



# مجلة المختار للعلوم

## AL-Mukhtar Journal of Sciences

Volume: 35

Issue:3

2020

# MJSC

تصدرها جامعة عمر المختار

Published by  
Omar Al-Mukhtar University

ISSN:26-17-2178 (Print)

ISSN:26-17-2186 (Online)

دار الكتب الوطنية - رقم الإيداع القانوني 2013-280

# مجلة المختار للعلوم



جامعة عمر المختار

البيضاء، ليبيا

مجلة علمية محكمة، المجلد الخامس والثلاثون، العدد الثالث، 2020

تصدر عن جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

## مجلة المختار للعلوم

رقم الايداع في المكتبة الوطنية 280/2013/بنغازي

جميع حقوق محفوظة للمؤلف ( المؤلفون ) ، وتخضع جميع البحوث المنشورة بالمجلة لسياسة الوصول المفتوح (المجاني) ويتم توزيعها بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي ( CC BY-NC 4.0)، والذي يسمح بالنسخ وإعادة التوزيع للأغراض غير التجارية.

جامعة عمر المختار - البيضاء - ليبيا

مجلة محكمة تصدر عن جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا  
مجلة علمية محكمة، المجلد الخامس والثلاثون، العدد الثالث، 2020

بريد إلكتروني: [omu.j.sci@omu.edu.ly](mailto:omu.j.sci@omu.edu.ly)

ص.ب. 919 البيضاء - ليبيا، فاكس: +218 69 463 7053

## أعضاء هيئة التحرير

رئيس التحرير	أ.د. علي عبد القادر بطاوي
عضواً	د. خالد مسعود الحمري
عضواً	د. كاملة عبد الرحيم الوحش
عضواً	د. نوارة علي محمد
عضواً	د. الهام عمر الحجازي
عضواً	د. فرحات إبراهيم مغيب
عضواً	د. حسن عبد العزيز بن ناصر
مدقق اللغة الانجليزية	أ. مريم القذافي الحداد
مدقق اللغة العربية	أ. ابو بكر سليمان ابونغيرة
معالجة النصوص واخراج	منى عبد السلام فائز سعد





## Foraging Behavior of *Apis mellifera* Linn. Visiting Some Plant Flowers in Aljabal Alakhder Region –Libya

Salma Y. Essa<sup>1</sup> and Ali A. Bataw<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Zoology, Faculty of science and Art (Al guba), Omar Al-Mukhtar University

<sup>2</sup>Department of Zoology, Faculty of Science- Omar Al-Mukhtar University

Received: 14 May 2020/ Accepted: 27 November 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.258>

**Abstract:** The study aimed to investigate the effects of nectar secretion and climate conditions on the number of honeybee workers foraging on flowers of three different plant species. Nectar samples were taken at different hours of the day. Handling and traveling time of each bee per flower were recorded. The results showed a significant difference during daylight hours on nectar volume ( $P > 0.05$ ). The highest amount of nectar was recorded at 10 am on a *Prunus domestica* flower plant ( $0.5 \pm 0.2$ ) and the lowest on a *Pyrus communis* flower plant at 8:00 am with ( $0.0132 \pm 0.008$ ). Also, the highest recorded handling time was on a *Malus domestica* flower plant at 10 am with ( $6.1 \pm 1.7$  Sec). And while there was an absence of mean handling time at 4:00 pm on the *P. communis* flower plant, The results showed that the highest traveling time recorded was on a *M. domestica* flower plant at 12 am with ( $2.2 \pm 0.1$  Sec) compared with the *P. communis* flower plant that recorded the lowest traveling time at 4:00 pm with ( $0.1 \pm 0.1$  Sec). Furthermore, the results revealed that the preference of *Apis mellifera* was the *M. domestica* flower plant. The findings showed a significance ( $P > 0.05$ ) between the effects of climate conditions on the number of bees during visits, while also revealing that there was a relationship between high temperatures and an increase in the number of visiting bees. Meanwhile, the number of visits decreased during the hours of observation with lower humidity.

**Keywords:** *Apis mellifera*; Flower Preference; Foraging Behavior; Handling and Traveling Times.

### INTRODUCTION

It is important to collect information on the honeybee *A. mellifera* populations of Saharan and Coastal locations in Libya to fill the North Africa gap of biogeography and honey bee distribution (Shaibi, 2013). Nectar production plays a vital role in the pollination of flowering plants. Many studies have been done on nectar production and pollinator interaction, especially in tropical, southern, and southwestern American species and north European species (Beutler, 1953; Beutler & Schöntag, 1940; Corbet et al., 1979; Huber, 1956; Loper et al., 1976; Robinson & Oertel,

1975; Southwick et al., 1981; Wykes, 1953). Many insect species help in the process of reproduction in plants through mediating pollen from flower to flower. Pollinating insects play vital roles in agriculture (Yun, 2005). The collection of pollen and nectar from flowering plants by bees is known as foraging behavior (Gary, 1992; Michener & Michener, 1974).

Time spent by workers flying from one flower to another on the same plant is known as traveling time (Steel et al., 1981), and time spent by a worker from entering her head in a flower to her exit as handling (Steel et al.,

\*Corresponding Author: Salma Y. Essa [Sy1953e@gamil.com](mailto:Sy1953e@gamil.com), Department of Zoology, Faculty of science and Art (Al guba), Omar AL-Mukhtar University.

1981). The time spent by bees on flowers depends on several factors, including the size of the flowers and the nectar found in flowers (Singh, 1979). A flowering plant, *Macroptilium sp.*, a plant species located in Argentina, led to a decrease in the production of nectar, which affected the number of bee visits (Hoc et al., 2003). Many factors affect the secretion of nectar, including the age of the flower, soil content, and climatic conditions, including temperature and humidity (Savos, 1995) (Gonzalez et al., 1995).

The honeybee, *A. mellifera*, is flower constant, which means that on any foraging trip, it focuses on only one kind of flower. Pollen is transferred only between flowers of the same species. This is one of the features that make honey bees so popular for the commercial pollination of crops. On the downside, some scientists have expressed concern that honey bees are too efficient in their collection of nectar and pollen, leaving none in a given local flower source for the foraging of other pollinators (Buchmann & Nabhan, 1996; Hubbell & Braasch, 1997). Relative humidity has less effect on the flight activities of *Apis* species. However, a combination of temperature and humidity are important in the ripening of the anthers of flowers and the availability of pollen to visiting insects (Joshi & Joshi, 2010). The amount of nectar decreases in plants due to high temperatures that cause its evaporation and increases its concentration which reflects in the number of visitors (Carpenter, 1983). The rate of visits by bees increases to the area of flowers by increasing the number of pen flowers (Southwick et al., 1981). This study aims to investigate the effect of nectar volume on the different activities and behavior of *Apis. mellifera* on three plant flowers.

## MATERIALS AND METHODS

**Site:** The experiments were conducted in April 2015 on a farm in the Al-Abarq area, Al-Jabal AL-Alakhdar, Libya, cultivated with

Plum (*Prunus domestic*), Pear (*Pyrus communis*), and Apple (*Malus domestica*).

**Nectar Secretion:** Nectar samples ( $\mu\text{l}$  /f) were taken randomly at different hours of the day (at least ten flowers). Nectar samples were taken from 8 am to 4 pm by a capillary tube used to assure complete removal of available nectar within the flower. Nectar volume was determined by measuring the length of nectar columns in the capillary tube to the nearest 1  $\mu\text{l}$ . (Dafni, 1992).

**Handling and Traveling Time:** Handling time for each bee per flower was recorded (by seconds), which started when visiting bees rested on a flower. Traveling times were recorded during their movement from one flower to another. All times were recorded with the help of a stopwatch. All records were taken from 8 am to 4 pm. (Pleasants, 1981).

**Climate Conditions:** Climate conditions were recorded by a psychomotor and a thermometer while recording the number of flowers visited by bees. Temperature and humidity recordings were taken during flower visits from 8 am to 4 pm on observation days in an area (1m  $\times$  1m) for each plant.

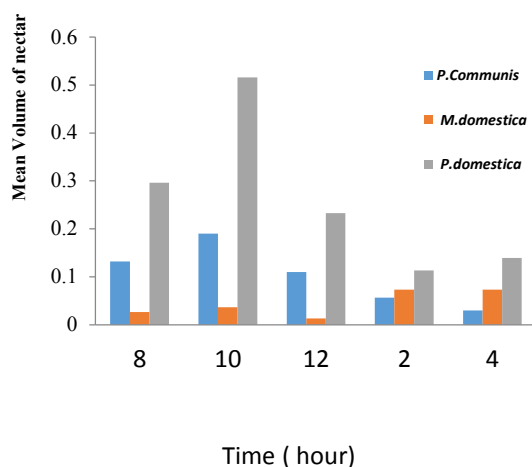
**Data Analysis:** All data were analyzed by Minitab program 16, by determined ANOVA, ( $M \pm SE$ ), and regression analysis between different factors. Excel program was used for data graphical analysis.

## RESULTS

**Nectar secretion:** On *P. communis*, the highest mean amount of nectar was recorded at 10:00 am. ( $0.18 \pm 0.08 \mu\text{l}$  /f) compared with the lowest mean amount of nectar which was ( $0.0132 \pm 0.008 \mu\text{l}$  /f) at 8:00 am. The highest mean amount of nectar was at 4:00 pm on *M. domestica* ( $0.07 \pm 0.01 \mu\text{l}$  /f), and the lowest mean amount of nectar was ( $0.0133 \pm 0.01 \mu\text{l}$  /f) at 12:00 pm. While on the flower of *P. domestica*, the highest recorded mean amount

of nectar was ( $0.5 \pm 0.2 \mu\text{l} / \text{f}$ ) at 10:00 am compared with the lowest mean amount of nectar ( $0.1 \pm 0.01 \mu\text{l} / \text{f}$ ) at 2:00 pm. (Fig. 1).

The results indicated that there are significant differences ( $P > 0.05$ ) between the amount of nectar secretion during different hours of a day in all plant species (Fig.1). By comparing the three plant flowers, *P. domestica* recorded a higher mean amount of nectar ( $0.2 \pm 0.05 \mu\text{l} / \text{f}$ ) while the lowest mean amount of nectar was ( $0.04 \pm 0.006 \mu\text{l} / \text{f}$ ) on *M. domestica*.

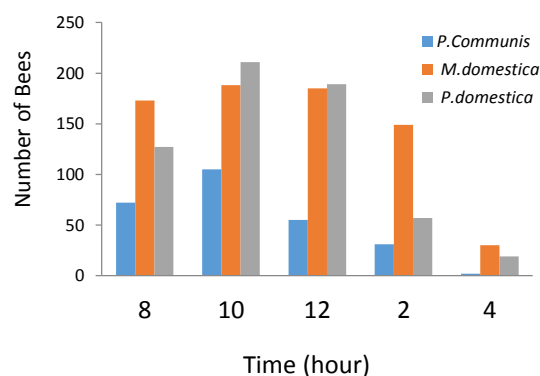


**Figure 1.** Mean volume ( $\pm M$ ) of nectar ( $\mu\text{l} / \text{f}$ ) extracted from the three flowering plants of *P. Communis*, *M. domestica*, *P. domestica*. 50 Flower/day.

## Foraging activities

### a. Effects of nectar secretion on *A. mellifera* activity:

The study recorded the numbers of *A. mellifera* on three flowers per meter square. The highest number of visits was at 10:00 am for all flowering plants respectively (*P. Communis*, *M. domestica*, *P. domestica*) (105.0, 188.0, 211.0)  $\text{f}/\text{m}^2$ . The least number of visits recorded was at 4:00 pm for all flowering plants (*P. communis*, *M. domestica*, and *P. domestica*). (2.00, 30.0, 19.0)  $\text{f}/\text{m}^2$  respectively (Fig. 2). The results revealed significant differences ( $P > 0.05$ ) in the number of visitors during the daytime for all plant flowers.



**Figure 2.** Foraging Activity of bees *A. mellifera* per meter square/second, during different hours of the day between flower species.

The results showed a different preference of workers *A. mellifera* to the three plant flowers, where the highest number of bee visitors was on *M. domestica*. *P. domestica*, then the low preference was on *P. communis*. The results showed that 145 bees foraged on *M. domestica* while 120 bees on *P. domestica* and 53 on *P. communis* (Table 1).

**Table (1).** Preference of bees for a particular plant species.

Plant Specie	Number of bees
<i>P. communis</i>	53.0 <sup>b</sup>
<i>M. domestica</i>	145.0 <sup>a</sup>
<i>P. domestica</i>	120.0 <sup>a</sup>

The letters in the same column are nonsignificant differences ( $P < 0.005$ )

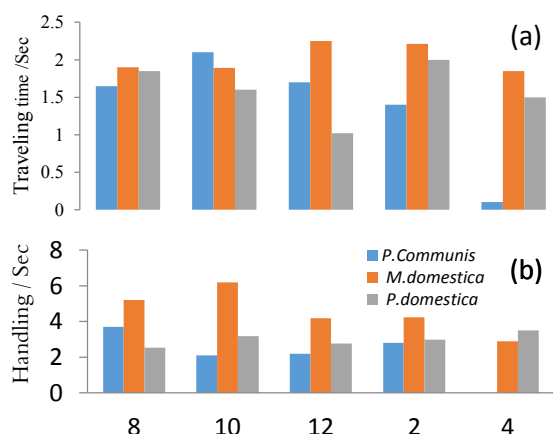
The results showed of a low correlation between amount of nectar secretion and worker activity on *P. domestica* ( $R^2 = 0.4$ ) while recorded a strong relationship on *P. communis* ( $R^2 = 0.9$ ) and on *M. domestica* ( $R^2 = 0.5$ )

### b. Handling and traveling time:

The results showed significant differences ( $P > 0.05$ ) between handling and traveling times at different hours of the day. *P. communis* recorded the highest mean handling time at 8:00 am of (3.7 Sec). On *M. domestica*, the highest mean handling time was at 10:00 am (6.1 Sec) compared with the lowest



mean, which was (2.9 Sec) at 4:00 pm. While on *P. domestica* the highest mean handling time was (3.5 Sec) at 4:00 am, compared with the lowest mean which was (2.5 Sec) at 8:00 pm. Also the highest mean traveling time recorded on *P. Communis* was (2.1 Sec) at 10:00 am, compared with the lowest mean traveling time at 4:00 pm which was (0.1 Sec). Also, on *M. domestica*, the highest mean traveling time was recorded at 12:00 pm (2.2 Sec) compared with the lowest mean, which was (1.8 Sec) at 4:00 pm. While on *P. domestica*, the highest mean traveling time was (2.0 Sec) at 2:00 am compared with the lowest mean, which was (1.0 Sec) at 12:00 pm.



**Figure 3 (a) (b).** Comparison between handling time and traveling time/seconds of *A. mellifera* between the different times of the day in three flower species, 50 Flower/day.

The results showed a clear variation in handling times between the visits of bees to the three different plant flowers (one-way ANOVA), (df=2, F=13.6, P>0.005). The highest mean handling time recorded was on *M. domestica* (6.1 Sec) at 10:00 am compared with *P. communis*, for which at 4:00 pm, a mean handling time was not recorded. The results also showed a clear variation in traveling time with the visits of bees to the different three plant flowers (one-way ANOVA), (df =2, F=7.9, P>0.005). The highest mean trav-

eling time was recorded at 12 pm on *M. domestica* (2.2 Sec). While the lowest mean traveling time was recorded on *P. communis* (0.1 Sec) at 4:00 pm (Table 2).

**Table (2).** (Mean ± SE) of handling time and traveling time of *A. mellifera* on three flower Species in (Sec). N= number of flowers visited.

Plant Flower	Handling Time (Sec).	Traveling Time (Sec).
<i>P. communis</i> N(263)	2.1±0.3b	1.3±0.1b
<i>M. domestic</i> N (725)	4.5±0.4a	2.0±0.08a
<i>P. domestica</i> N (1444)	2.9±0.2b	1.5±0.09b

The letters in same column are nonsignificant differences (P <0.005)

**a. Effects of some climate conditions on honey bee workers activity:**

The results showed effects of climate conditions on the same time of the day on flight activity. Higher rates of visitor bees were recorded in all three plants respectively *P. communis*, *M. domestica*, *p. domestica* at 10:00 am as increases in temperature continue (31.1<sup>0</sup>C, 26,4<sup>0</sup>C, and 23<sup>0</sup>C). Compared with decreases in humidly (22.1%, 26.7%, 33.0%) respectively on *P. communis*, *M. domestica*, *P. domestica* at 4:00 pm, with the lower rates of visitors recorded with decreases in temperatures (22.5<sup>0</sup>C, 23.7<sup>0</sup>C, 21.7<sup>0</sup>C), compared to increases in humidity (30.0%, 35.4%, 29.5%) respectively. The results recorded were significantly different between the temperature and the activities of the workers on the three flowering plants (df=1 f=0.65 p=0.4). Also, significant differences were recorded between the humidity and the activities of the workers on three flower plants (df =1 f=0.18 p=0.6).

**DISSCUSION**

The results revealed that the three plants showed fluctuation in nectar secretion throughout the day, and the weather conditions could potentially be the main reason.

This was clear in particular on Apple and Pear flowers, and the results agreed with (Merti, 2003) who investigated the effect on relative humidity on nectar secretion, also results by (Corbet, 1978; Park, 1929; Shuel, 1992) the surrounding humidity effects the amount of nectar secretions.

The increase in temperatures decreases the amount of nectar available to bee visitors as it increases water evaporation in nectar (Corbet, 1990). The results on Pear recorded a different phenomenon, which could be the result of other factors that govern nectar secretion other than weather conditions. (Raw, 1953) revealed that the difference in osmosis of secretion glands and the common phenomenon in some plants' so-called habitation of nectar causes an increase in nectar secretion. These findings were presented by (Williams & Thomson, 1998) during their study of the plant *Pentstemon strictus*.

The sex of flowers shows differences in the amount of nectar secretion. The female flowers of *Lavandula stoechas* secrete double the amount of nectar secreted by male flowers (Gonzalez et al., 1995). Also, the flower's age could be a factor behind the amount of nectar secretion (Wood, 1961).

The bees' activities during the daytime show dramatic changes during their visit to the three plant flowers. The results of the current study agreed that bee activity recorded its highest rates at 10 am and the lowest rates at 4 pm. The frequency of bee visits increases to the flower area by increasing the number of open and containerized flowers for nectar (Southwick et al., 1981). When the temperature drops, it reduces the activity of the bees, or it may be absent, as noticed by (Bataw and Lamin, 2001) on the *Rosmarinus officinalis*.

The effects of the amount of nectar secreted by plant flowers during different hours of the day time show a clear difference on the time of traveling and handling in particular in Pear

flowers at 8.00 am when the longest resting time was recorded where the amount of nectar is low. The same conclusion was reported by (Bataw and Lamin, 2001) during their investigation of the foraging behavior of *Apis mellifera* on the nectar of *Rosmarinus officinalis*. While the amount of nectar at 2.00 pm. was high, the bees became absent, which could be due to the reduction in the nectar concentration. In apple flowers, the resting time was higher at 10 am with high amounts of nectar.

The preference for honey bees to forage in apple flowers, could be due to the fact that apple blossoms are more attractive to bees than pear blossoms as a result of the sugar content. This agrees with other researches which mentioned the importance of sugar concentration (Schneider et al., 2004; Schneider et al., 2002; Vansell, 1946). The honey bees showed less preference to the flowers of *p. communis* due to the low amount of nectar within the flower and the low concentration of sugar (Mayer, 1993; Mayer & Lunden, 1996; McGregor, 1976; Willmer, 2011) also pointed out the importance of the location of flowers in the branches of trees, which determines the presence and activity of many insect pollinators.

The climatic conditions have a visible effect on the visitors' activity on the flowers. The current study showed a significant difference in the number of bee visitors during the day hours and the relationship between temperatures and relative humidity during the study. The highest rates of visits in all plants were recorded during average high temperatures and low relative humidity. Similar results were recorded of the visitors' activity on the flowers, influenced by factors such as temperatures, relative humidity, rain, and wind (Thorp & RW, 1979). Little flight activity occurs at or below 10°C (50 F), while the number of bees taking trips increases as the temperature continues to rise above (20°C) (Joshi & Joshi, 2010).

## REFERENCES

- Bataw, A. A. & I. B. Lamin (2001). The behavior of honey bees *Apis mellifera* L. that visit Rosemary flowers *Rosmarinus officinalis* L. in Al-Gabal Alakhder region. *AL-Mukhtar Journal of Sciences*, 8: 26-41.
- Beutler, R. (1953). Nectar. *Bee World*, 34(6), 106-116.
- Beutler, R., & Schöntag, A. (1940). Über die Nektarabscheidung einiger Nutzpflanzen. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 28(3), 254-285.
- Buchmann, S. L., & Nabhan, G. P. (1996). *The forgotten pollinators*. Island Press.
- Carpenter, F. (1983). Pollination energetics in avian communities: simple concepts and complex realities. *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold, New York, 215-234.
- Corbet, S. A. (1978). Bee visits and the nectar of *Echium vulgare* L. and *Sinapis alba* L. *Ecological Entomology*, 3(1), 25-37.
- Corbet, S. A. (1990). Pollination and the weather. *Israel Journal of Plant Sciences*, 39(1-2), 13-30.
- Corbet, S. A., Willmer, P., Beament, J., Unwin, D., & Prÿs - Jones, O. (1979). Post - secretory determinants of sugar concentration in nectar. *Plant, Cell & Environment*, 2(4), 293-308.
- Dafni, A. (1992). *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press.
- Gary, N. E. (1992). Activities and behavior of honeybees. *The hive and the honey bee*.
- Gonzalez, A., Rowe, C., Weeks, P., Whittle, D., Gilbert, F., & Barnard, C. (1995). Flower choice by honey bees (*Apis mellifera* L.): sex-phase of flowers and preferences among nectar and pollen foragers. *Oecologia*, 101(2), 258-264.
- Hoc, P., Drewes, S., & Amela, G. M. (2003). Floral biology, reproductive system and reproductive success of *Macropodium fraternum* (Fabaceae). *Revista de biologia tropical*, 51(2), 369.
- Hubbell, S., & Braasch, G. (1997). Trouble with Honeybees. *Natural history*, 106(4), 32-43.
- Huber, H. (1956). Die Abhängigkeit der Nektarsekretion von Temperatur, Luft- und Bodenfeuchtigkeit. *Planta*, 48(1), 47-98.
- Joshi, N. C., & Joshi, P. (2010). Foraging behaviour of *Apis* spp. on apple flowers in a subtropical environment. *New York Science Journal*, 3(3), 71-76.
- Loper, G., GD, W., & RL, B. (1976). Effect Of Flower Age On Sucrose Content In Nectar Citrus.
- Mayer, D. (1993). Sequential introduction of honey bee colonies for pear pollination. VI International Symposium on Pear Growing 367,
- Mayer, D., & Lunden, J. (1996). A comparison of commercially managed bumblebees and honey bees (Hymenoptera: Apidae) for pollination of pears. VII International Symposium on Pollination 437,
- McGregor, S. E. (1976). *Insect pollination of cultivated crop plants* (Vol. 496). Agricultural Research Service, US Department of Agriculture.

- Merti, A. A. (2003). *Botanical Inventory and Phenology in Relation to Foraging Behaviour of the Cape Honeybees (Apis Mellifera Capensis) at a Site in the Eastern Cape, South Africa* Rhodes University Grahamstown].
- Michener, C. D., & Michener, C. D. (1974). *The social behavior of the bees: a comparative study*. Harvard University Press.
- Park, O. (1929). The influence of humidity upon sugar concentration in the nectar of various plants. *Journal of Economic Entomology*, 22(3), 534-544.
- Pleasants, J. M. (1981). Bumblebee response to variation in nectar availability. *Ecology*, 62(6), 1648-1661.
- Raw, G. (1953). The effect on nectar secretion of removing nectar from flowers. *Bee World*, 34(2), 23-25.
- Robinson, F., & Oertel, E. (1975). Sources of nectar and pollen. *The hive and the honey bee*, 283-303.
- Schneider, D., Eisikowitch, D., Goldway, M., & Stern, R. (2004). A comparative study of the superior fertility of 'Smoothie Golden Delicious' apple. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(4), 596-601.
- Schneider, D., Stern, R. A., Eisikowitch, D., & Goldway, M. (2002). The relationship between floral structure and honeybee pollination efficiency in 'Jonathan' and 'Topred' apple cultivars. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77(1), 48-51.
- Shaibi, T. (2013). The honeybees (*Apis mellifera* L) of Libya. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 6(2), 39-47.
- Shuel, R. (1992). The production of nectar and pollen. *The hive and the honey bee*, 401-436.
- Singh, Y. (1979). Pollination activity on strawberry at Jeolikote (district Nainital, India). *Indian Bee J.*
- Southwick, E. E., Loper, G. M., & Sadwick, S. E. (1981). Nectar production, composition, energetics and pollinator attractiveness in spring flowers of western New York. *American Journal of Botany*, 68(7), 994-1002.
- Steel, R. G. and J. H. Torrie. (1980). Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach, New York. McGraw-Hill. inc p .593
- Thorp, R., & RW, T. (1979). Honey bee foraging behavior in California almond orchards.
- Vansell, G. (1946). Bees and pear pollination. *Oregon State Hort. Soc. Proc.* 37, 51-53.
- Williams, N. M., & Thomson, J. D. (1998). Trapline foraging by bumble bees: III. Temporal patterns of visitation and foraging success at single plants. *Behavioral Ecology*, 9(6), 612-621.
- Willmer, P. (2011). *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press.
- Wood, G. (1961). The association between age of inflorescence and nectar production in the low-bush blueberry *Vaccinium angustifolium*. *Canadian Journal of Botany*, 39(5), 1037-1040.
- Wykes, G. (1953). The sugar content of nectars. *Biochemical Journal*, 53(2), 294-296.
- Yun, H. (2005). Insects-mediated pollination. *Korean Soc. Insect Resour. Res*, 5, 1.

## سلوك البحث عن الغذاء لنحل العسل *Apis mellifera* Linn. خلال زيارة بعض النباتات الزهرية في منطقة الجبل الأخضر، ليبيا

سالمة ياسين عيسى<sup>1\*</sup> وعلي عبد القادر بطاوي<sup>2</sup>

<sup>1</sup> قسم علم الحيوان، كلية العلوم والآداب، جامعة عمر المختار، القبة - ليبيا

<sup>2</sup> قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء - ليبيا

تاريخ الاستلام: 14 مايو 2020 / تاريخ القبول: 27 نوفمبر 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.258>

**المستخلص:** يهدف البحث إلى دراسة آثار إفراز الرحيق والظروف المناخية على عدد شغالات نحل عسل الباحثة عن الغذاء في أزهار ثلاثة أنواع نباتية مختلفة، تم أخذ عينات الرحيق في أوقات مختلفة من ساعات النهار، وتم تسجيل الوقت الذي تستغرقه النحلة في الانتقال من زهرة إلى أخرى. بينت الدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية خلال ساعات النهار على تفاوت حجم الرحيق ( $P > 0.05$ )، سجلت أعلى كمية من الرحيق عند الساعة 10 صباحاً في زهرة *P. domestica* ( $0.5 \pm 0.2$ ) وأدنى كمية على زهرة *P. communis* في الساعة 8:00 صباحاً مع ( $0.008 \pm 0.0132$ ). كما كان وقت المناولة الأعلى المسجل في نبات أزهار *M. domestica* وكان في الساعة 10 صباحاً ( $1.7 \pm 6.1$  ثانية) وعلى الرغم من انعدام تسجيل وقت للمناولة في الساعة 4:00 مساءً في نبات زهرة *P. communis*، أظهرت النتائج أن أعلى وقت لتتقل النحلة بين الأزهار مسجل علي أزهار نبات *M. domestica* في الساعة 12 ظهراً ( $0.1 \pm 2.2$  ثانية) مقارنة مع نبات زهرة *P. Communis* الذي سجل وقتاً أقل للسفر في الساعة 4:00 مساءً ( $0.1 \pm 0.1$  ثانية). علاوة على ذلك كشفت النتائج أيضاً أن تفضيل *Apis mellifera* كان على نبات زهرة *M. domestica*. أوضحت النتائج أن هناك ( $P > 0.05$ ) دلالة إحصائية بين تأثيرات الظروف المناخية على عدد النحل أثناء الزيارة، بينما أظهرت وجود علاقة بين ارتفاع درجة الحرارة وزيادة عدد النحل الزائرين، بينما انخفض عدد الزائرات خلال ساعات الدراسة مع انخفاض نسبة الرطوبة.

**الكلمات المفتاحية:** *Apis mellifera*، تفضيل الزهرة، سلوك البحث عن الغذاء، زمن المناولة والتنقل.

\* سالمة ياسين عيسى [Sy1953e@gamil.com](mailto:Sy1953e@gamil.com)، قسم علم الحيوان، كلية العلوم والفنون، جامعة عمر المختار، القبة - ليبيا



## Identification and Classification of Libyan *Rosmarinus Officinalis* Essential Oil Components by GC-MS and Predication of Its Antioxidant Activity

Wessal Hassan El-Ageeli<sup>1\*</sup>, Bubaker M.B Hamed Al-Mansori<sup>1</sup>, Seham Hamad Mohammed Alsagheer<sup>2</sup>, Faheem A. F. Ben-Khayal<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda- Libya

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University Al-Bayda- Libya

Received: 06 October 2020/ Accepted: 30 November 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.255>

**Abstract:** The aim of this investigation is identification and classification of *Rosmarinus Officinalis* essential oil components by GC-MS and prediction of their antioxidant activity. GC-MS analysis of Libyan Rosemary essential oil indicated that in total, 44 compounds were detected comprising 98.3% of compounds in the oil. The results also revealed that the oil contained some constituents with great antioxidant activity such as eugenol, (0.04%), diethylphalate (0.28%), myrtenol (0.46%),  $\gamma$ -Terpinene (2.2%),  $\alpha$  – Terpenolene (1.96%), with total percentage of (4.94%) which was considered to be very small. However, about the half of the essential oil contained of constituents with very weak antioxidant activity. These include trans- $\beta$ -caryophinen (2.2%),  $\alpha$ - humulene (0.34%), 1.8- cineol (6.15%), 1.8 – cineol isomer (11.8%), linalool (3.29%), 4-terpinol (5.65%), 1- $\alpha$  – terpine (7.93%), isoborneol (0.29%), perillaldehyde (0.09%),  $\beta$ - citronellal (0.03%),  $\alpha$  – pinene (3.4%), comphen (3.04%) and  $\beta$ - pinene(4.21 %), our result shows that the essential oil of Libyan Rosemary might have a weak antioxidant activity.

**Keywords:** *Rosmarinus Officinalis*, essential oils, GC-MS analysis of essential oil, antioxidants.

### INTRODUCTION

Essential oil yield and chemical composition vary, considerably due to different factors, both intrinsic and extrinsic (Stahl-Biskup, 2002). Intrinsic factor includes genetic and sexual variations, plant organ (roots, leaves, stem, etc.), age and vegetative cycle stage. On the other hand, extrinsic factors and described by ecological and environmental aspects such as attitude, soil composition, climate and light, all these factors can drastically affect the chemical composition of essential oils (Stahl-Biskup, 2002). Thus, these variations are of distinct important when

studying the biological activity, such as, antioxidant capacity of essential oils as the degree of activity has to be related to its chemical composition (Panizzi et al, 1993; Lahlou and Berrada, 2003; Alvarez et al., 2019).

Essential oils are commercially important especially for the pharmaceutical, cosmetic, perfume industries and medical properties, as well as in food and beverages, as flavoring agents and preservatives (Van De Braak and Leijen, 1999; Burt, 2004; Fitsiou et al., 2016). Nowadays, essential oils and their components are gaining increasing attention, because of their relatively safe status, their

\*Corresponding Author: Bubaker M.B Hamed Al-Mansori [science.abu@gmail.com](mailto:science.abu@gmail.com), Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

wide acceptance by customers, and the possibility of their exploitation for potential multi-purpose functional uses (Ormancey et al., 2001). In this context, many essential oils and constituents have been studied (Ruberto and Barata, 2000; Nieto et al., 2018). For natural antioxidants with the virtue of being non-toxic has given rise to a large number of studies on the potential of the essential oils of several aromatic plants, among them, Rosemary. (Miura et al, 2002; Wang et al, 2008; Ojeda et al., 2013; Alvaraz et al., 2019).

In Libya, the Al-Jabal Al-Akhdar mountain, which is a region located in the North-East of Libya, is a rich habitat of many aromatic plants that grow wild, among them *Rosemary Officinalis*. These aromatic plants are used fresh or dry as spicy herbs, in many Libyan dishes, and for medical purposes (Jafri and El-Gadi, 1985). So, the aim of this study is extraction of the essential oils of Libyan *Rosemary Officinalis* by hydro-distillation, identification and classification of its chemical constituents by using gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS) and the prediction of its antioxidant activity.

## MATERIALS AND METHODS

**Chemical and reagent:** All chemicals and reagents were highly pure which purchased from Fisher scientific (Loughborough, UK) and Sigma-Aldrich (Pool, Dorset, UK).

**Plant material:** Leaves of wild plant *Rosmarinus Officinalis* (Rosemary) were collected during the flowering stage in April 2019) at Al-Jabal Al-Akhdar region in North-East of Libya, specimens of collected plant were confirmed and deposited at the Herbarium of the department of Biology, University of Tripoli, Libya. The fresh sample were frozen in sealed sample bags at  $-18^{\circ}\text{C}$  till extraction.

**Essential oil extraction:** The classic methodology of hydro-distillation using Clevenger-type apparatus was used for the isolation of the essential oil from rosemary (*Rosmarinus Offic-*

*inalis*). The fresh leaves of the aromatic plants (100 g) were blended with water (1500 ml) in a blender. The mixture was transferred into the hydro-distillation unit for 3-4 hours, until no more essential oil was obtained. The essential oil was separated from water, dried over anhydrous sodium sulphate and stored in sealed airtight amber glass flasks at  $4^{\circ}\text{C}$  until analyzed (Daferera et al, 2003).

**Identification of essential oil by gas chromatography mass spectroscopy (GC-MS):** Essential oil of Libyan Rosemary obtained by hydro-distillation was analyzed, and their constituents identified using GC-MS. The analysis was performed using a Shimadzu GC-MS-QP 5050 A, software class 5000, with a DBI column (30m x 0.53 m i.d), 1.5  $\mu\text{m}$  film thickness. The carrier gas was helium (flow rate 1ml/min). For GC-MS detection, an electron ionization mode (EI) with ionization energy 70ev was used. The temperature program as follows:  $30^{\circ}\text{C}$  (static, for 2 min) then gradually increasing (at a rate of  $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) up to  $250^{\circ}\text{C}$  (static for 5 min). Injector temperature was  $280^{\circ}\text{C}$ . Qualitative identification of the essential oil constituents was achieved using a willey 299 LIB database, and by comparing mass fragmentation patterns with those from the available published data. Quantitative estimation of the volatile constituents was determined by computerized peak area measurements using an internal normalization method. This analysis was carried out on the Regional Center for Mycology and Biotechnology, Al-Azhar university, Cairo (Egypt).

## RESULTS AND DISCUSSION

The yield of the essential oil from *R. Officinalis* growing wild in Libya was  $0.47\% \pm 0.18\%$ , on a dry weight basis. This yield is slightly higher than those obtained from the wild Portuguese *R. Officinalis* 0.3% (Mata et al., 2007). However, it was lower than these obtained from Egyptian cultivated *R. Officinalis* 1.2% (Viud-Martos et al., 2010). Serbian *R. Officinalis* 1.18% (Bozin et al., 2007) and

also Tunisian wild *R. Officinalis* 1.2% (Hosni et al., 2013). It is quite often that the yield of essential oil is affected by many factors, among them the species of the plant, the part of the plant and geographical and climate conditions (Sthl-Biskup, 2002).

**GC-MS analysis of Libyan essential oils from *R. Officinalis*** To rationalise the antioxidant activity of Libyan endemic plant *R. Officinalis*, it is necessary to address composition, which to the best of our knowledge has not been studied before. Compound identification was carried out using GC-MS. GC-MS analysis of the Libyan essential oil indicated that in total, 44 compounds were detected in rosemary oil comprising more than 98.3% of total compounds in the oil. The pattern of chemical contents of *R. officinalis* essential oils indicated that this oil were complex mixtures of several compounds. For this reason, the components were divided into six classes, namely monoterpenes hydrocarbons, oxygenated monoterpenes, sesquiterpenes hydrocarbons, oxygenated sesquiterpenes, heterogeneous hydrocarbons and oxygenated heterogeneous hydrocarbons.

