مجلة كلية مدينة العلم
مجلة علمية محكمة نصف سنوية تصدر عن كلية مدينة العلم الجامعة العراق - بغداد - الكاظمية
ISSN: 2073-2295
المجلد:٣ العدد:١ السنة:٢٠١١
كلية مدينة العلم الجامعة
Madenat Alelem University College
مجلة كلية مدينة العلم
العراق - بغداد - الكاظمية المقدسة
Journal of Madenat Al-elem College
(JMAC)
E-mail: Jmac2009m@yahoo.com
WWW.madenatalelem.com
ص.ب(٩٢١٦) هـ ٥٢٣٨٨٥٠

قواعد النشر في المجلة

مجلة مدينة العلم علمية محكمة نصف سنوية لنشر البحوث العلمية باللغتين العربية والانكليزية التي تتوافر فيها شروط البحث من حيث الأصالة وأسلوب البحث العلمي وخطواته، وان تكون البحوث متناسبة مع تخصصات الكلية والتخصصات العلمية الأخرى القريبة منها (هندسة تقنيات الحاسبات ، علوم هندسة البرامجيات، علوم الحاسبات، علوم الحياة، القانون) ويشترط في البحوث المقدمة أن لا تكون قد سبق نشرها وغير مقدمة او مقبولة للنشر في مجلة أخرى، ويرجى من الباحثين مراعاة الشروط الآتية:

١. تقديم ثلاث نسخ من البحث مطبوعة على ورق A4 (وجه واحد) مع قرص ليزري.
٢. ينبغي أن يطبع عنوان البحث متبوعا باسم المؤلف (المؤلفين) وعنوانه على ورقة منفصلة.
٣. يرتب البحث كما يأتي: الخلاصة،المقدمة،المواد وطرق البحث،النتائج والمناقشة، الخلاصة باللغة الثانية.
٤. لايتجاوز عدد صفحات البحث الـ ٢٠ صفحة بضمنها الأشكال والجداول إن وجدت.
٥. يرفق مع البحث خلاصة على ورقة منفصلة لا تزيد عن ٢٥٠ كلمة باللغتين العربية والانكليزية.
٦. تطبع الجداول والأشكال والرسوم البيانية على أوراق منفصلة بمعدل جدول واحد أو شكل واحد لكل صفحة.
٧. تشترط المجلة على الباحث أن يراعي الأصول العلمية المنهجية في كتابة البحوث مع مراعاة كتابة المصادر والمراجع في نهاية البحث وترقم حسب ورودها في المتن.
٨. يتم تقويم البحوث من قبل مقومين علميين باختصاص البحث وبدرجات علمية متقدمة وقد يطلب من الباحث مراجعة بحثه لأجراء تعديلات عليه.
٩. لاتعاد البحوث الى أصحابها سواء قبلت للنشر أم لم تقبل.
١٠. يزود كل باحث بنسخة من البحث مجانا أما النسخ الإضافية فتطلب من أمانة المجلة لقاء ثمن تحدده هيئة التحرير.
١١.تعتمد المجلة مبدأ التمويل الذاتي وتحدد أجور النشر في ضوء الأسعار السائدة على أن لايتجاوز السقف الذي حددته الوزارة لأجور البحوث العلمية بـ ٥٠ ألف دينار للبحث الواحد.

رئيس التحرير

ا.د شاكر محمود الجبوري

نائب رئيس التحرير

ا.د جبار فرحان المعاضيدي

هيئة التحرير

ا.د. عبد الرضـــا طه سرحان
ا.د. حسين عبد المنعم
ا.د. واصف خطاب عمر
د. سعيد سلمـــــان كـــمون
د. ســامي موســـى ابو طبيخ
د. كريم سلمـــــان التميمي
د. جواد كاظـــم الـــــعكيلي
ا.عصـــــام عطـــا عجاج

ا لهيئة الاستشارية

ا.د عبد الحكيم الراوي	جامعة الرشيد
ا.د توفيـــــق نجـــم	كلية المأمون الجامعة
ا.د غازي فيصل	جامعة النهرين
ا.د نبيل هاشم	جامعة بابل
ا.د أياد احمد الطويل	جامعة بغداد
م.ا احمد موسى	الجامعة التكنولوجية
م.ا.د سعد عبد الرضا مكي	الجامعة المستنصرية
ا.د عامر محمد علي	كلية مدينة العلم
ا.د ابراهيم خمـــاس	كلية مدينة العلم

سكرتير التحرير

د. علي عبد فهد الطائي

المستشار الصحفي

هادي علي الزيادي

تصميم

علي هادي علي

المحتويات

٥ ايونات الكالسيوم في الاستجابة للإجهاد الكحولي في الخميرة

فوزية جاسم شلش، و فوزي رشيد العاني، وإيمان هندي كاطع، ونبال خليل موسى، و سناء خواش ماید

١٨ تأثير حامض الجبرليك Geberlic acid والكلايسين Glycine في استطالة المجموع الخضري وزيادة وزن الكالس لنخيل التمر بالزراعة خارج الجسم الحي

ليث عبد الكريم حاتم، وعطا الله إبراهيم علوان، ومحمد خزعل حميد، وغنية حسن فاضل، وحمزة عبد ابراهيم

٢٦ التلوث الإشعاعي باليورانيوم المستنفذ في بناية برج التحرير

حيدر احمد حسن، محمود محمد حسين، احمد شوقي محمد ، اسعد جميل زغير

٣٨ تأثير إضافة البنزل أدنين ونفثالين حامض الخليك في زيادة قطر وعدد درنات البطاطا المكثرة خارج الجسم الحي

حمزة عبد إبراهيم، ليث عبد الكريم حاتم، شذى عايد يوسف، عطا الله إبراهيم علوان ،عبد الكريم رضا كاظم

٤٨ تأثير ماء زمزم ومستخلصات النبات في انبات ونمو بادرات الباميا

وفاق امجد القيسي

٦٣ دراسة متعدد السكريد المحفظي المستخلص من بكتريا *Klebsiella planticola* على بعض وظائف الخلايا PMNs

اسامة باسم عبد الخالق الصفار

٧٩ تأثير الكروم سداسي التكافؤ في الأسماك الذهبية *Carassius auratus* L.

حنان جميل عاشور ، حسين عبد المنعم داود و مهدي ضمد محيسن

٩٣ تأثير الحامضية ومدة الطبخ في تلوث الاطعمة المحضرة في اواني الزجاج والالمنيوم والستيل والتيفال المستخدمة في المطابخ العراقيه

جاسم محمد عبد الحسين

تأثير ايونات الكالسيوم في الاستجابة للإجهاد الكحولي في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*

إيمان هندي كاطع** ونبال خليل موسى***فوزية جاسم شلش* و فوزي رشيد العاني* و

و سناء خواش مايد**

* وزارة العلوم والتكنولوجيا – دائرة البحوث الزراعية.

** وزارة العلوم والتكنولوجيا دائرة تكنولوجيا وبحوث البيئة والمياه.

المستخلص:

الايثانول الحيوي التخميري يدخل في الصناعات الكيميائية المهمة إضافة الى استخدامه كوقود حيوي بديل عن الوقود الاحفوري والخميرة *Saccharomyces cerevisiae* الكائن المجهري التقليدي المستخدم في إنتاج الايثانول. تؤدي حساسية الخميرة للكحول المنتج الى قلة إنتاجيتها له وهذا البحث يحدد تأثير مستويات مختلفة من ايونات الكالسيوم في استجابة الخميرة *S.cerevisiae* المعزولة من مصادر محلية للاجهاد الكحولي. يتم بعد تحديد التركيز الأدنى المثبط والقاتل من الايثانول وتعريضها الى تراكيز مختلفة من الايثانول ٢ و ٤ و ٦ و٨ و ١٠ و١٢%. انتخبت العزلات المقاومة لاعلى تركيز ٨% ايثانول وبقياس النمو للعزلات من خلال قراءات الكثافة الضوئية بطول موجي ٦٠٠ نانومتر ولفترات تحضين ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعة وبوجود ايثانول ٨%. انتخبت العزلات التي اظهرت افضل نمو في فترات التحضين المختلفة و استخدمت في اختبار تاثير الكالسيوم حيث استخدمت تراكيز من ايونات الكالسيوم بهيئة كلوريد الكالسيوم فوجد ان مدى التركيز (١- ١.٢ ملي مول) له تاثيرات ايجابية في نمو الخميرة ومقاومتها للاجهاد الكحولي. وتتفاوت العزلات فيما بينها في تحديد التركيز الامثل لاحداث التاثيرات الايجابية ليتراوح بين (٠,٨- ١,٦ملي مول).

المقـــــدمة

ان الطلب المتزايد للايثانول لاستخدامه في مختلف الإغراض الصناعية كمصدر بديل للطاقة و صناعة المذيبات والمنظفات والمواد الحافظة ، استوجب زيادة انتاجة وتطوير عزلات تجارية ذات إنتاجية عالية (١،٢). ان الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* من أهم الكائنات المجهرية المستخدمة في الصناعات الحيوية وان تحملها للايثانول من الخصائص الأساسية لاستخدامها في التخمرات الحيوية (٣) في صناعة أنتاج الايثانول فمن العوامل التي تؤخذ بنظر الاعتبار هي تحمل العزلات لتراكيز لسكر الكلوكوز والايثانول والفعالية الإنزيمية لتحويلها الى المركبات المطلوبة . ويستمر البحث عن سلالات جديدة ذات خصائص متميزة وقابلية لاستخدامها في تقنيات التخمر المشترك والمستمر لتحسين الإنتاجية على صعيد الإنتاج التجاري (٤،٥).

يسود الاعتقاد إن تحمل الخمائر للكحول يعتمد بدرجة كبيرة على المكونات التركيبية للأوساط المستخدمة في التخمرات الصناعية ، حيث إن بعض المكونات تؤدى إلى تحسين التحمل الكحولي واستمرار عملية التخمر مثل الأحماض الدهنية غير المشبعة والستيرول والبروتينات والأحماض الامينية والفيتامينات والايونات المعدنية كما ان الأوساط المعقدة مثل عصير الخرشوف والمدعمات المعقدة كطحين الصويا والببتون وجد أنها تحسن التخمر الكحولي بزيادة التحمل الكحولي ولغرض التحمل الامثل والتخمر الأمثل تتطلب الخميرة تراكيز متدنية Micro&millolarمن الايونات اللاعضوية المختلفة.وهذة العناصر Trace elements يمكن تصنيفها الى ثلاث اصناف :

١- Macroelements (k^{+1},Mg^{+2}, Ca^{+2}) (Zn^{+2},Fe^{+2},Cl^{-})

٢- Microelements (Co^{+2},B^{+2},Cd^{+2},$Cr^{+3}Cu^{+2}$,I^{+},Mo^{+2},Va^{+2})

٣- المثبطات Inhihibitors Ag^{+},As^{+2},Hg^{+2},li^{+},Ni^{+2} ,Pd^{+2} , (Se^{+4},Te^{+4})

وهذة العناصر تلعب دور مهم في تحديد الفعالية الانزيمية في الخمائر من خلال مشاركتها في التركيبة الانزيمية في المواقع الفعالة ودورها في الثباتية الانزيمية والمحافظة على القطبية السلبية للدهون الفوسفاتية في اغشية جدار الخلية (٦).

تتعرض الخمائر الى الاجهاد المختلف مثل الاجهاد الكحولي واجهاد الدرجات الحرارة العالية والضغط الازموزي الناجم من المنتجات والمواد السكرية في الاوساط التخميرية (٧،٨) . وتواجة دراسة الآلية الفيزيائية لسمية الأيثانول (ethanol toxicity) في خلايا الخميرة الكثير من الصعوبات بسبب تأثيراته المعقدة والمتعددة . حيث يؤدي إلى تثبيط معدل النمو والتخمر فضلاً عن تأثيره على حيوية الخلية .إنّ تأثيرات الأيثانول تتمثل بكونه يقلل من حجم الخلية ويحفز الهلاك الحراري (Thermal Death) ويؤدي إلى تحلل البروتينات (Denaturation of intracellular proteins) وتحلل الدهون

الفوسفاتية Phospholipids وانزيمات تحلل السكر Glycolysis enzyme ويزيد من تكون الجذور الحرة Free radicals (٩) , أن ميكانيكية قتل الايثانول لخلايا الخميرة غير واضحة وقد يكون التفسير المناسب هو أن الايثانول يسبب تمسخ البروتينات داخل الخلية خلال مروره عبر الغشاء البلازمي (١٠,١١). وهذه الميكانيكيات تكشف سبب التباين في قدرة الخلايا على البقاء حية بوجود الايثانول إلى تفاوت خصائص نفاذية الغشاء البلازمي . ان تأثير الايثانول يظهر في زيادة نضوحية الغشاء البلازمي في خميرة *S. cerevisiae* حيث يؤدي إلى فقدان العوامل المساعدة والمساعدات الانزيمية كما يحفز (النضوحية الايونية Ionic permeability) وأنخفاض فعالية الانزيمات التي تحتاج لتلك المساعدات الانزيمية مثل–glucose 6– phosphate dehydrogenase, phosphoglycerate kinase, Gluokinase, (٩).

أن الكحول الأثيلي والحرارة كلاهما يؤثران على الدهون في الغشاء البلازمي ويلعبان دوراً رئيسياً في الاجهاد الفيزيائي physiological stress لخلايا الخميرة *S. cerevisiae* . كما أن التراكيز العالية للأيثانول تحفز الصدمة الحرارية Heat Shock (١٢).

وجد ان وجود الكالسيوم بتركيز 2.5–10 ملي مول يزيد من الثباتية الحرارية في *Bacillus stearothermophilus* حيث تزداد درجة حرارة النمو القصوى وتظهر زيادة في ثباتية الاغشية عند اضافة الايونات الى عالق الخلية في حرارة 60 م (٦). ان الايثانول والحرارة يؤديان الى زيادة نضوحية الايونات والمكونات الايضية وتثبيط انتقال المغذيات ،لذلك فان زيادة الثباتية الحرارية بوجود التركيز الامثل من ايونات الكالسيوم يزيد من تحمل الخلايا للايثانول في عملية التخمر(١٣) . وفي دراسة أثر الكحول الأثيلي في النمو والتخمر لبكتريا المنتجة للأيثانول Ethanologenic *Escherichia coli* ، أكد على ميكانيكيتين رئيسيتين في سمية الكحول . الأولى التثبيط المباشر في توليد الطاقة بعملية التخمر وتحلل السكر والثانية تحطيم الغشاء البلازمي بزيادة فقدان الجزيئات الصغيرة مثل المغنسيوم (١٤).

ان تحمل الخميرة للايثاول ليس حادث منعزل عن وانما حالة متداخلة ضمن مجموعة من الجينات في شبكة معقدة على مستوى جيني (١٥) حيث ان العديد من الجينات التي تحفز بواسطة الايثانول تكون مشتركة مع جينات اخرى محفزة بعوامل بيئية مثل الضغط الازموزي والصدمة الحرارية وسمية المواد الكيميائية والاجهاد التاكسدي [١٦]. هناك جينات تظهر فعالية تحت ظروف الاجهاد وتنتج اوامر ومسارات انزيمية معينة مثل ROM2,BEM2,ADA2 (١٧).

تهدف هذه الدراسة في معرفة تاثير ايونات الكالسيوم في تحمل الخميرة للاجهاد الكحولي ومقارنتها مع الفرضيات المعروفة في دور الكالسيوم في التاثير على ايض ونمو الاحياء المجهرية.

المواد وطرق العمل

١. عزلات الخمائر ومصادرها: استعملت عدة مصادر مختلفة لعزل الخميرة شملت

الفواكة والخضروات المتحللة و من الخل والعجين وانواع من الخميرة الجافة والطرية المضغوطة. وقد اتبعت طريقة التخافيف في العزل والتشخيص من جميع المصادر (١٨).

٢. إعداد المنحنى القياسي لحساب عدد الخلايا :- تعمل تخافيف للقاح الخميرة وتؤخذ قراءات الكثافة الضوئية عند طول موجي 600nm كما تم حساب عدد الخلايا لكل تخفيف بطريقة العد بالأطباق ورسمت العلاقة بين الكثافة الضوئية الممتصة وعدد الخلايا بشكل منحنى قياسي.

٣. تحضير لقاح عزلات خميرة: تم تنشيط عزلات الخميرة بتنميتها على وسط مستخلص الخميرة المائل Yeast extract agar (YEA) حضر هذا الوسط بإضافة ٢٠غم/لتر من الاكار إلى وسط مستخلص الخميرة السائل. استعمل هذا الوسط لتنمية الخميرة على سطح صلب والحصول على مستعمرات منفردة. وتحضن لمدة يومين بدرجة حرارة ٣٠مْ، ويؤخذ مسحة من المستعمرات النامية لتلقيح ٥٠مل من وسط مستخلص الخميرة السائل (حضر هذا الوسط من إذابة ٥غم مستخلص الخميرة و ٣٠غم D.glucose في لتر ماء مقطر وضبط الاس الهيدروجيني ٤.٥ واستعمل هذا الوسط لتنمية الخميرة. وتحضن لمدة يومين بدرجة حرارة ٣٠ ^{o} م.

حساسية الخمائر للكحول الأثيلي:

طريقة قياس تركيز الكحول الاثيلي الادنى المثبط والقاتل للخميرة Minimum inhibitory and Lethal concentration (MIC) باستخدام وسط مستخلص الخميرة السائل ذو التركيز المضاعف . Double (DYEL) concentration yeast extract liquid حضر من إذابة ضعف مكونات وسط مستخلص الخميرة السائل في الحجم نفسه من الماء المقطر وزع في انابيب بحجم ٥ مل من كل انبوب واستعمل كوسط اساس عند قياس التركيز الادنى للكحول الأثيلي المثبط لنمو الخميرة. وذلك بأخذ أنابيب إختبار معقمة وضع فيها ٥مل مستخلص الخميرة السائل (DYEL) ذو التركيز المضاعف. اضيف اليها تراكيز متدرجة من الكحول الأثيلي واكمل الحجم إلى ٩.٩ مل بإضافة الماء المقطر المعقم. ثم لقحت الانابيب بـ ٠,١ مل من تخافيف مناسبة من لقاح الخمائر للحصول على $10^{6},10^{7}$ce11/ml. ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة ٣٠مْ لمدة خمسة ايام وقرأت النتائج يوميا. حيث عد اقل تركيز من الكحول الأثيلي ذلك الذي لا يعطي نموا ضمن سلسلة التراكيز المتدرجة من الكحول الأثيلي هو التركيز الادنى المثبط للنمو (19).

ولغرض التعرف فيما إذا كان التركيز المستعمل من الكحول الأثيلي قاتلا او مثبطا فقد تم نقل ٠.١ مل من الوسط الملقح بخلايا الخميرة والذي لم يظهر نموا بعد اربعة ايام إلى ١٠مل من وسط الخميرة السائل الخالي من الكحول الأثيلي وحضن الوسط بدرجة حرارة ٣٠مْ وتمت مراقبة النمو يوميا لمدة خمسة ايام.

تحضير أنابيب سيطرة للتركيز الادنى المثبط للنمو: (MIC control tubes)

أضيف أعلى تركيز من تراكيز الكحول الأثيلي المستعملة إلى أنابيب إختبار معقمة

تحوي على ٥ مل من مستخلص الخميرة واكمل الحجم بالماء المقطر لغاية ١٠ مل للتأكد من عدم تلوث المواد المستعملة. وللتأكد من
كفاءة المزرعة المعقمة لقحت انابيب الاختبار المعقمة المحتوية على ٥مل من مستخلص الخميرة السائل (YEL) بـ ٠.١ مل من التخافيف المناسبة للقاح الخمائر المستخدمة بعمر ٢٤ساعة واكمل الحجم بالماء المقطر المعقم إلى ١٠مل ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة ٣٠مْ مدة خمسة أيام.

غربلة العزلات: اجراء اختبار حساسية عزلات الخمائر لتراكيزمتدرجة من الكحول الاثيلي ٢ و ٤ و ٦ و٨ و ١٠ و١٢% وقياس التركيز المثبط ولقاتل للخميرة .

– قياس الكثافة الضوئية لاوساط نمو العزلات المنتخبة عند طول موجي 600 nm بفترات حضن 72 48, 24 ساعة.

– انتخاب العزلات المتحملة لاعلى تركيزكحولي ،وتهيئة وسط نمو مكون MgSO4.7H20(١غم /لتر)و 5غم/لتر (NH4) 2SO4 و KH2PO4 ٥غم/لتروكلوكوز ٣٥٠غم/لتر. ويدعم هذا الوسط بتراكيز متدرجة من الكالسيوم 0.4,0.8,1.2,1.6,2.0mM بهيئة كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$.

– قياس الكثافة الضوئية لاوساط نمو العزلات المنتخبة المدعمة بالكالسيوم عند طول موجي 600 nm .

النتائج والمناقشة

يظهر جدول ١ قيم تركيزالكحول الاثيلى الادنى المثبط والقاتل لنمو العزلات الخمائر المستخدم في هذه الدراسة في وسط (YEL) مستخلص الخميرة السائل حجم لقاح 10^6خلية / مل و 10^7 خلية / مل.فمن ٦٤عزلة اظهرت ٢٢ عزلة مقاومة ونمو بتركيز كحول ٧%عند استخدام لقاح حجم 10^6خلية / مل وبتركيز ٨% عند استخدام لقاح حجم و 10^7 خلية / مل وتتفق هذه النتائج مع ما جاء به الكثير من الباحثين (٢٠) بخصوص زيادة عدد الخلايا المستعملة في وسط التفاعل زيادة التركيز الادنى للمواد المثبطة للنمو والقاتلة عند زيادة حجم اللقاح انتخبت المجموعة المقاومة واستبعدت العزلات الحساسة (٢١).

اظهرت الفحوصات المجهرية لشرائح ماخوذة من تراكيز مختلفة من الايثانول تاثيره على العدد الكلي للخلايا من خلال مقارنتها بشرائح السيطرة.

جدول ١. التركيز الادنى المثبط والقاتل من الكحول الاثيلى لعزلات الخميرة.

عدد العزلات	cell/mL 107		cell/mL 106	
	المثبط %	القاتل %	المثبط %	القاتل %
١٧	٧	٨	٦	٨
٢٢	٨	٩	٧	٨
٢٥	٥	٧	٤	٦

المجموع ٦٤	

يعرف الايثانول بانه من المثبطات لنمو الاحياء المجهرية، حيث يحطم DNA الميتوكوندريا ويعطل فعالية بعض الانزيمات hexokinase وانزيم dehdrogenase (٢٢)، وعند مرور الايثانول عبر الخلايا يودي الى انكماشها بسب نضوب الماء وبالتالي موتها كما ان نضوب الماء يرافقه فقدان المعادن المهمة للخلية مثل الكالسيوم والمغنيسيوم وتقوم الخلايا بزيادة انتاج الكلسيرول في خطوة لتكيف تفادي نضوب الماء (١٦). على الرغم من ذلك اظهرت بعض العزلات مقاومة لتراكيز من الايثانول ٨% .حيث شخصت العديد من الدراسات تكيف الخميرة للاجهاد الكحولي من العلاقة بين المحتوى الدهني للاغشية الخلوية ومقاومتها للايثانول فلوحظ زيادة محتوى الاغشية من الاحماض الدهنية الغير مشبعة عند تعرضها للايثانول [٢٣]. كما وجد ان العزلات المقاومة للاجهاد الكحولي تظهر كذلك مقاومة للاجهاد من انماط اخرى مثل الاجهاد بسب الضغط الازموزي والتاكسدي والحرارة.

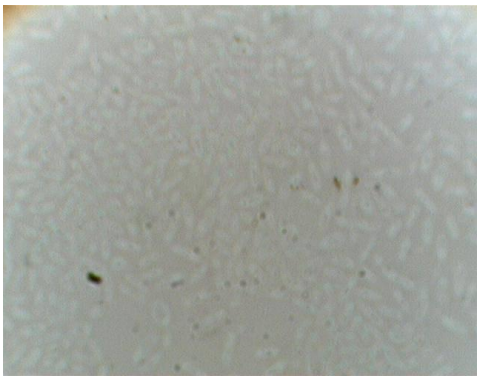
دراسة تاثير الايثانول بفترات النمو المختلفة:

بعد الغربلة الاولية للعزلات بتحديد التركيز الادنى المثبط والقاتل تم انتخاب (٩) عزلات لاجراء غربلة ثانوية بتعريضها لتراكيز متدرجة من الايثانول وبفترات الحضن المختلفة.

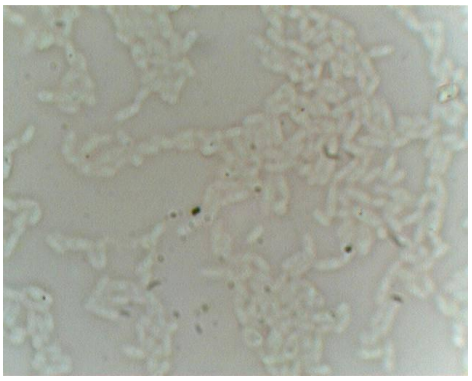
١. تاثير تراكيز الايثانول لفترة حضن ٢٤ساعة:

يظهر شكل ١ ان جميع العزلات المنتخبة تتأثر بادنى التراكيز من الايثانول ٤%. في حين اظهرت العزلة رقم (٤) و العزلة (٩) المعزولة من الخل ومن عصير الحليب على التوالي قيم نمو متفوقة عند تركيز ٨% . أنّ الايثانول المضاف إلى الوسط الزرعي أقل سمية من الايثانول المنتج من قبل الخلايا في عملية التخمر . وان تجمع الكحول الأثيلي داخل خلايا الخميرة *S. cerevisiae* يؤدي إلى قتلها باعداد كبيرة(٢٤) .

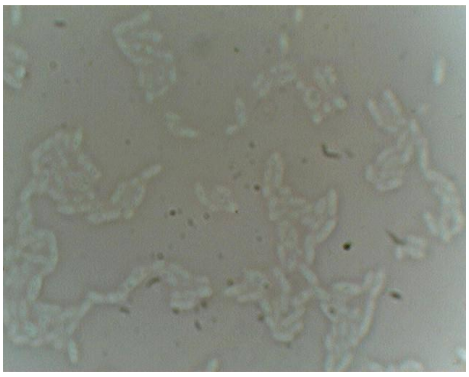
٢. **تأثير تراكيز الايثانول لفترة حضن ٤٨ ساعة:** واظهرت العزلة (٤) والعزلة (٧) المعزولة من الخل والخيارعلى التوالي قيم نمو متفوقة بوجود ايثانول تركيز ٨%.كما يلاحظ ان في الفترة ٤٨ساعةافضل فترة حضن للحصول على اكبر كتلة حيوية[٢٥]، اظهرت جميع العزلات قيم نمو وكتلة حيوية عنها في الفترتين ٢٤ و٧٢ساعة ويعزى ذلك الى حجم اللقاح المستخدم ومكونات الوسط الغذائية ومعدل استهلاكها من قبل الخميرة وعلاقة ذلك بزمن الجيل للخميرة (٢٦).



شريحة السيطرة

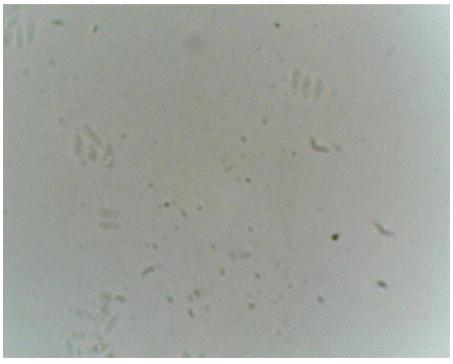


شريحة مجهرية لنمو الخميرة بوجود ٤% ايثانول

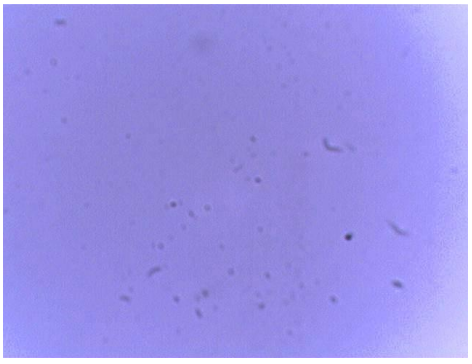


يثانول ٦%

ايثانول ٨%

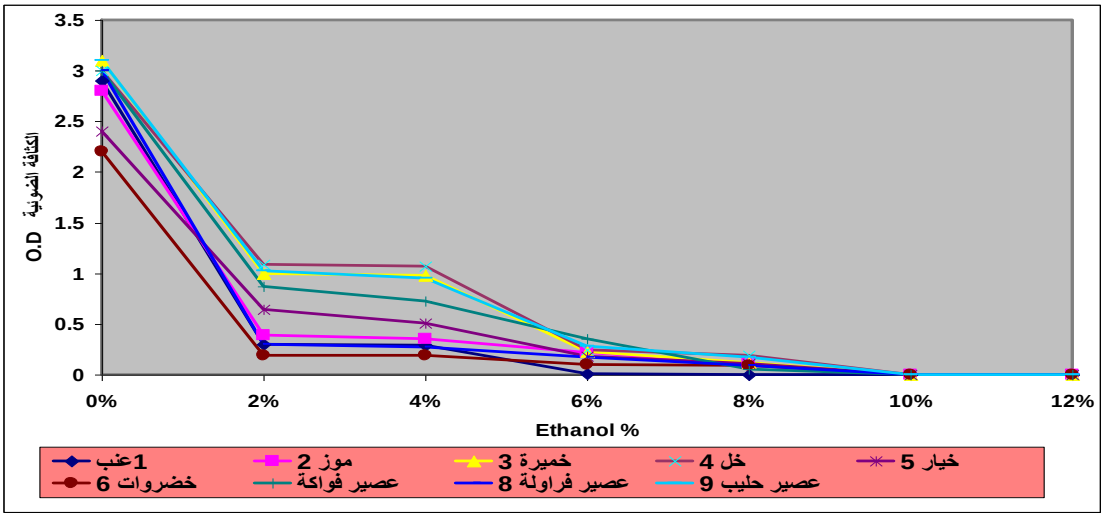


ايثانول ١٠%



ايثانول ١٢%

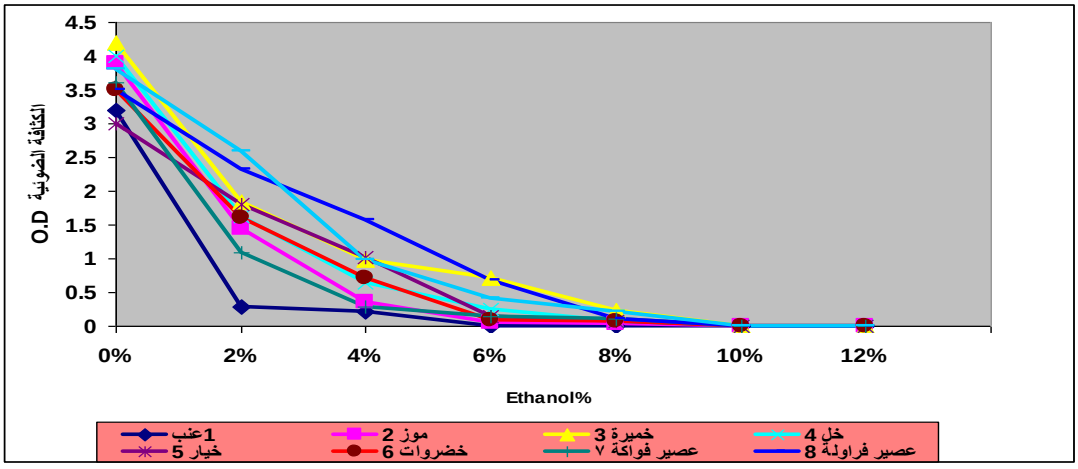
شكل ١. تاثير الايثانول على العدد الكلي لخلايا الخميرة في الشرائح المجهرية.بوجود تراكيز متدرجة من الايثانول.



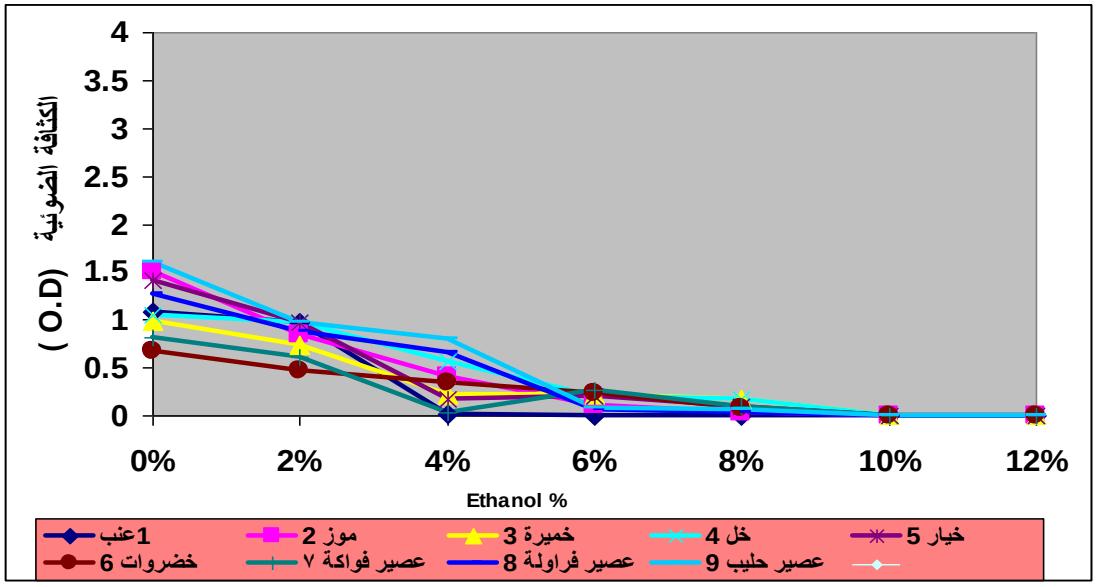
شكل ٢. تاثير تراكيز الايثانول في فترة حضن ٢٤ ساعة

تاثير تراكيز الايثانول لفترة حضن ٧٢ساعة:

اظهرت العزلة (٣) والعزلة (٤) والعزلة (٩) المعزولة من الخميرة والخل وعصير الحليب على التوالي قيم نمو متفوقة في تركيز كحول ايثانول ٨%. بينت العديد من الدراسات ان الفترة ٧٢ ساعة هي الفترة المثلى للتخمر ولكنها ليست كذلك لنمو الخميرة او الحصول على كتلة حيوية من الخميرة (٢٥) موضح في شكل ٤.



