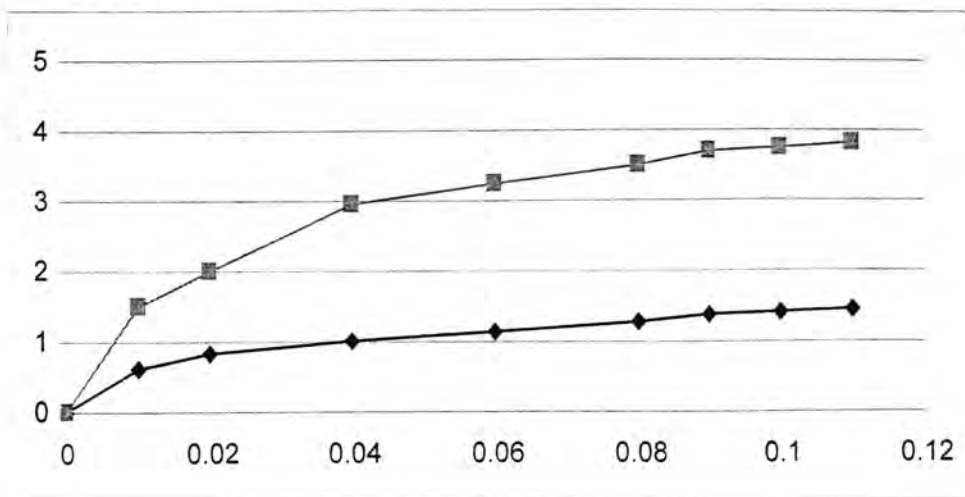
طريقة العمل Procedure

تم تعيين فعالية انزيم الكولين استريز (ChE) في مصل دم الانسان (Serum) باستخدام طريقة WHO المحورة كالاتي :-

١- وضع حجم (2.25 ml) من المحلول المنظم (PH = 7.2 - 7.4) في انبوبة اختبار و اضيف له (50μL) من محلول الكاشف (DTNB) و 10μL من مصل الدم . ثم مزجت المكونات بأستخدام (Mixer).

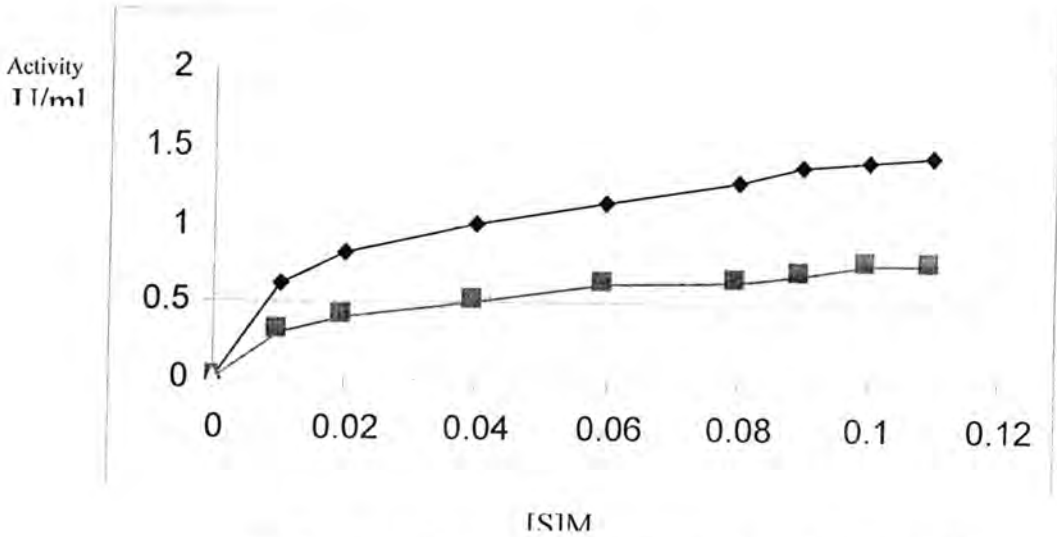
٢- تم سحب (2ml) من المزيج في (١) ووضعها في خلية القياس (3mm) ثم اضيفت (34 μL) من المادة الاساس (Aschl) بعد ذلك تم قراءة مقدار التغير في شدة الامتصاص للانزيم قبل وبعد اضافة المادة الاساس على طول موجي (430 nm) لكل ثلاث دقائق من تفاعل الانزيم والمادة الاساس وتم التعبير عن فعالية الانزيم على اساس تحلل (1 μ mol) من المادة الاساس لكل ml خلال ثلاث دقائق (μ mol/ml/3min) [٨] .

تأثير مستخلصات اوراق نبات القات على فعالية انزيم الكولين استريز (ChE) في مصل دم الانسان
منصور محسن محمد السدح وجماعته

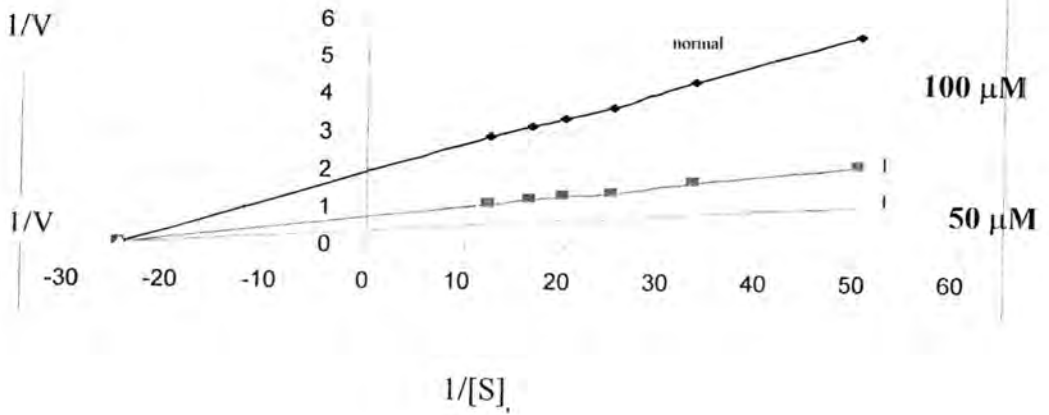


جدول (١) يوضح تثبيط انزيم (ChE) بواسطة Eserine sulphate

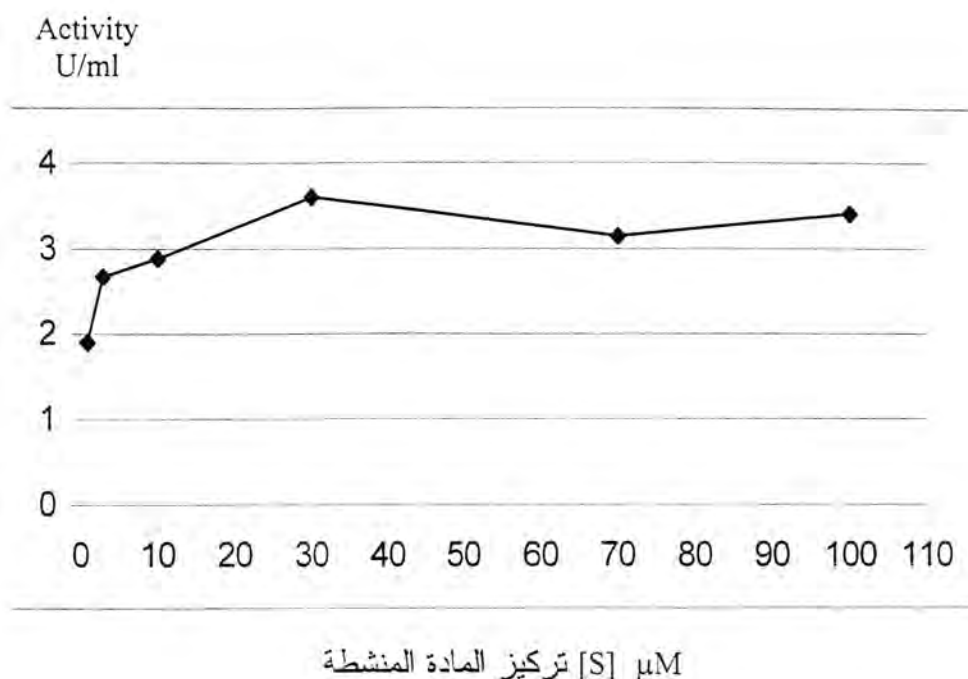
Inhibitor conc [M]	Enzyme activity μ mol/ml/3 min	Inhibition %	Recovery %
Nil	4.78	0	100
$4.7 \cdot 10^{-3}$	0.46	90	9.62
$4.7 \cdot 10^{-4}$	0.58	88	12.13
$4.7 \cdot 10^{-5}$	0.714	85	14.15
$4.7 \cdot 10^{-6}$	0.76	84.2	15.8
$4.7 \cdot 10^{-7}$	0.83	82.64	17.36
$4.7 \cdot 10^{-8}$	0.9	81.18	18.82



شكل رقم (٣) يوضح تأثير مادة eserine sulphate على فعالية انزيم الكولين استريز عند التركيزين (100 μ M و 50 μ M)



شكل رقم (٤) يوضح رسم ليونوفر بيرك لمادة eserine sulphate



شكل رقم (٦) يوضح تأثير المزيج المستخلص لاوراق النبات الجاف على
فعالية انزيم الكولين استريز المثبط بواسطة eserine sulphate

المصادر

- ١- خالد العبيدي " القات كيميائيا وطبيا" جامعة صنعاء - اليمن - (١٩٦٩)
- ٢- عباس فاضل السعدي " تأثيرات القات الجسيمة والنفسية في المجتمع اليمني " مجلة التراث الشعبي ، بغداد ٩٠١٠ (١٩٨٩) .
- ٣- محمد يحيى العشم ، احمد عوض مجاهد " بودة القات " صنعاء - اليمن (١٩٨٨) .
- ٤- محي الدين رمضان ، فتحي محمد طاش ، ابو بكر القربي " تقييم الكاين والكاثينون في القات " مؤتمر اليونسكو العربي لاجتاث الكيمياء ، تونس ديسمبر (١٩٨١) . جامعة الدول العربية ، المنظمة العربية للتنمية الزراعية " النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي " دار مصر للطباعة ، الخرطوم ، السودان (١٩٨٨) .

٥- محمد علي الفاطمي " كيمياء القات " مركز عبادي للدراسات والنشر، صنعاء ، اليمن (١٩٩٩).

- 6- M.Ayoub , Isolation of Dehydrovascine from P. harmala seeds .Iraq. Journal of chemistry vol (15) No .3,P.266-268 .
- 7- I.A.AL.Rawi , R.M. Hebeeb and H.R.Rabbfat,J.Bulletin of Health Researsh , 28 , 73 (1987).
- 8- M.Vandekar , WHO/VBS/78,692(1978).
- 9- O.H.Lawry , N.J. Rosebrough, A.L.Faber and R.J. Randall; J. Biolog chem ; 139,265(1951)
- 10- E.Smith,R.Hill,I.Lehman , R.Lefkowitz;principles of Biochemistry – Mammalian Biochemistry 7th ed;. Mc Graw –Hill, Inc.,London .(1983)

تحضير الاوساط التخمرية

حضر مستخلص السبوس بنسبة ٤ % مواد صلبة ذائبة كلية ، ثم حضرت أربعة أوساط

تخميرية وكالاتي:

الوسط التخمرى الأول أحتوى على مستخلص السبوس لوحده (١٠٠ %) .

الوسط التخمرى الثاني وتكون من ٥٠ % مستخلص السبوس و ٥٠ % مولاى البنجر السكري

الحاوي على ٤ % مواد صلبة .

الوسط التخمرى الثالث وتكون من ٥٠ % مستخلص السبوس و ٥٠ % عصير التمر

الحاوي على ٤ % مواد صلبة

الوسط التخمرى الرابع وتكون من مولاى بنسبة ٤ % مواد صلبة لوحده (١٠٠ %) .

أضيفت اليوريا بنسبة ٣,٢ غم لكل ١٠٠ غم مواد سكرية ولجميع المعاملات.

تنشيط وتنمية العزلات

تم تنشيط العزلات بأخذ جزء من نموها على الوسط الزرعى الصلب المائل (Slant

) ونقله إلى أنبوبة اختبار حاوية على ١٠ مل من وسط (MEB)

، حضنت بحرارة ٢٦-٢٨ م لمدة ٤٨ ساعة ، ثم نقل محتوى الانبوبة الى دورق زجاجي حاوي

على ٢٥ مل من نفس الوسط واعيد حضنها تحت نفس الظروف لمدة ٢٤ ساعة

أخرى ، نقل بعدها عالى ق الخميرة بعد انتهائ فترة الحضانة الى دورق

زجاجي حاوي على ١٠٠ مل من الوسط الزرعى المتكون من ٧٥

% مستخلص من كل معاملة من المعاملات الأربعة المحضرة (على افراد)

مع ٢٥ % من وسط (MEB) بحيث تكون نسبة المواد الصلبة في

الملول النهائي ٤ % ، حضنت بعدها بحرارة ٣٠ م لمدة ٢٤ ساعة ، نقل بعدها النمو

إلى دوارق زجاجية حجم ٥٠٠ مل تحتوي على ٢٠٠ مل من الوسط الزرعى

وحضنت بحرارة ٣٠ م لمدة ٤٨ ساعة مع التهوية المتكررة بجهاز الهزاز الكهربائي

(Electrical shaker)

فصل الخميرة الناتجة وتقدير الكتلة الحيوية

تم فصل الخميرة الناتجة من عملية التنمية النهائية بترسيبها
بواسطة جهاز الطرد المركزي نوع (WIFUG, 500E LAB centrifuges)
بسرعة ٢٥٠٠ دورة في الدقيقة ولمدة ٥ دقائق ، إذ أمكن الحصول على
الخميرة المترسبة بشكل عجينة بعد إزالة الجزء السائل منها ، وزنت (بالغمات) على أساس كتونها خميرة مضغوطة .

تقدير المحتوى الرطوبي

تم تقدير المحتوى الرطوبي للخميرة الناتجة اعتمادا على الطريقة الواردة في (5) AACC .

تقدير البروتين في الخميرة

تم تقدير نسبة البروتين في خلايا الخميرة الناتجة حسب طريقة مايكروكلدال الواردة في
(5) AACC .

تقدير السكريات

اتبعت طريقة لين - ايتون الواردة في دلالي والحكيم (٦) وذلك بغلي ٥٠ غم من
مستخلص السبوس مع ٤٠٠ غم ماء في وعاء زجاجي سعة لتر لمدة ساعة مع التحريك
المستمر وتعويض الماء الممتزج ، بعد تبريد المزيج نقل إلى دورق حجمي سعة ٥٠٠ مل
واكمل الحجم بالماء المقطر ، ثم رشح خلال ورق ترشيح واتمان رقم (١) ، بعدها اخذ
١٠٠ مل من الراشح ووضع في دورق حجمي سعة ٥٠٠ مل واضيف إليه ٢ مل من خلات
الرصاص القاعدية مع ٢٠٠ مل ماء مقطر ، ثم ترك الراشح لمدة ١٠ دقائق ، اضيف له بعدها
٢ مل من اوكزالات البوتاسيوم واكمل الحجم الى العلامة بالماء المقطر ، رج المحلول جيدا ثم
رشح ، اضيف مادة اوكزالات البوتاسيوم لترسيب ايونات الرصاص غير المترسبة ، وبعد أن رج
الراشح ثانية اخذ ٥٠ مل منه ووضع في وعاء زجاجي سعة ٥٠٠ مل ، ثم اضيف
إليه ١٠ غم حامض الستريك ، رج جيدا وسخن حتى الغليان لمدة ١٠ دقائق لتحليل السكروز (إن وجد)
إلى سكريات محولة ، وبعد أن برد تمست معادلة الحامض بنقل الراشح إلى
دورق حجمي سعة ٢٥٠ مل وإضافة قطرات من دليل الفينونفثالين وتسحيه مع هيدروكسيد
الصوديوم (٢٠ %) حتى ظهور اللون الوردي ، بعدها أضيفت بضع قطرات من حامض

الهيدروكلوريك (٢٠ %) لحين اختفاء اللون الوردي ، ثم خففت محتويات الدورق بالماء المقطر حتى العلامة . اخذ ٢٥ مل من محلول فهلنك ووضع في دورق سعة ٢٥٠ مل وسحح بالمحلول السكري المحول والمتعادل لاختزال محلول فهلنك ، ثم مزجت محتويات الدورق جيدا وسخنه حتى الغليان لمدة دقيقتان ، أضيفت ثلاث قطرات من محلول الميثيل الأزرق واكمل التسحيح حتى ظهور اللون البرتقالي المحمر ، سجل حجم المحلول المسح ثم قورن مع الجدول الخاص بذلك للحصول على المكافئ الجدولي (بالملغرامات من السكر المحول) ، وباتباع المعادلة الآتية أمكن الحصول على نسبة السكريات المحولة .

$$\text{السكريات الكلية \%} = \frac{\text{التخفيف} \times \text{المكافئ الجدولي للسكر المحول}}{\text{وزن النموذج} \times \text{الحجم المسح}} \times 100$$

(سكر محول)

النتائج والمناقشة

نسبة وطبيعة السكريات في الأوساط التخمرية

يبين الجدول (١) نسبة المواد السكرية في الأوساط الزراعية المستخدمة في تنمية خمائر التوريولا المعزولة من المصادر المحلية ، حيث احتوى وسط خلاصة السيوس على أقل نسبة سكر (١,٢ %) مكونة من سكريات احادية فقط مما يجعله اسهل استهلاكاً من قبل الخمائر قياساً ببقية الأوساط المحتوية على السكريات الثنائية التي يجب تحويلها الى سكريات احادية لتتمكن الخمائر من استهلاكها .

كفاءة عزلات محلية من خميرة *Candida utilis* في إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين عند تنميتها في وسط مخلفات الترز
عبد الواحد باقر وجماعته

جدول (١) . طبيعة ونسب المواد السكرية والمواد الصلبة الذائبة الكلية (TSS) الداخلة كمواد
أساس في الأوساط الزراعية المستخدمة لتنمية عزلات الخمائر المحلية .

نوع الوسط	المواد الصلبة الذائبة الكلية (%)	المواد السكرية (%)	نوع السكريات
مستخلص السبوس (١٠٠ %)	٤ %	١,٢	أحادية
مستخلص السبوس ٥٠ % مولاس ٥٠ %	٤ %	١,٣٢	أحادية و ثنائية
مستخلص السبوس ٥٠ % عصير التمر ٥٠ %	٤ %	٢,١٠	أحادية و ثنائية
المولاس (١٠٠ %)	٤ %	٢,٣٢	أحادية و ثنائية

تشخيص الخمائر

تم تشخيص عزلات الخمائر بكونها تعود للنوع *Candida utilis* وذلك اعتمادا على
مستعمراتها التي ظهرت بعد تنمية الخمائر على الوسط الزراعي (MEA) بحرارة ٢٦ م ولمدة
٣ أيام بلون كريمي لزجة غير براقية . فيما تميزت خلاياها تحت المجهر بعد تصفيفها بصبغة
كرام بيضوية منفردة أو ثنائية أو ثلاثية ومكونة للماسيلي الكاذب (

Pseudomycelium) ، لكنها كانت غير مكونة للاكياس البوغية (Ascospores) .

اما بالنسبة للفحوصات الكيموحيوية فبيّن الجدول (٢) أن خمائر التوريولا المعزولة من
الرز والشعير والتفاح ومعدة الخروف مصادر أخرى تمكنت من تخمير سكر
الكلوكوز والسكروز والرافينوز لكنها لم تخمر سكري المالتوز والكالكتوز ،
فيما اعطت الخمائر المعزولة من الرز ومعدة الخروف تخمير ضعيف للانيولين ،
بينما لم تتمكن بقية الخمائر من ذلك . ويلاحظ من الجدول أيضا أن جميع العزلات تمكنت
من تمثيل سكريات السكروز والرافينوز والمالتوز ما عدا العزلة (DC 105) التي لم تتمكن من

تمثيل سكري الكلوكوز والمالتوز لكنها كانت قادرة على تمثيل الكالاكتوز والسكرور والرافينوز والانيلين ، في حين لم تتمكن بقية العزلات من تمثيل الكالاكتوز . ونتيجة لذلك فإن عزلات الخمائر SH 111 ، AP 100 ، AY 104 ، BA 101 ، RI 107 تعود إلى النوع *Candida utilis* ، أما العزلتين 106 KN و DC 105 فتعودان إلى أنواع أخرى .

جدول رقم (٢) نتائج الفحوصات الكيموحيوية لتخمير وتمثيل المصادر الكربونية من قبل عزلات الخميرة المعزولة من مصادر محلية .

مصدر العزلة	رمزها	تخمير المصادر الكاربونية						تمثيل المصادر الكاربونية			
		كلوكوز	مالتوز	كالاكتوز	انيلين	رافينوز	سكرور	كلوكوز	مالتوز	كالاكتوز	انيلين
الرز	RI 107	+	-	-	W	+	+	+	+	-	+
رز مخمر	KN106	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+
الشعير	BA101	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+
التفاح	AP100	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+
معدة الخروف	SH111	+	-	-	W	+	+	+	+	-	+
عجينة الخبز	DC105	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
مصادر أخرى	AY103	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+

إنتاجية عزلات خميرة (*Candida utilis*) في وسط مستخلص السيوس

يبين الجدول (٣) إنتاجية عزلات خميرة التوريولا بعد تنميتها في وسط مستخلص السيوس الحاوي على ٤ % مواد صلبة ذائبة والمدعم باليوريا بنسبة ٣,٢ % غم لكل ١٠٠ غم مواد سكرية . حيث أعطت العزلة RI 107 أعلى إنتاجية بلغت ٤٠,٧ غم خميرة / ١٠٠ غم مواد

كفاءة عزلات محلية من خميرة *Candida utilis* في إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين عند تنميتها في وسط مخلفات الرز
عبد الواحد باقر وجماعته

سكرية ، تلتها العزلة BA 101 التي بلغ إنتاجها ٢٣,٦١ غم / ١٠٠ غم مواد سكرية ، أما
العزلات AY104 و AP100 و SH 111 فكانت ذات إنتاج منخفضة مقارنة بالعزلتين
السابقتين وذلك عندما بلغت إنتاجيتها ٨,٢٦٢ و ٣,٨١٤ و ٣,١٦٦ غم خميرة لكل ١٠٠ غم
مواد سكرية على التوالي . ونظرا لانخفاض كمية الكتلة الحيوية المنتجة من العزلات الثلاث
الآخيرة فقد أهملت ولم يتم استخدامها في التجربة اللاحقة .

جدول (٣) إنتاجية العزلات المحلية من خميرة التوريولا عند تنميتها في وسط مستخلص
السبوس الحاوي على ٤ % مواد صلبة ذائبة كلية واليوريا بنسبة ٣,٢ غم / ١٠٠ غم مواد
سكرية.

رمز العزلة	كمية الخميرة (غم/١٠٠ مل وسط تخميري)	كمية الخميرة (غم/١٠٠ غم مواد سكرية)	نسبة المحتوى لرغوبي (%)	المواد الصلبة الكلية المتبقية (%)
RI 107	٠,٣٩	٤٠,٧	٧٨	٢,٨
BA 101	٠,٢٢	٢٣,١٦	٧٨	2.5
AY 104	٠,٠٨	٨,٢٦٢	٧٨	٢,٥
AP 100	٠,٠٤	٣,٨١٤	٨٠	3.0
SH 111	٠,٠٣	٣,١٦٦	٨٠	٣,٠

إنتاجية العزلتين المحليتين من خميرة التوريولا عند تنميتها في أوساط مختلفة .
بعد تنمية عزلتي الخميرة RI 107 و BA 101 في الوسط الزرعي المكون من ٥٠ %
مستخلص سبوس و ٥٠ % مولاس أعطت أعلى إنتاجية من حيث كتلة الخميرة حيث بلغت
٦٣,٤ و ٨٢,٠٧ غم / ١٠٠ غم مواد سكرية على التوالي. أما من حيث نسبة
البروتين فقد بلغت ١٣,٥٦ و ٣٥ % للعزلتين على التوالي ، يُشبه في ذلك عند نمو العزلتين
في وسط المولاس ١٠٠ % حيث كانت كمية الخميرة الناتجة ٥٤,٢٩٢ و ٥٨,٨٨ غم / ١٠٠ غم
مواد سكرية ونسبة البروتين ١٥ و ٣٥ % للعزلتين RI 107 و BA 101 على التوالي
، وهذا يتفق مع ما جاء به العكدي (١) ، وكما هو موضح في الجدول (٤) . وانتجت

العزلة RI 107 كمية كبيرة من الخميرة بلغ وزنها ٦٧ غم / ١٠٠ غم مواد سكرية عند نموها في وسط مستخلص السيوس ، إلا إن نسبة البروتين فيها كانت واطنة جدا (٩,٦ %) ، والتي تعد منخفضة مقارنة ببقية المعاملات ويصعب استخدامها في الإنتاج التجاري .

جدول (٤) إنتاجية عزلي خميرة التوريولا BA 101 و RI 107 عند تنميتها في أوساط مختلفة حاوية على ٤% مواد صلبة ذائبة كلية واليوريا ٣,٢ غم / ١٠٠ غم مواد سكرية .

الوسط التخيري	رمز العزلة	كمية الخميرة الناتجة (غم / ١٠٠ غم سكر)	نسبة البروتين (%)	محتوى الرطوبة (%)
مستخلص سيوس لوحة (١٠٠ %)	RI 107 BA101	67 23.3	٩,٦ ١٦,١٨	٧٨ ٧٨
مستخلص سيوس ٥٠ + % مولاس ٥٠ %	RI 107 BA101	٦٣,٤ ٨٢,٠٧	١٣,٥٦ ٣٥	٧٨ ٧٨
مستخلص سيوس ٥٠ % عصير تمر ٥٠ %	RI 107 BA101	٤٣,٢ ٥٥,٥	١٤ ١٨,٣٧	٧٨ ٧٨
مولاس لوحده (١٠٠ %)	RI 107 BA101	٥٤,٢٩٢ ٥٨,٨٨	١٥ ٣٥	٧٨ ٧٨

ويلاحظ من الجدول أيضا ارتفاع في كمية الخميرة المنتجة عند تنمية العزلتين RI 107 و BA 101 في الوسط المتكون من ٥٠% مستخلص السيوس و ٥٠% وعصير التمر (الذي استعمل بدلا من المولاس للمقارنة) ، وذلك عندما بلغت كمية الخميرة الناتجة ٤٣,٢ و ٥٥,٥ غم خميرة / ١٠٠ غم مواد سكرية على التوالي، لكن نسبة البروتين فيها كانت واطنة (١٤ و ١٨,٣٧ %) ، لذا يمكن الاستنتاج بأن المعاملة المتكونة من خلط ٥٠ % مستخلص السيوس و ٥٠ % مولاس البنجر السكري هي أفضل المعاملات في إنتاج الكتلة الحيوية ونسبة البروتين التي يمكن استخدامها وإنتاجها تجاريا للتغذية كون مصدرها عزلات خمائر محلية نامية على وسط اساس عبارة عن مخلفات صناعة الحبوب التي ترمى عادة مسببة التلوث للبيئة .

REFERENCES

1. العكدي ، حسن خالد . التقنية الحيوية المايكروبية للتمور . (١٩٨٧) . المشروع الاقليمي .
لبحوث النخيل والتمور في الشرق الادنى وشمال افريقيا
2. Baqir,A.W.and Norris ,R.A.K. (1982) . Effect of nitrogen and phosphorus on production of single cell protein by *Candida utilis* propagated on corn cobs extract . Iraqi J. sci , 23 (4) : 593 - 598 .
3. Araulo , E.V. , Paclaa, D.B. and Graham , M.(1976) . Rice Postharvest Technology.
International Development Research Centre, Ottawa .
4. Lodder , J.(1970) The Yeasts: A Taxonomic study .2nd.ed . North - Holland Publishing Company - Amsterdam .
5. American Association of Cereal Chemists (AACC) .1995 -Approved Methods .Vol. I . 9ed
6. دذالي ، باسل كامل والحكيم ، صادق حسن (١٩٨٧) تحليل الأغذية / وزارة التعليم العالي
والبحوث العلمي

/ جامعة الموصل .

علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل في المادة ما بين النجوم مع الزيادة اللونية

د. ليث محمود كريم* و د. هزار عبد الغني يوسف الملاح**

*قسم الفلك - كلية العلوم - جامعة بغداد

بغداد - العراق

ABSTRACT

The relation between the neutral potassium column density $[N(KI)]$ and the colour excess $\{[E(B-V)]^2\}$ in interstellar matter is found in a dependence on more than one of this variable. Six relation is found describe carves of this relation, the most probable effective variables are the size of molecules which causes the scattering and also to the amount of radiation energy reaches us through the line of sight. Also, these relations are found correct for total hydrogen column density (N). The anomaly appeared in (Sco - Oph) regions are due to following the liner relation in calculations by authors whereas they are proved wrong. Also the anomaly in (p Oph) star is proved happened because of little increase in the molecule dust size, the radiated energy reached us from the star or both. The multiplicity is found as the resultant so when the multiplicity is analyzed we found the value of $\{[E(B-V)]^2\}$ decreased to a lower value, which is execute to related the relation to be liner with $[N(KI)]$.

الخلاصة

تم التوصل إلى ان العلاقة بين كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل $[N(KI)]$ و بين الزيادة اللونية $\{[E(B-V)]^2\}$ في المادة ما بين النجوم تعتمد على أكثر من متغير واحد، كذلك تم إيجاد ست علاقات تصف منحنيات هذه العلاقة و قد تبين ان المؤثرين الأكثر احتمالاً في هذه المنحنيات هما حجم جزيئة الغبار المسبب للاستطارة و كمية الطاقة الإشعاعية الواصلة إلينا، كما تم التوصل إلى ان هذه العلاقات هي صحيحة أيضاً بالنسبة لكثافة عمود الهيدروجين الكلي (N). و من النتائج التي تم التوصل إليها هي ان الشذوذ الذي يظهر في منطقتي (Sco - Oph) هو بسبب اتباع العلاقات الخطية في الحساب من قبل الباحثين حيث تم إثبات خطأ هذه

العلاقات، كذلك فإن الشذوذ في النجم (p Oph) حاصل بسبب زيادة صغيرة في حجم جزيئة الغبار أو الطاقة الإشعاعية الواصلة إلينا من النجم أو كليهما. كما توصلنا إلى أن التعددية هي المحصلة فعند تحليل التعددية نجد قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ تنخفض إلى قيمة أدنى مما يؤدي إلى إرجاع العلاقة إلى أن تكون خطية مع $[N(KI)]$.

المقدمة

أستدل أولاً على الرنين المضاعف ($\lambda\lambda 7664, 7698$) لبوتاسيوم ما بين النجوم (KI) المتعادل من قبل دونهام⁽¹⁾ حيث تعذر في السابق الاستدلال عليها من خلال معضيات أطوال الأشعة تحت الحمراء بسبب حساسيتها الفقيرة للطبقات الفوتوغرافية الحساسة المستخدمة. لوتس⁽²⁾ قد حصل على أرصاد أقل تحليلاً لنجوم ذات مدى أكبر $[E(B-V) > 0.6]$ صعوداً إلى (1.09) لكنه اعتمد منحنيًا مفرداً للنمو ليشقق العلاقة بين $[E(B-V)]$ و $[N(KI)]$ لكل نجم، وقد حاول البرهنة على وجود علاقة أسية (exponential) ناتجة عن اختلاف انطفاء الإشعاع نسبة إلى عمقه في سحب ما بين النجوم. ان راصدين آخرين مثل هيريك⁽³⁾ و كوهين⁽⁴⁾ و كروتشر⁽⁵⁾ قد سجلوا إضافات قليلة بقياسات ($\lambda 7698$).

تم الاستدلال على مضاعف البوتاسيوم المتعادل (KI) الأكثر ضعفاً ($\lambda\lambda 4044, 4047$) في منطقة (p Oph) فقط من قبل شولمان و بورتولوت و ثاديوس⁽⁶⁾ و منطقة (p Oph) من قبل كروتشر.

هوبس^(7,8,9,10) قد حصر أرصاده على النجوم غير المحمرة نسبياً العالية التحليل $[E(B-V) < 0.60]$ وقد وجد أن $[N(KI)] \propto [E(B-V)]^2$ و فسر النتيجة بدلالة توازن تغير التأين في السحب ذات الكثافة المتزايدة.

ان شافي و وايت⁽¹¹⁾ قد استفادا من الإزاحة الحمراء المرافقة لحركة الأرض المدارية لحل خط ($\lambda 7664$) من امتصاص غطاء الأوكسجين الأرضي لأغلب نجوم المسح والتي نسبياً $[E(B-V) > 3.5]$ حيث حصلوا على قياسات خطي (KI) ثم استخدموا طريقة النسبة المضاعفة لحساب كثافات العمود، وقد وجدوا علاقات نسبة البوتاسيوم إلى نسب ذرية أخرى ونسبة إلى نسبة تواجد الهيدروجين الجزيئي ونسبة إلى الاحمرار الذي تسببه المادة ما بين النجوم $[E(B-V)]$ وهو ما يعرف بالزيادة اللونية حيث وجدوا أن

$$[N(KI) \propto N^2] \quad \text{و} \quad [N(KI) \propto n^2] \quad \text{و} \quad [N(KI) \propto n_e^2]$$

و $[N(KI) \propto \{E(B-V)\}^2]$ بالاعتماد على العلاقة

$$\left\langle \frac{N(HI + H_2)}{E(B-V)} \right\rangle = 5.8 \times 10^{21} \text{ atom cm}^{-2} \text{ mag}^{-1}$$

التي وجدها بولين و آخرون^(١٣).

النظرية:-

ان علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل مع كثافة الهيدروجين الكلي هي^(١٤):-

$$N(KI) = N A_K \delta_K r A_C \delta_C \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_K \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_K \quad \text{----- (1)}$$

حيث:-

$N(KI)$ كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل.

N كثافة الهيدروجين الكلي ($HI + H_2$).

A_K نسبة التواجد الشمسي لعنصر البوتاسيوم.

δ_K عامل استنزاف البوتاسيوم.

r نسبة الكثافة الإليكترونية إلى تلك التي للكربون.

A_C نسبة التواجد الشمسي لعنصر الكربون.

δ_C عامل استنزاف الكربون.

α_K معدل إعادة الترابط الضوئي لعنصر البوتاسيوم.

Γ_K معدل التأين الضوئي الموضعي لعنصر البوتاسيوم.

$(\Gamma_o/\Gamma)_K$ التوهين فوق البنفسجي لعنصر البوتاسيوم.

و ان علاقة كثافة عمود الهيدروجين مع الزيادة اللونية هي^(١٣):-

$$\left\langle \frac{N(H_1 + H_2)}{E(B-V)} \right\rangle = 5.8 \times 10^{21} \text{ atoms cm}^{-2} \text{ mag}^{-1} \quad \text{----- (2)}$$

وبتعويض معادلة (٢) بمعادلة (١) ينتج :-

$$N(KI) = 5.8 \times 10^{21} E(B-V) A_k \delta_k r A_v \delta_v \left(\frac{\alpha}{\Gamma_v} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k \text{-----} (3)$$

ان هذه تخالف ما جاء به هوبس^(٩,٨) ومشاهداته المتتالية^(١١,١٠) و التي تكشف عن علاقة تربيعية تقريباً بين $[N(KI)]$ والزيادة اللونية $[E(B-V)]$ وقد فسرت النتيجة بدلالة توازن تغير التأين في السحب ذات الكثافة المتزايدة كما تخالف ما جاء به شافي و وايت^(١٢) اللذان وجدا علاقة تربيعية أيضاً بين $[N(KI)]$ و $[E(B-V)]$ وقد فسرا الابتعاد عن هذه النتيجة هو بسبب التعددية في السحب وتحليل التعددية تقترب النتيجة من العلاقة التربيعية. نحن لا نخالف ما جاء به كل من هوبس^(٩,٨,١٠,١١) و شافي و وايت^(١٢) لكننا سنظير في هذا البحث ان الخطأ في معادلة (٣) لم يأت من الاشتقاق الأولي للمعادلات ولكنه آت من علاقة (٢) التي أوجدها بولين و آخرون^(١٣) حيث نرى بأن العلاقة بين (N) و $[E(B-V)]$ ليست خطية كما في المعادلة (٧) ولكنها تربيعية عند قيم $[E(B-V)]$ الصغيرة وتأخذ قيمة ثابتة (N) عند قيم الزيادة اللونية الكبيرة.

