

IJST

INTERNATIONAL

Journal for Sciences and Technology

VOL. (12), NO. (1) MARCH 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 Journal for Sciences and Technology

المجلة الدولية للعلوم والتكنولوجيا

Volume 12. No. 1/ March 2017 / ISSN: 2305-9346

A Refereed 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



Al- Shammari , Abdul- Jabbar N.

(Editor-in- Chief)

Professor of Microbiology / Dept. of Medical Laboratory Sciences / Faculty of Sciences / Al-Balqa' Applied University / Al- Salt / Jordan
shammari@ijst-jo.com

Abbas, Jamal A.

Professor of Plant Ecophysiology / Faculty of Agriculture / Kufa University / Iraq
phdjamal@yahoo.com

Abood, Ziad M.

Professor of Physics / College of Education / University of Al-Mustansiriyyah / Baghdad / Iraq
dr.ziadmabood@uomustansiriyyah.edu.iq

Abdul- Ghani, Zaki G.

Professor of Microbiology/ Faculty of Pharmaceutical Sciences / Amman Private University / Jordan
zaki_abdulghani@yahoo.com

Abdul- Hameed, Hayder M.

PhD in Environmental Engineering / Environmental Engineering Dept./ Faculty of Engineering/ University of Baghdad/ Iraq
hayderalmunshi@yahoo.com

Abdullah, Ahmed R.

PhD in Cancer Immunology and Genetics /Biotechnology Research Centre / Al- Nahrain University / Baghdad / Iraq
ahmedrushdi1970@yahoo.com

Al- Daraji, Hazim J.

Professor of Avian Reproduction and Physiology / Animal Resources Dept./ College of Agriculture / University of Baghdad / Iraq
prof.hazimaldaraji@yahoo.com

Al- Douri, Atheer A. R

PhD in Microbiology/Faculty of Veterinary Medicine/ University of Baghdad / Iraq
aaldouri96@yahoo.com

Al-Dulaimy, Ahmed F.

Professor of Plant Nutrition and Horticulture/ Dept. of Horticulture and Landscape Gardening / Faculty of Agriculture / University of Anbar / Iraq
ahmedzubar@yahoo.com

Al- Faris, Abdulbari A.

Professor of Surgery / Dept. of Surgery and Obstetrics / College of Veterinary Medicine / University of Basrah / Iraq
Vetedu2000@yahoo.com

Al- Jashami, Najim A.

Professor of Nuclear Material Sciences / Dept. of Physics / College of Sciences / Kufa University / Iraq
na_phys@yahoo.com

Al- Mashaykhi, Akram Othman

PhD in IT / Amman Arab University for Graduate Studies / Jordan
akram.othman@gmail.com

Al- Mathkhoury, Harith J F.

Professor of Medical Microbiology / Dept. of Biology / College of Sciences / University of Baghdad/ Iraq
harith_fahad@yahoo.com

Al- Murrani, Waleed K.

Professor of Genetics and Biostatistics / University of Plymouth/ UK
profmurrani@yahoo.com

Al- Noor, Taghreed H.

Professor of Chemistry / Dept. of Chemistry / College of Education – Ibn Al- Haitham / University of Baghdad / Iraq
drtaghreed2@gmail.com

Al- Samarrai, Taha H.

PhD. in Microbiology / Dept. of Medical Laboratory Sciences / College of Applied Sciences / University of Samarra / Iraq
tahaalsamarrai@gmail.com

Al- Saqur, Ihsan M.

Professor of Parasitology/ Faculty of Sciences / University of Baghdad / Iraq
drihsanalsagur@yahoo.com

Al- Shamaony, Loai

Professor of Biochemistry / Faculty of Pharmacy / Misr University for Sciences and Technology / Egypt
loaiialshamaony@yahoo.com

Al- Shebani, Abdullah S.

PhD in Dairy Sciences and Technology / Food Sciences Dept./ Faculty of Agriculture / Kufa University / Iraq
Agrifood43@yahoo.com

Alwachi, Sabah N.

Professor of Physiology / Biology Dept./ College of Sciences/ University of Baghdad / Iraq
sabahalwachi@yahoo.com

Khamas, Wael

Professor of Anatomy and Histology / College of Veterinary Medicine / Western University of Health Sciences / Pomona -California/ USA
wael_khamas@yahoo.com

Lafi, Shehab A.

Professor of Medical Microbiology / College of Medicine / Al- Anbar University / Iraq
shehab_6555@ymail.com

Editorial Executive Director

Pharmacist. Nansi Elian

Amman- Jordan
ijst.jordan@yahoo.com

FORWARD

Dear Colleagues,

Today, I write you about how our journal is moving to the new volume as we are now at year 2017, twelve years without stop, despite the challenges we faced, and despite all constraints that our beloved Arab countries have while they are looking for more development achievements. What I want to say, is that the only weapon, as well as the tool to proceed to the gate of development is science and how we can use and adopt all the ways that make our cultures, our thoughts and our talents and research efforts to be converted into practices to improve life for us and for the coming generations and let the other parts of the world listen to us very appreciately.

Special welcome for Prof. Ziad Mohammed Abood , from University of Mustansirya and Prof. Ahemd Al- Dulaimy from University of Anbar as they were recently joined the editorial board.

For all what we achieved, I would like to present my deepest thanking and great recognitions for all people and institutes who faithfully gave IJST their concerns, their cares, and their patiences to keep it as one of the leading journals in Arab and international worlds. With you all, IJST is now here, and will continue as long as we breath, as we believe on our goal, and as we have the power from God to be with you.

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 first issue from the twelve volume of IJST, March , 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

Prof. Abdulbari A. Al- Faris

College of Veterinary Medicine ,University of Basra. Iraq

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. Ahmed A. Al- Darraji

Colege of Dentistry, University of Wassit. Iraq

Dr. Atheer A.R. Al- Douri

College of Veterinary Medicine, University of Baghdad. Iraq

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. Hazim J. Al- Darraji

Animal Resources Dept., College of Agriculture , University of Baghdad . Iraq

Dr. Ibraheem N. Al- Tarawneh

Dept. of Chemistry, Faculty of Sciences, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

Prof. Jamal A. Abbas

Faculty of Agriculture, Kufa University. Iraq

Prof. Riadh Al- Ramadani

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

Prof. Mahmoud M. Othman Matar

College of Medicine, Al- Najah National University. Palestine

Prof. Mjid A. Al- Attar

Turunto / Canda.

Dr. Moayyad Al- Khataybeh

Dept. of Chemistry and Laboratory Medicine, Faculty of Sciences, Al- Balqa' Applied University , Al- Salt . Jordan

Prof. Najim A. Al- Jashami

Dept. of Physics, College of Sciences , University of Kufa. Iraq

Prof. Taha H. Al- Samarrai

College of Sciences, University of Samarra. Iraq

Prof. Ziad M. Abood

Dept. of Physics, College of Education , Al-Mustansiriah University. Iraq.

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

BIOTECHNOLOGY

- Biodegradation of triphenylmethane and monoterpene compounds by fungal laccases in different reaction systems** 6-14
Ali A. Taha

COMPUTER SCIENCES

- Genetic algorithm filtering for speaker identification system** 15-20
Ziad M. Abood, Tariq A. Hassan & Eman K. Ibrahim

ENVIRONMENT

- Estimate habitat salinity of Chinese white dolphin using MODIS Data** 21-26
Basmah M. Al- Abbadi
- Estimation of salinity by genetic algorithm combining with operation tree using sensor data** 27-32
Basmah M. Al- Abbadi & Li Chen

MEDICAL PHYSICS

- Diagnosis of colon tumor tissue using fuzzy logic** 33-40
Ziad M. Abood, Zahra S. Dheef & Lamyaa M. Kadhim

RADIOTHERAPY

- Enzymatic study of adenosine deaminase (ADA) on blood from patients with breast cancer before and after radiotherapy** 41-45
Samira A. Finteil, Eman W. Hussen & Qabas I. Abdulmajeed

ARABIC STUDIES AND RESEARCHES SECTION – قسم الدراسات والبحوث العربية – (II)**MICROBIOLOGY****الأحياء المجهرية**

- 51-47 *Acinetobacter baumannii* الكشف عن إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف ESBLs في بكتيريا CHROM agar ESBLs المعزولة من حالات سريرية مختلفة باستعمال وسط
رنا مجاهد عبد الله، رشا زياد طارق أحمد

BIOLOGY**علوم الحياة**

- 55-52 تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص قشر و هلام اوراق نبات الصبار *Aloe vera* في هلاك بالغات عثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella*
سندس حسين علوان
- 59-56 التكوين الجنيني والتركيب النسجي لممشط العين في طائر الخضيرى *Anas platyrhynchos*
تحرير شمران غازي، محمد عبد الحسين غالي
- 65-60 السمية الحادة لمبيد الأعشاب 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid على إناث برغوث الماء *Daphnia magna* وتأثير السمية المزمنة في بناء الجدول الحياتي
عادل حسين طالب، براء مزاحم ذاك
- 71-66 العلاقة بين طول ووزن الروبيان *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) في مزارع تربية الأسماك في الصويرة/ محافظة الكوت
ميسلون لفقة الدوري، نيراس لفقة الدوري، حسين عبد المنعم داود

AGRICULTURAL SCIENCES**العلوم الزراعية**

- 75-72 دراسة مقارنة لبعض صفات صنفين من الباميا في ظروف محافظة النجف الأشرف
جمال أحمد عباس، منصور عبد أبو حنه، جعفر نعمة مبرد

MEDICAL PHYSICS**فيزياء طبية**

- 83-76 تصنيف بلورات الإدارة باستخدام الشبكة العصبية الاصطناعية
زياد محمد عبود، عزمي توفيق، عبد الرحمن حماد جاسم

ENGLISH SECTION

Biodegradation of triphenylmethane and monoterpene compounds by fungal laccases in different reaction systems

Ali A. Taha

Dept. of Applied Sciences / University of Technology / Republic of Iraq

E- mail: ijst.jordan@yahoo.com

ABSTRACT

In the present study , three fungal laccases were included from *Trametes versicolor* , as a commercial enzyme , partial purified homemade enzymes from *Trametes hirsuta* (DSMZ No. 5072) and *Botrytis cinerea* (DSMZ No. 877) and were obtained from previous studies. The stability of the enzymes were investigated in different reaction systems include; aqueous, α - Pinene / *tert*-butanol (PT) and co solvent (10% *tert*-butanol). The highest stability of the three fungal laccases during the incubation was observed at 30 °C , and *Trametes* laccases displayed higher energy inactivation in all examined systems compared to laccase from *B. cinerea* . Decolorization of 20 μ M of Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBBG), as a model of recalcitrant triphenylmethane textile dyes , by 0.6 u/ml of the three enzymes in the presence or absence of six mediators was determined. The best decolorization was revealed in the presence of 0.5 mM HBT, as mediator, and higher decolorization of 68.35 % was observed when laccase from *T. versicolor* was used. Moreover, biotransformation of 250 μ M α -pinene , as a monoterpene compound , by 10 u/ml of laccases in different systems in the presence of 40 mM HBT was investigated . The major transformation ratio of α -pinene to verbenol is 1.76% obtained by laccase from *T. versicolor* in PT system, while the transformation ratio to verbenone is 1.36% performed by laccase from *B. cinerea* in TB system.

Keywords: *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta* (DSMZ No. 5072), *Botrytis cinerea* (DSMZ No. 877), reaction systems, fungal laccases

الملخص باللغة العربية

في هذه الدراسة، تم الحصول على ثلاثة من إنزيمات اللاكيز ، حيث يمثل الإنزيم المنتج من فطر (*Trametes versicolor*) الإنزيم القياسي ، و تم إنتاج الإنزيمين الشبه النقيين من (*Trametes hirsuta* (DSMZ no.5072)، *Botrytis cinerea* (DSMZ no.877) مخبرياً من دراسة تم إعدادها سابقاً . تمت دراسة درجة ثبات الإنزيمات في أنظمة تفاعل مختلفة تضمنت النظام المائي و نظام البنين والبيوتانول (PT) ونظام البيوتانول بنسبة 10%(TB). أظهرت جميع الإنزيمات درجة ثبات عالية عند درجة تحضين 30م°. في حين أظهرت الإنزيمات المنتجة من جنس (*Trametes*) أعلى تثبيط في نشاط الإنزيم في جميع الأنظمة المستخدمة بالمقارنة مع الإنزيم المنتج من (*Botrytis*) . من ناحية أخرى، تمت دراسة فعالية الإنزيمات في إزالة اللون من صبغة (CBBG) والتي تمثل نموذجاً من مركبات صبغات الأقمشة المقاومة للأكسدة والتحلل، وذلك بإضافة 0.6 وحدة / مل من الإنزيم مع وجود ستة أنواع من المركبات الوسيطة . لوحظ أن أعلى نسبة مئوية لإزالة الصبغة كانت 68.35 عند استخدام الإنزيم القياسي، و 0.5 ملي مول من المركب الوسيط (HBT). من جانب آخر، تم اختبار فعالية الإنزيمات من حيث قابليتها على تحويل 250 مايكرو مول من البنين، والذي يمثل نموذجاً من التربينات الأحادية ، وذلك باستخدام جرعة عالية من الإنزيم بلغت 10 وحدة /مل مع وجود 40 ملي مول من المركب الوسيط (HBT) . لوحظ أن أعلى نسبة مئوية من التحول قد بلغت 1.76 باستخدام الإنزيم القياسي في نظام (PT)، في حين كانت النسبة 1.36 عند استخدام الإنزيم المنتج من (*B. cinerea*) في نظام (TB).

INTRODUCTION

Laccases have good stability rates in non-conventional media, catalytic activity under moderate reaction conditions and broad substrate specificity (1,2). It has been reported that various fungal laccases were relatively stable when stored at or near neutral pH and below room temperature (3,4), and can exert their catalytic activities over relatively wide ranges of pH and temperatures (5,6). Therefore, many laccases from different sources could be considered for various industrial applications (7). Laccases (EC 1.10.3.2), which constitute the largest subfamily of multi-copper oxidases (MCOs), are widely distributed among fungi (8,9). The ability of laccases to utilize atmospheric oxygen as electron donor makes these enzymes promising candidates for pulp delignification, detoxification of wastewaters and organic pollutants, biofuel cells, biosensors, manufacture of drugs, textile decolorization and others (10,11).

Industrial dyes are released into environment as waste water. More than 10,000 synthetic dyes commercially available are used in industrial processes (12). Based on the chemical structure of the chromophoric group, dyes are classified as azo, triphenylmethane, anthraquinone, heterocyclic, and polymeric dyes, among which the versatile azo and triphenylmethane dyes account for most textile dyestuffs produced (13). Triphenylmethane dyes are aromatic xenobiotic compounds that are used extensively in textile dyeing, paper printing, and food and cosmetic manufacturing (14). The majority of these dyes are either toxic to flora and fauna or mutagenic and carcinogenic leading to potential health hazard to humankind (15). Furthermore, the dye effluent can be disposed untreated into water bodies and used for agriculture, thereby affecting soil fertility (16). Conventional chemical and physical methods of dye decolorization are actually outdated due to ineffective, costly, complicated or have sludge disposal problems and some unresolved problems. The biodegradation appears to be a promising technology and the enzymatic approach has much interest as an alternative strategy than conventional treatments, which pose some serious limitations (17-23).

Laccase oxidation of large or high redox potential substrates is possible with addition of so-called chemical mediators, whose oxidized radical forms, able to overcome these limitations (24). A good mediator must be a substrate of laccase, produce a stable oxidized form and have a high oxidation power. The first artificial mediator to be used in LMS for pulp delignification was ABTS (2, 2' - Azino - bis 3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid), which was introduced in 1990 (25,26). HBT (1- hydroxybenzotriazole) is patented under the trade name 'Lignozyme®-process', and its efficiency had been demonstrated in several pilot plant trials (5). The oxidation of phenolic environmental pollutants by different LMS revealed effectively oxidation of the phenolic compounds in the presence of mediator (27,28). LMS were found

to be effective in the decolourisation of dyes. In 1996, Novozyme (Novo Nordisk, Denmark) launched a new industrial application for LMS in denim bleaching: DeniLite® (29,30).

LMS were also being applied or developed for biotransformations, and the majority of enzymes currently are microbial in origin with manipulation of enzymes to produce biocatalysts with predetermined properties (31,32). Chemical and biological aspects of monoterpenes and essential oils was stimulated mainly due to their widely use as natural flavor additives for food, as fragrances in perfumery, and in traditional and alternative medicines such as aromatherapy (33). Alpha Pinene, as a monoterpene, is the major constituent of the turpentine oils from most conifers and a component of a wide variety of other plants. In order to increase the commercial value of the turpentine oil, it would be of interest to convert α -pinene into more valuable compounds (34). A large number of biotransformation of α -pinene have been reported using fungal strains like; *Aspergillus* Sp. and *Penicillium* Sp (35), *Botrytis cinerea* (33), and *Aspergillus niger* (36).

In the present study, three fungal laccases from various fungal sources (*T. versicolor*, as a commercial enzyme, and partial purified homemade laccases from *T. hirsuta* and *B. cinerea*) were compared according to their biochemical properties. Decolorization of Coomassie Brilliant Blue G-250, as a triphenylmethane dye model, and biotransformation of α -Pinene, as a monoterpene model by three laccases were investigated. Different reaction systems in the presence or absence of six mediators were used in this comparison.

MATERIALS AND METHODS

Microorganisms and materials

T. hirsuta (DSMZ 5072), *B. cinerea* (DSMZ 877) obtained from Prof. Dr. Erko Stackebrandt (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Germany). Laccase from fungus *T. versicolor* (3.9 mg protein/mL, 224 U/mL) and its mediators 2,2'-azino-bis (3-ethylthiazoline-6-sulfonate) (ABTS) and (1-hydroxybenzotriazole) (HBT) were purchased from Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland), while the 2, 2, 6, 6 - tetramethylpiperidine - 1-oxyl (TEMPO) was supplied by Aldrich. All chemicals used as buffers and substrates were commercial products of at least reagent grade, unless otherwise indicated.

Production and purification of home-made laccases

The production of laccase was induced using copper sulphate, 2,5 Xylidine and Gallic acid separately or in combination. The maximum laccase activity observed during *B. cinerea* growth in the presence of 0.1% Gallic acid was 2600 UL⁻¹, while the maximum laccase activity 5890 UL⁻¹ were observed

during *T. hirsuta* growth in the presence of combination of copper sulphate, 2,5 Xylidine. The culture filtrate containing laccase activity was concentrated with 90% ammonium sulphate and desalted on a Sephadex G-25 column and then applied onto a DEAE-Sephadex (Pharmacia, Biotech, Uppsala, Sweden). The enzyme preparation was eluted with a linear concentration gradient of 0.1 - 0.5 M NaCl. Fractions containing laccase activity were then pooled, concentrated by ultrafiltration membrane (YM-10, Millipore, USA) as described in our previous studies (37, 38).

SDS Electrophoresis

Purity and apparent molecular mass of Laccases were determined by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) according to an established method with 12% polyacrylamide gel by calibrating against a broad range molecular weight protein marker. The protein bands were visualized by Coomassie Brilliant Blue R-250.

Determination of enzymatic activity

Laccase activity of commercial enzyme from *T. versicolor* and partial purified laccases from *T. hirsuta* and *B. cinerea* were routinely assayed by measuring the rate of ABTS oxidation at room temperature. The activity was investigated in both aqueous (0.1 M phosphate buffer, pH 4.6), and non conventional media as ternary system (PT) formulated with 16% α -pinene 65.1 % tert-butanol and 18.9 % of 1M acetate buffer pH 4.5) and co solvent (only 10% tert-butanol). The reaction volume (0.2mL) consisted of the appropriate amounts of solvent, phosphate buffer (0.1M, pH 4.6) containing 0.1u/ml of laccase and 1 mM ABTS. The oxidation of ABTS was followed by an increase of absorbance at 405 nm ($\epsilon_{405} = 36\,000\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). One unit of activity was defined as the amount of laccase that oxidized 1 μmol of substrate per minute.

Effects of pH and reaction temperature on laccase activity

Laccase activity was detected as previously described using 0.1 u/ml from *B. cinerea*, *T. hirsuta* and *T. versicolor*. Acetate buffer 0.1M was used for pH range from 2.5 to 8.0. The optimum reaction temperature for laccase activity was determined using 0.1 u/ml of both purified and commercial laccases in acetate buffer 0.1M pH 4.6. Eight temperatures were tested: 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90°C.

Enzymes stability

The effect of the media on enzymes stability was investigated through comparison in aqueous media and non-conventional media as previously mentioned. After preparing the mixtures, the appropriate amount of 0.1 M acetate buffer, pH 4.6 containing 0.1u/ml of laccase was added. The

mixtures were then incubated for 10 days at various temperatures ranging from 30 to 60 °C. The residual oxidation activity of laccases (assayed by ABTS oxidation at room temperature) was measured at 405 nm after the addition of 1mM of ABTS resulting in 0.2ml final volume. Experiments were carried out in triplicate. The deactivation rate constants (kd) for fungal laccases from *B. cinerea*, *T. hirsuta* and *T. versicolor* were calculated through first order inactivation kinetics (39).

Decolorization of CBBG in different systems

Decolourisation of Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBBG) was conducted according to Xin and Geng (40) with some modifications. The reaction was carried out in test tubes at 22-25 °C and 150 rpm shaking under darkness. The study also investigated the ability of laccases, one commercially available fungal laccase from *T. versicolor*, and two homemade laccases to decolourise of CBBG as a substrate in a number of aqueous and non-conventional systems as mentioned previously. In a typical reaction, the substrate (20 μM of CBBG) was added to a vial containing the appropriate amounts of organic solvent, or the aqueous phase (0.1 M acetate buffer pH 4.5), containing 0.6 U ml^{-1} of enzyme and incubated at 22- 25 °C. Controls were performed in the absence of the enzyme. Absorbance at 595nm (the maximum visible absorbance of CBBG and samples was monitored periodically. All assays were carried out in duplicate. The degree of decolourisation was calculated according to following formula:

$$D = 100 (A_{\text{ini}} - A_{\text{obs}}) / A_{\text{ini}}$$

Where:

D: is the degree of decolourisation (%), A_{ini} : the initial absorbance, and A_{obs} : the observed absorbance.

The influence of laccase-mediator-systems on decolorization

By adjusting the optimal pH at 4.5 and the reaction system of dye decolourisation, the reaction was initiated with the addition of different mediators at different concentrations. The decolourisation percentage was determined and then monitored as previously described, and samples were withdrawn periodically.

The Effect of the nature and the composition of a number of aqueous and non-conventional systems on oxidation rates of α - pinene

The influence of the nature and the composition of the media on the enzymatic oxidation of α -pinene were studied. In this way the biotransformation of 250 μM α -pinene was investigated with 10 u/ml of *T. versicolor*, *T. hirsuta* and *B. cinerea* laccases in different media using 40mM of HBT as mediator. More specific the biotransformation of α -pinene has

been conducted in aqueous solution, PT and 10% *tert* - Butanol systems. Samples were withdrawn periodically, extracted with dichloromethane (only in the case of aqueous systems) and analysed by GC. Controls were performed in the absence of the enzyme or the mediator.

Gas chromatography

Gas Chromatography (GC) was performed using a Beta 120 (Supelco, USA) fused silica capillary column 30m*0.25mm*0.25µm film thickness. The initial oven temperature was 100°C and the temperature was increased by 15°C/min to 180°C. Detection was made by FID.

RESULTS AND DISCUSSION

Biochemical properties of three fungal laccases:

Purified laccase was analysed by SDS-PAGE (Figure 1). The partially purified *B. cinerea* laccase (lane 2) showed a single band on SDS-PAGE at the molecular mass of 75 kDa. Its molecular mass appears similar to that of other fungal laccases, which were in the range of 70–80 kDa. On the other hand, the partially purified *T. hirsuta* laccase (lane 1 and 2) showed a single band on SDS-PAGE with a mobility corresponding to the molecular mass of 55 kDa as visualized by Coomassie brilliant blue staining. It was reported that the molecular weights of laccases usually range from 55 to 90 kDa including carbohydrates (41-45).

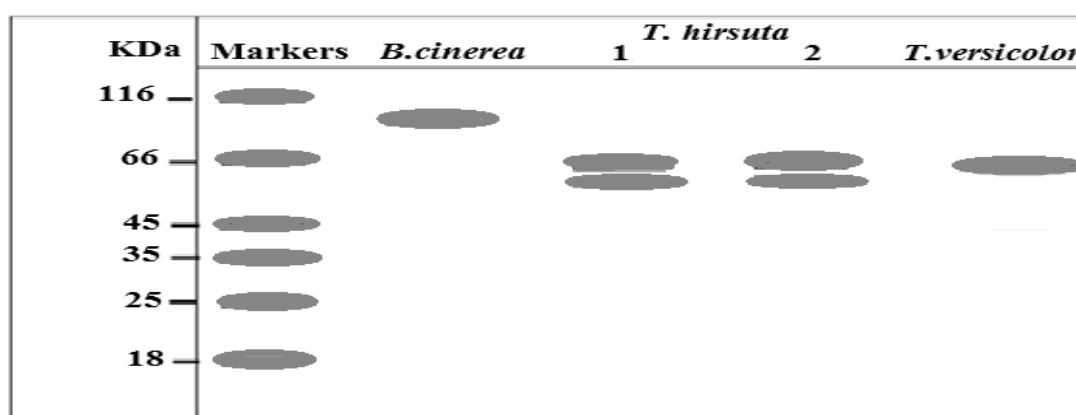


Figure (1): Comparison of SDS-polyacrylamide gel electrophoretic analysis of partially purified extracellular laccases (Laccase from *B. cinerea*, Lane 1= Laccase from *T. hirsuta* after Sephadex G25 fractionation, Lane 2 = laccase from *T. hirsuta* after DEAE-Sephadex fractionation and standard laccase from *T. versicolor*)

When laccase activity was studied as a function of reaction temperature, the three fungal laccases were found to be active in a temperature range of 30–70°C, with the maximum activity at 70 °C. Above 70 °C the activity is decreased for three laccases. This is in accordance with previous reports where the maximum laccase activity was obtained at 80°C, while further increase in the temperature lead to gradually inactivation (46). The effect of pH (values ranging from 2.5 to 8.0) was examined on laccase activity. The optimum pH for the maximum laccase activity of the three fungal laccases was observed at an acidic pH value (close to pH 3.5-4.5), when ABTS was used as substrate. At pH values larger than 3.5-4.5, the enzyme activity decreased gradually and completely inactivated at higher alkaline pH (Table 1).

The comparison confirmed that the three fungal laccases displayed optimal activities at an acidic pH value (close to pH 3.5), and showed very similar temperature optimal (close to 70 °C). This phenomenon can be explained by the difference in redox potential between a reducing substrate and the type 1 copper in the active site of the enzyme and the inhibition of type 3 copper by hydroxide ion at higher pH (47). Studies with laccases from *Coriolus hirsutus*, *Trichoderma atroviride*, *Chalara* (syn. *Thielaviopsis*) *paradoxa* CH 32 and *Cerrena unicolor* 059 showed that the optimal pH range for fungal laccase was from 4.0 to 6.0 (48- 50).

Table (1): Biochemical properties of three fungal laccases

Source of laccase	Molecular weight (kDa)	Inactivation energy (kcal mol ⁻¹) in AQ	Inactivation energy (kcal mol ⁻¹) in TB	Inactivation energy (kcal mol ⁻¹) in PT	pH optimum
<i>T. hirsuta</i>	55	39.4	32.5	23.5	3.5
<i>T. versicolor</i>	53	28.6	38.7	25.1	3.5
<i>B. cinerea</i>	75	22.7	18.0	17.6	3.5-4.5

AQ= Aqueous system , TB = tert- Butanol system , PT = α - Pinenen tert- Butanol system

The enzymes stability was studied in the absence of substrate (ABTS) at various temperatures (30-60 °C) and incubation time of 7 days. The higher stability of the three fungal laccases during its incubation in aqueous and non-conventional media was observed at 30 °C. From the results presented in table (1), it is revealed that the *Trametas* strain displayed higher energy inactivation in all examined media compared to *B. cinerea* laccase. This indicates that *T. hirsuta* and *T. versicolor* can be efficiently used in different technological processes where long time and high temperature is required.

Oxidation of CBBG by three fungal laccases: The three laccases revealed different decolorization percentages when 0.6 u/ml enzyme dose was used, as presented in figure (2). Decolorization of 38.74, 36.66 and 4.59 % of CBBG were performed by laccases from *T. versicolor*, *B. cinerea* and *T. hirsuta* respectively. The laccases appear no more than 39 % of decolorization within 5 h. It seems to be that the source of laccase enzyme and level of

purification display variable oxidative activity against CBBG. On the other hand, triphenylmethane dyes are resistant to enzymatic treatment and need longer time for decolorization. Tony and coworkers found that the Brilliant Green, as triphenylmethane dye, was not the optimum substrate for laccase, because the decolorization rate was less than 40% in 96 h (51,52). Therefore, the addition of low molecular weight compounds, to act as mediators, was used to enhance the CBBG oxidation, as shown in table (2). Increasing in decolorization percentage was observed when different synthetic and natural mediators were used. Decolorization activity against CBBG is remarked in the presence of 0.5 mM HBT and three laccases within one hour, separately. The higher decolorization of 68.35, 49.11 and 27.64 % were observed in the presence of laccases from *T. versicolor*, *B. cinerea* and *T. hirsuta* with 0.5 mM HBT respectively. Concerning to the obtained results, the presence of mediators was boosted the decolorization percentages and reduced the time of reaction.

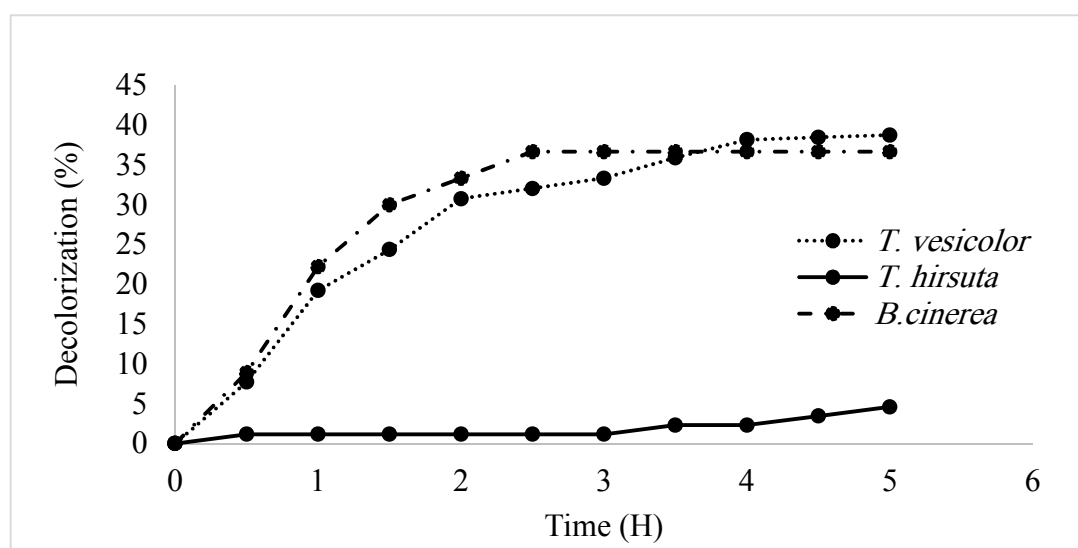


Figure (2): Decolorization of 20 µM of CBBG by 0.6 u/ml of laccases in aqueous system at pH 4.5 and incubation temperature of 22-25 °C.

Table (2): Decolorization of 20 μ M of CBBG by 0.6 u/ml of laccases and presence of different mediators in aqueous system at pH 4.5 and incubation temperature of 22-25 $^{\circ}$ C within 1 hr.

Type of mediator	Concentration (mM)	Decolorization (%) by laccase from		
		<i>T. versicolor</i>	<i>T. hirsuta</i>	<i>B. cinerea</i>
ABTS	0.1	15.83	11.24	10.85
<i>p</i> -Coumaric acid	0.1	33.33	23.83	12.84
Syringaldazine	0.1	40.50	19.09	29.15
TEMPO	0.1	51.08	15.89	22.63
HBT	0.5	68.35	27.64	49.11
Vanillin	0.5	32.39	10.82	18.74

Oxidation of α -Pinene in different systems: Two of nonconventional organic systems had been investigated to overcome the low solubility of α -pinene and to study the oxidation activity of three laccases. As shown in figure (3), oxidation of 250 μ M α -pinene by three laccases (10 u/ml) in AQ, TB and PT systems had been observed in the

presence of 40 mM HBT. Verbenol and verbenone was the main products of oxidation identified by GC. Higher production of verbenol (3.4 μ M) was observed in the presence of *B. cinerea* laccase in TB system, while 4.42 μ M of verbenone was obtained in the presence of *T. versicolor* laccase in PT system within 96h and conversion ratio of 1.36% and 1.76% respectively (Table 3).

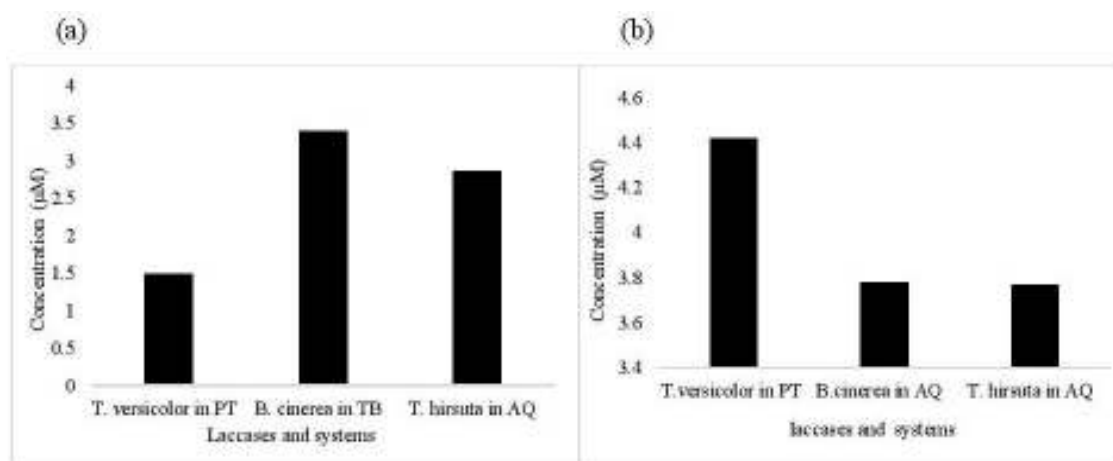


Figure (3): Biotransformation of 250 μ M α -Pinene by three laccases (10 u/ml) and 40 mM HBT in different reaction systems to a) Verbenol and b) Verbenone. PT = Pinene tert-butanol system, AQ = Aqueous system and TB = 10% tert-Butanol.

Table (3): Higher transformation ratio of 250 μ M α -Pinene by three laccases and 40 mM HBT in different reaction systems at room temperature, analyzed by GC

Laccase (10 u/ml)	Biotransformation to verbenol			Biotransformation to verbenone		
	(%)	Time (H)	System	(%)	Time (H)	System
<i>T. versicolor</i>	0.6	72	PT	1.76	96	PT
<i>T. hirsuta</i>	1.14	96	AQ	1.5	96	AQ
<i>B. cinerea</i>	1.36	96	TB	1.51	96	AQ

Many bacterial and fungal strains and plant cells had been used to transform α -pinene without addition of mediators (36, 53-56), although the efficiency in must these research was low due to the toxic effects and high volatile substrate. Therefore, we had applied enzymatic transformation of α -pinene instead of using organisms, in order to overcome these limitations. The results showed enzymatic catalysed oxidation of α -pinene in the presence of

synthetic redox mediator (HBT) in LMS model. Nonetheless, systems contents revealed variable effects on the transformation activity of three fungal laccases and the type of products. It seems to be that the watery system (AQ) appears more relevant to produce verbenone by *T. hirsuta* and *B. cinerea* laccases, while organic systems (PT and TB) revealed high enhancement of transformation of α -pinene toward verbenol by *T. versicolor* and *B.*

cinerea laccases respectively. On the other hand, the different sources of the laccases and the purity of each type of three enzymes present different activity in water and organic systems. A study conducted by (57) referred to the laccases as economically viable enzymes, easily accessible and differ properties according to their origin. They indicated also to the decreasing in toxicity, lethal effects and less polluting LMS as main drawbacks that can challenge the LMS applications. Therefore, we had carried out α -pinene oxidation at low mediator concentration, in order to overcome the problems that mentioned above. The high efficiency of LMS gives a broad of applications in industries, especially in biodegradation of recalcitrant compounds. Lignin as a recalcitrant degradable natural compound had submitted to the LMS systems in many treatments. The ability of laccase to attack and degrade lignin in conjunction with mediators is one of the potential breakthrough applications for lignin valorization (58,59).

CONCLUSION

The oxidation of triphenylmethane and monoterpenes models can be achieved by LMS system in the presence of synthetic and natural mediators. Fungal laccases showed different activity in different watery and organic systems according to their fungal origin. Reaction systems appeared to relevant with the type of products after α -pinene transformation when synthetic HBT mediator was applied.

REFERENCES

1. Gupta MN. and Roy I. (2004). Enzymes in organic media forms, functions and applications. *Eur. J. Biochem.* 271:2575–2583.
2. Mayer AM. and Staples RC. (2002). Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochem.* 60:551–565.
3. Bonomo RP.; Cennamo G.; Purrello R.; Santoro AM. and Zappala R. (2001). Comparison of three fungal laccases from *Rigidoporus lignosus* and *Pleurotus ostreatus*: correlation between conformation changes and catalytic activity. *J. Inorg. Biochem.* 83:67–75.
4. Xu F. (1996). Oxidation of phenols, anilines, and benzenethiols by fungal laccases: correlation between activity and redox potentials as well as halide inhibition. *Biochem.* 35:7608–7614.
5. Call HP. and Mucke I. (1997). History, overview and application of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozyme®-process). *J. Biotechnol.* 53:163–202.
6. Xu F. (1997). Effect of redox potential and hydroxide inhibition on the pH activity profile of fungal laccases. *J Biol Chem.* 272:924–928.
7. Kurniawati S. and Nicell JA. (2008). Characterization of *Trametes versicolor* laccase for the transformation of aqueous phenol. *Bioresour. Technol.* 99:7825–7834.
8. Demet S.; Florian W.; Lei W.; Rolf S. and Jurgen P. (2011). The laccase engineering database: a classification and analysis system for laccases and related multicopper oxidases. *Database.* Pp.:1–7.
9. Rodríguez Couto S. and Toca Herrera JL. (2006). Industrial and biotechnological applications of Laccases: a review. *Biotechnol. Adv.* 24(5):500–513.
10. Couto S. and Herrera J. (2007). Industrial and biotechnological applications of laccases: a review. *Biotechnol. Adv.* 24:500–513.
11. Medhavi V. and Lele S. (2009). Laccase: properties and applications. *Bioresour.* 4:1694–1717.
12. Nozaki K.; Beh HC.; Mizuno M.; Isobe T.; Shiroishi M. et. al. (2008). Screening and investigation of dye decolorization activities of Basidiomycetes. *J. Biosci. and Bioeng.* 105: 69–72.
13. Lopez C.; Mielgo I.; Moreira MT.; Feijoo G. and Lema JM. (2002). Enzymatic membrane reactors for biodegradation of recalcitrant compounds. *J. Biotechnol.* 99:249–257.
14. Gregory P. (1993). Dyes and dyes intermediates. In: Kroschwitz JI. Ed. *Encyclopedia of Chemical Technology.* John Wiley & Sons, New York. Pp.: 544–545.
15. Nilsson R.; Nordlinder R. and Wass U. (1993). Asthma, rhinitis and dermatitis in workers exposed to reactive dyes. *Br. J. Ind. Med.* 50:65–70.
16. Kalyani DC.; Patil PS.; Jadhav JP. and Govindwar SP. (2008). Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas* sp. SUK1. *Bioresour. Technol.* 99: 4635–4641.
17. Fu YZ. and Viraraghavan T. (2001). Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. *Bioresour. Technol.* 79:251–262.
18. Kandelbauer A.; Erlacher A.; Cavaco-Paulo A. and Guebitz G. (2004). Laccase-catalysed decolorized of the synthetic azo dye Diamond Black PV 200 and of some structurally related derivatives. *Biocatal. Biotransform.* 22:331–339.
19. Robinson T.; McMullan G.; Marchant R. et al. (2001). Remediation of dyes in textile effluents, a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresour. Technol.* 77: 247–255.
20. Lin J P.; Lian W. and Xia LM. (2003). Production of laccase by *Coriolus versicolor* and its application in decolorization of dyestuffs: II. Decolorization of dyes by laccase containing fermentation broth with or without self-immobilized mycelia. *J. Environ. Sci.* 15(1): 5–8.
21. Duran N. and Esposito E. (2000). Potential applications of oxidative enzymes and phenol oxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: A review. *Appl. Catal. B: Environ.* 8: 83–99.
22. Husain Q. and Jan U. (2000). Detoxification of phenols and aromatic amines from polluted wastewater by using phenol oxidases. *J. Sci. Ind. Res.* 59: 286–293.
23. Bhunia A.; Durani S. and Wangikar P P. (2001). Horseradish peroxidase catalyzed

- degradation of industrially important dyes. *Biotechnol. Bioeng.* 72:562–567.
24. Ludwig R.; Ozga M.; Zamocky M.; Peterbauer C.; Kulbe KD. and Haltrich D. (2004). Continuous enzymatic regeneration of electron acceptors used by flavoenzymes : cellobiose dehydrogenase – catalyzed production of lactobionic acid as an example. *Biocatal. Biotransform.* 22:97-104.
 25. Bourbonnias, R. and Paice M G. (1990). Oxidation of nonphenolic substrates – an expanded role for laccase in lignin biodegradation. *FEBS Lett.* 267: 99-102.
 26. Moldes D. and Sanroman MA. (2006). Amelioration of the ability to decolorize dyes by laccase: relationship between redox mediators and laccase isoenzymes in *Trametes versicolor*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22: 1197–1204.
 27. Niku-Paavola M. L. and Viikari L. (2000). Enzymatic oxidation of alkenes. *J. Molec. Catal. B: Enzym.* 10: 435–444.
 28. Michizoe J.; Ichinose H.; Kamiya N.; Maruyama T. and Goto M. (2005). Biodegradation of phenolic environmental pollutants by surfactant-laccase complex in organic media. *J. Biosci. Bioeng.* 99:642-647.
 29. Morozova OV.; Shumakovich GP.; Shleev SV. and Yaropolov YI. (2007). Laccase mediator systems and their applications: A review. *Appl. Biochem. Microbiol.* 43(5):523–535.
 30. Hu MR.; Chao YP.; Zhang GQ.; Xue ZQ. and Qian S. (2008). Laccase-mediator system in the decolorisation of different types of recalcitrant dyes. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 26:101-107.
 31. Johannes C. and Majcherczyk A. (2000). Natural mediators in the oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by laccase mediator systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(2): 524-528.
 32. Burton SG. (2001). Development of bioreactors for application of biocatalysts in biotransformations and bioremediation. *Pure Appl. Chem.* 73(1):77–83.
 33. Farooq A.; Tahara S.; Iqbal Choudhary M.; Ahmed AZ.; Can Baser KH. and Demirci F. (2002). Biotransformation of (II)- α -Pinene by *Botrytis cinerea*. *Z. Natur. Forsch.* 57c:303-306.
 34. Limberger RP.; Aleixo AM.; Fett-Neto AG. and Henriques AT. (2007). Bioconversion of (+)- and (-)- α -pinene to (+)- and (-)-verbenone by plant cell cultures of *Psychotria brachyceras* and *Rauvolfia sellowii*. *E. J. Biotechnol.* 10(4): 123-129.
 35. Agrawal R.; Deepika N. and Joseph R. (1999). Strain improvement of *aspergillus* sp. and *penicillium* sp. by induced mutation for biotransformation of α -pinene to verbenol. *Biotechnol. Bioeng.* 63(2):249-252.
 36. Agrawal R. and Joseph R. (2000). Bioconversion of α pinene to verbenone by resting cells of *aspergillus niger*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53: 335-337.
 37. Taha AA.; Shwaish I.; Mohammed AH. and Stamatis H. (2013). Production of a laccase from *Botrytis cinerea* (DSMZ 877) and application for textile phenolic dye decolorization. *Energy Procedia.* 36:862 – 871.
 38. Taha AA. (2009). Purification and characterization of *Trametes hirsuta* DSMZ No.5072 laccase. *J. Biotechnol. Res. Center.* 76(1): 46-59.
 39. Aymard C. and Belarbi A. (2000). Kinetics of thermal deactivation of enzymes: a simple three parameters phenomenological model can describe the decay of enzyme activity, irrespectively of the mechanism. *Enzyme Microb. Technol.* 27: 612–618.
 40. Xin F. and Geng A. (2010). Utilization of horticultural waste for laccase production by *Trametes versicolor* under solid-state fermentation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 163(2): 235-266.
 41. Vasdev K. and Kuhad RC. (1994). Induction of laccase production in *Cyathus bulleri* under shaking and static culture conditions. *Folia Microbiol.* 39:326–330.
 42. Eggert C.; Temp U. and Eriksson KEL. (1996). The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: purification and characterization of the laccase. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:1151–1158.
 43. Chefetz B.; Chen Y. and Hadar Y. (1998). Purification and characterization of laccase from *Chaetomium thermophilum* and its role in humification. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3175–3179.
 44. Sadhasivam S.; Savitha S.; Swaminathan K. and Lin F. (2008). Production, purification and characterization of mid-redox potential laccase from a newly isolated *Trichoderma harzianum* WL1. *Proc. Biochem.* 43:736–742.
 45. Peter MG. and Wollenberger U. (1997). Phenol-oxidizing enzymes: mechanisms and applications in biosensors. *Front. Biosensor.* 1(80): 63–82.
 46. Farnet A.; Steven C.; Mireille C.; Gerard G. and Elisee F. (2004). Purification of a laccase from *Marasmius quercophilus* induced with ferulic acid: reactivity towards natural and xenobiotic aromatic compounds. *Enzyme Microb. Technol.* 34 : 549–554.
 47. Xu F. (1997). Effect of redox potential and hydroxide inhibition on the pH activity profile of fungal laccases. *J. Biol. Chem.* 272:924–928.
 48. Holker U.; Dohse J. and Hofer M. (2002). Extracellular laccases in ascomycetes *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum*. *Folia Microbiol.* 47:423–427.
 49. Robles A.; Lucas R.; Martinez-Canamero M.; Omar NB.; Perez R. and Galvez A. (2002). Characterisation of laccase activity produced by the hyphomycete *Chalara* (syn. *Thielaviopsis*) *paradoxa* CH 32. *Enzyme Microb. Technol.* 31:516–522.
 50. Koroljova-Skorobogat'ko OV.; Stepanova EV.; Gavrilova VP.; Morozova OV.; Lubimova NV. and Dzchafarova AN. (1998). Purification and characterization of the constitutive form of laccase from the basidiomycete *Coriolus hirsutus* and the effect of inducers on laccase synthesis. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 28:47–54.
 51. Eichlerova I.; Homolka L. and Nerud F. (2006). Synthetic dye decolorization capacity of white rot fungus *Dichomitus squalens*. *Bioresour. Technol.* 97:2153–2159.