### GC-MS analysis of Libyan *R. officinalis* essential oil

#### 1. Monoterpene hydrocarbons

The results showed that the monoterpene hydrocarbons group of the *R. officinalis* oil from Libya consisted of eight compounds (table 1) and represented 25.5% of the contents.

The highest content was of the  $\beta$ -pinene isomer and the lowest content was of  $\gamma$ -terpene. Although the monoterpene hydrocarbons group makes up about a quarter of the total contents of the oil, the compounds in this group were found in small concentration. In addition, this group of compounds contained some constituents that could be considered to be active as antioxidants, ranging from very weak to very strong (Ruberto and Baratta, 2000; Wang et al., 2008).  $\gamma$ -Terpinene and  $\alpha$ -terpinolene, which are known to be strong antioxidant compounds,

were found in small quantities, whereas  $\alpha$ -pinene, camphene and  $\beta$ -pinene were found in measurable amounts in this group, but they are characterized by their very weak antioxidant activity.

**Table:(1).** Monoterpene hydrocarbons identified by GC-MS analysis of Libyan *R. officinalis* essential oil.

Retention time (min)	Molecular ion M+	Base Peak	Chemical compound	Molecular formula	Percentage %
13.15	136	93	$\alpha$ -pinene	C10H16	3.4
13.44	136	93	$\alpha$ -pinene isomer	C10H16	3.17
13.59	136	93	camphene	C10H16	3.04
13.82	136	93	camphene isomer	C10H16	2.87
14.28	136	93	1- $\beta$ -pinene	C10H16	4.29
14.47	136	93	1- $\beta$ -pinene isomer	C10H16	4.61
15.93	136	93	$\gamma$ -terpinene	C10H16	2.2
16.96	136	93	$\alpha$ -terpinolene	C10H16	1.96
Number of identified compounds					8
Percentage of the total composition					25.54 %

#### 2. Oxygenated monoterpenes

The oxygenated monoterpenes group (table 2) was found to be the most representative group of the compounds present in the Libyan rosemary oil, representing 66.33% and containing 23 compounds.

Camphor was at the highest level (16.07%) in rosemary oil followed by the 1, 8-cineol isomer (11.8%). On the other hand, only a very small amount of thymol was identified (0.2%) and there was a complete absence of carvacrol. Thymol and carvacrol are considered to be the most powerful members of this group responsible for the antioxidant activity of most essential oils (Youdim et al., 2002; Lee et al., 2005).

Furthermore, the results showed that this group (oxygenated monoterpenes) also contained a reasonable number and amount of compounds with very weak antioxidant activity. Such components are 1, 8-cineol, 1,8-



cineol isomer, 4-terpineol, 1- $\alpha$ -terpineol, and very small amount of isoborneol and  $\beta$ -citronellal.

These results correspond well with the results obtained by Okoh et al. (2010) who found oxygenated monoterpenes and monoterpenes were the major constituents in *R. officinalis* oil. In plant essential oils, oxygenated monoterpenes and monoterpenes are mainly responsible for most of the antioxidant activities (Ruberto and Baratta, 2000).

**Table:(2).** Oxygenated monoterpenes identified by GC-MS analysis of Libyan *R. officinalis* essential oil.

Retention time (min)	Molecular ion M+	Base Peak	Chemical compound	Molecular formula	Percentage %
15.39	154	43	1,8-cineole	C10H18 O	6.15
16.06	154	43	1,8-cineole isomer	C10H18 O	11.8
16.81	154	93	linalool	C10H18 O	3.29
18.04	152	108	$\alpha$ -pinene oxide	C10H16 O	0.42
18.38	152	95	camphor	C10H16 O	16.07
19.39	152	95	comphor isomer	C10H16 O	2.01
19.55	150	81	pinocarvone	C10H14 O	4.35
19.85	152	55	bicyclomonoterpene ketone	C10H16 O	2.11
20.15	154	71	4-terpineol	C10H18 O	5.65
20.46	154	59	1- $\alpha$ -terpineol	C10H18 O	7.93
20.93	150	95	monoterpene ketone	C10H14O	3.49
21.91	152	95	camphor isomer	C10H16 O	0.22
22.18	152	79	myrtenol	C10H16 O	0.46
22.60	152	69	aldehyde	C10H16 O	0.16
22.72	150	95	unsaturated ketone	C10H14 O	0.42
23.27	154	95	isoborneol	C10H18 O	0.29
23.87	196	95	endobornyl acetate	C12H2O2	0.95
24.18	150	135	thymol	C10H14 O	0.2
25.07	154	41	dihydrocarvacrol	C10H18 O	0.12
25.43	150	67	prillaldehyde	C10H14 O	0.09
25.77	150	121	aldehyde	C10H14 O	0.11
26.32	156	41	$\beta$ -citronellal	C10H20 O	0.03
27.83	164	43	monoterpene oxide	C10H12O2	0.01
Number of identified compounds					23
Percentage of the total composition					66.33%

### 3. Sesquiterpene hydrocarbons

The sesquiterpene hydrocarbons group (Table 3) comprised of 3 compounds at a low percentage (2.62%) of the oil constituents. This group contained two weak antioxidant compounds, trans- $\beta$ -caryophyllene and humulene.

**Table:(3).** Sesquiterpene hydrocarbons identified by GC-MS analysis of Libyan *R. officinalis* essential oil.

Retention time (min)	Molecular ion M+	Base Peak	Chemical compound	Molecular formula	Percentage %
32.1	204	41	trans- $\beta$ -caryophyllene	C15H24	2.2
33.93	204	93	$\alpha$ -humulene	C15H24	0.34
37.37	204	161	$\alpha$ -amorphene	C15H24	0.08
Number of identified compounds					3
Percentage of the total composition					2.62%

### 4. Oxygenated sesquiterpene and heterogeneous hydrocarbon

The oxygenated sesquiterpene and heterogeneous hydrocarbon groups (table 4) consisted of two compounds each, spathulenol and  $\delta$ -cadinol, and nonane and 3,4-octadiene-7-me respectively.

**Table:(4).** Oxygenated sesquiterpenes and heterogeneous hydrocarbons identified by GC-MS analysis of Libyan *R. officinalis* essential oil.

Retention time (min)	Molecular ion M+	Base Peak	Chemical compound	Molecular formula	Percentage %
Oxygenated sesquiterpenes					
41.65	220	41	spathulenol	C15H24 O	trace
46.63	222	161	$\delta$ -cadinol	C15H26 O	0.21
Number of identified compounds					2
Percentage of the total composition					0.21
Heterogeneous hydrocarbons					
9.43	128	43	nonane	C9 H2O	trace
11.87	124	67	3,4-octadiene-7-me	C9 H16	0.02
Number of identified compounds					2
Percentage of the total composition					0.02 %

## 5. Oxygenated heterogeneous hydrocarbons

The final group is the oxygenated heterogeneous hydrocarbons (table 5) consisting of 7 compounds representing 3.6% of the oil. This group contained very important compounds with very high antioxidant activity, namely eugenol and diethyl phthalate, present in relatively small amounts but probably affecting the overall antioxidant activity of this oil.

**Table:(5).** Oxygenated heterogeneous hydrocarbons identified by GC-MS analysis of Libyan *R. officinalis* essential oil.

Retention time (min)	Molecular M+	Base Peak	Chemical compound	Molecular formula	Percentage %
5.68	86	41	3-me-butanol	C5H10 O	0.02
14.8	128	57	1-octen-3-ol	C8H16O	2.13
26.9	164	164	eugenol	C10H12 O	0.04
28.53	178	178	me eugenolate	C11H14 O2	0.53
40.05	222	149	diethyl phthalate	C12H14O2	0.28
68.20	278	149	1,2-benzenedicarboxylic acidbutyl-2-methylpropyl ester	C16H22O4	0.54
74.87	390	149	1,2-benzenedicarboxylic acid bis (2-ethylhexyl ester)	C24H38O4	0.03
Number of identified compounds					7
Percentage of the total composition					3.51 %

Several reports have been published (Wang et al., 2008; Viuda-Martos et al., 2010) concerning the composition of *R. officinalis* essential oil; these reports have emphasized the extent of marked chemical differences among essential oils extracted from the same species. These differences in the chemical composition of *R. officinalis* oil can be attributed to the part of the plant extracted, the season of harvesting, the geographical origin and the method of extraction (Ravid and Putrisky, 1986; Mueller-Riebau et al., 1997;

Jordan et al., 2006; Bakkali et al., 2008).

The results of the GC-MS analysis in the current study were in good agreement with the results obtained by Soliman et al. (1994), who found that rosemary oil comprised 43% compounds. However, some differences were noticed with regards to the number and quantity of some compounds in rosemary oils studied from different regions, such as the cultivated Egyptian rosemary oil, when analysed 27 compounds were identified representing 90.2% of the total oil, the major constituents were 1,8-cineole (23.59%), camphor (20.70%) and  $\alpha$ -pinene (18.21%) (Viuda-Martos et al., 2010), and the Spanish southern *R. officinalis* oil when investigated by Tomeia et al. (1995), they found the main components to be camphor (32.33%), 1,8-cineole (14.41%), and  $\alpha$ -pinene (11.56%). The geographical location of where the plant grows can contribute to the content and quality of essential oils (Stahl-Biskup, 2002).

Earlier data pertaining to the rosemary essential oils has pointed out the difference between the Morocco/Tunisian chemotype (containing 38-55% of 1, 8-cineol) and the Spanish chemotype characterized by high amount of the monoterpene hydrocarbons,  $\alpha$ -pinene (18-26%), camphene (8-12%) and 1, 8-cineol (16-25%) (Bozin et al., 2007). However, the essential oil obtained from rosemary growing wild in Libya investigated here, has a specific chemical composition, 1, 8-cineol (6.15%),  $\alpha$ -pinene (3.4%) and camphene (3.04%) that could not be categorized in one of the two previously described chemotypes.

Finally, the differences in the number and type of the compounds in the essential oils of *R. officinalis* could lead to differences in their antioxidant activities and should be taken into consideration when studying the antioxidant potential of the essential oil. In addition, the results of the essential oil composition give us, to some extent, a prediction about whether an oil has a strong or weak antioxidant activity.

The oil under investigation contained some constituents with great antioxidant activity such as eugenol, (0.04%), diethyl phthalate (0.28%), myrteol (0.46%),  $\gamma$ -terpinene (2.2%),  $\alpha$ -terpenolene (1.96%), with a total percentage of (4.94%) which was considered to be very small. However, about half of the essential oil contained constituents with a predicted very weak antioxidant activity. These included trans- $\beta$ -caryophyllene (2.2%),  $\alpha$ -humulene (0.34%), 1,8-cineol (6.15%), 1,8-cineol isomer (11.8%), linalool (3.29%), 4-terpineol (5.65%), 1- $\alpha$ -terpine (7.93%), isoborneol (0.29%), prillaaldehyde (0.09%),  $\beta$ -citronellal (0.03%),  $\alpha$ -pinene (3.4%), camphene (3.04%) and  $\beta$ -pinene (4.29%). Based on the data published by Ruberto and Baratta (2000), Youdim et al., (2002) and Wang et al. (2008) the essential oil of Libyan rosemary oil might have a weak antioxidant activity.

### CONCLUSION

*Rosmarinus Officinalis* essential oil grow wild in Libya, is a mixture of 44 compounds, including a group of six classes namely, Monoterpenes Hydrocarbons, Oxygenated Monoterpenes, Sesquiterpenes Hydrocarbons, Oxygenated Sesquiterpenes, Heterogeneous Hydrocarbons. This oil might have a weak antioxidant activity according to its chemical constituents, where the content of the phenolic compounds which are considered being strong antioxidants too low, (Thymol, 0.2% and the absent of Carvacrol, 0.0%). However, attention should be paid to study its extracts of *Rosmarinus Officinalis* plant using different solvents for extraction.

### ETHICS

The authors declare no conflict of interest.

### REFERENCES

Alvarez, María & Ortega Ramirez, Luis & Silva-Espinoza, Brenda & Aguilar, Gustavo & Ayala-Zavala, J. Fernando. (2019). Antimicrobial, antioxidant, and sensorial impacts of oregano and

rosemary essential oils over broccoli florets. *Journal of Food Processing and Preservation*. e13889. 10.1111/jfpp.13889.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Waoum, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.

Bozin, B., Ml mica-Dukic, N., Samojlik, I. and Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7879-7885.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.

Daferera, D. J., Ziogas, B. N. and Polissiou, M. G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp and *Clavibacter michiganensis* subsp michiganensis. *Crop Protection*, 22, 39-44.

Fitsiou, Eleni & Anestopoulos, Ioannis & Chlichlia, Katerina & Galanis, Alex & Kourkoutas, Yiannis & Panayiotidis, Mihalis & Pappa, Aglaia. (2016). Antioxidant and Antiproliferative Properties of the Essential Oils of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica* and their Major Constituents. *Anticancer Research*.

Hosni, K., Hassen, I., Chaabane, H., Jemli, M., Dallali, S., Sebei, H. and Casabianca, H. 2013. Enzyme-assisted extraction of essential oils from thyme (*Thymus capitatus* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Impact on yield,

- chemical composition and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 47, 291-299.
- Jafri, S. M. H. and El-Gadi, A. 1985. Flora of Libya., Tripoli, Libya, Department of Botany, Al- Faateh Univ.
- Jordan, M. J., Martinez, R. M., Goodner, K. L., Baldwin, E. A. and Sotomayor, J. A. (2006). Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*, 24, 253-263.
- Lahlou, M. and Berrada, R. (2003). Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour and Fragrance Journal*, 18, 124-127.
- Lee, S. J., Umamo, K., Shibamoto, T. and Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91, 131-137.
- Mata, A. T., Proenca, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F. and Araujo, M. E. M. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry*, 103, 778-786.
- Miura, K., Kikuzaki, H. and Nakatani, N. (2002). Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1845-1851.
- Mueller-Riebau, F. J., Berger, B. M., Yegen, O. and Cakir, C. (1997). Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4821-4825.
- Nieto, Gema & Id, Gaspar & Ros, Gaspar & Castillo, Julián. (2018). medicines Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*. 5. 10.3390/medicines5030098.
- Okoh, O. O., Sadimenko, A. P. and Afolayan, A. J. 2010. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, 120, 308-312.
- Ojeda, Adriana & Van Baren, Catalina & Elechosa, Miguel & Juárez, Miguel & Moreno, Silvia. (2013). New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control*. 31. 189-195. 10.1016/j.foodcont.2012.09.022.
- Ormancey, X., Sisalli, S. and Coutiere, P. 2001. Formulation of essential oils in functional perfumery *Parfums, Cosmetiques, Actualites.*, 157, 30-40.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L. and Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39, 167-170.

- Ravid, U. and Putievsky, E. (1986). Carvacrol and thymol chemotypes of East Mediterranean wild Labiatae herbs. In: Brunke, E. J. (ed.) *Progress in Essential Oil Research*. New York: de Gruyter, Berlin.
- Ruberto, G. and Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69, 167-174.
- Stahl-Biskup, E. (2002). Essential oil chemistry of the genus *Thymus* – a global view. In: Stahl-Biskup, E. and Sáez, F. (eds.) *The genus thymus*. New York: CRC Press
- Soliman, F. M., El-Kashoury, E. A., Fathy, M. M. and Gonaïd, M. H. (1994). Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt. *Flavour and Fragrance Journal*, 9, 29-33.
- Tomeia, P. E., Cionib, P., Flaminib, G. and Stefanic, A. (1995). Evaluation of the Chemical Composition of the Essential Oils of Some Lamiaceae from Serrania de Ronda (Andaluçia, Spain). *Journal of Essential Oil Research*, 7, 279-282.
- Van De Braak, S. a. a. J. and Leijten, G. C. J. J. (1999). Essential oils and oleoresins: a survey in the Netherlands and other major markets in the European Union. *CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries*, pp. 116.
- Villiere, A., Viau, M., Bronnec, I., Moreau, N. and Genot, C. (2005). Oxidative stability of bovine serum albumin- and sodium caseinate-stabilized emulsions depends on metal availability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1514-1520.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G. and Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108, 1019-1022.
- Youdim, K. A., Deans, S. G. and Finlayson, H. J. (2002). The antioxidant properties of thyme (*Thymus zygis* L.) essential oil: an inhibitor of lipid peroxidation and a free radical scavenger. *Journal of Essential Oil Research*, 14, 210-215.

## تعريف وتصنيف المركبات الكيميائية لزيت نبات الإكليل النامي طبيعياً بمنطقة الجبل الأخضر والتكهن بالتأثير المضاد للأكسدة لمكوناته

وصال حسن العجيلي<sup>1</sup>، بوبكر المبروك المنصوري<sup>1</sup>، سهام حمد الصغير<sup>2</sup>، فهيم عبدالكريم بن خيال<sup>1</sup>

<sup>1</sup> قسم علوم وتقنية الأغذية، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

<sup>2</sup> قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

تاريخ الاستلام: 06 أكتوبر 2020 / تاريخ القبول: 30 نوفمبر 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.255>

**المستخلص:** يهدف هذا البحث إلى التعرف وتصنيف المكونات الكيميائية للزيت الطيار لنبات الإكليل (*Rosmarinus officinalis*) النامي طبيعياً بمنطقة الجبل الأخضر - ليبيا. باستخدام كروماتوجرافيا الغاز المدمج بطيف الكتلة (GC-MS)، وكذلك التكهن بالنشاط المضاد للأكسدة لهذه المكونات. أوضحت النتائج أن الزيت الطيار لنبات الإكليل يحتوي على 44 مركب كيميائي، شكلت حوالي 98.3% من إجمالي المركبات الموجودة في الزيت. كما بينت النتائج وجود بعض المكونات ذات النشاط العالي كمضادات للأكسدة. شملت كل من مركب eugenol (0.04%)، diethylphalate (0.28%)، myrtenol (0.46%)،  $\gamma$ -Terpinene (2.2%)،  $\alpha$  - Terpenolene (1.96%)، ومجموعها شكل حوالي (4.94%) من إجمالي مكونات الزيت المتعرف عليها. وهي تعتبر نسبة ضئيلة جداً. ومن الناحية الأخرى، شكلت المركبات ذات النشاط الضعيف كمضادات للأكسدة حوالي 50% من إجمالي المركبات المتعرف عليها وهذه شملت مركبات كل من، trans- $\beta$ -caryophinen (2.2%)،  $\alpha$ - humulene (0.34%)، 1.8- cineol (6.15%)، 1.8 - cineol isomer (11.8%)، linalool (3.29%)، 4-terpinol (5.65%)،  $\alpha$  - terpine (7.93%)، isoborneol (0.29%)، perillaldehyde (0.09%)،  $\beta$ - citronellal (0.03%)،  $\alpha$  - pinene (3.4%)، comphen (3.04%)، و  $\beta$ - pinene (4.21%). أظهرت النتائج أن الزيت الطيار لنبات الإكليل النامي طبيعياً بمنطقة الجبل الأخضر ربما يكون له تأثير ضعيف كمضاد للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** نبات الإكليل، الزيت الطيار، تحليل GC-MS للزيت الطيار، مضادات الأكسدة .

## Antioxidant Activity- Synergistic Effects of Thymol and Carvacrol

Bubaker M.B Hamed Al-Mansori<sup>1</sup>, Wessal Hassan El-Ageeli<sup>1</sup>, Seham Hamad Mohammed Alsagheer<sup>2</sup> and Faheem A. F. Ben-Khayal<sup>1</sup>



<sup>1</sup> Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

Received: 19 October 2020/ Accepted: 30 November 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.271>

**Abstract:** This study was conducted to evaluate the antioxidant activity-synergistic effects of Thymol and Carvacrol using Three assays DPPH, FRAP, and TEAC. In the DPPH assay Carvacrol, Thymol and Carvacrol-Thymol mixture had scavenging activity and this activity increasing by increasing concentration from 50 to 1000ppm. Carvacrol showed a strong antioxidant activity than Thymol, and no synergistic effect in their mixture at tested concentration. In FRAP assay, Carvacrol had the highest antioxidant activity as in DPPH assay result. However, the mixture of Carvacrol and Thymol showed a higher reducing power than Thymol and no synergistic effect observed. In TEAC assay, Carvacrol showed a great quenching ability of ABTS radical cation than Thymol and the mixture both. The Carvacrol content in the mixture could be responsible for this higher antioxidant activity and there was no clear synergistic effect. These findings support that essential oils always contain a mixture of different chemical compounds. In addition to the major compounds, minor compounds may make a significant contribution to the total oil antioxidant activity.

**Keywords:** Thymol; Carvacrol; Synergistic effect; antioxidant; Thyme essential oil.

### INTRODUCTION

Essential oils are volatile, natural, complex mixtures characterized by strong odour and are formed by aromatic plants as secondary metabolites. (Ramawat and Merillon, 2013; Alvarez et al., 2019)

At present, approximately 3000 essential oils are known, 300 of which are commercially important especially for the pharmaceutical, cosmetic, perfume industries and medical properties as well as in food and beverages as flavoring agents and preservatives (Van de Braak and Leijten, 1999; Burt, 2004; Nieto et al., 2018). The latest property regard to the use of essential oils as natural antioxidants in

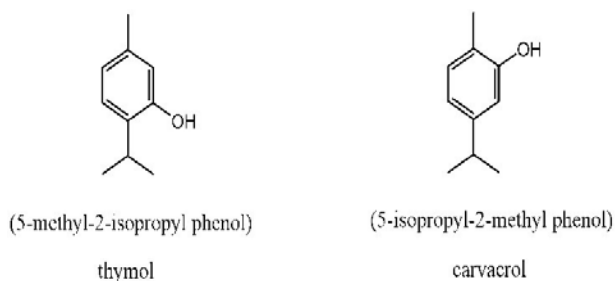
this context since 1938 when the earliest reports on antioxidant from spices in a patent by Maveety (Maveety, 1938).

Up to now, thousands of studies have been carried to study the antioxidant activity of several essential oils of aromatic plants. Particularly, members of *Lamiaceae* family. Such as Sage, Rosemary, Thyme, Clove, Oregano, ...etc. (Yanishlivea et al., 1999; Dang et al., 2001; Youdim et al., 2002 Wang et al., 2008 Niteo et al., 2018). Essential oils are very complex natural mixtures which contain about 20-60 components at quite different concentration. They are characterized by two or three major components at fairly high concentration (20-70%) compared to other

\*Corresponding Author: Bubaker M.B Hamed Al-Mansori [science.abu@gmail.com](mailto:science.abu@gmail.com), Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

components present in trace amounts. (Bakkali et al., 2008). Generally, these major components determine the biological properties such as antioxidants activities of the essential oils, and might speculate if their antioxidant effects are the result of a synergism of all molecules or reflect only the main molecules present at the highest levels (Ipeke et al., 2005; Nieto et al., 2018). Carvacrol and Thymol have been reported by many authors to have a very high antioxidant activity and they were responsible for most of the antioxidant activity of essential oils of *Lamiaceae* family members (Jukic and milos, 2005; Kulisic et al., 2005; Chizolla et al., 2008).

It is established that Thymol and Carvacrol are considered as the most common effective free radical scavengers (Jamli et al., 2012). It is thought that the hydroxyl group in Thymol and Carvacrol (Figure 1) is usually the site of hydrogen donation.



**Figure: (1).** Chemical structure of thymol and carvacrol

However, the literature contains conflicting observation regarding to Thymol and Carvacrol antioxidant activities. (Yanishliva et al., 1999; Youdim et al., 2002; Teixeira et al., 2013) reported that Thymol had a higher antioxidant activity than Carvacrol, whereas some other studies found that Carvacrol had a stronger antioxidant activity than obtained with Thymol (Yanishliva et al., 1999; Ruberto and Barata, 2000; Miguel et al., 2003; Jamali et al., 2012). The contradiction could be due to methodological variations in the different assays used. In addition, a synergistic

effect was observed by (Puertas-Majia et al, 2002) between Thymol and Carvacrol in mixture at ratio of 1:1 when tested in bulk oil. An increase in the antioxidant activity by 25% was noticed. On the other hand, (Miguel et al., 2003) reported that no synergistic activity was between Thymol and Carvacrol. Due to this contradiction in previous published data the objective of this study to determine the antioxidant activities of Thymol and Carvacrol and mixture (1:1 ratio) of both using DPPH, FRAP and TEAC assays.

Particularly, these two compounds have been found in the Libyan Thyme (*Thymus Capitatus*). Growing wide in Al-jabal Al-Akhdar region.

## MATERIALS AND METHODS

**Chemical and reagents:** Folin-Ciocalteu reagent, anhydrous sodium carbonate, butylated hydroxyanisole (BHA), sodium acetate trihydrate, 2,4,6-Tripyridyl-5-Triazin (TPTZ), gallic acid, Potassium Persulphate, Disodium Hydrogen Phosphate. Ferric Chloride Hexahydrate, Thymol, Carvacrol were purchased from Sigma-Aldrich (Poole, Dorset, UK). 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl free radical (DPPH<sup>•</sup>), 2,2-Azino-Bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic acid) Diammonium salt (ABTS) and (±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-Tetramethylchromane-2-Carboxylic acid (Trolox) were obtained from Merck chemicals Ltd. (Darmstadt, Germany).

**DPPH radical scavenging activity assay:** The radical scavenging activity of Thymol and Carvacrol was measured using the stable radical 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl as described by (Chizzola et al., 2008). Each sample (4 ml) dissolved in ethanol at different concentrations (50, 250, 500, 1000 ppm) was mixed with DPPH<sup>•</sup> (1 ml, 0.1 mM). BHA was used as a standard at the same concentration at the samples. The reduction of the DPPH<sup>•</sup> free radical measured after incubation at room temperature for 30 mins. the absorbance was read at a



wavelength of 517 nm against a blank (4 ml ethanol mixed with 1 ml of (0.1mM) DPPH<sup>•</sup> solution).

DPPH<sup>•</sup>, a purple coloured, stable free radical is reduced to yellow coloured diphenylpicrylhydrazine when antioxidants are added. The inhibition ratio (%) was calculated from the following equation.

$$\% \text{inhibition} = \frac{[\text{absorbance of control} - \text{absorbance of tested samples}]}{\text{absorbance of control}} \times 100$$

The assay was conducted in triplicate, and results were calculated as mean  $\pm$  standard deviation (SD).

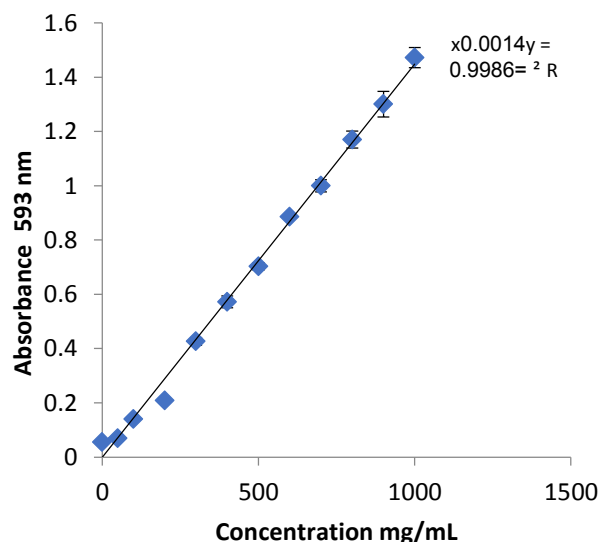
### Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay:

The total antioxidant potential of Thymol and Carvacrol was determined by means of the ferric reducing antioxidant power assay using the Benzi and Strain (1996) method. For the assay, serial dilutions of Thymol and Carvacrol in Ethanol (100ml) were prepared at (50,100,250,500,1000 ppm), and mixture of both compounds at the same concentration as each one individually was made and tested for synergism effect. A working reagent was prepared by mixing acetate buffer (25 ml, PH 3.6) with TPTZ (2.5 ml of 10 mM) in HCL (40 mM) and freshly prepared solution of 20 mM FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (2.5 ml). the diluted sample (50 $\mu$ l) was mixed with working reagent (3 ml). After 8 min of incubation at 37c<sup>o</sup> the absorbance was measured at wavelength of 593 nm.

A standard curve (Figure 2) was prepared using different concentrations of Trolox in ethanol (50-1000 mg/ml).

The results were corrected for dilution and expressed as mM of Trolox equivalents/l of samples.

The experiment was performed in three replications and results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD).



**Figure: (2).** (FRAP) Standard curve for trolox at range of concentrations (50-1000 mg/mL) measured against absorbance at 593nm. Results are triplicates ( $\pm$  SD).

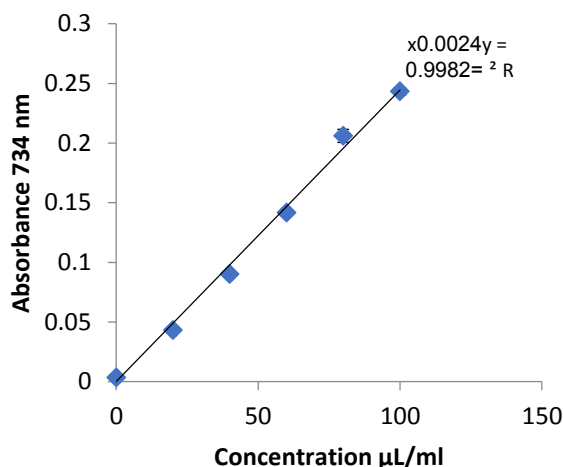
### Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay:

Preparation of Phosphate buffer Saline solution (PBS) PH 7.4: PBA was Prepared by mixing Disodium Hydrogen Phosphate NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (81 ml of 5 mM) with sodium dihydrogen phosphate NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (19 ml of 5mM), and Sodium Chloride (0.9 g) was added to the mixture.

The TEAC assay modified by Re et al., (1999) was used to assess the amount of free radicals that can be scavenged by the antioxidants (Carvacrol and Thymol). Tested samples were diluted in 100 ml ethanol and various concentration were made (20, 30, 40, 50, 70 ppm) for Carvacrol, Thymol, and mixtures of both compounds for the synergism effect. The ABTS radical cation was formed by reacting ABTS (7 mM) and Potassium Persulfate (2.45 mM) after incubation at room temperature, in the dark, for 12-16 hours the stock solution was diluted twenty times with Phosphate buffer Saline solution (PBS) until and absorbance of (0.7  $\pm$  0.02) at 734 nm was reached. ABTS solution (2 ml) was added to each of tested samples (40  $\mu$ l) and mixed thoroughly by Vortex. The reactive

mixture was allowed to stand at room temperature for 1 min, and the absorbance was immediately recorded at 734nm. Only one reagent blank was made, ABTS (2 ml ) mixed with PBS (40 µl), and used for all measurements when taking readings for either samples or standards. Trolox standard solution of varying concentrations (0-100 µl/ml). In absolute Ethanol was prepared and assayed in the same conditions. A standard curve was plotted and used to calculate the results (Figure 3). Results were expressed in terms of µg Trolox equivalent /l.

The assay was carried out in Triplicate, and results were calculated as mean ± standard deviation (SD).



**Figure: (3).** (TEAC) Trolox standard curve for varying concentrations (0-100 µL/ml) measured against absorbance at 734 nm. Results are triplicates (± SD).

**Statistical Analysis:**

The results were analyzed by Two-Ways ANOVA using F-test (Montagomry,2000).

**RESULTS AND DISCUSSION**

The antioxidant activities of Thymol, Carvacrol and the mixture of both were investigated using DPPH , FRAP and TEAC assays.

In the DPPH assay (Table 1) and (Figure 4)

show that Carvacrol, Thymol and Carvacrol:Thymol mixture had scavenging activity, and this activity was highly significant (p<0.001) by increasing the concentration from 50 to 1000 ppm.

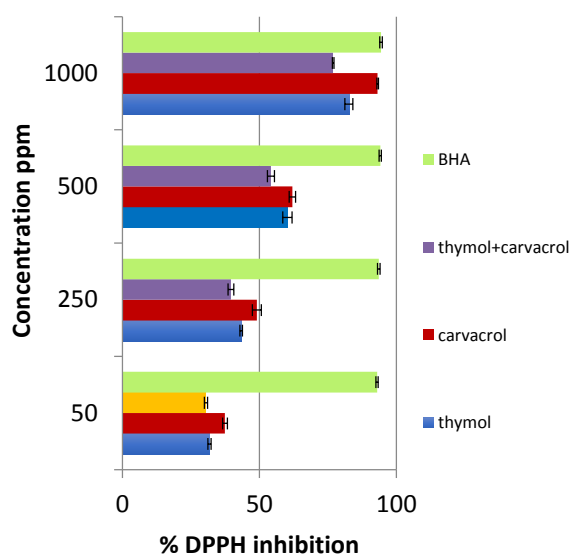
**Table:(1).** DPPH activity (% bleaching of DPPH solution) of thymol and carvacrol, and a (1:1) mixture of both

Groups	Concentration ppm			
	50 (A)	250 (B)	500 (C)	1000 (D)
thymol (a)	31.80±0.6	43.36±0.5	60.24±1.7	82.72±1.5
	AB***	AB***	AC***	AD***
	AC***	BC***	BC***	BD***
	AD***	BD***	CD***	CD***
	ab***	ab***	ac***	ab***
	ad***	ac***	ad***	ac***
		ad***		ad***
carvacrol (b)	37.43±0.9	49.04±1.6	62.07±1.2	93.19±0.3
	AB***	AB***	AC***	AD***
	AC***	BC***	BC***	BD***
	AD***	BD***	CD***	CD***
	ba***	ba***	bc***	CD***
	bc***	bc***	bd***	ba***
	bd***	bd***		bc***
Thymol+carvacrol (c)	30.44±0.6	39.96±1.1	55.21±1.3	76.94±0.3
	AB***	AB***	AC***	AD***
	AC***	BC***	BC***	BD***
	AD***	BD***	CD***	CD***
	cb***	ca***	ca***	ca***
	cd***	cb***	cb***	cb***
		cd***	cd***	cd***
BHA (d)	92.61±0.4	93.65±0.5	94.16±0.4	94.42±0.5
	AC*			
	AD**		da***	da** dc**
	da***	da***	db***	
	db***	db***	dc***	
	dc***	dc***		
		dc***		

A,B,C and D indicate concentrations per group, a, b, c and d indicate groups per concentration. \* means significant at 0.05, \*\* means significant at 0.01 and \*\*\* means significant at 0.001. Results are the means of triplicates ±SD.

However, this activity was lower than that obtained from BHA positive control at the same concentration tested. Carvacrol showed a stronger antioxidant activity (p<0.001) than Thymol at four concentrations used. The results are in good agreement with those obtained by (Yanishlivea et al., 1999; Ruberto

and Barata 2000; Miquel et al., 2003 jamali et al., 2012). Regarding to synergistic effect, the result of this study revealed no synergistic effect in the mixture of Carvacrol:Thymol at the tested concentrations, compared with Carvacrol and Thymol individually. These results are in good agreement with the obtained by (Miguel et al., 2003).



**Figure: (4).** Free radical scavenging activity of thymol and carvacrol, and a (1:1) mixture of both at different concentrations in the DPPH assay. Data expressed as percentage of bleaching of DPPH solution. Results are the means of triplicates  $\pm$ SD. BHA= butylated hydroxy-anisole.

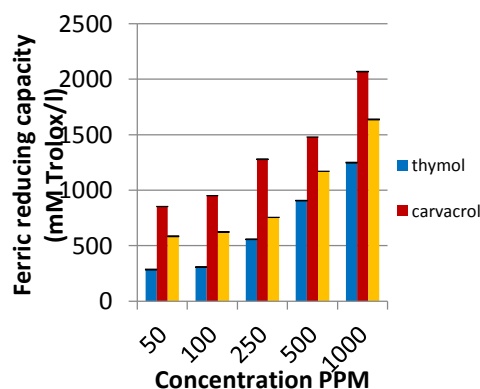
Table 2 and Figure 5 summarize the reducing power of Thymol and Carvacrol and a 1:1 mixture of both as observed in the FRAP assay.

The results showed the same pattern as the DPPH assay. Results with Carvacrol, which had the highest antioxidant activity ( $p < 0.001$ ) compared with Thymol and the mixture of both. However, the mixture of Carvacrol and Thymol in this assay showed a higher reducing power than Thymol at each concentration used. There was no synergistic effect observed between Carvacrol and Thymol.

