



Al-Mustansiriyah

ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 19, No. 2, 2008



Issued by College of Science - Mustansiriyah University

AL- MUSTANSIRYA JOURNAL OF SCIENCE

Head Editor

Prof. Dr. Redha I. AL-Bayati

General Editor

Dr. Ikbal khider Al- joofy

Editorial Board

Dr. Ramzy Rasheed Al-Ani

Member

Dr. Kais Jamel Latif

Member

Dr. Iman Tarik Al -Alawy

Member

Dr. Majid M. Mahmood

Member

Dr. Inaam A- Malloki

Member

Dr. Aladdin J. Al-Hilli

Member

INSTRUCTION FOR AUTHORS

1. The journal accepts manuscripts in Arabic and English languages. Which had not been published before.
2. Author (s) has to introduce an application requesting publication of his manuscript in the journal. Four copies (one original) of the manuscript should be submitted. Should be printed by on the computer by lasser printer and re produced on A4 white paper in three coppice with flopy disc should be also submitted.
3. The title of the manuscript together with the name and address of the author (s) should typed on a separate sheet in both Arabic and English. Only manuscript,s title to be typed again with the manuscript.
4. For manuscripts written in English, full name (S) of author (s) and only first letters of the words (except prepositions and auxiliaries) forming title of the manuscript should be written in capital letters. Author (s) address (es) to be written in small letters.
5. Both Arabic and English abstracts are required for each manuscript. They should be typed on two separate sheets (not more then 250 words each).
6. References should be denoted by a number between two bracket on the same level of the line and directly at the end of the sentence. A list of references should be given on a separate sheet of paper, following the intemational style for names and abbreviations of journals.
7. Whenever possible, research papers should follow this pattem: INTRODUCTION, EXPERIMENTAL (MATERIALS AND METHODS), RESULTS, DISCUSSION and REFERENCES. All written in capital letters at the middle of the page. Without numbers or underneath lines.
8. The following pattern should be followed upon writing the references on the reference sheet: Sumame (s), initials of author (s), title of the paper, name or abbreviation of the journal, volume, number, pages and (Year). For books give

the author(s) name(s), the title, edition, pages, publisher, place of publication and (Year).

9. A publication fees in the amount of ID. 25 thousand is charged upon a Receipt of the paper and 25 thousand upon the acceptance for publication for their ID. 50 thousand should be paid for the editorial board.

CONTENTS

ITEM	Page No.
Purification and Characterization of Intracellular chromate reductase from <i>Pseudomonas putida</i> Isolated from Soil Sahira N. Muslim and Nihaya H.Zaki	1-14
Study of Some Bacteria and Chemical Contents of Polluted Water in Baghdad City, Iraq Hassony J. Abdulla , Mohammed F. Al-Marjani , Batool A. Baqir	15-20
Prevalence of Intestinal Parasites among Children (1-13) Years Age in Baquba City Najah Ali Mohammed	21-26
Purification of a Restriction Enzyme from <i>Aspergillus niger</i> and Some General Properties Mukaram Shikara	27-37
Synthesis and Characterization of Acrylonitrile-Methylmethacrylate Copolymers: Determination of their Reactivity Ratios Tariq S.Najim , Abdul Hussien K. Sharba and Nadia A. Butti	38-49
Evaluation of Tissue Sialic Acid and Protein Content in Lymphoma Patients Elham Abdul Mehdi and Sabih Mohammad Jawad Jafar	50-58
Synthesis , characterization of some metal complexes with 1,1' bis – (orthoaminophenylthio) -methane Shaymaa H. Naji, Hoda A. F. Al bayti , and Faleh H. Musa	59-68
Decolorization of Astrazon Green M from Aqueous Solution by Bauxite and Kaolin Materials Karim , J , Jubrail	69-80
Lyapunov Function approach for Stabilizability a class of nonlinear dynamical control system Radhi A. Zaboony and Shatha S. Sejad	81-94
ON WEAKLY* M – CONTINUOUS MULTIFUNCTIONS Bsassam J. J. AL-Asadi	95-105
The Numerical Solution of Hammerstien- Volterra Integral Equations Using Spline Functions Omar M. Al-Faour , Atheer J. Kadhim, and Ahmed S. Jaber	106-120

Purification and Characterization of Intracellular Chromate Reductase from *Pseudomonas putida* Isolated from Soil

Sahira N. Muslim and Nihaya H.Zaki
Dept.of Biology, College of Science / Al-Mustanairiya university

Received 4/7/2007 – Accepted 28/11/2007

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحصول على 12 عزلة بنسبة 60 % تعود لبكتريا *Pseudomonas putida* من مجموع 20 عينة تربة ملوثة مأخوذة من مواقع مختلفة في مصفى الدورة . تم اختيار العزلة التي اعطت اعلى فعالية اختزال لاستخلاص وتنقية انزيم Chromate reductase باستخدام اربعة مراحل تضمنت استخدام الطرد المركزي الفائق ، الترسيب بكبريتات الامونيوم ، التبادل الايوني باستخدام DEAE- Sepharose CL-6B والترشيح الهلامي باستخدام Sephdex G-75 بعدد مرات تنقية 77.2 وبحصيلة نهائية 45.8 % . تم توصيف انزيم Chromate reductase المنقى ووجد بان وزنه الجزيئي يقارب 49000 دالتون. لقد وجد بان درجة الحرارة المثلى لاختزال الكروم هي 80 °م ، بينما الرقم الهيدروجيني الامثل هو 5 ، كذلك وجد ان فعالية الانزيم بقيت في الواقع غير متغيرة لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 50 °م ، وحتى باستخدام درجة الحرارة 80 °م لم تثبط فعالية الانزيم بشكل مفاجئ . فضلا عن ذلك تم دراسة تأثير العناصر المعدنية على فعالية الانزيم ووجد بان عنصر الكاديوم Cd^{2+} كان اكثر تثبيطا من النحاس Cu^{2+} والزنك Zn^{2+} لفعالية انزيم Chromate reductase ، بينما العناصر الاخرى مثل Mn^{2+} ، Ni^{2+} ، Mg^{2+} ، Ca^{2+} لم يكن لها اي تأثير على فعالية الانزيم . لذلك هذا البحث ادى الى زيادة الفائدة من استخدام انزيم Chromate reductase كاستراتيجية مهمة للمعالجة البيولوجية وازالة سمية الكروم كملوث بيئي .

ABSTRACT

Pseudomonas putida isolates were obtained at 12(60%) isolates out of 20 polluted soil samples from different locations in AL-Dora strainer. The isolate that gave higher reduction activity was chosen to purify chromate reductase enzyme through four stages of purification including(Ultracentrifugation, ammonium sulfate precipitation, ion exchange chromatography by DEAE-sepharose Cl-6B and gel filtration chromatography by sephadex G-75) with 77.2-fold purification and 45.8% recovery. The purified chromate reductase was characterized: the molecular weight was about 49000 daltons. The temperature and pH optima for chromate reductase were 80°C and 5, respectively. The reductase activity remained virtually unaltered upto 30 min of exposure to 50°C; even exposure to 80°C did not immediately inactivate the enzyme. Cationic metal Cd^{2+} had inhibitory effect on reduction activity more than Cu^{2+} and Zn^{2+} , while the other metals such as Ni^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} and Mn^{2+} had no effect on the activity. Therefore, this research leads to increase benefit in using chromate reductase as an important strategy for bioremediation and detoxification of chromate as environmental pollutant.

INTRODUCTION

The *Pseudomonas* genus includes different species such as *Pseudomonas putida* which is predominate in soils and water(1,2). It is showed optimal growth between 25-30°C and easily isolated from soil and water by enrichment culture in mineral media with various carbon sources (3). *Pseudomonas putida* is also capable of growth on several aromatic hydrocarbons, aliphatic hydrocarbons, alicyclic hydrocarbons, ethers, alcohols and ketones and degrading them as sources of carbon and energy(3,4).

Pseudomonas putida is free-living saprophytic organism in soil and water where it plays an important role in decomposition, biodegradation and the carbon and nitrogen cycles, since it can effectively colonise the roots of many plants and degrades a variety of toxic aromatic compounds by production of many enzymes such as chromate reductase. Consequently, it is important organism in bioremediation(5,6,7,8). *Pseudomonas putida* is rarely pathogenic for humans, it has been found associated with empyema, urinary tract infections, septicemia and various other episodes. Although their virulence may be low, *Pseudomonas putida* should be considered as potentially pathogenic (1).

Hexavalent chromium (Cr(VI); chromate) is produced as a by-product of many industrial presses, including leather-tanning, chrome-plating, stainless steel welding, pigment production, nuclear weapons generation, inorganic chemical production and petroleum refineries(9,10,11,12). It is one of the most prominent groundwater contaminants and it is the second most abundant heavy metal contaminant, ranging in concentration between 0.008 to 173µM in groundwater and 98 nM to 76 mM in soil; since soil water is stored in small capillary spaces, the last-mentioned concentrations are very high (9,10).

Chromium Cr(VI) has been shown to have toxic, mutagenic, carcinogenic and allergenic effects in humans and animals(11,13,14). Several factors contribute to its toxicity. Because of its structural similarity to SO_4^{2-} , it is readily taken up by both bacterial and eukaryotic cells through the sulfate transport system(9). Inside the cell, it is reduced nonenzymatically, as well as by various enzymes. Its partial reduction, by the cellular one-electron reducers, generates Cr(V) and reactive oxygen species (ROS); the latter may be a major factor in causing cellular damage(15). Chromate (CrO_4^{2-}) is soluble and thus spreads rapidly through aquatic systems as anionic species.

Several bacteria such as *Bacillus*, *Enterobacter*, *Escherichia* and *Pseudomonas* possess chromate reductase activity that can convert

chromate to Cr(III), which is much less toxic, less soluble, and less mobile in groundwater and found as cation species or as insoluble precipitate($\text{Cr}(\text{OH})_3$)(16,10).

Microbial bioreduction of Cr(VI) to Cr(III) by using the chromate reductase is a promising strategy for bioremediation of chromate and detoxification of it, a prevalent anthropogenic pollutant(17,18). For this reason, the aim of this research was to purify chromate reductase from *Pseudomonas putida* and to characterize this enzyme by detection the molecular weight for it and the optimum conditions for its activity.

MATERIALS AND METHODS

Samples collection :

Twenty polluted soil samples were obtained from different locations in Al- Dora strainer. Top soil, less than 15 cm deep, was collected by spatula into clean sterile plastic bags and stored at 4°C prior to use. The soil samples were air-dried (20°C) and passed through a sieve (mesh size, 2mm). Ten gram of sieved soil was suspended in 20 ml of basic salt medium(BSM)(11,19).

Isolation and characterization of *Pseudomonas putida* :

One loopfull of suspension soil samples was plated on blood agar and MacConkeys agar, then incubated at 30°C for 18-24 h. For isolation of *Pseudomonas*, cells were grown on *Pseudomonas* isolation agar. Several biochemical tests were done to differentiate *Pseudomonas putida* from the other species. These include the following tests: inability to ferment lactose, a positive oxidase reaction, its fruity odor, its inability to grow at 4 and 42°C, its inability to hydrolyze gelatin and production of fluorescent pigment (1,8,20). Besides API 20E identification to differentiate *Pseudomonas putida* from the other types.

Chromate reductase assays:

Chromate reductase activity was determined by measuring the chromate concentration in a reaction mixture by the phenyl carbazide method, as described previously (10,21). For enzyme assays 10mM Tris-HCl(pH= 7.0) buffer containing 1mM NADH, 1mM K_2CrO_4 , and 2ml of the enzyme were incubated at 30°C for 1h. Then, 10 μL of 0.1M H_2SO_4 and 15 μL of 0.5%(vol/vol) 1,5-diphenyl carbazide were added to the tube, and the residual Cr(VI) content was determined at 540nm (A_{540}) by using a calibration curve relating chromate concentration (0-20 μM) to A_{540} . One unit of chromate reductase activity was defined as the amount of enzyme that converts 1nmol of Cr(VI) /min at 30°C. For whole cells experiments, chromate reduction rates were measured by inoculation of

Sahira and Nihaya

0.1ml of overnight cell cultures in Luria-Bertani medium containing 1mM chromate and incubated with shaking at 30°C for 18-24 h. The cells were carefully removed after centrifugation and the residual chromate was determined as above.

Protein assay:

Estimation of protein concentration was carried out by the method (22) by spectrophotometric assay at 600 nm in each stage of chromate reductase purification.

Chromate reductase purification:

Pseudomonas putida chromate reductase was purified by a modification of the method (12,18). Cells harvested after 24 h. of incubation on Luria-Bertani medium by centrifugation (10,000xg for 30 min at 4°C) were washed with 50 mM Tris-HCl buffer(pH=7.0) and suspended in two volumes of cold buffer. The sonically disrupted suspension was centrifuged at 10000xg for 30 min to remove unbroken cells, resulting in crude extract. This crude extract was further centrifuged (90000xg for 90 min at 4°C) to remove membrane-associated material, generating the soluble extract. To soluble extract chromate reductase activity was assayed.

The purification was entailed three further steps: ammonium sulfate fractionation, anion-exchange chromatography and gel filtration. For the first-mentioned step, solid ammonium sulphate was added to the extract at various concentrations and the mixture was stirred for 2 h. and centrifuged at 10000xg for 30 min at 4°C. The fractions with the highest activity were dialyzed against Tris-HCl buffer and applied to anion-exchange chromatography column(2.5-18cm) containing DEAE-sepharose Cl-6B, equilibrated with buffer of the same composition. A gradual elution was then run ranging from 0.4M NaCl-Tris-HCl buffer to 1M. The fractions (5ml) containing the highest chromate reductase activity were pooled, dialyzed against 0.025M Tris-acetic acid buffer (pH=8) and used in gel filtration step. Gel filtration was carried out in sephadex G- 75 column (2.5-50 cm) which had been equilibrated and washed with 20mM Tris-HCl buffer and the elution done by the same buffer. The fractions (5ml) were collected and assayed for chromate reductase activity.

Characterization of chromate reductase:

1- Evaluation of the molecular weight.

The molecular weight was evaluated by gel filtration according to the principles described by(23). Gel filtration was carried out in sephadex

G-75 column. This column was equilibrated in 20mM Tris- HCl buffer. The void volume (V_o) was determined by using blue dextran. Elution volumes (V_e) of proteins of Known molecular mass (Bovine serum albumin [66 kDa], egg albumine[45 kDa], pepsin[34 kDa], and trypsin[23kDa] dissolved in 20mM Tris-HCl buffer) were measured and used as reference standards in chromate reductase native molecular mass determination. The relationship between (V_e/V_o) and log molecular weight for standard proteins was plotted to obtain the standard curve. The molecular weight for chromate reductase was evaluated from incidence (V_e/V_o) value for reductase on the standard curve.

2- Effect of pH on chromate reductase activity:

Chromate reductase activity was assayed at different pH values ranging from 4 to 9 by using the chromate (K_2CrO_4) as substrate. The buffers used were the following: For pHs 4 and 5, 50mM citric acid-NaOH, for pHs 6 and 7, 50mM phosphate buffer, and for pHs 8 and 9, 50mM Tris-HCl buffer and chromate reductase activity was measured at 50°C.

3- Effect of temperature on chromate reductase activity:

Chromate reductase activity were assayed in reaction mixtures of the chromate (K_2CrO_4) containing 50mM citric acid-NaOH buffer (pH=5) at a range of temperatures from 5 to 90°C, to determine the optimum activity.

4- Effect of incubation time on chromate reductase activity:

Chromate reductase activity of the enzyme was assayed at incubation times ranging from 2 to 30 min, and the assay was conducted at 50°C and 80°C using 50mM citric acid- NaOH buffer (pH-5).

5- Effect of some cationic metals on chromate reductase activity:

The purified enzyme was diluted with different cationic metals as chlorides or sulfates (Cu^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} and Cd^{2+}) in the following concentrations: (1mM, 5mM, 10mM and 20mM). After 1 hour of incubation with constant shaking at 50°C, chromate reductase activity was measured.

RESULTS AND DISSCUSION

Isolation and characterization of *Pseudomonas putida*

The results revealed that 12 (60%) of *Pseudomonas putida* were obtained out of 20 soil samples. Saprophytic species of *Pseudomonas* such as *Pseudomonas putida* can be directly isolated by streaking source

Sahira and Nihaya

materials on plates of common bacteriological media such as nutrient agar. A simple enrichment procedure involves plating the organisms onto media with special carbon sources (e.g. nicotine, toluene, octane, etc.) that can be used by the desired organism(1). *Pseudomonas putida* was very efficient in aggregating and stabilizing soil particles, so that technique that combining spiral plating and substrate utilization analysis was used to identify this bacterium in microaggregates(24). In a study done by(3) found that *Pseudomonas putida* was isolated from a polluted creek in Urbana by enrichment culture with ethylbenzene as the sole source of carbon and energy. Also(4) reported that various soil samples collected from the southern part of Korea were screened to isolate *Pseudomonas putida* by inoculation these samples into Luria- Bertani medium broth containing 10% (v/v) toluene, and found that *Pseudomonas putida* can tolerance and utilization the organic solvents as sources of carbon and energy.

Intra-cellular production of *Pseudomonas putida* chromate reductase:

The reduction activity for 12 *Pseudomonas putida* isolates was determined by using the whole cell and measurement the amount of residual chromate in the medium (figure-1). (11) found that basic salt medium with glucose achieved the same anaerobic Cr(VI) reduction as tryptic soy broth medium and LBM broth, while mineral salts without a carbon source did not, and suggested that there is relationship between organic carbon dosing, and its efficiency of reducing Cr(VI). From this figure we can conclude that *Pseudomonas putida* S6 produced chromate reductase intracellularly in higher level than the other soil isolates, thus, this isolate was chosen for purification step.

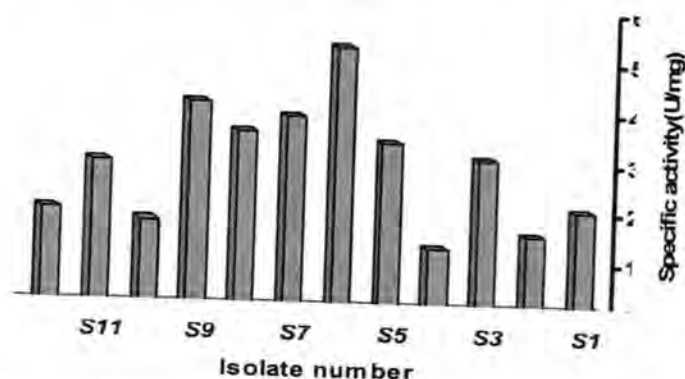


Figure-1: The specific activity of chromate reductase for all *Pseudomonas putida* isolates

Purification of chromate reductase:

The method and purification parameters of chromate reductase from *Pseudomonas putida* are summarized in (Table-1). The procedure described yielded a 77.2-fold purification and 45.8% recovery of the enzyme. The soluble extract had a 2-fold higher chromate reductase specific activity than the crude extract, thus we can suggest that some crude extract components inhibited the enzyme. That the crude extract contains activity-modifying compounds was also found by (25) for *Pseudomonas ambigua*.

Table-1: Purification of *Pseudomonas putida* chromate reductase

Purification step	Size (ml)	Protein conc. (mg/ml)	Unit of enzyme (U)	Specific activity (U/mg)	Total activity	Purification factor (fold)	Total recovery (%)
Crude extract	50	15	9.1	0.5	455	1	100
Soluble extract	40	10.7	11.0	1.02	440	2.04	96.7
(H ₄) ₂ SO ₄	16	6.3	15.3	2.4	244.8	4.8	53.8
DEAE-sephadex Cl-6B	12	3.2	19.1	5.96	229.2	11.9	50.3
sephadex G-75	9	0.6	23.2	38.6	208.8	77.2	45.8

Solid ammonium sulfate at 65% saturation to the soluble extract led to rise in the enzyme activity. The highest reductase activity was found at 55-70% ammonium sulfate saturation (18). The precipitate was dialyzed against Tris-HCl buffer and loaded on DEAE-sepharose Cl-6B column. From this column, the reductase eluted as a sharp peak when the eluent was Tris-HCl buffer without NaCl (figure-2), indicating that enzyme did not bind to the column. We were able to achieve a 11.9-fold purification of the enzyme at the DEAE-sepharose step. Fractions containing the highest reductase activity (fractions 27 to 30) were pooled, concentrated, applied to sephadex G-75 column. Chromate reductase eluted as a single peak of activity located in the third protein peak (figure-3) with 20mM Tris-HCl buffer. Fractions containing high specific activity were pooled and used for further studies. ChrR, a soluble quinone reductase of *Pseudomonas putida* was purified by affinity chromatography and found that the reductase has identified multiple peaks of chromate-reducing activity in cellular extracts (17).

Sahira and Nihaya

Vibrio harveyi nitroreductase is also a chromate reductase and affinity chromatography was used to purify it from cell extracts that were obtained by sonication(21). (10,13) reported that *Pseudomonas putida* and *E. coli* chromate reductase were purified on a Ni-NTA column and nickel column, respectively.

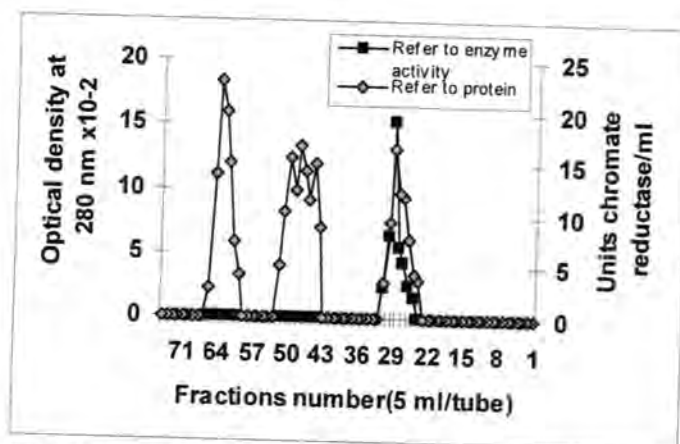


Figure-2:DEAE-sepharose Cl-6B chromatography *Pseudomonas putida* chromate reductase

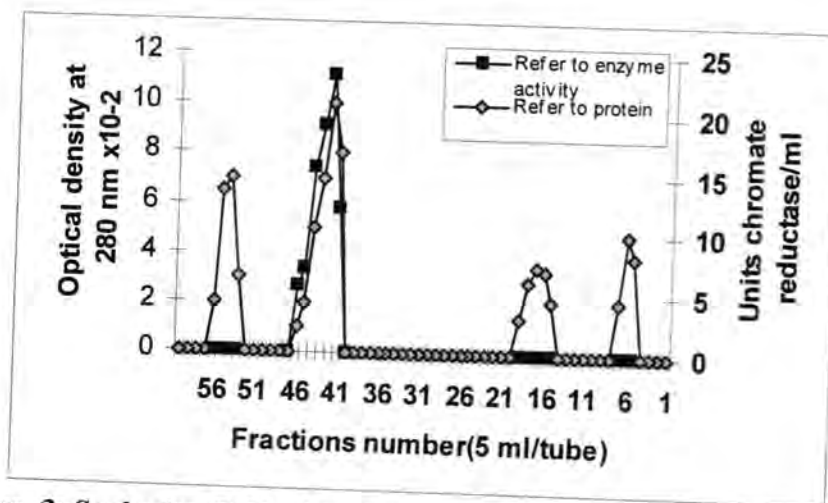


Figure -3: Sephadex G-75 chromatography *Pseudomonas putida* chromate reductase

Characterization of chromate reductase. Molecular weight of chromate reductase.

The molecular weight of purified chromate reductase was evaluated by gel filtration with sephadex G-75. The results revealed that the purified chromate reductase of *Pseudomonas putida* has a molecular weight of approximately 49000 daltons (figure- 4). (10) found that the molecular

mass for *Pseudomonas putida* was 20 kDa . The chromate reductase gave a monomer molecular mass on SDS-PAGE of 20 kDa and a molecular mass for the native protein on gel filtration of 50 kDa. Therefore, it is not known whether the enzyme is a dimer or a trimer (18). Proteins can exhibit nonproportionate movement upon SDS-PAGE and gel filtration for several reasons. One possibility is that both reductases possess intrasubunit disulfide cross-linkages that, by producing altered conformation, influence protein movement in gels differently (26).

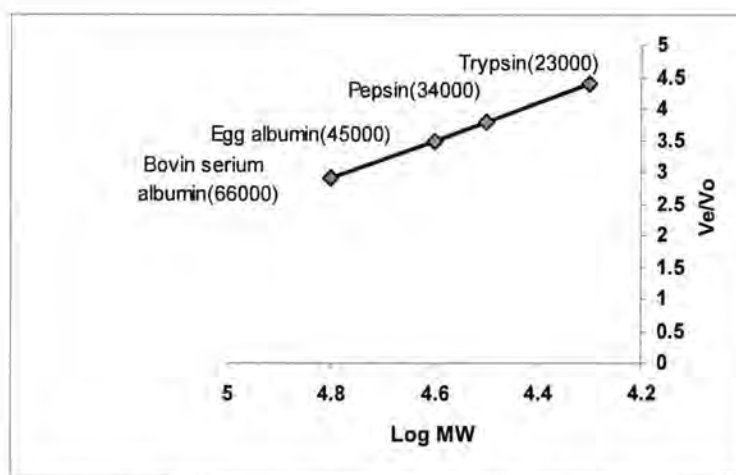


Figure -4: The standard curve of determination of molecular weight for chromate reductase by gel filtration on Sephadex G-75

Effect of pH on chromate reductase activity :

The optimum pH for chromate reductase activity was 5. The pH activity curve (figure-5) showed that the enzyme reached about 91 and 89% of its maximum activity at pHs 6, and 7, respectively, but in pH values (4, 8 and 9) the chromate reductase activity decreased to 34, 19 and 7%, respectively. Flavoproteins-ChrR (from *Pseudomonas putida*) and Yie F (from *E. coli*) were displayed > 40% of maximal activity across a broad range of pH (4.0 to 9.5) (9), while (18) showed that the optimum pH for chromate reductase was 5. Increasing or decreasing the pH changes the ionic state of ionizing side chains in a protein, disrupts ion pairs, breaks hydrogen bond, and consequently denatures the protein (27).

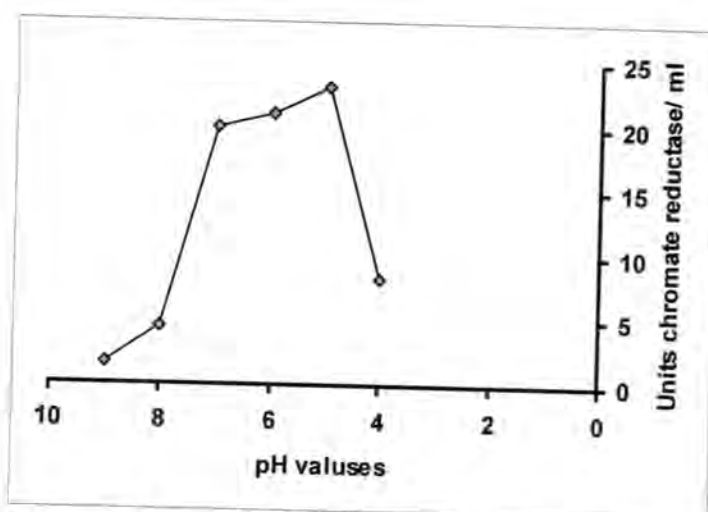


Figure -5: Effect of pH on chromate reductase activity

Effect of temperature on chromate reductase activity:

Chromate reductase has a high optimal temperature (80°C) for chromate reduction (figure- 6), and about 78 and 52% of its maximum activity occurred at 70 and 60°C, respectively. Chromate reductase lost most of its activity at very low or high temperatures. *Pseudomonas putida* chromate reductase efficiency is optimal at 80°C (21), while (9,10) reported that *Pseudomonas putida* chromate reductase has a high optimal temperature (70°C) for chromate reduction, but exhibits significant activity across a broad temperature range (30-80°C). The fact that the optimal activity for the enzyme occurs at a high temperature does not detract from its potential usefulness in chromate remediation. It is not unusual for even essential enzymes to exhibit maximum activity in vitro under conditions different from the optimal growth conditions of an organism, possibly their maximal activity in vivo more closely matches the organisms optimal growth conditions(18).

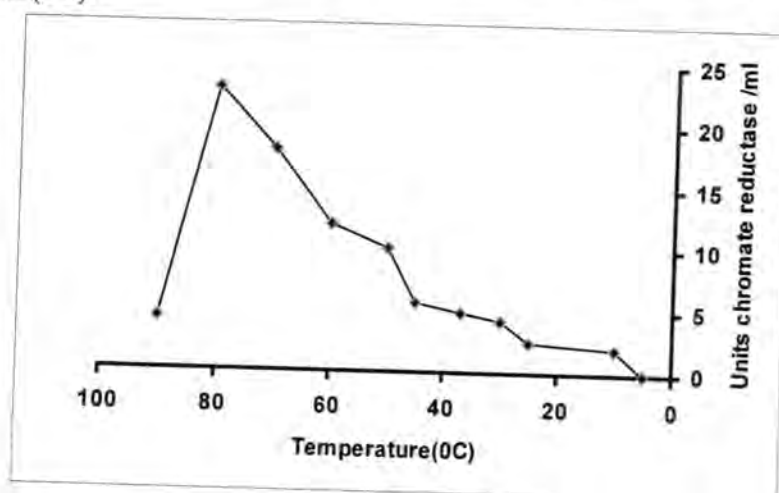
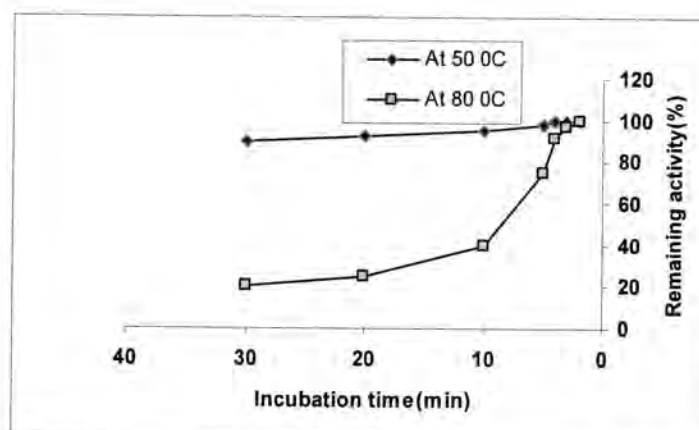


Figure -6:Effect of temperature on chromate reductase activity**Effect of incubation time on chromate reductase activity:**

During incubation of the enzyme for different periods at various temperatures, the results showed that little loss of activity was seen upon a 30 min exposure to 50°C, but appreciable inactivation occurred at 80°C (figure-7). Since after 30 min, the remaining activity 90 and 20% at 50 and 80°C, respectively, therefore, the enzyme is optimally active at 80°C, but the optimal reaction temperature of the *Pseudomonas putida* enzyme is 50°C.

**Figure -7:Effect of incubation time on chromate reductase activity****Effect of some cationic metals on chromate reductase activity :**

Pseudomonas putida chromate reductase was treated with many bivalent cationic metals. 20mM Ni^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} and Mn^{2+} had no significant effect on chromate reductase activity. The other metals (20mM Zn^{2+} , Cu^{2+} and Cd^{2+}) inhibited Chromate reductase activity to 62, 5 and 0%, respectively (figure- 8) . (18) found that CdSO_4 produced significant inhibition at 1mM and above, suggesting that the SO_4^{2-} was inhibitory, also found that CuSO_4 was no more inhibitory than CdSO_4 and concluded that chromate reductase enzyme is inhibited by sulfate. In another study done by (9) indicated that the incubation of the EDTA-treated enzymes with up to 20mM Fe^{2+} , Ni^{2+} and Mn^{2+} had no effect on chromate reductase activity, suggesting that this phenomenon is under further investigation.

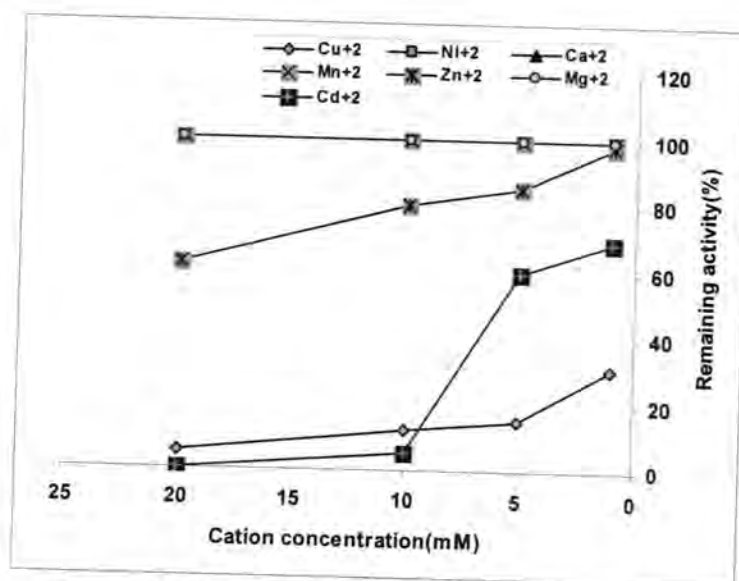


Figure -8: Effect of cationic metals on chromate reductase activity

REFERENCES

1. Anone . *Pseudomonas* and related bacteria . J.Bacteriol.:1-17. (2004).
2. Anone . *Pseudomonas* . Microbe Wiki . :1-4. (2006).
3. Anone . *Pseudomonas putida* F1 . J.G. I.:1-2. (2005).
4. Saucier,S.E. and Ware, D.K. *Pseudomonas putida* tolerant organic solvent. Potent Genius.:1-5. (2006) .
5. Olmedo,I.A.;Tobes,R.;Manzanera,M.;Ramos,J.L.and Marques, S.Species– specific repetitive extragenic palindromic (REP) sequences in *Pseudomonas putida*. Nucliec acids research . 30 (8): 1826-1833.(2002).
6. Anone . *Pseudomonas putida* . Microbiol.Bytes :1-2. (2007).
7. Lasat, M.M. The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil. Enviro.Pretect.Agency.:1-33.(2002).
8. Steidle,A.; Holm,M.;Riedel,K. and Eberl, L. Identification and characterization of an N-Acylhomoserine lactone- dependent quorum-sensing system in *Pseudomonas putida* strain IsoF . Appl.Environ.Microbiol. 68 (12):6371-6382. (2006)
9. Ackerley,D.F.;Gonzalez,C.F.; Park,C.H.; Blake,R.; Keyhan,M. and Matin,A . Chromate reducing properties of soluble flavoprotiens from *Pseudomonas putida* and *E.coli*. Appli.Environ. Microbio. 70(2) :873-882-5.(2004).

10. Gonzalez, C.F.; Ackerley, D.F.; Park, C.H.; and Matin, A. Flavoprotein contributes to chromate reduction and tolerance by *Pseudomonas putida*. *Acta. Biotechnol.* 23(3): 233-239. (2003).
11. Tseng, J.K.; and Bielefeldt, A.R. Low temperature chromium (VI) biotransformation in soil with varying electron acceptors. *J. Environ. Quality*. 31: 1831-1841. (2002).
12. Rahman, K.S.M.; and Murthy, M.A. Stabilization of chromium by reductase enzyme treatment. *Clean. Environ. Manag. Cent.*: 1-19. (2005).
13. Barak, Y.; Ackerley, D.F.; Dedge, C.J.; Banwari, L. and Matin, A. Analysis of novel soluble chromate and uranyl reductase and generation of an improved enzyme by directed evolution. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(11): 7074-7082. (2006).
14. McLean, J. and Beveridge, T.J. *Chromate reduction by a Pseudomonad* isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(3): 1076-1084. (2001).
15. Priester, J.H.; Olsen, S.G.; Webb, S.M.; and Holden, P.A. Enhanced exopolymer production and chromium stabilization in *Pseudomonas putida* unsaturated biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(3): 1988-1996. (2006).
16. Oliver, D.S.; Brockman, F.J.; Bowman, R.S. and Kleft, T.A. Microbial reduction of hexavalent under vadose zone conditions. *J. Environ. Quality*. 32: 317-324. (2003).
17. Gonzalis, C.F.; Ackerley, D.F.; Lynch, S.V. and Matin, A. Chromate reductase, a soluble Quinone reductase of *Pseudomonas putida* that defends against H₂O₂. *J. Biolo. Chem.* 280(24): 22590-22595. (2005).
18. Park, C.H.; Keyhan, M.; Wielinga, B.; and Matin, A. Purification to homogeneity and characterization of a novel *Pseudomonas putida* chromate reductase. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(5): 1788-1795. (2000).
19. Agot, N.; Nybroe, D.F.; Nielsen, P. and Johnes, K. An altered *Pseudomonas* diversity is recovered from soil by using nutrient poor *Pseudomonas* –selective soil extract media. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(11): 5233-5239. (2001).
20. Baron, E.J. and Finegold, S.M. *Diagnostic Microbiology*. 8th (ed.). Bailey & Scotts. Mosby, com., Missouri. (1990).
21. Kwak, Y.H.; Lee, D.S. and Kim, H.B. *Vibrio harveyi* nitroreductase is also a Chromate reductase. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(8): 4390-4395. (2003).
22. Lowry, O.H.; Rosebrongh, N.J.; Farr, A.L.; and Randall, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biolo. Chem.* 193: 265-275. (1951).

Sahira and Nihaya

23. Andrews, P. Estimation of the molecular weights of proteins by sephadex gel- filtration. *Biochem.J.* 91: 222-232.(1964).
24. Thecan, C.; Anthony, C. and Upendra, S. Isolation, identification and characterization of soil aggregating bacteria in soil microaggregates . *U.S.D.A.* :1-2.(2004).
25. Suzuki, T.N.; Miyata, H.; Horitso, K.; and Tai, M. NAD (P) H- dependent chromium (VI) reductase of *Pseudomonas ambiguo*. G-1: a Cr(V) intermediates is formed during the reduction of Cr(VI) to Cr(III) . *J.Bacteriol.* 174: 5340-5345.(1992).
26. Smith, B.J. SDS polyacrylamide gel electrophoresis of proteins. *Methods Mol.Biol.* 32: 23-34.(1994).
27. Rawn, J.D. *Biochemistry* . Neil. Palterson pub. U.S.A.(1989).

Study of Some Bacteria and Chemical Contents of Polluted Water in Baghdad City, Iraq

Hassony J. Abdulla , Mohammed F. Al-Marjani , Batool A. Baqir
Biology Dept. / College of science / Al-Mustansyria University

Received 28/4/2007 – Accepted 28/11/2007

الخلاصة

اجري هذا البحث لدراسة المحتوى البكتيري والكيميائي للمياه الملوثة في مدينة جميلة شرق بغداد (المياه الراكدة ، المياه الارضية والمياه السطحية القريبة للمنطقة). النماذج اخذت في شهر شباط ، 2006 وبثلاث مكررات لكل من المياه الراكدة ، المياه الارضية والمياه السطحية القريبة (مياه قناة الجيش). معدلات الامطار ودرجة حرارة الهواء والمياه والتبخر والنتح تم قياسها ايضا. اظهرت نتائج التحليل البكتيري مثل أعداد البكتيريا الهوائية *Aerobic bacteria* وبكتيريا القولون والقولون البرازية *Coliform & Fecal coliform* وبكتيريا المسببات البرازية *Fecal Streptococci* وبكتيريا الزائفة *Pseudomonas aeruginosa* اختلافات معنوية بين مواقع اخذ العينات المذكورة اعلاه . نتائج التحاليل الكيميائية مثل محتوى المياه من الكالسيوم والمغنيسيوم والكاربونات والبيكاربونات والكلوريدات والملوحة وتركيز ايون الهيدروجين الفعال (pH) والكثرة لمواقع اخذ العينات كانت عالية في المياه الراكدة مقارنة بالمواقع الاخرى . معدلات الامطار (ملم) ، درجة الحرارة الهواء والماء ، والتبخر والنتح في شهر شباط ، 2006 (وقت اجراء الدراسة) كانت 25.2 ملم ، 13.4 م ، 15.5 م و 39.6 ملم للقياسات اعلاه على التوالي . وباختصار ، النتائج اظهرت امكانية تلوث المياه السطحية المجاورة لمنطقة الدراسة (الجداول والانهار) بالبكتيريا المرضية في هذا الوقت من السنة مما يؤثر على صحة النظام البيئي للمياه العذبة المجاورة وعلى صحة الانسان . وعليه يتطلب حل سريع للمشكلة وايقاف الخطر المتزايد .

ABSTRACT

This investigation has been conducted to study some bacteria and chemical content of Stagnant water, ground water and streams water (army channel water) in February , 2006 . The samples have been taken from Jamelia town east of Baghdad city (three replicates of each sampling area).

The means rainfall, air temperature , water temperature and evapotranspiration were also measured .

The result of the biological analysis such as aerobic bacteria , *Coliform & Fecal coliform* , *Fecal Streptococci* and *Pseudomonas aeruginosa* have high numbers . The above microbes numbers indicate significant difference among sampling areas.

The chemical analysis result such as Calcium , Magnesium , carbonate & bicarbonate , chlorides , Electrical Conductivity (E.C.) , pH & turbidity in stagnant water chlorides and E.C. have high value in stagnant water . However, PH values have a range from 7.5 - 7.9 .

The mean values of rainfall , air temperature, water temperature and evapotranspiration in February , 2006 (sampling time) were 25.2(mm) , 13.4 (°c) , 15.5(°c) and 39.6 (mm) respectively .

In general, the results indicate that surface water in the nearby streams and rivers could be contaminated by the pathological microbes in the time of this study each year. So, quick solution is required to halt the dangers on the health of freshwater ecosystems and the human communities that rely on them for water supply.

INTRODUCTION

Considerable attention has been paid to present days pollution , particularly water pollution due to human waste water(1).The sight and smell of grossly waterways provided some of the original impetus to environment (2). The dangers of polluted water to human health drove what become known as the "sanitary revolution" in Europe and United States, emphasizing clean water supplies and sewer systems in cities (3). Today, despite progress in cleaning up waterways in some areas, water pollution remains a serious global problem, with impacts on the health of freshwater ecosystems and the human communities that rely on them for water supply(1).

In most developing countries, the problems of traditional pollution sources like sewage and new pollutants like pesticides have combined to heavily degrade water quality, particularly near urban industrial centers and estimated and intensive agricultural areas. An estimated 90 % of wastewater in developing countries still discharge directly to rivers and streams without any waste processing treatments (2 - 6) .

In Iraq , water pollution from wastewater became a serious problem due to the present conditions that occurs in the country .Wastewater contain some components .The concentrations of these components may be toxic hazardous problems, depending on their concentrations, differences in climate conditions and soil properties.

Therefore, this study has been conducted to study some bacteria and chemical content of stagnant water, ground water and streams water in Baghdad city in Iraq .

MATERIALS AND METHODS

Samples were taken from Jamelia town (the investigated area) east of Baghdad city with (50 samples) three replicates for each of the Stagnant water, ground water and army channel water .

The following measurements have been done:

1 Bacteriological analysis: Water samples were collected in sterile Whirl-Pac bags. Keep at 4°C until processed. Process samples within 6 hours.

Isolates of aerobic bacteria , *Coliform* & *Fecal coliform* , *Fecal Streptococci* and *Pseudomonas aeruginosa* were identified according to Al -Hadithi *etal.*(7), Forbes *etal.*(8) and Greenwood *etal.* (9) by Classical

Microbiological methods , Serological tests and API 20-E system. (Analyze sample for fecal coliform on mFC agar by membrane filtration method . Pick isolated colonies from mFC plates with a sterile toothpick. Streak for isolation onto MacConkey agar plate. Patch onto a ChromAgar ECC plate. Incubate MacConkey and ChromAgar plates at 37°C for 24 hours).

2 Chemical analysis : The chemical analysis such as calcium , magnesium , carbonate & bicarbonate , chlorides , Electrical Conductivity(E.C.) , pH & turbidity have been done according to the procedure used by Golterman *etal.* (10).

3-Mean rainfall, air temperature , water temperature and evapotranspiration in February were combined by the author using the information from IMO(11).

4- Statistical analyses :Analysis of quantitative data was done using t-test and ANOVA (analysis of variance).Acceptable level of significance was considered to be below 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Figure(1) Shows the mean numbers aerobic bacteria , *Coliform & Fecal coliform* , *Fecal streptococci* and *Pseudomonas aeruginosa* (No ./ 100 ml x 10³) in stagnant water, ground water and army channel water of the investigated area . As it can be seen , that the mean numbers of aerobic bacteria , *Coliform & Fecal coliform* , *Fecal Streptococci* and *Pseudomonas aeruginosa* were 70.5 , 11.5 , 3.3 and 9.6 respectively in stagnant water but 5.3 , 7.7 , 3.4 , and 8.5 respectively in ground water .However , it was 36.0 ,17.0 , 5.6 , and 10.4 respectively (No ./ 100 ml x 10³) in army channel water .

The mean difference among the numbers of aerobic bacteria , *Coliform & Fecal coliform* was highly significant at 0.01 level and the difference was significant at 0.05 level in case of *Fecal Streptococci* . But it was not significant with *Pseudomonas aeruginosa* for stagnant water, ground water and army channel water of the investigated area respectively (figure 1) . Knowing the source of fecal contamination of surface water is necessary to determine the degree of risk associated with human health and to develop effective control and resource management strategies(12 -13).

The mean concentration of calcium , magnesium , carbonate & bicarbonate , chlorides , Electrical Conductivity (E.C.) , pH & turbidity contain in stagnant water, ground water and army channel water of the

investigated area are shown in table(1). These results have been taken in February , 2006 .

The mean values of rainfall , air temperature, water temperature and evapotranspiration in this month were 25.2(mm) , 13.4 (°C) , 15.5(°C) and 39.6 (mm) respectively . Calcium , magnesium, carbonate , bicarbonate and turbidity have high value in ground water . However , Chlorides and EC have high value in stagnant water . pH values have a range from 7.5 - 7.9 .

From the above results , it can be concluded that the surface water in streams and rivers could be contaminated by the pathological microbes such as *Coliform* & *Fecal coliform* , *Fecal streptococci* and *Pseudomonas aeruginosa* in this time of the year. This phenomenon may cause many health hazards to the population in the area .

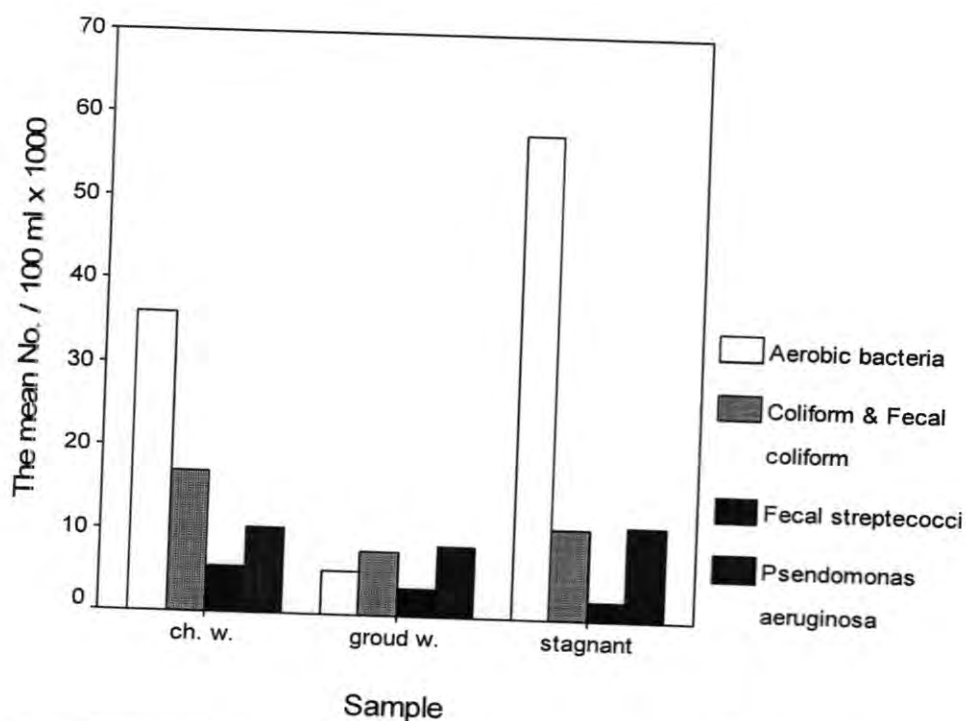


Figure-1: Mean Aerobic bacteria(*Staphylococcus* , *Micrococcus* and *Acinetobacter*) *Coliform* & *Fecal coliform* , *Fecal Streptococci* and *Pseudomonas aeruginosa* (NO./ 100 ml x 10³) in stagnant water, ground water and army channel water of the investigated area .

Table -1: Calcium , Magnesium , Carbonate&_bicarbonate , Chlorides , E.C. , pH & turbidity in stagnant water, ground water and army channel water of the investigated area .

	Calcium	Magnesium	Carbonate& bicarbonate	Chlorides	E.C.	pH	Turbidity
	(ppm)				mmhos / cm		(NTU)
Stagnant water	73.6	20.5	248	196	1505.5	7.5	6.5
Ground water	85.3	44.8	274	167.9	1409.5	7.8	10.6
Army channel Water	78.5	21.3	250	187.7	1205.5	7.9	7.8
P -Value	0.019*	0.000**	0.978 NS	0.006**	0.000**	0.021*	0.083 NS

*The mean difference is significant at the 0.05 level .

**The mean difference is significant at the 0.01 level.

NS The mean difference is not significant .

REFERENCES

1. World Health Organization . Heterotrophic plate count measurement in drinking water safety management protection of the human environment water . Sanitation and health , Geneva ,(2002) .
2. Eisen , G . and Anderson , M . P .The effects of Urbanization on ground water quality a case study , Ground water , Vol . 17 : 456 – 460 , (1979) .
3. Fukami, K . ; Simidu , U . and Taga , N. Distribution of heterotrophic bacteria in relation to the concentration of particulate organic matter in sea water . Can. J . of micro , 29 (5) : 570 – 574 , (1983) .
4. Latif , H . A .Industrial pollution(In Arabic) . Ministry of Higher Education and Scientific Research , University of Mousel , Iraq , (1987) .
5. Ramathan , O . M . ; Al-Ghannam , K . A. and Thanoon , A . A. The industrial chemistry and industrial pollution , Dar Al-Hakma publisher, Iraq , p.31 , (1991) .
6. Chandran, A. and Mohamed H. A. A. Survival of *E. coli* in a tropical estuary . S . pal. J . Nat . Sci . , 21: 41 – 46 , (2003) .
7. Al -Hadithi, H. T. ; Awatif, H. I . and Haitham, A . S . A . Bacteriological study on the efficiency of municipal water supplies of Basrah city Basrah , J . Sci . 13 : 149 – 164 , (1995) .
8. Forbes, B.A.; Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. . Baily & Scott's Diagnostic Microbiology. (11th ed.) Mosby, (2002).
9. Greenwood, D.; Slack, R.C. and Peutherer, J.F. Medical Microbiology. (Sixteenth ed.). Churchill Livingston, (2002).

10. Golterman ,H.L.;Clymo,R.S. and Ohnstand,M.A.M. . Methods for Physical and Chemical Analysis of Fresh Water .2nd.ed , Blackwell Scientific,Oxford. (1978).
11. Iraqi Meteorological Organization / Climatological Section Reports Baghdad , Iraq , (2006).
12. Kaneene,J.B. ; Miller, R.; Sayah, R. ; Johnson, Y. ; Gilliland, D. and Gardiner,J. Considerations When Using Discriminant Function Analysis of Antimicrobial Resistance Profiles To Identify Sources of Fecal Contamination of Surface Water in Michigan. Appl. and Environ. Microbiol., 73(9) : 2878-2890, (2007).
- 13.Sayah, R.S.; Kaneene, J.B. ; Johnson, Y. and MillerR Patterns of Antimicrobial Resistance Observed in *Escherichia coli* Isolates Obtained from Domestic- and Wild-Animal Fecal Samples, Human Septage, and Surface Water., Appl. and Environ. Microbiol.,71(3): 1394-1404, (2005)

Prevalence of Intestinal Parasites among Children (1-13) Years Age in Baquba City

Najah Ali Mohammed

Medical Technical Institute

Received 2/9/2007 – Accepted 30/12/2007

Keywords : Stool examination , intestinal parasites .

الخلاصة

أجريت الدراسة لتحديد الطفيليات المعوية في الاطفال لعمر (6-13) سنة في مدينة بعقوبة , تحديد الاصابات المنفردة والمتعددة وتوزيعها في المناطق الريفية والحضرية . جمعت نماذج البراز من (1481) من اطفال المدارس باعمار (6-13) سنة وتم فحصها بأكثر من طريقة مخبرية لتحديد مدى انتشار الطفيليات المعوية بينهم . أظهرت الدراسة ان نسبة انتشار الطفيليات المعوية كان 710 طفل بنسبة (47,94%) وكان معدل الاصابة في المناطق الريفية (67,04%) أعلى مما في المناطق الحضرية (32,95%) والذكور (49,22%) أعلى من الإناث (44,62%) . والطفيليات المعوية التي تم عزلها الجيارديا لامبليا *G. lamblia* (29,43%) والدودة الدبوسية *E.coli* (16,9%) , والمتحولة الزحارية *E.histolytica* (14,22%) والمتحولة القولونية *E.coli* (14%) والصفر الخراطيني (10%) والشريطية القزمية *H.nana* (9,43%) ولاسطوانة البرازية *Stronulodes estersoralis* (3,09%) والمشعرة البشرية *Trichomomas hominis* (0,84%) والحلقة العنقية *Ancylostoma duodenale* (0,56%) وشفوية السياط المسنيلة *Chilomastix mesnili* (0,28%) والايودومبيا بيوجيلا *Iodamoeba butchili* والاندولمكس نانا والمفلطحة الكبدية (0,14%) لكل منهم . تم تحديد الاصابات المتعددة في 82 نموذج ونسبة (11,4%) توزعت في 49 نموذج للمناطق النائية 33 نموذج في المناطق الحضرية .

ABSTRACT

Background : This study was – carried out to determine the prevalence of intestinal parasites among children between [6-13Y] in Baquba city , to determine the frequency of single & multiple infections and to show the distribution of intestinal parasites in rural and urban areas .

Methods : The stool specimens were collected from 1481 school children aged 6-13 years and examined for intestinal parasites by more than one method to determine parasites among primary school children .

Results : Intestinal parasites were found in 710 children (47.94%) . The rate of infection in rural area (67.04%) was higher than in urban area (39.95%) . Males (49.22%) had higher rate of infection than female (44.62%) . The intestinal parasites were *Giardia lamblia* (29.43%) *Enterobius vermicularias* (16.9%) *Entamoeba histolytica* (14.22%) , *Entamoeba coli* (14.08%) , *Ascaris lumbricoides* (10%) , *Hymenolepis nana* (9.43%) , *Strongyloides stercoralis* (3.09%) , *Trichomonas hominis* (0.84%) , *Taenia Spp* (0.70%) , *Ancylostomn duodenale* (0.56%) , *Chilomastix mesnili* (0.28%) , *Iodamoeba butschili* , *Endolimax nana* & *Fasciola hepatica* (0.14% for each) . Multiple infections were detected in 82 samples (11.4%) , distributed in rural (49) & urban (33) .

Conclusion : The prevalence of intestinal parasites is higher among children (1-13Yr.) age . Males had higher rate of infection than females . The rate of infection in rural area was higher than urban area and the combined infections were more common in rural area.

INTRODUCTION

Intestinal parasitic diseases are among the most common infections worldwide and are more prevalent in the poorest communities of developing world (1-3). These infections are regarded as a serious public-health problem, as they cause iron – deficiency anaemia (4-5). It is estimated that some 3.5 billion people are affected in the world and, that 450 million become ill as a result of these infections, the majority being children (6). To control parasitic infections in the community, the guidelines developed by the World Health Organization (WHO) suggest consideration of three coordinated actions improved: sanitation, chemotherapy, and health education (7).

The prevalence of intestinal parasites in neighboring countries may vary from area in Saudi Arabia it was reported a prevalence of (9.5%) among school children (8) and, in children Lebanon (12.4%) (9).

Jassim et al (10) studied the prevalence of intestinal parasites among school children in Kirkuk city, found that the incidence of *H. nana*, *E. vermicularis*, *G. lamblia*, *A. lumbricoides* and *E. hestolytica* were (8.0%, 6.6%, 5.5%, 2.4% and 0.4%) respectively. They also found that the rate of infection among males (26.9%) was higher than females (20.8%). Ibrahim (11) found that the prevalence of intestinal parasites in school children was (75.84%). The highest rate of infection was *G. lamblia*, followed by *E. coli*, *E. vermicularis*, *H. nana*, *T. hominis* and *A. lumbricoides*. In Tikrit, Al-Tikrity (12) reported that the prevalence of intestinal parasites among school children was (92.4%) (protozoa 18%, helminthes 17.2% and combination of protozoa & helminthes (56.3%). She found that the rate of *E. coli* was highest followed by *A. lumbricoides*, *E. vermicularis*, *H. nana*, *chilomastix mosnilli*, *E. hestolytica*, *H. diminula*, *Iodamoeba butschili*, *G. lamblia*, *A. duodenal* and *Balantidium coli*.

This study was designed to find the prevalence of intestinal parasites among children between 6-13 years in different localities of Baquba city.

MATERIAL AND METHODS

This study was carried out in different areas of Baquba city between 2004 and 2005. One stool specimen was collected from each child, and was examined by using normal saline and lughole's iodine and by formal – ether concentration technique. Scotch tape method was used for *Enterobius vermicularis* infection for children with symptoms of itching at anal region.

Faecal samples were collected from 1481 child. Aged 6-13 years they were (795) males and (686) females . A significance test of differences between rural and urban infection (t-test) was carried out . The level of significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The total prevalence of intestinal parasites in Baquba city (outside and inside Baquba) was (47.94%) (710 infected child.) . Fourteen intestinal parasite species were detected *G. lamblia* were the most frequently – isolated species in the two regions (Table 1) .

Table -1 : The isolation of parasites from stool samples from school children in Baquba city

Parasites	Outside Baquba		Inside Baquba		Total	
	No	%	No	%	No	%
- <i>Giardia lamblia</i>	141	31.12	68	26.45	209	29.43
- <i>Enterobius vermicularis</i>	72	15.89	48	18.67	120	16.90
- <i>Entamoeba histolytica</i>	64	14.12	37	14.39	101	14.22
- <i>Entamoeba coli</i>	59	13.02	41	15.95	100	14.08
- <i>Ascaris lumbricoides</i>	47	10.37	24	9.33	71	10.0
- <i>Hymenolepis nana</i>	41	9.05	26	10.4	67	9.43
- <i>Strongyloides stercoralis</i>	19	4.19	3	1.16	22	3.09
- <i>Trichomonas hominis</i>	4	0.88	2	0.78	6	0.84
- <i>Taenia spp.</i>	3	0.66	2	0.78	5	0.70
- <i>Ancylostoma duodenals</i>	3	0.66	1	0.39	4	0.56
- <i>Chilomastix mesnili</i>	2	0.44	0	0	2	0.28
- <i>Iodamoeba butschili</i>	1	0.22	0	0	1	0.14
- <i>Endolimax nana</i>	1	0.22	0	0	1	0.14
- <i>Fasciola hepatica</i>	1	0.22	0	0	1	0.14
Total	453	100	257	100	710	100

The prevalence of infection among children in rural areas was higher than those in urban (inside Baquba) and it was also higher in males than females . The school children in rural areas infected with more types of parasites than those in urban areas . The prevalence of multiple infections was higher in rural then that in urban areas (Table 2).

Table -2 : The distribution of multiple parasites recovered from school children in Baquba city.

Types of parasites	Outside Baquba		Inside Baquba		Total	
	No	%	No	%	No	%
- <i>Giardia</i> + <i>Enterobius</i>	6	12.24	10	30.3	16	19.51
- <i>Giardia</i> + <i>E. histolytica</i>	9	18.36	5	15.15	14	17.07
- <i>Giardia</i> + <i>E. coli</i>	6	12.24	6	18.18	12	14.63
- <i>Giardia</i> + <i>Strongyloides</i>	6	12.24	2	6.06	8	9.75
- <i>Enterobius</i> + <i>H. nana</i>	2	4.08	3	9.09	5	6.09
- <i>Enterobius</i> + <i>E. histolytica</i>	3	6.12	2	6.06	5	6.09
- <i>Enterobius</i> + <i>E. coli</i>	3	6.12	2	6.06	5	6.09
- <i>E. histolytica</i> + <i>E. coli</i>	3	6.12	1	3.03	4	4.87
- <i>E. histolytica</i> + <i>Ascaris</i>	2	4.08	0	0	2	2.43
- <i>E. histolytica</i> + <i>H. nana</i>	1	2.04	0	0	1	1.21
- <i>E. coli</i> + <i>Trich. Hominis</i>	0	0	1	3.03	1	1.21
- <i>Ancylostoma</i> + <i>E. histolytica</i>	1	2.04	0	0	1	1.21
- <i>Ancylostoma</i> + <i>Giardia</i>	1	2.04	0	0	1	1.21
- <i>Giardia</i> + <i>E. histolytica</i> + <i>E. coli</i>	2	4.08	1	3.03	3	3.65
- <i>Giardia</i> + <i>Enterobiu</i> + <i>E. coli</i>	2	4.08	0	0	2	2.43
- <i>Ascaris</i> + <i>E. coli</i> + <i>H. nana</i>	1	2.04	0	0	1	1.21
- <i>Taenia</i> + <i>E. coli</i> + <i>Trich hominis</i>	1	2.04	0	0	1	1.21
Total	49	100	33	100	82	100

The present study observed a higher prevalence of intestinal parasites in rural areas than in urban areas. The families inside Baquba were mostly of middle and upper middle classes, while those families outside Baquba were poor and were lower classes with low socioeconomic level and poor hygienic conditions. The high prevalence of intestinal parasites in any population is related to parasitic contamination of the soil and water sources in addition to deficient sanitary and sociocultural conditions (13).

The prevalence rate of intestinal parasites in our study (47.94%) is high comparison to other studies reported (37.2% and 40.45%) (14-15), and lower comparison to Ibrahimetal. (16) found that the overall rate of intestinal parasites among school children were (50%).