52. Tony H.; Abdull Rahim MY.; Azmi AS.; Topik H. and Risky AK. (2011). Decolorization of Azo, Triphenylmethane and Anthraquinone Dyes by Laccase of a Newly Isolated *Armillaria* sp. F022 . Water Air Soil Pollut. 922-926.
53. Griffiths ET.; Bociek SM.; Harries PC.; Jeffcoat R.; Sissons DJ. and Trudgill PW. (1987). Bacterial metabolism of α -pinene: pathway from α -pinene oxide to acyclic metabolites in *nocardia* sp. strain P18.3. J. Bacteriol. 4972-4979.
54. Yoo SK.; Day DF. and Cadwallader KR. (2001). Bioconversion of α - and β -pinene by *Pseudomonas* sp. strain PIN . Proc. Biochem. 36: 925–932.
55. Chatterjes T.; De BK. and Bhattacharyya DK. (1999). Microbial oxidation of α - pinene to (+) α -terpinol by *Candida tropicalis* . Ind. J. Chem. 38B: 515-517.
56. Limberger RP.; Aleixo AM.; Fett-Neto AG. and Henriques AT. (2007). Bioconversion of (+)- and (-)- α -pinene to (+)- and (-)-verbenone by plant cell cultures of *Psychotria brachyceras* and *Rauvolfia sellowii*. Biotechnol. 16(3): 272- 279.
57. Huma YM. and Sikander A. (2015). Innovative roles of laccase mediator system in nano biotechnology, bio bleaching and bioremediation. Int. J. Res. Pharmacy Biosci. 2(8): 23-34.
58. Christopher LP.; Yao B. and Yun J. (2014). Lignin biodegradation with laccase-mediator systems . Front. Energy Res. Bioener. Biofuels. 2(12): 1-13.
59. Moilanen U.; Kellock M.; Varnai A.; Andberg M. and Viikari L. (2014). Mechanisms of laccase-mediator treatments improving the enzymatic hydrolysis of pre-treated spruce. Biotechnol. Biofuels. 7:177.

Genetic algorithm filtering for speaker identification system

Ziad M. Abood, Tariq A. Hassan and Eman K. Ibrahim

College of Education / University of Al-Mustansiriyah / Baghdad / Republic of Iraq

E-mail: dr.ziadmabood@uomustansiriyah.edu.iq

ABSTRACT

In the present study, a modified MFCC-based method was used for speaker identification application. The main objective of this study was to examine the effect of using a dynamic filter bank system on the system performance in terms of speaker identification. Dynamic systems, simply, are able to modify their values in accordance with the speech database used. In our proposed system, the values of filter components (center frequencies and bandwidths) would change at each iteration until the best set of filter components is reached. Genetic algorithm will be used to modify the filter components and each new population of the GA will represent a new set of the filter bank channels. Results showed that the system performance will improve as a new set of filter components produced by the genetic algorithm.

Keywords: MFCC, GMM, Speaker Identification, Genetic Algorithm

الملخص باللغة العربية

تم في هذه الدراسة استخدام تقنية معدلة لنظام (MFCC) في تطبيق تحديد هوية المتكلم. حيث سعت الدراسة إلى اختبار مدى تأثير استخدام المرشح الديناميكي (المتغير) في أداء النظام من حيث تحديد المتكلم. تتميز الأنظمة الديناميكية ببساطة بقابليتها على تعديل قيمها وبحسب قاعدة بيانات الكلام المستخدمة. وفي النظام المقترح، فإن قيم مكونات المرشح (مركز الترددات وعرض النطاق) تتغير في كل تكرار (بناءً على قيم الخوارزمية الجينية)، حتى يتم التوصل إلى أفضل مجموعة من مكونات المرشح. تم استخدام الخوارزمية الجينية لتعديل مكونات الفلتر وكل المجتمع الجديد للـ GA والذي يمثل مجموعة جديدة من قنوات مرشح. بينت النتائج أن أداء النظام قد تحسن نظراً لإنتاج مجموعة جديدة من مكونات المرشح بواسطة الخوارزمية الجينية.

INTRODUCTION

Because of the growth of the machine-human communication environment, the need for recognizing a person using only a sample of its voice is increasing. While the area of speech recognition is concerned with extracting the underlying linguistic message in a spoken utterance, speaker recognition is concerned with extracting the identity of the person speaking the utterance. Applications of speaker recognition are ranging from the computer access control through telephone voice authentication for banking access to forensic examinations. Regardless of the use or applications that we need to apply the system on, the general area of speaker recognition is divided into two fundamental tasks: speaker identification and speaker verification (1). Speaker identification is the task of assigning an unknown voice to one of the speakers known by the system, it is assumed that the voice must come from a fixed set of speakers. Speaker verification, on the other hand, refers to the case of open-set identification: it is generally assumed that the unknown voice may come from an impostor. In general, the speaker recognition system is essentially composed of a speech parameterization module and a statistical modelling module. These are responsible for the production of a machine readable parameterization of the speech samples and the computation of a statistical model from the parameters (2). During the past years the most trusted model applied for speech parameterization (the front-end of the recognition system) usually adopted is the source-filter model. This model has led to the extraction of parameters such as linear predictive coding (LPC), Mel-frequency Cepstral coefficients (MFCCs) (3), perceptual linear prediction (PLP) coefficients (4). These parameters, particularly in the cleaned area, have proved highly successful in robust speech recognition. However, the main challenging is when such parameters are used in noisy environments that have many unwanted additive signals (5). However, some presented work suggests to use different types of filtering for different environments (6,7). Such models, however, cannot work in all environments since the system cannot detect a type of noise that embedded with the signal and therefore failed to select a proper clearing filter. Therefore, a more flexible system in terms of changing the filter channel values (filter channel center and the bandwidth) will be more accepted in both for speech signal De-noising and select the most suitable parameters feature for speaker identification. This study will explore the genetic algorithm programming for filter channel components generating. The GA system is a good optimizer for time-varying speech features and unwanted additive signal that inherent in the speech signal especially in the noisy environment. The basic idea, however, is that in each turn on the program, a new set of system filters will be generated to match the speech signal features. So, a new speech parameter will be generated and these will continue until we get the best set of feature vector presented in the speech

signal. After speech signal parameter collecting, a classification step is needed to classify each group of speech parameters to its related speakers. Gaussian mixture model (GMM) will be adopted for in such step. In the context of text-independent speaker recognition, where there is no prior knowledge of what the speaker will say GMM will be the best choice (2). More specifically, the distribution of feature vectors extracted from a person's speech is modelled by a Gaussian mixture density. The model is sufficiently powerful to discriminate among every individual feature.

The main object of this research is to investigate to what extent is the genetic algorithm can help in identifying the speaker based on his/her speech. The filter bank that is made of multiple filter channels could play a major role in estimating speaker parameters of the speech signal. These channels are majorly characterized by their center frequencies and bandwidths. The good selection of these filter components, the best speaker parameters that we get. Genetic algorithm will be our main tool for such activity of estimating the best filter bank component values.

The system performance (identification rate) will be tested at different filter component values (center frequencies and bandwidths) that generated by different genetic algorithm iterations.

MATERIALS AND METHODS

Sixty native English speakers (46 male and 14 female) saying the digits one to nine, zero, nought and oh 25 times each are the speech corpora in our proposed system. The database specifically were designed and recorded for text depend on speaker recognition research. They were recorded at different times to capture the variation in speaker's voices over time. The speech was recorded in a quiet environment using a high quality microphone, and a sampling rate of 16 kHz with 16-bit resolution. Data from the first two sessions (i.e., 10 repetitions) were used for training and data from the remaining three sessions (15 repetitions) were used for testing.

The proposed system was built-up of many major stages that constructed the main materials of the speaker identification system. Majorly, these stages were relied on three main methods for features extracting and matching. These are, MFCC parameters (for estimating the identity of the speaker), genetic algorithm (to estimate the best filter bank components values that match to some extent the listener auditory system), and the GMM (that used for parameter matching of already stored parameters and new ones).

Generally, the main system steps can be as follows:

1. Signal features acquisition:

In speech processing application, which could include, speech analysis, speaker recognition, and speech coding, it is advantageous to extract features of the excitation and the transfer filter of the vocal tract signal presented in the speech. These features can contain speaker-specific and phoneme-specific

properties that can be exploited in a targeted way to improve performance of several speech processing applications. For example, it has been shown in [8, 9] that excitation features can be used to improve the speaker recognition task. As well as, the vocal tract parameters have been proven to hold major features about the speaker (10,11).

Many methods have been adopted to estimate these features for the speech signal. One very famous technique that is usually adopted in both speech and speaker recognition is the MFCC parameters. The power of the Mfcc parameters stems from their ability to estimate both excitation information as well as the vocal tract tendency during speech (12).

$$\hat{x}_i(t) = IDFT (\log | DFT (x_i(t)) |) = u(t) + h(t) \quad (1)$$

where $\hat{x}_i(t)$ is the cepstrum of $x_i(n)$; $u(t)$ correspond to the excitation signal in time domain, and $h(t)$ is the impulse response of the filter vocal tract system.

After the lower-energy frame are removed and the signal is ready to be processed. The power spectrum is then estimated and pass the whole frame spectrum thought Mel-center frequency distributed Gabor filter bank. Filtering will divide the signal into single band signals each with its own major frequency that represent the filter channel center frequency. After passing all the signal frame thought the filter bank. The discrete cosine transform DCT is then applied to the output of all the filtered frames. This will be used to estimate the feature vector of the speech signal.

Using this technique, the speaker parameters can be estimated by the taking IFFT of the logarithmic power spectrum component of the signal. In this approach, DCT technique is used to do the IFFT job. Estimates of the feature vector make a filter step in the MFCC method. Generally, a frame size of 20ms and frame shift of 10 ms will reduced to only 30-40 valued represent the power spectrum of the signal. Then these values will be more reduced to about 15-20 valued resent the final representation feature vector for each frame. Finally, these values will be collected at one model represent the feature vector of the speech signal in hand.

2.Genetic algorithm filter parameters estimation:

The main object of the genetic algorithm is to optimize the problem solution and reach the best results within a predefined set of constraints. In our system, however, the major goal of GA is to generate a new set of filter bank components that match a speech signal in hand. Also, to make the system more flexible to deal with the signal changing. The main step of the GA could be as follows;

- Step1. Initial population: Each chromosome contains 40 individual are generated randomly which are represented the center frequency of each filter bank.

Estimation of these parameters relies on the signal power spectrum of the speech waveform with an estimate of the short term segment of the speech. When the speech signal is pre-proceed, using all-pole filter to lift the higher frequencies, the Mel-spectrum is estimated. Hamming window along with the power calculation of each frame are also used to allow only frame with accepted energy to contribute in the processing (0.1 in our system). Basically, the process of Cepstral analysis of speech frames $x(t)$ can be formulated as:

- Step2. Evaluation: We compute the objective function for each chromosome produced in initialization step.

- Step3. Selection: We will choose the chromosomes which have a high probability for the next generation. We must first compute the fitness of each chromosome, we need to know the total of fitness, and compute the probability for every chromosome. We use a roulette wheel in the selection process in this study.

- Step4. Crossover: Here, we use one-cut point and then exchanging sub-chromosome. Pseudo code of this process is:

If ($R[i] \leq pc$) then Select Chromosome $[i]$ as a parent; where i is the Chromosome no.

- Step5. Mutation: It is important, because it adds some properties that may not exist in the parents.

The proposed model

In order to generate a feature vector based on the MFCC coefficients, the proposed system can be summarized as follows:

1. The speech signal $x(t)$ in divided into fixed-size frames of length (25ms) that represent one phoneme of the speech signal.
2. Each each frame is pre-emphasized to enhance high frequencies. Framing is achieved using the following equation:

$$u(t) = x(t - m)w(m)$$

Where $w(m)$ is a finite-length windowing function; and pre-emphasis is done using:

$$u_p(t) = u(t) - 0.98 u(t - 1) \quad (2)$$

Note that here we are implicitly taking t to be a discrete-time variable.

3. When the frame is pre-emphasized, the spectrum could distorted due to the discontinuities at the

endpoints. However, this distortion can be reduced by using a smoothing function to improve the short-time spectral analysis of the frames. Hamming, Hanning and Blackman windows are three window functions commonly used in speech analysis to reduce the abrupt and undesirable frequencies occurring in the framed speech.

In our work, we adopt the Hamming window defined as:

$$w(m) = 0.54 - 0.46 \cos \left[\frac{2\pi m}{M-1} \right]$$

Where M represents the width of the frame and m is an integer, with values $0 \leq m \leq M-1$.

4. The energy value of each frame is calculated. If the energy value is equal or more than a threshold (0.01 in our work) then the frame is retained. Otherwise it is regarded as silence or noise and discarded. The retained frames are the only ones that will contribute in the feature extraction step.

5. The obtained frames pass through a set of Gabor bandpass filter (30 channels in our work) with center frequencies that are either uniformly spaced or Mel-spaced on the frequency axis, with both constant bandwidth of 250 Hz and Mel bandwidth respectively. The output of the filter set channels will then reduce to K , which represent to cepstrum coefficient parameters.

6. The feature vectors of each speaker can be represented by an $K \times F$ matrix, where N corresponds to the number of cepstrum coefficients used in the filter bank and F corresponds to the number of frames that have energy equal to or more than the energy threshold of 0.01. For the decision making step, GMM classification is adopted with the number of component densities in the mixture model chosen depending on the task (15 Gaussian components in our model).

7. When the feature vectors for all speakers in the database are generated, we test the effect of such features using GMM classifier, if the result is fine, this means that the system extract the best features in the database; otherwise, the system will regenerate a new set of filter channels using genetic algorithm techniques and do the re-test for the new set of the feature vectors. The system will repeat this work until the best result will obtained.

Figure (1) shows the main steps of our proposed system. As noted in the figure, the feature vector of the speaker will be regenerated many times until the best set of the features is reached. This will done by adopting the genetic algorithm strategy. Genetic algorithm, however, will re-produce the filter bank parameters (center frequencies and bandwidths) until it reach to the best filter set of filter parameters. This will make our proposed system more flexible to the changing in the speech signals and note fixed to the one set of filter banks.

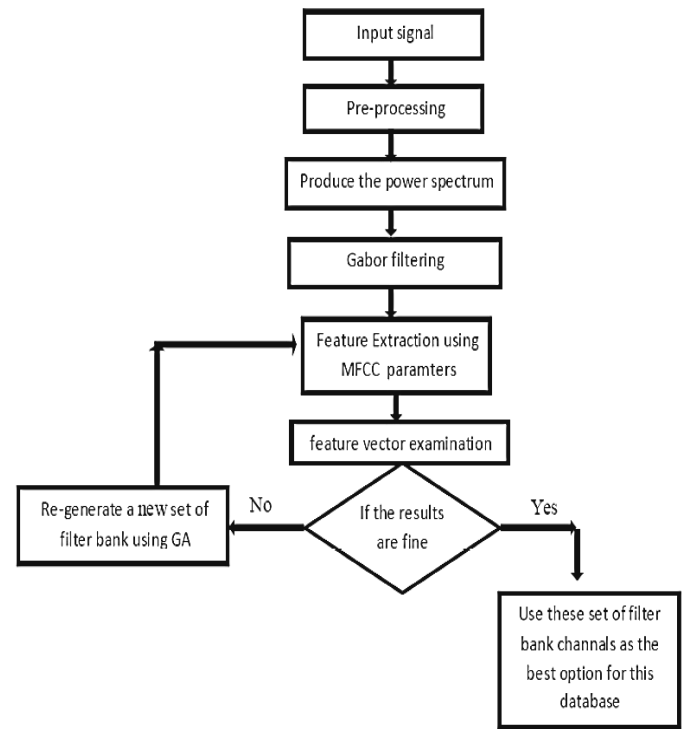


Figure (1): Our proposed method system

After getting the best sets of the feature vectors from a particular speaker's utterance are used to generate a Gaussian mixture model(GMM). The Gaussian mixture density is a weighted sum of K component densities, as given as

$$p(\vec{x} | \Gamma) = \sum_{k=1}^K c_k \cdot \gamma_k(\vec{x}) \quad (3)$$

Where c_k are the mixture weights and $\gamma_k(\vec{x})$ an N-variate Gaussian function. The dimensionality of the Gaussian function coincides with the dimensionality of the feature vector \vec{x} , while the K models and relative weight, are estimated from the training data using a special case of the expectation-maximization (EM) algorithm (13). Formally, a speaker is described by a mixture of K Gaussian model $\Gamma = \{\gamma_1, \gamma_1, \dots, \gamma_K\}$ and a set of S speakers $\{s_1, s_2, \dots, s_S\}$ is represented by S Gaussian mixture models $\{\Gamma_1, \Gamma_2, \dots, \Gamma_S\}$. During testing, feature vectors are assumed independent, so the probability that a speaker model would generate the string of observations from an utterance is simply the product of the probabilities that the speaker model would generate each of the observations. A given observation sequence $X = [x_1, \dots, x_M]$, where M is the number of frames used to represent any utterance, is tested by finding the speaker model which has maximum a posteriori probability. By applying

Bayes rule and using the logarithm (13), the probability can be computed as

$$\hat{S} = \operatorname{argmax} \sum_{m=1}^M \log p(\bar{x} | \Gamma). \quad (4)$$

RESULTS AND DISCUSSION

To examine the performance of our proposed system, we compare our method, genetic algorithm filtering based on MFCC parameters of the speech signal to the normal Mfcc based system. Results shown in figures (2 and 3) represent the identification accuracy of four words of clean-speech database at different stages of genetic algorithm iterations. The accuracy results of the traditional Mfcc parameters are (97.8%, 94.3%, 95.9%, 99.1 % identification) of the words (“Zero”, “One”, “two”, “Three”) respectively.

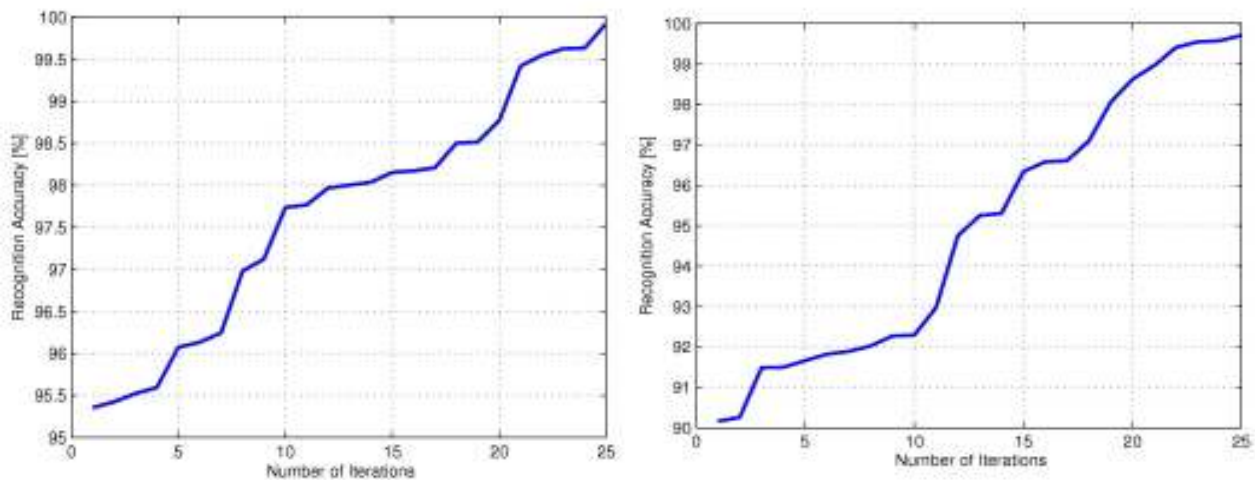


Figure (2): The accuracy results of Text-dependent speaker identification of clean Millar database with mel-scaled centre frequency and bandwidth and frequency range of 0–8 kHz of four words of clean-sound speech; fig:subfig0 word “Zero”, and word “One”

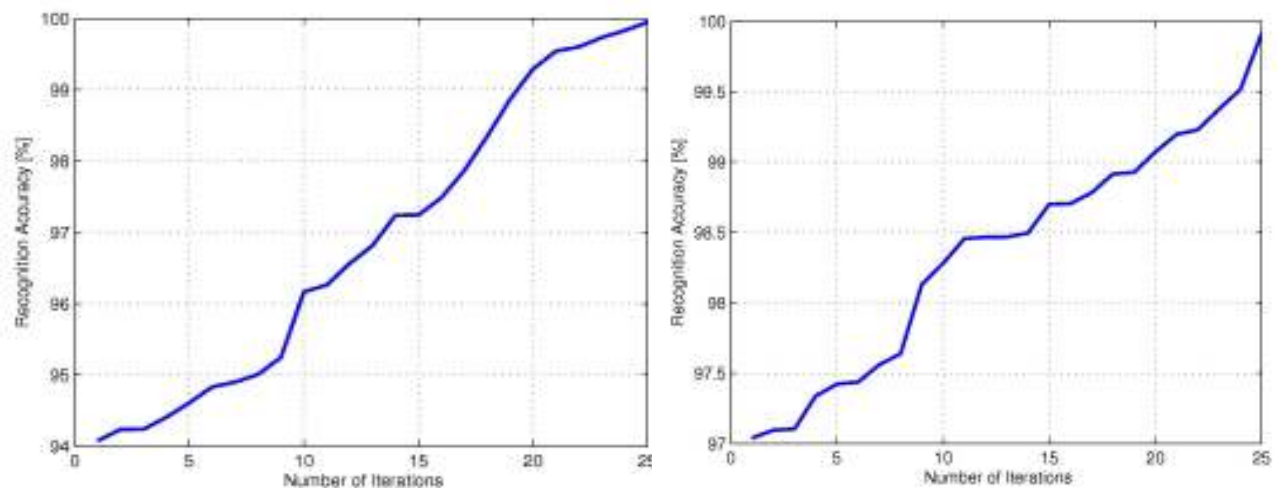


Figure (3): The accuracy results of word “two” and the word “Three”

Evaluation was carried out with the filter bank covering the range 0-8 kHz and with the filters that Mel-spaced frequencies with bandwidths as:

$$BW(n) = 25 + 75 \left[1 + 1.4 \left(f_c(n)/1000 \right)^2 \right]^{0.69} \quad (5)$$

It is clear that the system performance would improve and become more accurate as a new set of filter bank parameters will produce. The reason is that for many systems the filter bank components are staying fixed regardless of the speech signal types of length. This will lead to the critical problem that the system will be unable to envisage the changing in the speech signal of different database. Genetic algorithm played major role in optimizing the filters components values to match the speech signal style.

CONCLUSION

Mfcc parameters are one of the best representation of the speech and speaker parameters alike. However, the problem that is usually appears is what kind of filters, the type and the values of the filter bandwidth, and the center frequencies values that could be used for best set of the filter bank. Many proposed systems adopted many kinds of filters with different values of filter components. The problem that those systems will unable to change the filter components when set at the beginning of the processing. Our system overcomes this problem by adopting a new strategy that allows the system to modify the filters components values compatible with the speech signal in hand. This will make the system to be more flexible to speech signal changing. Results show that the dynamic filtering system will produce much more accurate performance compared with the static filtering systems.

REFERENCES

1. Campbell PJ. (1997). Speaker recognition: a tutorial. *Proceedings of the IEEE*. 85(9):1437–1462.
2. Bimbot F.; Bonastre JF.; Fredouille C.; Gravier G.; Magrin-Chagnolleau I. *et al.* (2004). A tutorial on text-independent speaker verification. *EURASIP J. Appl. Signal Proc.* 430–451.
3. Chen K.; Wang L. and Chi H. (1997). Methods of combining multiple classifiers with different features and their applications to text-independent speaker identification. *Int. J. Pattern Recog. Artif. Intellig.* 11(3): 417–445.
4. Hermansky H.; Morgan N.; Bayya A. and Kohn P. (1992). Rasta-plp speech analysis technique. in *IEEE International Conference on Acoustics, Speech, and Signal Processing, ICASSP-92*, Vol (1): 121 –124.
5. Li J.; Deng L.; Gong Y. and Haeb-Umbach R. (2014). An overview of noise-robust automatic speech recognition. *IEEE/ ACM Transactions on Audio, Speech, and Language Processing*. 22 (4): 745–777.
6. Chutatape O.; Liu Z. and Krishnan SM. (1998). Retinal blood vessel detection and tracking by matched Gaussian and Kalman filters. *Proceedings of the 20th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. 6: 3144-3149.
7. Aronowitz H. (2016). Speaker recognition using matched filters. *IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP)*. pp.: 5555–5559.
8. Hanilci C. and Ertas F. (2011). Impact of voice excitation features on speaker verification. *The 7th International Conference on Electrical and Electronics Engineering (ELECO)*. pp.:II-157–II-160.
9. Wang J. and Johnson MT. (2014). Physiologically-motivated feature extraction for speaker identification. *IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP)*. Pp.: 1690–1694.
10. Kawakami Y.; Wang L.; Kai A. and Nakagawa S. (2014). Speaker identification by combining various vocal tract and vocal source features. *Springer International Publishing, Cham*. Pp.: 382–389.
11. Fernandez M.; Miguel L.; Ivarez A. and Gmez-Vilda P. (2013). Improving speaker recognition by biometric voice deconstruction. 126: 29-34.
12. Veena S.; Nilashree SW. and Milind SS. (2016). Study of vocal tract shape estimation techniques for children. *Proced. Comp. Sci.* 79: 270–277.
13. Reynolds DA. and Rose RC. (1995). Robust text-independent speaker identification using gaussian mixture speaker models. *Speech and Audio Processing, IEEE Transactions on*. 3(1): 72–83.

Estimate habitat salinity of Chinese white dolphin using MODIS Data

Basmah M. Al- Abbadi

National Center for Agricultural Research and Extension / Hashemite Kingdom of Jordan

E-mail: basmaalabadi@yahoo.com

ABSTRACT

A small group of Chinese white dolphin was discovered in eastern Taiwan Strait. Distribution and behaviors of this small group are threatened by changing in marine salt concentration. Therefore, this study was aimed to estimate the marine salt concentration in east of Taiwan Strait using Moderate-Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) data by applying genetic algorithm combining operation tree method and linear regression method. Genetic algorithm combining operation tree is regarded as data mining method that consists of genetic algorithm and operation tree, is to discover relationship in non-linear system. linear regression is traditional regression method often used to express dependent variable change. In this case study, genetic algorithm combining operation tree and linear regression described above combining with MODIS seven bands were employed, then all the results are verified with actual marine salt data of Taiwan Strait. The results indicated that genetic algorithm combining operation tree method performs more favorably than do the linear regression method, where it exhibited higher correlation coefficients and fewer errors.

Keywords: Chinese white dolphin, marine salt, moderate-resolution imaging spectroradiometer

الملخص باللغة العربية

تم اكتشاف مجموعة صغيرة من الدلفين الأبيض الصيني شرقي مضيق تايوان. وقد أصبح توزيع وسلوك هذه المجموعة مهددا بسبب التغير في تركيز الملح البحري. لذا، هدفت هذه الدراسة إلى تقدير تركيز الملح البحري في شرق مضيق تايوان باستخدام بيانات مقياس الطيف التصويري المتوسط التحليل (MODIS) من خلال تطبيق الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية والانحدار الخطي. وتعد الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية إحدى طرق التنقيب في البيانات. تتكون من الخوارزمية الجينية والشجرة العملية، وتستخدم لاكتشاف العلاقة في الأنظمة الغير خطية. ويستخدم الانحدار الخطي من الأساليب التقليدية غالبا للتعبير عن سلوك المتغير التابع. وقد تم استخدام كل من الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية والانحدار الخطي مع بيانات مودس للنطاقات السبعة، ثم تم التحقق من النتائج مع تراكيز الملوحة الحقيقية لمضيق تايوان. وقد أظهرت النتائج تفوق أسلوب الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية على أسلوب الانحدار الخطي، من خلال أعلى معاملات الارتباط بأقل الأخطاء.

INTRODUCTION

Chinese white dolphin (humpback dolphin) is a fish-eating mammal which control populations of fishes and keep the ecosystem balance. It has been discovered in the eastern Taiwan Strait (1). This small population is phenotypically distinct from those found in the Jiulong River and Pearl River estuaries (2), appears to be a year-round resident (3), and is considered a globally vulnerable species. According to Wang *et al.* (4), the deeper portions of the Taiwan Strait prevent the population spread and four serious threats affect their habitat in eastern Taiwan Strait such as decreasing in flow of freshwater, industrial and municipal discharge, and loss of habitat.

Distribution and behavior of dolphin are affected by marine water quality parameter such as salt concentration. If marine water is much salty, water in the body of the dolphin will tend to come out through the skin in order to decrease marine salt concentration. If the marine water is low salty, water will tend to come into the dolphin body through the skin and make more salt concentration in marine water. This causes bloat of dolphin's body. In addition, marine salt concentration affects the floating process of dolphins. More salt concentration in marine water, more water dense and dolphin more tends to float. Dense water also keeps the plant on the marine surface to provide nutrients for fish and other organism on which the dolphin feeds. While low salt concentration in marine water, low water dense, will make dolphin more likely to sink. Therefore, the habitat of these animals needs to protect from changes of marine salt concentration. According to wildlife conservation law of Taiwan, Chinese white dolphins are already included amongst the species requiring the highest level of protection (5).

Marine salt that defined as total salts dissolved in 1000 g of water (6), is controlled by evaporation and precipitation process. It is considered one of the major water quality problems in marine water resulted from increased evaporation (resulted from increased temperature) and changes in ocean circulation or induced by climate change (7). From an oceanographic viewpoint, marine salt with temperature determine the marine water density; determines the depth of sink water; one of the main determinants of the environment in which dolphin, fish, squid and other marine life live; and partially controls the stability of the marine upper mixed layer (8). Estimation of marine salt based on field data is difficult because sampling by ships is costly and limited. Therefore, researchers have developed different methods for measuring marine salt such as using remote sensing data. Remote sensing data has been used by numerous researchers for its advantages. For example, large spatial coverage and real-time observations (9), estimation of marine salt in difficult-to-reach areas (10), estimation of historical water parameters, even when there were no in situ data (11), data can be obtained at a low cost or free such as MODIS which has free archive. However, remote sensing has some limitations: only about two hours of scanning process per day is permitted; cloud cover prevents scanning process; depth of scanning process is only for upper 2m (12).

Based on remote sensing data, marine salt can be expressed as a function of dissolved organic matter or of remote sensing reflectance. Palacios *et al.* (13) used MODIS data and found that light absorption by chromophoric dissolved organic matter is inversely proportional to marine salt and linear. Chong *et al.* (10) used MODIS data to monitor, and map the marine salt of estuaries. They also used a similar relationship between marine salt and CDOM and concluded that remote sensing data can provide marine salt variabilities in different estuaries around the world. Urquhart *et al.* (14) used MODIS data and presented eight different statistical models developed to predict marine salt of Chesapeake Bay. They concluded that the eight statistical methods were found that marine salt can be accurately predicted by MODIS products with an accuracy that is more than sufficient for many physical and ecological applications. Qing *et al.* (9) used MODIS and MERIS data to retrieve marine salt in Bohai sea from remote sensing reflectance. They found marine salt in Laizhou Bay, Bohai Bay and Liaodong Bay was fresher than that in Qinhuangdao, the central Bohai Sea and Bohai Strait. In addition, temporal trends in marine salt varied between sites during 2004-2009. Marine salt in most parts of the Bohai Sea was increasing.

This study attempted to demonstrate the potential of MODIS data which use shorter visible band wavelengths and has the potential for wide area coverage and incurs relatively low costs for predicting marine salt, and is intended to present an efficient and an automatic method to construct the relationship between Taiwan Strait in situ data and MODIS data.

Unfortunately, there are many hidden and useful relationships between the input and output data, which may not be recognized by the analyst. Thus, many forms of techniques related to data mining have been developed such as the artificial neural networks (ANNs) and the genetic algorithms. Genetic algorithm is adopted in this paper. Genetic algorithm employs a unique search algorithm that can transfer from a local optimum to close to the global optimum. As a function, Genetic algorithm can generate an optimal solution by considering the optimization problem as an evolution problem (15).

Genetic algorithm

Genetic Algorithms (GAs) are a class of stochastic algorithms that has been successfully used as optimization techniques based on the principles of natural selection and genetics for solving a wide range of problems. A principal difference between optimization using a GA versus more traditional methods is that the decision space is searched from an entire population of potential designs. This difference enables GA to solve discrete, non-convex, discontinuous problems without differentiation (15). The concept of GA was derived from Darwin's theories on natural selection and survival of the fittest. GA can generate an optimal solution by considering the optimization problem as an "evolution problem", the solution as an "individual", and the optimization process as an "evolutionary process". Individuals in an initial generation create the next generation individuals

through crossover and mutation under the combining genes, next generation individuals are similar to their parent generation but with certain differences in characteristics. Gene mutation among generations also generates additional variation. Each new generation then creates a progeny generation under the mechanism of competition for survival, with individuals in each new generation evolving to adapt with environment (16).

Operation tree

Operation tree is a tree structure which represents a mathematical formula. It is a binary tree and has three types of node: stem node, branches node, and

mechanism of competition for survival. Through leaves node. Each node has zero or two offspring. If one node hasn't offspring, it calls leaf and must be a variable or a constant. If one node has two offspring, it call branch and must be a mathematical operation (+, −, ×, ÷, LN or EXP), constant, or variables. Table (1) lists the gene codes of mathematical operations, variables, and constants. A four-layered operation tree model is shown in figure (1). In first layer, X_1 must be the stem denoted a mathematical operation. In second and third layer, X_2 - X_7 can be branches denoted a variable, a constant, or a mathematical operation. In fourth layer, X_8 - X_{15} must be leaves denoted a variable or a constant.

Table (1): Genetic code of mathematical operations, variables, and constants

Code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Meaning	+	−	×	÷	X^p	ln	C	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7

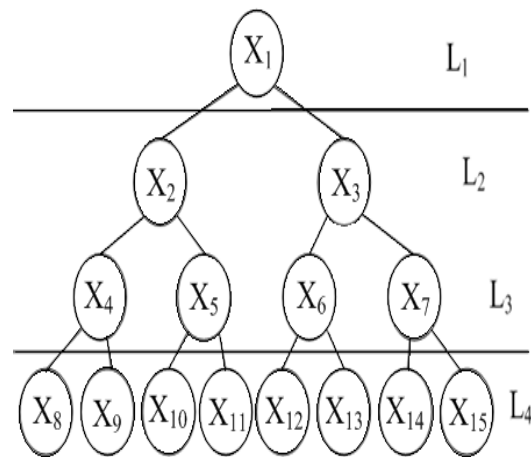


Figure (1): A four-layered operation tree

The OT can express a specific mathematical formula when X_1 - X_{15} are set with specific mathematical operations, variables, or constants. Figure (2) shows an example of operation tree model. The model used mathematical operations +, −, and ÷, variables A, B, and C, and constant 13. The operation tree can express the following formula:

$$Y = \frac{A - B}{C + 13} \quad (1)$$

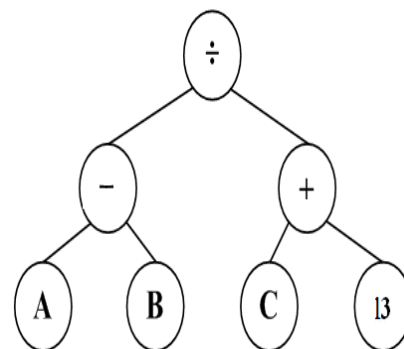


Figure (2): The parse tree of formula

Establishing a regression model using operation tree needs to determine appropriate mathematical operations, variables and constants in the stem, branches, and leaves of the operation tree (17). Performance of operation tree can be evaluated by using root mean squared error (RMSE) between predicted and actual output values. RMSE is the square root of mean squared error (MSE). It measures the differences between model predicted values and the actual values. This difference is called prediction error. The value of RMSE could be zero to infinity. Root Mean Square Error widely used to evaluate the model accuracy and to compare models. The minimum the RMSE of operation tree, the best the operation tree fits the dataset. The general equation for root mean square error is:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Q_i - \hat{Q}_i)^2}{N}} \quad (2)$$

Where,

N= data number, Q_i = Actual data, \hat{Q}_i = predicted data.

MATERIALS AND METHODS

Case study

Taiwan Strait is a shallow passage connecting the South China Sea to the East China Sea. It is about 350 km long and 180 km wide, with an average depth of 60 m. The northern boundary of the strait is usually defined as the line between Pingtan and Fuguijiao, and the southern boundary between Dongshan and Maobitou. The three major water masses identified in the Taiwan Strait are the Kuroshio Branch Water with high salt concentration, the China Coastal Water with low salt concentration, and the South China Sea Water with intermediate salt concentration (18). This variation in marine salt concentration affects the temporal and spatial variations of chemical and biological factors. In this study, the area located on the west of Taiwan Dataset.

Data set

The actual data of marine salt for five images of four years were used and was expected to have a high correlation with MODIS reflectance data (Table 2). These data are used to validate the salt distributions which derived from MODIS data. Actual data are selected at same time of MODIS Satellite data overpass. 115 entries are used as training data and 38 as predictive data; the total number of data entries is 153.

Table (2): Dates of MODIS data and actual data of the strait

Satellite	Image date	Sampling date	Samples
MODIS/Terra	5/9/2008	5/9/2008	31
MODIS/Terra	18/6/2009	18/6/2009	28
MODIS/Terra	13/8/2010	13/8/2010	38
MODIS/Terra	4/7/2011	4/7/2011	19
MODIS/Terra	13/8/2011	13/8/2011	37

Genetic algorithm combining operation tree

In this study, GA was employed to produce the OT (formula) which can fit the data of marine salt concentration best. OT plays the architecture to represent an explicit formula and GA plays the optimization mechanism to optimize the OT to fit experimental data in the GAOT process. A five-layered operation tree was employed in this study.

RESULTS AND DISCUSSION

Estimation Marine Salt Using Linear Regression. The linear regression is presented for comparison with the GAOT. The same data sets were used to construct the LR. The linear function was shown in the following equation:

$$\text{Marine Salt}_{LR} = 32.19 - 28.59X_1 + 11.83X_2 + 48.59X_3 - 14.27X_4 - 19.38X_5 + 25.04X_6 - 26.22X_7 \quad (3)$$

Where,

X_1 = band₁, X_2 = band₂, X_3 = band₃, X_4 = band₄, X_5 = band₅, X_6 = band₆ and X_7 = band₇. In equation (3), the weight of X_1 (-28.59) is similar with those of X_6 (25.04) and X_7 (-26.22), which are all higher than those of X_2 (11.83), X_4 (-14.27), X_5 (-19.38), and less than the weight of X_3 (48.59).

The CCs and RMSEs of the LR were 0.79 and 0.87 for training set, 0.69 and 1.01 for testing set as shown in table (3), indicating that the performance of the linear regression was not as accurate as GAOT. Figure (3) demonstrates the scatter diagram of predicted marine salt values versus values of actual marine salt for the linear regression.