**Table:(2).** FRAP analysis of thymol and carvacrol, and a (1:1) mixture of both at different concentrations. Results expressed in terms of mM trolox equivalent

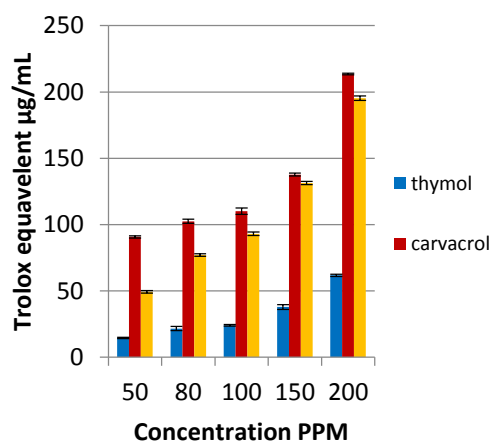
Groups	Concentration ppm				
	50 (A)	250 (B)	500 (C)	1000 (D)	
thymol (a)	284.6 $\pm$ 1.	306.23 $\pm$ 1	556.9 $\pm$ 0.	906.4 $\pm$ 3.	
	9	.0	6	8	
	AB***	AB***	AC***	AD***	
	AC***	BC***	BC***	BD***	
	AD***	BD***	CD***	CD***	
	AE***	BE***	BE***	CE***	
	ab***	ab***	ab***	ab***	
	ac***	ac***	ac***	ac***	
	852.3 $\pm$ 1.	950.81 $\pm$ 1	1278.1 $\pm$ 1	1478.1 $\pm$ 1	
	2	.2	.1	.0	
carvacrol (b)	AB***	AB***	AB***	AB***	
	AC***	AC***	AC***	AC***	
	AD***	AD***	AD***	AD***	
	AE***	AE***	AE***	AE***	
	ba***	ba***	ba***	ba***	
	bc***	bc***	bc***	bc***	
	583.95 $\pm$ 2	622.4 $\pm$ 1.	754.47 $\pm$ 0	1169.7 $\pm$ 0	
	.3	1	.6	.6	
	Thymol+ carvacrol (c)	AB***	AB***	AB***	AB***
		AC***	AC***	AC***	AC***
AD***		AD***	AD***	AD***	
AE***		AE***	AE***	AE***	
ca***		ca***	ca***	ca***	
cb***		cb***	cb***	cb***	

A,B,C, D and E indicate concentrations per group, a, b, and c indicate groups per concentration. \* means significant at 0.05, \*\* means significant at 0.01 and \*\*\* means significant at 0.001. Results are the means of triplicates  $\pm$ SD.



**Figure: (5).** FRAP analysis of thymol and carvacrol, and a (1:1) mixture of both at different concentrations. Data expressed in terms of mM trolox equivalent. Results are the means of triplicates ( $\pm$  SD)

The TEAC Assay had also the same pattern behavior of Carvacrol, Thymol and the mixture of both (in ratio of 1:1). Results are presented in (Figure 6) and (Table 3). Carvacrol showed a great quenching ability of ABTS radical cation ( $p < 0.001$ ) than Thymol and the mixture of both at all concentrations tested. The mixture showed higher antioxidant activity than Thymol ( $p < 0.001$ ). The Carvacrol content in the mixture could be responsible for this higher antioxidant activity and there was no clear synergistic effect.



**Figure: (6).** TEAC values of thymol and carvacrol, and a mixture (1:1) of both at different concentrations. Results are expressed as µg/mL trolox equivalent and they are the means of triplicates ±SD

The results obtained from the three assays (DPPH<sup>•</sup>, FRAP and TEAC) were in accordance with earlier published data on the strong antioxidant activity of Carvacrol as compared to Thymol (Ruberto and Barat 2000; Bozin et al., 2006). Furthermore, the results of current study correspond with results obtained by Undger et al., (2009) who found that there was no synergistic effect between Carvacrol and Thymol. On the other hand, the results of the present study disagree with those reported by Puertas-Mejia et al., (2003) who reported a synergistic effect between Thymol and Carvacrol. For these reasons, it is very difficult to attribute the antioxidant effect of a total essential oil to one or several active principles, be-

cause on essential oil always contains a mixture of different chemical compounds. In addition to the major compounds, minor compounds may make a significant contribution to the total oil antioxidant activity.

**Table:(3).** TEAC values for thymol and carvacrol, and a (1:1) mixture of both at different concentrations. Results are expressed as µg/mL trolox

Groups	Concentration ppm			
	50 (A)	250 (B)	500 (C)	1000 (D)
thymol (a)	14.5±0.4	21.67±1.	24±0.6	
	AB***	6	AC***	37.86±1.9
	AC***	AB***	BC***	AD*** BD***
	AD***	BC***	CD***	CD***
	AE***	BD***	BE***	CE***
	ab***	BE***	ab***	ab*** ac***
	ac***	ab***	ac***	
		ac***	ac***	
carvacrol (b)	90.72±0.	102.5±1.	110.11±2.	
	9	6	5	137.75±1.2
	AB***	AB***	AB***	AB*** AC***
	AC***	AC***	AC***	AD***
	AD***	AD***	AD***	AE***
	AE***	AE***	AE***	ba*** bc***
	ba***	ba***	ba***	
	bc***	bc***	bc***	
Thy-mol+ carvacrol (c)	49.28±0.	77.03±0.	93.06±1.3	131.36±1.
	9	9	AB***	2
	AB***	AB***	AC***	AB*** AC***
	AC***	AC***	AD***	AD***
	AD***	AD***	AE***	AE***
	AE***	AE***	ca***	ca*** cb***
	ca***	ca***	cb***	
	cb***	cb***	cb***	

A,B,C, D and E indicate concentrations per group, a,b, and c indicate groups per concentration. \* means significant at 0.05, \*\* means significant at 0.01 and \*\*\* means significant at 0.001. Results are the means of triplicates ±SD.

### CONCLUSION

Carvacrol and Thymol were studied to see if there were any synergistic effects. Carvacrol and Thymol gave strong antioxidant activity. However, this effect was great with Carvacrol. There were no synergistic effects between Carvacrol and Thymol.

## ETHICS

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

- Alvarez, María & Ortega Ramirez, Luis & Silva-Espinoza, Brenda & Aguilar, Gustavo & Ayala-Zavala, J. Fernando. (2019). Antimicrobial, antioxidant, and sensorial impacts of oregano and rosemary essential oils over broccoli florets. *Journal of Food Processing and Preservation*. e13889. 10.1111/jfpp.13889.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Waoum, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N. and Anackov, G. (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1822-1828.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Chizzola, R., Michitsch, H. and Franz, C. (2008). Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: Comparison of different extracts and essential oil chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6897-6904.
- Dang, M. N., Takacsova, M., Nguyen, D. V. and Kristianova, K. (2001). Antioxidant activity of essential oils from various spices. *Nahrung-Food*, 45, 64-66.
- Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B. A., Kurkcuoglu, M. and Baser, K. H. C. (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chemistry*, 93, 551-556.
- Jamali, C. A., El Bouzidi, L., Bekkouche, K., Lahcen, H., Markouk, M., Wohlmuth, H., Leach, D. and Abbad, A. (2012). Chemical Composition and Antioxidant and Anticandidal Activities of Essential Oils from Different Wild Moroccan *Thymus* Species. *Chemistry & Biodiversity*, 9, 1188-1197.
- Jukic, M. and Milos, M. (2005). Catalytic oxidation and antioxidant properties of thyme essential oils (*Thymus vulgaris* L.). *Croatica Chemica Acta*, 78, 105-110.
- Kulisic, T., Radonic, A. and Milos, M. (2005). Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. *Italian Journal of Food Science*, 17, 315-324.
- Maveety, D. J. (1938). Stabilized fats and method for preventing rancidity. 2,124,706.
- Miguel, M. G., Figueiredo, A. C., Costa, M. M., Martins, D., Barroso, J. G. and Pedro, L. (2003). Effect of the essential

- volatile oils isolated from *Thymbra capitata* (L.) Cav. on olive and sunflower oils. *Grasas Y Aceites*, 54, 219-225.
- Montgomery, D. C. 2000. *Design and Analysis of Experiments*, New York, NY, John Wiley & Sons.
- Nieto, Gema & Id, Gaspar & Ros, Gaspar & Castillo, Julián. (2018). medicines Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*. 5. 10.3390/medicines5030098.
- Puertas-Mejia, M., Hillebrand, S., Stashenko, E. and Winterhalter, P. (2002). In vitro radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 17, 380-384.
- Ramawat, K. G. and Mérillon, J. M. (2013). *Natural Products* New York., Springer Berlin Heidelberg.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Ruberto, G. and Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69, 167-174.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A. and Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43, 587-595.
- Undeger, U., Basaran, A., Degen, G. H. and Basaran, N. 2009. Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in V79 Chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of carvacrol and thymol. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2037-2043.
- Van De Braak, S. a. a. J. and Leijten, G. C. J. J. (1999). Essential oils and oleoresins: a survey in the Netherlands and other major markets in the European Union. CBI, *Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries*, pp. 116.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G. and Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108, 1019-1022.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H. and Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64, 59-66.
- Youdim, K. A., Deans, S. G. and Finlayson, H. J. (2002). The antioxidant properties of thyme (*Thymus zygis* L.) essential oil: an inhibitor of lipid peroxidation and a free radical scavenger. *Journal of Essential Oil Research*, 14, 210-215.

## التأثير المضاد للأكسدة - المدعم لمركبي الثايمول والكارفاكروول

أبو بكر المبروك المنصوري<sup>1</sup>، وصال حسن العجيلي<sup>1</sup>، سهام حمد الصغير<sup>2</sup>، فهيم عبدالكريم بن خيال<sup>1</sup>

<sup>1</sup>قسم علوم وتقنية الأغذية، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

<sup>2</sup>قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

تاريخ الاستلام: 19 أكتوبر 2020 / تاريخ القبول: 30 نوفمبر 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.271>

**المستخلص:** أجريت هذه الدراسة لتقييم التأثير المضاد للأكسدة-المدعم لمركب الثايمول، والكارفاكروول، وذلك باستخدام ثلاثة اختبارات هي DPPH و FRAP و TEAC. أعطى اختبار DPPH، والكارفاكروول، والثايمول، ومخلوطهما نشاطاً كاسحاً وهذا النشاط يزداد بزيادة التركيز من 50 إلى 1000 جزء في المليون (ppm). الكارفاكروول أعطى تأثيراً أقوى كمضاد للأكسدة من الثايمول، ولم يكن هناك تأثير مدعم لمخلوطهما عند التركيزات المختبرة، أما في اختبار FRAP كان أعلى تأثير مضاد للأكسدة لمركب الكارفاكروول كما في حالة اختبار DPPH. ولكن مخلوط الكارفاكروول، والثايمول أظهر قوة اختزالية أقوى من الثايمول، أيضاً لا يوجد تأثير مدعم. أما في اختبار TEAC، الكارفاكروول أظهر قدرة كبيرة على كسح كاتيونات الشقوق الحرة لمركب ATBS أعلى من الثايمول وكذلك مخلوطهما. وقد يرجع هذا التأثير إلى مركب الكارفاكروول في المخلوط. كما بينت النتائج عدم وجود تأثير مدعم لكل من مركبي الكارفاكروول، والثايمول. هذه النتائج تعزز أن الزيوت الطيارة دائماً هي خليط من مركبات كيميائية عديدة، وأنه بالإضافة إلى المركبات الرئيسية فإن المركبات التي توجد بنسب ضئيلة يمكن أن تساهم بدرجة كبيرة في التأثير على النشاط المضاد للأكسدة لهذه الزيوت.

**الكلمات المفتاحية:** كارفاكروول، ثايمول، مضادات الأكسدة، الزيوت الطيارة، الزعتر.



## A Biochemical Study of $\alpha$ -Amylase Activity in Saliva of Some Libyan Cigarette Smokers

Khaled S. Al salhen<sup>1\*</sup>, Omalsaad E. I. Omar<sup>2</sup>, Latefa A. Aljradmi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry Faculty of Science, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

<sup>2</sup>Biochemistry Department, Faculty of Medicine, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

Received: 21 August 2020/ Accepted: 12 December 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.295>

**Abstract:** Tobacco consumption alters many biological parameters, including  $\alpha$ -amylase activity. This study reports the effect of cigarette smoking on salivary  $\alpha$ -amylase activities of some male heavy smokers (100) in apparent good health compared with (40) male non-smokers as control. The salivary  $\alpha$ -amylase activity was assayed using the standard colorimetric method. The  $\alpha$ -amylase enzyme was characterized from the saliva samples collected from healthy adult smokers and non-smokers (control) to determine the effects of temperature, pH, and substrate concentration on the kinetic parameters of the enzyme. The analysis of the saliva samples showed that there were significant increases ( $P < 0.05$ ) in the  $\alpha$ -amylase activity values in the saliva of cigarette smokers when compared with non-smokers at optimum conditions ( $2.74 \pm 0.37$  nmol/min/mg-protein and  $2.01 \pm 0.16$  nmol/min/mg-protein, respectively). The Michaelis constant ( $K_m$ ) values of  $0.5 \pm 0.02$  mM and  $1.12 \pm 0.08$  mM observed for non-smokers and smokers were obtained from the double reciprocal plot of initial velocity ( $1/V$ ) and substrate concentration ( $1/[S]$ ). The maximum activities obtained at an optimum temperature of  $37^\circ\text{C}$ , and an apparent pH of 7.0 for both subjects were  $31.25 \pm 8.24$  nmol/min/mg protein and  $18.10 \pm 4.06$  nmol/min/mg protein for non-smokers and smokers respectively. Measurements of salivary  $\alpha$ -amylase activity could be useful in the early detection and diagnosis of parotitis. Subsequent studies are required to specify the mechanisms responsible for such a risk.

**Keywords:** Cigarette Smokers; Salivary  $\alpha$ -Amylase; Kinetic Parameters; Optimum Conditions.

### INTRODUCTION

Tobacco dependence is still the leading cause of avoidable mortality in the world (WHO, 2017; Da Costa & Sylva, 2005). The World Health Organization estimated in 2017 that tobacco use killed 5 million people at a global level, half of which were in developing countries. According to forecasts for 2025- 2030, the death toll is expected to rise to 10 million people, including 7 million in developing countries (WHO, 2017). The works of many chemists and biologists over the past 50 years have shown the harmful effects of numerous tobacco components (Mohammed et al., 2016). Nico-

tine addicts in Libya get their daily dose of this toxicant by different smoking habits, including smoking cigarettes, water pipes (narghile, hookah, shisha), and inhaling snuff, known locally as naffa. In addition to nicotine, it has been reported that tobacco products contain other toxic substances, including some heavy metals (Abd El-Samad & Hanafi, 2017; Caruso et al, 2014). Cigarette smoke (CS) contains over 4000 different chemicals, 400 of which are proven carcinogens. These carcinogens include aromatic amines, nitrosamines, oxidants such as oxygen free radicals, and also high concentrations of toxic volatile aldehydes, such as acrolein, crotonaldehyde ( $\alpha, \beta$ -unsaturated

\*Corresponding Author: Khaled S. Al salhe: [khaled.alsalhen@omu.edu.ly](mailto:khaled.alsalhen@omu.edu.ly), Department of Chemistry Faculty of Science, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.



aldehydes), and acetaldehyde (saturated aldehyde), all of which presumably are major causes of damage to various molecules exposed to CS (Nagler et al., 2000). Saliva is an exceptional fluid, as it is the first biological fluid to encounter the inhaled CS gaseous and water-soluble extracts. Salivary biomarkers have gained popularity in stress research, as it has proven superior to testing biomarkers in blood. (Yi & Moochhala, 2013). This is based on the fact that saliva samples have many advantages such as wide range of constituents, being non-invasive and easy to perform, and do not need trained staff. It also does not cause additional stress in sample collection unlike blood or urine collection (Heberd et al., 2015).

Alpha-amylase (EC 3.2.1.1) in animals is a major digestive enzyme. It is secreted by the salivary gland and pancreas, and therefore, present in saliva and serum. It hydrolyzes the  $\alpha$ -1, 4 linkages of starch to glucose and maltose (Gomina et al., 2013). The noxious effects of tobacco dependence on human health are known. In fact, tobacco consumption is the cause of cardiovascular pathologies, pleuropneumonias, and cancers (Callegari & Lami, 1984). In addition, tobacco consumption modifies several biological parameters, including  $\alpha$ -amylase activity (Weiner et al., 2009).

Previous studies carried on tobacco dependence's impact on the activity of salivary alpha-amylase resulted in divergent viewpoints. For Nater et al, (2007) smoking tobacco increases the value of alpha-amylase activity in saliva. On the contrary, for other authors, smoking tobacco does not affect the value of serum and salivary alpha-amylase activity (Nagaya & Okuno, 1993; Kivela et al., 1997; Aysun et al., 2009). Nevertheless, investigations on the influence of smokeless tobacco consumption on alpha-amylase activity are very few. Likewise, reports on alpha-amylase activities among cigarette smokers have remained scarce in the Libyan society. The present study, therefore, attempts to report the activities of  $\alpha$ -amylase in the saliva of some Libyan cigarette smokers.

## MATERIALS AND METHODS

All chemicals used throughout this study were obtained from Sigma-Aldrich. Absorbance measurements were made with Beckman Coulter Model DU 800 spectrophotometer. One hundred male cigarette smokers in apparent good health were chosen as test subjects from the smoking population and were randomly selected from Al-Bayda city, Libya. The volunteers comprise 100 heavy smokers (>11 sticks/day) (Enemchukwu et al., 2011). Also, 40 individuals who do not smoke or drink alcohol were included as the control subjects.

**Sample collection:** Saliva samples were collected from the volunteers (100 smokers and 40 non-smokers) in apparent good health. For the collection, which was performed at least 1 h after eating; volunteers were asked to generate saliva in their mouths and to spit it into a wide test tube for 10-15 min. Following collection, saliva was immediately centrifuged (1000xg for 3 min) to remove squamous cells and cell debris. The fresh supernatant was then transferred to the plastic containers and stored at 4°C until analysis. The cigarettes used in this study were popular commercial cigarettes (Milano, Oris, and Super Grand) containing 5, 3, and 1mg of tar and 0.5, 0.3, and 0.1mg of nicotine per cigarette, respectively. About 1000  $\mu$ l of saliva was collected from each subject using specimen sample bottles and diluted to 1:100 with physiological saline (0.85% NaCl) using the technique proposed by Enemchukwu et al., (2011).

**Measurement of salivary  $\alpha$ -amylase activity:** The activity of the enzyme was determined using starch as substrate. An appropriate amount (100 $\mu$ l) of the enzyme solution (diluted saliva) was incubated with 800  $\mu$ l of a substrate (starch) in an incubator at 37°C for 30 min. The reducing sugars resulting from the starch hydrolysis were assayed by the 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) method (Enemchukwu et al., 2011). The aldehyde group of reducing sugars converts 3, 5-dinitrosalicylic acid to 3-amino-5-nitrosalicylic acid, which is

the reduced form of DNS. The formation of 3-amino-5-nitrosalicylic acid results in a change in the amount of light absorbed at 540 nm. The absorbance measured using a spectrophotometer is directly proportional to the amount of reducing sugar (Miller, 1959). The  $\alpha$ -amylase activity in each sample was determined by using the following formula:

$\alpha$ -amylase activity in each assay tube =

$$\frac{\Delta ABS}{30.0} \text{ min} * \text{Final volume} \\ 1.0 \text{ cm}$$

Where,  $\Delta$ ABS = absorbance change

Protein concentration was estimated according to the method described by Bradford depending on the bovine serum albumin standard curve (Bradford, 1976). The specific activity was determined by using the following equation:

$$\text{Specific activity (U/mg)} = \frac{\text{Enzyme activity } \frac{U}{ml}}{\text{Protein concentration } \frac{mg}{ml}}$$

**Effect of pH and temperature on salivary  $\alpha$ -amylase activity:** In order to determine the effects of temperature (25-60°C) and pH 3-13 (50 mM acetate buffer and 50 mM phosphate buffer) at 37°C on salivary  $\alpha$ -amylase activity among cigarette smokers as well as non-smokers, routine analysis of the saliva samples was carried out with the buffered starch substrate using the enzymatic method for the  $\alpha$ -amylase assay for human biological fluids (Enemchukwu et al., 2013). The salivary  $\alpha$ -amylase was assayed by the 3, 5-dinitrosalicylic acid method (Enemchukwu et al., 2011).

**Determination of kinetic parameters for salivary  $\alpha$ -amylase:** The kinetic parameters [Michaelis-Menton constant ( $K_m$ ) and maximum velocity ( $V_{max}$ )] of invertase activity of  $\alpha$ -amylase activity were obtained individually from Lineweaver Burk (LB) plot following the determination of salivary  $\alpha$ -amylase activity at the optimal assay conditions 37°C, pH 7.0 at 30 min in the presence of various starch concentrations: 0.25, 0.5, 1, 2, 5, 10 and 20 mM (Hadrach et al., 2015). The intercept of the LB plot on the y-axis corresponds to  $1/V_{max}$ , while the

slope corresponds to  $K_m/V_{max}$  (Hadrach et al., 2015).

**Statistical analysis:** Results were expressed as means  $\pm$  standard division of the mean (n = 6). Statistical significance was set at P<0.05 by using a t-test. Microsoft Excel has calculated kinetic parameters for  $\alpha$ -amylase activity.

## RESULTS

The results presented in Table 1 are the demographic data that were observed in both groups. The data indicated the selectivity in studied groups that were included in the present study.

**Table (1).** Demographic data of the two studied groups (Mean  $\pm$  SD)

Characteristic	Smokers [n=100]	Non – smokers [n=40]
Gender	Male	Male
Age (year)	47.70 $\pm$ 6.12	43.25 $\pm$ 4.19
Method of Smoking	Cigarette	-
Type of cigarettes	Milano, Oris and Super grand containing 5, 3 and 1mg of tar and 0.5, 0.3 and 0.1 mg of nicotine per cigarette, respectively.	-
Period of Smoking (year)	13.48 $\pm$ 3.10	-
Number of smoking (times per day)	(>11 sticks/day)	-
Workplaces	Non polluted	Non polluted
Medical History	-	-

Present data showed that there were significant increases (P<0.05) in the  $\alpha$ -amylase activity values in the saliva of cigarette smokers when compared with non-smokers at optimum conditions (2.74 $\pm$ 0.37 nmol/min/mg-protein and 2.01 $\pm$ 0.16 nmol/min/mg-protein, respectively). In the present work, the effects of pH on salivary  $\alpha$ -amylase activity were assessed for cigarette smokers as well as non-smoker subjects (control). The effect of pH on the activity of

salivary  $\alpha$ -amylase was determined in the pH range of 3.0-13.0 for both subjects. The assay result for optimum pH determination for smokers and non-smokers showed an apparent pH optimum of 7.0 for both subjects corresponding to specific activities of 2.54 nmol/min/mg-protein and 2.01 nmol/min/mg-protein respectively, as could be observed from the graphs (Figure 1 and Figure 2). The specific activities of salivary  $\alpha$ -amylase increased to 89.39% from pH 6.0 to pH 7.0 for smokers and 73.45% from pH 6.0 to pH 7.0 for non-smokers.

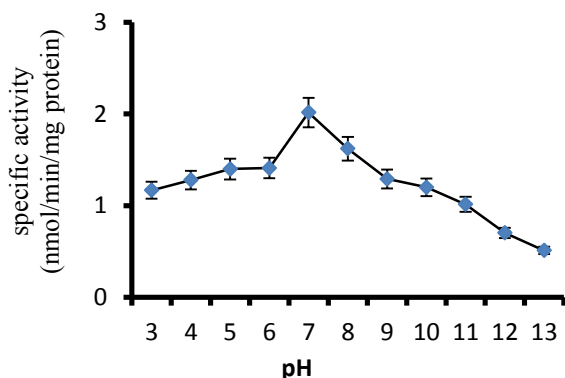


Figure (1). Effect of pH on salivary  $\alpha$ -amylase of some Libyan cigarette smokers

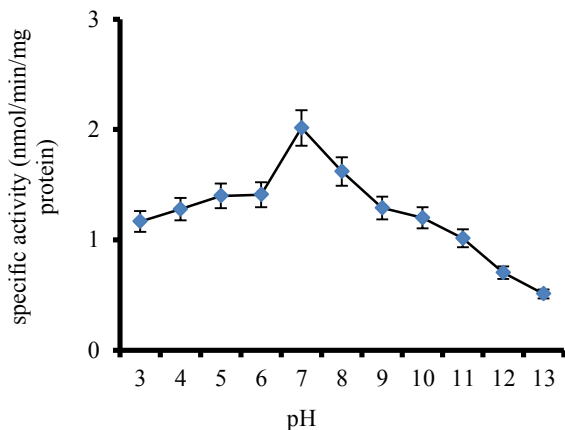


Figure (2). Effect of pH on salivary  $\alpha$ -amylase of some Libyan cigarette non-smokers

The result from the analysis of the temperature effects on salivary  $\alpha$ -amylase activity showed that the enzyme had maximum specific activities of 2.39 and 2.11 nmol/min/mg protein at

37°C for smokers and non-smokers respectively as shown in Figure 3 and Figure 4.

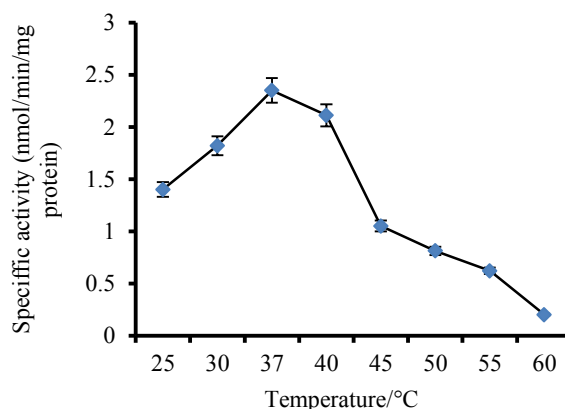


Figure (3). Effect of temperature on salivary  $\alpha$ -amylase of some Libyan cigarette non-smokers

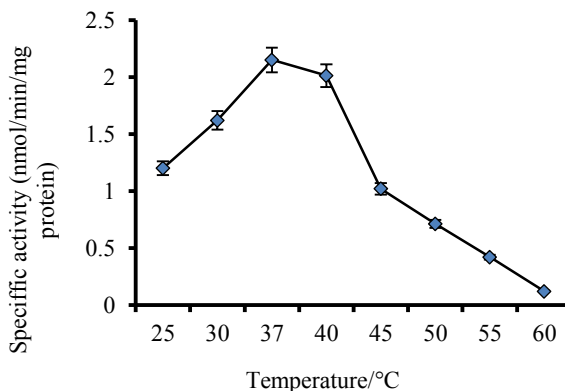


Figure (4). Effect of temperature on salivary  $\alpha$ -amylase of some Libyan cigarette smokers

The kinetic constants ( $V_{max}$ ,  $K_m$ ,  $K_{cat}$ ,  $K_s$  ( $V_{max}/K_m$ ) and  $K_{cat}/K_m$ ) for salivary  $\alpha$ -amylase from non-smokers and smokers were determined by incubating a fixed amount of enzyme with varied concentrations of soluble starch as a substrate (0.25 to 20 mM). The enzyme followed the Michaelis-Menten kinetics of catalysis. The  $K_m$  and  $V_{max}$  values of different enzymes are difficult to compare as they depend on the substrate used and the reaction conditions.

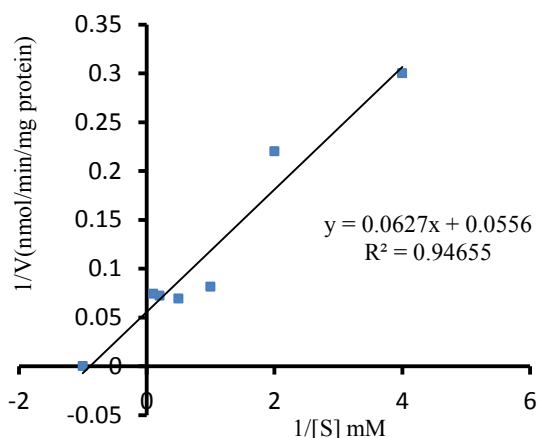
In the present research, the reciprocal velocity ( $1/V$ ) at optimum temperature 37°C was plotted

against reciprocal substrate concentration ( $1/[S]$ ) in Figures 5 and 6, for non-smokers and smokers subjects respectively. Extrapolation of the line gave the  $K_m$  values for non-smokers and smokers, which are found to be  $0.50 \pm 0.02$  mM and  $1.12 \pm 0.08$  mM respectively. The enzyme turn-over number for non-smokers and smokers ( $K_{cat}$ ) and specificity constant ( $K_{cat}/K_m$ ) for salivary  $\alpha$ -amylase were determined (Table 2).

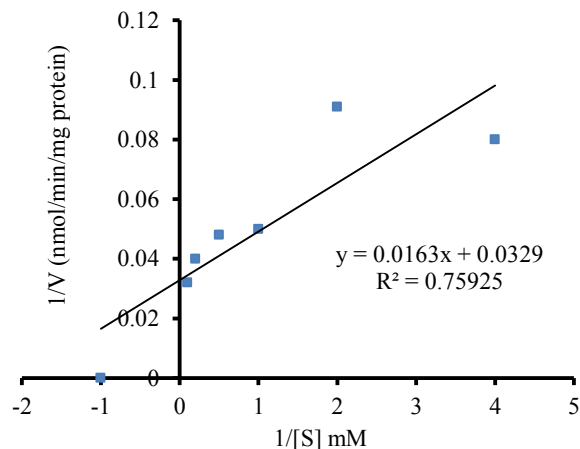
**Table (2).** The catalytic properties of salivary  $\alpha$ -amylase from cigarette smokers and non-smokers

Parameters	Non-smokers	Smokers
$K_m$ (mM)	$0.5 \pm 0.02$	$1.12 \pm 0.08$
$V_{max}$ (nmol/min/mg protein)	$31.25 \pm 8.24$	$18.10 \pm 4.06$
$^a K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$2.66 \pm 0.07$	$1.80 \pm 0.05$
$K_{cat}/K_m$ ( $\text{mM}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	$5.33 \pm 1.03$	$1.61 \pm 0.04$
$K_s$ ( $V_{max}/K_m$ ) (ml/min/mg protein)	$62.50 \pm 15.21$	$16.50 \pm 6.41$

The substrate efficiency is denoted by  $K_s = V_{max}/K_m$ ; the turnover number ( $K_{cat}$ ) =  $V_{max}/[e]$ , where  $[e]$  = Molar concentration of enzyme;  $^a$ calculated estimating a molecular mass of 62 kDa for the active enzyme;  $K_m$  and  $V_{max}$  are the kinetic constants, while  $K_{cat}/K_m$  is the specificity constant.



**Figure (5).** Lineweaver-Burk plot for determination of  $K_m$  and  $V_{max}$  of salivary  $\alpha$ -amylase for cigarettes smokers. (Lineweaver Burk plot; pH 7, 37°C, substrate concentration ranging from 0.25-5 mM; Mean and standard deviation were determined from three replicates). The intercept on the y-axis corresponding to  $1/V_{max} = 0.0556$ , slope corresponding to  $K_m/V_{max} = 0.0627$



**Figure (6).** Lineweaver Burk plot for determination of  $K_m$  and  $V_{max}$  of salivary  $\alpha$ -amylase for non-smokers. (Lineweaver Burk plot; pH 7, 37°C, substrate concentration ranging from 0.25-5 mM; Mean and standard deviation were determined from three replicates). The intercept on the y-axis corresponding to  $1/V_{max} = 0.0329$ , slope corresponding to  $K_m/V_{max} = 0.0163$

## DISCUSSION

Many studies reveal that cigarette smoking causes an increase in saliva  $\alpha$ -amylase activity values (Nater et al., 2007; Onyesom et al., 2012). These demonstrated increases have been contradicted by reports of other researchers. Some researchers report that smoking cigarettes do not affect the  $\alpha$ -amylase activity value in saliva. Nagaya and Okuno, (1993) studied the effects of smoking habits on salivary amylase and reported that cigarette smoking does not have any significant influence on salivary amylase activity in the subjects. Also, Kivela et al. (1997) stated that the degree of amylase activity in the saliva of people who smoke cigarettes was not significantly different from that present in the saliva of non-smokers.

Several studies suggest that nicotine (which is a major component of cigarettes) accounts for the increase in  $\alpha$ -amylase activity in people who smoke cigarettes. Maier et al. (1991) report that after the intravenous infusion of nicotine into some volunteers, an increase in salivary amylase activity was observed. Acute administration of nicotine to non-smokers was as-

sociated with increased salivary amylase activity (Maier et al., 1991). Thus, the increase in salivary amylase could be a result of decreased metabolic clearance of amylase, pancreatitis, or parotitis (Onyesom et al., 2012). Parotitis is a salivary disease that is associated with an increase in S-type isoamylase. Parotitis is usually caused by trauma, stress, or surgery to the salivary gland, radiation to the neck area involving the parotid gland, and subsequently causing the parotid gland, and subsequently causing duct obstruction, or calculi of the salivary duct. Evidence shows a measure of asymptomatic pancreatic, salivary and parotid glands' dysfunction among cigarette smokers.

Determination of salivary  $\alpha$ -amylase activity could be valuable in detecting parotid/salivary gland diseases at an early stage. Overall, cigarette smokers have a considerable risk of developing such diseases as judged by their significant increases in salivary  $\alpha$ -amylase activity values (Onyesom et al., 2012). And from the specific activities profile, activities increased to 89.39% from pH 6.0 to pH 7.0 for smokers and 73.45% from pH 6.0 to pH 7.0 for non-smokers, which is in agreement with the observation of Enemchukwu et al. (2013) who recorded increased activities of 82.1% from pH 6.0 to pH 7.0 for smokers and 76.9% from pH 6.0 to pH 7.0 for non-smokers salivary  $\alpha$ -amylase. In the present study,  $\alpha$ -amylase from human salivary showed the optimum pH of 7.0, which was corresponding to the other previous reports (Levitzki & Steer, 1974; Yoon & Robyt, 2003). A change in pH affects the ionization of essential active site amino acid residues that are involved in substrate binding and catalysis. The ionization of these residues may distort the active site cleft and hence may indirectly affect enzyme activity (Bodade et al., 2010).

The temperature optimum of 37°C for  $\alpha$ -amylase is in agreement with the report of Rudeekulthamrong and Kaulpiboon, (2012), and a little different from the optimum temperature of 40°C obtained by Enemchukwu et al. (2013) and Tahtah & Otitoju, (2015) on a research work carried out on salivary  $\alpha$ -amylase. The

difference may be due to the difference in population as well as the physiological conditions and other parameters under which the research was carried out. The Michaelis constant ( $K_m$ ) values for cigarette non-smokers and smokers in this study were found to be  $0.50 \pm 0.02$  mM and  $1.12 \pm 0.08$  mM respectively. The  $K_m$  value of the enzyme of non-smoker subjects is lower than that of the values of smoker subjects. Low values of  $K_m$  indicate a high affinity of the enzyme for the substrate (Zappacosta et al., 2002). The increase in the  $K_m$  value of the smokers' group might be either due to structural changes in the enzyme induced by CS, which could explain partially some of the protein modification caused by CS, or due to lower accessibility of the substrate to the active site of the salivary  $\alpha$ -amylase (Kennedy et al., 1989 & Zappacosta et al., 2002).

The  $V_{max}$  of salivary  $\alpha$ -amylase for non-smokers is  $31.25 \pm 8.24$  nmol/min/mg protein and for smokers  $18.10 \pm 4.04$  nmol/min/mg protein (Figures 5 and 6). The increase of the  $K_m$  and decrease of the  $V_{max}$  value of subjects who smoke cigarettes is as expected because of less availability of the substrate to the active site of the enzyme due to chemical bonding, diffusion limitation, and confinement of enzyme molecules with polymeric support. On the other hand, results of apparent  $K_m$  and  $V_{max}$  values were reported from work carried out by (Enemchukwu et al. 2013) on urine, serum, and salivary amylases. Their results of apparent  $K_m$  and  $V_{max}$  values, which were obtained from smoker and non-smoker subjects, also revealed no statistical difference at a 95% level of confidence interval between subjects who are cigarette smokers and non-smokers.

The kinetic parameters of salivary  $\alpha$ -amylase in Libyan cigarette non-smokers and smokers subjects' salivary  $\alpha$ -amylase presented in (Table 2) showed the most dramatic change, with about a 69.2% reduction in  $K_{cat}$  for smoker's salivary  $\alpha$ -amylase. There was a big change in the  $K_{cat}/K_m$  of salivary  $\alpha$ -amylase. The  $K$  value of non-smokers' salivary  $\alpha$ -amylase was about a 4-fold increase in the catalytic process.