The highest rate of infection with *G. lamblia*, *E. vermicularis* and *E. histolytica* (29.43%, 16.90% & 14.22% respectively) reflects a poor health care and bad sanitation among school children (13, 16). The prevalence rate of *G. lamblia* in our study (29.43) is low comparison to other studies reported (64%, 62.2% and 38% respectively) (16, 17, 18).

The high prevalence of *E. vermicularis* in this study specially in rural areas, indicates that auto-infection is very common in these areas due to low standard of living as all members of the families share the same bedroom. *E. vermicularis* was the second most common parasite

(16.90%) , this finding is in agreement with that reported a prevalence of (12.3%) in three regions of Sivas , Turkey (19) .

The high prevalence of *A. lambricoides* in rural areas may be attributed to nature of the sandy yards of rural region and the viability of eggs for long period in the external environment (20) . Also the prevalence of *Strongyloides stercoralis* (4.91%) in rural areas may be explained by that those children tend to walk bare foot inside farms during planting vegetables with their families .

The incidence of multiple infections were common in rural areas with low income , poor hygienic status than which was of higher income & better hygienic status .

REFERENCES

1. Park J.E. and Park K. Textbook of preventive and social medicine, 8th Ed , Messrs Banarsidas Bhancl Pub. India , (1981).
2. Farook MV. Sudharmini S, Remadevi S, Vijayakumar K. Intestinal helmintheic infestations among tribal populations of Kottoor and Achankovil areas in Kerala (India). J. commun Dis . 34 : 171-8 (2002).
3. Adedayo O. Nasiiro R. Intestinal parasitoses. J Natl .Med. Assoc . 96 : 93-6 (2004) .
4. Brito LL , Barreto ML , Silva Red C et al. Risk factors for iron – deficiency anemia in children and adolescents with intestinal helmintheic infections. Rev. Panam. Salud Publica. 14 : 422 – 31(2003).
5. Rice JE, Skull SA, et al . Screening for intestinal parasites in recently arrived children from East Africa J. Paediatr . child Health 39 : 456-9 (2003) .
6. World –Health Organization . Control of tropical diseases . Geneva : world Health Organization. (1998) .
7. Curtale F and Pezzotti P . Knowledge , Perceptions and behavior of mothers toward intestinal helminthes in upper Egypt : implications for control . Health policy plan 13 : 423-32 (1998) .
8. Zakai HA. Intestinal parasitic infections among primary school children in Jeddah , Saudi Arabia .J. Egypt soc parasitol . Dec, 34 (3) : 78-90 (2004) .
9. Saab BR, and Musharrafich V. Intestinal parasites among presumably healthy individuals in Lebanon . Saudi. Med. J. 25 (1) : 34 -7 (2004) .

10. Jassim BA, AL- Dujaily AA and Saleh MM. Prevalence of intestinal parasites in school children of Kirkuk city , Iraq . J. Biol . sci . Res . 17 : 119-25 (1986) .
11. Ibrahim MN. Prevalence of intestinal parasites in children in AL-Tameem province .Accepted in J. Educ. college Tikrit Univ. (1996) .
12. AL-Tikrity AA. Epidemiological study for intestinal parasites in salahaddin province with preliminary study for effect of some extracts of *Giardia lamblia* draba plant on *Hymenolepis nana* . Msc. Thesis , college of Education , University of Tikrit , (1997).
13. Gamboa S and Poyraz O. Prevalence of intestinal parasites in children Living in a rural section of Kirikkale , Turkey . Acta Parasitol Turcica 19 : 249-53 (1995) .
14. AL-Zain B, and AL-Hindi A. Distribution of *Strongyloides stercoralis* and other intestinal parasites in household in Beit – Lahia city , Gaza srrip , Palestine . Ann. Alqud. Med. 1 : 48-52 (2005) .
15. Mohammed AK and Yahya GS. Prevalence of intestinal parasites among primary school children in Al- Taamecm province , Iraq . Ann. Coll. Med. Mosul. 25 : 94-98(1999) .
16. Al- Hindi AI. Prevalence of some intestinal parasites among school children in Deir – El- Balah Town , Gaza , Strip, Palestine. Annals of Saudi Medicine. 22 : 3-4 (2002) .
17. Shubair ME and Yassin MM . Intestinal parasites in relation to haemoglobin level and nutritional status of school children in Gaza . J. Egypt . Soc. Parasitol. 30(2) : 365-75 (2000) .
18. Al- Wahidi A. Effect of different sanitation conditions on the prevalence of infection with three types of intestinal parasites among children in two localities in the Gaza Strip , Palestine , A dissertation submitted as part of the requirements for the degree of masters of science in mother and child health , University college London. (1997) .
19. O' Lovcain P and Holland CV. The public health importance of *Ascaris Lumbricoides*. Parasitol . 121 Suppl , S 51-71(2000) .
20. Ibrahim ZAA. , Saeed AAK. And Jabur MS. Prevalence of intestinal parasites among school children in Baghdad city (Al-Russafa) . J. Tech. Res. (1994) .

Purification of a Restriction Enzyme from *Aspergillus niger* and Some General Properties

Mukaram Shikara

Chemical Biotechnology Division, Applied Sciences Department, University of Technology

Received 18/4/2007 – Accepted 28/11/2007

الخلاصة

تمت تنقية أنزيم مقيد من مزرعة الفطر اسبيلرجلز نايجر بعمر سبعة أيام بطريقة تضمنت استرداد الأنزيم بواسطة كبريتات الأمونيوم ثم كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي (خلال عمودي DEAE وسيفادكس G-100 ، وحدثت تعقيدات في التنقية بسبب وجود كربوهيدرات ومواد بولي فينولية تم التغلب عليها، وتم اختبار الأنزيم من خلال قطعه لدنا العائية لامبدا ومقارنته بأنزيمات مقيدة نموذجية ، ووجد أنه ثابت ونقي 419-مرة مع استرداد مقداره 40%.

ABSTRACT

A restriction enzyme has been purified from 7-day *Aspergillus niger* culture by a procedure included the recovery of the enzyme by ammonium sulphate, DEAE-cellulose and Sephadex G-100. The purification procedures were complicated with the presence of carbohydrates and polyphenolic pigments. The enzyme has been tested against lambda DNA and comparison with other standard restriction enzymes. The enzyme has been stable with 419-fold purification with the recovery of 40%.

INTRODUCTION

Restriction enzyme systems are aim to destroy foreign DNA without destroying their own bacterial or fungal DNA [1]. These systems consist of two enzymatic activities; a modification methyltransferase that recognized a specific DNA sequence, its recognition site, and methylates particular bases in that sequence, one in each strand; and a restriction endonuclease that recognize the same sequence as the methyltransferase and, if the site not methylated, proceeds to cleave the DNA foreign DNA entering the cell. [2]. Sequences of bases are short (usually 4-6 bases long). The sequence of bases in genetic material is not randomly distributed as genes are related and sequences conserved this specific site recognition lowers the number of cutting sites on a genome considerably. On a bacterium with a small chromosome, there are may only be one or two such cutting sites [3].

The key feature of restriction endonucleases is not their ability to cleave DNA at their recognition sequences, but rather their ability to avoid cleaving DNA at any other sequence. The ability of these enzymes

promoted extensive screening of bacteria and fungi by biochemical assays and by genome analyzes [4].

The wide range of different restriction enzymes and therefore different cutting sites enables the researcher to manipulate DNA in such a simple yet specific way. Two separate attempts to purified restriction endonucleases were done from bacteria [5] [6]. The present attempt aim is to purify a restriction endonuclease from *Aspergillus niger*, a model genetic organism and an important producer of industrial enzymes in order to produce a line of production from this important enzyme.

MATERIALS AND METHODS

Steps of Purification

Aspergillus. niger has been maintained on agar petridishes which were stored at 4°C. A growing colony was cut of approximately 3cm² from the medium are ground in liquid medium to break cell walls. Then, cultivated as previously mentioned [7] at 30°C for seven days in a 6 liter liquid medium (500ml lots to 1 liter flasks) containing 6% glucose, 2% peptone, 0.8% sodium nitrate, 1% KH₂PO₄, 1% MgSO₄, 0.5% MnCl₂, 0.1% CuSO₄, 0.01% FeSO₄, 0.1 ZnSO₄, 0.04% Na₂B₄O₄ in distilled water with shaking. The press-dried mycelia (40 g/l medium) were suspended in 0.10M Tris-HCl buffer, pH 8.0 and mixed in equal weight with glass beads (20 mesh) and homogenized in an ice-cold Warning blender for 15 min. The homogenate centrifuged at 3000 x g for 30 min at 4°C and the supernatant has been used as the "crude extract". Solid ammonium sulphate was added to form 0-35% and 35-80% saturation fractions respectively. The use of batch-wise Shepadex G-50 with both fractions 3:1(v/v) led to the absorption of most polyphenolic pigments and a good deal of salts. After centrifugation at 4000 x g for 15 min, both were dialyzed against 1 x 5 liter of the above buffer for 24 h, and measured for DNase activity.

35-80% saturation fraction was found to have a high DNase activity, so it has been purified further by layered onto a 1.5 x 40cm DEAE-cellulose, pH 8.0, The column was washed with two column volume, then the enzyme is eluted with 120ml of 0-0.6M NaCl in the above buffer. A flow rate of 40ml.h⁻¹ was used and 2 ml fractions-volume were collected.

Two-third of each DEAE-cellulose active fractions were pooled together and layered on 1.5 x 25 cm Sephadex G-100 to further purification and desalt. A flow rate of 25ml.h⁻¹ was used and 3 ml fractions-volume were collected.

All operations were carried out at 4°C. DNase activity, protein and carbohydrate concentrations were determined for all fractions.

DNase activity determined by measuring the amount of acid-soluble nucleotide liberated from DNA. The incubation mixture contained 0.2mg of native DNA, 20µm MgSO₄, 35µm of Tris-HCl buffer, pH 8.1 and about 1 unit of enzyme in a total volume of 1ml. The incubation period is 1h at 37°C. 0.01% bovine serum albumin solution to aid in precipitating the DNA before 1min of stopping the reaction with 4 ml 0.5M perchloric acid. The mixture was kept at 4°C for 10 min then centrifuged at 4000 x g for 10 min. The supernatant was removed and read at 260nm.

One unit of the enzyme can catalyze the release of 1µmole of acid soluble nucleotide from native DNA in the presence of Mg in 1hr at 37°C under the above conditions.

In case of DNA-agarose gel electrophoresis, a unit activity is defined as the ability of one volume of restriction enzyme to completely cut 1µg of lambda DNA at 37°C for 1hr under standard conditions [8].

Protein contents were determined by the methods of Lowry et al [9] using Bovine serum albumin as a standard.

Carbohydrates contents were determined by the method of Dubois et al [10] (1956) using glucose as a standard.

Agarose gel electrophoresis was used according to the method described by Maniatis et al (1982) [11]

Acrylamide gel electrophoresis was used according to the method described by Blackshear (1984) [12]

Lambda DNA 32300 KD, size 48502bp, concentration 250mg.ml⁻¹

Standard restriction enzymes (EcoRI and AatII) were obtained from Sigma Chemical Company. Aat II from *Acetobacter aceti* (activity 500-5000 units.ml⁻¹) and EcoRI from *Escherichia coli* (activity 10000 units.ml⁻¹).

RESULTS AND DISCUSSION

Aspergillus niger were grown in a nitrogen limited media for seven days and 16g dry weight/100ml media was obtained. The purification procedures of enzyme in general and restriction enzyme in particular have been complicated by the presence of carbohydrates excreted from the fungal cells during submerged growth [13, 14]. In order to prevent excessive production of carbohydrates, the walls of the fungal cells were breakdown in liquid nitrogen before culturing (see Methods).

The presence of polyphenolic pigments has been noticed in crude extract and ammonium sulphate fractions and proteins are likely to be absorbed by these pigments. The use of batchwise Sephadex G-50 during 35-80% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fraction and before dialysis has been successful in removing many inactive proteins, and to the absorption of most pigments into Sephadex particles, so the concentration of protein decreases one tenth of the original concentration in the crude extract.

Since most of DNase activity was found in the desalted $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fraction, so it was used for further purification. This fraction has been applied to a DEAE-cellulose column. Two peaks of activity were observed. The first peak was in the wash region between fractions 47-77 contained very little activity, while the second peak's fractions, which were eluted between 0.1-0.2M NaCl, between 147-178 with a simple shoulder between fractions 139-146. The highest points of the second peak were 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, and 163 (Fig.1).

The adsorption of the second peak to the column might suggest the presence of one form of the enzyme with low isoelectric point. The first peak suggests the presence of some form of the enzyme with a high isoelectric point.

Most polyphenolic compounds present in ammonium sulphate fraction were absorbed to DEAE-cellulose and separated from the enzyme.

All peaked fractions from the second peak were dialyzed individually for 5 h with two changes against 1 liter of Tris-HCl buffer, pH 8.0. One-third of each fraction was kept for further experiments, and two-third were pooled together and loaded into Sephadex G-100 (see Method). A peak (fractions 27, 28 and 29) with very well structured shoulder (fractions 23-26) was obtained. The peaked fractions were freeze for further experiments (Fig.2). Table 1 shows the steps of purification of the enzyme.

Table -1. Purification Steps of the enzyme

Step	Total Volume (ml)	Activity (units/ml)	Total Activity (units)	protein (mg/ml)	Total protein (mg)	Specific Activity (unit/mg)	Purification	%
Crude Extract	600	0.908	545	0.103	61.8	8.81	1	100
35-80% (NH ₄) ₂ SO ₄ Fraction	30	16.50	495	0.09	2.7	183.3	20.8	90.82
DEAE-Cellulose	16	29.987	479.8	0.015	0.25	1919.2	217.8	88.04
Sephadex G-100	9	24.60	221.4	0.0066	0.06	3690	418.8	40.6

In view of their very low concentration of protein, the pooled DEAE-cellulose fractions and the peak fractions from Sephadex G-100 were treated with trichloroacetic acid and the precipitated proteins were redissolved and loaded onto SDS-polyacrylamide gels (Fig. 3). The pooled DEAE-cellulose gives 2-3 clear bands in the region of 30000 and a very heavy band (or several bands close together) in 15000 region. All the three fractions from Sephadex G-100 showed similar profile, but the band (or bands) in 15000 region in fraction 27 showed a great similarity with DEAE-cellulose pooled fraction. These results are conflicted with the fact that only one single broad peak of activity appeared (Fig.2). This suggest two explanations: the first was that the activity has been associated with a minor polypeptide which was too faint to be detected by stain, and the second explanation was that the peak of activity was made up of two or more overlapping peaks (see discussion).

Pooled fractions of DEAE-cellulose and the three main fractions from Sephadex G-100 were treated with lambda DNA. Fig. 4 showed that lambda DNA has been completely cut to smaller sized, which means that the purified enzyme is an endonuclease and a restriction enzyme [15].

The researcher purified a restriction enzyme from *A. niger* 419-fold with DNase recovery of 40.6%. The purification of such enzymes is limited due to the presence of carbohydrates and polypeptide compounds in excess in fungi.

The use of Sephadex G-50 during ammonium sulphate fractionation and the breakage of cell wall with liquid nitrogen have been two successful steps to remove most of the carbohydrates and polyphenolic compounds.

Most restriction enzymes reported in the purified form are composed of two equal subunits with molecular weights of 20000-25000 or single polypeptides with molecular weights of 30000-35000. The suggestion (from results) that two (or more) polypeptides overlapping each other do not agree with the results obtained from DNA-agarose electrophoresis, since the pooled DEAE-cellulose fraction and the three fractions from Sephadex-G-100 gave the same profile. Also, fraction 27 from Sephadex G-100 showed a similar profile to pooled DEAE-cellulose fraction (Fig. 4). This will give strength to the hypothesis that the endonuclease activity is associated with a minor polypeptide which was too faint to be detected is more plausible explanation. Further research will be done to clarify this problem.

Since all purified fractions were able to break lambda DNA into smaller sizes, so this enzyme is a restriction enzyme. A comparison between this purified enzyme and two standard restriction enzymes (AatII and EcoRI) obtained from (Sigma) showed some similarity. The results are not conclusive since the breakage of lambda DNA into 7-9 bands (as far as one can see from the gel) is a characteristic shared with more than 30 restriction enzymes, and due to purification of the enzyme. More research must be done.

The purified enzyme contained 0.3% of carbohydrate moiety, which means the enzyme is a glycoprotein. Preliminary experiments show that its optimal pH is 8.0-8.2, and is stable for 2h at room temperature, 48h at 4°C and more than one month at -4°C. The addition of magnesium ion will increase its activity more than 80-fold. Hopefully successive experiments will confirm this.

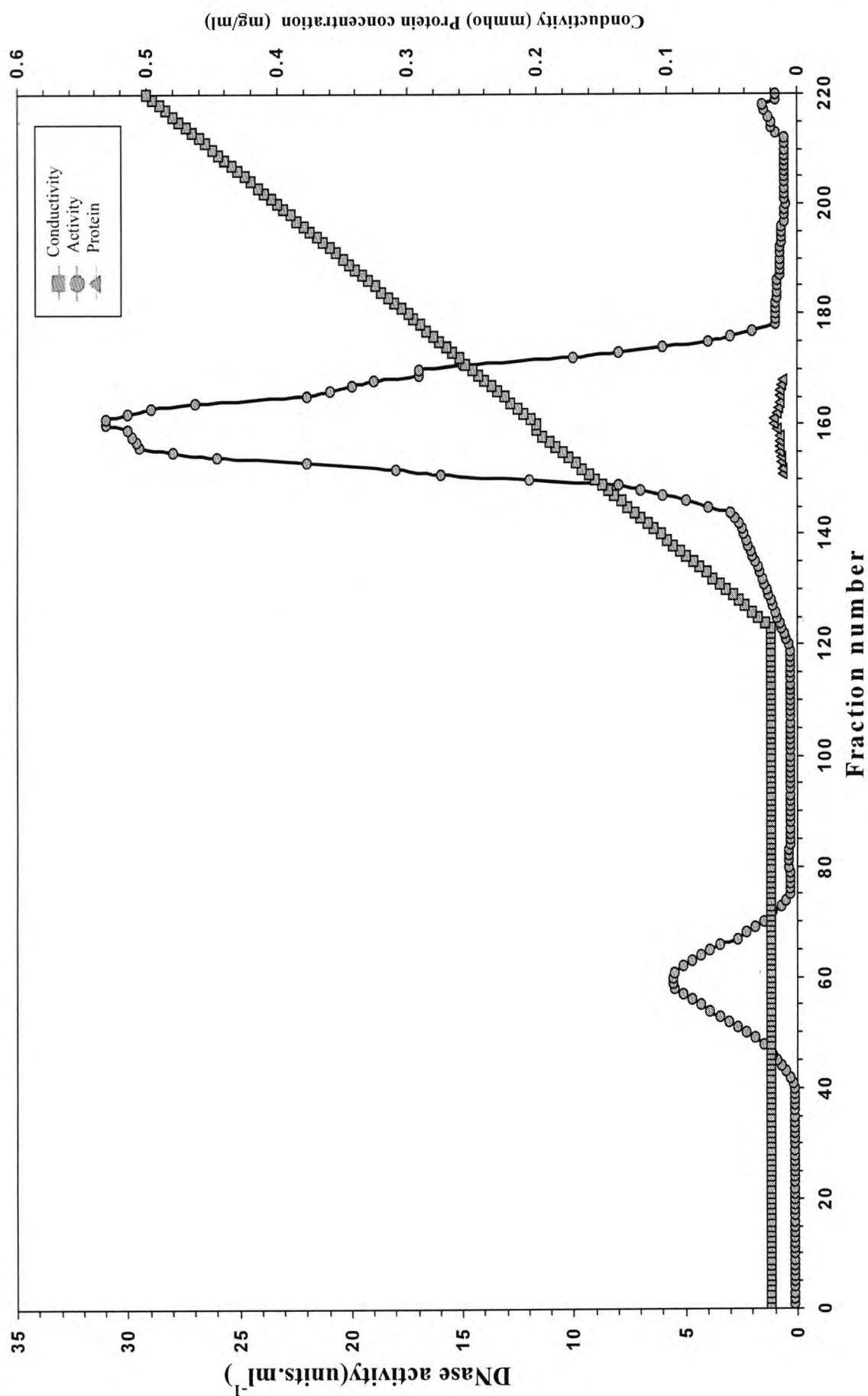


Fig- 1: DEAE – Cellulose chromatography of 35-80% ammonium sulphate fraction from the crude extract of *A. niger*

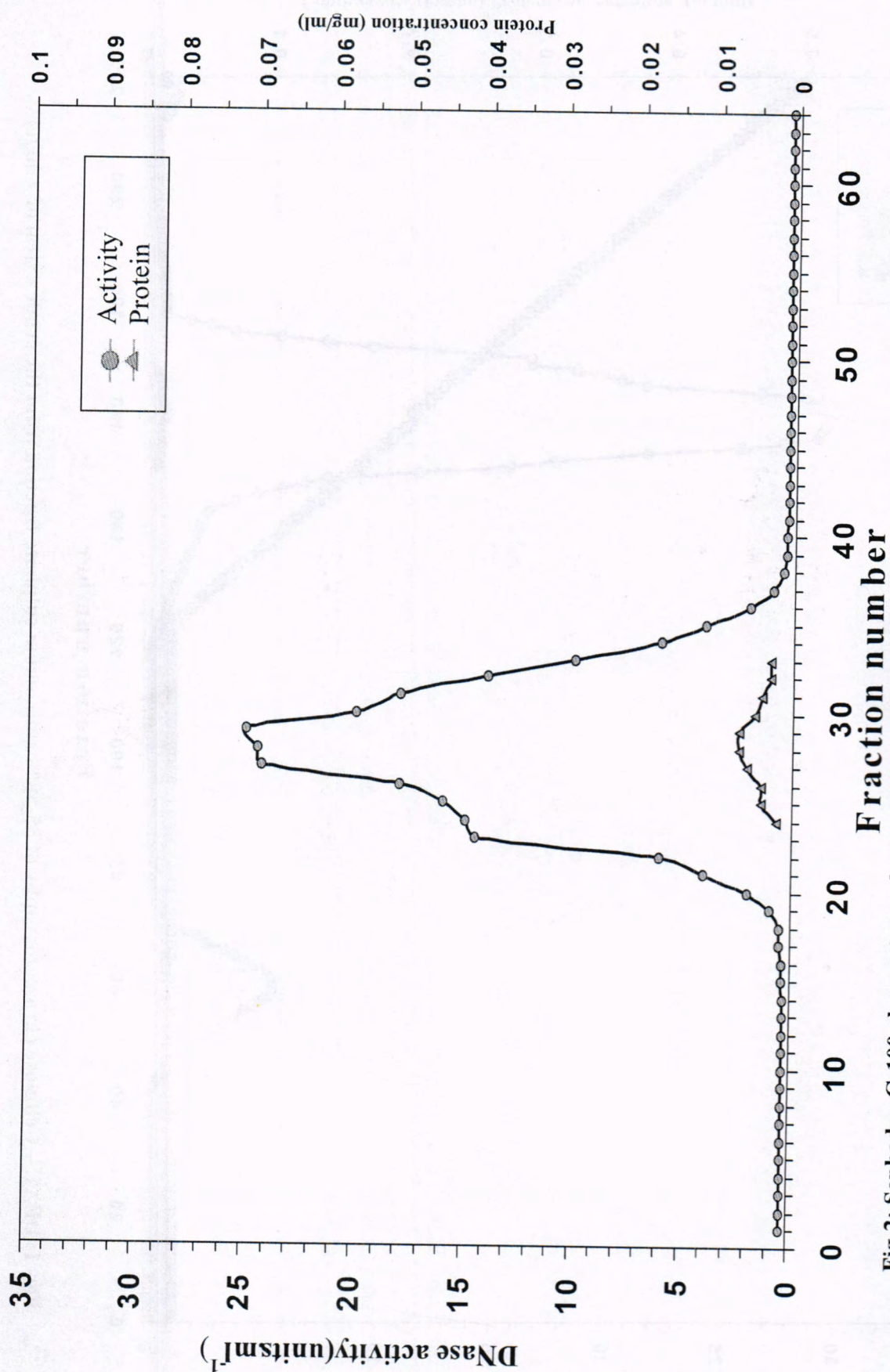


Fig-2: Sephadex G-100 chromatography on the second peak eluted from DEAE – Cellulose

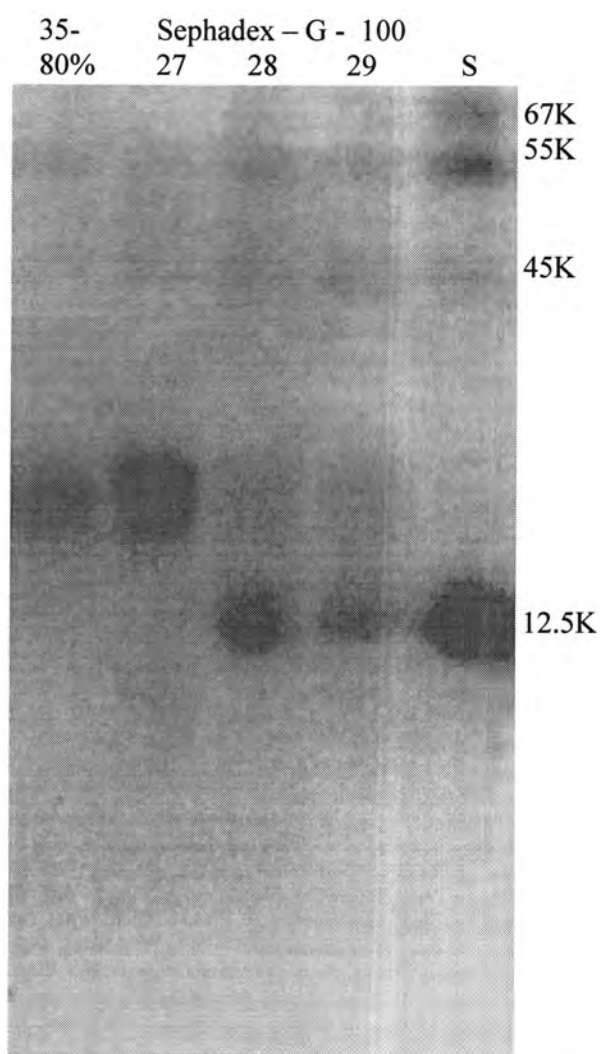


Fig-3: SDS-polyacrylamide Electrophoresis of 30-80% Saturated $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fraction, Sephadex G-100 fractions (27, 26 and 29) with standards.

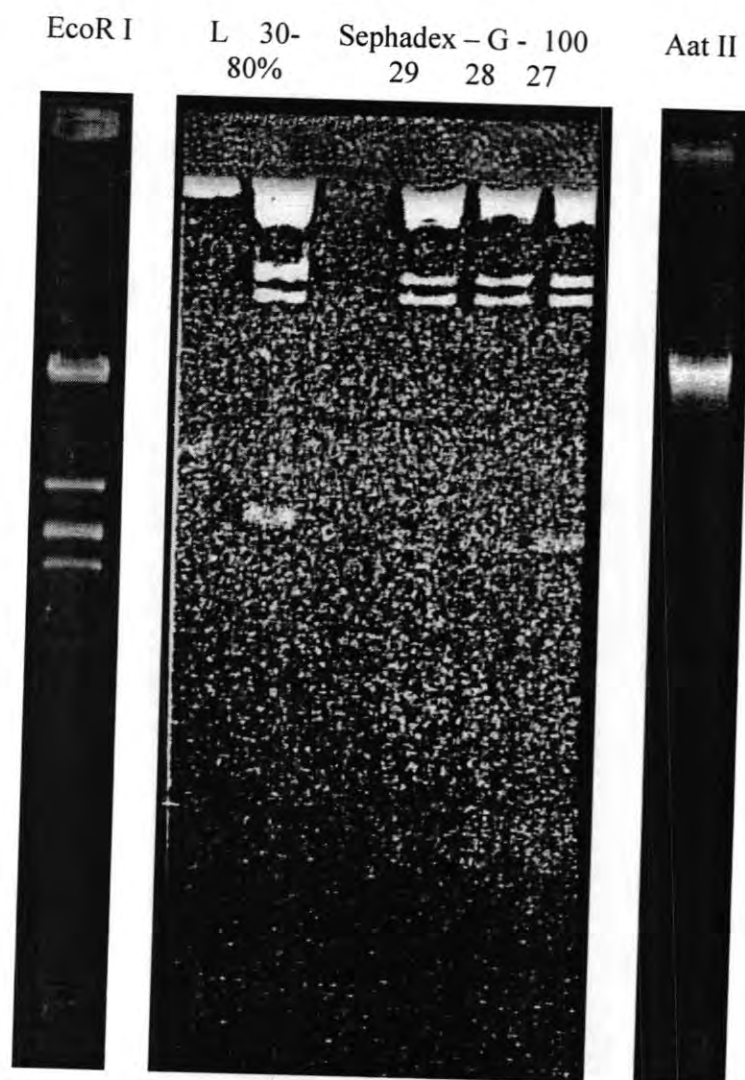


Fig-4: Agarose gel Electrophoresis of Undigested Lambda DNA, 30-80% Saturated $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fraction, Sephadex G-100 fractions (27, 26 and 29), and two standard restriction enzymes: EcoR I and Aat II .

REFERENCES

1. Roberts, R.J. and Macelis, D. "REBASE-restriction enzyme and methylase", *Nucleic acid Res.*, 22. 2628-3639 , (1994).
2. Halford, S.E. "Hopping, Jumping and looping by restriction enzyme", *Biochemical Society Transactions*, 29 (4). 363-373 , (2001).
3. Embleton, M.E., Siksnys, V. and Halford, S.E. "DNA Cleavage Reactions by Type II Restriction Enzymes that Require Two Copies of their Recognition Sites", *JMB*, 311(3). 503-14 , (2001).
4. Murray, N.E. . "Type I Restriction Systems Sophisticated Molecular Machines", *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64. 412-434 , (2000).
5. Putrus S.G. "Extraction and characterization of an isoschizomer for the restriction enzyme Hind III from locally isolated *Haemophilus influenzae*", M.Sc. thesis, College of Science, University of Baghdad , (1995).
6. Al-Khafagi, K.A.M. "Extraction of a restriction enzyme from a local isolate of the thermophilic bacteria *Bacillus stearothermophilus*", M.Sc. thesis, College of Science, University of Baghdad , (1999).
7. Shikara, M. "Purification and properties of an RNase inhibitor from *Aspergillus niger*" *Al-Mustansiriya J. Sci.*, vol.3, No. 1, (1991).
8. Smith H.O. and Wilcox, K. "A restriction enzyme from *Hemophilus influenzae* I- Purification and General properties", *JMB*, 51. 379-392 , (1970)
9. Lowry, O.H. Rosebrough, N.J., Furr, A.L. and Randall, R.J., (1951). "Protein measurement with the Folin phenol reagent" *J. Biol. Chem.*, 193. 1209-1220.
10. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, R.A. and Smith, F . "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", *Anal. Chem.*, 28. 350 , (1951).
11. Maniatis, T., Fritseh E.F. and Sambrook J. "Molecular Cloning: A laboratory Manual", Cold spring Harbor Laboratory, New York. ., (1982).
12. Blackshear, P.J . "Systems for polyacrylamide gel electrophoresis", In: *Methods of Enzymology* (Ed. Jackohy WR) Academy Press INC, Harcourt Brace Jovanovich Publishers, Vol. 104. 239-255 , (1984).
13. Horton, D. (Ed.) "Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry", Academic Press, vol. 55. 345-347 , (1984).
14. Hecht, S.M. (Ed.) "Bioorganic Chemistry: Carbohydrates", Oxford University Press, 121-123, (1999).
15. Pingoud, V., Sudina, A., Geyer, H., Bujnicki, J.M., Lurz, R., Lüder, G., Morgan, R., Kubareva, E. and Pingoud, A "Genomics, proteomics, and Bioinformatics: Specificity Changes in the Evolution of Type II Restriction Endonucleases: A Biochemical and Bioinformatic analysis of restriction enzymes that recognize unrelated sequences" *J. Biol. Chem.*, 280. 4289 – 4298 ,(2005).

Synthesis and Characterization of Acrylonitrile-Methylmethacrylate Copolymers: Determination of their Reactivity Ratios

Tariq S.Najim , Abdul Hussien K. Sharba and Nadia A. Butti
Chemistry Dept. College of Science , Mustansiriah Univ., Baghdad , Iraq.

الخلاصة

تم تعيين الفعالية النسبية للاكريلونائتريل (AN)، المثلث ميثاكريليت (MMA) في نظام البلمرة الجذرية بدرجة 75°C في التتراهيدروفيوران و باستخدام بيروكسيد البنزويل كإحدى. تم تعيين الفعالية النسبية بطريقتين، الطريقة الأولى تعتمد على امتصاص حزمة معينة و الوزن الجزيئي للمونمر في حين تعتمد الطريقة الثانية على امتصاصية حزمة معينة و الامتصاصية المولارية لها. تم حساب قيم الفعالية النسبية باستخدام الطرق الخطية لفنمان و روس (F.R) و كيلين ثيودوس (K-T) و المعرفة في الجدول أدناه:

ABSTRACT

Reactivity ratios for Acrylonitrile (AN), methylmethacrylate (MMA) system have been determined by radical copolymerization at 75°C in tetrahydroforan (THF) with benzoyl peroxide (BPO) as initiator. The reactivity ratios were determined by two methods, the first method depends upon the absorbance of analytical band and the molecular weight of monomer, while the second method depends upon the absorbance of the analytical bands and their molar absorptivity (as the second method). The values of the reactivity ratio are calculated by the linear methods of Fineman-Ross (F-R) and Kelen-TüdÖs (K-T) and they are shown in the following table.

$r_1(\text{AN})$				$r_2(\text{MMA})$			
F-R		K-T		F-R		K-T	
1 st	2 nd	1 st	2 nd	1 st	2 nd	1 st	2 nd
0.1158	0.136	0.1248	0.15	1.0121	0.8847	1.0497	0.9396

INTRODUCTION

The combination of durability and versatility, have made acrylic fibers a prime candidates for numerous and diverse applications(1) Acrylic fibers are always made with acrylonitrile and at least one or two comonomers. Methylmethacrylate is one of the most commonly used "natural" comonomer. The acrylic fibers are used in the civil and engineering field for applications like composite materials, a substitute for asbestos, and ion exchange fibers. Copolymerization allows for the synthesis of acrylic fibers that are often substantially different from either of the homopolymers.

The determination of monomer reactivity in copolymerization is entirely useful parameters to determine the composition of the copolymers. The instantaneous copolymerization equation can be defined for F_1 (equation 1):-

$$F_1 = \frac{r_1 f_1^2 + f_1 f_2}{r_1 f_1^2 + 2 f_1 f_2 + r_2 f_2^2} \dots\dots\dots (1)$$

Where r_1 , r_2 are the reactivity ratios for the comonomers 1 and 2 respectively, F , f are the mole fraction of monomers in the copolymer and feed respectively. A perfectly random copolymerization is achieved when r_1 and r_2 are both equal to one. An alternating copolymerization is defined as $r_1=r_2 \approx 0$. An azeotropic copolymerization is the one that produce compositions with the same ratios of comonomers that were in the feed as that which was in the copolymer at, and only at, a narrow composition range.(2,3)

The aim of the present work is to evaluate the reactivity ratios of comonomers using two methods, both of them depend on the absorption and absorptivity of certain group in the monomers.

EXPERIMENTAL

Materials:

Acrylonitrile AN(Aldrich) and methyl Methacrylate MMA (Aldrich) were washed with (10% NaOH) to remove inhibitors and then washed with distilled water to remove any traces of NaOH and finally distilled under reduced pressure. BPO (Aldrich) was purified by dissolving in small amount of chloroform followed by precipitation by n-hexane.

Synthesis

For copolymerization, the (AN) and (MMA) in various proportion but with the total weight maintained at 4g and the initiator BPO were kept at concentration of (3×10^{-4} mol/L) were dissolved in 25ml of THF. The content of the flask was degassed with argon for at least 2 minutes. Polymerization was carried out at 75°C for a period of 30 minutes. Each copolymer was precipitated by ethanol, washed repeatedly with ethanol and dried. For the determination of reactivity ratios, the polymer conversions were always less than 5%. Homopolymers of (AN) and (MMA) were also prepared to be used for the determination of the molar absorptivity of the CN and CO groups respectively. Various concentrations of the homopolymers were prepared and their absorbances were measured using a liquid cell with path length of 1cm. The IR spectra of copolymers were recorded by (Pye unicam SP3-100 IR) as films on KBr window, Fig. (1).

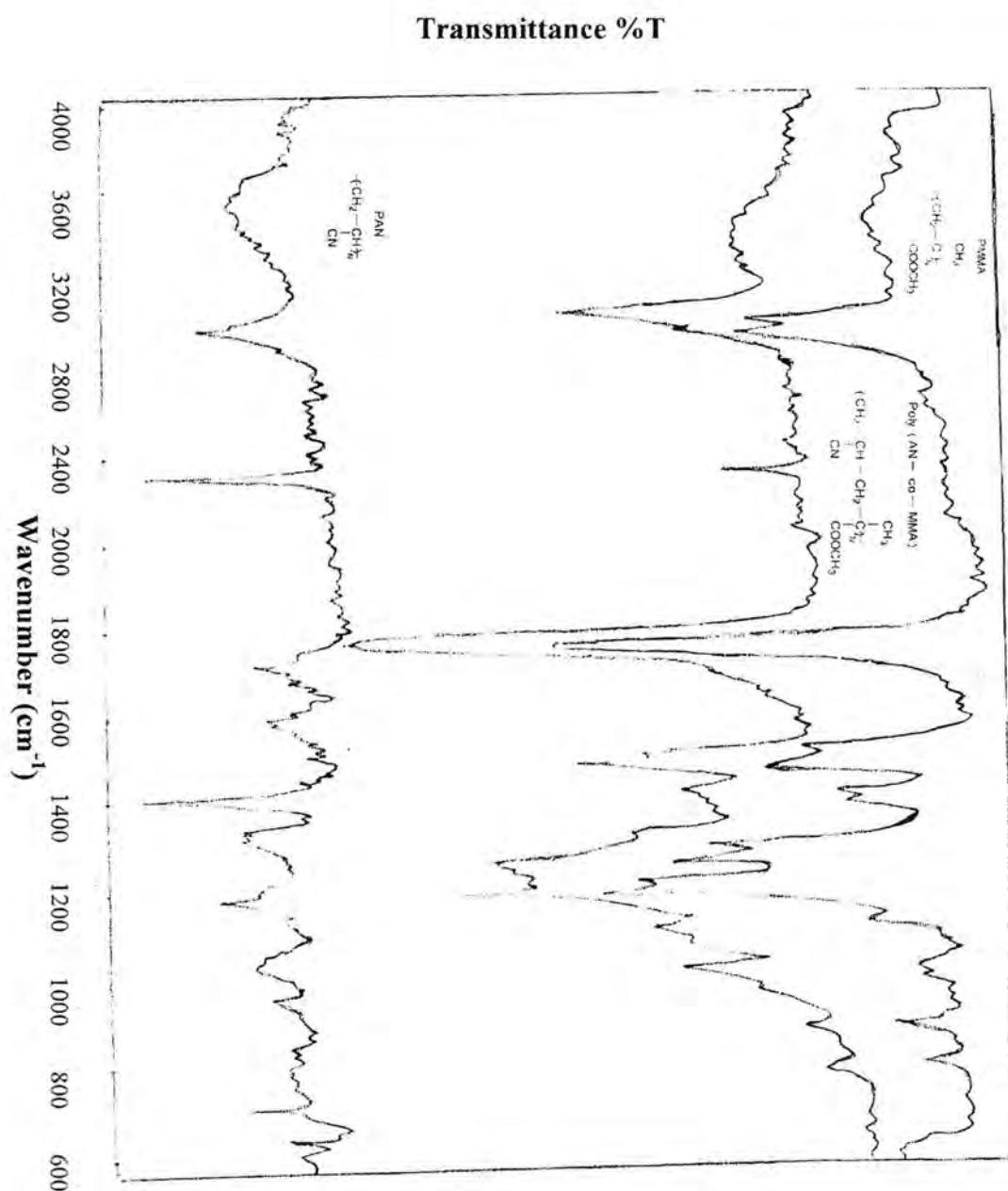


Fig -1: IR spectra for poly (AN-co-MMA), PAN and PMMA

RESULTS AND DISCUSSION

Measurements:

The molar fractions of (AN) and (MMA) in poly (AN-co-MMA) were determined by two methods:

a) The first method:-

This method depends on the IR absorbance of *CN* and *CO* groups for (AN) and (MMA) respectively, besides the molecular weights of (AN) and (MMA) according to the following equations(4) :-

$$F_1 = \frac{A_{CN} / M_1}{A_{CN} / M_1 + A_{CO} / M_1} \dots\dots\dots \dots (2)$$

$$F_2 = \frac{A_{CO} / M_2}{A_{CO} / M_2 + A_{CN} / M_1} \dots\dots\dots \dots (3)$$

Where A is the absorbance of *CN* and *CO* groups , F_1 and F_2 are the molar fractions of (AN) and (MMA) in the copolymer respectively, M_1 and M_2 are the molecular weights of (AN) and (MMA) monomers respectively .

b) The second method

This method depends on the absorbance of the IR recorded analytical absorption band of *CN* and *CO* groups for (AN) and (MMA) respectively, besides the molar absorptivities of the *CN* and *CO* groups according to the following equation (5)

$$F_1 / F_2 = (A_{CN} / A_{CO}) (\epsilon_{CO} / \epsilon_{CN}) \dots\dots\dots (4)$$

Where F_1 and F_2 are the molar fractions of (AN) and (MMA) in the copolymer respectively, while ϵ_{CO} and ϵ_{CN} are the molar absorptivity of *CN* and *CO* groups . The ϵ_{CN} and ϵ_{CO} were found to be 1.7543 and 3.599 L.cm⁻¹.mol⁻¹ respectively. From the monomer feed ratio and the resultant copolymer composition, the reactivity ratios of (AN) and (MMA) were evaluated by Fineman – Ross and Kelen – TüdÖs equations that are:-

$$f(F - 1) / F = r_1 \frac{f^2}{F} - r_2 \dots\dots\dots (5)$$

Fineman - Ross

$$n = (r_1 + r_2 / \alpha) \zeta - \frac{r_2}{\alpha} \dots\dots\dots (6)$$

Kelen – TüdÖs

where :

$$n = \frac{f(F-1)/F}{f^2/F + \alpha} \quad \zeta = \frac{f^2/F}{f^2/F + \alpha} \quad \alpha = \sqrt{(f^2/F)_{\max} (f^2/F)_{\min}}$$

$$\text{and } f = \frac{f_1}{f_2} \quad F = \frac{F_1}{F_2}$$

from equation 5 a plot of $f(F-1)/F$ against f^2/F gives straight line, the slope = r_1 , while the intercept = r_2 . From equation 6 a plot of η against ζ gives straight line of

slope = $r_1 + r/\alpha$ while the intercept = $-r_2/\alpha$

the results are presented in table 1 :-

Table -1 :IR analysis data for determining the composition of poly (AN – CO-MMA) prepared from various initial monomer mixture

Copoly-mer	Mole Fraction of Monomers in Feed		IR Absorbance		Mole Fraction of Monomers in Copolymer	
	f_1 for AN	f_2 for MMA	AN	MMA	F_1 for AN	F_2 for MMA
			CN	CO		
B ₁	0.8498	0.1501	0.602	0.81	0.5837	0.4162
B ₂	0.7587	0.2412	0.292	0.54	0.505	0.4949
B ₃	0.65359	0.3464	0.114	0.25	0.4624	0.5375
B ₄	0.5309	0.469	0.39	1.29	0.3632	0.6367
B ₅	0.3861	0.61389	0.15	0.7	0.2879	0.71209
B ₆	0.2123	0.7876	0.088	0.79	0.1736	0.8263

The table 2 shows the parameters calculated from the application of Fineman- Ross and Kelen - TüdÖs equations to poly (AN – co – MMA). Linear plots of these parameters appear in Figures 2 -5 .

Table -2: Fineman – Ross and Kelen – TüdÖs equations parameters of poly (AN- co- MMA) in THF at 75°C where $\alpha_{1st}=2.8113$ $\alpha_{nd}=2.5844$

Copoly - mer	$f=f_1/f_2$	$F=F_1/F_2$		F-R Equation parameters				K-T Equation parameters			
				f^2/F		$f(F-1)/F$		η		ξ	
		1 st	2 nd	1 st	2 nd	1 st	2 nd	1 st	2 nd	1 st	2 nd
B ₁	5.6615	1.4024	1.525	22.8555	21.018	1.62449	1.949	0.06329	0.0825	0.8904	0.8905
B ₂	3.1455	1.0204	1.10959	9.6963	8.9169	0.0628	0.3106	0.005	0.027	0.7752	0.77529
B ₃	1.8868	0.8602	0.9357	4.1385	3.8046	-0.3066	-0.1296	-0.0441	-0.0202	0.5954	0.59549
B ₄	1.1319	0.5704	0.6203	2.2461	2.0654	-0.85249	-0.6928	-0.1685	-0.1489	0.4441	0.44419
B ₅	0.6289	0.4043	0.4397	0.9782	0.8995	-0.9266	-0.80139	-0.2445	-0.23	0.2581	0.2581
B ₆	0.2695	0.21	0.2285	0.3458	0.3178	-1.0138	-0.9099	-0.3211	-0.3135	0.1095	0.1095

The following figures show the Plots of Fineman – Ross and Kelen – TüdÖs equations

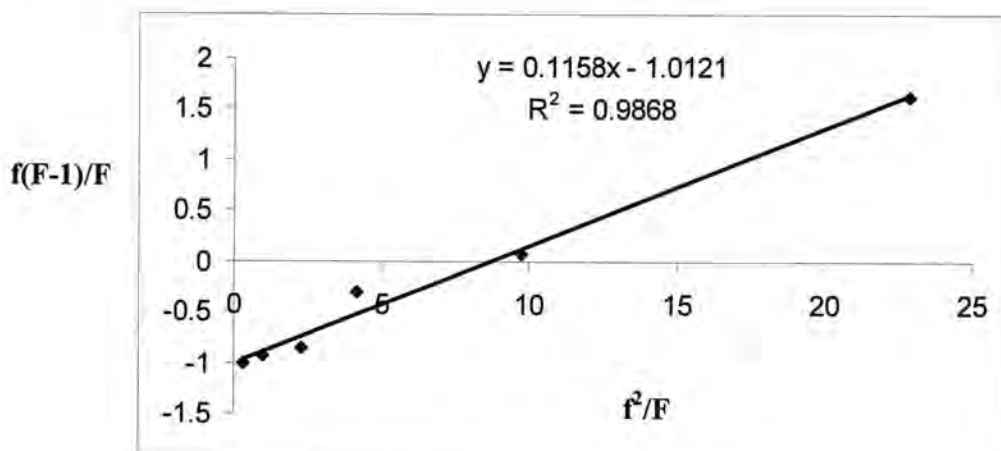


Fig -2: A plot of (F-R)(1st method) for the copolymer

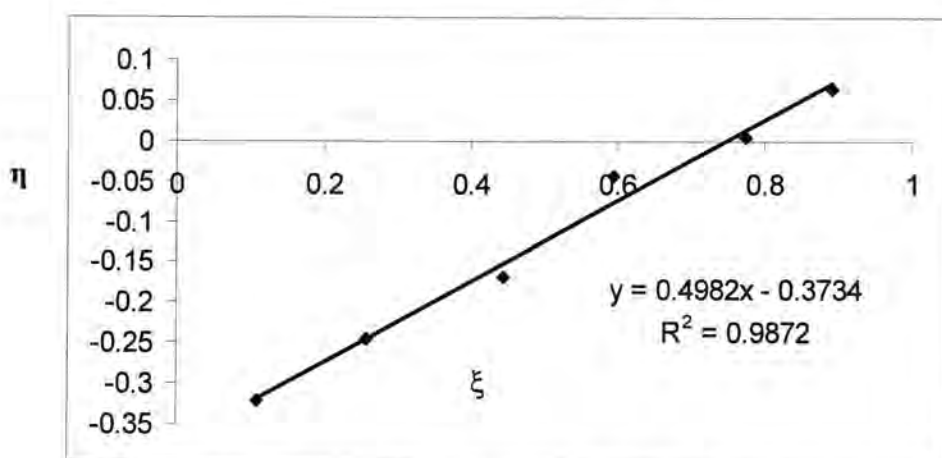


Fig -3: A plot of (K-T)(1st method) for the copolymer

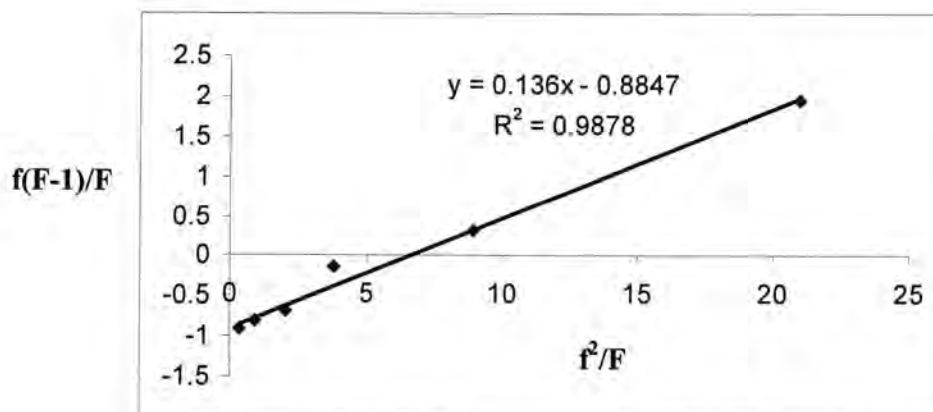


Fig -4: A plot of (F-R)(2nd method) for the copolymer

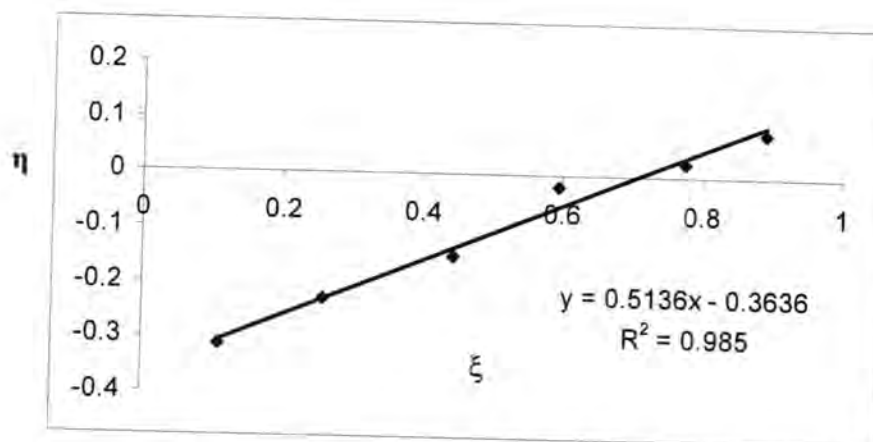


Fig -5: A plot of (K-T)(2nd method) for the copolymer

The following table shows the values of r_1 and r_2 where r_1 and r_2 are the reactivity ratios for AN, MMA respectively :-

Table -3 : reactivity ratio r_1 and r_2 for poly (AN-co-MMA)

(F-R) equation				(K-T) equation			
1 st		2 nd		1 st		2 nd	
r_1	r_2	r_1	r_2	r_1	r_2	r_1	r_2
0.1158	1.0121	0.136	0.8847	0.1248	1.0497	0.15	0.9396

From the values of r_1 and r_2 it seems that MMA is more reactive than AN, where, the macroradical prefers to add (MMA) more than (AN).

Copolymerization behavior

We can predict the copolymer type (alternate, random or block) from the product ($r_1 r_2$). The values of this product are summarized in table (4) :-

Table -4: the values of (r_1r_2) for poly(AN-co-MMA)

r_1r_2			
(F-R) equation		(K-T) equation	
1 st	2 nd	1 st	2 nd
0.1172	0.1203	0.131	0.1409

According to these values, the nature of the copolymer sequence of poly(AN-co-MMA) system is tending to alternate since the product r_1r_2 is closer to zero .

The plot of copolymer composition (F_1)vs.initial monomer composition (f_1) (fig6), shows that the system is closer to alternating behavior than random behavior .

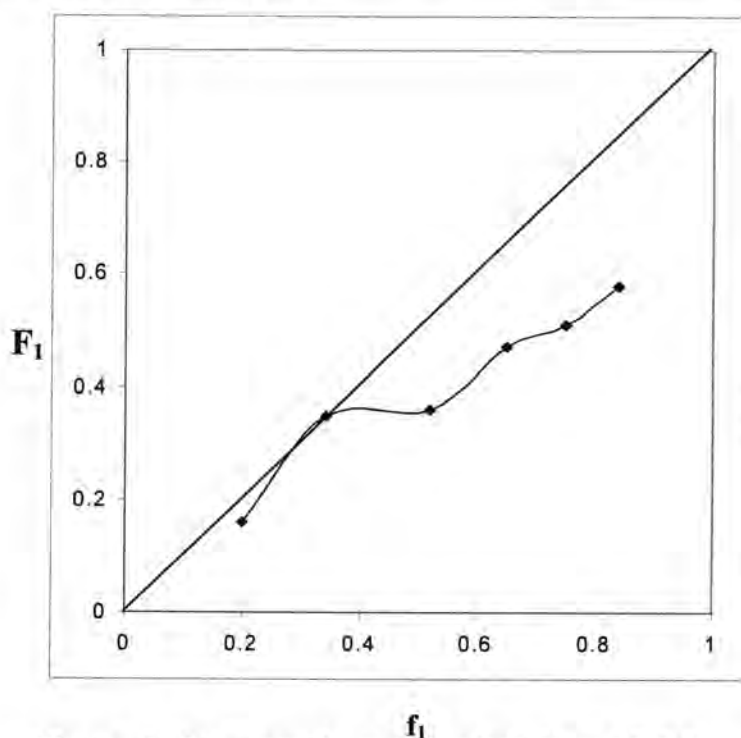


Figure -6: the composition and poly (AN-co-MMA)

From the values of r_{AN} and r_{MMA} one can deduce that (MMA) is more reactive than (AN) to go into the copolymer, this behavior can be explained on the basis of π -electron availability and the radical stability. In the case of (AN) the electron-withdrawing nitril group reduces the electron density around the double bond, thus making it less available for attack by free radical. For the monomer (MMA), though the inductive

effect(-I) of the carbonyl is operative so reducing the reactivity, the hyperconjugation of the methyl group (6) and the presence of a pair of electrons on the methoxy oxygen atom may have compensated for the polarization of the carbonyl group, hence rendering the double bond more available for the free radical attack.(5,7)

The Q and e for (AN) and (MMA) were determined by the Alfrey-Price. The values of $e_{AN} = 1.23(8)$, $Q_{AN} = 0.48(8)$ and $e_{MMA} = 0.4(8)$, $Q_{MMA} = 0.78(8)$ from those values, r_1 and r_2 were calculated which is equal to $r_1 = 0.22$, $r_2 = 1.16$ both values are very close to the values found by the present measurement.

We can conclude that the two methods for reactivity ratio measurement used in present work are quite good methods for prediction of copolymer composition and reactivity ratios which can be applied to other systems.

REFERENCES

1. Blasubramanian S. and Raddy B.S.R. "Synthesis and Characterization of 4-Acetamidophenyl Acrylate- Methyl Acrylate Copolymers: Determination of Reactivity Ratios Ratios by 1H - NMR Spectroscopy and Thermal Studies". J. of Polym. Mate. 12, 55-62 (1995).
2. Herman F. Mark, Norman G. Gaylord "Encyclopedia of polymer Science and Technology", vol. 4, John Wiley and Sons Inc., New York, (1960).
3. Wolf Kavo, Staulyr R. Saudier, "Organic Chemistry", vol.1, New York, (1974).
4. Nursel Pekel, Nureltin Sohiner, Olgan Güven, Zakir M. O. Rzaev "Synthesis and characterization of N- Vinylimidazole- ethyl methacrylate Copolymers and determination of monomer reactivity ratios". , Eur. Polym. J., vol. 37, p. 2443, (2001),
5. Gan L. H., Roshan Deen G., Gan Y. Y., "copolymers of N- Acryloyl- N- Methyl Piperzine and Methyl Methacrylate: Synthesis and Determination of Monomer Reactivity Ratios". Eur. Polym. J., vol. 34, No. 1, p. 33, (1998).
6. Robert Thornton Morrison, Robert Neilson Boyd, "Organic chemistry", 5th Ed., P.397- 398, 1987, Allyn and Bacon inc., USA.

Synthesis and Characterization of Acrylonitrile-Methylmethacrylate Copolymers: Determination of their Reactivity Ratios

Tariq, Abdul Hussien and Nadia

7. Andrew Streitwieser, Jr. Clayton H. Heathcock, "Introduction to organic chemistry" P.560, 1976, Macmillan Publishing Co, USA.
8. Brandrup J., Immergut E. H., Grulke E. A. "Polymer Hand Book Willey-Interscience, New York (1999).

Evaluation of Tissue Sialic Acid and Protein Content in Lymphoma Patients

Elham A. Mehdi and Sabih M. J. Jafar

Chemistry Dept. \College of Education for Women \Kufa University

Chemistry Dept. \College of Science \ Baghdad University

Received 2/6/2007 – Accepted 23/1/2007

الخلاصة

تم قياس حامض السيلاليك واجزائه بالإضافة إلى البروتين الكلي في الأنسجة الخبيثة لخمس عشرة مريضا بورم الغدد اللمفاوية وفي الأنسجة الحميدة لعشرين مريضا بالاورام الحميدة. وجد ان البروتين الكلي في الأنسجة الخبيثة يزداد 46,5% عن ذلك في الأنسجة الحميدة. كما وجد ان قيم حامض السيلاليك الكلي واجزائه (الحر والمرتبطة بالإضافة إلى حامض السيلاليك المصاحب للدهون) كانت مرتفعة بصورة واضحة في الأنسجة الخبيثة مقارنة بالأنسجة الحميدة. يستنتج بان مستويات حامض السيلاليك واجزائه في اورام الغدد اللمفاوية الخبيثة هو اعلى من تلك في الاورام الحميدة. ويتطلب المزيد من الدراسات لمعرفة كيفية ارتباط حامض السيلاليك بالبروتين.

ABSTRACT

Sialic acid and its fractions as well as the total protein were measured in malignant tissues belonged to 15 patients with lymphoma and in benign tissues of 20 patients with benign tumors. Total tissue protein in malignant tissues is increased by 46.5% of the benign tissue. Total Sialic acid and its fractions free and bound form as well as the lipid associated sialic acid were significantly ($p < 0.001$) higher in malignant tissues compared with benign tissues. We conclude that the levels of sialic acid and its fractions in malignant lymphoma are higher than those in benign tumor and further study is required to explore the binding of sialic acid to the specific domain site of protein.

INTRODUCTION

Tumour markers, are naturally occurring or modified molecules that can be measured in serum, plasma, or other body fluids and their concentration becomes changed in the presence of cancer (1).

N-acetylneuraminic acid (referred to as sialic acid, SA) is a negatively charged nine carbon monosaccharide commonly attached by an glycosidic linkage to the non-reducing residues of the carbohydrate chains of glycoproteins and glycolipids (2). Sialic acid participates in the stabilization of the conformation of glycoproteins and cellular membranes (3,4).

An elevation in the serum total sialic acid (TSA) concentration has been observed in a number of cancer types (5). In some studies, the total

sialic acid content has been observed to increase in highly metastatic cells compared with nonmetastatic cells (6,7).

Increased sialylation helps malignant cells to disguise their immunogenic sites, to increase the negative charge of the outer cell membrane so that the binding and killing by lymphocytes and macrophages can be impaired, and to hide the receptor sites for IgM antibodies, which kill cells by a complement-mediated reaction (4).

An elevation in serum TSA has been reported in the chronic lymphocytic leukemia (8) and lymphomas (5,9). Elevated TSA/total protein values have been reported in the majority (63% - 90%) of acute myeloblastic leukemia, chronic myelocytic leukemia and acute lymphoblastic leukemia patients (10). An elevation of serum Lipid associated sialic acid (LASA) has been found in various malignancies including leukemias and lymphomas (10, 11).

The mechanism of the elevation of total sialic acid in serum in malignancy is very complex and can lead to variable total SA results in different types of cancers and patient populations.

In the present investigation the clinical usefulness of total , bound, free and lipid –associated sialic acid in lymphatic tissues as a biomarkers, in patients with malignant versus benign lymphomas, was evaluated.

MATERIALS AND METHODS

This study consisted of patients treated for malignant and benign lymphoma. The benign (n=20) and malignant (n=15) lymphoma patients underwent lymph node biopsy and the diagnosis was validated histologically from the lymph node specimen. This study was approved by local ethical committee and an informed consent was obtained from each subject.

The patients underwent an operative biopsy under general anesthesia and lymph nodes tissue were obtained. Tissue specimens were weighed, then washed with saline and stored immediately at -15°C. Prior to each experiment, the frozen tissues were homogenized at 4°C in phosphate buffer saline (1: 3 w/v, pH 7.4). The homogenates were filtered through a nylon mesh and centrifuged at 3000g for 10 minutes, The supernatant was used for determination of total protein and sialic acid.

Determination of total protein

Protein in the supernatant homogenates was determined by Bradford method (12). In brief, 50 μ l of supernatant was mixed with 2.5 ml dye (Coomassie Blue G250) reagent solution. The mixture left at room temperature for 3 minutes and the absorbance (O.D) was measured at 595 nm against blank (prepared from 50 μ l phosphate buffer saline (pH 7.4) with 2.5 ml dye reagent solution. The concentration of protein was calculated from standard curve of albumin and then the total protein (mg) was determined per tissue weight (g).

Determination of total sialic acid(TSA)

The assay was done according to the resorcinol method cited in Lindberg 1997(13) with modification. In brief, the supernatant of homogenates was added to 0.04M periodic acid solution and allowed to stand in an ice bath for 20 minutes. Then resorcinol reagent was added and the mixture is heated at 100°C for one minute, and tert-butyl alcohol (95%) was finally added. The absorbance (O.D.) was measured at 630nm by Apy-Unicam sp-100 ultraviolet spectrophotometer. The concentration of sialic acid (μ g) was calculated from standard curve of sialic acid.

Determination of bound sialic acid(BSA)

The same procedure was used as above except the oxidation step is carried on at 37°C not at 0°C.