Table (3): The results of LR and GAOT

Model	CCs		RMSEs	
	Training	Testing	Training	Testing
LR	0.79	0.69	0.87	1.01
GAOT	0.84	0.75	0.78	0.79

Estimation Marine Salt Using Genetic Algorithm Combining Operation Tree. The same data were used to compare with the tradition LR. The better relationship between MODIS data and marine salt data were acquired through GAOT (Figure 4). This diagram can be represented as equation (4):

$$GAOT = 32.8 + 1.1 \left\{ [X_2^{Ln(0.11)(X_5 - X_3)}] [X_1 X_2 + X_2 - \frac{X_7}{X_4}] \right\} \quad (4)$$

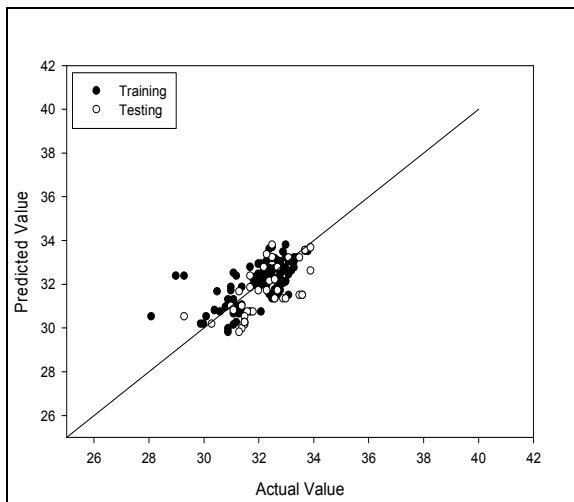


Figure (3): The scatter plot of linear regression

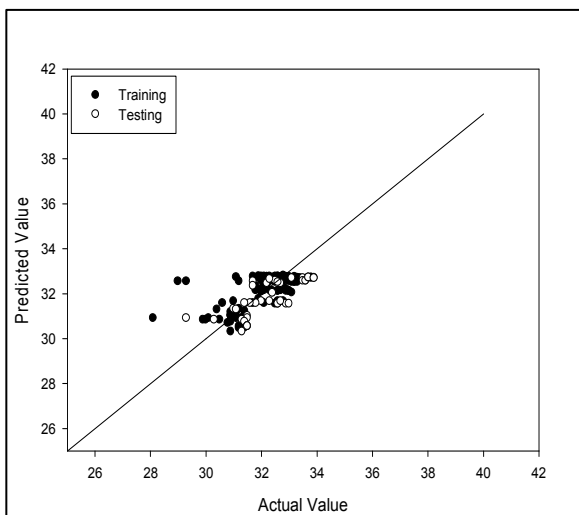


Figure (4): The scatter plot of GAOT

The value of the CCs and the RMSE of the GAOT during the training and testing set summarizes in table (3). The CCs (0.84) and RMSE (0.78) of GAOT training set, and CCs (0.75) and RMSE (0.79) of GAOT testing set. These results showed that the performance evaluation for GAOT is better than linear regression. The scatter plot of GAOT for marine salt is shown in figure (4). It shows that the predicted values for GAOT is closer to ideal line (45°) than LR model. This indicates that the model obtained by GAOT is more accurate in predicting results of the data concerning the marine salt in the strait.

CONCLUSION

The main contribution of this paper was to provide an example of using the GAOT method coupled with the GA and OT to predict the marine salt concentration of Taiwan Strait. The GAOT process

overcomes the multivariable nonlinear problems when deriving an appropriate model to simulate the marine salt concentration. GAOT provides more detailed information on the relationships between input and output data. Unlike the traditional regression method, GAOT model is more convenient and cooperates easily with the nonlinear problem. It achieved higher accuracy in the case study. Its prediction errors are smaller than those derived from LR. Therefore, GAOT is suggested as a superior option to model the nonlinear water quality problems in situations.

ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to express her gratitude and sincere appreciation to professor Lien-Siang Chou from National Taiwan University, R.O.C., for the data collection.

REFERENCES

1. Wang JY.; Yang SC.; Hung SK. and Jefferson TA. (2007). Distribution, abundance and conservation status of the eastern Taiwan Strait population of Indo-Pacific humpback dolphins, *Sousa Chinensis*. *Mammal*. 71:157-165.
2. Wang JY.; Hung SK.; Yang SC.; Jefferson TA. and Secchi ER. (2008). Population differences in the pigmentation of Indo-Pacific humpback dolphins, *Sousa Chinensis*, in Chinese waters. *Mammalia*. 72: 302-308.
3. Wang JY. and Yang SC. (2011). Evidence for year-round occurrence of the eastern Taiwan Strait Indo-Pacific humpback dolphins (*Sousa Chinensis*) in the waters off western Taiwan. *Marine. Mammal. Sci*. 27: 625-658.
4. Wang JY.; Yang SC. and Reeves RR. (2004). Report of the first workshop on conservation and research needs of Indo-Pacific Humpback Dolphins, *Sousa Chinensis*, in the waters of Taiwan. National Museum of Marine Biology & Aquarium, Taiwan. 1-37 (Chinese) and 1-43 (English).
5. Liu TK.; Wang YC.; Chuang LZ. and Chen CH. (2016). Conservation of the eastern Taiwan Strait Chinese White Dolphin (*Sousa chinensis*): fishers' perspectives and management implications. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0161321>
6. Williams WD. and Sherwood J. (1994). Definition and measurement of salinity in salt lakes. *Int. J. Salt Lake Res*. 3: 53-63.
7. Cooper N. (1988). The effect of salinity on tropical ocean models. *J. Physic. Oceanograph*. 18:697-707.
8. Marghany M.; Hashim M. and Cracknell AP. (2010). Modelling sea surface salinity from MODIS satellite data. *Computational Science and Its Applications*. Fukuoka, Japan. 6016: 545-556.
9. Qing S.; Zhang J.; Cui T. and Bao Y. (2013). Retrieval of sea surface salinity with MERIS and MODIS data in the Bohai Sea. *Remote Sens. Environ*. 136: 117-125.

10. Chong YJ.; Khan A.; Scheelbeek P.; Butler A.; Bowers D. and Vineis P. (2014). Climate change and salinity in drinking water as a global problem: using remote-sensing methods to monitor surface water salinity. *Int. J. Remote Sens.* 35: 1585-1599.
11. Hellweger F.; Schlosser P.; Lall U. and Weissel J. (2004). Use of satellite imagery for water quality studies in New York Harbor. *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.* 61: 437-448.
12. Wong MS.; Lee KH.; Kim YJ.; Nichol JE.; Li Z. and Emerson N. (2007). Modeling of suspended solids and sea surface salinity in Hong Kong using Aqua/MODIS satellite images. *Korean J. Remote Sens.* 23:161-169.
13. Palacios SL.; Peterson TD. and Kudela RM. (2009). Development of synthetic salinity from remote sensing for the Columbia River plume. *J. Geophysic. Res.* 114: 1-14.
14. Urquhart EA.; Zaitchik BF.; Hoffman MJ.; Guikema SD. and Geiger EF. (2012). Remotely sensed estimates of surface salinity in the Chesapeake Bay: A statistical approach. *Remote Sens. Environ.* 123: 522-531.
15. Goldberg D. (1989). Genetic algorithms in search optimization and machine learning. Addison-Wesley. Massachusetts.
16. Yeh IC.; Lien CH.; Peng AH. and Lien LC. (2010). Modeling concrete strength using genetic operation trees. Ninth International Conference on Machine Learning and Cybernetics. Qingdao. 3: 1572-1576.
17. Mitchell M. (1996). An introduction to genetic algorithms. A Bradford Book, Massachusetts.
18. Jan S.; Sheu DD. and Kuo HM. (2006). Water mass and through flow transport variability in the Taiwan Strait. *J. Geophysic. Res.* 111 (C12).

Estimation of salinity by genetic algorithm combining with operation tree using sensor data

Basmah M. Al- Abbadi (1) and Li Chen (2)

(1) National Center for Agricultural Research and Extension / Hashemite Kingdom of Jordan (2) Dept. of Civil Engineering / College of Architecture and Design/ Chung Hua University

E-mail: basmaalabadi@yahoo.com

ABSTRACT

The main purpose of this paper was to apply a genetic algorithm combining operation tree method to monitor the salinity of important strait in west pacific ocean using remote sensing data. Genetic algorithm combining operation tree is a type of evolutionary algorithm that simultaneously optimizes functions and their associated coefficients, and is used to automatically discover the relationships among nonlinear systems. Based on genetic algorithms, the relationships between input and output can be expressed as parse trees. In this case study genetic algorithm combining operation tree is used to construct the relationship between the actual salinity data of strait and the of spectral parameters of Moderate-Resolution Imaging Spectroradiometer sensor data. The results showed that the genetic algorithm combining operation tree model has high efficient performance ($R=92\%$ for training set and 60% for testing set).

Keywords: genetic algorithm combining operation tree, salinity, strait, remote sensing

الملخص باللغة العربية

هدفت الورقة البحثية بشكل رئيس إلى تطبيق أسلوب الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية لمراقبة ملوحة أهم مضيق في غرب المحيط الهادئ باستخدام بيانات الاستشعار عن بعد. الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية نوع من الخوارزمية التطورية التي تبحث عن أفضل النوال والمعاملات المرتبطة بها، وتستخدم لاكتشاف العلاقات بين النظم غير الخطية. بناء على الخوارزميات الوراثية، فإنه يمكن التعبير عن العلاقات بين المدخلات والمخرجات من خلال أشجار التحليل. تم استخدام الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية في هذه الدراسة لبناء العلاقة بين البيانات الحقيقية لملوحة المضيق وبيانات المعلومات الطيفية لمقياس الطيف التصويري المتوسط التحليل. أظهرت النتائج أن الخوارزمية الجينية المرتبطة بالشجرة العملية لديها كفاءة أداء عالية (معامل الارتباط المتعدد = 92% لمجموعة التدريب و 60% لمجموعة الاختبار).

INTRODUCTION

Most of marine salinity is monitored and evaluated based on field data. Collecting and analyzing field data are expensive, time consuming and cover small area. To improve these methods, utilization of remote sensing data for marine salinity assessment has been investigated. Previous work has shown that remote sensing data can be used to estimate marine salinity (1-3). The most commonly used is data of Landsat Thematic Mapper because it provides the longest continuous dataset of high-spatial-resolution imagery of earth, and is able to present a synoptic monitoring of water quality problems, but its quantitative use is difficult task (4). Landsat Thematic Mapper sensor was calibrated for land. Thus its signal to noise ratio for low reflectance sea water surface was not suitable to obtain meaningful data (5). This problem may be overcome by the use of suitable remote sensing data such as MODIS, which is potentially offered wide area coverage and free archive access.

Moderate-Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) instrument continues a series of space-borne remote sensing devices that have been used for monitoring the earth at moderate spatial resolution for more than the last two decades. MODIS launched on board Terra (EOS-AM1) and Aqua (EOS-PM1) on December 18th, 1999 and on May 4th, 2002, respectively, MODIS /Terra and Aqua, are multi-spectral sensors with several wavebands designed for the sensing of earth's environment including atmosphere, land, and ocean. This study used MODIS data to estimate the salinity of the strait, and is intended to present an efficient and automatic method to construct the relationship between strait salinity and MODIS data. Unfortunately, there are many hidden and useful relationships between the input and output data, which may not be recognized by the analyst. Thus many kinds of data mining techniques have been developed, such as statistics, memory-based reasoning, artificial neural networks, decision tress, and genetic algorithms.

Evolutionary computation techniques, that are based on a powerful principle of evolution: survival of the fittest, are very efficient optimization methods. Well-known algorithms in this domain include genetic algorithms, evolution strategies, and genetic programming. Among them, genetic algorithm is used in this study. Genetic algorithm is one of the most popular search algorithms. The advantages of genetic algorithm are global optimization, nonlinearity, flexibility and parallelism (6). It employs a unique search algorithm that can jump from a local optimum to close to the global optimum. Genetic algorithm can generate an optimal solution by considering the optimization problem as an evolution problem (6, 7). Therefore, objectives of this study were: estimation of strait salinity using remote sensing (MODIS/Terra) data, and introducing a genetic algorithm combining operation tree to data analysis.

Tsai (8) used three methods to establish the precipitation forecasting model in Shihmen Reservoir watershed during typhoons for five categories of typhoon paths, genetic algorithm combining operation tree (GAOT), regression method and artificial neural network (ANN) method. The forecast models predicted 1-hour ahead

hourly precipitation and the total rainfall during a typhoon. The results showed that the predicting accuracies of genetic algorithm combining operation tree were better than the other two methods.

Alabbadi *et al.* (9) used genetic algorithms combined with operation trees for estimating typhoon precipitation over ocean using passive microwave satellite data. Genetic algorithms combined with operation trees combining with SSM/I seven channels was used. The results show that the genetic algorithms combined with operation trees is better than the three empirical equations developed for rainfall estimations.

Chen *et al.* (10) used genetic algorithms combined with operation trees to estimate the compressive strength of high-performance concrete. A large number of experimental data were used to compare accuracies of the model building technique. The results show that this novel model, genetic algorithms combined with operation trees, can obtain highly nonlinear mathematical equations with low estimating errors for predicting the compressive strength of high-performance concrete.

Genetic algorithm

Genetic algorithm, one of optimization paradigms about mimicking the natural evolution mechanism, is invented in the early 1970's by John Holland. The concept of GA was derived from Darwin's theories on natural selection and survival of the fittest. It acts as a biological inspiration that tends to mimic some of the processes observed in natural evolution where stronger individuals are usually the winners in a competitive environment. To evaluate the suitability of the derived solution, a suitable objective function is required. The best part of genetic algorithms is it can handle any type of objective functions. The objective function is chosen in a way that highly fitted strings (solutions) have high fitness values. The evolution starts from a set of coded solutions (biologically referred to as chromosomes) and proceeds from generation to generation through genetic operations, i.e., reproduction, crossover, and mutation. Through the genetic algorithms, an optimal solution can be found and represented by the final winner of the processes. The reproduction process copies parent chromosomes into a tentative new population. The probability of selected chromosomes for the next generation is directly proportional to its fitness value. A great number of selection algorithms have been presented in the literature (11). Among them, Roulette Wheel selection is perhaps the most common method; The crossover generally consists of exchanging genetic material between two chromosomes from parents to create new offspring for the next generation, which includes three steps. 1) chromosomes from the mating pool are randomly paired. 2) it is determined whether these pairs should go for crossover or not, based on a preset crossover probability. 3) chromosome segments between mating pairs are interchanged. The operator can be one-point crossover or multi-point crossover; To sustain genetic diversity into the population, mutation is also made occasionally with small probability. A random position of a random string is selected and is replaced by another character from

the alphabet; e.g., in the binary coding, this simply means changing a 1 to a 0 and vice versa. Tang *et al.* (12) demonstrated that the genetic algorithm is robust and has been proven theoretically for efficiency of complex solution space. The robustness of genetic algorithm method is due to their capacity to locate the global optimum. This method is less likely to restrict the search to a local optimum compared with other optimization techniques (6). Genetic algorithm has several advantages such as: can be used to solve optimization problem which is described with chromosome encoding, solving problem with multiple solution, very easy to understand, and easily to transfer to existing models (13). The main reasons to use a genetic algorithm were to find optimal solution: there are multiple local optima, using many parameters, the objective function is not smooth, and the objective function is noisy. Genetic algorithm significantly different than traditional methods in four characteristics: stochastic search

method, multipoint search method, direct search method, and parallel search method.

Operation tree

Operation tree is a tree structure which represents a mathematical formula. It is a binary tree and has three types of node: stem node, branches node, and leaves node. Each node has zero or two offspring. If one node hasn't offspring, it calls leaf and must be a variable or a constant. If one node has two offspring, it call branch and must be a mathematical operation (+, −, ×, ÷, LN or EXP), constant, or variables. Table (1) lists the gene codes of mathematical operations, variables, and constants. A five-layered operation tree model is shown in figure (1). In first layer, N_1 must be the stem denoted a mathematical operation. In second and third layer, N_2 - N_{15} can be branches denoted a variable, a constant, or a mathematical operation. In fourth layer, N_{16} - N_{31} must be leaves denoted a variable or a constant.

Table (1): Genetic code of mathematical operations, variables, and constants

Code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Meaning	+	−	×	÷	X^y	ln	C	band ₁	band ₂	band ₃	band ₄	band ₅	band ₆	band ₇

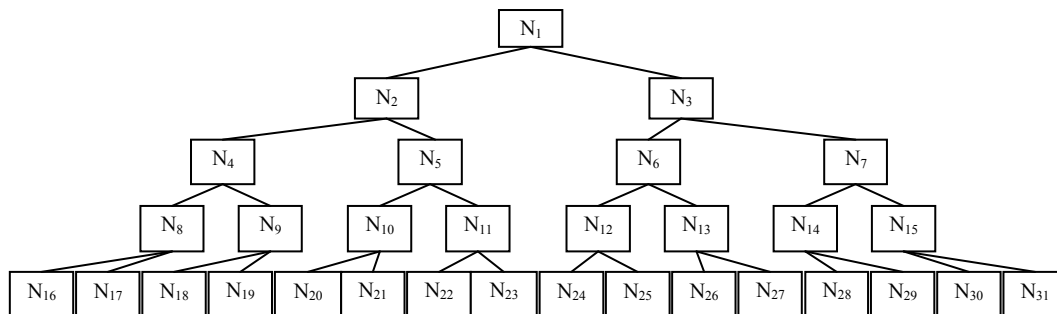


Figure (1): A five-layered operation tree

The OT can express a specific mathematical formula when N_1 - N_{31} are set with specific mathematical operations, variables, or constants. Figure (2) shows an example of operation tree model. The model used mathematical operations ln, +, and ÷, variables A and B, and constant 17. The operation tree can express the following formula:

$$y = \ln(17)/A+B \quad (1)$$

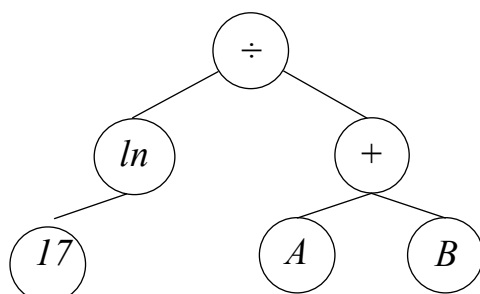


Figure (2): The parse tree of formula

Establishing a regression model using operation tree needs to determine appropriate mathematical operations, variables and constants in the stem, branches, and leaves of the operation tree (14). Performance of operation tree can be evaluated by using root mean squared error (RMSE) between predicted and actual output values. RMSE is the square root of mean squared error (MSE). It measures the differences between model predicted values and the actual values. This difference is called prediction error. The value of RMSE could be zero to infinity. Root Mean Square Error widely used to evaluate the model accuracy and to compare models. The minimum the RMSE of operation tree, the best the operation tree fits the dataset. The general equation for root mean square error is:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{t=1}^N (Q_t - \hat{Q}_t)^2}{N}} \quad (2)$$

Where,

N = data number, Q_t = Actual data, \hat{Q}_t = predicted data.

MATERIALS AND METHODS

Case study

The study was conducted in the west Taiwan island (figure 3), in Taiwan strait. The Strait is a shallow passage, about 350 km long, 180 km wide and 60 m deep, between the China mainland and the Taiwan Island connecting the South China Sea (SCS) to the East China Sea (ECS) in the western The northern boundary of the strait is usually defined as the line between Pingtan and Fuguijiao, and the southern boundary between Dongshan and Maobitou. The strait is important channel in the west pacific ocean transporting water and chemical elements between the SCS and ECS, also an important pathway for ship navigation and fish migration. The fishermen of Taiwan island use the strait as a fishing resource.

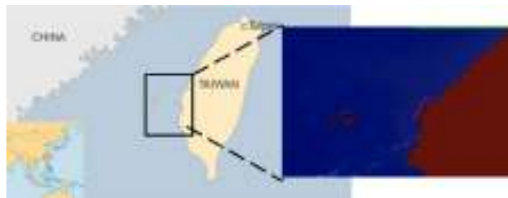


Figure (3): Taiwan strait

Data set

In this study, the actual data of salinity for 12-8-2008, 13-8-2009 and 13-8-2010 are used and they are expected to have a high correlation with MODIS reflectance data. These data are used to validate the salinity distributions which derived from MODIS data. The actual data are selected at same time of MODIS Satellite data overpass.

The MODIS images were acquired from the Land Processes Distributed Active Archive Center (LP DAAC). We used MOD09A1 which is the 8-day surface reflectance product derived from MODIS Terra daily observations.

Data import and its processing were performed using ERDAS Imagine (2010). Geometric corrections of the MODIS images data were performed in order to compare the images data with Salinity monitoring locations. The total number of data entries is 105 (53 for training and 52 for testing).

Genetic algorithm combining operation tree

Yeh and Lien (15) proposed genetic algorithm combining operation tree. Genetic algorithm combining operation tree consists of genetic algorithm (GA) and operation tree (OT) to find the best function, and to explore complex relationships between inputs and outputs. Its flexibility in expressing mathematical formulae allows operation tree to avoid a disadvantage common to other prediction techniques (15).

In this study, GA was employed to produce the OT (formula) which can fit the data of strait salinity best. OT plays the architecture to represent an explicit formula and GA plays the optimization mechanism to optimize the OT to fit experimental data in the GAOT process. A five-layered operation tree was also employed.

GAOT operations start by generating a population of chromosomes. Every chromosome represents the solution of formula components. Next, the evaluation step obtains the objective function for each chromosome. Afterward, the GA optimizer searches for the optimal parameter or best formula combination. GA optimization repeats until the stopping criterion is achieved. The flowchart of GAOT is shown in figure (4).

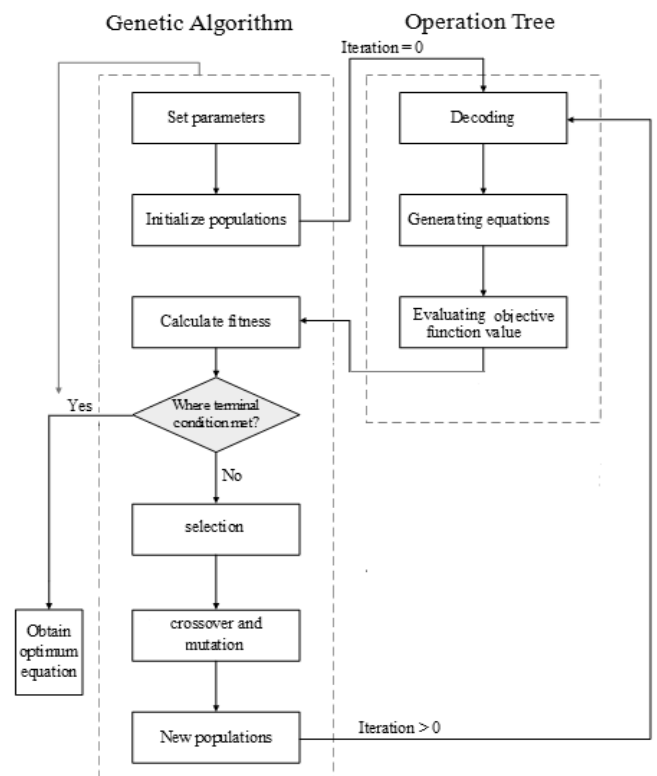


Figure (4): Flow chart of GAOT

RESULTS AND DISCUSSION

Estimation the strait salinity:

The relationship between image data and salinity data were acquired through GAOT (figure 5). This diagram can be represented as equation (3):

$$\text{Salinity} = -21.5 + 54.0 [X_4 + \{((X_4 + X_6) - X_1)^{X_1}\}] \quad (3)$$

Where,

X_1 = band₁, X_4 = band₄ and X_6 = band₆.

The Multiple R is 0.92 for training set and 0.60 for testing set. The Root Mean Squared Error (RMSE) is 1.13 for training set and 5.37 for testing set. These results show that the genetic algorithm combining operation tree has high efficient performance to construct the relationship between strait salinity and MODIS data (table 2).

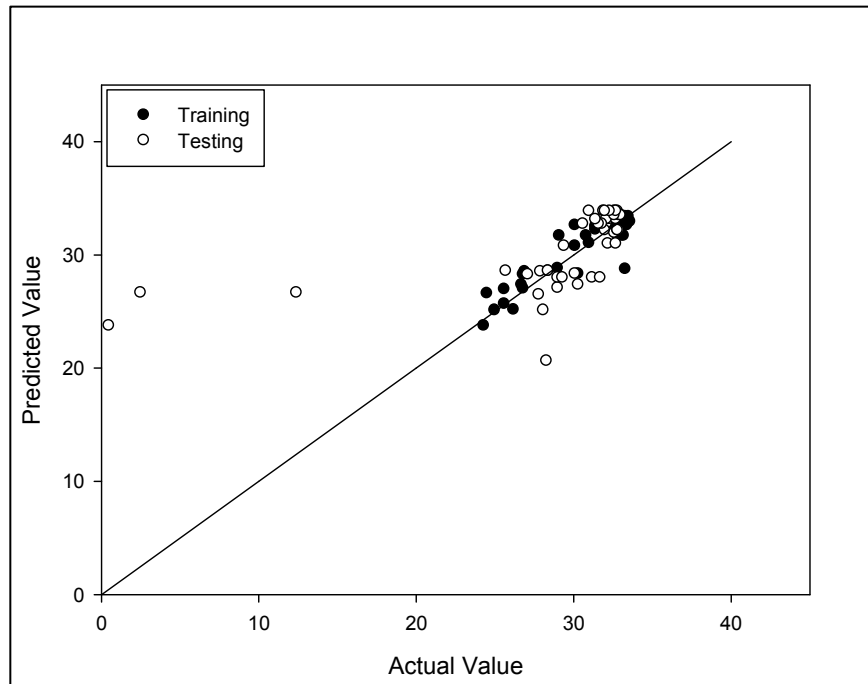


Figure (5): Taiwan Strait salinity by GAOT

Table (2): The criteria of GAOT on the salinity data

R		RMSE	
Training Set	Testing Set	Training Set	Testing Set
0.92	0.60	1.13	5.37

CONCLUSION

This paper provided an example of using the GAOT method to predict sea surface salinity in a strait. The GAOT can acquire more information on the detail of relationships between input and output data. GAOT model automates the trial and error process of system identification, is more convenient and easily cooperates with the nonlinear problem to achieve high accuracy in the case study. In the case of construction the relationship between image data and sea surface salinity of Taiwan strait, GAOT is efficient method for the salinity estimation. Therefore, this method is flexibly applied to other water body.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to express their sincere appreciation and gratitude to professor Lien-Siang Chou from National Taiwan University, R.O.C., for the data collection.

REFERENCES

1. Burrage D. and Wesson JM. (2008). Deriving sea surface salinity and density variations from satellite and aircraft microwave radiometer measurements: application to Coastal Plumes using STARRS. IEEE Transac. Geosci. Remote Sens. 46:765-785.

2. Urquhart E.; Zaitchik B.; Hoffman M.; Guikema S. and Geiger E. (2012). Remotely sensed estimates of surface salinity in the Chesapeake Bay: A statistical approach. Remote Sens. Environ. 123: 522-531.
3. Qing S.; Zhang J.; Cui T. and Bao Y. (2013). Retrieval of sea surface salinity with MERIS and MODIS data in the Bohai Sea. Remote Sens. Environ. 136: 117-125.
4. Dekker AG.; Vos RJ. and Peters SWM. (2002). Analytical algorithms for lake water TSM estimation for retrospective analyses of TM and SPOT sensor data. Int. J. Remote Sens. 23: 15-35.
5. Wong M.; Lee K.; Kim Y.; Nichol J.; Li Z. and Emerson N. (2007). Modeling of suspended solids and sea surface salinity in Hong Kong using Aqua/MODIS satellite images. Korean J. Remote Sens. 23: 161-169.
6. Goldberg D. (1989). Genetic Algorithms in Search Optimization and Machine Learning. Addison-Wesley. Massachusetts.
7. Davis L. (1991). Handbook of Genetic Algorithms. Van Nostrand Reinhold. New York.
8. Tsai YC. (2010). Artificial intelligence techniques in the prediction of rainfall during typhoons in shihmen reservoir. M.S. thesis, Chung Hua University. Hsinchu, Taiwan.
9. Alabbadi B.; Chen L.; Kou C. and Ma S. (2012). Applying genetic algorithm combining operation tree (GAOT) for estimating typhoon precipitation using passive microwave satellite. Third International Conference. Theoretical and Mathematical Foundations of Computer Science. Bali, Indonesia. 402-407.
10. Chen KT.; Chen L.; Fu YR. and Chen SH. (2013). Estimating strength of concrete using a genetic algorithm combining operation tree (GAOT). International Conference on Manufacturing Engineering and Process (ICMEP). Vancouver, Canada. 2: 1293-1296.

11. Michalewicz Z. (1995). Genetic Algorithms + Data Structures = Evolution Programs. Springer-Verlag. New York.
12. Tang KS.; Chan TM.; Yin RJ. and Man KF. (2012). Multiobjective Optimization Methodology: A Jumping Gene Approach. Taylor and Francis group. Florida.
13. Elhaddad YR. (2012). Combined simulated annealing and genetic algorithm to solve optimization problems. World Acad. Sci. Eng. Technol. 68: 1508-1510.
14. Mitchell M. (1996). An Introduction to Genetic Algorithms. A Bradford Book. Massachusetts.
15. Yeh IC. and Lien LC. (2009). Knowledge discovery of concrete material using genetic operation trees. Expert Sys. Appl. 36: 5807-5812.

Diagnosis of colon tumor tissue using fuzzy logic

Ziad M. Abood, Zahra S. Dheef and Lamyaa M. Kadhim

College of Education / University of Al-Mustansiriyah / Baghdad / Republic of Iraq

E –mail: dr.ziadmabood@uomustansiriya.edu.iq

ABSTRACT

In the present paper, samples representing medical images normal and abnormal (tumor) of colon tissues were studied, from glass slides with H&E (Hematoxylin and eosin) stain.

Digital images were taken using a magnifying optical microscope amount of 400X, and be stored in a computer by a digital camera.

The application of the image processing were on these images, and calculation of (Gray Level Co-Occurrence Matrix -GLCM) statistics (Homogeneity, Correlation, Contrast and Energy) were made to diagnose between normal and abnormal samples, through the statistics measurement and the application the theory of Fuzzy logic by MATLAB.

The study results showed that the application of dark logic of program results showed high discrimination between samples between normal and abnormal images. After the application, this program on testing samples normal and abnormal (tumor) of colon tissues for diagnosis.

Keywords: Medical imaging, fuzzy logic, colon tissue, Diagnosis

الملخص باللغة العربية

في البحث الحالي، تم دراسة عينات تمثل صور طبية لأنسجة سليمة وغير سليمة للقولون، حُضرت هذا الأنسجة على ألواح زجاجية مع صبغة هيماتوكسيلين وأيوسين (H&E). تم حصول على صور رقمية مكبرة باستخدام مجهر ضوئي مقدار 400X، و خزنها في الحاسوب عن طريق كاميرا رقمية.

تم دراسة معالجة الصور على هذه العينات، وحساب إحصائيات (GLCM) وهي التباين، الارتباط، الطاقة، والتجانس، للتمييز بين العينات السليمة والمصابة، من خلال حساب المعاملات وتطبيق نظرية المنطق الضبابي باستخدام الماتلاب.

أظهرت نتائج الدراسة ان تطبيق المنطق الضبابي أعطى نتائج تمييز عالية بين العينات السليمة والمصابة لأنسجة القولون بعد إدخال عينات اختبارية لأنسجة سليمة وغير سليمة للقولون لتشخيصها.

INTRODUCTION

Medical imaging is one of quickest growing domains in medicine now, both in the clinical working in hospitals and in the research and development. Some important benefitages from an effort of increasing research in medical imaging are thought to be in:

- Enhanced Patient Care
- Personalised medicine with individually tailored treatment.
- More proof-based decision making about healthcare.
- Less complexity through and after surgery.
- Perfect understanding of the influence of treatments on diseases (1).

Medical imaging technology helps most doctors to examine the inner parts of the body to make obvious diagnosing. Besides, it assists doctors to achieve micro surgeries to get to the inner parts with no need to make opening in the body exaggeratedly (2). Ultrasound, "CT Scanner" and "Magnetic Resonance" took "x-ray" give images by examining the third dimension of body. By using "CT Scanner", make body's inner stripped easily and distinguished the diseased organs with no pain or bother to the diseased. "MRI" receives sign from spinning of magnetic particles of body to "MRI" magnetic tuning and by assistance of "MRI" developed computer, transforms scanner information to revealing images of interior parts. "Image processing techniques" devised for analysing distant sense information perhaps corrected to analyse the outputs of "medical imaging systems" to obtain good benefit to analyses patient's symptoms easily (3).

Some researchers had diagnosed cancer through images by using other algorithms. One of these is the proposed algorithm carries out the diagnosis with two modules: one known as the detection of gland and the other is referred as the detection of nuclei (4). Another implemented algorithm locates the positions and details of glands and saving this data for the next diagnosis (5).

The aim of the present study was to use one of the diagnostic colon tumor tissue, where distinguished between healthy and infected samples, drawing on images of the colon tissue using optical microscopy, dependence on the properties of these samples. This method facilitates the diagnosis of diseases using such techniques and computer digital image processing.

Colon tumor

The colon is one organ of the digestive system of body. That system makes processing for nutrients (water, fats, vitamins, carbohydrates, proteins, and minerals) from foods and removes excrement material outside the body. The components of digestive system are large and small intestines,

esophagus and stomach. The colon is considered the length of first segment of large intestine and is 5 feet. Both of anal canal and rectum form the last segment of large intestine and its length (6-8) inches (6). Anal canal ends in anus (opening of large intestine to outside a body). Cancer of colon can be expressed simply as that cells of malignant composed in colon tissue (figure 1) (7).

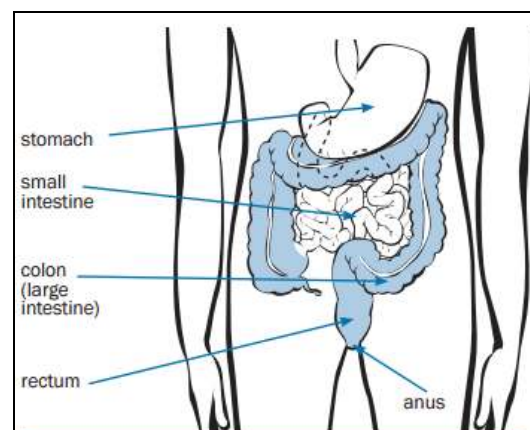


Figure (1): The section of colon and another organs (7)

History of health can influence a hazard increasing of colon cancer. Everything that makes chances increased of catching a disease is named "a risk factor". "A risk factor" doesn't lead to get cancer definitely. Risk factors consist of the following (8):

- 1- Histories of family if were they got cancer of the rectum or colon.
- 2- Certain conditions of hereditary, like "familial adenomatous polyposis" and "hereditary nonpolyposis" colon cancer (HNPCC; Lynch Syndrome).
- 3- History of ulcerative colitis (ulcers in the large intestine lining) or disease of Crohn.
- 4- Subjective history for colon cancer, breast, endometrium, ovary and rectum.
- 5- Subjective history for polyps (mini areas of swelling tissue) in a rectum and colon.

Image processing and digital images

"Digital images" are formed by pixels (shorter component in an image). Any pixel is considered a gray level (or a color for white and black images) at a singular point in an image; there for a pixel is similar to a very small point of certain color (9). When we take measures image color on a large point number, it's possible to make the digital approximating of an image from any an original copy easy to build. Pixels are slightly similar to particles of grain in a traditional photographic image, but put orderly in a concordant style of columns and rows and save data slightly differently. "Digital image" is a rectangular array of pixels named "bitmap" sometimes (10).

Kinds of "digital images" for photographic uses, two kinds of "digital images" found first color second white and black. "Color images" are composed of colored pixels while images of white and black are composed of pixels at gray different shades. Images of white and black are a white and black image is composed of pixels any of them reserves a singular number matching to the image gray level in a certain position. Gray levels extent the whole range of white and black as fine steps series, usually (256) various grays. Formerly the eye just differentiate approximately (200) various gray levels, that is sufficient give as an illlusiveness of the steples tonal measurement as shown below: by assumption that (256) gray levels, either white or black pixels are easy to save in a singular byte of memory (11). "Color images" are an image is composed from pixels any that reserves three numbers matching to (red, green and blue) levels of the image in a certain position. (Red, green and blue) often denoted to "RGB" are the essential colors to blend light and those named additive essential colors are dislike a subtractive primary colors which are used for blending paints (yellow, cyan and magenta). All of colors were made by blending enough amounts of (red, green and blue) light. By the assumption that (256) levels for any one of primary, each pixel of color can be saved in (three bytes) of memory (12).

Gray-level co-occurrence matrix (GLCM)

Checking texture statistical way which shows a pixels spatial relation can be considered as "the gray-level co-occurrence matrix" (GLCM), and called too the gray level spatial dependency array. "GLCM" characterise a texture of image by computing how many times certain values with pixel pairs and in the specific spatial relation happen in an image, making "GLCM", and after that taking statistical measurement from array. A function of texture filters, characterized by use "Texture Filter Functions", can't supply data that is related to form, for example a pixels spatial relation in a photo (13). We can derive several statistics from GLCM after we create it- by use function of graycoprops. Information about an image texture can be provided from GLCM.

Fuzzy logic

Fuzzy logic is depended on fuzzy sets theory is a generalizing of the classical theory of set. Defining that the fuzzy sets theory is a generalizing of the classical theory of set that is meaning the latter is a fuzzy sets theory special case. To achieve a metaphor in speaking of set theory, the classical theory of set is a subset of the fuzzy sets theory [14].

Fuzzy logic is an extending of Boolean logic by Lot Zadeh in 1965 depended on the fuzzy sets mathematical theory that is a generalizing of classical theory of set. By using the degree notion in the condition verification, that is making a condition

enable to be in a state except true or false, fuzzy logic supplies a very invaluable flexibility to reason, that it possibly takes into account uncertainties and inaccuracies.

One trait of fuzzy logic so as to form reasoning of human is that the rules are put in normal language (15).

MATERIALS AND METHODS

Database: Fifteen images were used as samples of the type jpg models normal and abnormal treatment of dye H&E colon tissues to 100X and is the size of the database that represent them will work (figure 2).

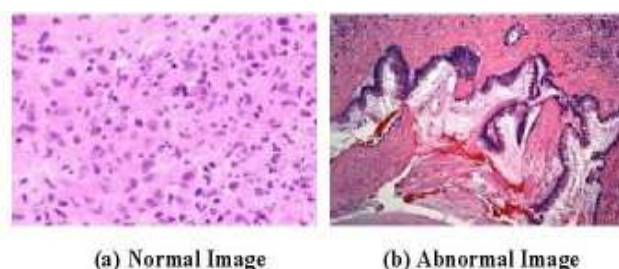


Figure (2): Normal and abnormal images

Study algorithm: Figure (3) shows the general algorithm of present study. Table (1) shows the description of statistics that were obtained from GLCM algorithm implemented in MATLAB.

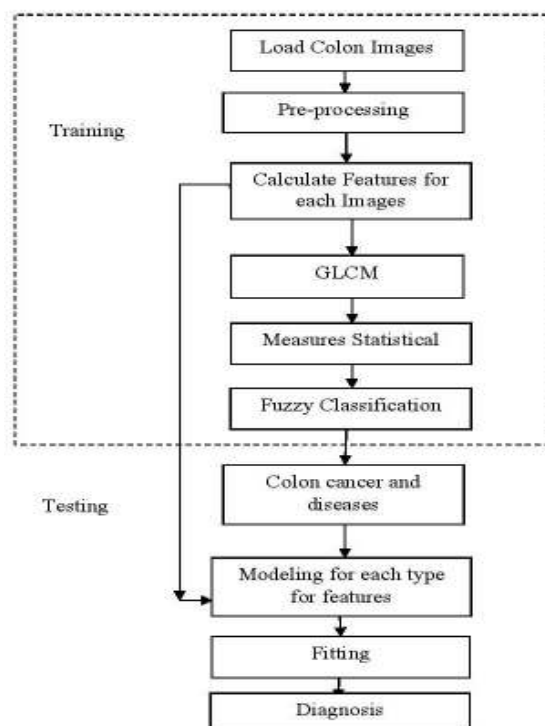


Figure (3): Algorithm scheme illustrates the present study

Table (1): GLCM statistics (15)

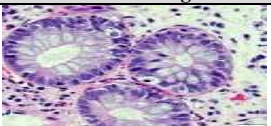
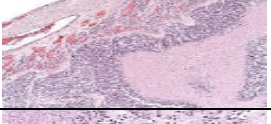
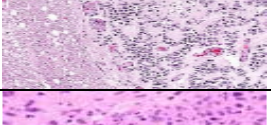
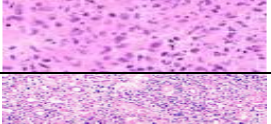
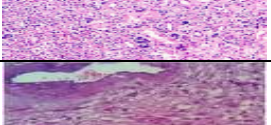
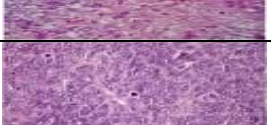

Statistic	Describing
"Contrast"	Measurement of a position variety in "gray-level co-occurrence matrix". Give back an intensity contrast measures among pixels over the entire image. Range = $[0 \text{ (size(GLCM,1)-1)}^2]$ "Contrast" is (0) for a fixed image. $\sum_{i,j} i-j ^2 p(i,j)$
"Correlation"	Take measure mutual possibility happening of a certain pairs of pixel. Give back a measurement of how related the pixel to another that next to it over the entire image. Range = $[-1 \ 1]$ "Correlation" is (1 or -1) for a perfectly positively or negatively correlated image. "Correlation" is NaN for a fixed image. $\sum_{i,j} \frac{(i-\mu_i)(j-\mu_j)p(i,j)}{\sigma_i\sigma_j}$
"Energy"	Provides a total of squared elements in "GLCM". Discerned to as uniformity or the angular second moment. Range = $[0 \ 1]$. "Energy" is (1) for a fixed image. $\sum_{i,j} p(i,j)^2$
"Homogeneity"	Measures approaching of distributing of elements at the "GLCM" to "GLCM" diagonal. Range = $[0 \ 1]$. "Homogeneity" is (1) for a diagonal "GLCM". $\sum_{i,j} \frac{p(i,j)}{1+ i-j }$

RESULTS AND DISCUSSION

Table (2) shows the results of the application of GLCM algorithm with (15) normal images

representing the normal colon tissues, with GLCM was implemented in MATLAB.

Table (2): Results of the application of GLCM on normal images

Image #	Normal Image	Contrast	Correlation	Energy	Homogeneity
1		1.2700	0.7123	0.0809	0.7199
2		2.1145	0.2271	0.0872	0.6333
3		3.1817	0.1913	0.0692	0.5904
4		0.5196	0.6552	0.2495	0.8183
5		2.9938	0.2000	0.0732	0.5932
6		0.7491	0.5839	0.1301	0.7547
7		0.6451	0.5726	0.1337	0.7570

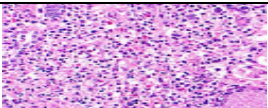

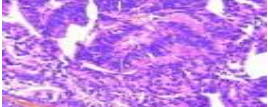
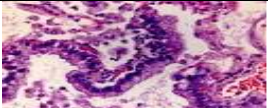
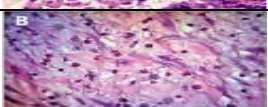

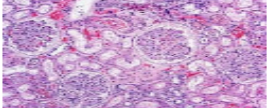
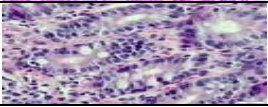
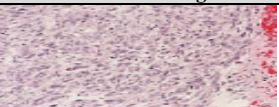
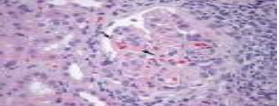


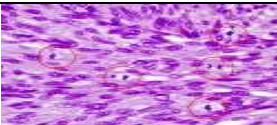
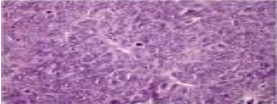
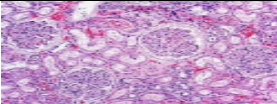
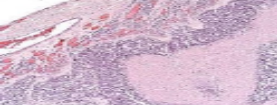
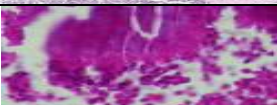
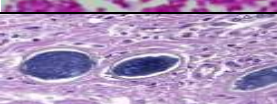
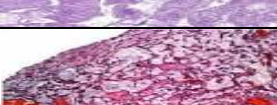
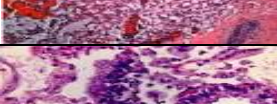
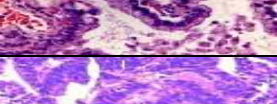
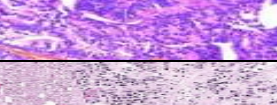
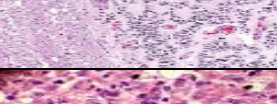
8		2.8451	0.4514	0.0566	0.6123
9		1.1192	0.5149	0.1783	0.7684
10		0.7887	0.7611	0.0822	0.7482
11		1.3282	0.7985	0.0614	0.7084
12		0.7041	0.7763	0.1054	0.7881
13		0.3877	0.9412	0.0927	0.8489
14		2.1411	0.3281	0.0650	0.6170
15		1.0213	0.7259	0.0862	0.7353
	Min	0.3877	0.1913	0.0566	0.5904
	Max	3.1817	0.9412	0.2495	0.8489

Table (3) shows the results of the application of GLCM algorithm with (15) abnormal an image

representing the abnormal colon tissues, with GLCM was implemented in MATLAB.