شكل ٣. تاثير تراكيز الايثانول في فترة حضن ٤٨ ساعة.



شكل ٤. تاثير تراكيز الايثانول على نمو الخميرة في فترة حضن ٧٢ ساعة.

تاثير اضافة مستويات مختلفة من ايونات الكالسيوم في الاستجابة لتاثير الايثانول على نمو الخميرة:

انتخبت العزلة (رقم ٤) لدراسة تاثير ايونات الكالسيوم لكونها اظهرت مديات نمو اقصاه في تركيز ١.٦ mM للعزلة ٤ المعزولة من الخلية.

تحتاج خلايا الخميرة للمعادن في ايض وثباتية الانزيمات وبالتالي تحقيق التخمر الامثل. فقد شخصت حاجتها من الكالسيوم للمساعدة في تحفيزالنمو ونضوحية جدار الخلية بتركيز امثل 4-8 ppb. وحاجتها من calcium pantothenate كفيتامينات في المساعدات الانزيمية coenzymes لانزيمات الاكسدة والاختزال وايض الدهون ووالاحماض الامينية والكاربوهيدرات بتركيز 45-60 ppm.،لقياس الايثانول يتضمن تحديد تاثير الايثانول على نمو متفوقة في كل فترات الحضن المختلفة ،وعند اضافة مستويات من الكالسيوم (٠,٤-٢,٠) mM وجد ان التركيز ١.٢ mM اظهرت ارتفاعا في قيم النمو ليصل الى

الخلايا وقابلية التخمر وحيوية الخلايا في المزارع .فمن اهم الخطوات متابعة فعالية انزيم invertase وهو من الانزيمات الخارجية المسؤولة عن تحويل السكروز من وحدات ثانوية كلوكوز وفركتوز (٢٦). وعند استخدام عزلة (٣) المعزولة من الخميرة الجافة ولنفس التراكيز من الكالسيوم ولفترة حضن ٢٤ ساعة وجد ان التاثير يظهر عند تركيز 0.8 mM ليبلغ اقصاه عند تركيز 1.2 mM. ان الاختلاف في مديات التركيز الامثل لاحداث التاثيرات الايجابية على االنمو يعود الاختلاف الى قابلية الخميرة على تحمل الاجهاد الكحولي

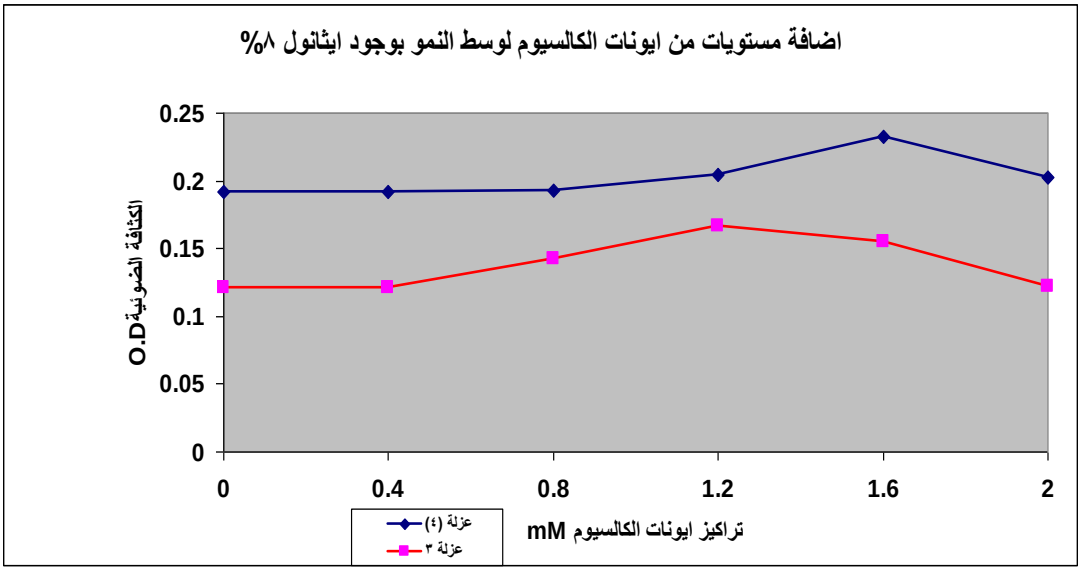
ضمن نفس الجنس *Saacharomyces cerevisiae* .

الخمائر المقاومة لها القدرة على تطويل فترة التخمر وانتاج المنتجات بوجود الايثانول اضافة الى اظهار مقاومة للاجهادات من الانواع الاخرى . و للحد من التأثير السمي للكحول الأثيلي وزيادة تحمل الخميرة له يتم إضافة عناصر أو مركبات مثل أيونات المغنسيوم (Mg^{+2}) . فقد لوحظ زيادة تأثير الكحول السمي بانخفاض نسبة المغنسيوم في الوسط ذو التركيز العالي من السكر كما أن أيونات المغنسيوم تعمل على حماية الخلايا من الإجهاد الفيزيائي Physiological Stress وجعل نقطة الجهد أقرب ما تكون لخدمة عمليات التخمر(٢٧).

تزداد مقاومة الخميرة *S. cerevisiae* لسمية الكحول الأثيلي بإضافة الحوامض الدهنية غير المشبعة مثل حامض الأوليك (18:1 Oleic acid) حيث تستخدمها الخميرة في بناء الغشاء البلازمي. وانخفاض هذه المقاومة عند إضافة الأحماض الدهنية المشعة مثل حامض البالمنيك (16:0 Palmitic acid) (٢٨,٢٣) .

إن التأثير المثبط للأيثانول لا يحفز بدرجات الحرارة العالية فقط وإنما في الأوساط المحددة (nutrient limitation) خاصة لأيونات الكالسيوم و المغنسيوم وبوجود النواتج العرضية Metabolic byproducts مثل الأحماض العضوية والألديهايدات والمركبات الفينولية كما تلجأ الخميرة *S. cerevisiae* إلى زيادة تخليق انزيم Superoxide dismutase Mitochondrial استجابة إلى تأثيرات الكحول الأثيلي (٢٩) .

ان تاثير الكالسيوم يعتمد على التركيز المضاف والتداخل مع مكونات الوسط المتخدم وتركيز الكلوكوز . عادة يضاف الكالسيوم بهيئة الكلس (Cao) في انتاج الايثانول من المولاس والمخلفات الزراعية ، حيث ان إضافته بمستويات تتراوح ٠ (0-0.72% v/v) من الكالسيوم بهيئة كلوريد الكاليسيوم تقلل من انتاج الايثانول عند وجود كلوكوز ٢٠% (٣٠، ٣١).



شكل ٥. تاثير اضافة مستويات من ايونات الكالسيوم على نمو الخميرة *S. cerevisiae* بوجود ايثانول ٨%.

Influence of calcium ions on alcohol strees responses of *Saccharomyces cerevisia*

F. J. Shalesh, F. R. Ali, Iman H.Katte, Nibal Kh.M., Sana'a Kh.M.

Abstract

Bioethanol is an important industrial chemical with emerging potential as a biofuel to replace fossil fuels. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* is commonly used for ethanol production. The limited ethanol tolerance of the yeast results in low productivity .This search come to evaluate different levels of calcium ions in response to ethanol stress of yeast *S. cerevisiae*، which isolated from different local sources. The minimal inhibitory concentration and lethal concentration of the isolates was evaluated by exposure to different concentration of ethanol, the resistant isolates to higher concentration 8% ethanol were selected. Growth determent by optical density at 600 nm to incubator period 24,48,72 h with ethanol 8%. Selected isolates which appeared best growth in deferent incubator period to experiments of addition different levels of calcium ions as calcium chloride .concentration (1-1.2mM) have positive effect to growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* .and tolerance to alchol strees the isolates deffernt between them in evaluate the optimal concentration to make positive effect in rang (0,8 – 1,6 mM) .

المصـــادر

1. MaM, Liu ZL. (2010). Mechanisms of ethanol tolerance in Saccharomyces cerevisiae.Appl Microbiol Biotechnol .2010 Jul ;87(3):829-45.
2. Ding J., Huang X. Zhang L, Zhao N,Yang D (2009)Tolerance and stress response to ethanol in the yeast Saccharomyces cerevisiae .Appl Microbiol .2009 Nov;85(2):253-63.
3. Zhao XQ, Bai FW. (2009) .Mechanisms of yeast stress tolerance and its manipulation for efficient fuel ethanol production. J. Biotechnol 2009 O ct 12 ; 144(1) :23-30.

٤. شلش، فوزية جاسم . (٢٠٠٣) . دراسة كفاءة طفرات من خميرة الخبز Saccharomyces cerevisiae في إنتاج الكحول الصناعي بتقنيتي مزرعة الدفعة الواحدة والخلايا المثبتة . رسالة ماجستير . قسم علوم الحياة –كلية العلوم –الجامعة المستنصرية.

5. Mobini M, Nahvi I, Ghaedi K,Tauassoli M. (2007) .Isolation of high ethanol resistant strains of Saccharomyces cerevisiae . RPS 2(2007) 85-91.

6. Jurado, A, Santana,M ,S (1987). Influence of divalent cations on the growth and morphology of Bacillus stearothermophilus .J.Gen .Microbiol.133:507-513.
7. Kevin R . (2009) Strategy for adapting wine yeasts for bioethanol production. Int J Mol Sci Jan; 10 (1): 387-419.
8. Patt Pl,Bryeejh, Stewart GG, (2003)The effects of Osmotic pressure and ethanol on yeast viability and morphology.J Inustitue Brew .2003;109:218-228.
9. Walker, M.G (1999) Yeast Physiology and Biotechnology, John Wiley & Sons. Canada
10. Thomas D.S. Hossack J. and Rose A. H. (1978), "Plasma Membrance Lipid composition and Ethanol Tolerance in Saccharomyces Cervisiae "; Arch. Microbiol 116: 239-2458.
11. Brook A A. (2008) .Ethanol production of local yeast strains isolation from ripe banana peels .African Journal of Biotechnology Vol. 7(20), 3749-3752 , 20 October , 2008 .
12. Piper Wp, Talreja K. panaretou B. Byrn K and Bouchene H. (1995) induction of major heat-shock proteins of Saccharomyces cervisiae including Plasma membrane Hsp30,by ethanol levels above critical threshold , Msicrobiol . UK 140:3031-3038.
13. Blomberg, A (2000). Metabolic surprises in Saccharomyces cerevisiae during adaptation to saline conditions: questions, some answers and a model. FEMS Microbiol. Lett. 182, 1-8.
14. Zaldivar. J, Martinez A, Ingram Lo, (1999). Effect of Alcohol compounds Found in Hemicellulose Hydrolysate on the Growth and Fermentation of Ethanologenic Escherichia coli. Biotechnol. Bioeng. 68(5): 525-530.
15. Zhang Q,zhao X,Jiang R.(2009). Ethanol tolerance in yeast molecular and genetic engereeing .Sheng Wu GONG Cheng Xue Bao.2009 Apr: 25 (4): 481-7.
16. Tan N, Nagahise K,Shimzu H.(2006). Responses of defferent strains of Saccharomyces cerevisiae to Osmotic stress.Sains Malaysiana 35 (2);9-15.
17. Takahashi T, Shimoi H, IT k. (2001).Identification of genes reguired for growth under ethanol stress Using transposon mutagenesis in Saccharomyces cerevisiae .Mol Genet GENOMIC .2001;265;1112-119.
18. 18- Verstepen KJ ,Pretorious, IS. (2006) .The development of superior yeast strans for food and beverage industry:challenges,oppprtumities and potential benefits.The yeast hand book,vollum 8; yeast in food and beverage.Spring er-Verlag ,Heidelberg.Germany ,pp 399-444.

19. Al- Zaidy H. M. (1975). Study of the antimicrobial activity of some alcohols. Ph. D. Thesis. Heriot- watt Univ. Edinb.

20. Bulger R. and washing J.A. (1980) effect of inoculum size and B. lactamase production on inuitro activity of new Cephalosorians against Haemphilus species. Antmicrob . Agents and chemothorpyl 7:393-396.

21. Siquera PF,Karp SG, Carvaiho JC,Sturm W.(2008) Production of bio-ethanol from soybean molasses by Saccharomyces cerevisiae at laboratorya,pilot and industrial scales.Bioresour Technol . Nov;99(17):8156-63.

22. Osho A. (2005) .Ethaol and sugar tolerance of wine yeasts isolaled form fermentation Cashew apple juice . African ,J Biotechnol .2005;4:660-662.

23. You KM,Rosenfield CL,knippple Dc, (2003) .Ethanol tolerance in the yeast Saccharomyces cerevisiae is depent on cellular oleic acid content . Appl. Environ Microbial 2003:69:1499-1503.

24. Nagodawithana T. W. and Steinkraus K. H. (1976); "Influence of the rate of ehanol production and Accumulation on the viability of Saccharomyces cerevisiae in Rapid fermentation" , Appl. Environ Microbiol. 31:158-162

25. Periyasay S, Venkatachlam S. (2009) Production of Bioethanol from sugar molasses Using Saccharomyce cerevisiae, Modern Applied Science vol. 3, No.8, August 2009.

26. Snyder C, Lngldew M. Nutrion in Fermention .TECHNICAL PROFIL. May 2009 .BIOFUEL BUSINESS

27. Birch R.M, Walker G.M. 2000. Influence of magnesium ions on heat shock and ethanol strees responses of Saccharomyces cerevisiae. Enz Microb Technol 26: 678-687.

28. Furu Kava , k,Kitano H, Mizoguchi,H,Hara,S 2004 .Effect of cellular inositol content on ethanol tolerance of Saccharomyces cerevisiae in sake brewing J Bioscience Bioengineering. 2004:98:107

29. Costa, V. Reis E .Qulutancha A (1993). Acquisition of ethanol tolerance in Saccharomyces cerevisiae the key role of mitochondrial superoxide dismutase. Arch. Biochem. Biophys. 300, 608 –614.

30. Chatineeranat S, Wansuksri R., 2010. Effect of calcium ions on ethanol production from molasses by Saccharomyces cerevisiae.SUGAR TECH , Volume 12,(2);120-124.

31. GH, Fleel. (2009) .Wine yeast for the future. FEMS Yeast Res,8 (7):979-986

تأثير حامض الجبرليك Geberlic acid والكلايستن Glycine في استطالة المجموع الخضري وزيادة وزن الكالس لنخيل التمر بالزراعة خارج الجسم الحي

ليث عبد الكريم حاتم* وعطا الله إبراهيم علوان * ومحمد خزعل حميد* وغنية حسن فاضل*

وحمزة عبد ابراهيم*

** وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة البحوث الزراعية وبحوث الغذاء/ العراق*

المستخلص

أجريت دراسة لاختبار إضافة تراكيز مختلفة من حامض الجبرليك (٠.٠، ٠.٢، ٠.٣، ٠.٤) ملغم /لتر الى الوسط الغذائي الخاص بالتضاعف الخضري وتراكيز مختلفة من الحامض الاميني الكلايسين (٠ ، ٣ ، ٥) ملغم/لتر للوسط الغذائي الخاص باستحثاث الكالس بتجارب منفصلة ولثلاثة أصناف من نخيل التمر المكثرة نسيجيا وهي (الخضراوي، المكتوم، التبرزل) للحصول على أفضل استطالة للأفرع الخضرية وأفضل وزن للكالس المستحدث. أظهرت النتائج أن التراكيز العالية للجبرلين أثرت معنويا في زيادة النمو للأصناف المدروسة حيث تفوق التركيز ٠.٤ ملغم /لتر والصنف التبرزل في أعطاء أعلى متوسط استطالة بلغت ٢.٩٨ سم و ٢.٥٢ سم على التوالي، وأظهرت النتائج أن الكلايسين المضاف لم يكن له تأثير معنوي في زيادة وزن الكالس مقارنة بالوسط الخالي من الإضافة.

الكلمات الدالة: حامض الجبرليك ، الكلايسين ، نخيل التمر.

المقدمة:

استخدمت تقنية إكثار نخيل التمر خضريا عن طريق زراعة الأنسجة بغية توفير الأعداد اللازمة من الأصناف التجارية الجيدة لأشجار نخيل التمر لسد الطلب المتزايد على هذه الأصناف والتوسع في زراعتها لذا أجريت العديد من الدراسات والبحوث في هذا المجال لإيجاد الطريقة المناسبة في إكثار نخيل التمر نسيجيا (1 و 2) حيث قسم الباحثون مراحل إكثار نخيل التمر بتقنية زراعة الأنسجة إلى عدة مراحل تبتدئ بمرحلة إنشاء الزر وعات Initition stage ومرحلة التضاعف الخضري Maltiplication stage والتي يتم فيها إكثار الأفرع لعدة دورات لحين إنتاج العدد المطلوب من الأفرع ثم تنقل إلى مرحلة التجذير Rooting stage (3) أظهرت تجارب اكثار النخيل أن البراعم العرضية المتكونة على القمم النامية المزروعة خارج الجسم الحي لم تتفتح بشكل كامل بالرغم من التفتح الكامل لبعض الأفرع إلا أنها تميزت بقصر طولها بالرغم من إعادة زراعتها لدورة ثانية على نفس مكونات الوسط الزراعي الذي نشأت عليه (4) (شكل-١) ولغرض زيادة الوزن الطري للكالس والأسراع في تفتح البراعم واستطالة الأفرع الناتجة منها فقد كان الهدف من البحث اختبار اضافة الحامض الاميني الكلايسين وحامض الجبرلين في الوسط الغذائي لدراسة امكانية استحثاث انسجة الكالس من خلال زيادة الوزن الطري للكالس وأفضل تركيز من حامض الجبرليك الذي يعطي مجموع خضري جيد متكامل ذو استطالة في الأفرع تؤهله للانتقال إلى المرحلة التالية وهي مرحلة التجذير وصولا الى انتاج النباتات الكاملة ، أجريت هذه الدراسة باستعمال ثلاثة أصناف من نخيل التمر وهي الخضراوي و المكتوم و التبرزل

شكل ١. عدم تفتح البراعم بالرغم من اعادة زراعتها على نفس الوسط الغذائي .

المواد وطرق العمل

مصدر النباتات:

نفذت هذه الدراسة في مختبرات الزراعة النسيجية التابعة لمنظمة الطاقة الذرية العراقية (سابقا) لسنة ٢٠٠٢ (وزارة العلوم والتكنولوجيا حاليا) ، إذ تم اختبار ثلاث أصناف من نخيل التمر (*phoenix dactylifera* L) وهي الخضراوي و المكتوم و التبرزل المكثرة نسيجيا من القمة النامية وهي في مرحلة التضاعف الخضري والمحتوية على ١ _ ٢ ورقة بالنسبة لتجربة الاستطالة وجرى اختبار تأثير إضافة الكلايسين الذي عمره ٧ – ٨ شهر المستحث من بادئات الأوراق ولنفس الأصناف أعلاه .

زرعت النباتات لكل صنف وحسب المعاملة داخل أنابيب الزراعة النسيجية بواقع عشرة نباتات (مكررات) لكل معاملة . أخذت البيانات الخاصة بطول النموات الخضرية بالسنتيمتر واوزان الكالس بالغرام لكل معاملة من المعاملات .

تحضير الوسط الغذائي:

حضر الوسط الغذائي الخاص لمرحلة التضاعف الخضري ووسط استحثاث الكالس كلا على حده بالتوليفة المعمول بها في مختبرات الزراعة النسيجية التابعة للطاقة الذرية والمعتمد من قبل بعض الباحثين (٥) كمنطلق للتجارب وكما يلي :-

١ – مرحلة اكثار الكالس

أستخدم الوسط الغذائي الاساسي الخاص بالكالس والمتكون من مجموعة الأملاح اللاعضوية لوسط (MS) مضافاً إليه المواد الآتية : ١٠٠ملغم \ لتر سلفات الصوديوم الحامضية الثنائية و ٠,٥ ملغم/لتر ثيامين و ١٠٠ ملغم/لتر أنيستول و ٤٠ ملغم/لتر كبريتات الأدنين و٢ ملغم/لتر من الكاينتين (فورفوريل امينوبيورين) و٢ ملغم/لتر بنزل ادنين و ١٠٠ ملغم/لتر ٢-٤- دايكلورفينوكسي إستيك أسيد و ٣٠غم/لتر من السكروز و٨ غم من الاكار و بإضافة ٣ غرام من الفحم المنشط ، أضيف إلى الوسط الغذائي اعلاه الكلايسين وبثلاث تراكيز (٠ ، ٣ ، ٥) ملغم\لتر وزعت الأوساط الغذائية المخصصة لزراعة الكالس في انابيب قياسها ١٥٠x٢٥ ملم وبمقدار ٢٥ مل من الغذاء في الانبوب الواحد وترك الكالس الموزون مسبقا في هذا الوسط و تمت هذه التجربة بالظلام ولمدة ٤ – ٦ اسبوع ثم أخذت الأوزان ثانية

٢ – وسط التضاعف الخضري

استعمل الوسط الخاص بالتضاعف الخضري والمتكون من مجموعة الأملاح اللاعضوية لوسط (MS) مضافاً إليه المواد الآتية: ١٠٠ملغم\ لتر سلفات الصوديوم الحامضية الثنائية و ٠,٥ ملغم/لتر ثيامين و ١٠٠ ملغم/لتر أنيستول و ٤٠ ملغم/لتر كبريتات الأدنين و٢ ملغم/لتر من الكاينتين (فورفوريل امينوبيورين) و٢ ملغم/لتر بنزل ادنين و ٠,١ ملغم/لتر نفثالين استيك أسيد و ٣٠غم\ لتر من السكروز و٨غم من الاكار وبدون إضافة الفحم المنشط وأضيف حامض الجبرليك بالتراكيز (٠ ، 0.2 , 0.3 , 0.4 ملغم/ لتر) وزع في قناني ذات سعة ٢٠٠ مل ، عقمت الأوساط الغذائية بواسطة جهاز التعقيم البخاري الاوتوكليف تحت ضغط ١,٠٥ كغم\سم٢ ودرجة حرارة ١٢٠ م ولمدة ١٥ دقيقة باستثناء حامض الجبرليك الذي جرى تعقيمه بالطريقة الباردة وذلك من خلال تمرير المحلول عبر منظومة فلاتر (مرشحات) خاصة ذات فتحات بقطر 0.22 مايكرون وذلك لان حمض الجبرليك GA3 يعتبر من المواد الكيمياوية التي تتأثر بالحرارة العالية ويتحلل بدرجة حرارة ٩٠ مئوية وحضنت الزروعات داخل غرف النمو تحت ظروف شدة الإضاءة (١٠٠٠ لوكس) ولمدة ١٦ ساعة يوميا وفي درجة حرارة ٢٧ ±٢م° ولمدة ثمانية أسابيع ثم أخذت الأطوال لكل معاملة من المعاملات.

التحليل الإحصائي:

نفذت تجربة عاملية باستخدام تصميم القطاعات العشاوائية الكاملة وحللت البيانات احصائيا حسب اختبار اقل فرق معنوي L.S.D وعلى مستوى احتمال ٥% (6).

النتائج والمناقشة

تأثير الجبرلين في استطالة الافرع:

يوضح جدول ١ بان إضافة حمض الجبرليك إلى الوسط الغذائي الخاص بالتضاعف الخضري كان له تأثير في استطالة النموات الخضرية للأصناف ألخضراوي و المكتوم والتبرزل ، فقد ازدادت أطوالها مع زيادة تركيزه في الوسط الغذائي حيث أعطى التركيز(0.4) ملغم \ لتر من حامض الجبرليك أعلى استطالة و بلغ 2.98 سم مقارنة ببقية التراكيز الأخرى (0.0 , 0.2 , 0.3) ملغم \ لتر والتي بلغ معدل أطوال المجموع الخضري فيها (1.57 , 2.18 , 2.58) سم على التوالي. إذ أن الجبرلينات تعمل على تنشيط واستطالة الخلايا مما يزيد في نموها الخضري (7) ولم يكن هناك اختلاف معنوي بين الأصناف في استجابتها لحمض الجبرليك ، ويلاحظ من خلال النتائج أن التركيز العالي المستخدم من حامض الجبرليك GA3 في مرحلة التضاعف الخضري لأنسجة نخيل التمر قد أعطى أفضل استطالة في المجموع الخضري وهذا ما أشار إليه (٨) من أن النموات الخضرية يزداد طولها مع زيادة تركيز حامض الجبرليك GA3 في الوسط الغذائي، (شكل ٢) وقد يعزى ذلك إلى أن الجبرلينات تشجع انقسام الخلايا في القمم النامية وكذلك استطالة الخلايا من خلال تأثيرها في ليونة الجدار الخلوي مما يسمح له بالتمدد فتحدث الاستطالة ، وكان صنف التبرزل هو أفضل الأصناف في الاستجابة للتراكيز العالية من حامض الجبرليك مقارنة ببقية الأصناف و ربما يفسر ذلك إلى الاختلاف في نسبة المحتوى الكاربوهيدراتي في أنسجة كل صنف، فمن المعروف إن السكريات تعتبر مصدر الطاقة الذي يؤدي دورا كبيرا في انجاز الفعاليات الحيوية المختلفة كما لها تأثير في أقسام وتمايز الخلايا ومختلف عمليات التطور والتكوين لأعضاء النبات المختلفة (9).

جدول ١. تأثير الجبرلين والأصناف في متوسط طول الافرع (سم) بعد ٨ أسابيع من أعادة الزراعة.

تأثير الأصناف			تأثير التراكيز	
الأصناف	متوسط طول الأفرع(سم)		تراكيز ملغم/لتر	متوسط طول الأفرع (سم)
الخضراوي	٢.٢٥		٠.٠	١.٥٢
المكتوم	٢.١٧		٠.٢	٢.١٨
التبرزل	٢.٥٢		٠.٣	٢.٥٨
			٠.٤	٢.٩٨

ا.ف.م ٠.٠١ للأصناف = ٠.٣٧٨ ا.ف.م ٠.٠١ للتراكيز = ٠.٤٥

اظهرت النتائج في جدول ٢ ان هناك اختلاف معنوي في التداخل بين الأصناف والتراكيز إذا أعطى التركيز 0.4 في صنف التبرزل أعلى قيمة وبلغ طول معدل اطوال الافرع فيه 3.25 سم يليه صنف المكتوم إذ بلغ 2.90 سم في حين أعطى صنف ألخضراوي اقل نسبة في طول المجموع الخضري وبلغ 2.80 سم .

تأثير الكلايسين في وزن الكالس المستحدث:

تشير النتائج الجدول(٣) إن إضافة تراكيز من الكلايسين لم يكن لها أي تأثير معنوي في معدل الوزن الطري للكالس المستحدث حيث أعطى التركيزين ٣ ، ٥ ملغم \ لتر معدل بلغا ٣.٩٠ و ٤.١٦ ملغم على التوالي اللذين لم يختلفا عن وسط المقارنة الذي أعطى متوسط وزن بلغ ٣.٤١ ملغم وهو يتفق مع ما ذكره (10) من أن وجود ايون NH+ المجهز على هيئة NH4NO3 او NH4Cl قد أعطى نمو جيدا وان إضافة الكلايسين أو أي من الأحماض الامينية الأخرى إلى الوسط الغذائي بوجود NH+ لم يعطي أي زيادة ملحوظة في النمو (شكل ٣).

جدول ٢. تأثير التداخل بين الأصناف وتراكيز الجبرلين في متوسط أطوال الأفرع (سم) بعد ٨ أسابيع من أعادة الزراعة

الأصناف	تراكيز الجبرلين ملغم/لتر			
	٠.٠	٠.٢	٠.٣	٠.٤
الخضراوي	١.٥٥	٢.١٠	٢.٥٥	٢.٨٠
المكتوم	١.٣٥	٢.١٠	٢.٣٥	٢.٩٠
التبرزل	١.٦٥	٢.٣٥	٢.٨٥	٣.٢٥

ا.ف.م التداخل بين التراكيز والأصناف =n.s

جدول ٣. تأثير تراكيز الكلايسين والأصناف في متوسط الوزن الطري للكالس (غرام) بعد ٨ أسابيع من أعادة الزراعة.

تركيز الكلايسين (ملغم/لتر)	الأصناف			المتوسط
	الخضراوي	المكتوم	التبرزل	
0.0	3.55	3.75	2.93	3.90
3.0	3.78	4.80	3.11	4.16
5.0	4.13	5.17	3.19	
المتوسط				3.41

ا.ف.م ٠,٠١ للاصناف =n.s التراكيز =n.s التداخل بين الاصناف والتراكيز =n.s

شكل ٢. تأثير وجود حمض الجبرليك GA3 في الوسط الغذائي على استطالة المجموع الخضري.

شكل ٣. أن إضافة تراكيز من الكلايسين لم يكن لها اي تاثير معنوي في معدل الوزن الطري للكالس

Effect of Gibberlic Acid and Glycine on Shoots Length and Callus Weight for three Cultivars of Date Palm Propagate *in vitro*

Laith. A. Hatem*, Attaalah. I. Alwan*, mohammed. k. Hamed* Ghania. H. Fathel* Hamza. A. Ibraheem

Ministry of Science and technology, Agriculture Research and Food technology Directorate, Baghdad/ Iraq*

Abstract

The study was conducted to test the effect of different concentration of GA3 (0, 0 , 0.2 ,0.3, 0.4) mg/L and Glycine (0, 3, 5) mg/L on shoots length and callus weight in depended experiments for three cultivars of Date Palm (Kharowi, Maktoom and Tebarzal) which propagated in vitro The results showed that using high concentration of GA3 increased shoot length in all cultivars. The concentrate 0.4 mg/L and cultivar Tebarzal were superior to gave shoot length reached 2.98 cm and 2.52 cm, respectively. The results showed that add Glycine on medium not gave significant effect on callus weight as compared with control.

KEYWORDS: gibberelic acid, glycine, date palm.

المصادر

١. غيس ، علي .2000 الزراعة النسيجية . ندوة استخدام التقانات الحديثة في تطوير انتاجية النخيل في الوطن العربي . العين ، الامارات العربية المتخدة ، مارس ، 2000 .

٢. عمر ، مبشر صالح ; حميد ، محمد خزعل و الراوي ، مها شعبان . 1993 .اكثار النخيل خضريا بواسطة زراعة الانسجة. وقائع المؤتمر الثاني للنخيل والتمور ، تشرين الاول، 1993 ، بغداد – العراق.

٣. ابحمان ، العربي ، البوجرفاوي ، محمد و انجارن ، محمد . 1999 . استعمال طرق الزراعة النسيجية في اكثار النخيل واعادة تعمير الواحات المغربية المتضررة ، من مرض البيوض . وقائع المؤتمر الدولي عن نخيل البلح ، نوفمبر ، 1999 . جامعة اسيوط .

٤. خليفة ، سيد فرج . 2004 . تنظيم استطالة المجموع الخضري للنباتات . الموسوعة النباتية لنباتات المملكة العربية السعودية . المجلد الثاني . 2004 . المملكة العربية السعودية .

5. Mater, A. A. 1986 in vitro propagation of *phoenix dactylifera* L. Date palm J.4:137-152.

٦. الراوي ، خاشع محمود وعبدالعزيز ، محمد خلف . (١٩٨٠) تصميم وتحليل التجارب الزراعية جامعة بغداد – العراق .

7. Pablito, M. Magdalita , Olivia, P. 2004. Effect of physical, chemical and Light treatments on Germination and growth of tissue culture of coconuts. In statute of plant Breeding . collage of Agriculture , university of the Philippines.

8. Hameed . M. K. (2001)Vegetative propagation of som date palm (phoenix dactylifera L) cultivars through tissue technique . PH. D. theasis , collage of Agriculture Baghdad univ . Iraqi.

٩. محمد ، عبد العظيم كاظم ويونس ، مؤيد احمد . 1991 . اساسيات فسيولوجيا النبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد – العراق .

10. Nitsch . J. p. Asahira . T. Rossini.M.E.and Nitsch. C. Basesphysologiques dela production de chair de pomme etpoire in vitro Bull soc. BoT. Fr.117-479.

التلوث الإشعاعي باليورانيوم المستنفذ في بناية برج التحرير

حيدر احمد حسن، محمود محمد حسين، احمد شوقي محمد ، اسعد جميل زغير

وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والمياه

المستخلص

إن خطة البحث شملت توصيف النشاط الإشعاعي لبناية برج التحرير(المطعم التركي سابقا) من خلال إجراء مسح إشعاعي لأربعة طوابق من البناية هي (الأول، الثاني، الثالث، الرابع) والمتكونة من أربعة عشرا طابقا إضافة إلى السرداب وباستخدام أجهزة الكشف الإشعاعي المحمولة لغرض معرفة الزيادة الحاصلة في مستويات التعرض والتلوث الإشعاعي الناتجة من قصف بناية برج التحرير بإطلاقات اليورانيوم المستنفذ ،أظهرت نتائج المسوحات الإشعاعية التي أجريت باستخدام جهاز قياس معدل التلوث الإشعاعي CAB وجود تربة ملوثة يصل مستوى التلوث إلى 60c/sec بالإضافة إلى وجود شظايا من إطلاقات اليورانيوم المستنفذ ذات مستويات تلوث عالية جدا تصل إلى 90 c/sec مقارنةً بمعدل الخلفية الإشعاعية (0.5 c/sec)، أما قراءات التعرض الإشعاعي للمناطق الملوثة باستخدام جهاز Ludlum فكانت 60 µR/hr عند وضع الكاشف على مسافة ٠.٥ cm تقريباً أما على مسافة ١ m فكانت القراءات ضمن الخلفية الإشعاعية والتي هي 9. µR/hr كما وأخذت نماذج التربة وفق المعايير والمواصفات المعتمدة عالميا لهذا النوع من قياسات النشاط الإشعاعي، وتم قياسها باستخدام منظومة تحليل أطياف كاما والتي تتألف من عداد الجرمانيوم عالي النقاوة ذو كفاءة ٤٠% وقدرة فصل 2 keV للطاقة 1.33 Mev،أظهرت نتائج الفحوصات المختبرية لنماذج التربة المأخوذة من مناطق قريبة من بناية برج التحرير والتي تعتبر خلفية إشعاعية وجود نظير Th-234 بتركيز 41Bq/kg وعدم وجود تراكيز محسوسة لنظير Pa-234m بينما أشارت نتائج نماذج التربة المأخوذة من طوابق البناية إلى وجود تراكيز عالية جدا لنظيري Th-234 و Pa-234m تصل إلى 1194 Bq/Kg و ١٦٦٤ Bq/Kg على التوالي والذي يعتبر مؤشر واضح على وجود تراكيز عالية لنظير اليورانيوم- ٢٣٨ لأنهما من المفروض أن يكونا في حالة توازن إشعاعي. وإن الهدف الأساسي من هذا البحث هو تقييم و معالجة الملوثات الإشعاعية الناتجة

من قصف بناية برج التحرير بإطلاقات اليورانيوم المستنفذ لحماية السكان والبيئة من الآثار الضارة للأشعة المؤينة.

