IJST

INTERNATIONAL

Journal for Sciences and Technology

VOI.(12), NO. (4)- DECEMBER 2017 ISSN:2305-9346

ICV: 63.75 / SJIF: 4.487 / GIF: 0.81 / DOI: 10000 / SAIF: 4.32

www.ijst-jo.com

IJST International Journal for Sciences & Technology

International **J**ournal for **S**ciences and **T**echnology

المجلة الدولية للعلوم والتكنولوجيا

Volume 12. No. 4/ December 2017 / ISSN: 2305-9346

A Peer Reviewd Scientific Journal Since 2006

مجلة علمية محكمة منذ عام 2006

Issued By:

The International Centre for Advancement of Sciences and Technology

In a cooperation with TSTC - Jordan

IJST Contact Information:
P.O. Box 2793 Amman 11953 Jordan
Tel. +962796543469
E-mails: info@ijst-jo.com / ijst.jordan@yahoo.com
URL: www.ijst-jo.com

EDITORIAL BOARD - 2017

FORWARD

Dear Colleagues,

IJST was a fruitful effort issued by the International Centre for Advancement of Sciences and Technology – ICAST, which tries to take part in both globalization and revolution in information and communication technologies, because S&T development becoming not only the key elements of economic growth and industrial competitiveness, but also essential for improving the social development, the quality of life and global environment. ICAST took then a decision to establish a scientific alliance with TSTC (Tharwa for scientific Training & Consultations) and this alliance comes to support the efforts towards publishing IJST.

Today, we announce a new issue of our journal, that is the fourth issue from the twelve volume of IJST, December , 2017.

Finally, I hope that all significant figures of sciences whom joined the editorial board, the researchers, and the readers of our journal will keep IJST between their eyes and contribute in continuing its journey, with their remarks, valuable recommendations and their researching outcomes.

Thanks a lot for all who support IJST.

Editor-in-Chief

IJST

Abdul Jabbar Al- Shammari

The Referees for this Issue

** The referees and advisory group below are listed according to alphabetical order, with deep appreciation for all.*

Prof. Abdul- Jabbar N. Al- Shammari
Dept. of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Sciences, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

Dr. Abdullah Sh. M. Al- Shebani
Dept. of food sciences, Faculty of Agriculture, Kufa University. Iraq

Dr. Abdul-Wahab R. Hamad
Al-Zarqa University College. Jordan

Dr. Hala Al Daghistani
Dept. of Medical Laboratory Sciences , College of Sciences , Al- Balqa' Applied University. Jordan

Prof. Harith F. Al- Mathkhouri
College of Sciences, University of Baghdad. Iraq

Prof. Jamal A. Abbas
Faculty of Agriculture, Kufa University. Iraq

Prof. Mahmoud M. Othman Matar
College of Medicine, Al- Najah National University. Palestine

Prof. Riadh Al- Ramadani
Faculty of Medicine, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

TABLE OF CONTENTS

** Articles in this issue are listed below according to field specialties order, starting by English section and followed by Arabic section.*

(I) ENGLISH SECTION

ARABIC STUDIES AND RESEARCHES SECTION – قسم الدراسات والبحوث العربية (II)

علـــوم البيئة ENVIRONMENT

العلـــوم الزراعيـــة AGRICULTURAL SCIENCES

ENGLISH SECTION

A comparative study of stem anatomy for some *Carex* L. and *Bolboschoneus* (Ascherson) Palla (Cyperaceae) species in Iraq

Zubaidah A.L. Ismail

College of Education / Iraqia University / Republic of Iraq

E- mail: ijst.jordan@yahoo.com

ABSTRACT

The stem anatomies of five species belonging to different genus were studied to ascertain whether differences in anatomy may be found among the species, supporting morphological differences taxonomically. These species were *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla., *B. tuberosus* (Desf.) Hadac*., Carex distans* L*., C.divisa* Huds*.* and *C.hordeistichos* Vill*.* They were investigated by using hand cutting and safranin staining. In transverse sections, stems of all the studied species were triangular except for *C.hordeistichos* which was ovate shape. The ground tissue is net-like with numerous air cavity in *B. tuberosus*, other species have no air cavity except *C.hordeistichos* which has cavities shown between the vascular bundles. Crystals of druses and prismatic types were observed only in *Carex distans* and *C.divisa.*

Keywords: Cyperaceae, *Bolboschoenus maritimus, Bolboschoenus. tuberosus, Carex distans*, *Carex divisa, Carex hordeistichos*, air cavities

---

الملخص باللغة العربية

تم دراسة الصفات التشريحية لسيقان خمس أنواع مختلفة من أجناس مختلفة، واستخدمت الاختلافات في الصفات التشريحية بين الأنواع لدعم الصفات المظهرية في تصنيف هذه الأنواع. الأنواع المدروسة هي *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla., *B. tuberosus* (Desf.) Hadac*.,* *Carex distans* L*., C.divisa* Huds*.* و*C.hordeistichos* Vill . استخدمت طريقة التقطيع اليدوي وصبغة السفرانين في هذه الدراسة. في المقاطع المستعرضة تبين أن سيقان جميع الأنواع المدروسة كانت ذات شكل مثلث ماعدا النوع *C.hordeistichos* الذي كان ذا شكل بيضوي. ظهر النسيج الأساسي للنوع *B. tuberosus* بشكل يشبه الشبكة ويحوي العديد من الفجوات الهوائية. أما باقي الأنواع المدروسة لم تحو في نسيجها الأساسي على فجوات ماعدا النوع *C.hordeistichos* ،حيث ظهرت الفجوات الهوائية فيه بين الحزم الوعائية. كما ظهرت البلورات ذات الشكل النجمي والموشوري في النوعين *C. divisa* و *C. distans*.

INTRODUCTION

Cyperaceae family is described as grass-like herbaceous plants and considered one of the largest families of vascular plants comprising 70-105 genera and 4000-5000 species. They commonly found in boggy conditions and being as environmental indicators for wetland habitats (1). *Carex* L. is the largest genus of this family contained about 2000 species (2). *Bolboschoneus* (Ascherson) Palla. genus includes approximately 15 species throughout the world (3,4). The most and oldest anatomical study of this family was done by (5), when explained stem and leaf anatomical characters of 280 species belonging to 90 family. Cyperaceae constitutes a taxonomically difficult family. However, distinguishing among the individual species within a genus in this family is difficult in some cases due to the high variation in quantitative morphological characters and the absence of the diagnosing features in the flowering plant (6,7). With regard to recent knowledge on species differentiation, stem anatomy of *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla., *B. tuberosus* (Desf.) Hadac., *Carex distans* L., *C.divisa* Huds. and *C.hordeistichos* Vill. has not been studied yet. This study will attempt to complete the knowledge of Iraqi flora by using the differences in stem anatomy that may be found among these species and used it for taxonomic classification.

MATERIALS AND METHODS

For the stem anatomical study, sections from the middle of the stem were used from 2 or 3 populations of each species used. The localities were selected to cover as much geographical distribution and different habitats as possible. The specimens were collected from Baghdad, Najaf, Karbala'a, Arbil and Karkuk during flowering periods 2015-2016. The sections were washed with water then fixed with FAA solution for 24 hours (8), and then transferred to 70% alcohol until used (9). Transversal sections of the stem were prepared as the method of (10,11).

RESULTS AND DISCUSSION

Results obtained from this study showed that the anatomical characters can separate species and can be used as an important supportive taxonomic tool to demarcate species under this study. Cross sectioning shape of the stem was genetically controlled, so it was an important taxonomic feature. The stem of *B. maritimus* and *B. tuberosus* was clearly triangular in outline with concave sides (Figure 1), beginning with the outermost, slightly well-developed cuticle layer, which has protected role; reduces water loss and play an important role in controlling surface temperature by reflecting or altering the incoming radiation (12). Thickness reached to 2.72µm and 4.89 µm in *B. maritimus* and *B. tuberosus,* respectively. Epidermis was uniseriate in both species comprised of ovate cells in *B. maritimus* and squarish or rectangular in *B. tuberosus*. Vascular bundles of *B. maritimus* are distributed in a peripheral layer under the stem surface, about 33 to 42 small and large vascular bundles, in addition to 8-15 bundles scattered in the central tissue. Sclerenchyma tissue of various sizes (108.8-190 µm thickness) and shape (mostly crescent or cup shape) located opposite to the bundles and sometimes connected to the bundles. In *B. tuberosus,* central ground tissue is net-like with numerous irregular intercellular air cavities. The sclerenchyma composed of flat strands of 27.2-65.24µm thickness located at corners. Bundles were about 65-75 of various size, large towards center and small in peripheral site. Stem of *C. distans, C.divisa* have triangular shape with rounded corners, flat or concave sides in first species and undulates walls in the other (Figure 2:A,B,C and D).

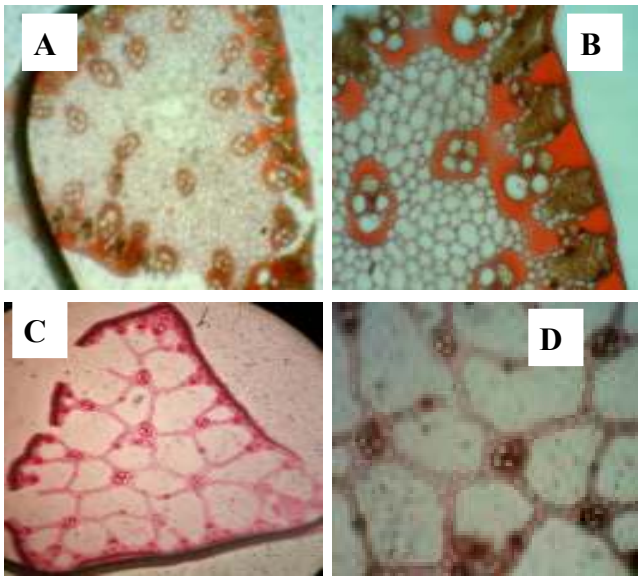

Figure (1): C.S. in stem (A & B: *B. maritimus*) ;(C & D: *B. tuberosus*)

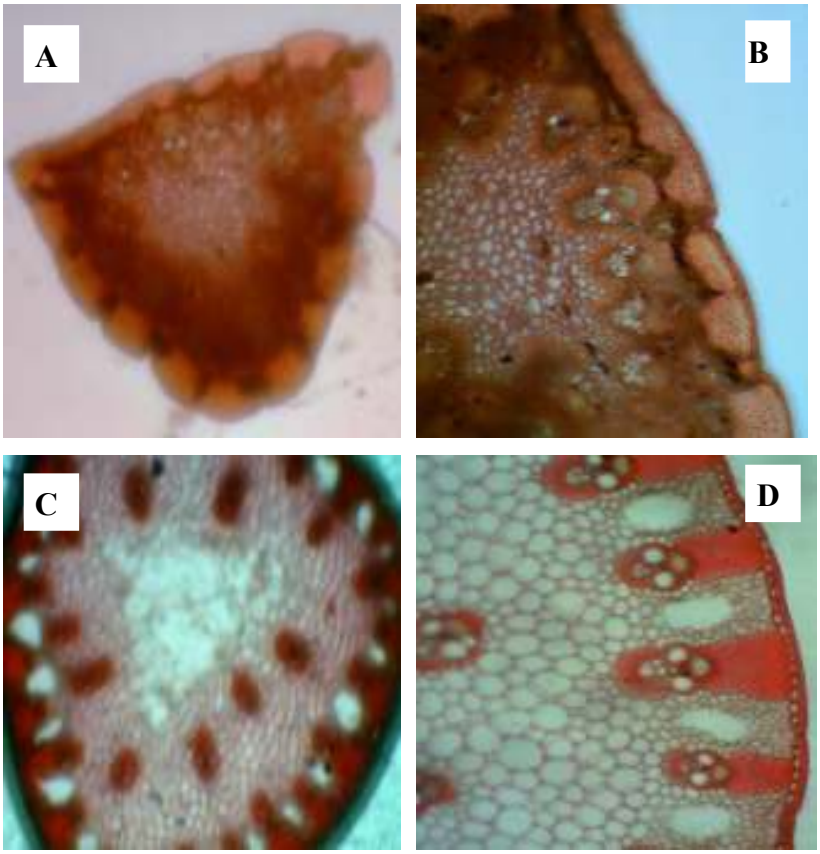

Figure (2): C.S. in stem: (A&B: *C. distans*); (C&D: *C.divisa*)

Triangular shape was the common in species of Cyperaceae (13). Cuticle thickness reached to 3.5µm in both species, covering the squarish epidermal cells in *C. distans* and oblong ovate epidermal cells in *C.divisa*. Vascular bundles in both species arranged in two circles. 23-35 and 15-25 bundles in *C. distans, C.divisa,* respectively. A continuous cylinder of sclerenchyma appeared closed to the periphery small bundles which embedded in this sclerenchyma. No air cavities are observed in these species. Druses and prismatic crystals were observed only in *C. distans* and *C.divisa* (Fig 3:A&B) which revealed important taxonomically. Stem cross sectioning of *C.hordeistichos* have ovate shape, thickness of cuticle reached to 5.54µm. Epidermal cells ovate and oblong ovate with a thickness reached to 10.88µm. Bundles of this species arranged in two circles, the peripheral contains about 19-25 bundles with occurrence of air cavities between them, in addition to 8-11 bundles as a central circle. Number and arrangement of stem bundles have a taxonomic value and it was important character to distinguishing different species belonging to the family (14). Presence of air cavities in *B. tuberosus* and *C.hordeistichos* may be related to environmental conditions, as intercellular spaces in the stem that enables gases transport and exchange in plants growing under flooded conditions (15,16).

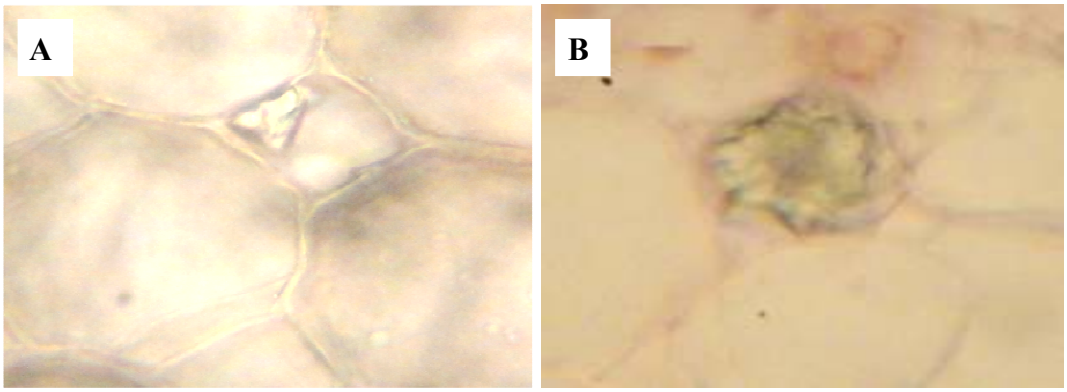

Figure (3): **Observed crystals in *C. distans* and *C.divisa* : A:Prismatic type, B: Druses type**

REFERENCES

1. Zarrinkamar F.; Jalili A.; Hamzehee B.; Asri Y.; Hodgsons JG.; Thompson K. and Shaw S. (2002). Foliar anatomy of *Carex* in Arasbaran, NW. Iran. Iran. J. Bot. 9(2):361-270.
2. Mejias PJ.; Palacios GR.; Rad MA. and Bravo SM. (2015). Taxonomic notes on some problematic *Carex* (Cyperaceae) names from SW Asia. Phytotaxa. 219(2):183-189.
3. Browning J. and Gordon-Gray KD. (2000). Patterns of fruit morphology in *Bolboschoenus* (Cyperaceae) and their global distribution. S.Afr. J. Bot. 66:63-71.
4. Amini RM.; Hroudova Z. and Marhold K. (2010). The genus *Bolboschoenus* in Iran. Taxonomy and distribution- Nord. J. Bot. 28:588-602.
5. Metcalfe CR. (1971). Anatomy of the Monocotyledons. Vol. 5 Cyperaceae. Oxford. P.:597.
6. Browning J.; Gordon Gray KD.; Smith SG. and Stadon JV. (1996). *Bolboschoenus yagara* (Cyperaceae) newly reported for Europe. Ann. Bot. Fenn. 33:129-136.
7. Smith SG. (2002). *Bolboschoenus*. In: Ball. PW.; Reznicek AA. and Murray DF. (eds.), Flora of North America, Cyperaceae. Vol.23. Oxford Uni. Press, New York. Pp.:37-38.
8. Johansen DA. (1940). Plant micro technique. New York: McGraw-Hill. P.:523.
9. Berlyn GP.; Miksche JP. (1976). Botanical micro technique and cyto-chemistry. Ames: Iowa State University. P.:326.
10. Al-Musawi AH. (1979). A systematic study of the genus *Hyoscyamus* (Solanaceae). Ph.D. thesis. University of Reading. UK. P.:96.
11. Al-Zubaidy AMA. (1998). Systematic study of the genera (*Ajuga* L., *Marrubium* L., *Lallemanita* Fisch. and C.A.Mey. And *Lamium* L.) of Labiatae in Iraq. Ph. D. thesis. College of Science. Baghdad University.
12. Batanouny KH. (1992). Anatomy of plants. University Press of Cairo. p.:104.
13. Watson L. and Dalwitz MJ. (2010). The families of flowering plants: description, illustration, identification and information retrieval. Amer. J. Bot. 90:1071-1086.
14. Ramazanne G.; Azizian D. and Assadi M. (2006). Comparative anatomical analysis of stem in four genera of the tribe Salsdea, Chenopodiaceae. Iran. J. Bot. 12(2): 169-182.
15. Cronk JK. and Fennessy MS. (2001). Wetland plants: Biology and Ecology. Lewis Publications. Boca Raton. P.:462.
16. Dheeb BI. (2015). Antifungal Activity of Alkaloids and Phenols Compounds extracted from black pepper Piper nigrum against some pathogenic fungi. J. Biotechnol. Res. Center. 9:46-54.