Determination of free sialic acid (FSA)

The difference between the levels of TSA (i.e. the oxidation process at 0°C) and BSA (i.e. the oxidation process at 37°C) represents the level of FSA.

Determination of lipid associated sialic acid (LASA)

It was determined according to Dnistrian et al 1982. Fifty microliters of supernatant homogenate was diluted with 150 μ l distilled water, then the mixture was extracted with cold chloroform : methanol solution for 30 seconds. After centrifugation, the upper layer which represents sialolipid fraction was precipitated with phosphotungstic acid.

Statistical analysis

The results are presented as mean \pm SD and percent (%). The data were analyzed by Students "t" test (two paired, two tailed) taking $p \leq 0.05$ as the lowest limit of significance.

RESULTS AND DISCUSSION

Significant ($p < 0.001$) increment in protein in malignant tissues as compared with benign is observed in this study (Table 1, Fig. 1). It amounted about 46.5% more. Although the protein as a biomarker is not sensitive one, but the clinical importance is relied to the subtypes of protein which are not identified in this study. (14) reported the significant high level of protein in malignant lymphoma and they also explored the proteins that expressed by Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma.

The levels of TSA, BSA and FSA were significantly ($p < 0.001$) higher in malignant tissue as compared with benign (Table 1, Fig.2).

In human total serum sialic acid is increased by 16% in patients with lymphoma compared with healthy subjects (15). In this work the tissue TSA is increased more than that figure reported in serum, also the TSA level is compared with patients with benign disease rather than healthy individuals.

In experimental model utilizing Dalton's lymphoma cells, the The sialic acid level of tumor cells increased with tumor progression (16). Therefore the results reported in this work highlights an important observation that our patients were with progressed malignant lymphoma.

Despite of this significant increment, the ratio of BSA/TSA in malignant tissue (0.35) and benign tissue (0.360) are approximately equal. This indicates that the binding of sialic acid to the cell surface is not related to transition of benign disease to malignant i.e. it is unlikely to serve it as a diagnostic bio marker in this concern. This assumption is in agreement with others who suggested to use the changes in TSA as a marker for response to drug therapy in management of malignancies (17) and did not differentiate between malignant and non malignant conditions (18).

The ratio of TSA/total protein in malignant tissue (0.208) is significantly ($p < 0.001$) higher than that of benign tissue (0.114]. This finding is in agreement with Patel study (10) who found significant high serum TSA: total protein ratio in human leukemias.

Lipid association sialic acid in malignant tissue is more than three folds increment than that of benign tissue (Table 1, Fig.3). As early as 1982, Katopodis (19) reported the sensitivity of LASA in the detection of cancer ranged from 77 to 97%. And the specificity was, respectively, 81 and 93% for the benign and normal groups. There is an evidence that LASA level is correlated well with the size of tumor (20) and this explains why the LASA in malignant tissues with high protein content is significantly higher than that of benign tumor.

We conclude that the levels of sialic acid and its fractions in malignant lymphoma are higher than those in benign tumor and further study is required to explore the binding of sialic acid to the specific domain site of protein.

Table -1: Tissue sialic acid contents in benign and malignant lymphoma tumors.

Subject	Mean \pm SD	Range	P value
Tissue proteins(mg/g tissue)			
Benign tissues	7.053 \pm 0.905	6.000 - 8.550	<0.0005
Malignant tissues	10.330 \pm 1.000	8.640 - 11.900	
TSA (μg/mg proteins)			
Benign tissues	.80 5 \pm 0.240	0.270 - 1.180	<0.0005
Malignant tissues	2.150 \pm 0.750	0.810 - 3.980	
BSA (μg/mg proteins)			
Benign tissues	0.285 \pm 0.173	0.178 - 0.825	<0.0005
Malignant tissues	0.780 \pm 0.610	0.250 - 1.940	
FSA (μg/mg proteins)			
Benign tissues	0.550 \pm 0.250	0.300 - 0.970	<0.0005
Malignant tissues	1.420 \pm 0.740	0.430 - 2.520	

**Range :the highest value to lowest value of sialic acid

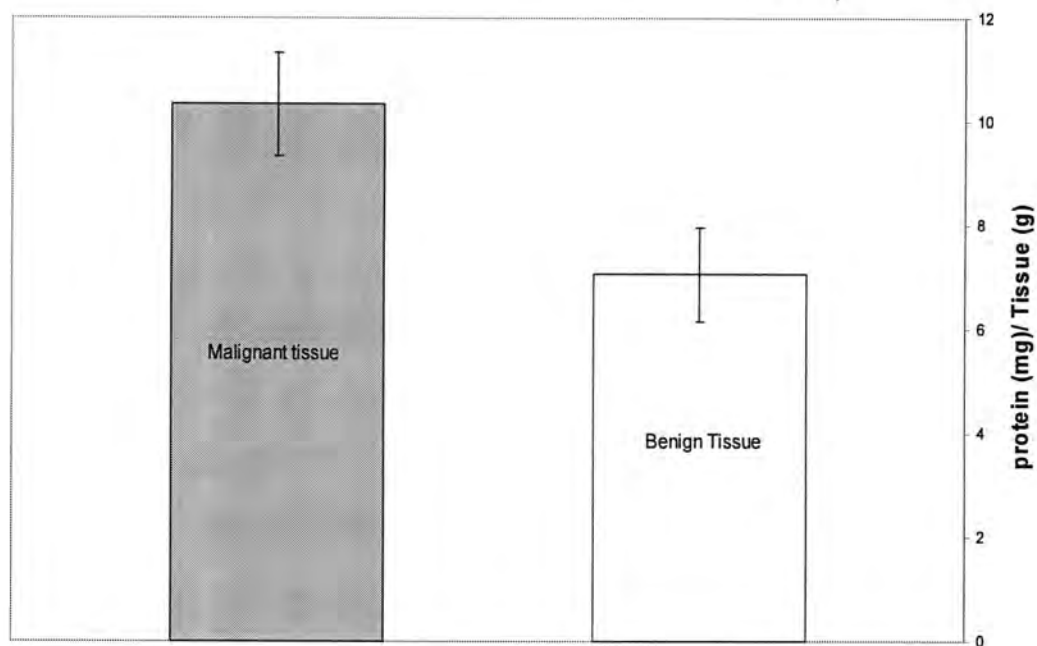


Fig- 1: Total protein content in benign and malignant tissues

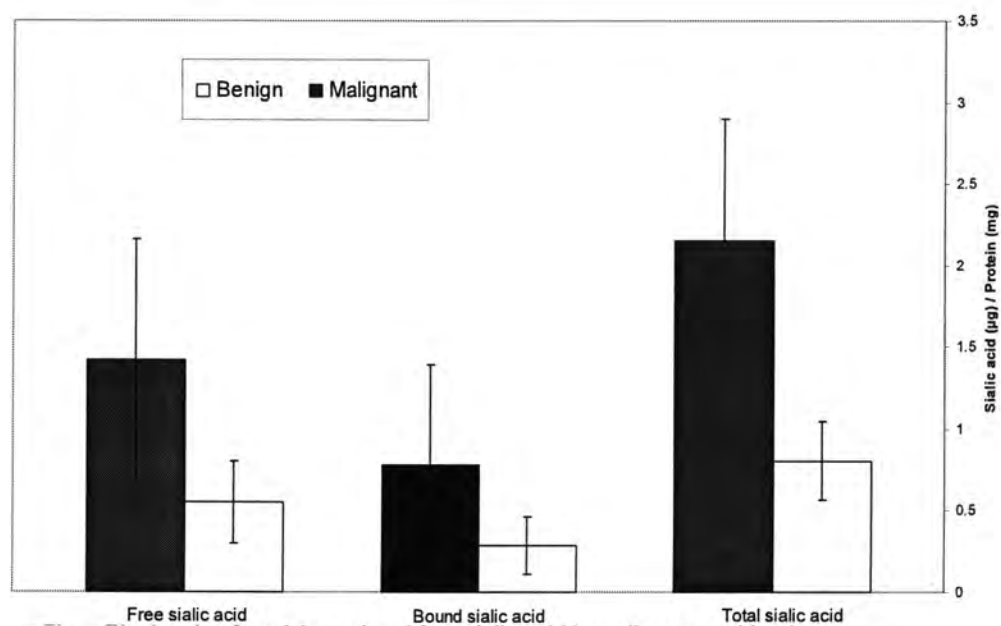


Fig- 2: The level of total, bound and free sialic acid in malignant and benign lymphoma

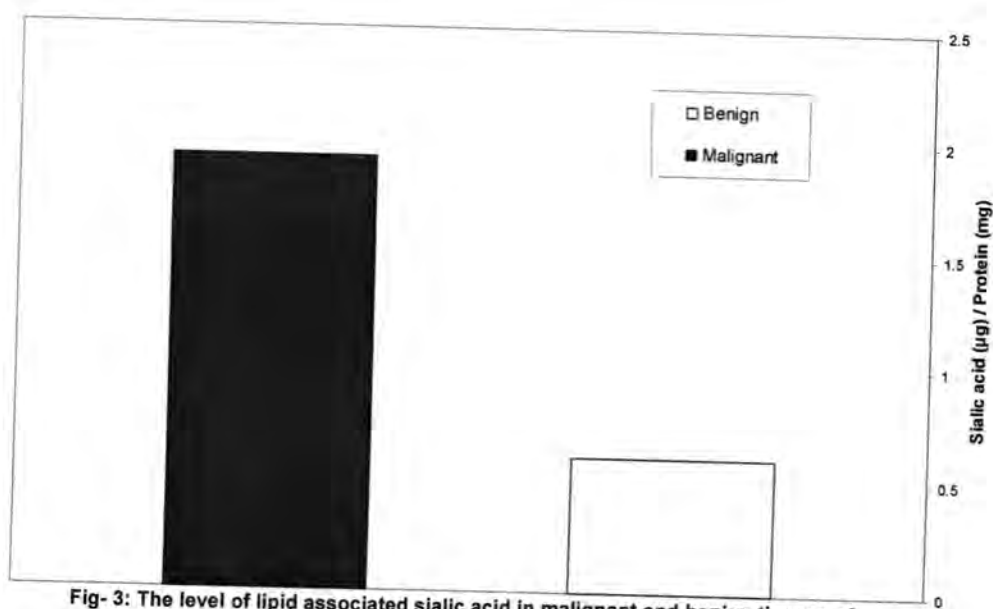


Fig- 3: The level of lipid associated sialic acid in malignant and benign tissues of

REFERENCES

1. Chan DW, Schwartz MK. Tumor markers: Introduction and general principles. In: Diamandis EP, Fritsche HA, Lilja H, Chan DW, Schwartz MK, editors. Tumor markers: physiology, pathobiology, technology, and clinical applications. p. 9-17, AACC Press; Washington, DC, (2002)
2. Schauer R. Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acids. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 40: 131-234, (1982)
3. Crook MA, Couchman S, Tutt P. Plasma fibrinogen and its relationship to plasma sialic acid in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Blood Coagul Fibrinolysis* 7: 586-589(1996).
4. Schauer R. Achievements and challenges of sialic acid research. *Glycoconj J* 17: 485-499(2000).
5. Shamberger RJ. Serum sialic acid in normals and in cancer patients. *J Clin Chem Clin Biochem* 22: 647-651(1984).
6. Skipski VP, Carter SP, Terebus-Kekish OI, Podlaski FJ Jr, Peterson RHF, Stock CC. Ganglioside profiles of metastases and of metastasizing and nonmetastasizing rat primary mammary carcinomas. *J Natl Cancer Inst*; 67: 1251-1258 (1981).

7. Yogeeswaran G, Salk PL. Metastatic potential is positively correlated with cell surface sialylation of cultured murine tumor cell lines. *Science*; 212: 1514-1516(1981).
8. O'Kennedy R, Berns G, Moran E, Smyth H, Carroll K, Thornes RD, O'Brien A, Fennelly J, Butler M. A critical analysis of the use of sialic acid determination in the diagnosis of malignancy. *Cancer Lett*; 58: 91-100 (1991).
9. Voightmann R, Pokorny J, Meinshausen A. Evaluation and limitations of the lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer*; 64: 2279-2283 (1989).
10. Patel PS, Adhvaryu SG, Balar DB, Parikh BJ, Shah PM. Clinical application of serum levels of sialic acid, fucose and seromucoid fraction as tumour markers in human leukemias. *Anticancer Res*; 14: 747-752 (1994).
11. Schutter EMJ, Visser JJ, van Kamp GJ, Mensdorff-Pouilly S, van Dijk W, Hilgers J, Kenemans P. The utility of lipid-associated sialic acid (LASA or LSA) as a serum marker for malignancy. A review of the literature. *Tumour Biol*; 13: 121-132 (1992).
12. Bradford M. A rapid and sensitive method for quantization of micrograms quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye-binding. *Anal Biochem*; 72: 248-254 (1976).
13. Lindberg G, Iso H, Råstam L, Lundblad A, Folsom AR. Serum sialic acid and its correlates in community samples from Akita, Japan and Minneapolis, USA. *Int J Epidemiol*; 26: 58-63 (1997).
14. Wallentine JC, Kim KK, Seiler CE 3rd, Vaughn CP, Crockett DK, Tripp SR, Elenitoba-Johnson KS, Lim MS. Comprehensive identification of proteins in Hodgkin lymphoma-derived Reed-Sternberg cells by LC-MS/MS. *Lab Invest.*; 87:1113-1124(2007).
15. Kanduma EG, Mukuria JC, Mwanda OW. Serum total sialic acid and Hanganutziu-Deicher antibody in normals and in cancer patients. *East Afr Med J.*; 84:207-14(2007).

16. Nicol BM, Prasad SB. Sialic acid changes in Dalton's lymphoma-bearing mice after cyclophosphamide and cisplatin treatment. *Braz J Med Biol Res.*; 35:549-53(2002).
17. Celen O, Yildirim E, Ozen N, Sonmez C. Predictive value of relative changes in serum total sialic acid level for response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast carcinoma. *Neoplasma.*; 53(4):347-51(2006).
18. Cylwik B, Chrostek L, Zalewski B, Dabrowski A, Szmitkowski M. Serum total sialic acid in differential diagnostics of jaundice caused by malignant and nonmalignant diseases: a ROC curve analysis. *Dig Dis Sci.*; Sep 52(9):2317-22 (2007).
19. Katopodis N, Hirshaut Y, Geller NL, Stock CC. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res.*; Dec 42(12):5270-5 (1982).
20. Inal E, Laçin M, Asal K, Ceylan A, Köybaşıoğlu A, Ileri F, Uslu SS. The significance of ferritin, lipid-associated sialic acid, CEA, squamous cell carcinoma (SCC) antigen, and CYFRA 21-1 levels in SCC of the head and neck. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg.*; 12(1-2):23-30, (2004).

Synthesis , Characterization of Some Metal Complexes with 1,1' bis-(orthoaminophenylthio)-methane

Shaymaa H. Naji, Hoda A. F. Al bayti , and Faleh H. Musa*

Chemistry Dept., College of Education-Ibn-Al-Haitham-University of Baghdad-Iraq

Received 13/3/2007 – Accepted 22/10/2007

الخلاصة

تم تحضير 1, 1' - ثنائي - (اورثوامينوفينيل ثايو) - ميثان من تفاعل اورثوامينوفينيل ثايول مع ثنائي كلوروميثان , الليكاند المحضر الجديد وقد شخص بواسطة تقنية الأشعة تحت الحمراء , الأشعة فوق البنفسجية والمرئية , طيف الكتلة وبروتون - الطيف النووي المغناطيسي . وقد حضرت معقدات أملاح بعض أيونات العناصر Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} مع الليكاند (L) وقد شخصت باستخدام تقنية طيف الأشعة تحت الحمراء , الأشعة فوق البنفسجية , التوصيلية الكهربائية , الأمصاصية الذرية , ثابت تكوين المعقدات والخواص المغناطيسية - لقد تم الاستنتاج من التحاليل ان المعقدات لها صيغة تركيبية $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}_2\text{MX}$ وذات شكل سداسي التناسق .

ABSTRACT

The synthesis of 1,1' bis - (orthoaminophenylthio) - methane from reaction orthoaminophenyl- thiol with methylene dichloride. The new ligand characterized by IR, NMR and mass spectrum. The complexes with some metal ions ($\text{M}^{II} = \text{Co}$, Ni , Cd , Zn , Hg , Pb) have been prepared and characterized too. The structural diagnosis were established by i.r , Uv - Visible spectrum , conductivities , atomic absorption , formation constant (Kf) and magnetic susceptibility . It was concluded from the analysis that the complexes gave the formula $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}_2\text{MX}$ and these are mainly six coordinated types.

INTRODUCTION

Our current interest in heterocyclic oxadiazol , triazol derivatives and their complexes have been reported (1-7). Orthoaminophenyl thiobenzyl and complexes have been reported (8). The present work investigates the reaction of ligand 1,1' bis - (orthoaminophenyl thio) methane with some various metal ions . the ligand was considered one of derivatives compound of ortho aminophenyl thiol .

EXPERIMENTAL

a- Chemicals ; All reagents used were Analar or chemically pure grade .by companies British Drug Houses (BDH) , Merk and Fluka .

b- Instruments;

– Melting points were determined by Gallen-Kamp apparatus .

– Atomic absorption for ($\text{M}^{II} = \text{Co}$, Ni , Cu and Zn) were carried out using PYE-UNKAM

Atomic absorption Spectrophotometer .

-IR spectra were recorded as discs in the range ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) using Shimadzu-FT IR 8000 series .

-UV – visible spectra were recorded by SHIMADZU-UV-VIS-160 A Ultra Violent spectrophotometer at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, using, 1Cm quartz cell and examined at the range of 200-1100 nm.at 10M^{-3} .

- Molar conductivity of the complexes were measured on pw 9526 digital conductivity at the range 10 M^{-3} in DMSO .

- NMR spectra for the new ligand were recorded on a DPX - 400 Bruker Spectrophotometer for solution in d – DMSO .

The mass spectrum was recorded using Micro mass ZQ . " Waters " in methanol solution

- Magnetic susceptibility were recorded by Balance magnetic susceptibility,model , MsB – Mk1

PREPARATION

Synthesis of 1,1' – bis –(orthoaminophenyl thio) methane (L)

A mixture of orthoaminophenyl thiol (0.25 gm) in ethanol (20 cm^3) and potassium hydroxide (0.11 gm) in ethanol (5 cm^3) was stirred for 30 min . A solution of methylene dichloride (0.1 gm) in ethanol (10 cm^3) was added dropwise with stirring . The mixture was further stirred for 2 hr ., poured to the ice-water forming brownish product . The solid filtered , crystallized from ethanol – water (6:1) forming yellow needle crystales melt at $92\text{ }^{\circ}\text{C}$ with yield 80% soluble in most organic solvent .

COMPLEXES

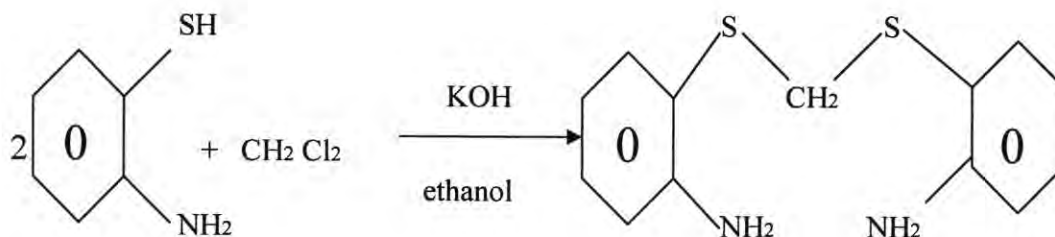
Synthesis of the metal complexes

An ethanolic solution of metal salts one mole was added to one mole of the ligand .The mixture was stirred 30 min . the product was filtred and washed with distilled water and dried .The physical data of the ligand and complexes are given in Table 1 .

RESULTS AND DISCUSSION

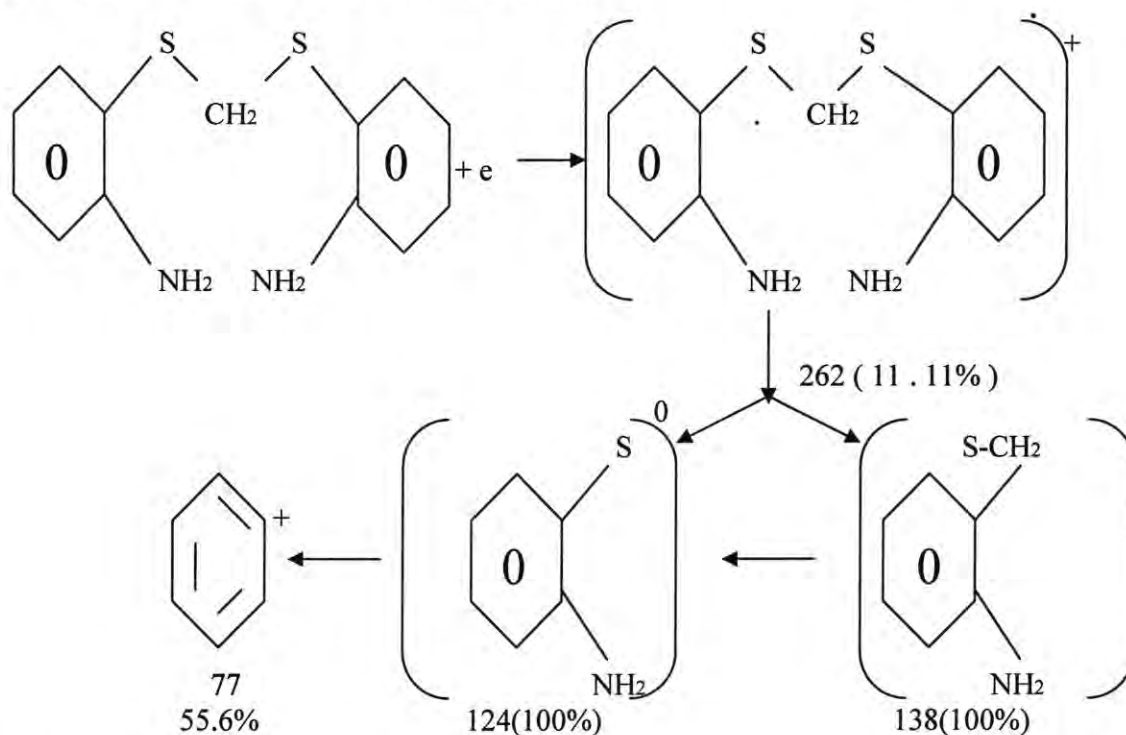
Synthesis and characterization of the ligand 1,1' – bis –(orthoaminophenyl thio) methane.(L)

The ligand was considered one of derivatives compound of orthoaminophenyl thiol. It was obtained by the reaction of two mole of orthoaminophenyl thiol and slightly excess one mole of methylene dichloride ;



The ^1H -nmr spectrum of the new ligand in DMSO (d₆) at ambient temperature exhibit two bands at 7.3 – 7.4 ppm and 2.1 ppm due to the phenyl and methylene protons respectively. Band at 7.9 ppm may be due to aniline (7 – 9).

The mass spectrum of the ligand shows a molecular ion peak at $m/$ 262 as well as other informative fragments ions. The major fragments ions of the ligand are summarized in the follow (8, 9).



The infrared of the ligand and complexes

The infrared spectrum of the new ligand in the solid state does not contain the $\nu(\text{S} - \text{H})$ and which is present in starting material orthoaminophenyl thiol at 2500-2600 cm^{-1} region. This indicate the displacement of SH hydrogen orthoaminophenyl thiol by means of $-\text{CH}_2-$. Furthermore new bands at 2931 and 2869 cm^{-1} due to ν_{asym} and

ν_{sym} C – H aliphatic are present .Bands in the region 3375,3294 and 1604 cm^{-1} are diagnostic of the primary amine (2,6,7) .The band at 1300,1242,1145,856 cm^{-1} and 676 cm^{-1} are attributed to contribution from($\nu_{\text{C-S}}+\nu_{\text{C-N}}$) (2-4, 7, 9).

The IR spectra of all complexes, the multibands 3350-3300 cm^{-1} and 1605,1590 cm^{-1} suggesting the coordination through amino-nitrogen atom . The bands 1300 ,1242 ,856 cm^{-1} and 676 cm^{-1} in the free ligand reappears in all complexes as doublets indicating contribution sulphur and nitrogen in the coordination to the metal which is further confirmed by appearance of bands in the region 520 and 447 cm^{-1} which are due to M– N and M – S respectively (7, 10-13) .

The lead complex showed new band at 720 cm^{-1} due to coordinate nitrate ion (17) , copper (13) and complexes showed new bands 1118 due to bidentate sulphato coordinate (14) (Table 2) .

The UV – visible spectra of the ligand and complexes

The UV – visible spectrum of the ligand in dimethyl sulfoxide (DMSO) solution exhibited strong absorption bands at 253 nm (39494 cm^{-1}) and 336 nm (29709 cm^{-1}) respectively . This may be attributed to the $\pi - \pi^*$ and $n - \pi^*$ transition .

The UV – visible spectra of the complexes in DMSO solution are typically octahedral environment. The UV – complexes ($M^{II} = \text{Co}, \text{Ni}, \text{Cu}$) spectra showed broad asymmetric bands are located in the region 18868-24509 cm^{-1} . These can be assigned to d-d transition(6,7,10-12).

The UV – visible spectra for Cd,Zn,Hg , and pb complexes are located in the region 17636- 23809 cm^{-1} . These can be assigned to charge transfer (7,15,16).

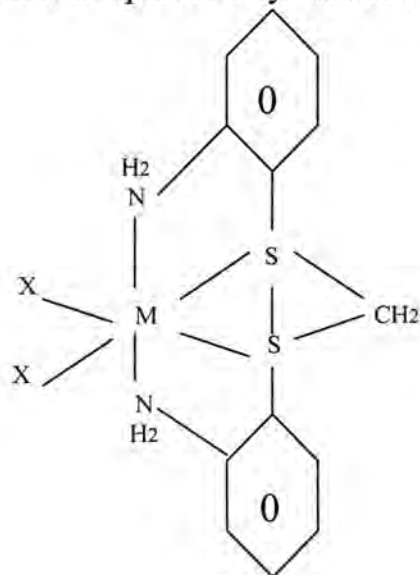
General appearance of these bands and their assigned were illustrated in Table (2) .

The molar conductance of all complexes in DMSO were found to be low which suggested coordination of anion to the metal (17). (Table 2)

The atomic absorption analysis were used to determine a ratio of(M:L) for the complexes ($M^{II} = \text{Co}, \text{Ni}, \text{Cu}, \text{Zn}$) . Table (3); using curve fitting least square equation , the weight of metal in the complexes were determined from a mentioned equation to give 14.88 , 15.19, 15.75 , 10.57 ppm consequently from 30 ppm of the complexes (i.e. for the cobalt-complex, the weight of ligand 30 – 14.88= 15.12 ppm) ,then the ratio $L/M = 15.2/14.88 = 1:1$.As this manual the ratio of L/M ($M = \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$) complexes were found 1:1 too Table (3).The μ_{eff} value of $\text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}$ complexes (Table 2) are within the range (4.35 , 2.83 , 2.1)respectively expected for spin-free octahedral structures(18,19).

Kf for the complexes obtained from the experimental curves. The results recorded in (table 2) show the order of stability as $Pb^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > Hg^{2+} > Ni^{2+} > Cu^{2+}$.

The structure of these complexes may thus be represented as follow ;



II
M = Co , Ni , Hg , Zn , Cd , X=Cl

= pb , X= $\overline{NO_3}$

= Cu , X₂= $\overline{SO_4}$

Acknowledgments: The authors do grateful to Dr. Abd-Rasak-AL-Suedany-Cardiff University UK. for his continuous attention and recording the 1H NMR and mass spectrum for the new ligand. Our great thanks also to Dr. Hikmet Ali Mohamed for running Atomic absorption for the complexes and his available discussion.

Table -2: physical properties and spectra data for the ligand and their complexes

IO	Compound	colour	m.p or (DC)	% Yield	U.V-visible (nm) in DMSO cm ⁻¹	Transition	Molar Conductivity Ohm ⁻¹ .cm ² .mole DMSO (10 M)	U _{eff} B.M	Formation constant K _f mol ⁻¹ . l ⁻¹ K=1-α /α c in ETOH	Solubility
1-	Cl ₃ H ₁₄ N ₂ S ₂ (L)	Yellow	92 C	80	39494 (253) 29709 (336)	* π - π * n - π	—	—		ETOH,CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂ DMF, DMSO
2-	L - Co Cl ₂	dark green	(160) D	63	20284 (493)	T _{1g} (p) T _{1g} (F)	6.63	4.35	6.25x10 ⁸	CH ₂ Cl ₂ ,DMF, DMSO
3-	L - Ni Cl ₂	green	0 102 C	77	24509 (408)	A _{2g} ³ T _{1g} ³	6.23	2.83	4.10x10 ⁹	DMF,DMSO
4-	L - Cu SO ₄	Violent	(130) D	72	18868 (420)	2 E _g 2 T _{2g}	6.55	2.10	3.11x10 ⁹	CHCl ₃ ,CH ₂ Cl ₂ DMF,DMSO
5-	L - Cd Cl ₂	light green	(106) D	82	23809 (420)	charge- Transfer	7.49	—	5.12x10 ⁹	CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂
6-	L - Zn SO ₄	Yellow	158 C	80	21274 (471)	==	11.90	—	6.12x10 ⁹	DMF,DMSO CHCl ₃ ,CH ₂ Cl ₂ DMF,DMSO
7-	L - Hg Cl ₂	dark green	(190) D	75	21929 (456)	==	3.59	—	5.11x10 ⁹	DMF,DMSO
8-	L - pb (NO ₃) ₂	grenish	(164) D	75	17636 (567)	==	10.25	—	6.30x10 ⁹	CHCl ₃ ,CH ₂ Cl ₂ DMF,DMSO

Table-1: The IR spectra data of the ligand and their complexes

NO	Compound	$\nu(\text{N}-\text{H})$ cm ⁻¹	$\nu(\text{C}-\text{H})$ cm ⁻¹ Alipha	$\nu(\text{C}-\text{S}+\text{C}-\text{N})$ cm ⁻¹	$\nu(\text{M}-\text{N})$ cm ⁻¹	$\nu(\text{M}-\text{S})$ cm ⁻¹	$\nu(\text{SO}_4)$ $\nu(\text{NO}_3)$
1-	C13 H14 N2 S2 (L)	3375(asym)m.br 3294(sym)m.br	2931 asym(m.s) 2869 sym(m.s)	1300, 1242, 1145(s.s) 856, 676 (m.s)	—	—	—
2-	L – Co Cl2	3350-3300m. br	2910, 2808(m.s)	1388, 1303 (s.s) 1249, 1157, 1018 (s.s) 817, 670 (m.s)	525 m.s	439 v.s.s	—
3-	L – Ni Cl2	3340-3302m.br	2916, 2810 (m.s)	1300, 1226 (s.s) 1110, 1018 (s.s) 825, 678 (m.s)	520 m.s	416 v.s.s	—
4-	L – Cu SO4	3343-3301 m.br	2900, 2823 (m.s)	1325, 1260 (s.s) 1118, 1188, 1018 (s.s) 810, 671 (m.s)	520 s.s	470 s.s	1118 v.s.s
5-	L – Cd Cl2	3339-3300 m.br	2900, 2831 (m.s)	1357, 1303 (m.s) 1242, 1157 (m.s) 856, 663 (s.s)	547 s.s	455 s.s	—
6-	L – Zn SO4	3349-3300 m.br	2923, 2877 (m.s)	1373, 1303 (m.s) 1242, 1157 (m.s) 850, 663 (s.s)	547 s.s	452 m.s	1118 s.s
7-	L – Hg Cl2	3350-3300 m.br	2970, 2885 (m.s)	1388, 1303 (s.s) 1249, 1150 (s.s) 871, 650 (s.s)	530 m.s	447 m.s	—
8-	L – pb (NO3)2	3340-3303 m.br	2900, 2877 (m.s)	1370, 1303 (m.s) 1242, 1157 (m.s) 856, 663 (m.s)	547 v.s.s	462 m.s	720 s.s

Table-3: the atomic absorption data for the complexes (M= Co, Ni, Cu, Zn)

Standard curve Co (II) ion		Standard curve Ni (II) ion		Standard curve Cu (II) ion		Standard curve Zn (II) ion	
Conc. ppm	Abs	Conc. ppm	Abs	Conc. ppm	Abs	Conc. ppm	Abs
10	75	10	50	10	86	10	60
20	164	20	93	20	150	20	122
30	206	30	131	30	247	30	155
40	317	40	163	40	330	40	193
complex	123	complex	72	complex	130	complex	67
a = - 1.5		a = 15		a = 1.0		a =19.414	
b = 7.68		b = 3.77		b = 8.19		b = 4.4947	
r = 0.986		r = 0.9978		r = 0.9994		r = 0.994	
complex=14.88 ppm		complex=15.19 ppm		complex= 15.75 ppm		complex= 15.57 ppm	
calcul = 15.05%		calcul = 15.05%		calcul = 16.12%		calcul = 15.90%	

REFERENCES

1. William, C. C. Lockhart, C.J. Musa, F.H preparation and complexation of polydentate and macrocyclic ligands incorporating benzimidazol. X-ray crystal structure of 6,7,9,10,12,13,16 octahydro 23H,25H bis – benzimidazol [1,2 – j :2,1' – 0] [1,4,7,13,10,16]tetraoxadiazacyclo – octa – decine . J.Chem . Soc . Dalton Trans , 1 , 47 , 53 , (1986) .
2. Musa , F.H.Othman , E.A.W. Synthesis of 5 – phenyl 1,3,4 – oxadiazol – 2 – thio derivatives and their reaction with some transition metal salts. J – IBN- Al-Haitham for pure and appl. scs. 9,1,85,(1998) .
3. Musa , F.H ,Mahmoud , M.J. ,Mustafa I . F. Synthesis and studies of macro ligands with some metal ions J.IB.Al-Haitham for pure and Appl.sc. 15,3,44 ,(2002) .
4. Musa,F.H.preparation and characterization of dioxadiazol and ditrazol complexes with divalentCo , Ni ,Zn and Hg .Iraq J. of Chem. 24,2,239 (1998)
5. AL-Bayti , H.A.F. ,Othman , E.A.W. , Musa , F.H.Synthesis and studies of Bis –[3,4-diphenyl, 1,2,4 triazol – 5yl – thio] methane and its complexes with Cr(III) , Co (II) , Cu(II) , pd(II) and pt (II) Iraq J. of chem. 28 , 3 , 507 , (2002) .
6. Muhdi , W.K. ,Musa ,F.H , Synthesis and studying of disulphide ligands containg oxadiazol , Triazol and thiozol ring with some of their complexing . J. of Nahrain Univ. , 7, 2,86,(2004) .
7. Mohamad , H.A. Synthesis and characterization Macro ligands containing (N,S) atoms. and their complexes pHd thesis Education college – IBN – Al – Haitham – Baghdad Univ. (2006) .
8. Musa , F. H.,Mahdi , W.K.Synthesis and characterization of new orthoaminophenyl thio derivatives and their complexes , J.IBN – Al – Haitham 16 , 1 , 77 , (2003) .
9. Banwell , C. N. Fundamentals of Molecular Spectroscopy second Edition , Mc Graw – Hill company (UK) Limited , 268 (1972) .
10. Singh, R.D. , Singh , B.N. , Mixed – ligand complexes of Cr(III) with 1-substituted tetrazoline – 5 – thione . J.Inorg . Chem. 11 , 39 , 25 ,(1977) .
11. Keeton , M.N ,Lever , A. B. P. ,Four , Five , and Six coordinate metalcomplexes of di (2 – pyridyl) disulphide and 1,2- di (2' – pyridyl) ethane .Inorg . Chem. , 10 , 1 , 49 , (1971) .
12. SAHA , B. G. ,Banerji ,S. K. , Synthesis and characterization of complexes J . Indian Chem. soc. ,LIX , 928 , (1982) .
13. BAHEi , S. C. ,Nath , D. N. SRIVASAVA , J. K. , Synthesis and structural studies of the complexes of Zn(II) , Ni (II) , Cu(II) and Co(II) with 3 – Aryloxmethyl –4 – aryl –5 mercapto – 1,2,4 – triazoles . J. Indian chem. LIX , 1127 , (1982) .
14. Kadooka , M. M. Warner , L.G. , Seff , K.S. Crystal and molecular structure of dichloro bis (2-pyridyl) disulphide Cobalt(II) . Inorg . chem.. 15,4,812, (1976) .
15. Klingele , M. H., Broker , S. N. the coordination chem..of 4 –substituted 3,5 – di(2 – pyridyl) – 4 – H – 1,2,4 – triazoles and related ligands Coordination chem.. Rev. 241, 119 , 63 (2003) .
16. Musa , F. H. ,AL-Rawi ,A. A. and Serhan , B. M. Synthesis and characterization of disulphide ligands with some of their complexes. Iraq J.of Chem. ,26 , 3 , 725 , (2000) .

17. Clark , R. J. H. ERRING Ton , W. R. Sulphur donor complexes , Inorg. Chem. 5, 4, 650, (1966).
18. Figgis , B. N. and Lewis , J. N. Modern coordination chem. , edited by Lewis and Wilkins R. G. (Interscience – New York) , 18 , 20 , 403 , (1967) .
19. Dubey , S. N. and Kaushik , B. N. Triazoles complexing Agent . Indian J. of chem. 24A , 7, 950 , (1985) .
20. El- Asmy , A. A. et al . Structural studies on Cd (II) , Co (II) , Cu (II) , Ni (II) and Zn (II) complexes of 1- malonyl – bis (4-phenyl thio semicarbazide) . Transition Met. Chem. 4, 15, 12, (1990) .

Decolorization of Astrazon Green M from Aqueous Solution by Bauxite and Kaolin Materials

Karim , J , Jubrail

College of science /department of chemistry University of sulaimani

Received 7/6/2007 – Accepted 31/10/2007

Keywords:- Textile dye ,Adsorption , bauxite ,light kaolin , effect of temperature .

الخلاصة

تم استخدام الكاولين والبوكسيت كمواد ممتزة لازالة لون صبغة الاسترازون الخضراء نوع M في محاليلها المائية . كما تمت دراسة تأثير درجات الحرارة وزمن التوازن في تراكيز مختلفة من هذه الصبغة وتم حساب توازن ايزوثيرمات الامتزاز وفقا لمعادلات فريندلش ولانكمور للامتزاز .

واظهرت النتائج للكميات الترموديناميكية المختلفة والتي اجريت فيها التجربة بدرجات حرارية مختلفة تتراوح بين 25-65 م° , ان عملية الامتزاز للصبغة على سطح البوكسيت هي عملية باعثة للحرارة في حين كانت عملية الامتزاز على سطح الكاولين هي عملية ماصة للحرارة وان القيم الواطنة للطاقة الناتجة تؤكد على ان نوع الامتزاز هي امتزاز فيزيائي .

ABSTRACT

The adsorbents bauxite and light kaolin were used for the sorption of textile dye named astrazon green M from aqueous solutions . The effect of temperature, initial dye concentration and equilibrium time of sorption of dye were studied, the equilibrium adsorption isotherms have been investigated by the Freundlich and Langmuire models . The basic thermodynamic data were obtained with a thermostatic bath shaker at five deferent temperatures (25,35,45,55 and 65 °C) . The apparent thermodynamic parameters were calculated and the obtained values show the adsorption process of dye solutions on bauxite surface is exothermic in nature . But on kaolin is endothermic in nature ,and the small mean energy values for the adsorption of astrazon green M on bauxite and kaolin shows the type of adsorption is physical in nature.

INTRODUCTION

The purification of waste water contaminated by hazardous pollutants of inorganic and organic materials is among the serious problems of conservation , especially when such materials are toxic . the dyes contaminating .the elimination of such pollutants from aqueous solutions is an important problem not only from a technical but also from an economic point of view (1). The removal of textile dyes from waste water is still a major environmental concern because the synthetic dyes used are difficult to remove by the conventional wastewater treatment systems

based on coagulation, oxidation, photo degradation, aerobic and anaerobic biodegradation and bio sorption coagulation and flocculation using polyelectrolytes .Lime, alum or ferrous salts produce huge amounts of toxic sludge that posses handling and disposal problems associated with chemical cost (2). However these processes are costly and cannot effectively be used to treat the wide range of dye waste water . Adsorption processes have been investigated as an efficient and effective method to remove dyes from wastewater. The most widely used adsorbent for dye removal from textile wastewater is activated carbon (3), silica (4), alumina (5), cellulose (6), chitin and chitosan (7),chitosan microspheres (8), metal hydroxide (9). In this work is intended to determine the efficiency of the removal of textile dye namely (astrazon) from water solutions using bauxite and kaolin clays as an adsorbents . Astudy the isotherm and kinetic models fits the experimental findings is also aimed in this work .

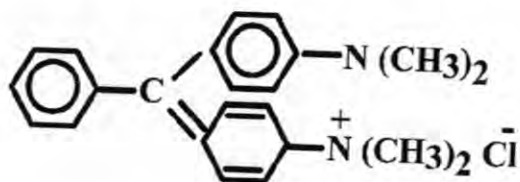
MATERIALS AND METHODS

Material and methods:

Adsorbent:-bauxite clay used an adsorbent was obtained from Rumadi region in the west of Iraq , and light kaolin from May and Maker LTD , England .

The two clays dried in an oven at 105C° for 24hr and then screened the mesh chosen to be <63μm and stored in closed contains for further tests

Adsorbate: the dye, astrazon green M supplied by Sigma Chemical company, St Louis, Mo, USA .was used as adsorbate the structure is given below .



Structure of astazon green M

The concentration of astazon green M dye in solution was carried out from the analytical curve obtained from uv/vis, spectra(standard curve) by using , uv/vis ,Beijing purkinj,Tu 1800s,single beam spectrophotometer, with λmax=620nm)as shown in fig.(1)

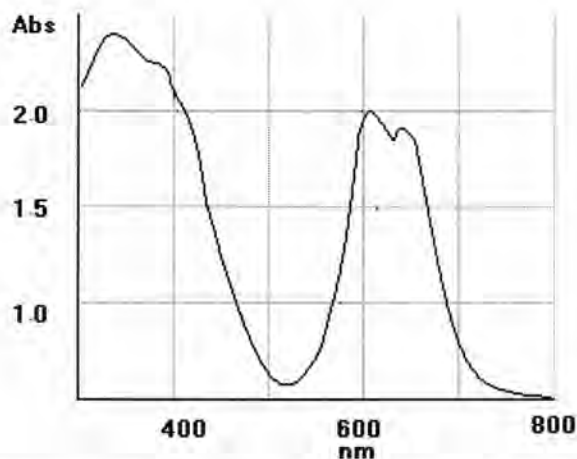


Fig-1: spectrum of maximum wavelength of astrazon green m in aqueous solution.

Equilibrium of time:

Set of (9) Stoppard bottles by the same concentration of astrazon green M (50ppm) were mixed with (1 g) of both clays separately. The solutions were placed in a thermo stated shaker bath at 25°C, then the adsorption amount of dye was determined by UV/Vis spectrophotometer at wave length 620 nm at interval time.

Adsorption isotherm:

A stock solution of astrazon green M with a concentration of (1000ppm) was prepared, dilutes it for adsorption experiment as per experimental conditions. Measured quantity of adsorbent (1g) with a particle size <63 μm were paced to the Stoppard bottles to which a measured 50 ml of dye solution with the concentration of (10- 80) ppm was added. The samples were poured in a thermo stated shaker bath (25 \pm 1C°) for 45°C min. in order to investigate the equilibrium of the adsorption process. The samples were centrifuged and the residual concentration of dye solution was determined using uv /vis spectrophotometer. All measurements were performed at the wave length (620nm)

Similar procedure were performed at temperature (35,45,55,65)C°, The amount of astrazon green M uptake by the surface of bauxite and kaolin was obtained as followed:-

$$Q_e = (C_o - C_e)V_{\text{sol}}/m$$

Where (C_o mg/L) and (C_emg/L) are the initial and find concentration of dye respectively and m (g) is the mass of adsorbent. V_{sol} ml volume of solution which is taked to the adsorption process.

RESULTS AND DISCUSSION

Adsorbents composition

The chemical composition of bauxite and kaolin clays determined by x-ray diffraction is shown in table (1).the data shows that the main constituent of bauxite samples is Al_2O_3 (66.07 %) the high content of Alumina in bauxite gives its structure credibility as a good adsorbent and the main constituent of kaolin samples is SiO_2 (68.10 %).the high content of silica in kaolin gives it structure credibility as a good adsorbent.

Table -1: Typical spectrographic analysis of bauxite and kaolin *.

Oxide	%Bauxite	%Kaoline
Al_2O_3	66.07	17.51
SiO_2	15.29	68.1
Fe_2O_3	2.40	1.34
Na_2O	0.70	0.78
K_2O	0.19	0.35
TiO_2	3.62	0.02
CaO	0.61	1.57
MgO	0.69	1.38

*x-ray diffractogram was obtained using a Philips powder Diffractometer , model pw 1730 CuKa radiation (40kv , 20 mA) .

Time of equilibrium:

The curves in figure (3) show that the adsorption process was up taken by bauxite and kaolin with the first 2-15 minutes indicating high affinity between sorbents and dye. After word the adsorption process is slower possibly due to the intra particle diffusion. Finally the saturation value is reached the results suggest that the equilibrium could be reached in a bout 30-60 min.

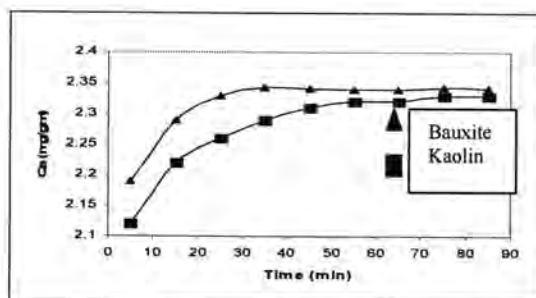


Fig -2: equilibrium time of adsorption astrazone Green M on Bauxite & Kaoline

Adsorption isotherms :

Two types of isotherms have been investigated in this study one is namely freundlich and the second is langmuir isotherms:-

$$Q_e = K_f C_e^{1/n} \quad .(1).(\text{Freundlich isotherm})$$

$$C_e/Q_e = 1/ab + 1/a C_e \quad .(2).(\text{Langmuir isotherm})$$

Where C_e is the equilibrium concentration of dye in solution (mg/L), Q_e is the amount of dye sorbed per unit of sorbent (mg/g), (a) is a constant related to the area occupied by a monolayer of sorbate reflecting the sorption capacity (mg/g). (b) is a direct measure for the intensity of the sorption process (L/mg), K_f represents the quantity of dye sorbed in (mg/g) adsorbent for a unit equilibrium concentration of the compound under test and $(1/n)$ is a measure for the sorption intensity. Langmuir and freundlich isotherms were used to describe the equilibrium nature of green dye adsorption by bauxite and kaolin and are represented by eq. (1),(2). in order to decide which type of isotherms fits better the sorption experimental data which is shown in table (2),(3), we plotted the quantities $\log Q_e$ vs. $\log C_e$ for the freundlich isotherm and C_e/Q_e vs. C_e for Langmuir isotherm.

The frendluich isotherm is most appropriate for sorption of astrazone on bauxite as shown in Figs (3), (4), (5), (6), and (7).

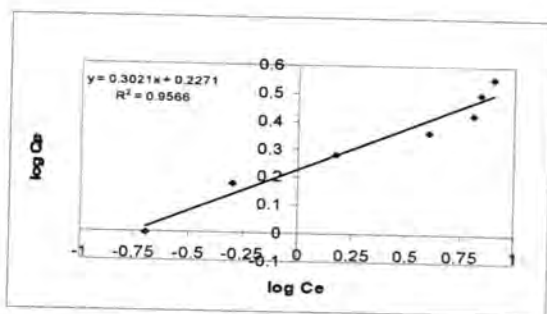


Fig -3: Freundlich isotherm of astrazone on Bauxite at 25 °C

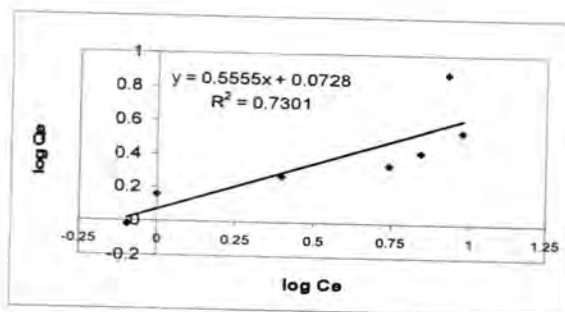


Fig -4: Freundlich isotherm of astrazone on Bauxite at 35 °C

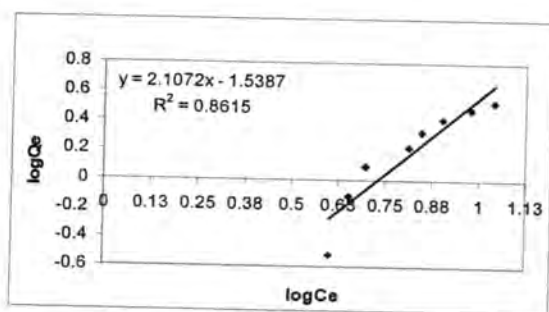


Fig -5: Freundlich isotherm of astrazone on Bauxite at 45 °C

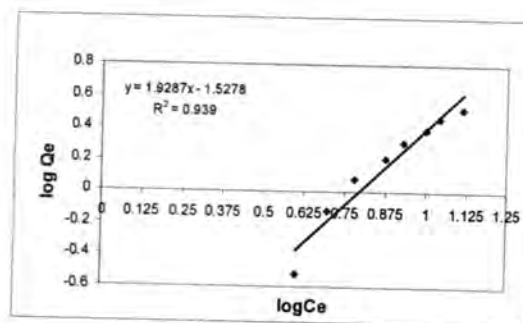


Fig -6: Freundlich isotherm of astrazone on Bauxite at 55 °C

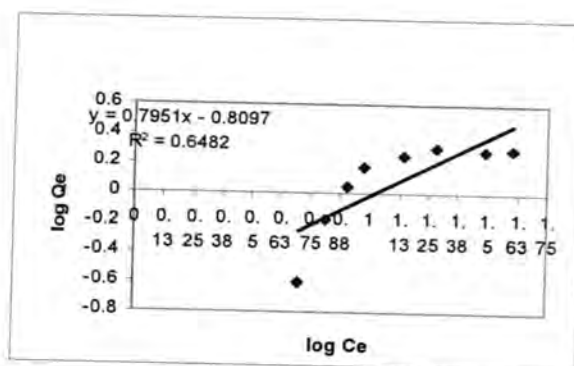


Fig -7: Freundlich isotherm of astrazone on Bauxite at 65 °C

The freundlich isotherm is most appropriate for sorption of astrazone on Kaoline as shown in figures(8),(9),(10),(11), and(12).

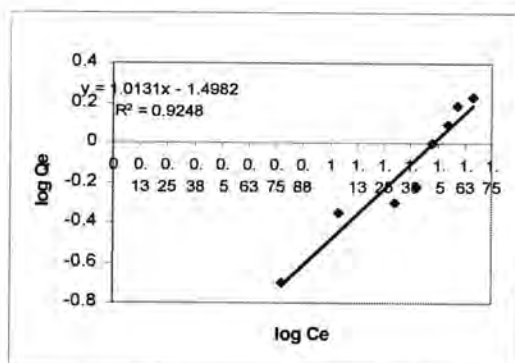


Fig-8: Frendluich isotherm of astrazone on Kaoline at 25 °C

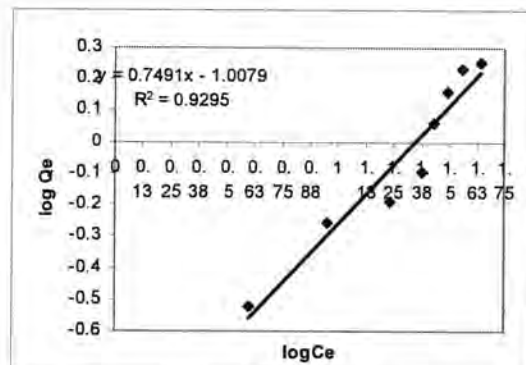


Fig-9: Frendluich isotherm of astrazone on Kaoline at 35 °C

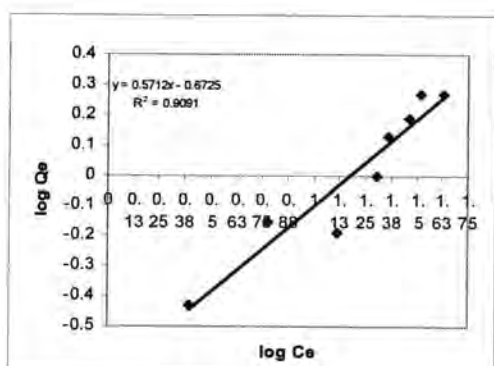


Fig-10: frendluich isotherm of astrazone on Kaoline at 45 °C

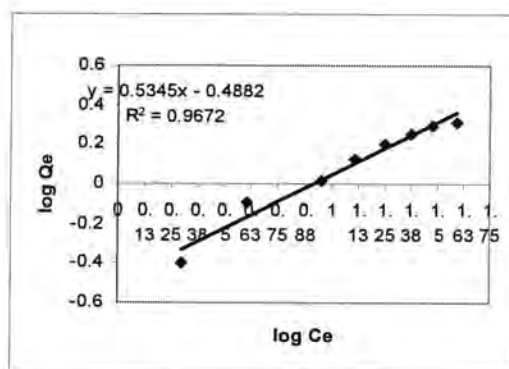


Fig-11: frendluich isotherm of astrazone on Kaoline at 55 °C

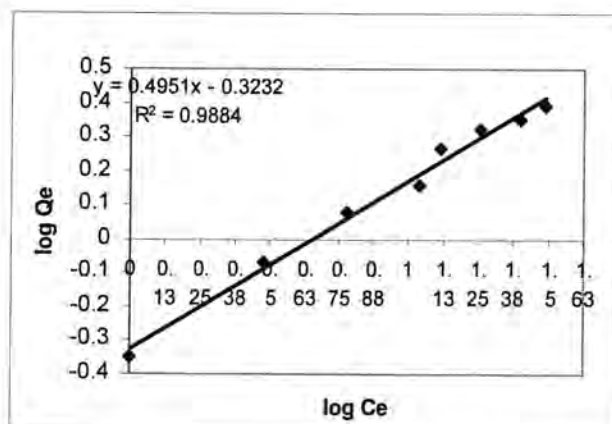


Fig-12: frendluich isotherm of astrazone on Kaoline at 65 °C

While the langmuir isotherm is most appropriate for adsorption of astrazone green M on Bauxite As shown in Figs (13) ,(14) ,(15) ,(16) and (17)

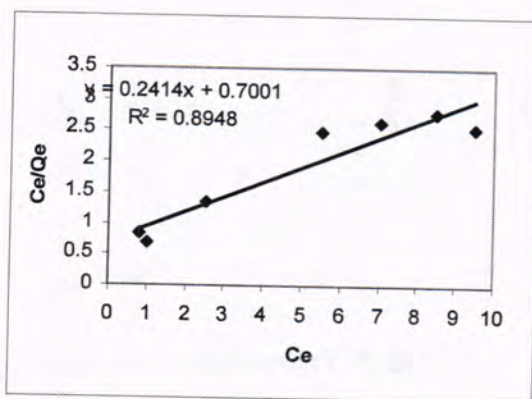


Fig -13:Langmuir isotherm of astrazone on Bauxite at 25 °C

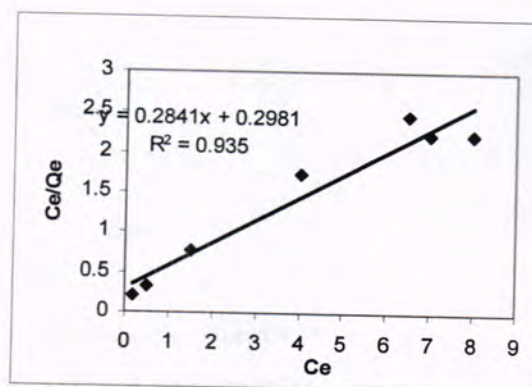


Fig -14:Langmuir isotherm of astrazone on Bauxite at 35 °C

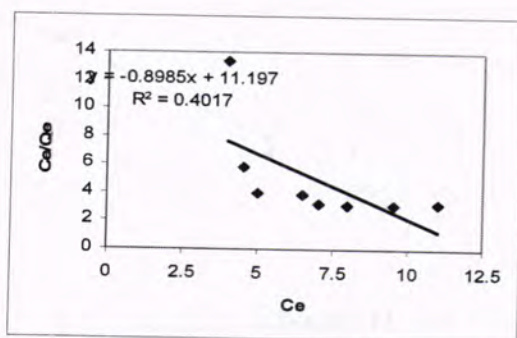


Fig -15:Langmuir isotherm of astrazone on Bauxite at 45 °C

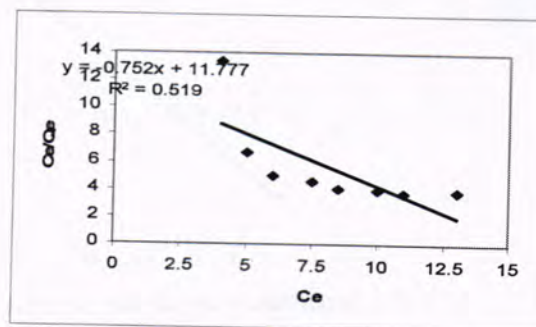


Fig -16:Langmuir isotherm of astrazone Bauxite at 55 °C

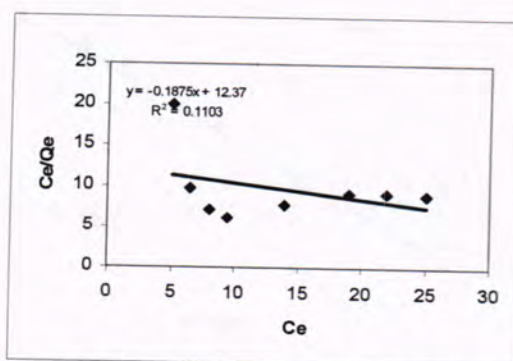


Fig -17:Langmuir isotherm of astrazone on Bauxite at 65 °C

The langmiur isotherm is most appropriate for adsorption of astrazone green M on Kaoline as shown in Figs (18),(19),(20),(21) , and (22)

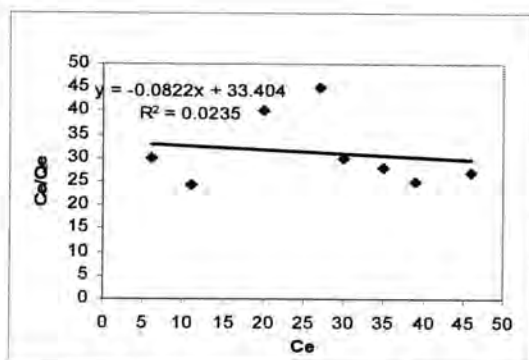


Fig -18:Langmuir isotherm of astrazone on Kaoline at 25 °C

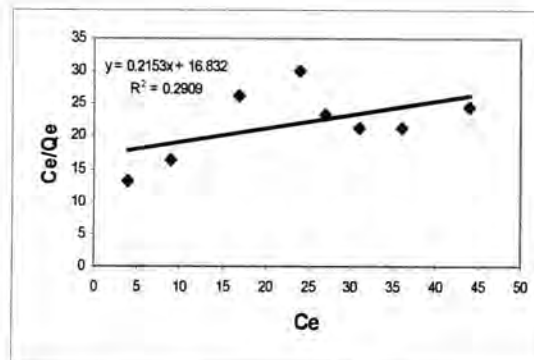


Fig -19:Langmuir isotherm of astrazone on Kaoline at 35 °C

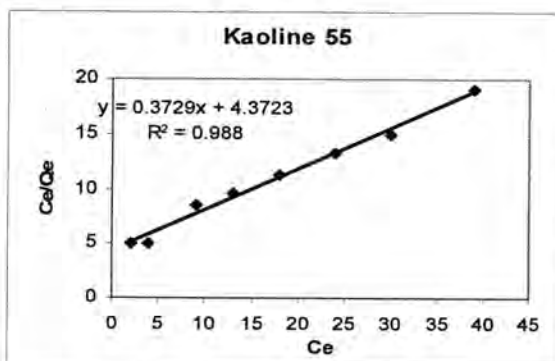


Fig -20:Langmuir isotherm of astrazone on Kaoline at 45 °C

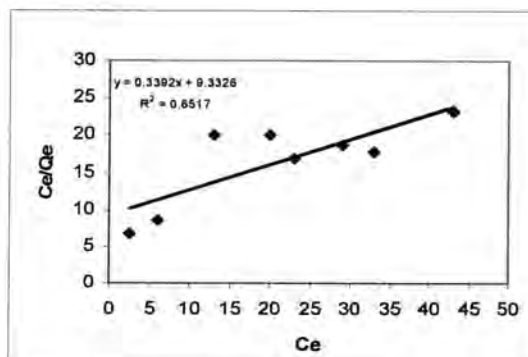


Fig -21:Langmuir isotherm of astrazone on Kaoline at 55 °C

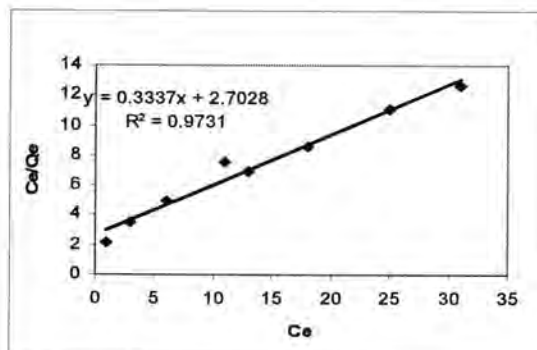


Fig -22:Langmuir isotherm of astrazone on Kaolin at 65 °C

3-4 Effect of temperature:-

thermodynamic parameters like enthalpy change (ΔH , KJ/mole), free energy change (ΔG , KJ/ mole) and entropy change (ΔS , KJ/mole)are an important role in predicting the adsorption behavior fig (23),(24) shows the adsorption of dye (astrazone green M on bauxite and light kaolin respectively at different temperature (25,35,45,55and 65 °C)

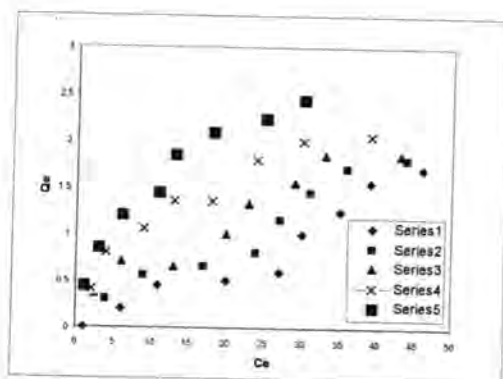


fig -23:adsorption isotherm of
astazone Green M on Kaoline

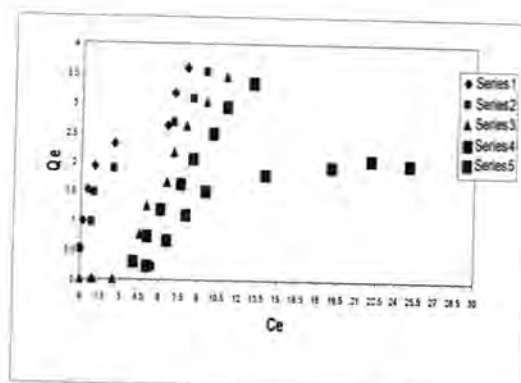


fig -24:adsorption isotherm of
astazone Green M on Bauxite

The values of (ΔH , ΔG and ΔS) are listed in the table (4) according to equations (3 - 5) where R is the gas constant . and T is the absolute temperature .

$$\ln X_m = - \frac{\Delta H}{RT} + \text{constant} \text{-----(3)}$$

$$\Delta G = - RT \ln \frac{Q_e}{C_e} \text{-----(4)}$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \text{-----(5)}$$

Table -4: Thermodynamic quantity Of Adsorption of dye on Bauxite and Kaoline

Type Clay	ΔH (KJ/mole)	ΔG (KJ/mole)	ΔS (KJ/mole)
Bauxite	- 23.268	1.997	- 0.0847
Kaoline	16.782	8.383	0.0281

The values of ΔH are determined from the slop of plotting $\ln X_m$ against $1/T$ as seen in figs. (25) and (26).