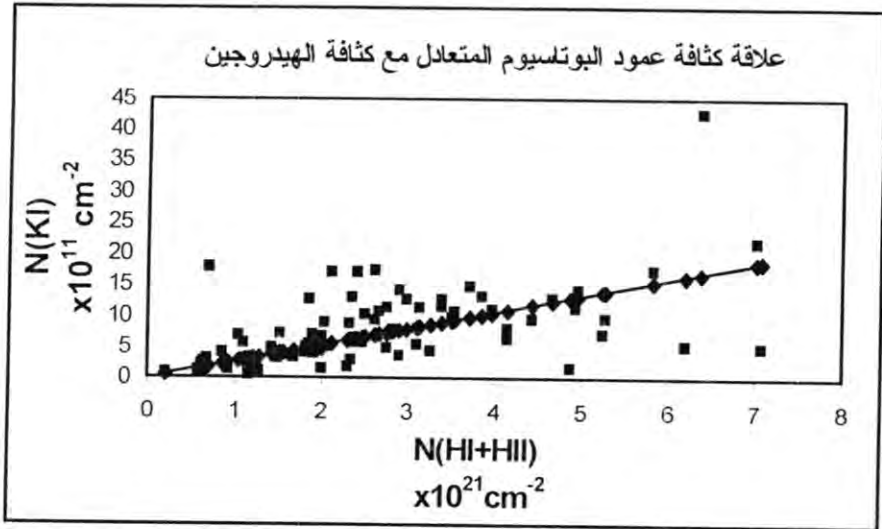
الحسابات و النتائج

- ١- تم حساب قيمة $[N(HI+H2)]$ من المعادلة (٢) لنجوم البرنامج حيث أخذ معدل قيم الزيادة اللونية للنجوم من كريم و الملاح^(١٤).
- ٢- تم حساب قيم $[N(KI)]$ من المعادلة (١) باستخدام قيم (N) المحسوبة من الفقرة (١) و استخدام قيم الثوابت للمعادلة و كالآتي:-
 أ. قيمتي (A_K) و (A_C) هما^(١١) (1.5848×10^{-7}) و (2.5118×10^{-4}) على التوالي.
 ب. قيمتي $[\delta_K(\Gamma_o/\Gamma)_K]$ و $(r\delta_C)$ هما^(١٥) (520.483×10^{-3}) و (103.858) على التوالي.
 ج. قيمتي (α) و (Γ_o) للبوتاسيوم هما^(١٢) $(6.6 \times 10^{-12} \text{ s}^{-1})$ و $(77^\circ K)$ و $(54 \times 10^{-12} \text{ s}^{-1})$ على التوالي.
- ٣- تم رسم علاقة بين قيم $[N(KI)]$ المحسوبة من الفقرة (٢) و قيم (N) المحسوبة من الفقرة (١) و كما في الشكل (١) و الذي يمثل العلاقة النظرية بين قيم $[N(KI)]$ و قيم (N) ، وقد رمز للنقاط بالمعينات المغلقة.

٤- تم رسم العلاقة بين قيم (N) المحسوبة بالفقرة (١) و قيم [N(KI)] المأخوذة من شافي و وايت^(١٢) لنجوم البرنامج -بعد حساب المعدل لقيم [N(KI)] للنجوم التي لها أكثر من مركبة واحدة- في الشكل نفسه رقم (١) لمقارنة النتيجة العملية مع النظرية و قد رمز للنقاط بالمرمبات المغلقة.

٥- نلاحظ من المنحني على الرغم من تناظر النقاط حول الخط النظري فان هناك نجومًا تبعد عن هذا الخط مثل النجم (HD194839) وهو من نجوم منطقة (Cyg) والنجم (HD147889) وهو من نجوم منطقة (Oph) والنجم (HD217490) وهو من نجوم منطقة (Cep) والنجم (HD 224055) و هو من نجوم منطقة (Cas) والنجم (HD21291) و هو من نجوم منطقة (Cam) و النجمين (HD36861, HD411179) و هما من نجوم منطقة (Ori) و النجم

شكل (١): يبين علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل مع كثافة عمود الهيدروجين للنجوم



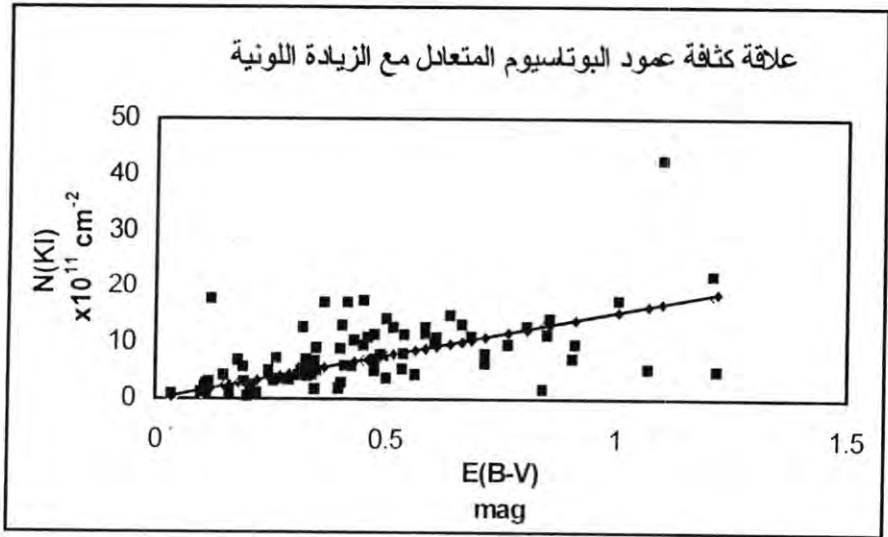
ليث محمود كريم و هزار عبد الغني يوسف الملاح

(HD42087) و هو من نجوم منطقة (Gem). قبل الخوض في مدى شذوذية هذه النجوم عن القاعدة وسببها سوف نرسم أربعة منحنيات الأول لعلاقة $[N(KI)]$ مع $[E(B-V)]$ (شكل ٢) و الثاني لعلاقة $[N(KI)]$ مع $\{[E(B-V)]^2\}$ (شكل ٣) ان الشذوذ الذي يظهر بالمنحني هو بسبب التعددية حيث عند تصحيح التعددية تصبح العلاقة صحيحة. أما الرسم الثالث فهو لعلاقة $[N(KI)]$ مع $\{[E(B-V)]^2\}$ لمساحة محدودة من الفضاء وهي التي تضم المنطقتين المتجاورتين (Per - Cas) (شكل ٤)، تم اختيار هاتين المنطقتين لأنهما تشملان العدد الأكبر من برنامج نجومنا، والمنحني الرابع هو لعلاقة (N) مع $\{[E(B-V)]^2\}$ (شكل ٥) ان هذا الرسم سيبين لنا علاقة (N) مع الزيادة اللونية $\{[E(B-V)]^2\}$.

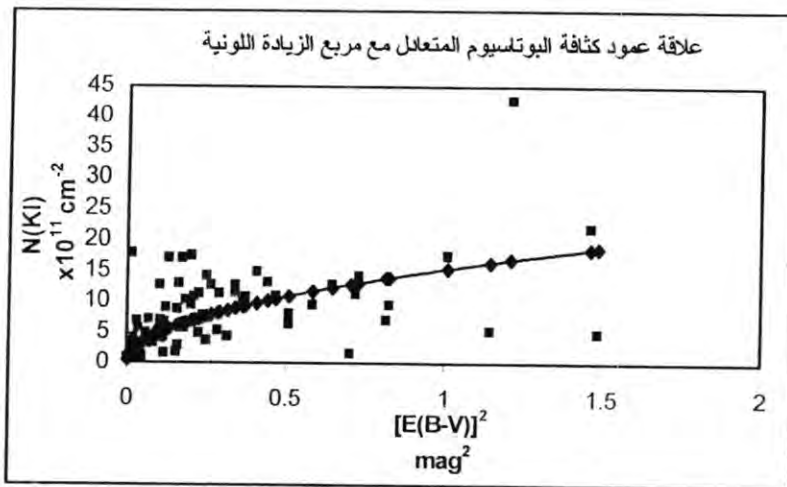
٦- تم رسم علاقة بين قيم $[N(KI)]$ لشافي و وايت^(١٦) و معدل الزيادة اللونية $[E(B-V)]$ من كريم و هزار^(١٥) كما في الشكل (٢)، كما تم رسم العلاقة النظرية والتي تمثل خطأ مستقيماً من قيم $[N(KI)]$ المحسوبة بالفقرة (٢) و قيم $[E(B-V)]$ المقابلة لها، ان النتيجة هنا لا تختلف عن النتيجة الظاهرة من المنحني السابق بالنظر إلى كون قيم (N) في المنحني السابق هي دالة لـ $[E(B-V)]$ حيث تم حسابها من معادلة (٦).

٧- لأجل المقارنة بين معطيات البيانات الرصدية المأخوذة من شافي و وايت^(١٦) والقيم المحسوبة للبوتاسيوم المتعادل $[N(KI)]$ تم رسم منحني بين قيم $[N(KI)]$ الرصدية وقيم $\{[E(B-V)]^2\}$ و كما

شكل (٢): يبين علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل مع الزيادة اللونية



مبين بالشكل (٣)، كما تم رسم المنحنى النظري للعلاقة من قيم $[N(KI)]$ النظرية المحسوبة من الفقرة (٢) و قيم $[E(B-V)]$ على نفس الشكل (٣)، نلاحظ من هذا الشكل بالرغم من وقوع أغلب النجوم مع



شكل (٣): يبين علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل مع مربع الزيادة اللونية

ليث محمود كريم و هزار عبد الغني يوسف الملاح

المنحني النظري إلا ان نفس النجوم أعلاه ما زالت مبتعدة عن الخط على الرغم من ان أغلب هذه النجوم لها عدة مركبات (تعددية) مما يجعلها تقترب من الخط عند حل هذه المركبات، إلا ان مازال هناك بعض النجوم تقف جانبا من هذه العلاقة كالنجم (HD36861) الذي هو من مجموعة (Ori) و الذي يملك مركبة واحدة غير قابلة للتأهيل^(١٢) وكذلك النجم (HD147889) و الذي هو من مجموعة (Oph) و الذي يملك مركبة واحدة أيضا والذي يظهر بعيدا جدا عن المنحني المرسوم. و كما في السابق سوف نؤجل تفسير هذا الشذوذ حتى نكمل رسم المنحنيات أعلاه. كما ان هذا المنحني يظهر ان العلاقة بين $[E(B-V)]$ و $[N(KI)]$ هي علاقة خطية عند قيم $[E(B-V)]$ الواطئة في حين انها غير خطية عند قيم $[E(B-V)]$ العالية.

٨- تم رسم العلاقة بين $[N(KI)]$ و $[E(B-V)]^2$ للمساحة الفضائية المحددة بالمنطقتين المتجاورتين (Per - Cas) كما في الشكل (٤) وذلك لتقارب أو تشابه المؤثرات التي تؤثر على شكل المنحني حيث أخذت قيم $[N(KI)]$ من شافي و وايت^(١٣) و معدل قيم $[E(B-V)]^2$ من كريم و الملاح^(١٤). و قد تم إجراء ما يأتي:-

أ- تم تعيين الإحداثيات الاستوائية لكل نجم (δ و R.A.).

ب- تم رسم منحنيات بين مواقع النجوم الأقرب إلى بعضها في مستوي السماء حيث رمز لنجوم المنحني الأول بالمثلثات المغلقة و نجوم المنحني الثاني بالنجوم و نجوم المنحني الثالث بالدوائر المفتوحة و نجوم المنحني الرابع بالدوائر المغلقة و نجوم المنحني الخامس بعلامة الزا.ت.

ج- في حالة وجود أكثر من نجم متقارب رسم المعدل لها.

يظهر من المنحنيات العلاقات التالية:-

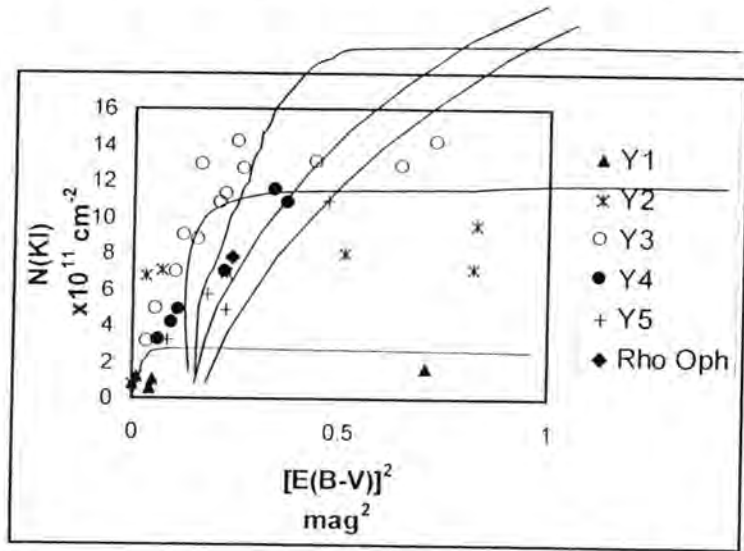
في حالة الرمز للمتغير الذي يؤثر ويؤدي إلى تغير المنحنيات بالرمز (Y) حيث سيتم تعريف الرمز (Y) فيما بعد فان:-

أولاً:- عند ثبوت قيمة (Y) فان $[N(KI)]$ تتناسب مع $[E(B-V)]^2$ عند القيم الصغرى لـ $[E(B-V)]$ وتساوي قيمة ثابتة عند القيم العليا لـ $[E(B-V)]$.

ثانياً:- بزيادة قيمة (Y) فان قيمة $[E(B-V)]^2$ الصغرى تتجه نحو اليمين و الذي يؤدي بدوره إلى تقاطع المنحنيات.

ثالثاً:- عند زيادة قيمة (Y) تزداد قيمة $[E(B-V)]^2$ التي يبدأ بها المنحني بالثبات.

رابعاً:- ان أية زيادة بقيمة $[N(KI)]$ تؤدي إلى زيادة قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ وليس العكس صحيحاً حيث عند $[E(B-V)]$ العالية تزداد قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ مع ثبوت $[N(KI)]$.



شكل (٤): يبين علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل مع مربع الزيادة اللونية للمساحة الفضائية المحددة بالمنطقتين المتجاورتين (Cas - Per)

خامساً:- ان النجم قد يمر بأكثر من متحن واحد و الذي يكون عند نقطة تقاطع المنحنيات في هذه الحالة فان:-

$$Y_1 = Y_2 = Y_3 = \dots\dots\dots$$

والذي يدل على وجود اكثر من متغير في هذه العلاقة أي ان:-

$$Y \propto A B C \dots\dots\dots$$

وعليه وفي الحالة أعلاه فان:-

$$A_1 B_1 C_1 = A_2 B_2 C_2 = A_3 B_3 C_3 = \dots\dots\dots$$

سادساً:- في حالة اعتماد (Y) على متغيرين فقط فعند نقطة تقاطع المنحنيين يكون:-

$$A_1 B_1 = A_2 B_2$$

ليث محمود كريم و هزار عبد الغني يوسف الملاح

ان المؤثرين الأكثر احتمالا في حالتنا هذه هما حجم جزيئة الغبار المسبب للاستطارة والذي سنرمز له بالرمز (V) وكمية الطاقة الإشعاعية الواصلة إلينا بعد مرور الإشعاع خلال السحابة التي سنرمز لها بالرمز (E) :-

بالنسبة لحجم الجزيئة فإنه يساوي :-

$$V = \frac{4}{3} \pi a^3$$

حيث (a) نصف قطر الجزيئة (هذا في حالة كون الجزيئة كروية).

أما بالنسبة لكمية الطاقة الإشعاعية الواصلة إلينا فإنها في حالة عدم وجود سحابة^(١٧) تساوي:-

$$E_* = \frac{R_*^2}{r_*^2} \sigma T_*^4 = \frac{R_*^2}{r_*^2} W$$

حيث:-

E_* كمية الطاقة الإشعاعية الواصلة إلينا في حالة عدم وجود سحابة.

R_* نصف قطر النجم.

r_* بعد النجم عن الشمس.

σ ثابت ستيفان - بولتزمان.

T_* درجة حرارة النجم المطلقة.

W كثافة الطاقة الإشعاعية للجسم الأسود.

أما في حالة مرور شعاع النجم خلال سحابة تحتوي على حبيبات درجة حرارة الحبيبة الواحدة المطلقة (T_g) حيث:-

$$T_g = T_* \left(\frac{R_*}{2d} \right)^{1/2}$$

T_* درجة حرارة النجم، R_* نصف قطر النجم، d المسافة بين الحبيبة و النجم، فان جزءا من كمية الطاقة الإشعاعية الواصلة إلى السحابة يمتص وينبعث بكمية طاقة إشعاعية جديدة تتناسب مع (T_g^4) لكل حبيبة مما يؤدي إلى إزاحة اللون نحو الأحمر وفقا لقانون كيرشوف، فتصل إلينا كمية طاقة إشعاعية تساوي E .

لم يظهر لنا من خلال الشكل (٤) تقاطع أكثر من منحنيين ومع ذلك فإن احتمال وجود مؤثر ثالث أو أكثر مازال موجودا، ولكن حاليا و وفق التعريف أعلاه يمكننا تعريف (Y) كالآتي:-

$$Y \propto VE$$

أو:-

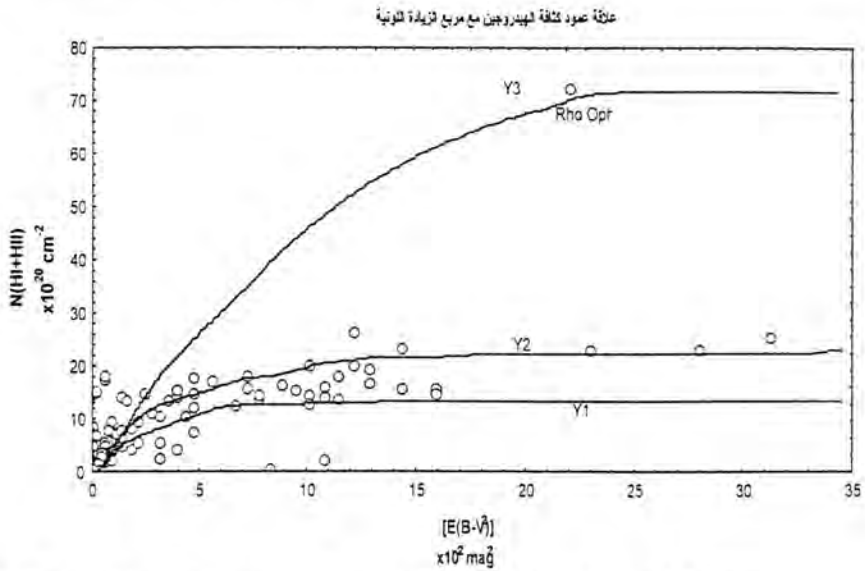
$$Y = cVE$$

حيث (c) ثابت يجب حساب قيمته.

نلاحظ من العلاقات أعلاه ان أية زيادة صغيرة بنصف قطر الجزيئة تؤدي إلى رفع قيمة (V) إلى الأس الثالث وان أية زيادة صغيرة بدرجة حرارة السحابة تؤدي إلى رفع قيمة (E) إلى الأس الرابع، ان مثل هذه الزيادة تظهر بصورة جلية في قيمة (Y) لبعض النجوم المتقاربة والتي يتوقع منها ان تكون تحت ظروف متشابهة مثل النجمين (HD223987) و (HD224055) و اللذين يتوقع منهما ان يكونا ذوي قيمة (Y) متشابهة.

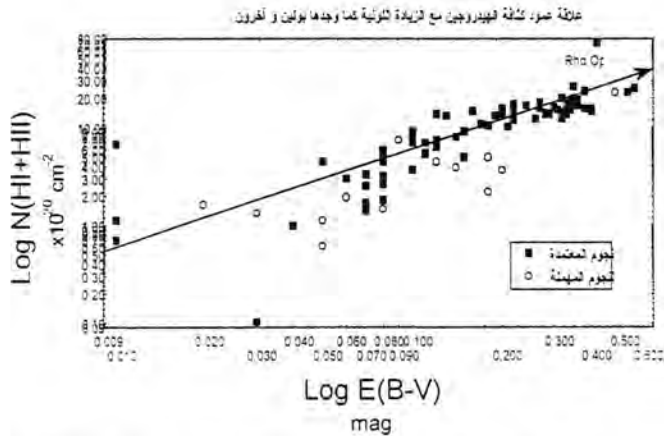
٩- الآن و بعد إظهار الحالة التي تتغير بها قيمة [N(KI)] مع $\{[E(B-V)]^2\}$ وبما ان قيمة [N(KI)] تتناسب مع قيمة (N) المعادلة (١) فإن ما ورد أعلاه ينطبق على علاقة (N) بـ $\{[E(B-V)]^2\}$ أيضا، ان هذه الفرضية تتعارض مع ما جاء به بولين و آخرين^(١٣) من ان (N) تتناسب مع $[E(B-V)]$ وفق المعادلة (٢) و لإظهار تصرف (N) مع $\{[E(B-V)]^2\}$ تم رسم منحن يمثل هذه العلاقة [الشكل (٥)] حيث أخذت قيم $[N(HI+HII)]$ و قيم $[E(B-V)]$ من بولين و آخرين^(١٣)، لقد تم أخذ نفس قيم بولين و آخرين لغرض المقارنة. يظهر من المنحني ان قيم (N) تتناسب خطيا مع قيم $\{[E(B-V)]^2\}$ عند قيم $[E(B-V)]$ الواطئة وتشكل قيمة ثابتة عند قيم $[E(B-V)]$ العالية وهي تؤيد ما ورد أعلاه. ان النجوم المشار إليها بالدوائر المفتوحة عند بولين و آخرين الشكل (٦) و المهملة من قبلهم بالإضافة إلى نجوم منطقة (Ori) الأربعة والنجوم الثلاثة الأخرى والتي تتحرف عن الخط المستقيم والتي عزوها إلى التأين العام في سديم (Gum) نراها قد اصطفت في الشكل (٥) في خط مستقيم.

علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل في المادة ما بين النجوم مع الزيادة اللونية
ليث محمود كريم و هزار عبد الغني يوسف الملاح



شكل (٥): يبين العلاقة بين كثافة عمود الهيدروجين و مربع الزيادة اللونية

كما ان النجم (ρ Oph) و الذي نراه هنا منعزلا أيضا عن بقية النجوم يمكن تفسيره على ان له قيمة (Y) مختلفة، ان هذا النجم قد رسم موقعه على منحنى $\{[E(B-V)]^2\}$ و $[N(KI)]$ لمنطقتي



شكل (٦): العلاقة اللوغارتمية بين كثافة عمود الهيدروجين و الزيادة اللونية لبولين و آخرين (١٣)

(Per - Cas) الشكل (٤) حيث نراه قد وقع في وسط النجوم حيث تم تأشيريه بالمعين المغلق، ان هذا النجم يتبع الجزء الأول من العلاقة الرابعة و التي تنص على ان أية زيادة بـ $[N(KI)]$ أو (N) تؤدي إلى زيادة قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ و ليس العكس صحيحا فان عند قيم $[E(B-V)]$ العالية تزداد قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ مع ثبوت $[N(KI)]$ أو (N) في حين نلاحظ ان النجم (α Oph) يتبع الجزء الثاني من القانون نفسه و عليه تم رسم خط افتراضي يمر بـ (ρ Oph) يمثل العلاقة في الشكل (٥). ان هذا المنحني يبين ان اغلب نجوم منطقتي (Sco - Oph) و التي تعاني غالبا شذوذا في أغلب العلاقات تقع على الخط ($N = \text{Constant}$) و قد يكون هذا هو تفسير هذا الشذوذ حيث ان جميع العلاقات السابقة قد اعتمدت العلاقات الخطية في حساباتها. الآن و بعد تبين ان علاقة (N) و $\{[E(B-V)]^2\}$ تتبع نفس علاقات $[N(KI)]$ مع $\{[E(B-V)]^2\}$ يمكننا إعادة العلاقات الست أعلاه و استبدال $[N(KI)]$ بـ (N) باعتبارها دالة لها [معادلة (١)] و كما في الشكل (٥)، هنا أيضا نجد ان المؤثرين الأكثر احتمالا في حالتنا هذه هما حجم جزيئة الغبار المسبب للاستطارة و الذي رمزنا له بالرمز (V) و كمية الطاقة الإشعاعية للسحابة الواصلة إلينا بعد مرورها خلال السحابة و الذي رمزنا لها بالرمز E .

١٠- بعد شرح المنحنيات أعلاه نعود مرة أخرى لتفسير الشذوذ بالشكلين (١) و (٢) السابقين و ما هي إلا نجوم تقع على منحنيات لها قيمة (Y) مخالفة و تبدو منعزلة ففي هذه المجموعة النجمية كحال (ρ Oph) في مجموعة بولين و آخرين^(١٣) و الذي وقع بالقرب من نجوم أخرى خارج المجموعة.

١١- نود ان نشير إلى ان ما ورد أعلاه لا يتعارض مع التعددية التي جاء بها شافي و وايت^(١٢) و لكننا ننظر إلى التعددية على انها العلاقة المحصلة فعند تحليل التعددية فان قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ تنخفض إلى قيمة أدنى مما يؤدي إلى إرجاع العلاقة إلى ان تكون خطية مع $[N(KI)]$ و لكن لا يزال هناك نجوم لها مركبة واحدة غير قابلة للتحليل تقف جانبا من المنحني كما أشرنا سابقا. تبين مما ذكر ان التعددية تؤدي إلى تراكب تأثير زيادة اللون و تسير بنفس المنحني الذي كان سيسيره شعاع نجم له مركبة واحدة و له زيادة لونية عالية.

المنافضة والاستنتاج

١- تم استنتاج ان العلاقة بين $[N(KI)]$ و $[E(B-V)]$ علاقة تربيعية و هذا يتفق مع ما جاء به كل من شافي و وايت (١٢) و هوبس^(١١,١٠,٩,٨) في حين تختلف مع بولين و آخرين^(١٣) بان العلاقة بين (N) و $[E(B-V)]$ هي علاقة خطية الشكل (٦) وهي العلاقة التي اعتمدها شافي و وايت^(١٢) في استنتاجهما للعلاقة بين $[N(KI)]$ و $[E(B-V)]$ و لكننا استنتاجنا انها علاقة تربيعية كما يظهرها الشكل (٥) حيث بينا عندما تكون قيم $[E(B-V)]$ صغيرة فان قيمة (N) تتناسب خطيا مع $\{[E(B-V)]^2\}$ و عند قيم $[E(B-V)]$ العالية فان قيمة (N) تبقى ثابتة.

٢- ان العلاقة بين $[N(KI)]$ و $\{[E(B-V)]^2\}$ تعتمد على أكثر من متغير واحد وذلك لوجود أكثر من منح منحن واحد بالعلاقة و ان هذه المنحنيات متقاطعة، و تم الرمز إلى حاصل ضرب هذين المتغيرين بالرمز (Y) ، كما تم استنتاج العلاقات التالية:-

أولاً:- عند ثبوت قيمة (Y) فان $[N(KI)]$ تتناسب مع $\{[E(B-V)]^2\}$ عند القيم الصغرى لـ $[E(B-V)]$ و تساوي قيمة ثابتة عند القيم العليا لـ $[E(B-V)]$.

ثانياً:- بزيادة قيمة (Y) فان قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ الصغرى تتجه نحو اليمين الذي يؤدي بدوره إلى تقاطع المنحنيات.

ثالثاً:- عند زيادة قيمة (Y) تزداد قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ التي يبدأ بها المنحنى بالثبات.

رابعاً:- ان أية زيادة بقيمة $[N(KI)]$ تؤدي إلى زيادة قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ و ليس العكس صحيحا فان عند قيم $[E(B-V)]$ العالية تزداد قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ مع ثبوت $[N(KI)]$.

خامساً:- ان النجم قد يمر بأكثر من منحن والذي يكون عند نقطة تقاطع المنحنيات و في هذه الحالة فان:-

$$Y_1 = Y_2 = Y_3 = \dots\dots\dots$$

والذي يدل على وجود أكثر من متغير في هذه العلاقة أي ان:-

$$Y \propto A B C \dots\dots\dots$$

وعليه في الحالة أعلاه يكون:-

$$A_1 B_1 C_1 = A_2 B_2 C_2 = A_3 B_3 C_3 = \dots\dots\dots$$

سادساً:- في حالة اعتماد (Y) على متغيرين فقط فعند نقطة تقاطع المنحنيين يكون:-

$$A_1 B_1 = A_2 B_2$$

كما تم استنتاج ان المؤثرين الأكثر احتمالا في هذه الحالة هما حجم جزيئة الغبار المسبب للاستطارة الذي رمزنا له بالرمز (V) و كمية الطاقة الإشعاعية الواصلة إلينا بعد مرور الشعاع خلال السحابة والتي رمزنا لها بالرمز (E) و استنتجنا:-

$$Y \propto VE$$

أو:-

$$Y = cVE$$

حيث (c) ثابت يجب حساب قيمته.

وعليه تم استنتاج ان أية زيادة بنصف قطر الجزيئة يؤدي إلى رفع قيمة (Y) إلى الأس الثالث وان أية زيادة بدرجة حرارة السحابة تؤدي إلى رفع قيمة كمية الطاقة الإشعاعية إلى الأس الرابع.

٣- ان العلاقات أعلاه -في الفقرة (٢) صحيحة بالنسبة لعلاقة (N) و [E(B-V)].

٤- ان الشذوذ الذي يظهر في منطقتي (Sco - Oph) هو بسبب اتباع منحني العلاقة بين (N) و $\{[E(B-V)]^2\}$ و كذلك منحنى العلاقة بين [N(KI)] و $\{[E(B-V)]^2\}$ علاقة تربيعية عند قيم [E(B-V)] الصغيرة وله قيمة ثابتة عند قيم [E(B-V)] الكبيرة حيث تقع هذه النجوم في منطقة القيمة الثابتة في حين اعتمدت الحسابات في البحوث السابقة على العلاقات الخطية.

٥- ان الشذوذ في (p Oph) يحصل بسبب ان هذا النجم يتخذ قيمة (Y) مختلفة بسبب زيادة صغيرة في حجم الجزيئة أو كمية الطاقة الإشعاعية الواصلة إلينا أو كليهما ومثل هذا الشذوذ يوجد في نجوم أخرى في مناطق أخرى من السماء مثل النجم (HD36861) و الذي هو من مجموعة (Ori).

٦- ان ما ورد من استنتاجنا السابق لا يتعارض مع التعددية التي استنتجها شافي و وايت^(١٧) حيث اننا استنتجنا ان التعددية هي المحصلة فعند تحليل التعددية تنخفض قيمة $\{[E(B-V)]^2\}$ إلى قيمة أدنى مما يؤدي إلى إرجاع العلاقة إلى ان تكون خطية مع [N(KI)].

المصادر

1. Dunham, T.: Pub. A.S.P. 49, 26. (1937).
2. Lutz, B. L.: Ap. J. (Letters), 191, L131. (1974)
3. Herbig, G. H.: Zs. Ap., 68, 243. (1968)
4. Cohen, J. G.: Ap. J., 192, 379. (1974).
5. Crutcher: Ap. J., 239, 549. (1980).
6. Shulman, S., Bortolot, V., and Thaddeus, P.: Ap. J., 193, 97. (1974).
7. Crutcher: Ap. J., 219, 72. (1978).
8. Hobbs: Ap. J. (Letters), 188, L67. (1974a).
9. Hobbs: Ap. J., 191, 381. (1974b).
10. Hobbs: Ap. J., 200, 621. (1975).
11. Hobbs: Ap. J., 203, 143. (1976).
12. Chaffee, F. H. Jr., White, R. E.: Ap. J. Suppl., 50, 169. (1982).
13. Bohlin, R. C., Savage, B. D. and Drake, J. F.: Ap. J., 224, 132. (1978).
١٤. كريم، ل. م.، الملاح، هـ. ع. ي.: المجلة العراقية للعلوم، ٤٢ هـ، ١٦، (٢٠٠١).
١٥. كريم، ل. م.، الملاح، هـ. ع. ي.: مقدم للمجلة. (٢٠٠٢).
16. Hauge, Φ. And Engvold. O.: "Compilation of Solar Abundance Data". Institute of Theoretical Astrophysics, No. 49. Blindern, Oslo, Norway. (1977).
١٧. النجم، ف.، و النعيمي، ح. م.: "فيزياء الجو و الفضاء الجزء الثاني (علم الفلك)، العراق. (١٩٨١).

تطوُّح الطاقة للأيونات الثقيلة في الأهداف الصلبة باستخدام النظرية الحركية، المتذبذب التوافقي ونموذج غاز الإلكترون الحر

عبد الله احمد رشيد
الجامعة المستنصرية
كلية العلوم

خالد عبد الوهاب احمد
الجامعة المستنصرية
كلية العلوم

نضير جاسم محمد
الجامعة المستنصرية
كلية العلوم

الخلاصة

تم حساب تطوُّح الطاقة (Ω_E) بواسطة النظرية الحركية Kinetic Theory, K.T. وغاز الإلكترون Harmonic Oscillator, (H.O.) وغاز الإلكترون الحر Free Electron Gas, (F.E.G.) للأيونات الثقيلة Mg, F & Fe, Ti, Cl, O الساقطة على هدف الكاربون (^{12}C) والتيتانيوم (^{48}Ti) على التتابع بسمك ($0.5-4 \frac{\text{MeV}}{\text{u}}$) ضمن مدى الطاقة ($0.1 \frac{\text{mg}}{\text{cm}^2}$). فقد تم وضع معادلة شبه تجريبية أمكن من خلالها حساب تطوُّح الطاقة بوحدات (MeV) بعد حساب معلمات التتابع (b_2, b_1) لقيم المقطع العرضي لقدرة الإيقاف للنظريات الثلاث (F.E.G.) & (H.O.), (K.T) بوحدات ($\frac{\text{MeV.cm}^2}{\text{mg}}$) باستخدام طريقة المربعات الصغرى (Least Square Method, (LSM)).

المقدمة

نظريات عديدة قدّمت وصفا لمعدل فقدان الطاقة وتطوُّح الطاقة للأيونات السريعة الخفيفة المتحركة في المادة . ولتطوُّح الطاقة (Ω_E) أعطى الباحث بور [1] معادلة لحساب التطوُّح في حدود الطاقة العالية [2] :

$$\Omega_E^2 = \Omega_B^2 = 4\pi Z_1^2 e^4 Z_2 N \Delta x \quad (1)$$

تطوح الطاقة للأيونات الثقيلة في الأهداف الصلبة باستخدام النظرية الحركية، المتذبذب التوافقي ونموذج غاز الإلكترون الحر
نضير جاسم محمد وجماعته

حيث أن:

Ω_B : تطوح الطاقة لبور .

