



مجلة المختار للعلوم

AL-Mukhtar Journal of Sciences

Volume:37

Issue:1

2022

MJSc

30
years
ذكري التأسيس 1992



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 السابع والثلاثون، العدد الأول، 2022

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 السابع والثلاثون، العدد الأول، 2022
بريد إلكتروني: omu.j.sci@omu.edu.ly
ص.ب. 919 البيضاء - ليبيا، فاكس: +218 69 463 7053

EDITORS & STAFF

Editor-in-Chief

Ali A. Bataw

Faculty of Science, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Co-Editors-in-Chief

Hamdi A. Zurqani

Faculty of Natural Resources, University of Arkansas at Monticello, AR, USA

Yasser Aldali

Faculty of Engineering, University of Derna, Libya

Editors

Abdulaziz H. Alahlafi

Faculty of Medicine, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Muftah Hamad Abdulhadi

Faculty of Medicine, Benghazi University, Libya

Abdulsalam F. Elfowiris

Faculty of Pharmacy, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Abdul Qayoom Mir

Faculty of Medicine, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Arwa Benkhaial

Faculty of Pharmacy, Benghazi University, Libya

Nourz A. Gheriani

Faculty of Medicine, Benghazi University, Libya

Aeid A. Abdulrazeg

Faculty of Engineering, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Farhat I. Abubaker

Faculty of Engineering, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Moutaz A. Elgammi

Faculty of Engineering, University of Derna, Libya

Nwara A. Mohamed

Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Kamla M. Abdul Rahim

Faculty of Natural Resources, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Abdulsalam A. Albukhari

Faculty of Natural Resources, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Khaled M. Hussin

Faculty of Veterinary, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Esam O. Abdulsamad

Faculty of Science, Benghazi University, Libya

Houssein M. Elbaraasi

Faculty of Science, Benghazi University, Libya

Nuri H. Badi

Faculty of Science, Benghazi University, Libya

Muna M. Agbali

Faculty of Science, Omar Mukhtar University, Libya

Rafiq H. Almaghairbe

Faculty of Science, University of Derna, Libya

Ruqayet M. Rashid

Faculty of Education, Zawia University, Libya

Galal M. Elmanfe

Faculty of Science, Omar Al Mukhtar University, Libya

Ghazi S. M. Khammash

Faculty of Science, Al-Aqsa University, Khan Younis, Gaza Strip, Palestinian Authority

Hoda M. Mohamed

Faculty of Science, Al Noor College, Mosul, Iraq

Copyeditor

Fadil ELmenfi

Translation Studies, Istanbul Nisantasi University, Turkey

Mariam E. Abdulla

English language proof reader

Ibtisam K. Idris

Arabic language proof reader

Editorial Board

Ali A. Banigesh

Faculty of Medicine, University of Saskatchewan, Canada

Saeed A. Adheem

Faculty of Medicine, University of Tobruk, Libya

Abdullatif M. Amneena

Faculty of Medicine, University of Derna, Libya

Abdallah A. Juwid

Faculty of Medicine, Misrata University, Libya

Khalifa Saif Sultan Al-Jabri

Faculty of Engineering, Sultan Qaboos University, Sultanate of Oman

Abdelaziz A. Gamil

Faculty of Engineering, Cranfield University, UK

Farzad Hejazi

Faculty of Engineering, University of Putra- Malaysia

Yavuz Yardim

Faculty of Engineering, University of Edinburgh, U.K.

Abdalhamid S. Alhaddad

Faculty of Natural Resources, University of Misurata, Libya

Arul Jothi

Rajiv Gandhi Institute of Veterinary Education and Research, Mettupalayam
Pondicherry- India

Mohammed H. Mahklouf

Faculty of Science, University of Tripoli, Libya

Ayad F. Alkaim

Faculty of Science, University of Babylon –Iraq

Rabe Abdalkareem

Faculty of Science, Carleton University, Ottawa, ON, Canada

Wasan S. Hussain

Faculty of Science, Mosul university, Iraq

Nidaa A. Abbas

Faculty of Science, University of Babylon – Iraq

Sofyan A. Taya

Faculty of Science, Islamic University of Gaza, Gaza Strip, Palestinian Authority

Zaki A. Al-Mostafa

King Abdulaziz City for Science and Technology, Kingdom Saudi Arabia

Khaled S. Etayeb

Faculty of Science, Tripoli University, Libya

Ehmed Elyan

Faculty of Agriculture, Suez Canal University, Egypt

Ali M. El-Khoreiby

Faculty of Agriculture, Suez Canal University, Egypt

Mohamed Ahmed Hamoda

Faculty of Science, Alasmarya Islamic University, Zliten, Libya

Mohamed Shebl

Faculty of Agriculture, Suez Canal University, Egypt

Advisory Committee

Ibrahim S. Milad, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Fowad S. Ekraim, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Ibrahim A. Azzaga, Faculty of Agriculture, University of Sabah, Libya

Monier A. Sharif, Faculty of Veterinary, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Amira M. Al-Rawi, Faculty of Science, Al-Mosul University, Iraq

Mohamed A. Saed, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Malik R. UL- Islam, Shere e Kashmir University of Agricultural Sciences and Technology, Kashmir – India

Salem A. Elshatshat, Faculty of Science, Benghazi University, Libya

Essra G Alsammak, Faculty of Science, Al Mosul University, Al Mosul, Iraq

Ibrahim M. Eldaghayes, Faculty of Veterinary, University of Tripoli, Libya

Omar M. Al-Senussi, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Abdelsalam M. Maatuk, Faculty of Science, University of Benghazi, Libya

Amjad A Mohammed, Faculty of Science, Al-Mosul University, Iraq

Support Team

Fawzia Fathi Abdullah

Designer

Salah I. Tnatin

Technical Support

Papers	Pages
Libyan Vehicle License Plate Recognition with Support Vector Machine Aeyman M. Hassan, Sami A. Ghoul, Aya A. Alkabir	1-12
Determination of Para-Phenylenediamine (PPD) in Henna Samples Collected from Libyan Local Markets Using HPLC Galal M. Elmanfe, Osama E. Khreit , Omukalthum A. Abduljalil , Najah M. Abbas	13-21
Evaluation of Hepatotoxicity Effect of Sodium Stibogluconate (Pentostam) in Mice Model Kaula. A. Saad, Intisar. O. Abdalla, Hanan. A. Alkailani , Ahmed. M. Elbakush, Zena. A. Zreiba	22-28
Using Geological and Topographic Maps in Site Selection of Solid Waste Disposal Ali i. Eliawa	29-40
Scrapie in Eastern Libya: Case Report in Sheep fawzia F. Abdalla, Monier A. Sharif	41-47
تأثير تشميس بذور البازلاء على الفطريات المحمولة عليها وعلى حيويتها نواره على محمد، هاجر حمد العالم	48-56
التأثيرات الأيكولوجية لنبات الرينش البرقاوي <i>Arum cyreniacum</i> في إنبات ونمو صنفين من الفول سامي محمد صالح، أحلام خليفة العيلة، امراجع عبدالرازق أحمد ، جبريل الدائخ إصبيح	57-67
عزل واختبار كفاءة كل من بكتيريا <i>Azotobacter</i> وبكتيريا <i>Burkholderia</i> المعزولتين محلياً من التربة الليبية في تثبيت النتروجين الجوي ميرفت الطاهر بن محمود، إيمان علي الفرجاني	68-78
دراسة تأثير إضافة مادة أورثو فوسفات الكالسيوم على فجوات الأسنان عن طريق تحليل أطياف الأشعة تحت الحمراء أبوبكر علي يوسف الغول، طارق محمد فايز، مروة مفتاح علي احسونة	79-91
التواجد الموسمي لذباب ثمار الخوخ، <i>Bactrocera zonata</i> وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، <i>Ceratitis capitata</i> (Diptera: Tephritidae) في محطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس، ليبيا نوال عبد السلام محفوظ، هدى مصطفى عمر الشبة	92-104

Libyan Vehicle License Plate Recognition with Support Vector Machine



Aeyman M. Hassan, Sami A. Ghouli, Aya A. Alkabir
School of Computer Engineering, University of Zawia, Zawia, Libya.

Received: 17 September 2021/ Accepted: 06 March 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjisc.v37i1.525>

Abstract: Computer vision has become widely used in many aspects of our daily lives. There are a great number of applications that consider computer vision as a core part of them, such as those associated with law enforcement. This paper presents the design and implementation of a model for a vehicle building entrance, using a license plate recognition algorithm for Libyan vehicles. In addition, a small dataset of Libyan vehicles was created for research purposes. As with most recognition systems, there are mainly three stages to be distinguished: plate detection using vertical and horizontal histograms, character segmentation is performed through a connected-component labeling algorithm, and finally, optical character recognition (OCR) by using support vector machines (SVMs). An Arduino board was used to control the gate opening and closing processes according to the authorized vehicles stored in the database. Ultrasonic sensors were used to detect a vehicle stop at the gate. The system was programmed with MATLAB executed on a 2.20GHz Core i7 CPU, 8 GB RAM, Windows 10. Despite the limited size of the vehicle images dataset, the experiments showed promising performance in terms of average accuracy estimated at 83.3%, and the computation time was 5 seconds.

Keywords: Support Vector Machine; Number Recognition; Arduino.

INTRODUCTION

Nowadays, biometric information has many forms such as signature, voice, iris scan, etc. This information is used throughout to identify people for various purposes. For instance, many people use this information to lock their mobile phones. However, on different occasions, there might be more interest in identifying a person via his vehicle. Therefore, it is crucial to design a system that can distinguish vehicle owners by recognising their license plate numbers. Such systems are capable of providing appropriate solutions in several aspects, for example, monitoring traffic within restricted or dangerous areas or even granting entrance

permission to employees in companies, etc. An automatic vehicle license plate recognition system is an important topic due to its various uses, such as those in security applications: monitoring institution entrances or vehicles on the road, detecting stolen cars, etc. These systems are of great interest because of their benefits for everyday life. The system starts with the stage of image acquisition until identifying the contents of the license plate. It goes through image preprocessing, license plate localisation in the image, and then dividing the contents of the license plate (character segmentation). The last stage involves extracting basic symbols to identify them using OCR (Abdullah et al., 2009).

Many challenges affect the proper functioning of the system. Most difficulties come from the surrounding environment since these systems are normally designed to work in outdoor settings. The variations in lighting conditions, rain, and fog are among such difficulties. All these environmental conditions affect the quality of the captured image, which thus reduces the effectiveness and efficiency of the system (Selmi et al., 2020).

There is a significant amount of research looking into solving this problem. Korean license plate detection was done using a vertical edge. The character recognition was based on a template matching method (Yu & Kim, 2000). Shohreh Kasaei et al. used the same recognition method for Iranian car plates, but they used morphological parameters in the segmentation stage instead (Kasaei et al., 2010). Although template matching recognition might give a reasonable result, it has a large computation time because the comparison operation is performed pixel by pixel, in contrast with other machine learning approaches which deal with image features rather than pixels at the recognition stage, as like the one used in this work. In another study (Duan et al., 2005), Hough transform was utilised to detect vehicle plates and a hidden Markov model for the recognition stage. Arth et al. used the same method to localise a vehicle plate. SVM was used for number recognition instead (Arth et al., 2007). YOLO (You Only Look Once) deep learning was used to recognise Taiwan's car license plates (Chen, 2019). Different versions of YOLO were applied in each stage of the recognition algorithm (Henry et al., 2020). Laroca et al. used two convolution neural networks (CNNs) for vehicle and license plate detection. Two CNNs were also used for letters and digits recognition (Laroca et al., 2018). Although deep neural networks were successful in many recognition tasks, you have to provide a large amount of data during the training stage (Björklund et al., 2019; Li & Shen,

2016; Selmi et al., 2020). Due to the limitation of the dataset size used, a decision was made to use histogram projection and support vector machine for the detection and recognition stage, respectively, instead of deep learning approaches (Singh & Bhushan, 2019).

Several pieces of research have been conducted for Libyan vehicle license plate recognition. Two methods have been applied in the recognition stage, which are template matching and an approach based on endpoints (Algablawi et al., 2013). Abdella used vertical and horizontal projection to detect the license plate, while template matching was also used for number recognition (Abdella, 2016). A Combination between template matching and a probabilistic neural network was used to recognise digits in Libyan license plates (Jabar & Nasrudin, 2016). Although the current research might obtain a reasonable result in the recognition stage for Libyan vehicles using the template matching method, this method is not shift or scale-invariant. Furthermore, comparing images pixel by pixel causes an increase in the computation time. Vehicle license plates vary from country to country in colour and shape. They also have different contents, of which many are digits, while others are a mix between numbers, characters, and symbols. All these variations influence the choice of an appropriate method that can do well with a particular application. Therefore, a kind of balance between accuracy and computation time must be considered. This paper aims to design and implement a reliable recognition system, which is able to recognise Libyan vehicle license plates despite the small dataset size. Features extraction is performed in this work instead of methods that mainly work at the pixel level. The recognition stage was performed using one of the machine learning algorithms. Furthermore, building a small model to simulate a vehicle control access to institutional premises.

The paper is structured as follows. The second section demonstrates the methodology of this work in terms of hardware and software. The details about the data and experiments are discussed in the third section. It also presents a comparison with other approaches. The last section of this paper is about summarizing the research findings. In addition, it suggests potential future works that might assist in improving the current results.

MATERIALS AND METHODS

The system's model contains two vehicle gates. The first gate is specified for the entrance, while the second is for the exit, as shown in Figure 1. This is what might usually be found in a real company building. To clarify the working procedure, a vehicle stops at the entrance gate. At this moment, the driver still sees a red light on the gate.



Figure: (1). Model of the vehicle plate recognition system

An ultrasonic sensor detects the vehicle and sends a signal to a MATLAB algorithm. The algorithm starts working by sending a command to the camera mounted on the gate to capture the vehicle. After completing the operation of number recognition for the current license plate, there are two possibilities. The first possibility is to find the number within the database list for those who have permission to get inside. A green light will be on, and the gate will be opened automatically. In the second case, the vehicle is not allowed to enter. The gate will be kept

closed and the person will be alerted with the red light. The working of the exit gate is rather simpler than that. There is no need to validate the license plate number. The ultrasonic sensor detects the vehicle here as well. Consequently, the red light will be turned off, and the green light will be on. Finally, the gate opens to allow the vehicle to exit. This gate is not connected to the recognition algorithm. The gate was built using Arduino and ultrasonic sensors. Figure 2 shows the connection between all system components.

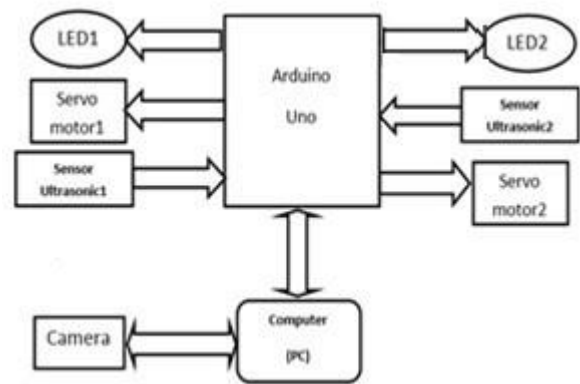


Figure: (2). A block diagram of our algorithm

HARDWARE

This section explains the specifications of each component that is used in this work and clarifies its role in achieving the final task.

Arduino: It is the main development board that is used to control vehicle gates in this simple model. It has a microcontroller board based on (ATmega328) with 14 I/O digital pins. Arduino Uno was chosen for the circuit for the sake of simplicity.

Ultrasonic sensor: The working principle of this sensor is based on sound waves. It consists of four pins (Vcc, Trigger, Echo, Ground). It works by sending a wave at the speed of sound that travels through the air. Once it hits an object in its way, the wave then returns and is collected by the sensor receiver. The following equation is used to

calculate the distance.

$$D = \frac{t * 0.034}{2} \quad (1)$$

Where D is the required distance, $0.034\mu s$ is the speed of sound, t is the time it takes for the sound waves to return to the ultrasonic sensor after striking an object. The HC-SR04 module is chosen for this model.

Servo motor: This kind of motor is a DC (Direct current) motor equipped with an electronic circuit to precisely control the position and direction of rotation of the motor shaft.

Camera: In this project, a USB-type camera (Microsoft Life Cam VX-800) is used in this model. The connection between all hardware components is shown in Figure 3.

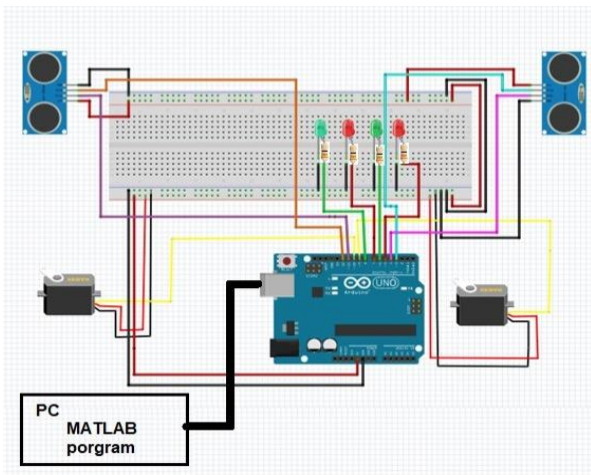


Figure: (3). Gate controlling circuit

SOFTWARE

The algorithm starts with image preprocessing operations to prepare an image for the three main stages of the recognition algorithm: car plate detection, number segmentation, and number recognition, respectively.

Image Preprocessing: The algorithm converts the captured image from an RGB image (Red, Green, Blue) to a greyscale

image. The pixel intensity of the grey image is in the range (0-255). The value 0 represents the black colour while 255 is the white colour, and any value in between is a level in the grey colour. The algorithm takes the grey image as input and then converts it to a binary image, which is also called a logical image. The binary image has two possible intensity values, either 0 or 1 which represent the black or white colour respectively. This operation is performed by choosing a threshold value in which pixel values equal or above the threshold are set to 1 (white) while others are set to 0 (black). By converting the image from coloured to binary, unnecessary information is reduced, especially when image processing is machine-oriented. On the other hand, humans care considerably about image details and resolution. Figure 4 shows the steps of converting an image to a binary type.



Figure: (4). Image preprocessing

Car Plate Detection: The input at this stage is a binary image. This image contains a

vehicle and other objects in the scene. The output is an image of the extracted car license plate. This stage involves the following steps: edge detection, vertical and horizontal edge histogram projection, and finally, choosing the highest probability within image segments to be a license plate among all candidates.

Edge detection: This operation is performed using a Sobel filter. The filter calculates the image gradient from the intensity of its pixels. It finds the direction of the greatest gradient. The filter uses two matrices as shown in Equation 2. The first matrix finds intensity changes in the horizontal direction, while the second matrix is dedicated to the vertical direction (Kanopoulos et al., 1988).

$$G_x = \begin{bmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 2 & 0 & -2 \\ 1 & 0 & -1 \end{bmatrix} * A$$

$$, G_y = \begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 1 & 0 & -1 \\ 1 & 2 & 1 \end{bmatrix} * A \quad (2)$$

Where A represents an original image, G_x and G_y are the gradients in both the x and y-direction. To determine G_x and G_y , the filter kernel is moved over the input image to calculate the value of one pixel and then shift the kernel one pixel to the right. When reaching the end of the current row, the filter is placed at the beginning of the next row, as shown in Figure 5. The following equation illustrates an example of calculating one value of G_x .

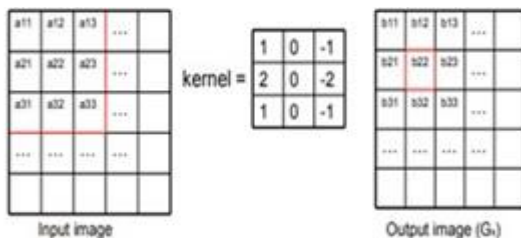


Figure: (5). Sobel filter implementation

$$b_{22} = a_{13} - a_{11} + 2 * a_{23} - 2 * a_{21} + a_{33} - a_{31} \quad (3)$$

Equation 4 illustrates the calculation of the gradient magnitude, while Equation 5 calculates the gradient direction.

$$G = \sqrt{G_x^2 + G_y^2} \quad (4)$$

$$\theta = \frac{G_y}{G_x} \quad (5)$$

The obtained result after applying the filter on the image is shown in Figure 6.



Figure: (6). Edge detection with Sobel filter

Histogram projection: In this step, the algorithm finds projections of the horizontal and vertical edge histograms for the obtained image from the last step. It processes column by column in the horizontal histogram. In each column, it starts by subtracting the second-pixel value from the first one. If the result exceeds a threshold value, it will be stored in a list, then moved down to the next pixels, and the same processes will be repeated until passing through the entire column. The values are added up to get the first value in the differences group. The algorithm moves to the second column and so on until reaching the last column in the image, as shown in Figure 7. The same procedure is applied to the vertical histogram, as shown in Figure 8, but the process is applied on rows instead (Jagannathan et al., 2013). As shown in Figure 7 and Figure 8, the noise noticeably appears at the edges of

the horizontal and vertical histograms.

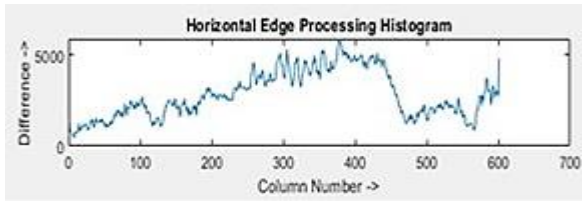


Figure: (7). Horizontal edge processing histogram

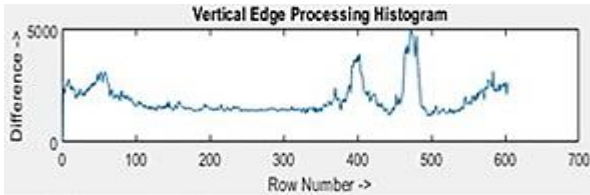


Figure: (8). Vertical edge processing histogram

A low-pass filter is used to smooth the line curves, as shown in Figure 9 for the horizontal edge and Figure 10 for the vertical edge. If the region has high horizontal and vertical histogram values, it is highly likely to be a vehicle license plate. Other regions are removed from an image by applying a dynamic threshold on both horizontal and vertical histograms. The dynamic threshold is equal to the average value of the histogram. The output of this operation is a graph showing the areas that have a high probability of being license plates, as shown in Figure 11 and Figure 12.

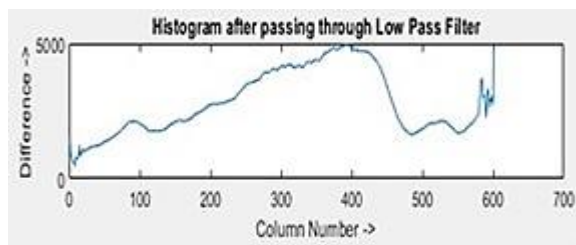


Figure: (9). Horizontal histogram after low pass filter

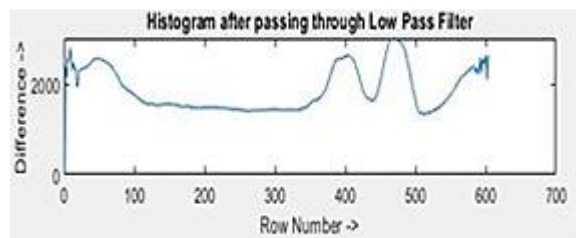


Figure: (10). Vertical histogram after low pass filter

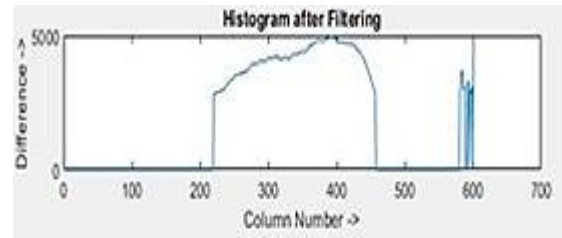


Figure: (11). Horizontal histogram after filtering

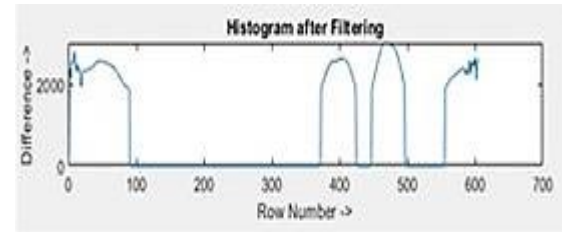


Figure: (12). Vertical histogram after filtering

The coordinates of all candidates are stored in an image array, as shown in Figure 13. The algorithm finds a common area with a maximum value in the horizontal and vertical graphs. This area is extracted as it represents the license plate. Then, the resulting image is converted to a binary image, while small objects are discarded, (which cannot be digits), as shown in Figure 14.



Figure: (13). Candidate areas



Figure: (14). The result of car plate detection

Number Segmentation: After acquiring the license plate, the algorithm separates each

number in order to recognise the full series in the last stage. It is also discarding other objects which cannot be digits. This work is achieved using connected-component labelling (He et al., 2009).

The connected labelling components use a 4-connected neighbourhood or an 8-connected neighbourhood. For the 4-connected neighbourhood, they are the neighbours' pixels that share an edge with pixel p . While in the 8-connected neighbourhood, it is a set of pixels that share an edge or a corner with pixel p , as shown in Equation 6.

$$\begin{array}{cccc}
 & 1 & & 8 & 1 & 2 \\
 ccl_4 = 4 & p & 2, & ccl_8 = 7 & p & 3 & (6) \\
 & 3 & & 6 & 5 & 4 \\
 ccl_4 = 1 & 4 & p & 2 & 3, & ccl_8 = 8 & 1 & 2 & 7 & p & 3 & 6 & 5 & 4
 \end{array}$$

Each foreground pixel becomes a node in a tree graph. Two nodes are connected if the corresponding pixels are neighbours. When applying the connected-component labelling to the image in Figure 14, the result is a set of images in Figure 15. The ratio between the width and height of those images is used to exclude other objects that cannot be digits. For instance, the last word in Libyan vehicle plates (ليبيا) has a high-ratio value. Therefore, it will be removed. Furthermore, the connected-component labelling starts extracting objects in an image from top to down and left to right. Thus, it is suitable for Libyan vehicles license plates. These license plates have a rectangular shape, and all numbers appear in one line. Therefore, there is no need to do any kind of reordering after finishing the recognition stage.

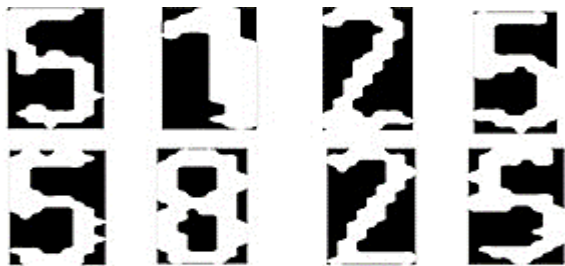


Figure: (15). Number segmentation

Number Recognition: At this point, the algorithm reaches its last stage. It classifies images into digits between 0 and 9. It also discards other objects with a low confidence rate. Therefore, data must initially be provided for the recognition algorithm to be used in the training step. The recognition stage consists of two main steps: features extraction using histogram of oriented gradient (HOG) and number classification using SVM.

Data collection: A group of one hundred images of Libyan vehicles has been captured from the front view. They were separated into two groups, a training group of seventy images to be used in classifier training and a test group of thirty images for algorithm evaluation.

Features extraction using HOG: one of the successful results of HOG was for pedestrians' detection (Dalal & Triggs, 2005). After that, HOG became widely used for detecting other objects such as animals, vehicles, motorcycles, etc. HOG starts by calculating the gradient using a one-dimensional (1D) discrete derivatives mask in both vertical and horizontal directions, as shown in Figure 16. The second step is building cell histograms. The histogram channel ranges from 0 to 180 or 0 to 360 degrees. An orientation-based histogram channel is determined from a weighted vote for each pixel within the cell, as shown in Figure 17. The weighted vote is based on the calculated gradient magnitude. The aim of the third step is to calculate descriptor blocks from the normalised cell histogram. Each block consists of four 8x8 pixel cells (16x16 pixels per block) with nine histogram channels. The last step in HOG is to normalise the descriptor blocks to mitigate the visual effect induced by light variations. The normalisation is performed using the L2 norm, which is a standard method to compute the length of a vector in Euclidean space. The images in Figure 15 were cropped to size 17 x 17 pixels before applying feature extraction

in the training and test step of the SVM classifier.

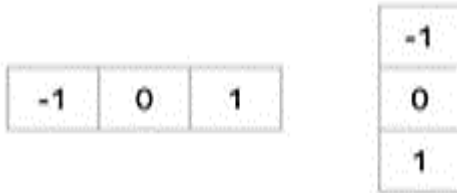


Figure: (16). Gradient kernels

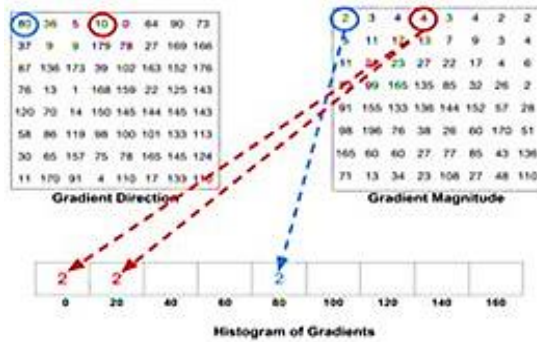


Figure: (17). Histogram of oriented gradient

Number classification using SVM: In machine learning, supervised learning is an algorithm that uses some labelled examples to train its classifier. As a result, the classifier will be able to predict other examples that have not been seen before. Due to its flexibility and simplicity, the support vector machine has been chosen for classification. SVM is a linear classifier that is used for data classification. It can learn through provided examples to predict the correct class among unseen examples. It is sometimes called a binary classifier because it separates two classes of data points via a hyperplane.

The SVM outputs a map of labelled data with a maximum margin. The margin represents a symmetrical distance on both sides of the hyperplane. The SVM tries to maximise this margin as much as possible. The data points near the hyperplane are called (Support-Vector). Figure 18 illustrates how the support-vector machine method distinctly separates data points (Noble, 2006).

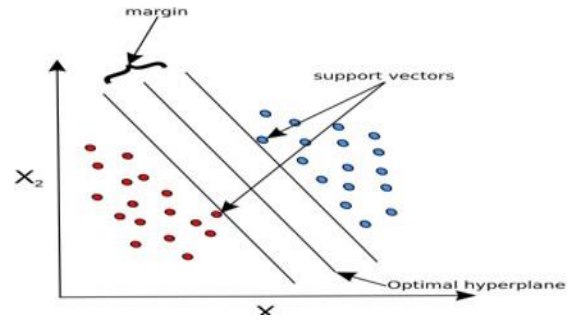


Figure: (18). Support Vector machine

The current research aims to recognise digits between 0 and 9. Although the support vector machine is a binary classifier, it can still be adapted for multiclass classification. This is performed using the One-vs-All approach. It finds many classifiers; each classifier can distinguish one digit from the rest. The SVM has a parameter called a kernel. The kernel is a mathematical function that specifies the shape of the SVM hyperplane such as nonlinear, linear, polynomial, radial basis function (RBF), Gaussian, and Sigmoid, as shown in Figure 19. The RBF kernel has been selected in the selected algorithm based on experiments and results.

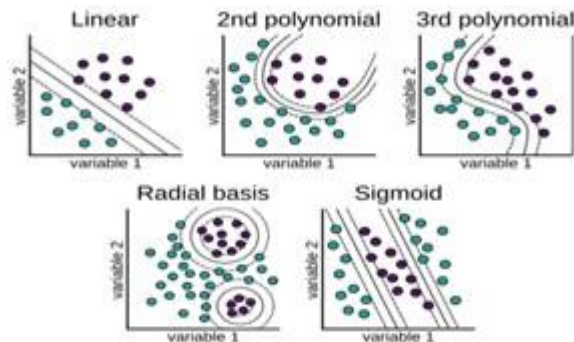


Figure: (19). SVM kernels

SVM is well known for its performance even with a small dataset, as in this case. In addition, it is being considered a brilliant classifier for binary classification.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Many experiments have been conducted to evaluate the used algorithm's performance. In the training stage, different SVM kernels were tested using seventy images to decide

which ones of them would be the best. As a result, the RBF was selected as a kernel. After being trained, the algorithm was tested on a group of test images. These images have not appeared along with the training processes. The test group represents 30% of the dataset. The algorithm recognises twenty-five images correctly out of thirty with satisfactory computation time (5 seconds). The accuracy of the used software is evaluated at 83.3%. According to the small size of the dataset, this is an encouraging result. Abdullah et al. obtained an accuracy of 80% for Malaysian vehicles (Abdullah et al., 2009). They also used SVM for the recognition process, but both results cannot be compared because of the difference in datasets in terms of their size and format. YOLO deep learning achieved 98.22%

accuracy on license plate recognition. The computation time was less than one second (Chen, 2019). Yu et al. focus on plate localisation, which can lead to accuracy improvement for license plate recognition. Their method was based on a wavelet transform and empirical mode decomposition (EMD). The accuracy of their license plate detection was 97.91% (Yu et al., 2015). End-to-end deep learning architecture has achieved a recognition rate of more than 95% on four Chinese test sets. The computation time of this method was only 0.2 seconds (Wang et al., 2020). The result of the current study was also compared with results obtained from different methods dedicated for Libyan vehicles in terms of accuracy for each stage and overall accuracy as shown in Table 1.

Table: (1). Performance measurement

Method	Detection (%)	Segmentation (%)	Recognition (%)	Overall accuracy (%)	No. images
(Abdella, 2016)	67.5	-	81.4	25	200
(Algablawi et al., 2013)	96.15	85	92.19	75	104
The proposed method	97	92	96	83.3	100

Figure 20 shows the MATLAB graphical user interface (GUI) used. This GUI has an option to load a stream from a camera. The figure also displays three examples of successful results under different light conditions, where pictures were taken at different times during the daytime. The angles of the capturing were slightly different among images. However, all images contain the front part of vehicles because the system is designed for gate entrance. The algorithm was able to recognise the vehicle license plate number and present the result as a text at the bottom of the MATLAB GUI. As mentioned before, there are three stages for the recognition algorithm. The algorithm might fail at any stage of them. As a consequence, it affects the software performance. Figure 21 displays two instances of unsuccessful results. The source of error in the top image was due to

the detection step. The software could not localise the correct position of the vehicle license plate. Therefore, it failed in the subsequent stages. In the second example of Figure 21, the algorithm succeeded in the first and second stages, but it failed in the last stage. The software was not able to identify the license plate number correctly because the digits were ambiguous. The ambiguity caused the numbers to be cut in the middle, which produced many objects during the segmenting stage.

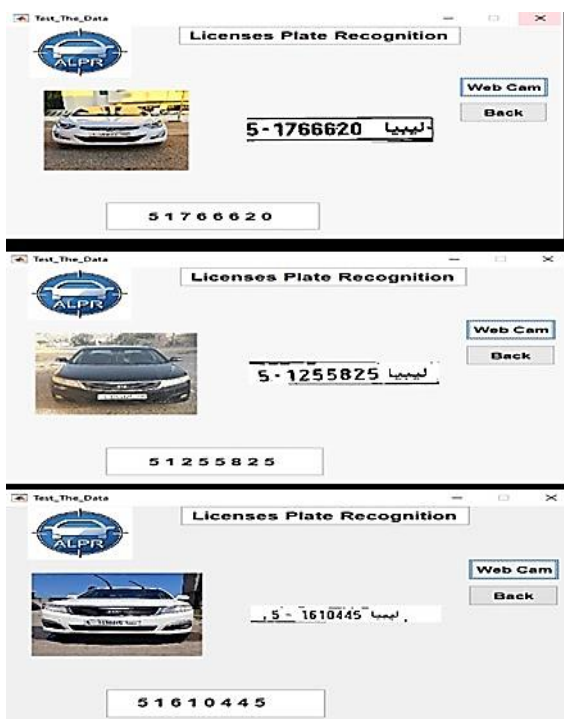


Figure: (20). Successful results

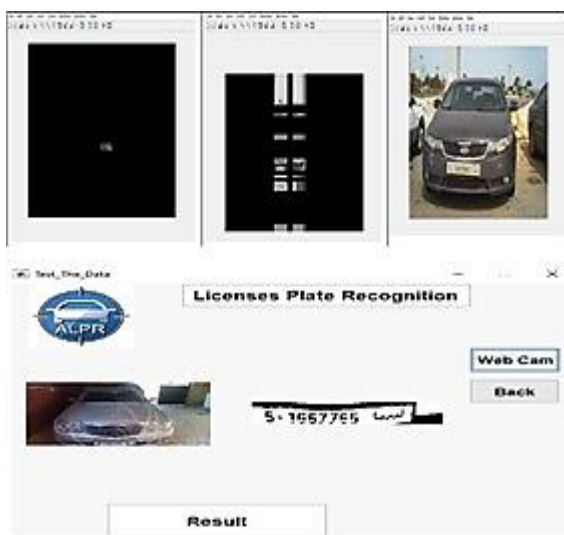


Figure: (21). Unsuccessful results

CONCLUSION

This paper presented a model for recognising Libyan car license plates. The procedure starts by detecting the car using an ultrasonic sensor. The Arduino sends a signal to the interface, which was designed by MATLAB to start capturing the vehicle. Then, the algorithm extracts the location of the vehicle plate in the image using a vertical and

horizontal histogram. Next, the number segmentation is accomplished using connected-component labelling, which is followed by histograms of oriented gradients (HOG) for features extraction operation.

Finally, the support vector machine (SVM) is utilized to recognise digits. As a result, the gate is opening while the green led is being turned on for authorised vehicles, otherwise kept closed. As future work, collecting more vehicle images is a target to widen the proposed database in which deep learning can be used to improve the recognition rate. To reduce the cost of the current hardware, an embedded system such as Raspberry Pi could be used as the main board of the recognition software. In addition, a low-level programming language such as C++ could be used to lower the computation time cost.

REFERENCES

- Abdella, A. A. E. S. (2016). Libyan licenses plate recognition using template matching method. *Journal of Computer and Communications*, 4(07), 62 .
- Abdullah, S. N. H. S., Omar, K., Sahran, S., & Khalid, M. (2009). License plate recognition based on support vector machine. 2009 International Conference on Electrical Engineering and Informatics ,
- Algablawi, W., BenAnaif, W., & Ganoun, A. (2013). Libyan Vehicle License Plate Recognition System. International Conference on Elecetrical and Computer Engineering ,
- Arth, C., Limberger, F., & Bischof, H. (2007). Real-time license plate recognition on an embedded DSP-platform. 2007 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition ,
- Björklund, T., Fiandrotti, A., Annarumma, M., Francini, G., & Magli, E. (2019) .

- Robust license plate recognition using neural networks trained on synthetic images. *Pattern Recognition*, 93, 134-146 .
- Chen, R.-C. (2019). Automatic License Plate Recognition via sliding-window darknet-YOLO deep learning. *Image and Vision Computing*, 87, 47-56 .
- Dalal, N., & Triggs, B. (2005). Histograms of oriented gradients for human detection. 2005 IEEE computer society conference on computer vision and pattern recognition (CVPR'05),(
- Duan, T. D., Du, T. H., Phuoc, T. V., & Hoang, N. V. (2005). Building an automatic vehicle license plate recognition system. Proc. Int. Conf. Comput. Sci. RIVF ,
- He, L., Chao, Y., Suzuki, K., & Wu, K. (2009). Fast connected-component labeling. *Pattern Recognition*, 42(9), 1977-1987 .
- Henry, C., Ahn, S. Y., & Lee, S.-W. (2020). Multinational license plate recognition using generalized character sequence detection. *IEEE Access*, 8, 35185-35199 .
- Jabar, K. A., & Nasrudin, M. F. (2016). Libyan vehicle plate recognition using region-based features and probabilistic neural network. *Journal of Theoretical and Applied Information Technology*, 94(1), 104-114 .
- Jagannathan, J., Sherajdheen, A., Deepak, R. M. V., & Krishnan, N. (2013). License plate character segmentation using horizontal and vertical projection with dynamic thresholding. 2013 IEEE International Conference ON Emerging Trends in Computing, Communication and Nanotechnology (ICECCN),(
- Kanopoulos, N., Vasanthavada, N., & Baker, R. L. (1988). Design of an image edge detection filter using the Sobel operator. *IEEE Journal of solid-state circuits*, 23(2), 358-367 .
- Kasaei, S. H., Kasaei, S. M., & Kasaei, S. A. (2010). New Morphology-Based Method for Robust Iranian Car Plate Detection and Recognition. *International Journal of Computer Theory and Engineering*, 2(2) .264 ,(
- Laroca, R., Severo, E., Zanlorensi, L. A., Oliveira, L. S., Gonçalves, G. R., Schwartz, W. R., & Menotti, D. (2018). A robust real-time automatic license plate recognition based on the YOLO detector. 2018 international joint conference on neural networks (ijcnn),(
- Li, H., & Shen, C. (2016). Reading car license plates using deep convolutional neural networks and LSTMs. *arXiv preprint arXiv:1601.05610* .
- Noble, W. S. (2006). What is a support vector machine? *Nature biotechnology*, 24(12), 1565-1567 .
- Selmi, Z., Halima, M. B., Pal, U., & Alimi, M. A. (2020). DELP-DAR system for license plate detection and recognition. *Pattern Recognition Letters*, 129, 213-223 .
- Singh, J., & Bhushan, B. (2019). Real Time Indian License Plate Detection using Deep Neural Networks and Optical Character Recognition using LSTM Tesseract. 2019 International Conference on Computing, Communication, and Intelligent Systems (ICCCIS),(
- Wang, D., Tian, Y., Geng, W., Zhao, L., & Gong, C. (2020). LPR-Net: Recognizing Chinese license plate in

complex environments. *Pattern Recognition Letters*, 130, 148-156 .

Yu, M., & Kim, Y. D. (2000). An approach to Korean license plate recognition based on vertical edge matching. Smc 2000 conference proceedings. 2000 ieee international conference on systems, man and cybernetics.'cybernetics evolving to systems, humans, organizations, and their complex interactions'(cat. no. 0 ,

Yu, S., Li, B., Zhang, Q., Liu, C., & Meng, M. Q.-H. (2015). A novel license plate location method based on wavelet transform and EMD analysis. *Pattern Recognition*, 48(1), 114-125 .

التعرف على رقم لوحة السيارات الليبية باستخدام آلة المتجهات الداعمة

أيمن مختار حسين*، سامي عبد المجيد الغول وآية على الكبير

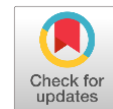
قسم هندسة الحاسوب، جامعة الزاوية، الزاوية - ليبيا

تاريخ الاستلام: 17 سبتمبر 2021 / تاريخ القبول: 06 مارس 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.525>:Doi

المستخلص: أصبح مجال رؤية الكمبيوتر مستخدم على نطاق واسع في شتى جوانب حياتنا اليومية. أحد هذه التطبيقات المهمة استخدامه لفرض تطبيق القانون. يقدم هذا البحث نموذجاً لعملية تصميم، وتنفيذ مدخل للسيارات الخاصة بالمباني باستخدام خوارزمية التعرف على رقم لوحة السيارات الليبية، بالإضافة إلى بناء قاعدة بيانات صغيرة خاصة بصور السيارة الليبية، والتي يمكن استخدامها في الأغراض البحثية، مثل معظم أنظمة التعرف، هناك ثلاث خطوات أساسية، بداية بكشف اللوحة باستخدام الرسم البياني الرأسى والأفقى (vertical and horizontal histogram)، بعد ذلك استخلاص الأحرف، والأرقام بواسطة خوارزمية (connected component labeling)، الخطوة الأخيرة في نظام التعرف هي التعرف على الحروف optical character recognition (OCR) والتي يتم إجراؤها بواسطة إحدى طرق تعلم الآلة المعروفة باسم Support Vector Machine (SVM) تم استخدام لوحة الاردينو (Arduino) للتحكم في فتح وإغلاق البوابة، وفقاً لقائمة السيارات الموجودة في قاعدة البيانات، والمصرح لها بالدخول، تساعد المجسات فوق الصوتية في كشف توقف السيارة عند البوابة، عملية برمجة النظام تمت باستخدام برنامج الماتلاب (MATLAB)، ويتم تشغيلها على جهاز بمواصفات معالج من نوع Core i7 CPU بسرعة 2.20 جيجا هرتز، وذاكرة الوصول العشوائي هي 8 قيقا بايت، والنظام هو ويندوز 10. ومع أن عدد صور السيارات (التي تم تجميعها خلال هذا العمل) في قاعدة البيانات المستخدمة محدود، فإن التجارب العملية تعطي نتيجة واعدة من حيث متوسط الدقة وهي: (83.3%)، وزمن تنفيذ البرنامج هو: (5 ثوانٍ).

