

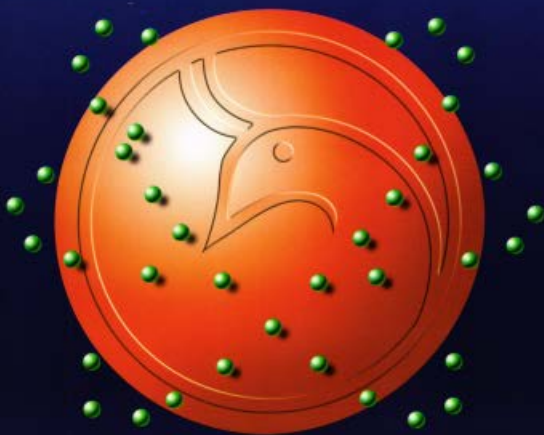


Al-Mustansiriyah

ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 19, No. 3, 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

Consultant Committee

Dr. Salah M. Aliwi

Dr. Mehdi S. Abbas

Dr. Kadhim H. H. Al-Mossawi

Dr. Yosif Kadhim Al-Haidari

Dr. Nama Muhsin Al- Fatlawi

Dr. Amir Sadiq Al-Malah

Dr. Nazar Edward Nasser

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.
Determination of Inulin Content of Chicory , Garlic and Leek, and study of their Antibacterial activity against some pathogenic bacteria Mohammed F. Al-Marjani, Batool A. Baqir and Nidha A. Mahdi	1-8
Fluoroquinolones Resistance in <i>Campylobacter jejuni</i> Isolated from Chicken Meat Samples Sana M. Jaballah, Saad L. Hamed , Riadh A. Dalool , and Hussein H. Khanakah	9-16
The Effects of Some Heavy Metals on Growth and Nutrient Uptake of <i>Chroococcus Dispersus</i> Ahmed Shaker Abd Al-Jabbar	17-23
Distribution of Intestinal Parasites in Children Aged (1-13) Years In some Areas of Baghdad Asmaa A. H., Salwa S. S., and Ahlam A. A.	24-30
Photocatalytic Oxidation of Cyanide Ion In Aqueous TiO₂ Suspension Salah. M. Aliwi, Sahar. S. Al-Saleh, and Fadela. M. Hussein	31-38
Complexion Behavior of [N, N'-Bis (4-dimethyl amino benzaldene-1,2-daminoethane)]with Palladium (II), Ruthenium(III) and Platinum(IV) Rehab A.M.Al-Hasiani and Kalida Hamel	39-51
Application of Chlordiazepoxide as A Complex with Palladium for the Spectrophotometric Determination of Certain Benzodiazepine Drug. Jwan A. Abdul Sattar	52-58
Study of Encoding and Decoding Time for Varying Image Size Hussain M. Ali. Al-Musawi	59-73
The Energy Gap and Optical Constants of Thin PbS Films Arshad H. A. AL-Kathum	74-82
Reentrant Ferrimagnetism in A square Ising lattice Hadey K. Mohamad and Raied A. Saleh	83-88

Weakly (resp., Closure, Strongly) Perfect Mappings Yousif Y. Yousif	89-99
A Numerical Solution of a System of Linear Fractional orders Integro-Differential Equations of Volterra Types by Classic Spline Functions Omar M. Al-Faour, Inaam A. Malloki, and Amaal A. Mohammed	100-113
Document Fingerprinting Using Secure Hash Algorithm-1 (SHA-1) Mouiad A. Hani	114-128

Determination of Inulin Content of Chicory , Garlic And Leek, and Study of Their Antibacterial Activity Against Some Pathogenic Bacteria

¹Mohammed F. Al-Marjani, Batool A. Baqir ² and ³Nidha A. Mahdi

^{1,2} Dept. of Biology, College of Science -AL- Mustansiriya University

³ Dept. of Chemistry College of Science -AL- Mustansiriya University

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

الخلاصة

يمتلك الأنولين أهمية متزايدة في مجال الصناعات الغذائية والصيدلانية ، وهو يعد من ضمن المقومات الغذائية (Prebiotics) الأمر الذي يزيد من أهميته الطبية وفوائده الصحية . من بين المصادر المهمة للأنولين تأتي نباتات الهندباء البرية (*Cichorium intybus*) والثوم (*Allium sativum*) والكراث (*Allium porrum*) .

تم دراسة نسبة الأنولين في جذور نبات الهندباء البرية وفي الثوم والكراث المتواجدة في البيئة العراقية بطريقة الاستخلاص بالماء الحار ، بينت النتائج احتواء جذور الهندباء البرية على نسبة 47 % أنولين ، يأتي بعدها الثوم بنسبة 13 % والكراث بنسبة 8 % .

من جانب آخر درس التأثير ضد المايكروبي لهذه النباتات المهمة طبيا بطريقة الأقراص على الوسط الصلب ضد بعض البكتيريا المرضية والتي شملت :

Esherichia coli , *Proteus mirabilis* , *P. vulgaris*, *Klebsiella sp* , *Staphylococcus aureus* , *Serratia marcescens* and *Acinetobacter baumannii*

بينت النتائج ان للثوم تأثيرا كبيرا على جميع انواع البكتيريا المرضية تحت الدراسة مقارنة بالكراث والهندباء ، أذ تراوحت أقطار التثبيط له بين 19 - 26 ملم ضد انواع البكتيريا المرضية.

ABSTRACT

Inulin is actually important ingredient used in food and pharmaceutical industries, and it act as Prebiotic , promoting selective development of beneficial microorganisms (Probiotics) , inulin also exert other functions on health . Among the sources of inulin, Chicory (*Cichorium intybus*, Garlic (*Allium sativum*) and leek (*Allium porrum*).

In this work we determine inulin content of Chicory roots , Garlic and leek , inulin was extracted by means of hot water .The results showed that Chicory roots presented a high inulin content (47 %) , the inulin content of Garlic is not very high (13 %) , and the Leek sample showed a low content of inulin (8%) .

Extract of garlic , Chicory and leek were tested for their growth inhibitory effect on some pathogenic bacteria. These included *Esherichia coli* , *Proteus mirabilis* , *P. vulgaris*, *Klebsiella sp* , *Staphylococcus aureus* , *Serratia marcescens* and *Acinetobacter baumannii* . All test organisms were inhibited by garlic extract, while chicory and leek extracts showed lowest effects on pathogenic bacteria. The Inhibition zone obtained for garlic extract against pathogens were 19 26 mm. It inhibited the growth of all studied pathogenic bacteria.

INTRODUCTION

Prebiotics are a more recent concept, first defined less than 10 years ago (1). They are chemical substances, usually oligosaccharides, that act as substrates specifically for the host's intrinsic colonic bacteria (Probiotics) (2) (3).

Inulin, a polysaccharide, is widely used as a prebiotic. According to Juliana Zeiher, ingredient technologies manager, GTC Nutrition, Golden, CO, there are three major categories of prebiotic products: "short-chain fructooligosaccharides (scFOS), inulin and oligofructose (4). Inulin and oligofructose are present as plant storage carbohydrates in a number of vegetables and plants including wheat, onion, bananas, garlic, Leek and chicory. (5)

Chicory comes from the plant *Cichorium intybus*. Chicory root has been used in human food for years, as a coffee substitute. Now it is being used in pet food, where the claim is that it can help to improve health by promoting the growth of beneficial bacteria in the gastrointestinal system. Chicory contains inulin, a form of dietary fiber, which although itself is indigestible (6). Proponents claim that high levels of 'friendly' intestinal bacteria can help to improve digestion, decrease disease, and strengthen the immune system (7) An important feature of prebiotics is their potential impact on reducing the risk of colorectal cancer (8)

Garlic (*Allium sativum*) has been used medicinally since before the time of the Sumerian civilization (2600 2100 BC), by when it was already widely cultivated in India and China. Traditionally used as an antimicrobial agent, garlic has been reported also to modulate cardiovascular and immune functions as well as having antioxidant and anticancer properties (9). Decoated garlic extracts that are left to set overnight are very effective in healing wounds. In 1858, Louis Pasteur observed garlic's antibacterial activity, and it was used as an antiseptic to prevent gangrene during World War I and World War II. (10) (11).

To data, little information is available about the inulin content of Prebiotic plants (Chicory, Garlic and Leek). **The objectives of this research** were to: 1. determine of inulin from a recognized source important in local Prebiotic plants, and 2. To test the effectiveness of the Prebiotic substances (garlic, chicory, and leeks) on pathogenic bacteria.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial isolates:

Isolates of *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Klebsiella* sp, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* and *Acinetobacter baumannii*, were collected from different infections sources from Central Medicine City hospital in Baghdad. Isolates were identified according to (12), by classical microbiological methods and API 20-E system.

Preparation of Chicory extract:

Chicory roots were obtained from the area of Iraqi North, roots were randomly chosen, washed and identical longitudinal portions removed from each root to obtain a composed sample, after cutting extraction was performed by hot water at 80 c / 1 hrs (13).

Obtain the juices from garlic and leek :

Garlic (remove the dry, papery skin, cut into small chunks, crush each separately with mortar and pestle until it's a fine pulp (be sure to clean the mortar and pestle before crushing a different plant), Leek (cut off the roots and green top, keeping only the white stalk, rinse under running tap water to remove sand and grit, cut into small chunks). after cutting extraction was performed by hot water at 80 c / 15 min.

Determination of Inulin:

The obtained extract filtered through a membrane 0.45µm porosity, after that the Inulin was determined according to (13).

Antibacterial activity of Chicory, garlic and leek:

After cutting of Chicory, garlic and leek as above (with out hot water), Place a large square of aluminum foil onto the counter top. Transfer the prepared plant onto the cheesecloth, and squeeze the juice onto aluminum foil.

Punch out discs of chromatography paper with the hole-punch. Place a disc in each of the wells using tweezers. Let soak for 15 to 20 minutes. Save one dry disc for control.

Pathogenic bacteria cultures were plated on fresh Nutrient agar plates (10^5 CFU per plate). After that transfer the disc from the well and place it on the corresponding region of the Petridish, and incubate them overnight 37 degrees C.

RESULTS AND DISCUSSION

“Prebiotics” refers to short-chain polysaccharides (carbohydrates), such as inulin can act as dietary fiber, not completely digested by the human intestinal tract, that serve as a food supply for the friendly bacteria of the large bowel (bifidobacteria and lactobacilli), enhancing their growth and cell division rate (2). At the same time, they suppress the growth of proteolytic bacteria such as *Clostridium perfringens* group (14).

The results showed that chicory roots presented a high inulin content (47 %) . This value being in a ccordance with value found by (13) , Inulin is an non-digestible carbohydrate. Because it is non-digestible it reaches the colon unchanged, where healthy bacteria such as bifidobacteria and lactobacilli use it as food. This lowers the pH level in the bowel, creating an unfavorable environment for unhealthy bowel bacteria such as *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus* and *Clostridium*. In addition, the healthy bowel bacteria can better outcompete the pathogenic bacteria on the crucial position of the bowel lining (15).

Various *in vitro* and *in vivo* studies have shown that a diet supplemented with B(2-1) inulin/FOS provides an effective means to promote growth of bifidobacteria and lactobacilli, while selectively reducing the growth of pathogenic microorganisms and potentially treating intestinal dysfunctions , (16) recently experienced an a systemic infection with *Listeria monocytogenes* caused nearly 30 per cent mortality among control mice, but none of the mice fed inulin died. Mortality was higher for the systemic infection of *Salmonella typhimurium*, but fewer of the mice fed inulin died, with mice fed oligofructose again intermediate.

The inulin content of Garlic is not very high (13 %), and the Leek sample showed a low content of inulin (8%) (Fig.).

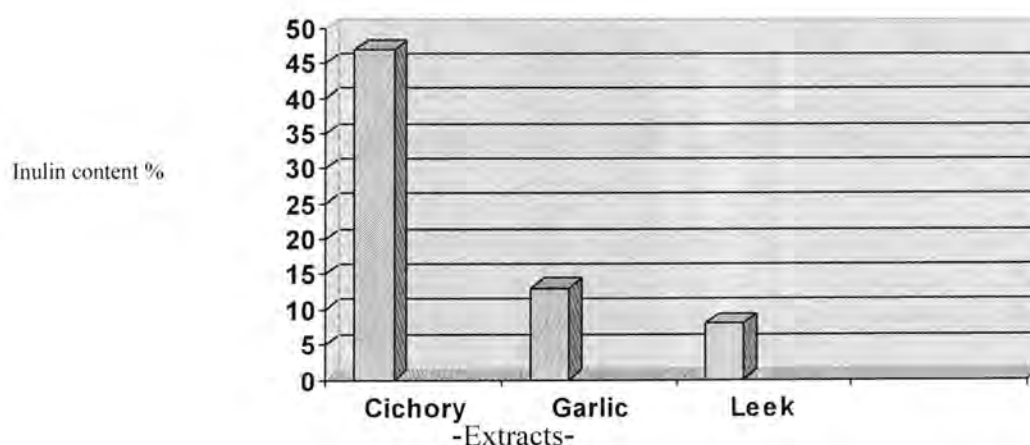


Fig. -1: The Inulin content of Cichory roots , Garlik and Leek

Extract of garlic (*Allium sativum*), Chicory (*Cichorium intybus*) and leek (*Allium porrum*) were tested in an agar diffusion test for their growth inhibitory effect on 7 pathogenic bacteria. These included Isolates of *Escherichia coli* , *Proteus mirabilis* , *P. vulgaris* , *Klebsiella sp* , *Staphylococcus aureus* , *Serratia marcescens* and *Acinetobacter baumannii* . All test organisms were inhibited by garlic extract, while Chicory and leek extracts showed low effects on pathogenic bacteria. The inhibition zones obtained for garlic extract against seven pathogenic bacteria were 19 26 mm. (Fig 2).

Of all the herbs available for possible use as an herbal alternative to antibiotics, perhaps none shows such a degree of broad spectrum antibiotic activity as garlic . A number of studies have shown that garlic extracts, as well as individual components of garlic, have a broad antibiotic range, effective against both gram-negative and gram-positive bacteria. A 1983 study showed that garlic was effective against *Staphylococcus* , *streptococcus* , cholera, diphtheria, typhus and *Shigella* (11). The German commission E monograph (1998) proposed a daily intake of 1-2 cloves of garlic or 4 gram of intact garlic per day for maximal health benefits (17).

Garlic as an antibacterial has been the focus of detailed investigations recently on *Helicobacter pylori* (18) Differential inhibitory effects against *Escherichia coli* and *Lactobacillus casei*, whereby a 10-fold greater sensitivity was evident in the former , have been studied in more detail with respect to the different membrane structures of Gram-positive and -negative bacteria (19) . Antiprotozoal studies include those on *Entamoeba histolytica* and *Giardia intestinalis* , the anticandidal

poultry (8) , but recently rapid and persistent resistance was actually shown to develop in chickens treated with fluoroquinolones(9) .

The resistance of *Campylobacter jejuni* to fluoroquinolones due to spontaneous or induced chromosomal mutation has been reported (10).

The aim of the study was to determine the incidence of *Campylobacter jejuni* in chicken meat from traditional slaughterhouse , and to determine in vitro susceptibility of isolates to fluoroquinolones by determination of minimum inhibitory concentration since nalidixic acid – resistant *Campylobacter jejuni* strains were observed in the laboratory in the preliminary disc diffusion test.

MATERIALS AND METHODS

Sampling procedure

A 55 Samples of chicken meat were purchased from slaughterhouse in Baghdad city , these samples consisted of skin , breast , thigh and retail which were examined for *Campylobacter* . All samples were collected aseptically and placed in an ice chest transported for analysis to postgraduate laboratory of microbiology in the college of sciences at Al-Mustansiriyah University in the period between April and August 2002.

Preston broth medium was used as first enrichment broth consisted for 1 litter of nutrient broth NO.2 (Oxoid Ltd;England),trimethoprim10 mg; polymyxin B 5000 I.U.; cycloheximide 100mg and rifampicin 10mg (Samaraa Drug , Iraq)(11) .

The *Campylobacter* selective medium used was Blair-Wang medium consisted of 1 litter of Columbia agar base (M144 Hi-media laboratories Ltd. Bombay-India) supplemented with antibiotic supplement (FD006 Hi- media) that are recommended for the isolation of *Campylobacter* spp. per vial , sufficient for 500ml of medium; vancomycin 5mg , polymyxin B 2500 I.U. , trimethoprim 2.5mg , amphotericin B 1mg and cephalosporin 7.5mg. For enhanced growth of *Campylobacter* growth supplement (FD009 , Hi-media) was added per vial , sufficient for 500ml of medium; sodium pyruvate 0.125g , sodium metabisulfite 0.125g and ferrous sulphate 0.125g(12) .

Isolation and Identification

10 grams samples of chicken meat were placed in 90ml of preston broth supplement with 5% horse blood and then incubated at 42°C for 24hrs. in anaerobic jar containing 5% O₂ , 10% CO₂ and 85% N₂ (gas generating kit) BBL Campy-pak microaerophilic system Envelopes (Becton , Dickinson and Company Sparks , MD USA) (13) . Suspect colonies were Gram-stained and examined by phase-contrast microscopy for typical morphology , suspect colonies were further

characterized by the following tests; Oxidase and catalase production , hippurate hydrolysis , growth temperature , nitrate reduction , H₂S production , failure to growth in 3.5% sodium chloride ,and their Susceptibility to cephalothin (30 µg /disc, BBL,USA) and nalidixic acid (30 µg / disc , BBL,USA) (14) .

Antimicrobials susceptibility test

The susceptibility of fourty nalidixic acid resistant *Campylobacter jejuni* isolates to the fluoroquinolones ; ciprofloxacin , norfloxacin , ofloxacin (Aventis pharma , Tunisia) , tetracycline (Samaraa Drug , Iraq) , was performed by using disc diffusion method, briefly,overnight culture of iolates were grown on campylobacter blood agar under microaerophilic condition.Colonies were suspended to approximately 0.5 McFarland standard in Mueller-Hinton broth and inoculated onto Mueller-Hinton agar upplemented with 5% sheep blood (15,16).

Minimum inhibitory concentration

MIC was done by using agar dilution method as recommended by NCCLS (17) for nalidixic acid resistant *Campylobacter jejuni* strains . The organisms that overnight cultured on blood agar plates were suspended to approximately 0.5 McFarland standard in Mueller-Hinton broth (Oxoid,England) and inoculated onto Mueller-Hinton agar plate supplemented with 5% sheep blood and containing serial dilutions of antimicrobial agents.The Mueller-Hinton agar plates were incubated at 42°C for 24 hrs. in a microaerophilic atmosphere by microaerophilic system envelope (BBL,USA) (16). Quality control was done by using *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Escherichia coli* ATCC 25922. The results were interpreted accoding to the criteria of the NCCLS (18).

RESULTS AND DISCUSSION

The percentage and occurrence of *Campylobacter jejuni* in traditional abattoirs were recovered in 85.45%(47/55) of chicken meat samples with the different sites from 55 samples.

Fluoroquinolones Susceptibility

Fourty of the 47 (85.10%) *Campylobacter jejuni* isolates were found to be resistant to nalidixic acid in the disk diffusion test and the agar dilution methods (MICs:64-256) µg/ml, they were also resistant to the other fluoroquinolones; norfloxacin (MICs:128-512) µg/ml, ofloxacin (MICs:32-128) µg/ml, ciprofloxacin (MICs 32-64) µg/ml, a well as all fourty isolates of *C. jejuni* that resitant to fluoroquinolones

were resistant to tetracycline (MICs: ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$), results are summarized in table 1.

Table -1: MICs of antimicrobial agents for forty *C. jejuni* isolates

Antimicrobials	MICs($\mu\text{g/ml}$)	No. of isolates
Nalidixic acid (16 $\mu\text{g/ml}$) [*]	(64-256)	
	128	23
	64	13
	256	4
Norfloxacin (4 $\mu\text{g/ml}$) [*]	(128-512)	
	128	22
	256	14
Ofloxacin (2 $\mu\text{g/ml}$) [*]	(32-128)	
	64	22
	32	14
Ciprofloxacin (1 $\mu\text{g/ml}$) [*]	(32-64)	
	32	22
	64	18
Tetracycline (4 $\mu\text{g/ml}$) [*]	≥ 64	40

^{*} = MIC breakpoints suggested as breakpoints for aerobic bacteria of antimicrobials according to NCCLS(18).

The resistant rate of *C. jejuni* to fluoroquinolones become very high in different countries(6,7,10).In our study the resistance rate found to be near to many studies reported in the world ,and these quinolone resistant *C. jejuni* isolates reported in our study were the first documented resitant isolates in Baghdad.

The emergence of fluoroquinolones resistant isolates appeared at the bigning of the 1990s (19).The origin of resistance to fluoroquinolones probably reflects the use of fluoroquinolones in veterinary medicine in some infectious diseases (20), and the emergence of fluoroquinolones resistance among *Campylobacter* was previously proposed to be due to the frequent use of fluoroquinolones in the poultry production industry (21) ,in United States the first fluoroquinolones resistance appeared after the use of the antimicrobial agents in the poultry production industry (22), and it has now also been shown that the development of fluoroquinolones resistance develops rapidly in *Campylobacter* infected broiler treated with quinolones (9), and a bright rates of resistance to fluoroquinolones have been demonstrated in *Campylobacter* strains isolated from food animals (23). In this study the isolates found to be resistant to tetracycline and the

high rate of tetracycline resistance in chicken meat isolates might be attributed to the use of tetracycline as a growth promoter in poultry feed. The use of tetracyclines such as doxycycline in agriculture is likely responsible for the large number of tetracycline-resistant *C. jejuni* isolates. Avriani et al. suggested that the *tet(o)* gene may be rapidly and spontaneously transferred in vivo without antimicrobial selection between *C. jejuni* strains in the digestive tracts of chickens (24). Surveillance of tetracycline resistance is important due to the potential for plasmid-mediated transfer of the *tet(o)* gene (25), as well as genes encoding resistance to other antimicrobials for other potential pathogens (26). Charvalos et al. (27) showed that capable of isolation of a fluoroquinolones-resistant strain which isolated from pefloxacin-containing agar was also resistant to tetracycline, erythromycin, chloramphenicol, and beta-lactams. Also Li et al. (28) reported that concomitant resistance rates among nalidixic acid-resistant *C. jejuni* isolates from their patients (exclusively children) were as follows: gentamicin 2%, erythromycin 12%, tetracycline 97%, and ciprofloxacin 66%. The cross resistance between nalidixic acid and fluoroquinolones was also observed in our study. Similar results have been reported by Rautelin et al. but in clinical isolates (29). Fluoroquinolones resistance in *Campylobacter* from food animal is now recognized as an emerging public health. Smith et al. (30) found that patients infected with resistant *C. jejuni* had longer duration of diarrhea than patients with Fluoroquinolones-sensitive isolates. As *Campylobacter* infections can be serious in immunocompromised patients, the identified treatment failure raises the concern that Fluoroquinolones-resistant strains may increase *Campylobacter*-associated death in this group of patients.

The primary source of *Campylobacter jejuni* infections in human is believed to be the handling and/or consumption of contaminated meat, especially poultry meat. The control of *Campylobacter* in the food chain has now become a major target of agencies responsible for food safety world-wide.

The susceptibility of *Campylobacter jejuni* to fluoroquinolones is of great importance regarding the treatment of bacterial gastro-enteritis caused by these isolates as the resistance rate of *Campylobacter jejuni* to fluoroquinolones appears to be increased.

REFERENCES

- 1- Friedman, G. , Neiman, J. , Wergener, H. C. and Tauxe, R. V. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: I. Nachamkin and M. J. Blaser (ed) . *Campylobacter* 2nd. ed. Washinton, D.C. American Society for Microbiology; PP.121-138(2000).
- 2- Rautelin, H. and Hanninen, M. L. *Campylobacters*: the most common bacterial enteropathogenic in the Nordic countries. Ann. Med. 32: 440-445. (2000).
- 3- Avrian, F. and Kempf, I. Mecanismes de resistance bacterienne aux antibiotiques L' exemple de *Campylobacter*. Le point veterinaire. 31: 53-57 (2000).
- 4- Chea-Yin, L. , Chun-Ling, T. , SHIH, C. L. , and Ya-Tien, C. Occurrence of plasmid and resistance among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from whole market chickens and clinical samples. International J. food Microbiology. 24: 161-170. (1994).
- 5- Skirrow, M. B. and Blaser, M. J. Clinical aspects of *Campylobacter* infection. In: I. Nachamkin and M. J. Blaser (ed), *Campylobacter* 2nd. ed. Washinton, D.C. American Society for Microbiology; PP.69-88(2000).
- 6- Senz, Y. , Zaraga, M. , Lantero, M. , *et al.* Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals foods and humans in Spain in 1997-1998. Antimicrob. Agents Chemother. 44: 267-271. (2000).
- 7- Sjogren, E. , Lindblom, G. B. and Kaijser, B. Norfloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from Swedish patients. J. Antimicrob. Chemother. 40: 257-261 (1997).
- 8- Endtz, H. P. , Ruijs, G. J. , Van Klingeren, B. *et al.* Quinolones resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. J. Antimicrob. Chemother. 27: 199-208(1991).
- 9- MC Dermott, P.F. , Bodies, S. M. , English, L. L. *et al.* Ciprifloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. J. Infect. Dis. 185: 837-840. (2002).
- 10- Segreti, J. , Gootz, T. D. , Goodman, L. G. *et al.* High-level quinolone resistance in clinical isolates of *Campylobacter jejuni* . J. Infect. Dis. 165: 667-670(1992).

- 11- George, H.A., Hoffman, P.S., Smibert, R.M. and Krieg, N.R. Improved media for growth and aerotolerance of *Campylobacter fetus* .J.Clin.Microbiol. 8:36-41(1978).
- 12- Sjogren, E., Lindblom, G.B. and Kaijser, B. Comparison of different procedures, transport media, and enrichment media for isolation of *Campylobacter* species from healthy laying hens and humans with diarrhea. J.Clin. Microbiol. 25:1966-1968-(1987).
- 13- Balton, F.J. and Robertson, L.A. A selective media for isolation of *Campylobacter jejuni/coli* .J.Clin.Pathol.35:462-467(1982).
- 14- Balton, F.J., Holt, A.V. and Hutchinson, D.N. *Campylobacter* biotyping scheme of epidemiological value. J.Clin.Microbiol. 37:677-681(1984).
- 15- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard M2-A7, 7th ed. NCCLS, Pennsylvania (2000).
- 16- McDermot, P.F. and Walker, R.D. Standardizing antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* species (Letter). J.Clin.Microbiol.41:1810. (2003).
- 17- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard M7-A5, 5th ed. NCCLS, Pennsylvania (2000).
- 18- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement. M100-S12. NCCLS, Pennsylvania (2002).
- 19- Reina, J. and Alomar, P. Fluoroquinolone resistance in thermophilic *Campylobacter* spp. Isolated from stools of Spanish patients. Lancet ii: 186 (1990).
- 20- Chatzipanagiotou, S. , Papavassiliou, E. and Malanou-Lada, E. Isolation of *Campylobacter jejuni* strains to nalidixic acid and fluoroquinolones from children with diarrhea in Athens, Greece. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12: 566-568. (1993).
- 21- Rautelin, H. , Vierikko, A. , Hanninen, M. L. and Vaara, M. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* strains isolated from Finnish subjects infected domestically or from those infected abroad. J. Antimicrob. Agents Chemther. 47: 102-105 (2003).
- 22- Smith, K. E. , Besser, C.W. , Hedberg, F. T. *et al.* Quinolone – resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. N. Engl. J. Med. 340: 1525-1532. (1999).
- 23- Van Looveren, M. , Daubes, G. , de Zutter, L. *et al.* Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* strains isolated from food animals in Belgium. J. Antimicrob. Chemother. 48: 235-240(2001).

- 24- Avrian,L.,Vernozy-Rozand,C. and Kempf,I. Evidence for natural horizontal transfer of ^{tet}(o) gene between *Campylobacter jejuni* strains in chickens.J.Appl. Microbiol.97:134-140 (2004).
- 25- Taylor,D.E.,DeGrandis,S.A.,Karmali,M.A. and Fleming,P.C. Transmissible plasmids from *Campylobacter jejuni* .Antimicrob.Agents Chemother.19:831-835(1981).
- 26- Nirdnoy,W.,Mason,,C.J. and Guerry,P. Mosaic structure of a multiple-drug-resistant , conjugative plasmid from *Campylobacter jejuni* .Antimicrob. Agents Chemother.49:2454-2459(2005).
- 27- Charvalos,E.,Tselentis,Y.,Hamzehpour,M.M.,Kohler,T. and Pechere, J.C. Evidence for an efflux pump in multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* .Antimicrob. Agents Chemother.39:2019-2022. (1995).
- 28- Li,C.C.,Chiu,C.H.,Wu,J.L.,Huang,Y.C. and Lin,T.Y.Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *coli* by using E-test in Taiwan.Scand J.Infect.Dis.30: 39-42(1998).
- 29- Rautelin, H. , Renkonen, O. V. and Kosunen, T. U. Emergence of fluoroquinolones resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in subjects from Finland. Antimicrob. Agents Chemother. 35: 2065-2069 (1991).
- 30- Smith,K.E.,Beser,J.M.,Hedberg,C.W.,Leano,F.T.,Bender,J.B.,Wickl and,J.H.,*et al.* Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota,1992-1998. N. Engl.J.Med.340:1525-1532. (1999).

The Effects of Some Heavy Metals on Growth and Nutrient Uptake of *Chroococcus Dispersus*

Ahmed S. Abd Al-Jabbar

Thi-Qar University –College of Science – Dept. of Biology

Received 15/5/2007 – Accepted 28/11/2007

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية تأثير بعض العناصر الثقيلة (الفضة، الخارصين والرصاص والزنك) على نمو الطحلب *Chroococcus dispersus* بعد ان خضعت المزرعة لعملية التنقية لأجل الحصول على مزرعة نقية. ثبتت تراكيز العناصر المضافة نمو الطحلب وبمستويات مختلفة. وكان تأثير العناصر على نمو الطحلب بالترتيب التالي (Ag>Hg>Pb>Zn). حيث ظهر ان الفضة أكثر العناصر تثبيطا للنمو. كما ثبتت التراكيز المتوسطة (LC50) بمستويات مختلفة عملية أخذ المغذيات (النترات والأمونيا) وكان التثبيط واضحا بعد ساعة واحدة من القياس. فقد كان Ag أكثر العناصر تثبيطا بينما أظهر الخارصين أقل تثبيطا.

ABSTRACT

The Present study deals with the effects of heavy metals Ag, Zn, Pb and Hg on the growth and nutrients uptake of *chroococcus dispersus*. The study include the effect of these metals on the growth of alga growing in a unialgal culture after its purification. The degrees of inhibition were correlated with the different concentrations of metals. However, the effects of these metals on growth were according to the following sequence (Ag>Hg>Pb>Zn). Ag showed the highest inhibition and it is more toxic than others Heavy metal concentration. The (LC 50) of the metals inhibited the nutrient uptake (NO₃ and NH₄) in different levels. In the case of NO₃ Ag showed the highest inhibition, while Zn showed the lowest inhibition. Ammonia uptake was also inhibited by metal concentration which was noticed after one hour of measurement.

INTRODUCTION

Several studies were carried out on the interaction between heavy metals and algal growth. Some heavy metals are essential for metabolism but may become toxic at some concentrations (1, 2). Many aquatic ecosystems are being progressively contaminated by indiscriminate discharge of toxic heavy metals and nutrients from sewage, industrial and agricultural disposals (3). The organisms in an ecosystem are seldom exposed to only single chemicals and in nearly all cases the stress of pollution on ecosystem is attributable to the combined effect of many chemicals. It is, therefore, necessary and important to assess the effects of chemicals mixture on microorganisms and ecosystem, in contrast to the usual practice of assessing the effects of single chemicals on individuals. We have been conducting the research on the combined toxicity of chemicals, such as heavy metals, using a primary producer phytoplankton from the aspect of

ecotoxicology (4, 5) . The mechanism of resistance of algae to heavy metals seems to be quite variable. It depends upon both the algal species and the metal involved (6).

Several researches have illustrated the harmful effects of heavy metal on algal growth through the effect on nutrient uptake and enzyme activities evident within few hours of exposure (7-9) .

The aim of the present study was to show the effects of heavy metals on the growth and nutrient uptake of *Chroococcus dispersus*.

MATERIALS AND METHODS

Chroococcus dispersus. Was isolated from Euphrates river in Nasiriah city, southern Iraq, by streaking method, and grown axentially in modified chu-10 medium (10) , at pH 7.5 and subjected to light of $72\text{Em}^{-2}\text{S}^{-1}$ supplied cool white fluorescent tubes with photoperiod of 14 : 10 h at $26 \pm 2\text{C}^{\circ}$ (11).

Stock solution of AgSO_4 , ZnSO_4 , PbSO_4 and $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ were prepared in double distilled water passed through a Millipore membrane filter ($0.45\ \mu\text{m}$). For each metal a range of concentration was used (0.05, 0.1, 0.5, 1 ppm). Very careful techniques have been used in the preparation of these media.

Cell concentrations in all experiments were determined by counting in a hemacytometer $1/20\ \text{mm}^2 \times 1/10\ \text{mm}^2$ deep. Cell number was used as a function of algae growth.

The uptake of the nutrients from the medium was estimated calorimetrically, using the method of barium sulphuric acid for NO_3 (12) , Nessler's reagent for NH_4 (13) . Through depletion of these nutrients from the external medium. ANOVA and analysis of covariance were considered for statistical analysis .

RESULTS AND DISCUSSION

The growth rate of the *Chroococcus* sp. was inhibited by different heavy metals concentrations, the degrees of inhibition were correlated to the different concentration of metals.

The response of *Chroococcus* sp. to different Ag concentration is shown in figure 1, it appears that Ag is more toxic than other metals . There was a high reduction in the growth at 0.5 ppm of Ag and higher concentration.

Figure 2 and 3 shows the growth of alga sp. in media enriched with Zn and Pb respectively. Both elements were relatively less toxic than Ag and Hg. The results of *Chroococcus* sp. Grown in media containing Hg is shown in the figure 4. The cells continued to grow actively at concentration of 0.05 ppm of the metal which was almost similar to the control treatment, while those cultured at 0.1 ppm failed

to grow during the first (96) hours. This was followed by a sharp reduction in cell count after (156) hours comparison of growth of the *Chroococcus* sp. in cultures containing Hg. That indicate the Ag is more toxic than Hg. Ag and Hg seem to be relatively more toxic to algae growth compared to Zn and Pb. In fact, the effectiveness of Zn on growth was very low.

The uptake of all tested nutrients by *Chroococcus* sp. had been declined after one hour of exposure to LC50 Concentration of the used heavy metal Table 1. Such effects were even clearer after 24 hours. Ag and Hg show the highest inhibition of the uptake of all Nitrogen sources. Zn and Pb show less inhibition of Nitrate and uptake ammonia than Ag and Hg.

The toxicity of heavy metal have been assessed by many workers. They suggested that there is an inhibition to certain metabolic processes caused by heavy metals to algae species. These processes include special photosynthesis reduction as well as reduction of the rate of respiration (14). It was also noted that treatment of cell with heavy metal may cause leakage of potassium ion from cytoplasm causing a reduction of membrane integrity and hence, the entry of sodium ions which may prove toxic (15). The above suggestion can be applied to explain the adverse effect of heavy metals on the algae.

The nutrient uptake by *Chroococcus* sp. was inhibited by the study of heavy metals, such inhibition was varied among the different metals Table 1. This inhibition may indicate a direct competition between metals and nutrients for the active site of the enzyme involved. The uptake of ammonia and nitrate was also inhibited in the presence of Ag in the wild type strain more strongly than the tolerant strain (16). They expected that this inhibition of the uptake was due to the reduction in the enzyme activities, namely nitrate reductase and glutamine synthetase, which are responsible for the metabolism of nitrate and ammonia.

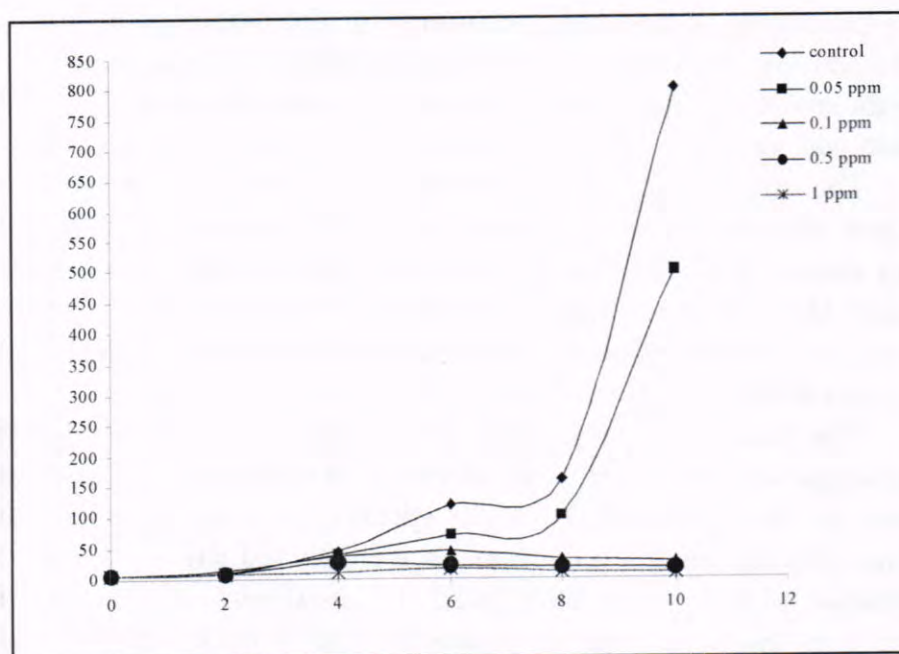


Figure -1: The effect of Ag concentration in nutrient solution on *Chroococcus dispersus* growth

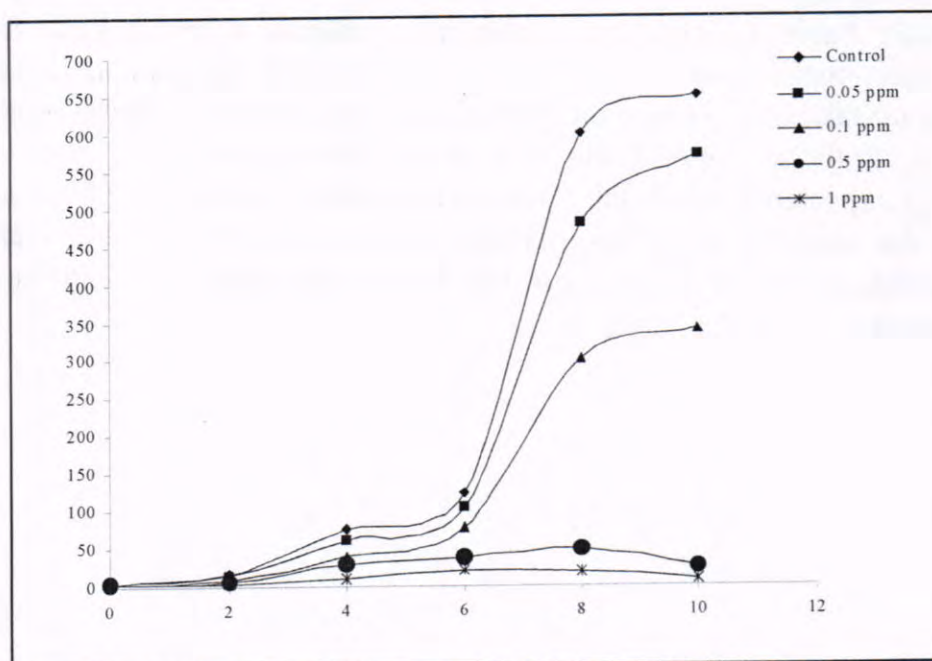


Figure -2: The effect of Zn concentration in nutrient solution on *Chroococcus dispersus* growth

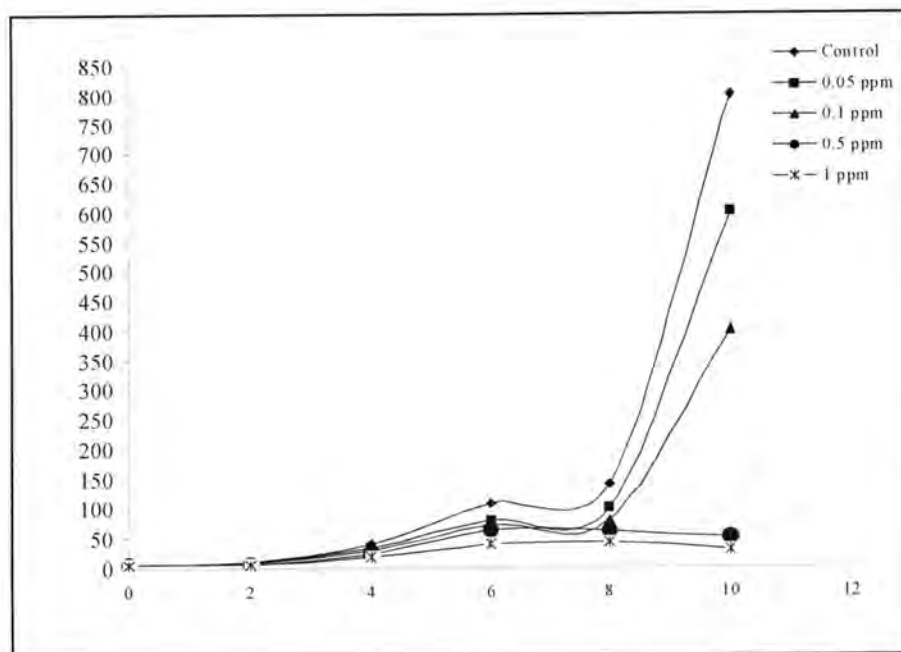


Figure -3: the effect of Pb concentration in nutrient solution on *Chroococcus disperses* growth

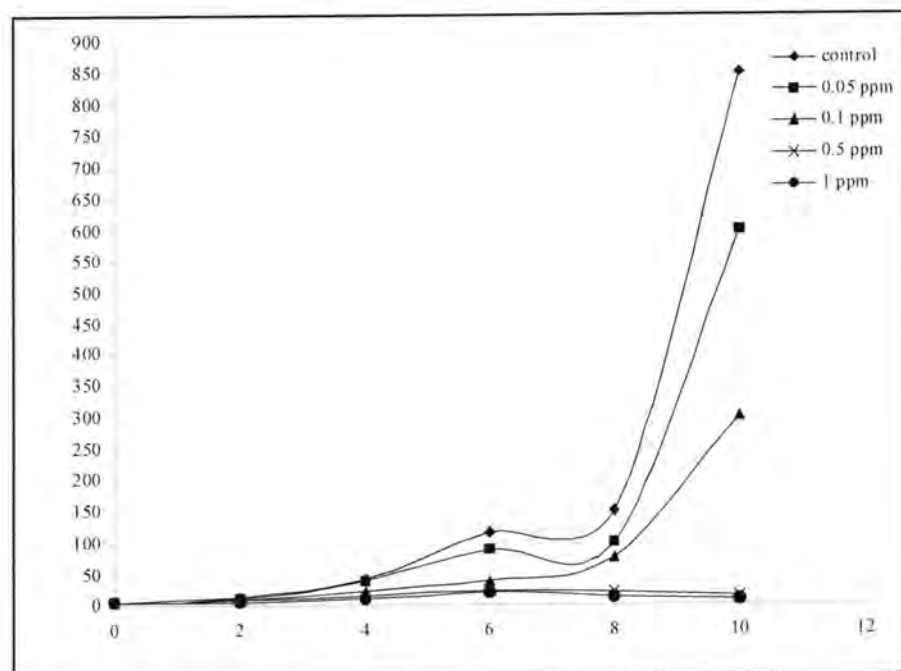


Figure -4: The effect of Hg concentration in nutrient solution on *Chroococcus disperses* growth

Table-1: Metal inhibition of Nitrate and Ammonia uptake ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\text{protein}$) by *Chroococcus dispersus* after 1 and 24 hour values or means $\pm$ standard error

Nutrient	Time (hours)	Control	Heavy metals			
			Hg	Pb	Zn	Ag
Nitrate	1	0.06 $\pm$ 0.007	0.035 $\pm$ 0.002	0.025 $\pm$ 0.001	0.03 $\pm$ 0.001	0.025 $\pm$ 0.002
	24	0.17 $\pm$ 0.07	0.67 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.07	0.62 $\pm$ 0.03
Ammonia	1	0.05 $\pm$ 0.03	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.024 $\pm$ 0.01
	24	0.67 $\pm$ 0.02	0.33 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.002	0.27 $\pm$ 0.03

REFERENCES

1. Frenet, M. "The distribution of mercury, cadmium and lead between water and suspended matter in the Loire Estuary as a function of hydrological regime" Wat. Res. 15: 1343-1350, (1981).
2. Brown, M.T. and Depledge, M.H. Determinants of trace metal concentration in marine organism. 90-121pp. In Bebianno, W.J.L. (ed.): metal metabolism in aquatic environment. (Chapman and Hall publisher, London) (1998).
3. Whitton, B.A. Algae as monitors of heavy metals in fresh water. In: Algae as ecological indicators. Ed. Shubert, L.E., Academic Press, London: (257-280) (1984).
4. Aoyama, I., and H. Okamura. Toxicity evolution of heavy metals in phytoplankton, P. 433-444. In Toxicity Screening Procedure using bacterial system. Edited by Dickson Liu and Bernard J. Dutka. Marcel Dekker, New York, (1984).
5. Aoyama, I., H. Okamura and M. Yagi. The interaction effects of toxic chemical combinations on *Chlorella* sp. Toxic Assess. 2: 341-355, (1987).
6. Bariand, A., M. Bury, and S.C. Mester. Mechanism of Cd resistance in *Engelmannia gracilis*. Physiol. Plant. 63: 382-386, (1985).
7. Dubey, S.K., and L.C. Rai. Effect of Chromium and Tin on survival, Growth, Carbon Fixation, heterocyst differentiation, nitrogenase, nitrate reductase and glutamine synthetase activities of *Anabaena* sp. J. plant physiol. 130: 165-172, (1987).
8. Durriu, C. and Badreddine, I. Dialysis system with phytoplankton for monitoring chemical pollution in fresh water ecosystem by alkaline phosphatase assay J. applied phycol. 15: 289-292, (2003).
9. Mohamed, M.H. and Alsaady, H.A. The study illustrated the toxicity of some heavy metals on algae. Iraqi J. of biology 2(1), 24-31 (2002).

10. Kassim, T.I. production of some phyto-and zooplankton and their use as live food fish larvae. PH.D.thesis, Univ. Basrah .(1998).
11. AlRawie A. Ecological and physiological study to alga *Scenedesmus* sp. Msc.thesis ,Univ. Basrah .(1999)
12. Nicholas, D.J. and N. Nason. Determination of nitrate and nitrite. Method in enzymology. 111: 320-343, (1957).
13. Herbert, D., P. J. Phipps, and R.E. Strange. Chemical Analyses and microbial cell In: Method in microbiology. Eds. J. R. Norris and D.W. Ribbons, Academic Press, London: 209-344, (1971)
14. Delmotte, A. Influence of Cadmium on growth and nitrogen metabolism of *Anabaena* sp. lemm. J. Exp. Bot., 31: 107-1118, (1980).
15. Overnell, J. The effect of some heavy metal ions on photosynthesis in fresh water algae. Pestic. Biochem and physiol., 5:19-26, (1975).
16. Rai, L.C., N. Mallick, J. Singh, and H.D. Komar. Physiological and biochemical characteristics of copper tolerant and a wild type strain of *Anabaena dolioum* under copper stress. J. plant physiol, 138: 68-74, (1991).

Distribution of Intestinal Parasites in Children Aged (1-13) Years in Some Areas of Baghdad

Asmaa A. H., Salwa S. S., and Ahlam A. A.

Received 2/9/2007 – Accepted 28/11/2007

الخلاصة

إصابة الأمعاء بالطفيليات المعوية يعتبر من الامراض الشائعة في العالم. اجري هذا البحث في بعض مناطق بغداد ووجد ان العامل الاجتماعي والاقتصادي يلعب دورا مهما في الاصابة بطفيليات الامعاء. إن الغاية من هذه الدراسة هو تحديد نسبة الاصابة في الاطفال الذين تتراوح اعمارهم بين (1 - 13 سنة) في منطقتي الحبيبية والجوادير في محافظة بغداد.

تبين من هذه الدراسة ان طفيلي *Enterobius vermicularis* هو من اكثر الطفيليات اصابة بين الاطفال في هذه الفئات العمرية حيث كانت نسبة الإصابة بهذا الطفيلي في منطقة الحبيبية هي (69.2%) ونسبة الإصابة به في منطقة الجوادير هي (70.5%).

إن العلاقة بين التثقيف الصحي والثقافة العامة للام مهمة جدا في حدوث الاصابة بطفيليات الامعاء في الاطفال، وكذلك وجدت الدراسة علاقة مهمة بين الحالة الاجتماعية والاقتصادية للأسرة والاصابة بطفيليات الامعاء بين الاطفال بالإضافة الى سوء الصحة العامة وسوء البيئة في المناطق السكنية مثل تصريف المجاري والتخلص من النفايات له اثر كبير وواضح في ديمومة الاصابة بطفيليات الامعاء بين الاطفال.

ABSTRACT

Intestinal parasitic infections are amongst the most common infections worldwide.

This research carried out in different areas of Baghdad has shown that social and economical situation of individuals is an important cause in the prevalence of intestinal parasites.

The objectives of current study were to determine their prevalence of intestinal parasitic infections in children among (1-13) years in Al-Habibiya and Al-Chiwadir regions.

This study found that in this population, *Enterobius vermicularis* was the most frequent parasitic infection. (69.2%), (70.5%) in the studying areas.

The relation between health and mothers education is well known in infections with intestinal parasites and the study has shown that the social and economical situation is an important cause in prevalence of intestinal parasites in addition poor sanitary and environmental conditions are known to be relevant in the propagation infection agents.

INTRODUCTION

In humans, three types of intestinal parasites may lived in the small and large intestines tape worms, round worms (Ornematodes) and protozoa. Certain types remain in the intestines; others travel outside the intestines to invade other organs. Like some are so small they can only be seen under the microscope; for example others can be many feet long. Like Host tape worms and round worm develop in human body and lay their eggs there. The eggs then pass out of the body through feces and can infest others (1).

Intestinal parasites exist thorough the world. The world health organization (WHO) estimates that 3.5 billion people worldwide are infested with some types of intestinal parasite (2), and as many as 450 million of them are sick as a result. Children are most frequently infected with these parasites (3).

MATERIALS AND METHODS

The sample size included children aged between (1-13) years from families AL-H Abbiya and AL-Chiwadir area in east Baghdad city was 3500 stool samples. The collection was by small containers with cover each container was labeled by a special number. During collection the samples followed by in formation was reported from each family (socio-demographic) data; age education and occupation of parents, number of adults and children in the family, environmental factors housing conditions and behavior habits.

The method collected material for examination in the early morning prior or defecation on the same morning by using slides were provided with cellos tape , to be microscopically examined .

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, the prevalence parasitic infection was higher in Al-Habibiya areas, and was shown a high prevalence of infection in males (table 1,2) among the following populations (1-13) years olds (female). Although on interactions between infection and socio-demographic, environmental factor habits from eastern regions, to our knowledge there is lack of adequate information, parts of study (9).

Although no statistical significant difference was on prevalence of *Taenia saginata* which are observed in the two areas with (2.5%, 2.1%), (10).

It was found that Enterobiasis occurs worldwide, usually involving school-aged children (11). *Enterobius vermicularis* infection is transmitted by hand to mouth and/or person to person, prevalence of *E. vermicularis* in the current study

might be due to improper hygiene washing hands with soap after defecation, before eating and preparing foods.

In the study area two traditional methods of cleaning and areas after defecation: (1) washing with tap water. (2) a piece of cloth is used to clean the anal area after defecation multiple times until the person decides that is has become too dirty after which reused. These improper cleaning practices after defecation could be the probable autoinfection. The higher prevalence of *E. vermicularis* could also be explained infectious nature of the parasites. Additionally, it was observed that Geohelminth infections of *Ascaris lumbricoides* and *Hymenolepis nana*

were of lower prevalence infection. Because of same improper toilet facilities which require individuals to defecate in areas around sewage system (12).

Table -1: Number of infected children (male and female) with intestinal parasites in Baghdad city (Al-Habiibiya region)

Intestinal parasites	Children aged (1-13) years			
	Male	Female	Total	Ratio of infection
<i>Enterobius vermicularis</i>	46 68%	35 70%	83 69.23%	5.43%
<i>Hymenolepis nana</i>	15 22.5%	11 22%	26 22.2%	0.74%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4 5.97%	3 6%	7 5.9%	1.40%
<i>Taenia saginata</i>	2 2.98%	1 2%	3 2.5%	0.2%
TOTAL	67 57.2%	50 42.7%	117 99.83%	7.77%

The total of examined sample =220

The total of samples of infected children =17

Table -2: Number of infected children with intestinal parasites in Al-Chiwadir region/Baghdad

Intestinal parasites	Children aged (1-13) years			
	Male	Female	Total	Ratio of infection
<i>Enterobius vermicularis</i>	39 70.9%	28 70%	67 70.5%	3.33%
<i>Hymenolepis nana</i>	11 20%	10 25%	21 22.1%	1.01%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4 7.2%	1 2.5%	5 5.2%	0.2%
<i>Taenia saginata</i>	1 1.8%	1 2.5%	2 2.1%	0.09%
TOTAL	55 57.8%	40 42.1%	95 43.1%	104.62

Number of examined samples of children =220

Number of infected samples of children =95

Table -3: The ratio of children infection under 5 years age in Al-Habibiya and Al-chiwadir with *Enterobius vermicularis*

Children under 5 years old	Al-Habibiya			Al-Chiwadir			Infection average
Age in months	Number of examined children	Number of infected children	Ratio of infection	Number of examined children	Number of infected children	Ratio of infection	
1-12	23	1	4%	27	1	3.7%	3.84%
13-24	18	3	16.7%	17	1	5.8%	11.42%
25-36	22	2	9.1%	21	2	9.5%	9.30%
37-48	21	4	19.1%	20	2	10.0%	14.63%
49-60	24	5	20.8%	25	4	16%	18.39%
TOTAL	11	15	13.63%	110	10	9.09%	11.36%

The total examined children =220

Epidemiological research carried out in different areas of countries has shown that the social and economical of the individuals is an important cause in the prevalence of intestinal parasites poor sanitary and environmental conditions are known to be relevant in the propagation infection agents (13).

Table -4: The effect of Number of family on infection ratio with *Enterobius vermicularis*

Number of family	Number of infected	Ratio of infection
3-4	6	2.72%
5-6	8	3.63%
More than (6)	11	5.0%
TOTAL	25	11.3%

The prevalence of intestinal parasite (*Enterobius vermicularis*) was higher in groups where the mother in the less than a primary school education, where the hand is habitually used for cleaning area and where toilet paper is seldom or never used. The relation between a child's and the mother's education is well known. Health indicators of children whose mother's education lower are always worse (14). In last groups the habits of children are factor along with a cultural dimension. They were taught to clean the anal area by washing with the hand, toilet paper usage piece of cloth instead of toilet paper was also common (15).

Table -5: The effect of educational level of mothers on infection ratios with *Enterobius vermicularis*

Education level of mother	Number of infection	Ratio of infection
Uneducated	16	7.27
Educated	9	4.09
Primary school	4	1.81
Median school	2	0.9
Secondary school	2	0.9
Institute or college	1	0.45
TOTAL	34	

The results of this table revealed that the incidence of intestinal parasites infection happen at any time or season of the year there is slight different (high incidence) through summer season (Jun, Jul) because of the water pollution, food pollution through the street seller. (2).

Table -6: Months variability in infected ratio with intestinal parasites in population in AL-Habibiya and Al-chiwadir region

Months	Ratio of infection	Number of infecters	Number of examiners
Jan	5.35	15	280
Feb	3.82	13	340
Mar	5.60	14	250
April	4.61	18	390
May	7.71	27	330
Jun	9.11	31	340
Jul	8.26	19	230
Aug	7.27	16	220
Sep	4.82	14	290
Nov	6.52	15	230
Des	6.25	20	320
Average	6.92	18	260

Intestinal parasites infections are important public health problem in east Baghdad (Al-Habibiya, and Al-Chiwadir areas). Mother education less than primary school, sometimes or never usage of toilet paper and washing anal area by hand after defecation were the significant associations. Intervention including health education on personal hygiene to the students and to the parents, especially to mothers are required the ration of uneducated women should be declined with specific programs. A multicultural approach is needed.

Healthy immune system is the best defense against and disease. Some of the things you can do to reduce the risk of parasitic infection are:

- Wash all fruits and vegetables with Ozona Ted water, hydrogen peroxide (1teaspoon per gallon of water) or bleach (add 1/2 teaspoon to each gallon and soak for 10 minutes) will kill parasites. Some prefer to wash them in chlorinated water, but these things are organic in nature. Chlorine and organic don't go well together because of the carcinogenic components that are produced.
- Thoroughly cook meats and fish. Don't eat raw or uncooked meats or fish, check for worms especially on fish.
- Drink pure water.
- Practice good personal hygiene, wash your hands before eating and after going to the bathroom, changing diapers or handling pets, keep your fingernails short and clean, parasites can live two months under fingernails.
- Keep your living environmental clean.

REFERENCES

1. Corry. J, K, Gary L, Martin, and Brett, V. Common Intestinal Parasites. American Family Physician. American Academy of Family Physician; 269:116-8. (2004).
2. World Health Organization. Common Intestinal Parasites. (2002).
3. Procop. GW. Gastrointestinal Infection. Infect. Dis. Clin. North Am. 15:1073-108. (2001).
4. Centers for Disease Control and Prevention. Ascaris infection. Division of Parasitic Diseases. Sep.1-4. (2004).
5. Saxena AK, Springer A, Tsokas J, Willital GH. Laparoscopic Appendectomy in Children with Enterobius vermicularis. Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech. 11:284-6. (2001).
6. Katz DE, Taylor DN. Parasitic Infections of the Gastrointestinal Tract. Gastroentero. Clin. North Am. 30:795-815. (2001).
7. Uwe Stocter, Common Intestinal Worms in Indonesia. Health and Medical concerns, practical information. Up to date. (2007).
8. Kitchen, LW, Case Studies in International Medicine. AM. Fam. Physician. 59:3040-4. (1999).
9. Ulukanligil M, Seyrek A. A demographic and Socio-economic factors Affecting the Physical Condition and Parasitic Infection Status of School Children in Sanliurfa Province, Turkey. Public health. 118:151-158. (2004).
10. Topcu A., Ugurluk. Distribution of Intestinal Parasites in Primary School According to age, sex and socio-economic status. Acta parasitological Turcica. 23:286. (1999).

11. Ulukanligil M, Seyrek A. Demographic and Parasitic Infection Status of School Children and Schools in Sanliurfa. Turkey. BMC public health. 3:49.1186. (2003).
12. Ozer S, Akosoy G. Interrelationship between Intestinal Parasite Disease in the GAP region another factors and prediction of health care GAP. Acta parasitological Turcica. 23:38. (1999).
13. Koc A, Kosecik M, Vural H, Erel O, Atasa A, Tatli MM. The Frequency and Etiology of Pediatrics years of age in the southeast region of Turkey. Turk. J. Pediatr. 42:91-95. (2006).
14. Phirik, Whitty GJ, Graham SM, Ssembatya-Lule G, Urban/Rural Differences in Prevalence Intestinal Helminth Infection in Southern Malaw. Ann. Trop. Med. Parasitol. 94:381-389. (2000).
15. Akisu C, Aksoy U, Inci A, Acikgoz M, Orhan V. Investigation of Intestinal Parasites in Sch-Low-social-economic Conditions in Izmir. Acta parasitological Turcica. 24:52-54. (2001).

Photocatalytic Oxidation of Cyanide Ion in Aqueous TiO₂ Suspension

¹Salah M. Aliwi, ²Sahar S. Al-Saleh, and ³Fadela M. Hussein and ⁴Asmaa J. Al-Lami

¹Ministry of higher Education and Scientific research.

^{2,3} Chemistry Department, College of Science, Mustansiriya University, Baghdad, Iraq.

Received 19/7/2006 – Accepted 25/2/2008

الخلاصة

تم خلال البحث الحالي دراسة عملية الأكسدة الضوئية المحفزة لأيون السيانيد في المحلول المائي العالق لنوعين مختلفين من شبه الموصل TiO₂ وهما الديكوزا P₂₅ والهمبوكايت. أوضحت نتائج البحث ان هذين النوعين كفؤين لعملية الأكسدة الضوئية المحفزة للأيون الا ان النوع ديكوزا P₂₅ هو اكثر كفاءة من النوع همبوكايت وتحت نفس الظروف التجريبية المستخدمة. ان الدراسات الحركية لهذه العملية اثبتت انها من المرتبة الاولى وتم حساب سرعة الأكسدة الضوئية بوجود كلا المحفزين الضوئيين. تم في البحث أيضا دراسة افضل الظروف لهذه العملية وتأثير العوامل المختلفة عليها مثل تأثير التركيز الابتدائي للأيون وتأثير تركيز العامل المحفز. استخدمت معادلة لانكمير – هنشلود لحساب ثابت سرعة امتزاز الايون على سطحي كلا النوعين المستخدمين في البحث. وأخيرا اقترحت ميكانيكية الأكسدة الضوئية المحفزة لأيون السيانيد استنادا الى النتائج العملية التي تم الحصول عليها.

ABSTRACT

The photocatalytic oxidation of CN⁻ ion have been studied in two different types of TiO₂ photocatalyst like Degussa P₂₅ and Hombikat.

The two types of photocatalyst are efficient on the oxidation of CN⁻ ion but the Degussa P₂₅ type is more photoactive than Hombikat under similar experimental conditions. The kinetic studies indicate that the photocatalytic oxidation process is first order, and the rates of photooxidation were measured under the optimum conditions used. The dependence of the cyanide photooxidation rate on different parameters were also studied; initial and catalyst concentrations. Langmuir-Hinshelwood equation used to determine the adsorption constant of CN ion on these two surfaces. According to the experimental results suggested the photooxidation mechanism.

INTRODUCTION

The cyanide compounds is a very toxic pollutant present in industrail waste water from electroplating industry and heat- treating operations. The chemical (1) and biological (2) processes are used to remove the cyanide ion from polluted water. These processes have different disadvantages, such as, formation of highly toxic cyanogen chloride gas can occur. While for the biological processes the formation of activated sludges are difficult to overcome. Since the photocatalytic method has been found to be effective to oxidize cyanide ion to non toxic ions such as nitrate and carbonate(3-5). Different types of TiO₂ like Anatase; Rutile; Doped anatase and Rutile (4,6), and Degussa P₂₅ (5,7) were used in this process. It has been found that each type is

effective to photooxidize cyanide ion according to experimental conditions used. This method (5) was also used to complex oxidize cyanide of K₃[Fe(CN)₆]. The UV or sun light was used as irradiation sources. Augugliaro and colleagues(7) found that the efficiency of cyanide oxidation process decreases in the presence of a competitive oxidation reaction such as organic compound like phenol present in the reacting medium. In the present work, the photocatalytic oxidation of cyanide ion toxic pollutant on different types of TiO₂ is conducted.

MATERIALS AND METHODS

The photo experiments were carried out in (35ml) pyrex cell with two holes in its upper section for the passage of gasses and for sampling processes. 150 W medium pressure Hg lamp. (PHYWE) was used as a radiation source. The experiments were done by saturating the reacting solution (certain concentration of KCN and certain amount of TiO₂ in distilled water), with either oxygen or argon(for 30 minute). The photocatalysts (polycrystalline TiO₂) Degussa P₂₅ and Hombikat were used. The physicochemical properties of these two types are shown in table -1. The quantitative determination of cyanide ion concentration was determined spectrophotometrically (Spectronic-21 Busch and Lomb) by formation a complex with diphenyl carbazone at $\lambda_{\max}=532\text{nm}$. The photooxidation product (nitrate ion) was analyzed by using ion chromatography (Dionex 16, USA ion chromatography).

Table- 1:Physicochemical properties of TiO₂,DegussaP₂₅ and Hombikat

	Crystal phase	Particlessize μm	*B.E.T. surface area m^2/g	Source
Degussa P₂₅	80% anatase and 20% rutile (non porous)	0.03	30.57	Sachtleben chemie
Hombikat	100% anatase (porous)	8.81	200	Sachtleben chemie

*B.E.T. : Brunauer,Emmett and Teller.

The acidity of the solutions before and after irradiation were measured by pH meter (Orion-5A-720/pH meter).The solution pH was adjusted at natural pH of distilled water (pH=6.85). This could be done for two reasons, first: the P.Z.C.(point of zero change) of TiO₂ is nearly equal to 6, second: to avoid the formation of HCN in acidic medium.

RESULTS AND DISCUSSION

Blank experiment

Primary photoreactions indicate that UV light, TiO_2 photo catalyst and oxygen gas are the main parameters for the photocatalytic oxidation of CN ion in water.

Effect of TiO_2 load

Series of experiments at similar reaction conditions (CN ion conc. $=4 \times 10^{-4} \text{M}$, temp. $=298\text{K}$, $\text{pH}=6.8$, oxygen flow rate $=10 \text{ml.min}^{-1}$), but at different catalyst amount in the range from (0.2 to 1.0) g/L were carried out. The results obtained declare that the amount 0.5 g/L for each type of TiO_2 photo catalyst gives a highest photo oxidation rate for the CN ion.

Effect of illumination time

It has been found that the time needed for the complete photo oxidation process inceases with increasing cyanide ion concentration as shown in figures 1 and 2. The two hours irradiation has been found to be an optimum time for the photooxidation process.

Kinetic analyses

The relationship between $\ln(C_t - C_\infty)$ with irradiation time gives a straight line for two types of TiO_2 used in this work. These results indicate that the photooxidation reaction of CN ion on TiO_2 surface follow first order relationship. The specific rate constants, and then the photooxidation rates were measured. Table -2 and figure (3) illustrate that the rate of photo oxidation of CN on Hombikat is faster than the rate of photooxidation on Degussa P_{25} under the similar experimental conditions employed. Domenech⁽⁸⁾ found that TiO_2 rutile show higher photoactivity than ZnO. Others indicate that TiO_2 rutile and anatase are efficient on the photo oxidation of CN ion in aqueous medium, but rutile is better than anatase. While Augugliaro^(5,7) and coworkers indicate that Degussa P_{25} (80% Anatase and 20% Rutile) oxidize nearly 70% of CN ion to nitrate and carbonate ions during 5hrs. irradiation period by using medium pressure mercury lamp. The same workers but in another work found that Degussa P_{25} was photooxidize CN ion by using sunlight as irradiation source in addition to the strong oxidation conditions (NaOH and H_2O_2 present in aqueous suspension solution). The Hombikat type of TiO_2 has been firstly used in this work for the photooxidation of CN ion. The results could be explained with respect to the crystal form of Hombikat and Degussa P_{25} which contain a higher percent of anatase type. It is well known⁽⁹⁾ that anatase has a good photo activity to the oxidation processes due to its higher band gap

($E_{b,g} \approx 3.3\text{eV}$) and also the higher surface areas and smaller particle sizes as shown in table -1.

The effect of initial CN ion concentration on the rate of photooxidation was also studied. Figure 4 declare the relation between % of CN ion remained in solution with initial concentration under the optimum condition used. From this figure it has been shown that the percentage of photooxidized CN ion was higher on Degussa P₂₅ comparing with a Hombikat. From table -2 it has been shown that the value $4 \times 10^{-4}\text{M}$ of cyanide ion concentration was the optimum concentration which gives the highest rate for the photooxidation on the two types of TiO₂ photocatalyst.

Table -2: Kinetic results for the photooxidation process in presence of Degussa P₂₅ and Hombikate photocatalyst.

TiO ₂ Type	C ₀ (M) x10 ⁻⁴	k x10 ⁻³ sec ⁻¹	Rate10 ⁻⁷ M.sec ⁻¹	1/Rx10 ⁻⁷ M ⁻¹ .sec.	1/C ₀ X10 ⁴ M ⁻¹	k _{L.H} Sec ⁻¹	% Residue	t _{1/2} Sec.
Hombikat	1.0	0.165	0.165	6.06	1.0	0.11	12.8	4200
	2.0	0.23	0.46	2.17	0.5	0.55	5.5	13013
	4.0	0.25	1.0	1.0	0.25	0.27	4.5	2772
	6.0	0.13	0.78	1.28	0.16	0.18	3.8	5330
Degussa P ₂₅	1.0	0.16	0.16	6.25	1.0	0.2	10.9	4331
	2.0	0.3	0.6	1.66	0.5	0.25	5.0	2310
	4.0	0.2	0.8	1.25	0.25	0.13	2.5	3465
	6.0	0.05	0.3	3.3	0.16	0.08	0.83	13860

The adsorption constants have been measured from the linear form of Langmuir-Hinshelwood (L-H) equation:

$$\frac{1}{\text{Rate}} = \frac{1}{k} + \frac{1}{kKC_0}$$

k= specific rate constant

C₀= initial ion concentration.