Table (3): Results of the application of GLCM on abnormal images

Image #	Abnormal Image	Contrast	Correlation	Energy	Homogeneity
1		0.9376	0.4651	0.1366	0.7245
2		0.6787	0.6282	0.1722	0.7816
3		0.4134	0.6858	0.1771	0.8172
4		0.9555	0.7293	0.0801	0.7365

5		1.1282	0.6420	0.0888	0.7044
6		0.6451	0.5726	0.1337	0.7570
7		2.1411	0.3281	0.0650	0.6170
8		2.1145	0.2271	0.0872	0.6333
9		0.2744	0.9214	0.1859	0.8828
10		1.3096	0.6027	0.0757	0.6849
11		1.9387	0.6723	0.0433	0.6554
12		1.3282	0.7985	0.0614	0.7084
13		0.7887	0.7611	0.0822	0.7482
14		3.1804	0.1898	0.0693	0.5904
15		1.1421	0.6994	0.0670	0.7093
	Min	0.2744	0.1898	0.0433	0.5904
	Max	3.1804	0.9214	0.1859	0.8828

Figures (4-6) showed the role of statistical values of the features (four) input, it helps a lot in the report of the input sample type. Despite the fact that there is an overlap, also it controls on the sample type or intact tumor, and this is clear from the decision

boxes in the last column (blue). It helps to have taken the decision, whatever the size of the image that represents the tissue.

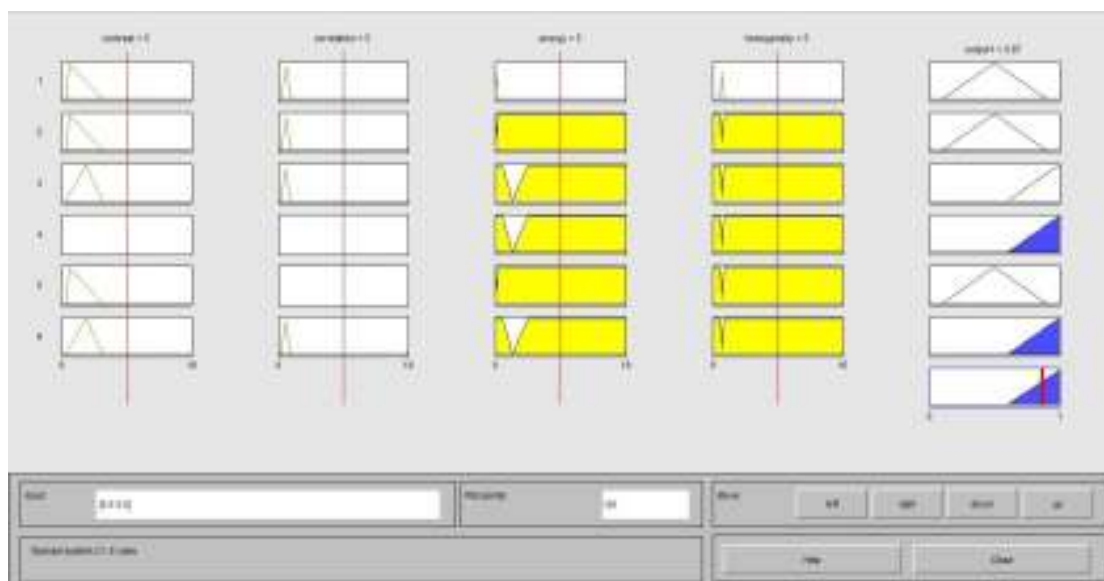


Figure (6): Final interface of program diagnosis colon samples

CONCLUSION

Using the Fuzzy logic, enabling us to distinguish between healthy colon tissue and infected, if the program has been prepared using MATLAB language based on experimental samples, and the characteristics of each of the image that has been introduced, which represent sound samples and infected. A program on the application of the test samples, and accuracy in the diagnosis reached to 95%.

RECOMMENDATIONS

- The study can be applied on the same samples, but another form of the stain to detect the tumors.
- The study algorithm can be applied to other types of tumors in different parts of the human body.

REFERENCES

1. European Science Foundation Policy Briefing. (2007). Medical imaging for improved patient care. Available at: www.esf.org
2. Rao KM. and Rao VP. (2014). Medical Image Processing. Int. J. Adv. Network. Applic. 6(3): 2329-2333.
3. Gilliland J. (2015). Colorectal cancer: Non-cancerous tumors of the colon and rectum. Canadian Cancer Society. RR 0001.
4. National Cancer Institute at the National Institutes of Health. (2014). Colon cancer treatment (PDQ)—Patient version.
5. Raman V.; Sumari P. and Rajeswari M. (2010). A theoretical methodology and prototype implementation for detection segmentation classification of digital mammogram tumor by

machine learning and problem solving approach. IJCSI. Int. J. Comp. Sci. Iss. 7(5): 1694-0814.

6. Tapelln F. and Sickles EA. (2007). Computer-aided detection on performance of screening. Engle Mead Johnson. Pp.: 1399-409.
7. Xiaojiang X. and Werner J. (1997). A dynamic model of the human clothing environment system. Appl. Human Sci. 16: 61–75.
8. Attia SJ.; Blackledge JM.; Abood ZM. and Agool IR. (2012). Diagnosis of breast cancer images using fuzzy logic. NUI Maynooth, June 28–29. ISSC.
9. Lauren B. and Lee LW. (2003). Perceptual information processing system. Paravue Inc. U.S. Patent Application. 10/618,543, July 11.
10. Karam GS.; Abood ZM. and Saleh RN. (2013). Enhancement of underwater image using fuzzy histogram equalization. Int. J. Appl. Info. Sys. USA.
11. Sachs J. (1999). Digital image basics. digital light and color. Available online at: <http://www.dl-c.com/basics.pdf>
12. Attia SJ.; Abood ZM. and Agool IR. (2013). Detection of malignant cases by segmentation of cells in medical images and applying fuzzy logic technique. J. Thi-Qar Sci. 4(4): 71-74.
13. Derroncourt F. (2013). Introduction to fuzzy logic. MIT, USA.
14. Gomes J. and Velho L. (1997). Image processing for computer graphics. Silvio Levy, New York.
15. Matlab Software Guide. (2017). Available at: www.worksmatlab.com

Enzymatic study of adenosine deaminase (ADA) on blood from patients with breast cancer before and after radiotherapy

Samira A. Fintail, Eman W. Hussen and Qabas I. Abdulmajeed

Dept. of Radio Isotopes / Nuclear Applications & Researches Directorate / Iraqi Atomic Energy Commission / Republic of Iraq

E-mail: eman_alamery@yahoo.com

ABSTRACT

In this study, blood samples were taken from patients before and after radiotherapy. At the end of each week serum ADA levels were calculated for each samples. 62 Iraqi breast cancer women patients were included in this study. For control purposes, 43 healthy women were examined. There were combined damaging effects caused by cancer ,chemotherapy and radiotherapy on the immune system of the patients. These damages were manifested through the significant reduction of ADA levels in serum of patients with breast cancer. All these findings suggested possible negative effects of radiotherapy on the immune system of the patients.

Keywords: adenosine deaminase (ADA), radiotherapy.

الملخص باللغة العربية

تم في هذه الدراسة أخذ نماذج الدم من المرضى الخاضعين للعلاج قبل وبعد العلاج الإشعاعي. عند نهاية كل أسبوع، تم قياس الأدينوسين دي أميناز في المصل لكل نموذج. هنالك تأثيرات مشتركة مضرّة على الجهاز المناعي للمرضى يسببها المرض والأدوية المضادة له والعلاج الإشعاعي. اثنان وستون امرأة عراقية مصابة بسرطان الثدي شكلوا عينة الدراسة بالإضافة إلى ثلاثة وأربعون امرأة سليمة كانوا يمثلون مجموعة السيطرة إمكانية وجود تأثيرات خلوية وراثية يسببها العلاج الإشعاعي على الخلايا المناعية للمرضى. هذه التأثيرات تم الكشف عنها من خلال الانخفاض المعنوي لمستوى الأدينوسين دي أميناز في مصل مرضى سرطان الثدي. كل هذه الاكتشافات تقترح وجود تأثيرات سلبية للعلاج الإشعاعي على الجهاز المناعي للمرضى.

INTRODUCTION

Adenosine deaminase (ADA) and adenosine aminohydrolase EC (3.5.4.4) catalysis the hydrolytic deamination of adenosine and deoxyadenosine to inosine and deoxyinosine respectively. ADA is a polymorphic enzyme found in most human tissue and haemopoietic tissues of mice such as bone marrow, spleen and thymus. The highest activity was found in spleen and thymus while, less was found in bone in bone marrow (1). A unit of activity of this enzyme per minute under specified study assay conditions.

Clinical interest in this enzyme has been revived by the discovery of a syndrome of severe humeral and cellular immunodeficiency associated with deficiency associated with deficiency of ADA in erythrocytes (2) and later on by constitution of immunologic function in a case with this deficiency, after normal erythrocytes have been administered (3). The deficiency of ADA represents the first association of a specific enzyme defect with an inherited disorder of both T-and B-cells function. A recent review (4) suggested that the immunodeficiency can vary to the extent that immune dysfunction may be presented as classical ADA-SCID, and be delayed by a few months, or be presented later in childhood at 3 to 8 years of age as a milder combined immunodeficiency associated with lymphocytes ADA activity of 1 to 2 % of normal. These presentation can occur within the same family (5,6), which suggested that environmental or genetic factors other than the defective ADA alleles may influence the course of the disease.

The activity of ADA seems to vary in a number of diseases .in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), ADA activity was significantly higher than those found in controls (7). On the contrary, patients with neck and head cancer have decreased levels of ADA activity in their peripheral lymphocytes (8) fluctuated activity of ADA in serum has also been found in breast cancer (9).

MATERIALS AND METHODS

The study samples

62 female patients admitted to the Tumors Consultancy Clinic Al-Amal hospital for tumors treatment-Baghdad were included in this study. These patients were suffered from breast cancer. In addition, 43 healthy women of different ages have been treated as control.

Adenosine deaminase activity assay

The activity of adenosine deaminase was determined in bone marrow, spleen and thymus cells according to the method of Giusti (10).

1-Reagents:

All reagents were of Analar grade, and prepared at the time of assay to avoid any interferes with the results.

Phosphate buffer (50 mM): 4.73 gm of hydrated sodium dihydrogen phosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)-(Riedel-de Haen) and 5.62 gm of hydrated disodium hydrogen phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)-(Riedel-de Haen) were dissolved in deionized distilled water (DDW), bringing the final volume to 1 litre and adjusting the PH to 6.5 with phosphoric acid (H_3PO_4)-(BDH).

Buffered adenosine solution (21 mM adenosine, 50 mM phosphate): 15 ml of phosphate buffer was added to 140 mg of adenosine ($\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$)-(BDH) and warmed in a 70°C water bath for 10 minutes then cooled under running water. The PH was adjusted to 6.5 with phosphoric acid and the volume was brought to 25 ml with phosphate buffer.

Ammonium sulphate stock solution (15 mM): 1.982 gm of anhydrous ammonium sulphate ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)-(Fluka) were dissolved in DDW bringing the final volume to 1 litre.

Ammonium sulphate standard solution: 0.5 ml of ammonium sulphate stock solution was diluted to 100 ml with phosphate buffer.

Phenol/nitroprusside solution (106 mM phenol ;0.17 mM sodium nitroprusside): 10 gm of phenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$)-(BDH) and 50 mg of sodium nitroprusside ($\text{Na}_2\{\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)-(BDH) were dissolved in DDW bringing the final volume to 1 litre.

Sodium hydroxide solution (1N): 40 gm of sodium hydroxide (NaOH)-(Fluka) were dissolved in DDW bringing the final volume to 1 litre.

Alkaline hypochlorite solution (11 mM NaOCl; 125 mM NaOH): 125 ml of 1N sodium hydroxide solution and 16.4 ml of sodium hypochlorite (NaOCl-5% W/V)-(Fluka) were mixed with DDW bringing the final volume to 1 litre.

2- Assay procedure:

One adenosine blank, one reagent blank and one standard were prepared for the whole series and a corresponding number of sample blank and samples (one for each sample) were prepared according to table (1). The specific activity of the enzyme is expressed as units/mg protein.

The calculations were made as follows:

$$E_{\text{sample}} - E_{\text{sample blank}} = A$$

$$E_{\text{adenosine blank}} - E_{\text{reagent blank}} = B$$

$$E_{\text{standard}} - E_{\text{reagent blank}} = C$$

$$\text{Volume activity} = \frac{A - B}{C} \times 50 \quad (\text{U/l}) ; 37^{\circ}\text{c}$$

Table (1): Adenosine deaminase assay

Tubes Reagents	Reagents blank (ml)	Standard (ml)	Adenosine blank (ml)	Sample blank (ml)	Sample (ml)
Phosphate buffer	1.0	---	---	1.0	---
Buffered adenosine solution	---	---	1.0	---	1.0
Ammonium sulphate standard solution	---	1.0	---	---	---
Sample	---	---	---	0.05	0.05
D.D.W.	0.05	0.05	0.05	---	---
The contents are mixed, tubes stoppered and incubated for 60-min in 37°c water bath.					
Phenol/nitro prusside solution	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Alkaline hypochlorite solution	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

The last two solutions were added and the contents of the tube were mixed before pipetting into the next tube. The tubes were incubated for 30-min. in a 37°c water bath. The absorbancy (E) of the samples was read using a spectrophotometers (PU philips) at 628 n.m. against DDW.

Protein determination

The protein content in the samples was determined according to the method of Bradford (11) using 0.5 mg/100 cc. bovine serum albumine (sigma) as a standard.

Biuret solution: 9 mg of potassium tartarate dissolved in 500 ml solution of (NaOH 0.2 Mole; 8 gm/1L). 5 gm KI. Bringing the volume to 1L by use of 0.2 mole NaOH.

1-Assay procedure:

Reagents were prepared according to table (2) and the calculations were made as follows:

$$\text{Total protein} = \frac{E_{\text{sample}} - E_{\text{blank}}}{E_{\text{standard}} - E_{\text{blank}}} \times 5 \quad (\text{gm/100 cc.})$$

Table (2): Experimental design for protein estimation

Tubes Reagents	Standard solution (ml)	Sample (ml)	Blank (ml)
Sample	---	0.2	---
D.D.W.(blank)	---	1.8	2.0
Standard solution	2.0	---	---
Biuret solution	5.0	5.0	5.0

Statistical analysis

Data were analyzed by factorial analysis of variance. Data for cellular division, Replicative index and chromosomal analysis were transformed to logarithms to make them normally distributed. Investigations of variability between controls and the relation with other groups were carried out using stepwise multiple linear regression (12).

RESULTS AND DISCUSSION

Adenosine deaminase activity

Results of the ADA enzyme specific activity is important to give us clear picture of the human immune defense system. The data of ADA specific activity in sera of healthy control and patients group women are presented in table (3).

Table (3): ADA specific activity of sera from control group and patients groups treated with different doses of radiotherapy

Studied group	Mean value of ADA specific activity (u/mg)	P value
Control	216.09 ± 5.68 a	$(P \leq 0.01)$ S**
Patients group Before radiotherapy	122.91 ± 11.68 b	$(P \leq 0.01)$ S**
Dose –5 (1 st week)	31.84 ± 5.52 d	$(P \leq 0.01)$ S**
Dose –10 (2 nd week)	44.35 ± 3.53 c	$(P \leq 0.01)$ S**
Dose –15 (3 rd week)	48.80 ± 6.78 c	$(P \leq 0.01)$ S**
Dose –20 (4 th week)	32.00 ± 1.36 d	$(P \leq 0.01)$ S**
Dose –25 (5 th week)	47.06 ± 2.31 c	$(P \leq 0.01)$ S**
Dose –30 (6 th week)	24.80 ± 1.40 e	$(P \leq 0.01)$ S**

The patients groups are classified according to the dose of radiotherapy they received.

The specific activity of the Un-treated group was $(122.91 \pm 11.68$ u/mg) which is significantly lower than the value of the control sera $(216.09 \pm 5.68$ u/mg) ($P \leq 0.01$), while the sera of dose 5,10, 15,20,25 and dose30 groups of women had highly significant ($P \leq 0.01$) lower value of their ADA specific activity compared to the control group and Un-treated group (table 3).

ADA enzyme is one of the most essential immune enzymes. Its function gives picture of immune status of the body. It was found to play a critical role in the normal development of the immune system. ADA is also essential for proper development of T- and B-lymphocytes in mammals (4).

The reduction in specific activity of serum ADA of patients can be explained by the effect of the disease itself and the effect of chemotherapy and radiotherapy used in treatment of breast cancer. The mechanisms involved in these effects need further studies.

Resistance group almost have a higher ADA specific activity in their sera than that of the responding group (table 3). Similar results were recorded in breast tissue. Cancer cells have increased ADA activity and this might be a physiologic attempt of the cancer cells to provide more substrates needed by cancer cells to accelerate the salvage pathway activity (13). Furthermore, high ADA activity might also play role in the detoxification process of high amount of toxic adenosine and deoxyadenosine substrates produced from accelerated purine metabolism in the cancerous tissue (14). On the other hand, the damaging effect of methotrexate on the ADA immune enzyme is by blocking de novo purine biosynthesis, resulting in the accumulation on the intermediate 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribotide and its metabolites. These substances are involved in the mechanism of action of low dose methotrexate therapy by inhibiting enzyme crucial to immune function e.g 5-aminoimidazole-4-carboxamide was found to be a competitive inhibitor of adenosine deaminase (15).

This explains the effects of radiotherapy on the specific activity of ADA in sera of patients, which responded sensitively to several doses of radiotherapy.

REFERENCES

1. Al-Azawi AF. (1999). Radioprotective ability of *Nigella sativa* in mice. MSc thesis. Mosul University.
2. Al Abachi SZM. (2006). Enzymatic and biochemical changes in blood serum and tissues of benign and malignant brain tumors. Ph.D. Thesis. College of Science, Chemistry department . Mosul University. Iraq.
3. Polmar SH.; Stern RC.; Schwartz AL.; Wetzer EM.; Chase PA. and Hirschhorn R. (1996). Enzymereplacement therapy for adenosine deaminase deficiency and severe combined immunodeficiency. N-Engl. J. Med. 295:1337-1341.
4. Hirschhorn R. (1993). Overview of biochemical abnormalities and molecular genetics of adenosine deaminase deficiency. Pediatr. Res. 33:35.
5. Canbolat O.; Durak I.; Cetin R.; Kavutcu M.; Demirci S. and Ozturk S. (1996). Activities of adenosine deaminase, 5-nucleotidase guanase and cytidine deaminase enzymes in cancerous and non-cancerous human breast cancer tissues. Breast. Cnacer. Res. Treat. 37(2):189-193.
6. Ha T. and Baggott JE. (1994). 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribotide (AICR) and its metabolites: metabolic and cytotoxic effects and accumulation during methotrexate treatment. J. Nutri. Biochem. 5(11):522-528.
7. Kaise mann M.; Kritski A.; Pereira M. and Trajman A. (2004). Pleural fluid adenosine deaminase detection for the diagnosis of pleural tuberculosis. J. Bras. Pneumol. 30: 549-556.
8. Price NC. and Stevens L.(1989). Fundamental of enzymology. 2nd ed. Oxford University Press, New York.
9. Canbolat O.; Durak I.; Cetin R.; Kavutcu M. and Ozturk S. (1996). Activities of adenosine deaminase, 5' -nucleotidase, guanase and cytidine deaminase enzymes in cancerous and non-cancerous human breast tissues. Breast Cancer Res. Treat. 37(2):189-193.
10. Giusti G. (1981). Adenosine deaminase. In: Methods of enzymatic analysis. Vol. 2. (Bergmeyer, H.V., ed.), pp.; 1092-1099.
11. Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein -dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.
12. Sokal RR. and Rohlf F. (1981). Multiple and curvi-linear regression in: Sokal R.R (Ed.) Biometry Freeman, San Francisco, USA. Pp.: 617-690.
13. Spychala J. (2000). Tumor-promoting functions of adenosine. Pharmacol. Ther. 87(2-3):161-173.
14. Canbolat O.; Durak I.; Cetin R.; Kavutcu M.; Demirci S. and Ozturk S. (1996). Activities of adenosine deaminase, 5-nucleotidase guanase and cytidine deaminase enzymes in cancerous and non-cancerous human breast cancer tissues. Breast. Cnacer. Res. Treat. 37(2):189-193.
15. Jolly P.; Kelley W. and Orkin S. (2005). Adenosin deaminase inhibitors. J. Med. Chem.118: 428-431.

قسم الدراسات والبحوث العربية

ARABIC STUDIES AND RESEARCHES SECTION

الكشف عن إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف ESBLs في بكتيريا *Acinetobacter baumannii* المعزولة من حالات سريرية مختلفة باستعمال وسط CHROM agar ESBLs

رنا مجاهد عبد الله الشويخ ، رشا زياد طارق أحمد

قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم / جامعة بغداد / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: dr.rana_alshwaikh@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

تم الحصول على (40) عزلة لبكتيريا *Acinetobacter baumannii* من أصل (200) عزلة جمعت من حالات مرضية مختلفة شملت الجروح والحروق والخروج والتهابات المجاري البولية، والتهابات المسالك التنفسية وتجرثم الدم. أجري فحص الحساسية للمضادات الحيوية لإحدى عشر مضاداً حيواً وأظهرت العزلات تبايناً واضحاً في مقاومتها للمضادات الحيوية، حيث كانت مقاومة لمضادات (Cefotaxime , Ceftazidime , Cefixime) بنسبة (100) % ، فيما أظهرت مقاومة لمضاد Tobramycin بنسبة (87.5) %، ولمضاد (Trimethoprim , Norfloxacin) بنسبة (75) % ، ولمضاد Gentamycin (62.5) % ، ولمضاد Ciprofloxacin (60) % و (Pefloxacin) (52.5) % . وأظهرت العزلات أقل مقاومة لمضاد (Ampicillin) بنسبة (35) % ولمضاد (Imipenem) بنسبة (12.5) % . بينت نتائج الكشف عن إنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) باستعمال وسط الكروماجين (CHROM agar ESBLs) الخاص للكشف عن هذه الإنزيمات أن (37) عزلة منتجة للإنزيم بنسبة (92.5) % ، فيما كانت (3) عزلات بنسبة (7.5) % غير منتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs). تم التحري عن بعض عوامل الضراوة التي تمتلكها البكتيريا. وأظهرت النتائج أن (18) عزلة (45) % قابليتها على إنتاج الفيلم الحيوي (Biofilm) ، في حين أظهرت (13) عزلة بنسبة (32.5) % قابليتها على إنتاج إنزيم المحلل للدهون (Lipase). وكانت (7) عزلات فقط أثبتت قدرتها على إنتاج إنزيم المحلل للبروتين (Protease) بنسبة (17.5) %.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا ، كروماجين أكار ، إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف ، عوامل الضراوة.

Detection of ESBLs in *Acinetobacter baumannii* isolated from different clinical cases by using CHROM agar ESBLs

Rana M. Abdullah Al- Shwaikh and Rasha Z. T. Ahmed

Dept. of Biology / College of Education for Pure Sciences – Ibn- Al Haitham / University of Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

Forty (40) isolates of *Acinetobacter baumannii* were obtained out off (200) isolates collected from different cases including wounds, burns, stool, urinary tract infection urine, respiratory tract infection and blood samples. The isolates showed different sensitivity to antibiotics. All isolates were resistant to (Cefotaxime, Ceftazidime, Cefixime) (100) %. Most bacteria isolates were resistant to Tobramycin (87.5)%, Trimethoprim, Norfloxacin (75)% each of them, Gentamycin (62.5)%, Ciprofloxacin (60)% and Pefloxacin (52.5)%, while these isolates showed less resistance to Ampicillin (35) % and Imipenem (12.5)%. The result of detection ESBLs by using of ESBL CHROMagar showed (37) isolates (92.5) % were ESBLs positive. While only (3) isolates (7.5) % were ESBLs negative. The analysis of virulence factors showed 18 (45%) isolates were produced Biofilm, 13 (32.5%) isolates were Lipase activity, and 7 (17.5%) isolates showed ability to produce protease.

المقدمة

، مستشفى الكرخ العام ، مستشفى الحروق والجروح / مدينة الطب، والمختبرات التعليمية / مدينة الطب).

تشخيص البكتيريا

تم تشخيص العزلات باستعمال الأوساط الزرع التقليدية، ومنها وسط (MacConkey agar) و وسط (Blood agar). وتم استعمال كل من فحصي (Oxidase) و (Catalase). وللتشخيص النهائي تم استعمال عدة التشخيص (API 20 E) بنظام (Vitek) (2). وبعد التشخيص تم الحصول على (40) عزلة تعود لبكتيريا *Acinetobacter baumannii* (8).

اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية

تم اعتماد طريقة Kirby baure المذكورة في (9) لإجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية وباستعمال وسط (Muller Hinton agar) حيث تم استعمال كل من مضادات (Tobramycin ؛ Gentamicin ؛ Cefazidime ، Cefixime ؛ Imipenem ؛ Cefepime ؛ Cefotaxime ، Norfloxacin ، Ciprofloxacin ، Pefloxacin ، Trimethoprim-sulfamethoxazole). وتمت مقارنة النتائج مع الجداول القياسية المذكورة في (10) لتحديد قطر منطقة التثبيط.

الكشف عن إنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs)

للكشف عن إنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) لعزلات بكتيريا *Acinetobacter baumannii* قيد الدراسة، تم استعمال وسط الكروماجين الخاص للكشف عن إنزيمات (ESBLs)، وتم تحضير الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك بإذابة (33) غرام في (1) لتر من الماء المقطر، ثم عقم الوسط بدرجة (121) م° لمدة (15) دقيقة، وترك ليبرد بدرجة (50-45) م° من أجل إضافة (supplement).

تحضير supplement

وذلك حسب تعليمات الشركة المصنعة، حيث تم إذابة 0.57 غرام في (10) مل ماء مقطر معقم وخلط جيدا باستعمال (vortex)، ثم أضيف إلى وسط (CHROMagar Orientation) المبرد بدرجة حرارة (50-45) م° وخلط جيدا للحصول على وسط (ESBLs CHROMagar)، ثم صب في أطباق معقمة وحفظ في الظلام لحين الاستعمال.

التحري عن العزلات المنتجة للفيلم الحيوي Biofilm formation

تم التحري عن قابلية العزلات تكوين الفيلم الحيوي وذلك بتلقيح أنابيب تحتوي على وسط (Tryptone soy broth) بالمستعمرات البكتيرية، وحضنت في درجة حرارة (37) م° لمدة (48) ساعة، وبعدها تم التخلص من المزرعة السائلة بحذر، ثم استخدمت صيغة (Crystal violet) بتركيز 1% لمدة 30 دقيقة. غسلت بالماء المقطر. ثم قورنت النتائج مع السيطرة السالبة وملاحظة تكون طبقة الفيلم الحيوي ملتصقة على جدران الأنابيب الزجاجية بالعين المجردة (11).

التحري عن إنتاج إنزيم الحال للبروتين Protease production

تم الكشف عن إنتاج الإنزيم المحلل للدهون باستعمال وسط أكار الحليب الفرز (Skimmed milk agar) (10%)، ونقلت المستعمرات النقية إلى وسط الحليب الفرز وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة 37 م°. وجرى ملاحظة العزلات المنتجة للإنزيم المحلل للدهون من خلال ظهور منطقة شفافة حول المستعمرة (12).

يعد جنس *Acinetobacter* من البكتيريا السالبة لصبغة كرام (Gram negative)، وسالبة في فحص (oxidase)، وموجبة في فحص (Catalase)، غير متحركة (non-motile)، وغير مكونة للспорات (non-spore forming). وهي هوائية strictly (aerobic) كروية عصوية (coco bacilli) تتواجد بشكل طبيعي في الطبيعة (1). تنتقل هذه البكتيريا إلى الأشخاص الأصحاء عن طريق المستشفيات (nosocomial infection)، أو من محيط المستشفيات (hospital environment) (2).

يوجد 31 نوع لبكتيريا *Acinetobacter*، وأهم نوع يعود لجنس *Acinetobacter baumannii* والتي عزلت من حالات تسمم الدم، وتسبب العديد من الإصابات خاصة في المستشفيات (nosocomial pneumonia) ومرضى العناية المركزة (Intensive care unite)، وتسبب الإصابات أثناء العمليات الجراحية، أو القسطرة البولية (indwelling urinary catheters) (3).

تسبب هذه البكتيريا العديد من الأمراض، منها التهاب المجاري البولية (Urinary tract Infection)، والتهاب المسالك التنفسية (Respiratory tract Infection)، والتهابات الجروح (Wound Infection) وتسمم الدم (Septicemia). كما تسبب التهاب الجلد (Skin) والأنسجة الرخوة (soft tissue infection) والتهاب شغاف القلب (endocarditis) والتهاب السحايا (meningitis) والتهابات ذات الرئة (Pneumonia). ومن العوامل التي تساعد على حدوث الإصابة بالبكتيريا العمر أو أثناء الجراحة أو بعدها (Surgery). والأشخاص المصابون بقلة المناعة (immune depression)، وعند استعمال المضادات الحيوية وخاصة الأشخاص الذين يتواجدون لفترات طويلة بالمستشفى وفي وحدة العناية المركزة (intensive care unite) (4).

يعود سبب إمرضية هذه البكتيريا إلى امتلاكها العديد من عوامل الضراوة، ومنها (curli fibers و cytotoxic; necrotizing factor و siderophore و aerobactin)، وإنتاج (Colicin V). وتمتلك القدرة على تكوين الفيلم الحيوي (Biofilm formation) وتكوين الجيلاتين (Gelatinase) والسكريات المتعددة (activity) والكبسولة (Capsular) و تنتج بعض أنواع الإنزيمات المحللة، منها الإنزيم المحلل للبروتين (Protease)، والإنزيم المحلل للدهون (Lipase) (5). إضافة إلى أن هذه البكتيريا مقاومة للعديد من المضادات الحيوية، ومنها مضادات مجموعة السيفالوسبورينات (Cephalosporins)، البنسلينات واسعة الطيف (broad-spectrum penicillins)، والفلوروكوينولونات (fluoroquinolones)، والكاربنيسلين (carbapenems)، ومجموعة الأمينوكليوسايد (aminoglycosides)، والتتراسايكلين (tetracyclines) (2) (6).

ظهرت في الآونة الأخيرة أوساط الكروماجين (CHROM agar) التي تستعمل لتشخيص البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، ويمكن الاعتماد عليها بالتشخيص السريع للبكتيريا، إضافة إلى ظهور أوساط الكروماجين (CHROM agar) التي تستعمل للكشف عن قابلية البكتيريا لإنتاج بعض الإنزيمات المهمة والمتخصصة، مما يسهل عملية التشخيص ومعرفة قابلية البكتيريا لمقاومة المضادات الحيوية وتحديد العلاج بالسرعة الممكنة، ومنها وسط (CHROM agar ESBLs) (7).

المواد وطرق العمل

جمع العينات

جمعت (200) عزلة من حالات مرضية مختلفة وهي (الجروح، الحروق، الخروج، التهاب المجاري البولية، التهابات المسالك التنفسية، وتجترم الدم) للفترة من 9/1/2016 حتى 11/30/2016، ومن عدة مستشفيات في بغداد (مستشفى الطفل المركزي التعليمي، مستشفى بغداد التعليمي، مستشفى حماية الطفل، مستشفى الكرامة، مستشفى الامام علي، مستشفى البرموك التعليمي

(Ciprofloxacin) (60) %، و (Pefloxacin) (52.5) % . وأظهرت العزلات أقل مقاومة لمضاد (Ampicillin) ونسبة (35) %، ولمضاد (Imipenem) بنسبة (12.5) % (جدول رقم 2).

وقد وجد Jabur (14) أن نسبة مقاومة هذه البكتيريا لمضادات التتراسايكلين كانت 100 % وللأميسلين 70 % وسيفوتاكسيم 60 % والسيفولوكساسين 30 % و للجنتاميسين 40 % . إن مقاومة بكتيريا *Acinetobacter baumannii* لكل من مضادات cefotaxime , ceftazidime , cefepime , Gentamicin (ciprofloxacin) يعود إلى امتلاكها إنزيمات المقاومة للمضادات الحيوية (*gyr A* , *Par C*) ، فحدوث طفرات في (QRDR) في الموقعين 83 و 80 للجينات المسؤولة عن مقاومة مضادات الكينولونات والذي يشفر لكل من (DNA gyrase , topoisomerase IV) إضافة إلى امتلاك البكتيريا جينات المقاومة لمضادات البيتا لاكتاميز ومنها (*bla TEM* , *bla OXA-1* , *bla OXA-51* , *bla OXA-58*) ، وامتلاك البكتيريا لكل من جيني (*aacC1* و *aacC2*) المسؤولين عن مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسايد، كما تمتلك البكتيريا نظاما للدفع Efflux (pumps) (5، 6) .

جدول رقم (2): النسب المئوية لمقاومة البكتيريا *Acinetobacter baumannii* لمجاميع مختلفة من المضادات الحيوية

اسم المضاد	المقاومة Resistance	المتوسطة Intermediate	الحساسة Sensitive
العدد	%	العدد	%
Ciprofloxacin	24	60	12
Pefloxacin	21	52.5	17
Ampicillin	14	35	24
Cefotaxime	40	100	0
Gentamicin	25	62.5	15
Imipenem	5	12.5	23
Trimethoprim	30	75	10
Tobramycin	35	87.5	5
Ceftazidime	40	100	0
Norfloxacin	30	75	10
Cefixime	40	100	0

وبينت نتائج الكشف عن إنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) باستعمال وسط الكروماجين (ESBL) (CHROMagar) الخاص للكشف عن هذه الإنزيمات أن (37) عذلة كانت منتجة للإنزيم وبنسبة (92.5) %، فيما كانت 3 عزلات فقط وبنسبة (7.5) % غير منتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs). ويمكن ملاحظة عدد العزلات والنسب المئوية لإنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) في جدول رقم (3). لقد بينت الدراسات الحديثة أن استعمال وسط الكروماجين يعتبر من الطرق السريعة للكشف عن مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية، حيث يستعمل وسط (CHROM agar KPC) الخاص للكشف عن مقاومة البكتيريا العائدة للعائلة المعوية *Enterobacteriaceae* لمضاد (Carbapenem) (15) .

جدول رقم (3): عدد العزلات والنسب المئوية لإنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs)

مصدر العزلة	عدد العزلات المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) (%)	عدد العزلات غير المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) (%)
تجرثم الدم (Bacteremia)	9 (22.5)	0
التهاب المسالك التنفسية /القصع (Respiratory tract Infection)	4 (10)	0
الجروح (wound)	4 (10)	0
الحروق (Burns)	7 (71.5)	1 (2.5)
الخروج (Stool)	12 (30)	2 (5)
التهاب المسالك البولية (UTI)	1 (2.5)	0
العدد الكلي Total	37 (92.5)	3 (7.5)

التحري عن إنتاج الإنزيم المحلل للدهون Lipase Production

للكشف عن قابلية البكتيريا على تحليل الدهون، تم استخدام وسط (Tween 80) وذلك بزراعة العزلات البكتيرية على هذا الوسط وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37°م ، واعتبرت النتيجة موجبة بعد ظهور هالة شفافة حول الحفر (13).

النتائج والمناقشة

بعد إجراء التحليلات اللازمة لتشخيص البكتيريا، وبإلزامها على طريقة (8)، تم الحصول على (40) عذلة تعود لبكتيريا *Acinetobacter baumannii* من أصل (200) عذلة جمعت من حالات مرضية مختلفة، شملت الخروج (14) عذلة وبنسبة (35) %، تليها تجرثم الدم (9) عزلات بنسبة (22.5) %، الحروق (8) عزلات وبنسبة (20) % والجروح والتهابات المسالك التنفسية (4) عزلات وبنسبة (10) % لكل منهما، وأخيرا التهابات المجاري البولية وكانت عذلة واحد وبنسبة (2.5) % (جدول رقم 1).

جدول رقم (1): المصدر والعدد والنسب المئوية لعزلات البكتيريا *Acinetobacter baumannii*

مصدر عزلات بكتيريا <i>A.baumannii</i>	عدد العزلات	النسبة المئوية %
تجرثم الدم (Bacteremia)	9	22.5
التهاب المجاري التنفسية (respiratory tract infection)	4	10
الجروح (wound)	4	10
الحروق (Burns)	8	20
الخروج (Stool)	14	35
التهاب المسالك البولية UTI	1	2.5
العدد الكلي	40	100

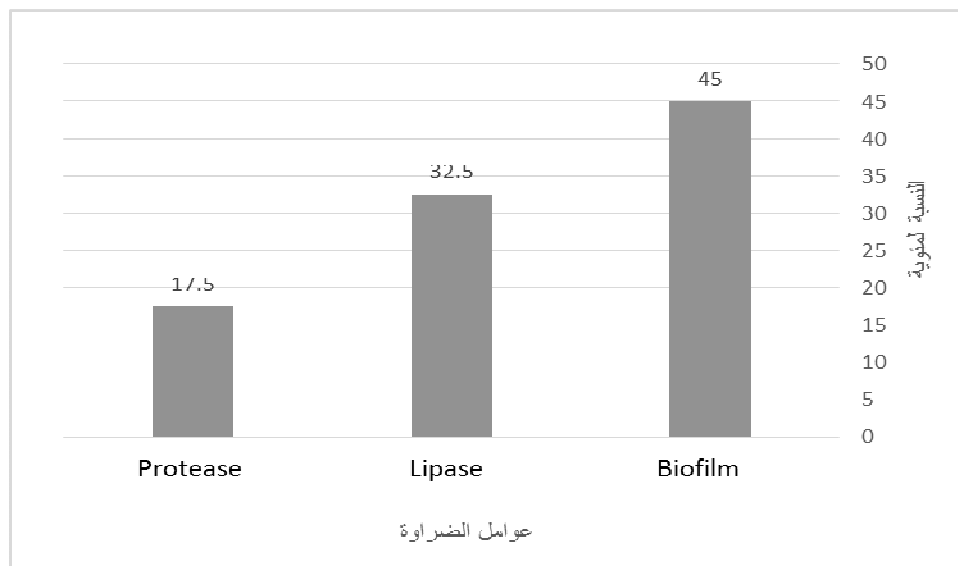
وقد وجدت بعض الدراسات أن بإمكان هذه البكتيريا التواجد على سطح الجلد للإنسان، وعلى السطوح الجافة لعدة أسابيع، وهي من أكثر أنواع البكتيريا التي تسبب حالات تسمم الدم (Septicemia)، وبعدها تأتي إصابات الجهاز التنفسي (respiratory tract)، وعزلت من سائل نخاع الشوكي (CSF) و (peritoneal fluid)، ومن إصابات ذات الرئة المكتسبة من المستشفيات (nosocomial pneumonia infection)، ومن حالات (Continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) (3).

أجري فحص الحساسية للمضادات الحيوية وعددها (11) مضاداً حيويًا، وأظهرت العزلات تبايناً واضحاً في مقاومتها للمضادات الحيوية، حيث كانت مقاومة لمضادات (Cefotaxime , Cefixime , Ceftazidime) بنسبة (100) %، فيما أظهرت مقاومة لمضاد (Tobramycin) بنسبة (87.5) %، ولمضاد (Trimethoprim , Norfloxacin) بنسبة (75) % لكل منهما، ولمضاد (Gentamycin) (62.5) %، ولمضاد

البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) تسبب زيادة في مقاومة المضادات الحيوية وبالأخص (Ceftazidime Aztreonam)، وقد تحصل طفرات في جينات المشفرة لهذه الإنزيمات، مما يجعلها مقاومة لمضادات الجيل الثالث من السيفالوسبورينات و(Cefepime) (17).

تم التحري عن بعض عوامل الضراوة التي تمتلكها البكتيريا. وأظهرت النتائج أن 18 عزلة (45) % لديها القابلية على إنتاج (Biofilm)، في حين أظهرت (13) عزلة (32.5) % قابليتها على إنتاج الإنزيم المحلل للدهون (Lipase). وكانت (7) عزلات فقط أثبتت قدرتها على إنتاج الإنزيم المحلل للبروتين (Protease) ونسبة (17.5) % (شكل رقم 1).

بينت دراسة Al-Marjani *et al* (16) أن قابلية البكتيريا التابعة للعائلة المعوية على إنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز وإنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) والتي كانت سببا في تطور المقاومة لمضادات البيتا لاكتام خلال السنوات القليلة الماضية بسبب امتلاك البكتيريا للجينات المشفرة لإنزيمات البيتا لاكتاميز التي تنتقل عبر البلازميدات، مما ساعد على انتشارها ضمن مجموعات مختلفة من البكتيريا. واتفقت النتيجة مع دراسة (7)، حيث كانت نسبة البكتيريا المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) باستعمال وسط الكروماجين الخاص للكشف عن هذه الإنزيمات (60) عزلة منتجة للإنزيم وبنسبة (80) %. وقد بينت العديد من الدراسات أن إنتاج إنزيمات البيتا لاكتاميز هو السبب الرئيسي لمقاومة البكتيريا لمضادات البيتا لاكتام، وأن امتلاك البكتيريا لإنزيمات



شكل رقم (1): النسب المئوية لعوامل الضراوة التي تمتلكها بكتيريا *A. baumannii*

المصادر

1. Momtaz H.; Seifati S. and Tavakol M. (2015). Determining the prevalence and detection of the most prevalent virulence genes in *Acinetobacter Baumannii* isolated from hospital infections. Int. J. Med. Lab. 2(2): 87-97.
2. Daryanavard R. and Safaei HS. (2015). Virulence genes and antimicrobial resistance properties of *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatrics suffered from UTIs. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci. 2(11): 272-279.
3. Sundar SK.; Kumari TP.; Vijayalakshmi B. and Murugan M. (2014). Isolation and 16S rRNA sequencing of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 3(5): 855-858.
4. Braun G. and Vidotto M. (2004). Evaluation of adherence, hemagglutination, and presence of genes codifying for virulence factors of *acinetobacter baumannii* causing urinary tract infection. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 99(8): 839-844.
5. Abdulla AA.; Al-Thahab AA.; Abed TA.; Mahdi RK. and Fadhil S. (2015). Screening of virulence factors in *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples. Int. J. Curr. Res. Acad. Rev. 3(6): 128-134.