$Z_2 e$: الشحنة والعدد الذري لمادة الهدف على التوالي .

Z_1 : العدد الذري للأيون الساقط .

N : كثافة مادة الهدف .

x ? : سمك مادة الهدف بوحدة $(\frac{mg}{cm^2})$.

إن المعادلة (1) تطبق في أغلب الأحيان في الطاقات العالية، ولحساب تطوح الطاقة في الطاقات الواطئة والمتوسطة تم توسيع نظرية بور بواسطة تطبيق عامل التصحيح (Correction Factor) لطاقة الجسيمات الواطئة والمتوسطة والتوصل للصيغة الآتية [3].

$$(2) \quad \Omega_E^2 = \begin{cases} \frac{1}{2} \Omega_B^2 L(y) & y \leq 3 \\ \Omega_B^2 & y \geq 3 \end{cases}$$

حيث أن:

y : متغير الطاقة المختزلة (Reduced Energy Variable) والمعرف:

$$y = \left(\frac{v}{v_0} \right)^2 Z_2$$

v : سرعة الجسيم الساقط.

v_0 : سرعة بور ($v_0 = 2.185 \times 10^8$ cm/sec) (Bohr velocity)

$L(y)$: عدد الإيقاف (Stopping Number) والذي تم التعبير عنه:

$$L(y) = 1.36 y^{1/2} - 0.016 y^{3/2}$$

في المعادلة (2) تبين أن تطوح الطاقة (Ω_E^2) تترب من قيمة تطوح بور (Ω_B^2) في الطاقة العالية، وأنه يكون معتمداً على الطاقة في السرعة الواطئة.

٢- تطوح الطاقة للنماذج الذرية (F. E.G.) & (H.O.), (K.T.)
 للتعبير عن التطوح في فقدان الطاقة يكون بالشكل الآتي [4]:

$$\Omega_E^2 = N.\Delta x \int T^2 d\sigma \quad (3)$$

حيث أن:

T : الطاقة المنتقلة (Energy Transfer) للإلكترونات وذرات الهدف.

$d\sigma$: المقطع العرضي التفاضلي (Differential Cross-Section)

لذلك فإن:

$$\frac{\Omega_E^2}{N.\Delta x} = \int T^2 d\sigma \quad (4)$$

وبما أن المقطع العرضي لقدرة الإيقاف (S) يعطى بالصيغة الآتية:

$$S = \int T d\sigma \quad (5)$$

لذلك نستطيع أن نقول:

$$\frac{\Omega_E^2}{N.\Delta x} = S \frac{\int T^2 d\sigma}{\int T d\sigma} \quad (6)$$

$$\therefore \Omega_E^2 = N.\Delta x.S_{th}.\langle T \rangle \quad (7)$$

حيث أن:

S_{th} : المقطع العرضي لقدرة الإيقاف والمحسوب بواسطة النظريات & (F.E.G.)

(H.O.), (K.T.) [5].

$\langle T \rangle$: معدل الطاقة المنتقلة (Average Energy Transfer):

$$\langle T \rangle = \frac{\int T^2 d\sigma}{\int T d\sigma}$$

تطوُّح الطاقة للأيونات الثقيلة في الأهداف الصلبة باستخدام النظرية الحركية، المتذبذب التوافقي ونموذج غاز الإلكترون الحر
نضير جاسم محمد وجماعته

ولكون أن أعلى طاقة منتقلة $[Maximum\ Energy\ Transfer, T_m]$ هي:

$$T_m = \frac{4mm_0}{(m+m_0)^2} E \quad (8)$$

حيث أن:

m_0, m : كتلة الأيون الساقط والإلكترون على التوالي.

E : طاقة الأيون الساقط بوحدة (MeV).

لذلك تم فرض:

$$\langle T \rangle = a_1 E^{a_2} \quad (9)$$

والمقطع العرضي لقدرة الإيقاف:

$$S_{th.} = b_1 E^{b_2} \quad (10)$$

وبتعويض المعادلات (9)، (10) في معادلة (7) نحصل على معادلة تطوُّح الطاقة بالشكل الآتي:

$$\Omega_E^2 = N \cdot \Delta x \cdot a_1 b_1 E^{a_2+b_2} \quad (11)$$

الحسابات والنتائج

تم حساب معاملات التطابق (a_1, a_2) بالاعتماد على قيم عملية لتطوُّح الطاقة، ومعلمات التطابق (b_1, b_2) بالاعتماد على قيم المقطع العرضي للإيقاف للنظريات الثلاث (F. E.G.) & (H.O.), (K.T.) [5] باستخدام طريقة المربعات الصغرى (LSM) من خلال كتابة برنامج (NDRH2) بلغة الفورتران (FORTRAN 77) وكما موضح في الجدول (1).

اعتمادا على معادلة (11) تم حساب تطوُّح الطاقة بوحدة (MeV) للنظريات الثلاثة لأيونات Mg, F و Fe, Ti, Cl, O الساقطة على هدف الكاربون (C^{12}) و التيتانيوم (Ti^{48}) على التتابع بسمك $(0.1 \frac{mg}{cm^2})$ وضمن مدى الطاقة $(0.5 - 4 \frac{MeV}{a})$ وكما موضح في الشكل (1).

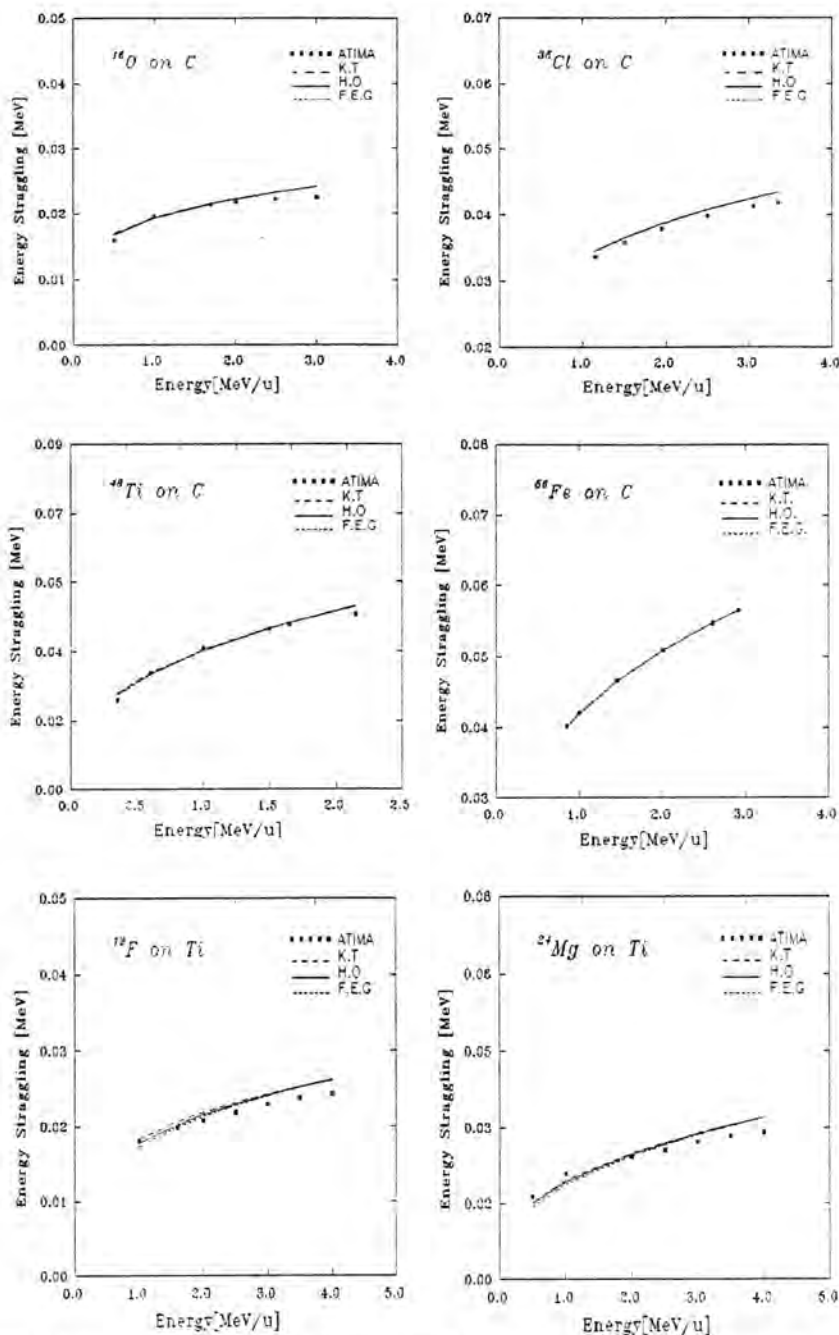
إن نلاحظ زيادة قيم تطوُّح الطاقة مع زيادة طاقة الجسيم الساقط بالإضافة إلى التطابق الجيد للنظريات الثلاث في حسابها لهذه القيم مقارنةً مع القيم العملية [6]، وكذلك يمكن ملاحظة زيادة تطوُّح الطاقة عند طاقة معينة بزيادة العدد الذري للأيون الساقط (Z_1).

الجدول (1) قيم معاملات التوافق لتطوح الطاقة (a_2, a_1) العملية مع معاملات التوافق للمقطع العرضي للإيقاف (b_2, b_1) للنظريات الثلاث [5] للأيونات الثقيلة الساقطة على الأهداف الصلبة

Ion / Target	القيم العملية (MeV)	
	[ATIMA (2001)]	
	$a_1 10^{-4}$	a_2
O / C	0.63	0.68445
Cl / C	0.41	0.66443
Ti / C	0.33	0.654672
Fe / C	0.33	0.64229
F / Ti	0.44	0.81972
Mg / Ti	0.45	0.75103

Ion / Target	القيم النظرية ($MeV / mg \cdot cm^{-2}$)					
	K.T.		H.O.		F.E.G.	
	b_1	b_2	b_1	b_2	b_1	b_2
O / C	20.35634	-0.29495	18.97145	-0.27545	19.8038	0.28721
Cl / C	58.49438	-0.23436	57.39087	-0.23036	58.3247	-0.23385
Ti / C	27.08681	-0.04229	23.36674	0.07575	25.04564	0.06028
Fe / C	58.11419	-0.09024	55.77108	-0.082009	57.28195	-0.08737
F / Ti	18.15301	-0.30814	14.68833	-0.25848	12.45048	-0.21937
Mg / Ti	9.95768	-0.03820	8.89556	-0.01378	7.40103	0.02653

تطوُّح الطاقة للأيونات الثقيلة في الأهداف الصلبة باستخدام النظرية الحركية، المتذبذب التوافقي ونموذج غاز الإلكترون الحر
تفسير جاسم محمد وجماعته



الشكل (١) يوضح تطوُّح الطاقة بواسطة [(F.E.G),(H.O.),(K.T.)] مع القيم العملية [6] للأيونات الثقيلة في أهداف الكربون والتيتانيوم

المناقشة

من خلال حساب تطوح الطاقة بواسطة النظريات الثلاث كان التطابق جيداً قياساً للقيم العملية. ويمكن أن نستنتج أن الزيادة في تطوح الطاقة بزيادة العدد الذري للأيون الساقط (Z_1) يمكن ملاحظته من العلاقة (1.8) فزيادة العدد الذري (Z_1) وثبوت (Z_2) تصبح ($m \gg m_0$) مما يؤدي إلى زيادة قيمة الطاقة المنتقلة للإلكترونات الوسط الموقف. وبذلك يزداد التطوح في الطاقة بزيادة طاقة الأيون الساقط. ونستنتج بأن تطوح الطاقة يتناسب طردياً مع (Z_1) وعكسياً مع (Z_2). من جانب آخر يمكن ملاحظة إن تطوح الطاقة المحسوب بهذه النظريات الثلاث للأيونات الثقيلة ($Z_1 > 2$) والساقطة على أهداف صلبة لمدى الطاقات $E(0 - 4) \text{ MeV/u}$ لا يشكل أي فرق .

REFERENCES

- [1] N. Bohr, Mat. Fgs. Medd Dan. Van. Vid. Selsk. 18, (1948).
- [2] W. K. Chu , phys. Rev. A13, 2057 (1976).
- [3] J. Lindhard & Scharff , Mat.Fgs. Medd Dan.Vid Selsk. 27, no.15 (1953).
- [4] J. Lindhard, M. Scharff, and H. E. Schiott, Mat. Fgs. Medd. Dan. Vid. Selsk. 33: no. 14 (1963).
- [5] نضير جاسم محمد، ، خالد عبد الوهاب احمد، و عبد الله أحمد رشيد، (المقطع العرضي لقدرة الإيقاف للجسيمات المشحونة الثقيلة في الأهداف الغازية والصلبة باستخدام النظرية الحركية، المتذبذب التوافقي ونموذج غاز الإلكترون الحر) . بحث قيد النشر، مجلة كلية العلوم، الجامعة المستنصرية (2002) .
- [6] ATIMA, Calculating ATomic Interaction with MATter, H. Geissel, P. Mlzacher and C. Scheidenberger, (2001). www.gsi.de/~scheid/ATIMA1.html 1-3k-

دراسة تأثير المحاليل الحامضية على الخصائص الفيزيائية لمواد بوليمرية متراكبة

بلقيس محمد ضياء و محمد سهام رشيد

ABSTRACT

(Epoxy-Fillers) composites were prepared and studied for their physical properties (Impact, Hardness, Flexural, Strength, Compression) and thermal conduct is ty specimens were prepared with volume fraction V_f ٣٠%. Diffusion Coefficient was Calculated for all specimens before and after immersion in Acid solutions (H_2SO_4 , HNO_3 , HCL), for there months- all results were discussed.

الخلاصة

تم في هذا البحث تحضير نماذج لمواد متراكبة من راتنج الايبوكسي قبل وبعد التدعيم بأنواع مختلفة من الحشوات وبكسر حجمي ٣٠% ودراسة التغير الحاصل في الخصائص والصدمة، الصلادة، متانة الانحناء، الانضغاطية والتوصيل الحراري، كما تم حساب معامل الانتشار (D) للنماذج المحضرة بعد غمرها في المحاليل الحامضية (H_2SO_4 , HNO_3 , HCL) لآزمان وصلت إلى الثلاثة اشهر. هذا وقد نوقشت النتائج.

المقدمة

استخدم راتنج الايبوكسي في العديد من الصناعات بعد تدعيمه بأنواع مختلفة من الحشوات أو الألياف الخ، وان دراسة الخواص الميكانيكية والحرارية تعتبر ضرورية جداً لمعرفة مدى تحمل هذه المواد للظروف المختلفة [١]. هناك العديد من الدراسات التي تناولت دراسة تأثير الظروف البيئية كدرجة الحرارة، المحاليل، الجوية الخ فقد درس [George ٢] كيفية تغير درجة الانتقال الزجاجي لنماذج من الايبوكسي المقوى بالزجاج بعد تعرضه لأشعة الشمس لفترة وصلت إلى ١٤ شهراً ولاحظ الانخفاض في درجة الانتقال الزجاجي إلى ٨٠% من قيمتها الأصلية، كذلك لوحظ التغير في خصائص الزحف لنماذج من الايبوكسي

المقوى بألياف الزجاج، نوع (woren roven) وتأثير درجة الحرارة على خصائص الصدمة [٣].

هذا وقد أجريت بعض الدراسات الخاصة بعمر النماذج في محاليل كيميائية مختلفة ودراسة تأثير هذه المحاليل على السلوك الفيزيائي للمواد المركبة وخاصة المحاليل الحامضية والملحية لمعرفة مدى مقاومة هذه المواد للمحاليل واستخدامها لحاويات لهذه المحاليل [٤],[٥]. تعد خاصية التحلل في البوليمرات والمواد المتراكبة منها إحدى أهم العوامل التي تقلل من عمر هذه المواد ويعتمد هذا التأثير على نوع المادة الأساس ونوع الحشوة المستخدمة ومنطقة الترابط البيني (بين الأساس والمادة القوية) [٦]. تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على سلوك المواد المتراكبة في ظروف بيئية مختلفة وأجراء المقارنة بينها وتشمل الخواص الميكانيكية (قوة الصدمة، الصلادة، متانة الانحناء الانضغاطية)، وكذلك خاصية التوصيل الحراري. وحساب معامل الانتشار بعد غمرها في المحاليل المختلفة.

الجزء العملي

استخدم النوع التجاري راتنج الأيبوكسي (cy٢٣٣)(DGEBA) والمجهز من شوكة (Giba-Geigy) مع المصلد نوع (Hy-٢٩٩٢) والذي هو عبارة عن مادة سائلة كثافتها ١.١٩ g/cm³ تضاف إلى الراتنج بنسبة ٤:١ يتم التفاعل حينها ويتحول إلى مادة جلاتينية تتصلد في درجة حرارة الغرفة.

استخدمت كذلك المواد التالية كحشوات (Fillers) وبكسر حجمي [V_f= ٣٠%].

أ. السليكا SiO₂.

ب. الألومينا Al₂O₃.

ج. حبيبات الزجاج glass beads.

استخدمت طريقة القولية اليدوية في تحضير القوالب جرى بعد ذلك تقطيع النماذج الخاصة بالاختبارات وحسب المواصفات القياسية (ASTM) أو (ISO).

ثم حساب الكسر الحجمي باستخدام الطريقة الوزنية والمتمثلة بالمعادلة:-

$$\Phi = \frac{1}{1 + \frac{1-\Psi}{\Psi} \cdot \frac{\rho_r}{\rho_m}} \dots\dots\dots (1)$$

حيث Φ الكسر الحجمي، Ψ الكسر الوزني ρ_r كثافة الحشوة، ρ_m كثافة الأيوكسي.

استخدم جهاز (جاري) لحساب طاقة الصدمة وقيست الصلادة بطريقة برنيل (Brinell HBr) كما استخدم الاختبار الثلاثي النقطة (3pt-Bending) المجهز في شركة (PHYWE) لحساب متانة الانحناء. وكذلك استخدم جهاز المكبس الهيدروليكي في حساب الانضغاطية للنماذج والمجهز من شركة (Leybold-Harris).

تم حساب معامل الانتشار D بطريقة الريح في الوزن وباستخدام الميزان الحساس نوع (Sartorius-balance). وباعتماد على قوانين فك في الانتشارية [٧].

$$D = \pi \left(\frac{kb}{4M} \right) \dots\dots\dots (2)$$

حيث أن :-

D: معامل الانتشار.

b: سمك النموذج.

M : أعلى ربح في الوزن.

k: الريح في الوزن في زمن t.

قيست الموصلية الحرارية بطريقة قرص لي [Lee's disc] المجهز من شركة (George-Griffen)

النتائج والمناقشة

الجدول ١- يبين التغير في قيم طاقة الصدمة قبل وبعد غمر النماذج في المحاليل الحامضية.

جدول -١-

طاقة الصدمة (Joule)

النموذج	قبل التعرض للمحاليل	بعد التعرض لمحلول H_2SO_4	بعد التعرض لمحلول HNO_3	بعد التعرض لمحلول HCL
Ep+SiO ₂	١.٥	٠.٩٣	٠.٨١	٠.٨٥
Ep+Al ₂ O ₃	١.٩٥	١.١١	١.٣٥	١.٤٢
Ep-glass beads	٤.٣٣	٣.٢٢	٣.١	٣.٤٢

والشكل -١- يبين التغير في هذه القيم للنماذج كافة مع تغير نوع المحلول.

الجدول -٢- بين التغير في قيم صلادة برنيل للنماذج قيد البحث.

جدول -٢-

صلادة برنيل

النموذج	قبل التعرض للمحاليل	بعد التعرض لمحلول H_2SO_4	بعد التعرض لمحلول HNO_3	بعد التعرض لمحلول HCL
Ep-SiO ₂	٨٢	٧١	٦٣	٦٩
Ep-Al ₂ O ₃	٩١	٨٣	٨٢	٨٠
Ep-glass beads	١٠٢	٩٥	٩٠	٨٨

ومن الاختبار الثلاثي النقطة ثم حساب مائة الانحناء باستخدام العلاقة :-[٨].

$$F.S. = \frac{3ps}{2bt}$$

p: أقصى حمل

s: طول النموذج.

t: المسك.

والجدول -٣- يعطي قيم مائة الانحناء للنماذج.

جدول -٣-
قيم متانة الانحناء (Mpa)

النموذج	قبل التعرض للمحاليل	بعد التعرض لـ H_2SO_4 المحلول	بعد التعرض لمحلول HNO_3	بعد التعرض لمحلول HCL
Ep+SiO ₂	٩١٢	٨٣٠	٨٠٤	٨٥٠
Ep+Al ₂ O ₃	١٠٢٠	٩٨٥	٩٣٣	٩٢١
Ep+glass beads	٨٨٦	٨٢٢	٨٠٢	٨١٢

والشكل -٢- يبين التغير في قيم متانة الانحناء.
وباستخدام المكبس الهيدروليكي تم حساب متانة الانضغاطية للنماذج قبل وبعد التعرض للمحاليل
وكان الجدول -٤- يوضح التغير في قيم هذه الخاصية.
جدول -٤-

قيم متانة الانضغاطية (Mpa)

النموذج	قبل التعرض للمحاليل	بعد التعرض لـ H_2SO_4 المحلول	بعد التعرض لمحلول HNO_3	بعد التعرض لمحلول HCL
Ep+SiO ₂	٦٨٣	٥٩٠	٥٧٢	٥٠٣
Ep+Al ₂ O ₃	٨٨٣	٨١٣	٧٨٤	٨٠٣
Ep+glass beads	٦٠٤	٥٨٣	٥٤٤	٥٧٠

وباستخدام تقنية قرص لي في حساب معامل التوصيل الحراري ، تم حساب
(K value) وكانت النتائج كما في الدول التالي :-

جدول -٥-

K value (w/m.°c)

النموذج		H_2SO_4	HNO_3	HCL
Ep+SiO ₂	٠.١٨٢	٠.٠٩٨٣	٠.١٠٣	٠.١١٤
Ep+Al ₂ O ₃	٠.٢٢٣	٠.٢٠٨	٠.١٩٩	٠.١٨٣
Ep+glass beads	٠.٣٠٣	٠.٢٨٨	٠.٢٨١	٠.٢٦٦

هذا وقد تم حساب معامل الانتشار (D) للنماذج كافة بعد مدة الثلاثة أشهر للغمر في المحاليل أنفة الذكر وباستخدام المعادلة (٢). والشكل -٣- يبين منحنى (الربح في الوزن مقابل الجذر التربيعي للزمن) لحساب D. والجدول -٦- يعطي قيم معامل الانتشار D للمحاليل في النماذج بالاستعانة بالشكل -٣-.

جدول -٦-

 $D \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{sec}$

النموذج	H_2SO_4	HNO_3	HCL
$\text{Ep}+\text{SiO}_2$	٤,٨٢	٤,١٣	٣,٨٦
$\text{Ep}+\text{Al}_2\text{O}_3$	٣,٢٤	٢,٨٦	٣,١١
$\text{Ep}+\text{glass beads}$	٤,٧٧	٣,٤٤	٣,٧٨

بشكل عام تتأثر جميع الخواص الميكانيكية بالمحاليل ونقل قيمها مع زيادة زمن الغمر ويعتمد ذلك على نوع المحلول الحامضي وتركزه وكذلك على قوة التصاق الحشوات بالمادة الأساس، وكون المحاليل الحامضية تعد أحد العوامل المهمة في تحلل البوليمرات (degradation) بالإضافة إلى الحرارة والإشعاع والأوزان الخ [٩].

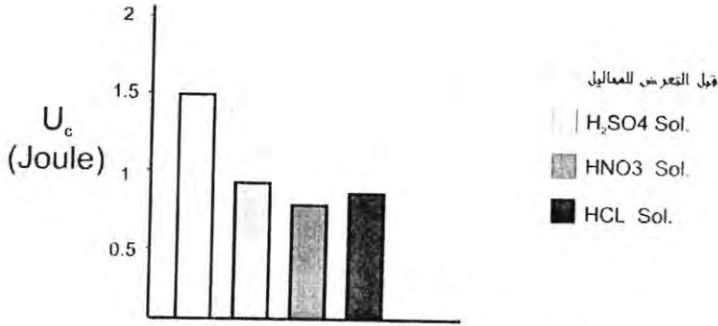
ومن اختبار التوصيل الحراري فإن جميع المواد قيد البحث هي مواد عازلة حرارياً كون إن السليكا والامينا وحببيات الزجاج تعتبر من العوازل الحراري المهمة صناعياً وإن تأثرها بالمحاليل كان قليلاً وكما ملاحظ من الجدول -٥- ولكن يبقى أكثرها تأثراً النموذج المقور بالألومينا في محلول حامض الهيدروكلريك HCL.

ومن منحنى فك لحساب معامل الانتشار D نلاحظ إن أكثرها تأثراً بالمحاليل كان النموذج المقوى بالسليكا، حيث أبدت النماذج الأخرى مقاومة أكبر لهذه المحاليل [١٠].

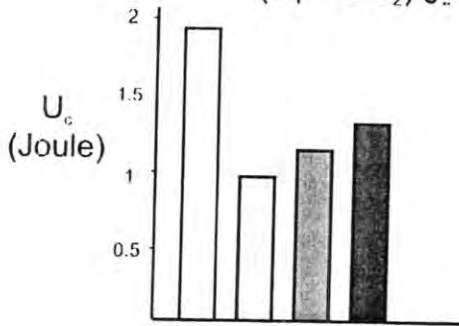
الاستنتاجات

١. تتأثر الخصائص الميكانيكية للنماذج قيد البحث بالمحلول الحامضي HNO_3 نسبة أكبر من المحاليل الأخرى.

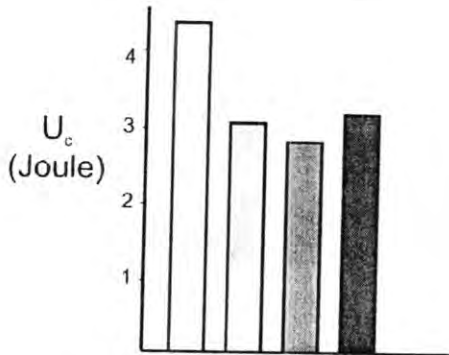
٢. نقل قيم معامل التوصيل الحراري بعد الغمر في المحاليل الحامضية وكان المحلول HCL أكثرها تأثيراً في النموذج $(Ep+Al_2O_3)$.
٣. يقل معامل الانتشار D مع نموذج $(Ep+Al_2O_3)$ بالمقارنة مع باقي النماذج وفي المحاليل كافة.



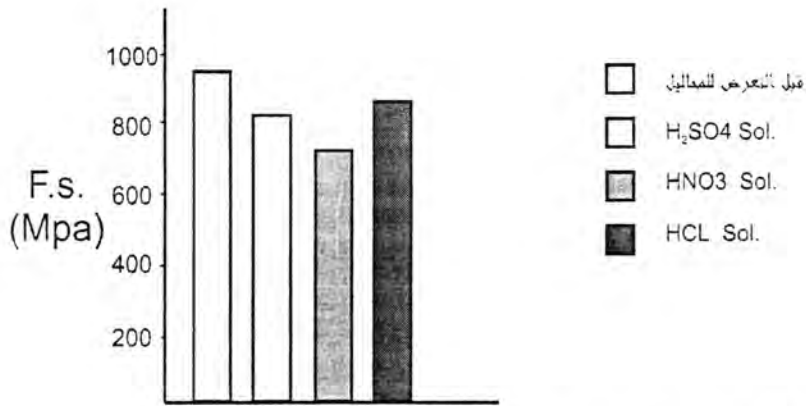
شكل ١- (a) التغير في طاقة الصرمة قبل وبعد التعرض للمحاليل $(Ep+Sio_2)$



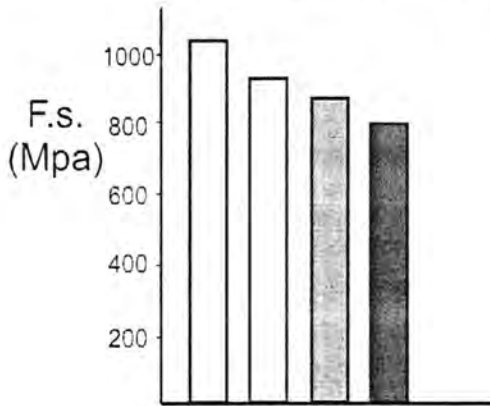
شكل ١- (b) التغير في طاقة الصرمة لنموذج $(Ep+AL_2O_3)$



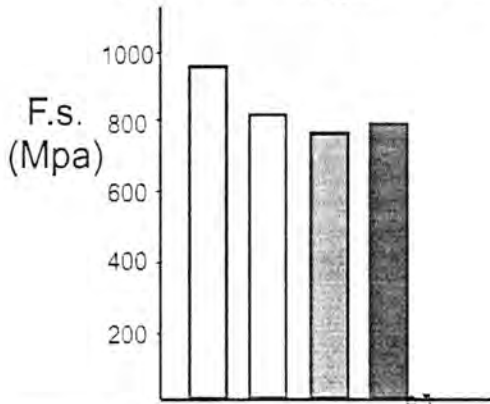
شكل ١- (c) التغير في طاقة الصرمة لنموذج $(Ep+Glass\ beads)$



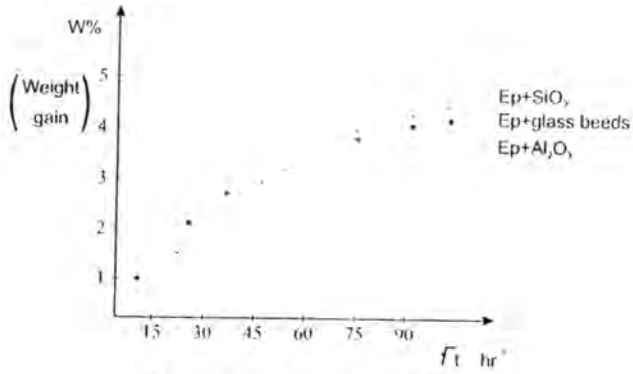
شكل ٢- (a) التغير في قيم متانة الانحناء لمزيج (Ep+Sio₂)



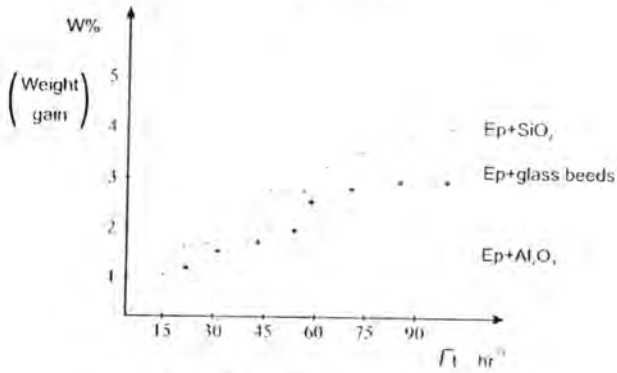
شكل ٢- (b) التغير في قيم متانة الانحناء لمزيج (Ep+AL₂O₃)



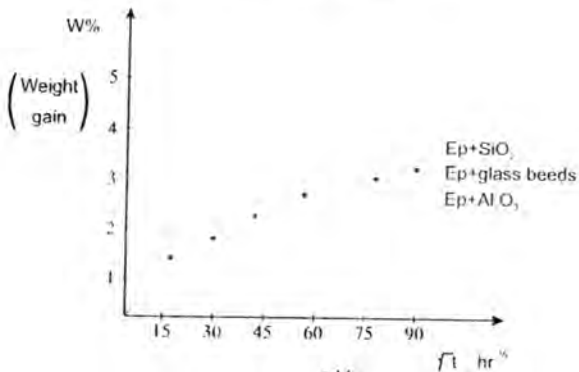
شكل ٢- (c) التغير في قيم متانة الانحناء لمزيج (Ep+Glass beads)



شكل 3- (a) منحنى فك حساب معامل الانتشار D للنماذج الثلاثة في محلول (H_2SO_4)



شكل 3- (b) منحنى فك حساب معامل الانتشار D للنماذج الثلاثة في محلول (HNO_3)



شكل 3- (c) منحنى فك حساب معامل الانتشار D للنماذج الثلاثة في محلول (HCL)

المصادر

- (١) د. بلقيس محمد ضياء، أطروحة دكتوراه، الجامعة التكنولوجية (١٩٩٧).
- (٢) P. San parote, Fiber science and technology vol. ١٦, ١٩٨٢, p.٣٠٦.
- (٣) ناصر عبد الله، أطروحة ماجستير، الجامعة التكنولوجية (١٩٩٣).
- (٤) A. Apicella, "Composites," vol. ١٣, no. ٤, p.٤٠٦. (١٩٨٢).
- (٥) J. Comyn. "Polymer permeability", Elsevier pub., London, (١٩٨٥).
- (٦) K. Yan, "International polymer science and technology", vol. ١٦, n. ١, Rapra Co. (١٩٨٩).
- (٧) B. Dewimille, "Composites", vol. ١٣, no. ١٤, (١٩٨٢).
- (٨) B. Raymond seymour. "polymeric composites". Oxford Co. (١٩٩٠).
- (٩) E. sangaktar. "polymer testing", vol. ١٧, no. ١, p.٣٩, (١٩٨٧).
- (١٠) K.S. Han. "Composites", vol. ١٤, no. ١, p. ٦٧, (١٩٨٣).

استخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد

حميدة عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف
قسم الرياضيات/كلية التربية
جامعة البصرة/ البصرة- العراق

الخلاصة

نتناول في هذا البحث حل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد باستخدام أسلوب الفروقات المحددة الموزون ذو النقاط التسع وقد تم تحديد دقة هذا الأسلوب بتطبيق ما يسمى بالمعادلة المعدلة (Modified Equation) وعند مقارنة الطريقة الجديدة مع ثلاث طرائق أخرى من ناحية القيمة المطلقة لمعدل الخطأ و أكبر قيمة مطلقة للخطأ أعطى هذا الأسلوب نتائج جيدة ودقة أكبر من الأساليب الأخرى .

المقدمة

في هذا البحث ركزنا الاهتمام على حل معادلة تفاضلية جزئية المكافئة لمعادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد والمتضمنة حدود الحمل (Convection terms) وحدود التوصيل (Conduction terms) والتي تعطى بالصيغة :-

$$\frac{\partial T}{\partial t} + u \frac{\partial T}{\partial x} = \alpha \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \quad \dots(1), \quad 0 \leq x \leq X, \quad t \geq 0$$

حيث $T(x,t)$ تمثل درجة الحرارة عند الزمن t والمسافة x ، وكل من u و α ثابت موجب حيث u يمثل السرعة و α ثابت الانتشار .
الحل المضبوط [1] لهذه المسألة هو

$$T(x,t) = \frac{1}{\sqrt{4t+1}} \exp\left(-\frac{(x-x_0-ut)^2}{\alpha(4t+1)}\right) \quad \dots(2)$$

معادلة الفروقات المحددة نكتب بالصيغة

$$L_{\Delta} [\tau_i^n] = 0 \quad \dots(3)$$

استخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد حميدة عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف

حيث L_Δ مؤثر الفروقات المحددة و $\tau_j'' = \tau(j\Delta x, n\Delta t)$ يمثل التقريب العددي للدالة $T(j\Delta x, n\Delta t)$.