Study the expression of syndecan-1 protein in oral lichen planus (OLP) cases

Muhanad L.H. Al-Shami(1), Amir A. Majeed, Suzan A. Al-Nakeeb (2) and Nagham H. Ali (3)

(1) Dept. of Dentistry / Dijlah University College (2) Kirkuk Technical Institute/ Northern Technical University (3) College of Dentistry/ University of Tikrit
Republic of Iraq

E –mail: ijst.jordan@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of the study was to estimate expression of syndecan-1 protein in the oral lichen planus (OLP) iraqi cases patients. thirty (30) patients with histologically confirmed OLP diagnosed from January 2016 were followed-up to the end of February 2017. The standardized incidence ratio. was calculated for the entire cohort and specific for gender, type of OLP. The relative risk During the follow-up period, expression of syndecan-1 protein estimated using immunohistochemichal teqnique. Positive syndecan-1protein immunostaining was detected as brown cytoplasmic staining of the cells. Positive IHC expression was found in all oral lichen planus (OLP) cases as illustrated that (3) cases (10.0%) showed weak positive expression, (9) cases (30.0%) showed moderate positive expression, and (18) cases (60.0%)showed strong positive expression. In present study: (63.3%) (19 cases) of oral lichen planus (OLP) cases were above 50 years old with an age ranged (32-75)years and mean age (53.5). Regarding the sex distribution of the study samples 17 cases (56.7%) were males and 13cases (43.3%) were females . with a male/female about 1.3:1. Regarding site distribution of the oral lichen planus (OLP), the tongue represented the most predominant site.

Keywords: syndecan-1 protein, OLP, immunohistochemistry

INTRODUCTION

Oral lichen planus (OLP), the mucosal counterpart of cutaneous lichen planus , presents frequently in the fourth decade of life and affects both gender (1). The disease affects 1–2% of the population (2,3). It is seen clinically as reticular, papular , plaque-like , erosive, atrophic or bullous types. Intraorally , the buccal mucosae, tongue and the gingiva are commonly involved although other sites may be rarely affected (4). Various white-and-red lesions occur in the oral mucosa , including erythroplakia , candidiasis, geographic tongue, lichen planus , lichenoid lesions, and others . Oral leukoplakia and oral erythroplakia are well known to be precancerous lesions (5), while Lichen planus consider as chronic inflammatory mucocutaneous disease associated with immune - mediated pathogenesis (6). It most commonly affects the oral mucosa , but can involve other sites such as the skin, genital mucosa , scalp, and nails (7). Most cases of OLP do not involve lesions at other sites. Clinical features of OLP range from asymptomatic reticular white lesions in atrophic mucosa, to erosive-ulcerative areas accompanied by pain and discomfort, while the most characteristic feature is the presence of a lace-like network of fine white line (8). The malignant potential of oral lichen planus (OLP) has a relationship with syndecan-1 protein (9). Since the immunostaining exoression and histological features of these white-and-red lesions are similar, differential diagnosis of them is important in this work , the experiment focus in evaluate the expression of syndecan -1 protein in the pathogenesis and current treatment modalities of OLP.

MATERIALS AND METHODS

Sample:

Sample of this study included thirty formalin-fixed , paraffin- embedded tissue blocks , which have been diagnosed as oral lichen planus (OLP) ,dated from January 2016 to February 2017. The study samples were obtained from Al- Shaheed Ghazi Hospital/ Medical City /Baghdad (30) blocks ; The diagnosis of each case was confirmed by examining the Hematoxylin and Eosin (H&E) sections by two specialized pathologists. Demographic and clinical data provided by the surgeon were obtained from the surgical and pathological reports available with the tissue specimens, including patient's age, sex, clinical presentation . The positive control were obtained according to antibodies manufacturer's data sheet . Slides were prepared from blocks of patient having tissue known to contain the target antigen against which the primary antibody used in this study was reactive. For syndecan-1 protein monoclonal antibody , kidney tissue was used as positive control according to (10).

Immunohistochemical detection kit of syndecan-1protein Antibodies:

Principles of the test: Immunohistochemistry (IHC) enzyme labeled technique is a two-step indirect process , where the enzyme (peroxidase) is conjugated to a secondary reagent (link-Antibody), providing an additional step for amplification of the antigen -antibody binding event . Biotin-Streptavidin amplified (B-SA) system is one of the most common linkers used in this method. Specific primary Ab will react with its corresponding antigen in the tissue, and then the biotin-labeled secondary antibody will bind to that primary Ab. When the conjugate (Streptavidin bounded enzyme) is added, the biotinylated Ab will form a complex with the enzyme- conjugates streptavidin, and by adding the chromogen substrate, a colorimetric reaction will happen at the antigen binding site. The type of the chromogenic substrate depends on the type of the enzyme used. Thus, DAB (3,3" diaminobenzidine) substrate offers the greatest sensitivity in the horseradish peroxidase enzyme system as a colorimetric chromogen, and a brownish precipitate will form at the antigen binding site".

Immunohistochemistry staining procedure (Manufacturer's data sheet): "The exact procedures may vary from the datasheet as they were modified to accomplish optimal results":

1-Slide baking: the slides were placed in a vertical position in the hot air oven at 60˚ C. overnight.

2- Deparaffinization / hydration: The slides were sequentially immersed in the following solutions: twice in xylene for 15 minutes each. (first xylene jar was put in oven for 15 minutes before use to get the same temperature of the backed slides in order to avoid tissue damage).

3-Peroxidase block: The slides were immersed in 0.03 % hydrogen peroxide solution in a jar for 30 minutes. The slides then were removed , dipped in distilled water followed by 1XPBS (pH 7.4) once, then drained, wiped with absorbent wipes avoiding the tissue and blotted gently.

4- Protein blocking reagent: After encircling selected tissue sections within each slide from below with a diamond pen, 30-50 µl of 1% normal serum/PBS solution provided with the staining kit was added to cover tissue sections after carefully draining, blotting, and wiping the slides around the s pecimens to keep the blocking reagent within the prescribed area, then the slides were incubated at the incubator set at 37˚C for 30 minutes within the humid chamber. After that the slides were gently rinsed with PBS for 5 minutes, and drained gently.

5-Primary antibodies: After dropping off the normal serum from the slides, primary antibodies were applied for each section and the slides were placed in a humid chamber overnight. Early in the next day the slides rinsed gently with a stream of

PBS, by immersing in the solution three times for 5 minutes each, then drained and blotted gently as before.

6-Biotinylated secondary antibody: it was applied on to the sections then the slides were placed in the humid chamber for 30 minutes. After that, they were rinsed and placed in PBS three times for 5 minutes. Also, excess buffer was drained and blotted as before.

7-Detection solution (streptavidin-HRP reagent): were applied covering the specimen and placed in the humid chamber for 30 minutes. After that the slides were rinsed and placed in PBS for 5 minute then excess buffer was drained and blotted as before.

8-The prepared chromogen solution (DAB) was removed from the dark place where it was kept, enough drops were applied to cover the sections, and then they were kept in darkness within the humid chamber for 3-5 minutes. After that the slides were rinsed gently with tap water for 10 minutes.

9-The slides were bathed in Hematoxylin counter stain for 1-2 minutes then they were rinsed with tap water for 10 minutes.

10-Dehydration: the slides were dehydrated by immersing them in ethanol and xylene containing jars as follows:

- 70% ethanol for 3 minutes .
- 80% ethano l for 3 minutes .
- 90% ethanol for 3 minutes .
- 95 % ethanol for 3 minutes .
- Twice in absolute ethanol for 5 minutes each.
- Xylene for 5 minutes.
- Fresh xylene for 5 minutes

11-"One to two drops of Distyrene-Plasticizer-Xylene DPX mounting medium were applied to the xylene wet sections and covered with cover slips gently to remove".

12-Evaluation of immunohistochemistry results:"Immunohistochemical signal specificity was demonstrated by the absence of immunostaining in the negative control slides and its presence in recommended positive controls. For *of* syndecan-1protein cells with clear brown cytoplasmic staining pattern were considered positive ,and membranous. Immunohistochemical stained oral lichen planus (OLP) sections were studied by light microscope under 10Xobjective. In each tissue section, five representative fields (areas showed well preserved oral lichen planus (OLP) islands in which the reaction was clearly positive) were selected for syndecan-1protein monoclonal antibodies immunostaining evaluation, with an average of 1000 cell per case and 200 cells per field . Only the number of cells that were positive for syndecan-1protein were quantified by counting at least one thousand cells in representative five fields at 40X objective in each case. The extent of staining was scored using the following scale: 0 = no staining (negative), 1 =staining of 1–25% of cells (weak positive), 2 = staining of 26–75% of tumor cells(moderate positive), 3 =staining of 76–100% of tumor cells(strong positive) (11).

Statistical analysis:

The studied parameters were scored and considered as categorical data thus they presented as count and percentage. The relationship between categories was tested by Chi-square test. Spearman's rho correlation was applied to assess the linear association between syndecan-1 protein and oral lichen planus (OLP) sections. The level of significance was 0.05 (two-sided) in all statistical testing (12).

RESULTS AND DISCUSSION

Immunohistochemical evaluation

Evaluation of syndecan-1protein immunohistochemistry:

Positive syndecan-1protein immunostaining was detected as brown cytoplasmic staining of the cells (figure 1). Positive IHC expression was found in all oral lichen planus (OLP) cases as illustrated in table (1), which reveals that (3) cases (10.0%) showed weak positive expression, (9) cases (30.0%) showed moderate positive expression, and (18) cases (60.0%) showed strong positive expression".

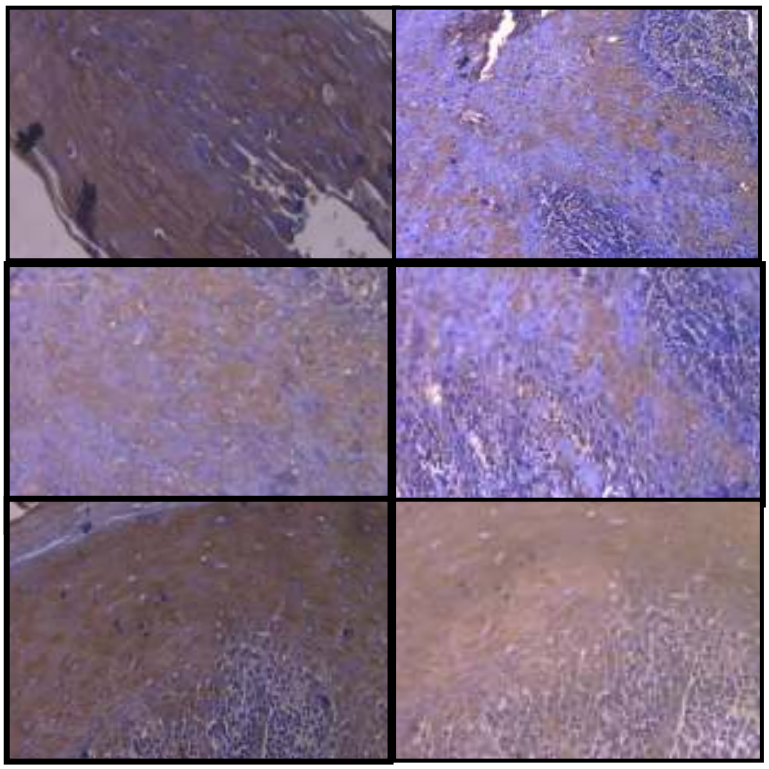

Figure (1): Positive brown cytoplasmic immunostaining of syndecan-1 protein in in well differentiated oral lichen planus (OLP) cases.

Table (1): syndecan-1protein IHC expression in oral lichen planus (OLP) cases

syndecan-1protein score*	No.	%
1	3	10
2	9	30
3	18	60
Total	30	100

*1 (weak expression), 2(moderate expression), 3(strong expression)

According to chi-square test , the results of this study showed statistically non-significant correlation regarding syndecan-1protein expression in relation to the age (p-value=0.181) and sex (p-value=0.276) ,and showed statistically significant correlation regarding syndecan-1protein expression in relation to the cell site (p-value=0.015) and clinical presentation (p-value=0.003.

In present study: Clinicopathological finding (63.3%) (19 cases) of oral lichen planus (OLP) cases were above 50 years old with an age ranged (32-75) years and mean age (53.5).These result were agree with (2,13). Another study demonstrated an age were above 40 years (4). The association of oral lichen planus (OLP) development with aging could be explained by the prolonged exposure to radiation, viruses and chemical (8). In addition, impaired immune system due to senescent decline in the immune surveillance that may lead to the accumulation of cellular DNA mutations which could be a significant factor in cancer development may be one explanation (13,14). Furthermore among known risk factors, aging appears to have a great association with oral lichen planus (OLP), since it causes cellular dysregulation through the alteration in cell growth and suppressor genes (1,15).

Regarding the sex distribution of the study samples, 17 cases (56.7%) were males and 13cases (43.3%) were females. with a male/female about 1.3:1 This result was in agreement with previous studies (3,7,15,16). In other part of the world (17) reported similar findings. However, the disparity in the male: female ratio “has become less eprofound over the past half century and ethis shift has been attributed to an increase in esmoking and alcohol consumption by women (6). In addition, the stress and increasing number of females working in factories could be additional factors" (5-9)”.

Regarding site distribution of the oral lichen planus (OLP), the tongue represented the most predominant site, this was in agreement with the results of previous studies (16,18,19) and disagreed with other studies (6,20) that had demonstrated buccal mucosa as the most predominant site. Furthermore (8), who reported the lower lip represents the most common site. Similar studies in the world are in agreement with present study (20,21). The most predominant clinical presentation recorded in this study was Endophytic(ulcer) clinical feature (63.3%) 19 cases followed by Exophytic mass which (36.7%) 11 cases. This finding was in accordance with previous studies" (22.23).

"These differences may be attributed to the fact that the current study and some of the others are not an epidemiological type of studies, hence the limited number of cases preclude for definitive clinical findings.

Regarding tumor stage ,the preponderance of tumors stage presented were stage IV (33.3%) 10 cases, this is in agreement previous studies"(20,21).

"The results of this study showed positive syndecan-1 protein expression in all oral lichen planus (OLP) cases with (60.0%) of cases showed strong positive score. The present finding was in agreement with previous reports (22-25). This suggested that syndecan-1 protein may be involved in mitoses seen in squamous cells of oral squamous cell carcinoma (26). It has been demonstrated that syndecan-1 protein promotes the production of cancer cell proteinases and enhances their invasive ability. Is to be expected that syndecan-1 protein produced by cancer cells activates the cancer cells themselves and/or the fibroblasts for the invasion and growth of the cancer (27). Many evidences demonstrated that syndecan-1 protein pathway contributes to the redundancy observed in oral lichen planus (OLP), and could function as a growth factor on the oral lichen planus (OLP) in a paracrine / autocrine fashion, activating intracellular pathways and ultimately leading cells to proliferate, avoid apoptosis or become insensitive" (27). "Immunohistochemical examination of syndecan-1 protein expression showed that neutralization treatment with anti-syndecan-1 protein accumulated around oral lichen planus (OLP) cells. Also this indicate that syndecan-1 protein produced by cancer cells promotes their own invasion in an autocrine fashion, and simultaneously promotes the proliferation of surrounding fibroblasts in paracrine fashion ; thus, oral lichen planus (OLP) cells with higher invasion potential showed higher syndecan-1 protein expression, that imply the level of syndecan-1 protein expression is an indicator of degree of lichen planus (OLP) malignancy" (28).

Correlation of syndecan-1 protein expression with Clinicopathological parameters:

"Regarding the age and sex, this study revealed statistically non-significant difference in syndecan-1 protein expression neither among two age groups (more than 50 and less than 50 years) nor among males and females. These finding were in agreement with previous reports concerning lichen planus (OLP) (29). Concerning lichen planus (OLP), and clinical presentation this study showed a statistically significant differences in syndecan-1 protein expression among different lichen planus (OLP) sites (p-value=0.015), clinical presentation (p-value=0.003). this finding disagrees with previous report regarding lichen planus (OLP) (30). These variations in results regarding syndecan-1

expression correlation with lichen planus (OLP) site may be due to the limitation in sample size. Although several studies in human lichen planus (OLP) showed syndecan-1 over expression however, only few data exist regarding possible correlation with clinicopathological data in lichen planus" (OLP) (31).