بينت العديد من الدراسات أن عزلات بكتيريا *Acinetobacter baumannii* المعزولة من حالات سريرية مختلفة لها القدرة على تكوين الفيلم الحيوي على السطوح الزجاجية وبنسبة 100% في حين وجد في دراسة أخرى أن نسبة إنتاج الفيلم الحيوي تصل إلى (81.2) %. وقد وجد أن البكتيريا التي تنتج الفيلم الحيوي تكون مقاومة للمضادات الحيوية ومقاومة للاستساغة (Opsonisation) ومقاومة للبلعمة (Phagocytosis) والظروف البيئية المختلفة، بالإضافة إلى قابلية البكتيريا على الالتصاق وذلك نتيجة امتلاكها للفيلم الحيوي (Biofilms) (5، 18، 19). كما تمتلك البكتيريا العديد من الإنزيمات المحللة، والتي تعد من عوامل الضراوة لهذه البكتيريا ومنها الإنزيم المحلل للبروتين (Protease) والذي يفرز خارج الخلية. وقد وجد في إحدى الدراسات أن قابلية إنتاج البكتيريا لهذا الإنزيم عالية وأيضاً من الإنزيمات الأخرى التي تنتجها هذه البكتيريا الإنزيم المحلل للدهون (Lipase) والذي يعد أيضاً من عوامل الضراوة. كما استنتجت إحدى الدراسات أن نسبة إنتاجه من قبل البكتيريا تصل إلى 54 %، وهي نسبة عالية مقارنة مع نتائج الدراسة الحالية (18، 19).

6. Regueroa MT.; Medinaa OE.; Hernndez MA.; Fleza DV.; Valenzuelaa EM. and Mantillaa JR. (2013). Antibiotic resistance patterns of *Acinetobacter calcoaceticus*–*A. baumannii* complex species from Colombian hospitals. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* 31(3):142–146.
7. Abdullah RM. and Mehdi AF. (2015). Detection of ESBLs in multi resistance *Pseudomonas aeruginosa* using CHROM agar ESBLs. *J. Coll. Basic Edu.* 21(90):61-68.
8. Baron EJ.; Finegold SM. and Peterson ILR.(2007). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology.* 9th ed. Mosby Company. Missouri.
9. Vandepitte J.; Verhaegen J.; Engbaek K.; Rohner P.; Piot P. and Heuck CC. (2003). *Basic laboratory procedures in clinical Bacteriology.* 2nd ed. World Health Organization Geneva. Pp: 109-120.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement.* CLSI Document M 100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
11. Christensen GD.; Simpson WA.; Bison AL and Beachy H. (1982). Adherence of slime – producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect. Immune.* 37:317-326.
12. Senior BW. (1999). Investigation of the types and characteristics of the proteolytic enzyme formed by diverse strains of *Proteus* species. *J. Med. Microbiol.* 48: 623 -628.
13. Cowan ST. (1986). *Manual for the identification of medical bacteria.* 2nd ed. Cambridg University Press. Cambridg, New York.
14. Jabur MH. (2014). Isolation of *Acinetobacter baumannii* from different clinical source and study some Antibiotic resistant and β -lactamase production. *Med. J. Babylon.* 11(2):456-464.
15. Samra Z.; Bahar J.; Madar-Shapiro L.; Aziz N.; Isral S. and Bishara J. (2008). Evaluation of CHROMagar KPC for rapid detection of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.* 46(9): 3110–3111.
16. Al-Marjani MF.; Jafere FN.; Abdul Hussain MT.; Mezeal EA.; Sahhte Z A.; Hamza AH.; Shanuor KJ. and Asmaeal MH. (2008). Study of B-lactamases producing enterobacteria isolated from German cockroach (*Blatella germanica*) in hospitals. *Diala. Jour.* 29.
17. Bonomo R. and Szabo D. (2006). Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *CID.* 43(2):546-556.
18. Al-Warid RM. and Al-Thahab ALA. (2014). Isolation and identification of *Acinetobacter baumannii* in Hilla city. *Int. J. Adv. Biol. Res.* 4(1): 4-8.
19. Al- Dulaimi AAF.; Al-Taai HRR. and Al-Bajlany SMM. (2015). Virulence factor of *Acinetobacter baumannii* isolate from different clinical specimens in Baquba. *Diyala J. Pure Sci.* 13(1):13-26.

تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص قشر وهلام أوراق نبات الصبّار *Aloe vera* في هلاك بالغات عثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella*

سندس حسين علوان

قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة سامراء / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: sundusalsamarraie@gmail.com

الملخص باللغة العربية

تناولت هذه الدراسة تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لقشر وهلام أوراق نبات الصبّار *Aloe vera* على بالغات عثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella* بعد مرور (24، 48) ساعة. أظهرت النتائج أن المستخلص المائي لقشر أوراق نبات الصبّار كان ذا فعالية أعلى من الهلام، وأن أعلى فرق معنوي بين المعاملات كان عند التركيز (100%)، إذ بلغت نسبة هلاك الحشرة (60%، 90%) بعد مرور (24، 48) ساعة من المعاملة على التوالي. كما كان أقل فرق معنوي بين المعاملات عند التركيز 25% بعد مرور (24، 48) ساعة من المعاملة، إذ بلغ (5%، 25%) على التوالي.

الكلمات المفتاحية: الصبّار، المستخلص المائي، بالغات حشرة عثة الطحين الهندية Indian mealmoth

The effect of different concentrations of the peel and gel of *Aloe vera* plant leaves extract in the decimation of Indian mealmoth adults *Plodia interpunctella*

Sundus H. Alwan

Dept. of Biology/ College of Education / University of Samarra / Republic of Iraq

ABSTRACT

The study dealt with the impact of different concentrations of the aqueous *Aloe vera* leaves' husk and jelly on the *Plodia interpunctella* adults after (24, 48) hrs. The results showed that the aqueous extract of the *Aloe vera* leaves' husk was superior to the jelly in its activity. The higher significant difference among the treated insects was at concentration of (100 %), the perdition in insects amounted to (60 %, 90 %) after (24, 48) hours of treating respectively. The least significant difference among the treated insects was at (25 %) after (24, 48) hours of treating and amounted to (5%, 25 %) respectively.

المقدمة

طريقة جمع العينات الحشرية

جمعت العينات الحشرية لعثة الطحين الهندية (*Plodia interpunctella*) من (25) منزلاً للتمور في سامراء، والتي كانت مصابة بعثة الطحين الهندية وبأطوار مختلفة. وتم تجميع بالغات الحشرة باستخدام المصائد الهوائية (6).

النتائج والمناقشة

تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لقشر أوراق الصبار *Aloe vera* في هلاك بالغات عثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella* بعد مرور 24 و 48 ساعة:

أظهرت النتائج في جدول رقم (1) أن نسبة القتل لمستخلص قشر أوراق الصبار عند التركيز 25% بلغت (9%) بعد مرور 24 ساعة من المعاملة، في حين بلغت نسبة الهلاك (32%) عند التركيز نفسه بعد مرور 48 ساعة من المعاملة بالمقارنة مع عينة السيطرة، والتي لم يحصل فيها أي نسبة هلاك للبالغات. وعند نسبة التركيز 50% بلغت نسبة الهلاك (33%) بعد مرور 24 ساعة من المعاملة، في حين بلغت (61%) بعد مرور 48 ساعة من المعاملة. أما عند التركيز 75% بلغت نسبة القتل (72%) و(86%) بعد مرور 24 ساعة و48 ساعة من المعاملة على التوالي. أما عند التركيز 100% فقد بلغت نسبة القتل (93%) و(100%) بعد مرور 24 ساعة و48 ساعة من المعاملة على التوالي. بذلك يمكن استنتاج أنه كلما زاد التركيز كلما زادت نسبة القتل، كما أن التأثير التراكمي للمواد السمية للمستخلص في القناة الهضمية للحشرة يؤدي إلى تلف الإنزيمات المسؤولة عن إزالة السمية والمعروف باسم MFO (Mixed Function Oxidase)، كما أن مدة التعرض للمستخلص لها تأثير فعال في جيل الحشرة قيد الدراسة. وأيضاً، فإن تعريض حشرة عثة الطحين الهندية لتراكيز مختلفة من المستخلص أدى إلى قصر عملية الطيران لدى الحشرة بسبب التلف الميكانيكي الناتج عن تعرض حراشف الجناح إلى البلل ومن ثم عدم قابلية الحشرة على الطيران. وبهذا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة الشكري (7)، الذي توصل إلى أن تعريض البعوضة *Culex pipiens* المستمر للمستخلصات النباتية يؤدي إلى تراكم المواد السمية لهذه المستخلصات في القناة الهضمية للحشرة. كما وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة كل من (8، 9) حيث بينت أن لعامل مدة التعرض للمادة الفعالة تأثيراً أكبر من الجرعة المستخدمة، وهذا يتفق مع ما توصلت إليه نتائج الدراسة الحالية والتي أكدت أنه كلما زادت الفترة الزمنية التي تتعرض لها الحشرة لتراكيز مختلفة لمستخلص الصبار تزداد نسبة القتل. كما أشار الكثير من البحوث والدراسات أن التأثير القاتل لقشر أوراق الصبار تعود لاحتوائه على مادة الإلين *Aloin* المسرطنة والتي هي عبارة عن مادة تسيل على شكل عصارة صفراء اللون والتي عند تعرض الحشرة لها تؤدي إلى تحللها وموتها (10). كما أن لهذه المادة تأثيراً مسرطناً. كما بينت الدراسة أن نبات الصبار يمتلك مجموعة من الإنزيمات ومنها إنزيم الليبيز *Lipase*، الذي يعمل على تحلل الطبقة الدهنية وهذا ما تم ملاحظته خلال الدراسة الحالية والتي بينت أن لنبات الصبار فعالية عالية في حل الطبقة الدهنية للحشرة، وبالتالي موتها. من ناحية أخرى، أشارت نتائج دراسة (11) إلى احتواء أوراق نبات الصبار على مواد كيميائية ذات أثر طبي واحتوائها أحماض أمينية، والتي تكون كوسيلة علاجية نافعة ضد لدغات الحشرات. وقد أشارت دراسة (12) إلى أن تناول خلاصة أوراق وهلام الصبار *Aloe vera* يؤدي إلى اختلال توازن الأيونات داخل جسم الكائن الحي، مما يؤدي إلى خلل في عمل الجهاز الإبرازي وبالتالي يؤدي إلى موت الكائن الحي.

تعتبر عثة الطحين الهندية (*Plodia interpunctella*) Indian mealmoth من أخطر الآفات المخزنية، وهي ذات مدى واسع من العوائل الغذائية مثل الحبوب ومخازن التمر وفاكهة النقل والشكولاتة وطحين الذرة، الذي يسمى الطحين الهندي indian meal. ومن هنا جاءت تسميتها. تصيب أيضاً الطحين الاعتيادي والبقول. وقد توجد في بعض حقول العنب، فتتغذى على الزبيب المجفف في أغصان بعض الأشجار وفضلات الفاكهة والفاكهة المتروكة مثل التوت، لب الخوخ والمشمش، وكذلك ثمار التمر على أشجاره (1). قد تدخل اليرقات الفتية في الشقوق الضيقة جداً وقد تصيب الفواكه المجففة في الأغصان أو مواد التغليف المنيعة، حيث تتسلق أو تزحف وتطلق أثناء ذلك الحرير. يكمن الضرر الاقتصادي لعثة الطحين الهندية بتغذيتها بصورة مباشرة على الحبوب المخزونة والفواكه والتمور، وكذلك تغذيتها على جنين البذرة. كما يعتبر الطور اليرقي أكثر أطوار الحشرة خطورة لتغذيتها على كافة المواد المخزونة وانسلاخها، وطرح قشور الانسلاخ والفضلات النيتروجينية على المواد التي تصيبها، كما أنها تسبب زيادة المحتوى الرطوبي للمواد المخزونة، مما يؤدي إلى تعفنها. وتجعل المواد الغذائية غير مقبولة وغير صالحة للاستهلاك. وقد يؤدي تغذي الإنسان والحيوان على المواد التي تصيبها هذه الحشرة إلى اضطراب صحته وإصابته بأمراض خطيرة من أمثلتها التلثف النسيجي (2). ونظراً للخطورة التي تشكلها هذه الآفة على الصحة العامة والضرر الاقتصادي Economic damage الذي تسببه عندما تصيب المواد المخزونة، وبسبب التوجيهات الحديثة حول عدم استخدام المبيدات الكيميائية في مكافحة حشرات المخازن لما لها من أضرار وخيمة في المستقبل، فقد لجأت الدراسات الحديثة لاستخدام طرق بيولوجية بحتة للقضاء على هذه الآفة والآفات الأخرى، والذي استخدم فيه المستخلصات النباتية للحد من تكاثر وانتشار هذه الآفة. وفي دراستنا الحالية، تم استخدام نبات الصبار *Aloe vera* لفعاليته العالية في القضاء على بالغات هذه الحشرة. يحتوي نبات الصبار *Aloe vera* على أكثر من (75) من المغذيات و(200) من المركبات النشطة بما في ذلك المعادن والسكر واللكتين وإنثراكوينونين والصابونين وحامض السلساليك (3). وقد تم استخدام مستخلص العصير كمخدر خام في الغرب (4).

المواد وطرق العمل

طريقة جمع النباتات

تم الحصول على نبات الصبار *Aloe vera* من أحد المشاتل في مدينة سامراء. وتم عزل الأوراق الناضجة والجيدة من النبات وغسلت تحت الماء جيداً لإزالة الأوساخ والأتربة منها. وتمت إزالة الأشواك من جانبي كل ورقة، كما أزيلت القشرة الخضراء الخارجية من الأوراق باستخدام سكين حادة ومعقمة. تم استخراج الهلام الشفاف وقطع إلى أجزاء ووضع في خلط كهربائي وخلط جيداً للحصول على عصير شفاف تم ترشيحه بواسطة ورق الترشيح filter papers وحضر منه أربعة تراكيز باستخدام الماء المقطر distilled water وهي: 25% و 50% و 75% و 100%. كما أخذت قشور الأوراق فقط وقطعت بالسكين ووضع في الخلط وأضيف لها القليل من الماء المقطر، وتم خلطها جيداً حتى تكون عصيراً تم ترشيحه بواسطة الشاش ثم بأوراق الترشيح وعمل أربعة تراكيز هي: 25% و 50% و 75% و 100%، وحفظت في قنن معقمة محكمة الإغلاق لحين الاستخدام. تم استخدام (50) حشرة من عثة الطحين الهندية لكل مكرر، وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز. تمت معاملة بالغات الحشرة بالتراكيز المحضرة بمقدار (1) مل من كل من مستخلص القشر والهلام ولكل تركيز، إذ تم وضع كل (50) حشرة في screw cap زجاجي معقم وضع فيه (1) مل من المستخلص، وسجلت النتائج التي تم ملاحظتها بعد مرور (24) و (48) ساعة من المعاملة لكل تركيز. وتم احتساب معدل الهلاك للبالغات بحسب طريقة (5).

جدول رقم (1): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لقشر أوراق الصبار *Aloe vera* في هلاك بالغات عثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella* بعد مرور 24 و 48 ساعة

تركيز المستخلص المائي %	النسبة المئوية لهلاك البالغات		المعدل
	بعد 24 ساعة	بعد 48 ساعة	
25	9Aa	32Ba	20.5aC
50	33Ab	61Cb	47bB
75	72Ac	86cD	79cB
100	93Ad	100Bd	95.5Cd
المعدل	51.75Aa	69.75Bb	0.0

* الأحرف الصغيرة المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروقات معنوية بينها.
* الأحرف الكبيرة المتشابهة في السطر الواحد تعني عدم وجود فروقات معنوية بينها.

تأثير تراكيز مختلفة من هلام الصبار *Aloe vera* في هلاك بالغات عثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella* بعد مرور 24 و 48 ساعة:

أوضحت النتائج في الجدول رقم (2) أن نسبة القتل لهلام أوراق نبات الصبار كانت (5%) و (25%) بعد مرور 24 ساعة و 48 ساعة من المعاملة عند التركيز 25%. وبلغت نسبة القتل (25%) و (55%) بعد مرور 24 ساعة و 48 ساعة من المعاملة وعند التركيز 50% على التوالي، في حين بلغت نسبة القتل (45%) و (75%) بعد مرور 24 ساعة و 48 ساعة من المعاملة عند التركيز 75% وعلى التوالي. أما عند التركيز 100% فقد بلغت نسبة القتل (60%) و (90%) بعد مرور 24 ساعة و 48 ساعة من المعاملة على التوالي. من ذلك نستنتج بأن زيادة التركيز تؤدي إلى زيادة نسبة القتل. وقد يعزى سبب ذلك إلى انخفاض فعالية الإنزيمات المسؤولة عن إزالة السمية والمؤيضة للمواد السامة، مما يتيح الفرصة لجزيئات هلام نبات الصبار بالوصول إلى أهدافها دون أن تتعرض لتفاعلات إزالة السمية. أو قد يعزى ذلك إلى احتمال تحويلها إلى نواتج أيضية سامة أكثر من المادة الأصلية بعملية التنشيط Activation، رغم أن الوظيفة الأساسية لهذه الإنزيمات هي تحويل المركبات السامة إلى نواتج أكثر قطبية بعملية إزالة السمية ليسهل طرحها خارج الجسم (13). ورغم ذلك، فإنه لا يمكن استبعاد احتمال

أن سبب السمية العالية لهلام الصبار هو ضعف تخصص إنزيمات إزالة السمية (14). وجاءت هذه النتائج مقاربة مع دراسة كل من (15، 16)، إذ وجدوا أن الزيوت المتطايرة من الكافور تسببت في قتل بالغات خنفساء البقوليات. كما أن لهلام نبات الصبار وما يحتويه من مواد مهلكة للحشرات تأثيراً في إحداث صدمات عصبية للحشرة مؤدياً إلى شل حركتها ومن ثم التسبب بموتها. وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي أجراها الدوري (17)، الذي أشار فيها إلى أن نسبة قتل كاملات خنفساء الحبوب الشعرية في الأكياس المعاملة بالمستخلص الكحولي لنبات درنات السعد قد زادت بزيادة مدة التعريض. من الجدير بالذكر أن هلام نبات الصبار يعتبر طريقة مثلى في إزالة المواد السامة التي تطرحها الحشرة، وبالتالي فإنه عند تناول الإنسان للتمور والمواد الغذائية المعاملة بهلام الصبار يؤدي إلى تثبيط فعل الجذور الحرة المتواجدة على سطوح الخلايا، والتي تؤدي إلى إصابة الإنسان بمرض السرطان وبالتالي تثبيط الإصابة بهذا المرض (18). كما أن لهلام الصبار تأثيراً على الحراشف المتواجدة في الأجنحة للحشرة قيد الدراسة، إذ يؤدي تلامس الهلام لهذه الحراشف إلى امتناع الحشرة عن الطيران وقصور حركتها بالإضافة إلى أن هلام الصبار يحوي مواد ممانعة للتغذية تؤدي إلى فقدان شهية الحشرة، مما يتسبب في موتها. وهذا ما تم ملاحظته من خلال الدراسة الحالية.

جدول رقم (2): تأثير تراكيز مختلفة من هلام أوراق الصبار *Aloe vera* في هلاك بالغات عثة الطحين *Plodia interpunctella* بعد مرور 24 و 48 ساعة

تركيز الهلام %	النسبة المئوية لهلاك البالغات		المعدل
	بعد 24 ساعة	بعد 48 ساعة	
25	5Aa	25Ba	15aC
50	25Ab	55Cb	40bB
75	45Ac	75cD	60cB
100	60Ad	90Bd	75Cd
المعدل	33.75Aa	61.25Bb	0.0

* الأحرف الصغيرة المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروقات معنوية بينها.
* الأحرف الكبيرة المتشابهة في السطر الواحد تعني عدم وجود فروقات معنوية بينها.

التحليل الإحصائي:

حللت البيانات إحصائياً باستخدام اختبار تحليل التباين (ANOVA) analysis One Way Variation وبتطبيق البرنامج الإحصائي Minitab. فورنت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستعمال اختبار دانكن المتعدد الحدود Duncans Multiple Rangetest بمستوى احتمالي $P < 0.05$ (19).

الهندية *Plodia interpunctella*. وهناك علاقة طردية بين عامل التعرض للمستخلص ونسبة القتل. إن المستخلص المائي لقشر أوراق الصبار له تأثير كبير بالمقارنة مع الهلام، كما يعتبر نبات الصبار *Aloe vera* طريقة بديلة ومثلى من طرائق مكافحة الحيوية Biological Control.

المصادر

1. اسماعيل، أياد يوسف الحاج . (2016). آفات النخيل المخزونة : عثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella*. ص ص : 122 – 123.

الاستنتاجات

من الملاحظ أن تأثير التراكيز المختلفة للمستخلص المائي لنبات الصبار *Aloe vera* كان متبايناً، وأن التركيز (100%) أعطى أعلى نسبة قتل على بالغات حشرة عثة الطحين

18. كيراند ، مور. (2014) . فوائد الألوفيرا في مكافحة الحيوية وتأثير هلامها على الحشرات. الطبعة الأولى.
19. الراوي، خاشع محمود، خلف الله، عبدالعزيز. (1982) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. ص: 488-489.
2. Charles W.; Rutschky E. and Calvin D. (2016). Insect the indian mealmoth *Plodia interpunctella*. The pennsylvania. State University. Pp.:1-2.
3. Qian H.; Liu C.; Eshun K. and Zhang T. (2005) . Quality and safety assurance in the processing of *Aloe vera* gel juice. Food Control. 16(2): 95-198.
4. Anonymous (2008). Post harvest technology for *Aloe vera* , All india coordinated Research project on post harvest Technology. Indian Council of Agricultural. Annual Report. Udaipur.
5. Ramachandra CT. and Rao S. (2006). Processing of aloe vera leaf gel: a focus on the present and innovative process technologies. In: Proc Int Conf Innovations in food and bioprocess technologies, AIT Pathumthami, Thailand, 12–14 December. pp.: 358–377.
6. أبو خشيم، ناجية خميسو. (1992) . علم الحشرات العملي . الطبعة الثانية . جامعة الفاتح . جمهورية ليبيا العربية . دار الكتب للطباعة والنشر، ص : 2 – 15.
7. الشكري، بدياء محسن . (2000) . تأثير مستخلصات أوراق نبات قرن الغزال (*staph.*) *Fabicea lutea* في بعض جوانات حياتية بعوضة الكولكس : *Culex pipiens* (Diptera : culicidae) رسالة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة بغداد.
8. El-Nahal AKM.; Schomidt CH. and Risha EM. (1989) . Vapors of acorus calamus oil aspaee treatment for strodproduct insects. J. Stor. Pro. Ress. 25(4):211- 216.
9. التكريتي، أحمد علي عيسى. (2001). التأثير السمي لمستخلصات السبج *Melia azedarach* L. والسعد *Cyperus rotundus* على حياتية حشرة اللوباء الجنوبية *Callosobruchus maculatus* رسالة ماجستير جامعة تكريت. كلية التربية. ص: 20، 72.
10. Pandey A. and Singh S. (2016). Aloe vera: a systematic review of its industrial and ethno-medicinal efficacy. Int. J. Pharmaceut. Res. Alli. Sci. 5(1): 21-33.
11. Brown PN.; Yu R.; Kuan CH.; Finley J.; Mudge EM. and Dentali S. (2014) . Determination of Aloin A and Aloin B in Aloe vera raw materials and finished products by high-performance liquid chromatography: single-laboratory validation. J. AOAC. Int. 97(5): 1323-1328.
12. Chandergara VK. (2005). Development of gel extraction process for *Aloe vera* leaves. MSc. Thesis. College of Agricultural Engineering and Technology. JAU. Junagadh.
13. Holing RM. (1979). The biochemical and physiological basis of selective toxicity in : insecticide biochemistry and physiology (Wilkinson CF Ed.) Plenum press. New York. pp.: 431-506.
14. Anzenbacher P. and Anzenbacherova E. (2001). Cytochromes p450 and metabolism of xenobiotics. Cell. Molec. Life Sci. 58: 737-747.
15. Abivardi C. (1976). Additional studies on insecticidal activities of Camphor to stored product insects. Z.Pfl. – Karank . Pfl. Schutz. 83: 397-400.
16. داود، عواد شعبان، عمر، فوزي عبدالعزيز و الملاح، نزار مصطفى. (1991). دراسة تأثير الزيوت المتطايرة والثابتة المستخلصة من بعض النباتات في خنفساء اللوباء الجنوبية . مجلة زراعة الرافدين 23 (2) : 101-116.
17. الدوري، هشام ناجي حميد أمين. (2002). التفضيل الغذائي وطريقة مكافحة خنفساء الحبوب الشعرية. رسالة ماجستير. جامعة تكريت، كلية التربية. ص: 4.

التكوين الجنيني والتركيب النسيجي لممشط العين في طائر الخضيرى *Anas platyrhynchos*

تحرير شمران غازي، محمد عبد الحسين غالي

قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: wrdaljoree@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

بينت دراسة التكوين الجنيني والتركيب النسيجي لممشط العين في طائر الخضيرى *Anas platyrhynchos* ظهور بدايته في جنين بعمر 6 أيام حضانة بشكل بروز ينشأ فوق رأس العصب البصري، ويكتمل تكوينه في جنين بعمر 23 يوماً حضانة. وظهر المشط من النوع المطوي، وتراوحت عدد طياته ما بين 10-12 طية. تألفت الطيات من خلايا صبغية متعددة الأشكال وخلايا ظهارية وأوعية دموية.

الكلمات المفتاحية: الخضيرى، مشط العين، الجنين، التكوين الجنيني.

The embryonic development and histological structure of pecten oculi in Mallard *Anas platyrhynchos*

Tahreer Sh. Ghazi and Mohammed A.H. Ghali

Dept. of Biology/ College of Sciences for Women / University of Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

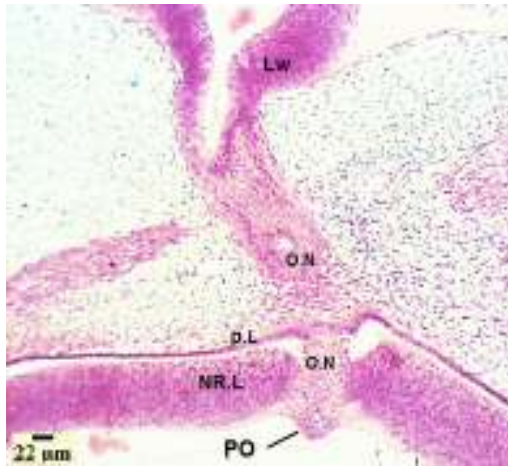
The study of the development and histological structure of pecten in Mallard duck (*Anas platyrhynchos*) showed that it was as well as emergence in embryo of 6 days incubation period that arises over the top of the optic nerve, and completed configured in embryo of 23 day incubation period. It was a folded back type and the numbers of folds were ranging between 10-12 folds. It consisted of multiple formats pigmentary cells and epithelial cells with blood vessels.

المقدمة

100% - ولمدة دقيقتين لكل تركيز ، ثم مررت إلى الماء المقطر لمدة دقيقتين . استعمل ملون هيماتوكسيلين هارس Harris's Alcoholic Eosin وملون الأيوسين الكحولي Haematoxylin في تصبغ الشرائح النسجية (8) ومن ثم فحصت بالمجهر الضوئي.

النتائج والمناقشة

تمتلك عيون الطيور تركيباً خضابياً غنياً بالأوعية الدموية يتألف من عدة طبقات يعرف بالمشط العيني يعمل على تغذية الشبكية وتزويدها بالأكسجين لكونها لا وعائية . يقع المشط العيني فوق العصب البصري ، ويمتد منه إلى السائل الزجاجي باتجاه العدسة (9) . وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية حيث أظهرت أن بداية المشط العيني في الخضيرى كانت في جنين بعمر 6 أيام حضانة بشكل بروز فوق رأس العصب البصري (شكل رقم 1) ، في حين ظهرت في جنين طائر بلشون الماشية *Bubulcus ibis* بعمر 28 - 29 ساعة حضانة (10) . أما في الدجاج فكان ظهورها في جنين بعمر 27-29 ساعة حضانة (11) . كانت الأعمار الجنينية لظهور بداية المشط العيني مختلفة بين الطيور المذكورة ، وقد يعود ذلك إلى اختلاف الرتب والأنواع فيها من جانب ، واختلاف مدد الحضانة لها من جانب آخر .



شكل رقم (1): مقطع في عين جنين بعمر 6 أيام حضانة يوضح بداية المشط العيني و طبقات الشبكية. ملون (H&E). الطبقة العصبية الشبكية pigmentsd ، الطبقة الصباغية Neuroretinal layer (NR.L) layer (P.L) ، العصب البصري (O.N) ، المشط العيني (P.O) ، الجدار الجانبي للدماغ lateral wall of the brain (lw).

وفي العمر 10 أيام حضانة، ظهر المشط بشكل تركيب يكون عريضاً عند قاعدته ويمتد باتجاه الجسم الزجاجي (شكل رقم 2) ، وتآلف من خلايا ميزنكيمية تتخللها تجمعات من خلايا صباغية ، كما لوحظ وجود تمايز للأوعية الدموية (شكل رقم 3). وأظهرت النتائج أن المشط العيني في جنين بعمر 20 يوماً حضانة كان بشكل بروزات تمتد من منطقة العصب البصري إلى داخل الجسم الزجاجي (شكل رقم 4). إن وجود المشط العيني داخل السائل الزجاجي يلعب دوراً في ثبات واستقرار السائل الزجاجي ، كما أن وعائيته العالية تسهم في تزويد السائل الزجاجي بالسوائل المهمة لتنظيم الضغط داخل العين (12).

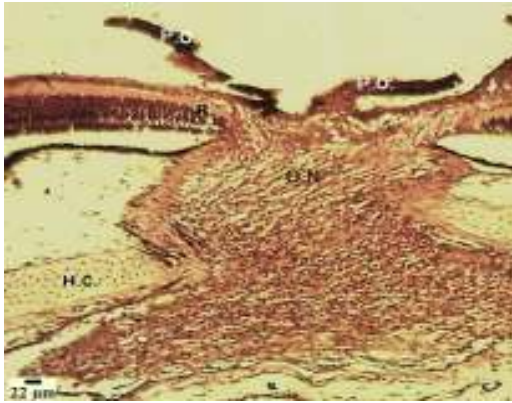
تمتاز الطيور بامتلاكها عيوناً كبيرة الحجم، ويكون الجزء الخلفي منها أكبر من الأمامي ، وتكون عالية التخصص لما لها من ارتباطات بمتطلبات معيشتها. وتكون حدة أبصارها أبصار اللبائن بعدة مرات. تتخذ مقلة العين في الطيور ثلاثة أشكال هي: الشكل المسطح Flat (shape)، الشكل الكروي (Globose shape)، والشكل الأنبوبي (Tubular shape) (1). وتتفرد باحتوائها على تركيب صباغي عالي الوعائية يعرف بمشط العين (Pecten oculi) (2) . يقع هذا التركيب فوق رأس العصب البصري، ويمتد من الشبكية إلى الجسم الزجاجي. وهو يتكون بشكل أساس من أوعية دموية شعرية، فضلاً عن خلايا صباغية (3).

وقد أشار عدد من الباحثين إلى أن المشط العيني يظهر بثلاثة أنواع هي: النوع المخروطي (Conical type) ، ويوجد في طائر الكيوي *Apteryx mantelli* ، ونوع مروحي (Vaned type) ويوجد في طائر النعام *Struthio camelus* ، ونوع صفائحي (Pleated type) ويوجد في أغلب أنواع الطيور مثل طائر السلوى الياباني *Coturnix coturnix japonica* (4-6). ويعود سبب الاختلاف في شكل مشط العين أو عدد طبقاته في أنواع الطيور المختلفة إلى تباين متطلباتها البصرية (3) .

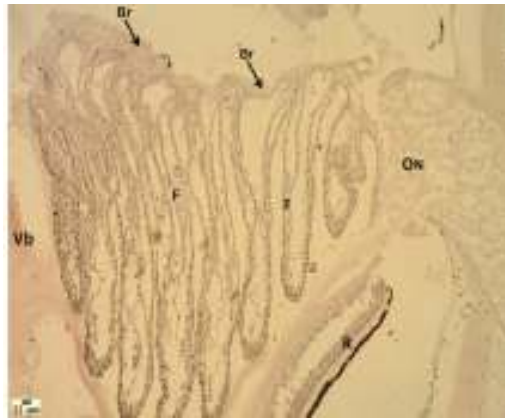
تهدف الدراسة إلى التعرف على التكوين الجنيني والتركيب النسجي للمشط العيني في طائر الخضيرى . ينتمي الخضيرى إلى الجنس *Anas* ، العائلة الوزية *Anatidae* ، رتبة الوزيات *Anseriformes* . ومن السهل تمييز الذكر عن الأنثى من حيث الشكل ، فهو يتميز برأسه ذي اللون الأخضر البراق ، وكذلك رقبته ، مع وجود حلقة بيضاء مميزة في الأخيرة ، والصدر حنائي اللون ، والظهر بني غامق في وسطه . ريش الجناح رمادي ، وتكون نهايات ريش الذنب بلون أسود. أما الأنثى فتكون أصغر حجماً من الذكر ، وتختلف عنه بلونها البني ، وتكون حافات الريش أفتح لونها مما يكسبها مظهراً مبرقشاً . تكون القرحية ذات لون بني ، والمنقار أصفر مخضر في الذكر ، وزيتوني في الأنثى، أما الأقدام فهي برتقالية اللون . يتألف الخضيرى الأنهار والبحيرات والأهوار ، ويعتمد في تغذيته على الحشرات والديدان والأسماك، فضلاً عن الحبوب والأعشاب (7).

المواد وطرق العمل

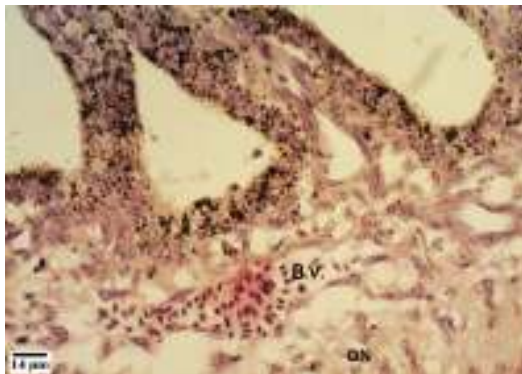
جمعت 9 من طيور الخضيرى السليمة والخالية من الأمراض من كلا الجنسين من أهوار محافظة ميسان وبواقع 6 إناث و 3 ذكور. وضعت الطيور في مكان مخصص وبنظام التربية الأرضية ، وذلك لضمان التزاوج والحصول على البيض المخصب. جمعت عينات البيض من أعشاش الأمهات يومياً وبشكل منتظم . وبعد تنظيفها من الفضلات تم ترقيمها وتثبيت التاريخ ليتم إدخالها إلى المفقصة بشكل وجبات. جرى فحص البيض بشكل منتظم باستخدام الفاحص الضوئي للتأكد من وجود نمو جنيني داخل نماذج البيض. تم إخراج البيض من المفقصة عند وصوله الأعمار المطلوبة ، ثم ترك لمدة دقيقة تقريباً كي يستقر الجنين للأعلى ، بعدها تم استخراج الأجنة ووضعها في محلول ملحي فسيولوجي Normal saline solution . بعد ذلك تم نقلها إلى مثبت بون المائي (Aqueous Bouin's solution) وتركها فيه لمدة تتراوح بين 6 - 8 ساعات . تم نقلها بعدها إلى كحول أثيلي بتركيز 70% ، ثم تركت فيه لحين استخدامها في التقطيع النسجي . بعد غسل الأجنة بماء الحنفية الجاري نقلت إلى سلسلة من التراكيز التصاعدي للكحول الإيثيلي وبتركيز 70% ، 80% ، 90% ، 95% ، 100% لمدة 30 دقيقة لكل تركيز . تم ترويق العينات بوضعها في الزايلين لمدة 15 دقيقة. بعدها تشبعت بشمع البارافين ، من ثم وضعت العينات في مزيج من الزايلين وشمع البارافين بنسبة 1:1 وبدرجة حرارة 56°م لمدة ربع ساعة . بعد ذلك تم ارتشاح العينات بشمع البارافين وعلى ثلاث مراحل ، لمدة ساعة لكل مرة. و بعد ارتشاح العينة جيداً بشمع البارافين وضعت في قوالب الشمع وتم تهيتها للتقطيع . استخدم المشراح الدوار rotary microtome لتقطيع العينات بسمك 5 مايكرون وبشكل مقاطع متسلسلة . ثم جرى نقلها إلى حمام مائي بدرجة حرارة 30°م لغرض فرش النسيج، ثم تحميله على شرائح زجاجية نظيفة مسحت بأحماض ماير وتم إعطاؤها علامات (8) . بعد إزالة الشمع من الشرائح باستخدام الزايلين وعلى مرحلتين ، مررت بسلسلة تنازلية من الكحول الإيثيلي 70% - 80% - 90% - 95% .



شكل رقم (4): مقطع طولي لعين جنين بعمر 20 يوما حضانة يوضح امتداد الممشط العيني (PO) Pecten oculi فوق رأس العصب البصري (ON) Optic nerve باتجاه الجسم الزجاجي ، الشبكية (R) Ritena ، الغضروف الزجاجي (HC) Hyaline cartilage ، ملون (H&E).



شكل رقم (5): مقطع طولي في عين جنين بعمر 23 يوما حضانة يوضح طيات الممشط العيني وارتباطها بالجسر . العصب البصري Optic nerve (ON) ، الطيات (F) Folds ، الجسر (Br) Bridge ، الشبكية (R) Retina ، الجسم الزجاجي (Vb) Vitreous body . ملون (H&E).

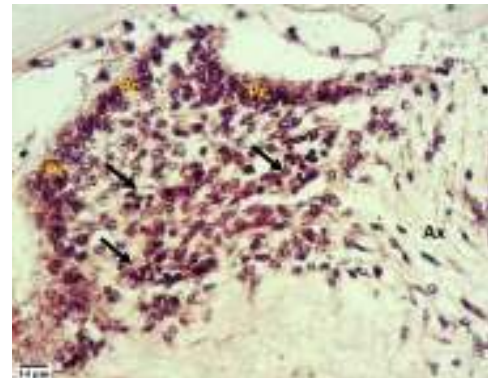


شكل رقم (6): مقطع مكبر لقاعدة الممشط العيني يوضح الاوعية الدموية (BV) Blood vessel ، العصب البصري (ON) Optic nerve . ملون (H&E).



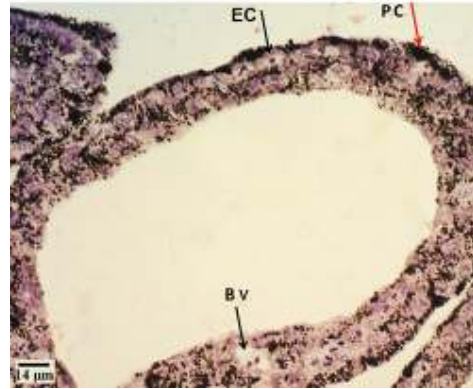
شكل رقم (2): مقطع طولي لعين جنين بعمر 10 أيام حضانة يوضح ظهور الممشط العيني (PO) Pecten oculi فوق رأس العصب البصري Optic nerve ، الشبكية (R) Retina . ملون (H&E).

أما في جنين بعمر 23 يوما حضانة فقد اكتمل تكوين الممشط العيني، إذ ظهر من النوع المطوي وتراوحت عدد طياته ما بين 10-12 طية، ترتبط من الأعلى بواسطة الجسر (شكل رقم 5) ، وتألفت الطيات نسيجاً من خلايا صباغية متعددة الأشكال وخلايا ظهارية وأوعية دموية (شكل رقم 6 أ و ب) . يختلف نوع الممشط وحجمه وعدد طياته باختلاف الأنواع ، حيث ظهر من النوع المطوي في كل من طائر البغاء الصغيرة *Melopittacus undulatus* (4) ، و طائر السلوى الياباني *Coturnix coturnix japonica* (5) ، ومن النوع المروحي في كل من الفاختة المطوقة *Streptopelia decaoto* F (13) وطائر مرعة البر *Corncrake crex crex* (14) . أما عدد طياته فهي تتراوح ما بين 10 – 12 طية في طائر البغاء الصغيرة *Melopittacus undulatus* ، و 19 طية في طائر السلوى الياباني . أما في الفاختة المطوقة *Streptopelia decaoto* F فكانت 13 طية، وفي طائر مرعة البر *Corncrake crex crex* 12 طية . وربما يعزى هذا الاختلاف في نوع الممشط العيني وعدد طياته بين الطيور إلى اختلاف نشاطها اليومي، وكذلك متطلباتها البصرية (3).



شكل رقم (3): مقطع مكبر لعين جنين بعمر 10 أيام حضانة يوضح تركيب الممشط العيني. الأوعية الدموية مؤشر عليها بالأسهم ، الخلايا الصباغية (Pc) Pigmented cells . ملون (H&E).

12. مرهش ، شاكر محمود، الربيعي ، سموأل جاسم محمد. (2012). دراسة نسيجية للممشط العيني وقرنية عين الصقر *Circus cyaneus* c. المجلة الطبية البيطرية العراقية. 36 (1) : 105-110.
13. الجبوري ، شيماء عواد عبد. (2014). دراسة مظهرية ونسجية مقارنة للعين في نوعين من الطيور العراقية (العوسق *Falco tinnunculus* L. والفاخته المطوقة *Streptopelia decaocto* F.). رسالة ماجستير ، كلية العلوم للبنات ، جامعة بغداد.
14. عبد ، علي أشكر ، عبد المجيد ، سنابل عبد المنعم. (2010). دراسة تشريحية نسيجية لعين طائر مرعة البر *Corncrake crex crex* . مجلة علوم الرافدين. 21 (4):1-26.



شكل رقم (6-ب): مقطع مكبر يوضح تركيب قمع طيات الممشط العيني وهي مؤلفة من الخلايا الصباغية (PC) pigmented cells ، الخلايا الظهارية Epithelial cells (EC) ، الأوعية الدموية Blood vessels (BV). ملون (H&E).

المصادر

1. Bayón A.; Almela RM. and Talavera J. (2007). Avian ophthalmology. EJCAP. 17(3):1-13.
2. Kiama SG.; Maina JN.; Bhattacharjee J.; Mwangi DK.; Macharia RG. and Weyrauch KD. (2006). The morphology of the pecten oculi of the ostrich, *Struthio camelus*. Ann. Anat. 188(6) :519-528.
3. Dayan MO. and Ozaydin T. (2013). A comparative morphometrical study of the pecten oculi in different avian species. Sci. World J.:1-5.
4. Micali A.; Pisani A.; Ventrici C.; Puzzolo D.; Roszkowska AM.; Spinella R. and Aragona P. (2012). Morphological and morphometric study of the pecten oculi in the Budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). Anat. Rec. 295(3):540–550.
5. Orhan IO.; Ekim O. and Bayraktaroglu AG. (2011). Morphological investigation of the pecten oculi in quail (*Coturnix coturnix japonica*). Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 58: 5-10.
6. Jezler PCOC.; Braga MBP.; Perlmann E.; Squarizoni R.; Borella M I.; Barros PSM.; Milanelo L. and Antunes A. (2010). Histological analysis of eyeballs of the striped owl *Rhinoptynx clamator*. Micros. Sci. Technol. Appl. Edu.: 1047-1054.
7. اللوس ، بشير. (1961). الطيور العراقية. الجزء الثاني. مطبعة الرابطة – بغداد. ص ص 141- 143.
8. Luna LG. (1968). Manual of histologic staining method of the Forces institute of pathology. 3rd ed. Mc Graw – Hill book. New York. P.: 258.
9. Whittow GC. (2000). Sturkie's Avian physiology. 5th ed. Academic Press. Pp.: 1-19.
10. Salah El-Din EY. and Dakrory AI. (2016). Early anatomical and embryological description of pecten oculi in Egret (*Bubulcus ibis*). J. Adv. Zool. 37(1):14-20.
11. Uehara M.; Oomori S.; Kitagawa H. and Ueshima T. (1990). The development of the pecten oculi in the chik. Nihon Juigaku Zasshi. 52(3) :503-512.