باستخدام مفكوك تايلر نوسع كل حد من حدود المعادلة (3) حول نقطة عقدية في مجال الحل، لنحصل على معادلة الفروقات المكافئة للمعادلة التفاضلية (1) (Equivalent partial Differential Equation) (EPDE)

$$\frac{\partial \tau}{\partial t} + u \frac{\partial \tau}{\partial x} - \alpha \frac{\partial^2 \tau}{\partial x^2} + \sum_{q=2}^{\infty} \sum_{p=0}^q C_{p,q-p} \frac{\partial^q \tau}{\partial t^p \partial x^{q-p}} = 0 \quad \dots (4)$$

هذه المعادلة معرفة عند كل نقطة عقدية $(j\Delta x, n\Delta t)$ وتستخدم لتحديد دقة أساليب الفروقات المحددة ، عند تحويل جميع المشتقات الزمنية في (4) ما عدا $\frac{\partial \tau}{\partial t}$ إلى مشتقات مكانية نحصل على معادلة الفروقات المعدلة المكافئة للمعادلة التفاضلية (1) (MEPDE) [3] .

أن جميع معادلات الفروقات المحددة (Des) (Finite Difference Equations) المتطابقة مع معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد تكون لها (MEPDE) بالصيغة :

$$\frac{\partial \tau}{\partial t} + u \frac{\partial \tau}{\partial x} - \left(\alpha - \frac{u\Delta x}{2} \lambda_2(c,s) \right) \frac{\partial^2 \tau}{\partial x^2} + \sum_{p=3}^{\infty} \frac{u(\Delta x)^{p-1}}{p} \lambda_p(c,s) \frac{\partial^p \tau}{\partial x^p} = 0 \quad \dots (5)$$

حيث $c = \frac{u\Delta t}{\Delta x}$ ويعرف بعدد كورانت (courant number) وان $s = \alpha \frac{\Delta t}{(\Delta x)^2}$ عدد

الانتشار (Diffusion number) تمثل مقادير فيزيائية لا بعدية [2] وان :-

$$E = \sum_{p=2}^{\infty} \frac{u(\Delta x)^{p-1}}{p} \lambda_p(c,s) \frac{\partial^p \tau}{\partial x^p} = 0 \quad \dots (6)$$

يمثل مقدار خطأ القطع (Truncation Error) الناتج من استخدام أساليب الفروقات المحددة ولهذا تكون (FDSE) (3) ذات دقة من الرتبة الأولى إذا كان المعامل $\lambda_2(c,s) = 0$ وتكون ذات دقة من الرتبة الثالثة إذا كان $\lambda_p = 0$ ، $(p=2(1)r)$ و $\lambda_{p-1} \neq 0$ معامل الانتشار α يتغير

إلى $\left\{ \alpha - \frac{u\Delta x}{2} \lambda_2(c,s) \right\}$ في الحل العددي لذلك أما أن يكون المعامل $\lambda_2(c,s)$ سالب وهنا

α تزداد و (FDM) تؤدي إلى الانتشار الإضافي (Additional – Diffusion) أما إذا كان المعامل $\lambda_2(c,s)$ موجياً فإن α تتناقص وينتج الانتشار المضاد (Anti – Diffusion) 2- أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع

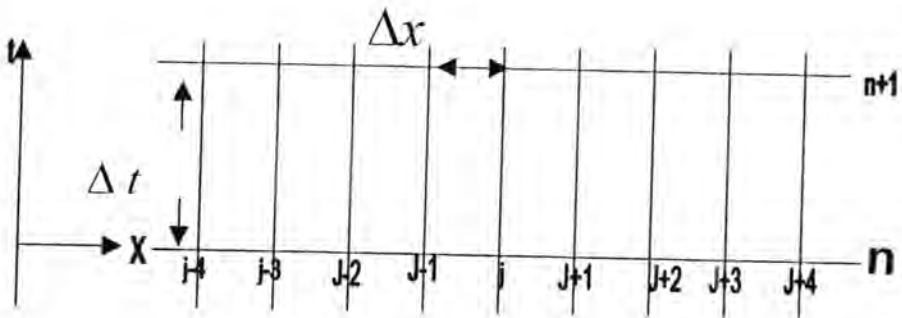
Finite Difference Schemes Involving Nine-point Formula

لزيادة دقة نتائج الفروقات المحددة وذلك من خلال زيادة عدد حدود معادلة تمثيل المشتقات الجزئية الأولى والثانية عن طريق زيادة عدد النقاط المستخدمة وكما موضح بالصيغة :-

$$\frac{\partial T''}{\partial x_j} = \frac{1}{10080(\Delta x)} [T''_{j-4} + 36T''_{j-3} + 686T''_{j-2} - 6524T''_{j-1} + 6524T''_{j+1} + 686T''_{j+2} - 36T''_{j+3} - T''_{j+4}] \quad \dots (7)$$

$$\left. \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \right|_j = \frac{1}{20160(\Delta x)^2} [-T''_{j+4} - 48T''_{j+3} - 1372T''_{j+2} + 26096T''_{j+1} - 49350T''_j + 26096T''_{j-1} - 1372T''_{j-2} - 48T''_{j-3} - T''_{j-4}] + O\{(\Delta x)^2\} \dots (8)$$

إن حساب معادلة الانتقال الحراري عند النقطة العقدية (j,n) ممكن توضيحه من خلال المخطط المبين في الشكل الآتي :-



الشكل (1) : المخطط (1,9)

أستخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد
حميده عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف

$$\frac{\partial \tau}{\partial t} \Big|_j^n + u \frac{\partial \tau}{\partial x} \Big|_j^n = \alpha \frac{\partial^2 \tau}{\partial x^2} \Big|_j^n \dots (9)$$

(2-1) أسلوب الفروقات الأمامية للزمن والمركزية للحيز مع النقاط التسع

Forward Time Central-space with Nine point scheme (FTCS&9)

حيث تقرب المشتقة الزمنية باستخدام الفروقات الأمامية (Forward Differences) من الرتبة الأولى :-

$$\frac{\partial T}{\partial t} \Big|_j^n = \frac{T_j^{n+1} - T_j^n}{\Delta t} + 0\{\Delta t\} \dots (10)$$

وتقرب حدود الحمل $\frac{\partial T}{\partial x}$ والتوصيل $\frac{\partial^2 T}{\partial x^2}$ باستخدام الفروقات المركزية (Central Difference)

من الرتبة الثامنة (7) و (8) . بتعويض كل من (7) و (8) و (10) في (9) وإعادة ترتيبها نحصل على الصيغة العامة لأسلوب (FTCS&9) بالشكل الآتي :-

$$\begin{aligned} T_j^{n+1} = & -\left(\frac{c}{10080} + \frac{s}{20160}\right)T_{j-4}^n - \left(\frac{c}{280} - \frac{s}{420}\right)T_{j-3}^n - \frac{343}{5040}(c+s)T_{j-2}^n + \frac{1631}{2520}(c+2s)T_{j-1}^n \\ & + \left(1 - \frac{4935}{2016}s\right)T_j^n - \frac{1631}{2520}(c-2s)T_{j+1}^n - \frac{343}{5040}(c-s)T_{j+2}^n + \left(\frac{c}{280} - \frac{s}{420}\right)T_{j+3}^n \\ & + \left(\frac{c}{10080} - \frac{s}{20160}\right)T_{j+4}^n \dots (11) \end{aligned}$$

وعند تطبيق صيغة فون نيومان (Von Neumann) [4,7,8] للاستقرارية للمعادلة (11)

نحصل على :- $x \in [-1,1]$ حيث $G^2 - 1 = f(x)$

$$f(x) = b_0 + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3 + b_4x^4 + b_5x^5 + b_6x^6 + b_7x^7 + b_8x^8 \dots (12)$$

حيث المعاملات :-

$$h_0 = \left(\frac{971}{420}s\right)^2 - \frac{971}{210}s + \left(\frac{82}{63}c\right)^2$$

$$h_1 = \frac{1640}{315}s - \frac{79622}{6615}s^2 - \frac{1558}{2205}c^2$$

$$h_2 = -\frac{96097}{56700}c^2 - \frac{171}{315}s + \frac{3187723}{(630)^2}s^2$$

$$h_3 = \frac{142478}{198450}c^2 - \frac{4}{105}s - \frac{14609}{(105)^2}s^2$$

$$h_4 = \frac{945}{(630)^2}c^2 - \frac{s}{360} - \frac{11}{504}s^2$$

$$h_5 = \frac{1232}{198450}s^2 - \frac{224}{19845}c^2$$

$$h_6 = \frac{s^2}{1260} - \frac{665}{(630)^2}c^2$$

$$h_7 = \frac{s^2}{33075} - \frac{c^2}{(105)^2}$$

$$h_8 = \frac{s^2}{(1260)^2} - \frac{c^2}{(630)^2}$$

$$|G|^2 - 1 \leq 0 \quad \dots (13)$$

من (12) يكون شرط الاستقرارية :-

لتحقيق شرط الاستقرارية (13)، يتطلب أن نكون $f'(x) \leq 0$ لقيم $-1 \leq x \leq 1$ ،

فإذا كانت $x=0$ فإن $f(0) \leq 0$ لقيم

$$0 < c \leq 0.77 \quad 0 < s \leq \frac{420}{971} \left[1 + \frac{\sqrt{(63)^2 - (82c)^2}}{63} \right]$$

أما إذا كانت $x=-1$ فإن الشرط (13) يتحقق عندما $0 < s \leq 0.4$ لقيم $c > 0$ ويكون هذا

الأسلوب ذو استقرارية غير مشروطة لقيم $c, s > 0$ عندما $x=1$.

استخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد
حميده عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف

المعادلة (11) ليا (MEPDE) من الصيغة (5) مع المعامل $\lambda_2(c, s) = c > 0$ ومنه
نلاحظ أن خطأ القطع للمعادلة (11) من الرتبة الأولى .

(٢-٢) أسلوب فروقات أبوند مع النقاط التسع

Upwind Differences with Nine-point scheme (UD&9)

يتضمن هذا الأسلوب تقريب حدود الحمل باستخدام الحمل باستخدام الفروقات الخلفية من الرتبة الأولى وحدود التوصيل تقرب بواسطة الفروقات المركزية من الرتبة الثامنة وتكتب صيغتها بالشكل

$$T_j^{n+1} = -\frac{s}{20160}T_{j-4}'' - \frac{s}{420}T_{j-3}'' - \frac{343s}{5040}T_{j-2}'' + (c + \frac{1631}{1260}s)T_{j-1}'' + (1 - c - \frac{4935}{2016}s)T_j'' + \frac{1631}{1260}sT_{j+1}'' - \frac{343}{5040}T_{j+2}'' - \frac{s}{420}T_{j+3}'' - \frac{s}{20160}T_{j+4}'' \dots (14)$$

وعند تطبيق طريقة فون نيومان نحصل على المعادلة (12) حيث المعاملات

$$b_0 = (\frac{971}{420}s)^2 + \frac{971}{210}s(c-1) + 2c(c-1)$$

$$b_1 = \frac{1640}{315}s + 2c(1-c) - \frac{6193}{630}cs - \frac{79622}{6615}s^2$$

$$b_2 = -\frac{171}{315}s + \frac{1811}{315}cs + \frac{3187723}{(630)^2}s^2$$

$$b_3 = -\frac{4}{105} - \frac{53}{105}cs - \frac{14609}{(105)^2}s^2$$

$$b_4 = -\frac{11}{504} - \frac{23c+1}{630}s$$

$$b_5 = \frac{1232}{198450}s^2 - \frac{cs}{630}$$

$$b_6 = \frac{s^2}{1260}$$

$$b_7 = \frac{s^2}{33075}$$

$$b_8 = \frac{s^2}{(1260)^2}$$

لتحقيق شرط الاستقرارية (13) يجب أن يكون $f(x) \leq 0$ لقيم $x \in [-1, 1]$ فإذا كانت $x=0$ فإن $f(0) \leq 0$ لقيم $0 < s \leq \frac{420}{971} [1 - c + \sqrt{1 - c^2}]$ ولقيم $0 < c < 1$ إذا كانت $x=1$ ، فإن هذا الأسلوب ذو استقرارية غير مشروطة لجميع قيم $s, c > 0$ وإذا كانت $x=-1$ فإن $f(-1) \leq 0$ لقيم

$$0 < s \leq \frac{1}{2A} [- (E c + I) + \sqrt{(E c + I)^2 - 4A(B c + D c^2)}]$$

لكل $c > 0$ حيث أن $A=26.71085$, $B=-4$, $D=4$, $E=20.67302$, $F=1.024455E-07$, $H=1.227018E-07$, $I=-10.33651$

نلاحظ بأن (14) لها (MEPDE) من الصيغة (5) مع المعامل $\lambda_2(c, s) = -(1 - c) < 0$ وان خطأ القطع للمعادلة (14) من الرتبة الأولى .

(2-3) أسلوب الفروقات الموزون ذات النقاط التسع Nine-point with Weighted Difference scheme

نحصل على هذا الأسلوب بأخذ المعدل الموزون (Weighted Average) لحدود الحمل للأسلوبين (FTcs&9) و (UD&9) عند النقطة العقدية $(j, n)^{th}$ مع المعاملات Φ و $(1-\Phi)$ عل الترتيب بالصيغة

$$\frac{\partial T}{\partial x} \Big|_j^n = \Phi \frac{T_{j+1}'' - T_{j-1}''}{\Delta x} + \frac{(1-\Phi)}{10080(\Delta x)} [T_{j-4}'' + 36T_{j-3}'' + 686T_{j-2}'' - 6524T_{j-1}'' + 6524T_{j+1}'' - 686T_{j+2}'' - 36T_{j+3}'' - T_{j+4}''] \quad \dots(15)$$

يتمج (15) مع الفروقات الأمامية من الرتبة الأولى للمشتقة $\frac{\partial T}{\partial t}$ و الفروقات المركزية من

الرتبة الثامنة (8) للمشتقة $\frac{\partial^2 T}{\partial x^2}$ ، فإن المعادلة (9) تصبح بالصيغة :-

أستخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد
حميدة عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف

$$T_j^{n+1} = a_{-4}T_{j-4}^n + a_{-3}T_{j-3}^n + a_{-2}T_{j-2}^n + a_{-1}T_{j-1}^n + a_0T_j^n + a_1T_{j+1}^n + \\ a_2T_{j+2}^n + a_3T_{j+3}^n + a_4T_{j+4}^n \quad \dots (16)$$

حيث أن :-

$$a_{-4} = \frac{-(1-\Phi)c}{10080} - \frac{s}{20160}$$

$$a_{-3} = \frac{-(1-\Phi)c}{280} - \frac{s}{420}$$

$$a_{-2} = \frac{-343}{5040}((1-\Phi)c + s)$$

$$a_{-1} = \Phi c + \frac{1631}{2520}((1-\Phi)c + 2s)$$

$$a_0 = 1 - \Phi c - \frac{4935}{2016}s$$

$$a_1 = -\frac{1631}{2520}((1-\Phi)c - 2s)$$

$$a_2 = \frac{343}{5040}((1-\Phi)c - s)$$

$$a_3 = \frac{(1-\Phi)c}{280} - \frac{s}{420}$$

$$a_4 = \frac{(1-\Phi)c}{10080} - \frac{s}{20160}$$

المعادلة (16) لها عامل التكبير (Amplification Factor) لصيغة فون نيومان للاستقرارية
المعطى في (12) مع المعاملات :

$$\begin{aligned}
h_0 &= \left(\frac{971}{420}\right)^2 s^2 + \frac{971}{210} s(\Phi c - 1) + 2\Phi c(\Phi c - 1) + \left(\frac{82}{63}\right)^2 c^2 (1 - \Phi)^2 + \frac{164}{63} c^2 \Phi(1 - \Phi) \\
h_1 &= \frac{1640}{315} s + 2\Phi c(1 - \Phi c) - \frac{6193}{630} \Phi c s - \frac{79622}{6615} s^2 - \frac{171}{315} c^2 \Phi(1 - \Phi) - \frac{1558}{2205} c^2 (1 - \Phi)^2 \\
h_2 &= -\frac{96097}{56700} c^2 (1 - \Phi)^2 - \frac{1676}{630} c^2 \Phi(1 - \Phi) - \frac{171}{315} s + \frac{1811}{315} \Phi c s + \frac{3187723}{(630)^2} s^2 \\
h_3 &= \frac{142478}{198450} c^2 (1 - \Phi)^2 + \frac{34}{63} c^2 \Phi(1 - \Phi) - \frac{4}{105} s - \frac{53}{105} \Phi c s - \frac{14609}{(105)^2} s^2 \\
h_4 &= \frac{945}{(630)^2} c^2 (1 - \Phi)^2 + \frac{2\Phi c^2 (1 - \Phi)}{35} - \frac{(23\Phi c + 1)}{630} s - \frac{11}{504} s^2 \\
h_5 &= \frac{1232}{198450} s^2 - \frac{\Phi c s}{630} + \frac{\Phi c^2}{315} (1 - \Phi) - \frac{224}{19845} c^2 (1 - \Phi)^2 \\
h_6 &= \frac{s^2}{1260} - \frac{665}{(630)^2} c^2 (1 - \Phi)^2 \\
h_7 &= \frac{s^2}{33075} - \frac{c^2 (1 - \Phi)^2}{(105)^2} \\
h_8 &= \frac{s^2}{(1260)^2} - \frac{c^2 (1 - \Phi)^2}{(630)^2} \\
&\dots(17)
\end{aligned}$$

تكون MEPDE لها بالصيغة :-

$$\frac{\partial \tau}{\partial t} + u \frac{\partial \tau}{\partial x} - \left(\alpha - \frac{u \Delta x}{2} (\Phi - c)\right) \frac{\partial^2 \tau}{\partial x^2} + \frac{u(\Delta x)^2}{6} (\Phi - 6s - 3\Phi c + 2c^2) \frac{\partial^3 \tau}{\partial x^3} + o\{(\Delta x)^4\} = 0 \dots(18)$$

من (18) المعامل $\lambda_2(c, s)$ يكون

$$\lambda_2(c, s) = c - \Phi \dots(19)$$

عند وضع $\Phi = c$ في (19) نحصل على أسلوب من الرتبة الثانية مع تسع نقاط وتكون (FDE) من الصيغة (16) مع المعاملات

استخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد
حميدة عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف

$$\begin{aligned} a_{-4} &= -\frac{(1-c)c}{10080} - \frac{s}{20160} , & a_4 &= \frac{c(1-c)}{10080} - \frac{s}{20160} \\ a_{-3} &= \frac{-c(1-c)}{280} - \frac{s}{420} , & a_3 &= \frac{c(1-c)}{280} - \frac{s}{420} \\ a_{-2} &= \frac{-343}{5040} ((1-c)c + s) , & a_2 &= \frac{343}{5040} ((1-c)c - s) \\ a_{-1} &= c^2 + \frac{1631}{2520} ((1-c)c + 2s) , & a_1 &= -\frac{1631}{2520} ((1-c)c - 2s) \\ a_0 &= 1 - c^2 - \frac{4935}{2016} s & & \dots (20) \end{aligned}$$

ولتحقيق شرط الاستقرار (13) ، يتطلب أن تكون $f(x) \leq 0$ لقيم $-1 \leq x \leq 1$ أي بعد تعويض (20) في (17) و الأخيرة في (12) نلاحظ أن هذا الأسلوب ذو استقرار غير مشروطة لجميع قيم $s, c > 0$ عندما $x=1$ وعندما $x=0$ فإن $f(0) \leq 0$ إذا تحقق

$$0 < s \leq \frac{420}{971} \left[1 - c^2 + \frac{1}{63} \sqrt{(63)^2 - 361c^4 - (82)^2 c^2 + 3116c^3} \right]$$

وهذا ممكن لقيم $0 < c < 1$ ولقيم $3.3 \leq c \leq 5$ حيث $f(0) \leq 0$ لكن تعطي $s < 0$. وإذا كانت $x=-1$ فإن $f(-1) \leq 0$ لقيم

$$0 < s \leq \frac{1}{2.4} \left[-(Ec^2 + I) + \sqrt{(Ec^2 + I)^2 - 4.4(Fc^2(1-c)^2 + Hc^2(1-c) + Bc^2 + Dc^4)} \right]$$

لكل $c > 0$ حيث كل من A,B,D,E,F,H و I معرفة كما في البند (2-2) .
من الممكن اعتبار (16) تعميما للأساليب السابقة بالاعتماد على الوزن Φ ، مثلاً عند وضع $\Phi = 0$ نحصل على أسلوب (FTCS&9) معادلة (11) وبالمثل نحصل على أسلوب (UD&9) معادلة (14) عند وضع $\Phi = 1$ ومن الواضح أننا نحصل عند وضع $\Phi = c$ على أسلوب الفروقات الحديث (RDS&9) (Recently Difference scheme) معادلة (16) ويكون خالياً من أي صيغة من صيغ الانتشار المصطنع (Artificial Diffusion) كما يكون

نظرياً وعملياً أفضل من الأساليب السابقة وهذا ما سنلاحظه في الدراسة العددية لها وضمن الشروط المحددة للحصول على النتائج .

ولحساب القيم $\tau_1^{n+1}, \tau_2^{n+1}, \tau_3^{n+1}$ و $\tau_{m-1}^{n+1}, \tau_{m-2}^{n+1}$ و τ_{m-3}^{n+1} حيث لا يمكن حسابها باستخدام (16) وذلك لأنها نقاط تقع خارج حدود الشبكة العقدية (Nodal Network) ، وبما أن قيمة الدالة عند النقاط الواقعة على حدود الشبكة العقدية تساوي إلى معدل النقطتين القريبة منها أي أن :-

$$T_0 = \frac{T_{-1} + T_1}{2} \rightarrow T_{-1} = 2T_0 - T_1$$

$$T_{-1} = \frac{T_{-2} + T_0}{2} \rightarrow T_{-2} = 3T_0 - 2T_1$$

$$T_{-2} = \frac{T_{-3} + T_{-1}}{2} \rightarrow T_{-3} = 4T_0 - 3T_1$$

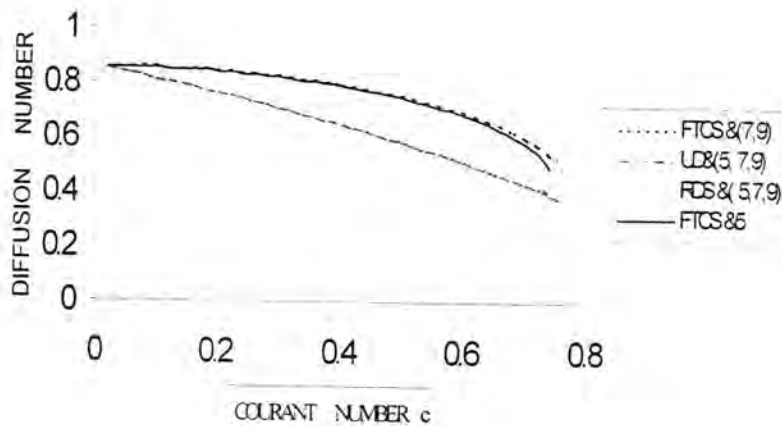
$$T_m = \frac{T_{m-1} + T_{m+1}}{2} \rightarrow T_{m+1} = 2T_m - T_{m-1}$$

$$T_{m+1} = \frac{T_m + T_{m+2}}{2} \rightarrow T_{m+2} = 3T_m - 2T_{m-1}$$

$$T_{m+2} = \frac{T_{m+1} + T_{m+3}}{2} \rightarrow T_{m+3} = 4T_m - 3T_{m-1}$$

أما بقية النقاط يتم حسابها باستخدام المعادلة (16) .

استخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد
حميدة عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف



شكل (٢) يوضح لتقوية كل من (٥،١)، (٧،١)، (٩،١)

النتائج العددية

سنناقش الاختبار الذي اجري على المسألة ، ثم نقارن بين أساليب الفروقات من حيث القيمة المطلقة لمعدل الخطأ (Average |error|) واكبر قيمة مطلقة للخطأ (Maximum |error|)

عند الزمن النهائي .

ومن الجدير بالذكر انه يمكن الحصول على أصغر قيمة مطلقة لمعدل الخطأ وأحياناً توجد أخطاء تكون كبيرة في بعض نقاط الشبكة لذلك تضمنت الدراسة مقارنة الأساليب أكبر قيمة مطلقة للخطأ [1,5,6]

في المجال $0 < x < 9$ ، نقيم شبكة الفروقات المحددة بأبعاد منتظمة $\Delta x = 0.025$ ونستخدم القيم المحددة للاختبار :

$c=0.4, u=0.8$ و $\alpha=0.0005, 0.005, 0.002$ نقيم $s=0.01, 0.1, 0.04$

حيث يكون الحل المضبوط للمسألة قيد البحث في هذه الحالة هو (2) مع $x_0 = 1$.

والنتائج موضحة في الجداول (1) ، (2) و (3) عند الزمن النهائي $T=5$.

في المجال $0 \leq x \leq 1$ ، نقسم شبكة الفروقات المحددة بأبعاد منتظمة $\Delta x = 0.01$ ونستخدم القيم المحددة للاختبار :

$c=0.1, u=0.6$ و $\alpha=0.0006, 0.006$ لقيم $s=0.01, 0.1$

حيث يكون الحل المضبوط للمسألة قيد البحث في هذه الحالة هو (2) مع $x_0 = 0.2$ والنتائج موضحة في الجداول (4) و (5) عند الزمن النهائي $T=1$

الجدول (1): النتائج العددية لقيم

$\alpha=0.005, c=0.4, s=0.1$

Methods	Average error	Max. error
UD&3	5.063546E-03	6.920746E-02
UD&5	1.261649E-03	2.394776E-02
UD&7	1.379322E-03	2.534327E-02
UD&9	3.993405E-04	2.560042E-02
FTCS&3	9.128369E-03	1.990259E-01
FTCS&5	1.453303E-03	1.422292E-01
FTCS&7	3.393943E-04	1.555538E-02
FTCS&9	2.123775E-04	1.874575E-02
RDS&3	2.096507E-04	2.52539E-03
RDS&5	1.335449E-04	1.688812E-02
RDS&7	4.023869E-05	8.834722E-04
RDS&9	1.515414E-05	9.246515E-04

أستخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد
حميده عوده مزبان الحميدي و عيد الستار جابر علي السيف

الجدول (2): النتائج العددية لقيم

$$\alpha=0.0005, c=0.4, s=0.01$$

Methods	Average error	Max. error
UD&3	4.752425E-03	1.563009E-01
UD&5	1.929324E-04	7.845717E-03
UD&7	1.917846E-04	7.111328E-03
UD&9	1.003001E-04	7.188740E-03
FTCS&3	UNSTABLE	UNSTABLE
FTCS&5	UNSTABLE	UNSTABLE
FTCS&7	UNSTABLE	UNSTABLE
FTCS&9	UNSTABLE	UNSTABLE
RDS&3	4.384182E-03	9.623561E-02
RDS&5	4.500736E-02	4.612668
RDS&7	8.598913E-05	3.891182E-03
RDS&9	3.876257E-05	4.306046E-03

الجدول (3): النتائج العددية لقيم

$$\alpha=0.002, c=0.4, s=0.04$$

Methods	Average error	Max. error
UD&3	5.577684E-03	1.075763E-01
UD&5	5.836730E-04	1.473367E-02
UD&7	6.122184E-04	1.687409E-02
UD&9	2.700138E-04	1.748567E-02
FTCS&3	UNSTABLE	UNSTABLE
FTCS&5	UNSTABLE	UNSTABLE
FTCS&7	UNSTABLE	UNSTABLE
FTCS&9	UNSTABLE	UNSTABLE
RDS&3	1.273862E-03	2.452372E-02
RDS&5	4.873631E-05	5.049255E-03
RDS&7	7.861840E-07	5.023745E-05
RDS&9	3.962509E-07	2.305454E-05

استخدام أساليب الفروقات المحددة ذات النقاط التسع لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد
حميد عوده مزبان الحميدي و عبد الستار جابر علي السيف

الجدول (4): النتائج العددية لقيم

$$\alpha=0.006 \text{ و } c=0.1 \text{ و } s=0.1$$

Methods	Average error	Max. error
UD&3	1.565479E-02	6.373638E-02
UD&5	2.479141E-02	3.761341E-01
UD&7	1.574402E-02	6.387153E-02
UD&9	3.953051E-04	1.483367E-02
FTCS&3	2.288415E-03	9.495318E-03
FTCS&5	1.059814E-02	4.722121E-01
FTCS&7	2.221802E-03	9.412259E-03
FTCS&9	6.577255E-05	2.443135E-03
RDS&3	1.200993E-02	5.270627E-02
RDS&5	9.821607E-03	4.616575E-01
RDS&7	5.500992E-04	6.164849E-02
RDS&9	1.834112E-05	8.232147E-04

الجدول (5): النتائج العددية لقيم

$$\alpha=0.0006 \text{ و } c=0.1 \text{ و } s=0.01$$

Methods	Average error	Max. error
UD&3	2.989718E-02	2.387424E-01
UD&5	2.974546E-02	2.388053E-01
UD&7	2.9904283E-02	2.388026E-01
UD&9	6.007069E-04	2.568949E-02
FTCS&3	1.836994E-02	1.70192E-01
FTCS&5	1.066424E-02	1.248983E-01
FTCS&7	1.066038E-02	1.228066E-01
FTCS&9	1.786341E-07	1.391437E-05
RDS&3	1.023790E-02	9.130153E-02
RDS&5	7.850856E-04	8.562326E-03
RDS&7	9.040865E-04	9.818494E-03
RDS&9	1.002513E-06	5.765341E-05

الاستنتاجات

ناقشنا في هذا البحث كيفية تحسين أساليب الفروقات المحددة المستخدمة لحل معادلة الانتقال الحراري ذات البعد الواحد لأهميتها في التطبيقات الهندسية والفيزيائية ومن أهم الاستنتاجات التي توصلنا إليها :-

- ١- بالامكان تحسين أساليب الفروقات المحددة بواسطة معادلة الفروقات المعدلة المكافئة للمعادلة النفاضلية (MEPDE) حيث أنها تسمح بضم معادلتين من معادلات الفروقات المحددة والتي لها نفس رتبة خطأ القطع لتعطي أسلوباً برتبة أعلى كما تستخدم لتحديد الوزن المستخدم في الفروقات لغرض إعطاء نتائج أكثر دقة .
- ٢- تعتمد الدقة العددية على عدد النقاط العقدية المختارة ، ونستنتج من النتائج العددية والموضحة في الجداول الخمس السابقة بأن زيادة عدد نقاط الشبكة يعطي نتائج أكثر دقة ، حيث حصلنا على قيمة مطلقة لمعدل الخطأ أقل مما هي عليه في أساليب الفروقات المحددة ذات الثلاث ، الخمس والسبع نقاط .
- ٣ - نلاحظ من خلال الشكل (٢) والذي يوضح رسم منحنى بين S و C التي تم حساب الدقة عندها ومن خلال المقارنة بين مناطق الاستقرار والدقة بأنه لا يوجد فرق كبير في استقرارية كل من طريقة الخمس ، السبع و التسع نقاط ما عدا استقرارية طريقة (7,9) (FTCS & 5) أكبر من طريقة (FTCS&5) .

REFERENCES

- [1] AL-saif,A.J. and Mohammed , A,J. "Finite Difference Methods Involving Five-point Formula for convection – Diffusion Equation "in Basrah J. science , A,vol.16 (1998)

- [2] Noye, B.J. and Hymen ,k.J., "An Accurate Five- point Explicit Finite Difference Method For solving the One – Dimensional Linear Diffusion Equation " , Computational Techniques and Applications :CTAC – 85 (1986)
- [3] Noye, B.J.and Hyman ,k.J., "Accurate Finite Difference Method For solving the advection-diffusion Equation " , Computational Techniques and Applications :CTAC – 85 (1986)
- [4] Mitchell ,A.R. and Griffiths,D.F., "The Finite Difference Method in Partial Differential Equation " ,University of Dundee, Scotland . (1980)
- [5] Noye,B.j. and Tan,H.H., "Third Order Semi-Implicit Finite Difference Methods For Solving The One –Dimensional Convection-Diffusion" (1988)
- [6]] Noye,B.j., "Time-Splitting The One-Dimensional Transport Equation " ,Elsevier Science Publishers B.V. pp.271-295(1987)
- [7]] Noye,B.j., "Numerical Solution of Partial Differential Equations " ,South Australia. North-Holland(1981)
- [8] Smith ,D.G., " Numerical Solution of Partial Differential Equations Finite Difference Method". London (1978)

استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية وتشخيص الأنواع التابعة لجنس *Azospirillum*

خليل مصطفى خماس ، ندى زكي مهدي ، ليلي عبد الحميد سعيد
قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

ABSTRACT

151 isolates were identified of *Azospirillum* out of 289 nitrogen fixing bacteria. These isolates were obtained from soil rhizosphere and sterilized rice root of different regions in Iraq. Utilizing biochemical and physiological characters, the isolates were differentiated into three species, *A. brasilense*, *A. Lipoferum*, and *A. irakense* and their numbers were 88, 16 and 47 respectively. All isolates of *A. irakense* (except two) were obtained from sterilized root. Using modified Red Congo medium for isolation, purification and identification. They were classified into three groups (A, B and C) according to colony colors. The results indicated that there is a relationship between biochemical characters and textures, shapes and colors of colonies. It seemed that there was a similarity between colonies of the same group, which differ from the other groups.

الخلاصة

شخصت ١٥١ عزلة تعود لجنس *Azospirillum* من مجموع ٢٨٩ عزلة مثبتة للنتروجين تم الحصول عليها من منطقة الرايزوسفير وجذر نبات الرز لمناطق مختلفة من العراق، وباستخدام الاختبارات الكيموحيوية والخصائص الفسيولوجية الأخرى يمكن توزيع العزلات على الأنواع: *A. brasilense*، *A. lipoferum*، و *A. irakense* وبأعداد بلغت ٨٨، ١٦ و ٤٧ على التوالي. كانت جميع عزلات النوع *A. irakense* (باستثناء عزلتين) من جذر النبات المعقم، استخدمت أطباق وسط الكونغو الحمراء المحور للعزل والتنقية والتشخيص، أظهرت مستعمرات العزلات اختلافا واضحا في شكل وتوزيع الصبغة فيها، لذا فقد قسمت إلى ثلاثة مجاميع (A, B, C). دلت النتائج على وجود ارتباط وصلة وثيقة بين الاختبارات أو الخصائص الكيموحيوية مع نتائج اختبارات شكل المستعمرة وانتشار الصبغة والمناطق التي كونتها، كان

استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية وتشخيص الانواع التابعة لجنس *Azospirillum*
خليل مصطفى خماس وجماعته

هناك تشابه لكل عزلات المجموعة الواحدة لطبيعة المستعمرات في الوقت الذي اختلفت فيه عن المجموعات الأخرى.

