مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2015) المجلد (31) ــ العدد 2 ــ الصفحات: 171-180

تأثير الإجهاد الحراري وإضافة فيتامين C في بعض مؤشرات الدم عند طيور الفري الياباني

حسين العلي[1] ومحمد المحروس[2] وجمال سكوتي[2]

الملخَّص

وزعت 252 صوصاً من الفري الياباني وهي بعمر يوم واحد عشوائيا إلى مجموعتين، حيث عرضت صيصان المجموعة الأولى في مرحلة الحضانة إلى درجات الحرارة المثلى بما يتماشى مع عمر الطيـر، في حين عرضت المجموعة الثانية إلى درجة حرارة مرتفعة 42°س خلال سـاعات النهـار (السـاعة 8 صباحاً حتى الساعة 5 مساء)، وعُرضت خلال ساعات الليل لدرجات الحرارة المثالية، وزعت صيصان كل مجموعة إلى ثـلاث تحـت مجموعـات غـذيت علـى ثـلاث مـستويات مـن فيتـامين C (0، و10، و20 غ /ل)، ضمت تحت المجموعة الواحدة ثلاثة مكررات. أخذت عينات الدم من ثمانيـة عـشر طيـراً اختيرت عشوائياً وهي بعمر 30 يوما لتحديد مدى تأثير الإجهاد الحـراري ومـستوى فيتـامين C فـي مؤشرات الدم في طيور الفري. تبين أنّ إجهاد طيور الفري من اليوم الأول للفقس حتى نهايـة مرحلـة الحضانة أدى لارتفاع معنوي في عدد الكريات الحمراء عند الطيور المجهدة حراريا، كمـا كـان هنـاك انخفاض معنوي عند الطيور المجهدة في عدد الكريات الحمراء والبيضاء عند إضافة فيتامين C بتركيـز 20غ/ل، وارتفاع معنوي في الهيموغلوبين عند تعرضها للإجهاد الحراري وارتفعت نسبة العـدلات إلـى اللمفاويات بشكل معنوي عند تعرض طيور الفري للإجهاد الحراري وعند إضافة فيتامين C بتركيـز 10 غ/ل و 20 غ/ل.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد الحراري، فيتامين C، الفري الياباني، كريات بيضاء، كريات حمراء، الهيموغلوبين.

[1]طالب دكتوراه، [2] أستاذ، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

The impact of heat stress and vitamin c on some blood indicators of Japanese quail birds

Al-Ali; H.[(1)], M. Al-Mahrous[(2)] and G. Skoti[(2)]

Abstract

This study was conducted at Gharabo farm, Fac. Agric. Damascus Universityin order to determine the effect of heat sress and level of vit. C on the blood indicators of of Japanese quailc A total of 252 females Chicks were distributed randomly into two groups (G and G2) at one day of age, The chicks in G1were subjected to an ideal temperature required according to their age up to 30 days old, while the chicks in G2 were subjected to heat stress at 42 °C during the daytime from 8 am to 5 pm and to ideal temperature from 5pm to 8am for the same period of rearing. Chicks of each group were distributed into three subgroups given three levels of vitamin C: 0, 10 and20 g/l, with three replicates for each sub-group during the rearing period. Blood samples were collected from eighteen birds selected randomly from each group. Results indicated that there was a significant increase in both red blood cells and hemoglobin in the stressed group. When vitamin C was added at a 20 g/l , there was a significant decrease in number of red and white blood cells in the heat-stressed group. The ratio of neutrophils to lymphocytes was significantly higher in heat-stressed group, and the same result was found when vitamin C was added at 10 and 20 g/l. The number of monocytes and eosinophil was significantly different between heat-stressed and non-stressed groups and also when vitamin C was added at 10 and 20 g/l.

Keywords: Heat stress, Vitamin C, Japanese quail, White and red blood cells, Hemoglobin.

[(1)] Ph. D. student, [(2)] Prof. Dept. Anim. Prod., Fac. Agric., Damascus Univ., Syria.

المقدمة

إن الإجهاد الناتج عن الحرارة المرتفعة ذو تأثير سلبي في الجهاز المناعي (Gross وSiegal، 1993) وقد أكد Etches وزملاؤه (1995) وKelley وزملاؤه (1982) وجود بعض التغيرات السلوكية والفيزيولوجية والهرمونية نتيجة للإجهاد الناتج عن ارتفاع درجات الحرارة.