الكلمات المفتاحية: آلة المتجهات الداعمة، التعرف على الأرقام، لوحة الاردينو.



Determination of Para-Phenylenediamine (PPD) in Henna Samples Collected from Libyan Local Markets Using HPLC

Galal M. Elmanfe^{1*}, Osama E. Khreit², Omukalthum A. Abduljalil³ and Najah M. Abbas¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

²Department of Pharmacology, Toxicology and Physiology, Faculty of Veterinary, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

³Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

Received: 26 September 2021/ Accepted: 18 January 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.520>

Abstract: Henna is frequently used as body adornment in Libya, the Arabic world, and some African and Asian countries. It is part of the traditions and cultures. The addition of para-phenylenediamine (PPD) to the natural henna increases the risk of allergic contact dermatitis as well as toxic effects, which sometimes lead to severe toxicity and death. Cases have already been reported in Al-Bayda city - Libya. This study aimed to identify the presence and determination of PPD in henna by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). In the current study, eleven henna samples were collected from local markets in Al-Bayda - Libya. A rapid, simple, and reliable method is developed and validated for the determination of PPD in henna samples using 50% methanol solution as solvent. The method is validated over a wide linear range of 5 – 25 µg/ml with correlation coefficients being consistently greater than 0.997. The minimum PPD level was observed in a random sample of mixed henna (paste2) (0.0104 % w/w), while the Royal Black Henna sample showed the highest PPD content (11.9107 % w/w). The HPLC measurements indicated that the results of PPD concentrations in the Royal Red henna sample and Shikha henna (natural henna) were PPD free (ND) (Not Detected). The concentrations in Black henna samples were higher than Red henna samples. The PPD content in red henna samples analyzed in this study is below the allowable limits set by the Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) and the US Food and Drugs Administration. While in Black henna samples it was higher than that recommended limit.

Keywords: Black Henna; Red Henna; PPD; Methanol; HPLC

INTRODUCTION

Henna or Hina *Lawsonia inermis* .L, family Lythraceae is a flowering plant or shrub native to tropical and subtropical regions of Africa and Southern Asia. Henna is commercially cultivated in Morocco, Sudan,

India, Pakistan, Yemen, and other countries. Henna body art is done by putting henna paste on the skin. The henna paste is made by drying the henna leaves and crushing them to powder, and then this powder is combined with oil or water to form the paste. The henna paste is applied to the skin, the dye called lawsone present in henna leaves extract

*Corresponding author: ¹ Galal M. Elmanfe galal.elmanfe@omu.edu.ly, Chemistry department, Faculty of Science, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

would migrate from the paste to the skin outermost layer, and when the paste is kept on the skin for longer, more lawsone migrates, resulting in a red-brown stain (Robert, 2002). Since the bronze era in the eastern Mediterranean, henna has been used to beautify women's bodies during wedding celebrations and other social gatherings. Henna is used for skin adornment and hair coloring during social events in the Arab world and the Indian subcontinent, particularly during wedding celebrations, people adorn the bride and sometimes groom with henna (Doumas and Doumas, 1992). Paraphenylenediamine (PPD) is a chemical substance that is widely used as a permanent hair dye. It is an organic compound with a chemical formula of $C_6H_4(NH_2)_2$. This derivative of aniline is a white solid, but samples can darken due to air oxidation (Puri and Puri, 2013). It is mainly used as a component of engineering polymers and composites, and also an ingredient in hair dyes as well as used occasionally as a substitute for henna (Puri and Puri, 2013; HSDB, 1993). Paraphenylenediamine (PPD) is a monocyclic arylamine compound. It is a white to light purple powder that oxidizes, turning first to red, then brown, and finally to black on exposure to air (HSDB, 1993). In addition to hair dyes and henna, PPD may also be found in textile or fur dyes, photographic developing agents, dark coloured cosmetics, temporary tattoos, photocopying and printing inks, black rubber, oils, greases, gasoline, and as an antioxidant in rubber compounds (Puri and Puri, 2013; HSDB, 1993). Its use is being supplanted by other aniline analogues and derivatives such as 2,5-diamino hydroxyethylbenzene and 2,5-diaminotoluene. Other popular derivatives include tetraaminopyrimidine, indoanilines, and indophenols. Derivatives of diaminopyrazole give red and violet colours (Thomas et al., 2007). Individuals may be occupationally exposed to PPD during its manufacture or use, and the exposure may occur through inhalation, skin and/or eye

contact, and ingestion (SCCP, 2006). In the case of short-term exposure to high amounts of PPD (acute toxicity), the symptoms include severe dermatitis, eye irritation with tearing, asthma, gastritis, renal failure, vertigo, tremors, convulsions, coma, and death. On the other hand, long-term exposure (chronic effect) might lead to eczematous contact dermatitis (Kind et al., 2012; Jacob et al., 2008; Lepoittevin and LeCoz, 2007).

Currently, PPD is added to henna and more than 1000 hair dye formulations marketed all over the world (Stanley et al., 2005). Epidemiologic studies demonstrated that workers in the textile dye and rubber industries, hair dye users, and barbers incurred a high risk of bladder cancer, non-Hodgkin's lymphoma, multiple myeloma, and hematopoietic cancers (Thun et al., 2005). Carcinogens usually cause genomic damage to expose cells which may either undergo apoptosis or proliferation with genomic damage and potentially lead to transformation in cancerous cells (Steller, 1995). Some analytical methods are developed for the determination of PPD in henna, hair dyes, and other products by HPLC (Elmanfe et al., 2019; Al-Suwaidi and Ahmed, 2010; Ursula et al., 2002; Yoshiaki and Masa-aki, 2000), GC/MS (Stambouli et al., 2014; Di Gioiaa et al., 2005), voltammetric method (Inzhang et al., 2011), emission spectroscopy (Kessarain et al., 2012) and some spectrophotometric methods are reported.

The spectrophotometric methods have their relative merits. But the methods are carried out with time-consuming diazotization followed by coupling with N-(1-naphthyl) ethylenediamine (Nitin et al., 2010), which involves oxidation of the compound converted into salt measured colorimetrically (Hilton, 1960), and coupling of triclosan with reagent 2-aminonaphthalene-4,8-disulfonic acid with low-level detection (Olexander and Natalia, 2010). Another method is based on the reaction of sodium nitrite with p-

sulfanilic acid in an acidic medium to form a diazonium ion. Triclosan then further formed an azo compound in an alkaline medium (Huihui et al., 2009). Determination of triclosan in antiperspirant gels by first-order derivative spectrophotometry was also developed (Du et al., 2011).

The present study was aimed to develop a simple, sensitive, rapid, reproducible, precise, and accurate spectrophotometric method and HPLC techniques for the analysis of PPD. This method was based on other methods recommended by other researchers with some modifications, in order to isolate and determine PPD in hair dyes and henna (Elmanfe et al., 2019; Latha et al., 2014; Al-Suwaidi and Ahmed, 2010). The method used is more rapid and simple when compared with other methods (Latha et al., 2014; Al-Suwaidi and Ahmed, 2010). The objectives of this study were to detect the presence and concentration of PPD in henna available in the Libyan market because of the increased risk of toxicity caused by this ingredient, and several death cases have been reported in the past few years in Libya, especially in El-Bieda city.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals and reagents: All chemicals, analytical standards, reagents, and solvents used throughout this study were analytical grade and highly pure. PPD (Para-Phenylenediamine) was purchased from (India-ResearchLab) with a purity of 97 % (for research and development). Also, other chemicals and solvents were used, including Methanol (Riedel-Dehaen AG Seelze Hannover) with 99.9 % purity (for HPLC) as a solvent, Ammonia (BDH-Laboratory), and Acetic acid (Riedel-Dehaen AG Seelze Hannover) with 99.8 % purity.

Chemicals : Standard PPD solution : 0.01 g in 100 ml (0.10 mg ml^{-1}) solution was prepared. Working standards were prepared by appropriate dilution of the stock. (5, 10,

15, 20, and $25 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$). Aqueous methanol solution. 50 %. Acetic acid solution 0.05 M: 2.88 ml of acetic acid in 1000 ml distilled water and adjusted to a pH of 5.9 with ammonia. This solution was used for HPLC as the aqueous mobile phase.

Instrumentation: The HPLC system (Thermo Series 2000 Pump) Autosampler, Series 200 UV/Vis Detector (from 190 to 1000 nm, The Series 200 Autosampler, Series 2000 Analytical Pump, Series 200 Column Oven, and 20 μl loop injector. The stationary phase represents the analytical column was a Brownlee Bio C18 column of 250x4.6 mm and 5 μm particle size.

HPLC operating conditions:

Instrument: The HPLC system (Thermo Series P2000 Pump)

Column: Brownlee Bio C18 column of 250x4.6 mm and 5 μm particle size.

Mobile Phase: A: 85% acetic acid buffer; pH \approx 5.9; B: 15% methanol

Flow rate: 1.5 ml/min. Injection: 20 μl . *Tr*: 2.1 min for PPD.

Standard Solutions (Calibration curve):

Figure (1) shows the RP-HPLC chromatograms of different concentrations of PPD (5 - 25 $\mu\text{g/ml}$). To determine the standard curve of PPD concentration. Standard solution of PPD (0.1 mg/ml) was prepared by weighing pure PPD substance (0.011 gm) and dissolving it in 50 % aqueous methanol solution (100 ml). Five standard solutions of PPD were prepared by dilution of stock PPD solution using a concentration in the range of 5 -25 $\mu\text{g/ml}$, as shown in figure (2).

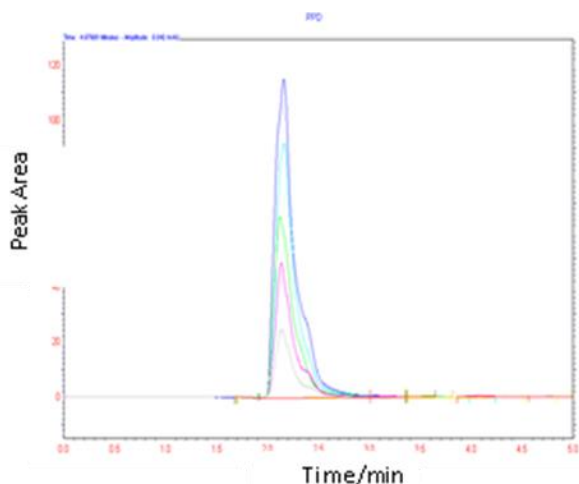


Figure: (1). Chromatograms of different concentrations of PPD by HPLC.

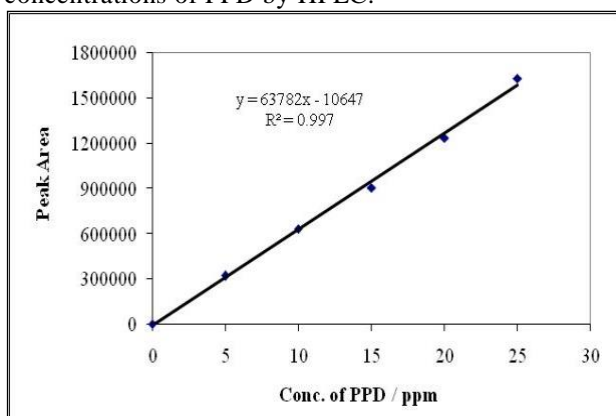


Figure: (2). Calibration curve for standard solutions of PPD, expressed on a linear scale.

The standard linear calibration curves obtained from the analysis of the standard solutions presented in figure (2) showed a good linear relationship between the peak area and concentrations of the standard solutions of PPD.

Sample collection: Eleven samples were collected from local markets in El-Bieda-Libya. Four of these samples were Libyan products, and two were random samples of mixed henna. The rest of the samples were imported from different countries, as shown in table (1).

Sample preparation (PPD extraction procedure): The extraction procedures were carried out with some modification and development, based on the other studies in

order to isolate and determine PPD in henna and hair dyes (Elmanfe et al., 2019; Mounika and Kinnera, 2015; Latha et al., 2014; Al-Suwaidi and Ahmed, 2010). One gram of each of the collected samples was weighed and transferred into a 50 ml volumetric flask and diluted with 50 ml of 50% aqueous methanol solution, then filtered after 15 minutes. Finally, one ml of filtrate was diluted to 5 ml with 50% aqueous methanol solution and analyzed for PPD by RP-HPLC. To confirm the identity of PPD in samples, one ml of the standard was diluted to 5 ml with 50% aqueous methanol solution and analyzed before analyzing any sample to determine its retention time.

Table: (1). Henna samples characteristics

N ^o	Sample Name	Source
S1	Royal Black Henna (For Hair)	Top Line Exam Inc,(India)
S2	Royal Chestnut Colour Henna (For Hair)	Top Line Exam Inc,(India)
S3	Royal Red Henna (For Hair)	Top Line Exam Inc,(India)
S4	Aroos Alhelal Henna	Indu Alhilal Perfumes Factory. Makkah Almukarama-Saudi Arabia
S5	Shikha Henna (Nutural Henna)	Al-Madina Company - Libya
S6	Sabaia Henna (Nutural Henna)	Al-Madina Company - Libya
S7	Tag Henna	Omdurman_ Sudan
S8	Tayeba Henna (Kone Poste)	Pakistan
S9	- Rani Kone Henna Paste	Saudi Arabia
S10	Random Samples of Mixed Henna (Paste)1 .	Made in Libya (Home Made)
S11	Random Samples of Mixed Henna (Paste)2	Made in Libya (Home Made)

Statistical analysis: The data were analyzed using Minitab version 18 software and Microsoft Office Excel. The statistical differences in some henna samples were tested using one-way ANOVA, subsequently followed by LSD test (the least significant difference) to determine significant

differences between the concentrations of PPD in different samples p values ≤ 0.05 is considered significant.

RESULTS AND DISCUSSION

The results indicate that the PPD levels in henna samples were in the range of 0.0104 % w/w - 11.9107 % w/w. These results are shown in table (2) and figure (3). The modified extraction method used in this study provides many advantages, including cheap cost and simplicity. Furthermore, it is easier than SFE techniques. The minimum PPD level was observed in the random sample of mixed henna (paste2) (0.0104 % w/w), while the highest PPD level was observed in the Royal Black Henna sample from India (11.9107 % w/w) as shown in table (2) and figure (3). While some of these samples were free from PPD (not detected), for example, the Royal red henna sample and Shikha henna (natural henna). The results indicate that PPD concentrations were in Black henna samples higher than Red henna samples. In general, there were different concentrations of PPD in henna samples, and these results indicate that there were significant differences between sample (1) and other samples at ($p < 0.05$). While for samples (3) and (5), there are no significant differences at ($p < 0.05$). The PPD content in red henna samples analyzed in this study is well below the allowable limits set by the US Food and Drugs Administration and the Scientific Committee on Consumer Products, which is (4 - 6 %) (SCCP, 2006), while in Black henna samples were higher than that recommended (Al-Suwaidi and Ahmed, 2010; SCCP, 2006).

Validation of the used Method: There are different factors that are used in the validation of the analytical methods including: Linearity, Accuracy, Precision, RSD%, Recovery, LOD, LOQ, etc.

Table: (2). Concentrations (% w/w) of PPD in different samples by HPLC

n°	Sample Name	PPD(% w/w)
S1	Royal Black Henna	11.9107
S2	Royal Chestnut Colour Henna	3.1768
S3	Royal Red Henna	ND
S4	Aroos Alhelal Henna	0.4810
S5	SHIKHA HENNA (Natural Henna)	ND
S6	SABAIA HENNA (Natural Henna)	1.2115
S7	Tag Henna	0.3329
S8	Tayeba Henna(Kone Poste)	0.2778
S9	- Rani Kone Henna Paste	0.04367
S10	Random Samples of Mixed Henna (Paste)1 .	0.0165
S11	Random Samples of Mixed Henna (Paste)2	0.0104

ND = (Not Detected)

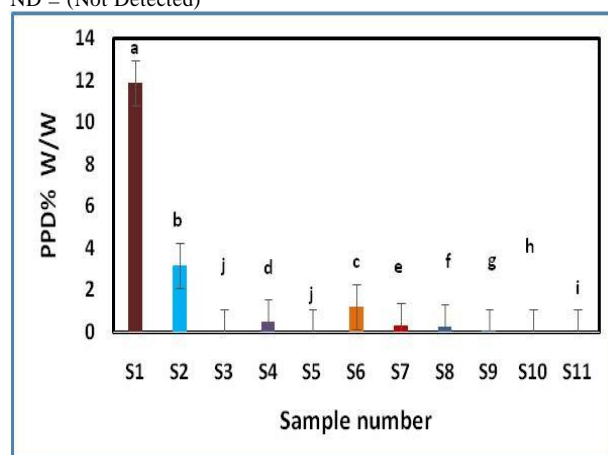


Figure: (3). Analysis of the concentration (% w/w) of PPD in different samples by LSD

Linearity: To determine the linearity of HPLC response, standard solutions of PPD were prepared. Good linear correlations were obtained between peak areas and concentrations in the selected range of 5– 25 $\mu\text{g/ml}$. Characteristic parameters for regression equations and correlation coefficients are given in table 3. The linearity of the calibration curve was validated by the high value of correlation coefficients of the regression graph. A peak tailing ($A_s \sim 1.94$) is observed in this case. Calibration standards (calibration curves) were prepared and demonstrated a linear response ($R^2 = 0.997$)

over a 5 -25 µg/ml.

Limit of detection (LOD) and Limit of quantitation (LOQ): The limits of detection and quantification were determined to be 1.21 and 3.67 µg/ml for PPD respectively, which was more sensitive than the previously reported method (Mounika and Kinnera, 2015).

Accuracy and precision: The precision of the proposed method were also determined by running calibration series solutions at 5-25 µg/ml and then was evaluated in term of repeatability and expressed as the relative standard deviation (RSD,%). The result of precision ranged between 0.09 and 1.15 %, indicating good repeatability. The validation parameters for PPD are summarized in table (3).

Table: (3). Summary of validation data for the quantification of PPD using Brownlee BIO C18 column (250 mm x 4.6 mm i.d., particle size 5 µm); mobile phase: Acetic acid buffer and methanol (85:15); detector wavelength: 240 nm.

Parameter	PPD
t_R (min) ($t_0 = 1.95 \text{ min}^a$)	2.13
Capacity factor (k')	0.12
Symmetry factor (A_s)	1.94
LOD (µg /ml)	1.21
LOQ (µg/ ml)	3.67
N (plates) 148.14	(592.56) N expressed in plates per metre
Coefficient of regression (R^2)	0.997 ($y = 63782 x - 10647$)
Precision (%RSD) $N=3$	
25 µg/ ml	0.23
20 µg /ml	0.29
15 µg /ml	0.09
10 µg / ml	0.33
5 µg / ml	1.15

CONCLUSION

In this study, a new method was developed to determine the concentration of PPD, which is reliable and may be used for further investigations. The validated method was successfully applied for the determination of PPD in different brands of commercial

henna. In summary, these results show that analysis of PPD in henna samples using HPLC shows differences in concentrations of PPD. The PPD content in most of the henna samples in the study was below the allowable limits set by the US Food and Drugs Administration and the Scientific Committee on Consumer Products, while in Black henna samples, they were higher than that recommended. More caution must be taken when using henna and other dyes, especially those of black color and unknown origin.

REFERENCES

- Al-Suwaidi, A., and Ahmed,H., (2010). Determination of para-Phenylenediamine (PPD) in Henna in the United Arab Emirates. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 7: 1681-1693.
- Di Gioiaa, M.L., Leggioa, A., Le Peraa,A., Liguoria, A., (2005). Determination by gas chromatography/mass spectrometry of p-phenylenediamine in hair dyes after conversion to an imine derivative, *J Chromatogr A*, 1066 (1–2): 143–148.
- Doumas, C., and Doumas, A., (1992). *The wall-paintings of Thera*. Athens: Thera Foundation. ISBN 978-960-220-274-6. OCLC 3006976.
- Du, L., Li, M., and Jin, Y., (2011). Determination of triclosan in antiperspirant gels by first-order derivative spectrophotometry, *Pharmazi*, 66(10): 740-743.
- Elmanfe, G., Khreit, O., and Abduljalil, O., (2019). Determination of PPD in Hair Dyes Collected from Local Markets in El-Bieda City – Libya. *Materials Science Forum*, 955: 13-19.
- Hilton, C.L., (1960). Spectrophotometric determination of flexzone 3C and other p-phenylenediamine derivatives, *Anal Chem.*, 32 (12): 1554–1557.

- HSDB (Hazardous Substances Data Bank), (1993). Department of Health and Human Services. National Toxicology Information Program, National Library of Medicine. Bethesda, MD, USA.
- Huihui. L., Hongbing. M., and Guan hong, T., (2009). Spectrophotometric determination of triclosan in personal care products, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular spectroscopy*, 73(5): 854-857.
- Inzhang, G., Xiaodong, C. J., Ren, W., Y., (2011). Determination of p-phenylenediamine by perturbation of a non-equilibrium stationary state in the B-Z reaction, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *J Braz Chem Soc.*, 22 (4): 648-651.
- Jacob, S.E., Zapolanski, T., Chayavichitsilp, P., (2008). Sensitivity to paraphenylenediamine and intolerance to hydrochlorothiazide, *J Dermatit*, 19(6): 44 - 45.
- Kessarín, N., Surangkhaná, M., Thawatchá, T., and Wittaya N., (2012). Selective fluorescence sensors for pphenylenediamine using formyl boronate ester with an assistance of micelles, *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 173: 682-691.
- Kind, F., Scherer, K., and Bircher, A.J., (2012). Contact dermatitis to paraphenylenediamine in hair dye following sensitization to black henna tattoos-an ongoing problem, *J Dtsch Dermatol Ges.*, 10(8): 572-578.
- Latha Saranya, C.H., Gurupadayya, B.M., Kinnera, K., and Thejaswini, J.C., (2014). Spectrophotometric Determination of p-Phenylenediamine in Hair Dyes. *Turk J Pharm Sci.*, 11(3): 295-306.
- Lepoittevin, J-P., and LeCoz, C.J., (2007). Paraphenylenediamine. In: *Dictionary of Contact Allergens*, Ed (1): Springer, pp. 194-196, Berlin, Germany.
- Mounika, CH. and M. Kinnera, M., (2015). A RP-HPLC method development and validation of Para- Phentlendiamine in pure form and in marketed products, *IJAPS*, 2(1): 20-29.
- Nitin, S. J., Muthu, L. M., Meena, S., and Duraivel, S., (2010). Validated visible spectrophotometric estimation of paraphenylenediamine, a carcinogenic ingredient in henna hair dyes, *Int J Pharm Technol*, 2(4): 900-906.
- Olexander, I.K., and Natalia, I.S., (2010). Visual spectroscopy detection of triclosan, *Chemical Papers*, 64(4): 523-527.
- Puri, N., and Puri, A., (2013). "A Study on Contact Dermatitis to Hair Dye and Henna". *Nasza Dematologia*, 4(4): 545 - 548.
- Robert, A., Smiley, (2002). "Phenylene- and Toluenediamines" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim. doi:10.1002/14356007.a19_405.
- SCCP (Scientific Committee on Consumer Products), (2006). Opinion on P-phenylenediamine, *Public Health and Risk Assessment*, 9th plenary meeting, Brussels, Belgium 10(10).
- Stambouli, A., Bellimam, M.A., El Karni, N., Bouayoun, T., and El Bouri, A., (2014). Optimization of an analytical method for detecting paraphenylenediamine (PPD) by GC/MSiontrap in biological liquids, *Forensic Sci Int.*, 146: S87-S92.
- Stanley, L.A., Skare, J.A., Doyle, E., Powrie, R., D'Angelo, D., Elcombe C.R., (2005). Lack of evidences for

metabolism of p-phenylenediamine by human hepatic cytochrome P450 enzymes, *J Toxicol*, 210 (2- 3): 147-157.

Steller, H., (1995). Mechanisms and genes of cellular suicide *Science*. *Science*, 3(10): 1445-1449.

Thomas, C., Annette S-J., Günther, L., Werner, S., Klaus, D. L., Christian, S., Michael, F., Wolfgang, B., Sonja, I., Gerhard, M., and Rudolf, B., (2007). "Hair Preparations" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim. doi:10.1002/14356007.a12_571.pub2.

Thun, M.J., Altekruse, S.F., Namboodiri, M.M., Calle, E.E., Myers, D.G., (2005). Personal of hair dyes and the risk of blood cancer: results of a metaanalysis, *Public Health Rep.*, 120(1): 31-38.

Ursula, V., Guy, B., and Adela, R.R., (2002). Validation of an analytical procedure for the determination of oxidative hair dyes in cosmetic formulations, *J Cosmet Sci.*, 53: 43-58.

Yoshiaki, I., and Masa-aki K., (2000). Determination of p-phenylenediamine and related antioxidants in rubber boots by high performance liquid chromatography. Development of an analytical method for N- (1-Methylheptyl)-N'-phenyl-pphenylenediamine . *J Health Science*, 46(6): 467 - 473.

تقدير مادة بارافينيلين داي امين (PPD) في عينات حناء جمعت من الأسواق المحلية الليبية باستخدام كروماتوجرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)

جلال محمد المنفي^{1*}، أسامة إدريس خريط²، أم كلثوم احمد عبدالجليل³ ونجاح محمود عباس¹

¹ قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء-ليبيا.

² قسم الصيدلية والسموم وعلم وظائف الأعضاء، كلية الطب البيطري، جامعة عمر المختار، البيضاء-ليبيا

³ قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء-ليبيا

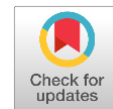
تاريخ الاستلام: 26 سبتمبر 2021 / تاريخ القبول: 18 يناير 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.520>:Doi

المستخلص: الحناء تحظى بشعبية كبيرة كزينة للجسم في ليبيا، والدول العربية، وبعض الدول الأفريقية، والآسيوية، فهي جزء من التقاليد والثقافات. تؤدي إضافة بارافينيلين دي امين (PPD) إلى الحناء الطبيعية إلى زيادة خطر الإصابة بالتهاب الجلد التماسي، بالإضافة إلى التأثيرات السامة، وقد تؤدي أحياناً إلى حالات الوفاة، والتي تم الإبلاغ عنها بالفعل في السنوات القليلة الماضية في مدينة البيضاء - ليبيا. تهدف هذه الدراسة إلى الكشف عن وجود مادة PPD في الحناء، وتقديرها بواسطة الكروماتوجرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC). في هذه الدراسة تم جمع أحد عشر عينة حناء من الأسواق المحلية في البيضاء - ليبيا. تم تطوير طريقة سريعة، وبسيطة، وموثوق بها لتقدير PPD في عينات الحناء باستخدام محلول ميثانول بنسبة 50% بوصفه مذيباً. تم التحقق من صحة الطريقة على مدى واسع من الخطية يتراوح من 5 إلى 25 ميكروغرام / مل بمعامل ارتباط أكبر من 0.997. لوحظ أن الحد الأدنى لمستوى PPD كان في عينة من خليط الحناء تصنيع محلي (معجون 2) (0.0104 %)، بينما أظهرت عينة حناء رويال السوداء (Royal Black Henna) أعلى نسبة من مادة PPD (11.9107%). القياسات الكروماتوجرافية (RP-HPLC) أشارت إلى أن نتائج تراكيز PPD في عينة الحناء الحمراء الملكية، والشيخة (الحناء الطبيعي) كانت خالية من PPD (أقل من حدود الكشف). كانت التراكيز في عينات الحناء السوداء أعلى من عينات الحناء الحمراء. محتوى PPD في عينات الحناء الحمراء التي تم تحليلها في هذه الدراسة أقل بكثير من الحدود المسموح بها التي وضعتها إدارة الغذاء، والدواء الأمريكية، بينما كانت عينات الحناء السوداء أعلى من تلك الموصى بها.

الكلمات المفتاحية: الحناء السوداء؛ الحناء الحمراء، PPD، الميثانول، HPLC.

* جلال محمد المنفي galal.elmanfe@omu.edu.ly قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء-ليبيا.



Evaluation of Hepatotoxicity Effect of Sodium Stibogluconate (Pentostam) in Mice Model

Kaula. A. Saad¹, Intisar. O. Abdalla², Hanan. A. Alkailani³, Ahmed. M. Elbakush¹ and Zena. A. Zreiba¹

¹Administration of Zoonotic Diseases Control-National Center of Diseases Control - Tripoli-Libya

²Department of Basic Veterinary Medical sciences (Pathology branch)- Faculty of Veterinary Medicine-Omar Al-Mukhtar University-Albayda-Libya

³Department of Basic Veterinary Medical sciences (Pharmacology branch)- Faculty of Veterinary Medicine-Omar Al-Mukhtar University-Albayda-Libya

Received: 13 October 2021/ Accepted: 01 March 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.738>

Abstract: The recommended treatment for visceral and cutaneous leishmaniasis is pentavalent antimony at a dosage of 20 mic/kg/day for 28 days. Some studies suggested that antimonial pentostam has multiple acute and chronic adverse effects, which can be minimized by using the lowest effective dose. The present study is aimed to evaluate the hepatotoxicity effect of sodium stibogluconate (pentostam) in mice as a model. Adult male albino mice were divided into three groups, seven mice each, injected with 20 mic/kg pentostam in addition to a control group. Later 14 days, groups II, III, and IV were tested after one, three, and six weeks respectively. The mice's serum and liver tissues were collected, and biochemical and histopathological measurement were carried out. Biochemical analysis of the serum obtained showed a significant increase in the levels of AST, ALT, and ALP in groups II and III when compared with the control group. In parallel, the histopathological assessments of the liver tissue proved hepatocytic necrosis. From this study, it can be concluded that the antimonial pentostam has a hepatotoxicity effect on treated mice.

Keywords: Leishmaniasis, Pentostam, Hepatotoxicity, Albino Mice.

INTRODUCTION

Leishmaniasis is an important tropical disease targeted by the world health organization (WHO) (Meeting & Organization, 2010) that affects both humans and animals (Dantas-Torres, 2006). There are several different forms of leishmaniasis in people. It comes mainly in two forms: cutaneous (CL) and visceral leishmaniasis, (VL) (Pearson & de Queiroz Sousa, 1996). The natural hosts of leishmaniasis are forest rodents, while the disease is transmitted by

sandflies that frequently feed in the early evening (Killick-Kendrick, 1990). Leishmaniasis, like most protozoan diseases, is largely a problem of developing countries. Therefore, there is a need to improve cheap and effective anti-leishmanial drugs.

Pentavalent antimonial agents (Sbv), such as sodium stibogluconate (pentostam) and N-methylglucamine antimonite (glucantime) are first-line drugs for treating leishmanial infection (Gupta, 1953). Although the pentavalent antimonial sodium stibogluconate

*Corresponding author: Kaula. A. Saad mohamedkaula@gmail.com, Administration of Zoonotic Diseases Control-National Center of Diseases Control - Tripoli-Libya

(Pentostam) was first recognized as clinically effective in 1947 (Berman, 1988). Several studies have confirmed that pentavalent antimonials, in adequate doses, are effective against several types of leishmaniasis.

Pentavalent antimonials are usually used despite their toxicity, intricate administration, a quite high cost of treatment, and the appearance of resistant parasite strains. There is a study that recorded transitory abnormalities of serum alanine aminotransferase (ALT) which are dose related, during treatment of CL with sodium stibogluconate (Behrens & Doherty, 1993). While another study recorded on CL patients an increase in both ALT and glutathione S-transferase B1 (GST) and a fall in the caffeine clearance (CCL) (Hepburn et al., 1994). On the other hand, various studies in patients with VL have been reported that sodium stibogluconate (Pentostam) caused various adverse effects such as anorexia, abdominal pain, diarrhea, nausea, vomiting, pancreatitis, reversible elevation of liver enzymes, myalgia, arthralgia, proteinuria, phlebitis, optic atrophy, acute kidney injury, hepatic necrosis, and bone marrow hypoplasia (Gupta, 1953; Harrison et al., 1998; Thakur et al., 1988).

The aim of the present study is to evaluate the Hepatotoxicity of Sodium Stibogluconate (Pentostam) in mice as a model.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design: Adult albino mice weighing 25-35g at the age of 8-10 weeks. The animals were housed in standard laboratory conditions of temperature, 12 h light and dark places, with food and water ad libitum. The animals were separated into four groups of seven animals each. Group I (control group), was treated with distilled water as a vehicle for 14 days. All the animals of groups II, III & IV were administered with pentostam at a dose of 20 mg/kg b.w. once a day intra-peritoneal (IP)

injection for 14 days. Seven days after receiving the final dose, the mice of group II were tested, while group III were tested after three weeks, and group IV were tested after six weeks.

Biochemical analysis: Blood samples were placed into ice-chilled disposable siliconized glass tubes. Centrifugation of the blood samples was carried out at 4000 rpm at 4°C for 15 min to get serum, which was kept at -20 °C for assessing serum enzyme levels. The concentration of the serum enzyme, like alanine aminotransferase (ALT), was measured by Hitachi-902 fully automated chemistry analyzer by Roche diagnostics (Bergmeyer et al., 1986a), aspartateaminotransferase (AST) by Hitachi-902 fully automated chemistry analyzer by Roche diagnostics (Bergmeyer et al., 1986b), and alkaline phosphatase (ALP) levels were measured by Hitachi-902 fully automated chemistry analyzer by Roche diagnostics (Tietz et al., 1983).

Histopathological Studies: After blood collection, the livers of each animals group were dissected and preserved in the formalin solution. The specimens were fixed in paraffin to prepare for sectioning (4-5 µm) then subjected to hematoxylin and eosin stain (H & E) for photomicroscopic observations (Galigher & Kozloff, 1971).

Statistical analysis: The data are expressed as Mean ± SEM. The study results were analyzed using one-way ANOVA followed by a Tukey test (SPSS version19). The level of significance was $P \leq 0.001$ and $P \leq 0.0001$.

RESULTS

Effect of IP injection of Sodium Stibogluconate (Pentostam) on Liver enzyme ALT, AST, and ALP levels (U/L) in albino mice: The results of liver function tests in this study revealed a significant increase in the levels of AST, ALT, and ALP

enzymes in group II that was put down after seven days of IP injection of pentostam, in comparison with the control group (Table 1). While the serum AST level decreased to normal levels in administrated group III that were put down after 21 days of treatment, on the contrast of ALT and ALP enzymes concentration in the same group compared to the normal group. In addition, there was no significant change in these parameters in the animals of group IV compared to the control group.

Table (1): Effect of IP injection of Sodium Stibogluconate (Pentostam) on liver enzymes.

Enzyme	Control group	Group II	Group III	Group IV
ALT (U/L)	205.14 ± 1.9	308.00 ± 4.2 *	277.42 ± 4.6*	215.42 ± 2.3
AST (U/L)	83.85 ± 1.4	142.42 ± 2.3**	88.71 ± 0.5	84.57 ± 0.9
ALP (U/L)	112.00 ± 2.1	202.71 ± 0.86*	171.00 ± 0.84*	115.85 ± 1.2

All values are presented as Mean ± SEM, n =7, *P ≤ 0.001, **P ≤ 0.0001.

Histopathological study: Histopathological studies of mice liver tissue from Group I animals show normal hepatic cells with a central vein (Fig.1).

In the pentostam treated group (Group II), severe hepatotoxicity was observed by congestion of the central vein and portal blood vessels with marked hepatocellular vacuolar degeneration and severe necrosis. A mild degree of restoration of a large number of hepatic cells with mild vacuolar degeneration and scattered necrotic cells was observed in Group III, and normal liver architecture with normal hepatocytes arranged in normal sheets or cord around the central vein in Group IV (H&E, x400) (Fig 1).

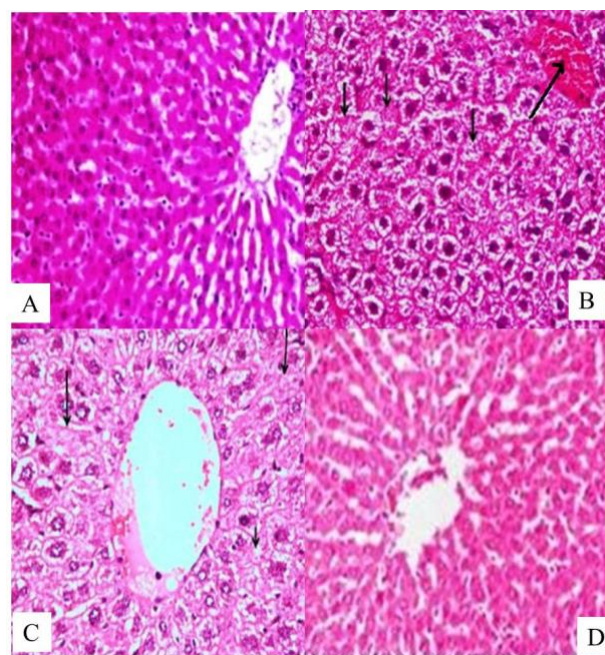


Figure (1): (H&E, ×400): A: Photomicrograph of liver tissue of control group showing normal hepatic cells with central vein. B: Photomicrograph of Group II showing severe necrosis (short arrow) with congestion of the central vein (long arrow) and disappearance of nuclei. C: Photomicrograph of Group III showing normal hepatocytes with mild vacuolar degeneration (short arrow) and scattered necrotic cells (long arrow). D: Photomicrograph of Group IV showing normal liver architecture with normal hepatocytes.

DISCUSSION

The liver is considered to be highly sensitive to toxic agents. The study of different enzyme activities, such as ALT, AST, ALP, total bilirubin, and total protein have been found to be of great value in clinical and experimental liver damage assessment (Vaishwanar et al., 1976). It was observed that the animals treated with pentostam resulted in significant hepatic damage, as shown by the elevated levels of liver enzymes. These changes in the enzymes' levels will reflect in hepatic structural integrity. The elevation in the AST is usually accompanied by a rise in ALT levels, which plays a vital role in the conversion of amino acids to keto acids (Sallie & Tredger, 1999). On the other hand, the serum ALP level is related to hepatic cell damage. An increase in

serum levels of ALP is due to increased synthesis in the presence of increasing biliary pressure (Moss & Butterworth, 1974). Our results are in agreement with the study which reported increases in AST and ALT levels in the treatment of CL in US military personnel with sodium stibogluconate (Wortmann et al., 2002). Six weeks after treatment, ALP, ALT, and AST levels had almost returned to normal. Our findings indicate that sodium stibogluconate is associated with acute hepatocellular damage.

This damage ceased after therapy stopped and was rapidly reversible. These results are consistent with the results of the research which compare the efficacy and adverse effects of sodium stibogluconate and the aminoglycoside aminosidine in CL patients and reported increases in ALT and AST during treatment with sodium stibogluconate, associated with a fall in caffeine clearance (Hepburn et al., 1993). After six weeks of treatment, ALT and AST had almost returned to pretreatment levels in every patient (Hepburn et al., 1994).

The histological examination of the liver tissue of albino mice was shown severe necrosis with hepatocellular vacuolar degeneration after seven days of pentostam injection, and a mild degree of necrosis with normal cells after three weeks of treatment. A recent study has published hydropic degeneration, focal and hepatocytic necrosis in the 20 mg/kg pentostam treatment group, and an irregular area of hepatocytes with condensed pyknotic nuclei (hepatocyte necrosis) in the 40 mg/kg pentostam group (Elammari & Sariti, 2021). Our findings are in agreement with the reality that the liver is highly oversensitive to being affected by toxic chemicals (Afshar et al., 2008). Moreover, other researchers reported that accumulation of pentostam is directly toxic to hepatocytes, this hepatocyte toxicity is increased by increasing the pentostam dose and duration time (Al-Jahdali & Bisher, 2007).

CONCLUSION

Biochemical investigation and histopathological analysis of liver tissue still have an important role to evaluate drug toxicity. The treatment of mice with therapeutic doses of pentostam induced hepatotoxicity characterized by clear histological changes in the liver. These histological changes needed about six weeks to return to normal. Consequently, pentavalent antimony pentostam may be included in the large list of offending agents that can cause drug-induced hepatotoxicity that requires more research.

REFERENCE

- Afshar, S., Farshid, A., Heidari, R., & Ilkhanipour, M. (2008). Histopathological changes in the liver and kidney tissues of Wistar albino rat exposed to fenitrothion. *Toxicology and industrial health*, 24(9), 581-586.
- Al-Jahdali, M. O., & Bisher, A. S. B. (2007). Testicular histopathological alterations in rats treated with sumithion® NP 25/2.5 EC, insecticide. *J. Biol. Sci*, 7(3), 520-525.
- Behrens, R., & Doherty, J. (1993). Severe hepatitis A despite passive immunisation. *The Lancet*, 341(8850), 972.
- Bergmeyer, H., Horder, M., Rej, R., & Committee, I. F. o. C. C. S. (1986a). Analytical Section: Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for alanine aminotransferase (l-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry. Zeitschrift für klinische Chemie und klinische Biochemie*, 24(7), 481-495.

- Bergmeyer, H., Horder, M., Rej, R., & Committee, I. F. o. C. C. S. (1986b). Analytical Section: Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase (l-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry. Zeitschrift für klinische Chemie und klinische Biochemie*, 24(7), 481-495.
- Berman, J. D. (1988). Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. *Reviews of infectious diseases*, 10(3), 560-586.
- Dantas-Torres, F. (2006). Leishmune® vaccine: the newest tool for prevention and control of canine visceral leishmaniosis and its potential as a transmission-blocking vaccine. *Veterinary parasitology*, 141(1-2), 1-8.
- Elammari, N. E., & Sariti, S. R. (2021). Anti-Leishmanial drug Pentostam induced histological changes to liver and kidney in male BALB/c wild mice. *Health Sciences*, 1(2), 07-14.
- Galigher, A. E., & Kozloff, E. N. (1971). *Essentials of practical microtechnique*, Philadelphia, Lea & Fabiger Publisher, 2nd ed.
- Gupta, P. S. (1953). Chemotherapy of leishmanial diseases, a resume of recent researches. *The Indian Medical Gazette*, 88(1), 20.
- Harrison, W., Bradberry, S., & Vale, J. (1998). *Sodium stibogluconate. UKPID Monograph*, UK: National Poisons Information Services,(Birmingham Centre).
- Hepburn, N., Siddique, I., Howie, A., Beckett, G., & Hayes, P. (1993). Hepatotoxicity of sodium stibogluconate in leishmaniasis. *The Lancet*, 342(8865), 238-239.
- Hepburn, N., Siddique, I., Howie, A., Beckett, G., & Hayes, P. (1994). Hepatotoxicity of sodium stibogluconate therapy for American cutaneous leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(4), 453-455.
- Killick-Kendrick, R. (1990). The life-cycle of *Leishmania* in the sandfly with special reference to the form infective to the vertebrate host. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 65, 37-42.
- Meeting, W. E. C. o. t. C. o. t. L., & Organization, W. H. (2010). *Control of the Leishmaniasis: Report of a Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis*, Geneva, 22-26 March 2010. World Health Organization.
- Moss, D. W., & Butterworth, P. J. (1974). *Enzymology and medicine*. Pitman Medical.
- Pearson, R. D., & de Queiroz Sousa, A. (1996). Clinical spectrum of leishmaniasis. *Clinical infectious diseases*, 1-11.
- Sallie, R., & Tredger, J. (1999). *William. Drugs and the liver*. *Biopharm Drug Dispos*, 12, 251-259.
- Thakur, C., Kumar, M., Kumar, P., Mishra, B., & Pandey, A. (1988). Rationalisation of regimens of treatment of kala-azar with sodium stibogluconate in India: a randomised study. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 296(6636), 1557-1561.