The key advantages revealed here are the low  $K_m$  (0.5±0.02 mM), the high  $V_{max}$  (31.25±8.24 nmol/min/mg protein), and the high  $K_{cat}/K_m$  (5.33±1.03 mM<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). This could be due to the ionized state of the non-smokers' salivary  $\alpha$ -amylase whose charges have been reserved and that the starch binds more strongly to the active site than the transition state of the substrate substantiating (Myers et al., 1997). This indicated that the non-smokers' salivary  $\alpha$ -amylase had a higher affinity towards binding starch to the active site than smoker's salivary  $\alpha$ -amylase.

The turnover number ( $K_{cat}$ ) and specificity constant ( $K_{cat}/K_m$ ) values of both enzymes (Table 2) showed that the activity of the non-smoker's salivary  $\alpha$ -amylase was better compared to the smoker's salivary  $\alpha$ -amylase. Furthermore, the value of the additional specificity constant  $K_s$  for non-smoker's salivary  $\alpha$ -amylase (62.50±15.21 ml/min/mg protein) again confirmed that the non-smoker's salivary  $\alpha$ -amylase was higher and more specific for starch as compared to smoker's salivary  $\alpha$ -amylase ( $K_s = 16.50±6.41$  ml/min/mg protein) (Table 2). It may be observed that cigarette smokers exhibit a reduction in serum type S isoamylase that correlates well with the significant reduction of salivary amylase activity. Several studies reported that tobacco smoke contains agents with cytotoxic or carcinogenic effects on the exocrine pancreas, but little is known about the effect of tobacco smoke on salivary glands (Nasrallah & Martin, 1983).

## CONCLUSION

The findings of the present study indicate that salivary  $\alpha$ -amylase activity is lower in cigarette smokers than non-smokers among Libyan subjects. From the results, it could be argued that chronic cigarette smoke may exert a toxic effect on salivary glands, thus altering the physiological salivary  $\alpha$ -amylase activity of cigarette smokers. Therefore, further studies are needed in order to clarify the real impact or relationship between cigarette smoking and abnormalities in salivary  $\alpha$ -amylase activity as a consid-

erable risk of developing diseases is associated with the lifestyle.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to all the individuals who agreed to participate in this study.

## ETHICS

This retrospective study was conducted with the approval of the Libyan National Committee for Biosafety and Bioethics.

## REFERENCES

- Abd El-Samad, M., & Hanafi, H.A. (2017). Analysis of toxic heavy metals in cigarettes by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Taibah University for Science*, 11, 822-829. doi.org/10.1016/j.jtusci.2017.01.007.
- Aysun, A. , Ozge, D., Ebru, H. B, & Yuksel, B. (2009). Evaluation of the relationship between passive smoking and salivary electrolytes, protein, secretory IgA, sialic acid and amylase in young children. *Archives of Oral Biology*, 54 (5), 457-463. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.01.017.
- Bodade, G.R., Chandarahas, N. K., & Arfeen, S.A. (2010). Optimization of culture conditions for glucose oxidase production by a *Penicillium chrysogenum* SRT 19 strain. *Engineering and Life Science*, 10(1), 35-39. doi.org/10.1002/elsc.200900030.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 7(72), 248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999.
- Callegari, C., & Lami, F., (1984). Cigarette smoking and salivary amylase activity. *Gut*, 25, 909. doi: 10.1136/gut.25.8.909.

- Caruso, R.V., O'Connor, R.J., Stephens, W.E., Cummings, K.M., & Fong, G.T. (2014). Toxic metal concentrations in cigarettes obtained from U.S. smokers in 2009: results from the International Tobacco Control (ITC) United States survey cohort. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 202-217. doi.org/10.3390/ijerph110100202.
- Da Costa, E., & Sylva, V.L. (2005). Health consequences of the tobacco epidemic in West African French-speaking countries and current tobacco control. *Promot Educ*, 4(7), 54. doi: 10.1177/10253823050120040105.
- Enemchukwu, B.N., Ubaoji, K.I., Igwilo, I.O., & Udedi, S.C. (2013). Effects of Temperature, pH and substrate concentration on the kinetics of salivary alpha-amylase activity among cigarette smokers in Awka, Anambra State, Nigeria, *The Bioscientist Journal*, 1(1),108-113.
- Enemchukwu, B.N., Emeh, K.I., & Ubaoji, I.O. (2011). Salivary  $\alpha$ -amylase activity among cigarette smokers in Awka, Anambra state, Nigeria, *Biochemistry An Indian Journal*, 5(5), 306-309.
- Gomina, M., Badirou, L., & Akpona, S. A. (2013). Activity of Serum and Salivary  $\alpha$ -Amylase in Habitual Adult Tobacco Consumers. *Biochem Anal Biochem*, 2,140. doi:10.4172/2161-1009.1000140.
- Hadrich, F., Bouallagui, Z., Junkyu, H., Isoda, H., & Sayadi, S. (2015). The  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzyme inhibitory of hydroxytyrosol and oleuropein, *The Journal of Oleo Science*, 64(8), 835-843. doi: 10.5650/jos.ess15026.
- Heberd, A., Razali, A., Mahalingam, S.R., Tiong, C. S., & Arshad, K. (2015). Assessment of Salivary Biomarkers Associated with Occupational Stress. *International Academic Research Journal of Social Science*, 1(2),107-111.
- Kennedy, J.F., Melo, E.H.M., & Jumel, K. (1989). Immobilized biosystems in research and industry. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 7(1), 297-314. doi:10.1080/02648725.1989.10647863.
- Kivelä, J., Parkkila, S., Metteri, J., Parkkila, A., K., Toivanen, A., & Rajaniemi, H. (1997). Salivary carbonic anhydrase VI concentration and its relation to basic characteristics of saliva in young men. *Acta Physiol Scand*, 161(2), 221-225. doi: 10.1046/j.1365-201X.1997.00217.x.
- Levitzki, A., & Steer, M. L. (1974). The allosteric activation of mammalian alpha-amylase by chloride. *European Journal of Biochemistry*, 41(1),171-180.. doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03257.x.
- Maier, H., Jarczyk, L., Scherer, G., & Born, I. A. (1991). Effects of acute nicotine administration on the function of the human parotid gland. *Laryngo-Rhino-Otologie*, 70(1),24-26. doi: 10.1055/s-2007-997978.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428. doi.org/10.1021/ac60147a030.
- Mohammed. B. J., AL-Thwani, A.N., & Kannan R. (2016). Demographic and genetic study for a sample of Iraqi smokers. *Cancer Biology*, 6(4),16-27. doi:10.7537/marscbj060416.03.
- Myers, D.K., Lawlor, D.T., & Attfield, P.V. (1997). Influence of invertase activity and glycerol synthesis and retention on fermentation of media with a high sugar concentration by *Saccharomyces cere-*

- visiae. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(1),145-150. PMID: PMC168312.
- Nagaya, T., Okuno, M. (1993). No effect of smoking on drinking habits on salivary amylase. *Toxicology Letters*, 66 (3),257-261. DOI: 10.1016/0378-4274(93)90006-j.
- Nagler, R., Lischinsky, S., Diamond, E., Drigues, N., Klein, I., & Reznick, A.Z. (2000). Effect of cigarette smoke on salivary proteins and enzyme activities. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 379(2), 229-236. doi.org/10.1006/abbi.2000.1877.
- Nasrallah, S. M., & Martin, D. M. (1983). Serum isoamylase as a test for pancreatic insufficiency. *Gut*, 24(2),161-4. doi: 10.1136/gut.24.2.161.
- Nater, U.M., Rohleder, N., Schlotz, W., Ehlert, U., & Kirschbaum, C. (2007). Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. *Psychoneuroendocrinology*, 32 (4), 392-401. doi: 10.1016/j.psyneuen.2007.02.007.
- Onyesom, I., Osioma, E., Ifie, E.J., & Oweh O.T. (2012). Activities of alpha amylase in serum and saliva of some Nigerian cigarette smokers. *Advances in Life Sciences*, 2(1), 28-30. doi: 10.5923/j.als.20120201.04.
- Rudeekulthamrong, P., Kaulpiboon, J. (2012). Kinetic inhibition of human salivary alpha-amylase by a novel cellobiose-containing tetrasaccharide. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 95 Suppl 1,S102-8. PMID: 23964451.
- Tatah, V.S., Otitoju, O. (2015). Characterization of immobilized post-carbohydrate meal salivary  $\alpha$ -amylase. *African Journal of Biotechnology*, 14(31), 2472-2477.
- Weiner, D., Khankin, E. V., Levy, Y., & Reznick, A. Z. (2009). Effects of cigarette smoke borne reactive nitrogen species on salivary alpha-amylase activity and protein modifications. *J Physiol Pharmacol*, 60 Suppl 5, 127-132. PMID: 20134053.
- WHO (World Health Organization) Report on the Global Tobacco Epidemic. (2017). Tobacco Free Initiative (TFI), Switzerland, Geneva.
- Yi, T.C., & Moochhala, S. (2013). Mini-Review Article - Current opinion on salivary biomarkers as a measurement for stress and fatigue. *The Open Biomarkers Journal*, 6,9-14. doi: 10.2174/1875318301306010009.
- Yoon, S.H., & Robyt, J.F. (2003). Study of the inhibition of four alpha amylases by acarbose and its 4IV-alpha-maltohexaosyl and 4IV-alpha-maltododecaosyl analogues. *Carbohydrate Research*, 338(19), 1969-1980. doi: 10.1016/s0008-6215(03)00293-3.
- Zappacosta, B., Persichilli, S., Mordente, A., Minucci, A., Lazzaro, D., Meucci, E., & Giardina, B. (2002). Inhibition of salivary enzymes by cigarette smoke and the protective role of glutathione. *Human and Experimental Toxicology*, 21(1),7-11. doi: 10.1191/0960327102ht202oa.



## دراسة بيوكيماوية لنشاط أنزيم ألفا أميليز في لعاب بعض المدخنين الليبيين

خالد سالم الصالحين<sup>1\*</sup>، أم السعد عمر<sup>2</sup>، لطيفة أحمد الجرامي<sup>1</sup>

<sup>1</sup> قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

<sup>2</sup> قسم الكيمياء الحيوية، كلية الطب البشري، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

تاريخ الاستلام: 21 أغسطس 2020 / تاريخ القبول: 12 ديسمبر 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.295>

**المستخلص:** تدخين التبغ يؤثر في عوامل بيولوجية عديدة، ومنها نشاط أنزيم  $\alpha$ -أميليز. توضح هذه الدراسة تأثير تدخين السجائر على أنشطة الأميليز اللعابي لدى بعض المدخنين الذكور الليبيين الأصحاء (100) مقارنة مع (40) من غير المدخنين كمجموعة سيطرة. تم تقييم نشاط  $\alpha$ -أميليز اللعابي باستخدام طريقة القياس اللونية القياسية، وتم قياس نشاط إنزيم  $\alpha$ -أميليز في عينات اللعاب التي تم جمعها من المدخنين البالغين الأصحاء وغير المدخنين (السيطرة) من أجل تقدير تأثير درجة الحرارة و الرقم الهيدروجيني المثالي (pH) وتركيز مادة التفاعل على النشاط الحركي للأنزيم. أظهرت نتائج تحليل عينات اللعاب وجود زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) في قيم نشاط  $\alpha$ -أميليز في لعاب مدخني السجائر عند مقارنته مع غير المدخنين في الظروف المثالية (  $0.37 \pm 2.74$  نانومول / دقيقة / ملغ من البروتين و  $0.16 \pm 2.01$  نانومول / دقيقة / ملغ من البروتين ، على التوالي). أظهرت النتائج من خلال رسم لينوفير بيريك، وتركيز المادة الأساسية أن قيم ثابت ميكاليس ( $K_m$ ) للأنزيم  $\alpha$ -أميليز كانت  $0.02 \pm 1.12$  ملي مول و  $0.08 \pm 1.12$  ملي مول لغير المدخنين والمدخنين على التوالي، وكان النشاط الأمثل للأنزيم  $\alpha$ -أميليز عند درجة حرارة 37 درجة مئوية، عند الرقم الهيدروجيني 7.0 لكلا المجموعتين بقيم  $8.24 \pm 31.25$  نانومول / دقيقة / ملغ من البروتين  $4.06 \pm 18.10$  ، نانومول / دقيقة / ملغ من البروتين للمدخنين وغير المدخنين على التوالي. يمكن أن يكون قياس نشاط الأميليز اللعابي مفيدا في الكشف المبكر عن التهاب الغدة النكفية وتشخيصها، ويلزم إجراء دراسات لاحقة لتحديد الآليات المسببة لهذا الخطر.

**الكلمات المفتاحية:** تدخين التبغ،  $\alpha$ -أميليز اللعابي، الخصائص الحركية، الشروط المثالية.



## Purple Urine Bag Syndrome: Uncommon Clinical Entity Associated with Common Infection, Case Report

Muftah H. Elkhafifi

*Division of urology, surgical specialties center, Benghazi, Libya*

Received: 21 September 2020/ Accepted: 18 December 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.250>

**Abstract:** Purple urine bag syndrome (PUBS) is a rare medical syndrome where purple discoloration of urine occurs predominantly in chronically constipated bedridden elderly women, chronically catheterized and associated with urinary tract infections (UTIs). The etiology is related to UTIs with specific bacteria that produce sulphatase and phosphatase enzymes which lead tryptophan metabolism to produce two pigments: Indigo (blue) and indirubin (red), mixtures of which become purple in color. Several risk factors are associated with PUBS; including female gender, increased dietary tryptophan, alkaline urine, constipation, catheterization, high urinary bacterial load, renal failure and use of polyvinyl chloride plastic catheters. Herein, I present this rare benign interesting condition on a 78 years old lady with purple discoloration of her urine bag due to urinary tract infection caused by *Escherichia coli* that was successfully treated by culture guided antibiotic (Ciprofloxacin). The purple urine disappeared after antibiotic therapy and change of the urine catheter and bag.

**Keywords:** Urinary tract infections, catheterization, alkaline urine, tryptophan, purple discoloration, Benghazi.

### INTRODUCTION

Purple urine bag syndrome (PUBS) is an uncommon phenomenon reported mostly in chronically constipated, institutionalized females on an indwelling catheter. (Gandhi, 2013) It is a rare complication of UTIs in which patients produce purple urine in their catheter tubing and bags. (Kalsi et al., 2017) Although it is an essentially benign condition, yet the purplish discoloration may be distressing for the patients and their families as well as for healthcare providers (Yaqub et al., 2013) The bluish discoloration is proposed to be due to the breakdown of tryptophan metabolites by bacteria. This usually occurs in alkaline urine although a case of PUBS in acidic urine has also been reported. (Chung et al., 2008). The rarity of this interesting clinical entity necessitates its presentation as the recognition of it is important as treatment is simple and can mini-

mize patients and family distress as well as over management. To the best of our knowledge, this the first case of PUBS reported in our department.

### CASE PRESENTATION

A 78-year- Egyptian blind female, who is a known case of hypertension on regular treatment with ACE inhibitor and type II diabetes mellitus on insulin therapy. She had history of left above knee amputation and amputation of right 4th and 5th toes 2 years and 5 years ago respectively. She is bed ridden, chronically constipated and had an indwelling urethral catheter in situ for the last two years which is used to be regularly changed every three weeks, brought by her family to our outpatient department (OPD) with complaints of anorexia, fatigability, constipation and purple discoloration of her urine bag (figure 1) for the past 3-4 days. There was no medi-

\*Corresponding Author: Muftah H. Elkhafifi [abdokha2007@gmail.com](mailto:abdokha2007@gmail.com) Division of urology, surgical specialties center, Benghazi, Libya.

cation prescribed to her that could have caused this discoloration. On general physical examination, the patient was conscious, oriented and not in pain but there was a striking pallor (+++) and mild dehydration. Her vital signs are as follows; blood pressure 145/70 mmHg , pulse rate 79 bpm, temperature 37 C° and respiratory rate was 16 bpm. Systemic examination revealed a hemic murmur and normal heart sounds, mild decrease of air entry on left side. Her abdomen was soft, lax with no tenderness or organomegally and normally audible bowel sounds. Her baseline investigations showed Hemoglobin 7.8g/l, WBC 5.8\*10<sup>6</sup>/L and platelets count was 167\*10<sup>9</sup>/ L. Blood glucose level was 288mg/dl and HbA1c was 12.55%. Renal function profile was within normal limits; where blood urea was 26mg/ and serum creatinine 0.9mg/dl. Liver function tests were within normal limits except her serum albumin which was marginal (3.5 gm./dl). Routine urine analysis showed an alkaline PH (PH 8), 3 +++ albuminuria, 1+ blood, while negative for nitrates and bilirubin. Urine microscopy revealed 3-5HPF leukocytes, 2-4 HPF red blood cells and 3+++ triple phosphate crystals. Urine culture grew a heavy growth of *Escherichia coli* sensitive to ciprofloxacin. The patient was managed as an OPD case by changing the urethral Catheter and urine bags along with prescribing her a culture guided antibiotic (Ciprofloxacin) 500 mg twice daily for ten days along with laxative. She scheduled for follow-up after one week and referred to her attending physician for control of her blood sugar and correction of Co-existing anemia. The patient was seen after 7 days, and reported resolution of symptoms and almost disappearance of purple color (figure 2). There was no recurrence of discoloration of her urine during her short follow-up visits. Six weeks later, her urine culture grew growth of *Enterobacter* spp. which is sensitive to Gentamycin but there was no purple discoloration of urine or tubing.



**Figure: (1).** Purple discoloration of urine bag at presentation



**Figure :(2).** Urine bag of the same patient after completion of one week of antibiotic therapy.

## DISCUSSION

Purple urine bag syndrome (PUBS) is a rare medical phenomenon, and despite being benign, is a cause of distress for the treating physician and patients. (Yadav et al., 2016) This syndrome is commonly reported in elderly (commonly females ) having constipation / gastroparesis and alkaline urine , along with chronic indwelling urinary catheter (Fu-Hsiung Su et al., 2005; Rawal et al., 2015). Surprisingly, PUBS has been known for a long time. King George III had blue urine during a bout of chronic constipation. (Kalsi et al., 2017) PUBS , First reported in 1978 by Barlow and Dickson, it has been transcendently observed in bed-bound elderly women who require long-term urinary bladder catheterization(Khalid et al., 2016) Even though the occurrence of urinary tract infection is commonly encountered in every day practice, the presence of a purple bag is a rare clinical entity (Pillai et al., 2009) The prevalence rate of PUBS in literature ranges from 8-16% in different studies (Shiao et al., 2008). Most of the published literature on PUBS is based on case reports, with only a few retrospective/cross sectional studies (Yaqub et al., 2013).

A search of PubMed articles published between 1980 October and 2016 August was conducted, in which 106 articles (174 cases) described.(Yang & Su, 2018). PUBS is usually a side effect of prolonged catheterization (per-urethral or Suprapubic) along with UTI. Other risk factors for PUBS include alkaline urine, female gender , constipation and chronic renal failure. (Khan et al., 2011) (Table 1).

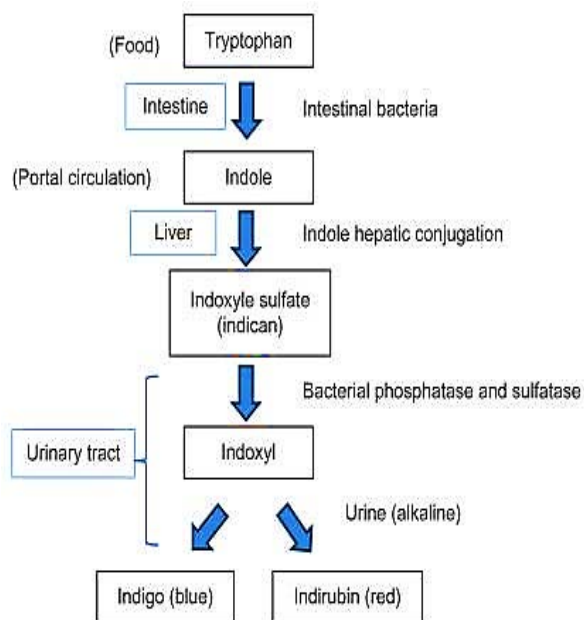
The pathophysiology of PUBS is related to the sequential chemical reactions involving tryptophan metabolism from the food in the gut. Tryptophan is an essential amino acid where it is metabolized( deaminated ) by intestinal bacteria to indole , which is absorbed

into the portal circulation and undergoes conjugation in the liver and is subsequently converted into indoxyl sulphate( Indican) . Indican is excreted in the urine and converted into indoxyl by the enzymes: phosphatase or sulphatase produced by Gram – negative Bacteria. This indoxyl is oxidized in alkaline urine to produce two pigments; indigo (blue) and indirubin (red), which in reaction with the plastic (polyvinyl chloride) of the urine bag, result in the purple discoloration. (Figure 2) (Hadano et al., 2012; Yadav et al., 2016).

Interestingly, when the urine is put in contact with other sterile urine containers, no color changes take place. The longer the urine is left in contact with the catheter plastic, the deeper the purple color produced.(Al-Sardar & Haroon, 2009). The commonest implicated organisms include *Providencia* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*, *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Pseudomonas* spp. and *Enterobacter* species. It is occasionally difficult to differentiate which organisms are responsible, as the isolation of multiple organisms is not uncommon(Gandhi, 2013) It is important to note that not all bacteria can cause PUBS, even among the same species, and this is why PUBS is so rare (Khan et al., 2011). The association of PUBS with constipation has long been documented (Dealler et al., 1988; Lin et al., 2002). Increased transit time during constipation allows more time for deamination. However, this alone is not the sole contributory factor as discoloration has also been reported in association with diarrhea.(Al Montasir & Al Mustaque, 2013; Khalid et al., 2016). The management of PUBS should include treating the UTI (e.g., with Ciprofloxacin) and any constipation as well as sanitation measures including replacing the catheter. Another approach is to use intravenous antibiotics if the PUBS persists or the patient is in an immunocompromised state.(Agapakis et al., 2014). It is important to change drainage bags and indwelling long-term catheters

on a regular basis to prevent recurrence and because persistent PUBS can lead to Fournier’s gangrene which requires surgical debridement.(Khan et al., 2011). In addition to the above mentioned steps regarding the management of PUBS, here are some preventive measures:

- Avoid UTI by drinking at least 2000 - 3000 ml of fluids, but avoid beverages with sugar, caffeine and alcohol .As these drinks may increase bladder irritation and contribute to UTI.
- Sometimes vitamin C is recommended to make urine more acidic which can help to prevent or treat UTI.
- Maintain regular bowel program by:
  - Eating high fiber diet
 Establish regular exercise program if applicable
- It is not recommended in the literature that dietary restriction of tryptophan is needed to reduce the incidence of PUBS in patients with long –term indwelling urine catheters



**Figure: (2).** Pathway of pathogenesis of Purple Urine Bag syndrome (Khan et al., 2011)

**Table: (1).** Risk factors and possible mechanism involved in pathogenesis of PUBS (Yang & Su, 2018)

Risk Factor	Mechanism
Female gender	Anatomy predispose to UTIs
Increased dietary tryptophan	Increased substrate for conversion
Increased urine alkalinity	Facilitate indoxyl conversion
Sever constipation	Increased time and substrate for bacteria
Chronic catheterization	Increased UTI risk
High urinary bacterial load	Bacterial sulphatase/phosphatase availability
Renal failure	Impaired indoxyl sulphatase clearance

### CONCLUSION

Although PUBS is a benign clinical entity, it is alarming and distressing to patients and their families. It is nothing but it serves as an indicator of UTI in patients with various comorbidities as they may not manifest the classical signs of UTI. It is important that the attending physician needs to be familiar with its pathogenesis and simple management; so that expensive and irrelevant investigations can be avoided and the treatment with antibiotics can be started early on the basis of suspicion.

### ACKNOWLEDGMENTS.

The author gratefully acknowledges his patient and her family members for permission of publication of her case.

### Conflict of interest

There are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

**Patient's consent.** An informed written consent was obtained from patient's family members regarding the publication of her case

### REFERENCES

Agapakis, D., Massa, E., Hantzis, I., Paschoni, E., & Satsoglou, E. (2014). Purple urine

- bag syndrome: a case report of an alarming phenomenon. *Hippokratia*, 18(1), 92.
- Al-Sardar, H., & Haroon, D. (2009). Purple urinary bag syndrome. *The American Journal of Medicine*, 122(10), e1-e2.
- Al Montasir, A., & Al Mustaque, A. (2013). Purple urine bag syndrome. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 2(1), 104.
- Chung, S.-D., Liao, C.-H., & Sun, H.-D. (2008). Purple urine bag syndrome with acidic urine. *International Journal of Infectious Diseases*, 12(5), 526-527.
- Dealler, S. F., Hawkey, P. M., & Millar, M. R. (1988). Enzymatic degradation of urinary indoxyl sulfate by *Providencia stuartii* and *Klebsiella pneumoniae* causes the purple urine bag syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(10), 2152-2156.
- Fu-Hsiung Su, B., Shin-Yi Chung, R., Mey-Huy Chen, R., Mei-Ling Sheng, R., Ching-Hao Chen, R., Ya-Jung Chen, R., Wen-Cheng Chang, R., Lan-Ying Wang, R., & Kai-Yang Sung, M. (2005). Case analysis of purple urine-bag syndrome at a long-term care service in a community hospital. *Chang Gung Med J*, 28(9), 636-642.
- Gandhi, K. (2013). Purple urine bag syndrome: A case report. *Internet Journal of Medical Update-EJOURNAL*, 8(2), 65-66.
- Hadano, Y., Shimizu, T., Takada, S., Inoue, T., & Sorano, S. (2012). An update on purple urine bag syndrome. *International journal of general medicine*, 5, 707.
- Kalsi, D. S., Ward, J., Lee, R., & Handa, A. (2017). Purple urine bag syndrome: a rare spot diagnosis. *Disease markers*, 2017.
- Khalid, L., Ali, I., Wahid, K., Khan, A. U., & Fawad, S. (2016). Purple urine bag syndrome. *J Coll Physicians Surg Pak*, 26, 863-864.
- Khan, F., Chaudhry, M. A., Qureshi, N., & Cowley, B. (2011). Purple urine bag syndrome: an alarming hue? A brief review of the literature. *International Journal of Nephrology*, 2011.
- Lin, H.-H., Li, S.-J., Su, K.-B., & Wu, L.-S. (2002). Purple urine bag syndrome: a case report and review of the literature. *J Intern Med Taiwan*, 13(13), 209-212.
- Pillai, B., Chong, V., & Yong, A. (2009). Purple urine bag syndrome. *Singapore Med J*, 50(5), e193-194.
- Rawal, G., Garg, N., Yadav, S., Wani, U., & Shokeen, P. (2015). Purple urine bag syndrome: An alarming and rare phenomenon of urinary tract infection. *Int J Med Res Rev*, 3(1), 231-233.
- Shiao, C. C., Weng, C. Y., Chuang, J. C., Huang, M. S., & Chen, Z. Y. (2008). Purple urine bag syndrome: A

community - based study and literature review. *Nephrology*, 13(7), 554-559.

Yadav, S., Rawal, G., & Singh, A. (2016). Purple urine bag syndrome: are we aware? *Journal of Integrative Nephrology and Andrology*, 3(4), 133.

Yang, H. W., & Su, Y. J. (2018). Trends in the epidemiology of purple urine bag syndrome: a systematic review. *Biomedical reports*, 8(3), 249-256.

Yaqub, S., Mohkum, S., & Mukhtar, K. (2013). Purple urine bag syndrome: A case report and review of literature. *Indian Journal of Nephrology*, 23(2), 140.

## متلازمة كيس البول الأرجواني: حالة غير شائعة مرتبطة مع التهاب شائع الحدوث

مفتاح حمد الخفيفي

قسم جراحه المسالك البولية، مركز الهوارى للجراحات التخصصية، بنغازي-ليبيا

تاريخ الاستلام: 21 سبتمبر 2020 / تاريخ القبول: 18 ديسمبر 2020

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.250>:Doi

**المستخلص:** متلازمة كيس البول الأرجواني متلازمة طبية نادرة، لكن سُجل حدوثها أكثر في النساء المقدمات، والمتقدّمات في السن، واللاتي يشكين من الإمساك المزمن مع وجود قسّطرة بولية مزمنة في وجود التهابات بالمسالك البولية. المسبب الرئيسي للمتلازمة عبارة عن الالتهابات ببكتيريا معينة، تقوم بإنتاج الأنزيمات التي تؤدي إلى عملية أيض واستقلاب الحمض الأميني المعروف باسم التريتوفان حيث ينتج عدد اثنين من الصبغات التي تلون البول باللون الأرجواني. توجد عدة عوامل خطورة مرتبطة مع هذه المتلازمة ومن أهمها: الجنس الأنثوي، زيادة التريتوفان في الطعام، قلووية البول، الإمساك، القسّطرة البولية المقيمة لفترة طويلة، وفرة البكتيريا المسببة، الفشل الكلوي، واستعمال القسّطرة البولية المصنوعة من كلوريد البوليفينيل. نقدم هذه الحالة النادرة لسيدة بالغة من العمر 78 عاما، تمت معالجتها بالمضاد الحيوي، وذلك حسب تقرير زراعة البول، وتغيير القسّطرة البولية، وكيس تجميع البول. تم اختفاء اللون الأرجواني بالكامل بعد أسبوع من العلاج بالمضاد الحيوي وتغيير القسّطرة البولية وكيس تجميع البول.

**الكلمات المفتاحية:** التهابات المسالك البولية، القسّطرة البولية، البول القلوي، الحمض الأميني التريتوفان، اللون الأرجواني، بنغازي.





## Outcomes of Total Surgical Correction for Tetralogy of Fallot in Benghazi

Marium Mohamed Mustafa<sup>\*</sup>, Rasmyia H. Elfatory, Aziza I. Gadwar, Khadija imhemed elshreef and Hagir M.Alshabi

Department of Pediatric, Faculty of Medicine, Benghazi University, Benghazi cardiac center, Libya

Received: 19 January 2020/ Accepted: 25 December 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.252>

**Abstract:** Tetralogy of Fallot (TOF) is the most common cyanotic congenital heart disease, accounting for 10% of all types of congenital heart disease. Despite decreased mortality rates by improvement in surgery and post-cardiac intensive care, there continues to be late postoperative complications. This study aimed to evaluate the outcomes after total repair of tetralogy of Fallot, including 44 children who underwent complete surgical repair between 2000 to 2018. Data were collected from medical records and directly from patients during their visit to the clinic, that included: history, clinical examination, gender, age at operation, results of ECG, Holter monitoring, echocardiography, cardiac catheterization, cardiac CT scan. Follow-up ranged from 6 months to 18 years. Results revealed that the M/F ratio was 1.4:1. Also, two patients had a previous palliative systemic artery to PA shunt. A TAP was inserted in 22 (50%) patients. Postoperative complications were: severe PR 29%, small residual VSD 18.1%, and two patients had significant VSD which needed surgical intervention, residual RVOT 8.1%, RBBB 97.7%, There was three death (6.8%), and 36.3% of patients will need surgical intervention in the future. It was concluded that follow-ups up to adulthood to monitor potential complications are necessary. QRS duration is used for monitoring ventricular arrhythmia and sudden death. Echocardiography is a non-invasive tool in diagnosis, before and at the time of surgery, as well as in follow-ups.

**Keywords:** Tetralogy of Fallot, congenital heart disease, surgery, Benghazi.

### INTRODUCTION

Tetralogy of Fallot (TOF) is the most common cyanotic congenital heart disease, accounting for 10% of all types of congenital heart disease with 0.23-0.63 cases per 1,000 births. It is composed of the overriding of the interventricular septum, which results in 4 abnormalities: sub pulmonary stenosis, ventricular septal defect (VSD), right ventricular hypertrophy, Aorta overriding of the interventricular septum (h Anderson & m Weinberg, 2005). The postnatal presentation is depending on the severity of RVOT obstruction. Severe obstruction leads to severe cyanosis in the neonatal period, which need prostaglandin therapy to maintain the patency of the ductus arte-

riosus. This will improve pulmonary blood flow, thus avoiding life-threatening cyanosis. It should then be followed by urgent palliative systemic artery to PA shunt (B-T shunt) (Kanter et al., 2010). Potential disadvantages of BT shunt include continuous pressure overload of the RV and persistent cyanosis. This leads to RV hypertrophy and hypoxemia, which contributes to cardiomyocyte degeneration and interstitial fibrosis, which have been implicated in myocardial dysfunction and arrhythmias and it is reserved for those presenting with severe cyanosis or specific anatomical features such as the presence of coronary abnormalities (left anterior descending artery arising from the right coronary artery and crossing the RVOT, the exist-

<sup>\*</sup>Corresponding Author: Mariam.M.Almadany [mohammedmariam70@yahoo.com](mailto:mohammedmariam70@yahoo.com), Department of Pediatric, Faculty of Medicine, Benghazi University, Alhawary pediatric cardiac clinic, Libya

ence of multiple VSDs, and inadequate PA size(Bhardwaj et al., 2017)

The optimal timing for elective complete repair is 4 to 8 months of age. With the use of TAP, there is a decrease in residual pulmonary stenosis with an increase of pulmonary regurgitation, which lead to right heart dilation and dysfunction that need PV replacement later on (Shahanavaz et al., 2018). Infundibulotomy, resection of obstructive muscle bundles, and the use of a TAP to enlarge the pathway from the right ventricle to the Pas result in scar tissue and a noncontracting RVOT, which may progress to aneurysm (Naidu et al., 2017). There is also a risk of aortic root and ascending aorta dissection due to chronic AR, right ventricular dysfunction and dilatation, and PA stenosis. These complications need monitoring by ECG where RBBB with prolongation of QRS complex is nearly universal (Smith et al., 2019). Arrhythmias, ventricular tachycardia, atrioventricular block, atrial flutter or fibrillation, are seen with increased frequency in the third and fourth decades of life. They increase the risk of sudden death to 2% per decade (Wu et al., 2018). All children need follow-up post-operatively up to adulthood for monitoring potential complications that may necessitate early intervention.

Therefore, this study was conducted to evaluate the outcomes of the surgical repair of TOF.

### MATERIALS AND METHODS

In this study, all children less than 18years of age underwent surgical repair of TOF. The follow-up period ranged from 3 months to 18 years, in a cardiac clinic either at Benghazi Cardiac Center or AL-Hawary Hospital. Data was collected from medical records and directly from patients during their visit to the cardiac clinic including; history, clinical examination, gender, age at operation, type of surgery (TAP, plasty to main pulmonary ar-

tery and its branches, right ventricle outlet patch, BT shunt), results of; ECG for arrhythmia and conduction abnormality, Holter monitoring (symptomatic patients), echocardiography for (pulmonary dilation, Right ventricle dilation, Tricuspid regurgitation, residual VSD, RVOTO, Aortic incompetence, and LVOLO), catheterization (3patients), and CT angiography (4 patients). Patients with pulmonary atresia, absent pulmonary valve, atrioventricular septal defects, and ASD were excluded from the study.

Descriptive statistics were used in data analysis. Data was analyzed manually, put in tables and presented as numbers and percentages.

### RESULTS

A total of 44 child operated for TOF. 26 (59%) were male, and 18 (40.9%) were female with an M/F ratio of 1.4:1 (Table-1). Their age at operation ranged from 6 months to 17 years (Table-2). TAP was the most common surgical procedure used in 22 (50%) patients, and two patients had previous palliative shunts (Table-3).

**Table (1): Sex Distribution.**

Sex	NO	%
Male	26	59%
Female	18	40.9 %

**Table (2): Age at Time of Operation.**

Age	No,(%)
<1year	4 (9%)
≥1-2 years	17 (38.6%)
≥2-3 years	9 (20.4%)
≥3-4 years	3 (6.8%)
>4 years	11 (25%)

**Table (3): Type of Operation.**

Type	NO	%
TAP	22	50
TAP with RVOT Patch	16	36.3
RVOT Patch	3	6.8
BT shunt	2	4.5
plasty to pulmonary branches	1	2.2

Regarding postoperative complications, residual VSD was found in 8 patients, among them 6 small or tiny. Two were moderate VSD, which needed surgical intervention. Moderate to severe pulmonary valve regurgitation was detected in 13 (29.5%) patients, among them, 5 had RVOT Aneurysm, and all of them needed surgical intervention. Moderate tricuspid regurgitation occurred in 6 (11.3%) patients. RVOT obstruction with a pressure gradient of more than 40 mmHg was detected in 8 (18.1%) patients.