ووجد Bartlett وSmith (2003) أن أعداد الكريات البيضاء والأجسام المناعية تتأثر سلباً نتيجة للإجهاد، وقد توصل Hassan وزملاؤه (2003) إلى وجود تغيرات في بعض مؤشرات الدم عند صيصان الفري المجهدة بعمر3-5 أسابيع، كما ارتفعت نسبة الخلايا الحبيبية Heterophils بشكل معنوي بزيادة نسبة التقنين بالمقارنة مع التعليف الحر (Glick، 1967؛ Gross وSiegal، 1983؛ Maxwell وزملاؤه، 1992) وكذلك انخفضت نسبة اللمفاويات (Lymphocytes) بشكل معنوي بزيادة نسبة التقنين (Maxwell وزملاؤه، 1990؛ 1992) حيث إن الارتفاع المعنوي لنسبة الأسات (Basophil) يعكس رد فعل صيصان الفري على الإجهاد وهذا دليل على التأثير الضار للإجهاد الحراري في جهاز المناعة.

أشار Aengwanich وChinrasri (2003) إلى انخفاض العدد الكلي للكريات البيضاء عند طيور الفري الياباني تحت ظروف الإجهاد الحراري، وقد وجد Harmon (1998) تناقصاً في أعداد كريات الدم البيضاء اللمفية وزيادة انتشار الخلايا الحبيبية بسبب الإجهاد الحراري عند الدواجن.

إن نسبة الخلايا الحبيبية إلى الخلايا اللمفاوية هي مقياس جيد للدلالة على التغيرات الفيزيولوجية كتوقف النمو (Jain، 1993)، كما وتعد تلك النسبة مقياساً جيداً لمعرفة تأثير الإجهاد الحراري المستمر لفترة طويلة في جهاز المناعة، فمعرفة التغير في نسب الخلايا الحبيبية و الخلايا اللمفاوية والوحيدات والأسات والحماضات عند الطيور يشير إلى وجود إجهاد حرارياً، غذائياً، أو ازدحام، أو مرض (Gross وSiegal، 1983). وبهدف التخفيف من آثار الإجهاد والوقاية من تأثيراته الضارة بين Pardue وThaxton (1986) وNjoku (1984) مدى أهمية إضافة فيتامين C خلال فترة الحضانة في تحسين النمو وكفاءة الهضم وكفاءة التحويل (Puron وزملاؤه، 1994؛ Jaffar وBlaha، 1996؛ Sahin وKucuk، 2003)، وأن إضافة 20 مغ/طير/اليوم في الماء من فيتامين C خلال فترة الإجهاد الحراري 43°س أدى للتخفيف من الإجهاد خلال تلك الفترة (Blaha وKroesna، 1997) وقد وجد Zulkifli وزملاؤه (1996) أن إضافة فيتامين C يعزز من عوامل المناعة والقدرة على البقاء تحت ظروف الإجهاد المختلفة، ويتمثل الهدف من هذا البحث بدراسة تأثير الإجهاد الحراري في فترة الحضانة من عمر 1-28 يوماً وإضافة فيتامين C في بعض مؤشرات الدم.

مواد البحث وطرائقه

وزع 252 صوصاً من الفري الياباني هي بعمر يوم واحد عشوائياً إلى مجموعتين، حيث عرضت صيصان المجموعة الأولى في مرحلة الحضانة إلى درجات الحرارة المثلى بما يتماشى مع عمر الطير، في حين عرضت المجموعة الثانية إلى درجة حرارة مرتفعة 42°س خلال ساعات النهار من الساعة 8 صباحاً حتى الساعة5 مساء، وخلال ساعات الليل تم تعريضها لدرجات الحرارة المثالية، وزعت صيصان كل مجموعة إلى ثلاث تحت غذيت على ثلاثة مستويات (0، و10، و20 غ /ل) من فيتامينC، ضمت تحت المجموعة الواحدة ثلاثة مكررات.

جمعت 54 عينة من عينات الدم بمعدل 3 عينات دم من كل طير من طيور الفري الياباني البالغ عددها 18 طيراً بعد ذبحها، في نهاية مرحلة الحضانة عند عمر 30 يوماً. وذبحت الطيور قبل تقديم العلف عند الساعة الثامنة صباحاً، وجمع الدم في أنابيب تحوي على مانع تخثر EDTA بمقدار 10 مل للطير الواحد، فصل المصل بالطرد المركزي على سرعة 2800 دورة/د ولمدة 25 دقيقة وحفظ في درجة حرارة – 20°س إلى حين إجراء التحاليل اللازمة، أخذت لطخات دم وجففت عند إجراء التحاليل لتحديد عد الكريات الحمراء والبيضاء بواسطة عدادة الكريات، والعد التفريقي للكريات البيض (الحامضات، الأساسات، الوحيدات، اللمفاويات)، وقيس الهيماتوكريت على لوحة هاكسلي، كما قدرً الهيموغلوبين

صممت الدراسة وفقاً للتصميم العشوائي البسيط لكل مؤشرات الدم المدروسة عند طيور الفري الياباني.

النتائج والمناقشة

الكريات الحمراء: أشارت نتائج التحليل الإحصائي (الجدول 1) إلى انخفاض معنوي في عدد الكريات الحمراء عند تعرض طيور الفري للإجهاد الحراري على درجة حرارة 42 °س بمقدار 0.3 مليون كرية/مم^3 بالمقارنة مع الطيور غير المجهدة وذلك عند عدم إضافة فيتامين C ($p < 0.05$)، وقدر الانخفاض ليكون معنويا عند إضافة فيتامين C بتركيز 20غ/ل بـ0.3 مليون كرية/مم^3 عند الطيور المجهدة بالمقارنة مع الطيور غير المجهدة حيث أثر الإجهاد في خفض عدد الكريات الحمراء، في حين لم يكن هناك أي فرق معنوي عند إضافة فيتامين C بتركيز 10غ/ل على عدد الكريات الحمراء بين الطيور غير المجهدة والطيور المجهدة وقد يفسر ذلك بأهمية إضافة فيتامين C بتركيز 10غ/ل في المساعدة على تكوين الكريات الحمراء التي انخفض عددها بسبب الإجهاد الحراري.

الجدول (1) متوسط عدد كريات الدم الحمراء (مليون/مم^3)عند طيور الفري الياباني تحت الظروف المثالية للحرارة وتحت ظروف الإجهاد عند إضافة فيتامين C وعدم إضافته.

المؤشر	عدد كريات الدم الحمراء (مليون/ مم^3)		LSD5%
فيتامينC	دون إجهاد	إجهاد حراري 42°س	
0غ/ل	3.3^a	3.0^b	0.2
10غ/ل	3.4^a	3.5^a	ــ
20غ/ل	3.1^a	2.8^b	0.2

تشير الأحرف غير المتشابهة إلى وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين المتوسطات

الكريات البيضاء: تبين عدم وجود فرق معنوي في عدد الكريات البيضاء عند الطيور المجهدة وغير المجهدة عند عدم إضافة فيتامين C (جدول 2)، في حين انخفض عدد الكريات البيضاء بشكل معنوي ($p < 0.05$) عند الطيور المجهدة بالمقارنة مع الطيور غير المجهدة عند إضافة فيتامين C بتركيز 10 و20 غ/ل بمقدار 1، 1.6 كرية /1000/مم^3 على التوالي، وهذا دلالة على انخفاض مقاومة الجسم للإجهاد الحراري حيث انخفض عدد الكريات البيضاء بسبب الإجهاد.

الجدول (3) متوسط عدد كريات الدم البيضاء (10000/مم^3)عند طيور الفري الياباني تحت الظروف المثالية للحرارة وتحت ظروف الإجهاد عند إضافة فيتامين C وعند عدم إضافته.

المؤشر	عدد كريات الدم البيضاء (10000/مم^3)		LSD5%
الفيتامين	دون الإجهاد	الإجهاد 42°س	
0غ/ل	23.0^a	23.2^a	ــ
10غ/ل	25.2^a	24.2^b	0.4
20غ/ل	24.4^a	22.8^b	0.4

تشير الأحرف غير المتشابهة إلى وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين المتوسطات.

الهيموغلوبين: عند تعرض طيور الفري للإجهاد الحراري ارتفع الهيموغلوبين بمقدار 2.8 مغ/ دل وهو ارتفاع معنوي ($p < 0.05$) بالمقارنة مع الطيور غير المجهدة (الجدول 3)، في حين لم يكن هناك فروق معنوية في الهيموغلوبين بين الطيور المجهدة وغير المجهدة عند إضافة فيتامين C بنسبة 10 و20غ/ل على الرغم من وجود ارتفاع ظاهري في الهيموغلوبين عند إضافة فيتامين C بنسبة 10غ/ل، وقد يفسر ارتفاع الهيموغلوبين إلى تحسن قدرة الدم على نقل الأوكسجين وثاني أوكسيد الكربون لحاجة جسم الطائر خلال هذه المرحلة من أجل النمو حيث إن فيتامين C يساهم في تحفيز تكوين الهيموغلوبين.

الجدول (3) متوسط محتوى هيموغلوبين الدم (مغ/دسل) عند طيور الفري الياباني تحت الظروف المثالية للحرارة وتحت ظروف الإجهاد عند إضافة فيتامين C وعند عدم إضافته

المؤشر	متوسط محتوى هيموغلوبين الدم (مغ/دسل)		LSD5%
الفيتامين	دون الإجهاد	الإجهاد 42° س	
0غ/ل	17.7 [a]	20.5 [b]	1.7
10غ/ل	19.6 [a]	20.5 [a]	–
20غ/ل	18.8 [a]	17.7 [a]	–

تشير الأحرف غير المتشابهة إلى وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين المتوسطات.

العدد التفريقي لخلايا كريات الدم البيضاء:

العدلات: ارتفعت العدلات بمقدار2.7% عند تعرض طيور الفري للإجهاد الحراري على درجة حرارة 42 °س بالمقارنة مع طيور الفري غير المجهدة عند عدم إضافة فيتامينC ($p < 0.05$)، وكان ذلك واضحا عند إضافة فيتامين C بتركيز 10غ/ل و20 غ/ل وكان هذا الارتفاع بمقدار 2.9، 2.6 % على التوالي، نظراً للدور الهام للعدلات للمحافظة على العضوية بحالة جيدة من خلال زيادة مناعة الجسم.

الجدول (4) متوسط قيمة العدلات (%)عند طيور الفري الياباني تحت الظروف المثالية للحرارة وتحت ظروف الإجهاد مع إضافة فيتامين C وعدم إضافته

المؤشر	متوسط قيمة العدلات (%)		LSD5%
الفيتامين	دون الإجهاد	الإجهاد 42°س	
0غ/ل	49.3 [a]	52.0 [b]	2.6
10غ/ل	52.1 [a]	55.0 [b]	2.6
20غ/ل	51.4 [a]	54.0 [b]	2.6

تشير الأحرف غير المتشابهة إلى وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين المتوسطات.

اللمفاويات: تبين النتائج (الجدول 5) أن هناك انخفاضاً معنوياً ($p < 0.05$) بعدد اللمفاويات عند طيور الفري المجهدة بالمقارنة مع الطيور غير المجهدة وذلك عند عدم إضافة فيتامين C وعند إضافته بتركيز10 غ/ل)، وكان هذا الانخفاض بمقدار 3.3، 2.7 % على التوالي، في حين لم يكن هناك أية فروق معنوية بين الطيور المجهدة وغير المجهدة عند إضافة الفيتامين بتركيز 20 غ/ل، ويمكن تفسير انخفاض عدد اللمفاويات في المساعدة على خفض الإجهاد الحراري للطيور.

الجدول (5) متوسط قيمة اللمفاويات (%)عند طيور الفري الياباني تحت الظروف المثالية للحرارة وتحت ظروف الإجهاد عند إضافة فيتامين C وعند عدم إضافته.

المؤشر	متوسط قيمة اللمفاويات (%)		LSD5%
الفيتامين	دون الإجهاد	الإجهاد 42°س	
0غ/ل	47.0[a]	43.7[b]	2.3
10غ/ل	43.0[a]	40.3[b]	2.3
20غ/ل	44.0[a]	42.3[a]	–

تشير الأحرف غير المتشابهة إلى وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين المتوسطات.

نسبة العدلات الى اللمفاويات: ارتفعت نسبة العدلات إلى اللمفاويات عند تعرض طيور الفري للإجهاد بشكل معنوي ($p < 0.05$) بالمقارنة مع الطيور غير المجهدة، وذلك عند عدم إضافة فيتامين C (الجدول6)، وكذلك عند إضافته بتركيز 10 غ/ل، وبتركيز 20 غ/ل وكان هذا الارتفاع بمقدار على التوالي 0.14، 0.16، 0.12، ويشير ارتفاع نسبة العدلات إلى اللمفاويات لوجود تغيرات فيزيولوجية لدى الطائر بسبب تأثر جهاز المناعة بالإجهاد الحراري.

الجدول (6) متوسط نسبة العدلات إلى اللمفاويات عند طيور الفري الياباني تحت الظروف المثالية للحرارة وتحت ظروف الإجهاد عند إضافة فيتامين C وعند عدم إضافته

المؤشر	متوسط نسبة العدلات إلى اللمفاويات		LSD5%
الفيتامين	دون الإجهاد	الإجهاد 42°س	
0غ/ل	a 1.05	b 1.19	0.12
10غ/ل	a 1.21	b 1.37	0.12
20غ/ل	a 1.16	b 1.28	0.12

تشير الأحرف غير المتشابهة إلى وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين المتوسطات.

عدد الوحيدات (Monocytes) والحامضات (Eosinophils) والأسات(Basophils):

يبين الجدول (7) وجود فروق ظاهرية في عدد الوحيدات والحامضات والأسات عند الطيور المجهدة وغير المجهدة عند عدم إضافة فيتامين C وعند إضافته بنسبة 10 و20غ/ل، وقد يشير هذا الاستقرار النسبي للوحيدات والحامضات والأسات بتكيف طيور الفري مع الإجهاد المستمر من بداية مرحلة الحضانة حتى نهاية فترة الحضانة نهاراً .

الجدول (7) متوسط قيمة الوحيدات والحامضات والأسات (%)عند طيور الفري الياباني تحت الظروف المثالية للحرارة وتحت ظروف الإجهاد عند إضافة فيتامين C وعند عدم إضافته

المؤشر	متوسط قيمة الوحيدات		متوسط قيمة الحامضات		متوسط قيمة الأسات		LSD
	دون الإجهاد	الإجهاد42°م	دون الإجهاد	الإجهاد42°م	دون الإجهاد	الإجهاد42°م	5%
الفيتامين	%	%	%	%	%	%	
0غ/ل	1.0^{a}	0.8^{a}	1.0^{a}	1.7^{a}	1.0^{a}	1.0^{a}	ــ
10غ/ل	0.8^{a}	0.7^{a}	1.7^{a}	1.3^{a}	1.0^{a}	1.0^{a}	ــ
20غ/ل	0.9^{a}	0.8^{a}	1.0^{a}	1.0^{a}	1.0^{a}	1.3^{a}	ــ

تشير الأحرف غير المتشابهة إلى وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين المتوسطات.

واستنتج أنّ إضافة فيتامين C بتركيز 10غ/ل ساعد في تكوين الكريات الحمراء التي انخفض عددها ظاهرياً بسبب الإجهاد الحراري، وملاحظة انخفاض معنوي بعدد الكريات عند إضافة فيتامين C بتركيز 20غ/ل وعند عدم إضافة فيتامين C. وارتفع الهيموغلوبين معنوياً بسبب الإجهاد وكان هناك فرق ظاهري عند إضافة فيتامين C بنسبة 10 و20غ/ل، وتأثر جهاز المناعة بالإجهاد الحراري حيث ارتفعت نسبة العدلات إلى اللمفاويات معنوياً عند إضافة الفيتامين وعند عدم إضافته، يشير الاستقرار إلى حد ما بنسب الوحيدات والحامضات والأسات على الرغم من وجود فروق ظاهرية بتكيف طيور الفري مع الإجهاد الحراري.