Tietz, N., Rinker, A., & Shaw, L. (1983). International Federation of Clinical Chemistry. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 5. IFCC method for alkaline phosphatase (orthophosphoric-monoester phosphohydrolase, alkaline optimum, EC 3.1. 3.1). IFCC Document Stage 2, Draft 1, 1983-03 with a view to an IFCC Recommendation. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 135(3), 339F-367F.

Vaishwanar, I., Kowale, C., & Jiddewar, G. (1976). Effect Of 2 Ayurvedic Drugs Shilajeet And Eclinol On Changes In Liver And Serum-Lipids Produced By Carbon-Tetrachloride (Vol. 14, pp. 58-61): Council Scientific Industrial Research Publ & Info Directorate, New Delhi

Wortmann, G., Miller, R. S., Oster, C., Jackson, J., & Aronson, N. (2002). A randomized, double-blind study of the efficacy of a 10-or 20-day course of sodium stibogluconate for treatment of cutaneous leishmaniasis in United States military personnel. *Clinical infectious diseases*, 35(3), 261-267.

تقييم التسمم الكبدى بعقار ستبجلوكونات الصوديوم (البننتوستام) في الفئران

خوله احمد سعد¹، انتصار عثمان عبدالله²، حنان علي الكيلاني³، احمد البكوش¹، زينه عبد الفتاح زرايبه¹

¹إدارة الأمراض المشتركة، المركز الوطني لمكافحة الأمراض، طرابلس- ليبيا

²قسم العلوم الطبية البيطرية الأساسية، شعبة الأمراض، كلية الطب البيطري، جامعة عمر المختار، البيضاء- ليبيا

³قسم العلوم الطبية البيطرية الأساسية، شعبة الأدوية، كلية الطب البيطري، جامعة عمر المختار، البيضاء - ليبيا

تاريخ الاستلام: 13 أكتوبر 2021 / تاريخ القبول: 01 مارس 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.738>:Doi

المستخلص: تعد مركبات الانتيمونيال العلاج الأساسي المستخدم لمرض الشمانيا بنوعها الجلدي، والحشوي بجرعة 20 ميكروجراماً لكل كيلوجرام من وزن الجسم لمدة 28 يوماً، وقد نشرت العديد من الدراسات أن عقار البننتوستام يسبب أعراضاً جانبية حادة، ومزمنة للمرضى حتى في الجرعات الصغيرة. هدف هذه الدراسة اختبار إمكانية حدوث تسمم كبدى في الفئران أنموذجاً بعد حقنها بعقار البننتوستام. واعتمدت التجربة على استخدام فئران الالبينو البالغة، وتقسيمها إلى أربعة مجموعات. المجموعة الأولى: هي المجموعة الضابطة، ولم تحقن بالدواء، في حين حقنت الفئران في المجموعات الأخرى بالبننتوستام بجرعة 20 ميكروجراماً لكل كيلوجرام من وزن الجسم في التجويف البروتوني لمدة 14 يوماً، ثم ذبحت المجموعات الثلاثة، وهي: الثانية، والثالثة، والرابعة، حسب الترتيب بعد أسبوع، وبعد ثلاثة أسابيع، وبعد ستة أسابيع من آخر جرعة، وجمعت عينات الدم لكل مجموعة على حدة، بالإضافة إلى الأنسجة الكبدية لإجراء التحاليل البيوكيميائية، والنسجية. وقد أظهرت الدراسة ارتفاعاً في أنزيم ناقلة الألانين، وأنزيم ناقلة الاسبرتات، وأنزيم الفوسفاتاز القلوي في المجموعة الثانية، والثالثة، بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، بالإضافة إلى حدوث تنخر، ونزيف في الأنسجة الكبدية في هذه المجموعات مما يدل على أن عقار البننتوستام سبب تسمماً كبدياً في الفئران.

الكلمات المفتاحية: الشمانيا، البننتوستام، التسمم الكبدى، فئران الالبينو.

Using Geological and Topographic Maps in Site Selection of Solid Waste Disposal



Ali I. Eliawa

Department of Geology, Azzaytuna University, Trhona, Libya

Received: 26 November 2021/ Accepted: 15 March 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.446>

Abstract: Currently, land shortage for solid waste in most urban areas is a significant and growing potential problem. Although some efforts are made to decrease and recover the waste, landfill is still the most common process for waste disposal. Site selection of solid waste dumping in urban areas is a serious subject because of its huge effect on the economy, ecology, and environmental health. Consequently, several criteria must be created because of the difficulty of the parameters to select the process for combination in social, environmental and technical parameters. In this research, the most appropriate sites for locating dumping garbage are determined using the Geographical Information System (GIS) by implementing both methods Boolean logic model and Index overlay model. Based on several objectives, a provided spatial data set consisting of several maps in the form of layers, such as land use, geological distribution, landslides, etc., were used in the modeling process to choose the best site to dump the garbage of Chinchina city that used as a case in this application. The findings show that the Boolean logic model identified only two areas that met the criteria, whereas the Index overlay model identified three important classes through weight; unsuitable, moderate and suitable regions for construction waste disposal.

Keywords: Boolean logic and Index overlay models; Chinchina; Geological and topographic maps; Geographic information system; Site selection of waste disposal.

INTRODUCTION

There is an increasing commercial in terms of residential and infrastructure improvement because of the growth of population, which negatively affects the environment, such as waste disposal and the selection of unsuitable areas that leads to various problems, such as groundwater contamination and no control of gas emissions of a landfill that cause an explosion. Moreover, the permitting and sitting requirements and its operation, also, people's awareness and rising degradation, increasing cost, community and political opposition, the shortage of areas availability and concerning of public health to participate

in the difficulty of selecting suitable land for waste dumping Şener et al. (2006). Nowadays, there is no uncertainty that waste management is essential for the environment; it includes; reducing the waste, recycling, high tech collection, compacting the waste, thermal treatment and sanitary landfills. The mentioned strategies focus on environmental protection in waste management (Daneshvar et al., 2005). Therefore, locating a waste disposal site in a suitable area is time-consuming.

Waste management is one of the issues that face decision-makers around the world. This issue is mainly squeaky in the town, where

increased urban development, poor planning, and adequate deficiency contribute to worse waste disposal management (Obirih-Opareh & Post, 2002). The main problem related to unsuitable waste disposal management includes the transmission of diseases, fire risks, inconvenience smell, atmospheric, water contamination, visual harassment and economic damages (Jilani, 2002).

Selecting a waste disposal site (landfill) is a significant question facing domestic authorities because it represents a meeting point of planning, social science, and science (UNEP-IETC, 1996). (Kao & Lin, 1996) mentioned that many factors have to be considered and assessed carefully, which caused minimum impacts to the environment, economy, and society and conforming with the regulations that are finally accepted by the public. This issue faces the managers and planners of the municipality as decision-makers around the world. The criteria and rules for site selection of solid waste are almost similar around the world, with some limitations related to locality. On the other hand, some criteria factors may conflict with each other; so, several compromises are required if the process occurs (Michael, 1991).

Kao and Lin (1996) pointed out that site selection analysis can enhance by using GIS 'Geographic Information System'. It is a proper tool to select the best site because it has planning and operations that depend on spatial data that derive from different sources and can process a large amount of data and information displayed according to operator-defined specifications. GIS is a tool that could be time-saving and reduce the cost of the selection of the land, moreover produce a bank of digital data to be used as a monitor program in the future. In addition, GIS can be beneficial to decrease uncommonly the sites that should be tested on the location and the decision of selecting site has been taken after field trip observation (Daneshvar et al., 2005). One of the most critical data inputs for

the modelling of site selection of the solid waste dumping is the geological maps and topographical maps, which appears in this study as Digital Elevation Model (DEM). Geological maps are used to manage the Earth's resources and resolve environmental hazards; it is an essential source of information related to planning and land use management, locating places that could be polluted, including solid waste dumping, as well as defining aquifers to be safe from the pollution (Bernknopf, 1993).

Geological maps sheets are converted into digital maps that are used as interactive spatial documents, where all the displayed data are combined with the interpretation of physical and chemical phenomena of the earth. Then set them as geological maps, which are collected with the databases of the geographical information system (GIS) to contribute in resolve much geological and hydrology suspended issues, including the bedrock spatial distribution of the permeable and non-permeable stratigraphic and prospective places of pollution, as well as the volume of landuse (Tudor & Ion, 2009). This detailed information collected about the geology of an area helps decision-makers suggest the best decisions to participate in the development and sustainability plans (Bernknopf, 1993).

Topographic maps display elevation or three-dimensional topography and two-dimensionally and the topographic maps contain contour lines that show elevation. However, the maps were primarily utilized for military planning and later used for many purposes (Kauffman, 2015). These maps are most commonly produced of Digital Elevation Model (DEM) and could be derived from a set of source data such as; ground surveys, aerial photographs, and Stereo-pairs such as with ASTER, SPOT and IRS satellite imagery. Digital Elevation Model is a computer performance of the land surface from topographic parameters, for instance, slope, upslope area, and the topographic

index, which can be digitally produced. (Liu et al., 2009).

In this research, multiple maps methods for empirical modelling were combined in a geographic information system (GIS) using ILWIS software incorporated into ITC's. In this case, two techniques were done to analyze multiple maps as described by (Bonham-Carter, 1994) to inspect the study area to obtain a suitable site for throwing solid waste.

MATERIALS AND METHODS

The study area of this project was Chinchina town, which is located in Colombia, south of America, as shown in Figure 1. This town requested to explore suitable areas to dump waste because around 150,000 populations dump their garbage in the river. Due to raising awareness of the environment, the town's Municipality has established working with decision-makers to find out the best location for that purpose



Figure: (1). The study area of chinchina city

GIS models are used to carry out the analysis for the chosen area selected. Six criteria were developed based on the input data maps done

by the planning department teams, including specialists in geology, geomorphology, hydrology, and engineering (Van Westen, 1997). The following six criteria have been taken into account in order to select suitable areas for waste disposal;

1. It should be built away from active landslides, or later maybe it will be active.
2. The landfill must be built on a ground with a slope of fewer than 20 degrees to reduce erosion.
3. Construction areas and agricultural lands and forests should be excluded, as the city of Chinchina are one of the most critical coffee-growing areas in the Republic. It is recommended to select areas that are not of economic or environmental importance.
4. The site is being built up at a distance of at least 2 km from the city center and more than 300 meters from the countryside around the town.
5. Soil layers should be rich in clay, with a thickness of five meters or more, and the permeability of the soil should be less than 0.05 meters/day.
6. The area of the site to be selected should be one hectare or more.

The model and analysis are required using the ILWIS software. Various methods have been tried to gain a better understanding and results. The following Table 1 shows the input data set available for these models. Also, the methodology uses a Geographic information system (GIS) in order to evaluate the whole region related to specific criteria for the analysis and select suitable landfill sites (Abesi & Saeidi, 2009). Two methods were used in this work; *Boolean logic model* and *Index overlay model*, which are presented in the flowcharts below as shown in Figures 2a and 2b, respectively

Boolean logic model: In this technique, each input map is represented for each factor (Sastry, 2020), the user looks for areas that

meet definite conditions to create a binary map. After a condition is met, it is indicated with a 'true' and takes Value 1; if it is not met, that means; it is indicated with a 'false' and takes Value 0. This shows each criterion's suitable and unsuitable pixel locations 'Bitmaps' to select areas suitable for waste disposal. Then, input maps 'Bitmaps' are combined using Boolean AND operation to create a binary output map, representing suitable pixels containing value 1. The output map shows the places satisfying all criteria needed for this application. The main advantage is its easiness, but the disadvantage is the equal importance of each criterion.

After confirming the input data of the modeling in this case study which presents criteria for the site selection. Then starting to delineate the areas that are suitable locations for waste disposal for every of the input maps individually by originating a series of bitmaps from the input maps to create binary maps.

All the analysis will be explained in 8 steps by using the formula ;each formula is matched by one of the conditions that have been previously mentioned.

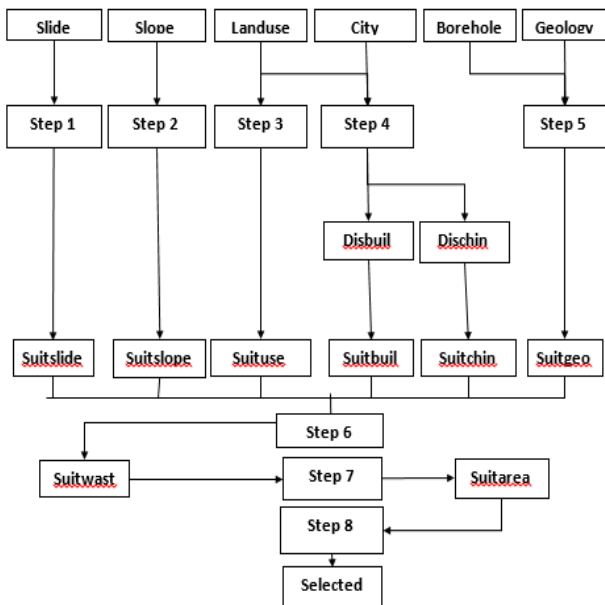


Figure: (2a). Flowchart of Boolean logic model

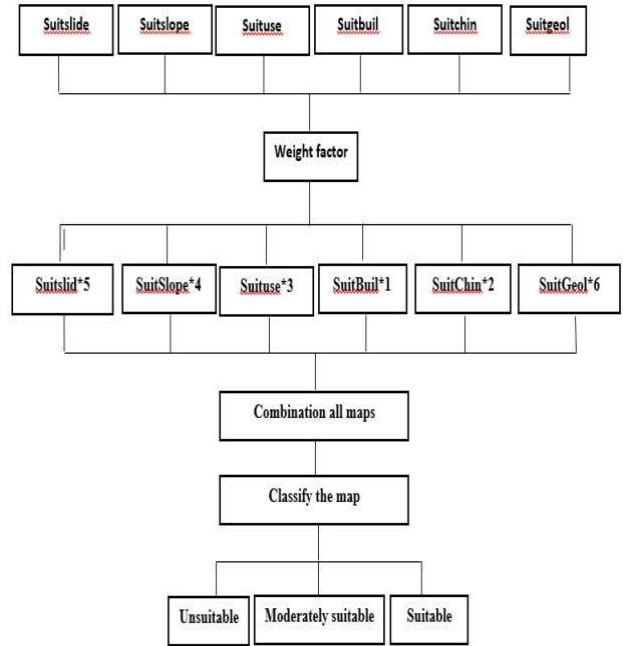


Figure: (2b). Flowchart of the Index overlay model Index overlay model:

The index overlay technique can provide a method for assigning various weights to all of the effective factors maps depending on the importance of the pattern to the model under consideration. These weights are defined as a positive integer number in a specified interval. In this method, input factors maps are index weighting with functional on Binary Evidence Maps with only two classes (true or false) where each map carries a single different weight factor, and it is multiplied by its weight factor, as given in Eq. (1);

$$W_i = M A P_i \quad (1)$$

Table :(1). Data availability used in the project (Van Westen, 1997)

NO.	Input map as named in the software system	Description	Classes contain	Source of data
1	Slope	Topography	slopes indicated in degrees with values from 0 to 49 meter	A digital elevation model (DEM). Supervised
2	Landuse	Land use areas	Built up areas, Coffee areas, Forest and shrubs, Green pastures, Degraded land, River and Lake.	Classification of a SPOT image, improved using photo interpretation and field trip.
3	Geol	Surface lithology	Chloritic/amfibolitic schists, Dioritic gabbro, Gneissic intrusive, Lahar deposits, Lake deposits, Metasedimentary rock, Mixed debris flow, Ashes and alluvial material, Mixed pyroclastic, Flow and debris flow deposits, Porphyritic andesite, Pyroclastic flow material, Recent alluvial material, Sedimentary rocks, Subaquatic lava flows, Weathered debris flow material	Existing geologmethadical maps and fieldwork.
4	Slide	Topography and morphology	Stable, dormant, active, no landslides	Photo- interpretation.
5	City	Boundary of Chinchina city	Chinchina and Outside chinchina	The topographic map and photo-interpretation
6	Borehole	Geological unit, Geological units age, thickness of the soil cover, permeability of the soil cover and percentage clay of the soil cover	203 boreholes, X-Coordinate of the borehole , Y-coordinate of the borehole, Thickness of the soil cover, Percentage clay of the soil cover, Permeability of the soil cover, Geological unit from which the soil is derived	Data base
7	Road	Main roads	Road	Photo- interpretation.

represents highly favorable to the criteria.

Then all weighted factors maps are combined with each other, Eq. (2):

$$\sum_i^n W_i \times MAP_i \quad (2)$$

Finally, the output map is integrated by the sum of the weights, as given in Eq. (3):

$$\frac{(\sum_i^n W_i \times MAP_i)}{\sum_i^n W_i} \quad (3)$$

The value of the output binary map is between 0, which represents an extremely unfavorable to the criteria and one which

RESULTS AND DISCUSSION

All the results of the analysis will be displayed separately as follows; According to criterion about the waste disposal must be built away from active landslides or later maybe it will be active that applied for map Slide is indicated with pixel value 0 (unsuitable) and the rest with pixel value 1 (suitable) by using the formula;

SuitLandslid =iff ((SLIDE="stable") OR

(SLIDE=" no landslides"),1,0), as shown in Figure 3.

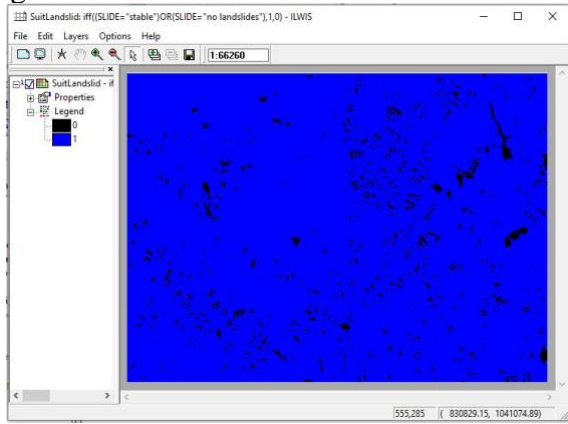


Figure: (3). Suitable landslide for waste disposal

The landfill must be built on a ground with a slope of less than 20 degrees for each cell of the raster map. Slope to calculate a map SuitSlope is indicated with pixel value 1 (suitable) and the rest of the map with pixel value 0 (unsuitable), by using the formula; $SuitSlope = iff(SLOPE < 20, 1, 0)$, as shown in Figure 4.

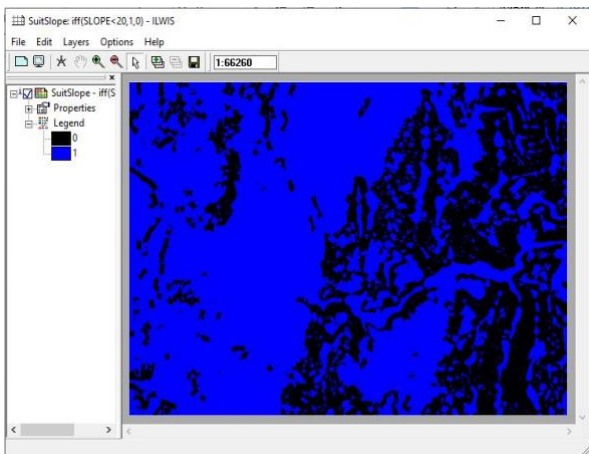


Figure: (4). The suitable slope for waste disposal

It is recommended to select areas, not of economic or environmental importance. The only suitable land use classes are shrubs and bare. To calculate a map SuitLanduse in which the areas with land use classes Shrubs and Bare are indicated with pixel value 1 (suitable) and the rest of the map with pixel value 0 by using the formula; $SuitLanduse = iff((LANDUSE = "Shrubs") OR (LANDUSE = "Bare"), 1, 0)$, as shown in Figure 5.

LANDUSE="Bare"),1,0), as shown in Figure 5.

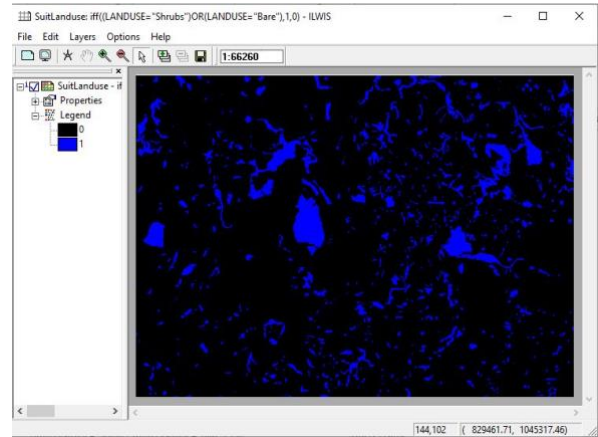


Figure (5). Suitable land use areas for waste disposal

The site has been located within 2 km distance from the city center of Chinchina, but less than 300 m from any existing built-up area, The calculation of distances is achieved using the function **Distance program** and the source areas (Chinchina and built-up area) from which distances are calculated and assigned zero values, and the areas through which distances are calculated with values 1). This criterion will be divided into two criteria:

The first calculation is done to assign the map *SuitChinchina* in which the areas located at distances less than 2000 meters from the city of Chinchina are indicated with pixel value 1 (suitable) and the rest with 0 (unsuitable) by using the formula; $SuitChinchina = iff(((Citydistance < 2000) AND (Citydistance < > 0), 1, 0)$, as shown in Figure 6.

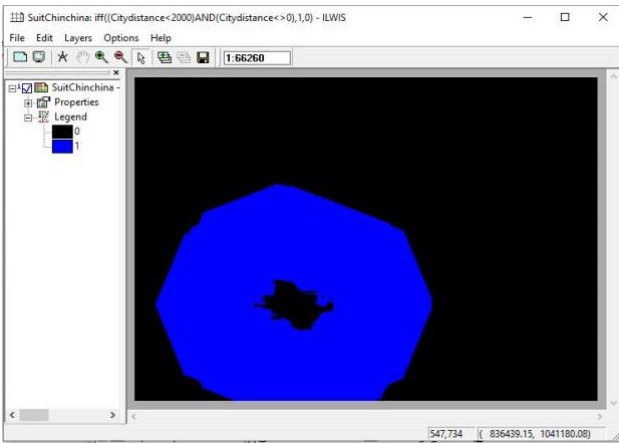


Figure: (6). Suitable city boundary for waste disposal
The second calculation is to create the map *SuitBuilt* in which the areas located less than 300 m from the country side around the town that indicated with pixel value 0 (unsuitable) and the rest with 1(suitable) by using the formula; $SuitBuilt = \text{iff}(\text{Builtdistance} > 300, 1, 0)$, as shown in Figure 7.

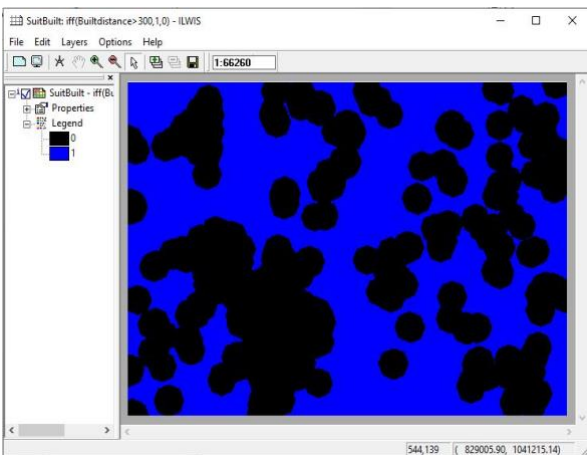


Figure: (7). Suitable built-up areas for waste disposal

The landfill site has been constructed on clay-rich soils (with more than 50 percent of clay), with a soil thickness of more than 5 meters and a permeability lower than 0.05 meters/day. To create the suitability map for this criterion, analyze the borehole data is needed and stored in the table *Borehole* which contains 203 borehole records, using the function **Table Calculation**. The original borehole records were already restructured in such a way that for each borehole, the geological unit, the thickness of soil cover,

the percentage of clay and the permeability are given, then the average of each of the three variables (average thickness, average clay content and average permeability) in the same table, all of the mentioned averages have been calculated and derived in a column *Suit*. From these columns, the geological units will collect a value of 1 if the conditions mentioned above are met.

The last step in the calculation of this criterion is to calculate a map *SuitGeological* in which the areas with suitable geological units (average thickness >5 m, average clay percentage > 50, and average permeability <0.05 m/day) are indicated with a value of 1 (suitable) and the rest with a 0 (unsuitable). This can be done by reclassifying the map Geology with the column *Suit* from the table Geological unit by using the function **Attribute Map**, as shown in Figure 8.

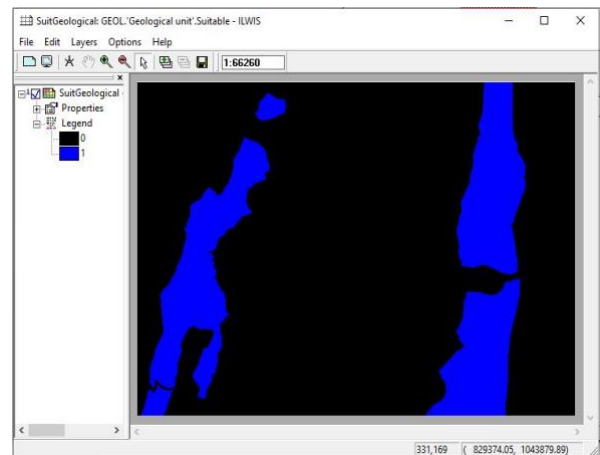


Figure: (8). Suitable geological unit for waste disposal

In this step, combine the suitability maps mentioned in the five steps above by using Boolean **AND** operator to intersect all six binary patterns in order to get one map named *SuitAll*. by using the formula; $SuitAll = \text{iff}((\text{SuitLandslid}=1)\text{AND}(\text{SuitSlope}=1)\text{AND}(\text{SuitLanduse}=1)\text{AND}(\text{SuitBuilt}=1)\text{AND}(\text{SuitChinchna}=1)\text{AND}(\text{SuitGeological}=1), 1, 0)$, as shown in Figure 9.

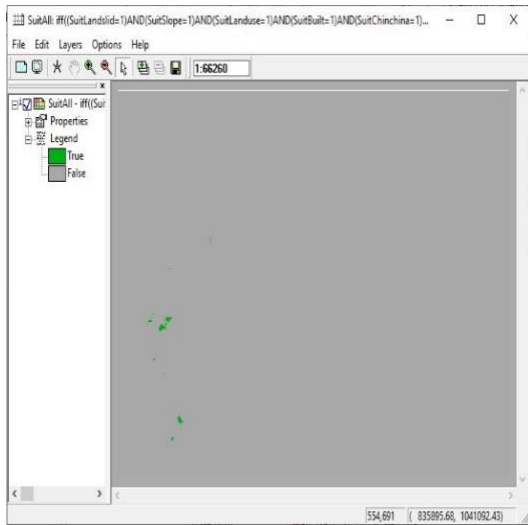


Figure: (9). Combination of all suitable bitmaps
After selecting the most suitable areas in the previous steps for waste disposal, the next criterion to meet the suitable areas is large enough for dumping the waste for a long time with a minimum area of more than 1 hectare (10.000 m²). For this purpose surface area of each pattern have to be known. It can be calculated for each area by using the calculation of the histogram to select the met areas with a map named *WasteDisposalSite*, as shown in Figure 10.

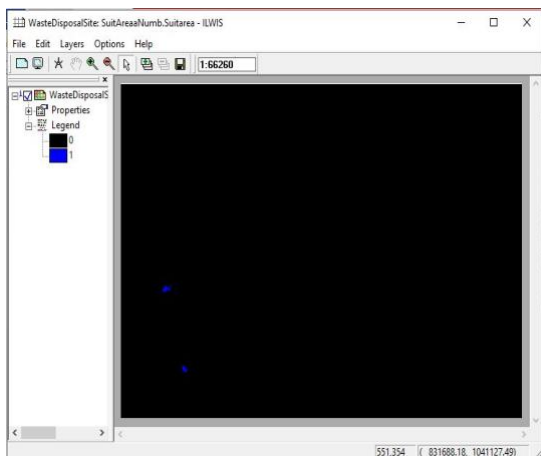


Figure: (10). Suitable areas more than one hectare for waste disposal

This is the final site selection that deals between the different sites by using other criteria that may play a role in this project the availability of the site by the road map, as shown in Figure 11.

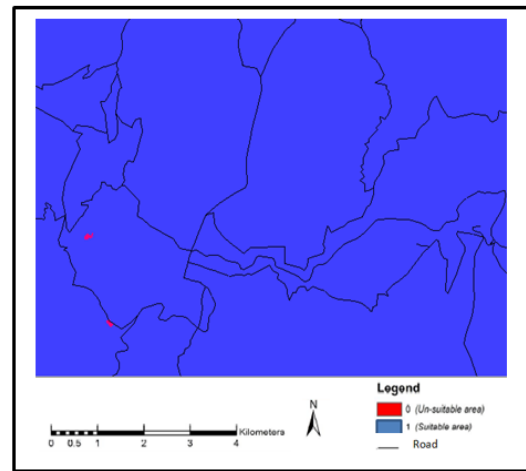


Figure: (11). Final Suitable area for waste disposal
The significant advantage of the Boolean logic model is simple and offers more facilities to decision-makers to simulate the real world by creating models and using spatial data combined with the disadvantage of the equal importance of each of the criteria (Malczewski, 1999); however, the disadvantage of this model is equal importance of each of the criterion “If, for example, the team judges that criterion 5 is much more important in determining the suitability for constructing a waste disposal compared to criterion 2” (Van Westen, 1997). moreover, the model cannot give us more information about the chosen areas, as well as, if criteria are rigorous, most of the land is considered as unsuitable land then is rejected without any additional consideration (Hatzichristos & Giaoutzi, 2006). In comparison, the index overlay method is a more flexible and quick combination of maps than with Boolean logic by incorporation of expert knowledge through weights (Van Westen, 1997), because of that the method of Index overlaying with functional on Binary Evidence Maps was applied in this project as the second method by assign weights proportional to the importance assigned to each of the six binary maps ranging from 0 to10 that created only two classes (true or false), where each map carries a single different weight factor, and it is multiplied by its weight factor. All weighted factors maps are combined with each other. Finally, the

output map is integrated by the sum of the weights to create a value between 0, which represents an extremely unfavorable to the criteria and 1 which represents highly favorable to the criteria, the output score S is defined as;

$$S = \frac{(\sum_i^n W_i \text{ class}(MAPI_i))}{\sum_i^n W_i} \quad (4)$$

The following formula is represented in the software by assigning different weights as shown in Eq.4;

SuitAllWeight=((SuitGeological*6)+(SuitChinchina*2)+(SuitLanduse*3)+(SuitLandslid*5)+(SuitSlope*4)+(SuitBuilt*1))/2, as shown in Figure 12.

Classify the map SuitAllWeight in three classes: Unsuitable, Moderately suitable, Suitable, and compare it with the map SuitAll.

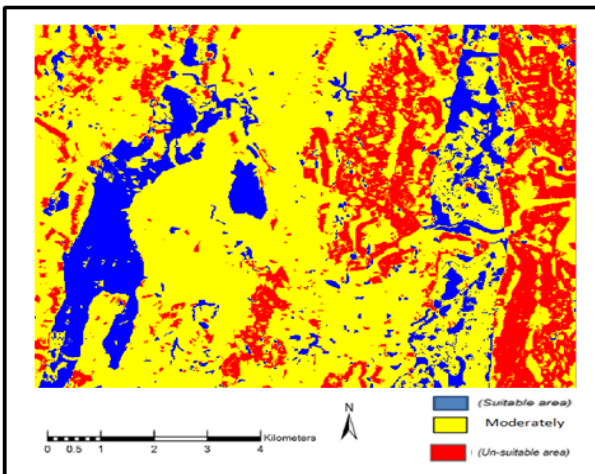


Table: (2). Suitable, moderate, and unsuitable areas obtained from Boolean logic and Index overlay model

NO.	Suitable map name	suitable areas m ²	Moderate areas m ²	Unsuitable areas m ²
1	SuitLandslid	65827812.5	-	2456406.3
2	SuitSlope	44872968.8	-	23411250.0
3	SuitLanduse	6430312.5	-	61853906.3
4	SuitChinchina	20195312.5	-	48088906.3
5	SuitBuilt	34001406.3	-	34282812.5
6	SuitGeological	13089218.8	-	55195000.0
7	SuitAll	45468.8	-	68238750.0
8	WasteDisposalSite	25625.0	-	68258593.8
9	SuitAllWeight	5009375.1	51812500.2	46803125.1

CONCLUSION

In this study, a decision-making model that

Figure: (12). Suitable, moderately, and unsuitable classes depends on the weight

Table 2 shows areas meter square of suitable, moderate, and unsuitable cells gained from the Boolean logic model and Index overlay model.

explicitly uses geological maps and topographical maps are used and applied. This study shows that improvement in the

information of geological and topographical maps have an additional and net positive value to society, which can help planners and enable them to make superior and solid decisions regarding land use. It is clear that the detailed information obtained from these maps can

be distributed effectively and directly to the determination of the solid waste dump site and enabled decision-makers to participate in planning for sustainable development. The principles developed and improved in this study are generally applicable to many other uses of geological map information.

By utilizing a GIS, spatial modeling of geo-referenced maps can be done effectively and easy to allow the decision makers to contribute to the zoning process better than submitting a hard copy of main plans for them; therefore it is considered a perfect tool for this purpose. In this project, wide criteria can develop even if the siting situation is well defined. To confirm that the decision makers take consistent and right decisions to evaluate the location selected. The criteria used in this work are inconstant factors because it can differ from site to site and can be changed depending on the analysis. Many simulations can be achieved by creating different scenarios and different results which are obtained.

Boolean logic model and index overlay method make them effective and proper for spatial phenomena to be site selected. It is better to compare the results of both methods with each other to verify the effectiveness of the work.

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to thank all those who helped me in this research to provide information and data collection, especially The International Institute for Geo-Information Science and Earth Observation (ITC).

© 2022 The Author(s). This open access article is distributed under a CC BY-NC 4.0 license.

REFERENCES

- Abesi, A., & Saeidi, M. (2009). Site selection of a hazardous waste landfill using GIS technique and priority processing, a power plant waste in Qazvin Province case example. *Environmental Sciences*, 6(4): 121-134.
- Bernknopf, R. L. (1993). *Societal value of geologic maps* (Vol. 1111). DIANE Publishing .
- Bonham-Carter, G. F. (1994). *Geographic information systems for geoscientists: modelling with GIS* (Vol. 13). Elsevier .
- Daneshvar, R., Fernandes, L., Warith, M., & Daneshfar, B. (2005, 02/01). Customizing arcmap interface to generate a user-friendly landfill site selection, GIS tool. *Journal of Solid Waste Technology and Management*, 31, 1-12 .
- Hatzichristos, T., & Giaoutzi, M. (2006). Landfill siting using GIS, fuzzy logic and the Delphi method. *International Journal of Environmental Technology and Management*, 6(1-2), 218-231 .
- Jilani, T. (2002). State of solid waste management in Khulna City. *Unpublished Undergraduate thesis, Environmental Science Discipline, Khulna University, Khulna*, 25-85 .
- Kao, J.-J., & Lin, H.-Y. (1996). Multifactor spatial analysis for landfill siting. *Journal of environmental Engineering*, 122(10), 902-908 .
- Kauffman, R. B. (2015). Topographic Maps. In *Map and Compass* .
- Liu, X., Zhang, Z., & Peterson, J. (2009). Evaluation of the performance of DEM interpolation algorithms for LiDAR data. *Proceedings of the 2009*

Surveying and Spatial Sciences Institute
Biennial International Conference
(SSC, 2009)

Malczewski, J. (1999). *GIS and multicriteria decision analysis*. John Wiley & Sons .

Michael, T. (1991). Waste disposal facility siting. Proc. 7th International Conference on Solid Waste Management and Secondary Materials, Philadelphia, USA ,

Obirih-Opareh, N., & Post, J. (2002). Quality assessment of public and private modes of solid waste collection in Accra, Ghana .*Habitat International*, 26(1), 95-112 .

Sastry, S. (2020). Solid Waste Disposal Site Selection in Chinchina City using Boolean Logic .Faculty of Geo-International Science and Erth Observatim University Of Twente, Enschede, The Netherlands.

Şener, B., Süzen, M. L., & Doyuran, V. (2006). Landfill site selection by using geographic information systems. *Environmental geology*, 49(3), 376-388.

Tudor, G., & Ion, G. (2009). *GIS database model for geological maps* (Vol. 84). Romanian Journal of Mineralogy .

UNEP-IETC, U.-I. (1996). International Source Book on Environmentally Sound Technologies for Municipal Solid Management. *Osaka/Shiga, UNEP International Environmental Technology Centre* .

Van Westen, C. (1997). Tools for map analysis applied to the selection of a waste disposal site. *ILWIS for Windows, Applications Guide, ILWIS Department, ITC, Holland*, 28-32 .

استخدام الخرائط الجيولوجية والطبوغرافية في اختيار موقع التخلص من النفايات الصلبة

على ابراهيم اعليوة

قسم الجيولوجيا، جامعة الزيتونة، ترهونة، ليبيا

تاريخ الاستلام: 26 نوفمبر 2021 / تاريخ القبول: 15 مارس 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.446>:Doi

المستخلص: في الوقت الحالي يعد نقص الأراضي المخصصة للنفايات الصلبة في معظم المناطق الحضرية أحد المشاكل الكبيرة والمتنامية. على الرغم من بذل بعض الجهود للتقليل من ازدياد النفايات واستعادتها، فإن طمر النفايات لا يزال العملية الأكثر شيوعاً للتخلص منها. يعد اختيار أفضل المواقع للتخلص من النفايات الصلبة في المناطق الحضرية موضوعاً خطيراً بسبب تأثيره الضخم على الاقتصاد، والبيئة، والصحة البيئية. وبالتالي يجب إنشاء العديد من المعايير التي تجمع بين المعايير الاجتماعية، والبيئية، والتقنية. في هذا البحث تم تحديد أنسب المواقع المختارة لتحديد مواقع إلقاء القمامة باستخدام نظام المعلومات الجغرافية (GIS) من خلال تطبيق كلا الأسلوبين المنطق المنطقي، ونموذج تراكب الفهرس عليها. وبناءً على عدة أهداف تم استخدام مجموعة بيانات مكانية تتكون من عدة خرائط على شكل طبقات، مثل استخدام الأراضي، والتوزيع الجيولوجي، والانهيارات الأرضية، وما إلى ذلك. تظهر النتائج أن نموذج المنطق المنطقي حدد مجالين فقط لاستيفاء كل المعايير، بينما حدد نموذج تراكب الفهرس ثلاث فئات مهمة من خلال الوزن، وهي مناطق غير مناسبة، ومتوسطة، ومناسبة كمواقع مناسبة للتخلص من النفايات الصلبة.

الكلمات المفتاحية: نموذج المنطق المنطقي ونموذج تراكب الفهرس؛ شينشينا؛ الخرائط الجيولوجية والطبوغرافية؛ نظم المعلومات الجغرافية؛ اختيار موقع التخلص من النفايات.



Scrapie in Eastern Libya: Case Report in Sheep

Fawzia F. Abdalla* and Monier A. Mohamed Sharif

Department of basic veterinary medical sciences, Faculty of veterinary medicine, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

Received: 13 February 2022/ Accepted: 17 March 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.622>

Abstract: Here we report neuropathological features of possible scrapie cases detected between 2018 and 2022. Fourteen cases of sheep older than two years, from several regions in Libya with neurological clinical signs resembling those with Scrapie, were submitted to the Veterinary Teaching Hospital at Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya. The animals were euthanized and subjected to postmortem examinations. Samples from different organs were submitted for histopathological examination using routine Hematoxylin and Eosin stain (HE). Nine cases showed neuronal vacuolation that is characteristic of Scrapie in sheep. Two cases were suspected of Scrapie and needed more advanced methods such as Immunohistochemistry (IHC) to confirm the diagnosis. The other three cases were diagnosed with Rabies, Listeria, and Echinococcus granulosus.

Keywords: Scrapie; Prion; Transmissible Spongiform Encephalopathy; Sheep; Libya.

INTRODUCTION

Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSEs), or prion diseases, are a group of progressive neurodegenerative diseases that affect the central nervous system (CNS) of many animals and humans. Seventeen different types of prion diseases have been reported; nine in humans and eight in animals, as in Table (1). Scrapie is the oldest recorded prion disease. It has been known since 1732 in the UK, and the last described prion disease was in Camel in Dromedary, in Algeria, in 2018 (Babelhadj et al., 2018; Imran & Mahmood, 2011).

According to the World Organization for Animal Health (OIE), Scrapie is an infectious and notifiable disease that naturally affects both sheep and goats (Arnold & Rajanayagam, 2020; Greenwood, 2002; Konold et al., 2020).

The etiological agent of these diseases is an infectious protein called a prion that results in the conversion of the normal cellular prion protein (PrP^c) into a pathological isoform called pathological prion protein (PrP^{sc}) (Guijarro et al., 2020).

The name Scrapie is derived from one of the condition's symptoms, wherein the affected animals will compulsively scrape off their fleece against rocks, trees, or fences (Nair & Johnson, 2011). Scrapie can be transmitted between animals, either directly or via the environment (Cassmann & Greenlee, 2020).

*Corresponding author: Fawzia F. Abdalla: fawzia.fathi@omu.edu.ly Department of basic veterinary medical sciences, Faculty of veterinary medicine, Omar Al-Mukhtar University, Al-Beida, Libya.

Table: (1). Prions disease in animals and human

Prions Diseases in Animals		
1.	Scrapie in sheep and goat.	(Sc)
2.	Bovine Spongiform Encephalopathy in cattle.	(BSE)
3.	Chronic Wasting Disease in cervides.	(CWD)
4.	Feline Spongiform Encephalopathy in cats.	(FSE)
5.	Transmissible Mink Encephalopathy in mink.	(TME)
6.	Exotic Ungulate Spongiform Encephalopathy in kudu & Nyala.	(EUE)
7.	TSE in Non-Human Primates in lemurs.	(NHP)
8.	Camel Prion Disease in Dromedary.	(CPD)
Prions Diseases In Humans		
1.	Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease.	(s CJD)
2.	Sporadic Fatal Insomnia.	(sFI)
3.	Variably Protease-Sensitive Prionopathy.	(VPSPr)
4.	Familial Creutzfeldt-Jakob Disease.	(FCJD)
5.	Gerstmann Sträussler Scheinker Syndrome.	(GGS)
6.	Fatal Familial Insomnia.	(FFI)
7.	Iatrogenic Creutzfeldt -Jakob Disease.	(iCJD)
8.	Variant Creutzfeldt Jakob Disease.	(vCFD)
9.	Kuru.	

The incubation period of scrapie is 2-5 years, and death occurs within two weeks to six months after clinical onset. Clinical symptoms may include behavioural changes, blindness, ataxia, incoordination, hyper-excitability, and tremors. Intense pruritus is the most common symptom, which usually leads to wool loss by rubbing and scraping. Scrapie is a slowly progressive disease with no inflammatory or immune response, which reduces the chances of early detection in affected animals.