المقدمة

من المعروف علميا إن التعرض للإشعاعات المؤينة له أثار ضارة بخلايا وأنسجة وأعضاء الجسم المختلفة، وهنالك العديد من العوامل البايولوجية وكذلك الفيزيائية التي تتحكم في نوع وشدة هذه الآثار الضارة . وان التعرض الإشعاعي الناتج ممكن أن يكون داخليا أو خارجيا أو كليهما. يحدث التعرض الخارجي عندما يكون مصدر الإشعاع خارج الجسم ،أما التعرض الداخلي فيحدث عند دخول المادة المشعة إلى داخل الجسم، وتصنف التأثيرات الفسيولوجية للإشعاع إلى تأثيرات جسدية somatic تتعلق بحالة الجسم وحالته الصحية، وتأثيرات وراثية (جينية) Genetic تتعلق بالجينات وكل ماله صلة بنقل الصفات الوراثية واحتمالية حدوث طفرة وراثية، وقد يأخذ التغير الذي يحدث في الدور البايولوجي للخلايا ساعات أو سنوات لكي يكون واضح للعيان ، ويحدث التدمير الذي يصيب الخلايا والأنسجة الحية نتيجة تعرضها للإشعاعات النووية المختلفة نتيجة للتأثيرات المباشرة وغير المباشرة للإشعاع على الخلايا الحية حيث يقوم الإشعاع بتايين ذرات وجزيئات الخلية الحية التي تتعرض له [١].

يبعث اليورانيوم المستنفذ أشعة مؤينة مسرطنة Carcinogenic ومعظم هذه الإشعاعات جسيمات ألفا وبشكل أقل بيتا وكلاهما لا يمضيان مسافة طويلة في النسيج ولذلك فأن التأثير المهم يحدث عن طريق دخول الجسم (التنفس ،الأكل أو لتلوث الجروح المفتوحة) .

اليورانيوم المستنفذ:

اليورانيوم هو أحد العناصر الكيميائية المشعة الموجودة في الجدول الدوري، ويرمز له بحرف U. عدده الذري هو ٩٢، ومن أبرز صفاته: ثقيل، أبيض فضي، سام، فلزي وقطعة من معدن اليورانيوم الصافي تبدو قريبة من معدن الفضة أو الفولاذ ولكنها ثقيلة جداً نسبة إلى حجمها. تبلغ كثافته نحو ١٩ غم /سم^{٣}، أي أن ١ م^{٣} من اليورانيوم يزن نحو ٢٠ طن، فهو أثقل المعادن الموجودة في الطبيعة و له ثلاثة نظائر هي يورانيوم-٢٣٥ ويورانيوم-٢٣٤ ويورانيوم-٢٣٨ وتوجد هذه النظائر متلازمة في الطبيعة، ،أغلبها يورانيوم-٢٣٨ بنسبة أكثر من ٩٩% [٢] [٥] .

يتم تخصيب اليورانيوم لتحضير الوقود الخاص بالمفاعلات النووية بعمليات معقدة الهدف منها زيادة تركيز النظير(U-235)عن بقية نظائر عنصر اليورانيوم، يتخلف من عمليات التخصيب هذه (Uranium Enrichment) مخلفات نووية تدعى باليورانيوم المستنفذ (المنضب) تحتوي على U-238 بنسبة ٩٩.٧% و U-235 بنسبة (٠.٢-٠.٣ %) وهو السبب في تسميتها بالمستنفذ بعد استخلاص

(U-235) منه واختلال النسبة الوزنية للنظائر المكونة للمعدن طبيعيا .

إن الأسلحة التي يدخل اليورانيوم المستنفذ في صناعتها متعددة حيث تكون على شكل سبيكة مكونة من (٩٩.٢٧%) يورانيوم مستنفذ و(٠.٧٥%) تيتانيوم (Ti-6Al-4V)، والأنواع الأخرى تتكون من (٩٨%) يورانيوم المستنفذ و(٢%) مولبيديوم Mo . وتختلف أحجام وأبعاد الإطلاقات اعتمادا على استخداماتها ونوع السلاح ، تبلغ إشعاعية اليورانيوم المستنفذ ٦٠% تقريبا من إشعاعية اليورانيوم الطبيعي وتبلغ فعالية جسيمات ألفا في اليورانيوم المنضب اقل من الطبيعي بحوالي ٤٣% [٣] [٥].

وصف البناية:

تقع بناية برج التحرير في منطقة الباب الشرقي مقابل نصب ساحة التحرير- مركز بغداد، ويمتد بالقرب منها نهر دجلة غرباً وبالقرب منها محلات وعمارات ذات نشاط تجاري. تتألف البناية من أربعة عشر طابق إضافة إلى السرداب، تقدر مساحة كل طابق $640\ m^2$ ، يتم الصعود إلى طوابق البناية عن طريق السلالم التي تكون على جهة اليمين واليسار، ويحتوي كل طابق على بناية المصاعد والحمامات. في عام ٢٠٠٣ تعرضت معظم طوابق البناية إلى القصف الصاروخي مما أدى إلى حدوث أضرار جسيمة بالبناية ، ومن خلال الزيارة الميدانية للبناية والكشف الإشعاعي الأولي باستخدام الأجهزة المحمولة تبين تعرض بعض طوابق البناية (الرابع،الثامن،والثاني عشر) إلى ضربات مباشرة باطلاقات وشظايا اليورانيوم المستنفذ مما أدى إلى انتشار التلوث الإشعاعي في أرضية وجدران وسقوف بعض طوابق البناية .

المواد وطرائق العمل

تعيين الخلفية الإشعاعية:

لغرض تعيين الخلفية الإشعاعية لبناية برج التحرير جرى قياس معدلات التعرض والتلوث الإشعاعي لمناطق قريبة من البناية، باستخدام أجهزة الكشف الإشعاعي المحمولة ، تم تسجيل ٥٠ قراءة لكل موقع يمثل معدلها التعرض والتلوث في ذلك الموقع ، وتم انتخاب نماذج تربة من نفس المناطق لأجراء التحاليل المختبرية ومعرفة تراكيز النظائر المشعة الطبيعية.

المسوحات الإشعاعية:

أجريت المسوحات الإشعاعية للطوابق الأربعة (الاول، الثاني، الثالث، الرابع) من البناية بتقسيم الطابق إلى مربعات كما أوصت الوكالة الدولية للطاقة الذرية وذلك بتحديد الجدار الأمامي لنقطة الدخول وتسميته بـ (W1) وتحديد بقية الجدران بعكس عقارب الساعة (W4,W3,W2) واتبع نفس الأسلوب في الأرضية(G) والسقوف (C) ، حيث كانت مربعات القياس في الطابق الأول والثاني والثالث للجدران (5 x1.5) m^2، والأرضية (3 x1m^2) باستثناء منطقة المصاعد (في الطابق الأول) والحمامات في الطوابق الثلاثة حيث كانت(1x1 m^2)،أما الطابق الرابع فكانت مربعات القياس للجدران الخارجية للطابق (5 x1.5 m^2)، والجدران الخارجية لبناية الحمامات، وأرضية الطابق والسقف (1x1m^2). الاختلاف في مربعات

القياس ناتج من تعرض بعض المناطق في الطوابق إلى ضربات مباشرة باطلاقات اليورانيوم المنضب وانتشار الشظايا.

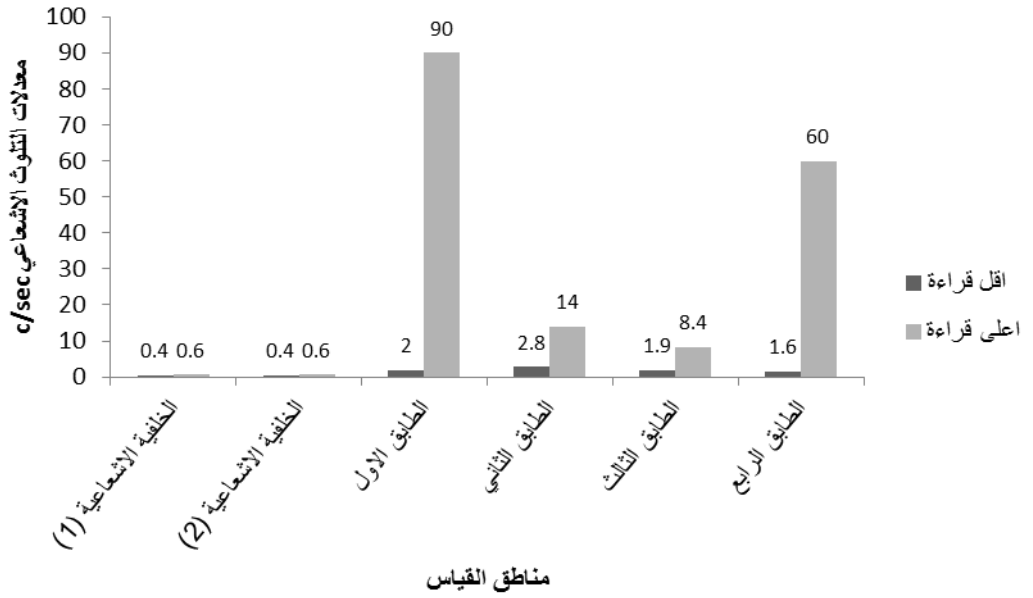
الأجهزة المستخدمة:

تم استخدام جهاز الكشف الإشعاعي المحمول(Ludlum) ذو كاشف بلورة NaI(Ti) بأبعاد($2.5x2.5\ cm^2$) لقياس معدل التعرض الإشعاعي لباعثات بيتا وكاما بوحدات μR/hr (حيث تم إجراء القياس بوضع الكاشف على مسافة ٠.٥ cm تقريبا وعلى مسافة متر واحد عن المناطق الملوثة)، واستخدام الجهاز المحمول (CAB) لقياس معدل التلوث الإشعاعي ذو بلورة ZnS(Ag) والمساحة الحساسة للكاشف 30 cm^2 لقياس باعثات ألفا وبيتا بوحدات cps حيث وضع الكاشف على مسافة ٠.٥ cm عند إجراء القياس [4].

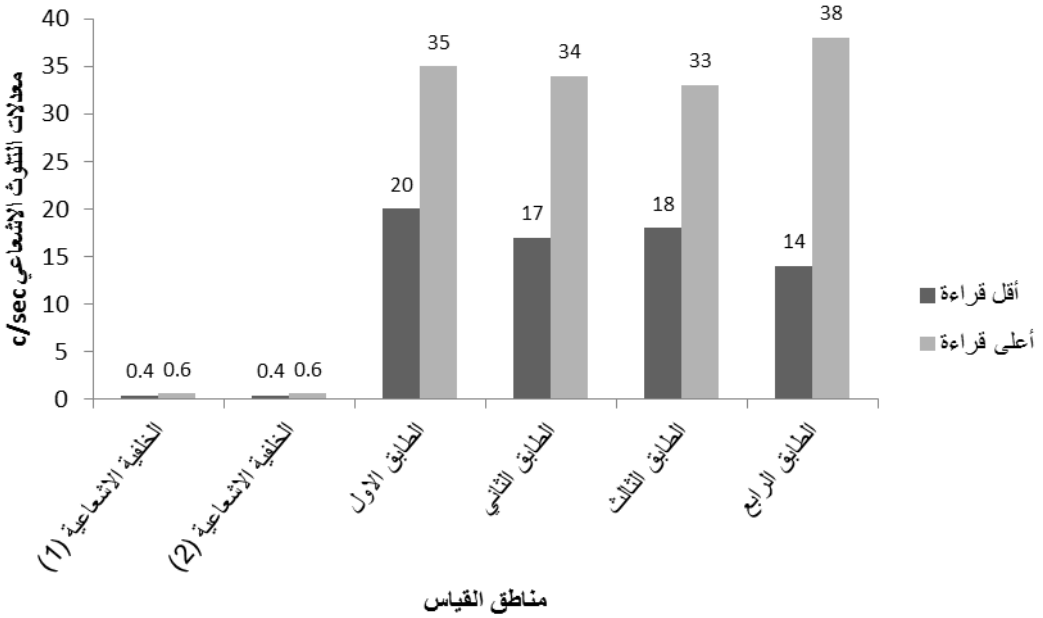
كما واستخدمت منظومة تحليل أطياف كاما المختبرية لقياس النشاط الإشعاعي في نماذج التربة والتي تتألف من عداد جرمانيوم عالي النقاوة ذو كفاءة ٤٠% ومقدرة فصل (Resolution 2 keV) للطاقة 1.33 Mev والكاشف محاط بحاجز وقائي عالي الكفاءة مصنوع من قبل شركة كانبيرا الأمريكية ويستخدم البرنامج التحليلي جيني ٢٠٠٠ المتطور، تمت معايرة الطاقة والكفاءة لمنظومة القياس باستخدام مصدر قياسي متعدد الطاقات مصنوع من قبل شركة كانبيرا الأمريكية MGS5.1045 . ويتم قياس النشاط الإشعاعي لنماذج التربة بعد نقل محتوياتها إلى أوعية مرنيللي Mernelli Beaker وهو جزء المنظومة المعد للفحص ومدة قياس النموذج ٣٦٠٠ ثانية [2].

النتائج والمناقشة

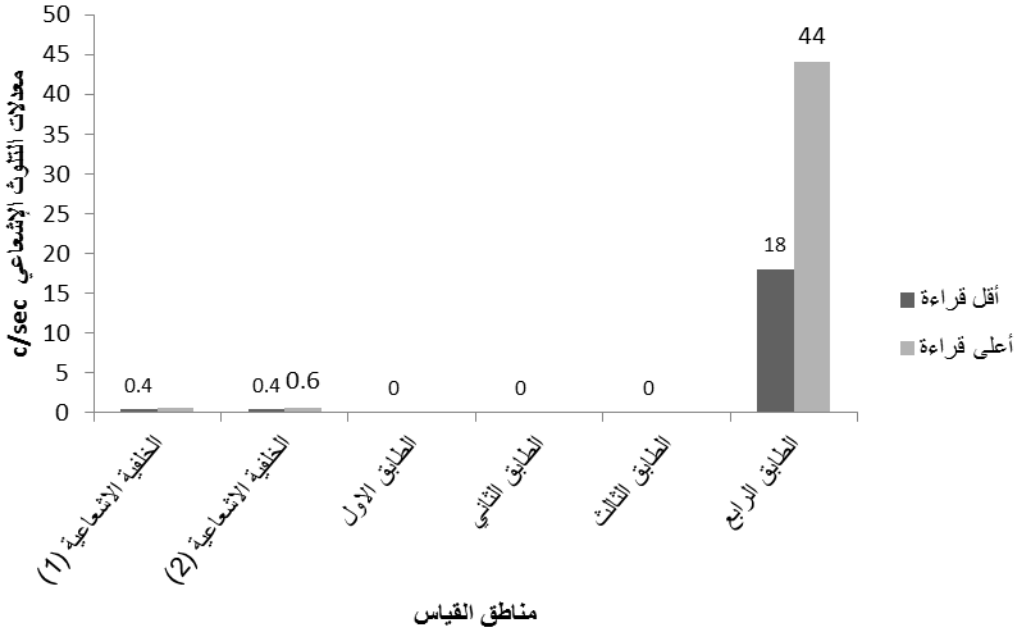
تم إجراء مسح دقيق لقياس معدل التلوث الإشعاعي باستخدام الجهاز المحمول نوع (CAB) لغرض تحديد المناطق الملوثة، وبالاعتماد على تقسيم الطابق إلى مربعات مساحتها تعتمد على عدد المناطق الملوثة في الطابق التي يتم ملاحظتها من خلال الأضرار الناتجة من القصف أو الشظايا في الأرضيات، الحمامات ،الجدران والسقوف والنتائج موضحة في الأشكال (٤,٣,٢,١).



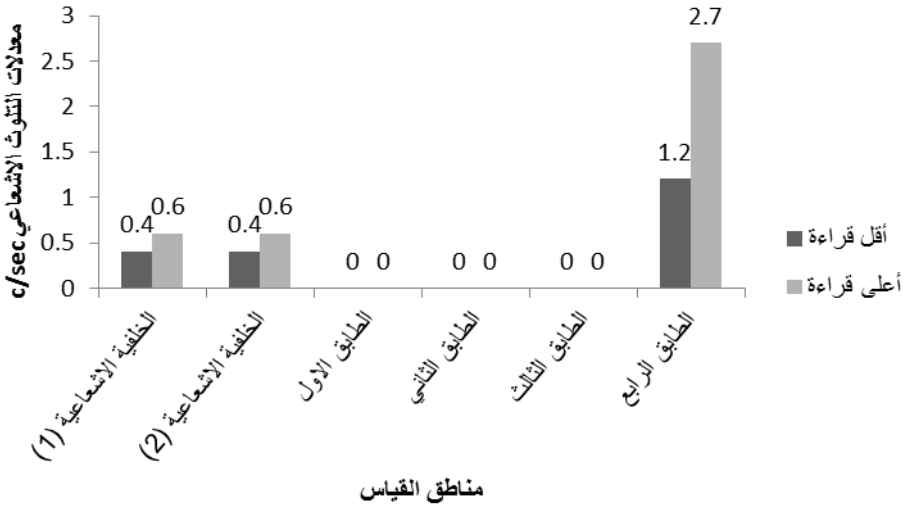
شكل ١. نتائج قياسات معدلات التلوث الإشعاعي للأرضية قبل الإزالة.



شكل ٢. نتائج قياسات معدلات التلوث الإشعاعي للحمامات قبل الإزالة.



شكل ٣. نتائج قياسات معدلات التلوث الإشعاعي للجدران قبل الإزالة.

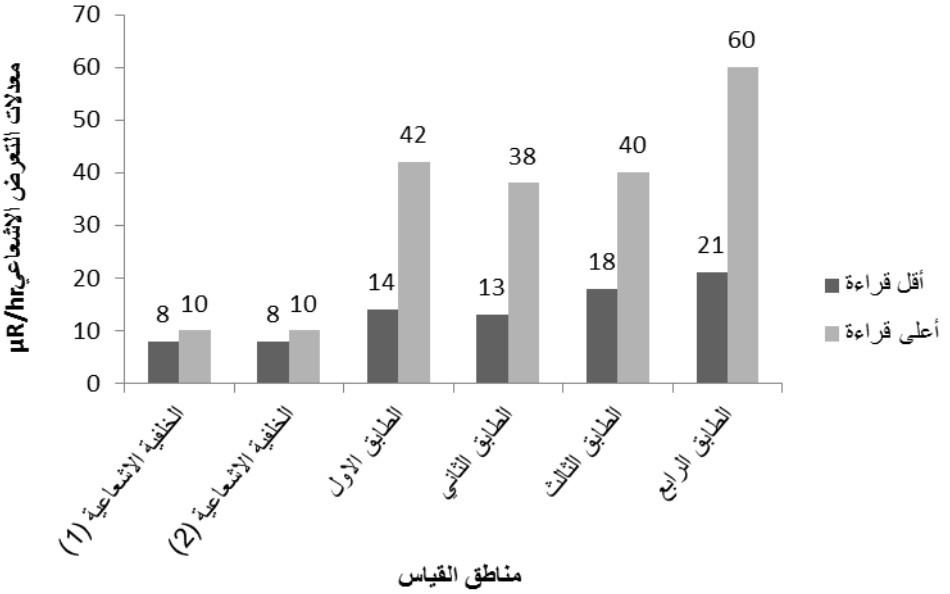


شكل ٤. نتائج قياسات معدلات التلوث الإشعاعي للسقوف قبل الإزالة.

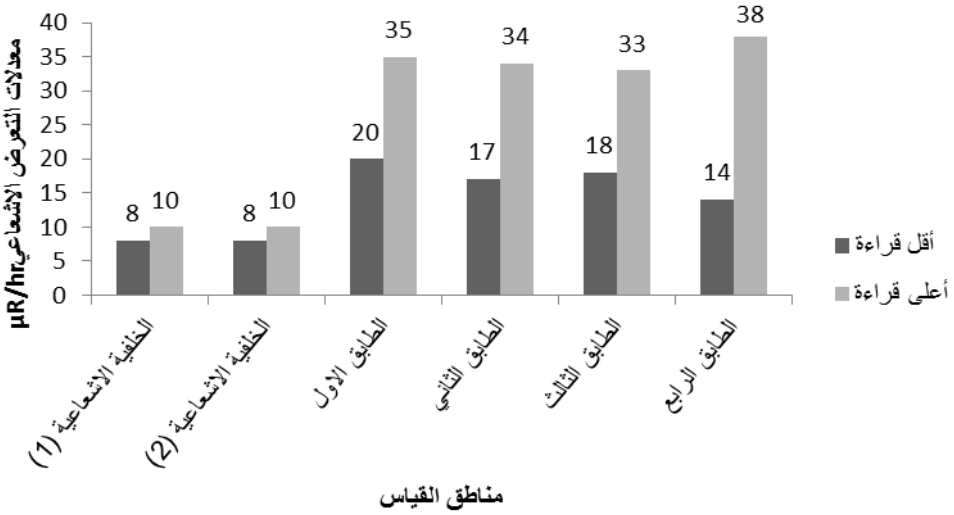
تبين الأشكال (١ و ٢ و ٣ و ٤) وجود مناطق ملوثة كثيرة وبمعدلات تلوث عالية لحركة الرياح، بالإضافة الى نقل أنقاض ومواد من البناية قبل اجراء القياسات الإشعاعية كل هذا ساعد على انتشار الملوثات في الطوابق التي لم تتعرض لضربات مباشرة.

كما تم قياس معدلات التعرض الإشعاعي باستخدام جهاز الكشف الإشعاعي المحمول نوع (Ludlum)، حيث تم التركيز عند قياس الجدران والسقوف على النقاط التي تحسسها جهاز قياس معدل

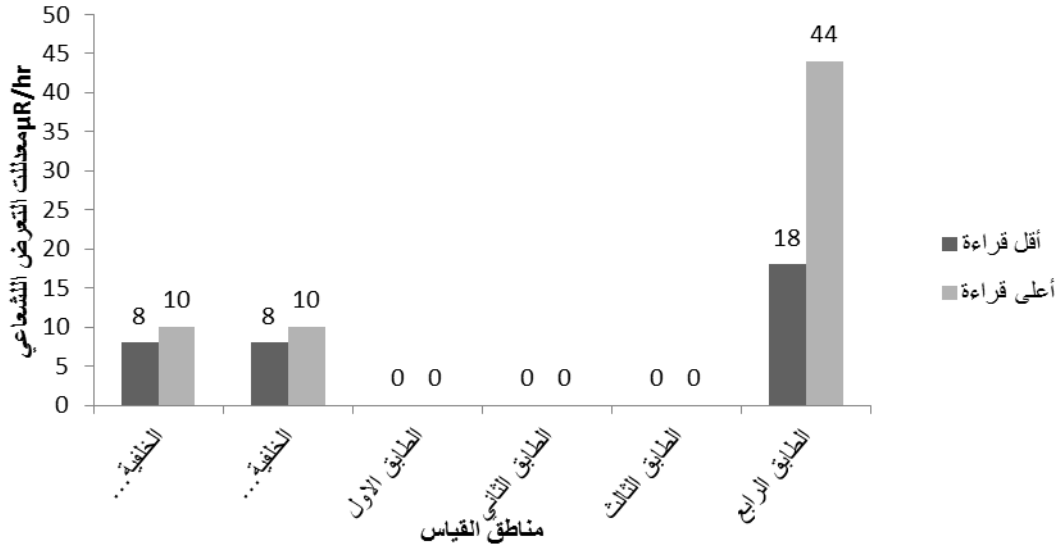
التلوث الإشعاعي و على المناطق التي من المحتمل ان تكون متضررة نتيجة اطلاقات وشظايا اليورانيوم المستنفذ ، وأظهرت نتائج القياسات وجود مناطق ذات مستويات تعرض أعلى من الخلفية الإشعاعية بحوالي ستة أضعاف والنتائج موضحة في الأشكال (٨,٧,٦,٥).



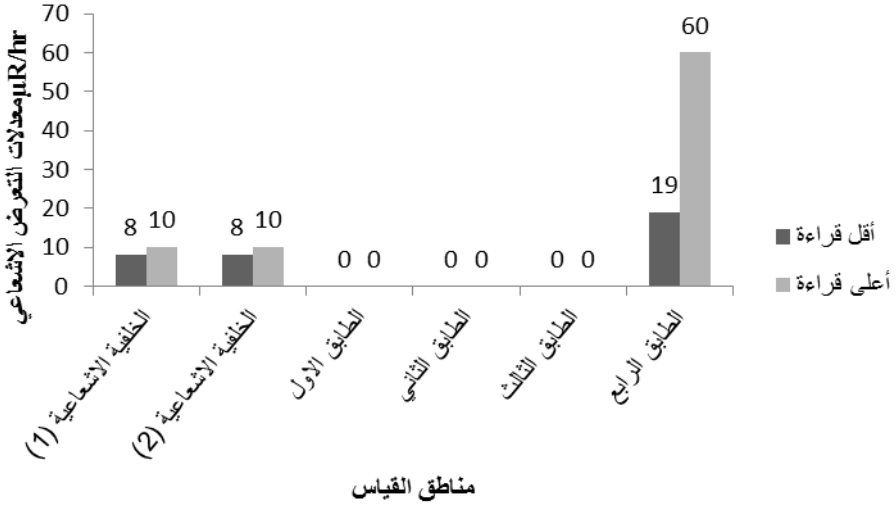
شكل ٥. نتائج قياسات معدلات التعرض الإشعاعي للأرضيات قبل الإزالة.



شكل ٦. نتائج قياسات معدلات التعرض الإشعاعي للحمامات قبل الإزالة.



شكل ٧. نتائج قياسات معدلات التعرض الإشعاعي للجدران قبل الإزالة.



شكل ٨. نتائج قياسات معدلات التعرض الإشعاعي للسقوف قبل الإزالة.

بينت الإشكال أعلاه إن عدد النقاط التي تحسسها جهاز قياس معدل التعرض الإشعاعي هي اقل من النقاط التي تم كشفها باستخدام جهاز قياس معدل التلوث الإشعاعي وذلك للحساسية الفائقة لأجهزة كشف التلوث الإشعاعي مقارنة بأجهزة قياس التعرض الإشعاعي.

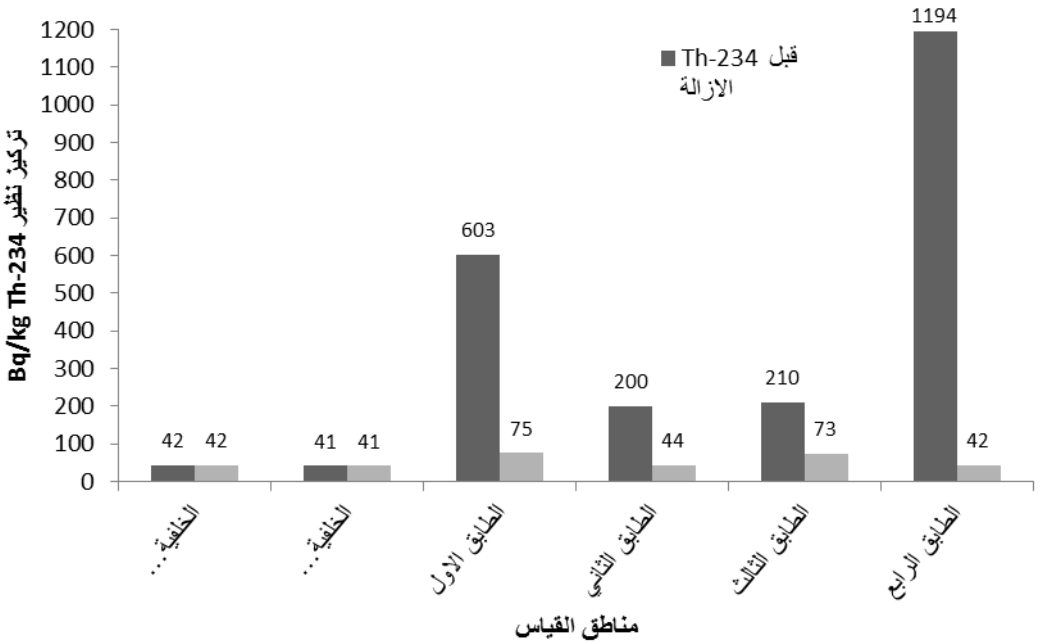
لذلك تطلب الأمر إجراء عمليات معالجة وأزالة المناطق الملوثة في الطوابق الأربعة والتي تم كشفها بالأجهزة المحمولة وذلك عن طريق رفع التربة الملوثة، كما واستخدمت معدات ميكانيكية متنوعة لقطع ومعالجة التلوث الحاصل في أجزاء من حديد التسليح للبناية مع مراعاة اتخاذ كافة الإجراءات الوقائية المطلوبة، جمعت التربة الملوثة في براميل خاصة أعدت لهذا الغرض، ثم أخذت نماذج تربة وفق

السياقات المعتمدة عالميا لغرض إجراء الفحوصات المختبرية.

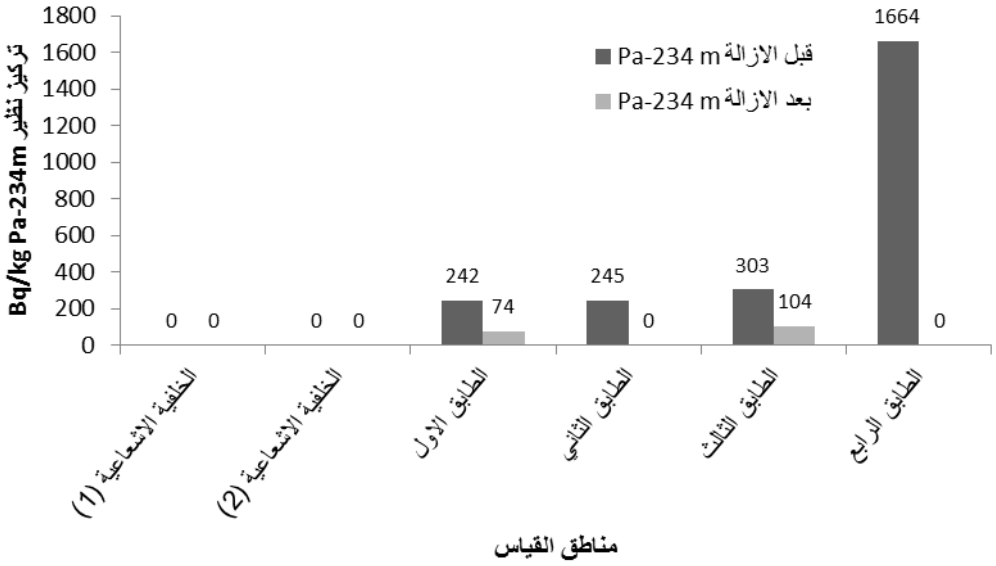
أظهرت نتائج الفحوصات المختبرية وجود تراكيز عالية جدا لنظيري Th-234 (عمر النصف ٢٤.١ يوم) وPa-234m (عمر النصف ١.١٧ دقيقة) في نماذج التربة المأخوذة من طوابق البناية حيث بلغ أعلى تركيز لهما 1194 , 1664 Bq/Kg على التوالي بينما بلغ تركيزهما في نموذج الخلفية الإشعاعية بحدود41 Bq/Kg والذي يعتبر مؤشر واضحا على وجود تراكيز عالية لنظير اليورانيوم-٢٣٨ المكون الأساسي لاطلاقة اليورانيوم المستنفذ [٢].

لذلك أصبح من الضروري إعادة الفحص الإشعاعي بتثبيت الكاشف على مسافة ٠.٥ سم فوق التربة وتحريكه ببطء وبسرعة لا تتعدى ١٠ سم/ثا وذلك للحصول على نتائج مؤكدة [٤]. تم تهيئة المستلزمات المطلوبة لعزل ورفع التربة الملوثة من الطوابق وجمعت التربة الملوثة في براميل خاصة تم تهيئتها لهذا الغرض وبعد الانتهاء من عمليات إزالة التلوث الإشعاعي ،أخذت نماذج تربة لأجراء الفحوصات المختبرية، حيث تم الاعتماد على تراكيز نظيري Th-234 ، Pa-234m كمؤشر على وجود اليورانيوم المستنفذ والنتائج موضحة في الشكلين ٩ و١٠.

الشكلين ٩ و ١٠ تبين وجود تراكيز واطئة نسبياً لنظيري الثوريوم -٢٣٤ والبروتكتنيوم m-٢٣٤ بعد الازالة ويمكن اعتبارها ضمن المحددات البيئية. مما يعطي مؤشر مهماً على كفاءة عمليات معالجة وازالة المناطق الملوثة التي اجريت في الطوابق الاربعة.



شكل ٩. تركيز نظير Th-234 في نماذج التربة المنتخبة قبل وبعد الإزالة.