المقدمة

منذ اعادة عزل بكتريا *Azospirillum* حظيت هذه البكتريا بدراسة مكثفة بسبب تأثيرها المفيد على بعض مجاميع المحاصيل النباتية، وتمتلك هذه البكتريا عدة اليات تشتمل على انتاج الهورمونات مثل auxin ، cytokinine وغيرها ^(٢) ، وتنشيط النتروجين وتسريع نمو النبات ^(٣) ، وعادة تستعمر قشرة الجذر ومنطقة الرايزوسفير لمجموعة كبيرة من النباتات المهمة زراعيًا ^(٤) . هنالك لحد الان خمسة انواع مكتشفة تقع ضمن جنس *Azospirillum* : *A. brasilense* ، *A. lipoferum* ، *A. amazonense* ، *A. halopraeferens* و *A. irakense* ^(٥,٦,٧) . اعتمد في تشخيص هذه الانواع على الصفات المظهرية (phenotype characters) (تشمل الشكل الظاهري والصفات الكيموحيوية) واستخدام التقنية الجزيئية (DNA/DNA hybridization) ^(٨,٧) اضافة الى وسائل اخرى مستندة على التقنية الجزيئية ^(٩) ومع كل هذا بقيت الصعوبات كثيرة نتيجة للتشابه بين هذه الانواع عند نموها على الاوساط الزراعية واطالة فترة العزل والتقنية والتشخيص فضلا عن العدد الكبير من الاختبارات الكيموحيوية اللازمة لتفريق هذه الانواع ^(١٠) ، اضافة لوجودها مع مجاميع اخرى من البكتريا المثبتة للنتروجين وارتباط هذه المجاميع بشدة مع التربة وجذور النباتات مما جعل العزل والتنقية امرا في غاية الصعوبة ^(١١,١٢) ، كما وان بكتريا *Azospirillum* تعد بطيئة النمو وزمن الجيل طويل نسبيا مقارنة مع الاجناس البكتيرية الأخرى المتواجدة معها ^(١٣) . ويتم عزل *Azospirillum* روتينيا من خلال تمييزها على وسط Nfb الأغثائي ^(١٤) الذي يسمح بنمو مجاميع بكتيرية اخرى مثبتة اخرى للنتروجين ^(١٥) ، لذا اقترح الباحثون بضرورة تطوير وسط انتقائي لعزل هذه البكتريا ^(١٥) او من خلال تقليل تركيز المصدر الكربوني في الوسط ^(١٤) او باستخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي ^(١٢) . استخدمت الصباغ الحيوية بصورة روتينية لصبغ البكتريا والاحياء المجهرية الأخرى ^(١٦,١٧) واعتبر ^(١٨) ان التصبغ احد طرق التشخيص الجرثومي كاصطبغ المستعمرة في الوسط الزراعي او عدم اصطبغها او قدرة الصبغة على تثبيط بعض الانواع البكتيرية ليتحول الوسط من عام الى وسط انتقائي .

كانت صبغة الكونغو الحمراء ذات فائدة كبيرة في تشخيص بكتريا *Pasteurella pestis* ^(١٩) او تشخيص *Shigella sonnei* ^(٢٠) ، كما وان هذه الصبغة قد استخدمت لتفريق بكتريا

Rhizobium عن بقية الاجناس^(٢١). وكان استخدام هذه الصبغة في الوسط الزراعي لعزل بكتريا *Azospirillum* عن بقية انواع الاجناس المثبتة للنتروجين مثل *Enterobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella* و *Pseudomonas* والمتواجدة معها قد استخدم من قبل Caceres^(١٢) و اوضح اهمية الصبغة في تمييز جنس *Azospirillum* عن بقية المجاميع الاخرى، حيث ان الاخيرة لا تمتص الصبغة عكس عزلات جنس *Azospirillum*. وعندما استخدمت هذه الصبغة لهذا الغرض لم تتم الاشارة او التطرق الى قابلية الصبغة على تفريق او تمييز الانواع ضمن هذا الجنس^(22,12,3)، سوى مذكره (Bashan and Levanony)^(٢٣) من ان الوسط الحاوي على صبغة الكونغو الحمراء مع بعض المضادات الحيوية استطاع تمييز عزلات النوع *A. brasilense* عن بقية الانواع. وفي دراسة لاحقة^(٢٤) استطاعت وباستخدام هذه الصبغة من تمييز ثلاثة انواع ضمن جنس *Azospirillum* وذلك من خلال اشكال المستعمرات وشدة الصبغة وانتشارها.

هدفت هذه الدراسة الى تقييم استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي الصلب لعزل وتنقية وتشخيص العزلات لانواع جنس *Azospirillum* وبيان مدى الصلة بين الخصائص او الصفات الظاهرية والكيموحيوية مع خصائص المستعمرات النامية على وسط هذه الصبغة. المواد وطرق العمل

الايوساط الزراعية : استخدم نوعين رئيسيين من الاوساط:

١. وسط Nfb الاغثاني الشبه الصلب (semi-solid) والخالي من النتروجين والخاص لعزل بكتريا *Azospirillum*^(١) والذي احتوى على المكونات التالية (غم/لتر):
 NaCl (0.1)، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.2)، K_2HPO_4 (0.5)، DL.malic acid (5)، CaCl_2 (0.02)، Na_2MoO_4 (٠,٠٠٢)، $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.1)، (٤) مل من محلول EDTA (١,٦٤ % وزن/حجم)، (٢ مل) Bromothymol blue (٠,٥ % في (٠,٢) KOH). ٠,٠٠١ بيوتين (Biotin)، (٤,٨) KOH، (1.8) اكار وضبط الاس الهيدروجيني على 6.8 وعند استخدام مصادر كربونية اخرى للاختبارات استبدل المصدر الكربوني اعلاه بينما بقيت المحتويات الاخرى كما هي.
٢. وسط الكونغو الحمراء (RC)^(١٢): استخدم هذا الوسط للعزل والتنقية حسب طريقة^(١٢) مع اجراء بعض التحويلات على مكونات الوسط وكالاتي (غم/لتر):

استخدام صيغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية وتشخيص الانواع التابعة لجنس *Azospirillum* خليل مصطفى خداس وجماعته

NH_4Cl (1), , NaCl (0.1), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.2), K_2HPO_4 (0.5), DL-malic acid (5) , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.015) , (0.2) مستخلص الخميرة , 0.001 بيوتين , KOH (4.8) ، (٢٠) اكار وتم ضبط الاس الهيدروجيني على ٦,٨ بواسطة 0.1N KOH

جميع العينات وطرق العزل

اخذت عدة نباتات (٣ الى ٥) من نبات الرز مع كتلة التربة المحيطة به وبصورة عشوائية للحقل الواحد لثلاث مناطق تبعد الواحدة عن الاخرى بحدود ٢٠ كيلومتر في كل محافظة من محافظات النجف والقادسية وديالى وحفظت العينات في اكياس بلاستيكية معقمة وبدرجة ٤م واستخدمت في مدة اقصاها اسبوع بعد الجمع. اخذت عينات من تربة الرايزوسفير المحيطة بالجذور ، وكذلك من جذور نفس النبات (٣ نباتات). وغسلت عدة مرات بالماء المعقم، وثم عوملت مع ١% من Chloramine T وغسلت بعدئذ لمرات عدة حسب طريقة (٢٥)، سحقت الجذور بعدها او قطعت الى قطع صغيرة (١ الى ٢سم) ووضعت في انايب احتوت على ٥ مل من وسط Nfb ثم حضنت بحرارة ٣٥م ولمدة ٧٢ ساعة . وبعد ظهور النمو البكتيري على شكل حلقة بيضاء (Pellicle) كثيفة تحت السطح (٣ الى ٧ ملم) على وسط Nfb ثم تخطيطها (streaked) على وسط RC وحضنت بحرارة ٣٥م ولمدة ٧٢ ساعة وبعد ظهور المستعمرات ذات اللون الاحمر ثم النقاطيا وتخطيطها مرة ثانية على اطباق وسط RC المحور وحسب مذكره (١٢) لغرض التأكد من نقاوة المستعمرات عن المجاميع البكتيرية الاخرى التي ظهرت معها عند عملية التخطيط الاولى والتي كانت عديمة اللون.

التشخيص

اخضعت جميع العزلات الى الاختبارات الكيموحيوية والفسيولوجية باستخدام مجموعة من المصادر الكربونية المختلفة، اضافة الى ملاحظة الشكل الخارجي للخلايا بواسطة المجهر الضوئي (جدول ١ من النتائج) اعتمادا على ما اشار له (12,8,7,6)، وكما استخدمت ثلاث سلالات بمثابة type strains وهي Sp7 (ATCC 29145) للنوع *A. brasilense* ، Sp59b (ATCC 29707) للنوع *A. lipoferum* و KBC1 للنوع *A. irakense* كمصدر للمقارنة وتقييم النتائج

درست اشكال المستعمرات والوانها وانتشار صبغة الكونغو الحمراء بواسطة *disecting microscope*.

قياس فعالية انزيم النيتروجينيز

لقت الانابيب الحاوية على ٥ مل من وسط Nfb للعزلات النامية على وسط RC المحور وحضنت بحرارة ٣٠ م ولمدة ٧٢ ساعة . قدرت فعالية انزيم النيتروجينيز بطريقة اختزال الاستيلين^(٢٦) وتم التعبير عن النتائج من خلال تحرر غاز الاثيلين (نانومول / مل/ ساعة) .

النتائج والمناقشة

من مجموع ١٦٢ مستعمرة حمراء نامية على وسط RC المحور شبيهة ببكتريا *Azospirillum* اعطت ١٥١ عزلة منها نتائج ايجابية لفحص اختزال الاستيلين ، فيما اهملت بقية العزلات التي لم تظهر اية فعالية مقبولة لهذا الفحص وظهرت ١٥ عزلة فعالية منخفضة لانزيم النيتروجينيز تراوحت بين ٧ الى ١٥ نانومول C_2H_4 /مل / ساعة وهي ضمن الحدود المقبولة^(27,15) ، اما بقية العزلات (١٣٦ عزلة) فتراوحت فعالية النيتروجينيز ما بين ٣٠ الى ٣٢٠ نانومول C_2H_4 /مل / ساعة .

درست العزلات (١٥١ عزلة) تفصيليا وقسمت الى ثلاثة مجاميع B,A و C استنادا الى الاختبارات الكيموحيوية والخصائص الفسيولوجية والمظهر الخارجي، اذ بلغ عدد العزلات ٤٧،١٦،٨٨ لكل مجموعة على التوالي .

يشير الجدول (١) الى ان المجموعة A لم تستطع استخدام السترات والمانيتول والسكروروز، وكذلك الكلوكوز (باستثناء ٤ عزلات من اصل ٨٨)، فيما لم تظهر الحاجة الى البيوتين ولم تنتج حامضا من سكري الفركتوز او الكلوكوز لكنها كانت قادرة على استخدام D-alanine اضافة الى ان اشكال خلاياه كانت تشبه الضمة قصيرة ثابتة الشكل واستنادا الى^(8,7,6) فان تلك الصفات تعود للنوع *A. brasilense* .

اما عزلات المجموعة B (١٦ عزلة) وكما يتضح ذلك من جدول (١) فكانت بحاجة الى البيوتين ، منتجة حامضا من الكلوكوز والفركتوز، واستخدمت السترات و الكلوكوز والمانيتول والكليسرول بينما لم تستخدم السكروروز وبعض السكريات الثنائية، هذا اضافة الى ان

استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية وتشخيص الانواع التابعة لجنس *Azospirillum* خليل مصطفى خماس وجماعته

الخلايا كانت متعددة الاشكال (بعضها قصير والآخر طويل) واستنادا الى (8,7,6) فان هذه المجموعة تعود للنوع *A.lipoferum*.

والمجموعة C والتي بلغ عدد عزلاتها ٤٧ فالجدول (١) يبين ان عزلاتها ليست بحاجة الى البيوتين واستخدمت الكلوكوز لكن لم تنتج حامضا منه، واستخدمت السكروز، المالتوز، السليبيوز و trehalose ولم تستخدم المانتول او الكليسرول اضافة الى قابليتها على تحلل البكتين (بعد ٧ الى ٩ ايام) من الحضان كما انها سريعة الحركة على وسط Nfb وذات خلايا نحيفة وهذه الصفات واستنادا الى (28,10,7) تنطبق على النوع *A.irakense* , لقد استبعدت المجموعة C او بعض عزلاتها من ان تكون ضمن النوع *A. amazonense* (وجود شبه كبير بين النوع *A. irakense* من الناحية الكيموحيوية)^(٧) فقد استطاعت جميع عزلات المجموعة C من النمو على وسط Nfb الحاوي على ٣% NaCl وحللت البكتين واستطاعت النمو وتثبيت النتروجين في اس هيدروجيني مقداره 7.5 اضافة الى انها اظهرت swarming على الوسط الحاوي على 7.5غم /لتر من الاكار (soft agar) (29,10) . وبذلك فان كل هذه الصفات تميز النوع *A. irakense* عن *A. amazonense* ، كما استبعدت عزلات المجاميع الثلاث (C,B,A) من ان تكون هي او بعضها تعود للنوع *A. halopraeferens* لكون هذا النوع لا ينمو على وسط RC ولا عند اس هيدروجيني مقداره ٦,٠ كما لا ينمو بحرارة ٣٥ م° (٥) ، علما ان جميع العزلات قد تم تمييزها بهذه الدرجة الحرارية .

جدول (١) نتائج الاختبارات التفريقية الكيموحيوية للعزلات بين مجاميع

بكتريا *Azospirillum* (١)

المجموعة C ^(c)	المجموعة B ^(b)	المجموعة A ^(a)	الفحص
ثابتة الشكل تشبه الضمة خلاياها رخيفة	متعددة الاشكال ومتغيرة (طويلة وقصيرة)	قصيرة تشبه الضمة، ثابتة الشكل	شكل الخلايا على وسط Nfb
-	-	-	صيغة كرام
+	+	+	Oxidase
+	✓	+	Catalase
-	+	-	الحاجة الى البيوتين
-	+	-	تكوين حامض من الفركتوز والكلوكوز
			استخدام المصادر الكربونية:-
+	+	±	D-glucose
-	+	-	D.mannitol
-	+	-	Citrate
+	-	-	Sucrose, Maltose Trehalose, D -Cellobiose Lactose
-	+	+	Glycerol
✓	-	+	D. alanine
+	+	+	Lalanine, malate Lactate, succinate Acetate
+	-	-	تحلل البكتين (٧ الى ٩ يوم)

(١) جميع العزلات البالغة ١٥١ قد اختبرت

+ = جميع العزلات موجبة للفحص

- = جميع العزلات سالبة للفحص

± = أكثر من ٩٠% من العزلات سالبة للفحص

✓ = النتيجة متغيرة (سالبة او موجبة) بين العزلات

(a) = مجموعة A = عزلات تعود للنوع *A. brasilense* وعددها ٨٨ عزلة(b) = مجموعة B = عزلات تعود للنوع *A. lipoferum* وعددها ١٦ عزلة(c) = مجموعة C = عزلات تعود للنوع *A. irakense* وعددها ٤٧ عزلة

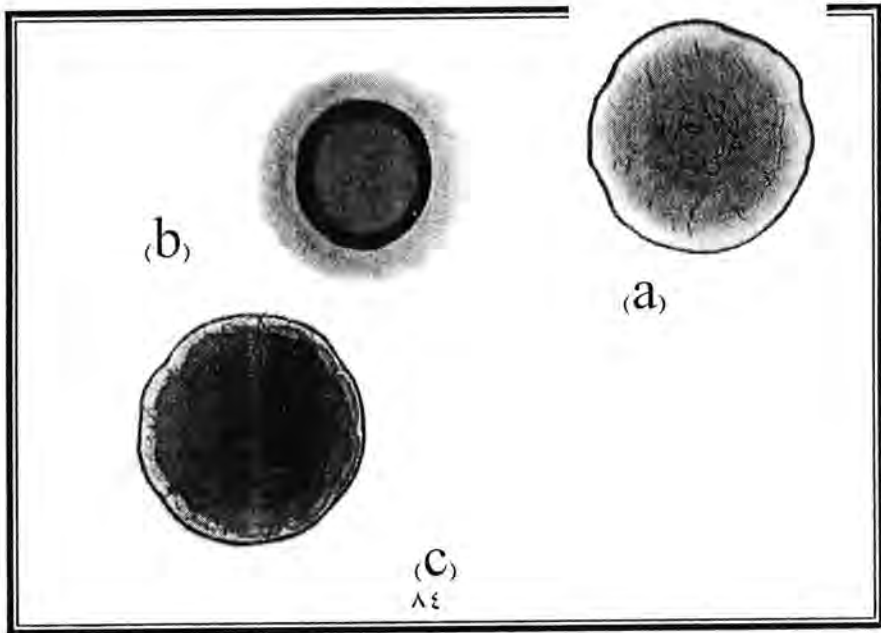
وعند دراسة مستعمرات العزلات لكل مجموعة كلا على حدة على وسط الكونغو الحمراء المحور بعد اكتمال دراستها من الناحية الكيموحيوية والشكل الظاهري ولايجاد صلة او علاقة في هذا الجانب فقد اظهرت مستعمرات كل مجموعة اختلافا واضحا عن المجموعة الاخرى،

استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية وتشخيص الانواع التابعة لجنس *Azospirillum*
خليل مصطفى خماس وجماعته

وتشابهت عزلات كل مجموعة مع بعضها البعض على هذا الوسط وخاصة عند استمرار حضن المستعمرات لمدة اسبوع.

يوضح الشكل (1) ان مستعمرات المجموعة A والتي شخّصت ضمن النوع *A. brasilense* (من هذه الدراسة) قد تميزت بامتصاصها الشديد للصبغة ولونها الاحمر الغامق بعد ثلاثة ايام من الحضن، وكان شكل المستعمرة بعد اسبوع من الحضن ذات تفصص تحت الحافة الخارجية فيما انتشرت الصبغة في معظم المستعمرة ولغاية المنطقة الواقعة تحت حافة المستعمرة تحيطها منطقة فاتحة اللون ضيقة وتحدها من الخارج حافة المستعمرة المائلة الى التفصص نوعا ما. بدت المستعمرات جافة وملتصقة بالوسط الزراعي وذات لون احمر غامق منذ بداية اليوم الثالث وحتى اليوم العاشر ولم تظهر اختلافات واضحة بين مستعمرات العزلات لهذه المجموعة (باستثناء عزلتين) كانت حافتهما لمساء غير مفصصة.

اما المجموعة B والتي وضعت ضمن النوع *A. lipoferum* فقد كانت مستعمراتها (كما في الشكل 1) مؤلفة من ثلاثة مناطق مختلفة اللون بحيث تركزت الصبغة الحمراء في مركز المستعمرة وامتدت بالتساوي لتشغل حيزا كبيرا من المستعمرة، واطيبت بحلقة دائرية سوداء والتي كانت محاطة من الخارج بحلقة دائرية فاتحة اللون شاحبة للون، واستمرت كذلك حتى اليوم العاشر، اما المستعمرة فكانت محدبة اذ كانت جميع العزلات المكونة للمستعمرات متجانسة الشكل ومتشابهة مع بعضها البعض ومع سلالة السيطرة Sp59b.



شكل (١) : مستعمرات الانواع التابعة لجنس *Azospirillum* بعد اسبوع من الحضان

A. brasiliense (a ، *A. lipoferum* (b ، *A. irakense* (a

قوة التكبير ٢٥X

اما مستعمرات المجموعة C والتي كانت ضمن النوع *A. irakense* فقد تميزت بامتصاصها الصبغة ولكن بصورة اخف وكان لون المستعمرة وردي يميل الى البرتقالي، وذات شكل دائري ومظهر لامع، فيما انتشرت الصبغة في معظم المستعمرة واطهرت بداخلها خطوطا شعاعية غير منتظمة تركزت في الاطراف بعد اليومين الثالث والرابع، وسرعان ما اتجهت هذه الخطوط نحو المركز بعد اسبوع من الحضان (شكل ١) وكان شكل المستعمرة مرتقعا اشبه بالقبة، فيما كان شكل المستعمرات لجميع العزلات متطابقا ومتشابهها الى حد بعيد مع سلالة السيطرة KBC1 .

ومما يثير الانتباه عدم نمو جميع عزلات المجموعتين A,B عندما استبدلت صبغة الكونغو الحمراء بصبغة المثيل الحمراء وعلى نفس الوسط وذلك عندما تمت زيادة تركيز الصبغة الى ١٥٠ ملغم/ لتر بدلا من التركيز ٣٧,٥ ملغم/لتر (وهذا التركيز هو الذي استخدم في جميع العزلات مع صبغة الكونغو الحمراء) اما المجموعة C فقد نمت جميع عزلاتها على هذا التركيز الاعلى، وهي نفس الملاحظة التي اشير لها في دراسة سابقة^(٢٤) ولكن كان التركيز المستعمل هو ٢٠٠ ملغم/ لتر من صبغة المثيل الحمراء وعليه ممكن استخدام هذه الصبغة كوسط انتقائي للنوع *A. irakense* لتمييزها عن النوعين السابقين بالتركيز المشار له اعلاه، وقد اشار^(١٧) ان بعض الصبغات المثبطة لانواع بكتيرية معينة او ذات تاثير سمي ليتحول الوسط من عام الى وسط انتقائي، وتتفق هذه الظاهرة مع ما توصلت اليه اللامي^(٢٠) حول تأثير تركيز صبغة المثيل الحمراء على نمو بكتريا *Edwardsiella* . ولابد من الاشارة الى ان صبغة الكونغو الحمراء تمتاز بصغر وزنها الجزيئي وسرعة ذوبانها في الماء اضافة الى انتشارها داخل المستعمرة^(١٨) ويشار الى نفاذية سطح الخلية لهذه الصبغة والتي تتحد مع السكريات المتعددة والبروتين لتشكل معقد ما يلث ان يتغير من حالة لآخرى بسبب العملية الايضية او النمو او طرح الصبغة نتيجة العمليات الايضية نحو مركز المستعمرة^(٢٠)، وربما يعود التباين في الالوان للمستعمرة الواحدة الى ان خلايا البكتريا الموجودة بالقرب من محيط المستعمرة اكثر نشاط وحيوية لتتخلص من فعلى

استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية وتشخيص الانواع التابعة لجنس *Azospirillum*
خليل مصطفى خماس وجماعته

الصبغة فتطرحها خلفها نحو مركز المستعمرة لذا تتركز الصبغة غالباً في مركز المستعمرة وفقدانها أو قلتها في المنطقة الواقعة بالقرب من حافاتهما.

اثبتت النتائج اعلاه ان استخدام صبغة الكونغو الحمراء اعطت نتائج واضحة وربّنت العزلات جميعاً الى ثلاثة مجاميع كان لها صلة أو ارتباط واضحين تماماً بتقسيم العزلات استناداً الى خصائصها المورفولوجية والكيموحيوية بحيث ان المجموعة التي تشابهت خصائصها الكيموحيوية تشابهت كذلك في شكل المستعمرات وانتشار الصبغة والمناطق التي تكونت في المستعمرة.

ومن الملاحظات الأساسية في هذه الدراسة ان النتائج برهنت ان اعداد العزلات التي تم الحصول عليها عليها فاقت كثيراً تلك التي تم الحصول عليها في دراسات سابقة في العراق^(٣٠،٣١،٣٢) بل واسرعت في العزل والتنقية والتشخيص اذ ان استخدام صبغة الكونغو الحمراء قد ادى الى التغلب على العديد من الصعوبات التي واجهت دراسة سابقة^(٧) عندما استخدمت فيها اوساط صلبة غير الاوساط الحاوية على الصبغة. كذلك يتبين من جدول (٢) انه من اصل (١٥١) عزلة تابعة لبكتريا *Azospirillum* فان (٧٢) عزلة تم الحصول عليها من منطقة الجدر وقد شكل النوع *A. irakense* اكثر من نصف العدد من تلك المنطقة (٤٥) وهذه النتيجة منسجمة نوعاً ما مع دراسة سابقة^(٧) كما ان عزلها من المنطقة الجذرية قد يعود الى تمكن عزلات هذا النوع من احتمالية اختراق خلايا الجدر ربما بسبب قابليته على تحلل البكتين^(١٠) ومهاجمة السليلوز^(٣١) واللذان يؤلفان جزء من الصفيحة الوسطى وجدار الخلية على التوالي هذا اضافة الى ان استخدام صبغة الكونغو الحمراء ربما انعكس على سهولة عزل هذه المجموعة كما ادى الى رقع نسبة العزلات لهذا النوع الى ٣١% من مجموع العزلات بعد ان كانت هذا النسبة لا تتجاوز ٢٢%^(٢٤) وبرهنت هذه النسبة لعزلات النوع *A. irakense* على تردد وانتشار هذا النوع من الاراضي العراقية الخاصة بزراعة الرز مما يعزز الدراسات السابقة^(٧، ٢٤).

جدول (٢) توزيع اعداد من العزلات المشخصة التابعة لجنس *Azospirillum* والمواقع البيئية المقرر منها واعداد الانواع ضمن الجنس والمقرر من عدة محافظات.

اسم المحافظة	عدد العزلات لكل محافظة	عدد العزلات في الموقع البيئي		عدد العزلات المشخصة التابعة لبكتريا <i>Azospirillum</i>		
		ترية الرايزوسفير	منطقة الجدر السعفة	<i>A. brasilense</i>	<i>A. lipoferum</i>	<i>A. irakense</i>

١٢	٤	٢٤	١٩	٢١	٤٠	الجف
١٦	٥	٣١	٢٩	٢٣	٥٢	ديالى
١٩	٧	٣٣	٢٤	٣٥	٥٩	القادسية
٤٧ ^(C)	16 ^(b)	88 ^(a)	٧٢	٧٩	١٥١	المجموع

(a) = ٨٨ عزلة تابعة للنوع *A. brasilense* (منها ٦٥ عزلة من تربة الرايزوسفير و ٢٣ من الجذر)

(b) = 16 عزلة تابعة للنوع *A. lipoferum* (منها 12 عزلة من تربة الرايزوسفير و 4 من الجذر)

(c) = 47 عزلة تابعة للنوع *A. irakense* (منها ٢ عزلة من تربة الرايزوسفير و 47 من الجذر)

ومن ملاحظة اعداد العزلات ظهر ان النوع *A. brasilense* هو السائد في التربة العراقية مقارنة بالانواع الاخرى (جدول ٢) وهي نفس الملاحظات التي وردت في دراسات سابقة (٢٤،٧) و هي منسجمة مع النتائج التي توصل لها (٣٢) لترب حقول الرز في مصر وفي مالي (٩) وفي اليونان (٢٢) وفي مناطق اخرى في العالم.

نستنتج من هذه الدراسة ان صيغة الكوتغو الحمراء ممكن استخدامها بكفاءة عالية للتسريع في تمييز الانواع التابعة لجنس *Azospirillum* اضافة الى ضرورة اجراء بعض الاختبارات الكيموحيوية والظاهرية الاساسية التفريقية بين الانواع وعدم اضاءة الوقت باجراء الكثير من تلك الفحوصات فضلا عن ان هذه الطريقة (استخدام الصيغة) قد استبعدت مجاميع كثيرة من البكتيريا المثبتة للنيتروجين المصاحبة مما يدل على فعاليتها ومتماشيا مع التأكيدات السابقة لاستخدام هذه الصيغة (14,21,20,12).

references

- 1- Day, J.M and Dobereiner, J. Physiological aspects of N₂ fixation by a spirillum from *Digitaria* roots. Soil Biol. Biochem. 8: 45-50. (1976).
- 2- Broek, A.V. and Vanderleyden, J. Review : Genetics of *Azospirillum*-plant root association. Critical Review in Plant Sciences. 14:445-466. (1995).

- 3- Bashan, Y. *Azospirillum*-Plant promoting strains and nonpathogenic on tomato, pepper, cotton and wheat. Can. J. Microbiol. 44: 168-174. 1998.
- 4- Dobereiner, J. Baldani, V.L. D. and Reis, V.M. Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-Leguminous crop. In: *Azospirillum* VI and related microorganisms. I. Fendrik, M. de Gallo, J. Vanderleyden and M. de Zamaroczy (eds) p:3-14. Springer-verlag. Berlin. (1995).
- 5- Reinhold, B. Hurek, T. Fendrik, I. Pot, B. Gillis, M. Kerster. K. Thielemmans, S. and De Ley, J. *Azospirillum halopraeferans* sp. nov., a nitrogen fixing bacterium associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca*) (L. Kunth). Int. J. Syst. Bacteriol. 37:43-51(1987).
- 6- Krieg, N.R. and Dobereiner, J. Genus *Azospirillum* Tarrand, Krieg and Dobereiner 1979, In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, "vol.I" (N. Krieg and I.G. Holt) pp. 94-104 Williams and Wilkins, Baltimor. (1984).
- 7- Khammas, K.M. Ageron, E. Grimont, P.A.D and Kaiser, P. *Azospirillum irakens* sp. nov., a nitrogen- fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. Res. Microbiol. 140:679-693. (1989).
- 8- Tarrand, J. Krieg, N.R. and Dobereiner, J. A taxonomic study of *Spirillum lipoferum* with description of a new genus, *Azospirillum* gen.nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. 24:967-980 (1978).
- 9- Kabir, M. and Faure, D. Identification of *Azospirillum* by Oligonucleotide probes after isolation from a soil and Sorghum rhizoplane contaminated or not by parasitic plant: *Striga*. In : *Azospirillum* VI and related microorg-amisms. I. fendrik, M. de Gallo, J. Vanderleyden, and M. de Zamaroczy. (eds). P:479-485. Springes- Verlag Berlin. (1995).
- 10- Khammas, K.M. Interactions nutritionnelles entre bacteries fixatrices d'azote et bacteries pectinolytiques. Thesis of doctorate. University of Paris7 France. (1991)
- 11- Vlassak, K.K. and Reynders, L. Associative dinitrogen fixation in temperate region. p:71. In: Isotopes in biological dinitrogen fixation. (proceeding of the Advisory Group, Vienna, November. (1977).
- 12- Rodrigues- Caceres, E.A. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. Appl. Environ. Microbiol. 44:990-991 (1982).
- 13- Lenthbridge, G. and Lynch, J.M. The microbiology of soil. In: Essay Agricultural and Food Microbiology. Norris, J.R. and Pettiphen, J.I. (eds). pp. 1-4 John Willey and Sons. Chichester, New York. (1987).

- 14- Hegazi, N.A. and Monib, M. Enumeration of nitrogen fixing spirilla. Soil Biol. Biochem. 11:437-438. (1979).
- 15- Tyler, M.E Milam, J.R. Smith, R.L. Sahank, S.C and Zuberer, D.A. Isolation of *Azospirillum* from divers geographic regions. Can. J. Microbiol. 25:693-697. (1979).
- 16- Ogran, A. and Feng, X. Methods of soil community analysis. pp:422-430. In: Manual of Environmental Microbiology. C.J.Hurst, G.R. Knudsen, M. J. McInerney, L.D. Stetzenbach, and M.V. Walter (eds). American Society of Microbiology. Washington. (1997).
- 17- Swatek, F.E. Textbook of Microbiology. The C.V Mosby Company. (1967).
- 18- Heden, C. and Illeni, T. New approaches to the identification of microorganisms A Wiley Biomedical- Health Publications (1975).
- 19- Surgall, M.T. and Beesley, E.D Congo Red- Agar plating medium for detection pigmentation in *Pasteurella pestis*. Appl. Microbiol. 18:834-837. (1969).
- ٢٠ - اللامي سندس هادي. دور الصباغ الحيوية والاشعة فوق البنفسجية في تشخيص افراد العائلة المعوية. رسالة ماجستير - كلية الطب/ جامعة بغداد (١٩٩٣).
- 21- Fred. E.B. and Waksman. S.A. Laboratory manual of microbiology p. 33 and 96. McGraw-Hill Book Co. New York. (1928).
- 22- Kefalogianni, I. Flouri, F. and Balis, C. Occurance, isolation and identification of *Azospirillum* strains in Greece. In: *Azospirillum* VI and related microorganisms. I. Fendrik, M. de Gallo, J. Vanderleyden, and M. de Zamaroczy. (eds). p:461-465. (1995).
- 23- Bashan, Y. and Levanony, H. An improved selection technique and medium for the isolation and enumeration of *Azospirillum brasilense*. Can. J. Microbiol. 31:947-952. (1985).
- ٢٤ مهدي، ندى زكي . عزل وتشخيص وكثافة بكتريا *Azospirillum* في المنطقة الجذرية لنبات الرز في محافظة ديالى. رسالة ماجستير . كلية العلوم - الجامعة المستنصرية (١٩٩٥).
- 25- Patriquin, D.G. and Dobereiner, J. Light microscopy observations of tetrazolium-reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. Can. J. Microbiol. 24:734-742. (1978).
- 26- Turner, G.L. and Gibson, A.H. Measurment of nitrogen fixation by indirect means. p.111-138. In: Methods for evaluating biological nitrogen fixation, F.J. Bergersen (ed). John Wiley and Sons Ltd. Chichester, England. (1980).

استخدام صبغة الكونغو الحمراء في الوسط الزراعي لتسريع عزل وتنقية وتشخيص الأنواع التابعة لجنس *Azospirillum*
خليل مصطفى خماس وجماعته

- 27- Thompson, J.A. Gemell, L.G. Roughly, R.J. and Evans, J. Nitrogenase activity associated with pasture grasses in northern New South Wales. Soil.Biol. Biochem . 66:217-222(1984).
 - 28- Holt, J.G. Krieg, N.R. Sneath, P.H.A. Staley, J.T. and Williams S.T. Bergeys Manual of Determinative Bacteriology . 9th (ed) Williams and Wilkins. (1994).
 - 29- Khammas, K.M., Ageron, E. Grimont , P.A.D. and Kaiser, P. The nitrogen-fixing bacteria from Iraqi rice- field soils. Eur.J. Soil Biol. 30:101-106. (1994).
 - 30- AL-Maadhid, J.F. Isolation and characterization of *Azospirillum* spp. from Iraqi wheat cultivars. J. University of Kuwait (science). 16:343-348. (1989) .
- ٣١- خماس، خليل مصطفى . تحليل السليلوز وتثبيت النيتروجين بواسطة بكتريا *Azospirillum irakense* مجلة علوم المستنصرية. المجلد ١٣ . العدد (١) . ١٠-١ . (٢٠٠٢) .
- 32-Omar, A.M, Richard, C. Weinhar, P. and Balandreau, J. Using the spermosphere model technique to describe the dominant nitrogen-fixing microflora associated with wetland rice in two Egyptian soil. Biol. Fertil. Soil. 7:156-163. (1989).

التحليل المناعي الأشعاعي باستخدام الطور الصلب للهرمون الذكري في مصل دم الذكور

فلاح ح. الدفاعي

مركز المستحضرات الطبية والصيدلانية، منظمة الطاقة الذرية العراقية، بغداد
العراق، ص. 765.

ABSTRACT

The measurements of testosterone level in serum have used in diagnosis of many pathological cases like delayed puberty, infertility in male, hyperandrogenicity in children. We have developed radioimmunoassay for testosterone in male serum using solid phase (activated cellulose) binding to anti testosterone antiserum. The antibodies were raised in rabbits against testosterone -3-carboxy methyl oxime - Bovine serum albumin.

The antibodies were purified by gel filtration (Sephadex G-200) and ion exchange (DEAE-Sephadex-4B). After purification the cross-reactions with (5-DHT) fell to level that did not interfere with testosterone measurements in male serum. Iodination was carried out by the chloramine-T- method using testosterone -3-carboxymethyl oxime-histamine which is used in radioimmunoassay of testosterone. The tracer had long time stability and high immuno activity of iodinated testosterone. The withinassay coefficient of variation was estimated by measuring three serum samples 20 times and gave a mean assay results of 0.46, 2.69 and 8.93 ng/ml with CV's of 8.10, 5.66 and 5.31% respectively. Results obtained for serum samples are correlated with those using commercially available kits (n=40 samples) (r=0.98). The assay proved to be suitable for routine clinical assessment of testosterone disorders.