Histopathological lesions are restricted mainly to the brain and skin (Saegerman et al., 2007). Neuropathological lesions are spongiform vacuolation, astrogliosis, and the deposition of PrP^{Sc} amyloid plaques in (CNS) (Imran & Mahmood, 2011).

There is no early diagnosis or specific therapeutic treatment (Chen et al., 2020; Llorens et al., 2018). Scrapie diagnosis is mainly based on observations of the typical clinical neurologic signs, while the confirmatory diagnosis depends on histopathological examination of the brain (Schreuder, 1994).

More sensitive methods for diagnosis involve the detection of the abnormal isoform of the prion protein PrP (PrP^{Sc} isoform) in the tissues using IHC and Western blot (WB) techniques (Fast & Groschup, 2013).

Recently, IHC and WB techniques had become of great importance since there was evidence that the Scrapie prion could be related to the Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE), forming a variant that might affect humans. The importance of these sensitive techniques began after detecting this dangerous variant in infected goats (Farias et al., 2017 ; Monleon et al., 2005).

The true state of Scrapie in Libya is still unknown and neglected. Here we report the neuropathological features and the histopathological lesions of Scrapie cases detected between 2018 and 2022 in the eastern part of Libya.

CASE HISTORY

Between 2018 and 2022, fourteen cases of sheep older than two years, with clinical neurologic signs resembling those with Scrapie from several areas in eastern Libya, were presented to the Veterinary Teaching Hospital at Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya. The cases were fourteen ewes and one ram. The mean age of all fourteen cases was 3.5 years. Neurologic symptoms have been observed more often in older sheep at the antemortem examination. The clinical signs include weight loss; behavioral abnormalities; and neurologic signs, such as tremors, bruxism, repeated licking of the lips, typical down and upward movements of the

head, hesitant and uncertain gait, ataxia of the hind limbs, occasional falls, blindness, and bunny hopping. According to owners' descriptions, the early stage of the disease was characterized mainly by behavioral signs, such as loss of appetite and sensitivity to noise and movement. Also, separation from the herd at pastures coincided with the disease progression, and neurologic signs became obvious; animals showed ataxia that eventually led to recumbency and death. Owners reported that signs progressed slowly, and that the duration of the disease varied from one to three months, and some animals were found dead without any previous clinical signs.



Figure: (1). Scrapie affected sheep. (a) Two-year-old ewe, showing ataxia, weakness, and loss of body weight. (b) Scrapie affected sheep: Two year-old ewe showing loss of weight, wool, and incoordination of movement.

Post Mortem lesions:

There are no characteristic gross lesions in scrapie, although there may be nonspecific changes, such as wasting or emaciation, and

skin or wool lesions resulting from pruritus.

MATERIALS AND METHODS

Animal sources:

- Veterinary Teaching Hospital at Omar Al- Mukhtar University/Al-Bayda.
- Slaughterhouses.

Tissue samples: All vital organs of 14 sheep with clinical signs resembling those with Scrapie were collected and submitted to the veterinary pathology laboratory. Brain samples were taken from different parts, especially from the medulla oblongata at the level of the obex.

Samples were fixed in 10% neutral buffered formalin. These tissues were routinely processed through ascending grades of alcohol (70%, 80%, 95%, and 100%), cleared in xylene, and embedded in paraffin wax. The paraffin sections were cut into 4 to 5- μ thick, stained with routine hematoxylin and eosin stain, and examined under a light microscope.

RESULTS

The histopathologic examination of the brain in nine cases showed spongiform change (spongiosis), gliosis, and neuronal loss in several areas of the brain. The clearest vacuolations were found in the neurons in the dorsal motor nucleus of the vagus nerve in the brainstem. Mild perivascular infiltrations, and astrocytosis were observed in vacuolated areas.

Two cases were scrapie-suspect sheep but were not considered histologically as positive because they didn't show the characteristic neuronal vacuolization lesions of Scrapie. The remaining three cases were diagnosed positive for Rabies, Listeria, and Echinococcus granulosus.

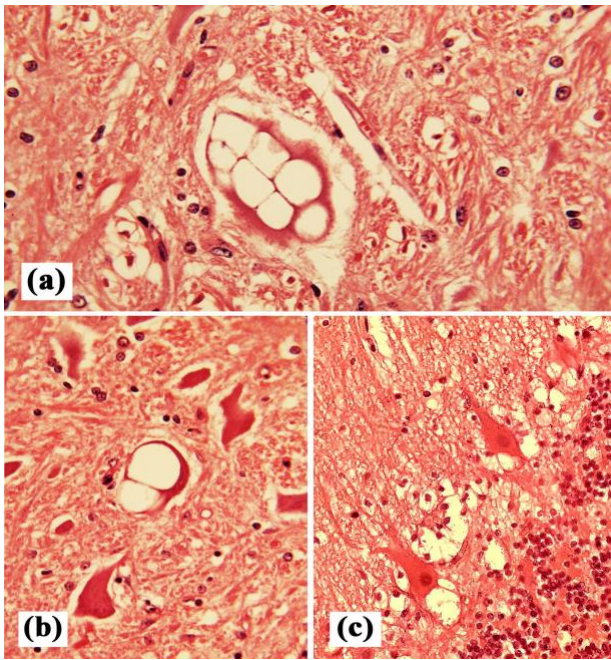


Figure: (2). Histopathology of Scrapie-infected sheep with clear signs of spongiform encephalopathy in the brainstem. Multiple vacuoles in the neurons of the dorsal motor nucleus of the vagus nerve (a) & (b). In some cases, cell damage was observed in the Purkinje cells layer of the cerebellum with intraneuronal and perineuronal vacuolations (c). (H&E staining, 400X).

DISCUSSION

No scientific research has been published so far on Scrapie in sheep in Libya. The disease was first reported by the Libyan national center for animal health in 2014, as reported on the OIE website (OIE, 2014).

This work indicates that Scrapie constitutes most cases (nine out of fourteen). The description of the situations of the disease in Libya was based only on these cases, and thus, it does not necessarily represent the actual epidemiological feature in Libya.

The presence of one case of Rabies made us more careful through collected samples. The cases of Listeriosis and Echinococcosis are usually detected by veterinarians and generally sent to slaughterhouses. Therefore, the presence of one case of Listeriosis and one case of Echinococcosis in our study do not represent the true prevalence of these diseases.

A positive diagnosis of Scrapie in sheep and goats depends on the observation of typical clinical neurologic signs and the finding of a combination of characteristic histologic lesions (Fast & Groschup, 2013). The characteristic vacuolar changes in the brain, with the typical neuroanatomic distribution, are pathognomonic, while the other histologic features of TSE, such as the presence of florid plaques, astrogliosis, and neuronal loss, can support the diagnosis of Scrapie but are not sufficient alone for diagnosis in the absence of the vacuolations. So, the diagnosis in such cases needs to be confirmed by the use of more sensitive methods, such as IHC (Monleon et al., 2005) or WB (Gavier-Widén et al., 2005) analysis.

According to the OIE, scrapie is the eighth cause of sheep and goat loss worldwide (Taranukha et al., 2020). It can cause severe economic damage to the sheep industry due to the nature of the disease with extraordinary properties of the agent and the disease, such as (a) long incubation periods (months, years, and even decades) that allows the silent spread of the disease; (b) resistance of the agent to high temperature; (c) resistance of the agent to most common disinfectants as well as the resistance to ultraviolet and ionizing radiation. All these properties and the lack of genetic material make rendering elusive regarding eradication and control of this disease. For those countries or regions in which the disease has become endemic, elimination efforts have spanned decades and, in most cases, have not been successful. The traits of the disease have been the primary cause of this lack of success.

Despite the little information that has been collected from the animal owners, we suggest that the disease has been present in different areas of Libya for a long time. Therefore, spreading awareness among sheep and goat breeders about this disease could be the most important measure used to control the disease in the future.

CONCLUSION

Scrapie exists in Libya and is widely distributed. If we exclude the other three cases of Rabies, Listeriosis, and Echinococcosis, nine of eleven Scrapie suspected cases were confirmed as Scrapie using the routine histopathology technique. That means the routine histopathology technique has a sensitivity of 82% for diagnosing Scrapie.

Other confirmatory methods such as IHC and WB are highly recommended to increase the sensitivity and to exclude the presence of the dangerous variant which can harm public health.

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to express our deepest appreciation to the staff of the Veterinary Hospital at Omar Al-Mukhtar University for field visits and data collection.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Arnold, M., & Rajanayagam, B. (2020). Will there be any more classical scrapie cases in sheep in Great Britain? A modelling study to predict future cases. *Epidemiology & Infection*, 148.
- Babelhadj, B., Di Bari, M. A., Pirisinu, L., Chiappini, B., Gaouar, S. B. S., Riccardi, G., . . . Vaccari, G. (2018). Prion disease in dromedary camels, Algeria. *Emerging infectious diseases*, 24(6), 1029.
- Cassmann, E. D., & Greenlee, J. J. (2020). Pathogenesis, detection, and control of scrapie in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 81(7), 600-614.
- Chen, C., Lv, Y., Hu, C., Xu, X.-F., Zhang, R.-Q., Xiao, K., . . . Shi, Q. (2020). Alternative complement pathway is activated in the brains of scrapie-infected rodents. *Medical microbiology and immunology*, 209(1), 81-94.
- Farias, G., Frohlich, E., Sanhueza, P., Jara, P., & Lecocq, C. (2017). Differential diagnosis of scrapie in post mortem goats by immuno histo chemistry. *Journal of Dairy, Veterinary and Animal Research*, 5(4), 121.
- Fast, C., & Groschup, M. H. (2013). Classical and atypical scrapie in sheep and goats. *Prions and Diseases*, 15-44.
- Gavier-Widén, D., Stack, M. J., Baron, T., Balachandran, A., & Simmons, M. (2005). Diagnosis of transmissible spongiform encephalopathies in animals: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(6), 509-527.
- Greenwood, P. (2002). Federal disease control—Scrapie. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(8), 625.
- Guijarro, I. M., Garcés, M., Andrés-Benito, P., Marín, B., Otero, A., Barrio, T., . . . Monzón, M. (2020). Assessment of glial activation response in the progress of natural scrapie after chronic dexamethasone treatment. *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3231.
- Imran, M., & Mahmood, S. (2011). An overview of animal prion diseases. *Virology journal*, 8(1), 1-8.
- Konold, T., Spiropoulos, J., Thorne, J., Phelan, L., Fothergill, L., Rajanayagam, B., . . . Coates, N. (2020). The scrapie prevalence in a goat herd is underestimated by using a rapid diagnostic test. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 164.

- Llorens, F., Barrio, T., Correia, Â., Villar-Piqué, A., Thüne, K., Lange, P., . . . Bolea, R. (2018). Cerebrospinal fluid prion disease biomarkers in pre-clinical and clinical naturally occurring scrapie. *Molecular neurobiology*, 55(11), 8586-8591.
- Monleon, E., Monzon, M., Hortells, P., Bolea, R., Acin, C., Vargas, F., & Badiola, J. (2005). Approaches to Scrapie diagnosis by applying immunohistochemistry and rapid tests on central nervous and lymphoreticular systems. *Journal of virological methods*, 125(2), 165-171.
- Nair, R. R., & Johnson, J. K. (2011). Prions and neuro degenerative diseases. *African Journal of Biotechnology*, 10(13), 2366-2374.
- Saegerman, C., Vanopdenbosch, E., & Berkvens, D. (2007). Current status of scrapie.
- Schreuder, B. (1994). Animal spongiform encephalopathies - an update part 1. Scrapie and lesser known animal spongiform encephalopathies. *Veterinary Quarterly*, 16(3), 174-181.
- Taranukha, N., Bezgina, Y., Fedota, N., Gorchakov, E., Ozheredova, N., Stepanenko, E., . . . Simonov, A. (2020). Ensuring food security and control of sheep and goat scrapie. E3S Web of Conferences,
- (OIE,2014)<https://wahis.oie.int/#/dashboards/country-or-disease-dashboard> (Accessed 8 Feb 2022).

سكرابي في شرق ليبيا: تقرير عن الحالات في الأغنام

فوزية فتحي عبد الله*، منير الصابر الشريف

قسم العلوم الطبية البيطرية الأساسية، كلية الطب البيطري، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

تاريخ الاستلام: 13 فبراير 2022 / تاريخ القبول: 17 مارس 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.622>:Doi

المستخلص: هنا نبلغ عن السمات المرضية العصبية لحالات مرض السكرابي المكتشفة بين عامي 2018 و2022. تم تقديم اربعة عشر حالة من الأغنام أكبر من عامين مع علامات سريريته تشبه تلك المصابة بمرض سكرابي من عدة مناطق في ليبيا إلى المستشفى البيطري التعليمي بجامعة عمر المختار / البيضاء. تم أخذ أجزاء مختلفة من الانسجة المختلفة بما فيها الدماغ من كل منها وفحصها نسيجياً باستخدام الصبغة الروتينية الهيماتوكسيلين والأيزون. أوضحت النتائج أن تسعة عينات أظهرت تغيرات في شكل فجوات بالخلايا العصبية والنسيج البيني في الدماغ وبالتالي تم تشخيصها نسيجياً على أنها مصابة بمرض سكرابي. حالتان لم يتم اعتبارهما إيجابيين من الناحية النسيجية لسكرابي بالفحص النسيجي المرضي الروتيني وتحتاجان إلى مزيد من الفحص بواسطة الكيمياء المناعية النسيجية، بينما تم تشخيص باقي الحالات الثلاثة من العينات بأن احداها مصابة بداء الكلب وواحدة بالليستريا والأخيرة بداء المشوكة الحبيبية.

الكلمات المفتاحية: سكرابي؛ برون؛ اعتلال الدماغ الإسفنجي؛ الأغنام؛ ليبيا.

* فوزية فتحي عبد الله، fawzia.fathi@omu.edu.ly قسم العلوم الطبية البيطرية الأساسية، كلية الطب البيطري، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.



تأثير تشميس بذور البازلاء على الفطريات المحمولة عليها وعلى حيويتها

نواره على محمد* وهاجر حمد العالم

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار البيضاء ليبيا

تاريخ الاستلام: 14 مايو 2021 / تاريخ القبول: 31 يناير 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.530>:Doi

المستخلص: استهدفت هذه الدراسة التعرف على تأثير تشميس بذور البازلاء المتحصل عليها من حقول منطقة الوسيطة، الجبل الأخضر ليبيا، والمعزول منها أنواع من فطر *Alternaria*، و فطر *Fusarium*، كذلك كل من فطر *Rhizoctonia*، فطر *Botrytis*، وفطر *Sclerotinia*، عرضت هذه البذور بعد تغطيتها تحت ظروف الصيف لمنطقتي رأس لانوف، وشحات لمدة 5 أسابيع. تشير نتائج البحث إلى أن التعقيم الشمسي مقارنة بغير المغطاة تحت ظروف منطقتي شحات، ورأس لانوف خفضت نسبة ظهور الفطريات المحمولة على البذور، مع عدم وجود فروق بين الموقعين، كانت جميع المعاملات أعلي تأثيرا من الشاهد غير المغطاة، ولم تعطِ النتائج انخفاضا في نسبة إنبات البذور إلا بعد خمسة أسابيع من التغطية، إلا أن نوع الغطاء سجل انخفاضا في طول الريشة للبذور غير المغطاة بالبلاستيك تحت ظروف منطقة شحات، بينما المغطاة بالبلاستيك الأسود كانت أقل تأثرا، وكان الانخفاض معنويا للبذور المغطاة بالبلاستيك الشفاف تحت ظروف منطقة رأس لانوف، وكان للتغطية بالبلاستيك الشفاف تحت ظروف المنطقتين تأثير كبير على طول الجذير، وزاد هذا التأثير زيادة واضحة بمقارنة الأسابيع الخمس. وخلصت هذه الدراسة إلى أن عملية تشميس بذور البازلاء أعطت فاعلية عالية ضد الفطريات المحمولة على البذور في الأسابيع الأولى، دون أن يؤثر على حيويتها.

الكلمات المفتاحية: تشميس البذور. الفطريات؛ تعقيم الشمسي؛ نسبة الإصابة؛ نسبة الإنبات.

المقدمة

المناخية التي تطبق بها هذه التقنية فهي تتراوح بين 4-6 أسابيع وقد تصل 12 أسبوع عند مكافحة بذور الحشائش (Stevens et al., 2003) تم القضاء على الفطريات النباتية المحمولة على قرون الكاوية بعد تعرضها 4 أسابيع للتشميس حيث قلت كمية الفاقد من 8.6% للمجففة شمسيا، بينما كانت هذه النسبة في غير المجففة 22.1% (Amoako-Attah et al., 2007)، أدى تشميس بذور الحمص لمكافحة فطر *Ascochyta* sp عند استخدام طبعيتين من البلاستيك الأسود (Kumari et al., 2009) كما أعطى التعقيم الشمسي نتائج مشجعة حيث خفضت نسبة الإصابة دون أن يكون له تأثير على نسبة الإنبات (Pandey et al., 2018)، وقضى تشميس بذور العدس بشكل كلي

تتميز المعاملات الفيزيائية بكفاءتها في القضاء على الممرضات النباتية، أو التقليل منها، بالإضافة إلى كونها أقل كلفة (Amoako-Attah et al., 2007)، المكافحة بالتعقيم الشمسي تتميز بأنها نظيفة، وأمنة على البيئة وصحة الانسان، تعتمد على التغطية بالبلاستيك لحبس حرارة الشمس لتصل إلى 40-55م خلال الفصول الحارة، مما ينجم عنها قتل للكائنات المحمولة (فطريات وبكتيريا)، أو المصاحبة للبذور (نماتودا، بذور حشائش، أو حشرات) وهي فعالة ضد 40 فطر، 25 نوع نماتودا، والعديد من الحشائش (Stapleton, 1997) مدة المكافحة تعتمد على الظروف

الثالثة بدون غطاء بلاستيكي (مجموعة ج)، وتم تعريضهما للشمس في الفترة (16.06.2015 إلى 16.07.2015) وتم أخذ عينة ابتداء من زمن (صفر) زمن بدء التجربة، ثم عينة أسبوعياً لمدة 5 أسابيع، كما تم تقدير درجة الحرارة عند الساعة 16 مساءً.

الاختبارات المعملية: تم توزيع البذور على بيئة غذائية (PDA) المصنوبة في أطباق بترى بعد تعريضها لعدة معاملات، لفترات زمنية مختلفة، وتم إعادة التجربة مرتين متتاليتين، وتم أخذ عدة قياسات لتحديد فاعلية كل طريقة على الفطريات المحمولة، أو المنقولة بواسطة هذه البذور وهي:

أ. عدد الفطريات المعزولة من البذور المعاملة: حيث يتم حساب عدد الفطريات التي تظهر على البذور بعد تعريضها للمعاملات المختلفة

ب. أنواع الفطريات المعزولة من البذور المعاملة: المعتمد تعريفها بناء على الصفات الشكلية لتحديد تأثير المعاملة على تواجد الفطريات في البذرة، والفطريات التي اختفت نتيجة هذه المعاملات، كما يحسب نسبة تكرار الفطريات المعزولة البذور المعاملة، وحساب نسبة تأثير المعاملة في خفض الفطريات المحمولة عليها بعد تشميسها وفق المعادلة التالية:

{ (نسبة تكرار فطريات المعزولة من بذور الشاهد - نسبة تكرار الفطريات بعد المعاملة / نسبة تكرار فطريات في بذور الشاهد) * 100 }.

حساب نسبة إنبات البذور: تم توزيع عدد خمسة بذور بازلاء في أطباق بترى قطرها 9سم، تحتوى على أوراق ترشيح معقمه، مبلله بالماء المقطر، المعقم، وضعت هذه الأطباق في الحضان عند درجة حرارة 25م، بمعدل 25 بذرة، وتم متابعتها يومياً، وبعد 7 أيام فحصت البذور، وحددت نسبة الإنبات بظهور الريشة، والجذير، ثم قدرت نسبة إنبات بذور البازلاء وفقاً لما ذكره (Vadivambal et al., 2010; Zeng et al., 2012): نسبة الإنبات = (عدد البذور النابتة بعد 7 أيام/عدد البذور الكلية) * 100. كما تم حساب طول كل منهما.

التحليل الإحصائي: تم التصميم الإحصائي لجميع التجارب

على فطر *Ascochyta*، وأدى إلى مكافحة تصل إلى 96%، إلا أنه كلما زاد زمن التعقيم أدى إلى التأثير على نسبة الإنبات خاصة في وجود الغطاء البلاستيكي وفق ما ذكره (Kumari et al., 2009). عرف محصول البازلاء *Pisum sativum* L. منذ عام 1866م نموذجاً للجينات النباتية في دراسات مندل الوراثة بسبب تنوع صفاته، وامتلاكها للعديد من الفوائد الاقتصادية كتتنوع طرق استهلاك مجموعته الخضري، والاستفادة منه علفاً أو سماداً، يتبع العائلة البقولية التي تمتاز بكونها مثبته للنتروجين لذا تستخدم في الدورات الزراعية، تضم هذه العائلة 650 جنساً و18 ألف نوع (Smýkal et al., 2012)، تقدر المساحة المزروعة بالبازلاء في ليبيا بـ 124 هكتاراً (Faostat, 2019)، تعد عملية تجفيف بذور العديد من المحاصيل الزراعية أمراً مهماً، يهدف هذا البحث إلى استخدام تقنية اقتصادية سهلة التطبيق سريعة النتائج بتطبيق التعقيم الشمسي بمناطق تتباين ظروفها المناخية.

المواد وطرق البحث

جمع بذور البازلاء: تم استخدام بذور بازلاء محلية الزراعة، المجموعة خلال شهر فبراير 2014 من حقول الوسيطة الواقعة بمنطقة الجبل الأخضر في الشمال الشرقي من ليبيا، وتم تجفيف البذور هوائياً (عبد العالي، 2015).

جدول (1). درجة الحرارة والرطوبة النسبية للمناطق المختبرة (شحات ورأس لانوف) خلال شهري يونيو ويوليو لسنة 2015

م	شحات		رأس لانوف	
	رطوبة نسبية (%)	درجة الحرارة (م)	رطوبة نسبية (%)	درجة حرارة (م)
6	564.1	18.04	71.15	23.21
7	564.9	20.86	75.42	925.7

تشميس البذور: تم توزيع البذور في أطباق ذات قطر 9سم (بمعدل 3 أطباق لكل معاملة)، حيث تم تغطية المجموعة الأولى بغطاء بلاستيكي لونه أسود (مجموعة أ)، والمجموعة الثانية بغطاء بلاستيكي شفاف (مجموعة ب)، والمجموعة

السابقة باستخدام القطاعات كاملة العشوائية Complect الحاسوب، واستخدام البرنامج (تحليل التباين ANOVA)، وتم رسم الاشكال البيانية باستخدام برنامج Excel. Gomez & Randomized Design (RCD) كما ذكرها (Gomez, 1984)، أما التحليل الإحصائي باستعمال جهاز

جدول (1) تأثير التعقيم الشمسي بموقعي الدراسة على إصابة البذور، وحيويتها

الزمن الأسبوع	شحات			رأس لانوف		
	غطاء شفاف	بدون غطاء	غطاء أسود	غطاء شفاف	بدون غطاء	بدون غطاء
نسبة الإصابة بعد معاملة البذور بعد المعاملة بالتشميس						
1	62.5	75	62.5	50	62.5	100
2	50	62.5	50	50	50	87.5
3	37.5	12.5	37.5	37.5	25	75
4	12.5	0	37.5	25	12.5	50
5	12.5	0	37.5	12.5	0	50
الموقع × الزمن × البلاستيك			30.88= LSD5%			
نسبة الإنبات للبذور التي تم تشميسها في شحات ورأس لانوف						
1	100	87.5	62.5	75	75	87.5
2	87.5	75	37.5	75	87.5	75
3	87.5	37.5	37.5	75	50	75
4	87.5	37.5	37.5	75	37.5	75
5	37.5	25	37.5	12	37.5	62.5
الموقع × الزمن × الغطاء			31.7140= LSD			
تأثير التعقيم الشمسي على طول الريشة (سم) لبذور البازلاء						
1	2.9131	1.250	0.813	1.225	0.857	1.688
2	1.463	0.500	0.525	0.900	0.638	1.438
3	1.438	0.344	0.438	0.600	0.438	0.625
4	1.313	0.163	0.375	0.688	0.375	0.613
5	0.875	0.100	0.375	0.143	0.125	0.375
الموقع × الزمن × الغطاء			1.1788= LSD			
تأثير التعقيم الشمسي على طول الجذير (سم) لبذور البازلاء						
1	2.563	2.714	1.250	2.563	1.143	1.813
2	2.500	1.75	1.00	1.875	1.038	1.750
3	2.063	0.188	0.813	1.500	0.925	0.975
4	1.813	1.333	0.500	1.375	0.438	0.850
5	0.838	0.750	0.500	0.143	0.250	0.713
الموقع × الزمن × الغطاء			1.9254= LSD 5%			

استخدمت بذور بازلاء عُزل منها عدد 11 عزلة فطرية وهي على التوالي: (5 عزلات من فطر *Alternaria*، و3 عزلات من فطر *Fusarium* كذلك كل من فطر *Rhizoctonia*،

النتائج والمناقشة

الفطريات المعزولة من بذور البازلاء: في هذه الدراسة

باللون الأسود يليه الشفاف، بينما الشفاف كان له تأثير كبير على طول الجذير، وزاد هذا التأثير بزيادة زمن المعاملة، حيث قل طول الجذير. وخلصت هذه الدراسة إلى أن عملية تشميس بذور البازلاء أعطت فاعلية عالية ضد الفطريات المحمولة على البذور في الأسابيع الأولى، دون أن يؤثر على حيويتها. العوامل المؤثرة على إنبات البذور المعاملة بالتعقيم الشمسي تمثلت بدرجة الحرارة، زمن التعرض، ومحتوى الرطوبي للبذرة، حيث يزيد ارتفاع الرطوبة من حساسية البذور للحرارة (Ghaly & Van Der Touw, 1982) و ينخفض مستوى الفطريات بانخفاض المحتوى المائي للبذور (Amoako-Attah et al., 2007) لا يتغير شكل البذور بعد عملية التعقيم (Ghaly & Sutherland, 1984)، يعود تأثير التعقيم الشمسي إلى خفض الإصابة بالفطريات إلى تحطم محتواها البروتيني، وتخرته بسبب الحرارة العالية الناجمة عن هذه العملية (Ghaly & Van Der Touw, 1982)، دون التأثير على المواد الدهنية (Ghaly & Sutherland, 1984)، توجد علاقة بين ارتفاع الحرارة، ومحتوي الرطوبي للبذور، حيث تتأثر العمليات الأيضية (Shlevin et al., 2004)، خلال الفصول الجافة يتم تجفيف البذور هوائياً لتقليل محتواها الرطوبي بنسبة تصل إلى 10% تلعب الرطوبة النسبية دوراً مهماً لأن الفطريات تحتاج للرطوبة العالية لنموها ونشاطاتها الحيوية (Amoako-Attah et al., 2007).

نتائج هذه الدراسة أشارت إلى أن التعقيم الشمسي خفض الفطريات معنوياً مقارنة بالشاهد بعد 5 أسابيع من المعاملة، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره (Rubin et al., 2007)، توجد علاقة إيجابية بين درجة الحرارة الناتجة عن التعقيم وانخفاض عدد الممرضات (Ibarra-Jiménez et al., 2012)، ويعزى ذلك إلى أن القضاء على هذه الكائنات نتيجة تغيرات كيميائية حيث زاد تركيز العناصر المعدنية الغذائية، تعطيل سموم الممرضات.

فطر (*Botrytis*، وفطر (*Sclerotinia*)، تشير نتائج تطبيق التعقيم الشمسي لنبات البازلاء التي تم تطبيقها خلال فصل الصيف في شحات، ورأس لانوف، كما في الجدول (2) بأنه لا توجد فروق بين الموقعين، كما أنه لا توجد فروق بين أنواع الأسابيع الخمسة فترة الدراسة، و لا توجد فروق بين أنواع البلاستيك المستخدمة في هذه الدراسة، لكن كانت جميعها أعلى تأثيراً من الشاهد غير المغطاة. أشارت نتائج دراستنا إلى أن التعقيم الشمسي خلال صيف 2015م خفضت الممرضات الفطرية المحمولة على بذور البازلاء مقارنة بالشاهد. وعند حساب نسبة الإنبات للبذور التي تم تعريضها للتعقيم الشمسي، سجل انخفاض في نسبة الإنبات في الأسبوع الخامس أي أن تأثير المعاملة ظهر في الأسبوع الأخير، بينما تعرض البذور لشهر من المعاملة لم يؤثر على إنبات البذور، سجل انخفاض في طول الريشة في شحات في البذور بدون غطاء، بينما المغطاة بالأسود كانت أقل تأثراً، إلا أن هذا الانخفاض يزداد بزيادة زمن المعاملة، في كلا الموقعين، بينما كان الانخفاض في رأس لانوف في كل الأطباق المغطاة بالبلاستيك الشفاف، كما تشير النتائج أن التغطية بالبلاستيك الشفاف لها تأثير كبير على طول الجذير، وزاد هذا التأثير بزيادة زمن المعاملة، الجدول (2).

تشير نتائج التعقيم الشمسي إلى عدم وجود فروق بين الموقعين في أسابيع الدراسة الخمسة خلال فصل الصيف فروق، حيث تناقصت الفطريات معنوياً مقارنة بالشاهد غير المغطاة. وعند حساب نسبة الإنبات للبذور التي تعرضت للتعقيم الشمسي، سُجل انخفاض نسبة الإنبات في الأسبوع الخامس أي أن تأثير المعاملة ظهر في الأسبوع الأخير، كما بينت النتائج أن تعرض البذور لشهر من المعاملة لم يؤثر على إنبات البذور، وسُجل أيضاً انخفاض في طول الريشة في شحات في البذور بدون غطاء، بينما الأسود كانت أقل تأثراً، إلا أن هذا الانخفاض يزداد بزيادة زمن المعاملة، في كلا الموقعين، بينما كان الانخفاض في رأس لانوف في كل الأطباق المغطاة بالبلاستيك الشفاف، و أن طول الجذير كان أعلى في شحات، ورأس لانوف، وكانت أطول في المغطاة

جدول (2) تأثير التعقيم الشمسي بموقعي الدراسة على الفطريات الملوثة لبذور البازلاء خلال خمس أسابيع قبل معاملة البذور وبعد إجراء المعاملات

المعاملة														
الفطريات المعزولة من بذور البازلاء														
الزمن بالأسبوع	الغطاء	<i>Alternaria</i> iso1	<i>Alternaria</i> iso2	<i>Alternaria</i> iso3	<i>Alternaria</i> iso4	<i>Fusarium</i> iso1	<i>Fusarium</i> iso2	<i>Fusarium</i> iso3	<i>Rhizctonia</i>	<i>Sclerotinia</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Trichoderma</i> <i>cladosporiu</i> <i>m</i>	<i>Penicillium</i> <i>Amiger</i>	عدد الفطريات
الفطريات المعزولة بعد معاملة البذور بعد المعاملة بالشمس بموقع شحات														
11	الشاهد	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	11
4	غطاء شفاف	+			+							+		4
1	بدون غطاء				+									1
3	غطاء أسود				+							+		3
2	غطاء شفاف			+										2
3	بدون غطاء				+	+						+		3
3	غطاء أسود											+	+	3
2	غطاء شفاف											+		2
2	بدون غطاء											+	+	2
3	غطاء أسود											+		3
1	غطاء شفاف											+		1
0	بدون غطاء													0
3	غطاء أسود											+	+	3
1	غطاء شفاف											+		1
0	بدون غطاء													0
3	بدون غطاء				+	+						+		3
الفطريات المعزولة بعد معاملة البذور بعد المعاملة بالشمس بموقع رأس لانوف														
4	غطاء أسود				+	+	+					+		4
1	غطاء شفاف				+									1
2	بدون غطاء											+		2
1	غطاء أسود													1
0	غطاء شفاف													0
3	بدون غطاء				+	+						+		3
1	غطاء أسود											+		1
2	غطاء شفاف											+		2
1	بدون غطاء													1
1	غطاء أسود													1
2	غطاء شفاف											+		2
3	بدون غطاء				+	+	+							3
3	غطاء أسود				+	+						+		3
1	غطاء شفاف											+		1
3	بدون غطاء				+	+						+		3

Chauhan, Y., & Ghaffar, M. (2002). Solar heating of seeds—a low cost method to control bruchid (*Callosobruchus* spp.) attack during storage of pigeonpea. *Journal of Stored Products Research*, 38(1), 87-91.

Faostat, F. (2019). Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em, 13.

Ghaly, T., & Sutherland, J. (1984). Heat damage to grain and seeds. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 30, 337-345.

Ghaly, T., & Van Der Touw, J. (1982). Heat damage studies in relation to high temperature disinfestation of wheat. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 27(4), 329-336.

Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research*. John wiley & sons.

Ibarra-Jiménez, L., Lira-Saldivar, H., Cárdenas-Flores, A., & Valdez-Aguilar, L. A. (2012). Soil solarization enhances growth and yield in dry beans. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science*, 62(6), 541-546.

Kumari, S., Bayaa, B., Makkouk, K., El-Ahmed, A., El-Heneidy, A., Jamal, M., Jboory, I., Abou-Gharbieh, W., Irmaileh, B. A., & Choueiri, E. (2009). 10 th Arab Congress of Plant Protection.

Man, Y. Y. W., Maurissen, Y., & Fournier, M. (1991). Solarisation of a seed drier in Mauritius. *Renewable energy*, 1(3-4), 507-511.

Pandey, A. K., Tripathi, S., & Singh, P. (2018). Plant essential oils: a substitute for conventional insecticides against *Tribolium* species (Coleoptera: Tenebrionidae)-achievements and

نستنتج من الدراسة أن الفطريات الممرضة تسبب خسائر فادحة بعد الحصاد، إلا أن حرارة الشمس تحت ظروف أغطية مختلفة كانت فعالة في مكافحة فطريات محمولة على البذور، أو بداخلها أثناء عملية ما بعد الحصاد، بعد أسبوع لوحظ انخفاض في نسبة الإصابة دون التأثير على حيوية البذور، حيث لم تؤثر عملية التشميس على إنبات البذور، لذا تعد هذه المناطق ملائمة لتطبيق هذه التقنية الآمنة. (Chauhan & Ghaffar, 2002)، كما أظهرت الدراسة أن التقنيات الحديثة لتجفيف البذور عالية الثمن، والتكاليف لذا تعد الشمس هي الأرخص (Man et al., 1991)، فعملية تشميس البذور تحت غطاء أسود لفترات متفاوتة قضى على الفطر المحمول، وخفض نسبة الإصابة بعد 30 يوماً إلى 22.7%، ونتج عنها سرعة إنبات البذور، و زاد طول الجذير والسويقة، و ارتفاع تركيز المادة الجافة، و إضافة إلى ما سبق أظهرت النتائج أن للتشميس تأثيراً إيجابياً على إنبات البذور، إلا أن تعرض البذور لأشعة الشمس المباشرة خفض نسبة الإصابة، وأثر على حيويتها، تحول الشمس لطاقة حرارية تصل 40-60 م° وينجم عن الحرارة العالية تخثر في بروتين الفطر والعمليات الحيوية تصبح غير طبيعية، وتتأثر عدد من المركبات الأيضية نتيجة تراكم المواد السامة القاتلة للفطر (Kumari et al., 2009).

المراجع

عبد العالي، عازة علي. (2015). عزل وتعريف مسببات أعفان قرون البازلاء الفطرية ومكافحتها بالطرق الفيزيائية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة عمر المختار. البيضاء - ليبيا، صفحة 84.

Amoako-Attah, I., Awuah, R., Fialor, S., & Jolly, C. (2007). Cost effectiveness of selected post harvest pod handling techniques against damage, mouldiness and aflatoxin contamination of shelled groundnut in Ghana. *Journal of Science and Technology (Ghana)*, 27(1), 17-27.

- Zeng, D., Luo, X., & Tu, R. (2012). Application of bioactive coatings based on chitosan for soybean seed protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2012.
- challenges. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51(13-14), 696-728.
- Rubin, B., Cohen, O., Gamliel, A. (2007). Soil solarization: an environmentally-friendly alternative. *Proceedings of the FAO Workshop on Non-Chemical Alternatives to Replace Methyl Bromide as A Soil Fumigant*, Budapest, Hungary,
- Shlevin, E., Mahrer, Y., & Katan, J. (2004). Effect of moisture on thermal inactivation of soilborne pathogens under structural solarization. *Phytopathology*, 94(2), 132-137.
- Smýkal, P., Aubert, G., Burstin, J., Coyne, C. J., Ellis, N. T., Flavell, A. J., Ford, R., Hýbl, M., Macas, J., & Neumann, P. (2012). Pea (*Pisum sativum* L.) in the genomic era. *Agronomy*, 2(2), 74-115.
- Stapleton, J. (1997). Soil solarization: an alternative soil disinfestation strategy comes of age. *UC Plant Protection Quarterly*, 7(3), 1-5.
- Stevens, C., Khan, V., Rodriguez-Kabana, R., Ploper, L. D., Backman, P., Collins, D., Brown, J., Wilson, M., & Igwegbe, E. (2003). Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. *Plant and soil*, 253(2), 493-506.
- Vadivambal, R., Deji, O., Jayas, D., & White, N. (2010). Disinfestation of stored corn using microwave energy. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(1), 18-26.

Effect of Pea Seed Solarization on Seed-Borne Fungi and its Vitality

Nwara A. Mohamed*, Hajir H. Alalm

Plant protection, Faculty of Agriculture, Omar Al- Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

Received: 14 May 2021/ Accepted: 31 January 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.530>

Abstract: This study aimed to identify the effect of pea seed solarization obtained from the fields of the El-Wsita Region, Al-Jabal Al-Akhdar, Libya, and isolated species of *Alternaria* and *Fusarium* as well as *Rhizoctonia*, *Botrytis*, and *Sclerotinia*. The results of the research indicate that solar sterilization under the conditions of Shahat and Ras Lanuf for a period of five weeks reduced the rate of appearance of seed-borne fungi, with no differences between the two sites or between the types of plastic used, and all treatments were the highest effect against uncovered (control). The results didn't show any decrease in the percentage of seed germination until after five weeks of covering. There was also a decrease in the length of the shoot in the seeds that are not covered with plastic under the conditions of the Shahat area, while those with the black plastic cover were less affected, while the decrease was significant for the seeds covered with transparent plastic under the conditions of Ras Lanuf. The transparent plastic coverage under the conditions of the two regions had a significant impact on the length of the root. This effect increased with time during the five weeks. The study concluded that pea seed solarization had a high potency against seed-borne fungi in the first few weeks without affecting their vitality.

Keywords: Seed Solarization, Fungi, Solar Sterilization, Infection Percent, Germination Percent.



التأثيرات الأليلوباثية لنبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* في إنبات ونمو صنفين من الفول

سامي محمد صالح^{1*}، أحلام خليفة العيلة²، أحمد امراجع عبدالرازق¹ وجبريل الدائخ إصبيح³

¹ قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

² قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

³ قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

تاريخ الاستلام: 03 أكتوبر 2021 / تاريخ القبول: 31 يناير 2022

<https://doi.org/10.54172/mjssc.v37i1.522>:Doi

المستخلص: أجريت تجربتان (مختبرية - أصص) في معمل الفسيولوجي قسم النبات/ كلية العلوم / جامعة عمر المختار/ البيضاء/ ليبيا، بهدف معرفة التأثيرات الأليلوباثية للمستخلصات المائية بتركيز (10، 20، 40%) والمسحوق الخام المضاف للتربة بتركيز (1، 2، 4%) لنبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* (درنات-أوراق) على إنبات وتطور شتلات نبات الفول لصنفي (محلي - مسة)، وبثلاث مكررات وفقاً للتصميم العشوائي الكامل. بينت نتائج التجربة المختبرية وجود فروق معنوية عالية في خفض النسبة المئوية للإنبات، واختزال أطوال الجذير، والرويشة بين المستخلصات المائية، والتركيز لنبات الفول لصنفي محلي ومسة مقارنة مع الشاهد، كما أظهرت نتائج تجربة الأصص أن التركيز العالية خفضت معنوياً من النسبة المئوية لظهور الشتلات، بينما أدت جميع التركيزات إلى اختزال واضح وكبير في أطوال المجموع الجذري والخضري وانخفاض الأوزان الطازجة والجافة للشتلات لصنفي محلي ومسة، كما أن أغلب التركيزات المستخدمة تسببت في زيادة تركيز الكلوروفيل (أ)، والكاروتينات وخفضت من تركيز كلوروفيل (ب)، كما أدت إلى زيادة أيونات البوتاسيوم والحديد والنحاس والنيكل، بينما أدت إلى انخفاض تركيز الصوديوم لصنفي محلي ومسة مقارنة بالشاهد، ولوحظ تفوق الدرناات في تسجيل أكبر نسب تثبيطية مقارنة بالأوراق، وكانت التركيزات العالية للمستخلصات والمسحوق المضاف هي الأكثر سمية في تثبيط نمو الصفات المدروسة للصنفين، وكان الصنف (مسة) هو الأكثر حساسية من الصنف (محلي).

الكلمات المفتاحية: نبات الرينش البرقاوي، الأليلوباثي، المستخلصات المائية، المسحوق الخام، نبات الفول.

(et al., 2015; Neme et al., 2015)، وله دور مهم في

استعادة خصوبة التربة من خلال قدرته علي تثبيت النيتروجين بتكوينه للعقد الجذرية (Jensen et al., 2010). يتعرض محصول الفول لمنافسة الكثير من الأعشاب الضارة، والنباتات البرية التي تظهر تأثيراً تثبيطياً يضعف، أو يحد من إنتاجه (Ebid, 2016)، ويمكن أن يكون هذا التأثير التثبيطي ناتج عن تأثير مركبات كيميائية تفرز من النبات تعرف بـ

المقدمة

يعد محصول الفول *Vicia faba* من أهم المحاصيل البقولية المزروعة في ليبيا باعتباره مصدراً رخيصاً للبروتينات (EI- (Ammari, 2017)، حيث تبلغ نسبة البروتين 35% في البذور الجافة، بالإضافة للعديد من العناصر الغذائية كالحديد، والبوتاسيوم، والكالسيوم، والماغنسيوم، والزنك (Longobardi

*سامي محمد صالح sami.mohammed@omu.edu.ly، قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

إلى نوعين من التربة (طينية - رملية) قلل بشكل كبير من زيادة المادة الجافة الكلية لنبات الفول بعد 30 يوماً من الزراعة.

لذلك جاءت هذه الدراسة بهدف معرفة التأثيرات الإليوباثية للمستخلصات المائية بتركيز (10, 20, 40%) والمسحوق الخام المضاف للتربة بتركيز (1, 2, 4%) لنبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* على إنبات شتلات نبات الفول ونموها *Vicia faba* صنف (محلي - مسة).

المواد وطرق البحث:

التجربة المختبرية: جمعت عينات من نبات الرينش البرقاوي (أوراق - درنات) من منطقة الوسيطة، وغسلت بالماء المقطر، وتركت لتجف تحت الظروف الطبيعية، وطحنت بمطحنة كهربائية، وحفظت للاستخدام، كما تم الحصول على بذور الفول لصنفي محلي، ومسة من قسم المحاصيل كلية الزراعة جامعة عمر المختار، وتم انتقاء البذور المتجانسة، ونظفت من الشوائب، واختبرت حيويتها من خلال نقعها في الماء المقطر للتخلص من البذور الفارغة الطافية على سطح الماء، ونقعت في محلول هايبوكوريد الصوديوم 1% لمدة 3 دقائق، وغسلت بالماء المقطر (Dafaallah et al., 2019).