REFERENCES

1. Sugerman PB.; Savage NW.; Walsh LJ.; Zhao ZZ.; Zhou XJ.; Khan A. et. al. (2002). The pathogenesis of oral lichen planus. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 13:350–365.
2. Bouquot JE. and Gorlin RJ. (1986). Leukoplakia, lichen planus, and other oral keratoses in 23,616 white Americans over the age of 35 years. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 61:373–381.
3. Scully C.; Beyli M.; Ferreiro MC.; Ficarra G.; Gill Y.; Griffiths M. et. al. (1998). Update on oral lichen planus:etiopathogenesis and management. Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 9:86–122.
4. Ismail SB.; Kumar SK. and Zain RB. (2007). Oral lichen planus and Lichenoid reactions; Etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. J. Oral. Sci. 49:89-106.
5. Eversole LR. (1997). Immunopathogenesis of oral lichen planus and recurrent aphthous stomatitis. Semin. Cutan. Med. Surg. 16:284-294.
6. Zhou XJ.; Sugarman PB.; Savage NW.; Walsh LJ. and Seymour GJ. (2002). Intra-epithelial CD8+ T cells and basement membrane disruption in oral lichen planus. J. Oral. Pathol. Med. 31:23-27.
7. Regezi JA.; Dekker NP.; MacPhail LA.; Lozada-Nur F. and McCalmont TH. (1996). Vascular adhesion molecules in oral lichen planus. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 81:682-690.
8. Lodi G.;, Scully C.; Carozzo M.; Griffiths M.; Sugerman PB. and Thongprasom K. (2005). Current controversies in oral lichen planus: Report on an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. 100:40-51.
9. Zhou XJ.; Sugerman PB.; Savage NW. and Walsh LJ. (2001). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in oral lichen planus. J. Cutan. Pathol. 28:72-82.
10. Dheeb BI.; Al-Mudallal NH.; Salman ZA.; Ali M. and Nouri MA. (2015) The Inhibitory effects of human, camel and cow's milk against some pathogenic fungi in Iraq.JJBS. 8(2):89-93.
11. Carrozzo M. and Thorpe R. (2009). Oral lichen planus – a review. Minerva Stomatol. 58:519-537.
12. Neville BW.; Damm DD.; Allen CM. and Bouquot JE. (2009). Oral and Maxillo Facial Pathology. 3rd ed. India: Elsevier. pp.: 782-790.
13. Dheeb BI. (2015). Antifungal activity of alkaloids and phenols compounds extracted from black pepper *piper nigrum* against some pathogenic fungi. J. Biotechnol. Res. Center. 9:46-54.
14. Roopashree MR.; Gondhalekar RV.; Shashikanth MC.; George J.; Thippeswamy SH. and Shukla A. (2010). Pathogenesis of oral lichen planus-a review. J. Oral. Pathol. Med. 39:729-734.
15. Eisen D.; Carrozzo M.; Bagan SJV. and Thongprasom K. (2005). Oral lichen planus: clinical features and management. Oral. Dis. 11:338-349.
16. Vincent SD.; Fotos PG.; Baker KA. and Williams TP. (1990). Oral lichen planus: The clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 70:165-171.
17. Lo Muzio L.; della Valle A.; Mignogna MD.; Pannone G.; Bucci P.; Bucci E. et. al. (2001). The treatment of oral aphthous ulceration or erosive lichen planus with topical clobetasol propionate in three preparations: A clinical and pilot study on 54 patients. J. Oral. Pathol. Med. 30:611-617.
18. Lopez-Jornet P.; Camacho-Alonso F. and Salazar-Sanchez N. (2010). Topical tacrolimus and pimecrolimus in the treatment of oral lichen planus: An update. J. Oral. Pathol. Med. 39:201-205.
19. Gupta AK. and Chow M. (2003). Pimecrolimus: A review. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.17:493-503.
20. Swift JC.; Rees TD.; Plemons JM.; Hallmon WW. and Wright JC. (2005). The Effectiveness of 1% pimecrolimus cream in the treatment of oral erosive lichen planus. J. Periodontol. 76:627-635.
21. Sciubba JJ. (2013). Oral mucosal diseases in the office setting: Part II: Oral lichen planus, pemphigus vulgaris, and mucosal pemphigoid. Available from: http://www.agd.org/support/articles/?ArtID=2013
22. Beck HI. and Brandrup F. (1986). Treatment of erosive lichen planus with dapsone. Acta. Derm. Venereol. 66:366-367.
23. Graham WRJr. (1975). Adverse effects of dapsone. Int. J. Dermatol.14:494-500.
24. Liu V. and Mackool BT. (2003). Mycophenolate in dermatology. J. Dermatol. Treat. 14:203-211.
25. Hodak E.; Yosipovitch G. and David M. (1998). Low dose, low molecualr weight heparin (enoxaparin) is beneficial in lichen planus-a preliminary report. J. Am. Acad. Dermatol. 38:564-568.
26. El-Hilali F.; El-Hilali H.; Dheeb BI.; Traore BM.; Messouak M. et. al. (2016). Blood transfusion utility during cardiopulmonary bypass and correlation with key biochemical laboratory findings: a new approach to identify preventive and risk factors (1-year practice at University Hospital Hassan-II of Fez). Biochem. Anal. Biochem. 5:290.
27. Lundquist G.; Forsgren H.; Gajecki M. and Emtestam L. (1995). Photochemotherapy of oral lichen planus: A controlled study. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.79:554-558.
28. Trehan M. and Taylor CR. (2004). Low-dose excimer 308-nm laser for the treatment of oral lichen planus. Arch. Dermatol. 140:415-420.
29. Nouri MA.; Al-Halbosiy M MF.; Dheeb BI.

and Hashim AJ. (2015). Cytotoxicity and genotoxicity of gliotoxin on human lymphocytes in vitro. J. King Saud Univ. Sci. 27:193-197.
30. Soliman M.; Kharbotly AE. and Saafan A. (2005). Management of oral lichen planus using diode laser (980nm).A clinical study. Egypt Dermatol. Online J. 1:3-12.
31. Dheeb BI. (2013). Immunohistochemical study of tumor necrosis factor-alpha(TNF-α) expression in lung, liver, and spleen during aspergillosis infection. BMC. Genomic. 15 (2):71.

Immuno-histochemical study of transforming growth factor Beta TGF- β in fibroadenoma and malignant breast cancer sections

Muna A. Abdulla (1) and Dina N. Tawfeeq (2)

(1) College of Dentistry (2) College of Medicine / University of Tikrit / Republic of Iraq

ABSTRACT

Immuno-histochemical is a technique based on work accomplished with antibodies that recognize the target protein and the results expressed by staining. When the specify of antibodies are strong, the specific antibody will bind only to the target of interest in the cells tissue section. Expression of TGF-β was positively appeared in the nucleus of the cells and easily detected by different techniques spatially IHC. Depending on the scoring system used for the TGF-β, the expression based on different parameters; the first: intensity of the staining of the nucleus and the second based on a percentage of the tumor cells are given positive expression. The intensity of the cytoplasm of the stained cells will be negative if there is no expression. The IHC study for the TGF-β expression of the revealed that TGF-B, positive expression was found in 21 (67.7%) out of 31 cases, while 10 (32.2%) cases were not expressed or negative cases. In the 19 Fibroadenoma cases, 6 (31.5%) were positively expressed, while 13 (68.4%) cases were not expressed, so there was a clear strong difference based on the probability value (*P*-value P <0.001) between the expression of TGF-β in the malignant and the benign cases used as cases for comparison Malignant Breast Cancer studied statically the results show there was a high patent relationship between Malignant Breast Cancer sections and TGF-B expression (p 0.001), and also no significant correlation between TGF-B expression and fibroadenoma section (p 0.001).

Keywords: TGF-B, Breast Cancer, Immunohistochemistry

INTRODUCTION

The biological technique combining between immunology and histochemistry is called Immunohistochemistry (IHC) and it is a method for presence and location evaluation in the studied section of tissue (1). At the same time, IHC is a sensitive quantitatively technique when compared with immunoassays such as western blotting. The most benefits which represented by IHC is that it enables the researchers of processes in the context of intact studied tissue, second it's important for detection the progression and diseases treatment such as fibroadenoma and Malignant breast cancer BC. The interaction between (antibody-antigen) may be visualized using either chromogenic detection *in vitro* study when the enzyme conjugated to the antibody the product of this conjugation represented by colored precipitate at the protein location. Fibroadenoma benign breast cancer an absolute or relative increase in Transforming Growth Factor Beta TGF- B activity is thought to play an important strong role in its development and sometimes may appear with fibrocystic changes (fibroadenosis). Most breast malignancies originate in the terminal ductal lobular unit (TDLU) (2). Thus, the interaction between the tumor and the host may be adversely affected by increased TGF B, both by reducing the ability of the patient to tolerate therapy and by compromising the efficiency of immune system response in most of the patients to the tumor presence. This implies that reducing the circulating levels of TGF-f, B in breast cancer patients may improve tumor therapy (3-5). TGF-β may also play an important role in development and control the mammals cells through cell adhesion regulating and formation of Extracellular matrix (ECM) during the process of palate development in this tissue; Breast tissue is one of the tissues that express TGF-β in significant levels (6). To achieve the aim of this study, steps were followed: Collection samples of Fibroadenoma and Malignant Breast Cancer Sections collected from Madinat Al Tib Teaching Hospitals and study TGF- B marker expression in each breast cancer samples and study the correlation between them.

MATERIALS AND METHODS

Patients:

Thirty-one blocks samples were collected from BC women patients, age ranging from 18 to 62 years and to whom either mastectomy or lumpectomy was done and attended to the Teaching Laboratories that belongs to the Baghdad Teaching Hospital, were collected during the January 2016 to June 2016.The personal history and the record for each patient were obtained, which included: age and the pathological data, including histologic tumor grade and stage, were obtained from the pathological reports of the patients and confirmed by an experienced pathologist. Thirty-one cases of the invasive ductal type as confirmed by the histopathological reports and examinations by a pathologist for histopathological diagnosis and determining the degree of differentiation of the tumor. The Benign Breast lesions included nineteen paraffin-embedded tissue blocks of fibroadenoma. Positive controls were obtained according to antibodies manufacturer. For TGF- β monoclonal antibody one tissue block of normal tonsil was used.

Tissue preparation and estimation of transforming growth factor TGF-β by using immunohistochemical technique:

It was performed by immunohistochemistry based on manufacturer's data sheet (7):

1-priciples of test:

The advantage offered by a micro-polymer detection system over an ABC based detection system is that it is biotin-free (ideal for studying tissue rich in endogenous biotin e.g. kidney or brain tissue). In addition, the use of a micro polymer detection system is advantageous over a polymer detection system as a smaller detection complex is formed rather than a polymer backbone aiding better tissue penetration (8).

2- Preparation of the reagents:

Preparation of Anti- TGF-β antibodies: The Optimal antibodies diluent 1:100 concentration may vary depending on specimen and preparation method, thus optimization had been done.

Substrate chromogen solution: Dab chromogen was added to Substrate buffer in a ratio: (2:100 v/v) by using graduated test tube provided by the manufacturer. The prepared substrate chromogen solution stored in dark place at 2-8˚C. The substrate must be mixed well before use.

Protein-block buffer: Fifty µl of 20X concentrated protein block buffer was diluted with deionized water to the final volume of 1000 µl. The resulting 1-X protein-block buffer concentration was ready to use and the remaining solution was stored at 4˚ C.

Phosphate buffer saline: PBS prepared in section (2.2.2.1: IV) was dissolved in distilled water in a ratio 1:10 v/v.

Ethanol and preparation of tissue sections: To prepare 90% alcohol, 90 ml absolute alcohol was mixed with 5 ml D.W, the volume was completed to 100 ml in a volumetric flask. To prepare 70% alcohol 70 ml absolute alcohol was mixed with 25 ml D.W, the volume was completed to 100 ml in a volumetric flask. And to prepare 50% of alcohol, 50 ml absolute alcohol was mixed with 45 ml D.W, the volume was completed to 100 ml in a volumetric flask.

3- Procedure:

The exact procedures of immunohistochemistry may vary from the datasheet as they were modified to accomplish optimal results:

1) Slide baking: prepared slides were placed in a vertical position over night in a drying incubator (hot air incubator) at 80ºC for 70 minutes.
2) Deparaffinizing tissue sections: Backed slides were immersed sequentially at room temperature.
3) 40µl of primary antibody was placed onto the tissue section and incubated for 30 minutes at 37˚C in a humid chamber. The slides were drained and blotted gently and then transferred to a refrigerator for 24 hours. The slides were placed in washing buffer bath for 5 minutes, drained and blotted gently.
4) 20 µl of the (secondary antibody) was applied onto the sections, the slides were placed in a humid chamber and incubated at 37ºC for 10 minutes, rinsed and placed in washing buffer bath as before, excess buffer drained and blotted gently.
5) DAB Chromogen was added to DAB Substrate (2:100 v/v) then mixed by swirling, and then applied to the tissue and incubated for 1-10 minutes, then rinsed 4 times in buffer.
6) Counter-stain: Hematoxylin stain was filtered before use; the slides were immersed in a bath of Mayer's Hematoxylin for 1 minute. Slides were washed three times in distilled water, 1 minute each; then drained and blotted gently.
7) Dehydration was done by placing the prepared slides in the serial different solutions.
8) A drop of DPX mounting medium was applied to the xylene wet sections and covered with coverslips gently to remove excess and air bubbles then left to dry overnight (9).

4- Evaluation of immunostaining for TGF-β expression:

The expression of TGF-β protein was measured by counting the number of positive cells with brown (DAB) cytoplasmic staining under light microscopy X40. For the evaluation of TGF-β expression, immunostaining was assessed semiquantitatively using a scoring system for both intensity and extent of staining (10), as shown in table (1).

Table (1): Quantitative scoring system for TGF-β Immunostaining (10)

TGF-β	Score	Intensity	stained cells (%)
Negative	0	No staining	<10
Positive	1	Weak	10-30
	2	Moderate	31-50
	3	Strong	>50

Statistical analysis:

The Statistical Analysis assessed by analysis of variance (ANOVA) using SAS computer program version 7.5. Differences in the value of probability equal or less than 0.05 and 0.001 (11).

RESULTS AND DISCUSSION

IHC Results:

In our study immunohistochemical techniques were used to detect the protein expression of TGF-β among the Iraqi Fibroadenoma and Malignant Breast Cancer Sections breast tissues. Expression of TGF-β was displaying in the nucleus of the cells and the detection based on a scoring system of IHC technique using the TGF-β, the parameters used in the study first the intensity of the cytoplasm staining the second parameter based on a percentage of the staining nucleus of tumor cells. if there is no intensity of the cells the result considers will be negative expression. The IHC study for the TGF-β expression of the revealed that TGF-B, positive expression was found in 21 (67.7%) out of 31 cases, while 10 (32.2%) cases were not expressed or negative cases. In the 19 Fibroadenoma cases, 6 (31.5%) were positively expressed, while 13 (68.4%) cases were not expressed, so there was a highly significant difference (*P* value P <0.001) between the expression of TGF-β in the malignant and the benign cases used as cases for comparison. These results are shown in the table (2). Figure (1) shows the expression of TGF-β in the nucleus of ductal carcinoma stained by IHC, brown stained nucleus indicated positive nucleus expression and blue stained nucleus indicated no expression for TGF-β in these cells.

Table (2): A semiquantitative scoring system for TGF-β expression IHC in fibroadenoma and malignant breast cancer sections tissue

Score group	0	+1	+2	+3	+4	Total positive out of (50)
Fibroadenoma	13(68.42%) A	0 (0%) B	1(5.26%) C	3(15.78%) C	2 (10.52%) C	6(31.5%) out of (19)
Malignant Breast Cancer	10(32.25%) A	0 (0%) B	2(6.45%) C	3 (9.67%) C	16(51.61%) A	21(67.7%) out of (31)

****P <0.001*

Difference letters mean the presence of significant difference.
Same letters mean there is no significant difference

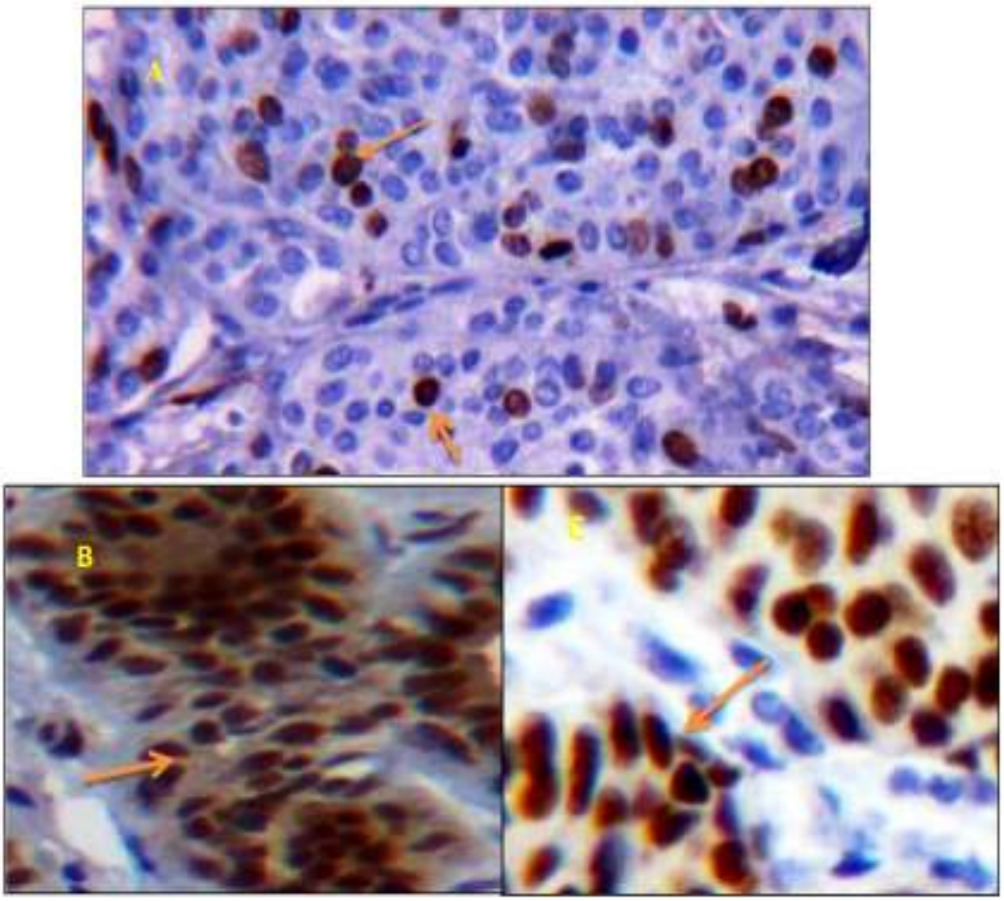

Figure (1): Immunohistochemical staining in breast cancer sections. immunostaining by peroxidase/ DAB (brown) counterstained with haematoxylin (blue), (A) Low positive TGF-β expression in Fibroadenoma section (400X), (B) , (C) expression of TGF-β in Malignant Breast Cancer (400X)

Any cancerous cell in malignant breast carcinomas needs an important factor for development: nutrition through vascular system and oxygen in order to set metastases (12). The immune marker TGF-B work as a promoter for tumor angiogenesis in the tissue of breast carcinoma which is necessary for the tumor vasculature development (13). It has been confirmed by other studies which have to focus in determining the expression level of TGF-B marker which in correlation with angiogenesis and development of cancer (14) that leading to understanding the putative role of TGF-B in tumor and progression in many different cancers (15). Excessive proliferation and histopathological basis of tumor angiogenesis

caused by over-expression in factors pro-angiogenic of the malignant breast carcinoma (16) the mechanism of some tumor cell survival inhibition may result from angiogenic molecules, such as TGF-B and TGF-BR, which act through the mechanism by: exhibit direct signals and result in apoptosis (17, 18). TGF-B may play a crucial role in the promotion of angiogenesis in human breast cancer and analyzing gene expression of two known angiogenic factors in samples of breast carcinoma and benign tissues, TGF-B was the only one preferentially expressed in the carcinomas. Up-regulation of TGF-B expression has been reported in a variety of malignant human tumors (19).