شكل ١٠. تركيز نظير Pa-234 m في نماذج التربة المنتخبة قبل وبعد الإزالة.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

إن الاستنتاجات التي تم التوصل إليها من خلال هذه الدراسة الحالية هي :

١. هنالك تلوث إشعاعي واضح في بناية برج التحرير وبتراكيز عالية وبالأخص في الطابق الرابع ناجم من تعرضه إلى ضربات مباشرة بإطلاقات اليورانيوم المستنفذ .

٢. انتشار التلوث في معظم الطوابق التي تم قياسها وممكن أن يعود ذلك إلى أسباب كثيرة ومنها نقل الأنقاض والمواد لغرض تهيئة البناية وإعادة أعمارها قبل الكشف عن معرفة وجود تلوث إشعاعي في البناية بالإضافة إلى إن طوابق البناية مكشوفة لحركة الرياح .

٣. هنالك زيادة في تراكيز نويدات الثوريوم -٢٣٤ بروتكتنيوم-٢٣٤m إحدى وليدات سلسلة انحلال اليورانيوم -٢٣٨ في نماذج التربة مما يدل على زيادة تراكيز اليورانيوم -٢٣٨ المكون الأساسي لإطلاقات اليورانيوم المستنفذ .

٤. رفع ونقل كميات كبيرة من الأنقاض والمواد خارج بناية برج التحرير ومن المؤكد أنها ملوثة.

التوصيات:

١. إجراء مسح إشعاعي شامل على غرار ما تم انجازه في بناية برج التحرير لجميع البنايات والمناطق التي تعرضت لضربات بالسلاح الثقيل .

٢. الطلب من كافة الجهات الرسمية والغير رسمية التعاون من اجل معرفة مكان الأنقاض التي تم رفعها من البناية قبل الكشف عن وجود تلوث إشعاعي في البناية .

٣. الطلب من المنظمات العالمية والوكالة الدولية للطاقة الذرية الدعم العلمي والفني في معالجة الملوثات الإشعاعية وخاصة الناتجة من استخدام اطلاقات اليورانيوم المستنفذ.

Abstract

The research plan included assessment of the radioactivity of the AL-Tahreer Tower Building (the Turkish restaurant recent) through direct measurements and sampling of soil for the four floors (1^{th},2^{th},3^{th},4^{th}) of the building, which contains fourteen floor in addition to the basement, by using portable radiation detection equipments to know the increasing in the levels of exposure and contamination resulting from the bombing a AL-Tahreer Tower building by depleted uranium bullets, the results of radiological surveys by using the portable contamination radiation detection (CAB) indicated readings of contaminated soil reached to 60 c/sec, and parts of shells of depleted uranium reached to 90 c/ sec , while the natural contamination rate in the area is (0.5 c/sec), the natural exposure rate in the area is 9 µR / hr but the higher exposure rate reached to 60 µR / hr when the device (Ludlum) putting on the contaminated regions(distance about 0.5 cm). The radiological analyses of the collected soil samples were done in the laboratory of the center of Radiological Researches in the Ministry of sciences and Technology by using gamma spectrometry(which contains High- purity Germanium Detector) with a efficiency of 40% and resolution 2 keV for Energy, 1.33Mev,collection,preparations and tests of soil samples were all done according to IAEA.The normal concentration for Th-234 and Pa-234m in the soil samples taken from areas near to the building (can consider as background radiation region) is in range 41 Bq /Kg for Th-234,and nil for pa-234m ,while higher concentration of Th-234 in contaminated soil is 1194 Bq/kg,and 1664Bq/kg for pa-234m which is a clear indication of the presence of high concentrations an isotope of uranium-238 as they are supposed to be in equilibrium radiation. The major aim of this study include removal the contaminated regions in the building, to protect the population and the environment from the effect of radiological contamination which resulted from using Depleted Uranium bullets in this building.

المراجع

1. United Nation Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, Ionizing radiation: Sources and biological effects, New York, UN 1998.
2. Eisenbid, M," Environmental radioactivity" 3rd Ed; Academic press Inc. 1987.
3. Clark, ramsy. "Ban Depleted Uranium weapons" Metal of Dishonor, International Action Center, New York, (1996.(

٤. السريع، احمد بن محمد و محمد ،عثمان محمد "الطرق العملية لإزالة التلوث الإشعاعي للسطوح والأفراد وأجهزة المختبرات " سلسلة من النشرات المتخصصة تصدرها اللجنة الدائمة للوقاية من الإشعاعات ،جامعة الملك سعود ١٩٩٩ ، الرياض ، السعودية.

٥. IAEA ، الأوضاع الإشعاعية في مناطق الكويت التي يوجد بها مخلفات يورانيوم مستنفذ ، تقرير أعده فريق خبراء دوليون ٢٠٠٣.

تأثير إضافة البنزل أدنتن ونفثالتن حامض الخليك في زيادة قطر وعدد درنات البطاطا المكثرة خارج الجسم الحي

حمزة عبد إبراهيم* و ليث عبد الكريم حاتم و شذى عايد يوسف و عطا الله إبراهيم علوان
و عبد الكريم رضا كاظم
دائرة البحوث الزراعية وتكنولوجيا الغذاء، وزارة العلوم والتكنولوجيا، ص.ب.٧٦٥ ، بغداد – العراق

* temmemy67@yahoo.com

المستخلص

درس تأثير إضافة كل من البنزل ادنين BA ونفثالين حامض الخليك NAA بالتراكيز صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر بالإضافة الى تأثير البنزل ادنين (صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر) وبوجود ٢ ملغم /لتر من النفثالين حامض الخليك الى الوسط الغذائي MS في عدد وقطر درنات صنفي البطاطا ديزري ودايمونت المكثرة خارج الجسم الحي في تجارب منفصلة. أظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بين الصنفين او التداخل بين الصنفين والتراكيز لجميع المعاملات المدروسة في عدد وقطر الدرنات، أما بالنسبة لتأثير تراكيز كل من البنزل ادنين والنفثالين حامض الخليك فبالرغم من كونها تفوقت معنويا على معاملة المحايد في عدد الدرنات إلا انه لم تكن الفروقات معنوية بينها، في حين كانت هناك اختلافات معنوية بين التراكيز في قطر الدرنات، اذ تفوق التركيز ٢ ملغم NAA /لتر (٦.٥ ملم) مقارنة بالتراكيز صفر و ١و ٣ ملغم/لتر والتي كان قطر الدرنات فيها ٠.٧٥ و ٣.١٥ و ٥.٤ ملم على التوالي. أما بالنسبة لتأثير إضافة البنزل ادنين في قطر الدرنات الدقيقة فقد ادى الى زيادة معنوية مقارنة بالمحايد. وعند دراسة تأثير إضافة البنزل ادنين وبوجود النفثالين حامض الخليك فقد تفوقت المعاملة ٢ ملغم بنزل أدنين /لتر معنويا على بقية المعاملات في قطر الدرنات وبلغ ١٠.٩ ملم.

المقدمة

ينتمي محصول البطاطا *Solanum tubersum* L. الى العائلة الباذنجانية Solanaceae والذي يعد من بين أهم أربعة محاصيل في العالم من حيث الأهمية الغذائية (١) كما يعد من اكثر المحاصيل استعمالا كونه من المحاصيل الاستراتيجية المهمة فقد توسعت المساحات المزروعة بالبطاطا في العراق من ٥٠٢٥ هكتار عام ١٩٨٢ إلى ٥٢٧٥٠ هكتار عام ٢٠٠٣ (2). يتم أنتاج تقاوي البطاطا عن طريق زراعة الدرنات الحاوية على البراعم في الترب الخفيفة وتعد هذه الطريقة من طرق الإكثار الخضري البطيئة نسبيا إضافة إلى كونها وسيلة فعالة لنقل الفيروسات من جيل لأخر مما يستدعي توفير تقاوي الأساس بصورة مستمرة ، لذا لجا الباحثون في العديد من دول العالم إلى استخدام تقنية الزراعة النسيجية لتامين الحصول على تقاوي الأساس والتي تمتاز بصغر حجمها مما يسهل عمليات خزنها المبرد ويقلل من تكاليفها (3) فضلا عن خلوها من الفيروسات حيث رافق استخدام هذه التقنية إجراء الفحوصات السيرولوجية للنباتات الناتجة للتأكد من خلوها من الإصابة مثل اختبار الاليزا (Elisa – Enzyme Linked Immunosorbent Assay للكشف عن الفيروسات في النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية (4) هناك بعض المشاكل التي تواجه العاملين في مجال إكثار درنات البطاطا بالزراعة النسيجية منها صغر حجم الدرنات المنتجة والتي تكون عرضة للجفاف والتلف أثناء خزنها وفشلها عند زراعتها وقلة أعدادها وقد يعزى السبب فيها للوسط الغذائي حيث يعتبر من أهم العوامل المؤثرة في حجم وأعداد الدرنات الناتجة بتقنية الزراعة النسيجية وبالخصوص منظمات النمو الداخلة في الوسط الزرعي والتي تعد الأهم في إنجاح زراعة الأنسجة ألا أن هناك تباين في نوع وتركيز منظمات النمو النباتية المستخدمة اعتمادا على نوع الجزء المزروع ودرجة تطوره والهدف من زراعته (5) .

وبالنظر المشاكل الناتجة من صغر حجم الدرنات أو قلة أعدادها وصعوبة خزنها ومن ثم زراعتها في الأرض فقد كان الهدف من هذا البحث زيادة قطر وأعداد الدرنات بإضافة نفثالين حامض الخليك (Naphthalene acetic acid) و البنزل ادنين (Benzyl adenine) وبثلاث تراكيز لكل منها على صنفين من أصناف البطاطا وهي دايمونت و ديزري.

المواد وطرائق العمل

نفذت هذه التجربة في مختبرات الزراعة النسيجية في أبو غريب لعام ٢٠٠٢ والتابعة لدائرة البحوث الزراعية في وزارة العلوم والتكنولوجيا .

الأجزاء النباتية:

استخدم في هذا البحث درنات البطاطا للأصناف دايمونت و ديزري المكسور طور السكون فيها والمحضنة بدرجة حرارة الغرفة(٢٥ مْ) في الظلام لتشجيع البراعم على النمو وبعد اسبوعين أخذت البراعم (6)، (شكل ١) وعقمت سطحيا باستخدام محلول هيبوكلورايت الصوديوم بتركيز ١%

وبإضافة بضع قطرات من المادة الناشرة (Tween-20) ولمدة ١٥ دقيقة وبعد الانتهاء من عملية التعقيم غسلت البراعم بالماء المقطر المعقم ثم أجريت عملية استئصال المرستيم القمي من قمم البراعم النامية بواسطة شفرات جراحية خاصة ودقيقة وتحت ظروف معقمة ثم زرعت على الوسط الغذائي المتكون من مجموعة أملاح موراشيك وسكوك اللاعضوية MS (7) مضاف إليه السكروز والفيتامينات ومنظمات النمو (جدول 1) وحضنت الزروعات في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٤ مْ وشدة إضاءة مقدارها ١٠٠٠ لوكس ولمدة ١٦ ساعة يوميا وبعد مرور ٤ أسابيع بدأت الزروعات بالنمو وتكوين مجموع خضري جيد وجرى إكثار هذه الزروعات وذلك بتقطيعها إلى قطع صغيرة تحتوي كل قطعة على عقدة واحدة على الأقل وتم أجراء الفحص السيرولوجي باستخدام تقنية الاليزا (8) وذلك للتأكد من خلو النباتات الناتجة من الإصابة بالفيروسات ونقلت الى وسط غذائي جديد يحتوي على نفس مكونات الوسط السابق وحضنت الزروعات تحت نفس الظروف السابقة ولمدة أربع أسابيع . وبعد وصول النموات إلى الحجم المناسب أخذت العقل وزرعت في قناني الزرع الخاصة بتكوين الدرنات وبواقع خمسة عقل لكل قنينة والتي تحتوي على الوسط الغذائي الخاص بتكوين الدرنات (جدول ١) مع إضافة منظمات النمو المراد دراستها ، وجرى تحضينها في غرف النمو على درجة حرارة ٢٠ مْ وشدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس ولمدة ٨ ساعات إضاءة يعقبها ١٦ ساعة ظلام يوميا ولمدة ١٠٠ يوم .

الأوساط الغذائية المستعملة:

استعمل الوسط الغذائي الخاص بتكوين الدرنات والمجهز بتراكيز عالية من السكروز بالإضافة الى مجموعة الأملاح اللاعضوية (جدول ٢) وجرى دراسة إضافة منظمات النمو الآتية وبالتراكيز المؤشرة إزائها على تكوين الدرنات (قطرها وعددها) في تجارب منفصلة وكما يلي :

١ – تجربة إضافة البنزل أدنين BA بالتراكيز وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر (جدول ٣).

٢ – تجربة إضافة نفثالين حامض الخليك NAA بالتراكيز وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر (جدول – ٢).

٣ – تجربة إضافة البنزل ادنين بالتراكيز وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم / لتر وبوجود ٢ ملغم نفثالين حامض الخليك /لتر (جدول ٦).

عقمت الأوساط الزرعية بواسطة جهاز التعقيم البخاري تحت ضغط ١,٠٤ كغ/سم^{٢} ودرجة حرارة ١٢١ مْ ولمدة 20 دقيقة.

التحليل الإحصائي.

أجريت تجربة عامليه باستخدام تصميم القطاعات لعشوائية الكاملة وبعاملين وهما الأصناف والتراكيز وبثلاث مكررات وكل مكرر يحوي على ٥ قنينة. حللت البيانات إحصائيا باستخدام اقل فرق معنوي LSD على مستوى معنوية ٥% للمقارنة بين متوسطات المعاملات (٩).

شكل ١. درنات البطاطا المحضنة في غرفة مظلمة لتشجيعها على تكوين البراعم الخضرية ونموها.

جدول ١. مكونات الوسط الغذائي المستخدم في زراعة المرستيم ألقمي وتكوين الدرنات الدقيقة

المادة	ملغم / لتر	
	زراعة المرستيم القمي	تكوين الدرنات الدقيقة
MSاملاح	قوة كاملة	قوة كاملة
Sucrose	٣٠٠٠٠	٨٠٠٠٠
Inositol	١٠٠	١٠٠
Thiamine-Hcl	٠.٤	٠.٤
Glycine	٢	٢
Nicotinic acid	٥	٢.٥
IAA	١	-
Agar	٩٠٠٠	٩٠٠٠

النتائج والمناقشة

بدأت عملية تكوين الدرنات الدقيقة بعد مرور شهرين من الزراعة واستمرت لمدة شهرين آخرين في الوسط الغذائي وكانت الدرنات بأحجام مختلفة وقد كان موقع نشؤها على نهايات الأفرع الطرفية او في المناطق القريبة من سطح الوسط الغذائي أو تكون هوائية وأحيانا في قمة الساق وهي ذات لون ابيض مسمر. أظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بين الصنفين (دايمونت وديزري) او التداخل بين الصنفين والتراكيز في عدد وقطر الدرنات الدقيقة ولجميع المعاملات المدروسة (جدول ٢ و٣ و٤ و٥ و٦ و٧). اما بالنسبة لتأثير التراكيز

فقد أشارت نتائج جدول ٢ إلى أن إضافة نفثالين حامض الخليك إلى الوسط الغذائي المستخدم لتنمية نباتات صنفي البطاطا دايمونت و دزري أدت إلى زيادة حجم الدرنات الدقيقة مقارنة بالمحايد حيث أعطى التركيز ٢ ملغم / لتر اكبر قطر لدرنات البطاطا بلغ ٦.٥ ملم مقارنة بقية التراكيز والتي بلغت ٠.٧٥ و ٣.١٥ و ٥.٤ ملم للتراكيز صفر و ١ و ٣ ملغم/لتر. وقد يعزى ذلك إلى أن زيادة تركيز الاوكسينات تعمل على زيادة المجموع الخضري للنباتات مما ينعكس ذلك إلى زيادة قطر الدرنات (١٠). أما عن تأثير إضافة البنزل أدنين فقد أظهرت نتائج الجدول (٣) إلا إن زيادة تراكيز البنزل أدنين أدت إلى زيادة في أقطار الدرنات مقارنة بالمحايد حيث أعطى التركيز ٣ ملغم / لتر أعلى معدل ، وقد يعود السبب في ذلك إلى الدور الذي تلعبه السايتوكينينات في انقسام الخلايا و تكوين البروتينات (١١،١٢). اما بالنسبة لعدد الدرنات الدقيقة فقد أظهرت النتائج (جدول ٤ و٥) أن إضافة البنزل ادنين أو النفثالين حامض الخليك أدى إلى زيادة في عدد الدرنات مقارنة بالمحايد ألا انه لم تكن هناك فروقات معنوية بين التراكيز المدروسة (١ و٢ و ٣ ملغم/لتر).

ولغرض دراسة تأثير التداخل بين إضافة البنزل أدنين و النفثالين حامض الخليك فقد استخدم التركيز ٢ ملغم / لتر من النفثالين حامض الخليك والذي اعتبر افضل التراكيز لإعطائه اكبر قطر للدرنات الدقيقة بالاعتماد على نتائج التجربة السابقة (جدول ٢) وتم إضافة تراكيز مختلفة من البنزل أدنين وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم / لتر، وقد أظهرت النتائج (جدول ٦) تفوق التركيز ٢ ملغم / لتر من BA في قطر الدرنات الدقيقة وبلغ ١٠.٩ ملم في حين بلغ قطر الدرنات ٠.٧ و ٦.١ و ٧.٩ ملم في التركيز صفر و ١ و ٣ ملغم/ لتر على التوالي مما يعني أهمية إضافة منظمي النمو معا في الأوساط الغذائية في زيادة قطر الدرنات مقارنة باستخدامها بصورة منفردة. أما بالنسبة لعدد الدرنات فقد أظهرت النتائج (جدول ٧) وجود زيادة معنوية في عدد الدرنات مقارنة بمعاملة المحايدة إلا انه لم تكن هناك اختلافات معنوية بين التركيز المستخدمة للبنزل أدنين.

الاستنتاجات

١. ضرورة إضافة البنزل أدنين والنفثالين حامض الخليك لزيادة قطر وعدد الدرنات مقارنة بالمحايدة.

٢. إضافة البنزل أدنين بالتركيز ٢ ملغم / لتر وبوجود ٢ ملغم / لتر من نفثالين حامض الخليك أدى إلى الحصول على اكبر قطر درنات دقيقة ويمكن اعتماد هذا التركيز في إنتاج الدرنات الدقيقة من البطاطا.

جدول ٢. تأثير تراكيز مختلفة من نفثالين حامض الخليك (NAA) في حجم الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

التراكيز (ملغم / لتر)	قطر الدرنات الدقيقة (ملم)		المعدل
	دايمونت	ديزري	
صفر	0.8	٠.٧	٠.٧٥
1	3.1	3.2	3.15
2	6.4	6.6	6.5
3	5.4	5.4	5.4
المعدل	3.925	3.975	
LSD 0.05	أصناف =غير معنوي، تراكيز =0.63، أصناف× تراكيز =غير معنوي		

جدول ٣. تأثير تراكيز مختلفة من البنزل أدنين (BA) في قطر الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

التراكيز (ملغم / لتر)	قطر الدرنات الدقيقة (ملم)		المعدل
	دايمونت	ديزري	
صفر	0.4	٠.٦	٠.٥
1	3.0	3.4	3.2
2	5.8	6.4	6.1
3	6.5	6.8	6.6
المعدل	3.93	4.3	
LSD 0.05	أصناف =غير معنوي، تراكيز =0.652، أصناف × تراكيز =غير معنوي		

جدول ٤. تأثير تراكيز مختلفة من نفثالين حامض الخليك (NAA) في عدد الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

التراكيز (ملغم / لتر)	عدد الدرنات الدقيقة		المعدل
	دايمونت	ديزري	
صفر	1.200	0.800	1.000
1	4.800	5.200	5.000
2	5.200	5.000	5.100
3	5.600	5.600	5.600
المعدل	4.200	4.150	
LSD 0.05	**غير معنوي= ، أصناف × تراكيز 0.261 =غير معنوي، تراكيز =أصناف**		

جدول ٥. تاثير تراكيز مختلفة من البنزل ادنين (BA) في عدد الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري .

التراكيز (ملغم / لتر)	عدد الدرنات الدقيقة		المعدل
	دايمونت	ديزري	
صفر	1.000	1.000	1.000
1	4.800	5.200	5.000
2	5.400	5.000	5.200
3	5.000	5.000	5.000
المعدل	4.050	4.050	
LSD 0.05	**غير معنوي=، أصناف× تراكيز 0.524غير معنوي، تراكيز= =أصناف**		

جـدول ٦. تـأثير تراكيـز مختلفـة مـن البنـزل أدنـين (BA) وبوجـود ٢ ملغم/لتـر مـن النفثـالين حامض الخليك (NAA) في قطرالدرنات (ملم) للصنفين دايمونت وديزري .

التراكيز (ملغم / لتر)	قطر الدرنات الدقيقة (ملم)		المعدل
	دايمونت	ديزري	
صفر	0.6	0.8	0.7
1	5.8	6.4	6.1
2	10.6	11.2	10.9
3	8.2	7.6	7.9
المعدل	6.3	6.5	
LSD 0.05	غير معنوي=، أصناف× تراكيز 0.637 =غير معنوي، تراكيز =أصناف		

جـدول ٧. تـأثير تراكيـز مختلفـة مـن البنـزل ادنـين (BA) وبوجـود ٢ ملغم/لتـر مـن النفثـالين حامض الخليك (NAA) في عدد الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

التراكيز (ملغم / لتر)	عدد الدرنات الدقيقة		المعدل
	دايمونت	ديزري	
صفر	1.5	1.6	1.55
1	3.3	3.2	3.25
2	2.9	2.9	2.9
3	2.9	3	2.95
المعدل	2.65	2.675	
LSD 0.05	غير معنوي= ٠.٥٢ ، أصناف × تراكيز =غير معنوي، تراكيز =أصناف		

Effect of Benzyl adenine and Naphthalene acetic acid in increasing dimeter and number of potato microtubers propagation in vitro

Hamza A. Ibraheem* , Laith A. Hatem , Shatha A. yousif , Attallah I . Alwan , Abdulkareem R. Kadhim

Genetic Engineering Center and Biotechnology, Ministry of Science and Technology, Iraq
*E-mail : temmemy67@yahoo.com

Abstract

The objective of this experiment was to study the effect of benzyl adenine BA and naphthalene acetic acid NAA at different concentrations 0,1, 2 and 3 mg / l as mellas to the effect of BA (0,1, 2 and 3 mg / L) and the presence of 2 mg / L NAA in the number and dimeter of the microtuber varieties of potato Desiree and Daimont cultivated in vitro. The results showed no significant differences between the two cultivars or interaction between the two cultivars and the concentrations of all treatments in the number and dimeter of the tubers. Although added each of BA and NAA increased significantly number of micro tubers compare with control treatment but there were no significant differences among the concentrations of each of BA and NAA, .While there were significant differences between the concentrations in the dimeter of the microtubers. The result showed that 2 mg NAA / liter gave maximum dimeter of microtuber (6.5 mm) compared to different concentrations zero and 1 and 3 mg / L which the size of micro tubers were 0.75, 3.15 and 5.4 mm respectively. Added BA increased significantly the dimeter of microtubers compare with control treatment. The effect of different concentration of BA and the presence of NAA significantly increased the dimeter of the microtubers and the best treatment was 2 mg BA/l compare with others.

المصادر

1. Solmon-Blackburn RM, Baker H (2001). Breeding resistance virus potatoes (Solanum tuberosum L.) a review of traditional and molecular approaches. Heridity, 86: 17-35.

٢. العربية المنظمة للتنمية الزراعية (٢٠٠٣) الكتاب السنوي للإحصاءات الزراعية العربية ٢٣:٥٣٥ ، الخرطوم – السودان .

3. Hussey , J . and Stacey, N. J . 1984 . Factors affecting theformation of in vitro tubers of potato (*Solanum tuberosum*) . Ann. Bot.,53:565-578.

4. Goth, R. W. and Wedd, R.E. 1984. Use of Elisa to detect potato leaf roll virus (PLRV) in potato tubers . phytopathology, 74:756.

5. EL-Hameed, M.K. 2001. Vegetative propagation of some date palm (*Phoenix dactylifera* L) cultivars through tissue culture technique . PH. D. Thesis , Collage of Agriculture Baghdad University – Baghdad-Iraq.

6. Novak, F . J., Horockava, V . and Maskova, I. 1980 . the Effect of growth regulators on meristem tip development and in vitro multiplication of solanum tuberosaum L. plants potato Research .

7. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 15:473-497.

8. Clark , M. F . and A.N . Adams . 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virolog, 34:* 475 483.

٩. الساهوكي، مدحت ووهيب، كريمة محمد. ١٩٩٠. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد، مطبعة دار الحكمة للطباعة والنشر، الموصل.

10. Edriss , M . H.; Badawym , S.; Fathi , T.M . EL-Barkouki . 1996 Propagation of potato using tissue culture Technique . ISHS Acta Horticulturae 434 :

١١. عبد العظيم كاظم ويونس ، مؤيد احمد . 1991. أساسيات فسيولوجيا النبات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد – العراق.

12. Yasmin S, Nasiruddin KM, Begum R, Talukder SK (2003). Regeneration and establishment of potato plantlets through callus formation with BAP and NAA. Asian J. Plant Sci. 2(12): 936-940

تأثير ماء زمزم ومستخلصات النبات في انبات ونمو بادرات الباميا *Hibiscus esculentus* وفي نمو فطر *Rhizoctonia solani*

وفاق امجد القيسي

قسم علوم الحياة، كلية التربية /ابن الهيثم ، جامعة بغداد

المستخلص

نفذت تجربة لدراسة تأثير ماء زمزم ومستخلصات اوراق نباتات القصعين *Salvia sclarea* واكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* والزعتر *Thymus vulgaris* بالتركيزين ١٠% و ٢٠% في انبات بذور ونمو بادرات نبات الباميا *Hibiscus esculentus* وتأثير هذه المستخلصات في نسبة الاصابة بمرض تعفن البذور المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solsni* والنمو السطحي له وتحليل هذه المستخلصات بتقنية جهاز الكروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC) للكشف عن بعض المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات. اظهرت النتائج بأن هناك اختلافات معنوية بين المعاملات وتأثيراتها في نسبة الانبات وسرعة الانبات ومؤشر الانبات وسرعة استطالة الجذير والرويشة، وقد انخفضت نسبة الاصابة في بذور الباميا بالفطر *R. solani* ونموه السطحي، وقد تم عزل وتشخيص المركبات الفعالة في هذه المستخلصات المذكورة اعلاه بتقنية (HPLC).

المقدمة

ان نبات الباميا *Hibiscus esculentus* من نباتات العائلة الخبازية Malvaceae (Mallow family) وهو نبات عشبي يحتوي كسائها السطحي على شعيرات نجمية وايضا يحتوي على عصير لزج واوراقها متبادلة بسيطة ذات تعرق كفي، الازهار احادية الجنس، والثمرة علبة عديدة البذور وهي من الخضراوات الغنية بالمواد الغذائية وتساعد في عملية الهضم وتحافظ على الرشاقة ويمكن استخدامها وهي خضراء او يتم تجفيفها واستخدامها في الطهي (٢،١).

يحمل ماء زمزم معاني دينية ويقع بئر زمزم على بعد ٢١ م من الكعبة المشرفة، ويعد من اعظم المياه المعدنية المستخدمة في العلاج والاستشفاء وهو حلو الطعم بالرغم من وجود العناصر العديدة فيه وهو لا يتأثر بالظروف المحيطة به ولا يتغير طعمه او لونه او رائحته ويمنع نشاط الجراثيم والبكتريا والفطريات، وهو ماء فريد ومتميز ولايشبه في بلوراته اي نوع من المياه بالعالم (٣).

اشارت البحوث الى ان ماء زمزم يحتوي على العناصر الضرورية للنبات كالكالسيوم والمغنسيوم والكلوريد والكبريت والحديد والمنغنيز والنحاس بالاضافة الى الصوديوم، ماء زمزم مفيد للجسم ويعالج كثير من الامراض ويمنع نمو الاحياء المجهرية المضرة (٤)، وقد عمل ماء زمزم لوحده او عند خلطه مع ماء الحنفية على زيادة نسبة انبات البذور و المجموع الخضري والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري لنبات القمح والفول البلدي بالاضافة الى زيادة نسبة التزهير للنباتات المعاملة (٥).

ان المستخلصات النباتية تستخدم كبديل للمبيدات الكيمياوية لمقاومة الامراض الفطرية والبكتيرية والفايروسية التي تصيب المحاصيل الحقلية وغيرها والتي تسبب خسائر للاقتصاد الوطني، ان نبات القصعين (الميرمية) *Salvia sclarea* (Sauge) من العائلة الشفوية Labiatae يوجد في منطقة البحر الابيض المتوسط ويزرع في الحدائق للزينة والاستفادة من زيته العطري ذو الرائحة العطرة التي تشبه رائحة الخازمي ويستخدم كغذاء للنحل وهو مدرر للبول منشط، طارد للريح،مضاد للتقلصات، يوقف النزيف، ويخفض نسبة السكر في الدم، مضاد لسرطانات الرئة والقولون والثدي، ويمنع سقوط الشعر، ويكافح الارق و الكآبة، يحسن الذاكرة، يؤخر بوادر الشيخوخة وهو مضاد للالتهابات الجرثومية (٨،٧،٦)، ان نبات اكليل الجبل (الروزماري) *Rosmarinus officinalis* من العائلة الشفوية Labiatae وهو نبات شبه شجيري صغير دائم الخضرة وله رائحة عطرية تشبه الكافور ولها مذاق مر، ان اكليل الجبل او حصا البان تحتوي اوراقه على الزيت الطيار بمقدار ٢% بالاضافة الى المواد عضوية كالكافور، وهو منعش ومقوي لجريان الدم في الجلد، كما ان اوراقه المجففة لها مفعول مهديء،مدرر للبول، منشط للمعدة، مضاد للتقلص ومطهر وهو علاج ناجح ضد التجاعيد واضطرابات القلب ويستخدم في صناعة العطور (٩،٨،٧).

ان الزعتر *Thymus vulgaris* من العائلة الشفوية Labiatae وهو نبات عشبي له رائحة عطرية لاحتوائه على زيت طيار مع مادة الثايمول المطهرة (١)، ان

للزعتر فوائد عديدة فهو مطهر ومضاد للتقلص وطارد للريح ويستخدم في علاج امراض الجهاز الهضمي ولطرد الديدان المعوية ومعالجة الامراض الجرثومية ويفيد في تسكين الآم الصدر والاسهال والحيض (٧،٦)، ان الجزء الفعال من الزعتر هو الاوراق والازهار وتحتوي اوراقه على ٢% زيوت طيارة ومواد راتنجية ودباغية وصمغية ويحتوي زيته على Corvacol بنسبة مقدارها ٤٠% و Ama-terpinine بنسبة مقدارها ٢٦.٥% و P-cymene بنسبة ١٦.٣% و Thymol بنسبة ١٣% كما اثبتت الدراسات انه مضاد للفطريات ويعمل على خفض الاصابة بها (١٠،١١).

ان الفطر *Rhizoctonia solani* من الفطريات الناقصة Deutromycetes من رتبة عقيمة الغزل الفطري Mycelia sterilia ويتكون من غزل فطري مقسم وحيد النوى، يكون اجساما حجرية Sclerotia تبقى في التربة للمحافظة على الفطر في الظروف غير الملائمة (١٢)، يعد الفطر *R. solani* من الفطريات الواسعة الانتشار ولها عدد كبير من العوائل النباتية، يعيش بصورة رمية ويتطفل عند وجود العائل الملائم مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة نتيجة للاعراض المرضية التي يظهرها على النبات مثل تعفن البذور وتحللها Seed decay وتسقيط البادرات Damping off وقرحة السيقان Stem canker وتعفن الجذور Root rot (١٣).

تهدف الدراسة الحالية الى معرفة تأثير ماء زمزم وهذه المستخلصات انبات بذور نبات الباميا ونمو بادراته وفي نسبة الاصابة بالفطر *R. solani* وتأثيرها في النمو السطحي له والتعرف على بعض المركبات الفعالة في المستخلصات بتقنية (HPLC).

المواد وطرائق البحث

اولاً: حضرت التراكيز ١٠% و٢٠% من مستخلصات اوراق نبات القصعين واكليل الجبل والزعتر بطريقة استخدام المستخلص الخام (Crude extract) (١٤)، تم الحصول على الاوراق النباتية من احدى مجمعات الاعشاب في سوريا للنبات الاول والثاني اما بالنسبة للزعتر فقد تم الحصول عليه من د. عذبة ناهي وقد جلب من جبل كارا في شمال العراق، وقد نقعت بذور الباميا في التركيزين اعلاه لمدة ساعتين وبثلاث مكررات لكل تركيز ولكل معاملة مع تنقيع البذور في الماء المقطر كمعاملة سيطرة وماء زمزم لمعرفة تأثيره في البذور، نقلت البذور بعدها الى اطباق بتري معقمة وضع فيها اوراق ترشيح مبللة بالماء المقطر المعقم ، وضع في كل طبق عشرة بذور بثلاث مكررات لكل تركيز ولكل معاملة على حدة فضلاً عن معاملة السيطرة حضنت الاطباق في درجة حرارة ٢ ± ٢٥ ° م لمدة ٨ ايام وتم دراسة الصفات التالية:

١. نسبة الانبات = عدد البذور النابتة × ١٠٠

العدد الكلي للبذور

اخذت القراءة في اليوم الثالث للانبات

٢. سرعة الانبات = عدد البذور النابتة × ١٠٠

عدد الايام منذ بداية الانبات

اخذت القراءة في اليوم الرابع للانبات (١٥)

٣. مؤشر تحفيز الانبات Promoter indicator وتم حسابه وفق المعادلة الاتية (١٦):

نسبة البذور النابتة في اليوم الثاني × ١+ نسبة البذور النابتة في اليوم الرابع × ٠.٧٥ + نسبة البذور النابتة في اليوم السادس × ٠.٥ + نسبة البذور النابتة في اليوم الثامن × ٠.٢٥.