تحضير المستخلص المائي لنبات الرينش البرقاوي: حضر المستخلص المائي (أوراق - درنات) كلا على حده بإضافة 100غم من المسحوق الجاف إلى 500مل ماء مقطر في دورق زجاجي سعته لتر، وترك لمدة 24ساعة، وشرح المستخلص، ووضع على هزاز لمدة 24ساعة، وفصل في جهاز الطرد المركزي لمدة 15دقيقة بسرعة 2000 دورة/الدقيقة، وعد المستخلص المتحصل عليه محلولاً أساسياً بتركيز 100% (Masoud & Abugarsa, 2018)، ومنه حضرت التراكيز المستخدمة 10, 20, 40%، وحفظت في دوارق زجاجية معتمة في الثلاجة لحين الاستعمال.

الاختبار الحيوي للمستخلصات: وزعت بذور الفول المتجانسة

وتعرف هذه الظاهرة بظاهرة الإليوباثي Allelochemical و*Allelopathy*، ويعد وسيلة تنافسية لإضعاف، أو منع، أو تحفيز نمو النباتات المجاورة (Salih & Abdulrazziq, 2020)، ومن ضمن النباتات البرية التي قد يكون لها تأثير الإليوباثي على نمو، وتطور النباتات المجاورة نبات *Arum cyreniacum* المعروف محلياً بالرينش البرقاوي، وذلك نسبة لوجوده بإقليم برقة Cyrenaica، وخاصة منطقة الجبل الأخضر - ليبيا، والمستخدم قديماً لأغراض غذائية، وطبية، وهو نبات عشبي حولي درني ينتمي للفصيلة القلقاسية *Araceae* ينمو في أوائل فصل الخريف (Abdulrazziq & Salih, 2020). أشارت العديد من الدراسات إلى الدور الإليوباثي للعديد من النباتات وخاصة البرية على نمو نبات الفول، حيث أظهرت دراسة أجريت في السعودية أن معاملة بذور نبات الفول بثلاث مستخلصات مائية للأجزاء الهوائية لنباتات الحرمل الرازي *Rhazya stricta* Decne والأرطي *Calligonum Comosum*، والعرفج *Rhanterium epapposum*، سببت انخفاضاً في نسبة الإنبات، وأطوال كل من الرويشة، والجذير لبادرات نبات الفول (Ebid, 2016)، وفي دراسة أخرى أجريت في مصر بينت حدوث انخفاض في المساحة الورقية لنبات الفول بتأثير المستخلص المائي لأوراق أشجار الكافور *Eucalyptos rostrata*، وكان السبب احتواءها على مركبات فينولية، وتربينات أدت إلى زيادة عناصر النتروجين، والفسفور، والبوليتاسيوم (El-Darier, 2002).

وجد (Haroun & Abualghaith, 2015) أن التأثير الإليوباثي لمستخلص نبات القرم *Zygophyllum simplex* ساهم في إحداث تأثيرات تطهيرية قللت نسبة الإنبات من 91.1% للشاهد إلى 45.1% لبادرات نبات الفول، وبينت نتائج دراسة أخرى انخفاض نسبة الكربوهيدرات مع زيادة نسبة البروتينات لنبات الفول المعامل بمستخلصات نبات الحنظل *Citrus colocynthis* (Salama & Al Rabiah, 2015)، وخلصت دراسة (Salama et al., 2014) إلى أن المسحوق الخام لنبات البرسيم الحجازي بتركيز 8% المضاف

- في أطباق بتري زجاجية قطرها 15 سم معقمة مبطنه بورقتي ترشيح بمعدل 10 بذور/ طبق لكل نوع، وأضيف لكل طبق 8 مل من المستخلصات المائية، وكررت كل معاملة ثلاث مرات، وحضنت في درجة حرارة 25م°، وتمت متابعة الإنبات من حيث إضافة المستخلص المائي حسب الحاجة لكل طبق مع استعمال الماء المقطر للشاهد (Othman et al., 2018)، وخضعت الأطباق للملاحظة اليومية لمدة 10 أيام، وتم حساب الإنبات بتسجيل عدد البذور النابتة في جميع المعاملات بدءاً من اليوم الثاني، وهو اليوم الذي حدث فيه أول إنبات علمياً بأن معيار الإنبات هو خروج الجذير خارج غلاف البذرة (Ganatsas et al., 2008)، وفي نهاية التجربة المختبرية أخذت النتائج النهائية للصفات التالية.
- نسبة الإنبات % = عدد البذور النابتة / العدد الكلي للبذور 100X (Yousif et al., 2020).
- أطوال الجذير والرويشة: تم أخذ أطوال الجذير والرويشة باستعمال مسطرة مدرجة، وحساب المتوسطات بأخذ 5 بادرات من كل طبق من أغلب المعاملات.
- تجربة الأصص:** عقمت تربة طمية طينية عند درجة حرارة 90م لمدة 48 ساعة ومزجت مع المسحوق الجاف لنبات الرينش البرقاوي (درنات - أوراق) بتركيز (1, 2, 4%) جرام/كيلوجرام ووضعت في أصص بقطر 16 سم، وزرعت 10 بذور/أصص بثلاث مكررات لصنفي الفول محلي، ومسة، واستخدم للشاهد تربة بدون إضافة المسحوق، وفي ظروف المعمل (20 ± 2 درجة حرارة)، (رطوبة نسبية 75 ± 2%)، (14/10 ساعة ضوء / ظلام)، تم ري النباتات كل يومين بماء الصنبور العادي حسب الحاجة، وبعد 21 يوماً من الزراعة، تم اقتلاع الشتلات بعناية في كل معاملة، وغسلت بماء الصنبور لإزالة جزيئات التربة الملتصقة، ثم بالماء المقطر، ونظفت برفق باستخدام ورق الترشيح، ثم أخذت النتائج النهائية للصفات التالية.
- نسبة المئوية لظهور الشتلات % = عدد الشتلات النابتة
- / العدد الكلي للبذور 100X (Huang et al., 2020).
- قياس أطوال المجموع الخضري والجذري (سم): باستعمال مسطرة مدرجة، وحساب المتوسطات بأخذ 5 شتلات عشوائياً من كل مكرر.
- الوزن الطازج، والجاف للشتلات (جم): تم أخذ الأوزان الطازجة لكل الشتلات الظاهرة ثم جففت عند 65 م لتحديد الوزن الجاف.
- تقدير محتوى الكلوروفيل (ملجم / جم): تم تحديد أصباغ الكلوروفيل (أ، ب)، والكاروتينات وفقاً لطريقة (Metzner et al., 1965) باستخدام الأستون 85% وقراءة امتصاص الضوء للراشح بواسطة جهاز الطيف الضوئي spectrophotometr على الأطوال الموجية 452.5 و 644 و 663 نانومتر حسب المعادلات الآتية :
- كلوروفيل أ = 10.3 * (طول موجي 663) - 0.918 * (طول موجي 644).
- كلوروفيل ب = 19.7 * (طول موجي 644) - 3.87 * (طول موجي 663).
- كاروتين = 4.2 * (طول موجي 425.5) - 0.0264 * كلوروفيل أ + 0.426 * كلوروفيل ب.
- تقدير المعادن: طحنت العينات الجافة للشتلات وتم هضمها بإضافة حمض الكبريتيك المركز، وفوق أكسيد الهيدروجين، وتستخدم المحاليل المتحصل عليها في تقدير الأيونات باستخدام جهاز spectrophotometer، Flam photometer وفقاً لطريقة (Humphries, 1956).
- التحليل الإحصائي:** تم تصميم تجارب الدراسة وفقاً للتصميم كامل العشوائية (CRD)، وأجري التحليل الإحصائي باستخدام برنامج (Minitab 17) وجدول تحليل التباين ANOVA، وتم مقارنة المتوسطات باستخدام L.S.D عند P<0.05.

النتائج والمناقشة

النتائج أن جميع المستخلصات (درنات- أوراق) بكافة تراكيزها أدت إلى اختزال واضح، وكبير في أطوال الجذير، والرويشة لنبات الفول لصنفي محلي، ومسة مقارنة مع الشاهد، كما أن أغلب التراكيز لهذه المستخلصات لم تسجل أي ظهور للرويشة باستثناء التركيز 10% لمستخلص الدرنات، والأوراق للصنف المحلي، والتركيز 10% لمستخلص الأوراق لصنف مسة، وجاءت هذه النتائج موافقة للعديد من الدراسات التي بينت أن المركبات الأليوباثية الموجودة في المستخلصات المائية للعديد من النباتات البرية تمتلك سمية عالية خفضت معها النسب المئوية للإنبات، واختزلت من أطوال الجذير، والرويشة لنبات (Abdulraziq & Salih, 2020; Elqahtani et al., 2017; Soliman et al., 2017) والتي يرجع لها الدور السلبي في إعاقة نمو إنبات البذور، والبادرات عن طريق منع تشرب البذور بالماء، وتعطيل عملية التحلل المائي للمواد الغذائية للجنين (Ullah et al., 2015)، من خلال تعطيل عمل هرمون الجبريليك الذي يحفز إنتاج الأميليز (Jazayeri et al., 2007)، وتثبيط تخليق الحامض النووي DNA وانقسام الخلايا (Haroun & Abualghaith, 2015).

أشارت البيانات المسجلة في الجدول (1) إلى أن هناك فروقاً معنوية عالية ما بين المستخلصات المستخدمة، والتراكيز المختبرة ولصنفي نبات الفول، في خفض النسبة المئوية للإنبات واختزال أطوال الجذير، والرويشة بعد 10 أيام من بداية التجربة مقارنة مع الشاهد، حيث أظهر التركيز 10، 20% لمستخلص الدرنات تأثيراً واضحاً في خفض نسبة الإنبات من (100%) للشاهد إلى (70، 50%) على التوالي للصنف المحلي، و(56.6، 33%) على التوالي لصنف مسة، ولوحظ زيادة الفاعلية التثبيطية بزيادة تركيز المستخلص، حيث أعطى التركيز 40% أعلى المعدلات في خفض النسبة المئوية للإنبات بلغت (23.3، 13.3%) لصنفي محلي ومسة على التوالي، كما أظهر التركيز 10، 20% لمستخلص الأوراق فاعلية تثبيطية جيدة في خفض نسبة الإنبات من (100%) للشاهد إلى (80، 73.3%) على التوالي للصنف المحلي، و(66، 60%) على التوالي لصنف مسة، في حين ازدادت الفاعلية التثبيطية للتركيز 40% بنسبة إنبات بلغت (40، 26.6%) لصنفي محلي، ومسة على التوالي، كما بينت

جدول (1): تأثير مستخلصات نبات الرينش البرقاوي على معدلات الإنبات لصنفي الفول.

الصنف	التركيز	النسبة المئوية (%)		طول الجذير (سم)		طول الرويشة (سم)	
		أوراق	درنات	أوراق	درنات	أوراق	درنات
الشاهد		100.0		3.9		3.2	
محلي	10%	80.0	70.0	2.1	0.9	1.5	1.0
	20%	73.3	50.0	1.3	0.6	0.0	0.0
	40%	40.0	23.3	0.5	0.2	0.0	0.0
الشاهد		100.0		3.6		3.4	
مسة	10%	66.0	56.6	1.8	0.7	0.4	0.0
	20%	60.0	33.0	1.0	0.4	0.0	0.0
	40%	26.7	13.3	0.3	0.2	0.0	0.0
		1.44466		0.10307		0.03374	
	L.S.D						

الطازج، والجاف لصنفي نبات الفول، بعد 21 يوم من بداية الزراعة، يلاحظ أن التركيز 1% لمعاملة الدرنات، والأوراق، والتركيز 2% لمعاملة الأوراق لصنفي محلي، ومسة لم يكن لهما أي تأثير معنوي على نسبة ظهور الشتلات، بينما أخذت

كما يتضح من الجدول (2) والشكل (1 و2) نتائج تأثير إضافة مسحوق نبات الرينش البرقاوي الخام (درنات- أوراق) إلى التربة بتركيز (1، 2، 4%) على النسبة المئوية لظهور الشتلات، وأطوال المجموعين الجذري، والخضري، والوزنين

مسحوق أوراق الجوافة إلى التربة أدى إلى انخفاض ظهور الشتلات الفول. كما تشير النتائج إلى انخفاض معدلات أطوال المجموعين الجذري، والخضري، والوزنين الطازج، والجاف لشتلات صنف محلي، ومسة بزيادة التراكيز، واتفقت هذه النتيجة مع ما توصل إليه (Salama & Al Rabiah, 2015) بأن مستخلصات نبات الحنظل أدت إلى انخفاض الأوزان الطازجة، والجافة لنبات الفول.

نسب ظهور الشتلات في الانخفاض للتركيز 2% لمعاملة الدرنات من (100%) للشاهد إلى (80, 60%) لصنفي محلي، ومسة على التوالي، بينما أعطى التركيز 4% أعلى المعدلات في خفض النسبة المئوية لظهور الشتلات بلغت (30, 20%) على التوالي لنفس المعاملة السابقة، كما سجل التركيز 4% لمعاملة الأوراق نسبة بلغت (70, 30%) لصنفي محلي، ومسة على التوالي. واتفقت هذه النتيجة مع (Mostafa & El-Darier, 2018) الذي أشار بأن إضافة

جدول (2): تأثير مستخلصات نبات الرينش البرقاوي على نمو شتلات صنفين من الفول.

الصنف	التركيز	النسبة المئوية % لظهور الشتلات		طول المجموع الجذري (سم)		طول المجموع الخضري (سم)		الوزن الطازج (جم)		الوزن الجاف (جم)	
		أوراق	درنات	أوراق	درنات	أوراق	درنات	أوراق	درنات	أوراق	درنات
الشاهد		100	100	32.0	38.0	98.6	32.7				
محلي	1%	100	100	21	17	28.6	25.6	78.1	26.5	25.6	26.5
	2%	80	100	19	8.5	22.0	20.0	61.0	23.5	20.0	23.5
	4%	30	70	14	3.8	5.3	16.9	47.9	19.0	16.9	19.0
الشاهد		100	100	29.0	34.0	95.8	30.2				
مسة	1%	100	100	18.6	14.3	21.4	17.0	53.8	23.5	17.0	23.5
	2%	60	100	7	12.8	12.6	10.7	46.2	20.8	10.7	20.8
	4%	20	30	3.2	8.7	4.8	7.0	28.3	12.3	7.0	12.3
L.S.D		1.06695	1.60634	2.8429	2.3857	2.5398					



شكل (1): تأثير المسحوق الخام لنبات الرينش البرقاوي على نمو شتلات نبات الفول (صنف مسة).



شكل (2): تأثير المسحوق الخام لنبات الرينش البرقاوي على نمو شتلات نبات الفول (صنف محلي).

لنبات القمح وقد يرجع السبب إلى أن أي مثبط لنمو النبات من شأنه زيادة مستويات الكلوروفيل عن طريق تضخم البلاستيدات الخضراء (El-Ghorab et al., 2006), كما بينت النتائج انخفاضاً ملحوظاً في تركيز كلوروفيل (ب), واختلفت هذه النتيجة مع ما وجدته (Ibrahim et al., 2013) أن التأثير الأليوباثي للمستخلصات الميثانولية لأوراق الذرة المعدلة وراثياً أدت إلى زيادة معنوية في محتوى الكلوروفيل (ب) لنبات القمح.

كما يتضح من الجدول (3) نتائج تأثير إضافة المسحوق الجاف لنبات الرينش البرقاوي (درنات- أوراق) إلى التربة بتركيزات (1, 2, 4%) على محتوى الكلوروفيل (أ), والكاروتينات في أوراق صنف نبات الفول, حيث أظهرت النتائج تراكم تركيز الكلوروفيل (أ, ب), والكاروتينات في محتوى أوراق نبات الفول لصنف محلي, ومسة مقارنة بالشاهد لأغلب التراكيز المستخدمة, واتفقت هذه النتيجة مع ما أكدته (Shinde & Salve, 2019) أن الإجهاد الأليوباثي للأعشاب الضارة سبب زيادة في المحتوى الكلي للكلوروفيل

جدول (3). تأثير مستخلصات نبات الرينش البرقاوي على محتوى الأصباغ لصفين من الفول.

الكاروتينات ملجم/جم	كلوروفيل (ب) ملجم/جم		كلوروفيل (أ) ملجم/جم		التركيز	الصنف
	درنات	أوراق	درنات	أوراق		
2.0	11.4	14.2	14.2	14.2	الشاهد	
3.2	11.0	14.0	11.0	14.0	%1	محلي
3.6	10.9	11.3	10.9	11.3	%2	
3.7	5.6	16.1	5.6	16.1	%4	
2.0	11.1	13.0	13.0	13.0	الشاهد	
2.4	11.5	16.4	11.5	16.4	%1	مسة
3.6	8.8	17.6	8.8	17.6	%2	
3.9	3.2	18.5	3.2	18.5	%4	
0.2532	0.4333	0.2576	0.2576	0.2576	L.S.D	

لتركيز 4% لمعاملة الدرنات، وانفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه (El-Darier, 2002; Salama et al., 2014) أن التأثير الأليوباثي المطبق على نمو نبات الفول أدى إلى زيادة الأيونات، وانفقت مع (Al-Hawas & Azooz, 2018) الذين أشاروا بأن التراكيز العالية من المواد الأليوباثية تعمل على زيادة، وتراكم مستوى البوتاسيوم، وانخفاض مستوى الصوديوم.

كما يتضح من الجدول (4) نتائج تأثير إضافة المسحوق الجاف لنبات الرينش البرقاوي (درنات- أوراق) إلى التربة بتركيز (1, 2, 4%) على مستويات الأيونات لصنفي نبات الفول، حيث بينت النتائج أن معظم التراكيز المستخدمة تسببت في زيادة أيونات البوتاسيوم، والحديد، والنحاس، والنيكل، كما أدت إلى انخفاض تركيز أيون الصوديوم لصنفي محلي، ومسة مقارنة بالشاهد، كما لوحظ أن أعلى المعدلات التراكمية كانت

جدول (4). تأثير مستخلصات نبات الرينش البرقاوي على تركيز الأيونات لصنفيين من الفول.

الصف	التركيز	الصوديوم ملجم/جم		البوتاسيوم ملجم/جم		الحديد ملجم/جم		النحاس ملجم/جم		النيكل ملجم/جم	
		درنات	أوراق	درنات	أوراق	درنات	أوراق	درنات	أوراق	درنات	أوراق
الشاهد		0.4		109		1.0		2.2		0.6	
	10%	0.4	0.3	170	27	2.1	1.3	2.4	2.4	0.6	0.6
محلي	20%	0.2	0.3	220	120	3.5	1.7	2.6	2.4	0.6	0.7
	40%	0.2	0.3	251	200	3.9	1.7	2.6	2.6	0.8	0.7
الشاهد		0.4		100		1.1		2.5		0.6	
	10%	0.3	0.3	180	75	1.3	1.2	2.2	2.6	0.7	0.6
مسة	20%	0.3	0.3	200	110	3.3	2.5	3.2	2.2	0.7	0.6
	40%	0.2	0.3	219	170	4.1	2.8	3.4	3.2	0.9	0.8
	L.S.D	0.2007		14.446		0.3194		0.2825		0.2094	

الرينش البرقاوي إلى احتوائه على جليكوسيدات السيانوجينيك Cyanogenic glycosides في جميع أجزاء النبات، وكذلك يحوي مركبات Sterols, Alkaloids, Calcium, Caffeic, Terpenes, p-coumaric acid, oxalate, Flavoniod, acid (Abdelshafeek et al., 2018; Ramadan et al., 2012)، ويلاحظ أن أكبر نسب تثبيطية كانت للدرنات، وكانت التراكيز العالية هي الأكثر فاعلية تثبيطية للصنفيين، وأن صنف مسة هو الأكثر حساسية للإجهاد الأليوباثي من الصنف المحلي، ويعود السبب للاختلافات الوراثية بين الصنفيين (Siyar et al., 2019).

الخلاصة

نستنتج من هذه الدراسة أن نبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* يمتلك تأثيرات تثبيطية واضحة ضد نمو نبات الفول لصنفي محليين ومسة، وأن الدرنات هي الأكثر سمية من

تمتلك النباتات البرية مركبات أليوباثية تمكنها من منافسة الأنواع الأخرى وتحدد بها طبيعة النباتات المكونة للغطاء النباتي لتلك المنطقة مما قد يسبب في انخفاض إنتاج الكثير من المحاصيل الزراعية (Oyun, 2006)، لذلك تم إجراء هذه الدراسة التي أظهرت أن نبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* يمتلك نشاطاً أليوباثياً تثبيطياً ضد نمو صنفي نبات الفول، ويلاحظ عند مقارنة الفاعلية التثبيطية لدرنات، وأوراق نبات الرينش البرقاوي، وجود فروق معنوية عالية في خفض النسبة المئوية للإنبات، واختزال أطوال الجذير، والرويشة، والنسبة المئوية لظهور الشتلات، واختزال أطوال المجموعين الجذري، والخضري، والوزنين الطازج، والجاف للشتلات، وزيادة تراكيز الكلوروفيل (أ)، والكاروتينات وانخفاض تركيز الكلوروفيل (ب) في الأوراق، وتراكم أيونات البوتاسيوم، والحديد، والنحاس، والنيكل، وانخفاض تركيز أيون الصوديوم لصنفي محلي، ومسة مقارنة مع الشاهد، ترجع سمية نبات

- الأوراق، وأن صنف محلي هو الأكثر مقاومة، لذا توصي هذه الدراسة باستبعاد نبات الرينش البرقاوي، والحد من انتشاره بالقرب من الأراضي الزراعية لما له من تأثيرات تثبيطية واضحة تقلل من إنتاجية محصول الفول.
- المراجع**
- El-Ammari, A. (2017). Plant Fungal Diseases of Faba bean in Benghazi [Version 1; awaiting peer review]. *ContROL*, 1, 15 .
- El-Darier, S. (2002). Allelopathic effects of Eucalyptus rostrata on growth. Nutrient uptake and metabolite accumulation of Vicia faha L. and Zea mays L. *Pak J Biol Sci*, 5(1), 6-11 .
- El-Ghorab, A., Mahgoub, M., & Bekheta, M. (2006). Effect of some bioregulators on the chemical composition of essential oil and its antioxidant activity of Egyptian carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Journal of essential oil bearing plants*, 9(3), 214-222 .
- Elqahtani, M., El-Zohri, M., Galal, H., & El-Enany, A. (2017). GC-MS analysis of crude extracts from *Heliotropium bacciferum* L. and their allelopathic effects on *Zea mays* L. and *Vicia faba* L. *Allelopathy Journal*, 41(1), 51-64 .
- Ganatsas, P., Tsakaldimi, M., & Thanos, C. (2008). Seed and cone diversity and seed germination of *Pinus pinea* in Strofylia Site of the Natura 2000 Network. *Biodiversity and Conservation* .2439-2427 ,(10)17 ,
- Haroun, S. A., & Abualghaith, A. S. (2015). Evaluation of the Allelopathic Effect of Aqueous Extract of *Zygophyllum simplex* L. on *Vicia faba* L. Plants. *Cytologia*, 80(3), 363-371 .
- Huang, S., Jia, Y., Liu, P., Dong, H., & Tang, X. (2020). Effect of ultrasonic seed treatment on rice seedlings under waterlogging stress. *Chilean journal of agricultural research*, 80(4), 561-571 .
- Humphries, E. (1956). Mineral components and ash analysis. In *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse/Modern Methods*
- Abdelshafeek, K., Abdelkareem, M., & Saad, F. A. (2018). GC/MS Analysis of the Volatile Constituents from *Arum Cyreniacum* Flowers. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 13(4), em37 .
- Abdulraziq, A. A., & Salih, S. M. (2020). Morphological Characterization of *Arum cyrenaicum* Hruby Plant in Al-Jabal Al-Akhdar Region-Libya. *Al-Mukhtar Journal of Sciences*, 35(3), 246-254 .
- Al-Hawas, G. H. S., & Azooz, M. M. (2018). Allelopathic potentials of *Artemisia monosperma* and *Thymus vulgaris* on growth and physio-biochemical characteristics of pea seedlings. *Pakistan journal of biological sciences: PJBs*, 21(4), 187-198 .
- Dafaallah, A. B., Mustafa, W. N., & Hussein, Y. H. (2019). Allelopathic effects of jimsonweed (*Datura Stramonium* L.) seed on seed germination and seedling growth of some leguminous crops. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, 3(2), 321-331 .
- Ebid, A. I. (2016). Allelopathic Effect of Three Wild Species on Seed Germination and Seedling Growth of *Vicia faba*, *Hordeum vulgare* and *Triticum aestivum*. *Journal of Agriculture and Ecology Research International Communications in Heat and Mass Transfer*, 6 (1), 1-7.

- Metabolic Aspects of *Vicia faba* L. *Catrina: The International Journal of Environmental Sciences*, 17(1), 103-111 .
- Neme, K., Bultosa, G., & Bussa, N. (2015). Nutrient and functional properties of composite flours processed from pregelatinised barley, sprouted faba bean and carrot flours. *International journal of food science & technology*, 50(11), 2375-2382 .
- Othman, B., Haddad, D., & Tabbache, S. (2018). Allelopathic Effects of *Sorghum Halepense* (L.) Pers. and *Avena Sterilis* L. Water Extracts on Early Seedling Growth of *Portulacca Oleracea* L. and *Medicago Sativa* L. *International Journal of Medical Science*, 5(10), 7-12 .
- Oyun, M. (2006). Allelopathic potentialities of *Gliricidia sepium* and *Acacia auriculiformis* on the germination and seedling vigour of maize (*Zea mays* L.). *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 1(3), 44-47 .
- Ramadan, B., Zwawi, L., Almaghour, A., Saad, H., Alfalah, M., & Amer, A. B. (2012). L. and Auzi, A.(2012). Toxicity and antioxidant of *Arum cyrenaicum* hurby. *Egypt J. Forensic Sci. Appl. Toxicol*, 12(2), 1-17 .
- Salama, H. M., & Al Rabiah, H. K. (2015). Physiological effects of allelopathic activity of *Citrullus colocynthis* on *Vicia faba* and *Hordeum vulgare*. *European Journal of Biological Research*, 5(2), 25-35 .
- Salama, M., Abdelaziz, H. A., & El-Dien, M. H. Z. (2014). Effect of soil type on the allelotoxic activity of *Medicago sativa* L. residues in *Vicia faba* L. agroecosystems. *Journal of Taibah University for Science*, 8(2), 84-89 .
- of *Plant Analysis* (pp. 468-502). Springer .
- Ibrahim, M., Ahmad, N., Shinwari, Z. K., Bano, A., & Ullah, F. (2013). Allelopathic assessment of genetically modified and non-modified maize (*Zea mays* L.) on physiology of wheat (*Triticum aestivum* L. (.*Pak. J. Bot*, 45(1), 235-240 .
- Jazayeri, O., Aghajanzadeh, T., & Gildeh, B. S. (2007). Study of growth factors, alpha-amylase and peroxidase activity in various cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) under vanillic acid stress. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(10), 1673-1678 .
- Jensen, E. S., Peoples, M. B., & Hauggaard-Nielsen, H. (2010). Faba bean in cropping systems. *Field crops research*, 115(3), 203-216 .
- Longobardi, F., Sacco, D., Casiello, G., Ventrella, A., & Sacco, A. (2015). Chemical Profile of the Carpino Broad Bean by Conventional and Innovative Physicochemical Analyses. *Journal of Food Quality*, 38(4), 273-284 .
- Masoud, M., & Abugarsa, M. A. O. S. A. (2018). Allelopathic effects of aqueous extract from *Satureja thymbra* l. on seed germination and seedling growth of *Pinus halepensis* Mill. And *Ceratonia siliqua* L. *Libyan Journal of Science & Technology*, 7(1), 17-20 .
- Metzner, H., Rau, H., & Senger, H. (1965). Untersuchungen zur Synchronisierbarkeit einzelner pigmentmangel-mutanten von *Chlorella*. *Planta*, 65(2), 186-194 .
- Mostafa, M., & El-Darier, S. M. (2018). Allelopathic Indications of Non-polluted and Polluted *Psidium guajava* L. Leaves on some Physiological and

- Salih, S. M., & Abdulrazziq, A. A. (2020). Comparison of allelopathic effect of aqueous extracts of *Datura stramonium* parts on germination of seeds of some plants. *Libyan Journal of Plant Protection*(10), 1-10 .
- Shinde, M. A., & Salve, J. T. (2019). Allelopathic effects of weeds on *Triticum aestivum*. *Int. J. Eng. Sci*, 9, 19873-19876 .
- Siyar, S., Majeed, A., Muhammad, Z., Ali, H., & Inayat, N. (2019). Allelopathic effect of aqueous extracts of three weed species on the growth and leaf chlorophyll content of bread wheat. *Acta Ecologica Sinica*, 39(1), 63-68 .
- Soliman, M. H., Ahlam, H. H., Hamdah, A.-G., & Shroug, S. (2017). Allelopathic effect of *Moringa oleifera* leaves extract on seed germination and early seedling growth of faba bean (*Vicia faba* L.). *Int. J. Agric. Technol*, 13, 105-117 .
- Ullah, N., Haq, I. U., Safdar, N., & Mirza, B. (2015). Physiological and biochemical mechanisms of allelopathy mediated by the allelochemical extracts of *Phytolacca latbenia* (Moq.) H. Walter. *Toxicology and industrial health*, 31(10), 931-937 .
- Yousif, M. A. I., Wang, Y. R., & Dali, C. (2020). Seed dormancy overcoming and seed coat structure change in *Leucaena leucocephala* and *Acacia nilotica*. *Forest Science and Technology*, 16(1), 18-25 .

Allelopathic Effects of *Arum cyreniacum* on Germination and Growth of Two Varieties of *Vicia faba*

Sami mohammed salih*¹, Ahlam K. Alaila², Ahmed amrajaab abdulraziq¹, Jibreel Aldaekh asbeeh³

¹Department of Biology, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

²Department of plant, Faculty of science, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

³Department of chemistry, Faculty of science, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya

Received: 03 October 2021 / Accepted: 31 January 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.522>

Abstract: Two experiments were conducted (laboratory - pots) at the lab of Botany Department/ Faculty of Science/ Omar Al-Mukhtar University/ Al Bayda/ Libya, with the aim of determining the allelopathic effects of aqueous extracts at concentrations of (10, 20, and 40%) and the crude powder added to the soil at concentrations of (1, 2, and 4%) of *Arum cyreniacum* (Tubers - Leaves) on the germination of seeds and the development of seedlings of two *Vicia faba* cultivars (local - Massa), with three replications according to a completely randomized design. The results of the laboratory experiment showed significant differences in the reduction of germination percentage, reduction of radicle and plumule lengths between the aqueous extracts, and concentrations of *Vicia faba* cultivars (local - Massa), compared with control. The results of a pot experiment also showed that the high concentrations significantly reduced the emergence percentage of seedlings, while all concentrations led to a clear and large reduction in root and shoot system lengths and a decrease in fresh and dry weights of seedlings of (local - Massa) cultivars. Most of the concentrations used caused an accumulation of chlorophyll (a) and carotenoids, and decreased the concentration of chlorophyll (b), it also led to an accumulation of potassium, iron, copper, and nickel, while they led to a decrease in the sodium concentration of two cultivars compared to the control, The tubers had the highest inhibition rates compared to the leaves, and the high concentrations of extracts and crude powder were the most toxic in inhibiting the growth of the studied traits of the two cultivars, Massa cultivar was more sensitive than the local cultivar.

Keywords: *Arum cyreniacum*, Allelopathy, Aqueous Extracts, Crude Powder, *Vicia faba*.

*Corresponding Author: Sami mohammed salih sami.mohammed@omu.edu.ly, Department of Biology, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya



عزل واختبار كفاءة كل من بكتيريا *Azotobacter* و *Burkholderia* في تثبيت النتروجين الجوي المعزولتين محلياً من التربة الليبية في تثبيت النتروجين الجوي

ميرفت الطاهر بن محمود* وإيمان على الفرغاني

قسم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس، ليبيا

تاريخ الاستلام: 01 نوفمبر 2021 / تاريخ القبول: 23 يناير 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjssc.v37i1.381>

المستخلص: أجريت هذه التجربة في معمل الأحياء الدقيقة، قسم التربة، كلية الزراعة، جامعة طرابلس لغرض اختبار كفاءة بكتيريا *Azotobacter* و *Burkholderia* المعزولة محلياً من التربة الليبية في تثبيت النتروجين الجوي، وتضمنت التجربة عزل، واختبار بكتيريا *Azotobacter* و *Burkholderia* من تربة منطقة جذور نباتات مختلفة جلبت من مدينة طرابلس وضواحيها إذ تم الحصول على 10 عزلات نتيجة لعمل تخافيف لهذه التربة، ودرست الصفات الكيموحيوية، والمورفولوجية، والمجهريّة لهما، بينت النتائج أن جميع العزلات تعود للنوعين من *Azotobacter* و *Burkholderia* وأن أعداد بكتيريا *Azotobacter* توجد بوفرة في منطقة جذور (منطقة رايزوسفير) بعض النباتات المستخدمة في البحث، وقد تراوحت أعدادها ما بين ($10^3 \times 1.95$ - $10^{10} \times 6.1$) جم/ لتر، أما بكتيريا *Burkholderia* فقد تراوحت أعدادها ما بين ($10^3 \times 1.5$ - $10^8 \times 9.4$) جم/ لتر، وتبين أيضاً أن هناك فروقا معنوية بين بكتيريا *Azotobacter* و *Burkholderia* المثبتة ما بين (5.38 - 15.50) ملجم/ لتر، وبهذا يمكن استخدام الجنس في برامج التسميد الحيوي في التربة الليبية.

الكلمات المفتاحية: عزل، بكتيريا *Azotobacter* و *Burkholderia*، منطقة الرايزوسفير، النتروجين الجوي المثبت.

المقدمة

الزراعية (Osip et al., 2000)، استخدمت عدة أنواع من لقاحات تحتوي على أنواع من البكتيريا المثبتة للنتروجين كبكتيريا *Azotobacter* وغيرها (الزعيبي وآخرون، 2007) تستخدم لقاحات بكتيريا *Burkholderia* لزيادة معدل تثبيت النتروجين الجوي مع المحاصيل (بن محمود، 2016)، ولها أيضاً القدرة على إفراز مواد منظمة، ومنشطة تساعد على إنبات البذور، ونمو الجذور، من منظمات النمو ومنشطاته التي لها القدرة على إفرازها حمض الجبرليك، والسايونيكينات، واللوكسينات، ومنها IAA كما أنها تفرز كثيرا من المضادات الفطرية لحماية النباتات من مسببات المرضية، وهي شبيهة في عملها ببكتيريا *Azotobacter* (الحداد، 1998). إن

في السنوات الأخيرة بدأ العالم يتجه إلى استعمال الأسمدة الحيوية لتخفيف مشاكل تلوث البيئة التي تسببها الأسمدة الكيميائية بكثرة، ومساهمة منها في زيادة خصوبة التربة حيوياً بحيث تؤدي الأسمدة الحيوية دوراً مهماً في تثبيت النتروجين الجوي تكافلياً، ولا تكافلياً من خلال اللقاحات البكتيرية على حسب نوع المحاصيل، وكذلك تعمل على زيادة كفاءة امتصاص النتروجين، وبعض العناصر الأخرى من التربة، كما أنها تساهم في رفع القدرة الإنتاجية للتربة، وللمحاصيل

* ميرفت الطاهر بن محمود، dr.mbenmahmoud@yahoo.com قسم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس، ليبيا

جدول (1). يبين المناطق وأنواع النباتات التي أخذت منها العينات.

ت	المنطقة	نوع النبات
1	عين زارة	طماطم
2	تاجوراء	فلفل
3	وادي الربيع	باننجان
4	طريق المطار	قمح
5	ترهونة	زيتون
6	الزاوية	شعير
7	قصر بن غشير	قمح
8	صبراتة	ذرة
9	جنزور	مولح (برتقال)

عزل البكتيريا *Burkholderia* و *Azotobacter* من الترب الليبية: عزلت كل من بكتيريا *Burkholderia*، وبكتيريا *Azotobacter* من عينات الترب المجمعة، بحيث تم خلط 10 غرام تربة في 1 لتر من الماء المقطر المعقم لكل عينة على حدة، ومزجت جيداً، ثم أجريت تخافيف متسلسلة لحد 10^{-6} ، ثم نقل 1 مليلتر من معلق التربة لكل عينة إلى أنابيب اختبار تحتوي 9 مليلتر من المحلول الغذائي الخالي من النتروجين Burk's media كونه وسطاً ملائماً لنمو بكتيريا *Burkholderia* (بن محمود، 2016)، وأنابيب أخرى بالمحلول المغذي الخالي أيضاً من النتروجين sucrose (Jensen's media - mineral salts) كونه وسطاً ملائماً لنمو بكتيريا *Azotobacter* (Sharma, 2003) و تم أخذت 1 مليلتر من تخافيف التربة، ولقحت الأنابيب الحاوية على المحاليل المغذية الخاصة بكل بكتيريا Burk's media، و *Jensen's media* بثلاثة مكررات لكل تخفيف، وعدلت درجة حموضة المحاليل pH عند 7.0 ورجت بواسطة الرجاج لمدة ساعة ثم حضنت الأنابيب ثلاثة أيام على درجة حرارة 30° درجة مئوية لاستخدامها في عد الخلايا البكتيرية. خلال الثلاثة أيام الحضنة تمت مراقبة نمو الخلايا في الأنابيب بملاحظة الغشاء اللبني المتكون على السطح، والذي يعد مؤشراً لنمو الخلايا البكتيرية، وعدت خلايا بكتيريا *Burkholderia*، و *Azotobacter* بطريقة احتمال العدد الأعظم MPN (Becking, 1992).

استعمال بكتيريا *Azotobacter*، و *Burkholderia* سماداً حيوياً يساهم في زيادة خصوبة التربة الزراعية حيوياً، والتقليل من استخدام الأسمدة الكيميائية، وبالتالي تقليل مشاكل التلوث البيئي. الاستنزاف الدائم لعنصر النيتروجين في التربة، وخاصة في الترب الخفيفة المنتشرة في ليبيا أدى إلى الاهتمام المتزايد بالطرائق المختلفة التي تؤدي إلى الحفاظ على المصادر المحدودة من هذا العنصر، والبحث عن وسائل آمنة، وغير مكلفة في استعمال التوازن النيتروجيني في التربة، لذلك اتجه العالم إلى استعمال طرائق بديلة عن الأسمدة الكيميائية، واستخدام الطرائق الحيوية لتثبيت النيتروجين الجوي، لتحسين محتوى التربة من عنصر النيتروجين، وكبديل آمن، وأوفر اقتصادياً، وصحياً (Osip et al., 2000)، أثبتت الدراسات الحديثة إمكانية تحسين التثبيت الحيوي للنيتروجين، وزيادة معدله باستخدام الأسمدة الحيوية Biofertilizers (Ben Mahmud, 2008) وأصبح من الضروري إعادة تقييم الأهمية لهذا النوع من النشاط الحيوي، لذلك يهدف هذا البحث لدراسة خواص البكتيريا المثبتة للنيتروجين المتعايشة في الترب الليبية، وصفاتها، وتقييم قدرتها في تثبيت النيتروجين الجوي قبل البدء في دراسة هذه البكتيريا كسماد حيوي في برامج التسميد الحيوي.

المواد وطرق البحث

جمع عينات التربة: جمعت عينات التربة بطريقة عشوائية من عدة مناطق من مدينة طرابلس، و ضواحيها على عمق 0-40 سم من مناطق مختلفة من منطقة جذور (الرايزوسفير) بعض النباتات، والأشجار المزروعة بها، ونقلت العينات في أكياس بلاستيكية للمعمل لإجراء بعض التحاليل، والاختبارات الكيميائية والفيزيائية لعينات التربة لمعرفة درجة تفاعلها pH، ودرجة ملوحتها EC ملليموز/سم، ونسبة كل من المادة العضوية، والنيتروجين الكلي، والفسفور، والبوتاسيوم المتيسرين، وأكياس أخرى معقمة بكحول الأيثلي لمعمل الأحياء الدقيقة/ التربة بكلية الزراعة جامعة طرابلس ووضعت في الثلاجة لحين إجراء الاختبارات اللاحقة عليها.

بخواص تركيب جدارها الخلوي لمعرفة الخلايا النامية سالبة أو موجبة لصبغة جرام (Black, 1965).

اختبار حركة البكتيريا: تم اختبار حركة الخلايا النامية أيضا في العينات كلها باستخدام بيئة شبه صلبة (semi-solid) من Nutrient broth في أنابيب كارجي Craigie tube لتسهل حركة الخلايا فيها إذا كانت من النوع المتحركة (Harvey & Price, 1967).

اختبار نمو بكتيريا *Burkholderia* و *Azotobacter* في درجة حرارة 37° و 4° م: درجة الحرارة تعد من العوامل البيئية المهمة جدا في تصنيف البكتيريا وتقسيمها، ونموها وذلك من حيث تأثيرها على النشاط الأنزيمي، والأبيض في الخلايا البكتيرية، وعلى قدرة الخلية للحصول على الماء، وهو ضروري لامتصاص العناصر، والتخلص من الفضلات، وكذلك تؤثر على معدل بناء الإنزيمات والبروتينات وتحطيمها، وبذلك تم إجراء دراسة لهذه الخاصية للخلايا، بحقن أطباق تحتوي على Burk's medium بالخلايا البكتيرية للبكتيريا *Burkholderia* و (sucrose mineral salts) للبكتيريا *Azotobacter* وحضنت تحت درجة حرارة 37° و 4° م لمدة 3 أيام، ويُعد ظهور المستعمرات في الوسط قدرتها وتلائمها لدرجة الحرارة المبينة (Thompson & Skerman, 1979).

اختبار النمو في 1 % كلوريد الصوديوم: نميت العزلات البكتيرية في Burk's medium للبكتيريا *Burkholderia* و sucrose mineral salts للبكتيريا *Azotobacter* والسائل، والصلب بعد إضافة 1 % من كلوريد الصوديوم، والتحصين لمدة 3-4 أيام عند درجة حرارة 30° م، ويُعد الاختبار موجبا عند ظهور العكازة على الوسط السائل، وظهور المستعمرات في الوسط الصلب، وحسب (Tchan, 1984).

اختبار تحلل النشا Starch hydrolysis test: أضيفت النشا الذائبة إلى الوسط الصلب الخالي من النتروجين بتركيز 2 % تمت إضافة قطرات من محلول Gram s' Iodin

تم أخذ جزء من الغشاء من سطح الأنابيب بواسطة إبرة التلقيح Loop، وخطت أطباق بتري المحتوية على البيئة الغذائية نفسها لكل بكتيريا مضاف إليها 7.5 جم الأجار المغذي لنمو بكتيريا *Burkholderia*، وبكتيريا *Azotobacter*، وحضنت الأطباق لمدة 3-4 أيام عند 30 درجة مئوية، وبعد ظهور المستعمرات أعيد تخطيط أطباق بتري ثلاث مرات متتالية لغرض الحصول على عزلات نقية لكل من بكتيريا *Burkholderia* و *Azotobacter* لدراسة الصفات المورفولوجية، والمجهريّة للمستعمرات البكتيرية النقية المتحصل عليها، وتصنيفها. ثم حفظت العزلات على الأجار المائل للوسطين الغذائيين الخاص لكل بكتيريا في الثلاجة عند 80 تحت الصفر درجة مئوية.