خلاصة

أن قياس تركيز الهرمون الذكري في مصل الدم يستفاد منه في تشخيص العديد من الحالات المرضية مثل تأخر النضج الجنسي والعقم عند الذكور وزيادة إنتاج الهرمون الذكري في النساء والأطفال وغيرها من الأمراض الأخرى. لقد تم تطوير طريقة التحليل المناعي الأشعاعي

فلاح ح. الدفاعي

لقياس الهرمون الذكري في مصل دم الذكور وذلك باستخدام الطور الصلب (جزيئات السليلوز المنشطة) المرتبطة بالأجسام المضادة للهرمون الذكري المنتجة في الأرانيب الممنعة بمركب الهرمون الذكري المرتبط بألبومين مصل الدم البقري في موقع ذرة الكربون رقم (3)، أن عملية ربط الأجسام المضادة بالطور الصلب بعد تنقيتها باستعمال الترشيح الهلامي والمبادلات الأيونية حسنت من مواصفات الأجسام المضادة بحيث أنخفضت الفعالية العرضية مع مادة (5-DHT) إلى المقدار الذي لا يؤثر في نتائج التحليل المناعي الأشعاعي للهرمون الذكري في مصل الدم إذ كان بمواصفات عالية الدقة حيث كان مقدار معامل الاختلاف داخل التحليل وبين التحاليل لا يتجاوز (10%) . لقد تم قياس معامل الارتباط بين التحليل المناعي الأشعاعي باستخدام الطور الصلب للهرمون الذكري والعدة التجارية المستخدمة في المستشفيات إذ كان معامل الارتباط فيما بينها 0.98 (عدد النماذج 40) . أن هذه النتائج توضح إمكانية استخدام التحليل المناعي الأشعاعي باستخدام الطور الصلب في التحاليل الروتينية في المختبرات والمستشفيات .

المقدمة

يستدل من قياس الهرمون الذكري Testosterone على العديد من الحالات المرضية مثل تأخر النضج الجنسي (1) والعقم في الذكور (2) وزيادة إفرازه في النساء (3) والأطفال (4) وغيرها من الأمراض . ولقياس تركيز الهرمون الذكري في مصل دم الذكور باستعمال طريقة التحليل المناعي الأشعاعي المباشر (من دون استخلاص الهرمون الذكري بالمذيبات العضوية) ، أن هذه الطريقة تحتاج إلى أجسام مضادة ذات خصوصية وحساسية عالية جداً والتي يتم الحصول عليها عن طريق تمنيع الأرانيب بمركب الهرمون الذكري المرتبط بألبومين مصل الدم البقري (Bovine Serum Albumin) وبالنسبة (1:30) ومن خلال الارتباط بذرة الكربون رقم-3 من جزيء الهرمون الذكري . غير أن هذه الطريقة تحتاج إلى وقت وجهد كبير لذا فإن هذه الدراسة تهدف إلى تطوير هذه الطريقة وجعلها أقل جهداً ووقتاً من خلال محاولة ربط الأجسام المضادة الناتجة بجزيئات السليلوز المطحونة والمنشطة بمادة سيانوجين بروميد (CnBr) .

المواد والطرائق

جلبت المذيبات العضوية من شركة (Merk) الألمانية، السيليولوز من شركة (Sigma) استخدمت طريقة هنتر و كرين وود (6) في وسم مشتق الهرمون الذكري وذلك باستخدام مادة (Chloramine-T-) تم إيقاف التفاعل بإضافة مادة (Sodium Meta Bisulphate) (SMBS) بتركيز 125 مايكروغرام/250 مايكروليتر من داري الفوسفات. وضع مزيج التفاعل على عمود الترشيح الهلامي (Gel filtration) المعبأ بمادة الهلام نوع (Sephadex G-25) وبالأبعاد (25x1) سم ومرر داري الفوسفات وجمعت الأجزاء النازلة (2 مل/جزء)، وتم قياس الفعالية الإشعاعية وحددت الأجزاء التي تحوي الهرمون الذكري المرتبط بالهستامين المعلم بنظير اليود المشع (I^{125}) وخزنت على 4م° لحين تقييم الفعالية المناعية (Immuno activity) والفعالية النوعية (Specific activity).

2-تحضير الأجسام المضادة للهرمون الذكري :

أستخدم الممنع الذي هو مركب الهرمون الذكري المرتبط باليوميين مصل الدم البقري في موقع ذرة الكربون رقم 3- في تمنيع الأرانب النيوزلندية البيضاء أذ حقنت أربعة أرانب بمعدل عمر ستة أشهر ووزن تقريباً خمس كيلو غرامات (200 مايكروغرام/أرنب) بعد أذابتها في محلول الملح الفسيولوجي المعقم ومزجه مع مساعد فرويد الكامل (Complete Freund's Adjuvant) ليكون مستحلب لا ينتشر على سطح الماء. حقنت الأرانب الأربعة تحت الجلد في أماكن مختلفة من الظهر، وبعد أربعة أسابيع حقنت الأرانب كما في المرة السابقة. ولكن باستخدام مساعد فرويد غير الكامل، وتم الحقن في عضلة الفخذ للأرانب الأربعة. وجمع الدم من الأرانب بعد 10 أيام من الحقن الشهري للممنع (Immunogen) عن طريق الوريد الأذني للأرنب. فصل مصل الدم الحاوي على الأجسام المضادة والتي تم الكشف عنها وتقييمها وتنقيتها بعد ترسيبها بمحلول مشبع بكبريتات الأمونيوم 35% وتمت تنقيتها باستعمال المبادلات الأيونية 4-DEAE-Sepharose (B) وبعدها تم ربط الأجسام المضادة بجزيئات السيليولوز المنشطة بمادة السيانونجين بروميد (CnBr) وفقاً لطريقة (7) Wide.

3-طرائق إجراء التحليل المناعي الأشعاعي للهرمون الذكري:

بعد أن حضرت المحاليل القياسية (standards) للهرمون الذكري في مصل الدم البشري الخالي من الهرمونات والتي كانت تراكيزها 10.0, 0.5, 2.5, 1.0, 0.5 نانوغرام/مل. تتلخص خطوات إجراء التحليل المناعي الأشعاعي للهرمون الذكري التي تم الوصول إليها بعد دراسة العوامل المؤثرة في التحليل مثل حجم المحاليل، والمحلل الداريء Buffer ودرجة التحضين ٠٠٠°س بمائلي:

أ- 50 مايكروليتر من المحاليل القياسية للهرمون الذكري أو نماذج مصل دم الذكور.

ب- 500 مايكروليتر من مركب الهرمون الذكري المعلم بنظير النيود المشع.

ج- 500 مايكروليتر من الطور الصلب للأجسام المضادة للهرمون الذكري.

حضنت أنابيب التحليل على درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة ثم تفصل بجهاز الطرد المركزي 2500 دورة /دقيقة، أذ تترسب الأجسام المضادة في قاع الأنبوبة ويستبعد الراشح، وتتم قراءة الفعالية الأشعاعية (CPM) لها بجهاز قياس أشعة كاما (LKB Gamma-Counter) حيث يمثل ذلك مقدار المقتفي المرتبط بالأجسام المضادة، والذي يتناسب تناسباً عكسياً مع تركيز الهرمون الذكري في كل من المحاليل القياسية (غير المرقمة) والتي تعطي علاقة يمكن تمثيلها بالمنحنى القياسي والتي يستفاد منها في معرفة تركيز الهرمون الذكري في نماذج مصل دم الذكور (3) .

النتائج والمناقشة

١-الحساسية والخصوصية

كانت الحساسية (Sensitivity) لطريقة التحليل 0.03 نانوغرام/مليلتر وفقاً لطريقة (8) . أما الخصوصية فقد حسبت وفقاً لطريقة Abraham (9) والموضحة في الجدول ١ والذي يشير إلى أن الأجسام المضادة للهرمون الذكري بالرغم من ربطها بجزيئات السليولوز فإن الفعالية العرضية مع بقية الهرمونات والستيرويدات المختلفة كانت قليلة بحيث لا تؤثر في نتائج التحليل، أذ أن أعلى فعالية عرضية كانت مع مادة 5-dihydrotestosterone 2% وبما أن تركيز هذه المادة لا يزيد عن 10% من تركيز الهرمون الذكري في مصل دم الذكور فإن تأثيرها محدود (10) .

جدول ١:- الفعالية العرضية للأجسام المضادة المرتبطة بجزيئات السليلوز

المواد	الفعالية العرضية %
Testosterone الهرمون الذكري	100
Dihydrotestosterone	1.80
4-Androstene 3-17-dion	0.26
5-Androstene 3-17-dion	0.28
Androsterone	0.50
17-Estradiol	0.31
17-Epitestosterone	0.001
Estriol	0.001
Estrone	0.001
Progesterone	0.001
Cortisone	0.001
Deoxycortisone	0.001
11-Hydroxyprogesterone	0.001

2- الدقة :

من خلال قياس تركيز الهرمون الذكري في 20 نموذج من مصل دم الذكور تراكيزها 0.48, 2.69, 8.93 نانوغرام/مل، كان معامل الاختلاف coefficient of variation للتراكيز الثلاثة 5.31, 5.66, 8.11 % على التوالي وهذا يوضح مقدار الدقة داخل التحليل within-assay.

ومن قياس الهرمون الذكري لنماذج مصل دم الذكور بالتراكيز 1.96, 3.97, 8.46 نانوغرام/مل في 25 يوما كان معامل الاختلاف فيمابين التحاليل لها 8.14, 5.26, 6.73 % على التوالي.

3- معامل الارتباط

من خلال مقارنة نتائج قياس 40 نمودجا من نماذج مصل دم الذكور والتي تغطي القيم الطبيعية والمرضية للهرمون الذكري بأستعمال العدة المحضرة مع عدة القياس التجارية من شركة Cis الفرنسية (Testo-SB-kit) وجد أن العدة المحضرة لا تقل جودة وحساسية عن العدة التجارية، حيث كان معامل الارتباط بينهما 0.98 وهذا يوضح إمكانية الأستفادة من طريقة التحليل المناعي

فلاح ح. الدفاعي

الأشعاعي باستعمال الطور الصلب (جزيئات السيلولوز) في قياس تركيز الهرمون الذكري في مصل دم الذكور في المختبرات والمستشفيات

المصادر

- (1) Deveto, E.; Madariga, M.; Lioi, X.; Rev. Med. Chil. 128(2). 184-192. (2000)
- (2) Burger, H. and D.M. Kreter (Eds). The testis .Paven Press, New York , 75-84; (1991).
- (3) Timothy, J. W. and J. U. darid. Clin. Chem, 42 (8), 1373-1378; (1997).
- (4) Winter, J. S. Faimm, C. and F. I. Reys, Clin. Chem, 44(3), 560-564; (1998).
- (5) Erlanger, B. F. : Besier, S. M. and S. Lieberman. Biol. Chem, 228; 713-718; (1957).
- (6) Hunter, W. N. and F. C. Greenwood, Nature (london), 194, 495-497; (1962).
- (7) Wide, L., Acta Endocr, 63, 207-221; (1990).
- (8) Rodbard, D. Anal. Biochem, 90, 1-12; (1968).
- (9) Abraham, G. E. J. clin. Endocr. Metab, 29, 866-873; (1989).
- (10) Ogura, T, Tobe, K.; Mimura, Y.; Ostuka, F.; J. Endocrinol. Invest. 23(4): 246-250. (2000).

تأثير الأشعة السينية على بعض مكونات دم المصورين الشعاعيين

فلاح حسن. الدفاعي^١، محمد شمخي جبر^٢.

١ منظمة الطاقة الذرية العراقية .ص.ب. ٧٦٥

٢ كلية التقنيات الطبية والصحية، قسم الاشعة .

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the risk of occupational exposure to x-rays in blood of radiographers. The data obtained on hematological levels revealed insignificant changes in erythrocytic counts, platelet and hemoglobin concentration due to occupational exposure of x-rays. Significant decrease was recorded in packed cell volume (PCV) due to exposure of x-rays. The data obtained revealed that exposure to x-rays caused significant increase in serum creatinine, uric acid and bilirubin concentrations.

المقدمة

يتعرض الإنسان الى مصادر مختلفة من الأشعاعات بعضها طبيعية مثل الأشعة الكونية وبعضها صناعية (١) ويمكن حالياً اعتبار الطب من أكبر المصادر التي تعرض الإنسان للأشعاع الصناعي حيث يستخدم الأشعاع لأغراض التشخيص والعلاج لأنواع مختلفة من الأمراض (٢) أن جهاز الأشعة السينية أحد أكثر الأجهزة فائدة لخدمة المرضى والأطباء وأن المصورين الشعاعيين يشكلون مجموعة ذات أهمية خاصة نظراً لتعرضهم للأشعة السينية يومياً وطوال سنوات العمر المهني ولكون أنه لم يسبق أن أجريت دراسة لمعرفة التأثير البيولوجي المتراكم للأشعة السينية على المصورين الشعاعيين العاملين في مستشفيات بغداد فقد تمت هذه الدراسة على مجموعة من المصورين الشعاعيين (N=48) وذلك بقياس عدد كريات الدم الحمراء (RBC)، عدد الأقراص الدموية (platelets)، حجم الخلايا المنضغطة (PCV)، تركيز خضاب الدم (Hb)، تركيز حامض اليوريك (Uric acid)، تركيز الكرياتينين (Creatinine) والبيوروبين (Bilirubin) في الدم وأيجاد

فلاح حسن، الدفاعي، محمد شمخي جبر

تأثير العمر المهني (1-20 عام) على بعض مكونات الدم لمجموعة المصورين الشعاعيين مقارنة بمجموعة السيطرة (N=22)

المواد وطرق العمل

١- نماذج الدم

تم سحب الدم من الوريد العضدي وزع على مجموعتين من الأنابيب الأولى تحوي مانع التخثر (EDTA) والثانية تسمح بتخثر الدم. أجريت عملية سحب الدم من مجموعة السيطرة (N=22) معدل أعمارهم (45 ± 17) ومجموعة المصورين الشعاعيين (N=48) معدل أعمارهم (42 ± 15) عام وجميعهم من بغداد.

٢- طرق القياس

تم قياس عدد كريات الدم الحمراء، عدد الصفائح الدموية، حجم الخلايا المضغوطة وفقاً للطرق القياسية المتبعة في المختبرات الطبية (3.4) وتم قياس خضاب الدم، الكرياتينين والبيلوروبين باستخدام الطريقة اللونية (5) أما قياس تركيز حامض اليوريك فقد تم باستخدام الطريقة الأنزيمية (6).

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج أن عدد كريات الدم الحمراء (RBC) وتركيز خضاب الدم (Hb) وعدد الأفراس الدموية (platelets) لم تختلف معنوياً بين مجموعة المصورين الشعاعيين ومجموعة السيطرة (جدول رقم-1) وأن ذلك ربما يعود إلى أن كمية الجرعة المستلمة يومياً من قبل المصورين الشعاعيين قليلة بحيث لا تؤثر على عملية تصنيع مكونات الدم المختلفة والتي تتأثر بالجرع العالية من الأشعاع. أما النسبة المئوية لحجم الخلايا المنضغطة (PCV) فقد كانت في مجموعة المصورين الشعاعيين (36.8 ± 2.6) وهي أقل معنوياً من مجموعة السيطرة (46.2 ± 1.5) وإذا كانت هذه الصفة تعبر عن تركيز كريات الدم الحمراء فإنه ربما هذا الاختلاف بين المجموعتين كان بسبب اختلاف حجم وشكل كريات الدم الحمراء في المجموعتين.

أن تركيز حامض اليوريك والكرياتنين مؤشران مهمان لأداء الكلية في الجسم (7) وأن تركيز حامض اليوريك كان أعلى معنويًا في مجموعة المصورين الشعاعين (7.2 ± 1.0) ملغم / 100 مل مقارنة بمجموعة السيطرة (6.15 ± 0.96) وأن تركيز الكرياتنين في مصل الدم لمجموعة المصورين الشعاعين كان (1.68 ± 0.31) ملغم / 100 مل وهو أعلى معنويًا من مجموعة السيطرة (0.94 ± 0.26) ملغم / 100 مل من هذا يتضح التأثير الضار للتعرض اليومي للأشعة السينية على أداء وظيفة الكلى على الرغم من أن المستويات التي ظهرت بها تراكيز حامض اليوريك والكرياتنين هي ضمن المستويات الطبيعية إلا أنها تشكل المستويات الأعلى للحدود الطبيعية أي أنها الأقرب للوصول إلى المستويات المرضية التي تعبر عن الخلل في أداء الكلى التي تتميز بمقاومتها للأشعة المؤينة وهي تتطابق مع النتائج التي حصل عليها عبد السلام وجماعته (1990) (8) •

أظهرت نتائج قياس تركيز البيلوروبين الكلي (Total bilirubin) في مصل دم المصورين الشعاعين أنه أعلى معنويًا ($P < 0.01$) مقارنة بمجموعة السيطرة حيث كان تركيز (0.98 ± 0.11) ملغم / 100 مل في مجموعة المصورين الشعاعين و (0.67 ± 0.08) ملغم / 100 مل في مجموعة السيطرة وأن ذلك ربما يعود إلى تأثير التعرض المهني للأشعة السينية على وظيفة الكبد لدى المصورين الشعاعين حيث أنه مركز الفعاليات الحيوية المهمة في الجسم أذ يعتبر من الأعضاء الحساسة للأشعاع (9) •

أن النتائج التي تم الحصول عليها تشير إلى تأثير التعرض المهني للأشعة السينية على وظائف الكلى والكبد وذلك من خلال التغيرات التي سجلت في مصل دم المصورين الشعاعين لحامض اليوريك والكرياتنين فيما يخص الكلى وارتفاع تركيز البيلوروبين المرتبط بأداء الكبد وإن ذلك ربما نتج عن عدم التزام المصورين الشعاعين بقواعد وأصول الوقاية من الأشعاع أو بسبب الأجهزة والمعدات المستخدمة في التصوير الشعاعي أو ربما لعدم وجود السيطرة النوعية المستمرة في المراكز والمستشفيات الصحية

جدول رقم (١) مقارنة بعض مكونات الدم لمجموعة المصورين الشعاعيين مع مجموعة السيطرة

مجموعة المصورين الشعاعيين N = 48		مجموعة السيطرة N= 22		المجاميع مكونات الدم
Mean	S.D.	Mean	S.D.	
6.19	1.05	6.33	1.6	RBC (10^6 / ml)
284	122	311	116	Platleate (10^3 x ml)
36.8 *	2.6	46.2	1.5	PCV (%)
11.88	2.8	10.24	1.8	Hb (G / dI)
7.20 *	1.0	6.15	0.96	Uric Acid (mg / dI)
1.68 *	0.31	0.94	0.26	Crieatinine (mg / dI)
0.98 *	0.11	0.67	0.08	Total Bilirubin (mg / dI)

أستخدم مربع كاي لمقارنة النتائج وعند مستوى معنوية ($P < 0.01$)

* وجود فروقات معنوية بين المجموعتين

المصادر

- 1- Peter,M.B.;Pavliceck,W;Owen,J.M. Radiology.216(3),810-819. (2000).
- 2-Ng-KH,Abdullah,B.J.,Rassiah,P;Sivalingam,S.Med.J.Malaysia.54(2):185-191. (1999).
- 3- Dacie ,J.V.,Lewis ,M.S (Eds).In "Practical Hematology" 6 th ed .Churchill Living ston ,London. (1984)
- 4-Vankampen,E.J;Zijlstra,W.G., Clin ,Chem.Acta.,6:538-544. (1961).
- 5-Sherlock,S.p.204 in Liver Disease, chunchill. London. (Randox.U.K.kits). (1951)
- 6-Krieg,M.Fossafi.P.;Prencipe,L., J.Clin.chem.clin Biochem.24,863-869. (1986).
- 7-Roushdy,H.M.,Fatma,M.Abdel-Hamid;Abu Ghadir. A.r.. Sec. Arab. conf. the. Peacefuluses of atomic energy.Part2 653-664. (1995) .
- 8-Abdel-Salum,S.,Roushdy,H.M.,Slam,T., J.Biol.Med.Sci.Ther.6(1),86. (1990).
- 9-Zauner,C;Schneeweiss,B;Schneider;B. Er.J.Gastrocenterol-Hepatol.12(5):517-522. (2000).

استخلاص وتنقية انزيم البنسيلينيز من بكتريا *E. coli* المعزولة محلياً

سعود رشيد العاني*، سوسن ساجد الجبوري**، ايلاف اسامة المقدادي*

*منظمة الطاقة الذرية، دائرة البحوث الزراعية والبايولوجية، ص. ب. ٧٦٥ بغداد - العراق

**كلية العلوم، قسم علوم الحياة، الجامعة المستنصرية

ABSTRACT

One isolate selected from 12 isolates all of them gave positive reaction of penicillinase production test. Penicillinase was purified by using Ammonium Sulfate 25%, DEAE-Cellulose, linear gradient of NaCl, the enzyme recovered 0.2-0.3 Molar of NaCl, 51.52% while the fold of purification was 33.20, the enzyme recovered 48.16% when Sephacryl S-200 was used. The results showed that the optimum activity pH was 7.0 and the optimum activity temperature was at range of 30-37°C.

الخلاصة

انتخبت عزلة بكتيرية واحدة تعود لجنس *E. coli* من مجموع ١٢ عزلة بكتيرية كانت قد اعطت جميعها نتيجة موجبة في فحص التحري عن انتاج انزيم البنسيلينيز. استخدمت كبريتات الامونيوم في تنقية انزيم البنسيلينيز وصولاً الى ٢٥% اشباع وقد استخدم عمود المبادل الايوني السالب DEAE-cellulose والتدرج الملحي الخطي من كلوريد الصوديوم لتنقية الانزيم، فقد استرد الانزيم بتركيز ٠.٢-٠.٣ مولار من الملح وبحصيلة مقدارها ٥١.٥٢%، في حين بلغ عدد مرات التنقية ٣٣.٢٠ وبأسترداد انزيمي مقداره ٤٨.١٦% عند استخدام هلام Sephacryl S-200. بينت نتائج توصيف الانزيم ان الرقم الهيدروجيني الامثل لعمل الانزيم المنقى هو ٧.٠ والدرجة الحرارية المثلى هي في المدى الحراري ٣٠-٣٧°م.

المقدمة

تعد انزيمات البيبتالاكتاميز بنوعها (البنسيلينيز والسيفالوسبورينيز) من اكثر مسببات المشاكل الصحية التي تهدد المجتمعات البشرية في كافة انحاء العالم، فهي احدي الطرائق الدفاعية التي استطاعت الاحياء المجهرية ان تطورها لصالحها لغرض التخلص من التأثير القاتل

لجزيئات المضادات الحيوية. تعمل هذه الانزيمات على اصرة الامايد Cyclic amid bond في حلقة البيتا لاكتام المكونة لجزيئة المضاد الحيوي (البنسلين والسيفالوسبورين) مما يؤدي الى جعل جزيئة المضاد مركب فاقد الفعالية (1).

يختلف انتاج انزيم البنسيلينيز في البكتريا الموجبة لغرام عنه في السالبة منها فهي انزيمات خارج خلوية Extracellular في النوع الاول تفرز الى الوسط الزراعي الذي تنمو فيه البكتريا كما هو الحال في بكتريا *Bacillus* و *Staph* (2,1). اما في البكتريا السالبة لغرام فان الانزيم يكون داخل خلوي Endocellular او من النوع المرتبط بالخلية Cell-bound (3). Enzyme. لقد استخدم الباحثون عدة طرائق لاستخلاص انزيم البنسيلينيز من البكتريا السالبة لغرام تتضمن اغلبها خطوة تحطيم الجدار الخارجي للخلية البكتيرية مما يؤدي الى تحرير الانزيم المرتبط بالخلية الى خارج الغشاء الساييتوبلازمي. (5,4) ومن هذه الطرائق طريقة التجميد والاذابة ويعرض النموذج فيها الى تجميد واذابة بعد غمره في النتروجين السائل، وطريقة سحق الخلايا بوساطة الرمل وبنسبة ١:٥، واحياناً اخرى تستخدم محاليل سكرية وبغرات ذات تراكيز مختلفة وبدرجات حرارة مختلفة وذلك لغرض تعريض الخلايا الى صدمة ازموزية مؤدية بذلك الى تحطم جدار الخلية ومن ثم تحرير انزيم البنسيلينيز وتعتبر الاخيرة من اكثر الطرق ملائمة واستخداماً من قبل الباحثين لانها غير مكلفة ويتم اجراؤها بوقت قصير (7,6).

لقد داب الباحثون الى استخدام تقنيات عديدة في تنقية انزيمات البيتا لاكتاميز ومنها انزيم البنسيلينيز وذلك من خلال استخدام سرع طرد مركزية عالية وفي درجات حرارية منخفضة حيث ان لها اهمية في ازالة الرواسب او الجزيئات غير الذائبة في العالق البكتيري المهشم اضافة الى استخدام كبريتات الامونيوم او كبريتات الستربتومايسين (9,8)، اضافة الى استخدام اعمدة كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي gel filtration واعمدة المبادلات الايونية Ion-exchange chromatography ذات الاحجام المختلفة ويتم انتقاء المادة الهلامية (gel) في التنقية اعتماداً على عدة اسس منها الوزن الجزيئي للانزيم المراد تنقيته فضلاً عن شكل الجزيئة (12,11,10).

ان الهدف من تنقية انزيم البنسيلينيز هو لدراسة خواصه الحركية و الفيزيائية وبالتالي استخدامه في تطبيقات مهمة في مجال الصناعات الغذائية وفي المجال الطبي. (13,8).

المواد وطرائق العمل

١. استخلاص انزيم البنسيلينيز :- اختبرت عزلة بكتيرية واحدة كفاءة في انتاج انزيم البنسيلينيز (١٤) من مجموع العزلات التي كانت قد اعطت نتيجة موجبة في فحص التحري عن انتاج انزيم البنسيلينيز وتم استخلاص المحلول الانزيمي الخام من بكتريا *E.coli* و باستخدام الطرد المركزي للمزروع البكتيري في الوسط الانتلاحي Luria Bertony broth وبسرعة ٦٠٠٠ دورة / دقيقة ولمدة ٢٠ دقيقة وبدرجة ٤م ، عرض بعدها عالق الخلايا الى جهاز التكسير بالامواج فوق الصوتية لتحطيم الخلايا لمدة ٥ دقائق (بواقع ٣٠ ثانية تعريض للامواج فوق الصوتية و ٣٠ ثانية ايقاف التعريض)، قيس بعدها الفعالية الانزيمية وباتباع طريقة (١٥) و تم تقدير تركيز البروتين للمستخلص الانزيمي وباتباع طريقة (١٦) خلال جميع مراحل الاستخلاص و التنقية. اجري بعدها طرد مركزي لعالق الخلايا المحطمة وبسرعة ١٣٠٠٠ rpm ولمدة ٢٠ دقيقة وبدرجة ٤م، اهلل الراسب واخذ الرائق الحاوي على فعالية انزيمية.

٢. تنقية انزيم البنسيلينيز :- تمت تنقية المستخلص الانزيمي الخام تنقية جزئية وباتباع الطرق التالية وقد تم قياس تركيز البروتين و الفعالية الانزيمية بعد كل خطوة من خطوات التركيز و التنقية.

١- الترسيب بوساطة كبريتات الامونيوم :- اضيفت كبريتات الامونيوم الى المستخلص الانزيمي الخام وصولاً الى ٢٥% اشباع وبدرجة حرارة ٤م.

٢- الديلزة :- تم ديلزة المستخلص الانزيمي المرسب بوساطة انبوب الديلزة ضد دارئ الفوسفات (٠,٠٥ مولاري ورقم هيدروجيني ٧) لمدة ٢ ساعة وبدرجة ٤ م.

٣- تركيز المستخلص الانزيمي :- جمع المستخلص الانزيمي بعد عملية الديلزة وركز باستخدام مادة PEG 6000 وبدرجة ٤ م لمدة ٤ ساعات.

٤- الفصل باستخدام عمود المبادل الايوني ثنائي اثيل ثنائي مثيل سيليلوز (DEAE-Cellulose) :- استخدم عمود المبادل الايوني السالب (DEAE-Cellulose) بابعاد ٠,٥

× ١٥ سم تنقية انزيم البنسيلينيز المستخلص من العزلة المحلية (Eu6) حيث تمت الموازنة باستخدام محلول دارئ الفوسفات ذو التركيز ٠,٠٥ مولار والرقم الهيدروجيني ٧ وبسرعة

جريان ٠,٥ مل/دقيقة. تم استرداد الانزيم بوساطة التدرج الملحي الخطي (٠,٥-٠,٥ مolar) من كلوريد الصوديوم وبسرعة جريان ٠,٥ مل / دقيقة وبواقع ٤ مل لكل جزء.

٥- الترشيح الهلامي باستخدام عمود Sephacryl S-200:- استخدم العمود ذو الابعاد ١,٥ × ٨٥ سم لغرض تنقية الانزيم، تمت الموازنة للعمود باستخدام محلول دارئ الفوسفات ذو التركيز ٠,٠٥ مolar والرقم الهيدروجيني ٧ وبسرعة جريان ٠,٥ مل/دقيقة وهي تمثل نفس السرعة التي جمعت فيها الاجزاء وبواقع ٤ مل لكل جزء.

٣. تعيين الرقم الهيدروجيني الامثل والدرجة الحرارية المثلى لعمل الانزيم: تم قياس فعالية الانزيم في قيم مختلفة من الرقم الهيدروجيني تراوحت ما بين (٣-٩) وكذلك تعيين الدرجة الحرارية المثلى وذلك بحضن الانزيم في درجات حرارة مختلفة (٤, ١٠, ٢٢, ٣٠, ٣٧, ٤٠, ٥٠ م).

النتائج والمناقشة

بينت نتائج غربة العزلات البكتيرية كفاءة العزلة Eu6 في انتاج انزيم البنسيلينييز وذلك بتغيير لون الكاشف اليود - النشا من الازرق الغامق الى الابيض خلال ثواني معدودة مقارنة ببقية العزلات التي كانت قد اعطت نتيجة موجبة في الفحص اضافة لكون العزلة قد اظهرت مقاومة عالية لمضادات البنسلينات دون السيفالورسبورينات لذا تم اختيار العزلة كافضل عزلة منتجة للانزيم مقارنة ببقية العزلات . ان طريقة اليود القياسية المستخدمة في الكشف عن انزيم البيتالاكتاميز (البنسيلينييز) لغرض العزلة الاولى للعزلات المنتجة لانزيم البيتالاكتاميز تمايز بسهولة اجراءها وقصر الفترة الزمنية اللازمة للحصول على النتيجة (14,17).

يبين الجدول (١) مراحل تنقية انزيم البنسيلينييز من العزلة المحلية Eu6 حيث تبين النتائج احتفاظ الانزيم بفعاليته الانزيمية كاملة تقريباً ٢,٣٦ وحدة / مل وذلك بعد معاملته بكميات الامونيوم وصولاً الى ٢٥% اثباع قياساً بما كانت عليه في المستخلص الخام حيث بلغت ٢,٤٠ وحدة/مل مما يشير الى عدم تاثر الانزيم بكميات الامونيوم عند استخدامها بالنسبة المشار اليها وهذه النتائج تتفق مع ما اشار اليه كل من (12) عند معاملتهما لانزيم البنسيلينييز المستخلص من بكتريا *Klebsiella pneumoniae* حيث بلغ مقدار الاسترداد الانزيمي ٧٢,٥% عند معاملة الانزيم بكميات الامونيوم وقد اشار الباحث (9) الى استخدام كميات الامونيوم في تنقية انزيم البنسيلينييز من نوع TEM-1 و TEM-2 وصولاً الى ٢٥% اثباع دون أن يتأثر الانزيم.

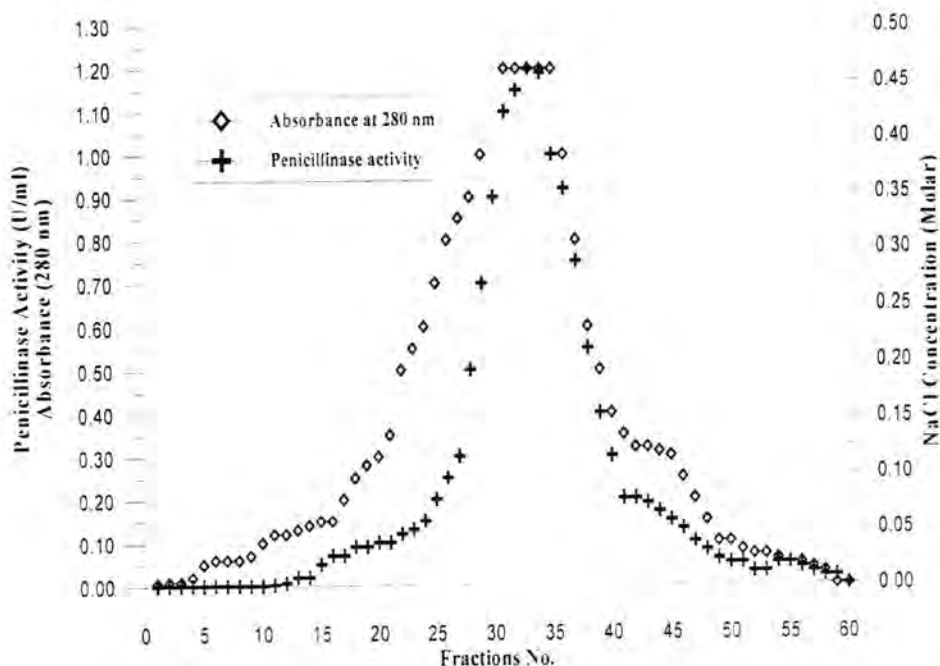
جدول (١) : خطوات تنقية انزيم البنسيلينييز المستخلص من العزلة المحلية Eu6

مرحلة التنقية	الحجم مليتر	الفعالية الانزيمية (وحدة/مل)	تركيز البروتين (ملغم/مل)	الفعالية النوعية (وحدة/ملغم)	الفعالية الكلية (وحدة)	عدد مرات التنقية	الاسترداد %
المستخلص الخام	٣٠	٢,٤٠	٥٠	٠,٠٥	٧٢,٠	١,٠٠	١٠٠%
الترسيب بكبريتات الامونيوم Saturation %25	٣٠	٢,٣٦	٣٧	٠,٠٦	٧٠,٨٠	١,٢٠	٩٨,٣%
الديليزة ضد محلول داري الفوسفات	٣٠	٢,٣٢	٢٦	٠,٠٩	٦٩,٦٠	١,٨٠	٩٦,٧%
التبادل الايوني باستخدام المبادل الايوني DEAE- Eccellulose	٢٠	١,٢٣	٨	٠,١٥	٢٤,٦٠	٣,٠٠	٥١,٢%
الترشيح الهلامي باستخدام عمود Sephacryl S-200	٢٠	١,١٦	٠,٧	١,٦٦	٢٣,٢٠	٣٣,٢٠	٤٨,٣%

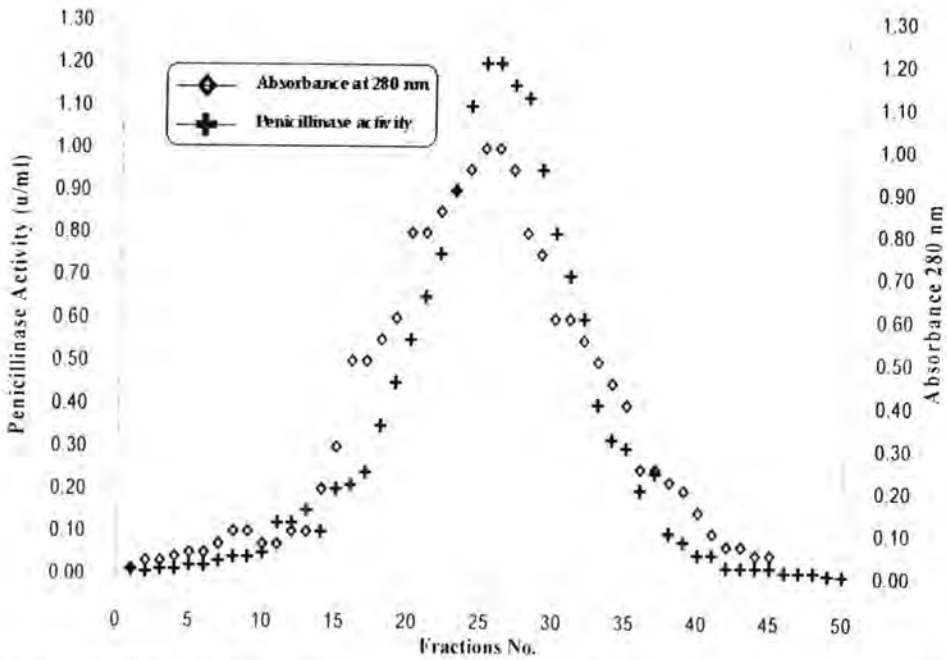
ان استخدام المبادل الايوني السالب DEAE-cellulose في عملية تنقية انزيم البنسيلينييز قد اظهر كفاءة في عملية فصل الانزيم وذلك من خلال ارتباط الانزيم بالمبادل السالب عند الرقم الهيدروجيني ٧ وظهور قمة واحدة (شكل ١) حيث تشير النتائج الى ارتفاع قيمة الفعالية النوعية للانزيم حيث بلغت ٠,١٥ وحدة/ملغم عند استخدام المبادل الايوني السالب عما كانت عليه في خطوة الترسيب بالكبريتات ٠,٠٦ وحدة/ملغم وكما موضح في جدول ١ وقد استخدم التدرج الملحي الخطي بوساطة كلوريد الصوديوم حيث كان استرداد الانزيم عند التركيز ٠,٢-٠,٣ مولار من الملح المذكور شكل (١). لقد اشار العديد من الباحثين الى استخدام كروماتوغرافيا التبادل الايوني السالب كاحدى خطوات تنقية انزيم البنسيلينييز حيث اكد الباحثان (١٨) الى استخدام المبادل الايوني السالب في تنقية انزيم البنسيلينييز المستخلص من بكتريا *E. coli* W3310 وبازدياد في قيمة الفعالية النوعية للانزيم الى ٩١,٧٢ وحدة/ملغم. اما

سعود رشيد العاني وجماعته

الباحثون (١٩) لقد اشاروا الى فعالية استخدام المبادل الايوني السالب في تنقية انزيم البنسيلينيز المعزول من بكتريا *Clostridium butyricum* حيث كان استرداد الانزيم عند التركيز ١ مولار من ملح كلوريد الصوديوم.