3 (6.8%) patients died after surgery; 2 within 30 days after surgery, one after one year with severe PR and right ventricle failure (Table 4). RBBB in 97.7% bigeminy 2.3%, infrequent ventricular ectopic 4.5% (Tabel-5, 6).

**Table (4): postoperative complications.**

Complication	NO	%
Residual TR	12	22.7
-Trivial	6	11.3
- Moderate	6	11.3
Residual PR	13	29.5
Residual VSD	8	18.1
- Trivial to small	6	13.6
- Moderate to large	2	4.5
Residual RVOT obstruction *	8	18.1
Severe pulmonary stenosis	3	6.8
Death	3	6.8

\*Residual RVOT obstruction > 40 mmHg, 16% need re-intervention.

**Table (5): Types of arrhythmia by ECG (No.44).**

Type	NO	%
RBBB	41	97.7
QRS >180 ms	2	4.5
Bigeminy	1	2.3

**Table (6): Types of arrhythmia by Holter monitor (No.4).**

Type	NO	%
Infrequent unifocal VE	2	4.5
Multi focal VE	1	2.3
VT	1	2.3

© 2020 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0 license.  
 ISSN: online 2617-2186 print 2617-2178

## DISCUSSION

TOF is the most common cyanotic congenital heart disease accounting for 10% of all types of congenital heart disease with and with male predominance. Male to female ratio was 1.3:1 (Konstandina et al), 1.4:1(Smith et al., 2019). For 30 years, primary repair has become the standard of care, and it is recommended within the first 12 months of life. Giving excellent results in most centers with long term survivors living up to adulthood. As recommended in developed counties, the operation is performed early in infancy, while in developing countries, it is performed at an older age (Lee et al., 2004)The median age for the operation was 8 months in Bangladesh (Zheng et al., 2013) while in Macedonia it was 5 years (Hashemzadeh & Hashemzadeh, 2010), and 9.5 years in a study by (Waqar et al., 2017).

In this study, males predominated females with an M/F ratio of 1.4:1. This is similar to previous researches, but they are operated on at an older age due to: a delayed diagnosis, many patients were referred from outside Benghazi, and the lack of surgery facilities (there was a dependence on foreign cardiac surgery missions). Approximately 5% of children need a reoperation due to various causes such as residual ventricular septal defects and residual RV outflow tract obstruction. Children with a TAP operation may develop varying degrees of pulmonary insufficiency later in life which leads to RV overload, RV distention, and failure.(Zheng et al., 2013).

Various studies reported different results for TAP operation outcomes in (Ho et al., 2007) work where TAP was used in 38% of patients. after 36 years severe PR developed in 14% of them, which is less than the number of cases described by (Lee et al., 2004) where TAP was used in 48.7% of operated cases, and 56.9% of them developed moderate PR after 10 years of follow-up.

In this study, TAP was used in 50% of patients. 29.5% of them developed moderate

PR, which similar to what was reported by (Zheng et al., 2013), where 73.2% of cases were operated on by TAP, and 23.2% of them developed moderate to severe PR.

VSDs are seen postoperatively in 2% of patients; insignificant residual small VSDs are common, and large VSDs are poorly tolerated due to volume overload. Also, when shunt is 2:1, it is an indication for reoperation (Waqar et al., 2017) and it is reported in 9.9% of patients in (Zheng et al., 2013) study.

RVOT obstruction with pressure measuring more than 40 mmHg is another problem, seen in 5.2% of patients in (Waqar et al., 2017), and 16% of cases in the study by (Sirivella & Gielchinsky, 2014). In comparison, 8 patients in the current study developed residual VSD postoperatively, where 6 were small, and 2 were large and needed reoperation. RVOT obstruction was seen in 7 patients.

Injury to the right bundle branch leads to RV hypertrophy with RBBB. The longer the QRS interval, the larger the RV mass and volume will be. When it is longer than 180 milliseconds (ms) with a rapid increase  $>3.5$  ms / yr, there is a significant risk of ventricular arrhythmias and sudden death, as (Scalone et al., 2017) reported these complication in 5% of their patients at a later stage of life with an unknown cause. Vehmeijer JT et al. reported right ventricular dilation associated with this complication.

This is similar to the current study where 4.5 % of patients after many years of their surgery, were complaining of chest pain, had prolonged QRS, ventricular ectopic, right ventricular dilatation, and severe pulmonary regurgitation. RBBB was reported in 97.7% of the cases, similar to (Shahanavaz et al., 2018), who studied 46 patients, all of which had RBBB. The survival rate of 92.2% in this current study, is near to (Zheng et al., 2013) where it is 96.4 %, and also 93.1% in (Karl & Stocker, 2016) study.

## CONCLUSION

All children need follow-up for an extended period and up to adulthood after a TOF repair to monitor potential complications that may necessitate early intervention. QRS duration is used in monitoring patients as a predictor of ventricular arrhythmia and sudden death. Echocardiography is a non-invasive tool during diagnosis, before and at the time of surgery, in addition to follow-up.

## REFERNCES

- Bhardwaj, V., Kapoor, P. M., Irpachi, K., Ladha, S., & Chowdhury, U. K. (2017). Basic arterial blood gas biomarkers as a predictor of mortality in tetralogy of Fallot patients. *Annals of cardiac anaesthesia*, 20(1), 67 .
- h Anderson, R., & m Weinberg, P. (2005). The clinical anatomy of tetralogy of Fallot. *Cardiology in the Young*, 15(s1), 38 .
- Hashemzadeh, K., & Hashemzadeh, S. (2010). Early and late results of total correction of tetralogy of Fallot. *Acta Medica Iranica*, 117-122 .
- Ho, K. W., Tan, R. S., Wong, K. Y., Tan, T. H., Shankar, S., & Le Tan, J. (2007). Late complications following tetralogy of Fallot repair: the need for long-term follow-up. *Annals-Academy of Medicine Singapore*, 36(11), 947 .
- Kanter, K. R., Kogon, B. E., Kirshbom, P. M., & Carlock, P. R. (2010). Symptomatic neonatal tetralogy of Fallot: repair or shunt? *The Annals of thoracic surgery*, 89(3), 858-863 .
- Karl, T. R., & Stocker, C. (2016). Tetralogy of Fallot and its variants. *Pediatric critical care medicine*, 17(8), S330-S336 .
- Lee, J. R., Kim, J. S., Lim, H. G., Hwang, H. Y., Kim, Y. J., Rho, J. R., & Ahn, C. (2004). Complete repair of tetralogy of

- Fallot in infancy. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*, 3(3), 470-474 .
- Naidu, P., Grigg, L., & Zentner, D. (2017). Mortality in adults with congenital heart disease. *International Journal of Cardiology*, 245, 125-130 .
- Scalone, G., Gomez-Monterrosas, O., Fiszer, R., Szkutnik, M., Gałeczka, M., & Białkowski, J. (2017). Combined strategy of Waterston shunt percutaneous occlusion and medical treatment with sildenafil for management of pulmonary hypertension in an adult patient with corrected tetralogy of Fallot. *Advances in Interventional Cardiology/Postępy w Kardiologii Interwencyjnej*, 13(3), 277-278 .
- Shahanavaz, S., Qureshi, A. M., Levi, D. S., Boudjemline, Y., Peng, L. F., Martin, M. H., Bauser-Heaton, H., Keeshan, B., Asnes, J. D., & Jones, T. K. (2018). Transcatheter pulmonary valve replacement with the melody valve in small diameter expandable right ventricular outflow tract conduits. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 11(6), 554-564 .
- Sirivella, S., & Gielchinsky, I. (2014). Early and long term outcomes of corrective operations for tetralogy of Fallot: an experience of two centers. *World Journal of Cardiovascular Surgery*, 4(11), 186 .
- Smith, C. A., McCracken, C., Thomas, A. S., Spector, L. G., Oster, M. E., Moller, J. H., & Kochilas, L. (2019). Long-term outcomes of tetralogy of Fallot: a study from the pediatric cardiac care consortium. *JAMA cardiology*, 4(1-34) ( .41
- Waqar, T., Riaz, M. U., & Mahar, T. (2017). Tetralogy of Fallot repair in patients presenting after Infancy: A single surgeon experience. *Pakistan journal of medical sciences*, 33(4), 984 .
- Wu, M. H., Lu, C. W., Chen, H. C., Kao, F. Y., & Huang S. K. (2018). Adult congenital heart disease in a Nationwide population 2000–2014: epidemiological trends, arrhythmia, and standardized mortality ratio. *Journal of the American Heart Association*, 7(4), e007907 .
- Zheng, D.-w., Shao, G.-f., Feng, Q., & Ni. Y.-m. (2013). Long-term outcome of correction of tetralogy of Fallot in 56 adult patients. *Chinese medical journal*, 126(19), 3675-3679

## نتائج جراحة الإصلاح الكامل لرباعية فالوت في بنغازي

مريم محمد مصطفى المعداني\*، رسميه حسني الفيتوري، عزيزة عزالدين قظوار، خديجة امحمد الشريف وهاجر شلبي

قسم طب الأطفال، كلية الطب البشري، جامعة بنغازي، مركز القلب في بنغازي، ليبيا

تاريخ الاستلام: 19 يناير 2020 / تاريخ القبول: 25 ديسمبر 2020

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.252>:Doi

**المستخلص:** رباعية فالوت هو من أكثر أمراض القلب الخلقية شيوعا والتي تمثل 10 ٪ من أمراض القلب الخلقية. على الرغم من انخفاض معدلات وفيات مرضى رباعي فالوت نتيجة لتحسن في الجراحة والعناية المركزة للقلب. لا تزال هناك مضاعفات متأخرة بعد العملية الجراحية. تهدف هذه الدراسة المستقبلية إلى تقييم النتائج بعد الإصلاح الكامل لعملية رباعية فالوت لـ 44 من الأطفال خضعوا لإصلاح كامل لعملية رباعية فالوت بين عامي 2000 و2018. حيث جمعت البيانات من السجلات الطبية للمرضى ومن المرضى مباشرة خلال زيارتهم لعيادة القلب بما في ذلك: التاريخ المرضي، الفحص السريري والجنس والعمر عند اجراء العملية ونتائج كل من تخطيط القلب، مراقبة هولتر وتخطيط صدى القلب عبر الصدر، التصوير المقطعي المحوسب للقلب، قسطرة القلب. فترة متابعة المريض بعد العملية تتراوح من 6 شهور إلى 18 سنة، كشفت النتائج أن نسبة الذكور إلى الإناث كانت 1.4:1. تم وضع وصلة صناعية قبل عملية التصليح الكامل في 2 من المرضى. رقت حلقة الصمام الرئوي (TP) لعدد 22 (50%) من المرضى. كانت المضاعفات ما بعد الجراحة: قلس رئوي (PR) حاد 29%، تشوه متبقى للحاجز البطيني VSD 18.1%، وكذلك فإن اثنين فقط من المرضى كان لديهم فتحة كبيرة متبقية تحتاج إلى تدخل جراحي، وانسداد متبقى لمخرج البطين الايمن 8.1%، وكانت كتلة فرع الحزمة اليمنى (97.3%) وكان هناك ثلاثة وفيات 6.8 ٪ و(36.3%) من المرضى بحاجة إلى تدخل في المستقبل. نستنتج أنه يجب متابعه المرضى حتى سن البلوغ للكشف عن المضاعفات المحتملة، واستخدام تخطيط القلب لرصد اضطراب نظم القلب والموت المفاجئ، أن تخطيط صدى القلب هو أداة غير جراحية تلزم في التشخيص وقبل وأثناء الجراحة وكذلك في المتابعة.

**الكلمات المفتاحية:** رباعي فالوت، أمراض القلب الخلقية، جراحة، بنغازي.



## Association of Risk Factors with Breast Cancer in Libyan Women

Samira. D. Ameigal<sup>1\*</sup>, Ahmed. A. Ageel<sup>1</sup>, Mostafa. O. Abdoarahem<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of medical laboratory, Higher institute of medical technology/ Bani waleed, Libya

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, Science faculty, Azzaytuna university, Tarhona, Libya

Received: 15 July 2020/ Accepted: 25 December 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjcs.v35i3.270>

**Abstract:** Breast cancer (BC) is the most common cancer among Libyan females. There are many important risk factors for BC in different populations as suggested by epidemiological studies. BC is an etiologically complex disease affected by genetic and other environmental factors, which include gender, age, previous breast cancer, body mass index, menopausal status, postmenopausal hormonal therapy, reproductive factor, alcohol consumption, smoking and breastfeeding. The aim of this study was to investigate if there is an association between risk factors and breast cancer among Libyan females. Data were collected by using questioners for 38 cases with breast cancer from Tripoli Medical Center and 100 controls from March 2016 to February 2017. The results showed that risk of breast cancer was associated with age, the mean ages ( $\pm$  SD) of the case and control groups were  $46.7 \pm 15.6$  and  $38.8 \pm 19.1$  respectively, age at the first birth ( $P=0.036$ ), family history with first-degree relative percentage of the cases and control groups were 21% and 4% and second-degree relatives were 10.5% and 13% respectively with statistical difference ( $P=0.042$ ) and menopausal status ( $P=0.002$ ). The risk decreased with breastfeeding ( $P=0.033$ ). No association was observed between passive smoking ( $P=0.363$ ) and the number of pregnancies and births ( $P=0.402$ ). Data from this study indicated that there were some factors associated with breast cancer among Libyan females including age, age at the first pregnancy, family history and menopausal status.

**Keywords:** Breast cancer, Risk factors, Libyan female.

### INTRODUCTION

Breast cancer is the most common type of cancers among women; it is caused by a combination of genetic and environmental factors (Zhai et al., 2006). In Libya, breast cancer is also considered the most common cancer among females accounting for 26% of all female cancers (El Mistiri et al., 2007). It also accounts for 41.5% in 2012 (Bodalal et al., 2014). As well, two studies that were published recently in the western region of Libya, have stated that breast cancer in females was the most common cancer, representing 23.7 % (Elzouki et al., 2018) and 20.6 % (of cancer cases Elzouki et al., 2018). Worldwide, breast cancer comprises 22.9 %

of all cancers in women (Oldenburg et al., 2007), and more than 1.6 million new cases of BC worldwide have been reported in 2010 (Forouzanfar et al., 2011). Most breast cancers were reported to occur in women 100 times more likely than in men (Richie & Swanson, 2003).

Epidemiological studies have suggested that there is an association between some risk factors with BC including genetic and other factors, such as gender, body mass index, postmenopausal, hormonal therapy, reproductive factor, alcohol consumption, smoking and breastfeeding (Lyytinen et al., 2010; MacMahon, 2006; Richie & Swanson, 2003; Seitz et al., 2012; Singletary, 2003; Van den

\*Corresponding Author: Samira. D. Ameigal [emeigalsamira@yahoo.com](mailto:emeigalsamira@yahoo.com) Department of medical laboratory, Higher institute of medical technology/ Bani waleed.

Brandt et al., 2000). BC risk factors are not well reported in Libya. For this reason, this paper, aimed to study association between BC and risk factors in Libyan women.

### MATERIALS AND METHODS

**Study subjects:** The study was carried out from March 2016 to February 2017. BC patients participated from Tripoli Medical Center and control subjects were from different cities of Libya. The study cases included 38 women aged 16 to 77 years with confirmed diagnosis of BC, while 100 women aged 16 to 75 years free of BC were considered as a control group. All subjects completed an in-person interview that used well-structured an Arabic form questionnaire, taking an account the name, age, age of discovering the disease BC, if they have relatives with breast cancer, family history, smoking, if the patient is premenopausal or postmenopausal, marital status, number of births, age at first pregnancy, breastfeeding and routine doing self-examination or not.

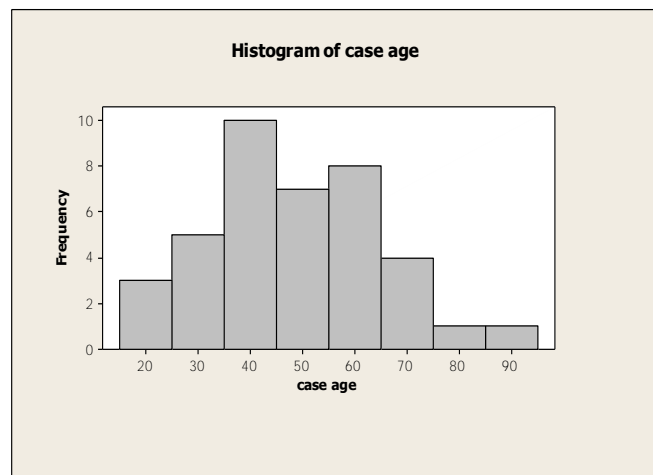
**Statistical analysis:** Comparisons between groups and risk factors have been evaluated using Pearson chi-square test ( $P= 0.05$ ). We estimated the association between different factors and the risk of BC using logistic regression analysis. All statistical analyses have been implemented in SPSS version 19.0 (SPSS, Chicago, IL).

### RESULTS

A total of 138 Libyan women were enrolled in this study, among them 38 were infected with BC (cases) and 100 were free of BC (controls). All study subjects completed an in-person interview that used an Arabic form questionnaire to assess and observe risk factors of BC in both groups. The distribution of suspected risk factors of BC has also been investigated in case and control groups.

The mean ages of case and control groups were 46.7 and 38.8 respectively with a significant difference ( $P=0.0023$ ) between them. BC in case group according to Age is summarised

in figure 1. Ages varied between 16 and 77 years, the most of BC cases about 90% appeared between 30 to 50 years old, while the highest incidence of BC appeared between the ages 35 and 45 years old.



**Figure: (1).** Histogram of ages of breast cancer cases

Breastfeeding and family history results showed differences between cases and controls. The frequency of breastfeeding in cases was 52.63% while it was 53% in the controls ( $P= 0.033$ ) as illustrated in table 1. In addition, difference ( $P= 0.042$ ) between BC incidence and family history of BC was found between cases 31.5% and controls 17% as shown in table 2.

**Table 1:** Analysis of breastfeeding in BC cases and control groups

Frequency of breast feeding	Cases n (%)	Controls n (%)	P value
Yes	20 (52.6%)	53 (53%)	0.033
No	18 (47.4%)	47 (47%)	

**Table 2:** Analysis of family history in BC case and control groups

Frequency of family history	Cases n (%)	Controls n (%)	P value
Yes	12 (31.6%)	17 (17%)	0.042
No	26 (68.4%)	83 (83%)	



The number of women that delivered at their first birth in BC cases was 28 and in controls was 55. Age of women at their first delivery showed statistical difference between the cases and controls with (P= 0.036) as illustrated in table 3, these results suggested that there was an association between breastfeeding, family history and the ages of women at their first pregnancy and the occurrence of BC in Libyan women. The results demonstrated a significant difference with (P=0.002) between BC incidence and menopausal status of BC between cases and controls as seen in table 4. All remaining factors showed no significant difference between cases and controls as summarized in tables 5 and 6, passive smoking (P= 0.363), number of pregnancy and births, (P= 0.402).

**Table 3:** Analysis of ages of BC cases and controls at their first birth

Frequency of ages at first birth	Cases n (%)	Controls n (%)	P value
15-20	9 (32.1%)	28 (50.9%)	0.036
21-25	14 (50%)	16 (29.0%)	
26-30	2 (7.1%)	7 (12.7%)	
31-35	3 (10.7%)	4 (7.3%)	

**Table 4:** Analysis of menopausal status in BC case and control groups

Menopausal status	Cases n (%)	Controls n (%)	P value
Yes	20 (52.6%)	25 (25%)	0.002
No	18 (47.4%)	75 (75%)	

**Table 5:** Analysis of passive smoking in BC case and control groups

Frequency of family history	Cases n (%)	Controls n (%)	P value
Yes	12(31.5%)	17(17%)	0.042
No	26 (68.4%)	83 (83%)	

**Table 6:** Analysis of number of pregnancy and births in BC case and control groups

Frequency of pregnancy and births	Cases n (%)	Controls n (%)	P value
1-6	23 (82.1%)	33 (60%)	0.402
7-12	5 (17.9%)	22 (40%)	

The study highlights the importance of early detection and self-examination among Libyan women, as results showed that 34.2% of cases, discovered the disease by self-examination whereas 65.7% of patients did not, however, 76% of control cases did not carry out self-examination and results showed no significant differences (P= 0.160) as illustrated in table 7.

**Table 7:** Analysis of self-examination in BC cases and control groups

Frequency of self examination	Cases n (%)	Controls n (%)
Yes	13 (34.2%)	24 (24%)
No	25 (65.8%)	76 (76%)

## DISCUSSION

The present study has examined the association between the risk factors and BC in Libyan women. Breastfeeding frequencies were significantly different between cases and controls (P=0.033), suggesting the protective effect of breastfeeding against BC in Libyan women. Similar results were reported from Nigeria (Okobia et al., 2005), USA (Stuebe et al., 2009) and Sri Lanka (De Silva et al., 2010). In addition, Helewa suggested that such a protective association might be due to the reduction of endogenous and exogenous carcinogens present in the breast epithelial cells during lactation (Helewa et al., 2002). The current work illustrates that there is an association between BC and family history in case and control groups (P=0.042), these findings suggests a positive genetic impact of family history on BC

risk in Libyan females. This result is in agreement with previous studies (Phipps et al., 2010; Singletary, 2003).

The results showed differences ( $P=0.036$ ) in relation to age at first pregnancy between case and control groups. This outcome is consistent with other epidemiological studies that showed a protective role for the early full-term pregnancy against BC in developed and industrial countries (Phipps et al., 2010; Soerjomataram et al., 2007).

The findings of the present research work demonstrated that the mean age of patient was 46.7 years and the highest percentage was between 35 and 45 age, which implies that risk of BC increases as age increased. These data are in agreement with earlier report (Ermiah et al., 2012), which revealed that the average age of women affected with BC was 45.4 years as well as other study (Phipps et al., 2010) which indicated that the average age of BC patient was 48 years in Arab world.

The current study indicated no association ( $P=0.363$ ) between BC and passive smoking. Furthermore, several studies were reviewed (Terry & Rohan, 2002) and showed an association between smoking and BC, whereas others showed a lack of such association. However, number of smokers amongst Libyan cases and controls were relatively small to be considered for association study. Similarly, the lack of association between number of pregnancies and births among Libyan patients and controls ( $P=0.402$ ) was in agreement with other studies in USA (Dietz et al., 1995) and Iran (Mahouri et al., 2007).

The present study has demonstrated that Libyan women who made self-examination were noticeably less than those who did not, since 65.7% of cases and 76% of control cases did not carry out the procedure as a prevention measurement. The results indicated lack of public awareness about the importance of early detection among Libyan women. Therefore we argue for immediate effective awareness pro-

grams to reduce breast cancer mortality among Libyan women.

The current findings supports the hypothesis that there is association between important risk factors and BC among the Libyan women and it would be useful to know and understand them to contribute to disease control and prevention. However, the present study faced several limitations including, small number of patients included in comparison to breast cancer percentage among Libyan women. In future studies, we recommend that the sample size should be larger to obtain significant answer about the association between risk factors and breast cancer. Moreover, we encourage assessing other important factors such as genetic factors and considering analysis of DNA mutations from study tissues and blood samples from BC cases. Genetic studies are very valuable to discover the genetic role in breast cancer of the Libyan population.

## CONCLUSION

In conclusion, the present study has indicated that there is an association between the risk of breast cancer and several factors including age, age at the first pregnancy, family history and menopausal status.

## ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thank all participants in this study and also we are grateful to students Aisha Abu-hamra, Aisha Salem and Gharam Salama for distributing the questionnaire.

## REFERENCES

- Bodalal, Z., Azzuz, R., & Bendardaf, R. (2014). Cancers in eastern Libya: First results from Benghazi medical center. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(20), 6293.
- Beyased Taha, Firyouz Altrjoman, Nabil Enattah, Farag Eltaib, Nureddin Ashammakhi, Adam Elzaghei (2017). Cancer Incidence in Western Libya: First Results from Tripoli

- Medical Center. *Ibnosina J Med BS*, 9; (2); 37-45.
- De Silva, M., Senarath, U., Gunatilake, M., & Lokuhetty, D. (2010). Prolonged breastfeeding reduces risk of breast cancer in Sri Lankan women: A case-control study. *Cancer epidemiology*, 34(3), 267-273.
- Dietz, A. T., Newcomb, P. A., Storer, B. E., Longnecker, M. P., & Mittendorf, R. (1995). Multiple births and risk of breast cancer. *International journal of cancer*, 62(2), 162-164.
- El Mistiri, M., Verdecchia, A., Rashid, I., El Sahli, N., El Mangush, M., & Federico, M. (2007). Cancer incidence in eastern Libya: the first report from the Benghazi Cancer Registry, 2003. *International journal of cancer*, 120(2), 392-397.
- Elzouki, I., Benyasaad, T., Altrjoman, F., Elmarghani, A., Abubaker, K. S., & Elzagheid, A. (2018). Cancer incidence in western region of Libya: Report of the year 2009 from tripoli pathology-based cancer registry. *Libyan Journal of Medical Sciences*, 2(2), 45.
- Ermiah, E., Abdalla, F., Buhmeida, A., Larbesh, E., Pyrhönen, S., & Collan, Y. (2012). Diagnosis delay in Libyan female breast cancer. *BMC research notes*, 5(1), 452.
- Forouzanfar, M. H., Foreman, K. J., Delossantos, A. M., Lozano, R., Lopez, A. D., Murray, C. J., & Naghavi, M. (2011). Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *The lancet*, 378(9801), 1461-1484.
- Helewa, M., Levesque, P., Provencher, D., Lea, R. H., Rosolowich, V., & Shapiro, H. M. (2002). Breast cancer, pregnancy, and breastfeeding. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada: JOGC= Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada: JOGC*, 24(2), 164-180; quiz 181.
- Lyytinen, H. K., Dyba, T., Ylikorkala, O., & Pukkala, E. I. (2010). A case - control study on hormone therapy as a risk factor for breast cancer in Finland: Intrauterine system carries a risk as well. *International journal of cancer*, 126(2), 483-489.
- MacMahon, B. (2006). Epidemiology and the causes of breast cancer. *International journal of cancer*, 118(10), 2373-2378.
- Mahouri, K., Dehghani Zahedani, M., & Zare, S. (2007). Breast cancer risk factors in south of Islamic Republic of Iran: a case-control study. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 13 (6), 1265-1273, 2007.
- Okobia, M. N., Bunker, C., Lee, L., Osime, U., & Uche, E. (2005). Case-control study of risk factors for breast cancer in Nigerian women: a pilot study. *East African medical journal*, 82(1).
- Oldenburg, R. A., Meijers-Heijboer, H., Cornelisse, C., & Devilee, P. (2007). Genetic susceptibility for breast cancer: how many more genes to be found? *Critical reviews in oncology/hematology*, 63(2), 125-149.
- Phipps, A. I., Li, C. I., Kerlikowske, K., Barlow, W. E., & Buist, D. S. (2010). Risk factors for ductal, lobular, and mixed ductal-lobular breast cancer in a screening population. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 19(6), 1643-1654.

- Richie, R. C., & Swanson, J. O. (2003). Breast cancer: a review of the literature. *JOURNAL OF INSURANCE MEDICINE-NEW YORK THEN DENVER--*, 35(2), 85-101.
- Seitz, H. K., Pelucchi, C., Bagnardi, V., & Vecchia, C. L. (2012). Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. *Alcohol and alcoholism*, 47(3), 204-212.
- Singletary, S. E. (2003). Rating the risk factors for breast cancer. *Annals of surgery*, 237(4), 474.
- Soerjomataram, I., Pukkala, E., Brenner, H., & Coebergh, J. W. W. (2007). On the avoidability of breast cancer in industrialized societies: older mean age at first birth as an indicator of excess breast cancer risk. *Breast cancer research and treatment*, 111(2), 297-302.
- Stuebe, A. M., Willett, W. C., Xue, F., & Michels, K. B. (2009). Lactation and incidence of premenopausal breast cancer: a longitudinal study. *Archives of internal medicine*, 169(15), 1364-1371.
- Terry, P. D., & Rohan, T. E. (2002). Cigarette smoking and the risk of breast cancer in women: a review of the literature. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 11(10), 953-971.
- Van den Brandt, P. A., Spiegelman, D., Yaun, S.-S., Adami, H.-O., Beeson, L., Folsom, A. R., Fraser, G., Goldbohm, R. A., Graham, S., & Kushi, L. (2000). Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. *American journal of epidemiology*, 152(6), 514-527.
- Zhai, X., Gao, J., Hu, Z., Tang, J., Qin, J., Wang, S., Wang, X., Jin, G., Liu, J., & Chen, W. (2006). Polymorphisms in thymidylate synthase gene and susceptibility to breast cancer in a Chinese population: a case-control analysis. *BMc cancer*, 6(1), 138.

## علاقة عوامل خطر الإصابة بسرطان الثدي لدى النساء الليبيات

سميرة ضو امعقل<sup>1\*</sup>، أحمد عبدالعزيز عقيل<sup>1</sup>، مصطفى عمر عبدالرحيم<sup>2</sup>

<sup>1</sup>قسم المختبرات، المعهد العالي للتقنيات الطبية، بني وليد، ليبيا

<sup>2</sup>قسم التقنيات الحيوية، كلية العلوم، جامعة الزنتونة، ترهونة، ليبيا

تاريخ الاستلام: 15 يوليو 2020 / تاريخ القبول: 25 ديسمبر 2020

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.270>:Doi

**المستخلص:** يعتبر سرطان الثدي من أكثر أنواع السرطانات شيوعاً بين النساء في ليبيا، وقد أثبتت عدة دراسات سابقة وجود عوامل وراثية وبيئية مرتبطة بالإصابة بسرطان الثدي لدى الإناث مثل نوع الجنس، والعمر، والسمنة، والرضاعة، وسن اليأس، والعلاج الهرموني، والتدخين، وتناول الكحول. تهدف هذه الدراسة إلى معرفة أهم عوامل خطر الإصابة بسرطان الثدي لدى النساء الليبيات، حيث تمت دراسة هذه العوامل على 138 مشاركة، 100 منهن غير مصابة بسرطان الثدي (المجموعة الضابطة) و38 منهن مصابة بسرطان الثدي لمعرفة ارتباط هذه العوامل مع الإصابة بسرطان الثدي لدى النساء الليبيات وذلك باستخدام استبيان يضم مجموعة من الأسئلة حول أهم عوامل خطر الإصابة تضمنت العمر، العمر عند اكتشاف المرض، التاريخ العائلي للمرض، التدخين السلبي، سن اليأس، الحالة الاجتماعية، عدد مرات الحمل، العمر عند أول حمل، الرضاعة، الفحص الذاتي. وتم توزيع الاستبيان على المشاركات، و تحليل البيانات عن طريق البرنامج الإحصائي SPSS. أظهرت النتائج بأن خطر الإصابة بسرطان الثدي مرتبط بالعمر حيث كان متوسط العمر في كل من مجموعة المرضى ( $46.7 \pm 15.6$ ) والمجموعة الضابطة ( $38.8 \pm 19.1$ )، العمر عند أول إنجاب ( $P=0.036$ )، التاريخ العائلي للمرض ( $P=0.042$ )، سن اليأس ( $P=0.002$ ). أوضحت الدراسة أن معدل خطر الإصابة بسرطان الثدي ينخفض لدى النساء المرضعات ( $P=0.033$ )، لم تثبت الدراسة وجود علاقة بين سرطان الثدي وكل من التدخين السلبي ( $P=0.363$ ) وعدد مناسبات الحمل والولادة ( $P=0.402$ )، علاوة على ذلك، وجد أن النساء الليبيات تحتاج إلى زيادة في حملات التوعية بأهمية الفحص الذاتي والكشف المبكر وذلك لزيادة فرص النجاة من هذا المرض. نستنتج من خلال نتائج هذه الدراسة أن هناك عوامل مرتبطة بالإصابة بسرطان الثدي لدى النساء الليبيات وتشمل كل من العمر، والتاريخ العائلي، والسن عند أول إنجاب، وسن اليأس.

**الكلمات المفتاحية:** سرطان الثدي، عوامل الخطر، الإناث الليبيات.



## تقييم تسع نماذج لتقدير البخر-نتح المرجعي في منطقة تراغن جنوب غرب ليبيا

علي عثمان الغصني

قسم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

تاريخ الاستلام: 25 أكتوبر 2020 / تاريخ القبول: 18 ديسمبر 2020

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.299>:Doi

**المستخلص:** أجريت هذه الدراسة لغرض تقييم أداء تسع نماذج لحساب البخر-نتح المرجعي وإيجاد أفضل بديل لنموذج الفاو بنمان-مونثيث (المرجعي في هذه الدراسة) في منطقة تراغن بجنوب غرب ليبيا. النماذج المستخدمة تشمل الفاو بنمان-مونثيث والفاو الإشعاعي والفاو بلاني-كريدل وهارقريفز-سماني وبريستلي-تايلور وماكينك وتورك وثورنثويت وخروفة وماككلود. تم مقارنة النماذج باستخدام المعايير الإحصائية التالية: الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ، متوسط خطأ التحيز، ومعامل التحديد، ومؤشر التوافق المحسّن، وكفاءة النموذج، واختبار تي. بيّنت النتائج أن نموذجي الفاو الإشعاعي والفاو بلاني-كريدل أظهرتا زيادة في قيم البخر-نتح المرجعي المقدّرة في جميع أشهر السنة وتتراوح نسبة الزيادة من 0.64% إلى 16.06%. أظهر نموذجا خروفة وماككلود زيادة في تقدير البخر-نتح المرجعي خلال أشهر وتقليل خلال أشهرٍ أخرى. قللت بقية النماذج في تقدير البخر-نتح المرجعي بنسب متفاوتة يتراوح مداها من -86.69% إلى -6.02%. أظهر نموذج الفاو الإشعاعي أعلى قيم لمؤشر التوافق المحسّن (0.892) وكفاءة النموذج (0.951) وأدنى قيمة للجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (0.534 م/يوم)، إضافة إلى ذلك أعطى نموذج الفاو الإشعاعي ثاني أفضل القيم لمعامل التحديد (0.993) ومتوسط خطأ التحيز (0.473)، وهذا يضعه في المرتبة الأولى والبديل الأفضل لنموذج الفاو بنمان-مونثيث القياسي في منطقة الدراسة. يلي نموذج الفاو الإشعاعي في الترتيب نموذج الفاو بلاني-كريدل حيث أعطى ثاني أفضل القيم في مؤشر التوافق المحسّن بمقدار 0.851 وكفاءة النموذج بمقدار 0.878 والجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ بمقدار 0.845 م/يوم، وثالث أعلى قيمة لمعامل التحديد بمقدار 0.989، ولذلك صُنّف في المرتبة الثانية. وفقا للمعايير السابقة، حاز نموذج تورك على المرتبة الثالثة، ونموذج خروفة على المرتبة الرابعة، وحلّت نماذج هارقريفز-سماني، وماكينك، وبريستلي-تايلور، وثورنثويت، وماككلود في المراتب الخامسة والسادسة والسابعة والثامنة والتاسعة، على التوالي. أظهر اختبار تي عند مستوي معنوية 5% وجود فروق معنوية بين نموذج الفاو بنمان-مونثيث وجميع النماذج ما عدا نموذجي خروفة وماككلود.

**الكلمات المفتاحية:** البخر-نتح المرجعي، الفاو بنمان-مونثيث، الفاو الإشعاعي، الفاو بلاني-كريدل، تورك، هارقريفز-سماني، ثورنثويت، بريستلي-تايلور، ماككلود.