اختبارا الخلايا البكتيرية المتحصل عليها: تم إجراء عدة اختبارات للصفات المزعية (المورفولوجية)، والمجهريّة، والكيموحيوية للأطباق الحاوية على الغشاء البكتيري النامي في كل طبق بتري، والذي يمثل كل طبق عينة من عينات التربة، يحتوي على المستعمرات النقية، وحيث إن مظهر المستعمرة يعد دليلا قيما للتعرف على نوع المستعمرات النامية، وأنواع البكتيريا النامية، وبعد ذلك تم فحص الخلايا النامية في كل طبق تحت المجهر باستخدام العدسة الزيتية (x100)، والتأكد من نقاوتها، وسجلت الصفات المزعية (المورفولوجية) للمستعمرات النامية، والتي تضمنت شكلها، وحجمها، وقوامها، ولونها، ومقدرتها على إفراز مواد لزجة، وصبغات بعد أسبوعين من النمو (Jiménez et al., 2011) تم وصف الغشاء البكتيري النامي، والنقي من كل الأطباق بتري حسب (Bergey, 2004).

تصبيغ جرام للخلايا البكتيرية: أجري تصبيغ جرام على الخلايا النامية في كل طبق بتري، والذي يمثل كل طبق عينة من عينات التربة، ويحتوي على المستعمرات النقية لكل من بكتيريا *Burkholderia* و *Azotobacter*، حديثة العمر (عمرها 18-24 ساعة)، والتي مازالت خلاياها تحتفظ

بعض من السكريات الأحادية، والثنائية Mannitol, Citrate, Fructose, Glucose, Maltose Sucrose إذ أضيف كل سكر لوحده بصورة منفصلة بنسبة 1% وزناً أي إجم إلى 100 مليلتر من بيئة السائلة الخاصة لكل بكتيريا المراد اختبارها، وذلك بعد تعقيمها ثم حضنت في درجة 30° م، ولمدة 3 أيام، وأن نمو الخلايا البكتيرية على شكل عكارة دلالة على استهلاك الخلايا للمصدر الكربوني (Shankarapp & Madhav Rao, 1998).

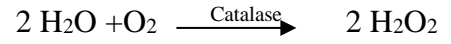
اختبار تحلل الجيلاتين Gelatine hydrolysis: اختبار تحلل الجيلاتين استعمل الوسط الصلب الخالي من النتروجين salts mineral sucrose الذي يحتوي على 12 % جيلاتين للكشف عن إنزيم gelatinize، ولُفحت الأطباق بالخلايا البكتيرية، وحضنت في درجة 30° م، ولمدة 3 أيام، وإن النتيجة موجبة للاختبار تحلل الجيلاتين هو عدم تصلب الوسط الموجود بالأطباق (جميل وآخرون, 1993).

اختبار اختزال النترات Nitrate reduction: اختبار اختزال النترات أضيف إجم من KNO₃ إلى لتر واحد من وسط السكرز السائل الخالي من النتروجين الملقح بالخلايا البكتيرية المراد اختبارها (بواسطة إبرة التلقيح Loop)، ويضاف محلول كشاف اختزال النترات، وهي عبارة عن 1ملي من sulfarilic acid لكل أنبوب من الأنابيب الملقحة، ثم إضافة 1 ملي من محلول (dimethyl 1-naphthylamine)، وظهور اللون الأحمر يُعد مؤشراً على اختزال النترات إلى نترات (Freeman, 1981).

اختبار إنزيم الأكسيداز: اختبار الأكسيداز تم به قياس قدرة الخلايا على أكسدة الأمينات العطرية حيث ترتبط هذه الأكسدة مع النشاط العالي لأنزيم السيتوكروم إكسيداز في بعض البكتيريا، ولوجود نتيجة إيجابية لاختبار الأكسيداز أهمية كبيرة في تعريف هذه الأجناس. أُجري هذا الاختبار باستخدام إبرة تلقيح معقمة لنقل جزء من نمو المستعمرات النامية لكل العينات على حدة، ودعكها على شريط خاص باختبار

solution إلى المستعمرات البكتيرية النامية على أطباق إجار النشا (Starch agar culture) بعد 3 أيام من التحضين في درجة حرارة 30° م، لاختبار قدرة الخلايا على تحلل النشا، ويُعد الفحص موجبا عند ظهور الهالات الرائقة حول المستعمرة (Ben Mahmud, 2008).

اختبار إنزيم الكاتاليز Catalase activity: أُجري اختبار نشاط، أو تفاعل إنزيم الكاتاليز Catalase activity للخلايا البكتيرية النامية لمعرفة ما إذا كانت الخلايا هوائية أو لاهوائية التنفس حيث يحتوي إنزيم الكاتاليز على مركب الهيمو بروفيرين Hemmeporphyrin الذي يعد ميزة أيضاً للسيتوكروم، وهي تعد من حوامل الإلكترونات في السلسلة التنفسية الموجودة في الكائنات الحية الهوائية، وذلك بإضافة بضع قطرات من 3% H₂O₂ في كل عينة، ويلاحظ بدقة ظهور فقاعات أكسجين، وتكون رغوة على السطح كما في هذه المعادلة (Freeman, 1981):



وكذلك تم تحديد موضع منطقة نمو الخلايا في الأنبوب كمقياس لاحتياجاتها الأكسجينية، وذلك بصهر أنابيب تحتوي على بيئة من مستخلص الخميرة، والتربتون، واحتفظت درجة حرارته 100° درجة مئوية لمدة 15 دقيقة لطرد الأكسجين المذاب ثم بردت الأنابيب حتى درجة 40°-42° م، وبعد ذلك لُفحت الأنابيب كل منها تلقياً كثيفاً بإبرة التلقيح للخلايا البكتيرية المراد فحصها مع الحرص على عدم رج الأنابيب بطريقة تؤدي إلى دخول فقاعات هوائية داخل الأجار (الأنبوب)، وحضنت في درجة حرارة 30° م لمدة 72 ساعة ثم ملاحظة نمو الخلايا في الأنابيب ما إذا كانت سطحية (هوائي)، أو في عمق الأنبوب (لاهوائي)، أو نمو على طول الأنبوب (اختياري النمو).

اختبار استهلاك المصادر الكربونية المختلفة: تم اختبار مقدرة الخلايا البكتيرية على قدرة الخلايا على استخدام المواد الكربوهيدراتية، واستهلاك مصادر الكربونية، والمتمثلة في

لجميع العينات تتراوح من 0.15 - 0.21 %، ونسبة كل من النيتروجين الكلي بين 6.12 - 7.56 mg/kg، ونسبة كل من الفوسفور المتيسر 11.5 - 13.2 mg/kg، والبوتاسيوم 0.10 - 0.15 meq/L، ودرجة تفاعل التربة لجميع العينات تتراوح ما بين 7.6 - 8.2، ونسبة الملوحة أقل من 0.2 ds/m. وفي جدول (1) تبين أن أعداد كل من بكتيريا *Burkholderia*، والبكتيريا *Azotobacter* / جم تربة جافة في منطقة الجذور (ريزوسفير) النباتات المختلفة في ترب المناطق المختلفة الموضحة في جدول (2)، ويلاحظ أن هناك اختلافاً في أعداد البكتيريا باختلاف مناطق أخذ العينات، وقد تراوحت أعداد بكتيريا *Burkholderia*، ما بين $10^8 \times 9.4$ - $10^3 \times 1.5$ /جم تربة أعداد بكتيريا *Azotobacter* ما بين $10^3 \times 195$ - $10^{10} \times 6.1$ /جم تربة، ويرجع ذلك إلى اختلاف الظروف البيئية، والمناخية، ونوع التربة، ونوع النباتات المزروعة، والمادة العضوية في التربة (Rana & Ramesh, 2013).

جدول (2). أعداد بكتيريا *Burkholderia* و *Azotobacter* في المناطق المختلفة /جم تربة جافة

المنطقة	نوع النبات	أعداد بكتيريا <i>Burkholderia</i>	أعداد بكتيريا <i>Azotobacter</i>
عين زارة	طماطم	$10^7 \times 3.5$	$10^8 \times 1.4$
تاجوراء	فلفل	$10^3 \times 7.8$	$10^4 \times 0.3$
وادي الربيع	باننجان	$10^8 \times 9.4$	$10^4 \times 8.6$
طريق المطار	قمح	$10^8 \times 5.5$	$10^5 \times 6.5$
ترهونة	زيتون	$10^6 \times 4.2$	$10^{10} \times 6.1$
الزاوية	شعير	$10^4 \times 3.4$	$10^5 \times 3.6$
قصر بن غشير	قمح	$10^5 \times 1.2$	$10^5 \times 2.95$
صبراتة	ذرة	$10^3 \times 1.5$	$10^5 \times 1.2$
جنزور	مولح	$10^5 \times 1.0$	$10^7 \times 1.95$

نتائج اختبارات دراسة الصفات المجهرية، والكيموجيوية للخلايا البكتيرية المعزولة: تم عزل 10 عزلات بكتيرية (Brenner et al., 2005) من ترب مناطق مختلفة من مدينة طرابلس، وضواحيها من منطقة جذور نباتات مختلفة كما هو موضح في جدول (1). من خلال دراسة الصفات المزرعية (المورفولوجية)،

الأكسيديز، وبعد حوالي 30 ثانية لوحظ تغيير في لون المنطقة التي أضيفت إليها المستعمرات على الشريط، وظهور اللون الأزرق يعد دليلاً على أن النتيجة إيجابية (Freeman, 1981).

اختبار كفاءة الخلايا البكتيرية للبكتيريا *Burkholderia* و *Azotobacter* على تثبيت النتروجين الجوي: اختبار كفاءة الخلايا البكتيرية لكل من بكتيريا *Burkholderia*، وبكتيريا *Azotobacter*، على تثبيت النتروجين الجوي تم عزلت بكتيرية للبكتيريا *Burkholderia*، وللبكتيريا *Azotobacter* المراد اختبار كفاءتها في تثبيت النتروجين على وسط الأجار المغذي المائل Slant المصنع في شركة LBS Mumbai الهندية، وحضنت في درجة حرارة 30° م، لمدة 24 ساعة ثم أخذت من الخلايا البكتيرية النامية، والنقية المتحصل عليها لكل من البكتيريا *Burkholderia*، وبكتيريا *Azotobacter* بواسطة إبرة التلقيح (Loop) بإضافة 3 مليمتر الماء المقطر المعقم، ثم نقل اللقاح إلى أنابيب سعتها 10 مللي بعد ذلك أخذ 1 مللي من اللقاحات البكتيرية التي كثافتها $10^8 \times 1.5$ خلية بكتيرية / مللي (Baron & Finegold, 1990)، ولقحت بها الأنابيب الحاوية على الوسط السائل الخالي من النتروجين (N-free) الخاص باختبار كفاءة الخلايا البكتيرية، وبثلاثة مكررات، ووضعت الأنابيب في الحضانة الهزازة (incubator shaker) لمدة 12 يوماً ثم وضعت في حمام مائي، وعلى درجة حرارة 60° م لغرض التجفيف ثم قدر فيها النتروجين في جهاز كلاهل (Fao, 2008).

تم تحليل البيانات المتحصل عليها من التجربة إحصائياً باستخدام برنامج Minitab 15، وكذلك تحليل ثلاثي التباين لتحديد دلالة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار توكي Tukey's test عند (P = 0.05)

النتائج والمناقشة

من النتائج المتحصل عليها من كل عينات الترب الممثلة للمدن الليبية المذكورة سابقاً تبين أن نسبة المادة العضوية

الملوحة (1% من NaCl) مما يدل على قدرتها على التأقلم في الأوساط المالحة نسبياً. وكذلك نمت نمواً جيداً عند درجات الحرارة الدافئة 37° م، ولم يحدث أي نمو عند درجات الحرارة المنخفضة 4° م، وهذا يتناسب نسبياً مع درجات الحرارة لهذه المناطق في ليبيا.

من الاختبارات التي أجريت على قدرة الخلايا على استخدام المواد الكربوهيدراتية المتمثلة في السكريات الأحادية، و الثنائية، و السكريات المتعددة كمصادر للكربون، فقد حدث نمو للخلايا في الأطباق التي تحتوي على Mannitol, Citrate, Fructose, Glucose, Sucrose، ولم يحدث أي نمو على الأطباق التي تحتوي على Maltose كما هو موضح في جدول (4).

والمجهرية، والكيموحيوية للشرائح الزجاجية الحاوية على الغشاء البكتيري النامي، وحسب ما ورد في المرجع (Bergey & JG, 1994; Bergey, 2004)

في جدول (3) تبين أن المستعمرات النامية التي شكلتها الخلايا البكتيرية على كل الأطباق (Burk's medium) كانت أعمدة، لزجة، غير شفافة في البداية ثم تحولت إلى مستعمرات لامعة، حجمها من متوسطة إلى كبيرة، عصوية قصيرة. وتبين أيضاً أن الخلايا سالبة لصبغة جرام، متحركة، هوائية، موجبة لاختبار الكاتاليز، ومن اختبار الأوكسيديز تبين أن الخلايا لا تخمر السكريات، ولكن تمثلها تمثيلاً تأكسدياً بحيث ترتبط قدرتها على أكسدة الأمينات الحلقية بوجود السيتوكروم في سلسلتها التنفسية، وهذا هو أساس اختبار الأوكسيديز، ونمت نمواً جيداً عند درجات

جدول (3). الصفات المجهرية لعزلات بكتيريا *Burkholderia*

المنطقة المعزولة منها	صبغة جرام	شكل الخلايا	تجميع الخلايا	الحركة	لون الغشاء المتكون
عين زارة	سالبة	عصوية قصيرة	مفردة	متحركة	حليبي
تاجوراء	سالبة	عصوية قصيرة	سلاسل	متحركة	ابيض
وادي الربيع	سالبة	عصوية	مفردة	متحركة	كريمي
طريق المطار	سالبة	عصوية	ثنائي	متحركة	حليبي
ترهونة	سالبة	عصوية قصيرة	سلاسل	متحركة	حليبي
الزاوية	سالبة	عصوية	مفردة	متحركة	حليبي
قصر بن غشير	سالبة	عصوية قصيرة	رباعية	متحركة	ابيض
صبراتة	سالبة	عصوية	رباعية	متحركة	كريمي
جنزور	سالبة	عصوية	مفردة	متحركة	كريمي

جدول (4) الاختبارات الكيموحيوية لبكتيريا *Burkholderia*

المنطقة المعزولة منها	كثافة	النمو في درجة حرارة 37° و 4° م	النمو في Burk media	تحلل الجيلاتين والنشا	اختزال النترات	النمو في 1% NaCl	استهلاك مصادر كربونية مختلفة			
	كثافة	النمو في درجة حرارة 37° و 4° م	النمو في Burk media	تحلل الجيلاتين والنشا	اختزال النترات	النمو في 1% NaCl	Sucrose Citrate	Maltose	Fructose, Glucose	Mannitol
عين زارة	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
تاجوراء	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
وادي الربيع	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
طريق المطار	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
ترهونة	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
الزاوية	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
قصر بن غشير	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
صبراتة	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
جنزور	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+

تابعة للجنس *Azotobacter* من خلال دراسة الصفات المورفولوجية، والمجهريّة، والكيموحيوية للخلايا النامية في الأطباق حيث كونت الغشاء البني على الوسط الغذائي (Sucrose mineral salts) وقد أظهر الاختبار المجهرى أن الخلايا البكتيرية بأشكال عصوية قصيرة، أو كروية، و أظهرت تجمعات بشكل أزواج ثنائية، أو رباعية، أو سلاسل، أو خلايا مفردة، و كونت الغلاف الخارجي للحويلة (cyst) وأنها سالبة لصبغة جرام، و ذات حركة نشطة (Jiménez et al., 2011).

أوضحت نتائج الفحوصات، و الاختبارات على الصفات المتحصل عليها من الخلايا النامية في (Burk's medium)، والتي كان مصدرها عينات التربة المتمثلة المناطق الليبية بدليل (Bergey, 2004) تتطابق مع الصفات المورفولوجية، والمجهريّة، والكيموحيوية للبكتيريا *Burkholderiasp*.

في جدول (5) تبين أن المستعمرات النامية التي شكلتها الخلايا البكتيرية على كل الأطباق (sucrose mineral salts - Jensen's media) و بدليل (Bergey's 2004) Manual of Determinativ Bacteriology.

جدول (5). الصفات المجهريّة لعزلات بكتيريا *Azotobacter*

لون الغشاء المتكون	الحركة	تجميع الخلايا	شكل الخلايا	صبغة جرام	المنطقة المعزولة منها
بني	متحركة	سلاسل	عصوية قصيرة	سالبة	عين زارة
حليبي	متحركة	مفردة	كروية	سالبة	تاجوراء
بني فاتح	متحركة	ثنائي	عصوية قصيرة	سالبة	وادي الربيع
بني	متحركة	مفردة	عصوية	سالبة	طريق المطار
بني	متحركة	سلاسل	كروية	سالبة	ترهونة
حليبي	متحركة	سلاسل	عصوية	سالبة	الزاوية
بني فاتح	متحركة	مفردة	عصوية	سالبة	قصر بن غشير
بيضاء	متحركة	رباعية	عصوية قصيرة	سالبة	صبراتة
بني	متحركة	ثنائية	كروية	سالبة	جنزور

كفاءة عزلات البكتيرية لبكتيريا *Burkholderia* و *Azotobacter* في تثبيت النتروجين الجوي: الجدول (7)
يبين أن العزلات من الخلايا البكتيرية لبكتيريا *Burkholderia*، وبكتيريا *Azotobacter* المعزولة من ترب المنطقة الجذرية (رايزوسفير) لنباتات مختلفة من عدة مناطق في طرابلس، وضواحيها اختلفت فيما بينهما في تثبيت النتروجين الجوي، وقد يرجع السبب في ذلك إلى الاختلاف في التركيب الوراثي، والجيني المسؤول عن تثبيت النتروجين لكل منهما (Cheng, 2008)، أو اختلاف الإفرازات الجذرية النباتات المزروعة، أو اختلاف ظروف التربة لكل منطقة فكانت أعلى قيمة له 15.5 ملجم/ لتر بتأثير بكتيريا *Burkholderia* المعزولة من رايزوسفير نبات

تبين في جدول (6) ومن خلال الاختبارات، ودراسة بعض الصفات المورفولوجية للخلايا البكتيرية، وقابلية نموها في بعض الأوساط، والصفات الكيموحيوية، وقدرتها على استهلاك بعض المواد الكربوهيدراتية، والسكريات، وكذلك يوضح أن جميع العزلات البكتيرية قادرة على النمو في درجة حرارة 37° م، وليس لها قدرة على النمو في درجة 4° درجة مئوية، والقدرة على النمو في وسط يحتوي على 1 % كلوريد الصوديوم، وأنها موجبة لاختبار الأكسيديز، والكاتاليز، وقادرة على تحلل النشا، والجيلاتين، وقابليتها لاختزال النترات، وأنها غير قادرة على النمو في وسط Burk.

Azotobacter، أما بكتيريا *Burkholderia* خاصة في بعض الترب مثل تربة (منطقة طريق المطار) فقد لوحظ أن أعداد البكتيريا بها مرتفع، ولكن قيمة النيتروجين المثبت بها قليلة، وهذا قد يرجع إلى أنه ليست كل الأنواع من جنس هذه البكتيريا لها القدرة على تثبيت النيتروجين الجوي (Ben Mahmud, 2008). وقد لوحظ أيضا وجود فروق معنوية بين أعداد، وكمية النيتروجين المثبتة بين بكتيريا *Azotobacter*، وبكتيريا *Burkholderia*، ولكن يمكن استخدام كل منهما في برنامج التسميد الحيوي في الترب الليبية.

القمح النامي في منطقة وادي الربيع تليها العزلات المعزولة من صبراتة، وجنزور، وترهونة وثبتت كمية من النيتروجين مقدارها 15.2, 15, 14.5 ملجم/ لتر على التوالي في حين كانت أقل كمية مثبتة 5.38 ملجم /لتر في منطقة قصر بن غشير، وكانت أعلى قيمة المثبتة للنيتروجين بتأثير بكتيريا *Azotobacter* 18.50 ملجم/ لتر المعزولة من منطقة ترهونة، وأقل قيمة 6.8 ملجم/ لتر من منطقة طريق المطار.

ويلاحظ من جدول (2) و(7) كلما زادت أعداد البكتيريا في التربة يزداد نشاط البكتيريا بها بدليل زيادة معدلات تثبيت النيتروجين الجوي فيها، وهذا كان واضحا في بكتيريا *Azotobacter* (6). الاختبارات الكيموحيوية لبكتيريا

المنطقة المعزولة منها	الكالسيوم	الأكسجين	النمو في درجة حرارة 37° و 4°م	النمو في Burk media	تحلل الجيلاتين والنشا	اختزال النترات	النمو في %1 NaCl	استهلاك مصادر كربونية مختلفة			
								Mannitol	Fructose Glucose	Maltose	Sucrose Citrate
عين زارة	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
تاجوراء	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
وادي الربيع	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
طريق المطار	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
ترهونة	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
الزاوية	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
قصر بن غشير	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
صبراتة	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+
جنزور	+	+	- / +	-	+	+	+	+	+	-	+

جدول (7) كمية النيتروجين المثبتة (ملجم/لتر) من قبل بكتيريا 7 *Burkholderia* و *Azotobacter*

المنطقة المعزولة منها	بكتيريا <i>Burkholderia</i> ملجم/N/لتر	بكتيريا <i>Azotobacter</i> ملجم/N/لتر
عين زارة	10.69	14
تاجوراء	8.1	6.9
وادي الربيع	15.5	10.27
طريق المطار	5.56	6.8
ترهونة	14.5	18.07
الزاوية	9.45	18.5
قصر بن غشير	5.38	9.33
صبراتة	15.2	15.87
جنزور	15	13.27

المراجع

- Black, C. (1965). Methods of soil analysis part 1 physical properties Am. Soc. Agron. Inc. publisher, Madison Wisconsin, USA.
- Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T., & Garrity, G. (2005). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Two The Proteobacteria Part C The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*. Springer.
- Cheng, Q. (2008). Perspectives in biological nitrogen fixation research. *Journal of integrative plant biology*, 50(7), 786-798.
- Fao, F. (2008). Guide to laboratory establishment for plant nutrient analysis. *FAO Fertilizer and Nutrition Bulletin*, 15.
- Freeman, W. (1981). Microbes in action, a laboratory manual of microbiology, published in the United States. *New York and Oxford Rights*.
- Harvey, R., & Price, T. (1967). The isolation of salmonellas from animal feedingstuffs. *Epidemiology & Infection*, 65(2), 237-244.
- Jiménez, D. J., Montaña, J. S., & Martínez, M. M. (2011). Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable-grown Colombian soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(3), 846-858.
- Osip, C., Ballescás, S., Osip, L., Besarino, N., Bagayna, A., & Jumalon, C. (2000). Philippine council for Agric. *Forestry and Natural Resources Research and Technology*, 143, 17-18.
- الحداد، محمد السيد مصطفى 1998 دور الأسمدة الحيوية بخفض التكاليف الزراعية، وتقليل تلوث البيئة، وزيادة إنتاجية المحصول، كلية الزراعة، جامعة عين الشمس، مصر .
- الزعيبي، محمد منهل، ونبيلة كريدي، و اواديس أرسلان 2007 عزل بكتيريا الأروتوباكتر من بعض الترب السورية، واختبار فعاليتها في تثبيت الأوت الجوي في التربة، مجلة باسل الأسد للعلوم الهندسية. العدد 37.
- بن محمود، ميرفت الطاهر 2016 تأثير التسميد الحيوي ببكتيريا *Azotobacter Spp* ومعدلات مختلفة من سماد البوريا في نمو نبات الشعير. المجلة السورية للبحوث الزراعية. 3 (1): 213-219.
- جميل سيف الدين محمد , الزروق مصباح، و صلاح محمد الزوي 1993. الدراسة العملية للبكتيريا والفطريات، الطبية. الدار العربية للنشر والتوزيع
- Baron, F., & Finegold, S. (1990). Diagnostic Microbiology, 8th h ed. *The CV Mosby Co., St. Louis*.
- Becking, J. H. (1992). The family azotobacteraceae. In *The prokaryotes* (pp. 3144-3170). Springer.
- Ben Mahmud, M. (2008). *The effect of Burkholderia as biofertiliser on cereal productivity* Ph. D. Dissertation, Biotechnology and Environmental Biology (School of ...].
- Black, C. (1965). Methods of soil analysis part 1 physical properties Am. Soc. Agron. Inc. publisher, Madison Wisconsin, USA.
- Bergey, D. H. (2004). *Bergey's manual of systematic bacteriology: the proteobacteria*. Springer.

- Rana, R., & Ramesh, K. P. (2013). Biofertilizers and their role in agriculture. *Pop Kheti, 1*, 56-61.
- Shankarapp, T., & Madhav Rao, A. (1998). Characterization and identification of Azotobacter strains Isolated. From mulberry rhizosphere Scil. *Biofertilizers and biopesticides A. M Deshmukh*.
- Sharma, A. (2003). Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India. Shetty. S., Singhal KS and Kulkaria PR Antimicrobial properties of cumin. *J. Microbial Biotech, 10*, 230-233.
- Tchan, Y.-T. (1984). Genus 1. Azotobacter Beijerinck 1907, 567. *Bergey's manual of systematic bacteriology, 1*, 220-229.
- Thompson, J. P., & Skerman, V. B. D. (1979). Azotobacteraceae: the taxonomy and ecology of the aerobic nitrogen-fixing bacteria.

Isolation and characterisation of the efficiency of *Azotobacter* and *Burkholderia* bacteria locally isolated from Libyan soils in fixing atmospheric nitrogen

Merfat T. Ben Mahmud* and Eman A. Ferjani

Department of. Soil and Water, Faculty of Agriculture. Tripoli University, Tripoli, Libya

Received: 01 November 2021/ Accepted: 23 January 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.381>

Abstract: An experiment was conducted in the Soil Microbiology Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Tripoli, testing the efficiency of locally isolated *Azotobacter* and *Burkholderia* in fixing atmospheric nitrogen. The experiment included isolation and diagnosis of *Azotobacter* and *Burkholderia* from near-root soils of various plants brought from different regions of the city of Tripoli and its surrounding suburbs. Ten isolates were obtained as a result of making dilutions of these soils. The biochemical, morphological, and microscopic traits of them were studied. The results showed that all isolates belong to the two types of *Azotobacter* and *Burkholderia* and that the numbers of *Azotobacter* bacteria are abundant in the root zone (Rhizosphere) of some plants used in the research, whose numbers ranged between (1.95×10^3 - 6.1×10^{10}) cfu/gm soil. Also, the amount of nitrogen fixation by *Azotobacter* bacteria ranged between (6.8 -18.50) mg/l, while *Burkholderia* bacteria numbers ranged between (9.4×10^8 – 1.5×10^3) cfu/gm soil and the amount of nitrogen fixation ranged between (5.38-15.50) mg/l. There were also significant differences between *Azobacter* and *Burkholderia* bacteria in terms of their numbers and ability to fix atmospheric nitrogen. However, both genera can be used in biological fertilization programs in Libyan soil.

Keywords: Isolation, *Azotobacter* and *Burkholderia* Bacteria, Rhizosphere, fixated atmospheric nitrogen.

*Corresponding author: Merfat T. Ben Mahmud dr.mbenmahmoud@yahoo.com, Department of. Soil and Water, Faculty of Agriculture. Tripoli University, Tripoli, Libya



دراسة تأثير إضافة مادة أورثو فوسفات الكالسيوم على فجوات الأسنان عن طريق تحليل أطيف الأشعة تحت الحمراء

أبو بكر علي يوسف الغول*، طارق محمد فايز، مروة مفتاح علي احسونة

قسم الفيزياء، كلية العلوم، جامعة سبها، سبها- ليبيا

تاريخ الاستلام: 16 نوفمبر 2021 / تاريخ القبول: 06 مارس 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.735>:Doi

المستخلص: تلعب المواد الحيوية دوراً مهماً في علاج العديد من أمراض الأسنان، وخصوصاً فجوات الأسنان التي تسببها البكتيريا. ومن هذه المواد المهمة جداً في هذا المجال مادة فوسفات الكالسيوم، والتي تعرف (بالهيدروكسي اباتيت). إن الهدف من هذا البحث دراسة تأثير إضافة مادة الهيدروكسي اباتيت للأسنان المصابة بالفجوات البكتيرية. حيث تم في هذا البحث دراسة بعض عينات الأسنان المصابة بفجوات البكتريا المعروفة (بالتسوس) لأشخاص من فئات عمرية مختلفة، وذلك بإضافة نسب مختلفة من فوسفات الكالسيوم لعينات الأسنان المصابة بالفجوات بعد المعالجة الكيميائية لكل عينه. وخضعت هذه العينات بعد ذلك للتحليل باستخدام تقنية تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء. أظهرت نتائج تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء لعينات الأسنان المصابة بعد المعالجة الكيميائية تكون روابط كيميائية جديدة نتيجة لتفاعل مادة فوسفات الكالسيوم مع نسيج السن المصاب بالفجوة البكتيرية. وكانت معاملات الامتصاص لهذه الأشعة لعينات الأسنان المختلفة عند الأطوال الموجية التالية: $0.1\mu\text{m}$, $9.52\mu\text{m}$, $2.93\mu\text{m}$. نستنتج من مقارنة هذه الأطوال الموجية تكون قمم حادة لعينات الأسنان المعالجة بمادة فوسفات الكالسيوم. وعند تحديد هذه القمم نجد أنها تتكون عند معاملات نفاذية صغيرة مقارنة بمعاملات النفاذية المسجلة لعينات الأسنان التي لم تتم معالجتها بمادة فوسفات الكالسيوم.

الكلمات المفتاحية: فجوات الأسنان، أورثو فوسفات الكالسيوم، طيف الأشعة تحت الحمراء.

المقدمة

تعد صحة الأسنان والأنسجة الداعمة لها (كاللثة والعظم السنخي) من الأمور المهمة لصحة الشخص وعافيته على الصعيد الجسمي والنفسي (King et al., 2007; Papagerakis & Mitsiadis, 2013). تهدف تقنية حشو فجوات الأسنان بعد تنظيفها إلى ترميم وإصلاح الأسنان التالفة، التي أصيبت بالضرر نتيجة التآكل التدريجي في طبقات الأسنان الخارجية، مثل طبقة المينا أو العاج أو طبقة الملاط. حيث يحصل تلف طبقات الأسنان هذه عادة نتيجة البكتيريا، أي تراكم طبقة جراثومية على السن بسبب انخفاض مستوى النظافة الصحية في الفم

السن عبارة عن نسيج صلب فاتح اللون يتكون من عدة أجزاء، توجد في الفم وتوزع على الفكين العلوي والسفلي، تتكون السن من جزئين رئيسيين: جزء داخلي وجزء خارجي. تتكون أجزاء السن الداخلية من أربعة طبقات: طبقة المينا، طبقة العاج، اللب والملاط. بينما تتألف أجزاء السن الخارجية من جزئين وهما: التاج والجذر. تبرز الأسنان على مجموعتين، الأولى الأسنان اللبنية التي لا تلبث أن تسقط لتبرز مكانها المجموعة الثانية وهي الأسنان الدائمة (King

*أبو بكر علي الغول، abu.alghoul@sebhau.edu.ly قسم الفيزياء، كلية العلوم، جامعة سبها، سبها، ليبيا

وذلك من أجل إتاحة الفرصة أمام كل طبقة بأن تجف، وتتعلق بأفضل صورة. في المرحلة الأخيرة من الإجراء، يصل طبيب الأسنان بقايا المادة، بحيث يعود شكل السن وعملها إلى الحالة الطبيعية التي كانت عليها قبل تنفيذ عملية الحشو قدر الإمكان. يستغرق هذا الإجراء مدة تتراوح بين عشرين دقيقة حتى نصف ساعة لكل سن (Chadwick et al., 1999; Gholampour et al., 2016). هناك عدة مخاطر عند إجراء عملية حشوات الأسنان وهي: أولاً: المخاطر العامة وتشمل التلوث، النزيف. ثانياً: مخاطر التخدير. ثالثاً: مخاطر عينية تتعلق بعلاج الأسنان مثل إصابة الأعصاب الموجودة في القناة العصبية والذي يمكن أن ينتج عنه ضرر قد يسبب فقدان الجزئي أو الكلي لحاسة التذوق وهو نادر الحدوث، وكذلك الحساسية للحرارة. رابعاً: مرحلة ما بعد العملية (Rodríguez-Farre et al., 2015; Tillberg, 2008). لقد عرفت السنوات الأخيرة تطوراً كبيراً في مجال المواد الحيوية. والغرض من ذلك هو السماح بتصنيع أعضاء لمساعدة الجسم على إصلاح وظائف أعضائه المصابة وإعادة بناء الأنسجة الصلبة التالفة. يتطلب استخدام هذه المواد كبديل للعظام شرط أن تمتلك جميع الخصائص الرئيسية وذلك لاستعمالها بأمان عند الاتصال بالأنسجة الحية، وأن لا تبدي أي رد فعل سلبي. تختلف الخصائص الذاتية للمواد الحيوية من مادة إلى أخرى وذلك لكي تلبى المتطلبات التطبيقية المختلفة فبالنسبة لبعض الأنسجة من الضروري أن تكون المادة قابلة للانحلال لكي تستبدل بشكل تدريجي. عموماً تتلخص خصائص المواد الحيوية التي يجب مراعاتها في النقاط الأساسية التالية: أولاً: التوافق الحيوي، وهي الخاصية الأساسية التي يجب أن تمتلكها أي مادة من المواد الحيوية وذلك لملاً النسيج العظمي بحيث يجب أن لا تحرر المادة الحيوية مواد سامة، أو تُتلف الأنسجة المحيطة بها. ثانياً: الخصائص الميكانيكية، تخضع المواد الحيوية إلى إجهادات ميكانيكية كبيرة مماثلة لتلك التي يتحملها العظم، ولذلك فمن المهم أن تكون لهذه المواد خواص ميكانيكية جيدة لمنع

(Chadwick et al., 1999). عندما تخترق البكتيريا نسيج الأسنان الخارجي يكون من المستحسن علاجه قبل حدوث التهاب وضرر دائم في نسيج اللب (الأنسجة التي تحت وعلى جذور الأعصاب والأوعية الدموية) أو تكسر الأسنان. يطلق على هذا العلاج الوقائي اسم (حشو الأسنان). وهو يتضمن: فتح السن، إزالة البكتيريا، إزالة أنسجة الأسنان التالفة، وحفر السن بشكل يتيح حشوه صناعياً (Chadwick et al., 1999; Gholampour et al., 2016). أما المرحلة الأخيرة، فتشمل ملء السن بمادة خاصة. تشمل علامات تلف طبقات الأسنان الخارجية ما يلي: ألم الأسنان، أو حساسية مفرطة للحرارة، أو البرد. في الحالات الأشد، وعندما يكون هنالك التهاب نشط، أو إصابة في العصب، من الممكن أن يحصل تورم في اللثة، أو الرقبة أحياناً، يتم استخدام حشو الأسنان من أجل إصلاح الأسنان المتصدعة أو البالية، وليس فقط لعلاج تراكم اللويحة الجرثومية (البلاك). تسمى هذه العملية (عملية ترميم الأسنان). يتم إجراء عملية حشو الأسنان في عيادة الأسنان في ظروف من التعقيم الكامل، ويقوم بإجراء هذا الحشو طبيب أسنان. في بعض الأحيان، تستغرق عملية الحشو أكثر من جلسة واحدة، وذلك في حال وجود عدد من الأسنان التي تحتاج للعلاج. في البداية يتم تخدير المكان موضعياً، وهو ما يمكن أن يسبب بعض الألم. تشمل المرحلة الأولى من العلاج فتح مينا السن، وإزالة التسوس الذي تراكم فيه وحوله، وذلك بواسطة أدوات خاصة. بعد ذلك تتم إزالة أنسجة الأسنان التالفة (عادة بسبب التحلل) بشكل جذري. بهذه الطريقة، يكون الطبيب قد جهّز التجويف في السن، لكي يستطيع حشوه بمادة خاصة. يتم هذا التحضير من خلال حفر طبقات السن وتشكيل مبنى السن الداخلي بشكل يسمح بتعبئته (Chadwick et al., 1999; Gholampour et al., 2016).

بعد ذلك يتم إدخال الحشوة المنضغطة (القابلة للضغط)، والمصنوعة من الملمغات (جمع ملغمة: وهي مزيج من المعدن مع الزئبق). تتم عملية إدخال طبقات الحشو ببطء

تأكلها ميكانيكيا أو كسرهما في الإنشاء أثناء الجراحة أو في وقت التحميل وكذلك يجب معرفة التشوهات الميكانيكية للمادة الحيوية التي ترتبط بهيكلها وتكوينها، حيث تعتمد الصلابة الميكانيكية للمواد الحيوية بشكل أساسي على تكوينها وطريقة تصنيعها (Crowley et al., 2010; Patel et al., 2020). يمكن تصنيف المواد الحيوية إلى قسمين رئيسيين وهما: المواد الخاملة حيويًا والمواد النشطة حيويًا. تستخدم المواد الحيوية كبداية للعظام، وتم تصنيفها إلى نوعين رئيسيين وهما: مواد ذات أصل طبيعي، ومواد ذات أصل صناعي. إن دراسة هذه الأنواع المختلفة تسمح بإنشاء رابطة كيميائية بين المواد والأنسجة العضوية وينتج هذا الارتباط عن نشاط حيوي يتميز بتتابع تفاعلات فيزيائية كيميائية (Parida et al., 2012). إن المشكلة التي تثيرها حقيقة أن مادة بيولوجية لا تستطيع تلبية جميع متطلبات التطبيق المستهدف أدت بشكل طبيعي إلى قيام الباحثين بتطوير مواد مركبة تمتلك العديد من الخصائص. تتكون المواد المركبة من جزئين أو أكثر متميزين، وعلى الرغم من أن المادة النقية يمكن أن تتكون من وحدات فرعية متميزة (حبيبات أو جزيئات) يتم تصنيع المواد المركبة عن طريق مزج مكونين: أي صبهما، أو ضغطهما، أو التفاعل بينهما كيميائياً (Parida et al., 2012; Rubežić et al., 2020).

إن الهيدروكسي أباتيت المكون الذي يعاني من نقص الكالسيوم هو المعدن الرئيسي الذي يتكون منه مينا الأسنان وكذلك عاج الأسنان، حيث يعد الهيدروكسي أباتيت من أهم المواد الحيوية الأكثر استعمالاً في مجال تعويض العظام في الجسم، حيث يعد من المواد النشطة حيويًا، وله القدرة على تشكيل طبقة التصاق جيدة تربطه مع النسيج الحي، وهذا ليس له أي تأثيرات جانبية على الجسم، على عكس المواد المعدنية التي هي قابلة للتآكل، ولا ترتبط مع الوسط الحي (Oliveira & Mansur, 2007; Pajor et al., 2019). بالرغم من أن للهيدروكسي أباتيت صيغة كيميائية مشابهة لصيغة العظام إلا أن له خصائص ميكانيكية ضعيفة جعلته محدود الاستعمال، وهذا الأمر دفع الباحثين لإيجاد حلول لتحسين خصائصه الميكانيكية، ومن أهم هذه الحلول إدخال بعض الإضافات على الهيدروكسي أباتيت (Oliveira & Mansur, 2007; Pajor et al., 2019).

تعد تقنية السحق عالي الطاقة إحدى العمليات التي يتم من خلالها تحضير لإنتاج مواد جديدة، حيث تتسبب في تكسير المساحيق، والالتحام مرة أخرى بين الجزيئات

ولتحسن قدرة الحشوة على الارتباط والاندماج مع سطح العظم دون وجود نسيج ليفي يفصل بينهما في الأنسجة العظمية قام بعض الباحثين بتغطية المعادن الاصطناعية بطبقة من فوسفات الكالسيوم المتكيفة بيولوجياً. ومنذ ذلك الوقت أصبحت هذه المواد مثيرة للاهتمام بسبب الأبحاث المتعلقة بها، والتي تتدرج ضمن دراسة الخزفيات في مختلف أنواعها. نجد من أهم هذه المواد الخزفيات الحيوية، والتي هي عبارة عن مواد صناعية فعالة حيويًا، وتستخدم في المجال الطبي، وكذلك في النظام البيولوجي للكائن الحي، كأن تكون متوافقة حيويًا مع الجسم، وهي قادرة على خلق روابط بينها وبين النسيج الحي (Hribar et al., 2012;)

كلوريد الصوديوم لهذا الغرض. أما في حالة محاليل السوائل توضع في خلية بسلك 0.1-1 mm وبتركيز 10%-0.05، ويجب استخدام خلية ثانية لها نفس مواصفات الخلية الأولى يوضع فيها مذيب نقي وتوضع في طريق حزمة المرجع، حيث يجب ملاحظة أن امتصاصيات المذيب لا تتداخل مع امتصاصيات السائل النموذج، ولا تتفاعل معه، أو يكون خاليا من الرطوبة، ومذيب جيد للنموذج كما يجب أن يكون له عدد قليل من حزم الامتصاص فمثلا: لا يمكن استخدام ثنائي كبريتيد الكربون (CS₂) بوصفه مذيبا للأمينات الأولية، أو الثانوية؛ لأن الكحولات الأمينية تتفاعل هي وكل من رابع كلوريد الكربون وثنائي كبريتيد الكربون. أما في حالة النموذج الصلب يتم تحضير النموذج على شكل عجينة، أو قرص من هاليدات الفلزات القلوية.

تحضير العجينة: لتحضير العجينة يجب سحق حوالي 5gm من المادة، وجعلها على شكل مسحوق ناعم جدا مع قطرة صغيرة من مادة مناسبة مثل النوجول (هي عبارة عن مزيج من هايدروكربونات بارافينية)، أو سداسي كلوروبوتاديين أو مركبات فلور وكاربون، ويجب أن لا تتداخل امتصاصيتها مع امتصاصيات النموذج. أي يعتمد اختيار مادة العجينة على المنطقة الطيفية التي يظهر فيها الطيف، حيث يبدأ النوجول حزم امتصاص في المنطقة (3030-2860 cm⁻¹) لتمديد أصرة كاربون- هيدروجين و(1460-1374 cm⁻¹) لانحناء أصرة كاربون- هيدروجين، لذلك لا نستطيع الحصول على أية معلومات حول امتصاص العينة، أو النموذج في هذه المناطق، عند استعمال النوجول توضع العجينة بين قرصين من كلوريد الصوديوم، وبروميد البوتاسيوم ثم وضعها في طريق حزمة العينة، وكلما كان تحضير العجينة جيدا يتم الحصول على طيف جيد للمركب.

تحضير قرص من هاليدات الفلزات القلوية: لتحضير أقراص من هاليدات الفلزات القلوية يتم سحق حوالي (1-2gm) من العينة جيدا في ظروف جافة ثم خلط هذا

المتكونة. وهذه التقنية تؤدي في نهاية المطاف إلى خليط ذري بين ذرات عناصر البداية حيث أن السحق عالي الطاقة يستقر في مراحل التوازن، ويستخدم كوسيلة لتفعيل بعض ردود الأفعال، أو لتشكيل مراحل جديدة. وذلك بسبب الطاقة التي يتم إدخالها أثناء السحق. إن الهدف الرئيسي من هذه الإضافة أن تلعب دورا مهما جدا في تكوين الأسنان حيث إنها تمثل 96% من مجموعة الهيدروكسيد الأباتيت. لذلك عند الكشف بالأشعة تحت الحمراء يمكن معرفة السن مصاب بالتسوس، أو لا دلالة بوجود، أو فقدان المجموعة الوظيفية لمركب فوسفات الكالسيوم (Nobre et al., 2020; Sadiasa et al., 2013; Zhang et al., 2020). فالهدف من هذا البحث دراسة وتحليل تأثير إضافة مادة الهيدروكسي أباتيت (أورثو فوسفات الكالسيوم) على الأسنان المصابة بالفجوات البكتيرية بعد معالجتها كيميائيا.