شكل (١) محلي كروماتوغرافيا التبادل الايوني السالب باستخدام المبادل DEAE-Cellulose انزيم البنسيلينيز المستخلص من العزلة (Eu 6) تحت الموازنة باستخدام محلول داري الفوسفات ذو التركيز ٠.٠٥ مولار والاس الهيدروجيني ٧، والاسترداد بواسطة التدرج المالح ٠.٥-٠.٠٥ مولار كلوريد الصوديوم في نفس المحلول السابق وبسرعة جريان ٠.٥ مل/دقيقة. حجم العمود (١٥x ١٠٠ cm) وبواقع ٤ مل لكل جزء.



شكل (٢) منحني كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستخدام عمود الترشيح الهلامي Sephacryl S-200 بابعاد (٨٦x١,٥ cm) لتنقية انزيم البنسيلينييز المستخلص من العزلة 1:116 والموازن حيال داري الفوسفات بتركيز ٠,٠٥ مولار ذو الاس الهيدروجيني ٧ وبسرعة جريان ٠,٥ مل/ دقيقة وبواقع ٤ مل لكل جزء.

اما بالنسبة لكروماتوغرافيا الترشيح الهلامي فقد اجريت على القمة الحاوية على فعالية انزيمية عالية لانزيم البنسيلينييز حيث تم اخذ الاجزاء الحاوية على فعالية عالية وهي (٣٠، ٣١، ٣٢، ٣٣، ٣٤) والنتيجة من استخدام عمود المبادل الايوني السالب شكل (١) حيث بينت النتائج ظهور قمة واحدة رئيسية عند استخدام هلام السفاكريل تحتوي هذه القمة على فعالية انزيمية اضافة الى زيادة في قيمة الفعالية النوعية ١,٦٦ وحدة/ملغم قياساً عما كانت عليه في المستخلص الخام ٠,٠٥ وحدة/ملغم ان الارتفاع في قيمة الفعالية النوعية يعتبر مؤشر على مدى نقاوة المستخلص الانزيمي (شكل ٢).

سعود رشيد العائى وجماسته

لقد اشار العديد من الباحثين الى استخدام كروماتوكرافيا الترشيح الهلامي في تنقية انزيمات البينالاكتاميز بنوعيا البنسيلينيز والسيفالوسبورينيز حيث اورد الباحثان (20) استخدام عمود الترشيح الهلامي Sephadex G-75 في تنقية انزيم البنسيلينيز المستخلص من بكتريا *E. coli* وباسترداد انزيمي مقداره ٢٩%. لقد اظهرت نتائج قياس الرقم الهيدروجيني الأمثل لثبات الانزيم ان الانزيم يحتفظ بفعاليته كاملة تقريباً عند الرقم الهيدروجيني ٧ وكما موضح في شكل (٣) اما بالنسبة للدرجة الحرارية المثلى لعمل الانزيم فقد كانت في المدى الحراري ٣٠-٣٧°م شكل (٤)

يتضح من هذه النتائج ان انزيم البنسيلينيز المنقى والمستخلص من العزلة المحلية Eu6 يتأثر كثيراً بقيم الرقم الهيدروجيني كلما ابتعدنا عن قيمة الرقم الهيدروجيني المتعادل سواء بالاتجاه القاعدي او الحامضي وكذلك الحال بالنسبة للدرجات الحرارية فكلما ابتعدنا عن المدى الحراري الأمثل لفعالية الانزيم نلاحظ انخفاض في قيمة الفعالية الانزيمية وهذا طبيعي اذ كما هو معروف عن التفاعلات الانزيمية انها تتأثر وبشكل كبير بتغير قيم الرقم الهيدروجيني كما هو الحال مع درجات الحرارة.

المصادر

1. Joseph, K.M. *etal.* New microbiological method for the detection of *staphylococcal* Beta-Lactamase. *Indi. J. Exper Biol.* 31:653-654. (1993).
2. Medeiros, A.A. Evolution of dissemination of β -Lactamases accelerated by generation of β -Lactam antibiotics clin. *Infect Dis.* 24(1): 519-945. (1997).
3. Ambler, R. P. The structure of β -Lactamases. *Philos Trans. R. Soc. London Biol. Sci.* 289: 321-331. (1980).
4. Brown, M.R. Resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. 1st Ed. John Wiley and Sons. London. (1975).
5. Livermore, D.M.. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin. Microbio. Reviews.* 8(4). 557-584. (1995)
6. Arstila, T.; Jacoby, G. A. and Huovinen. P. Evaluation of different methods to prepare bacterial extracts for the identification of

- β - Lactamases by isoelectric focusing. J. Antimicrob. Chemother. 32: 809-816. (1993).
7. Jacoby, G.A. and Han, P. Detection of Extended spectrum β -Lactamase in clinical isolates of *K. pneumoniae* and *E.coli*. J. of clinical Microbiology. 34(4): 908-911. (1996).
 8. Paul, G., G.; Gerbaud, G.; Aune, B.; Phillipon, A.M.; Pagon, B. and Courvaline, P. TEM-4 anew plasmid. Mediated β -lactamase that hydrolyzes Broad- spectrum cephalosprins in clinical isolate of *E.coli*. Antimicrob. Agents chemo ther. 33(11): 1958-1963. (1989).
 9. Chaibi, E.B.; Sedighch, F.; Peduzzi, J. and Labia, R. An additional ionic bond suggested by molecular modeling of TEM-2 might induce a slight discrepancy between catalytic properties of TEM-1 and TEM-2 β - Lactamases. FEMS. Microbiol. Lett. 143: 121-125. (1996).
 10. Brown, S. and Horz, W. Purification and properties of *Bacillus subtilis* endonucleases. In: Methods in Enzymology (Eds Grossman, Land Moldave, K.) Academic press, INC Harcourt Brace Javanovick publishers. 65 p:112. (1980).
 11. Cooper, T. G. The tools of Biochemistry. John Wiley and Sons. New York. (1977).
 12. Dale, J.W. and Smith, J. T. The purification and properties of the β -Lactamase specified by the resistance factor R- 1818 in *E. coli* and *Proteus mirabilis*. Biochem. J. 123: 493-500. (1971).
 13. Christensen, H.; Martin, M.T.; Waley, S.G. β - lactamase as fully efficient enzymes: determination of all rate constant in the acyl-enzyme mechanism. Biochem. J. 266:853-61. (1990).
 14. Al- Muqdadi, Elaf U., Swsan R. Al- Jubori, Souod R. Alani, Genetic and Bacteriological study on penicillinase enzyme extracted from *E.coli* bacteria locally isolate. Accepted in Al- Mustansiriya J. of Sci. (11-388, 27.11. 2001). (2001).
 15. Bhat, K.; Hedge, B. K. and shivanda, P. G. Effect of trace metals on production of exoprotein and β -lactamase by *staphylococcus aureus*. Indian J. of experimental Biology. 32(7): 492-494. (1994).
 16. Brad ford, M. M. Arapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. Analyt. Biochem. 72:248-255. (1976).
 17. Richter, S.S.; Winokur, P.L.; Brueggeman, A.B.; Huynh, H.K.; Rhomberg, P.R.; Wingert, E.M. and Doren, G.V. Molecular characterization of the β - lactamases from clinical isolates of

- Moraxella (Branhamella) catarrhails* obtained from 24 U.S. Medical centers during 1994-1995 and 1997-1998. Antimicrob. Agents and chemother. 44(2): 444-446. (2000).
18. Melling, J. and scott, G. K.. Prepration of gram Quantities of a purified R-Factor-Mediated penicillinase from *E. coli* strain W 3310. Biochem. J. 130 : 55-62. (1972)
 19. Kesado, T.; Lindovist, L.; Hedbergo, M.; Tuner, K. and Nord, C.E. Purification and characterization of new β -lactamase from *Clostridium butyricum*. Antimicrob. Agents chemother. 33(8):1302-1307. (1989).
 20. Mathew, M.; Smith, J.T. Types of β -lactamases determined by plasmid in Gram. Negative bacteria. J. OF Bacteriolo. 138(3): 657-662. (1979).

التأثير التثبيطي للسموم القاتلة المنتجة من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* عند تنميتها تحت ظروف بيئية مختلفة في نمو بعض انواع البكتريا المرضية

عبد الواحد باقر ، زينب محمد ، رعد كاظم المصلح
قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

الخلاصة

اختبرت سبع عزلات منتجة للمواد المثبطة (السموم القاتلة) من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* لدراسة كفاءتها في تثبيط نمو ستة انواع مختلفة من البكتريا المرضية شملت *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella spp.* (سالبة كرام) *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (موجبة كرام). اظهرت خمس عزلات هي (Vy₇, Co₆, Fy₃, Dy₂, Dy₁) تأثيراً مثبطاً لنمو البكتريا الاختبارية في كل من الوسطين الزراعيين التركيبين Yeast Extract Pepton Dextrose (YEPD), Sabouraud Dextrose Broth (SDB). وحددت الظروف المثلى لانتاج اكبر كميات من المواد المثبطة، والتي شملت درجة الحرارة والاس الهيدروجيني. اظهرت النتائج ان الاس الهيدروجيني الامثل لانتاج اعلى تركيز من المواد المثبطة هو (6) والذي اثر بشكل واضح وفعال اتجاه البكتريا الاختبارية اما الدرجة الحرارية المثلى لذلك فقد كانت 28 °م عندما سجلت اعلى اقطار مناطق التثبيط.

ABSTRACT

Seven isolates that produced inhibitory materials (Killer toxins) of *Saccharomyces cerevisiae* were selected and studied for their efficiency in inhibiting growth of different pathogenic bacteria included, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella spp.* (gram negative) and *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (gram

positive). Five isolates (Dy₁, Dy₂, Fy₃, Co₆, Vy₇) exhibited inhibitory effect on the growth of tested bacteria which were grown on SDB and YEPD media. The ideal conditions to produce the largest possible quantity of inhibitory materials, were evaluated in various temperatures, pH. Results showed that the optimum pH to produced a largest amounts of inhibitory materials which have real effect against testing bacteria was 6, and the optimum temperature was 28°C when the highest inhibition zone diameters , was recorded.

المقدمة

استخدمت خلايا الخميرة الحية في معالجة الاصابات التي تسببها البكتيريا المعوية (1,2) , استخدمت خميرة *Saccharomyces boulardii* غير المرضية على نطاق واسع لمعالجة حالات اضطراب جهاز الهضم المحدث بسبب كثرة استخدام المضادات الحياتية، وكذلك في معالجة الاصابات المعوية المرافقة للاطفال حديثي الولادة التي تسببها بكتريا *Clostridium difficile* (4,3).

هناك عدة طرائق توضح آليات حماية المواد المثبطة اتجاه مسببات الاصابات المعوية. اعطت نتائج الدراسات والابحاث باستخدام الحيوانات المختبرية كثير من التفسيرات والاسس والقواعد العامة في فهم آليات فعل المواد المثبطة اتجاه البكتيريا المرضية المعوية ومسببات الاسهال الاخرى، ومن احدى هذه الفرضيات تثبيط عمل السموم البكتيرية، حيث وجد ان خميرة *S.cerevisiae* تثبط عمل السم A المنتج من *Clostridium difficile* حيث ترتبط المواد المثبطة مع السم A في داخل مستقيم الجرذان (5). ان للخمائر نفسها القدرة على تثبيط او معادلة فعل السموم المنتجة من قبل بكتريا *E.coli* وكذلك سموم بكتريا *Vibrio cholera*. حيث تعمل سموم هذه البكتيريا على تنشيط تكوين Cyclic Adenosine Monophosphate (cAmp) مما يؤدي الى عدم انتظام خروج ودخول الايونات وفقدان السوائل الى الامعاء، اما الدور الذي تقوم به خميرة *S.cerevisiae* فهي من خلال عملها على كبح تكوين cAmp وبذلك تمنع فعل هذه السموم (9,8,7,6).

المواد وطرائق العمل

عزلات الاحياء المجهرية

استخدمت (7) عزلات من خميرة *Sacchararomyces.cerevisiae* بعد ان اثبتت كفاءتها في انتاج المواد المثبطة ، وقد عزلت من المصادر الاتية عزلتين من الخميرة الجافة المستوردة Dy₂, Dy₁، واحدة عبارة عن خميرة مضغوطة Co₆ ، وواحدة من كل من الخل Vy₇ ، الفواكه المتحللة Fy₃ ، احد معامل الكحول Ay₁₂ اضافة الى السلالة القياسية ATCC 11305، والتي تم الحصول عليها من كلية تربية بنات.

اما عزلات البكتيرية الاختبارية فقد كانت *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp.*, *Bacillus subtilis*, *Escherichiae coli*, *Staphylococcus aureus* جمعت هذه العزلات من المختبرات التعليمية في مدينة صدام.

الايوساط الزراعية وظروف النمو

استخدم وسط Sabauroud Dextrose Broth (SDB) المجهز من شركة Oxoid لتنمية الخميرة. ووسط (YEPD) Yeast Extract Peptone Dextrose الذي حضر بأذابة 15 غم مستخلص الخميرة، 25 غم بيتون، 20 غم دكستروز في لتر واحد من الماء مقطر، عقم الوسطين في الموصدة بحرارة 121°م (15 باوند / انج) لمدة 15 دقيقة، استخدم الوسطين لتنمية عزلات الخميرة ، وسط الاكار المغذي (Oxoid) Nutrient Agar لغرض تنمية حفظ وتنشيط عزلات البكتريا.

تقدير الفعالية التثبيطية

اتبعت طريقة الحفر لتقدير الفعالية التثبيطية للخميرة بعد تنميتها في الوسطين (YEPD, SDB) بحرارة 28 م ولفترات زمنية (24, 48, 72) ساعة، علمت حفرة بقطر 5 ملم وعمق 5 ملم بواسطة مثقاب الفلين على سطح وسط الاكار المغذي المزروع بأنواع البكتريا المستخدمة ثم ملئت الحفر ب 0.5 مل من راشح الخمائر المنتجة، تركت لمدة ساعتين في المختبر ، ثم حضنت الاطباق بحرارة 37°م لمدة 24 ساعة، بعد ذلك اخذ قياس قطر منطقة التثبيط (بالملم).

تأثير بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية في إنتاج المواد المثبطة

١- تأثير الاس الهيدروجيني

حضر الوسط الزراعي SDB ذي قيم اس هيدروجيني (5, 5.5, 6, 6.5)، ولقح الوسط بعزلات الخميرة المنتجة، واختبرت رواشها بعد فترة حضن بحرارة 28 م° ضد البكتيريا الاختبارية.

٢- تأثير درجات الحرارة

حضر الوسط الزراعي SDB وضبط الاس الهيدروجيني الى 5.5 ولقح بعزلات الخميرة المنتجة، وحضن بدرجات حرارية مختلفة (20, 24, 28, 30) م° ولمدة 48 ساعة، ثم اختبرت فعالية الراشح ضد البكتيريا الاختبارية المرضية.

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج في الجدول (1) تباين تأثير عزلات الخميرة المنمأة في وسط SDB بحرارة 28 م° ثلاث فترات زمنية في نمو عزلات البكتيريا الاختبارية، كما لوحظ ان هناك تباين في مدى استجابة وحساسية البكتيريا المرضية لهذه المواد تبعاً لعزلة الخميرة المستخدمة، ففي الوقت الذي لم يثبط نمو جميع انواع البكتيريا باستخدام العزلتين Acc_4 و Fy_2 وان العزلات Dy_2 , Dy_1 , Co_6 , Vy_7 قد اشتركت في التأثير على البكتيريا وكالاتي :

كان لهذه العزلات تأثير مثبط بعد فترة حضن 24 ساعة في نمو البكتيريا، وتراوح بين التأثير البسيط باقطار تثبيط (9-11) ملم في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* الى التأثير الواضح جداً باقطار تثبيط عالية بلغت (30-33) ملم في بكتريا *Salmonella typhimurium*, وبالدرجة الثانية في التأثير او الحساسية للمواد المثبطة وذلك عندما بلغت اقطار مناطق التثبيط ما بين (18-23) ملم، ولوحظ بعد حضن عزلات الخميرة لمدة 48 ساعة تسجيل اعلى تأثير سجل حيث تراوحت اقطار مناطق التثبيط بين (31-35) ملم لكل من بكتريا *Salmonella*

typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella sp.* ، فيما تراوحت اقطار مناطق التثبيط ضد بكتريا *Bacillus subtilis*, *E.coli* بين (20-25) ملم فيما انخفض تأثير عزلات الخميرة بعد فترة الحضانة هذه في تثبيط نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عن اليوم الاول. اما بعد فترة حضانة عزلات الخميرة لمدة 72 ساعة فقد كان تأثير جميع العزلات بسيطاً (ان لم يكن سلبياً في بعض الاحيان) وذلك عندما انخفضت اقطار مناطق التثبيط بشكل واضح ضد جميع انواع البكتريا الاختبارية.

اما التأثير التثبيطي لعزلات الخميرة المنمأة في وسط (YEPD) فقد بينت النتائج في الجدول (2) ان هناك تأثير واضح في تثبيط نمو البكتريا بعد حضانة عزلات الخميرة في هذا الوسط لمدة 24, 48, 72 ساعة فقد كان التأثير واضحاً بعد حضانة لمدة 24 ساعة، ويلاحظ زيادة التأثير بعد فترة 48 ساعة حيث بلغت (30-32) لكل من العزلات (Dy_1 , Fy_3 , Co_6) فيما كانت اقطار مناطق التثبيط 24 ملم لكل من العزلتين (Dy_2 , Vy_7).

اما عند دراسة تأثير الاس الهيدروجيني في تحفيز عزلات الخميرة المنتجة للمواد المثبطة المنمأة SDB ضد البكتريا الاختبارية فقد بينت النتائج في جدول (3) ان الاس الهيدروجيني الامثل لانتاج اعلى تركيز من المواد المثبطة والذي اثر بشكل واضح وفعال اتجاه البكتريا الاختبارية هو (6) ، حيث وصل قطر منطقة تثبيط بكتريا *Staphylococcus* 35 ملم و *Klebsiella spp* 32 ملم. اما الاس الهيدروجيني 5.5 فيلي الاس الهيدروجيني 6 في تحفيز الخمائر للانتاج المواد المثبطة حيث تراوحت اقطار مناطق

الناتير التثبيطي للسموم القاتلة المنتجة من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* عند تمييتها تحت ظروف بيئية مختلفة في نمو بعض
أنواع البكتريا المرضية
عبد الواحد باقر وجماعته

جدول (١) معدلات اقطار مناطق التثبيط (مم) التي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* ضد بكتريا الاختبارية المستخدمة

<i>P.aeruginosa</i>	<i>Klebsiella spp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>E.coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	مدة الحضانة (ساعة)	عزلة الخميرة
10	30	31	32	20	20	24	Dy ₁
9	31	32	34	22	22	48	
7	11	11	17	12	17	72	
11	31	30	30	22	18	24	Dy ₂
9	32	33	32	22	20	48	
-	11	13	11	10	12	72	
9	30	33	32	23	20	24	Fy ₃
8	32	35	34	25	24	48	
-	12	16	13	14	16	72	
10	32	33	33	20	21	24	CO ₆
8	35	35	35	22	23	48	
7	14	16	15	11	16	72	
11	32	32	30	20	21	24	Vy ₇
9	33	34	31	22	22	48	
7	15	13	12	10	13	72	
-	-	-	-	-	-	24	Acc ₄
-	-	-	-	-	-	48	
-	-	-	-	-	-	72	
-	-	-	-	-	-	24	Ay ₁₂
-	-	-	-	-	-	48	
-	-	-	-	-	-	72	

• ملاحظة لم يظهر تأثير لعزتي Acc₄ و Ay₁₂ في تثبيط نمو البكتريا الاختبارية

جدول (2) معدلات اقطار التثبيط لعزلات خميرة *Saccharomyces cerevisiae* المنمأة في وسط (YEPD) ضد البكتريا الاختبارية (مقدرة بالملم)

رقم العزلات	مدة الحضانة	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Klebsiella spp</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Dy ₁	24	23	23	28	20	27	15
	48	23	23	32	25	30	18
	72	22	23	30	25	27	18
Dy ₂	24	18	25	20	23	27	18
	48	19	26	24	28	30	23
	72	19	21	24	23	25	20
Fy ₂	24	20	20	24	25	23	20
	48	22	22	32	28	25	22
	72	20	19	26	28	20	21
Co ₆	24	20	20	28	22	25	18
	48	22	20	30	28	31	20
	72	20	20	28	28	28	20
Vy ₂	24	20	25	20	21	20	16
	48	25	25	24	25	25	17
	72	21	24	24	24	25	17

جدول (3) تأثير الاس الهيدروجيني في معدلات اقطار مناطق التثبيط (ملم) العزلات الخميرة المنمأة في وسط (SDB) ضد البكتريا الاختبارية

عزلة الخميرة	الاس الهيدروجيني	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Klebsiella spp</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Dy ₁	5	8	8	8	8	10	7
	5.5	15	12	15	13	20	9
	6	19	20	30	28	31	12
	6.5	10	10	12	12	12	7
Dy ₂	5	10	9	8	8.5	12	7
	5.5	17	14	14	15	21	9
	6	23	23	32	30	32	13
	6.5	12	11	12	12	12	8
Fy ₁	5	10	9	7	9	12	7
	5.5	14	13	12	15	20	10
	6	21	20	30	32	30	13
	6.5	10	10	10	10	10	7
Co ₆	5	9	7.5	9	7.5	10	7
	5.5	15	11	18	13	22	10
	6	22	21	35	28	32	14
	6.5	11	10	10	10	12	8
Vy ₂	5	9	8	9	7	8	7
	5.5	16	12	17	12	2	9
	6	20	20	28	24	28	11
	6.5	10	10	12	11	12	8

ملاحظة : لم تظهر أي منطقة تثبيط عند اس (4 و 7).

التأثير التثبيطي للمسموم القاتلة المنتجة من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* عند تنميتها تحت ظروف بيئية مختلفة في نمو بعض
النوع البكتريا المرضية.
عبد الواحد باقر وجماعته

جدول (4) تأثير درجات الحرارة في معدلات اقطار مناطق التثبيط (بالملم) لعزلات الخميرة
المنامة في وسط SDB السائل ضد البكتريا الاختبارية

عزلة خميرة	درجة حرارة الحضان (م)	<i>B. subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella spp</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>P.aeruginosa</i>
Dy ₁	20	11	12	20	17	12	10
	24	15	18	25	25	23	11
	28	20	23	30	30	30	12
	30	18	17	15	13	9	7
Dy ₂	20	12	16	18	16	14	10
	24	16	18	20	20	22	12
	28	25	25	35	32	31	13
	30	12	10	18	16	11	7
Fy ₂	20	12	12	21	16	17	10
	24	15	18	25	21	22	12
	28	20	23	35	30	32	13
	30	13	17	16	15	13	9
Co _m	20	15	10	20	17	17	9
	24	13	18	23	22	22	11
	28	22	22	28	32	27	14
	30	14	10	16	13	11	7
Vy ₁	20	12	11	18	14	15	9
	24	15	18	21	19	20	10
	28	20	22	25	24	23	11
	30	11	10	14	10	9	7

التثبيط بين (12-20) ملم ضد جميع البكتريا الاختبارية باستثناء بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* التي كانت اقل تأثير. وادى الاس الهيدروجيني 4 و 7 الى عدم قدرة عزلات الخميرة على انتاج اية مواد مثبطة.

اما عن تأثير درجة الحرارة فقد كانت الدرجة الحرارية المثلى هي 28 م⁰ وذلك عندما سجل اعلى قطر منطقة التثبيط 35 ملم (جدول 4) ضد بكتريا *Staphylococcus aureus*، و 32 ملم ضد بكتريا *Klebsiella sp.*، 30 ملم ضد بكتريا كل من *Staphylococcus aureus*، *Klebsiella sp.*، *Salmonella typhimurium*.

اكنت الدراسات ان خميرة *S. cerevisiae* القدرة على تثبيط او معادلة السموم المنتجة من قبل بكتريا *E.coli* وتشابه خميرة *S.cerevisiae* المنتجة للمواد المثبطة مع خميرة *S.boulardii* في قدرتها على تثبيط سموم بكتريا *Vibrio cholerae* وكذلك *Clostridium difficile*^(9,10)، اذ ان الفعل العلاجي لهذه الخمائر قد قسم ضمن ثلاث فرضيات :

أ. التأثير المضاد المباشر : و فسرت هذه الفرضية من خلال تأثير راشح الوسط الزراعي الذي تنمى فيه هذه الخمائر في نمو بكتريا *Salmonella*, *Shigella*, *E.coli* *Clostridium difficile* خارج الجسم⁽¹⁰⁾.

ب. تأثير غذائي مع تحفيز انزيمي وميكانيكية دفاع معوي : فسرت هذه الفرضية على اساس ان لخلايا الخميرة القدرة على تثبيط ارتباط السموم بمستقبلاتها في جدار الامعاء وارتباطها بتلك المستقبلات^(4,11).

ج. تأثير افرازي ضدي : عند ربط هذه السموم البكتيرية مع مستقبلاتها في الامعاء تعمل الخميرة على تقليل افراز السوائل ونضوحها الى الخارج، وفسرت هذه الحالة على اساس انتاج انزيمات محللة بروتينية ذات وزن جزيئي عالي تعمل على هضم كلا من السم البكتيري ومستقبله⁽⁷⁾، وكذلك يمكن لخلايا الخميرة ان تنتج بروتينات ذات اوزان جزيئية مختلفة تعمل على تقليل تكون cAmp من قبل خلايا الامعاء ونضوح الايونات والسوائل الاخرى الى الخارج عند وجود خلايا الخميرة مع البكتريا المعوية المسببة للاسهال او التسمم الغذائي⁽¹²⁾.

وجد ان هناك فرضية اخرى هي ان السموم البكتيرية ربما تلتصق بسطح خلايا الخمائر، حيث انها ربما تكون مشابهة في التركيب والوظيفة الى مستقبل هذه السموم في الامعاء والتي هي Gangelio Mono Cyte (GM)⁽³⁾.

REFERENCES

1. Schellenberg, D., Bonington, C., Champion, R. Treatment of *clostridium difficile* diarrhea with brewers yeast. Lancet 343: 171. (1994).
2. Chia, J., Chan. S.M., Goldstein, H., Baker's yeast as adjunctive therapy for relapses of *clostridium difficile* diarrhea. Clin. Infect. Dis. 20:1581. (1995)
3. Brandae, R., Gostro, I., Bambirra, E. and Amaral, S. Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. App. Env. Micr. Feb - 564. (1998).
4. Buts, J., Corthier, G., Delmee, M. *Saccharomyces boulardii* for *chstridium difficile*. Associated enteropathies in infants. J. pediatr. Gastroen. Nutr. 16:419. (1993)

5. Surawicz, C., Elmer, G., Speelman, P., Prevention of antibiotic associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* : prospective study. Gastroenterology. 96: 981. (1989)
6. Vidon, N., Huchet, T., and Rambaud. J. Influence de *Saccharomyces boulardii* secretion induite chez le rat par la toxine cholera (Abst). Gastroenterol-Clin Biol. 10:13-16. (1986)
7. Pauthoulakis, C., Kelly, M., Jpsh, N., Gao, C., Okeane, I., *Saccharomyces boulardii* inhibits clostridium difficile toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum-Gastroenterology 104: 1108. (1993)
8. Massot, J., Desconclois, M., Astoin, J., Protection par *Saccharomyces boulardii* de la diarrhée à *Escherichia coli* du souriceau (Abst). Ann. Pharm. Fr. 40:13. (1982)
9. Dias, R., Bambirra, E., Silva, M., Nicole J.R., Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against the cholera toxin rats. Bra2. J. Med. Biol. Res. 28:323. (1995).
10. Rodriges, A. Navdij R., Bambirra, E., Vieira, C., Nicole, J.R. Effect of *Saccharomyces* against experimental oral. Infection with *Salmonella typhimurim* and *shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic Mice. J. App. Bact. 81:251. (1996)
11. Peret, E., Bambirra, E., and Nicole, J.R. Dose effect of oral. *Saccharomyces boulardii* treatments on morbidity and mortality immunosuppressed mice. J. Med. Micro. (1998)
12. Czerucka, D., Roux, I., and Rampale, P. *Saccharomyces boulardii* inhibit *Secretagogue* mediated adenosine 3,5-cyclicmonophosphate induction in intestinal cells. Gastroenterology 106:65. (1994)

دراسة تحليلية للاعراض المرضية لداء النوكارديا الرئوي

ابراهيم اسماعيل الشهد * أمال حسين سلمان التميمي وناهية عبد الحسين علي **
 قسم صحة المجتمع / كلية التقنيات الطبية والصحية
 * شعبة الاحياء المجهرية / مستشفى الرشيد العسكري
 ** معهد الهندسة الوراثية والتقنية الاحيائية للدراسات العليا / جامعة بغداد

ABSTRACT

The isolate of *Nocardia* were recovered from sputum samples of 813 patients at tuberculosis and chest Diseases Institute in Baghdad. The result showed that 84% of the cases infected by *Nocardia* were a compained by infection with *Mycobacterium*. Also it has been found that patients of ages between 21-30 years were the most suseptible to infection with *Nocardia* and *Mycobacterium* and the rate of infection was higher in males than in females. There was reduction in the rate of pulmonary nocardiosis infection in patient who was vaccinated with BCG vaccine.

الخلاصة

عزلت بكتريا *Nocardia* من عينات القشع لـ 813 مريضاً من المرجعين لمعهد التدرن والامراض الصدرية في بغداد. وبيئت النتائج ان 84% من حالات الاصابة بالنوكارديا كانت مترافقة مع الاصابة ببكتريا النوكارديا والمايكوبكتريا. وان نسبة الاصابة في الذكور اكثراً من الاناث وانخفضت نسبة الاصابة بداء النوكارديا والتدرن الرئوي في الاشخاص الملقحين بلقاح BCG مقارنة بالاشخاص غير الملقحين.

المقدمة

عرف داء النوكارديا منذ اكثر من قرن ونصف، ففي عام ١٨٢٩ وصف الباحث Sorillon المرض وصفاً دقيقاً في الايقار في مقاطعة Anjou الفرنسية الا ان عزل النوكارديا لأول مرة باعتبارها البكتريا المسببة للمرض لم يتم حتى سنة (١٨٨٨)، اذ استطاع الطبيب الفرنسي Edmond Nocard من عزلها من بقرة مصابة بالرغام البقري Bovin Farcy في

ابراهيم اسماعيل الشهد وجماعته

جزء كوادلوب الفرنسية Guadeloupe Island (1) وفي سنة (١٨٨٩) تمكن الباحث Trevisan من عزل بكتريا تعود الى جنس النوكارديا من بقرة مصابة بالرعام البقري سميت *Nocardia farcinica* وفي عام ١٨٩٠ استطاع الباحث Eppinger عزل بكتريا اطلق عليها *Cladothrix asteroides* تغير فيما بعد الى *Nocardia asteroides* من دماغ انسان توفي بسبب حدوث خراج في الدماغ كان يعتقد بانه السل. ومن الجدير بالذكر انه في عام ١٨٩٨ سجل الباحث Flexner اول اصابة بداء النوكارديا الرئوي في الانسان حدثت في الولايات المتحدة الامريكية (2).

تتواجد بكتريا النوكارديا بصورة طبيعية في التربة والماء والنباتات (3) لذا فانها يمكن ان تنتقل بالهواء مع ذرات الغبار وتدخل الى الرئة عن طريق التنفس او الاستنشاق فتحدث الاصابة بداء النوكارديا (4;5). وقد تحدث الاصابة عن طريق انتشار البكتريا عبر التجويف الفمي (6) والجهاز الهضمي نتيجة لتناول الاغذية الملوثة (7) يكون المرض بشكل افراسات قيحية Suppurative او ورم حبيبي Granulomatous او الاثنين معا (8;9;10) وقد يكون المرض بشكل خراج او موت موضعي للنسيج (10;11). لقد اوضحت الدراسات عدم وجود علامات سريرية خاصة يمكن من خلالها تشخيص داء النوكارديا الرئوي الا ان الامراض السريرية التي تميز المرض هي : اصابة الرئة الحاد او المزمن وقد يظهر بشكل ذات الرئة Pneumonia او تكوين خراج في الرئة abscess او الاثنين معا. وقد تظهر اعراض الورم الحبيبي المشابهة لتلك التي تظهر في التدرن الرئوي (السل) (١٠٨). ان التشخيص الوحيد والدقيق للمرض يكون عن طريق اثبات وجود بكتريا النوكارديا داخل النسيج وعزلها من مكان الضرر بصورة نقية (10;13;12). تؤكد الدراسات الى أن داء النوكارديا من الامراض الانتهازية ويرتبط مع الاصابة بالتدرن الرئوي (السل) وكذلك يصيب المضائف المكبوتة مناعيا وImmunosuppression hosts نتيجة الاصابة بالامراض المختلفة مثل الربو وتوسع القصبات وامراض نقص المناعة المكتسب (الايدز) وكذلك تزيد الاصابة عند المرضى الذين يستعملون علاج الكورتزون وحالات نقل الاعضاء والادمان على الكحول وغيرها (١٤).

ونظراً لأهمية المرض من ناحية الصحة العامة ولعدم توفر دراسات معمقة ومستفيضة في العراق حول الاعراض المرضية لداء النوكارديا الرئوي لذا تم اعداد دراسة تحليلية للمرض من حيث (الاعراض المرضية، الجنس، الفئات العمرية، وتأثير لقاح BCG) ومدى تشابهها مع بعض امراض والتهابات الجهاز التنفسي وبالاخص التدرن الرئوي (السل).