K= adsorption constant.

From the slope and intercept of the straight line, the adsorption constant of cyanide ion on Degussa P₂₅ and Homibikat are $7.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ and $1.96 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ respectively. This results could be explained according to the nature of the Degussa P₂₅ form which is a non porous and has a moderate surface area and smaller particle size compared with the porous structure of Hombikat type. Therefore cyanide ion adsorbed on Degussa P₂₅ more than on Hombikat type. The specific rate constants measured from the L-H equation are nearly equal to that values measured from first-order equation. Augugliaro and colleagues (5) have found that adsorption constant of cyanide ion on Degussa P₂₅ was $2.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ under the experimental conditions employed.

Table -3 indicate the results of the rates of photocatalytic oxidation and adsorption constants measured in this work and other works.

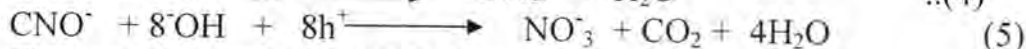
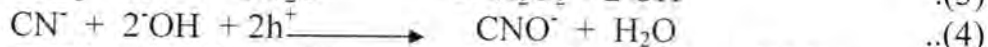
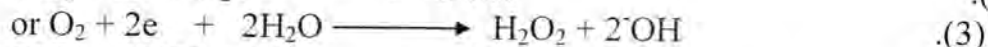
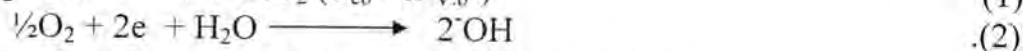
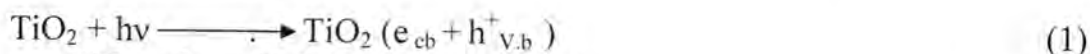
Table-3: The kinetic values of the photo catalytic oxidation of CN ion on different types of TiO₂

Conc. of CN	Rate M. sec ⁻¹	K _{ads} M ⁻¹	Type of TiO ₂	Ref.
0.4mM	0.800×10^{-7}	7.5×10^3	Degussa P ₂₅	This work
0.4mM	1.000×10^{-7}	1.96×10^3	Hombikat	This work
0.1mM	0.475×10^{-7}	0.04×10^{-5}	Rutile	6
0.1 mM	0.866×10^{-6}	---	Rutile	8
---	8.200×10^{-7}	2.70×10^3	Degussa P ₂₅	5

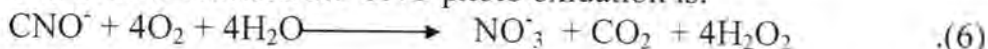
Mechanism

In a photocatalytic oxidation process, the primary step following the absorption of radiation by the photocatalyst is the generation of e⁻ – h⁺ pairs. The adsorbed oxygen species are traps the electrons in order to avoid the fast recombination step. Frank and Bard(4) and Augugliaro and coworkers (5,7) report that CNO ion is the first product of photocatalytic oxidation of CN ion in the presence of TiO₂ in aqueous medium. In the present work the solution pH was decreased during irradiation from 6.86 to (3.52-4.5) indicate formation of OCN because pka for OCN is equal to 3.9 while pka for CN is 9.3 at 298K. Then after prolong irradiation the pH may be increased or decreased depending on the type of ions formed after catalytic oxidation.

The cyanate ion (CNO) formed was then further photooxidized to nitrate and carbonate ions according to following equations:



The overall reaction for CNO photo oxidation is:



The NO₃⁻ ion was detected by ion chromatography. Augugliaro and coworkers(5) detect the CO₃⁻² with the nitrate ion because the solution pH was basic (pH=11), while in the present work the solution pH was neutral (pH=6.86). Therefore the CO₃⁻² ion is not detected in the present work.

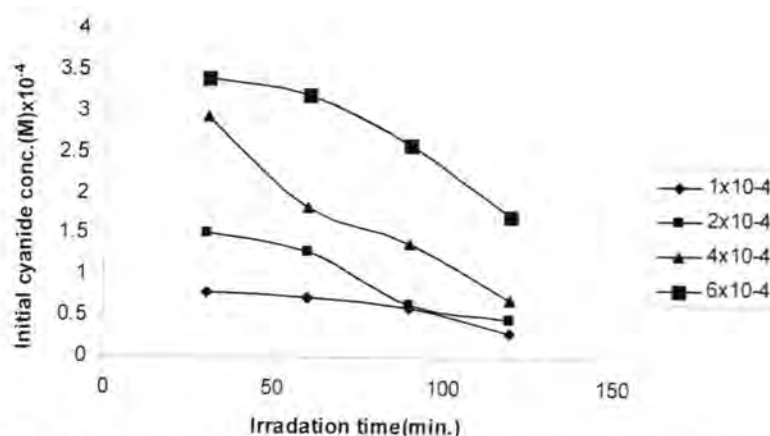


Figure -1: Relation between initial cyanide ion concentration and irradiation time on Hombikat

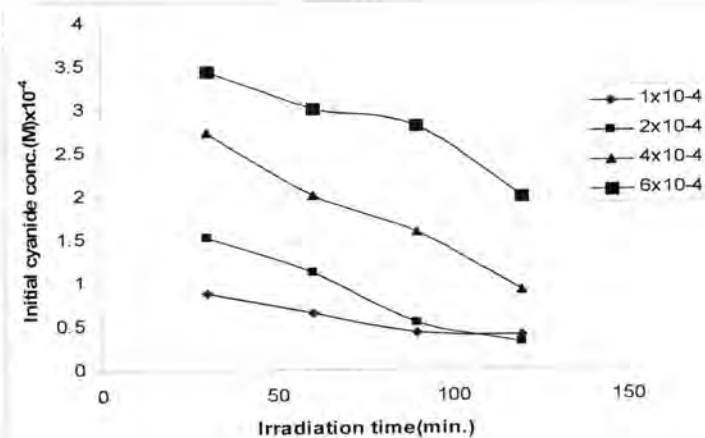


Figure -2: Relation between initial cyanide ion concentration and irradiation time on Degussa

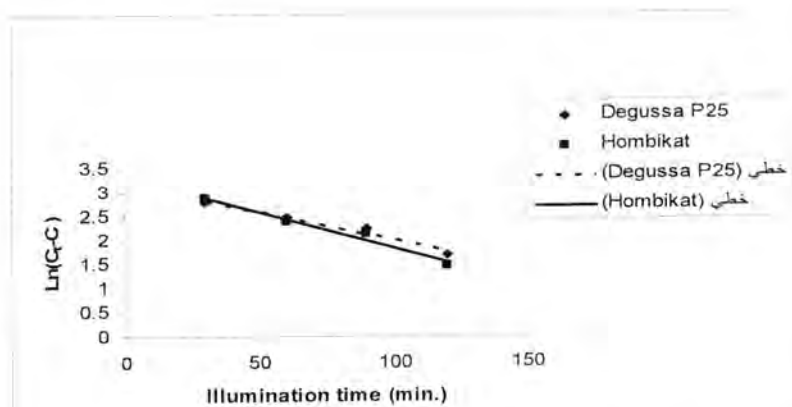


Figure -3: Relation between $\ln(C_t - C)$ versus illumination time of CN on Degussa P₂₅ and Hombikat, conc. 4×10^{-4} M.

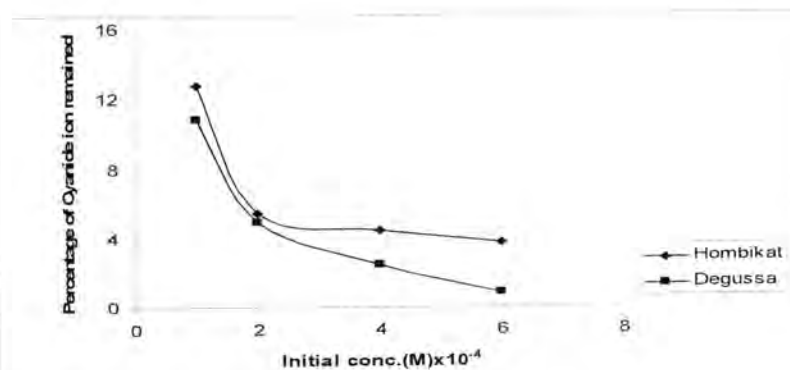


Figure -3: Relation between percentage of cyanide ion remained in solution and its initial concentrations in the presence of Degussa and Hombikat

REFERENCES

1. S.O.Hassan,M.P.Vitello,M.J.Kupfele,and D.W.Grosse; J.Air waste Manage. Assoc.,41,page 710-715(1991).
2. L. P. Salomonson, in B. Vennesland, EE. Conn. C. J. Knowles, J. Westley, F. wissing (Eds), cyanide in Biology, Academic Press, New York. (1981).
3. V. Augugliaro, V. Loddo, G. Marci, L. Palmisano, M. J. Lopez. Munoz; J. Catal, 166, Page 272-283 (1997).
4. S. N. Frank, A. J. Bard;,Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions of TiO₂ powder, J. Am. Chem. Soc. 99, Page 303 (1977).
5. V. Augugliaro, E. Lopez, V. Loddo, M. J. Lopez – Munoz, G. Marci, L. Palmisano, M. Schavello;Photodegradation of free and complex cyanides in irradiated homogeneous and heterogeneous system; Fresenius Envir. Bull, 8, Page 350-357 (1999).
6. A. H. AL-Alwani; M. S. C. thesis; Al-Mustansiriya university, (2002).
7. V. Augugliaro, J. Btance, J. Caceres; E. Lopez, V. Loddo, M. J. Lopez – Munoz, S. Rodriguez, G. Marci, L. Palmisa, M. Schiavello, J. Ruiz; Photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions of TiO₂ suspensions irradiated by sunlight in mild and strong oxidant conditions; Catalysis Today, 54 Page 245-253 (1999).
8. X. Domenech; in photocatalytic purification and treatment of water and Air , D. F. Ollis and H. Al-Ekabi (Eds). Page 337 (1993).
9. M.V. Rao, K. Rajeshwar , V. R. Pai. Verneker , J.Dubow , J. Phys. Chem. 84 Page 1987 (1980).

Complexion Behavior of [N, N'-Bis (4-dimethyl amino benzaldene-1,2-daminoethane)]with Palladium (II), Ruthenium(III) and Platinum(IV)

Rehab A.M.Al-Hasiani and Kalida Hamel

Al-Mustansiriya University, College of Science, Chemistry Department

Received 2/6/2007 – Accepted 23/1/2008

الخلاصة

تم في هذا البحث تحضير قاعدة شف الجديدة

[N,N'-Bis(4-dimethyl amino benzaldene-1,2-diaminoethane)] (DABE)

من عملية تكاثف (4-dimethyl amino benzaldehyde) مع (1,2-diamino ethane) جرى تشخيص (DABE) بطرائق طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) و التحليل الحراري (TG-DTG). تم استخدام قاعدة شف (DABE) كليكند في تحضير المعقدات الجديدة مع ايونات عناصر البلاتينيوم الثنائية و الروثينيوم الثلاثية و البلاتين الرباعية. جرى تناسق هذه الايونات مع (DABE) من خلال ذرتي نتروجين مجموعة الازوميثين. تم اقتراح الشكل الهندسي للمعقدات المحضرة باستخدام تقنية الامتصاص الذري اللهبى للعناصر و اطياف الأشعة تحت الحمراء و البنفسجية-المرئية (UV-Vis) إضافة لقياسات الحساسية المغناطيسية و التوصيلية الكهربائية و التحليل الحراري (TG-DTG). ثم قياس النسبة المولية للفلز و الليكاند في محلول اليثانول باتباع طريقة النسبة المولية, وقد اعطت هذه الدراسة نتائجاً مطابقة مع تلك التي تم الحصول عليها في الحالة الصلبة, كما درست ثوابت الاستقرار للمعقدات المتكونة مع الزمن و كانت مدة ثبات اللون أكثر من (6) ساعات. فضلاً عن ذلك تم حساب قيمة الممتصية المولارية للمعقدات. تم تقويم الفعالية المضادة للبكتريا للليكاند و معقداته و اختير نوعان من البكتريا (*E.coli*) و (*Bacillus*) لهذا الغرض.

ABSTRACT

The compound (4-dimethyl amino benzaldehyde) react with (1,2-diamino ethane) to form new Schiff base [N,N'-Bis(4-dimethyl amino benzaldene-1,2-diaminoethane)] (DABE). The product was characterized by (FT-IR) and thermal analysis (TG-DTG). (DABE) act as a ligand coordinating with the metal ions [Pd(II), Ru(III) and Pt(IV)] through nitrogen of the isomethene group. The stereochemistry around the metal ion has been suggested using flame atomic absorption technique, FT-IR and UV-Vis. Spectroscopy, in addition to magnetic susceptibility, conductivity measurement and thermal analysis (TG-DTG). The study of the nature of the complexes formed in (ethanolic solution) following the mole ratio method, gave results which were compared successfully with those obtained from solid state studies. The apparent stability constant of the complexes have been studied with the time and their color were stable for more than (6) hours, as well as the molar absorptivities have been calculated. The antibacterial activity for the ligand and their metal complexes were studied against two selected micro-organisms (*E.coli*) and (*Bacillus*).

INTRODUCTION

A large number of Schiff base compounds are known to form an important class of biologically active compounds with a variety of pharmacologic actions (1-4). The presence of nitrogen of azo methane group serve as very good chelating agents, this may lead to synergistic effect in biological activities as well as synthetic models in studying the effect of metal ion on some structurally related enzyme activities (4).

The present paper describes the preparation of a bidentat schiffs base derivative, produced from the reaction of the (4-dimethyl amino benzaldehyde) and (1,2-diamino ethane) to be used a ligand , that provide two potential donar sites to form complexes with some transition metal ions .The ligand and its complexes have been fully characterized and their structures were determined as out lined below .

Physical measurements and analysis:

Melting points were recorded on Gallen Kamp melting point apparatus and were uncorrected. FT-IR spectra were recorded using FT-IR 8300 Shimadzu in the rang of $(4000-200) \text{ cm}^{-1}$, samples were measured as (CsI disc). Electronic spectra were obtained using UV-1650 PC Shimadzu Spectrophotometer at room temperature. The measurements were recorded using a concentration of (10^{-3} M) of the complex in chloroform. The metal content was estimated spectrophotometrically using Atomic Absorption Shimadzu AA670 Spectrophotometer. Conductivity measurements were obtained using Corning Conductivity meter 220 . These measurements were obtained in DMF solvent as (10^{-3} M) concentration at 25C° . Magnetic Susceptibility measurements were obtained at 25C° on the solid state applying Faraday's method using Bruker BM6 instrument. Thermal analyses were performed using TG-DTG A6200-Thermo Haake .

MATERIALS AND METHODS

All chemicals were of highest purity and were used as received.

A- Preparation of the Schiff base (DABE).

To a hot ethanolic solution of (1,2-diamino ethane) (0.6gm, 0.01 mole), a solution of (4-dimethyl amino benzadehyde) (2.98gm, 0.02 mole) in (25 ml) ethanol was added with catalytic amount of glacial acetic acid , the reaction mixture was refluxed for (3)hours .On cooling the separated solid was filtered and recrystallized from ethanol , yield 86% , melting point of the prepared product are listed in table (1) . The structure of the Schiff base produced were confirmed by their FT-IR and thermal analysis (TG-DTG) , the results are shown in Table (2) and (3) respectively.

B- Preparation of the metal complexes (Pd, Ru and Pt)

Ethanolic solution of each of the following metal ion salts (0.52 mmole) [$\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$, $\text{RuCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$ and $\text{H}_2\text{PtCl}_6.6\text{H}_2\text{O}$] was added to ethanolic solution (1.15 mmole) of (DABE) with stirring . The mixture was heated under reflux for one hour during this time a precipitate was formed. The product was filtered off, washed with hot ethanol, followed by cold water and then dried under vacuum.

C- Study of complex formation in solution

Complexes of (DABE) with Pd(II), Ru(III) and Pt(IV) ions were studied in solution using ethanol as a solvent, in order to determine the [M:(DABE)] ratio in the complex following molar ratio method ⁽⁵⁾. A series of solutions were prepared having a constant concentration (10^{-3} M) of the metal ion and (DABE). The [M:(DABE)] ratio was determined from the relationship between the absorption of the absorbed light and the mole ratio of [M:(DABE)]. The results of complex formation in solution were listed in Table (1).

D- Stability constant of Schiff base complexes

The apparent stability ⁽⁶⁾ constant of the (1:1) and (1:2) (Metal: Ligand) complex were evaluated as follows:

Two sets of solutions were prepared, the first one were formulated to contain stoichiometric amount (1ml) of (10^{-3} M) ligand and (1 ml) of (10^{-3} M) of metal ion by placing in to a three series of (10 ml) volumetric flasks. The solutions of the colored complexes were diluted to the mark with ethanol. The second set were formulated to contain five fold excess (5ml) of (10^{-3} M) ligand, by placing in to a three series of (10ml) volumetric flasks followed by addition of (1ml) of (10^{-3} M) of metal ion solution, the volumes were then completed to the mark with ethanol. The absorbance (**As and Am**) of the solutions were measured at (λ_{max}) of maximum absorption. The stability constant (**K**), and the molar absorptivity (ϵ_{max}) have been calculated, were listed in, Table (5).

E- Study of biological activity for Schiff base and its complex

The biological activity of the prepared Schiff base and their respective complexes were studied against selected types of bacteria which include (*Escherichia Coli*) as (Gram-negative) and (*Bacillus*) as (Gram-positive) were cultivated in Nutrient agar medium.

In vitro technique was proceed for studying antibacterial against the two strains, DMSO was used as a solvent as a control and the concentrations of the compounds in this solvent were (10^{-3} M).

The technique was the Disc Sensitivity Test ⁽⁷⁾; this method involves the exposure of the zone of inhibition toward the diffusion of micro organism on agar plate. The plates were incubated for 24hr. at 37°C , the zone of inhibition of bacterial growth around the disc was observed, Table (6).

RESULTS AND DISCUSSION

(A)- Elemental Analysis:

The physical analytical data of (DABE) and its metal complexes are given in Table (1) , in a satisfactory agreement with the calculated values . The suggested molecular formulas which are also supported by subsequent spectral and molar ratio as well as thermal analysis.

Table -1:Physical data for (DABE) and its metal complexes

Comp.	color	Melting point C°	Yield %	Metal analysis		M: (DAB E) Ratio	Suggested formula for isolated precipitate
				Found %	Calc. %		
(DABE)	White	139-142	90	-	-	-	C ₂₀ H ₂₄ N ₄
Pd(DABE)	Brown	164	75	20.63	20.58	1:1	Pd(DABE)Cl ₂ .H ₂ O
Ru(DABE)	Dark grey	198	80	19.02	19.97	1:2	[Ru(DABE) ₂ Cl ₂].Cl
Pt(DABE)	Red	190	88	12.27	11.92	1:2	[Pt(DABE) ₂ Cl ₂].Cl ₂

(B)- Infrared spectra:

The absence of the absorption bands at (3500-3100) cm⁻¹ for $\nu(\text{NH}_2)$, the appearance of the (C=N) stretching at (1640) cm⁻¹ , are utilized to confirm the structures of (DABE) .

The characteristic stretching vibration modes concerning (DABE) and their metal complexes are described in Table (2) . The band due to ($\nu_{\text{C=N}}$) vibrations in the free ligand occurring at (1640) cm⁻¹ was shifted to lower frequency side on complexation showing the participation of the azomethine nitrogen in coordination with metal ions⁽⁸⁻¹⁰⁾ . These observation were further indicated by the appearance of ($\nu_{\text{M-N}}$ and $\nu_{\text{M-Cl}}$) respectively⁽¹¹⁾, Fig.(1), Table (2). Abroad band was observed at (3454) cm⁻¹ in the spectra of [Pd(DABE)] complex , assigned as (ν_{OH}) suggested the presence of water molecule, Fig.(1).

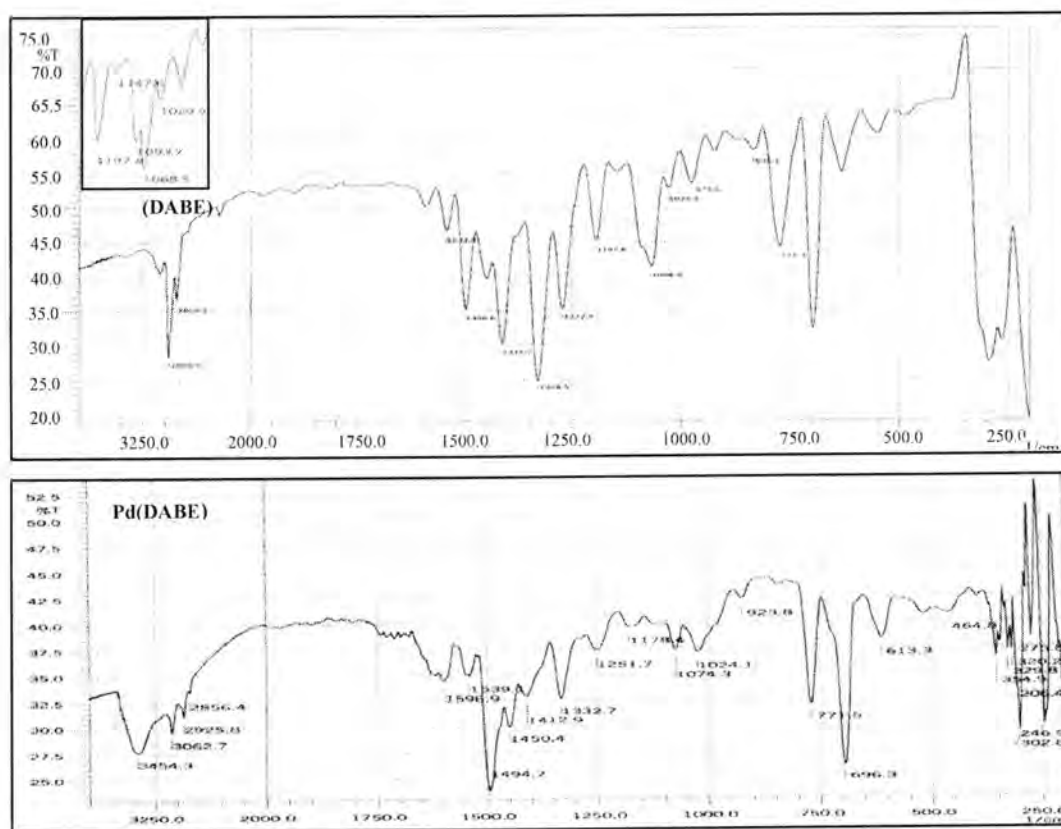


Fig. -1: FT-IR-Spectra of {(DABE) and Pd(DABE)}

Table -2: Characteristic stretching vibration frequencies (cm^{-1}) located in the FT-IR of (DABE) and their metal complexes

Comp.	$\nu_{\text{C=N}}$	$\nu_{\text{N-CH}_2}$	$\nu_{\text{M-N}}$	$\nu_{\text{M-Cl}}$
(DABE)	1640(s)	2869, 2960(s)	-	-
Pd(DABE) $\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1628(m)	2856, 2925(m)	522(w)	400(vw)
[Ru(DABE) $_2$ Cl_2].Cl	1624(m)	2852, 2936(m)	528(w)	389(vw)
[Pt(DABE) $_2$ Cl_2].Cl $_2$	1622(m)	2850, 2943(m)	530(w)	405(vw)

(C)- Electronic spectra:

The electronic spectra of the (DABE) and metal complexes were recorded for their solution in chloroform in the range (200-1100) nm, Fig. (2) and Fig. (3).

(1) **Pd(DABE)** : The brown palladium complex showed three absorption bands which were observed at (22302, 25211 and 30113) cm^{-1} . The spectrum was a typical of square planer Pd(II) complexes⁽¹²⁻¹⁵⁾. Magnetic

moment (0.75 B.M) showed that the complex to be low spin .Conductivity in (DMF) showed that the complex was non ions, Fig.(3), Table (3) .

(2) Ru(DABE) : This complex showed four absorption bands appeared at (14890,18688,28990 and 33780) cm^{-1} are tentatively assigned to ($^2T_{2g} \rightarrow ^4T_{1g}$, $^2T_{2g} \rightarrow ^4T_{2g}$, $^2T_{2g} \rightarrow ^2E_g$ and $^2T_{2g} \rightarrow ^2A_{1g}$) respectively. Following octahedral field with (d^5) configuration⁽¹⁶⁻²⁰⁾.

The observed values of the effective magnetic moments (1.82B.M), which agree well for low-spin trivalent ruthenium in octahedral coordination^(18, 20, 21).

Conductivity measurement showed that the complex was to be ionic, table (3).

(3) Pt(DABE) : The prepared red Pt(IV) complex showed three bands at (19500,25390 and 28160) cm^{-1} , which indicate an octahedral geometry^(12,17,22-25) Magnetic moment at room temperature of the solid complex (2.33 B.M) showed a higher orbital contribution^(25,26-28) . Conductivity in DMF showed that the complex was to be ionic, Table -3.

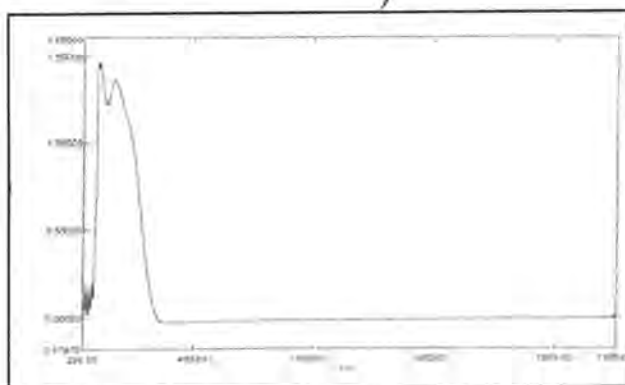


Fig.-2: UV-Vis.- Spectra of (DABE)

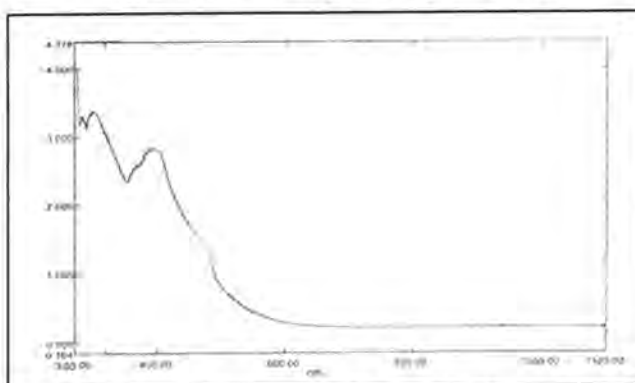


Fig.-3: UV-Vis.- Spectra of Pd (DABE)

Table -3:Electronic Spectra (CHCl₃), Conductance in (DMF) and Magnetic moment (B.M) for Metal Complexes

Comp.	Bands cm ⁻¹	Assignment	10 Dq cm ⁻¹	Molar cond. μs.cm ⁻¹	μ _{eff} B.M	Suggested structure
Pd(DABE) Cl ₂ .H ₂ O	22302 25211 30113	¹ A _{1g} → ¹ B _{1g} ¹ A _{1g} → ¹ E _g L→Pd(C.T)	22302	10.9	0.75	Square planar
[Ru(DABE) ₂ Cl ₂].Cl	14890 18688 28990 33780	² T _{2g} → ⁴ T _{1g} ² T _{2g} → ⁴ T _{2g} ² T _{2g} → ² E _g ² T _{2g} → ² A _{1g}	28990	88.6	1.82	Octahedral
[Pt(DABE) ₂ Cl ₂].Cl ₂	19500 25390 28160	¹ A _{1g} → ³ T _{1g} ¹ A _{1g} → ³ T _{2g} L→Pt(C.T)	25390	169	2.33	Octahedral

(D)- Thermal analysis:

The results for thermo gravimetric analysis of (DABE) and its metal complexes are given in Table (4).The thermo grams have been carried out in the range 25- 900 C^o at a heating rate of 20 C^o/min in nitrogen atmosphere, they showed the following features:

- 1) There was an agreement in weight loss between results obtained from the thermal decomposition and calculated values, which supports the results of elemental analysis and confirms the suggested formulae.
- 2) The ligand (DABE) and all the studied complexes showed a common general behavior, in which the first pyrolysis step was the loss of dimethyl amine in para substituted followed by the other part of the ligand except donor atom which were left with the metal atom depending on the type of metal ion.
- 3) The final step of the thermolysis reactions of the complex Pd(DABE) were found to give the metal as a final residue , Ru(DABE) and Pt(DABE) give metal nitrogen, which indicates the stability of such residues (29) .

Table -4: Thermal analysis by (TG-DTG) for (DABE) and their complexes

Stable phase	Temp. range of decomposition C°	% weight loss Found (Calc.)	
(DABE) -C ₄ H ₁₂ N ₂ -C ₇ H ₄ N -C ₂ H ₄ -C ₇ H ₄ N Nothing	38-289 289-393 393-443 443-500	26.82 31.22 8.88 32.86	(27.5) (31.87) (8.75) (31.87)
(C ₂₀ H ₂₄ N ₄ PdCl ₂).H ₂ O -C ₄ H ₁₄ N ₂ O -2Cl -C ₉ H ₈ N -C ₇ H ₄ N Pd	39-391 391-488 488-569 569-900	30.98 27.08 20.91 20.68	(31.96) (26.14) (20.5) (21.39)
(C ₄₀ H ₄₈ N ₈ RuCl ₂).Cl -C ₈ H ₂₄ N ₄ -3Cl -C ₄ H ₈ -C ₂₈ H ₁₆ RuN ₄	39-402 402-493 493-698 698-900	33.82 5.99 42.19 17.90	(33.33) (6.61) (41.53) (18.53)
(C ₄₀ H ₄₈ N ₈ PtCl ₂).Cl ₂ -C ₈ H ₂₄ N ₄ -2Cl -C ₄ H ₈ -2Cl -C ₂₈ H ₁₆ PtN ₄	39-415 415-488 488-693 693-900	25.32 13.64 35.89 25.12	(25.28) (12.99) (36.03) (25.69)

Solution study:

(1)- Molar ratio method

The molar ratio method were followed to determine the [M:(DABE)] ratio. The results of complexes in ethanol (solvents), suggest that the metal to ligand ratio was (1:1) for [Pd(DABE)], while (1:2) for [Ru(DABE)] and [Pt(DABE)], which were comparable to those obtained from solid state study, Table (1) .

(2)- Stability constant of the Schiff base complexes

The apparent stability constant of the (1:1) [Metal: Ligand] (eq.1) or (1:2) [Metal: Ligand] (eq.2) complex, were evaluated using the following equations⁽⁶⁾:

$$(1) K = \frac{(1-\alpha)}{\alpha^2 C}$$

$$(2) K = \frac{(1-\alpha)}{4\alpha^3 C^2}$$

(As and Am) of the solutions, were measured at ($\lambda_{\max}$) of maximum absorption, furthermore the molar absorptivity ($\epsilon_{\max}$) for three complexes

were calculated from the (eq.3)⁽⁶⁾ :

$$(3) A_m = \epsilon_{\max} . bc$$

The results shown in Table (5) , indicate that molar ratio of (1:2) for [Ru(DABE)] and [Pt(DABE)] complexes yielded rather high stability constants in contrast to the other value obtained with (1:1) for [Pd(DABE)] complex .

Furthermore the molar absorptivity of all complexes is rather high, this probably due to the presence of a bulk aromatic group on the nitrogen atom of azomethane group.

Table -5: Stability constant and molar absorptivities of Schiff base complexes at room temperature

Complex	As	Am	α	K L.mol ⁻¹	$\epsilon_{\max}$ L.mol.cm ⁻¹	$\lambda_{\max}$ nm
Pd(DABE) Cl ₂ .H ₂ O	0.367	0.443	0.172	5.23×10 ⁵	4336	418
[Ru(DABE) ₂ Cl ₂].Cl	0.352	0.399	0.156	6.02×10 ¹⁰	5519	507
[Pt(DABE) ₂ Cl ₂].Cl ₂	0.380	0.408	0.151	6.11×10 ²⁰	5523	520

Where:

(α): Is the degree of dissociation and (C) the concentration of the complex.

(As): Average of three measurements of the absorption of solution containing a stoichiometric amount of ligand and metal ion.

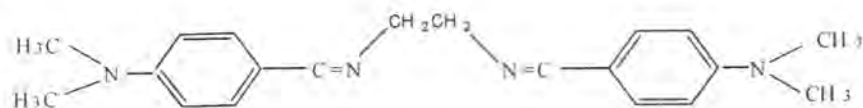
(Am): Average of three measurements of the absorption of solution containing the same amount of metal and five fold excess of ligand.

The developed colors become stable after one hour, up to six hours.

Suggested Stereo Chemical Structures

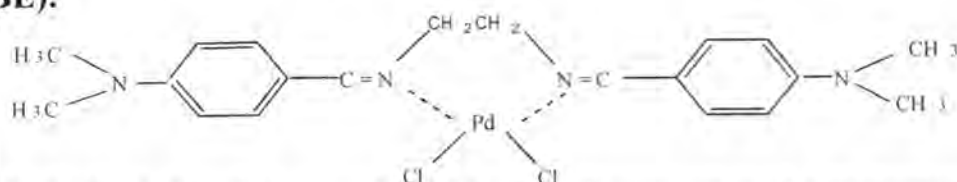
According to the results obtained from the elemental, thermal and spectral analyses the structures of the above mentioned complexes can be illustrated as follows:

(DABE):



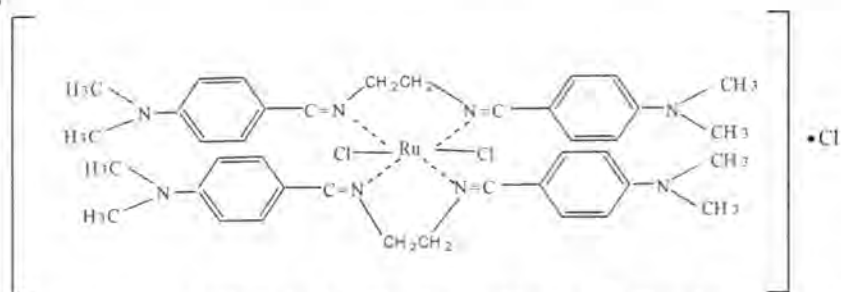
[N, N'-Bis (4-dimethyl amino benzaldene-1, 2-diaminoethane)]

Pd (DABE):



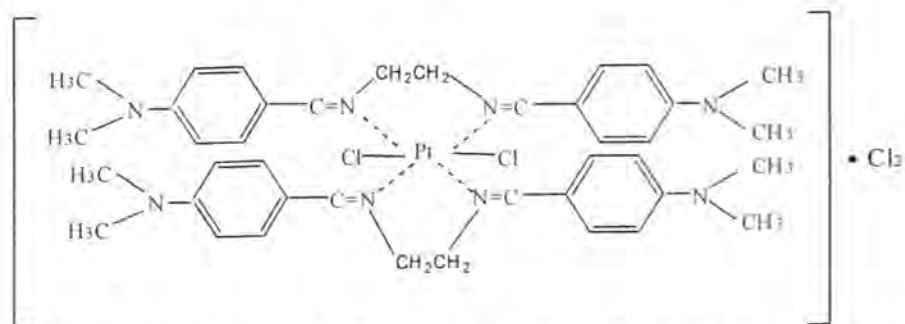
dichloro [N, N'-Bis(4-dimethyl amino benzaldene-1,2-diaminoethane)] palladium(II)

Ru (DABE):



dichloro bis [N, N'-bis(4-dimethyl amino benzaldene-1,2-diamino ethane)]
ruthenium(III).chloride

Pt (DABE):



dichloro bis [N, N'-bis(4-dimethyl amino benzaldene-1,2-diamino ethane)]
platinum(IV).chloride

Bactericidal activity:

The antibacterial activities of the (DABE) and its complexes were carried out against growth cultures of (*E.Coli* and *Bacillus*) respectively.

The new ligand (DABE) was found to be in active for both type of bacteria , Table (6) , while the [Pd(DABE)] , [Ru(DABE)] and [Pt(DABE)] complexes showed a wider spectrum of activity against both type of bacteria compared with its ligand (DABE) ,Table(6), this phenomena is known as synergetic effect ⁽³⁰⁾, the difference in synergistic effect between the metal ion and the ligand molecule may be attributed to many factors , of these are Pd(II),Ru(III) and Pt(IV) are considered to be soft metal ions , which render their complexes to be more lipophilic, this will facilitate the penetration through the cell wall and effect the constituents of the cell .

Table -6:Antibacterial activity for (DABE) and their metal complexes (10^{-3} mg.ml⁻¹)

Compound	<i>E.Coli</i>	<i>Bacillus</i>
Control (DMSO)	-	-
(DABE)	-	-
Pd(DABE) Cl ₂ .H ₂ O	6	8
[Ru(DABE) ₂ Cl ₂].Cl	10	15
[Pt(DABE) ₂ Cl ₂].Cl ₂	15	25

Where:(+): 6-8, (++) : 8-10, (+++): > 10

REFERENCE:

- 1- Revan, V.K and Mahale, V.B, *Synthesis and characterization of Zn, Co, Ni and Cu Schiff base complexes*, *Ind. J. Chem.* , 29A,255-259(1990).
- 2- Jha ,N.K and Ugal ,J.R., *Formation constant of the chelates of 4-nitro-benzilidene-ortho-carboxy-aniline with some bivalent metal ions*,*Ind. J. Chem.*,32A,183-201(1993)
- 3- Satpathy ,K.C and Mishra, R.B,*Complex of 2-(2 hydroxy -1-naphthalidene)imino-5-p-anisyl-1,3,4-thiadiazole with a few metal ions*, *Farmaco*,54(9),419-422(1999).
- 4- Pandeya,S.N and Sriram,D. H,*Synthesis,antibacterial,antifungal and anti-HIV evaluations of Schiff and mannich bases isatin and its derivatives with triazol*, *Arzneimittelforschung*, 50(1),118-125 (2000).
- 5- Skooge,D.A., , *Fundamentals of analytical chemistry*, 5th Ed.,p.536, , Wiley, Interscience, New York (1988)
- 6- مؤيد قاسم العبايجي و ثابت الغبشة , (اسس الكيمياء التحليلية), مديرية جامعة الموصل (1983)

- 7- Atlas M.R., Alfres E.A and Lawrence C.N., *Laboratory Manual Experimental Microbiology*, 2nd Ed.,p.824, Mosby-Year book, Inc.(1995)
- 8- Aly, M.M.,*Cobalt(II),Nickel(II) and Copper(II) complexes of malonoanilic acid hydrazones*, *Trans. Met.Chem.*,15(2),871-877,(1990).
- 9- Ainscough, W.E. and Finlay G.J., *Synthesis, characterization and biological of 3-acetylcoumarin hydrazones with Co (II), Ni (II) and Cu (II)*, *Inorg. Bio. Chem.*,70(4),118-122, (1998) .
- 10- Finlay, N. F and Esthar, S.K, *Crystal and molecular structures of model Schiff-mannich bases*, *Chem. Sci.*,116(4),371-375, (2004).
- 11- Nakamoto, N, *Infrared Spectro of Inorganic and Coordination Compounds*, 4th Ed.,p.439, Wiley, Interscience, New York(1986)
- 12- Jorgenson,C.K, *Absorption Spectra and Chemical Bonding in Complexes*, 1st Ed.,p.1118, Pergamon Press. (1964)
- 13- Al-Hasani ,R.A.M., Jassim A.H. and Al-Abachi, M.Q., *Mannich base derived from 1,2,4-triazole as chelating ligand for transition metal complexes*, *National J.Chem.*,12, 598-609,(2003).
- 14- Jassim ,A.H.and Al-Hasani ,R.A.M., *Synthesis and study of some transition metal complexes with mannich base derived from 1,3,4-oxadiazole and cyclohexylamine*, *J. Al-Nahrain Univ.*,7(1),44-52,(2004).
- 15- Zarychta B.Zand Zaleski M.T.,*Electronic states of Co(II),Ni(II),Rh(I)and Pd(II)complexes*, *Polish J. Chem.*,79,289-293,(2005).
- 16- Preti C.Kand Tosi G.H, *Ruthenium(III)complexes of bis and tris(1-pyrazolyl)methane*, *Tran. Met. Chem.*,3(1), 511-517, (1978).
- 17- Sangal,S.K. and Jain, C.L.,*Structural studies of ruthenium complexes with ligands containing the amide group*, *J. Ind. Chem. Soc.*, LXIII,98-101,(1986).
- 18- Durren ,P.M., Mueh ,G.E. and Bursten, H.J., *Complexes of 4-amino-3-mercapto-5-(O-hydroxy phenyl)-1,2,4-triazole*,*Inorg. Chem.*,29,159-163,(1990) .
- 19- Tang W.K, Zhang X.Y.and Zhou Y.B., *Ruthenium (III) complexes containing bidentate Schiff bases and their antifungal activity*, *Am. Chem. Soc.*,124,87-92 . (2002)
- 20- Samec,S.M., *Ruthenium-Catalyzed Hydrogen Transfer Involving Amines and Imines,Mechanistic Studies and Synthetic Applications*, 1st Ed.,p.443, , Docu.Sys AB, Stokholm.(2005)
- 21- Burger, K., *Magneto Chemistry*,2nd Ed., p.298, Ins. Publishers, Ltd., London (1956).
- 22- Ballhausen ,I.C., *Introduction to Ligand Field Theory*, 1st Ed.,p.321, ,New York,Toronto-London.(1962)

- 23- Lever ,A.B.P., *Inorganic Electronic Spectroscopy*, 1st Ed.,p.276, Elsevier Publishing Company New York, London.(1968)
- 24- Nawar ,N.E.,and Khattab ,M.A., *Synthetic, spectroscopic and magnetic studies of mixed ligand bimetallic alkoxides of Pt(II) and Pt(IV)*,*Ind. J. Chem.*, LXV,733-736,(1996) .
- 25- Greenwood, N.N. and Earnshaw, A.H., *Chemistry of the Elements*,2nd Ed.,p.1449, Pergamon Press, London (1998) .
- 26- Figgis,B.N., *Introduction to Ligand Field*, 1st Ed.,p.576, New York, London (1966).
- 27- Bailer, J.C., Emeleus ,H.T. and Nyholm,R.N., *Comprehensive Inorganic Chemistry*, 1st Ed.,p.1164, Pergamon Press, London. (1973).
- 28- A.K.Rana and J.R.Shah, *J. Ind. Chem. Soc.*, LXIII(12),(1986) .
- 29- S.C.Bahel,B.L.Dubey and J.K.Srivastava, *J. Ind. Chem. Soc.*, LIX (1982)
- 30- Huheey, J.E., *Inorganic Chemistry, Principles of Structure and Reactivity*, 1st Ed.,p.1236, Harper International Edition Harper and Row, Publishers, New York., (1972)

Application of Chlordiazepoxide as a Complex with Palladium for the Spectrophotometric Determination of Certain Benzodiazepine Drug

Jwan A. Abdul Sattar

Department of Chemistry, College of Science, Al-Mustansiriya University.

Received 12/8/2007 – Accepted 25/2/2008

الخلاصة

في هذا البحث تم وصف طريقة بسيطة، دقيقة، سريعة ومضبوطة لتعيين المادة الفعالة (كلور ايزوبوكسايد) كمادة نقية وفي المستحضرات الطبية. إن الطريقة المقترحة مبنية على تفاعلات تكوين المعقدات الكليتيّة (المخلبية) بين المادة الفعالة و عنصر البلاديوم وهذا يمكن تحقيقه بعد تعديل الحامضية الى ثلاثة بأضافة حامض الهيدروكلوريك (0.1N) وبقاء التفاعل لمدة خمسة عشر دقيقة، إن للنتائج النهائي قيمة عظمى عند (424nm)، أما منحنى المعايرة فكان خطيا ضمن المدى $(5-120) \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ وكانت قيمة معامل الارتباط (0.9995) ويصل حد الكشف في هذه الطريقة الى $(0.2) \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. وقد تم تقدير جميع نتائج التحليل احصائيا وكذلك دراسة الاسترجاعية.

ABSTRACT

The present paper describes simple, accurate, rapid, and precise procedure for the determination of Chlordiazepoxide (CDZ) in pure and pharmaceutical dosage form. The proposed method is based on the chelating complexation of Chlordiazepoxide with Palladium.

This can be achieved by adjusting pH to (3.0) by adding hydrochloric acid (0.1N) and keeping the reaction for (15 min.). The final react with Palladium showed maximum absorbance at a wavelength (424 nm). The calibration curve was linear from $(5-120) \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. The correlation coefficient was (0.9995); the method is sensitive, with detection limit $(0.2) \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. The results of analysis were validated statistically and recovery studies.

INTRODUCTION

Chlordiazepoxide (CDZ), 7-chloro-2(methylamino)-5-phenyl-3H-1,4-benzodiazepine 4-oxide (1) is along oral and parenteral benzodiazepine used to manage symptoms associated with anxiety disorder (2).

The drug was introduced and approved by the FDA in 1960 (3) under several trade names, including Libritable and Librium. Available as capsules, tablets and injection (4).

Various methods have been reported for the determination of CDZ in pharmaceutical dosage form and biological fluids including voltametric (5), chromatographic (6-8), fluorimetric (9), titimetric (10), conductimetric (11) and spectrophotometric (12-14) techniques.

The present study aims to provide simple, sensitive and rapid method of assaying Chlordiazepoxide (CDZ) in pharmaceutical dosage (Librium).

MATERIAL AND METHODS

Reagents

All chemicals were of analytical-reagent grade. Chlordiazepoxide and Librium drug were obtained in a highly pure form and all pharmaceutical preparations from the drug industry (SDI) Samaras-Iraq.

Solutions

- ❖ Standard stock solution of Chlordiazepoxide (CDZ):

Standard stock solution of CDZ was prepared by dissolving (0.05gm) of CDZ with distilled water up to (50ml) in a volumetric flask to obtain the standard solution with a concentration of (1000ppm).

- ❖ Standard stock solution of PdCl_2 :

Dissolve (0.0166gm) of PdCl_2 in (0.5ml) of (2N HCl) and dilute to (10ml) in a volumetric flask with distilled water to obtain the standard solution with a concentration of (1000ppm).

Apparatus

All spectra and absorbance measurements were performed on a Shimadzu UV-1650 PC. A double beam recording spectrophotometer supplied by digital printer Dp 802 and using matched (1cm) quartz cell.

Calibration curve

To a series of (10ml) calibration flasks, transfer increasing volumes of Chlordiazepoxide stock solution to cover the range of calibration graph (5-120) ppm, then add (0.3ml, 60 ppm) of Palladium chloride and brought the volume up to (10ml) with distilled water at pH=3 and allow the reaction mixture to stand for (15min.). Measure the absorbance at (424nm) against reagent blank, prepared in the same way but containing no CDZ, using (1cm) quartz cell.

The calibration curve was constructed by plotting the absorbance against the concentration.

Procedure for pharmaceutical preparation

Ten tablets (labeled to contain 5mg of CDZ) were weighed and finely powdered, an accurate weight of the powder equivalent to one tablet was accurately weighed, transferred into a (10ml) calibrated flask, diluted with distilled water to the mark. The resulting filtrate was transferred to (10ml) volumetric flasks. The chelating complexation reaction of CDZ was carried out as mentioned above. The concentration was calculated using the calibration curve.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the results of this investigation Chlordiazepoxide (CDZ) undergo a chelating complexation reaction with Palladium chloride to yield a colored product which absorbs maximally at (424nm). The UV-Visible spectrum of the metal, drug, and complex are shown in Fig(1). I.R. spectrum of the ligand shows two bands at (1630 and 1560) cm^{-1} which assigned to $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ and $\nu_{\text{N}-\text{O}}$ respectively, the I.R. spectra of the complex shows a negative shift of $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ to (1610) cm^{-1} and $\nu_{\text{N}-\text{O}}$ to (1540) cm^{-1} which indicate to the participation of carbonyl-nitrogen and nitrogen-oxygen groups in the coordination with metal ion. New bands observed in the region (470) cm^{-1} assigned to $\nu_{\text{M}-\text{N}}$ and (390) cm^{-1} assigned to $\nu_{\text{M}-\text{O}}$ modes.

The chemical structure between CDZ and Palladium chloride is shown in Fig (2).

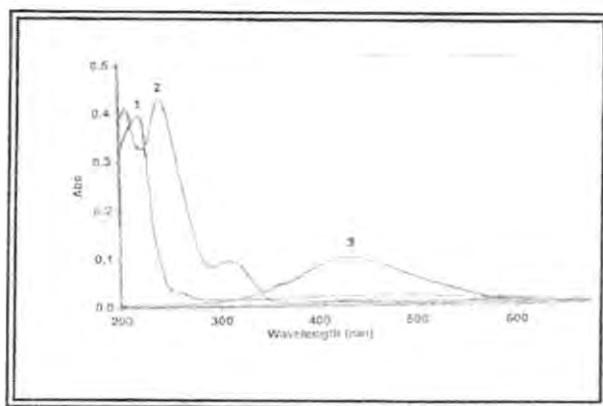


Fig -1: absorption spectra of metal, drug, and complex.

- 1: metal (PdCl_2).
- 2: Drug (Chlordiazepoxide).
- 3: Complex (Chlordiazepoxide-Pd (II)).

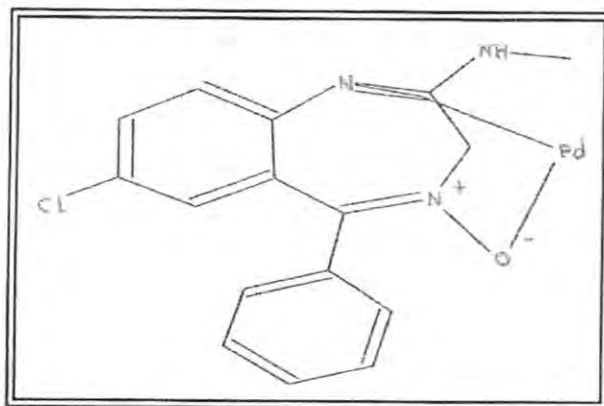


Fig-2: Chemical Structure of CDZ-pd(II)

To optimize the determination of Chlordiazepoxide (CDZ) by using Palladium chloride, it is necessary to test the influence of the variables:

Metal concentration effect

When various concentration of Palladium chloride solution (1-200)ppm were added to a fixed concentration of the Chlordiazepoxide solution.(0.3ml,60ppm)of Palladium chloride solution was enough to develop the color to its full intensity and gave minimum blank value,(60ppm) of Palladium chloride was used for all experiments within the concentration rang of the calibration curve.

pH effect

To establish the optimum condition, the effects of pH (1-12) were examined. Only pH (3.0) was found to be optimum for complex resulting from the reaction of CDZ and Palladium chloride.

Time effect

The color intensity reached a maximum after the drug solution had been reacted with Palladium chloride solution for (15 min.), the color obtained were stable for at least (48 hour).

Mole-Ratio method

The mole-ratio of M:L in aqueous solution were concluded as 1:1 in the prepared complex(Chlordiazepoxide-Palladium) by preparing two solutions of Chlordiazepoxide and Palladium chloride with equal molar concentration of(3.3×10^{-4})then adding(1ml)of Palladium chloride solution to increasing volumes of CDZ(0.5,1,1.5,2,2.5,3,4)ml,optimizing all above variation. The mole-ratio was extracted by plotting the L:M ratio against the absorbance measured at $\lambda_{\max}=424\text{nm}$.

Analytical Application

Statistical characteristics for Chlordiazepoxide(CDZ),such as regression equation, correlation coefficient, conf. limit for slope and intercept and t-test are given in Table (1).Also the Beer's Law limit, Sandell's Sensitivity, conf.limit for concentration and absorbance all are given in Table (2).

The accuracy and precision of the method was checked by analyzing four replicate samples within the Beer's law rang containing the same amount of drug. The RSD values are below (1.3), the lower RSD values indicate the good precision and reproducibility of the method.

Table -1: Analytical data for the proposed method.

Regre.Eq. $Y=BX+A$	Corr Coef. (r)	t-test statistic	Tabulated t- test Two tailed n-2 95 % C.I	Conf.Limit For the slop $b \pm ts_b$	Conf.Limit. For the intercept $a \pm ts_a$
$Y=0.00085x+0.001$	0.9995	70.684	2.571	0.00085 ± 0.00003	0.001 ± 0.004

Table -2: Statistical data of D.L., S, Conf.limit for Conc.and Absor, ϵ and RSD for the complex determination at $\lambda_{max}=424nm$.

Linearity $\mu g.ml^{-1}$	D.L. $\mu g.ml^{-1}$ n=14	D.L.T $\mu g.ml^{-1}$	S $\mu g.cm^{-2}$	Conf.limit Conc. $\mu g.ml^{-1}$ 95% C.I.	Conf. Limit. Abs. 95% C.I.	ϵ L. mol^{-1} . cm^{-1}	RSD
5-120	0.2	6.0	0.84	39.92 ± 0.72	0.034 ± 0.001	3.554×10^3	1.3

Applicability of the method

The proposed method was successfully applied to the determination of Chlordiazepoxide (CDZ) in pure and in pharmaceutical dosage forms. Typical calibration data for the complex (CDZ-Pd(II)) investigated obtained from linear regression analysis of absorbance reading vs. concentration gave the regression equation, correlation coefficient, recovery and E.rel. Presented in Table (3).

The found and state amount of Chlordiazepoxide (CDZ) in pharmaceutical dosage (Librium) by using direct calibration method are listed in Table (4), the calibration curve is linear over the concentration rang of (5-120) $\mu g.ml^{-1}$ as shown in Fig. (3).

Table -3: Regre.eq.and other statistic data for the CDZ in the pharmaceutical form (Librium).

Regre.Eq. $Y=BX+A$	Corr Coef. (r)	Rec. %	Erel. %
$Y=0.0087x+0.004$	0.9991	97.8%	-2.16

Table -4: Result obtained by using direct calibration method.

Name of pharmaceutical	<u>Stated</u> Concentration (mg per unit)	<u>Found</u> (direct calb.) (mg pre unit)
Librium	5	4.892

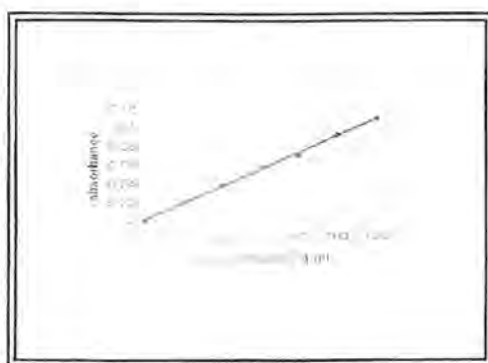


Fig. -3: Calibration curve of pharmaceutical form (Librium).

Interferences

Application of this method for the determination of Chlordiazepoxide in pharmaceutical preparation showed no interferences from additives such as starch, lactose and gelatin, as shown by the results of the recovery study listed in table(3).

A simple and sensitive spectrophotometer method for determination of Chlordiazepoxide (CDZ) in aqueous solution has been developed, based on the reaction of CDZ with Palladium chloride.

Neither the proposed method requires stringent conditions nor any specific reagent and can satisfactorily be applied without modification to the analysis of Chlordiazepoxide in pharmaceutical preparation.

REFERENCES

1. Goodman and Gilman's, "the Pharmacological Basis of Therapeutics", 9th ed., 421-424(1996).
2. Wikipedia, the free encyclopedia (2007), Copy right by Wikimedia Foundation, Inc., United State, on line.
3. Encyclopaedia Britannica (2007), on line.
4. Merk Index. All right reserved by Merk and Co., Inc., White house station, NJ, USA, on CD Rom. (1999)
5. El-Hefnawy G.B., El-Hallag I.S., and Ghonein E.M., J. Pharm. Biomed. Anal., "Voltammetric behavior and quantification of the sedative-hypnotic drug chlordiazepoxide in bulk form, pharmaceutical formulation and human serum at a mercury electrode.", 34(1):75-86(2004).

6. Peat M.A.,and Kopjak L.,J. Forensic Sci., "The screening and quantitation of diazepam, flurazepam, chlordiazepoxide, and their metabolites in blood and plasma by electron-capture gas chromatography and high pressure liquid chromatography.", 24(1):46-54(1979).
7. Kabra P.M., Stafford B.E., and Marton L.J., J. Anal. Toxicol., "Rapid method for screening toxic drugs in serum with liquid chromatography.", 5(4):177-82(1981).
8. Song D., Zhang S., and Kohlof K., J. Chromatog. B Biomed Appl., "determination of chlordiazepoxide in mouse plasma by chromatography-negative-ion chemical ionization mass spectrometry." 660(1):95-101(1994).
9. Stewart-J.T., and William-J.L., J. Anal-Chem., "Fluorometric determination of chlordiazepoxide in dosage forms and biological fluids with fluorecamine.", 48(Jul):1182-1185(1976).
10. Vasile D., and Rodica C., Rev. chim., "Quantitative determination of naponon(chlordiazepoxide, diazepam and nitrazepam by titrimetric method.", 30(9):926-927(1979).
11. Gorelov I., Ryasenskii S., and Kartamyshev S., J. of Anal.Chem., "A solid-state ion-selective electrode with an ionic-electronic-electrode transducer for determining chlordiazepoxide.", 60(1):65-69(2005).
12. Pardue H.L., McDowell A.E., and Fast D.M., Clin Chem. "Application of a Vidicon spectrometer to analytical problems in clinical chemistry." 21(9):1192-200(1975).
13. Rodrigues C., Gameiro P., and Reis S., Biophysical Chemistry, "Derivative spectrophotometry as a tool for the determination of drug partition coefficients in water/dimyristoyl-L- α -phosphatidylglycerol (DMPG) liposomes.", 94:97-106(2001).
14. Saudagar R.B., and Saraf S., Indian J. Pharm. Sci., "Spectrophotometric Determination of Chlordiazepoxide and Trifluoperazine Hydrochloride form combined Dosage Form.", 69(1):1149-152(2007).

Study of Encoding and Decoding Time for Varying Image Size

Hussain M. A. Al-Musawi

Kufa University-College of Education for Girls-Physics Department

hussienalmusawi@yahoo.com

Received 17/7/2007 – Accepted 25/2/2008

الخلاصة

في هذا البحث، النتائج قدّمت لحجوم مختلفة من الصور كدالة لزمن التشفير وفك التشفير باستخدام طريقة الكسوريات و التي تعطي نسب ضغط عالية حيث تكون لها أهميتها في تطبيقات الصور الرقمية و استخدم في هذا البحث حجوم مختلفة من الصور إن الزمن يحسب بثواني وحدة المعالجة المركزية إن الغرض من هذا البحث هو دراسة تأثير التشفير وفك التشفير على جودة الصور الناتجة، وقد وجد ان زمن التشفير قصير جدا إذا ما قورن بالطرق الكسورية التقليدية وكذلك وجد ان زمن فك التشفير يساوي تقريبا نصف زمن التشفير و كانت الصور الناتجة ذات جودة جيدة.

ABSTRACT

In this paper the results presented at a variety of image sizes as a function of the encoding time as well as decoding time of fractal compression methods that gives high compression ratios and bit rate which is important for the image applications. The measuring encoding and decoding time are giving in CPU seconds, and the purpose of this paper is to study the effect of encoding time and decoding time on the quality of the image. And found that the encoding time is shorter compare with the other encoding fractal methods, and also we found that the decoding time is approximately one-half the encoding time with good image quality.

INTRODUCTION

Today there is an emerging demand of Internet and network related service and content providers to collect the valuable service usage data and process it using data compression methods to answer questions regarding security, service improvement or financial issues. Keeping these image data sets in a storage-efficient and easily accessible way suitable for direct processing by data mining algorithms is a challenging problem. The aim of storing the image data of large volume implies the need of a good time-space trade-off for encoding placing slightly more emphasis on compression rate. In this paper, it has been describe the encoding and decoding time of digital images which can be used by Video applications, like video teleconferencing, video telephones, and advanced television (ATV), have given the field of compression and transmission of digital video signals a significant importance. It is expected that advances in video compression technology will play a crucial role in the transmission and display of three-dimensional video signals. A typical image, for example, of size 512x512 pixels with 8 bits per pixel (bpp) needs storage capacity of about 2 Mbits. A video sequence, on the other hand, with the same

frame size with 30 frames per second and a channel transmission rate of 64 (kbps) would take about 17 minutes of transmission time. The required transmission time would become unmanageable with the continuously increasing demand of image base application. It can't be sent enough of it over a telephone line and you can't squeeze it into the broadcast bandwidth of available channels [1]. Therefore, image and video compression algorithms became a necessity to store or transmit these images. Data compression is the science of representing information in a compact form by exploiting the different kinds of statistical structures that may be present in the data [2]. This is to reduce the number of bits per sample while keeping the distortion constant [3]. There is a great deal of correlation between neighboring pixel values of an image. Therefore, removing such redundant information and transmitting only the new information (the changes) enables us to reconstruct the original image. For video signals, redundancy over time between successive images can also be eliminated. There are two types of compression: lossless and lossy. In the lossless compression the original image can be retrieved without error, while for the lossy compression, the original image can not be retrieved without error; an image copy close to the original can be retrieved. Motion pictures expert group (MPEG) video standard is the most prevalent and widely used for video compression [3-6]. Also, the MPEG is an application specific standard and different versions of MPEG (such as MPEG-1, MPEG-2, MPEG-4, and MPEG-7) are available for different applications and bit rates. The basic algorithm for all these versions is the same and is very similar to the other video compression standards. The standard methods of image compression comes in several varieties. The currently most popular method relies on eliminating high frequency components of the signal by storing only the low frequency Fourier coefficients. This method uses a discrete cosine transform [7] and is the basis of the so-called JPEG standard, which comes in many incompatible flavors. Another method, called vector quantization [8], uses a "building block" approach, breaking up images into a small number of canonical pieces and storing only a reference to which piece goes where. But in fractal scheme has been developed by M. Barnsley, who founded a company based on fractal image compression technology but who has released only some details of this scheme. A Jacquin, a former student of Barnsley's, was the first to publish a fractal image compression scheme in [9], and after this came a long list of variations, generalizations, and improvements. Early work of fractal image compression was also done by E. W. Jacobs R. D. Boss of the Naval Ocean Systems Center in San Diego who used regular partitioning and classification of curve segments in order to compress

measured fractal curves[10], [11]. The proposed algorithm is based on fractal technique using least square approximation [12, 13] which is well known for their simplicity. On the other hand, the traditional fractal compression technique is included for comparison peruses to see the deference in the encoding and decoding times and the fidelity of the adopted method. The present work is organized as follows: in the next section, the CPU time that can be measured is introduced, then, the fractal encoding technique algorithm is presented in Section 3. In Section 4, the results are presented. The conclusion of this research is given in Section 5.

CPU Time:

The amount of time the central processing unit (CPU) is actually executing instructions. During the execution of most programs, the CPU sits idle much of the time while the computer fetches data from the keyboard or disk, or sends data to an output device. The CPU time of an executing program, therefore, is generally much less than the total execution time of the program. Multitasking operating systems take advantage of this by sharing the CPU among several programs [1].

CPU times are used for a variety of purposes: to compare the speed of two different processors, to gauge how CPU-intensive a program is, and to measure the amount of processing time being allocated to different programs in a multitasking environment [2].

Overview of Fractal Block Coding:

In this section we describe a generic fractal block coding scheme based on those in [12] [13], and we provide some heuristic motivation for the scheme. A more complete overview of fractal coding techniques can be found in [14] [15]. Transform coders are designed to take advantage of very simple structure in images, namely that values of pixels that are close together are correlated. Fractal compression is motivated by the observation that important image features, including straight edges and constant regions, are invariant under rescaling. Constant gradients are covariant under rescaling, i.e. rescaling changes the gradient by a constant factor. Scale invariance (and covariance) presents an additional type of structure for an image coder to exploit.

1 The Iteration Function System (IFS):-

Barnsly and Demo [16] have introduced iterated function systems as a Unified way for generating and classifying a broad class of fractals. This method replaced the traditional process, which was based on implementing successive Microscopic refinements. The *IFS* theory, introduced in [17], provide a new ruler through which we can describe

any complicated geometrical shape in terms of another simple one; e.g., an architect can describe a cloud simply as a house, which may be defined. The *IFS*-theory, in fact, concerns deterministic geometry, which is an extension to the classical geometry. It uses classical geometrical entities to express relation between parts of generalized geometrical Objects [18].

Generally, iterated function system (*IFS*), which consists of a collection of contractive transformations $\{i.e. W_i: R^2 \rightarrow R^2 | i = 1, \dots, n\}$ which map the plane R^2 to itself. This collection of transformations defines a map

$$W(\bullet) = \bigcup_{i=1}^n W_i(\bullet) \quad ..(1)$$

The map W is not applied to the plane, but to sets which are collections of points in the plane; e.g. given an input set S , $w(S)$ can be computed for each I (corresponds for making reduced copy of the input image S). Taking the union of these sets (this corresponds to assembling the reduced copies), and get a new set $W(S)$ (the output of the copier). So W is a map on its space of subsets of the plane, the subset of the plane can be called an image, because the set defines an image when the points in the set are drawn in black, and because later we will want to use the same notation for graphs of the functions representing actual images or pictures.

There are two important facts should be mentioned, these are;

- When the w is contractive in the plane, then W is contractive in the space of (closed and bounded) subset of the plane.
- If we are given a contractive map W in a space of images, then there is a special image, called attractor and denoted by x_w with the following Properties;

When the copy machine process is applied to the attractor, the output is equal to the: the image is fixed, and the attractor x is called the fixed point of W , that is

$$W(x_w) = x_w = w_1(x_w) \cup w_2(x_w) \cup \dots \cup w_n(x_w) \quad ..(2)$$

Given an input image so, by running the copy machine process once to get

$S_1 = w(S_0)$, twice to get $S_2 = w(S_1) = w(w(S_0)) = w^{02}(S_0)$ and so on, the superscript "0" indicates iterations not exponent; i.e. w^{02} is output of the second iteration. The attractor, which is the result of running the coping the coping machine in a feedback loop is limit set.

$$x_w = S_\infty = \lim_{n \rightarrow \infty} W^{0n}(S_0) \quad (3)$$

This is not dependent on the choice of the initial image.

3. x_w is unique; if S is any set and an image transformation W satisfies $W(S)=S$. in this case S is the attractor of W :i.e. $S=W(S)$ This means that only one set will satisfy the fixed point in property 1 above.

These three properties, however, are known as **The Contractive Mapping Fixed Point Theorem** [18].

2 IFS-Code:-

Mathematical form of the affine transformation can be represented by:

$$w \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \end{bmatrix} \quad \dots (4)$$

Where the coefficients a_{11} , a_{12} , a_{21} , a_{22} , b_1 , and b_2 are real numbers; each of its coefficients can skew, Stretch, rotate, scale and translate an input image [18].

An affine transformation $w : R^2 \rightarrow R^2$ in two-Dimensional space R^2 , where a_{ij} 's and b_{ij} 's are real constants and called the *IFS* code. In matrix form, if A denotes matrix $\{a_{ij}\}$, B denotes (b_1, b_2) , and X Denotes the vector (x_1, x_2) , then in matrix form:

$$W(x) = AX+B \quad (5)$$

Once a positive number s is defined, if an affine transformation satisfies;

$$d(w(x), w(y)) \leq s d(x, y) \quad (6)$$

Note that

$$d(x) = \sqrt{x_1^2 + x_2^2} \quad (7)$$

The smallest number of s satisfying the formula (6) called Lipschitz Constant for W . The affine transformation can be called contractive; if $s < 1$, symmetry; if $s = 1$ and expansive; if $s > 1$. in fact, the *IFS* code is a set of N affine transformations given by;

$$IFS = \{w_1, w_2, \dots, w_N\}$$

3 Fractal Functions:-

Let us consider functions defined on particular sub-attractors of iterated function systems. In the graphical case, these sub-attractors will correspond to pixels. Let K be a complete normal vector space and $W_1 \dots W_N$ be an *IFS* of order N with attractor $A \subset K$ let m be nonnegative integer, termed resolution. Therefore, the following set can be considered;

$$P_m = \{A : K_1 \dots K_m = I \dots N\} \dots (8)$$

Where $A_{k1} \dots km$ denotes $W_{k1} \circ \dots \circ W_{km}(A)$, and "A" is any gray-scale function given as $f: p_m \rightarrow R$.