المواد وطرق البحث

الأدوات الزجاجية والمعدنية المستخدمة: استخدم في هذا البحث عدد من الأدوات المعملية وهي: مجفف معلمي، ملعقة معدنية صغيرة، حامل، هاون معلمي للطحن، أوعية بلاستيكية لحفظ العينات، ورق ترشيح، أدوات طبية تتضمن: لاصق، محاقن حجم 5ml، إبرة حقن، قفازات، مجموعة من عينات الأسنان مختلفة في النوع والعمر، كحول تعقيم، قارورات زجاجية، قمع زجاجي، مقياس حرارة، كأس زجاجي حجمي، جهاز حساس لقياس الأوزان الصغيرة جدا.

تحضير عينات الأسنان: إن تهيئة النموذج المستخدم في تحليل الأشعة تحت الحمراء تعتمد على حالة المادة المراد تحليلها سائلة، أو غازية، أو صلبة، فإذا كان النموذج غازياً يستخدم لذلك خلايا خاصة يمكن أن يدخل فيها الغاز من فتحة خاصة ثم غلقها، وعن طريق تجميد الغاز أولاً ثم تبخره، وتوجيهه لكي يحتل حيزاً من الخلية، ثم غلقها وتسجيل الطيف لهذا النموذج. أما إذا كان النموذج سائلاً نقياً يمكن أن يوضع بين قرصين لإحداث فلم بسلك يقارب 0.01 mm، ويمكن استخدام أقراص كلوريد الفضة، أو

المسحوق (100-200gm) من بروميد البوتاسيوم ذي نعومة (100-200mesh)، ويوضع في قالب ويعرض **جدول (1):** يبين بيانات عن عينات الأسنان التي تمت دراستها

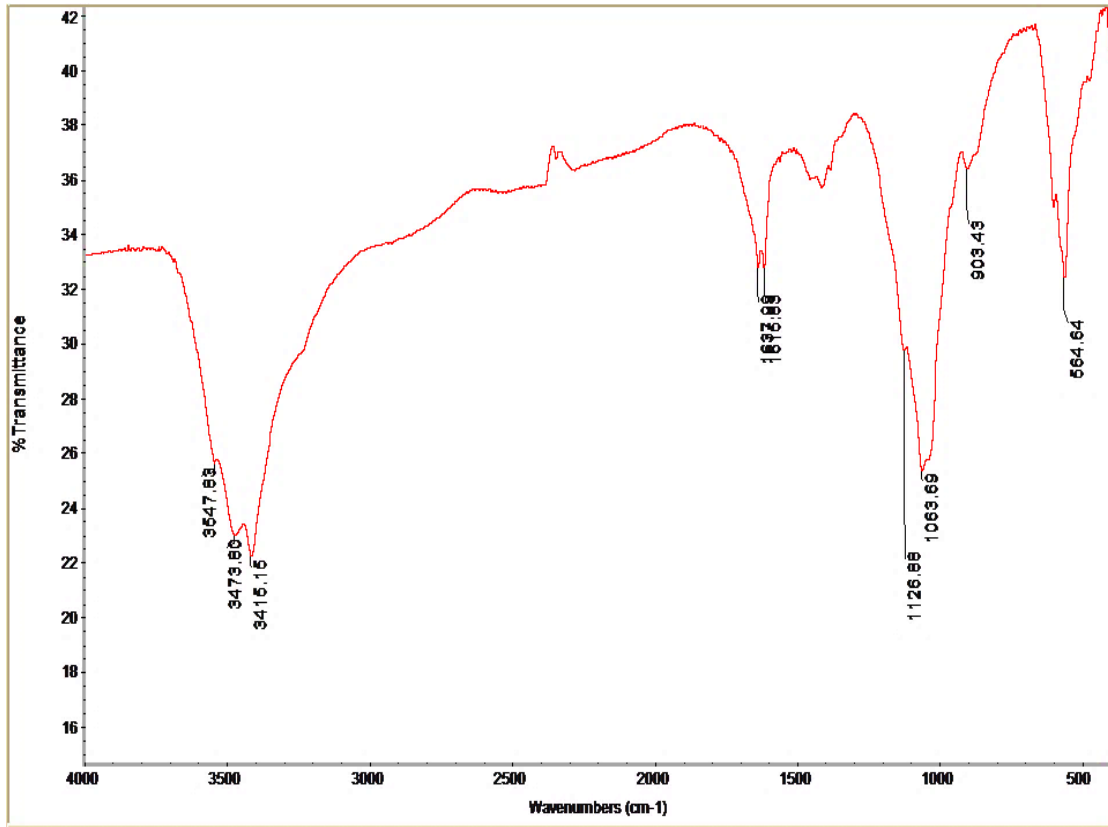
العينات	العمر	الجنس	كمية التسوس	كمية السليم	فورمالدهايد	فوسفات كالسيوم وماء مقطر
العينة الأولى	30	أنثى	----	0.1761g	-----	00.092g+ 2ml
العينة الثانية	37	ذكر	0.887g	----	1.2ml	00.092g+ 4ml
العينة الثالثة	27	ذكر	----	----	0.8ml	00.092g+ 12ml
العينة الرابعة	9	أنثى	0.329g	----	0.6ml	00.092g+ 8ml

المعالجة بمادة فوسفات الكالسيوم. وهذا يدل على أن مادة فوسفات الكالسيوم قد ملأت الفجوات التي تركتها البكتريا المسببة للتسوس بشكل جيد. ونلاحظ كذلك من شكل الطيف المسجل للعينة في الشكل (2) تكون حافة امتصاص جديدة عند الطول الموجي ($293 \times 10^6 \text{cm}$) حيث إن نسبة الامتصاص كانت تساوي 22% مقارنة بالطيف المسجل للجزء السليم من السن حيث لا توجد حواف امتصاص عند هذا الطول الموجي.

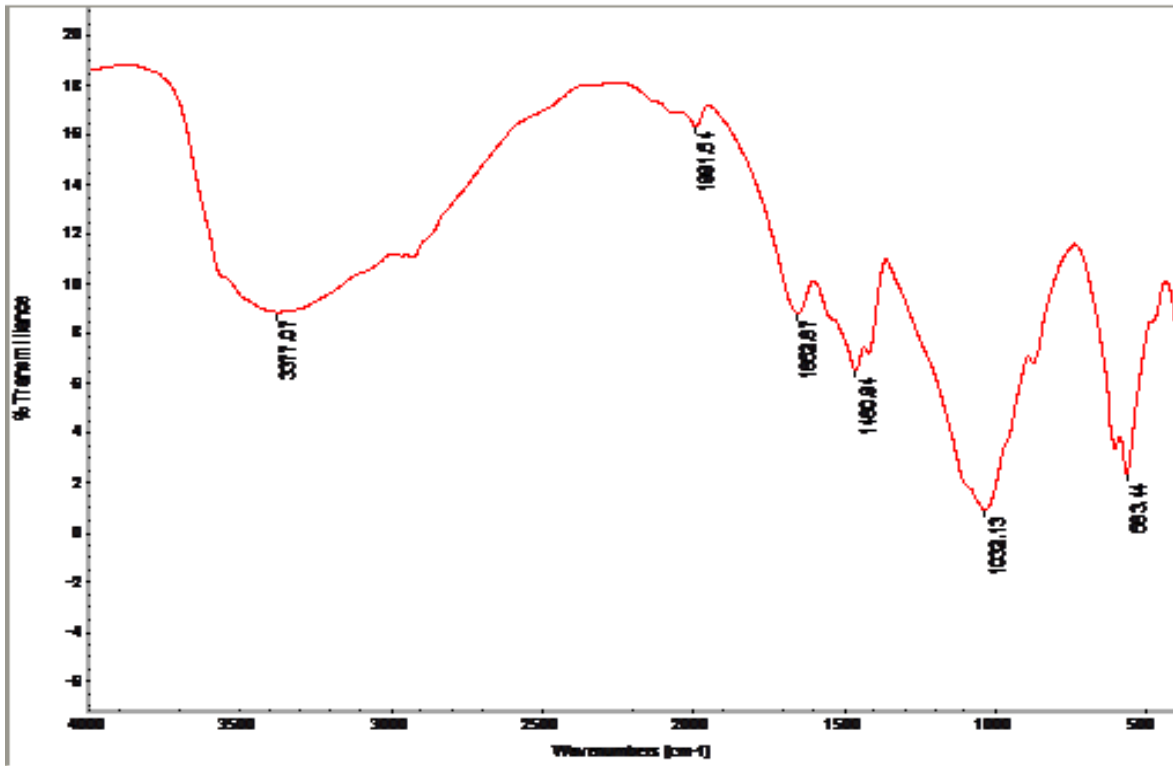
طريقة فحص عينات الأسنان: لقد تم في هذا البحث فحص عينات الأسنان المحضرة عن طريق استخدام طيف الأشعة تحت الحمراء. هناك عدة متطلبات أساسية مهمة تم توفيرها عند محاولة قراءة، وتفسير أطياف الأشعة تحت الحمراء: أولاً: أن يكون شكل الطيف واضحاً، أي أن تكون قمم منحني الطيف حادة، وذات شدة مناسبة. ثانياً: التأكد من أن شكل الطيف هو لمركب تام النقاوة؛ وذلك لأن وجود الشوائب يعطي فرصة لظهور امتصاصات تتداخل مع الامتصاصات الأساسية للمركب، وهذا يقود إلى استنتاجات خاطئة عن تركيب المادة. ثالثاً: التأكد من معايرة جهاز الأشعة تحت الحمراء قبل العمل به، وذلك بالتأكد من أن ترددات امتصاصات المركبات العضوية يكون في المواقع الصحيحة، دون أن تكون مزاحمة ناحية اليمين، أو ناحية اليسار. رابعاً: طريقة تهيئة النموذج يجب أن تكون معروفة.

النتائج والمناقشة

A: يوضح الشكل (1) طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل للجزء السليم لعينة السن نوع ضرس لامرأة عمرها ثلاثون سنة. أما الشكل (2) يبين طيف الأشعة تحت الحمراء للجزء المتسوس من العينة، والتي تم غمرها في محلول فوسفات الكالسيوم لمدة أربعة ساعات. نلاحظ من عملية المقارنة بين الطيفين المسجلين في الشكل (1) والشكل (2) أن هناك انتظاماً في شكل منحنى الطيف، وظهور قمم امتصاص جديدة في طيف الأشعة تحت الحمراء بالنسبة لعينة السن



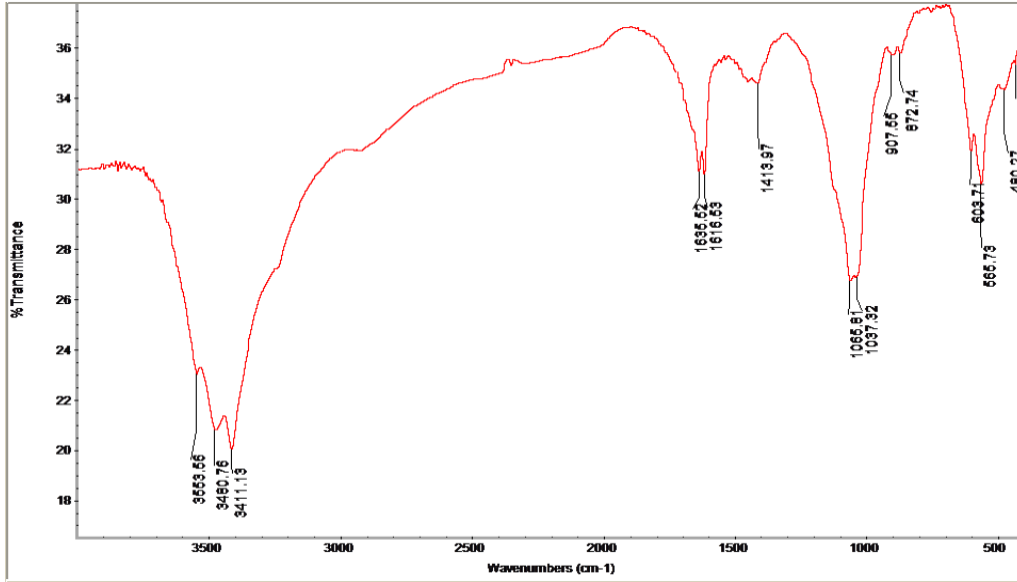
الشكل (1): الجزء السليم من السن دون أي معالجة، عينة السن نوع ضرس لامرأة عمرها ثلاثون سنة.



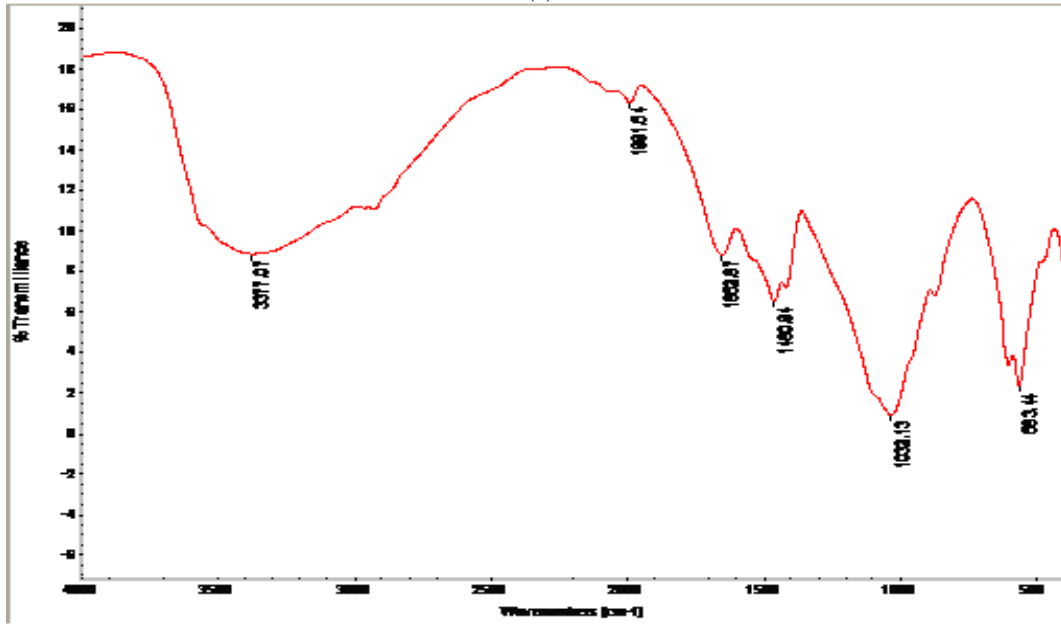
الشكل (2): الجزء المتسوس من السن بعد المعالجة بفوسفات الكالسيوم، عينة السن نوع ضرس لامرأة عمرها ثلاثون سنة.

والمعالجة بمحلول الفورمالدهايد. وهذا يدل على أن محلول الفورمالدهايد قد عمل على تغيير الخواص الفيزيائية للعينة بحيث كانت نفاذية هذه الأشعة خلال العينة صغيرة جدا وتساوي تقريبا 20%. ونلاحظ أنه من الطيف المسجل للعينة في الشكل (3b) أن هذه الحافة تكونت عند طول موجي ($293 \times 10^6 \text{cm}$) مقارنة بالطيف المسجل لجزء عينة المتسوس شكل (2).

الشكل (3a) يبين طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل لجزء من عينة السن السليم نوع ضرس لامرأة عمرها ثلاثون سنة والتي لم يتم معالجتها، بينما يبين الشكل (3b) طيف الأشعة تحت الحمراء لجزء من عينة نفس السن (الجزء السليم والمتسوس مع بعض) والتي تم غمرها في محلول الفورمالدهايد ولمدة أربع ساعات، ونلاحظ من عملية المقارنة بين الطيفين انتظام شكل منحنى الطيف، وظهور قمم امتصاص جديدة في طيف الأشعة تحت الحمراء بالنسبة لعينة السن المختلطة،



(a)



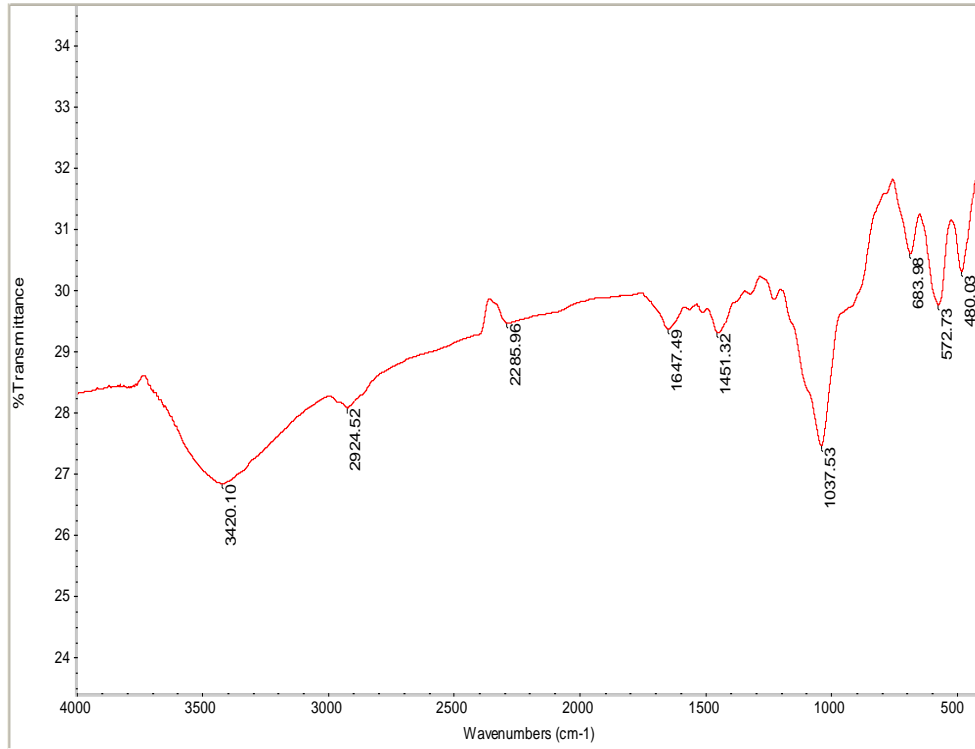
(b)

الشكل (3): a: الجزء السليم للسن بدون معالجة، b: الجزء المختلط للسن (الجزء السليم والمتسوس مع بعض) بعد المعالجة، عينة السن نوع ضرس لامرأة عمرها ثلاثون سنة.

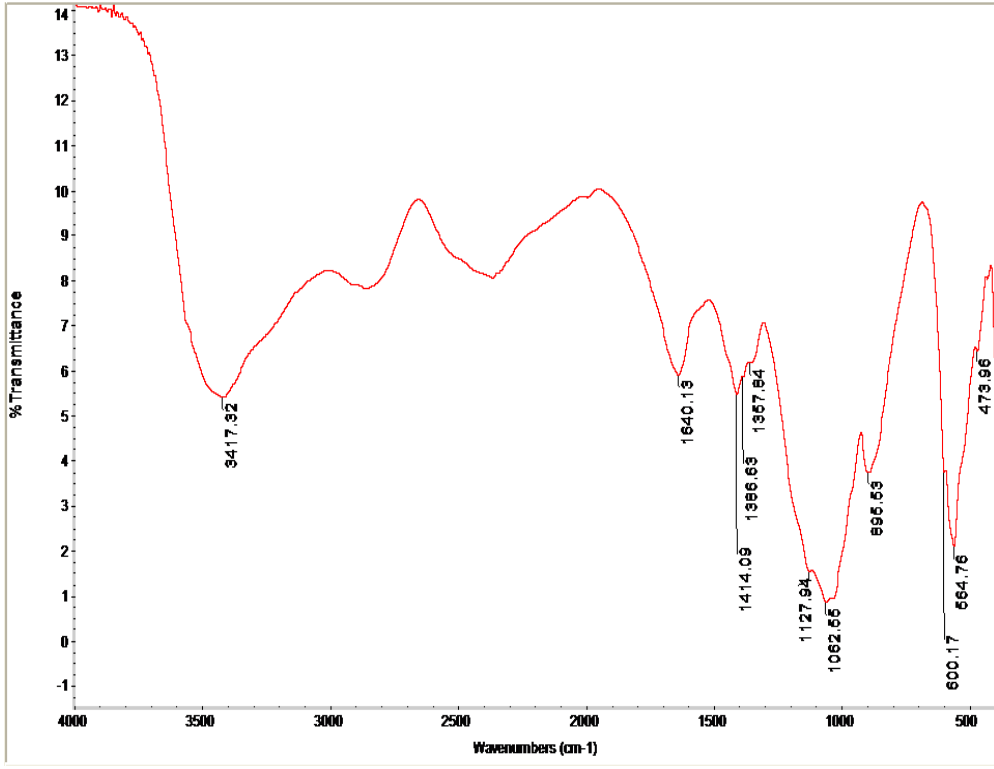
B: يوضح الشكل (6) طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل لجزء من عينة السن نوع ضررس لرجل عمره سبع وعشرون سنة، والتي غمرت في محلول الفورمالدهايد (التركيز 37%) لمدة أربع ساعات.

أما الشكل (7) يبين طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل لجزء من عينة الضررس نفسه، والتي حفظت في محلول فوسفات الكالسيوم. حيث نلاحظ من عملية المقارنة بين الطيفين المسجلين لهذه العينات كما موضح بالشكلين (4) و (5) ظهور قمم امتصاص جديدة في طيف الأشعة تحت الحمراء بالنسبة لعينة السن المتسوسة والمعالجة بالمادة. وهذا يدل على أن مادة فوسفات الكالسيوم قد عملت على تغيير الخواص الفيزيائية للعينة بحيث كانت نفاذية هذه الأشعة خلال ذرات العينة صغيرة جدا وتساوي تقريبا 1%. ونلاحظ من الطيف المسجل للعينة في الشكل (5) أن هذه الحافة تكونت عند طول موجي مقداره $(952 \times 10^6 \text{cm})$ مقارنة بالطيف المسجل لجزء عينة الضررس المتسوسة المعالجة بمحلول الفورمالدهايد.

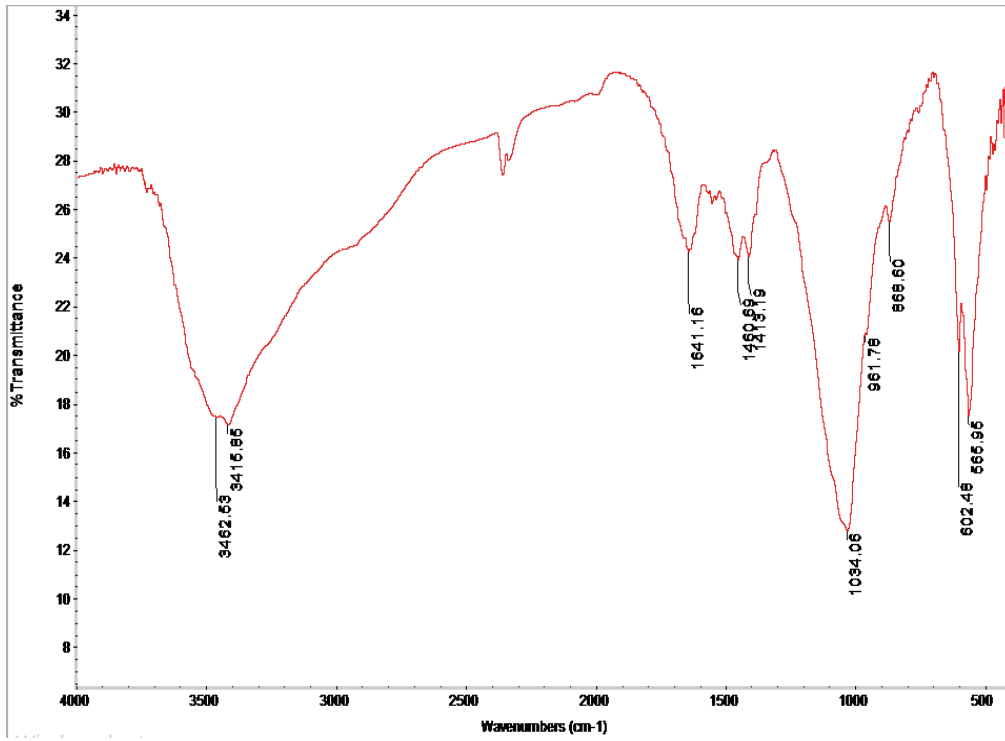
يوضح الشكل (4) طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل لجزء من عينة السن نوع ضررس لرجل عمره سبع وثلاثون سنة، والتي غمرت في محلول الفورمالدهايد (التركيز 37%) لمدة أربع ساعات. أما الشكل (5) يبين طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل من عينة السن نفسها للجزء المتسوس، والتي حفظت في محلول فوسفات الكالسيوم لمدة أربع ساعات أيضا. حيث نلاحظ من عملية المقارنة بين الطيفين المسجلين لهذه العينات كما موضح بالشكلين (4) و (5) ظهور قمم امتصاص جديدة في طيف الأشعة تحت الحمراء بالنسبة لعينة السن المتسوسة والمعالجة بالمادة. وهذا يدل على أن مادة فوسفات الكالسيوم قد عملت على تغيير الخواص الفيزيائية للعينة بحيث كانت نفاذية هذه الأشعة خلال ذرات العينة صغيرة جدا وتساوي تقريبا 1%. ونلاحظ من الطيف المسجل للعينة في الشكل (5) أن هذه الحافة تكونت عند طول موجي مقداره $(952 \times 10^6 \text{cm})$ مقارنة بالطيف المسجل لجزء عينة الضررس المتسوسة المعالجة بمحلول الفورمالدهايد.



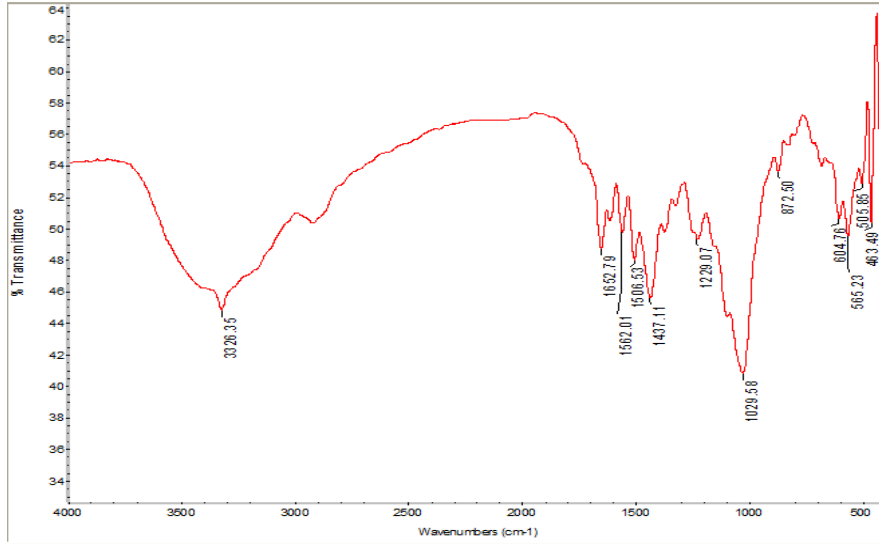
الشكل (4): الجزء المتسوس من السن بعد المعالجة الأولى، والتي غمرت في محلول الفورمالدهايد (التركيز 37%) لمدة أربع ساعات، عينة السن نوع ضررس لرجل عمره سبع وثلاثون سنة.



الشكل (5): الجزء المتسوس من السن بعد المعالجة الثانية، والتي حفظت في محلول فوسفات الكالسيوم لمدة أربع ساعات، عينة السن نوع ضرس لرجل عمره سبع وثلاثون سنة.

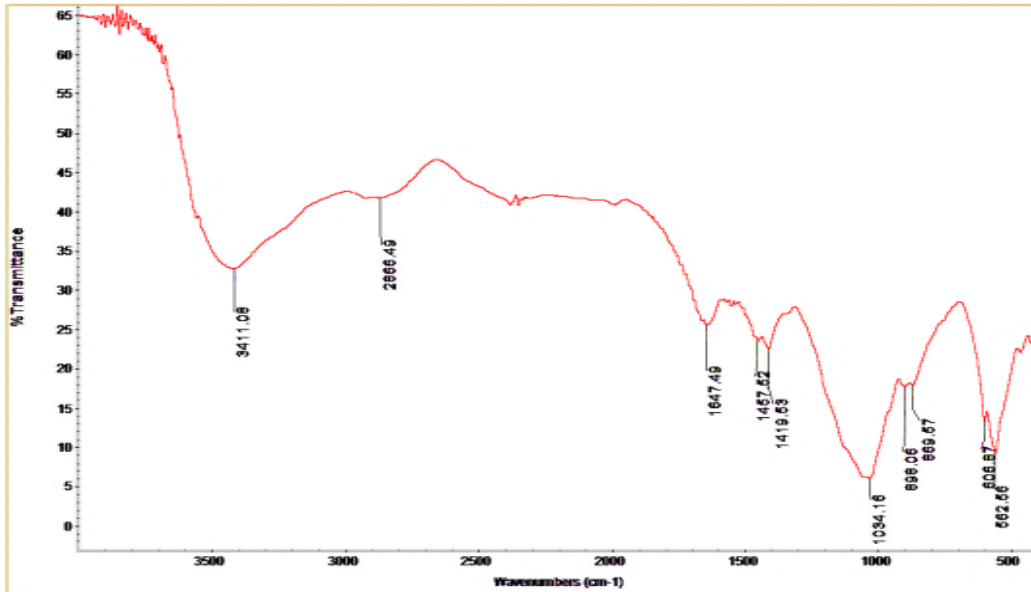


الشكل (6): الجزء السليم من السن بعد المعالجة الأولى، عينة السن نوع ضرس لرجل عمره سبع وعشرون سنة، والتي غمرت في محلول الفورمالدهايد (التركيز 37%) لمدة أربع ساعات.

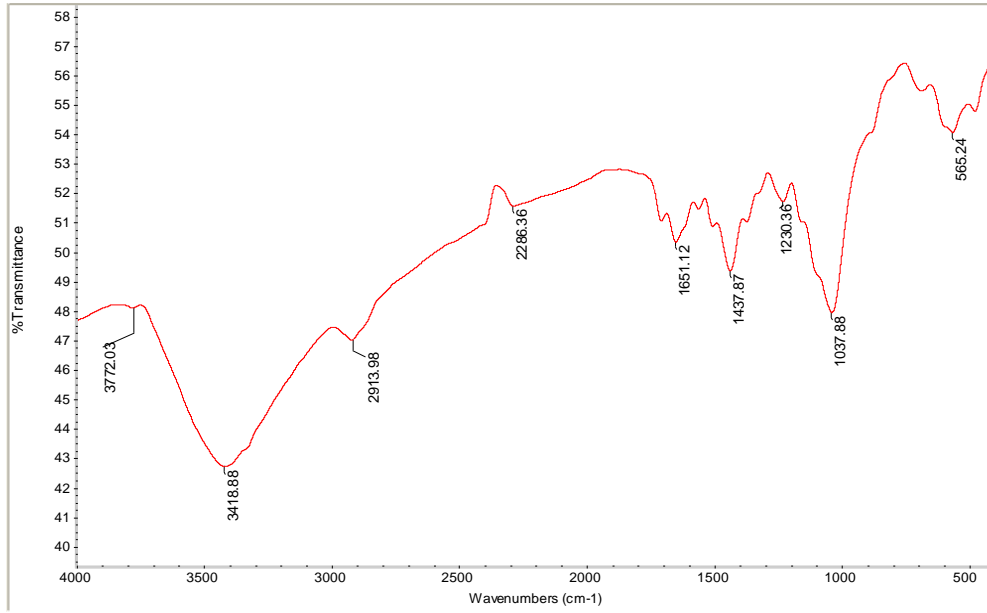


الشكل (7): الجزء السليم من السن بعد المعالجة الثانية، عينة السن نوع ضررس لرجل عمره سبع وعشرون سنة، والتي حفظت في محلول فوسفات الكالسيوم. امتصاص في طيف الأشعة تحت الحمراء بالنسبة لعينة الضررس المعالجة بمادة فوسفات الكالسيوم، حيث كانت قيم النفاذية لهذه الأشعة خلال العينة تساوي 6%. ونلاحظ من الطيف المسجل في الشكل (9) أن هذه الحافة تكونت عند طول موجي مقداره $(1 \times 10^5 \text{cm})$ مقارنة بالطيف المسجل لعينة الضررس اللبنية المعالجة بمحلول الفورمالدهايد، حيث كانت هذه الحافة عند قيمة نفاذية مقدارها 48% والمقابلة للطول الموجي نفسه $(1 \times 10^5 \text{cm})$.

C: يوضح الشكل (8) طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل لجزء من عينة السن نوع ضررس لبنية لطفل عمره تسع سنوات، والتي غمرت في محلول الفورمالدهايد (التركيز 37%) لمدة أربعة أيام. أما الشكل (9) يبين طيف الأشعة تحت الحمراء المسجل لجزء من عينة الضررس نفسه، والتي حفظت في محلول فوسفات الكالسيوم لمدة أربع ساعات. حيث نلاحظ من عملية المقارنة بين الطيفين المسجلين لهذه العينات كما موضح بالطيفين في الشكلين (8) و (9) ظهور قمم



الشكل (8): الجزء المتسوس من السن بعد المعالجة الأولى، عينة السن نوع ضررس لبنية لطفل عمره تسع سنوات، والتي غمرت في محلول الفورمالدهايد (التركيز 37%) لمدة أربعة أيام.



الشكل (9): الجزء المتسوس من السن بعد المعالجة الثانية، عينة السن نوع ضررس لبنية لطفل عمره تسع سنوات، والتي حفظت في محلول فوسفات الكالسيوم لمدة أربع ساعات.

Crowley, C., Pembroke, J., & Birkinshaw, C. (2010). Biomaterials in Dentistry and Medicine. *Biomaterials Developments and Applications: Advances in Biology and Medicine*; Bourg, H., Lisle, A., Eds, 231-289.

Dorozhkin, S. V. (2011). Calcium orthophosphates: occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications. *Biomatter*, 1(2), 121-164.

Gholampour, S., Zoorazma, G., & Shakouri, E. (2016). Evaluating the effect of dental filling material and filling depth on the strength and deformation of filled teeth. *Journal of Dental Materials and Techniques*, 5(4), 172-180.

Hribar, G., Žnidaršič, A., & Maver, U. (2012). Calcium Phosphate as a Biomaterial and its use in Biomedical Applications. *Phosphates: sources, properties and applications*. Nova Science Publishers, 43-81.

الاستنتاج

نستنتج من دراسة الأطياف المختلفة المسجلة للأشعة تحت الحمراء لعينات الأسنان المختلفة، تكون قمم حادة لعينات الأسنان المعالجة بمادة أورثو فوسفات الكالسيوم عند أطوال موجية مختلفة. وعند تحديد هذه القمم نجد أنها تتكون عند معاملات نفاذية صغيرة مقارنة بمعاملات النفاذية للأطياف المسجلة لعينات الأسنان التي لم تتم معالجتها بمادة أورثو فوسفات الكالسيوم. وهذا يدل على تكون روابط كيميائية جديدة نتيجة تفاعل مادة أورثو فوسفات الكالسيوم مع نسيج السن المعالجة، والذي يثبت جودة هذه المادة الحيوية في علاج فجوات الأسنان (Hribar, 2014).

المراجع

Chadwick, B. L., Dummer, P., Dunstan, F., Gilmour, A., Jones, R., Phillips, C., Rees, J., Richmond, S., Stevens, J., & Treasure, E. T. (1999). What type of filling? Best practice in dental restorations. *Quality in health care: QHC*, 8(3), 202.

- Rodríguez-Farre, E., Testai, E., Bruzell, E., De Jong, W., Schmalz, G., Thomsen, M., & Hensten, A. (2015). The safety of dental amalgam and alternative dental restoration materials for patients and users.
- Rubežić, M. Z., Krstić, A. B., Stanković, H. Z., Ljupković, R. B., Randelović, M. S., & Zarubica, A. R. (2020). Different types of biomaterials: Structure and application: a short review. *Advanced Technologies*, 9(1), 69-79.
- Sadiasa, A., Jang, D.-W., Nath, S. D., Seo, H. S., Yang, H. M., & Lee, B. T. (2013). Addition of hydroxyapatite to toothpaste and its effect to dentin remineralization. *Korean Journal of Materials Research*, 23(3), 168-176.
- Tillberg, A. (2008). *A multidisciplinary risk assessment of dental restorative materials* [Tandteknikerprogrammet].
- Yuan, H., & Groot, K. d. (2004). Calcium phosphate biomaterials: an overview. *Learning from nature how to design new implantable biomaterials: From biomineralization fundamentals to biomimetic materials and processing routes*, 37-57.
- Zhang, J., Wang, J., Ma, C., & Lu, J. (2020). Hydroxyapatite formation coexists with amyloid-like self-assembly of human amelogenin. *International journal of molecular sciences*, 21(8), 2946.
- King, N. M., Anthonappa, R. P., & Itthagarun, A. (2007). The importance of the primary dentition to children-Part 1: consequences of not treating carious teeth. *Hong Kong Practitioner*, 29(2), 52.
- Müller, F., Zeitz, C., Mantz, H., Ehses, K.-H., Soldera, F., Schmauch, J. r., Hannig, M., Hüfner, S., & Jacobs, K. (2010). Elemental depth profiling of fluoridated hydroxyapatite: saving your dentition by the skin of your teeth? *Langmuir*, 26(24), 18750-18759.
- Nobre, C. M. G., Pütz, N., & Hannig, M. (2020). Adhesion of hydroxyapatite nanoparticles to dental materials under oral conditions. *Scanning*, 2020.
- Oliveira, M., & Mansur, H. S. (2007). Synthetic tooth enamel: SEM characterization of a fluoride hydroxyapatite coating for dentistry applications. *Materials Research*, 10(2), 115-118.
- Pajor, K., Pajchel, L., & Kolmas, J. (2019). Hydroxyapatite and fluorapatite in conservative dentistry and oral implantology—A review. *Materials*, 12(17), 2683.
- Papagerakis, P & Mitsiadis, T. (2013). Development and structure of teeth and periodontal tissues. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 8th ed. New York: John Wiley & Sons.*
- Parida, P., Behera, A., & Mishra, S. C. (2012). Classification of Biomaterials used in Medicine.
- Patel, E., Choonara, Y., & Pillay, V. (2020). Dental biomaterials: challenges in the translation from lab to patient. *South African Dental Journal*, 75(1), 16-28.

Studying the possibility of using Calcium Orthophosphate as a promising dental treatment of caries by analyzing the Infrared spectrum of inspected teeth samples

Abubaker Ali Yousif Alghoul, Tarek Mohamed Fayez, Marow Moftah Ali Ahssona

Department of Physics, Faculty of Science, University of Sebha, Sebha, Libya

Received: 16 November 2021/ Accepted: 06 March 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.735>

Abstract: It is well known that Biomaterials play a significant role in the field of treatment of many dental diseases such as dental caries caused by bacteria. One of these significant biomaterials is calcium phosphate, formally known as hydroxyapatite. This study aims to investigate the effect of using hydroxyapatite on dental caries. In this research, some teeth samples infected by caries were studied experimentally. The collected teeth samples were taken from people of different age groups. After the chemical treatment of the teeth samples, at the laboratory, different percentages of calcium orthophosphate were added to each dental sample. Subsequently, these samples were subjected to spectroscopic analysis by infrared technique. The results showed the synthesis of new chemical bonds as a direct consequence of the interaction of calcium phosphate with the teeth tissue affected by dental caries. The absorption coefficients of the infrared, for different teeth samples, were at the following wavelengths: 2.93 μm , 9.52 μm , 0.1 μm , 0.1 μm . When comparing these wavelengths, the results show the formation of sharp peaks for dental samples treated with calcium phosphate. When identifying these peaks, the study showed that they form at small permeability coefficients compared to the permeability coefficients recorded for dental samples untreated with calcium phosphate.

Keywords: Dental caries, Calcium orthophosphate, Infrared spectrum.



التواجد الموسمي لذباب ثمار الخوخ، *Bactrocera zonata* وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) في

محطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس، ليبيا

نوال عبد السلام محفوظ*¹ وهدى مصطفى عمر الشببة²

¹ قسم علم الحيوان - شعبة الحشرات، كلية العلوم، جامعة طرابلس، ليبيا

² وزارة الزراعة والثروة الحيوانية والبحرية، طرابلس

تاريخ الاستلام: 17 ديسمبر 2021 / تاريخ القبول: 15 مارس 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.580>:Doi

المستخلص: ديناميكية عشائر الكثافة العددية لذبابة ثمار الخوخ (*Bactrocera zonata* (Saunders) وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، *Ceratitis capitata* (Wiedemann) للفترة الموسمية بين سبتمبر و ديسمبر 2020، باستخدام مصائد McPhail traps مع جاذب الذكور Methyl eugenol لذباب ثمار الخوخ و Trimedlure لذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط مع المبيد الحشري (CPS) Chlorpyrifos لكل منهما، وأخذ عينات المصائد بشكل دوري في بستانين الحمضيات والخوخ المتجاورين بمحطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس، ليبيا. سُجّلت معدلات الحشرات البالغة المأسورة في المصائد لكل بستان، وبلغت ذروة الكثافة العددية في شهر أكتوبر موسم الخريف. لوحظت اختلافات معنوية عالية في الكثافة العددية للأفتين وبين الأشهر والتداخل بينهما، وليس بين عوائل الحمضيات والخوخ الفاكهة المضيفة. الظهور والنشاط الموسمي للفترة بين أشهر سبتمبر وديسمبر من العام فاقت فيه الكثافة العددية لذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط عن ذباب ثمار الخوخ بنسبة زيادة تصل 27 - 4.5%. درجات الحرارة القصوى والدنيا المثلى المسجلة تتوافق مع متوسط الكثافة العددية عند مستوى الذروة للمصائد الجاذبة لذباب ثمار الخوخ (2790 فرداً) وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط (3450 فرداً) لشهر أكتوبر بمتوسط لدرجات الحرارة 23.5 م° بين، والمتوسط الشهري لكل من: الرطوبة النسبية المئوية الأكثر ملاءمة للأفتين 61.1%، كمية الأمطار 29 مم و 9.4 ساعات سطوع الشمس اليومي. بالإضافة لتزامن ذروة الكثافة العددية لذبابة ثمار الخوخ وذبابة البحر الأبيض المتوسط مع نضج الثمار في بستانين الحمضيات والخوخ بمنطقة الدراسة. يعتبر هذا البحث الأول من نوعه في ليبيا، والبيانات المتحصل عليها جاءت متوافقة مع العديد من الدراسات السابقة خاصة في بلدان منطقة البحر الأبيض المتوسط والبلدان المجاورة، والتي تساهم في الرقابة الموسمية لهذه الآفات والتخطيط المستقبلي لاستراتيجية برنامج في ظل مكافحة المتكاملة للآفات.

الكلمات المفتاحية: *Bactrocera zonata*، *Ceratitis capitata*، العوامل المناخية، ديناميكية العشائر، الحمضيات، الخوخ، المصائد، طرابلس، ليبيا

481 جنساً. هناك حوالي 500 نوع موصوف من

المقدمة

Bactrocera مُجمعة في 28 تحت فصيلة (Drew & Hancock, 2000) ذباب الفاكهة وعلى رأسها ذبابة فاكهة

يعتبر ذباب الفاكهة (Diptera: Tephritidae) من أكثر مجموعات الحشرات تنوعاً، تضم أكثر من 4000 نوعاً في

* نوال عبد السلام محفوظ، drmaghribi06@yahoo.com قسم علم الحيوان - شعبة الحشرات، كلية العلوم، جامعة طرابلس، ليبيا.

وتقرير وجودها في مصر عام 2004 (Abd El Samea & Fetoh, 2006)، 1924 (Elnagar et al., 2010) وفي ليبيا تم الإبلاغ عن دخولها في المنطقة الشرقية من كل: (De Meyer et al., 2007; White, 2006) EPPO, 2013, (2021)؛ وعام 2011 في السودان، وخطر محتمل لغزو منطقة جنوب الصحراء الكبرى (Salah et al., 2012) (EPPO, 2021).

ذباب الفاكهة لفصيلة Tephritidae موزعة في جميع أنحاء البحر الأبيض المتوسط والدول المجاورة إلى ليبيا، مسبب كبير في الأضرار الاقتصادية لمحاصيل الفاكهة والخضروات. تختلف تقديرات الأضرار الاقتصادية التي لحقت ببلدان حوض البحر الأبيض المتوسط إذا لم يتم تطبيق تدابير الرقابة ضد ذبابة فاكهة البحر المتوسط، تقدر الخسائر السنوية للفاكهة بحوالي 365 مليون دولار أمريكي (Enkerlin & Mumford, 1997).

الضرر الذي تسببه ذبابة فاكهة البحر المتوسط في شمال إفريقيا من أهم الأضرار الاقتصادية في هذه المنطقة. في الجزائر وليبيا والمغرب وتونس، تصل الخسائر الاقتصادية إلى نحو 60-90 مليون دولار سنويًا بالإضافة إلى تكلفة العلاجات بالمبيدات الحشرية تقريبًا بين 7 - 10 مليون دولار أمريكي (Delrio & Cocco, 2012). الخسائر المالية السنوية على الحمضيات والخوخ وثمار الصيف قدرت بنحو 5.8 مليون دولار أمريكي في المغرب (Aboussaid et al., 2009). وتم إنفاق أكثر من 90% من هذا المبلغ على المبيدات الحشرية. أما في تونس تباينت الأضرار من 1 إلى 20% مع تدابير السيطرة، ولكن تصل إلى 100% بدون مكافحة (Boulahia-Kheder et al., 2012) مقارنة في مصر، وصلت الإصابة بالفاكهة بواسطة ذبابة ثمار الخوخ إلى 30-40 بتكلفة سنوية تقديرية للأضرار قدرها 224 مليون دولار أمريكي أو 177 مليون دولار أمريكي Mahmoud et al., 2017) (EPPO, 2005; al., 2017).

التشكل في ذبابة ثمار الخوخ من النمط الكامل أي البيض -

البحر الأبيض المتوسط *Ceratitis capitata* (Wiedemann) وذبابة ثمار الخوخ *Bactrocera zonata* (Saunders) السبب الجوهري في قيود الحجر الزراعي التي يفرضها العديد من البلدان لمنع دخول مثل هذه الآفات إليها، وتؤثر بشكل كبير على الاقتصاد التجاري في الإنتاج من الفواكه والخضراوات في العالم. التغييرات في الظروف البيئية ونمط الزراعة في البلدان المنتجة للفواكه والخضراوات في العالم أدت إلى تغييرات في تكوين الأنواع وديناميكية العشائر لذباب الفاكهة (Vargas et al., 1997).

ذبابة ثمار الخوخ (Peach Fruit Fly (PFF) (*Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae)، تتميز بالأجناس المرادفة: *Bactrocera*, *Chaetodacus*, *Dacus*, *Dasyneura*, *Rivellia*, *Strumeta* ونحو 12 نوع آخر مرادف. موطن ذبابة ثمار الخوخ جنوب شرق آسيا. تم الإبلاغ عنها لأول مرة من البنغال (الهند) ومنتشرة الآن في الهند وباكستان وفي جميع أنحاء جنوب شرق آسيا. بالإضافة إلى أكثر من 20 دولة في آسيا وإفريقيا. المخاطر السريعة المحتملة لدخولها إلى منطقة جديدة تظهر من خلال زيادة التجارة الدولية والسياحية، وأثر التغييرات في المناخ والإصلاح الزراعي، والتكيف والانتشار وتعدد العوائل الغذائية. بالإضافة للتكاثر والحيوية العالية في عدد الأجيال السنوية، والقدرة على الطيران والانتشار على مدار السنة (Kapoor, 1993; Mir et al., 2014 ; EPPO, 2021).

تقدر العوائل المضيفة لذبابة ثمار الخوخ في العالم نحو 60 عائل تشمل الفواكه والحمضيات والزيتون والخضروات المتنوعة وعلى رأسها ثمار الخوخ والحمضيات (USDA, 2021). يتم تصنيف ذبابة ثمار الخوخ في قائمة A1 للآفات الحجرية الهامة في المنظمة الأوروبية والمتوسطية لوقاية النباتات EPPO، يترتب على ذلك الأضرار الاقتصادية والقيود الحجرية وتدابير الاستئصال والمكافحة المتكاملة لهذه الآفة. توجد ذبابة ثمار الخوخ في عدة دول في شبه الجزيرة العربية. أما في إفريقيا وجدت سنة 1998 في شمال إفريقيا بمصر،

ومراحل الحياة وطريقة الاصطياد. من بين هذه المواقع، كان 125 موقعًا معلومات عن الشهر الذي تم فيه تسجيل ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط. تم استخدام التقارير المسجلة بين 1980 حتى 2014. أُعتمدت ثلاث خرائط موسمية: يناير - أبريل؛ مايو - أغسطس؛ سبتمبر - ديسمبر، وتحقيق النتائج العشوائية عالية الدقة، مما يشير إلى تمييز جيد بين المناطق المناسبة مقابل المناطق غير المناسبة لهذه الآفة (Szyniszewska & Tatem, 2014) جنس *Ceratitis* مستوطن في إفريقيا الاستوائية يحتوي على قرابة 65 نوعاً أحدها *C. capitata* المعروف باسم "ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط" الأكثر انتشاراً في فصيلة *Tephritidae*، مع توزيع عالمي الذي يهاجم أكثر من 350 نوعاً نباتياً من الفواكه والخضراوات ومسجلة في نحو 132 دولة، وهي ذبابة فاكهة استوائية متعددة الغذاء عالية التكيف من 65 عائلة مختلفة (Papadopoulos, 1999; Papadopoulos et al., 2001; White & Elson-Harris, 1992; USDA, 2021).

تبين الدراسات أن درجة الحرارة (القصى والدنيا) تتراوح بين 15 و30 درجة م° أظهرت تأثيراً معنوياً عالياً مقارنة بالرطوبة المئوية النسبية على التقلبات العشوائية في ذباب ثمار الخوخ في الهند وكانت بمعنوية عند مستوى كل من 5 و1%. درجات الحرارة التي تقل عن 15 درجة م° قاتلة لنمو وتطور ذباب ثمار الخوخ وخلال الفترة (ديسمبر ويناير)، كانت أعداد ذبابة ثمار الخوخ منخفضة جداً (Sanjeev et al., 2008). تشير الدراسات إلى أهمية ربط سيناريوهات تغير المناخ والنموذج المعتمد على درجة الحرارة باستخدام البرنامج المعد للتأثيرات المستقبلية على التوزيع وإمكانية الضرر لذبابة ثمار الخوخ على مستويات مختلفة في الهند. ستؤدي التغيرات المتوقعة في درجات الحرارة في المستقبل بسبب تغير المناخ إلى زيادة نشاط ذبابة ثمار الخوخ مع الأجيال المتقدمة، وبالتالي تؤدي إلى زيادة المساحة المناسبة تحت هذه الآفة في الهند. والعوامل الرئيسية التي تحد من توسع نطاق هذه الآفة هي الإجهاد البارد والساخن والجاف نتيجة تغير المناخ

اليرقة - العذراء - الطور البالغ (EPPO, 2013). يستقر ذباب ثمار الخوخ على أوراق العائل والأشجار الكثيفة والأعشاب والشجيرات بالقرب من المضيف. خلال ساعات النهار الأكثر دفئاً يسرح ويطيير الذباب بنشاط. البيض واليرقات محمية داخل العائل، وتوفر التربة مأوى جيداً للعذارى. تمتلك ذبابة ثمار الخوخ القدرة على التكيف على مناخات استوائية خارجية ومع الظروف المعتدلة، على مدار العام عندما تتجاوز درجات الحرارة 12 م° والقدرة على إكمال عدة أجيال كل عام، وتداخل الشتاء في المناخات المعتدلة (Mohamed, 2004; Hashem et al., 2001). يتم وضع بيض ذبابة ثمار الخوخ تحت قشرة ثمار الخوخ المضيف. يمكن للأنثى البالغة أن تضع قرابة 564 بيضة في حياتها. تتغذى أعمار اليرقات الثلاث داخل الثمار. يحدث التشرنق في التربة تحت مظلة العائل عند 24 ± 3 درجة م° و70% رطوبة نسبية. المراحل غير الناضجة لذبابة ثمار الخوخ لا تتطور عند 15 درجة م° أو أقل، ودرجة الحرارة المثلى بين 25-30 درجة مئوية. تخرج الحشرات البالغة من العذارى، وقد تعيش الإناث لمدة 82-112 يوماً، وتعيش الذكور لمدة 66.6-105 يوماً، اعتماداً على العائل (Draz, 2016; El-Gendy & Nassar, 2014; Qureshi et al., 1993).

التشكل في ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط من النمط الكامل أي البيض - اليرقة - العذراء - الطور البالغ. تُعد ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط من أكثر الآفات الضارة اقتصادياً في العالم. تُعرض ديناميكيات العشائر الموسمية والظروف البيئية المناسبة لوفرة العشائر ليست ثابتة على مدار العام في معظم الأماكن. تم إجراء بحث مرجعي موسع للحصول على البيانات الأكثر شمولاً عن التواجد التاريخي والمكاني والزمني للآفة على مستوى العالم (Meyer, 2018) تحتوي قاعدة البيانات التي تم إنشاؤها على 2328 مدخلاً فريداً لتحديد المواقع الجغرافية على مواقع حصر ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط من 43 دولة وما يقرب من 500 موقع محدد، بالإضافة إلى معلومات عن العوائل

الحرارة المرتفعة 50 م°، والتكيف معها. ومقارنة بمصر، تبلغ الكثافة العددية ذروتها صيفا، وقد تمتد فترات الإصابة حتى الربيع مع ارتفاع درجات الحرارة (Boulahia-Kheder, 2021; Draz, 2016).

الدراسات والبحوث عن ذبابة ثمار الخوخ في ليبيا تعتبر نادرة جداً. أظهرت النتائج السابقة أن التواجد الموسمي لذبابة ثمار الخوخ خلال السنتين (2005 . 2006) أن بداية ظهور ذبابة ثمار الخوخ من منتصف الشهر الثالث إلى الشهر السابع بكثافة عددية قليلة نظرا لارتفاع درجات الحرارة المثوية صيفا عند متوسط 29م° وقللة الأمطار والرطوبة النسبية المثوية، وبلغت ذروة تواجدها لأشهر 8 - 11 من السنة عند متوسط درجة حرارة 24.2° . وتأثرت ذبابة ثمار الخوخ بدرجات الحرارة المنخفضة، وسُجل أقل متوسط كثافة عددية عند متوسط درجة حرارة 16.6 م°. وتعتبر هذه الدراسة الأولى من نوعها في ليبيا وظهور ذبابة ثمار الخوخ للمرة الأولى في ليبيا سنة 2005 (الزناتي، 2010 - غير منشور)، والإبلاغ عن وجودها في ليبيا لأول مرة عام 2007 (Kafu, 2007). مقارنة بالدراسات والبحوث لذبابة فاكهة البحر المتوسط في ليبيا ركزت على الدراسات الوراثية، العوائل المضيفة، عُقم الذكور، أشكال المصائد والجوانب الغذائية والفرومونية، والمكافحة. أما دراسات ديناميكية العشائر البيئية والتذبذب والظهور الموسمي وتداخلها مع الظروف المناخية وتغير المناخ، والمقارنة بين عشائر ذباب الفاكهة قد تكون نادرة (Black, 1987; Black et al., 1996; Ebrahim, 1989; Kafu, 1992; IAEA, 1996).

تتناول هذه الدراسة ديناميكية عشائر ذبابة ثمار الخوخ، *B. zonata* الغازية والنشطة على مدار السنة خاصة صيفا وأوائل الخريف، وتواجد أصناف فاكهة ثمار الخوخ المتأخرة النضج وعوائل الفاكهة المصاحبة لبساتين الحمضيات في فترة الدراسة وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، *C. capitata* في بساتين الحمضيات والوخوخ المنتجة بمحطة الأبحاث الزراعية، جامعة طرابلس، ليبيا. والأهداف الأساسية تحديد

(Choudhary et al., 2021; Ni et al., 2012). بالمقارنة تقلبات عشائر ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط تختلف من سنة إلى أخرى في نفس المنطقة، وكذلك بين مناطق مختلفة في نفس السنة، في البحر الأبيض المتوسط ببساتين الحمضيات والوخوخ. بعض المناطق يبلغ فيها عدد الأطوار البالغة ذروته نهاية الربيع أو في بداية الصيف، كما لوحظ في جزيرة كريت (Michelakis, 1992). بينما مناطق أخرى تتطور فيها عشائر ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط طوال الصيف والوصول إلى أعلى المستويات، كما في سردينيا وصقلية (إيطاليا) (Benfatto et al., 1989; Lentini & Ortu, 2005). عدة عوامل تعتبر مسؤولة بشكل مباشر أو غير مباشر عن هذه الاختلافات في عشائر ذبابة ثمار البحر الأبيض المتوسط منها: المناخ، الوفرة، التسلسل الزمني للمضيف المناسب للفاكهة على مدار العام، والتطبيقات الزراعية لوقاية المحاصيل (Katsoyannos et al., 1998)

ذبابة ثمار الخوخ أُدخلت في بلدان شمال إفريقيا، تونس والمغرب والجزائر، والقدرة على التكيف والتطور بكثافة عالية كما تبين من خلال الدراسات السابقة. أما في مصر قد تتفوق ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط على ذبابة ثمار الخوخ وتشكل أضرار اقتصادية في إنتاج الفاكهة، وتعتبر ذبابة ثمار الخوخ أكثر عدوانية من ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط وتتسبب في خسائر اقتصادية فادحة في العوائل الهامة في هذه البلدان، التي تقتصر فيها مكافحة ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط بشكل كاف. ذبابة ثمار الخوخ وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط تتميز بتمديد فترة ومناطق الإصابة حسب الاستجابة لارتفاع درجة حرارة المناخ وعوائل الفاكهة. الفترة الحرجة لتكاثر ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط هي الخريف في أكتوبر ونوفمبر في المغرب وتونس والصيف (يونيو ويوليو). قد تصبح مواسم الربيع وأوائل الصيف أكثر أهمية فيما يتعلق بأضرار ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط بسبب ارتفاع درجة الحرارة. وفي الصيف، يمكن أن تنخفض الكثافة بسبب الحرارة العالية التي يمكن أن تتجاوز درجات

مزودة كل منها بالجاذب الجنسي Trimedlure والمبيد الحشري. وُزعت المصائد عشوائيا في كل بستان وتركيب المصائد على أفرع الأشجار على ارتفاع يتراوح بين 1.5 - 2 م من الأرض. فُحصت المصائد أسبوعيا وذلك لتسجيل العدد المصطاد من الذباب في كل بستان، وتترك الفخاخ على نفس الأشجار المختارة خلال الموسم من أول شهر سبتمبر إلى نهاية شهر ديسمبر مع استبدال مكونات المصائد شهريا من العام 2020. أُخذت العوامل الجوية من الموقع العالمي للمناخ لسنة 2020 WorldClim database.

التحليل الإحصائي: قُيِّمت البيانات بواسطة تحليل التباين ANOVA وتمت مقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبارات الانحراف المعياري (LSDs) وفقاً لبرنامج CoStat 1990.

النتائج

يتناول جدول 1. توزيع العوامل المناخية لدرجات الحرارة المئوية والرطوبة النسبية القصوى والدنيا ومتوسط. بالإضافة لكمية سقوط الأمطار مم وساعات سطوع الشمس اليومية في منطقة الدراسة بمحطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس على مدار سنة 2020 (World Clim database- <http://www.worldclim.org>).

العوامل المناخية والرصد الموسمي لنوعي ذباب الفاكهة بالمصائد الفرومونية الجاذبة للبالغين للفترة بين أشهر سبتمبر وديسمبر 2020، للمساهمة في التخطيط المستقبلي لاستراتيجية رقابة سليمة في ظل المكافحة المتكاملة للآفات.

المواد وطرق البحث

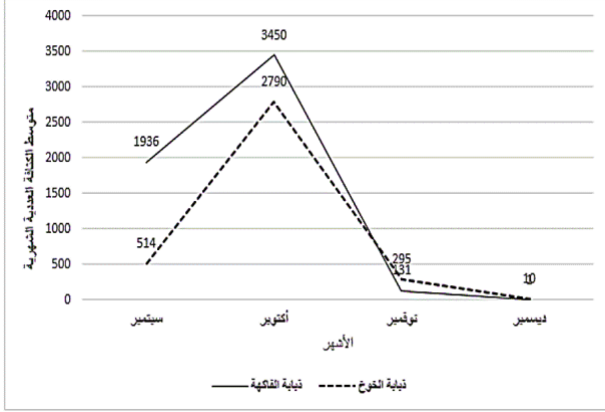
موقع الدراسة: أجريت هذه الدراسة بمحطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس على مساحة قرابة 5 هكتارات، وتتمتع بمناخ معتدل مع تغيرات مناخية موسمية من درجات الحرارة صيفا وهطول الأمطار والرطوبة النسبية المئوية ودرجات الحرارة المنخفضة شتاء و سطوع الشمس. كما تتميز ببساتين الفاكهة وأهمها الحمضيات، والخوخ، وزراعة الخضروات.

مراقبة الحشرات البالغة: تم وضع عدد 24 من مصائد McPhail traps البلاستيكية الصفراء في منطقة الدراسة في بساتين أشجار فاكهة الخوخ والحمضيات العوائل المضيفة. لجمع عينات دراسة ديناميكية العشائر تم تخصيص عدد 12 مصيدة لذبابة ثمار الخوخ، 6 منها في بستان الخوخ و6 في بستان الحمضيات مزودة كل منها بجاذب الذكور Methyl Eugenol (ME) والمبيد الحشري Chlorpyrifos (CPS). وبالمثل تم تعليق 12 مصيدة لذبابة ثمار فاكهة البحر الأبيض المتوسط، 6 منها في بستان الخوخ و6 في بستان الحمضيات

يتناول جدول (1). توزيع العوامل المناخية لدرجات الحرارة المئوية والرطوبة النسبية القصوى والدنيا ومتوسط. بالإضافة لكمية سقوط الأمطار مم وساعات سطوع الشمس اليومية في منطقة الدراسة بمحطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس على مدار سنة 2020 (WorldClim database - <http://www.worldclim.org>)

المتغيرات	يناير	فبراير	مارس	أبريل	مايو	يونيو	يوليو	أغسطس	سبتمبر	أكتوبر	نوفمبر	ديسمبر
متوسط الحرارة م°	13.4	13.7	16.1	18.9	21.8	24.9	27.1	27.7	26.7	23.7	19.1	14.9
الحرارة الدنيا م°	10.6	10.6	12.3	14.7	17.8	20.7	22.9	23.8	23.2	20.5	16.1	12.3
الحرارة القصوى م°	16.5	17.1	20	23.3	26.2	29.3	31.6	32.1	30.7	27.5	22.5	17.9
الأمطار مم	83	55	23	13	5	0	0	1	9	29	58	78
الرطوبة %	63	61	59	56	56	57	60	62	60	61	59	61
أيام ممطرة	7	5	3	2	1	0	0	0	1	3	6	8
ساعات الشمس اليومية	7.8	8.4	9.8	11	11.8	12.4	12.3	11.6	10.6	9.4	8.4	7.4

المتوسط. وأظهرت نتائج هذه الدراسة وجود فرق معنوي LSD لكل من أشهر فترة الدراسة الحقلية بين سبتمبر - ديسمبر، 2020؛ وبين ذبابة ثمار الخوخ وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط. وتبين أيضا لا فرق معنوي للمتغير LSD بين بستان الحمضيات والخبوخ (جدول 2).



شكل (1). التواجد الموسمي لذبابة ثمار الخوخ، *B. zonata* وذبابة ثمار فاكهة البحر الأبيض المتوسط، *C. capitata* في محطة أبحاث كلية الزراعة جامعة طرابلس، ليبيا، 2020.

جدول (2). متوسط الكثافة العددية للمتغير المعنوي (LSD) بين ذبابة ثمار الخوخ، *B. zonata* وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، *C. capitata* والأشهر والبساتين في محطة أبحاث كلية الزراعة بجامعة طرابلس، ليبيا، 2020.

المتغيرات	متوسط الكثافة العددية		الشهر
	<i>B. zonata</i>	<i>C. capitata</i>	
الأشهر	514± ^b 48	1936± ^b 299	سبتمبر
	2790± ^a 384	3450± ^a 388	أكتوبر
	295± ^c 135	131± ^c 33	نوفمبر
	103± ^d	1± ^c 0	ديسمبر
البستان	1232± ^a 974	1454± ^a 1375	لوزيات
	1047± ^a 830	1485± ^a 1385	حمضيات
	1134± ^b 902	1454± ^a 1380	نوع ذباب الفاكهة

الزراعة - جامعة طرابلس بوجود فرق معنوي عالٍ بين كل من الأشهر $F=117.923^{***}$ وبين ذباب ثمار الخوخ وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط $F=1047.296^{***}$ والتداخل

اختلف متوسط الكثافة العددية للحشرات البالغة بين مصائد ذبابة ثمار الخوخ بواسطة الجاذب الجنسي للذكور Methyl eugenol وبين ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط الجنسي Trimedlure في بساتين الحمضيات والخبوخ بمحطة تجارب كلية الزراعة بطرابلس تحت نفس الظروف البيئية المحاطة.

بينت النتائج الزيادة في الكثافة العددية لذبابة ثمار الخوخ 514 فرداً، وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط 1936 فرداً في شهر سبتمبر، يتبعها ذروة ارتفاع حاد في شهر أكتوبر بمتوسط كثافة عددية 2790 و3450 فرداً لذبابة ثمار الخوخ وذبابة ثمار فاكهة البحر الأبيض المتوسط على التوالي. لوحظ انحدار واضح في متوسط الكثافة العددية لكلا الأفتين في شهر نوفمبر لنفس السنة لذبابة ثمار الخوخ 31 فرداً وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط 295 فرداً، وزيادة طفيفة في متوسط الكثافة العددية 10 فرداً بينهما بداية شهر ديسمبر (شكل 1).

تؤثر متغيرات العوامل الكثافة العددية البيولوجية والفيزيائية في حياتية ذبابة ثمار الخوخ وذبابة فاكهة البحر الأبيض

أظهر اختبار تحليل التباين ANOVA لنوع البستان، الأشهر، ذبابة ثمار الخوخ وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، والتداخلات بينهم بمحطة تجارب مزرعة كلية

بين كل منهم $F=67.879***$. مقارنة بينت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين بساتين الحمضيات والخوخ، والتداخل بين كل من (نوع البستان x الأشهر)، نوع (كلا الأفتين x الأشهر)، وكذلك (نوع البساتين x نوع ذباب الفاكهة). وبعلاقة تحليل الانحدار $R^2 = 0.978$ (جدول 3).

جدول (3). تحليل التباين ANOVA لنوع البستان، الأشهر، ذبابة ثمار الخوخ وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، والتداخلات بينهم بمحطة أبحاث كلية الزراعة - جامعة طرابلس، 2020.

مصدر المتغيرات	SQ	df	X ²	F	Sig.
نوع البستان	109012.760	1	109012.760	2.349	.129
نوع ذباب الفاكهة	5471672.510	1	5471672.510	117.923	***
الأشهر	145784199.365	3	48594733.122	1047.296	***
نوع البستان * نوع ذباب الفاكهة	144227.510	1	144227.510	3.108	.082
نوع البستان * الأشهر	105776.865	3	35258.955	.760	.520
نوع ذباب الفاكهة * الأشهر	9448757.615	3	3149585.872	67.879	***
نوع البستان * نوع ذباب الفاكهة	431862.281	3	143954.094	3.102	.031
الخطأ	3712015.833	80	46400.198		
المجموع	165,639,387.354	95			

R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .973)

المناقشة

ثمار الخوخ وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط مع بداية نوفمبر 131 و 295 فرداً على التوالي، وانخفاض هائل لكلاهما بشكل معنوي مع نهاية ديسمبر. وهذا الظهور والنشاط الموسمي لهذه الفترة من العام في ديناميكية عشائر ذباب الفاكهة *B. zonata*، *C. capitata*، التي فاقت فيه متوسط الكثافة العددية لذبابة ثمار فاكهة البحر الأبيض المتوسط، بنسبة زيادة تصل 27، 8، 4.5، 0.0 % لأشهر السنة سبتمبر، أكتوبر، نوفمبر، ديسمبر على التوالي (شكل 1). مقارنة فإن هذه النتائج جاءت مماثلة مع عددا من الدراسات السابقة منها: (Ali, 2016; Ghanim, 2017; Jitendra et al., 2012; Papadopoulos et al., 2001)

درجات الحرارة القصوى والدنيا المثلثي المسجلة التي تتوافق مع متوسط الكثافة العددية عند مستوى الذروة للمصائد الجاذبة لذبابة ثمار الخوخ (2790 فرداً) وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط (3450 فرداً) لشهر أكتوبر بمتوسط 23.5 م° بين (20.5 - 27.5 م°)، والمتوسط الشهري لكل من: الرطوبة النسبية المئوية الأكثر ملاءمة للأفتين 61٪، كمية المطر 29

تُظهر نتائج الدراسة ببساتين محطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس لسنة 2020 تذبذب موسمي مميز للكثافة العددية لذبابة ثمار الخوخ *B. zonata* وذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط *C. capitata*، باستخدام مصائد McPhail traps الصفراء البلاستيكية مع المبيد Chlorpyrifos (CPS) والجاذب الجنسي للذكور Methyl Eugenol (ME) و الجاذب الجنسي لذبابة ثمار الخوخ، والجاذب الجنسي Trimedlure لذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط في البساتين منذ بداية شهر سبتمبر حتى نهاية ديسمبر. بين الحصر الموسمي أن متوسط الكثافة العددية في الزيادة أول شهر سبتمبر 514 فرداً ذبابة ثمار الخوخ و1936 فرداً ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط، وزاد عدد الذباب المأسور لكل نوع خلال سبتمبر وبلغ ذروته الأول من أكتوبر 2790 فرداً ذبابة ثمار الخوخ و3450 فرداً ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط. لوحظ انحدار شديد في الكثافة العددية لكل من ذباب

الكثافة العددية في غزو بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط والدول الإفريقية والتأثير الاقتصادي على إنتاج الفاكهة وتصديرها (Boulahia-Kheder, 2021).

تعكس هذه الدراسة على قلة البحث والدراسة لغزو ذباب ثمار الخوخ عدا تسجيلها لأول مرة في ليبيا سنة 2007 (Kafu, 2007)، مع العلم وجود دراسة بحثية كاملة لم يتم نشرها وتواجدها وعوائلها بطرابلس عام 2006 (الزناتي، 2010). أما بالنسبة لذباب فاكهة البحر الأبيض المتوسط توجد منشورات وتقارير (المغربي، 2002؛ بن كافو، 2003) ودراسات سابقة في ليبيا لم يتم التطرق إليها في هذه الدراسة المرجعية منها (Black, 1987; Black et al., 1996; Boulahia-Kheder, 2021; Ebrahim, 1989; Kafu, 1999; Black, et al., 1992).

توفر النتائج الحالية حافزاً لوضع تدابير متكاملة لإدارة ومكافحة هذه الآفات، وأيضاً لتخطيط تدابير الحجر الزراعي الممكنة عبر مختلف المنافذ والحدود البرية للحد من دخول وغزو وانتشار ذباب ثمار الخوخ وذباب فاكهة البحر الأبيض المتوسط والأضرار الاقتصادية لليبيا.

الاستنتاج

استناداً إلى نتائج دراستنا الحالية باستخدام مصائد McPhail traps المزودة كل منها بجاذب الذكور Methyl eugenol لذباب ثمار الخوخ *B. zonata* والجاذب الجنسي Trimelure لذباب فاكهة البحر الأبيض المتوسط *C. capitata* في منطقة محطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس. عادة موسمية هاتين الآفتين ما تظهر في يونيو وتزداد إلى أعداد كبيرة في سبتمبر، ويتناقص في أواخر نوفمبر وتخفي تماماً في نهاية شهر ديسمبر تقريباً باختلافات معنوية عالية، التي يتم تحديدهما في الغالب من خلال توفر ووفرة المضيف المفضل الخوخ والحمضيات والفواكه الأخرى المصاحبة، والظروف البيئية وخاصة درجة الحرارة والرطوبة والأمطار وساعات سطوع الشمس.

مم، 9.4 ساعات سطوع الشمس اليومي. بالإضافة لتزامن ذروة الكثافة العددية لذبابة ثمار الخوخ وذباب البحر الأبيض المتوسط مع نضج الثمار في بساتين الحمضيات والخوخ بمنطقة الدراسة (جدول 1. والشكل 1). واتضح من التقارير المسجلة من عام 1980 حتى 2014 وانتاج خرائط موسمية لذبابة فاكهة ثمار البحر الأبيض المتوسط: يناير - أبريل؛ مايو - أغسطس؛ سبتمبر - ديسمبر، وتحقيق النتائج العشوائية عالية الدقة المميزة للمناطق المناسبة في العالم لهذه الآفة، وجاء متوافقاً مع هذه الدراسة حيث كان النشاط والتواجد الموسمي في الفترة بين سبتمبر - ديسمبر وبلغت ذروة الوفرة العددية في شهر أكتوبر (Szyniszewska & Tatem, 2014). والنتائج الحالية لهذه الدراسة تتماشى إلى حد كبير مع التقارير والدراسات السابقة بالنسبة للظهور والتواجد الموسمي لذباب ثمار الخوخ *B. zonata*، والدراسة البحثية المقارنة المتلازمة مع ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط *C. capitata* بمحطة التجارب، كلية الزراعة، جامعة طرابلس وتعتبر من أوائل الدراسات على نطاق ليبيا. استناداً للدراسة المرجعية الحديثة لاستعراض أنواع ذباب فاكهة الرئيسية في شمال إفريقيا: الصفات الحيوية والبيئية والمستقبل والاتجاهات وإلى المنشورات من تونس والجزائر والمغرب ومصر هناك نوعان في هذه البلدان *B. zonata* و *C. capitata* (في مصر والسودان وليبيا). أما في منطقة المغرب العربي (تونس والجزائر والمغرب)، تُعد ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط الآفة الرئيسية على الحمضيات وفاكهة الصيف، بينما في مصر قد تفوقت عليها ذبابة ثمار الخوخ الغازية. أما في المناطق المعتدلة (تونس والمغرب) والمناطق الأكثر دفئاً (مصر)، ينشط تواجد النوعين من ذباب الفاكهة على مدار السنة تقريباً وبنحو 10 أجيال / سنة مع تزامن العوائل المتاحة. ويُتنبأ توسيع نطاق العوائل المضيفة وفترة الإصابة إلى الربيع - أوائل الصيف وحتى الشتاء مع زيادة درجات الحرارة العالمية. ويتوقع في ظل المناخ الحالي لذباب ثمار الخوخ *B. zonata* القدرة على التكيف مع ارتفاع درجة الحرارة والإمكانات الحيوية فرصة التوسع والانتشار والزيادة في

الزناتي، ع. أ. م. 2010. دراسة موسمية وكفاءة المصائد الجاذبة لذبابة ثمار الخوخ *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae) بضواحي طرابلس - ليبيا. رسالة الإجازة العالية الماجستير، قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة الفاتح. 59 ص.

Abd El Samea, S., & Fetoh, B. (2006). New record of *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae) on potatoes in Egypt. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 84(1), 61 .

Aboussaid, H., El Messoussi, S., & Oufdou, K. (2009). Activité insecticide d'une souche marocaine de *Bacillus thuringiensis* sur la mouche méditerranéenne: *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1), 160-172 .

Ali, M. A. (2016). Effect of temperature on the development and survival of immature stages of the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). *African Journal of Agricultural Research*, 11(36), 3375-3381 .

Benfatto, D., Longo, S., & Siscaro, G. (1989). Four year's comparative analysis on population dynamics trend of *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera, Tephritidae) on citrus. *Proceedings, Symposium: Fruit Flies of Economic Importance* ,

]Record #420 is using a reference type undefined in this output style[.

Black, M., Alhamid, F., Alsol, E., Kagigi, M., Kawan, F., & El Busafi, N. (1996). *Standardization of medfly trapping in the Libyan Arab Jamahiriya during 1987-1991* .

تظهر النتائج أيضاً، الحاجة إلى مزيد من الدراسة فيما يتعلق بالبيولوجية، وفترات الشتاء، والسلوك في بساتين طرابلس وضواحيها، ولا سيما العلاقة مع توافر العوائل المضيفة ووفرتهم، والتوزيع الجغرافي ليتم دمجها مع البيانات المناخية ووضع تنبؤات لديناميكيات الوفرة العددية كحجر أساس للمكافحة المتكاملة وكمؤشرات مهمة للحجر الزراعي لهاتين الأفتين الاقتصادييتين.

الشكر والعرفان

نتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى إدارة محطة أبحاث كلية الزراعة، جامعة طرابلس للسماح بإجراء تجارب البحث فيها. الشكر موصول لكل من أ. د. حسن أحمد المغربي قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة طرابلس بالمراجعة العلمية للبحث، وإلى د. علي أمين أحمد كافو باحث علوم الحشرات، مركز البحوث التقنية، طرابلس، والمندوب الدائم، بعثة ليبيا الدائمة، منظمة الأغذية والزراعة ووكالات الأمم المتحدة بروما بمدنا بالمعلومات والمصائد الخاصة والفرومونات الجاذبة المعتمدة والمبيد الحشري.

كما نتقدم بالشكر للأخوات آمنه لطفي الدويمي، هوازن محمد بن سليمان، آية خير الله الباجوري، خولة محمد العجيل، عتاب الطاهر الهلالي قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة طرابلس بالمساهمة في الدراسة الحقلية والمعملية، وإلى د. حنان الشتيوي قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة طرابلس القيام بالتحليل الإحصائي لهذا البحث.

المراجع

بن كافو، علي. 2003. ذبابة ثمار الخوخ *Bactrocera zonata* (Saunders). نشرة إرشادية، مركز البحوث

الزراعية والحيوانية. طرابلس - ليبيا.

المغربي، حسن أحمد. 2002. ذبابة حوض البحر الأبيض المتوسط *Ceratits capitata* والفلاح الليبي. المجلة

الليبية للعلوم. جامعة الفاتح- كلية العلوم.

- Drew, R. A., & Hancock, D. L. (2000). Phylogeny of the tribe Dacini (Dacinae) based on morphological, distributional, and biological data. In *Fruit Flies (Tephritidae)* (pp. 509-522). Crc Press .
- Ebrahim, A. (1989). Effectiveness of different insecticides and number of sprays needed for the control of medfly, *Ceratitis capitata*. *Plant Protection Research, Secretary of Agriculture, Tripoli, Libya*, 5-16 .
- El-Gendy, I. R., & Nassar, A. M. (2014). Delimiting survey and seasonal activity of peach fruit fly, *Bactrocera zonata* and Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: tephritidae) at El-Beheira Governorate, Egypt. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 7(2), 157-169.
- Elnagar, S., El-Sheikh ,M., Hashem, A., & Afia, Y. (2010). Recent invasion by *Bactrocera zonata* (Saunders) as a new pest competing with *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in attacking fruits in Egypt. *Asp. Appl. Biol*, 104, 97-102 .
- Enkerlin, W., & Mumford, J. (1997). Economic evaluation of three alternative methods for control of the mediterranean fruit fly (diptera: Tephritidae) in israel, palestinian territories, and jorda. *Journal of Economic Entomology*, 90(5), 1066-1072 .
- Ghanim, N. (2017). Population fluctuations of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied.) with respect to some ecological factors in peach orchards. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 8(11), 555-559 .
- Hashem, A., Mohamed, S., & El-Wakkad, M. (2001). Diversity and abundance of Mediterranean and peach fruit flies (Diptera: Tephritidae) in different
- Boulahia-Kheder, S. (2021). Review on major fruit flies (Diptera: Tephritidae) in North Africa: Bio-ecological traits and future trends. *Crop Protection*, 140, 105416 .
- Boulahia-Kheder, S., Loussaïef, F., Ben Hmidène, A., Trabelsi, I., Jrad, F., Akkari, Y., & Fezzani, M. (2012). Evaluation of two IPM programs based on mass trapping against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* on citrus orchards. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 7(1), 55-68 .
- Choudhary, J. S., Mali, S. S., Naaz, N., Malik, S., Das, B., Singh, A., Rao, M. S., & Bhatt, B. (2021). Spatio and temporal variations in population abundance and distribution of peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) during future climate change scenarios based on temperature driven phenology model. *Climate Risk Management*, 32, 100277 .
- De Meyer, M., Mohamed, S., & White, I. M. (2007). Invasive fruit fly pests in Africa. Website: <http://www.africamuseum.be/fruitfly/AfroAsia.htm> .
- Delrio, G., & Cocco, A. (2012). The peach fruit fly, *Bactrocera zonata*: A major threat for Mediterranean fruit crops? XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium on the 940 ,
- Draz, K. A. (2016). Population activity of peach fruit fly *Bactrocera zonata* (Saunders)(Diptera: Tephritidae) at fruits orchards in Kafer El-Shikh Governorate, Egypt. *Arthropods*, 5(1), 28 .

- capitata Wiedemann in Crete .*Isr J Entomol*, 25, 177-180 .
- Mir, S. H., Mir, G., Haji, S., & Showket, A. D. (2014). First report of Peach Fruit Fly, *Bactrocera zonata* on Peach from Kashmir, India. *Indian Journal of Plant Protection*, 42(1), 83-85 .
- Ni, W., Li, Z. H., Chen, H., Wan, F., Qu, W., Zhang, Z., & Kriticos, D. (2012). Including climate change in pest risk assessment: the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research*, 102(2), 173-183 .
- Papadopoulos, N. (1999). *Study on the biology and ecology of the Mediterranean fruit fly Ceratitis capitata (Diptera: Tephritidae) in northern Greece* Ph. D. dissertation, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece .[
- Papadopoulos, N. T., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., Hendrichs, J., Carey, J. R., & Heath, R. R. (2001). Early detection and population monitoring of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in a mixed-fruit orchard in northern Greece. *Journal of Economic Entomology*, 94(4), 971-978 .
- Qureshi, Z., Hussain, T., Carey, J., & Dowell, R. (1993). Effects of temperature on development of *Bactrocera zonata* (Saunders)(Diptera: Tephritidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 69(1), 71-76 .
- Salah, F., Abdelgader, H., & De Villiers, M. (2012). The occurrence of the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders)(Tephritidae) in Sudan. TEAM 2nd international meeting: Biological invasions of tephritidae tvephritidae: Ecological and economic impacts , horticultural orchards. *Egypt. J. Appl. Sci*, 16(2), 303-314 .
- Jitendra, M., Sandeep, S., Akilesh, T., & Chaube, M. (2012). Population dynamics of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel (in relation to abiotic factors. *HortFlora Research Spectrum*, 1(2), 187-189 .
- Kafu, A. A. A. A. (1992). *Laboratory study of factors affecting the stability of a Y-autosome translocation in the Mediterranean fruit fly, Ceratitis capitata (Wied) in relation to the development of a genetic sexing technique based on pupal colour*. The University of Manchester (United Kingdom .(
- Kapoor, V. C. (1993). *Indian fruit flies: Insecta: Diptera: Tephritidae* .
- Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., & Carey, J. R. (1998). Seasonal and annual occurrence of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) on Chios Island, Greece: differences between two neighboring citrus orchards. *Annals of the Entomological Society of America*, 91(1), 43-51 .
- Lentini, A., & Ortu, S. (2005). Strategie di lotta per il contenimento di *Ceratitidis capitata* (Wied.) in agrumicoltura. *Informatore fitopatologico*(1), 28-34 .
- Mahmoud, M., Osman, M., El-Hussiny, M., Elsebae, A., Hassan, S., & Said, M. (2017). Low environmental impact method for controlling the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wied.), in mango orchards in Egypt .
- Michelakis, S. (1992). Phenology of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis*

Sanjeev, R., Uma, S., Bhagat, R., & Gupta, S. (2008). Population dynamics and succession of fruit fly on sub-tropical fruits under rainfed condition in Jammu Region. *Indian Journal of Entomology*, 70(1), 12-15 .

Szyniszewska, A. M., & Tatem, A. J. (2014). Global assessment of seasonal potential distribution of Mediterranean fruit fly , *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *PloS one*, 9(11), e111582 .

Vargas, R. I., Walsh, W. A., Kanehisa, D., Jang, E. B., & Armstrong, J. W. (1997). Demography of four Hawaiian fruit flies (Diptera: Tephritidae) reared at five constant temperatures .*Annals of the Entomological Society of America*, 90(2), 162-168 .

White, I. M. (2006). Taxonomy of the Dacina (Diptera: Tephritidae) of Africa and the Middle East. *African Entomology*(Memoir No. 2), 1-156 .

White, I. M., & Elson-Harris, M. M. (1992). *Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics* .

Seasonal Occurrence of the Peach Fruit Fly, *Bactrocera zonata* and the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) at the College of Agriculture Research Station, University of Tripoli, Libya

Nawal Abdusalam Mahfoud^{1*} and Huda Mustafa Shaba²

¹ Department of Zoology., Entomology Unit, Science, University. of Tripoli, Libya

² Ministry of Agriculture, Livestock and Marine Resources, Tripoli

Received:17 December 2021/ Accepted: 15 March 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i1.580>

Abstract: Population dynamics of the peach fruit fly *Bactrocera zonata* (Saunders) and Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) was studied for the seasonal period September-December 2020, using McPhail traps with attractants Methyl eugenol for peach fruit fly males and Trimedlure for the Mediterranean fruit fly with Chlorpyrifos (CPS) insecticide for both species. Traps were periodically sampled in citrus and peach orchards at the College of Agriculture Research Station, University of Tripoli – Libya. The rates of captive adults in traps were recorded for each orchard, with peak numbers in October during the autumn season. High significant differences were observed of both pests, months, and the overlap between them. But no significant differences were observed among citrus and peach hosts. During September-December, population density of Mediterranean fruit flies exceeded that of peach fruit flies by 27- 4.5%. The ideal recorded maximum and minimum temperatures correspond to the density peak level of trapped Peach fruit flies (2790 flies) and Mediterranean fly (3450 flies) in October, with 23.5 °C (20.5 - 27.5 °C) average temperature, and the monthly average of the ideal relative humidity 61%, rainfall 29 mm, and 9.4 hours daily sunshine. In addition, peak numbers of peach fruit flies and Mediterranean fruit flies coincided with fruit ripening at the study location. This research is considered the first of its kind in Libya, the data obtained correspond with previous studies in the Mediterranean region and adjacent countries. Seasonal observations of fruit flies will serve future planning strategies and management of these economic pests.

Keywords: *Bactrocera zonata*, *Ceratitis capitata*, Meteorological Factors, Population Dynamics, Citrus, Peach, Traps, Tripoli, Libya.

*Corresponding author: Nawal Abdusalam Mahfoud: drmaghrabi06@yahoo.com , Zoology Dept., Entomology Unit, Science, Univ. of Tripoli, Libya.