References

Bartlett, J. R. and M. O. Smith, 2003. Effects of Different Levels of Zinc on the Performance andimmunocompetence of broilers under heat stress. Poult. Sci., 82: 1580-1588.

Blaha, J. and K. Kroesna, 1997. Effect of Vitamin and electrolytes supplements on broilers performance, slaughter value and chemical composition of meat during heat stress. Universities' Agriculture Praga press, 30:103-113.

Etches, R., J. M. John and A. M. V. Gibbins. 1995. Behavioral, Physiological, Neuroendocrine and Molecular Responses to Heat Stress. In: Daghir, N.J. (Ed.), Poultry Production in Hot Climates. CAB International, Wallingford: Pp:31-65

Glick, B. 1967. Antibody and gland studies in cortisone and ACTH-injected birds. J. Immunol. 98:1076–1084.

Gross, W. B., and H. S. Siegel. 1983. Evaluation of the heterophil / lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Dis. 27:972–979.

Gross, W.B. and H.S. Siegal, 1993. General aspects of stress and welfare. In: Livestock Handling and Transport. Grand in, T. (Ed.) Willing ford, U.K. CAB mt., 21-34.

Harmon, B.G. 1998. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. Poultry Sci. 77 :972-977.

Hassan, M. E. Mady, A. L. Cartwright,†,1 H. M. Sabri, and M. S. Mobarakt. 2003. Effect of Early Feed Restriction on Reproductive Performance in Japanese Quail (Coturnix coturnix japonica). Poult Sci.,82(7):1188-92 1287.

Jaffar, G. H. and J. Blaha, 1996. Effect of ascorbic acid supplementation in drinking water on growth rate, feed consumption and feed efficiency of chickens maintained under acute heat stress conditions. Universities' Agriculture Praga Press.

Jain, N. C. 1993. Essential of Veterinary Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia, PA. 19–53, USA.

Kelley, D. W., C. A. Osborne, J. F. Evermann, S. M. Parish, and C. T. Gaskins. 1982. Effects of chronic heat and cold stressors on plasma immunoglobulin and mitogen-induced blast genesis in calves. J. Dairy. Sci. 65: 1514-1528.

Maxwell, M. H., G. W. Robertson, S. Spence, and C. C. McCorquodale.1990: Comparison of hematological values in restricted and ad-libitum-fed domestic fowls: White blood cells and thrombocytes. Br. Poult. Sci. 31:399–405.

Maxwell, M. H., P. M. Hocking, and G. W. Robertson. 1992. Differential leucocyte responses to various degrees of food restriction in broiler, turkey, and ducks. Br. Poult. Sci.33:177–187.

Njoku, P. C., 1984. The effect of ascorbic acid supplementation on broiler performance in a tropical environment, in poult. Sci., 63:156.

Pardue, S. L., Thaxton, J. P., Brake, J. 1986. Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. J. AppI. Physiol, 58: 1511-1516

Puron, D., P. Santamaria and J.C. Segura, 1994. Effect of Sodium Bicarbonate, Acetylsalicylic and Ascorbic acid on broiler performance in a tropical Environment. J. Appl. Poult. Res., 3: 141-145.

Sahin, K., Kucuk, 2001. Effects of vitamin C and vitamin E on performance, digestion of nutrients and carcass characteristics of Japanese quails reared under chronic heat stress (34 CC). J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 85: 335-341

Sahin, N., M. Onderci., K. Sahin and M. O. Smith, 2003. Melatonin supplementation can ameliorate the detrimental effects of heat stress on performance and carcass traits of Japanese quail. Biol. Trace. Elem. Res., 96: 169-172

Zavos, P. M., A. H. Cantor, R. W. Hemken, R. J. Grove, D. R. Varney, and M. R. Siegel. 1993. Reproductive performance of Japanese quail fed tall fescue seed infected with Acremonium coenophialum. Theriogenol. 39: 1257-1266.

Zulkifli, I., A. K. Rambah, M.K. Vidadaran and A. Rasedee. 1996. Dietary Ascorbic acid: Self-selection and response to high temp. and humidity in Chickens. Malaysia Appl. Biol., 25: 93-101.

Received	**2014/02/20**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2014/11/23**	**قبول البحث للنشر**