However, the space of all gray-scale functions, at resolution "m" can be denoted by F_m . Moreover, the fractal function can be defined in a similar way to IFS, by introducing a contraction mapping on F_m , using mapping of the form

$$Mf(A_{k1} \dots km) = (c_{k1}x + t_{k1})dx + s_{k1} \sum_{i=1}^N f(A_{k2} \dots km_i) \quad (9)$$

Where, s_k and t_k represent the parameters of the mapping, which are real constants. c_k is an element of K (i.e. of the vector space). Graphically, eq. (2) may be interpreted as to be a new pixel's value depending on the current values of the pixels mapped by the IFS and their positions. It should be noted that "M" is affine in f . The least-square approximation, with respect to the parameters c_k , s_k and t_k , can be defined, in the Euclidean metric, on F_m , as follows [14];

Let $W_1 \dots W_N, A, m, F_m$ as above, the Euclidean metric resolution "m" is defined by

$$d(f, g) = \sqrt{\sum_{k1}^N km [(f - g(A_{k1} \dots km))]^2} \quad f, g \in F_m$$

and according to the theorem given in [9] as follows;

Let M be a mapping on F_m , of the above form, defined for IFS $W_1 \dots W_N$

If $\sum_{k=1}^N |s_k| < 1$, then M is eventually contractive in the Euclidian metric at any resolution.

A gray – scale mapping that is eventually contractive in all Euclidean metrics and at all resolutions is termed attractive . Practically , it has been found that ; the condition on M , described above , is sufficient to make the codes obtained for image blocks , almost always attractive . By the **Contractive Mapping Fixed – point Theorem**, there is a unique invariant function for each M , and the recursive definition of this function implies a fractal characters are similar to that for the attractor of an *IFS* . In fact , under a more restrictive contractivity condition , the parameters defining a fractal function may be used to construct an *IFS* in a higher – dimensional space , whose attractor can be represented as a fractal " graph " The Collage Theorem [12] may now be applied ;

$$d_m(f, g) \leq (1-s)^{-1} d_m(g, Mg), \dots (10)$$

Where g is a given scale – function , and f is the fixed point of the mapping M . This theorem can now be applied to encode an image block [18].

4 Least – Squares Approximation:-

Here it can be describe how fractal code for a given gray – scale function is obtained , before applying the method to the image blocks . If a function $g \in F_m$ is given on the set P_m of attractor A , then it can de assume that ; an *IFS* W is known; whose attractor is A . The problem is then how to find the gray – scale mapping M whose invariant function f best approximates g . This can be performed by applying the least – squares approach at resolution m , so that M is sought to minimize $d_m(f, g)$.

From Collage Theorem, a fractal approximated g may be found by minimizing $d_m(g, Mg)$ with respect to the parameters of M . This does not guarantee the best possible fractal match of the upper bound for $d_m(f, g)$ is minimized , and one assumes that the contractivity factor for M (i.e."s") does not significantly affect the bound . Furthermore, if M is only eventually contractive , then it can, also , assume that M will minimize $d_m(g, M^n g)$ for suitably large n , which is not necessary true .

In this case we have $K = R$ and the parameter c_k in the grey – scale mapping is a Cartesian pair (a_k, b_k) . Which can now minimize $d_m(g, Mg)$ by minimizing $d_m(Mg, g)^2$, using standard calculus [20] .

$$d_m(Mg, g)^2 = \sum_{k1 \dots km}^N [(Mg - g)(A_{k1 \dots km})]^2 \dots (11)$$

$$= \sum_{k1 \dots km}^N \left[\int a_{k1} x + b_{k1} + t_{k1} dx dy + s_{k1} \sum_{j=1}^N g(A_{k2 \dots kmj}) - g(A_{k2 \dots km}) \right]^2$$

We can economize on by letting $v(p) = \sum_{j=1}^N g(A_{k2 \dots kmj})$ and $k = k_1$ When $p = A_{k1 \dots km}$

Then

$$d_m(Mg, g)^2 = \sum_{p \in W_k(P_m-1)} \left[\int p(a_k x + b_k y + t_k) dx dy + s_k v(p) - g(p) \right]^2$$

$$= \sum_{K=1}^N \sum_{p \in W_k(P_m-1)} \left[\int p(a_k x + b_k y + t_k) dx dy + s_k v(p) - g(p) \right]^2$$

This may be minimized by minimizing

$$E = \sum_{p \in W_k(P_m-1)} \left[\int p(a_k x + b_k y + t_k) dx dy + s_k v(p) - g(p) \right]^2 \quad (12)$$

This will result in

$$\frac{\partial E}{\partial a_k} = 0$$

$$= \sum_p 2 \left[\int_p (a_k x + b_k y + t_k) dx dy + s_k v(p) - g(p) \right] \int_p x = 0$$

$$= \left[\left(\sum_p a_k \left(\int_p x \right)^2 + \sum_p b_k \int_p x \int_p y + \sum_p t_k \int_p x \int_p 1 \right) dx dy + \sum_p s_k v(p) \int_p x \right] = g(p) \int_p x$$

Similarly, the Same above optimization method can be carried out for b_k , t_k , and s_k , (i. e. for each k), because the sums are independent for a non-overlapping attractor, we shall have a system in the following matrix form ;

$$\begin{bmatrix} \sum_p (j_p x)^2 & \sum_p j_p x j_p y & \sum_p j_p x j_p 1 & \sum_p v(p) j_p x \\ \sum_p j_p x j_p y & \sum_p (j_p y)^2 & \sum_p j_p y j_p 1 & \sum_p v(p) j_p y \\ \sum_p j_p x j_p 1 & \sum_p j_p y j_p 1 & \sum_p (j_p 1)^2 & \sum_p v(p) j_p 1 \\ \sum_p v(p) j_p x & \sum_p v(p) j_p y & \sum_p v(p) j_p 1 & \sum_p (v(p))^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_k \\ b_k \\ t_k \\ s_k \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum_p g(p) j_p x \\ \sum_p g(p) j_p y \\ \sum_p g(p) j_p 1 \\ \sum_p g(p) v(p) \end{bmatrix} \quad (13)$$

This system can be solved (for individual k) to obtain the approximating gray – scale . Note; all the sums are for $P \in W_k(P_m-1)$. If we , now, consider a square images block of side R pixels , where R is a power of 2 , and the coordinates of the pixels in the block are normalized so that the block is represented by a square

centered at the origin , with a corner at ($R/2, R/2$) . Then A is a square ; each $A_k = W_k(A)$ matches a quadrant of the block and $A_{k1} \dots_{km}$ matches an individual pixel , where $m = \log_2 (R)$. In fact, if M is minimized at resolution $\log_2(R)$, this means that we have performed a least square optimization at the sampling resolution(i. e. a pixel size) [17].

Where: a_k, b_k, t_k and s_k

$\sum_p (j_p x)^2$ is the sum of the square of x-coordinate of each 2x2 sub squares of the image block.

$\sum_p (j_p y)^2$ is the sum of the square of y-coordinate of each 2x2 sub squares of the image block.

$\sum_p (j_p 1)^2$ is the sum of the square of the pixel in each quadrant of the image block .

$\sum_p v(p)$ is the sum of the pixels in each 2x2 sub squares of the image block .

$\sum_p g(p)$ is the sum of the pixels of the image block.

RESULTS AND DISCUSSION

Table (1) gives the calculations of the encoding time, decoding time, peak signal to noise ratio (PSNR), bit rate and compression ratio as a function of image size for lena image. Figure (1) show the relation between the image size and the (PSNR) and figure (2) show the behavior of the encoding time with the (PSNR). Figures (3) through (5) Presents the decoded image with different sizes while figures (6) through (9) appears its image histogram respectively.

Table -1: show the relation between the image size and encoding time, decoding time, PSNR, bit rate and compression ratio.

Image size	Block size	Encoding time/sec	Decoding time/sec	PSNR dB	Bit rate	C.R
128x128	8	1	0.6	25.3	.315	25.4
256x256	8	6	3	27.65	1.26	6.35
512x512	8	22	15	28.2	4.986	1.6
1024x1024	8	87	54	29.23	19.6	0.6

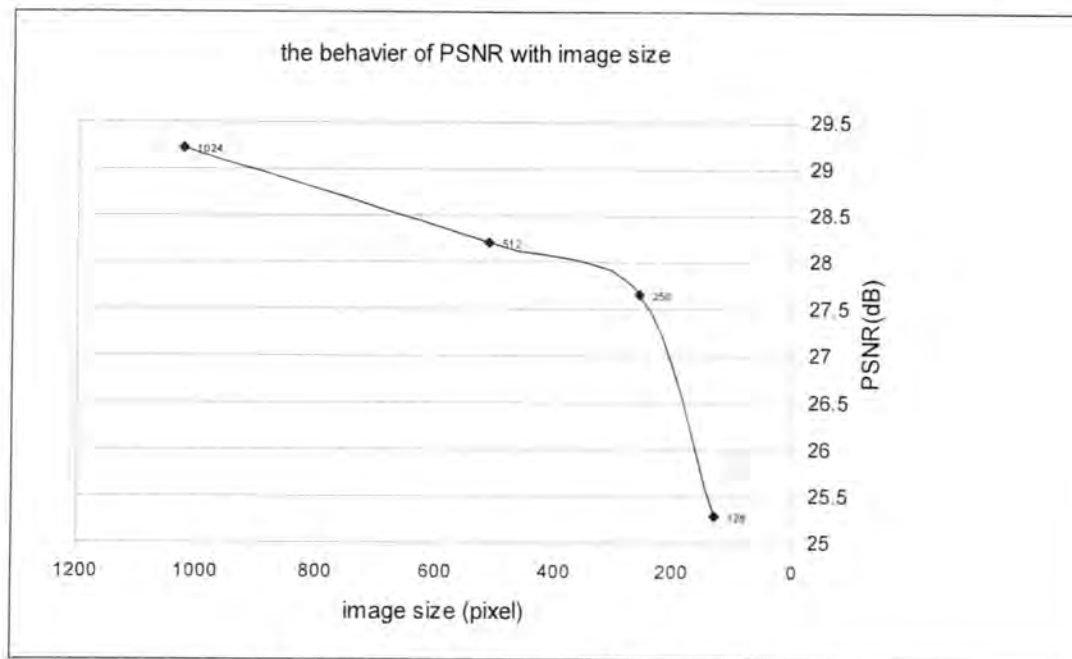


Figure -1: The behavior of PSNR with image size

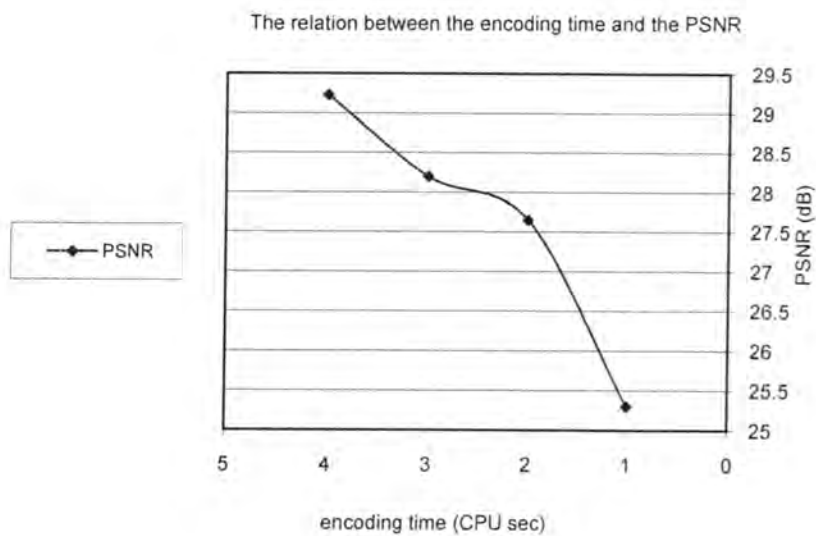


Figure -2: The relation between the encoding time and the PSNR

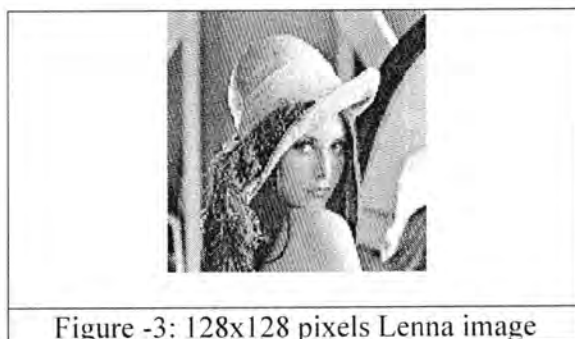


Figure -4:256x256 pixels Lenna image



Figure-5: 1024x1024 pixels Lenna image

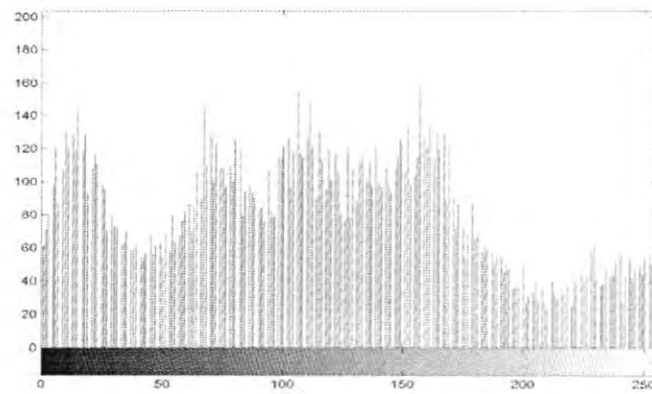


Figure-6:Histogram of Lenna image of size128x128 pixels

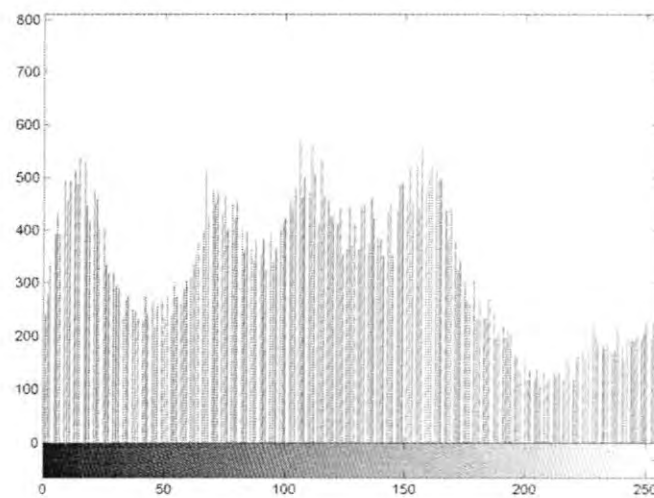


Figure-7:Histogram of Lenna image of size256x256 pixels

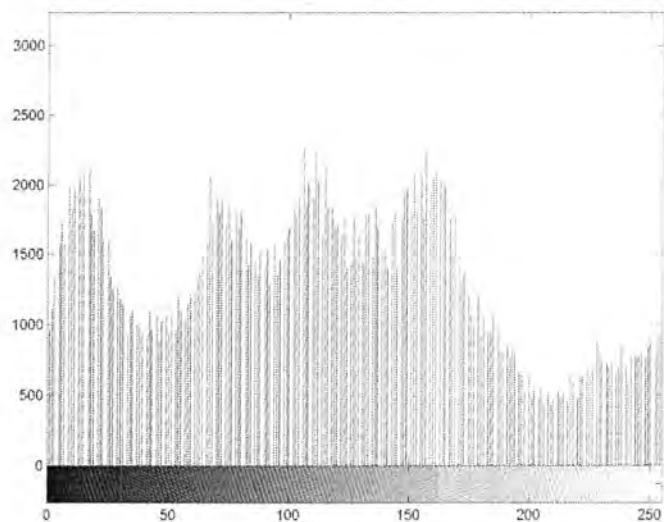


Figure-8:Histogram of Lenna image of size512x512 pixels

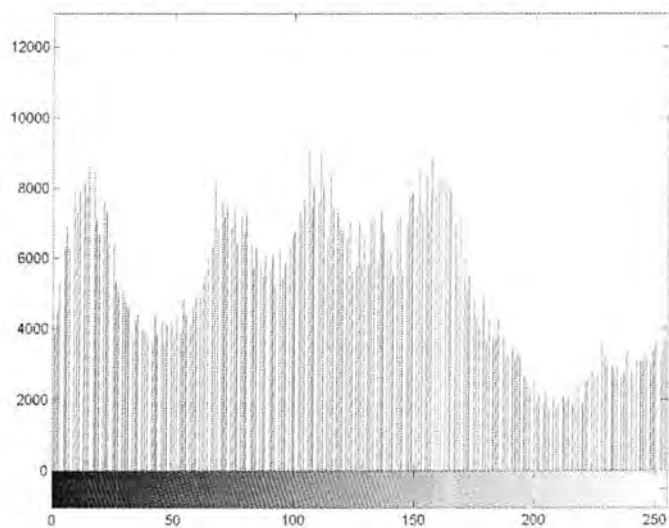


Figure-9:Histogram of Lenna image of size1024x1024 pixels

From the result it can be seen that:

- The encoding time and decoding time increases as the image size increases.
- The decoding time was approximately half the encoding time.
- When image size doubled, the compression ratio dropped to nearly one-fourth of its original value.
- As the image size increases the PSNR also increases steadily.
- The bit rate increases four times as the image size doubled.
- Taking into consideration the requirements of data compression applications we found that decompression should be fast, and it should support a rough random-access of the records.

REFERENCES

1. Child J., "Realtime Video Compression Poses Challenge to Designers and Vendors Alike", *Computer Design*, 32 (7) pp. 67-70, (1993).
2. Al-Asmari k. A., Singh V. and Kawatra S., "Hybrid Coding of Images for Progressive Transmission over a Digital Cellular Channel", CISST'99 International Conference on Imaging Science, Systems and Technology, Monte Carlo Resort, Las Vegas, Nevada, USA, PIN 128C, June 28-July 1, (1999).
3. Sayood Kh., "Introduction to Data Compression", San Francisco, California; Morgan Kaufmann Publishers Inc., (1996).
4. Netravali A. N. and Haskell B. G., *Digital Pictures Representation, Compression, and Standard*. New York: Plenum Press, (1995).
5. Bhaskaran V. and Konstantions Konstantinidides and Laboratories H. P., *Image and Video Compression Standards: Algorithms and Architectures*, Dordrecht Kluwer Academic Publishers, (1996).
6. Clarke R. J., "Digital Compression of Still Images and Video". New York: Academic Press, (1995).
7. Chen W. H., Smith C. H. and Fralick S.C., "A fast computational algorithm for the discrete cosine transform" *IEEE Trans. Commun.*, COM-25(9):1004-1009, September (1977).
8. Linde Y., Buzo A., and Gray R.M., "An algorithm for vector quantizer design". *IEEE Trans. Commun.*, COM-28(1):84-95, January (1980).
9. Jacquin A., "A fractal theory of iterated Markov operators with application to a digital image coding" Ph. D. thesis, Georgia Institute of Technology, August (1980).
10. Jacobs E.W., Boss R.D., "fractal based image compression" Technical Report, 1315, Naval Ocean Center Systems, San Diego, CA. September (1989).
11. Jacobs E.W., Boss R.D., and Fisher Y., "fractal based image compression" Technical Report, 1360, Naval Ocean Center Systems, San Diego, CA. June (1990).
12. Jacquin A., "Image coding based on a fractal theory of iterated contractive image transformations". *IEEE Trans. Image Proc.*, 1(1):18-30, Jan. (1992).

13. Fisher Y., Fractal image compression with quadtrees. In Y. Fisher, editor, *Fractal Compression: Theory and Application to Digital Images*. Springer Verlag, New York, (1994).
14. Jacquin A., Fractal image coding: a review. *Proc. IEEE*, 81(10):1451-1465, Oct. (1993).
15. Barnsly M.F., Jaquin A. E., Malassent F.J., Reuer L., Sloan A. D. , "Harnessing chaos for image synthesis", *SIGGRAPH Proceedings*(1988).
16. Barnsly M. F., "fractal function and interpolation" *constr. Approx.* , 2:303-329, (1986).
17. Mandelbrot B.B., " fractal geometry of nature", W. H. Freeman and company, San Francisco.
18. Dudbrighe F., " image approximation by self affine fractals", Ph. D. thesis, university of London, (1992).
19. Alastair N. and Horn S., "IFS and interactive image synthesis" *computer graphics forum* 127-137(1990)
20. Wohlberg B. and Jager G., "A review of the fractal image coding literature," *IEEE Trans. Image Processing*, vol. 8, pp. 1716-1729, Dec. (1999).
21. Schroder H. and Blume H., "One- and Multidimensional Signal Processing", John Wiley & Sons, Ltd., ISBN 0471805416, (2000).
22. Hara Z., Shiramatsu N., 'Improvement in the picture quality of moving pictures for matrix displays', *J. SID* 8/2, pp. 129-137(2000).
23. Michiel A., Klompenhouwer_, Gerard de Haan†, "Subpixel Image Scaling for Color Matrix Displays", Philips Research Laboratories, prof. Holstlaan 4 (WO-02), 5656 AA Eindhoven, the Netherlands(2003).

The Energy Gap and Optical Constants of Thin PbS Films

Arshad H. A. AL-Kathum

Physic Department, Science of College, AL-Mustansiriyah University

Received 22/5/2005 – Accepted 25/9/2006

الخلاصة

حضرت سبيكة PbS متعددة البلورات في أنبوبة مفرغة من الكوارتز والتي تم خلالها تم تحضير أغشية رقيقة من PbS باستخدام تقنية التبخير الحراري. رسبت النماذج على بلورة من الكوارتز بسمك $800 \text{ \AA}$. باستخدام مقياس FTIR تم حساب الخواص البصرية لأغشية PbS ضمن المدى $(1-4.5) \mu\text{m}$. لقد وجد أن لأغشية PbS فجوة طاقة مباشرة بقيمة 0.34 eV على التوالي. وقد تم أيضا حساب الثوابت البصرية.

ABSTRACT

Polycrystalline PbS alloy was prepared successfully in evacuated quartz tube, from which thin PbS film was prepared by thermal evaporation technique. Specimen was deposited on quartz crystal and the thickness of the film was $800 \text{ \AA}$. From FTIR spectrophotometer, the optical properties of thin PbS film were determined in the range of $(1-4.5) \mu\text{m}$. The energy gap of PbS film was found to be direct gap of 0.34 eV . The optical constants were determined also.

INTRODUCTION

The group of IV-VI semiconductors shows strong reasonable in their optical spectra and crystallographic structure is favored by these materials ^(1, 2). Works on this group of semiconductors have been stimulated by their remarkable properties as infrared photoconductors ⁽³⁾. For example, the group of lead sulfide semiconducting is narrow gap semiconductors. Their crystal structure is face-centered cubic, the coordination number in then structure is six and the band between Pb and S is consider to be mostly ionic. The minimum energy gap E_g between the condition band and the valence band is direct equal to 0.41 eV at 300 K and 0.307 eV at 77 K ⁽⁴⁾. The refractive index for PbS films at $3 \mu\text{m}$ equal to 4.1 and its density 7.6 gm/cm^3 ⁽⁵⁾ with lattice parameter about $5.94 \text{ \AA}$ ⁽⁶⁾.

Lead sulfide has many special characteristic in compare with the other semiconductors ⁽⁵⁾

1. The band gap is smaller at lower temperature, i.e the temperature coefficients of E_g is positive while they are negative for all the other elements or compound semiconductors.
2. The lattice structure may be very unstoichiometric. The vacancies and interstitial control the conductivity type, an excess of Pb causes n-type conductivity and excess of chalcogenide causes p-type conductivity.

3. The static of dielectric constant of PbS is much larger than those of other semiconductors ,for example Si, GaAs, They are 11.8, 13.2, respectively.

The optical properties of lead sulfide in the spectral region of the fundamental absorption edge have been measured at room temperature several times ⁽⁷⁻¹²⁾. The fundamental absorption edge in the semiconductors materials follows the exponential law. Above the exponential tail, the absorption of many semiconductors materials has been observed to obey the equations ⁽¹³⁾:

$$\alpha \text{ } hv = A(hv - E^{\text{opt}})^r \text{-----(1)}$$

Where (αhv) is the absorption coefficient, E^{opt} is the optical energy gap ,A is a constant and r an index which can be assumed to have values of $1/2$, $3/2$,2 and 3 depending on the nature of the electronic transition responsible for the absorption . For better understanding of the physical properties of this material ,it is interesting to study the optical constants that describe the optical properties , e.g. the refractive index(n) , the dielectric constant with two parts of (real (ϵ_r) & imaginary (ϵ_i)) which is related to the wavelength by the following equations ⁽¹⁴⁾:

$$n = \left(\frac{4R}{(R-1)^2} - k^2 \right)^{1/2} - \frac{(R+1)}{(R-1)} \text{-----(2)}$$

where R is the reflectance , The dielectric constant can be determined by the following ⁽¹⁵⁾:

$$\epsilon_r = n^2 - k^2 \quad (\text{real part of dielectric constant}) \text{-----(3)}$$

$$\epsilon_i = 2nk \quad (\text{imaginary part of dielectric constant}) \text{-----(4)}$$

where k is the extinction coefficient given ⁽¹⁶⁾:

$$k = \frac{\alpha \lambda}{4\pi} \text{-----(5)}$$

This work deals with the optical processes that occur for photons having energies comparable to that of the band gap .We have re-measured the optical properties in the fundamental absorption edge region using evaporation thin film of polycrystalline structure.

MATERIAL AND METHODS

The PbS alloy was prepared from pure lead and sulfur powders whose purity is about (99.999%). The material was weighted according to their atomic percentages and sealed in evacuated quartz tube to 10^{-3} torr. The tube was placed inside electric furnace. The temperature was slowly raised to 1114°C and the tube was kept at this temperature for 10 hours. The tube was finally quenched rapidly in cold water.

Thin film of the alloy was deposited on quartz crystal at room temperature by vacuum evaporation technique using Balzer coating unit model (BAE370) with controlled thickness under lower pressure 5×10^{-5} torr. The thickness of film was $800 \text{ \AA}$. FTIR spectrophotometer is used to carry out the transmittance spectrum in the range $(1-4.5) \mu\text{m}$. The optical properties and the optical constants were determined.

RESULTS AND DISCUSSION

The alloy and film were polycrystalline are related by x-ray diffraction this is in agreement with Alessandro et.al who indicates that XRD for lead sulfide was crystallization in the cubic phase⁽¹⁷⁾. Fig. (1) shows the absorption spectrum versus wavelength in the spectral range $(1-4.5) \mu\text{m}$ of PbS thin film prepared at R.T.

As evident from Fig.(1) that the absorptance varies exponentially with wavelength, it decreases with increasing wavelength, this behavior is in agreement with refs.⁽¹⁸⁾.

Fig.(2) shows the variation of absorption coefficient against wavelength of PbS thin film. From this figure, the absorption coefficient is characterized by strong absorption at short wavelength and it takes higher value ($\alpha \geq 10^4$) cm^{-1} and then decreased with increasing wavelength. The absorption behavior is in good agreement with those of Avery⁽¹⁰⁾ and Scanlon⁽¹¹⁾. This is attributed to the lattice absorption band corresponding to the electronic transition between the valance band to conduction band. We analyzed the absorption coefficient data to determine the direct transition energy and Fig.(3) show the direct energy gap of thin PbS film prepared at R.T. The extrapolated values of the direct energy gap were $(0.34) \text{ eV}$.

The variation of refractive index against wavelength $n(\lambda)$ for PbS film with thickness $800 \text{ \AA}$ is deposited at room temperature is shown in Fig.(4).

From the reflectance data which is obtained using transmittance and absorptance spectrum, we can calculate (n) from eq.(2). At wavelength range between $(1-4.5) \mu\text{m}$, it is found that the refractive index decreases with increasing of wavelength of incident photon. We observed from this figure that, at R.T, the value of refractive index of

the film is equal to (3) at $3.0\ \mu\text{m}$, this is in agreement with Zemel⁽¹⁹⁾ while the dependence of extinction coefficient on wavelength is determined using eq. (5) and it is shown in Fig.(5), it is seen from this figure that the extinction coefficient increases with increasing wavelength..

The variation of real part (ϵ_r) and imaginary part (ϵ_i) of dielectric constants as a function of wavelength of PbS thin film are shown in Fig(6) and (7). One can observe that the variation of (ϵ_r) is similar to that of (n) while the variation of (ϵ_i) depends on the variation of (k).

The optical transitions and the optical constants of thin PbS film with thickness $800\ \text{\AA}$ have been measured in order to determine the absorption edge and band tailing. From measurements of the optical energy gap, showed that the optical energy gaps are direct and indirect transitions with r equal to $(1/2)$ and (2) for thin PbS film. It is also found that the refractive index and the real of dielectric constant were decreased with increasing wavelength, while the extinction coefficient and the imaginary part of dielectric constant were increased with increasing wavelength.

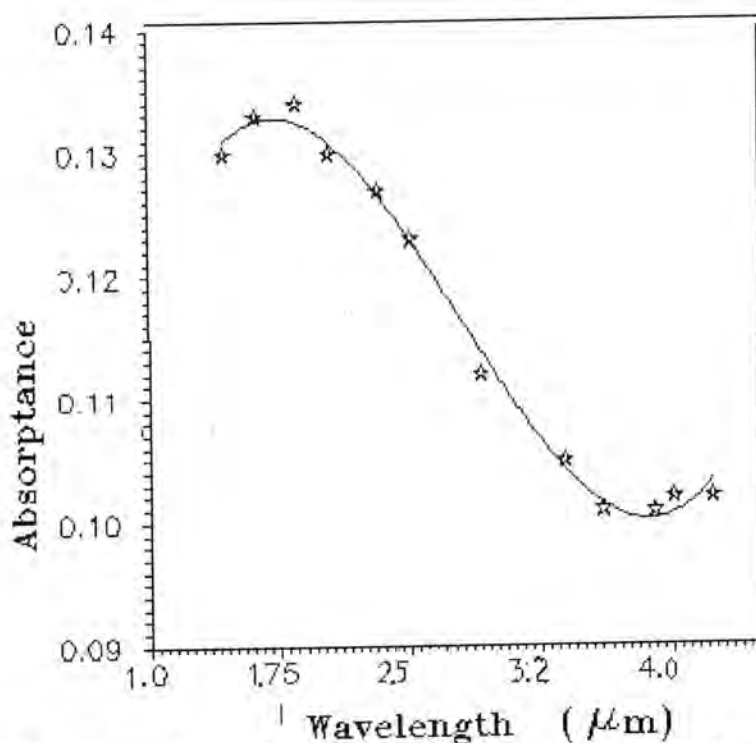


Fig.-1: The absorbance spectrum vs. wavelength for PbS thin film.

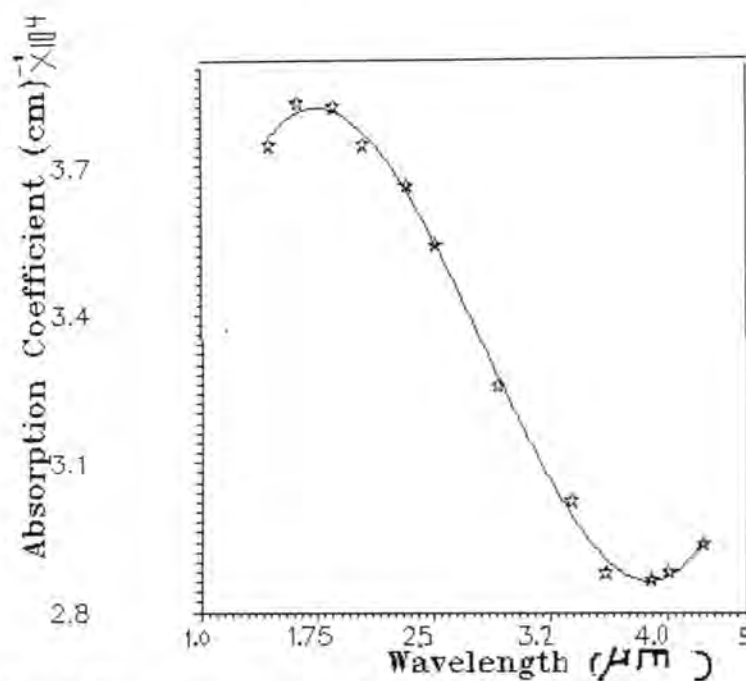


Fig.-2: The absorptance coefficient vs. wavelength for PbS thin film.

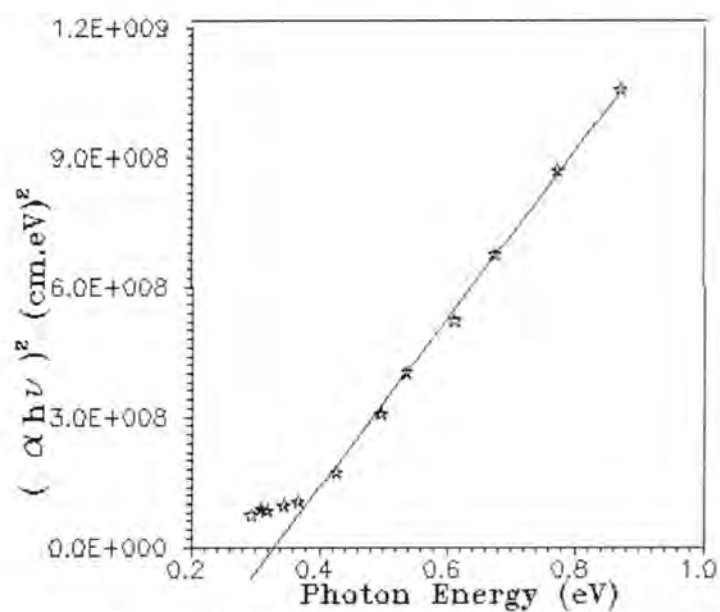


Fig.-3: The direct transition for PbS thin film.

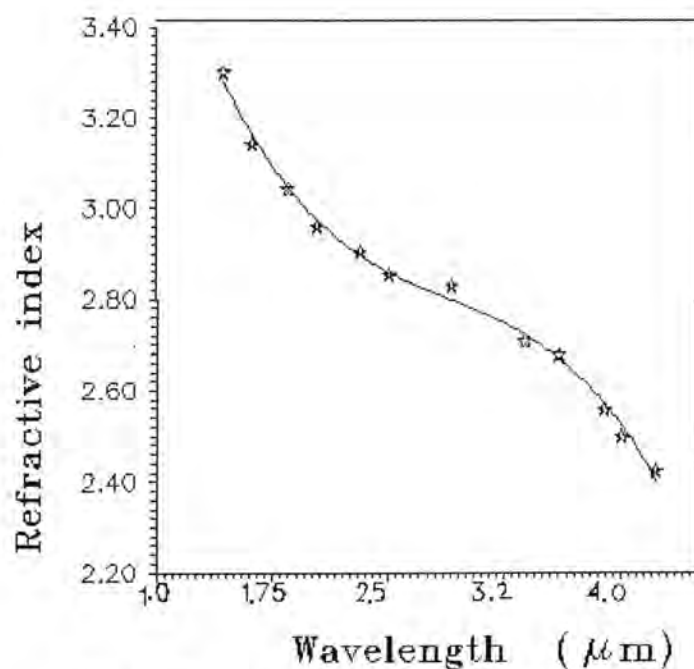


Fig.-4: The refractive index for PbS thin film.

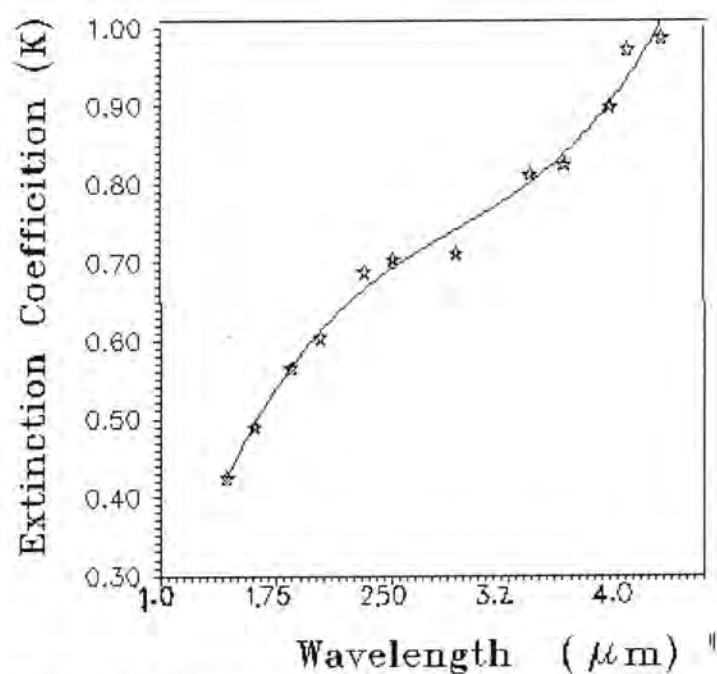


Fig.-5: The extinction coefficient for PbS thin film.

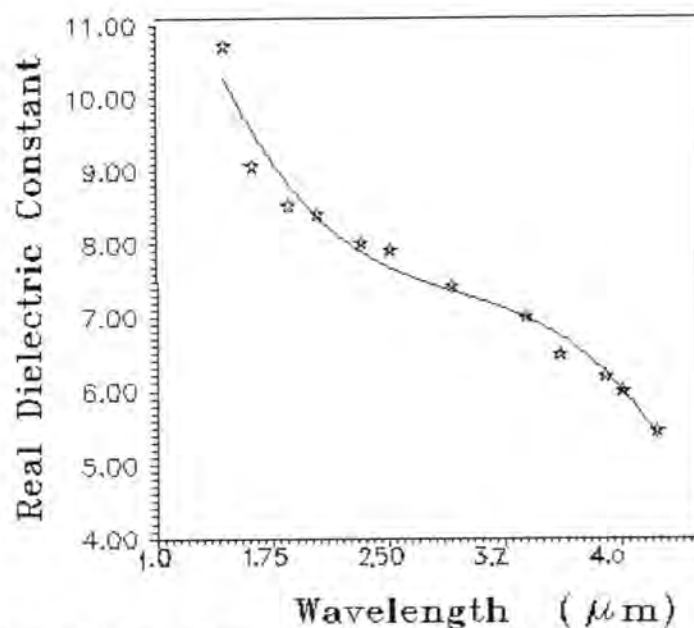


Fig.-6: The real part of the dielectric constant for PbS thin film

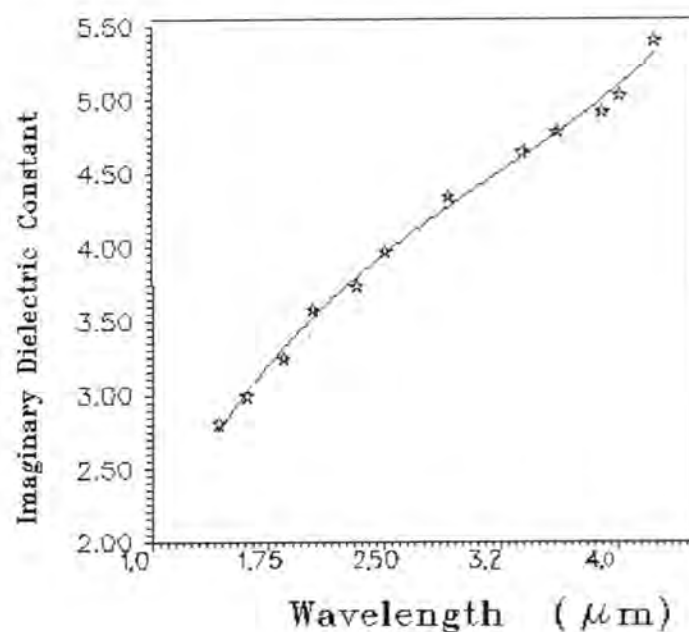


Fig.-7: The imaginary part of dielectric constant of PbS thin film

REFERENCES

- 1- Dugaev U.K., " Mixed Valent States of Rare-Earth Dopants in IV-VI Semiconductors", Inorganic Materials, Vol.36, No.5, 524-526, (2000)
- 2- Isshiki M., Endo T., Masumoto K., Usui Y., " Epitaxial Growth of PbS thin films from Aqueous Solution," Electrochem. Soc., Vol.137, P.2697, (1990).
- 3- Schoolar R.B. and Lowney J.R., " Photoconductive PbSe Epitaxial Films", J. Vacuum Sci. Tech., Vol.8, No.1, P.224, (1971).
- 4- Rosa N., Erce R., Pinero M. and Esquivias L., " Controlled size of PbS Nanocrystals doped ORMOSIL", Optical Materials, Vol.22, 1-6, (2003)
- 5- Lide D.R., (In Chief Ed.). CRC Handbook of Chemistry and Physics", 77th ed, 1996-1997, Boca Raton.
- 6- Saloniemi H., " Electrodeposition of PbS ,PbSe and PbTe Thin Films" Vtt Publication, P.423, (2000).
- 7- Smith R.A., "Semiconductors", 2nd Edition, P.123, (1978).
- 8- Delin A., Ravidran P., Eriksson O., Wills J.M., " Full-Potential Optical Calculation of lead chalcogenides" Inter.J.Q.Chem., Vol.69, P.349, (1998).
- 9- Elabd H., Steckl A.J., " Structural and Compositional of the PbS Heterojunctions", J.Appl. Phys., Vol.51, P.726, (1980).
- 10- Kang I., Wise F.W., " Electronic Structure and Optical Properties of PbS and PbSe Quantum Dots", J. Opt. Soc. Am. B", Vol.14, No.7, P.1632, (1997).
- 11- Rannamäki H., Zemel J.N., " The PbS-Si Heterojunction III: Optical Properties", Thin Solid Films, Vol.74, P.23, (1980).
- 12- Schoolar R.B., Lowney J.R., " Photoconductive PbSe Epitaxial Films", J. Vacuum Sci. Tech., Vol.8, No.1, P.224, (1971).
- 13- Taus J., " Amorphous and Liquid Semiconductors", (1974), Plenum Press New York.
- 14- Pankove J., " Optical Processes in Semiconductors ", London (1971).
- 15- Kazmerski L.L., " Polycrystalline and Amorphous Thin Film and Devices", (1980), Academic Press, New York.

- 16- Abass A.K., Jassim H.A. , Majeid K.J. and Misho R.H.," Optical Parameters of chemically Deposited Tin Disulphide",Phys. Stat.Sol. (a), Vol.91,P.129,(1985).
- 17- Alessandro M., Fick J., Emile S., Locasica M. and Hache A.," Optical Properties of PbS Quantum dot Doped sol –gel Films", J.Non-Cryst.Solids,Vol.345P.639,(2004).
- 18- Ezema F.I. and Okeke C.E.," Chemical Bath Deposition of Beryllium Sulphide (BeS) Thin Film and its Applications", Academic Open Internet Journal, Vol.9, P.17, (2003).
- 19- Zemel J.N., Jennen J.D. and .Schoolar R.B.," Electrical and Optical Properties of Epitaxial Films of PbS, PbSe, PbTe, and SnTe", Phys. Rev. A ,Vol.140, 330-342,(1965).

Reentrant Ferrimagnetism in A square Ising lattice

Hadey K. Mohamad and Raied A. Saleh

Thi-Qar University - College of Science – Physics Department

Received 31/10/2007 – Accepted 15/4/2008

الخلاصة

تم دراسة شبكة أيزنك الرباعية لنظام الخليط الفيريمغناطيسي ذو العزوم المغناطيسية المتوسطة $S_A=3/2$ ، $S_B=5/2$ باستخدام تقريب متوسط المجال لموديل أيزنك . حيث شملت الدراسة على تأثير درجة الحرارة على توزيع العزوم المغناطيسية للخليط والسلوك التجوالي للعزوم المغناطيسية المكونة للخليط عند قيم مختلفة لثابت التباين المغناطيسي. وقد وجد ان ظاهرة السلوك التجوالي في الخليط الفيريمغناطيسي المعني بالدراسة تعتمد بقوة على التباين المغناطيسي للخليط.

ABSTRACT

A mixed spin Ising model $S_A=3/2$ and $S_B=5/2$ of a square lattice is investigated using mean-field approximation (MFA). In this study the influence of temperature on the magnetic moments of a mixed spin system is included. Besides that we have studied a reentrant behavior of the system which is considered for various values of anisotropies. It is found that a reentrant ferrimagnetism phenomenon in the system depends strongly on the anisotropy of the mixture.

Keywords: Mixed-spin Ising model; Ferrimagnetism; Single-ion anisotropy; reentrant behavior.

INTRODUCTION

Ferrimagnetism has been extensively investigated in the past both theoretically and experimentally, since important magnetic materials for technological application. Ferrimagnetic materials have several sublattices with a finite resultant moment and show paramagnetic behavior above the transition temperature T_c . Mixed spin Ising system provide good models to study ferrimagnetism which can show ferrimagnetic ordering and they may have the re-entrant behavior [1].

Great efforts have been made to describe the phenomenon of re-entrant magnetism in magnetic system [2]. This has obvious technological significance. Recently, Abubrig et al. [3] studied a mixed spin-1 and spin-3/2 Ising system and found that the first-order transition lines always exhibit a re-entrant behavior at low temperature. Oitmaa et al. [4] introduced a mixed spin Ising model on the simple cubic lattice which showed compensation points and reentrant behavior.

In this correspondence it is interesting to investigate a re-entrant ferrimagnetism in a more general mixed spin Ising model, consisting of spin-3/2 and spin-5/2.

THEORY

We study a 2-Dim Ising model with spins $S = \pm 1/2, \pm 3/2$ and $\delta = \pm 1/2, \pm 3/2, \pm 5/2$, located in alternating sites of a square lattice, such that the S and δ are the nearest neighbors. A Hamiltonian for this model that include only nearest-neighbor, with an external field interaction equals zero, is [5] :

$$H = -J \sum_{i,j} S_i \delta_j - D_s \sum_i S_i^2 - D_\delta \sum_j \delta_j^2 \quad (1)$$

Where the first summation is carried out only over the nearest-neighbor pairs of spins on different sub lattices and J ($J < 0$) is the exchange interaction between spin at sites i and j . D_s , D_δ are the anisotropies acting on the spin-3/2 and spin-5/2 respectively.

Since the present model is related to the $S=3/2$ and $\delta=5/2$ Ising system for any value of parameters, it undergoes a second-order transition that the re-entrant behavior, which has been considered, of this model may be obtained from thermal variations of the sublattice magnetization m_s , m_δ for the mixed-spin Ising ferromagnetic system on a square lattice.

To these features, we need to find the mean-field equations for the sublattice magnetization from Maxwell Boltzmann distribution, the expectation value of spin variable at the sites i or j is given by [3, 5]:

$$\langle m_{i/j} \rangle = \frac{1}{z} \text{Tr} s_{i/j} e^{-\beta H} \quad (2)$$

With ,

$$z = -\text{Tr} e^{-\beta H} \quad (3)$$

Where Tr means the sum over allowed states of the system. Here, $\beta=1/K_B T$ and T represent the temperature of the system [6].

Thus, substituting the Hamiltonian of the system in the equation (2), one has:

$$m_s = \frac{1}{2} \frac{3 \sinh(\frac{3}{2} k_1) + e^{-2\beta D_s} \sinh(\frac{1}{2} k_1)}{\cosh(\frac{3}{2} k_1) + e^{-2\beta D_s} \cosh(\frac{1}{2} k_1)} \quad (4)$$

With $k_1 = \beta J Z m_\delta$

Where Z is the nearest-neighbor coordination number of the lattice ($Z=4$ for a square lattice).

$$m_\delta = \frac{1}{2} \frac{5 \sinh(\frac{5}{2} k_2) + 3e^{-4\beta J_\delta} \sinh(\frac{3}{2} k_2) + e^{-6\beta J_\delta} \sinh(\frac{1}{2} k_2)}{\cosh(\frac{5}{2} k_2) + e^{-4\beta J_\delta} \cosh(\frac{3}{2} k_2) + e^{-6\beta J_\delta} \cosh(\frac{1}{2} k_2)} \quad (5)$$

Where $k_2 = \beta J Z m_s$.

A systematic way of deriving the mean-field theory for a given microscopic Hamiltonian is to start from the Bogoliubov inequality [7]:

$$F \leq \Phi = F_0 + \langle H - H_0 \rangle_0 \quad (6)$$

Where F is the free energy of the system, H_0 a trial Hamiltonian depending on variational parameters, F_0 the corresponding free energy, and $\langle \dots \rangle_0$ denotes an average taken in the ensemble defined by H_0 . The mean-field free energy is then defined by minimizing Φ with respect to the variational parameters $\lambda_{s/\delta}$, that:

$$F_{mf} = \min_{\lambda_{s/\delta}} \{ \Phi \} \quad (7)$$

This gives the best possible approximation to the true free energy for a given choice of H_0 , since the inequality (eq.6) insists that the mean-field free energy cannot fall below the true free energy. In this work we consider one of the simplest possible choices of H_0 :

$$H_0 = - \sum_i [\lambda_s s_i + D_s (s_i)^2] - \sum_i [\lambda_\delta \delta_i + D_\delta (\delta_i)^2] \quad (8)$$

Where λ_s and λ_δ are the two variational parameters related to the two different spins respectively. Then, the approximated free energy can be obtained by minimizing the right side of equation (6) with respect to variational parameters mentioned above. Thus, the equation (6) can be expressed as:

$$f \equiv \frac{\Phi}{N} = - \frac{1}{2\beta} \{ \ln[2e^{9/4\beta J_s} \cosh(\frac{3}{2}\beta\lambda_s) + 2e^{1/4\beta J_s} \cosh(\frac{1}{2}\beta\lambda_s)] + \ln[2e^{25/4\beta J_\delta} \cosh(\frac{5}{2}\beta\lambda_\delta) + 2e^{9/4\beta J_\delta} \cosh(\frac{3}{2}\beta\lambda_\delta) + 2e^{1/4\beta J_\delta} \cosh(\frac{1}{2}\beta\lambda_\delta)] \} + \quad (9)$$

$$1/2(-ZJm_s m_\delta + \lambda_s m_s + \lambda_\delta m_\delta)$$

Where N is the total number of sites of the lattice. Minimizing this expression with respect to λ_s and λ_δ gives self-consistent expressions for the mean-field (eqs. (4),(5)):

$$\lambda_s = ZJm_\delta, \quad \lambda_\delta = ZJm_s \quad (10)$$

With,

$$m_s \equiv \langle s_i \rangle_v = \frac{1}{2} \frac{3 \sinh(\frac{3}{2} \beta \lambda_s) + e^{-2\beta J_s} \sinh(\frac{1}{2} \beta \lambda_s)}{\cosh(\frac{3}{2} \beta \lambda_s) + e^{-2\beta J_s} \cosh(\frac{1}{2} \beta \lambda_s)} \quad (11)$$

$$m_\delta \equiv \langle s_j \rangle_v = \frac{1}{2} \frac{5 \sinh(\frac{5}{2} \beta \lambda_\delta) + 3e^{-4\beta J_\delta} \sinh(\frac{3}{2} \beta \lambda_\delta) + e^{-6\beta J_\delta} \sinh(\frac{1}{2} \beta \lambda_\delta)}{\cosh(\frac{5}{2} \beta \lambda_\delta) + e^{-4\beta J_\delta} \cosh(\frac{3}{2} \beta \lambda_\delta) + e^{-6\beta J_\delta} \cosh(\frac{1}{2} \beta \lambda_\delta)} \quad (12)$$

RESULTS AND DISCUSION

We had considered the behavior of a two-dimensional ferrimagnetic system in a certain region of the phase diagram. It is necessary to study the temperature dependence of the sublattice magnetization eqs. (11, 12). The thermal variation of sublattice magnetizations in the system can be obtained by solving the coupled equations for m_s , m_δ numerically [3]. The numerical results are presented in fig. (1), selecting typical values of $D_\delta / |J|$ for fixed value of $D_s / |J|$.

The sublattice magnetization curves labeled from -1.401 to -1.38 are for the value $D_\delta / |J|$ Corresponding to the isolated critical points. Fig.(1) stands for the sublattice magnetization curves at low temperature for anisotropy $D_\delta / |J|$ corresponding to the reentrant behavior shown in fig.(2). Now we may discuss the scale of fig(2) in which the critical line for $D_s / |J| = -2.8$ shows reentrant behavior in phase diagram, that is to say, two transitions[4] , within the range $-1.42 < D_s / |J| \leq -1.401$. It is possible within this system as we noticed to have many critical temperatures for a fixed value of $D_\delta / |J|$, Furthermore; the system considered doesn't exhibit compensation phenomena since it undergoes second-order phase transition only.

It is noteworthy that the sublattice magnetizations of this ordered phases at $T=0$ °K are $m_\delta=0.5$ and $m_s=-0.5$, which indicates that in the ground state the spin configuration of s_i^H in the system consists of the mixed state; in this state half of the spins on the sublattice B are equal to $(+1/2)$ or $(-1/2)$ and the other one equal to $(+1/2)$, $(-1/2)$. One can check in the configuration of spins (O_6) on the phase diagrams fig.(1). Thus, it has been interested in this region which leads to such a phenomenon as shown in fig. (2)

It is worth to indicate that the system considered exhibits a reentrant behavior at low temperature. It is also interesting to mention that it has been found that the reentrant ferrimagnetic behavior depends strongly on the anisotropy of the mixture. Therefore, we may say that the system investigated here is an extension of the investigations has

been done by Abubrig et. al. [3], with one constituents having spin-2 and the other constituents having spin-3/2.

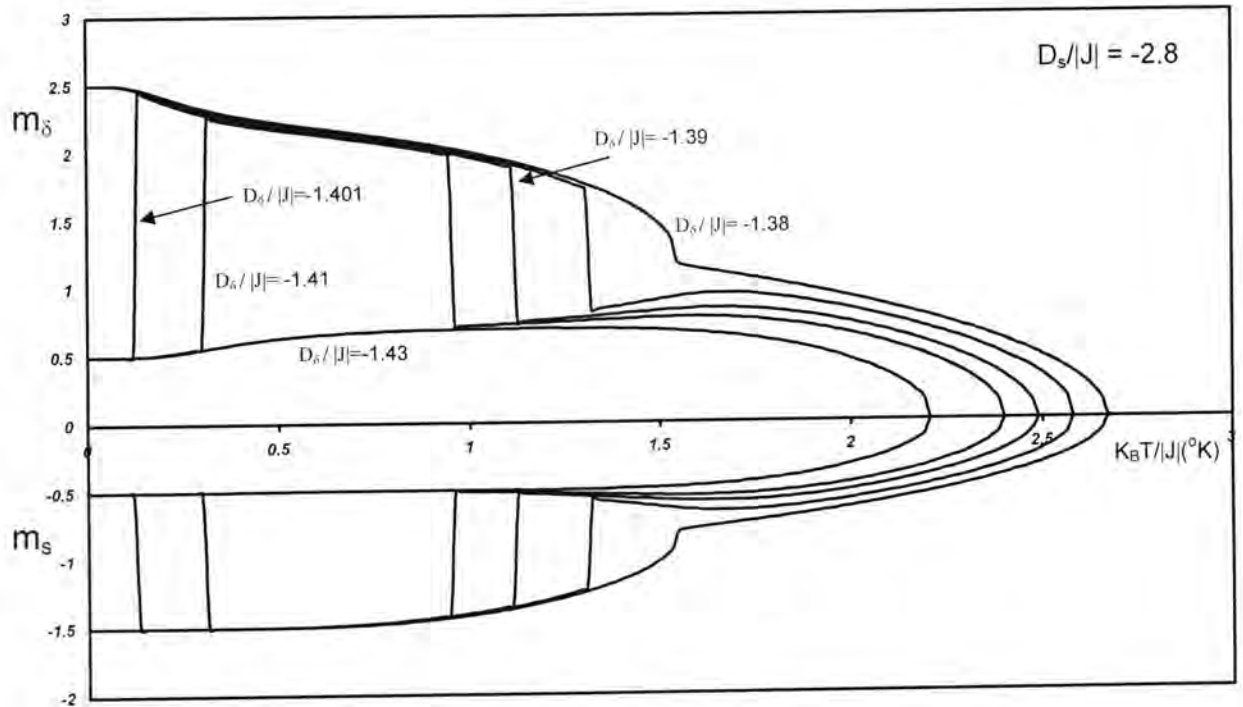


Fig. -1: The temperature dependence of the sublattice magnetizations m_s , m_δ for mixed-spin Ising ferrimagnet with the coordination number $Z=4$, when the value of $D_\delta / |J|$ is changed, for fixed value of $D_s / |J| = -2.8$

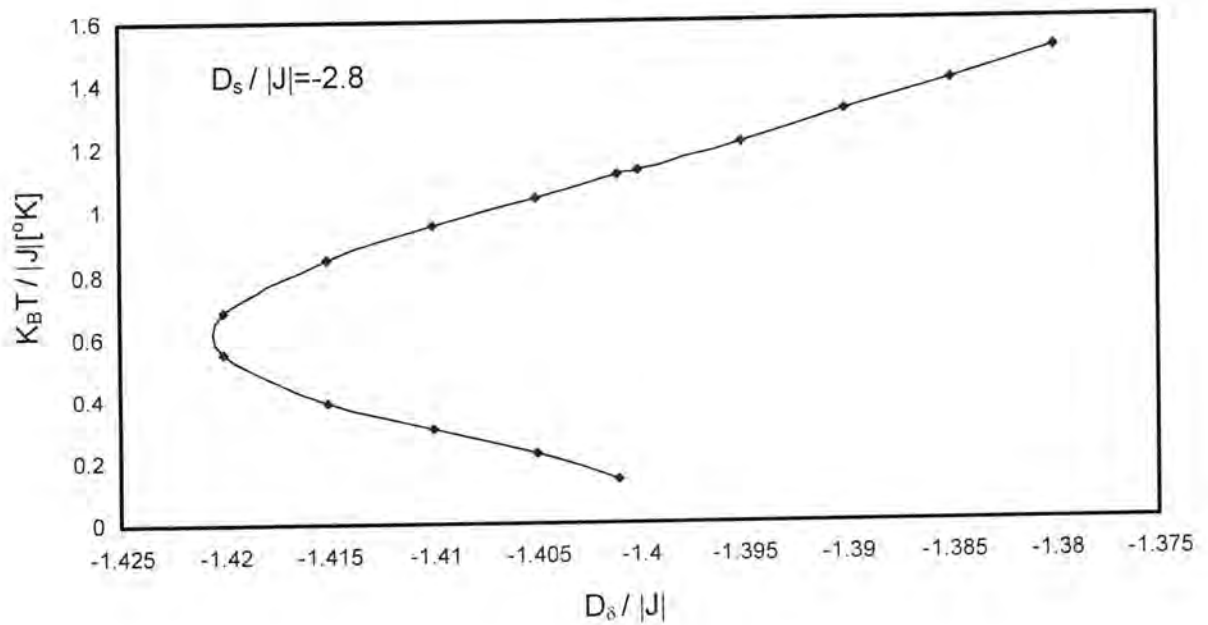


Fig.-2: A close view low-temperature phase diagram in the (D_δ , T) plane for the mixed-spin Ising ferrimagnet with the coordination number $Z=4$, in the region of D_δ at $D_\delta/|J| = -2.8$, indicates the reentrant behavior.

REFERENCES

1. Dakhama A. and Benayad N., "On the Existence of Compensation Temperature in 2D Mixed-Spin Ising Ferrimagnetic: an Exactly Solvable Model", Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Vol.213, No.2, P.117, (2000).
2. Chakraborty K., "The Reentrant Behavior of the Spin-1 Ising Model in the Effective-Field Approximation", Journal of Physica C: solid state physics, Vol.21, No.34, P.2911 (1998).
3. Abubrig O. F., Horvath D., Bobak A., Jascur M., "Mean-Field Solution of Mixed Spin-1 and Spin-3/2 Ising System with Different Single-Ion Anisotropies", Journal of Physica A, Vol.296, No.16, P.437 (2001).
4. Oitmaa J., Zheng W., "Ferrimagnetism and Compensation Points in a Decorated 3D Ising Models", Journal of Physica A, Vol.328, No.7, P.185 (2003).
5. Bobak A., "The Effect of Anisotropies on the Magnetic Properties of a Mixed Spin-1 and Spin-3/2 Ising Ferrimagnetic System", Journal of Physica A, Vol.258, No.13, P.140 (1998).
6. Benyoussef A., Elkenz A. and Elyadari M., "Decorated Ferrimagnetic Ising Model with Random Crystal Field", Journal of Physica B, Vol.393, No.5, P.204 (2007).
7. Yeomans J. M., "Statistical Mechanics of Phase Transitions" , 2nd edition , John Wiley & Son, New York ,USA, P.50, (1994)

Weakly (resp., Closure, Strongly) Perfect Mappings

Yousif Y. Yousif

Department of Mathematics, College of Education- Ibn Al-haitham University of Baghdad

Received 20/11/2006 – Accepted 25/2/2008

الخلاصة

في هذا البحث عرفنا مفاهيم التطبيقات التامة الضعيفة (المغلقة، القوية) وأهم العلاقات التي درست:
(أ) المقارنة بين مختلف أشكال التطبيقات التامة.
(ب) العلاقة بين تركيب مختلف أشكال التطبيقات التامة.
(ج) استقصاء العلاقات بين مختلف أشكال التطبيقات التامة والتطبيقات الراسمة لها.

ABSTRACT

In this paper the concepts of weakly (resp., closure, strongly) Perfect Mappings are defined and the important relationships are studied: (a) Comparison between deferent forms of perfect mappings. (b) Relationship between compositions of deferent forms of perfect mappings. (c) Investigate relationships between deferent forms of perfect mappings and their graphs mappings.

INTRODUCTION

In 1991 J. Chew and J. Tong (1) introduced the concept of weakly continuous mappings, in 1980 T. Noiri (2) introduced the concept of closure continuous mappings, in 1981 P. E. Long and L. L. Herrington (3) introduced the concept of strongly continuous mappings, in 1966 N.Bourbaki (4) defined perfect mappings and he stated and proved several theorems concerning perfect mappings, and in 1989 R.Engliking (5) introduced equivalent definition of perfect mappings. In this paper we introduce new concepts, which are the concepts of weakly (resp., closure, strongly) Perfect Mappings in which weakly (closure) Perfect Mappings are strictly weaker than perfect mappings, but strongly perfect mappings are stronger than perfect mappings. Also in this paper we introduce several results and examples concerning of deferent forms of perfect mappings. For a subset A of a topological space X , the closure of A denoted by $cl(A)$. For other notions or notations not defined here we follow closely R. Engelking (5).

Basic Definitions

Definition 1 (1, 6, and 7)

A mapping $f : X \rightarrow Y$ is weakly (resp., closure, strongly) continuous at a point $x \in X$ if given any open set V containing $f(x)$ in Y , there exists an open set U containing x in X such that $f(U) \subseteq cl(V)$ (resp., $f(cl(U)) \subseteq cl(V)$, $f(cl(U)) \subseteq V$).

If this condition is satisfied at each point $x \in X$, then f is said to be weakly (resp., closure, strongly) continuous.

Definition 2 (5)

A space X is called Urysohn if for every $x \neq y \in X$, there exists an open set U containing x and an open set V containing y such that $\text{cl}(U) \cap \text{cl}(V) = \emptyset$.

Definition 3 (5)

Suppose we are given a topological space X , a family $\{Y_s\}_{s \in S}$ of topological spaces and a family of continuous mappings $\{f_s\}_{s \in S}$ where $f_s : X \rightarrow Y_s$, the mapping assigning to the point $x \in X$ the point $\{f_s(x)\} \in \prod_{s \in S} Y_s$ is continuous ; it is called the diagonal of the mappings $\{f_s\}_{s \in S}$ and is denoted by $\Delta_{s \in S} f_s$ or by $f_1 \Delta f_2 \Delta \dots \Delta f_k$ if $S = \{1, 2, \dots, k\}$.

Comparison between Deferent Forms of Perfect Mappings

The new concepts in this paper are given now.

Definition 1

A mapping $f : X \rightarrow Y$ is called weakly (resp., closure, strongly) perfect mapping if it is weakly (resp., closure, strongly) continuous, closed and for each $y \in Y$, $f^{-1}(y)$ is compact.

"It is well-known that if $f : X \rightarrow Y$ is perfect, then for any closed $A \subset X$ and any $B \subset Y$ the restrictions $f|_A : A \rightarrow Y$ and $f_B : f^{-1}(B) \rightarrow B$ are perfect, this is still the case in weakly (resp., closure, strongly) perfect, as it is shown in the next theorem."----- *

Theorem 2

Let $f : X \rightarrow Y$ be a weakly (resp., closure, strongly) perfect, then for any closed $A \subset X$ and any $B \subset Y$ the restrictions $f|_A : A \rightarrow Y$ and $f_B : f^{-1}(B) \rightarrow B$ are weakly (resp., closure, strongly) perfect.

Also it is will-known that if $f : X \rightarrow Y$ is perfect, then $f_{f(X)} : X \rightarrow f(X)$ is perfect. This is not the case in weakly (closure) perfect even over an Urysohn space as it is shown in the next example, but it is true for strongly perfect as it is shown in theorem (3.4).

Example 3

Let P be the upper half of plane and L be the x -axis. Let $X = P \cup L$. If τ_{hdis} is the half disc topology on X and τ_r be the relative topology that X inherits by virtue of being a subspace of $\mathbb{R}^2$. The identity mapping $f : (X, \tau_r) \rightarrow (Y, \tau_{\text{hdis}})$ is weakly (closure) perfect but not perfect since it is not

continuous. And $f : (L, \tau_r) \rightarrow (X, \tau_{\text{hdis}})$ is weakly (closure) perfect, but $f : (L, \tau_r) \rightarrow (L, \tau_{\text{hdis}})$ is not weakly (closure) perfect.

Theorem 4

Let $f : X \rightarrow Y$ be strongly perfect, then $f_{f(X)} : X \rightarrow f(X)$ is strongly perfect.

Proof: Let F be a closed subset of X , we have $f_{f(X)}(F \cap f^{-1}(f(X))) = f(F \cap f^{-1}(f(X))) = f(F) \cap f(X)$ is closed in $f(X)$, hence $f_{f(X)}$ closed. Let $y \in f(X)$, then $f^{-1}_{f(X)}(y) = f^{-1}(y)$ is compact subset of X . Let $x \in X$ and let V be any open set containing $f(x)$ in $f(X)$, also in Y because $f(X) \subseteq Y$. Since f is strongly continuous, there is an open set U containing x in X such that $f(\text{cl}(U)) \subseteq V$, hence $f_{f(X)}$ is strongly continuous. Therefore $f_{f(X)}$ is strongly perfect.

Now we will compare between deferent forms of perfect mappings.

Theorem 5

Let $f : X \rightarrow Y$ be a perfect on X , then f is closure perfect on X .

Proof: The proofs of f is closed and for each $y \in Y$, $f^{-1}(y)$ is compact are obvious. Let $x \in X$ and let V be any open set containing $f(x)$ in Y . Since f is continuous, there is an open set U containing x in X such that $f(U) \subseteq V$. Hence $\text{cl}f(U) \subseteq \text{cl}(V)$. By continuity of f , $f(\text{cl}U) \subseteq \text{cl}(f(U))$, therefore $f(\text{cl}U) \subseteq \text{cl}V$ and f is closure continuous. Hence f is closure perfect on X .

The converse of the above theorem is not true, as it is shown in the next example.

Example 6

Let $X = [0, 1]$ with topology τ_{cof} consisting of the empty set together with all sets whose complements are finite, let $Y = [0, 1]$ with topology τ_{coco} consisting of the empty set together with all sets whose complements are countable. Let $f : (X, \tau_{\text{cof}}) \rightarrow (Y, \tau_{\text{coco}})$ be the identity mapping, then f is closure perfect on X since for every nonempty open set U in Y , $\text{cl}U = X$. It is clear that for every $x \in X$, f is not continuous at x . Hence f is not perfect.

If the range of f is a regular space then the converse of theorem (3.5) is also true.

Theorem 7

Let Y be a regular space and $f : X \rightarrow Y$. Then f is perfect on X iff f is closure perfect on X .

Proof: ($\Rightarrow$) Follows from theorem (3.5)

($\Leftarrow$) Suppose that $f : X \rightarrow Y$ closure perfect. It suffices to show that f continuous, let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y . Since Y is regular there is an open set V_1 in Y such that $f(x) \in V_1$ and $\text{cl}(V_1) \subset V$, since f is closure continuous, there is an open set U containing x such that

$f(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(V_1)$, since $U \subseteq \text{cl}(U)$, so $f(U) \subseteq f(\text{cl}(U))$. It follows that $f(U) \subseteq V$, therefore f is continuous on X . Hence f is perfect on X .

Theorem 8

Let $f : X \rightarrow Y$ be a strongly perfect. Then f is perfect.

The converse of the above theorem is not true, as it is shown in the next example.

Example 9

Let $(\mathbb{R}, \tau)$ where τ is the topology with basis whose members are of the form (a, b) and $(a, b) - N$, $N = \{1/n ; n \in \mathbb{Z}^+\}$. Then $(\mathbb{R}, \tau)$ is Hausdorff but not regular. Let $f : (\mathbb{R}, \tau) \rightarrow (\mathbb{R}, \tau)$, $f(x) = x$, then f is perfect but not strongly perfect.

If the domain of f is a regular space then the converse of theorem (3.8) is also true.

Theorem 10

Let X be a regular space and let $f : X \rightarrow Y$. Then f is perfect iff f is strongly perfect.