المواد وطرائق العمل

تم اعتماد استمارة الاستبيان جدول (١) لتسجيل البيانات والمعلومات والاعراض المرضية لـ 813 مريضاً من المراجعين لمعهد التدرن والامراض الصدرية التابع لوزارة الصحة ومن كلا الجنسين وبمختلف الاعمار المشكوك باصابتهم بالتدرن الرئوي (السل) والذين يعانون من امراض والتهابات الجهاز التنفسي والمحتمل اصابتهم بداء النوكارديا وذلك عن طريق السؤال المباشر للمرضى وفقاً لاستمارة الاستبيان.

الفحص المباشر للعينات

تم عمل مسحات على شرائح زجاجية للعينات جميعها وصبغت بصبغة غرام Gram stain والصبغة الحامضية الصامدة Acid fast للكشف من وجود بكتريا النوكارديا *Nocardia spp* (موجبة لصبغة غرام وصامدة جزئياً للحمضة) وعصيات السل *Mycobacterium spp* (صامدة للحمضة).

عزل النوكارديا

زرعت عينات القشع باستعمال اوساط زرعية مختلفة ودرجات حرارة حضن مختلفة، اذ زرعت العينات على وسط اكار البارفين وحضنت بدرجة حرارة (٢٥، ٣٧، ٤٥) م لمدة ٣ اسابيع، كذلك زرعت العينات على وسط L₁ الصلب وحضنت القناتين بدرجة (٢٥، ٣٧، ٤٥) م لمدة ٣ اسابيع . كما زرعت العينات على الاوساط الزرعية آكار نقيع القلب والدماغ BHI و SDA وآكار الدم وحضنت الاطباق بدرجة حرارة (٢٥، ٣٧، ٤٥) م لمدة ٧ ايام (١٥).

النتائج والمناقشة

اعتمد الفحص المباشر لـ ٨١٣ عينة من القشع للمرضى المشمولين بالبحث على التصبغ بصبغة غرام Gram stain والصبغة الحامضية الصامدة Acid fast كفحص تشخيصي اولي للكشف عن وجود *Nocardia spp* و *Mycobacterium spp* وظهرت النتائج كما موضح في الجدول (٤) تظهر نتائج الفحص المباشر ان ٢١ مريضاً (٨٤%) من مجموع ٢٥ مريضاً من المصابين بداء النوكارديا الرئوي كانوا مصابين ايضا بالتدرن الرئوي وهذا يؤكد ان

هناك ارتباطاً وثيقاً بين الإصابة بداء النوكارديا والتدرن الرئوي. إذ تشير عدد من الدراسات الى ان داء النوكارديا هو مرض انتهازى (ثانوي) يحصل غالباً بعد الإصابة بالتدرن الرئوي، إذ يعد التدرن الرئوي احد عوامل الخطورة التي قد تسهل الإصابة بداء النوكارديا (4;12;16;14). في حين بينت دراسات اخرى الى ان الإصابة بداء النوكارديا قد يسهل حصول الإصابة بالتدرن الرئوي والذي يعد من الامراض الانتهازية^(١٧). ومن خلال دراسة وتحليل المعلومات والبيانات المدونة في استمارة الاستبيان للمرضى المشمولين بالبحث ظهرت الاعراض المرضية كما موضح في الجدول (٢) وبلغ المرضى الملقحين بلقاح الـ (Bacilli-Calmette Guerin) ٤٨٣ مريضاً (٥٩,٤%) وكانت الفئات العمرية للمرضى الذين شملهم البحث تتراوح بين (١٠-٨٠) سنة موزعة كما موضح في جدول (٣) وكان عدد الذكور ٤٧٥ (٥٨,٤%) اما عدد الاناث فكان ٣٣٨ (٤١,٦%) . واستناداً الى هذه المعلومات تم التوصل الى النتائج الآتية:

٢- علاقة الاعراض المرضية بنوع الإصابة

يبين الجدول (٥) الاعراض المرضية المصابين بالتدرن الرئوي والبالغ عددهم ٢٤٠ مريضاً وكذلك للمرضى المصابين بداء النوكارديا (٤ مرضى) والاعراض المرضية التي ظهرت على ٢١ مريضاً الذين يعانون من الإصابة بداء النوكارديا والتدرن الرئوي معاً. يتضح من جدول (٥) ان الاعراض المرضية التي ظهرت على المصابين بداء النوكارديا تشابه الاعراض المرضية التي ظهرت على المصابين بالتدرن الرئوي وبذلك لا يمكن الاعتماد على العلامات والاعراض المرضية في تشخيص الإصابة بداء النوكارديا وتمييزها عن التدرن الرئوي والحالات المرضية المشابهة الاخرى وهذا يتفق مع ما ذكره (14;18;16).

ب- علاقة جنس المريض بنوع الإصابة

لوحظ ان نسبة الإصابة بداء النوكارديا في الذكور من الاناث سواء كانت الإصابة بشكل مستقل او مرتبط مع الإصابة بالتدرن الرئوي وكما موضح في الجدول (٦) اذ كان عدد المصابين من الذكور ٢٠ (٨٠%) والاناث ٥ (٢٠%) وهذا يتفق مع ما ذكره^(٤) وكذلك الحال بالنسبة للإصابة بالتدرن الرئوي اذ كان عدد المصابين من الذكور ١٨٥ (٧٠,٩%) والاناث ٧٦ (٢٩,١%) وهذا يتفق مع ما ذكره^(١٩) اما الإصابة بامراض الجهاز التنفسي الاخرى فكانت ٢٨٧ (٥٢,٤%) و ٢٦١ (٤٧,٦%) في الذكور والاناث على التوالي. وقد يعزى السبب الى طبيعية

ونوع العمل والجهد الذي يقوم به الذكور وكذلك الاحتكاك بشرائح مختلفة من المجتمع وتواجههم في التجمعات السكانية المكتظة بصورة أكثر من الاناث.

ج- علاقة عمر المريض بنوع الإصابة

يبين الجدول (٧) ان الفئة العمرية الأكثر تعرضاً للإصابة بأمراض التهابات الجهاز التنفسي او الإصابة بداء النوكارديا او داء النوكارديا والتدرن الرئوي معاً كانت تتراوح اعمارهم بين (٢١-٣٠) سنة وهذا يتفق مع ما ذكره^(١٩٠٤) وربما يعود السبب الى طبيعة التغذية والجهد المبذول في هذه المرحلة من العمر وكذلك عدم وعيهم الصحي.

تأثير لقاح BCG على نوع الإصابة

يبين الجدول (٨) ان لقاح BCG قد اثر بشكل ملحوظ في خفض نسبة الإصابة بداء النوكارديا والتدرن الرئوي، اذ تشير اكثر الدراسات ان لقاح الـ BCG يلعب دوراً كبيراً في تحصين الفرد وحمايته من الإصابة بالتدرن الرئوي^(١٩٠٢) وقد لا يؤدي ذلك الى قطع الطريق او منع الإصابة بالجراثيم الانتهازية مثل النوكارديا وغيرها، علماً انه لا تتوفر دراسات تؤكد على أهمية لقاح الـ BCG في تحصين الانسان من الإصابة بداء النوكارديا. في حين لم يكن للقاح الـ BCG تأثير واضح في منع الإصابة بأمراض الجهاز التنفسي الاخرى.

ومن خلال الدراسة تم الحصول على ٢٥ لبكتريا *Nocardia spp.* باستعمال وسط أكار البرافين وطريقة الاصطياد بالبرافين بدرجة حرارة ٣٧ م بعد (٧) أيام من الحضانة وكذلك تم الحصول على ٢٦١ عزلة لبكتريا *Mycobacterium spp.* باستعمال وسط L.J درجة حرارة ٣٧ م بعد ٦ اسابيع من الحضانة.

جدول (١) : استمارة استبيان

Full name:		Date:		Age :	
Sex :	male :	Female :			
Referred by:	Hospital :	Clinic :		Out Patient :	
Type Of Infection:	Respiratory:	Other:			
Date Of Infection:					
Symptom :	Cough	Haemoptysis:			
	Sputum :	Fever :			
	Chest Pain :	Anorexia :			
	Lassitude :	Weight Loss:			
B.C.G. Vaccination :	Vaccinated	Not vaccinated			
Diagnoses :	Suspected T.B.	Other			
Number of visit :	1 st .	2 nd .	Many		
Treatment :	Anti T.B.	Antibiotic		Sedatives	

جدول (٢) الاعراض المرضية التي يعاني منها المرضى المشمولين بالبحث اعتماداً على استمارة الاستبيان

الاعراض المرضية	عدد المرضى	النسبة المئوية (%)
Cough السعال	٨١٣	١٠٠
Sputum القشع	٧٣٥	٩٠,٤
Haemoptysis السعال الدموي	٢٠٥	٢٥,٢
Fever ارتفاع درجة الحرارة	٧٣١	٨٩,٩
Chest pain الام الصدر	٣٩١	٤٨,١
Anorexia فقدان الشهية	٤٩٠	٦٠,٣
Weight loss نقص الوزن	١٩٨	٢٤,٤
Lassitude الشعور بالضعف	٢٨٨	٣٥,٤

جدول (٣) : توزيع الفئات العمرية للمرضى المشمولين بالبحث ٨١٣ مريضاً اعتماداً على استمارة الاستبيان

الفئات العمرية	عدد المرضى	النسبة المئوية (%)
٢٠-١٠	١٢٢	١٥
٣٠-٢١	٢٢٦	٢٧,٨
٤٠-٣١	١٣٨	١٧
٥٠-٤١	١٢٨	١٥,٧
٦٠-٥١	١١٤	١٤
٧٠-٦١	٥٦	٦,٩
٨٠-٧١	٢٩	٣,٦

جدول (٤): نتائج الفحص المباشر للعينات والماخوذة من ٨١٣ مريضاً

نوع البكتريا المشخصة	صبغة غرام	الصبغة الحامضية الصامدة	النسبة المئوية
<i>Nocardia spp</i>	٤	٤	٠,٥
<i>Mycobacterium spp</i>	٠	٢٤٠	٢٩,٥
<i>Nocardia + Mycobacterium</i>	٢١	٢١	٢,٦
Other microorganism	٥٤٨±	٠	٦٧,٤

± موجبة او سالبة لصبغة غرام

جدول (٥): النسبة المئوية للاعراض المرضية وعلاقتها بعدد ونوع الاصابة

الاعراض المرضية	داء النوكارديا		التدرن الرئوي		داء النوكارديا + التدرن الرئوي		امراض الجهاز التنفسي الاخرى	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
المسعار	٤	١٠٠	٢٤٠	١٠٠	٢١	١٠٠	٥٤٨	١٠٠
القشع	١	٢٥	٢١١	٨٧,٩	١٨	٨٥,٧	٥٠٥	٩٢,٢
السعال الدموي	٢	٥٠	١٥٦	٦٥	٨	٣٨,١	٣٩	٧,١
ارتفاع الحرارة	٤	١٠٠	٢٤٠	١٠٠	٢١	١٠٠	٤٦٦	٨٥
الام الصدر	٢	٥٠	٢٢٧	٦٤,٩	١٦	٧٦,٢	١٤٦	٢٦,٦
فقدان الشهية	٢	٥٠	٢٠٢	٨٤,٢	١٥	٧١,٤	٢٧١	٤٩,٥
نقص الوزن	١	٢٥	١٢٠	٥٠	١٠	٤٧,٦	٦٧	١٢,٢
الشعور بالضعف	٢	٥٠	١٤٥	٦٠,٤	١٥	٧١,٤	١٢٦	٢٣

جدول (٦): علاقة جنس المريض بنوع الإصابة

جنس المريض	داء النوكارديا		التدرن الرئوي		داء النوكارديا + التدرن الرئوي		امراض الجهاز التنفسي الاخرى	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
ذكور	٣	٧٥	١٦٨	٧٠	١٧	٨١	٢٨٧	٥٢,٦
اناث	١	٢٥	٧٢	٣٠	٤	١٩	٢٦١	٤٧,٦
المجموع	٤	١٠٠	٢٤٠	١٠٠	٢١	١٠٠	٥٤٨	١٠٠

جدول (٧): علاقة الفئات العمرية بنوع الإصابة

جنس المريض	داء النوكارديا		التدرن الرئوي		داء النوكارديا + التدرن الرئوي		امراض الجهاز التنفسي الاخرى	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
٢٠-١٠	١	٢٥	٣٨	١٥,٨	٥	٢٣,٨	٧٨	١٤,٢
٣٠-٢١	٢	٥٠	٦٦	٢٧,٥	٧	٣٣,٣	١٥١	٢٧,٦
٤٠-٣١	٠	٠	٥١	٢١,٣	٤	١٩	٨٣	١٥,١
٥٠-٤١	١	٢٥	٤٦	١٩,٢	٣	١٤,٣	٧٨	١٤,١
٦٠-٥١	٠	٠	٢٨	١١,٧	١	٤,٨	٨٥	١٥,٥
٧٠-٦١	٠	٠	١١	٤,٦	١	٤,٨	٤٤	٨
٨٠-٧١	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٢٩	٥,٣
المجموع	٤	١٠٠	٢٤٠	١٠٠	٢١	١٠٠	٥٤٨	١٠٠

جدول (٨) : تأثير لقاح BCG على نوع الإصابة

المرضى	المرضى		داء التوكارديا		التدرن الرئوي		داء التوكارديا ^١		امراض الجهاز التنفسي الاخرى	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
الملقحين	٤٨٣	٥٩,٤	١	٢٥	٣	١,٢٥	٨	٣٨,١	٤٧١	٨٥,٩
غير الملقحين	٣٣٠	٤٠,٦	٣	٧٥	٢٣٧	٩٨,٨	١٣	٦١,٩	٧٧	١٤,١
المجموع	٨١٣	١٠٠	٤	١٠٠	٢٤٠	١٠٠	٢١	١٠٠	٥٤٨	١٠٠

المصادر

1. Mostafa, I.E. Studies of bovine farcy in the Sudan. Pathology of the disease. . Comp. Path. 77: 223-229, (1967).
2. Orchard, V.A. Nocardial infection of animal in Newzealand 1976-1978. N.Z. Vet. J. 27: 159-165, (1979).
3. Williams, S.T.; Lanning, S. and Wellington, E.M.H. Ecology of actinomycetes. P. 481-528. In: Goodfellow, M.; Mordarski, M. and Williams, S.T. (ed.). The Biology of the Actimycetes. Academic Press Ltd. London, (1983).
4. Beaman, B.L.; Burnside, J.; Edwards, B. and Causey, W. Nocardial infection in the United States, 1972-1974. J. Infect. Dis. 134: 286-289, (1976).
5. Schaal, P. and Beaman, B.L. Clinical significance of actinomycetes, p. 389-424. In: Goodfellow, M.; Mordarski, M. and Williams, S.T. (ed.) The Biology of the Actimomycetes. Academic Press Ltd., London. (1984).
6. Terezhalmly, G.T. and Bottomely, W.K. Pulmonary nocardiosis associated with primary nocardial infection of the oral cavity. Oral Surg. 45: 200-206, (1978).
7. Burton, D.M. and Burgess, L.P.A. Nocardiosis of the upper aerodigestive tract. Ear. Nose Throat J. 69: 350-353, (1990).
8. Balikian, J.P.; Herman, P.G. and Kopit, S. Pulmonary nocardiosis. Radioogy. 126: 569-573, (1978).
9. Feigin, D.S. Nocardiosis of the lung: Chestraduographic Findings in 21 cases. Thorac. Radiol. 159: 9-14, (1986).
10. Kramer, M.R. and Uttamchandani, R.B. The radiographic appearance of pulmonary nocardiosis associated with AIDs. Chest 98: 382-385, (1990).

11. Gonzalez-Ochoa, A. Virulence of nocardia. Can. J. Microbiol. 19:901-904, (1973).
12. Curry, W.A. Human nocardiosis: a clinical review with selected case reports. Arch. Intern. Med. 140: 818-826, (1980).
13. Anderson, R.D.; Larson, L.A. and Smith, T.F. *Mycoplasma pneumoniae* and *Nocardia asteroides* in lung biopsy tissue of an immunodeficient infant. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 3: 175-177, (1985).
14. Jawetz, E.; Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. Medical Microbiology (21th ed.) Lange Medical Publications, Los Altos, California, (1998).
١٥. الشهد، ابراهيم اسماعيل، أمال حسين و علي، ناهية عبد الحسين. عزل وتشخيص وانتخاب الظروف المثلى لنمو بكتريا *Nocardia asteroides* من القشع. (تحت النشر)، (٢٠٠١).
16. Osoagbaka, O.U. and Njoku-obi, A.N.U. Presumptive diagnosis of pulmonary nocardiosis: value of sputum microscopy. J. Appl. Bacteriol. 63: 27-38, (1987).
17. Simpson, G.L.; Raffin, T.A. and Remington, J.S. Association of prior nocardiosis and subsequent occurrence of nontuberculous mycobacteriosis in a defined, immunosuppressed population. J. Infect. Dis. 146: 211-219, (1982).
18. Glover, R.P.; Herrell, W.E.; Heilman, F.R. and Pfuetze, K.H. Nocardiosis, *Nocardia asteroides* infection simulating pulmonary tuberculosis. J.A.M.A. 136: 172-175, (1948).
19. Macleod, J.; Edwards, C. and Bouchier, I. Davidson's principle and practice of Medicine. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York, (1987).

دراسة بيئية وحياتية لذبابة البطل الزرقاء الأوروبية

نبيل عبد القادر مولود ، بشير عبد الله نصر الله ، بتول عبد الأمير باقر

*المعهد التقني / بعقوبة / قسم صحة المجتمع

**معهد الطب التقني / بغداد

*** كلية العلوم / المستنصرية / قسم علوم الحياة

ABSTRACT

This research includes ecological and biological study of European Blue Bottle fly *Calliphora Vicina* Rob.- Desvoidy in Baquba/ DIALA from the period November 1998- April 1999. High average density, 209 fly was recorded in January and lowest 63 fly was recorded in April. High average of egg incubation periods, larval stages, pre-pupal stages and pupal stages was recorded in field condition, 36h, 276h, 132h, & 248h respectively, while the pre-pupal and the pupa don't live on 35°C and 70% R.H.

الخلاصة

يتضمن هذا البحث دراسة بيئية وحياتية لذبابة البطل الزرقاء الأوروبية *Calliphora Vicina* Rob.- Desvoidy في مدينة بعقوبة / ديالى وللفترة من شهر تشرين الثاني ١٩٩٨ ولغاية نيسان ١٩٩٩. سجل أعلى معدل للكثافة العددية ٢٠٩ ذبابة في شهر كانون الثاني، كما سجل أقل معدل ٦٣ ذبابة في شهر نيسان، ودلت نتائج دراسة حياتية الحشرة عن تسجيل أعلى فترة لحضانة البيض، الدور اليرقي، دور ما قبل العذراء والدور العذري في ظروف الحقل وهي ٣٦ ساعة، ٢٧٦ ساعة، ١٣٢ ساعة، و ٣٤٨ ساعة على التوالي، في حين لم نحصل على الدور ما قبل العذري والعذري في ظروف المختبر على درجة حرارة ٣٥ °م ورطوبة نسبية ٧٠%.

المقدمة

تعد ذبابة البطل الزرقاء الأوروبية *Calliphora Vicina* Roc.-Desvoidy من الحشرات الواسعة الانتشار في العالم ولها أهمية طبية لتأثيرها على صحة الإنسان وحيواناته بسبب انجذابها الى البراز، الجيف واللحوم المتحللة وبكونها ناقلات ميكانيكية للعديد من أنواع

الفيروسات، البكترا و الطفيليات (1973, Greenberg). تسبب يرقات هذه الذبابة أنواعا مختلفة من التدويد الاختياري للإنسان والحيوان، فقد سجل Onorato (1922) أربعة حالات من تدويد الجروح في الإنسان اضافة الى عدة حالات من التدويد بين الحيوانات المختلفة في طرابلس. وذكر Leclercq (1949) حالة واحدة لاصابة شخص بالتدويد البولي في بلغاريا، كما ذكر Zumpt (1965) العديد من حالات التدويد الجلدي، المعوي والبولي للإنسان والحيوانات المختلفة في العالم. كما ذكر Arundel و satherland (1988) بأن يرقاتها تسبب التدويد الجلدي للحيوانات المختلفة في استراليا وتسمانيا. وأشار Moris و Titchener (1997) بأن يرقاتها تسبب التدويد للأغنام في اسكتلندا. وذك Rognes (1998) أهمية هذا النوع بسبب انجذابها للبراز، النفايات، اللحوم المتحللة، الفواكه المختلفة وخاصة المجففة، إضافة الى احداث يرقاتها لأنواع مختلفة من التدويد في بريطانيا. لاتوجد أية دراسة حياتية أو بيئية لهذا النوع في العراق، وعليه اجري هذا البحث في محافظة ديالى لدراسة هذه الجوانب.

المواد وطرائق العمل

اولا : دراسة الكثافة العددية لذبابة البطل الزرقاء الأوربية في ظروف الحقل
استخدمت المصيدة الموضحة بالشكل (I) Spradberg (1991) والتي تتكون من صفيحتين من الألمنيوم طولها 35 سم وعرضها 26 سم وفيها الصفيحة السفلية ثابتة والعلوية متحركة تغطي بمادة لاصقة وتتوسط الصفيحتين فتحة صغيرة دائرية الشكل قطرها 3 سم مثبتة به من الاسفل قنينة زجاجية صغيرة، وتحتوي المصيدة من الأعلى على صفيحة كبيرة شبيهة بالجميلون لوقاية المادة اللاصقة من الأمطار وهي مثبتة بأربعة مساند حديدية، وضعت داخل القنينة الزجاجية قطع صغيرة من رنة الأبقار مع ترطيبها بالدم المخفف بالماء حفاظا عليها من الجفاف، تم تعلق المصيدة على ارتفاع ١,٥ م بين قاعات تربية الدواجن في قرية الحديد/ بعقوبة اضافة الى وجود اعداد كبيرة من الأغنام والأبقار في هذه القرية. أخذت العينات أسبوعيا من شهر تشرين الثاني ١٩٩٨ ولغاية شهر نيسان ١٩٩٩، كما تم تبديل قطع الرنة اسبوعيا بعد جفافها.

ثانياً : دراسة حياتية ذبابة البطل الزرقاء الأوروبية في ظروف الحقل

أ. تم جمع إناث هذه الذبابة باستخدام الشبكة الهوائية وهي تحوم حول الحيوانات الميتة في قرية الحديد وفي شهر كانون الثاني ١٩٩٩.

ب. استخدمت طريقة جديدة لدراسة حياتية الذبابة في الحقل حيث تم تحضير ثلاث أصص ارتفاع كل منها ١٨ سم واقطارها ٢١ سم، وضع في كل منها ولحد ثلثها تربة رملية رطبة، تم وضع في كل منها دجاجة ميتة بعد تنظيفها وتحريرها من الريش، وتم اسقاط انثى واحدة في داخل كل أص و تم تغطيته بواسطة قطعة زجاجية شفافة، تم مراقبة الحشرة من فترة وضع البيض ولحين خروج الكاملة. دونت النتائج وتم حساب معدل نمو كل دور.

ثالثاً : دراسة حياتية ذبابة البطل الزرقاء الأوروبية في المختبر

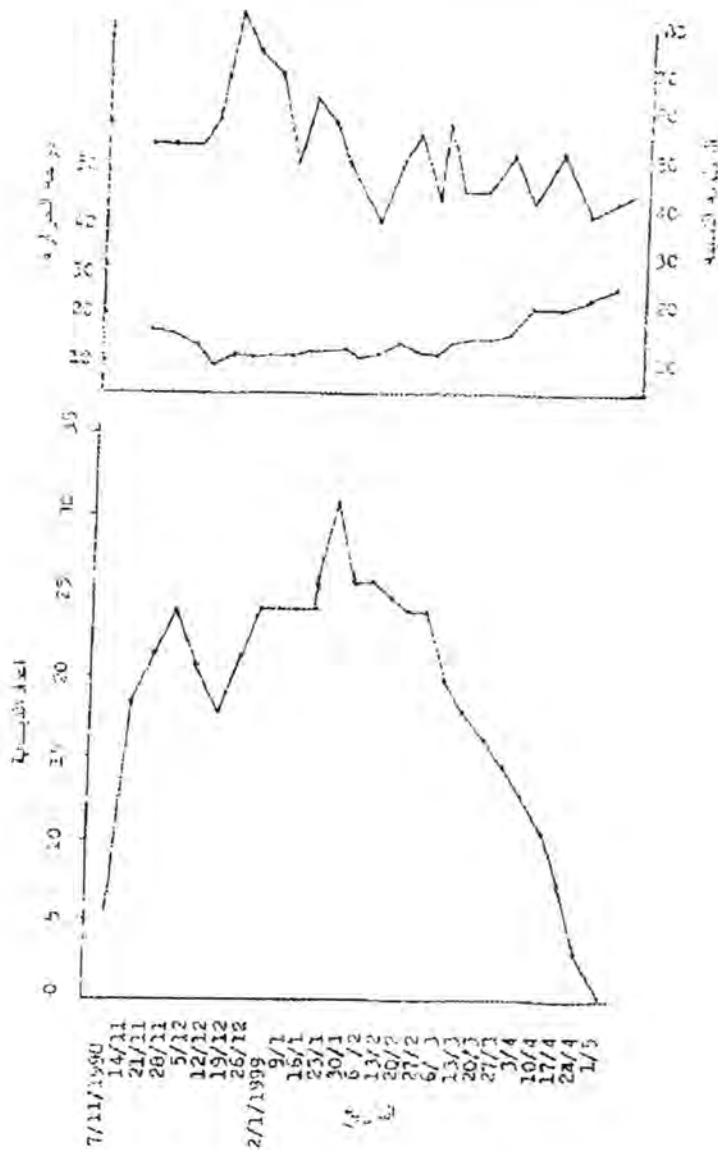
تم تحضير ثلاث قناني زجاجية طول كل منها ١٥ سم وقطرها ٧ سم، وضعت في كل منها ولحد ثلثها تربة رملية رطبة، ثم وضعت في كل منها قطعة من لحم دجاج ميت بعد تنظيفها من الريش، وتم ادخال انثى واحدة في كل قنينة، وضعت القناني في حاضنات وعلى درجتي ٢٥°م و ٣٥°م ورطوبة نسبية ٧٠%.

تم مراقبة الحشرة من فترة وضع البيض ولحين خروج الكاملات. دونت النتائج وتم حساب معدل عمر كل دور.

النتائج والمناقشة

يبين الشكل (٢) ظهور الذبابة في الأسبوع الأول من شهر تشرين الثاني / ١٩٩٨ بمعدل ٦ حشرات / أسبوع، حيث كان معدل درجات الحرارة ١٦,١°م والرطوبة النسبية ٥٤,٧%، وتبين بأن الذبابة ازدادت اعدادها تدريجياً ووصلت ذروتها الاولى في الاسبوع الاخير من شهر تشرين الثاني / ١٩٩٨ بمعدل ٢٦ حشرة / اسبوع، حيث كان معدل درجات الحرارة ١١,٥°م والرطوبة النسبية ٧٣,٦%، وبعدها انخفضت اعدادها حيث وصلت معدلاتها الى ١٨ حشرة / اسبوع في الأسبوع الثاني من شهر كانون الأول حيث كان معدل درجات الحرارة ١٢,٩°م والرطوبة النسبية ٨٣%، وبعدها ازدادت اعدادها تدريجياً ووصلت ذروتها الثانية في الاسبوع الثالث من شهر كانون الثاني / ١٩٩٩، حيث كان معدل درجات الحرارة ١١°م

والرطوبة النسبية ٦٠% وبعدها انخفضت اعدادها تدريجياً واختفت في نهاية الأسبوع الاخير من



شكل (2): الكثافة العددية لذبابة العنق الأوربية *Calliphora vicina*

نبيل عبد القادر مولود وجماعته

نيسان ، حيث كان معدل درجات الحرارة 25°C والرطوبة النسبية ٣٩%، وقد يعود سبب ظهور الحشرة في المواسم الباردة هو اختفاء أو قلة كثافة منافسيه من الأنواع الأخرى التابعة لنفس العائلة وخاصة *Lucilia Sericata* و *Chrysomya albiceps* و *Chrysomya megacephala* . وهذا يتفق مع ما أشار إليه كل من Zumpt (1965) و (1990) Greenberg .

يبين الجدول (١) تسجيل أعلى كثافة لذبابة البطل الزرقاء الأوروبية في شهر كانون الثاني وهي ٢٠٩ ذبابة حيث كان معدل درجات الحرارة 10.2°C والرطوبة النسبية ٥٦,٦% وهذا يتفق مع ما ذكره (Zumpt, 1965) والذي أشار إلى ازدياد كثافة الذبابة عند انخفاض درجات الحرارة، كما سجل أقل كثافة في شهر نيسان وهي ٦٣ ذبابة، حيث كان معدل درجات الحرارة 20.4°C والرطوبة النسبية ٤٠%، كما كان أعداد الذبابة هي ١٤٠ في شهر تشرين الثاني، ١٦١ في شهر كانون الأول، ١٩٨ في شهر شباط و ١٣٦ في شهر آذار. وبينت نتائج التحليل الإحصائي عن وجود فروقات معنوية لكثافة الذبابة وحسب الأشهر المختلفة.

يبين الجدول (٢) بأن أعلى معدل لفترة حضانة البيض كان ٣٦ ساعة في ظروف الحقل (٤٥% من الوقت الكلي من مراحل النمو) حيث كان معدل درجات الحرارة 10.2°C والرطوبة النسبية ٥٦,٦% ، في حين كان أقل معدل لفترة الحضانة ١٤ ساعة في المختبر (١٧,٥% من الوقت الكلي من مراحل النمو) حيث كانت درجة الحرارة 35°C والرطوبة النسبية ٧٠% ، كما كان معدل فترة الحضانة ٢٠ ساعة (٤٥% من الوقت الكلي لمراحل النمو حيث كانت درجة الحرارة 25°C والرطوبة النسبية ٧٠%) ويتفق هذا ما ذكره Greenberg و (1993) Tantiwi .

ويلاحظ من نفس الجدول أن أعلى معدل لفترة الدور اليرقي هو ٢٧٦ ساعة (٣٤,٨% من الوقت الكلي) في ظروف الحقل، حيث كان معدل درجات الحرارة 10.2°C والرطوبة النسبية ٥٦,٦% ، فيما سجل أقل معدل لفترة الدور اليرقي في المختبر هو ٦٦ ساعة (٨٢,٥% من الوقت الكلي) وعلى درجة حرارة 35°C ورطوبة نسبية ٧٠%، بينما كان معدل فترة الدور اليرقي هو ١٤٠ ساعة (٣١,٢% من الوقت الكلي) وعلى درجة حرارة 25°C ورطوبة نسبية ٧٠%، ويلاحظ من نفس الجدول تسجيل معدل لفترة الدور ما قبل العذراء ١٣٢ ساعة (١٦,٧% من الوقت الكلي) في ظروف الحقل بينما كان معدل فترة الدور اليرقي هو ٧٢ ساعة (١٦,١% من الوقت الكلي) على درجة حرارة 25°C ورطوبة نسبية ٧٠%، أما عند درجة حرارة 35°C

فان جميع بركات الطور الثالث والتي دخلت في دور ما قبل العذراء ماتت خلال فترة ٤٨-٧٢ ساعة. ويلاحظ من الجدول ذاته تسجيل معدل عال لفترة الدور العذري وهو ٢٤٨ ساعة (٤٣% من الوقت الكلي) في ظروف الحقل، بينما كان معدل فترة الدور العذري هو ٢١٦ ساعة (٤٨,٢% من الوقت الكلي) على درجة حرارة ٢٥ م ورطوبة نسبية ٧٠%. اما عند درجة حرارة ٣٥ م فلم نحصل على أي تعذر وذلك لموت اليرقات التي دخل دور ما قبل العذراء، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره Beattie (1927) وكذلك Tantawi و Greenberg (1993).

جدول (١) : أعداد ذبابة البطل الزرقاء الأوروبية والنسب المئوية لتواجدها حسب الأشهر

الاشهر	اعداد الذبابة	معدل درجات الحرارة	معدل الرطوبة النسبية	%
تشرين الثاني / 1998	140	11.5	73.6	15.4
كانون الاول / 1999	161	10.8	70.8	17.8
كانون الثاني	209	10.2	56.6	23.0
شباط	198	12.5	50.3	21.8
اذار	136	15.8	53.8	15.0
نيسان	63	20.4	40.0	6.9
المجموع	907			100

قيمة F المحسوبة لتداخل الأشهر مع أعداد الذبابة عند مستوى احتمال ٥% - ٢٩*

جدول (٢) : يبين نمو الأدوار غير الكاملة لذبابة البطل الزرقاء الأوربية في مختلف الظروف

معدل درجات الحرارة = 35° م الرطوبة النسبية = 70%		معدل درجات الحرارة = 25° م الرطوبة النسبية = 70%		ظروف الحقل معدل درجات الحرارة = 10.2° م الرطوبة النسبية = 56.6%		النور
%	عدد الساعات	%	عدد الساعات	%	عدد الساعات	
17.5	14	4.5	20	4.5	36	البيضة
						اليرقة
20	16	5.4	24	6.0	48	الطور اليرقي الأول
16.2	13	4.5	20	7.6	60	الطور اليرقي الثاني
46.2	37	21.4	96	21.2	168	الطور اليرقي الثالث
82.5	66	31.2	140	34.8	276	المجموع
-	-	16.1	72	16.7	132	ما قبل العنراء
-	-	48.2	216	43.9	348	العنراء
	80		448		792	المجموع الكلي

REFERENCES

1. Rundel, J.H. & Sutherland, A.K. Animal health in Australia, Vol. 10, Ectoparasitic diseases of sheep, goats and horses, Common-Wealths of Australia, 34-67, (1988).
2. Beattie, M.V.F. Observations of the thermal death points of the blow-fly at different relative humidities, Parasitology, 17, 397-403, (1927).
3. Greenberg, B. Files and disease, Vol. 2, Biology and disease transmission, Princeton University Press, Princeton, N.J., (1973).
4. Greenberg, B. Nocturnal oviposition behavior of blow flies (Diptera: Calliphoridae), J. Med. Ent., 27(5), 807-810, (1990).
5. Grenberg, B. & Tantawi, T.I. : Deferent development strategies in two Boreal blow flies (Diptera: Calliphoridae), J. Med. Ent., 30(2), 481-484, (1993).
6. Leclercq, M. : Premier cas de myiasis des, Voies Uninaires Par *Calliphora*, Rev. Med. Liege, 4:690 (Citid in Zumpt, 1965), (1949).

7. Morris, O.S. & Titchener, R.N.: Blow fly species composition in sheep myiasis in Scotland, Med. Vet. Ent., 11(3), 253-256, (1997).
8. Onorate, R. : Le Miasi in tripolitania, Arch. Ital. Sci. Med. Colon., 3, 14, 33, 69, 101, (Cited in Zumpt, 1965), (1992).
9. Rognes, K. : Contribution to a manual of palaeartic Diptera, Col. 3, Higher Branchycera, Published by Science Herald, 617-648, (1998).
10. Shewell, G.E.: (Chapter 106), Col2, Pages 1133-1145, in Mcalpine, J.F. et.al. (eds): Manual of Nearctic Diptera, Research Branch, Agriculture Canada, Ottawa, Agric. Can. Monograph, No.28, Vi+ 675-1332, (1987).
11. Spradberg, J.P. : A manual for the diagnosis of screw – worm fly, Commonwealth of CSIRO Division of Entomology, Australia, Canberra: 62pp. (1991).
12. Zumpt, F. : Myiasis in man and animal of the old world, A textbook for physicians, Veterinarians and Zoologists London, Butter Worths, London, Xv+ 267pp. (1965).