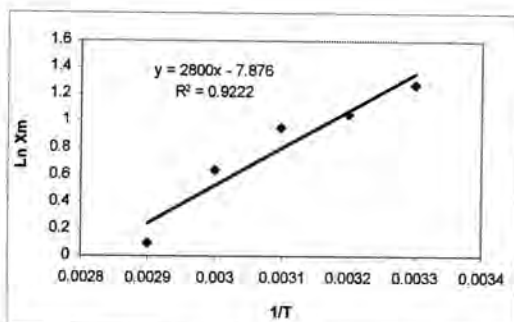


Fig.-25: Plot $\ln X_m$ against $1/T$ for dye sorption on for Bauxite at different temp.

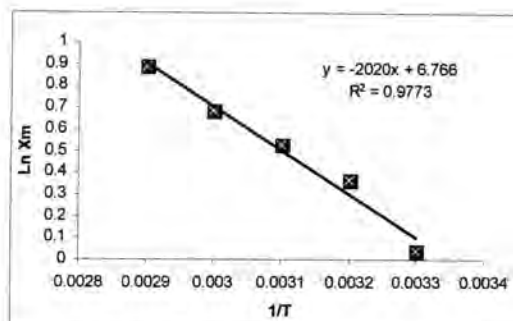


Fig.-26: Plot $\ln X_m$ against $1/T$ for dye sorption on for Kaolin at different temp.

In case of bauxite when the temperature of dye solution is increased the adsorption capacity is decrease indicating that the process is exothermic in nature, but in the case of light kaolin the adsorption capacity is increased with an increase in temperature this finding indicates that adsorption process is endothermic (10).

The positive entropy characterize an increased disorder of the system, due to loss of the water which surrounding the dye molecules at the Bauxite and light kaolin it can be suggested that the driving force for sorption process is an entropy effect, this suggestion agree with a previous studies (11,12)

The positive values of ΔG confirm that the dye sorption on Bauxite and kaolin is non-spontaneous process, the calculated mean energy values of adsorption of the textile dye on Bauxite and kaolin are very small and this implies that the type adsorption is physical (1)

The study of Bauxite and kaolin as natural clay adsorbent to remove astrazon green M from aqueous solution has been investigated. The results demonstrate by Freundlich and Langmuir isotherm the experimental data were fitted to the Freundlich isotherm. the apparent thermodynamic parameters were calculated and the obtained values show the adsorption process of dye solutions on Bauxit surface is exothermic in nature. But on kaolin surface the process is endothermic in nature, and the small mean energy for the adsorption of dye on Bauxite and Kaolin show the type of adsorption is physical in nature.

REFERENCES

1. Ceyhan O. and Baybas D. "Adsorption of some textile dyes by hexadecyltrimethylammonium Bentonite", Turk , J , 25 , pp 193-200, (2001)
2. Safarikova M. , Ptackova L. , Kibrikova I. and Safarik I. "Biosorption of water soluble dyes on magnetically modified saccharon yas cerevisiae subsp.uvarum cells" J ,chemosphere ; 59,pp 831-835, (2005)
3. Voudrias E., Fytianos K. , and Bozani E. "sorption-desorption isotherm of dyes from aqueous solutions and wastewaters with different sorbent materials",J.Global Nest.The int. vol.(4),no.(1),pp.(75-83). (2002).
4. Mckay G. and Alexander F. "the removal of basic dye from effluent using fluidized beds of silica" , J ,chem. Engineer ,319 ,pp 243 -248 (1977).
5. Moreira R.F , Peruch M.G. and Kuhnen N. C. "adsorption of textile dyes on alumina-equilibrium studies and contact time effects" , Braz. J .chem. engi. , saopaulo , vol (15) ,no. (1) ,pp 221 -228 ,(1998).
6. Laszlo J. A. "waste colour removal from textile effluents", J ,textile chem.. color,davis,vol(86),no.(4) ,pp 17-21),(1995)
7. Mckay G. " adsorption of dyes on chitin-1-equilibrium studies", J. appl., Polym., Sci. , Newyork , vol (27) , pp 3043- 3047 , (1998) .
8. Kimura I. , Favere V., Martins A. and Spinelli A. ,et. al , " adequacy of isotherm adsorption of black 5 reactive dye for cross linked chitosan microsphere",J. Acta Sci. Maringa ,vol (23) ,no.(6) , pp1313-1317 , (2001) .
9. Ntpradit S Thiravetyan P. and Towprayoon S. "application of waste metal hydroxide sludge for adsorption of azo reactive dyes", J. water research , vol (37),pp 763-772 ,(2003)
10. Raghuvanshi S. , Singh R. and Kaushik C. "kineticks study of methylene blue dye Biosorption on baggase", J.applied ecology and environmental research , vol. (2) , pp 35-43 ,(2004) .
11. Somasundaran P., Shortri S. and Huang L. "thermodynamics of adsorption of surfactants at solid-liquid interface",J. pure and appl. Chem. Vol. (70) , no. (3) , pp 621-626 ,(1998)
12. Daniela S. and Doina B. "equilibrium and kinetick study of reactive dye Brilliant red HE-3B Adsorption by activated charcoal",J.acta chim , Slov. Vol. (53) , , pp 73-79,(2005)

Lyapunov Function approach for Stabilizability a class of nonlinear dynamical control system

Radhi A. Zboon and Shatha S. Sejad

Department of Mathematics and Computer Applications, College of Science, Al-Nahrain University
Department of Mathematics, College of Science, Al-Mustansiriyah University

Received 18/3/2007 – Accepted 22/10/2007

الخلاصة

لقد تم طرح بعض النظريات الضرورية لجعل بعض أنظمة السيطرة غير الخطية مستقرة من خلال تطوير وإنشاء دالة ليابانوف. ووضعت بعض النظريات لإنشاء مثل هذه الدالة وحسابها استناداً على النتائج المتقدمة من النظريات لإنشاء مثل الدالة وحسابها استناداً على النتائج الخطية ودعمت بمثالين توضيحيين.

ABSTRACT

In this paper, some theorems concerning the stabilizability of a class of nonlinear dynamical control system have been developed and proved. The Lyapunov function that ensure the stabilizability based on some controller design has also been found.

A computational algorithm based on the theoretical results are presented and discussed as well as some simulation illustrations including non-linear dynamic control system.

INTRODUCTION

The great progress in control science has changed its basic concept of analysis synthesis of control systems. This progress has depend largely on mathematical study of control systems. Modern control theory which is based on state space concept is extremely useful not only for designing a specific control system, but also improving the principle on which the system operates.

The problem of analyzing the stability and stabilizability of matrix families arises in many application of systems and control theory . The matrix family that has attached considerable amount of research over the last two decades is the one arising in the area of linear –nonlinear state space systems with structured real parameters varying .

In a recent paper [1], the authors have considered a class of linear dynamical system

$$\dot{x}(t) = A(t)x(t) \quad ; \quad A(t) \in \{A_1, A_2\} \quad .. (1)$$

Where $A_i \in \mathbb{R}^{2 \times 2}$, $i = 1, 2$ are constant Hurwitz stable matrices .

In the work of [2], the authors considered the linear state space description

$$\dot{x}(t) = A(q)x(t) \quad , \quad (2)$$

$$A(q) = A_0 + \sum_{i=1}^r q_i A_i$$

where $x(t) \in \mathbb{R}^n$ is the state vector, $q \in \mathbb{R}^r$ is a vector of uncertain parameter varying in the prescribed compact set Q and A_0 is the "nominal" Hurwitz state matrix and $A_i, i=1,2,\dots,r$ are constants matrices, where $q_i L \leq q_i \leq q_i U$, $i=1,2,\dots,r$ and L, U are lower, upper bound with respectively.

Consequently [1], [2], assuming these (vertex) matrices (as well as the "nominal" matrix) are Hurwitz stable.

The theme of our work is to develop the work of [1], [2], to control system include a large class of system uncertainty whether the system is linear or non linear dynamical control system or the matrices are stable or not.

The work of this paper, focuses on the following class of uncertain non-linear control system

$$\dot{x}(t) = \left(\sum_{i=0}^r q_i A_i \right) x(t) + \sum_{i=0}^r q_i B_i u_i(t) + \sum_{i=1}^r f_i(x) \quad . \quad (3)$$

where

$x(t)$ is n -state vector

$u(t)$ is m -control signals which belongs to a class of piecewise continuous function

$f_i(x): \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ to be continuous vector valued function

$A_i \in \mathbb{R}^{n \times n}$, $B_i \in \mathbb{R}^{n \times m}$, $i=0,1,\dots,r$

The feedback control action will be assumed to have $u(t) = -Kx(t)$, where K is $(m \times n)$ matrix and called the state feedback gain matrix.

Due to above assumptions, the following definitions and theorems are necessary.

lemma (1)[3]

Feedback control refers to an operation, that in the presence of disturbances, tends to reduce the differences between the output of system and some reference input if any and do not depend explicitly on time " t ", but instead depend only on the state.

Theorem (1)[4]

The system is described by $\dot{x} = Ax + Bu$
where

A is $n \times n$ constant matrix

B is $n \times 1$ constant matrix

Is completely state controllability if and only if the vectors $B, AB, A^2B, \dots, A^{n-1}B$ are linearly independent, or the $n \times n$ matrix $[B, AB, A^2B, \dots, A^{n-1}B]$ is of rank n .

Consider the following problem that will be needed later in the main nonlinear problem .

Definition (1) (Positive Definition Function) [5]

A scalar function $V(x)$ is said to be positive definite in a region Ω (which includes the origin of the state space) if $V(x) > 0$ for all non-zero states x in the region Ω and $V(0) = 0$.

Remark (1) [5]

A scalar function $V(x)$ is said to be negative definite if $-V(x)$ is positive definite .

Theorem (2) [6]

If all eigenvalues of the system $\dot{x} = Ax$, where $A \in \mathbb{R}^{n \times n}$ is a constant matrix have negative real parts then the solution of this system is asymptotically stable (exponentially stable).

lemma (2)[5]

Let A be a symmetric matrix and let $\lambda_{\min}(A)$ and $\lambda_{\max}(A)$ be the smallest and largest eigen value of A , respectively , then

$$\lambda_{\min}(A)\|x\|^2 \leq x^T Ax \leq \lambda_{\max}(A)\|x\|^2, \quad \forall x \in \mathbb{R}^n$$

where $\|x\|^2 = \sum_{i=1}^n |x_i|^2$, x_i is the i -the component of x .

Remark (2) [4]

Consider the system $\dot{x} = Ax + Bu$ where $u = -Kx$ if (A,B) is controllable matrix then $\dot{x} = (A - BK)x$ is stabilizable and the matrix $(A - BK)$ is stable, or that the eigenvalues of $(A - BK)$ have negative part.

Remark (3) [5]

Consider the system $\dot{x} = Ax + Bu$ where $u = -Kx$ if (A, B) is controllable matrix and stable matrix then the Riccati equation has unique positive definite solution P .

Consider the following linear problem formulation 1 that will be needed later on in the main non-linear system.

Problem Formulation 1

Consider the following system

$$\dot{x}(t) = \left(\sum_{i=0}^r q_i A_i \right) x(t) + \sum_{i=0}^r q_i B_i u_i(t) \quad \dots \quad (4)$$

where $x(0) = x_0 \in R^n$, $x(t)$ is n -state vector and $u(t)$ is control

$A_i \in R^{n \times n}$, $B_i \in R^{n \times m}$; $i = 0, 1, \dots, r$ are constant matrices for arbitrary selection of constants q_i , $i = 0, 1, \dots, r$

where $q \in R^r$ is a vector of "r" uncertain parameter

lemma (3)

Consider the dynamic control system described by (problem formulation 1) satisfied the following conditions (A_i, B_i) ; $i = 0, 1, \dots, r$ are controllable matrices and

$q_0 = 1$, $q_i > 0$; $i = 1, 2, \dots, r$ are arbitrary where

$u_i = -K_i x$, $K_i \in R^{m \times n}$, $x \in R^n$

the linear state feedback control is desired and the matrices $(A_i - B_i K_i)(A_j - B_j K_j) = (A_j - B_j K_j)(A_i - B_i K_i)$; $\forall i \neq j$, $i, j = 0, 1, \dots, r$ then the system (4) is exponentially stabilizable.

Proof :-

Consider system (4)

$$\dot{x}(t) = \left(\sum_{i=0}^r q_i A_i \right) x(t) + \sum_{i=0}^r q_i B_i u_i(t) \quad \dots \quad (5)$$

Let $u_i = -K_i x$, $K_i \in R^{m \times n}$; $i = 0, 1, \dots, r$, $x \in R^n$

and $q_0 = 1$, $q_i > 0$; $i = 1, 2, \dots, r$

then using (5) and (6), we have the following

$$\dot{x}(t) = (A_0 + \sum_{i=1}^r q_i A_i) x(t) + [B_0 u_0 + q_1 B_1 u_1 + \dots + q_r B_r u_r]$$

$$\begin{aligned}\dot{x}(t) &= (A_o + \sum_{i=1}^r q_i A_i)x(t) + [-B_o K_o - q_1 B_1 K_1 - \dots - q_r B_r K_r]x(t) \\ \dot{x}(t) &= (A_o - B_o K_o)x(t) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i)x(t) \\ \dot{x}(t) &= \left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right] x(t) \quad (7)\end{aligned}$$

The equation (7) with initial condition $x(0) = x_o$ has the solution

$x(t) = x_o \exp[(A_o - B_o K_o) + q_1(A_1 - B_1 K_1) + \dots + q_r(A_r - B_r K_r)]t$
by using commutatives matrices conditions of lemma(3), we have

$$x(t) = x_o e^{(A_o - B_o K_o)t} \cdot e^{q_1(A_1 - B_1 K_1)t} \dots e^{q_r(A_r - B_r K_r)t}$$

on using the controllability conditions on (A_i, B_i) ; $i = 0, 1, \dots, r$ thus we have $(A_i - B_i k_i)$; $i = 0, 1, \dots, r$ is stable (see Remark (2) [4])

$$\|x(t)\|_1 = \|x_o\|_1 \left\| e^{(A_o - B_o K_o)t} \right\|_2 \left\| e^{q_1(A_1 - B_1 K_1)t} \right\|_2 \dots \left\| e^{q_r(A_r - B_r K_r)t} \right\|_2$$

where $\|\cdot\|_1$ is Euclidian norm and $\|\cdot\|_2$ is suitable matrix norm

since $(A_i - B_i K_i)$ is stable matrix ; $i = 0, 1, \dots, r$

thus there exist positive numbers, α_i , μ_i , $i = 0, 1, \dots, r$ such that

$$\|x(t)\|_1 \leq \|x_o\|_1 \mu_o e^{-\alpha_o t} * \mu_1 e^{-\alpha_1 t} \dots \mu_r e^{-\alpha_r t}$$

$$\|x(t)\|_1 \leq \|x_o\|_1 (\mu_o \mu_1 \dots \mu_r) e^{-(\alpha_o + \alpha_1 + \dots + \alpha_r)t}$$

$$\|x(t)\|_1 \leq \mu e^{-\alpha t} \quad \text{where } \mu = \|x_o\|_1 (\mu_o \dots \mu_r)$$

$$\text{and } \alpha = (\alpha_o + \alpha_1 + \dots + \alpha_r) \quad ; \forall t \geq 0$$

since μ and α are positive numbers

then the uncertain linear system (4) is **exponentially stabilized** using the feedback control act $u_i = -K_i x$; $i = 0, 1, 2, \dots, r$

and this complete the proof. ■

The following theorem is also important to ensure the stabilizability of the linear system (4) using Lyapunov function approach which is very important in the main theorem (non-linear dynamic control system).

THEOREM(3)

Consider the linear dynamical control system described by (4)
If $(A_o, B_o), \dots, (A_r, B_r)$, $i = 0, 1, \dots, r$ are controllable matrices

$q_o = 1$, $q_i > 0$; $i = 0, 1, \dots, r$ are arbitrary

set the control $u_i(t) = -K_i x$, $K_i \in R^{m \times n}$

the linear state feedback control is desired to have the matrices

$$(A_i - B_i k_i)(A_j - B_j k_j) = (A_j - B_j k_j)(A_i - B_i k_i) ; \forall i \neq j, i = 0, 1, \dots, r$$

$$, j = 0, 1, \dots, r$$

and let

$$\left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right]^T P + P \left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right] = -Q$$

has a unique positive definite solution for arbitrary positive definite matrix Q , assuming the Lyapunov function $V(x) = x^T P x$.

Then the dynamic system (4) globally asymptotically stabilizable by using $V(x) = x^T P x$.

Proof :-

Consider the Lyapunov positive definite scalar function

$$V(x) = x^T P x$$

thus

$$\dot{V}(x) = \frac{d}{dt} (x^T P x)$$

$\dot{V}(x) = \dot{x}^T P x + x^T P \dot{x}$ by using the dynamic system (4), we get

$$\dot{V}(x) = \left[\left(\sum_{i=0}^r q_i A_i \right) x(t) + \sum_{i=0}^r q_i B_i u_i \right]^T P x + x^T P \left[\left(\sum_{i=0}^r q_i A_i \right) x(t) + \sum_{i=0}^r q_i B_i u_i \right] \text{ using the}$$

assumption of main theorem (2.2) and let $u_i = -k_i x$; $i = 0, 1, \dots, r$

we have that

$$\Rightarrow \dot{V}(x) = x^T(t) \left[(A_o - B_o K_o)^T + \left(\sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right)^T \right] P x + x^T P \left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right] x(t)$$

$$= x^T(t) \left[\left((A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right)^T P + P \left((A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right) \right] x(t)$$

since (A_i, B_i) are controllable matrices and hence stable matrices then the following equation has a unique positive definite solution P
(see Remark(3) in [5])

$$\left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right]^T P + P \left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right] = -Q$$

thus $\dot{V} = -x^T Q x$, Q is positive definite solution

and then $\dot{V} < 0$, $\forall x, t$

since $V = x^T P x > 0$, ($P = P^T > 0$) and $\dot{V} < 0$

and of $V = x^T P x \rightarrow 0$ as $\|x\| \rightarrow 0$

we have that the system (4) is globally asymptotically stable (see [6]) and this complete the proof. ■

THEOREM (4)

Consider the non-linear dynamical control system

$$\dot{x}(t) = \left(\sum_{i=0}^r q_i A_i \right) x(t) + \sum_{i=0}^r q_i B_i u_i(t) + \sum_{i=1}^r f_i(x) \quad . (3)$$

satisfied the following condition

1- $(A_i, B_i); i = 0, 1, \dots, r$ are controllable matrices and

$q_0 = 1$, $q_i > 0$; $i = 1, 2, \dots, r$ are arbitrary

2- $u_i = -K_i x$, $K_i \in R^{m \times n}$, $x \in R^n$ the linear state feedback control

3- $(A_i - B_i K_i)(A_j - B_j K_j) = (A_j - B_j K_j)(A_i - B_i K_i); \forall i \neq j, i, j = 0, 1, \dots, r$

4- $f_i(x): R^n \rightarrow R^n$ to be continuous vector valued function; $i = 0, 1, \dots, r$

and satisfied condition $\|f_i(x)\| \leq N_i \|x\|$ where $N_i > 0$ and $\sum_{i=1}^r N_i \leq \frac{1}{2} \frac{\lambda_{\min}(Q)}{\lambda_{\max}(P)}$

then the system (3) is asymptotically stable in the large using the Lyapunov function $V(x) = x^T P x$ where P is the positive definite solution of the following algebraic Riccati equation

$$\left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right]^T P + P \left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right] = -Q$$

for some arbitrary positive definite matrix Q .

Proof :-

Let $V(x) = x^T P x$, $V(0) = 0$, $V(x) > 0$
and set $u(t) = -Kx(t)$

$$\begin{aligned}\dot{V}(x) &= \frac{d}{dt}(x^T P x) \\ &= \dot{x}^T P x + x^T P \dot{x}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\dot{V}(x) &= \left\{ [(A_o - B_o K_o) + \dots + q_r(A_r - B_r K_r)]^T x^T + f_1^T(x) + f_2^T(x) + \dots + f_r^T(x) \right\} P x \\ &+ x^T P \left\{ [(A_o - B_o K_o) + \dots + q_r(A_r - B_r K_r)] x + f_1(x) + f_2(x) + \dots + f_r(x) \right\}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}&= x^T \left\{ [(A_o - B_o K_o) + \dots + q_r(A_r - B_r K_r)]^T P + P[(A_o - B_o K_o) + \dots + q_r(A_r - B_r K_r)] \right\} x \\ &+ [f_1^T(x) + f_2^T(x) + \dots + f_r^T(x)] P x + x^T P [f_1(x) + f_2(x) + \dots + f_r(x)]\end{aligned}$$

By main theorem (3), we have

$$\dot{V}(x) = -x^T Q x + [f_1^T(x) + f_2^T(x) + \dots + f_r^T(x)] P x + x^T P [f_1(x) + f_2(x) + \dots + f_r(x)]$$

but

$$\begin{aligned}\left\| [f_1^T(x) + \dots + f_r^T(x)] P x + x^T P [f_1(x) + \dots + f_r(x)] \right\| &\leq 2 \|x\| \|P\| \|f_1(x) + \dots + f_r(x)\| \\ \|f_1(x) + f_2(x) + \dots + f_r(x)\| &\leq \|f_1(x)\| + \|f_2(x)\| + \dots + \|f_r(x)\| \\ &\leq N_1 \|x\| + N_2 \|x\| + \dots + N_r \|x\| \quad \text{On using condition (4)} \\ &\leq (N_1 + N_2 + \dots + N_r) \|x\|\end{aligned}$$

$$\Rightarrow \dot{V}(x) \leq -x^T Q x + 2(N_1 + N_2 + \dots + N_r) \|x\|^2 \|P\|$$

by lemma (2) we have

$$\Rightarrow \dot{V}(x) \leq -\lambda_{\min}(Q) \|x\|^2 + 2 \left(\sum_{i=1}^r N_i \right) \|P\| \|x\|^2$$

$$\Rightarrow \dot{V}(x) \leq -\lambda_{\min}(Q) \|x\|^2 + 2 \left(\sum_{i=1}^r N_i \right) \lambda_{\max}(P) \|x\|^2$$

$$\Rightarrow \dot{V}(x) \leq \left(-\lambda_{\min}(Q) + 2 \sum_{i=1}^r N_i \lambda_{\max}(P) \right) \|x\|^2 \quad \text{on using condition}$$

(4), one get $\Rightarrow \dot{V}(x) < 0$

and this completes the proof. ■

Based on the result of theorem (3) – (4), the following computational algorithm for design a linear state feedback controller have been developed .

Computational Algorithm

Step 1. Consider the main problem (3) – (4) .

Step 2. Check the controllable condition of $(A_o, B_o), (A_1, B_1), \dots, (A_r, B_r)$.

Step 3. Check the nonlinear condition if any .
 $\|f_i(x)\| \leq N_i \|x\|$ where $N_i > 0$

Step 4. Set $u = -K_i x(t)$; $i = 0, 1, \dots, r$ such that $u = - \begin{bmatrix} K_o x \\ \vdots \\ K_r x \end{bmatrix}$.

Step 5. Find K_o, K_1, \dots, K_r by using the following formula
 $[A_i - B_i K_i] = -\mu_i$; $i = 0, 1, \dots, r$, $\mu_{n \times n}$ is arbitrary diagonal matrix.

Step 6. Find the positive definite solution P of the following algebraic equation .

$$\left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right]^T P + P \left[(A_o - B_o K_o) + \sum_{i=1}^r q_i (A_i - B_i K_i) \right] = -Q$$

for a given positive definite matrix Q .

Step 7. Set the Lyapunov function $V(x) = x^T P x$, where P is the solution found in step 6.

Step 8. Using the result of main theorem 1, thus $V(x) = x^T P x$ is sufficient to stabilized the non-linear system of step 1

■

Illustration (1)

Consider the linear state space description

$$\dot{x}(t) = \left(\sum_{i=0}^2 q_i A_i \right) x(t) + \sum_{i=0}^2 q_i B_i u_i(t)$$

$$\dot{x}(t) = (A_0 + q_1 A_1 + q_2 A_2)x(t) + (B_0 u_0 + q_1 B_1 u_1 + q_2 B_2 u_2)$$

where $q_0 = 1$, $q_1, q_2 > 0$; For $n=2$ gives the matrices (8)

$$A_0 = \begin{bmatrix} -1 & 1 \\ 0 & -2 \end{bmatrix}, \quad A_1 = \begin{bmatrix} -2 & 0 \\ 2 & -5 \end{bmatrix}, \quad A_2 = \begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 1 & -3 \end{bmatrix}$$

$$B_0 = \begin{bmatrix} 2 \\ 1 \end{bmatrix}, \quad B_1 = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \end{bmatrix}, \quad B_2 = \begin{bmatrix} 1 \\ 2 \end{bmatrix}$$

Let us examine state controllability of the matrices

(A_0, B_0) , (A_1, B_1) and (A_2, B_2) with respectively (see theorem (1) [4])

$$\text{i- rank}[B_0 : A_0 B_0] = \text{rank} \begin{bmatrix} 2 & -1 \\ 1 & -2 \end{bmatrix} = 2$$

\Rightarrow the vectors $B_0, A_0 B_0$ are independent and the rank of the matrix $[B_0 : A_0 B_0]$ is two, then (A_0, B_0) is controllable .

$$\text{ii- rank}[B_1 : A_1 B_1] = \text{rank} \begin{bmatrix} 1 & -2 \\ 1 & -3 \end{bmatrix} = 2$$

\Rightarrow the vectors $B_1, A_1 B_1$ are independent and the rank of the matrix $[B_1 : A_1 B_1]$ is two, then (A_1, B_1) is controllable .

$$\text{iii- rank}[B_2 : A_2 B_2] = \text{rank} \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ 2 & -5 \end{bmatrix} = 2$$

\Rightarrow the vectors $B_2, A_2 B_2$ are independent and the rank of the matrix $[B_2 : A_2 B_2]$ is two, then (A_2, B_2) is controllable .

Now, set $u_i(t) = -K_i x(t)$, $K_i \in \mathbb{R}^{1 \times 2}$; $i = 0, 1, 2$ and Take $q_1 = 1, q_2 = 2$ such that

$$\dot{x}(t) = (A_0 + A_1 + 2A_2)x(t) + (-K_0 B_0 - K_1 B_1 - 2K_2 B_2)x(t)$$

$$\Rightarrow \dot{x}(t) = (A_0 - B_0 K_0)x(t) + (A_1 - B_1 K_1)x(t) + 2(A_2 - B_2 K_2)x(t)$$

this implies

$$\dot{x}(t) = [(A_0 - B_0 K_0) + (A_1 - B_1 K_1) + 2(A_2 - B_2 K_2)]_{2 \times 2} x(t)$$

Now, when $i=0$ we have

$[A_0 - B_0 K_0] = -\mu_0$ such that

$$\left[\begin{pmatrix} -1 & 1 \\ 0 & -2 \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} 2 \\ 1 \end{pmatrix}_{2 \times 1} [k_{11} \ k_{12}]_{1 \times 2} \right] = - \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 5 \\ 2 \end{pmatrix} \quad \text{where } B_{2 \times 1} K_{1 \times 2} = (B \ K)_{2 \times 2}$$

$$\begin{bmatrix} -1-2k_{11} & 1-2k_{12} \\ -k_{11} & -2-k_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 0 & -5 \\ 2 \end{bmatrix}$$

$$\Rightarrow \left. \begin{array}{l} -1 - 2k_{11} = -1 \\ 1 - 2k_{12} = 0 \\ -k_{11} = 0 \\ -2 - k_{12} = -\frac{5}{2} \end{array} \right\} \Rightarrow k_0 = \begin{bmatrix} 0 & \frac{1}{2} \end{bmatrix}$$

when $i=1$, we have $[A_1 - B_1 k_1] = -\mu_1$ such that

$$\left[\begin{pmatrix} -2 & 0 \\ 2 & -5 \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} [k_{11} k_{12}] \right] = - \begin{pmatrix} 4 & 0 \\ 0 & 5 \end{pmatrix}$$

$$\left[\begin{array}{cc} -2 - k_{11} & -k_{12} \\ 2 - k_{11} & -5 - k_{12} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{cc} -4 & 0 \\ 0 & -5 \end{array} \right] \Rightarrow \left. \begin{array}{l} -2 - k_{11} = -4 \\ -k_{12} = 0 \\ 2 - k_{11} = 0 \\ -5 - k_{12} = -5 \end{array} \right\} \Rightarrow k_1 = \begin{bmatrix} 2 & 0 \end{bmatrix}$$

when $i=2$, we have $[A_2 - B_2 k_2] = -\mu_2$ such that

$$\left[\begin{pmatrix} -1 & 0 \\ 1 & -3 \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} 1 \\ 2 \end{pmatrix} [k_{11} k_{12}] \right] = - \begin{pmatrix} \frac{3}{2} & 0 \\ 0 & 3 \end{pmatrix}$$

$$\left[\begin{array}{cc} -1 - k_{11} & -k_{12} \\ 1 - 2k_{11} & -3 - 2k_{12} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{cc} -\frac{3}{2} & 0 \\ 0 & -3 \end{array} \right] \Rightarrow \left. \begin{array}{l} -1 - k_{11} = -\frac{3}{2} \\ -k_{12} = 0 \\ 1 - 2k_{11} = 0 \\ -3 - 2k_{12} = -3 \end{array} \right\} \Rightarrow k_2 = \begin{bmatrix} \frac{1}{2} & 0 \end{bmatrix}$$

$\Rightarrow (A_i - B_i k_i)$; $i=0,1,2$ are diagonal matrices

$\Rightarrow (A_i - B_i k_i)$; $i=0,1,2$ are stable matrices

$$\text{we have, } \dot{x}(t) = \begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix} x(t)$$

Now, find the positive definite solution $P = \begin{bmatrix} p_{11} & p_{12} \\ p_{21} & p_{22} \end{bmatrix}$ of the

following algebraic equation

$$\begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix}^T P + P \begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix} = -Q \quad ; Q = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p_{11} & p_{12} \\ p_{21} & p_{22} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} p_{11} & p_{12} \\ p_{21} & p_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 0 & -1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} -8p_{11} & -8p_{12} \\ -\frac{27}{2}p_{21} & -\frac{27}{2}p_{22} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} -8p_{11} & -\frac{27}{2}p_{12} \\ -8p_{21} & -\frac{27}{2}p_{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 0 & -1 \end{bmatrix}$$

and thus we have

$$p_{11} = \frac{1}{16}, \quad p_{12} = 0, \quad p_{21} = 0, \quad p_{22} = \frac{1}{27}$$

set the Lyapunov function $V(x) = x^T P x$, where $P = \begin{bmatrix} \frac{1}{16} & 0 \\ 0 & \frac{1}{27} \end{bmatrix}$

$$\begin{aligned} V(x) &= \begin{bmatrix} x_1 & x_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \frac{1}{16} & 0 \\ 0 & \frac{1}{27} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} \\ &= \begin{bmatrix} \frac{1}{16}x_1 & \frac{1}{27}x_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} \\ &= \frac{1}{16}x_1^2 + \frac{1}{27}x_2^2 \end{aligned}$$

$$V(x) = 0.0625x_1^2 + 0.037037x_2^2$$

$\Rightarrow V(x)$ positive defined function and have the system (8) is stabilized by using Lyapunov function $V(x)$ and feedback gain K .

■

Illustration (2)

In illustration (1) we apply the proceeding main theorem (3) and we find Linear Dynamical Control System (4) is globally asymptotically stabilizable .

Now, we illustrate the proceeding main theorem (4), we consider the non-linear dynamical control system

$$\dot{x}(t) = \left[\sum_{i=0}^2 q_i (A_i - B_i K_i) \right] x(t) + \sum_{i=1}^2 f_i(x) \quad (9)$$

where $f_i : R^n \rightarrow R^n ; i = 1, 2$

$$A_i \in R^{2 \times 2}, \quad B_i \in R^{2 \times 2}, n = 2 ; i = 0, 1, 2, \quad x(t) \in R^2$$

and $\left[\sum_{i=0}^2 q_i (A_i - B_i K_i) \right] = \begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix}$ is stable matrix

$$f_1(x) = \begin{bmatrix} x_1 \sin x_1 + x_2 \cos x_2 \\ x_1 \sin x_1 + x_2 \end{bmatrix}, \quad f_2(x) = \begin{bmatrix} x_1 \sin x_1 \cos x_2 + 0.5x_2 \\ 1.5x_2 \sin x_1 \cos x_2 + x_1 \end{bmatrix}$$

by using the condition $\|f_i(x)\| \leq N_i \|x\|$

we have

$$\begin{aligned} \|f_1(x)\| &= \|x_1 \sin x_1 + x_2 \cos x_2\| + \|x_1 \sin x_1 + x_2\| \\ &\leq \|x_1 \sin x_1\| + \|x_2 \cos x_2\| + \|x_1 \sin x_1\| + \|x_2\| \\ &\leq \|x_1\| \|\sin x_1\| + \|x_2\| \|\cos x_2\| + \|x_1\| \|\sin x_1\| + \|x_2\| \\ &\leq 2(\|x_1\| + \|x_2\|) \\ &\Rightarrow N_1 = 2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \|f_2(x)\| &= \|(x_1 \sin x_1 \cos x_2 + 0.5x_2) + (1.5x_2 \sin x_1 \cos x_2 + x_1)\| \\ &\leq \|x_1 \sin x_1 \cos x_2 + 0.5x_2\| + \|1.5x_2 \sin x_1 \cos x_2 + x_1\| \\ &\leq \|x_1\| \|\sin x_1\| \|\cos x_2\| + 0.5\|x_2\| + 1.5\|x_2\| \|\sin x_1\| \|\cos x_2\| + \|x_1\| \\ &\leq \|x_1\| + 0.5\|x_2\| + 1.5\|x_2\| + \|x_1\| \\ &\leq 2(\|x_1\| + \|x_2\|) \\ &\Rightarrow N_2 = 2 \end{aligned}$$

finally, we can discussed the condition $\sum_{i=1}^2 N_i < \frac{1}{2} \frac{\lambda_{\min}(Q)}{\lambda_{\max}(P)}$ as the following

since the matrix $P = \begin{bmatrix} 0.0625 & 0 \\ 0 & 0.037037 \end{bmatrix}$ been found by solution

$$\begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix}^T P + P \begin{bmatrix} -8 & 0 \\ 0 & -\frac{27}{2} \end{bmatrix} = -Q, \quad Q = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

we have $\lambda_{\max}(p) = 0.0625$ and $\lambda_{\min}(Q) = 1$

since $N_1 = 2$, $N_2 = 2$

$$\Rightarrow \sum_{i=1}^2 N_i = 4, \quad \frac{\lambda_{\min}(Q)}{2\lambda_{\max}(P)} = \frac{1}{2 * (0.0625)} = \frac{1}{0.125} = 8$$

\therefore the condition $\sum_{i=1}^2 N_i < \frac{\lambda_{\min}(Q)}{2\lambda_{\max}(P)}$ is satisfied

∴ the system (9) is asymptotically stable in the large using the Lyapunov function $V(x) = x^T P x$

CONCLUSION

- The linear state feedback control can be used to stabilize a large class of nonlinear dynamic system.
- Based on the previous results of our work, the Lyapunov function that stabilize a class of a nonlinear dynamical system can be obtained easily from the result of nominal linear dynamic system and under some assumption both Lyapunov function of linear and nonlinear dynamic system are obtained to be identical.
- The desired location of eigenvalues play an up important criterion for the qualitative behavior of designed nonlinear control system.

REFERENCES

1. Rama K. Yedavalli and Andrew Sparks. "Conditions For The Existence A Common Quadratic Lyapunov Function for two stable second order linear time invariant systems via the route of stability analysis of a convex combination of matrices", pp:1296 – 1301 , Proceedings of American Control Conference , (2002).
2. Rama. K. Yedavalli. "Necessary and Sufficient Vertex Solutions For Robust Stability Analysis of Families of Linear State Space Systems", pp:1 – 20 , Proceedings of American Control Conference ,(2003).
3. Jayc H. and Andrew U.N. "Modern control principles and applications", pp: 93 – 371 , New York, Mc Graw-Hill ,(1968)
4. Katsuhiko Ogata, "Modern control engineering", fourth edition, pp:779 – 781 , 828 – 829 , Prentice-Hall of India ,(2002).
5. Tsong – Chi and Chen, "Linear system theory and design", pp:19 – 110 , HRW Series in Electrical and Computer Engineering , (1984).
6. Rao. M. Pama Mohana. "Ordinary Differential Equations", pp:86 – 87 , Edward Arnold (Publishers)Ltd. Printed and bound in Great Britain ,(1980)
7. Katsuhiko Ogata, "State space analysis of control systems"pp: 460 – 463 , Upper Saddle River, NJ ,Prentice-Hall of Canada,Ltd. ,(1967).

ON WEAKLY* M – CONTINUOUS MULTIFUNCTIONS

BASSAM J. J. AL-ASADI

Department of Mathematics, College of Science, Al-Mustansiriyah University

Received 6/5/2007 – Accepted 29/7/2007

Keywords and phrases: m_X -open set, m_X -structure, m_X -continuous.

الخلاصة

في هذا البحث قمنا بتقديم بعض المفاهيم الخاصة بالدوال المتعددة القيم المستمرة M – مع بعض المكافئات لهذه الدوال حيث قمنا بتعريف بعض المفاهيم كالدوال المتعددة القيم الضعيفة (القوية و الغالبة) المستمرة M – ودرسنا تحت أي من الشروط تصبح هذه المفاهيم متكافئة

ABSTRACT

In this paper we introduce some concepts of M – continuous multifunctions and we obtain some characterizations and some properties of multifunctions. We define the concepts (weakly)*, strong and (almost)* M – continuous multifunctions and we study the relationships among them and under any conditions they are equivalent.

INTRODUCTION

The concept of minimal structure space was introduced in 1996 by H.Maki in his work "On generalized semi – open and preopen sets".

In 1968 Velicko introduced the concept of θ – open set. This concept has since been studied intensively by many authors and they found that the collection of all θ – open sets in a topological space (X, Γ) forms a topology Γ_θ on X which is weaker than Γ , in (2004) Caldas M., Jafari S. and Kovar M.M. [1] introduced some properties of θ – open sets and in (2007) AL-Asadi B.J. [2] introduced the concept of θm_X – open set in this paper we introduce some form of m -continuous multifunctions

PRELIMINARIES

Let (X, σ) be a topological space and A a subset of X . The closure and the interior of A are denoted by $cl(A)$ and $int(A)$, respectively.

Definitions.2.0: A subset A is said to be

- (1) Regular closed (resp. regular open) if $cl(int(A)) = A$ (resp. $int(cl(A)) = A$) [3].
- (2) α -open[3] (resp. semi-open[4], preopen[5], β -open[6], semi-preopen[7]) if $A \subset int(cl(int(A)))$ (resp. $A \subset cl(int(A))$, $A \subset int(cl(A))$, $A \subset cl(int(cl(A)))$) [3].

(3) A complement of α -open (resp. semi-open, preopen, β -open, semi-preopen) is said to be α -closed (resp. semi-closed, pre-closed, β -closed, semi-pre-closed)[3]

(4) The family of all α -open (resp. semi-open, preopen, β -open) sets in X is denoted by $\alpha(X)$ (resp. $SO(X)$, $PO(X)$, $\beta(X)$)[3].

(5) A subset A of a topological space (X, τ) is called θ -open iff $A = \text{int}_\theta(A) = \bigcup \{U : cl(U) \subseteq A, U \in \tau\}$ [8]

Definition.2.1 [9]. A subfamily m_X of the power set $P(X)$ of a non-empty set X is called a minimal structure (briefly, m -structure) on X if $\emptyset \in m_X$ and $X \in m_X$. Each member of m_X is said to be m_X -open and the complement of an m_X -open set is said to be m_X -closed set. We denote by (X, m_X) the m -structure space.

Definition.2.2 [9]. Let (X, m_X) be an m -structure space, for a subset A of X , the m_X -closure of A and the m_X -interior of A are defined as follows:

$$(1) m_X-cl(A) = \bigcap \{F : A \subseteq F, X \setminus F \in m_X\}$$

$$(2) m_X-int(A) = \bigcup \{U : U \subseteq A, U \in m_X\}$$

Note that $m_X-cl(A)$ is not necessarily m_X -closed, also $m_X-int(A)$ is not necessarily m_X -open.

Lemma.2.3 [9]. Let (X, m_X) be an m -structure space, for a subset A of X , the following hold:

- (1) $m_X-cl(X \setminus A) = X \setminus m_X-int(A)$ and $m_X-int(X \setminus A) = X \setminus m_X-cl(A)$
- (2) If $X \setminus A \in m_X$, then $m_X-cl(A) = A$ and if $A \in m_X$, then $m_X-int(A) = A$
- (3) If $A \subseteq B$, then $m_X-cl(A) \subseteq m_X-cl(B)$ and $m_X-int(A) \subseteq m_X-int(B)$
- (4) $A \subseteq m_X-cl(A)$ and $m_X-int(A) \subseteq A$
- (5) $m_X-cl(m_X-cl(A)) = m_X-cl(A)$ and $m_X-int(m_X-int(A)) = m_X-int(A)$

Lemma. 2.4[9]. Let (X, m_X) be an m -structure space and A a subset of X . Then $x \in m_X-cl(A)$ iff $U \cap A \neq \emptyset$, for every $U \in m_X$ containing x .

Definition. 2.5[9]. An m -structure m_X on a non-empty set X is said to have the property (β) if the union of any family of subsets belonging to m_X belongs to m_X .

Lemma.2.6[9]. For an m -structure m_X on a non-empty set X , the following are equivalent:

- (1) m_X has property (β) .
- (2) If $m_X-int(V) = V$, then $V \in m_X$.
- (3) If $m_X-cl(F) = F$, then F is m_X -closed.

Lemma.2.7 [9]. Let (X, m_X) be an m -structure space with property (β) . For a subset A of X , the following properties hold:

- (1) $A \in m_X$ iff $m_X - \text{int}(A) = A$.
- (2) A is m_X -closed iff $m_X - \text{cl}(A) = A$.
- (3) $m_X - \text{int}(A) \in m_X$, and $m_X - \text{cl}(A)$ is m_X -closed.

θm_X -OPEN

Definition.3.1 [2]. Let (X, m_X) be an m -structure space, for a subset A of X , the θm_X -interior of A is defined by ;

$\theta m_X - \text{int}(A) = \bigcup \{U : m_X - \text{cl}(U) \subseteq A, U \in m_X\}$. A is called θm_X -open iff $\theta m_X - \text{int}(A) = A$, and the complement of A is called θm_X -closed.

A point x of X is said to be a θm_X -cluster of a subset A if $m_X - \text{cl}(U) \cap A \neq \emptyset$ for every m_X -open set containing x . the set of all θm_X -cluster points of A is said to be θm_X -closure of A and denoted by $\theta m_X - \text{cl}(A)$.

Remark.3.2.[2] If an m -structure space m_X on a non-empty subset X satisfy (β) , then we have every θm_X -open is m_X -open.

Remark.3.3.[2] Let (X, m_X) be an m -structure space .For subsets A and B of X , the following hold:

- (1) $\theta m_X - \text{cl}(X \setminus A) = X \setminus \theta m_X - \text{int}(A)$ and $\theta m_X - \text{int}(X \setminus A) = X \setminus \theta m_X - \text{cl}(A)$.
- (2) $\theta m_X - \text{int}(A) \subseteq m_X - \text{int}(A) \subseteq A$ and $A \subseteq m_X - \text{cl}(A) \subseteq \theta m_X - \text{cl}(A)$.
- (3) If $A \subseteq B$, then $\theta m_X - \text{cl}(A) \subseteq \theta m_X - \text{cl}(B)$ and $\theta m_X - \text{int}(A) \subseteq \theta m_X - \text{int}(B)$.
- (4) A is θm_X -closed iff $\theta m_X - \text{cl}(A) = A$.

Remark .3.4.[2] Let (X, m_X) be an m -structure space and A, B are subsets of X , then :

- (1) $\theta m_X - \text{cl}(A \cup B) = \theta m_X - \text{cl}(A) \cup \theta m_X - \text{cl}(B)$.
- (2) $\theta m_X - \text{cl}(A \cap B) \subseteq \theta m_X - \text{cl}(A) \cap \theta m_X - \text{cl}(B)$.
- (3) $\theta m_X - \text{int}(A \cup B) \supseteq \theta m_X - \text{int}(A) \cup \theta m_X - \text{int}(B)$.
- (4) $\theta m_X - \text{int}(A \cap B) \subseteq \theta m_X - \text{int}(A) \cap \theta m_X - \text{int}(B)$.

Note 3.5[2]:(1) The collection of all θm_X -open is denoted by θm_X .

(2) An m -structure m_X on a non-empty set X is said to have property (γ) if the intersection of any finite number of subsets belonging to m_X belongs to m_X .

(3) If X is a non-empty set and m_X is an m -structure satisfies γ , then the following theorem gives a topology $\Gamma_{\theta m_X}$ (consist of the collection of all θm_X -open sets) induced by m_X .

Theorem.3.6.[2] Let (X, m_X) be an m -structure space satisfies γ , then :

- (1) X, \emptyset are θm_X -open.
- (2) the intersection of finite θm_X -open sets is θm_X -open.

- (3) The union of any family of θm_X -open is θm_X -open .

SOME FORM OF M - CONTINUOUS MULTIFUNCTIONS

We recall the definition of multifunction .A multifunction $F : X \rightarrow Y$ from a topological space (X, τ) into a topological space (Y, σ) is a point to set correspondence and is assumed that $F(x) \neq \phi$ for all $x \in X$.

Definition.4.1. [10]: Let $F : (X, \tau) \rightarrow (Y, \sigma)$ be a multifunction from a topological space (X, τ) into a topological space (Y, σ) . The upper and lower inverse of a set B of the space Y are denoted by $F^+(B)$ and $F^-(B)$, respectively are defined as

$F^+(B) = \{x \in X : F(x) \subseteq B\}$, $F^-(B) = \{x \in X : F(x) \cap B \neq \phi\}$. Let $P(Y)$ be the collection of all non empty subsets of Y , we denote

$V^+ = \{B \in P(Y) : B \subseteq V\}$ and $V^- = \{B \in P(Y) : B \cap V \neq \phi\}$.

Definition.4.2.[10] A multifunction $F : (X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ where X is non empty set with an m -structure m_X into a topological space (Y, σ) is said to be weakly (briefly w -) m - continuous (m - continuous) on X iff for each $x \in X$ and for each open sets V_1, V_2 of Y s.t. $F(x) \in V_1^+ \cap V_2^-$ there exists $U \in m_X$ containing x s.t. $F(u) \in (cl(V_1))^+ \cap (cl(V_2))^-$ (res. $F(u) \in V_1^+ \cap V_2^-$) for all $u \in U$.

Definition.4.3: A subset A of a topological space (X, τ) is said to be

- (1) α - regular [11] if for each $a \in A$ and each open set U containing a there exists an open set G of X s.t. $a \in G \subseteq cl(G) \subseteq U$,
- (2) α - almost regular [12] if for each $a \in A$ and each regular open set U containing a there exists an open set G of X s.t. $a \in G \subseteq cl(G) \subseteq U$,
- (3) α -paracompact [13] if every X -open cover of A has an X -open refinement which covers A and is locally finite for each point of X .

Lemma.4.4: [11]: If A is an α - regular α -paracompact set of a topological space (X, τ) and U is an open of A , then there exists an open set G of X s.t. $A \subseteq G \subseteq cl(G) \subseteq U$.

Lemma.4.5: [10]: If A is an α -almost regular α -paracompact set of a topological space (X, τ) and U is a regular open of A , then there exists an open set G of X s.t. $A \subseteq G \subseteq cl(G) \subseteq U$.

Lemma.4.6 [10]: If A is an α -almost regular set of a topological space (X, τ) and U is a regular open set s.t. $U \cap A \neq \phi$, then there exists an open set G of X s.t. $A \cap G \neq \phi$ $cl(G) \subseteq U$.

Definition.4.7. A multifunction $F : (X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ where X is non empty set with an m -structure m_X into a topological space (Y, σ) is said to be (weakly)* (briefly w^* -) m -continuous (strong(briefly s)- m continuous) on X iff for each $x \in X$ and for each open sets V_1, V_2 of Y

s.t. $F(x) \in V_1^+ \cap V_2^-$ there exist $U \in m_x$ containing x s.t.

$$F(u) \in (cl(V_1))^+ \cap (cl(V_2))^-$$

(res. $F(u) \in V_1^+ \cap V_2^-$) for all $u \in m_x - cl(U)$.

Theorem.4.8: For a multifunction $F : (X, m_x) \rightarrow (Y, \sigma)$ the following are equivalent

(1) F is w^* - m continuous.

(2) $F^+(G_1) \cap F^-(G_2) \subseteq \theta m_x - \text{int}(F^+(cl(G_1)) \cap F^-(cl(G_2)))$ for every open sets G_1, G_2 of Y

(3) $\theta m_x - cl(F^-(\text{int}(K_1)) \cup F^+(\text{int}(K_2))) \subseteq F^-(K_1) \cup F^+(K_2)$ for every closed sets K_1, K_2 of Y

(4) $\theta m_x - cl(F^-(\text{int}(cl(B_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(B_2)))) \subseteq F^-(cl(B_1)) \cup F^+(cl(B_2))$ for every subsets B_1, B_2 of Y .

(5) $F^+(\text{int}(B_1)) \cap F^-(\text{int}(B_2)) \subseteq \theta m_x - \text{int}(F^+(cl(B_1)) \cap F^-(cl(B_2)))$ for every subsets B_1, B_2 of Y .

(6) $\theta m_x - cl(F^-(G_1) \cup F^+(G_2)) \subseteq F^-(cl(G_1)) \cup F^+(cl(G_2))$ for every open sets G_1, G_2 of Y

Proof (1) \rightarrow (2) Let G_1, G_2 be any open sets of Y s.t. $x \in F^+(G_1) \cap F^-(G_2)$ then $F(x) \in G_1^+ \cap G_2^-$ and hence there is $U \in m_x, x \in U$ s.t.

$$F(u) \in (cl(V_1))^+ \cap (cl(V_2))^-$$

for all $u \in m_x - cl(U)$, then $u \in F^+(cl(G_1)) \cap (cl(G_2))^-$ for all

$u \in m_x - cl(U)$, that is $m_x - cl(U) \subseteq F^+(cl(V_1)) \cap F^-(cl(V_2))$ hence

$$x \in \theta m_x - \text{int}(F^+(cl(G_1)) \cap F^-(cl(G_2)))$$

(2) \rightarrow (3) Let K_1, K_2 be any closed sets in Y , then $Y \setminus K_1, Y \setminus K_2$ are open sets in Y , then $X \setminus (F^-(K_1) \cup F^+(K_2)) = (X \setminus F^-(K_1)) \cap (X \setminus F^+(K_2)) =$

$$F^+(Y \setminus K_1) \cap F^-(Y \setminus K_2) \subseteq \theta m_x - \text{int}(F^+(cl(Y \setminus K_1)) \cap F^-(cl(Y \setminus K_2))) =$$

$$\theta m_x - \text{int}(X \setminus F^-(\text{int}(K_1)) \cap X \setminus F^+(\text{int}(K_2))) =$$

$$\theta m_x - \text{int}(X \setminus (F^-(\text{int}(K_1)) \cup F^+(\text{int}(K_2)))) =$$

$$X \setminus (\theta m_x - cl(F^-(\text{int}(K_1)) \cup F^+(\text{int}(K_2)))) \text{, then}$$

$$\theta m_x - cl(F^-(\text{int}(K_1)) \cup F^+(\text{int}(K_2))) \subseteq F^-(K_1) \cup F^+(K_2).$$

(3) \rightarrow (4) Let B_1, B_2 be any subsets of Y , then $cl(B_1), cl(B_2)$ are closed sets of Y by (3) we obtain

$$\theta m_x - cl(F^-(\text{int}(cl(B_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(B_2)))) \subseteq F^-(cl(B_1)) \cup F^+(cl(B_2))$$

(4) \rightarrow (5) Let B_1, B_2 be any subsets of Y

$$F^-(\text{int}(B_2)) \cap F^+(\text{int}(B_1)) = (X \setminus F^+(Y \setminus \text{int}(B_2))) \cap (X \setminus F^-(Y \setminus \text{int}(B_1))) =$$

$$X \setminus (F^+(Y \setminus \text{int}(B_2)) \cup F^-(Y \setminus \text{int}(B_1))) = X \setminus (F^+(cl(Y \setminus B_2)) \cup F^-(cl(Y \setminus B_1))) \subseteq$$

$$X \setminus \theta m_x - cl(F^+(\text{int}(cl(Y \setminus B_2)) \cup F^-(\text{int}(cl(Y \setminus B_1)))) =$$

$$X \setminus \theta m_x - cl(X \setminus F^-(cl(\text{int}(B_2))) \cup (X \setminus F^+(cl(\text{int}(B_1))))$$

$$X \setminus \partial m_X - cl(X \setminus (F^-(cl(int(B_2))) \cap F^+(cl(int(B_1))))) =$$

$$\partial m_X - int(F^-(cl(int(B_2))) \cap (F^+(cl(int(B_1))))), \text{ then}$$

$$F^+(int(B_1)) \cap F^-(int(B_2)) \subseteq \partial m_X - int(F^+(cl(B_1)) \cap F^-(cl(B_2)))$$

(4) \rightarrow (6) Let G_1, G_2 be any open sets of Y , then

$$\partial m_X - cl(F^-(G_1) \cup F^+(G_2)) \subseteq \partial m_X - cl(F^-(int(cl(G_1))) \cup F^+(int(cl(G_2)))) \subseteq F^-(cl(G_1)) \cup F^+(cl(G_2)).$$

(5) \rightarrow (2) This is obvious.

(2) \rightarrow (1) Let G_1, G_2 be any open sets of Y s.t. $F(x) \in G_1^+ \cap G_2^-$, then

$$x \in F^+(G_1) \cap F^-(G_2) \subseteq \partial m_X - int(F^+(cl(G_1)) \cap F^-(cl(G_2))), \text{ then}$$

$\exists U \in m_X, x \in U$ and $m_X - cl(U) \subseteq F^+(cl(G_1)) \cap F^-(cl(G_2))$, therefore

$$F(u) \subseteq (cl(G_1))^+ \cap (cl(G_2))^- \forall u \in m_X - cl(U) \text{ hence } F \text{ is } w^* - m \text{ continuous}$$

(6) \rightarrow (2) Let G_1, G_2 be any open sets of Y , then

$$F^+(G_1) \cap F^-(G_2) \subseteq F^+(int(cl(G_1))) \cap F^-(int(cl(G_2)))$$

$$= X \setminus F^-(Y \setminus int(cl(G_1))) \cap X \setminus (F^+(Y \setminus int(cl(G_2))))$$

$$= X \setminus F^-(cl(Y \setminus cl(G_1))) \cap X \setminus F^+(cl(Y \setminus cl(G_2)))$$

$$= X \setminus (F^-(cl(Y \setminus cl(G_1))) \cup F^+(cl(Y \setminus cl(G_2))))$$

$$\subseteq X \setminus \partial m_X - cl(F^-(Y \setminus cl(G_1)) \cup F^+(Y \setminus cl(G_2))) =$$

$$\partial m_X - int(F^+(cl(G_1)) \cap F^-(cl(G_2)))$$

Theorem.4.9: For a multifunction $F : (X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ the following are equivalent

(1) F is $w^* - m$ continuous.

(2) $\partial m_X - cl(F^-(int(cl_\theta(B_1))) \cup F^+(int(cl_\theta(B_2)))) \subseteq F^-(cl_\theta(B_1)) \cup F^+(cl_\theta(B_2))$ for every subsets B_1, B_2 of Y .

(3) $\partial m_X - cl(F^-(int(cl(B_1))) \cup F^+(int(cl(B_2)))) \subseteq F^-(cl_\theta(B_1)) \cup F^+(cl_\theta(B_2))$ for every subsets B_1, B_2 of Y .

(4) $\partial m_X - cl(F^-(int(cl(G_1))) \cup F^+(int(cl(G_2)))) \subseteq F^-(cl(G_1)) \cup F^+(cl(G_2))$ for every open sets G_1, G_2 of Y .

(5) $\partial m_X - cl(F^-(int(cl(V_1))) \cup F^+(int(cl(V_2)))) \subseteq F^-(cl(V_1)) \cup F^+(cl(V_2))$ for every preopen sets V_1, V_2 of Y .

(6) $\partial m_X - cl(F^-(int(K_1)) \cup F^+(int(K_2))) \subseteq F^-(K_1) \cup F^+(K_2)$ for every regular closed sets K_1, K_2 of Y .

Proof: (1) \rightarrow (2) Let B_1, B_2 any subsets of Y , then $cl_\theta(B_1), cl_\theta(B_2)$ are closed sets in Y , therefore by theorem(4.8) we have

$$\partial m_X - cl(F^-(int(cl_\theta(B_1))) \cup F^+(int(cl_\theta(B_2)))) \subseteq F^-(cl_\theta(B_1)) \cup F^+(cl_\theta(B_2)).$$

(2) \rightarrow (3) This is obvious since $cl(B) \subseteq cl_\theta(B)$ for every subset B of Y .

(3) \rightarrow (4) This is obvious since $cl(G) = cl_\theta(G)$ for every open set G of Y .

(4) \rightarrow (5) Let V_1, V_2 be any preopen sets of Y , then $V_i \subseteq \text{int}(cl(V_i))$ ($i = 1, 2$) we have $cl(V_i) \subseteq cl(\text{int}(cl(V_i)))$ ($i = 1, 2$). Now set $G_i = \text{int}(cl(V_i))$ G_i is open in Y and $cl(G_i) = cl(V_i)$ ($i = 1, 2$) therefore by (4)

$$\theta m_X - cl(F^-(\text{int}(cl(V_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(V_2)))) \subseteq F^-(cl(V_1)) \cup F^+(cl(V_2)).$$

(5) \rightarrow (6) Let K_1, K_2 be regular closed sets of Y , then $\text{int}(K_i)$ ($i = 1, 2$) is preopen set and by (5) $\theta m_X - cl(F^-(\text{int}(K_1)) \cup F^+(\text{int}(K_2)))$

$$= \theta m_X - cl(F^-(\text{int}(cl(\text{int}(K_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(\text{int}(K_2))))) \\ \subseteq F^-(cl(\text{int}(K_1))) \cup F^+(cl(\text{int}(K_2))) = F^-(K_1) \cup F^+(K_2).$$

(6) \rightarrow (1) Let G_1, G_2 be any open sets of Y , then $cl(G_1), cl(G_2)$ are regular closed sets of Y therefore

$$\theta m_X - cl(F^-(G_1) \cup F^+(G_2)) \subseteq \theta m_X - cl(F^-(\text{int}(cl(G_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(G_2)))) \\ \subseteq F^-(cl(G_1)) \cup F^+(cl(G_2)) \text{ by theorem (4.8) } F \text{ is } w^* - m \text{ continuous}$$

Theorem.4.10: For a multifunction $F : (X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ the following are equivalent

(1) F is $w^* - m$ continuous.

(2) $\theta m_X - cl(F^-(\text{int}(cl(G_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(G_2)))) \subseteq F^-(cl(G_1)) \cup F^+(cl(G_2))$ for every $G_1, G_2 \in \beta(Y)$.

(3) $\theta m_X - cl(F^-(\text{int}(cl(G_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(G_2)))) \subseteq F^-(cl(G_1)) \cup F^+(cl(G_2))$ for every $G_1, G_2 \in SO(Y)$.

Proof: (1) \rightarrow (2) Let $G_1, G_2 \in \beta(Y)$, then $G_i \subseteq cl(\text{int}(cl(G_i)))$ and

$cl(G_i) = cl(\text{int}(cl(G_i)))$ ($i = 1, 2$), since $cl(G_1)$ and $cl(G_2)$ are regular closed sets by theorem(4.9)

$$\theta m_X - cl(F^-(\text{int}(cl(G_1))) \cup F^+(\text{int}(cl(G_2)))) \subseteq F^-(cl(G_1)) \cup F^+(cl(G_2)).$$

(2) \rightarrow (3) this is obvious since $SO(Y) \subseteq \beta(Y)$

(3) \rightarrow (1) For any $G \in PO(Y)$, $cl(G)$ is regular closed and $cl(G) \in SO(Y)$, then $\theta m_X - cl(F^-(\text{int}(cl(G))) \cup F^+(\text{int}(cl(G)))) \subseteq F^-(cl(G)) \cup F^+(cl(G))$ and by theorem(4.9) F is $w^* - m$ continuous.

Remark.4.11: Every $w^* - m$ - continuous multifunction is $w - m$ - continuous but the converse in general is not true and every $s - m$ - continuous is m - continuous but the converse in general is not true. To see that by the following example.

Example.4.12: Let $F : X \rightarrow Y$ be a multifunction defined on m -structure space (X, m_X) into a topological space (Y, σ) s.t.

$$X = \{1, 2, 3\}, m_X = \{X, \emptyset, \{1\}, \{2\}, \{1, 3\}\},$$

$Y = \{a, b, c\}, \sigma = \text{discrete topology and } F(1) = \{a\}, F(2) = \{b\}, F(3) = Y$. then F is $w - m$ - continuous multifunction but not $w^* - m$ - continuous and m - continuous but not $s - m$ - continuous.

Definition.4.13:[10] A multifunction $F:(X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ where X is non empty set with an m -structure m_X into a topological space (Y, σ) is said to be almost (briefly a -) m -continuous on X iff for each $x \in X$ and for each open sets V_1, V_2 of Y s.t. $F(x) \in V_1^+ \cap V_2^-$ there exists $U \in m_X$ containing x s.t. $F(u) \in (\text{int}(cl(V_1)))^+ \cap (\text{int}(cl(V_2)))^-$ for all $u \in U$.

Definition.4.14: A multifunction $F:(X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$, where X is non empty set with an m -structure m_X into a topological space (Y, σ) is said to be (almost)* (briefly a^* -) m -continuous on X iff for each $x \in X$ and for each open sets V_1, V_2 of Y s.t.

$F(x) \in V_1^+ \cap V_2^-$ there exists $U \in m_X$ containing x s.t.

$F(u) \in (\text{int}(cl(V_1)))^+ \cap (\text{int}(cl(V_2)))^-$ for all $u \in m_X - cl(U)$.

Remark.4.15 : Every a^* - m -continuous multifunction is a - m -continuous but the converse in general is not true. To show that F in example (4.12) satisfies that.

Theorem.4.16: If $F:X \rightarrow Y$ is w^* - m -continuous and $F(x)$ is open of Y for each $x \in X$, then F is a^* - m -continuous.

Proof: Let $x \in X$ and G_1, G_2 be open sets of Y s.t. $F(x) \in G_1^+ \cap G_2^-$, since F is w^* - m -continuous, then there exist $U \in m_X$ containing x s.t.

$F(u) \in (cl(G_1))^+ \cap (cl(G_2))^-$ for all $u \in m_X - cl(U)$ and since $F(u)$ is open in Y then $F(u) \in (\text{int}(cl(V_1)))^+ \cap (\text{int}(cl(V_2)))^-$, hence F is a^* - m -continuous.

Theorem.4.17: A multifunction $F:(X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ is a^* - m -continuous iff $F^+(G_1) \cap F^-(G_2)$ is θm_X -open for every regular open sets G_1, G_2 of Y .

Proof: Let G_1, G_2 be regular open sets of Y and $x \in F^+(G_1) \cap F^-(G_2)$, then there exists $U \in m_X$ s.t. $F(u) \in (\text{int}(cl(G_1)))^+ \cap (\text{int}(cl(G_2)))^-$ for all $u \in m_X - cl(U)$ that is $F(u) \in (G_1)^+ \cap (G_2)^-$ for all $u \in m_X - cl(U)$, hence $m_X - cl(U) \subseteq F^+(G_1) \cap F^-(G_2)$, then $x \in \theta m_X - \text{int}(F^+(G_1) \cap F^-(G_2))$.

Conversely : Let G_1, G_2 be any open sets of Y s.t. $F(x) \in G_1^+ \cap G_2^-$, then $\text{int}(cl(G_1)), \text{int}(cl(G_2))$ are regular open sets of Y and

$F(x) \in (\text{int}(cl(G_1)))^+ \cap (\text{int}(cl(G_2)))^-$ that is

$x \in F^+(\text{int}(cl(G_1))) \cap F^-(\text{int}(cl(G_2)))$ then there exist $U \in m_X$ contains x s.t.

$F(u) \in (\text{int}(cl(G_1)))^+ \cap (\text{int}(cl(G_2)))^-$ for every $u \in m_X - cl(U)$, thus F is a^* - m -continuous.

Theorem.4.18: If $F:(X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ is w^* - m -continuous and $F(x)$ is an α -almost regular, α -paracompact set of Y for each $x \in X$, then F is a^* - m -continuous.

Proof: Let V_1, V_2 be regular open sets of Y and $x \in F^+(V_1) \cap F^-(V_2)$, thus $F(x) \subseteq V_1$ and $F(x) \cap V_2 \neq \emptyset$ and since $F(x)$ is α -almost regular, α -paracompact by lemma(4.5) there is an open set W_1 of Y s.t. $F(x) \subseteq W_1 \subseteq cl(W_1) \subseteq V_1$ and by lemma(4.6) there is an open set W_2 of

Y s.t. $F(x) \cap W_2 \neq \emptyset$ and $cl(W_2) \subseteq V_2$, since F is w^*-m -continuous there is $U \in m_X$ containing x s.t. $F(u) \subseteq cl(W_1) \subseteq V_1$ and $F(u) \cap cl(W_2) \neq \emptyset$ for every $u \in m_X - cl(U)$ therefore we have $x \in U \subseteq m_X - cl(F^+(V_1) \cap F^-(V_2))$ hence $x \in \theta m_X - \text{int}(F^+(V_1) \cap F^-(V_2))$, then $F^+(V_1) \cap F^-(V_2)$ is θm_X -open and by theorem(4.17) F is a^*-m -continuous.

Remark.4.19: every $s-m$ -continuous multifunction is a^*-m -continuous and every a^*-m -continuous multifunction is w^*-m -continuous but in general the converse is not true. To show that see the following examples.

Examples.4.20:

(1) Let $X = \{1,2,3\}$, $m_X = \{X, \emptyset, \{1\}, \{3\}, \{2,3\}\}$ and

$Y = \{a,b,c\}$, $\sigma = \{Y, \emptyset, \{a\}, \{a,b\}\}$ s.t.

$F(1) = \{a\}$, $F(2) = \{a,b\}$ and $F(3) = \{c\}$, then F is a^*-m -continuous and w^*-m -continuous but not $s-m$ -continuous.

(2) Let $X = \{1,2,3\}$, $m_X = \{X, \emptyset, \{1\}, \{2\}, \{2,3\}\}$ and

$Y = \{a,b,c\}$, $\sigma = \{Y, \emptyset, \{a\}, \{b\}, \{a,b\}\}$

$F(1) = \{a,c\}$, $F(2) = \{a\}$ and $F(3) = \{c\}$, then F is and w^*-m -continuous but not a^*-m -continuous.

Theorem.4.21: For a multifunction $F: (X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ s.t. $F(x)$ is an α -regular, α -paracompact set of Y for each $x \in X$, then the following are equivalent:

(1) F is $s-m$ -continuous.

(2) F is a^*-m -continuous.

(3) F is w^*-m -continuous.

Proof: (1) \rightarrow (2) \rightarrow (3) by definition.

(3) \rightarrow (1) Let $x \in X$ and V_1, V_2 be any open sets of Y s.t.

$x \in F^+(V_1) \cap F^-(V_2)$, then $F(x) \in V_1^+ \cap V_2^-$ and since $F(x)$ is α -regular, α -paracompact by lemmas (4.4), (4.6) there exist $W_1, W_2 \in \sigma$ s.t.

$F(x) \subseteq W \subseteq cl(W_1) \subseteq V_1$, $F(x) \cap W_2 \neq \emptyset$ and $cl(W_2) \subseteq V_2$ since F is w^*-m -continuous there exist

$U \in m_X$, $x \in U$ s.t. $F(u) \in (cl(W_1))^+ \cap (cl(W_2))^- \forall u \in m_X - cl(U)$, then

$F(u) \in V_1^+ \cap V_2^- \forall u \in m_X - cl(U)$, this show that F is $s-m$ -continuous.

Theorem.4.22: $F: (X, m_X) \rightarrow (Y, \sigma)$ is a closed valued multifunction and (Y, σ) is a $T_4(T_1 + \text{normal})$ -space then the following are equivalent:

(1) F is $s-m$ -continuous.

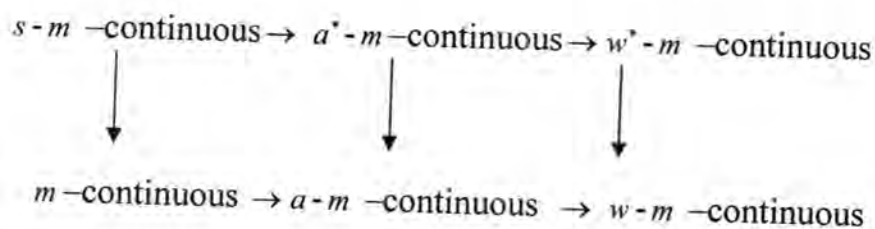
(2) F is a^*-m -continuous.

(3) F is w^*-m -continuous

Proof: (1) \rightarrow (2) \rightarrow (3) by definition.

(3) \rightarrow (1) Let $x \in X$ and G_1, G_2 be any open sets of Y s.t.

$F(x) \in G_1^+ \cap G_2^-$ since $F(x)$ is closed set of Y by the normality of Y there is $D \in \sigma$ s.t. $F(x) \subseteq D \subseteq cl(D) \subseteq G_1$ and since $T_4 \rightarrow T_3$ and $F(x) \cap G_2 \neq \emptyset$ there is $E \in \sigma$ s.t. $E \cap F(x) \neq \emptyset$ and $cl(E) \subseteq G_2$ and since F is w^*-m -continuous, $F(x) \in D^+ \cap E^-$ there is $U \in m_x, x \in U$ s.t. $F(u) \in (cl(D))^+ \cap (cl(E))^- \forall u \in m_x - cl(U)$ therefore we obtain $F(u) \in G_1^+ \cap G_2^- \forall u \in m_x - cl(U)$, then F is $s-m$ -continuous. The following diagram explains the relation among the forms of m -continuous



REFERENCES

1. Caldas M., Jafari S. and Kovar M.M., "Some Properties of θ -open sets; Divulgaciones Matematicas, Vol.12, N0.2, pp :161-169(2004).
2. AL-Asadi B.J., " On Some forms of M - continuous multifunctions ", Al-Mustansiriya J. Sci. Vol.18 No.1, 67-80 (2007).
3. Njastad O., On some classes of nearly open sets, Pacific J. Math.15 (961-970) 1965.
4. Levine N., Semi-open sets and semi-continuity in topological spaces, Amer. Math. Monthly 70 pp: 36-41 (1963).
5. Mashhour A. S., Abd ElMonsef and El-Deep N., On pre-continuous and weak precontinuous mappings, Proc. Math. Phys. Soc. Egypt 53 (47-53) (1982).
6. Abd ElMonsef, El-Deep S.N. and Mahmoud R. A., β -open sets and -continuous mapping, Bull. Fac. Sci. Assiut Univ. 12 (77-90) (1983).
7. Andrijevic D., Semi preopen sets, Mat. Vesnik 38(24-32) (1986).
8. Velicko N. V., H -closed topological space, Math. Sb., 70 (112)(98-112) 1966=Amer. Math. Soc. Transl. 78 (2) pp: 103-118, (1968).
9. Maki H., on generalizing semi-open and preopen sets, Report for Meeting on Topological Spaces Theory and its Applications, Yatsushiro College of Technology, pp: 13-18, (1996).
10. Popa V. and Noiri T. "on Some Weak Forms of Continuity for Multifunction pp.55-72(internet).

11. Kovacevic I, "Subsets and paracomactness" Univ. u NovomSadu, Zb. Rad. Prirod.-Mat.Fac.Ser.Mat. 14, pp:79-87, (1984).
12. Kovacevic I. "A not on subset and almost closed mappings" Univ. u Novom Sadu, Zb. Rad. Prirod.-Mat.Fac.Ser.Mat.17 pp: 137-141, (1987).
13. Przemski M., "Some generalizations of continuity and quasicontinuity of multivalued maps, Demonstratio Math.26.p: 81-400, (1993).
14. Willard, S;"General topology"Addison-Wesley, Inc.Mass., (1970).

The Numerical Solution of Hammerstien- Volterra Integral Equations Using Spline Functions

¹Omar M. Al-Faour , ² Atheer Jawad Kadhim , and ³Ahmed Showqi Jaber

^{1,2}Department of Applied Sciences, University of Technology

³College of Science, Al-Mustansiriya University

(Received 27/3/2007 – Accepted 30/12/2007)

الخلاصة

(لحل معادلات هامش- Matlab) يقدم البحث طريقة مقترحة مع خوارزميات جديدة كتبت بلغة فولتيرا التكاملية من النوع الثاني من صنف الالتفاف عددياً باستخدام الدوال الثلثة: الخطية، التربيعية و التكعيبية. كما تمت مقارنة النتائج العددية مع النتائج المضبوطة لمعادلات هامش- فولتيرا التكاملية من النوع الثاني من خلال بعض الرسوم و الأمثلة التوضيحية وقد تم الحصول على نتائج جيدة.

ABSTRACT

The paper presents algorithms with the aid of Matlab language for solving Hammerstien Volterra integral equation of the second kind (HVIESK) of convolution type numerically using linear, quadratic and cubic spline functions. The results of proposed method are compared with the exact solution and good results are obtained. Two different illustrative examples are given for conciliated the accuracy of the results of the proposed method. Finally, the results are arranged in tabulated form and by graphing are showing for every example.

INTRODUCTION

Many of researchers and scientists published books and researches that devoted entirely to integral equation methods and their applications [1]. The integral equation arises in wide variety of mathematical, scientific and engineering problems; we know that "Urysohn equation" takes the form:

$$f(x) = g(x) + \int_0^{b(x)} k(x, t, f(t)) dt \quad a \leq x \leq b \quad \dots (1)$$

when the kernel $k(x, t, f(t))$ in eq.(1) takes the form :

$$k(x, t, f(t)) = k(x, t) U(f(t))$$

$$\text{i.e.} \quad f(x) = g(x) + \int_0^{b(x)} k(x, t) U(f(t)) dt \quad \dots (2)$$

where $k(x, t)$, $U(f(t))$ and $f(t)$ are real valued functions on subset of R^2 , R and R respectively and $f(t)$ denotes the solution of eq.(2), then eq.(2) called Hammerstien integral equation of the second kind which is special case of "Urysohn equation"[1].

In this paper we will deal with Hammerstien-Volterra integral equation of the second kind (HVIESK) which takes the form :

$$f(x) = g(x) + \int_0^x k(x,t)U(f(t))dt . \quad \dots (3)$$

The name integral equation was introduced by Bois-Reymond in 1888. However, the linear integral equation which is of Volterra type, was introduced by Volterra in 1884 [1,2].

Many problems which are formulated directly in terms of HVIESK, such as:

- Smoke filtration in a cigarette.
- Box with input-output terminals.

There are many problems can be described as initial value differential equation but sometimes, some difficulties have been consecrated when we want to find their solutions. Therefore, it will be convenient to reduce those problems to HVIESK.

In general, Analytic solutions of the integral equations is not easily obtained by the classical methods [2,3], so we need some numerical methods as spline method.

The spline functions, which are continuous piecewise polynomial are one of the most practical functions for solving eq.(3) [2].

In this work we consider three types of spline functions (linear, quadratic and cubic) are used to solve HVIESK.

The required integrals in this method are calculated using trapezoidal rule as well as Newton Raphson method has been used to solve the resulting equation.

2. Spline Function:

The spline function is a function that consists of polynomial pieces joined together with certain smoothness conditions [2,4].

Spline functions have proved very useful tool with data fitting problem and curve fitting and in solving integral and differential equations [5,6].

Different types of spline functions: linear, quadratic and cubic, are considered in the following subsections.

2.1 Linear Spline Function L(x):

A simple example for the spline functions is a spline of degree one, whose pieces are linear polynomials joined together to achieve continuity.

The linear spline function L(x) consists of (n) functions which is a linear polynomial on each subinterval $[t_i, t_{i+1}]$:

$$L(x) = \begin{cases} L_0(x) & x \in [t_0, t_1] \\ L_1(x) & x \in [t_1, t_2] \\ \vdots & \vdots \\ L_{n-1}(x) & x \in [t_{n-1}, t_n] \end{cases} \quad \dots (4)$$

where $L_i(x) = A_i x + B_i$, $(i=0,1,\dots,n-1)$ [7].

By using the point-slope form of a line, we obtain

$$L_i(x) = Y_i + M_i(x - t_i) \quad \dots (5)$$

$$\text{where } M_i = \frac{y_{i+1} - y_i}{t_{i+1} - t_i} \quad \dots (6)$$

is the slope of the line. Substituting eq.(6) in eq.(5) to obtain

$$L_i(x) = \frac{(t_{i+1} - x)}{h} y_i + \frac{(x - t_i)}{h} y_{i+1} \quad \dots (7)$$

$$\text{where } h = t_{i+1} - t_i.$$

2.2 Quadratic Spline Function Q(x):

The quadratic spine function $Q(x)$ consists of $(n-1)$ piecewise quadratic polynomials over each subinterval $[t_i, t_{i+1}]$, i.e.,

$$Q(x) = \begin{cases} Q_0(x) & x \in [t_0, t_1] \\ Q_1(x) & x \in [t_1, t_2] \\ \vdots & \vdots \\ Q_{n-1}(x) & x \in [t_{n-1}, t_n] \end{cases} \quad \dots (8)$$

$$\text{where } Q_i(x) = A_i x^2 + B_i x + C_i \quad \dots (9)$$

$Q(x)$ is piecewise quadratic which is continuously differentiable on the interval $[t_i, t_{i+1}]$ and $Q(t_i) = y_i$, $1 \leq i \leq n$

$$\text{Let } Z_i = Q'(t_i)$$

The formula for Q_i on $[t_i, t_{i+1}]$ is derived by using Taylor series on $f(x)$ and cut the series on the third term and putting $f(x) = Q_i(x)$ and $x_0 = t_i$ in Taylor series then we have :

$$Q_i(x) = y_i + Z_i(x - t_i) + \frac{Q''(t_i)}{2}(x - t_i)^2 \quad \dots (10)$$

Since

$$Q'_i = \frac{Q_i(t_{i+1}) - Q_i(t_i)}{t_{i+1} - t_i}$$

$$Q''_i = \frac{Q'_i(t_{i+1}) - Q'_i(t_i)}{t_{i+1} - t_i}$$

So eq.(10) can be written as:

$$Q_i(x) = \frac{Z_{i+1} - Z_i}{2(t_{i+1} - t_i)}(x - t_i)^2 + Z_i(x - t_i) + y_i \quad \dots (11)$$

with conditions:

- $Q_i(t_i) = y_i$.
- $Q'_i(t_i) = Z_i$.
- $Q'_i(t_{i+1}) = Z_{i+1}$.

The necessary and sufficient conditions in eq.(11) are :

$$Q_i(t_{i+1}) = y_{i+1}, i = 1, 2, \dots, n-1 \quad \dots (12)$$

Let $x = t_{i+1}$ in eq.(10) we get

$$Q_i(t_{i+1}) = \frac{Z_{i+1} - Z_i}{2}(t_{i+1} - t_i) + Z_i(t_{i+1} - t_i) + y_i \quad \dots (13)$$

Putting eq.(12) in eq.(13) we get

$$Z_{i+1} = -Z_i + 2\left(\frac{y_{i+1} - y_i}{t_{i+1} - t_i}\right) \quad \dots (14)$$

with Z_i arbitrary .

Since

$$Z_i \approx \left(\frac{y_{i+1} - y_i}{t_{i+1} - t_i}\right) \text{ then } Z_{i+1} \approx Z_i, \quad 0 \leq i \leq n-1. \quad \dots (15)$$

Eq.(15) can be used to obtain the vector $[Z_1, Z_2, \dots, Z_n]^T$ starting with an arbitrary value for Z_1 .

2.3 Cubic Spline Function $S(x)$:

The function $s(x)$ is the most common piecewise polynomial approximation which consists of n cubic polynomial pieces:

$$S(x) = \begin{cases} S_0(x) & x \in [t_0, t_1] \\ S_1(x) & x \in [t_1, t_2] \\ \vdots & \vdots \\ S_{n-1}(x) & x \in [t_{n-1}, t_n] \end{cases} \quad \dots (16)$$

where $s_i, i=0, 1, \dots, n-1$ denote the cubic polynomials that will be used over each subinterval $[t_i, t_{i+1}]$ and

$$s_i(x) = c_{1,i} + c_{2,i}(x - t_i) + c_{3,i}(x - t_i)^2 + c_{4,i}(x - t_i)^3 \quad \dots (17)$$

with

$$\left. \begin{aligned} c_{1,i} &= s_i(t_i) = s_i \\ c_{2,i} &= s'_i(t_i) = s'_i \\ c_{3,i} &= ((s_{i+1} - s_i) / h - s'_i) / h - c_{4,i} h \\ c_{4,i} &= (s'_i + s'_{i+1} - 2((s_{i+1} - s_i) / h)) / h^2 \end{aligned} \right\} \dots (18)$$

subject to:

$$s_i(t_i) = s_i \quad i = 0, 1, \dots, n$$

$$s_{i+1}(t_{i+1}) = s_i(t_{i+1})$$

$$s'_{i+1}(t_{i+1}) = s'_i(t_{i+1})$$

$$s''_{i+1}(t_{i+1}) = s''_i(t_{i+1}) \quad i = 0, 1, \dots, n-1.$$

s, s', s'' are all continuous functions in $[t_1, t_n]$.

Substituting eq.(18) in eq.(17) and let $s_i(t_{i+1}) = s_{i+1}$ we have

$$\begin{aligned} s_i(x) &= s_i + s'_i(x - t_i) + (((s_{i+1} - s_i) / h - s'_i) / h - c_{4,i} h)(x - t_i)^2 + \\ &\quad ((s'_i + s'_{i+1} - 2((s_{i+1} - s_i) / h)) / h^2)(x - t_i)^3 \end{aligned} \dots (19)$$

3. The Solution of Hammersian-Volterra Integral Equation of The Second Kind Using Spline Functions

To find the numerical solution of eq.(3) we used three types of spline functions :

3.1 By Using Linear Spline (LS) Function:

Recall eq.(7) linear spline will give the formula with $[t_i, t_{i+1}]$

$$L_i(x) = A_i(x)y_i + B_i(x)y_{i+1} \dots (20)$$

where

$$A_i(x) = \frac{t_{i+1} - x}{h}$$

and

$$B_i(x) = 1 - A_i(x) = \frac{x - t_i}{h}, \quad \text{where } h = t_{i+1} - t_i.$$

Put $f(t) = L_i(t), \quad i = 1, 2, \dots, n$

By substituting eq.(20) into eq.(3) we obtain :

$$f_r = g_r + \sum_{j=0}^{r-1} \int_{x_j}^{x_{j+1}} k(x_r, t) U(A_j(t)y_j + B_j(t)y_{j+1}) dt, \quad r = 1, 2, \dots \dots (21)$$

where $f_r = f(x_r)$ and $g_r = g(x_r) ; r=1, 2, \dots$

The integrals in eq.(21) are replaced by trapezoidal rule if the resulting equation is linear , otherwise Newton-Raphson method is used to find the solution of HVIESK.

The following (*HVIE-LSF*) algorithm summarizes the steps for finding the numerical solution for the **HVIESK** in eq.(3) using linear spline function.

HVIE-LSF Algorithm:

Step 1: Set $h = \frac{x_n - x_0}{n}$ where $(n + 1)$ is the number of the points (x_0, x_1, \dots, x_n) and $x_0 = 0$ is the initial state in the given interval.

Step 2: Define the functions in eq.(3).

Step 3: Put $f_0 = g(x_0)$.

Step 4: Compute $x_i = x_0 + i h$ where $i=1, 2, \dots, n$.

Step 5: Put $r=1, i = r-1, m=0$.

Step 6: Compute: $A_m(x_i) = \frac{(x_r - x_i)}{h}$,
 $B_m(x_i) = 1 - A_m(x_i)$

Step 7: If $i = r$ then stop and go to (step 8).
Else $i=i+1$

go to (step 6) .

Step 8: Use the trapezoidal rule to find the integrals:

$$f_r = g_r + \sum_{j=0}^{r-1} \int_{x_j}^{x_{j+1}} k(x_r, t) U(A_i(t)y_j + B_j(t)y_{j+1}) dt$$

Step 9: If the output equation in (step 8) is nonlinear use Newton-Raphson method to find f_r , otherwise go to (step 10).

Step 10: Set $r = r+1$.

Step 11: If $r = n+1$ then stop.
Else

Put $m=m+1$
go to (step 6).

3.2 By Using Quadratic Spline (QS) Function

We shall denote a quadratic spline with the knots $t_0 < t_1 < t_2 < \dots < t_n$ by Q , and then in interval $[t_i, t_{i+1}]$, we have :

$$Q_i(x) = A_i(x)Q_i + B_i(x)Q_{i+1} + C_i(x)Q'_i \quad \dots (22)$$

where

$$A_i(x) = 1 - \left(\frac{x-t_i}{h}\right)^2$$

$$B_i(x) = 1 - A_i(x)$$

$$C_i(x) = \frac{(x-t_i)(t_{i+1}-x)}{h}$$

$$h = t_{i+1} - t_i.$$

For the continuity of Q' we require that

$$Q'_{i+1} = Q'_i, i = 0, 1, 2, \dots$$

Suppose now that $Q'_0, Q'_1, \dots, Q'_{r-1}$ are known, put eq.(22) in eq.(3) we obtain:

$$f_r = g_r + \left[\sum_{j=0}^{r-2} \int_{x_j}^{x_{j+1}} k(x_r, t) U(A_j(t)Q_j + B_j(t)Q_{j+1} + C_j(t)Q'_j) dt \right] +$$

$$\int_{x_{r-1}}^{x_r} k(x_r, t) U(A_{r-1}(t)Q_{r-1} + B_{r-1}(t)Q_r + C_r(t)Q'_{r-1}) dt$$

... (23)

Hence, the equation (23) can be solved by iteration. From eq.(23) and eq.(15) we can calculate Q'_r and so proceed to the calculation of Q'_{r-1} . The integrals in eq.(23) are replaced by trapezoidal rule when the result equation is linear otherwise, we use Newton-Raphson method to find the numerical solution.

The following (HVIE-QSF) algorithm summarizes the steps for finding the numerical solution for the HVIESK in eq.(3) using quadratic spline function.

HVIE-QSF Algorithm:

step 1: Set $h = \frac{x_n - x_0}{n}$ where $(n + 1)$ is the number of the points (x_0, x_1, \dots, x_n) and $x_0 = 0$ is the initial state in the given interval.

Step 2: Define the functions in eq.(3).

Step 3: Put $Q_0 = g(x_0)$, $Q'_0 = 0.001$ and $Q'_d = Q'_{d-1}$ $d = 1, 2, \dots, n$.

Step 4: Compute $x_i = x_0 + ih$ where $i = 1, 2, \dots, n$.

Step 5: Put $r = 1$.

Step 6: Use eq.(22) to compute $A_i(x)$, $B_i(x)$ and $C_i(x)$.

Step 7: Use the trapezoidal rule to find the integrals:

$$Q_r = g_r + \left[\sum_{j=0}^{r-2} \int_{x_j}^{x_{j+1}} k(x_r, t) U(A_j(t)Q_j + B_j(t)Q_{j+1} + C_j(t)Q'_j) dt \right] + \int_{x_{r-1}}^{x_r} k(x_r, t) U(A_{r-1}(t)Q_{r-1} + B_{r-1}(t)Q_r + C_r(t)Q'_r) dt$$

Step 8: If the output equation from the (step 7) is nonlinear use Newton-Raphson method to find Q_r , otherwise go to (step 9).

Step 9: Set $r = r+1$.

Step 10: If $r = n+1$ then stop.

Else

Go to (step 6).

3.3 By Using Cubic Spline (CS) Function

The solution of (HVIESK) will be found using cubic spline function. A cubic spline $S(t)$ with its knots $t_0 < t_1 < t_2 < \dots < t_n$ in $[t_i, t_{i+1}]$ can be obtained as follows:

From eq.(19) one can get:

$$s_i(x) = s_i + s'_i(x - t_i) + (((s_{i+1} - s_i) / h - s'_i) / h - ((s'_i + s'_{i+1} - 2((s_{i+1} - s_i) / h)) / h))(x - t_i)^2 + ((s'_i + s'_{i+1} - 2((s_{i+1} - s_i) / h)) / h^2)(x - t_i)^3$$

After some manipulation we obtain

$$s_i(x) = \left(1 - 3\left(\frac{x - t_i}{h}\right)^2 + 2\left(\frac{x - t_i}{h}\right)^3 \right) s_i + \left(3\left(\frac{x - t_i}{h}\right)^2 - 2\left(\frac{x - t_i}{h}\right)^3 \right) s_{i+1} + (x - t_i)\left(\frac{t_{i+1} - x}{h}\right)^2 s'_i + (x - t_{i+1})\left(\frac{x - t_i}{h}\right)^2 s'_{i+1}$$

...

(24)

From eq.(24) the cubic spline functions $s_i(x)$ in the interval $[t_i, t_{i+1}]$ is [4,6]:

$$s_i(x) = A_i(x)s_i + B_i(x)s_{i+1} + C_i(x)s'_i + D_i(x)s'_{i+1} \quad \dots (25)$$

where

$$A_i(x) = 1 - 3\left(\frac{x-t_i}{h}\right)^2 + 2\left(\frac{x-t_i}{h}\right)^3$$

$$B_i(x) = 1 - A_i(x) = 3\left(\frac{x-t_i}{h}\right)^2 - 2\left(\frac{x-t_i}{h}\right)^3$$

$$C_i(x) = (x-t_i)\left(\frac{t_{i+1}-x}{h}\right)^2$$

$$D_i(x) = (x-t_{i+1})\left(\frac{x-t_i}{h}\right)^2$$

where $i = 0, 1, 2, \dots, n$.

Suppose s_i, s_{i+1}, s'_i and s'_{i+1} are known by putting eq.(25) in eq.(3) we have:

$$f_r = g_r + \left[\sum_{j=0}^{r-2} \int_{x_j}^{x_{j+1}} k(x_r, t) U(A_j(t)S_j + B_j(t)S_{j+1} + C_j(t)S'_j + D_j(t)S'_{j+1}) dt \right] + \int_{x_{r-1}}^{x_r} k(x_r, t) U(A_{r-1}(t)S_{r-1} + B_{r-1}(t)S_r + C_r(t)S'_{r-1} + D_r(t)S'_r) dt$$

f_r is solved by iteration. Note that ... (26)

$$s'_{j-1} + 4s'_j + s'_{j+1} = \frac{3}{h}(s_{j+1} - s_{j-1}), \quad r = 1, 2, \dots, n-1$$

And the central difference for the first derivative is:

$$s'_j \approx \frac{s_{j+1} - s_{j-1}}{2h}$$

So $s'_{j+1} \approx 2s'_j - s'_{j-1}$ for $j = 1, 2, \dots, n-1$ where s'_0 is arbitrary.

Put $f_r = f(x_r)$, $g_r = g(x_r)$ and $f(t) = S_r$, $r = 1, 2, \dots$

Finally, the integrations in eq.(26) are replaced by using trapezoidal rule when the equation result is linear otherwise, we can use Newton Raphson method to find the numerical solution

The following (HVIE-CSF) algorithm summarizes the steps for finding the numerical solution for the HVIESK in eq.(3) using cubic spline function.

HVIE-CSF Algorithm:

Step 1: Set $h = \frac{x_n - x_0}{n}$ where $(n + 1)$ is the number of the points (x_0, x_1, \dots, x_n) and $x_0 = 0$ is the initial state in the given interval

Step 2: Define the functions in eq.(3).

Step 3: Put:

$S_0 = g(x_0)$, $S'_0 = 0.001$, $S'_1 = 2S'_0$ and $S'_{m+1} = 2S'_m - S'_{m-1}$, $m = 1, 2, \dots, n-1$.

Step 4: Compute $x_i = x_0 + ih$ where $i=1, 2, \dots, n$.

Step 5: Put $r = 1$.

Step 6: Use eq.(25) to compute $A_i(x)$, $B_i(x)$, $C_i(x)$ and $D_i(x)$.

Step 7: Use the trapezoidal rule to find the integrals:

$$S_r = g_r + \left[\sum_{j=0}^{r-2} \int_{x_j}^{x_{j+1}} k(x_r, t) U(A_j(t)S_j + B_j(t)S_{j+1} + C_j(t)S'_j + D_j(t)S'_{j+1}) dt \right] + \int_{x_{r-1}}^{x_r} k(x_r, t) U(A_{r-1}(t)S_{r-1} + B_{r-1}(t)S_r + C_r(t)S'_{r-1} + D_r(t)S'_r) dt$$

Step 8: If the output equation from the (step 7) is nonlinear use Newton-Raphson method to find S_r , otherwise go to (step 9).

Step 9: Set $r = r+1$.

Step 10: If $r = n+1$ then stop.

Else

Go to (step 6).

4. Numerical Examples:

The previous methods in section (3) are illustrated in the following examples:-

Example (1) :

Consider the following HVIESK:

$$f(x) = \sin x + \int_0^x (x-t) \sin(f(t)) dt \quad 0 \leq x \leq 1$$

which has the exact solution: $f(x) = x$.

Table (1) shows the comparison between the exact and the numerical solution by using spline functions: linear, quadratic and cubic via applying (HVIE-LSF, HVIE-QSF and HVIE-CSF) algorithms respectively depends on the least square error (L.S.E.) which is defined as

$$(L.S.E) = \sum_{l=1}^n (Exact\ solution - Numerical\ solution)^2, \quad \text{when } h=0.1,$$

$x = x_i = ih$, $n=10$ and $i=0, 1, 2, \dots, 10$.

Table -1: The solution of example (1)

x	Exact solution	Spline functions		
		Linear HVIE-LSF Algorithm	Quadratic HVIE-QSF Algorithm	Cubic HVIE-CSF Algorithm
0	0	0.0000	0.0000	0.0000
0.1	0.1	0.0998	0.0998	0.0998
0.2	0.2	0.1997	0.1997	0.1997
0.3	0.3	0.2995	0.2995	0.2995
0.4	0.4	0.3993	0.3993	0.3993
0.5	0.5	0.4992	0.4992	0.4991
0.6	0.6	0.5990	0.5990	0.5990
0.7	0.7	0.6988	0.6988	0.6988
0.8	0.8	0.7986	0.7986	0.7986
0.9	0.9	0.8984	0.8984	0.8984
1	1	0.9982	0.9982	0.9982
L.S.E.		0.0000117	0.0000117	0.0000112

Figure -1: illustrate the solution of the HVIESK which was given in example (1) by using spline functions: linear, quadratic and cubic (HVIE-LSF, HVIE-QSF and HVIE-CSF algorithms) with the exact solution.

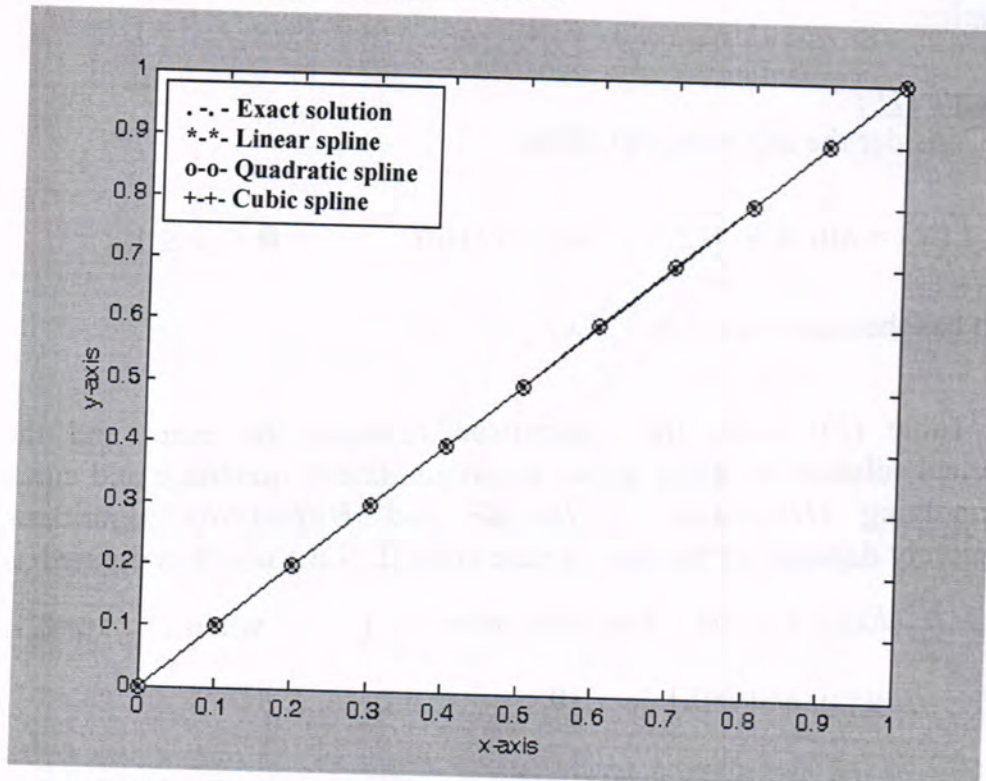


Fig.-1: The comparison between the exact and numerical solution of spline functions: linear, quadratic and cubic for HVIESK in Ex.(1).

The numerical solutions by using spline functions: linear, quadratic and cubic (*HVIE-LSF*, *HVIE-QSF* and *HVIE-CSF* algorithms) are good when taking h enough small. Different values of h and the corresponding L.S.E. coming from our choices are listed in table (2) where $0 \leq x \leq 1$.

Table-2: The L.S.E. of Ex.(1) when $h=0.05, 0.01$ and 0.001

<i>The Spline Functions</i>				
h	n	L.S.E.		
		<i>Linear Spline</i>	<i>Quadratic Spline</i>	<i>Cubic Spline</i>
0.05	20	0.0000013	0.0000013	0.0000012
0.01	100	0.000000012	0.000000012	0.000000011
0.001	1000	0.00000000013	0.0000000002	0.0000000001

The previous results in table (1) and table (2) refer to the cubic spline function gives more accurate than the others since the least square error in cubic function is smaller than the least square error in both of Linear and quadratic spline functions.

Example (2) :

Consider the following HVIESK :

$$f(x) = e^{-x} + \int_0^x e^{-(x-t)} (f(t) + e^{-f(t)}) dt \quad 0 \leq x \leq 1$$

Which has the exact solution: $f(x) = \ln(x + e)$.

Table (3) shows the comparison between the exact and the numerical solution by using spline functions: linear, quadratic and cubic via applying (*HVIE-LSF*, *HVIE-QSF* and *HVIE-CSF*) algorithms respectively depends on the least square error (L.S.E.) when $h=0.1$, $x = x_i = ih$, $n=10$ and $i=0,1,2,\dots,10$.

Table -3: The solution of example (2)

x	Exact solution	Spline functions		
		Linear HVIE-LSF Algorithm	Quadratic HVIE-QSF Algorithm	Cubic HVIE-CSF Algorithm
0	1	1	1	1
0.1	1.0361	1.0363	1.0363	1.0363
0.2	1.0710	1.0713	1.0713	1.0712
0.3	1.10547	1.1051	1.1051	1.1051
0.4	1.1373	1.1379	1.1378	1.1378
0.5	1.1688	1.1696	1.1695	1.1694
0.6	1.1994	1.2003	1.2003	1.2001
0.7	1.2291	1.2301	1.2301	1.2299
0.8	1.2580	1.2591	1.2590	1.2589
0.9	1.2860	1.2872	1.2870	1.2870
1	1.3133	1.3146	1.3142	1.3134
L.S.E.		0.0000074	0.0000057	0.0000048

Figure -2: shows the solution of the HVIESK which was given in example (2) by using spline functions: linear, quadratic and cubic (*HVIE-LSF*, *HVIE-QSF* and *HVIE-CSF* algorithms) with the exact solution.

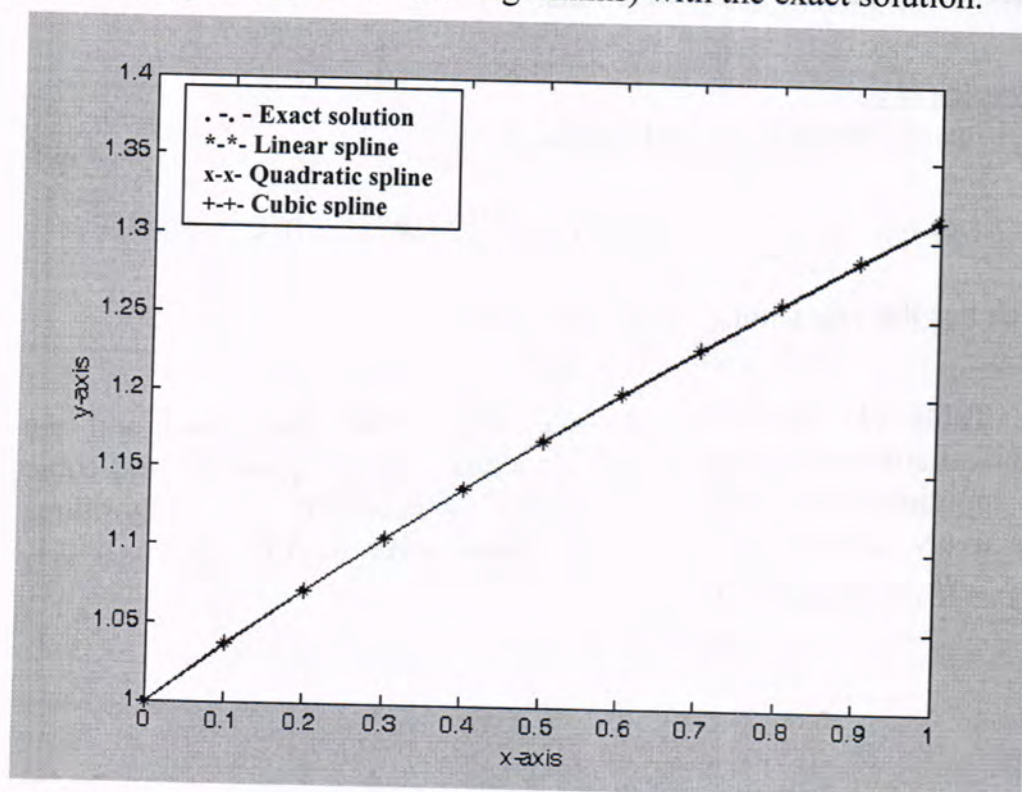


Fig.-2: The comparison between the exact and numerical solution of spline functions: linear, quadratic and cubic for HVIESK in Ex.(2).

The numerical solutions by using spline functions: linear, quadratic and cubic (*HVIE-LSF*, *HVIE-QSF* and *HVIE-CSF* algorithms) are good when taking h small. Different values of h and the corresponding L.S.E. coming from our choices are listed in table (4) where $0 \leq x \leq 1$.

**Table-4: The L.S.E. of Ex.(2)
when $h=0.05, 0.01$ and 0.001**

<i>The Spline Functions</i>				
<i>h</i>	<i>n</i>	L.S.E.		
		<i>Linear Spline</i>	<i>Quadratic Spline</i>	<i>Cubic Spline</i>
0.05	20	0.00000082	0.00000051	0.00000037
0.01	100	0.0000000072	0.0000000035	0.0000000014
0.001	1000	0.000000000042	0.000000000022	0.000000000001

In table (3) and table (4) the results of cubic spline function gives more accurate than the others functions since the least square error in cubic function is smaller than the least square error in both of Linear and quadratic spline functions.

CONCLUSIONS

Spline functions: linear, quadratic and cubic have been presented for solving HVIESK numerically. The results show a marked improvement in the least square errors (L.S.E.) and the following points are included:

1. Spline functions give better accuracy to solution of HVIESK.
2. The good approximation results depend on the size of h , if h is decreased then the number of points increases and the L.S.E. approaches zero.
3. Two different figures are given to show the activity of this kind of the proposed method.
4. In terms of the results, cubic spline function gives more accurate than Linear and Quadratic spline functions, see tables (1), (2), (3) and (4).

REFERENCES

1. Jerri, A.J. , "Introduction to Integral Equations with Applications", Marcel Dekker, (1985).
2. Atkinson, K.E., "The Numerical Solution of The Integral Equations of The Second Kind", Cambrige University Press, 1997.
3. Amir Karniel and Gideon F. Inbar, "Linear System Description", www.visl.technion.ac.il/karniel/pub/karnielInbar/modernTechNS/ch21.pdf.(2005)
4. Al-Asadi, Z.S.; "Algorithms For Solving Nonlinear Volterra Integral Equations of The First Kind", M.Sc., Thesis, Al-Mustansiriyah University,(2002).
5. Atkinson, E.; "An Introduction to Numerical Analysis", University of Iowa, (1989).
6. Cheny. W, Kincaid D. ; " Numerical Mathematics and Computing" , University of Texas at Austin (1999).
7. Shazad, S.A.; "Numerical Solutions of Linear Volterra Integro-Differential Equations", M.Sc. Thesis, University of Technology, (2002).
8. Al-Salhi., B. F., "Numerical Solution of Nonlinear Volterra Integral Equations of The Second Kind", M.Sc. Thesis University of Technology (2000).

مجلة علوم المستنصرية

مدير التحرير

الدكتورة اقبال خضر الجوفي

رئيس التحرير

الأستاذ الدكتور رضا ابراهيم البياتي

هيئة التحرير

عضو

عضو

عضو

عضو

عضو

عضو

أ. م. د. رمزي رشيد العاني

أ. م. د. قيس جميل لطيف

أ. م. د. ايمان طارق العلوي

أ. م. د. ماجد محمد محمود

أ. م. د. انعام عبد الرحمن ملوكي

أ. م. د. علاء الدين جميل

بسم الله الرحمن الرحيم

♥ تعليمات النشر لمجلة علوم

المستنصرية ♦

~~~~~

1. تقوم المجلة بنشر البحوث الرصينة التي لم يسبق نشرها في مكان آخر بعد إخضاعها للتقويم العلمي من قبل مختصين وبأي من اللغتين العربية أو الانكليزية .
2. يقدم الباحث طلبا تحريريا لنشر البحث في المجلة على أن يكون مرفقا بأربع نسخ من البحث مطبوعة على الحاسوب ومسحوب بطابعة ليزرية وعلى ورق ابيض قياس (A4) مع قرص مرن (Disk) محمل بأصل البحث ويكون عدد صفحات البحث 10 صفحات وبضمنها الاشكال والجداول على ان لا يكون الحرف اصغر من قياس 12 .
3. يطبع عنوان البحث واسماء الباحثين (كاملة) وعناوينهم باللغتين العربية والانكليزية على ورقة منفصلة شرط ان لا تكتب اسماء الباحثين وعناوينهم في أي مكان اخر من البحث ، وتعاد كتابة عنوان البحث فقط على الصفحة الاولى من البحث .
4. تكتب اسماء الباحثين كاملة بحروف كبيرة وفي حالة استخدام اللغة الانكليزية وكذلك الحروف الاولى فقط من الكلمات ( عدا حروف الجر والاضافة ) المكونة لعنوان البحث ، وتكتب عناوين الباحثين بحروف اعتيادية صغيرة .
5. تقدم خلاصتان وافيتان لكل بحث ، احدهما بالعربية والاخرى بالانكليزية وتطبع على ورقتين منفصلتين بما لا يزيد على (250) كلمة لكل خلاصة.
6. يشار الى المصدر برقم يوضع بين قوسين بمستوى السطر نفسه بعد الجملة مباشرة وتطبع المصادر على ورقة منفصلة ، ويستخدم الاسلوب الدولي المتعارف عليه عند ذكر مختصرات اسماء المجالات .
7. يفضل قدر الامكان تسلسل البحث ليتضمن العناوين الرئيسية الاتية : المقدمة ، طرائق العمل ، النتائج والمناقشة و الاستنتاجات ، المصادر ، وتوضع هذه العناوين دون ترقيم في وسط الصفحة ولا يوضع تحتها خط وتكتب بحروف كبيرة عندما تكون بالانكليزية .

8. يتبع الاسلوب الاتي عند كتابة المصادر على الصفحة الخاصة بالمصادر: ترقيم المصادر حسب تسلسل ورودها في البحث ، يكتب الاسم الاخير ( اللقب) للباحث او الباحثين ثم مختصر الاسمين الاولين فعنوان البحث ، مختصر اسم المجلة ، المجلد او الحجم ، العدد ، الصفحات ، (السنة) . وفي حالة كون المصدر كتابا يكتب بعد اسم المؤلف او المؤلفين عنوان الكتاب ، الطبعة ، الصفحات ، (السنة) الشركة الناشرة ، مكان الطبع .

10. بخصوص اجور النشر يتم دفع مبلغ (25000) خمسة وعشرون الف دينار عند تقديم البحث للنشر وهي غير قابلة للرد ومن ثم يدفع الباحث (25000) خمسة وعشرون الف دينار اخرى عند قبول البحث للنشر وبهذا يصبح المبلغ الكلي للنشر خمسون الف دينار .

~~~~~

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
10-1	نسبة الإصابة بمرض حمى التيفونيد في مدينة بغداد خلال سنة 2000 وعشرة سنوات سبقتها أسماء احمد حاتم سلطان
22-9	ا مقارنة دراسة اهم انواع ملقحات النحل من فوق عائلة <i>Apoidea</i> الملقحة لنبات الجب <i>Medicago sativa alfalfa</i> في محافظة بابل بدر محمد العزاوي و سهاد حميد حسن وعلي شعلان الاعرجي
28-23	دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات الزعتر على عملية الالتصاق بكتريا <i>Pseudomonas aeruginosa</i> على الخلايا الطلائية البوليية ورود كمال عاكف
35-29	مقارنة تأثير العسل العراقي متباين الأصل الزهري على تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الملوثة للجروح ندى زكي مهدي
43-36	تقييم النوعية المايكروبية لمياه الشرب الموزعة من مجمع الفتح المبين إيثار كامل الميالي و علي نوري عبد
48-44	لأسترا ديول والأوكسي تتراسايكلين خلال فترة النفاس لأبقار الحليب [دراسة سريرية عبد الكريم محمد جعفر محمد مهدي
59-49	أستخدام الخوارزمية الجينية لحالة الاستقرار مع تقنيات المجتمعات التحتية في تصميم وتدريب اوزان الشبكات العصبية الاصطناعية ندى ذنون أحمد

نسبة الإصابة بمرض حمى التيفوئيد في مدينة بغداد خلال سنة 2000 وعشرة سنوات سبقتها

أسماء احمد حاتم سلطان
المعهد الطبي التقني

تاريخ تقديم البحث 2007/6/13 - تاريخ قبول البحث 2007/11/28

ABSTRACT

Typhoid fever disease was investigated among adults patients in Baghdad in relation to some variable which included both Sex and the age (1-80) years old during 2000, including (234) sample Patients, out of which (127) female infection rated (54.3%) and (107) male infection rated (45.7%).

Three hospitals AL-Kadimeai, AL-Yarmok and Al- Kadissia were chosen to collect samples. The highest rate of infection was at AL- Kadimeai hospital which rated (36.8%) and highest rate of infection was in the (13-40) years olds which rated (35.9%) female and (27.3%) male.

Comparison results of this investigation with ten years ago results during (1990-1999), including (2620) sample patients, the highest rate was during (1994) which rated (11.4%) and Al-Yarmok hospital was including (931) sample patients which highest rate infection with typhoid fever was (35.5%).

الخلاصة

تم التحري عن مرض حمى التيفوئيد بين المرضى البالغين في بغداد وعلاقته ببعض المتغيرات التي تشمل العمر والجنس من كلا الجنسين للمرحلة العمرية (1-80) سنة خلال سنة 2000 شملت الدراسة (234) مريضا للفئات العمرية المختلفة منها (127) إصابة عند الإناث وشكلت نسبة (54.3%) و (107) إصابة عند الذكور شكلت نسبة (45.7%).

اختيرت ثلاثة مستشفيات هي الكاظمية التعليمية، اليرموك التعليمي، القادسية لجمع العينات وكانت أعلى نسبة أصابه في مستشفى الكاظمية إذ بلغت (36.8%) وكانت أعلى نسبة أصابه في الفئة العمرية من (13-40) سنة (الشباب) وكانت النسبة عند الإناث بلغت (35.9%) وعند الذكور (27.3%).

قورنت نتائج هذا البحث مع نتائج عشرة سنوات سابقة (1990-1999) وبلغ مجموع الإصابات (2620) إصابة حيث سجلت أعلى نسبة أصابه في سنة 1994 إذ بلغت (11.4%) وقد تبين أيضا أن أعلى نسبة إصابة هي في مستشفى اليرموك عندما بلغ عدد المصابين (931) ونسبة (35.5%).

المقدمة

تعد أمراض ال (Salmonellosis) من أهم المشاكل الصحية، والتي تسببها بكتريا *Salmonella*، تعد هذه البكتريا من العصيات المتحركة السالبة لصبغة غرام والتي لا تولد سبورات وذات نهايات مدورة تقريبا وبأطوال مختلفة، تنمو في المنابت الاعتيادية ولا تخمر اللاكتوز. تنمو معظم أنواعها في الأوساط الزرعية الاعتيادية وتحتاج بكتريا *S.typhi* الى الحامض الاميني Tryptophan لتنمو على الوسط الزرعي (1).

ان من أهم أعراض الإصابة بهذه البكتريا، الحمى، الصداع، الفتور، الإسهال، انتفاخ البطن، وتنقل الإصابة بهذه البكتريا عن طريق الماء والطعام الملوثين والأشخاص الحاملين

لها لذا فان الاهتمام بالنظافة ونظافة الطعام والصحة الشخصية إضافة الى استخدام المياه الصالحة للشرب تعد من الوسائل الآمنة للوقاية ضد هذه البكتيريا (2)، وتشير معظم البحوث والدراسات الى أن بكتيريا *Salmonella* هي أكثر الإحياء المجهرية تسبباً في حالات الاسهال خصوصاً لدى الاطفال الرضع (3).

وتتضمن ثلاث مجموعات من العوارض المرضية ذات العلاقة بالأحداث المتتابعة التالية :

- 1- غزو العصيات الدورة الدموية في الدور الأول من الإصابة بالمرض .
- 2- التهاب الجدران الداخلية للأمعاء الدقيقة (لطح باير) pyer's patch .
- 3- تجمع العصيات في أنسجة غير معوية أخرى مثل كيس الصفراء والعظام والكليتين والعضلات والقلب والرئتين والسحايا الدماغية وغالباً ما تجلب هذه الاختلاطات الانتباه بعد التهاب الأمعاء حيث تدخل البكتيريا أنسجة الجسم أول الأمر من بعض مناطق القناة الهضمية وغالباً خلال الأوعية اللمفية في الأمعاء وأحياناً خلال العقد اللمفية في اللوزتين وجدار البلعوم . في الدور الأول من المرض تتضخم الغدد اللمفية في غشاء المساريق (Mesentery) وتلتهب وبعد فترة من التكاثر في العقد اللمفية للجهاز الباي (portalsystem) تذهب العصيات للدورة الدموية خلال القناة الصدرية (Thoracic Duct) (4) أن تحرر العصيات وذهابها الى الدم يعطيها المظهر السريري الأول للمرض وهو الحمى وفي خلال هذه الفترة وفي بداية الأسبوع الثاني للحمى تثبت العصيات وجودها في الجسم بظاهرتين طبيعيتين الأولى تضخم الطحال ويرافقه ذلك نقص في تعداد الكريات الدموية البيضاء والثانية ظهور بقع جلدية وردية على جسم المريض أما التهاب الأمعاء فيظهر على اكملته اعتيادياً في الأسبوع الثاني حينما يتحول الإمساك الى إسهال (peasoupstool) ، أما في الأسبوع الثالث للمرض فيلاحظ انتفاخ في لطح باير اللمفية في الأمعاء بكتل من الخلايا الدموية البيضاء (Macrophages) وغالباً ما تتآكل هذه اللطح (5). أن قدرة هذه البكتيريا على النمو في أمعاء الانسان جعلت من الانسان المضيف الخازن الوحيد لها (Reservoir) (6) .
- تمتلك هذه البكتيريا العديد من عوامل الضراوة , ومن أهمها (Vi-Ag) Virulence Antigen الذي يزودها بقدرة عالية على غزو الأنسجة، كذلك الذيفان الداخلي (Endotoxin) الذي يتحرر عند تحلل البكتيريا مما يؤدي الى ظهور اعراض مرضية كالحُمى والقشعريرة فضلاً عن الذيفان المعوي (Entrotoxin) (7).
- أن الهدف من البحث هو معرفة نسبة الاصابة بمرض حمى التيفونيد ومقارنته مع النتائج لعشرة سنين سبقتها وتم الاستعانة بسجلات المستشفيات للحصول على نتائج هذه السنين.

المواد وطرائق العمل

1- جمع العينات:

جمعت 234 عينة من دم المرضى المصابين بحمى التيفونيد بعد تشخيص الطبيب الاستشاري في المستشفى بواسطة سحب الدم من المريض ثم ينقل الدم الى قناني معقمه حاوية على وسط المرق المغذي (Nutrient broth) وتحضن في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م ه لمدة 7-21 يوم .

2- فحص العينات والتشخيص :

الأوساط الزرعية : زرعت عينات الدم على الأوساط الزرعية الانتخابية MacConkey S.Sagar, agar و أكار الدم (Blood agar) .

تنمو السالمونيلا في مدى حراري واسع يتراوح بين (15-45) م إلا ان درجة الحرارة المثلى لنموها هي 37 م تظهر المستعمرات البكتيرية بعد فترة حضانة تتراوح ما بين (24-48) ساعه على وسطي الأكار المغذي و أكار الدم ويبلغ قطرها (1-3) ملم وتكون ألوانها بيضاء الى رمادية اما اشكالها فتكون دائرية مع سطح املس تظهر العزلات الخشنه بشكل مستعمرات

محببه ومعتمة مع سطح غير منتظم (8) بينما تكون سوداء لماعه على وسط كبريتيد البزموت (Bismuth Sulphate agar) وذلك نتيجة لتحرر غاز كبريتيد الهيدروجين (H_2S) بينما تكون المستعمرات شفافة على وسط الماكونكي ووسط Deoxycholate citrate (9).

4- الاختبارات الكيموحيوية: يعد وسط Triple sugar Iron agar (TSI) من الاوساط الزرعيه المهمه حيث تمتاز بكتريا *Salmonella* بانها لاتخمر سكر اللاكتوز (10) ومن الفحوصات البايوكيميائية الأخرى التي اجريت هي انتاج الاندول و تسهيل الجيلاتين وفحص Vogues Proskaur حيث تكون سالبة لها (11) أما الاختبارات المصلية فيمكن التعرف على جنس البكتريا من خلال الفحوصات البايوكيميائية الا ان المجاميع للانواع التابعة لها لا يمكن تشخيصها الا باجراء الاختبارات المصلية المتضمنة على التحليل المستضدي وتحتوي افراد عائلة البكتيريا المعوية على مستضدية جسمية Somatic Antigen H و مستضد سوطي Flagler antigen O تم استخدامها لغرض التفريق بين الانواع التابعة لها (12).

الوسائل الاحصائية :

تم اعتماد التكرارات والنسب المئوية كأداة إحصائية للتوصل إلى النتائج .

النتائج والمناقشة

يبين الجدول رقم (1) عدد الإصابات في مستشفى اليرموك التعليمي والكاظمية التعليمي والقادسية حيث يظهر من النتائج ان عدد الإصابات بحمى التيفوئيد هي (234) إصابة، وكانت أعلى نسبة إصابة عند الإناث (127) إصابة بنسبة (54.3%) أما عند الذكور فكانت (107) إصابة بنسبة (45.7%) ويتبين من الجدول ايضاً أن أعلى نسبة إصابة كانت في مستشفى الكاظمية حيث شكلت نسبة (36.8%) بينما كانت في مستشفى القادسية (33.8%) وفي مستشفى اليرموك كانت (29.5%).

ويظهر الجدول (1) أن الفئات العمرية الأكثر إصابة هي بين عمر (13-40) سنة حيث بلغت (35.9%) للإناث أما عند الذكور فكانت (27.3%) بالنسبة لباقي الفئات العمرية لسنة 2000. أما جدول رقم (2) فيبين عدد المصابين والنسب المئوية في المستشفيات الثلاثة اعلاه للفترة (1990-2000) حيث كان مجموع الاصابات (2620) إصابة وكانت أعلى مجموعة إصابة هي في مستشفى اليرموك حيث بلغت (931) أما في مستشفيات الكاظمية والقادسية فكانت (854) و (835) على التوالي ويتبين من الجدول اعلاه أن أعلى نسبة إصابة كانت سنة 1994 عندما بلغت (11.4%) بالنسبة للسنتين الباقيات حيث كان مجموع الإصابات (299) إصابة وفي مستشفى الكاظمية كانت أعلى نسبة إصابة وبلغت (12.6%) في تلك السنة بالنسبة للسنتين الباقيات .

أما جدول رقم (3) يبين النسب المئوية للذكور والإناث والاعمار في ثلاث مستشفيات للفترة (1990-2000) ويبين علاقة الجنس بالعمر حيث يظهر أن مجموع الإصابات كان (2620) إصابة منها (1276) عند الإناث بنسبة (48.7%) بينما عند الذكور كانت أكثر نسبة إصابة وبلغت (1344) بنسبة (51.1%). من هذه النتائج يتبين أن الذكور أكثر إصابة من الإناث أما بالنسبة للأعمار فيظهر أن الفئة العمرية (13-40) سنة كانت الفئة الأكثر إصابة في المستشفيات الثلاثة حيث كانت في مستشفى القادسية (49.5%) أما في مستشفى الكاظمية واليرموك فكانت (23.7%) و (23.5%) على التوالي ويلاحظ من الجدول اعلاه ارتفاع نسبة الاصابات من 1990 الى سنة 1994 حيث بلغت اعلى نسبة إصابة ثم انخفضت هذه النسبة لتبدأ بالارتفاع ثانية .

بدأ الاهتمام الحقيقي بالسالمونيلا في العراق خلال السبعينات ففي احدى الدراسات التي تمت في الفترة 1969-1971 جمعت 2546 عينة اسهال في مدينة بغداد وقد شخصت عزلة واحدة تعود للنوع *S.typhi* (13) ومن بين 1956 عزلة مسجلة في المركز الوطني للسالمونيلا جاءت بكتريا *S.typhi* بنسبة (21.5%) (14) وفي عام 1982 ساد النوع *S.typhi* على بقية انواع

السالمونيلا المعزولة من الانسان من مجموع 1390 عزلة وبنسبة (31.3 %) (15) وفي عام 1984 جاءت بالمرتبة الثانية بنسبة (16.6 %) (16) وفي دراسة اجرتها (17) لوباء السالمونيلا في العراق للفترة من (1985-1989) قدرت نسبة الاصابه بالسالمونيلا (5-7%) اصابه لكل 100,000 شخص سنويا وان من بين 3159 عزله شخصت في المركز الوطني السالمونيلا كانت نسبه عزل النوع *S.typhi* (38.9%).

تؤثر عوامل الازدحام السكاني و طبيعة المناخ و الوعي الصحي والحالة الاجتماعية على نسبة الاصابة بالسالمونيلا حيث وجد ان 4162 عزلة سالمونيلا من الانسان مسجلة للفترة 85-1989 كانت موزعة بنسبة (63.2%) في بغداد و (7.5%) في كل من محافظتي ميسان و واسط و (7.2%) في البصرة و (4.2%) في السليمانية و (2.9%) في صلاح الدين و (1.6%) في الموصل واقل من ذلك في بقية المحافظات (17). من العوامل المؤثرة ايضا على الاصابه ببكتريا *S.typhi* هي التغيرات الموسمي حيث وجد (18) و جماعته ان اكثر الاصابات بالسالمونيلا تحصل في اشهر الربيع في مدينة اربيل بينما لاحظ (19) أن أكثرها حدثت في اشهر الصيف والخريف في مدينة الموصل . ومن اهم العوامل الاخرى عمر العائل حيث تصيب البكتريا جميع الفئات العمرية ، ويكون الاطفال عرضه للاصابة بها اكثر من الكبار ، وبين (20) أن كل الفئات العمرية تكون عرضه للاصابة بالحمى التيفية وذلك من خلال دراستهم الوبائية التي اجريت على المرضى في ماليزيا .

كما أن متغير العمر والجنس له علاقه في الاصابه بهذا المرض حيث اكدت الدراسات وجود فرق كبير جدا في الاصابه بين الذكور والاناث ولاحظ (21) ان عدد الذكور المصابين اعلى من الاناث حيث بلغت الاصابات 60 عند ذكور مقابل 51 عند اناث . اما بالنسبة للعمر فيصاب الانسان بمختلف الاعمار الا انه يزداد لدى الرضع والاطفال دون سن الثانية كما يختلف انتشاره من منطقه الى اخرى في العالم وتزداد الاصابه عادة في الدول الفقيره لضعف المستوى المعاشي والاقتصادي والصحي (22) وفي دراسته من قبل منظمة الصحة العالميه سنة 1994 (23) بينت أن الفئات التي تصاب بالمرض تتراوح بين الاطفال والبالغين . اما الموسم فاشارت الدراسات الى ان الاصابات تزداد خاصه في موسم فصل الصيف حيث ترتفع درجات الحراره ويزداد نشاط الحشرات الناقلة للأمراض اضافة الى كثرة استخدام المياه والتي قد تكون ملوثة (24) ففي الدول الفقيرة تنخفض مستويات الخدمة العامة مثل توفير المياه الصالحة للشرب وتحسين طرائق تصريف المياه القذرة واعتماد بعض المجتمعات على مياه الابار مما يؤدي الى تلوث المياه بالاحياء المجهرية (25)

ان اكثر اصابة بالمرض حمى التيفيه هم من الشباب باعمار (13-40) سنه وان الاناث اكثر اصابه من الذكور و وهذا دليل على أن المرض يصيب الذكور والاناث ومنهم الشباب بصورة خاصه نتيجة العوامل المذكوره من تغير موسمي والفقر وتردي الحاله المعاشيه والصحيه .

5

الإناث = 127 نسبية 54.3%	الذكور = 107 نسبية 45.7%
♀ = 127 النسبة المئوية = 54.3%	♂ = 107 النسبة المئوية = 45.7%

جدول 2- عدد المصابين بمرض الحمى التاييفية والنسبة المئوية في ثلاث مستشفيات للفترة (1990-2000).

المستشفى	الكاظمية		اليرموك		القادسية		المجموع	النسبة %
	عدد المصابين	%	عدد المصابين	%	عدد المصابين	%		
1990	34	4.0	46	4.9	27	3.2	107	2.8
1991	83	9.7	103	11.1	96	11.5	282	10.8
1992	86	10.1	102	11.0	81	9.7	269	10.3
1993	65	7.6	97	10.4	109	13.1	271	10.3
1994	108	12.6	107	11.5	84	10.1	299	11.4
1995	67	7.8	89	9.6	90	10.8	246	9.4
1996	66	7.7	92	9.9	83	9.9	241	9.2
1997	69	8.1	83	8.9	66	7.9	218	8.3
1998	91	10.7	67	7.2	69	8.6	227	8.7
1999	99	11.6	76	8.2	51	6.1	226	8.6
2000	86	10.1	69	7.4	79	9.5	234	8.9
المجموع	854		931		835		2620	
%	32.6		35.5		31.9			

جدول 3- يبين النسبة المئوية للذكور والإناث والأعمار في ثلاثة مستشفيات للفترة (2000-1990)

م ك	مستشفى القاسية												مستشفى البرموك												مستشفى الكاظمية												الجنس	السنة
	الفئة العمرية						الفئة العمرية						الفئة العمرية						الفئة العمرية																			
	م		40		40-13		12-1		%		م		40		40-13		12-1		%		م		40		40-13		12-1		%									
	%	اكتر	اكثر	9	6	1.9	18	-	13	5	1.9	17	اكثر	40	40-13	12-1	%	اكثر	40	40-13	12-1	%	اكثر	40	40-13	12-1	%	اكثر	40	40-13	12-1							
50	1.7	15	-	9	6	1.9	18	-	13	5	1.9	17					17															♀	1990					
57	1.4	12	1	10	1	3	28	8	18	2	1.9	17	3	10	4		17	3	10	4											♂	1990						
119	4.5	38	3	27	8	4.5	42	2	32	8	4.6	39	4	32	3		39	4	32	3											♀	1991						
163	6.9	58	9	35	14	6.5	61	14	38	9	5.1	44	3	29	12		44	3	29	12											♂	1991						
156	4.8	40	1	27	12	5	47	6	29	12	4.6	39	8	24	8		39	8	24	8											♀	1992						
143	4.9	41	3	31	7	5.9	55	6	38	11	5.4	47	4	34	9		47	4	34	9											♂	1992						
157	6.2	52	8	29	15	5.5	52	10	31	11	2.7	23	5	17	2		23	5	17	2											♀	1993						
144	6.8	57	11	34	12	4.8	45	5	30	10	4.9	42	2	28	12		42	2	28	12											♂	1993						
136	4.7	39	2	26	12	4.9	46	3	27	16	6	51	3	45	3		51	3	45	3											♀	1994						
163	5.4	45	6	23	13	6.5	61	10	36	15	6.6	57	-	48	9		57	-	48	9											♂	1994						
98	4.9	41	4	21	16	2.6	24	4	18	4	3.9	33	4	26	3		33	4	26	3											♀	1995						
148	2.8	49	4	25	20	7	65	3	47	14	4	34	3	25	6		34	3	25	6											♂	1995						
112	5.1	43	9	29	5	4	37	6	28	3	2.7	32	1	29	2		32	1	29	2											♀	1996						
129	4.8	40	3	21	16	5.9	55	4	38	13	4	34	9	19	6		34	9	19	6											♂	1996						
96	3.2	27	3	20	4	3.9	36	7	28	1	3.9	33	3	27	3		33	3	27	3											♀	1997						
122	4.7	39	4	24	11	5	47	9	32	6	4.2	36	-	28	8		36	-	28	8											♂	1997						

يتبع جدول -3

	مستشفى القاسمية										مستشفى البرموك										مستشفى الكاظمية										السنة	الجنس
	الفئة العمرية										الفئة العمرية										الفئة العمرية											
	الفئة العمرية										الفئة العمرية										الفئة العمرية											
	م ك	%	م	اكتر	40	40-13	12-1	%	م	اكتر	40	40-13	12-1	%	م	اكتر	40	40-13	12-1													
111	4.9	41	3	25	13	1.9	18	5	11	2	6.1	52	6	36	11					1998	♀											
116	3.3	28	1	17	10	5.3	49	7	33	9	4.6	39	5	23	11						♂											
116	3.6	30	5	19	6	3.5	33	8	19	6	6.2	53	11	29	13					1999	♀											
110	2.5	21	-	16	5	4.6	43	3	28	12	5.4	46	3	33	10						♂											
127	4.5	38	4	21	13	4.1	38	8	27	3	6	51	10	36	5					2000	♀											
107	4.9	41	2	22	17	3.3	31	2	16	13	4.1	35	-	26	9						♂											
2620	100	835	89	511	236	100	931	130	617	185	100	854	87	621	149	المجموع																
100	%	31.8	1.1	49.5	9	%	35.5	5	23.5	7	%	32.6	3.3	23.7	5.7																	

مجموع الإناث = 1276 نسبة 48.7
مجموع الذكور = 1344 نسبة 51.1

نسبة مئوية = % ، ذكر = ♂ ، أنثى = ♀ ، مجموع = م
مجموع كلي = م ك ، لا يوجد = -

ردا صمدا

1. Bhatia,R,and pujani,R.L.Essential of Medical microbiology (jaypee) chapter(40).p.370-376,(1994).
2. Mims C.A playfair ,J.H.Roitt,I.MWaklin – D,William ,Rand Anderson,R.M Medical microbiology M.Mosby .st, Louis Baltimore ,Boston, Chicago, London ,Toronto .(1993).
3. Saleh,D.-S,Study on Enteric-cam-cytobacter Isolates from Diarrhea. Cases in children .ph D.thesis .College of Science University of Baghdad ,Iraq,(1993).
4. Harrison's . Principle of Internal MD,kurk.J,Isselbacher ,AB ,MD,Jean D,wilson ,MD,Daunl,long ,AB,MD,FACP,Vol2(c) 1998 unitted clinial of Amrica .vol2 (650-662) (1998).
5. Baron , E.J; Chang , R.S- Haward ,D, Miller ,J-N- and Turner , J.A , Medical Microbiology : Ashort Course , Copy Right , (1994).
6. Baron,S-Medical Microbiology , 3ed , Charchill , living stone , New York , London , Edinburg , Melbourne , Tokyo , (1991).
7. Bhutta ,Z-A Impact of age and Drug –Resistance on Mortality in Typhoid fever Arch .Dis, Chilal 75 (3) :214 –217 (1996) .
8. Hawkey , P.M. and Lewis ,AD.Medical bacteriology aparctial approach , Ox ford , New york Tokyo .P.21.24.(1989)
9. سلطان , اسماء احمد حاتم , تأثير مستخلصات قلف وثمار نبات الجوز *Juglans regia* على نمو البكتريا المرضية و الفطريات المسببة للالتهابات الجلدية مختبرياً وعلى حيوانات الاختبار , رسالة ماجستير / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية , سنة (2004).
10. الموسوي , بتول كاظم سلمان , عزل وتشخيص بعض البكتريا السالبة لصبغة كرام من خمجات جروح العمليات الجراحية , دراسة التأثير الخلطي للمضادات الحيوية (دراسة وراثية) رسالة ماجستير كلية العلوم / الجامعة المستنصرية , سنة (2000).
11. التميمي , راند عادل حنون , تأثير مستخلصات نباتي بقلة الملك والشوك على بعض مسببات الامراض الجلدية من البكتريا والفطريات , رسالة ماجستير كلية العلوم الجامعة المستنصرية (2001).
12. Gupta ,S. The short text book of pediatrics . 7th Jaypee , Brothers medical publishers (p) Ltd (1996).
13. World Health orgaization *Salmonella* surveuallance central public Health lab .calindale,Avence London, (1980)

14. World Health organization .(*Salmonella* surveillance central puplic Health Lab calindal Avence London (1982) .
15. World Health organization *Salmonella* surveillance central Puplic Health Lab calindal Avence London (1984).
16. AL-Hayli G.M.Y. *Salmonellosis in Iraq ,A.Five year among in fants and young children in Mosul* Msc.Thesis Mosul University,Iraq(1993).
17. Al-Hindawi,N,Al-Dujaily,A,AL-Jassim,B,A,andDizace J,K, (*Salmonella, Shigella and Esherichiae coli* Associated with infantile Gastroenteritis and Diarrhea in Erbil city Iraq ,J.B.S.B.17(3):173-183(1986)
18. علي، ذكرى سليم دراسة بكتريا السالمونيلا المرتبطة باسهال الاطفال استخلاص بعض مركباتها المستضدية اطروحة ماجستير لكلية العلوم لجامعة الموصل ص 99 (1992) .
19. Nucssh-Iderbinen , M,T: Kayser, F.Hand Hacker H. Survey and Molecular Genetics of SHV B-Pactamase in Entro bacteriaceae in Switzerland , Two novel enzymes SHV-H. and SHV-12- Antimicrobial agents and chemo therapy .41(5) 943-949,(1997).
20. YapS;Y,F,and Pathuchaery, SD, Typhoid fever in children Aretrospective study of 54 cases from Malaysia Singapore.Med. J.34(6):260-263(1998).
21. AL-Nakshabendy, T.Y. Rotavirus gastroenteritis among infants and young. Children in mosal .M.SC.thesis Mosule University, Iraq . (1993).
22. المشهداني ، وليد شمس حسين عزل وتشخيص بعض مسببات الاسهال الميكروبي ومقاومة عزلات البكتريا للمضادات الحيوية وانتاج انزيمات البتاكاتاميز كاطروحة ماجستيركلية العلوم الجامعة المستنصرية(2000).
23. منظمة الصحة العالمية (تقرير المدير العام من جمعية الصحة العالمية الى الامم المتحدة اعمال منظمة الصحة العالمية فترة السنتين (1992-1993) جنيف(1994) .
24. Al-Nakshabendy , T.Y.Rota virus gastroenteritis among infants and young children in mosul , M .Sc . thesis Mosul University , Iraq ,(1993).
25. عاكف ، ورود كمال عاكف دراسة مقارنة لالتهابات المجاري البولية المتسببة عن البكتريا و تأثير نبات الزعتر عليها و على أنسجة الجهاز البولي رسالة ماجستير ،كلية العلوم الجامعة المستنصرية (2003).

مقارنة دراسة اهم انواع ملقحات النحل من فوق عائلة Apoidea الملقحة لنبات الجت *Medicago sativa* alfalfa في محافظة بابل

*يدر محمد العزاوي ، **سهاد حميد حسن ، *** علي شعلان الاعرجي

*قسم علوم الحياة/ كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

**قسم علوم الحياة/ كلية العلوم / جامعة الكوفة

***قسم علوم الحياة/ كلية العلوم / جامعة بابل

تاريخ تقديم البحث 2007/9/5 - تاريخ قبول البحث 2007/11/28

ABSTRACT

Thirteen fields of alfalfa *Medicago sativa* were selected from certain region in Babylon governorate, the standard insect net was used to collect 185 samples.

The result classified about 47 species, 18 genus under 6 families of the super family Apoidea. These families were Megachilidae, Halictidae, Anthophoridae, Andrenidae, Ctenoplectridae, Apidae. The families of Apoidea that have been collected were compared according to the number of species, number of species, number of genera and density of individual of each taxonomic group. It was found that the families Halictidae and Megachidae were the highest in the number of species, genera and density of individual compared with other families represented 44.6%, 27.6% of total number of species.

The female numbers of species was more than males in all family. The ten alfalfa pollinators species were selected according to their densities, consistence and easily recognized, these were include *Nomia* sp.2 (*N. mortoni*), *Nomia melanderi*, *Halictus ligatus*, *lasioglossum pilosus*, *Nomioides vareigata*, *Homalictus* sp., *Megachile rotundata*, *Megachile* sp2. (*M. latimamus*), *Megachile* sp.4 (*M. texana*) and *Apis mellifera*.

The ten selected pollinators were compared according to the average pollen load, the percentage of alfalfa pollen grain in the pollen load, body weight, length of proboscis, visit duration /s, visit frequency /m.

It was found that six species pollinators within the ten selected species of Apoidea were significantly more active in most of the efficiency factors, these were *Nomia* sp.2, *N. melanderi*, *Megachile rotundata*, *M.sp2.*, *M.sp4.*, and *Apis mellifera*.

The females species of *M.sp2.*, *M.sp4.*, and *Nomia melanderi* loaded (34.3, 31.5, 32.6) pollen grain respectively. The selected pollinators varied in number of pollen grain in various months. The highest pollen load of females *M. rotundata* was (52.0, 50.8) pollen grain in July and August respectively. The results illustrated that significant variation in body weight of selected species. The selected species grouped into big, medium and small group between body weight and pollen load of pollinators).

The result also showed that the flowers of Alfalfa crop were visited by two grouped of bee which were long tong used bees with the percentage (49%), and short-tong used bees with percentage of (51%) of total number of species.

The highest average proboscis length was reached to 4.34mm for *A. mellifera*, while the lowest average was reached to (1.55mm) for *Nomia* sp.2. The results appeared that the selected pollinators were significantly differences in the visit duration to the flowers. The lowest average of visiting duration of

بدر وسهاد و علي

the pollinators was reached to 2.22 second for *M.rotundata* followed by *Nomia melanderi* was reached 3. S.

It was found that the visiting duration of pollinators was correlated negatively with visit frequency per unit. The species *N. rotunde* has highest visiting frequency reached to 22.2 visit/m, while the lowest visiting frequency was reached to 11 visit /m by *Nomia Sp.2*.

الخلاصة

لقد تم في هذه الدراسة اختيار 13 حقلاً من حقول الجت في محافظة بابل وقد استخدمت شبكة صيد الشبكة الكانسة لآخذ العينات والتي بلغ عددها الكلي 185 عينة وقد تم تشخيص 47 نوعاً فقط وتعود إلى العوائل Anthophoridae و Hatictidae و Megachilidae و Apidae و Ceteplectridae و Andernidae . قورنت عوائل النحل تبعاً لعدد الاجناس وعدد الانواع والكثافة الكلية لكل منها وقد وجد ان عائلة Halictidae و Megachilidae كانتا الاكثر وفرة في عدد الانواع والاجناس وكثافة الافراد مقارنة مع العوائل الاخرى وقد شكلت نسبة 44.6% و 27.6% من العدد الكلي للأنواع وقد تفوقت نسبة الاناث على نسبة الذكور في معظم العوائل. وقد اختبرت عشر انواع من الملقحات على اساس كثافتها وتواجدها وهي:

Nomia melanderi, *Nomia sp2*. (*N.nortoni*), *Nomioides variegata*, *Lasioglossum pibus*, *Halictus ligatus* , *Megachile rotundata* *Homalictus sp1*. (*H.rowlandi*), *Apis mellifera*, *Megachile sp4* (*M.texana*) *Meyachile sp2* (*M.latimarnus*).

الملقحات العشرة السابقة تم دراسة مقارنة سلوكها في الحقل حيث شمل معدل عدد حبوب اللقاح التي تحملها، وزن الجسم/ملغم (حجم)، طول الخرطوم/ملم ومدة بقاءها على الزهرة/ثانية وعدد الانتقالات الدقيقة.

واظهرت النتائج ان هناك ستة انواع من النحل قد تفوقت في معظم نواحي الكفاءة المنتخبة وهي *M.rotundata* و *M.sp2* و *M.sp4* و *N.melanderi* و *N.rotunda* و *A.mellifera* فقد حمل اناث الانواع *M.Sp2* و *M.Sp4* و *N.melanderi* عدد حبوب اللقاح (34.3 و 32.6 و 31.5) على التوالي. واختلفت معدلات اعداد الحبوب التي تحملها الملقحات باختلاف شهور الدراسة فقد كان اعلى معدل عدد حبوب اللقاح المحمولة في شهر تموز وآب وكان اناث النوع *M.rotundata* قد حملت اعلى عدد من حبوب اللقاح مقارنة بالانواع الاخرى حيث بلغت (52.0 و 50.8) حبة لقاح خلال شهر تموز وآب.

وبينت النتائج بوجود فروق معنوية واضحة بين اوزان الانواع المدروسة وقد قسمت الانواع إلى ثلاثة مجاميع (مجموعة كبيرة، ومتوسطة وصغيرة الاوزان). وهناك علاقة ارتباطية موجبة بين وزن الجسم ومعدل عدد حبوب اللقاح التي تحملها هذه الملقحات واظهرت النتائج ان ازهار الجت تزار بمجموعتين من النحل حسب طول الخرطوم وهي مجموعة النحل طويل اللسين بنسبة (49%) ومجموعة النحل قصير اللسين بنسبة (4.34%) ولم يبلغ اكبر معدل لطول اللسين (4.39) ملم لنحل العسل *A.mellifera* وكان اقل معدل لقصر اللسين 1.55 ملم للنوع *Nomia sp2* مقارنة بالانواع الاخرى ووضحت النتائج ان الملقحات المنتخبة قد اختلفت في مدة بقائها على ازهار الجت حيث اقل مدة بقاء للنوع *M.rotundata* على ازهار محصول الجت بلغت 2.22 ثانية واعلى مدة بقاء للنوع *N.melanderi* 3 ثانية ونلاحظ ان عدد الانتقالات قد ارتبط عكسياً مع مدة بقائها فقد سجل النوع *M.rotundata* اكبر عدد لانتقاله على محصول الجت حيث بلغت 22.2 انتقاله/د واقل عدد انتقالات بلغ انتقاله 11/د للنوع *N.Sp2*.

المقدمة

تعتبر الملقحات الحشرية من اهم الملقحات للنباتات الزهرية حيث وجد بأن 67% من انواع النباتات الزهرية المعروفة يعتمد نجاح تلقيحها بشكل اساسي على الحشرات وبالاخص النحل (Bumble bees) (1) وقد اكد (2) ان انواع النحل فوق عائلة Apoidea تشكل القسم الاكبر والاهم من هذه الحشرات.

يعتبر محصول الجت Alfalfa من محاصيل العلف البقولية المهمة في اكثر مناطق العالم (3) وتحمل سيقان الجت عند مرحلة الازهار ونورات زهرية عنقودية مؤلفة من 10-

100 زهرة، توصف هذه التزهير بأنها عديمة التوافق الذاتي (3) وبذلك فان تلقيح الازهار بهذه الحالة يكون تلقيحاً خلطياً ويمكن ان تساهم الحشرات وخصوصاً النحل في تلقيح هذه الازهار حيث بين (4) نسبة التلقيح الخلطي في ازهار الجت بين (84-91)%. وقد بين (5) بأن ازهار الجت من الازهار الغنية في انتاج الرحيق حيث ينتج (4000) غم من الجت رحيقاً بحوالي (416-1933) بلوند.

تعتبر حشرات النحل التي تقع جميعها في فوق عائلة النحل Apoidea من اكثر الانواع تطوراً ويقدر عدد الانواع المسجلة في العالم من النحل التابع لها بحوالي 30000 نوع. وقد وضع العديد من الباحثين نظاماً تصنيفياً إلى فوق عائلة مثل (6) و(7) حيث قسمت فوق عائلة Apoidea إلى سبع عوائل وكل عائلة تحتوي العديد من الاجناس والانواع وقد امتاز النحل فوق عائلة Apoidea بعدة صفات تركيبية وسلوكية مثل (وجود الشعر المتفرع والتغذي وتحور الجزء القاعدي من الرسغ وبناء الاعشاش) مما يجعلها تشكل وحدة تصنيفية مميزة عن بقية الانواع (8) وقد درس الباحثين كفاءة الملقحات التي تتضمن الوفرة (9) وكمية حبوب اللقاح المحمولة (5) ومدة الزيارة (10) وعدد الانتقالات (11) وازالة حبوب اللقاح والاتصال بالميسم

(12) ووزن وحجم جسم الملقح (13) حيث وجد (9) ان كفاءة الملقحات معروفة بتغايرها مع وفرة الملقحات عبر السنين. ووجد (12) هناك ربط بين فعالية الحشرات في تلقيح النبات وكمية ما تحمل من حبوب اللقاح على اساس ان الحشرة التي تحمل اكبر كمية من حبوب اللقاح تكون قد زارت عدداً اكبر من الازهار.

وقد بين (13) ان الاختلاف في حجم جسم النحل يؤثر في نسبة عدد الازهار التي يزورها. وبين (26) ان وزن النحلة يؤثر تأثيراً كبيراً في كفاءة التلقيح وذكر (9) ان نجاح التلقيح يتناسب طردياً مع زيادة عدد انتقال ملقحات النحل بين ازهار (Apocynaceae). وكان الهدف من الدراسة تشخيص الانواع المهمة من نحل فوق عائلة Apoidea التي يكون لها دور كبير في زيادة نسبة التلقيح في ازهار الجت في جمع الرحيق وحبوب اللقاح وتحديد كفاءة بعض الانواع اعتماداً على سلوك الملقحات التي تضمن معدل حبوب اللقاح المحمولة ووزن الجسم وطول الخرطوم ومدة بقاء الملقح على الازهار وعدد انتقالات الملقح بين الازهار.

المواد وطرق العمل

اختيرت 6 حقول للجت في مركز الحلة و 3 حقول في قضاء المحاوليل و 4 حقول في قضاء الهاشمية وتراوحت مساحة الحقل الواحد 1-8 دونم بينما تراوح عمر المحصول بين 1-3 سنة وقد اختلفت الحقول المشمولة بها الدراسة من حيث الموقع وانواع المحاصيل المحيطة بها.

لقد استخدمت شبكة صيد الحشرات لجمع النماذج ذات قطر 25 سم وطول حامل الشبكة الكانسة 80 سم وكانت مدة جمع العينات بين الساعة 4:30 - 2:30 صيفاً ويتم اخذ العينات من الحقول التي لا تقل نسبة الازهار فيها عن 50% وقد استخدمت طريقة (15) في جمع العينات. وتم افراغ محتويات الشبكة في كيس قماش (15 × 20) سم² وجمعت الاكياس بعد الانتهاء في صندوق كارتون ونقلت إلى المختبر. تم اخذ العينات من حقول الجت خلال يومين في كل اسبوع وبدأت عملية جمع العينات في شهر مايس 2004 وانتهت بنهاية تشرين الاول للعام نفسه خلال موسم تزهير الجت. بعد نقل العينات إلى المختبر تم نقل الحشرات بطريقة التجميد أو باستخدام سيانيد البوتاسيوم الموضوع في مرطاب زجاجي محكم الغلق ثم افرغت محتويات الكيس على ورق ابيض لتسهيل ملاحظة الحشرات وعزل النحل عن بقية الانواع الحشرية ثم جمعت في اطباق بتري باستخدام ملقط صغير لغرض تشخيصها حيث حفزت في صناديق

بدر وسهاد و علي

خاصة بعد تحميلها بواسطة الدبابيس معدة لهذا الغرض وعلم كل نموذج بورقة صغيرة فيها رقم النموذج ورقم العينة وتاريخ جمعها ومنطقة الجمع. تم تشخيص النماذج في متحف الحشرات لكلية العلوم/ جامعة بابل وشخصت عوائلها واجناسها وانواعها (4) وعلى اساس المصادر المتوفرة (7) و(16) أو مقارنتها مع نماذج مشخصة في متحف الحشرات الموجود في متحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد كما عزلت الذكور عن الاناث اعتماداً على الة وضع البيض.

وبناء على النتائج والملاحظات الحقلية تم اختيار 10 انواع من الملقحات لمحصول الجت والتي كانت اكثر انتشاراً واكثر تكراراً حيث تم دراسة سلوك هذه الانواع ومنها:

1. حساب معدل عدد حبوب اللقاح المحمولة بواسطتها: حيث جرى مراقبة وملاحظة هذه الانواع بين الساعة 9:30- 12:30 صباحاً وتم صيدها بواسطة شبكة الصيد ذاتها بواقع 10 مكررات لكل نوع ولكل جنس ذكوراً واناثاً من الحقول القريبة المتواجدة. تم زيارة الحقول 5 مرات في الشهر ثم جرى قتل الملقح باستخدام قنينة قتل كبيرة ثم ينقل إلى قنينة زجاجية صغيرة و (2×8) سم² حاوية على حامض الكبريتيك المركز. ثم تغسل الملقحات عن طريق رج القنينة يدوياً لغرض تحرر حبوب اللقاح. وبعد انتهاء عملية الغسل تجري عملية ترسيب حبوب اللقاح باستخدام الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة ولقد تم التخلص من جزء العالق المتكون فوق الراسب باستخدام ماصة باستور وبقاء 1 مل. ثم رج المحلول المتبقي لغرض مجانسته واخذت منه قطرتان ووضعتا في شريحة عد طرائق الدم Haemocytometer وبعد تثبيت غطاء الشريحة بالشكل الملائم تم استخدام المجهر الضوئي المركب وعند قوة تكبير 10% يتم حساب العدد الكلي لحبوب اللقاح في الراسب وحسب طريقة (17) حيث جرى حساب عدد حبوب اللقاح في اربعة مربعات كبيرة ولكل مربع في زاوية ولمرتبتين وبقسمة المعدل على 4 فإن الناتج يمثل عدد حبوب اللقاح في مربع واحد وهذا يعني عددها في حجم مقداره 0.0001 سم³ (حجم المربع الواحد) ولحساب عددها في 1 سم³ فقد تم ضرب العدد في 10⁴. وقد تم عد حبوب اللقاح والنسبة المئوية باستخدام العداد البصري وتم تشخيص حبوب اللقاح على اساس الاشكال (18) و(19).

2. وزن الجسم (بالحجم): اعتمدت طريقة (6) حيث استعويض عن قياس الوزن باستخدام الميزان الحساس بقياس طول اقل مسافة خطية بين قطعتي Tequilas وتركيب يغطي قواعد الاجنحة في منطقة الصدر باستخدام مجهر التشريح نوع Hamilton ومسطرة القياس Oculormicrometer وعلى قوة X16 وحسب المعادلة الآتية: $Y=0.77(X)^{0.45}$ وقد تم قياس الوزن للانواع المنتخبة حسب المعادلة اعلاه بواقع 10 مكررات لكل نوع واختيرت هذه النماذج عشوائياً من النماذج الجافة.

3. طول الخرطوم: تم اختيار 10 نماذج ممثلة لكل نوع من الانواع المنتخبة من ضمن النماذج الجافة وعلمت بارقام معينة وثبتت على قطعة فلين ثم وضعت في مرطاب حاوي على كمية من الرمل الرطب. بعدها اخذت نماذج رطبة وتم فصل الرأس بواسطة ملقط دقيق ووضع في محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH وبتركيز 10% ولمدة ترواحت بين 1-3 يوم وتم خلال المدة فصل الخرطوم عن اجزاء الفم وازالة الانسجة الاجسام الدهنية وحبوب اللقاح وعند نظافة الخرطوم يغسل بالماء المقطر وينقل إلى سلسلة من تراكيز محلول الكحول الايثيلي 10% و 70% و 99% ومن ثم يثبت الجزء المحضر على شريحة زجاجية بواسطة محلول كندا بلسم وغطاء الشريحة ثم تركت الشريحة على صفيحة حارة لمدة نصف ساعة عند حرارة 30⁰م. وينحصر الجزء المدروس تحت مجهر التشريح نوع Wild M₃ على قوة X16 (2).

4. مدة بقاء الملقح على الزهرة /ثانية: اجريت التجربة خلال شهر تموز بين الساعة 9.00 صباحاً- 2.00/ بعد الظهر واستخدمت دقة الملاحظة بواسطة العين وساعة توقيت وقد تم زيارة الحقول 10 مرات خلال مدة الشهر وفي منطقة نسبة الازهار فيها 40% في دائرة نصف قطرها 3م وقد سجلت بقاء الملقح على الزهرة بالثانية بواقع 10 مكررات /نوع من انواع

الملقحات الاناث ويتم صيد النحل بالشبكة وحفظه في قنينة ونقله للمختبر للتأكد من تشخيصه (20).

5. عدد انتقالات الملقح بين الازهار/دقيقة: اجريت هذه التجربة بنفس الطريقة والظروف المناخية للتجربة السابقة حيث استخدمت دقة ملاحظة الباحث وعداد يدوي وساعة توقيت لحساب عدد الازهار التي تزورها الانواع المنتخبة من الملقحات في حقول الجت خلال الدقيقة الواحدة بواقع 10 مكررات /نوع من انواع الملقحات (الاناث) في دائرة نصف قطرها 3م (20).

التحليل الاحصائي

حللت النتائج وفق نموذج التجارب العالمية باستخدام التصميم التام التعشيرية (Factorial experimental with for plate randomized design) وتم استخدام اختبار اقل فرق معنوي (Least Significant Differences) LSD على مستوى احتمال (0.05) لاختبار معنوية الفروق بين المعاملات حولت النسب المئوية إلى قيم زاوية لادخالها في زاوية لادخالها في التحليل الاحصائي (21).

النتائج والمناقشة

تبين النتائج الواردة في الجدول (1) التركيب التصنيفي للانواع التابعة إلى فوق عائلة Apoidea حيث تم تشخيص 47 نوعاً تعود إلى 18 جنساً تحت 6 عوائل. وكان المعدل الكلي لكثافة افراد عائلة Apoidea هو 12.87 فرد/50م² وكانت عائلة Halictidae و Megachilidae الأكثر غزارة بالانواع مقارنة مع بقية العوائل الأربعة الأخرى من مجموع ستة عوائل حيث كانت نسبة الانواع (44.68 و 27.66%) على التوالي من العدد الكلي للانواع. وقد تفوقت نسبة اعداد الاناث مقارنة مع عدد الذكور في جميع العوائل ما عدا عائلة Ctemplectridae التي ارتفعت فيها نسبة الذكور. وكانت كثافة عائلة Halictidae الأكثر وفرة مقارنة مع بقية العوائل وشكلت نسبة 66.59% ثم عائلة Megachilidae 21.91%. تتميز النتائج بان مجموعة انواع النحل لفوق عائلة Apoidea في حقول الجت إلى مدى التنوع الحيوي Biodiversity لهذه المجموعة من النحل والتي تساهم العديد من انواعها في عملية التلقيح وقد اشار (7) إلى نفس النتائج بوجود سبع عوائل التي تمثلها فوق العائلة والتي لا تكون متماثلة من حيث عدد الانواع والكثافة.

ان تفوق عائلة Megachilidae و Halictidae على بقية العوائل في عدد الانواع والكثافة يعود إلى توفر احتياجات هذه الانواع من محصول الجت وان المعروف في جميع انواع فوق عائلة Apoidea ان الاناث وحدها هي التي تقوم بجمع حبوب اللقاح والرحيق وان تواجد الذكور مع الاناث في الحقل لغرض التزاوج فقط وانما تتغذى بواسطة الغذاء المخزون داخل الخلية كما اشار اليه (4) وان تغير الكثافة ووفرة النحل في هاتين العائلتين يعود إلى التغيرات النسبية في جاذبية النبات وان هناك علاقة وثيقة بين زيادة كثافة النحل الزائر وكمية نوعيته. لذلك كان انواع عائلة Halictidae و Megachilidae أكثر من بقية انواع العوائل الأخرى في عملية تلقيح محصول الجت (22).

الانواع المنتخبة

لقد تم انتخاب 10 انواع من النحل التي تعود إلى عوائل Megachilidae و

Halictidae و Apidae هي:

Nomia sp2. (N.nortoni), Nomia mclanderi, H. ligatus, Lasioglossum pibus, Nomioides variegata, Homalictus sp1. (H.rowlandi), Meyachile sp2 (M.latimarnus), M. rotundata, M.texana, Apis mellifera

بدر وسهاد و علي

ولغرض دراسة سلوكها الحقلية والذي تضمن:

1. معدل عدد حبوب اللقاح والنسب المئوية لحبوب لقاح الجت فيها: توضح النتائج الواردة في الجدول (2) ان معدل عدد حبوب اللقاح المحمولة بواسطة اناث انواع النحل في حقول الجت فقد اختلفت معدلات اعداد حبوب اللقاح معنوياً باختلاف الانواع الملقحة وتميز النوع *M.rotundata* بحمله لأكبر معدل لعدد حبوب اللقاح حيث بلغ (49.7) حبة لقاح تلتها الانواع *Megachila sp.2* و *N-melanderi Megachila sp.4* إذ كان معدل عدد ما حمل كل منهم من حبوب اللقاح (34.3 و 32.6 و 31.5) على التوالي. أما اقل معدل عدد ما حمل لحبوب اللقاح فقد حمله كل من النوع *N.Vareigata* والنوع *Homalictus* حيث بلغ (1.8 و 2.6) حبة لقاح على التوالي.

كما ان معدل حبوب اللقاح المحمولة بواسطة اناث الملقحات قد اختلف معنوياً باختلاف شهور الدراسة ($P=0.05$). وقد تميز كل من شهري تموز وآب عن بقية الشهور بارتفاع نسبة حبوب لقاح الجت في حمولة حبوب اللقاح لاناث انواع الملقحات المبينة في الجدول وقد وصلت اعلى نسبة 100% في تموز كل من الانواع *M.rotundata* و *N.melanderi* تبعها كل من *Megachile sp.4* و *A.mellifera* إذ كان معدل نسبة ما حمله من حبوب لقاح الجت في تموز (88.1 و 75%) على التوالي أما في شهر آب فكانت نفس الانواع ومعدل نسبة ما حمله مشابهة لشهر تموز.

تشير النتائج ان بعض الانواع تحمل اكبر عدد من حبوب اللقاح لذلك تكون اكثر قدرة على نقل اكبر كمية وذلك تكون اكثر كفاءة وخصوصاً في فصل الصيف وهذه النتائج مطابقة لما جاء به (23) حيث بين ان النوع *M.rotundata* وهو من الانواع المفضلة لازهار الجت وذو فعالية قوية في فصل الصيف. وقد اكد الباحثين ان الاختلاف في عدد حبوب اللقاح التي تحمله الملقحات يعزى إلى اختلاف الملقحات تصنيفاً أو جنسياً أو اختلافات في سلوك الجمع (24).

أما بالنسبة لمعدل عدد حبوب اللقاح المحمولة بواسطة الاناث والتي تزداد في شهر تموز وآب وذلك يعزى لزيادة فعالية النحلة وملائمة الظروف البيئية من درجة حرارة ورطوبة لها حيث تقوم بجمع اكبر عدد من حبوب اللقاح وهذا يتفق مع ما وجدته (25) إذ ان نشاط الملقحات في جمع حبوب اللقاح يختلف باختلاف اشهر السنة.

2. وزن الجسم (بالحجم): يوضح الجدول (3) بان اناث النحل كانت اكبر حجماً مقارنة مع الذكور فقد بلغت اعلى معدل وزن الاناث 18.32.

أما اقل معدل للوزن فقد كان اناث *N.vareigata* حيث بلغ 1.17 ملغم، أما بالنسبة للذكور فقد بلغ اعلى معدل للوزن في ذكور *M.rotundata* حيث وصل إلى 11.77 ملغم تلتها ذكور كل من نوع *N.melanderi* و *Nomia sp.2* و *Megachile* حيث بلغ وزن كل منها (6.22 و 6.16 و 5.87) ملغم على التوالي. وقد دلت النتائج إلى وجود فروق معنوية بين الذكور والاناث وقد قسمت حسب الوزن إلى كبيرة ومتوسطة الحجم وصغيرة الحجم. أي هناك اختلاف واضح في احجام الملقحات وهذا يتفق مع ما ذكره (26) حيث ان حجم الجسم يختلف من نوع لآخر وتفاوت حجم الجسم الاناث 99% عن الذكور.

ان لقياس حجم جسم الملقح اهمية في احداث ميكانيكية التلقيح فالانثقل هو الاكفأ في تسليطه ضغطاً على الجؤجؤ مؤدياً إلى ابراز المياسم والمتوك (13).

ان الاختلاف في الحجم يرجع أما للاختلاف في الاحتياجات الغذائية أو سلوك بناء الاعشاش فالانواع التي تبني اعشاشها فوق الأرض تكون أكثر تنوعاً في الحجم من التي تبني اعشاشها داخل الأرض (27). وقد وجد ان هناك علاقة ارتباطية بين حجم الجسم وعدد حبوب اللقاح المحمولة.

3. طول الخرطوم: يوضح الجدول (4) ان ازهار الجت تزار بمجموعتين من النحل حسب طول اللسین هما مجموعة النحل طويل اللسین ومجموعة النحل قصير اللسین. ويظهر ان النوع

A.mellifera كان من مجموعة طويل اللسين حيث طوله 4.34 تلاه النوع *M.rotundata* و *Megachil sp.4* و *Megachile sp.2* بلغ طول اللسين (4.10 و 3.23 و 2.88) ملم على التوالي أما الانواع قصيرة اللسين وهي *N.melanderi* و *Nomia sp.* و *H.ligatus* و *L.pilosus* و *Hamalictus sp.1* و *N.Varcigata* فقد بلغت اطوال لسيناتها (1.81 و 1.55 و 1.28 و 1.21 و 0.93 و 0.87) ملم على التوالي.

4. معدل بقاء الملقح على الزهرة (ثانية): وتشير النتائج في جدول (4) بوجود فروق معنوية واضحة ($P=0.05$) في مدة بقاء الملقحات على الازهار باختلاف الانواع فاقل مدة بقاء كانت النوع *M.rotundata* حيث بلغت 2.22 ثانية أما اطول مدة بقاء كانت النوع *No.* *Vareigata* و *Homalictus Sp.* حيث بلغت (13.31 و 12.64) ثانية على التوالي.

5. عدد انتقالات الملقح بين الازهار/دقيقة: ويظهر من الجدول (4) بوجود فروقات معنوية ($P=0.05$) بين انواع الملقحات في عدد الازهار التي تزورها خلال الدقيقة الواحدة فقد تميز انواع *M.rotundata* باكثر عدد انتقالات بلغت 22.2 انتقال/دقيقة. أما اقل عدد انتقالات فكانت للنوعين *H.malictus Sp.* و *No.vareigata* بلغ (4.6 و 4.4) انتقال/دقيقة على التوالي.

لقد بنيت النتائج ان نسبة 66.7% من الانواع الزائرة لازهار الجت كانت طويلة اللسان أما الانواع القصيرة اللسان فقد شكلت نسبة 33.3% مما يدل على ملائمة الانواع طويلة اللسان إلى زيادة ازهار الجت التي تتصف بانبوب زهري طويل (28) ويؤثر طول الخرطوم تأثيراً كبيراً في تحديد نوع الازهار التي يزورها وقد بحث كثير من الباحثين العلاقة بين عمق الزهرة التي تزورها النحلة وبين طول الخرطوم (1) وقد لاحظ (29) بأن النحل يزور الازهار التي تكون انابيب تويجاتها اقصر من طول الخرطوم لذا يكون طول الخرطوم مهم جداً في تحديد كفاءة الملقح.

4. مدة بقاء الملقح على الزهرة: لقد بينت النتائج بوجود اختلافات واضحة في مدة بقاء الملقحات على الزهرة وهذا يتفق مع ما وجدته (9) الذي وجد ان هنالك اختلافاً معنوياً واضحاً بين مكونات الكفاءة للملقحات الزائرة لنبات Milk weed تضمنها مدة البقاء على الزهرة حيث بين ان الوقت التي يقضيه الملقح على الزهرة تؤدي دور هام في تحديد كفاءة الملقح. أما الاختلاف في مدة بقاء النحلة قد يعود إلى طبيعة سلوك الملقح في عملية جمع حبوب اللقاح والرحيق فقسم تكون سريعة في عملية الجمع والاخرى تكون بطيئة (27) ان قلة المدة بالنسبة لستة انواع من الملقحات على ازهار الجت يدل على امكانية هذه الانواع متخصصة لزيادة محصول الجت.

5. عدد انتقالات الملقح بين الازهار: تبين النتائج بأن هناك اختلاف بين الانواع المشار اليها في عدد الازهار التي تزورها خلال الدقيقة الواحدة وهذا يتفق مع نتائج (9) الذي ذكر بأن عدد الانتقالات بين الازهار تلعب دوراً أساسياً في تحديد كفاءة الملقح وذكر (30) ان النباتات التي تمتلك ازهار غنية بالرحيق فإن ملقحاتها تعود مرات كثيرة لزيارتها. وان اختلاف عدد انتقالات الملقحات بين الازهار قد يرجع إلى الظروف الجوية وتركيز الرحيق في تلك الازهار وهذا ماأيده هذا (21) ووضح (17) ان تردد النحل على الازهار يكون كبيراً في حالة احتوائها على كميات كبيرة من الرحيق وقد اوضحت النتائج ان ستة انواع من الملقحات العشرة المنتخبة كانت تقوم بأكثر عدد من الانتقالات بين الازهار إذ تراوحت بين 11-22 انتقال/دقيقة في *N.melanderi* و *Megnchile sp.2* و *M.rotundata* و *Megachile sp.4* و *A.melliteri* (*Nomia sp.2*) ويمكن اعتبار هذه الملقحات من ضمن الملقحات الأساسية لحصول الجت وعليه يجب المحافظة على كثافتها وادامة وجودها في الحقل.

مقارنة دراسة اهم انواع ملقحات النحل من فوق عائلة Apoidea الملقحة لنبات الجت *Medicago sativa* alfalfa في محافظة بابل

بدر و سهاد و علي

جدول 1- التركيب التصنيفي لفوق عائلة Apoidea في حقول الجت *Medicago sativa*.

العوائل	عدد الاجناس	(%) عدد الاجناس	عدد الانواع	(%) عدد الانواع	عدد النماذج	(%) ذكور	(%) اناث	معدل الكثافة $SE \pm$	(%) كثافة العائلة
Halctidae	6	33.33	21	44.68	1568	32.97	67.02	0.4 ± 8.57	66.59
Megachilidae	5	27.77	13	27.66	521	21.98	78.01	0.1 ± 2.82	21.91
Anthophoridae	4	22.22	8	17.02	79	24.05	75.94	0.03 ± 0.43	3.34
Anderidae	1	5.56	3	6.38	19	36.84	63.16	0.02 ± 0.10	0.77
Ctenoplectridae	1	5.56	1	2.13	3	66.67	33.33	0.009 ± 0.02	0.16
Apidae	1	5.56	1	2.13	173	0	100	0.19 ± 0.93	7.23
المجوع	18	100	47	100	2381	3.42	69.58	0.6 ± 12.87	100

جدول 2- معدل عدد حبوب اللقاح والنسب المئوية المحبوبة لحبوب لقاح الجت *Medicago sativa* والمحمولة بواسطة اناث عشرة انواع مختارة من النحل التابعة إلى فوق عائلة Apoidea في حقول الجت

المعدل الكلي		البلول		أب		تموز		حزيران		مايس		نوع الملقح
جث (%)	SE± المعدل	جث (%)	SE± المعدل	جث (%)	SE± المعدل	جث (%)	SE± المعدل	جث (%)	SE± المعدل	جث (%)	SE± المعدل	
*62.6	26.1	56.8	1.3±22.5	73.6	2.9±27.3	68.1	3.1±30.6	60.3	2.2±24.6	54.1	2.1±25.7**	<i>Nomia sp.2</i> (<i>N.nortoni</i>)
85.7	31.5	82.3	1.5±31.6	94.1	1.5±32.3	100	2.7±33.2	80.8	2.0±29.2	71.5	1.7±31.3	<i>N.melanderi</i>
36.2	9.8	30.6	1.4±10.0	43.1	1.1±9.8	47.4	1.2±10.2	35.4	1.7±9.8	24.5	1.7±9.0	<i>H.ligatus</i>
27.8	10.4	20.5	1.2±8.7	38.9	1.0±9.6	36.6	1.1±14.8	29.9	1.1±13.7	13.3	0.9±5.2	<i>Lasiglossum pilosus</i>
17.7	1.8	9.0	0.6±1.5	21.6	0.6±2.1	25.0	0.7±2.1	15.0	0.9±1.7	-	-	<i>Nomioides vareigata</i>
21.9	2.6	12.5	0.6±2.5	24.9	0.6±2.8	31.6	0.8±2.6	18.6	0.6±2.5	-	-	<i>Homalictus sp.1</i> (<i>H.rowlandi</i>)
66.6	34.3	64.4	1.5±33.3	72.7	1.8±36.1	74.8	1.5±35.1	64.2	1.8±32.2	57.2	1.9±34.6	<i>Megachile sp.2</i> (<i>M.latinus</i>)
91.5	49.7	93.7	1.4±48.6	100	1.2±50.8	100	2.2±52.0	89.3	1.5±49.5	74.5	1.6±47.7	<i>M.rotundata</i>
77.2	32.6	74.3	1.3±30.2	82.2	1.7±32.1	88.1	1.2±34.2	75.0	1.3±34.0	66.5	1.4±32.3	<i>Megachile sp.4</i> (<i>M.texana</i>)
78.4	22.8	-	-	-	-	75.6	1.2±14.5	72.4	1.3±19.2	87.3	2.0±34.5	<i>Apis mellifera</i>

أ.ف.م (0.05) بالنسبة لعدد حبوب اللقاح باختلاف الانواع = 2.496
 أ.ف.م (0.05) بالنسبة لنسب حبوب لقاح الجت باختلاف الانواع = 7.40
 * النسب المئوية المحبوبة لحبوب لقاح الجت محولة تحويلاً زاوياً عند التحليل
 ** تم ضرب معدل حبوب اللقاح $\times 10^{-3}$

باختلاف الشهور = 1.765
 باختلاف الشهور = 5.23

جدول -3 : معدل اوزان (ملغم) عشرة انواع منتخبة من الملقحات التابعة إلى فوق عائلة Apoidea في حقول الجت وللجنسين كلاهما

معدل وزن الجسم (ملغم)		نوع الملقح
الذكور المعدل \pm SE	الاناث المعدل \pm SE	
0.4 \pm 6.16	0.31 \pm 6.42	<i>Nomia sp.2 (N.nortoni)</i>
0.27 \pm 6.22	0.24 \pm 6.41	<i>N.melanderi</i>
0.11 \pm 1.91	0.09 \pm 3.06	<i>Halictus ligatus</i>
0.12 \pm 1.86	0.12 \pm 3.13	<i>Lasioglossum pilosus</i>
0.01 \pm 1.14	0.01 \pm 1.17	<i>Nomioides vareigata</i>
0.03 \pm 1.32	0.04 \pm 1.43	<i>Homalictus sp.1 (H.rowlandi)</i>
0.22 \pm 5.87	0.22 \pm 6.80	<i>Megachile sp.2 (M. latimanus)</i>
0.28 \pm 11.77	0.42 \pm 15.14	<i>M. rotundata</i>
0.14 \pm 4.78	0.38 \pm 6.44	<i>Megachile sp.4 (M.texana)</i>
-	0.29 \pm 18.32	<i>A. mellifera</i>

أ.ف.م (0.05) بالنسبة لوزن جسم الاناث باختلاف الانواع = 0.68
أ.ف.م (0.05) بالنسبة لوزن جسم الذكور باختلاف الانواع = 0.48

جدول -4 : معدل اطوال الخرطوم (ملغم) وعدد الانتقالات خلال الدقيقة ومدد البقاء (ثانية) على الازهار لانواع الملقحات التابعة إلى فوق عائلة Apoidea في حقول الجت *Medicago sativa*

نوع الملقح	طول الخرطوم (ملغم) المعدل \pm SE	مدة البقاء (ثا) المعدل \pm SE	عدد الانتقالات (دقيقة) المعدل \pm SE
<i>Nomia sp.2 (N.nortoni)</i>	0.01 \pm 1.55	0.45 \pm 5.23	0.71 \pm 11.00
<i>N.melanderi</i>	0.03 \pm 1.81	0.16 \pm 3.01	0.87 \pm 17.50
<i>Halictus ligatus</i>	0.01 \pm 1.28	0.30 \pm 6.26	0.47 \pm 8.70
<i>Lasioglossum pilosus</i>	0.02 \pm 1.21	0.82 \pm 8.53	0.59 \pm 6.80
<i>Nomioides vareigata</i>	0.04 \pm 0.87	1.11 \pm 13.31	0.34 \pm 4.40
<i>Homalictus sp.1 (H.rowlandi)</i>	0.03 \pm 0.93	1.30 \pm 12.64	0.47 \pm 4.60
<i>Megachile sp.2 (M. latimanus)</i>	0.03 \pm 2.88	0.32 \pm 4.93	0.55 \pm 11.00
<i>M. rotundata</i>	0.02 \pm 4.10	0.16 \pm 2.22	0.88 \pm 22.2
<i>Megachile sp.4 (M.texana)</i>	0.03 \pm 3.23	0.15 \pm 4.13	0.51 \pm 13.80
<i>A. mellifera</i>	0.03 \pm 4.34	0.40 \pm 4.23	0.96 \pm 13.20

أ.ف.م (0.05) بالنسبة لطول الخرطوم باختلاف الانواع = 0.07
أ.ف.م (0.05) بالنسبة لمدة البقاء باختلاف الانواع = 1.53
أ.ف.م (0.05) بالنسبة لعدد الانتقالات باختلاف الانواع = 1.57

REFERENCES

1. Inouye, D.W. The effect of proboscis and corollary tube length on pattern and rates of flower visits by bumble bees. *Oecologia* 45: 197-201, (1980)
2. Keran, P.G. Straver, W.A. Offer, M. and Lavery, T. Pollination of greenhouse tomatoes by bumble bee in Ontario. *Proc. Ent. Soc. Ont.* 122: 15-19, (1991)
3. Peceti, L. and Tava. A.: Effect of flower color and sampling time on volatile emanation in alfalfa flowers. *Crop. Sci.* 40: 126-130, (2000)
4. Free, J.B. Insect pollination of crop 2nd edn. University printing house. Cambridge, (1993)
5. Kephart, S.R. The part it ioning of pollinators among three species of *Asclepias*. *Ecology*, 64:1120-1123, (1983)
6. Cane, J.H.. Estimation of bee size using integrt regular span (Apoidea). *J. Kansas. Entomt. So.* 60: 145-147, (1987)
7. Michener. C.D. The bees of the world John. Hopkins. University Press: 950PP, (2000)
8. Villalob. S., E.M. and Shelly, T.E. Temporal and spatial variation in the foraging behavior of honey bee Hymenoptera:(Apidae) at Chinese violets *Florida Entomolgist*, 79: 398-406, (1996)
9. Ivey, C.T. Martins, P. and Wyatt, R.. Variation in pollinator effectiveness in swamp milkweed, *Asclepias incarnate* (Apocynaceae). *Am.J.Bot.* 90: 214-225, (2000)
10. Pellmyr, O. and Thomson, J.N. Sources of variation in pollinator contribution within pollinator contribution within a guild. The effects of plant and pollinator factors. *Oecologia*, 107: 595-604, (1996)
11. Herrera G.M. Pollinator abundance morphology, and flower visitation. Rate: Unalysis of the quantity component in a plan pollinator system. *Oecologia*. 80: 241-248, (1989)
12. Carthew-S.M. As assessment of Bllinator visitation of *Banksia spinulosa* *Aust.J. Ec.* 18:257-288, (1993)
13. Stout, J.C. Dose size matter Bumble behavior and the pollinator of *cytissus scoparius* L. *Apidologoi.* 31: 129-130, (2000)
14. Roulston, J.H. and Cane, J.H. The effect of Diet breadth and nesting ecology on body size variation in bee (Apoidea). *J. Kansus. Encomol. Soc.* 4: 55-56, (2001)
15. Hutchison, W.D. Alfalfa IPM: Sampling alfalfa insect University of Minnesota Extension service Pub. PP.11, (1993)
16. Batra, S.V.T. Bees of India (Apidae) their behavior management and key to the genera. *Oriental. Insects.* 11: 289-324, (1977)

بدر و سهاد و علي

17. Feller-Denalsy, M.J., Parent, J. and Strachan, A.A. Microscopic analysis of honey-from Alberta, Canda. J.Api. Res. 26: 123-132, (1997)
18. Pickard, R.S. Honey identification. Cardit Academic Press. U.K.115, (1988)
19. عبود عصام كضوح. 1995 دراسة تصنيفية لقبيلة النحل الازهار Anthrophridae و Hyrnenoptera: Anthophriae, في العراق. رسالة ماجستير. كلية العلوم - جامعة بابل.
20. Kearns, C.A. and Inouye, D.W. Techniques for pollination biologists. Niwot, University Press of Colorado, (1993)
21. الراوي، خاشع محمود وخلف الله عبد العزيز.. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. الطبعة الثانية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. مطبعة جامعة الموصل، 488، (2000)
22. Richards, K.W. Non-Apisbee as crop pollinators. Revue. Suisse.de. Zoologia. 100:807-822, (1993)
23. Smith-Hearnrich-Suc-. Going native with pollination-Maine organic former & Gardner. P. 16-17, (1998)
24. Bingham, R.A. and Ort, A.R. Efficient pollination of alpine plants. Nature (London) 391: 133-239, (1998)
25. Mclellan-A.R. Factors affecting pollen harvesting by the honey bee. J. Appl. Ecol. 13: 801-811, (1976)
26. Common Wealth of Astrulia. Biodiversity and its value. Pub. By the Environment and Heritage. PP-17 , (1993)
27. Williams, I.H. Aspects of bee diversity and crop pollination in the Europe on Union, IN: The conservation of Bee, 63-80, (1996)
28. McGregor, S.E. Insect pollination of cultivated crop plants. USDA. Agric. Handbook No.496, (1976)
29. arder, L.D. Functional differences of the short and long tongued bees (Hymenoptera:Apidae) Can.Jour. 2001, 60: 1580-1586, (1983)
30. Mitchell, R.J. and Waser, N.M. Adapt in significance of Ipomopsis aggregate nectar production: pollination successes of single flowers. Ecology. 73: 633-638, (1992)

دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات الزعتر على عملية الالتصاق لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على الخلايا الطلائية البولية

ورود كمال عاكف
قسم علوم الحياة/كلية العلوم /جامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2006/5/2 - تاريخ قبول البحث 2007/11/28

ABSTRACT

- 1-These is collected from the patients (88) stream urine samples (15-50years) from laboratory of popular medicine clinic .
- 2- Blood agar bass and Macconkey's and pseudomonas agar were used for cultivation of urine samples . The isolated colonies were identified according to their colonial morphology and biochemical reactions.
- 3- Aqueous extract of *Thymbra spicata* had an inhibitory effect on the process of aeruginpsa of the tissue culture.
- 4- Aqueous extract of *Thymbra spicata* had an inhibitory effect on the process of *p. aeruginosa* adherence to urinary epithelial cells as in tissue culture experiment.

الخلاصة

- 1- شملت هذه الدراسة جمع (88) عينة ادرار وسطي من مختبرات العيادة الطبية الشعبية من مرضى يعانون التهاب المجاري البولية باعمار مختلفة (15-50 سنة) .
- 2- زرعت عينات الادرار على الاوساط الزرع قاعده اكار الدم وماكونكي ومن ثم على وسط غراء السيدوموناس وبعد فترة الحضانه (24) ساعة بحرارة (37 م) شخّصت المستعمرات النامية بطرق بايولوجية وبايوكيماوية .
- 3- كان للمستخلص المائي لنبات الزعتر *Thymbra spicata* تأثيراً مثبطاً لبكتريا *P. aeruginosa* بدرجة كبيرة على الخلايا الطلائية للمزرعة النسيجية .
- 4- عمل المستخلص المائي لنبات الزعتر على تثبيط عملية التصاق لبكتريا *p. aeruginosa* بالخلايا الطلائية البولية وذلك من خلال تجربة المزرعة النسيجية .

المقدمة

تعتبر التهابات المجاري البولية من المشاكل التي تأتي بالمرتبة الثانية بعد امراض الجهاز التنفسي والتي قد تسبب بعض الوفيات من خلال ماتحدثه من اضرار كبيرة في الكلية مسببة العجز الكلوي حسب ماجاء في (1) وتعد لبكتريا *P. aeruginosa* كونها واحدة من الانواع البكتريا المسؤولة عن احداث تلك الاخماج ، فضلا عن كونها تعد من الجراثيم الانتهازية Opportunistic حسب ماجاء في (2) تعود امراضية هذه البكتريا التي املاكها العديد من عوامل الضراوة مثل الاجنيت والاسواط والانزيمات وكذلك صبغات pyomelanin, pyorubrin, pyoverdin, pyocyanin فضلا عن الذيفان الخارجي A حسب ماجاء في (3) واستهدفت هذه الدارسة الى تحضير مستخلص نبات الزعتر ودراسة تأثيره مختبريا على البكتريا المعزولة من التهابات المجاري البولية من خلال تثبيط لعملية التصاق البكتريا *P. aeruginosa* بالخلايا الطلائية المبطنة للمجرى البولي.

المواد وطرائق العمل

1- تحضير الاوساط الزرعية :

حضرت الأوساط الزرعية المختبرية حسب تعليمات المثبتة من قبل الشركة المصنعة ، وبعد ان ضبطت الاس الهيدروجيني وعقمت بالموصدة (121 م لمدة 15 دقيقة) وحضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها .

1- جمع عينات الادرار :

تم جمع 88 عينة ادرار وسطي من اشخاص يعانون من اعراض التهاب المجاري البولية من كلا الجنسين وبأعمار مختلفة تتراوح (12-55) سنة من مختبرات العيادة الطبية الشعبية في قناني بلاستيكية معقمة ثم نعمل طرد مركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة ربع ساعة.

2- زرع العينات :

تم زرع عينات الادرار مباشرة على وسطي اكار الدم الاغثاني وماكونكي التفريقي ومن ثم على وسط غراء السيديموناس بواسطة ناقل الزرع القياسي المعقم وحضنت الاطباق هوائيا وبدرجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة .

4- عزل البكتريا وتشخيصها :-

عزلت بكتريا *P.aeruginosa* من عينات الادرار للمرضى المصابين بخمج المسالك البولية . وزرعت العينات على وسط غراء المكونكي وغراء الدم . ومن ثم على وسط غراء السيديموناس وحضنت بدرجة حرارة 37 م ولمدة 24-48 ساعة وقد تم تشخيص حسب ما جاء في (4) ومن ثم اخذت مسحة من المزرعة البكتيرية ووضعت على شريحة زجاجية وتم تثبيتها وتصبيغها بصبغة غرام وفحص شكل البكتريا وقابلية اصطبائها بصبغة غرام. وقد تم ايضا الكشف عن انزيم catalaset وفحص تحلل الجيلاتين حسب ما جاء في (4) .

التجارب . الخاصة بنبات الزعرتر وتأثيرها المضاد للبكتريا.

1- جمع النموذج النباتي :

تم الحصول على نبات الزعرتر من مركز طب الأعشاب التابع لوزارة الصحة / مختبر الصحة العامة المركزي وشملت الأوراق والأزهار المجففة وصنف من قبل المعشب الوطني في بغداد وأتضح انه نبات *Thymbra spicata*

2- تحضير المستخلص النباتي :

استخدمت طريقة الاستخلاص المائي وفقا لما ورد في (5) اذا اضيف 100 غم من مسحوق النبات الجاف الى لتر واحد من الماء المقطر ووضع في الحاضنة الهزازة بسرعة 3000 دورة /دقيقة بحرارة 37 م لمدة 24 ساعة . رشح بعدها بواسطة ورق الترشيح ونبذ مركزيا لمدة عشرة دقائق بسرعة 2500 دورة /دقيقة تم التخلص من الراسب واحتفظ بالراشح الذي وضع في القرن الكهربائي بحرارة 37 م لحين الحصول على المسحوق الجاف للمستخلص ثم الاحتفاظ بالمسحوق لحين الاستعمال علما ان هذا الوزن الجاف كان مساويا تقريبا الى 25 % من وزن النبات الاصلي.

تجربة التصاق بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على الخلايا الزرعية النسيجية وتأثير مستخلص الزعتر على عملية الالتصاق

1- تحضير الوسط الزراعي النسيجي حسب ما جاء في (6)

Tissue Culture Medium RPMI- 1640

تم تحضير هذا الوسط من المكونات الآتية :-

1- RPMI- 1640 10.4 غم

2- Sodium Pyrovete 0.1 غم

تذاب هذه المحتويات في 500 مل من الماء المقطر ثم يضاف إليها

3- Heps 10 مل

4- (FCS) Fetal calf serum 200 مل

المثبط بالحرارة 56 م لمدة نصف ساعة

5- محلول مضادات حيوية 25 مل. (يحضر هذا المحلول المضادات باذابة وحدة عالمية من البنسلين البلوري و 1 غم من الستربتوميسين في 100 مل من الماء المقطر والذي تم تعقيمه عبر المرشحات الغشائية 0.2 مايكرومتر).

ثم يكمل الحجم الوسط الى 1 لتر بالماء المقطر 0 بعدها ضبط الاس الهيدروجين للوسط الى 7.2 وعقم عبر المرشحات الغشائية 0.22 مايكرومتر 0 ويستخدم هذا الوسط لادامة الخلايا الطلائية للوسط النسيجي الزراعي HEP-2 .

2- تحضير الخلايا الطلائية الثانوية Secondary HEP-2

حضرت خلايا الزرع النسيجي الثانوي من مختبرات الصحة المركزي بعد التخلص من الوسط الزراعي الموجود في قنينة الزرع النسيجي الطلاني الاولي الذي يحتوي على الخلايا الطلائية النقية HEP-2 ذو الطبقة المتكاملة النمو 0 بعدها تغسل الخلايا بمحلول داري الفوسفاتي المحلي PBS ذو الاس الهيدروجيني 7.2 ثم يضاف التريسين فيرسين بدرجة حرارة 37 م لمدة دقيقة واحدة . يضاف وسط RPMI- 1640 ونلاحظ تحت المجهر المقلوب شكل الخلايا حيث تبدأ بالتدوير والانكماش بعدها تنقل نصف محتويات القنينة الى قنينة وسط زرع جديد ويضاف اليها وسط RPMI- 1640 بمقدار 10 مل لكل قنينة ثم تترك بالحاضنة بدرجة حرارة 37 م و 5% CO لعدة ايام الى ان يتكامل نمو الخلايا بشكل طبقة واحدة وبهذا تصبح جاهزة للتجربة وفقا لما ورد في (7) .

اختبار الالتصاق البكتري على الوسط الزراعي النسيجي

اجري الاختبار وفقا لما ورد في (8)

- 1- تم تنمية عزلة من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على وسط الزرع Tryticase soya agar وحضنت بحرارة 37 م لمدة 24 ساعة
- 2- لقح الوسط الزراعي Tryticase soya broth بمستعمرة نقية منمأة في فقرة (1) وحضنت بحرارة 37 م لمدة 24 ساعة لاستخدامه كعالق بكتيري.
- 3- اجريت التخفيف عشرية متسلسلة للعالق البكتيري باستخدام مرق التريبتكيز ولغاية التخفيف 10 .

- 4- نبذت انبوبة الاختبار الاخيرة الحاوية على تخفيف 10 بجهاز النبذ المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة 10 دقائق . اعمل الراشح وتم الاحتفاظ بالراسب والذي تم غسله بمحلول داري الفوسفات الملحي ذو الاس الهيدروجيني 7.2 ولثلاثة مرات متتالية بعدها علق الراسب ب 5 مل من نفس الداري .
- 5- اضيف هذا المعلق الى الوسط الزرع النسيجي Falcon tissue culture بطريقة التطويق Flooding وترك المعلق على الوسط لمدة ساعتين بدرجة حرارة 37 م .

ورود

- 6- تم التخلص من العالق المتبقي على سطح الوسط الزراعي وغسلت الخلايا النسيجية بداريء الفوسفات الملحي لثلاثة مرات متتالية للتخلص من خلايا البكتيريا غير الملتصقة .
- 7- غمرت الخلايا النسيجية بصبغة كمزا لمدة تتراوح من 15-20 دقيقة وتم التخلص من الصبغة الزائدة بغسلها بداريء الفوسفات الملحي .
- 8- فحصت الخلايا النسيجية بالمجهر الضوئي المقلوب لمشاهدة عملية التصاق البكتيريا على الخلايا النسيجية . ولاختيار قابلية مستخلص نبات الزعرتر على تثبيط الالتصاق البكتيري فقد اتبعت الطريقة الآتية :
- 1- تم اختيار التركيز 80 ملغم / مل من نبات الزعرتر اذا اخذ حجم واحد منه مقابل حجم واحد من العالق البكتيري المحضر سابقا (10 خلية / مل) وضع الخليط في الحضانة بحرارة 37 م لمدة ساعتين .
- 2- اجريت عملية الطرد المركزي للخليط بسرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق تم التخلص من الراشح وعلق الراسب باستخدام داريء الفوسفات الملحي للحصول على العالق البكتيري المعامل بالزعرتر .
- 3- أضيف هذا العالق الى سطح الوسط الزراعي النسيجي وترك لمدة 3 ساعات بحرارة 37 م
- 4- تم التخلص من العالق الطافي وفحص الزرع النسيجي باستخدام المجهر القلوب لمشاهدة عملية تثبيط الالتصاق البكتيري .

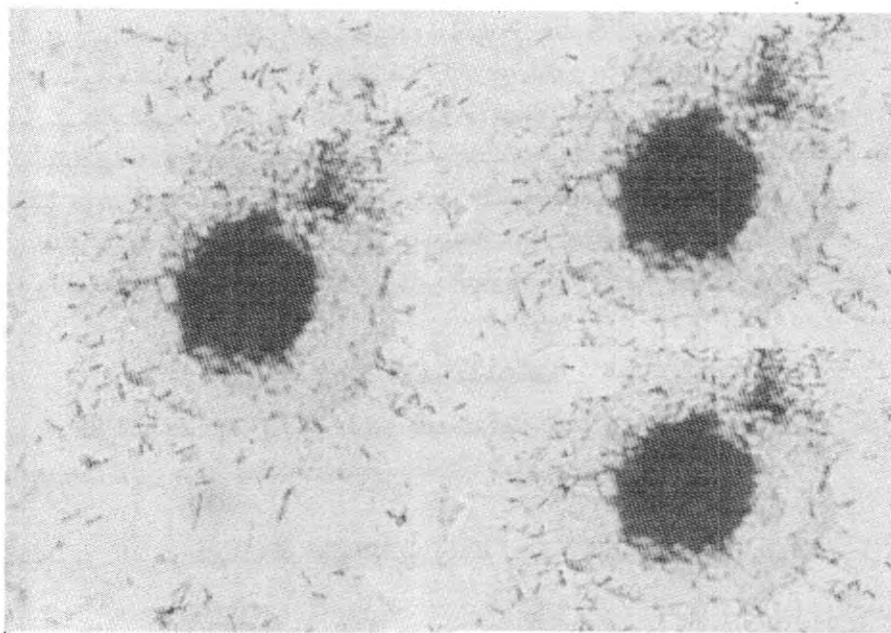
النتائج والمناقشة

جمع النماذج المرضية وتشخيصها :

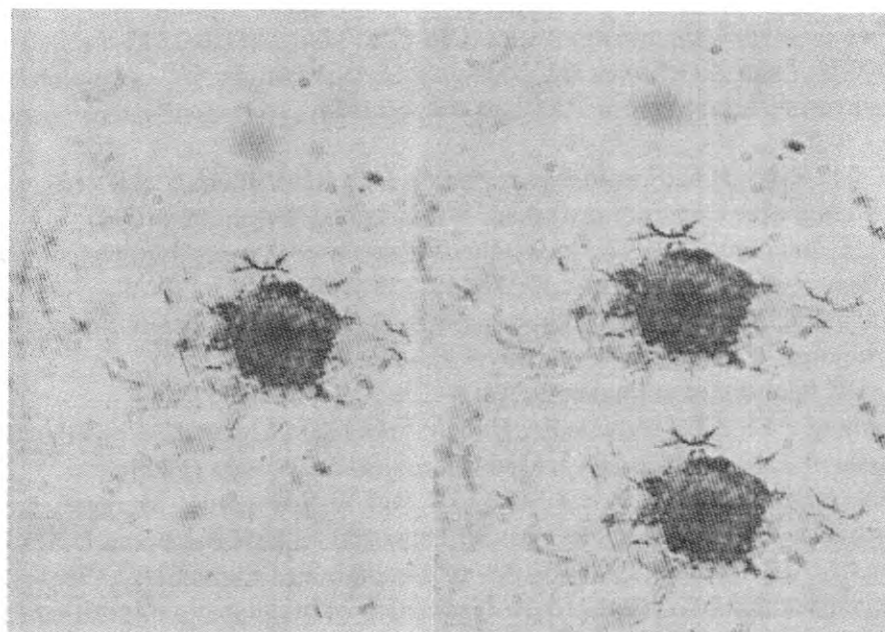
تم التحري عن وجود بكتريا *P. aeruginosa* في 88 عينة لأدرار المرضى المصابين بـخمج المسالك البولية المراجعين للعيادة الطبية الشعبية لفترة من شهر حزيران الى شهر ايلول . وبعد زرع النماذج على وسطي غراء مكوني وغراء الدم ومن ثم على وسط غراء السيدوموناس شخص نوع البكتريا بثبات الصفات الزرعية للمستعمرات وقد تم الحصول على 24 عزلة من هذه البكتريا من مجموع النماذج وكانت مستعمرات معتمة وذات شكل دائري منتظم . وظهرت نتائج الفحص المجهرى للبكتريا بأنها سالبة لصبغة غرام وذات شكل عصوي قصير .

أما عند التشخيص البايوكيميائي فاعطت جميع العزلات نتيجة موجبة على غراء الدم بظهور مناطق شفاقة حول مستعمراتها , فضلا على انتاجها انزيم اليوريز , اذا تغير لون الوسط الى الاحمر بسبب وجود كاشف الفينول الاحمر الذي يعطي اللون الاحمر في المحيط القاعدي نتيجة تكون الامونيا وزيادة الاس الهيدروجيني الى اكثر من 7.5 . كما تمكنت جميع العزلات من تحليل الجيلاتين بسبب قدرتها على انتاج انزيم الجيلاتينز ولم تتمكن البكتريا من انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين (H₂S) عند نموها على وسط غراء الحديد ثلاثي السكر (TSI) كما جاء في (9) . الاسباب مهمة في خمج المسالك البولية لبكتريا *P. aeruginosa* ولاسيما عملية القسطرة حيث يمكن ان تبقى في الجهاز البولي او تنتقل الى الكلية مسببة التهاب الكلية كما ورد في (10) . وتلتصق بكتريا *P. aeruginosa* بالخلايا الطلائية المبطنة للمجرى البولي عن طريق الاهداب و التي تعتبر من اهم عوامل الضراوة التي تزيد من امراضية هذه البكتريا وتثبيط التصاق هذه البكتريا كما جاء في (11) بالخلايا الطلائية فقد استخدمت المزارع النسيجية الحاوية على الخلايا الطلائية الثانوية لاجراء عملية الالتصاق عليها وللتأكد من تثبيط عملية الالتصاق باستخدام مستخلص نبات الزعرتر .

وان في هذه التجربة التجربة الحالية استهدفت احد ميكانيكيات تأثير مستخلص الزعرتر على البكتريا مختبريا باستخدام مزارع نسيجية من خلال تثبيط عملية الالتصاق على الخلايا الطلائية , اذا يتضح من خلال الصورة التأثير التثبيطي لمستخلص الزعرتر على عملية التصاق بكتريا *P. aeruginosa* بالخلايا الطلائية في المزروع النسيجي مقارنة بالسيطرة .



شكل -1: يمثل معامل السيطرة في عملية التصاق بكتيريا بالخلايا الطلائية الثانوية



شكل -2: يمثل عملية التثبيت للالتصاق البكتيريا باستخدام مستخلص نبات الزعر المائي
[H&E 100X]

ورود

كما موضح في الصورة والتي تبين منها وبوضوح عملية الالتصاق البكتيري حول الخلية النسيجية الثانوية والذي كان من النوع المنتشر (diffuse adhesion). وقد أشارت هذه الدراسة المتعلقة بتنشيط عملية الالتصاق البكتيري لاستخدامها كمواد علاجية من خلال تثبيطها لعملية الالتصاق وخصوصا باستخدام المستخلص المستخلصات النباتية التي تحتوي على مواد كربوهيدراتية معقدة تعمل بهذا الاتجاه كماورد في (12) و(13). وان ارتباط بكتريا *P. aeruginosa* بمنطقة glycogylax المحيطة بالخلايا الطلائية السطحية والتي تعتبر من أهم مستقبلات أهداب الخلايا البكتيرية وكما موضح في الصورة

الاستنتاجات

- 1- اظهرت الدراسة المختبرية ان التأثير للمستخلص المائي لنبات الزعتر على بكتريا *P. aeruginosa* تأثير مثبط لعملية التصاق بالخلايا الطلائية الثانوية .
- 2- للمستخلص المائي لنبات الزعتر تأثير مثبط لعملية التصاق البكتريا بالخلايا الطلائية البولية .
- 3- بينت هذه الدراسة ان استخدام نبات الزعتر يعتبر كماد علاجية من خلال تثبيطها لعملية الالتصاق لبكتريا *P. aeruginosa* على الخلايا الطلائية البولية .

المصادر

- 1.Neu,H.C Urinary tract infection.Am.J.Med 92(Sup.4): 635-705(1992).
- 2.Reuter,S;Sigge,A;Wiedeck,H.;Trautmann,M.Analysis,of transmission of *Pseudomonas aeruginosa* between and top watlets.Crit Care Med. 30(10):2222-8 (2002).
- 3.Stover,C.K;Pham,X.O;Erwin,A.L;Mizoguchi,S.D.;Warrener,P. Complete genome sequence of *P.aeruginosa* PAOI,an opportunistic pathogen.Nature Gente.31:947-960 (2000).
- 4.HOLT,J.T.;Krieg,N.R.;Sneath,P.H.A.;Staley,J.T.; and Williams, ST.Bergeys Manual of Determinative Bacteriology;gthed: Williams and Wiltmore (1994).
- 5.Anesini,C and perez,C(1993).Screening of plants used Argentin folk Medicine for antimicrobial.J.Ethnopharme.39(20)119-128 (1994).
- 6.Baron,E.J.and Finegold,S.M.Microorganisms encounter-ed in Baily Sott diagnostic Microbiolgy,9th ed.Mosby Company, USA (1994).
- 7.Feshney,R.ICulture of animal cells.WILY-LISS,PP;149-175(2000).
- 8.Donnenberg ,M.S,S.B;Caldwood,A;Donohue ,G.T.and Kaper ,J.BConstrauction and analysis of Tnpho Amutaints J. Med Microbiol.49:397-401 (1990).
- 9.Holt,H.G.Krieg,N.R.;Sneath,P.A;Staley,J.T and Williams,S.J. Bergey's meanual of determinative bac.teriology (9th ed) Williams and wilkins,Baltimore U.S.A (1994).
10. Bannet,J.V:Nosacomial infection due to pseudomonas J.infect.Dis.,130:4-7 (1974).
11. Korhnen,T.k.;Virkola.;Hothofer,H. Localizion of binding site of purified *E.Coli* p-frimbiae in human Kindrny Infect.Immune.54,328-332 (1986).
12. Guggenbichler,J.P. Adhernce of enterbacteia in infantile diarrhea and its prevention.Infect.;11:239-242 (1983).
13. Hopkins .W. ; Reznikoff.C.A.; T.D and Divid, T.V. Adherence of urophogernic *E.coli* to differentiated human urocpithelia cells grown initro. J. Vrol ., 143-168 (1990).

مقارنة تأثير العسل العراقي متباين الأصل الزهري على تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الملوثة للجروح

ندى زكي مهدي
قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2006/12/2 - تاريخ قبول البحث 2007/10/31

ABSTRACT

The numerous origin flower Iraqi honey has showed a high capability to inhibit different types of bacteria that infect wounds and resist many of traditional antibiotics. The minimum inhibitory concentration level for the ten types diluted honey between (5.2-10% v/v) for these types of bacteria: *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. The sun flower honey has the best activity compared to other types of honey which the MIC values was (5.2-7.5%v/v). The other types of honey showed a little different activity among them. The usage of 45°C was better than 56°C for effecting on MIC values by diffuse and homogenize the honey with muller-Hinton agar before inoculate it with bacteria. Although, the sun flower then cedar and other types of honey seemed to have good activity by using the wells method and the citrus honey have the best activity to inhibit *Pseudomonas aeruginosa* by the same method.

الخلاصة

اظهر العسل العراقي المتعدد الأصل الزهري قابلية عالية لتثبيط الأنواع البكتيرية الملوثة للجروح و المقاومة للعديد من المضادات الحيوية. تراوحت قيم التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) للعسل المخفف بأنواعه العشرة بين (5.2 - 10 % حجم / حجم) للأنواع البكتيرية: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*. تميز عسل عباد الشمس بفعالية أعلى من الأصناف الأخرى في التثبيط حيث تراوحت التراكيز المثبطة الدنيا بين (5.2 - 7.5 % حجم / حجم) أما الأصناف الأخرى من العسل فقد أظهرت تبايناً طفيفاً فيما بينها وكما ان استخدام الدرجة الحرارية 45 °م كان أفضل من الدرجة الحرارية 56 °م عند قياس التركيز المثبط الأدنى لغرض انتشار العسل و تجانسه مع الوسط الأزرعي الصلب مولر- هنتون قبل زرع البكتيريا كما تباينت أقطار التثبيط للأنواع البكتيرية بتباين أصناف العسل التي امتازت بجودتها في التثبيط بطريقة الحفر حيث امتاز عسل عباد الشمس و السدر بفعالية عالية كما كان عسل الحمضيات الأفضل في تثبيط بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بهذه الطريقة.

المقدمة

كان العسل منذ القدم يستخدم كعلاج لحالات مرضية كثيرة وقد أشار القران الكريم بشكل واضح بأنه شفاء للناس و على مستوى البحث العلمي فقد نشر أول بحث عن النشاط ضد البكتيري للعسل عام 1892 (1). و يوجد نوعان من المثبطات البكتيرية في العسل : احدها حساس للضوء و الحرارة و هو بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و يتكون من أكسدة الكلوكوز بأنزيم Glucose oxidase و تزداد كميته عند تخفيف العسل بسوائل الجسم بعد تناوله دون قتل الفلورا الطبيعية في الأمعاء لكنه يتحلل إلى الماء و الأوكسجين بوجود حامض Ascorbic و الأيونات المعدنية الغير مستقرة (2 , 3) أما الأنواع الأخرى من المثبطات في العسل فمصدرها النحل و رحيق الأزهار و يعتقد بعض الباحثين بأنها الأكثر تأثيراً من بيروكسيد

الهيدروجين و لا تتأثر بالحرارة و الضوء و تتألف من حوامض و قواعد و مواد غير قطبية و مواد غير طيارة و مواد طيارة (Volatile) (4) .

أن العسل محلول مشبع بالسكريات لذا فهو يلعب دورا في الفعالية ضد البكتيرية بسبب ما يولده من ضغط أزموزي عالي و محتواه المائي الواطئ (15 - 21 %) كما أن المحتوى البروتيني الواطئ (0.4 %) ونسبة الكربون العالي الى النيتروجين و جهد الاختزال الواطئ و اللزوجة التي تحدد الاوكسجين المذاب و عوامل كيميائية أخرى كلها تساهم في قتل البكتيريا (5) .

(6) وجد الباحثون اختلافا في النشاط ضد البكتيري لأنواع العسل المتباينة الأصل الزهري فقد توصلت دراسة في نيوزلندا إلى اختلاف كبير لبعض أنواع العسل في هذا النشاط عند قياس التركيز المثبط الأدنى الذي كان أقل عند استخدام عسل مانوكا مقارنة مع الأنواع الأخرى من العسل (7 , 16) مما شجع عدد من الباحثين على دراسة هذا النوع لعلاج أمراض بكتيرية أخرى (unpublished internet information) . كما أشارت الأبحاث الأخرى إلى أن العسل الطبيعي عند المسخن هو مثبط للبكتيريا السالبة و الموجبة لملون كرام و خاصة المرضية منها (9) وان معظم الدراسات وجدت أن العسل يقلل من الإصابات البكتيرية و وقت الشفاء و هو أكثر فعالية من المضادات الحياتية عموما (4) وكما أن العسل معقم جيد للجروح لذا فقد استخدم بشكل واسع في الطب القديم (6) . أن البحوث الحديثة أكدت على الاختزال السريع للجروح من ناحية الألم و التورم و الالتئام عند تضميدها بالعسل ، كما وأنه لا يترك أثرا ملحوظا و يزيل الروائح الكريهة و الخلايا الميتة منها و بدون أن يسبب ضررا للأنسجة النامية و يحدث إبادة أسرع للالتهابات البكتيرية بعد العمليات الجراحية بتقليل وقت الشفاء و اختزال فترة استخدام المضادات الحيوية و بقاء المرضى في المستشفى مقارنة مع المرضى اللذين ضمدت جروحهم بالمطهرات المعروفة (10 , 11) .

ترمي هذه الدراسة إلى مقارنة أغلب الأنواع المعروفة للعسل العراقي متباين الأصل الزهري (عشرة أنواع) في قابليتها على تثبيط الأنواع البكتيرية المختلفة ذات الضراوة العالية و المتسببة لالتهابات الجروح ، وهي الدراسة الأكثر شمولاً لأنواع العسل في العراق لغرض اختيار أنواع معينة من العسل العراقي تستخدم مستقبلاً كمطهر و عامل مساعد في تضميد الجروح الملوثة بالجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية إضافة إلى تشجيع الباحثين على تزايد الاهتمام بالعلاجات المذكورة في القرآن الكريم و الطب النبوي الشريف في البحوث المستقبلية

المواد وطرائق العمل

1 - عينات العسل : استخدمت عشرة أنواع من العسل العراقي متباينة الأصل الزهري تم الحصول عليها من نحالين معروفين لدى جمعية النحالين العراقيين (العسل مفحوص مسبقاً من قبل دائرة التقييس و السيطرة النوعية العراقية) لغرض المقارنة بينها في قدرتها التثبيطية للأنواع البكتيرية المعزولة من الجروح الملوثة. وأنواع العسل هذه السدر و الخرنوب و الحمضيات و البرسيم و اليوكالبتوس و عباد الشمس و الورد و الأزهار الجبلية و ألجت و الرمان.

2 - العزلات البكتيرية : تم اخذ مسحات للجروح الملوثة من مرضى راقدين في عدد من مستشفيات مدينه بغداد وقد تم تشخيص العزلات البكتيرية من خلال الفحوصات المظهرية و الزرع و الكيموحيوية (12, 13)

3- فحص الحساسية للمضادات : تم اختبار جميع العزلات البكتيرية وإخضاعها لفحص الحساسية للمضادات الحيوية (14) المجهزة من شركة Difco وقد ذكرت في جدول (4) وتم انتقاء ثلاثة عزلات لكل نوع اظهر مقاومة أكثر ولأكثر من مضاد حيوي جدول رقم (4)

4 - اختبار الفعالية ضد البكتيرية للعسل :

وتم ذلك بأنواع الطرق التالية : ا- طريقة الانتشار بالحفر : استخدم الوسط ألزرعي الصلب Muller Hinton وأضيف له الدم في حاله بكتيريا *Streptococcus pyogenes* حيث

صب الوسط بالأطباق وبعد تصلبه زرع بالبكتريا بطريقة النشر وثقب بقطر 5 ملم وملئ بكمية (0.1 ملتر) من العسل المركز وحفظ وحفظ بدرجة 37 م ° لمدة 24 ساعة وقرأت النتائج بحساب أقطار المثبط حسب (15) .

ب - طريقة التركيز المثبط الأدنى وتأثير درجة الحرارة على العسل :

حضرت تراكيز مختلفة من أنواع العسل العشرة على وسط Muller - Hinton بدأ من تراكيز (1% حجم / حجم) ولغاية (15% حجم/حجم) وبالتسلسل وعند تحديد قيم MIC منه (الذي يسبقه) لتحديد التخفيف العشري المثبط للنمو البكتيري (15) .

حضنت الأوساط الحاوية على العسل حسب تراكيزها في حمام مائي هزاز قبل تصلب الوسط ألزري وزرعت البكتريا عليه بدرجتي حرارة 45 م ° و 56 م ° لمدة 30 دقيقة ليتجانس العسل اللزج مع الوسط ألزري ويذوب فيه قبل تصلبه بمساعده الاهتزاز والحرارة حسب طريقة (8) , وكذلك لمعرفة ومقارنه درجة حساسية المواد الفعالة الموجودة في العسل للحرارة , وبعد ذلك تم صب الوسط الممزوج بالعسل (M.H-Honey حجم/حجم) حسب التركيز المذكورة أعلاه في أطباق بتري معقمة وبعد تصلبه نشرت كمية (0.1 ملتر) من القاح البكتيري عليه وحضن بدرجة 37 م ° لمدة 24 ساعة ثم قرأت نتائج MIC بملاحظة عدم وجود نمو بكتيري على الطبق عند أدنى تركيز مستخدم.

النتائج والمناقشة

تم الحصول على (42) عزله للأنواع البكتيرية الملونة للجروح وشخصت استنادا لما ورد في (12) وكان فيها :

5 عزلات تعود للنوع *E coli* و 6 عزلات للنوع *Sterptococcus pyogenes* , 12 عزله تعود للنوع *Staphylococcus aureus* , و 13 عزله للنوع *Pseudomonas aeruginosa* , 6 عزلات للنوع *Proteus mirabilis* .

فعالية العسل ضد البكتريا وتأثير الحرارة على قياس (MIC) :

تبين من خلال معرفة الفعالية ضد البكتريا عند قياس التركيز المثبط الأدنى لثلاثة انواع من العسل اختبرت بشكل عشوائي باستخدام درجتي الحرارة 45م, 56م لغرض تجانس العسل وذوبانه وانتشاره بشكل كامل مع الوسط ألزري والمقارنة بينهما للحصول على نتائج أفضل لقياس MIC أن استخدم درجة حرارة 45م ° كانت الأفضل ولجميع أنواع العسل الثلاث حيث كانت قيم التراكيز المثبطة الأدنى هي اقل من قيمها عند استخدام درجة حرارة 56 م ° كما يلاحظ في (جدول 1) ويعود هذا إلى أن بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والإنزيم المؤكسد للكلوروز اللذان تزداد كميتهم في العسل عند تخفيفه وهما جزء من المكونات المثبطة للبكتيريا في العسل يتأثران سلبا بالحرارة (3,4,5) وهذا ما يبرر النتائج التي توصلت اليها الباحثة (6) بان قيم التراكيز المثبطة الدنيا التي حصلت عليها كان مرتفعا عند اختبارها على بكتريا *Pseudomonas* باستخدام درجة الحرارة 56 م ° لذا تم اختيار درجة الحرارة 45 م ° حصرا في التجارب الأخرى اخذين بعين الاعتبار أن هذه الدرجة الأدنى التي تسمح ببقاء الوسط الصلب بحالته السائلة لتحقيق التجانس عند خلط العسل بهذا الوسط قبل تصلبه ..

عند مقارنة فعالية انواع العسل المختلفة لوحظ تباين في قيم MIC لبعض أنواعها ولكن قيمها تراوحت (5.2-10%) أي ان التركيز 10% كان مثبطا للأنواع البكتيرية الخمسة من قبل الأصناف العشرة للعسل قيد الدراسة (جدول 2) وهذه النتيجة تتفق مع نتائج (10,16) عند تخفيف عسل مانوكا النيوزيلندي بعشرة مرات ولكنها كانت أفضل في الفعالية من انواع العسل الأخرى في نتائج (10,16) ونستدل من ذلك على كفاءة العسل العراقي بجميع أنواعه كما ان قيم نتائج (MIC) لعسل عباد الشمس كانت الأقل والأفضل في الفعالية من بقية الأنواع

الأخرى في التأثير على جميع عزلات الأنواع الخمسة وكانت قيم MIC تتراوح بين (5.2- 7.5%) وربما يعود ذلك إلى أن عسل عباد الشمس ذو قوام دهني (بلون أصفر فاتح) ويدعى بالعامية (العسل الكريمي) إضافة إلى قلة حامضيته ولزوجته التي تحد من ذوبان الأكسجين وله مظهر محبب لتكتل السكر فيه مما له اثر اكبر للضغط الازموزي (3) وجاء عسل السدر بالمرتبة الثانية في قيم MIC وأقطار تثبيط (جدول 2,3) مما يشجعنا على استخدام النوعين المذكورين من العسل لتضميد الجروح الملوثة بالأنواع البكتيرية الموجبة والسالبة أما الجروح الملوثة بنوع بكتيري واحد فقط فيمكننا استخدام أنواع العسل التي أعطت أفضل نتائج في هذا المجال بعد إجراء البحوث الميدانية والتطبيقية (invivo) مستقبلاً كما هو مطبق في استخدام العسل اليمني لهذا الغرض (11) في تضميد الجروح في العمليات القيصرية الملوثة بالبكتيريا المرضية الموجبة و السالبة لصبغة كرام حيث أدى إلى إبادة أسرع للبكتيريا و سرعة التئام الجروح بوقت قياسي مقارنة مع استخدام المضادات الحيوية.

ولمناقشة نتائج جدول رقم (4) و الذي يظهر حساسية عزلات بكتيريا الاختبار (42) لـ (12) مضاد حيوي بقياس عدد العزلات المقاومة و النسبة المئوية لها نجد أن عزلات بكتيريا الاختبار أظهرت نسب متفاوتة من المقاومة للمضادات الحيوية و البعض منها بنسب عالية لذا تم اختيار (15) عزلة (ثلاثة لكل نوع) كانت مقاومة لأكثر عدد ممكن من المضادات (أكثر من تسع مضادات) لاختبار حساسيتها للأنواع المذكورة من العسل و من ملاحظتنا للنتائج جدول رقم (3) نجد أن عسل عباد الشمس اظهر فعالية عالية أيضاً حيث تراوحت أقطار التثبيط لجميع الأنواع بين (31 - 39) ملم بينما لم نجد مضاد حيوي واحد كانت قد تحسست له الأنواع البكتيرية الخمسة معاً (جدول 4). وعند ملاحظة نتائج عسل السدر و مقارنته مع عسل عباد الشمس نجد أن تأثير نوعي العسل متقارب على النوعين البكتيريين *Staph. aureus* و *Proteus mirabilis* بتقارب أقطار التثبيط لهما كما يظهر ذلك أيضاً للنوعين *Strept. pyogenes* و *E. Coli* وهذا يدل على تحسس المجموعتين البكتيريتين الموجبة و السالبة لصبغة كرام معاً للعسل باستثناء النوع *Pseudomonas aeruginosa* الذي اظهر تحسسا اقل لعسل السدر لكنه بدا متحسسا أكثر لعسل الحمضيات (35 ملم) ربما لاحتوائه على نسبة عالية من المركبات الحامضية حسب (18) يليه عسل ألجت و عباد الشمس (32 ملم) كما أن بكتيريا *Proteus mirabilis* اظهر تحسسا جيداً لعسل الكالبتوس و الرمان (34, 33) وبكتيريا *E coli* لعسل ألجت (33) ملم و بكتيريا *Strept. pyogenes* لعسل الحمضيات و الورد (30) ملم إضافة إلى بكتيريا *Staph. aureus* اظهر تحسسا جيداً لعسل الرمان و الخرنوب (34, 35) وهذا يدل على تباين طفيف لأنواع العسل أحياناً في تأثيرها بشكل مفرد على نوع معين من البكتيريا و تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (4, 5) من تباين محتويات العسل (المركز) بتباين الأصل الزهري لها من حوامض و قواعد و مركبات غير قطبية و مواد طيارة و التي تم فصلها بمعرفة تأثيرها بشكل مفرد على أنواع مختلفة من البكتيريا حيث تبين أنها مواد مثبطة تختلف نسبها و تأثيرها أحياناً باختلاف أنواع البكتيريا (4).

يتبين من نتائج هذه الدراسة أن جميع أنواع لعسل العراقي التي جربت قد أظهرت فعالية تثبيطية واضحة كما أن استخدام درجة حرارة 45 م ° أفضل من استخدام درجات حرارية أعلى لغرض تجانس العسل مع الوسط الزراعي الصلب كما امتاز عسل عباد الشمس و السدر و الحمضيات بفعالية عالية في التثبيط.

جدول- 1: مقارنة التركيز المثبط الأدنى لثلاثة أنواع من العسل عند استخدام درجتي الحرارة 56م° و 45 م° للوسط الزراعي (M.H-Honey v/v)

عسل عباد الشمس Honey Heianthus annus		عسل البرسيم Trifolium spp.Honey		عسل السدر Ceder Honey Zizphus spina christi		نوع البكتريا المرضية
45 م°	56 م°	45 م°	56 م°	45 م°	56 م°	
5.2%	8.8%	7.8%	10.4%	5.7%	9.8%*	<i>Staphylococcus aureus</i>
6%	9.6%	8.1%	12.3%	6.8%	10.2%	<i>Streptococcus Pyogenes</i>
7.5%	11.6%	8.8%	12.7%	9.4%	13.8%	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
6.1%	9.8%	8.7%	11.5%	8.2%	14.1%	<i>Proteus mirabilis</i>
5.3%	8.7%	6.6%	10.3%	6.3%	9.9%	<i>Escherichia coli</i>

(*) الرقم يمثل متوسط ثلاث عزلات لكل نوع مقياس ب حجم /حجم

جدول 2: التركيز المثبط الأدنى MIC للأنواع المختلفة الأصل الزهري للعسل العراقي باستخدام النسبة المئوية %

نوع البكتريا المرضية	السدر Ceder	البرسيم Trifolium	الخرنوب (الشوك) Acasia	الحمضيات orange	الكليبتوس Eucalyptus	عباد الشمس sun flower	الورد Rose Rosa Regosa	الازهار الجبلية Mountain flowers	الرمان Punica Granatum	الجنت Medicago Sativa
<i>Staphylococcus aureus</i>	5.7%*	7.8%	6.3%	6.1%	9.8%	5.2%	7.6%	6.2%	6.9%	7.6%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6.8%	8.1%	7.8%	9.2%	10%	6%	9.6%	8.4%	7.9%	8.3%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.4%	8.8%	8.3%	7.7%	10%	7.5%	9.1%	8%	8.1%	8.5%
<i>Proteus mirabilis</i>	8.2%	8.7%	10%	8.6%	7.4%	6.1%	8.8%	7.9%	9%	7.8%
<i>Escherichiacoli</i>	6.3%	6.6%	9.8%	6.5%	5.8%	5.3%	7.8%	6.4%	6.2%	6.1%

(*) الرقم يمثل متوسط ثلاث عزلات لكل نوع مقياس ب حجم /حجم

جدول 3- قياس معدلات مناطق تثبيط نمو البكتيريا (Inhibition Zone) (mm) الملوثة للجروح بتأثير أنواع متباينة الأصل الزهري في العسل العراقي

نوع البكتيريا المرضية	السدر	البرسيم	الخرلوب (الشوك)	الحمضيات	الكليبتوس	عباد الشمس	الورد	الازهار الجبلية	الرمان
	Ceder	Trifolium	Acasia	orange	Eucaly plus	sun flower	Rose Regosa	Mountain flowers	Punica Granatum
<i>Staphylococcus aureus</i>	35*	32	34	33	20	39	27	22	35
<i>Streptococcus pyogenes</i>	29	26	22	30	21	31	30	28	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	29	28	35	19	32	25	30	27
<i>Proteus mirabilis</i>	35	25	30	31	34	37	30	29	33
<i>Escherichia coli</i>	29	23	25	27	25	33	30	28	27

(*) الرقم يمثل متوسط ثلاث عزلات لكل نوع مقياس بالملم

جدول 4- : عدد العزلات و النسبة المئوية المنوية لقاومة البكتيريا لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية المستعملة

عدد العزلات البكتيريا المقاومة (النسبة المئوية لها %)					المضاد المستخدم
<i>E. coli</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus Pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
(80)4	(100)6	(92.30)12	(33.3)2	(25)3	Vancomycin
(100)5	(83.3)5	(100)13	(50)3	(33.3)4	Clindamycin
(60)3	(50)3	(46.15)6	(100)6	(75)9	Gentamycin
(40)2	(66.6)4	(84.6)11	0	(58.33)7	Cefotaxim
0	(50)3	(69.23)9	(33.3)2	66.6)8	Ceftazidime
(80)4	(50)3	(38.46)5	(100)6	(100)12	Tobramycin
(60)3	(33.3)2	(46.15)6	(83.3)5	(75)9	Amikacin
(100)5	(100)6	(23.7)3	(100)6	(91.66)11	Ticracilline
(100)5	(83.3)5	(76.92)10	(100)6	(58.33)7	Piperacilline
(80)4	(16.6)1	(100)13	(100)6	(100)12	Ampicillin
(40)2	(100)6	(38.46)5	(83.3)5	(50)3	Imipenem
(80)4	(50)3	(84.6)11	(83.3)5	(66.6)8	Carbenicilline

(0) يمثل عدم وجود عزلات مقاومة للمضاد

REFERENCES

- 1- Vanketel.B.A,Festnummerder Berichten Vanden Niederlandsche Maatschappij.Bevordering der pharmacie 67,96(1892). Cit. in reference number(4)
- 2- Molan,P. The Antimicrobial Activity of Honey .J.Bee World, 73, 5-28 , (1992)

- 3- Bogdanov.S.Characterization of Antibacterial Substances in honey.J. Lebensmittel wissenschaft und-Technologie,17,74-76, (1984)
- 4- Bogdanov,S.Antibacterial Substances in honey, Swiss Bee Research, Dairyresearch station,liebfield, CH-3003 Bem, Switzerland.cit in internet information. (1997)
- 5- BOGDANOV,S. Nature and origin of of the Antibacterial Substances in honey.J. Lebensmittel wassenchaft and technologie, 30(7) 748- 753(1997)
- 6- الشيباني , انتصار ناظم . دراسة تصنيفية للأنواع التابعة لمجموعة *Pseudomona* المعزولة من مستشفيات في بغداد و تأثير بعض العوامل عليها. اطروحة دكتوراه / كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية, (2004)
- 7- Allen, K.L.,Molan,P.C;and Reid,G.M. A Survey of the antibacterial activity of some Newzealand honeys.J.Pharm. Pharma col 43, 817 – 822, (1991)
- 8- Subrahmanum, M; Hemmad, A and Power, S.G. antibacterial activity of honey on bacteria isolated from wounds, burns and fire disasters-XIV(1). Cit in reference number (6), (2001)
- 9- Lusby,P.E,Coombes,A.L., and Wilkinson, J.M.2005. Bactericidal activity of different honeys against Pathogenic bacteria. Arch Med Res 36:464-467, (2005)
- 10- Cooper, R.A;Molan, P.C; Hording, K.G. Antibacterial Activity of honey against Strains of *Staphylococcus aureus* from infectedwounds. Journal of the Royal Society of Medicine 92:283-285,(1999)
- 11- Al- Waili-N.S; and Saloom-Ky .Effects of topical honey on postoperative wound infections due to Gram positive and Gram negative bacteria following caesarean section and hysterectomies. Eur.J.Med-Res;4930:126-130,(1999)
- 12- Baron, E.J;Peterson,L.R.and Fiefold, S.M.In Bail and Scott's Diagnostic Microbiology.9th Ed.St.louis Baltime Phiadelphia Syoney. Tornto,(1994)
- 13- Holt.,Buchanan, R.E and Gippons, N.E . Bergey's manual of determination bacteriology.8th Ed. William sand wikins Co-Baltimore,(1994)
- 14- National Committee for clinical Laboratory Standards .NCCLS Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing.12th information supplement,(2002)
- 15- Anesni,C,and Perez,C.Screening of plants used in Argentine Folk medicine for antimicrobial activity.J. of Ethanopharmacology, 39:119-128 ,(1993)
- 16- Willix, D.J;Molan, P.C; and Harfoot,C.J. Acomparision of the sensitivity of wound-infecting Species of bacteria to the antimicrobial activity of Manuka Honey and other Honey.J.APPI. Bacterial 1.73,388-394,(1992)
- 17- Cooper, R.A; Molan, P.C. The use of honey as an antiseptic in managing *Pseudomonas* infection. Journal of wound care 8(4):161-164, (1999)
- 18- Serrano, S., Villarejo, M., Espejo, R., and Jordal, M. Chemical and Physical Parameters of Andalusian honey: Classification of citrus and Eucalyptus honeysby discriminant analysis. Food Chem 87:619-625(2004)

تقييم النوعية المايكروبية لمياه الشرب الموزعة من مجمع الفتح المبين

إيثار كامل الميالي* علي نوري عبد*

*كلية العلوم – قسم علوم الحياة- جامعة بغداد

** كلية التربية الأساسية- قسم العلوم- الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2007/5/30 - تاريخ قبول البحث 2007/11/28

ABSTRACT

The microbial quality of drinking water which distrusted from Al-Fatah Al-Mubeen plante was studied each month over ten months period started from January to October / 2002 . This station was established in 2000 in Baghdad in order to supplied Babyl section in Jadriya region with drinking water . This study included determination of bioindicator bacteria of water pollution (Coliform , fecal coliform , Streptococcus , fecal streptococcus , Total plate count as well as fungi count) , Also some physical and chemical variables were determinate like (temperature , turbidity ,electric conductivity, salinity , pH , dissolved oxygen , oxygen saturation percentage and biological oxygen demand). The results showed that the number of all the studied bacteria was very high at the begain of the study until May , after that numbers start to decline gradually to be less than the limited values for Iraqi standard for drinking water by using chains alum instead of local alum while the number of aquatic fungi still with limited values of Iraqi standard .The aim of this study is evolution the effeciency of this plante to purify the distributed drinking water from it by evaluation the microbial quality of the water , and according to results , it can be conclude that this planet one of the successful project for this purpose.

الخلاصة

تمت دراسة النوعية المايكروبية لمياه الشرب الموزعة من مجمع الفتح المبين شهريا وذلك لمدة عشرة اشهر بدءاً من كانون الثاني و لغاية تشرين الأول /2002 وقد انشأ هذا المجمع عام 2000 في بغداد لغرض تزويد حي بابل في منطقة الجادرية بمياه الشرب. تضمنت هذه الدراسة الكشف عن بكتيريا ادلة التلوث للمياه (بكتيريا القولون و القولون البرازية و المسبقيات و المسبقيات البرازية و العدد الكلي للبكتيريا الهوائية) وبعض أنواع الفطريات المائية ، و كذلك بعض العوامل الفيزيائية و الكيماوية (درجة الحرارة، الكدرة، قيم التوصيل الكهربائي،الملوحة، الأس الهيدروجيني، قيم الأوكسجين المذاب، نسب الإشباع الأوكسجيني، المتطلب الحيوي للأوكسجين) و أظهرت النتائج إن أعداد البكتيريا المدروسة كانت عالية منذ بداية الدراسة لغاية شهر مايس ومن ثم بدأت بالتناقص تدريجياً لتصبح أقل من الحدود المسموح بها للمواصفة العراقية وذلك لاستخدام الشب الصيني بدلا عن الشب المحلي و بقيت أعداد الفطريات المائية ضمن الحدود المسموح بها للمواصفة العراقية لمياه الشرب المعمول بها. إن هدف هذه الدراسة هو تقييم كفاءة هذا المجمع في تصفية مياه الشرب الموزعة منه وذلك من خلال تقييم النوعية المايكروبية لتلك المياه ووفقاً للنتائج نستنتج أن هذا المجمع من المشاريع الناجحة في التصفية.

المقدمة

تعتبر المياه مصدر مهم لكثير من الأمراض الوبائية التي تشمل الأمراض المعوية والجهاز التنفسي والأمراض الجلدية وغيرها حيث راح ضحية المياه الملوثة الآلاف بل الملايين على مر العصور نتيجة شرب هذه المياه أو الاستحمام أو في الاستخدامات البشرية الأخرى (1)

كذلك يؤدي التدني الحاصل في نوعية مياه الشرب عادة إلى ارتفاع عدد الإصابات بالأمراض الانتقالية و التي يكون بعضها بكتيري مثل التيفوئيد ، الباراتيفوئيد و الكوليرا و أخرى تكون فايروسية مثل التهاب الكبد الفايروسي ، الزحار و شلل الأطفال وكذلك طفيلية مثل داء الجيارديات و الزحار الاميبي (2).

يعد التلوث البكتيري للمياه السطحية في العراق ناجم عن عدم معاملة مياه الصرف الصحي حيث لا تتجاوز الطاقات المتاحة أكثر من 25% من المستهلك إضافة لانخفاض كفاءة محطات المعالجة (3). وتبعاً لذلك أجريت بعض البحوث في القطر بهذا الصدد و التي هدفت إلى تقييم مياه الشرب و مدى ملاءمتها للاستخدام البشري ، فقد تناولت إحدى الدراسات مقارنة لتلوث مياه النهر و الشرب لثلاث مواقع لمشاريع تصفية مياه (مشروع 7 نيسان ، الوثبة ظن الدورة) تابعة لإسالة ماء بغداد قبل و بعد الحصار الاقتصادي (4)، وتناولت دراسة أخرى تأثير الحصار الاقتصادي على مياه الشرب في مدينة بغداد و الأضرار الناتجة عنه بشكل موسع باعتماد النتائج المستحصلة من قبل دائرة ماء بغداد للمشاريع (الدورة، الكرامة، 7 نيسان، القادسية، الرشيد ، الكرخ و الوثبة) قبل و بعد الحصار أيضاً (5). و تضمنت دراسة أخرى مسالة تواجد بعض الأنواع البكتيرية المقاومة لفعل الكلور خلال عمليات التطهير يؤدي إلى مشكلات عديدة تقلل من كفاءة عمل نظام التبريد في المجمعات الصناعية والإنتاجية لمجمع البتروكيماويات في البصرة و كذلك مياه الشرب المأخوذة من مواقع مختلفة من المدينة (6)، و اهتمت دراسة أخرى في تقييم كفاءة مشروع الرستمية لمعالجة مياه المخلفات في بغداد (7).

ونتيجة للدراسات أعلاه ، تم إنشاء بعض المجمعات لتصفية المياه و تحسين نوعيتها للشرب ، و يعد مجمع الفتح المبين الذي انشأ عام 2000 واحد من تلك المجمعات الحديثة حيث يوزع الماء المجهز منه منطقة حي بابل في الجادرية ، و قد هدفت الدراسة الحالية لتقييم الموعية المايكروبية للمياه الموزعة من هذا المجمع بقصد التعرف على مدى كفاءة هذا المجمع في تصفية المياه و توزيعها على المنطقة السكنية المذكورة.

المواد و طرق العمل

يتكون المجمع من وحدة تصفية تتكون من أربع أحواض :

1-حوض الماء الخام :و يمثل المياه المستلمة من محطة تصفية الرصافة(سوبيا).

2-حوض الترسيب.

3- حوض الكلورة (التعقيم) .

4-حوض المياه الجاهزة للتوزيع بالشبكة.

وتبعاً لما جاء في تعليمات منظمة الصحة العالمية (2)الخاصة بالنمذجة ، فقد تم جمع العينات من كل حوض شهرياً ، حيث تشير التعليمات إلى أن محطة التصفية إذ كانت تزود حوالي 5000 - 100000 فرد يؤخذ منها عادة عينات شهرية لغرض مراقبة نوعية المياه فيها دورياً". و قد تم اخذ العينات في النهار و بواقع ثلاث مكررات لكل حوض ، وحسبت النتائج كمعدلات لتلك المكررات.

تمثلت الفحوصات التي أجريت لتلك العينات بفحوصات بكتريولوجية و كذلك تم دراسة بعض الخصائص الفيزيائية و الكيميائية ، وقد امتدت فترة الدراسة من شهر كانون الثاني لغاية تشرين الأول/2002.

فيما يخص الفحوصات البكتريولوجية فقد تم الكشف عن بكتريا أدلة التلوث المعروفة (بكتريا القولون ، القولون البرازية ، المسبقيات ، المسبقيات البرازية والعدد الكلي للبكتريا)، واتبعت طريقة العدد الأكثر احتمالاً "Most Probable Number" لحساب أعدادها، وقد استخدم وسط الماكونكي السائل McConkey broth لبكتريا القولون و القولون البرازية و الوسط كليكوز-أزاييد Glucose-Azide لبكتريا المسبقيات و المسبقيات البرازية ، أما العدد الكلي للبكتريا فقد تم الكشف عنه بطريقة العد للخلايا Counting method ، واستخدم وسط نيوترنث أكار الصلب Nutrient agar كوسط زرع لهذا الغرض. أما بالنسبة للفطريات فقد استخدم وسط (PDA) Potato dextrose agar كوسط زرع لها (8).

وفيما يخص الفحوصات الفيزيائية و الكيميائية ، فقد تم استخدام محرار زئبقي لقياس درجات الحرارة المياه مدرج لغاية 0.1 م° ، و اعتمد جهاز Turbidity meter موديل 2100A لقياس الكدرة و الذي يعاير عادة بمحاليل قياسية مرفقة مع الجهاز تتراوح قيمها من 0.1 - 5 نفاثين وحدة كدرة (NTU) لعينات مياه الشرب و 40-100 لعينات مياه النهر ، أما قيم التوصيل الكهربائي فقد قيست بجهاز التوصيل الكهربائي Conductivity meter موديل HI 9633 ، و جرت معايرة الجهاز باستخدام محاليل ذات تراكيز مختلفة من كلوريد البوتاسيوم تحضر مختبرياً" كما موضح في (9) و بالاعتماد على قيم التوصيل الكهربائي حسبت قيم الملوحة وحسب المعادلة التالية (9) :

$$\text{الملوحة } \% = (\text{جزء بالألف}) = \frac{\text{التوصيل الكهربائي} - 14.78}{1589.08}$$

وقيس الأس الهيدروجيني باستخدام جهاز pH-meter موديل GC820، كما اعتمدت طريقة ونكلر المعدلة الموضحة من قبل مكارث و جماعته (10)، لحساب الأوكسجين المذاب و المتطلب الحيوي للأوكسجين و النسبة المئوية للإشباع الأوكسجيني، و المتمثلة بحساب قيم الأوكسجين المذاب المعدلة لقيم ثايوسلفات الصوديوم (المادة المسحح معها) و المقاسة بوحدة ملغم /لتر ، أما بالنسبة لقياس قيم المتطلب الحيوي للأوكسجين Biological oxygen demand (BOD) فيستخرج باعتماد العلاقة ما بين قيم الأوكسجين المذاب لليوم الأول - قيم الأوكسجين المذاب لليوم الخامس :

$$DO_1 - DO_5 = BOD$$

وباستخدام المعادلة التالية يتم الحصول على قيم الإشباع الأوكسجيني:

$$\%O_2 = 100 \times \frac{C_1 - C_2}{C_1}$$

حيث أن C_1 = قيم الأوكسجين المقاس مختبرياً.

C_2 = قيم الأوكسجين المعتمد على درجة حرارة الماء (العينة) وهي قيم

قياسية مثبتة في جدول أشير إليه في (10).

النتائج و المناقشة

القياسات الفيزيائية و الكيماوية : الجدول رقم (1)

سجلت درجة الحرارة لمياه العينات وكانت (15 و 15 و 20 و 21 و 22 و 26 و 32 و 32 و 30 و 28) للأشهر كانون الثاني و شباط و آذار ونيسان و مايس و حزيران و تموز و آب و أيلول وتشيرين الأول على التوالي وهي درجات حرارة اعتيادية لمياه الشرب الموجودة في أحواض (كخزانات) ، و بشكل عام تعد درجة الحرارة أحد العوامل المؤثرة على النمو البكتيري و لها علاقة عكسية مع قيم الأوكسجين المذاب و المتطلب الحيوي للأوكسجين (1).

سجلت أعلى قيم للكدرة في أحواض الماء الخام : 80 و 62 و 74 و 95 و 85 و 64 و 55 و 50 و 58 و 30 نفثالين وحدة كدرة للأشهر المذكورة أعلاه على التوالي ، علما أن هذه المياه الخام ليست مياه نهر و إنما مستلمة من محطة تصفية الرصافة (سويبا) و قد يكون لحدوث كسر في الأنابيب الموزعة للمياه دور في ارتفاع القيم ، أما قيم الكدرة في بقية الأحواض الثلاثة فهي: 5 و 4 و 15 و 15 و 25 و 3 و 4 و 7 و 8 و 10 نفثالين وحدة كدرة للحوض الثاني و 3 و 5 و 29 و 9 و 65 و 35 و 1.1 و 3 و 4 نفثالين وحدة كدرة للحوض الثالث و 1 و 4 و 24 و 12 و 5.5 و 3 و 1.1 و 1.5 و 1.7 و 1.5 نفثالين وحدة كدرة للحوض الرابع و قد يلاحظ إن مقدار الكدرة خلال الأشهر الخمس الأولى من الدراسة كان عاليا بالمقارنة مع الأشهر الخمسة الأخيرة و قد يعود السبب في ذلك إلى استخدام الشب المحلي ذو النوعية الرديئة في الأشهر الأولى و الذي تسبب في زيادة العوالق و الدقائق (5 و 12) حيث أن هذا الشب غير مطابق للمواصفة القياسية لاحتوائه على نسبة عالية من الشوائب حسب نتائج فحص الشب في مختبرات إسالة الماء (4) ، في حين عند استخدام الشب الصيني لأغراض التصفية نجد أن القيم كانت ضمن الحدود المسموح محليا و عالميا وهي 5 نفثالين وحدة كدرة (2 و 11) . و سجلت نفس القيم في بحوث عراقية أخرى أوضحت واقع محطات التصفية في مدينة بغداد (5).

لم تتجاوز قيم التوصيل الكهربائي الحد المسموح (2000 مايكروسيمنس/سم) و المعمول بها محليا (11)، و تبعا لذلك فإن قيم الملوحة كانت مقبولة لان الحد المسموح به للمياه العذبة لا يتجاوز 0.5 ‰ (2).

وتراوحت قيم الأس الهيدروجيني ما بين 6.9-8.5 للأحواض الأربعة و هي ضمن الحد المسموح به 6.5-8.5، و قد سجلت أقل قيمة 6.9 عند مرحلة إضافة الشب - الحوض 2- و السبب يرجع إلى أن الشب يؤدي إلى إضافة حموضة نسبية للمياه (12) .

وانحصرت قيم الأوكسجين المذاب ما بين 5.1-10 ملغم/لتر، و تجاوزت الحدود العليا نسب الإشباع الاوكسجيني النسبة المئوية و لجميع الأحواض و عليه كانت قيم المتطلب للأوكسجين ضئيلة فقد تراوحت ما بين 0.4-4.7 ملغم/لتر للمياه الخام و 0.4-6.6 ملغم/لتر لبقية الأحواض /و مما تجدر الإشارة إليه إلى أن الحدود العليا المسجلة للمياه الخام 4.7 و لبقية الأحواض 6.6 ملغم/لتر كانت قد سجلت خلال الأشهر الأولى للدراسة التي تم فيها إضافة الشب المحلي غير المطابق للمواصفة القياسية كما مر ذكره.

التلوث الميكروبي : الجدول رقم (2)

تم ملاحظة ازدياد الأعداد البكتيرية لجميع الأنواع المدروسة منذ بداية الدراسة و لغاية شهر مايس و هي زيادة متزامنة مع القيم العالية للكدرة ، إذ أن للكدرة العالية دور في توفر الجو الملائم لنمو و تكاثر البكتيريا في حالة توفر المغذيات (13) و كذلك فإن الكدرة العالية تمكن الأنواع البكتيرية الموجودة أن تلتصق على بعض المركبات العضوية و غير العضوية الضارة و بالتالي تزداد إمكانية تواجدها في مياه الشرب ، ولا يحدد موسم معين لزيادة أعداد البكتيريا بل عادة ما ترتبط الزيادة و النقصان بحسب الوسط التي تعيش به ووفرة

المغذيات الملائمة لنموها (1) وكذلك فإن لطبيعة العلاقة البيئية ما بين كل العوامل الموجودة كالحرارة و الاس الهيدروجيني و الكدرة وغيرها والتي تمثل عادة النظام البيئي للكائن دورا في تواجد أو اختفاء بعض الأنواع (14)، وقد تم ملاحظة انخفاض قيم الكدرة بعد استخدام الشب الصيني حيث بدأت الأعداد البكتيرية بالتناقص و لم تظهر نمو لأي نوع في الأشهر الأخيرة من الدراسة، وهذا ما يظهر في الحدود الدنيا لنمو هذه الأنواع من البكتيريا. وعادة ما يحدث ترسيب للمواد العالقة و الكائنات الحيوية مثل البكتيريا و الطفيليات و الفيروسات في قعر الأحواض، حيث تتراوح الإزالة في هذه الأحواض بين 65 % - 90 % عندما تكون نوعية الشب المستخدمة ممتازة و نسب الشوائب فيه لا تتجاوز 0.5 % (15).

وأظهرت النتائج تواجد للفطريات المائية في عينات المياه المدروسة و بنسب مختلفة حسب الأحواض حيث تواجدت الأنواع *Pythium spp.* و *Dictyuchus steril* في عينات المياه المفحوصة في حوض المياه الخام، وهذه تعود للعائلة Saproleginaceae و التي تعد إحدى فطريات المياه water moulds أما حوض الترسيب فقد تواجدت الأنواع *Penicillium spp.* و *Trichoderma spp.* إذ أن للشب المضاف تأثير مضاد على نمو بعض أنواع الفطريات و خميرة الكانديدا و بتراكيز واطنة (16)، وسجل تواجدا للنوع *Aspergillus spp.* و كذلك *Puthium spp.* في الحوض الثالث، حيث أن لاستخدام الشب المحلي دورا في تواجد الفطريات كونه ليس بالنقاوة المطلوبة أو ليس بالتركيز المطلوب للحصول على نقاوة عالية. ولم يسجل أي تواجد فطري في الحوض الرابع، حيث أن للكلور المضاف الدور الرئيس في قتل الأحياء الدقيقة المتواجدة في المياه (6).

وعليه يمكننا أن نستنتج ووفقا " للنتائج المستحصلة من هذه الدراسة ، أن هذا المجمع من المجمعات الحديثة الناجحة في تصفية المياه ، وذلك لأتباع الطرق الصحيحة في التصفية و المتمثلة هنا بإضافة الشب الصيني ذو النوعية الجيدة و كذلك الاهتمام بمتابع عمل المجمع من قبل مشغلي الموقع.

جدول 1: الخصائص الفيزيائية و الكيميائية المقيسة لمياه الشرب الموزعة من المجمع.

الخاصية	الحد المسموح به (WHO 1999)	الحوض 1 -المياه الخام-	الحوض 2 -الترسيب-	الحوض 3 -الكلورة+ -التعقيم-	الحوض 4 -التوزيع -للشبكة-
درجة الحرارة (م°)	—	15 - 32			
الكدرة (نفاثا لين وحدة كدرة)	5	95-30* 62**	100-2 15.75 7-2	65-1 12.14 3.5-1	55-0.5 للفترة من كانون الأول - مايس 12.33 3-1.1 مايس-- تشرين الأول
قيم التوصيل الكهربائي (مايكروسيمنس/سم)	2000	1955-652 895	1990-532 906.4	-596 1850 872.8	1070-366 775.7
الملوحة ‰	0.5	1.22-0.34 0.51	1.18-0.32 0.55	-0.36 1.15 0.53	0.66-0.39 0.50
pH	8.5-6.5	8.5-7.3 7.7	8.3-6.9 7.6	8.3-7 7.7	8.2-7 7.6
الأوكسجين المذاب (ملغم/لتر)	—	8.9-5.7 6.8	9.6-5.7 7	10-5.7 7.4	8.6-5.1 6.5
نسب لإشباع ألا كسجيني %	—	-63.97 88.38 87.7	95.33-61.6 88.4	-78.56 106.4 93.4	107.2-65.1 81.6
المتطلب الحيوي للأوكسجين ملغم / لتر	5	4.7-0.4 2.3	6.6-0.4 2.5	5.8-0.6 3	3.3-0.1 1.8

*المدى ** المعدل (لجميع البيانات أعلاه).

جدول 2- أعداد الكثافات البكتيرية لبكتريا أدلة التلوث و الفطريات المائية.

الدليل	الحد المسموح به (المواصفة القياسية العراقية رقم 417)	الحوض-1 الماء الخام	الحوض-2 الترسيب	الحوض-3 الكلورة+التعقيم	الحوض-4 التوزيع للشبكة
بكتريا القولون Coliforms	3-5 / 100مل	43- $10^4 \times 11$ $10^3 \times 12$ **	0-150 22	0-93 17	0-46 7
بكتريا القولون البرازية Fecal coliform	5 / 100 مل	0-11 $10^4 \times 11$ $10^3 \times 11$	0-43 8	0-18 5	0-9 1
المسبقيات Streptococcus	5 / 100 مل	23- $10^4 \times 46$ 10^3	0-23 6.4	0-18 7	0-16 3
المسبقيات البرازية Fecal streptococcus	1 / 100 مل	0-24 $10^4 \times 24$ 559.8	0-7 1.2	0-7 1.2	0-3 0.7
العدد الكلي للبكتريا Total plate count.	20 / 100 مل	5-10 $10^5 - 10 \times 7$ $\times 2$ $10^3 \times 11$	2-10 $10^2 \times 4$ 8 113.2	0-170 44	0-80 16.3
الفطريات المائية	0	0-20 6	0-15 3.5	0-10 5.5	0-0 0

* المدى ** المعدل (لجميع البيانات أعلاه)

المصادر

- 1- (المصلح) رشيد محجوب. علم الاحياء المجهرية للمياه. الطبعة الاولى. دار الكتب للطباعة و النشر- جامعة بغداد (1988).
- 2- منظمة الصحة العالمية. دلائل جودة مياه الشرب. الجزء الأول. التوصيات. جنيف. سويسرا. (1999)
- 3- (صبري) أنمار وهبي ، محمد حسن يونس و حسن هندي سلطان . التلوث البكتيري في نهر الفرات . مجلة أبحاث البيئة و التنمية المستدامة. المجلد الرابع. العدد الأول (2001).
- 4- (نعوم) سيماء إبراهيم . دراسة مقارنة لتلوث مياه النهر و الشرب لثلاث مواقع تابعة لإسالة ماء بغداد قبل و بعد الحصار الجائر. رسالة ماجستير. الجامعة المستنصرية (1998).
- 5- (السامرائي) رضاب حسين علوان . تأثير الحصار الاقتصادي على نوعية مياه الشرب في مدينة بغداد و أضرارها على صحة المواطنين. رسالة ماجستير. جامعة بغداد (2001).
- 6- (بادي) إيناس عبد الصاحب . دراسة مقاومة البكتريا المعزولة من ماء التبريد لمجمع البتروكيماويات و ماء الشرب في البصرة و مقارنته بمواد أخرى رسالة ماجستير. جامعة البصرة (1998).
- 7- (موسى) سهير أزهر ، نوفل عبد الجبار المصري و نادية مظفر. تقييم كفاءة مشروع الرستمية لمعالجة مياه المخلفات في بغداد. مجلة بحوث علوم الحياة. المجلد الثاني. العدد 17 (1986).
- 8- WHO (World Health Organization) . Guide lines for drinking water quality. Health criteria and other support information. vol. 2nd. Ed. Geneva. (1997).
- 9- (Golterman) H.L.; Clymo, R.S. and Ohnstacl, M.A.M . Methods for Physical and chemical analysis of fresh water nd. Ed. IBP. Hand. no. 8. Black well scientific publications, Osney Meach. Oxford. 213 pp. (1978).
- 10- (Mackereth) F.T., Heron, J. and Talling, J.F. Water analysis: some revised methods for limnologists . fresh water. Biol. Assoc. Sci. pub. 121pp. 1978).
- 11- المواصفة القياسية العراقية لمياه الشرب رقم 417 لعام 1974 و مسودة تحديثها الصادرة عن الجهاز المركزي للتقييس و السيطرة النوعية. م ق ع / 417 / 1996 . 3. 543. 6 . 663. 644 : UDC.
- 12- (Anon) M.A.. Water Treatment Hand book. 6th. ed. vol. 1. (1991). Degremont, London.
- 13- (Lechevallier) M.W., T.W. Evans and R. J. Seidler . Effect of turbidity on chlorination efficiency and bacterial persistence in drinking Water. Applied and environment microbiology, vol. 42. no. 1. p: 159-167. (1981).
- 14- (السعدي) حسين علي . علم البيئة و التلوث. الطبعة الأولى. 612 ص (2002) وزارة التعليم العالي و البحث العلمي. جامعة بغداد. بغداد.
- 15- (الرغوب) احمد عبد الباسط. هندسة المياه. الطبعة الأولى (1994).
- 16- (الجنابي) أزهار محمود. التأثير المضاد لملاح البوتاسيوم – المونيوم (الشب) على نمو خميرة الكانديدا و بعض الفطريات. رسالة ماجستير. جامعة بغداد (1999).

العلاج بالأستراديول والأوكسي تتراسايكلين خلال فترة النفاس لأبقار الحليب – دراسة سريرية

عبد الكريم محمد جعفر محمد مهدي
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

تاريخ تقديم البحث 2007/11/5 - تاريخ قبول البحث 2007/11/28

ABSTRACT

This study included (130) newly parturated fresian cows about (3-6) years of age . It was concerning on treatment with estradiol benzoate hormone and oxytetracyclin antibiotic(20%) together by intra musculer(im) injection and as locally treatment intrauterine(iu) of infected cows which had reproductive problems like dystocia,retained placenta with it,s complications (different kinds of meterits)during puerperium period which extended (20-30) days after birth. The cows were divided Into two groups. 1st group included cows at normal birth (non infected and without problems) (74) cows with (65.5%). 2nd group included the infected cows (56) with (43.5%). dose of estradiol h. was (5-10)mg. dose of oxytetracyclin was (4)gm / cow. By im. Injection during (20) days after birth. given (20)ml of diluted solution of mixed above drugs in (1000)ml of distill water in (iu.) by catheter and the(iu.). treatment was continue during (20-90) days after birth due to respond of infected cows for the local treatment, Through the rectal palpation. The clinical uterine involution degree taken occurrence (30) days after birth in two groups of cows was (100%) so the 1st estrus during(20,35-45 and 60-90) days after birth so uterine discharges examined(bloody or pus) for two groups as evidence of above treatments effect.(the clinical involution uterine dgree depend upon examind by uterine horn diameter, uterine size , uterine distance from pelvic brim and uterine extended which examined rectallyand comporative with the uterine before parturition respectively. We found from this study the continue examination for the cows which were at normal birth and infected cows by treated program as reproductive management program and healthy nutrition for all animals gave agood results for maintenance of animal fertility and decrease the reproductive problems ratio and retained placenta and to be ready for pregnant, birth and yield. period of 1st estrus of normal birth cows and it was (27%) at 1st (20) days, (20%) at (35-45) days and (52%) at (60-90) days while the infected cows was (zero%, 18.5% and 85%) respectively. Two cows were slaughtered due to traumatic reticulo pericarditis (T.R.P.) and 2nd case infected with acute septic metritis (S.M.)and not responded for treatment.

الخلاصة

شملت هذه الدراسة على (130) بقرة فريزيان حديثة الولادة ويعمر (3-6) سنوات وركزت على استخدام العلاج بهرمون الأستراديول بنزويوت والمضاد الحياتي الأوكسي تتراسايكلين تركيز (20%) سوية حقن في العضل وكعلاج موضعي داخل الرحم للابقار المريضة والتي عانت من مشاكل تناسلية كمعسر الولادة واحتباس المشيمة ومضاعفاتها (التهاب الرحم بأنواعه) وذلك خلال فترة النفاس الممتدة من (20-30) يوما بعد الولادة. قُسمت الأبقار الى مجموعتين المجموعه الاولى ضمت أبقار ذات الولادات الطبيعیه (غير المريضة وبدون مشاكل) وعددها (74) بقرة ونسبة (65.5%). المجموعه الثانيه ضمت الأبقار المريضة وعددها (56) بقرة ونسبة (43.5%). الجرعة المستخدمه في العلاجات كانت (هرمون الأستراديول بنزويوت 10

5ملغم والمضاد الحيائي الأوكسي تتراسايكلين 20% 4غم للبقرة الواحد) حقن عضلي وذلك خلال (20) يوما بعد الولادة كما تم إعطاء (20) مل من محلول مخفف لمزيج المواد أعلاه في (1000) مل ماء مقطر و بواسطة القسطرة داخل الرحم واستمر العلاج الرحمي خلال الفترة (20-90) يوما بعد الولادة وحسب استجابة الأبقار للعلاج الموضعي.

أعتمدت درجة الارتداد الرحمي السريري من خلال الفحص المستقيمي بعد (30) يوما من الولادة للمجموعتين وكانت بنسبة (100%) وفترة ظهور أول صراف خلال المدة (20,35-45,60-90) يوما بعد الولادة وملاحظة الإفرازات الرحمية (مدممة أو قيحية) للمجموعتين كقياس للكفاءة التناسلية ومدى استجابة الأبقار المريضة للعلاج. (يقاس الارتداد الرحمي السريري على أساس قطر قرن الرحم وحجمه براحة اليد وبعد الرحم عن حافة الحوض وشدة التوتر الرحمي ومقارنته مع الرحم قبل الولادة وبشكل تقريبي). نستنتج من البحث أن المتابعة الميدانية للأبقار ذات الولادة الطبيعية وأدخل الأبقار ذات المشاكل بعد الولادة ضمن برنامج علاجي دوري كإعطاء تناسلية مقترنة ببرامج الإدارة والتغذية الصحية لكل الحيوانات تعطي نتائج ذات تأثير مهم في المحافظة على خصوبة الحيوان وخفض نسبة المشاكل التناسلية واستعداده للحمل والولادة والانتاج. هذا ما اتضح من خلال نتائج النسب المنوية لفترة ظهور أول صراف للأبقار ذات الولادة الطبيعية وكانت (27%) في (20) يوما الأولى و(20%) في (35-45) يوما و(52%) في (60-90) يوما أما الأبقار المريضة فكانت النسب المنوية (صفر % 18.5 و 85%) على التوالي. ذبحت بقرتين لأصابتهما أحدهما بالتهاب التامور الشبكي الكلومي (Traumatic Reticulo pericarditis (T.R.P) بسبب أجسام حادة والثانية لأصابتها بالتهاب الرحم الانتاني الحاد (Acute septic metritis (S.M.) ولم تستجب للعلاج.

المقدمة

ما يريجه كل طبيب بيطري الولادة الطبيعية وبدون مشاكل تناسلية كعسر الولادة وأحتباس المشيمة ومضاعفاتها المسببة لخسائر اقتصادية كبيرة كونها تؤثر على الخصوبة وفترة إنتاج الحليب (1,2). حيث أنها من أهم الحالات التي يتبعها التهابات الرحمية والمؤثره على الإنتاج حيث ذكر (3) أن نسب حدوث التهاب الرحم الانتاني (8.8%) ونسبة إصابته مع احتباس المشيمة (78.8%) أما نسبة حدوث التهاب الرحم النفاسي فهي (9.15%) ويصاحب احتباس المشيمة بنسبة (73.8%) بينما ذكر (4) أن مرض التهاب الرحم النفاسي المصاحب لأحتباس المشيمة يحدث بنسبة (60.4%) لذا ونتيجة تأثيرهما على مستقبل الحيوان التناسلي يتطلب استخدام العلاجات ومحاولة إعادة الحيوان إلى وضعه التناسلي الطبيعي (5,6,7). أشار الباحثون (1,8,9) إلى أنه يمكن منع احتباس المشيمة وحالات عسر الولادة المتعلقة بحجم الجنين وضيق القناة التناسلية ومضاعفاتها من خلال الاهتمام بالإدارة والتحسين الوراثي والعلاجات البيطرية المستخدمة ومنها العلاج بالمضاد الحيائي الأوكسي تتراسايكلين التي بلغت نسبة الاستجابة له (41.67%) عند استخدامه داخل الرحم. كما ذكر كل من (13,14) أن التهابات الرحمية شكلت نسبة (42.7%) نتيجة لما تقدم فإن هذه الدراسة تهدف إلى متابعة الأبقار الطبيعية والمريضة خلال فترة النفاس من خلال متابعة ارتداد الرحم عن طريق الجس المستقيمي للأبقار الطبيعية والمريضة (ذات المشاكل التناسلية) والمقارنه بينهما. أيضا استخدام العلاجات بهرمون الأستراديول والمضاد الحيائي الأوكسي تتراسايكلين للأبقار المريضة للسيطره على التهابات الرحمية. أيضا دراسته تأثير العلاجات أعلاه على مستوى خصوبة الحيوان من خلال متابعة ظهور أول صراف خلال الفترات (20,35-45,60-90) يوما بعد الولادة.

المواد وطرائق العمل

أستخدمت في دراسته (130) بقرة فريزيان حديثة الولادة وبعمر (3-6) سنوات وقسمت الى مجموعتين المجموعه الأولى ضمت الأبقار ذات الولادات الطبيعيه وعددها (74) بقرة وبنسبة (56.5%) ولم تخضع لأي علاج. المجموعه الثانيه ضمت الأبقار ذات الولادات التي تعرضت لمشاكل تناسليه شملت (عسر الولادة , احتباس المشيمه ومضاعفاتهما كالتهاب الرحم الانتاني والتهاب الرحم النفاسي) وكان عددها (56) بقرة وبنسبة (43.5%) وخضعت للعلاجات التاليه والرعايه التناسليه.

1- هرمون الاستراديول بنزويوت وبجرعة (5-10) ملغم حقن بالعضل (sandoz LTD Basle switzerland).

2- المضاد الحيائي الاوكسي تتراسايكلين تركيز (20%) وبجرعة (4) غم / بقرة واحده حقن بالعضل (BrMER pharma GABH 2850 Bernerhaven west- Germany).

3- مزيج من هرمون الأسترايول بنزويوت (عبوه بمقدار 10مل حاويه على 100ملغم) والمضاد الحيائي الأوكسي تتراسايكلين (عبوه حاويه على 100مل بتركيز 20%). خفف المزيج الى (1000) مل مع الماء المقطر أعطيت الحيوانات المريضه من هذا المحلول جرعة (20) مل داخل الرحم وبواسطة القسطره وبتركيز (0.1) ملغم من الأسترايول مع (20) ملغم من الاوكسي تتراسايكلين / مل.

عولجت الحيوانات المريضه بالمواد والطرق أعلاه خلال اول (20) يوما من النفاس وأستمر العلاج الرحمي خلال الفترة (20-90) يوم بعد الولادة وحسب شدة الحالة والاستجابه.

- أعتمد الحقن العضلي للعلاج بالمواد أعلاه بناءا على النشره الموجوده على العبوات المستخدمه وحسب تعليمات الشركه.

النتائج و المناقشة

يوضح الجدول رقم (1) العدد الكلي للأبقار (128) بقرة مقسمه الى مجموعتين. مجموعه أولى ضمت (74) بقرة ذات ولاده طبيعيه وبدون مشاكل بعد الولادة وبنسبة (56.5%). مجموعه ثانيه ضمت (54) بقرة وبنسبة (43.5%) عانت من مشاكل كعسر الولادة واحتباس المشيمه ومضاعفاتهما (التهايات رحميه) خضعت أبقار هذه المجموعه للعلاجات خلال الفتره الأولى (20) يوم من فترة النفاس. حيث تم استخدام العلاج بهرمون الأسترايول وبجرعه (5-10) ملغم مع المضاد الحيائي الأوكسي تتراسايكلين (20%) وبجرعة (4) غم حقن عضلي لكل حيوان وبجرعات مكرره حسب شدة حاله مع اعطاء المحلول المخفف بالماء المقطر لمزيج المواد أعلاه وبجرعة (20) مل وبتركيز (0.1) ملغم أسترايول و 20 ملغم أوكسي تتراسايكلين / مل).

أعتمدت النتائج على قياس درجة أرتداد الرحم السريري بعد (30) يوما من الولادة وكانت النسب المئويه لدرجة أرتداد الرحم السريري للمجموعتين (100%) من خلال الفحص المستقيمي. كذلك أعتمدت على تحديد فترة أول نشاط فسلجي للمبايض خلال الفترات (90-60, 45-35, 20) يوما بعد الولادة فلو حظ ظهور أول شيق (صراف) في (20) يوم الأولى بعد الولادة في (20) بقرة وبنسبة (27%) وفي (15) بقرة خلال الفترة (35-45) يوم وبنسبة (20%) وفي (39) بقرة وبنسبة (52%) خلال (60-90) يوما بعد الولادة من أبقار المجموعه الأولى في حين أن أبقار المجموعه الثانيه المريضه والمعالجه فكانت النسب (صفر%, 18.5%, 85%) خلال الفترات أعلاه وعلى التوالي. تم ذبح اثنتين من الأبقار المريضه نتيجة أصابه أحدهما بالتهاب التامور الشبكي الكلومي وأصابه الثانيه بالتهاب الرحم الأنتاني الحاد ولم تستجب للعلاج.

جدول-1: يوضح أعداد الأبقار الطبيعية والأبقار المريضة وفترة ارتداد الرحم السريري وفترات ظهور أول صراف ونسبها المئوية.

عدد الأبقار الكلي	الأبقار الطبيعية	عدد الأبقار / عند ارتداد الرحم بعد (30) يوم من الولادة	عدد الأبقار / عند فترة ظهور أول صراف		
			بعد (20) يوم من الولادة	بعد (35-45) يوم من الولادة	بعد (60-90) يوم من الولادة
74	74 %56.5	74 %100	20 %27	15 %20	39 %52
128	الأبقار المريضة	عدد الأبقار المعالجة / عند ارتداد الرحم بعد (30) يوم من الولادة	عدد الأبقار المعالجة / عند فترة ظهور أول صراف		
			بعد (20) يوم من الولادة	بعد (35-45) يوم من الولادة	بعد (60-90) يوم من الولادة
54	54 %43.5	54 %100	لا يوجد صفر%	8 %18.5	46 %85

يتضح من الجدول رقم (1) أن أعداد الأبقار المريضة كانت (54) ونسبة (43.5%) مقارنة مع المجموعه الأولى التي مثلت (74) بقره ونسبة (56.5%) أن هذه النسب المتقاربه نوعا ما لا تعود الى سوء الإدارة والتغذية للأبقار وإنما قد تعكس عوامل أخرى كعمر الأم وسوء الاختيار بين حجم الذكر الملقح و حجم الأنثى مما يؤدي إعطاء مواليد كبيره الحجم تسبب عسر الولادة ومضاعفاتها أتفق ذلك مع (1) حيث أشار أن عسر الولادة لها علاقه بحجم الجنين وسعة قطر حوض الأم وعلاقتها بالوراثة وهذين العاملين لهما علاقه بمختلف درجات العسر كما وأتفق مع (2,5,7) اللذين أكدوا على المشاكل الناتجه من عسر الولادة وأحتباس المشيمه بسبب عدم التوافق بين الجنين والأم نتيجة الاختيار الغير مناسب للثور المستخدم في التلقيح الأصطناعي وسوء الإدارة والتغذية و وزن الجنين وتأثير هذه المشاكل على الخصوبه والانتاج وضرورة استخدام العلاج للحالات المريضة. كما أكد (10) على علاقه وزن الجنين وحجمه مع سهوله الولادة وعلاقه ذلك بالإدارة والتغذية.

أن ارتداد الرحم السريري بعد (30) يوم من الولادة في المجموعتين كانت متساويه النسب وهي (100%) كما يلاحظ في الجدول رقم (1) يدل ذلك أن الأبقار جميعا قد خضعت الى نفس برامج الإدارة والتغذية وأن استخدام العلاجات للأبقار المريضة بعد التشخيص السريع كان له الأثر الكبير في سرعه ارتداد الرحم أتفق ذلك مع ما أشار اليه (9) على أن الإدارة الجيده والكشف السريع للحاله المرضيه والمتابعه الميدانيه للأبقار الوالده حديثا بأستخدام العلاجات ذات تأثير في سرعه ارتداد الرحم. لكن وكما يلاحظ في الجدول رقم (1) تأخر الصراف في مجموعه الأبقار المريضة خصوصا في فترة (20) يوم الأولى بعد الولادة حيث بقيت منخفضه وقد يعزى ذلك لمضاعفات عسر الولادة وأحتباس المشيمه (ألتهابات رحميه) لكن وبعد الأستمرار به بالعلاج ضمن برنامج الرعاية التناسليه كانت الأستجابه تصاعديه وذلك في فترة (35-45) يوم و(60-90) يوم مما يدل أن العلاج كان مؤثرا ومتأزرا مع الإدارة الجيده والتغذية الجيده وهذا ما أتفق مع كل من (1,6,7,8,11) اللذين أكدوا على ضرورة العلاجات ومتابعة الحيوان كما أن المتابعه والعلاجات تمنع التليفات الرحميه وهلاك الحيوان وأن حسن الإدارة والتغذية ستزيد من مقاومته وتحسين صحته (9,11,12).

أن لأحتباس المشيمه وما يتخلف عنها من مضاعفات لابد أن توضع لها حلول للتخلص منها والسيطره على مضاعفاتها للمحافظه على خصوبه الحيوان ومنع هلاكه وهذا ما أتفق مع

البحوث التي أشتملت على دراسته أرتداد الرحم وحصول المشاكل التناسلية وزيادة وتنوع نسبها بين الأبقار المريضة وهي (10,11,12,13).
 نستنتج من هذه الدراسة أن احتباس المشيمة وعسر الولادة تعد من المشاكل التناسلية التي تؤدي إلى المضاعفات خاصة الالتهابات الرحمية خلال فترة النفاس والأيام التي تعقبها ومن جانب آخر فإن العلاج بهرمون الأسترايديول بنزوييت بجرعة (5-10) ملغم وبالمضاد الحياتي الأوكسي تتراسايكلين (20%) وبجرعة (4) غم / بقره حقن بالعضل إضافة إلى العلاج الرحمي كان مؤثر في المحافظة على خصوبة الأبقار المريضة المعالجه وأن سرعة أرتداد الرحم فيها عكس تزايد نسبة الصراف بها وللفرات الممتدة مابين (35-45) و(60-90) بعد الولادة.

المصادر

1. Tenagen B.N, Helmblood A and Heuwieser W. Effect of various degrees of Dystocia in dairy cattle on calf viability, milk production, fertility and culling. Med. Aphylo.Patho.Clin.med. 54(2):98-102, (2007)
2. Dematawewa C.M. and Berger P.J. Effect of dystocia on yield, fertility and losses and economic evaluation of dystocia scores for Holstein. J. dairy sci. 80(40):754-61, (1997)
3. القره غولي، محمود سلمان (1992) دراسته سريريه مقارنة لعلاج التهاب الرحم الانتاني والتهاب الرحم النفاسي في الأبقار (رسالة ماجستير- جامعة بغداد).
4. منت علي، طالب غيدان (1992) دراسته سريريه للأمراض النفاسية في أبقار الحليب (رسالة ماجستير- جامعة بغداد).
5. Dermal M, Freeman A.F. and Berger P.J. Reporting of dystocia and effect of dystocia on production, days open and days dry from dairy herd improvement data. J. dairy sci. 70(10):2127-31, (1987)
6. Rajala B.J. and Gorhn Y.T. effect of dystocia, retained placenta and metritis On milk yield in dairy cows. J. dairy sci. 81(12):3172-81, (1998)
7. Dillich M, pfutzer A, sabin H.J. sabin M. and heuwieser W. Comparision of two protocols for treatment of retained fetal membranes in dairy cattle. Theriogenology. 59(3-4):951-60 (2003)
8. Stevens R.D. and Dinsmore R. P. Treatment of dairy cows at parturition with PGF2& or oxytocin for prevention of retained fetal membranes. J.Am.Vet.Med. Assoc. 211(10):1280-4. (1997)
9. Overton M. w, sischo W. M. and Reynolds J. P. Evaluation of effect of estradiol cypionate administrated prophylactically to post parturient dairy cows at high risk metritis. J. AM. Med. Assoc. 223(6):846-51, (2003)
10. Toohanson K.M. and Berger P. j. Birth weight as predictor of calving ease and perinatal mortality in holstien cattle. J. dairy sci. 86(11):3745-55, (2003)
11. Risco C.A. and Hernande Z. J. Comparision of ceftifur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention and reproductive performance in dairy cows effected with retained fetal membranes. Theriogenology. 60(1):43-58, (2003)
12. Waqner D.C, Bondurant R. H. and Sischo W. M. Reproductive effects of estradiol cypionate in post parturient dairy cows. J.Am.Vet.Med.Assoc. 219(2):220-3, (2001)
13. محمد جواد، أحمد هادي (1990) تأثير الرعاية التناسلية الصحية على الخصاب والحمل في الأبقار (رسالة ماجستير- جامعة بغداد).
14. مهدي عبد الكريم محمد جعفر (1992) دراسته مقارنة لتأثير بعض برامج الرعاية التناسلية خلال فترة النفاس على الخصوبة في أبقار الحليب (رسالة ماجستير- جامعة بغداد).

استخدام الخوارزمية الجينية لحالة الاستقرار مع تقنيات المجتمعات التحتية في تصميم وتدريب اوزان الشبكات العصبية الاصطناعية

ندى ذنون أحمد

قسم علوم الحاسبات / كلية العلوم الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2007/7/2 قبول البحث 2008/11/28

ABSTRACT

The researchers faced many difficulties in artificial neural networks, particularly in choosing the suitable design for certain problem, design means decided the numbers of the hidden layers, more over the connection among the net cells. The researchers almost use guessing or experimental and mistaken operations, by all these ways they could not guarantee the most suitable design with suitable speed, as an outcome. Because of these problems, specially the Back Propagation (Bp), the genetically algorithm comes to solve all these problems, regarding design and training concerning the artificial neural network. All the previous researches which were worked in designing and training the neural network and specially the Back Propagation using Steady State genetic algorithm (SSGA) which depends on solving the binary and triple replacement, and this research prove that experimentally the steady state genetic algorithm with subpopulation to design and train the Back Propagation, to get the best results from network design. Thus we have been used two techniques from the subpopulation and which was the preselection and crowding techniques, They were made a compares between them to get the best one and with the solving of the binary replacement and this prove the superiority of the subpopulation through this method.

الخلاصة

يواجه الباحثون في مجال الشبكات العصبية الاصطناعية صعوبات عديدة من حيث التصميم المناسب لمشكلة معينة ونقصد بالتصميم تحديد عدد الطبقات والخلايا المخبأة فضلا عن التوصيلات بين الخلايا في الشبكة , حيث يلجأ الباحثون غالبا الى عمليات التخمين او عمليات التجربة والخطأ ولا تضمن اي منها الحصول على التصميم المناسب بالسرعة المطلوبة . ونتيجة لهذه المشاكل التي تعاني منها الشبكات العصبية وخصوصا شبكة انسياب الخطأ خلفا (Back Propagation) من حيث التصميم والتعميم والتقارب جاءت الخوارزمية الجينية لحل مشاكل الشبكات العصبية الاصطناعية. حيث استخدمت الخوارزمية الجينية في تصميم وتدريب الشبكات العصبية الاصطناعية , وقد كانت كل البحوث السابقة التي عملت في مجال تصميم وتدريب الشبكات العصبية وخاصة شبكة انسياب الخطأ خلفا باستخدام الخوارزمية الجينية لحالة الاستقرار (SSGA) تعتمد على عامل احلال المجموعات الثنائية والثلاثية , ويبرهن هذا البحث تجريبيا اقتدار الخوارزمية الجينية لحالة الاستقرار مع مفهوم المجتمعات التحتية على تصميم وتدريب شبكة انسياب الخطأ خلفا ويعتبر هذا التوجه الاول في هذا المجال. ولقد اوضحت التجارب نجاح هذا التوجه في تصميم وتدريب شبكة انسياب الخطأ خلفا والحصول على افضل النتائج من حيث تصميم الشبكة (اقل عدد ممكن من الخلايا المخبأة) وباقل عدد ممكن من الاجيال وبكفاءة عالية جدا. وقد تم استخدام تقنيتين من تقنيات المجتمعات التحتية وهي تقنية ماقبل الانتخاب (Preselection) لكافيشو وتقنية التزاحم (crowding) لدي جونج وقد تم مقارنة التقنيتين والحصول على التقنية الافضل وكذلك تمت مقارنة التقنيتين مع احلال المجموعات الثنائية (طرق الاحلال الاعتيادية) وقد برهن هذا البحث تفوق تقنيات المجتمعات التحتية على طرق الاحلال الاعتيادية .

المقدمة

أول من وضع افكار الخوارزمية الجينية العالم جون هولاند (J.Holland) عام 1975 وقد أدخل مفهوم التزاوج . ونتيجة للتطور الذي حصل في مجال الخوارزميات الجينية فقد لجأ العديد من الباحثين لاستخدامها في تطبيقات عديدة ومنها استخدامها في الشبكات العصبية الاصطناعية . حيث تعد الخوارزميات الجينية وخوارزميات تعلم الشبكات العصبية خوارزميات امثلية حيث ان الخوارزمية الجينية هي عبارة عن خوارزميات بحث عامة تقوم بالبحث عن الحل الامثل ضمن مجموعة من الحلول الموجودة في المجتمع وتبحث خوارزمية تعلم الشبكات العصبية الاصطناعية عن مجموعة من الاوزان القادرة على تعلم أنماط التدريب بكفاءة [3],[2],[1] . وفكرة الجمع بين الخوارزميات الجينية والشبكات العصبية الاصطناعية بدأت في الظهور في أواخر الثمانينيات وقد ولدت مجالا بحثيا خاصا فيه تعالج الخوارزميات الجينية مشاكل الشبكات العصبية الاصطناعية حيث استخدمت الخوارزمية الجينية في تصميم وتدريب الشبكات العصبية . حيث قام ديفيد ورفاقه [4] بتفسير اوزان الشبكة ذات القيم الحقيقية مباشرة . ولكن التمثيل الذي اقترحه لايقوم بأظهار الكتل البنائية وذلك لعدم وضع الاوزان الداخلة الى الخلية المخبأة أو خلية الاخراج مع بعضها ولعلاج هذه المشكلة فقد استعمل ست معاملات طفرة وثلاث معاملات تزاوج ويتم اختيار التشكيلة المناسبة من هذه المعاملات. وتوجد طريقتان شائعتان لتصميم شبكة عصبية باستعمال الخوارزمية الجينية [5],[6],[7] :

1- نمو الشبكة : حيث قام كل من ميللر في عام 1989 بالاضافة الى شافير ورفاقه في عام 1990 باستخدام هذه الطريقة والتي تتضمن البدء بشبكة صغيرة وتطبيق العوامل الجينية يتم اضافة عقد مخبأة واوزان اضافية ويتم فحص كفاءة الشبكة . وتحتاج هذه الطريقة الى تطبيق خوارزمية التعلم المحلية بعد اجراء كل تعديل على الشبكة وهذا يتطلب وقتا طويلا بالاضافة الى ذلك فان هذه الطريقة يمكن ان تقع في مشكلة النهاية الصغرى المحلية .

2- تشذيب الشبكة : تتمثل هذه الطريقة بالبدء بشبكة كبيرة وقادرة على تعلم انماط التدريب حيث قام وايتلي ورفاقه في عام 1990 باستخدام هذه الطريقة وتطبيق بعض العوامل الجينية وتتمثل في حذف بعض العقد المخبأة والاوزان . وبعد الانتهاء يتم تدريب الشبكة الناتجة لمرة واحدة فقط بالاعتماد على الاوزان المأخوذة من الشبكة الاصلية.

يحاول بحثنا استخدام الخوارزمية الجينية لحالة الاستقرار في عملية تصميم وتدريب شبكة انسياب الخطأ خلفا . حيث يتم البدء بالخوارزمية الجينية والتي تكون مسؤولة عن توفير التصميم المناسب مع اوزانه الابتدائية وارسالها الى خوارزمية انسياب الخطأ خلفا والتي تكون مسؤولة عن اكمال تدريب هذه الاوزان وصولا الى الحل الامثل . وقد كانت كل البحوث السابقة التي عملت في مجال تصميم وتدريب الشبكات العصبية الاصطناعية باستخدام الخوارزمية الجينية لحالة الاستقرار تعتمد على أحلال المجموعات الثنائية والثلاثية ولكن في هذا البحث سوف نقوم بتصميم وتدريب الشبكات العصبية الاصطناعية باستخدام تقنيات المجتمعات التحتية مع مبدأ تشذيب الشبكة وقد استخدمنا تقنيتين من هذه التقنيات وهي [4],[7],[8] :

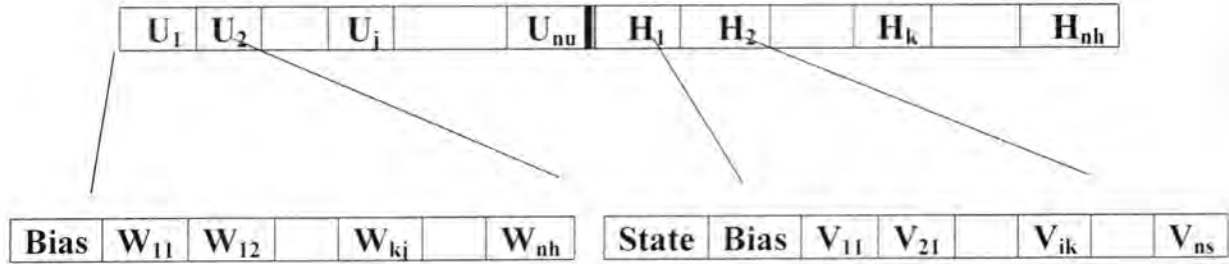
1- تقنية (Preselection) لكافيشو (Cavicochio) وفي هذه التقنية (الطفل يحل محل والده الأكثر شبها اذا كان الطفل افضل صلاحية من والده) وفي هذه التقنية سوف تتم المحافظة على التنوعية في المجتمع وذلك بسبب ان الطفل يقوم بالحلول محل الاب الأكثر شبها

2- تقنية التزاحم (Crowding) لدي جونج (De jong) وفي هذه التقنية (يحل الطفل محل الفرد الأكثر شبها له في مجتمع تحتي عشوائي اذا كان الطفل افضل صلاحية)

وقد استخدمنا تقنيات المجتمعات التحتية ونجحت في هذا المجال وذلك بسبب ان دالة الصلاحية تحتوي على كثير من النهايات المحلية التي يمكن ان تضلل الخوارزمية الجينية واحدى الطرق للتعامل مع هذه المشكلة هي استعمال مجتمعات تحتية حيث كل مجتمع تحتية يمكن ان يتطور منعزلاً ومحافظة على التنوعية والاستفادة منها بدرجة افضل وقائدة المجتمعات التحتية هي الحصول على حلول اعلى نوعية [8],[7],[4],[2]. وقد أثبت هذا البحث بانه باستخدام هذين التقنيتين في عملية الاحلال تمكننا من الوصول الى التصميم المناسب باقل عدد ممكن من الاجيال وبتصاميم أقل تعقيدا مقارنة مع احلال المجموعات الثنائية (طرق الاحلال العادية). وكذلك عملنا مقارنة مابين التقنيتين لاختيار افضلها.

هيكل عمل الطريقة المقترحة :

تشفير الشبكة : تعتمد الخوارزمية الجينية على مبدأ تشذيب الشبكة وتم الاعتماد على نظرية كولمكروف والتي صاغها هيتشن نلسن عام 1987 في تحديد هيكل الشبكة الابتدائية وذلك بالبداية بشبكة كبيرة الحجم تتكون من طبقة ادخال تحتوي على n_i من خلايا الادخال وطبقة مخبأة واحدة تحتوي على $(n_h = 2n_i + 1)$ من الخلايا المخبأة كحد أقصى وطبقة اخراج تتكون من n_o من خلايا الاخراج ويتم تحديد عدد خلايا طبقة الادخال وعدد خلايا طبقة الاخراج حسب نوع المشكلة المراد حلها . وقد تم استخدام التشفير الحقيقي مباشرة كجينات في الكروموسوم والشكل رقم (1) يوضح طريقة التشفير المقترحة . والشكل رقم (2) يوضح مثالا لعملية تشفير الكروموسوم .



شكل 1- طريقة التشفير المقترحة

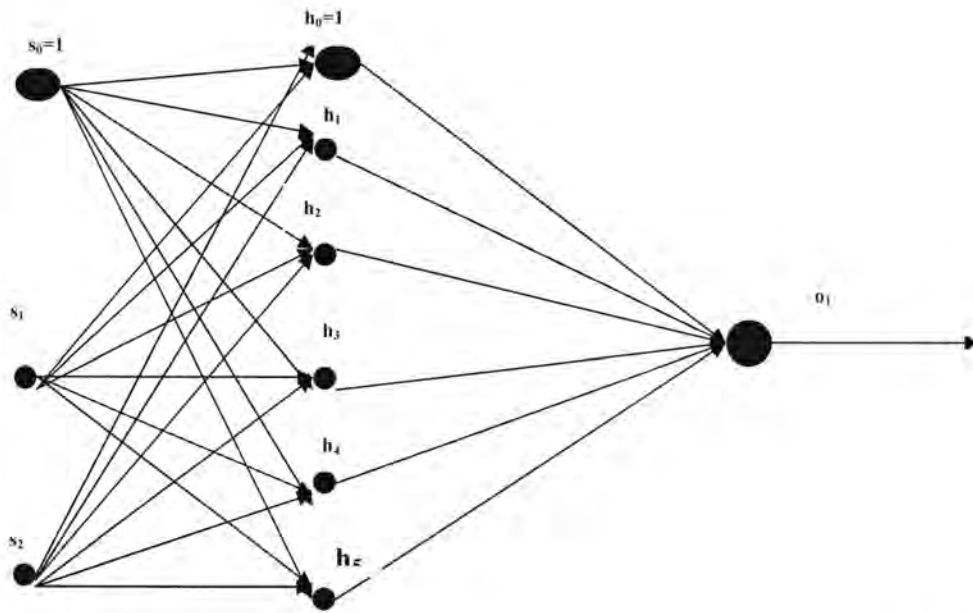
- U_j : خلية الاخراج j حيث $1 \leq j \leq nu$, H_k : الخلية المخبأة k حيث $1 \leq k \leq n_h$
- $State$: حالة الخلية المخبأة (نشطة/خاملة) , $Bias$: قيمة العتبة
- W_{kj} : الوزن للموصل بين الخلية المخبأة k و خلية الاخراج j حيث $1 \leq k \leq n_h$, $1 \leq j \leq nu$
- V_{ik} : الوزن للموصل بين الخلية الادخال i والخلية المخبأة k حيث $1 \leq k \leq n_h$, $1 \leq i \leq ns$
- n_i : عدد خلايا الادخال , n_h : عدد الخلايا المخبأة , n_o : عدد خلايا الاخراج

تم وضع اوزان خلايا الاخراج على يسار الكروموسوم متنوعة بحالة واوزان الخلايا المخبأة حيث تمثل اوزان خلايا الاخراج بواسطة $(n_h + 1)$ من الجينات الحقيقية . تمثل الجينة التي في اقصى اليسار قيمة العتبة متنوعة بكافة الاوزان الداخلة من الطبقة المخبأة الى خلية الاخراج . اما بالنسبة الى الخلايا المخبأة فيتم تمثيلها بواسطة $(n_i + 1)$ من الجينات الحقيقية مسبوقة بحالة الخلية نشطة ام خاملة . الجينة التي تلي حالة الخلية تمثل قيمة العتبة وبعدها تأتي كافة الاوزان الداخلة من طبقة الادخال الى هذه الخلية . والشكل رقم (2) يوضح مثال لعملية تشفير الكروموسوم .

Bias			state				Bias						
0.2	0.4	0.2	0.3	-	0.6	True	0.2	0.7	0.1	True	-0.5	0.6	0.3
2	4		6	0.3		e	5		5				

True	0.6	0.01	0.1	true	-	-0.6	0.42	True	0.1	0.35	0.8
e			2	0.4				e	2		

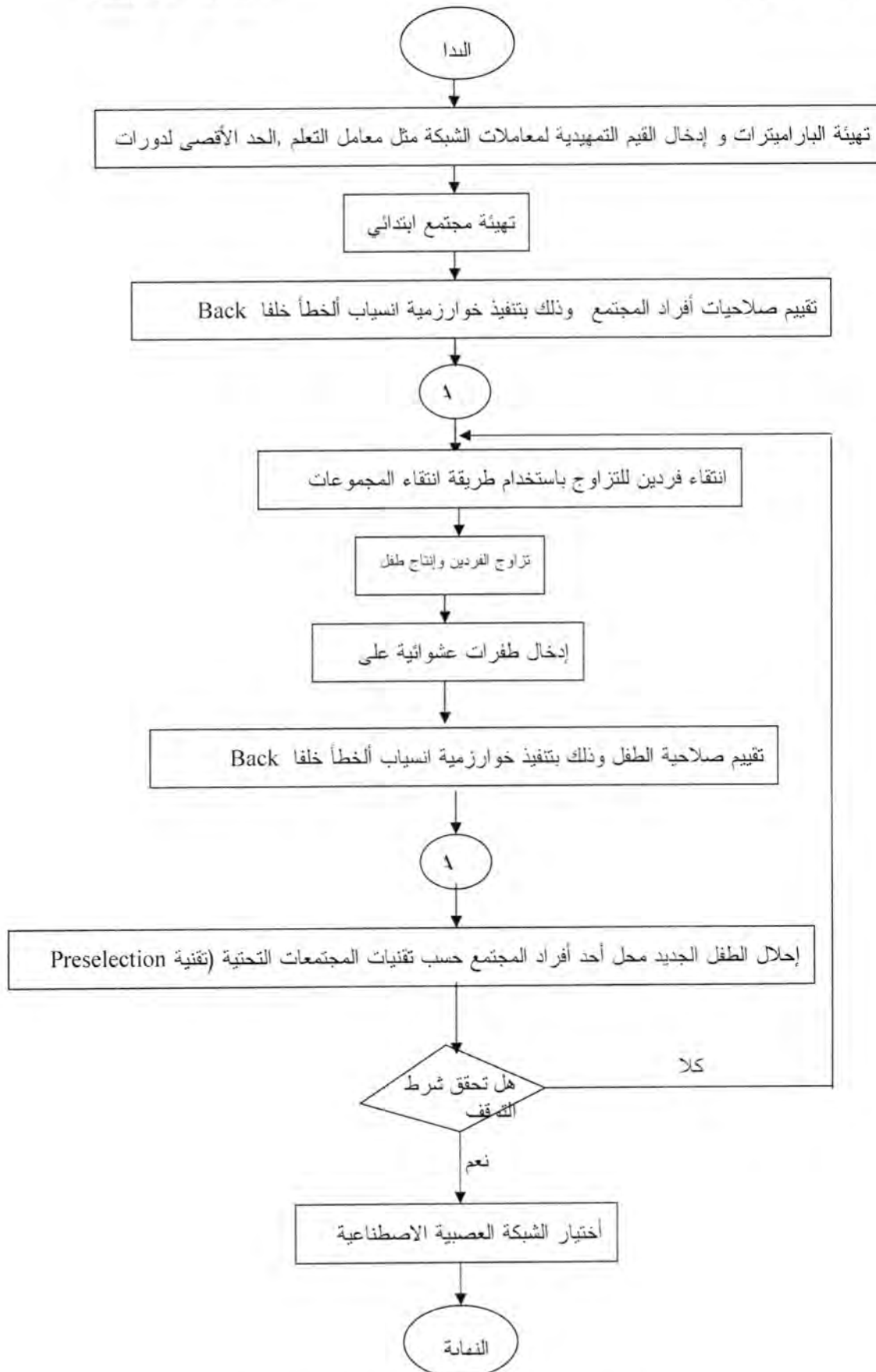
كروموسوم يمثل شبكة عصبية



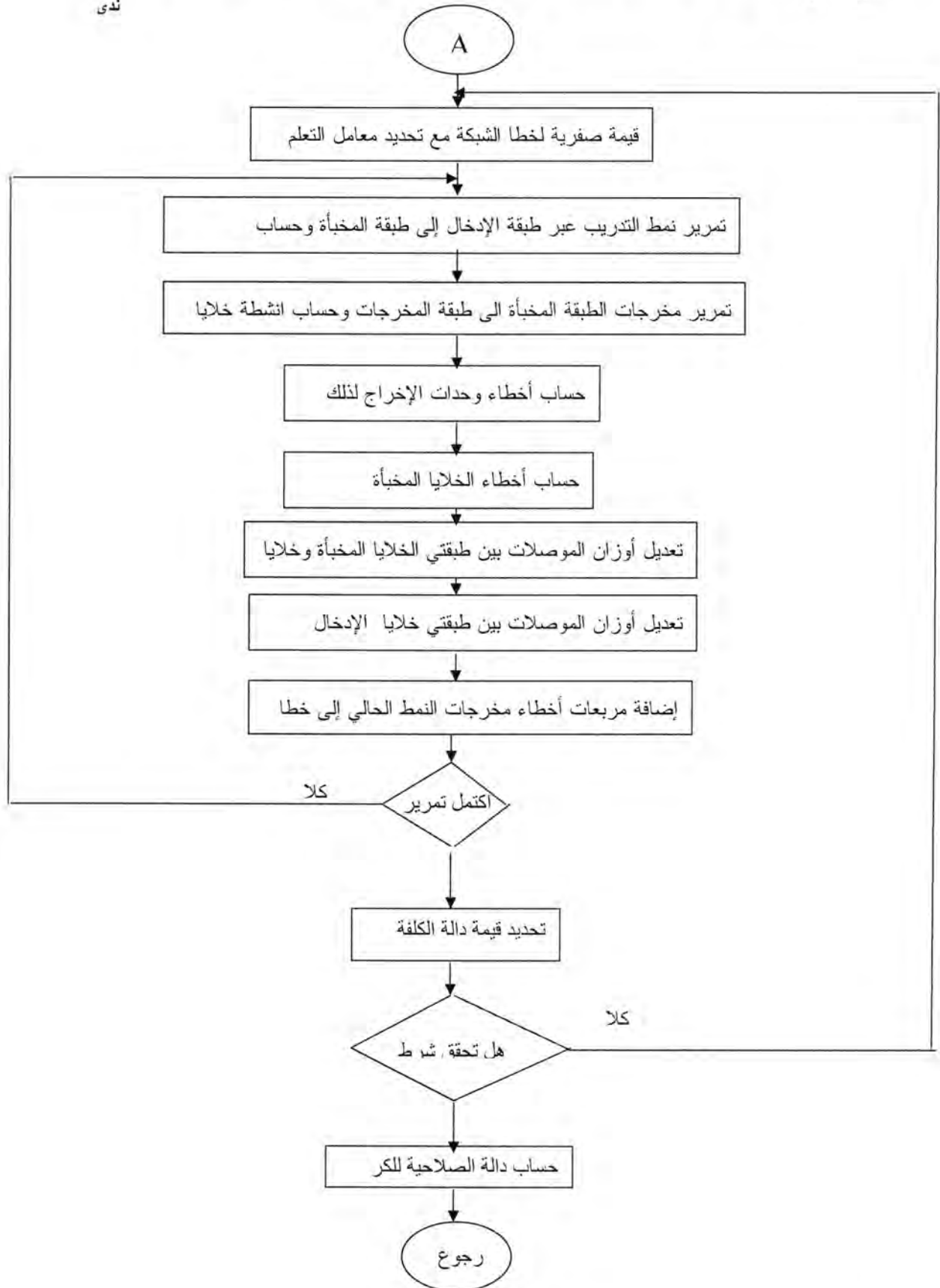
شبكة مكافئة للكروموسوم

شكل 2- مثال لعملية تشفير الكروموسوم

حيث يتم تكوين مجتمع ابتدائي مكون من الكروموسومات المتساوية الحجم وتعمل الخوارزمية الجينية على هذه الكروموسومات لحين الوصول الى حالة التوازن وذلك بعد ان يتم توفير كافة المعلومات التي تحتاجها الخوارزمية الجينية . حيث يوضح الشكل رقم (3) هيكل عمل الطريقة المقترحة .



شكل رقم -3: مخطط أنسيابي يوضح عمل الخوارزمية الجينية



شكل -4: المخطط الانسيابي يوضح عمل خوارزمية أنسياب الخطأ خلفا Back Propagation

وفيما يلي توضيح لاهم ماورد في المخطط الانسيابي :

أ- تهيئة البارامترات : وفيها يتم تعيين كل البارامترات المطلوبة والتي تشمل حجم المجتمع واحتمالية التزاوج واحتمالية الطفرة واحتمالية حذف عقدة مخبأة واحتمالية حذف وزن عشوائي وعدد الدورات الجينية القصوى . وكذلك تحديد المسألة المراد حلها . وكذلك تحديد المعلومات التي تحتاجها الشبكة العصبية وهذه المعلومات تشمل عدد الخلايا في طبقة الادخال وعدد الخلايا في طبقة الاخراج وعدد أنماط التدريب وكذلك قراءة أنماط التدريب .

ب- تهيئة مجتمع ابتدائي : يتم في هذه المرحلة تكوين المجتمع الابتدائي والذي يتكون من مجموعة من الافراد ممثلة بكروموسومات وتقوم الخوارزمية الجينية بأعطاء قيم حقيقية عشوائية لجينات هذه الكروموسومات تمثل اوزان الشبكة العصبية للمسألة اللاخطية المراد حلها.

ت- تقييم صلاحيات افراد المجتمع : يتم تقييم افراد المجتمع الابتدائي من خلال تطبيق خوارزمية أنسياب الخطأ خلفا وذلك لحساب صلاحية كل فرد من افراد المجتمع وكما موضح في الشكل رقم (4) وفي هذا البحث تم استخدام دالة اقل متوسطات مربعات الخطأ للشبكة العصبية والتي لها الصيغة التالية :

$$E = \frac{1}{2} \sum_{p=1}^P \sum_{j=1}^{n_u} (t_j^p - u_j^p)^2 < \varepsilon$$

E - الخطأ الكلي للشبكة , t_j^p : الاخراج المرغوب من الخلية j لنمط التعلم p
 P - عدد أنماط التدريب , u_j^p : الاخراج الفعلي للخلية j لنمط التعلم p
 n_u - عدد خلايا الاخراج

ويتم تطبيق هذه الدالة بتمرير كل أنماط التدريب خلال الشبكة الممثلة .
 ثم تحسب صلاحية كل فرد تبعا للمعادلة التالية:

$$fitness = \frac{1}{1 + E}$$

حيث E = خطأ الشبكة العصبية.

ث- أنتقاء فردين للتزاوج: استعملنا طريقة أنتقاء المجموعات الصدفية حيث ينتقى فردين عشوائيا من المجتمع ويولد عدد عشوائي r ($0 \leq r \leq 1$). اذا كان $r \leq k$ (حيث البارامتر $k=0.75$ مثلا) ينتقى الفرد الأعلى صلاحية وخلفا لذلك ينتقى الفرد الأقل صلاحية. هذا الانتقاء يمتاز بكونه موزعا، يمكن حدوثه على التوازي كما يحدث في الطبيعة .

تدعى

ج- تزاوج الفردين وانتاج طفل : تستعمل طريقة التزاوج المنتظمة التالية : باحتمالية متساوية ولكل خلية مخبأة وخلية اخراج ينتقى احد الابوين عشوائيا وتستنسخ كل اوزان الموصلات القادمة الى تلك الخلية من الاب المختار الى الطفل الوحيد الناتج .

ح- ادخال بعض الطفرات على الطفل الجديد : تستعمل الخوارزمية الجينية المقترحة ثلاثة انواع من الطفرات وهي :

1- اضافة قيمة عشوائية مختلفة الى موصلات عدد من خلايا الاخراج والخلايا المخبأة العشوائية ويتم تطبيق هذه الطفرة باحتمالية معينة.

2- حذف عقدة مخبأة عشوائية وباحتمالية معينة ينتقى عشوائيا خلية مخبأة لتحذف هي وموصلاتها .

3- حذف وزن عشوائي وكذلك باحتمالية معينة ينتقى عشوائيا موصلا واحدا في الشبكة وتوضع قيمته صفر.

خ- تقييم صلاحية الطفل الجديد : من خلال تطبيق خوارزمية انسياب الخطأ خلفا وذلك بتمرير كل انماط التدريب خلال الشبكة الممثلة بهذا الطفل وحساب كلفة الشبكة والتي تمثل قيمة صلاحية الطفل الجديد يتم ارفاق هذه الصلاحية مع الكروموسوم الخاص بالفرد.

د- احلال الطفل الجديد بدلا لاحد افراد المجتمع : بعد حساب صلاحية الطفل الناتج يتم احلال الطفل بدلا لاحد افراد المجتمع وقد استخدمنا تقنيات المجتمعات التحتية في عملية الاحلال وهي تقنية preselection وتقنية crowding وذلك للحفاظ على التنوعية في المجتمع .

ذ- مقياس التوقف : تتوقف الخوارزمية الجينية عندما تتحقق احد الشروط التالية وهي : الوصول الى حد اقصى معروف مسبقا لعدد الاجيال أو عندما يصبح المجتمع كله حلوًا مثلي او عندما لا يوجد احلال نهائيا خلال عدد محدد من الاجيال .

وبعد توقف الخوارزمية الجينية يتم اختيار افضل شبكة عصبية من حيث التصميم الاقل تعقيدا وعدد الخلايا المخبأة المناسبة وكذلك اقل عدد من الموصلات وكذلك من حيث كلفة الشبكة المرغوبة . وبعد ذلك يضاف على هذه الشبكة بعض الضوضاء للتأكد من كفاءتها . ويجب التنويه بانه في خوارزمية انسياب الخطأ خلفا تم البدء بالخوارزمية بمعامل تعلم كبير وذلك لبدائية تعلم سريع مع تقليص معامل التعلم ببطء تدريجيا بحيث يأخذ التدريب خطوات اصغر فأصغر وهذا يقود الشبكة الى حالة نهائية مستقرة دون تذبذب وقد أعتمد في هذه الدراسة معامل التعلم قيمته 0.9 وأستخدمت المعادلة التالية لتقليص معامل التعلم :

$$Z_t = Z_0 \left(1 - \frac{t}{t_{\max}} \right)$$

1: رقم الدورة الحالية

t_{\max} : أقصى عدد للدورات

Z_t : معامل التعلم للدورة 1

Z_0 : معامل التعلم الابتدائي

حيث يكون معامل التعلم $0 < Z < 1.0$

النتائج و المناقشة

بعد تجارب تمهيدية مكثفة لتحديد البارامترات المناسبة للخوارزمية الجينية تم تنفيذ البرنامج وباستعمال مجتمعات ابتدائية عشوائية مختلفة وباستعمال حجم مجتمع يتكون من 50 فرد واحتمالية تزاوج Pc بين [0.5, 1] واحتماليات طفرة بين [0.005, 0.2] , وباستعمال انتقاء المجموعات الصدفية وعامل التزاوج المنتظم UX وتم تطبيق الخوارزمية الجينية على عدد من المسائل اللاخطية القياسية. وقد كانت النتائج التي حصلنا عليها كالآتي:

اولا : مسألة XOR :

أن مسألة XOR تتطلب مدخلين ومخرج واحد و اربعة انماط تدريب . وفيما يلي أفضل النتائج التي تم الحصول عليها من خلال تطبيق الخوارزمية .

جدول -1: يوضح افضل شبكة عصبية حصلنا عليها لمسألة XOR

test	training	كلفة الشبكة	تصميم الشبكة			عدد الاجيال	احتمالية حذف وزن عشوائي	احتمالية حذف عقدة مخفية	احتمالية اضافة قيمة عشوائية الى اوزان الموصلات	احتمالية التزاوج	نوع الاحلال
			عدد خلايا الاخراج	عدد الخلايا المخفية	عدد خلايا الانخال						
100%	100%	0.09	1	2	2	30	0.09	0.002	0.01	0.6	Preselection
100%	100%	0.03	1	2	2	25	0.06	0.1	0.001	0.8	Crowding
100%	100%	0.03	1	2	2	80	0.1	0.01	0.02	0.8	احلال المجموعات الثنائية

مناقشة

1- من الجدول رقم (1) نستنتج بان تقنية ال Preselection وتقنية crowding لهما نفس الكفاءة من حيث تصميم الشبكة العصبية لانه في التقنيتين تتكونان من شبكة عصبية تحتوي على خليتين من الخلايا المخفية . ولكن تقنية ال crowding تكون افضل من حيث عدد الاجيال وصولا الى الحل الافضل ولو بنسبة قليلة .

2- نلاحظ من الجدول رقم (1) بان عملية الاحلال باستخدام تقنيات المجتمعات التحتية أفضل من طرق احلال المجموعات الثنائية وذلك من حيث الوصول الى الحل الامثل بسرعة.

ثانيا : مسألة 6-bit parity :

أن هذه المسألة تتطلب ستة مدخلات ومخرج واحد و 64 نمط تدريب وعملها اذا كان عدد الرقم 1 هو عدد فردي فالنتائج يكون 1 اما اذا كان عدد الواحد هو رقم زوجي فالنتائج يكون صفر . وفيما يلي افضل النتائج التي تم الحصول عليها من خلال تطبيق الخوارزمية .

جدول-2: يوضح افضل شبكة عصبية حصلنا عليها لمسألة 6-bit parity

test	training	كلفة الشبكة	تصميم الشبكة			عدد الاجيال	احتمالية حذف وزن عشوائي	احتمالية حذف عقدة مخفية	احتمالية اضافة قيمة عشوائية الى اوزان الموصلات	احتمالية التزاوج	نوع الاحلال
			عدد خلايا الاخراج	عدد الخلايا المخفية	عدد خلايا الانخال						
100%	100%	0.001	1	6	6	85	0.01	0.002	0.05	0.7	preselection
98%	100%	0.002	1	7	6	70	0.001	0.01	0.01	0.6	crowding
98%	100%	0.001	1	9	6	130	0.02	0.1	0.01	0.7	احلال المجموعات الثنائية

مناقشة

1- من الجدول رقم (2) نستنتج بان تقنية ال Preselection افضل من تقنية crowding من حيث تصميم الشبكة العصبية لانه في تقنية ال Preselection حصلنا على شبكة عصبية اقل تعقيد من حيث التصميم (عدد الخلايا المخبأة ونسبة الكفاءة) مقارنة مع الشبكة العصبية التي حصلنا عليها من تقنية (crowding) ..

2- نلاحظ من الجدول رقم (2) بان عملية الاحلال باستخدام تقنيات المجتمعات التحتية أفضل من طرق احلال المجموعات الثنائية وذلك من حيث الحصول على التصميم الاقل تعقيدا وبأقل عدد ممكن من الاجيال .

ثالثا مسألة Adder:

أن هذه المسألة تتطلب رقمين ثنائيين وكل رقم يتكون من ثنائيين (bits) , وتتكون مخرجاته من ثلاثة ثنائيات (bits) وتتكون من ستة عشر نمط تدريب , وفيما يلي أفضل النتائج التي تم الحصول عليها من خلال تطبيق الخوارزمية .

جدول 3- يوضح افضل شبكة عصبية حصلنا عليها لمسألة Adder

test	traning	كلفة الشبكة	تصميم الشبكة			عدد الاجيال	احتمالية حذف وزن عشوائي	احتمالية حذف عقدة مخبأة	احتمالية اضافة قيمة عشوائية الى اوزان الموصلات	احتمالية التزاوج	نوع الاحلال
			عدد الخلايا الاخراج	عدد الخلايا المخبأة	عدد الخلايا الادخال						
98%	100%	0.02	3	4	4	75	0.02	0.1	0.002	0.7	Preselection
92%	98%	0.1	3	6	4	60	0.02	0.03	0.003	0.5	crowding
98%	100%	0.01	3	7	4	95	0.001	0.002	0.01	0.8	احلال المجموعات الثنائية

مناقشة

1- من الجدول رقم (3) نستنتج بان تقنية ال Preselection افضل من تقنية crowding من حيث تصميم الشبكة العصبية لانه في تقنية ال Preselection حصلنا على شبكة عصبية اقل تعقيد من حيث التصميم (عدد الخلايا المخبأة ونسبة الكفاءة) مقارنة مع الشبكة العصبية التي حصلنا عليها من تقنية (crowding) .

2- نلاحظ من الجدول رقم (3) بان عملية الاحلال باستخدام تقنيات المجتمعات التحتية أفضل من طرق احلال المجموعات الثنائية وذلك من حيث الحصول على التصميم الاقل تعقيدا وبأقل عدد ممكن من الاجيال .

من المناقشات السابقة نستنتج :

- 1- الاحلال بواسطة تقنيات المجتمعات التحتية افضل من طرق الاحلال العادية (أحلال المجموعات الثنائية) وبالتالي ممكن ان نقول ان هذا البحث أثبت نجاح الخوارزمية الجينية لحالة الاستقرار مع الاحلال بواسطة تقنيات المجتمعات التحتية في تصميم وتدريب شبكة انسياب الخطأ خلفا والحصول على شبكات عصبية اقل تعقيدا مقارنة بالشبكات العصبية التي حصلنا عليها من طرق احلال المجموعات الثنائية.
- 2- لقد قدمت لنا الخوارزمية الجينية بالاتحاد مع خوارزمية انسياب الخطأ خلفا افضل التصاميم الخاصة بالشبكة العصبية من حيث عدد الخلايا المخبأة وبأقل عدد ممكن من الاجيال التي لايمكن للانسان ان يتنبأ بها او يتوصل اليها وذلك لان اي تصميم لشبكة عصبية ذات الطبقات المخبأة التي قد يتنبأها الانسان تحتاج الى عدد هائل من الاختبارات .
- 3- تقنية ال Preselection لكافيشو افضل من تقنية crowding لدي جونج من حيث تصميم وتدريب شبكة عصبية حيث حصلنا على شبكات عصبية اقل تعقيد من الشبكة العصبية التي حصلنا عليها من تقنية crowding , والسبب يعود الى انه في تقنية ال preselection الطفل يحل محل والده الاكثر شبها محافظا على التنوعية بدرجة اعلى مما في تقنية ال crowding التي يحل فيها الطفل محل فرد عشوائي يختار من المجتمع .

المصادر

- 1.Patterson D. W. *Artificial Neural Networks Theory and Application*, Prentice Hall, (1996)
- 2.Quagliarella D., Vicini A. [1997]. *Genetic Algorithms and Evolution Strategy in Engineering and Computer science*, "Coupling Genetic Algorithms and Gradient Based Optimization Techniques", John Wiley & Sons.
3. Li C., Licheng j. [1998]. *Hybrid Genetic Algorithm and its modification*. International Conference on Neural Networks and Brain proceeding (ICNN & B'98), pp 278-281.
- 4.Mitchell M. [1996]. *An introduction to Genetic Algorithms*. Abradford book.
- 5.Maričić B. [1991]. *Current Trends in Neural Network Design Tools Research*. EC-Newsletter, Vol.3, No. 1, pp37-45.
- 6.Miller G., Todd P. & Hegde S. (1989). *Designing neural networks using genetic algorithms*. In *Proceedings of the Third Conference on Genetic Algorithms and their Applications*, San Mateo, CA: Morgan Kaufmann.
- 7.Schmidt M., Stidsen T. [1997] . *Hybrid Systems : Genetic Algorithms ,Neural Networks and Fuzzy Logic* , DAIMIR.
- 8.Golberg D.E. [1989]. *Genetic Algorithms in search ,optimization and machine learning* , Reading, MA: Addition-Wesley.