٤- تم قياس سرعة الاستطالة للجذير او الرويشة بحساب الطول التي تنمو فيه البادرات في اليوم الواحد (ملم/ يوم) وحسب المعادلة الاتية (١٧):

سرعة الاستطالة = طول البادرات في العد الاول × طول البادرات في العد الثاني × طول البادرات في العد الثالث

عدد الايام الى العد الاول عدد الايام الى العد الثاني عدد الايام الى العد الثالث

ثانياً: دراسة تاثير ماء زمزم ومستخلصات الاوراق النباتية قيد الدراسة بالتركيزين المذكورة اعلاه في نسبة الاصابة في بذور الباميا بالفطر *Rhizoctonia solani*، وقد تم الحصول على عزلة الفطر من كلية العلوم /جامعة بغداد. نقعت البذور في التراكيز المحضرة لمدة ساعتين ثم نقلت الى اطبلق بتري معقمة حاوية على اوراق ترشيح مبللة بالماء المقطر المعقم ثم وضعت فيها عشرة بذور ووضع في وسط الطبق جزء من الفطر المزروع على وسط البطاطا دكستروز (PDA) وبقطر ١ مل ثم حضنت الاطباق عند (٢٨-٣٠) ° م وتم تسجيل عدد البذور المصابة بالفطر المذكور في كل معاملة ولكل تركيز لمدة سبعة ايام وللمقارنة نقعت بذور في الماء المقطر لوحده كمعاملة سيطرة .

ثالثاً: دراسة نسبة الاصابة بالفطر في وسط التربة: زرعت بذور الباميا في اصص بلاستيكية (بقطر ١٥ سم وعمق ٢٠ سم) وبمعدل عشرة بذور في كل اصيص، وضعت البذور التي تم تنقيعها لمدة ساعتين بالمعاملات التالية:

- بذور نقعت في الماء المقطر (السيطرة)
بذور نقعت في ماء زمزم
- بذور نقعت في مستخلص اوراق القصعين بالتركيزين ١٠% و٢٠% كل على حدة
- بذور نقعت في مستخلص اوراق اكليل الجبل بالتركيزين المذكورين اعلاه

– بذور نقعت في مستخلص اوراق الزعتر بالتركيزين المذكورين اعلاه

وضعت البذور على سطح التربة ونشر بينها خمسة اقراص بقطر (٦) ملم مأخوذة من مزرعة للفطر *R. solani* على وسط PDA بعمر سبعة ايام بعدها غطيت اقراص اللقاح (Inoculum) بطبقة من التربة سمكها (١) سم ثم سقيت بالماء وتركت لمعرفة نسبة الاصابة بالفطر.

رابعاً: دراسة تاثير ماء زمزم ومستخلصات الاوراق النباتية قيد الدراسة بالتراكيز نفسها في النمو السطحي للفطر *R. solani* واستخدام وسط PDA لتنمية الفطر وحضر الوسط الغذائي وبثلاث مكررات للمعاملات الاتية:

وسط غذائي PDA لوحده (سيطرة).

وسط غذائي PDA مضافاً اليه ١ مل من ماء زمزم.

وسط PDA مضافاً اليه ١ مل من مستخلص اوراق القصعين وبالتركيزين ١٠% و٢٠% كلا على حدة.

وسط PDA مضافاً اليه ١ مل من مستخلص اوراق اكليل الجبل بالتركيزين اعلاه.

وسط PDA الغذائي مضافاً اليه ١ مل من مستخلص اوراق الزعتر بالتركيزين اعلاه.

عقمت الاوساط الغذائية بجهاز التعقيم بالبخار Autoclave لمدة ١٥ دقيقة. اضيفت اليها المستخلصات النباتية بعد تعقيمها بواسطة الترشيح بمرشحات خاصة Millipore filter (١٨) لكي لا تتحلل بالحرارة او تتغير طبيعتها وقد اضيفت المستخلصات الى الاطباق بعد صبها ثم تركت لتتصلب ثم نقل اليها الفطر بعد صبها وتصلب الوسط وبقطر (١) مل بعد ان تم تنميته على وسط PDA الغذائي لمدة ثمانية ايام، حضنت الاطباق في حاضنة بدرجة حرارة (٢٨–٣٠) °م، تم قياس النمو السطحي بالمسطرة (سم) كل ٤٨ ساعة لكل معاملة ولكل تركيز كلاً على انفراد ولثلاث مكررات.

خامساً: الكشف عن المركبات الفعالة في اوراق القصعين واكليل الجبل والزعتر بأستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة High Performance Liquid Chromatography (HPLC) تم الكشف عن المركبات الفعالة في اوراق نباتات القصعين واكليل الجبل والزعتر بأستخدام جهاز (HPLC) نوع LC–20A من شركة Scimadzu (اليابان)، تتكون من مضختين نوع LC–20A وكاشف الاشعة الفوق بنفسجية المرئية SPO–20A بالطول الموجي ٢٢٥ نانوميتر أستخدام عمود الفصل السريع الذي يتكون من جزيئات LC–18BS من (٣) µm ونصف قطر العمود (٢) mm حيث يعطي فصل سريع وبكفاءة عالية لكون المساحة السطحية عالية جدا وكان حجم المحقون (Loop) ٥٠ مايكروميتر ومعدل الجريان (Flow rate) ٠.٧ ملليتر/دقيقة اما الطور المتحرك (Mobile phase) كان Glacial acetic acid %0.1 مذاب في Phosphate buffer (A) و Acetonitrile solvent (B) في درجة حرارة ٢٥ °م.

تم تعيين زمن الاحتجاز (Retention time) للمركبات المفصولة ومقارنتها مع زمن الاحتجاز للمركبات القياسية وتم حساب تركيز المواد الفعالة التي تحتويها اوراق النباتات قيد الدراسة من خلال استعمال القانون التالي (١٩).

تركيز المادة الفعالة في الاوراق = مساحة حزمة المادة الفعالة × تركيز المادة القياسية

(مايكروغرام/مل) مساحة حزمة المادة القياسية

حللت النتائج احصائياً وتم حساب اقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى دلالة ٠.٠٥.

النتائج والمناقشة

يشير جدول ١ الى ان هناك اختلافات معنوية بين المعاملات في نسبة الانبات وسرعة الانبات ومؤشر تحفيز الانبات وقد انخفضت القيم للصفات الفسيولوجية المذكورة في جميع المعاملات ما عدا معاملة ماء زمزم فقد ازدادت بمقدار ٢٣.٦%، ٢٣.٥%،٧١.٧% مقارنة مع السيطرة على التوالي، اما اكثر المعاملات انخفاضاً فقد كانت معاملتي الزعتر فقد انخفضتا بمقدار ٢٥.٥%، ٣١.٣%، ٢٨.٢%، ٣٨.٢%، ٥٨.٤% للصفات الفسيولوجية الثلاثة على التوالي.

اما بالنسبة للتداخل فقد كان معنوياً وكانت اعلى قيمة في نسبة الانبات وسرعة الانبات ومؤشر تحفيز الانبات في معاملة ماء زمزم واقل قيمة كانت لمستخلص الزعتر ٢٠%،ان ماء زمزم يحتوي على العناصر الضرورية للنبات كالكالسيوم، المغنسيوم، الكلوريد، الكبريت، الحديد، المنغنيز والنحاس بالاضافة للصوديوم (٤)، ان هذه العناصر ربما ساعدت في زيادة نسبة الانبات وسرعة الانبات ومؤشر تحفيز الانبات لبذور نبات الباميا .

اما بالنسبة للمستخلصات النباتية فهي تحتوي على مركبات عضوية وزيوت طيارة بنسبة ٢% بالنسبة لاكليل الجبل و ٢.٥% بالنسبة للزعتر ربما عملت هذه المركبات على خفض نسبة الانبات وسرعة الانبات مؤشر تحفيز الانبات للبذور المعاملة بهذه المستخلصات مقارنة مع نباتات السيطرة (٨،٦).

اما بالنسبة لسرعة استطالة الرويشة والجذير فيشير الجدول (١) بان ماء زمزم قد عمل على زيادة سرعة استطالة الرويشة والجذير بصورة معنوية مقارنة مع نباتات السيطرة بزيادة مقدارها ٤١% و ٥٦% على التوالي، اما المستخلصات النباتية اما لم تؤثر معنوياً في هذين الصفتين او قد انخفضت كما في حالة معاملتي الزعتر وبنسبة مقدارها ١٤% و١٥% لمعاملة ١٠% ونسبة مقدارها ١٧.٨%و ١٥% لمعاملة ٢٠% على التوالي. ان ماء زمزم عمل زيادة نمو الجذير والرويشة لانه عمل على زيادة المجموع الخضري والوزن الطري والجاف لنبات القمح والفول البلدي (٥).

اما بالنسبة لجدول (٢) فأن النسبة المئوية لاصابة البذور بالتعفن بالفطر *R. solani* انخفضت في جميع المعاملات مقارنة مع البذور في معاملة السيطرة فقد انخفضت عند المعاملة بماء زمزم في ظروف المختبر (اطباق بتري) بنسبة ٥٩% وفي ظروف التربة (الاصص) ٢٥%، ربما وفر ماء زمزم ظروف مناسبة للبذور

لمقاومة الاصابة بفطر *R. solani* لما يحتويه الماء من عناصر غذائية ضرورية كالكالسيوم والمغنسيوم وغيرها بالاضافة الى توفير ظروف مناسبة للهروب من مرض التعفن.

اما بالنسبة للمستخلصات فقد عملت على خفض نسبة الاصابة بالتعفن الذي يحدث نتيجة لمهاجمة الغزل الفطري للفطر *R. solani* بصورة معنوية، فقد انخفضت نسبة الاصابة عند معاملة البذور بمستخلص القصعين بالتركيزين ١٠% و٢٠% في ظروف المختبر بنسبة مقدارها ٥٠% و ١٨.٥% وفي ظروف التربة ٥٢% و٥٤.٥% على التوالي، اما بالنسبة لمستخلص اوراق اكليل الجبل فقد انخفضت الاصابة بالتركيزين في ظروف المختبر بنسبة مقدارها ٦٦.٦% و٤٣% وفي ظروف التربة ٣٤% و٣٧.٥% على التوالي، وعند دراسة مستخلص الزعتر فقد انخفضت الاصابة بالتركيزين في ظروف المختبر بنسبة مقدارها ٦٤% و٧٧.٥% وفي ظروف التربة ٦٦% و٧٧% على التوالي، ان المستخلصات الثلاثة بالتركيزين كانت مؤثرة لانها مضادة للالتهابات الجرثومية وذات تأثير مطهر (٢٠،٧،٦) ان هذه المستخلصات ربما تعمل على منع نمو الغزل الفطري ومهاجمته للبذور ومنع اصابتها بالتعفن وايضاً قد تعيق دخول الفطر للبذور وذلك بمنع تكون وسائد الاصابة Infection cushion التي تمتد بين الكيوتكل وجدار البشرة لتدخل بين الخلايا لتسبب الاصابة (٢١).

اما بالنسبة لجدول ٣ فأن اضافة ماء زمزم ومستخلصات الاوراق للقصعين واكليل الجبل و الزعتر الى الوسط الغذائي (PDA) لتنمية الفطر *R. solani* قد اثر بصورة معنوية في نمو الفطر السطحي خلال فترة ثمانية ايام وحصل تثبيط للنمو في ماء زمزم مقارنة مع اطباق السيطرة وكذلك المستخلصات النباتية في التركيزين ١٠% و٢٠%، وقد كان اكثر المستخلصات تأثيراً هو الزعتر لما يمتلكه من قدرة على منع نمو الاحياء المجهرية والطفيليات (٢٢،٢٣). ان هذه المستخلصات عملت على تثبيط نمو الفطر في الوسط الغذائي ومهاجمته للبذور بعد شروعها بالانبات ومنع تعفنها.

يلاحظ من الجداول (٤،٥،٦) وجود بعض المركبات الفعالة التي يتم الكشف عنها في مستخلصات الاوراق النباتية للقصعين واكليل الجبل والزعتر بتقنية (HPLC)، ويظهر ايضاً وجود بعض المركبات الصابونينية (Saponin) في اوراق نبات القصعين والزعتر وربما ان هذه المركبات هي التي وفرت الحماية للبذور وعملت على وقايتها من التعفن بالفطر *R. solani* ، كما اشارت البحوث فان الزعتر يحتوي على المركبات الاساسية مثل Thymol وCarvacol وغيرها من المركبات التي تجعله فعالاً في منع نمو الكثير من البكتريا الموجبة والسالبة لملون غرام وكذلك الطفيليات كأميبا الزحار وغيرها (٢٢). كما ان وجود كثير من المركبات مثل Cineole وBroneol وحوامض وكافور جعلت اوراق اكليل الجبل ذات تأثير مطهر (١٩،٢٤). وان هناك ايضاً مركبات Salvene وCineole اعطت لاوراق نبات القصعين القدرة على منع نمو الفطر وتثبيط اصابة البذور بالتعفن (٨).

نستنتج مما سبق بأن ماء زمزم عمل على زيادة نسبة الانبات وسرعته ومؤشر تحفيز الانبات كما عمل ماء زمزم ومستخلصات اوراق القصعين واكليل الجبل والزعتر عملوا على خفض الاصابة بالفطر *R. solani* في بذور الباميا كما قاموا بتثبيط النمو السطحي له.

جدول ١. تأثير ماء زمزم ومستخلص اوراق القصعين واكليل الجبل والزعتر في انبات ونمو بادرات نبات الباميا.

المعاملات	نسبة الانبات %	سرعة الانبات	مؤشر تحفيز الانبات	سرعة استطالة الرويشة (ملم)	سرعة استطالة الجذير (ملم)
السيطرة	٧٦.٠	٢.٢١	١٢٧.٤	١٠	٥.٠
ماء زمزم	٩٤.٠	٢.٦٢	٢١٨.٨	١٤.١	٧.٨
القصعين ١٠%	٧٢.٠	٢.١٢	١٢٠.٨	١٢.٠	٥.٥
القصعين ٢٠%	٧١.٥	١.٣٨	١١٣.٥	١٠.٥	٣.٣
اكليل الجبل ١٠%	٧٤.٠	٢.١٥	١٠٤.٩	١١.٥	٣.٧
اكليل الجبل ٢٠%	٥٣.٠	١.٦٢	٩٩.٠	١١.٠	٣.٩
الزعتر ١٠%	٥٢.٠	١.٣٨	٩٦.٣	٨.٠	٣.٨
الزعتر ٢٠%	٤٦.٥	١.١٢	٧٨.٨	٧.٥	٢.٩
LSD عند مستوى ٠.٠٥					
للمعاملات	٤.٥٨	٠.٤١	٥.٧٨	٢.٧٤	٠.٦٠
للتراكيز	٤.٥٨	٠.٤١	٥.٧٨	٢.٧٤	٠.٦٠
للتداخل	٨.٢١	٠.٨٣	١١.٣٠	٥.٣٢	١.٢١

جدول ٢. تأثير ماء زمزم ومستخلص اوراق القصعين واكليل الجبل والزعتر في النسبة المئوية في ظروف المختبر وظروف التربة*R. solsni.* لاصابة بذور الباميا بالتعفن بالفطر

المعاملات	نسبة الاصابة % في المختبر	نسبة الاصابة % في التربة
السيطرة	٧٨	٨٨
ماء زمزم	٣٢	٦٠
القصعين ١٠%	٣٩	٤٢
القصعين ٢٠%	٣٦.٥	٤٠
اكليل الجبل ١٠%	٢٦	٥٨
اكليل الجبل ٢٠%	٤٤.٥	٥٥
الزعتر ١٠%	٢٨	٣٠
الزعتر ٢٠%	١٧.٥	٢٠
LSD عند مستوى ٠.٠٥	٢٥.٢	٢٢.٨

جدول ٣. تأثير ماء زمزم ومستخلص اوراق القصعين واكليل الجبل والزعتر في النمو السطحي للفطر *R. solani*.

المعاملات / مدة الحضن بالايام	قطر النمو السطحي للفطر (سم)							
	السيطرة	ماء زمزم	القصعين %10	القصعين %20	اكليل الجبل %10	اكليل الجبل %20	الزعتر %10	الزعتر %20
2	3.8	3.0	2.3	2.1	2.0	2.5	2.0	2.1
4	4.5	3.6	3.1	3.0	3.1	2.9	2.4	2.2
6	8.2	4.1	3.3	3.2	3.6	3.4	2.4	2.3
8	9.0	4.6	3.5	3.5	3.6	3.5	2.6	2.2
LSD عند مستوى 0.05								
للمعاملات 0.098 للتراكيز 0.098 للتداخل 0.190								
للتداخل المعاملات × التراكيز = 0.168								
المعاملات × الايام = 0.189								
التراكيز × الايام = 0.193								
المعاملات × التراكيز × الايام = 0.350								

جدول ٤. بعض المركبات الفعالة في مستخلص اوراق نبات القصعين *Salvia sclarea*.

اسم المركب	زمن الاحتجاز	المساحة	التركيز µg/ml
α- pnine	١.٤٠	١١٣٣٣	١٤٤.٤٨
Thujone	٢.٤	١٨١٨٣	١٢.٦٦
salvene	٣.٣	١١٨٠٦	٢٣٣.٥
1.8- cineole	٤.٠٦	٨٤٠٨	١٠٥.٥
Camphene	٥.٤٩	٣٢٠٩	١٠٠١.٤
β-caryophellene	٦.٩	٩٣٦٨	٥١.٢١٤
Viridiforol	٧.٧٤	١٠٧٧١	٨٢.١٨٣
وهناك ايضا بعض المركبات الصابونينية (Saponin)			
Estrogen dike	١.٩٣	٢٤٠٧٧	٩٠.٦٨
Picrosalvin	٢.٤	٢٩١٩٤	٧١.٦٤

Carnosol	٣.٤	٣٤٨٦٧	١٨٦.٠٤
Hispidulin	٣.٩	٤٠٠١٣	١٤١.٢٩
Luteolin	٤.٥	١١٥٢٢	١٣٨.٧٢

جـدول ٥. بعـض المركبـات الفعالـة فـي مسـتخلص اوراق اكليـل الجبـل *Rosmarinus officinals*.

اسم المركب	زمن الاحتجاز	المساحة	التركيز µm/ml
α- pnine	١.٤	١٧٥٦٩	٢٧١.٧٨
Camphene	٢.٤	١٤٣٧٧	١٠٨.٩٥
Myrcene	٢٣٧٦٣	٣.٣	٩٩.٥٥
1.8- cineole	٢٢٤٩٠	٤.٣	٩٩.٠١
Broneol	١٧٩١٨	٥.٤	١٦٤.٥٢
Camphor	٢٧٣٠٤	٦.١	٤١.٨٥
Verbenol	١٩٢٨٤	٧.٠	٤٠.٨٠

جدول ٦. المركبات الفعالة في مستخلص اوراق نبات الزعتر *Thymus vulgaris*.

اسم المركب	زمن الاحتجاز	المساحة	التركيز µm/ml
α- pnine	١.٤	١٩٠٩٠	٢٥٠.١٣
Cymol	٢.٥	١٠٦٨٧	٢٥٤.١٢
Carvacrol	٣.٤	٧٩٩٨	٣٦٤.٠٦
Linolool	٤.٢	٧٩٦٢	٣٩٧.٧٠
Boreol	٥.٠٤	٨٤٢٦	٣٨٥.٨
Thymol	٥.٨	٧٥٧٩	٣٤٩.٩

Apigenin	٦.٩	٢٠٤١٣	٧٠.٠٧
هناك ايضاً بعض المركبات الصابونينية (Saponin) في مستخلص الاوراق			
Meothyl erythritol	١.٨٧	١٥.٠٨٧	١٥٠.١٥
5-β-histone	٢.٨	١٦٤١١	١٨٥.٤٩
6-β-histone	٣.٧	٢٧.٩٠٥	١٤٤.٤٤
7-β-histone	٤.٦	٢٤٠٦٨	١٤٦.٠١
Tritrpen	٦.٨	١٢٦٨٢	٣٣٦.٧
Tannin	٧.٢	١٧٨٢٤	٢٣١.٢٢
Gallic acid	٧.٨	١٠١٦٤	٣٧٣.٨٦

Effect of Zamzam Water and Plant Extracts on Germination and Seedling Growth of *Hibiscus esculentus* and growth of *Rhizoctonia solani*

Wafik A. Al-Kaisi

Department of Biology, College of Education/ Ibn AL-Haitham, University of Baghdad

Abstract:

Research was conducted to study the effect of Zamzam water and leaves extract of *Salvia sclarea*, *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* with 10% and 20% concentration on germination of seeds and growth of seedling of *Hibiscus esculentus*. The effect of treatments on infection percentage seed decay, and surface growth of *Rhizoctonia solani* and analysis of the extracts using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) were studied. The results showed that all treatments effected significantly in percentage of seeds germination, acceleration of germination, promoter indicator, speed elongation of radical and plumule, the infection percentage of seeds decay and surface growth of *R. solani* was reduced. The research was conducted to detect the active compounds in extract of plants using (HPLC).

المصادر

١. الكاتب، يوسف منصور (١٩٨٨). تصنيف النباتات البذرية. الطبعة الاولى، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

2. Townsend, C. C,; Guest, E. and Al-Rawi, A. 1968. Flora of Iraq V. Published by the Ministry of Agriculture of the Republic of Iraq.

٣. الهواري، نهاد (٢٠٠٨). ندوة علمية عن ابحاث الماء بتقنية الناتو في كلية دار الحكمة. جريدة الجزيرة السعودية.

4. World Health Organization (2007). The chemical analysis of Zamzem water.(Islam web) 1-3 p.

5. Mutwally, H. M. A; Omer, M. A. and Bedaiwy, M. (2008).Effect of water types on some growth parameters of wheat and broad bean plants Al Baha KSA environmental condition. Basic Sc. Dept., Fac of Community. Al Baha Univ. KSA.

٦. قنيبس، اكرم جميل (٢٠٠٧). مستشار الانسان في الغذاء والدواء، معجم طب الاعشاب والتغذية. دار البشائر للطباعة. دمشق سوريا:٤٦٦ صفحة.

٧. قبيسي، حسان (٢٠٠٤). معجم الاعشاب والنباتات الطبية، دار الكتب العلمية، بيروت، لبنان: ٣٦٢ صفحة.

٨. الحاج، محسن (٢٠٠٠). طب الاعشاب، تراث وعلم. دار صبح للطباعة والنشر، الطبعة الاولى، بيروت، لبنان: ٣٤٠ صفحة.

9. Ashrafi, S. J.; Rastegar, M.F. and Saremi, H. (2010). Rosemary wilting disease and its management by soil solarization technique in Iran. African Journal of Biotechnology, vol. 9(42):7048-7057.

10. Baser, K. H. C. (2000). Aromatic biodiversity among the flowering Plant Taxa of Turkey. Journal of Herbs Spices and Medicinal plants, 10:49-61.

11. Centeno, S.; Calvo, M. A.; Adelantado and Figueroq, S. (2010). Antifungal activity of extracts of *Rosmarins officinalis* and *Thymus vulgaris* against *Aspergillus flavus* and *A. ochraceus*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 13 (9): 452-455.

١٢. علي، بتول زينل؛ حبيب، خالد عبد الرزاق وتوفيق، محمد محسن (٢٠٠٦). علم الفطريات الطبعة الاولى. مطبعة جامعة بغداد.

13. Batman, D. F. (1970). Pathogensis and disease in *Rhizoctonia solani*, Biology and Pathology (J. R. Parmenter Jroed) pp 161-172. University of California Press Berkeley. Los Angeles and London.

14. Harborne, J. B. (1973). Phytochemical methods. London. Chapman and Hall, Ltd., 49-188.

١٥. القيسي، وفاق امجد ولمياء مصطفى امين (٢٠٠٦). دراسة فسيولوجية لبادرات البازلاء واللوبيا المعاملة بمنظمات النو النباتية. مجلة ديالى ٢٢: ٣٩-١٠٤.

16. Bouslamo, M. and Schupangh, W. T. (1984). Shress torlenqncein soybean. I. Evalution of three screening techniques for heat and drought tolerance. Crop Sci. 24: 933-937.

١٧. احمد، رياض عبد اللطيف (١٩٨٧). الماء في حياة النبات. جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي: ٣٠٨ صفحة.

18. Millipore, C. (1967). Techniques for microbiological analysis Bulletin No. ADM 40. Millipore Crop. Bedoford, Mass.

19. Chen, B. H.; Vhuany, J. R.; Lin, H. H. and Chin, C.P. (1993). Quantification of provitamin compounds in Chinese vegetables by High Performance Liquid Chromatography. J. Food Prot., 56(1): 51-54.

20. El- Kady, I. A.; El- Maraghy, S. S. and Mostafa, E. A. (1993). Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices. Qatar Univ. Sci., 13(1):63-69.

21. Christou, T. (1962). Penetration and host parasite retationships of Rhizoctonia solani in the bean plant. Phytopathology. 52: 381-389.

22. Marina, S.; Jelena, V.; Petar, M. and Dejan, B. (2009). Chemical compostion of essenitial oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. Journal and Publication information. Vol. 14(issel): 238-249.

23. Santaro, J. F.; Das Gracas Cardoso, M.; Salgado, A. P. and Soares, M. J. (2007). Effect of Oregano (*Oreganum vulgare* L.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential oils on (*Thypanosoma cruzi*) Protozoa kinetoplastidea Growth and Ultrastructure. Parasitol. Res., 100: 783-790.

٢٤. فردیناند بارس و بول سوبنرغ (٢٠٠٤).معجم النباتات الطبية. ترجمة ميشيل خوري. الطبعة الاولى، سوريا، دمشق. ورد للطباعة والنشر:١٤٥ صفحة.

دراسة متعدد السكريد المحفظي المستخلص من بكتريا *Klebsiella planticola* على بعض وظائف الخلايا PMNs

اسامة باسم عبد الخالق الصفار

كلية مدينة العلم الجامعة – قسم علوم الحياة

الكاظمية – بغداد – العراق

O2004B2005@yahoo.com

المستخلص

اخذت ٤ عزلات من *K. Planticola* من المراكز البحثية، تم اعادة تشخيص البكتريا اعتماداً على الخصائص الزرعية والكيميائية الحيوية، اختيرت العزلة Kp4 لاستعمالها في بقية التجارب اللاحقة وذلك لكفاءتها في إنتاج حامض الكالكتويورونك Galacturonic acid وبتركيز (٢٩) مايكروغرام/مل كدليل الإنتاج الفائض من متعدد السكريد المحفظي ، وإعطائها صفات تشخيصية كيميائية حيوية نموذجية وثبات هذه الصفات طيلة فترة البحث. تم استخلاص وتنقية متعدد السكريد المحفظي Capsular Polysaccharides CPS باستخدم وسط (Brain heart Infusion broth) مضاف اليه الخميرة وسكر المالتوز لغرض الإنتاج، تم استخلاص CPS باستخدام (Cetavlon) وتنقيته بالكحولات ،وقدر تركيزه بعد تنقيته اذ بلغ (167) مايكروغرام/مل. شمل تأثير مستضد متعدد السكريد المحفظي المنقى CPS بالتراكيز (50,20,10,5) مايكروغرام/مـل المعزولة من بكتريا (Kp4) *K. planticola* على الاستجابة المناعية لتحقيق ذلك أجريت الاختبارات المناعية آلاتية على خلايا الدم المحيطي للإنسان في الزجاج (in vitro): قابلية النمو (Viability) للخلايا البلعمية متعددة اشكال النوى (PMNs)، وبلعمة (Phagocytosis) خميرة *Candida albicans* وهجرة (Migration) الخلايا متعددة اشكال النوى تحت الاكاروز أمكن الحصول على النتائج آلاتية: أدت تراكيز CPS (50,20) مايكروغرام/مل إلى انخفاض في كل من النسبة المئوية قابلية النمو الخلايا (PMNs) ومعامل البلعمة وكان هذا التأثير معنويا بمستوى ($p<0.05$) مقارنة مع معاملة السيطرة، أما التركيز (٥٠) مايكروغرام/مل فقد استطاع ان يثبط هجرة الخلايا (PMNs). أدت تراكيز CPS (10,5) مايكروغرام/مل إلى زيادة معامل البلعمة معنويا بمستوى ($p<0.05$) مقارنة مع معاملة السيطرة.

المقدمة

عرفت بكتريا *Klebsiella* بإنها ممرضات رئوية وتعد بكتريا *Klebsiella* من العصيات السالبه لملون غرام تنتمي الى العائلة المعوية وهي من الفلورا الطبيعية الوقتية (Transient) الموجودة على جسم الإنسان وفضلا عن معيشتها الرميه في البلعوم الانفي (Nasopharynx) والقناة المعوية فهي تمثل أحد أنواع الممرضات الأنتهازيه (Opportunistic) والتي تعزل من مختلف النماذج المرضية ومن المسببات الشائعة لأخماج المستشفيات (Nosocomial Infection) (9). تمتلك بكتريا *Klebsiella planticola* عدد من عوامل الفوعة التي تشترك بامراضيتها وتتضمن مستضدات المحفظة وعوامل الالتصاق المتمثلة بالأهداب، وانتاج الذيفانات الداخلية مثل متعدد السكريد الشحمي (24).

تتصف بكتريا *K. Planticola* بامتلاكها محفظة سميكة يبلغ سمكها ١٦٠ نانوميتر مؤلفة من معقد لسكريات متعددة حامضية لاحتوائها على حامض الكالكتويورونك (Galacturonic acid) والذي يؤدي دورا مهما في تثبيت التركيب الغشائية للبكتريا (11).

يشكل متعدد السكريد المحفظي معظم الطبقة الخارجية لبكتريا *K. Planticola* ويلعب دورا رئيسيا في مقاومة هذه البكتريا لعملية البلعمة بوساطة الخلايا العدله متعددة اشكال النوى Polymorphonuclear cells (25). وهو معقد ثابت بالحرارة heat stable يشكل حاجزا فيزيائيا يحمي البكتريا من الجفاف ويؤثر في قابلية التوصيل الحراري للغشاء الخلوي (12).

نظرا لأن متعدد السكريد المحفظي Capsular polysaccharides (CPS) لهذه البكتريا غير سام لذلك فقد أجريت بحوث حول معرفة دوره المؤثر ضد الأورام (antitumor) لانه يزيد من الفعاليه ضد الورمية للخلايا القاتله خارج الجسم الحي وداخله (13).

يهدف البحث الى اختيار عزله كفوءة من بكتريا *Klebsiella planticola* ذات أنتاجيه عالية من متعدد السكريد المحفظي.استخلاص وتنقية متعدد السكريد المحفظي وتحضير تراكيز مختلفة منه لاستخدامها في الدراسة. ملاحظة التأثيرالمناعي من التراكيز المختلفة من متعدد السكريد المحفظي المنقى خارج الجسم الحي (*in vitro*) على بعض وظائف الخلايا البلعمية متعددة أشكال النوى.

المواد وطرائق العمل

الصفات المظهرية:

تم الحصول على ٤ عزلات جاهزة ومشخصة من قبل المراكز البحثية في جامعة النهرين وجامعة بغداد. ولتاكد تم اعادة الاختبارت التشخيصية حيث زرعت العينات على الأوساط الزرعية أكار الدم Blood Agar و أكار الماكونكي MacConky Agar ثم حضنت بحرارة (٣٧)° م لمدة (٢٤) ساعة للحصول على المستعمرات ، نقلت ونقيت المستعمرات وتمَّ

تنقيتها إلى مستعمرات منفردة وشخصت حسب الطرائق المعتمدة من قبل Macfaddin (١٨).

التصبيغ بملون غرام Gram stain:

أخذت مسحة من مستعمرة بكتيرية منفردة بوساطة الناقل المعقم ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة وثبتت المسحة وصبغت بملون غرام وبعد جفاف الشريحة فحصت مجهريا لملاحظة طبيعة تصبيغ الخلايا البكتيرية وشكلها وتجمعاتها.

الاختبارات الكيميائية الحيوية

Biochemical Tests:

أجريت الفحوصات الكيمائية الحيوية التالية للتأكد من جنس البكتريا ونوعها وفقا لطريقة Collee *et al.*, (1996) وباستخدام الاختبارات التالية:

- Indole Test
- MR-VP Test
- Simmon Citrate
- Urease Test
- Triple Sugar Iron Agar
- Malonate
- Catalase Test
- Oxidase Test

التحري عن وجود المحفظة باستعمال التصبيغ السالب Negative staining:

اتبعت طريقة المسحة الرطبة بوضع قطرة من الحبر الهندي على شريحة زجاجية نظيفة ونقلت مستعمرة فتية بعمر (١٨ – ٢٤) ساعة ومزجت مع الحبر مزجا جيدا ثم وضع غطاء الشريحة وسحبت لتكوين مسحة وبعثرة تكتلات الخلايا . فحصت بالعدسة الزيتية ، دل وجود الهالة الشفافة غير المصبغة بالحبر على وجود المحفظة (6) .

التحري عن متعدد السكريد المحفظي كمياً

أجريت الطريقة حسب ما جاء في Bitter and Muir (1962). حيث نميت العزلات في وسط Tryptic Soya broth. وطردت مركزيا وأضيف إلى الراسب PBS واجريت عملية الطرد المركزي مرة اخرى وأضيف إلى الراسب PBS وطردت مركزياً. وأخذ ١ مل من الراشح واضيف حامض الكبريتيك المركز اليه وبعد حمام مغلي لمدة ٥ دقائق. برد المزيج وأضيف إليه مادة Carbazole إذ تحول لون المزيج الى الوردي، يترك المزيج ساعتين. ثم قرأت الامتصاصية على طول موجي (٥٣٠) نانوميتر.حضر في الوقت نفسه منحنى قياسي باستعمال حامض الكالكتويورونك Galacturonic acid بتراكيز (٦٠، ٥٠، ٤٠، ٣٠، ٢٠، ١٠) مايكروغرام/مل، ويمثل الشكل (١) المنحنى القياسي لتقدير تركيز الحامض واعتمد في حساب تراكيز حامض الكالكتويورونك للعزلات المنتجة من خلال المنحنى القياسي.