Our results demonstrate that these significant association between TGF-B level and breast cancer agree with the study of (20), who clearly indicated that this overexpression of TGF-B of breast cancer patients.This result was similar to the study presented (21) as they showed 70% of breast cancer patients were positive for TGF-B by immunohistochemistry. Our data indicate that TGF-B expression in breast cancer is higher than in Malignant Breast Cancer lesion.

Statistical correlations of all IHC sections:

Pearson's correlation between two variables is defined as the covariance of the two variables divided by the product of their standard deviations.

Our results clarified the mode of correlations between the expression of TGF-B and type of breast cancer sections, TGF-B marker in the fibroadenoma group and Malignant Breast Cancer studied statically according to the Pearson correlation as shown in the table (3). There was a significant correlation between Malignant Breast Cancer sections and TGF-B expression ($p \geq 0.001$), and also no significant correlation between TGF-B expression and fibroadenoma section ($p \geq 0.001$).While the correlation between these sections group statistical analysis appears the significant relationship.

Table (3): the correlations between the TGF-B marker in the Fibroadenoma and Malignant Breast Cancer group.

Marker		Fibroadenoma	Malignant Breast Cancer
TGF-B	Pearson Correlation	0.034	0.325
	Sig. (2-tailed)	0.012	0.001
	No.	32	32
TGF-B	Pearson Correlation	0.325	0.905
	Sig. (2-tailed)	0.001	0.194
	No.	25	25

****P <0.001*

In the present study, there was a significant association between TGF-B monoclonal antibody and Malignant Breast Cancer expression. These results are in accordance with other studies that elevated and show a significant correlation between these markers in cancer patients (22-24).

CONCLUSIONS

Our study shows that expression of TGF-B is mediated by substrates as a source of its precursors in Malignant Breast Cancer which shows strong nucleus expression and significant correlation.

REFERENCES

1.Xavier MB.; Libonati RMF.; Unger D.; Oliveira C.; Corbett CEP.; de Brito AC. and Quaresma JAS. (2008). Macrophage and TGF-β immunohistochemical expression in Jorge Lobo's disease. Hum. Pathol.39: 269-274.

2. Kubiczkova L.; Sedlarikova L.; Hajek R. and Sevcikova S.(2012). TGF-β – an excellent servant but a bad master. J. Translational. Med.10:183.

3. Loeffler I. and Wolf G. (2014). Transforming growth factor-β and the progression of renal disease. Nephrol. Dial. Transplant. 29: i37–i45.

4. Massague J. (1998). TGF-beta signal transduction. Annu. Rev. Biochem. 67: 753-791.

5. Bandyopadhyay B.; Fan J.; Guan S.; Li Y.; Chen M.; Woodley DT. and Li W. (2006). A traffic control role for TGF beta 3: orchestrating dermal and epidermal cell motility during wound healing. J. Cell. Biol. 172 (7):1093-1105.

6. Abcam. (2013). ab80436 – EXPOSE Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit Version: 2 last updated: 22.

7. Rassin NK. And Dheeb BI.(2015). Molecular identification of *aspergillus fumigatus* using ISSR and RAPD markers. Iraq. J. Sci. 56(4A):2788-2797.

8. Takeshita S.; Kawamura Y.; Takabayashi H.; Yoshida N. and Nonoyama S.(2005). Imbalance in the production between vascular endothelial growth factor and endostatin in Kawasaki disease. Clin.Exp. Immunol. 139:575–579.

9. Yoshiji H.; Gomez DE.; Shibuya M. and Thorgeirsson UP. (1996). Expression of vascular endothelial growth factor, its receptor, and other angiogenic factors in human breast cancer. Cancer. Res. 56:2013-2016.

10. Hussain HT. (2010). Isolation of *Blastomyces dermatitidis* histopathological and immunologically in Baghdad. MSc. Thesis. College of Medicine. Al-Nahrain University. Iraq.

11. Dheeb BI. (2015). Antifungal activity of alkaloids and phenols compounds extracted from black pepper *Piper nigrum* against some pathogenic fungi. J. Biotechnol. Res. Center. 9:46-54.

12. Al-Hajj M.; Wicha MS.; Benito-Hernandez A.; Morrison SJ. and Clarke MF. (2003) Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100: 3983-3988.

13. Zhao J.; Yana F.; Ju H.; Tang J. and Qin J.(2004). Correlation between serum vascular endothelial growth factor and endostatin levels in patients with breast cancer. Cancer Lett. 204:87-95.
14. Shin YJ.; Choi JS.;Choi JY.; Hou Y.; Cha JH.; Chun MH. and Lee MY.(2010). Induction of vascular endothelial growth factor receptor-3 mRNA in glial cells following focal cerebral ischemia in rats. J.Neuro.Immunol. 229: 81-90.
15. Singh SK.; Hawkins C.; Clarke ID.; Squire JA.; Bayani J.; Hide T.; Henkelman RM.; Cusimano MD. and Dirks PB.(2004). Identification of human brain tumour initiating cells. Nature. 432:396-401.
16. Khashman BM. (2008). Molecular and virological study of HPV on Iraqi patients with OSCC. Master thesis. College of Medicine. University of Baghdad. Iraq.
17. Iraqi Cancer Board. (2008). Results of the Iraqi Cancer Registry (2004). Baghdad, Iraqi Cancer Registry Center, Ministry of Health.
18. Irwin ML.; Smith AW.; McTiernan A.; Ballard-Barbash R.; Cronin K.; Gilliland FD.; Baumgartner RN.; Baumgartner KB. and Bernstein L. (2008). Influence of pre-and postdiagnosis physical activity on mortality in breast cancer survivors: the health, eating, activity, and lifestyle study. J.Clin.Oncol.26(24): 3958-3964.
19. Dheeb BI. (2013). Immunohistochemical study of Tumor Necrosis Factor-alpha(TNF- α) expression in lung, liver, and spleen during aspergillosis infection. BMC Genomic. 15(2):71.
20. Hanahan D. and Weinberg RA.(2011). Hallmarks of cancer. Cell. 144:646-667.
21. Nouri MA.; Al-Halbosiy MMF.; Dheeb BI. and Hashim AJ. (2015). Cytotoxicity and genotoxicity of gliotoxin on human lymphocytes in vitro. J. King Saud Univ. Sci. 27:193-197.
22. Al-Anbari SS. (2009). Correlation of the clinicopathological presentations in Iraqi breast cancer patients with the finding of biofield breast cancer diagnostic system (BDS), HER-2 and Ki-67 immunohistochemical expressions. Ph.D. thesis. College of Medicine. University of Baghdad.
23.Al-Khafaji, A.J.; Al-Kelabi, L.H. and AL-Dujaily, E.A. (2010). HER-2/neu overexpression in correlation to Vascular Endothelial Growth Factor, grade, and stage of Nonother wised specified Invasive ductal carcinoma. Al Qadisiah. Med. J. 6(10):27-37.
24. Brandy A. (2004). Breast cancer. Manual of Clin. Oncol. 5:233-253.

Histological and histochemical study of adrenal gland in local Iraqi coats (Capra Aegagrus)

Nadhem A. Shehan (1), Haifa A. Hussein (1) and Shorroq S. Hussein (2)

(1) Dept. of Anatomy and Histology / College of Veterinary Medicine / University of Basra (2) Dept. of Community Health / Technical Institute in Nasryhia / South Technical University / Republic of Iraq

E-mail: nadhimazeez66@gmail.com

ABSTRACT

The adrenal glands are complex endocrine glands regulating some physiological and functional process in the body .the present study was conducted on the 10 healthy from two sex of local Iraqi Goats. The adrenal glands were collected and fixed by 1o% neutrat formalin the section of 3-5mm thicknesses were stained by Hematoxylin and Eosine stain (H&E), periodic acid Schiff stain, Mallory phosphogunstic hematoxylin method and alcin blue 2-5-priodic acid Schiff for mucosubstance and polysaccharide.

Histological study showed the adrenal glands surround by collagen fibers connective tissue capsule also the gland composed of two parts the cortex are represent large parts which contain three zone, glomerula , fasiculata and reticular zone. The medulla is small part consist of two cellular zone around the center vein also the adrenal medulla contain the multi blood sinusoidal which present among cells.

Histochmical study investigated present collagen fibers in capsule of adrenal gland also in the peranchyma when stained by Mallory phosphogunstic hematoxylin method. the study observed positive reaction for distribution charbohydrats in the all parts of gland also appeared present polysccharide on mucosubstain in the parts of glands.

Keywords: adrenal gland, Mallory phosphogunstic hematoxylin, local goats

---

الملخص باللغـــة العربيـــة

تعتبر الغدة الكظرية من الغدد الصم المعقدة والتي تنظم معظم العمليات الفسلجية او الوظيفية في الجسم. الدراسة الحالية جمعت حوالي 10 عينات صحية من كلا الجنسين للماعز العراقي .عينات الغدة الكظرية جمعت وثبتت ب 10%من الفورمالين المقاطع اخذت بسمك 3-5 ميكرون وصبغت بهيمتوكسلين ,ايوسين, بريودك اسيد شيف ,مالوري فوسفوكنستين ,هيمتوكسلين والالشين الازرق 2,5-بريودك اسيد شيف للمواد المحاطية و متعددة السكريات .

الدراسة النسيجية اوضحت بأن الغدد تحاط بمحفظة من الالياف الغروية وكذلك الغدة تتكون من جزئيين هي القشرة والذي يمثل الجزء الاكبر ويتكون من ثلاث مناطق او انطقه النطاق الحبيبي ،النطاق الحزيمي والنطاق الشبكي.

النخاع يكون الجزء الاصغر ويتألف من نطاقين من الخلايا حول الوريد المركزي كذلك يحتوي النخاع على عدد من الجيبانيات الدموية بين الخلايا .

الدراسة الكيميائنسيجية اظهرت وجود الالياف الغروية في محفظة و متن الغدة عندما صبغت بصبغة مالوريفوكوستين هيمتاوكسلين ,الدراسة اوضحت تفاعل موجب في توزيع الكاربوهيدرات في جميع اجزاء الغدة وكذلك وجود متعدد السكريات و المخاطية المتعددة في اجزاء الغدة.

INTRODUCTION

The adrenal gland plays an important role for maintains of electrolyte concentration in intercellular fluid, also regulate carbohydrate metabolism and has an masculinizing effect as testosterone (1). The adrenal gland of animals are pair of endocrine glands composed of two different tissues which differs in structure and function (2). The adrenal gland surrounded by connective tissue capsule (3,4).

The cortex is derived from the mesoderm while medulla is derived from ectoderm (5) .the adult adrenal cortex composed of three zones with the zone fasciculate as largest zone. The glomerulus zone cell were arranged in oval clusters while the cells of zone fasciculate were arranged in cord –like pattern running towards the medulla, the reticular zone cells arranged in oval cluster (6-8) when studies on adrenal gland of goats (capra hircus), African gait rat and horse respectively.

The modularly cells of adrenal medulla of horse are polygonal in shape with brown grown granules in cytoplasm (9).

In sheep, (10) described the chromaffin cells in sheep as columnar cells while in other animals polygonal and the vein in medullary is devoid of smooth muscle fibers in the wall. In camel (11) demonstrated that the medullary cells of the adrenal medulla present in the form of oval groups formed with cuboidal cells. Because few studies on adrenal gland in Iraqi on goats, we worked the done.

The aim of present study was to provide information of the histological and histochemical features of adrenal gland of Iraqi local goats (Capra Aegagrus).

MATERIALS AND METHODS

Ten adrenal glands of both sexes of goat were collected from Basra abattoirs after examined from any infection. The specimens of adrenal gland kept in 10% formalin for 72 hours. The specimens after fixation put in graded alcohol series, clearing with xylene and embedding was done by paraffin wax with melting point 58-60c and other histological technique ,the slide staining with some stains: 1-hematoxylin&eosin is routine stain 2-periodic acid Schiff for distribution of carbohydrate 3-alcin blue 2.5-priodic acid for mucososubstance and polysaccharide 4-mallory phosphogunstic hematoxylin method for collagen fibers and anther contains of gland .the slide examined and photo by the Olympus microscope (12,13).

RESULTS

Histological study:

The adrenal glands in local Iraqi Goats composite of two parts , cortex which largest part then the other part called medulla, also the histological study observe the glands were enclosed by the capsule (figures 1 and 2).

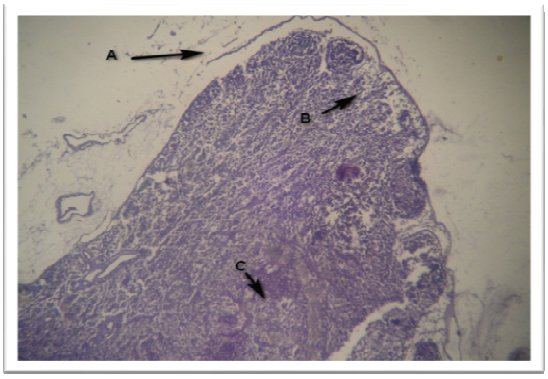

Figure (1): Cross section in adrenal gland showing (A) capsule (B) cortex (C) medulla H&E 4X

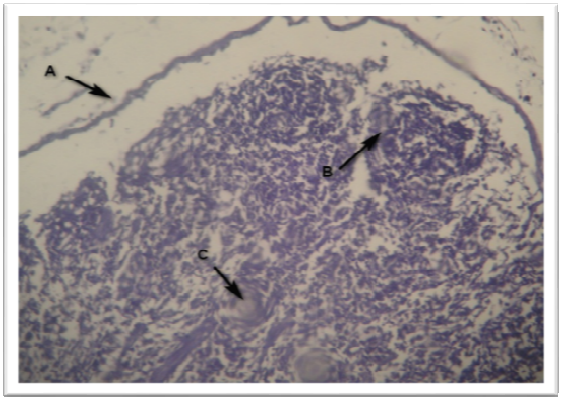

Figure (2): Cross section in adrenal gland (A) capsule (B) cortex (C) medulla H&E 10X

This study showed the capsule consist of one layer from collagen fibers connective tissue and protected thick trabuculae in to the gland tissue cortex and even to the medulla (figures 2 and 3). the study appeared the cortex has three zone, zona glomerulosa, zona fasiculata and zona reticular respectively (figure 1).

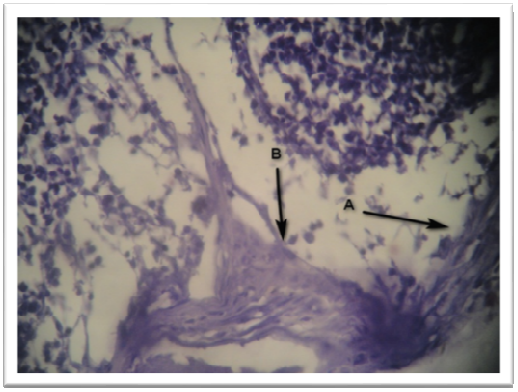

Figure (3): Cross section in adrenal gland showing (A) capsule (B) trabeculae H&E 100 X

a-zona glomerulosa:
The outer zone of cortex located underneath of capsule ,which characterized by irregular cluster of cuboidal cells ,the nuclei is centrally placed oval to round shape and large amount of cytoplasm (figures 4 and 5).

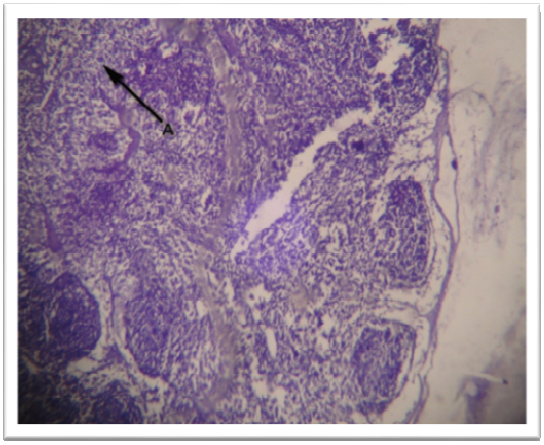

Figure (4): Cross section in adrenal gland showing (A)zona glomerulosa H&E 10 X

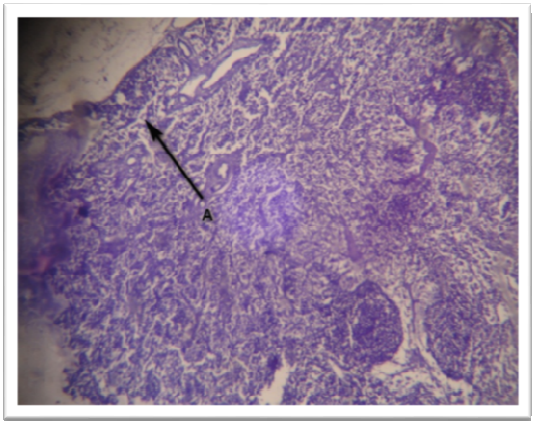

Figure (5): Cross section in adrenal gland showing (A) zona glomerulosa H&E 10X

b-zona fasiculata:
It is widest and extended to occupy a large area of cortex which situated between zona glomerulosa and zona reticular. The cell in this zone arranged by redialing columns and cuboidal shape with large centrally nuclei and this zone contain some sinusoid vessels (figures 5 and 6).