(Sentelhas وآخرون، 2010). التحديد الكمي للبخر-نتح

غالبا ما يتطلب تقدير قيم البخر-نتح المرجعي ( $ET_0$ ) التي تستعمل بشكل واسع في هندسة الري لتحديد الاحتياجات المائية للمحاصيل التي تعتبر من البيانات الأساسية المطلوبة في عمليات تخطيط وتصميم أنظمة الري الجديدة وكذلك إدارة مياه الري في أنظمة الري العاملة (Allen و Droogers،

## المقدمة

البخر-نتح ( $ET$ ) هو مصطلح يصف انتقال الماء إلى الهواء الجوي بواسطة عمليتي البخر والنتح وهما عمليتان تحدثان معاً بشكل مترامن في نظام التربة والنبات. البخر-نتح من العوامل المهمة في الدراسات المناخية والهيدرولوجية وكذلك في الأعمال المتعلقة بإدارة الموارد المائية والدراسات البيئية

\* علي عثمان الغصني [aalghusni@yahoo.com](mailto:aalghusni@yahoo.com) قسم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

البحوث والدراسات ضعف نماذج الفاو الأربعة المقترحة، وظهر جلياً أنها لا تسلك نفس النهج في المواقع المختلفة من العالم (Allen وآخرون، 1998؛ Pereira وآخرون، 2015). طوّر خبراء الفاو منهجية الطرق المستخدمة في إيجاد الاحتياجات المائية للمحاصيل، وأوصوا بتقدير البخر-نتح المرجعي باستخدام الصورة المعدلة من نموذج بنمان-مونثيث (Allen وآخرون، 1998). قدم ماكينك (Makkink، 1957) نموذجاً يعتمد على بيانات الإشعاع لتقدير البخر-نتح المرجعي، ويهمل النموذج العوامل الإيروديناميكية. قدّم تورك (Turc، 1961) نموذجاً لحساب البخر-نتح المرجعي باستعمال درجة الحرارة والإشعاع الشمسي فقط، كذلك قدّم بريستلي وتايلور (Priestley و Taylor، 1972) نموذجاً يتطلب بيانات محدودة (Liu و Erda، 2005). طوّر هارقريفز وسماني (Hargreaves و Samani، 1985) نموذجاً تجريبياً لحساب البخر-نتح المرجعي في المناطق الجافة يتطلب تطبيقه توفّر درجة الحرارة فقط. أجريت دراسة موسعة تحت ظروف مناخية متباينة، برعاية الجمعية الأمريكية للمهندسين المدنيين (ASCE)، لتقييم عشرين طريقة لتقدير البخر-نتح المرجعي قياساً بمجموعة بيانات مسجلة من لايسيمترات في أحد عشر موقعاً موزعا حول العالم. أكدت الدراسة وجود تباين واسع في أداء هذه الطرق تحت ظروف مناخية مختلفة (Jensen وآخرون، 1990).

ذكر كزايستراكس وماتزاراكس (Xystrakis و Matzarakis، 2011) أن نموذجي هانسن، وتورك أظهر أفضل نتائج من بين 13 نموذجاً تم تقييمها في جزيرة كريت بجنوب اليونان. بيّن العديد من الباحثين أن نموذج تورك أظهر أداءً جيداً في المناطق الرطبة، والدافئة مثل: شمال كارولينا (Amatya وآخرون، 1995) وفلوريدا بالولايات المتحدة الأمريكية (Irmak وآخرون، 2003b) والهند (George وآخرون، 2002) وفي شرق الأمريزون بالبرازيل (Junior وآخرون، 2017). كما بيّن جاكوبس وساتي (Jacobs و Satti، 2001) في فلوريدا بالولايات المتحدة الأمريكية أن نموذج

(2002). يُعرّف البخر-نتح المرجعي على أنه معدل البخر-نتح من محصول عشبي افتراضي له طول يبلغ 0.12 متر ومقاومة سطحية ثابتة مقدارها 70 ثانية/متر وانعكاسية 0.23 متر ويشبه إلى حد كبير البخر-نتح من سطح عشبي أخضر شاسع المساحة وبارتفاع منتظم وينمو بشكل فعّال ويظل التربة بشكل كامل ولا يعاني من نقص في الماء (Allen وآخرون، 1998).

يستخدم مصطلح البخر-نتح للمحصول ( $ET_c$ ) في تقدير الاحتياجات المائية للمحاصيل ويُعبّر هذا المصطلح عن البخر-نتح من محصول خالي من الأمراض وجيد التسميد وينمو في حقل شاسع تحت ظروف ماء تربة مثالي ويعطي إنتاجية كاملة تحت ظروف مناخية معينة (Allen و وآخرون، 1998). يمكن قياس البخر-نتح للمحصول باستخدام اللايسيمترات ولكنها محدودة الاستخدام بسبب كلفتها العالية وحاجتها إلى الخبرة (Allen و وآخرون، 1998). يمكن حساب البخر-نتح للمحصول ( $ET_c$ ) بدلاً من قياسه وذلك بضرب البخر-نتح المرجعي ( $ET_o$ ) في معامل نوعي ( $k_c$ ) يخص المحصول (Jensen، 1968). طوّرت في العقود الخمسة الماضية العديد من النماذج (معادلات رياضية) لتقدير البخر-نتح المرجعي في أنحاء مختلفة من العالم وتتباين دقة هذه النماذج الرياضية مع اختلاف الظروف المناخية، وتبيّن أن صلاحية استخدامها على المستوى العالمي محدود (Allen و وآخرون، 1998). طوّر بنمان (Penman، 1948) نموذج نظري لحساب البخر من سطح ماء مفتوح وتربة غير مغطاة بواسطة دمج معادلة ميزان الطاقة مع معادلة انتقال الكتلة. دمج مونثيث (Monteith، 1965) عوامل المقاومة الهوائية والمقاومة السطحية في نموذج بنمان للوصول إلى ما يُعرف الآن بنموذج بنمان-مونثيث (Monteith model - Penman). أوصت منظمة الأغذية والزراعة (الفاو) خلال سبعينات القرن الماضي بتقدير البخر-نتح المرجعي باستخدام نماذج الفاو بلاني-كريدل، والفاو الإشعاعية، والفاو بنمان، وحوض البخر (Doorenbos و Pruitt، 1977). أثبتت

(Penman-Kimberly 1996) ثم ثالثاً نموذج الفاو بنمان-مونتيث، بينما أظهرت نماذج الفاو بلاني-كريدل وهارقريفز-سماني وماكينك أداءً رديئاً (Bakhtiari وآخرون، 2011). دعمت نتائج دراسة رزاقى وسيباسخا (Razzaghi و Sepaskhah، 2010) تفوق نموذج الفاو الإشعاعي عندما تتوفر قياسات درجة الحرارة والإشعاع بينما يتفوق نموذج هارقريفز-سماني عندما تتوفر قياسات درجة الحرارة فقط. في شمال شرق الهند، أظهر النموذج الإشعاعي إيرماك3 (Irmak3) ونموذج تورك أداءً متساوياً وجيداً وهما الأفضل من بين ثمانية عشر نموذجاً لتقدير البخر-نتح المرجعي (Pandey وآخرون، 2016).

أعطى نموذج هارقريفز نتائج أعلى بمقدار 18.9 % مقارنة بنموذج الفاو بنمان-مونتيث في مناطق رطبة بشمال شرق إيطاليا (Berti وآخرون، 2014). بيّنت نتائج تشن وآخرون (Chen وآخرون، 2005b) أن أداء نماذج كل من بلاني-كريدل وهارقريفز-سماني وخروفة وماكينك، وبريستلي-تايلور وهارقريفز كان بعيداً عن أداء النموذج المرجعي. أعطى نموذجاً بريستلي-تايلور وهارقريفز-سماني أفضل النتائج في المناطق الجافة وشبه الجافة في الصين، بينما كان نموذج ماكينك هو الأفضل في المناطق الرطبة من الولايات المتحدة الأمريكية (Gao وآخرون، 2017). دلّت نتائج كوردوفا وآخرون (Córdova وآخرون، 2015) أن حساب البخر-نتح المرجعي باستخدام نموذج الفاو بنمان-مونتيث في ظروف بيانات مفقودة يؤدي إلى أخطاء تصل إلى 24 % في مناطق جافة ورطبة في شمال إيران، بيّنت نتائج جوشاني وآخرون (Joshani وآخرون، 2015) إن أفضل نماذج الأداء قياساً بحوض البخر كان لنماذج الفاو بلاني-كريدل، والفاو الإشعاعي، وهارقريفز-سماني، وتورك. بيّنت نتائج تشن وآخرون (Chen وآخرون، 2005a) أن طريقة حوض البخر أفضل قياساً (بالفاو بنمان-مونتيث) من نتائج نموذج ثورنثويت. أعطى نموذج تورك، في ظروف رطبة، نتائج أفضل من نموذج هارقريفز بصورة مختزلة من نموذج الفاو

تورك كان الأفضل أداءً على المقياس الشهري والسنوي، أما على المدى القصير فهو غير دقيق. بيّنت نتائج دوقلاص وآخرون (Douglas وآخرون، 2009) وفي نفس المنطقة (فلوريدا) أن نموذج بريستلي-تايلور أعطى أفضل النتائج مقارنةً بالنماذج الأخرى التي كان من ضمنها نموذج تورك. بيّنت دراسات عديدة أن نموذج تورك ملائم لحساب البخر-نتح المرجعي في المناطق الرطبة وتحت الرطوبة (Nandagiri و Kovoov، 2006؛ Trajkovic و Kolakovic، 2009؛ Fisher و Pringle، 2013). كما بيّن طباري (Tabari، 2010) أن نموذج تورك هو الأفضل في المناخات الرطبة الباردة والجافة بينما نموذج هارقريفز-سماني هو الأفضل في المناخات الرطبة الدافئة وشبه الجافة. عزّزت بعض الدراسات استعمال طريقة هارقريفز كبديل في المناطق الجافة وشبه الجافة (Allen و Hargreaves، 2003؛ Tabari، 2010؛ Raziei و Pereira، 2013؛ Sheikh و Mohammadi، 2013؛ Sabziparvar و Tabari، 2010) والمناطق الرطبة (Alkaeed وآخرون، 2006)، بينما لم تدعم بعض الدراسات استعمال نموذج هارقريفز-سماني في المناطق الجافة وشبه الجافة (Djaman وآخرون، 2015) والمناطق الرطبة (Rojas و Sheffield، 2013).

في شمال البرازيل، أظهرت نتائج كابوروسو ورولم (Caporusso و Rolim، 2015) أن نموذج بريستلي-تايلور هو الأفضل، بينما في منطقة الوسط الغربي من البرازيل تحسّل اوليفيرا وآخرون (Oliveira وآخرون، 2011) على دقة مقبولة باستخدام طريقة هارقريفز-سماني. أكّدت دراسات عديدة أن نموذج تورك أعطى نتائج واعدة منها دراسة إيرماك وآخرون (Irmak وآخرون، 2008) ومارتينيز وثيبيديا (Martinez و Thepadia، 2010) ويودير وآخرون (Yoder وآخرون، 2005). أعطى نموذج الفاو الإشعاعي مقارنةً ببيانات لايسيمتر أفضل النتائج في منطقة شبه جافة بجنوب شرق إيران، ويليه ثانياً نموذج بنمان-كيمبرلي



تايلور، وماكينك، وتورك، وثورنثويت، وخروفة، وماككلود.

### المواد وطرق البحث

#### موقع الدراسة والبيانات المناخية:

أجريت هذه الدراسة على بيانات مناخية لمنطقة تراغن بالجنوب الغربي من ليبيا، تم الحصول على البيانات المناخية من المركز الوطني للأرصاد الجوية وتغطي الفترة الممتدة من عام 1993 إلى عام 2016 م. تقع المنطقة على خط طول 27° 14' شرقاً ودائرة عرض 56° 25' شمالاً وترتفع عن مستوى سطح البحر بمقدار 421 متر ويسود فيها المناخ الصحراوي الجاف. سجّلت المحطة أكثر الأشهر برودةً في شهر يناير حيث انخفض متوسط درجة الحرارة إلى 13.12° م بينما شهر أغسطس الأكثر ارتفاعاً في درجة الحرارة حيث وصل متوسط درجة الحرارة إلى 32.77° م. وصل متوسط أعلى قيمة للرطوبة النسبية إلى 42.45% خلال شهر ديسمبر بينما انخفض متوسط أدنى قيمة للرطوبة النسبية إلى 19.09% في شهر مايو. سجّلت في شهر يناير أعلى قيمة لمتوسط هطول الأمطار فكانت 128.2 مم بينما سجل في شهر يوليو أقل قيمة لمتوسط هطول الأمطار فكانت 0.6 مم. سجّلت أعلى قيمة لمتوسط سرعة الرياح على ارتفاع 2 متر في شهر إبريل فكانت 7.81 م/ث، ومتوسط أدنى قيمة لسرعة الرياح على ارتفاع 2 متر سجّلت في شهر ديسمبر فكانت 4.8 م/ث. سجّل متوسط أعلى عدد ساعات السطوع الشمسي في شهر يوليو فكان 12.3 ساعة/يوم بينما سجل متوسط أدنى قيمة لعدد ساعات السطوع الشمسي في شهر يناير بمعدل 8.47 ساعة/يوم. تشمل البيانات المناخية درجات الحرارة العظمى ( $T_{max}$ )، ودرجات الحرارة الصغرى ( $T_{min}$ )، ودرجات الحرارة عند نقطة الندى ( $T_{dew}$ )، ودرجات حرارة الترمومتر الجاف ( $T_{dry}$ )، ودرجات حرارة الترمومتر المبلل ( $T_{wet}$ )، والرطوبة النسبية (RH)، وسرعة الرياح (U) وعدد ساعات السطوع الشمسي (n).

الطرق المستخدمة في تقدير البحر-نتج المرجعي : إن أدق

بنمان- مونتيت (Fisher و Pringle، 2013). بينت نتائج دجامان وآخرون (Djaman، 2017) في تزانبا وكينيا أن نماذج بنمان (Penman، 1948) ومهرينقر (Mahringer، 1970) وترايبرت (Trabert، 1896) ورومانينكو (Romanenko، 1961) أظهرت أداءً جيداً في مناطق الدراسة. أظهرت نتائج الرجبو وآخرون (2008) في عدة مواقع من العراق أن حوض البحر كان الأفضل في الموصل بينما كان نموذج هارقريفز-سماني الأفضل في ربيعة والبعاج وكان نموذج الفاو بلاني-كريدل الأفضل في تلعفر. تحسّن أداء نموذج بلاني-كريدل مقارنةً بنموذج الفاو بنمان-مونتيت بعد تعديله لملاءمة مناطق جافة بجنوب غرب ليبيا (Abd El-Wahed و Abd El-Mageed، 2014).

أظهر نموذج الفاو بلاني-كريدل قياساً بنموذج بنمان-مونتيت، في منطقة شحات بشمال شرق ليبيا، أداءً أفضل من نماذج الفاو الإشعاعي وماكينك وهارقريفز-سماني وتورك وثورنثويت وبريستلي-تايلور، وكان الأسوأ أداءً نموذج ثورنثويت (مؤمن وعبد العاطي، 2016). كذلك أظهر نموذج الفاو بلاني-كريدل، قياساً بنموذج بنمان-مونتيت في مناطق جبلية وساحلية من ليبيا، أداءً أفضل من نماذج الفاو الإشعاعي، وماكينك وهارقريفز-سماني، وتورك، وثورنثويت، وبريستلي-تايلور وخروفة، وخوسلا بينما كان الأسوأ أداءً نموذجي ثورنثويت وخوسلا (عبد السميع وإخنيفر، 2020). يتطلب تطبيق نموذج الفاو بنمان-مونتيت توفر بيانات مناخية عديدة قد يتعذر الحصول عليها (Smith وآخرون، 1991؛ Allen وآخرون، 1998) ولذلك ظهرت الحاجة إلى نموذج بديل يتميز بالبساطة ولا يتطلب تطبيقه بيانات مناخية عديدة قد لا يكون بعضها متوفراً في جميع محطات الأرصاد الجوي. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم أداء تسعة نماذج لحساب البحر-نتج المرجعي وتحديد أدقها وأبسطها وذلك للحصول على بدائل مناسبة لنموذج الفاو بنمان-مونتيت في منطقة تراغن بجنوب غرب ليبيا. النماذج التسعة المستخدمة تتضمن الفاو الإشعاعي، والفاو بلاني-كريدل وهارقريفز-سماني، وبريستلي-

طريقة لتحديد البخر-نتج المرجعي هي قياسه بأحد الطرق المعتمدة مثل أجهزة اللايسيمترات، ولكن لا تتوفر مثل هذه الأجهزة في ليبيا، ويكلف إنشاؤها الكثير من الأموال، ويستغرق وقتاً وجهداً كبيرين. لذلك تم تقدير البخر-نتج المرجعي بطرق غير مباشرة وذلك باستخدام صيغ لنماذج رياضية عديدة تختلف في تعقيدها ومتطلبات مدخلاتها ودقة حساباتها. يعتبر نموذج الفاو بنمان-مونثيث من أدق النماذج لحساب البخر-نتج المرجعي (Smith وآخرون، 1991؛ Allen وآخرون، 1998)، وأثبتت العديد من الدراسات في أنحاء مختلفة من العالم وفي ظروف مناخية مختلفة أن نموذج الفاو بنمان-مونثيث يعطي نتائج دقيقة يعتمد عليها مقارنة بقيم مقاسة من لايسيمترات (Mendonça وآخرون، 2003؛ DehghaniSanij وآخرون، 2004؛ Yoder وآخرون، 2005؛ Xu و Chen، 2005؛ López-Urrea وآخرون، 2006؛ Xavier وآخرون، 2015؛ Ghamarnia وآخرون، 2015).

يُتبع برنامج Ref-ET حساب البخر-نتج المرجعي بطريقة الفاو بنمان-مونثيث القياسية وفقاً للخطوات الواردة في ورقة الفاو للري والصرف رقم 56 (Allen وآخرون، 1998)، وهي الطريقة المعتمدة في هذه الدراسة، ويتبع برنامج Ref-ET حساب البخر-نتج المرجعي بطريقة بنمان-مونثيث القياسية للجمعية الأمريكية للمهندسين المدنيين (ASCE-EWRI، 2005) وفقاً للخطوات والإرشادات المدونة في دليل الجمعية الأمريكية للمهندسين المدنيين وتقارير الممارسة الهندسية رقم 70 (Jensen وآخرون، 1990). يمكن الحصول على تفاصيل وافية عن خصائص البرنامج وكيفية استخدامه في دليل المستخدم الخاص بالبرنامج (Allen و Li، 2016). فيما يلي عرض لصيغ النماذج المستخدمة:

نموذج الفاو بنمان-مونثيث (Allen وآخرون، 1998):

$$ET_o = \frac{0.408\Delta(R_n - G) + \gamma \frac{900}{T_{av} + 273} U_2 (e_s - e_a)}{\Delta + \gamma (1 + 0.34 U_2)}$$

حيث أن:  $ET_o$  = البخر-نتج المرجعي (مم/يوم).

$R_n$  = صافي الإشعاع الشمسي عند سطح المحصول (ميغا جول /م<sup>2</sup> /يوم).  $G$  = شدة تدفق حرارة التربة (ميغا جول /م<sup>2</sup> /يوم).  $T_{av}$  = متوسط درجة حرارة الهواء اليومية عند ارتفاع 2 متر (م °).  $\gamma$  = ثابت جهاز قياس الرطوبة السايكرومتر

استخدم نموذج الفاو بنمان-مونثيث في الدراسات والبحوث بشكل واسع كطريقة قياسية لتقييم نماذج البخر-نتج المرجعي (Itenfisu وآخرون، 2003؛ Xu وآخرون، 2013؛ Tabari وآخرون، 2013؛ Berti وآخرون، 2014؛ Djaman وآخرون، 2015؛ Pereira وآخرون، 2015؛ Pandey وآخرون، 2016).

لذلك تم في هذه الدراسة استخدام نموذج الفاو بنمان-مونثيث كمييار أو مقياس لتقييم نتائج البخر-نتج المرجعي المقدر بتسع نماذج مختلفة. تعتمد بعض النماذج التي تم اختيارها على بيانات الإشعاع فقط، وتشمل كل من نموذج الفاو الإشعاعي (FAO-24 Radiation) ونموذج بريستلي-تايلور (Taylor و Priestley، 1972) ونموذج ماكينيك (Makkink، 1957) ونموذج تورك (Turc، 1961) وبعضها الآخر يعتمد على بيانات درجة الحرارة فقط وتشمل كل من نموذج الفاو بلاني-كريدل (Blaney-Criddle) ونموذج هارغريفز-سماني (FAO-24 و Hargreaves).

$$ET_o = 0.34pT_m^{1.34}$$

حيث إن  $p$  = النسبة المئوية لعدد الساعات المضيئة خلال شهر إلى عدد الساعات المضيئة خلال عام.

نموذج ماكينك (Yoder وآخرون، 2005؛ Pandey وآخرون، 2016):

$$ET_o = 0.61 \frac{\Delta}{\Delta + \gamma} \frac{R_s}{\lambda} - 0.12$$

حيث إن:  $\lambda$  = الحرارة الكامنة للبخار (ميغا جول/كجم).  
 $R_s$  = الإشعاع الشمسي قصير الموجة (ميغا جول/م<sup>2</sup>/اليوم).

نموذج الفاو الإشعاعي (Pruitt و Doorenbos، 1977):

$$ET_o = c (w \cdot R_s)$$

حيث:  $W$  = معامل وزني يعتمد على درجة الحرارة والإشعاع.  $C$  = معامل تعديل يعتمد على متوسط الرطوبة والرياح في النهار.

نموذج ماكلاود (Satti و Jacobs، 2001):

$$ET_p = KW^{(T-32)}$$

حيث:  $ET_p$  = جهد البخر-نتح المرجعي (بوصة/اليوم).  
 $K = 0.01$ ،  $W = 1.07$ ،  $T$  = متوسط درجة الحرارة (F).

نموذج بريستلي-تايلور (Pandey وآخرون، 2016):

$$ET_o = 1.26 \frac{\Delta}{\Delta + \gamma} (R_n - G) \frac{1}{\lambda}$$

نموذج تورك (Allen و Li، 2016):

يكتب نموذج تورك في الصيغة الرياضية التالية:

$$ET_o = a_T 0.0133 \frac{T_m}{T_m + 15} \frac{23.8856 R_s + 50}{\lambda}$$

حيث:  $a_T = 1$  إذا كان متوسط الرطوبة النسبية ( $RH_m$ ) أكبر من أو يساوي 50 % وإذا كان متوسط الرطوبة النسبية ( $RH_m$ ) أقل من 50 % فتحسب  $a_T$  كالتالي:

$$a_T = 1 + \left( \frac{50 - RH_m}{70} \right)$$

المعايير الإحصائية المستخدمة في تحليل النتائج: تم تقييم جودة نماذج حساب البخر-نتح المرجعي المختارة بتطبيق عدة

(كيلو باسكال/م<sup>2</sup>).  $U_2$  = سرعة الرياح عند ارتفاع 2 متر (م/ث).  
 $e_s$  = ضغط البخار المشبع (كيلو باسكال).  
 $e_a$  = ضغط البخار الفعلي (كيلو باسكال).

$\Delta$  = ميل منحني ضغط البخار المشبع (كيلو باسكال/م<sup>2</sup>).

نموذج الفاو بلاني-كريدل (Pruitt و Doorenbos، 1977):

$$ET_o = c [P(0.46 T_m + 8)]$$

حيث أن:  $T_m$  = متوسط درجة حرارة الهواء (م<sup>2</sup>).  
 $P$  = المتوسط اليومي للنسبة المئوية لإجمالي ساعات النهار السنوية للشهر المحدد وخط العرض المحدد.  $c$  = معامل يعتمد على أدنى نسبة رطوبة للجو، ساعات الإضاءة في اليوم وسرعة الرياح في النهار وتستخدم منحنيات خاصة لتقدير قيم  $ET_o$  وذلك حسب نسبة الرطوبة الجوية الدنيا، ونسبة ساعات السطوح الشمسي، وسرعة الرياح في النهار.

نموذج ثورنثويت (Satti و Jacobs، 2001):

$$ET_o = 1.6 \left( \frac{10 T_m}{I} \right)^a$$

حيث إن:  $I$  = معامل (دليل) الحرارة heat index لفترة 12 شهراً من العام ويحسب كالتالي:

$$I = \sum_{i=1}^{12} \left( \frac{T_m}{5} \right)^{1.514}$$

حيث:  $i$  = تدل على كل شهر من أشهر السنة.  $a$  = معامل يعتمد على قيمة دليل الحرارة ( $I$ ) ويحسب كالتالي:

$$a = 6.75 \times 10^{-7} I^3 - 7.71 \times 10^{-5} I^2 + 1.792 \times 10^{-2} I + 0.49239$$

نموذج هارقريفز-سماني (Yoder وآخرون، 2005):

$$ET_o = 0.0023(T_{max} - T_{min})^{0.5}(T_m - 17.8)R_a$$

حيث إن:  $T_{max}$  = درجة الحرارة العظمى (م<sup>2</sup>).  
 $T_{min}$  = درجة الحرارة الصغرى (م<sup>2</sup>).  
 $R_a$  = الإشعاع الشمسي الواصل إلى الغلاف الجوي (ميغا جول/م<sup>2</sup>/يوم).

نموذج خروفة (Chen وآخرون، 2005):

النموذج بدرجة من الدقة مساوية لمتوسط البيانات المقاسة، بينما كفاءة أقل من الصفر ( $E_f < 0$ ) تحدث عندما يكون متوسط البيانات المقاسة يعطي تقديراً أفضل من النموذج. مؤشر أو دليل التوافق المُحسَّن ( $d_f$ ) وهو معيار إحصائي يستخدم للدلالة على جودة أداء النماذج الرياضية وهو معيار بدون أبعاد تتراوح قيمته بين موجب واحد وسالب واحد (1 إلى -1) (Willmott وآخرون، 2012). مؤشر التوافق المُحسَّن هو صورة معدلة من مؤشر التوافق المحوَّر (modified index of agreement,  $d_{mod}$ ) التوافق المحوَّر هو تعديل لمؤشر التوافق الأصلي لويلموت (Willmott original index of agreement,  $d_{org}$ ) المطور في ثمانينات القرن الماضي (Willmott، 1981، 1982، 1984).

مؤشر التوافق المُحسَّن معيار قياسي لدرجة خطأ تقدير النماذج الرياضية وذلك للتغلب على عدم حساسية كل من معامل الكفاءة ( $E_f$ ) ومعامل التحديد ( $R^2$ ) للفروق بين المتوسطات القياسية والمتوسطات المقدره بالنماذج. يستخدم معامل التحديد ( $R^2$ ) بشكل واسع لتقييم مدى جودة تطابق نماذج البخر-نتح (goodness-of-fit) ولكنه شديد الحساسية للقيم المتطرفة (outliers) وغير حساس للفروق المضافة والتناسبية (additive and proportional differences) بين القيم المقدره والمقاسة (Legates و McCabe، 1999). الارتباط (بين البيانات المقدره بواسطة النموذج والبيانات المقاسة) الذي يصفه معامل التحديد غير كافي وعادةً ما يؤدي إلى مقاييس للدقة غير صحيحة (Willmott، 1982). لذلك عندما يستخدم معامل التحديد ( $R^2$ ) بمفرده يمكن أن يعطي دلالة خاطئة بأن نموذج معين هو أفضل مُقدِّر للبخر-نتح وفي الواقع هو غير ذلك (Yoder وآخرون، 2005). للحصول على فرز حقيقي وتحليل صحيح للنتائج تستخدم معايير متعددة لتقييم أداء نماذج البخر-نتح (Gao وآخرون، 2017). لا يُنصح باستخدام الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (RMSE) ومتوسط خطأ التحيز (MBE) بمفردهما؛ لأنه قد يتسبب في

معايير إحصائية شائع استخدامها في العديد من دراسات البخر-نتح (Pandey وآخرون، 2016؛ Djaman وآخرون، 2015؛ Popova، 2006؛ Joshani وآخرون، 2011). المعايير الإحصائية المستخدمة هي: كفاءة النموذج (Modeling Efficiency,  $E_f$ ) واختبار تي (t-test) والجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (Root Mean Square Error, RMSE) ومتوسط خطأ التحيز (Mean Bias Error, MBE) ومعامل التحديد (Determination coefficient,  $R^2$ ) ومؤشر التوافق المُحسَّن (Refined index of agreement). معامل التحديد ( $R^2$ ) هو مقياس يستخدم في التحاليل الإحصائية لتقييم مدى جودة نموذج ما في شرح النتائج المستقبلية والتنبؤ بها كما يدل معامل التحديد أيضاً على مستوى التباين الموضح في مجموعة البيانات. يستخدم معامل التحديد كدليل توجيهي لقياس دقة النموذج، كما يستخدم لشرح مقدار أو كم التباين في عامل واحد الذي ينتج عن علاقته بعامل آخر. ويتم تمثيله كقيمة بين صفر والواحد (0-1) فكلما كانت القيمة أقرب إلى الواحد كان التناسب أفضل، أو العلاقة بين العاملين تكون أفضل. يستخدم اختبار تي (t-test) لقياس الفرق المعنوي بين متوسطي عينتين مستقلتين.

معامل كفاءة النموذج ( $E_f$ ) ويسمى أيضاً معامل كفاءة ناش-سوتكليف (Nash و Sutcliffe، 1970)، استخدم أساساً لتقييم القدرة التقديرية للنماذج الهيدرولوجية ولكن امتد استخدامه لوصف الدقة التنبؤية لنماذج مختلفة شرط وجود قيم مقاسة للمقارنة. يستخدم معامل كفاءة النموذج لفحص ما إذا كان الفرق بين البيانات المقاسة والمقدرة بقدر تباين البيانات المقاسة ويتراوح مدى معامل كفاءة النموذج من  $-\infty$  إلى 1.0، فكلما اقتربت كفاءة النموذج من الواحد كلما كان النموذج دقيقاً في تقديراته، عندما تكون الكفاءة تساوي الواحد ( $E_f = 1$ ) هذا يعني تطابق تام بين نتائج النموذج والقيم المقاسة، وكفاءة تساوي صفر ( $E_f = 0$ ) تدل على أن البيانات المقدره باستخدام

النموذج الرياضي المستخدم لإيجاد اختبار (t) كالاتي (مؤمن وعبد العاطي، 2016؛ Joshani وآخرون، 2015):

$$t = \frac{(n-1)(MBE)^2}{(RMSE)^2 - (MBE)^2}$$

حيث إن:

$ET_{Prdict i}$  = البخر-نتج المرجعي المحسوب بواسطة إحدى النماذج المستخدمة في الدراسة للشهر i.

$ET_{Stndrd i}$  = البخر-نتج المرجعي المحسوب بواسطة نموذج الفاو بنمان-مونتيث القياسي للشهر i.

$\overline{ET}_{Stndrd}$  = متوسط البخر-نتج المرجعي المحسوب بواسطة نموذج الفاو بنمان-مونتيث القياسي للشهر i.

$\overline{ET}_{Prdict i}$  = متوسط البخر-نتج المرجعي المحسوب بواسطة إحدى النماذج المستخدمة في الدراسة للشهر i.

n = العدد الكلي للبيانات. i = تدل على شهر من أشهر السنة.  $E_f$  = كفاءة النموذج.

RMSE = الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ.

MBE = متوسط خطأ التحيز. t = اختبار تي.

$R^2$  = معامل التحديد.  $d_f$  = دليل أو مؤشر التوافق المُحسَّن .

## النتائج

تم تقييم أداء النماذج المستهدفة في هذه الدراسة قياساً بنموذج الفاو بنمان-مونتيث (المرجعية في هذه الدراسة). تم إدخال البيانات المناخية في الصيغ الرياضية للنماذج المستهدفة، ومن مخرجاتها تم الحصول على قيم المتوسطات الشهرية للبخر-نتج المرجعي اليومي بالمليمتراً بالطرق العشرة. تم تمثيل نتائج البخر-نتج المرجعي اليومية المتحصل عليها من جميع النماذج في منحنيات مبينة في شكل (1).

يلاحظ بشكل عام من المنحنيات الموضحة في شكل (1) أن قيم البخر-نتج المرجعي الناتجة من جميع النماذج منخفضة خلال أشهر الشتاء ديسمبر ويناير، وفبراير، وقد يُعزى ذلك إلى هبوط درجات الحرارة والإشعاع الشمسي مع ارتفاع الرطوبة النسبية، مقارنة بفصل الصيف الذي تكون فيه درجات الحرارة والإشعاع الشمسي مرتفعة وقيم منخفضة لأدنى رطوبة

خطأ عند اختيار أفضل النماذج الرياضية وينصح باستخدام اختبار تي (t-test) معهم (Jacovides و Kontoyiannis، 1995؛ Najafi وآخرون، 2019). أوصى ليقاتس وماككيب (Legates و McCabe، 1999) باستخدام مؤشر التوافق وكفاءة النموذج المستخدم من قبل لوقيو وقرين (Loague و Green، 1991) وكذلك الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ لتقييم الطرق البديلة لنموذج بنمان-مونتيث. فيما يلي عرض للصيغ الرياضية المستخدمة في حساب المعايير الإحصائية: الصيغة الرياضية المستخدمة لإيجاد معامل التحديد كالاتي (مؤمن وعبد العاطي، 2016؛ Chen وآخرون، 2005):

$$R^2 = \frac{[\sum_{i=1}^n (ET_{Prdict i} - \overline{ET}_{Prdict i})(ET_{Stndrd i} - \overline{ET}_{Stndrd i})]^2}{\sum_{i=1}^n (ET_{Prdict i} - \overline{ET}_{Prdict i})^2 \sum_{i=1}^n (ET_{Stndrd i} - \overline{ET}_{Stndrd i})^2}$$

الصيغة الرياضية المستخدمة لحساب مؤشر التوافق المُحسَّن كالتالي (Willmott وآخرون، 2012):

$$d_f = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n |ET_{Prdict i} - ET_{Stndrd i}|}{2 \sum_{i=1}^n |ET_{Stndrd i} - \overline{ET}_{Stndrd i}|}$$

أما كفاءة النموذج فتم حسابها وفقاً للصيغة التالية (Willmott وآخرون، 2012؛ Yoder وآخرون، 2005؛ Gao وآخرون، 2017):

$$E_f = 1.0 - \frac{\sum_{i=1}^n (ET_{Prdict i} - ET_{Stndrd i})^2}{\sum_{i=1}^n (ET_{Stndrd i} - \overline{ET}_{Stndrd i})^2}$$

تم حساب متوسط خطأ التحيز حسب الصيغة الآتية (Córdova وآخرون، 2015؛ Joshani وآخرون، 2015):

$$MBE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (ET_{Prdict i} - ET_{Stndrd i})$$

استخدمت الصورة التالية لحساب الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (Gao وآخرون، 2017؛ Djaman وآخرون، 2015):

$$RSME = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (ET_{Prdict i} - ET_{Stndrd i})^2}{n}}$$

البخر-نتح المرجعي والنماذج هي نموذج تورك، ونموذج ماكينك، ونموذج هارقريفز-سماني، ونموذج ثورنثويت ونموذج بريستلي-تايلور. تقليل النماذج السابق ذكرها في تقديرات البخر-نتح المرجعي كان بنسب متفاوتة تتراوح بين -86.69% ناتجة من نموذج ثورنثويت في شهر يناير و-4.71% ناتجة من نموذج ماككلود في شهر أكتوبر. تبعد منخفضة كثيراً تقديرات نموذج ثورنثويت عن القيم المرجعية لنموذج الفاو بنمان-مونتيث خلال كل أشهر السنة، حيث تتراوح نسبة الانخفاض في تقديراته من -34.07% إلى -86.69%. نتج أكبر انخفاضاً في تقديرات الطرق المختلفة للبخر-نتح المرجعي من نموذج ثورنثويت خلال الأشهر من يناير حتى أبريل إضافة إلى أشهر أكتوبر ونوفمبر وديسمبر، بينما نتج أكبر انخفاضاً في تقديرات البخر-نتح المرجعي خلال الأشهر من مايو إلى سبتمبر من نموذج ماكينك، ويتراوح مقدار الانخفاض من -41.73% إلى -45.41%.

يتبين من جدول (1) أن كلا من نموذج بريستلي-تايلور ونموذج هارقريفز-سماني ونموذج ماكينك ونموذج تورك أظهرت انخفاضات متباينة في تقديرات البخر-نتح المرجعي، بعضها انخفاضات كبيرة مثل مخرجات نمودجي بريستلي-تايلور وماكينك حيث تتراوح نسبة الانخفاض في تقديراتهما ابتعاداً عن القيم المرجعية من -36.88% إلى -46.65% في حالة نموذج بريستلي-تايلور وفي حالة نموذج ماكينك من -45.41% إلى -29.24%. أما انخفاض تقديرات نموذج تورك فكانت انخفاضات صغيرة قريبة من القيم المرجعية لنموذج الفاو بنمان-مونتيث خصوصاً خلال الأشهر من يونيو إلى ديسمبر، حيث تتراوح نسبة الانخفاض بين -7.25% و-6.02%، وهذه مشابهة لتقديرات نموذج الفاو الإشعاعية خلال الأشهر نفسها.