السُمِّية الحادة لمُبيد الأعشاب 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid على إناث برغوث الماء *Daphnia magna* وتأثير السُمِّية المُزمنة في بناء الجدول الحياتي

عادل حسين طالب، براء مزاحم ذاكِر

قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد/ جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: baraa82muzahem@gmail.com

الملخص باللغة العربية

تناول البحث دراسة التأثيرات السُمِّية الحادة والمُزمنة لمُبيد الأذغال 2,4-D في أحد أنواع الهائمات الحيوانية الذي ينتمي إلى رتبة متفرعة اللوامس Cladocera وهو النوع *Daphnia magna* (برغوث الماء) من خلال إيجاد التركيز المميت لنصف العدد (LC_{50})، والتأثير المُزمن في بناء الجدول الحياتي للحيوان، ومقدار التغير في دورة حياته نتيجة التعريض. استخدمت التراكيز (1.8, 3.6, 5.4, 7.2, 9, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81) ملغم/لتر لتجارب التعريض الحاد. وبلغت قيمة التركيز المميت لنصف العدد بعد 24 و 48 ساعة من التعريض للمُبيد (32.35 و 10.71) ملغم/لتر على التوالي. أما في تجارب التعريض المُزمن، استخدمت فيها التراكيز (3.6, 4.5, 5.4) ملغم/لتر. أظهر المُبيد 2,4-D تأثيره السُمِّي في قصر دورة حياة الحيوان وانخفاض معدل الحياة المستقبلية المتوقعة، مع زيادة التراكيز المستعملة. وظهرت فروق معنوية بين معاملة السيطرة وبقيّة المعاملات.

الكلمات المفتاحية: الجدول الحياتي، برغوث الماء *Daphnia magna*، 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid

The acute toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide on a water Flea females *Daphnia magna* and the effect of chronic toxicity in building life tables

Adel H. Talib and Baraa M. Thaker

Dept. of Biology/ College of Sciences for Women / University of Baghdad /Republic of Iraq

ABSTRACT

The present research had studied the acute and chronic toxic effects of herbicide 2,4- D to zooplankton, which belongs to the order (Cladocera) on a kind *Daphnia magna* (water flea) by finding a lethal concentration for killing 50% of the population (LC_{50}) and chronic effect on building the life table of the animal, and the amount of change in its life cycle as a result of exposure. Using several concentrations for studying acute effects (1.8, 3.6, 5.4, 7.2, 9, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81) mg / L for 24 and 48 hours of exposure, the LC_{50} values were (32.35 and 10.71) mg / l, respectively. But in chronic exposure, experiments used concentrations (3.6, 4.5, 5.4 mg / L. The results showed the herbicide 2,4-D had toxic effect on the animal's life cycle and the low rate of expected future life with increasing concentrations used and showed significant differences between the treatment and control.

المقدمة

تعد مبيدات الأعشاب والمواد الكيميائية المتعلقة بها واحدة من العوامل التي تحطم التوازن البيئي بين الأنواع والخصائص الوظيفية للنظام البيئي. وتعد واحدة من أهم العوامل المسؤولة عن تلوث النباتات الطبيعية. وإن الزيادة الكبيرة في استخدام مبيدات الأعشاب خاصة وبقيّة المبيدات الزراعية ومنظمات النمو ومنتجات الاستخدام المنزلي المستعملة للسيطرة أو مكافحة الآفات الزراعية ونمو الأدغال الضارة ينتج عنه تلوث كيميائي للبيئة المائية. وينتج عن التلوث الكيميائي مخاطر كبيرة على الصحة العامة وعلى الكائنات الحية خاصة الأسماك والطيور والبرمائيات. وكذلك فإن لوجود مبيدات الأعشاب في البيئة تأثيرات سلبية، ومنها التسمم الغير متعمد للحشرات النافعة والأسماك والطيور وبقيّة الكائنات المائية، كالفقاريات التي تعد كأدوات استشعار حيوي biosensors (1).

يعد 2,4-D (Dichlorophenoxyacetic acid) مبيد أدغال انتقائي يستخدم بالتركيزات العالية لمكافحة الحشائش عريضة الأوراق الحولية وثنائية الحول، ومكافحة الحشائش المائية (2). كما يستخدم أيضا في المزارع الخلوية كهرمون مكمّل لاستحثاث عملية إعادة التمايز De-differentiation (3). وهو ذو تأثير هرموني مؤد، فهو يزيد تصنيع DNA و RNA والبروتين في النباتات، خصوصا في الأنسجة المرستيمية للأدغال عريضة الأوراق (4). ينتمي المبيد لمجموعة مشتقات الفينوكسي حامض الخليك Phenoxyacetic acid (أومجموعة Aryloxyalkanoic acid)، وبعد ذلك تأثير جهاز Systemic، حيث تمتص أملاحه بسهولة بواسطة الجذور، بينما مستحضراته المجهزة في صورة أسترات تمتص بسهولة عن طريق الأوراق. وفي جميع الأحوال يحدث تراكم المركب في المناطق المرستيمية من الجذر والساق. وترجع الاختيارية Selectivity إلى الفروق المورفولوجية بين الحشائش عريضة الأوراق والنباتات الاقتصادية رقيقة الأوراق، حيث إن النباتات رقيقة الأوراق تحتوي أسطح أوراقها الرفيعة شعيرات دقيقة تساعد على انزلاق قطرات سائل الرش وعدم استقرارها عليها، كما أن شكل هذه الأوراق المستطيلة والمستدقة النهائية والتي تأخذ شكل الغمد يجعل كمية المبيد التي تسقط عليها صغيرة جدا (2). وقد ذكرت دراسة (5) أن 2,4-D يكون أكثر سمية بصورة الإستر عن بقية الصور، وذلك لأسباب (درجة تطايره العالية، مما يؤدي إلى نفاذه بسرعة خلال الثغور التنفسية. إن الأسترات الشبيهة بالزيت تكون ذات قدرة جيدة على تليين السطوح المعاملة، كما أن الأسترات تتوافق مع الكيوتكل مما يساعد على نفاذه بسرعة).

تسمح اختبارات السمية المائية Aquatic toxicity tests بتحديد مقدار التلوث الحاصل في البيئة المائية، من خلال تقييم الاستجابة البيولوجية للأحياء المائية تجاه الملوثات. وتستخدم الاختبارات السمية الحادة Acute Toxicity Test بشكل واسع لتحديد قيمة أو تركيز المادة الملوثة، والوقت المرتبط بهلاك نصف عدد الكائنات المعرضة للمادة السامة أو الملوثة، ويعبر عنه بمصطلح التركيز المتوسط القاتل (LC₅₀) Median Lethal Concentration (6). أما اختبارات السمية المزمنة ويعبر عنه بوحدة (ملغم / لتر) (6). أما اختبارات السمية المزمنة Chronic Toxicity Test فتجرى لدراسة تأثيرات المواد السامة الملوثة على مدى طويل الأمد، وتدرس تجارب التعرض المزمّن عدة جوانب منها المظاهر الحياتية والمظاهر التكاثرية والتأثير على دورة حياة الكائن المعرض (7).

استخدمت الهائمات الحيوانية وبالتحديد النوع برغوث الماء *Daphnia magna* وبشكل روتيني و متكرر في اختبارات تقييم السمية المائية (8)، لغرض اختبار سمية الملوثات وذلك لعدة أسباب، منها صغر حجمه، سهولة التعامل معه في المختبر، سهولة تربيته وأقلّمته مختبريا، ونمط تكاثره العذري الذي ينتج أجيالا كثيرة، بالإضافة إلى أن الجيل الناتج يكون متماثلا وراثيا مع الآباء، بالإضافة إلى حساسيته الشديدة للملوثات بشكل عام، وبالتحديد للمبيدات. فضلا عن كونه حيوانا قشرياً له أهمية خاصة في النباتات المائية لكونه المستهلك الأول الذي يتغذى على النباتات، وبشكل بدوره غذاء للأسماك (9). وبذلك فإن تعرضه لجرعات غير قاتلة من المبيد Sub lethal doses يمكن أن يظهر بشكل غير مباشر متمثل بالشلل المؤقت والخمول وفقدان القدرة على التوجه الصحيح، وانخفاض الكثافة السكانية نتيجة انخفاض كفاءة التناسلية بسبب هذه

الجرعات. وبالتأكيد سيؤثر ذلك على التوازن في مجتمع اللافقاريات المائية وعلى الكائنات التي تسلكها (10). ومن هنا تبدو أهمية التوجهات الحديثة لعلم السموم البيئية التي تشير إلى أن دراسة تواجد المواد الكيميائية أو الملوثات في البيئة ليس إلا مفتاحا أوليا لتحديد حجم التأثير النهائي لكل النظام البيئي، حيث يجب أن نأخذ بنظر الاعتبار العمليات الحيوية واللاحيوية التي تتعرض لها الملوثات أثناء تواجدها في البيئة عند محاولتنا تقييم أثرها السمي أو خطورتها على البيئة. وهذا ما تفرضه التشريعات القانونية المتعلقة بالسموم من ضرورة تقييم سمية المواد الكيميائية وما ستؤول إليه أثناء تواجدها في البيئة قبل استخدامها (11).

المواد وطرق العمل

جمعت عينات البحث من هور الشويجة في محافظة الكوت في شهر كانون الأول من العام 2015، باستخدام شبكة الهائمات الحيوانية Zooplankton net ذات قطر 55 مايكرون. وجرى تصنيف النوع *Daphnia magna* من صنف متفرعة اللوامس Cadocera، وذلك بالاعتماد على المفتاح التصنيفي (12). تم تنمية حيوان برغوث الماء في أحواض زجاجية ذات أبعاد 20*40*40 سم تحوي ماء معمرا Tap water (خاليا من الكلور)، وذلك بعد تركه لمدة 48 ساعة تحت ضوء الشمس (13). زودت المزرعة بالغذاء اللازم (مهروس نبات السلق) خلال فترة حياتها، مع مراعاة تجديد ماء المزرعة مرتين إلى ثلاثة مرات أسبوعيا تلافا لحصول نقص في الأوكسجين، ولتجنب تراكم الفضلات. تحت ظروف مختبرية بدراسة حرارة 25 ± 3 م° تم تهوية مزرعة براغيث الماء باستخدام Air pump وبمعدل 5-6 ساعات يوميا وتحت إضاءة مصباح تتكسّن 8/16 ساعة (إضاءة /ظلام).

تم تحضير محلول خزين للمبيد Stock solution وذلك من خلال أخذ 1 مل من المبيد وتكملة الحجم إلى 1000 مل بالماء المقطر. ومن هذا المحلول الخزين تم تحضير تراكيز المبيد 2,4-D لتجربة التعريض الحاد Acute Exposure (1.8, 3.6, 5.4, 7.2, 9, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81 mg/L). حضرت محاليل التجربة أنيا قبل التجربة تجنباً لحدوث تغير في التراكيز.

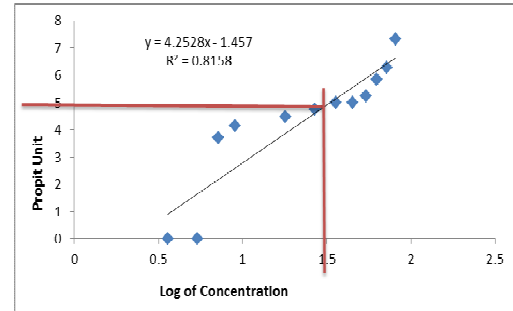
ولإيجاد التركيز المتوسط المميت لنصف العدد Lethal Concentration of 50% تم استخدام 360 فرد يافع (بعمر أقل من 24 ساعة) من النوع *D.magna* وبواقع 10 أفراد لكل مكرر من المكررات الثلاثة لكل تركيز مستخدم في وعاء زجاجي beaker سعة 100 مل. تم مراقبة حيوانات التجربة بعد 24 و 48 ساعة على التوالي، واعتبرت حالة الاستقرار وعدم الحركة هي علامة لنهاية الاختبار (الهالك التام) End point. لم تتم تغذية الحيوان *D.magna* خلال تجربة التعريض الحاد.

تم حساب LC₅₀ من خلال حساب النسبة المئوية للموتى للهلاكات وأخذ ما يقابلها من وحدات الاحتمالية. أما تراكيز المبيد 2,4-D، فقد تم تحويلها إلى قيم لوغاريتمية. وب تطبيق معادلة خط الإنحدار تم إيجاد التركيز المميت لنصف العدد (14).

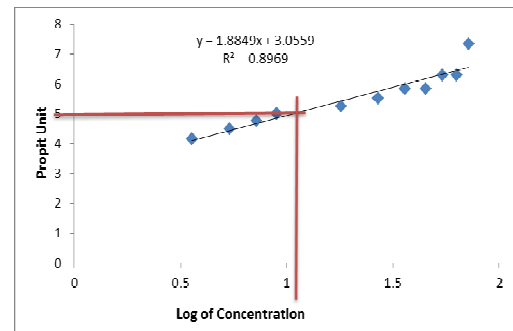
أما تجارب التعريض المزمّن Chronic Exposure، فقد استخدمت فيها التراكيز ما دون القاتلة للمبيد (3.6, 4.5, 5.4 mg/l) وكانت بواقع 10 أفراد يافعة (بعمر أقل من 24 ساعة) لكل مكرر من المكررات العشرة لكل تركيز مستخدم، فضلا عن معاملة السيطرة التي استعمل فيها الماء المعمار. وتم إضافة الغذاء لجميع المعاملات عند التعريض المزمّن، وتم تبديل محاليل الاختبار كل يومين تلافا لحدوث تبدل في تراكيز محاليل التجربة. وجدّير بالذكر أن التجربة تمت تحت ظروف متماثلة من درجة حرارة وإضاءة. واعتبرت المدة اللازمة لإجراء تجربة التعريض المزمّن 21 يوما باعتبار أن هذه المدة تمثل 10% من عمر الحيوان.

النتائج والمناقشة

بلغت قيم تراكيز المبيد 2,4-D المميتة لنصف عدد الحيوانات وعلى مدى 24 و 48 ساعة من تعريض أفراد *D. magna* تعرضا حادا 32.35 و 10.71 ملغم/لتر على التوالي. ويبين كل من الشكل رقم (1، 2) خط السمية من تعريض *Daphnia magna* لتراكيز مختلفة من المبيد.



شكل رقم (1): التأثير الحاد لتراكيز المبيد 2,4-D في *Daphnia magna* بعد 24 ساعة من التعرض



شكل رقم (2): التأثير الحاد لتراكيز المبيد 2,4-D في *Daphnia magna* بعد 48 ساعة من التعرض

البروتينات أهمية بالغة في تنظيم عبور بعض المواد من وإلى الخلية، فإن هذا الارتباط يعيق هذه الوظيفة، مما يؤدي إلى موت الخلية المصابة (19).

3- أما الآلية الثالثة، فتشير إلى دور المبيد في حدوث الموت المبرمج للخلايا Apoptosis، إذ أثبتت بعض الدراسات أن هذا المبيد يحفز عملية الموت المبرمج للخلايا بشكل يعتمد على تركيز المبيد ومدة التعرض. ففي دراسة على تأثير 2,4-D على الخلايا حقيقية النواة لاحظ (20) زيادة في عدد الخلايا التي تخضع للموت المبرمج عند وصول تراكيز المبيد إلى 2 - 4 ملي مول. وقد وجد الباحثون أن المبيد يحفز مستقبلات TNFX، FAS و Aromatic hydrocarbon receptor المرتبطة بموت الخلايا. غير أن باحثين آخرين أشاروا إلى أن المبيد يؤثر على جهد فعل غشاء المايوتوكندريا وعلى تنشيط إنزيمات caspases المعروفة بدورها في عملية الموت المبرمج للخلايا (21).

4- أما الآلية الأخيرة، فتتضمن تأثير المبيد على المستوى الجيني. فقد ذكر (22) أن تعرض خلايا الخمائر إلى 0.3 ملي مول من المبيد لمدة ساعة ونصف قد أدى إلى تغير في التعبير الجيني في 26 بروتين. ومن أهم هذه البروتينات التي ازداد تغيرها الجيني (على الأقل ضعيف) هي تلك المقترنة مع الإجهاد مثل heat shock protein و mRNA.

هذه الآليات مجتمعة أو فرادى تؤدي إلى موت الخلية المعرضة للمبيد اعتمادا على تركيز المبيد ومدة التعرض، فمن ناحية التركيز يمكن الاستنتاج بأن التراكيز العالية سوف تؤدي إلى إنتاج كميات كبيرة من ROS لا تستطيع الخلية التعامل معها رغم ما تمتلكه من الآليات للتصدي لهذه species. يزامن ذلك خلا في وظيفة العديد من إنزيمات و بروتينات غشاء الخلية، فضلا عن تنشيط آليات الموت المبرمج للخلايا، وتغير التعبير الجيني لبروتينات الإجهاد. أما من ناحية مدة التعرض فمن الواضح من النتائج أن التركيز الأصغر 72 ملغم / لتر قد احتاج إلى مدة زمنية أطول 48 ساعة لإحداث نفس تأثير التركيز الأكبر 81 ملغم / لتر لمدة 24 ساعة والذي قتل نصف العدد من الحيوانات.

تأثير المبيد 2,4-D في دورة حياة *Daphnia magna*

من خلال نتائج دراسة جداول الحياة وتوقع الحياة المستقبلية للصغار المنتجة أثناء التعرض المزمن وعند التعرض للتراكيز 3.6 و 4.5 و 5.4 ملغم/ لتر تبين وجود تباين بسيط في بناء الجدول الحياتي لمجاميع *Daphnia magna* المعرضة للمبيد مع معاملة السيطرة كما هو موضح في الجدول رقم (1). يظهر من نتائج الجدول الحياتي لحيوانات مجموعة السيطرة أنها أكملت دورة حياتها في 19 يوما، وأن الهلاكات بدأت من اليوم السادس من دورة الحياة، كما أن معدل توقع الحياة المستقبلي سجل بحدود 13.9 يوما. وعند التعرض إلى التركيز 3.6 ملغم/لتر لوحظ تباين في بناء الجدول الحياتي (جدول رقم 2). بينت نتائج الجدول رقم (2) أن الاختلاف في معدل توقع الحياة المستقبلي لم يكن عاليا بل بسيطا جدا عن حيوانات السيطرة، إذ إن الحيوانات أكملت دورة حياتها لمدة 19 يوما أيضا، وقد بدأت الوفيات تظهر من اليوم السادس، كما انخفض معدل توقع الحياة إلى 12.1 يوما. بينما أظهرت نتائج الجدول الحياتي عند التركيز 4.5 ملغم/لتر كما هو موضح في جدول رقم (3) أن هذه المجموعة أكملت دورة حياتها في 17 يوما، أي بفارق يومين عن حيوانات السيطرة، كما أن معدل توقع الحياة انخفض إلى 8 أيام.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن الإناث المعرضة للتركيز 5.4 ملغم/لتر كما في جدول رقم (4) قد أكملت دورة حياتها في 15 يوما، أي بفارق أربعة أيام عن حيوانات السيطرة وانخفض معدل توقع الحياة، إذ بلغ 7.8 يوما. بينت نتائج جداول الحياة أن هناك معيارين مهمين هما المدة اللازمة لإكمال دورة الحياة ومعدل توقع الحياة، وكلما قصرت المدة اللازمة لإكمال دورة الحياة يعني أن الحيوان يحتاج إلى فترة قصيرة نسبيا لزيادة أعداد أفراد نوعه، في حين أن توقع الحياة يشير إلى العكس، فكلما قل هذا التوقع يعني أن لدى الحيوان فرصة أقل للتكاثر وزيادة عدد أفراد نوعه. ومن الملاحظ أن معظم التراكيز المستعملة أدت إلى انخفاض كل من المعيارين.

أشارت نتائج الدراسة إلى أن 32.5 و 10.7 ملغم/لتر من المبيد 2,4-D كانت كافية لقتل نصف عدد *Daphnia magna* خلال 24 و 48 ساعة على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات السابقة، فقد ذكرت دراسة (15) أن LC_{50} لهذا المبيد قد بلغت 35 ملغم/لتر لبراغيث الماء *Daphnia magna* و 25 ملغم/لتر في *Prinephales promelas*، في حين تراوحت هذه السمية ما بين 5.2 ملغم/لتر إلى 184 ملغم/لتر بعد 48 ساعة من تعريض *Daphnia magna* إلى المبيد 2,4-D (16).

لقد بدا واضحا من خلال نتائج هذه الدراسة أن التأثير السمي للمبيد يعتمد على تركيز المبيد وعلى مدة التعرض، إذ ظهرت علاقة خطية بين هذين العاملين من جهة، ونسبة هلاك براغيث الماء *D. magna* من جهة أخرى. يمكن تفسير هذه النتائج على ضوء الآلية التي تسلكها الجرعات العالية من المبيد في إحداث التسمم للحيوانات المعرضة، وقد أشار العديد من الدراسات التي أجريت بهذا الصدد إلى وجود أربع آليات رئيسية لحدوث التسمم:

1- تتضمن الآلية الأولى إحداث إجهاد تأكسدي داخل الخلية المصابة من خلال زيادة إنتاج Reactive oxygen species (ROS) مما يتسبب بعملية Lipid peroxidation. ومن المعروف أن الدهون تشكل جزءا كبيرا من غشاء الخلية الحية، ولذلك فإن عملية Lipid peroxidation تؤدي إلى خلل فسلجي في وظيفة الغشاء الخلوي، لا سيما المواد التي تحتاج إلى الدهون للعبور إلى داخل الخلية أو خارجها (17).

2- تعزى الآلية الثانية إلى قابلية المبيد على الارتباط مع البروتينات المختلفة للخلية، وعندما يكون هذا الارتباط مع الإنزيمات فإنه يؤدي إلى تعطيل أو تغير في نشاط هذه الإنزيمات (18). فضلا عن ذلك، فإن المبيد قد يرتبط مع بروتينات غشاء الخلية. وحيث إن لهذه

جدول رقم (1): جدول الحياة لمجموعة السيطرة من *Daphnia magna*

X العمر بالأيام	Lx عدد الأحياء	dx عدد الهلاكات	qx معدل الوفيات	Lx عدد الأحياء بين مرحلتين	Tx مجموع عدد الأحياء بين مرحلتين	Ex المتوقع للحياة المستقبلية
1	10	0	0	10	139	13.9
2	10	0	0	10	129	12.9
3	10	0	0	10	119	11.9
4	10	0	0	10	109	10.9
5	10	0	0	9.5	99	10.42
6	9	1	0.111	9	89.5	9.94
7	9	0	0	9	80.5	8.94
8	9	0	0	8.5	71.5	8.41
9	8	1	0.125	8	63	7.87
10	8	0	0	8	55	6.87
11	8	0	0	8	47	5.87
12	8	0	0	8	39	4.87
13	8	0	0	8	31	3.87
14	8	0	0	7	23	3.28
15	6	2	0.333	6	16	2.66
16	6	0	0	5	10	2
17	4	2	0.5	3.5	5	1.42
18	3	1	0.333	1.5	1.5	1
19	0	3	-	-	-	-

جدول رقم (2): جدول حياة *Daphnia magna* المعرضة للمبيد D 2,4 بتركيز 3.6 ملغم/لتر

X العمر بالأيام	Lx عدد الأحياء	Dx عدد الهلاكات	Qx معدل الوفيات	Lx عدد الأحياء بين مرحلتين	Tx مجموع عدد الأحياء بين مرحلتين	Ex المتوقع للحياة المستقبلية
1	10	0	0	10	121	12.1
2	10	0	0	10	111	11.1
3	10	0	0	10	101	10.1
4	10	0	0	9.5	91	9.57
5	10	0	0	9	81.5	9.05
6	9	1	0.111	8.5	72.5	8.52
7	9	0	0	8	64	8
8	8	1	0.123	8	56	7
9	8	0	0	8	48	6
10	8	0	0	7.5	40	5.33
11	7	1	0.142	6.5	32.5	5
12	6	1	0.166	6	26	4.33
13	6	0	0	5.5	20	3.63
14	5	1	0.2	5	14.5	2.9
15	5	0	0	4.5	9.5	2.11
16	4	1	0.25	3	5	1.66
17	2	2	1	1.5	2	1.33
18	1	1	1	0.5	0.5	1
19	0	1	-	-	-	-

جدول رقم (3): جدول حياة *D. magna* المعرضة للمبيد D 4, 2 تركيز 4.5 ملغم/لتر

X العمر بالأيام	Lx عدد الأحياء	Dx عدد الهلاكات	qx معدل الوفيات	Lx عدد الأحياء بين مرحلتين	Tx مجموع عدد الأحياء بين مرحلتين	Ex المتوقع للحياة المستقبلية
1	10	0	0	10	80	8
2	10	0	0	10	70	7
3	10	0	0	9.5	60	6.31
4	9	1	0.111	8.5	50.5	5.94
5	8	1	0.125	7.5	42	5.6
6	7	1	0.142	6.5	34.5	5.30
7	6	1	0.1666	5.5	28	5.09
8	5	1	0.2	5	22.5	4.5
9	5	0	0	4.5	17.5	3.88
10	4	1	0.25	3.5	13	3.71
11	3	1	0.333	3	9.5	3.16
12	3	0	0	2.5	6.5	2.6
13	2	1	0.5	1.5	4	2.66
14	1	1	1	1	2.5	2.5
15	1	0	0	1	1.5	1.5
16	1	0	0	0.5	0.5	1
17	0	1	-	-	-	-

جدول رقم (4): جدول حياة *Daphnia magna* المعرضة للمبيد 2,4 D بتركيز 5.4 ملغم/لتر

X العمر بالأيام	Lx عدد الأحياء	dx عدد الهلاكات	qx معدل الوفيات	Lx عدد الأحياء بين مرحلتين	Tx مجموع عدد الأحياء بين معدل مرحلتين	Ex المتوقع للحياة المستقبلية
1	10	0	0	10	78	7.8
2	10	0	0	9.5	68	7.15
3	9	1	0.111	8.5	58.5	6.88
4	8	1	0.125	8	50	6.25
5	8	0	0	7.5	42	5.6
6	7	1	0.142	6.5	34.5	5.30
7	6	1	0.166	6	28	4.66
8	6	0	0	5.5	22	4
9	5	1	0.2	4.5	16.5	3.66
10	4	1	0.25	4	12	3
11	4	0	0	3.5	8	2.28
12	3	1	0.333	2.5	4.5	1.8
13	2	1	0.5	1.5	2	1.33
14	1	1	1	0.5	0.5	1
15	0	1	-	-	-	-

2. عثمان ، خالد أحمد محمد، الرحياني ، سليمان بن محمد. (2007). المدخل إلى المبيدات وتقويم مخاطرها استخدامها. جامعة القصيم. كلية الزراعة والطب البيطري. إدارة النشر العلمي والترجمة.

3. Davies C. (1995). Uptake, transport and metabolism of 14C-2,4-dichlorophenoxyacetic acid (14C-2,4-D) in Cucumber (*Cucumbers sativus* L.) explants. *Plant Growth Regulation*. 26: 195-202.

4. Chinalia FA.; Regali-Seleguin M H. and Correa EM. (2007). 2, 4-D toxicity: cause, effect and control. *Terrest. Aquat. Environ. Toxicol.* 1(2):24-33.

5. شعبان ، عواد، الملاح ، نازر مصطفى. (1993). المبيدات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل. دار الكتب للطباعة والنشر.

6. Banaee M. (2012). Adverse effect of insecticides on various aspects of fish's biology and physiology. *Insecticides—basic and other applications book*. InTech. Pp.: 101-126.

7. Newman MC. (2014). *Fundamentals of ecotoxicology: the science of pollution*. CRC Press.

8. Wiench K.; Wohlleben W.; Hisgen V.; Radke K.; Salinas E.; Zok S. and Landsiedel R. (2009). Acute and chronic effects of nano-and non-nano-scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosph.* 76(10):1356-1365.

9. Larsson P. and Lampert W. (2012). Finding the optimal vertical distribution: behavioural responses of *Daphnia pulex* to gradients of environmental factors and the presence of fish. *Freshwater Biol.* 57(12):2514-2525.

10. Sanchez-Bayo F. (2006). Comparative acute toxicity of organic pollutants and reference values for crustaceans. I. Branchiopoda, Copepoda and Ostracoda. *Environ. Pollut.* 139(3): 385-420.

11. Brock TCM.; Van Wijngaarden RPA. and Van Geest GJ. (2000). Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems. Part II: Insecticides. *Alterra report-089*, Wageningen, The Netherlands.

12. Edmondson WT. (1959). *Freshwater biology*. 2nd ed. John Wiley and Sons. Inc., New York P.:1248.

إن انخفاض معدل توقع الحياة هو أمر منطقي لوجود مادة سامة في الوسط الذي تعيش فيه الحيوانات، ومن ثم هلاك بعض الحيوانات في أوقات مبكرة نسبياً بسبب التعرض لهذه المادة وهو ما بدأ جلياً في المجموعة الثالثة والرابعة التي وصلت الهلاكات فيها إلى 6 حيوانات في اليوم العاشر، مقابل حيوانين في المجموعة الأولى والثالثة لنفس المدة. وفي المقابل فإن انخفاض المدة اللازمة لإكمال دورة الحياة وفي مختلف التراكيز يمكن تفسيره من خلال عملية تخصيص الطاقة التي يتبعها برغوث الماء *Daphnia magna*. لقد افترض (23) أن كل الطاقة المنتجة داخل الحيوان تخزن داخل الجسم قبل استخدامها للأغراض المختلفة، وعند تعرض الحيوان إلى الإجهاد (خاصة نقص الغذاء) فإن هذه الطاقة تستخدم أولاً للبقاء على قيد الحياة، ثم التكاثر، ثم النمو وهو ما أكدته دراسة (24) حيث لوحظ أن النمو وليس التكاثر يتوقف في الحيوانات للجوع. لذلك يمكن القول إن براغيث الماء المعرضة للمبيد تخصص طاقة إضافية لنضوج الأعضاء التناسلية والتكاثر حفاظاً على النوع. لذلك احتاجت إلى مدة أقل لإكمال دورة الحياة مقارنة بمجموعة السيطرة. ومن الجدير بالذكر أن الدراسات السابقة أشارت إلى عدم وجود عملية تخصيص للطاقة في ذكور الحيوانات المائية المعرضة للجهد، إذ إن الإناث غالباً لا تحتاج إلى الذكور في عملية التكاثر. (25)

التوصيات

- إجراء دراسات مماثلة على نفس المبيد في البيئة المائية الطبيعية مثل البحيرات الصغيرة، إذ إنها تضم مكونات لا تتوافر في المختبر مثل الحيوانات المفترسة والمواد العضوية، فضلاً عن ذلك، فإن هناك تنوعاً في التركيب الجيني لبرغوث الماء *Daphnia magna* وما يترتب على ذلك من اختلاف في الاستجابة من حيوان إلى آخر.
- السيطرة على استخدام المبيد 2,4-D كمبيد أعشاب وتحديد تراكيزه، بحيث لا تتجاوز التراكيز الآمنة للبيئة المائية.
- في المناطق الزراعية التي يكثر فيها استخدام هذه المبيدات يجب دراسة تراكيز المبيد في الأسماك لأنها جزء من السلسلة الغذائية التي يعتمد عليها الإنسان في غذائه.

المصادر

1. Senthilkumar K. *et. al.* (2001). Accumulation of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in sediments, aquatic organisms, birds, bird eggs and bat collected from south India. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 8(1):35-47.

13. عبد الأحد، صباح فرج وسيتي، حسين علي، زينب، علي حسين (2000). تأثير عنصر النحاس والكوبلت في بعض الجوانب الحياتية للحيوان *Daphnia magna*. مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية. 13: 114-120.
14. Goldstein AA.; Arnow L. and Kolmon SM. (1974). Principles of drug action . 2nd ed . John Wiley and Sons. Toronto Canada. P.: 220.
15. Alexander HC.; Gersich FM. and Mayes MA. (1985). Acute toxicity of four phenoxy herbicides to aquatic organisms. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 35 (3):314–321.
16. Eberlein K. *et al.* (2000). *Skeletonema costatum*. Marine Ecol. 14:45–58.
17. Duchnowicz PIOTR. and Koter MARIA. (2003). Damage to the erythrocyte membrane caused by chlorophenoxyacetic herbicides. Cell. Molec. Biol. Lett. 8(1):25-30.
18. Di Paolo O.; de Duffard AME. and Duffard R. (2001). *In vivo* and *in vitro* binding of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid to a rat liver mitochondrial protein. Chemico-biol. Interact. 137(3):229-241.
19. Duchnowicz P.; Szczepaniak P. and Koter M. (2005). Erythrocyte membrane protein damage by phenoxyacetic herbicides and their metabolites. Pest. Biochem. Physiol. 82(1):59-65.
20. Bukowska B. (2006). Toxicity of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid-molecular mechanisms. Polish J. Environ. Stud. 15(3):365-374.
21. Teixeira MC.; Duque P. and Sá-Correia I. (2007). Environmental genomics: mechanistic insights into toxicity of and resistance to the herbicide 2, 4-D. Trends. Biotechnol. 25(8):363-370.
22. Kaioumova D.; Süsal C. and Opelz G. (2001). Induction of apoptosis in human lymphocytes by the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. Human Immunol. 62(1):64-74.
23. Kooijman SALM. (1986). Energy budgets can explain body size relations. J. Theoret. Biol. 121(3):269-282.
24. Bradley PM. (1991). Plant hormones do have a role in controlling growth and development of algae. J. Phycol. 27(3):317-321.
25. Gismondi E.; Beisel JN. and Cossu-Leguille C. (2012). Influence of gender and season on reduced glutathione concentration and energy reserves of *Gammarus roeseli*. Environ. Res. 118:47-52.

العلاقة بين طول ووزن الروبيان (*Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) في مزارع تربية الأسماك في الصويرة/ محافظة الكوت

ميسلون لفقة الدوري، نبراس لفقة الدوري، حسين عبد المنعم داود

قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) / جامعة بغداد / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: maysaloonaldoori@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

تم دراسة علاقة الطول بالوزن للحيوان القشري (*Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). جمعت عينات الدراسة من أحواض تربية الأسماك في الصويرة (محافظة الكوت) ولمدة ثمانية أشهر من نيسان – كانون الأول 2008. واستخرجت قيمة العلاقة بين الطول (سم) والوزن (غم) باستعمال الصيغة الخاصة لذلك ($W = aL^b$). أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن قيم b بين 1.924 ، وهي أخفض قيمة للعلاقة في شهر نيسان و 2.848 في شهر تشرين الأول، والتي تمثل أعلى قيمة للعلاقة. أما قيم a فكانت تتراوح بين (1.072 - 1.987) كأدنى وأعلى قيمة خلال شهري نيسان وتشرين الأول على التوالي. وأظهرت نتائج الدراسة الحالية دليل تقويم إيجابيا للعلاقة بين الطول والوزن. وعند استخراج معامل الحالة (K) وجد أن هناك اختلافا كبيرا بين الأشهر، إذ تراوحت قيمته بين 0.759 في كانون الأول و 2.633 في تموز. تمت دراسة الخصوبة المطلقة والنسبية كدليل للحالة الإنتاجية، فتراوحت قيم الخصوبة المطلقة بين 587 بيضة بطول 4.9 cm ووزن 1.2 g في شهر آب، وبين 952 بيضة وبمعزل طول 6.3 cm ووزن 3.03 g للإناث ضمن عينات شهر نيسان. وكانت الخصوبة النسبية ذات مدى قيم 321 بيضة في شهر تشرين الأول و 537 في شهر تموز وبأطوال للحيوانات تراوحت بين (4.9 - 6.3) cm وأوزان (1.2 - 3.01) g على التوالي. أظهر التحليل الإحصائي للنتائج باعتماد العامل (t -test) أن العلاقات المشار إليها أعلاه ذات دلالة معنوية.

الكلمات المفتاحية: الطول، الوزن، حيوان قشري (الروبيان).

Length -weight relationship of crustacean species *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) at Al-Suwaira fish farm- Al-Kut province

Maysaloon L. Al- Doori, Nibrass L. Al- Doori and Hussein A.M. Dauod

Dept. of Biology / College of Education for Pure Sciences (Ibn-Al-Haitham) / University of Baghdad / Republic of Iraq

ABSTRACT

The length - weight relationship of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879), have been studied samples were collected from Al-Sauwaira fish farm (at Al-Kut province) during the period from April to December/ 2008. The values of the length-weight relationship determined by using the following formula:

$$W = aL^b$$

The results of the present study revealed that the (b) values ranged from 1.924 during April-2008 which represented the lowest value and 2.848 during December 2008 as a highest value. On the other hand, the (a) values were ranged between 1.072 and 1.987 at lowest and highest values respectively. The result declare a clear suitable length-weight relationship and the condition factor (K). The result showed clear changes in K -value during the different months with range of 0.759 during December to 2.633 during July.

The absolute and relative fecundity of the animal under investigation have been also studied to show the productive index and the results declare that the range of absolute fecundity were 578-952 at length 4.9-6.3 cm, weight (1.2-3.03) gm and during August and April/ 2008 respectively. The relative fecundity were 321-537 eggs at 4.9-6.3 cm, 1.2-3.01 gm and during October and July respectively.

T-test were used and showed a significant difference for the above relationships.

المقدمة

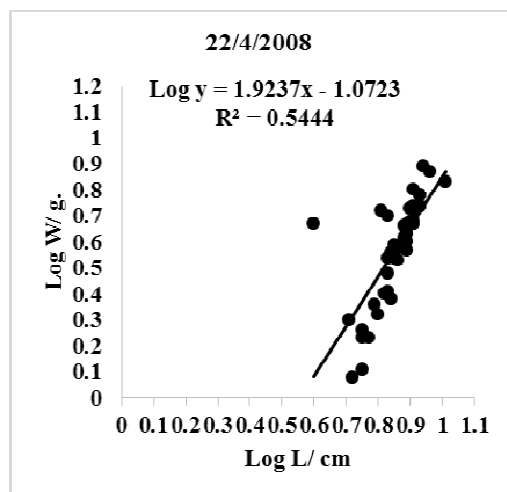
النتائج

يبين جدول رقم (1) أن معدلات الطول تراوحت بين 3.7 cm (في شهر أيلول و 7.3 cm) في نيسان. أما معدل الأوزان، فبين (0.4) g في شهر كانون الأول، و 4.04 g في نيسان.

جدول رقم (1): معدل ومدى الطول /سم ومعدل ومدى الوزن/غم للحيوان القشري خلال مدة الدراسة

الأشهر	معدل ومدى الطول/ سم	معدل ومدى الوزن/ غم
نيسان	7.3±0.33 9.2-5.3	4.04±0.04 7.7-1.2
أيار	3.7±0.70 4.7-2.6	0.6±0.06 3.1-0.2
حزيران	5.6±0.6 8.7-3.2	1.9±0.00 6.6-0.4
تموز	4.5±0.50 8.1-2.1	2.4±0.40 4.6-0.1
آب	3.9±0.00 7.2-1.9	0.7±0.070 3.6-0.1
أيلول	3.7±0.70 5.4-1.8	0.6±0.60 4.1-0.1
تشرين الأول	3.7±0.80 7.2-1.6	0.5±0.05 3.4-0.1
تشرين الثاني	3.9±0.00 5.6-2.1	0.4±0.06 1.8-0.1
كانون الأول	3.8±0.80 6.5-0.1	0.4±0.00 1.8-0.1
LSD عند مستوى 0.05	1.772	0.764

وبلغ أعلى طول للحيوان موضوع الدراسة 9.2 cm وبوزن 7.7 g في شهر نيسان (شكل رقم 1). أما قيم b تراوحت بين 1.924 في نيسان (شكل رقم 1) و 2.848 في تشرين الأول (شكل رقم 2) وتراوحت قيم a بين 1.987 تشرين الأول (شكل رقم 2) و 1.072 في شهر أيار (شكل رقم 3، جدول رقم 2). أما بالنسبة لمعامل الحالة K فكانت قيمته 0.759 و 2.633 في شهري كانون الأول وتموز توالياً وقيمة r^2 كانت 0.544 و 0.941 في شهري نيسان وحزيران (جدول رقم 2).



شكل رقم (1): العلاقة بين الطول والوزن لشهر نيسان

تتواجد العديد من أنواع الروبيان في الأنهار الكبيرة والجداول المرتبطة بالبحار، والبعض من الأنواع يمكنه العيش في المياه العذبة (1). وقد استزرع النوع *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) في جميع أنحاء العالم بشكل واسع لأهميته الاقتصادية، فهو يعد غذاء جيداً للأسماك والإنسان، ويمكنه أن يعيش في المياه الملوحة Brackish water وكذلك في المياه العذبة، ولكونه يصل إلى معدلات أطوال 250-320 mm وأوزان 0.3-2.5 g، فضلاً عن كونه ذا إنتاجية عالية، إذ تتراوح أعداد البويض بين 384-435 بيضة (2). وفي المياه العذبة، يتواجد النوع موضوع الدراسة الحالية في الجنوب، ووفرته تعتمد على مخزونه في الخليج العربي، وله مردود اقتصادي مرتفع (3). وقد تم تشخيص العديد من الأنواع التي تنتمي للجنس *Macrobrachium* استناداً إلى قاعدة معلومات عنه في أهوار البصرة (4). وبناء على ما تقدم، ونظراً لقلة الدراسات المحلية عن النوع موضوع الدراسة فقد جاءت الدراسة الحالية كمحاولة لتسليط الضوء على هذا النوع الذي يمكنه أن يعيش في ظروف بيئية متنوعة وبمديات كبيرة. فقد وجد هذا النوع بطريقة أو بأخرى في أحواض تربية أسماك الصويرة وتم تصنيفه اعتماداً على (5، 6).

المواد وطرق العمل

جمعت العينات من أحواض أسماك الصويرة (محافظة واسط) شهرياً من نيسان وحتى كانون الأول 2008، وحفظت في فورمالين بتركيز 10%.

تم عزل الأفراد بحسب الجنس (ذكور وإناث) وحسبت القياسات الخاصة بالطول لأقرب ملليمتر باستخدام المسطرة، كما حسبت الأوزان لأقرب غرام باستخدام ميزان كهربائي. واستخدمت في الدراسة الحالية الطريقة العددية لحساب الخصوبة المطلقة (عدد البويض الكلي لكل أنثى بالغة) والخصوبة النسبية (عدد البويض لكل غرام من وزن الجسم).

وقد قيست درجة الحرارة ($^{\circ}\text{C}$) والأس الهيدروجيني (pH) ونسبة الملوحة (ملغم/ لتر) باستخدام pH-meter، والشفافية (سم) باستخدام قرصي ساكي.