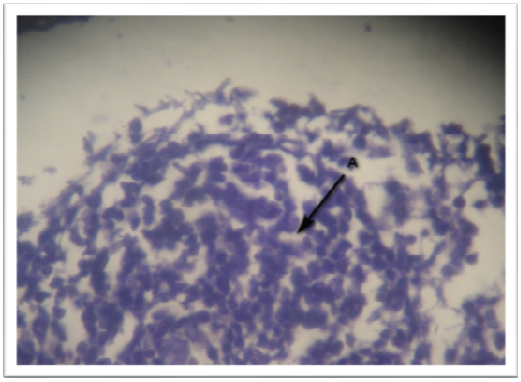

Figure (6): Cross section in adrenal showing (A) zona fasciculata H&E40X

c-zona reticular:
The zona reticular was innermost zone of cortex .the cell arranged anastomosing cords were contrast to zona fasiculata is arranged to form columns (figures 7 and 8).

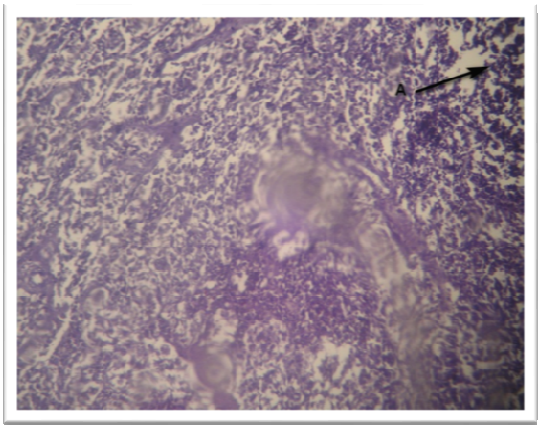

Figure (7): Cross section in adrenal gland showing (A) zona reticularis H&E 10 X

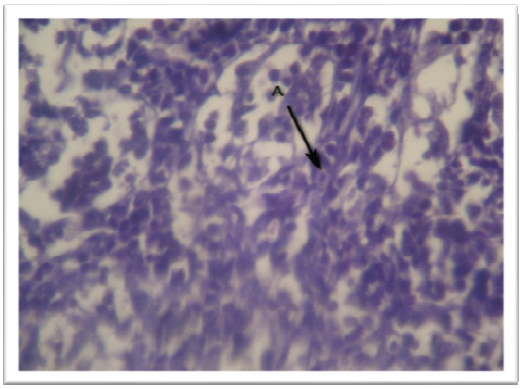

Figure (8): Cross section in adrenal gland Showing (A) zona reticularis H&E 40 X

Medulla:

The adrenal medulla of local Iraqi Goat is smaller than adrenal cortex.it consisted of two distinguish cellular zone on outer zone and on inner zone around the center vein.in outer zone the vesicular nucleus was found towered the apical portion while in inner zone the cells polyhedral shape with the nucleus located towards the center of cell.

The adrenal medulla is contain large amount of blood sinusoidal among the cells (figures 9 and 10).

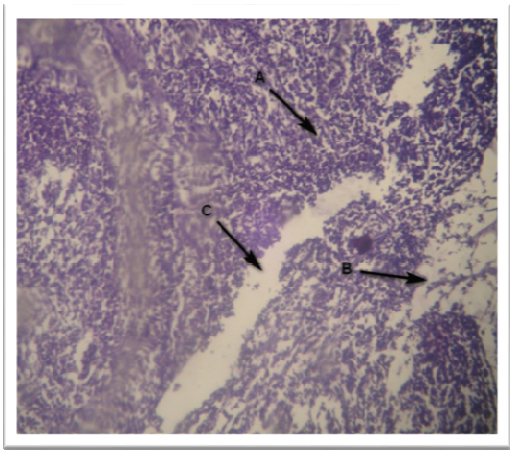

Figure (9): Cross section in adrenal gland showing (A) zona reticularis (B) medulla (C)vein H&E 10 X

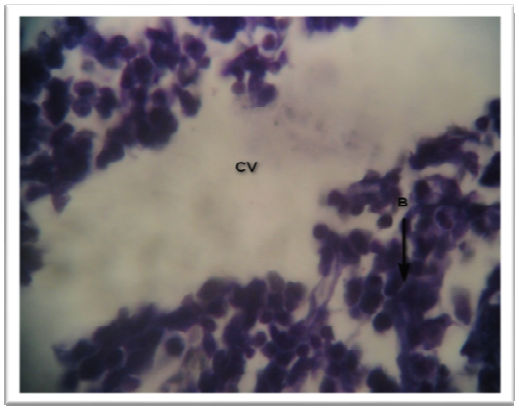

Figure (10): Cross section in adrenal gland showing (CV) center vein (B) medulla H&E 100 X

Histochemical Study:

The present study appeared the positive reaction for distribution of carbohydrate in the capsule, cortex, medulla of adrenal glands when staining with periodic acid Schiff's stain (figures 11 and 12). In addition, study showed the present the collagen fibers connective tissue in capsule and parenchyma of glands and trabecular when dyed by Mallory phosphogunstic hematoxylin method, where collagens fibers showed red while anther contains of gland blue (figures 14 and 15).

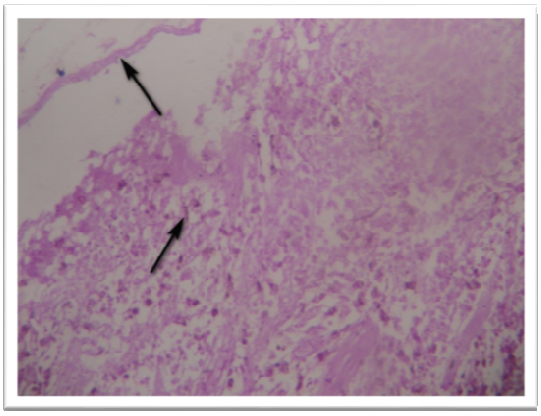

Figure (11): Cross section in adrenal gland showing distribution of carbohydrate in capsule and cortex PAS stain 10 X

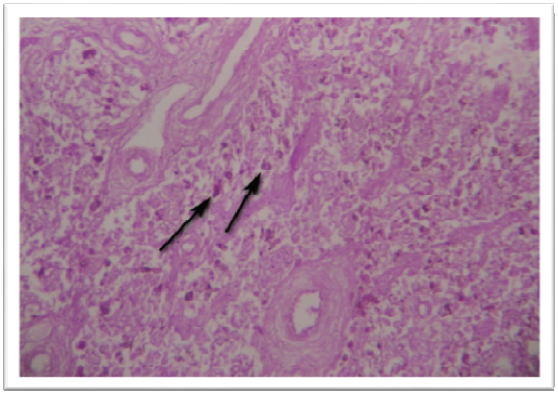

Figure (12): Cross section in adrenal gland showing distribution of carbohydrate in medulla PAS stain 10X

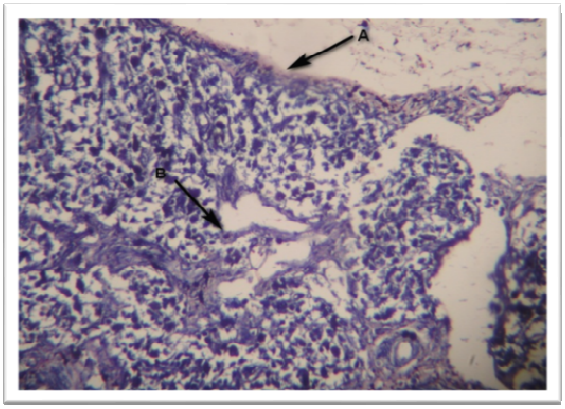

Figure (13): Cross section in adrenal gland showing distribution of collagen fibers in (A)capsule (B)cortex Mallory stain 10 X

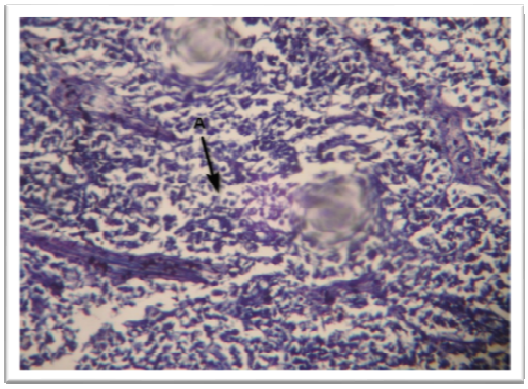

Figure (14): Cross section in adrenal gland showing distribution collagen fibers in (A) medulla Mallory stain 10 X

The results showed positive for polysaccharides and neutral mucous substances when staining by alcin blue 2.5priodic acid Schiff where the tissues of glands appear magenta to red colure (figures 15,16).

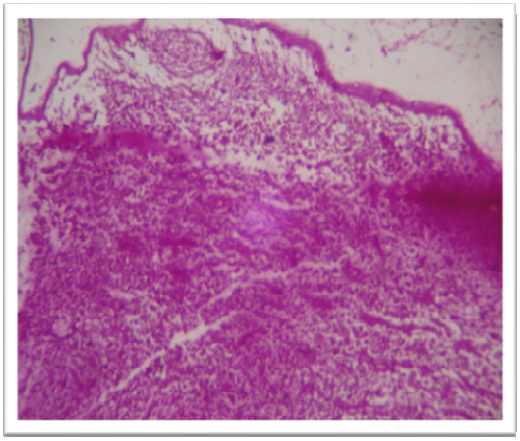

Figure (15): Cross section in adrenal gland showing positive for polysaccharides & neutral mucous substances in all tissues Alcin blue & periodic acid Schiff stain 4 X

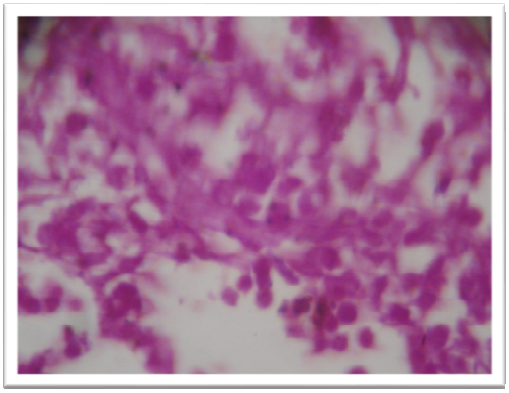

Figure (16): Cross section in adrenal gland showing positive for polysaccharides & neutral mucous substances in cortex Alcin blue & periodic acid Schiff stain 40X

DISCUSSION

The present study of adrenal glands in local Iraqi Goat showed the glands enclosed by collagen fibers connective tissue which trabecular extend in to parenchyma. These results agreed with (14-16) on the adrenal glands of sheep, bufflo and horse.

The parenchyma tissue of adrenal gland was clearly composed of two parts, cortex which represents the large part while the medulla was the small part ,the cortex was further subdivided in to three zones , zona gromulosa , zona fascieulata and zona reticular as also reported in different domestic animals (2,7) on fetal and adult adrenal glands in KANO BROW Goats . The zona glomerulosa lay next to the capsule and irregulars cluster of cuboidal cells and centrally nucleus with large amount cytoplasm. These results are similar with those concluded by (15, 17, 18) on buffalo and sheep.

The zona fasiculata reveled the occupy a large area of cortex ,the cells of this zone arranged by radiating columns and cuboid shape and contain some sinusoidal vessels .this study accordance with (7,19) for adrenal gland of Brown Goats.

Reticularise zone observed innermost of cortex near medulla the cells arranged in form of columns and cuboidal shape .this result similar with (15,18), for adrenal gland in sheep and adrenal cortex of black Bengal goat respectively, but differed with (16) , on adrenal gland on buffalo where the zone irregular arranged of cells.

The medulla showed represent small part of adrenal gland in local Iraqi Goats ,the cell observed arranged around the center vein and the medulla contains the a large amount of blood sinusoidal .these result agreement with(15,20), for the adrenal medulla in camel, sheeps, goats sequentially. The histochemical study noticed the gland is positive reaction for carbohydrate distribution in all part of glands this result reported by (20,21).

As wall as the study appeared present collagen fibers connective tissue in capsule and parenchyma of gland and project trobeculae ,this corresponds with (15) on sheep adrenal gland as well as with (22) for medullar adrenal gland of camel. The present study appeared the positive reaction for polysaccharide and mucosubstances in the all-region of adrenal glands (capsule, cortex and medulla) this study was resemble with (20) for adrenal gland in cross Breed Goat and with (23) for adrenal gland of Goat.

REFERENCES

1. Aughey E. and Frye FL. (2001). Comparative veterinary histology with clinical correlates – London , Manson pub-Lid.

2. Guyton AC. and Hall JE. (2006). Textbook of medical physiology. 11th ed. Saunders company.

3. McDonald LE. (2003). Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5th ed. Lowa State Press. Lowa. Pp.:165-201.

4. Prasad G. and Sinha RD. (1981). Micrometric observation on the adrenal glands of Domestic animals. Ind. J. Anim. Sci. 51: 1144-1147.
5. Dyce KM.; Sack WO. and Wising CJG. (2002). Textbook of veterinary anatomy. W.B sounders company. Philadelphia.
6. Wood L. and William B. (1990). Color Atlas of veterinary histology. Pp.:177-190.
7. Che I. and Francis B. (2009). Morphological Features of Fetal and Adult Adrenal Glands in KANO BROWN Goats (capra hircus). Anim. Res. Int. 6(1): 953-957.
8. Samuel GO.; Mojibola AA. and Bankolo OO. (2016). Histology and histochemistry of the adrenal gland: African Giant Rat. J. Morphol. 14(4):1455-1460.
9. Sisson S. and Grossman JT. (1953). Anatomy of domestic animals. 4th ed. W.B. Sounders Company. Philadephia.
10. Trutmann A. and Fibiger J. (1957). Fundamentals of histology of domestic animals (Translating and revised from 8 th and 9 th Germoned , by Habel, R.E and Biberstein , E.L) Comstock publishing A ssociatiates. New York.
11. Al-Baghdadi FK (1969). The adrenal gland of camel (camels Dromedaries) A study of the comparative anatomy of lipids. Zentbl. Vet. Med. 16A:354-363.
12. Bancroft JD. and Stevens A. (1986). Theory and practice Histological Techniques. Churchill living stone, Edinburgh.
13. Luna LG. (1968). Manual of Histology staining methods of the armed forces institute of pathology. 3rd ed. Mc Graw-Hill book company, New York.
14. Javad A. (2007). Anatomical and Histological studies of Accessory Adrenal Nodules in Caspian Miniature Horses. Turk. J. Vet .Anim . Sci. 31(4):275-278.
15. Nama KG.; Rakesh M. and Ashok B. (2015). Quantitative histological studies on the parenchyma of adrenal glands of Morwori sheep (ovis aries). Ind. J. Vet. Anatom. 27(2):9-11.
16. Prasad G. and Yadava RC. (1974). Histochemical studies on the adrenal glands of Indian Bufflo. Ind. J. Anim. Sci. 44: 243-248.
17. Ponchal KM.; Vyas YL.; Bhayani DM. and Wadhwoni KN. (1998). Histomorphological studies on the adrenal glands of the Morwari sheep (ovis aries). Ind. J. Anim. Sci. 68:1045-1046.
18. Sohal HS. and chaturvedi RD. (1962). Adrenal glands of Indian buffalo. J. Anatom. Soc. India.11:46.
19. Banks WJ. (1993) Endocrine system applied veterinary histology. 3rd ed. Mosby Books Incorporated. USA. Pp.: 408-428.
20. Shok A.; Harshan N. and chungath JJ. (2011). Histochemical studies Gn Development adrenal gland in cross BRDS Goats Fetuses (capra hircus). Tamilnadu. J. Veter. Anim. Sci. 7(3):193-197.
21. Bielanska OS. and Uchowska Z. (2008). Prenatal development of adrenal in pig (sus scro for domestically part 11 . Adrenal cortex development in second part of pregenancy. Folia-morphological (wariz)48(1-4): 29-58.
22. Al-Braeem AH.; Jame OJ. and Jummaa QS (2009). Histological study of the identification and distribution of medullary (chromoaffin)cells in the adrenal gland of camel. J. Pure. Sci. 14:26-29.
23. Stalish K.; Path AK.; Farooqui MM.; Prakash AJY. and Probnakar K. (2015). Distribution of polyscchoriedies and acid mucopolyschoridies in adrenal Gland During prenatal Development in Goat. Ind. J. Small. Ruminant. 21(2):296-299.

قسم الدراسات والبحوث العربية

ARABIC STUDIES AND RESEARCHES SECTION

دراسة تراكيز بعض العناصر الثقيلة في ترب ثلاثة مناطق في شمال العراق

ياسين حسين عويد (1)، أفراح طعمة خلف (2)

(1) قسم علوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة تكريت (2) قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة سامراء / جمهورية العراق

البريد الاليكتروني:afrahaldadry@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

تم في هذه الدراسة اختيار ست عينات ثلاثة منها تعود لترب ملوثة بالنفط الخام وثلاث عينات أخرى تعود لنفس المنطقة لكن تضم الترب غير ملوثة لغرض تحديد تراكيز بعض العناصر الثقيلة (Fe,Pb,Cd,Na,S,Li,Zn)جمعت العينات لكل المواقع وبمعدل (3-9) مكررات وبعد جمع العينات تم تحضيرها للقياس بواسطة جهاز الطيف الذري (AAS) .وتم مقارنة النتائج مع المحددات العالمية الخاصة بتراكيز العناصر في التربة .ومن نتائج الدراسة تبين ان عنصر الرصاص سجل اعلى تركيز في تربة الغير ملوثة اذا بلغت 158.74ppmفي تربة الكسك الغير ملوثة بالنفط مقارنة مع باقي المناطق الأخرى الملوثة وغير الملوثة .اما عنصر الكادميوم فقد سجل اعلى في الترب الغير ملوثة أيضا اذا بلغت 75.9ppmايضا في منطقة الكسك اما عنصر الليثيوم فقد سجل اعلى تركيز في تربة المناطق الملوثة بالنفط الخام مقارنة بالترب غير الملوثة لجميع مناطق الدراسة. واظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين العناصر المقاسة وكذلك ترب المناطق المخصصة للدراسة.

الكلمات المفتاحية: تربة ملوثة بالنفط الخام، العناصر الثقيلة

Study concentrations of some heavy metals in three soil samples from North Iraq

Yassein H. Owaied (1) and Afrah T. Khalaf

(1)Dept. of Biology / College of Education for Women / University of Tikrit (2) Dept. of Biology / College of Education / University of Samarra / Republic of Iraq

ABSTRACT

Six soil Samples were selected and divided into two groups. First group included three samples polluted by crude oil , and second group of soil collocted from study sites. To study concentrations of some hary metals in polluted and un polluted soil The Sample prepared to determined the fohowea Standerd method using (AAS) (Atomic Absorplion spectroscopy) .The rest showeel high concenlration of pb in and site no Kasic area with conenlration reashed (158.74) pmm comparel with other sites under study while recodel (Li) high concentration all of polluted sites compareel with in un pollted soil for all anpollted sitas under stady.The statistical analysis showed significant differnces between the concentrations of heavy metels and sites.

المقدمـــــة

تعرف العناصر الثقيلة بأنها تلك العناصر التي تزيد كثافتها النوعية عن 5سم /سم^3 وذات أعداد ذرية عالية. وغالبا ما تسمى بالعناصر النزرة Trace elements ، وذلك لوجودها بتراكيز قليلة في النظام الحيوي الطبيعي (1). كما تعد العناصر الثقيلة من الملوثات البيئية الهامة وتضم مجموعة كبيرة تقارب 38 عنصراً، منها ما هو ضروري ومنها ما هو سام (2). ويمثل التلوث البيئي بالعناصر السامة مشلكة كبيرة معترفاً بها في العالم (3)، وتسمى بالوباء الصامت (4)، وتعد من أكبر الملوثات البيئية، فاستمرار انبعاثها من مصادرها المختلفة (الطبيعية والصناعية) يزيد من تركيزها في الغلاف الجوي (5). وقد حظيت دراسة تلوث التربة بالعناصر الثقيلة وخاصة الكادميوم باهتمام كبير من قبل الباحثين في المراكز المتخصصة في العالم، لما لهذه العناصر من أثر ضار وخطر على صحة الإنسان والحيوان وخاصة عند انتقالها عبر السلسلة الغذائية. وتعاني البشرية اليوم بدرجة كبيرة من هذه العناصر نتيجة الاستعمال الصناعي واحتراق الفحم والنفط والفضلات (6). وتكمن المشكلة في أن أيونات هذه العناصر (الفلزات وأشباه الفلزات) عند توافرها بتراكيز مرتفعة تكون سامة للإنسان والكائنات الأخرى، وان كان بعضها ضروري بتراكيز ضئيلة (7). وقد أشارت دراسة (8) إلى وجود 16 عنصراً أساسيا للكائنات الحية ومنها الكادميوم والكوبلت والنحاس والحديد والمنغنيز وغيرها. ولهذه العناصر تأثيرات فسيولوجية غير مرغوب بها تؤدي إلى هلاك الكائن الحي في حالة انعدام هذه العناصر من جسمه (9). وإن تلوث التربة بالعناصر الثقيلة غير قابل للنقصان، لذا فإن تراكيز هذه العناصر تأخذ بالزيادة في النباتات والحيوانات وبذلك تدخل السلسلة الغذائية (10).

المواد وطرق العمـل

مواقع الدراسة:

تم اختيار ثلاث مواقع ملوثة في مصافي النفط (بيجي، القيارة، الكسك) ضمن محافظتي صلاح الدين ونينوى لدراسة تأثير تراكيز المعادن الثقيلة في التربة الملوثة بالنفط الخام ومحتواها من بعض العناصر الثقيلة وهي:

1- مصفى بيجي ومصدر تجهيزه (بواسطة أنابيب نفل نفط كركوك المتوسط).

2- مصفى القيارة ومصدر تجهيزه المباشر هو نفط القيارة (الثقيل).

3- موقع يمثل مصفى الكسك ومصدر تجهيزه بواسطة شاحنات حوضية هو نفط كركوك (المتوسط).

جمع عينات التربة:

جمعت العينات من مواقع البحث بعمق (15.5) سم وبطريقة عشوائية ووضعت بأكياس بلاستيكية وحفظت في الثلاجة لحين إجراء الفحوصات عليها. وقد جمعت التربة من ثلاث مناطق لكل موقع وبمعدل (3-9) مكررات وأخذت عينات التربة الملوثة بالقرب من محطات استلام النفط الخام مباشرة في تلك المصافي. أما عينات ترب المقارنة (control) فجمعت من موقع (1) بمسافة تبعد (40-50) م عن المصافي . وفي موقعي (2، 3) تم أخذ عينات المقارنة من أماكن بالقرب من السياج الخارجي لكل مصفى لضمان عدم حصول تلوث نفطي فيها.

الظروف البيئية المحيطية:

اعتمدت القراءات لدرجة الحرارة والرطوبة والأمطار وشدة الرياح على بيانات محطات الأنواء الجوية العراقية العامة.

تحاليل التربة:

قدرت تراكيز العناصر الثقيلة المعتمدة بالدراسة (11)، بواسطة جهاز امتصاص الطيف الذري (AAs)(Atomic Euuiccam sp (Absorptio spectrophotometer علامة المجهز من شركة Philips الهولندية. وتم تحضير العينات وقياس العناصر في مختبرات شركة الأسمدة الشمالية (بيجي) وفي قسم علوم الحياة / كلية العلوم /جامعة الموصل. بعد ذلك، تمت مجانسة كل عينة وتفتيتها ثم أخذ حوالي (5) غم بطريقة تمثل العينة الكلية اعتماداً على سياقات العمل النافذة في الشركة العامة للمسح الجيولوجي والتعدين (12)، وكما يلي (عدا عنصري الكبريت والصوديوم):

1- طحن العينة طحنا ناعما جداً باستخدام مطحنة يدوية خزفية.

2- وضعت العينة في دورق مغسول بالماء المقطر ومجفف ثم وضعت بالفرن بدرجة 110c لمدة ساعتين للتجفيف.

3- جرى وزن (1 غم) من العينة المجففة ووضع في دورق نظيف سعة (250) مل باستعمال ميزان حساس.

4- تم إضافة (15) مل من حامض الهيدروكلوريك المركز مع (5) مل من حامض النيتريك المركز HNO_3.

5- تم تسخين العينة في حمام رملي ساخن إلى أن تنتهي الأبخرة القهوائية من الظهور ومن ثم جفف النموذج.

6- تم تبريد الدورق بحرارة المختبر ثم إضافة (5) مل من حامض الهيدروكلوريك المركز وسخن في حمام رملي حتى الجفاف.

7- تم تبريد الدورق ثم إضافة (5) مل من حامض HCl و(50) مل من الماء المقطر الحار لغسل جوانب الدورق من آثار العينة المذابة.

8- جرى تسخين المزيج إلى درجة الغليان لمدة (2- 3) دقائق.

9- تم ترشيح المزيج بورق الترشيح قطر 2mm ووضع الراشح في قنينة حجمية سعة (100) مل.

10- جرى بعد ذلك غسل الراسب غير الذائب بالماء المقطر وإضافة ماء الغسل إلى الراشح ثم أكمل الحجم إلى (100) مل.

11- تم بعدها قراءة العناصر الثقيلة استناداً إلى الطول الموجي لقياس كل عنصر وتم تحويل قياس الامتصاص الذري إلى وحدات تراكيز وذلك باستخدام معادلات الانحدار المسجلة من تحليل الانحدار الخطي لتراكيز المعادن الثقيلة القياسية المستخدمة. أما عنصر الكبريت فقد استخدمت طريقة (13)، حيث أخذ من النموذج أعلاه (2) مل لغرض قياس الكبريت عن طريق قياس SO4 بواسطة جهاز Spectrophotometer وعلى طول موجي 390nm باسخدام المعادلة التالية:

$$SO4\ (ppm) = K*R*D.F$$

حيث:

$$K = \frac{20}{standard\ read}$$

R= قراءة النموذج

D.F: معامل التخفيف

وبضرب النتيجة بقيمة 0.33 وهي النسبة المئوية لعنصر الكبريت في جزيئة SO4 يتم الحصول على تركيز الكبريت بوحدة الجزء من المليون p.p.m .

النتـــــــــائج والمناقشـــة

هناك الكثير من الملوثات تدخل إلى التربة، ومن هذه الملوثات العناصر الثقيلة. فعند ملاحظة الجدول رقم (1) فهو يعبر عن تراكيز بعض هذه العناصر ومنها عنصر الرصاص، كما يعبر عن تراكيز العناصر في ترب المصافي الثلاثة. وقد أظهرت نتائج الجدول أن تركيز الرصاص في تربة بيجي الاعتيادية (32.3) مايكرومول وهي قيمة أعلى من تركيز الرصاص في تربة بيجي الملوثة (15.87) مايكرومول. ويعود هذا الارتفاع في قيمة الرصاص في تربة بيجي الاعتيادية إلى وجود معمل لإنتاج الحبيبات الداخلة في صنع إطارات العجلات ومعمل الأسمدة ومعمل إنتاج الزيوت وكذلك المحطة الحرارية لتوليد الطاقة الكهربائية مما يوجد تداخلا وأثرا لهذه الملوثات، مما يزيد من مستوياتها. وكما هو موضح في الجدول رقم (2) عند مقارنة النتائج لعنصر الرصاص مع الوفرة الطبيعية للعنصر كان تركيزه في التربة الغير ملوثة بالنفط أعلى من التركيز عند مقارنة الحدود القصوى المسموح بها للرصاص في الترب الطبيعية، والسبب كما هو معروف وجود التفجيرات في مخازن عتاد الصيانة القريبة من منطقة الدراسة، وتداخل مخلفات الشركات المجاورة، إذ تعمل على زيادتها في الجو ومن ثم في التربة. وهذه النتائج تتفق مع دراسة (14). لكنها أعلى من تلك التي جاءت في دراسة (15). ونلاحظ النتيجة بالنسبة إلى تربة الكسك الاعتيادية والملوثة حيث وجد أن تركيز العنصر في تربة الكسك الاعتيادي هو 158.74 مايكرومول وهي قيمة أعلى من الكسك الملوثة 139.40

مايكروموول. وقد يعزى ذلك إلى عينة التربة الاعتيادية التي تم إحضارها من جانب الشارع العام (الكسك – تلعفر) المزدحم بالسيارات والعجلات مما يؤدي إلى زيادة تركيز هذا العنصر في التربة القريبة من الطرق الخارجية ونفس النتيجة تلاحظ في تربة القيارة اذ كان تركيز الرصاص في تربة القيارة الاعتيادية 59.08 مايكرمول. أما الملوثة فكانت 35.283 مايكروموول. وفيما يخص عنصر الكادميوم فقد كانت التربة الملوثة أعلى من تربة المقارنة لمنطقتين عدا منطقة الكسك، فقد سجلت المنطقة غير الملوثة بالنفط 75.9ppm. أما المنطقة الملوثة بالنفط كانت 22.04ppm كما في الجدول رقم (1)، وأن الزيادة في هذه المناطق بسبب حرق المواد البلاستيكية التي تعمل نواتج الاحتراق هذه على زيادة تراكيز عنصر الكادميوم في الجو ومن ثم ترسيبه على التربة (16). كما يطرح هذا العنصر عن طريق المطروحات الصناعية (17). وقد أشارت دراسة (18) حول تلوث التربة القريبة من المواقع الصناعية خارج مدينة تايوان عند وجود زيادة في تركيز العناصر الثقيلة (Pb,Ni,Cd,Cr,Cu,Mg,)، فضلا عن عنصر (Zn) وعزى ذلك إلى المطروحات الصناعية من هذه المواقع الصناعية . كما أوضحت دراسة (19) احتواء نواتج احتراق الوقود في وسائط النقل على تركيز عال من العناصر الثقيلة (Cu.Cd.pb) فضلاً عن عنصر الحديد. ويبين الجدول رقم (2) أن قياس عنصر الكادميوم في الدراسة الحالية قد زاد عن الوفرة الطبيعية بفرق كبير، أما عنصر الحديد فقد سجل أعلى تركيز في تربة الكسك والقيارة الغير ملوثة وتركيزه 87.86 مايكرمول و70.07 مايكروموول على التوالي. وفي منطقة بيجي كانت التربة الملوثة أعلى من التربة العادية وكانت 37.72 مايكروموول قياساً بالتربة العادية التي سجلت 21.55 مايكروموول. وبصورة عامة، كان التركيز في مناطق الدراسة أعلى من المعدل العالمي لتركيز عنصر الحديد حسب (20). وربما يرجع السبب في ارتفاع الحديد في المناطق الغير ملوثة إلى طبيعة الصخور التي اشتقت منها التربة. كما بين كل من (21، 22) أن زيادة تركيز عنصر الحديد يعتمد بشكل رئيس على تركيزه في الصخور الأم التي اشتقت منها التربة. ويؤدي التلوث الموضعي أيضا إلى زيادة تركيز العنصر. أما عنصر الصوديوم فقد أظهرت نتائج الدراسة له أعلى تركيز في منطقة الكسك الملوثة بالنفط الخام وبيجي عدا منطقة القيارة ، حيث كانت أقل في التربة الملوثة من التربة غير الملوثة. وكانت في تربة القيارة الاعتيادية 8.86 مايكروموول. أما التربة الملوثة كان التركيز 2.453 مايكروموول لنفس المنطقة. ويعد الصوديوم من المعادن التي تتواجد في النفط الخام وهي ذات أصل بيولوجي (23) (جدول رقم 1). أما عنصر الزنك فقد كان أعلى تركيزا في تربة القيارة الغيرملوثة بالنفط الخام حيث سجل 5.34 مايكروموول، ومن ثم تربة الكسك الملوثة بالنفط وكان تركيزه 5 مايكروموول (جدول رقم 2) .ويعود السبب إلى التلوث من الفعاليات المختلفة مثل استخدام الأسمدة الزراعية القادمة من المناطق المجاورة وحرق الوقود بالإضافة إلى الانفجارات التي تحدث بالقرب من مصافي النفط التي تكون على شكل من الأتربة والدخان ترتفع إلى ارتفاعات عالية وتتلاشى بعد فترة مخلفة الملوثات المختلفة والمحملة بمختلف العناصر والإشعاعات والاتربة (جدول رقم 1). إن تركيز الخارصين في هذه الدراسة لم يتجاوز الحدود الطبيعية لتركيز العنصر في التربة حسب دراسة كل من (24، 25). أما عنصر الليثوم ، فقد سجل أعلى تركيزا في الترب الملوثة بالنفط الخام لمنطقتين مقارنة مع تربة القيارة التي سجلت أعلى تركيز في التربة الغير ملوثة بلغ 77.25 مايكروموول. أما التربة الملوثة سجلت 70.82 مايكروموول لنفس المنطقة (جدول رقم 1). أما عنصر الكبريت فقد كان أعلى تركيزا في تربة القيارة الغيرملوثة بالنفط الخام ومن ثم التربة الملوثة لنفس المنطقة حيث كانت 0.12 مايكروموول في التربة الملوثة و 0.13 مايكروموول.

جدول رقم (1): مقارنة بين نتائج العناصر المقاسة

العينات	Pb	Cd	Zn	Fe	Li	Na	S	U
تربة بيجي غير الملوثة	32.3 Ppm	12.42 ppm	4.3 ppm	21.55 Ppm	45.09 ppm	24.87 Ppm	0.076 ppm	8.9 ppm
تربة بيجي الملوثة	15.87 Ppm	17.23 Ppm	0.6 ppm	37.72 ppm	115.84 ppm	31.28 pmm	18 ppm	6.73 Ppm
تربة الكسك غير الملوثة	158.74 Ppm	75.9 Ppm	2.67 ppm	87.86 ppm	70.82 ppm	37.68 ppm	0.027 ppm	52.36 Ppm
تربة الكسك الملوثة	139.40 Ppm	22.04 Ppm	5 ppm	68.45 ppm	99.76 ppm	159 ppm	0.037 ppm	56.92 ppm
تربة القيارة غير الملوثة	59.08 Ppm	6 Ppm	5.34 ppm	70.07 ppm	77.25 ppm	8.86 ppm	0.12 ppm	29.5 ppm
تربة القيارة الملوثة	35.283 ppm	1 Ppm	1.19 ppm	55.51 ppm	70.82 ppm	2.453 pmm	0.13 ppm	6.73 ppm

جدول رقم (2): مقارنة أهم العناصر مع الوفرة الطبيعية

العينات		Pb	Cd	Zn
تربة بيجي غير الملوثة		32ppm	12.42ppm	4.3ppm
تربة بيجي الملوثة		15ppm	17.23ppm	0.6 ppm
تربة الكسك غير الملوثة		158.74ppm	75.9ppm	2.68ppm
تربة الكسك الملوثة		139.40ppm	22.04ppm	5ppm
تربة القيارة غير الملوثة		59.08 ppm	6ppm	5.34ppm
تربة القيارة الملوثة		35.283ppm	1pmm	1.19ppm
الوفرة الطبيعية للعناصر النزرة	Moon,etal. 2006(24)	15 ppm	100 ppm	35 ppm
	Rose,et al,1987(25)	17 ppm	0.1-0.5 ppm	36 ppm

المصـــادر

1. Khatuna AC. (2007). Healh risks of heavy metals from longrage transboundary air pollution. 1st ed. Germany. World Healh Organization. Pp.: 101-106.

2. الأمين، ناديا عماد. (2011). استخدام الجنس *Porcellio sp* دليل حيوي لقياس مستوى التلوث لبعض العناصر الثقيلة في مدينة بغداد. المجلة العراقية للعلوم .52(4) :416.

3. Dragan R.; Milijan J.;Verica B.; Zoran I. and Srdan M. (2009). Toxicological assesment of toxic element residues in swine kidney .and its role in public health: risk assessment. Int. J. Environ. Res. Pub. Health. 6:3127-3142.

4. سليمان، الفراج عبد الله ،الوابل، محمد إبراهيم ،الشهراني، شبيت سفر ،مغربي، سالم العزب عبدالله ، السويلم، محمد عبد العزيز. (2009). تلوث التربة والنبات بالعناصر الثقيلة في منطقة مهد الذهب وتأثيرها بالبعد عن المنجم .الرئاسة العامة للأرصاد وحماية البيئة النظام العام للبيئة. المملكة العربية السعودية. ص: 16.

5. حسين، خويدم كريس، الأنصاري، حبيب رشيد ،البصام، خلدون صبحي. (2009). دراسة توزيع بعض العناصر الثقيلة في تربة مدينة البصرة –جنوب العراق .المجلة العراقية للعلوم. 50(4): 533-542.

6. Sukmer M.(2010). Reduction of hexavalent chromium by Bizopus Orgzae. Afr. J. Env. Sci. Tech. 4(7):412-418.

7. Schutzendubl A. and PolleA. (2000). Plant responses to abiolic Stresses; heavy metal-in duced Oxidtive stress and protection by my corrhization. J.Exp. Bot.53:1351-1365.

8. Bowen HM.(1979). EnviromentalChemistry. Academic press.London. pp.: 60-61.

9. الفهادي ،نبيل حمد الله. (2002). مقارنة لتأثير اول أوكسيد الكاربون والرصاص والكادميوم في دم العاملين بتماس مع هذه الملوثات .اطروحة دكتورة ،كلية العلوم / جامعة الموصل /العراق.

10. شيت، باسل محمد، ألكنة، فاضل رشيد عثمان. (2008). تأثير عوادم المولدات والمركبات على تلوث التربة في مدينة الموصل. مجلة تكريت للعلوم الصرفة. 15 (1): 8-11.

11. Jackson ML. (1958). Soil chemical analysis. Prentice hall. Inc Englewood Cliffs , New Jersey. USA.

12. Al-Janabi AY.; Al-Saadi NA.; Zainal YM.; Al-Bassam KS. and Al-Delaimy MR. (1992). Work procedures of the S.E of Geological survey and mining. State Establishment of Geological survey and mining (geosurv.) part 21, No. 2002-B. pp.: 59-65.

13. Tandon V. and Prakash A. (1998). Influence of Soil inoculation with VAM and phosphorus solubizing microorganism on growth and phosphorus uptake in Sesamum indium. In. J. Tropical Agric. 16:201-209.

14. الأرياني، عادل قائد. (2005). تقدير بعض العناصر الصغرى والثقيلة في مياه وترب ونباتات مجاري مدينة الموصل وتحديد كفاءة زهرةالشمس . Heliauthus annuus L في إزالتها. أطروحة دكتوراه. قسم علوم الحياة ، كلية العلوم . جامعة الموصل.

15. الحيالي، عفاف خليل عبدالله. (2001). دراسة بيئية لبعض الملوثات في مدينة الموصل. رسالة ماجستير. كلية العلوم، جامعة الموصل.

16. Baird C. (2001). Environmental chemistry. University of Western Ontario. WH. Feeman Company. New York. Vol.1. pp.:398-401.

17. WHO. (2004). Guideline values for chemicals that are of health significance in drinking water.

18. Chen Z. (2000). Relationship between heavy metals concetration in soils of Taiwan and uptake by crops. National Taiwan University. P.:15.

19. Lu SG.; Shi-qiang BA.; Jing-beo CA and Chuang XV. (2005). Magnatic properties and heavy metals contents of auto mobile emission. J. Env. Sci. 5(3): 106-113.

20. Lindsay WL. (1979). Chemical equiliberia of soil. John Wiley and Sons.p.:449.

21. الحديثي ، خالد إبراهيم. (2001). دراسة العناصر الثقيلة المختارة والفسفور والفلوريد في الجزء الطيني من خزان سد القادسية .المجلة العراقية لعلوم التربة. 1: 84-91.

22. مانع، جواد كاظم. (2003). هيدرو كيميائية المياه الجوفية ومعدنية رسوبيات المكمن المائي المفتوح لمناطق مختارة من محافظة بابل، اطروحة ماجستير، كلية العلوم- جامعة بغداد.

23. ValkoicV. (1978). Trace elements in petroleum. PPC. Books, Oklahoma.

24. Moon C.; Michael W. and Evans A. (2006). Introduction to Mineral Exploration. Blackwell Publisher. London. P.: 480.

25. Rose AW.; Hawkes HE. and Webb JS. (1987). Geochemistry in Mineral Exploration. 2nd ed. Academic press. P.: 656.

تغير بعض الصفات الفسيولوجية لأوراق سبعة انواع من الاشجار استجابة لتلوث الهواء في مدينة بغداد

إسراء محسن جاسم (1)، عبد الحميد محمد جواد العبيدي (2)، عبد الرحمن الكبيسي (1)

(1) قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد (2) مركز بحوث البيئة/ الجامعة التكنولوجية / بغداد / جمهورية العراق

البريد الاليكتروني: israa_slater@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

تم تقدير تركيز كل من صبغات البناء الضوئي المختلفة الكلوروفيلات والكاروتينات والحامض الاميني البرولين في أوراق سبعة أنواع من الأشجار المعرضة لتلوث الهواء والناجم عن انبعاث عوادم المركبات ومصادر اخرى في مدينة بغداد , وتعد هذه الأنواع السبعة من الاشجار ذات اهمية اقتصادية وبيئية وجمالية. وشملت الزيتون (*Olea europaea* L.) والسدر (*Ziziphus spina - Christi* (L.) Desf.) و الكونوكاربس (*Conocarpus lancifolius* Engl.) و الالبيزا (*Albizia lebbeck* (L.) Benth.) واليوكالبتوز (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) والياسمين الزفر (*Clerodendron inermis* (L.) Gaerth) والدودنيا (*Dodonaea viscosa* Jacq.). لوحظ من خلال نتائج البحث الحالي تسجيل ملوثات الهواء الاساسية المقاسة في المواقع الملوثة والمتمثلة بـ SO_2 NO_2, و الدقائقيات (TSP و RSPM) قيما مرتفعة عند المقارنة مع قيمها في موقع السيطرة, كما واظهرت نتائج البحث ايضا تباينا واضحا في قيم الصفات الفسيولوجية المقاسة في عينات النباتات المختارة بين المواقع الملوثة وموقع السيطرة , مما يعطي دليلا على ان بعض هذه النباتات لها القابلية في مقاومة تلوث الهواء مثل الزيتون والكونوكاربس والالبيزا على العكس من نبات السدر واليوكالبتوز والياسمين الزفر والدودنيا التي ممكن وصفها بانها حساسة لتلوث الهواء لانها سجلت قيما اقل للصفات الفسيولوجية في المواقع الملوثة من موقع السيطرة.

الكلمات المفتاحية: تلوث الهواء ، أوراق أشجار ، كلوروفيل ، كاروتين، برولين، دقائقيات، عوادم السيارات

Changes in some physiological characteristics of leaves of seven trees species in Baghdad City in response to air pollution

Israa M. Jasim (1), Abdul-Hameed M. J. Al- Obaidy (2) and Abdul- Rahman Al-Kubaisi (1)

(1) Dept. of Biology/ College of Sciences for Women / University of Baghdad (2) Environmental Research Centre / University of Technology/ Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

The concentration of different photosynthesis dyes chlorophylls and carotenes and proline amino acid were estimated in the leaves of seven species of trees exposed to air pollution caused by vehicle exhaust emissions and other sources in Baghdad City. These seven genera are of economic, environmental and aesthetic importance; (*Olea europaea* L.) , (*Ziziphus spina-Christi* (L.) Desf.) , (*Conocarpus lancifolius*, Engl) , (*Albizia lebbeck* L. Benth), (*Eucalyptus camaldulensis*, Dehnh), (*Clerodendron inermis* (L.) Gaerth) and (*Dodonaea viscosa* Jacq). The results of the present study showed that the measured air pollutants; SO_2, NO_2 ,TSP and RSPM recorded high values in the contaminated sites when compared with their values in control site. The results also showed a clear variation of the physiological parameters measured values in the selected tree samples between the contaminated sites and control site, giving evidence that some of these trees have tolerance potential to air pollution such as *O. europaea , C. lancifolius* and *A. lebbeck* , unlike *Z. spina-christi* , *E. camaldulensisas* , *C. inermis* and *D. viscosa* that can be described as sensitive to air pollution, because they recorded lower physiological values in contaminated sites than control site.

المقدمـــة

اعتمد استخدام النباتات في مراقبة تلوث الهواء في العديد من الدراسات على اعتبار ان النباتات هي المستلمات الأولية لملوثات الهواء . كما أنها تعد بمثابة مرشحات للكثير من الجسيمات المحمولة في الغلاف الجوي (1) . تعد ملوثات الهواء الناجمة عن السيارات هي اكثر بكثير من تلك التي تسببها انبعاثات الغبار والغازات السامة من قبل أنواع مختلفة من المصانع إذ تكون السيارات مسؤولة عن مايقارب 60 -70 % من التلوث الموجود في البيئة الحضرية (2 ،3) . ان احتراق الوقود في محركات السيارات يطلق ثنائي أكسيد الكبريت وأكاسيد النتروجين وأول أكسيد الكربون وكذلك المواد العالقة , وعندما تمتص هذه الملوثات من قبل الأوراق النباتية سوف تؤثر في بعض الصفات الفسيولوجية للورقة مثل صبغات البناء الضوئي الكلوروفيل والكاروتين وبالتالي ستؤثر بشكل مباشر على إنتاجية النبات . إذ يعد الكلوروفيل هو المستقبل الضوئي الرئيسي في عملية التركيب الضوئي (4) في النبات . اما الكاروتينات فهي مجموعة من الصبغات الطبيعية التي تذوب في الدهون والموجودة أساسا في النباتات والطحالب وبكتريا البناء الضوئي، وتلعب دورا في عملية البناء الضوئي و حماية الكلوروفيل من فعاليات الاكسدة الضوئية (5). اما البرولين فيعد واحد من اهم الاحماض الامينية المكونة للبروتينات والانزيمات في النبات ويمتلك دور مهم كمصدر للطاقة وفي الحماية الازموزية تحت ظروف الجهد البيئي العالي مثل التلوث بالعناصر الثقيلة والاشعة فوق البنفسجية (6). وقد أجريت دراسات عديدة عن آثار ملوثات الهواء الناجمة عن عوادم السيارات في الناحية الفسيولوجية والكيميائية الحيوية للنباتات من قبل عدد من الباحثين (7- 9) في مناطق مختلفة من العالم . إذ بينت دراسة (10) ان توزيع التنوع النباتي يعتمد بشكل كبيرعلى وجود ملوثات الهواء في المحيط وحساسية النباتات اتجاهها. ويعد قياس الكلوروفيل والكاروتين والبرولين أداة هامة لتقييم آثار ملوثات الهواء في النباتات كما أنها تلعب دورا هاما في مجمل العمليات الايضية داخل النبات (11) . وقد صممت هذه الدراسة لمعرفة التغيرات في تركيز الكلوروفيلات والكاروتينات والبرولين في عينات من النباتات المعرضة لملوثات الهواء الناجمة عن عوادم السيارات في جانبي الطريق في مناطق مختارة داخل مدينة بغداد.

المـــواد وطـــرق العمـــل

جمعت عينات شهرية من الاوراق النباتية للمدة من ايار 2016 الى غاية نيسان 2017 و التابعة لسبعة انواع من الاشجار المزروعة على جانبي الطريق في اربعة مواقع ملوثة فضلا عن موقع السيطرة ضمن مدينة بغداد (شكل رقم 1). وشملت الانواع النباتية كلا من الزيتون(*Olea europaea* L.) والسدر - *Ziziphus spina*) والكونوكاربس (*Conocarpus*) (*Christi* (L.) Desf.) و الالبيزا (*Albizia lebbeck* (L.) (*lancifolius* Engl. واليوكالبتوز (*Eucalyptus camaldulensis*) (Benth. والياسمين الزفر (*Clerodendron inermis* (L.) (Dehnh. والدودنيا (*Dodonaea viscosa* Jacq.) .وتم (Gaerth) اختيارها لانتشارها في شوارع بغداد وتعرضها الدائم لعوادم السيارات ولتحديد درجة تحملها لملوثات الهواء، بالاعتماد على حساب قيم بعض الصفات الفسيولوجية لها. تم تشخيص وتصنيف هذه النباتات في معشب كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد .العراق . جمعت عينات الأوراق النباتية من المواقع الملوثة والتي شملت عدد من المناطق السكنية والتجارية ومن موقع السيطرة وهو منتزه واسع يقع في حدود بغداد الشمالية الغربية وبواقع ثلاث مكررات لكل نوع . وتم اخذها داخل اكياس بلاستيكية الى المختبر لاجراء التحاليل المطلوبة , تم تقدير صبغات البناء الضوئي وفقا للطريقة المذكورة في (12)، بينما قدر تركيز البرولين وفقا الى طريقة (13) . اما بالنسبة الى الملوثات فقد تم تقدير تراكيزها في المواقع المدروسة شهريا باستعمال اجهزة الكترونية مثل جهاز الـ G460MICROTECTOR II الماني المنشأ لقياس تركيز كل من غاز SO_2 وغاز NO_2 وجهاز الـ Met One Particle mass counter امريكي المنشأ لقياس تركيز الدقائقيات (Total Suspended (TSP Particulate Matter و Respirable Suspended Particulate Matter (RSPM).

شكل رقم (1): مواقع جمع العينات ضمن مدينة بغداد (www.amanatbaghdad.gov.iq)

النتـــائج

سجلت نتائج الدراسة الحالية اختلافا موسميا في تراكيز ملوثات الهواء في المواقع المدروسة كماهو مبين في الجدول رقم (1) . إذ لوحظ أن أعلى تركيز لثنائي اوكسيد الكبريت كان في فصل الربيع وبلغ 2.28 ppm/m^3 يليه فصل الصيف وبلغ 1.78 ppm/m^3 ثم فصلي الخريف والشتاء بقيمة 1.48 ppm/m^3 و1.23 على التوالي في المواقع الملوثة. اما بالنسبة الى موقع السيطرة فقد بلغ اعلى معدل له 0.05 ppm/m^3 في فصل الربيع، اما غاز ثنائي اوكسيد النتروجين فقد سجل اعلى تركيز له في فصل الشتاء وبلغ 3.68 ppm/m^3. اما فصلي الصيف والخريف فقد كانت قيمهما متماثلة وبلغت 2.05 ppm/m^3 ، في حين سجل فصل الربيع ادنى قيمة له وبلغت 1.79 ppm/m^3 في المواقع الملوثة ، بينما بلغ اعلى تركيز له في موقع السيطرة 0.07 ppm/m^3 في فصل الربيع ، اما بالنسبة الى تركيز الدقائقيات فقد سجل اعلى معدل لها في فصل الربيع وبلغ 585.1 µg/m^3 ، بينما بلغ فصل الشتاء 465.41 µg/m^3 وفصل الخريف 437.91 µg/m^3 وفصل الصيف 434.81 µg/m^3 في المواقع الملوثة اما موقع السيطرة فقد بلغ اعلى معدل لها في فصل الربيع ايضا وبلغ 2351 µg/m^3.

أظهرت النباتات المدروسة اختلافا قي قيم الصفات الفسيولوجية المقدرة لاوراقها خلال فترة الدراسة والتي شملت محتوى الاوراق النباتية من الكلوروفيل الكلي ونمطيه A و B والكاروتين والبرولين (جدول رقم 2). إذ بلغ اعلى معدل لتركيز محتوى الكلوروفيل نمط A مقدرا بوحدات mg/g في اوراق نبات الياسمين الزفر 0.013±0.002 , يليه نباتي السدر واليوكالبتوز إذ سجلا المعدل نفسه 0.003 ±0.012 , اما في نبات الالبيزا فقد بلغ 0.011±0.002 , بينما سجل نبات الدودنيا معدل 0.008±0.002 , ومن ثم نباتي الزيتون والكونوكاربس إذ سجلا المعدل نفسه 0.005±0.001 في المواقع الملوثة , بينما بلغت تراكيزه في عينات موقع السيطرة 0.021±0.003 و 0.015±0.004 و 0.014±0.003 و 0.002±0.013 و 0.002±0.008 و ± 0.002 0.001 في نباتات السدر والالبيزا والدودنيا والياسمين الزفر واليوكالبتوز والزيتون والكونوكاربس على التوالي . اما تراكيز محتوى كلوروفيل B مقدرة بوحدات mg/g فقد سجلت اعلى قيمها في المواقع الملوثة في اوراق نباتي ياسمين زفر والالبيزا 0.094±0.016 و 0.089±0.007 على التوالي , بينما سجلت عينات اوراق كل من نبات السدر واليوكالبتوز نفس المعدل تفريبا وبلغ 0.080±0.011, اما نباتات كونوكاربس و دودنيا و الزيتون فقد بلغت معدلاتهم 0.052±0.013 و 0.049±0.013 و 0.036±0.008 على التوالي . اما في موقع السيطرة فقد بلغت تراكيزه 0.096±0.026 في نبات ياسمسن زفر و 0.086±0.035 في الالبيزا و 0.086±0.027 في اليوكالبتوز و0.080±0.029 في السدر و 0.047±0.018 في الدودنيا و 0.022±0.011 في نبات الكونوكاربس واخيرا 0.012±0.007 في نبات الزيتون. اما محتوى الكلوروفيل الكلي فقد كان اعلى معدل له في نبات الالبيزا وبلغ 0.248±0.019 mg/g في المواقع الملوثة, اما ادنى معدل فقد

كان في نبات الزيتون وبلغ 0.104±0.015 mg/g, اما موقع السيطرة فقد بلغ اعلى معدل في نبات الياسمين زفر 0.216±0.050 mg/g, بينما سجل الزيتون ادنى معدل 0.048±0.025 mg/g.

جدول رقم (1): ملوثات الهواء الاساسية (الغازات والدقائقيات) المسجلة في المواقع الملوثة وموقع السيطرة ضمن مدينة بغداد خلال مدة الدراسة من 2016 – 2017

فترة الدراسة	SO_2 ppm/m^3		NO_2 ppm/m^3		RSPM µg/m^3		TSP µg/m^3	
	المواقع الملوثة	موقع السيطرة	المواقع الملوثة	موقع السيطرة	المواقع الملوثة	موقع السيطرة	المواقع الملوثة	موقع السيطرة
فصل الصيف	1.78	0.04	2.05	0.04	45.48	10	434.8	195.5
فصل الخريف	1.48	0.03	2.05	0.04	49.05	9.3	437.9	180
فصل الشتاء	1.23	0.04	3.68	0.05	13.65	5.4	465.4	200
فصل الربيع	2.28	0.05	1.79	0.07	95.83	15.7	585.1	235
المعدل الكلي	1.69	0.04	2.39	0.05	51.00	10.1	480.8	202.63

جدول رقم (2): تراكيز بعض الصفات الفسيولوجية في عينات اوراق الاشجار المختارة من المواقع الملوثة وموقع السيطرة ضمن مدينة بغداد خلال مدة الدراسة

نوع النبات	الصفات الفسيولوجية (المتوسط ± الانحراف المعياري)									
	كلوروفيل a ملغم/غم		كلوروفيل b ملغم/غم		الكلوروفيل الكلي ملغم/غم		الكاروتين ملغم/غم		البرولين	جزء بالمليون
	المواقع الملوثة	موقع السيطرة	المواقع الملوثة	موقع السيطرة	المواقع الملوثة	موقع السيطرة	المواقع الملوثة	موقع السيطرة	المواقع الملوثة	موقع السيطرة
الزيتون *O. europae*	0.005± 0.001	0.002± 0.001	0.036± 0.008	0.012± 0.007	0.104± 0.015	0.048± 0.025	0.018± 0.002	0.007± 0.002	1.312 ± 0.295	0.955 ± 0.163
السدر *Z. spina-christi*	0.012± 0.003	0.021± 0.003	0.080± 0.007	0.080± 0.029	0.237± 0.034	0.192± 0.067	0.022± 0.002	0.020± 0.010	5.783 ± 0.863	7.504 ± 3.373
كونوكاربس *C. lancifolius*	0.005± 0.002	0.002± 0.001	0.052± 0.013	0.022± 0.011	0.173± 0.049	0.079± 0.023	0.018± 0.002	0.010± 0.003	2.535 ± 0.808	0.960 ± 0.373
الالبيزا *A. lebbeck*	0.011± 0.002	0.015± 0.004	0.089± 0.007	0.086± 0.035	0.248± 0.019	0.188± 0.060	0.026± 0.003	0.019± 0.006	6.573 ± 2.044	5.489 ± 1.805
يوكالبتوز *E.camaldulensis*	0.012± 0.003	0.008± 0.002	0.080± 0.011	0.086± 0.027	0.229± 0.033	0.175± 0.042	0.020± 0.003	0.011± 0.003	2.715 ± 0.732	4.256 ± 0.965
ياسمين زفر *C. inermis*	0.013± 0.002	0.013± 0.002	0.094± 0.016	0.096± 0.026	0.230± 0.063	0.216± 0.050	0.021± 0.003	0.015± 0.004	13.895± 1.330	14.991± 1.262
دودونيا *D. viscosa*	0.008± 0.002	0.014± 0.003	0.049± 0.013	0.047± 0.018	0.143± 0.038	0.088± 0.035	0.016± 0.003	0.012± 0.006	1.297 ± 0.304	1.453 ± 0.615

سجلت النباتات الالبيزا والسدر والياسمين زفر واليوكالبتوز اعلى قيم لتركيز الكاروتين في المواقع الملوثة وبلغت مقدرة mg/g 0.026±0.003 و 0.022±0.002 و 0.021±0.003 و 0.020±0.003 على التوالي , بينما سجل نباتي الزيتون والكونوكاربس التركيز نفسه وبلغ 0.018±0.002 اما نبات الدودنيا فقد سجل ادنى قيمة وبلغت 0.016±0.003 , اما في موقع السيطرة فقد بلغت القيم مقدرة mg/g 0.020±0.010 و 0.019±0.006 و 0.015±0.004 و 0.012±0.006 و 0.011±0.003 و 0.010±0.003 و 0.007±0.002 في نباتات السدر و الالبيزا و الياسمين زفر والدودنيا و اليوكالبتوز والكونوكاربس والزيتون على التوالي.

سجل اعلى تركيز للبرولين في اوراق نبات الياسمين زفر وبلغ 13.895±1.330 ppm في المواقع الملوثة وكان هو الاعلى ايضا في موقع السيطرة ,إذ بلغ تركيزه 14.991±1.262 ppm , اما بقية انواع النباتات فقد بلغ تركيز البرولين لعيناتها في المواقع الملوثة 2.044 ppm 6.573±0.863 و 5.783±0.863 في نباتي الالبيزا والسدر على التوالي و 2.715±0.732 ppm و 2.535±0.808 في نباتي اليوكالبتوز والكونوكاربس , اما نباتي الزيتون والدودنيا فقد بلغ تركيزهما على التوالي 0.295 ppm 1.312±0.295 و 1.297±0.304, بينما بلغت تراكيز عينات موقع السيطرة للنباتات السدر والالبيزا و اليوكالبتوز والدودنيا والكونوكاربس والزيتون 3.373±7.504 و 1.805±5.489 و 0.965±4.256 و 0.615±1.453 و 0.373±0.960 و 0.163±0.955 مقدرة بوحدة ppm على التوالي.

المناقشـــــة

يعد غاز ثنائي اوكسيد الكبريت من ملوثات الهواء الاساسية والذي ينبعث من مصادر طبيعية او صناعية مختلفة , إذ يقدر معدل الانبعاث السنوي عالميا لهذا الغاز في الهواء حوالي 114 مليون طن متري , وتساهم المصادر الصناعية عن حوالي 90 % منه (14)، وهذا قد يؤيد نتائج البحث الحالي إذ سجلت المواقع الملوثة معدلا عاليا لتركيز هذا الغاز والبالغ 1.69 ppm/m^3 مقارنة مع موقع السيطرة والذي بلغ 0.04 ppm/m^3. اما غاز ثنائي اوكسيد النتروجين فيعد هو الاخر من الغازات الملوثة للهواء بشكل كبير نسبة الى تنوع مصادر انبعاثه الطبيعية والصناعية، إذ يقدر معدل الانبعاث السنوي العالمي لاكاسيد النتروجين الفعالة في الهواء حوالي 230 مليون طن متري وتساهم المصادر الصناعية بحوالي 60 % منها (14، 15). وهذا قد يعطي دليلا لتجاوز قيمة تركيز غاز ثنائي اوكسيد النتروجين والبالغة 2.39 ppm/m^3 قيمة غاز ثنائي اوكسيد الكبريت في الدراسة الحالية في المواقع الملوثة وكذلك قيمة موقع السيطرة والبالغة 0.05 ppm/m^3. تعد المواد الدقائقية العالقة في الهواء من اخطر ملوثات الهواء نظرا لما تسببه من مشاكل صحية وبيئية وقد يعود ذلك الى تنوع مصادرها الطبيعية والصناعية وكذلك تنوع طبيعتها وحجومها (16) . وهذا ما لوحظ في نتائج البحث الحالي , إذ بلغ معدل الدقائقيات العالقة الكلي 480.8µg/m^3 في المواقع الملوثة وهو بذلك قد تجاوز قيمة منطقة السيطرة والبالغة 202.638µg/m^3. وقد يعود ارتفاع المعدل السنوي لملوثات الهواء خلال اشهر الربيع الى زيادة النشاط السكاني خلال هذه الفترة مما يؤدي الى زيادة الكثافة المرورية للمركبات في مدينة بغداد والذي

يرافقها ارتفاع مقدار الانبعاث للعوادم فضلا عن وجود مصادر التلوث الاخرى الثابتة في تلك المناطق.

تعد النباتات مهمة جدا في الحفاظ على التوازن البيئي من خلال خلق بيئة صحية ونظيفة لحياة الانسان (2). يكمن الدور الكبير للنباتات في دراسة تلوث الهواء في مستوى وطبيعة استجابتها الى ملوثات الهواء المختلفة , فهي تعطي اشارة مبكرة لوجود حالة التلوث عن طريق تبدل بعض صفاتها المظهرية وبالتالي يمكن الاعتماد عليها في تقييم نوعية الهواء (11). لوحظ ان تعرض النباتات الى ملوثات الهواء فأن اغلبها تعاني من تغيرات فسيولوجية قبل ظهور التغيرات المظهرية في الاوراق, إذ تعد الاوراق هي اكثر اجزاء النبات حساسية لملوثات الهواء وغيرها من العوامل الخارجية لذا استعملت الصفات الفسيولوجية للاوراق النباتية لتقييم مدى تحمل النباتات الجهد البيئي المسلط عليها والمتمثل بتلوث الهواء (17) . تم استعمال قيم محتوى الكلوروفيل للاوراق النباتية بشكل واسع في دراسة تاثير ملوثات الهواء في النباتات ومن هذه الدراسات (18 ،19) , إذ لوحظ ان استجابة النبات لملوثات الهواء تعتمد بشكل اساسي على نوع النبات وعلى درجة تلوث المنطقة , وهذا مالوحظ ايضا في نتائج البحث الحالي إذ تباينت تراكيز محتوى الكلوروفيل الكلي بين انواع النباتات والمواقع المدروسة ,كذلك الكلوروفيل A و B فقد اظهرت هي الاخرى تباينا في تراكيزها, كما ونلاحظ تجاوز قيم تركيز كلوروفيل B قيم تركيز كلوروفيل A وهذا مابينه (20) إذ وصف كلوروفيل A بانه اكثر تأثرا من كلوروفيل B ويعود سبب انخفاض تركيزه الى فعالية انزيم الـ chlorophyllase الذي يعمل على تحلله وتحويله الى phaeophytin من خلال سحب ايون المغنيسيوم منه واستبداله مع ايون الهيدروجين المتراكم داخل النبات نتيجة لنفاذ الاكاسيد الحامضية للكبريت والنتروجين . يوفر تقدير كل من محتوى الكلوروفيل والكاروتين والبرولين بيانات لابأس بها حول الحالة الفسيولوجية للنبات , اذ لوحظ تغير هذه الصفات بشكل كبير نتيجة التأثيرات البيئية الناجمة عن تلوث الهواء (21) . تلعب صبغة الكاروتين دورا مهما في مجمل عملية التركيب الضوئي فهي تقوم بحماية صبغة الكلوروفيل من اثار الاكسدة الضوئية وكذلك صبغة مساعدة في عملية التركيب الضوئي (22)، إذ نلاحظ ارتفاع تركيزها في عينات النباتات في المواقع الملوثة مقارنة مع موقع السيطرة في اغلب الانواع المدروسة ، يمتلك البرولين قابلية تراكم عالية داخل انسجة النبات والتي تجعله ذو اهمية كبيرة خاصة خلال فترات الجهد البيئي العالي (23)، إذ بلغت العينات تركيزا عاليا وهذا توافق مع دراسة (24) لنوعين من النباتات وهما *Albizia lebbeck* و*Callistemon citrinus* المزروعة في منطقة احد المصانع النفطية الكبيرة في ايران مقارنة مع موقع السيطرة , كما وجد ارتفاع تركيز محتوى البرولين في اوراق النباتات المعرضة الى بخار غاز SO_2 والعناصر الثقيلة (25).

يمكن الاستنتاج من الدراسة الحالية ان الانواع التي تسجل قيما مرتفعة للصفات الفسيولوجية في المناطق الملوثة مقارنة مع السيطرة توصف بانها نباتات مقاومة لتلوث الهواء ولها القابلية في خزن و مراكمة ملوثات الهواء , بينما الانواع التي تسجل قيما منخفضة فيمكن استعمالها في المراقبة الحيوية بوصفها مؤشرات حيوية لتلوث الهواء.

المصـــــــــادر

1. Seyyednejad SM. and Koochak H. (2013). Some morphological and biochemical responses due to industrial air pollution in Prosopis juliflora (Swartz) DC plant. Afri. J. Agri. Res. 8(18): 1968-1974.

2. Dwivedi AK.; Tripathi BD. and Shashi A. (2008). Effect of ambient air sulphur dioxide on sulphate accumulation in plants. J. Envir. Bio. 29:377-379.

3. Tripathi AK. and Gautam M. (2007). Biochemical parameters of plants as indicators of air pollution. J. Envir. Bio. 28:127-132.

4. Chauhan A. and Joshi PC.(2008). Effect of ambient air pollution on photosynthetic pigments on some selected trees in urban area. Eco. Envir. Cons. 14(4): 23-27.

5. Katiyar V. and Dubey PS. (2000). Growth behaviour of two cultivors of Maize in response to SO_2 and NO_x . J. Environ. Bio. 21: 317-323.

6. Seyyednejad SM. and Koochak H. (2011). A study on air pPollution effects on eucalyptus camaldulensis. International Conference on Environmental, Biomedical and Biotechnology. (IPCBEE). vol.16 IACSIT Press, Singapoore.

7. Chauhan V. (2010). Photosynthetic Pigment Changes In Some Selected Trees induced By Automobile Exhaust in Dehradun, Uttarakhand. NY. Sci. J. 3(2):8-12.

8. Subramani T. (2012). Study of air pollution due to vehicle emission in tourism centre. I. J. Eng. Res. App. 2(3) :1753-1763.

9. Archana RM. and Deshmukh RR. (2015). To control effects of air pollution using roadside trees. I. J. Inn. Res . Sci. Eng. Tech. 4(11): 70-79.

10. Dwivedi AK. and Tripathi BD. (2007). Pollution tolerance and distribution pattern of plants in surrounding areas of coal-fired industries. J. Environ. Bio. 28:257-263.

11. Wagh ND.; Shukla PV.; Tambe SB. and Ingle ST. (2006). Biological monitoring of roadside plants exposed to vehicular pollution in Jalgaon city. J. Environ. Bio. 27(2): 419-421.

12. Swain Sh.; Mallick SN. and Prasad P. (2016). Effect of industrial dust deposition on chlorophyll of selected plant species in Kalunga. I. J. Botany. Stud. 1(5): 1-5.

13. Hoque MA.; Banu MNA. and Okuma E. (2007). Exogenous proline and glycinebetaine and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. J. Plant. Physiol. 164:1457-1468.

14. William P.; Mary A. and Barbara W. (2007). Environmental : a global concern .9th edi. By The McGraw – Hill companies. Inc. Americas. NewYork. NY. 1020. P.:6.

15. Ahluwalia VK. and Malhotra S. (2009). Environmental science. 3rd ed. In Gopaljee Enterprises , Delhi. P.:350.

16. Ahmed MJ. and Ali MK. (2012). Chemical assessment of gaseous pollutants and particulate matter in air of Chittagong City. I. J. Res. Environ. 2(2):178-187.

17. Chatham A. (2015). Effect of SO_2 on ascorbic acid content in crop plants-first line of defence against oxidative stress. I. J. Inn. Res. Deve. 4(11):8-13.

18. Flowers MD.; Fiscus EL. and Burkey KO. (2007). Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and yield of snap bean (Phaseolus vulgaris L.) genotypes differing in sensitivity to ozone. Environ. Exp. Botan. 61:190-198.

19. Joshi PC. and Swami A. (2009). Air pollution induced changes in the photosynthetic pigments of selected plant species. J. Environ. Bio. 30(2):295-298.

20. Santi A.; Saeni MS.; Mattjik NA.; June T. and Harjomidjojo H. (2008). Impact and model of air pollution by simulated acid rain on the growth of orchid plants. Indonesian J. Agri. 1:34-43.

21. Shweta M. and Agrawal SB. (2006). Interactive effects between supplemental ultraviolet-B radiation

and heavy metals on the growth and biochemical characteristics of Spinacia oleracea L. Brazil. J. Plant. Physiol. 18:98-102.
22. Chatham A.; Sanjeeda I. and Angoorbala B. (2014). Air pollution tolerance index of some seasonal crops growing in different industrial areas of Dhar District (M.P.), India. J. Biol. Chem. Res. 31(2): 1205-1227.
23. Wang F.; Zeng B.; Sun Z. and Zhu C. (2009). Relationship between proline and Hg^{2+} induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. Environ. Toxicol. 56:23-31.
24. Seyyednejad S.; Niknejad M. and Yusefi M. (2009). The effect of air pollution on some morphology and biochemical factors of callistemon citrinus in petrochemical zone in south of Iran. Asian. J. Plant. Sci.3(4):13-20.
25. Woodwared AJ. and Bennett IJ. (2015). The effect of salt stress on proline production, chlorophyll content and growth of in vitro propagated shoots of Eucalyptus camaldulensis. Plant. Cell. Tiss. Organ. Cult. 82:189-200.