اختيار العزلة الكفوءة المنتجة لمتعدد السكريد المحفظي: أجريت الطريقة وفقا لما جاء في Cryz *et al.*, (1985) حيث نميت العزلة الكفوءة في وسط إنتاج متعدد السكريد المحفظي بإضافة الخميرة و سكر المالتوز Maltose إلى وسط Brain heart infusion (BHI) السائل وبعدها نقل المزروع البكتيري إلى دورق وحضن

الدورق بالحاضنة الهزازة. نقل المزروع إلى أنابيب طرد مركزي وأزيلت الخلايا وجمع الراسب وحفظ بحرارة (- ٢٠)° م لحين استعماله. جمع الراشح وعقم بالترشيح، أضيف السيتافلون إلى الراشح، ثم ترك المزيج في دورق على جهاز Magnetic Starrier. أعيدت عملية الطرد المركزي، ثم جمع الراسب وأذيب بمحلول $CaCl_2$. أضيف الكحول الاثيلي إلى المحلول السابق. وترك على Magnetic Starrier لكي يتم فصل الأحماض النووية الموجودة مع العالق. رسبت الأحماض النووية بالكحول بوساطة الطرد المركزي. رسب متعدد السكريد المحفظي بزيادة تركيز الكحول الاثيلي ثم طرد مركزيا. جمع الراسب وأذيب بالماء المقطر المعقم تمت التنقية باستعمال قمع الفصل لثلاث مرات وبحجم مساوٍ من محلول الفصل جمعت الأطوار المائية وأجريت لها عملية الفرز الغشائي Dialysis . ورسب متعدد السكريد المحفظي النقي باستعمال الايثانول وجمع الراسب بالطرد المركزي. أجريت عملية الفرز الغشائي مرة أخرى وعقم متعدد السكريد المحفظي النقي Purified CPS بمرشحات وحفظ في أنابيب معقمة بالمجمدة (-٢٠)°م.

عزل الخلايا البلعمية متعددة اشكل النواة:

عزل الخلايا البلعمية متعددة أشكال النوى Polymorphonuclear cells (PMNs) من الدم المحيطي للانسان بعد سحب الدم منه. وعزلت خلايا (PMNs) تبعا لطريقة Cech and Lehrer (1984)، بعدها مزجت محتويات الأنبوبة بلطف ووضعت في الحاضنة لمدة (٤٥) دقيقة. البكتيرية من المزروع بالطرد المركزي

لوحظ تكون طبقتين السفلى تحوي خلايا الدم الحمر والعليا تحوي البلازما الغنية بخلايا الدم البيض ، نقلت إلى إنبوبة أخرى معقمة وغسلت الخلايا بمحلول هانكس HBSS لعدة مرات.علقت الخلايا بالوسط الزرعي النسيجي RPMI – 1640 . وحسبت الخلايا اعتماداً على طريقة Hudson and Hay (١٥)، باستخدام صبغة التريبان الزرقاء وساطة شريحة عدّ خلايا الدم Haemocytometer تحت المجهر الضوئي اذ عدت الخلايا المصبوغة ميتة أما الخلايا التي لم تأخذ الصبغة فهي على الاغلب خلايا حيّة .

تأثيرمتعدد السكريد المحفظي المنقى على قابلية النموالخلايا البلعمية متعددة أشكال النوى (PMNs).

اتبعت طريقة Nonoyama *et al.,* (1979) حيث حضر عالق الخلايا البيض متعددة أشكال النوى (PMNs) في وسط RPMI – 1640. حضرت تراكيز نهائية من متعدد السكريد المحفظي CPS المنقى هي (٥، ١٠، ٢٠، ٥٠، ١٠٠) مايكروغرام / مل في الوسط RPMI – 1640 في أنابيب بلاستيكية معقمة. أضيف ٠.٥ مل عالق الخلايا (PMNs) من كل تركيز من تراكيز CPS في أنابيب معقمة مع ترك إنبوبة بالتركيز صفر لكل من المستضدين كمعاملة سيطرة. حضنت الأنابيب لمدة ساعة واحدة. ثم حسبت (٢٠٠) خلية لأستخراج النسبة المئوية قابلية النمو الخلايا بإستعمال صبغة التريبان الزرقاء باعتبار الخلايا المصبوغة ميتة

وباستخدام القانون الآتي (١٩):

عدد الخلايا الحية

النسبة المئوية لقابلية النمو الخلايا البلعمية= ---------- × ١٠٠

العدد الكلي

تأثير متعدد السكريد المحفظي المنقى على عملية بلعمة خميرة المبيضة البيضاء *Candida albicans* .

اعتمدت طريقة Cech and Lehrer (1984) حيث حضر عالق الخلايا البلعمية متعددة اشكال النوى (PMNs)، كما حضر عالق الخميرة بتركيز (٨×١٠^{٦}) خلية/ مل. وحضرت تراكيز من متعدد السكريد المحفظي CPS المنقى (٥، ١٠، ٢٠ ،٥٠)مايكروغرام/مل. وحضرت إنبوبتا سيطرة بتركيز صفر، وأضيف عالق PMNs والخميرة بنسبة (٤:١) على التوالي. واضيف (٠.٢٥ مل) مصل الدم ووضعت في حمام مائي هزاز للفترات الزمنية (٣٠، ٦٠، ٩٠، ١٢٠) دقيقة. بانتهاء كل فترة زمنية حضرت مسحات من كل تركيز على شرائح زجاجية نظيفة. تركت لتجف ثم ثبتت بالكحول المثيلي وصبغت بصبغة Giemsa ،

فحصت بالعدسة الزيتية وعُدَّت (٢٠٠) خلية لحساب معامل البلعمة Phagocytic Index (PI) وكالاتي 5)

عدد الخلايا البلعمية الملتهمة

معامل البلعمة PI = ---------- × ١٠٠

عدد الخلايا الكلي

تأثير متعدد السكريد المحفظي المنقى على هجرة الخلايا البلعمية (PMNs) تحت الاكاروز:

أجريت على وفق ما جاء في Nonoyama *et al.,* (1979) حضر متعدد السكريد المحفظي CPS المنقى بالتراكيز (٥، ١٠، ٢٠، ٥٠) مايكروغرام/مل في وسط RPMI – 1640 ثم أضيفت محتويات الأنبوبة إلى وسط الهجرة في أطباق. أضيف محلول PBS إلى وسط الهجرة واعتبر سيطرة سالبة. أضيف ١ مل من (Phytohemagglutinin PHA) بتركيز (١٠) مايكروغرام/مل إلى وسط الهجرة واعتبر سيطرة موجبة. بردت الأطباق بحرارة (٤)^{o} م ، ثم ثقبت طبقة الاكاروز وضع عالق الخلايا PMNs في كل حفرة معمولة في أطباق السيطرة السالبة والموجبة ، حضنت في غاز CO_2 لمدة (24) ساعة.

بعد انتهاء مدة الحضن ثبتت الخلايا باستعمال الكحول المثيلي ثم أزيلت طبقة الاكاروز وأهملت. صبغت الأطباق بصبغة Giemsa لمدة (٢٠) دقيقة. فحصت الأطباق تحت المجهر الضوئي، لحساب المسافة التي تحركتها الخلايا .

قدَّر قطر دائرة الهجرة ثم استخرج عامل تثبيط الهجرة Migration Inhibition Factor (MIF) وفقا لطريقة (Federlin *et al*,.1971) وحسب القانون الاتي (١٠) :

$$\text{عامل تثبيط الهجرة (MIF)} = \frac{\text{قطر دائرة الهجرة (ملم) في معاملة الاختبار}}{\text{قطر دائرة الهجرة (ملم) في معاملة السيطرة}}$$

التحليل الإحصائي .

حللت النتائج إحصائيا باستخدام اختبار تحليل التباين باتجاه واحد Anova one way كما أستخدم اقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) للبحث عن وجود الفروق المعنوية بين المعاملات المختلفة وعلى مستوى معنوية (٠.٠٥) وثبتت النتائج بشكل (المعدل الحسابي + الانحراف المعياري).

النتائج والمناقشة

الصفات الزرعية والفحص المجهري:

أظهرت نتائج المبينة في جدول ١ الزرع ان مستعمرات بكتريا *Klebsiella planticola* استطاعت النمو على وسط الماكونكي وخمرت سكر اللاكتوز فيه وأعطت مستعمرات ورديه براقة ذات قوام مخاطي وهي صفة مميزة لهذه البكتريا ، اما مستعمراتها على وسط أكار الدم فكانت شفافة لماعة غير محللة لكريات الدم الحمراء (16)، أوضحت نتائج الفحص ألمجهري للشرائح ألمحضره من تلك المستعمرات وباستخدام التصبيغ بطريقة غرام أنها عصيات قصيرة سالبة لملون غرام اتخذت هيئة مفردة أو مزدوجة أو بشكل سلاسل قصيرة ، (14) .

التشخيص الكيميائي الحيوي

أشارت النتائج المبينة في الجدول (٢) إلى الفحوصات الكيميائية الحيوية والتي اعتمدت لتاكيد نوع العزلة *K. planticola* وفقا لما جاء في (٢٠) .

التحري عن وجود المحفظة Capsule

أظهرت النتائج أن جميع العزلات قد امتلكت المحفظة بعد ان تم التحري عن وجود المحفظة باستعمال طريقة التصبيغ السالب Negative staining، ويوضح الشكل (٢) مسحة لأحدى هذه العزلات مصبوغة بطريقة التصبيغ السالب باستعمال الحبر الهندي إذ تلاحظ المحفظة بشكل هالة شفافة تحيط ببقية جسم الخلية البكتيرية في حين تظهر الأرضية سوداء معتمة (6).

التحري عن متعدد السكريد المحفظي كمياً.

بالرغم من ان طريقة التصبيغ السالب أثبتت امتلاك جميع العزلات محفظة ألا انه كان لابد من التحري عن متعدد السكريد المحفظي كميا لاختيار أكفأ العزلات

بالإنتاج، لذا فقد أجريت طريقة قياس كمية حامض الكالكتويورونك Galacturonic acid العزلة المختارة قيد الدراسة

اختيار العزلة الكفوءة في انتاج متعدد السكريد المحفظي:

تم اختيار العزلة Kp4 من بكتريا *K. planticola* جدول (٣) وذلك من خلال صفات نموذجية في الفحوصات الكيميائيه الحيوية التي أجريت لها وإثناء اختبارها عن كفاءتها في أنتاج حامض الكالكتويورونك واحتوائها على محفظة كبيرة الحجم وثبات صفاتها الزرعية طيلة فترة البحث.

استخلاص وتنقية متعدد السكريد المحفظي Capsular polysaccharides (CPS):

وجد ان وسط BHI مع خلاصة الخميرة وسكر المالتوز كان وسط ملائم لانتاج CPS. كما يعد استخدام Cetavlon ضرورياً في عملية فصل متعدد السكريد المحفظي. في حين ان الأحماض النووية الموجودة تتم إزالتها بترسيبها بكحول ethanol. جمع متعدد السكريد المحفظي CPS بمعاملته ethanol ثم تمَّ التخلص من بقايا البروتينات من خلال فصلها بمذيبات عضوية هي مزيج من كلوروفورم – بيوتانول (٥:١) على التوالي .أثبتت هذه الطريقة كفاءتها بالحصول على متعدد السكريد المحفظي النقي Purified CPS وتمَّ التأكد نوعياً من وجوده بإجراء اختبار مولش Molish test (٢١).

ومقارنتها مع المنحني القياسي لتراكيز محضرة من هذا الحامض (11).

ان تركيز متعدد متعدد السكريد المحفظي المنقى Purified CPS تم تقديره باستعمال طريقة الفينول– حامض الكبريتيك المركز Dubois *et al.,* (1956) من خلال رسم العلاقة بين تراكيز الكلوكوز القياسي والامتصاصية على طول موجي ٤٩٠ نانوميتر إذ وجد ان تركيز متعدد السكريد المحفظي المنقى الذي تمَّ الحصول عليه بلغ 167 مغم/مل.

تأثير متعدد السكريد المحفظي CPS المنقى على قابلية نمو الخلايا البلعمية متعددة أشكال النوى (PMNs).

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد معاملة الخلايا البلعمية متعددة أشكال بالتراكيز (٥،١٠،٢٠،٥٠،١٠٠) مغم/مل من متعدد السكريد المحفظي CPS ولمدة ساعة واحدة، الجدول (٤) إن التراكيز (٥،١٠) مايكروغرام/مل من متعدد السكريد المحفظي لم تكن ذات تأثيرا معنويا في قابلية النمو للخلايا البلعمية (PMN) بمستوى ($p<0.05$) في الوقت الذي كان للتراكيز ٢٠، ٥٠، ١٠٠ مغم/مل تأثيرا معنويا في قابليتها على النمو بمستوى ($p<0.05$) حيث انخفضت النسبة المئوية قابلية النمو هذه الخلايا مقارنة مع معاملة السيطرة وكذلك الحال عند استخدام التركيز ١٠٠ مايكروغرام/مل إذ انخفضت النسبة المئوية قابلية النمو الخلايا البلعمية من 96.8 في معاملة السيطرة إلى (83.6) عند التركيز ١٠٠ مايكروغرام/مل على التوالي، كما يلاحظ من الجدول انه لا توجد فروق معنوية بمستوى ($p<0.05$) بالنسبة

المئوية قابلية النمو الخلايا (PMNs) بين التركيزين ٥٠ و ٢٠ مغم/مل.

تأثير متعدد السكريد المحفظي CPS المنقى على عملية التهام الخميرة المنقى: *Candida albicans*

بينت النتائج الموضحة في جدول ٥ تاثير CPS المنقى على عملية التهام الخميرة كما في شكل ٣ ان معدلات معامل البلعمة (Phagocytic Index PI) لخلايا PMNs المعاملة بالتراكيز (50, 20, 10, 5) مايكروغرام/مل من مستضد متعدد السكريد المحفظي لفترات زمنية مختلفة مقارنة بالسيطرة.إذ يلاحظ من الجدول ان معامل البلعمة يزداد مع زيادة الزمن تدريجياً بشكل معنوي حتى وصل أقصاه عند ٩٠ دقيقة ثم عاد لينخفض خلال ١٢٠ دقيقة ولجميع التراكيز المستعملة ومن ذلك يلاحظ أن هناك علاقة وثيقة بين عامل الوقت ومعامل البلعمة وان كفاءة الخلايا للالتهام تزداد بمرور الوقت ،فيما تبدأ بعد الدقيقة ٩٠ بفقدان قدرتها على الالتهام ، وقد برر ذلك Lock *et al.*, (1990) إلى زيادة تركيز الانزيمات الحالة والمواد السامة التي تنتج من قبل الخلايا نفسها نتيجة هذه العملية. وبينت ان هناك انخفاض معنوي على مستوى ($p<0.05$) بزيادة التركيز ولجميع الأوقات المستخدمة بالتجربة كما لوحظ عدم وجود فرق معنوي بمستوى ($p<0.05$) بين التركيزين (10,5) مايكروغرام/مل في الزمن (٩٠،١٢٠) دقيقة. ان عملية البلعمة تتم بواسطة الخلايا الوحيدة النواة في الدم التي تتحول الى خلايا البلعم الكبير عند وصولها الى الانسجة وتقوم بعملية البلعمة، ويمكن قياس فاعلية هذه الخلايا ونشاطها من خلال عملية الالتهام وقابليتها على التخلص من الجراثيم والأجسام الغريبة الداخلة للجسم بما يعرف بعملية البلعمة Phagocytosis (1). يوفر متعدد السكريد المحفظي للبكتريا حاجزا فيزيائيا ضد عملية البلعمة antiphagocytic barrier يعترض عملية ارتباط مكونات العامل المتمم مع مستلماتها على الخلايا البلعمية (2).

تأثير متعدد السكريد المحفظي CPS على هجرة الخلايا البلعمية متعددة أشكال النوى (PMNs).

اشارت النتائج في جدول (٦) الى تأثير متعدد السكريد المحفظي المنقى على هجرة الخلايا البلعمية (PMNs) وعامل تثبيط الهجرة Migration Inhibition Factor (MIF) حيث بينت ان التراكيز (٢٠،١٠،٥) مايكروغرام/مل من متعدد السكريد المحفظي المنقى أدت إلى زيادة في قطردائرة الهجرة عندما بلغت (16.87,17.6,18.5)ملم على التوالي وتعد هذه الزيادة معنوية بمستوى ($p<0.05$) للتركيز (٥) مايكروغرام/مل مقارنة مع معاملتي السيطرة السالبة والموجبة (PHA) في حين ان الزيادة للتركيزين (20,10) مايكروغرام/مل غير معنوية بمستوى ($p<0.05$) مقارنة مع معاملة السيطرة السالبة وأدى التركيز (٥٠)مايكروغرام/مل إلى انخفاض معنوي بمستوى ($p<0.05$) في قطر دائرة الهجرة مقارنة مع معاملة السيطرة، وسجلت

المعاملة بمادة (Phytohemagglutinn (PHA حيث بلغت ٨.١٢ ملم. وعند مقارنة قيم القياسية المعتمدة والواردة في (Bures *et al.*, 1986) والتي هي كالأتي:

قيمMIF من 0.8–1.2: هجرة طبيعية.

قيمMIF من1.2– ٢: تحفيز الهجرة.

قيم MIF من صفر– ٠.٨: تثبيط للهجرة.

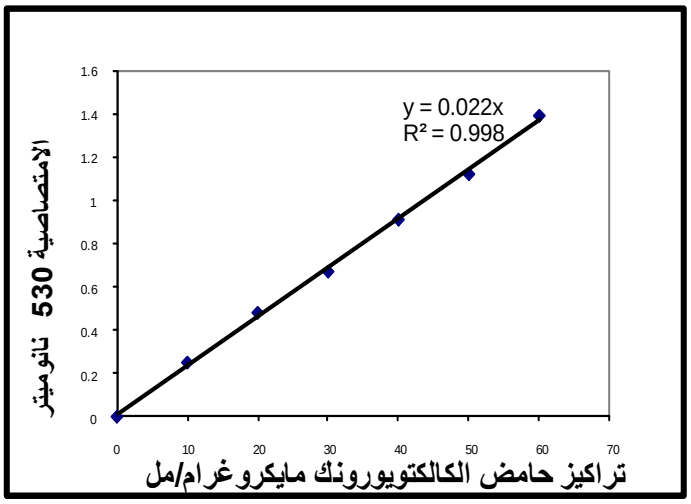
بينت النتائج ان جميع تراكيز متعدد السكريد المحفظي كانت ضمن الحدود الطبيعية للهجرة عدا التركيز (٥٠) مغم\مل ومعاملة السيطرة الموجبة (PHA) فأنهما وقعا ضمن القيم المثبطة للهجرة. يتضح ان كل من التركيز (50) مايكروغرام/مل من متعدد السكريد المحفظي المنقى أدى إلى هجرة الخلايا (PMNs) هجرة عشوائية مقارنة بمعاملة السيطرة الموجبة.أن عملية تثبيط هجرة الخلايا البلعمية (PMNs) داخل الجسم الحي تتم بمساعدة الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة (Th) لان إفراز عامل تثبيط الهجرة (MIF) من قبل الخلايا (T–cell) يؤدي إلى تثبيط هجرة الخلايا البلعمية عن موقع حـــدوث الالتهاب(22).

اقل قيمة (PHA) التي تم الحصول عليها مع القيم (MIF)

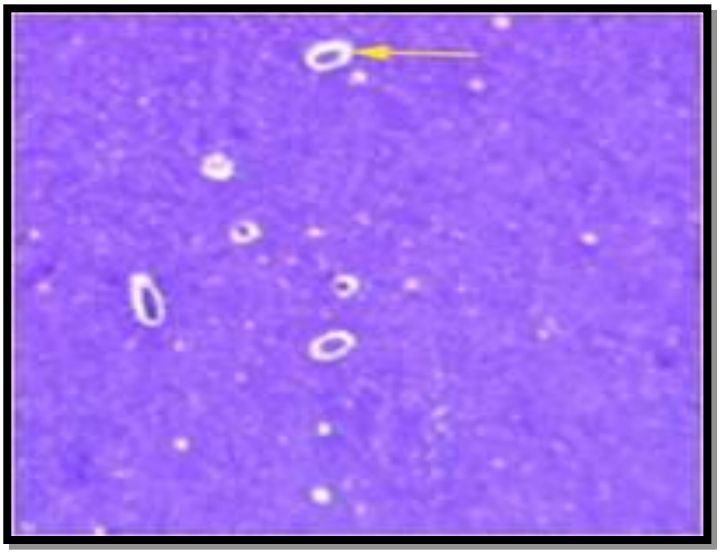
ويعد عامل التنخر الورمي Tumor Necrosis Factor TNF)) هو المسؤول عن تثبيط هجرة خلايا الدم العدلة تحت الاكاروز بدليل ان الأضداد المحضرة ضد هذا العامل هي الوحيدة القادرة على معادلة إزالة فعالية ثبيط الهجرة (٢٣).

الاستنتاجات

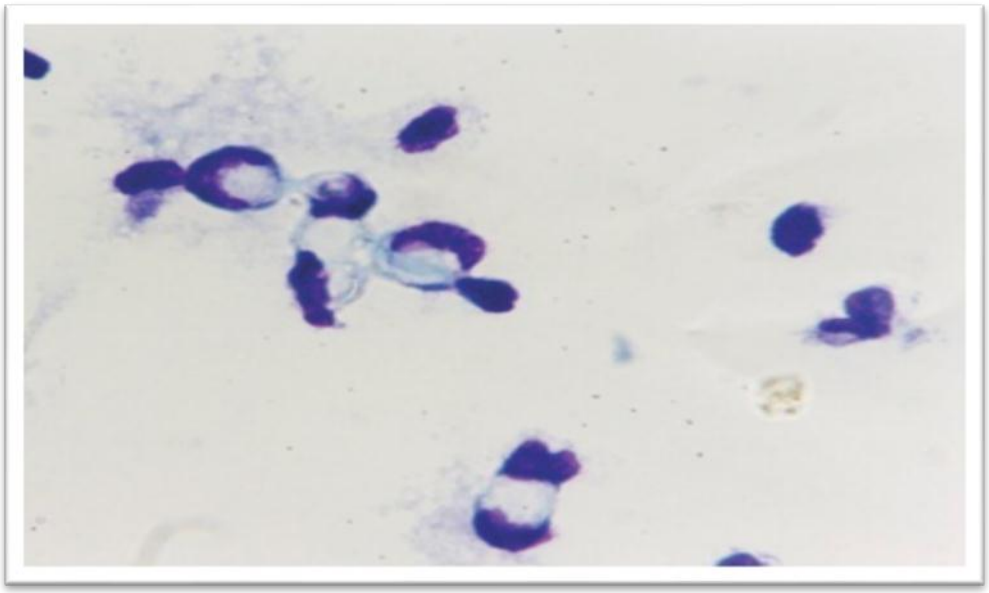
أظهرت عزلات بكتريا *Klebsiella Planticola* وامتلاكها جميع العزلات محفظه capsule. أدى استخدام التراكيز المختلفة من مستضدي CPS المنقى في هذه الدراسة الى تحفيز الاستجابة المناعية اللانوعية من خلال زيادة وظائف وفعاليات الخلايا المناعية المستخدمة واعتمد مدى التحفيز على تركيز هذه المستضدات لذا فمن الممكن الاستفادة من هذه المستضدات كمعدلات مناعية (Immunomodulators).



شكل ١. المنحنى القياسي لتقدير تركيز حامض الكالكتويورونك الموجود في متعدد السكريد المحفظي.



شكل ٢. مسحة لبكتريا K. planticola توضح المحفظة Capsule.



شكل ٣. خلايا (PMNs) الملتهمة لخلايا خميرة *C. albicans*.

جدول (1) : الصفات المظهرية لبكتريا *K. planticola* المعزولة في الدراسة

Isolates	MacConky agar	Blood Agar	Morphology
K. planticola	Pink colony mucoid	White colony	Bacilli

جدول 2: الصفات الكيميائية الحيوية لأنواع بكتريا *K. planticola* المعزولة في الدراسة.

K. planticola	الاختبار
-	Oxidase
+	Catalase
-	Indole
+	Methy Red
+	Vogas-Proskawer
+	Simmon Citrate
+	Urease
+	Malonate
A/A+ gas no H2S	TSI

جدول ٣. تراكيز حامض الكالكتويورونك الموجود في متعدد السكريد المحفظي لعزلات بكتريا *K. planticola*

رقم العزلة	تركيز Galacturonc acid(مايكروغرام /مل)
Kp1	**25**
Kp2	**18**
Kp3	**27**
Kp4	**29**

جدول ٤. النسبة المئوية لقابلية النمو الخلايا البلعمية متعددة النوى (PMNs) باستخدام تراكيز مختلفة من متعدد السكريد المحفظي CPS المنقى.

تركيزCPS)((مايكروغرام/مل)	النسبة المئوية لقابلية النمو الخلايا البلعمية متعددة النوى (المعدل ±الانحراف المعياري)
صفر (سيطرة)	٠.١٠ ± ٩٦.٨a
٥	٠.٤٠ ± ٩٦.١a
١٠	٠.٧٠ ± ٩٥.٨ a
٢٠	٠.٨١ ± ٩٢.٣ b
٥٠	٠.٨٣ ± ٩١.٦ b
١٠٠	٤.٠٠ ± ٨٣.٦c

الأحرف الإنكليزية المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$) (مقارنة بين المعاملات المختلفة).

جدول ٥. تأثير مستضد CPS على بلعمة خميرة *C. albicans*

تركيز (CPS) (مايكروغرام/مل)	معامل البلعمة (PI) %			
	وقت التعرض			
	٣٠	٦٠	٩٠	١٢٠
صفر(سيطرة)	١.٢٩ ± ٦٣.٦٨ A	٧٤.٢٠ ٢.٣٥± A	٠.٦٤± ٧٧.٩٦ A	١.٢٤± ٧٦.٣٣ a
٥	١.٤٦± ٦٤.٥٧ A	٧٣.٤٤ ١.٨٢± A	٢.٦٦± ٨٥.٧٧ B	٢.٢١± ٨٣.٤٥ b
10	٠.٩٩± ٦٠.٣٠ A	٧٥.٧٥ ١.٩٩± B	١.٥٨± ٨٦.٢٢ B	١.١٤±٨٤.٦ b
20	٠.٥٢± ٥٤.٤٥ B	٦٧.٩٣ ١.٤٣± C	٢.٥٣± ٧٣.٧١ C	١.٣٦± ٧٢.٨ C
50	٢.٣٦± ٥٣.٢٥ B	٦٤.٦١ ٢.٤١± D	١.٥± ٦٦.٦٨ D	١.٥± ٦٥.٤٢ D

الأحرف الإنكليزية المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (p<0.05)/(مقارنة بين المعاملات المختلفة لكل عمود)، ،(المعدل ±الانحراف المعياري)

جدول ٦. تأثير متعدد السكريد المحفظي المنقى على هجرة الخلايا البلعمية (PMNs) تحت الاكاروز.

تركيز (CPS) مغم/مل	قطر منطقة الهجرة (ملم)	عامل تثبيط الهجرة (MIF)
صفر(سيطرة سالبة)	١.٣٤ ± ١٧.٦٨a	1
٥	٠.٥٣ ± ٢٠.٥٠b	1.102
١٠	٠.٤٢ ± ١٨.١٧ab	1.053
٢٠	٠.٦٢ ± ١٧.٩٧a	1.019
٥٠	٠.٦٦ ± ١١.٥٦c	0.775
PHA(سيطرة موجبة)	٠.٤٢ ± ٨.١٢d	0.464

الأحرف الإنكليزية المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (p<0.05) / (المقارنة بين المعاملات المختلفة)،(المعدل ±الانحراف المعياري)

Abstract

Four isolates of *K. planticola* were obtained from research center; Al-Nahrrin University and University of Baghdad, they were re-identification according to the cultural, biochemical properties. One isolate (Kp4) was selected to be used in the following experiments due to its efficient production of Galacturonic acid (29) µg/ml, typical biochemical characteristics and its consistent properties along the period of study. Extraction and purification of capsular polysaccharides (CPS), Brain Heart Infusion broth with was used to produce CPS. The CPS was extracted by Cetavlon and was purified by alcohols, the purified CPS concentration was estimated reached to (167) µg/ml. Effect of the purified CPS concentrations (5,10,20,50)µg/ml which was isolated from *K. planticola* (Kp4) on the immune response (in vitro) were investigated. The following (in vitro) immunological tests were performed; viability of polymorphonuclear cells (PMNs), phagocytosis of *Candida albicans* , migration of (PMNs) under Agaros, the results showed that:

-The concentrations of CPS (20, 50) µg/ml decreased the viability percentage of (PMNs), Phagocytic Index (PI) with significant differences ($p<0.05$) in comparison to the control treatment. The concentration (50) µg/ml inhibited the migration of (PMNs)

-The concentrations of CPS (5, 10) µg/ml increased (Phagocytic indexI), with significant differences ($p<0.05$) in comparison to the control treatment.

المصادر

1. Athamna, A.; Ofek,L.; Keisari,Y.; Markowitz,S. and Sharon,N. (1991). Lectinophagocytosis of encapsulated *Klebsiella planticola* mediated by surface lectins of guinea pig alveolar macrophages and human monocyte derived macrophages , Infect . Immun . 59:1673-82.
2. Alvarez, D.; Merino, S.; Tomas,J.M.; Benedi,V.J. and Alberti,S.(2000) Capsular polysaccharide is a major complement resistance factor in Lipopolysaccharide O side chain-deficient *Klebsiella* clinical isolates . Infect. Immun. 68(2):953 – 955.
3. Bitter,T. and Muir,H.M. (1962).A modified uronic acid carbazole

reaction . Anal. Biochem. 4:330 -334.

4. Bures, J.; Horak,V.; Buresova, E.; Fixa,B.; Komarkova,O. and Hartman,M .(1986).Colicinogeny in chronic inflammatory Bowel Disease .Scand.J.Gastroenterol. 21:819-823.
5. Cech,P. and Lahrer,R.I. (1984). Heterogenicity of Human Neutrophil phagolysosomes :Functional Consequences for Candidacidal Activity ,Blood ,64 :147 -151.
6. Collee, J.G. ; Fraser,A.G. ; Marmion,B.P. and Simmons, A.(1996).Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology, 14th ed. Churchill Livingston. New York.
7. Cryz,S.J.; Fürer,E. and Germanier , R. (1985). Safety and immunogenicity of *Klebsiella planticola* capsular polysaccharide vaccine in human, J. Infect. Dis. 151 :665-671
8. Dubois,M. ; Giles, K.A.; Hamilton ,J.K.; Rebers, P. A. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances , Anal. Chem. 28:350-356.
9. Fang, F.C.; Sandler, N. and Libby , S. J. (2009). Liver Abscess caused by *mag* A^+ *Klebsiella planticola.* in North America , J. Clin. Microbiol. 43(2):991-992.
10. Federlin , K. ; Maini, R. N.; Russell, A.S. and Dumonda, D.C. (1971). Micro method for peripheral leucocytes migration in Tuberculin Sensitivity , J. Clin. Path. 24:533-536
11. Frirdich,E.; Bouwman, C.; Vinogradov, E. and Whitfield ,C.(2005). The role of Galacturonic acid in outer membrane stability in *Klebsiella planticola* . J. Biol. Chem.280(30):27604-12.
12. Hansen , D. S. ; Mestre, F. ; Alberti, S.; Hernandez- Alles, S. ; Alveraz, D. ; Sanchez, A. D. ; Gill, J.; Merino, S.; Tomas, J. M. and Benedi , V.J. (1999). *Klebsiella planticola* lipopolysaccharides O typing : Revision of prototype strain and O- group distribution among clinical isolates from different sources and countries , J. Clin. Microbiol. 37(1):56-62.
13. Ho, C.Y. ; Lo, T.W. C. ; Leung, K. N. ; Fung , K.P. and Choy, Y. M. (2006). The immunstimulating activities of ant- tumor polysaccharide from K1 capsular (polysaccharide) antigen isolated from *Klebsiella planticola* . Immunopharm. 46:1-13.
14. Holt, J.G..; Krieg, N.R..; Sneath, P.H.A.; Staley,J.T. and Williams, S. T.(1994).Bergey,s manual of determinable bacteriology 9th ed . William and Wilkins, Baltimore.

15. Hudson , L. and Hay , F. C. (1980). Practical Immunology , 3rd ed Black well Scientific Publication , Oxford. London .

16. Levinson, W. (2004). *Klebsiella* in : Medical Microbiology & Immunology examination & Broad review 8th ed. The McGrow-Hill Companies Appleton &Lange Int. Ed. U.S. A.

17. Lock , R.; Dahlegren , C.; Linden , M. ; Stendahl, O. ; Svensbergr, A. and Ohman , L. (1990). Neutrophil killing of two type 1 fimbria-bearing *Escherichia coli* strains: Dependence on respiratory burst activation , Infect. Immun. 58:37-42.

18. MacFaddin, F. J. **2000.** Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Printed in united state of America.

19. Nonoyama, S.; Kojo, H. ; Mine, Y. Nishida, M. ; Goto, S. and Kuwahara, S.(1979). Inhibitory effect of *Pseudomonas aeruginosa* on the pheagocytic and killing of Rabbit Polymorphonuclear leukocytes: Mechanism of action of a Polymorphonuclear leukocytes inhibitor , Infect. Immun. 24:399-403.

20. Podschun , R. and Ullmann ,U.(1998). *Klebsiella* spp. As Nosocomial pathogens : Epidemiology, Taxonomy , Typing methods and pathogenicity factors , Clin. Microbiol. Rev. 11(4):589-603.

21. Robyt,J.F. and White,B.J. (1987). Biochemical techniques 1st ed . Brook/ Cole publishing company , Wadsworth,Inc. Belmont, California , USA. p:213-214.

22. Roitt, I. ; Brostoff, J. and Male , D. (1998). Immunology , 5th ed. Mosby International . London

23. Shalaby , M. R. ; Palladine , M. A. ; Itirabayshi , S. E. ; Eessalu, T. E. ; Lewis. G. D. ; Shepared, H. M. and Aggarwal ,B. B.(1987). Receptor binding and activation of Polymorphonuclear neutrophil by tumor necrosis factor - alfa. , J. Leukocyte . Biol. 14:169.