Proof: $(\Leftarrow)$ Follows from theorem (3.8)

$(\Rightarrow)$ Suppose that $f : X \rightarrow Y$ perfect. It suffices to show that f strongly continuous, let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y . Since f is continuous, there is an open set U containing x in X such that $f(U) \subseteq V$, since X is regular there is an open set U_1 in X such that $x \in U_1$ and $\text{cl}(U_1) \subset U$, so $f(\text{cl}(U_1)) \subset f(U)$. It follows that $f(\text{cl}(U_1)) \subseteq V$, therefore f is strongly continuous. Hence f is strongly perfect.

Theorem 11

Let Y be a regular space and let $f : X \rightarrow Y$. Then f is closure perfect on X iff f is strongly perfect on X .

Proof: $(\Rightarrow)$ Suppose that $f : X \rightarrow Y$ closure perfect. It suffices to show that f strongly continuous, let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y . Since Y is regular there is an open set V_1 in Y such that $f(x) \in V_1$ and $\text{cl}(V_1) \subset V$, since f is closure continuous, there is an open set U containing x such that $f(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(V_1)$. It follows that $f(\text{cl}(U)) \subseteq V$, therefore f is strongly continuous. Hence f is strongly perfect on X .

$(\Leftarrow)$ Follows from theorems (3.8) and (3.5)

Theorem 12

Let X be a regular space and let $f : X \rightarrow Y$. Then f is closure perfect on X iff f is weakly perfect on X .

Proof: ($\Rightarrow$) Suppose that $f : X \rightarrow Y$ closure perfect. It suffices to show that f weakly continuous, let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y . Since f is closure continuous, there is an open set U containing x such that $f(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(V)$, since $U \subseteq \text{cl}(U)$, so $f(U) \subseteq f(\text{cl}(U))$. It follows that $f(U) \subseteq \text{cl}(V)$, therefore f is weakly continuous. Hence f is weakly perfect on X . ($\Leftarrow$) Suppose that $f : X \rightarrow Y$ weakly perfect. It suffices to show that f closure continuous, let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y . Since f is weakly continuous, there is an open set U containing x such that $f(U) \subseteq \text{cl}(V)$, since X is regular there is an open set U_1 in X such that $x \in U_1$ and $\text{cl}(U_1) \subset U$, so $f(\text{cl}(U_1)) \subset f(U)$, It follows that $f(\text{cl}(U_1)) \subseteq \text{cl}(V)$ therefore f is closure continuous. Hence f is closure perfect on X .

Theorem 13

Let X or Y be a regular space and let $f : X \rightarrow Y$. Then f is perfect iff f is strongly perfect.

Proof: If X is regular space, then the proof follows from theorem (3.10). If Y is regular space, then the proof follows from theorems (3.7) and (3.11).

Theorem 14

Let Y be a regular space and let $f : X \rightarrow Y$. Then f is perfect on X iff f is weakly perfect on X .

Proof: ($\Rightarrow$) Suppose that $f : X \rightarrow Y$ perfect. It suffices to show that f weakly continuous, let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y . Since f is continuous, there is an open set U containing x such that $f(U) \subseteq V$, since $V \subseteq \text{cl}(V)$, It follows that $f(U) \subseteq \text{cl}(V)$, therefore f is weakly continuous. Hence f is weakly perfect on X .

($\Leftarrow$) Suppose that $f : X \rightarrow Y$ weakly perfect. It suffices to show that f continuous, let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y . Since Y is regular there is an open set V_1 in Y such that $f(x) \in V_1$ and $\text{cl}(V_1) \subset V$, since f is weakly continuous, there is an open set U containing x such that $f(U) \subseteq \text{cl}(V_1)$. It follows that $f(U) \subseteq V$, therefore f is continuous on X . Hence f is perfect on X .

Remark 15

In (1) it is shown that weak continuity does not imply closure continuity. Therefore, strongly perfect $\Rightarrow$ perfect $\Rightarrow$ closure perfect $\Rightarrow$ weakly perfect, but not conversely. While the four conditions are equivalent if the range is regular space.

Relationship between Compositions of Deferent Forms of Perfect Mappings

It is well-known that the composition of perfect mappings is perfect. Similar results hold for closure and strongly perfect but it is not true for weakly perfect.

Theorem 1

Let $f : X \rightarrow Y$ be weakly perfect and let $g : Y \rightarrow Z$ be closure perfect. Then $g \circ f : X \rightarrow Z$ is weakly perfect.

Proof: Since the composition of closed mappings is closed, then $g \circ f$ is closed. Let $z \in Z$, to show that $(g \circ f)^{-1}(z)$ is compact, since g is closure perfect, then $g^{-1}(z)$ is compact, now let $\{U_\alpha : \alpha \in \Lambda\}$ be a family of open sets of X such that $(g \circ f)^{-1}(z) \subset \bigcup_{\alpha \in \Lambda} U_\alpha$. If $y \in g^{-1}(z)$, then there exists a finite subset $M(y)$ of Λ such that $f^{-1}(y) \subset \bigcup_{\alpha \in M(y)} U_\alpha$. Since f is a closed mapping, by theorem (1.4.12) in (5) there exists an open set V_y of Y such that $y \in V_y$ and $f^{-1}(V_y) \subset \bigcup_{\alpha \in M(y)} U_\alpha$. Since $g^{-1}(z)$ is compact, there exists a finite subset B of $g^{-1}(z)$ such that $g^{-1}(z) \subset \bigcup_{y \in B} V_y$. Hence $f^{-1}(g^{-1}(z)) \subset \bigcup_{y \in B} f^{-1}(V_y) \subset \bigcup_{y \in B} \bigcup_{\alpha \in M(y)} U_\alpha$. Thus if $M = \bigcup_{y \in B} M(y)$, then M is a finite subset of Λ and $f^{-1}(g^{-1}(z)) \subset \bigcup_{\alpha \in M} U_\alpha$. Thus $f^{-1}(g^{-1}(z)) = (g \circ f)^{-1}(z)$ is compact. Let $x \in X$ and let W open set containing $(g \circ f)(x)$ in Z , since g is closure continuous, there is an open set V containing $f(x)$ in Y such that $g(\text{cl}(V)) \subseteq \text{cl}(W)$. Since f is weakly continuous, then for every $x \in X$ and every open set V of $f(x) = y$, there exists an open set U of x in X such that $f(U) \subseteq \text{cl}(V)$, so $g(f(U)) \subseteq g(\text{cl}(V))$ and $(g \circ f)(U) \subseteq g(\text{cl}(V))$, then we have $(g \circ f)(U) \subseteq \text{cl}(W)$ and $g \circ f$ is weakly continuous. Hence f is weakly perfect.

Theorem 2

Let $f : X \rightarrow Y$ be perfect and let $g : Y \rightarrow Z$ be weakly perfect. Then $g \circ f : X \rightarrow Z$ is weakly perfect.

Proof: The proofs of $g \circ f$ is closed and for each $z \in Z$, $(g \circ f)^{-1}(z)$ is compact are similar to the proof of theorem (4.1), so it is omitted. Let $x \in X$ and let W open set containing $(g \circ f)(x)$ in Z , since g is weakly continuous, there is an open set V containing $f(x)$ in Y such that $g(V) \subseteq \text{cl}(W)$. Since f is continuous, then for every $x \in X$ and every open set V of $f(x) = y$, there exists an open set U of x in X such that $f(U) \subseteq V$, so $g(f(U)) \subseteq g(V)$ and $(g \circ f)(U) \subseteq g(V)$, then we have $(g \circ f)(U) \subseteq \text{cl}(W)$ and $g \circ f$ is weakly continuous. Hence f is weakly perfect.

Theorem 3

Let $f : X \rightarrow Y$ be a closure perfect and let $g : Y \rightarrow Z$ be closure perfect. Then $g \circ f : X \rightarrow Z$ is closure perfect.

Proof: The proofs of $g \circ f$ is closed and for each $z \in Z$, $(g \circ f)^{-1}(z)$ is compact are similar to the proof of theorem (4.1), so it is omitted. Let $x \in X$ and let W open set containing $(g \circ f)(x)$ in Z , since g is closure continuous, there is

an open set V containing $f(x)$ in Y such that $g(\text{cl}(V)) \subseteq \text{cl}(W)$. Since f is closure continuous, then for every $x \in X$ and every open set V of $f(x)=y$, there exists an open set U of x in X such that $f(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(V)$, so $g(f(\text{cl}(U))) \subseteq g(\text{cl}(V))$ and $(g \circ f)(\text{cl}(U)) \subseteq g(\text{cl}(V))$, then we have $(g \circ f)(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(W)$ and $g \circ f$ is closure continuous. Hence f is closure perfect.

Theorem 4

Let $f : X \rightarrow Y$ be a closure perfect and let $g : Y \rightarrow Z$ be strongly perfect. Then $g \circ f : X \rightarrow Z$ is strongly perfect.

Proof: The proofs of $g \circ f$ is closed and for each $z \in Z$, $(g \circ f)^{-1}(z)$ is compact are similar to the proof of theorem (4.1), so it is omitted. Let $x \in X$ and let W open set containing $(g \circ f)(x)$ in Z , since g is strongly continuous, there is an open set V containing $f(x)$ in Y such that $g(\text{cl}(V)) \subseteq W$. Since f is closure continuous, then for every $x \in X$ and every open set V of $f(x)=y$, there exists an open set U of x in X such that $f(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(V)$, so $g(f(\text{cl}(U))) \subseteq g(\text{cl}(V))$ and $(g \circ f)(\text{cl}(U)) \subseteq g(\text{cl}(V))$, then we have $(g \circ f)(\text{cl}(U)) \subseteq W$ and $g \circ f$ is strongly continuous. Hence f is strongly perfect.

Theorem 5

Let $f : X \rightarrow Y$ be weakly perfect and let $g : Y \rightarrow Z$ be strongly perfect. Then $g \circ f : X \rightarrow Z$ is perfect.

Proof: The proofs of $g \circ f$ is closed and for each $z \in Z$, $(g \circ f)^{-1}(z)$ is compact are similar to the proof of theorem (4.1), so it is omitted. Let $x \in X$ and let W open set containing $(g \circ f)(x)$ in Z , since g is strongly continuous, there is an open set V containing $f(x)$ in Y such that $g(\text{cl}(V)) \subseteq W$. Since f is weakly continuous, then for every $x \in X$ and every open set V of $f(x)=y$, there exists an open set U of x in X such that $f(U) \subseteq \text{cl}(V)$, so $g(f(U)) \subseteq g(\text{cl}(V))$ and $(g \circ f)(U) \subseteq g(\text{cl}(V))$, then we have $(g \circ f)(U) \subseteq W$ and $g \circ f$ is continuous. Hence f is perfect.

The next example shows that the perfect of f in theorem (4.2) can not be weakened into closure perfect, and it also shows that the composition of weakly perfect is not to be weakly perfect.

Example 6

Let $X = \{x, y, z, w\}$ with topology $\tau_X = \{\emptyset, \{z\}, \{z, w\}, \{x, y, z\}, X\}$ and let $Y = \{a, b, c, d\}$ with topology $\tau_Y = \{\emptyset, \{b\}, \{d\}, \{a, b\}, \{b, d\}, \{a, b, d\}, \{b, c, d\}, Y\}$. Define $g : (X, \tau_X) \rightarrow (Y, \tau_Y)$, by $g(x)=a, g(y)=b, g(z)=c, g(w)=d$. Then g is weakly perfect but not closure perfect. Define $f : (IR, \tau_u) \rightarrow (X, \tau_X)$, where τ_u is the usual topology on IR by $f(\text{rational})=y, f(\text{irrational})=w$. Then f is closure perfect but not perfect, and $g \circ f$ is not weakly perfect.

It is well-known that, if the composition $g \circ f$ of continuous mappings $f : X \rightarrow Y$ and $g : Y \rightarrow Z$, where Y is a Hausdorff space, is perfect, then the mappings $g|_{f(X)}$ and f are perfect. Similar results hold for deferent forms of continuity mappings and perfectly mappings, as it is shown in the next theorems.

Theorem 7

If the composition $g \circ f$ of continuous mapping $f : X \rightarrow Y$ and weakly continuous mapping $g : Y \rightarrow Z$, where Y is a Hausdorff space, is weakly perfect, then the mapping $g|_{f(X)}$ is weakly perfect and f is perfect.

Proof: (i) For every point $z \in Z$, $(g|_{f(X)})^{-1}(z) = f(X) \cap g^{-1}(z) = f((g \circ f)^{-1}(z))$ is compact, because $(g \circ f)^{-1}(z)$ is compact. Any closed subset of $f(X)$ is of the form $A \cap f(X)$, where A is closed in Y . As the inverse image $f^{-1}(A)$ is closed in X and $g \circ f$ is a closed mapping, the set $(g|_{f(X)})(A \cap f(X)) = g(A \cap f(X)) = (g \circ f)(f^{-1}(A))$ is closed in Z , we have $g|_{f(X)}$ is a closed mapping and thus the mapping $g|_{f(X)}$ is weakly perfect.

(ii) For every point $y \in Y$, $f^{-1}(y) = [(g \circ f)^{-1}(g(y))] \cap f^{-1}(y)$ is compact. For every closed set $F \subset X$ the mapping $(g \circ f)|_F$ is weakly perfect, so that by the first part of our proof the restriction $g|_{f(F)}$ is weakly perfect, since the latter mapping can be continuously extended over $\text{cl}(f(F))$, it follows by lemma (3.7.4) in (5) that $f(F) = \text{cl}(f(F))$, we have f is a closed mapping and thus the mapping f is perfect.

Theorem 8

If the composition $g \circ f$ of continuous mapping $f : X \rightarrow Y$ and closure continuous mapping $g : Y \rightarrow Z$, where Y is a Hausdorff space, is closure perfect, then the mapping $g|_{f(X)}$ is closure perfect and f is perfect.

Proof: The proof is similar to the proof of theorem (4.7), so it is omitted.

Theorem 9

If the composition $g \circ f$ of continuous mapping $f : X \rightarrow Y$ and strongly continuous mapping $g : Y \rightarrow Z$, where Y is a Hausdorff space, is strongly perfect, then the mapping $g|_{f(X)}$ is strongly perfect and f is perfect.

Proof: The proof is similar to the proof of theorem (4.7), so it is omitted.

Theorem 10

If the composition $g \circ f$ of continuous mapping $f : X \rightarrow Y$ and closure continuous mapping $g : Y \rightarrow Z$, where Y is a Hausdorff space, is weakly perfect, then the mapping $g|_{f(X)}$ is closure perfect and f is perfect.

Proof: The proof is similar to the proof of theorem (4.7), so it is omitted.

Theorem 11

If the composition $g \circ f$ of continuous mapping $f : X \rightarrow Y$ and strongly continuous mapping $g : Y \rightarrow Z$, where Y is a Hausdorff space, is strongly perfect, then the mapping $g|_{f(X)}$ is strongly perfect and f is closure perfect.

Proof: The proof is similar to the proof of theorem (4.7), so it is omitted.

Theorem 12

If the composition $g \circ f$ of continuous mapping $f : X \rightarrow Y$ and strongly continuous mapping $g : Y \rightarrow Z$, where Y is a Hausdorff space, is perfect, then the mapping $g|_{f(X)}$ is strongly perfect and f is perfect.

Proof: The proof is similar to the proof of theorem (4.7), so it is omitted.

Investigate Relationships between Deferent Forms of Perfect Mappings and their Graphs Mappings

The following theorem shows that a mapping f is weakly perfect iff its graph mapping $G(f)$ is weakly perfect.

Theorem 1

Let $f : X \rightarrow Y$ be a mapping with Y a regular space and let $g : X \rightarrow X \times Y$ be the graph mapping of f given by $G(f) = g(x) = (x, f(x))$ for every point $x \in X$. Then $g : X \rightarrow X \times Y$ is weakly perfect iff $f : X \rightarrow Y$ is weakly perfect.

Proof: ($\Rightarrow$) Suppose g is weakly perfect. Let $x \in X$ and let V be an open set containing $f(x)$ in Y , then $X \times V$ is an open set containing $g(x)$ in $X \times Y$. Since g is weakly continuous, there exists an open set U containing x in X such that $g(U) \subseteq \text{cl}(X \times V) = X \times \text{cl}(V)$. Since g is the graph mapping of f , we have $f(U) \subseteq \text{cl}(V)$, this shows that f is weakly continuous. Now the graph $G(f)$ is the image of X under the homeomorphic embedding $\text{id}_X \Delta f : X \rightarrow X \times Y$. The restriction $p_Y|_{G(f)}$ of the projection $P_Y : X \times Y \rightarrow Y$ is homeomorphism, since Y is Hausdorff, the $G(f)$ is a closed subset of $X \times Y$. By (*), $p_Y|_{G(f)}$ is perfect and by remark (3.15), $p_Y|_{G(f)}$ is closure perfect. Since $f = (p_Y|_{G(f)}) \circ g$, by theorem (4.1) we have f is weakly perfect.

($\Leftarrow$) Suppose f is weakly perfect. Let $x \in X$ and W be an open set containing $g(x)$ in $X \times Y$, then there exist open sets $R \subset X$ and $V \subset Y$ such that $g(x) = (x, f(x)) \in R \times V \subseteq W$. Since f is weakly continuous, there exists an open set U containing x in X such that $U \subseteq R$ and $f(U) \subseteq \text{cl}(V)$, therefore we have $g(U) \subseteq R \times \text{cl}(V) \subseteq \text{cl}(R \times V) \subseteq \text{cl}(W)$, this shows that g is weakly continuous. Now the mapping $g = \text{id}_X \Delta f : X \rightarrow X \times Y$ maps X homeomorphically onto the graph $G(f)$ which is closed subset of $X \times Y$, therefore g is perfect, by remark (3.15), g is weakly perfect.

The following theorem shows that a mapping f is closure perfect iff its graph mapping $G(f)$ is closure perfect.

Theorem 2

Let $f: X \rightarrow Y$ be a mapping and let $g: X \rightarrow X \times Y$ be the graph mapping of f given by $G(f)=g(x)=(x, f(x))$ for every point $x \in X$. Then $g: X \rightarrow X \times Y$ is closure perfect iff $f: X \rightarrow Y$ is closure perfect.

Proof: ($\Rightarrow$) If g is closure perfect, then it follows from theorem (4.3) that f is closure perfect.

($\Leftarrow$) Suppose f is closure perfect. Let $x \in X$ and let W be an open set containing $g(x)$ in $X \times Y$, then there exist open sets $R \subset X$ and $V \subset Y$ such that $g(x)=(x, f(x)) \in R \times V \subseteq W$. Since f is closure continuous, there exists an open set U containing x in X such that $U \subseteq R$ and $f(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(V)$, therefore we have $g(\text{cl}(U)) \subseteq \text{cl}(R) \times \text{cl}(V) \subseteq \text{cl}(R \times V) \subseteq \text{cl}(W)$, this shows that g is closure continuous. Now the mapping $g = \text{id}_X \Delta f: X \rightarrow X \times Y$ maps X homeomorphically onto the graph $G(f)$ which is closed subset of $X \times Y$, therefore g is perfect, by remark (3.15), g is closure perfect.

The following theorem shows that if the graph mapping $G(f)$ is strongly perfect, then f is strongly perfect.

Theorem 3

Let $f: X \rightarrow Y$ be a mapping and let $g: X \rightarrow X \times Y$ be the graph mapping of f given by $G(f)=g(x)=(x, f(x))$ for every point $x \in X$. If g is strongly perfect, then $f: X \rightarrow Y$ is strongly perfect. Moreover, X is a regular space.

Proof: The strongly perfectness of f follows from theorem (4.4). To prove the regularity, let $x \in X$ and let U be an open set containing x , then $U \times Y$ is an open set containing $f(x)$. The strong continuity of the graph mapping of f guarantees the existence of an open set W containing x such that $g(\text{cl}(W)) \subseteq U \times Y$. Thus $x \in \text{cl}(W) \subseteq U$, proving that X is regular.

The converse of the above theorem is not true in general, as it is shown in the next example.

Example 4

Let $X=Y=\{1, 2, 3\}$ with topologies $\tau_X=\{\emptyset, \{1\}, \{2\}, \{1, 2\}, X\}$, $\tau_Y=\{\emptyset, \{3\}, Y\}$. Define $f: (X, \tau_X) \rightarrow (Y, \tau_Y)$ by $f(x)=3$ for all x . Then f is strongly perfect but the graph mapping $G(f)$, where $g(x)=(x, f(x))$ is not strongly perfect because it is not strongly continuous at 1 and 2.

If the domain of f is a regular space then the converse of theorem (5.3) is also true.

Theorem 5

Let $f: X \rightarrow Y$ be a mapping with X a regular space and let $g: X \rightarrow X \times Y$ be the graph mapping of f given by $G(f)=g(x)=(x, f(x))$ for every point $x \in X$. If $f: X \rightarrow Y$ is strongly perfect, then $g: X \rightarrow X \times Y$ is strongly perfect.

Proof: Suppose f is strongly perfect. Let $x \in X$ and let W be an open set containing $g(x)$ in $X \times Y$, then there exist open sets $R \subset X$ and $V \subset Y$ such that $g(x) = (x, f(x)) \in R \times V \subseteq W$. Since f is strongly continuous and X is regular, there exists an open set U containing x in X such that $\text{cl}(U) \subseteq R$ and $f(\text{cl}(U)) \subseteq V$, therefore we have $g(\text{cl}(U)) \subseteq R \times V \subseteq W$, this shows that g is strongly continuous. Now the mapping $g = \text{id}_X \Delta f : X \rightarrow X \times Y$ maps X homeomorphically onto the graph $G(f)$ which is closed subset of $X \times Y$, therefore g is perfect and since X regular we have $X \times Y$ is regular, by remark (3.15), g is strongly perfect.

REFERENCES

1. Chew J. and Tong J., Some Remarks on Weak continuity, American Mathematical Monthly, 98, 931-934, (1991).
2. Noiri T., On θ -Continuous Functions, J. of the Korean Math. Soc., 16 (2), 161-166, (1980).
3. Long P. E. and Herrington L. L., Strongly θ -Continuous Functions, J. of the Korean Math. Soc., 18 (1), 21-28, (1981).
4. Bourbaki N., General Topology, Part I, Addison-Wesley, Reding, Mass, (1966).
5. Englking R., Outline of General Topology, Amsterdam, (1989).
6. Saleh M. A., Almost Continuity Implies Closure Continuity, Glasgow Math. J., June, to appear, (1998).
7. Srivastava A. and Pawar A., Pairwise Strongly θ -continuous Functions in Bitopological Spaces, Universitatea Din Bacau, Studiisi Cercetari Stiintifice, Seria: Matematica, 16, 239-250, (2006).

A Numerical Solution of a System of Linear Fractional orders Integro-Differential Equations of Volterra Types by Classic Spline Functions

¹Omar M. Al-Faour, ²Inaam A. Malloki, and ³Amaal A. Mohammed

¹ University of Technology /Dept. of mathematics

^{2,3} Al-Mustansiryha University /Dept. of mathematics

Received 17/7/2007 – Accepted 25/2/2008

الخلاصة

هدفنا الرئيسي في هذا البحث إعطاء تقنية عددية لحل منظومة من المعادلات الخطية التكاملية التفاضلية ذات الرتب الكسرية من نوع فولتيرا باستخدام رتب مختلفة من دوال الثلمة التقليدية (الخطية، التربيعية و التكعيبية). اشتقت صيغة عامة للمشتقات الكسرية لدوال الثلمة التقليدية والتي مفيدة جداً في تبسيط الحسابات في حل هذا النوع من المسائل. أعدت بعض الأمثلة لتبين كفاءة وبساطة الطريقة للحالة الخاصة عندما α يساوي إلى 0.5.

ABSTRACT

Our main concern in this paper is to give a numerical technique to solve a system of linear fractional integro-differential equations of Volterra types of order α (LFIDEV's) by using different orders of classic spline functions (linear, quadratic and cubic).

Generalized formula for computing the fractional derivatives of the classic spline functions are derived which are very useful in simplifying the computation in the solution of this kind of problems. Some examples are given to show the efficiency and simplicity of the method for special case of α equal to 0.5.

INTRODUCTION

In recent years, problems have witnessed a steadily increasing activity in the development and the analysis of new classes of differential equations namely fractional order differential equations. The theory and application of fractional differential equations are important subject within different branches of science. These equations are used as mathematical models of many problems, such as physical problems, chemical analysis of aqueous solutions, archeology of soils [1,2,3,4].

Let us consider the system of linear Fractional orders integro-differential equations of Volterra types of the form:

$$D_x^\alpha u_i(x) = f_i(x) + \sum_{j=1}^m \int_0^x k_{ij}(x,t) u_j(t) dt, \quad i=1, \dots, m \quad (1)$$

where f_i , $i = 1, \dots, m$, k_{ij} , $i, j = 1, \dots, m$, are known continuous functions in $I = \{x : 0 \leq x \leq 1\}$ and $D = \{(x,t) : 0 \leq t \leq x \leq 1\}$ respectively, u_i , $i = 1, \dots, m$ are the unknown functions and D_x^α

is denoted to the fractional derivatives called Riemann-Liouville differential operators of fractional order α which takes the form [5,6] :

$$D_x^\alpha u(x) = \frac{1}{\Gamma(n-\alpha)} \frac{d^n}{dx^n} \int_0^x (x-t)^{n-\alpha-1} u(t) dt \quad (2)$$

where α is positive fractional number define by $n-1 < \alpha \leq n$ and n is any positive integer number.

$$D_x^\alpha u(x) = \frac{1}{\Gamma(-\alpha)} \int_0^x (x-t)^{-\alpha-1} u(t) dt \quad (3)$$

where α is negative fractional number.

THE SPLINE FUNCTIONS

Let $\Delta : a = x_0 < x_1 < \dots < x_{m-1} < x_m = b$ be the uniform partition of the interval $[a, b]$ with $x_k = k * h$, $h = (b-a) / m$, $k = 0, 1, \dots, m$. we denote by $S^{<P+1>}(x)$ the class of spline $S_\Delta(x)$ such that $S_\Delta(x) \in C^P[a, b]$ and $S_\Delta(x)$ is polynomial of degree $P+1$ in $[x_k, x_{k+1}]$, $k = 0, 1, \dots, m$. In this section, three types of spline function where $P = 0, 1, 2$ are considered [7,8,9] :-

Linear spline function or spline of degree 1 is given by the formula :

$$S^{<1>}(x) = \frac{(x_{i+1}-x)}{h} S_i^{<1>} + \frac{(x-x_i)}{h} S_{i+1}^{<1>} \quad x_i \leq x \leq x_{i+1} \quad (4)$$

where $h = x_{i+1} - x_i$ and $S_{i+1}^1 = S^1(x_{i+1})$, $i = 0, 1, \dots, m-1$.

Quadratic spline function or spline of degree 2 is given by:

$$S^{<2>}(x) = A_i(x)S_i^{<2>} + B_i(x)S_{i+1}^{<2>} + C_i(x)\frac{dS_i^{<2>}}{dx} \quad x_i \leq x \leq x_{i+1} \quad (5)$$

where

$$A_i(x) = 1 - \left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2, B_i(x) = \left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2 \text{ and } C_i(x) = \frac{(x-x_i)(x_{i+1}-x)}{h}$$

such that

$$\frac{dS_{i+1}^{<2>}}{dx} = -\frac{dS_i^{<2>}}{dx} + \frac{2}{h}(S_{i+1}^{<2>} - S_i^{<2>}), \quad i=0,1,\dots,m-1 \quad \text{and}$$

$$\frac{dS_0^{<2>}}{dx} = \frac{dS^{<2>}}{dx}(x_0)$$

is a small arbitrary .

And cubic spline function or spline of degree 3 is given by:

$$S^{<3>}(x) = A_i(x)S_i^{<3>} + B_i(x)S_{i+1}^{<3>} + C_i(x)\frac{dS_i^{<3>}}{dx} + D_i(x)\frac{dS_{i+1}^{<3>}}{dx} \quad x_i \leq x \leq x_{i+1} \quad (6)$$

where

$$A_i(x) = 1 - 3\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2 + 2\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^3, \quad B_i(x) = 3\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2 - 2\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^3$$

$$C_i(x) = (x-x_i)\left(\frac{x_{i+1}-x}{h}\right)^2 \quad \text{and} \quad D_i(x) = (x-x_{i+1})\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2$$

such that

$$\frac{dS_{i+1}^{<3>}}{dx} = 2\frac{dS_i^{<3>}}{dx} - \frac{dS_{i-1}^{<3>}}{dx}, \quad i=0,1,\dots,m-1 \quad (7)$$

and

$$\frac{dS_0^{<3>}}{dx} = \frac{dS^{<3>}}{dx}(x_0) \quad \text{is a small arbitrary .}$$

FRACTIONAL DERIVATIVE OF SPLINE FUNCTIONS

In this section, fractional derivative of three types of spline functions (linear, quadratic and cubic) are considered by the following proposition,:

Proposition (1):

The fractional derivative of α^{th} - order of classic spline (linear, quadratic and cubic) with respect to x as :

$$D_x^\alpha S^{<k>}(x) = \frac{x^{-\alpha}}{h\Gamma(-\alpha+2)} [S_i^{<k>}((- \alpha + 1)x_{i+1} - x) + S_{i+1}^{<k>}(x - (- \alpha + 1)x_i)] \quad (8)$$

where $k=1,2,3$ and $0 < \alpha < 1$

Proof:

Case(1) : when $k = 1$

Recall eq.(4)

$$S^{<1>}(x) = A_i(x)S_i^{<1>} + B_i(x)S_{i+1}^{<1>}$$

where

$$A_i(x) = \frac{(x_{i+1} - x)}{h} \quad \text{and} \quad B_i(x) = 1 - A_i(x) = \frac{(x - x_i)}{h}$$

Now, we have

$$D_x^\alpha S^{<1>}(x) = \frac{S_i^{<1>}}{h} D_x^\alpha (x_{i+1} - x) + \frac{S_{i+1}^{<1>}}{h} D_x^\alpha (x - x_i)$$

By eq.(2) we obtain

$$\begin{aligned} D_x^\alpha S^{<1>}(x) &= \frac{S_i^{<1>}}{h} \left(\frac{x^{-\alpha} x_{i+1}}{\Gamma(-\alpha+1)} - \frac{x^{-\alpha+1}}{\Gamma(-\alpha+2)} \right) + \frac{S_{i+1}^{<1>}}{h} \left(\frac{x^{-\alpha+1}}{\Gamma(-\alpha+2)} - \frac{x^{-\alpha} x_i}{\Gamma(-\alpha+1)} \right) \\ &= \frac{x^{-\alpha}}{h \Gamma(-\alpha+2)} [S_i^{<1>} ((-\alpha+1)x_{i+1} - x) + S_{i+1}^{<1>} (x - (-\alpha+1)x_i)] \end{aligned} \quad (9)$$

Case(2) : when $k = 2$

Recall eq.(5)

$$S^{<2>}(x) = A_i(x)S_i^{<2>} + B_i(x)S_{i+1}^{<2>} + C_i(x) \frac{dS_i^{<2>}}{dx}$$

where

$$A_i(x) = 1 - \left(\frac{x - x_i}{h} \right)^2, \quad B_i(x) = \left(\frac{x - x_i}{h} \right)^2 \quad \text{and}$$

$$C_i(x) = \frac{(x - x_i)(x_{i+1} - x)}{h}$$

Then

$$D_x^\alpha S^{<2>}(x) = S_i^{<2>} D_x^\alpha A_i(x) + S_{i+1}^{<2>} D_x^\alpha B_i(x) + \frac{dS_i^{<2>}}{dx} D_x^\alpha C_i(x)$$

Substitution the forward difference of the first derivative of $S_i^{<2>}$ [10] :

$$\frac{dS_i^{<2>}}{dx} = \frac{S_{i+1}^{<2>} - S_i^{<2>}}{h} \quad \text{we obtain}$$

$$D_x^\alpha S^{<2>}(x) = \frac{S_i^{<2>}}{h} D_x^\alpha (x_{i+1} - x) + \frac{S_{i+1}^{<2>}}{h} D_x^\alpha (x - x_i)$$

In the same way as in case(1) we have

$$D_x^\alpha S^{<2>}(x) = \frac{x^{-\alpha}}{h \Gamma(-\alpha+2)} [S_i^{<2>} ((-\alpha+1)x_{i+1} - x) + S_{i+1}^{<2>} (x - (-\alpha+1)x_i)] \quad (10)$$

Case(3) : when $k = 3$

Recall eq.(6)

$$S^{<3>}(x) = A_i(x)S_i^{<3>} + B_i(x)S_{i+1}^{<3>} + C_i(x) \frac{dS_i^{<3>}}{dx} + D_i(x) \frac{dS_{i+1}^{<3>}}{dx}$$

where

$$A_i(x) = 1 - 3\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2 + 2\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^3, B_i(x) = 3\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2 - 2\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^3$$

$$C_i(x) = (x-x_i)\left(\frac{x_{i+1}-x}{h}\right)^2 \quad \text{and} \quad D_i(x) = (x-x_{i+1})\left(\frac{x-x_i}{h}\right)^2$$

So

$$D_x^\alpha S^{<3>}(x) = S_i^{<3>} D_x^\alpha A_i(x) + S_{i+1}^{<3>} D_x^\alpha B_i(x) + \frac{dS_i^{<3>}}{dx} D_x^\alpha C_i(x) + \frac{dS_{i+1}^{<3>}}{dx} D_x^\alpha D_i(x)$$

We approximate the first derivative of S_i by the forward and backward difference formula [4] :

$$\frac{dS_i^{<3>}}{dx} = \frac{S_{i+1}^{<3>} - S_i^{<3>}}{h} \quad \text{and} \quad \frac{dS_{i+1}^{<3>}}{dx} = \frac{S_{i+1}^{<3>} - S_i^{<3>}}{h}, \text{ then}$$

$$D_x^\alpha S^{<3>}(x) = \frac{S_i^{<3>}}{h} D_x^\alpha (x_{i+1} - x) + \frac{S_{i+1}^{<3>}}{h} D_x^\alpha (x - x_i)$$

In the same way as in case(1 and 2) we get

$$D_x^\alpha S^{<3>}(x) = \frac{x^{-\alpha}}{h \Gamma(-\alpha + 2)} [S_i^{<3>} ((-\alpha + 1)x_{i+1} - x) + S_{i+1}^{<3>} (x - (-\alpha + 1)x_i)] \quad (11)$$

SOLUTION OF A SYSTEM OF LFIDEV's USING CLASSIC SPLINE

In this section, various types of classic spline functions including: linear, quadratic and cubic will be used to solve the system of LFIDEV's of order α as in eq.(1).

1. Using Linear Spline Functions $S^{<1>}(x)$:

Write $u_i(x)$, $i = 1, \dots, m$ as

$$u_i(x) = S_i^{<1>}(x) = A_r(x) S_{ir}^{<1>} + B_r(x) S_{ir+1}^{<1>} \quad (12)$$

where

$$A_r(x) = \frac{x_{r+1} - x}{h}, \quad B_r(x) = \frac{x - x_r}{h} \quad \text{and} \quad h = x_{r+1} - x_r, \quad \text{for } r = 0, \dots, n-1$$

Substituting eq.(12) into eq.(1), yields

$$D_x^\alpha S_i^{<1>}(x) = f_i(x) + \sum_{j=1}^m \int_0^x k_{ij}(x, t) S_j^{<1>}(t) dt$$

First by using proposition (1) then put $x = x_{r+1}$, $r = 0, \dots, n-1$ yields:

$$(h + \alpha x_r) S_{i,r+1}^{<1>} = \alpha x_{r+1} S_{i,r}^{<1>} + h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^\alpha [f_{i,r+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<1>} + B_z(t) S_{jz+1}^{<1>}] dt] \quad (13)$$

where $S_{i,r+1}^{<1>} = S_i^{<1>}(x_{r+1})$, $f_{i,r+1} = f_i(x_{r+1})$, $i = 1, \dots, m$

and

$$S_{i0}^{<1>} = x^\alpha \Gamma(-\alpha + 1) f_i(x) \Big|_{x=0}$$

Eq.(14) produces a linear system described by the following vector equations

$$A S^{<1>} = B \quad (14)$$

where $A = (a_{ij})$ is a matrix of order m , such that

$$a_{ij} = \begin{cases} -h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^\alpha \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) B_r(t) dt & i \neq j \\ (h + \alpha x_r) - h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^\alpha \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) B_r(t) dt & i = j \end{cases} \quad (15)$$

$S^{<1>} = [S_{1,r+1}^{<1>}, S_{2,r+1}^{<1>}, \dots, S_{m,r+1}^{<1>}]^T$ and $B = (b_i)$ is a vector of order m , such that:

$$b_i = \alpha x_{r+1} S_{i,r}^{<1>} + h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^\alpha \left[f_{i,r+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<1>} + B_z(t) S_{jz+1}^{<1>}] dt + \sum_{j=1}^m \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) A_r(t) S_{jr}^{<1>} dt \right] \quad i=1, \dots, m \quad (16)$$

Eq.(14) can be solved for the vector $S^{<1>}$, of coefficients by Jacobi iterative method and the integrals are approximated by trapezoidal rule (TR).

2. Using Quadratic Spline Functions $S^{<2>}(x)$:

Writing $u_i(x)$, $i = 1, \dots, m$ as

$$u_i(x) = S_i^{<2>}(x) = A_r(x) S_{ir}^{<2>} + B_r(x) S_{ir+1}^{<2>} + C_r(x) \frac{dS_{ir}^{<2>}}{dx} \quad (17)$$

where

$$A_r(x) = 1 - \left(\frac{x - x_r}{h} \right)^2, \quad B_r(x) = \left(\frac{x - x_r}{h} \right)^2, \quad C_r(x) = \frac{(x - x_r)(x_{r+1} - x)}{h},$$

$r=0, \dots, n-1$

Such that

$$\frac{dS_{ir+1}^{<2>}}{dx} \approx \frac{dS_{ir}^{<2>}}{dx} \quad i=1, \dots, m, \quad r=0, \dots, n-1$$

Substitution of eq.(17) into eq.(1), yields

$$D_x^\alpha S_i^{<2>}(x) = f_i(x) + \sum_{j=1}^m \int_0^x k_{ij}(x,t) S_j^{<2>}(t) dt$$

Application of the proposition (1) and put $x = x_{r+1}$, $r = 0, \dots, n-1$ to get

$$\begin{aligned} (h + \alpha x_r) S_{ir+1}^{<2>} &= \alpha x_{r+1} S_{ir}^{<2>} + h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^\alpha \left[f_{ir+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_z}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<2>} \right. \\ &\quad \left. + B_z(t) S_{jz+1}^{<2>} + C_z(t) \frac{dS_{jz}^{<2>}}{dx}] dt + \sum_{j=1}^m \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_r(t) S_{jr}^{<2>} \right. \\ &\quad \left. + B_r(t) S_{jr+1}^{<2>} + C_{r+1}(t) \frac{dS_{jr}^{<2>}}{dx}] dt \right] \end{aligned} \quad (18)$$

where $S_{ir+1}^{<2>} = S_i^{<2>}(x_{r+1})$, $f_{ir+1}^{<2>} = f_i^{<2>}(x_{r+1})$ and $h = x_{r+1} - x_r$, $i = 1, \dots, m$ and $r = 0, \dots, n-1$.

Eq.(18) can be written as the vector equation : $A S^{<2>} = B$ (19)

where $A = (a_{ij})$ is $m \times m$ matrix given in eq.(15) $S^{<2>}$ and B are the vectors

$S^{<2>} = [S_{1r+1}^{<2>}, S_{2r+1}^{<2>}, \dots, S_{mr+1}^{<2>}]^T$, $B = (b_i)$ such that

$$\begin{aligned} b_i &= \alpha x_{r+1} S_{ir}^{<2>} + h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^\alpha \left[f_{ir+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_z}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<2>} + B_z(t) S_{jz+1}^{<2>} \right. \\ &\quad \left. + C_z(t) \frac{dS_{jz}^{<2>}}{dx}] dt + \sum_{j=1}^m \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_r(t) S_{jr}^{<2>} + C_{r+1}(t) \frac{dS_{jr}^{<2>}}{dx}] dt \right] \end{aligned} \quad (20)$$

The involved integrals are approximated by trapezoidal rule, then the linear system of eq.(19) can be solved by Jacobi iterative method to find $S_{1r+1}^{<2>}, S_{2r+1}^{<2>}, \dots, S_{mr+1}^{<2>}$.

3. Using Cubic Spline Functions $S^{<3>}(x)$:

Here $u_i(x)$, $i = 1, \dots, m$ is expanded as follows

$$u_i(x) = S_i^{<3>}(x) = A_r(x) S_{ir}^{<3>} + B_r(x) S_{ir+1}^{<3>} + C_r(x) \frac{dS_{ir}^{<3>}}{dx} + D_r(x) \frac{dS_{ir+1}^{<3>}}{dx} \quad (21)$$

where

$$A_r(x) = 1 - 3\left(\frac{x-x_r}{h}\right)^2 + 2\left(\frac{x-x_r}{h}\right)^3, \quad ,$$

$$B_r(x) = 3\left(\frac{x-x_r}{h}\right)^2 - 2\left(\frac{x-x_r}{h}\right)^3, \quad C_r(x) = (x-x_r)\left(\frac{x_{r+1}-x}{h}\right)^2 \quad \text{and}$$

$$D_r(x) = (x-x_{r+1})\left(\frac{x-x_r}{h}\right)^2 \quad r = 0, \dots, n-1$$

Such that

$$\frac{dS_{i,r+1}^{<3>}}{dx} = 2 \frac{dS_{i,r}^{<3>}}{dx} - \frac{dS_{i,r-1}^{<3>}}{dx} \quad i=1, \dots, m, \quad r=0, \dots, n-1$$

and $\frac{dS_{i,0}^{<3>}}{dx}$ are a small arbitrary.

Substitution of eq.(21) into eq.(1), to get

$$D_x^\alpha S_i^{<3>}(x) = f_i(x) + \sum_{j=1}^m \int_0^x k_{ij}(x,t) S_j^{<3>}(t) dt$$

Using the proposition (1) with $x = x_{r+1}$, $r = 0, \dots, n-1$ yields.

$$\begin{aligned} (h + \alpha x_r) S_{i,r+1}^{<3>} &= \alpha x_{r+1} S_{i,r}^{<3>} + h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^\alpha \left[f_{i,r+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_z}^{x_{z+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<3>} \right. \\ &\quad + B_z(t) S_{jz+1}^{<3>} + C_z(t) \frac{dS_{jz}^{<3>}}{dx} + D_z(t) \frac{dS_{jz+1}^{<3>}}{dx}] dt + \sum_{j=1}^m \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_r(t) S_{jr}^{<3>} \\ &\quad \left. + B_r(t) S_{jr+1}^{<3>} + C_{r+1}(t) \frac{dS_{jr}^{<3>}}{dx} + D_r(t) \frac{dS_{jr+1}^{<3>}}{dx}] dt \right] \quad (22) \end{aligned}$$

where $S_{i,r+1}^{<3>} = S_i^{<3>}(x_{r+1})$ and $f_{i,r+1} = f_i(x_{r+1})$, $i = 1, \dots, m$

which can be written matrix form

$$(23) \quad AS^{<3>} = B$$

where $A = (a_{ij})$ is $m \times m$ matrix as in eq.(15).

$S^{<3>} = [S_{1,r+1}^{<3>}, S_{2,r+1}^{<3>}, \dots, S_{m,r+1}^{<3>}]^T$ and $B = (b_i)$ a vector of order m such that

$$b_i = \alpha x_{r+1} S_{ir}^{<3>} + h \Gamma(-\alpha + 2) x_{r+1}^{\alpha} \left[f_{ir+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_i}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<3>} + B_z(t) S_{jz+1}^{<3>} + C_z(t) \frac{dS_{jz}^{<3>}}{dx} + D_z(t) \frac{dS_{jz+1}^{<3>}}{dx}] dt + \sum_{j=1}^m \int_{x_i}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_r(t) S_{jr}^{<3>} + C_{r+1}(t) \frac{dS_{jr}^{<3>}}{dx} + D_r(t) \frac{dS_{jr+1}^{<3>}}{dx}] dt \right] \quad (24)$$

Finally the involved integrals are approximated by TR then eq.(23) is solved by Jacobi iterative method to find the solution $S_{1r+1}^{<3>}, S_{2r+1}^{<3>}, \dots, S_{mr+1}^{<3>}$, $r=0, \dots, n-1$.

Remarks:

In our work we consider the case when $\alpha = 0.5$ for this value of α we have the following remarks :

Remark 1:

When $\alpha = 0.5$, then eq.(8) is reduced to the following :

$$D_x^{0.5} S^{<k>}(x) = \frac{2}{h\sqrt{\pi x}} [S_i^{<k>}(0.5x_{i+1} - x) + S_{i+1}^{<k>}(x - 0.5x_i)] , k=1, 2, 3$$

Remark 2 :

Eqs.(13) , (18) and (22) are reduced to the following form respectively

$$(2h + x_r) S_{ir+1}^{<1>} = x_{r+1} S_{ir}^{<1>} + h \sqrt{\pi x_{r+1}} \left[f_{ir+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_i}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<1>} + B_z(t) S_{jz+1}^{<1>}] dt \right]$$

$$(2h + x_r) S_{ir+1}^{<2>} = x_{r+1} S_{ir}^{<2>} + h \sqrt{\pi x_{r+1}} \left[f_{ir+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_i}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_z(t) S_{jz}^{<2>} + B_z(t) S_{jz+1}^{<2>} + C_z(t) \frac{dS_{jz}^{<2>}}{dx}] dt + \sum_{j=1}^m \int_{x_i}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1}, t) [A_r(t) S_{jr}^{<2>} + B_r(t) S_{jr+1}^{<2>} + C_{r+1}(t) \frac{dS_{jr}^{<2>}}{dx}] dt \right]$$

$$(2h+x_r)S_{i,r+1}^{<3>} = x_{r+1}S_{i,r}^{<3>} + h\sqrt{\pi x_{r+1}} \left[f_{i,r+1} + \sum_{j=1}^m \sum_{z=0}^{r-1} \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1},t) [A_z(t)S_{jz}^{<3>} + B_z(t)S_{jz+1}^{<3>} + C_z(t)\frac{dS_{jz}^{<3>}}{dx} + D_z(t)\frac{dS_{jz+1}^{<3>}}{dx}] dt + \sum_{j=1}^m \int_{x_r}^{x_{r+1}} k_{ij}(x_{r+1},t) [A_r(t)S_{jr}^{<3>} + B_r(t)S_{jr+1}^{<3>} + C_{r+1}(t)\frac{dS_{jr}^{<3>}}{dx} + D_r(t)\frac{dS_{jr+1}^{<3>}}{dx}] dt \right]$$

4. The Algorithm (LFIDEV-CLS):

The numerical solution of a system of LFIDEV's using classic spline functions in the interval $[a,b]$ is computed as follows:

INPUT End points a, b , n is the number of points, m is the number of equations, α is order of fractional derivative.

OUTPUT $S_{1,r+1}^{<k>}, S_{2,r+1}^{<k>}, \dots, S_{m,r+1}^{<k>}$ for $r=0, \dots, n-1$, $k=1, 2, 3$

Step 1 Set $h = (b - a) / n$

Step 2 For $i = 1, \dots, m$

Set $S_{i0}^{<k>} = x^{\alpha} \Gamma(-\alpha + 1) f_i(x) \Big|_{x=0}$

$dS_{i0}^{<k>} = k_i$ (in quadratic and cubic cases, $k = 2, 3$)

$dS_{i1}^{<k>} = 2dS_{i0}^{<k>}$ (in cubic case $k = 3$)

Step 3 For $r = 0, \dots, n-1$ do steps (4 – 14)

Step 4 Set $x = a + (r+1)h$

$y = a + rh$

$s = 0$

$ss = 0$

Step 5 For $i = 1, \dots, m$ do steps (6 – 12)

Step 6 For $i = 1, \dots, m$ do steps (7 – 10)

Step 7 Set I_r {approximate value of the integrals in eq.(4.17) by TR}

Step 8 If $i = j$ then set

$a_{ij} = h - \alpha y - h\Gamma(-\alpha + 2)x^{\alpha}I_r$

else set $a_{ij} = h - \alpha y - h\Gamma(-\alpha + 2)x^{\alpha}I_r$

Step 9 Set I_{jr} {approximate value of the second integrals in eqs.(4.18),(4.22)and(4.26)in the case of linear, quadratic and cubic respectively using TR}

$s = s + I_{jr}$

Step 10 For $z = 0, \dots, r-1$ do steps 11

Step 11 Set I_{jz} {approximate value of the first integrals

in eqs.(4.18),(4.22)and(4.26)in the case of linear,quadratic and cubic usingTR}

$$ss = ss + I_{jz}$$

Step 12 Set $b_i = \alpha x S_{ir}^{<k>} + h\Gamma(-\alpha + 2)x^u(f_i(x) + ss + s)$

$$dS_{ir+1}^{<k>} = dS_{ir}^{<k>} \quad (\text{in case quadratic spline } k = 2)$$

$$dS_{ir+2}^{<k>} = 2dS_{ir+1}^{<k>} - dS_{ir}^{<k>} \quad (\text{in case cubic spline } k = 3)$$

Step 13 Solve $AS^{<k>} = B$ by Jacobi iterative method

Step 14 OUTPUT $S_{1r+1}^{<k>}, S_{2r+1}^{<k>}, \dots, S_{mr+1}^{<k>}$

Step 15 STOP

NUMERICAL EXAMPLES

The performance of the proposed method described in this paper will be tested it on two systems of fractional orders with order 0.5.

Example (1):

Consider the following system of LFIDEV's

$$D_x^{0.5} u_1(x) = \frac{2+2x}{\sqrt{\pi x}} - x e^x + \int_0^x e^{x-t} u_2(t) dt$$

$$D_x^{0.5} u_2(x) = \frac{1}{\sqrt{\pi x}} + e^x \operatorname{erf}(\sqrt{x}) - 2x - \frac{x^2}{2} - x^3 - \frac{x^4}{3} + \int_0^x (1+xt) u_1(t) dt$$

which has the exact solution :

$$u_1(x) = 2+x \quad \text{and} \quad u_2(x) = e^x$$

the numerical results are shown in tables (1 – 2).

Example (2):

Consider the system of three equations :

$$D_x^{0.5} u_1(x) = \frac{2+2x}{\sqrt{\pi x}} - 3x - \frac{9x^2}{2} - \frac{x^3}{6} + \int_0^x [x u_1(t) + (t-1)u_2(t)] dt$$

$$D_x^{0.5} u_2(x) = \frac{3-4x}{\sqrt{\pi x}} - \frac{3x^2}{2} + \frac{2x^3}{3} - \frac{x^4}{3} + \int_0^x [t u_2(t) + x t u_3(t)] dt$$

$$D_x^{0.5} u_3(x) = \frac{2x}{\sqrt{\pi x}} - 5x^2 - \frac{3x^3}{2} + \int_0^x [5t u_1(t) + (t-x)u_3(t)] dt$$

with exact solution :

$$u_1(x) = 2+x, \quad u_2(x) = 3-2x \quad \text{and} \quad u_3(x) = x$$

the numerical results for this system are shown in tables (3 – 5).

Here, the comparison between the exact and numerical solution using various orders of classic spline functions (linear, quadratic and cubic)for $u_i(x)$, $i = 1, \dots, m$ for the values $0 \leq x \leq 1$ depending on least square errors with $h = 0.1$.

Least square approach to this problem involves determining the best approximating when the error involved is the sum of the squares of the differences between the numerical solution $S^{<k>}$, $k = 1, 2, 3$ and the exact solution. Hence the least square error [7]:

$$(L.S.E.)u_i = \sum_{j=1}^m (S_i^{<k>}(x_j) - u_i(x_j))^2 \quad k = 1, 2, 3, \quad i = 1, \dots, m$$

Table -1: Numerical results for Example (1) of u_1

x_i	Exact $u_1(x)$	$S_1^{<1>}$	$S_1^{<2>}$	$S_1^{<3>}$
0	2	2	2	2
0.1	2.1	2.1000	2.0998	2.1000
0.2	2.2	2.2001	2.1998	2.2001
0.3	2.3	2.3002	2.3000	2.3003
0.4	2.4	2.4004	2.4004	2.4006
0.5	2.5	2.5004	2.5008	2.5009
0.6	2.6	2.6004	2.6014	2.6013
0.7	2.7	2.7001	2.7018	2.7015
0.8	2.8	2.7994	2.8021	2.8016
0.9	2.9	2.8982	2.9021	2.9014
1	3	2.9961	3.0015	3.0006
(L.S.E.) u_1		1.9628e-005	1.7249e-005	1.0288e-005

Table -2: Numerical results for Example (1) of u_2

x_i	Exact $u_2(x)$	$S_2^{<1>}$	$S_2^{<2>}$	$S_2^{<3>}$
0	1	1	1	1
0.1	1.1052	1.1069	1.1098	1.1075
0.2	1.2214	1.2239	1.2285	1.2254
0.3	1.3499	1.3519	1.3579	1.3546
0.4	1.4918	1.4920	1.4992	1.4961
0.5	1.6487	1.6452	1.6537	1.6512
0.6	1.8221	1.8129	1.8228	1.8211
0.7	2.0138	1.9964	2.0077	2.0073
0.8	2.2255	2.1972	2.2101	2.2114
0.9	2.4596	2.4169	2.4317	2.4352
1	2.7183	2.6574	2.6742	2.6804
(L.S.E.) u_2		0.00674	0.00322	0.00234

Table- 3: Numerical results for Example (2) of u_1

x_i	Exact $u_1(x)$	$S_1^{<1>}$	$S_1^{<2>}$	$S_1^{<3>}$
0	2	2	2	2
0.1	2.1	2.0999	2.0993	2.0993
0.2	2.2	2.1998	2.1989	2.1984
0.3	2.3	2.2996	2.2985	2.2974
0.4	2.4	2.3994	2.3982	2.3963
0.5	2.5	2.4991	2.4978	2.4952
0.6	2.6	2.5989	2.5974	2.5942
0.7	2.7	2.6985	2.6970	2.6932
0.8	2.8	2.7982	2.7966	2.7922
0.9	2.9	2.8978	2.8961	2.8913
1	3	2.9973	2.9955	2.9905
(L.S.E.) u_1		2.0133e-005	7.4178e-005	3.5325e-004

Table -4: Numerical results for Example (2) of u_2

x_i	Exact $u_2(x)$	$S_2^{<1>}$	$S_2^{<2>}$	$S_2^{<3>}$
0	3	3	3	3
0.1	2.8	2.7999	2.7999	2.7999
0.2	2.6	2.5998	2.5998	2.5999
0.3	2.4	2.3996	2.3998	2.3999
0.4	2.2	2.1995	2.1997	2.2000
0.5	2.0	1.9993	1.9997	2.0002
0.6	1.8	1.7991	1.7997	1.8004
0.7	1.6	1.5990	1.5997	1.6006
0.8	1.4	1.3989	1.3998	1.4008
0.9	1.2	1.1989	1.1999	1.2009
1	1	0.9990	1.0001	1.0008
(L.S.E.) u_2		6.0814e-006	5.7792e-007	2.5690e-006

Table -5: Numerical results for Example (2) of u_3

x_i	Exact $u_3(x)$	$S_3^{<1>}$	$S_3^{<2>}$	$S_3^{<3>}$
0	0	0	0	0
0.1	0.1	0.1003	0.1003	0.1003
0.2	0.2	0.2007	0.2007	0.2008
0.3	0.3	0.3012	0.3012	0.3014
0.4	0.4	0.4018	0.4017	0.4020
0.5	0.5	0.5025	0.5022	0.5026
0.6	0.6	0.6032	0.6026	0.6030
0.7	0.7	0.7038	0.7030	0.7032
0.8	0.8	0.8045	0.8033	0.8031
0.9	0.9	0.9050	0.9035	0.9027
1	1	1.0055	1.0034	1.0018
(L.S.E.) u_3		1.1159e-004	6.0035e-005	5.2077e-005

The numerical results of classic spline functions of different orders for solving a system of LFIDEV's indicates that this method is appropriate one for solving such systems.

The relationship between varying orders of classic spline functions was established and shown in tables. For the comparison of computing accuracy, the least square errors were given in tabular form, from which we conclude:

The classic spline functions can be used to improve the efficiency and to give numerical solution is very close to the exact solution.

REFERENCES

1. Boyadjiev, L. ; Dobner, H. J. and Kalla, S. L. ; "A Fractional Integro- Differential Equation of Volterra Type"; Math. Compute. Modeling Vol. 28, No.10, 103-113, (1998).
2. El-Sayed, A. M. and El-Mesiry, A. E. ; "Numerical Solution for Multi-term Fractional (arbitrary) Orders Differential Equations"; Mat. Apl. Compute, Vol. 23, No. 1 Petropolis, (2004).
3. Kilbas, A.; "Solution of Volterra Integro-Differential Equations with Generalized Mittag-Leffler Function in the Kernels"; Journal of Integral Equations and Applications, Vol. 14, No. 4, Winter (2002).
4. Gerald, C. F. and Wheatley, P. O. ; "Applied Numerical Analysis" ; Addison Wesley publishing, Inc. , (1984).
5. Oldham, K. B. and Spanier, J. ; "The Fractional Calculus"; Academic Press. Inc., (1974).
6. Al-Shather, A.H.; "Approximate and Variational Approaches for Solving Fractional Order Multiple Delay Integro-Differential Equations"; Ph.D. Thesis, University of Al-Nahrain, (2004).
7. Burden, R. L. and Faires, J. D. ; "Numerical Analysis"; 7th edition, wads worth group books, (2001).
8. Mostafa, M. M. ; "Numerical Algorithms Fdr Treating System of Volterra Integral Equations Using Splin Functions"; Ph. D. thesis , University of Al-Mustansiriya, (2004).
9. Al-Rahhal, D.M. ; "Numerical Solution for Fractional Integral Equations"; Ph.D. Thesis, University of Baghdad, (2005).
10. Ortigueira, M.D. ; "Introduction to Fractional Linear Systems" ; IEEE. Proceedings Vision, Image and Signal Processing, Vol. 147, No. 1, February (2000).

Document Fingerprinting Using Secure Hash Algorithm-1 (SHA-1)

Mouiad A. Hani

Thi Qar University-College of Education, Department of Computer Science

Received 3/6/2007 – Accepted 25/2/2008

الخلاصة

في بناء الأنظمة الأمنية، تستخدم العديد من الطرق في الحصول على بصمة الصورة، الملف، شبكية عين الإنسان، صوت الإنسان... الخ. في هذه الدراسة تم تقديم طريقة لإيجاد بصمة الوثيقة النصية حيث تم استخلاص بصمة الوثيقة النصية باستخدام خوارزمية المزج الأمانة والتي لها القدرة على إنتاج بصمة وثيقة بطول 160 بت لأي وثيقة نصية بطول لا يتجاوز 2^{64} بت حيث بنيت الخوارزمية وفق مبدأ التشفير الكتلي كنظام تشفير البيانات القياسي. قمنا بتوضيح الخوارزمية بالتفصيل وبعد ذلك بينا استخدام تلك الخوارزمية لاستخلاص البصمات من الوثائق النصية.

ABSTRACT

In building security systems, many methods are used to get the fingerprint of an image, a file, a man retina, a man voice etc. In this study, an approach to find the fingerprint of text-based documents is presented when the fingerprint is extracted from the document using Secure Hash Algorithm-1 (*SHA-1*) which is capable of producing 160-bit fingerprint for documents of any length $< 2^{64}$ bits. This algorithm is constructed out of the block cipher like *DES* (Data Encryption Standard). We clarify *SHA-1* algorithm in detail and then present the results of using this algorithm to extract the fingerprints out of the documents.

INTRODUCTION

Nearly, all the major cryptographic protocols depend on the security of hash functions [1, 2], because of the strength of these hash functions and their applicability within the cryptographic systems [2, 3]. Hash functions have been used in many applications as in the digital signature authentication and when the sender runs the document through the hash function algorithm, which appends the resulting unique, fixed-length fingerprint to the document. The document recipient passes the document portion again through the hash algorithm and compares the resulting fingerprint against the fingerprint appended to the original document. These fingerprints must match to ensure that there was no unintentional change or malicious tampering to the document during transmission [4, 5], as in the figure (1).

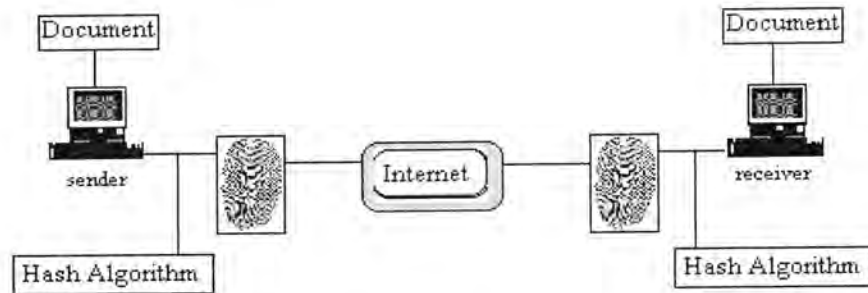


Figure -1: Using hash algorithm in transmission privacy.

Previous Work

Kwangio Kim, Hwaam Dong and Yusong-Ku [6] have used SHA-1 algorithm in Internet voting in a system called "Votopia" when they employed the algorithm in Schnorr signature along with ElGamal public key cryptosystem. P. Cheng and R. Glenn [7] suggested using SHA-1 algorithm as a HMAC (hash message authentication code) in IPsec (Internet Protocol Security) system. E. K. Rescorla [11] has specified a method for Diffie-Hellman (DH) key agreement in which SHA-1 is used as pseudo-random function to compute key encryption keys for the DH shared secret.

Kwangio Kim, Hwaam Dong and Yusong-Ku [6] have used SHA-1 algorithm in Internet voting in a system called "Votopia" when they employed the algorithm in Schnorr signature along with ElGamal public key cryptosystem. P. Cheng and R. Glenn [7] suggested using SHA-1 algorithm as a HMAC (hash message authentication code) in IPsec (Internet Protocol Security) system. E. K. Rescorla [11] has specified a method for Diffie-Hellman (DH) key agreement in which SHA-1 is used as pseudo-random function to compute key encryption keys for the DH shared secret.

Background

1.1. Hash Functions

A hash function h is a transformation that takes as input $m \in M$ and returns a fixed-size string $Z=h(m)$, as in figure (2), which is called hash value [6, 7].

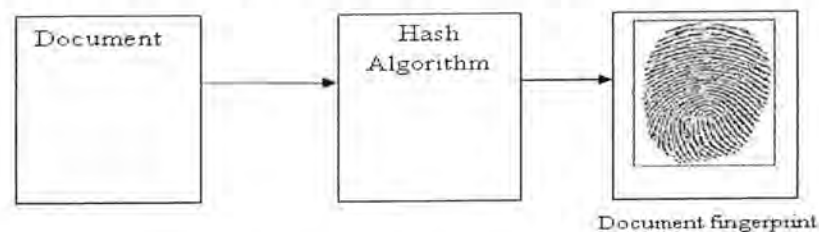


Figure -2: A fixed-length document fingerprint

Hash function must have the following properties [2, 8]:

- * The input can be of any length.
- * The output has a fixed length.
- * $h(x)$ is relatively easy to compute for any given x .
- * $h(x)$ is *one-way*.
- * $h(x)$ is collision-free (collision resistant).
- * **Preimage resistance:** Given an input value y , it is computationally infeasible to find $h(x)=y$ [2, 7].

A hash function is said to be *one-way* if it computationally infeasible to find some input x such that:

$$h(x)=z \text{ and } h(z)=x$$

A collision-free hash function h is *one-way* for which it is computationally infeasible to find any two messages x and y , $x \neq y$ such that [4, 10]:

$$h(x)=h(y)$$

The hash value represents concisely the longer message or document for which it was captured. This value is called the message digest or document fingerprint [3, 10].

Hash functions produce output of fixed-length bits. The probability of finding a document that corresponds to a given fingerprint is $2^{\text{hash value}}$. However, the probability of two documents with the same fingerprint is theoretically $2^{\text{hash value}/2}$ [2, 5].

2. Uses of Hash Functions

Hash functions are used for many different purposes. In this section, the major uses of hash functions will be outlined:

2.1. Digital Signature

The output of cryptographic hash functions were originally used as input for digital signatures. Algorithms such as **RSA** (Rivest-Shamir-Adleman) are too expensive to be applied directly to each input block of almost any real message. Instead, the message is securely compressed using a hash function; the resulting "fingerprint" will be the input to the digital signature algorithm [5, 9].

An enemy thus has two ways (instead of one) to attack a digital signature algorithm: either the algorithm itself can be analyzed (i.e., by factoring *RSA* modulus), or the hash function can be abused [6].

2.2. Message Authentication Codes

Hash functions are also used for high-speed message authentication between parties who share a common secret key. There are a number of ways in which this can be done; the most common is to use the *HMAC* framework [5, 8].

$$H(K \oplus opad, H(K \oplus ipad, M))$$

Where H is the hash function, K is the shared secret key and M is the message to be authenticated. Note that the double application of H and the double occurrence of K helps prevent many attacks; the enemy does not know and can not control what the inputs are to the outer hash [6].

2.3. Pseudo-Random Functions

Hash functions are often used as pseudo-random functions. That is, they provide a deterministic mechanism for generating random-seeming bit streams from some input source without disclosing any information about the input. A typical use is generating cipher keying material after a Diffie-Hellman exchange [2, 11].

2.4. Data Fingerprinting

Hash function can be used to produce fingerprints of files or messages. Sometimes, instead of digitally signing these fingerprints, the values are stored separately from the data. This permits later detection of changes to the original data. This has been used in many systems where critical system files are fingerprinted; at intervals thereafter, the stored fingerprints are compared to values newly-calculated on the running system. Any change to a file will cause its fingerprint to change [5, 7].

Secure Hash Algorithm (SHA-1):-

The following terminology related to the algorithm and its operations and variables will be used:

$\oplus$: Bitwise **exclusive-or** operation.

$+$: Addition modulo 2^{32} .

$\text{ROTL}^n(X)$: Rotate left (circular left shift) the word X by n bits.

W_t : The t^{th} 32-bit word of the document.

$\wedge$: Bitwise **And** operation.

$\neg$: Bitwise **Not** operation.

$$\begin{array}{lcl}
 t \leq 19 & \left\{ \begin{array}{l} \text{Ch}(X,Y,Z) = (X \wedge Y) \oplus (\neg X \wedge Z) \\ \text{Parity}(X,Y,Z) = X \oplus Y \oplus Z \\ \text{Maj}(X,Y,Z) = (X \wedge Y) \oplus (X \wedge Z) \oplus (Y \wedge Z) \end{array} \right. & \begin{array}{l} 0 \leq \\ 20 \leq \\ 40 \leq \end{array} \\
 t \leq 39 & & \\
 F_1 = & & \\
 t \leq 59 & & \\
 & \text{Parity}(X,Y,Z) = X \oplus Y \oplus Z & 60 \leq \\
 t \leq 79 & &
 \end{array}$$

1. Document Padding: Let the document D having a length of L bits, we append bit '1' followed by k zero bits to the end of document D where k is the smallest non-negative solution to the equation :

$$L + 1 + k = 448 \bmod 512.$$

Then, append the 64-bit block that is equal to the number L expressed in Binary, for example (8-bit ASCII) document "abc" has the length $8 \times 3 = 24$, so the Document is padded with '1' bit, then $448 - (24 + 1) = 423$ zero bits, and then the document length is become multiple of 512-bit block(s).

2. Parsing the document: The padded document is parsed into N 512-bit blocks: $D^{(1)}, D^{(2)}, \dots, D^{(N)}$. Each 512-bit block is expressed as (16) 32-bit words

$$D_0^{(i)}, D_1^{(i)}, \dots, D_N^{(i)}$$

3. Setting the initial hash values: Five 32-bits words are initialized in Hexadecimal as follows:

$$H_0^{(0)} = 67452301$$

$$H_1^{(0)} = efcdab89$$

$$H_2^{(0)} = 98badcfe$$

$$H_3^{(0)} = 1234567$$

$$H_4^{(0)} = c3d2e1f0$$

4. Each document's block $D^{(1)}, D^{(2)}, \dots, D^{(N)}$ is processed as follows:

For $i = 1$ to N :

I. Prepare the document schedule, $\{W_t\}$, where:

$$W_t = \begin{cases} D_t^{(i)} & 0 \leq t \leq 15 \\ \text{ROTL}^1(W_{t-3} \oplus W_{t-8} \oplus W_{t-14} \oplus W_{t-16}) & 16 \leq t \leq 79 \end{cases}$$

II. Initialize the five working variables, a , b , c , d , and e , with $(i-1)^{\text{th}}$ hash value:

$$\begin{aligned} a &= H_0^{(i-1)} \\ b &= H_1^{(i-1)} \\ c &= H_2^{(i-1)} \\ d &= H_3^{(i-1)} \\ e &= H_4^{(i-1)} \end{aligned}$$

III. For $t=0$ to 79

Begin

$$\begin{aligned} T &= \text{ROTL}^5(a) + F_t(b, c, d) + e + K_t + W_t \\ e &= d \\ d &= c \\ c &= \text{ROTL}^{30}(b) \\ b &= a \\ a &= T \end{aligned}$$

End

IV. Compute the i^{th} intermediate hash value $H^{(i)}$:

$$\begin{aligned} H_0^{(i)} &= a + H_0^{(i-1)} \\ H_1^{(i)} &= b + H_1^{(i-1)} \\ H_2^{(i)} &= c + H_2^{(i-1)} \\ H_3^{(i)} &= d + H_3^{(i-1)} \\ H_4^{(i)} &= e + H_4^{(i-1)} \end{aligned}$$

After repeating steps (I through IV) N times (i.e., after processing the whole document $D^{(N)}$), the resulting **160-bit** document fingerprint of the document D , is calculated by concatenating the final hash values $H_0^{(N)}, \dots, H_4^{(N)}$:

$$H_0^{(N)} \parallel H_1^{(N)} \parallel H_2^{(N)} \parallel H_3^{(N)} \parallel H_4^{(N)}$$

3. Implementation and Results

We have implemented SHA-1 algorithm in language C++ and many samples of documents of varying length have been submitted to it. In this concern, we have presented the results of

the algorithm implementation on three different-length documents and show the results as follows:

One-Block Document:-

Let the document D , be the 24-bit ($l=24$) ASCII string "abc", which is equivalent to the following binary string:

011000010110001001100011.