أما عن علاقة الطول (سم) بالوزن (غم)، فقد تم حسابها باستخدام المعادلة التالية:

$$W = aL^b \quad (7)$$

حيث،

W = الوزن (غم)، L = الطول (سم)

a = ثابت الميل (Regression constant)

b = درجة الميل (Regression coefficient)

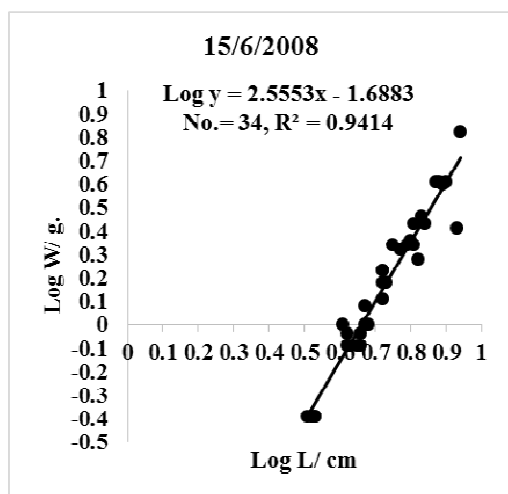
وتم رسم منحني بياني بين الطول والوزن واستخراج الثوابت من المنحني البياني للعلاقة بين الطول والوزن وقيم اللوغارتم، فتكون المعادلة السابقة:

$$\text{Log } W = \text{Log } a + b \text{ Log } L$$

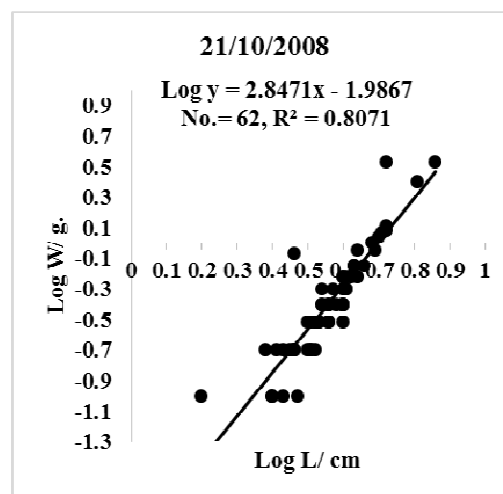
كما تم حساب معامل الحالة K (Condition factor) فهو دليل الحالة العامة من المعادلة:

$$K = \frac{100W}{L^3} \quad (8)$$

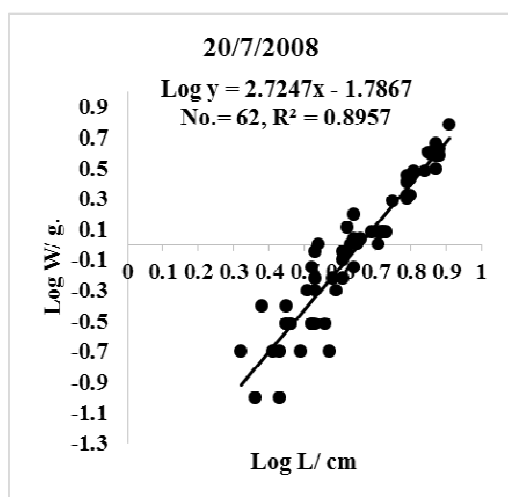
أما نتيجة العامل r (العلاقة الخطية بين الطول والوزن) فحسبت من المنحنيات البيانية للعلاقة بين الطول والوزن. وحسبت النتائج إحصائياً باستخدام اختبار t-test.



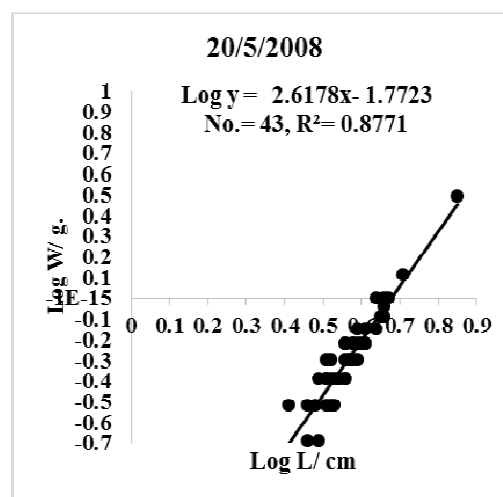
شكل رقم (4): العلاقة بين الطول والوزن لشهر حزيران



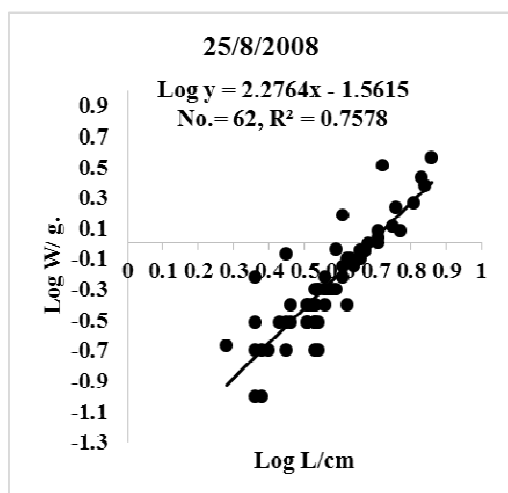
شكل رقم (2): العلاقة بين الطول والوزن لشهر تشرين الأول



شكل رقم (5): العلاقة بين الطول والوزن لشهر تموز



شكل رقم (3): العلاقة بين الطول والوزن لشهر أيار



شكل رقم (6): العلاقة بين الطول والوزن لشهر آب

جدول رقم (2): العدد الكلي No. والعامل a (ثابت الميل) والعامل b (درجة الميل) والعامل K (عامل الحالة) والعامل r (يمثل العلاقة الخطية بين الطول والوزن) للحيوان القشري خلال مدة الدراسة

No.	r^2	b	a	K	الشهر
46	0.5444	1.9237	1.0723	1.0385	نيسان
43	0.8771	2.6178	-1.7723	1.1845	أيار
34	0.9414	2.5553	-1.6883	1.0819	حزيران
62	0.8957	2.7247	-1.7867	2.6337	تموز
62	0.7578	2.2764	-1.5615	1.8006	آب
62	0.8560	2.5416	-1.7411	1.1845	ايلول
62	0.8071	2.8471	-1.9867	0.9112	تشرين أول
62	0.8516	2.5693	-1.8366	1.0114	تشرين ثاني
62	0.5837	2.1506	-1.6177	0.7585	كانون أول

وتم وضع النتائج لاستخراج قيم a، b و منها قيم r^2 و K في جدول ورسوم بيانية (الجدول رقم 2) و (الأشكال أرقام 4-9).

تم حساب الخصوبة المطلقة للقشري موضوع الدراسة الحالية باستعمال الطريقة العددية، فقد تراوح بين (578- 952) بيضة ذات أطوال تراوحت بين (4.9-6.3) cm وأوزان بين (2.3-3.03) gm (جدول رقم 3). أما الخصوبة النسبية والتي تتمثل بعدد البيوض الناضجة لكل غرام من وزن الجسم فكانت قيمها بين 321 بيضة في شهر نيسان و 537.5 بيضة في تموز وبأطوال تراوحت بين (4.9- 6.3) cm وأوزان (3.01- 1.2) g على التوالي (جدول رقم 3). وأظهرت النتائج أن كلا العلاقتين توضح تناسباً طردياً، إذ تزداد الخصوبة مع زيادة الطول والوزن.

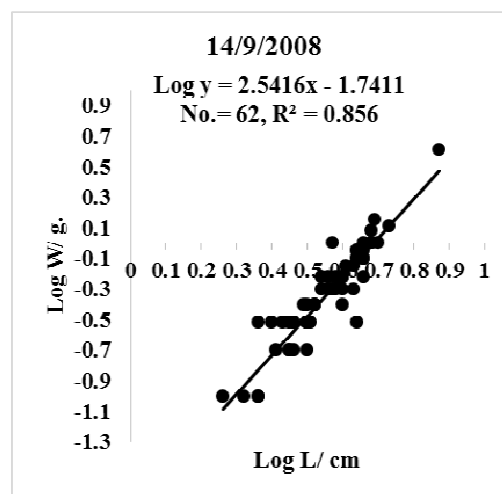
جدول رقم (3): العلاقة بين معدل ومدى (الخصوبة المطلقة و الخصوبة النسبية و الوزن والطول) للبتات الحوامل خلال مدة الدراسة للحويان القشري

الشهر	الخصوبة المطلقة/بيضة، المعدل والمعدل	الخصوبة النسبية المعدل والمعدل	معدل ومدى الطول/ سم	معدل ومدى الوزن/ غم
نيسان	925 بيضة 1176-784	321 424-270	7.3 7.0-5.8	3.01 3.6-2.3
أيار	-	-	-	-
حزيران	-	-	-	-
تموز	792 1400-483	537.5 884-250	5.2 7.4-4.1	1.8 5.6-0.7
آب	587 940-396	510.1 1092-304	4.9 5.3-4.6	1.2 1.7-1.1
أيلول	758.8 1290-358	377.5 736-252	5.6 6.7-4.6	2.3 4.5-1.1
تشرين أول	612 819-462	233.7 499-385	5.01 5.2-4.1	1.4 2.0-1.2
تشرين ثاني	-	-	-	-
كانون أول	-	-	-	-

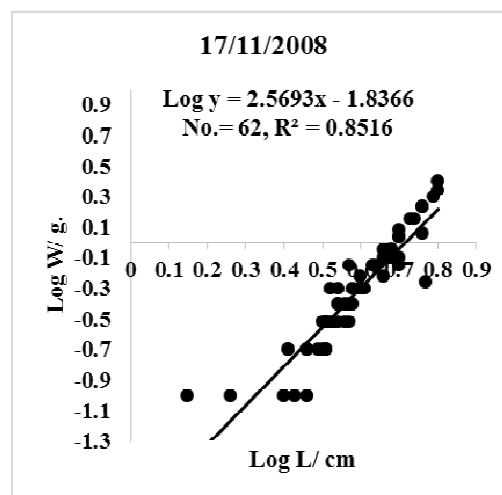
تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام العامل t-test . وعند قياس بعض العوامل الفيزيائية تراوحت درجات الحرارة بين 15°C في نيسان و 31°C في تموز، وكانت قيم pH تتراوح بين 7- 7.8 في كل من أيلول وكانون الأول. أما نسبة الملوحة فكانت بين 100 mg/L في نيسان و 470 mg/L في أيلول، وتراوحت قيم الشفافية بين 21 cm في كانون الأول و 35 cm في أيلول (جدول رقم 4).

جدول رقم (4): بعض العوامل الفيزيائية خلال مدة الدراسة

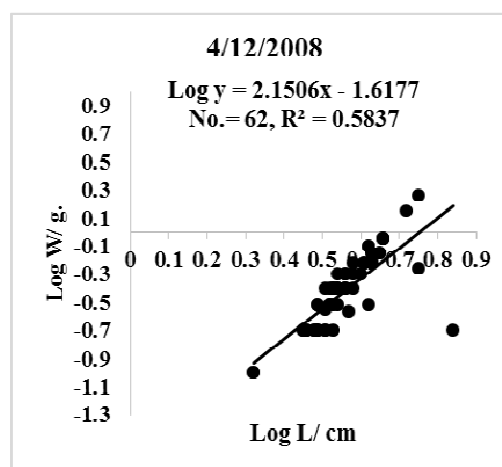
الشهر	درجة حرارة الماء °م	pH	الملوحة ملغم/ لتر	الشفافية (سم)
نيسان	15 °م	7.3	100	28cm
أيار	24 °م	7.0	202	26cm
حزيران	25 °م	7.1	221	24cm
تموز	31 °م	7.2	245	27cm
آب	29 °م	7.7	395	29cm
أيلول	29 °م	7.8	470	35cm
تشرين أول	23 °م	7.1	420	28cm
تشرين ثاني	21 °م	7.4	360	23cm
كانون أول	18 °م	7.8	426	21cm



شكل رقم (7): العلاقة بين الطول والوزن لشهر أيلول



شكل رقم (8): العلاقة بين الطول والوزن لشهر تشرين الثاني



شكل رقم (9): العلاقة بين الطول والوزن لشهر كانون أول

المناقشة

لم تجر عملية مقارنة بين الذكور والإناث الحاملة للبيوض وذلك لأن الإناث الناضجة تكون أثقل وزناً من الإناث غير الناضجة تحت نفس الطول، وهذا بسبب زيادة وزن المبايض والبيوض داخلها لذلك تم الفصل بين الذكور والإناث الناضجة (30). وقد أجريت دراسة إحصائية (t-test) لتدعيم النتائج وجاءت بالعلاقات المعنوية بين الجميع، وهذا ما أكدت ضرورته دراسة (31).

الشكر والتقدير

يتقدم الباحثون بجزيل الشكر والتقدير للدكتور علي عيسى علي (من الهيئة العامة للثروة السمكية) لمساعدته في جمع العينات وقراءة العوامل الفيزيائية.

المصادر

1. Lara LR. and Wehrthmann IS. (2009). Reproductive biology of the fresh water shrimp *Macrobrachium carcinus* (L.) (Decapoda: Palaemonidae) from Costa Rica, Central America. J. Crustacean. Biol. 29(3): 343-349.
2. Grazielle BG.; Sampaio I. and Maciel I. (2011). The invasive status of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) in northern Brazil; with an estimation of areas of risk globally. Aqu. Invasion. 6(3):319-328.
3. المطر، سليمان محمد، يوسف، عبد الرحمن عبد الكريم، الصفار، عادل حسن. (2009). الحياة في البحار والخليج العربي. معهد الكويت للأبحاث العلمية. الكويت. ص 229.
4. علي، مالك حسن، أحمد، هدى كاظم. (2015). دراسة اقتصادية اجتماعية لثروة صيد الروبيان البحري في البحر الإقليمي للعراق. المجلة العراقية للاستزراع المائي. 12 (2): 59-70.
5. Smaldon G.; Holthuis LB. and Franses CHJM. (1993). Coastal shrimps and prawns: keys and notes for identification of the species. 2nd ed. Synopses of the British fauna, N.S.15. Field studies council: Shrewsbury. P.:142.
6. Ng PKL. and Wowar D. (2011). On the nomenclature of the palaemonid names *Palaemon spinipes* Desmarest, 1817; *Palaemon spinipes* Schenkel, 1902 and *Macrobrachium wallacei* Ng. (2008). (Crustacea Decapoda, Caridae) Zootaxa. 2904: 66-68.
7. Piratheepa EU. and Chitravadevelu K. (2013). Investigation on length-weight relationship of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1748) in Kakkaithevu coastal waters in northern part of Srilanka. Trop. Agri. Res. 25(1):133-140.
8. Olamid OP.; Adefemi OA. and Oluaya BOA. (2014). Length-weight relationship and condition factor of shrimp in coastal water of ordo state, southwest, Nigeria. Int. J. Fisher. Aqua. Stud. 1(3): 137-142.
9. Ajani EG.; Bello OB. and Osowa O. (2013). Comparative condition factor of two penaeid shrimps, *Penaeus notialis* (Pink shrimp) and *Penaeus monodon* (Tiger shrimp) in a coastal state, Lagos south west Nigeria. Nat. Sci. J. 24: 1-3.
10. Sangun LC.; Tureli E. and Duysak O. (2009). Width/length-weight and width-length relationship for 8 carb species from north-mediterranean coast of Turkey. J. Anim. Vet. Adv. 8(1): 75-79.

يعد الروبيان من الأغذية البحرية وهو ينتشر في معظم المياه الدافئة في العالم (9). أعلى معدل للوزن كان خلال أقل درجة حرارة في شهر نيسان وأقل معدل للوزن كان في شهري تشرين الثاني وكانون الأول. وفي تموز كان أقل معدل للوزن مع أعلى درجة حرارة، وهذا يدل على مدى تأثير الأخيرة على هذا الحيوان سلباً أو إيجاباً (10). وربما يعود إلى درجة النضوج الجنسي للحيوان. وعند مراجعة الجدول رقم (4) يتبين تأثير التناسب البيئي بين العوامل الفيزيائية الأربعة: pH ودرجة الحرارة والشفافية والملوحة على العلاقة بين الطول والوزن للحيوان (11). كما أنها دليل حالة الكتلة الحية Biomass ومعرفة أحدهما دليل الآخر ومستوى النمو والتلوث في أي مسطح مائي (12)، فعندما تكون الظروف مناسبة لهذا الحيوان فإن العلاقة بين الطول والوزن ستكون طردية وعلى ذلك يمكن اعتباره مرشحاً جيداً عند دراسة أي مسطح مائي، فتمثل العوامل البيئية الأربعة السابقة محددات مهمة لكمية ونوعية وحجم أي كائن حي (13). ولمستوى المياه وطول فترة النهار وموسم الأمطار تأثير على العلاقة بين طول ووزن الحيوان (14). إن لدراسة العلاقة بين الطول والوزن رياضياً أهمية كبيرة خاصة في علم الأسماك والقشريات، فهي تفسر النمو في بيئتها (15)، ومعرفة للاختلافات بين نماذج نفس النوع في البيئات المختلفة (16).

عند تطبيق المعادلة $W = aL^b$ فإن العامل b يحدد العلاقة بين الطول والوزن بقيمة الثابت (3)، فإذا كانت $b \geq 3$ فإن ذلك دليل على النمو الإيجابي في الطبيعة، أما إذا كانت $b < 3$ فهذا القياس يكون سالباً كدليل لمعدل الطول مقابل معدل الوزن، وهذا يعني بيئة غير مناسبة (17، 18). وفي الدراسة الحالية وجد أن قيمة العامل $b = 2.841$ في شهر تشرين الأول، مما يعني أن العلاقة موجبة بين الطول والوزن ودليلاً على ظروف بيئية مناسبة. وعند زيادة طول ساعات النهار فإن لذلك تأثيراً إيجابياً على الإنتاجية الأولية وبالتالي تؤدي إلى نمو للقشريات (19). أما في شهر نيسان فكانت قيمة b هي الأقل (0.534) وقد يعزى ذلك إلى التنافس على الغذاء (20). وهذا يفسره وجود هذا الحيوان في مزرعة تربية الأسماك، فزيادة الأسماك تولد له منافسة خاسرة على الغذاء. وعند حساب معامل الحالة (Condition factor) K وهو دليل الحالة العامة للظروف ويسمى بعامل الحالة (21) الذي يستخرج من المعادلة السابقة الذكر $K = \frac{100W}{L^3}$ ، وقد تصل قيمته بين 1.0 - 1.4، فهو دليل على العلاقة

بين الطول والوزن من جهة والظروف البيئية من جهة أخرى (22). وقد أكدت دراسة (23) أنه عندما تكون قيمة K بين 0.7 - 1.4 فإنها دليل على الحالة العامة الجيدة. وفي هذه الدراسة وصلت قيمة K إلى 2.633 في شهر تموز، أما في شهر كانون الأول فكانت 0.75، وهذا دليل على الاختلاف في حالة الظروف العامة للحيوان والتي قد تتأثر بالتنافس الإحيائي ضمن النوع الواحد (24). وقيمة معامل الحالة تؤثر في الدراسة الحالية حالة إيجابية ممثلة بظروف بيئية مناسبة ومعدلات نمو جيدة. أما بالنسبة للعامل r فهو يمثل العلاقة الخطية بين الطول والوزن ويستخرج من الرسم البياني لتلك العلاقة بين الطول والوزن (25).

عند دراسة الإناث وعلاقة طولها بوزنها مع الإنتاجية وعدد البيوض، فقد وجد أن هناك علاقة بين حجم الأنثى وعدد البيوض، وهذه تتأثر بالظروف البيئية، فهي تنشط جنسياً خلال أشهر الصيف بسبب توفر الغذاء والحرارة المناسبة ومدة الإضاءة والملوحة ومستوى الماء وتوفر الغذاء التي تؤثر على فترة التكاثر (26)، كما أن الإناث تزداد حجماً عند وصولها إلى موسم وضع البيض وخصوبتها متناسبة طردياً مع وزنها (27). وفي الدراسة الحالية يبلغ معدل الخصوبة المطلقة 952.8 بيضة في شهر نيسان كأعلى معدل خلال فترة الدراسة وبمعدل طول ووزن 3.7 cm، 4.03 g على التوالي لنفس الشهر، والتناسب طردي من جميع الأشهر التي وجدت فيها إناث حوامل مع وجود بعض الأفراد من الإناث الحوامل لها تناسب عكسي بين الخصوبة والطول. وقد وجدت دراسة (28) أن هذا يعود إلى التنافس السلبي بين الإناث الكبيرة والإناث الصغيرة على الغذاء وصعوبة الحصول عليه من قبل الأخيرة. كذلك وجدت علاقة طردية بين الطول والوزن والخصوبة النسبية وهذا ما يتطابق مع نتائج دراسة (29).

24. Arimoro FO. and Meye JA. (2007). Some aspects of the biology of *Macrobrachium dux* (Lenz, 1910) (Crustacea, Decapoda, Natantia) in river Orogods, Niger delta, Nigeria. Acta. Biol. Colomb. 12(1): 111-122.
25. Olapada JO. and Tarawallie S. (2014). The length-weight relationship, condition factor and reproductive biology of *Pseudolithus senegulensis* (Vaiencien, 1833) (Croakersà, in Tombo western Rural districts of Sierra Leone. Afri. J. Food. 14(6): 2176-2189.
26. Tamurus AF.; Mossolin EC. and Maute latto FL. (2012). Population and reproductive aspects of *Macrobrachium acanthurus* (Wieqmann, 1836) (Crustacea, Palaemonidae) from north coast of Sao Paulo state, Brazil. Braz. J. Aquat. Sci. Technol. 16(1): 9-18.
27. Varigin VY. (2015). Sexual structure of population and reproduction cycle of *Echinogammarus avillii* (Crustacea, Isopoda) in the fouling community of Odessa Bay (Black sea). Biol. Sci. 23(1): 78-83.
28. Bertini G. and Baeza JA. (2014). Fecundity and fertility in fresh water population of the neotropical amphidromous shrimp *Macrobrachium acanthurus* from the southeastern Atlantic. Invert. Repord. Develop. 58(3): 23-31.
29. Zimmerman U.; Carralho FL. and Mantelatto FL. (2015). The reproduction performance of the red-alque shrimp *Leander paulensis* (Ortmann, 1897) (Decapoda, Palaemonidae) and effect of post-spawning female weight on weight dependent parameters. Braz. J. Oceanoger. 36(3): 236-239.
30. Lalrinsanga PL.; Pillai BR.; Mohanty GPS.; Naik NK. and Sabu S. (2012). Length-weight relationship and condition factor freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) based on development stages, culture stages and sex. Turk. J. Fisher. Aqua. Sci. 12: 917-924.
31. Gopalakrishnan A.; Rajkumar M.; Rahman MM.; Sun J.; Antony PJ.; Maran BAV. and Trilles JP. (2014). Length-weight relationship and loose-shell affected giant tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) (Decapoda, Penaeidae). J. Appl. Ichthyol. 30: 251-253.
11. Oluwatoyon A.; Akintades A.; Edwin K. and Victor K. (2013). A study of length-weight relationship and condition factor of west African Blue Carp (*callinectes pallidus*) from Ojo Creek, Lagos, Nigeria. Amer. J. Res. Commun. 1(3): 101-109.
12. Kallaf EA.; Galal M. and Authman M. (2003). The biology of *Oreochromis niloticus* in polluted canal. Ectoxicol. 2: 405-416.
13. Anand PS.; Pillai SM.; Panigrahi A.; Ravichandran P.; Ponniah GA. and Ghoshal TK. (2014). Growth, survival and length weight relationship of *Fenneropenaeus merguensis* at two different stocking densities in low saline zero water exchange brakish water ponds. Indian. J. Geomarine. Sci. 43(10):96-116.
14. da Rocha SS.; da Silva RL.; Sautos JL. and Olivera G. (2015). Length-weight relationship and condition factor of *Macrovrachium amazonicum* (Heller, 1862). (Decapoda: Palaemonidae) from a reservior in Bahia Barazil. Nauplius. 23(2): 149-161.
15. Abohweyere PU. and Williams AB. (2008). Length-weight relationship and condition factor of *Macrobrachium macrobrachium* in the Lagos-Lekki Lagoon system, Nigeria. Res. J. Biol. Sci. 3(11): 1333-1336.
16. King M. (2007). Fisheries biology assessment and management. Second ed. Black well Scientific Publications, Oxford. Pp.: 1-381.
17. Amahi AA.; Arshad A.; Yusoff FM. and Amin SMN. (2015). Length-weight relationship and relative condition factor of *Parapenaeopsis sculphlo* (Heller, 1862) from the coastal waters of Perak, peninsular Malaysia. Pertanika. J. trop. Agric. Sci. 38(2): 211-217.
18. Gautam K.; Nazar AR.; Ganesh EA.; Mahendran S. and Mahadevan G. (2014). Study of length and weight relationship of *Litopenaeus vannamei* (Boon, 1931) from east coast of India. Int. J. Sci. Inv. Today. 3(4): 365-367.
19. Prasad G. and Naga A. (2001). Length-weight relationships of *Penaeus monodon* Reard in semi-intensive culture system of Kerala, India. The Iclarm Quarter. 24(5): 1-23.
20. Nwosu FM. and Wolfi M. (2006). Population dynamics of the giant of rican river prawn *Macrobrachum vollenhareni* Herkl, 1867 (Crustacea, Palaemonidae) in the cross river Estuary, Nigeria. West Africa. J. Appl. Ecol. 9: 1-14.
21. Yakubu AS. and Ansa EA. (2007). Length-weight relationship of the Pink shrimp *Penaeus notialis* and giant tiger shrimp *P. monodon* of Buguma Creek in the Niger Delta Nigeria. Zool. 5: 47-53.
22. Lawal-Are AO. and Akinjognula VF. (2012). *Penaeus notialis* (Pink shrimp): length-weight relationship and condition factor in Lagos Lagoon, southwest, Nigeria. Sci. Technol. 3(2): 32-40.
23. Kunda M.; Dewan S. and Uddin MS. (2008). Length-weight relationship, condition factor and relative condition factor of *Macrobranchiym rosenbergii* De Man in rice fields. Asian fish. Sci. 21:451-456.

دراسة مقارنة لبعض صفات صنفين من الباميا في ظروف محافظة النجف الأشرف

جمال أحمد عباس ، منصور عبد أبو حنه ، جعفر نعمة مبرد

قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة الكوفة / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: phdjamal@yahoo.com

الملخص باللغة العربية

أجريت التجربة في إحدى المزارع الخاصة في محافظة النجف الأشرف خلال الموسم الزراعي 2014-2015 لإجراء مقارنة بين صنفين من محصول الباميا هما الصنف المحلي (الحسيناوية) والصنف الأجنبي المدخل حديثاً إلى العراق (Clemson spineless) في صفات النمو والحاصل وبعض الصفات الكيماوية. نفذت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة (R.C.B.D) بثلاث مكررات بعامل واحد هو الأصناف. تمت مقارنة المتوسطات حسب اختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) وعلى مستوى احتمال (0.05). أظهرت النتائج تفوق الصنف الأجنبي في مؤشرات النمو الخضري (ارتفاع النبات، عدد الأوراق والوزن الجاف للمجموع الخضري) ومحتوى الأوراق والثمار من الكربوهيدرات الكلية الذائبة، والنسبة المئوية للنيتروجين والفسفور في الأوراق والثمار، والبوتاسيوم في الثمار مع الصنف المحلي الذي أعطى أقل القيم. كما أعطى الصنف الأجنبي أفضل مواصفات للثمرة وأعلى عدد ووزن للثمار بلغت (13.88 ثمرة/نبات¹ و 55.33غم) إضافة إلى إعطاء أكبر حاصل للنبات الواحد بلغ (2840.84غم) معنوياً مقارنة مع الصنف المحلي الذي أعطى أقل حاصل بلغ (2227.62غم) وأقل وزن وعدد للثمار بلغا (11.40 ثمرة/نبات¹ و 52.67غم) على التوالي.

الكلمات المفتاحية: الباميا، Clemson spineless، محافظة النجف الأشرف.

A comparative study for some characteristics between two species of okra *Abelmoschus esculentus* L. under Al-Najaf province conditions

Jamal A. Abbass, Mansoor A. Aboohanah and Jafar N.A. Jabbar

Dept. of Horticulture and Landscape Design / Faculty of Agriculture / University of Kufa / Republic of Iraq

ABSTRACT

An experiment was conducted at the private farm in Al-Najaf province during the growing season 2014 – 2015 to study two varieties of okra local (Al-Hasinwia) and new exported in Iraq (Clemson spineless) on growth and yield parameters of okra. Experiment was adopted in Randomized Complete Block Design (R.C.B.D) with one factors (two variety). Means were compared by Least Significant Deference (L.S.D) test at probability level 0.05. Results showed that the foreign species had significantly increased vegetative parameters (plant height, number of total leaves and shoot dry) and content of total soluble carbohydrates, percentage of nitrogen and phosphorus in leaves and fruits and the potassium in fruit compared with local variety which gave the least values. Also the foreign species gave the best quality for fruit and the highest number and weight of fruit (13.88 fruit/plant¹ and 55.33gm) more than that gave the highest yield per plant (2840.84gm) compared with the local variety which gave the lowest yield (2227.62gm) and the lowest number and weight of fruit (11.40 fruit/plant¹ and 52.67gm) respectively.

المقدمة

جدول رقم (1): بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الحقل

الصفات	2013-2012
درجة التوصيل الكهربائي (ديسي سم.م ⁻¹)	2.21
تفاعل التربة pH	7.60
نسبة المادة العضوية % O.M	1.54
النيتروجين الكلي (ملغم.كغم ⁻¹)	31.70
الفوسفور (ملغم.كغم ⁻¹)	63.00
البوتاسيوم (ملغم.كغم ⁻¹)	101.00
طين Clay (غم. كغم ⁻¹)	9.50
غرين Silt (غم. كغم ⁻¹)	11.00
رمل Sand (غم. كغم ⁻¹)	79.50
نسجة التربة Texture	رملية – مزيجية

تمت زراعة البذور بتاريخ 2015/3/25 بعد نقعها بالماء الدافئ لمدة (24) ساعة في مروز المسافة بينها 75سم والمسافة بين كل حفرة وأخرى 30 سم. خفت الشتلات بتاريخ 2015/4/10 في مرحلة 3 - 5 أوراق حقيقية وبطول 15-20 سم إلى شتلة واحدة في كل حفرة. نفذت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة (R.C.B.D) وبثلاث مكررات ويعامل واحد هو صنفين من نبات الباميا. قورنت المتوسطات حسب اختبار أقل فرق معنوي وعلى مستوى احتمال 0.05 (8). وفي نهاية التجربة وبتاريخ 2015/8/15 تم قياس الصفات التالية كمعدل 5 نباتات لكل وحدة تجريبية:

أولاً: صفات النمو الخضري:

ارتفاع الساق الرئيسي: تم قياسه بدءاً من محل اتصال الساق الرئيسي بالتربة وحتى قمة النبات بواسطة شريط قياس (3م). عدد الأوراق الكلية (ورقة نبات¹). عدد الأفرع الكلية (فرع نبات¹). وشملت الأفرع التي تحوي على أكثر من سلاميه واحدة (9). الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم): جفف المجموع الخضري في فرن كهربائي متجدد التهوية على درجة حرارة (70) م إلى تمام الجفاف.

ثانياً: الصفات الكيميائية:

محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي (ملغم. غم⁻¹ مادة طرية): تم قياسها بحسب ما أشار إليه Goodwin (10). محتوى الأوراق والثمار من الكربوهيدرات الكلية (ملغم. غم⁻¹ وزن جاف): تم تقديرها في الأوراق والثمار بحسب ما جاء في Dudoies وآخرون (11). النسبة المئوية للنيتروجين الكلي في الأوراق والثمار (%): قيست باستعمال جهاز المايكرو كدال (Microkjeieahl) (12). النسبة المئوية للفوسفور في الأوراق والثمار (%): قيسرت النسبة باستعمال طريقة مولبيدات الأمونيوم وفق الطريقة المتبعة من قبل Sommer و Olsen (13). النسبة المئوية للبوتاسيوم في أوراق والثمار (%): تم تقديرها بواسطة جهاز قياس اللهب (Flame Photo Meter) وحسب الطريقة الواردة في A.O.A.C (14).

ثالثاً: صفات الحاصل:

تم أخذ هذه الصفات كمعدل لعشرة ثمار بصورة عشوائية ولثلاث جينات وهي قطر وطول الثمرة (سم)، إذ تم قياس الطول ابتداءً من قمع الثمرة وحتى نهايتها. أما القطر فقد تم قياسه من وسط الثمرة باستعمال القدمة Varner. عدد الغرف الهوائية في الثمرة (غرفة ثمرة¹). طول عنق الثمرة (سم).

محصول الباميا من الخضراوات المرغوبة في العراق والعالم. وهو نبات استوائي موطنه الأصلي الحبشة والسودان. يحتل مساحة واسعة في خارطة الزراعة من الإنتاج والتسويق في العراق. ثماره مرغوبة بدرجة كبيرة لدى أكثر سكان العراق. تزرع الباميا من أجل قرونها الخضراء، والتي تستخدم إما مطبوخة أو معلية أو مجمدة أو مجففة. كما يعد نبات الباميا مصدراً جيداً لبعض العناصر الغذائية مثل الكربوهيدرات والبروتينات، والعناصر المعدنية مثل الكالسيوم. كما تحتوي على نسبة من فيتامين الريبوفلافين والنياسين والثيامين والفيتامين C (1).

هناك العديد من الأصناف المحلية لنبات الباميا مثل الحسيناوية والحلاوية والتي تزرع في مناطق الفرات الأوسط. والتي تأقلمت في ظروف زراعتها وبالتالي أصبحت تعرف باسم المنطقة المزروعة فيها. وتختلف هذه الأصناف في طبيعة نموها وصفات ثمارها، ولهذا، يوجد تباين في الرغبة من ناحية استهلاكها باختلاف مناطق إنتاجها (2). ونتيجة لتطور العلوم الزراعية ولاسيما في مجال التربية وإنتاج الأصناف الجديدة وزيادة التنافس بين المنتجين في تحقيق أعلى مردود اقتصادي بأحسن نوعية، والذي يأتي بزيادة الإنتاج وتحسين النوعية والتبكير عن طريق إدخال الأصناف الجديدة بهدف الاستفادة من ارتفاع الأسعار في بداية الموسم، لجأ المزارعون إلى زراعة الأصناف الأجنبية المبكرة في الحاصل ذات القرون القليلة الأشواك والتي تعد من إحدى معوقات عملية جني المحصول، ومنها الصنف Clemson Spineless العديم الأشواك والذي يعد من الأصناف الشائعة الاستعمال في ولاية فلوريدا في الولايات المتحدة الأمريكية (3)، على الرغم من صفاتها الأخرى غير المرغوبة لدى المستهلك العراقي مثل لون القرون الأخضر الداكن وانحلالها عند الطبخ مقارنة بصفات الأصناف المحلية التي تمتاز بالنكهة والطعم واللون المرغوب، ولكن يعاب عليها التأخير بالحاصل وكثرة الأشواك في ثمارها (4). وقد وجد زيدان وشهاب (5) عند دراسة ثلاثة أصناف من الباميا (البترء والبترء والبترء) أن الصنف الأخير قد تفوق معنوياً في عدد الثمار للنبات وحاصل النبات الواحد، مقارنة مع الصنفين الآخرين والذين أعطيا أقل عدد وحاصل. وبين Mateus (6) في دراسته لسبعة أصناف من الباميا في إنجلترا ومنها الصنف Clemson Spineless أن الأصناف اختلفت في مؤشرات الثمار (طول وقطر الثمرة ومعدل وزن الثمر للنبات الواحد) والإنتاجية لوحدة المساحة. ودرس Iyagba وآخرون (7) في نيجيريا ثلاث أصناف من الباميا وأوضح أن السلالات تختلف في ارتفاع النبات والمساحة الورقية وعدد الأزهار والوزن الطري للثمار والإنتاجية لوحدة المساحة. ونظراً لزيادة الطلب الغذائي على محصول الباميا وتسهيل عملية جني للمحصول، فقد أجريت هذه التجربة بهدف دراسة مقارنة بين صنفين هما الصنف المحلي (الحسيناوية) والصنف الأجنبي (Clemson spineless) العديم الأشواك على ثماره المدخل حديثاً إلى العراق تحت ظروف محافظة النجف الأشرف.

المواد وطرق العمل

أجريت التجربة في إحدى المزارع الخاصة في محافظته النجف الأشرف خلال الموسم الزراعي 2014-2015 لإجراء مقارنة بين صنفين من محصول الباميا هما الصنف المحلي (الحسيناوية) المشتراة بنوره من السوق المحلي والثاني الصنف (Clemson spineless) المنتج من شركة (Modesto) الأمريكية والمدخل حديثاً إلى العراق. حلت تربة الحقل في مختبر تحليلات التربة التابع لقسم التربة والمياه في كلية الزراعة، جامعة الكوفة، وذلك بأخذ عينات عشوائية من تربة حقل التجربة وعلى عمق (30-0) سم في ثلاث مواقع مختلفة، لغرض تحليل بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لها (جدول رقم 1).

جدول رقم (2): تأثير الصنف في صفات المجموع الخضري لنبات الباميا للموسم 2014-2015

الأصناف	ارتفاع النبات (سم)	عدد الأوراق (ورقة/نبات ¹)	عدد الأفرع الكلية (فرع/نبات ¹)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم)
المحلي	6.786	37.22	7.25	31.60
الأجنبي	75.12	54.89	7.66	45.45
L.S.D	8.09	10.34	N.S	12.49

الصفات الكيميائية:

تبين النتائج أن الصنف الأجنبي تفوق على الصنف المحلي معنويًا في إعطاء أعلى محتوى من الكربوهيدرات الكلية الذائبة في الأوراق والثمار بلغت (8.63 و 7.86) ملغم/غم¹ وزن جاف، وأكبر نسبة منية من النيتروجين والفسفور في الأوراق والثمار بلغت (1.60 و 0.53) و (0.66 و 0.17) على التوالي، وأكبر نسبة منية للبيوتاسيوم في الأوراق بلغت (0.17) مقارنة بالصنف المحلي الذي أعطى أقل القيم، إذ بلغت (6.83 و 7.78) و (0.78 و 0.44) و (0.49 و 0.51) و (0.13) على التوالي. في حين لم يكن هناك اختلاف معنوي في محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي والنسبة المئوية للبيوتاسيوم في الثمار معنويًا (جدول رقم 3).

جدول رقم (3): تأثير الصنف على الصفات الكيميائية للأوراق وثمار الباميا للموسم 2014-2015

الأصناف	محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي (ملغم/100 غم ¹ وزن طري)	محتوى الأوراق من الكربوهيدرات الكلية الذائبة (ملغم/غم ¹ وزن جاف)	محتوى الأوراق من الكربوهيدرات الكلية الذائبة (ملغم/غم ¹ وزن جاف)	النسبة المئوية للنيتروجين في الأوراق (%)	النسبة المئوية للفسفور في الأوراق (%)	النسبة المئوية للفسفور في الثمار (%)	النسبة المئوية للبيوتاسيوم في الأوراق (%)	النسبة المئوية للبيوتاسيوم في الثمار (%)
المحلي	5.04	6.83	7.78	0.78	0.44	0.49	0.51	0.13
الأجنبي	5.82	8.63	7.86	1.60	0.53	1.21	0.66	0.17
L.S.D	N.S	1.08	0.72	0.39	0.08	0.17	0.12	0.01

صفات الحاصل:

بلغ (2.46). وأما حاصل الصنف الأجنبي، فقد تفوق معنويًا في وزن الثمرة الواحدة وحاصل النبات، إذ أعطى أعلى وزن بلغ (55.33 غم) وأكبر حاصل بلغ (2840.8 غم)، في حين أعطى الصنف المحلي أقل وزن بلغ (52.67) وأقل طول بلغ (2227.6) معنويًا. ولم يكن هناك أي تأثير معنوي لقطر وطول الثمرة وعدد الثمار (جدول رقم 4).

عدد الثمار (ثمرة/نبات¹) ووزن الثمرة (غم) : إذ تم حسابه لجميع الجينات طيلة موسم النمو. حاصل النبات الواحد (كغم): حسب الحاصل التراكمي لجميع الجينات (8 جينات) طيلة موسم النمو.

النتائج والمناقشة

صفات النمو الخضري:

يوضح الجدول رقم (2) أن الصنف الأجنبي تفوق معنويًا في إعطائه أعلى المعدلات لارتفاع النبات، عدد الأوراق والوزن الجاف للمجموع الخضري. إذ بلغت 75.12 سم 54.89 ورقة، نبات¹ و 45.45 غم مقارنة مع الصنف المحلي الذي أعطى أقل القيم 66.78 سم 37.22 ورقة نبات¹ و 31.20 غم. ولم تظهر عدد الأفرع أي اختلافات معنوية بين الصنفين.

تبين النتائج أن الصنف الأجنبي قد تفوق معنويًا في إعطاء أكبر عدد من الغرف الهوائية في الثمرة بلغ (6.20) وأكبر طول لعنق الثمرة، إذ بلغ (2.88) سم مقارنة بالصنف المحلي الذي أعطى أقل عدد من الغرف الهوائية في الثمرة بلغ (4.40) وأقل طول لعنق الثمرة، إذ

جدول رقم (4): تأثير الصنف على صفات الحاصل لنبات الباميا للموسم 2014-2015

الأصناف	قطر الثمرة (سم)	طول الثمرة (سم)	عدد الغرف الهوائية (غرفة/ثمرة ¹)	طول عنق الثمرة (سم)	عدد الثمار (ثمرة/نبات ¹)	وزن الثمرة (غم)	معدل الحاصل لنبات الواحد (كغم)
محلي	2.02	7.29	4.40	2.46	42.29	52.67	2227.62
أجنبي	2.12	7.61	6.20	2.88	51.34	55.33	2840.84
L.S.D	N.S	N.S	1.62	0.16	N.S	1.98	55.33

المناقشة

المحصول ونوعيته (16). إذ بين Kole و Michra (17) بأن الأصناف النباتية تختلف في صفاتها المظهرية تبعًا لاختلافاتها الوراثية، وأن نمو النباتات في بيئة ما هي الإفاعل العناصر البيئية المختلفة (18). ويتشابه هذا مع الحمداني (19)، الذي ذكر بأن الظروف البيئية والعوامل الوراثية هي من العوامل المهمة المؤثرة في الصنف وصفاته.

تبين من جدول رقم (2) تفوق الصنف الأجنبي المدخل حديثًا إلى العراق على الصنف المحلي في صفات النمو الخضري (ارتفاع النبات، عدد الأوراق، الوزن الجاف للمجموع الخضري). وربما يعود السبب في ذلك إلى اختلاف التركيب الوراثية بين الصنفين والتي بدورها تحدد قابلية كل صنف في التأثير على مؤشرات النمو (15)، إذ يحكم الأصناف بشكل عام التداخل الوراثي والبيئي. وأن العوامل الوراثية هي التي تحدد نمو الكائن الحي وتطوره، لذا فإن الطبيعة الوراثية للصنف المزروع تؤثر بشكل كبير على نمو وكمية

13. Olsen SK. and Sommers LE. (1982). Phosphorus (In. Page, A. L. et. al. (eds) Methods of Soil Analysis. Amer. Agron. Inc. Madison. Wisconsin. New York. USA.
14. Association of the Official Analytical Chemist (A.O.A.C). (1970). Official Method of Analysis. 11th ed. Washington. D. C. P. 1015. USA.
15. أبو ضاحي، يوسف محمد، اليونس، مؤيد أحمد. (1988). دليل تغذية النبات. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.
16. Seeling RN. (1974). Glaric. Fruit and vegetable facts and pointers, United fresh fruit and vegetable Association. Alexandria. Egypt. VA. P.:7.
17. Kole PC. and Mishra AK. (2002). Divergence analysis in fenugreek (*Ttigonella foenum- graceum* L.). Res. On Crop. 3(1):197- 199.
18. المساف، علي عبد روس. (1995). أساسيات إنتاج المحاصيل الحقلية. مطبوعات جامعة عدن. سلسلة الكتاب الجامعي. (3):40-60. اليمن.
19. الحمداني، إيفان عواد عبد الجبار. (2008). تأثير الرش محلول المغذي (KINGLIFE) في نمو وحاصل صنف من الكلم (*Brassica oleracec* var. *caulorapa* L.). المنطقة الصحراوية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة الكوفة. جمهورية العراق.
20. الجواري، عبد الرحمن خماس سهيل. (2002). تأثير الرش في مغذيات مختلفة في نمو وحاصل الفلفل الحلو (*Capsicum annum* L.). رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.

كذلك فإن الاختلاف في محتوى الأوراق والثمار من الكربوهيدرات الكلية الذاتية (جدول رقم 3) قد يعود إلى نفس الأسباب المشار إليها في الصفات الخضريّة، إذ إن نمو النبات في بيئة ما هي إلا محصلة تفاعل العناصر البيئية والوراثية المختلفة. كما أن زيادة النمو الخضري وخاصة الأوراق الكلية والوزن الجاف للمجموع الخضري (جدول رقم 2) قد يؤدي إلى تنشيط عملية البناء الضوئي وزيادة المواد المصنعة في النبات، ومنها الكربوهيدرات (15)، مما يعمل بالنهاية على زيادة محتوى الأوراق والثمار من الكربوهيدرات الكلية الذاتية. كما يتضح من جدول رقم (4) تفوق الصنف الأجنبي على الصنف المحلي في صفات الحاصل. وقد يعزى السبب إلى تحسين صفات النمو الخضري (عدد الأوراق الكلية) (جدول رقم 2) ومحتوى الأوراق من الكربوهيدرات الكلية الذاتية (جدول رقم 3)، والذي يؤدي إلى تنشيط وزيادة نواتج عملية البناء الضوئي، وزيادة تصنيع المواد الغذائية وانتقالها إلى الثمار مسبباً زيادة وزن الثمرة (20). كما أن زيادة عدد الثمار ووزنها (جدول رقم 4) انعكس بالنهاية على زيادة حاصل النبات الواحد، إذ إن الإنتاج الكلي ناتج من عدد ثمار النبات مضروب في وزنها (15). نستنتج من التجربة أن الصنف الأجنبي يمتلك مواصفات جيدة للنمو الخضري، إضافة إلى أن حاصله أعلى حاصل الصنف المحلي.

المصادر

1. المحمدي، فاضل مصلح حمادي، عبد الجبار جاسم مشعل. (1987). إنتاج الخضر. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.
2. فندري، محمد. (1983). تطبيقات علمية في تربية النبات. ترجمة سعد زكي الحنفي. جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.
3. Simonne EH.; Stall WM.; Olson SM.; Webb SE. and Zhang S. (2010). Okra production in Florida. Chapter 3: 157 – 165. USA.
4. المفرجي، عثمان خالد علوان. (2006). تحليل قدرة الانثلاف وتقدير قوة الهجين والمعالم الوراثية في الباميا. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. جمهورية العراق.
5. زيدان، غسان جايد، شهاب، مزهر شريف. (2010). تأثير قرط القصة النامية في نمو وحاصل ثلاثة أصناف من الباميا *Abelmoschus esculentus* L. Moench تحت ظروف البيت البلاستيكي. مجلة جامعة تكريت. 10(1):120-128.
6. Mateus RF. (2011). Evaluation of varieties and cultural practices of okra (*Abelmoschus esculentus*) for production in Massachusetts. M.Sc thesis. University of Massachusetts. USA.
7. Iyagba AC; Onuegbu BA. and Iba AE. (2012). Growth and yield of okra(*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) varieties to weed interference in South- Eastern Nigeria. Global J. Sci. Front. Res. Agri. Veter. Sci. 12(7):23-31.
8. الراوي، خاشع محمود، خلف الله، عبد العزيز. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.
9. مطر، أحمد عبيس. (1984). تأثير الصنف وفترات الجني على صفات النمو الخضري وكمية ونوعية الحاصل في الباميا *Hibiscus esculentus* L. رسالة ماجستير. كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل. العراق.
10. Goodwin TW. (1976). Chemistry and biochemistry of plant pigments. 2nd ed. Academic Press. Sanfrancisco. USA.
11. Dubioes M.; Gilles KA.; Hamiitton JK.; Robers RA. and Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of Sugar and related substance. Anal. Analyt. Chem. 28:350-356.
12. Jackson ML. (1958). Chemical analysis. Prenticaints Hall Inc. Englewood, Cliffs, N. T. USA.

تصنيف بلورات الإدرار باستخدام الشبكة العصبية الاصطناعية

زياد محمد عبود (1)، عزمي توفيق (2)، عبد الرحمن حماد جاسم (2)

(1) كلية التربية / الجامعة المستنصرية (2) كلية التربية / جامعة الأنبار / جمهورية العراق

البريد الإلكتروني: dr.ziadmabood@uomustansiriyah.edu.iq

الملخص باللغة العربية

يعد موضوع تصنيف بلورات أملاح الإدرار مهماً لتشخيص الحصى في كلي الإنسان، لذلك تم في الدراسة الحالية إعداد برنامج متكامل لحساب بلورات الدراسة لكل عينة، إذ تم التقاط 30 صورة لعينات الدراسة المتكونة من بلورات أوكسالات الكالسيوم الأحادية وبلورات بيورات الأمونيوم وبلورات السيستين. (تم أخذ صور العينات من مستشفى النعمان التعليمي في الأعظمية ومستشفى كمال السامرائي والمركز الصحي في الدهاليك). وتم انتخاب 60 بلورة من البلورات المستخلصة منها بواقع 20 بلورة لكل نوع من أنواع بلورات الدراسة الأنفة الذكر، ومن ثم تصنيفها إلى مجاميع متنوعة بالاعتماد على الاختلاف بالشكل والحجم. بالإمكان تطبيق البرنامج لبناء منظومة للتحليل الطبية يستفاد منها في مختبرات تشخيص بلورات الإدرار.

تم في هذه الدراسة استخدام الشبكة العصبية الاصطناعية ومعالجة الصور الرقمية لإعطاء نتائج ذات دقة عالية في تصنيف صور بلورات الإدرار، اعتماداً على الميزات التي تحويها. تم استخدام 15 طبقة مخفية، وكانت نتيجة التدريب 98.3%، ونسبة الخطأ 1.7%. وكانت نتيجة الاختبار 100%.

الكلمات المفتاحية: الشبكة العصبية الاصطناعية، بلورات الإدرار، معالجة الصور الرقمية، ماتلاب، عمليات إحصائية.

Diuresis crystals classification for diagnosis of kidney diseases using artificial neural network (ANN)

Ziad M. Abood (1), Azmi Tawfeeq (2) and Abdul-Rahman H. Jassim (2)

(1) College of Education / Mustansiriyah University (2) College of Education / University of Anbar / Republic of Iraq

ABSTRACT

The classification of crystals salts is considered important for the diagnosis of gravel in human kidneys, so it has been in the current study of an integrated program to calculate the study crystals each sample preparation, as it was taken 30 pictures of samples consisting of crystals of calcium oxalate single crystals Biurate ammonium crystals cysteine study (was taking pictures of samples from Nu'man Hospital in Adhamiya, Kamal Al-Samarrai hospital and Health Center in Al-Dhalik), was elected 60 crystal of crystals derived from them by 20 crystallize for each type of the above-mentioned study crystals, and then classified into various groups depending on the different shape and size, it is possible the program application to build a system for medical analysis utilized in the diagnosis of crystals Diuresis laboratories.

In this study; the use of artificial neural network and digital image processing to give the results of high-resolution images in the classification of crystals Diuresis depending to the features they contain. It was used 15 hidden layers and was the result of training, 98.3% and 1.7% error and the test result of 100%.

المقدمة

4-4 بلورات كربونات الكالسيوم (Calcium Carbonate) Crystals): ظهورها طبيعي (Normal) في الإدرار. مظهرها عديمة اللون وتأخذ شكل الدمبلز (dumbbells) ليس لها أهمية سريرية ولكن يمكن أن يتم الخلط بينها وبين العناصر الأخرى. لا تتكون إلا في الوسط القاعدي لأنها تذوب في الوسط الحامضي وتتفاعل وتكون رغوة مع حامض الهيدروكلوريك (Hydrochloric acid) ومع حامض الخليك (Acetic acid) (3).

هدف الدراسة

نظراً لكون طريقة تصنيف بلورات الإدرار إحدى التحاليل المهمة لتشخيص أمراض الكلى، لذلك ظهرت الحاجة إلى طريقة سريعة وغير مكلفة تساعد الإنسان في حساب وتصنيف هذه البلورات. ولحل هذه المشكلة طبقت طرق التحليل الإحصائي للصورة الرقمية وباستخدام الشبكة العصبية الاصطناعية في برنامج Matlab-R2014a لتصنيف أنواع البلورات لصور تمثل عينات إدرار على شرائح زجاجية ومكبرة باستخدام المجهر الضوئي. وهنا تم دراسة ثلاثة أنواع من البلورات أعلاه وهي بلورات أوكسالات الكالسيوم الأحادية، وبلورات بيورات الأمونيوم، وبلورات السيسيتين.

معالجة الصور Image Processing

هي تلك العمليات التي تستخدم لتوفير فرص الحصول على أكبر قدر من المعلومات الدقيقة التي يمكن أن تتضمنها الصور المدروسة، من خلال إجراء العديد من العمليات التي تتضمنها معالجة الصور الرقمية (3). ويمكن تقسيم عمليات معالجة الصور الرقمية إلى أربع عمليات أساسية تتم كلها بواسطة الحاسوب، وهي:

a- استرجاع الصورة (Image Restoration): وهي العملية التي يتم فيها معالجة الأخطاء في البيانات المدخلة وإعادة الصورة الرقمية إلى الهيئة التي يفترض أن تكون عليها إذا لم يصحب عملية التصوير مصادر تشوه أو أخطاء. وهذه العملية أيضاً يطلق عليها المعالجة الأولية (preprocessing)، ذلك لأنها تسبق عمليات معالجة الصورة الرقمية التي يتم فيها تحسين الصورة واستنباط المعلومات منها (5).

b - تحسين الصورة (Enhancement Image): تحسين الصورة هي عملية تصفية، أو إزالة مناطق غير مرغوب بها في الصورة، والتي تؤثر على ملامح الصورة، وتستخدم المرشحات الحيزية (Special Filter) لإزالة الضوضاء أو لتحسين الصورة، أو تطبيق هذه المرشحات على عناصر الصورة مباشرة، إذ تطبق عناصر الصورة باستخدام إحدى التحويلات مثل تحويلات فوريير (Fourier Transformations) وتحويلات الجيب تمام (Cosine). ومن أمثلة المرشحات الحيزية مرشح المتوسط (Mean Filter)، مرشح الوسيط (Median Filter)، مرشح التحسين (Enhancement Filter). تستخدم النوعين الأول والثاني لإزالة الضوضاء وبعض التطبيقات التي تعمل على تنعيم الصورة (Image Smoothing)، أما النوع الثالث فيستخدم لتوضيح الحافات (Edges) والتفاصيل (Details) الموجودة في الصورة (6).

c - تصنيف الصورة الرقمية (Image Classification): استخلاص المعلومات من الصورة الرقمية هي العملية التي يتم فيها تحليل بيانات الصورة الرقمية آلياً وذلك بوضع قواعد ونظم كمية تعتمد على قيم الإشعاعات الطيفية المتعددة، تصمم للحاسب الآلي لاتخاذ القرار للتعرف على الأهداف التي تغطيها الصورة الرقمية بعد تصنيفها إلى مجموعات تمثل أهدافاً ذات قيم إشعاعية متماثلة (5)، (7).

d - دمج مجموعة البيانات (Data Merging): هي عملية يتم فيها وضع برمجيات لإجراء التكامل بين مجموعات متعددة من البيانات لنفس الموقع، مثل النقاط صور رقمية لنفس المنطقة في تواريخ مختلفة للتعرف على التغيرات التي تحدث بمرور الزمن، كما يمكن دمج بيانات الصور الرقمية مع بيانات أخرى مثل النماذج

يعرف الإدرار بأنه أحد السوائل الجسمية، وهو السائل الذي تستخلصه الكليتان من الدم، ثم تفرزانه من خلال الحالب ليصل المثانة ثم الإحليل ليخرج من الجسم، للتخلص من الأملاح والمياه الزائدة في الجسم. يكون للإنسان السليم عادة أصفر اللون وذلك تبعاً لنسبة الماء والمواد الصلبة ونوعها فيه، فكلما زادت مال إلى الاصفرار، وإذا زاد الماء مال إلى لونه (1).

يحظى موضوع الشبكة العصبية وتقنيات معالجة الصور الرقمية بأهمية بالغة في مجالات الطب بأنواعه، سواء من حيث التشخيص أو العلاج، إذ وضعت كثير من البرمجيات للحصول على قرار دقيق في تشخيص الأمراض، وأيضاً للتحكم أو السيطرة على أداء وسائل العلم والتكنولوجيا التي أصبحت في متناول العاملين، وذلك لتوفر المقدار الأكبر من الإمكانيات العلمية بشكل مختزل يفي بالغرض، ويسهل كثيراً من عمليات التشخيص في وقت قصير. يساعد تشخيص الأمراض مبكراً على الشفاء المبكر وإمكانية تجنب كثير من هذه الأمراض وخاصة الأمراض السرطانية منها. وتزداد أهمية دور هذه الأنظمة مع التقدم التقني في التصوير الطبي باستخدام الحاسوب، والتي تنتج كميات كبيرة من البيانات التي من الممكن تفسيرها لإعطاء قرار معين في تشخيص الأمراض بشكل فعال وسريع (2).

أنواع بلورات الإدرار

تصنف بلورات الإدرار إلى الأنواع التالية:

1- البلورات الحامضية (Acid Crystals): هي بلورات تتكون في الأوساط الحامضية. والشائع من البلورات الحامضية:

1-1 بلورات حمض اليوريك (Uric Acid Crystals): بلورات حمض اليوريك طبيعية (Normal) في الإدرار. توجد في أشكال متعددة، غالباً ما تكون بنية مصفرة اللون (3).
1-2 يورات غير متبلورة (Amorphous Urates): غالباً البلورات الطبيعية (Normal) تظهر في شكل غير متبلور، لونها بني، تظهر على شكل حبيبات متناثرة في الإدرار مع حمض اليوريك (3).

2- بلورات أوكسالات الكالسيوم (Calcium Oxalate): (4)
طبيعية (Normal) في الإدرار تظهر عديمة اللون وبأشكال عديدة: 1-2 أحادي الهيدرات (Monohydrate): شكل البلورة قريب إلى الدمبلز (Dumbbells).
2-2 ثنائي الهيدرات (Dihydrate): ثنائي السطوح (شكل ظرف الرسائل) وهو الأكثر شيوعاً.

3- بلورات السيسيتين (Cystine Crystals): وجودها في الإدرار يشير إلى حالة غير طبيعية (Abnormal)، مظهرها عديمة اللون، رقيقة، سداسية الشكل، هي السبب الأكثر شيوعاً لحصى الكلى في الأطفال، للتأكد من وجود بلورات السيسيتين يتم اختبارها بالسليانيد-نتر وروسيد (تتحول إلى لون إرجواني) (3).

4- البلورات القاعدية (Crystals Alkaline): بلورات تتكون في الأوساط القاعدية. والبلورات الشائعة في الإدرار القاعدي:

1-4 بلورات الفوسفات الثلاثي (Triple Phosphate Crystals): تظهر عادة على شكل "غطاء النعش"، تتكون بلورات الفوسفات الثلاثية من الأمونيوم والمغنيسيوم والفوسفات. على الرغم من أن هذا النوع من البلورات طبيعية (Normal) إلا إنها قد تكون مرتبطة مع تشكيل حصوات الكلى (3).

2-4 الفوسفات الغير متبلورة (Amorphous Phosphates): الفوسفات الغير متبلورة ظهورها طبيعي (Normal) في الإدرار. وهي تشبه اليورات الغير متبلورة ماعدا أنها عديمة اللون. عند تبريد الإدرار الحاوي على الفوسفات سوف تترسب الفوسفات الغير متبلورة، وتبدو رواسب بيضاء ثقيلة كأنها غائمة عكرة في محلول الإدرار (3)

3-4 بلورات بيورات الأمونيوم (Ammonium biurate): بلورات بيورات الأمونيوم طبيعية (Normal) في الإدرار، تظهر بني مصفر، تشبه في الشكل التفاح الشوكي حيث شكلها كروي شائك (3).

الرقمية لسطح الأرض وبيانات الغطاء الأرضي لاستغلالها في نظم المعلومات الجغرافية (7، 8).

الشبكات العصبية الاصطناعية والشبكات العصبية الطبيعية Natural Neural Networks Artificial and Neural Networks

تعتبر الشبكات العصبية الاصطناعية تقنية رياضية برمجية تم تصميمها لمحاكاة عقل الإنسان لإنجاز مهمة معينة في طريقة التفكير

ومعالجة الأعصاب للمعلومات من خلال نظام معالجة موزع على التوازي (9، 10). تتكون الشبكات العصبية الاصطناعية من وحدات معالجة وهي عناصر حسابية تسمى عصبونات أو عقد (Nodes Neurons)، التي لها خاصية عصبية إذ إنها تقوم بتخزين المعرفة العملية والمعلومات التجريبية لتجعلها متاحة للمستخدم وذلك عن طريق ضبط الأوزان (Adjust the weights) (11). والجدول رقم (1) يبين مقارنة بين الخلية العصبية والطبيعية والخلية العصبية الاصطناعية (12). كما يبين كل من شكل رقم (1) ، (2) نظاما يحاكي العملية الموجودة في الخلية العصبية الطبيعية (11).

جدول رقم (1): مقارنة بين الخلية العصبية الطبيعية والخلية العصبية الاصطناعية

الخلية العصبية الطبيعية	الخلية العصبية الاصطناعية
تتكون الخلية العصبية الطبيعية من ثلاثة أجزاء: - الزوائد (Dendrites) وهي تفرعات الخلية العصبية التي تحمل الدفعات العصبية وعادة عن متحسسات تقوم بالتقاط الإشارات العصبية من خلايا عصبية أخرى. - جسم الخلية (cell body) وهي تقوم على تجميع الإشارات المستقبلة من خلال الزوائد التي تستخدم في المقارنة. - المحور العصبي (Axon) وهو الجزء الذي يقرر إرسال إشارة إلى الخلايا التي تلي الخلية الحالية.	تتكون من: - المدخلات (input vector) وتمثل بـ (X_1, X_2, \dots, X_n) ويقابلها الـ (Dendrites) للخلية العصبية الطبيعية. - الوزن (Weights) يمثل بـ (W_1, W_2, \dots, W_n) ويمثل درجة الوزن للإشارة المدخلة. - الخلية العصبية Neuron وهي الوحدة الأساسية في بناء الشبكات العصبية الصناعية. أو عنصر المعالجة Processing Element. وتتكون من الجامع (Adder) وتابع التفعيل (Activation Function) والمخرجات (Output).

الشبكة العصبية ذات الانتشار الخلفي Neural Networks Back-Propagation

كل شبكة عصبية قد تم تدريبها باستخدام خوارزمية الانتشار الخلفي تدعى بالشبكة العصبية ذات الانتشار الخلفي. تعد الشبكة العصبية ذات الانتشار الخلفي نموذجاً مألوفاً جداً في الشبكات العصبية، وهي الأكثر استخداماً في معمارية الشبكات العصبية، والسبب الرئيس لهذا هو: أنها سهلة التنفيذ، إذ إن الشبكات المستخدمة لخوارزمية الانتشار الخلفي تتعلم المخططات المعقدة المتعددة الأبعاد بسهولة أكثر من استخدامها للخوارزميات الأخرى (13). والعديد من التطبيقات يمكن أن تصاغ باستخدام شبكة الانتشار الخلفي، إذ يكون لديها نموذج لأغلب الشبكات العصبية المتعددة الطبقات. ومن ثم يمكننا القول إن أكثر طريقة تدريب شائعة الاستخدام في الشبكات العصبية المتعددة الطبقات هي خوارزمية الانتشار الخلفي، وقد تم اختبارها بنجاح لأنواع مختلفة من المهام (14). وبالرغم من أن الشبكة لا تضم ارتباطات للتغذية الخلفية، لكن الأخطاء تنتشر عكسياً للخلف خلال عملية التدريب. والأخطاء في طبقة الإخراج تحدد قياسات الأخطاء في الطبقة المخفية، التي تستخدم كإحياز لتعديل أوزان الربط بين طبقة الإدخال والطبقة المخفية. كل معالجة تكرر تضم تعديل مجموعتين من الأوزان على الأقل بين زوج من الطبقات وتدوير الإخراجات، وتستمر هذه المعالجة إلى أن تقع الأخطاء تحت مستوى تفاوت مسموح به (15، 16).

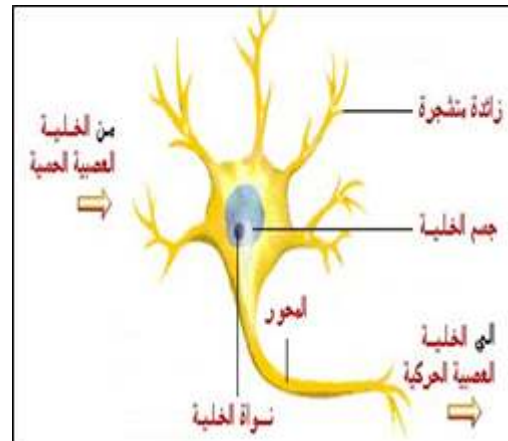
طرق المعالجة الإحصائية

تم استخدام بعض المقاييس الإحصائية الهامة لتطبيق الدراسة الحالية. هذه المقاييس تتمثل فيما يأتي:

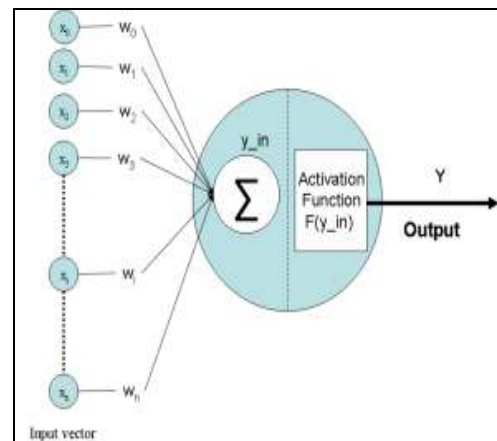
- الوسط الحسابي Arithmetic Mean: مجموع القيم مقسومة على عددها وكما في الصيغة التالية:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \dots (1)$$

إذ تمثل n عدد البكسلات.

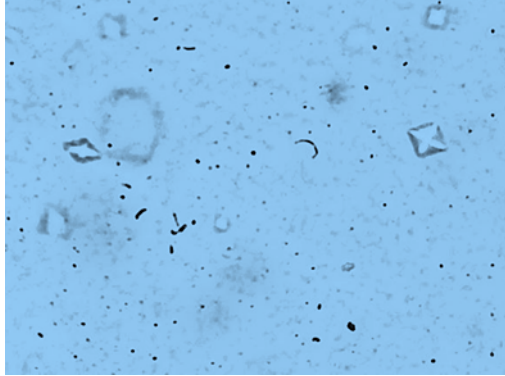


شكل رقم (1): الخلية العصبية للإنسان



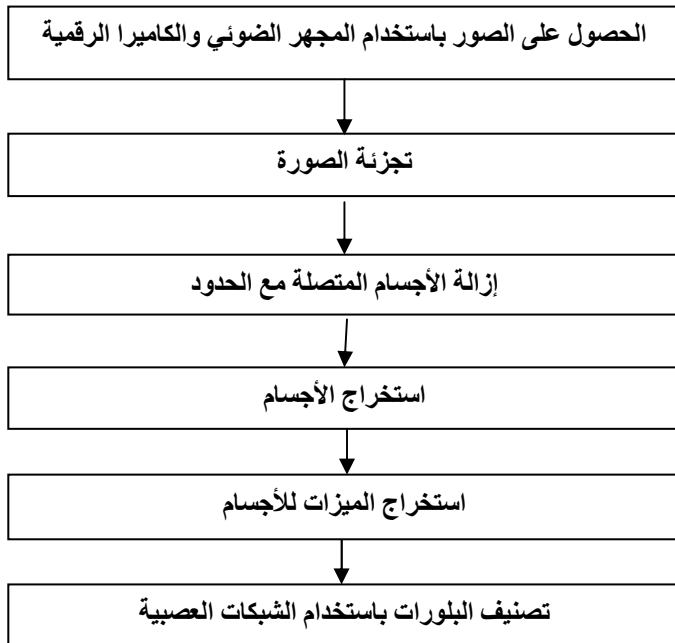
شكل رقم (2): محاكاة الخلية العصبية الطبيعية

الحصول على الصور: بعد تحضير العينات، تم وضع الشرائح تحت المجهر الضوئي. وتم الحصول على صورة رقمية ذات دقة مناسبة، إذ تم التقاطها باستخدام كاميرا رقمية (الشكل رقم 4). وتم تخزين الصورة مباشرة في الحاسوب.



شكل رقم (4): صورة لعينة إدرار بشري مكبرة 400x

خوارزمية العمل: تم تقسيم البلورات في الإدرار عن طريق العمليات المورفولوجية (الشكلية) مثل حد العتبة (Thresholding)، والتفريغ والملاءمة (Erosion And Dilation) ومن ثم استخراج الميزات من بلورات الإدرار المجزئة (المستقطعة). ثم استخدمنا الشبكة العصبية الاصطناعية لتصنيف البلورات بشكل أكثر كفاءة من أجل تمييز أنواع البلورات الخاصة بهذا البحث وكما في الشكل رقم (5).



شكل رقم (5): مخطط يوضح خوارزمية الدراسة الحالية

النتائج والمناقشة

النتائج الإحصائية: تبين الجداول (2-4) نتائج تطبيق العمليات الإحصائية في المعادلات (1 إلى 5) على صور الدراسة وعددها (60) صورة تمثل (20) منها عينات لبلورات أوكسالات الكالسيوم الأحادية و(20) صورة تمثل عينات لبلورات بيورات الأمونيوم و(20) صورة تمثل عينات لبلورات السيستين.

التباين Variance: متوسط مجموع مربع انحرافات القيم عن وسطها الحسابي

$$S^2 = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1} \dots (2)$$

الانحراف المعياري Standard Deviation: هو من أدق مقاييس التشتت، ولكنه لا يصلح عند المقارنة بين التوزيعات المختلفة، ويتم حسابه على أساس أنه الجذر التربيعي الموجب للتباين.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \dots (3)$$

التدوير Roundness ويقصد بالتدوير نسبة مساحة المنطقة للكانن إلى منطقة المنحنى المحيط به، أي يهدف لتصنيف الكائنات بالاعتماد على استدارة المحيط perimeter، إذ يكون قيمته تساوي واحد للدائرة المثالية.

$$\text{Roundness} = 4 \cdot \pi \cdot \text{area} / \text{perimeter}^2 \dots (4)$$

الالتواء Skewness: مقياس تشتت نسبي، ويحدد طبيعة البيانات من حيث التماثل Symmetric أو الالتواء. وصيغة الالتواء:

$$\text{skewness} = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^3 / N}{(S)^3} \dots (5)$$

التفلطح Kurtosis: مقياس يصف ارتفاع قمة المنحنى من حيث الاعتدال أو التدب أو التفلطح.

$$\text{Kurtosis} = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^4 / N}{(S)^4} \dots (6)$$

المواد وطرق العمل

تحضير العينات وطريقة العمل: تم تحضير عينات إدرار بشري على شريحة زجاجية، وتم التقاط صور العينات في مستشفى النعمان التعليمي في الأعظمية ومستشفى كمال السامرائي والمركز الصحي في الداهليك بواسطة مجهر ضوئي ذي كاميرا رقمية مرتبطة مباشرة بالحاسوب (شكل رقم 3).



شكل رقم (3): النقاط الصورة بالكاميرا الرقمية المثبتة على المجهر الضوئي

جدول رقم (2): قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والتغاير ونسبة التدوير والانواء والتفطح لعينات الدراسة/
بلورات أوكسالات الكالسيوم الأحادية (Monohydrate) Calcium Oxalate

ت	التفطح	الانواء	التدوير	التباين	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي
1	2.270048	-0.1078433	0.38761952	0.2134	0.462	156.750223
2	2.172926	0.03516075	0.6836596	0.2213	0.47	156.9488636
3	2.136472	-0.0493683	0.413957	0.1977	0.445	156.0201932
4	2.055186	-0.0123295	0.7197317	0.2079	0.456	221.871319
5	2.054064	-0.0067496	0.62121102	0.2168	0.466	222.4781823
6	2.092163	-0.0002213	0.60160266	0.2301	0.48	156.3517655
7	2.295205	0.00320596	0.7960655	0.2277	0.477	165.5236415
8	2.285778	-0.0242486	0.89398971	0.2375	0.487	177.5609952
9	1.805252	0.02455265	0.84984775	0.0215	0.147	166.8481174
10	1.826065	-0.0245089	0.71369826	0.0747	0.273	168.3305304
11	2.028029	-0.0136442	0.83458238	0.1964	0.443	209.4035813
12	2.109045	0.00024563	0.85231854	0.2096	0.458	183.2332059
13	2.072831	0.0770996	0.81942247	0.1996	0.447	180.0163588
14	1.801198	-0.0104533	0.75868212	0.0788	0.281	184.2220708
15	1.974582	0.03099047	0.7478241	0.1686	0.411	195.6788991
16	1.987828	0.00638331	0.6544841	0.177	0.421	181.5394456
17	1.867078	-0.012735	0.80609082	0.1133	0.337	210.5010389
18	2.334383	0.0215107	0.84607518	0.2411	0.491	169.7121685
19	2.329123	0.03039919	0.66586407	0.2317	0.481	173.2418896
20	2.325301	0.03922177	0.73826595	0.236	0.486	184.3248478

جدول رقم (3): قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والتغاير ونسبة التدوير والانواء والتفطح لعينات الدراسة/
بلورات بيورات الأمونيوم (Ammonium biurate)

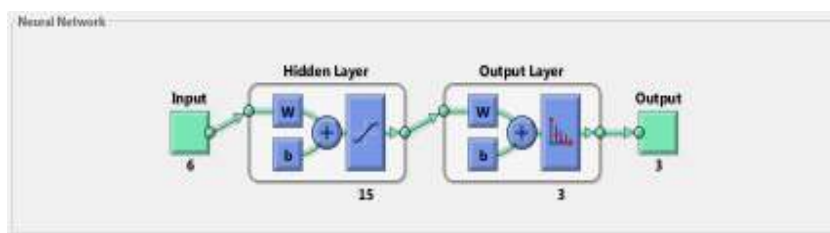
ت	التفطح	الانواء	التدوير	التباين	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي
1	1.985964	-0.0283299	0.52667155	0.143	0.378	47.15532037
2	2.22054	-0.0815625	0.26823296	0.2363	0.486	78.65582684
3	2.200936	0.24845489	0.28818423	0.1882	0.434	93.30783682
4	2.164996	-0.1050797	0.19293579	0.2258	0.475	82.93054896
5	2.546929	-0.4918583	0.1995362	0.2151	0.464	74.66626302
6	2.953929	-0.6130466	0.12428502	0.2423	0.492	78.71071133
7	2.659048	-0.2734211	0.16511667	0.2272	0.477	74.27432378
8	2.483294	0.23144793	0.28094874	0.2229	0.472	87.798151
9	1.98757	-0.006583	0.37676233	0.2029	0.45	81.20144372
10	2.174398	0.28380958	0.62646527	0.1894	0.435	93.28857351
11	2.13721	-0.1127871	0.41431153	0.2139	0.463	124.3389751
12	2.655544	-0.3241752	0.11925427	0.2135	0.462	121.1971882
13	2.12532	0.01511163	0.27587202	0.2486	0.499	88.69221968
14	2.127529	0.11669534	0.33974238	0.2316	0.481	76.91504118
15	2.427431	0.16544831	0.29110053	0.2433	0.493	83.89967147
16	1.79594	-0.1266369	0.23186102	0.1924	0.439	90.45560025
17	2.126203	0.34190612	0.23646094	0.2269	0.476	80.19301165
18	2.453289	0.0212265	0.17968172	0.2356	0.485	84.40855374
19	2.176901	0.11368352	0.60066366	0.1983	0.445	86.92837911
20	2.201356	0.24910928	0.39181565	0.1856	0.431	96.82822523

جدول رقم (4): قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والتغاير ونسبة التدوير والانتواء والتفطح لعينات الدراسة/ بلورات السيستين (Cystine Crystals)

ت	التفطح	الانتواء	التدوير	التباين	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي
1	1.995618	0.04074455	0.83980307	0.1766	0.42	183.1511844
2	2.070178	0.00074652	0.79874031	0.2077	0.456	186.9070295
3	2.098525	-0.0066502	0.83215787	0.1812	0.426	210.3940446
4	2.048145	-0.0352713	0.79196797	0.2011	0.448	221.0650567
5	2.105994	-0.0138089	0.83374008	0.1887	0.434	210.4092486
6	2.03149	-0.03076	0.53605458	0.1785	0.422	108.7110842
7	2.011805	0.01997858	0.80278937	0.1735	0.417	107.7135849
8	2.01582	0.0336567	0.74156198	0.1775	0.421	206.7453226
9	2.064768	-0.0745134	0.77500806	0.2028	0.45	205.558092
10	1.992243	0.02084675	0.83515457	0.1813	0.426	207.0193222
11	2.003385	-0.0123047	0.57115517	0.1621	0.403	110.2956856
12	2.021198	0.01348077	0.7204909	0.1792	0.423	110.7078605
13	2.014699	3.054E-05	0.63803752	0.1792	0.423	110.6682125
14	2.005373	0.05541156	0.79248452	0.1817	0.426	183.0218439
15	2.008109	-0.0189473	0.86708365	0.1774	0.421	182.58831
16	2.069676	-0.0007048	0.89131943	0.2045	0.452	185.0394265
17	2.047297	0.03420732	0.88542276	0.2069	0.455	222.2240566
18	2.006702	0.0063527	0.85531999	0.1937	0.44	203.0290479
19	2.021833	0.07584522	0.83441144	0.1812	0.426	213.0206557
20	2.027013	0.05947709	0.79074564	0.1825	0.427	209.5566957

النوافذ الناتجة من تطبيق الشبكة العصبية الاصطناعية للعينات قيد الدراسة.

نتائج تطبيق الشبكة العصبية الاصطناعية: اعتماداً على النتائج الإحصائية في الجداول (4-2) تم استخدام 15 طبقة مخفية وكانت نتيجة التدريب 98.3% ونسبة الخطأ 1.7. والأشكال (9-6) تبين



شكل رقم (6): تكوين الشبكة العصبية

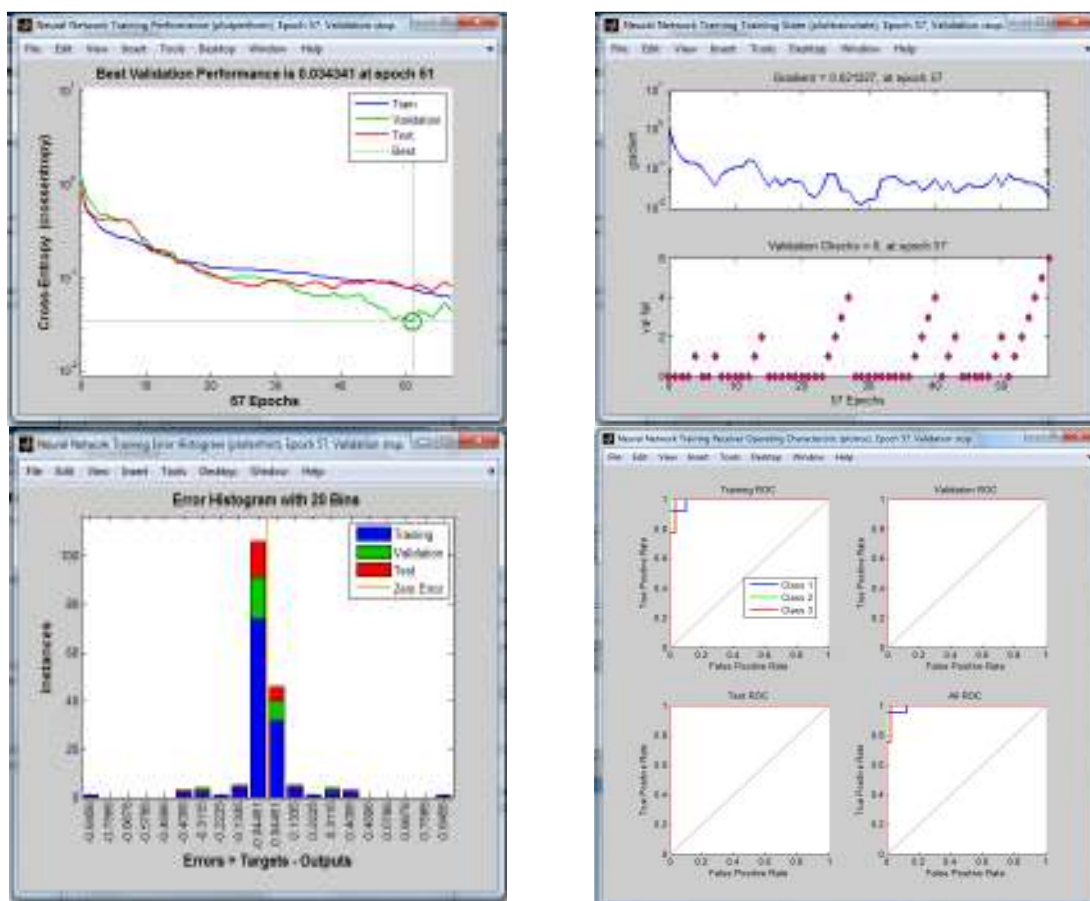


شكل رقم (7): نتائج تدريب الشبكة العصبية

All Confusion Matrix

	1	2	3	
1	19 31.7%	0 0.0%	0 0.0%	100% 0.0%
2	0 0.0%	20 33.3%	0 0.0%	100% 0.0%
3	1 1.7%	0 0.0%	20 33.3%	95.2% 4.8%
	95.0% 5.0%	100% 0.0%	100% 0.0%	98.3% 1.7%
	1	2	3	
	Target Class			

شكل رقم (8): نتائج تدريب الشبكة العصبية



شكل رقم (9): نماذج من رسومات تبين القيم الإحصائية الداخلة ونتيجة القرار

9. Mediani MA. (2002). Image segmentation simulated annealing. University of Technology. 003-M6971.
10. أمجد عباس، مصباح جمعة، زياد عبد الكريم، محمد خليل. (2010). الشبكات العصبية والمنطق المشوش (المضلل). دار الإحصاء العلمي للنشر والتوزيع. الطبعة الأولى.
11. Abood ZM. (2014). Benign and malignant of breast tumors classification by neural network backprospction. Iraqi J. Info. Technol. 6(2): 31-38.
12. القاضي، زياد عبد الكريم. (2010). مقدمة في الذكاء الصناعي. مكتبة المجتمع العربي للنشر والتوزيع. الطبعة الأولى.
13. Abood ZM. and Ali NS. (2016). Thermal images modeling for identify abnormalities regions in breast. Int. J. Soc. Relev. Concern. 4(5): 101-112.
14. Lancet A. (1995). Application of artificial neural network to clinical medicine. Patt. Recog. 346: 1135.
15. Patterson D. (1996). Artificial neural networks. Singapore: Prentice Hall.
16. Kinnebrack J. (1995). Neural networks fundamentals applications, examples. Golgotha Publications.

من النماذج المعروضة في الشكل رقم (9) نلاحظ بأن أفضل أداء للتحقق من صحة هو 0.034341 عند المرحلة 51، وأن الإنحدار (Gradient) كان 0.021227 في المرحلة 57، وكانت الأخطاء تساوي صفراً، إذ إن:

$$\text{Errors} = \text{Targets} - \text{Outputs}$$

وأن عمليات التحقق من الصحة كانت 6 عند المرحلة 57.

الاستنتاجات

بيّنت الدراسة الحالية أن استخدام الشبكة العصبية الاصطناعية وتقنيات معالجة الصورة الرقمية لتصنيف بلورات الإدرار باستخدام برنامج الماتلاب أعطت نتيجة عالية الدقة لتصنيفها، من خلال التمييز بين أنواع بلورات الإدرار. ويمكن تطبيقها لبناء نظام مساعد لتصنيف أنواع البلورات، ومن خلال تحليل النتائج تم الحصول على العديد من الاستنتاجات هي:

- بالإمكان استخدام الميزات (المتوسط الحسابي للشدة والانحراف المعياري والتباين والتدوير والاتواء والتفلطح) لتمييز بعض أنواع بلورات الإدرار.
- تم استخدام 15 طبقة مخفية وكانت نتيجة التدريب 98.3% ونسبة الخطأ 1.7% وكانت نتيجة الاختبار 100%.
- كانت دقة البرنامج كبيرة في حساب عدد البلورات الموجودة في صور العينات.
- كانت دقة الشبكة العصبية ذات التغذية الخلفية (100%) لتصنيف بعض بلورات الإدرار (أو كسالات الكالسيوم الأحادية وبلورات بيورات الأمونيوم وبلورات السيستين).
- أثبتت محاولات تدريب الشبكة العصبية أن استخدام (15) طبقة مخفية (Hidden layers) لهذا الدراسة يعطي أفضل نتيجة في التدريب للشبكة العصبية. وأن استخدام عدد أقل من هذه القيمة يؤدي إلى زيادة نسبة الخطأ في التصنيف.
- إن البرنامج المقترح سهل وغير مكلف ولا يحتاج إلى خبرة عالية.

المصادر

1. Taylor P.; Wilson R.; Johnston K. and Potts H. (2005). The impact of computer-aided detection prompts on the sensitivity and specificity of screening mammography. Health. Technol. Assess. 9: 1-70. 2005.
2. Jiang X. and Nie S. (2007). Urine sediment image segmentation based on level set and mumford-shah model. The 1st International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, IEEE.
3. Steddon S.; Chesser A. and Cunningham J. (2013). Oxford medical publications. Oxford Handbook of Nephrology and Hypertension. 2nd ed. London, UK.
4. Sobh MA. (2000). Essentials of clinical nephrology. Dar El Shorouk, Mansoura, Egypt, 1st ed.
5. Acharya T. and Ray K. (2005). Image processing principles and applications. John Wiley & Sons.
6. Pro F. (2009). The image processing and measurement. The image processing tool kit reindeer graphics. Inc. Asheville, NC 28802, pp.: 919-342.
7. Jahne B. (2000). Computer vision and application. Academic Press. USA.
8. Blanchet G. and Charbit M. (2006). Digital signal and image processing using MATLAB. ISTE Ltd.

N.B The views expressed in this issue are of the authors and do not necessarily reflect the views of the Editorial Board or the policies of the International Centre.

Copyright © 2017 by the International Centre for Advancement of Sciences and Technology.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced or copied in any form or by any means without prior written permission from the Editor-in-Chief of the Journal.