24. Straus, D. C. (1987). Production of an extracellular toxic complex by various strains of *Klebsiella planticola* .Infect. Immun. 55(1) :44-48

25. Williams , P. and Tomas, J. M. (1990). The pathogenicity of *Klebsiella Spp* , Rev. Med. Microbiol. 1:196-204.

تأثير الكروم سداسي التكافؤ في الأسماك الذهبية *Carassius auratus* L.

حنان جميل عاشور ، حسين عبد المنعم داود و مهدي ضمد محيسن *

قسم علوم الحياة ، كلية التربية – ابن الهيثم ، جامعة بغداد

الاعظمية ، بغداد – العراق

* وزارة الزراعة ، بغداد – العراق

المستخلص

عرضت مجاميع من الأسماك الذهبية *Carassius auratus* إلى تراكيز مختلفة من الكروم سداسي التكافؤ وذلك لدراسة جانبين من التأثيرات ، الأول تمثل بدراسة التأثير السمي الحاد لتحديد التركيز القاتل لنصف العدد (Lc50). في حين تمثل الثاني بدراسة التأثير السمي المزمن من خلال استخدام ثلاث تراكيز تحت مميتة ومتابعة تأثيرها في النوع موضوع الدراسة. أظهرت نتائج الدراسة ان قيمة التركيز القاتل لنصف العدد (Lc50) كانت ٧٢.٥ ملغم / لتر خلال مدة ٩٦ ساعة . وتمثلت التأثيرات السمية المزمنة بحصول تغيرات سلوكية من خلال السرعة في حركة السباحة والتنفس ، وضعف الاستجابة للمحفزات الخارجية ، مع تعب وخمول وقلة الشهية لتناول الغذاء . كما أظهرت نتائج الدراسة حصول تغيرات في نمو الأسماك تمثل بحصول انخفاض معنوي في معدل الوزن العام للجسم. وفيما يخص التغيرات النسجية المرضية في الكلية. أوضحت الدراسة الحالية حصول تضيق في تجاويف النبيبات الكلوية وفرط تنسج واحتقان في الأوعية الدموية ونزف وتليف في الكبيبات وزادت حدة التأثيرات مع زيادة التراكيز. سجلت كمية تراكم العنصر في العضلات زيادة مع زيادة التراكيز وكانت القيم 3.6 ,8.62 ,9 ملغم/لتر في التراكيز 10 ,20 ,30 ملغم / لتر على التوالي.

المقدمة

تمثل البيئة المائية المحطة النهائية للملوثات البيئية بضمنها العناصر الثقيلة حيث تصل إليها أما بطريقة مباشرة او غير مباشرة مسببة بذلك خطورة على الأحياء المائية من خلال التأثير في السلسلة الغذائية والإخلال بالنظام البيئي فهي تتسبب في ظهور سمية حادة ومزمنة للأحياء المائية بضمنها الأسماك لذا كان من الضروري معرفة تأثير هذه العناصر والذي بات يشكل تهديداً كبيراً للحياة في البيئة المائية ولاسيما الثروة السمكية[١] ، كما ان للعناصر الثقيلة عدد كبير من التأثيرات الضارة في مختلف الأحياء تتمثل في كون قسم منها يشكل عوامل مسرطنة او سموماً مناعية او سموماً عصبية (٢).

ان العناصر الثقيلة تحاكي العناصر الأساسية في سلوكها الجزيئي وذلك من خلال القدرة على التفاعل مع مستلمات العضو الهدف ومن ثم القدرة على التأثير في وظيفته حيث أنها تنشط او تثبط عمليات السيطرة الخلوية (٣). ونظراً لصفات الكروم الميكانيكية الجيدة وقوة الشد بين أجزائه التي جعلته في مقدمة العناصر المستخدمة لشتى الأغراض الصناعية كالأصباغ والمبيدات والأحبار وغيرها (١ ، ٤) ، فقد وجدت ضرورة لإجراء دراسة مختبرية للتعرف على تأثير الكروم سداسي التكافؤ في الأسماك الذهبية من خلال التعرف على التأثيرات التي يسببها متمثلة بالتغيرات السلوكية والتغيرات في النمو والتغيرات المرضية العيانية والنسجية فضلاً عن نسبة تراكم هذا العنصر. ويأتي اختيار الأسماك الذهبية لجملة أمور يمكن إيجازها بكونها ذات مدى واسع لتقبل العوامل البيئية (٤).

المواد وطرائق العمل

جمعت الأسماك من إحد الأسواق المحلية في بغداد وبواقع ٣٠٠ سمكة وقد هيئت لها أحواض زجاجية بأبعاد 40 × 60 × 40 سم ملئت بماء الحنفية لمدة يومين لطرد الكلور منه وزودت الأحواض بتهوية اصطناعية بواسطة مضخة هوائية كما قيست درجة الحرارة بمحرار زئبقي (23.06 ± 0.55) م° وقيس pH بمقياس pH (7.13 ± 0.52)، اما تراكيز الأوكسجين المذاب فقد قيست بمقياس الأوكسجين (17.13 ± 0.52) وتم أقلمة الأسماك لمدة ١٠ أيام على ان يبدل الماء مع إزالة الأسماك الضعيفة على فترات زمنية منتظمة كما أطعمت الأسماك الغذاء المجفف والمكون بصورة رئيسة من الروبيان.

تحديد التركيز القاتل لنصف العدد (Lc50):

استخدمت ستة تراكيز مختلفة من العنصر (100, 90, 80, 70, 60, 50) . وضعت الاسماك في احواض زجاجية تحوي ماء (20,000)مل وبواقع ثمان سمكات في كل حوض وبثلاث مكررات لكل تركيز وكذلك لمجموعة السيطرة وخضعت الأسماك للمراقبة مدة ٩٦ ساعة وتم حساب نسبة الوفيات حسب معادلة آبوت (٥) .

$$P=(P'-C)/(100-C)\times 100$$ حيث

P = النسبة المئوية للهلاكات

P′ = النسبة المئوية للهلاكات عند المعاملة

C = النسبة المئوية للهلاكات في السيطرة

وتم اعتماد طريقة الانحدار الخطي لتحديد (Lc50).

السمية المزمنة:

اختيرت ثلاث تراكيز تحت مميتة (30, 20, 10 ملغم / لتر) وضعت الاسماك في أحواض زجاجية بواقع ثمان سمكات لكل حوض ولمجموعة السيطرة وبثلاث مكررات وسجلت التغيرات الناتجة عنها والتي تمثلت بالتغيرات السلوكية والتغيرات في النمو والتغيرات المرضية العيانية (الغلاصم والكبد والكلية) فضلاً عن التغيرات النسجية للكلية حيث اتبعت طريقة بانكروفت وستيفنس (Bancroft & Stevens) (٦) في تحضير المقاطع النسيجية. كما حسبت كمية التراكم في عضلات الأسماك كونها الجزء الأكثر أهمية كغذاء باستخدام جهاز طيف الامتصاص الذري (٧). وحللت النتائج إحصائيا باستخدام صيغة الانحراف القياسي + قيم المعدل ونظام تحليل ANOVA واختبار T. test لغرض المقارنة (٨).

النتائج والمناقشة

تحديد التركيز القاتل لنصف العدد (Lc50):

تم تحديد السمية الحادة عن طريق تعيين التركيز القاتل لنصف العدد (Lc50) حيث بينت نتيجة الدراسة الحالية بأن قيمة Lc50 لعنصر الكروم سداسي التكافؤ في الأسماك الذهبية *C. auratus* بلغت 72.5 ملغم/لتر (جدول ١ وشكل ١) مما يدل على انه عنصر سام بدرجة معتدلة لان قيمته تقع ما بين 35-75 ملغم /لتر (٩) . وجاءت هذه النتيجة متوافقة تقريباً مع نتائج دراسات سابقة كدراسة الكناني (١) التي تناولت تأثير الكروم الثلاثي والسداسي في اسماك الكوبي *Poecilia reticulata* حيث بلغت قيمة Lc50 73.33 ملغم/ لتر ومع دراسة الوكالة الدولية لحماية االبيئة (١٠) الذي تناولت تأثير الكروم سداسي التكافؤ في سمكة المنوة ضخمة الرأس (Fathead Minnow) وكانت قيمة Lc50 المسجلة 72 ملغم/ لتر اما التباين في قيمة Lc50 بين الدراسة الحالية والدراسات السابقة فأنها تقع ضمن الاختلافات المتعارف عليها وهي اختلاف الظروف المختبرية ونوع الأسماك والحجم والعمر ونوعية المياه والـ pH والملوحة ودرجة الحرارة وفترة التعرض حيث ان جميع الظروف اعلاه تؤدي الى حصول تغير في معدل الايض عند الأسماك بالإضافة إلى وجود المواد العالقة في المياه والتي تعمل على امتصاص المركبات الملوثة وبذلك تقلل من وجودها بصورة حرة وعليه سيحصل تغير في كمية الملوث (العنصر) المأخوذ من قبل الأسماك (١١).

السمية المزمنة:

١ – التغيرات السلوكية

أظهرت الأسماك المتعرضة للتراكيز المختلفة من الكروم سداسي التكافؤ سواء كان التعرض حاد أو مزمن تغيرات في سلوكها مقارنة مع مجموعة السيطرة وتتلخص تلك التغيرات بحصول سرعة في حركة الأسماك والارتطام بجوانب الحوض وزيادة في سرعة التنفس وعدم الاستجابة

للمحفزات الخارجية وفقدان التوازن والاستقرار في قعر الحوض والانقلاب في القاع وزادت العلامات أعلاه مع زيادة التركيز ومدة التعرض ويعود سبب التغيرات أعلاه لما لهذه الملوثات من تأثير سمي عصبي من خلال تأثيرها على الجهاز العصبي المركزي إذ تعمل على تثبيط انزيمات الدماغ K^+-ATP_{ase} / Na^+ الضرورية لنقل الإيعاز العصبي عبر المحاور العصبية (١٢) وقد ماثلت نتائج الدراسة الحالية مع كل من تلك التغيرات التي عانتها سمكة *Silurus glanis* المعاملة بالحديد (١٣) وضمن صورة التشابه فقد ماثلت نتائج الدراسة الحالية التغيرات التي أحدثها الكروم السداسي التأكسد في سمكة *Labeo rohita* (١٤).

كما لوحظ حصول انخفاض في تناول الغذاء وخمول وتعب وهذا ما أكده سكوت وجماعته (١٥) في سمكة *Oncorhynchus mykiss* ويعود السبب إلى حالة التعب والإجهاد التي عانت منها اجهزة جسم الأسماك فضلاً عن زيادة آلية التبادل الغازي التي تسبب حصول تغيرات نسجية في الغلاصم وهذا ما أكدته نتيجة الدراسة الحالية في نواحيها الأخرى والتي لم يتضمنها البحث الحالي وعليه ستقل العمليات الهوائية مما يؤثر على سرعة السباحة وكذلك فقدان مخزون الأسماك من الطاقة مما يجعلها في حالة خمول وتعب وعدم القدرة على الحركة(١٦).

٢- التغيرات في النمو

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم حصول انخفاض معنوي في معدل الطول الكلي للأسماك الذهبية *C. auratus* عند مستوى الدلالة $P< 0.05$ سوى زيادة طفيفة مقارنة مع معدل الطول الكلي لأسماك مجموعة السيطرة (جدول ٢) في حين أظهرت نتائج الدراسة حصول انخفاض معنوي في معدل الوزن العام لجسم الأسماك الذهبية *C. auratus* عند مستوى الدلالة $P< 0.05$ وذلك بعد معاملتها بصورة مزمنة بتراكيز مختلفة من الكروم سداسي التكافؤ لمدة ٣٠ يوماً مقارنة مع معدل الوزن العام لجسم اسماك مجموعة السيطرة وكذلك عند مقارنة المجاميع المعاملة فيما بينها (الجدول ٣) وجاءت النتائج أعلاه مطابقة مع الكثير من الدراسات السابقة (١٧ ، ١٨) ، ويعود سبب الانخفاض الى فقدان الشهية وعدم قدرة الأسماك على تناول الغذاء مما يؤدي الى نقص المكونات المهمة والتي لها دور في عملية النمو كالأحماض الامينية والدهون والفيتامينات (١٩) كما ان التأثيرات المزمنة للملوثات الكيميائية تسبب اختزال الشهية وتحفيز عملية الهدم مما ينتج عنهما كبح لعملية النمو في الأسماك (٢٠).

٣- التغيرات المرضية العيانية

أظهرت الدراسة حصول تغيرات مرضية عيانية في غلاصم الأسماك زادت حدتها مع زيادة التركيز وتمثلت بحصول التهاب واحتقان غلصمي والسبب يعود لكون الغلاصم تعد العضو الذي يكون على تماس مباشر مع الملوثات لذلك تعد المساحة الأكثر تعرضاً للملوثات السامة مما يؤدي الى تدميرها نسجياً (٢١) وهذا ما أكدته دراسة الكناني (١) في اسماك الكوبي *P. reticulate* . كما أظهرت الدراسة حصول تغيرات مرضية عيانية في الكبد تمثلت

بحصول احتقان وعائي وهذا يتفق مع ما لاحظه سوبيكا (Sobecka) (١٣) في سمكة الجري الأوربي *S. glanis* وسبب الاحتقان يعود الى التغيرات الحاصلة في نفاذية الأوعية الدموية وزيادة الضغط التنافذي وبطأ جريان الدم مما يؤدي إلى احتقان الأوعية الدموية (١٩) في حين لم يسجل حصول تغيرات مرضية عيانية في الكلية والسبب يعود الى كون معظم التأثيرات السمية قد ازيلت بواسطة عملية إزالة السمية في كل من الغلاصم والكبد [١٢] ، كما أظهرت الدراسة الحالية حصول تقوس في العمود الفقري وتأكل الزعانف والأغشية الزعنفية وقد زادت مع زيادة التركيز وهذا ما اكدته دراسة عباسي وسوني (Abbasi and Soni) [٢٢] في سمكة *Nuria denricus* والسبب يعود الى التغيرات الحاصلة في تغذية الأسماك مقارنة مع مجموعة السيطرة مما يؤدي الى حصول نقص في المكونات الغذائية الرئيسية مسببة حصول تشوهات هيكلية ومن المكونات التي ظهر بان نقصها يسبب تشوها هيكلياً كتقوس العمود الفقري هو حامض الاسكوربيك وفيتامين B_{12} (١٩).

٤- التغيرات النسجية في الكلية

تم في الدراسة الحالية اختيار الكلية كعضو للتعرف على الاضرار النسجية المتسببة من العنصر المستخدم ، وسوف تكون الاضرار النسجية للغلاصم والكبد محور بحث آخر يجري اعداده حالياً.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول تضيق في بعض النبيبات الكلوية ونزف وتنخر في التركيز ١٠ ملغم/لتر (شكل ٢، ٣) وزادت حدة في التركيز ٢٠ ملغم / لتر (شكل ٤) وجاءت النتائج مطابقة لما تم تسجيلهفي سمكة *Cyprinus carpio* المعاملة بالنترات [٢٣] ويعزى السبب الى انتفاخ الخلايا الظهارية المبطنة لها وذلك نتيجة للتأثير السمي للملوث في نفاذية الأغشية (١٦) كما أظهرت النتائج حصول نزف نتيجة للتأثير السمي المباشر وحصول انفصال في ظهارة بعض النبيبات وفرط تنسج (شكل ٥ ، ٦) ويمكن ان تكون هذه وسيلة دفاعية التجأت اليها الأسماك وجاءت النتيجة مطابقة لنتائج الدراسة التي تناولت سمية وتراكم عنصر الكروم في سمكة *Oreochromis massambicus* (٢٤) ومع دراسة اثيسافان وجماعته (Athikesavan *et al.*) (٢٥) حول تأثير النيكل في سمكة *Hypophthalmichthys molitrix*.

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول تنكس كلوي واحتقان وتليف (شكل ٦) وكانت على أشدها بالتركيز ٣٠ ملغم /لتر وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما لاحظته القيسي وجماعتهما (٢٦) في سمكة *C. carpio* وعزت الدراسات سبب التنكس إلى التأثير السمي المباشر للكروم على الكبيبة وسبب تصلب الشرايين يعود إلى تضاعف الألياف المطاطة وزيادة النسيج الليفي والترسيب غير الاعتيادي للبروتين في الأوردة الدموية (٢٦).

قياس التراكم الحيوي:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية بأن كمية تراكم الكروم سداسي التكافؤ زادت مع زيادة التركيز حيث بلغت قيم التراكم في عضلات الأسماك الذهبية كالأتي: 9

8.62 و3.5 ملغم /لتر في المجاميع المعادلة بالتراكيز 10 , 20 , 30 ملغم/لتر على التوالي. جاءت هذه النتيجة متطابقة مع الدراسة التي تناولت تراكم العناصر الثقيلة في نسج الأعضاء حيث أظهرت العضلات أعلى مستوى للتراكم وذلك في سمكة *Calarias gariepinus* (٢٧) ومتطابقة مع الدراسة التي تناولت تراكم الكروم في عضلات سمكة *C. carpio* (٢٨) ويعود سبب زيادة التركيز بأنه نوع من التحمل للتأثيرات السمية وهذا يكون على عدة طرق كالتأييض وإزالة السمية (٢٩). في حين لم تتطابق النتائج أعلاه مع الدراسات التي أظهرت فيها العضلات اقل مستوى للتراكم وذلك في سمكة *Barbus grypus* (٣٠) وفي سمكة *Parachanna obscura* (٣١) ويعود سبب هذا الاختلاف إلى عدة عوامل منها نوع الأسماك والحجم والعمر والجنس والظروف المختبرية والحالة الصحية والخصائص الكيميائية والفيزيائية للحياة وخصائص العنصر ومركباته (٢٨).

Effects of Hexavalent Chromium (Cr^{+6}) on Gold Fish (*Carassius auratus* L.)

Hanan J. Ashur, Hussain A.M. Dauod and Mahdi T. Muhaisen *

Department of Biology, College of Education (Ibn Al-Haitham)

University of Baghdad

Adhamia , Baghdad – Iraq

* Ministry of Agricultur , Baghdad - Iraq

Abstract

Groups of gold fish (*Carassius auratus*) treated with different concentrations of hexavalent chromium (Cr^{+6}), to study the acute toxic effects and determine the (Lc50). The results of the study revealed that (Lc50) was 72.5 mg/L during the period of (96 hrs). On the other hand the study designed to investigate the chronic effects of three different sublethal concentrations of hexavalent chromium on fish under investigation. Results showed some behavioral changes represented by rapid and erratic swimming, rapid respiration, weak responses to outer stimulus, convulsions, lethargy and low appetite. The results also showed some changes in growth represented by significance decrease in mean body weight. Histopathological changes of kidney were represented by narrowing of tubules lumen, hyperplasia, blood congestion hemorrhage and fibrosis of the glomerulus. These were increased with the increasing of the concentration. The results of bioaccumulation study revealed an increased in accumulation of chromium in the flesh (muscles) of fish with the increasing of the concentration and the mean values were 3.5, 8.62 and 9.0 mg/L in concentrations of 10, 20 and 30 respectively.

المصادر

1. الكناني ، لميس نوري حميد (٢٠٠٥) . سمية الكروم السداسي والثلاثي على اسماك الكوبي *Poecilia reticulata* (Poeciliodia) ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم للبنات ، جامعة بغداد : ٩٨ صفحة .
2. Levinton, J.S. (2001). Marine biology function, biodiversity, ecology. Oxford Univ. Press, New York : 515 PP.
3. Michael, P.; Donald, A.; Christophers, S.; Steven, R. and Patierno, R. (2000). Metal and disorder of cell accumulation: Modulation of apoptosis and cell proliferation. Toxical. Sci., 56: 255-261.
4. E.B. (Encyclopedia Britannica). (2007). Chromium. http://www.britannica.com /eb/article-908245/: 1-3.
5. Vanleewen, C.J. (1988). Long-term toxicity & GLP. In : Dekruijf, H. A.; DeZwart, D.; Viswanathan, P.N. and Ray, P.K. (Eds). Manual on aquatic ecotoxicology. Alled Pupl. Privat, New Delhi: 113-118.
6. Bancroft, J. D. and Stevens, A. (1975). Histopathological Stains & their diagnostic uses. Churchill Livingston, New York.
7. Avenant-Oldewage, A, and Marx, H. M. (2000). Bioaccumulation of Chromium, Copper and Iron in the organs and tissues of *Clarias gariepinus* in the oilfant river kruger National Park. Water SA, 26(2): 569-582.
8. Zar, J.H. (1999). Biostatistics, 4th edn., Prentic-Hall, New Jersey: 663 PP.
9. FAO (Food Agricultural Organization) (1993). water quality.
10. USEPA (US Environmental Protection Agency) (2005). Materials safety data sheet. www.material safety data sheet: 1-6.
11. Murty, A.S. (1988). Toxicity of pesticides to fish. 3rd edn, CRS Press Inc., Boca Ratton, Floreda: 177PP.
12. عبد الاحد ، سحر امير (١٩٩٦). تأثير مبيد الدانتول على الكارب الاعتيادي . رسالة ماجستير ، كلية الطب البطري ، جامعة بغداد : ٧٧ صفحة.
13. Sobecka, W. (2001). Changes in the iron level in the organs and tissue of wells catfish *Silurus glanis* L. caused by nickel. Acta Ichthyol. Piscat., 31(2): 127-143.
14. Vutukuru, S.S.; Prabhath, N. A.; Raphavender, M. and Yerramilli A. (2007). Effect of arsenic and chromium on the serum amino-

transferase activity in India major carp, *Labeo rohita*. Int. J. Environ. Res. Pub. Health, 4(3): 224-227.

15. Scott, G. R.; Sloman, K. A.; Routeau, C. and Wood, C. M. (2003). Cadmium disrupts behavioural and physiological responses to alarm substance in juvenjle rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Exp. Biol., 206 : 1779-1790.

16. العطار ، ايمان عبد علي (١٩٩٨) . تأثير مبيد الكلايفوسيت في اسماك الكارب الاعتيادي في حالتي وجود الاوكسجين ونقصه . رسالة ماجستير ، كلية التربية للبنات ، جامعة بغداد: ٧٢ صفحة.

17. Stasiunaite, P. (1999). Lang-term heavy metal mixture toxicity to embryo and alevins of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Zool. Lit. Hydvobiol, 9(2): 40-46.

18. Nolan, D. T.; Spanings, E.A.T.; Ruane, N. M.; Hadderingh, H.; Jenner, H. A.; Wendelaa, S. E. and Bonga (2004). Exposure to water from the lower rhine India astress response in the rainbow trouit *Oncorhynchus mykiss*. J. Environ. Contam. Toxicol., 247-257.

19. الشيخ ، محمد عادل عبد الرزاق ومنصور ، قيس يامور (١٩٩٠) ;الآلوسي ، سناء بشير . اساسيات علم الاسماك . دار الحكمة للطباعة والنشر ، بغداد : ٤٠١ صفحة.

20. Pickering, A.D. (1998). Stress responses of formed fish. In: Black, K. D. and Pickering, A.D. (Eds.). Biology of formed fish. Sheffield Acod. Press, England : 222-255.

21. Heath, A. G. (1987). Water Pollution and fiosh physidogy. CRC Press Inc. Boca. Raton, Florida: 245 PP.

22. Abbasi, S. A. and Soni, R. (1984). Toxicity of lower than permissible levels chromium (VI) to the freshwater teleost *Nuria denricus* . Environ. Poll., 36: 75-82.

23. Iqbal, F.; Qureshi, I. Z. and Ali, M. (2004). Histopathological changes in the kidney of common carp *Cyprinus carpio* following nitrate exposure. J. Res. Sci., 15(4): 411-418.

24. Jafri, S. I. H. and Shaikh, S. A. (1999). Toxicity and bioaccumulation of chromium in tilapia *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae : Teleostei). Pakistan J. Zool., 31(1): 106-108.

25. Athikesavan, S.; Vicent, S.; Ambrose. T. and Velmurugam, B. (2006). Nickel induced histopathological changes in the different tissue of freshwater fish, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes). J. Environ. Biol., 27(2): 391-395.

26. مطر ، امل جبار وبلاسم ، عباس ناجي (٢٠٠٢) . ;القيسي ، بشرى ابراهيم مصطفى التأثيرات النسيجية المرضية لعنصر الكروم في اسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus*

المؤتمر القطري الثاني لعلوم الحياة ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، بغداد :*carpio*
٢١-٢٢ كانون الاول ٢٠٠٢ (خلاصة).

27. Olaifa, F.E.; Olaifa, A.K.; Adelaja, A. A. and Owolabi, A.G. (2004). Heavy metal contamination of *Clarias gariepinus* frome alake and fish farm in Ibadan, Nigeria. Afv. J. Biol. Res., 7: 145-148.

28. Vinodhini, R. and Marayanan, M. (2008). Bioaccumulation of heavy metal in organ of freshwater fish (Common carp) *Cyprinus carpio* . Int. J. Environ Sci. Tech., 5(2) : 179-182.

29. Mason, C.F. (1981). Biology of freshwater pollution. Longman Group Limited, England: 250 PP.

30. Khalaf, A. N.; Al-Jafery, A.R., Khalid, B. YZ.; Elias, S.S. and Ishaq, M.W. (1985). The patterns of accumulation of some heavy metal in *Barbus grypus* (Heckel) from apolluted river. J. Biol. Sci. Res., 16(2) : 51-73.

31. Obasohan, E. E. (2007). Heavy metal concentration in the off allgill, muscle and liver of freshwater mud fish *(Parachanna obscura)* from Ogba river, Benin city, Nigeria. Afr. J. Biotechnol., 6(22): 2620-2627.

جدول (١): السمية الحادة لعنصر الكروم سداسي التكافؤ لتعيين التركيز المميت الوسطي (Lc50)

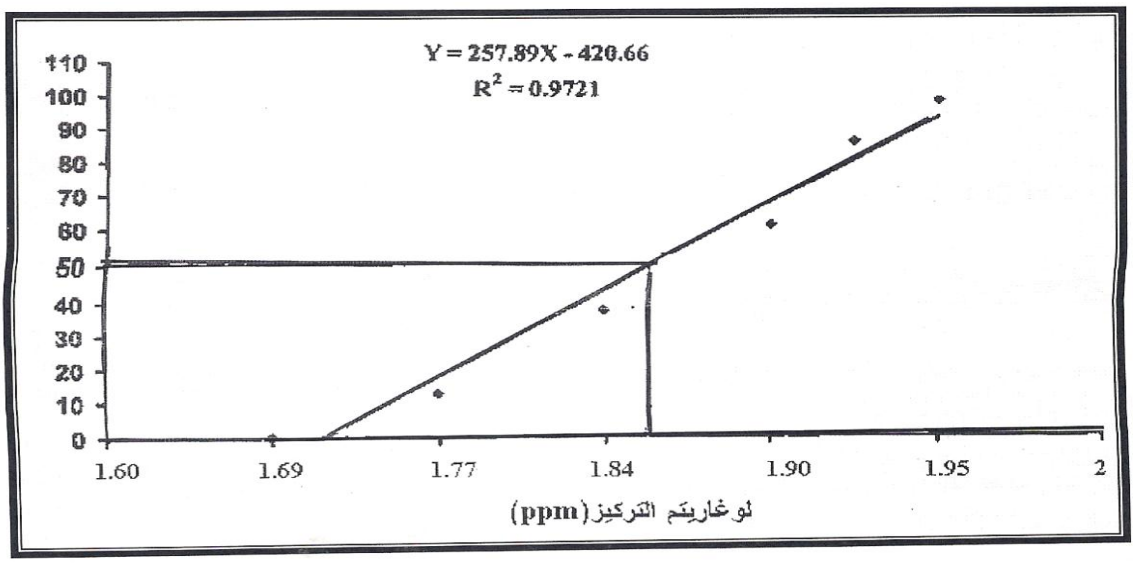
التركيز ملغم لتر/	عدد الأسماك في كل مجموعة(n)	عدد الأسماك بعد ٩٦ ساعة		النسبة المئوية للهلاكات
		الأسماك الحية	الهلاكات	
٥٠	٨	٨	-	%٠.٠
٦٠	٨	٧	١	%١٢.٥
٧٠	٨	٥	٣	%٣٧.٥
٨٠	٨	٣	٥	%٦٢.٥
٩٠	٨	١	٧	%٨٧.٥
١٠٠	٨	-	٨	%١٠٠
سيطرة	٨	٨	-	%٠.٠
الانحدار الخطي Y = 257.89 X – ٤٢٠.٦٦ r^2 = 0.9721				

جدول ٢. التغيرات في معدل الطول الكلي للأسماك الذهبية *C. auratus* المعاملة بتراكيز مختلفة من عنصر الكروم سداسي التكافؤ.

لتر/التركيز ملغم	معدل الطول الكلي قبل المعاملة	معدل الطول الكلي بعد المعاملة
١٠	10.368 ±1.023	10.668 ± 0.972
٢٠	10.533 ± 0.152	10.666 ± 0.288
٣٠	10.825 ± 0.813	10.812 ± 0.900
سيطرة	10.668 ± 0.750	10.737 ± 0.796

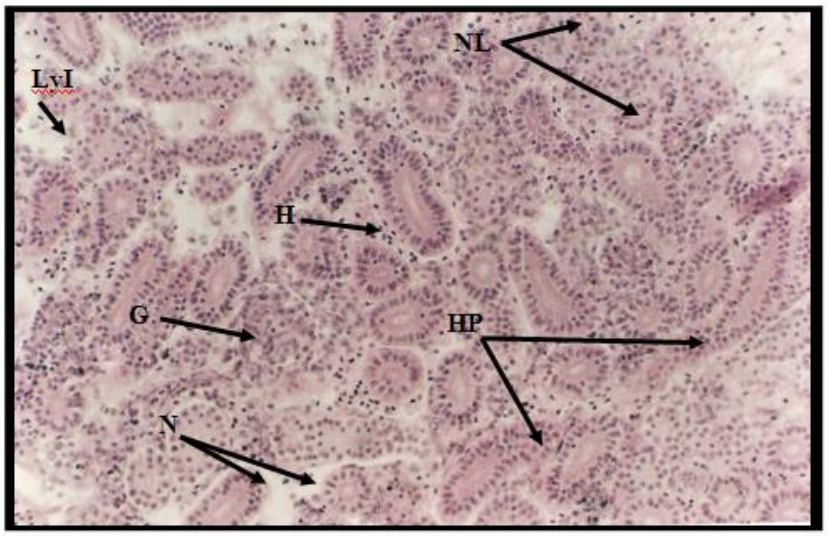
جدول ٣. التغيرات في معدل الوزن العام لجسم الأسماك الذهبية *C. auratus* المعاملة بتراكيز مختلفة من عنصر الكروم سداسي التكافؤ.

لتر/التركيز ملغم	معدل وزن الجسم قبل المعاملة	معدل وزن الجسم بعد المعاملة
١٠	13.111 ± 2.841	12.325 ± 1.599
٢٠	10.933 ± 0.305	10.733 ± 0.378
٣٠	13.611 ± 3.905	11.825 ± 2.868
سيطرة	12.812 ± 2.033	13.029 ± 1.591

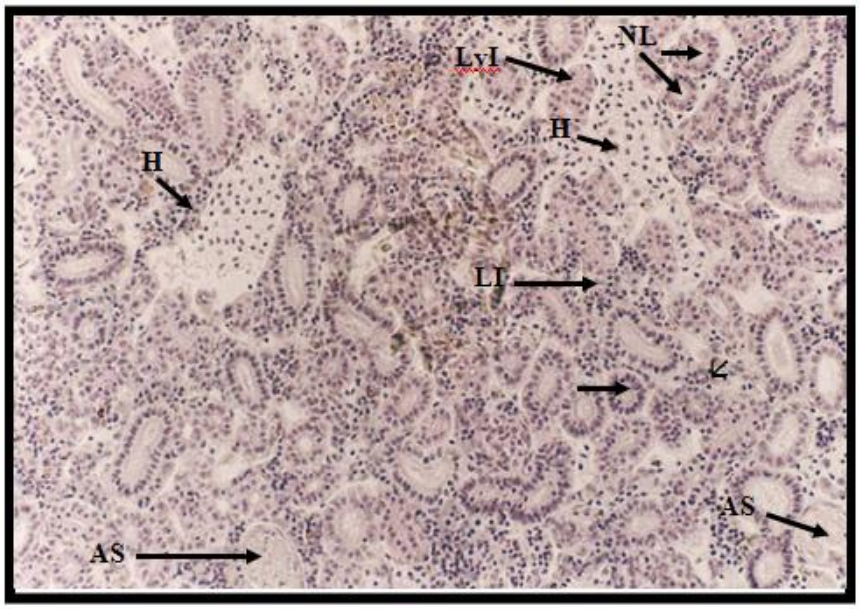


شكل ١. خط سمية الكروم سداسي التكافؤ لتعيين التركيز المميت الوسطي (LC_{50}).

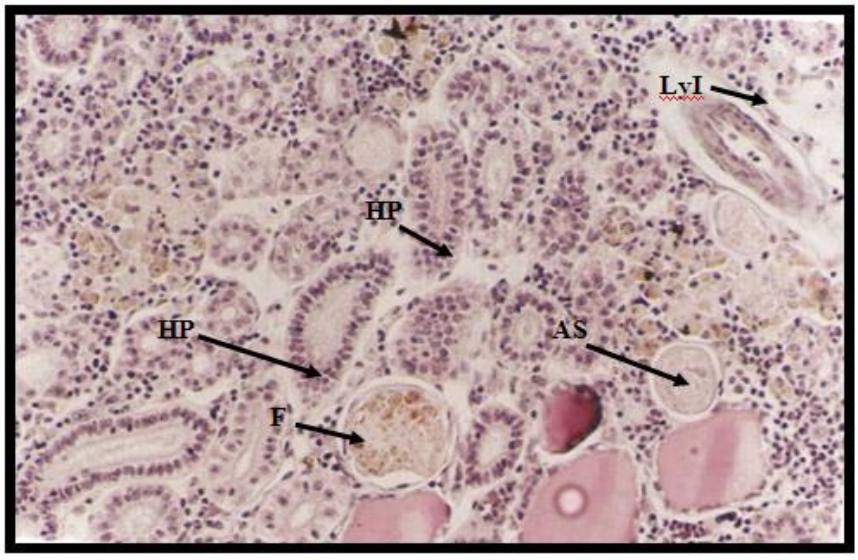
شكل ٢. مقطع مستعرض للكلية في مجموعة السيطرة، يتضح من خلاله الكبيبة (G) ومفاطع في النبيبات الكلوية حيث تتضح الحافة الفرشية (BB) للنبيب القريب (PCT) (ملون الهيماتوكسلين – ايوسين).



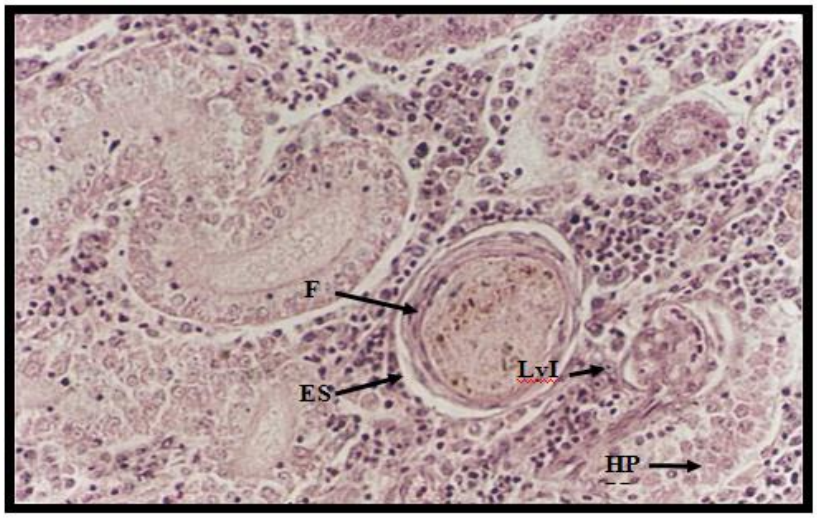
شكل 3. مقطع مستعرض في كلية سمكة ذهبية معاملة بتركيز ١٠ملغم /لتر، يتضح من خلاله حصول تنخر في نسيج الكلية(N) وضيق في تجاويف بعض النبيبات(NL) وترسب في حبيبات الهيموسدرين(HG) وارتشاح الخلايا اللمفاوية(LyI) (ملون الهيماتوكسلين - ايوسين).



شكل 4. مقطع مستعرض في كلية سمكة ذهبية معاملة بتركيز ٢٠ملغم /لتر، يوضح حصول تضيق في تجويف بعض النبيبات(NL) وتصلب في الشرايين (AS) مع حصول نزف منتشر ضمن نسيج الكلية (H) وارتشاح الخلايا اللمفاوية (LyI) (ملون الهيماتوكسلين - ايوسين).



شكل 5. مقطع مستعرض في كلية سمكة ذهبية معاملة بتركيز ٣٠ ملغم/لتر، يتضح من خلاله مرحلة متقدمة من الأضرار المرضية في نسيج الكلية حيث يبين شدة التأثير في النبيبات وشدة حالة التليف(F) وتصلب الشرايين(AS) فضلاً عن فرط التنسج (HP) (ملون الهيماتوكسلين - ايوسين).



شكل ٦. مقطع مستعرض في كلية سمكة ذهبية معاملة بتركيز ٣٠ ملغم /لتر، يتضح من خلاله حصول تنكس كلوي واحتقان في اللمة الشعرية(CO) فضلاً عن حصول تليف (F) وفرط تنسج(HP) وارتشاح في الخلايا اللمفاوية(LyI)، وانفصال الظهارة (ES). (ملون الهيماتوكسلين - ايوسين).

تأثير الحامضية ومدة الطبخ في تلوث الاطعمة المحضرة في اواني الزجاج والالمنيوم والستيل والتيفال المستخدمة في المطابخ العراقيه

جاسم محمد عبد الحسين

قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة بابل – العراق

المستخلص

اجريت هذه الدراسة لتحديد تاثيرالحامضيه ومدة التسخين في تلوث الاطعمه المعدة باستخدام انواع عديده من الاواني المستخدمه في المطبخ العراقي وهي الزجاج والالمنيوم الخفيف والالمنيوم الثقيل والستيل والتيفال. حيث تم تعيين تركيز الالمنيوم والحديد والرصاص في هذه الاطعمه بتعريض الطعام المستخدم الى مدد زمنيه مختلفة وبقيم داله حامضيه مختلفة وذلك باستخدام مطيافية الامتصاص الذري اللهبي . بينت النتائج ان اناء الزجاج لم يلوث الطعام باي من العناصر اعلاه في حين يزداد تلوث الطعام بعنصر الالمنيوم متجاوزا الحدود المسموحه بزيادة مدة التسخين وزيادة حامضيه النموذج عند استخدام اواني الالمنيوم الخفيف او الثقيل. سجل عنصر الحديد ثباتا مقبولا في حالة استخدام اناء الزجاج والالمنيوم الخفيف في حين سجل زياده ملحوظه في حالة استخدام اناء الالمنيوم الثقيل اواناء التيفال ، في حين سجلت اواني الستيل واواني التيفال ثباتا عاليا من الايونات المهاجرة من الالمنيوم. سجلت اواني الستيل زيادة عاليه من الايونات المهاجرة من الحديد تجاوزت الحدود المسموح بها . ازدادت التوصيليه كلما زادت نسبة الايونات المهاجرة من الطور الصلب (الاناء) الى الطور السائل (محلول الغذاء).

المقدمة

ان موضوع تلوث الطعام خلال عمليات خزنه واعداده وطهيه من المواضيع التي اهتمت بها منظمة الصحه العالميه (WHO) حيث تتسرب مواد كيمياويه ضاره الى الطعام اثناء خزنه واعداده وطهيه مما يتسبب في جعل الطعام ملوثا ومسببا تسمم غذائي آنيا اوناقلا للمواد الكيمياويه المضره غير الضروريه لجسم الانسان مسببة امراض مختلفه، وان اغلب الاواني والحاويات المستعمله في خزن واعداد وطهي الطعام مصنوعة من الالمنيوم والحديد المقاوم للصدا والاواني المطليه بمادة التيفال ونتيجة لعملية الطبخ التي تتضمن اضافة مواد حامضيه الى الطعام ورفع درجة حرارته فان جزء من المواد المصنوعه منها هذه الاواني تهاجر الى مادة الطعام مسببه تلوثه بها ، ولكون عنصر الالمنيوم ذات سميه عاليه مقارنة بالحديد فقد اهتم الباحثون بموضوع تلوث الطعام بهذا العنصر من جراء خزنه واعداده وطهيه في الاواني المصنوعة منه (١). الالمنيوم فلز ابيض صلب درجة انصهاره ٦٦٠ م في الظروف الاعتياديه يستطيع ان يقاوم التاكل وذلك لتكون طبقه ملتصقه بشده على سطحه من اوكسيده Al_2O_3 (٢). وفي درجات الحراره الاعتياديه تبقى طبقة الاوكسيد ثابته ضمن مديات من الحامضيه (٤.٥ – ٨.٧) (٣).

يمكن ان يتفاعل اوكسيد الالمنيوم الخارجي الملامس للجو مع الحوامض والقواعد لكونه امفوتيري وكما يلي (٤) :

$$Al_2O_{3(s)} + 6HCl_{(aq)} \longrightarrow 2AlCl_{3(aq)} + 3H_2O_{(l)}$$

$$Al_2O_{3(S)} + 2NaOH_{(aq)} + 3H_2O_{(l)} \longrightarrow 2NaAl(OH)_{4(aq)}$$

ان معدن الالمنيوم يعتبر فلز فعال مع الحوامض والقواعد بالرغم من عدم تفاعله لذلك فعند زوال طبقة الاوكسيد من سطحه يشرع بالتفاعل كفلز مع الحوامض والقواعد كما يلي (٥) :

$$2Al_{(S)} + 6HCl_{(aq)} \longrightarrow 2AlCl_{3(aq)} + 3H_{2(g)}$$

$$2Al_{(s)} + 2NaOH_{(aq)} + 2H_2O_{(l)} \longrightarrow 2NaAlO_{2(aq)} + 3H_{2(g)}$$

يستخدم الالمنيوم في صناعة اواني الطبخ وذلك لتوصيليته الحراريه الجيده ولكنه يتآكل كما ذكر اعلاه عند تعرضه لمحاليل الحوامض العضويه ومحاليل والاملاح وتزداد سرعة التآكل في المحاليل المخففه.ويمكن تحسين خواص الالمنيوم (زيادة صلادته ومقاومته للتاكل) وذلك بتسبيكه مع كميات صغيره مع بعض الفلزات ومن اهم سبائكه هي الديورال المنيوم والمكناليوم وبرونز المنيوم والتي تستخدم في صناعات عديده ومنها صناعة اواني الطبخ والمعروفه بالفافون الثقيل (٦) . في الظروف الحامضيه وفي درجات الحراره العاليه (عمليات طبخ الاغذيه) ومع ازدياد

زمن الطبخ يزداد تفاعل طبقة اوكسيد الالمنيوم مع الحوامض او القواعد استنادا الى قوانين الحركيات الكيمياويه (٧).

ان كمية الالمنيوم الذي يتناوله الانسان يوميا هي ٢-٣ مغم/يوم في حالة الاشخاص الطبيعيين (الغير مرضى) وسوف لايحدث اي تراكم للالمنيوم في انسجة اجسامهم وفي حالة تناول كميه اكبر من ذلك اما في حالة الاشخاص الذين لديهم فشل كلوي فانه سوف يحصل تراكم للالمنيوم في انسجة الجسم المختلفه وخاصة في العظام حيث يتنافس الالمنيوم مع الكالسيوم لتكوين فوسفات الالمنيوم ويتراكم ايضا في الدماغ حيث يتنافس مع الحديد حيث يتحد مع البروتين المسمى (transferrin) مكونا معقد يتكدس في خلايا الدماغ مسببا مرض الزهايمر (الخرف) (٨) . يوجد الالمنيوم في المياه والاطعمه بنسب طبيعيه مقبوله لا تتجاوز ٢٠٠ ميكروغرام / لتر، ان زيادة كمية الالمنيوم في الاطعمه البشريه هو نتيجة لاستخدام الالمنيوم في صناعة اواني الطبخ وحاويات حفظ الالطعمه (٩,١٠). كما ان استخدام مضادات الحموضه (هيدروكسيد الالمنيوم) كدواء احد المصادر في زيادة كمية الالمنيوم الداخله الى جسم الانسان (١٢,١١). لقد قام ايكانيم وجماعته سنة ٢٠٠٧ بدراسة مكونات اللحوم المعلبه والادويه المغلفه والمشروبات المعلبه بعنصر الالمنيوم من الحاويات المصنوعه منه حيث ثبتت تلك الدراسة ان كمية ايونات الالمنيوم في هذه النماذج قد ازدادت بعد عملية الحفظ مما كان عليه قبل الحفظ مما يجعلها ملوثه بهذا العنصر (١٣). لقد اجرى مركز السلامه الغذائيه في هونك كونك دراسه حول تلوث الطعام بالالمنيوم حيث تم تعيين مستوى الالمنيوم في منتجات غذائيه معلبه مختلفه تحتوي على مضافات حافظه للطعام يدخل الالمنيوم في تركيبها حيث ذكرت هذه الدراسه ان الحدود المسموحه لتناول الالمنيوم الاسبوعي المحدده من قبل منظمة الصحه العالميه هي ١مغم/كغم من جسم الانسان وكانت نتائج هذه الدراسه هي ان معدل مستوى الالمنيوم في هذه الاطعمه مرتفعا وكان بحدود ١٠٠ – ٣٠٠ مغم (المنيوم) / كغم (طعام معلب) (١٤) . ان تناول الغذاء الملوث بالالمنيوم بتراكيز ٥٠-١٠٠ مغم/كغم في اليوم الواحد يسبب امراض متعدده في الجهاز العصبي (١٥) وفقر الدم (١٦) والكلى (١٧) والكبد والطحال (١٩,١٨) . لقد درس الباحثين محمد الشحنه وخليل صهيوني سنة ٢٠٠٦ دراسة حامضية بعض المحاليل الغذائيه مع اواني الطبخ المصنوعه من الالمنيوم المستخدمه في المطابخ السوريه مبينا ان زيادة حامضية الاطعمه الطبوخه تزيد من نسبة الايونات المهاجره من الطور الصلب(الاناء)الى الطور السائل الغذاء كما بينا ان تركيز ايونات الرصاص المهاجرة هي ضمن الحدود المسموحه لها ٠.١ مغم/مل (٢٠). ان التركيز الطبيعي للالمنيوم في بلازما الدم هو (١-٢ ملغم /لتر) وان ٩٠% من المنيوم بلازما الدم يتحد مع المركب البروتيني الترانسفيرين (٢١). يتحد الالمنيوم الداخل الى دم الانسان مع مركب (transfrrin) وينافس الحديد في هذه العمليه وقد وجد ان حامض السياليك في سلسلة الكاربوهيدرات الموجوده في الدم يزيد من قابلية ارتباط الالمنيوم مع مركب (transfrrin) (٢٢). لقد بين الباحث فهد الحازم ان تناول حليب الجمال مفيد جدا في تقليل سمية الالمنيوم الداخل للجسم (٢٣).

تستخدم املاح الالمنيوم كمضادات للتعرق التي توضع على السطح الخارجي لجسم الانسان وتعتبر هذه المضادات من مصادر زيادة نسبة الالمنيوم عن طريق امتصاصها من خلال الجلد مما يزيد من مخاطره (٢٤). تم تحسين اواني الطبخ وذلك بطلائها بمادة متعدد تترافلورو اثلين المعروفة بالتيفال وتستخدم حاليا بشكل واسع في عمليات الطبخ المنزلي (٢٥) . لقد بينت الهيئه الخاصه بسياسة الامور الطبيه للتغذيه والطعام في المملكه المتحده في تقرير نشرته يتعلق بالنواحي الغذائيه ذات العلاقه بتطور مرض السرطان اشار الى ان اللحوم الحمراء لها علاقه كبيره بمرض السرطان وان عنصر الحديد الذي يتواجد بنسبه عاليه في هذه اللحوم (١٠٠غم من اللحم يحتوي على ٣-٥ غم من الحديد) هوالذي يساهم بصوره كبيره في هذه العلاقه وان نقص الحديد يسبب مرض الانيميا (٢٦). يعتبر الالمنيوم والحديد من العناصر ذات الوجود العالي في القشره الارضيه حيث تكون كميتهما ٨١٠٠٠ جزء بالمليون و ٥١٠٠٠ جزء بالمليون على التوالي في حين يعتبر الرصاص من العناصر النادره في القشره الارضيه حيث تكون كميته ١٢.٥ جزء بالمليون وان المعدل اليومي لدخول عنصر الحديد والرصاص والالمنيوم الى جسم الانسان عن طريق الغذاء والماء والهواء هو ١٥.٠٨٤ مغم / يوم و ٠.٣٤٦ مغم/ يوم و ٢.٥ مغم / يوم على التوالي(٢٧).

تهدف الدراسة الى بيان تأثير الحامضية ومدة التسخين في تلوث الأطعمة المعدة في اواني مصنوعه من الزجاج والالمنيوم والستيل والتيفال وذلك بتعيين الايونات المهاجرة من الطور الصلب (الاناء) الى الطور السائل (محلول الطبخ) باستخدام تقنية المطيافية الذرية اللهبية .

المواد وطرق العمل

تحضير محاليل الطبخ:

حضرت محاليل الطبخ بدلالة نسبة الوزن (مواد غذائيه)الى حجم (ماء مقطر)حيث اخذ ٥٠٠ غم من مواد الطبخ (١٠٠ غم طماطم +١٠٠ غم بطاطا+١٠٠غم بصل +١٠٠غم حمص +١٠٠غم ملح طعام) واضيف اليها ٥٠٠ مل من الماء العادي (ماء الحنفيه) .

دراسة تأثير مدة التسخي:

اخذت محاليل الطبخ المحضره اعلاه وطبخت على نار طباخ غازي منزلي واخذت نماذج من هذه المحاليل بفترات زمنيه مختلفه (٤٥ دقيقة ، ٩٠ دقيقة ، اكثر من ٩٠ دقيقة) ولكل نوع من انواع اواني الطبخالمستخدمه في هذا البحث وقيست امتصاصياتها واستخرج تركيزها من منحنيات المعايره.

دراسة التوصيليه الكهربائيه:

قيست التوصيليه الكهربائيه لنماذج محاليل الطبخ بفترات التسخين المذكوره اعلاه ولكل نوع من انواع اواني الطبخ.

تحضير المحاليل العياريه:

حضر محلول مرجعي بتركيز ١ جزء بالمليون وحضرت منه سلسلة من المحاليل العيارية تحتوي على تراكيز متتاليه من الالمنيوم (١٥٠ and ١٠٠ ، ٥٠ ، ٢٥) جزء بالمليون وكذلك بالنسبه للحديد والرصاص.

منحنيات المعايره:

درست العلاقه الخطيه بين الامتصاصيه والتركيز وذلك بقياس امتصاصية سلسلة المحاليل العيارية لكل من الالمنيوم والرصاص والحديد .

تظهرمنحنيات المعايره وجود علاقه خطية بين الامتصاصيه والتركيز مما يبين امكانية تطبيق قانون لامبرت– بيرلايجاد تركيز تلك العناصر في النماذج المدروسه بدقه عاليه . قيست امتصاصيات الالمنيوم والرصاص والحديد من العينات المدروسه وسقطت هذه الامتصاصيات على منحني المعايره للعنصر المعني.

دراسة تاثير حامضية المحاليل :

حضرت محاليل الطبخ وفق النسب المذكورة سابقا وضبطت حامضيتها بالقيم 5,4,3واخذ اناء الالمنيوم الخفيف كنموذج لاواني الطبخ واستخدمت مدة التسخين النموذجية لاعداد طعام جاهز (ساعتين)وقيست كمية الالمنيوم في محلول الطعام باستخدام مطيافية الامتصاص الذري اللهبي بطريقة تسقيط الامتصاصية على منحني المعايرة للالمنيوم.

الاجهزة المستخدمه:

١–جهاز مطيافية الامتصاص الذري اللهبي من نوع Varian Spectra AA220 والذي يعمل بتقنيتي اللهب و التذريه الكهروحراريه .

حيث استخدمت التقنيه الاولى في حالة تعيين الحديد والرصاص في حين استخدمت التقنيه الثانيه في حالة تعيين الالمنيوم باستخدام فرن الكرافيت والشعله هي غازي الاستلين / NO_2 .

٢–جهاز قياس التوصيليه الكهربائيه نوع INOLAB.

النتائج والمناقشة

نلاحظ من خلال جدول (٢) ان كمية الالمنيوم الموجودة في محلول الطبخ عند استخدام اناء الزجاج هي ppm 0.25 واعتبرت هذه الكمية هي الخلفية لكمية الالمنيوم في محلول الطبخ المستخدم وكذلك بالنسبة للحديد والرصاص ،وعند استخدام اواني معدنية اخرى فنلاحظ ازدياد هذه الكمية للعنصر المصنوع منه تلك الاواني وتزداد هذه الكمية كلما زادت مدة الغليان وكلما زادت حامضية المحلول الغذائي .اما بالنسبة لنوع اناء الالمنيوم (خفيف،ثقيل) فنلاحظ انهما متقاربان في مقدار التلوث بالالمنيوم ، بينما ابدى الالمنيوم الثقيل زيادة في كمية الحديد وزيادة طفيفة في كمية الرصاص ويمكن تفسير زيادة الحديد الى سببين هماان الحديد يدخل في صناعة الالمنيوم الثقيل والسبب الثاني هنالك بعض الاجزاء من القدر مصنوعة من الحديد الخالص وهذه الاجزاء في تماس مباشر مع الغذاء داخل القدر ،ابدى اناء التيفال استقرارية عالية ضد التلوث بالالمنيوم في حين وجد هناك تلوث ملحوظ من عنصر الحديد ويعزى ايضا الى ان جسم اناء التيفال هو من الحديد الجدار الداخلي له مطلي بمادة التيفلون (التيفال) وايضا توجد بعض الاجزاء من هذا الاناء في تماس مباشر مع الغذاء تفسر هذه الزيادة في الايونات المهاجرة كلما زادت مدة التسخين والحامضية الا ان طبقة الاوكسيد المتكونة على سطح الاناء تتفكك بفعل الحرارة او الحموضة او كليهما كما ذكر في المقدمة، وبالنسبة لاناء الستيل فان الطبقة الخارجية للستيل تكون ضعيفة تجاه الحرارة والحموضة مما يؤدي الى هجرة ايونات

الحديد من الطور الصلب الى الطور السائل.نلاحظ من الجدول(٢) ان اواني الطبخ على مختلف انواعها لا تبدي أي مساهمة لتلوث الطعام بعنصر الرصاص الخطر على صحة الانسان وتقع جميع القيم المستحصلة وضن خلفية الطبيعية في الانواع المختلفة من مواد الطعام . يبين جدول (٣) قيم التوصيلية المولارية لمحاليل الطبخ وتبين النتائج ان التوصيلية تزداد كلما زادت مدة التسخين وهذا يتطابق مع النتائج المستحصلة من طريقة الامتصاص الذري اللهبي .ويبين الجدول (٤) تأثير الحامضية على تلوث الاواني المصنوعة من الالمنيوم الخفيف بهذا العنصر عند تعرض الطعام امدة تسخين ساعتين وتبين نتائج هذه الدراسة ان التلوث يصبح عاليا كلما زادت الحامضية .

التوصيات

من خلال النتائج المستحصلة من هذا البحث والتي تخص موضوع التلوث الغذائي ووفق توصيات منظمة الصحة العالمية نوصي بما يلي:

١- للحصول على غذاء خالي من تلوث أي ايونات فلزية مهاجرة من اناء الحفظ او اناء الاعداد او اناء الطهي توصي باستعمال اواني الزجاج المقاوم للحرارة بالرغم من غلاء اسعارها .

٢- ترك اواني الطبخ المصنوعة من الالمنيوم وعدم استخدامها لهذا الغرض ويمكن استخدامها لاغراض منزلية اخرى غير عملية الطبخ واعداد الطعام .

٣- لا يفضل استخدام اواني الستيل في ظروف الطبخ القاسية(مدة تسخين طويلة، حامضية عالية ٤- يمكن استخدام اواني التيفال لكفائتها في عدم تلوث الطعام عند استخدامها ، ويجب نلاحظ صلاحية طبقة التفلون لذلك .

٥- الحفاظ على الطعام اثناء طبخه بدالة حامضية مقاربه الى (٧) ويمكن رفع او خفض الدالة الحامضية بعد الانتهاء من عملية الطبخ .

٦- ضبط زمن الطبخ الكافي وعدم ترك الطعام تحت عملية التسخين الغير ضرورية حيث تؤثر هذه المرحلة الغير ضرورية تاثير كبير على عملية تلوث الطعام بفلزات اناء الطبخ.

جدول ١. سلسلة المحاليل العيارية للالمنيوم والرصاص والحديد والامتصاصيات المقابله لها.

الالمنيوم Al		الرصاص Pb		الحديد Fe	
التركيز (مغم/لتر)	الامتصاصية	التركيز (مغم/لتر)	الامتصاصية	التركيز (مغم/لتر)	الامتصاصية
٠	0.00	0	0.00	0	٠.٠٠
25	0.60	0.02	0.63	25	٠.٨٦
50	1.20	0.05	1.38	50	1.50
100	2.40	0.08	2.50	100	3.00

جدول ٢. تراكيز الالمنيوم والحديد والرصاص في نموذج الطعام بازمان غليان مختلفة.

نوع اناء الطبخ	مدة الغليان (دقيقه)	[Al]ppm	[Fe]ppm	[Pb]ppm
زجاج	اكثر من ٩٠	0.25	0.44	0.10
المنيوم خفيف	٤٥	2.50	0.70	0.10
المنيوم خفيف	٩٠	11.00	0.95	0.10
المنيوم ثقيل	٤٥	0.50	4.00	0.20
المنيوم ثقيل	٩٠	13.50	7.30	0.25
الستيل	٩٠	0.27	20.40	0.10
التيفال	٩٠	0.25	1.10	0.10

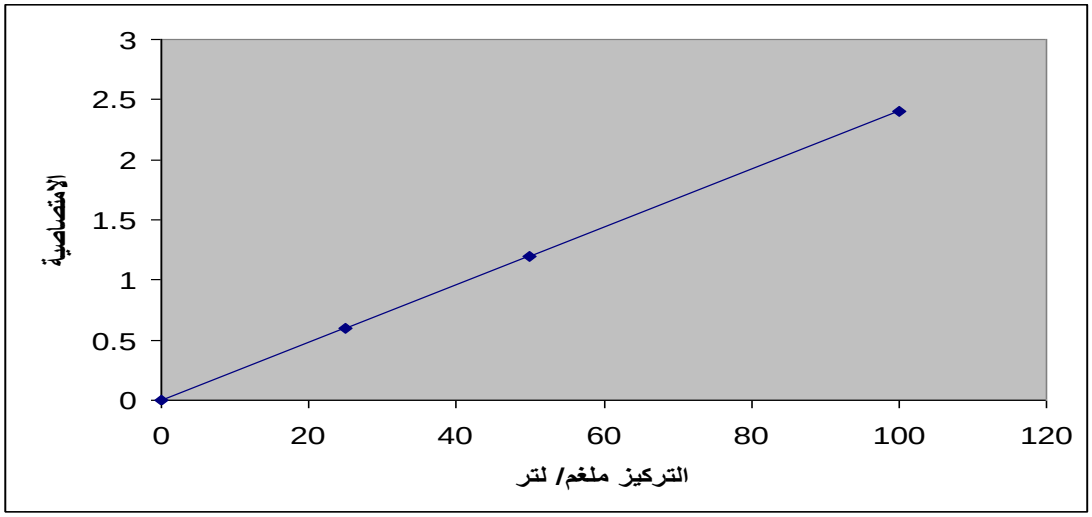
جدول ٣. قيم التوصيلية الكهربائية المولارية لمحاليل الطبخ بمدد تسخين مختلفة.

نوع اناء الطبخ	مدة التسخين(دقيقة)	التوصيلية المولارية(سيمنز)
زجاج	اكثر من ٩٠	٤.٦٥
المنيوم خفيف	٤٥	٥.٣١
المنيوم خفيف	٩٠	٥.٥٠
المنيوم ثقيل	٤٥	٥.٢٠
المنيوم ثقيل	٩٠	٧.٤٠
ستيل	٩٠	١٦.٢٠
التيفال	اكثر من ٩٠	٤.٧٠

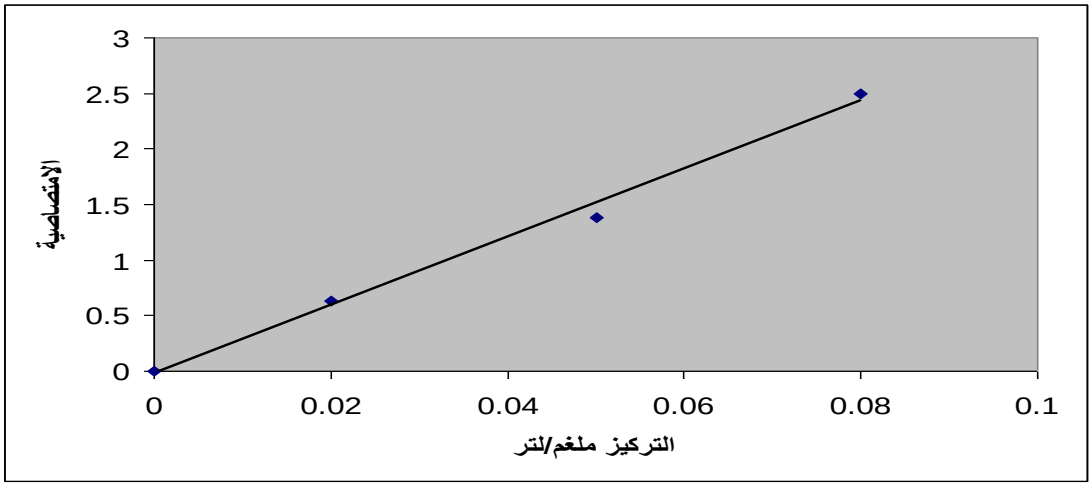
جدول ٤. تاثير الحامضية على تلوث اواني الالمنيوم الخفيف بالالمنيوم عند مدة تسخين ٢ ساعة.

pH	تركيز ppm [Al]
5	59.2

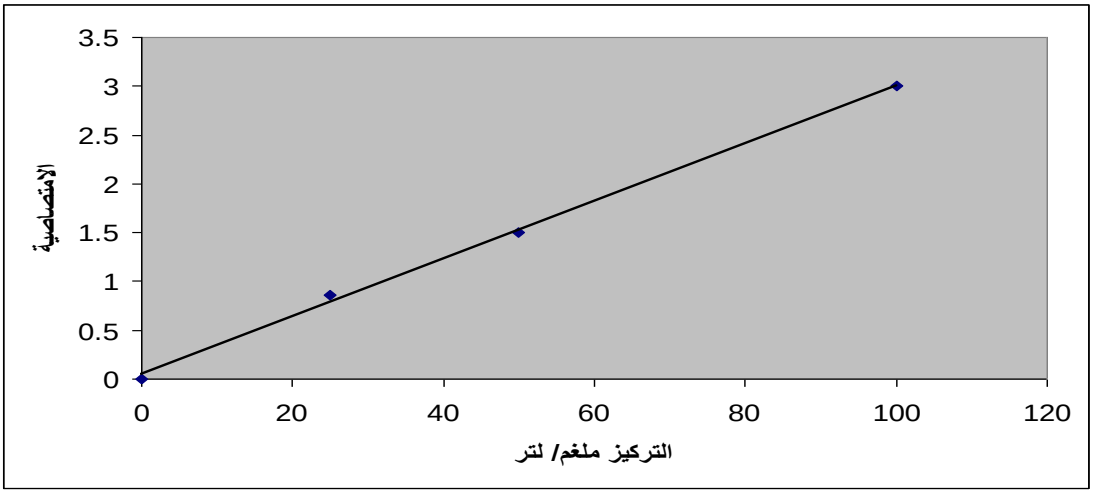
4	71.5
3	108.9



شكل ١. منحني معايرة الالمنيوم



شكل ٢. منحني معايرة الحديد



شكل ٣. منحني معايرة الرصاص

Effect of Acidity and Boiling Time on Food Contamination by Glass, Aluminium, Stainless Steel, and Tefal Utensils in Iraqi Kitchens

Jassem M. A. Al – Hassien
Dep. of Chem. , Col. of Sci. , Univ. of Babylon , Iraq
e.mail: jasem_hilla@yahoo.com

Abstract

In this research we studied the effect of acidity and heating time on food contamination using many types of utensils (glass, light aluminium, heavy aluminium, stainless steel, and tefal utensils) found in Iraqi kitchens. The concentrations of Al, Fe and Pb were measured in foods, under investigation , after boiled for 45min and more than 90 min and acidified it by using Flame Atomic Absorpition Spectroscopy. Results showed that the glass utensils do not contaminate foods, wherease, and the aluminium utensils showed an increase in Al levels in foods above its premicible limits. However, Fe concentrasions remaind in normal acceptable levels by using glass or light aluminium utensils, whereas, it showed observed increase in its level by using heavy aluminium or tefal utensils. Al showed high stability in its level by using stainless steel or tefal utensils, whereas, Fe showed high excess in its level by using stainless steel utensils.

المصادر

1. Organization Department of Food Safety , 2008, Food Safety Issues ,Terrorist Threats to Food , World Health
2. Cotton F. A and G.wilkinson 1966 , Advanced Inorganic Chemstry 2nd Ed.,John Wily and Sons,Inc. .
3. Greenwood N.N and A.Earnshaw, 1984, Chemistry of the Elements ,Pergamon Press ltd. .
4. Silberberg 2003 , Chimestry , 3rd Ed. ,Mc Graw-Hill Companies , Inc. .
5. Raymond Chag ,2005, Chemistry , Eighth Ed. ,Mc Graw-Hill Companies , Inc. .

6. Durrant P.J ,1946 , General Inorganic Chemistry,3rd Ed.,Longman Group Limited , London .

7. Daniels F. and R.A. Alberty, .,1975,Physical Chemistry ,John Wiley and Sons ,Inc. .

8. Crichton R.R. , 2008 ,Biological Inorganic Chemistry An Introduction,Elsevier B.V. .

9. Trapp GA. Cannon JB., 1981, New England Jornal of Medicine , 304 .

10. Greger JL, 1985, Food Technology , 39.

11. Sorenson JRJ, 1984, Environmental Health Perspectives , 8.

12. Spencer H ,1982, American Journal of Nutrition ,36.

13. EkanemE.J. , J.A.Lori, F.G.Okibe, G.A.Shallangwa , B.A.Anhwange , M.Halira and A.A. Moyosore,2007 , Journal of Food Technology , 7(2).

14. Center for Food Safety, 2009 , Hong Kong , Aluminium in Food , Food and Environmental Hygiene Depatment .

15. Commissaris RL, 1982, Neurobehaviorial Toxicology and Tetratology , 4.

16. Chan Y,1983, Calcified Tissue International ,35.

17. Braunlich H, 1986, Journal of Applied Toxicology , 6.

18. Kaiser L. ,1984 , Kideny International , 26.

19. Stein G. , 1987 , Journal of Applied Toxicology , 7.

٢٠. محمد الشحنه د.خليل صهيوني ٢٠٠٦، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلميه المجلد (٢٨)العدد (١). سلسلة العلوم الاساسيه

21. Krewski D. ,2007,Journal of Toxicology and Environmental Health ,Part B.

22. Nagooka-M.H and T.Maitani ,2009, Joural of Health Science , 55(2).

23. Al-Hashem F. , 2009, American Journal of Biochemistry and Biotechnology , 5(3).

24. Christopher Exley,1998 , Molecular Medicine Today ,Elsevier Trends Division.

25. Bhutani S.P. , 2007, Organic Chemistry Ane Books India.

26. Scientific Advisory Committee on Nutrition, 2010 , Iron and Health , Crown Copyright , United Kingdom .

٢٧. لطيف حميد علي ، ١٩٨٧، الثلوث الصناعي، جامعة الموصل مديرية دار الكتب للطباعه والنشر.