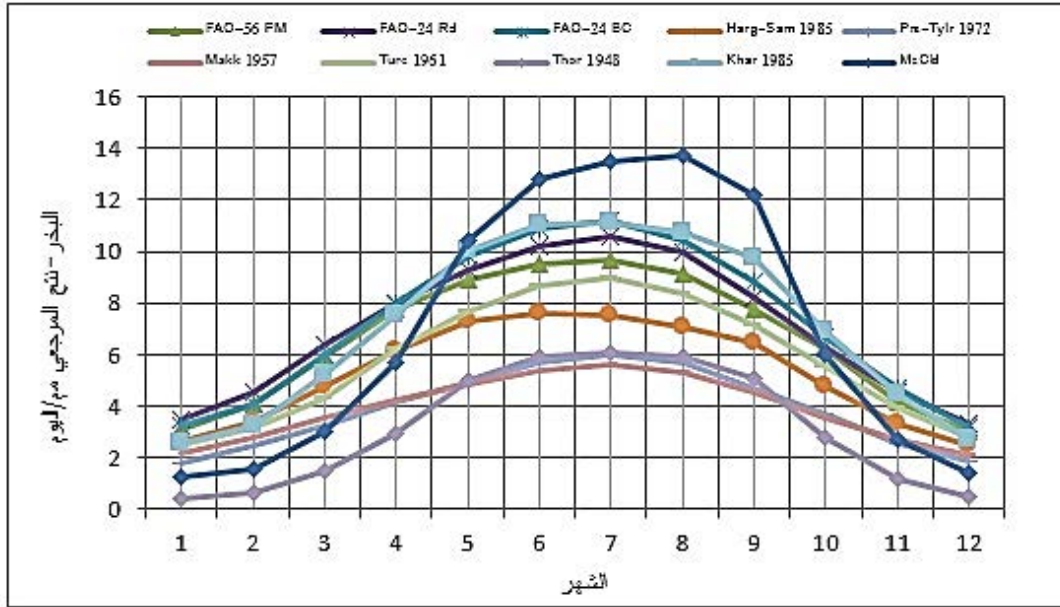
يتضح من جدول (1) أن أعلى نسبة مبالغة أو زيادة ناتجة من نموذج الفاو الإشعاعية بلغت 12.32% في شهر فبراير، بينما أعلى نسبة زيادة ناتجة من نموذج الفاو بلاني-كريدل

نسبية الأمر الذي قد يؤدي إلى زيادة قيم البخر-نتح المرجعي. تزداد قيم البخر-نتح المرجعي تدريجياً إلى أن تصل إلى الذروة في شهر يوليو ثم تعود للهبوط تدريجياً إلى أن تقترب من قيمة أدنى معدلات البخر-نتح المرجعي في شهري ديسمبر ويناير. يتبين من شكل (1) أن سبعا من النماذج المطبقة في هذه الدراسة أظهرت أن قيمة أعلى متوسط يومي للبخر-نتح مرجعي كانت في شهر يوليو بينما أعطى أحد النماذج المتبقيتين وهو نموذج هارقريفز-سماني أعلى متوسط بخر-نتح مرجعي يومي في شهر يونيو، أما النموذج الآخر، وهو نموذج ماككلود فأظهر أن قيمة أعلى متوسط بخر-نتح مرجعي يومي في شهر أغسطس.

أظهر نموذج ماككلود في يناير أدنى قيمة لمتوسط البخر-نتح المرجعي اليومي (1.25 مم) في منطقة الدراسة كما أظهر نموذج ماككلود أيضاً أعلى قيمة لمتوسط البخر-نتح المرجعي اليومي في منطقة الدراسة (13.74 مم) في شهر يوليو. يلاحظ بشكل عام من النتائج المبينة في شكل (1) أن النماذج المستخدمة أظهرت أداءً مختلفاً من حيث توافق نتائجها مع النموذج المرجعي (الفاو بنمان-مونتيث) في هذه الدراسة. مقارنة بنموذج بنمان-مونتيث للفاو، بالغ (أي أعطى قيماً أعلى من القيم المرجعية) نمودجي الفاو الإشعاعي والفاو بلاني-كريدل في تقدير البخر-نتح المرجعي في جميع أشهر السنة وتتراوح نسبة الزيادة الناتجة من نموذج الفاو الإشعاعية من 0.64% إلى 12.32% بينما تتراوح نسبة الزيادة الناتجة من نموذج الفاو بلاني-كريدل من 1.23% إلى 16.06%. أظهر نمودجا خروفة، وماككلود مبالغة (زيادة) في التقدير خلال أشهر وتقليل خلال أشهر أخرى. بالغ نموذج خروفة في تقدير البخر-نتح المرجعي خلال الأشهر من مايو إلى نوفمبر وبالع نموذج ماككلود في تقدير البخر-نتح المرجعي خلال الأشهر من مايو إلى سبتمبر وقلل نموذج خروفة خلال أشهر من يناير إلى إبريل وشهر ديسمبر بينما قلل نموذج ماككلود خلال أشهر من يناير إلى إبريل بالإضافة إلى أشهر أكتوبر ونوفمبر وديسمبر. قللت بقية النماذج في تقدير

خلال شهر فبراير. إن أكبر نسبة زيادة في تقديرات البحر- نتح المرجعي ناتجة من نموذج ماككلاود كانت خلال شهر سبتمبر بمقدار 57.57%.

بلغت 16.06 % في شهر يوليو. و قيمة أقل نسبة زيادة في تقديرات البحر-نتح المرجعي ناتجة من نموذجي الفاو الإشعاعية، والفاو بلاني-كريدل فكانت بمقدار 0.64% للفاو الإشعاعية خلال شهر أكتوبر، وبمقدار 1.23% لبلاني-كريدل



شكل (1): منحنيات البحر-نتح المرجعي (مم/يوم) في منطقة تراغن محسوبة بعشر طرق.

جدول (1): النسبة المئوية للاختلافات في قيم البحر-نتح المرجعي الناتجة من جميع النماذج قياساً بنموذج بنمان-مونتيث

الشهر	الإشعاع للفاو	بريستلي-تابلور	ماكيناك	تورك	الفاو بلاني-كريدل	هارقريفز-سماني	ثورنثويت	خروفة	ماككلاود
يناير	11.25	42.12-	29.58-	19.29-	03.54	16.40-	86.69-	17.14-	59.66-
فبراير	12.32	39.41-	32.02-	22.17-	01.23	16.01-	84.65-	20.02-	61.19-
مارس	07.58	45.79-	40.40-	27.61-	01.52	20.20-	74.60-	12.31-	48.88-
أبريل	02.96	46.65-	45.36-	20.23-	02.45	20.75-	62.20-	03.28-	27.11-
مايو	04.03	44.85-	45.41-	13.87-	10.07	18.79-	44.03-	12.45	16.95
يونيو	07.59	39.87-	43.25-	08.54-	14.98	19.41-	37.53-	16.85	35.28
يوليو	09.84	37.72-	41.87-	07.25-	16.06	21.76-	37.12-	15.60	39.86
أغسطس	09.41	37.96-	41.79-	08.10-	13.79	22.54-	35.61-	17.67	50.28
سبتمبر	06.46	39.15-	41.73-	08.01-	14.21	16.54-	34.07-	25.47	57.57
أكتوبر	00.64	40.42-	42.97-	11.02-	06.87	24.28-	55.82-	10.51	04.71-
نوفمبر	09.64	39.04-	34.22-	06.02-	12.53	19.28-	70.64-	07.32	34.02-
ديسمبر	10.30	36.88-	29.24-	07.97-	05.65	16.94-	84.13-	08.71-	54.04-

معايير إحصائية حيث أعطى أقل قيمة للجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (RMSE) بمقدار 0.534 م/يوم وأعلى قيمة لمؤشر التوافق المُحسَّن ( $d_r$ ) بمقدار 0.892 وأعلى قيمة لكفاءة النموذج ( $E_f$ ) بمقدار 0.951. إضافة إلى ذلك أعطى نموذج الفاو الإشعاعي ثاني أعلى قيمة في المعايير التالية: معامل التحديد ( $R^2$ ) بمقدار 0.993 متوسط خطأ التحيز (MBE) بمقدار 0.473. كما يتضح من جدول (2) أن نموذج الفاو بلاني-كريدل يلي نموذج الفاو الإشعاعي من حيث جودة الأداء حيث صنف نموذج الفاو بلاني-كريدل في الترتيب الثاني نتيجة تفوقه بثاني أفضل القيم في ثلاثة معايير إحصائية وهي الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (RMSE) بمقدار 0.845 ومؤشر التوافق المُحسَّن ( $d_r$ ) بمقدار 0.865 وكفاءة النموذج ( $E_f$ ) بمقدار 0.878 كما تحسَّن نموذج الفاو بلاني-كريدل على ثالث أفضل القيم في معامل التحديد (0.989).

كذلك تُبين نتائج التحليل الإحصائي (جداول 2) أن نموذج تورك حاز على الترتيب الثالث بفضل حصوله على ثالث أفضل القيم في ثلاثة معايير إحصائية وهي الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (0.937) ومؤشر التوافق المُحسَّن (0.809) كفاءة النموذج (0.850). أما الترتيب الرابع فكان لنموذج خروفة حيث حاز على رابع أفضل القيم في ثلاثة معايير إحصائية وهي الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (1.106) ومؤشر التوافق المُحسَّن (0.783) كفاءة النموذج (0.791). حازت نماذج هارقريفز-سماني وماكينك وبريستلي-تايلور على الترتيب الخامس والسادس والسابع على التوالي. وفقاً للمعايير الإحصائية تمركز نموذج ماككلود في المرتبة ما قبل الأخيرة ونموذج ثورنثويت في المرتبة الأخيرة بسبب حصوله على أسوأ القيم في جميع المعايير الإحصائية باستثناء قيمة معامل التحديد. أظهر اختبار تي ( $t$ ) عند مستوى معنوية 5% وجود فروق معنوية بين نتائج نموذج الفاو بنمان-مونتيث ونتائج جميع النماذج ما عدا نموذجي خروفة وماكلود. تم معايرة نماذج الفاو الإشعاعي والفاو

التحليل الإحصائي للاختلافات بين النماذج المختلفة ونموذج الفاو بنمان-مونتيث: لتحقيق الهدف من الدراسة تم إجراء اختبارات إحصائية باستخدام ستة معايير إحصائية شائعة التطبيق لتحديد أي النماذج المختبرة يمكنها أن تكون بديلاً مناسباً لنموذج الفاو بنمان-مونتيث القياسي. المعايير الإحصائية المستخدمة هي الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (RMSE)، متوسط خطأ التحيز (MBE)، ومعامل التحديد ( $R^2$ )، ومؤشر التوافق المُحسَّن ( $d_r$ )، وكفاءة النموذج ( $E_f$ )، واختبار تي (t-test).

أجريت هذه الاختبارات الإحصائية بناءً على توصيات من عدة مصادر بعدم الاعتماد على بعض المعايير الإحصائية بمفردها لأنها قد تؤدي إلى استنتاج خاطئ (Legates و McCabe، 1999؛ Yoder و آخرون، 2005؛ Gao و آخرون، 2017؛ Najafi و آخرون، 2019). أخذ في الاعتبار عند تصنيف النماذج من حيث قربها من النموذج المرجعي أعلى قيم لمؤشر التوافق المُحسَّن ( $d_r$ ) وكفاءة النموذج ( $E_f$ ) ومعامل التحديد ( $R^2$ ) وأقل قيم للجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ (RMSE) ومتوسط خطأ التحيز (MBE). تم الاعتماد أساساً على نتائج الجذر التربيعي لمتوسط مربع الخطأ ومؤشر التوافق المُحسَّن وكفاءة النموذج وهذا ما أوصى به ليقيتس وماكيب (Legates و McCabe، 1999) واتَّبهما يودير و آخرون (Yoder و آخرون، 2005)، مع اعتماد مؤشر التوافق المُحسَّن بدلاً من مؤشر التوافق الأصلي الذي اعتمده ليقيتس وماكيب.

تم إهمال معامل التحديد ( $R^2$ ) بسبب حساسيته المفرطة للقيم المتطرفة وتقارب قيمه الكبير في نتائج جميع النماذج ما عدا ماككلود. يبين جدول (2) نتائج التحليل الإحصائي لمخرجات الطرق المستخدمة قياساً بنموذج الفاو بنمان-مونتيث في حساب البحر-نتج المرجعي في منطقة الدراسة. يتضح من الجدول أن نموذج الفاو الإشعاعي كان الأفضل في الأداء وتحصل على الترتيب الأول بسبب تفوقه في ثلاثة

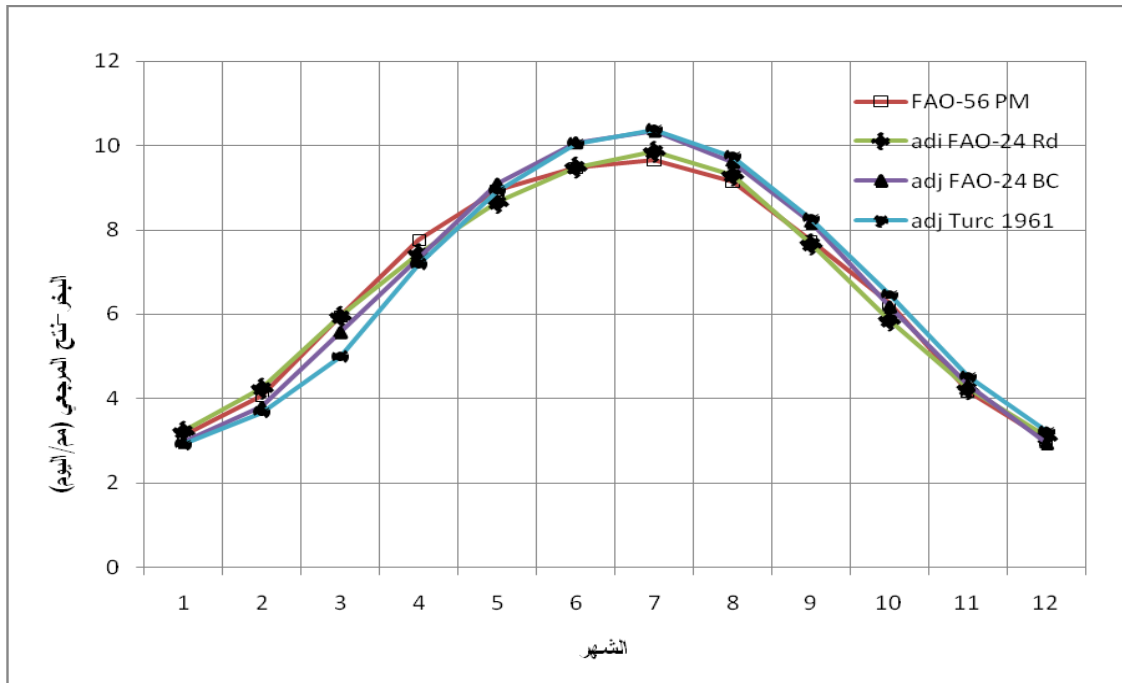


كريدل باستخدام معامل قيمته 0.923 وتصحيح نموذج تورك باستخدام معامل قيمته 1.16. أظهر اختبار تي (t) للنتائج المتحصل عليها بعد معايرة النماذج الثلاثة عدم وجود فروق معنوية مقارنةً بنتائج نموذج الفاو بنمان-موننيث. يبين شكل (2) نتائج النماذج المعايرة مقارنة بنتائج النموذج المرجعي.

بلاني-كريدل وتورك للحصول على معاملات (ثابت تجريبية) تؤدي إلى تقريب نتائجها من النتائج المرجعية ومن تم تقليل الفروق المعنوية. تم الحصول على نتائج قريبة جدا من النموذج المرجعي عند تصحيح نموذج الفاو الإشعاعي باستخدام معامل قيمته 0.93 وتصحيح نموذج الفاو بلاني-

جدول رقم (2) : ملخص التحليل الإحصائي لنتائج المعدلات المستخدمة في الدراسة.

الطريقة	RMSE	MBE	R <sup>2</sup>	d <sub>r</sub>	E <sub>f</sub>	t	P-Value
الإشعاع للفاو	0.534	0.473	0.993	0.892	0.951	06.283	0.6×10 <sup>-4</sup>
الفاو بلاني-كريدل	0.845	0.649	0.989	0.851	0.878	03.980	2.16×10 <sup>-3</sup>
تورك	0.937	0.833-	0.97	0.809	0.850	06.450-	0.5×10 <sup>-4</sup>
خروفة	1.106	0.514	0.964	0.783	0.791	01.744	0.109
هارقريفز-سماني	1.427	1.313-	0.994	0.699	0.652	07.816-	<0.1×10 <sup>-4</sup>
ماكيناك	2.963	2.698-	0.989	0.382	0.500-	07.311-	0.2×10 <sup>-4</sup>
بريستلي-تايلور	2.885	2.703-	0.975	0.380	0.422-	08.899-	< 0.1×10 <sup>-4</sup>
ماكلاود	2.835	0.423	0.872	0.419	0.373-	00.503	0.625
ثورنثويت	3.509	3.443-	0.924	0.211	1.104-	16.853-	<0.1×10 <sup>-4</sup>



شكل (2): قيم البخر-نتج المرجعي (مم/يوم) مقدر باستخدام نماذج الفاو الإشعاعي والفاو بلاني-كريدل وتورك بعد المعايرة.

## المناقشة

الدراسة الحالية مع نتائج دراسة باختياري وآخرون (Bakhtiari وآخرون، 2011) الذين استنتجوا أن نموذج الفاو الإشعاعي من أدق الطرق لحساب البخر-نتح المرجعي.

## استنتاج

أظهرت نتائج هذه الدراسة تباين أداء النماذج المستخدمة من حيث توافق نتائجها مع النموذج القياسي (المرجعي). أعطى نمودجا الفاو الإشعاعي والفاو بلاني-كريدل قيماً للبخر-نتح المرجعي أعلى من القيم المرجعية في جميع أشهر السنة وتتراوح نسبة الزيادة الناتجة من نموذج الفاو الإشعاعي من 0.64% إلى 12.32% بينما تتراوح نسبة الزيادة الناتجة من نموذج الفاو بلاني-كريدل من 1.23% إلى 16.06%. خُصّصت نماذج كل من تورك، وماكينك، وهارقريفز-سماني، وثورنثويت، وبريستلي-تايلور من قيم البخر-نتح المرجعي، وكانت نسبة الخفض تتراوح من 86.69% ناتجة من نموذج ثورنثويت في شهر يناير إلى 6.02% ناتجة من نموذج تورك في شهر نوفمبر. أظهر نمودجا خروفة، وماككلود زيادة في تقدير البخر-نتح المرجعي خلال أشهر وتقليل خلال أشهرٍ أخرى. تتباعد تقديرات نموذج ثورنثويت ونمودج ماككلود كثيراً عن القيم المرجعية لنمودج الفاو بنمان-مونتيث خلال كل أشهر السنة وبالتالي لا ينصح باستخدامهما في مثل الظروف المناخية لمنطقة الدراسة.

كما يتبين من النتائج أن نمودجي الفاو الإشعاعي، والفاو بلاني-كريدل هما الأقرب من تقديرات نموذج الفاو بنمان-مونتيث القياسي، ثم يليهما نموذج تورك الذي أعطى قيماً أقل ولكنها قريبة جداً من القيم المرجعية خصوصاً في الفترة من شهر يونيو إلى شهر ديسمبر. بناء على المعايير الإحصائية المستخدمة (باستثناء اختبار تي حيث كانت الفروق معنوية)، يمكن تصنيف نموذج الفاو الإشعاعي في المرتبة الأولى من حيث جودة الأداء مقارنة بالنموذج المرجعي، ثم يليه ثانياً في جودة الأداء نموذج الفاو بلاني-كريدل، ثم ثالثاً نموذج تورك. أظهرت نتائج معايرة نماذج الفاو الإشعاعي والفاو بلاني-كريدل وتورك أن قيم البخر-نتح المرجعي المتحصل عليها بعد

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن نموذج الفاو الإشعاعي هو أفضل النماذج المقيّمة وهذا يخالف نتائج دراسة مؤمن وعبد العاطي (2016) في شحات شمال شرق ليبيا (منطقة شبه جافة) ودراسة عبد السميع واخنيفر (2020) في مناطق ساحلية وجبلية من ليبيا ودراسة حيدري وآخرون (Heydari، 2013) في وسط إيران حيث كان نموذج الفاو بلاني-كريدل الأفضل وصُنّف من حيث قربه من النموذج القياسي في الدرستين في المرتبة الأولى بينما صنّف في هذه الدراسة في المرتبة الثانية. كما لا تتوافق نتائج الدراسة الحالية والدرستين المشار إليهما أعلاه مع نتائج دراسة رازي و بيريرا (Raziei و Pereira، 2013) ودراسة قاو وآخرون (Gao وآخرون، 2017) حيث أنهما أظهرتا أن نموذج هارقريفز هو البديل المناسب لنمودج الفاو بنمان-مونتيث القياسي لتقدير البخر-نتح المرجعي في المناطق الجافة وشبه الجافة، بينما كان نمودج هارقريفز-سماني الخيار الخامس في الدراسة الحالية. كما دلّت نتائج الدراسة الحالية أن نموذج تورك أظهر أداءً جيداً وحاز على المرتبة الثالثة ولكنه كان الأفضل في دراسات بالمناطق الرطبة (Amatya وآخرون، 1995؛ George وآخرون، 2002؛ Irmak وآخرون، 2003b؛ Nandagiri و Kovoov، 2006).

كان أداء نمودج هارقريفز-سماني رديئاً نسبياً في هذه الدراسة وهذا يتوافق مع دراسة في اليابان (مناخ رطب) أجراها الكايد وآخرون (Alkaeed وآخرون، 2006)، وكذلك تتفق مع نتائج دراسة جاكوبس وساتي (Jacobs و Satti، 2001) اللذان أكدا على عدم دقة نمودج هارقريفز-سماني على المدى القصير. بينما تتعارض نتائج هذه الدراسة والدراسات المذكورة أعلاه مع دراسة جورج وآخرون (George وآخرون، 2002) حيث كان فيها أداء نمودج هارقريفز-سماني جيداً وقريباً جداً من نمودج الفاو بنمان-مونتيث. كما أظهر نمودج هارقريفز-سماني في دراسة اوليفيرا وآخرون (Oliveira وآخرون، 2011) دقة مقبولة. تتوافق نتائج

Allen, R. G. and G. Z. Li (2016). Ref-ET user's guide. Reference evapotranspiration calculation software for FAO and ASCE standardized equations; version 4.1 for Windows: University of Idaho, Kimberly Research and Extension Center ID, USA.

Allen, R. G.; L. S. Pereira; D. Raes and M. Smith (1998). Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 56, United Nation Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, 300 pp.

Allen, R. G.; M. E. Jensen; J. L. Wright and R. D. Burman (1989). Operational estimates of reference evapotranspiration. *Agronomy Journal*, 81(4):650-662.

Amatya, D. M; R. W. Skaggs and J. D. Gregory (1995). Comparison of methods for estimating REF-ET. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 121(6):427-435.

American Society of Civil Engineering-Environmental and Water Resources Institute (ASCE-EWRI) (2005). ASCE Standardised Reference Evapotranspiration Equation. Task Committee on Standardization of calculation of Reference Evapotranspiration. Environmental and Water Resources Institute (EWRI) of the American Society of Civil Engineers, Final Report. Reston, VA, 213pp.

Bakhtiari, B.; N. Ghahreman; A. M. Liaghat and G. Hoogenboom (2011). Evaluation of reference evapotranspiration methods for a semiarid environment using lysimeter measurements. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13:223-237.

Berti, A.; G. Tardivo; A. Chiaudani; F. Rech and M. Borin (2014). Assessing reference evapotranspiration by the Hargreaves method in north-eastern Italy. *Agricultural Water Management*, 140: 20-25.

المعايرة قريبة جدا من القيم المرجعية لنموذج الفاو بنمان-مونتيث. كما أظهرت النماذج بعد معايرتها جودة عالية حسب المعايير الإحصائية المستخدمة مع عدم وجود فروق معنوية طبقا لاختبار تي. مما سبق يمكن الاستنتاج بأن نماذج الفاو الإشعاعي، والفاو بلاني-كريدل، وتورك هي بدائل جيدة ونتائجها قريبة جدا من النموذج القياسي خصوصا عند تصحيح نتائجها باستخدام المعاملات المحلية المشتقة في هذه الدراسة وهي 0.93 و 0.923 و 1.16 لنماذج الفاو الإشعاعي، والفاو بلاني-كريدل، وتورك على التوالي.

### المراجع

الرجبو، وليد أسمير وخضر جاسم ومخلف شلال (2008). دراسة التبخر-نتح المرجعي في محافظة نينوى باستخدام عدة نماذج رياضية. كلية التربية، جامعة الموصل. مجلة علوم الرافدين 19(3):154-173.

عبد السميع، نوال بالقاسم وعلي العقاب اخنifer (2020). تقييم أداء بعض نماذج التبخر-نتح المرجعي في مناطق جبلية وساحلية من ليبيا. مجلة العلوم البحتة والتطبيقية، 19(1):66-78.

مؤمن، محمد عبد الكريم وأسامة عبد الحميد عبد العاطي (2016). مقارنة لبعض الطرق الحسابية للتبخّر-النتح المرجعي بمنطقة شحات بالجبل الأخضر-ليبيا. جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا. مجلة المختار للعلوم. 1(1): 1-16.

Abd El-Wahed, M. H. and T. A. Abd El-Mageed (2014). Estimating reference evapotranspiration using modified Blaney-Criddle equation in arid region. *Bothalia Journal*, 44(7):183-195.

ALkaeed, O.; C. Flores; K. Jinno and A. Tsutsumi (2006). Comparison of several reference evapotranspiration methods for Ito-shima Peninsula area, Fukuoka, Japan. *Memoirs of the Faculty of Engineering, Kyushu University*, 66(1): 1-14.

- Doorenbos, J. and W. O. Pruitt (1977). Guidelines for predicting crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 24. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome. pp.156.
- Douglas, E. M.; J. M. Jacobs; D. M. Sumner and R. L. Ray (2009). A comparison of models for estimating potential evapotranspiration for Florida land cover types. *Journal of Hydrology*, 373(3-4):366-376.
- Droogers, P. and R. G. Allen (2002). Estimating reference evapotranspiration under inaccurate data conditions. *Irrigation and Drainage Systems*, 16(1):33-45.
- Fisher, D. K. and H. C. Pringle III (2013). Evaluation of alternative methods for estimating reference evapotranspiration. *Agricultural Sciences*, 4(8A): 51-60.
- Gao, F.; G. Feng; Y. Ouyang; H. Wang; D. Fisher; A. Adeli and J. Jenkins (2017). Evaluation of reference evapotranspiration methods in arid, semiarid and humid regions. *Journal of the American Water Resources Association*, 53(4):791-808.
- George, B. A.; B. R. S. Reddy; N. S. Raghuvanshi and W. W. Wallender (2002). Decision support system for estimating reference evapotranspiration. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 128(1):1-10.
- Ghamarnia, H.; F. Mousabeyg; S. Amiri and D. Amirkhani (2015). Evaluation of a few evapotranspiration models using lysimetric measurements in a semi-arid climate region. *International Journal of Plant and Soil Science* 5(2): 100-109.
- Hamon, W. R. (1961). Estimating potential evapotranspiration. *Journal of the Hydraulics Division, ASCE*, 87(HY3):107-120.
- Hargreaves, G. H. and R. G. Allen (2003). History and evaluation of Hargreaves
- Caporusso, N. B. and G. S. Rolim (2015). Reference evapotranspiration models using different time scales in the Jaboticabal region of São Paulo, Brazil. [Acta Scientiarum Agronomy](#), 37(1):1-9.
- Chen, D.; G. Gao; C. Y. Xu; J. Guo and G. Ren (2005a). Comparison of the Thornthwaite method and pan data with the standard Penman–Monteith estimates of reference evapotranspiration in China. *Climate Research*, 28:123–132.
- Chen, J.; H. Yeh; C. Lee and W. Lo (2005b). Optimal comparison of empirical equation for estimating potential evapotranspiration in Taiwan. IN: XXXI IAHR Congress. September 11-16, Seoul, Korea.
- Córdova, M.; G. Carrillo-Rojas; P. Crespo; B. Wilcox and R. Céleri (2015). Evaluation of the Penman–Monteith (FAO 56 PM) method for calculating reference evapotranspiration using limited data. *Mountain Research and Development*, 35(3):230-239.
- DehghaniSanij, H.; T. Yamamoto and V. Rashed (2004). Assessment of evapotranspiration estimation models for use in semi-arid environments. *Agricultural Water Management*, 64: 91-106.
- Djaman, K.; A. B. Balde; A. Sow; B. Muller; S. Irmak; M. K. N’Diaye; B. Manneh and K. Saito (2015). Evaluation of sixteen reference evapotranspiration methods under Sahelian conditions in the Senegal River valley. *Journal of Hydrology: Regional Studies*, 3: 139-159.
- Djaman, K.; K. Koudahe; M. Sall; I. Kabenge; D. Rudnick and S. Irmak (2017). Performance of twelve mass transfer based reference evapotranspiration models under humid climate. *Journal of Water Resource and Protection*, 9:1347-1363.

- Civil and Coastal Engineering, University of Florida, Gainesville, Florida, For John M. Fitzgerald, Water Use Data Manager Division of Water Supply Management, St. Johns River Water Management District, Palatka, Florida, USA.
- Jacovides, C. P. and H. Kontoyiannis (1995). Statistical procedures for the evaluation of evapotranspiration computing models. *Agricultural Water Management*, 27(3-4):365-371.
- Jensen, M. E., 1968. Water Consumption by Agricultural Plants. IN: Water deficits and plant growth, T.T. Kozlowski (Editor). Academic Press, New York, pp. 1-22.
- Jensen, M. E.; R. D. Burman and R. G. Allen (1990). Evapotranspiration and irrigation water requirements. ASCE Manuals and Reports of Engineering Practice No. 70. New York.
- Joshani, A.; J. K. Dastjerdi and H. Z. Abyaneh (2015). Evaluating different estimation methods of reference evapotranspiration with FAO evaporation pan in both dry and humid climate of Caspian sea basin. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 4 (2) : 190-200.
- Junior, R. O.; E. B. De Souza; A. L. Tavares; J. A. Mota; D. B. S. Ferreira; P. W. M. Souza-Filho and E. J. P. Da Rocha (2017). Three decades of reference evapotranspiration estimates for a tropical watershed in the eastern Amazon. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 89(3):1985-2002.
- Kharrufa, N. S. (1985). Simplified equation for evapotranspiration in arid regions. *Beitr Hydrol*, 5:39-47.
- Kwon, H. and M. Choi (2011). Error assessment of climate variables for FAO-56 reference evapotranspiration. *Meteorology and Atmospheric Physics* 112(1-2):81-90.
- evapotranspiration equation. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 129 (1): 53-63.
- Hargreaves, G. H. and Z. A. Samani (1985). Reference crop evapotranspiration from temperature. *Applied Engineering in Agriculture*, 1(2):96-99.
- Heydari, M. M.; R. N. Noushabadi; M. Vahedi; A. Abbasi and M. Heydari (2013). Comparison of evapotranspiration models for estimating reference evapotranspiration in arid environment. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 15: 1331-1337.
- Irmak, S.; A. Irmak; R. G. Allen and J. W. Jones (2003a). Solar and net radiation-based equations to estimate reference evapotranspiration in humid climates. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 129(5):336-347.
- Irmak, S.; R. G. Allen and E. B. Whitty (2003b). Daily grass and alfalfa-reference evapotranspiration estimates and alfalfa-to-grass evapotranspiration ratios in Florida. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 129(5):360-370.
- Irmak, S. ; A. Irmak; T. .A. Howell; D. L. Martin; J. O. Payero and K. S. Copeland (2008). Variability analyzes of alfalfa-reference to grass reference evapotranspiration ratios in growing and dormant seasons. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 134(2): 147-159.
- Itenfisu, D.; R. L. Elliott; R. G. Allen and I. A. Walter (2003). Comparison of reference evapotranspiration calculations as part of the ASCE standardization effort. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 129(6): 440-448.
- Jacobs, J. M. and S. R. Satti (2001). Evaluation of reference evapotranspiration methodology and AFSIRS crop water use simulation model. Final report, Department of

- Mendonça, J. C.; E. F. Sousa; S. Bernardo; G. P. Dias and S. Grippa (2003). Comparison of different methods for estimating reference evapotranspiration (ET<sub>o</sub>) in North Fluminense RJ region. (in Portuguese) Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Engineering, 7(2):275-279.
- Microsoft Office Excel (2007). Microsoft Corporation. Redmond, Washington.
- Mohawesh, O. E. (2011). Evaluation of evapotranspiration models for estimating daily reference evapotranspiration in arid and semiarid environments. Plant Soil and Environment, 57 (4):145–152.
- Monteith, J. L. (1965). Evaporation and environment. 19th Symposia of the Society for Experimental Biology, 19:205-234. University Press: Cambridge.
- Najafi, M; M. Salarian; S. Eslamian; K. Ostad-Ali-Askari; V. P. Singh and N. R. Dalezios (2019). Evaluation of radiation methods for calculating the water requirement of grass in two different climates using REF-ET software. International Journal of Constructive Research in Civil Engineering, 5(1): 1-7
- Nandagiri, L. and G. R. Koor (2006). Performance evaluation of reference evapotranspiration equations across a range of Indian climates. Journal of Irrigation and Drainage Engineering, 132(3): 238-249.
- Nash, J. E. and J. V. Sutcliffe (1970). River flow forecasting through conceptual models. Part I. A discussion of principles. Journal of Hydrology, 10:282–290.
- Oliveira, G. Q.; A. S. Lopes; L. H. Jung; P. L. Nagel and D. M. Bertioli (2011). Desempenho de métodos de estimativa da evapotranspiração de referência baseadas na temperatura do ar, em Aquidauana-MS. Revista Brasileira de Agricultura Irrigada 5(3):224-234.
- Legates, D. R. and G. J. McCabe (1999). Evaluating the use of “goodness-of-fit” measures in hydrologic and hydroclimatic model validation. Water Resources Research, 35(1): 233–241.
- Liu, X. Y. and L. Erda (2005). Performance of the Priestley-Taylor equation in the semi-arid climate of north China. Agricultural Water Management, 71(1):1-17.
- Loague, K. and R. E. Green (1991). Statistical and graphical methods for evaluating solute transport models: Overview and Application. Journal of Contaminant Hydrology, 7(1-2):51-73.
- López-Urrea, R.; F. M. S. Olalla; C. Fabeiro and A. Moratalla (2006). Testing evapotranspiration equations using lysimeter observations in a semiarid climate. Agricultural Water Management, 85: 15-26.
- Mahringer, W. (1970). Verdunstungsstudien am Neusiedler See. [Evaporation Studies at Lake Neusiedl.] Arch Met Geoph BioklSer , B, 18:1-20.
- Makkink, G. F. (1957). Testing the Penman formula by means of lysimeters. Journal of the Institution of Water Engineering, 11(3):277-288.
- Malek, E. and G. E. Bingham (1993). Comparison of the Bowen ratio-energy balance and the water balance methods for the Measurement of Evapotranspiration. Journal of Hydrology, 146(1):209-220.
- Martinez, C.J. and M. Thepadia (2010). Estimating Reference Evapotranspiration with Minimum Data in Florida, USA. Journal of Irrigation and Drainage Engineering, 136: 494-501.
- McCloud, D. E. (1955). Water requirements of field crops in Florida as influenced by climate. Proceedings Soil Science Society Florida, 15:165-172.