The document is padded by appending a "1" bit, followed by 423 "0" bits, and ending with the hex value 0000000000000018 (the two 32-bit word representation of the length, 24). Thus, the final padded document consists of one block ($N=1$).

The initial hash value:

$$H_0^{(0)} = 67452301$$

$$H_1^{(0)} = \text{efcdab89}$$

$$H_2^{(0)} = 98badcfe$$

$$H_3^{(0)} = 10325476$$

$$H_4^{(0)} = c3d2e1f0$$

The words of the padded document block are then assigned to the words $W_0, \dots, W_{15}$ of the document schedule:

$$W_0 = 61626380$$

$$W_8 = 00000000$$

$$W_1 = 00000000$$

$$W_9 = 00000000$$

$$W_2 = 00000000$$

$$W_{10} = 00000000$$

$$W_3 = 00000000$$

$$W_{11} = 00000000$$

$$W_4 = 00000000$$

$$W_{12} = 00000000$$

$$W_5 = 00000000$$

$$W_{13} = 00000000$$

$$W_6 = 00000000$$

$$W_{14} = 00000000$$

$$W_7 = 00000000$$

$$W_{15} = 00000018.$$

The following schedule shows the hex values for a , b , c , d , and e after pass t of the "for $t=0$ to 79" loop described in step (III) of the algorithm.

Table -1: one-block round of one block document of SHA-1.

t	a	b	c	d	e
$t=0$:	0116fc33	67452301	7bf36ae2	98badcfe	10325476
$t=1$:	8990536d	0116fc33	59d148c0	7bf36ae2	98badcfe
$t=2$:	a1390f08	8990536d	c045bf0c	59d148c0	7bf36ae2
$t=3$:	cdd8e11b	a1390f08	626414db	c045bf0c	59d148c0
$t=4$:	cf499de	cdd8e11b	284e43c2	626414db	c045bf0c
$t=5$:	3fc7ca40	cf499de	f3763846	284e43c2	626414db
$t=6$:	993e30c1	3fc7ca40	b3f52677	f3763846	284e43c2
$t=7$:	9e8c07d4	993e30c1	0ff1f290	b3f52677	f3763846
$t=8$:	4b6ae328	9e8c07d4	664f8c30	0ff1f290	b3f52677
$t=9$:	8351f929	4b6ae328	27a301f5	664f8c30	0ff1f290
$t=10$:	fbda9e89	8351f929	12dab8ca	27a301f5	664f8c30
$t=11$:	63188fe4	fbda9e89	60d47e4a	12dab8ca	27a301f5
$t=12$:	4607b664	63188fe4	7ef6a7a2	60d47e4a	12dab8ca
$t=13$:	9128f695	4607b664	18c623f9	7ef6a7a2	60d47e4a
$t=14$:	196bee77	9128f695	1181ed99	18c623f9	7ef6a7a2
$t=15$:	20bdd62f	196bee77	644a3da5	1181ed99	18c623f9
$t=16$:	4e925823	20bdd62f	c65afb9d	644a3da5	1181ed99
$t=17$:	82aa6728	4e925823	c82f758b	c65afb9d	644a3da5
$t=18$:	dc64901d	82aa6728	d3a49608	c82f758b	c65afb9d
$t=19$:	fd9e1d7d	dc64901d	20aa99ca	d3a49608	c82f758b
$t=20$:	1a37b0ca	fd9e1d7d	77192407	20aa99ca	d3a49608
$t=21$:	33a23bfc	1a37b0ca	7f67875f	77192407	20aa99ca
$t=22$:	21283486	33a23bfc	868dec32	7f67875f	77192407
$t=23$:	d541f12d	21283486	0ce88eff	868dec32	7f67875f
$t=24$:	c7567dc6	d541f12d	884a0d21	0ce88eff	868dec32
$t=25$:	48413ba4	c7567dc6	75507c4b	884a0d21	0ce88eff
$t=26$:	be35fbd5	48413ba4	b1d59f71	75507c4b	884a0d21
$t=27$:	4aa84d97	be35fbd5	12104ee9	b1d59f71	75507c4b
$t=28$:	8370b52e	4aa84d97	6f8d7ef5	12104ee9	b1d59f71
$t=29$:	c5fbaf5d	8370b52e	d2aa1365	6f8d7ef5	12104ee9
$t=30$:	1267b407	c5fbaf5d	a0dc2d4b	d2aa1365	6f8d7ef5
$t=31$:	3b845d33	1267b407	717eebd7	a0dc2d4b	d2aa1365
$t=32$:	046faa0a	3b845d33	c499ed01	717eebd7	a0dc2d4b
$t=33$:	2c0ebc11	046faa0a	cee1174c	c499ed01	717eebd7
$t=34$:	21796ad4	2c0ebc11	811bea82	cee1174c	c499ed01
$t=35$:	dcbbb0cb	21796ad4	4b03af04	811bea82	cee1174c
$t=36$:	0f511fd8	dcbbb0cb	085e5ab5	4b03af04	811bea82
$t=37$:	dc63973f	0f511fd8	f72eec32	085e5ab5	4b03af04
$t=38$:	4c986405	dc63973f	03d447f6	f72eec32	085e5ab5
$t=39$:	32de1cba	4c986405	f718e5cf	03d447f6	f72eec32
$t=40$:	fc87dedf	32de1cba	53261901	f718e5cf	03d447f6
$t=41$:	970a0d5c	fc87dedf	8cb7872e	53261901	f718e5cf
$t=42$:	7f193dc5	970a0d5c	ff21f7b7	8cb7872e	53261901
$t=43$:	ee1blaaf	7f193dc5	25c28357	ff21f7b7	8cb7872e
$t=44$:	40f28e09	ee1blaaf	5fc64f71	25c28357	ff21f7b7
$t=45$:	1c51e1f2	40f28e09	fb86c6ab	5fc64f71	25c28357
$t=46$:	a01b846c	1c51e1f2	503ca382	fb86c6ab	5fc64f71
$t=47$:	bead02ca	a01b846c	8714787c	503ca382	fb86c6ab
$t=48$:	baf39337	bead02ca	2806e11b	8714787c	503ca382
$t=49$:	120731c5	baf39337	afab40b2	2806e11b	8714787c
$t=50$:	641db2ce	120731c5	eebce4cd	afab40b2	2806e11b
$t=51$:	3847ad66	641db2ce	4481cc71	eebce4cd	afab40b2
$t=52$:	e490436d	3847ad66	99076cb3	4481cc71	eebce4cd
$t=53$:	27e9f1d8	e490436d	8e11eb59	99076cb3	4481cc71
$t=54$:	7b71f76d	27e9f1d8	792410db	8e11eb59	99076cb3

$i=55$:	5e6456af	7b71f76d	09fa7c76	792410db	8e11eb59
$i=56$:	c846093f	5e6456af	5edc7ddb	09fa7c76	792410db
$i=57$:	d262ff50	c846093f	d79915ab	5edc7ddb	09fa7c76
$i=58$:	09d785fd	d262ff50	f211824f	d79915ab	5edc7ddb
$i=59$:	3f52de5a	09d785fd	3498bfd4	f211824f	d79915ab
$i=60$:	d756c147	3f52de5a	4275e17f	3498bfd4	f211824f
$i=61$:	548c9cb2	d756c147	8fd4b796	4275e17f	3498bfd4
$i=62$:	b66c020b	548c9cb2	f5d5b051	8fd4b796	4275e17f
$i=63$:	6b61c9e1	b66c020b	9523272c	f5d5b051	8fd4b796
$i=64$:	19dfa7ac	6b61c9e1	ed9b0082	9523272c	f5d5b051
$i=65$:	101655f9	19dfa7ac	5ad87278	ed9b0082	9523272c
$i=66$:	0c3df2b4	101655f9	0677e9eb	5ad87278	ed9b0082
$i=67$:	78dd4d2b	0c3df2b4	4405957e	0677e9eb	5ad87278
$i=68$:	497093c0	78dd4d2b	030f7cad	4405957e	0677e9eb
$i=69$:	3f2588c2	497093c0	de37534a	030f7cad	4405957e
$i=70$:	c199f8c7	3f2588c2	125c24f0	de37534a	030f7cad
$i=71$:	39859de7	c199f8c7	8fc96230	125c24f0	de37534a
$i=72$:	edb42de4	39859de7	f0667e31	8fc96230	125c24f0
$i=73$:	11793f6f	edb42de4	ce616779	f0667e31	8fc96230
$i=74$:	5ee76897	11793f6f	3b6d0b79	ce616779	f0667e31
$i=75$:	63f7dab7	5ee76897	c45e4fdb	3b6d0b79	ce616779
$i=76$:	a079b7d9	63f7dab7	d7b9da25	c45e4fdb	3b6d0b79
$i=77$:	860d21cc	a079b7d9	d8fdf6ad	d7b9da25	c45e4fdb
$i=78$:	5738d5e1	860d21cc	681e6df6	d8fdf6ad	d7b9da25
$i=79$:	42541b35	5738d5e1	21834873	681e6df6	d8fdf6ad

That completes the processing of the first and only document block $D^{(1)}$. The final hash value $H^{(1)}$, is calculated to be:

$$\begin{aligned}
 H_0^{(1)} &= 67452301 + 42541b35 = a9993e36 \\
 H_1^{(1)} &= efcdab89 + 5738d5e1 = 4706816a \\
 H_2^{(1)} &= 98badcfe + 21834873 = ba3e2571 \\
 H_3^{(1)} &= 10325476 + 681e6df6 = 7850c26c \\
 H_4^{(1)} &= c3d2e1f0 + d8fdf6ad = 9cd0d89d.
 \end{aligned}$$

The resulting 160-bit document fingerprint is:

$$a9993e36 \ 4706816a \ ba3e2571 \ 7850c26c \ 9cd0d89d.$$

Multi-Block Document:-

Let the document, **D**, contains the 448-bit ($L=448$) ASCII string "abcbdbcdcedefdefgfgfghfghighijhijkijklklmklmnlmnomnopnoppq".

The document is padded by appending a "1" bit, followed by 511 "0" bits, and ending with the hex value 00000000 000001c0 (the two 32-bit word representation of the length, 448). Thus, the final padded document consists of two blocks ($N=2$).

The initial hash value:

$$\begin{aligned}
 H_0^{(0)} &= 67452301 \\
 H_1^{(0)} &= efcdab89 \\
 H_2^{(0)} &= 98badcfe \\
 H_3^{(0)} &= 10325476
 \end{aligned}$$

$$H_4^{(0)} = c3d2e1f0$$

The words of the first padded document block, $D^{(1)}$, are then assigned to the words $W_0, \dots, W_{15}$ of the document schedule:

$$\begin{aligned} W_0 &= 61626364 & W_8 &= 696a6b6c \\ W_1 &= 62636465 & W_9 &= 6a6b6c6d \\ W_2 &= 63646566 & W_{10} &= 6b6c6d6e \\ W_3 &= 64656667 & W_{11} &= 6c6d6e6f \\ W_4 &= 65666768 & W_{12} &= 6d6e6f70 \\ W_5 &= 66676869 & W_{13} &= 6e6f7071 \\ W_6 &= 6768696a & W_{14} &= 80000000 \\ W_7 &= 68696a6b & W_{15} &= 00000000. \end{aligned}$$

The following schedule shows the hex values for a , b , c , d , and e after pass t of the “for $t=0$ to 79” loop described in step (III) of the algorithm.

Table -2: The first round of multiple-block document.

t	a	b	c	d	e
$t=0$:	0116fc17	67452301	7bf36ae2	98badcfe	10325476
$t=1$:	ebf3b452	0116fc17	59d148c0	7bf36ae2	98badcfe
$t=2$:	5109913a	ebf3b452	c045bf05	59d148c0	7bf36ae2
$t=3$:	2c4f6eac	5109913a	bafced14	c045bf05	59d148c0
$t=4$:	33f4ae5b	2c4f6eac	9442644e	bafced14	c045bf05
$t=5$:	96b85189	33f4ae5b	0b13dbab	9442644e	bafced14
$t=6$:	db04cb58	96b85189	ccfd2b96	0b13dbab	9442644e
$t=7$:	45833f0f	db04cb58	65ae1462	ccfd2b96	0b13dbab
$t=8$:	c565c35e	45833f0f	36c132d6	65ae1462	ccfd2b96
$t=9$:	6350afda	c565c35e	d160cfc3	36c132d6	65ae1462
$t=10$:	8993ea77	6350afda	b15970d7	d160cfc3	36c132d6
$t=11$:	e19ecaa2	8993ea77	98d42bf6	b15970d7	d160cfc3
$t=12$:	8603481e	e19ecaa2	e264fa9d	98d42bf6	b15970d7
$t=13$:	32f94a85	8603481e	b867b2a8	e264fa9d	98d42bf6
$t=14$:	b2e7a8be	32f94a85	a180d207	b867b2a8	e264fa9d
$t=15$:	42637e39	b2e7a8be	4cbe52a1	a180d207	b867b2a8
$t=16$:	6b068048	42637e39	acb9ea2f	4cbe52a1	a180d207
$t=17$:	426b9c35	6b068048	5098df8e	acb9ea2f	4cbe52a1
$t=18$:	944b1bd1	426b9c35	1ac1a012	5098df8e	acb9ea2f
$t=19$:	6c445652	944b1bd1	509ae70d	1ac1a012	5098df8e
$t=20$:	95836da5	6c445652	6512c6f4	509ae70d	1ac1a012
$t=21$:	09511177	95836da5	9b111594	6512c6f4	509ae70d
$t=22$:	e2b92dc4	09511177	6560db69	9b111594	6512c6f4
$t=23$:	fd224575	e2b92dc4	c254445d	6560db69	9b111594
$t=24$:	eeb82d9a	fd224575	38ae4b71	c254445d	6560db69
$t=25$:	5a142c1a	eeb82d9a	7f48915d	38ae4b71	c254445d
$t=26$:	2972f7c7	5a142c1a	bbae0b66	7f48915d	38ae4b71
$t=27$:	d526a644	2972f7c7	96850b06	bbae0b66	7f48915d
$t=28$:	e1122421	d526a644	ca5cbdf1	96850b06	bbae0b66
$t=29$:	05b457b2	e1122421	3549a991	ca5cbdf1	96850b06
$t=30$:	a9c84bec	05b457b2	78448908	3549a991	ca5cbdf1
$t=31$:	52e31f60	a9c84bec	816d15ec	78448908	3549a991
$t=32$:	5af3242c	52e31f60	2a7212fb	816d15ec	78448908
$t=33$:	31c756a9	5af3242c	14b8c7d8	2a7212fb	816d15ec
$t=34$:	e9ac987c	31c756a9	16bcc90b	14b8c7d8	2a7212fb
$t=35$:	ab7c32ee	e9ac987c	4c71d5aa	16bcc90b	14b8c7d8

$t=36$:	5933fc99	ab7c32ee	3a6b261f	4c71d5aa	16bcc90b
$t=37$:	43f87ae9	5933fc99	aadf0cbb	3a6b261f	4c71d5aa
$t=38$:	24957f22	43f87ae9	564cff26	aadf0cbb	3a6b261f
$t=39$:	adeb7478	24957f22	50fe1eba	564cff26	aadf0cbb
$t=40$:	d70e5010	adeb7478	89255fc8	50fe1eba	564cff26
$t=41$:	79bcfb08	d70e5010	2b7add1e	89255fc8	50fe1eba
$t=42$:	f9bcb8de	79bcfb08	35c39404	2b7add1e	89255fc8
$t=43$:	633e9561	f9bcb8de	1e6f3ec2	35c39404	2b7add1e
$t=44$:	98c1ea64	633e9561	be6f2e37	1e6f3ec2	35c39404
$t=45$:	c6ea241e	98c1ea64	58cfa558	be6f2e37	1e6f3ec2
$t=46$:	a2ad4f02	c6ea241e	26307a99	58cfa558	be6f2e37
$t=47$:	c8a69090	a2ad4f02	b1ba8907	26307a99	58cfa558
$t=48$:	88341600	c8a69090	a8ab53c0	b1ba8907	26307a99
$t=49$:	7e846f58	88341600	3229a424	a8ab53c0	b1ba8907
$t=50$:	86e358ba	7e846f58	220d0580	3229a424	a8ab53c0
$t=51$:	8d2e76c8	86e358ba	1fa11bd6	220d0580	3229a424
$t=52$:	ce892e10	8d2e76c8	a1b8d62e	1fa11bd6	220d0580
$t=53$:	edea95b1	ce892e10	234b9db2	a1b8d62e	1fa11bd6
$t=54$:	36d1230a	edea95b1	33a24b84	234b9db2	a1b8d62e
$t=55$:	776c3910	36d1230a	7b7aa56c	33a24b84	234b9db2
$t=56$:	a681b723	776c3910	8db448c2	7b7aa56c	33a24b84
$t=57$:	ac0a794f	a681b723	1ddb0e44	8db448c2	7b7aa56c
$t=58$:	f03d3782	ac0a794f	e9a06dc8	1ddb0e44	8db448c2
$t=59$:	9ef775c3	f03d3782	eb029e53	e9a06dc8	1ddb0e44
$t=60$:	36254b13	9ef775c3	bc0f4de0	eb029e53	e9a06dc8
$t=61$:	4080d4dc	36254b13	e7bddd70	bc0f4de0	eb029e53
$t=62$:	2bfaf7a8	4080d4dc	cd8952c4	e7bddd70	bc0f4de0
$t=63$:	513f9ca0	2bfaf7a8	10203537	cd8952c4	e7bddd70
$t=64$:	e5895c81	513f9ca0	0afebdea	10203537	cd8952c4
$t=65$:	1037d2d5	e5895c81	144fe728	0afebdea	10203537
$t=66$:	14a82da9	1037d2d5	79625720	144fe728	0afebdea
$t=67$:	6d17c9fd	14a82da9	440df4b5	79625720	144fe728
$t=68$:	2c7b07bd	6d17c9fd	452a0b6a	440df4b5	79625720
$t=69$:	fdf6efff	2c7b07bd	5b45f27f	452a0b6a	440df4b5
$t=70$:	112b96e3	fdf6efff	4bleclef	5b45f27f	452a0b6a
$t=71$:	84065712	112b96e3	ff7dbbfff	4bleclef	5b45f27f
$t=72$:	ab89fb71	84065712	c44ae5b8	ff7dbbfff	4bleclef
$t=73$:	c5210e35	ab89fb71	a10195c4	c44ae5b8	ff7dbbfff
$t=74$:	352d9f4b	c5210e35	6ae27edc	a10195c4	c44ae5b8
$t=75$:	1a0e0e0a	352d9f4b	7148438d	6ae27edc	a10195c4
$t=76$:	d0d47349	1a0e0e0a	cd4b67d2	7148438d	6ae27edc
$t=77$:	ad38620d	d0d47349	86838382	cd4b67d2	7148438d
$t=78$:	d3ad7c25	ad38620d	74351cd2	86838382	cd4b67d2
$t=79$:	8ce34517	d3ad7c25	6b4e1883	74351cd2	86838382

That completes the processing of the first Document block $D^{(1)}$. The first intermediate hash value $H^{(1)}$, is calculated to be:

$$\begin{aligned}
 H_0^{(1)} &= 67452301 + 8ce34517 = f4286818 \\
 H_1^{(1)} &= efcdab89 + d3ad7c25 = c37b27ae \\
 H_2^{(1)} &= 98badcfe + 6b4e1883 = 0408f581 \\
 H_3^{(1)} &= 10325476 + 74351cd2 = 84677148 \\
 H_4^{(1)} &= c3d2e1f0 + 86838382 = 4a566572.
 \end{aligned}$$

The words of the *second* padded document block $D^{(2)}$, are then assigned to the words W_0 – W_{15} of the document schedule:

$$\begin{aligned}
 W_0 &= 00000000 & W_8 &= 00000000 \\
 W_1 &= 00000000 & W_9 &= 00000000 \\
 W_2 &= 00000000 & W_{10} &= 00000000 \\
 W_3 &= 00000000 & W_{11} &= 00000000 \\
 W_4 &= 00000000 & W_{12} &= 00000000 \\
 W_5 &= 00000000 & W_{13} &= 00000000 \\
 W_6 &= 00000000 & W_{14} &= 00000000 \\
 W_7 &= 00000000 & W_{15} &= 000001c0.
 \end{aligned}$$

The following schedule shows the hex values for a , b , c , d , and e after pass t of the “for $t = 0$ to 79” loop described in step (III) of the algorithm.

Table -3:. The second round of multiple-block document.

t	a	b	c	d	e
$t = 0$:	2df257e9	f4286818	b0dec9eb	0408f581	84677148
$t = 1$:	4d3dc58f	2df257e9	3d0a1a06	b0dec9eb	0408f581
$t = 2$:	c352bb05	4d3dc58f	4b7c95fa	3d0a1a06	b0dec9eb
$t = 3$:	eef743c6	c352bb05	d34f7163	4b7c95fa	3d0a1a06
$t = 4$:	41e34277	eef743c6	70d4aec1	d34f7163	4b7c95fa
$t = 5$:	5443915c	41e34277	bbbdd0f1	70d4aec1	d34f7163
$t = 6$:	e7fa0377	5443915c	d078d09d	bbbdd0f1	70d4aec1
$t = 7$:	c6946813	e7fa0377	1510e457	d078d09d	bbbdd0f1
$t = 8$:	fdde1de1	c6946813	f9fe80dd	1510e457	d078d09d
$t = 9$:	b8538aca	fdde1de1	f1a51a04	f9fe80dd	1510e457
$t = 10$:	6ba94f63	b8538aca	7f778778	f1a51a04	f9fe80dd
$t = 11$:	43a2792f	6ba94f63	ae14e2b2	7f778778	f1a51a04
$t = 12$:	fecdd7bbf	43a2792f	daea53d8	ae14e2b2	7f778778
$t = 13$:	a2604ca8	fecdd7bbf	d0e89e4b	daea53d8	ae14e2b2
$t = 14$:	258b0baa	a2604ca8	ffb35eef	d0e89e4b	daea53d8
$t = 15$:	d9772360	258b0baa	2898132a	ffb35eef	d0e89e4b
$t = 16$:	5507db6e	d9772360	8962c2ea	2898132a	ffb35eef
$t = 17$:	a51b58bc	5507db6e	365dc8d8	8962c2ea	2898132a
$t = 18$:	c2eb709f	a51b58bc	9541f6db	365dc8d8	8962c2ea
$t = 19$:	d8992153	c2eb709f	2946d62f	9541f6db	365dc8d8
$t = 20$:	37482f5f	d8992153	f0badc27	2946d62f	9541f6db
$t = 21$:	ee8700bd	37482f5f	f6264854	f0badc27	2946d62f
$t = 22$:	9ad594b9	ee8700bd	cdd20bd7	f6264854	f0badc27
$t = 23$:	8fb5867	9ad594b9	7ba1c02f	cdd20bd7	f6264854
$t = 24$:	88fb5867	8fb5867	66b5652e	7ba1c02f	cdd20bd7
$t = 25$:	eec50521	88fb5867	63eea96e	66b5652e	7ba1c02f
$t = 26$:	50bce434	eec50521	e23ed619	63eea96e	66b5652e
$t = 27$:	5c416daf	50bce434	7bb14148	e23ed619	63eea96e
$t = 28$:	2429be5f	5c416daf	142f390d	7bb14148	e23ed619
$t = 29$:	0a2fb108	2429be5f	d7105b6b	142f390d	7bb14148
$t = 30$:	17986223	0a2fb108	c90a6f97	d7105b6b	142f390d
$t = 31$:	8a4af384	17986223	028bec42	c90a6f97	d7105b6b
$t = 32$:	6b629993	8a4af384	c5e61888	028bec42	c90a6f97

$t=33$:	f15f04f3	6b629993	2292bce1	c5e61888	028bec42
$t=34$:	295cc25b	f15f04f3	dad8a664	2292bce1	c5e61888
$t=35$:	696da404	295cc25b	fc57c13c	dad8a664	2292bce1
$t=36$:	cef5ae12	696da404	ca573096	fc57c13c	dad8a664
$t=37$:	87d5b80c	cef5ae12	1a5b6901	ca573096	fc57c13c
$t=38$:	84e2a5f2	87d5b80c	b3bd6b84	1a5b6901	ca573096
$t=39$:	03bb6310	84e2a5f2	21f56e03	b3bd6b84	1a5b6901
$t=40$:	c2d8f75f	03bb6310	a138a97c	21f56e03	b3bd6b84
$t=41$:	bfb25768	c2d8f75f	00eed8c4	a138a97c	21f56e03
$t=42$:	28589152	bfb25768	f0b63dd7	00eed8c4	a138a97c
$t=43$:	ec1d3d61	28589152	2fec95da	f0b63dd7	00eed8c4
$t=44$:	3caed7af	ec1d3d61	8a162454	2fec95da	f0b63dd7
$t=45$:	c3d033ea	3caed7af	7b074f58	8a162454	2fec95da
$t=46$:	7316056a	c3d033ea	cf2bb5eb	7b074f58	8a162454
$t=47$:	46f93b68	7316056a	b0f40cfa	cf2bb5eb	7b074f58
$t=48$:	dc8e7f26	46f93b68	9cc5815a	b0f40cfa	cf2bb5eb
$t=49$:	850d411c	dc8e7f26	11be4eda	9cc5815a	b0f40cfa
$t=50$:	7e4672c0	850d411c	b7239fc9	11be4eda	9cc5815a
$t=51$:	89fbd41d	7e4672c0	21435047	b7239fc9	11be4eda
$t=52$:	1797e228	89fbd41d	1f919cb0	21435047	b7239fc9
$t=53$:	431d65bc	1797e228	627ef507	1f919cb0	21435047
$t=54$:	2bdbb8cb	431d65bc	05e5f88a	627ef507	1f919cb0
$t=55$:	6da72e7f	2bdbb8cb	10c7596f	05e5f88a	627ef507
$t=56$:	a8495a9b	6da72e7f	caf6ee32	10c7596f	05e5f88a
$t=57$:	e785655a	a8495a9b	db69cb9f	caf6ee32	10c7596f
$t=58$:	5b086c42	e785655a	ea1256a6	db69cb9f	caf6ee32
$t=59$:	a65818f7	5b086c42	b9e15956	ea1256a6	db69cb9f
$t=60$:	7aab101b	a65818f7	96c21b10	b9e15956	ea1256a6
$t=61$:	93614c9c	7aab101b	e996063d	96c21b10	b9e15956
$t=62$:	f66d9bf4	93614c9c	deaac406	e996063d	96c21b10
$t=63$:	d504902b	f66d9bf4	24d85327	deaac406	e996063d
$t=64$:	60a9da62	d504902b	3d9b66fd	24d85327	deaac406
$t=65$:	8b687819	60a9da62	f541240a	3d9b66fd	24d85327
$t=66$:	083e90c3	8b687819	982a7698	f541240a	3d9b66fd
$t=67$:	f6226bbf	083e90c3	62dale06	982a7698	f541240a
$t=68$:	76c0563b	f6226bbf	c20fa430	62dale06	982a7698
$t=69$:	989dd165	76c0563b	fd889aef	c20fa430	62dale06
$t=70$:	8b2c7573	989dd165	ddb0158e	fd889aef	c20fa430
$t=71$:	aelb8e7b	8b2c7573	66277459	ddb0158e	fd889aef
$t=72$:	ca1840de	aelb8e7b	e2cb1d5c	66277459	ddb0158e
$t=73$:	16f3babb	ca1840de	eb86e39e	e2cb1d5c	66277459
$t=74$:	d28d83ad	16f3babb	b2861037	eb86e39e	e2cb1d5c
$t=75$:	6bc02dfe	d28d83ad	c5bceae	b2861037	eb86e39e
$t=76$:	d3a6e275	6bc02dfe	74a360eb	c5bceae	b2861037
$t=77$:	da955482	d3a6e275	9af00b7f	74a360eb	c5bceae
$t=78$:	58c0aac0	da955482	74e9b89d	9af00b7f	74a360eb
$t=79$:	906fd62c	58c0aac0	b6a55520	74e9b89d	9af00b7f

That completes the processing of the second and final Document block $D^{(2)}$. The final hash value $H^{(2)}$, is calculated to be:

$$H_0^{(2)} = f4286818 + 906fd62c = 84983e44$$

$$H_1^{(2)} = c37b27ae + 58c0aac0 = 1c3bd26e$$

$$H_2^{(2)} = 0408f581 + b6a55520 = baae4aa1$$

$$H_3^{(2)} = 84677148 + 74e9b89d = f95129e5$$

$$H_4^{(2)} = 4a566572 + 9af00b7f = e54670f1.$$

The resulting 160-bit Document fingerprint is:

84983e44 1c3bd26e baae4aa1 f95129e5 e54670f1.

Long Document:-

Let the Document ***D*** be the binary-coded form of the ASCII string which consists of 1,000,000 repetitions of the character “a”. The resulting ***SHA-1*** Document fingerprint is:

34aa973c d4c4daa4 f61eeb2b dbad2731 6534016f.

Conclusions

The hash functions can be used in many cryptographic applications, one of these applications is the data and document fingerprinting. Hash functions can be used in more performance and applicability as well as their fingerprints have as long length as possible since this will increase the number of the probable operations to invade these hash functions, impersonate their fingerprints, or to tampering them. One of the strong hash functions that provably been used with the high developed data authentication and data fingerprinting is the Secure Hash Algorithm-1 (***SHA-1***). This hash algorithm has the ability to produce fingerprint for any document with a length no more than 2^{64} bits long. We conclude that the Secure Hash Algorithm-1 (***SHA-1***) is still in need for rectifying since the 160 bit security is susceptible to breaking and that if we could enlarge the message digest to more than 160 bit, then we guarantee more secure system.

REFERENCES

1. A. Menezes, P. Van Oorschot, and S. Vanstone, “Handbook of Applied cryptography”, CRC press, Inc, 1997.
2. M. Steven Bellovin, E. K. Rescorla, “Deploying a New Hash Algorithm”, Columbia University, Network Resonance, 2005.
3. David Whitehead, P.E, “Compromise of the SHA-1 Hashing Algorithm and the Impact to the SEL-3021 , Pullman, WA, USA, SEL, 2005.
4. Ilya Mironov, “Hash Functions: Theory, Attacks, and Applications”, Microsoft Research Center, Silicon Valley Campus, 2005.
5. B. Mihir, C. Ran, K. Hugo. “Keying Hash Functions for Message Digest Authentication”, Advances in Cryptology-Crypto96

- Proceedings, Lecture Notes in Computer Science Vol.1109, N.Koblitz ed., Springer-Verlag, (1996).
6. Kwangio Kim, Hwaam Dong, Yusong-Ku, "Killer Application of PKI to Internet Voting", International Research Center for Information Security (IRSI), Korea, (2003).
 7. P. Cheng, R. Glenn, "Test Cases for HMAC-MD5 and HMAC-SHA-1", RFC 2202, (1997).
 8. D. Eeastlake, T. Hansen, "US Secure Hash Algorithms (HMAC and SHA)", AT & T Labs, (2006).
 9. Jean-Sebastien Coron, "On the Exact Security of Full Domain Hash", Gemplus Card International, (2000).
 10. W. Xiaoyun, F. Dengguo, L. Xuejia, Y. Hougbo. "Collisions for Hash Functions MD4, MD5, HAVAL-128 and RIPEMD", Chinese Universities, (2004).
 11. E. K. Rescorla. Diffie-Hellman Key Agreement Method. RFC2631, June (1999).

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

الهيئة الاستشارية

عضو

د. صلاح محسن عليوي

عضو

د. مهدي صادق عباس

عضو

د. كاظم حسن حسين

عضو

د. يوسف كاظم عبد الامير

عضو

د. نعمة محسن الفتلاوي

عضو

د. عامر صديق الملاح

عضو

د. نزار ادور ناصر

فـعـنـوـان الـبـحـث ، مـخـتـصـر اسـم المـجـلـة ، المـجـلد او الـحـجـم ، الـعـدد ،
الـصـفـحـات ، (السـنـة) . وفـي حـالـة كـون المـصـدر كـتـابـا يـكـتـب بـعـد اسـم
المـؤـلف او المـؤـلفـين عـنـوان الـكـتـاب ، الطـبـعـة ، الـصـفـحـات ، (السـنـة)
الشـركـة النـاشـرة ، مـكان الطـبـع .

10. بـخـصـوص اجـور النـشـر يـتـم دـفـع مـبـلـغ (25000) خـمـسـة وعـشـرون
الف دـيـنـار عـنـد تـقـدـيـم الـبـحـث لـلـنـشـر و هـي غـيـر قـابـلـة لـلـرـد و مـن ثـم يـدـفـع
الـبـاحـث (25000) خـمـسـة وعـشـرون الف دـيـنـار اـخـرى عـنـد قـبـول الـبـحـث
لـلـنـشـر و بـهـذا يـصـبـح المـبـلـغ الكـلي لـلـنـشـر خـمـسـون الف دـيـنـار .

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
9-1	تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم NaF إلى إناث الفئران على القابلية الإخصابية لكل من بويضات الإناث ونطف مواليدها الذكور خارج الجسم محمد باقر محمد رشاد فخر الدين و حسام جاسم حسين بنانه و عبد الله محمد حسن شبر
25-10	دراسة مقاومة البكتريا الهوائية المعزولة من ردهات الاطفال الخدج لمضادات الحياة والمطهرات اقبال خضر الجوفي و رعد خليل الحسيني و رعد عبد اللطيف العبيدي
33-26	عزل ابواغ بكتريا <i>Bacillus subtilis</i> من العسل العراقي واستخدام البروبولس لتثبيطها مع انواع بكتيرية اخرى ملوثة للجروح ندى زكي مهدي و نهاية حكمت زكي
46-34	تقييم الفعالية السمية للمستخلصات المائية لمجموعة من حشائش الحقول والبساتين ضد المتطفل النباتي الحامول (<i>campestris</i>) <i>Cuscuta Vunk</i> على الطماطة وحشرة المن (<i>Rhopalosiphum maidis</i> Fitch) على الشعير والحلم الأحمر (<i>Tetranychus turkestanii</i> U&N) على الخيار. آمال عبد السلام عبد الرحمن
62-47	تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا <i>Glycine max</i> L. لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي هاشم كاظم محمد العبيدي و سعاد حسن محمود و كاظم محمد ابراهيم و عبد الجاسم محسن الجبوري
75-63	دراسة تأثير بعض مركبات الترايازينو إندول على فعالية أنزيم الكولين استريز في مصل دم الإنسان بلقيز وليد خماس و وفاء فيصل

تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم NaF إلى إناث الفئران على القابلية الإخصابية لكل من بويضات الإناث ونطف مواليدها الذكور خارج الجسم

محمد باقر محمد رشاد فخر الدين¹ و حسام جاسم حسين بناته² و عبد الله محمد حسن شبر³
¹ معهد أبحاث الأجنة وعلاج العقم - جامعة النهرين
^{2,3} كلية الزراعة - جامعة بغداد

art mbmrfd@yahoo.com

تاريخ تقديم البحث 2007/9/30 - تاريخ قبول البحث 2008/2/25

ABSTRACT

The present study was performed to investigate the effect of orally administration of sodium fluoride (NaF) to female mice within water on ability of female oocytes and spermatozoa of male offspring for in vitro fertilization (IVF). Sixty four mature female mice were used and divided into four major groups according to dose of (NaF), control (C) and three treatments groups (T₁, T₂ and T₃) as 0, 200, 400 and 600 ppm respectively. Each group was subdivided into two minor subgroups according to administration period for 10 and 15 weeks. Females were caged with fertile male mouse after 6 week or 11 week depending on treatment period respectively. After period of mating and gestation male offspring were isolated and growing for 10 weeks to achieve IVF.

The results of IVF for oocytes of treated females and spermatozoa of male of male offspring appeared reduction in the percentage of fertilized oocytes and increased in the percentage of abnormal embryos for T₁ group as compared to C group for both treatment periods. The results also showed reduction in the number of recovered oocytes from treated female group as compared with control group for both periods 10 and 15 weeks. The results of present study, treatment female mouse with NaF caused reduction in the fertilizing capacity of female oocytes and spermatozoa of male offspring.

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية بهدف معرفة تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم (NaF) إلى إناث الفئران عن طريق ماء الشرب في قابلية بويضات إناث الفئران ونطف مواليدها الذكور على الإخصاب خارج الجسم (In vitro Fertilization; IVF). استخدمت في هذه التجربة إناث فئران بالغة عددها (64 أنثى) تم تقسيمها إلى أربع مجاميع رئيسية (16 فأرة لكل مجموعة) وفقاً إلى جرعة فلوريد الصوديوم المأخوذة وهي مجموعة السيطرة C وكل من المعاملات T₁ و T₂ و T₃ وتمثل هذه المجاميع التراكيز المستخدمة من مادة فلوريد الصوديوم وهي 0 و 200 و 400 و 600 جزء لكل مليون (ppm) على التوالي. وكل مجموعة من هذه المجاميع الرئيسية قسمت إلى مجموعتين ثانويتين تمثل كل واحدة مدة من مدد إعطاء فلوريد الصوديوم وهي 10 و 15 أسبوعاً. وبعد مرور مدة 6 أسابيع (بالنسبة لتجربة 10 أسابيع) ومدة 11 أسبوعاً (بالنسبة لتجربة 15 أسبوعاً) أدخلت إناث الفئران في أقفاص تزاوج مع ذكور غير معاملة، وبعد انتهاء فترة التزاوج والحمل تم الحصول على المواليد حيث تم تربية المواليد الذكور لمدة 10 أسابيع وذلك بهدف إجراء الإخصاب الخارجي.

أظهرت نتائج الإخصاب الخارجي لبويضات إناث الفئران المعاملة ونطف مواليدها الذكور حصول انخفاض في النسبة المئوية للبويضات المخصبة وزيادة النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية بالنسبة لمعاملة T₁ مقارنة مع مجموعة السيطرة C ولكل من مدتي التجربة 10 و 15 أسبوعاً. كما أظهرت النتائج حصول انخفاض في عدد البويضات المستردة من مجاميع الإناث المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة ولكل من مدتي التجربة 10 و 15 أسبوعاً. يستنتج من هذه الدراسة أن معاملة إناث الفئران بمادة فلوريد الصوديوم يؤدي إلى انخفاض القابلية الإخصابية لبويضات الإناث ونطف مواليدها الذكور.

المقدمة

يتواجد الفلور في الطبيعة بشكل مرتبط ويدعى حينئذ بالفلورايد، وهو مصطلح عام يشير إلى المركبات غير العضوية المحتوية على عنصر الفلور (6). يوجد الفلورايد في الطبيعة بكميات كبيرة ومن مصادر مختلفة، حيث يتوزع الفلورايد بسرعة من خلال الدورة الجهازية (Systematic cycle) إلى السوائل داخل الخلايا وخارجها في الأنسجة (Intracellular and Extracellular fluids) (15). كما أشار الباحثون إلى أن الفلورايد ينتقل عبر المشيمة ويدخل الدورة الدموية للجنين (7)، حيث لوحظ من خلال الدراسات بأن المشيمة (Placenta) ليس لها أي دور مانع لانتقال الفلورايد إلى الجنين. أشارت العديد من الدراسات على القوارض إلى وجود تأثيرات سلبية للفلورايد على التناسل، حيث تشير الدراسات إلى أن إعطاء فلوريد الصوديوم إلى ذكور الفئران يؤدي إلى حصول انخفاض معنوي في كل من إنزيمي الأكروسين (Acrosin) والهايلورونيديز (Hyaluronidase) في الجسيم الطرفي (Acrosome) (4)، وحصول انخفاض في نسبة الوزن الرطب للخصية والبروستات (Prostate) والحوبيصلات المنوية (Seminal vesicle) فضلاً عن انخفاض معنوي في عدد النطف بالبربخ (Epididymis) وتجويف الخصية مع حصول زيادة في نسبة النطف المشوهة (12). كما يؤدي الفلورايد إلى حصول انخفاض في أوزان رأس وذيل البربخ وعاقة عملية توليد النطف وانخفاض الهرمونات الجنسية الذكرية مع كل من هرموني LH و FSH (5).

وقد أوضح الباحث Al-Hiyasat وزملاؤه (1) أن إعطاء فلوريد الصوديوم إلى إناث الفئران البالغة بتركيزات 200 و 400 و 600 جزء لكل مليون عن طريق ماء الشرب لمدة 30 يوماً قد أدى إلى انخفاض عدد الأجنة الحية ووزن الجسم بصورة معنوية في جميع التراكيز مقارنة بمجموعة السيطرة. لذلك تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير استخدام تراكيز متعددة من مادة فلوريد الصوديوم على القابلية الإخصابية لكل من بويضات الإناث المعاملة بمادة فلوريد الصوديوم ونطف موالدها الذكور.

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة

استخدمت في هذه الدراسة إناث فئران بيضاء بالغة بعمر (10 أسابيع) عند بداية التجربة وقد تمت تربيتها في أقفاص بلاستيكية صغيرة قياس $11.5 \times 12.5 \times 29$ سم حيث تم وضع 4 حيوانات في كل قفص. وقد تمت مراقبة الحيوانات قبل بداية التجربة لمدة ثلاثة أسابيع وهي تتغذى على عليقة طبيعية وتشرب ماء الحنفية العادي لغرض تكييفها، وتم خلال هذه الفترة إبعاد الحيوانات المريضة وغير الطبيعية. هذا وقد تم إعطاء الماء والغذاء إلى الحيوانات بصورة حرة (Ad libitum).

تصميم التجربة

تم تقسيم 64 أنثى من أنثى الفئران إلى أربع مجاميع رئيسية كل مجموعة تضم 16 فأرة اعتماداً على جرعة فلوريد الصوديوم المأخوذة وهي 200 و 400 و 600 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم بالإضافة إلى مجموعة السيطرة التي أعطيت ماء حنفية خالي من أية إضافة، وبعدها فإن كل مجموعة من هذه المجاميع الرئيسية قسمت إلى مجموعتين ثانويتين تمثل كل واحدة منهما مدة من مدد إعطاء فلوريد الصوديوم وهي 10 و 15 أسبوعاً. وبذلك فقد أصبحت كل مجموعة ثانوية تضم 8 أنثى. وأن المجاميع الرئيسية هي :

- **مجموعة السيطرة (C) Control** : أعطيت مياه شرب طبيعية وخالية من أية إضافة خلال مدتي التجربة.
- **مجموعة فلوريد الصوديوم الأولى (T₁)** : أعطيت مياه شرب محتوية على 200 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.
- **مجموعة فلوريد الصوديوم الثانية (T₂)** : أعطيت مياه شرب محتوية على 400 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.
- **مجموعة فلوريد الصوديوم الثالثة (T₃)** : أعطيت مياه شرب محتوية على 600 جزء لكل مليون من فلوريد الصوديوم خلال مدتي التجربة.

برامج إفراط الإباضة

تم حقن إناث الفئران المختبرية بمقدار 10 وحدات دولية من هرمون محفز نمو الحويصلات (FSH- Gonadotropin; Serono, Italy) داخل التجويف البريتوني (Intraperitoneal)، وبعد مرور 48 ساعة تم حقن نفس الإناث بمقدار 10 وحدات دولية من هرمون موجه القند المشيمي البشري (hCG-Profasi 5000 I.U.; Serono, Italy) في التجويف البريتوني. وبعد 16-18 ساعة من حقن الجرعة الأخيرة تم تشريح الإناث بهدف الحصول على البويضات من قناة البيض لغرض إجراء الإخصاب خارج الجسم. حيث تم غسل قناة البيض من الداخل باستخدام محقنة دقيقة قياس 28 (G- 28) حاوية على نصف مليلتر من الوسط الزراعي الجاهز (Flushing medium- Medi Cult, Denmark) لغرض إخراج البويضات، حيث تم دفع الوسط الزراعي بواسطة المحقنة الدقيقة من إحدى جهتي قناة البيض تدريجياً لغرض إخراج البويضات مع الوسط الزراعي من الجهة الأخرى. وبعد أن تم إخراج البويضات تم وضعها في الوسط الزراعي الجاهز (Universal IVF medium - Medi Cult, Denmark) لغرض تصنيفها إلى غير ناضجة وناضجة ومتحطمة اعتماداً على وجود الجسم القطبي الأول وعدداً من الصفات المظهرية الأخرى.

تقانة الإخصاب الخارجي

تم تشريح ذكور الفئران المختبرية المولودة من إناث معاملة بمادة فلوريد الصوديوم واستخراج قناتي الأسهر (Vas deferens) وتنظيفهما من الأنسجة المحيطة، وتم غسل تجويف قناتي الأسهر باستخدام محقنة انسولين حاوية على 1 مل من وسط تحضير النطف (Sperm preparation medium, Medi-Cult, Denmark) للحصول على النطف، أجري فيما بعد فحص وظائف النطف. ثم ضبطت تراكيز النطف بحيث تكون 10×10^6 نطفة/مل، حيث تمت إضافة البويضات إلى النطف بمعدل 5-6 بويضة ناضجة لكل 0.5 مل من الوسط الحاوي على النطف في أطباق بتري خاصة بالإخصاب الخارجي وغطيت بزيت البرافين (Paraffin oil, Medi-Cult, Denmark) وحضنت في حاضنة ثاني أكسيد الكربون التي تحتوي على 5% CO₂ و 95% O₂ بدرجة حرارة 37 °م لمدة 18-20 ساعة لغرض تقييم نتائج الإخصاب الخارجي. وتمت متابعة التطور الجنيني لمدة ثلاثة أيام مع ملاحظة استبدال الوسط الزراعي مرتين كل يوم.

التحليل الإحصائي

أجري التحليل الإحصائي باستعمال البرنامج الإحصائي الجاهز (25) باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD)، ولتشخيص الفروق المعنوية بين المتوسطات تم مقارنتها باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود.

النتائج والمناقشة

إفراط الاباضة والإخصاب الخارجي لبويضات الإناث المعاملة

بينت نتائج برنامج إفراط الاباضة لأناث الفئران حصول انخفاض في معدل عدد البويضات المستردة بالنسبة لمعاملة T_1 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C، كما اظهرت النتائج حصول انخفاض عالي المعنوية ($P < 0.01$) في النسبة المئوية للبويضات المخصبة لمعاملة T_1 مقارنة بمجموعة السيطرة C لمدة 10 أسابيع (الجدول 1)، كما لوحظ وجود زيادة معنوية ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية لمعاملة T_1 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة C. هذا ولم يتم إجراء الإخصاب الخارجي لأناث كل من معاملي T_2 و T_3 لمدة 10 أسابيع لعدم الحصول على بويضات من قناتي البيض (الجدول 1).

يظهر الجدول (2) نتائج الإخصاب الخارجي لمجموعة السيطرة C والمجاميع المعاملة بمادة فلوريد الصوديوم T_1 و T_2 و T_3 لمدة 15 أسبوعاً، حيث يلاحظ من الجدول بأن برنامج إفراط الاباضة لأناث معاملة T_1 قد أدى إلى استخراج بويضات متحللة ومشوهة من قناتي البيض ولا تنفع لإجراء اختبارات الإخصاب الخارجي، أما إناث معاملة T_2 فقد ماتت جميعها قبل انتهاء مدة المعاملة كما لوحظ عدم وجود بويضات في قناتي البيض الخاصة بأناث معاملة T_3 وبذلك لم يتم إجراء اختبارات الإخصاب الخارجي لكل من المعاملات T_1 و T_2 و T_3 (الجدول 2).

ان هذه النتائج تتفق مع نتيجة الباحثين Goh و Neff (8) اللذين أوضحوا بأن فلوريد الصوديوم يؤثر على أجنة الضفادع بصورة مباشرة حيث يؤثر على تطورها ويسبب لها التشوه وهذا يشير إلى حصول زيادة في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية، كما تتماشى هذه النتيجة مع نتيجة الباحثة Krasowska (10) الذي لاحظ حصول انخفاض في عدد المواليد الناتجة لكل أنثى من إناث الجرذان وذلك عند تجريعها بمقدار 97 ملغم فلوريد الصوديوم / كغم من وزن الجسم والذي قد يكون احد اسبابه حصول انخفاض في النسبة المئوية لعدد البويضات المخصبة لدى إناث الجرذان. في حين لم تتفق هذه النتيجة مع نتيجة كل من الباحثين Helal و El Dakdoky (9) اللذين أوضحوا بأن معاملة إناث الفئران بمقدار 40 ملغم فلوريد الصوديوم / كغم من وزن الجسم ابتداءً من اليوم الثامن للحمل وحتى اليوم التاسع عشر لم يظهر فروق معنوية في كل من عدد الأجنة المجهضة والأجنة المشوهة وعدد الوفيات وعدد المواليد في البطن الواحدة.

وقد يعود سبب حصول انخفاض في النسبة المئوية للبويضات المخصبة إلى حصول احتقان وتفسخ للبويضات داخل الحويصلات المبيضية وهذا التفسير يتفق مع نتيجة الباحث Shashi (13) الذي لاحظ وجود بويضات محتقنة في الحويصلات المبيضية وحصول تفسخ في البويضات (Oocyte disintegration) وذلك عند معاملة إناث الأرانب بمقدار 5 و 10 و 20 و 50 ملغم فلوريد الصوديوم / كغم من وزن الجسم / يوم لمدة 100 يوم. كما قد يعود سبب انخفاض عدد البويضات الناتجة لكل أنثى إلى حصول انخفاض في إفراز هرمونات الغدة الدرقية (Hypothyroidism) حيث يؤدي التعرض لمادة الفلورايد إلى حصول انخفاض في إفراز هرمون الثايروكسين T_4 والتراي ايودو ثايرونين T_3 (14)، ويؤدي الانخفاض في إفراز هرمون الثايروكسين إلى حصول تضارب في دورة الشبق (Estrus cycle) واضطراب في عملية الاباضة وبالتالي يؤدي إلى العقم (Infertility) (11).

الإخصاب الخارجي للمواليد الذكور

يظهر الجدول (3) حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للبويضات المخصبة لمجموعة المعاملة T_1 مقارنة مع مجموعة السيطرة C، كما لوحظ وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية لكل من معاملة T_1 ومجموعة السيطرة C وذلك بالنسبة للمواليد الذكور المعاملة أمهاتها بتركيز مختلفة من مادة فلوريد

الصوديوم لمدة 10 اسابيع. ويكشف الجدول (4) نتائج الإخصاب الخارجي للمواليد الذكور والخاصة بمدة 15 أسبوعاً، حيث يلاحظ حصول انخفاض عالي المعنوية ($P < 0.01$) في النسبة المئوية للبويضات المخصبة وزيادة معنوية ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية بالنسبة لمعاملة T_1 مقارنة مع مجموعة السيطرة C، مع العلم بأن مواليد كل من معاملي T_2 و T_3 قد ماتت جميعها بعد ولادتها بمدة لا تتجاوز أسبوع واحد بالنسبة لفترة 10 اسابيع، أما أناث معاملي T_2 و T_3 الخاصة بفترة 15 أسبوع فإن تزاوجها مع ذكور سليمة غير معاملة بمادة فلوريد الصوديوم لم يؤدي الى انتاج مواليد مطلقاً ولذلك فإن اختبارات الإخصاب الخارجي قد أجريت لمجموعة السيطرة ومعاملة T_1 فقط.

ويرجع سبب انخفاض النسبة المئوية لعدد البويضات المخصبة الى حصول انخفاض في عدد النطف وحيويتها او حصول زيادة في نسبة النطف المشوهة والتي قد تؤدي الى انخفاض معدل الخصوبة، وهذا التفسير يتفق مع نتيجة عدد من الباحثين الذين لاحظوا بان اعطاء فلوريد الصوديوم الى ذكور الفئران يؤدي الى حصول انخفاض في عدد النطف وحيويتها والنسبة المئوية لحيوية النطف مع حصول زيادة في نسبة النطف المشوهة، ويمكن ان يعود سبب انخفاض عدد البويضات المخصبة الى حصول انخفاض في نسبة النطف المتحركة (12). وقد يرجع سبب انخفاض القابلية الاخصابية لنطف المواليد الذكور الى حصول انخفاض في انزيمي الاكروسين والهاليلورونيديز في الجسيم الطرفي، ويتفق هذا التفسير مع نتيجة الباحث Chinoy وزملاؤه (4) الذي ذكر بان تجريع ذكور الفئران مادة فلوريد الصوديوم بتركيز مختلفة يؤدي الى تثبيط انزيمي الاكروسين والهاليلورونيديز وكما هو معلوم فإن هذين الانزيمين لهما دور كبير في اختراق الاغلفة المحيطة بالبويضة والتي من ضمنها الخلايا الحويصلية وغشاء (Zona pellucida). ويمكن أن يعود سبب زيادة نسبة الأجنة غير الطبيعية الى ان فلوريد الصوديوم يؤدي الى ضمور أنوية الخلايا الطلائية (Epithelial cell nuclear pyknosis) للنبيب المنوي (3)، وتتفق هذه النتيجة مع نتيجة الباحثان Bataineh و Nusier (2) حيث ذكرا بأن تجريع ذكور الفئران الناضجة بمادة فلوريد الصوديوم بتركيز 100 و 300 جزء لكل مليون في ماء الشرب لمدة 12 اسبوع قد ادى الى زيادة عدد الاجنة المشوهة في اناث الفئران الملقحة من قبل ذكور معاملة بمادة فلوريد الصوديوم وبالتالي انخفاض الخصوبة.

يستنتج من هذه الدراسة ان معاملة اناث الفئران بمادة فلوريد الصوديوم يؤدي الى

انخفاض القابلية الاخصابية لبويضات الاناث ونطف مواليدها الذكور.

تأثير إعطاء فلوريد الصوديوم NaF إلى إناث الفئران على القابلية الإخصابية لكل من بويضات الإناث ونطف مواليدها الذكور خارج الجسم

محمد و حسام و عبد الله

جدول 1- : نتائج الإخصاب الخارجي للبويضات المستردة من مجاميع الإناث المعاملة بتركيز مختلفة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 10 أسابيع

الصفات	معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	البويضات المخصبة		الأجنة غير الطبيعية		النسبة المئوية للمراحل انقسام الخلايا الجنينية				
		معدل عددها	النسبة المئوية	معدل عددها	النسبة المئوية	بويضة مخصبة	خليتان	خلايا 4	خلايا 8	خلية 16
مجموعة السيطرة C	13.5	7.1	52.59 ±3.49 ^a	1.25	17.60 ±2.03	1.78 ±1.78 ^a	21.45 ±3.65	29.19 ±4.82 ^a	41.12 ±5.97 ^a	6.46 ±3.15 ^A
T ₁ معاملة	12.19	4.66	38.22 ±3.80 ^b	1.66	35.62 ±2.69	62.50 ±9.56 ^b	33.79 ±7.87	3.71 ±3.71 ^b	0 ±0 ^b	0 ±0 ^A
T ₂ معاملة ^a	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T ₃ معاملة ^a	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية ($P < 0.05$)

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية ($P < 0.01$)

النسبة المئوية للبويضات المخصبة = (معدل عدد البويضات المخصبة / معدل عدد البويضات الكلي) × 100

النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية = (معدل عدد الأجنة غير الطبيعية / معدل عدد البويضات المخصبة) × 100

النسبة المئوية لأي مرحلة من مراحل انقسام الخلايا الجنينية = (معدل عدد الأجنة لأي مرحلة من مراحل الانقسام / معدل عدد البويضات المخصبة) × 100

*بعد أن تم تشريح الإناث لوحظ عدم وجود بويضات في قرني الرحم وبذلك لم يتم إجراء الإخصاب الخارجي لها.

جدول 2- : نتائج الإخصاب الخارجي للبويضات المستردة من مجاميع الإناث المعاملة بتركيز مختلفة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 15 أسبوعاً

الصفات	معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	البويضات المخصبة		الأجنة غير الطبيعية		النسبة المئوية للمراحل انقسام الخلايا الجنينية				
		معدل عددها	النسبة المئوية	معدل عددها	النسبة المئوية	بويضة مخصبة	خليتان	خلايا 4	خلايا 8	خلية 16
مجموعة السيطرة C	13.1	7.2	54.96 ±3.46	1.37	19.02 ±2.65	5.65 ±2.77	22.55 ±4.73	33.74 ±4.52	32.37 ±4.36	5.69 ±2.77
T ₁ معاملة ^a	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T ₂ معاملة ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T ₃ معاملة ^a	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

* بعد أن تم تشريح الإناث وسحب البويضات لوحظ أنها بويضات متحللة ومشوهة لا تنفع لإجراء عمليات الإخصاب الخارجي

** ماتت جميع الحيوانات قبل نهاية مدة التجربة وبذلك لم يتم إجراء الإخصاب الخارجي لها

*** بعد أن تم تشريح الإناث لوحظ عدم وجود بويضات في قرني الرحم وبذلك لم يتم عمل الإخصاب الخارجي لها .

جدول-3: نتائج الإخصاب الخارجي لنطف المواليد الذكور التي عوملت أمهاتها بتركيز متعددة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 10 أسابيع

الصفات	معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	البويضات المخصبة		الأجنة غير الطبيعية		النسبة المئوية لمرحل انقسام الخلايا الجنينية			
		معدل عددها	النسبة المئوية	معدل عددها	النسبة المئوية	بويضة مخصبة	خليتان	خلايا4	خلايا8
مجموعة السيطرة C	13.5	7.4	54.81 ±3.64 A	1.25	16.89 ±3.93 A	7.73 ±4.49 A	16.07 ±6.83 A	44.64 ±5.35 A	27.97 ±7.86 A
T ₁ معاملة	13.1	5.5	41.98 ±10.41 B	2.5	45.45 ±0.52 B	0 ±0 A	18.75 ±6.25 A	31.25 ±6.25 A	50 ±0 A
T ₂ معاملة ^a	0	-	-	-	-	-	-	-	-
T ₃ معاملة ^a	0	-	-	-	-	-	-	-	-

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية ($P < 0.05$)

* لوحظ موت جميع المواليد ضمن هذه المجاميع بعد ولادتها بمدة لا تتجاوز أسبوعاً واحداً .

النسبة المئوية للبويضات المخصبة = (عدد البويضات المخصبة / عدد البويضات الكلي) × 100

النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية = (عدد الأجنة غير الطبيعية / عدد البويضات المخصبة) × 100

النسبة المئوية لأي مرحلة من مراحل انقسام الخلايا الجنينية = (عدد الأجنة لأي مرحلة من مراحل الانقسام / عدد البويضات المخصبة) × 100

جدول-4: نتائج الإخصاب الخارجي لنطف المواليد الذكور التي عوملت أمهاتها بتركيز متعددة من مادة فلوريد الصوديوم لمدة 15 أسبوعاً

الصفات	معدل عدد البويضات الكلي/ أنثى	البويضات المخصبة		الأجنة غير الطبيعية		النسبة المئوية لمرحل انقسام الخلايا الجنينية			
		معدل عددها	النسبة المئوية	معدل عددها	النسبة المئوية	بويضة مخصبة	خليتان	خلايا4	خلايا8
مجموعة السيطرة C	12.5	7.1	56.80 ±2.93 a	1	14.08±3 .74 A	0 ±0 a	10.41 ±6.25 A	41.54 ±3.45 a	35.89 ±5.68 A
T ₁ معاملة	10.2	3	29.41 ±0 b	2	66.66 ±0 B	0 ±0 a	0 ±0 A	66.66 ±0 b	33.34 ±0 A
T ₂ معاملة ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T ₃ معاملة ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-

الأرقام تمثل المتوسط ± الخطأ القياسي للمتوسط

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية ($P < 0.05$)

تشير المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ومختلفة ضمن الصفة الواحدة إلى وجود فروق معنوية ($P < 0.01$)

* لم تحدث ولادات في هذه المجاميع مطلقاً

النسبة المئوية للبويضات المخصبة = (عدد البويضات المخصبة / عدد البويضات الكلي) × 100

النسبة المئوية للأجنة غير الطبيعية = (عدد الأجنة غير الطبيعية / عدد البويضات المخصبة) × 100

النسبة المئوية لأي مرحلة من مراحل انقسام الخلايا الجنينية = (عدد الأجنة لأي مرحلة من مراحل الانقسام / عدد البويضات المخصبة) × 100

المصادر

1. Al-Hiyasat, AS, Elbetieha, AM, and Darmani, H. **Reproductive toxic effects of ingestion of sodium fluoride in female rats. Fluoride, 33(2): 79-84. (2000).**
2. Butaineh HN, and Nusier MK. **Impact of 12-week ingestion of sodium fluoride on aggression, sexual behavior and fertility in adult male rats. Fluoride, 39(4): 293-301(2006).**
3. Chinoy NJ, and Sequeira, E. **Effects of fluoride on the histoarchitecture of reproductive organs of the male mouse. Reprod. Toxicol. 3(4): 261-7(1989).**
4. Chinoy NJ, Mehta D, and Jhala DD. **Effects of fluoride ingestion with protein deficient or protein enriched diets on sperm function of mice. Fluoride, 39(1): 11-16(2006).**
5. Das Sarkar S, Maiti R, and Ghosh D., **Management of fluoride induced testicular disorders by calcium and vitamin-E co-administration in the albino rat. Reprod. Toxicol., 10. Epub ahead of print (2006).**
6. David RH. **Review of fluoride: risks and benefits. The University of Calgary, CALGARY, Alberta, Canada. (Internet File)(1997)**
7. **Dietary Reference Intakes (DRI), for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Standing committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. National Academy Press, Washington, D.C. (1997).**
8. Goh, E.H., and Neff, A.W. **Effects of fluoride on xenopus embryo development. Food Chem. Toxicol. 41(11): 1501-8(2003).**
9. Helal M, and El Dakdoky M. **Fetotoxicity of fluoride in rats and the protective action of some antioxidants. Fluoride, 39(3): 202-210(2006).**
10. Krasowska A. **Influence of low-chitin krill meal on reproduction of clethrionomys glareolus. Comp. Biochim. Physiol. 94C(1): 313-320 (1989).**

11. McGregor A. **The thyroid and pregnancy – fertility, management and physiological changes.** Department of Medicine, GKT School of Medicine of KCL, LONDON(2004).
12. Narayana MV, and Chinoy NJ. **Reversible effects of sodium fluoride ingestion on spermatozoa of the rat.** *Int. J. Fertil. Menopausal Stud.* 39(6): 337-46 (1994).
13. Shashi A. **Histopathological changes in rabbit ovary during experimental fluorosis .** *Indian J. Pathol. Microbiol.* 33(2):113-7(1990).
14. Thibodeaux, J.R.; Hanson, R.G.; Rogers, J.M.; Grey, B.E.; Barbee, B.D.; Richards, J.H.; Butenhoff, J.L.; Stevenson, L.A.; and Lau, C. **Exposure to perfluorooctane sulphonate during pregnancy in rat and mouse. I: maternal and prenatal evaluations.** *Toxicol. Sci.* 74(2): 369-81((2003).
15. World Health Organization (WHO). **Fluorides. Environmental Health Criteria 227. Geneva. (Internet File) (2002).**

دراسة مقاومة البكتيريا الهوائية المعزولة من ردهات الاطفال الخدج لمضادات الحياة والمطهرات

اقبال خضر الجوفي و رعد خليل الحسيني و رعد عبد اللطيف العبيدي
الجامعة المستنصرية / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

تاريخ تقديم البحث 2008/1/27 - تاريخ قبول البحث 2008/5/5

ABSTRACT

In this study , 800 different swabs were taken from neonatal intensive care Units from many sources including , sucker system , neonatal incubators, baby mobilization systems ,weighting balance , oxygen mask, imbirical cutting tools, the floor and walls , in addition to the laborers hand and the medical staff during the period of September 2004 to May 2005 .

The swabs were directly cultured on blood and MacConkey' s agar for the primary isolation & identification of bacterial growth .The isolates were tested biochemically and using Api system , the api 20E was used for Gram negative bacteria and api staph used for staphylococci .

The susceptibility of the isolates toward 15 types of common antibiotics was tested , the result showed that most types isolated bacteria were resistant to many types of antibiotics that belonged to the Betalactam group , Augmentin followed by Carbencillin , then Amoxicillin , while Amikacin, Cefotaxime and Norfloxacin were more active against the studied isolates .Also minimum inhibitory concentrations (MICs) of some antibiotics were determined .

The MICs of 5 antiseptics (Sodium hypochloride ,Chorohexidin ,Glutaraldehyde ,Diazapropyl alcoholic alkoxilate , Chlor hexidin diglyconate ,benzol Konium chloride) Which are common used in hospitals on the more antibiotics resistant & high values MICs isolates were determined by using macrodilution broth method ,micro titration tray plate methoed and agar dilution method .

The results also showed that the antiseptic skinsept with its Low concentrations was the most active compared with other antiseptics

The values of minimal bactericidal concentration (MBCs) were determined , in addition to required time for killing a number of isolates when exposed to minimal bactericidal concentrations of antiseptic was determined , the skinsept was the best one , compared with other studied antiseptics .

الخلاصة

شملت الدراسة جمع 800 مسحة مختلفة من بيئة ردهات الاطفال الخدج ومن مصادر مختلفة شملت اجهزة سحب السوائل Suckers وحاضنات الاطفال واجهزة انعاش الطفل والميزان وقناع الاوكسجين وادوات قص الحبل السري والارضية والجدران بالاضافة الى ايدي العاملين والكادر الطبي خلال المدة بين ايلول 2004 الى مايس 2005 . زرعت العينات (المسحات) مباشرة على وسطي اكار الدم والمكونكي لغرض العزل والتشخيص الاولي للنمو البكتيري . اخضعت العينات للاختبارات الكيموحيوية ومنها استخدام انظمة Api , اذ تم استخدام api 20 E للعصيات السالبة و api Staph للمكورات العنقودية.

اُختبرت حساسية العزلات تجاه 15 نوع من مضادات الحياة شائعة الاستعمال وبيئت النتائج ان معظم انواع البكتيريا المعزولة مقاومة للعديد من مضادات الحياة من مجموعة مضادات البيتا لكتام وكان Augmentin الاكثر مقاومة تلاه مضاد Carbencillin ثم Amoxicillin فيما كان مضاد Amikacin و Cefotaxime و Norfloxacin اكثر فعالية تجاه العزلات قيد الدراسة . وكذلك حدد التركيز المثبط

الادنى لبعض مضادات الحياة باستخدام طريقة الاقراص وطريقة التخفيف المضاعفة المتسلسلة على الوسط الزرعي الصلب . تم تحديد التركيز المثبط الادنى MICs لخمسة من المطهرات الشائعة الاستخدام في المستشفيات (Sodium hypochloride ,Choroheixidin ,Glutaraldehyde ,Diazapropyl benzol Konium chloride , Chlor hexidin diglyconate , benzol Konium chloride) على العزلات الأكثر مقاومة لمضادات الحياة والاعلى قيمة من ناحية التركيز المثبط الادنى واتباع طريقة الانابيب والصفحة العيارية وطريقة التخفيف بالاكار وتبين ان المطهر (Chlor hexidin diglyconate) (benzol Konium chloride) بتركيزه الواطنة هو الأكثر فعالية من باقي المطهرات . كما تم تحديد قيم التراكم القاتلة الدنيا MBCs للمطهرات وايضا حدد الزمن اللازم لقتل عدد من العزلات قيد الدراسة عند تعرضها للمطهرات بتركيزها القاتلة الدنيا وكان المطهر Chlor hexidin diglyconate, benzol Konium chlorid الافضل من باقي المطهرات المدروسة .

المقدمة

يتعرض الاطفال حديثي الولادة للعديد من الخمجات نتيجة الاكتساب العرضي للممرضات من البيئة الخارجية ، وهذه تحدث غالبا في الايام الاولى من العمر بعد الولادة ، وذلك بسبب ما تحمله البيئة من مايكروبات مختلفة تشمل البكتريا السالبة والموجبة لملون غرام والناشئة عن الاهمال وعدم الاهتمام بنظافة ردهات الولادة والاطفال مما يؤدي الى اصابات ووفيات في الاطفال الخدج وخاصة اصابتهم بالانتان الدموي وهذه الحالات تزداد كلما طالت مدة الرقود . يعد العاملان والكادر الطبي في ردهة الاطفال الخدج من اهم عوامل تلوث هذه الوحدة بسبب عدم غسل وتعقيم الايدي خلال الانتقال من مريض الى اخر وكذلك عند استعمال الادوات الملوثة بالبكتريا وبالاخص الانبوب القصبي والانبوب الانفي الفموي وكذلك قثطرة الحبل السري (1).

تشكل البكتريا الموجبة لملون غرام اعلى نسبة تلوث في وحدات العناية المركزة للاطفال الخدج Intensive care units(ICUs) متمثلة بالمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وكذلك بكتريا البروتيس ميرابلز *Proteus mirabilis* التي تعد من الملوثات السالبة لملون غرام والقادرة على البقاء في الايدي لمدة 15-20 دقيقة ويعد السبب في انتقالها من مريض الى اخر (2) .

مما زاد في مشكلة خمج المستشفيات هي ظهور سلالات مقاومة للعديد من مضادات الحياة وذلك نتيجة الاستعمال المتزايد والعشوائي لمضادات الحياة ويشمل هذا حتى البكتريا التي تعد نبئت طبيعي في جسم الانسان، وقد اشارت العديد من الدراسات الى ظهور سلالات مقاومة لاكثر من مضاد حيوي، وهذه تعد مشكلة من الناحية الطبية لصعوبة السيطرة على الامراض نتيجة عدم اختيار العلاج المناسب ، وقد تم اكتشاف قابلية البكتريا على انتاجها للعديد من عوامل الضراوة التي تعد اهم الاسباب في مقاومة مضادات الحياة والمطهرات ومن هذه العوامل قابليتها على انتاج انظيمات الهيمولايسين والبروتيز واليوريز وانظيم البيتا لكتاميز (3،4) .

تعد المطهرات من المواد الكيميائية التي تستعمل لتطهير المستشفيات والمختبرات والمنازل ولكن الاستعمال العشوائي والمتزايد ادى الى ظهور سلالات مقاومة لها وجعل المطهر يفقد فعاليته ، وقد بينت دراسات عديدة ان للمطهرات دور اساسي في خمج المستشفيات Nosocomial infection وحدث حالات اصابات مكتسبة في المستشفى بسبب عزل سلالات بكتيرية من المطهر نفسه (5،6) .

ان هدف الدراسة هو اختبار مقاومة البكتريا المعزولة والمشخصة المسببة للتلوث من الادوات المستخدمة في رعاية الاطفال الخدج وتحديد التراكم المثبطة الدنيا لمضادات الحياة والمطهرات اضافة لتحديد التراكم القاتلة الدنيا MBCs وتحديد زمن القتل للمطهرات الشائعة الاستعمال في المستشفيات .

المواد وطرق العمل

1- مصدر العزلات

جمعت 800 مسحة من مستشفيات مختلفة في مدينة بغداد هي دائرة صحة بغداد / الرصافة البلدي للأطفال والنسائية ومستشفى القادسية ، دائرة مدينة الطب / مستشفى مستشفى ابن حمادة الاطفال التعليمي ومستشفى بغداد التعليمي للمدة من ايلول 2004 الى مايس 2005 . اخذت العينات من جهاز سحب السوائل والحاضنات والارضية والجدران واقنعة الاوكسجين واجهزة انعاش الطفل والموازين وايادي الكادر الطبي والعاملين في الردهات وادوات قص الحبل السري والمغسلة .

2- العزل والتشخيص

زرعت العينات مباشرة على الاوساط الزرعية الاغاثية والتفريقية . اذ استعمل وسط اكار الدم والمكوني والمانتول الملحي ووسط Eosin methylen blue وحضنت الاطباق بدرجة 37° ولمدة 18-24 ساعة (7،8) .

شخصت البكتريا اعتمادا على صفاتها الزرعية والمجهريه والاختبارات الكيموحيوية وقد تم اجراء الفحوصات الكيموحيوية : فحص الاندول واختبار احمر المثل واختبار فوكس - بروسكاور واختبار استهلاك السترات وفحص انتاج الكاتاليز واختبار انزيم الاوكسيديز وفحص اليوريز واختبار تخمر سكر الكلوكوز واللاكتوز اضافة الى استخدام عدة التشخيص 20 Api (BioMereux France) للتشخيص النهائي للبكتريا السالبة لملون غرام ، ولغرض التشخيص التاكيدي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية استخدمت الفحوصات : فحص عامل الخثرة بطريقة الشريحة وبطريقة الانبوب (9) وفحص انزيم الكاتاليز والاكسيديز واختبار انتاج الانزيم المحلل للدناوتخمر المانيتول هوانيا واختبار اليوريز كذلك استخدام عدة التشخيص Api Staph لتمييز *Staph.aureus* عن باقي الانواع الغير منتجة لانزيم مخثر البلازما . استمرت عملية اقامة العزلات باستخدام وسط Brain broth heart infusion المضاف اليه الكليسرول بنسبة 15% لحفظ العزلات لمدة طويلة في درجة -20° م لحين الاستعمال على ان يتم تجديد العزلات كل ثلاثة اشهر .

3- المضادات الحيوية

اما المضادات الحيوية المستخدمة في فحص الحساسية فقد استعمل كل من :-

Amikacin (AK) 30 µg , Amoxicillin (AX) 25 µg , Augmentin (Amoxicillin + Clavulanic acid AMC) 30 µg, Gentamicin (GN) 10 µg, Cefotaxime (CTX) 30 µg, Cefazolin (cz) 30 µg, Ciprofloxacin (CIP) 5 µg, Chloramphenicol (C) 30 µg, Tetracycline (TE) 30 µg , Norfloxacin (NOR) 10 µg , Ofloxacin (OFX) 5 µg , Pefloxacin (PEF) 5 µg .

واضيف المضاد Fusidic acid لعزلات المكورات العنقودية الذهبية والمضاد

Carbencillin لكل من بكتريا ايشيريكية القولون والبروتيس والمضاد

Trimethoprim لبكتريا ايشيريكية القولون ، وقد تم تحديد كون العزلة حساسة او

مقاومة لمضادات الحياة بالاعتماد على NCCLs (2000) استخدمت طريقة

الاقراص واعتمادا على Kirby و Baur (1966)

كما ورد في WHO (1991) (10) وباستخدام وسط مولر هنتون ، كما

استخدمت طريقة التخفيف المضاعفة المتسلسلة Two fold dilution method

على الوسط الزرع الصلب لحساب MICs لمضادات الحياة اعتمادا على ما ذكر

في Stocks , Ridgway (1987) .

4- المطهرات

تم تحديد قيم التراكيز المثبطة الدنيا MICs للمطهرات الخمسة قيد الدراسة جدول (1) باتتباع طريقة الانابيب *Macrodilution broth method* وطريقة الصفيحة العيارية *Agar Microtitration Tray Plate method* وطريقة التخفيف بالاكار *dilution method* حسب ما جاء في (9,10,11,12) وقد استخدمت التراكيز الاتية 5000-4500-4000- 1500-1024-512-256-128-64-32-16-8-4-2- (µg/ml) 3500-3000-2500-2000- حدد التركيز القاتل الأدنى MBCs للمطهرات الكيميائية على انه اقل تركيز يؤدي الى قتل 99% من المزروع البكتيري او يؤدي الى انعدام النمو على الوسط الزرع الصلب (13) .

- تم تحديد الزمن اللازم لتعريض البكتريا للمطهرات الكيميائية قيد الدراسة من اجل القضاء عليها باتتباع طريقة Narenathe (1997) والفرطوسي (2002) (15,14) .

جدول - 1: المطهرات الكيميائية قيد الدراسة

ت	الاسم التجاري	الاسم العلمي	التركيز غم/100مل	pH	الشركة المجهزة والمنشأ
1	Hibitane	Chlorohexidin	4	5.87	شركة الرحمة - أردني
2	Bleach	Sodium hypochlorite	6	13.53	السوق المحلية
3	Sekeucid-N	Glutaraldehyde	2	8	Henkel-Ecalop ألماني - أمريكي
4	Minudes	Diazapropyl, alcoholic alkoxilate	100	8.5	Henkel-Ecalop ألماني - أمريكي
5	Skin-sept	Chlor hexidin diglyconate, benzal konium chloride	2	5.5	Henkel-Ecalop ألماني - أمريكي

النتائج والمناقشة

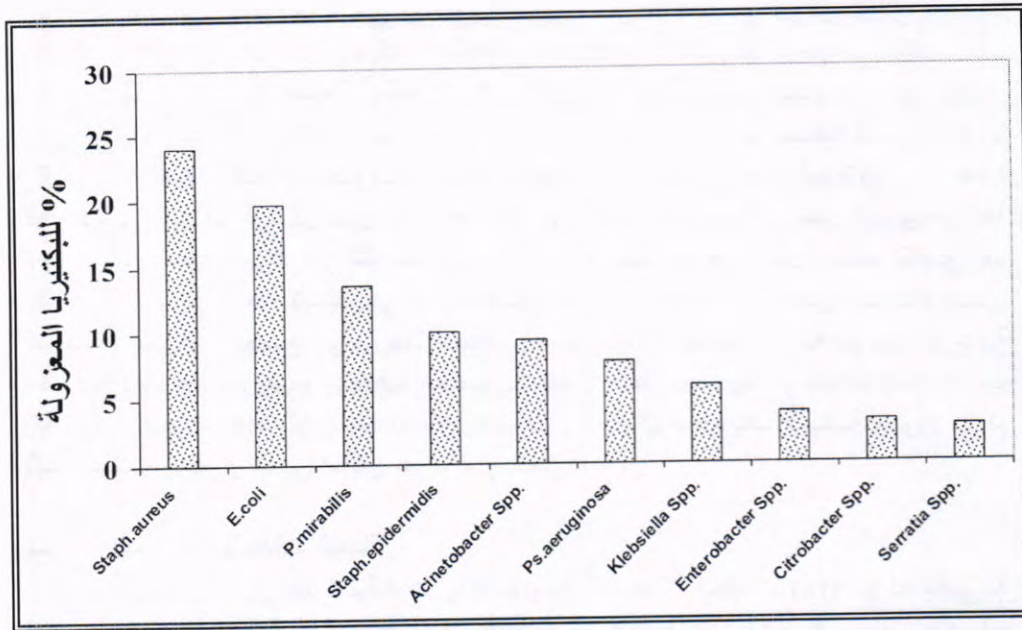
1- العزل والتشخيص

بلغ عدد العينات الاجمالي 800 عينة (مسحة) ، اظهرت 228 عينة نموًا "موجبًا" للزرع البكتريولوجي ، شملت جنسين للبكتريا الموجبة لملون غرام و 8 اجناس تعود للبكتريا السالبة لملون غرام كما هو موضح في الجدول -2 ، و اظهرت 50 عينة نموًا "مشتركا" للعديد من الانواع (تلوث) لذلك تعذر تشخيصها و 10 عزلات من الفطريات اما باقي العينات التي لم يظهر بها نمو فقد تكون حاوية على بكتريا لا تستطيع النمو في الظروف والايوساط الزرع الاعتيادية او تكون خالية من التلوث الجرثومي .

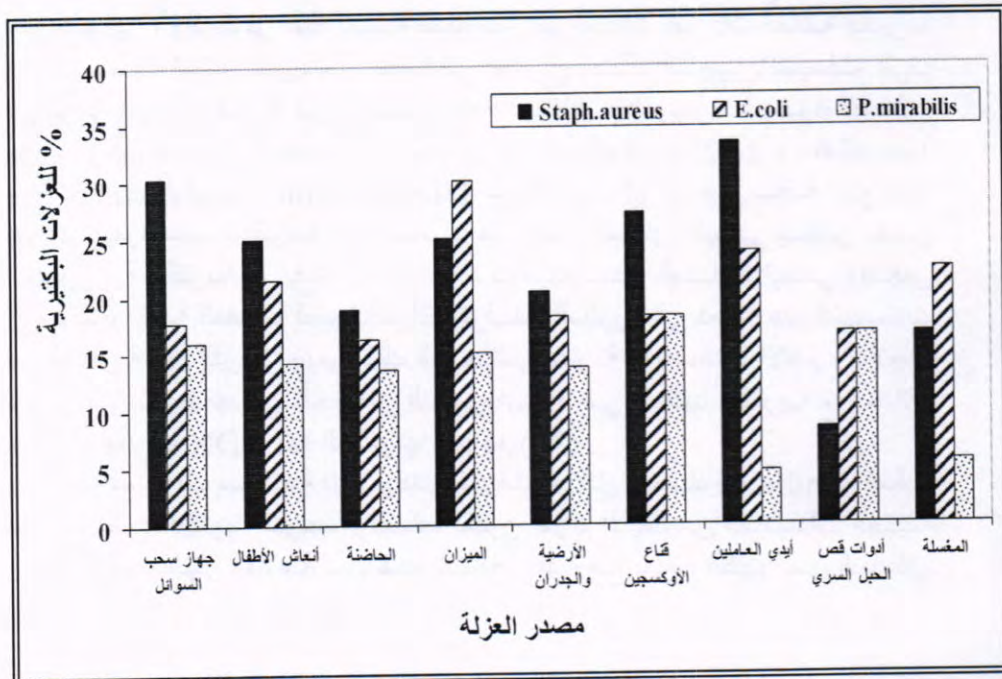
يبين الشكل - 1 النسب المئوية لانواع البكتريا المعزولة من ردهة الاطفال الخدج اما الشكل -2 يمثل النسبة المئوية للعزلات البكتيرية المشكلة لاعلى نسبة تلوث ومصادر عزلها من ردهة الخدج ووتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Tan وجماعته (2004) اذ عزل بكتريا *Staph. aureus* و *E.coli* من اطفال حديثي الولادة بعد اجراء عملية فتح القلب في وحدات العناية المركزة وايضا مع نتائج النداوي (2005) التي عزلت البكتريا السالبة والموجبة لملون غرام من بيئة صالات العمليات (17,16) .

جدول 2: أنواع البكتيريا المعزولة من مصادر مختلفة في ردهة الخدج

البكتيريا السالبة لملون غرام												البكتيريا الموجبة لملون غرام			العدد الكلي	مصدر العينات
Serratia spp.	Citrobacter spp.	Enterobacter spp.	Klebsiella spp.	P.aeruginosa spp.	Acinetobacter spp.	P.mirabilis	E.coli	Staph. epidermidis	Staph. aureus							
1	1	2	4	4	3	9	10	5	17	56	جهاز سحب السوائل					
2	3	2	3	4	3	6	8	4	9	44	الأرضية والجدران					
2	1	2	3	3	5	5	6	3	7	37	الحاضنات					
0	1	1	1	3	3	4	6	2	7	28	أجهزة التعاشل الأطفال					
1	0	0	1	2	2	4	4	2	6	22	قناع الأوكسجين					
0	0	2	0	0	3	1	5	3	7	21	أيدي العاملين					
0	0	0	1	1	2	3	6	2	5	20	الميزان					
1	1	1	1	1	2	1	4	3	3	18	المقبلة					
0	1	0	1	2	1	2	2	2	1	12	أدوات فحص الحبل السري					
(%2.7)7	(%3.1)8	(%3.8)10	(%5.8)15	(%7.7)20	(%9.3)24	(%13.5)35	(%19.7)51	(%10)26	(%24)62	258	المجموع (%)					



شكل -1: النسبة المئوية لأنواع البكتيريا المعزولة من ردهة الأطفال الخدج .



شكل -2: النسبة المئوية للعزلات البكتيرية المشكلة لأعلى نسبة تلوث في ردهة الخدج

لقد شكلت المكورات العنقودية الذهبية أعلى نسبة تلوث في جميع مصادر العينات وخاصة جهاز سحب السوائل وهذا يعود الى ان انبوبة الجهاز معرضة لهواء واثربة الردهة مما يؤدي الى تجمع الجراثيم في الانبوبة كما ان المكورات العنقودية هي نبيت طبيعي للانف مما يؤدي الى انتقالها عن طريق السعال والتنفس وايضا " لها القابلية على البقاء في الجو الحار الجاف كغبار الردهات (19,18) . كما اظهرت النتائج ان العصيات السالبة لملون غرام (*E.coli*) شكلت نسبة عالية من التلوث لانها تستطيع البقاء على الايدي لمدة 15-20 دقيقة لذلك تعد الايدي من اهم الوسائل لنقل هذه العصيات من الكادر الطبي والمرضى الى بيئة ردهة الخدج ووحدات العناية المركزة وذلك لعدم مراعاة القواعد الصحية في غسل وتعقيم الايدي بعد استعمال الحمامات التي تعد الاساس في نقل العصيات السالبة اذ تم عزلها من المغسلة بسبب كثرة استعمالها من قبل الجميع ، ومن خلال بحثنا لاحظنا عمال تنظيف الردهة يقومون برعاية الطفل الخديج وهم انفسهم يقومون بتعقيم الحاضنات بطريقة غير صحيحة وعدم استعمال نسب محسوبة من المطهرات وقد تفشل هذه المطهرات على اختزال العصيات السالبة لملون غرام من الايدي بسبب استقرارها في اماكن عميقة من الجلد (19) .

2- حساسية البكتريا لمضادات الحياة

اجري فحص اختبار حساسية البكتريا المعزولة لمضادات الحياة لـ 100 عزلة بكتيرية تضمنت *P.mirabilis* و *E.coli* و *Staph.aureus* با اعتبارها من اكثر المسببات لاختلاج المستشفيات والاكثر عزلا " في هذه الدراسة . اذ تم اختبار حساسية هذه العزلات تجاه 13 مضاد حيائي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية و 14 مضاد لعزلات ايشيريكييا القولون و 13 مضاد لعزلات *P.mirabilis* كما موضح في الجدول -3 فقد تباينت النتائج في مدى استجابة العزلات قيد الدراسة للمضادات المستعملة فان نسبة مقاومة بكتيرية *P.mirabilis*, *Ecoli* لمضاد Amoxicillin 73.3% و 90% ولمضاد Carbencillin هي و 86.8% و 100% على التوالي ، واذ تشير هذه النسبة للمقاومة الى امتلاك عزلات العائلة المعوية لانظمة الدفاع اذ يتم قذف المضاد من داخل الخلية الى الخارج وكذلك انتاجها لانظيمات البيتا لاكتاميز التي تحمي الخلية البكتيرية من مهاجمتها حلقة البيتا لاكتام الموجودة في نواة البنسلين والسيفالوسبورين وكسر اصرة الامايد ليتحول المضاد الى فاقد الفعالية (20,21) ، كذلك نسبة مقاومة عزلات *E.coli* لمضاد Trimethoprim عالية (89.4%) وهي متفقة مع عدة دراسات (16,6) ويعود سبب المقاومة لهذا المضاد هو تغيير المسار الايضي بتخليق بعض المركبات الضرورية للبكتريا من خلال انتاج مواد تنافسية تدخل المسار الايضي وتنافس المضاد (22) . وتشير نسبة المقاومة لمضادلت الكوينولونات المفلورة الى فعالية هذه المضادات ضد العزلات البكتيرية قيد الدراسة ويعود ذلك الى حداثتها مقارنة بالمضادات الاقدم ، اذ تعمل هذه المضادات على تثبيط تصنيع الحامض النووي DNA في الخلايا البكتيرية من خلال ارتباطها بانزيم DNAgyrase مؤدية الى موتها السريع (23) .

اما عن فعالية مضادات مجموعة الامينوكلاوسيدات فقد كان لمضاد Amikacin فعالية عالية اذ كان فعال ضد البكتريا الموجبة والسالبة لملون غرام اذ يعد من المضادات الحديثة الاستعمال والتي قلما تظهر مقاومة له وهذه النتائج متفقة مع نتائج الكثير من الباحثين (2,16,24) .

جدول -3: عدد العزلات قيد الدراسة المقاومة لمضادات الحياة والنسبة المئوية للعزلات المقاومة

عدد العزلات والنسبة المئوية للعزلات المقاومة %			المضادات المستخدمة
<i>Staph.aureus</i> 42	<i>E.coli</i> 38	<i>P. mirabilis</i> 20	
30 (%71.4)	28 (%73.3)	18 (%90)	Amoxicillin
5 (%11.9)	8 (%21)	3 (%15)	Cefotaxime
12 (%28.5)	22 (%57.8)	16 (%80)	Tetracycline
4 (%9.5)	18 (%47.3)	4 (%20)	Ciprofloxacin
38 (%90.4)	37 (%97.3)	20 (%100)	Amoxicillin + Clavulanic acid
4 (%9.5)	10 (%26.3)	8 (%40)	Ofloxacin
10 (%23.8)	9 (%23.6)	12 (%60)	Chloramphenicol
8 (%19)	22 (%57.8)	9 (%45)	Gentamicin
2 (%4.7)	3 (%7.8)	0 (%0.0)	Amikacin
5 (%11.9)	9 (%23.6)	4 (%20)	Norfloxacin
4 (%9.5)	10 (%26.3)	11 (%55)	Pefloxacin
17 (%40.4)	19 (%50)	13 (%65)	Cephazolin
	34 (89.4)		Trimethoprim
	33 (%86.8)	20 (%100)	Carbenicillin
3 (%7.1)			Fusidic acid

اشارت النتائج الى حساسية عزلات المكورات العنقودية الذهبية Fusidic acid وان سبب ذلك هو اقتصار Ointment تجاه للاصابات الجلدية او للاستعمال الخارجي . يتبين من نتائج دراستنا ان المضاد الاكثر Amikacin وكان مضاد Clavulinic+Amoxicillin استعماله كمرهم فعالية في جميع الاجناس هو الاقل فعالية اذ كانت نسبة المقاومة له من قبل جميع الاجناس 95.9% بتأثيرها في الاجناس المختلفة . الجدول - 4 يبين مديات Acid بينما تفاوتت باقي المضادات المقاومة لمضادات الحياة للعزلات قيد الدراسة والجدول -5 يبين تعددية المقاومة لمضادات الحياة (%80) *P.mirabilis* قيد الدراسة، ان صفة المقاومة لاكثر من خمسة مضادات كانت لعزلات (%11.9) وكلما قلت مديات *Staph.aureus* (%71) ثم عزلات *E.coli* وتليها عزلات المقاومة للعزلات البكتيرية المدروسة يعد مؤشرا " صحيا " جيدا " وهو يدل على الاستخدام الجيد والمدرّوس للمضادات .

جدول 4: مدى المقاومة لمضادات الحياة للعزلات قيد الدراسة

مدى المقاومة لمضادات الحياة													عدد العزلات	نوع البكتيريا
13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1		
1	-	-	-	1	-	1	2	1	6	11	16	3	42	<i>Staph. aureus</i>
2	2	1	2	3	3	4	10	4	3	2	1	1	38	<i>E.coli</i>
-	-	2	1	1	5	5	2	2	2	-	-	-	20	<i>P.mirabilis</i>
3	2	3	3	5	8	10	14	7	11	13	17	4	100	المجموع
(3)	(2)	(3)	(3)	(5)	(8)	(10)	(14)	(7)	(11)	(13)	(17)	(4)	(100)	%

جدول 5: تعددية المقاومة لمضادات الحياة للعزلات قيد الدراسة

نوع العزلة	عدد العزلات	عدد العزلات المقاومة لخمس مضادات فأقل %	عدد العزلات المقاومة لأكثر من خمس مضادات %
<i>Staph.aureus</i>	42	37 (88)	5 (11.9)
<i>E.coli</i>	38	11 (28.9)	27 (71)
<i>P.mirabilis</i>	20	4 (20)	16 (80)
المجموع	100	52 (52)	48 (48)

يبين الجدول - 6 قيم MICs لبعض المضادات المستخدمة في هذه الدراسة مقدرة μg Iml، فقد تم دراسة التراكيز المثبطة الدنيا للبكتيريا الأكثر مقاومة للمضادات والتي قاومت أكثر من 8 مضادات حياة وذلك لعدة اعتبارات دقتها العالية ولاهمية هذا الاختبار في الطب وعلاج الاصابات البكتيرية .

حددت العزلات سواء كانت حساسة او مقاومة للمضاد اعتمادا " على نقطة التوقف Break Point المثبتة من قبل Neels(2002) كأساس لحساب الاستجابة ويمثل التركيز الامثل الذي يمكن ان يصله المضاد في المصل بحيث يوفر اعلى حد من المعالجة وتعد العزلة حساسة عندما تكون مقادير MICs اقل من نقطة التوقف المحسوبة وهناك عدة عوامل تؤثر في نتائج قيم MICs منها مكونات الوسط المستعمل لذلك يفضل استخدام اكار مولر هنتون لاحتوائه على كمية قليلة من كلوريد الصوديوم ونسب قليلة من ايونات الكالسيوم والمغنيسيوم (10) وكذلك تتأثر قيم MICs طرديا " مع حجم اللقاح البكتيري .

جدول 6- قيم MICs لبعض المضادات المستخدمة قيد الدراسة مقدرة بالمايكروغرام/مل

المضاد	GN	TE	CZ	AX	CIP	C	CTX	AK	AMC	NOR	OFX
العزلة	GN	TE	CZ	AX	CIP	C	CTX	AK	AMC	NOR	OFX
نقطة التوقف *	≥16	≥16	≥32	≥16	≥4	≥32	≥8	≥64	≥16	≥8	≥8
<i>Staph.aureus</i> ₂	8	512	1024	128	8	512	16	32	8	16	8
<i>Staph.aureus</i> ₁₁	16	16	256	256	16	32	1024	32	8	32	8
<i>Staph.aureus</i> ₃₃	64	512	256	>1024	32	32	256	64	32	128	8
<i>Staph.aureus</i> ₃₅	64	128	256	1024	32	32	>1024	128	64	256	8
<i>Staph.aureus</i> ₂₀	8	512	256	128	16	512	16	32	4	16	8
<i>P.mirabilis</i> ₂	16	512	16	1024	16	256	16		64	16	16
<i>P.mirabilis</i> ₁₀	16	1024	32	1024	16	256	32		1024	128	16
<i>P.mirabilis</i> ₇	32	512	512	1024	16	256	16		32	512	16
<i>P.mirabilis</i> ₂₀	16	1024	32	1024	64	512	32		64	32	256
<i>P.mirabilis</i> ₁₅	256	1024	>1024	>1024	32	512	128		1024	512	512

لمضاد العزلة	GN	TE	CZ	AX	CIP	C	TMP	CTX	AK	AMC	NOR	OFX
نقطة التوقف *	≥16	≥16	≥32	≥16	≥4	≥32	≥16	≥8	≥64	≥16	≥8	≥8
<i>E.coli</i> ₂	1024	1024	8	1024	128	16	1024	16	32	128	1024	512
<i>E.coli</i> ₅	128	1024	8	1024	4	1024	1024	64	16	64	32	8
<i>E.coli</i> ₁₁	128	1024	1024	512	8	32	512	128	8	64	64	8
<i>E.coli</i> ₁₂	512	1024	1024	128	32	1024	1024	32	128	1024	16	16
<i>E.coli</i> ₁₅	128	1024	512	512	4	1024	1024	1024	8	128	1024	512
<i>E.coli</i> ₁₆	256	1024	256	16	8	32	32	8	16	16	16	64
<i>E.coli</i> ₂₀	1024	64	1024	4	1024	512	1024	8	32	16	32	32
<i>E.coli</i> ₂₁	1024	1024	1024	1024	8	32	32	1024	8	128	64	512
<i>E.coli</i> ₂₃	1024	1024	1024	128	32	1024	1024	32	128	32	512	512
<i>E.coli</i> ₂₅	1024	32	512	512	4	32	16	32	16	32	512	8

GN = Gentamicin
 TE = Tetracycline
 CZ = Cephazolin
 AX = Amoxicillin
 CIP = Ciprofloxacin
 C = Chloramphenicol
 TMP = Trimethoprim
 CTX = Cefotaxime
 AK = Amikacin
 AMC = Clavulanic acid + Amoxicillin
 NOR = Norfloxacin
 OFX = Ofloxacin

3- تحديد التراكيز المثبطة الدنيا للمطهرات

تحديد التراكيز المثبطة الدنيا MICs للمطهرات قيد الدراسة تم اجراء الاختبار على العزلات الأكثر مقاومة لمضادات الحياة والاعلى قيمة من ناحية التركيز المثبط الأدنى . حددت التراكيز المثبطة الدنيا لخمس من المطهرات وهي الشائعة الاستعمال في المستشفيات التي تم اجراء الدراسة فيها وقد استخدمت ثلاث طرق (طريقة الانابيب وطريقة الصفيحة العياريّة وطريقة التخفيف بالاكار) ، كانت طريقة الانابيب هي الادق والاكثر كفاءة على الرغم من كون الصفيحة العياريّة اسهل واسرع واقل كلفة من ناحية المطهرات الكيمائية الا انها اكثر عرضة للتلوث واقل وضوحا" في قراءة النتائج مقارنة بطريقة الانابيب التي تعد اكثر صعوبة مقارنة بطريقة التخفيف بالاكار ولذلك اعتمدت طريقة الانابيب في قراءة النتائج كما موضح في الجدول -7 اذ يتضح ان المطهر Skin sept هو الاكثر فعالية وكانت العزلات الموجبة لملون غرام اكثر حساسية لهذا المطهر مقارنة بالعصيات السالبة لملون غرام وتعود الفعالية القاتلة لهذا المطهر الى التأثير المشترك لمادة Chlorhexidin diglyconate و benzal Konium chloride اذ تسبب المادة الاولى نضوح مكونات الساييتوبلازم وحدوث تغير في اجهزة النقل بالانزيمات المرتبطة عند تعرض الخلية له في حين يؤثر المادة الثانية على نفاذية الغشاء الساييتوبلازمي وتسبب تخثر الساييتوبلازم (25) .

ان التعرض المستمر للمطهرات الكيمائية يؤدي الى ارتفاع قيم الـ MICs وخاصة للعصيات السالبة لملون غرام باعتبارها الأكثر تواجدا" في بيئة المستشفيات وتعود الفعالية القاتلة للمطهر Chlorhexidin لكونه يسبب تحلل البروتوبلاست والسيفيروبللاست وان التراكيز العالية منه تسبب ترسب البروتينات والاحماض النووية في خلية البكتريا (26) . اما الفعالية القاتلة للـ Sodium Hypochlorite باعتباره احد الهالوجينات المألوفة والواسعة الاستعمال لتأثيره في الحامض النووي DNA ، اذ يعمل على تثبيط عملية تصنيعه في الخلية البكتيرية (27) ، كذلك تعود الفعالية القاتلة لمطهر الـ Minudes على الاحياء المجهرية من خلال تحطيم جدار الخلية لكونه مذيب للدهون ومحلل للبروتينات الخلوية (28) ، اما فعالية المطهر Sekeucid-N فتعود الى تثبيط تصنيع الاحماض النووية DNA, RNA وتثبيط عملية تصنيع البروتينات في الخلية البكتيرية من خلال ارتباطه وتداخله مع الاحماض الامينية (29) . اظهرت النتائج ان العصيات السالبة لملون غرام اكثر مقاومة للمطهرات من المكورات الموجبة ويعود ذلك لامتلاكها للطبقة الخارجية المانعة لنفاذية المركبات المضادة الى السيتوبلازم .

حددت التراكيز القاتلة الدنيا MBCs لخمس من المطهرات الكيمائية والجدول -8 يوضح قيم التراكيز القاتلة الدنيا للمطهرات على عزلات الدراسة المنتخبة . كذلك تم تحديد زمن التعرض اللازم لقتل العزلات البكتيرية اعتمادا" على قيم التركيز القاتلة الدنيا للمطهرات التي تضمنتها الدراسة كما موضح في الجدول -9 .

اظهرت الدراسة الحالية تلوث بيئة روضة الاطفال الخدج باعداد وانواع مختلفة من الجراثيم السالبة والموجبة لملون غرام ، اذا كانت بكتريا *Staph. aureus* اكثر الانواع شيوعا" ، تليها بكتريا *E. coli* ثم *P. mirabilis* وشكل جهاز سحب السوائل اكثر الاجهزة تلوثا" بالبكتريا المعزولة . ابدت هذه البكتريا مقاومة عالية ومتعددة تجاه المضادات المختلفة وكانت الامينوكلايكوسيدات ولا سيما Amikacin ذو فعالية كبيرة كعوامل مضادة للجراثيم . وكانت العصيات السالبة لملون غرام اكثر مقاومة للمطهرات من المكورات العنقودية واخيرا" فان المطهر Skin sept اكثر فعالية تجاه عزلات الدراسة تلاه Hibitans و Bleach و Sekucid-N ثم Minudes .

جدول 7- قيم الـ MIC_s لخمس من المطهرات على العزلات قيد الدراسة مقدرة بالميكروغرام/مل

المطهرات					نوع ورقم العزلة
Minudes	Skin sept	Sekucid-N	Bleach	Hibitans	
3500	32	2500	1500	128	<i>P.mirabilis</i> 2
3500	128	2500	2000	128	<i>P.mirabilis</i> 7
2500	64	3000	1500	64	<i>P.mirabilis</i> 15
4000	128	2000	2000	256	<i>P.mirabilis</i> 20
4000	64	1500	1500	128	<i>P.mirabilis</i> 10
512	8	2500	2000	16	<i>E.coli</i> 2
1024	16	2500	2000	16	<i>E.coli</i> 12
1024	32	1024	1024	32	<i>E.coli</i> 15
512	128	2000	2000	32	<i>E.coli</i> 21
1024	8	1500	2000	64	<i>E.coli</i> 23
512	4	1024	1024	16	<i>S.aureu</i> 2
1024	4	2000	2000	32	<i>Staph.aureus</i> 11
512	8	2000	1024	16	<i>Staph.aureus</i> 20
1024	4	1024	1024	8	<i>Staph.aureus</i> 33
1024	4	1500	1024	8	<i>Staph.aureus</i> 35

جدول 8- قيم الـ MBC_s لخمس من المطهرات على العزلات المنتخبة مقدرة بالميكروغرام/مل

التراكيز القاتلة الدنيا (MBC_s) مايكروغرام/مل					نوع ورقم العزلة المطهرات
Skin sept	Hibitans	Bleach	Sekucid-N	Minudes	
64	256	2000	3000	4000	<i>P.mirabilis</i> 2
256	256	2500	3000	4000	<i>P.mirabilis</i> 7
256	512	2500	2500	4500	<i>P.mirabilis</i> 15
128	256	2000	2000	4500	<i>P.mirabilis</i> 20
128	128	2000	3500	3000	<i>P.mirabilis</i> 10
16	32	2500	3000	1024	<i>E.coli</i> 2
32	32	2500	3000	1500	<i>E.coli</i> 12
64	64	1500	1500	1500	<i>E.coli</i> 15
256	64	2500	2500	1024	<i>E.coli</i> 21
16	128	2500	2000	1500	<i>E.coli</i> 23
2	32	1500	1500	1024	<i>Staph.aureus</i> 2
8	128	2500	2500	1500	<i>Staph.aureus</i> 11
16	32	1500	2500	1024	<i>Staph.aureus</i> 20
8	16	1500	1500	1500	<i>Staph.aureus</i> 33
8	16	1500	2000	1500	<i>Staph.aureus</i> 35

جدول -9: الزمن اللازم لقتل العزلات البكتيرية المنتخبة بعد تعرضها للمطهرات الخمسة

زمن القتل / بالدقيقة					نوع ورقم العزلة
Skin sept	Hibitans	Bleach	Sekucid-N	Minudes	
5	5	5	30	20	<i>Staph.aureus</i> 20
5	10	15	30	30	<i>E.coli</i> 23
5	10	20	25	30	<i>P.mirabilis</i> 15

أخيرا" نوصي باجراء بحوث خاصة بعزل وتشخيص البكتريا اللاهوائية والمسببات الميكروبية الاخرى ، والربط بين ملوثات صالة الولادة وملوثات ردهة الاطفال الخدج كذلك بين ردهة الاطفال الخدج مع الامراض الميكروبية التي تصيب الخدج ، ويمكن اجراء تجارب لايجاد افضل مطهر وبافضل تركيز لتعقيم جهاز سحب السوائل وهو الجهاز الاكثر تلوثا" في ردهة الاطفال الخدج ومن المهم التاكيد على ضرورة معاملة الاطفال الخدج من قبل كادر طبي متخصص بهذا المجال وملم بمفاهيم الملوثات الميكروبية .

المصادر

- 1- Here ,R.W. " Use of non sterile instruments for examination for retino patty of prematurity in the neonatal "J. Ped. 145(3):308-11 (2004).
- 2- Deep, A.; Childiyal, R.;Kandian,S.and Shinker,N."Clinical and microbiology profile of nosocomial infection in the pediatric intensive care unit (PICU) . Ind. Ped., 41 :1238-44 (2004) .
- 3- Parsons , H.K. ; Vitovski , S. and Sayers,J.R." Immunoglobulin AI proteases : a structure – function up data" Biochemical Society transaction ., 32(6):1130-32 (2004).
- 4- Katzug,B.G." Chemotherapeutic drug.basic and clinical pharmacology "9th ed .: 733-81 (2004) .
- 5- Bruch,M.K. " Chloroxyleno:an old – new antimicrobial:265-94 in :hand book of disinfections and antiseptics. Ascenz J.M.(E.d.) Marcel dekker ,Inc . New york , N.Y. (1996) .
- 6- حنا ، صفا توما" دراسة على الجراثيم الهوائية الملوثة لردهات احدى المستشفيات ومقاومتها للمضادات الحياتية والمطهرات " رسالة ماجستير ،كلية العلوم،جامعة بغداد (1999).
- 7- Finegold , S.M. and Martin , W.J. " Diagnostic microbiology "6th ed. Mosby Company (1982).
- 8- Forbes , B.A.: Sahm ,D.F. and Wessifeld , A.S."Baily and Scott s diagnostic microbiology" 10th ed . Mosby,U.S.A. p.509 (1998).

- 9- Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. "Mackie and McCartney practical medical microbiology" 14th ed Churchill Livingstone U.S.A. (1996).
- 10- Stocks, E.J. and Ridgway, G. "Handling Clinical specimens for microbiology studies" 5th ed Churchill Livingstone Edinburgh :173 -201 (1987).
- 11- Prescott, L.M.; Harley, J.P. and Klein, D.A. "Microbiology" W.M.C. Brown publisher, U.S.A. (1990).
- 12- NCCLS, Performance standards for antimicrobial susceptibility Testing 12th information supplement. (2002).
- 13- Levison, W. and Jawetz, E. "Medical microbiology and immunology Examination and board review" 6th ed. Lange medical books / McGraw-Hill. New York (1998).
- 14- Narendranathe, N.V.; Hynes, S.H.; Thomask G. and Ingled, W.M. "Effect of Lactobacilli and yeast catalyzed ethanol fermentation. J. Appl. Env. Microb., 63 (II) : 4158-63 (1997).
- 15- الفرطوسي، هناء فرحان عباس " تحديد المحتوى الجيني ودراسة تأثير العوامل الكيميائية والفيزيائية على ضمات الكوليرا المعزولة محليا" رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية (2002).
- 16- النداوي، تحرير هادي " دراسة تأثير بعض المطهرات على بعض انواع البكتيريا المعزولة من مرضى وصالات العمليات الجراحية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية (2005).
- 17- Tan, L.; Sun, X.; Zhang, Z.; L., J.; Shu, O. "Epidemiology of nosocomial pneumonia in infant after cardiac surgery" Medicine, Zhejiang University, 125(2): 410-7 (2004).
- 18- Esen, S.; Leblebi, G. and Cioglu, H. "Prevalence of nosocomial infection at intensive care unit in Turkey" Scand. J. Infect. Dis., 36(2) : 144-8 (2004).
- 19- Inan, D.; Saba, R.; Ongut, G.; Tuhiran, O. and Mamikoglu L. "Daily antibiotic costs of nosocomial infection in a Turkish university hospital" BMC infect. Dis., 51(2) 55-9 (2005).
- 20- Cur, D.; Kanra, G.; Ceyhan, M.; Secmeer, G. and Kaymakoglu, I. "Epidemiology and antibiotic resistance of gram negative urinary pathogens in pediatric patients". J. of Pediatric, 41: 37-42 (1999).
- 21- Schweizer, H.P. "Efflux as a mechanism of resistance to antimicrobials in *Pseudomonas aeruginosa* and related bacteria: unanswered questions" Genetic and Molecular Research, 2(1): 48-62 (2003).
- 22- Davis, B.; Dulbeco, R.; Eisen, H. and Guisberg, H. "Microbiology 4th ed. Harber and Row Publisher, New York (1990).
- 23- Hooper, D. "Mechanism of fluoroquinolone resistance" Emerging infect. Dis, 7(2):337-41 (2001).

- 24- اسماعيل ، سعيد محمد عوض " دراسة استخلاص وتوصيف انزيم اليوريز من بكتريا المنقليات المعزولة من مرضى خمج المجاري البولية في اليمن " اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم الجامعة المستنصرية (2004).
- 25- Chawner , J.and Gilbert, P."Adsorption of alexidine and chlorhexidine To *Escherichia coli* and membrane components inter" J. Pharm., 55:209-15 (1989).
- 26- Hugo ,W.and Longworth , A. " the effect of Chlorohexidine on the electrophoretic mobility , cytoplasmic content, dehydrogenase activity & cell walls of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* " J. Pharm.,18: 569-78 (1971).
- 27- Dukan, S.and Touati, D. " Hypochlorous acid stress in *Escherichia Coli* resistance, DNA damage,and comparison with hydrogen Peroxide stress" J.Bacteriol.,178:6145-50(1996).
- 28- Larson, E.and Morton , H."Alcohols, :191-230 in disinfection,sterilization and preservation " Block, S.S.(Ed.) 4th ed Lea and febiger, Phildelphia(1991).
- 29- Gorman, S.P. and Scott, E.M." Uptake and media reactivity of glutaraldehyde Solution related to structure and biocidal activity " Microb. lett., 5: 163-9 (1977) .

عزل ابواغ بكتريا *Bacillus subtilis* من العسل العراقي واستخدام البروبوليس لتنشيطها مع انواع بكتيرية اخرى ملوثة للجروح

ندى زكي مهدي و نهاية حكمت زكي
قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية - بغداد - العراق

تاريخ تقديم البحث 2007/9/1 - تاريخ قبول البحث 2008/1/23

ABSTRACT

To test the purity of Iraqi honey from bacterial spores(48) Iraqi honey tested samples shown contamination with two strains of *Bacillus subtilis* spores isolated from two honey samples with prevalence of approximately 4.1% but there was no spores of clostridium species in these samples. Ethanol extracted propolis (EEP) which collected from Ninawa in the north of Iraq used to inhibit *Bacillus subtilis* strains with minimum concentrations(0.9%, 0.5%)when using ethanol as propolis solvent with these concentrations(70%,96%) and (EEP) used to inhibit wound infected bacterial strains which resist many antibiotics like *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* which resist many antibiotics but they was sensitive to EEP extract by using wells diffusion method with good inhibition zones and MIC method on Muller-Hinton agar which was(1%,1.2%,2%,2.3%,3%)and (0.6%, 0.8%, 1.5%,1.7%, 2.1%) by using ethanol with 70% and 96% con. Gram positive bacteria showed more sensitivity to EEP than gram negative bacteria and *Pseudomonas aeruginosa* was more sensitive to EEP than other two gram negative species .

الخلاصة

لغرض اختبار نقاوة العسل العراقي من التلوث البكتيري تم جمع 48 عينة عسل من مناطق مختلفة من العراق وقد تم عزل ابواغ بكتيرية للنوع *Bacillus subtilis* بواقع عزلتين لعينتين فقط من العسل اي بنسبة تلوث عينات العسل (4.1%) ولم يتم التمكن من عزل ابواغ بكتيرية للجنس *Clostridium* رغم التحري عنها . وكان المستخلص الكحولي للبروبوليس (EEP) (الذي جمع من محافظة نينوى في شمال العراق) مثبطا لعزلات النوع *Bacillus subtilis* فقد بلغ التركيز المثبط الادنى (MIC) له (0.9% v/v) ، (0.5%) عند استخدام الكحول كمذيب للمستخلص المذكور ايضا لتنشيط سلالات الانواع البكتيرية الملوثة للجروح والمقاومة لعدد من المضادات الحيوية المعروفة وهي على التوالي، *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* وقد بلغ (MIC) لها عند استخدام مستخلص EEP (2.1%, 1.7%, 1.5%, 0.8%, 0.6%) (3%, 2.3%, 2%, 1.2%, 1% v/v) عند استخدام الكحول كمذيب للـ (EEP) بتركيز (70%)، (96%) على التوالي . كما أظهرت معظم عزلات بكتريا الاختبار حساسية واضحة للمستخلص المذكور بتركيزي الكحول عند استخدام طريقة الانتشار بالوسط الصلب وتباينت اقطار التنشيط لها حيث كانت المجموعة البكتيرية الموجبة لصبغة كرام اكثر تحسسا للمستخلص من المجموعة البكتيرية السالبة اضافة الى النوع *Pseudomonas aeruginosa* اظهر تحسسا بتركيز اقل من المستخلص من النوعين السالبين الاخرين لصبغة كرام وكان الكحول بتركيز 96% افضل من التركيز 70% في التنشيط .

المقدمة

أستخدم العسل منذ القدم لتضميد الجروح الملتهبة والملوثة بالبكتريا لاحتواءه على عدد كبير من المثبطات البكتيرية والعوامل المساعدة على التئام الجروح كما انه اكتسب حديثا اهمية اكبر في تطبيقات استخدامه في هذا المجال (1,2). الا ان عزل أبواغ بكتيرية وخاصة لنوع *Clostridium botulinum* بنسب ضئيلة من قبل عدد من الباحثين في بعض دول العالم والمسؤولة احيانا عن تسمم الاطفال الرضع (Infant botulism) دون السنة من العمر (3,4,5) ادى الى التوجه نحو اتخاذ الحذر عند استخدام العسل لقدره أبواغ هذه البكتيريا على الانبات والتكاثر وافراز السموم في معدة الاطفال الرضع فقط (6, 7, 8). وقد اكد الكثير من الباحثين على صعوبة عزل هذه البكتيريا من العسل كونها لاهوائية اضافة الى ان لزوجة العسل وقلة عدد الأبواغ فيه تجعل عملية عزلها واغنائها صعبة ، فهي عزلت من بعض دول العالم فقط (9). وبالرغم من عدم وجود اي اشارة بحثية تدل على ان العسل يعد مصدر تلوث للجروح (9، 10، 11) الا ان احتمالية حدوث تسمم للاحيرة بسبب تلوث العسل المستخدم لتضميدها بأبواغ البكتيريا المذكورة واردة ايضا (9) مما حدى ببعض الباحثين ومنهم Allen & Malan الى استخدام اشعة كاما لتعقيم العسل (12). كما تم عزل أبواغ بكتيرية للجنس *Bacillus subtilis* بانتظام من العسل وللانواع التالية *B. alvei*، *Bacillus subtilis*، *B. larve*، (5، 9، 13). ومن اهم منتجات النحل اضافة الى العسل مركب البروبوليس او ما يدعى بصمغ النحل الحاوي على مكونات صمغية لزجة (Rutin) يجمعها النحل من مصادر نباتية مختلفة وخاصة من براعم الاوراق والازهار لكثير من النباتات ومنها اشجار الحور والصنوبريات ويستخدم البروبوليس ايضا من قبل النحل لسد الفتحات والثقوب وتقوية سقف الخلية (14، 15).

ان المحتوى الكيميائي للبروبوليس يختلف باختلاف نوع النبات الذي يجمع منه وموقعه الجغرافي اضافة الى نوع النحل الجامع له (15، 16، 17) وقد تم التعرف على 180 مركب فعال بايولوجيا في البروبوليس ومن اهمها الفلافونيات (Flavonoids) المثبطة للجراثيم والمهدئة للالام والمحفزة على نمو الانسجة الجديدة عند التئام الجروح (9، 14). كما اكد معظم الباحثين اللذين عملوا في هذا المجال على ان للمستخلص الكحولي للبروبوليس نشاطا متميزا في تثبيط البكتريا الموجبة لصبغة كرام (14، 18، 19). كما توصل عدد من الباحثين في بلغاريا مؤخرا الى نتائج مهمة طبيا عند استخدامهم للمستخلص الكحولي للبروبوليس بتركيزات قليلة في تثبيط 94 سلالة من البكتريا اللاهوائية الممرضة ومن ضمنها بكتريا *Clostridium* واوصوا باستخدام المستخلص لعلاج تلوث الفم والجلد والجروح (20). لذا ترمي هذه الدراسة الى اختبار نقاوة العسل العراقي من التلوث بالأبواغ البكتيرية ومحاولة التخلص منها ومن احتمالية تلوثها بانواع اخرى ممرضة وخطيرة باستخدام تركيز معينة من البروبوليس الذي جمع من محافظة نينوى لغرض استخدامه مستقبلا كعامل مساعد للعسل والمضادات الحيوية في تضميد الجروح المتسببة عن بكتريا ممرضة .

المواد و طرائق العمل

1- عينات العسل : تم جمع 48 عينة من العسل بشكل عشوائي من مناطق مختلفة في العراق .

2- عزل الأبواغ البكتيرية : بعد خلط العسل جيدا بملعقة معقمة تم وزن 10 غم من كل عينة وخفف بـ 10 ملتر من ماء ملحي ثم وضع في حمام مائي هزاز بدرجة 56⁰م لقتل الخلايا الخضرية ان وجدت لمدة نصف ساعة ثم وضع في جهاز الطرد المركزي وبعد اخذ 1 ملتر من الراشح والراسب كل على حدة (للحصول على اكبر عدد من الأبواغ وفق ما ورد في (5)) وزرع على الاوساط الاغنائية (CMM) Cooked Meat medium و Thioglycollate

broth medium (FTM) بظروف هوائية لعزل بكتريا *Bacillus* وظروف لاهوائية لعزل بكتريا *Clostridium* باستخدام وعاء Gas Pak anaerobic jar وحضنت لمدة 7 أيام بدرجة 35⁰م (9).

3- **جمع العينات الملوثة للجروح** : اخذت مسحات من جروح ملوثة لمرضى راقدين في عدد من مستشفيات بغداد ثم شخّصت العزلات البكتيرية من خلال الفحوصات الزرعية والمظهرية والبيوكيميائية حسبما ورد في (21) .

4- **فحص الحساسية للمضادات الحيوية** : تم اختبار جميع عزلات بكتريا البحث لفحص الحساسية للمضادات الحيوية الواردة في جدول رقم (1) ثم تم انتقاء ثلاث عزلات لكل نوع اظهرت مقاومة لعدد من المضادات الحيوية المعروفة اضافة الى عزلتي النوع *Bacillus subtilis* (22).

5- **المستخلص الكحولي للبروبوليس (EEP)** Ethanol Extract Propolis
جمعت عينات البروبوليس من محافظة نينوى في شمال العراق واتبعت الطريقة الواردة في (14) لتحضير المستخلص الكحولي لها باستخدام الكحول بتركيزي 70% و 96% وبعد انتهاء عملية الاذابة تم ترشيح المحلول بواسطة ورقة ترشيح نوع (Whatman No.1) ومن ثم تم تبخير المذيب باستخدام المبخر الدوار تحت ضغط مخلخل بدرجة حرارة 45⁰ م . وتم تحضير تراكيز مختلفة منه كما يظهر في الجداول (3، 4) وباستخدام طريقة الانتشار بالحفر (WDM) على وسط Mueller-Hinton حيث استخدم ثاقب فليبي بقطر (6ملمتر) وملء بكمية (0.2) مليلتر من المستخلص المذكور بعد نشر (0.1) مليلتر من العالق البكتيري على الوسط وحسب التراكيز المقاسة بالملغرام/مليلتر (14).

قياس التركيز المثبط الأدنى (MIC) لمستخلص EEP:
استخدمت الطريقة الواردة في (14) بخلط اوزان معينة من المستخلص المذكور مع الوسط (MHA) لقياس MTC للمستخلص وبدءا بالتركيز (1%) لغاية (5%) بالتسلسل ثم استخدمت التراكيز العشرية ايضا بين التركيز المثبط الأدنى والتركيز الصحيح الأدنى منه لتحديد اقل تخفيف عشري مثبط للنمو البكتيري .

النتائج والمناقشة

بعد اجراء الفحوصات الاختبارية اللازمة لعزل وتشخيص الأوباع البكتيرية الملوثة للعسل العراقي تم عزل سلالتين بكتيريتين لعينتين من العسل اي بنسبة تلوث 4.1% على كل من الوسطين الزرعيين FTM, CMM وبحضانة بظروف هوائية . وبعد اجراء الفحوصات المظهرية والمجهريّة وبعض الفحوصات الكيموحيوية البسيطة تبين ان العزلتين تتبعان الجنس *Bacillus* ولغرض معرفة نوعهما زرعتا على الشريط التشخيصي APl 50CH kit (BioMerieux) الخاص بالجنس المذكور والحاوي على 49 فحص كيموحيوي وبعد الحصول على نتائج الزرع شخصتا اعتمادا على (21) وقد تبين ان السلالتين تتبعان النوع *Bacillus subtilis* وهذا يتفق مع ما ورد في (5) في ان هذا النوع يعزل بانتظام من العسل بسبب انتشار أبواغ هذه البكتريا في الهواء وسطح التربة ومقاومتها للظروف غير الملائمة لنمو البكتريا في العسل (9) . وقد ذكر عدد من الباحثين بان سبب تلوث العسل قد يعود الى تلوث الاجهزة والمواد المستعملة في استخلاص العسل اضافة الى عدم تعقيم الاجواء المحيطة بعملية الاستخلاص اضافة الى ايدي النحالين (3،4،5) . اما الاوساط الزرعية التي حضنت بظروف لاهوائية فلم يظهر فيها اي نمو وهذا يتفق مع ما توصل اليه عدد من الباحثين في

عزل ابواغ بكتريا *Bacillus subtilis* من العسل العراقي واستخدام البروبوليس لتثبيطها مع انواع بكتيرية اخرى ملوثة للجروح ندى و نهاية

بعض دول العالم ومنها كندا وفرنسا والمانيا والنرويج (10,11) في عدم عزلهم لبكتريا *Clostridium* من العسل وقد عزو ذلك الى صعوبة عزلها بسبب لزوجة العسل والتي تمنع انتشار الأبواغ بشكل متجانس اضافة الى انها عندما تلوث العسل فهي تتواجد باعداد قليلة مما يجعل عزلها صعبا للغاية كما ورد في (9).

شخصت العزلات البكتيرية وعددها 42 عزلة من خلال الفحوصات الزرعية والمظهرية والبيوكيميائية حسبما ورد في (21) وكما يلي : 12 عزلة للنوع *Staphylococcus aureus* و 6 للنوع *Streptococcus pyogenes* و 13 للنوع *Pseudomonas aeruginosa* و 5 للنوع *Escherichia coli* و 6 عزلات للنوع *Proteus mirabilis*.

اظهرت نتائج جدول رقم (1) ان عزلات بكتريا البحث بأنواعها الستة والتي تشمل خمسة انواع مسببة لالتهابات الجروح (ثلاث عزلات لكل نوع) تم اختيارها لادائها مقاومة لمعظم المضادات الحيوية وعددها (12) مضاد وخاصة النوعين *S.aureus* و *P.aeruginosa* فقد قاومت عزلاتها الثلاثة جميع المضادات لكنها ثبتت بمستخلص (EEP) ولمعظم تراكيزها اضافة الى عزلتي النوع *Bacillus subtilis* التي تحسست لعدد قليل من المضادات فقط لكنها ثبتت بمستخلص (EEP) بجميع تراكيزها . اما الجدول رقم (2) فيبين التركيز المثبط الادنى بمستخلص (EEP) الذي ثبت المجموعة البكتيرية الموجبة بتراكيز اقل من التراكيز التي استخدمت في تثبيط المجموعة البكتيرية السالبة ، كما كان الكحول بتركيز 96% افضل من التركيز 70% في التثبيط ، وهذا يتوافق مع ما ذكر في نتائج كل من (19,18,14).

ومن خلال ملاحظتنا لنتائج جدول رقم (3) الذي استخدم فيه الكحول بتركيز 70% نجد ان اقطار التثبيط للعزلات البكتيرية الموجبة لصبغة كرام اكبر من اقطار العزلات السالبة لصبغة كرام وخاصة للنوعين *S. aureus* , *B.subtilis* . ونلاحظ بشكل واضح ان زيادة اقطار التثبيط تتناسب طرديا مع زيادة التراكيز المستخدمة للمستخلص وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من (19,14) في هذا المجال وعند مقارنة هذه النتائج مع النتائج التي ظهرت في الجدول رقم (4) عند استخدام الكحول الذي اذيب فيه البروبوليس بتركيز 96% نجد ازدياد اقطار التثبيط لجميع عزلات البحث وهذا يثبت ما ذكره (24,23,19,17) في ان الكحول المطلق (96%) يعتبر افضل مذيب للبروبوليس يستخدم في تثبيط الاحياء المجهرية الممرضة لانه يذيب حوالي (60%) من المركبات الصمغية والشمعية المهمة للبروبوليس الخام والتي تترسب قسم منها وتهمل عند استخدام الكحول كمذيب بتركيز 79% وهذا ما تبين لنا ايضا خلال عملية تحضير المستخلص (EEP) في هذا البحث . ونلاحظ ايضا ان بكتريا *P.aeruginosa* في الجداول الثلاثة معا قد ثبتت بتراكيز اقل من النوعين السالبين الآخرين لصبغة كرام وهذا لا ينسجم مع ما ورد في (14) في ان النوع المذكور ثبت بتركيز اعلى من النوع *E.coli* عند استخدامه الكحول بتركيز 70% ، كما ان قيم MIC في هذا البحث كانت اقل لنفس الأنواع البكتيرية المستخدمة في البحث المذكور (والذي استخدم فيه وسط زرعي سائل بدل الوسط الصلب المستعمل في هذا البحث) اضافة الى اختلاف المحافظات التي جمعت منها عينات البروبوليس حيث جمعها الباحث المذكور من محافظة بابل ، وهذا يثبت ما توصل اليه كل من (19,17) في ان المحتوى الكيميائي للبروبوليس يختلف باختلاف نوع النبات الذي جمع منه اضافة الى اختلاف موقعه الجغرافي .

من خلال النتائج التي تم الحصول عليها في هذا البحث والبحوث التي سبقتنا في هذا المجال يمكن ان نستنتج بان استخدام المستخلص الكحولي للبروبوليس كان ذو تأثير واضح على تثبيط انواع البكتريا الممرضة والملوثة للجروح من خلال ملاحظة القدرة العالية لمركب (EEP) في تثبيط عزلات بكتريا البحث عند استخدام طريقتي الانتشار بالأكار بواسطة الحفر (WDM) وقيم التركيز المثبط الادنى المستخدم للمستخلص. ولذا نقترح استخدامه كعامل

مساعدة في تضמיד الجروح (السطحية والعميقة بشكل خاص) والملوثة بالجراثيم والمقاومة للمضادات الحيوية المعروفة عند خلطه مع العسل وبتراكيز معينة وامكانية معرفة (في بحوث مستقبلية) ان كان هنالك فعل تآزري للثنان معا في تثبيط ملوثات الجروح وخاصة للانواع البكتيرية الموجبة المكونة للأبواغ والتي لم يتم عزلها في هذا البحث وللتخلص ايضا من مشكلة تلوث العسل بها احيانا .

جدول 1: الغزلات البكتيرية المختارة ومقاومتها للمضادات الحيوية

الأنواع البكتيرية	العدد الكلي	VA 30	CC 2	GM 10	CTX 30	CAZ 30	TN 10	AN 30	TIC 75	PTZ 110	AM 10	IIPM 10	CB 100	E 15
<i>B. subtilis</i>	2	2 ^(*)	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	0
<i>S. aureus</i>	12	3 ^(*)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>S. pyogenes</i>	6	2 ^(*)	3	3	0	2	3	3	3	3	3	3	3	2
<i>P. aeruginosa</i>	13	3 ^(*)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>P. mirabilis</i>	6	3 ^(*)	3	2	3	3	3	2	3	3	1	3	3	3
<i>E. coli</i>	5	3 ^(*)	3	3	2	0	3	3	3	3	3	2	3	3

E15 = Erythromycin

CAZ30=Cetazidin

VA30=Vancomycin

PTZ110=Piperacilline

TN10=Tobramycin

CC2=Clindamycin

AM10 =Ampicilline

AN30=Amikacin

Gm=Gentamycin

IPM10 =Imipenem

TIC75=Ticarcilline

CTX30=Cefotaxim

CB100 =Carbencilline

(-) 2 isolates , (*) 3 isolates

جدول 2: التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلص الكحولي للبروبوليد (EEP) المثبط لسلالات بكتريا البحث على وسط (MHA)

<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	إستخدام النعول بتركيز 96 %	MIC لها بالمزيج 100 ملتر من وسط MHA
2.1%	1.7%	1.5%	0.8%	0.6%	0.5%	إستخدام النعول بتركيز 70%	
3%	2.3%	2%	1.2%	1%	0.9%		

عزل ابواغ بكتريا *Bacillus subtilis* من العسل العراقي واستخدام البروبوليس لتثبيطها مع انواع بكتيرية اخرى ملوثة للجروح ندى و نهاية

جدول- 3: معدلات اقطار التثبيط للمستخلص الكحولي للبروبوليس في نمو البكتريا الاختبارية مقدرا بالملمتر (بطريقة الحفر) عند استخدام الكحول بتركيز 70%

التركيز ملغم /مللتر						التركيز المستخدمة	المجموعة البكتيرية
30%	25%	20%	15%	10%	5%	بكتريا الاختبار	
14	13.1	11.6	10	9.2	7.5 ^x	<i>Bacillus subtilis</i>	الأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام
13.7	12.8	11.2	9.9	8.8	7.3 ⁺	<i>Staphylococcus aureus</i>	
13	12.2	11	9.2	8.5	–	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
11.5	10.8	9.2	8.7	8	–	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام
10.9	9.3	8.8	8.2	7.7	–	<i>Proetus mitabilis</i>	
10.5	9.1	8.6	8	7.4	–	<i>Escherichia coli</i>	

(+) تمثل معدل ثلاث سلالات لكل نوع .(-) عدم وجود تثبيط .(x) تمثل معدل سلالتين للنوع

جدول- 4: معدلات اقطار التثبيط للمستخلص الكحولي للبروبوليس في نمو البكتريا الاختبارية مقدرا بالملمتر (بطريقة الحفر) عند استخدام الكحول بتركيز 96%

التركيز ملغم /مللتر						التركيز المستخدمة	المجموعة البكتيرية
30%	25%	20%	15%	10%	5%	بكتريا الاختبار	
16.2	14.4	12.3	11.5	10.2	8.3 ^x	<i>Bacillus subtilis</i>	الأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام
15.6	13.8	12.5	11.1	9.9	8 ⁺	<i>Staphylococcus aureus</i>	
14.9	13.1	11.6	10.2	9.3	7.8	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
13	12.2	10.4	9.3	8.5	7.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام
12.7	11.4	9.6	8.8	8.1	7	<i>Proetus mitabilis</i>	
12.5	11.8	9.4	9	7.8	6.8	<i>Escherichia coli</i>	

المصادر

- 1- Lusby,P.E.;Coombes,A.L.;and Wilkinson,J.M. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria .j.Arch.Med.Res.36:464-467. (2005).
- 2- Al-Waili.N.S;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;(3):126-130. (1999).
- 3- Midura,T.F.;Snowden,S.T.;Wood,R.M.;and Arnon,S.S. Isolation of *Clostridium botulinum* from honey.J clin. Microbial. 9:282-283. (1979).
- 4- Aureli,P.;Franciosa,G.;and Fenicia,L. Infant botulism and honey in Europe:Acommentary.j.Pediatr. infect. Dis. 21:866-868. (2002).
- 5- Snowdon,J.A.;and cliver,D.O. Microorganisms in honey .Int J. Food microbial. 31:1-26 . (1996).
- 6- Crieso,G.;Bolignano,M.S.;and De Leo,F. .Isolation of *Clostridium botulinum* type B from Sicilian honey samples .j. La Rivistad.Scienzadell,Alimentazione ; 22:175-181. (1993).
- 7- Fox,C.K.;Keet,C.A.;and Strober, J.B. Recent advances in infant botulism.J,Pediatr Neural 32:149-154. (2005).
- 8- Fenicia,L.M.;Ferrini,A.M.;Aureli,P.F.;and Pocerco,M.W. A case if infant botulism associated with honey feeding in Italy .Eur. J.Epidemiol. 9:671-673. (1993).
- 9- Nevas,A.U.;Mari,C.N.Clostridium botulinum in honey production with respect to infant botulism .Academic dissertation in Auditorium Arppeanum.university of Helsinki,Finland.(2006).
- 10- Brett,M.A.;Hallas,G.H.;and Mpamugo,O.L. Wound botulism in the U.K and Irland .J Med. Microbial. 53:555-561, (2004).
- 11- Werner,S.B.;Passaro,D.D;Mc Gee,J.R.;Schechter.R.S.;and Vugia, D.J. Wound botulism in California,1951-1998:Recent epidemic in herion users.j.Clin.infect. Dis. 31:1018-1024, (2000).
- 12- Malan,P.C.;and Allen,K.L. The effect of gamma-irradiation on the antibacterial activity of honey .J. Pharm. Pharmacol. 48 : 1206-1209. (1996).
- 13- Nakano,H.A.;Sahaguchi,G.S. An unusually heavy contamination of honey products by *Clostridium botulinum* type F and *Bacillus alvei*.FEMS Microbiol. Lett. 79:171-178, (1991).
- 14- العمار، مهدي حسين محيل تأثير فعالية مركبات البروبولس في نمو بعض انواع البكتريا الممرضة .رسالة ما جستير -جامعة الكوفة،(2001).

- 15- Burdock,G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis .j.Food chem. Toxicol.36:347-363, (1998).
- 16- Bancova,V.A. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization .J. Ethanopharmacol. 100:114-117, (2005).
- 17- Silici,S.M.;and Kutluca,S.D.Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honey bees in the same region J.Ethanopharmacol. 99:69-73, (2005).
- 18- Kujumgiev,A.;Tsvetkova,I.;Serkedjieva,Y.;Bankova,V.;Christov,R.;Popov,S.. Antibacterial ,antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origion .J. Ethanopharmacol. 64(3):235-240, (1999).
- 19- Popova M.Z.; Silici,S.V.; Kaftanoglu,O.l.; and Bankova, V.A. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative chemical composition .J.phytomedicine 12:221-228, (2005).
- 20- Gergova,. G; Mitov,. I and Colarov, R. In vitro activity of Bulgarian propolis against 94 clinical isolates of anaerobic bacteria .G . anaerobe. August, vol(12),Issue(4), 173.177,(2006).
- 21- Buchnan,R.E.; and Gibbons,N.E. Bergey's manual of Determenation bacteriology.8th.Ed. (1994).williams and Wilkins Co. Baltimore.
- 22- National committee for clinical laboratory standards (NCCLS); performance standards for antimicrobial disc susceptibility testing .12th Information supplement.Villanova,PA,USA(2002).
- 23- النعمان ،ادبية يونس شريف.التاثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وايض اعداد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام اطروحة دكتوراه-جامعة الموصل،(1998).
- 24- Kartal,.MA.; Yildiz,S.D.; Kaya,X.S.; Kurucu,A.S.; Topcu,G.C. Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia .J.Ethanopharmacol. 86(1):69-73. (2003).

تقييم الفعالية السمية للمستخلصات المائية لمجموعة من حشائش الحقول
والبساتين ضد المتطفل النباتي الحامول (*Cuscuta campestris Vunk*) على
الطماطة وحشرة المن (*Rhopalosiphum maidis Fitch*) على الشعير
والحلم الأحمر (*Tetranychus turkestanii* U&N) على الخيار.

آمال عبد السلام عبد الرحمن
الجامعة المستنصرية كلية العلوم / قسم علوم الحياة

تاريخ تقديم البحث 2007/5/15 - تاريخ قبول البحث 2008/4/16

ABSTRACT

Study was conducted to evaluate the toxic activity of the extracts of a group of weeds against tetranychus on cucurbit and aphid on barley and against field dodder on tomato. The weeds are *Polygonum avicular*, *Datura stramonium*, *hortensis*, and *Suada Ibicella lutea*

Farcatum onychium, *Cressa cretica*, *Cynodon dactylon*, *Euphorbia supine*, *Imperata cylindrical*, *Echnichoua colonum*, *Paspalum distichum*, *Convolvulu arvensis*, *Capparis spinosa*, *Solanum nigrum*, *pooidae*, *Convolvulu scammonia* *Rumex dentatus*, *lanceolate Plantago* *Cyprus longus*

The results indicated that datura extract were highly effective against tetranychus and aphid and also on dodder were obtained 100% after two days of treatment on aphid and tetranychus and after three weeks to dodder, generally the percentages of control varied with extract sources and concentration used. And thes extract were equale topesticide

The result of this study may give some evidences to use the natural plant compounds as insecticide or pesticide.

Also the extraction instead of the chemical compounds was qualified to get extracts with high activity.as well as the pesticide and insecticide and miticidf.

الخلاصة

تم اختبار الفعالية السمية لمجموعة من المستخلصات لحشائش الحقول والبساتين الواسعة الانتشار في مكافحة الحلم على محصول الخيار وهي:-الداتورة، الدهنان، الثيل، سرطان الثيل، المصالة، الحويرة، الحلفا، زبد العروس، الطرطيع، الشويل، الشوك وقرن الغزال. واختيار مجموعة ثانية لاختبار فعاليتها السمية ضد الحامول الحقل على الطماطة وحشرة المن على الشعير وهي: اذان الصخلة، مديد، عنيب الذيب، الشفلح، السلهو، السعد، حبلاب، حميض. فضلا عن مستخلصات الداتورة، زبد العروس، سرطان الثيل والمصالة، فإظهرت النتائج لدراسة تأثيرها على الحلم، أن هناك تباين في الفعالية السمية لتلك المستخلصات من حيث التركيز ونوع الدغل. وتميزت فعالية مستخلصات الداتورة، الشويل، زبد العروس والمصالة بكفائتها العالية في مكافحة الحلم الأحمر حيث أعطت نسبة مكافحة 100% بتركيز 45% بعد 48 ساعة من رش المستخلصات النباتية لهذه الأدغال. إما أقلها تأثيرا فهو مستخلص الشوك حيث أعطى نسبة مكافحة 40% بعد 48 ساعة من رش المستخلصات.

إما الدراسة الثانية فقد أظهرت النتائج إن مستخلصات الداتورة وقرن الغزال هي الأكثر تأثيرا لمكافحة الحامول على الطماطة حيث أعطت نسبة مكافحة 100%، 90% على التوالي بعد ثلاثة أسابيع من الرش، دون تأثيرها على إدارات الطماطة، أما باقي المستخلصات فلم يكن لها أي تأثير على الحامول.

كانت نتائج دراسة تأثير المستخلصات على حشرة من الذرة على الشعير تشير إلى أن مستخلص الداتورة هو الأعلى في نسبة المكافحة حيث أعطى 100% بتركيز 45% بعد 48 ساعة من الرش إما الأقل تأثيرا فهو مستخلص سرطان الثيل حيث أعطى نسبة مكافحة 50% بتركيز 45% بعد 48 ساعة من الرش.

أي أن مستخلص الدانورة هو الأعلى من جميع المستخلصات فضلا عن أنه أعطى نفس نسبة القتل للمبيدات الكيميائية المستعملة في مكافحة الحلم الأحمر وحشرة المن والحامول. وقد كشف التحليل الكيميائي للمستخلصات التي أعطت نسبة مكافحة من 90% - 100% عن مركبات التانين، الراتنجيات، الصابونين، القلويدات، الفينولات، الكلاوسيدات، السترويدات التربينات وأخيرا مركبات الكومارين.

المقدمة

الحلم هي كائنات صغيرة جدا لا ترى بالعين المجردة بسهولة، تعود إلى المفصليات رتبة القراديات التابعة بدورها لصنف الحلميات، يعتبر حلم الأحرار *Tetranychus turkestanii* U&N من أكثر أنواع الحلم ضررا بالنباتات الاقتصادية فهي تسبب اصفرار الأوراق والأغصان حيث تقوم بامتصاص العصير النباتي من الأوراق والأجزاء البانعة من النبات و من الثمار الحديثة، لذلك فهي تسبب تساقط الأوراق وتجمع الغبار على النسيج الذي ينسجه هذا الحلم وقد يسبب تجمعه إعاقة عمليتي تنفس الأوراق والتمثيل الضوئي ومن ثم موت النبات، مما يؤدي إلى خسائر فادحة في المحاصيل الزراعية، في العراق يشكل هذا النوع من الحلم 70% من المشاكل الاقتصادية في شمال وجنوب ووسط العراق لأنه يصيب جميع أنواع الخضار من العائلة الباذنجانية والقرعية وبعض المحاصيل الاقتصادية مثل القطن وقول الصويا وأشجار الفاكهة (1).

تعتبر حشرة من الذرة *Rhopalosiphum maidis* Fitch. من الحشرات التي تصيب الذرة والجيليات البرية والحنطة والشعير تقوم بامتصاص العصارة النباتية واليخضور من النباتات المتطفلة عليها مما يؤدي إلى قلة إنتاجها واصابتها بالرواشح والأمراض الفطرية (1).

إما الحامول الحقل *Cuscuta campestris* Vunk فيعتبر من أهم أنواع النباتات الطفيلية الزهرية على العديد من المحاصيل الخضرية مثل الطماطة والباذنجان وغيرها من المحاصيل العلفية والاقتصادية، وفي حالات الإصابة الشديدة يسبب الحامول خسائر تصل إلى حد الموت (2, 3).

إن عملية تطفله تتم نتيجة إرسال ممصاته إلى أنسجة النبات المضيف للحصول على غذائه من العصارة النباتية للعائل مما يسبب صعوبة إيجاد مبيدات انتقائية في مكافحته دون الضرر بالنبات المضيف، وخصوصا إذا كان نباتا اقتصاديا، فضلا عن مخاطر استخدام المبيدات الكيميائية المصنعة في مكافحة الآفات الزراعية على الإنسان والحيوان والبيئة على حد سواء، أذ تميزت هذه المبيدات بسميتها العالية وتلويثها للبيئة وصعوبة تجزئها إلا بعد فترة طويلة، لذلك اتجهت البحوث حديثا لإيجاد الوسائل البديلة مثل طرق مكافحة المتكاملة للآفات. فضلا عن إيجاد مركبات طبيعية تنتجها النباتات واستغلالها كبداية للمبيدات الكيميائية المصنعة حيث تتصف هذه المركبات بسميتها الواطئة للإنسان والحيوان والنباتات المعاملة (4و5). فأتجهت الدراسات حول إمكانية استخدام بدائل للمبيدات الكيميائية من المستخلصات لأدغال الحقول والبساتين التي تحمل صفة الاليلوباثي (وهي صفة تتميز بها النباتات التي تفرز مواد كيميائية سامة إلى البيئة المحيطة بها إما عن طريق جذورها أو نتيجة تحلل الأوراق المتساقطة)، أن وجود هذه المركبات التي تتصف بالسمية حيث تلعب دورا في الحرب الكيميائية بين النباتات فضلا عن عملها كمبيدات طبيعية *Naturalcides* ومبيدات مايكروبية *Microbiocides* في بيئتها. ووجدنا أن هناك الكثير من الأدغال المنتشرة والمنافسة للمحاصيل الزراعية لذلك، تم تنفيذ هذه الدراسة للتحري وتقييم الفعالية السمية للمستخلصات لعدد من الأدغال التي تتصف بسيادتها وكثرة انتشارها في حقول المحاصيل ضد ثلاثة من الآفات الزراعية وهي الحلم الأحمر على الخيار وحشرة المن على الشعير، والحامول الحقل على الطماطة.

المواد و طرائق العمل

تم جمع الأجزاء الهوائية الخضراء للأدغال في ربيعي عام 2004 و 2005 من حقول جامعة بغداد في الجادرية (جنوب بغداد) قبل مرحلة التزهير وقد اختيرت الأدغال الآتية:-

المصالة <i>Polygonum salicifolium</i>	الداتورة <i>Datura stramonium</i>
طرطيع <i>Suaeda hortensis</i>	قرن الغزال <i>Ibicella lutea</i>
حوييرة <i>Symbrium septulatum</i>	زند العروس <i>Ammi majus</i>
الشويل <i>Cressa cretica</i>	الشوك <i>Farcatum onychium</i>
الثيل <i>Cynodon dactylon</i>	سرطان الثيل <i>Euphorbia supine</i>
الحلفا <i>Imperata cylindrical</i>	الدهنان <i>Echnichoua colonum</i>
السلهو <i>Paspalum distichum</i>	مديد <i>Convolvulus</i>
<i>arvensis</i>	
عنيب الذيب <i>Solanum nigrum</i>	الشفاح <i>Capparis spinosa</i>
أذان الصخلة <i>Lanceolate Plantago</i>	السعد <i>Cyprus longus</i> (الدرنات)
فقط	
حلباب <i>Convolvulus scammonia</i>	حميض <i>Rumex dentatus</i>

شخصت الادغال والحامول الحقل في معشب كلية العلوم/ جامعة بغداد , اما تشخيص حشرة المن والحلم الاحمر تم في متحف التاريخ الطبيعى / جامعة بغداد.
 قطعت الأجزاء النباتية بطول 2-3 سم وجففت بدرجة حرارة الغرفة، وبعد التأكد من جفافها طحنت بواسطة الطاحونة الاعتيادية(طاحونة القهوة)، ولاستخلاص المادة الفعالة تم خلطها مع الكحول الايثيلي بتركيز 80% وبنسبة (1) ملغم مادة مطحونة/10مل لمدة عشرة دقائق ، ثم تركت لمدة 24 ساعة في الثلاجة بدرجة 4 م° لنحصل على ترسيب كامل للمواد العالقة ، ثم رشحت باستخدام قمع بوخنر تحت التفريغ الهوائي، وبخر الراشح الناتج حتى الجفاف باستخدام المبخر الدوار تحت الضغط ، ثم أذيبت المادة المتبقية من التبخير في الماء المقطر لتحضير التراكيز 0 ، 25% ، 45% لاستخدامها في الدراسة.

تقييم الفعالية السمية للمستخلصات النباتية ضد الحلم على الخيار
 زرعت شتلات الخيار *Cucumis sativus* في أصص بلاستيكية بقطر 15 سم في تربة مزيجيه ،وبمعدل شتلة لكل أص. وبعد ثلاثة أسابيع من زراعتها ربت الأصص في نظام الألواح المنشقة وبثلاثة مكررات. وزعت مستخلصات الأدغال على الألواح الرئيسية في حين وزعت التراكيز (صفر%) و(25%) و(45%) على الألواح الثانوية وبصورة عشوائية. جرى اصابة النباتات يدويا بالحلم الأحمر بقصد العدوى، وذلك بنقل الحلم من نباتات خيار مصابة بشدة أخذت من الحقل إلى أوراق شتلات الخيار للأصص المعاملة. وبعد يومين تم عد الحلم الموجودة على كل اص ثم رشت مباشرة بعد العد بالمستخلصات النباتية المجهزة للاختبار باستخدام مرشات بحجم 250 مل نوع (Atomizer) ، تم وضع كل أص تحت صندوق خشبي مغلف بقماش من الململ لضمان الحفاظ على الكثافة السكانية للحلم الاحمر لكل أص. أما معاملة المقارنة فكانت باستخدام الماء فقط ،وقد استعمل ميبد (تديون)[ميبد فسفوري غير جهازى] بتركيزي (3مللتر/غالون) و تركيز (5مللتر/غالون) لمكافحة الحلم الاحمر على الخيار لمقارنة فعالية تأثير المركبات الطبيعية مع المركبات الكيميائية المصنعة على النسبة المثوية لقتل الحلم الاحمر على الخيار.

فُييم تأثير المعاملات على الحلم الأحمر بعد 24 و48 ساعة من الرش وذلك بجلب أوراق الخيار المأخوذة بشكل عشوائي من كل نبات إلى المختبر وعدة الحلم الميتة لغرض حساب

النسب المئوية للقتل بعد تعديلها على أساس السيطرة وحسب معادلة Abbott (6) . أعيدت التجارب لمرتين وحسبت متوسطات النسب المئوية للقتل، حلت جميع البيانات احصائيا بعد التحويل الزاوي للنسب المئوية arcsin transformation وتم فصل المعدلات حسب اختبار دانكن متعدد المراحل.

اختبار الفعالية السمية للمستخلصات ضد حشرة المن على الشعير

زرعت بذور الشعير في أصص بلاستيكية قطر 15 سم في تربة مزيجيه في ظروف الظلة السلكية ، ثم خففت البادرات إلى اثنتان لكل اصص، وفي مرحلة التفرعات لنباتات الشعير تم إصابتها بحشرات من نوع *Rhopalosiphum maidis* من نباتات شعير مصابة من الحقل، رتبت الأصص وكما في التجربة السابقة في نظام الألواح المنشقة وبثلاثة مكررات لكل معاملة، وكانت معاملات المقارنة هي الماء المقطر اي تركيز المستخلص (صفر%) اما التراكيز الباقية فكانت (25%) و(45%)، واستعمل مبيد (الملاثيون)[مبيد فسفوري غيرجهازى] بتركيزي (3 و0 مللتر /غالون) وتركيز (5 و0 مللتر/غالون) كمقارنة لتأثير المستخلصات لمكافحة حشرة المن على الشعير، وقبل الرش عدت حشرات المن، ثم رشت جميع المعاملات بتغطية كاملة باستخدام مرشات بحجم 250 مل وتم وضع كل أص تحت صندوق خشبي مغلف بقماش من المللم لضمان الحفاظ على الكثافة السكانية لكل أص. بعد 24 ساعة من الرش تم التقييم الاول ، إما التقييم الثاني فكان بعد 48 ساعة من الرش، وذلك بعد حشرات المن الميتة لغرض حساب النسبة المئوية للقتل بعد تعديلها على أساس السيطرة وحسب معادلة Abbott. أعيدت التجربة لمرتين وحسبت متوسطات النسب المئوية للقتل للتجربتين وحلت جميع البيانات احصائيا بعد التحليل الزاوي للنسب المئوية Arcsin transformation وتم فصل المعدلات حسب اختبار دانكن متعدد المراحل.

تقييم الفعالية السمية للمستخلصات ضد الحامول على الطماطة

زرعت بادرات الطماطة في أصص بلاستيكية بقطر 15 سم ولوثت تربتها ببذور الحامول في ظروف الظلة السلكية، وبعد أربعة أسابيع من إنبات بذور الحامول في أصص بادرات الطماطة وأصبحت خيوط الحامول تغطي الشتلات رشت المستخلصات النباتية بالتراكيز التالية: صفر%، 25%، 45% باستخدام مرشات يدوية حجم 250 مل (بتغطية كاملة) للشتلات المصابة بالمستخلصات النباتية، وقد استعمل مبيد (داي نتروفينولات) بتركيزي (2 كغم /دونم) و (5 كغم/دونم) لمكافحة الحامول على الطماطة.

وزعت المعاملات حسب تصميم الألواح المنشقة حيث وزعت المعاملات على الألواح الرئيسية والتراكيز على الألواح الثانوية وبثلاثة مكررات لكل معاملة، اما تقييم المعاملات الأول للحامول فكان بعد أسبوع من الرش وتم التقييم الثاني بعد ثلاثة أسابيع لكل من الحامول وبادرات الطماطة وذلك حسب تدرج رقمي يبدأ من الصفر وينتهي ب100% ، كررت التجربة مرتين وحلت البيانات كما في التجارب السابقة.

الكشف الكيميائي لبعض المركبات الفعالة في المستخلصات النباتية.

بعد تنقية المستخلصات النباتية الكحولية من الشوائب تم معامتها بالكواشف الكيميائية وهي:

1- **الكشف عن الفينولات :** وذلك بأذابة 1 غم من كلوريد الحديد في 100 مل ماء مقطر بعدها نأخذ 3 مل من المستخلص النباتي واضافته الى 2 مل من الكاشف وعند ظهور لون أصفر مزررق يدل على وجود الفينولات.(7)

2- **الكشف عن القلويدات:** اضافة 3 مل من المستخلص النباتي الى 2 مل من محلول دراجندوف(اذابة 6 غم من ايوديد البوتاسيوم واذابتها في 10 مل من الماء المقطر هذا المحلول الاول اما المحلول الثاني فيتكون من اذابة 6 و0 من مركب Bismuth Subnitrate واضيف الى 2 مل حامض الهيدروكلوريك المركز و10 مل ماء مقطر. عند مزج المحلولان الاول والثاني واطافة 7 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز و(15) مل ماء مقطر واكمل

- الحجم الى 400 مل باستخدام الماء المفطر) يعطي لونا برتقاليا عند مزجه مع المواد الحاوية على القلويدات (7).
- 3- **الكشف عن الكومارينات:** اتبعت طريقة (8) اذيب 5 و 0 مل من المستخلص النباتي مع 1 مل من الكحول في انبوبة اختبار ثم غطيت الانبوبة بورقة ترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم المخفف ووضعت في حمام مائي بدرجة الغليان لبضعة دقائق ثم عرضت ورقة الترشيح للاشعة فوق البنفسجية، ان ظهور لون اصفر مخضر دليل على وجود الكومارين.
- 4- **الكشف عن التانينات:** تم أخذ 25 مل من المستخلص النباتي وأضاف 1% من محلول كلوريد الحديدك وعند ظهور اللون الازرق دل على ايجابية الكشف (9).
- 5- **الكشف عن الراتنجات:** تم أخذ 10 مل من المستخلص النباتي وأضيف له 20 مل ماء مقطر محمض بحامض الهيدروكلوريك HCL 4 % وعند ظهور العكارة في المحلول يدل على ايجابية الكشف (9).
- 6- **الكشف عن الفلافونات:** اعتمدت طريقة (10) وذلك بمزج حجوم متساوية من الايثانول بتركيز (50%) و KOH بتركيز (50 %) ثم مزج حجوم متساوية من هذا المحلول والمستخلص النباتي و عند ظهور اللون الاصفر دليل على وجود الفلافونات .
- 7- **الكشف عن التربينات والسترويدات:** اتبعت طريقة (11) وذلك بأذابة 1 غم من المستخلص الكحولي الجاف في قليل من الكلوروفورم ثم تضاف قطرة من حامض الخليك اللامائي وقطرة من حامض الكبريتيك المركز. وبعد 1-2 دقيقة عند ظهور اللون البني دل على وجود التربين وعند ظهور اللون الازرق بعد فترة دل على وجود السيترود .
- 8- **الكشف عن الكلايكوسيدات:** اتبعت طريقة (12) حيث وضع 1 مل من المستخلص النباتي في انبوبة اختبار واضيف له 2 مل من كاشف بندكت { يتكون من اذابة 137 غم من سترات الصوديوم و 100 غم من كاربونات الصوديوم المائية في 800 مل من الماء المقطر، رشح المحلول واضيف له محلول كبريتات النحاسيك 3 و 17 غم في 100 مل ماء مقطر، ثم اكمل الحجم الى 1000 مل باستعمال الماء المقطر } ثم نقل الى حمام مائي مغلي لمدة 5 دقائق وظهور اللون الاحمر يدل على احتواء المستخلص للكلايكوسيدات.
- 9- **الكشف عن الصابونيات:** تم اخذ 5 مل من المستخلص النباتي في انبوبة اختبار ورجه بشدة لمدة نصف دقيقة وعند ظهور رغوة كثيفة في الانبوبة دون اختفائها بعد مدة تتراوح من 3 - 5 دقيقة دل على وجود المواد الصابونية فيه.

النتائج و المناقشة

جدول (1) يلخص معدلات النسب المئوية لمكافحة الحلم على الخيار بعد 24 و 48 ساعة وهذه النسب هي معدل تجربتين منفصلتين حسبت على اساس إعداد الحلم الميته معدلة على اساس النسب المئوية للمكافحة في معاملات المقارنة. ويلاحظ عموما زيادة النسب المئوية للمكافحة بزيادة تركيز الرش لمعظم المستخلصات إلى ان مستخلصات الأدغال تمتلك فعالية سمية عالية في قتل الحلم وذلك من خلال الفروق الواضحة في النسب المئوية للقتل بين معاملة المقارنة (تركيز صفر) ومعاملات الرش. ونلاحظ ان أعلى نسبة مئوية للقتل بتركيز 25% بعد 24 ساعة هي للمستخلص النباتي زند العروس وصلت إلى 88% وتليه مستخلصات الشويل و الداتورة بنسبة مكافحة 87% و 85% على التوالي، أما اقل نسبة مكافحة فهي للمستخلص النباتي الشوك حيث أعطى 27% بعد 24 ساعة من الرش. أما بتركيز 45% فإن أعلى نسبة مكافحة هي للمستخلص النباتي الشويل حيث أعطى 94% وهو نفس تأثير المبيد الكيماوي المستعمل (التديون)، وتليه المستخلصات النباتية التالية: زند العروس والداتورة والمصالة حيث أعطوا نسب مكافحة 92%، 90% و 90% على التوالي، أما اقل نسبة مكافحة فهي أيضا للمستخلص النباتي الشوك حيث كانت نسبة مكافحته 33%. أما بعد 48 ساعة كانت أعلى نسبة مكافحة بتركيز 25% للمستخلص النباتي زند العروس بنسبة 95% يليها المستخلص النباتي

الشويل 94 % ثم الداتورة 91% ، وأن اقل نسبة مكافحة بتركيز 25% هي للمستخلص النباتي الشوك حيث أعطى 35% فقط، أما بتركيز 45% فكانت أعلى نسبة للمكافحة هي للمستخلصات النباتية المصالة، زند العروس، داتورة، شويل حيث كانت 100% وهي ايضا نفس نسبة القتل التي اعطاها المبيد المستعمل، وأن اقل نسبة مكافحة كانت للمستخلص النباتي الشوك ايضا حيث أعطى 40%.

أما جدول (2) يلخص معدلات النسب المئوية لمكافحة المن على الشعير بعد 24 و 48 ساعة هذه النسب هي كما في الاختبار الاول معدل تجربتين منفصلتين حسبت على اساس اعداد المن الميته معدلة على اساس النسب المئوية للمكافحة في معاملات المقارنة (صفر%). ويلاحظ عموما زيادة النسب المئوية للمكافحة بزيادة تركيز الرش لمعظم المستخلصات ولفترتي التقييم. فيظهر إن هناك تفاوت كبير بالنسب المئوية للمكافحة بعد 24 ساعة من الرش، فنجد إن أعلى نسبة مكافحة بتركيزي 25% و 45% هي للمستخلص النباتي الداتورة حيث أعطى نسبة 90% و 95% على التوالي وهي أعلى من النسبة المئوية للقتل التي اعطاها المبيد الكيميائي.

جدول-1: يبين فعالية مستخلصات الأدغال وتراكيزها على النسبة المئوية لقتل الحلم الأحمر *Tetranychus turkestan* بعد 24 و 48 ساعة من الرش.

النسبة المئوية المئوية للقتل						اسم النبات المستخلص و اسم المبيد المستعمل	
بعد (24) ساعة			بعد(48) ساعة				
التركيز بالنسبة المئوية			التركيز بالنسبة المئوية				
%0	%25	%45	%0	%25	%45		
0	70 ب	90 أ	0	87 أ	100 أ	المصالة	1
0	34 د	55 ب	0	73 ب ج	92 أ	حويرة	2
0	85 أ	90 أ	0	91 أ	100 أ	داتورة	3
0	88 أ	92 أ	0	95 أ	100 أ	زند العروس	4
0	35 د	43 ج د	0	58 د	65 د	طرطيع	5
0	87 أ	94 أ	0	94 أ	100 أ	شويل	6
0	75 ب	88 أ	0	83 أ ب	94 أ	قرن الغزال	7
0	27 هـ	33 د	0	35 هـ	40 هـ	شوك	8
0	55 ج	64 ب	0	67 ج	83 ب	سرطان الثيل	9
0	47 ج	57 ب	0	56 د	73 ج	الثيل	10
0	38 د	46 ج	0	51 د	65 د	الحلفا	11
0	45 ج	63 ب	0	58 د	70 ج د	دهنان	12
0	5سم3/غالون	10سم3 /غالون	0	5سم3/غالون	10سم3/غالون	مبيد تديون	13
	84 أ	93 أ		90 أ	100		
0	23 و 60 ب	8 و 69 أ		3 و 72 ب	9 و 90 أ	المعدل	

كل رقم هو معدل لثلاثة مكررات. وإن المعدلات المتبوعة بحروف متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دانكن المتعدد المراحل تحت مستوى احتمالية 0.05

يليه مستخلصي المديد وزند العروس حيث اعطو 80% بتركيز 25% اما بتركيز 45% فكانت النسبة 93% و 92% لكل منهما، واقل نسبة مكافحة كانت للمستخلص النباتي السعد حيث أعطى 8% و 27% وعند تقييم المستخلصات بعد 48 ساعة بتركيزي 25% و 45% كان مستخلص السعد هو الأقل تأثيرا حيث أعطى نسبة 10 و 41%. ونجد إن مستخلص الداتورة هو أكثرها تأثيرا حيث أعطى نسبة مكافحة 95% و 100% وهي نفس نسبة القتل التي اعطاها مبيد الملاثيون بتركيز (5 و 0 مللتر/غالون) المستعمل لمكافحة حشرة المن. ويليه المديد وزند العروس حيث أعطوا نسبة مكافحة 89% و 97% و 86% و 97% على التوالي .

يلخص جدول (3) النسب المئوية لمكافحة الحامول الحقلية بعد أسبوع وثلاثة أسابيع من رش المستخلصات بالتراكيز 0.25 و 0.45 وتمثلت أعراض تأثير رش المستخلصات على أساس المظهر الخارجي لنبات الحامول والنبات المضيف (الطماطة). ونلاحظ هناك تباين كبير في التأثير على الحامول، فكانت أعلى نسبة تأثير بعد أسبوع من الرش هو للمستخلص النباتي الداتورة 70% بتركيز 45% حيث بدا على الحامول تغير لونه من الأصفر الغامق الى الأصفر الباهت فضلا عن سهولة انفصاله عن النبات المضيف مقارنة مع معاملة السيطرة بتركيز (صفر%) التي نجد فيها الحامول ذا لون اصفر غامق ونجد صعوبة فصله عن نبات الطماطة ، تليه مستخلصات قرن الغزال وسرطان الثيل بنسبة مكافحة 50% ، 40% على التوالي بتركيز 45% ، أما باقي المستخلصات فلم يكن لها أي تأثير يذكر. إما بعد ثلاثة أسابيع من الرش فنرى إن تأثير المستخلصات قد ارتفع فنلاحظ إن مستخلص الداتورة وصل إلى نسبة قتل للحامول 100% بتركيز 45% ، ولم يكن له أي تأثيرات جانبية على نبات الطماطة أي له صفة انتخابية في المكافحة ، أما المستخلصات التي جاءت بعد مستخلص الداتورة من حيث التأثير فهي قرن الغزال ، حيث كان التأثير بنسبة 90% ، فنجد أيضا ان مستخلص الداتورة قد كان له نفس تأثير المبيد الكيميائي (داي نيتروفيينولات بتركيز 5 كغم/دونم) في النسبة المئوية للقتل عدا كونه مركبات طبيعية غير مصنعة مثل المبيدات الكيميائية.

يظهر من جميع الجداول إن تأثير المستخلص يعتمد على نوع النبات وتركيزه ، فأن نوع النبات يحدد المركبات الكيميائية وتركيز المستخلص يؤثر على كمية المركبات الفعالة الموجودة.

ويبين جدول (4) الكشف عن المركبات الكيميائية الموجودة وطريقة توزيعها على المستخلصات التي اعطت نسب مئوية للقتل تراوحت بين 90 - 100 نسبة مئوية فقط. ونلاحظ من الجدول ان الفينولات ، القلويدات والمواد الراتنجية هي الأكثر انتشارا في المستخلصات المدروسة وبعد ذلك تأتي مركبات التربينات والستيرويدات ثم مركبات التانين ثم الصابونين واخيرا مركبات الكومارين، وقد وجد ان بعض هذه المركبات تستعمل كمبيدات أدغال وهي: التربينات والكومارين والفلافنويد tannins ، glycosides (13) ، اما المركبات القلويدية الموجودة في نبات الداتورة فقد وجدت ان لها تأثير مثبط على الفعاليات الحيوية في الكائنات الحية حيث وجد ان القلويدات لها تأثير مثبط جدا لتكوين follicular والاوعية الموصلة لها في angiogenesis (14) وجميع الدراسات التي اجريت على نبات الداتورة تدل على سميته العالية (15) مما يفسر سبب تفوق مستخلص الداتورة على باقي المستخلصات.

جدول -2: تأثير المستخلصات النباتية على حشرة المن (*Rhopalosiphum maidis*)

اسم النبات المستخلص واسم المبيد الستعمل	لنسبة المنوية للقتل					
	بعد 24 ساعة			بعد 48 ساعة		
	التركيز بالنسبة المنوية			التركيز بالنسبة المنوية		
	0	%25	%45	0	%25	%45
الداتورة	0	90	95	0	95	100
عنيب الذيب	0	78 ب ج	89	0	87	93
مديد	0	80 أب	93	0	89	97
حميض	0	65 ج	80 أب	0	76 ب ج	93
السعد	0	8 ز	27 هـ	0	10 ز	41 هـ
شفلج	0	80 أب	90	0	86	94
زند العروس	0	80 أب	92	0	86	97
مصالة	0	50 د هـ	75 ب	0	63 د	80 ب ج
قرن الغزال	0	75 ب ج	90	0	88	95
أبو خزيمة	0	72 ب ج	80 أب	0	77 ب	85 ب
سرطان الثيل	0	20 و	34 د	0	28 و	43 هـ
أذان الصخلة	0	73 ب ج	80 أب	0	77 ب	87 ب
السلهو	0	45 هـ	56 ج	0	50 هـ	60 د
حلبلاب	0	76 ب ج	84	0	83 ب	91
مبيد الملائيون	0	3 و مللتر/غالون	5 و مللتر/غالون	0	3 و مللتر/غالون	5 و مللتر/غالون
		86	93		92	100
المعدل	0	2 و 65 ب	6 و 71 ب		6 و 7	7 و 83

كل رقم هو معدل لثلاثة مكررات. وان المعدلات المتنوعة بحروف متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دانكن المتعدد المراحل تحت مستوى احتمالية 0.05

جدول -3: يبين تأثير المستخلصات النباتية على نسبة المنوية لقتل الحامول (*Cuscuta campestris*)

النسبة المنوية لمكافحة الحامول						
بعد ثلاثة أسابيع من الرش			بعد أسبوع من الرش			
تركيز 45%	تركيز 25%	الماء المقطر (تركيز صفر)	تركيز 45%	تركيز 25%	الماء المقطر (تركيز صفر)	اسم النبات
أ 100	أ 80	0	أ 70	أ 45	0	الداتورة
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	عنيب الذيب
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	مديد
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	حميض
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	السعد
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	شفلج
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	زند العروس
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	مصالة
ب 90	ب 70	0	ج 50	ج 30	0	قرن الغزال
ج 75	ب 70	0	د 40	ج 35	0	سرطان الثيل
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	أذان الصخلة
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	السلهو
د 0	ج 0	0	د 0	د 0	0	حلباب
5كغم/دونم	2كغم/دونم	.	5كغم/دونم	2كغم/دونم	.	داينتروفيبولات
100	88	.	89	70	.	
أ 18.5	ب 15.7	0	أ 11.4	ب 7.8	0	المعدل

كل رقم هو معدل لثلاثة مكررات. وان المعدلات المتبوعة بحروف متشابهة لا تختلف معنويًا حسب اختبار دانكن المتعدد المراحل تحت مستوى احتمالية 0.05.

جدول 4: الكشف عن المركبات الكيميائية في المستخلصات النباتية

اسم المستخلص النباتي	نوع المركب الكيميائي							
	التانينات	الصابونين	الراتنجات	الفلافونيات	القلويدات	الفينولات	الكلايكوسيدات	التربينات والستيرويدات
المصالة	-	+	-	+	-	+	+	+
الشفاح	-	+	+	+	-	+	+	+
حلبلاب	-	-	+	-	-	+	+	-
مديد	-	-	+	-	+	+	-	-
عنيب الذيب	-	+	+	-	+	+	-	+
الشويل	-	-	+	-	+	+	-	-
الداتورة	+	-	-	-	+	-	-	-
قرن الغزال	+	-	-	-	+	+	-	+
زند العروس	-	-	-	-	-	-	+	+
حميض	+	+	+	-	-	-	-	-
حويرة	+	-	+	+	+	-	-	+

(-) تعني عدم وجود المركب الكيميائي

(+) تعني وجود المركب الكيميائي

اما بالنسبة للمركبات الفينولية فهناك الكثير من الدراسات تؤكد سمية هذه المركبات وقيم فعاليتها السمية ضد حشرة المن وضد الحامول ومن هذه الدراسات عند اختبار مستخلص الدغل الوباتي الحلفا ضد اربعة انواع من حشرة المن وصلت نسبة القتل الى 100% (16) وعند تحليل اوراق ورايزومات نبات الحلفا وجدت انها مركبات فينولية . وقد وجد في دراسة اخرى بان ادغال السفر ندة، عرف الديك، الثيل والرغيلة قد تباينت في النسبة المئوية لقتل الحامول الحقل على الجت، وعند تحليل مستخلصاتها وجدت انها تحوي على أنواع وكميات مختلفة من المركبات الفينولية (17)، فضلا عن ذلك أثبتت العديد من الدراسات بان المركبات الفينولية في النباتات هي العناصر الفعالة في تأثيراتها البايولوجية كتأثيرها على انبات البذور نباتات القطن، الخرنوب، الحسك، السفرندة فضلا عن تثبيط نمو الجذير والرويشة لبادرات النباتات المختبرة اعلاه (18) وفي دراسة اخرى وجدت ان المركبات الفينولية تعمل على تثبيط عمل الاوكسينات التي تساعد على انقسام الخلايا (19)، وعند رش المركبات الفينولية والقلويدية المستخلصة من نبات قرن الغزال (والمفصولة بطريفة كروموتاغرافي الصفائح الرقيقة) قد ادت الى وفاة جميع اطوار دورة حياة الذبابة البيضاء (20,21)، وقد وجد ان مستخلص نبات الزعتر له تأثير الضد مايكروبي (22)، وفي دراسة اخرى وجد ان سبب هذا التأثير هو وجود مركبات الكلايكوسيدات، الفلافونيات، التانينات، الصابونينات والراتنجات في مستخلص نبات الزعتر (23). اما بالنسبة الى مركب الصابونين المستخلص من نبات الجت قد كان له تأثير مثبط على انبات بذور نبات القطن المعاملة بمستخلص الجت (24)، وفي دراسة اخرى لمركبات الصابونين المستخلصة من قشرة ثمرة الحنظل قد ادى الى موت الفئران بتركيز 200مليغرام/كيلوغرام حيث ادى الى تغيرات نسيجية في الامعاء الدقيقة والكبد والكلية (25).

إن نتائج هذه الدراسة تشير إلى أن المستخلصات المستعملة كانت ذات كفاءة عالية في مكافحة الحلم الأحمر على الخيار، ومن الذرة على الشعير والمتطفل النباتي الحامل على الطماطة، ككفاءة المبيدات الكيميائية المستعملة في البحث، فضلا عن صفاتها الانتقائية في المكافحة، لذا يمكن أن نستنتج من هذه الدراسات؛

1. بالإمكان أن تكون نتائج هذه الدراسة هو منحى جديد في مجال البحث عن بدائل للمواد الكيميائية المصنعة في مكافحة الآفات الزراعية وبالتالي الحد من مخاطر استخدامها على البيئة.

2. الاستفادة من الحشائش الضارة في حقول المحاصيل للحصول على مبيدات طبيعية في مكافحة الآفات الزراعية. وتصنيع مستخلصات النبات على مستوى انتاجي باستعمال تقانة الزراعة النسيجية.

3. تحديد كمية المركبات الفعالة المسببة في التأثير القاتل للآفة الزراعية.

4. معرفة التأثير الفسيولوجي للمركبات الفعالة المشخصة على الآفة الزراعية، وميكانيكية عملها.

المصادر

1. أبو الحب، جليل كريم وحبيب، خالد عبد الرزاق، الآفات الزراعية الجزء النظري (ص212-227) المكتبة الوطنية/بغداد، (1993).
2. Lytton, Musselman J. and Sand P F. Weeds today volume 15, number 4, (1984).
3. Dawson, J.H. Cuscuta and its control..Proc.4th Internation Parasitic Flowering plants: 137-149 (1987).
4. Sudhakar, T.R. Pandey, N.D. and Tewari, G.C. Antifeeding property, of some indigenous Plants against mustard Sowfly *Athalia Proxima* Klug j.Agric.sci.48 (1) (1978).
5. Harbone J.B. Phytochemical Ecology, p 25 -43 (1975).
6. Abbott, W.s, A method of computing the effectiveness of an insecticide .J. Eco Ent. 18: 265-267 (1925).
7. Harbone J.B. Phytochemical Methoda 2 nd ed. Chapman and Hall.P (288)(1973).
8. Geisman, T.A. chemistry of flavonoid compound, Mac millan Co, New York, (1962).
9. شامي , سامي اغار، دراسة بعض الصفات الوراثية والسمة لازهار القيصوم , رسالة ماجستير كلية الطب البيطري, جامعة بغداد, (1982)
10. Jaffer, H.; Mohamed. M. J.; Jawad, A.M. Naj, A.; AL- Naib, A. Phytochemical and biological Screening of some Iraqi Plant, Fitoterapia Lix p229 (1983).

11. AL-Abid, M.R. Absuchlu B memtrame in *phonix dactilyfa*. Wurzburg Univ. Wurzburg F.R.of Germany(cited from AL-Maisry, M.(1999).

12. الشيخلي، محمد عبد الستار عبد الجليل، فريال حسن العزاوي، حسن فياض، الكيمياء التحليلية، الجامعة المستنصرية، (1993)

13. Sondhemier.E and Simeone J.B. Eds., Chemical Ecology (Academic Press, New York, 1970); Science 171, 757 (1971).

14. Basini G, Santini SE, The plant alkaloid sanguinarine is a potential inhibitor of follicular angiogenesis. / Department of Animal production, Veterinary physiology, university of parma, Italy. J. Reprod. Dev 6 ; 53(3) ;573-679 (2007).

15. قطب، فوزي طه قطب، النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها، الدار العربية للكتاب ليبيا - تونس، (ص357) (1979).

16. Abdul- salam, A. Habib , S.A. Ali, . A.S. Phytotoxic characteristics of blady grass (*Imperata cylindrical*) Leave and rhizomes extracts against some aphids .J .Agric . Water Reso. Vol .4;69-82,(1985).

17. آمال، عبد السلام عبد الرحمن وشوكت عبدا لله حبيب، فعالية مبيدات الأدغال وبعض المستخلصات النباتية في مكافحة الحامول الحقل على ألجت، مجلة البحوث الزراعية والموارد المائية - المجلد 5 - العدد 2، 61-65، (1986).

18. عبد الرحمن، آمال عبد السلام، تأثير نبات الثيل على انبات ونمو بادرات نبات القطن، رسالة ماجستير / كلية العلوم / جامعة بغداد/ قسم علوم الحياة، (48)، (1983).

19. Qasem. J.R. and T.A.Hill, On difficulties with allelopathy methodology. Weed Research.,29;345-347,(1989).

20. قرن الغزال، 20. المنصور، ناصر، فوزي الزبيدي، شيماء العبيدي، تأثير المركبات القلوانية البازويدية لنبات في الاداء الحياتي للذبابة البيضاء. المؤتمر العربي التاسع لعلوم وقاية النبات دمشق، سورية، (2006).

21. الزبيدي، فوزي، تأثير مستخلص المركبات الفينولية لنبات قرن الغزال في بعض الجوانب الحياتية لحشرة الذبابة البيضاء، المؤتمر العربي التاسع لعلوم وقاية النبات دمشق، سورية، (2006).

22. المخزومي، أفرح محمد محسن، دراسة تأثير بعض المستخلصات لنبات الزعتر على البكتريا المعزولة من المرضى المخمجين بالدمامل وبعض السمات المناعية لديهم، رسالة ماجستير / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية / قسم علوم الحياة، (2002).

23. الربيعي, فرحة عبد علي شقي, دراسة القابلية التطهيرية والمضادة للتطهير لبعض النباتات الطبية العراقية في الفرن البيض. رسالة ماجستير/كلية التربية ابن الهيثم/جامعة بغداد/(2000).

24. Marchaim.U, Alfalfa saponins as inhibitors of cotton seed germination, Plant and cell physiology, Vol. 11,(.3) 511 -514,(1970).

25.. Diwan, F.H. . Abdel-Hassan I. A and Mohammed, S.T. Effect of saponin on mortality and histopathological changes in mice , Eastern Mediterranean Health Journal, Volum 6 .2000.page 345 – 351, (2000).

تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا *Glycine max L.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم كاظم محمد العبيدي¹ و سعاد حسن محمود² و كاظم محمد إبراهيم³ وعبد الجاسم محسن الجبوري⁴
^{1,2} كلية العلوم / الجامعة المستنصرية
³ كلية العلوم / جامعة النهرين
⁴ مركز التقنية الإحيائية / جامعة النهرين

تاريخ تقديم البحث 2007/12/26 - تاريخ قبول البحث 2008/4/16

ABSTRACT

Cotyledons and embryos excised from mature seeds of two soybean (*Glycine max L.*) varieties Lee 74 and Taka 2 were cultured on (MS) medium supplemented with different growth regulators.

Callus was then exposed to different concentrations of salt mixtures, namely NaCl, CaCl₂ and MgCl₂ in a ratio of 2:2:1 at concentrations of 0, 50, 100, 150, 200 and 250 mM added to the culture medium. Results showed no significant differences between the two varieties in their response to salinity levels. Callus fresh weight decreased with increasing salinity, then completely inhibited at 250 mM, which considered as inhibitory (lethal) 100% level and the concentration of 200 mM was the sublethal. Selection for salt tolerance then carried out using the latter concentration.

Selection was carried out using two methods, direct by subculturing on 200 mM for four subcultures, or indirect (stepwise) by gradual increase up to 200 mM, then cultured on salt free medium for four subcultures. Results showed that Lee 74 was significantly better than Taka 2 in its callus fresh weight after four subcultures on salt free medium. Callus induced initially from cotyledon was significantly more than embryonic callus, and the stepwise selection method was more superior than the direct method since the first produced more callus fresh weight. Selected calli were examined for their ability to tolerate 0 – 250 mM. Results showed that the callus fresh weight induced from Lee 74 cotyledons was significantly higher. A sharp reduction in callus fresh weight was recorded with increasing salt levels.

الخلاصة

استوصلت الفلقات وأجنة البذور الناضجة من فول الصويا *Glycine max L.* للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 وزرعت بعد تعقيمها على الوسط الغذائي (MS) المزود بالفيتامينات ومنظمات النمو المختلفة. عرض الكالس المستحدث إلى مستويات ملحية مختلفة مكونة من خليط أملاح كلوريد الصوديوم والكالسيوم والمغنيسيوم بنسبة 2 : 2 : 1 على التوالي وبالمستويات 0، 50، 100، 150، 200 و 250 ملليمول بعد إضافتها إلى الوسط الغذائي.

أظهرت النتائج عدم وجود اختلافات معنوية بين التركيبين الوراثيين في استجابتهما لمستويات الملوحة للكالس المستحدث من الجنين أما الكالس المستحدث من الفلقة فقد تفوق التركيب الوراثي Lee 74 معنوياً على كالس الفلقة للتركيب الوراثي طاقة 2. لوحظ انخفاض في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس بزيادة المستوى الملحي في الوسط الغذائي وأن المستوى 250 ملليمول هو التركيز القاتل للخلايا والمستوى 200 ملليمول هو التركيز تحت القاتل المناسب لأجراء عمليات الانتخاب عليه كما أظهرت النتائج تفوق التركيب الوراثي طاقة 2 في معدل الوزن الطري للكالس بعد أربع عمليات إعادة زراعة على الوسط الخالي من الملوحة بعد إجراء عمليات الانتخاب وتفق كالس الفلقة معنوياً على كالس الجنين كما أن طريقة الانتخاب التدريجي تفوقت معنوياً على طريقة الانتخاب المباشر.

أعيد اختبار خلايا الكالس التي نجحت في تحمل الملوحة والنتيجة من عمليات الانتخاب على المستويات الملحية (0 – 250 ملليمول) وأظهرت النتائج تفوق كالس الفلقة للتركيب الوراثي Lee 74 معنوياً في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس مقارنة مع الكالس المنتج من فلق طاقة 2 ولم يختلف التركيبان الوراثيان في هذه

تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبيين وراثيين من فول الصويا *Glycine max L.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم وسعدية وكاظم وعبد الجاسم

الصفة للكالس المأخوذ من الجنين كما لوحظ انخفاض في معدل الزيادة بالوزن الطري بزيادة المستويات الملحية وحصل فرق بين منحنيي التثبيط في النمو قبل وبعد عمليات الانتخاب.
الكلمات المفتاحية: *Glycine max L.* ، زراعة أنسجة ، تحمل ملوحة ، الانتخاب

المقدمة

يعد محصول فول الصويا (*Glycine max L.*) Soybean من محاصيل العائلة البقولية المهمة اقتصادياً لكثرة استخداماته منها استخلاص الزيت فائق النوعية والتغذية الحيوانية. تصل نسبة الزيت في بذوره إلى 20% والبروتين إلى 40% ، ويضم بروتين فول الصويا كافة الحوامض الأمينية الأساسية التي يحتاجها الإنسان والحيوان (16)، كما يحتوي فول الصويا على الحامض الأميني Lysine الذي يضاف إلى بروتين الحبوب الأخرى التي تفتقر له (6).

يعد نبات فول الصويا من النباتات متوسطة التحمل للملوحة (9) كما أكد (3) تأثير إنتاجية المحصول سلباً عند زراعته في الترب المالحة والتي تعد من المشاكل الأساسية خاصة في وسط وجنوب العراق، وهناك مساحات كبيرة اعتبرت غير منتجة بسبب تراكم الأملاح فيها. إن زراعة النباتات محدودة التحمل للملوحة أو حساسة يتطلب من هذه النباتات استخدام طاقة كبيرة لتحمل الملوحة مما يؤثر سلباً في معدلات النمو والإنتاجية (31)، لذا سار الاتجاه إلى استخدام بعض التقنيات ومنها تقنية زراعة الأنسجة لمعالجة هذه المشكلة إذ يتم فيها زراعة خلايا الكالس على أوساط ذات شد ملحي وانتخاب الخلايا القادرة على النمو وإخلاف نباتات منها قد تكون متحملة للملوحة (28).

إن استخدام هذه التقنية ساعد في الحصول على نباتات متحملة للملوحة كالكوليوس (20)، الحمضيات (30)، الحنطة (2)، الرز (1) وغيرها من النباتات.

يهدف البحث إلى تحسين صفات المحصول عن طريق استحداث الكالس لتركيبين وراثيين من فول الصويا باستخدام البذور الناضجة لكونها مصدراً متوفراً بصورة دائمية للحصول على الكالس ومن ثم إنتاج خطوط من الخلايا متحملة للملوحة من خلال عمليات الغرلة Screening والانتخاب Selection على أوساط ملحية تمثل حال الترب العراقية وذلك بالاعتماد على التغيرات الموجودة أصلاً في الخلايا النباتية والتغيرات التي قد تحدث نتيجة الزراعة النسيجية.

المواد وطرائق العمل

غسلت البذور الناضجة لتركيبين وراثيين من فول الصويا هما طاقة 2 و Lee 74 بالماء المقطر المعقم لعدة مرات ثم وضعت في أطباق بتري معقمة تحتوي على الكحول الأيثلي بتركيز 96% مع التحريك لمدة 2 دقيقة ثم نقلت إلى أطباق تحتوي على محلول هايبوكلورات الصوديوم 2.4% مع التحريك لمدة 10 دقائق ثم غسلت البذور ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم.

نفذت جميع العمليات في ظروف معقمة باستخدام منضدة الهواء الطبقي Laminar air flow hood. أجريت عملية استئصال الأجنة والفلق من البذور الناضجة وبواقع جنين واحد أو فلقة واحدة / أنبوبة زراعة، وزرعت على وسط استحداث الكالس (جدول 1) المكون من أملاح MS (27) مضافاً إليه بعض منظمات النمو والحوامض الأمينية بالأكار وكانت الأجزاء النباتية في تماس مباشر مع الوسط الغذائي. عدل الأس الهيدروجيني pH للوسط الغذائي إلى 5.8. عقم الوسط الغذائي بجهاز المعقم Autoclave على درجة حرارة 121°م وضغط 1.04 كغم / سم² لمدة 20 دقيقة. حضنت الزروع داخل غرفة النمو وفي الظلام على درجة حرارة 25 ± 1°م. بدأ الكالس بالتكون بعد 10 أيام من الزراعة، وبعد أربعة أسابيع نقل الكالس المستحدث إلى وسط جديد يحتوي على نفس مكونات الوسط الأول وحضنت الزروع تحت

نفس الظروف السابقة، وبعد أربعة أسابيع أخرى تكونت كمية كافية من الكالس لتنفيذ تجارب الملوحة.

جدول-1: مكونات الوسط الغذائي الخاص باستحداث الكالس

ت	المادة	الكمية (ملغم/لتر)
1	أملاح MS	قوة كاملة
2	Pyridoxine – HCl (B6)	0.5
3	Glycine	2.0
4	Nicotinic acid (B3)	0.5
5	Thiamine – HCl (B1)	0.1
6	Myo – Inositol	100
7	Asparagine	150
8	2,4 D	3
9	Kinetin	0.1
10	Sucrose	30000
11	Agar	7000

زراعة الكالس على الأوساط الملحية

بعد الحصول على كمية كافية من الكالس للتركيبين الوراثيين من فول الصويا، أخذ وزن ثابت من الكالس (200 ملغم) وزرع على أوساط غذائية جديدة تحتوي على نفس مكونات وسط استحداث الكالس وأضيف إليها مستويات مختلفة من خليط أملاح NaCl، CaCl_2 و MgCl_2 بنسبة 2 : 2 : 1 على التوالي وهذه النسبة مقاربة لنسبة الأملاح بالتربة العراقية (11)، وقد أضيفت بالمستويات (0، 50، 100، 150، 200 و 250) مليمول إلى الوسط الغذائي حيث كان التوصيل الكهربائي (EC) للوسط الغذائي (6.02، 8.91، 13.17، 17.54، 22.70 و 27.20) ديسي سيمنز / م على التوالي، والجدير بالذكر أن مستوى الملوحة (0) لا يعني أن الوسط الغذائي خالي من الأملاح وإنما لم يزود بأي مستوى من خليط الأملاح.

أجريت التجربة بعشرة تكرارات لكل تركيب وراثي ولكل مستوى ملحي وحضنت الزروع تحت الظروف المشار إليها سابقاً، وبعد أربعة أسابيع حسبت الزيادة بالوزن الطري للكالس ورسم منحني التثبيط في نمو الكالس لتحديد LD 50 و LD 100 لكل تركيب وراثي وحدد المستوى الملحي الذي سيتم زراعة الكالس عليه لأجراء عمليات الغرلة والانتخاب.

انتخاب خلايا الكالس المتحملة للملوحة

حدد المستوى الملحي 200 مليمول كمستوى ملحي يمكن زراعة الكالس عليه للحصول على خلايا متحملة للملوحة لأنه اعتبر المستوى تحت القاتل للخلايا. حضرت أوساط غذائية جديدة تحتوي على نفس المكونات السابقة مع إضافة مستويات ملحية (0، 50 و 200) مليمول من الخليط الملحي وتمت عملية انتخاب الخلايا المتحملة للملوحة استناداً إلى (21) وبطريقتين:-

1 – الانتخاب المباشر Direct selection

زرعت قطع الكالس ووزن 100 ملغم على أوساط غذائية تحتوي على مستوى ملحي 200 مليمول وكررت عملية إعادة الزراعة لأربعة مرات متتالية على المستوى الملحي نفسه. ثم زرع الكالس الذي نجح في تحمل المستوى الملحي 200 مليمول على وسط خالي من الملوحة لأربعة عمليات إعادة زراعة متتالية ثم اختبرت خلايا الكالس الناتجة على أوساط غذائية تحتوي مستويات ملحية 0 – 250 مليمول مرة أخرى، وكما موضح في المخطط الآتي: -

تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا *Glycine max L.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم وسعدية وكافم وعبد الجاسم

0 $\xrightarrow[4 \text{ sub cultures}]{200 \text{ mM}}$ Survivors $\xrightarrow[4 \text{ sub cultures}]{0 \text{ mM}}$ Test on 0 – 250 mM

2- الانتخاب التدريجي Stepwise selection

زرع الكالس على أوساط تحتوي على مستويات ملحية ازدادت بصورة تدريجية 50، 100، 150 و 200 مليمول وبعد الوصول إلى المستوى الملحي 200 مليمول زرع الكالس على أوساط خالية من الملوحة لأربعة عمليات إعادة زراعة، ثم اختبرت خلايا الكالس على أوساط تحتوي تراكيز ملحية تراوحت من 0 – 250 مليمول. وكما موضح في المخطط الآتي:

0 $\rightarrow$ 50 mM $\rightarrow$ 100 mM $\rightarrow$ 150 mM $\rightarrow$ 200 mM $\xrightarrow[4 \text{ sub cultures}]{0 \text{ mM}}$ Test on 0 – 250 mM

ولغرض تحديد معدل الوزن الطري للكالس الناتج من تجارب الانتخاب فقد زرع قسم آخر من الكالس وفق آلية الانتخاب أعلاه بثمانية مكررات لكل تركيب وراثي ولكل مستوى ملحي وبوزن ابتدائي مقداره 100 ملغم وكررت إعادة الزراعة بعد 14 يوم. حضنت الزروعات تحت الظروف المشار إليها سابقاً وبعد انتهاء سلسلة مراحل الانتخاب تم حساب معدل الوزن الطري للكالس. اختبر الكالس الذي استمر في النمو (Survived) خلال سلسلة الانتخاب على مستويات ملحية تراوحت من 0 – 250 مليمول.

اختبار خلايا الكالس المتحملة للملوحة على أوساط ملحية

اختبرت خلايا الكالس التي نجحت في تحمل سلسلة عمليات الانتخاب بزراعتها على أوساط جديدة تحتوي على المستويات الملحية (0، 50، 100، 150 أو 200) مليمول مرة ثانية لمعرفة مدى الاختلاف في تحملها للملوحة بعد سلسلة عمليات الانتخاب. حيث نفذت التجربة بـ 10 مكررات لكل تركيب وراثي ولكل مستوى ملحي وبوزن ابتدائي مقداره 200 ملغم. حضنت الزروعات تحت الظروف السابقة نفسها وبعد أربعة أسابيع تم حساب الزيادة في معدل الوزن الطري للكالس ورسم منحنى التثبيط في نمو الكالس لكل تركيب وراثي لمقارنته بمنحنى التثبيط في النمو السابق.

نفذت التجارب باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD وتجارب عاملية وتم تحليل النتائج ومقارنتها إحصائياً حسب اختبار LSD وعلى مستوى احتمال 0.05 (35).

النتائج والمناقشة

تأثير المستويات الملحية في معدل الزيادة في الوزن الطري للكالس

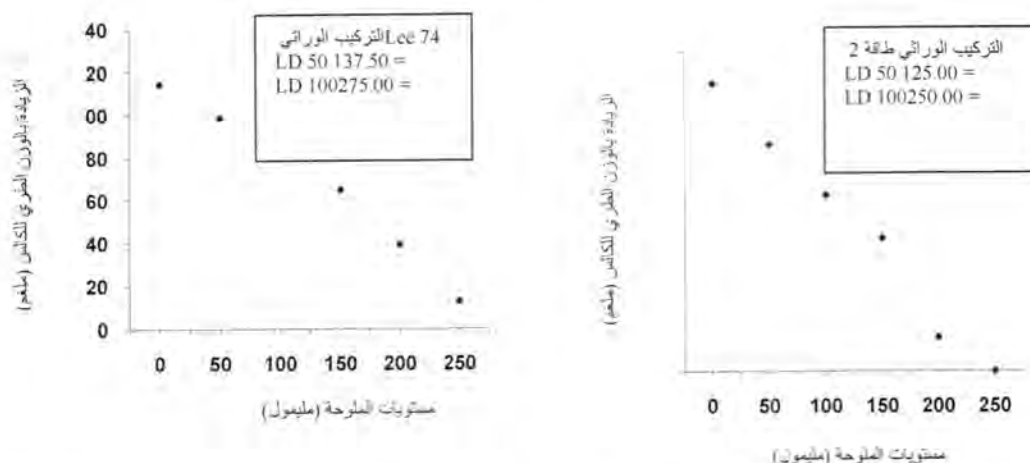
توضح النتائج في الجدول (2) تأثير المستويات الملحية في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس المستحدث من الفلقة بعد أربعة أسابيع من الزراعة، وتشير النتائج إلى وجود تأثير معنوي للتراكيب الوراثية من فول الصويا في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس حيث تفوق التركيب الوراثي Lee 74 في هذه الصفة وأعطى معدل زيادة بالوزن الطري مقداره 69.50 ملغم واختلف معنوياً عن التركيب الوراثي طاقة 2 الذي أعطى معدل زيادة بالوزن مقداره 62.26 ملغم. أعطت معاملة المحاييد أعلى معدل زيادة بالوزن الطري للكالس بلغ 120.10 ملغم، وبدأ معدل الزيادة بالانخفاض بشكل معنوي مع زيادة المستويات الملحية حيث أعطت المعاملة 250 مليمول من الخليط الملحي أقل معدل للزيادة بالوزن الطري للكالس بلغ 6.40 ملغم، كما يلاحظ وجود تداخلات معنوية بين المستويات الملحية والتراكيب الوراثية إذ أعطت معاملة المحاييد للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 معدل زيادة بالوزن الطري للكالس بلغ

125.80 و 114.40 ملغم على التوالي وانخفضت بقية التداخلات معنوياً عن هذه المعاملة، أما أقل معدل للزيادة بالوزن الطري للكاس فقد تحقق في معاملة 250 مليمول من الخليط الملحي للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 إذ بلغ معدل الزيادة 0.00 و 12.80 ملغم على التوالي.

جدول- 2: معدل الزيادة في الوزن الطري للكاس المستحدث من الفلقة (ملغم) بعد أربعة أسابيع من زراعته على الأوساط الملحية المختلفة علماً أن الوزن الابتدائي للكاس هو 200 ملغم .

المعدل	التراكيب الوراثية		المستويات الملحية (مليمول)
	Lee 74	طاقة 2	
120.10	114.40	125.80	المحايد
98.80	98.60	99.00	50
81.90	87.20	76.60	100
61.20	64.80	57.60	150
26.90	39.20	14.60	200
6.40	12.80	0.00	250
	69.50	62.26	المعدل
التراكيب الوراثية = 5.40 المستويات الملحية = 9.36 التراكيب الوراثية × المستويات الملحية = 13.24			LSD (0.05)

ويوضح الشكل (1) منحنى التثبيط في نمو الكاس المستحدث من الفلقة للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 النامي على مستويات ملحية مختلفة. حيث يتضح من الشكلين أن الحد القاتل (LD100) للتركيب الوراثي طاقة 2 كان 250 مليمول من الخليط الملحي. والحد القاتل للتركيب الوراثي Lee 74 كان 275 مليمول، ويتبين من خلال الشكلين أن LD 50 للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 هو 125.00 و 137.50 مليمول على التوالي.



شكل- 1 : منحنى التثبيط في نمو الكاس المستحدث من الفلقة للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 النامي على مستويات مختلفة من الملوحة .

توضح النتائج في الجدول (3) تأثير المستويات الملحية في معدل الزيادة بالوزن الطري للكاس المستحدث من الجنين بعد أربعة أسابيع من الزراعة، إذ يلاحظ عدم وجود فروقات معنوية بين التركيبين الوراثيين في هذه الصفة وبلغ معدل الزيادة بالوزن الطري للكاس

تأثير الغريلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا *Glycine max* L. لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم و سعدية و كاظم و عبد الجاسم

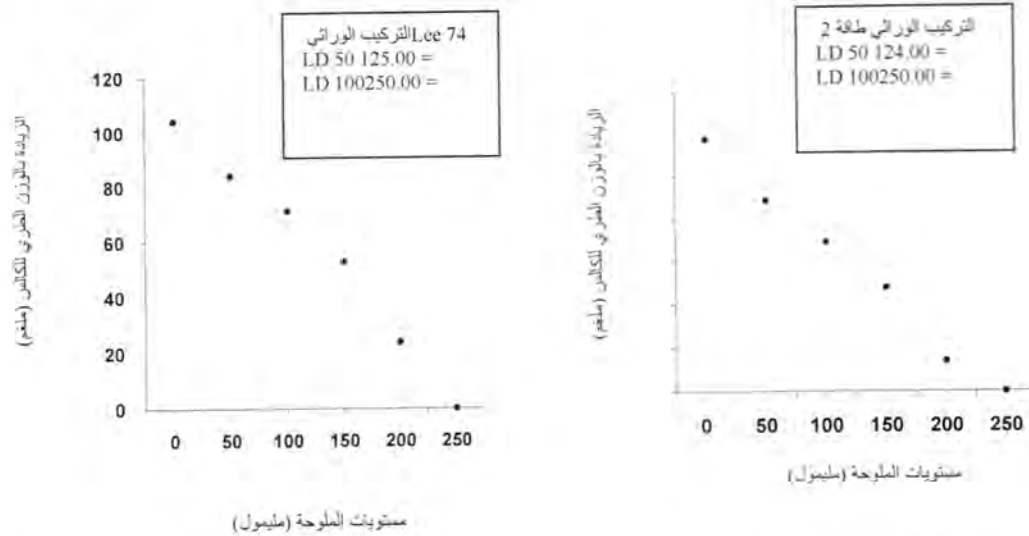
للتربينين الوراثنين طاقة 2 و Lee74 و 56.26 و 56.00 ملغم على التوالي، أما المستويات الملحية فكان لها تأثيراً معنوياً في هذه الصفة إذ أعطت معاملة المحايد أعلى معدل للزيادة بلغ 110.90 ملغم وانخفض معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس معنوياً بزيادة المستويات الملحية وأعطت المعاملة 250 مليمول أقل معدل بلغ 0.00 ملغم.

كما يلاحظ من الجدول نفسه وجود تداخلات معنوية بين التراكيب الوراثية والمستويات الملحية حيث أعطت معاملة المحايد للتربين الوراثنين طاقة 2 معدل زيادة في الوزن الطري بلغ 117.60 ملغم وانخفضت بقية التداخلات معنوياً عن هذه المعاملة تلتها معاملة المحايد للتربين الوراثنين Lee 74 والتي أعطت معدل زيادة بلغ 104.20 ملغم، أما أقل معدل للزيادة بالوزن الطري فكان في المعاملة 250 مليمول ولكلا التركيبين الوراثنين (0.00 ملغم).

جدول- 3: معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس المستحدث من الجنين (ملغم) بعد أربعة أسابيع من زراعته على الأوساط الملحية المختلفة علماً ان الوزن الابتدائي للكالس هو 200 ملغم .

المعدل	التراكيب الوراثية		المستويات الملحية (مليمول)
	Lee 74	طاقة 2	
110.90	104.20	117.60	المحايد
86.30	84.00	88.60	50
70.30	71.20	69.40	100
50.40	52.80	48.00	150
18.90	23.80	14.00	200
0.00	0.00	0.00	250
	56.00	56.26	المعدل
التراكيب الوراثية = غ . م المستويات الملحية = 6.78 التراكيب الوراثية × المستويات الملحية = 9.59			LSD (0.05)

وبوضح الشكل (2) منحنىي التثبيط في نمو الكالس المستحدث من الجنين للتركيبين الوراثنين طاقة 2 و Lee 74 النامي على مستويات ملحية مختلفة حيث يتضح من الشكلين أن الحد القاتل (LD 100) لكلا التركيبين الوراثنين طاقة 2 و Lee 74 فكان 250 مليمول من الخليط الملحي في الوقت الذي وصل (LD 50) إلى 124 و 125 مليمول على التوالي. أن الاختلاف بين التركيبين الوراثنين من فول الصويا في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس المستحدث من الفلقة قد يعود إلى الاختلاف بين التركيبين في استجابتهما لتكوين الكالس بسبب الاختلافات الوراثية من حيث محتوى الفلق من الأحماض الأمينية لكل تركيب وراثي من فول الصويا وهذا ما أكدته (8)، كما أن انخفاض معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس بزيادة المستويات الملحية في الوسط الغذائي قد يعود إلى زيادة الإجهاد الملحي في الوسط الغذائي وبالتالي يتطلب من الخلايا إعادة تنظيم جهدها الأزموزي للتأقلم مع الظروف الملحية الجديدة مما يسبب انخفاضاً في جاهزية الماء والمواد الغذائية الذاتية فيه، وهذا يؤثر بصورة سلبية في نمو الخلايا فيؤدي إلى انخفاض معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس. وهذا ما أكدته (32) في دراستهم على نمو وتطور الكالس في نبات الرز المزروع على أوساط ملحية. كما تسبب زيادة المستويات الملحية في الوسط الغذائي إلى اضطرابات أيونية داخل الخلية مما يتطلب منها استهلاك طاقة كبيرة للتكيف مع الظروف البيئية ذات المستوى الملحي العالي وهذا ما أكدته (33) وكذلك (26) في دراستهم على نبات الحنطة حيث لاحظوا انخفاض الوزن الطري للكالس كلما زادت التراكيز الملحية في الوسط الغذائي.



شكل- 2 : منحنيًا التنشيط في نمو الكالس المستحدث من الجنين للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 النامي على مستويات مختلفة من الملوحة .

أشار (24) إلى أن الانخفاض العام في معدل النمو قد ينجم عن التأثير السلبي للملوحة في الفعاليات الأيضية للخلايا المتضمنة النشاط الأنزيمي والبناء الحيوي للبروتين والأحماض النووية وفعالية الماييتوكوندريا والبلاستيدات. وافترضت العديد من الدراسات بأن زيادة مستويات الملوحة داخل الأنسجة من الممكن أن تقلل من مستويات الهرمونات النباتية الداخلية (الأوكسينات والساييتوكاينينات والجبرلينات) الضرورية لعمليات الانقسام والاستطالة ثم البقاء حية تحت ظروف الإجهاد الملحي.

واستناداً إلى النتائج المتحصل عليها فقد اعتبر المستوى الملحي 250 مليمول هو الحد القاتل للخلايا والمستوى الملحي 200 مليمول هو الحد تحت القاتل لها والذي يمكن تنمية الكالس عليه للحصول على خلايا متحملة للملوحة لكلا التركيبين الوراثيين من فول الصويا.

تأثير الانتخاب في معدل الوزن الطري للكالس

كان لعملية الانتخاب تأثيراً هاماً في معدل الوزن الطري للكالس ويوضح الجدول (4) تأثير مصدر الكالس المستخدم في عملية الانتخاب في معدل الوزن الطري بعد أربع عمليات إعادة زراعة (Subculture) على الوسط الخالي من الملوحة. حيث تفوق التركيب الوراثي Lee 74 معنوياً على التركيب الوراثي طاقة 2 وبلغ معدل الوزن الطري للتركيبين الوراثيين 466 و 363 ملغم على التوالي، كما تفوقت الفلقة معنوياً على الجنين كمصدر لاستحداث الكالس وبلغ معدل الوزن الطري بعد إجراء عمليات الانتخاب 564.33 و 264.83 ملغم على التوالي، ويلاحظ من الجدول نفسه وجود تداخلات معنوية بين التراكيب الوراثية ومصدر استحداث الكالس إذ تفوق كالس التركيب الوراثي Lee 74 الناتج من الفلقة معنوياً على التداخلات الأخرى وأعطى معدل وزن طري بلغ 636 ملغم، أما أقل التداخلات فكانت في كالس التركيب الوراثي طاقة 2 الناتج من الجنين والذي أعطى معدل وزن بلغ 233.33 ملغم.

تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبيين وراثيين من فول الصويا *Glycine max L.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم وسعدية و كاظم وعيد الجاسم

جدول- 4: تأثير مصدر استحداث الكالس المستخدم في عملية الانتخاب في معدل الوزن الطري (ملغم) بعد أربع عمليات إعادة زراعة على الوسط الخالي من الملوحة علماً أن الوزن الابتدائي للكالس هو 100 ملغم

المعدل	مصدر استحداث الكالس		التركيبة الوراثية
	جنين	فلقة	
363.00	233.33	492.66	طاقة 2
466.00	296.33	636.00	Lee 74
	264.83	564.33	المعدل
$10.41 = \text{التركيبة الوراثية}$ $10.41 = \text{مصدر استحداث الكالس}$ $14.73 = \text{التركيبة الوراثية} \times \text{مصدر استحداث الكالس}$			LSD (0.05)

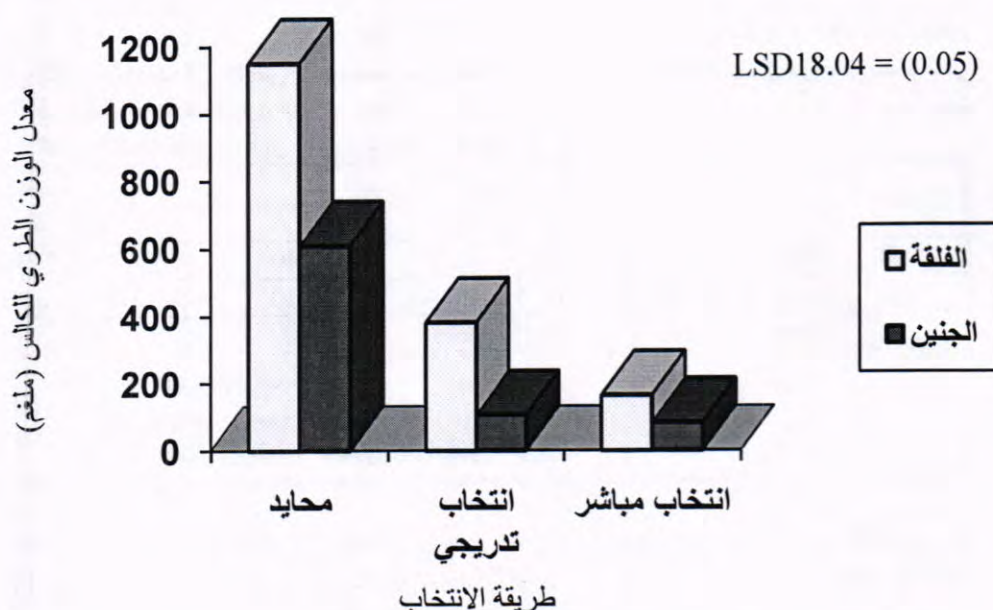
ويوضح الجدول (5) تأثير طريقة الانتخاب في معدل الوزن الطري للكالس بعد أربع عمليات إعادة زراعة على الوسط الخالي من الملوحة، إذ أعطت معاملة المحايد معدل وزن بلغ 878.75 ملغم وانخفضت بقية المعاملات معنوياً عن معاملة المحايد إذ أعطت معاملة الانتخاب التدريجي معدل وزن بلغ 242.50 ملغم والتي تفوقت معنوياً على معاملة الانتخاب المباشر والتي أعطت معدل وزن بلغ 122.50 ملغم.

جدول- 5: تأثير طريقة الانتخاب في معدل الوزن الطري للكالس (ملغم) بعد أربع عمليات إعادة زراعة على الوسط الخالي من الملوحة، علماً أن الوزن الابتدائي للكالس هو 100 ملغم

المعدل	طريقة الانتخاب			التركيبة الوراثية
	200 مليمول مباشر	200 مليمول تدريجي	المحايد	
363.00	115.00	219.00	755.00	طاقة 2
466.00	130.00	266.00	1002.50	Lee 74
	122.50	242.50	878.75	المعدل
$10.41 = \text{التركيبة الوراثية}$ $12.75 = \text{طريقة الانتخاب}$ $18.04 = \text{التركيبة الوراثية} \times \text{طريقة الانتخاب}$				LSD(0.05)

كما يلاحظ وجود تداخلات معنوية بين التراكيب الوراثية وطريقة الانتخاب إذ تفوق التركيب الوراثي Lee 74 في معاملة المحايد معنوياً على التداخلات الأخرى وأعطى معدل وزن بلغ 1002.50 ملغم بينما كانت أقل المعدلات في التركيب الوراثي طاقة 2 باستخدام الانتخاب المباشر حيث أعطى معدل وزن 115 ملغم ولم يختلف معنوياً عن التركيب الوراثي Lee 74 في طريقة الانتخاب المباشر.

يوضح الشكل (3) تأثير التداخل الثنائي بين مصدر الكالس وطريقة الانتخاب في معدل الوزن الطري للكالس إذ يتضح أن معاملة المحايد باستخدام الفلقة أعطت معدل وزن بلغ 1149.50 ملغم وانخفضت بقية التداخلات معنوياً عن معاملة المحايد، أما أقل التداخلات فكانت في الانتخاب المباشر باستخدام الجنين الذي أعطى معدل وزن 82 ملغم. ويلاحظ تفوق طريقة الانتخاب التدريجي باستخدام كل من الفلقة والجنين على طريقة الانتخاب المباشر.



شكل- 3: تأثير التداخل بين مصدر الكالس وطريقة الانتخاب في معدل الوزن الطري للكالس بعد أربع عمليات إعادة زراعة على الوسط الخالي من الملوحة علماً أن الوزن الابتدائي للكالس 100 ملغم

ويوضح الجدول (6) تأثير التداخل الثلاثي بين التراكيب الوراثية ومصدر الكالس وطريقة الانتخاب في معدل الوزن الطري للكالس حيث تفوق التركيب الوراثي Lee 74 باستخدام الفلقة في معاملة المحايد معنوياً على التداخلات الأخرى إذ بلغ المعدل 1318.00 ملغم، أما أقل المعدلات فقد نتج من معاملة التركيب الوراثي طاقة 2 باستخدام الجنين ومن طريقة الانتخاب المباشر إذ بلغ المعدل 80.00 ملغم.

جدول- 6: تأثير التداخل الثلاثي بين التراكيب الوراثية ومصدر الكالس وطريقة الانتخاب في معدل الوزن الطري للكالس (ملغم) بعد أربع عمليات إعادة زراعة على الوسط الخالي من الملوحة علماً أن الوزن الابتدائي للكالس 100 ملغم

طريقة الانتخاب			مصدر استحداث الكالس	التراكيب الوراثية
200 مليمول (مباشر)	200 مليمول (تدريجي)	محايد		
150.00	347.00	981.00	فلقة	طاقة 2
80.00	91.00	529.00	جنين	
176.00	414.00	1318.00	فلقة	Lee 74
84.00	118.00	687.00	جنين	
25.51 = طريقة الانتخاب × مصدر استحداث الكالس × التراكيب الوراثية				(0.05) LSD

تأثير الانتخاب في قابلية الكالس لتحمل الملوحة

يوضح الجدول (7) تأثير الانتخاب في قابلية الكالس المستحدث من الفلقة لتحمل الملوحة بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الأوساط الملحية المختلفة. وتبين النتائج تفوق التركيب الوراثي Lee 74 معنوياً على التركيب الوراثي طاقة 2 إذ بلغ معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس 85.30 و 78.90 ملغم على التوالي.

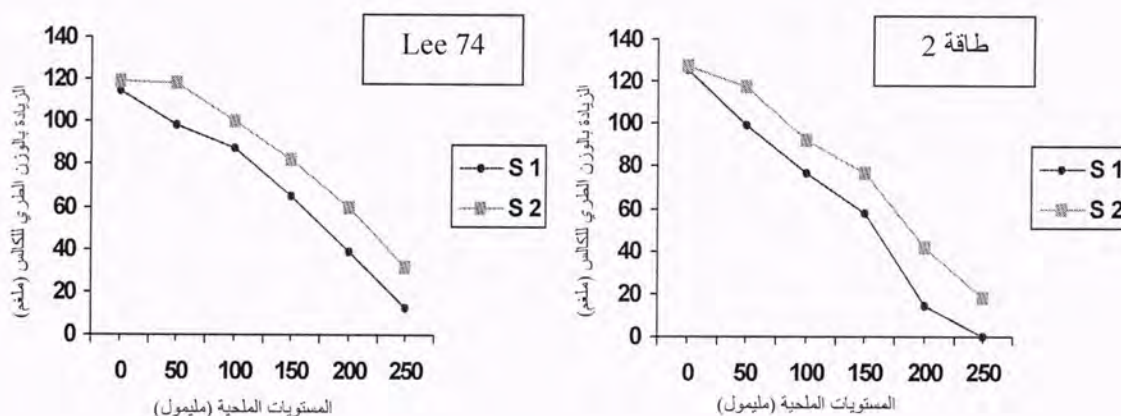
تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا *Glycine max L.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم وسعدية وكاظم وعبد الجاسم

جدول- 7: تأثير الانتخاب في الكالس المستحدث من الفلقة والمزروع على 200 مليمول من الخليط الملحي في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس (ملغم) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على المستويات الملحية المختلفة. علماً أن الوزن الابتدائي للكالس هو 200 ملغم

المعدل	المستويات الملحية (مليمول)						التراكيب الوراثية
	250	200	150	100	50	0	طاقة 2
78.90	18.00	42.00	76.40	92.40	117.40	127.20	Lee 74
85.30	31.20	60.00	82.40	100.40	118.20	119.60	المعدل
	24.60	51.00	79.40	96.40	117.80	123.40	
التراكيب الوراثية = 3.23							LSD (0.05)
المستويات الملحية = 5.60							
التراكيب الوراثية × المستويات الملحية = 7.93							

كما يتضح من الجدول نفسه أن معاملة المحاييد قد أعطت معدل زيادة بالوزن الطري بلغ 123.40 ملغم لكنها لم تختلف معنوياً عن معاملة المستوى الملحي 50 مليمول التي أعطت معدل زيادة بالوزن الطري بلغ 117.80 ملغم وانخفضت بقية المستويات الملحية معنوياً عنهما. أما أقل معدل للزيادة بالوزن الطري فقد نتج من المستوى الملحي 250 مليمول ليصل إلى 24.60 ملغم. ويلاحظ وجود تداخلات معنوية بين التركيب الوراثية والمستويات الملحية إذ أعطى التركيب الوراثي طاقة 2 في معاملة المحاييد معدل زيادة بالوزن الطري بلغ 127.20 ملغم وانخفضت بقية التداخلات معنوياً عن معاملة المحاييد، أما أقل المعدلات فكانت في التركيب الوراثي طاقة 2 في المستوى الملحي 250 مليمول إذ بلغ معدل الزيادة 18 ملغم. ويبين الشكل (4) منحنى التثبيط في نمو الكالس المستحدث من الفلقة والمزروع على وسط يحتوي على 200 مليمول من الخليط الملحي لكل من التركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 بعد أربعة أسابيع من الزراعة على نفس المستويات الملحية (0 – 250) مليمول التي تم الاختبار عليها قبل عملية الانتخاب حيث يلاحظ زيادة قابلية الكالس لتحمل المستويات الملحية المختلفة بعد عمليات الانتخاب.



شكل- 4 : منحنيا التثبيط في نمو الكالس المستحدث من الفلقة النامي على مستويات مختلفة من الملوحة حيث:-

S1 = منحنى التثبيط في نمو الكالس قبل عمليات الانتخاب

S2 = منحنى التثبيط في نمو الكالس بعد عمليات الانتخاب

وبوضح الجدول (8) تأثير عمليات الانتخاب في قابلية الكالس المستحدث من الجنين لتحمل الملوحة بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الأوساط الملحية المختلفة. حيث يلاحظ عدم وجود فروقات معنوية بين التركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 إذ بلغ معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس 75.96 و 74.70 ملغم على التوالي.

جدول- 8: تأثير الانتخاب على الكالس المستحدث من الجنين والمنمى على 200 مليمول من الخليط الملحي في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس (ملغم) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على المستويات الملحية المختلفة علماً أن الوزن الابتدائي للكالس هو 200 ملغم

المعدل	المستويات الملحية (مليمول)						التركيب الوراثي
	250	200	150	100	50	0	
75.96	21.00	40.60	71.60	91.60	109.00	122.00	طاقة 2
74.70	24.00	44.60	74.00	98.00	104.40	103.20	Lee 74
	22.50	42.60	72.80	94.80	106.70	112.60	المعدل
التراكيب الوراثية = غ . م المستويات الملحية = 6.61 التراكيب الوراثية × المستويات الملحية = 9.34							LSD (0.05)

كما تبين النتائج أن معاملة المحاييد أعطت معدل زيادة بالوزن الطري للكالس لم يختلف معنوياً عن معاملة 50 مليمول من الخليط الملحي إذ بلغ معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس 112.60 ملغم في معاملة المحاييد و 106.70 ملغم في معاملة 50 مليمول من الخليط الملحي وانخفضت بقية المستويات الملحية معنوياً عنهما، أما أقل معدل للزيادة بالوزن الطري فننتج من المعاملة 250 مليمول خليط ملحي وصل إلى 22.50 ملغم.

كما حصلت تداخلات معنوية بين التراكيب الوراثية والمستويات الملحية إذ أعطى التركيب الوراثي طاقة 2 في معاملة المحاييد معدل زيادة بالوزن بلغ 122 ملغم وانخفضت بقية التداخلات معنوياً عنها، أما أقل المعدلات فكانت في معاملة 250 مليمول من الخليط الملحي للتركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 حيث بلغا 21 و 24 ملغم ولم يختلفا عن بعضهما معنوياً.

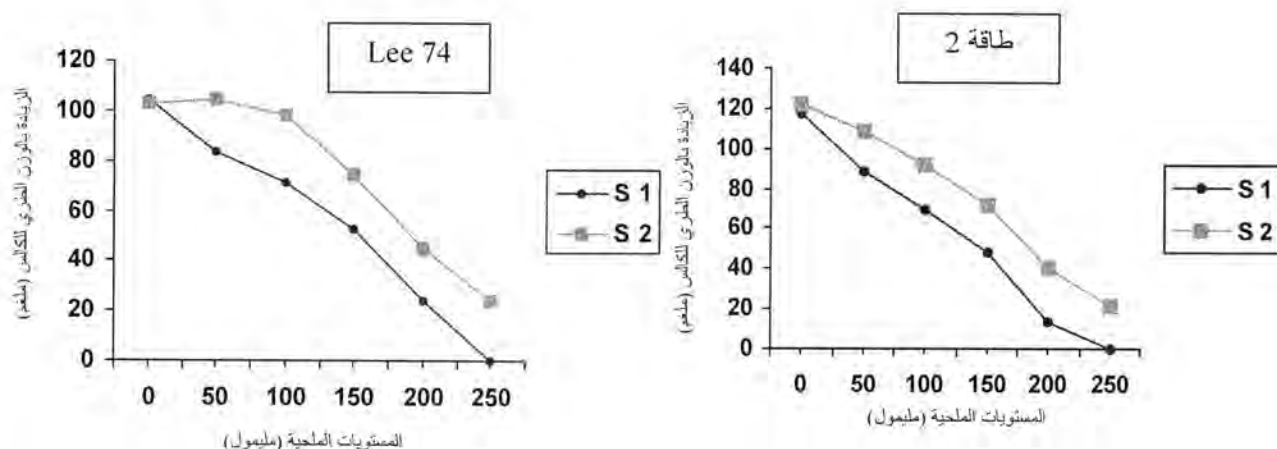
ويبين الشكل (5) منحنيي التنشيط في نمو الكالس المستحدث من الجنين والمربي على وسط غذائي يحتوي على 200 مليمول من الخليط الملحي لكل من التركيبين الوراثيين طاقة 2 و Lee 74 بعد أربعة أسابيع من الزراعة على نفس المستويات الملحية (0 - 250) مليمول التي تم الاختبار عليها قبل عملية الانتخاب. ويلاحظ زيادة قابلية الكالس لتحمل المستويات الملحية المختلفة بعد عمليات الانتخاب.

ويتضح مما تقدم أن التركيبين الوراثيين اختلفا معنوياً في مقدار الزيادة بالوزن الطري للكالس الناتج من الفلقة وهذا ما تم الإشارة إليه سابقاً حيث يعزى إلى اختلاف محتوى الفلق في كل من التركيبين الوراثيين من الأحماض الأمينية والعناصر الغذائية. وهذا يتفق مع ما وجدته (13) في دراسته على بعض أصناف قصب السكر و (7) في دراستهم على الكالس لأصناف الرز حيث وجدوا أن التراكيب الوراثية لمحصول معين تختلف في استجابتها على تكوين الكالس وعزوا ذلك إلى الاختلافات الوراثية بين الأصناف المدروسة.

كما يلاحظ انخفاض معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس بشكل معنوي بزيادة المستويات الملحية وهذا يمكن أن يعزى إلى التغيرات في العلاقات المائية للخلايا وإعادة تنظيم جهودها الأزموزي مما يؤثر سلباً في انخفاض جاهزية الماء والعناصر الغذائية الذاتية فيه وبالتالي انخفاض معدل النمو فضلاً عن تأثير الملوحة في أنزيمات بناء وأكسدة وهدم الهرمونات النباتية التي تساهم بعمليات الانقسام والنمو (10 و 18).

تأثير الغريلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا *Glycine max L.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم وسعدية و كاظم وعبد الجاسم



شكل-5: منحني التثبيط في نمو الكالس المستحدث من الجنين النامي على مستويات مختلفة من الملوحة حيث:-

= منحني التثبيط في نمو الكالس قبل عمليات الانتخاب S1

= منحني التثبيط في نمو الكالس بعد عمليات الانتخاب S2

تشابه هذه النتائج ما توصل إليه (37) في كالس نبات الرز ومع (4) في كالس نبات لحنطة و (34) في كالس نبات الجزر و (5) في كالس النخيل حيث وجدوا أن زيادة المستويات الملحية أدت إلى انخفاض الوزن الطري للكالس، كما يلاحظ أن قابلية الكالس لتحمل الملوحة بعد عمليات الانتخاب قد زادت في كلا التركيبين الوراثيين سواء من الكالس المستحدث من الفلقة أو من الجنين قد يعود سبب زيادة قابلية الكالس لتحمل الملوحة هو أن الخلايا بعد عمليات الانتخاب ربما تعمل على تخليق بعض الحوامض الأمينية كحامض البرولين الذي يعمل على تنظيم الجهد الأزموزي للخلية ويجعلها قادرة على امتصاص الماء والمغذيات ضمن مستويات معينة من الملوحة وهذا ما أكدته (17) لدى دراستهما نباتات حساسة للملوحة و (29) عند دراسته تأثير الشد الملحي على نبات الفراولة *Fragaria virginiana* و (19) في دراستهما على نبات البطاطا، فضلاً عن أن زيادة البرولين في العصير الخلوي يؤدي إلى إخراج أيونات الصوديوم والكلور في الخلية المعرضة للإجهاد الملحي وبالتالي تقليل التأثير السمي لهذه الأيونات وهذا ما أكدته (36) لدى دراستهم الشد الملحي على نبات التبغ و (12) على نبات اللفت *Brassica napus L.* و (15) في دراستهم على نبات الخرشوف *Cynara colymus L.*

وقد أشارت بعض الدراسات إلى أن البرولين يعمل كعامل وقاية (حماية) للإنزيمات والعضيات الخلوية أو كمركب خزني (مصدر) للطاقة والنتروجين (22 و 14). كما افترضت بعض الدراسات أن البرولين المتجمع قد يعود إلى سيطرة الجينات المسماة *Osmotic tolerance genes* التي تسيطر على إنتاج البرولين الذي يقوم بحماية الخلية ومحتوياتها أزموزياً من فقدان الماء وإضرار الملوحة (25) وهذا ما أكدته (23) عند زراعتهم أجنة الشعير خارج الجسم الحي في وسط غذائي مزود بالبرولين حيث وجدوا أن البرولين يعمل على تشجيع زيادة نسبة البوتاسيوم إلى الصوديوم ومن ثم التخلص من الصوديوم لاحقاً كما افترضوا أن البرولين يعمل كمادة حافظة للأغشية الخلوية والإنزيمات من التأثير بالملوحة مؤدياً إلى استمرار عمليات النمو أكثر من دوره كمنظم أزموزي.

نستنتج من هذه الدراسة ما يلي: -

1. تعريض خلايا الكالس إلى مستويات عالية من الملوحة (150 ملليمول) فأكثر أدى إلى تثبيط عالي في نموه وأن زيادة المستوى الملحي إلى 250 ملليمول أدى إلى هلاك الكالس (100%).
2. تفوق التركيب الوراثي Lee 74 معنوياً على التركيب الوراثي طاقة 2 في معدل الزيادة بالوزن الطري للكالس المستحدث من الفلقة بعد أربع أسابيع من الزراعة على الأوساط الملحية المختلفة ولم يختلف التركيبان معنوياً في هذه الصفة للكالس المستحدث من الجنين .
3. بعد إجراء عمليات الانتخاب تفوق التركيب الوراثي Lee 74 معنوياً على التركيب الوراثي طاقة 2 في معدل الوزن الطري للكالس بعد أربع عمليات إعادة زراعة على الوسط الخالي من الملوحة، وتفوقت الفلقة معنوياً على الجنين كمصدر لاستحداث الكالس المستخدم في عمليات الانتخاب .
4. أدت عمليات الغربلة والانتخاب لخلايا الكالس إلى زيادة تحمل خلايا الكالس للمستويات الملحية المختلفة وأن تعريض الخلايا للشدود الملحية بصورة تدريجية أعطت نتائج أفضل من تعريض الكالس لشدود ملحية عالية وبصورة مباشرة.

المصادر

- 1 - التكريتي، شذى عايد يوسف تقويم وإخلاف نباتات الرز المتحملة للملوحة باستخدام تقانات مختلفة. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق (2000).
- 2 - الجبوري، عبد الجاسم محيسن، علي عبد الأمير الصالحي، هاشم كاظم محمد العبيدي، أخلاص عبد الكريم الكعبي، محمد أحمد كريم وقاسم محمد زامل. تربية الحنطة *Triticum aestivum* لتحمل الملوحة باستخدام تقنية زراعة الأنسجة وأشعة كاما. مجلة أبحاث التقانة الحيوية. 3 (2): 5 - 21 (2001).
- 3 - الساهوكي، مدحت مجيد. فول الصويا إنتاجه وتحسينه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق (1991).
- 4 - الصابري، هيفاء عبد الرزاق. تأثير الملوحة والإشعاع على بعض المكونات الخلوية والعلاقات المائية في كالس أربعة أصناف من الحنطة *Triticum aestivum* L. المزروعة خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة بغداد. العراق (1988).
- 5 - الكعبي، حسين خلف زاير. دراسة تأثير كلوريد الصوديوم والبرولين في نمو نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) صنف البرحي المزروعة خارج الجسم الحي. أطروحة دكتوراه. كلية التربية. جامعة البصرة. العراق (2004).
- 6 - المهداوي، حسين عبيد خضير. تأثير التداخل الوراثي والبيئي في الحصول ومكوناته وبعض الصفات الأخرى لمحصول فول الصويا. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق (1999).

تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا *Glycine max* L. لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم وسعدية وكاظم وعبد الجاسم

7 - خضر، حلمي حامد، عبد الجاسم محسن جاسم الجبوري ورعد هاشم بكر. استخدام تقنية

زراعة الأنسجة في تحديد قابلية تحمل ثلاثة أصناف من الرز (*Oryza sativa* L.) للشد الملحي. مجلة أبحاث التقانة الحيوية. 2 (1): 93 – 106 (2000).

8 - Arora, S. K. Chemistry and Biochemistry of Legumes. 1st ed. Edward Arnold Limited. 121 – 122 (1983).

9 - Bernstein, I. and H. E. Hayward. 1964. Effect of salinity on mineral composition and growth of plant. Plant Anal. Fert. Probl. Collog. 4: 25 – 45. (cited by Levitt, pp. 372) (1980).

10 - Binzel, M. L.; P. M. Hasegawa; A. K. Handa and R. A. Bressan. Adaptation of tobacco cells to NaCl. Plant Physiol. 79: 118 – 125 (1985).

11 - Buringh, P. Soils and Soil Conditions in Iraq. Ministry of Agriculture. Baghdad. Neenman and Zonen Press, Netherlands (1960).

12 - Chandler, S. F. and T. A. Thorpe. Proline accumulation and sodium sulphate tolerance in callus of *Brassica napus* L. cv. Westar. Plant Cell Rep. 6: 176 – 179 (1987).

13 - Chanwit, M. 1994. Induction of salt tolerance in sugar cane by tissue culture techniques. AGRIS (1999).

14 - Chinnusamy, V.; A. Jagendorf and J. K. Zhu. Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Sci. 45: 437 – 448 (2005).

15 - El-Bahr, M. K.; K. A. Okasha and S. A. Bekheet. Effect of salt stress on callus cultures of globe artichoke. Arab Univ. J. Agric. Sci. Ain Shams Univ. Cairo. 9 (2): 783 – 792 (2001).

16 - Gianessi, L. P. and J. E. Carpenter. Agricultural Biotechnology: Benefits of transgenic Soybeans. National Center for Food and Agricultural Policy. Washington. USA (2000).

17 - Greenway, H. and R. Munns. Mechanisms of salt tolerance in non – halophytes. Ann. Rev. Plant Physiol. 31: 149 – 190 (1980).

18 - Hanafy-Ahmed, A. H.; M. A. Higazy; Y. H. El-Shafey and S. F. Moussa. Effect of salinity, silicon and proline on growth, yield and chemical composition of wheat plant. International Symposium for the Optimization of Plant Nutrition. Cairo. Egypt (2000).

19 - Hausman, J. F. and D. Evers. Salt tolerance of potato shoots grown *in vitro*. [Personal communication by E-mail (hausman@crpgl.lu)] (2004).

- 20 - Ibrahim, K. M.; J. C. Collins and H. A. Collin. *In vitro* selection using regenerating cultures of *Coleus blumei*. International Association for Plant Tissue Culture. Abstracts VIIth. International Congress on Plant Tissue and Cell Culture. Amsterdam, Holland(1990).
- 21 - Ibrahim, K. M.; J. C. Collins and H. A. Collin. Characterization of progeny of *Coleus blumei* following an *in vitro* selection for salt tolerance. Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 28: 139 – 195(1992).
- 22- Jager, H. and H. Meyer. Effect of water stress on growth and proline metabolism of *Phaseolus vulgaris* L. Oecologia. 30: 83 – 96(1977).
- 23- Lone, M. I.; J. S. H. Kueh; R. G. Wyn Jones and S. W. J. Bright. Influence of proline and glycine betaine on salt tolerance of cultured barley embryos. J. Exp. Bot. 38: 479 – 490(1987)
- 24- Mass, E. V. and R. H. Nieman. Physiology of plant tolerance to salinity. In: Jung, G. A. (ed.) Crop tolerance to suboptimal land conditions. NASA Space. Publ. 32: 277 – 299(1978).
- 25 - Maherik-Nerman, T. Studies on the physiological response of pepper plant under saline conditions. Ph.D. Thesis. Fac. Agric. Cairo University(1991).
- 26 - Mirodjagh, S. S. and A. Arzani. Assessment of durum wheat (*Triticum turgidum* Var. durum) cultivars for *in vitro* salt tolerance. J. Genetic Studies. 2: 185(1999).
- 27- Murashige, T. and F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. Physiol. Plant. 15: 473 – 497(1962).
- 28 - Novak, F. *In vitro* mutation system for crop improvement. In Plant Mutation Breeding for Crop Improvement vol. 2. IAEA. Vienna(1991).
- 29 - O'Neil, S. D. Role of osmotic potential gradients during water stress and leaf senescence in *Fragaria virginiana*. Plant Physiol. 72: 930 – 937(1983).
- 30 - Piqueras, A. and E. Hellin. Selection of salt tolerant embryogenic callus line of *Citrus limonum*. International Association for Plant Tissue Culture. Abstracts VIIth. International Congress on Plant Tissue and Cell Culture. Amsterdam. Holland(1990).
- 31 - Rains, D. W. Salt transport by plants in relation to salinity. Ann. Rev. Plant Physiol. 23: 367 – 388(1979).

تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبين وراثيين من فول الصويا *Glycine max* L. لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

هاشم وسعدية وكاظم وعبد الجاسم

- 32 - Rains, D. W.; T. P. Croughan and S. J. Stavarek. Selection of salt – tolerant plants using tissue culture. In: Rains, D. W.; R. C. Valentine and A. Hollaender. Genetic Engineering of Osmoregulation. Plenum Press New York, 279 – 292(1980).
- 33 - Seseek, S. and K. Ankica. Use of callus culture in selection of wheat genotypes tolerant to high salt (NaCl) concentrations. Selekcija Isemenarstvo, Vol. IV. Broj 1 – 2. STR. 55 – 59. Novisal(1997).
- 34 - Smith, R. H. Plant Tissue Culture Techniques and Experiments. Academic Press, Inc. San Diego (2000).
- 35 - Steel, R. C. and J. Torrie. Principles and procedures of statistics. McGraw – Hill Book Comp(1980).
- 36 - Wated, A. A.; L. Reinhold and H. R. Lames. Comparison between a stable NaCl selected tobacco cell line and the wild type. K, Na and proline as a function of salinity. Plant Physiol. 37: 624 – 629(1983).
- 37 - Yoshida, S.; M. Oyawa; K. Suenaga and C. Y. Yelt. Induction and selection of salt tolerant mutant rices by tissue culture – Recent progress by IRRI. In: Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement Proc. Workshop sponsored by the Institute for Genetics. Academic Sinica and IRRI. 455(1983).

دراسة تأثير بعض مركبات الترايازينواندول على فعالية أنزيم الكولين استريز في مصل دم الإنسان

بلقيز وليد خماس¹ و فاء فيصل²

¹كلية التربية الثانية/ جامعة بغداد

²كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2007/4/2 - تاريخ قبول البحث 2008/1/23

ABSTRACT

This work involves studying the effect of some triazinoindole compounds on activity of acetyl cholinesterase Enzyme in human serum. Different concentration of these compounds were used to study the type of inhibition. These results obtained from Line weaver Burk plot indicate that the inhibition type was non- competitive with a range (70.83 – 95.56%).

الخلاصة

تضمن البحث دراسة تأثير بعض مركبات الترايازينواندول على فعالية أنزيم الكولين استريز في مصل دم الإنسان. وقد لوحظ بان المركبات المستخدمة تسبب تثبيط فعالية الانزيم وباستخدام تراكيز مختلفة من هذه المركبات ودراسة نوع المثبط اظهرت النتائج المستحصلة من رسم Line weaver Burk أن التثبيط يكون غير تنافسي وكانت النسبة المئوية للتثبيط بهذه المركبات تتراوح بين (70.83 - 95.56%).

المقدمة

تشمل أنزيمات الكولين استريز (ChE) مجموعتين من الأنزيمات تختلف قليلاً عن بعضها فالمجموعة الأولى هي الأنزيمات المحللة للاستيل كولين (AChE) acetyl choline acetylhydrolase وتسمى أيضاً بأستيل كولين استريز acetylcholinesterase والمجموعة الثانية هي الأنزيمات المحللة للاستيل كولين acetyl choline acylhydrolase وتسمى أيضاً بيوتريز كولين استريز Butryl (BuChE) cholinesterase أو الكولين استريز الكاذب (Pseudo cholinesterase) (1).

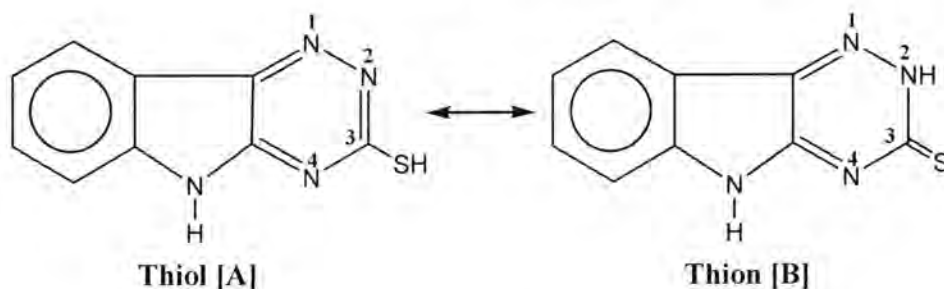
ينتشر أنزيم الاستيل كولين استريز بصورة واسعة في مختلف أصناف الكائنات الحية حيث يوجد في الجهاز العصبي المركزي للفقريات وأنسجة اللاقريات وفي الحيوانات الثديية يوجد في أنسجة مختلفة (2) تشمل الدماغ والغدة الكظرية والسائل المخي الشوكي وفي الدم حيث يتمركز في الجدار الداخلي لكريات الدم الحمراء والمعدة.

وتعتبر أنزيمات (AChE) ذات دور فسيولوجي فعال فهي ذات دور رئيسي في عمليات نقل الإشارات الحسية بين الأعصاب والعقد العصبية والعضلات أو نقل هذه الإشارات بين الوحدات المختلفة في الجهاز العصبي. وكذلك في تنظيم نفاذية الأغشية البلازمية ويعتقد أن دور أنزيمات (AChE) حدد في نقاط التقاء الأعصاب بالعضلات. وفي الشبكة العصبية الحاسوبية للألياف العصبية التي تحدث تأثيراً مشابهاً لمفعول (Acch) وذلك بتحفيز تحليل [Acch] المتجمع في ملتقى اقتراب الأعصاب وبذلك يسهل انتقال الحافز (3).

وقد دلت الأبحاث إلى الأهمية الدوائية لأنزيمات الكولين استريز (ChE) حيث أنها تعتبر من الأنزيمات المسؤولة عن تحليل مخدرات الأعصاب والعضلات في ذات الطبيعة الاستيرية وكذلك المركبات المستخدمة في التخدير الموضعي مثل succinyl choline حيث الذي يعطى كمخدر في العمليات الجراحية عن طريق حقنه بالوريد بكمية 1mg/1kg من وزن الجسم. وقد يؤدي إلى تثبيط أنزيم الكولين استريز الكاذب وهذا يؤدي إلى زيادة مدة

استرخاء الجهاز العصبي العضلي للمريض ولعدم وجود أنزيم (ChE) وخاصة لدى الأشخاص من صنف Homozygenous وراثياً لذلك لا يتحلل الـ (suxamethonium) مما يؤدي إلى صعوبة التنفس وحدوث وقف التنفس (Apnoea).

أما بالنسبة إلى مركبات الترايازينو إندول فتتواجد بصفة توتوميرية بين الشكل الثايول [A] Thiol [A] والثايون [B] Thion [B] وتفضل الشكل ثايول لسببين أولهما إعطاءه الصفة الأروماتية لحلقة الترايازين وثانيهما امتلاك الصفة الحامضية لذرة الهيدروجين المرتبطة بالكبريت والتي يمكن استبدالها بمجاميع الكيل أو غيرها.



ومن دراسة الخواص الكيميائية للترايازينو إندول ومشتقاته وجد أن ذرة الكربون رقم [3] تمتلك كثافة الكترونية واطنة مقارنة بالكثافة الإلكترونية العالية عند ذرات النيتروجين حيث تهاجم الكواشف النيوكليوفيلية ذرة الكربون أما الكواشف الألكتروفيلية فأنها تهاجم من قبل ذرة النيتروجين الأكثر نيوكليوفيلية في الحلقة (4).

هذه المركبات أثبتت فعاليتها الدوائية كمضادات للبكتريا (Antibacterial) وكمسكنات (Analysic) (5) وكمبيدات جيدة للحشرات Insecticides وللفطريات (Antifungale) (6) وتستخدم أيضاً كعوامل مضادة للفايروسات (Antiviral) (7).

المواد و طرائق العمل

تقدير فعالية أنزيم الكولين استريز

تم الحصول على نماذج مصل دم الإنسان (Serum) من المتطوعين بمساعدة المركز الوطني لنقل الدم في بغداد بعد تثبيت المعلومات حول العمر والجنس والحالة الصحية للمتطوع مع ابعاد النماذج الحاوية على كمية قليلة من الهيموكلوبين وتم تقدير فعالية أنزيم الكولين استريز كما يلي:

1- المحلول المنظم

تم تحضير المحلول المنظم (Phosphate buffer) (pH 7.2-7.4, 0.2M) وذلك بإذابة (2.89 gm) من Na_2HPO_4 في 100ml من الماء المقطر ثم عدلت الـ pH بإضافة بضع قطرات من حامض الفوسفوريك H_3PO_4 وتم استخدامه مباشرة.

2- الكاشف (DTNB) (Ellman's Reagent)

تم تحضير الكاشف (5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoic acid) وذلك بإذابة 0.01gm من الـ (DTNB) (M.W= 396.36) في 25ml من الماء المقطر والتحريك

المستمر باستخدام التسخين وقد تم إضافة قليل من بيكربونات الصوديوم NaHCO_3 وذلك لضمان الذوبان التام ثم يحفظ في قنينة معتمه بسبب حساسيته للضوء ويحفظ في الثلاجة وقد تم تحضير هذا المحلول مرتين في الاسبوع.

3- محلول المادة الأساس (S-Acetyl thiocholine Iodide)

تم تحضير محلول المادة الأساس وذلك بإذابة 0.01735 gm من AcSchI (M.wt = 189.18) في 1 ml من الماء المقطر. يتم تحضير هذا المحلول يومياً ويستخدم مباشرة.

طريقة العمل:

تم تعيين فعالية أنزيم الكولين استريز (ChE) في مصل دم الإنسان (Serum) باستخدام طريقة (WHO) (8) وكالاتي:

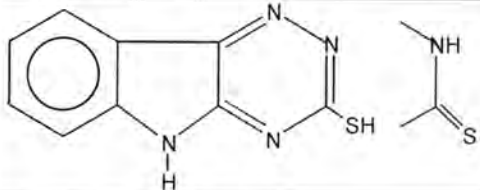
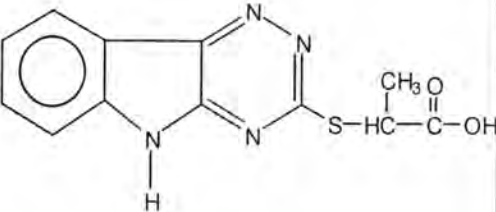
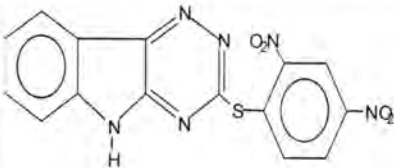
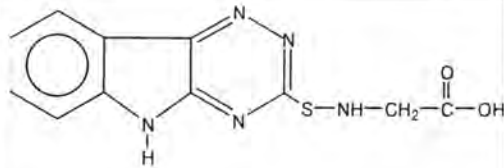
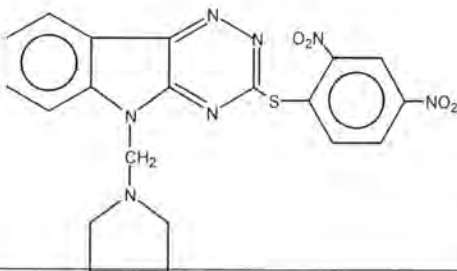
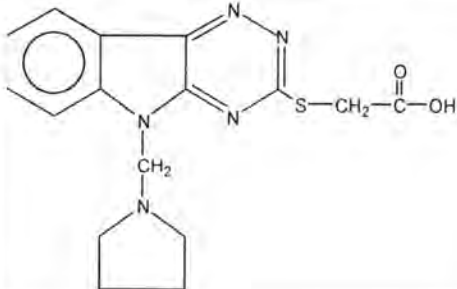
أ- وضع (2.25 ml) من المحلول المنظم ($\text{pH} = 7.2-7.4$) في أنبوبة اختبار وأضيف له $50 \mu\text{l}$ من محلول الكاشف DTNB و $10 \mu\text{l}$ من مصل الدم ثم مزجت المكونات باستخدام (Mixer).

ب- تم سحب (2 ml) من المزيج (أ) ووضع في خلية القياس (3 ml) ثم اضيف له ($34 \mu\text{l}$) من المادة الأساس بعد ذلك تم قراءة التغيير في شدة الامتصاص للأنزيم قبل وبعد إضافة المادة الأساس على طول موجي (430 nm) لكل ثلاث دقائق من تفاعل الأنزيم والمادة الأساس وتم التعبير عن فعالية الأنزيم على أساس تحلل ($1 \mu\text{mol}$) من المادة الأساس لكل (1 ml) وخلال ثلاث دقائق ($\text{M}\mu\text{mol/ml/3min}$).

النتائج والمناقشة

المركبات المستخدمة في هذا البحث تم إذابتها بالمذيب (Dimethyl sulphoxide) وعمل منه محلول قياسي من كل مركب ودرسنا تأثير هذه المركبات على فعالية أنزيم الكولين استريز فكانت النسبة المئوية للتنشيط لهذه المركبات تتراوح بين ($70.83-95.56\%$) وكما موضح في الجدول (1):

جدول 1 - يوضح المركبات (6-1) كموا متبطة مع نسب تثبيطها

رقم المركب	التركيب الكيميائي	الاسم العلمي	نسبة التثبيط %	درجة الانصهار °
1		3-thio-1,2,4-triazino[5,6-b]Indole	83	285-287
2		3-thio-α-propanoic acid 1,2,4-triazino[5,6-b]Indole	94.6	229-231
3		3-thio[2,4-dinitrobenzene]1,2,4-triazino[5,6-b]Indole	70	148-150
4		3-thioGlycine acid 1,2,4-triazino[5,6-b]Indole	84	298-300
5		5-N-pyridino methyl-3-thio (2,4-dinitrobenzene)1,2,4-triazino[5,6-b]Indole	196	251-253
6		5.N-pyridino methyl-3-thio acetic acid-1,2,4-triazino[5,6-b]Indole.	91	288-290

الجدول الآتية توضح تأثير هذه المركبات على فعالية أنزيم الكولين استريز في مصل دم الإنسان بتركيزات مختلفة.

جدول-2: يوضح تأثير المركب رقم (1) 3-thion-1,2,4-triazino[5,6-b]Indole على فعالية أنزيم (ChE) في مصل دم الإنسان

Inhibitor Conc. (M)	Enzyme Activity $\mu\text{mol/ml/3min}$	% Inhibition	% Recovery
Nil	4.42	0	100
4.5×10^{-3}	0.82	83.03	16.97
4.5×10^{-4}	0.92	80.99	19.01
4.5×10^{-5}	1.11	74.88	25.12

جدول -3: يوضح تأثير المركب (2) 3-thio- α -propanoic acid 1,2,4-triazino [5,6-b] Indole على فعالية أنزيم (ChE) في مصل دم الإنسان

Inhibitor Conc. (M)	Enzyme Activity $\mu\text{mol/ml/3min}$	% Inhibition	% Recovery
Nil	5.39	0	100
4.5×10^{-3}	0.32	94.08	5.94
4.5×10^{-4}	0.61	88.68	11.32
4.5×10^{-5}	0.65	87.94	12.06

جدول -4: يوضح تأثير المركب (3) 3-thio[2,4-dinitrobenzene]1,2, 4-triazino [5,6-b]Indole على فعالية أنزيم (ChE) في مصل دم الإنسان

Inhibitor Conc. (M)	Enzyme Activity $\mu\text{mol/ml/3min}$	% Inhibition	% Recovery
Nil	6.00	0	100
4.5×10^{-3}	1.75	70.83	29.17
4.5×10^{-4}	1.93	67.83	32.17
4.5×10^{-5}	2.59	56.83	43.17

جدول -5: يوضح تأثير المركب (4) 3-thioGlycinic acid 1,2,4-triazino[5,6-b] Indole على فعالية أنزيم (ChE) في مصل دم الإنسان

Inhibitor Conc. (M)	Enzyme Activity $\mu\text{mol/ml/3min}$	% Inhibition	% Recovery
Nil	4.84	0	100
4.5×10^{-3}	0.76	84.29	15.71
4.5×10^{-4}	0.91	81.19	18.81
4.5×10^{-5}	1.12	76.85	23.15

جدول 6- يوضح تأثير المركب (5) 5-N-pyroidinomethyl-3-thio (2,4-dinitrobenzene)1,2,4-

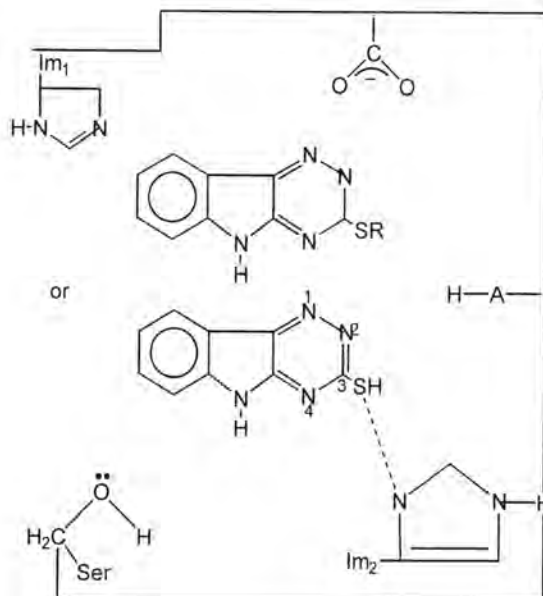
triazino[5,6-b] Indole على فعالية أنزيم (ChE) في مصل دم الإنسان

Inhibitor Conc. (M)	Enzyme Activity $\mu\text{mol/ml/3min}$	% Inhibition	% Recovery
Nil	4.74	0	100
4.5×10^{-3}	0.21	95.56	4.44
4.5×10^{-4}	0.34	92.82	7.18
4.5×10^{-5}	0.41	91.35	8.65

جدول 7- يوضح تأثير المركب (6) 5.N-pyroidino methyl-3-thio acetic acid-1,2,4-triazino

[5,6,b]Indole على فعالية أنزيم (ChE) في مصل دم الإنسان

Inhibitor Conc. (M)	Enzyme Activity $\mu\text{mol/ml/3min}$	% Inhibition	% Recovery
Nil	4.4	0	100
4.5×10^{-3}	0.39	91.13	8.87
4.5×10^{-4}	0.49	88.83	11.17
4.5×10^{-5}	0.51	88.40	11.6



المخطط المقترح (1)

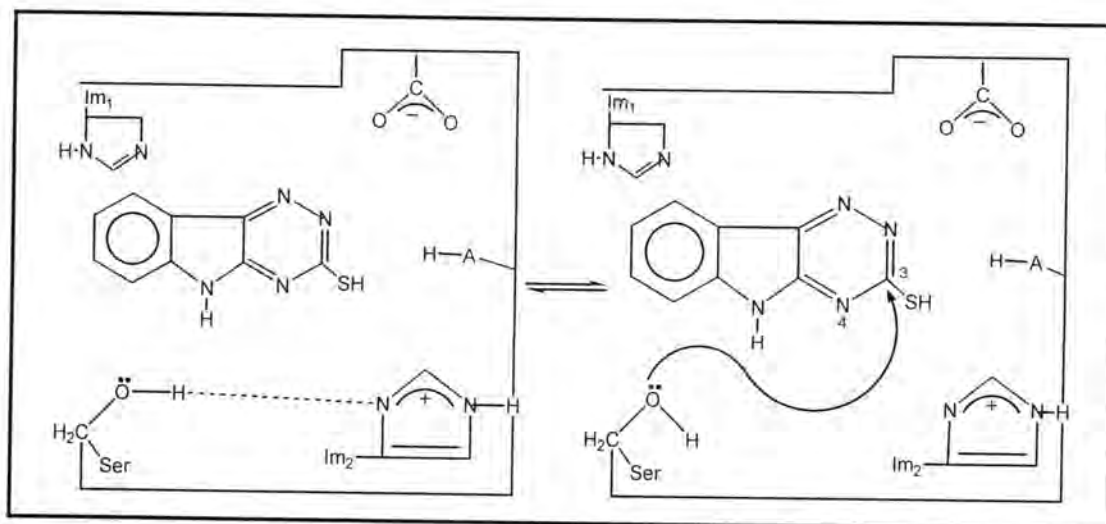
ومن خلال دراستنا للخواص الكيميائية للترايزينو أندول ومشتقاته وجد بأن ذرة الكربون في الموقع (3) تمتلك كثافة الكترونية واطنة مقارنة بالكثافة الإليكترونية العالية على ذرات النتروجين حيث تهاجم الكواشف النيوكليوفيلية ذرة كربون في الموقع (3) وكما ذكرنا سابقاً.

وبهذا فمن المحتمل أيضاً أن ذرات النتروجين ذات طبيعة نيوكليوفيلية فهي تمتلك مزدوجات الكترونية على ذرات النتروجين وهذه تعد مواقع فعالة (نشطة) والتي تسلك سلوك القاعدة ويمكن أن تكتسب هيدروجين الحامض ويدخل في ميكانيكية مشابهة إلى ميكانيكية التنشيط بمركبات البايرازول (9).

فالميكانيكية أذن المتوقعه هي أن تقوم مجموعة الهيدروكسيل لحامض السيرين في الأنزيم (نيوكليوفيل قوي) بالهجوم على مجموعة (C=O) لاستر الكولين وفي نفس الوقت تقوم مركبات الترايزينو أندول بسحب هيدروجين المجموعة الحامضية لحامض التايروسين (Tyrosine) والارتباط معه وبذلك تمنع ارتباطه مع ذرة الأوكسجين لمجموعة الكربونيل لاستر الكولين وبالتالي سوف يؤدي ذلك إلى إضعاف الكتروفيلية كربون مجموعة الكربونيل لاستر الكولين تجاه الهجوم النيوكليوفيلي لمجموعة الهيدروكسيل لحامض السيرين مما يؤدي إلى تثبيط عمل الأنزيم وكما موضح في المخطط المقترح (1). حيث تم تعيين فعالية الأنزيم مرة بدون استخدام المادة المثبطة ومرة أخرى باستخدام المادة المثبطة وذلك بإضافة (1 مل) من محلول المادة المثبطة مع (1.25 مل) من المحلول المنظم وذلك باتباع طريقة تعيين الفعالية الإنزيمية والموضحة في الجزء العملي ومن ثم تعيين النسبة المئوية للتثبيط وذلك بمقارنة الفعالية باستخدام وبدون استخدام المادة المثبطة وتحت نفس الظروف وحسب القانون:

$$\% \text{ التثبيط} = \frac{\text{الفعالية باستخدام المادة المثبطة}}{\text{الفعالية بدون استخدام المادة المثبطة}} \times 100$$

حيث أظهرت النتائج المبينة بأن هذه المركبات تمتلك مجموعة الثايول التي تعتبر من المجاميع الحامضية والتي هي تعتبر أكثر حامضية من مجموعة الهيدروكسيل لحامض السيرين لكونها مجموعة هيدروكسيل كحولية لذلك فإن مجموعة الثايول SH سوف يؤدي إلى عملية برتنة (protonation) لحلقة الاميدازول Im₂ مما يؤدي إلى عدم تكوين التآصر الهيدروجيني ما بين حلقة الاميدازول Im₂ ومجموعة الهيدروكسيل لحامض السيرين وهذا بسبب في إضعاف نيوكليوفيلية مجموعة الهيدروكسيل لحامض السيرين وبالتالي يقلل الهجوم النيوكليوفيلي على مجموعة الكربونيل (C=O) لاستر الكولين وبذلك سوف يكون أنزيم الكولين استريز غير فعال اتجاه الهجوم النيوكليوفيلي لاستر الكولين ويمكن توضيح ذلك بالمخطط المقترح (2) التالي:

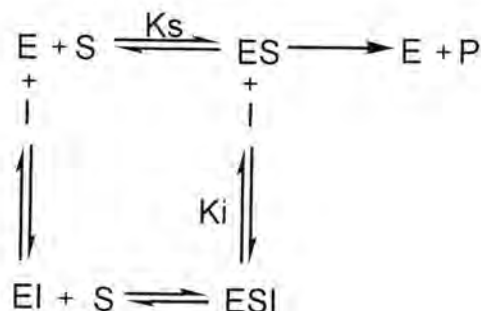


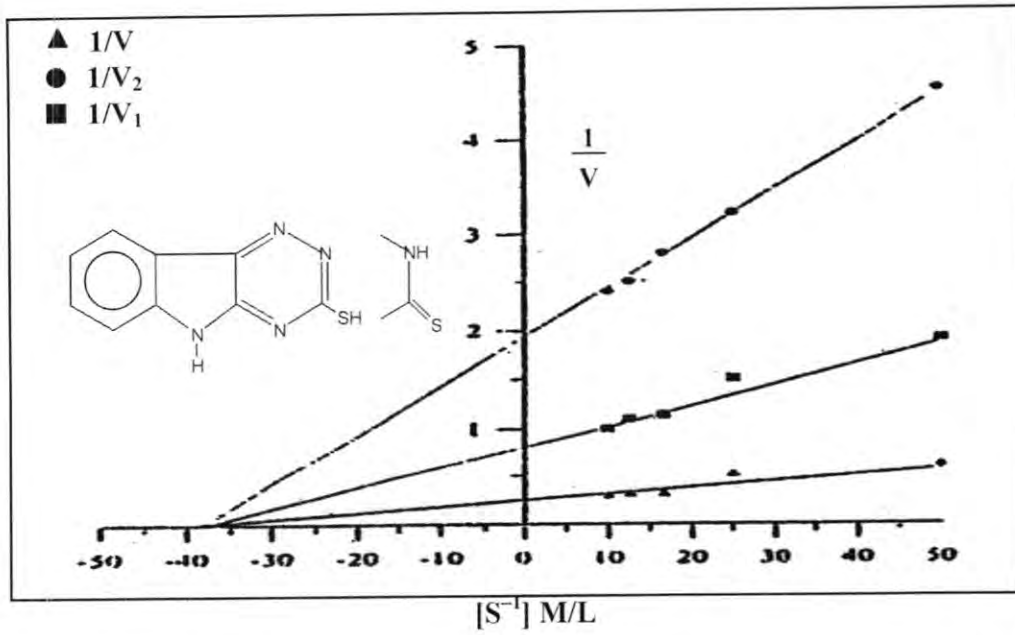
المخطط المقترح (2)

وأخيراً نستنتج من هذا البحث أن لهذه المركبات تأثيراً مثبطاً ويمكن استخدامها كمثبطات (Inhibitors) لأنزيم (ChE).

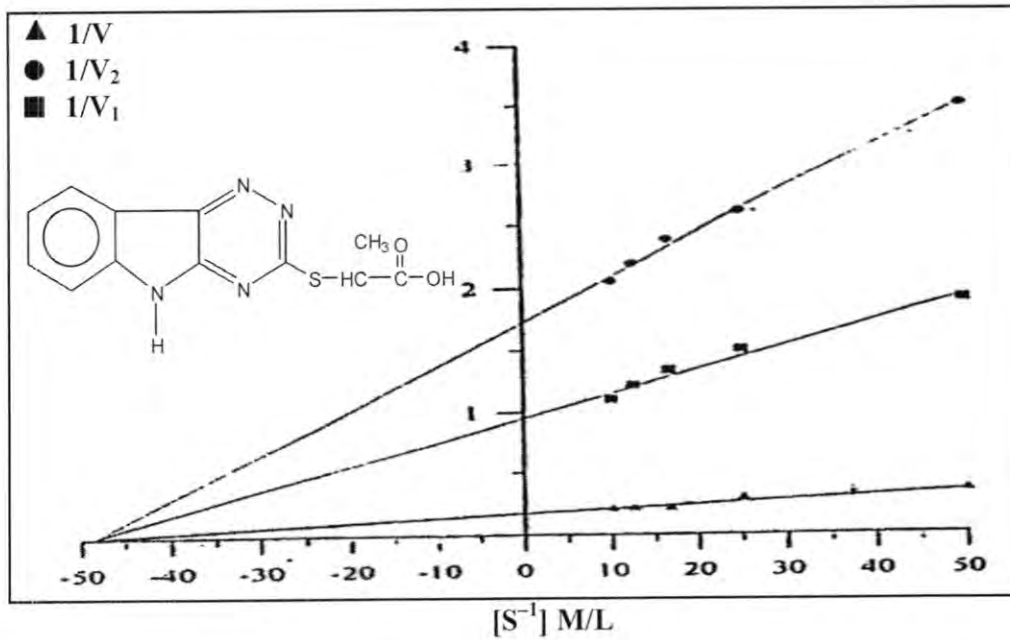
دراسة حركية أنزيم (ChE) (دراسة نوع التثبيط)

تم دراسة نوع التثبيط للمواد المستخدمة وذلك بقياس فعالية الأنزيم عند تثبيت تركيز المادة المثبطة باستخدام تركيزين $4.5 \times 10^{-8} \text{M}$ و $4.5 \times 10^{-3} \text{M}$ مع تغيير تركيز المادة الأساس فقد تراوحت بين (0.01M, 0.1M) و برسم علاقة (Line weaver- Burk plot) الذي يكون بين مقلوب تركيز المادة الأساس $\frac{1}{[S]}$ ضد مقلوب سرعة التفاعل الانزيمي $\frac{1}{V}$ كانت قيمة $V_{\max}$ تتغير بينما تبقى قيمة K_m ثابتة لا تتغير وهذا يقودنا إلى الاستنتاج بأن نوع المادة المثبطة للمركبات انفة الذكر من النوع غير التنافسي (Non competitive inhibition) (10). وفي الاشكال من 1-6 على التوالي يخضع المثبط غير التنافسي الى المعادلة العامة التالية:

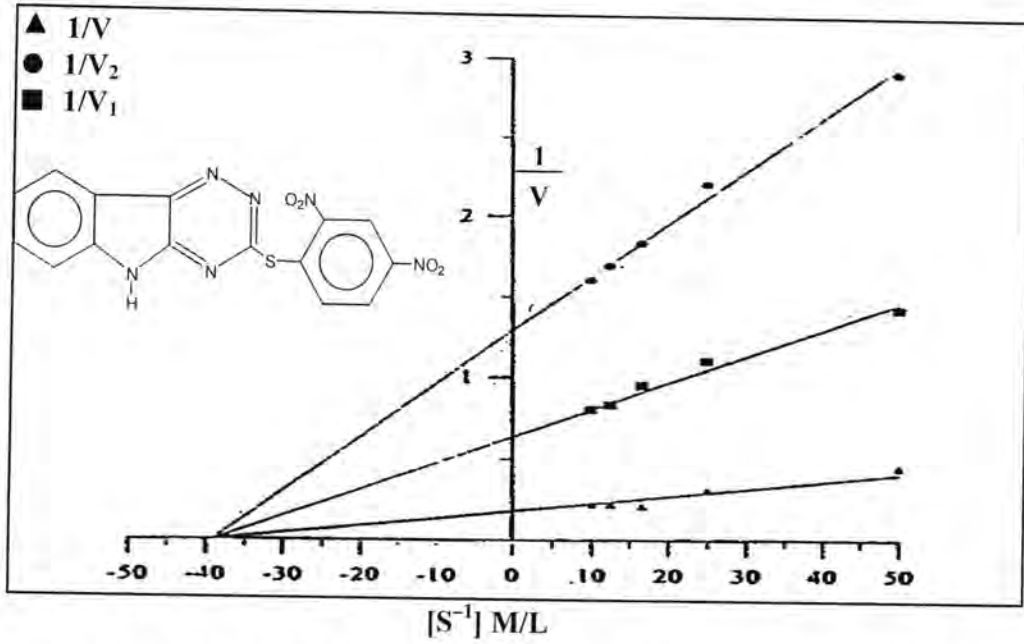




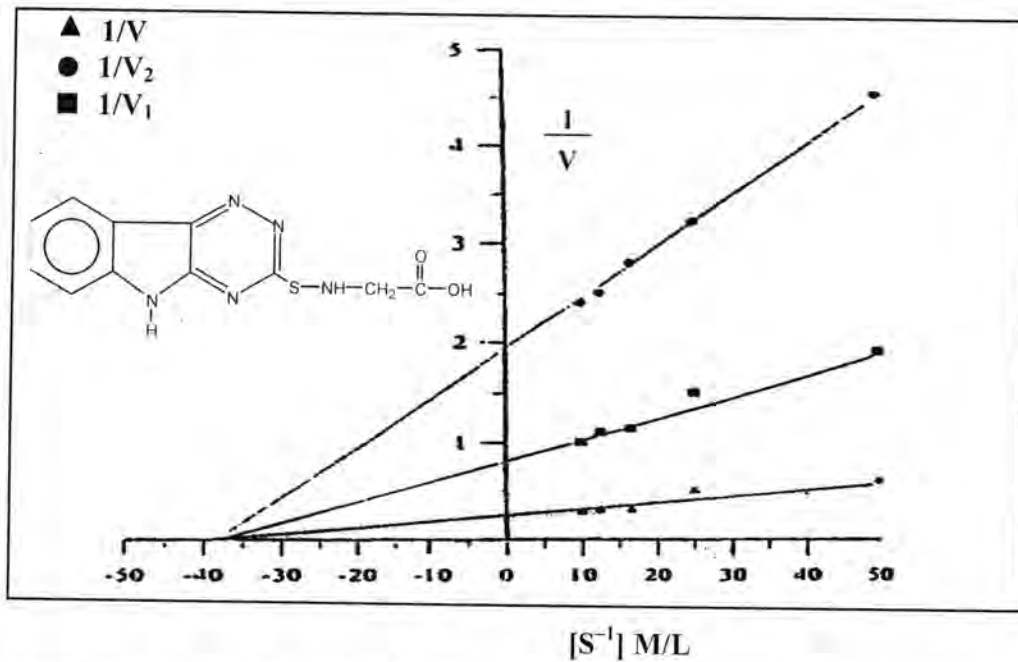
شكل 1- يوضح رسم لمعادلة (Lineweaver Burk Plot) لأنزيم الكولين استريز في مصل دم الانسان بغياب (▲) ووجود (●، ■) 4.5×10^{-3} و 4.5×10^{-8} من المركب رقم (1)



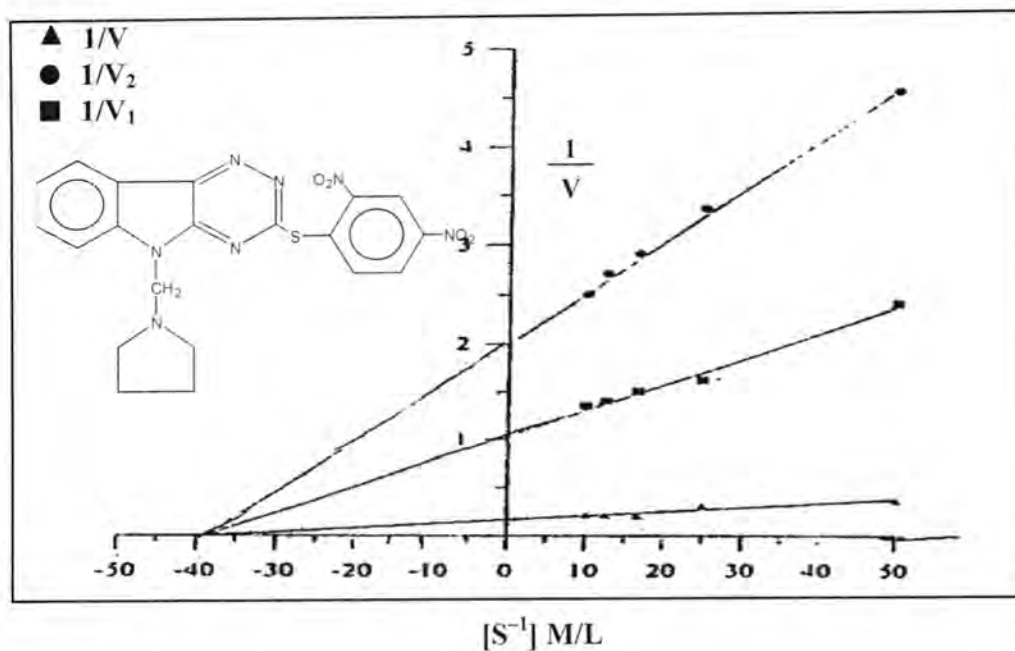
شكل 2- يوضح رسم لمعادلة (Lineweaver Burk Plot) لأنزيم الكولين استريز في مصل دم الانسان بغياب (▲) ووجود (●، ■) 4.5×10^{-3} و 4.5×10^{-8} من المركب رقم (2)



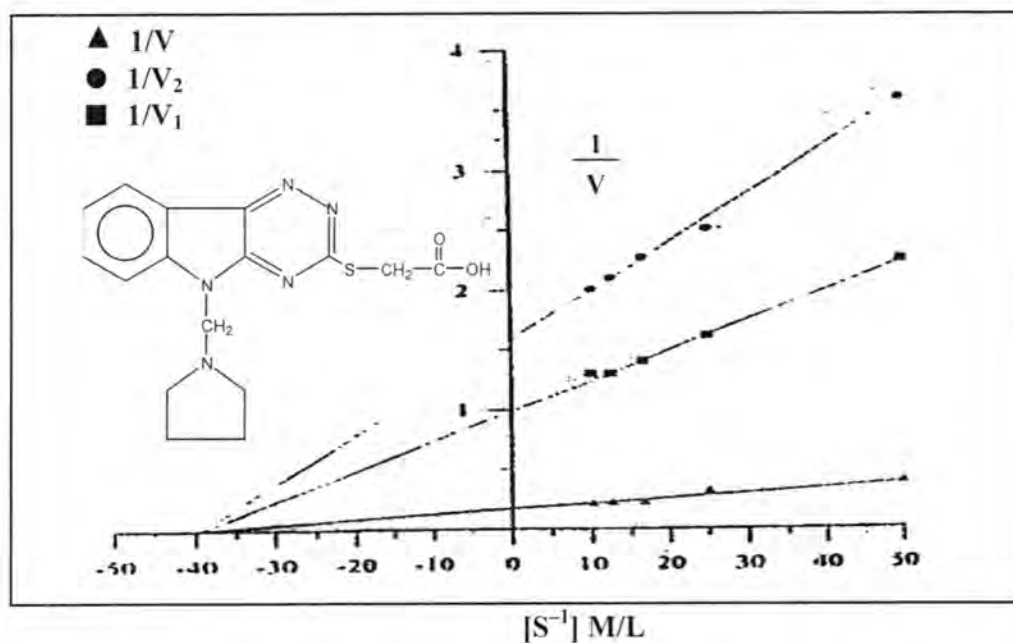
شكل-3: يوضح رسم لمعادلة (Lineweaver Burk Plot) لأنزيم الكولين استريز في مصل دم الانسان بغياب (Δ) ووجود ($\bullet$, $\blacksquare$) 4.5×10^{-3} و 4.5×10^{-8} من المركب رقم (3)



شكل-4: يوضح رسم لمعادلة (Lineweaver Burk Plot) لأنزيم الكولين استريز في مصل دم الانسان بغياب (Δ) ووجود ($\bullet$, $\blacksquare$) 4.5×10^{-3} و 4.5×10^{-8} من المركب رقم (4)



شكل-5: يوضح رسم لمعادلة (Lineweaver Burk Plot) لأنزيم الكولين استريز في مصل دم الانسان بغياب (▲) ووجود (●، ■) 4.5×10^{-3} و 4.5×10^{-8} من المركب رقم (5)



شكل-6: يوضح رسم لمعادلة (Lineweaver Burk Plot) لأنزيم الكولين استريز في مصل دم الانسان بغياب (▲) ووجود (●، ■) 4.5×10^{-3} و 4.5×10^{-8} من المركب رقم (6)

ثم قمنا بتعيين قيمة الـ V_{mapp} بشكل مباشر من رسم علاقة (Line weaver- Burk plot) وذلك بتعيين نقطة التقاطع point of intercept مع المحور الصادي Y_{axis} والتي تمثل $\frac{1}{V_{mapp}}$ أن قيمة الـ V_{mapp} استخدمت لتعيين قيمة ثابت التثبيط الـ K_i من المعادلة وكالاتي (11):

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \left[1 + \frac{I}{K_i} \right] \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}} \left[1 + \frac{I}{K_i} \right]$$

$$\frac{1}{V_{mapp}} = \frac{1}{V_{max} - K_i} [I] + \frac{1}{V_{max}}$$

$$\frac{1}{V_{mapp}} = \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{V_{max}}$$

وفي هذه الدراسة تم تعيين قيم الـ V_{mapp} والـ K_i وكما موضح في الجدول التالي.

No. of Comp.	Conc. Of inh.	V_{mapp} $\mu\text{mol/ml/3min}$	K_i (M)
1	4.5×10^{-3}	0.6291	4.2×10^{-5}
2	4.5×10^{-3}	0.5901	3.2×10^{-5}
3	4.5×10^{-3}	0.7671	5.69×10^{-5}
4	4.5×10^{-3}	0.4776	3.60×10^{-5}
5	4.5×10^{-3}	0.6058	2.24×10^{-5}
6	4.5×10^{-3}	0.5891	3.44×10^{-5}

المصادر

1. Silver, A.; The biology of cholinesterase. American Elsevier pub. New york (1974).
2. Francis, F. Azzalos, A. Foldes F.; Enzyme in Anesthesiology; Springer- Verlag New York Inc. (1978).
3. Wilson, I.B.; Asymposium on the Mechanisim of Enzyme Action; John- Hopkines, Baltimore; pp 642-657 (1954).
4. Hazzard, B.J.; (English Transition), "Organicum, Practical Hand Book of Organic Chemsitry", 1st. Ed., 486- 7 (1973).
5. Parfitt, K., Martindale; The Complete drug reference 32nd ed. Pharmacencitcal Press, U.S.A.. pp. 1073, (1999).
6. Collee, J.G., Marmion, B.P.; Practical Medical, 14th Edition Churchill Livingston, New York, pp. 728 (1996).
7. Roshan, W.F.; Synthesis and Reactions study of Heterocyclic compounds Dervatives from (1,2,4-Traizeno [5,6,b] Indole-3

- thione), M.Sc. thesis Al-Mustansiriya University, college of Science (2002).
8. WHO, "Spectrophotometric kit for measuring cholinesterase activity, WHO/VBS, 78, 692 (1978).
 9. Al-Ahdami, B.W.; Effect of new pyrazol derivatives and schiff bases on activity of acetylcholinesterase in human serum, MS.C. Thesis, AL-Mustansiriya University, College of Science (2001).
 10. AL-Mudhaffer, S.; Enzyene Inhibition, "Enzyme Kinetic" part 1, 1st ed., Baghdad, pp. 393-421 (1985).
 11. Segal, I.H.; "Enzyme Kinetic Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and steady state Enzyme system" John Wiley and Sons, Inc. New York, pp. 100-120 (1975).