- relationship for a large area. Proceedings Ukrainian Hydrometeorological Research Institute, No. 3 (Kiev).
- Sabziparvar, A. A. and H. Tabari (2010). Regional estimation of reference evapotranspiration in arid and semi-arid regions. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*. ASCE 136 (10), 724–731.
- Sentelhas, P. C.; T. J. Gillespie and E. A. Santos (2010). Evaluation of FAO Penman–Monteith and alternative methods for estimating reference evapotranspiration with missing data in Southern Ontario, Canada. *Agricultural Water Management*, 97(5):635–644.
- Sheikh, V. and M. Mohammadi (2013). Evaluation of reference evapotranspiration equations in semi-arid regions of northeast of Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5 (5): 450-456.
- Smith, M.; R. G. Allen; J. L. Monteith; L. S. Pereira; A. Perrier and W. O. Pruitt (1991). Report on the expert consultation on procedures for revision of FAO guidelines for prediction of crop water requirements. Land and Water Development Division, United Nations Food and Agriculture Service: Rome.
- Tabari, H. (2010). Evaluation of reference crop evapotranspiration equations in various climates. *Water Resources Management*, 24(10):2311–2337.
- Tabari, H.; M. E. Grismer and S. Trajkovic (2013). Comparative analysis of 31 references evapotranspiration methods under humid conditions. *Irrigation Science*, 31: 107-117.
- Thornthwaite, C. W. (1948). An approach towards a rational classification of climate. *Geographical Review*, 38:55-94.
- Pandey, P. K.; P. P. Dabral and V. Pandey (2016). Evaluation of reference evapotranspiration methods for the northeastern region of India. *International Soil and Water Conservation Research*, 4(1):52-63.
- Penman, H. L. (1948). Natural evaporation from open water, bare soil, and grass. *Proceedings of the Royal Society of London*, A193:120-146.
- Pereira, L. S.; R. G. Allen; M. Smith and D. Raes (2015). Crop evapotranspiration estimation with FAO56: Past and future. *Agricultural Water Management* 147: 4-20.
- Popova, Z.; M. Kercheva and L. S. Pereira (2006). Validation of the FAO methodology for computing ETo with limited data. Application to south Bulgaria. *Irrigation and Drainage*, 215:201–215.
- Priestley, C. H. B and R. J. Taylor (1972). On the assessment of surface heat flux and evaporation using large-scale parameters. *Monthly Weather Review*, 100(2): 81-92.
- Raziei, T. and L. S. Pereira (2013). Estimation of ETo with Hargreaves-Samani and FAO-PM temperature methods for a wide range of climates in Iran. *Agricultural Water Management*, 121:1-18.
- Razzaghi, F. and A. R. Sepaskhah (2010). Assessment of nine different equations for ETo estimation using lysimeter data in a semiarid environment. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 56(1):1-12.
- Rojas, J. P. and R. E. Sheffield (2013). Evaluation of daily reference evapotranspiration methods as compared with the ASCE-EWRI Penman–Monteith equation using limited weather data in northeast Louisiana. *Irrigation and Drainage Engineering* 139:285–292.
- Romanenko, V. A. (1961). Computation of the autumn soil moisture using a universal re-

- ple methods for daily reference evapotranspiration estimation in humid East China. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59(6): 845-858.
- Xystrakis, F. and A. Matzarakis (2011). Evaluation of 13 empirical reference potential evapotranspiration equations on the island of Crete in southern Greece. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 137(4):211–222.
- Yoder, R. E.; L. O. Odhiambo and W. C. Wright (2005). Evaluation of methods for estimating daily reference crop evapotranspiration at a site in the humid southeast United States. *Applied Engineering in Agriculture*, 21(2):197–202.
- Trabert, W. (1896). Neue Beobachtungen über Verdampfungsgeschwindigkeiten. [New Observations on Evaporation Rates.] *Meteorologische Zeitschrift*, 13, 261-263
- Trajkovic, S. and S. Kolakovic (2009). Evaluation of reference evapotranspiration equations under humid conditions. *Water Resources Management*, 23(14):3057-3067.
- Turc, L. (1961). Estimation of irrigation water requirements, potential evapotranspiration: A simple climatic formula evolved up to date. *Annales Agronomiques*, 12(1): 13-49.
- Willmott, C. J. (1981). On the validation of models. *Physical Geography* 2 : 184-194.
- Willmott, C. J. (1982). Some comments on the evaluation of model performance. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 63(11):1309-1313.
- Willmott, C. J. (1984). On the evaluation of model performance in physical geography. IN: *Spatial Statistics and Models*, G. L. Gaile and C. J. Willmott (eds.). D. Reidel: Boston; 443–460.
- Willmott, C. J.; S. M. Robeson and K. Matsuura (2012). A refined index of model performance. *Short Communication. International Journal of Climatology*, 32:2088–2094.
- Xavier, A. C.; C. W. King and B. R. Scanlon (2015). Daily gridded meteorological variables in Brazil (1980-2013). *International Journal Climatology*, 36: 2644-2659.
- Xu, C. Y. and D. Chen (2005). Comparison of seven models for estimation of evapotranspiration and groundwater recharge using lysimeter measurement data in Germany. *Hydrological Processes*, 19: 3717-3734.
- Xu, J.; S. Peng; J. Ding; Q. Wei and Y. Yu (2013). Evaluation and calibration of sim-



## **Evaluation of nine reference evapotranspiration models in Traghan region, Southwest of Libya**

**Ali Othman Alghusni**

*Department of Soil and water, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.*

Received: 25 October 2020/ Accepted: 18 December 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.299>

---

**Abstract:** This research was carried out to evaluate nine reference evapotranspiration, and find out an alternative models to the standard FAO Penman-Monteith model in Traghan region southwest of Libya. The models applied were standard FAO Penman-Monteith, FAO Radiation, FAO Blaney-Criddle, Hargreaves-Samani, Priestley-Taylor, Makkink, Turc, Thornthwaite, Kharrufa and McCloud. The models were compared with the FAO Penman-Monteith model using root mean square error (RMSE), mean bias error (MBE), Pearson type goodness of fit index ( $R^2$ ), refined index of agreement ( $d_r$ ), modeling efficiency ( $E_f$ ) and t-test. Results showed that FAO Radiation and FAO Blaney-Criddle models overestimated  $ET_o$  by values ranged from 0.64% to 16.06%. However, Kharrufa and McCloud models overestimated  $ET_o$  in some months and underestimated  $ET_o$  in some other months. Whereas, the other models underestimated  $ET_o$  by values ranged from -86.69 % to -6.02%. The FAO radiation model gave the highest  $d_r$  (0.892) and  $E_f$  (0.951) values, and the lowest RMSE (0.534 mm/day), indicating that this model was the best alternative to the FAO Penman-Monteith model in the study region, followed by FAO Blaney-Criddle model with  $d_r$  value of 0.851,  $E_f$  value of 0.878, and RMSE value of 0.845 mm/day. In addition, FAO radiation model showed the second best  $R^2$  and MBE values at 0.993 and 0.473, respectively. Also, FAO Blaney-Criddle model showed the third best  $R^2$  value at 0.989. Therefore, FAO radiation model is ranked the first and FAO Blaney-Criddle model is ranked the second. According to the statistical measures stated above, Turc model ranked the third, Kharrufa model ranked fourth. Models of Hargreaves-Samani, Makkink, Priestley-Taylor, McCloud and Thornthwaite ranked fifth, sixth, seventh, eighth and ninth, respectively. T-test analysis at 5% level of significance indicated that there is a significant difference between the FAO Penman-Monteith model and all models except Kharrufa and McCloud models.

**Keywords:** reference evapotranspiration, FAO Penman-Monteith, FAO Radiation, FAO Blaney-Criddle, Turc, Kharrufa.



## الوصف المورفولوجي لنبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* Hruby في منطقة الجبل الأخضر-ليبيا.

أحمد أمراجع عبد الرازق، وسامي محمد صالح

قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

تاريخ الاستلام: 13 يوليو 2020 / تاريخ القبول: 25 ديسمبر 2020

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.297>:Doi

**المستخلص:** تعتبر الفصيلة الفلقاسية *Araceae* من الفصائل النباتية التي تتوزع بشكل واسع عالمياً، ومن أهم أنواعها المستوطنة التي تمثلها في ليبيا وخاصةً بمنطقة الجبل الأخضر نبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* والذي لم يحظ بدراسة مورفولوجية منذ عام 1977م، لذلك جاءت هذه الدراسة لإعطاء وصف مورفولوجي تفصيلي لنبات الرينش البرقاوي، والتحقق من عدم وجود نوع آخر في تسعة عشر موقعاً من مناطق الجبل الأخضر لعامي: 2019-2020م لتضاف إلى بيانات الفلورا الليبية. أظهرت نتائج الدراسة الميدانية وجود النوع *Arum cyreniacum* في المناطق المدروسة جميعها، كما تمكنت من تسجيله لأول مرة في 14 موقعاً جديداً، ولم يُسجل أي نوع آخر لهذا الجنس، وأظهرت نتائج الدراسة المورفولوجية أنه نبات عشبي حولي درني قرصي ينمو في أوائل فصل الخريف يتميز بأوراق سهمية مزرقية بسيطة ذات أعناق طويلة، ونورة أغريضية واحدة شرعية الشكل أرجوانية غامقة اللون تتكون من جزئين (قنبلة - أغريض) لها رائحة الروث، ثنائية الجنس أحادية المسكن، وتقع الأزهار الأنثوية أسفل الأزهار الذكورية، والتمك ثنائي الفص، والمبيض علوي وحيد الغرفة، والوضع المشيمي جداري، والثمار توتية حمراء عند النضج، والبذور بيضوية الشكل.

**الكلمات المفتاحية:** العائلة الفلقاسية، الرينش البرقاوي، التوصيف المورفولوجي.

### المقدمة

والتشريحية خاصة الزهريّة كالنورات، والأجنّة، والثمار، والبذور، وطريقة التلقيح (Chartier وآخرون، 2014)، وتنتشر في أنحاء العالم جميعها، وخاصةً في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Ulrich وآخرون، 2013)، وتعد منطقة الجبل الأخضر من المناطق التي تنتشر فيها بعض أنواع هذه الفصيلة (El-Mokasabi وآخرون، 2018؛ El-Gadi، 1977)، كونها تتميز بغطاء نباتي كثيف متنوع، والذي تشكل أنواعه النباتية حوالي 80% من النباتات المسجلة في ليبيا، على الرغم من أن مساحته لا تتجاوز 1% (Rodford وآخرون، 2011)، ومن أهم سلالاته المستوطنة التابعة لهذه الفصيلة نبات *Arum cyreniacum* المعروف محلياً بالرينش البرقاوي نسبةً لكثرة وجوده في إقليم برقة

تعد أنواع الفصيلة الفلقاسية *Araceae* المعروفة بعائلة *Arum* أو *Aroid* من النباتات ذوات الفلقة الواحدة وتقدر بحوالي 118 جنسا و3300 نوعا، وتضم أصنافاً عديدة من الأشجار والشجيرات والأعشاب والنباتات المائية (Boyce وCroat، 2014)، متنوعة الاستخدام حيث تعدّ بعض أنواعها من أشهر نباتات الزينة، وبعضها يستخدم كغذاء غني بالكربوهيدرات، ومنها نباتات عديدة طبية مقوية للمناعة تمتلك خصائص مضادة للفيروسات، والفطريات، والملازيا، والالتهابات، والأمراض الجلدية (Chen وآخرون، 2007)، وتختلف تبعاً لاختلاف أنواعها في صفاتها المورفولوجية،

\* أحمد أمراجع عبدالرازق [ahmed.amrajaa@omu.edu.ly](mailto:ahmed.amrajaa@omu.edu.ly) قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

الأزهار الذكورية والأنثوية على جزئه السفلي (Barabe وآخرون، 2003؛ Boyce، 1993؛ Mayo وآخرون، 1997)، وتتألف الأزهار الذكورية من 3-4 أسدية تحمل متك ثنائي الفص يتفتح عند النضج بشق قمي ونادراً عن طريق الثقب، وتتألف الأزهار الأنثوية من متاع أسطواني، ومبيض وحيد الغرفة يحتوي على بويضات مستقيمة، والقلم قصير وأوغائب، والميسم نصف كروي، والوضع المشيمي جداري أوقاعدي، والثمار توتية حمراء أو برتقالية لامعة بشكل مخروطي مقلوب، والبذور بيضوية الشكل (Mayo وآخرون، 1998؛ Boyce، 1989)، وساهمت الدراسات المورفولوجية الحديثة في التحقق من الأنواع التابعة لجنس *Arum* في مناطق نموها، حيث تمكن (Lobin وآخرون، 2007) في شمال شرق تركيا، ووسط جورجيا من فصل النوع *Arum megobrebi*. عن النوع *Arum maculatum* L. خلال دراسته للصفات المورفولوجية، وفي إيران استطاع (Joudi وآخرون، 2016) التعرف على ستة أنواع تابعة لجنس *Arum*، والتفريق بينها مورفولوجياً، وفي قبرص تم تسجيل نبات *Arum cylindraceum* وإعطاء وصف مورفولوجي له كنوع جديد (Hadjikyriakou وآخرون، 2011)، وفي تركيا تم التحقق من الصفات الظاهرية لجنس *Arum nickelii* (Akyol وآخرون، 2018).

جاءت هذه الدراسة لتعطي وصفا مورفولوجيا تفصيليا لنبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum*. لأول مرة، والتحقق من عدم وجود أي نوع آخر لهذا الجنس في منطقة الجبل الأخضر/ ليبيا.

### المواد وطرق البحث

الدراسة الميدانية والمورفولوجية: تم عمل مسح ميداني خلال موسمي 2019-2020، وذلك بجمع عينات نبات الرينش في مرحلة التزهير ما بين شهري فبراير - أبريل من خلال الرحلات الميدانية لتسعة عشر موقعاً بالجبل الأخضر شملت: (لملودة، الأبرق، شحات، المنصورة، رأس التراب، وردامة، البيضاء،

Cyrenaica (Hruby، 1912)، وهو نبات سام لاحتواء جميع أجزائه على مادة أكسالات الكالسيوم، ومع ذلك استخدمت كورماته قديماً من قبل الليبيين غذاء (Ben-Ramadan وآخرون، 2012)، كما يستخدم طبياً لعلاج الصدفية والتهابات الجلد والمفاصل (El-Mokasabi، 2014).

تعد دراسة توزيع وانتشار النباتات، والتعرف على صفاتها الظاهرية من أهم الطرق في تحديد الأنواع النباتية (Kahraman وآخرون، 2010؛ Kaplan، 2001)، لذلك أجريت دراسات مسحية عديدة حول الفلورا الطبيعية لمنطقة الجبل الأخضر من قبل الباحثين المحليين، ولكن البيانات المنشورة لاتزال قليلة (Elshatshat وآخرون، 2009)، حيث بينت نتائج دراسة (Mukassabi وآخرون، 2017) أن هذه المنطقة تهيمن عليها فصيلة Lamiaceae، تليها فصيلتا Apiaceae و Asteraceae، وأشار El-Rabiai وآخرون (2010) إلى وجود نبات الرينش بمنطقة وادي القطارة جنوب شرق مدينة بنغازي، كما تمكن (El-Mokasabi، 2014) من تسجيله بمنطقة وادي الكوف غرب مدينة البيضاء، في حين لم يسجل وجوده في منطقة أسلنطة، وسيدي الحمري، ووادي رلس، ومييرة، وجرجار أمه (Abusaief، 2013)؛ كما أجريت بعض الدراسات المورفولوجية في دول عديدة من العالم والتي بينت أن جنس *Arum* يتمثل في 28 نوعاً موزعاً بشكل كبير في أوروبا وشمال أفريقيا والشرق الأوسط وآسيا (Quilichini وآخرون، 2010)، وتشترك جميعها في كونها أعشاباً موسمية ذات جذور درنية أو ريزومية تحت أرضية تحمل أوراقاً بسيطة عددها من 3-4 ولاتزيد عن 6 أوراق لكل نبات (Bedalov و Kupfer، 2005؛ Fridlender، 2000)، تحتوي عادة على نورة أو نورتين محمولة على محور كاذب، وتتكون من قنابة Spath أنبوبية أو أسطوانية أو بيضوية ضيقة من الأسفل تحتوي بداخلها على محور مركزي يسمى الأغريض Spadix والذي قد يكون أطول أو أقصر من القنابة يحمل



شكل (1) : نبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum*.

**الدراسة المورفولوجية:** بينت الدراسة من خلال الرجوع للمفاتيح التصنيفية (Boyce, 1989; Boyce, 1994) أن النوع الوحيد التابع لجنس *Arum* الموجود في منطقة الجبل الأخضر هو النوع *Arum cyreniacum*، والمعروف محلياً باسم الرينش البرقاوي شكل (1)، من خلال إجراء وصف مورفولوجي للعينات المجموعة من المناطق المختلفة خلال الزيارات الميدانية، اتضح أنه نبات عشبي حولي ينمو في أوائل الخريف، يتميز بأن جذوره عبارة عن درنات قرصية *discoïd tubers*، يتراوح معدل طولها من 3-5سم، ومعدل عرضها من 1-3سم شكل (2)، وتطابقت هذه البيانات مع ما ذكره (Boyce, 1989) بأن جذور جنس *Arum* عبارة عن ريزوميات أو درنات، بينما كان طول الجذور أقل مقارنة مع ما ذكره (El-Gadi, 1977) الذي وصف جذور الرينش البرقاوي بالكورمات بطول 4-6سم.

الوسيط، بلغرا، مسة، اقنطة، وادي الكوف، قصر ليبيا، الغريقة، ستلونة، جيفاس، عمر المختار، أسلطة، قندولة).

تمت دراسة الصفات الظاهرية، والزهرية لعينات نبات الرينش، وأرقت بصور توضيحية من موقع الدراسة والمعمل، وتم الاحتفاظ بعينات جافة لتكون مشروع إنشاء معشبة في قسم الأحياء/كلية التربية، وتم التأكيد على النوع من خلال المفاتيح التصنيفية لجنس *Arum* من قبل (Boyce, 1989; Boyce, 2006; Boyce, 1994).

### النتائج والمناقشة:

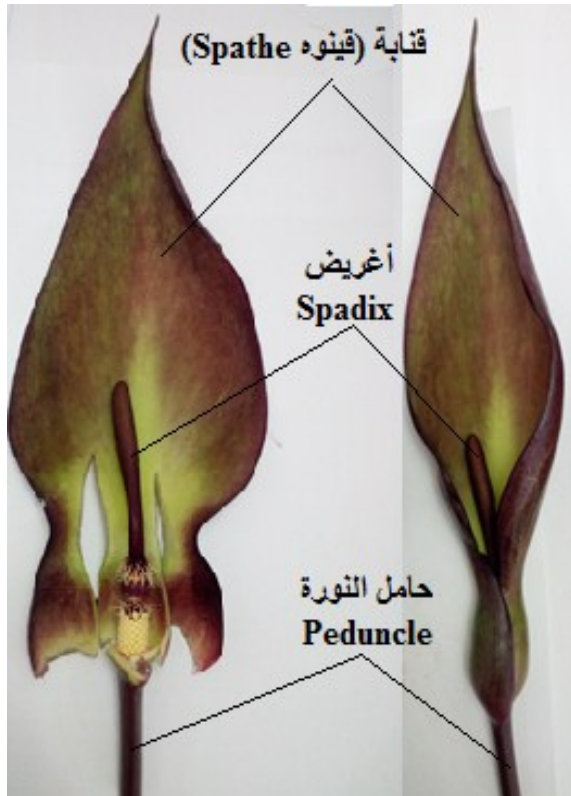
**الدراسة الميدانية:** تعد منطقة الجبل الأخضر من أهم المناطق التي تنتشر فيها العديد من الفصائل النباتية المكونة للفلورا الليبية، إلا أن الدراسات الميدانية والمورفولوجية حول الفصيلة القلقاسية *Araceae* لا زالت نادرة، في هذه الدراسة أظهرت نتائج البحث الميداني لتسعة عشر موقعاً بمنطقة الجبل الأخضر خلال شهر فبراير ومارس وأبريل لسنتي 2019-2020م وجود نبات الرينش *Arum cyreniacum*. في هذه المواقع جميعها، مما يؤكد على أن نبات الرينش البرقاوي من النباتات المستوطنة في منطقة الجبل الأخضر، وأتفقت هذه النتيجة مع (El-Darier و El-Mogaspi, 2009; Almajdoub وآخرون, 2019; El-Gadi, 1977)، وتتميز هذه الدراسة أيضاً بتسجيل هذا النبات لأول مرة في منطقة (لملودة، الأبرق، رأس التراب، وردامة، البيضاء، الوسيطة، اقنطة، قصر ليبيا، الغريقة، ستلونة، جيفاس، عمر المختار، أسلطة، قندولة)، وقد أشار (El-Mokasabi, 2014) إلى وجود هذا النوع في منطقة وادي الكوف، إلا أن (Abusaief و Alwishish, 2017) اختلف مع هذا التسجيل وأكد على عدم وجوده في منطقة أسلطة، كما لوحظ وجود هذا النبات بغزارة في الأماكن الظليلة تحت الأشجار والشجيرات، وله القدرة على النمو في المنحدرات الصخرية وفي مكب النفايات، لتوفر العوامل الملائمة لنموه كالمستوى العالي من الرطوبة الجوية، والمواد الغذائية.

يحتوي النبات على نورة واحدة أغريضية تتكون من قنابة تعرف بالقنبوة Spath أنبوبية ملفوفة من الأسفل، وتتسع في الوسط وحادة من الأعلى على شكل شرع منتصب تتدلى إلى الأمام، وتنكمش بعد عملية الإخصاب، ونضج الثمار، لها رائحة كريهة تشبه رائحة الروث ذات لون أرجواني غامق في الأطراف مع أخضر شاحب في المنتصف، محمولة على محور أسطواناني يعرف بحامل النورة Peduncle تحتوي بداخلها على تركيب أسطواناني نحيل من الأسفل ومنتفخ من الأعلى ذي لون أرجواني داكن يسمى بالأغريض Spadix أقصر من القنابة بمعدل طول من 6-11 سم، ويحمل الأزهار الذكورية، والأنثوية على جزءه السفلي شكل (4)، وتتفق هذه النتائج مع الصفات العامة لجنس *Arum* كونها ذات نورة أغريضية محمولة على Peduncle تحتوي بداخلها على Spadix يحمل الأزهار الذكورية، والأنثوية على جزءه السفلي (Barabe وآخرون، 2003، Boyce، 1993، Mayo وآخرون، 1997).

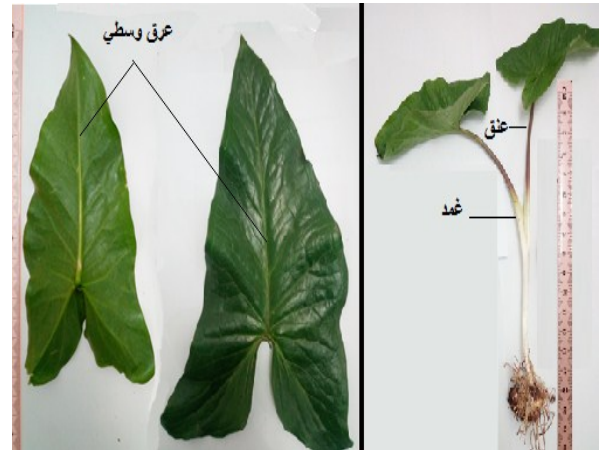


شكل (2) : درنه نبات الرينش.

الأوراق فردية، بسيطة، سهمية، مزرقية & Sagitate Hastate Simple Leaves يبلغ عددها في الغالب 4 أوراق، ذات قمة حادة يتراوح معدل طولها من 7-19 سم، ومعدل عرضها من 5-12 سم ذات عرق وسطي غائر تتفرع منه عروق جانبية، والتعرق شبكي ريشي، وتحمل على عنق Petiole طويل أخضر داكن يتراوح معدل طوله من 5-25 سم يخرج من الغمد Sheath شكل (3)، وهذه النتائج متقاربة مع ما ذكره (El-Gadi، 1977) الذي بين أن عدد الأوراق 2-3 بمعدل طول 11-30 سم، وعرض 5-14 سم.



شكل (4) : نورة نبات الرينش.



شكل (3) : أوراق نبات الرينش.

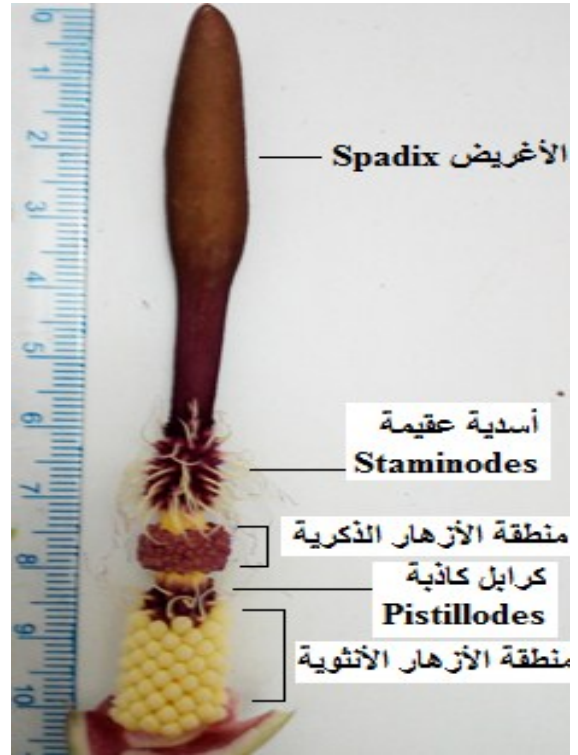
الثمار توتية بشكل مخروطي مقلوب خضراء اللون، وتتحول إلى اللون البرتقالي ثم الأحمر عند نضجها، محاطة بغلاف ثمري عصيري يتكون من ثلاث طبقات، والبذور بيضوية شكل (6).



شكل (6) : بذور، وثمار نبات الرينش.

وعند مقارنة نتائج هذه الدراسة الميدانية المورفولوجية مع البيانات المدرجة في الفلورا الليبية لنبات الرينش البرقاوي (El-Gadi، 1977)، وجد أنها أضافت 14 موقعاً جديداً لوجود نبات الرينش البرقاوي في الجبل الأخضر، كما كانت أكثر شمولية في إعطاء وصف مورفولوجي تفصيلي خاصة في الصفات الزهرية للنورة، والثمار، والبذور، وطريقة التلقيح عن ما قدمه El-Gadi عام 1977، الذي وصفها بأنها ذات قنابة Spath أنبوبية خضراء من الخارج بنية من الداخل يبلغ طولها من 5-11 سم محمولة على حامل اسطواني يوجد بداخلها Spadix يحمل أسفله أزهاراً ذكورية وأنثوية، والمبيض مستطيل والبذور منقسمة والثمار توتية.

النورة ثنائية الجنس Bisexual أحادية المسكن Monoecious، وتقع الأزهار الأنثوية أسفل الأزهار الذكورية، وعادة ما تكون المسافة بينهما من 4-8 ملم، توجد الأزهار الذكورية Male Flowers مرتبة في 4 أو 5 صفوف دائرية أراجونية، وتتكون من أسدية ذات خيوط قصيرة تحمل متك أراجوني باهت ثنائي الفص Theca يتفتح بخط قمي لنثر حبوب اللقاح بشكل مسحوق، تعلوها شعيرات خيطية مرنة ذات لون أصفر إلى كريمي تعرف بالأسدية العقيمة Stamines تعمل كشرك للحشرات أثناء عملية التلقيح، وترتب الأزهار الأنثوية Female Flowers في صفوف دائرية صفراء من 6-7 صفوف بمعدل طول من 9-14 ملم، وتتكون الكرايل من مبيض علوي وحيد الغرفة One locular يحتوي على 4 بويضات في الغالب، والقلم غائب، والميسم نصف كروي، والوضع المشيمي جداري، تعلوها شعيرات خيطية مرنة صفراء كريمية تعرف بالكرايل الكاذبة Pistillodes شكل (5).



شكل (5): الأزهار الذكورية، والأنثوية لنبات الرينش.

كما توصي بإجراء دراسات مورفولوجية مستقبلية لنباتات الفلورا الليبية كونها إحدى الطرق المعروفة في تشخيص الأنواع النباتية.

### شكر وتقدير

نتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى الدكتور محمد مخلوف جامعة طرابلس، والمهندس الزراعي سمير صالح، والدكتورة نورة علي العبيدي.

### المراجع

- Abusaief, H. M. A. (2013). Life forms and rangeland for many habitats of Jarjar oma in Al- Jabal Al- Akhdar on Mediterranean sea. *Journal of American Science*. 9 (5). 236 – 248.
- Abusaief, H. M. A. and Alwishish, F. M. (2017). Survey of endangered plants and description the seeds in some sites at Al-Jabal Al-Akhdar of Libya. *Curr. Sci. Int*, 6(3): 511-539.
- Akyol, Y. Yetisen, K. Kocabas, O. and Ozdemir, C. (2018). Morphological and Anatomical Studies on *Arum nickeli* Schott and *Arisarum vulgare* O.Targ.-Tozz Species. *KSU J. Agric Nat*, Vol.21(2):239-245.
- Almajdoub, R. A. Abogmaza, A, F.and Alaib, M. A. (2019). Economic importance of multi- purpose plants in al-jabal al-akhdar, Libya. *International Journal of Botany Studies*, 4(6). 51-56.
- Barabe, D. Lacroix, C. and Gibernau, M. (2003). Development of the flower and inflorescence of *Arum italicum* (Araceae). *Can. J. Bot*, 81: 622–632.
- Bedalov, M. and Kupfer, P. (2005). Studies on the genus *Arum* (Araceae). *Bull. Soc. Neuchateloise Sci. Nat*, 128: 43–70.



شكل(7) : عينة جافة محفوظة لنبات الرينش.

### الخلاصة

نستنتج من الدراسة انتشار نبات الرينش البرقاوي في منطقة الجبل الأخضر بصفته نوعا مستوطنا وحيدا لجنس *Arum*، ولم يسجل هذا النبات بالأقاليم الليبية الأخرى، كما أنها أضافت تسجيل هذا النوع في مناطق جديدة، و بينت الدراسة المورفولوجية أنه نبات عشبي درني ذو أوراق سهمية مزرقية بسيطة ذات أعناق طويلة، ونورة أغريضية واحدة شرعية الشكل أرجوانية غامقة تتكون من جزئين (قنابة -أغريض)، ثنائية الجنس أحادية المسكن، ذات ثمار عنبية توتية حمراء، والبذور بيضوية الشكل، لذا توصي بالمزيد من البحث حول هذا النبات، وإجراء دراسة تشريحية لنبات الرينش البرقاوي،

- El-Mokasabi, F. M. (2014). Floristic Composition and Traditional Uses of Plant Species at Wadi Alkuf, Al-Jabal Al-Akhder, Libya. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*, 14 (8): 685-697.
- El-Mokasabi, F. M. Al-Sanousi, M. F. and El-Mabrouk, R. M. (2018). Taxonomy and Ethnobotany of Medicinal Plants in Eastern Region of Libya. *IOSR-JESTFT*, Vol.12(8): 14-23.
- El-Rabiai, G. T. Al-Tira, F. M. and Lamloom, S. H. (2010). Preliminary checklist for the flora of Wadi El Ghattara in Libya. *J SciAppl*. 4(1):39-4.
- El-shatshat, S. Thabt, G. and Elhashani, N. (2009). Critical situation of the vegetation of ELGabal EL- Akhdar area: Physical and anthropogenic factors and their effects on wild utilized and endemic taxa, *International Journal of Sustainability Science and Studies*, 1: 61-63.
- Fridlender, A. (2000). Le genre Arum en Corse. *Candollea*, 55: 255-267.
- Hadjikyriakou, G. Hand, F. and Mansion, G. (2011). Arum cylindraceum subsp. pitsyllianum (Araceae), a New Taxon from Cyprus. *Novon*, Vol.21(4): 431-436.
- Hruby, J. (1912). Bull. Soc. Bot. Geneve 4: 159.
- Joudi, L. Mehregan, I. Assadi, M. and Farajzadeh, D. (2016). Genetic Diversity and Classification of Wild Arum (Araceae) Species Using Morphological Characters in Iran. *Electronic Journal of Biology*, Vol.12(3): 302-308.
- Ben Ramadan, L. Zwawi, A. Almaghour, H. Saad, M. Alfalah, A. Ben Amer, L. and Auzi, A.(2012). Toxicity and antioxidant of Arum cyrenaicum hurby. *Egypt J. Forensic Sci. Appl. Toxicol.*, vol 12(2): 1-17.
- Boyce, P. (1993). The genus Arum. London, The Royal Botanic Gardens, *Kew*. 197 p.
- Boyce, P. (1994). The genus Arum (Araceae) in Greece and Cyprus. *Ann. Musei. Goulandris*, 9: 27-38.
- Boyce, P. C. & Croat, T. B. (2014) The Überlist of Araceae, Totals for Published and Estimated Number of Species in Aroid Genera. Available from.
- Boyce, P.C. (1989). A new classification of Arum with keys to the infrageneric taxa. *Kew Bull*. 44: 383-395.
- Boyce, P. C. (2006). Arum – a decade of change. *Aroideana*, 29: 132-137.
- Chartier, M. Gibernau, M. and Renner, S.S. (2014) The evolution of pollinator plant interaction types in the Araceae. *Evolution*, 68: 1533-1543.
- Chen, J. Henny, R. J. and Liao, F. (2007). Aroids are important medicinal plants. *Acta Hortic*. 756: 347-354
- El-Darier, S. M. and El-Mogaspi, F. M. (2009). Ethnobotany and Relative Importance of Some Endemic Plant Species at El-Jabal El-Akhdar Region (Libya). *World Journal of Agricultural Sciences*; 5(3):353-360.
- El-Gadi,A. (1977). Flora of Libya. (edi: Jafri, S. M. H & El-Gadi, A). Araceae. *Al-Faateh University, Faculty of Sciences*.vol. 41: 1 – 8.



- Malaga and Spain: *International Union for Conservation of Nature*. 116.
- Ulrich, S. Hesse, M. Broderbauer, D. Bogner, J. Weber, M. and Halbritter, H. (2013). *Calla palustris* (Araceae): New palynological insights with special regard to its controversial systematic position and to closely related genera. *Taxon*, 62(4): 701–712
- Kahraman, A. Dogan, M. Celep, F. Akaydin, G. Koyuncu, M. (2010). Morphology, anatomy, palynology and nutlet micromorphology of the rediscovered Turkish endemic *Salvia ballsiana* (Lamiaceae) and their taxonomic implications. *Nord. J. Bot*, Vol. 28: 91-99.
- Kaplan, D. R. (2001). The Science of Plant Morphology: Definition, History, and Role in Modern Biology. *American Journal of Botany*, 88(10):1711-41.
- Lobin, W. Neumann, M. Bogner, J. and Boyce, P. C. (2007). A new *Arum* species (Araceae, Araceae) from NE Turkey and Georgia. *Willdenowia* 37: 445-449.
- Mayo, S. J. Bogner, J. and Boyce, P. C. (1997). The Genera of Araceae. *Royal Botanical Gardens, Kew*. 370.
- Mayo, S. J. Bogner, J. and Boyce, P. C. (1998). Araceae. In: Kubitzki, K. (Ed.) *The Families and Genera of Vascular Plants, Springer, Berlin*, vol. IV: 26–74.
- Mukassabi, T. A. Thomas, P. A. and Elmogasapi, A. (2017). Medicinal plants in Cyrenaica, Libya: existence and extinction. *Biological Diversity and Conservation*, 10/2: 183-192.
- Quilichini, A. Macquart, D. Barabe, D. Albre, J. and Gibernau, M. (2010). Reproduction of the West Mediterranean endemic *Arum pictum* (Araceae) on Corsica. *Plant Syst Evol*. 287:179–187.
- Rodford, E. A. Catullo, C. and de Montmolán, (2011). important in the southern and eastern Mediterranean plant areas: priority sites for conservation. International Union for Conservation of Nature IUCN, Gland, Switzerland,

## Morphological Characterization of *Arum cyrenaicum* Hruby Plant in Al-Jabal Al-Akhdar Region - Libya

Ahmed AmrajaaAbdulrazziq<sup>1\*</sup> and Sami Mohammed Salih<sup>1</sup>

Department of Biology, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

Received: 13 July 2020/ Accepted: 25 December 2020

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v35i3.297>

---

**Abstract:** The Araceae family is one of the widely distributed plant families globally and among the native species representing this family in Libya, especially in Al-Jabal Al-Akhdar region, is *Arum cyrenaicum*. which has not been studied morphologically since 1977. Therefore, this study aims to give a detailed morphological characterization of *Arum cyrenaicum*. and verify that there are no other species of *Arum* in nineteen locations of Al-Jabal Al-Akhdar for two seasons 2019-2020, and as a study to be added to the Libyan flora data. The results of the field study showed the presence of *Arum cyrenaicum*. in all studied locations. The study was also able to record it for the first time at 14 new locations and did not record any other genus *Arum* species. The results of the morphological study also showed that it is a tuber discoid herbaceous annual plant, which grows in the early fall season. It is characterized by simple sagittate and hastate leaves with long petiole, single inflorescence (spadix), sail shaped, dark purple in color, and it consists of two parts (spathe, spadix). It has the smell of dung, is bisexual, monoecious, with female flowers situated at the bottom of male flowers, anther consists of two thecae, superior ovary with single locule, parietal placentation, fruit berries red when ripe, and a seed shape ovate.

**Keywords:** *Araceae*, *Arum cyrenaicum*., Morphological Characterization.

\*Corresponding Author: Ahmed AmrajaaAbdulrazziq [ahmed.amrajaa@omu.edu.ly](mailto:ahmed.amrajaa@omu.edu.ly), Department of Biology, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya