



Azzaytuna University
Agriculture faculty

مجلة النماء للعلوم والتكنولوجيا

Science & Technology's Development Journal
(STDJ)



مجلة علمية محكمة سنوية تصدر عن
كلية الزراعة جامعة الزقازيق

مجلة النماء للعلوم والتكنولوجيا

مجلة علمية محكمة تصدر عن كلية الزراعة جامعة الزيتونة

تنويه

1. المجلة ترحب بما يصل إليها من أبحاث وعلى استعداد لنشرها بعد التحكيم.
 2. المجلة تحترم آراء المحكمين وتعمل بمقتضاها.
 3. كافة الآراء والأفكار المنشورة تعبر عن آراء أصحابها فقط.
 4. يتحمل الباحث مسؤولية الأمانة العلمية وهو المسؤول عما ينشر عنه.
 5. البحوث المقدمة للنشر لا ترد لأصحابها سواء نشرت أو لم تنشر.
- (حقوق الطبع محفوظة للكلية)

مجلة النماء للعلوم والتكنولوجيا

السنة الثالثة العدد الثالث المجلد (1) فبراير 2022

مجلة علمية محكمة - تصدر دورية سنوية - عن كلية الزراعة جامعة الزيتونة

رقم الايداع القانوني 2021/417 الدار الوطنية للكتب

ISSN : 2789-9535

هيئة التحرير بالمجلة

- | | |
|-------------------|--------------------------|
| رئيس هيئة التحرير | 1. د. مسعود محمد احفيظان |
| مدير التحرير | 2. د. يوسف منصور بوحجر |
| عضواً | 3. د. محمود علي جحيدر |
| عضواً | 4. أ. نوري سالم النعاس |
| عضواً | 5. أ. مفتاح خليل العاتي |

مجلة النماء للعلوم والتكنولوجيا: مجلة علمية دورية محكمة تصدر عن كلية الزراعة جامعة الزيتونة تعنى بالبحوث والدراسات المبتكرة في مختلف العلوم التطبيقية وتقبل نشر الأبحاث العلمية الأصيلة والنتائج العلمية المبتكرة.

الرسالة

الاسهام في نشر العلوم والمعارف الحديثة باستخدام أحدث معايير وتقنيات النشر والطباعة، ودعم الإبداع الفكري والتوظيف الأمثل للتقنية والشراكة المحلية والعالمية الفاعلة.

الرؤية

الارتقاء بإصدارات المجلة لتصبح مصادر معرفة ذات قيمة علمية تفيد المجتمع، والريادة العالمية والتميز في نشر البحوث العلمية.

الأهداف

- 1- تحقيق تقدم في التصنيفات العالمية عن طريق تقوية الجامعة بأكملها، والتميز بحثياً وتعليمياً في كافة المجالات.
- 2- استقطاب وتطوير أعضاء هيئة تحكيم واستشاريين متميزون.
- 3- تحقيق الجودة المطلوبة للبحث العلمي.
- 4- تمكين الباحثين والمحكمين من اكتساب المهارات الفكرية والمهنية أثناء حياتهم البحثية والعلمية.
- 5- بناء جسور التواصل داخل الجامعة وخارجها مع الجامعات الأخرى المحلية والإقليمية والعالمية.

قواعد النشر

تصدر المجلة وفق مبادئ الدين الإسلامي الحنيف، ووفق قوانين الإصدار للدولة الليبية، وكذلك وفق رؤية ورسالة وأهداف جامعة الزيتونة.

قواعد و شروط النشر بمجلة النماء للعلوم و التكنولوجيا كلية الزراعة جامعة الزيتونة

- 1- أن يكون البحث لم يسبق نشره في أي جهة أخرى وأن يتعهد الباحث كتابة بذلك.
- 2- أن يكون البحث مكتوباً بلغة سليمة، ومراعياً لقواعد الضبط ودقة الرسوم والأشكال إن وجدت، ومطبوعاً بخط (Simplified Arabic) للغة العربية، وبخط (Times News Roman) للغة الأجنبية، وبحجم (12)، وبمسافة مفردة بين الأسطر، وأن تكون أبعاد الهوامش للصفحة من أعلى وأسفل (4 سم) ومن الجانبين (3 سم)، وألا يزيد البحث عن (25) صفحة.
- 3- أن تكون الجداول والأشكال مدرجة في أماكنها الصحيحة، وأن تشمل العناوين والبيانات الايضاحية الضرورية، ويراعى ألا تتجاوز أبعاد الأشكال و الجداول حجم حيز الكتابة في صفحة Microsoft Word.
- 4- أن يكون البحث ملتزماً بدقة التوثيق، وحسن استخدام المراجع، وأن يراعى اتباع نظام (APA) في توثيق المراجع داخل النص وفي كتابة المراجع نهاية البحث.
- 5- تحتفظ المجلة بحقوقها في اخراج البحث وإبراز عناوينه بما يتناسب واسلوبها في النشر.
- 6- تنشر المجلة البحوث المكتوبة باللغة الأجنبية شريطة أن ترفق بملخص باللغة العربية لا يتجاوز 250 كلمة.
- 7- ترسل نسخة من البحث مطبوعة على ورق حجم (A4) إلى مقر المجلة، أو نسخة إلكترونية إلى البريد الالكتروني للمجلة (annamaa@azu.edu.ly)، على أن يكتب على صفحة الغلاف: اسم الباحث ثلاثي، مكان عمله، تخصصه، رقم الهاتف والبريد الإلكتروني.
- 8- يتم تبليغ الباحث بقرار قبول البحث أو رفضه خلال مدة أقصاها ستون يوماً من تاريخ استلام البحث، وفي حالة الرفض فالمجلة غير ملزمة بذكر أسباب عدم القبول.
- 9- في حالة ورود ملاحظات وتعديلات على البحث من المحكم يتم إرسالها للباحث لإجراء التعديلات المطلوبة وعليه الالتزام بها، على أن يعاد إرسالها للمجلة خلال فترة أقصاها خمسة عشر يوماً.
- 10- أن يلتزم الباحث بعدم إرسال بحثه لأية جهة أخرى للنشر حتى يتم إخطاره برد المجلة.
- 11- دفع الرسوم المخصصة للتحكيم العلمي والمراجعة اللغوية والنشر، إن وجدت.

كلمة افتتاحية

الحمد لله الذي علم الإنسان ما لم يعلم والصلاة والسلام على سيدنا محمد صلى الله عليه وعلى آله وصحبه وسلم.

إطالة جديدة لمجلة النماء للعلوم والتكنولوجيا في عامها الثالث لتضع بين أيديكم العدد الثالث المجلد الأول فبراير 2022 والذي يحظى بعدد من الأبحاث القيمة والتي لا شك أنها تقدم الجديد في مختلف مجالات العلم والمعرفة.

نرحب ونسعد بأرائكم ونتقبل انتقاداتكم البناءة التي تعمل على تطوير المجلة والإرتقاء بها إلى الأفضل، كما أننا بانتظار ما لديكم من مشاركات.

أسرة المجلة

المحتويات

الصفحة	الاسم	العنوان
1	فاتح عمر عجاج زيدان، محمد نافع السطيل	تحديد بعض مسببات مرض التقرح في أشجار الزيتون
13	ليلي يونس، سامي لاغا، جلال السني	ظاهرة تبادل الحمل (المعاومة) في أشجار الزيتون (<i>Olea europaea</i> L.) (دراسة مرجعية)
28	فرج سليمان السريتي	الكشف عن التلوث الطفيلي في بعض الخضراوات الطازجة بمدينة مصراته
36	سامي لاغا، جلال السني، ليلي يونس	تقييم زيت الزيتون (الحموضة والبيروكسيد) في بعض المعاصر بالمنطقة الغربية
45	آمنة الزواوي، عبد الحكيم البكوش	مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي ودوره في التنمية الزراعية في ليبيا (خلال الفترة ما بين 2000-2015)
58	ميلاد الجطلاوي، مبروكه حامد	تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح
68	نجية ميلاد، أمال الحوات، سعاد الهصيك، نجا عزوكة، القاسم شكشك	دراسة إحصائية لبعض حالات الإصابة بمرض هشاشة العظام لدى بعض المرضى بمدينة الخمس
Title	Name	page
Prevalence of Urinary Tract Infections among Diabetic and Non-Diabetic Patients at Msalata and Tarhuna Cities	Ibrahim Altorshani, Omeran Belhaj, Ali Aghwider, Alnouri Ashaafi, Musbah Almbsuot	77
In vitro propagation Technique of medicinal plants, a review	Laila S. Younes	87
Gene Expression Analysis of Selected Deubiquitinating Enzymes in Lung Cancer	Wedad Mohamed Alkut	102
Predisposing Local Factors Contributing to Denture Stomatitis	Hussein M. Abuzgyaia, Adel O. ben abid	116
The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants	Sadg S. Abdlnabi, Amtir A. Amran, Abdalnaser A. Aldeeb	122
Assessment of vitamin D deficiency for those who visit some laboratories in Tarhuna	Saleh Abdualkarim	133
Investigation on Domestic Groundwater Contamination by Oil Ponds, Using Groundwater Flow Modeling. A case study in the city of Jikharrah. eastern Libya	Taher M. Almizoiqui, Gamal A. Et Toam	141

تحديد بعض مسببات مرض التقرح في أشجار الزيتون

فاتح عمر عجاج زيدان¹، محمد نافع السطيل²

^{2,1} قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة بني وليد، ليبيا.

zidan49104@yahoo.com

المخلص:

أجريت هذه الدراسة للتحري عن الفطريات المسببة لمرض تقرح وموت أطراف الفروع في أشجار الزيتون بوادي البلاد بني وليد، حيث جمعت عينات عشوائية من الأشجار المصابة، وشخصت الأعراض المرضية وعزلت وشخصت الفطريات المرافقة لمرض التقرح وموت أطراف الفروع (الموت الرجعي) في أشجار الزيتون بوادي البلاد بني وليد، واختبار مقدرتها الأمراض في شدة الإصابة بها. وتتلخص أعراض المرض التي شوهدت على أشجار الزيتون، حدوث الموت الرجعي في النموات الحديثة (الفروع المتكونة على الفروع)، مع حدوث تقرحات وتشققات في الفروع الأساسية وتتحول المناطق المصابة إلى اللون البني المحمر، مع تكون الطبقة الفلينية في التقرحات، وظهور خلايا الخشب في الأفرع أو السوق المصابة في بعض المزارع في وادي بني وليد. وأتضح من خلال الفحص المجهرى مرافقة (12) من الفطريات لمرض التقرح على أشجار الزيتون، وكان الفطر *Alternaria alternata*، أكثر تسجيلاً وكان أكثرها تكراراً حيث بلغت نسبة تكراره 41.38% في العينات المفحوصة. كما درست حساسية أصناف من الزيتون للإصابة بفطر *Alternaria alternata* فكانت حدوث أعراض التقرح مشابهة لأعراض التقرح في الحقل على العقل الغضة. ويعتبر الفطر *Alternaria alternata* هو المسبب الرئيسي لمرض التقرح على أشجار الزيتون بمنطقة الدراسة.

الكلمات المفتاحية: أشجار الزيتون، الفطريات، التقرح، الموت الرجعي، *Alternaria alternata*.

المقدمة:

شجرة الزيتون تنتمي شجرة الزيتون للعائلة الزيتونية Oleaceae، رتبة الشفويات Lamiales والتي تضم ما يقارب 30 جنس، و 5 أنواع من ضمنها الزيتون *Olea europaea* تعتبر شجرة مقاومة للظروف البيئية الصعبة والتي يعتمد عليها اقتصاد معظم دول حوض البحر الأبيض المتوسط، ومن أهم خصائص شجرة الزيتون النباتية والبيئية: الشجرة المثمرة الوحيدة التي يموت المجموع الخضري ويبقى المجموع الجذري حياً وعندما تتوفر له الظروف المناسبة يكون نموات جديدة، ويرجع ذلك إلى تكوينها للسرطانات Drageons أو الفسائل (الأغصان النامية من البراعم العرضية الموجودة عند اتصال الساق بالجذور). مستديمة الخضرة تختلف في قوة نموها من صنف لآخر فهي تعيش طويلاً مقارنة بالأشجار الأخرى. المجموع الجذري لا يوجد جذر وتدي متعمق بالمعني المفهوم كأشجار الفاكهة الأخرى، وتنشأ الجذور الليلية أيضاً من البويضات التي تتكون على قاعدة الساق أو القرمة

وهي ظاهرة طبيعية في أشجار الزيتون غير مرضية حيث تلعب دوراً في المحافظة على حياة الأشجار من خلال استمرارها في تكوين الجذور لاحتوائها تشريحياً على مبادي تكوين الجذور بصفة مستمرة وقد تستخدم في الإكثار الخضري. المجموع الجذري كبير، كثير التقرع وسطي. تتمركز الجذور بعمق ما بين 50 و 70 سم، وهي تتفرع أفقياً من الجذع، ويمكن أن تتعمق لمسافة 6 أمتار، يكون المجموع الجذري عميقاً عند الشتول المطعمة على أصل بذرة، بينما يكون سطحيّاً عند الشتول المجذرة، يمكن لشجرة الزيتون المطعمة على أصل بذرة الحصول على الماء والغذاء اللازمين لها حتى في المناطق القليلة الأمطار والأراضي الفقيرة بسبب مجموعها الجذري المتعمق في التربة (جبيل، 2007).

تتماز ثمار الزيتون بأهميتها الصحية والغذائية لاحتواء الزيت الناتج عنها على حامض الأوليك بنسب مرتفعة والمركبات الفينولية التي تعمل كمضادات للأكسدة، مما يجعله في مقدمة الزيوت النباتية من حيث الثبات ومقاومة الأكسدة، بالإضافة إلى منافع الزيت الصحية من خلال مقاومة الأمراض القلب والتصلب الشرايين والسرطان (السعيد، 1994)، وتعد ليبيا من ضمن دول حوض البحر الأبيض المتوسط المهتمة بشجرة الزيتون، حيث تقدر عدد الأشجار المزروعة بحوالي 11 مليون شجرة مختلفة الأعمار منها 8 مليون شجرة مثمرة (فارس وعمران، 2010)، ونظراً لزيادة اهتمام الفلاحين بزراعة شجرة الزيتون (*Olea europaea* L.)، وتزايد الطلب على الزيت ومخزون الزيتون على مستوى الأسواق العالمية والمحلية، نتيجة البحوث التي أبرزت القيمة الغذائية لهذه المنتجات وأوارها الهامة في الوقاية من بعض الأمراض، فإنها تعتبر شجرة مقدسة ورد ذكرها في القرآن الكريم، قال تعالى: (والتين والزيتون وطور سنين وهذا البلد الأمين).

في ضوء مؤشرات الإحصاءات الزراعية يتضح أن ليبيا تعاني من انخفاض معدلات إنتاج المحاصيل الزراعية وخاصة أشجار الزيتون ومن أهم الأسباب في انخفاض معدلات الإنتاج إصابة هذه الشجرة بالآفات والأمراض الزراعية المؤثرة عليه والتي من أهمها الأمراض الفطرية والتي تلحق أضراراً كبيرة بحقول الزيتون بالمنطقة الغربية بليبيا (العربي وآخرون، 2017)، ومن أمثلة الفطريات التي تصيب أشجار الزيتون بليبيا مرض الذبول الفترسيومي المتسبب عن الفطر *Verticillium dahlia*: وفطر *Phialophora sp.* ومرض الذبول وتعفن الجذور الفيوزاريومي المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* (البي وآخرون، 2011؛ البي، 2008؛ زيدان وآخرون، 2009؛ 2013). إن التأثيرات الرئيسية لهذه المسببات المرضية الوعائية هي تعطيل مرور الماء خلال الساق، ويمكن أن يعزى هذا إلى وجود مسيليوم الكائن الممرض، وتكوين التيلوزات Tyloseses التي تسد الخشب، وإلى التصمغ الذي يتكون بداخل الأوعية الناقلة، إن هذه الميكانيكيات يعتقد أنها تؤدي إلى فشل جزء من الأوعية الخشبية في نقل كميات مناسبة من الماء إلى أعضاء هوائية أخرى. ومن ناحية أخرى أقترح أن التيلوزات والتصمغات هي إحدى ميكانيكيات المقاومة، حيث إنها تحد من انتشار الكائن الممرض داخل العائل، وأن الذبول يتسبب في الاختلال الوظيفي في نفاذية الخلية الناتج من التوكسينات وعند وجود فطر *Verticillium spp.* أو الفيوزاريوم *Fusarium* بالأوعية يؤدي إلى زيادة في مقاومة لسريان الماء بمعدل 4 - 60 ضعفاً بالإضافة إلى ذلك يكون مصدر انسداد الأوعية من عيدة السكريات ذات الوزن الجزيئي المرتفع التي يكونها الكائن الممرض مما تؤدي إلى انسداد أوعية النقر (شريف، 2012؛ وصفي، 1994). كما سجلت العديد من الفطريات الممرضة للمجموع الخضري

مثل فطر *Colletotrichum* المسبب لمرض الأنتركنوز (Anthracnose) على الثمار لأشجار الزيتون في ليبيا (زيدان وآخرون، 2014). كما أشارت الدراسة (Antonia et al., 1994) التي أجريت في إيطاليا عن ذبول وتدهور أشجار الزيتون عن أنواع من الفطر *Phaeoacremonium spp.* في أشجار الزيتون في جنوب إيطاليا. كما سجل الفطر *lternaria alternata* يسبب مرض لفحة البراعم والأزهار على أشجار الزيتون (Lagogianni et al., 2017). وسجلت العديد من المسببات الفطرية لأمراض التقرح (Canker) وهو عبارة عن مساحات غائرة محدودة متحللة، نتيجة موت طبقة البشرة والقشرة (شريف، 2012؛ وصفي، 1994) في أفرع وسوق أشجار الزيتون وهو مرض منتشر في معظم مناطق زراعة الزيتون في العالم وخصوصاً الدول المطلة على حوض البحر الأبيض المتوسط، والتي شملت الفطريات *Phoma incompta* في إيطاليا (Tosi and Zazzerium., 1994) وكرواتيا (Ivic et al., 2010)، كما سجل نفس الجنس يسبب الموت الرجعي على أشجار الزيتون في تونس (Rhooma et al., 2017)، وتقرح على شتلات الزيتون بواسطة الفطر *eofabraea* في روسيا (James, 1983)، وعزل من قبل الباحثين (Tziros et al., 2021) في اليونان الفطر *lternaria alternata* في الأفرع والسوق أشجار الزيتون. أجريت هذه الدراسة بغية التحقق عن المسبب لمرض التقرح وموت أطراف الغريعات على أشجار الزيتون بوادي البلاد بني وليد.

العزل من السيقان والأغصان والأفرع:

ثم العزل من السيقان والأغصان والأفرع التي تظهر عليها أعراض التقرحات، من أشجار الزيتون بوادي البلاد بني وليد، ليبيا. وذلك بتعقيمها سطحياً بغمرها في محلول هايبيوكلورات الصوديوم (1%) لمدة ثلاث دقائق بعدها غسلت بالماء المعقم وجففت بورق ترشيح معقم وشقها طولياً بمشرط معقم للحصول على أجزاء صغيرة لا تتجاوز 0.5 سم طولاً، من الأنسجة المصابة الداخلية والمتلونة باللون البني في منطقة الأوعية الخشبية وزرعت في أطباق بتري تحتوي على وسط غذائي من مستخلص البطاطا والديكستروز والآجار Potato Dextrose Agar، المضاف إليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول Chloromphenicol بمعدل 0.5 ملغرام/لتر لمنع نمو المستعمرات البكتيرية وحضنت في أطباق بتري على درجة حرارة 27°م، كما أخذت أجزاء من الأفرع وقطعت طولياً، ووضعت في أطباق بتري تحتوي على أوراق ترشيح من نوع Whatman No.1 مبللة بالماء المقطر والمعقم وحضنت في درجة حرارة المعمل، وبعد ملاحظة تكون نمو ثم نقل جزء من النمو المتكون إلى أطباق بتري تتضمن الوسط الغذائي وذلك لتنمية العزلات بصورة نقية. فحصت بعد 5-7 أيام مجهرياً.

الفحص المجهرى:

شكل (الأبواغ) حامل الأبواغ ولون الأبواغ، نوع الخيط الفطري. الدراسة المجهرية تمت بتجهيز شريحة زجاجية نظيفة وجافة، وضع عليها عينة من الفطر مصبوجة بكاشف. باستخدام المجهر الضوئي Binocular Microscopy، مجهز بآلة تصوير، حضرت الشرائح للفحص والتشخيص باستعمال صبغة اللاكتوفينول Lactophenol المحضر كما يلي: إذابة 40 جم من بلورات الفينول Phenol. في 20 مل ماء مقطر وعلى لهب هادئ يضاف إليها خليط من 20 جم جليسرين Glycerin مع 20 مل من حمض اللاكتيك Lactic Acid. عرفت الفطريات بعد تنقيتها سواء بطريقة الجرثومة الفردية أو طرف الهيفا على أساس الخصائص الشكلية والمجهريّة

للمستعمرات الفطرية وتأكد تعريفها بالمقارنة مع العزلات الفطرية القياسية (Barnes and Hunter., 1992) وتم اختبار الفطر الأكثر ظهوراً للدراسات اللاحقة وحسبت النسبة المئوية لتكرار العزل حسب المعادلة الآتية:

$$\% \text{ تكرار العزل} = \frac{\text{عدد القطع التي ظهر فيها الفطر في الأطباق}}{\text{العدد الكلي للقطع المستعملة}} \times 100$$

الكشف عن قابلية الفطر *Alternaria alternata* على إنتاج الأفلاتوكسينات:

زرع على المستنبت الغذائي بطاطس سكرورز آجار في أطباق بتري الفطر *A. alternata* وبعد أن أصبحت المستعمرات الفطرية لفطر الألترناريا بعمر 7 أيام ثم قلب الأطباق ووضعت 0.2 مل من محلول الأمونيا بتركيز 25% بواسطة محقنة طبية على غطاء الطبق واستخدمت ثلاث أطباق لكل معاملة بالأمونيا وثلاثة أطباق بدون معاملة للمقارنة، وتركزت الأطباق مقلوبة في الحاضنة لمدة 7 أيام على درجة حرارة 25، 30، 35°م وبعد ذلك تم مراقبه الأطباق من اليوم الثاني إلى اليوم السابع من الحضان لملاحظة ما إذا كان هناك تغير في لون قواعد المستعمرات إلى اللون الأحمر أو الأصفر البرتقالي أن مثل ذلك التغير يدل على افرازها الأفلاتوكسينات.

اختبار الأمراض:

اختبرت إمراضيه الفطر *Alternaria alternata* لشتلات الزيتون صنف القرقاشي والراسلي، إذ جلبت شتول الزيتون من أصول العقل الغضة عمرها سنتين، وحقت ثلاث أفرع غضة في كل شتلة لكل معاملة ثلاث شتلات، وغسلت الأفرع بالماء الجاري وعقمت سطحياً بالكحول الأيثلي بتركيز 70%، وبواسطة مشروط معقم عمل ثقب في كل فرع ثم لقح كل ثقب بقر قطره 0.5 سم من مستعمرة الفطر وذلك بوضعها على شريط شمعي (Parafilm) وربطها على الأفرع، أما معاملة المقارنة فلحقت بأقراص من الوسط الغذائي PDA المعقم، ونقلت الشتلات إلى الحقل. كما أجريت التجربة على شتلات زيتون من أصول بذور عمرها 6 - 8 أشهر صنف القرقاشي والراسلي عقت السوق الرئيسية سطحياً، عملت جروح بواسطة إبرة معقمة على ارتفاع من 6 - 7 سم من سطح التربة، لقحت السيقان 2 ملم من الوسط الغذائي وبنفس الطريقة السابقة ونقلت الشتلات إلى غرفة النمو وكدليل على إحداث الإصابة لوحظت البقع المتكونة حول مواقع التلقيح بعد شهر. حسب الطريقة الموصوفة من قبل (Ivic, et al., 2010).

النتائج والمناقشة:

أعراض وعلامات المرض:

من خلال الزيارات الميدانية لعدة بساتين بوادي البلاد بني وليد على مدى عامين 2018/ 2019 لوحظت أعراض مرضية كما في الشكل (1) توهي بإصابة فطرية على أشجار الزيتون وعلى كافة أصناف الزيتون الموجودة بالوادي وخصوصاً الأصناف القديمة وهي الراسلي، القرقاشي، القرطومي والخادمي، تتسم أعراض هذا المرض على أغصان وسوق أشجار الزيتون وخصوصاً على النموات السرطانية الحديثة بالقرب من منطقة التاج على الأشجار القديمة والحديثة النمو ببقع بنية داكنة مائلة إلى الإحمرار مع حدوث موت أطراف الفروع أو الموت الرجعي Die back وهو عبارة عن موت الأغصان أو الأفرع من القمة متجهاً للقاعدة في بادئ الأمر ثم يبدأ في الاتجاه نحو الساق الأصلية وتحدث جفاف مع التشقق العميق مما يؤدي إلى ظهور الخشب. تتحول البقع إلى حالة بنية محمرة

تحديد بعض مسببات مرض التقرح في أشجار الزيتون (1 - 12)

ويحدث تقرح في السوق المصابة وتشقق النسيج الموجود تحت القلف. وكذلك لوحظ وجود طبقة من خلايا فلينية Formation of cork layers داخل أنسجة الأفرع والسوق المصابة، وتشير المراجع العلمية (علي، 2006؛ وصفي، 1994) على تكوين هذه الطبقة الفلينية للحد من غزو الفطر للأنسجة السليمة وهو عبارة عن تحول صف من الخلايا البرانشيمية إلى خلايا كامبيوم فليني تنقسم تلك الخلايا لتكوين عدة صفوف من الفلين وتتميز طبقة الفلين بأنها لا تمرر الغازات والسوائل كما أنها يصعب تحليلها بواسطة الفطريات الممرضة، بذلك فإن الفطر الممرض لا يتمكن من التقدم إلى الأنسجة ترجع إلى وسيلة دفاعية تركيبية تنشأ عند مهاجمة الممرض. تتحطم الحزم الوعائية تاركة فراغات بالساق وتظهر شقوق على بشرة الساق. كما لوحظ من خلال الزيارات الحقلية لبساتين أشجار الزيتون بوادي البلاد بني وليد أن أغلب الأشجار تعاني من عدم خدمة وعناية بما يتماشى وأهميتها الاقتصادية، وأن عدد من الأشجار متدهورة والبعض ميتة، وتعتمد أشجار الزيتون في الري اعتماداً كلياً على مياه الأمطار التي تهطل في فصل الخريف وقد تستمر خلال فصل الشتاء والربيع مما يؤدي أحياناً إلى حدوث سيول محملة بالمواد العالقة كالظمي والمواد العضوية بالدبال والرواسب (الرواسب المائية) التي تؤدي إلى تزويد الأشجار بالعناصر الغذائية، كما لوحظ انتشار الحشرات ومن أهمها الحشرة القطنية وخصوصاً في فصل الربيع على العناقيد الزهرية والثمار.



شكل (1). يوضح أعراض مرض التقرح على أشجار الزيتون بوادي البلاد - بني وليد. (أ) - تكون بقع بنية محمرة حول منطقة خروج الفرع مع حدوث جفاف الفرع المتكون على الساق. (ب). حدوث تشقق Cracks وتقرحات Lesions في موقع البقع وموت الفريعات Dieback وسقوط الفروع. - منطقة موت الخلايا Necrosis، والمنطقة غير المصابة. (ج). - تكون الطبقة الفلينية Crock في التقرحات. (د) - ظهور خلايا الخشب Xylem في الأفرع أو السوق المصابة.

العزل والتشخيص:

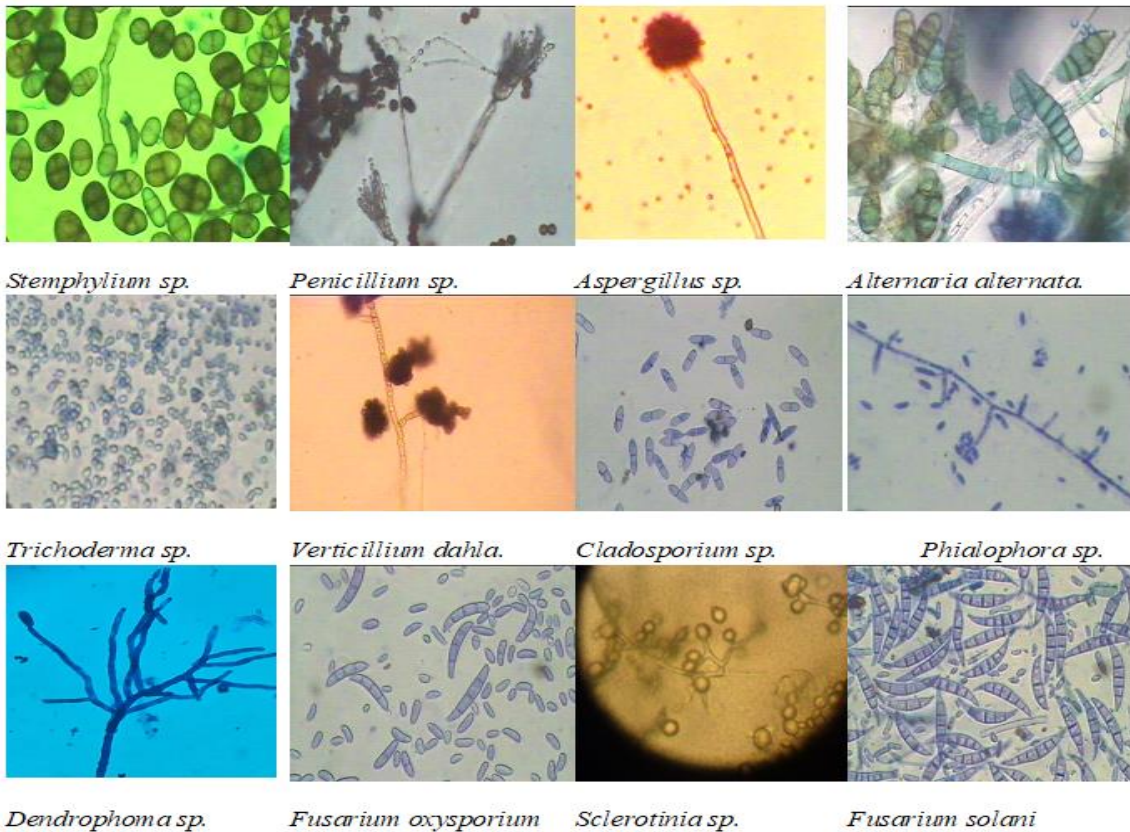
تشير النتائج العزل والفحص المجهرى للنموات الفطرية كما في الجدول (1) والشكل (2) الحصول على اثني عشر (12) فطر من أفرع وسوق أشجار الزيتون المصابة بالتقرح وموت الفريعات بوادي البلاد بني وليد، وأظهرت النتائج الاختلاف في نسبة تكرارها بالعينات المفحوصة، وتبين من خلال الفحص المجهرى وتعريف الفطريات المعزولة أن فطر *Alternaria alternata* احتل صدارة العزل وكان أكثرها تكراراً إذ وجد بمعدل 41.38% وعزل الفطر من أغلب العينات يليه في المرتبة الثانية الفطر *Aspergillus sp.* وبمعدل 12.07% في العينات المفحوصة على التوالي أما بقية الفطريات فقد كان معدل وجودها محصوراً بين 10.34 و 1.72%، وهذا ما أثبتته العديد من الدراسات (الأحمدي ومحي الدين، 1984؛ العربي وآخرون، 2017؛ Chliyed et al., 2014؛ Hernández et al., 1998). ففي الدول المهتمة بزراعة أشجار الزيتون أن كافة الفطريات التي تم عزلها تتواجد في المجموع الخضري لأشجار الزيتون وخاصة الدراسات التي أجريت عن مسببات أمراض الذبول، تغفن الجذور، التقرح والموت الرجعي على الأفرع وسوق أشجار الزيتون، أن هذه الفطريات من المسببات المرضية لأشجار الزيتون، وكانت كافة الفطريات المعزولة تتبع الفطريات الناقصة، وربما يعزى تواجدها في العينات المفحوصة إلى مقدرتها التنافسية العالية لكونها مترممت اختياريّة أذ تمتلك مقدرة عالية على إنتاج سموم وإنزيمات محللة ضد النبات فضلاً على مقدرتها العالية على النمو السريع وإنتاج أعداد كبيرة من الوحدات اللقاحية الفعالة في أحداث الإصابة من جهة وتحملها للظروف البيئية القاسية من جهة أخرى ومداهم العوائل الواسع. اتفقت نتائج العزل مع العديد من البحوث العلمية (البي وآخرون، 2011؛ العربي وآخرون، 2017؛ زيدان وآخرون، 2014) حول إصابة هذه الفطريات المجموع الخضري لأشجار الزيتون في ليبيا فمنها يسبب أمراض لثمار الزيتون والبعض الآخر يسبب أمراض الذبول الفريسيولوجي والذبول وتغفن الجذور الفيوزاري مما يؤدي إلى تدهور الأشجار وموتها. وسجلت من قبل (Mous et al., 2006; Shade and TR, 1994) في اليونان (Tosi and Zazzerium., 1994) إلى خطورة الفطر *Alternaria alternata* على حدوث التقرح والموت الرجعي في أشجار الزيتون. ومن خلال المسح التي أجرى للأمراض الفطرية على أشجار الزيتون بالمغرب (Chliyed et al., 2014) أحتل فطر *Alternaria alternata* الصدارة ضمن 22 فطر سجل على أشجار الزيتون في المجموع الخضري وبلغت نسبة تواجده في العينات 87%. يتبع صف الفطريات الناقصة رتبة المونيليات ويعتبر من الفطريات المدمرة وليست المتوازنة، وفي هذا الخصوص يمكن النظر إليه كمسبب مرضي ضعيف يستمد تغذيته أساساً من أنسجة العائل المتحللة، يتم تفكيك أنسجة العائل بواسطة إنزيمات مثل السيليلوز Cellulase والإنزيمات المحللة لجدران الخلايا النباتية من العوامل البارزة في حياتية الأحياء الدقيقة الممرضة والرمية، وتتطلب عملية تحليل مواد جدران الخلايا النباتية اشتراك مجموعة من الإنزيمات المنسق عملها تشمل الإنزيمات المحللة للكيوتين والسليولوز وأشباه السليولوز والبكتين والبروتينات. ويمكن أن يكون نشاط هذه الإنزيمات محدوداً في نقاط الإصابة بالنسبة للفطريات الأحيائية أو شبه أحيائية التغذية حيث يسهل اختراقها دون أن يؤدي إلى تحليل جدران الخلايا وانهيائها. وتتبع الطبيعة غير التخصصية لفطر الألترناريا في غياب الممصات كوسيلة للحصول على المواد الغذائية وهناك عدة سموم مثل حمض الألترناريك alternaric Acid اعتبرت ذات علاقة بمجموعة الأعراض

المتلازمة مع المرض (شريف، 2012). ويمكن تفسير آلية دخول الفطر إلى أنسجة النبات وذلك عن طريق انتقال بوغ كونيدي إبط البرعم الناشئ على السوق النبات ويتغلغل الفطر إلى داخل أنسجة السوق أو الأفرع حتى يتم غزو خلايا البشرة تماماً ومن ثم يتفرع الميسيليوم خلال وبين الخلايا حتى يصل إلى النسيج الوسطي Mesophyll والنسيج العمادي Palisade. بينما بلغت نبة تواجد الجنس *Stemphylium* sp 8.62 % وكانت أبواغه مختلطة مع أبواغ فطر *Alternaria*، وأن العديد من أنواعه رمية، ويتواجد على عدد كبير من النباتات. ووجدت الفطور القاطنة في التربة وهي: *Fusarium spp*، *Phialophora sp*، *Verticillium sp* ونسبة ظهورها تراوحت بين 5.17% و 1.72%، ومعظم أشجار الزيتون التي جمعت منها العينات المصابة بالتقرح تعاني من مرض جفاف والتبس في المجموع الخضري، وتؤكد الدراسة المرجعية (الأحمدي ومحي الدين، 1984) التي أجريت في سوريا إلى أن هذه الفطريات ممرضة لأشجار الزيتون وتسبب أمراض الذبول وتعفن الجذور. ولقد سجلت هذه الفطريات أيضاً بليبيا على أشجار الزيتون من قبل الباحثين (البي، 2008؛ زيدان وآخرون، 2017)، وتعتبر من أخطر الأمراض التي تصيب أشجار الزيتون، وعند إصابة أشجار الزيتون تنمو الفطريات من خلال لحاء جذر النبات باتجاه الأوعية الناقلة، وتستقر في الأوعية الخشبية للنبات ثم تصعد خلالها إلى الساق والأفرع مما يؤدي إلى انسدادها أو تخريب جدرها وفي كلتا الحالتين يتوقف وصول الماء والعناصر الغذائية إلى الأوراق (فارس وعمران، 2010)، مما يسبب في الذبول وموت أشجار الزيتون المصابة. وربما تلعب الفطريات المرافقة مرض التقرح على أشجار الزيتون في زيادة شدة المرض. وربما يساهم تواجد بعض الحشرات على أشجار الزيتون وخصوصاً الحشرات التي تفرز كميات كبيرة من الندوة العسلية مثل الحشرة القطنية *Euphyllura straminea* التي لوحظت بكثافته خلال فصل الربيع على العناقيد الزهرية، وفصل الصيف على الثمار في نمو وانتشار العديد من الفطريات ومن أهمها فطر الألترياريا التي يلعب دور فعال في حدوث مرض التقرح على أشجار الزيتون. كما أوضحت الدراسة (الجالى وآخرون، 2019) التي أجريت بمدينة البيضاء أن الفطر *Alternaria alternata* هو المسبب الرئيس لمرض العفن السخامي على الأشجار الزيتون، كما تم تسجيل الحشرة القشرية السوداء *Saissetia oleae* على أشجار الزيتون المصابة بالعفن السخامي وأثبتت النتائج نمو الفطر على الندوة العسلية على سطح الورقة. وكذلك سجل الفطر *Alternaria alternata* بالمنطقة الغربية على أشجار الزيتون (العربي وآخرون، 2009). كما تم عزل العديد من الفطريات لأول مرة من خلال الباحثين (العربي وآخرون، 2017) في دراسة التنوع الحيوي للفطريات في ترب بساتين الزيتون في بعض مناطق طرابلس وجبل نفوسة ومن أهمها هذه الفطريات التي سجلت في ترب بساتين الزيتون فطر *Alternaria sp*. كما أوضحت نتائج الدراسة (الأحمدي و محي الدين، 1984) في سوريا عن ظاهرة جفاف أشجار الزيتون أنها ليست حالة مرضية واحدة بل تعتبر مجموعة من الأمراض تشترك في ظاهرة جفاف أشجار الزيتون متقاربة ويعتبر ذبول الزيتون أهم عناصر هذه الظاهرة، يليه تقرح أغصان الزيتون ثم تعفن الجذور. كما تؤكد الدراسة (Tziros et al., 2021) التي سجلت للعام 2021 في اليونان أن التدهور وموت الخلايا (Necrosis) على شتلات الزيتون يرجع للفطر *Alternaria alternate*.

تحديد بعض مسببات مرض التقرح في أشجار الزيتون (1 - 12)

جدول (1). الفطريات المعزولة من أشجار الزيتون المصابة بالتقرح بوادي البلاد بني وليد.

الفطريات	عدد العزلات	%
<i>Alternaria alternata</i>	24	41.38
<i>Aspergillus sp.</i>	7	12.07
<i>Penicillium sp.</i>	6	10.34
<i>Stemphylium sp.</i>	5	8.62
<i>Phialophora sp.</i>	3	5.17
<i>Cladosporium sp.</i>	3	5.17
<i>Verticillium dahlia.</i>	3	5.17
<i>sp. Trichoderma</i>	2	3.45
<i>Fusarium solani.</i>	2	3.45
<i>Sclerotinia sp.</i>	1	1.72
<i>Fusarium oxysporium.</i>	1	1.72
<i>Dendrophoma sp.</i>	1	1.72
	58	



الشكل (2). صور مجهرية للفطريات المعزولة من أفرع وسوق أشجار الزيتون المصابة بالتقرح وموت الفروع بوادي البلاد بني وليد. تحت قوة تكبير 100×.

فحص السموم:

أوضحت النتائج للمستنبات الزراعية للأطباق المعاملة بمحلول الأمونيا أن الفطر الألترناريا له القدرة على افراز صبغات حمراء عند درجة حرارة 25 و 30°م، مما يدل على قدرة الفطر على افراز السموم مما يؤدي إلى قتل خلايا النبات وتغير اللون وحدوث موت التفرعات المتكونة في الفروع والسيقان أشجار الزيتون، بينما لم نلاحظ تغيير لون الأطباق عند درجة حرارة 35°م وكذلك لم يحدث تغير في أطباق المقارنة عند مستويات درجات الحرارة المختلفة، كما يؤكد المرجع العلمي (Shade and JR., 1984) أن فطر *Alternaria alternata* من بين الفطريات الممرضة للنبات والمعروفة في إنتاجها للسموم حيث وجد أنها تنتج ما يقارب الأربعين مركباً أغلبها ذو تأثير سام للأحياء وقد صنفت هذه المركبات الى مجاميع استناداً إلى تركيبها الكيميائي. أودع يرجع تلون الأفرع والسوق في أشجار الزيتون باللون البني المحمر الذي يظهر جلياً في منطقة غزو الفطر الممرض، كما تشير المراجع العلمية (شريف، 2012؛ علي، 2006) إلى استخدام الأشجار وسائل دفاعية بيو كيميائية تنشأ عند مهاجمة الممرض وذلك عن طريق زيادة مستوى المواد المثبطة *Increased levels of inhibition* وهو عبارة عن إنتاج مواد جديدة لم تكن موجودة في الأشجار السليمة أو إلى زيادة تركيز مواد كانت موجودة قبل العدوى فتعمل هذه المواد على إيقاف تقدم الممرض أو تحد من تقدمه، وقد تكون تلك المواد المنتجة مثبطة لنمو الممرضات كالفينولات، أو تكون نواتج أكسدة الفينولات على مواد أكثر سمية من الفينولات. مما يعزى إلى ظهور اللون البني المحمر في أشجار الزيتون المصابة أو إلى تلك العوامل مجتمعة.

اختبار الأمراض:

كما أوضحت نتائج الشكل (3) اختبار القدرة المرضية للفطر *Alternaria alternate* على شتلات أفرع الزيتون من أصول (العقل الغضة المجذرة) عمرها سنتين صنف القرقاشي والراسلي بعد شهر من عملية التلقيح على أحداث الإصابة المتمثلة بظهور الأعراض بشكل بقع بنية داكنة في موقع التلقيح مع انتفاخ وزيادة اتساع موقع التلقيح قليلاً على أفرع شتول الزيتون حول مواقع التلقيح، وتحول اللون الأخضر إلى اللون البني الداكن وقد تميزت البقع على الأفرع الملقة بكونها متطاولة يصل طولها 8 - 10 ملم وقطرها 5 ملم مع حدوث بينما كانت معاملة المقارنة سليمة دون ظهور أعراض الممرض على الشتلات المحقونة، كما اتفقت نتائج اختبار القدرة المرضية مع الباحثين (Tziros et al., 2021) اللذين أكدوا على أن الفطر المسؤول عن أحداث التقرحات وموت أطراف التفرعات في أشجار الزيتون *Alternaria alternate*، ويعد هذا أول تسجيل بليبيا على أن فطر *Alternaria alternate* هو المسبب الرئيسي لمرض التقرح على أشجار الزيتون. ولكن عندما أجريت عملية العدوى لشتلات الزيتون النامية من البذور لم نلاحظ حدوث عملية العدوى المتمثلة في التقرح وتغير لون البقع المحقونة بالفطر الألترناريا لكافة الشتلات الملقة بالفطر، وربما يعزى إلى عدم قابلية الشتلات للأصناف المزروعة من البذور للعدوى بالفطر، وذلك بسبب التركيب التشريحي والفسلجي قد يختلف عن الأصناف المزروعة بالعقل أو إلى الفترة الزمنية في عملية الحقن بالفطر الألترناريا غير كافية لحدوث العدوى، يحتاج ذلك إلى إجراء المزيد من الدراسات.



الشكل (3). يوضح عملية العدوى الميكانيكية بواسطة الفطر *Alternaria alternata* على أفرع شتلات الزيتون .
(أ) العدوى الصناعية على ساق شتلة زيتون بعد 14 اليوم من عملية العدوى الصناعية. (ب) يوضح حدوث موت الخلايا وتقرح الساق بعد 30 يوم من عملية العدوى الصناعية على شتلات الزيتون المزروعة بالعقل الغضة. (ج) العدوى الصناعية على شتلات الزيتون المزروعة من البذور.

المراجع:

- الأحمد، ماجد. والحميدي، محي الدين. (1984). جفاف أشجار الزيتون في جنوب سوريا. مجلة وقاية النبات العربية. 2: 70 - 76.
- البي، عمر عمران، العاقل، على أبوالقاسم، والدنفلي، الزروق أحمد. (2011). مرض الذبول بصوبات إكثار الزيتون (*Olea europaea* L.) بالعقل المجذرة في شمال غرب ليبيا. مجلة كلية التربية، جامعة الفاتح، ليبيا. (6): 213 - 221.
- البي، عمر عمران. (2008). مرض ذبول أشجار الزيتون *Olea europaea* L. في بعض مناطق غرب ليبيا. رسالة ماجستير. كلية الزراعة، قسم وقاية النبات، جامعة الفاتح، ليبيا. 54 صفحة.
- الجاللي، زهرة إبراهيم، عبدالرواف، إيمان جبريل والوحش، كاملة عبد الرحيم. (2019). الحشرات المرافقة لمرض العفن السخامي *Alternaria alternata* في محيط جامعة عمر المختار، ليبيا. المجلة السورية للبحوث الزراعية، (3): 412 - 426.
- السعيد، عبد الله. (1994). زيت الزيتون (غذاء ودواء). دار الضياء للنشر والتوزيع، عمان، الأردن. 196 صفحة.
- العربي، خديجة فرج، أبوغنية، عبد النبي محمد وشياري، هدى المبروك. (2017). دراسة التنوع الحيوي للفطريات في ترب بساتين الزيتون في بعض مناطق طرابلس وجبل نفوسة، مجلة العلوم الزراعية والبيولوجية، كلية الزراعة - بني وليد، جامعة الزيتونة، ليبيا. 3 (1): 15 - 24.
- العربي، خديجة فرج، العامري، نورية علي والدنفلي، الزروق. (2009). حصر الأمراض المعدية على أشجار الزيتون بالمناطق الغربية من ليبيا، مجلة جامعة ناصر الأممية، ليبيا. (4): 204 - 218.

جبيل، فرج على. (2007). الخدمة والعناية بشجرة الزيتون ومدى تطبيقها منطقة الجبل الغربي، المؤتمر العلمي الأول حول شجرة الزيتون غريان - ليبيا.

زيدان، فاتح، نافع، محمد والفار، إسماعيل. (2017). أول تسجيل لمرض الذبول الفيوزاري على أشجار الزيتون بمنطقة بني. وليد- ليبيا. مجلة جامعة بني وليد للعلوم الإنسانية والتطبيقية. 2 (5): 222 - 231.

زيدان، فاتح، نافع، محمد، الفار، إسماعيل والبغدادي، محمد. (2013). دراسة ظاهرة تدهور أشجار الزيتون وموتها بمنطقة بني وليد - ليبيا، مجلة العلوم الزراعية والبيولوجية، كلية الزراعة - بني وليد، جامعة الزيتون، ليبيا. 1 (1): 14 - 1.

زيدان، فاتح، نافع، محمد، و الفار، إسماعيل. (2014). عزل وتشخيص مرض الأنتراكنوز لثمار الزيتون بليبيا. المجلة الليبية لوقاية النبات. (4): 46 - 55.

شريف، فياض محمد. (2012). علم أمراض النبات والأسس الجزيئية للإصابة والمقاومة، دار الذاكرة للنشر والتوزيع، بغداد - العراق. 686 صفحة.

علي، مديح محمد. (2006). أمراض النبات، مكتبة أوزيريس، القاهرة - مصر. 621 صفحة.

فارس، علي محمود، وأبو قيلة، عمران أبو صلاح. (2010). دراسة مرجعية أولية حول الخسائر الاقتصادية الناتجة عن إصابة الزيتون بذبابة ثمار الزيتون *Dacus oleae* Cmel في ليبيا، مجلة جامعة سبها (العلوم البحثية والتطبيقية) 9 (2): 19 - 24.

وصفي، عماد الدين. (1994). أساسيات أمراض النبات والتقنية الحيوية، المكتبة الأكاديمية، القاهرة- مصر. 521 صفحة.

Antonia C., Lops, F., Cibelli, F. and Raimondo, M. L. (2015). *Phaeoacremonium* species associated with olive wilt and decline in southern Italy. Eur J Plant Pathol. 141:717-729.

Barnes, E.H., and Hunter, B.B. (1972). illustrated genera of imperfect fungi, Burgess publishing company, Minnesota. 241pp.

Chliyah, M., Rhimini, Y., Selmaoui, K., Ouazzani Touhami, A., Filali-Maltouf, A., El Modafar, C., & Douira, A. (2014). Survey of the fungal species associated to olive-tree (*Olea europaea* L.) in Morocco. *International Journal of Recent Biotechnology*, 2, 15-32.

Gally, M., Perez, B.A. and Barreto, D. (2002). First report of *Necteria haematococca* causing wilt of olive plants in Argentina. *Plant Disease*, 86 (3): 326.

Hernández, M.E., Sánchez, A., Ruiz D. A., Perez, M. A., Blanco, L., and Trapero, C. (1998). Occurrence and etiology of death of young olive trees in southern Spain. *European Journal of plant pathology*. 104(4): 347 - 357.

Ivic D., Ivanovic, A., Milicevic, T., and Cvjetkovic, B. (2010). Shoot necrosis of olive caused by *phoma incompta* a new disease of olive in Croatia, *Phytopathol. Mediterr.*, 49, 414 - 416.

James, R. L. (1983). Cankers of Russian- olive seedlings at the Montana state forest tree nursery, Missoula, Montana. Cooperative forestry and pest management, No. 83-8.

- Lagogianni, C. S., Tjamos, E. C., Antoniou, P. P., and Tsitsigiannis, D. I. (2017).** First Report of *Alternaria alternata* as the Causal Agent of *Alternaria* Bud and Blossom Blight of Olives. Plant disease, Vol. 101, No. 12.
- Mousa, M.S., Ali, M.K., Mosa, A.A., and Elewa, I.S. (2006).** Root rot disease of olive transplants and its *biological* control. Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo. 14(1), 395 – 409.
- Rhouma, A., Triki, M. A., and Krid, S. (2010).** First report of a branch dieback of olive trees in Tunisia Caused by a *Phoma* sp., Plant Disease, 94(5): Pp636.
- Sanei, S.J. and Razavi, S. E. (2012).** Survey of olive fungal disease in north Iran. Annual review & research in *biology*, 2(1): 27 – 36.
- Shade, J. E. and JR. A. R.. (1984).** "Analysis of the major *Alternaria* toxins" J. Food Protect , Vol. 47: 978 – 995.
- Tosi, L. and Zazzerim, A. (1994).** *Phoma incompta*, a new olive parasite in Italy. Petria, 4 (2): 161 – 170.
- Tziros, G. T., Antonios, K., and Anastasia, L (2021).** *Alternaria alternata* as the cause of decline and necrosis on olive tree cuttings in Greece, Australasian Plant Disease Notes 16:7

Occurrence and some etiology of canker disease in olive trees

Fateh Zidan¹, M. Nafa, Astill²

^{1,2}Department Plant Protection, College Faculty of Agriculture/University Bani Waleed, Libya.
zidan49104@yahoo.com.

Abstract:

This study was conducted to investigate the fungi that cause canker disease and the death of the twigs of the branches in olive trees in Valley AL-Bilad Bani Waleed. And test its pathogenicity in the severity of its infection. The symptoms of the disease that were seen on olive trees are summarized in the occurrence of dieback with lesion and crack in the main branches and the affected areas reddish-brown, with the formation of the crack layer in the cracks. The appearance of xylem cells in the affected branches. The microscopic examination that (12) fungi were associated with canker disease on olive trees and the fungus *Alternaria alternata*, was the most frequently recorded with a frequency of 41.38% in the examined samples, Also the sensitivity of olive cultivars to infection with *Alternaria alternata* was studied. The occurrence of canker symptoms was similar to the symptoms of canker in the field on the cuttings olive. The fungus *Alternaria alternata* is the main cause of canker disease on olive trees in Libya.

Keywords: *Olive trees, Fungi, Canker, Dieback, Alternaria alternata.*

ظاهرة تبادل الحمل (المعاومة) في أشجار الزيتون (*Olea europaea* L.) (دراسة مرجعية)

ليلي يونس¹، سامي لاغا²، جلال السني³

^{3,2,1}مركز البحوث الزراعية - طرابلس - ليبيا

laila_younes69@yahoo.com

المستخلص:

تعتبر ظاهرة تبادل الحمل (المعاومة) مشكلة اقتصادية مهمة تؤثر على منتجي الفاكهة وتعد شجرة الزيتون (*Olea europaea* L.) إحدى أشجار الفاكهة المتأثرة بهذه الظاهرة، المعاومة هي دورة مدتها سنتان تعطي محصول عالي الإنتاج (on year) يتبعه محصول منخفض الإنتاج (off year)، وتظهر المعاومة في محاصيل الأشجار المعمرة خلال الظروف المناخية الغير ملائمة التي تحدث أثناء الإزهار أو عقد الثمار ولا تقتصر هذه الظاهرة على الأشجار الحاملة للمحصول فحسب بل تؤثر على أشجار الملقحات أيضاً، وتتسبب في ضعف الإزهار، وانخفاض التلقيح وتكوين الثمار، أو تساقط الأزهار والثمار. والنتيجة تكون محصول منخفض يتبعه عادةً محصول وفير. وعلى العكس فإن الظروف المناخية المثلى أثناء التزهير وعقد الثمار يؤدي إلى منع انخفاض المحصول الأمر الذي يؤدي للحصول على محصول جيد. وبسبب هذه المشكلة يظل إنتاج الزيتون متذبذباً على مر السنين وبالتالي تتأثر تجارة واستهلاك الدول المنتجة سلباً، ويمكن أن تقلل العمليات البستانية مثل خف الثمار، التقليم، الري، التسميد من شدة تبادل الحمل، فعلى الصعيد العالمي يعتبر تبادل الحمل مشكلة اقتصادية خطيرة لمزارعي زيتون المائدة والزيت، وعموماً يمكن القول أن درجة المعاومة تعتمد بشكل كبير على العوامل البيئية والداخلية وتفاعلاتها والتي تؤدي جميعها إلى ظاهرة تبادل الحمل.

الكلمات المفتاحية: إنتاجية عالية (on year)، إنتاجية منخفضة (off year)، التناوب، عقد الثمار، التلقيح، العوامل البيئية، العوامل الداخلية.

المقدمة:

الزيتون (*Olea europaea* L.) شجرة دائم الخضرة تنتمي إلى العائلة الزيتونية Oleaceae موطنه حوض البحر المتوسط وهي المنطقة الرئيسية لإنتاج الزيتون (Lodolini et al., 2016). تعد شجرة الزيتون ذات أهمية تجارية في جميع أنحاء العالم حيث يتم استهلاك الإنتاج كزيتون مائدة وعلى صورة زيت زيتون والذي يشتهر بفوائده الصحية للإنسان حيث ارتبطت الفوائد الصحية لزيت الزيتون بتركيبته المتوازنة من الأحماض الدهنية والذي يشكل حمض الأوليك المكون الرئيسي فيها كذلك وجود الفيتامينات ومضادات الأكسدة الطبيعية (Usanmaz, et al., 2018; Okatan et al., 2018). علاوة على ذلك، يعد زيت الزيتون مكوناً مهماً للنظام الغذائي في دول البحر المتوسط، ويساعد في الوقاية والتعافي من بعض الأمراض، مثل أمراض القلب، الأوعية الدموية، السمنة، مرض السكري وأنواع مختلفة من السرطان (Escrich et al., 2019).

ويمثل محصول الزيتون مصدر دخل مهم لنسبة كبيرة من المزارعين والمنتجين من أصحاب المزارع المتوسطة والكبيرة، ولأصحاب المعاصر والعاملين فيها. يوفر قطاع الزيتون مدخلات إنتاج رئيسية لعدد من الصناعات في قطاع الصناعات الغذائية ومواد التجميل والأدوية، إضافة إلى استخدام زيت الزيتون الغير صالح للاستهلاك كغذاء في صناعة الصابون، تتميز أشجار الزيتون بقدرتها على التعافي السريع بعد فترات طويلة من الجفاف (Selles *et al.*, 2006)، وتحمل معتدل لملوحة التربة (Aragüés, 2005). بالإضافة إلى ذلك، تعتبر حقول أشجار الزيتون مهمة من الناحية البيئية، كونها مصدراً للتنوع البيولوجي.

أشجار الزيتون من أشجار الفاكهة المهمة في ليبيا وتمثل جزء من الداخل القومي، حيث يبلغ عدد أشجار الزيتون حوالي 10 ملايين شجرة منتجة، تنتشر زراعتها في العديد من مناطق منها ترهونة ومسلاته والخمس وزليتن ومصراته، تمثل أهم مناطق زراعة الزيتون البعلي في الجبل الغربي كما توجد بعض الزراعات في منطقة بنغازي والجبل الأخضر. وتقدر المساحة المنزرعة حوالي 200 ألف هكتار وتبلغ الإنتاجية من الثمار 900 ألف طن، في حين وصل الإنتاج من زيت الزيتون إلى 180 ألف طن سنوي (Documentation and Information Center, 2007). خلال العقد الماضي، تركزت إنتاجية الزيتون في خمسة دول أوروبية (إسبانيا، إيطاليا، اليونان، البرتغال وفرنسا)، وتُعد من أكبر منتجي زيت الزيتون، حيث يشكل إنتاجهم الإجمالي 60% من إنتاج الزيتون في العالم، و40% من إنتاج زيتون المائدة، و80% من إنتاج زيت الزيتون (IOC, 2018). أيضاً تونس، تركيا، سوريا والمغرب من الدول المهمة الأخرى المنتجة للزيت (IOC, 2011). ويعتبر الاتحاد الأوروبي المنتج والمستهلك الرئيسي لزيت الزيتون، والذي يمثل 53% من السوق العالمية، تليها الولايات المتحدة التي تمثل 10% (IOC, 2018). ومع ذلك، فقد كان إنتاج زيت الزيتون في العالم متغيراً ومتذبذب من سنة إلى أخرى، هذا الاختلاف قد يرجع جزئياً إلى ظاهرة تبادل الحمل (المعاومة). (Tolomeo *et al.*, 2013) حيث تعطي في سنة حمل غزير (On year) وفي السنة التالية محصول قليل أو معدوم (Off year) ويطلق عليها أيضاً الحمل غير المنتظم، ففي سنة الحمل الغزير يكون التنافس لصالح النمو الثمري على حساب النمو الخضري فيتم استهلاك الغذاء المخزن والضروري لتكوين البراعم الزهرية للموسم اللاحق، وهذا يؤدي إلى قلة عدد الأغصان المتكونة الحديثة وتكون قليلة وضعيفة وهي التي ستحمل الثمار في السنة القادمة، وبذلك ستكون الثمار قليلة لضعف وقلة الأغصان التي تحملها، وعلى العكس من ذلك ففي سنة الحمل القليل، يكون التنافس على الغذاء لصالح القمم النامية (النمو الخضري) وبالتالي تعطي أغصاناً كثيرة وقوية، هذه الأغصان هي التي ستحمل حملاً غزيراً وقوياً في السنة القادمة لأنها قوية وغزيرة، وهكذا (Lavee, 2007). يعتبر التفاوت الكبير في الإنتاج بين السنوات أحد أكثر المشاكل خطورة التي تواجه منتجي زيت الزيتون، مما يتسبب في خسارة اقتصادية كبيرة للدول المنتجة. ومع ذلك، فإن هذا الاختلاف ليس ثابتاً داخل النوع، ولكنه يعتمد على عوامل عديدة أخرى، مثل الصنف، العمليات الزراعية والظروف البيئية (Rallo *et al.* 1994). على الرغم من أن أشجار الفاكهة المتساقطة ودائمة الخضرة مختلفة في نواحي كثيرة تشمل الاختلافات في وقت الإزهار والسكون ومدة الإثمار مقارنة بالنمو الخضري. إن ظاهرة المعاومة منتشرة في العديد من أشجار الفاكهة وليست مقصورة على أشجار الزيتون فحسب، حيث توجد في أشجار الفاكهة مثل، التفاح (Kofler *et al.* 2017)، الفستق (Rosenstock *et al.*, 2010)، الحمضيات (Shalom *et al.*, 2012)، الأفوكادو

(Kofler *et al.*, 2008) والمانجو (El-Motaium *et al.*, 2019). اقترح العالمان (Monselise & Goldschmidt, 1982) وجود آلية مشتركة في ظاهرة تبادل الحمل بين مجموعات مختلفة من أشجار الفاكهة، فقد تم اقتراح أن جميع الأنواع التي تظهر تبادل الحمل قد تتصرف بطريقة مماثلة. كما ذكرت بعض الأبحاث أن آلية تبادل الحمل غير واضحة تماماً إلى حد الآن (غير معروفة). ويخضع تبادل الحمل في الزيتون كما هو الحال في جميع أشجار الفاكهة الأخرى، لعوامل داخلية وخارجية. وتشمل العوامل الداخلية التركيب الوراثي، التوازن الهرموني الداخلي، وتوازن الكربوهيدرات والمغذيات المعدنية (Shalom *et al.*, 2012). في حين أن العوامل الخارجية وهي الظروف البيئية، مثل درجة الحرارة وتوفر الماء والمغذيات، التي تؤثر بشكل مباشر على النمو الخضري وأداء معظم العمليات التكاثرية (الحث، التمايز، الإزهار، العقد، نمو الثمار ونضجها)، وبذلك فإن العوامل الداخلية والخارجية لها الأثر الكبير في ظاهرة تبادل الحمل (Troncoso *et al.*, 2012).

الهدف من هذه الدراسة المرجعية تحديد الأسباب الأولية تبادل الحمل في أشجار الزيتون والطرق التي يتم بها تقليل ظاهرة المعاومة.

العوامل المسؤولة عن تبادل الحمل في الزيتون:

العوامل الخارجية:

العوامل البيئية: العوامل البيئية خلال فصل الشتاء لها دور في تحفيز الإزهار والبدء في عملية التزهير، حيث يبدأ تحفيز الإزهار في أشجار الزيتون في وقت مبكر من شهر نوفمبر أي قبل وقت طويل من حدوث الإنخفاض الشديد في درجات الحرارة بفصل الشتاء. قد تؤثر بعض الظروف البيئية الأخرى مثل الجفاف وعدم كفاية ساعات البرودة وشدة الإضاءة، على تكوين البراعم الزهرية والمساهمة في ظاهرة تبادل الحمل. يمكن أن يتطور تبادل الحمل تدريجياً مع دخول الأشجار في مرحلة الإنتاج أو أن يبدأ فجأة بسبب الظروف المناخية (Goldschmidt, 2005). ففي الحالة الأولى ستكون بعض الأشجار في البستان ذات إنتاج غزير بينما قد تشهد الأشجار الأخرى في نفس البستان إنتاج ضعيف جداً أو معدوم، وعلى النقيض من ذلك فعادة ما تسود ظاهرة تبادل الحمل جميع أنحاء البستان إذا كانت ناتجة عن مشاكل بيئية. يعتمد عقد ثمار الزيتون بشكل كبير على الظروف المناخية فعادة تبقى ثمرة واحدة فقط لكل نورة، وقد يؤدي الإجهاد البيئي إلى سقوط تلك الثمرة. ومع ذلك فقد تؤدي ظروف الربيع الباردة إلى زيادة مجموع تلك الثمار إلى خمس أو سبع ثمرات في كل نورة، ورغم ذلك فإن هذه الزيادة لا تزيد بشكل كبير من العدد النهائي للثمار في كل شجرة وذلك بسبب زيادة التساقط الطبيعي للثمار (الإجهاد الذي يحدث في مراحل لاحقة). عند مرحلة الإزهار فإن خليط من الرطوبة المنخفضة ودرجات الحرارة المرتفعة قد يؤدي إلى إجهاد مرتفع بشكل غير طبيعي للأجنة وتجفيف الثمار الصغيرة أما درجات الحرارة العالية فقط فليست بالضرورة أن تتداخل مع عقد الثمار (Lavee, 1986). وقد تزيد العوامل المناخية من ظاهرة تبادل الحمل في بعض المناطق نظراً لأن التمايز في البراعم يعتمد على ساعات البرودة، وعموماً عندما تكون الظروف المناخية غير مناسبة لنمو الأزهار يحدث إنتاج ضعيف أو معدوم. وأفاد (Pinney & Polito, 1990) أن ساعات البرودة ضرورية لتمايز البراعم الزهرية عالية الجودة، والأشجار التي لم تحصل على ساعات البرودة الكافية تزهر لكن التزهير يكون ذات جودة منخفضة، ساعات البرودة هي درجات الحرارة المنخفضة الضرورية للتحفيز الإزهار وكسر طور سكون البراعم وجد (Briccoli Bati *et al.*

(al., 2002) أن مجموع ثمار الزيتون يتناقص مع زيادة عدد الساعات الدافئة أعلى من 27 درجة مئوية التي تتعرض لها الأشجار خلال فصل الشتاء .

درجة الحرارة: عادة تبدأ ظاهرة تبادل الحمل عن طريق الظروف المناخية غير المناسبة وفي حالة عدم وجود مواعيد بيئية أخرى تؤثر على حمل المحصول، فإن حالة حمل البستان تتبادل بين سنوات إنتاج غزير "on" وإنتاج ضعيف "off"، حيث تظهر سنوات "on" نمواً خضرياً أقل من سنوات "off". ومع ذلك، يمكن إعادة ضبط دورة السنتين هذه بسبب الظروف البيئية المناخية غير المناسبة التي تؤثر على الإزهار وعقد الثمار. وقد تتسبب الظروف المناخية غير المناسبة قبل 8-10 أسابيع من الإزهار في إجهاض أجزاء الزهرة المؤنثة، مع وجود نسبة عالية من الأزهار المذكورة التي لا تعطي ثمار. بالإضافة إلى ذلك فمن المتوقع أن يمر البستان بظروف جوية سيئة، قد تؤدي إلى فقدان المحصول خلال عام "on" و تجعل الموسم "off". قد يكون لدرجات الحرارة التأثير المناخي الرئيسي الذي يمكن أن يؤثر على الإزهار (Malik, et al., 2009). تؤكد بعض البحوث أن لدرجات الحرارة المنخفضة في الشتاء دور في كسر طور السكون، وليس لها أي دور في تخليق الأزهار لان تخليق أزهار الزيتون يتم قبل الشتاء أي في الخريف. يمكن القول أن درجات الحرارة المنخفضة في الشتاء تقلل من ظاهرة تبادل الحمل، نتيجة لزيادة تنبيه وخروج البراعم من طور السكون، وليس لأنها تخلق الأزهار. وبذلك فإن السنوات ذات الشتاء البارد يظهر فيها تبادل الحمل بشكل بسيط، أما السنوات ذات الشتاء الدافئ، فيظهر بها تبادل الحمل بشكل كبير. علاوة على ذلك المناطق ذات درجات حرارة الشتاء الباردة المتجانسة، يكون احتمال تمايز البراعم الزهرية في الأشجار مرتفعاً (Rallo et al., 1994). قد تؤدي درجات الحرارة المرتفعة والرياح الجافة من جهة والأمطار الغزيرة أو الصقيع من جهة أخرى إلى موسم خضري غير مثمر، والذي بدوره سيؤدي إلى زيادة المحاصيل خلال العام التالي. علاوة على ذلك، فإن نجاح الإخصاب حساس جداً بدرجة الحرارة العالية لأنه يمنع إنبات حبوب اللقاح ويبطئ أو يوقف نمو الأنبوبة اللقاحية، وفي حال ارتفاع درجات الحرارة يحدث إجهاض للإزهار وتساقط الثمار كما يسبب الصقيع موت البراعم الزهرية. إضافة إلى أن انخفاض الرطوبة يسبب زيادة نسبة التبخر مما يؤدي إلى تساقط الأزهار والثمار بينما الربيع البارد فإنه يزيد في نسبة عقد الثمار، وكذلك في عدد الثمار على ألنوره. أما الرياح المتوسطة السرعة فهي ضرورية لانتقال حبوب اللقاح لان تلقيح أزهار الزيتون خلطي بالرياح (Rallo & Martin, 1991).

الإجهاد المائي: لقد ثبت أن تطبيق الري خلال العام يمكن أن يتغلب على تأثير تبادل الحمل حيث تعمل فترة الري في وقت مبكر من موسم النمو على تعزيز نمو الأفرع مما يؤدي بدوره إلى زيادة عدد الثمار في الموسم التالي. وبشكل عام يجب تطبيق ثلاث ريات: الأولى قبل الإزهار لتقليل الإجهاض المبكر والثانية، في وقت عقد الثمار لتجنب تساقط الثمار الزائد والثالثة، في وقت النضج لتقليل تساقط الثمار قبل الحصاد. وقد يؤدي الإجهاد المائي في أي مرحلة من مراحل نمو الشجرة إلى اختلال التوازن بين النمو الخضري والزهرى، مما قد يؤدي إلى تبادل الحمل ويعزى انخفاض الإزهار وأعضاء التكاثر والأوراق ونقص النمو الخضري للجفاف (Psarras, et al., 2011). كما يؤدي الري لتجنب ظروف الإجهاد وزيادة تراكم الزيت في ثمار الزيتون (Fernandez & Moreno, 1999). وإلى زيادة قدرة الأشجار على حمل كمية أكبر من الثمار على لكل شجرة (Gucci et al., 2007).

الرطوبة النسبية المنخفضة: تؤثر الرطوبة النسبية المنخفضة على إنتاجية الزيتون حيث تتسبب في التساقط المفرط لثمار الزيتون. حيث تترافق الرطوبة النسبية المنخفضة مع درجات حرارة الباردة في الليل بالمناطق القاحلة. وقد يكون لانخفاض رطوبة النسبية والضغط البيئي الأخرى تأثيرات غير مباشرة على العقد من خلال تعزيز شيخوخة الأوراق والتسبب في سقوط مبكر لثمار (Addicott & Lyons, 1973).

العوامل الداخلية:

الكربوهيدرات: تكون مستويات السكريات والنشا أعلى بكثير في بداية موسم "on" منها في الموسم "off" وعلى العكس من ذلك فإن مستويات الكربوهيدرات في أوراق الزيتون تكون أعلى بكثير بعد موسم off منها بعد موسم on (Fahmi, 1958). ويعتمد الحمل الغزير للمحصول لموسم "on" على احتياطيات الكربوهيدرات المخزنة في الشجرة خلال موسم off. ومن ثم فإن الإنتاج الوفير ونمو عدد كبير من الثمار قد يؤدي إلى استنفاد احتياطيات الكربوهيدرات في الشجرة والذي يكون ضرورياً للتمايز البراعم في العام المقبل ومع ذلك فإن كميات الكربوهيدرات المخزنة في النباتات تختلف في سنوات on و off وأصبح من المعروف أن هناك ارتباط بين أيض الكربوهيدرات والحمل كل سنتين (Barranco, et al., 2010). قد يحدث تثبيط للبراعم الزهرية عندما يكون احتياطي الكربوهيدرات في شجرة الزيتون منخفضاً، وهو أمر متوقع بعد إنتاج ثمري عالي أن التقلب في مخزون الكربوهيدرات في الشجرة يعمل كعامل رئيسي لظاهرة تبادل الحمل (Monselise & Goldschmidt, 1982).

(Oliveria & Priestley, 1988) وجد أن معظم أنواع الأشجار تعمل على تراكم احتياطيات من CHO، مما يدعم الاحتياجات الأيضية المستقبلية التي تحدث داخل الدورات السنوية وكذلك بين الدورات السنوية، لقد أصبح من المؤكد أن حمل الثمار يعتمد على احتياطي العام السابق تخزينه وأن عدد الثمار ونموها وتطورها قد ينخفض بسبب استنفاد الاحتياطي قبل نضج النمو الخضري الجديد (Span et al., 2005; Marra et al., 2009).

وقد يؤدي نمو عدد كبير من الثمار إلى استنفاد احتياطيات الكربوهيدرات في الشجرة، وغالباً ما يؤدي التقلب في مخزون الشجرة من الكربوهيدرات لظاهرة تبادل الحمل. وأصبح من المعروف على نطاق واسع أن الحمل كل سنتين يتم تنظيمه بشكل أساسي من خلال التنافس على الموارد بين البراعم الزهرية والثمارية والتي تتطور في وقت واحد. ويحد العدد الكبير من الثمار النمو الخضري مما يقلل من طول البراعم الخضرية الجديدة، عدد العقد، مساحة الورقة والمواقع المحتملة للبراعم الخضرية للموسم التالي (Rallo and Suarez, 1989). ويبدو أن التنافس على الاحتياطيات بين الثمار النامية هو العامل الرئيسي في تنظيم المحصول النهائي. وبالتالي فإن المحصول الأعلى في العام السابق يستنفد احتياطيات الأشجار ويقل المحصول التالي (Barranco et al., 2010).

محتوى البروتين: وجد أن محتوى البروتين الكلي القابل للاستخلاص في أوراق الأشجار في موسم "off" أقل مما هو عليه في أوراق الأشجار في موسم "on". ألا أنه قد تم الحصول على علاقة عكسية في لحاء أصناف الزيتون "Koroneki" و "Uovo de piccione" و "Manzanillo" و "Barnea". فلقد كانت معظم حالات ارتفاع البروتينات موجودة في عينات من أوراق موسم "off" (Lavee & Avidan, 1994).

الأحماض الفينولية: من المعروف أن المركبات الفينولية الموجودة في أوراق النبات تشارك في العديد من الآليات الفسيولوجية. حيث تعمل كعوامل حماية للأشعة فوق البنفسجية في أنسجة النبات. غالباً ما تشارك في مقاومة

الأمراض النباتية، سواء بشكل أساسي أو كمركبات مستحثة حديثاً. يُعتقد أن الإشارة الأولية لتبادل الحمل يمكن أن تستقبلها الأوراق في الزيتون (Ryan *et al.*, 2003 ; Mert *et al.*, 2013). وجد أن المستويات العالية من تراكم المركبات الفينولية في أوراق الزيتون تكون في موسم "on" عنه في off وتتحرك للثمار بعد عملية العقد (Lavee, 1994) & Avidan, 1994) تشمل التغيرات الكيميائية في الأوراق مركبات الفينول والفلافانول والتي توقف تكوين البراعم الزهرية خلال فترة البدء الفسيولوجية لها.

هرمونات النمو النباتية:

الجبرلينات: يعد نقص تكوين البراعم الزهرية خلال عام "On" سمة شائعة لمعظم الأنواع التي تعاني من ظاهرة تبادل الحمل. حيث ذكر (Ulger *et al.*, 2004) أن بعض هرمونات النمو مثل حمض الجبرلينك (GA3) وحمض الأبسيسيك (ABA) والأكسينات مثل الإندول 2- حمض الأسيتيك (IAA) لها أدوار مهمة في تبادل الحمل، هرمون الجبرلين (GAs) الذي يتم إنتاجه بوفرة كبيرة بواسطة البذور أثناء تطورها له تأثيراً مثبطاً على تحريض الإزهار وتظهر العديد من الدراسات أن GAS له دور في السيطرة على إزدهار أشجار الزيتون وتظهر أيضاً أن مرحلة تصلب البذرة لها أهمية فسيولوجية في تحريض الإزهار أيضاً (Feernandez- Escobar *et al.*, 1992).

أفاد (Sibbet & Martin, 1994) أن الهرمونات النباتية لها تأثير كبير على بدء البراعم الخضرية والزهرية على نمو البراعم الجديدة للزيتون. يحتوي الجبرلين على عدد كبير من الهيدروكسيل الضروري لحركة GAS في الأنسجة حيث يحدث تحريض للبراعم الثمرية. أيضاً أفاد (Pharis & King, 1985) أن التأثير السلبي الذي يؤديه الجبرلين الذي تنتجه البذور النامية على البراعم الزهرية يعتمد بشدة على ميزتها النوعية، وعلى مدة حركتها داخل النبات، وعلى سرعة التمثيل الغذائي التي بها يكون متاح بشكل كبير أو قليل. تميل شجرة الزيتون بشكل طبيعي إلى إنتاج عدد كبير من الأزهار والثمار. ومع ذلك، فإن البذور النامية داخل الثمار ترسل محفزات جزئية لإنتاج الجبرلينات التي بدورها تمنع تحريض الأزهار، وتوقف البراعم وتوجهها نحو البراعم والأوراق (نمو خضري). وتبدأ مستويات الجبرلين في الارتفاع عند الإثمار وقد تحافظ على هذه المستويات حتى جنى المحصول في العام "On".

حمض الأبسيسيك: ذكر أن حمض الأبسيسيك يلعب دوراً في تحريض الأزهار في العديد من الأنواع النباتية. أظهرت مستويات حمض الأبسيسيك في البراعم الجانبية (البراعم الزهرية المحتملة) للأشجار في عام "Off" زيادة كبيرة من سبتمبر حتى أكتوبر مقارنة بعام "On" في الفترة نفسها (مرحلة نمو الأزهار) بينما تنتج الأشجار من حمض الأبسيسيك (محفز لتحريض الأزهار وبدء النشاط) في عام "Off" أكثر مما تنتجه الأشجار في عام "On" (Saleh & Mostafa, 2008).

اندول حمض الخليك: يُظهر تركيز اندول حمض الخليك في براعم الزيتون الجانبية في عام "On" زيادة ملحوظة خلال شهري نوفمبر وديسمبر مقارنةً بتلك التي كانت في عام "Off" وهي فترة زمنية محددة. بينما في العام التالي، ظهرت تركيزات أندول حمض الخليك في عام "Off" وفي عام "on" على نفس المستوى تقريباً طوال شهري سبتمبر ومارس. ومع ذلك فخلال فترة السكون النهائية (يناير)، لم يظهر مستوى حمض الخليك أي تغييرات جذرية في البراعم الجانبية وظلت المستويات ثابتة تقريباً (Saleh & Mostafa, 2008).

السيتوكينين: كان تركيز السيتوكينينات في البراعم الجانبية لأشجار الزيتون في العام "On" أعلى بكثير من تركيزه

في الأشجار للعام "Off" طوال الفترة من سبتمبر إلى أبريل. كذلك كان الحال في الأوراق والعقد والقمم النامية في عام "On" أعلى مما كانت عليه في عام "Off". أظهر (Shulman & Lavee, 1976) أنه بالمقارنة مع معظم الفواكه الأخرى فإن السيتوكينينات في ثمار الزيتون تزداد بالتقدم في درجة النضج. ومع ذلك، لم تكن هذه المستويات في الشتاء والربيع والصيف ذات دلالة إحصائية، بينما كانت المستويات مختلفة في الخريف. يتم إنتاج السيتوكينين مثل الكينتين في نوفمبر وديسمبر في عام "On" بقيمة معنوية عن باقي الشهور، يشجع التركيز العالي للهرمونات النباتية وخاصة المواد الشبيهة بالجبرلين خلال فترة البدء في تكوين البراعم الخضرية، بينما التركيز المنخفض للهرمونات تكوين البرعم الزهرية خلال فترة بدء الخريف. من خلال الأبحاث تم العثور على مواد شبيهة بالجبرلين ولكن كان حمض الابسيسيك بكميات أعلى في عام "Off"، بينما تم العثور على مستويات المواد الشبيهة بالكينتين بشكل أساسي في كل من سنوات "On" و "Off" خلال فترة الإزهار. ولقد ارتبطت المستويات المنخفضة من الجبرلين والمستويات العالية من حمض الابسيسيك بالإزهار وعقد الثمار. درس (Sibbet & Martin 1994) أن الهرمونات النباتية لها تأثير كبير على بدء نمو البراعم الخضرية والزهرية على النمو الجذري الجديد للزيتون. كذلك تم العثور على مستويات الهرمونات النباتية الذاتية في يوليو ونوفمبر ويناير ومارس لتكون لها الدور الحاسم لتحريض البراعم الزهرية وتطورها. وفي النهاية إذا كانت مستويات الهرمون الداخلي مرتفعة خلال هذه الأشهر، يتم تحفيز تكوين البراعم الخضرية، بينما تعزز المستويات المنخفضة تكوين البراعم الزهرية.

الحمل وإنتاجية محصول الزيتون:

قد يكون الحمل الغزير الناتج خلال موسم "On" هو السبب الرئيسي المتعارف عليه عالمياً لتبادل الحمل حيث يعد حمل الثمار أحد العوامل الرئيسية المسببة لهذه الظاهرة كل سنتين، وغالباً ما يخل بالتوازن بين عمليات النمو الخضرية والزهرية. إن تثبيط تحفيز الإزهار عن طريق البذور النامية بالثمار هو العامل الرئيسي في سلوك الزيتون كل سنتين حيث يتم تحديد تبادل الحمل في الزيتون إلى حد كبير من خلال حمل الأزهار فيكون الإزهار غزير في السنة الأولى يتبعه في العام التالي عدد قليل جداً من الأزهار أو لا تعطي شيء على الإطلاق فالأشجار ذات الحمل الخفيف من الأزهار لها عمراً أطول بالنسبة للبويضة من الشجرة ذات الحمل الغزير من الأزهار وعلى العموم فإن بذور عدد كبير من الثمار التي تنمو خلال موسم "On" تمنع تحريض أو تحفيز الإزهار للسنة "Off" التالية (Fernandez- Escobar *et al.*, 1992).

التنافس بين الأحواض الخضرية والتكاثرية وتحريض برعم الزهرة:

في زراعة الفاكهة عادة ما تعتبر البذور والثمار المستقبل المفضل لتراكم منتجات البناء الضوئي. ومع ذلك فهناك ظروف يمكن أن يصبح فيها تدفق هذه المنتجات إلى النموات الخضرية الجديدة وتوجه الأشجار إلى النمو الخضري بدل الثمري. تم تسجيل في بعض المراجع على أن هناك حاجة إلى التوازن بين النموات الخضرية والزهرية للزراعة المنتظمة للزيتون. بسبب التعقيد والتداخل بين النمو الخضري والزهرى داخل دورة النمو الواحدة للأفرع وبين الدورات الأخرى يمكن ملاحظة تبادل الحمل في رتب مختلفة بين البراعم علي نفس الفرع، والفروع علي نفس الشجرة، والأشجار في نفس البستان والمناطق داخل الإقليم (Lodolini & Neri, 2012; Lodolini, 2005). الثمار النامية لها تأثير معنوي على نمو الأزهار حيث تم اقتراح أن الثمار المختلفة النامية هي منافس قوي على المستقبلات

(نواتج الأيض) مع النمو الخضري. وجد بعض المختصين ارتباطاً بين عام "On" و "Off" مع المستقبلات الأولية مثل الكربوهيدرات (Seyyednejad *et al.*, 2001) ويمكن الاستنتاج أن تأثير الثمار النامية هو تقليل تمايز البراعم الزهرية للموسم التالي من خلال الطبيعة التنظيمية وذلك من خلال الإشارات الصادرة عن الأجنة النامية. حيث يتم تغير كبير في محتوى المستقبلات الثانوية مثل حمض الكلوروجينيك في أوراق أشجار الزيتون بين عام "On" و "Off". وتعمل الإشارة على تحفز تخليق وتراكم هذه المركبات الفينولية في الأوراق تبدأ في الأجنة النامية في الثمار. ففي تجربة أدى حقن حمض الكلوروجينيك خلال فصل الشتاء قبل عام "On" في نسيج الخشب في الحقل إلى تقليل تمايز براعم الزهرة على الأفرع المعالجة بأكثر من 50%. لذلك يمكن أن نستنتج أن الثمار النامية في العام الحالي ليست فقط في منافسة مع النمو الخضري ولكن لها أيضاً تأثير مباشر على عملية التمثيل الغذائي مما يؤدي إلى الحث الزهري وتمايز البراعم من أجل العائد المحتمل في العام التالي والتخفيف من تبادل الحمل (Pritsa and Voyiatzis, 2004).

قد يؤدي نقص التغذية إلى تعزيز ظاهرة تبادل الحمل فمن الضروري أن تكون كمية النيتروجين كافية للإزهار الجيد وتكوين ثمار محصول الزيتون. تعتمد الأشجار على تخزين النيتروجين في الأوراق والسيقان الجديدة، وكذلك في السيقان القديمة ، خلال العام (Off) ويبدو أنه تم الأيض واستغلال المخزن من هذه الأنسجة خلال عام "on" لدعم النموات الجديدة. يكون تركيز البوتاسيوم أعلى بشكل ملحوظ في الأوراق الكبيرة في كل سنوات "Off" و "On" مقارنة بالأوراق التي يبلغ عمرها عام واحد حيث انخفض تركيز البوتاسيوم في أوراقها للموسم الحالي تدريجياً من بداية الموسم حتى أغسطس، وظل عند هذه القيم تقريباً خلال الخريف. ينخفض تركيز البوتاسيوم في الورقة في معظم المحاصيل الشجرية مع تقدم الموسم. وفي الزيتون كان هذا الانخفاض ملحوظاً بشكل خاص. يشير تراكم البوتاسيوم العالي في الأوراق بعد العام "off" والانخفاض السريع بعد مارس من العام "on" إلى وجود طلب كبير من قبل الأعضاء الزهرية للزيتون (Ryugo & Ryugo, 1988).

بعض المعاملات التي تخفف من تأثير ظاهرة تبادل الحمل:

هناك طرق زراعية مختلفة شائعة تستعمل في مناطق زراعة الزيتون لتخفيف من شدة تبادل الحمل وتحسين نوعية الثمار في الزيتون ومن هذه الطرق التحليق والتقليم والخف واستعمال منظمات النمو والتربة والتسميد: **التقليم ضروري** لتأقلم الأشجار مع الظروف المناخية للمنطقة وزيادة إنتاجية الوحدة الزراعية. تجرى عملية تقليم الزيتون في الربيع أو الصيف. حيث أفاد (Rugini & Pannelli, 1993) أن التقليم الشديد كان فعالاً في تعزيز ثمار صنف الزيتون "Frantoio". ووجد أن المعاملة بالهيكساكونازول أدت لزيادة عقد الثمار. يمكن اعتبار تأثير هذه المادة على النباتات بمثابة "تقليم كيميائي" لتعديل توزيع الكربوهيدرات بين استطالة الجذع وتمايز الأزهار (Gomathinayagam *et al.*, 2007). كما أن تقليم أشجار الزيتون بعد الحصاد مباشرة. وتختلف باختلاف الاصناف بالنسبة لأصناف زيتون المائدة، يبدأ التقليم في نوفمبر إلى ديسمبر للزيتون الأخضر أو من فبراير - مارس للزيتون الأسود. بشكل عام يمكن إجراء التقليم من الخريف إلى الأشهر الأولى من الربيع، ولكن يجب تأجيله في المناطق المعرضة بشدة لخطر الصقيع (Rodrigues, *et al.*, 2018).

خف الثمار هو إحدى التقنيات المستخدمة لتقليل أو التغلب على تأثير تبادل الحمل كل سنتين في الزيتون (Dag, et al., 2009). يقلل التخفيف من حمل المحصول إلى توافر المزيد من العناصر الغذائية التي من شأنها زيادة تحفيز براعم الزهرة والتمايز. أيضًا، ولقد وجد أن تقليل المحصول في "on" أدى إلى تقليل عدد البذور التي لها تأثير سلبي على تمايز براعم الأزهار (Bakir et al., 2004). أفاد (Patel et al., 2014) أن نسبة خف الأوراق إلى الثمار (LFR) بنسبة 1:30 كانت أكثر فاعلية لتقليل حمل المحصول وتحسين الخصائص الفيزيائية والكيميائية في الخوخ صنف فلورداسون. تنتج ثمار الزيتون ثمارًا في فروع العام الماضي. هذا يعني أنه لكي نحصل على ثمار كل عام، يجب أن نضمن النمو الخضري الكافي كل عام. الأغصان القوية جدًا ليست منتجة، لأنها غالبًا ما تكون مليئة بالبراعم الخضرية. وبالتالي فإن الهدف من التقليم هو تحفيز الفروع التي سوف تنمو عن طريق تعريضها للضوء والحفاظ على منطقة الثمار قوية ونشطة. كي تنتج شجرة الزيتون ثمارها بشكل رئيسي في محيط المظلة (المجموع الخضري) وفي قمته. وتزيد بتعرض هذه الأجزاء من الشجرة لأشعة الشمس بالكامل (Bakir et al., 2004) وبناءً على هذا يجب أن يشمل التقليم الثمار إزالة أي جزء يظل الأجزاء الأصغر الأخرى من الأشجار. يمكن تقليم أشجار الزيتون خلال الفترة ما بين الخريف والشتاء. يتم إجراؤه بشكل عام بعد الجني ولكن يجب الانتظار حتى انتهاء فترة سقوط الأمطار الغزيرة والصقيع، وذلك للوقاية من العدوى (Patel et al., 2014). يؤدي التخفيف إلى تعديل النسبة بين (الورقة: الثمار)، لذلك فهو يقلل من منافسة الثمار في الزيتون. التغير في النسبة بين الورقة والثمار تسبب اختلافات كبيرة في نمو الثمار (Abu-Arqoub & Mousa 1998). عند وجود حمل غزير وبفعل تخفيف الثمار يعمل ذلك على زيادة وزن الثمار. وتوفير العناصر الغذائية لنمو ثمار الزيتون بشكل أساسي من أوراق نفس النبات. لذلك، في المناطق المظللة حيث توفر الكربوهيدرات منخفضًا، لا يمكن لثمار الزيتون الحصول على الحجم الأمثل ويزيد خف الثمار من توفر الكربوهيدرات للثمار المتبقية ويؤدي إلى زيادة الحجم (Bakir et al., 2004). إن خف ثمار الزيتون بعد ست أسابيع من تمام التزهير يؤثر معنويًا في زيادة الأزهار في السنة القادمة وبالتالي يقلل من ظاهرة تبادل الحمل وبعض التأثيرات كانت واضحة للغاية تسعة أسابيع من تمام التزهير، أما الخف بعد ذلك ليس له تأثير، وبالتالي فإن وجود الثمار يثبط تكوين الإزهار في السنة القادمة كذلك فإن خف الثمار في الأطوار المبكرة من تكشف الثمرة قبل تصلب الإندوكارب يشجع التزهير في السنة القادمة. ومن الناحية التجريبية وجد أن قتل البذور داخل الثمار عن طريق إجراء فتحة في نهاية الثمرة وذلك باستعمال إبرة بطول 1.6 سم وقطرة 0.5 ملم بإدخال هذه الإبرة في الثمرة يتم تحطيم النواة داخل الثمرة عن طريق تقطيعها إذا تمت هذه العملية بعد ستة أسابيع من تمام التزهير أي عند تصلب الإندوكارب فإنها تزيد نسبة التزهير في السنة القادمة وهذا يؤكد أن تحليق إزهار الزيتون يتم في وقت تصلب الإندوكارب وليس في وقت الشتاء ولكن هذه الطريقة تعتبر بحثية فقط إلى حد الآن (Abu Arqoub & Mousa, 1998).

الخف اليدوي عن طريق إزالة 50% من الثمار قبل تصلب البذرة أي الأسبوع الأول من شهر يونيو هو الأكثر فعالية في زيادة كثافة الإزهار كذلك تحديد نسبة الجنس والإنتاج ونظرًا لتقليل عدد الثمار في عام "on" مما يؤدي إلى زيادة العناصر الغذائية المخزنة وبالتالي يزيد من الإزهار والإثمار في عام "off" التالي، أما عن التوقيت

فيمكن خف الثمار حتى منتصف فصل الصيف، مما يؤدي إلى نمو خضري وثمري كبير في العام التالي (Dag et al., 2010).

الخف الميكانيكي للثمار وذلك باستخدام بخاخ يدوي مع ماء عالي الضغط، كذلك يمكن استخدام الخف الكيميائي باستعمال حمض أسيتيك النفثالين (NAA) بعد فترة قليلة من الإزهار الكامل ويستخدم عادة لزيادة حجم الثمار في زيتون المائدة. وجد أن المعاملة (NAA) (100 مجم / لتر، بعد 10 أيام من الإزهار الكامل) له قدرة على تخفيف الثمار كل سنتين (Dag et al., 2009). ويتم امتصاص (NAA) في أوراق وثمار شجرة الزيتون وينتقل إلى السيقان، حيث تتكون طبقة الانفصال خلال الأسبوعين الأولين بعد إضافة (NAA) مما يتسبب في تساقط بعض الثمار. عند حقن مادة GA3 حمض الجبرليك في أشجار الزيتون بالطريقة التي وصفها (Navarro et al., 1992) وذلك باستعمال 200 – 250 مل لكل شجرة في الفترة ما بين شهر مايو ونوفمبر في الأشجار غير الحاملة ثمار، إي في سنة Off هذا أدى إلى تخفيض التزهير في السنة اللاحقة وبالتالي يمكن الاستفادة من هذه النتيجة وتطبيقاتها لتقليل من ظاهرة تبادل الحمل كذلك فإن حمض الجبرليك أثر على النمو الخضري وسبب زيادة سمك الأغصان معنويا عندما تمت عملية الحقن في المدة من 2 – 9 أسابيع بعد تمام عملية التزهير بينما الحقن بعد 23 – 28 أسبوعا بعد تمام عملية التزهير لم يكن له أية تأثير أما عندما تمت عملية الحقن في شهري نوفمبر وفبراير فإنها أدت إلى زيادة طول النورة إن عملية الحقن لم تؤثر على عقد الثمار أو على إجهاض عضو التأنيث في السنة اللاحقة للمعاملة أما الحقن في مايو ويونيو ويوليو لم يسبب زيادة طول النورة (Abu Arqoub, 1998).

التحليق مع استعمال منظمات النمو، ففي تجربة استخدمت عملية التحليق في 15 فبراير / 15 مارس في نفس السنة، وفي تجربة أخرى كان يستعمل التحليق مع حمض الجبرليك على الشجرة نفسها لكي يتم الاستفادة من العمليتين معا في عملية واحدة أما عملية خف الأزهار تجرى باستعمال نافثالين استك اسد NAA. حيث يجرى الرش باستعمال تركيزي 100 و 150 جزء في المليون وذلك بعد عشرة أيام من تمام التزهير وباستخدام حمض الجبرليك رشا بثلاثة تركيزات مختلفة 25، 50، 1000 جزء في المليون وكان الرش يجرى بعد عقد الثمار مباشرة (Abu Arqoub, 1998).

كانت تجرى هذه العمليات على أشجار الزيتون في سنة الحمل "on" وسنة قليلة الحمل "Off" وفي هذه الأبحاث كانت العناقيد الزهرية تعد على الأفرع المختارة للدراسة (10 فروع) في وقت التلقيح، كانت تعد الإزهار في كل عنقود زهري ويتحصل على متوسط عدد الأزهار لكل عنقود زهري في مرحلة تمام التزهير وكان متوسط عدد الثمار التي تعقد في كل عنقود زهري وبحساب الإنتاج الثمار الكلي وكانت النتائج كما يلي:

تأثير المعاملة على عدد العناقيد الزهرية في الفرع، لقد وجد أن عملية التحليق مع المعاملة بحمض الجبرليك لها تأثير أكبر ايجابية من التحليق بمفرده في سنة الحمل الغزير أو الحمل الضعيف حيث نجحت في زيادة عدد العناقيد الزهرية لكل فرع أما بالنسبة للخف باستعمال NAA فقد حصلت زيادة كبيرة في عدد العناقيد الزهرية أما استعمال حمض الجبرليك لوحده فهو غير فعال في هذه التجربة (Abu Arqoub, 1998).

عدد الأزهار في العنقود الزهري، عند استعمال التحليق لوحده أو بالتداخل مع حمض الجبرليك حصلت زيادة في عدد الأزهار علي العنقود الزهري في سنوات الحمل وعدم الحمل أما الخف باستعمال NAA في السنة الأولى من

المعاملة سببت زيادة في الحمل ولم يحدث نفس التأثير في السنة التالية بالنسبة للمعاملات الأخرى فإنها أعطت نتائج أكبر من الشاهدة في سنة الحمل (Abu Arqoub, 1998).

الإنتاج الكلي، إن جميع المعاملات باستثناء معاملة NAA سببت زيادة في الإنتاج الكلي للشجرة من حيث الوزن ولكن NAA كان لها دور كبير في زيادة عدد الثمار وأفضل زيادة وزن حصل عليها كان من معاملة التحليق + حمض الجبرليك (Abu Arqoub, 1998).

المراجع:

- Abu Arqoub, M.** (1998). olives ; Production - Diseases - Insects - Nematodes - Weeds, First Edition, Academy Library, Egypt.
- Addicott, F.T. & Lyons, F.L.** (1973). Physiological ecology of abscission. In Kozlowski, T. (ed.) Shedding of plant parts. Academic Press. New York. p. 85- 124.
- Aragüés, R., Puy, J., Royo, A., & Espada, J. L.** (2005). Three-year field response of young olive trees (*Olea europaea* L., cv. Arbequina) to soil salinity: trunk growth and leaf ion accumulation. *Plant and Soil*, 271(1), 265-273.
- Baktir, I., Ulger, S., Kaynak, L., & Himelrick, D. G.** (2004). Relationship of seasonal changes in endogenous plant hormones and alternate bearing of olive trees. *Hort Science*, 39(5), 987-990.
- Barranco, D., Fernández-Escobar R., & Rallo L.** (2010). Olive Growing. In 1st English Edition of the 5th revised and enlarged edition of "El Cultivo del Olivo. Mundi-Prensa - Junta de Andalucía (Madrid, Spain): Mundi-Prensa - Junta de Andalucía - Australian Olive Association (Rural Industries Research and Development Corporation; RIRDC).
- Briccoli Bati, C., Filipucci, B., & Monardo, D.** (2002). Bioclimatology of olive: Effects of climatic conditions on flower biology. *Acta Hort.* 586: 493-495.
- Dag, A., Bustan, A., Avni, A., Lavee, S., & Riov, J.** (2009). Fruit thinning using NAA shows potential for reducing biennial bearing of 'Barnea' and 'Picual' oil olive trees. *Crop and Pasture Science*, 60(12), 1124-1130.
- Dag, A., Bustan, A., Avni, A., Tzipori, I., Lavee, S., & Riov, J.** (2010). Timing of fruit removal affects concurrent vegetative growth and subsequent return bloom and yield in olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae*, 123(4), 469-472.
- Documentation and Information Center.** (2007). Final results of the agricultural census. Tripoli, Libya.
- El-Motaium, R. A., Shaban, A. E. A., Badawy, S. H., & Ibrahim, A. S. A.** (2019). Alleviation of alternate bearing phenomenon in mango (*Mangifera indica* L.) trees using boron and nitrogen fertilization. *Journal of Plant Nutrition*, 42(20), 2861-2872.
- Escrigh, R., Costa, I., Moreno, M., Cubedo, M., Vela, E., Escrich, E., & Moral, R.** (2019). A high-corn-oil diet strongly stimulates mammary carcinogenesis, while a high-extra-virgin-olive-oil diet has a weak effect, through changes in metabolism, immune system function and proliferation/apoptosis pathways. *The Journal of nutritional biochemistry*, 64, 218-227.
- Fahmy, I.** (1958). Changes in carbohydrate and nitrogen content of Sour olive leaves in relation to alternate bearing. In *Proc. Am. Soc. Hort. Sci* (Vol. 72, pp. 252-256).
- Sibbet, G. S., & Martin, G. C.** (1994). *Olive production manual* (Vol. 3353). L. Ferguson (Ed.). University of California.

- Fernandez-Escobar, R., Benlloch, M., Navarro, C., & Martin, G. C.** (1992). The time of floral induction in the olive. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(2), 304-307
- Goldschmidt, E. E.** (2005). Regulatory aspects of alternate bearing in fruit trees. *Italus Hortus*, 12: 11-17.
- Gomathinayagam, M., Jaleel, C. A., Lakshmanan, G. A., & Panneerselvam, R.** (2007). Changes in carbohydrate metabolism by triazole growth regulators in cassava (*Manihot esculenta* Crantz); effects on tuber production and quality. *Comptes Rendus Biologies*, 330(9), 644-655.
- Gucci, R., Lodolini, E. M., & Rapoport, H. F.** (2007). Productivity of olive trees with different water status and crop load. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(4), 648-656.
- International Olive Council (IOC)** (2011). <http://www.internationaloliveoil.org>
- International Olive Council (IOC)** (2018). Trends in World Olive Oil Consumption-IOC Report. Available online: <https://www.oliveoilmarket.eu/trends-in-world-olive-oil-consumption-ioc-report>.
- Kofler, J., Milyaev, A., Pfannstiel, J., Flachowsky, H., Hanke, M. V., & Wünsche, J. N.** (2017). Biennial bearing in apple: Proteomic profiling of developing buds. *DGG-Proceedings*, vol. 7, No. 8
- Kofler, J., Milyaev, A., Pfannstiel, J., Flachowsky, H., Hanke, M., Wünsche, J., Garner, L. & Lovatt, C.J.** (2008). The relationship between flower and fruit abscission and alternate bearing of 'Hass' avocado. *Soc. Hort. Sci.*, 133(1) 3-10.
- Lavee, S.** (1986). Olive In CRC handbook of fruit set and development. (Ed. SP Monselise) pp. 167–191.
- Lavee, S.** (2007). Biennial bearing in olive (*Olea europaea*). In *Annales Ser His Nat* (Vol. 17, pp. 101-112).
- Lavee, S., & Avidan, N.** (1993). Protein content and composition of leaves and shoot bark in relation to alternate bearing of olive trees (*Olea europaea* L.). In *II International Symposium on Olive Growing* 356 (pp. 143-147).
- Lodolini, E. M., Polverigiani, S., Ali, S., Mutawea, M., Qutub, M., Pierini, F., & Neri, D.** (2016). Effect of complementary irrigation on yield components and alternate bearing of a traditional olive orchard in semi-arid conditions. *Spanish journal of agricultural research*, 14(2): e1203, p. 10
- Lodolini, E. M.** (2005). *Control of fruit production in olive (Olea europaea L.): water, nutrition and orchard aspects* (Doctoral dissertation, Ph. D. thesis. Politechnics University of Ancona).
- Lodolini, E. M., & Neri, D.** (2008). How growth and reproduction cycles affect alternate bearing in olive. In *VI International Symposium on Olive Growing* 949 (pp. 191-198).
- Malik, N. S., & Bradford, J. M.** (2009). Inhibition of flowering in 'Arbequina' olives from chilling at lower temperatures. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(2), 429-431.
- Marra, F. P., Barone, E., La Mantia, M., & Caruso, T.** (2009). Toward the definition of a carbon budget model: seasonal variation and temperature effect on respiration rate of vegetative and reproductive organs of pistachio trees (*Pistacia vera*). *Tree physiology*, 29(9), 1095-1103.

- Mert**, C., Barut, E. & Ipek, A. (2013). Quantitative seasonal changes in the leaf phenolic content related to the alternate bearing patterns of olive (*Olea europaea*L.) cv. Gemlik. *Journal of Agricultural Sciences and Technology*, 15: 995- 1006.
- Monselesse**, S. P., & Goldschmidt, E. E. (1982). Alternate bearing in fruit trees. *Horticultural reviews*, 4(1), 128-173.
- Okatan**, V., Çolak, A. M., Güçlü, S. F., & Gündoğdu, M. (2018). The comparison of antioxidant compounds and mineral content in some pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes grown in the east of turkey. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*. 17 (4), 17.
- Oliveira**, C. M., & Priestley, C. A. (1988). Carbohydrate reserves in deciduous fruit trees. *Horticultural Review*, 10: 403-430.
- Patel**, R. K., Meitei, S. B., Kumar, A., Srivastava, K., Deka, B. C., Deshmukh, N. A., & Verma, V. K. (2014). Effect of leaf and fruit thinning on yield and quality of peach cv. Flordasun. *The Ecoscan*, 6, 467-471.
- Pharis**, R. P., & King, R. W. (1985). Gibberellins and reproductive development in seed plants. *Annual review of plant physiology*, 36(1), 517-568.
- Pinney**, K., & Polito, V. S. (1989). Flower initiation in 'Manzanillo'olive. In *International Symposium on Olive Growing* 286 (pp. 203-206).
- Pritsa**, T. S., & Voyiatzis, D. G. (2004). Seasonal changes in polyamine content of vegetative and reproductive olive organs in relation to floral initiation, anthesis, and fruit development. *Australian journal of agricultural research*, 55(10), 1039-1046.
- Rallo**, L., & Martin, G. C. (1991). The role of chilling in releasing olive floral buds from dormancy. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(6), 1058-1062.
- Rallo**, L. & Suarez, M. P. (1989). Seasonal distribution of dry matter within the olive fruit- bearing limb. *Advances in Horticultural Science*, 3: 55- 59.
- Rallo**, L., Torreno, P., Vargas, A., & Alvarado, J. (1993). Dormancy and alternate bearing in olive. In *II International Symposium on Olive Growing* 356 (pp. 127-136).
- Rodrigues**, M. A., Lopes, J. I., Ferreira, I. Q., & Arrobas, M. (2018). Olive tree response to the severity of pruning. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42(2), 103-113.
- Rosenstock**, T., Rosa, U. A., Plant, R. E., & Brown, P. H. (2010). A reevaluation of alternate bearing in pistachio (*Pistacia vera* L.) *Scientia Horticulturae* 124(2):149-152.
- Ryan**, D., Prenzler, P. D., Lavee, S., Antolovich, M., & Robards, K. (2003). Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's Mammoth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2532-2538.
- Rugini**, E. & Pannelli, G. (1993). Preliminary results on increasing fruit set in olives (*Olea europaea*L.) by chemical and mechanical treatments. *Acta Horticulture*, 329: 209-210.
- Ryugo**, K., & Ryugo, K. (1988). *Fruit culture: Its science and art* (No. 04; SB355, R9.). New York: Wiley.
- Saleh**, M. & Mostafa, M. (2008). Alternate bearing of the olive as related to endogenous hormonal content. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4(1): 12- 24.
- Selles** van Sch, G., Ferreyra, R., Selles, I., & Lemus, G. (2006). Efecto de diferentes regímenes de riego sobre la carga frutal, tamaño de fruta y rendimiento del olivo cv. Sevillana. *Agricultura Técnica*, 66(1), 48-56.

- Seyyednejad**, M., Ebrahimzadeh, H., & Talaie, A. (2001). Carbohydrate content in olive Zard cv and alternate bearing pattern. *International sugar journal*, 103(1226), 84-87.
- Shalom**, L., Samuels, S., Zur, N., Shlizerman, L., Zemach, H., Weissberg, M., Ophir, R. Blumwald, E & Sadka, A. (2012). Alternate bearing in citrus: changes in the expression of flowering control genes and in global gene expression in on-versus off-crop trees. *PLoS One* 7:46930.
- Shulman**, Y., & Lavee, S. (1976). Endogenous cytokinins in maturing Manzanillo olive fruits. *Plant Physiology*, 57(4), 490-492.
- Spann**, T. M., Beede, R. H., & DeJong, T. M. (2008). Seasonal carbohydrate storage and mobilization in bearing and non-bearing pistachio (*Pistacia vera*) trees. *Tree Physiology*, 28(2), 207-213.
- Tolomeo**, V., Krug, K., Hoffman, S., Flohr, D., & Cosgrove, A., (2013). California olive probability survey report. www.nass.usda.gov/Statistics/ByState/California/Publications/Fruits_and_Nuts/08olvpb.pdf.
- Troncosot**, A., Garcia, J., & Lavee, S. (2012). Evaluation of the present information on the mechanisms leading to flower bud induction and differentiation in (*Olea europaea* L.). *Acta Horticulture*, 8 : 742-755.
- Ulger**, S., Sonmez, S., Karkacier, M., Ertoy, N., Akdesir, O., & Aksu, M. (2004). Determination of endogenous hormones, sugars and mineral nutrition levels during the induction, initiation and differentiation stage and their effects on flower formation in olive. *Plant Growth Regulation*, 42(1), 89-95.
- Usanmaz**, S., Öztürkler, F., Helvacı, M., Turgut, A. L. A. S., Kahramanoğlu, İ., & Aşkin, M. A. (2018). Effects of periods and altitudes on the phenolic compounds and oil contents of olives, cv. ayvalik. *Int J Agric For Life Sci* 2 (2), 32–39.
- Psarras**, G., Kasapakis, I., Stefanoudaki, E., Papadakis, I., Chartzoulakis, K. S., & Chania, C. (2011). Effect of Different Irrigation Regimes on Olive Tree (*Olea europaea* L., 'Koroneiki') Physiology, Yield and Fruit Quality. *Acta Hort.*, (888), 89.

The phenomenon of alternate bearing (bargaining) (*Olea europaea* L.) in the olive crop (a review)

Laila S. Younes¹, Sami M.Lagha², Jalal M.Esoni³

^{1,2,3} Agricultural Research Center, Tripoli, Libya

laila_younes69@yahoo.com

Abstract:

The phenomenon of the alternate bearing (bargaining) is an important economic problem affecting fruit producers, consumers and the economies of countries, and the olive tree (*Olea europaea* L) is one of the crops affected by this phenomenon. Alternate bearing is a two-year cycle that gives a high-yield crop (on year) followed by a low-yield crop (off year). Alternate bearing appears in crops of perennial trees during unfavorable climatic conditions that occur during flowering or fruit setting. This phenomenon is not limited to the bearing trees only, but it affects pollinator trees as well, causing poor flowering, reduced pollination and fruit formation, or flower and fruit dropping. The result is a low yield, usually followed by a bumper crop. On the contrary, the optimum climatic conditions during flowering and fruit setting prevent a drop in the yield, which leads to a good harvest. Because of this problem, olive production remains fluctuating over the years and thus the trade and consumption of producer countries is negatively affected. Horticultural treatments such as fruit thinning, pruning, irrigation, and fertilization, can reduce the intensity of biennial bearing. Generally, alternate bearing is a serious economic problem for table olive and oil farmers, and in general it can be said that the degree of bargaining depends largely on environmental and internal factors and their interactions, which all lead to the phenomenon of alternate bearing. This review will help understanding the problem, its basic reasons and the possible management practices of the problem.

Keywords: high yield (on year), low yield (off year), rotation, fruit setting, pollination, environmental factors, internal factors.

الكشف عن التلوث الطفيلي في بعض الخضراوات الطازجة بمدينة مصراته

فرج سليمان السريتي

كلية التقنية الطبية- مصراته

Farg9958@gmail.com

الملخص:

لعدد 400 من الخضراوات الطازجة جمعت من أسواق مدينة مصراته خلال المدة من نوفمبر 2020 حتى أكتوبر 2021 للكشف عن الأوليات والطفيليات المتواجدة على الخضراوات، حيث كانت النتائج بالخضراوات التالية: الخس، البصل، البقدونس، الجرجير، النعناع، والخيار، والسلق، 22.0، 21.6، 35.0، 20.0، 30.0، 14.5، وأخيراً 7.69% على التوالي وكان المعدل العام للإصابة 21.5% أما من ناحية التأثيرات المناخية فكانت الإصابة في فصل الصيف 38.33% وبالربيع 16.66% وبالخريف 13.7% وأخيراً 11.25% في فصل الشتاء، وكانت الأنواع الطفيلية هي: *Giardia spp*، *Isospora*، *Entamoeba coli*، *Nematoda.L*، *Hymenolepis*، *Toxoplasma gondii*، *Strongyloidy*، *E.histolytica*، *Toxocara spp*. أما من حيث التحليل الإحصائي لم تظهر أي فروق معنوية في نسب الإصابة عند مستوى الاحتمالية $p \geq 0.05$.

الكلمات المفتاحية: انتشار، طفيليات، خضراوات، سوق مصراته.

المقدمة:

تعتبر الخضراوات جزء أساسي وضروري للإنسان السليم لأنها تشكل عنصراً رئيسياً في النظام الغذائي البشري لكل عائلة ونظراً لقيمتها الغذائية تعتبر مصدر حيوي للطاقة، فالعديد من البلدان تركز بها الخضراوات نيئة أو مطبوخة بشكل خفيف للحفاظ على النكهة، كما تعتبر الخضراوات الخضراء أحد أهم المقبلات الغذائية المهمة التي ترافق الوجبات اللذيذة (Abougrain et al., 2010). وقد شجع هذه الممارسة على احتمال العدوى الطفيلية التي تنتقلها الأغذية. فتصبح الخضراوات الطازجة مصدر محتمل للعدوى البشرية- عن طريق الإنتاج، الجمع، النقل، التحضير. بالإضافة إلى ذلك فإن مصادر التلوث في كثير من الأحيان هي التربة، روث الحيوان، مياه الري، وأكثر من ذلك قد يحدث التلوث أيضاً عندما يتم شطف الخضراوات بمياه ملوثة. أجريت دراسة بمدينة مصراته على مدى تلوث نباتي الخس والجرجير بالأنواع الطفيلية المختلفة فكانت معدلات تلوث عالية وقد فسر ذلك لكون الخضراوات تساعد على حفظ أكياس الأوليات الطفيلية نظراً لطبيعة شكل النبات. وكذلك بينت النتائج أن معدل التلوث يكون في فصل الصيف بشكل عام على باقي الفصول، لأنه مع ارتفاع درجات الحرارة ودفء المناخ يكون سبباً في ازدياد الخضراوات بالإصابة الطفيلية مقارنة بالمناخ البارد (أبوشيبة وامشحييت، 2017). في دراسة أخرى أجريت في الأردن (Ismail, 2016) حيث وجد بها تفاوت بين معدلات التلوث بالأنواع الطفيلية المختلفة اعتماداً على نوع النبات وطبيعته المظهرية حيث وجد أن أوراق الخضراوات هي الأكثر عرضة لحدوث التلوث مقارنة بالخضراوات التي يعتمد في تناولها سواء على المجموع الجذري مثل الجزر تليها الخضراوات التي يعتمد في تناولها على ثمارها

مثل الطماطم والخيار. في دراسة لكل من (Benti and Gemechu, 2014) أجريت في أثيوبيا حيث سجل أعلى معدل للتلوث الطفيلي في الخضراوات الطازجة حوالي 67.5%، أجريت كذلك في المغرب حيث قدر التلوث الأحادي أكثر من التلوث الثنائي أو المتعدد حيث قدر بحوالي 32% (Hajjami et al., 2013). كذلك في دراسة أجريت في إيران (Fallah et al., 2015) أكدت أهمية الغسل الجيد للخضراوات الطازجة قبل تناولها للتخلص من أكبر قدر ممكن من الطفيليات على الخضراوات الطازجة باختلاف الموسم.

الهدف من الدراسة:

- 1-تقييم مستويات التلوث الطفيلي في بعض الخضراوات الطازجة بمدينة مصراته.
- 2-تحديد التلوث الفصلي بين معدل تلوث الخضراوات بالأنواع الطفيلية المختلفة.
- 3-التعرف على شدة التلوث الطفيلي للخضراوات المباعة بالمحلات التجارية ومقارنتها بالمزرعة في المزارع بمدينة مصراته.

4-تشخيص الأنواع المتواجدة على اسطح الخضراوات الطازجة

المواد وطرق العمل:

فحص العينات: تم اختيار عدد 400 عينة من نباتات الخس، البصل الأخضر، المقدونس، الجرجير، النعناع، الخيار والسلق. والمتحصل عليها من محلات الخضار وكذلك من المزارع بمصراته. بعد جمع العينات يتم احضارها إلى المعمل لغرض الفحص، حيث يتم وزن 100 جرام من كل عينة بالميزان الرقمي، ونتبع الخطوات التالية:

طريقة الترسيب

بعد وزن العينة يتم غمرها (نقعها) في محلول فسيولوجي (لتر ماء مقطر + 9 غرام ملح طعام) لمدة ليلة واحدة، ثم أخذ المنقوع ووضع في أنابيب اختبار في جهاز الطرد المركزي (بقوة 4000 لفة لمدة 10 دقائق). ثم يزال الجزء العلوي من الرائق للمحلول وأخذ قطرة من الراسب ووضعها على شريحة زجاجية ووضع عليها الغطاء. ثم تفحص تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير 40× لمعرفة أنواع الطفيليات الموجودة على العينة. وتفحص أما بطريقة المسحة المباشرة، أو بطريقة مسحة اليود أو بطريقة الصيغ باستخدام نيلسون.

طريقة الطفو

تغمر كل عينة في محلول مشبع لمدة ساعة. بعد ذلك تزال العينة وتترك لمدة ساعة حتى يستقر المحلول، يسحب الراشح ويوضع في أنابيب اختبار في جهاز الطرد المركزي (بقوة 4000 لفة لمدة 10 دقائق) ويتم إزالة الجزء العلوي من الرائق ويفحص الراسب بالمجهر الضوئي عند قوة 40× ويمكن اتباع الخطوات سالفة الذكر.

التحليل الإحصائي:

استخدم البرنامج الإحصائي spss وذلك لتحليل البيانات واستخدام معادلة الانحدار البسيط والحصول على قيم (t) لمتوسط معدلات التلوث في الخضراوات المفحوصة، أيضاً إيجاد معامل الارتباط (r) بين أنواع الخضراوات المفحوصة، استخدام برنامج spss لإجراء التحليل الإحصائي عند مستوى معنوية $p \geq 0.05$.

النتائج:

جدول (1) يوضح حالات الإصابة بالطفيليات المتواجدة على الخضراوات المختلفة ونوع هذه الطفيليات:

نوع الخضار	No. of examined عدد المفحوص	No. of Infected عدد المصاب		Kind of Parasites نوع الطفيل
		+v	%	
الخس <i>Lactuce sativa</i>	60	15	25.0	<i>Hynanalepis nana</i> <i>Nematoda.Lspp</i> <i>E. coli</i>
البصل <i>Allium cepa</i>	60	13	21.6	<i>Entamoeba coli</i> <i>Isospora spp</i> <i>Giardia. spp</i>
البقدونس <i>Petroselinum hortens</i>	60	21	35.0	<i>E.coli</i> <i>Giandia spp</i> <i>Nematode.L</i>
الجرير <i>Eruca sativa</i>	60	12	20.0	<i>Coccidia.spp</i> <i>Nematode</i>
النعناع <i>Mentha viridis</i>	40	12	30.0	<i>E.histolytica</i> <i>G. lamblia</i>
الخيار <i>Cucumis sativus</i>	55	8	14.5	<i>Toxocara spp</i> <i>Strongyloiydes</i> <i>Giardia. spp</i>
سلق <i>Beta vulgaris</i>	65	5	7.69	<i>Toxoplasma gondii</i>
المجموع <i>Total</i>	400	86	21	
	P> 0.05			

جدول (2) يوضح حالات إصابة الخضراوات بالطفيليات والأوليات أثناء فصول السنة.

الفصل <i>season</i>	<i>No. of examind</i> عدد المفحوص	حالات الإصابة + ve <i>No. of infected</i>	% نسبة الإصابة
الصيف Summer	120	46	38.33
الربيع Spring	120	20	16.66
الخريف Autumn	80	11	13.75
الشتاء Winter	80	9	11.25
المجموع Total	400	86	21.5

P> 0.05

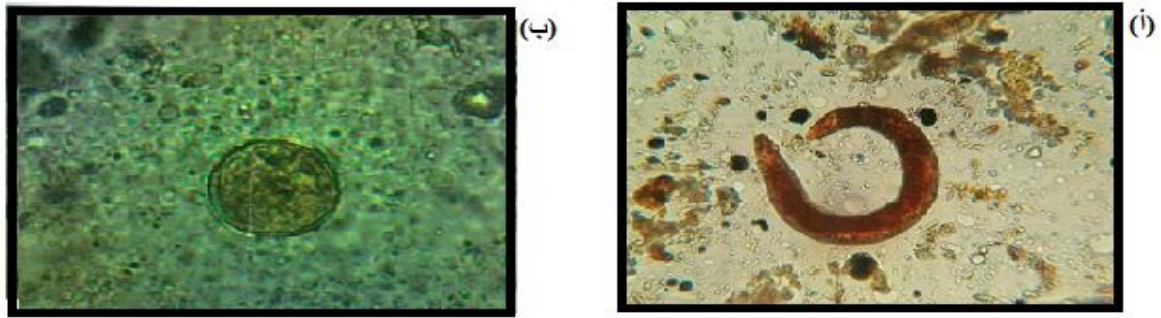


(ب)



(أ)

شكل (1): يوضح (أ) بيض الديدان (Nematoda egg)، (ب) يرقة الديدان (Nematoda larva).



شكل (2): يوضح (أ) الـنيماتودا (*Strongyloides*) . L (Nematoda ، (ب) الكيس (Cyst of *E. histolytica*).

المناقشة:

من خلال الجداول السابقة نلاحظ ولعدد 400 عينة من النباتات المختلفة وجد إصابة 25.0% لنبات الخس، 21.66% لنبات البصل الأخضر، 35.06% لنبات البقدونس، 20.0% لنبات الجرجير، 30.0% لنبات النعناع، 14.5% لنبات الخيار وأخيراً 7.69% لنبات السلق بالطفيليات المختلفة. وكان المعدل العام للإصابة هو 21.5% كما هو مبين في (جدول 1). وبالنظر في (الجدول 2) نلاحظ أن الإصابة في فصل الصيف هي الأعلى 83.3% يليه فصل الربيع بنسبة 16.6% تم الخريف بنسبة 13.7% وأقلها في فصل الشتاء وكانت النسبة 11.25%، أما أنواع الطفيليات والأوليات التي تم التعرف عليها هي: *Girdia lamblia* , *Entameba coli* *Entameba histolytica* , *Toxoplasma gondii*, وبيوضها *Toxocara sp* ويرقات ديدان *Nematoda* وأكياس الكوكسيديا *Coccidia*. وهذه الدراسة قد تكون مطابقة لما تحصل عليه (وسن وآخرون، 2013) من حيث الأنواع الطفيلية ولكن بنسب متفاوتة في الخس كانت الإصابة به 53.3% يليه السلق بـ 50.0% وكذلك النعناع وأقلها البقدونس بنسبة 40.6%. وفي دراسة أخرى قام بها كلا من (Vuang et al., 2007) (والحبيطي 2002) و(شلال، 2001) أن الفجل والكرات هما أكثر عرضة للتلوث مقارنة بالأنواع الأخرى وعزى ذلك إلى الأجزاء السفلية التي يؤكل منها الفجل دون غسل جيد والتماسه بالسماذ الحيواني والتربة، وأن بيوض الطفيليات تبقى فترة طويلة خاصة على الأوراق المبتلة بالماء والندى وأن غسلها قد لا يكون كافياً (Belding, 1965). ولوحظ أن طفيل *G. lamblia* أكثر تواجد مقارنة بغيره من الأوليات، وتعزى النسب العالية لكونه يصيب الإنسان وفي جميع الأعمار وخاصة مرحلة الطفولة (Appleton et al., 1995). أما من حيث الإصابة الموسمية أكد (وسن وآخرون، 2013) أن فصل الصيف والربيع هما أكثر الفصول حدوثاً للإصابة بالطفيليات على الخضار ويعود السبب إلى فترة التكاثر للطفيليات في هذه الفترة الزمنية ناهيك عن كثرة انتشار الحشرات الناقلة للطفيليات وأطوارها المختلفة إضافة إلى استخدام الباعة نفس الماء الذي تغسل به الخضروات لترطيبها من حرارة الشمس وهذا مطابق لما وجدناه في هذه الدراسة إلى حد ما، وفي جامعة البيضاء باليمن أجريت دراسة على تلوث الخضروات بالطفيليات كانت نتائجها كالتالي: أن نسبة التلوث وصلت إلى 100%، وكان الكرات والجرجير أكثر الخضروات تلوثاً بنسبة 30.0%، ومن ثم الخس 25.0%. وبيوضيات نوع *E. histolytica*, *Balantidium coli* (محمد وردمان، 2019).

وفي دراسة تمت بمصراته وجد بها إصابة الخضروات مثل البصل الأخضر والفلفل والخيار والجزر بديدان *nana* وديدان *Hymenolepis* spp وكذلك ديدان *Toxocara spp/ T.trichura* والأوليات التالية ، *Giardia spp* و *E-coli* و ديدان *S.lumbricoides* *Isospora spp*. وفي معظم الأحوال لا تختلف النتائج كثيراً على نتائج هذه الدراسة إلا أن هذا الطفيل الأخير لم يتم العثور عليه في دراستنا وراجع انتشار الطفيليات إلى وجود الكلاب السائبة وأكثرها بالمنطقة وكذلك وجود القطط الأليفة غير المراقبة بيطرياً (أبوشيبة وامشحييت، 2017). وفي العموم هذه الدراسة متوافقة مع ما سبق من الدراسات.

التوصيات:

- 1-القضاء على الكلاب الشاردة من قبل السلطة المحلية كونها مصدر لنقل العدوى بالطفيليات وخاصة التي تتطفل على الكلاب.
- 2-القضاء على القطط وعدم تربيتها في المزارع وأماكن إنتاج الخضروات الموسمية.
- 3-المتابعة الدورية لمراكز الرقابة على الأغذية للأسواق والباعة المتجولين وطرق تعاملهم في بيع الخضروات والفواكه.
- 4-اتباع الطرق الصحية الصحيحة في تنظيف الخضار جيداً وخاصة من قبل ربات البيوت.
- 5-الكشف الدوري على المطاعم من قبل السلطات المختصة والإبلاغ عن أي حادثة مخالفة للوائح والقوانين الصحية والبيئية المعمول بها في البلد.
- 6-توفير الأدوية لمقاومة الطفيليات سواء كانت البشرية أو الحيوانية على مدار العام.
- 7-إنشاء مختبرات بيطرية خاصة بالطفيليات في المنطقة.

المراجع:

- أبوشيبة، فاطمة وامشحييت، خلود. (2017). تقييم مستوى التلوث الطفيلي لبعض الخضروات المباعة في المحلات التجارية بمصراته. المؤتمر السنوي الأول حول نظريات تطبيقات العلوم الأساسية والحيوية كلية العلوم مصراته، ص248-239.
- محمد، توفيق عبد الرحمن عبد الجليل وردمان، بكيل علي محمد. (2019). انتشار الطفيليات الأولية والمعوية في الخضروات الورقية الطازجة في أسواق مدينة رداغ، جامعة البيضاء اليمن، مجلد1، العدد (2)، ديسمبر 2019.
- مهدي، وسن عداي، داود، يحي توما والقاضي، بان نوري عبداللطيف. (2013). دراسة مسحية للطفيليات المعوية في الخضروات الطرية المجمعة من بعض أسواق مدينة بغداد ودورها في إصابة الإنسان، مجلة بغداد للعلوم، مجلد (10)، (1).
- الحبيطي، إبراهيم أحمد عبد الله. (2002). دور بعض الخضروات في نقل الإصابة بالطفيليات المعوية للإنسان في مدينة الموصل/ العراق/ المجلة العراقية للعلوم الزراعية: (3:3)، ص132-138.
- شلال، محمد حسين على. (2005). تقييم التلوث الطفيلي في الخضروات والأعشاب العلفية في الموصل، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، ص1-65.

- Abougrain**, A.K.; Nahaisi, M.; Madi, N.S and saied, M.M. (2010). Parasitological Contamination Is Salad Vegetables In Tripoli-Libya. Mayzo10. Food Control 21(5). 760-762.
- AL- Binali**, A.M.; Bello, C.S.; EL – shewy, K. and Abdulla, S.E. (2006). The prevalence of parasites in commonly used leafy vegetables in south west Saudi Arabia .Saudi Med.J,27(5) :613-616.
- Amoah**, P.; Drechsel, P.; Abaidoo, R.C. and Klutse, A. (2007). Effectiveness of common and improved sanitary washing methods in selected cities of West Africa for the reduction of coliform bacteria and helminthes egg on vegetables .
- Appleton**, C.C. Sharp; B.L. and Sueur; P.L. (1995). Wetlands And Water Related Parasitic Diseases Of Man In Southern Africa. In Cowan G.G. (Ed) Wetlands Of South Africa. Department Of Environmental Affairs And Tourism; Pretoria (Special Publication); P:227-26.
- Belding**, P.L. (1965). Textook Of Parasitology. 3rd Ed Appleton Centuy-Crofts. New York.
- Benti**, G. and Gemechu, A.A. (2014). Parasitic contamination on vegetables irrigated with Awash River in selected farm estren Showa Ethiopia . Journal of Parasitology and vector biology 6(7): 103-109.
- David**, D. (2005). Food borne protozoan parasites. International Journal of Food Microbiology, 103:207-227.
- Fallah**, A.A.; Pirali-Kheirabadi, K.; Shirvani, F. S. and Dehkordi, S.S. (2012). Prevalence of parasitic contamination in vegetables washing procedure. food Control,25,617-620.
- Hajjami**, K.; Ennaji, M.M., Amdioune, H.; Fouad, 1. S. and Cohen, N. (2013). (Morocco) and Risk for used for raw consumption in Shahrekord, Iran: influence of season.
- Ismail**, Y. (2016). Prevalence of parasitic Collected from Supermarkets and Street Vendors in Amman and Baqa a- Jordan. Polish Journal of microbiology; Vol. 65, No 2, 201-207.
- Nahaisi**, M.H.; Madi, M .S.; Saied, M.M. and Ghenghesh, K.S. (2010). Parasitological contamination in salad vegetables in Tripoli Libya .
- Said**, D. E. (2012). Detection of parasites in commonly consumed raw vegetables, Alexandria Journal of Medicine, 48, 345-352.
- Vuong**, T.A. Nguyen, T.T.; Kland, L.T. ; Phung, D. C. and Palsgard, A. (2007). Faecal And Protozoan Parasite Contamination Of Water Spinach (Ipomoea Aquatic) Cultivated In Urban Wastewater In Phnon Penh Cambodia. Trop. Med. Int. Health. 12: 73-81.

Detection Of parasitic contamination In some fresh vegetables from Misurata, Libya

Farag Soliman El serite
Faculty of Medical Technology – Misurata
frag9958@gmail.com

Abstract:

For 400 fresh vegetables collected from the markets of the city of Misurata during the period from Nov 2020 to Oct 2021 to detect protozoa and parasites present on vegetables; the results were on vegetables, lettuce, tomato, onions, watercress; mint, cucumber and chard 25.0/21.6/35.0/20.0/30.0/14.5 and 7.69% respectively, and the overall rate of infection was 21.5%.

The summer was the most frequent incidence of injuries seasonal variation in summer 38.3% in the following spring 16.6% , autumn 13.7% and winter 11.2% $P>0.05$ non sig.

Keywords: *Prevalence – parasites – vegetables – Misurata Markets.*

تقييم زيت الزيتون (الحموضة والبيروكسيد) في بعض المعاصر بالمنطقة الغربية

سامي لاغا¹، جلال السني²، ليلي يونس³

^{3,2,1} مركز البحوث الزراعية - طرابلس - ليبيا

aboo2010same@gmail.com

الملخص:

تقييم زيت الزيتون (الحموضة والبيروكسيد) في بعض المعاصر الليبية في المنطقة الغربية يعتبر زيت الزيتون منتجاً مهماً للغاية نظراً لقيمه الغذائية وخصائصه الحسية ومضادات الأكسدة، حيث تضع القواعد العالمية والمحلية معايير الجودة لزيت الزيتون باستخدام قياس الحموضة والبيروكسيد لتحديد زيت. زيتون بكر ممتاز عالي الجودة ومنخفض الجودة. تتميز الإجراءات المعيارية لقياس الحموضة ومؤشر البيروكسيد بالمعيرة اليدوية التي تتطلب بيئة معملية وكوادر مدربة، وأظهرت نتائج التحليل في هذه الدراسة عدم وجود زيت زيتون بكر ممتاز في جميع العينات المدروسة حسب تصنيف المجلس الدولي للزيتون، وكانت أفضل منطقة حموضة هي المنطقة الساحلية (1) بنسبة 0.9% على عكس المنطقة الساحلية رقم (2) والتي كانت 5.8% وهي أكثر. أظهرت العينات زيادة في الحموضة. أما بالنسبة لرقم البيروكسيد، فجميع العينات كانت أقل من المعدل المسموح به، باستثناء المنطقة الساحلية (3)، حيث كانت عالية (38.84 ملي مكافئ / كجم زيت-زيت). أما بالنسبة لمتوسط الحموضة وعدد البيروكسيد للمنطقة الجبلية ككل، فقد كان أفضل من المنطقة الساحلية، وبالنسبة لجميع المناطق كان متوسط نسبة الحموضة 3.12% أي أنه مصنف على أنه زيت زيتون عادي حسب تصنيف المجلس، وعدد البيروكسيد أعلى من المتوسط بمتوسط 21.25 مليلتر مكافئ / كجم من الزيت.

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة، الحموضة، البيروكسيد، الزيتون البكر، المعايير اليدوية.

المقدمة:

شجرة الزيتون *Olea europaea*.L من الأشجار المعمرة المستديمة الخضرة تتبع العائلة الزيتية (oleaceae). وينسب للجنس (olea) حوالي 30 نوعاً معظمها استوائية نشأت في موريشوس (Mauritius) والجزر المجاورة لها، منها نوعان مشهوران الزيتون البري *Olea europaea oleaster* وزيتون الزيت *Olea europaea sativa* وإليه تنسب معظم أصناف الزيتون المزروعة ويعتبر النوع *Olea chrysophylla* أصل الزيتون وموجود بحالة برية في أفريقيا شمال الحدود السودانية (تشاندر، 1987).

شجرة الزيتون من الأشجار التي تتحمل الظروف البيئية القاسية والعيش في مناطق معدلات سقوط الأمطار فيها من 100 - 250 مل سنوياً (أبوعقوب، 1998)، حيث تنمو في المناطق المعتدلة وتحت الاستوائية ما بين خطي عرض (27 - 44) شمالاً و(15 - 44) جنوباً وتعتبر منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط أهم مناطق زراعته حيث ينمو بها حوالي 98% من أشجار الزيتون في العالم، يتوزع الإنتاج العالمي ما بين إسبانيا لديها أكثر من 320 مليون شجرة زيتون وهي أكبر منتج (37%)، تليها إيطاليا (24%) واليونان (22%) وهناك دول بها حظ وافر من الإنتاج

مثل تونس وتركيا إلى جانب منتج زيت الزيتون الناشئون الآخرون وهم كاليفورنيا (الولايات المتحدة الأمريكية)، أستراليا ونيوزيلندا وشيلي، حاليا حوالي 90 % من إنتاج زيت الزيتون في العالم هومن حوض البحر الأبيض المتوسط والدول الأوروبية مسؤولة عن حوالي (82%) من الإنتاج (الخفاجي وآخرون، 1990؛ تشاندلر 1987؛ Carbonari and Sarnari, 2013).

تعد زراعة الزيتون من أهم زراعات أشجار الزيت في ليبيا وفي دول حوض البحر المتوسط، زراعة الزيتون دعامة أساسية في بناء اقتصاديات للعديد من الدول ولزالت تعتبر ثروة قومية في الكثير من الدول ويبلغ عدد اشجار الزيتون في ليبيا حوالي 8 ملايين شجرة، تنتشر زراعتها في مناطق ترهونة ومسلاتة والخمس زليطن ومصراته وأهم مناطق زراعة الزيتون البعلي في مناطق الجبل الغربي كما توجد بعض الزراعات في منطقة بنغازي والجبل الأخضر وتقدر المساحة المنزرعة حوالي 200 ألف هكتار وتبلغ الإنتاجية من الثمار 900 ألف طن، في حين وصل الإنتاج من زيت الزيتون إلى 180 ألف طن (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1995).

تنقسم أشجار الزيتون المزروعة إلى قسمين حسب الغرض من الاستهلاك، أصناف مائدة وهذه تستهلك ثمارها بعد التخليل وأصناف يستخرج من ثمارها الزيت ذو القيمة الغذائية والصناعية الهامة ومن الناحية الغذائية تحتوي ثمرة الزيتون الناضجة على حوالي 50-55 % من وزنها ماء، 1.51% أملاح معدنية، 19 % كربوهيدرات، 1.65% بروتين، 5.84% سيليلوز (أبوعرقوب 1998؛ تشاندلر 1987).

تختلف أصناف الزيتون فيما بينها في حجم الثمار وسمك الجزء اللحمي حسب الصنف، حيث ذكر كثير من الباحثين أن حجم الثمار عند النضج وطبيعة نضجها ونوعية ونسبة الزيت تعتمد على كمية حمل الشجرة وموقع الثمار على الشجرة وموقع الشجرة في البستان (فؤاد، 1999).

زيت الزيتون أحد مكونات ثمار الزيتون حيث يمثل هو والماء حوالي 85 - 90 % من إجمالي وزن الثمار والباقي عبارة عن سكريات وبروتينات وعناصر معدنية. تحتوي الزيوت بعد فرزها على حوالي 0.5 % من الماء والشوائب (حسن، 1995) وتحتوي ثمار الزيتون على نسبة كبيرة من الزيت حوالي 22-35 % زيت مقارنة بثمار الفاكهة الأخرى، حيث يتكون زيت الزيتون من 85% جلسريدات حمض الأوليك، 6 - 9 % جلسريدات حمض البلمتيك، 4 % حمض اللينوليك ونسبة قليلة من حمض الاستياريك وفيتامين A وقليل من سكر (أبوعرقوب، 1998؛ تشاندلر، 1987).

يتركب زيت الزيتون من مواد دهنية تسمى الجليسريدات مرتبطة بأحماض دهنية بروابط إسترية بالإضافة لمواد مرافقة للزيوت كالفسفوليبيدات وبعض الأنزيمات والصبغات الذائبة في الدهون بنسبة 97 % (كاخيا، 2006). زيت الزيتون المنتج من ثمار الزيتون. يمثل عنصر مهم في النظام الغذائي وهو محل تقدير كبير لتأثيراته المفيدة على صحة الإنسان، ويرجع ذلك أساساً لنسبة العالية من حمض الأوليك والبوليفينول (Tulipani, 2012). ويعتبر زيت الزيتون من المنتجات النباتية الفريدة، فبالإضافة إلى تفوقه على بقية الزيوت النباتية من حيث محتواه العالي من الفينولات والأحماض الدهنية الغير مشبعة وهذا يعني قلة احتمال حدوث الأكسدة، وبإضافة إلى احتوائه على مضادات الأكسدة والصبغات والفيتامينات الطبيعية التي تساهم في منع تشكل الجذور الحرة في الدم (Cinquanta et al., 1997).

أظهرت دراسة حول الأنماط العالمية لوفيات السرطان كيف ينخفض معدل الوفيات من سرطان الثدي والقولون والمستقيم في البلدان التي يرتفع فيها استهلاك زيت الزيتون (Levi *et al.*, 1994). علاوة على ذلك، يبدو أن خصائص الزيت تقلل أيضاً من الوفيات الناجمة عن الشريان التاجي أمراض القلب (Estruch, 2006). إثنين من أهم العوامل المستخدمة لتعريف جودة زيت الزيتون هي مؤشر الحموضة والبيروكسيد. يعرف الأول بأنه كمية الأحماض الدهنية التي لم تعد مرتبطة بجزيئات الدهون الثلاثية الأصلية ويتم التعبير عنها كجرامات من حمض الأوليك في 100 جرام من الزيت، وتعتمد بشدة على الجودة والنضارة من الزيتون المستخدم في إنتاج الزيت (Sacchi *et al.*, 1998)، أما الثاني مؤشر البيروكسيد، هو معلمة مستخدمة لتقدير أكسدة الزيت الأولية ويتم تعريفه على أنه ميلي مكافئ من الأكسجين النشط لكل كيلوغرام من الزيت (ميلي مكافئ O_2 / كيلوغرام زيت). يرتبط هذا بنضج الزيتون وظروف تخزين الزيت بعد الإنتاج. خلال فترة التخزين، فإن كل من الإضاءة ودرجات الحرارة المرتفعة تؤثر سلباً على قيمة البيروكسيد. حسب قيم الحموضة والبيروكسيد المقاسة يمكن تصنيف زيت الزيتون القياسي في فئات مختلفة من جودة المنتج. الأفضل هو زيت الزيتون البكر الممتاز (EVOO) يتميز بحموضة أقل من 0.8% ومؤشر بيروكسيد أقل من 20. يليه زيت الزيتون البكر يتميز بحموضة تتراوح بين 0.8% و 2% ومؤشر البيروكسيد أقل من 20، (المواصفات الخاصة). ويعتبر موعد نضج الثمار العامل الأكثر تأثيراً على نوعية الزيت، وهو العامل المحدد للموعد المناسب للقطاف. ذلك لأن موعد قطاف الزيتون يختلف باختلاف المنطقة والصنف، وبناء عليه فإن الموعد الأمثل لقطاف الثمار لغرض استخراج الزيت هو عندما تكون الثمار قد نضجت واكتمل تكوين الزيت فيها، وعند هذا الموعد تكون كمية ونوعية الزيت أفضل ما يمكن. وتبدأ فترة النضج منذ ظهور بقع بنفسجية اللون على الثمرة وتنتهي عندما يتلون اللب بكامله بهذا اللون (Humanes, 1992) للجني المبكر جداً أو المتأخر تأثير سلبي على كمية ونوعية الزيت معاً، أما الجني المبكر فيعطي فرصة لتخزين الزيت أفضل بكثير من الجني المتأخر، كما أن الزيت يكون بمواصفات حسية عالية وأقل عرضة للتحلل والأكسدة ويحتوي على كمية أكبر من المركبات الفينولية. أما التأخر في الجني فيعطي زيادة في نسبة الزيت وانخفاضاً في المواصفات الحسية (Peter, 2008). وعند تجاوز الثمار مرحلة النضج التام يجعل من السهل فقدان الخصائص الحسية للزيت ويصبح أقل ثباتاً، كذلك يتغير تركيب الأحماض الدهنية مع الوقت، وتنخفض نسبة حمض الأوليك والبالمتيك وتزداد نسبة حمض اللينولييك والبالمتيك مع الوقت، ويصبح الزيت أكثر سوءاً، ويؤثر تأخير موعد الجني تأثيراً سلبياً على نوعية الزيت، حيث تزداد حموضة الزيت عندما تبقى الثمار على الأشجار لفترة طويلة بسبب نشاط إنزيم الليباز، وكذلك يزداد رقم البيروكسيد والامتصاص النوعي للأشعة فوق البنفسجية (Garcia *et al.*, 1996).

أما (Salvador *et al.*, 2001) فلاحظ انخفاضاً في الصبغات وحمض الأوليك والستيرويدات الكلية مع تقدم الثمار بالنضج بينما ازداد كل من الحموضة الحرة avenasterol 2-5 وحمض اللينولييك والمركب الستيرولي في حين لم تسلك مضادات الأكسدة سلوكاً معيناً. ومن العوامل المؤثرة على نوعية زيت الزيتون انتزاع البذرة من الثمار، فقد ذكر (Ranalli *et al.*, 2002) أن هناك اختلافاً في التركيب الكيميائي لزيت الزيتون المستخرج من الثمار كاملة عن التركيب الكيميائي للزيت المستخرج من لب الثمار فقط. ولقد تبين بوضوح أن الزيت الناتج عن الثمار منزوعة البذرة يحوي زيادة حوالي 25 % O-diphenolics في إجمالي المركبات الفينولية وخاصة مقارنة بزيت الثمار

الكاملة، وهذا يتفق مع ما توصل إليه (Soler et al., 2000) من أن المركبات الفينولية methyl - vebascoside oleuropein - europein موجودة بوفرة في زيت لب الثمار. ذكر (الغامدي، 2008)، في تقييم الخواص الطبيعية والكيميائية لزيت الزيتون البكر المنتج في بعض الدول العربية الأجنبية، وكانت نتائج تقدير بلغت نسبة الحموضة مقدرة كحامض أوليك (0.95 - 3) وتراوح قيم رقم البيروكسيد بين (4.8-30.5) وبينت الدراسة أن النسبة المئوية للحموضة كانت في حدود (0.525 - 0.735 %) ملليجرام هيدروكسيد البوتاسيوم/جرام من الزيتون البكر. وذكر أن قيم رقم البيروكسيد كانت (12.47، 13.61، 11.31) ملليكامف/كجم لزيت الزيتون البكر. في حين كانت نتائج رقم التصبن لزيت الزيتون البكر على التوالي (186.10، 191، 193.61) ملليجرام/هيدروكسيد البوتاسيوم/جرام للأصناف سكولانا، ناب الجمل، قرقاشي على التوالي (عكاشة، 2013). أشار (Perrin, 1992) إلى أن زيت الزيتون الناتج من عصر الثمار من نوع (*Olea European. L.*) له قدرة عالية على مقاومة الأكسدة بالمقارنة بالزيوت الغذائية الأخرى وذلك لانخفاض في نسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة والمواد غير المتصبنه واحتواءه على التوكوفيرولات والمركبات الفينولية. ومن الجدير بالذكر أن تخزين الزيوت في بيئة غير مناسبة يؤثر على جودته وبالتالي يجب أن تعطى أهمية خاصة لتخزين الزيوت الجيدة (آل سرحان، 1994).

الهدف من الدراسة:

تحليل زيت الزيتون المنتج من بعض معاصر المنطقة الغربية ومعرفة مدي جودته ومقارنته بالمواصفات الموصي بها دوليا.

المواد وطرق البحث:-

تم جمع عينات زيت الزيتون من عدة معاصر مختلفة من المنطقة الجبلية والمنطقة الساحلية الممتدة من القربولي الى مصراته لموسم 2021/20 م وأجري عليها التحليل في مختبرات وحدة البستنة بمركز البحوث الزراعية حيث تم تقدير الاتي:-

1- تقدير الحموضة:

تعرف الحموضة بأنها عدد المليجرامات من هيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية الطليقة في واحد جرام من الزيت أو الدهن.

وقد قدرت الحموضة عن طريق معايرة الأحماض الدهنية الحرة الموجودة في وزنة من الزيت باستخدام محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 0.1N وذلك بعد إذابة وزنة الزيت في خليط من الإيثانول والإيثر ومعادلة هذا الخليط باستخدام محلول قياسي من هيدروكسيد البوتاسيوم باستخدام فينول فتالين (Phenolphthalein) ككاشف والرقم الحمضي المقدر عبارة عن عدد ملليغرامات هيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لمعادلة الحموضة في جرام واحد من الزيت، Ceirwyn, (1995; Egan and Sawyer, 1981).

2- رقم البيروكسيد:

يعرف رقم البيروكسيد بأنه عدد مللي مكافئات البيروكسيد الموجودة في واحد كيلو جرام زيت أو دهن. وقدرت قيمة البيروكسيد الذي يعبر عن محتوى الزيت من المركبات البيروكسيدية، حيث قدر عن طريق تفاعل يوديد

تقييم زيت الزيتون (الحموضة والبيروكسيد) في بعض المعاصر بالمنطقة الغربية.....(36-44)

البوتاسيوم في محلول حامضي مع الأكسجين المرتبط على هيئة بيروكسيد في الزيت والذي سينتج عدد من مكافئات اليود (تعادل مكافئات الأكسجين المرتبط) ومن ثم يعاير اليود الناتج باستخدام محلول ثيوكبريتات البوتاسيوم معلوم التركيز ويستخدم الكلوروفورم لإذابة الزيت ورقم البيروكسيد المقدر يعبر عنه عادة بعدد مليمكافئات البيروكسيد في كيلوجرام زيت (meq/Kg) (Egan and Sawyer, 1981).

التحليل الإحصائي:

تم إجراء التحليل الإحصائي للنتائج باستخدام البرنامج الإحصائي Statistical analysis system (SAS) ونوع التصميم Completely Randomized Design (CRD) وأجريت المقارنات بين متوسط المعاملات بواسطة اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة:-

من خلال الجدول رقم (1) كانت أفضل النتائج للحموضة في المنطقة الساحلية رقم (1) حيث حققت أقل نسبة حموضة 0.9 % وبدون فرق معنوي مع المنطقة الجبلية رقم (3) ونسبة 1.9% وبفرق معنوي مع المناطق الأخرى بينما كانت المنطقة الساحلية رقم (2) هي الأعلى نسبة وبلغت 5.8 % و فرق معنوي مع باقي المناطق الأخرى ونلاحظ من خلال الجدول أن جميع عينات المناطق المدروسة خلت من زيت الزيتون البكر الممتاز حسب المواصفات الخاصة بزيوت الزيتون (2017).

أما عن رقم البيروكسيد والذي حسب المواصفات القياسية العالمية التي حددت بأن لا يسمح بزيادة الرقم البيروكسيد لزيت الزيتون المستخدم في الغذاء عن 20 مللي مكافئ بيروكسيد / 1 كجم زيت ومن النتائج يتبين أن جميع المناطق كانت أقل من الحد المسموح به ما عدا المنطقة الساحلية رقم (2) فكان رقم البيروكسيد فيها مرتفع عن الحد المسموح به (38.84) وقد يكون ذلك نتيجة لتأكسد الزيت عند تعرضه للهواء الجوي.

جدول (1) متوسط نسبة الحموضة في المناطق المدروسة

المنطقة	الحموضة %	البيروكسيد ميلي مكافئ/كجم زيت
المنطقة الجبلية (1)	3.12c	16.87 a
المنطقة الساحلية (1)	0.9a	17.7a
المنطقة الساحلية (2)	5.8d	38.84b
المنطقة الجبلية (2)	3.9c	13.46 a
المنطقة الجبلية (3)	1.9ab	19.41 a

نلاحظ من الجدول رقم (2) ارتفاع نسبة الحموضة في المناطق الجبلية ولكن ضمن الحدود المسموح بها للاستهلاك البشري التي صنفتها المجلس الدولي للزيتون وكذلك بالنسبة للبيروكسيد فلم تتجاوز قيمته الحد المسموح به الذي لا يزيد فيها رقم البيروكسيد عن 20 مللي مكافئ بيروكسيد/كجم زيت؛ بينما تجاوزت نسبة الحموضة ورقم البيروكسيد الحد المسموح به في

تقييم زيت الزيتون (الحموضة والبيروكسيد) في بعض المعاصر بالمنطقة الغربية.....(36-44)

المناطق الساحلية وربما يرجع السبب في ارتفاع نسبة الحموضة في المنطقتين الى عدة عوامل منها الصنف ودرجة النضج وطريقة العصر موعد وطريقة الجنى والمدة بين الجني والعصر كما يتأثر بعضها كحمض الأوليك واللينولييك بظروف منطقة الزراعة (sdeghi and Talaii, 2002; Acar and Ersoy,1996).

جدول (2) مقارنة بين المنطقتين الجبلية والساحلية في متوسط نسبة الحموضة ورقم البيروكسيد

المنطقة	الحموضة %	رقم البيروكسيد ميلي مكافئ/كغم زيت
المنطقة الجبلية	3.07	15.05
المنطقة الساحلية	4.22	31.81

من خلال الجدول (3) نلاحظ أن متوسط نسبة الحموضة لجميع المناطق المدروسة 3.12 % والذي يصنف على أنه زيت زيتون عادي حسب تصنيف المجلس الدولي للزيتون وهو صالح للاستهلاك، بينما قيمة البيروكسيد تجاوزت النسبة المسموح بها (20 ميلي مكافئ/كغم زيت) زيت الزيتون.

جدول (3) متوسط نسبة الحموضة والبيروكسيد لجميع المناطق.

الحموضة %	3.12 %
رقم البيروكسيد ميلي مكافئ/ كغم زيت	21.25

الاستنتاجات:

من خلال نتائج الدراسة يتضح أن الزيت ذات جودة جيدة تراوحت بين الزيت البكر والزيت العادي وهو مقبول للاستخدام البشري.

التوصيات:

أولاً: عقد دورات تدريبية وورش عمل ومؤتمرات وإعداد البرامج والدراسات الفاعلة لتنمية وتطوير مزارعي الزيتون.
ثانياً: تكثيف التوعية لدى المزارعين واصحاب المعاصر بطرق المثلي للعمليات الزراعية من مكافحة الحشرات والتسميد وطرق الجنى والتعبئة والنقل والعصر والتخزين.
ثالثاً: تشجيع الصناعات التكميلية للزيتون والزيت مثل (صناعة الصابون).

المراجع:

أبوعرقوب، محمود موسى. (1998). الزيتون. إنتاج - أمراض - حشرات - نيماتودا - حشائش، الطبعة الأولى، مكتبة الأكاديمية.مصر.
الخفاجي، مكي العلواني ، سهيل عليوي عطرة وعلاء عبد الرزاق محمد. (1990). فاكهة مستديمة الخضرة، مطابع وزارة التعليم والبحث العلمي. جامعة بغداد. العراق.
آل سرحان، حسن بن عبدالله محمد. (1994). الزيوت الغذائية واستخداماتها. جامعة الملك سعود .السعودية.

- الغامدي، فاطمة بنت سعيد محمد. (2008). تقييم جودة زيت الزيتون البكر المتوفر في السوق المحلي بمدينة جدة. السعودية.
- المنظمة العربية للتنمية الزراعية. (1995). وثيقة المشروع القومي لتطوير زراعة الأشجار المثمرة ومكانها في الوطن العربي. جامعة الدول العربية. الخرطوم. السودان.
- المواصفات الخاصة بزيوت الزيتون وزيوت لب الزيتون. (2017). منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة (الفاو) ومنظمة الصحة العالمية.
- تشاندر، وليام هنري. (1987). بساتين الفاكهة المستديرة الخضراء. ترجمة غازي البناء وعبد العال حجازي. الطبعة العربية الأولى. الدار العربية للنشر والتوزيع.
- حسن، طه الشيخ. (1995). الزيتون (زراعته - خدمته - تصنيعه - آفاته)، الطبعة الأولى، منشورات دار علاء الدين.
- عكاشة، ميلاد موسى محمد. (2013). دراسات كيميائية وتكنولوجية على الزيوت المستخلصة من بعض أصناف الزيتون الليبية. رسالة دكتوراه مقدمة لجامعة الأزهر - مصر 2013.
- فؤاد، محمد منير، السيد إبراهيم بكر ومحمد عبد الجواد شاهين. (1999). فاكهة المناطق الصحراوية. مطبعة جامعة القاهرة. مصر.
- كاخيا، طارق أسماعيل. (2006). زيت الزيتون واستعمالاته الغذائية والصناعية والطبية والمقترحات لتحسين نوعيته. الجمعية الكيميائية. السورية للنشر - دمشق سوريا.
- Acar, H. and Ersoy, B. (1996). Determination of the Organoleptic Characteristics of the Oils Extracted from Some Important Cultivars in the Aegean Region of Turkey. *Olivae*. No.64 pp.:19-25
- Carbonari, F. and Sarnari, T. (2013). "Il mercato internazionale enazionale dell'olio di oliva," in Proc. ISMEA, pp. 1-13.
- Ceirwyn, S. J. (1995). *Analytical Chemistry of Foods*, Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London.
- Cinquanta, L., Esti, M., and La Notte, E. (1997). Evolution of phenolic Compounds in virgin Olive Oil During Storage. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 74(10):1259-1264.
- Egan, H., Kirk, R., and Sawyer, R. (1981). *Chemical Analysis of Foods*, Eighth edition, Churchill Living Stone, New York.
- Estruch, R. (2006). "Effects of a mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors," *Ann. Internal Med.*, vol. 145, no. 1, pp. 1-11.
- García, J. M., Seller, S., and Péres-Camino, M.C. (1996). Influence of fruit ripening on olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44, 3516-3520. ISSN: 0021-8561
- Humanes, J. (1992). Producción de aceite de oliva de calidad. Influencia del cultivo. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Serie Apuntes. 21-92.
- Levi, F., Lucchini, F., and La Vecchia, C. (1994). "Worldwide patterns of cancer mortality," *Eur. J. Cancer Prevention*, vol. 3, no. 2, pp. 109-144.

- Perrin, J.** (1992): Gram-Scal Preparative HPLC of Phospholipids From Soy bean Lecithins . Rev .Franc .Crops .Gras., 39:2
- Peter, O.** (2008). Guide to efficient olive harvesting, rural industries and development corporation, Australia, No. 1440-6845, 6-12
- Ranalli, A., Pollastril, L., Contento, S., Di Loreto, G., E., Lucera, L., and Russi, F.** (2002a). Sterols alcohols. components of seed, pulp and whole olive fruit oils, their use to characterize olive fruit variety by multivariates. *JSCI Food AGRIC.* 82:854-859.
- Sacchi, R., Mannina, L., Fiordiponti, P., Barone, P., Paolillo, L., and Patumi, M.** (1998). Characterization of italian extra virgin olive oils using ¹H-NMR spectroscopy, *J. Agr. Food Chem.*, 46, 10, 3947-3951.
- Sadeghi, H., and Talaii, A. R.** (2002). Impact of Enviromental Condition on Fatty Acids Combination of Olive Oil in an Iranian Olive, CV. Zard. *ISHS Acta Horticulturae* 586: IV International Symposium on Olive Growing Vol.2, NOM.204. *Research.* 18(10):1723-1732.
- Salvador, M.D., Aranda, F., and Fregapane, G.** (2001). Influence of fruit riprning on Cornicabra virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. *Food Chem.* 73, 45-53.
- Soler-Rivas, C., Espain, J. C., and Wiches, H. J.** (2000). Oleurpin and Related compounds. *Journal of the science of Food and Agriculture* .80:1013-1023.
- Tulipani, S.** (2012). “Oil matrix effects on plasma exposure and urinary excretion of phenolic compounds from tomato sauces: Evidence from a human pilot study,” *Food Chem.*, vol. 130, no. 1, pp. 581–590.
- World Olive Oil Production and Market.** Available :<http://www.oliveoilquotation.com>.

Evaluation of olive oil (acidity and peroxide) in some mills in the western region

Sami M.Lagha¹, Jalal M.Esoni², Laila S. Younes³

^{1,2,3}Agricultural Research Center, Tripoli, Libya
aboo2010same@gmail.com

Abstract:

Olive oil is a very important product due to its nutritional value, sensory and antioxidant properties. Global and domestic rules set quality standards for olive oil by using acidity and peroxide measurement to determine high-quality and lower-quality extra virgin olive oil. The standard procedures to measure acidity and peroxide index feature manual titration requiring laboratory environment and trained personnel. The results of the analysis in this study showed the absence of extra virgin olive oil in all the studied samples according to the classification of the International Olive Council, and the best area of acidity was the coastal region (1) with a rate of 0.9%, in contrast to the coastal region No. (2) which was 5.8%, which is more. The samples showed an increase in acidity. As for the peroxide number, all samples were below the permissible rate, except for the coastal region (3), it was high (38.84 mEq/kg oil-oil). As for the average acidity and peroxide number for the mountainous region as a whole, it was better than the coastal region, and for all regions, the average acidity percentage was 3.12%, that is, it is classified as ordinary olive oil according to the classification of the Council, and the peroxide number is higher than the average, with an average of 21.25 milliliters equivalent / kg of oil.

keywords: *Antioxidants, acidity, peroxide, virgin olives, manual titration.*

مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي ودوره في التنمية الزراعية في ليبيا (خلال الفترة ما بين 2000-2015)

آمنة العربي الزواوي¹، عبد الحكيم الهادي الكوش²

¹ قسم الاقتصاد الزراعي، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس، ليبيا

² المركز الليبي لأبحاث شجرة الزيتون، طرابلس، ليبيا

amnazwaw8@gmail.com

المستخلص:

اعتمدت الدراسة في تحقيق أهدافها على استخدام (أسلوب الانحدار البسيط والمتعدد) في تقدير النموذج القياسي الخاص بدالة الناتج المحلي الزراعي وعلاقته بالتكوين الرأسمالي وحجم القوى العاملة الزراعية، أشارت النتائج إلى أن العلاقة بينهم كانت متوافقة مع النظرية الاقتصادية إلا أن الزيادة في الناتج المحلي الزراعي بسيطة جدا خلال فترة الدراسة (2015/2000) حيث قدر مجموع المرونات لعناصر الناتج المحلي بحوالي (1.24)، مما يعني أن الناتج المحلي الزراعي في ليبيا لا يزال يعمل في المرحلة الأولى، وهذا يبين سبب انخفاض مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي من حوالي 8.09 % عام 2000م إلى حوالي 0.08% عام 2013م، وعند تقدير معادلات النمو للناتج المحلي الزراعي الإجمالي تبين أنه قد أخذ ينمو بمعدل متناقص مما يدل على وجود علاقة سببيه في اتجاه واحد بين الناتج الزراعي والناتج الحيواني، بينما معدلات النمو المتزايد لكل من الناتج النباتي والسلكي والأخشاب تعتبر نسب منخفضة تبعاً لانخفاض الإنفاق الاستثماري على قطاع الزراعة.

الكلمات المفتاحية : الناتج المحلي الإجمالي، الناتج المحلي الزراعي، التنمية الاقتصادية، الإنفاق الاستثماري، التكوين الرأسمالي، القوى العاملة الزراعية.

المقدمة:

يعتبر القطاع الزراعي من أهم القطاعات الاقتصادية في المقتصد القومي الليبي باعتباره أحد القطاعات الإنتاجية المهمة التي يعول عليها في تنويع هيكل الاقتصاد القومي لصالح الإنتاج وتقليص هيمنة نشاط النفط وتصديره على الأنشطة الاقتصادية الأخرى ومنها الزراعة، غير أن تقدير مساهمة القطاع الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي مشمولاً بقطاع النفط قد يكون ظالماً ولا يعكس الصورة الحقيقية لأداء القطاع الزراعي، وقد تم توجيه استثمارات كبيرة لقطاع الزراعة بهدف إحداث التنمية المستدامة لهذا القطاع وزيادة مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي إلا أن هذا القطاع لم يستجب لهذه التدفقات الاستثمارية ومن ثم لم يحقق الأهداف المرجوة منه (بوسلوم، 2013)، وقد أشارت البيانات الموضحة بالجدول رقم(2) في الملحق إلى أن الناتج المحلي الزراعي سجل انخفاضاً في الفترة من (2000 : 2006)، ثم بدأ في الزيادة في السنوات من 2007 إلى 2009 وقد بلغ أعلى قيمة له تقدر بحوالي 1906 مليون دينار عام 2009م، ثم بدأ بعد ذلك في الانخفاض من جديد ووصل إلى أقل قيمة له تقدر بحوالي

55.22 مليون دينار عام 2013 وهذا يعكسه تراجع الإنتاج النباتي والحيواني خلال فترة الدراسة بسبب انخفاض الإنفاق الاستثماري وظروف عدم الاستقرار للدولة، مما يستدعي مواجهة هذا الواقع والحد من آثاره، وقد بلغ معدل النمو السنوي للناتج الزراعي الليبي في المتوسط نحو 3.56% خلال الفترة (2000-2015) إلا أن مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي قدرت 8.09% عام 2000 م ثم انخفضت إلى حوالي 3.9% عام 2007م ثم انخفضت إلى حوالي 1.2% عام 2015م، ويرجع انخفاض نسبة مساهمة القطاع الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي إلى زيادة مساهمة قطاع النفط وارتفاع أسعاره خلال عام 2005م، وكذلك ظروف عدم الاستقرار في الفترة (2010 - 2015). وبالنظر إلى أهمية تحديد أهم العوامل المؤثرة في الناتج المحلي الزراعي والمرتبطة بمؤشرات التنمية الاقتصادية الزراعية تبين أن الناتج المحلي الزراعي قد أخذ في النمو بمعدل متناقص إحصائياً بمقدار (79.113) مليون دينار سنوياً وهذا يرجع إلى الانخفاض في نمو وتطور بعض مكونات الناتج الزراعي حيث أن الناتج الزراعي الحيواني قد أخذ في النمو بمعدل متناقص إحصائياً بلغ نحو 0.117 مليون دينار، وكذلك نجد أن معدلات النمو المتزايد لكل من الناتج النباتي والسمكي والأخشاب تعتبر نسب منخفضة تبعاً لضعف الإنفاق الاستثماري على قطاع الزراعة والظروف المناخية من انخفاض معدلات سقوط الأمطار وارتفاع درجات الحرارة وظروف عدم الاستقرار في السنوات الأخيرة.

المشكلة البحثية:

تتمثل في انخفاض الناتج المحلي الزراعي بالرغم من الإمكانات والموارد المتاحة وعدم تحقيق الأهداف المرجوة منه في جميع الأنشطة المكونة له، وعدم استجابة القطاع الزراعي للتدفقات الاستثمارية الموجهة له بهدف التنمية الاقتصادية المستدامة لهذا القطاع وانخفاض مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي.

الأهداف:

ويهدف البحث إلى التعرف على الآتي:

- 1- تطور الناتج المحلي الزراعي ومساهمته في الناتج المحلي الإجمالي ودعم الاقتصاد الوطني.
- 2- تحديد أهم العوامل الاقتصادية المؤثرة على الناتج المحلي الزراعي والمرتبطة بمؤشرات التنمية الاقتصادية الزراعية لما لذلك من أهميته عند وضع سياسات القطاع الزراعي التي تحقق أهداف خطة التنمية الزراعية.

أهمية البحث:

تبرز أهمية الدراسة في مدى مساهمة وأهمية الإنفاق الاستثماري على الأنشطة الزراعية المولدة للناتج المحلي الزراعي ومدى مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي، ويجب تقديم الأولوية للمشاريع الزراعية القائمة والعمل على تشجيع القطاع الخاص على الاستثمار في مشاريع الإنتاج النباتي والحيواني لتحقيق نسبة عالية من الاكتفاء الذاتي في المحاصيل الاستراتيجية، وتنمية الموارد الطبيعية كالغابات والمراعي.

منهجية الدراسة:

اعتمدت هذه الدراسة في تحقيق أهدافها على استخدام التحليل الاقتصادي الوصفي والكمي باستخدام بعض الأساليب الإحصائية والنماذج الرياضية، التي منها أسلوب الانحدار البسيط والمتعدد في صورها الرياضية المختلفة، كما تم

الاستعانة ببعض المؤشرات الاقتصادية الكمية الخاصة بالاقتصاد الزراعي، واستخدام برنامج 6 Eviews لتقدير المعادلات الخطية واللوغاريتمية.

مصادر البيانات وحدود الدراسة:

اعتمدت هذه الدراسة بشكل أساسي على بيانات ثانوية من وزارة التخطيط، قسم الحسابات القومية، وعلى أعداد مختلفة من الكتب الإحصائية التي تصدرها سنويا المنظمة العربية للتنمية الزراعية، بالإضافة إلى بعض الكتب الاقتصادية التي لها علاقة بموضوع الدراسة، لتحديد مدى تطور ومساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي، وتأثير الأنفاق الاستثماري الزراعي على الناتج المحلي الإجمالي، وتحديد أهم مكونات الناتج المحلي الزراعي المرتبطة بمؤشرات التنمية الاقتصادية الزراعية، في حدود زمنية خلال الفترة (2000/2015).

أولاً: تطور الناتج المحلي الزراعي ومساهمته في الناتج المحلي الإجمالي.

إن زيادة الاستثمارات في قطاع الزراعة وما أدت إليه من تطور ونمو في الإنتاج الزراعي يعتبر مؤشر بارز في طريق التوسع الاقتصادي الذي يهدف إلى إعادة هيكلة الاقتصاد الوطني وقد أثرت بصورة ملحوظة على مدى مساهمة قطاع الزراعة في الاقتصاد الوطني (أبدجمان، 1999)، والجدول رقم (2) في الملحق يوضح تطور الناتج المحلي الزراعي ومساهمته في الناتج المحلي الإجمالي خلال فترة الدراسة حيث ارتفعت نسبة مساهمة قطاع الزراعة في الناتج المحلي الزراعي من 1439.7 مليون دينار عام 2000 م إلى 1905.2 مليون دينار عام 2007م وذلك بزيادة بلغت 465.5 مليون دينار حيث بلغت نسبة مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي 8% عام 2000م، وعلى الرغم من تطور الناتج الزراعي وازدياده إلى 19 مليون دينار عام 2007م إلا أن مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي انخفضت إلى 3.9% و2.2% عام 2007م و2010م على التوالي تبعاً لانخفاض مساهمة القطاع الزراعي في الناتج المحلي الزراعي بسبب صدارة قطاع النفط باعتباره مصدر غير متجدد وقابل للنضوب، ثم انخفضت نسبة مساهمة القطاع الزراعي في الناتج المحلي الزراعي في السنوات الخمس الأخيرة من الدراسة مما أدى إلى انخفاض مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي بسبب ظروف عدم الاستقرار.

تقدير النموذج القياسي لدالة الناتج المحلي.

يعتبر النموذج القياسي من أهم الأساليب في تحليل العلاقة بين المتغيرات الاقتصادية المستقلة الداخلة في النموذج وبين المتغير التابع، ويساعد في التعرف على المشكلة الاقتصادية ويعمل على تنشيط الواقع الاقتصادي والحصول على نتائج تساعد في اتخاذ قرار لوضع السياسات المناسبة وقد تم استخدام ثلاثة نماذج اقتصادية قياسية تعبر عن واقع العلاقة بين عدد من المتغيرات المستقلة والمتغير التابع المتمثل في الناتج المحلي الزراعي في ليبيا والمعادلات التي تم تقديرها وقياسها يمكن التعبير عنها رياضياً في الصورة التالية (الطويل، 2010):

$$1- R_y = B_0 + B_1RX_1 + B_2RX_2 + AR$$

$$2- RX_1 = C_0 + C_1RX_3 + AR$$

$$3- RX_3 = A_0 + A_1RX_4 + AR$$

حيث أن:

RY تمثل الناتج المحلي الزراعي بالأسعار الجارية.

RX1 تمثل التكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي بالأسعار الجارية.
RX2 تمثل حجم القوى العاملة بالقطاع الزراعي.
RX3 تمثل الإنفاق الاستثماري الزراعي بالأسعار الجارية.
RX3 تمثل العوائد النفطية بالأسعار الجارية.
AR تمثل متغير لحل مشكلة الارتباط الذاتي في النموذج.
وقد تم تقدير الصيغة الخطية واللوجاريتمية باستخدام برنامج 6 Eviews لقيم المتغيرات خلال فترة الدراسة (2000-2015 م) وكانت النتائج الأولية في صورتها الخطية كالتالي:

تم تقدير المعادلة الأولى: تبين علاقة الناتج المحلي الزراعي بالتكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي وحجم القوى العاملة.
(1).....RY=-342.4174+1.075527X₁+5.21858.9X₂+0.738779AR (t-1)
(3.332) (1.499) (1.2288) (0.651-)
R²=0.85% R̄=0.81%
F=21.8 D.W=1.27

يتضح من المعادلة التقديرية رقم (1) للسنة السابقة (t-1) بين المتغير التابع يمثل الناتج المحلي الزراعي (RY)، والمتغيرات المستقلة تمثل التكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي (X₁) وحجم القوى العاملة الزراعي (X₂)، وجد أن المتغير التابع (RY) تربطه علاقة طردية بالمتغيرات المستقلة (X₁) و(X₂) وهذا يتماشى مع منطوق النظرية الاقتصادية الذي سيتم توضيحه باستخدام المرونات، وعند اختبار المعنوية للمعالم المقدرة وجد كل منهما على حدى ذو دلالة معنوية (إحصائية) عند مستوى معنوية 5% بالنسبة لاختبار t، في حين توضح قيمة (R² 0.85) بأن ما قيمته 85% من التغير في الناتج المحلي الزراعي يعود لرأس المال الثابت الزراعي وحجم القوى العاملة الزراعية، في حين النسبة الباقية 15 % تعود لعوامل أخرى لم تشملها المعادلة وهي متمثلة في المتغير العشوائي (AR)، أما قيمة اختبار f المحسوبة (21.8) فتبين معنوية النموذج ككل عند مستوى معنوية 5%.

تم تقدير المعادلة الثانية: التي تبين علاقة التكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي بالإنفاق الاستثماري الزراعي.

$$(2).....RX_1=392.2619+0.483944X_3 (T-1)$$

$$(1.386) (3.382)$$

$$R^2=0.42\% \quad \bar{R}=0.32\%$$

$$F=4.3 \quad D.W=1.98$$

يتضح من المعادلة التقديرية رقم (2) للسنة السابقة (t-1) بين المتغير التابع يمثل التكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي (RX₁) والمتغير المستقل يمثل الإنفاق الاستثماري (X₃)، وجد أن المتغير التابع (RX₁) تربطه علاقة طردية بالمتغير المستقل (X₃) وهذا يتماشى مع منطوق النظرية الاقتصادية، وذات دلالة معنوية (إحصائية) عند مستوى معنوية 5%، في حين توضح قيمة (R² 0.42) بأن ما قيمته 42 % من التغير في التكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي يعود للإنفاق الاستثماري، بينما النسبة الباقية 58% تعود لعوامل أخرى لم تشملها المعادلة وهي متمثلة في المتغير العشوائي (AR)، أما قيمة اختبار f المحسوبة (4.3) تبين معنوية النموذج ككل عند مستوى معنوية 5%.

تم تقدير المعادلة الثالثة: التي تبين علاقة الإنفاق الاستثماري الزراعي بالعوائد النفطية.

$$(3)..... \ln RX_3 = 1.634152 + 0.222963 \ln X_4$$

$$\begin{matrix} (1.160) & (2.702) \\ R^2=0.35 & \bar{R} = 0.30 \\ F=7.3 & D.W= 1.97 \end{matrix}$$

يتضح من المعادلة التقديرية رقم (3) بين المتغير التابع يمثل الإنفاق الاستثماري (RX_3) والمتغير المستقل يمثل العوائد النفطية (X_4)، وجد أن المتغير التابع (RX_3) تربطه علاقة طردية بالمتغير المستقل (X_4) وهذا يتمشى مع منطوق النظرية الاقتصادية، وعند اختبار المعنوية للعالم المقدرة وجد أن المتغير المستقل (X_4) ذات دلالة معنوية (إحصائية) عند مستوى معنوية 5% بالنسبة لاختبار t، في حين توضح قيمة (R^2 0.35) بأن ما قيمته 35% من التغير في الإنفاق الاستثماري يعود للعوائد النفطية، في حين النسبة الباقية 65% تعود لعوامل أخرى لم تشملها المعادلة وهي متمثلة في المتغير العشوائي (AR)، أما قيمة اختبار f المحسوبة (7.3) فتبين معنوية النموذج ككل عند مستوى معنوية 5%.

ولإيجاد مرونة الناتج المحلي الزراعي بالنسبة للتكوين الرأسمالي يمكن حسابها كالتالي:

$$(4)..... Ex_1 = dRY / dx_1 * x_1 / RY$$

$$Ex_1 = 1.075 * 526.2 / 1211.4 = 0.46$$

يتضح من المعادلة رقم (4) أن مرونة الناتج المحلي الزراعي بالنسبة للتكوين الرأسمالي لقطاع الزراعي في ليبيا تساوي (0.46) وهي أقل من الواحد الصحيح وعليه فأن الناتج المحلي الزراعي وفقاً لمرونة التكوين الرأسمالي يعمل في المرحلة الثانية من الإنتاج ويتضح من خلال العلاقة المقدرة بالمعادلة رقم (1) تطابقها مع ما جاء في النظرية الاقتصادية حيث تشير الإشارة الموجبة إلى العلاقة الطردية بين الناتج المحلي الزراعي والتكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي والتي توضح من الناحية الاقتصادية عند زيادة التكوين الرأسمالي بنسبة 1% يترتب عليه زيادة الناتج المحلي الزراعي بنسبة 0.46% عند ثبات العوامل الأخرى وتلك النسبة تمثل أهمية التكوين الرأسمالي في تنمية الإنتاج الزراعي المحلي (النباتي والحيواني والسمكي والأخشاب) في ليبيا وزيادة نسبة مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي.

ولإيجاد مرونة الناتج المحلي الزراعي بالنسبة للقوى العاملة يمكن حسابها بنفس الطريقة السابقة بالنسبة لـ X_2 .

$$(5)..... Ex_2 = dRY / dx_2 * x_2 / RY$$

$$Ex_2 = 5.218 * 182.6 / 1211.4 = 0.78$$

يتبين من المعادلة رقم (5) أن مرونة الناتج المحلي الزراعي بالنسبة للعمالة الزراعية في ليبيا تساوي (0.78) وهي أقل من الواحد الصحيح وعليه فأن القطاع يعمل وفقاً لمرونة العمالة الزراعية في المرحلة الثانية من مراحل الإنتاج، ويتضح من العلاقة المقدرة بالمعادلة رقم (1) أن مساهمة القوى العاملة الزراعية في الناتج المحلي مطابقة للنظرية الاقتصادية، حيث تشير الإشارة الموجبة إلى وجود علاقة طردية بين الناتج المحلي الزراعي والقوى العاملة الزراعية من الناحية الاقتصادية أي أن زيادة حجم القوى العاملة في القطاع الزراعي بنسبة 1% يؤدي إلى زيادة الناتج المحلي

الزراعي بنسبة 0.78 % وذلك عند ثبات العوامل الأخرى.
ويتضح من خلال استخدام مرونة الناتج المحلي الزراعي لكل من التكوين الرأسمالي والقوى العاملة الزراعية أن دالة الإنتاج تتصف بتزايد الغلة أي عند زيادة التكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي والقوى العاملة الزراعية بنسبة 1% فإن الناتج المحلي الزراعي سيزداد بنسبة (1.24% = 0.78% + 0.46 %) وذلك خلال فترة زمنية محددة وعند ثبات العوامل الأخرى.

كما توضح نتائج المعادلة التقديرية التالية أن معدل التغير في الناتج المحلي الزراعي بالنسبة لتغير الإنفاق الاستثماري الزراعي بوحدة واحدة عند ثبات العوامل الأخرى يمكن حسابها كالتالي:

$$(6).....dRy / dR_{x3} = dRy / dR_{x1} * dR_{x1} / dR_{x3}$$

ومن المعادلة رقم (6) يمكن تحديد مقدار الزيادة في الإنفاق الاستثماري الزراعي اللازمة لتحقيق زيادة محددة في الناتج المحلي الزراعي وهذا يعني أنه عند زيادة الإنفاق الاستثماري الزراعي بمليون دينار فإن الناتج المحلي الزراعي يجب أن يزداد (51) ألف دينار وذلك عند ثبات العوامل الأخرى.

ولإيجاد معدل التغير في الناتج المحلي الزراعي عندما تزداد العوائد النفطية بوحدة واحدة عند ثبات العوامل الأخرى يمكن حسابها كالتالي:

$$(7).....dRy/dR_{x4}=dRy/ dR_{x1}*dR_{x1}/dR_{x3}*dR_{x3}/dR_{x4}=1.58$$

توضح المعادلة رقم (7) أنه عند زيادة العوائد النفطية بمليون دينار فإن الناتج المحلي الزراعي سيزداد بمقدار (158) ألف دينار وذلك عند ثبات العوامل الأخرى ومن هنا يمكن وضع خطة اقتصادية لتنمية القطاع الزراعي بما يعمل على زيادة الناتج المحلي الزراعي وزيادة مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي.

ثانياً: تطور الناتج الزراعي ومكوناته:

تشير البيانات الواردة بالجدول رقم (1) الذي يوضح معادلات النمو للناتج الزراعي الإجمالي وكذلك الأنشطة الإنتاجية المكونة له خلال الفترة (2000-2015) بالأسعار الجارية والتي حسبت من بيانات الجدول رقم (2) بالملحق حيث يعبر هذا التطور عن التغير الحاصل في حجم الإنتاج.

وكانت النتائج على النحو التالي:

1- الناتج الزراعي الإجمالي: تشير المعادلة رقم (1) بالجدول رقم (1) أن الناتج الزراعي الإجمالي قد أخذ ينمو بمعدل متناقصاً إحصائياً بمقدار (79.113) مليون دينار سنوياً وبمعدل 6.53% من المتوسط البالغ 1211.45 مليون دينار خلال فترة الدراسة.

2- الناتج الزراعي النباتي: تشير المعادلة (2) بالجدول رقم (1) من خلال قيمة معامل الانحدار بأن الناتج الزراعي النباتي قد أخذ في النمو بمقدار 0.31 مليون دينار وبمعدل سنوي معنوي إحصائياً بلغ 0.056 من متوسط الناتج النباتي البالغ 547.89 مليون دينار خلال تلك الفترة.

**مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي ودوره في التنمية الزراعية في ليبيا
(خلال الفترة ما بين 2000-2015).....(45-57)**

جدول رقم (1) يبين معادلات النمو عبر الزمن لأهم المتغيرات الاقتصادية المؤثرة على الناتج الزراعي في ليبيا خلال الفترة (2000-2015).

الناتج الزراعي ومكوناته	$y_t = \alpha + \beta T_t$		معامل التحديد $R^2\%$	F Test	متوسط الناتج (مليون دل)	معدل النمو السنوي %
	β	A				
الناتج الزراعي الإجمالي	97.113-	1883.90	0.39	8.98	1211.45	6.53 -
الناتج الزراعي النباتي	0.319	6.401	69	31.2	547.89	0.065
الناتج الزراعي الحيواني	0.117-	6.750	48.15	13	416.10	0.028 -
الناتج الزراعي السمكي	0.077	3.270	90.5	133.84	54.723	0.14
الناتج من أخشاب الغابات	0.094	1.766	91	142.6	14.470	0.65

المصدر: 1- عبد الحكيم الجدي و خالد البيدي، أهم المتغيرات الاقتصادية المحددة للناتج الزراعي في ليبيا، المؤتمر الدولي الثاني عشر لعلوم المحاصيل، مصر، 2010.

2- وزارة التخطيط، قسم الحسابات القومية.

3- الناتج الزراعي الحيواني: تشير المعادلة رقم (3) بالجدول رقم (1) أن الناتج الزراعي الحيواني قد أخذ في النمو بمعدل متناقص إحصائياً عبر الزمن بمعدل بلغ نحو 0.117 مليون دينار وبنسبة نمو (0.028%) من الناتج المتوسط 416.10 مليون دينار خلال فترة الدراسة.

4- الناتج الزراعي السمكي: تشير المعادلة رقم (4) بالجدول رقم (1) أن الناتج قد أخذ في النمو بمعدل متزايد إحصائياً ومعنوياً يقدر بحوالي 0.077 مليون دينار وبنسبة زيادة سنوية بلغت (0.14%) من متوسط الناتج البالغ 54.72 مليون دينار خلال فترة الدراسة.

5- الناتج الزراعي من أخشاب الغابات: تشير المعادلة رقم (5) بالجدول رقم (1) أن الناتج من أخشاب الغابات قد أخذ في النمو بمعدل متزايد إحصائياً ومعنوياً يقدر بحوالي 0.094 مليون دينار وبنسبة زيادة سنوية بلغت 0.65% من متوسط الناتج البالغ 14.47 مليون دينار خلال فترة الدراسة.

النتائج والمناقشة:

تبين عند تقدير معادلة الناتج المحلي الزراعي رقم (1) كدالة في التكوين الرأسمالي وحجم العمالة الزراعية أنه توجد علاقة طردية بينهما، وأن المتغيرات لها تأثير إيجابي على الناتج الزراعي، وكذلك عند تقدير المعادلة رقم (2) التي تبين العلاقة بين الإنفاق الاستثماري الزراعي كدالة في العوائد النفطية، وعند تقدير المعادلة رقم (3) التي تبين العلاقة بين التكوين الرأسمالي للناتج الزراعي كدالة في الإنفاق الاستثماري، وجد أنهما يتطابقان مع منطوق النظرية الاقتصادية، حيث اتضح من الناحية الاقتصادية أنه عند زيادة التكوين الرأسمالي بنسبة 1% يترتب عليه زيادة الناتج المحلي الزراعي بنسبة 0.46% كما إن زيادة حجم القوى العاملة في القطاع الزراعي بنسبة 1% يؤدي إلى زيادة

الناتج المحلي الزراعي بنسبة 0.78%، وكذلك عند زيادة الإنفاق الاستثماري الزراعي بمليون دينار فإن الناتج المحلي الزراعي يجب أن يزداد بمقدار (51) ألف دينار، وعند زيادة العوائد النفطية بمليون دينار فإن الناتج المحلي الزراعي سيزداد بمقدار 158 ألف دينار عند ثبات العوامل الأخرى، في حين توضح قيمة R^2 (0.85) بأن ما نسبته 85% من التغير في الناتج الزراعي تعود للتكوين الرأسمالي والعمالة الزراعية في حين النسبة الباقية 15% تعود لعوامل أخرى لم تشملها المعادلة، أما قيمة F المحسوبة (21.8) تبين معنوية النموذج إحصائياً عند مستوى معنويه 1%، وتلك النسب والمعدلات تمثل أهمية التكوين الرأسمالي والإنفاق الاستثماري في تنمية الإنتاج الزراعي (النباتي والحيواني والسمكي والأخشاب) في ليبيا وزيادة نسبة مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي، ولكن على الرغم من المبالغ الكبيرة التي تم استثمارها في النشاط الزراعي لم تحقق الأهداف المرجوة منه في أحداث التنمية الزراعية التي تكمن من تحقيق نسب عالية من الاكتفاء الذاتي في جميع مكونات النشاط الزراعي وتحقيق الاستخدام الأمثل للموارد الاقتصادية وزيادة مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي. كما لاحظنا عند تقدير معادلات النمو للناتج الزراعي الإجمالي تبين أن الناتج الزراعي قد أخذ ينمو بمعدل متناقصاً إحصائياً بمقدار (79.113) مليون دينار سنوياً وهذا يرجع إلى الانخفاض في نمو وتطور بعض مكونات الناتج الزراعي حيث أن الناتج الزراعي الحيواني قد أخذ في النمو بمعدل متناقص إحصائياً بلغ نحو 0.117 مليون دينار. وكذلك نجد أن معدلات النمو المتزايد لكل من الناتج النباتي والسمكي والأخشاب تعتبر نسب منخفضة تبعاً لانخفاض الإنفاق الاستثماري على قطاع الزراعة وظروف عدم الاستقرار في السنوات الخمس الأخيرة مما يجعل من عنصر رأس المال والعمل يعملان معاً في المرحلة الأولى. حيث تبين من النتائج بأن الإيرادات النفطية المؤثر الرئيسي على الإنفاق الاستثماري وقد أوضحت المرونة أن زيادة الإنفاق الاستثماري وإدخال المكنة الزراعية الحديثة تؤدي إلى زيادة الناتج المحلي الزراعي كما أن زيادة كفاءة وإنتاجية القوى العاملة الزراعية تؤدي إلى زيادة الناتج المحلي الزراعي بنسبة أكبر من معدل نمو القوى العاملة الزراعية الأمر الذي يوضح نمو وتطور مكونات الناتج المحلي الزراعي وزيادة مساهمته في الناتج المحلي الإجمالي.

التوصيات:

- 1- تنظيم وتشجيع الاستثمار الخاص في الإنتاج الزراعي وتقديم التسهيلات اللازمة وتفعيل السياسات الزراعية لدعم المزارعين.
- 2- التركيز على تشجيع الاستثمار في المشروعات الزراعية التي تنتج المحاصيل الاستراتيجية التي تدخل كمورد رئيسي للصناعات الغذائية والتي تساهم بدورها في زيادة الناتج المحلي وتقلل من الواردات لكي تقوم هذه المشروعات بدورها الرائد في التنمية الزراعية.
- 3- الاهتمام بأنشطة الإنتاج الزراعي (النباتي والحيواني) ودراسة الاحتياجات الفعلية للأنشطة بعمل إحصائي يومي لكي تحقق أعلى معدلات للدخل الزراعي الليبي.
- 4- زيادة الاهتمام بمصادر متنوعة لتمويل الإنفاق الاستثماري على النشاط الزراعي بدلاً من الاعتماد على النفط.
- 5- الاستغلال الأمثل للموارد الزراعية من خلال رفع كفاءتها (الأراضي الزراعية والأسمدة، وعنصر العمل ورأس المال، وإدخال التكنولوجيا الحديثة) لزيادة الإنتاج وتحسين الإنتاجية وإحداث التنمية المستدامة للموارد الزراعية.

المراجع:

- الطويل، حسين أبو القاسم. (2010). "أثر الإنفاق الاستثماري الزراعي على الناتج المحلي الإجمالي في ليبيا"، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة طرابلس.
- أبجيمان، مايكل. (1999). ترجمة محمد إبراهيم منصور "الاقتصاد الكلي النظرية والسياسة"، دار المريخ للنشر، الرياض المملكة العربية السعودية.
- بوسلوم، عبد الحميد الطاهر. (2013). "دراسة اقتصادية عن دور القطاع الزراعي في التنمية الاقتصادية"، رسالة دكتوراه، جامعة سابا باشا الإسكندرية، مصر.
- الجدي، عبد الحكيم و البيدي، خالد. (2010). "أهم المتغيرات الاقتصادية المحددة للناتج الزراعي في ليبيا"، المؤتمر الدولي الثاني عشر لعلوم المحاصيل، مصر.
- البيدي، خالد رمضان. (2016). "العلاقة المسببة بين الناتج المحلي الإجمالي والناتج الزراعي في ليبيا للفترة (1970-2012)"، مجلة الجديد في البحوث الزراعية، كلية الزراعة سابا باشا، مصر، العدد 21(1).
- وزارة التخطيط "قسم الحسابات القومية"، أعداد مختلفة.
- المنظمة العربية للتنمية الزراعية AOAD "الكتاب السنوي للإحصاءات الزراعية العربية"، أعداد مختلفة.

Agricultural Domestic Product Contribution In Gross Domestic Product (GDP) And Its Role In Agricultural Development In Libya During (2000-2015)

Abstract:

To achieve these study objectives, it relied on a simple and multiple regression method in estimating the standard form or model of the agricultural domestic product function and its relationship with capital formation and volume of the agricultural labor force. Thus, results show that the relationship between them was compatible with the economic theory. Nevertheless, the increase in Agricultural Domestic Product is very simple during the period of study (2000-2015); where the sum of flexibilities of Domestic Product components has been estimated about (1.24). This means that Agricultural Domestic Product in Libya remaining in the first stage of production; by which it shows the reason of decreasing of Agricultural Domestic Product contribution in the Gross Domestic Product from about (8.09%) in 2000 to about (0.08 %) in 2013. When estimating the growth rates of the total Agricultural Domestic Product, it appears that Agricultural Product has been growing at a declined rate. Of course, this indicates a one-way causal relationship between Agricultural products and animal products. However, the rates of increased growth for each plant, fish, and wood product are considered to be lowered rates depending on the decline of Investment Expenditure in the Agriculture Sector.

Keywords: *Gross Domestic Product (GDP), Agricultural Domestic Product(ADP), Economic Development, Investment Expenditure, Capital Formation, Agricultural Labor Force.*

مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي ودوره في التنمية الزراعية في ليبيا
(خلال الفترة ما بين 2000-2015).....(45-57)

الملاحق:

جدول رقم (2) تطور الناتج المحلي الإجمالي والناتج المحلي الزراعي والتكوين الرأسمالي والعمالة والإنفاق الاستثماري والعوائد النفطية بالأسعار الجارية، (الوحدة: مليون دينار ليبي).

البيان	الناتج المحلي الإجمالي	الناتج المحلي الزراعي	التكوين الرأسمالي	الإنفاق الاستثماري الزراعي	القوى العاملة بالقطاع الزراعي ألف عامل	العوائد النفطية	% الناتج المحلي الزراعي للناتج المحلي الإجمالي
2000	17775.60	1439.7	508.7	141.26	232.2	5222000	8.09
2001	17621.40	1392	521.8	149.8	234.3	5394000	7.89
2002	24219.80	1348	547.4	166.6	234	10177000	5.5
2003	29885.70	1375	568.5	123.55	238.4	11920000	4.6
2004	39622	1328.8	581.6	262.7	240	20848000	3.35
2005	43561	1447.5	599.1	367.3	242.3	31148000	3.3
2006	46132	1640.3	615.4	175.2	245.5	53848821	3.5
2007	48709	1905.2	635.2	313.4	248.5	59956240	3.9
2008	86506	1813	649.1	287	186.8	76903371	2.09
2009	63769	1906	661.3	267.2	174.6	43939247	2.9
2010	73965	1631	680.4	371.5	161.3	59148096	2.2
2011	47549.50	829.5	257.5	224	103	22504677	1.7
2012	11379	744.8	345.5	209	101	73334272	6.5
2013	63191.30	55.22	401.9	216	97	48590352	0.08
2014	40379.20	99.44	410	321	94	19740065	0.2
2015	34726.50	425	436	268	89	11461851	1.2

المصدر: 1- وزارة التخطيط، قسم الحسابات القومية،.

2- المنظمة العربية للتنمية الزراعية AOAD " الكتاب السنوي للإحصاءات الزراعية العربية"، أعداد مختلفة.

مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي ودوره في التنمية الزراعية في ليبيا
(خلال الفترة ما بين 2000-2015).....(45-57)

جدول رقم (3) يبين تطور الناتج المحلي الزراعي والإنتاج الزراعي النباتي والحيواني والسمكي وأخشاب الغابات
بالأسعار الجارية، (الوحدة: مليون دينار ليبي).

البيان السنة	الناتج المحلي الزراعي	الناتج الزراعي النباتي	الناتج الزراعي الحيواني	الناتج الزراعي السمكي	الناتج الزراعي من أخشاب للغابات
2000	1439.700	8000000	5909000	3370000	9.000000
2001	1392.000	7980000	5550000	3100000	8.000000
2002	1348.000	7593000	5480000	3400000	7.500000
2003	1375.000	7800000	5540000	3480000	7.000000
2004	1328.800	8000000	6812000	4050000	7.500000
2005	1447.500	8050000	6830000	4500000	8.000000
2006	1643.000	2872300	8527780	4164000	11.56000
2007	1905.200	3072300	9553530	4488000	12.79000
2008	1813.000	3849000	1014803	4795000	14.19000
2009	1906.000	3225400	1250542	5081000	15.94000
2010	1631.000	3925400	1250769	5318000	16.65000
2011	829.500	4449800	1268316	6436000	17.38000
2012	744.800	4522600	1573578	6628000	20.53000
2013	55.220	4553300	1756535	7037000	22.44000
2014	99.440	4618400	1976119	9799000	24.69000
2015	425.000	5151500	2283702	1190700	28.32000

المصدر: 1- وزارة التخطيط ، قسم الحسابات القومية.

2- المنظمة العربية للتنمية الزراعية AOAD " الكتاب السنوي للإحصاءات الزراعية العربية"، أعداد مختلفة.

جدول رقم(4) يوضح تقدير المعادلة الأولى: التي تبين علاقة الناتج المحلي الزراعي بالتكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي و حجم القوى العاملة باستخدام برنامج Eviews 6.

	Coefficnt	Std. Error	t-Statistic	Prob.
C	-342.4174	525.2343	-0.651933	0.5278
X1	1.075527	0.834748	1.288446	0.2240
X2	5.218589	3.479530	1.499797	0.1618
AR(1)	0.738779	0.221720	3.332043	0.0067
R-squared	0.856149	Mean dependent var	1196.231	
Adjusted R-squared	0.816917	S.D. dependent var	620.3342	
S.E. of regression	265.4300	Akaike info criterion	14.22376	
Sum squared resid	774984.0	Schwarz criterion	14.41257	
Log likelihood	-102.6782	Hannan-Quinn criter.	14.22175	
F-statistic	21.82265	Durbin-Watson stat	1.273569	
Prob(F-statistic)	0.000062			
Inverted AR Roots	.74			

جدول رقم(5) يوضح كيف تم تقدير المعادلة الثانية: التي تبين علاقة التكوين الرأسمالي للقطاع الزراعي بالإنفاق الاستثماري الزراعي باستخدام برنامج Eviews 6.

	Coefficnt	Std. Error	t-Statistic	Prob.
C	392.3163	115.9756	3.382749	0.0054
X3	0.483751	0.349139	1.385552	0.1911
AR(1)	0.627049	0.237785	2.637045	0.0217
R-squared	0.420107	Mean dependent var	527.3800	
Adjusted R-squared	0.323458	S.D. dependent var	128.0440	
S.E. of regression	105.3190	Akaike info criterion	12.32872	
Sum squared resid	133105.0	Schwarz criterion	12.47033	
Log likelihood	-89.46540	Hannan-Quinn criter.	12.32721	
F-statistic	4.346731	Durbin-Watson stat	1.989444	
Prob(F-statistic)	0.038027			
Inverted AR Roots	.63			

مساهمة الناتج المحلي الزراعي في الناتج المحلي الإجمالي ودوره في التنمية الزراعية في ليبيا
(خلال الفترة ما بين 2000-2015).....(45-57)

جدول رقم(6) يوضح كيف تم تقدير المعادلة الثالثة: التي تبين علاقة الإنفاق الاستثماري الزراعي بالعوائد النفطية.

	Coefficient	Std. Error	t-Statistic	Prob.
C	1.634152	1.407619	1.160933	0.2651
LN_{X4}	0.222963	0.082493	2.702823	0.0172
R-squared	0.342885	Mean dependent var	5.433716	
Adjusted R-squared	0.295948	S.D. dependent var	0.343283	
S.E. of regression	0.288041	Akaike info criterion	0.465040	
Sum squared resid	1.161546	Schwarz criterion	0.561614	
Log likelihood	-1.720324	Hannan-Quinn criter.	0.469986	
F-statistic	7.305252	Durbin-Watson stat	1.971715	
Prob(F-statistic)	0.017162			

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح

ميلاد الجطلاوي¹، مبروكة حامد²

^{1,2} قسم الأحياء، كلية الآداب والعلوم مسلاته، جامعة المرقب، الخمس، ليبيا

eljetlawimilad@gmail.com

المستخلص:

استهدفت الدراسة تقدير محتوى العناصر الغذائية في حبوب القمح وتتبع متبقياتنا في نواتجه من الدقيق وذلك تحت ممارسات التخزين المختلفة، كذلك تحديد نسبة الإنبات والإنتاجية، ولإنجاز هذا العمل تم تجميع عينتين من القمح الطري مختلفتين في طريقة التخزين، إحداها جردت الحبوب من سنابلها ومخزنة في أكياس، والأخرى بقيت الحبوب في سنابلها، وكلاهما لخمس سنوات ولم تراعى فيهما شروط التخزين، وقد أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للمحتوى الغذائي لحبوب القمح انخفاض في أغلب المحتويات في عينة القمح المخزون في أكياس حيث انخفضت كل من البروتينات والدهون بنسبة (24.8 % - 8.7 %) على التوالي، أما العينة التي حفظت في سنابلها فقد حدث انخفاض بسيط في البروتينات والدهون وصل إلى 6 - 4 % على التوالي، أما نسبة الرماد والألياف فقد كان انخفاض بسيط وبنسبة متساوية في العينتين، وبالمثل انخفاض في الكربوهيدرات في العينة المخزنة في الأكياس بسبب استهلاكها كغذاء للفطريات، في حين حدث انخفاض كبير في نسبة الرطوبة في عينة القمح التي في سنابلها مما سمح لها المحافظة على محتواها الغذائي فترة اطول و عدم تعرضها للإصابة بالمرضات، أما العينة المحفوظة في الأكياس فقد كانت نسبة الرطوبة بها 8.33 % مما جعلها عرضة للإصابة بالفطريات والتي تم عزل وتعريف جنسين منها هما *Aspergillus*، *Penicillium* وكانت تعدادها $10^4 * 3$ مستعمرة فطرية/ 1 جم قمح. أما نسبة الإنبات والإنتاجية فقد كانت كل القيم أعلى في الحبوب التي كانت في سنابلها من حيث وزن الحبوب والقش، عدد السنابل في المتر المربع، طول السنبل وعدد الحبوب في السنبل. من خلال التحليل الإحصائي يتضح أن هناك فروق جوهرية عند مستوى $\alpha=0.05$ بين العينتين في نسبة الرطوبة ونسبة البروتين، كذلك في نسبة الإنبات ووزن الحبوب وطول السنبل وعدد الحبوب بالسنبل.

الكلمات المفتاحية: القمح المخزن، طرق التخزين، سنابل القمح

المقدمة:

ما بذل من جهد لإعداد هذا البحث إنما جاء انطلاقاً من التوصية الإلهية التي ألهمها الله سبحانه وتعالى لنبيه يوسف عليه السلام بترك القمح مخزن في سنابلها من أعوام الرخاء إلى سنين الشدة، في قوله تعالى ﴿قَالَ تَزْرَعُونَ سَبْعَ سِنِينَ دَأْبًا فَمَا حَصَدْتُمْ فَذَرُوهُ فِي سُنْبُلِهِ إِلَّا قَلِيلًا مِمَّا تَأْكُلُونَ﴾ وقد قمنا بإجراء التحاليل اللازمة لدراسة هذه الحقيقة العلمية المثبتة في القرآن الكريم منذ أكثر من أربعة عشر قرناً، وبذلك نثبت عملياً بالإضافة إلى من سبقنا أنها الطريقة المثلى لتخزين المحاصيل ذات السنابل مدة طويلة دون أن تتعرض لفساد أو تسوس أو نقص في

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح.....(58-67)

محتواها الغذائي، وكذلك قمنا بجمع لشتات من المعلومات التي حوتها المصادر والمراجع العلمية ذات العلاقة بالتفسير العلمي لهذه الحقيقة العلمية.

تشكل المحاصيل الحقلية أهمية كبيرة لغذاء الإنسان والحيوان في العالم، بالإضافة إلى أنها مصدر اقتصادي هام تتنافس الدول فيما بينها من أجل إحراز مراكز متقدمة عالمياً في إنتاج المحاصيل الزراعية ذات الجودة العالية والأصناف المنتقاة الخالصة من مسببات الأمراض المختلفة، ويبدل العلماء جهداً حثيثاً في استنباط سلالات مقاومة للأمراض، كما تبذل محاولات كبيرة لتلافي الإصابة بالأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية، وابتكار طرق حديثة وأمنة لحفظ المحاصيل الزراعية أثناء نموها في الحقل وعند نقلها وتسويقها وتخزينها (Ahmed, 1989).

يعد محصول القمح من أهم محاصيل الحبوب في ليبيا لما له من أهمية كبيرة في الأمن الغذائي، وقد عرف في المشرق العربي قبل التاريخ ثم انتشر في وسط آسيا ثم إلى باقي أنحاء العالم، يتبع القمح العائلة النجيلية ويعتبر من أهم أجناسها على الإطلاق، وله أهمية كبيرة مقارنة بالمحاصيل الأخرى باعتباره أحد المكونات الرئيسية في النمط الغذائي لمعظم شعوب العالم، وبشكل خاص في الدول النامية، حيث تنوع النظام الغذائي محدود جداً، وفي المتوسط فإن الحبوب توفر 52 % من السعرات الحرارية المتناولة على الصعيد العالمي، كما توفر حوالي 60 - 75 % من هذه السعرات لشعوب أفريقيا وآسيا و50 % في أمريكا اللاتينية، كما أن حوالي 95 % من سكان الدول النامية يستهلكون الحبوب كنظام غذائي ثابت، والذي يوفر لهم 47 % من البروتين المتناول، و يمثل القمح 33 % من إجمالي كميات الحبوب المنتجة على مستوى العالم (كذلك، 2001؛ موصلي، 2006).

هناك شروط محددة يجب أن تتوافر في أماكن تخزين القمح أثناء تخزينه لفترة طويلة منها الرطوبة ودرجة الحرارة، حيث تؤدي الرطوبة والحرارة العالية إلى زيادة معدل تنفس الكائنات الدقيقة الموجودة في القمح مما يسبب في زيادة النشاط الإنزيمي لحبوب القمح وبالتالي نمو الميكروبات، تتراوح الرطوبة المناسبة ما بين 13 - 14 %، أما درجة الحرارة الآمنة للقمح خلال فترة التخزين فهي من 7-18 مئوية ويتم خفض ورفع درجة حرارة القمح المخزون بواسطة أنظمة التهوية التي تعمل على تحريك الهواء المشبع بالأكسجين ليتدفق باستمرار من الأعلى إلى الأسفل بحيث يتخلل الهواء كامل حبوب القمح المخزون، وتتم الوقاية من الميكروبات والفطريات عن طريق استنفاد الأكسجين صناعياً من مخازن القمح لتنشيط تكاثر الكائنات الدقيقة وذلك بملء الفراغات العلوية للمخزن بغاز غير الأكسجين مثل النيتروجين (سنبل، 2008).

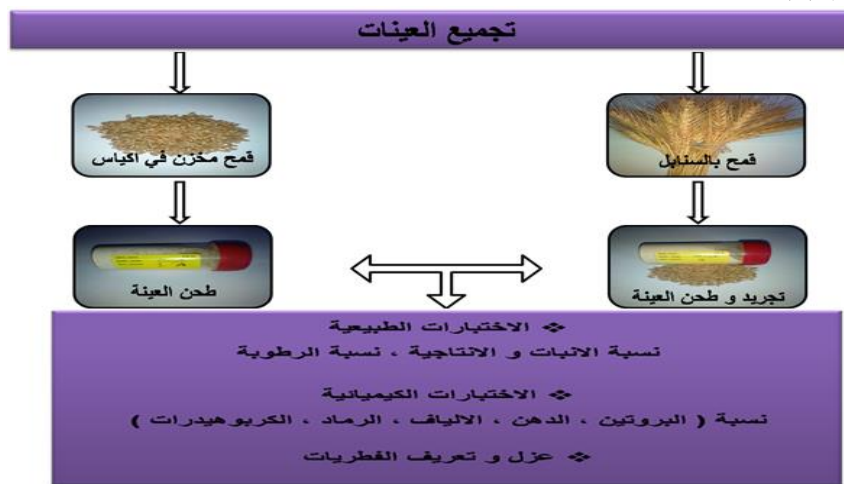
ونتيجة للأهمية الغذائية للقمح واعتماد أغلب الصناعات الغذائية عليه كمادة أساسية وكما أنه عنصر رئيسي ومكون أساسي في النمط الغذائي لدى الليبيين، فالفقدان في كثير من العناصر الضرورية الموجودة في القمح الناتج عن اختلاف طرق التخزين وما يمكن أن يترتب عن هذا الفقدان من انخفاض القيمة الغذائية لنواتج القمح، وبناء على كافة الاعتبارات السابقة فإن هناك حاجة إلى تقييم يُمكننا من الوقوف على حجم هذا الفقدان في العناصر الغذائية تحت ممارسات التخزين المتبعة محلياً، حيث تعد المناطق الجافة وشبه الجافة والتي تقع ليبيا من ضمنها هي مناطق ملائمة لتخزين البذور، وربما كان هذا أحد الأسباب الرئيسة لنشوء وتطور الحضارات الزراعية في هذه المناطق، أما المناطق ذات الحرارة والرطوبة العاليتين فهي مناطق غير ملائمة لتخزين البذور، وتكمن أهمية هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على أهمية إتباع طرق التخزين المناسبة لحبوب القمح، والوقوف على أبرز المشكلات التي تواجه

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح (58-67)

التخزين غير المناسب للقمح واتخاذ الاجراءات الكفيلة لتلافي إصابة البذور بالآفات الممرضة والتغلب عليها في الحقل وأثناء عمليات الحصاد والنقل والتخزين حفاظاً على الاقتصاد القومي وصحة الإنسان والحيوان وبالتالي تهدف الدراسة الى تقدير محتوى العناصر الغذائية في حبوب القمح وتتبع متبقياتنا في نواتجه من الدقيق وذلك تحت ممارسات التخزين المختلفة، وكذلك تحديد نسبة الإنبات والإنتاجية لحبوب القمح التي شملتها الدراسة.

المواد و طرق البحث:

أجريت الدراسة على عينتين من القمح الطري تم الحصول عليها من مشروع العمامرة الزراعي، مختلفتين في طريقة التخزين، إحداها قمح مجرد من سنباله ومخزن في الأكياس، والأخرى قمح مخزن بسنباله وكلاهما لمدة خمس سنوات كما في الشكل رقم (1).



شكل رقم (1) يوضح المخطط العام للدراسة.

قياس نسبة الرطوبة:

الرطوبة هي كمية الماء التي تفقد من المادة الغذائية بعد تجفيفها في فرن التجفيف وحتى ثبات الوزن، فالمادة الجافة هي الجزء المتبقي من المادة الغذائية بعد طرد الرطوبة منها تماماً في فرن التجفيف وتشمل باقي مكونات العينة. وتشير أهمية قياس المحتوى الرطوبي إلى معرفة مدى تحمل المادة الغذائية لعملية الحفظ والتخزين. كما تدل نسبة الرطوبة على قيمة المادة الغذائية وتحديد نسبة المادة الجافة لأن التعبير عن النتائج دائماً على أساس المادة الجافة. تم تجفيف العينة في فرن التجفيف على درجة حرارة 105 مئوي لمدة 6 ساعات، حيث تم أخذ واحد جرام من كل عينة بثلاث مكررات وأخذ المتوسط الحسابي لنسبة الرطوبة في العينة باستخدام العلاقة رقم (1).

$$\text{نسبة الرطوبة} = \frac{\text{وزن العينة قبل التجفيف} - \text{وزن العينة بعد التجفيف}}{\text{وزن العينة قبل التجفيف}} \times 100 \dots (1)$$

قياس نسبة الرماد:

الرماد هو الجزء غير العضوي من المادة الجافة أي الذي لا يدخل الكربون في تركيبه، ويشمل العناصر المعدنية وأملأها غير العضوية الموجودة في المادة الجافة ولا تتغير بفعل الحرق على درجات حرارة عالية إلى مواد متطايرة. وتدل أهمية قياسه لمعرفة مدى تلوث الأغذية بالأتربة ومعرفة محتوى العينة من الأملاح، لحساب نسبة الرماد يتم

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح.....(58-67)

وزن واحد جرام من القمح في إناء الحرق وتوضع في الفرن على درجة حرارة 600° حتى تمام التخلص من كل الكربون أي المادة العضوية، والجزء المتبقي بعد الحرق عبارة عن وزن الرماد باستخدام العلاقة رقم (2).

$$\text{نسبة الرماد} = \frac{\text{وزن العينة بعد الحرق}}{\text{وزن العينة قبل الحرق}} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

قياس نسبة البروتين:

تم تقدير البروتين على عدة مراحل كالآتي:

- 1 - مرحلة الهضم: نضع العينة في دورق خاص بالهضم ثم نضيف عليها 25 مل من حمض الكبريتيك المركز (H₂SO₄) و 10 جرام من مخلوط الهضم ويترك على الموقد حتى يتغير اللون إلى اللون الأخضر الزيتي.
- 2 - مرحلة التقطير: يضاف إلى الدورق 200 مل ماء مقطر مع ثلاث حبات زنك مع 70 مل من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) تركيز 40 %، يثبت في جهاز التقطير ويتم وضع 100 مل من حمض البوريك تركيز 0.4% إلى دورق الاستقبال، يتم تشغيل جهاز التقطير حتى يصل دورق الاستقبال إلى 150 مل.
- 3 - مرحلة المعايرة: تتم المعايرة بواسطة حمض الهيدروكلوريك (HCl) 0.1 عياري، ثم إضافة قطرات من صبغة اليود، وتتم المعايرة حتى يتغير اللون من الأخضر إلى البنفسجي (Horwitz & Albert, 2006).

$$\text{نسبة البروتين} = \frac{\text{كمية HCl} \times 0.1 \times 0.014 \times 6.25}{\text{وزن العينة}} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

قياس نسبة الدهن الخام:

الدهن هو تلك المادة التي تنتج بعد معاملة المادة الغذائية الجافة بالمذيب العضوي (الإيثير) مدة من الزمن حوالي 16 ساعة في جهاز سكوبان أو من 2-5 ساعات في أجهزة الاستخلاص الغذائية، وتسمى المواد الناتجة من الدهن الخام المستخلص الإيثيري، وهي عبارة عن دهن حقيقي وأحماض دهنية حرة وفوسفوليبيدات واسترولات وشموع وبعض الصبغات النباتية.

$$\text{نسبة الدهن} = \frac{\text{وزن الدهن}}{\text{وزن العينة}} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

قياس نسبة الكربوهيدرات:

تم قياس نسبة الألياف في العينة والتي تشمل السليلوز والهيموسليلوز واللجنين.

$$\text{نسبة الألياف} = \frac{\text{وزن الألياف}}{\text{وزن العينة}} \times 100 \dots\dots\dots (5)$$

تعيين نسبة الكربوهيدرات الذاتية بعد قياس نسبة الألياف والبروتين والدهون والرماد والرطوبة حيث تجمع وتطرح من 100 %.

% الكربوهيدرات = 100 - (% الألياف + % البروتين + % الدهون + % الرماد + % الرطوبة) الجدول رقم (1)
يوضح التركيب الكيميائي لحبوب القمح على أساس المادة الجافة.

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح (58-67)

جدول رقم (1) يوضح التركيب الكيميائي لحبة القمح على أساس المادة الجافة.

المادة	الدهون	كربوهيدرات	بروتين	الرماد	الالياف	% الرطوبة
النسبة %	2.3	73.25	11	1.8	2.5	9.15

عزل وتعريف الفطريات:

تعد الفطريات من المسببات المرضية التي تسبب أمراضاً مختلفة، وبالتالي خسائر اقتصادية لتأثيرها على حيوية البذور وتقليل نسبة إنباتها مما يؤدي إلى نقص شديد في الإنتاج الزراعي وذلك عند استخدام البذور الملوثة بالفطريات في الزراعة (Kononkov and Dudina, 1986).

تم استخدام طريقتين لعزل وتعريف الفطريات وذلك لغرض تخفيف النمو الفطري لتلافي ظاهرة التنافس في نمو الفطريات الذي لوحظ عند استخدام طريقة زرع الحبوب على الوسط الغذائي.

طريقة العزل المباشر:

1- باستخدام الماسك المعقم بالتطهير الكحولي تم وضع الحبوب على سطح الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar (PDA) بعد تصلبه.

2 - تم وضع 5 حبوب على الوسط الغذائي بكل طبق من كل عينة بثلاث مكررات لكل عينة.

3 - وضع الأطباق في الحضان على درجة حرارة 28 C لمدة اسبوع.

4 - عزل وتعريف الفطريات النامية على الوسط وتقدير مدى الإصابة (El-Kady & Youssef, 1993).

طريقة التخفيف المتسلسل للعينات:

تم أخذ 1 جرام من العينة ونقلت إلى أنابيب زجاجية معقمة وأضيف لها 9 مل ماء مقطر معقم ورجت العينة جيداً حيث تم الحصول على تركيز 10^{-1} ، من ثم نقل 1 مل من هذا التركيز إلى أنبوب آخر به 9 مل ماء مقطر لنحصل على تركيز 10^{-2} وهكذا حتى تم الحصول على تركيز 10^{-4} ، تم أخذ 1 مل وزرع في الطبق على الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar (PDA) بثلاث مكررات لكل عينة بطريقة الأطباق المصبوبة ووضعت في الحضان على درجة حرارة الغرفة لمدة 7 أيام ومراقبة نمو الفطريات دورياً، بعد ذلك تم الكشف عن الفطريات النامية بالاستعانة بالمجهر الضوئي والمراجع العلمية الخاصة بذلك اعتماداً على شكل التركيب الجرثومية والجراثيم والحوامل الجرثومية (Barnett & Hunter, 1972).

النتائج والمناقشة:

قياس نسبة الرطوبة:

حدث انخفاض كبير في نسبة الرطوبة لحبوب القمح التي كانت في سنايلها فلم تتجاوز نسبة الرطوبة 2 % مما جعلها أكثر جفافاً وهذا سمح لها بالمحافظة على المحتوى الغذائي لفترة طويلة دون تغيير كبير، في حين حدوث انخفاض بسيط في الحبوب المخزنة في الأكياس حيث كانت نسبة الرطوبة بها 8.33 % بالمقارنة بالجدول رقم (1) وهذه النتائج تتفق مع دراسة (بالعابد، 2003) حيث لاحظ أنه لم يحصل أي تغيير على حبوب القمح التي في

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح(58-67)

سنا بلها ما عدا انخفاض في المحتوى الرطوبي مما جعلها أكثر جفافاً وبالتالي أقل تعرضاً للآفات، أما البذور التي جردت من سنا بلها فقد انخفضت المادة البروتينية 20% بعد سنة من التخزين، وانخفضت 32 % بعد سنتين من التخزين، وكذلك فقدت نسبة كبيرة من قدرتها على الإنبات، النمو، والإثمار.

التحليل الكيميائي للمحتوى الغذائي للقمح:

شملت التحليل كل من الألياف، الرماد، البروتينات، الدهون، والكربوهيدرات كما في الجدول رقم (2).

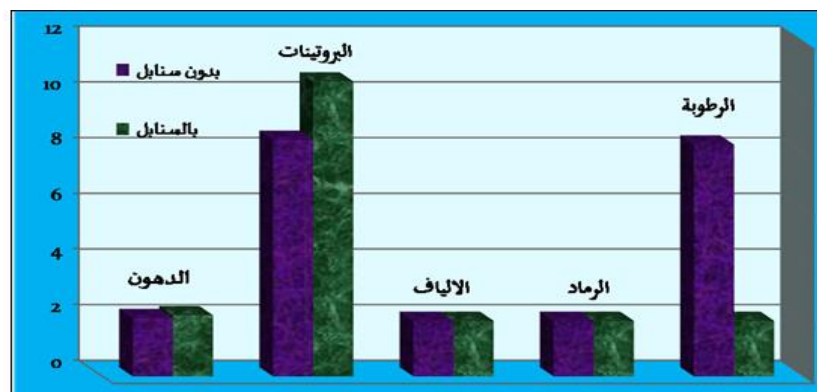
جدول رقم (2) نتائج التحليل الكيميائي لحبوب القمح على أساس المادة الجافة.

المادة	الدهون %	بروتين %	الرماد %	الألياف %	الرطوبة %
قمح بدون سنا بل	a 2.1	a 8.5	a 2	a 2	a 8.33
قمح بالسنا بل	a 2.2	b 10.6	a 2	a 2	b 2

القيم التي تشترك في نفس الحرف ولنفس العمود لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05

من خلال النتائج في الجدول رقم (2) وكذلك الشكل رقم (2) يتضح أن نسبة الرماد تساوت في العينتين وكذلك الألياف حيث كمية الفقد كانت قليلة لصعوبة تحليلهما، أما الدهون فقد حدث انخفاض بنسبة 8.7 % للحبوب المخزنة في الأكياس، في حين انخفضت النسبة إلى 4 % في الحبوب التي في سنا بلها، أما البروتينات فقد حدث لها انخفاض كبير في الحبوب المخزنة في الأكياس وصل إلى 24.8 % في حين حدث انخفاض بسيط في الحبوب التي في سنا بلها بنسبة 6 %، وذلك بالمقارنة بالجدول رقم (1) أما المواد الكربوهيدراتية فتحسب من الفارق بين النسبة المئوية الكاملة (100 %) ومجموع كل من الدهون، البروتينات، الألياف، الرماد، والرطوبة، بما أنه حدث انخفاض في البروتينات والدهون بالتالي حدوث انخفاض في الكربوهيدرات وذلك بسبب إصابة الحبوب بالفطريات التي تتغذى على المحتوى الغذائي للحبوب، وقد يعود السبب في ذلك إلى قيام الفطريات بإفراز إنزيمات تعمل على تحويل السكريات غير المختزلة إلى سكريات مختزلة، ويتم حساب الكتلة الحيوية للفطريات عن طريق عد المستعمرات وليس بالجرام (السعيد، 1983) وهذه النتائج تتفق مع الدراسة التي أجراها (العاتي وآخرون، 2017) لمقارنة بعض خصائص الجودة في عينات القمح المستورد من ألمانيا وكندا للسوق الليبي وبينت النتائج أن نسبة الرطوبة والرماد هي (8.83 ، 1.63 %) للصنف الكندي وهي مطابقة في نسبة الرطوبة للمواصفة القياسية الليبية 231 / 2015 لدقيق القمح، أما بالنسبة لنسبة الرماد فلم ترد في المواصفة المذكورة رغم أهميتها ضمن خصائص الجودة لتقييم حبوب القمح، أيضاً دراسة أجراها (عكاش واللين، 2017) على بعض صفات الجودة الطبيعية والكيميائية في عدد من أصناف القمح المستوردة إلى ليبيا من بلغاريا وصربيا وروسيا وخلصت إلى أن نسبة الرطوبة والرماد والبروتين هي (10.56 ، 0.525 ، 12.1 %) على التوالي للصنف الصربي.

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح(58-67)



شكل رقم (2) مخطط بياني يوضح الاختلاف في التركيب الكيميائي لحبوب القمح للعينتين.

نسبة الإنبات والإنتاجية:

تاريخ الزراعة 2018/1/11، الحصاد 2018/5/24، تحت ظروف الزراعة البعلية. مشاهدات مختلفة لوحدة المساحة بين محصول القمح التي كانت بذوره مخزنة في سنابلها مع محصول القمح التي بذوره جردت من سنابلها أثناء التخزين من صنف القمح الطري، بنفس الظروف الجوية وموعد الزراعة والحصاد وقد شملت هذه الاختلافات نسبة الإنبات، وزن الحبوب، القش، طول السنبل، عدد السنابل في المتر المربع، وعدد الحبوب في السنبل، حيث توضح النتائج انخفاض كل المشاهدات في محصول القمح المجرد من سنابلها، ويعزى سبب هذا الانخفاض في كل المشاهدات إلى إصابة الحبوب التي كانت مخزنة في أكياس بالفطريات الممرضة وبذلك فقدت نسبة كبيرة من قدرتها على الإنبات، النمو، والإثمار، كما هو موضح في الجدول رقم (3) والشكل (3).

جدول رقم (3) يوضح الاختلاف بين القمح بالسنابل والقمح بدون سنابل.

المعاملة	نسبة الإنبات	وزن الحبوب جم / م ²	وزن القش جم / م ²	طول السنبل سم	عدد السنابل/م ²	عدد الحبوب/ السنبل
بدون سنابل	60% a	12.20 a	16 a	4 a	25 a	20 حبة a
بالسنابل	90% b	18.75 b	26 b	8 b	70 b	45 حبة b

القيم التي تشترك في نفس الحرف ولنفس العمود لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05

عزل وتعريف الفطريات:

في الطريقة المباشرة تم عزل وتعريف خمسة أنواع تابعة لجنسين من الفطريات وأكثر الأنواع كانت تابعة لجنس *Penicillium* حيث عزلت أربعة أنواع، ونوع من *Aspergillus* كما أظهرت النتائج أن أكثر الظهور للفطريات كان على حبوب القمح المجرد من سنابلها، أما القمح التي كانت بذوره في سنابلها فلم تظهر إلا إصابة بسيطة جداً لجنس *Penicillium* كما في الجدول رقم (4).



شكل (3): يوضح نمو محصول القمح للعينتين

جدول رقم (4) يوضح الفطريات التي تم عزلها وتعريفها.

قمح مجرد من السنابل	قمح بالسنابل	الفطريات المعزولة
+	-	<i>Aspergillus</i>
+++	+	<i>Penicillium</i>

أما في طريقة التخفيف المتسلسل فقد شخّصت الفطريات من خلال الملاحظة العينية عند نمو الفطريات على الوسط الغذائي وكانت نتائج العدد الفطري للقمح الموجود بالسنابل نمو واحد لكل مكرر، أما القمح المجرد من سنابله فكانت ثلاث مستعمرات لكل مكرر/ $10^4/\text{gm}$ وعند تشخيص الفطريات اتضح أنهما *Penicillium* ، *Penicillium sp 1* ، *sp 2* ، هذا وقد تكون هناك نموات أكثر للفطريات في حالة ظروف معملية أفضل.

وهذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات فقد قام (شعبان وأبوزيان، 2017) بعزل وتعريف الفطريات وتقدير المحتوى الرطوبي لحبوب القمح من أسواق مدينة مصراتة وخلصت الدراسة إلى أن المحتوى الرطوبي للقمح وصل إلى 12.3 % وتم عزل وتشخيص عشرة أجناس من الفطريات بطريقتي العزل المباشر والتخفيف المتسلسل، وتشير النتائج إلى أنه في طريقة العزل المباشر سجل الفطر *pencillium spp* أعلى نسبة ظهور، أما في طريقة التخفيف المتسلسل فقد سجل الفطر *A.flavus* أعلى نسبة ظهور وصلت إلى 67.6 %.

أيضاً قام (فريوان وآخرون، 2016) بعزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لحبوب القمح الطري والصلب المسوقة بالأسواق المحلية والحقل بمصراته وقد تم عزل وتشخيص 12 نوع من الفطريات، حيث سجل نوع *pencillium sp* أكثر تواجد على القمح الطري، أما فطريات الحقل فقد سجل الفطر *Cladosporumsp* أعلى نسبة عزل على القمح الطري.

وقام (الفيثوري، 2015) بعزل وتعريف أجناس الفطريات المصاحبة لحبوب القمح الطري والصلب المستورد لبعض المصانع الليبية، وأظهرت النتائج وجود 6 أجناس من الفطريات أكثرها *pencillium spp*، ثم فطر *Alternaria*، والسيادة الفائقة لجنس *Penicillium* راجعة إلى القدرة التنافسية العالية له ولتعدد أنواعه ولكثرة

تأثير اختلاف طريقتي تخزين على المحتوى الغذائي ونسبة إنبات وإنتاجية حبوب القمح.....(58-67)

ما ينتجه من أبواغ، بالإضافة إلى المقدرة العالية على إنتاج أنواع مختلفة من السموم الفطرية مما يعيق نمو فطريات أخرى (Christensen & Kaufmann, 1965).

الاستنتاج:

من خلال تحليل بيانات التحليل الكيميائي اتضح أنه توجد فروقات ذات دلالة إحصائية في المستوى النسبي للتحليل الكيميائي للقمح عند مستوى $\alpha=0.05$ في نسبة الرطوبة ونسبة البروتين، أما بقية التراكيب الأخرى فلا توجد أي دلالة إحصائية بين القمح المخزن بالسنابل والقمح المخزن بدون سنابل.

باستخدام Independent samples T. Test لمعرفة ما إذا كان هناك علاقة لنتائج الزراعة المتمثلة في نسبة الإنبات ووزن الحبوب وطول السنبل وعدد الحبوب على العينتين عند مستوى دلالة $\alpha=0.05$ اتضح أن هناك فروق جوهرية وذات دلالة إحصائية بين العينتين.

التوصيات:

- 1- يجب المحافظة على نظافة أماكن التخزين وتوفير التهوية المناسبة.
- 2- إجراء الفحوصات المستمرة للإصابة بالحشرات والفطريات والقوارض، واستعمال مواد مكافحة.
- 3- ننصح بتخزين القمح في سنابله بدلاً من تخزينه في أكياس واستخدامه في الزراعة.
- 4- تحديد نسبة الرطوبة والرماد بشكل دوري لأنهما من معايير الجودة في تقييم القمح المستخدم في صناعة الدقيق.
- 5 - تجفيف الحبوب قبل تخزينها يقلل من محتواها من الرطوبة وبالتالي يقلل من الإصابة بالفطريات.
- 6- إجراء المزيد من الدراسات والأبحاث على محاصيل زراعية أخرى.

المراجع:

- السعيد، محمد. (1983). تكنولوجيا الحبوب، جامعة الموصل.
- العاتي، مفتاح خليل، نواره، عبدالسلام سالم، الشريف، عبدالباسط محمد، مفتاح، مراد عمران ويوسف، عبدالسلام أحمد. (2017). دراسة مقارنة لبعض خصائص الجودة في عينات القمح المستورد، مجلة التربية، الجامعة الاسمية الإسلامية العدد 3 / 2017.
- الفيثوري، نجاح. (2015). عزل وتعريف اجناس الفطريات المصاحبة لحبوب القمح المستورد لبعض المصانع الليبية، مجلة حوليات العلوم الزراعية بمشتهر مجلد 53 (2) 2015.
- بلعابد، عبدالمجيد. (2003). الإشارات الكونية في القرآن ومغزى دلالتها العلمية، جامعة وجدة، المغرب.
- سنبل، محمد صالح. (2008). الصناعات الغذائية الجزء الثاني، مجلة العلوم والتقنية العدد الثامن والثمانون.
- شعبان، منيرة أحمد وأبويزان، سميه عمر. (2017). عزل وتعريف الفطريات وتقدير المحتوى الرطوبي لحبوب القمح والذرة من بعض أسواق مدينة مصراتة، المؤتمر السنوي الاول حول الفطريات وتطبيقات العلوم الاساسية والحيوية 2017/09/09، كلية العلوم، جامعة مصراتة.
- عكاش، سمير، اللين، عادل. (2017). دراسة بعض صفات الجودة الطبيعية والكيميائية والريولوجية في عدد من أصناف القمح والدقيق المنتج منها، مشروع تخرج، كلية الزراعة، جامعة الزيتونة.

فريوان، حليلة محمد، عوين، خديجة سالم، الحار، هاله أحمد وأبو حبيب، هاله فرج. (2016). عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لحبوب القمح بالأسواق المحلية والحقل بمنطقة مصراتة، المؤتمر العلمي الأول للأمن الغذائي وسلامة الغذاء.

كذلك، محمد محمد. (2001). زراعة القمح. الطبعة الأولى، منشأة المعارف، الاسكندرية مصر.
موصلي، حسن علي. (2006). الحبوب الغذائية (إنتاجها - تخزينها - تصنيع منتجاتها)، منشورات دار علاء الدين للنشر والتوزيع والترجمة، الطبعة الأولى.

Ahmed, M. N. (1989). Fungi associated with wheat grains drains during their development . annual Research Review Gazipur (Bangladsh).

Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. *Illustrated genera of imperfect fungi.*, (3rd ed).

Christensen, C. M., & Kaufmann, H. H. (1965). Deterioration of stored grains by fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 3(1), 69-84.

El-Kady, I. A., & Youssef, M. S. (1993). Survey of mycoflora and mycotoxins in Egyptian soybean seeds. *Journal of basic microbiology*, 33(6), 371-378.

Horwitz, W., & Albert, R. (2006). The Horwitz ratio (HorRat): a useful index of method performance with respect to precision. *Journal of AOAC International*, 89(4), 1095-1109.

Kononkov, P. F., & Dudina, Z. N. (1986). Fungi on vegetable crop seeds stored in conditions of high relative humidity and temperature (No. RESEARCH).

Effect of Tow different storage methods on food content, germination percentage and grains wheat productivity

Abstract

The study aimed to estimate the content of nutrients in wheat grains and track their residues in its flour products under different storage practices, as well as determine the percentage, germination, and productivity. And stored in bags, and the other grain remained in its ears, and both of them for five years and did not take into account the conditions of storage.

The results show a chemical analysis for the food content for grain wheat reduce in all components for storage wheat sample in Pouches, where educe all proteins and lipids by percentage (24.8%, 8.7%) respectively, or the wheat sample was kept in Spikes shows few reduces in protein and lipids arrived at (6%, 4%) respectively. The simple reduce and as the same percent for ash and fiber, so as same as the reduces for carbohydrate percent due to consumed as food for the fungi. While was the big reduction in humidity percentage for the wheat sample was kept in Spikes, for this so kept all food content, the reason was not growth the fungi, while the storage wheat sample in Pouches the humidity was 8.33 so the fungi was growth, we were fined tow diffident gens for fungi were *Penicillium sp* and *Aspergillus sp*. What the germination percentage and productivity was the value up in grain in spikes for the weight grain, straw, number of spikes in m², tall of the spike, and number of grain in spike.

Keywords: *Stored wheat, storage methods, spikes of wheat*

دراسة إحصائية لبعض حالات الإصابة بمرض هشاشة العظام لدى بعض المرضى بمدينة الخمس

نجية ميلاد على رجب¹، أمال جمعة مسعود الحوات²، سعاد محمود عبد السلام الهصيك³،

نجاة ميلاد على عزوكة⁴، القاسم حسين شكشك⁵

^{1,2,3,4} قسم الأحياء، كلية العلوم-الخمس، جامعة المرقب، الخمس، ليبيا

⁵ قسم الأحياء، كلية العلوم، الجامعة الأسمرية، زليتن، ليبيا

Njiaali2019@gmail.com

الملخص:

ينتشر مرض هشاشة العظام (Osteoporosis) بين الأفراد من كلا الجنسين وفي جميع الفئات العمرية وبنسب متزايدة، حيث قد تختفي أعراض هذا المرض ولا تظهر إلا في سن متأخرة، وبالنظر إلى أهمية دراسة أمراض الجهاز العظمي وبالأخص مرض هشاشة العظام والتي لها تأثير كبير ومباشر على جميع وظائف أعضاء الجسم، وكذلك لتزايد أعداد المرضى اللذين يعانون من هذا المرض، كان الغرض من هذه الدراسة هو الكشف عن هذا المرض عن طريق جمع البيانات بواسطة استبيان لمعرفة مدى نسبة الإصابة بمرض هشاشة العظام في كلا الجنسين وبمختلف الفئات العمرية. عن طريق مستشفى الخمس المركزي وبعض العيادات الاستشارية في مدينة الخمس. وكانت الدراسة في الفترة من 1- يناير - 2019 إلى 31- ديسمبر - 2020 وشملت الدراسة (100) حالة يعتقد بأنها مصابة بمرض هشاشة العظام من كلا الجنسين. واختيرت العينات بطريقة عشوائية وبأعمار تراوحت بين (17-85) سنة. وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها أن عدد المصابين بهذا المرض وصل إلى (70) حالة، منها (27) حالة من الذكور، (43) حالة من الإناث.

الكلمات المفتاحية:

المقدمة:

هشاشة العظام أو تخلخل العظام Osteoporosis هو مرض روماتزمي خطير يصيب العظام ويسمي المرض الصامت حيث أن الأعراض غالباً لا تظهر إلا عند تقدم المرض والإصابة بمضاعفات خطيرة مثل الكسور (Sadat et al., 2009c). وهو المرض الأكثر انتشاراً في العالم، حيث تعتبر خسارة العظام مع التقدم في العمر ظاهرة عالمية. لكنها تتحول إلى مرض عندما تصبح العظام معرضة أكثر للكسور (Juliet, 2013). وسبب هذا المرض انخفاض في الكثافة المعدنية للعظام أو رقاقتها بالهيكل العظمي بالإضافة إلى خسارة مادة الكالسيوم والفسفور التي تؤدي إلى نقص في الكتلة العظمية وبالتالي إلى تمزق بنية العظم (Orwoll, 1998; Raafat et al., 2012). يصيب هذا المرض نصف السيدات وثلاث الرجال فوق سن السبعين، تكون مصحوبة بآلام شديدة لديهم (Amin, 2001). ويعرف أيضاً بأنه الاضطراب العظمي الذي يتسبب بضعف العظام وزيادة فرصة تعرضها للكسور بمجرد القيام بأي حركات غير مجهدة للعظام (Kates et al., 2007; Johnell, 2006).

إن العظام في الحالة الطبيعية تشبه قطعة الإسفنج المليء بالمسامات الصغيرة، وفي حالة الإصابة بهشاشة العظام يقل عدد المسامات وتكبر أحجامها، وتصبح العظام أكثر هشاشة وتفقد صلابتها (Ytrehus et al., 1999). وتشيع الكسور المرتبطة بهشاشة العظام في الورك، المرفق، الحوض، الفخذين والعمود الفقري، وتعتبر المنطقة القطنية من العمود الفقري أكثر الأماكن إصابة بهشاشة العظام (Rockville, 2004). وبسبب فقدان المترج لهرمون الأستروجين بعد سن اليأس فإن نسبة حدوث المرض عند النساء أكثر من الرجال (Micheal, 2002)، ولوحظ ازدياد احتمالية الإصابة بهشاشة العظام بعد السنوات السبع التالية لانقطاع الطمث عند النساء حيث يبلغ معدل تناقص كثافة العظام الفسيولوجي من 2-3% من كتلة العظام (Dewhurst's, 1999)، بالإضافة إلى أن هناك الكثير من المرضى يعانون من هبوط كثافة العظام أو ما يسمى بالكتلة العظمية المتدنية وهي فقدان لكتلة العظم الذي لا يعد خطيراً بما يكفي لتصنيفها بأنها هشاشة العظام ومع ذلك فهي تزيد من احتمال الإصابة بمرض هشاشة العظام. إن تطور هذا المرض دون علاجه يمكن أن يشكل إحدى الأسباب الرئيسية للمعاناة والعجز والوفاة لدى المسنين (O'Neill, 1996) ولذلك فإن التشخيص الفوري لكثافة كتلة العظام وتقييم خطر الكسر ضروري جداً لمنع فقدان المزيد من كتلة العظام وزيادة كثافتها (Gotfredsen, 2009)، كما أوضحت عدة دراسات أن لمرض هشاشة العظام ارتباط وثيق بالتاريخ العائلي للكسر وخاصة كسر الورك. كما تشير هذه الدراسات أن مرض هشاشة العظام أكثر شيوعاً عند القوقازيين أو الآسيويين، ومعدلات وقوع المرض وحوادث كسور في الورك والعمود الفقري هي أقل عند العرق الأسود. كذلك وجد أن العلاج طويل الأمد بالكورتيكوستيرويد (الكورتيزون) والتهاب المفاصل الالتهابي Rheumatoid arthritis وأمراض الغدد الصم أن يكون سبباً في حدوث خسائر فادحة في العظام وخاصة المستويات العالية من هرمون جارث الدرق الذي يعمل على تحرير الكالسيوم من العظام إلى الدم، وهذه الأسباب جميعها تؤدي في النهاية إلى التسبب في الإصابة بهشاشة العظام (Cummings, 2002). إن مرض هشاشة العظام مرتبط ارتباطاً كبيراً بمعدل فقد الكالسيوم والفسفور من الجسم، والذي نقصه يؤدي إلى تصلب الأرجل وتورم المفاصل وتقوس الظهر وقلة الشهية للطعام (Sadat et al., 2011 b). يفقد جسم الإنسان الكالسيوم بشكل يومي من خلال الجلد الذي يقشر، الأظافر، الشعر، وعن طريق البراز والبول. ومن ناحية أخرى يصبح الجسم غير قادر على إنتاج الكالسيوم ومن ثم يجب الحصول على الكالسيوم من الغذاء، وعندما لا يحصل الجسم على الكمية الكافية من الكالسيوم عن طريق الغذاء يتوجه الجسم إلى مخزن الكالسيوم في العظام لاستبقاء الكمية الناقصة منه (Seeman, 1998). يحتاج كبار السن بين 1000-1200 مليجرام من الكالسيوم في اليوم، أما الأطفال ومن هم في طور النمو فيحتاجون إلى 1300 مليجرام في اليوم، فاستهلاك الكالسيوم ضروري للحصول على أقصى حد من كثافة العظام والحفاظ عليها للسنوات القادمة، لمنع حدوث الكسور نتيجة ترقق العظام (Sadat, et al. 2009a;) Ali et al., 2004. يوجد عامل آخر مهم جداً يساعد على امتصاص الكالسيوم في الجسم، وهو فيتامين د (D) والذي يعرف بـ كوليكالسيفرول Cholecalciferol والذي يعد العنصر الأساسي في اكتساب الجسم لعنصر الكالسيوم، حيث يساعد فيتامين D على امتصاص الكالسيوم في الأمعاء والدخول إلى مجرى الدم (Sadat et al., 2011a). وكذلك يساعد الكلى في الحفاظ على الكالسيوم وعدم إفرازه من خلال البول (Sadat et al., 2009b). إن جسم الإنسان له القدرة على إنتاج فيتامين D من خلال التعرض لأشعة الشمس بشكل كافٍ من (10-15) دقيقة

لمرتين أو ثلاث مرات في الأسبوع، ويكفي تعريض اليدين والوجه لأشعة الشمس (Catling, 2003؛ أبودنيا، 2001). كما يمكن الحصول على فيتامين D من الغذاء كزلال البيض وأسماك المياه المالحة والكبد (Betty et al., 2016). ذكرنا فيما سبق بعض الأسباب التي تكمن وراء الإصابة بمرض هشاشة العظام، ولكن أوضح العلماء أنه يوجد سببان رئيسيان لحدوث هشاشة العظام (Osteoporosis) أو تخلخل العظام:

1- عدم تشكل كتلة عظمية قوية بما فيه الكفاية بحلول عمر الثلاثين عاماً قبل أن تبدأ خسارة النسيج العظمي.
2- أن تكون خسارة النسيج العظمي بعد عمر الثلاثين سريعة للغاية، فيمكن أن تبدأ هشاشة العظام أو تخلخل العظام في عمر مبكر إذا لم يحصل الشخص على القدر الكافي من الكالسيوم ومن فيتامين (D)، وبعد الوصول إلى ذروة كثافة العظام وقوتها بين 25-30 سنة من عمر الإنسان فإنه يبدأ بخسارة نحو أربعة بالآلاف من قوة عظامه كل سنة (شهيبي، 2006). ولكن مع توفر التغذية السليمة يستطيع الشخص تحمل هذه الخسارة دون أن يصاب بهشاشة العظام.

قد يصاب الأطفال بهشاشة العظام (Osteoporosis) في عمر ما بين 8-14 عام، أو حتى قبل ذلك وتختلف هشاشة العظام عن مرض لين العظام (Rickets) الذي يصاب به أغلب الأطفال والذي ينتج عن نقص الكالسيوم في عظام الطفل بسبب قلة ترسيب الكالسيوم أو الفوسفات في العظام، بينما مرض هشاشة العظام Osteoporosis يصيب كتلة العظم وكثافته وكلا المرضين مختلف في الأعراض المرضية وطرق العلاج (فكري، 2005).

ومن هنا نلاحظ أن الوقاية من هذا المرض تكون بالتغذية الجيدة والتي ينصح فيها بتناول وجبة متوازنة تحتوي على كميات من الكالسيوم في سنوات العمر المختلفة، واتباع نمط حياة صحي وسليم، كما يوجد عدة خيارات دوائية للمساعدة على إعادة بناء أو تعويض العظم المفقود (عبدالرزاق، 2009) مثل مجموعة فيتامين D النشط Active vitamin D metabolite مثل الكالستترول Calcitriol والفاكالسيدول Alfa Calcidol والتي تكون ذات فائدة خاصة للنساء المسنات ذوات الكتلة العظمية القليلة، فهي تساعد على امتصاص الكالسيوم بالإضافة إلى تأثيرها على خلايا العظام والكلية لتقليل طرح الكالسيوم (عبدالعظيم وعبدالناصر، 2014).

الهدف من الدراسة:

نظراً لكل التأثيرات الخطيرة لهذا المرض، وما للعظام من أهمية كبيرة في حياة الإنسان، أصبح الهدف الأساسي لهذا البحث هو معرفة مدى انتشار المرض بين الذكور والإناث وأي الفئات العمرية الأكثر عرضة للإصابة بهذا المرض وكذلك التعرف على نوع الاضطرابات التي يعاني منها بعض المرضى نتيجة الإصابة بهذا المرض الصامت في مدينة الخمس.

المواد وطرق البحث:

عينة الدراسة:

أجريت هذه الدراسة على مجموعة من المرضى، اللذين يعانون من أعراض مرض هشاشة العظام Osteoporosis. والمتبردين على مستشفى الخمس المركزي والعيادات الاستشارية الخارجية في مدينة الخمس، في الفترة من شهر يناير 2019 إلى شهر ديسمبر 2020.

شملت الدراسة عدة خصائص على شكل استمارة استبيان والتي منها، العمر، الجنس، وتاريخ المرض، والأعراض

دراسة إحصائية لبعض حالات الإصابة بمرض هشاشة العظام لدى بعض المرضى بمدينة الخمس.....(68-76)

التي يعاني منها المريض، ونوع الأدوية التي يمكن أن يتناولها المريض لعلاج هذا المرض.

التصميم والتحليل الإحصائي:

تم اختيار عينة الدراسة بطريقة عشوائية حيث تم تجميع عدد (100) حالة موزعة بين الإناث والذكور ومن مختلف الأعمار، حيث تراوحت الأعمار من (17 - 85) سنة. اعتمدت هذه الدراسة على الإحصاء الوصفي في تحليل البيانات، حيث تم تغريغ البيانات وتجهيزها للتحليل الإحصائي باستخدام نظام (SPSS) وهو عبارة عن مجموعة كبيرة من الاختبارات تندرج من الإحصاء الوصفي البسيط مثل: تكرار النسب المئوية، المتوسط الحسابي والانحراف المعياري وشمل التحليل الإحصائي الجداول التكرارية والنسب لبيان الاختلاف بين مجاميع الدراسة التي تتضمن مجموعة الأصحاء من الذكور والإناث ومجموعة المصابين من الذكور والإناث (الراوي، 1989).

النتائج والمناقشة:

وبعد إجراء الفحوصات وتجميع البيانات أظهرت هذه الدراسة أن عدد الأشخاص المصابين (70) حالة. منها (27) حالة ذكور، أي بنسبة 38.57% و (43) حالة أناث، أي بنسبة 61.43%. بينما كان عدد الأشخاص الأصحاء (30) شخص، مقسمين بين (19) حالة ذكور، أي بنسبة 63.33%، (11) حالة من الإناث، بنسبة 36.67% كما هو موضح في الجدول رقم (1).

الجدول (1) يوضح عدد الحالات السليمة والمصابة لعينة الدراسة

نوع العينة	عدد الأشخاص المصابين	عدد الأشخاص غير المصابين
ذكور	27	19
إناث	43	11
المجموع	70	30

فمن هذه النتيجة يتبين أن النساء أكثر عرضة للإصابة بمرض هشاشة العظام من الرجال، وربما هذا يعود إلى فترة الحمل والرضاعة والتي قد تتكرر أكثر من مرة، وهذا بدوره يؤدي إلى نقص الكالسيوم في العظام وبالتالي يؤدي إلى هشاشة العظام. بالرغم أنه لا يوجد سبب واضح لإصابة المرأة أثناء فترة الحمل بهشاشة العظام، ولكن هناك احتمالين رئيسيين، وهما: حدوث تغيرات غير عادية في الهيكل العظمي الطبيعي للحامل، أو أن تكون المرأة الحامل لديها إصابة سابقة تتعلق بانخفاض كثافة العظم مما يجعلها أكثر عرضة للإصابة بهشاشة أثناء حملها. وهذا يتفق مع ما جاء به (Ka Yeong, et al., 2017).

من النتيجة المبينة في الجدول رقم (2) يتضح أن أعلى نسبة إصابة بهشاشة العظام بين الرجال كان في المرحلة العمرية من (40 - 50) سنة والتي سجلت نسبة 15.71%. بينما كانت أعلى نسبة للنساء المصابات بهشاشة العظام هي في المرحلة العمرية من (70 - 80) سنة. وهذا يدل على أن النساء يصبين أكثر بهشاشة العظام مع التقدم بالعمر نتيجة لنقص هرمون الأستروجين والذي يؤدي بدوره إلى فقدان الكالسيوم من العظام، حيث ينحصر عمل هرمون الأستروجين في استقبال الكالسيوم، وهو لا يساعد على بناء العظام وإنما منع خسارة الكالسيوم من

دراسة إحصائية لبعض حالات الإصابة بمرض هشاشة العظام لدى بعض المرضى بمدينة الخمس.....(68-76)

الجدول (2): يوضح توزيع أفراد العينة المصابين على حسب الفئات العمرية.

العمر	الإجمالي		النسبة المئوية	
	ذكور	إناث	ذكور	إناث
أقل من 10 سنوات	0	0	0%	0%
من 10 – 20	1	1	1.43%	1.43%
من 20 – 30	0	5	0%	7.14%
من 30 – 40	5	5	7.14%	7.14%
من 40 – 50	11	8	15.71%	11.43%
من 50 – 60	5	6	7.14%	8.57%
من 60 – 70	1	3	1.43%	4.29%
من 70 – 80	1	12	1.43%	17.14%
من 80 – 90	3	3	4.29%	4.29%
المجموع	27	43	38.57%	61.43%

العظام (Weitzmann & Pacifici, 2006) حيث أوضحت الدراسات السابقة أنه من العوامل الهامة لخطر الإصابة بهشاشة العظام في عمر الخمسينات أو الستينات ناتج عن اتباع المسنون نظام غذائي يتميز بنقص الوارد من السكريات والدهون، وزيادة البروتينات والتي تؤدي إلى زيادة الوارد من الفسفور على حساب الكالسيوم (Alissa, 2011) بالإضافة إلى نقص الوارد من (فيتامين د) وعدم التعرض لأشعة الشمس، وقلة الحركة (American Family Physician, 2003).

الجدول (3) يوضح أكثر الأعراض التي يشعر بها المرضى والمصابة لمرض هشاشة العظام

الأعراض	الركبتين	الظهر	الرقبة والكتف	الكاحل الأيمن	الكاحل الأيسر	الرسغ الأيمن	المجموع
الذكور	13	5	1	4	0	4	27
الإناث	19	9	8	4	1	2	43

يتضح من الجدول رقم (3) أن كل المرضى من الذكور والإناث أكثرهم يعانون من آلام الركبتين تأتي بعدها آلام الظهر، بينما تكون الأعراض المتعلقة بآلام الرقبة والكتف أكثر في النساء منها في الرجال، وذلك لأنه بعد سن الـ 35 يبدأ النقص في كتلة العظام عند النساء والرجال معاً، وفي الحالات المتقدمة يتم فقدان فقط 5% من العظام الكثيفة، بينما تصل النسبة إلى 50% في العظام الإسفنجية والتي تكون متركزة في منطقة لوح الكتف والحوض، وهذا ما أوضحت الدراسات السابقة (Dewhurst's, 1999).

إن أكثر الأعراض الظاهرة على مرضى هشاشة العظام هي انتفاخ المفاصل وانشاء العظام في حين أن بعض المرضى لا تكون لديهم هذه الأعراض.

دراسة إحصائية لبعض حالات الإصابة بمرض هشاشة العظام لدى بعض المرضى بمدينة الخمس.....(68-76)

الجدول (4) يوضح الأعراض الظاهرة على المرضى المصابين بهشاشة العظام

الجنس	الأعراض الظاهرة	انتفاخ المفاصل	انثناء العظام
الذكور		15	1
الإناث		24	0
المجموع		39	1

ومن الجدول رقم (4) يتبين أن أغلب المرضى يعانون من انتفاخ المفاصل من أصل 70 حالة أي شكلت هذه الفئة ما نسبته 55.71%. بينما 1.43% فقط ممن يعانون من أعراض كانهاء العظام، يتضح أن نسبة النساء اللاتي يعانين من انتفاخ المفاصل تفوق نسبة الرجال والتي شكلت نسبة 61.51% بينما شكلت نسبة الرجال حوالي 38.46%. وبالتالي نلاحظ أن التهاب المفاصل هو الشكل الأكثر شيوعاً لمرض هشاشة العظام حيث أكدت العديد من الدراسات بأنه يؤثر على ملايين الأشخاص حول العالم (Reginster, 2006). ويحدث ذلك عندما يتآكل الغضروف الواقي، الذي يغطي أطراف العظام بمرور الوقت، ويمكن أن يتسبب الفصال العظمي في تلف أي مفصل، ولكن يؤثر الاضطراب في الغالب على المفاصل في اليدين والركبتين والوركين والعمود الفقري.

الجدول (5) يوضح عدد الحالات اللذين يتناولون علاج لمرض هشاشة العظام

الجنس	العلاج	يتناولون العلاج	لا يتناولون العلاج
الذكور		13	14
الإناث		22	21
المجموع		35	35

من البيانات الواردة في الجدول رقم (5) يتضح أن عدد حالات المرضى من الرجال والنساء تكاد تكون متقاربة بين الفئتين ممن يتناولون العلاج واللذين لا يتناولون أي علاج، وفي كلا الحالتين كانت فئة النساء هي الغالبة. وربما يعود هذا السبب إلى عدم الاهتمام بالرعاية الصحية أو عدم الإدراك بخطورة المرض، ومن خلال هذه الدراسة وسؤال الأخصائيين عن نوع العلاج المعطى للمرضى تبين أن أغلب أنواع الأدوية كانت على شكل أربعة حقن من فيتامين (D₃) بمعدل حقنة كل شهر (In IM (Vit D Inj 200.000 أو أربعة حقن كل أسبوعين على شكل شراب (Biodal Tab 50.000 in Oral) أو يكون العلاج حبة من Vit D في الأسبوع لمدة 6 أشهر أو حبة في الشهر لمدة من 6 أشهر إلى سنة (Bone brone Tab)، تؤخذ هذه الحبة في وضع الجلوس مع قدر كافي من الماء لمدة نصف ساعة. حبة كالسيوم كمكمل غذائي Ca²⁺ Supplement وأحياناً قد يلجأ الأطباء إلى العلاج الطبيعي مع بعض المرضى. وهذا يتفق مع ما ورد في أبحاث (Sadat et al., 2009b).

الخلاصة:

خلصت نتائج هذه الدراسة إلى أن النساء كن أكثر عرضة للإصابة بمرض هشاشة العظام وخاصة اللاتي تراوحت أعمارهن من 70-80 سنة، وهذا ربما يكون راجع إلى نقص هرمون الأستروجين والذي يحدث نتيجة التقدم في العمر والوصول إلى سن اليأس، كما أوضحت هذه الدراسة أن الرجال في المرحلة العمرية بين 40-50 سنة هم الأكثر عرضة للإصابة بهذا المرض أكثر من غيرهم من نفس الجنس والذي خلص بأنه عائد إلى نقص هرمون التستوستيرون لديهم أو كنتيجة للنظام الغذائي المتبع لدى البعض منهم في هذه المرحلة العمرية، كما أوضحت نتائج هذه الدراسة أن أكثر المرضى يعانون من آلام في الظهر وانتفاخ في المفاصل، وهذا يمكننا مستقبلاً من التعرف على المرض وتداركه في مراحله المبكرة من خلال التشخيص السريري للمرضى. كذلك لوحظ من خلال هذه الدراسة أن أغلب المرضى لا يتناولون العلاجات التي تحد أو تقلل من هذا المرض، ومع تقارب هذه النسبة مع اللذين يتناولون العلاج نرجح أن هذا قد يكون عائد إلى عدم الوعي الصحي لدى العديد من المرضى وأدراكهم خطورة هذا المرض وعواقبه الوخيمة في حال عدم تناول العلاج.

المراجع:

- الراوي، خاشع. (1989). المدخل إلى الإحصاء. مطابع جامعة الموصل.
- فكري، حسن. (2005). "هشاشة العظام" مكتبة سينا، القاهرة.
- عبد العظيم، غادة وعبد الناصر، إيمان. (2014). "هشاشة العظام-تهدد الصحة بصمت"، مجلة أسبوط للدراسات البيئية - العدد الأربعون. ص 73-88.
- أبو دنيا، فوزي. (2001). "أمراض التغذية وسوء التغذية في الحيوان". الإدارة العامة للثقافة الزراعية، وزارة الزراعة، مصر، نشرة رقم (1).
- عبد الرزاق، مدحت. (2009). "التنبؤ بهشاشة العظام لدى السيدات بدلالة العمر والوزن وممارسة الرياضة"، المؤتمر العلمي الدولي الثلاثين. جامعة اليرموك، الأردن.
- شهيب، مصطفى. (2006). "أمراض وكسور العظام والعمود الفقري. التشخيص وطرق العلاج المختلفة"، الإسكندرية، المركز العلمي لتبسيط العلوم.
- Alissa, E. M., Qadi S. G., and Alhujaili, N. A. (2011) Effect of diet and lifestyle factors on bone health in postmenopausal women JOURNAL OF BONE AND MINERAL METABOLISM Volume: 29 Issue:6 Pages: 725-735.
- Ali, N. K., and MBBS, F. (2004): Sehha.com. Osteoporosis.
- American Family Physician, (2003) Osteoporosis in Men. April 1Vol. 67/no7
- Amin, S. and Felson, D. T. (2001). Osteoporosis in men. Rheum Dis Clin North Am; 27:19-47.
- Betty, Y., Faisal, A., Hadi, R., Ali, K., and Nur, E. (2016). FOOD SOURCES OF VITAMIN D AND ITS DEFICIENCY IN WORKER WOMEN. 4th Asian Academic Society International Conference (AASIC).
- Catling, L. A., and Jones, A. (2003). THE RELATIONSHIP BETWEEN SUNLIGHT EXPOSURE, VITAMIN D SYNTHESIS AND BLOOD PRESSURE AMONGST A COHORT OF BRITISH ADULTS Epidemiology: Volume 14 - Issue 5 - p S29-S30.

- Cummings, S. R., and Melton, L. J.** (2002). Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 359, 1761–1767.
- Dewhurst.** (1999) – text book of obstetrics and gyneacology 6 th edition 1999 – p.444 Edited by Dr.keith Edmonds.
- Gotfredsen, A., Nilas, L., Pødenphant, J., Hadberg, A., & Christiansen, C.** (2009). Regional Bone Mineral in Healthy and Osteoporotic Women: A Cross-Sectional Study. Pages 739-749 [Received 30 Dec 1988, Accepted 26 Apr 1989, Published online.
- Johnell, O., and Kanis, J. A.** (2006). An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 17, 1726–33
- Juliet, C.** (2013), "Osteoporosis." first edition. Family Physician's Handbook. Translated by Zainab Menem.
- Ka Yeong, Y., Si Eun, H., Seung, C. K., Jong, K. J., and Kyu, S. L.** (2017). Pregnancy-related osteoporosis and spinal fractures. *Obstet Gynecol Sci* 2017; 60(1):133-137. pISSN 2287-8572 · eISSN 2287-8580.
- Kates, S. L., Kates, O. S., and Mendelson, D. A.** (2007). Advances in the medical management of osteoporosis. *Injury* 38, S17–23.
- Micheal, D. S., & Geoffrey, C.** (2002) Basic science of obstetrics and gyneacology . 3 rd edition 2002 – p.262.
- O'Neill, T. W., Felsenberg, D., Varlow, J., Cooper, C., Kanis, J. A., & Silman, A. J.** (1996). "The prevalence of vertebral deformity in european men and women: the European vertebral Osteoporosis study". *J Bone Miner Res* 11.
- Orwoll, E. S.** (1998)Osteoporosis in men.*Endocrinol Metab Clin North Am*;27: 349-67
- Raafat, B. M., Hassan N. S., Aziz, S. W.** (2012). Bone mineral density (BMD) and osteoporosis risk factor in Egyptian male and female battery manufacturing workers. *TOXICOLOGY AND INDUSTRIAL HEALTH* Volume: 28 Issue: 3 Pages: 245-252.
- Reginster, J. Y.** (2006)."Osteoporosis: A still increasing prevalence". *Bone* 38: S4-S912.
- Rockville, M. D.** (2004). Bone Health and Osteoporosis A Report of the Surgeon General Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon General.
- Sadat, A. M., AlElq, A., Al-Turki, H., Al-Mulhim, F., & Al-Ali, A.** (2009 a). Vitamin D levels in healthy men in eastern Saudi Arabia. *Ann Saudi Med. Sep-Oct; 29(5): 378-82.*
- Sadat, A. M., Al-Dakheel, D., Al-Turki, H. A., & Al-Elq, A.** (2009 b). Can drug therapy alone increase bone mineral density and reduce the incidence of osteoporosis related fractures. *Ind Pract; 62(8): 507-10.*
- Sadat, A. M., Gullenpet, A. H., Al-Mulhim, F., Al Turki, H., Al-Shammary, H., Al-Elq, A., & Al-Othman, A.** (2009c). Osteoporosis-related vertebral fractures in postmenopausal women: prevalence in a Saudi Arabian sample. *East Mediterr Health J. Nov-Dec; 15(6): 1420-5.*
- Sadat, A. M., Al-Elq, A., Al-Turki, H., Sultan, O., Al-Ali, A., & Al-Mulhim, F.** (2011 a). Vitamin D level among patients with sickle cell anemia and its influence on bone mass. *Amer J Hematol. June; 86(6): 5060507.*
- Sadat, A. M., Al Elq, A. H., Al-Turki, H. A., Al-Mulhim, F. A., & Al-Ali, A. K.** (2011b). Influence of vitamin D levels on bone mineral density and osteoporosis. *Ann Saudi Med. Nov-Dec; 31(6): 602-8.*
- Seeman, E.** (1998): Osteoporosis in men. *Rheum Dis Clin North Am; 27:19-47.*
- Weitzmann, M. N., and Pacifici, R.** (2006). Estrogen deficiency and bone loss: An

inflammatory tale. J Clin Invest 116, 1186-94.

Ytrehus, B., Skagemo, H., Stuve, G., Sivertsen, T., Handeland, K., & Vikorent, T. (1999): Osteoporosis, Bone Mineralization, and Status of calves in Norway. Journal of wildlife diseases, 35(2), pp. 204-211A.

A statistical study on some cases of osteoporosis among some patients in the city of Al-Khoums

Abstract:

Osteoporosis is prevalent among individuals of both sexes and in all age groups at increasing rates, as the symptoms of this disease may disappear and appear only at a later age. In view of the importance of studying diseases of the skeletal system, especially osteoporosis, which has a significant and direct impact on all functions of the body's organs, as well as the increasing number of patients suffering from this disease. The purpose of this study was to detect this disease by collecting data by means of a questionnaire to find out the extent. The incidence of osteoporosis in both sexes and in different age groups. Through Al-Khoums Central Hospital and some consulting clinics in the city of Al-Khoums. The study was from January 1, 2019 to December 31, 2020, and the study included (100) cases believed to have osteoporosis of both sexes. The samples were choosing randomly, and their ages ranged between (17-85) years. The obtained results showed that the number of people infected with this disease is (70) cases, of which (27) cases are males and (43) cases are females.

Keywords: *Osteoporosis, spongy bone, dense bone (compact bone).*

Prevalence of Urinary Tract Infections among Diabetic and Non-Diabetic Patients at Msalata and Tarhuna Cities

Ibrahim Mouftah Altorshani ¹, Omeran Ramdhan Belhaj ², Ali A. Aghwider³,
Alnouri Abdulsalam Ashaafi ⁴, Musbah Almbuot ⁵

^{1,3,5} Medical Laboratory Department, Faculty of Medical technology, Azzaytuna University,
Tarhuna, Libya.

^{2,4} Medical Laboratory Department, Faculty of Medical technology Msalata, EL-Mergib University-
AL Khums- Libya.

Iziad2009@gmail.com

مدى انتشار عدوى المسالك البولية بين مرضى السكري والمرضى غير المصابين بداء السكري
في مدينتي ترهونه ومسلاته

المستخلص:

الخلفية: تجدر الإشارة إلى أن مرضى السكري هم أكثر الأشخاص عرضة لمضاعفات عدوى المسالك البولية غير العرضية، حيث تعتبر الإصابة البكتيرية هي الأكثر شيوعاً بين المرضى المصابين بداء السكري.

المواد والطرق المستخدمة: شملت الدراسة (120) مريضاً، حيث كان (60) منهم مصاباً بداء السكري، وغير المصابين بمرض السكري (60) مريضاً، والذين تم دخولهم إلى مستشفى ترهونه ومسلاته في الفترة من شهر يناير إلى شهر مارس لسنة 2019 م. حيث تم جمع عينات البول من المرضى المشاركين بالدراسة من منتصف جريان البول وأجريت لهم كافة الفحوصات المخبرية المجهرية والميكروبيولوجية (مزرعة بكتيرية)، باعتبار أن عدد البكتيريا الأكثر من 10^5 CFU/1ml (وحدة مستعمرة بكتيرية) مؤشراً للإصابة بالتهاب المسالك البولية.

النتائج: بعد اتمام إجراءات الفحوصات المعملية، أظهرت النتائج أن عدد المصابين بعدوى المسالك البولية للمرضى المصابين بالداء السكري (49) وبنسبة (81.6%) وعدد المصابين بعدوى المسالك البولية للمرضى غير المصابين بالسكري (36) وبنسبة (58.3%). وعلى الجانب الآخر كانت نسبة الإصابة بالبكتيريا العنقودية القولونية (*Escherichia coli*) لمرضى السكري هي (61.5%) في الإناث وبنسبة (38.33%) في الذكور، بينما كانت نسبة حدوث الإصابة بالبكتيريا العنقودية القولونية (*Escherichia coli*) للمرضى غير المصابين بداء السكري هي (52.4%) في الإناث وبنسبة (47.6%) في الذكور.

الاستنتاج: استنتجت الدراسة أن البكتيريا العنقودية القولونية (*Escherichia coli*) هي المسبب الرئيسي للإلتهابات المسالك البولية عند الأشخاص المصابين بمرض السكري، وغير المصابين بداء السكري.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا العنقودية القولونية (*Escherichia coli*)، عدوى المسالك البولية، البكتيريا في البول.

Abstract:

Background: There are indications that patients with diabetes have many of complications to asymptomatic bacteriuria and urinary tract infections (UTIs). UTI is the majority of common bacterial infections in diabetic subjects. The purpose of this study was to evaluate the occurrence of UTI in companies with diabetic and non-diabetic individuals in Tarhuna and Emsallatah cities and to recognize the most repeated bacteria responsible for it.

Materials and Methods: The study had integrated 120 patients (60) diabetics and (60) non-diabetic patients, who they admitted to Tarhuna and Emsallatah Hospitals from January to May 2019. All patients had investigated for UTI during mid-stream urine samples. Their macroscopic, microscopic and urine culture characteristics were investigated, and a colony count of $\geq 10^5$ CFU/ml; it considered for the diagnosing as urinary tract infections.

Results: After the investigations have done; the results demonstrated that (49) diabetic subjects and (36) non-diabetic patients are infected. The ratio of infection is (81.6%) and (58.3%) respectively. On another side, the percentage of *Escherichia coli* in diabetic patients are (61.5%) females and (38.33%) males, while the incidence in non-diabetic patients were (52.4%) females and (47.6%) males.

Conclusion: We have concluded that *Escherichia coli* is the major cause of urinary tract infections in both diabetic and non-diabetic individuals.

Keywords: *E. coli*, UTIs, bacteriuria.

Introduction:

The predominance of diabetes mellitus has amplified over the previous decades, and it is now approaching epidemic magnitude (Zimmet *et al.*, 2001). In general, 371 million individuals have diabetes (International Diabetes Federation, 2012). It is predictable that by 2030; this sum will reach 552 million (International Diabetes Federation, 2011). Changes in way of life, the elderly of the populations and, the growing prevalence of fatness are responsible for these dramatic conditions (Zimmet *et al.*, 2001). The number of cured diabetic patients in Romania is nearly 80,000. In Times Region, more than 22,000 people with type I and type II diabetes are registered. Diabetes is one of the highest ten causes of death around the world (WHO, 2011) and this statement is due particularly to its complications. In the United States of America; Diabetic kidney ailment occurs in 45% of patients with diabetes patients (USRDS, 2004) and it is the most important cause of end- phase renal disease (American Diabetes Association, 2012). With the rising number of diabetic patients, the incidence of diabetic kidney disease will also enhance (de Boer *et al.*, 2011). Hyperglycemia and hypertension are the major risk factors for instigation of chronic kidney disease (National Kidney Foundation, 2002) but other factors, such as repeated episodes of acute kidney injury (infections, drugs, or nephrotoxins) can also contribute to its deterioration. (Chin-Hong, 2006) stated that in diabetic patients, it is commonly established that infections are recurrent causes of morbidity and mortality. Immunologic defects contribute to the amplified risk for infection: impaired neutrophil function, low levels of prostaglandin E, thromboxane B2, decreased T cell-mediated immune reactions. (Chin-Hong, 2006; Boyko *et al.*, 2005).

Other circumstances such as imperfect bladder emptying due to autonomic neuropathy and high glucose attentiveness in the urine allow urinary colonization by microbes (Boyko *et al*, 2005; Boyko and Lipsky, 1995). Asymptomatic bacteriuria and urinary tract infections are an increased risk factors among diabetic patients (UTIs) (Muller *et al*, 2005; Boyko *et al*, 2005). also (Ribera *et al*, 2006) mentioned that UTIs being the most ordinary bacterial infections in diabetic patients. Furthermore, it is important to distinguish and to treat UTIs in diabetic patients because of their probably forbidding complications, including Bacteremia, renal eruption, renal papillary necrosis (Boyko *et al*, 2005; Boyko and Lipsky, 1995; Geerlings *et al*, 2000). This study aimed to evaluate the prevalence of UTI among diabetic and non-diabetic patients in Tarhona and Emsallatah cities and to determine the most common microorganisms that cause it according to age and gender.

Materials and Methods:

Study Area: A total of 120 urine samples were collected from men and women of different ages attending Tarhona and Emsallatah hospitals, From 01 January to 25 May 2019.

Study Population: The studied populations were men and women aged between 10 to 80 years. Urine samples were collected from 120 patients; 60 of these samples were from individuals with diabetes millets and 60 from non-diabetic patients.

Sample Collection: Urine samples were collected at morning from men and women patients and the sample should be collected by obtaining the mid-stream urine flow in a sterile container and transported to the laboratory within one hour of collection.

Materials Required for The Study: Sterile specimen container, Calibrated wire loop, urine test strip, Incubator, Light microscope, culture media: Blood agar, MacConkey and CLED agar.

Physical examination: The physical characteristics of the urine samples: color and appearance are recorded immediately after collecting the sample.

Chemical examination: Urine chemistry is a group of one or more tests done to check the chemical content such as nitrite, glucose, proteins, ketones, and leukocytes. All of them were done by dipping a test strip into each urine sample and comparing the observed color changes in the strip to a reference color chart provided on the package of the test strip.

Microscopic Examination: After the urine samples were collected into test tubes; they were centrifuged at 3000 rpm for 5 min. The clear portion of the urine has been discarded and the deposits remixed by tapping the bottom of the tube. A drop of deposit has been transferred to cleaned and dry slide and covered by a coverslip. The deposits were examined under a microscope using both low and high power objective lenses (10x and, 40x) with the condenser iris closed sufficiently to give well contrast for identifications of pus cells, bacteria, casts, yeast-like cells, crystals and other unusual components.

Urine culture: A loop full of each urine sample streaked on MacConkey, blood and CLED agars for isolation of the bacteria present in the urine, then set the plate incubated at 37°C for 24hrs. Finally, the types of bacterial colonies have been identified and their accounts.

Statistical Analysis: The data entered into the computer after coding; to perform the statistical analysis is required for data analysis using statistical packages for social sciences (SPSS) used to answer the questions of the study at a significant level (P-value less than 0.05)

Results:

Distribution of Studied Samples among Diabetic and Non-Diabetic Patients at Emsallatah and Tarhona Hospitals:

The results showed that P-value was equal to 0.008, which was less than 0.05, that there was a statistically significant relationship between diabetes and the presence of UTIs (Table 01).

Table 01: Distribution of Studied Samples among Diabetic and Non-Diabetic Subjects:

			existence of UTIs		Total	P-Value
			UTIs	no UTIs		
Cases	Diabetic	Number	49	11	60	0.008
		Percentage	81.7%	18.3%	100.0%	
	Non diabetic	Number	36	24	60	
		Percentage	60.0%	40.0%	100.0%	
Total		Number	85	35	120	
		Percentage	70.8%	29.2%	100.0%	

Distribution of Studied Samples According to Ages:

Concerning bacterial growth: the results have shown that P-value for urinary tract infections was equal to 0.04, which indicates there was a statistically significant relation between the UTIs and the ages (Table 02).

Table 02: Distribution of Studied Samples According to Ages:

				cases		Total	P-Value
				Non Diabetic	Diabetic		
UTIs	Ages	less than or equal 20	Number	1	0	1	0.04
			Percentage	100.0%	0.0%	100.0%	
		30 to 39	Number	16	11	27	
			Percentage	59.3%	40.7%	100.0%	
		40 and more than	Number	19	38	57	
			Percentage	33.3%	66.7%	100.0%	
		Total	Number	36	49	85	
			Percentage	42.4%	57.6%	100.0%	
No, UTIs	Ages	less than or equal 20	Number	4	0	4	0.02
			Percentage	100.0%	0.0%	100.0%	
		30 to 39	Number	17	5	22	
			Percentage	77.3%	22.7%	100.0%	
		40 and more than	Number	3	6	9	
			Percentage	33.3%	66.7%	100.0%	
		Total	Number	24	11	35	
			Percentage	68.6%	31.4%	100.0%	
Total	Ages	less than or equal 20	Number	5	0	5	
			Percentage	100.0%	0.0%	100.0%	
		30 to 39	Number	33	16	49	
			Percentage	67.3%	32.7%	100.0%	
		40 and more than	Number	22	44	66	
			Percentage	33.3%	66.7%	100.0%	
		Total	Number	60	60	120	
			Percentage	50.0%	50.0%	100.0%	

Prevalence of Urinary Tract Infections among Diabetic and Non-

Diabetic Patients at Msalata and Tarhuna Cities.....(77-86)

Distribution of Studied Samples According to Gender:

According to bacterial growth, the results showed that P-value for UTIs was equal to 0.311, which was more than 0.05, that there wasn't a statistically significant relationship between the diabetic and the gender (Table 03).

Table 03: Distribution of Studied Samples According to Gender:

				Cases		Total	P-Value
				Non Diabetic	Diabetic		
UTIs	Gender	males	Number	16	18	34	0.311
			Percentage	47.1%	52.9%	100.0%	
		females	Number	20	31	51	
			Percentage	39.2%	60.8%	100.0%	
	Total		Number	36	49	85	
			Percentage	42.4%	57.6%	100.0%	
No, UTIs	Gender	males	Number	6	5	11	0.205
			Percentage	54.5%	45.5%	100.0%	
		females	Number	18	6	24	
			Percentage	75.0%	25.0%	100.0%	
	Total		Number	24	11	35	
			Percentage	68.6%	31.4%	100.0%	
Total	Gender	Males	Number	22	23	45	
			Percentage	48.9%	51.1%	100.0%	
		females	Number	38	37	75	
			Percentage	50.7%	49.3%	100.0%	
	Total		Number	60	60	120	
			Percentage	50.0%	50.0%	100.0%	

Bacteria Caused UTI in Diabetic Patients According to Gender and Age:

For type of bacteria in Diabetic patients, the results showed that P-value for age was equal to 0.294, which was more than 0.05, that there wasn't a statistically significant relation between the type of bacteria and the age, also the results revealed that P-value for gender was equal to 0.423, which was more than 0.05, that there wasn't a statistically significant relation between the type of bacteria and the gender (table 04).

Table 04: Bacteria Caused UTI in Diabetic Individuals According to Gender and Age:

Type of Bacteria	Age			P-Value	Gender		P-Value
		20 - 39	40 and more		Male	female	
<i>E.coli</i>	Number	7	19	0.294	10	16	0.423
	Percentage	26.9%	73.1%		38.5%	61.5%	
<i>S.aureus</i>	Number	0	6		1	5	
	Percentage	0.0%	100.0%		16.7%	83.3%	
<i>Streptococcus spp</i>	Number	2	2		1	3	
	Percentage	50.0%	50.0%		25.0%	75.0%	
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Number	2	7		3	6	
	Percentage	22.2%	77.8%		33.3%	66.7%	
<i>Proteus mirabilis</i>	Number	0	4		3	1	
	Percentage	0.0%	100%		75.0%	25.0%	
Total	Number	11	38		18	31	
	Percentage	22.4%	77.6%		36.7%	63.3%	

Bacteria Caused UTI in Non-Diabetic Subjects According to Gender and Age:

The type of bacteria in diabetic patients, the results illustrated that P-value for age was equal to 0.919, which was more than 0.05, that there wasn't a statistically significant relationship between the type of bacteria and the ages; also the results showed that P-value for gender was equal to 0.561, which was more than 0.05, that there wasn't a statistically significant relationship between the type of bacteria and the gender (table 5).

Table 5: Bacteria Caused UTI in Non-Diabetic According to Gender and Age:

Type of bacteria		Age				Gender		
		Less than 20	20 to 39	40 and more than	P-Value	male	female	P-Value
<i>E.coli</i>	Number	1	9	11	0.919	10	11	0.561
	Percentage	4.8%	42.9%	52.4%		47.6%	52.4%	
<i>S.aureus</i>	Number	0	4	3		3	4	
	Percentage	0.0%	57.1%	42.9%		42.9%	57.1%	
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Number	0	3	4		2	5	
	Percentage	0.0%	42.9%	57.1%		28.6%	71.4%	
<i>Proteus mirabilis</i>	Number	0	0	1		1	0	
	Percentage	0.0%	0.0%	100.0%		100.0%	0.0%	
Total	Number	1	16	19		16	20	
	Percentage	2.8%	44.4%	52.8%		44.4%	55.6%	

Discussion:

This study showed that an increase in UTI with aging, it has observed that UTI is predominant among individuals at age ≥ 40 years in both diabetic and non-diabetic. This observation is agreed with (Al-Ammar, 1999; Rostler, 2003) where they evidenced in their studies that about (95%) of increased percentage of UTI among individuals above 40 years is due to hormonal change in the case of females, which affects the immune response after menopause.

(Patrick *et al.*, 2000) have proved that most of males suffer from prostate inflammations in elderly males (more than 50 years' old) which enhances UTI; this consistent with our findings in this study. Possibly this is due to the natural killer cells NK & the phagocytic activities remarkably decrease with aging resulting in recurrent infections frequently in older people. (Goldspy *et al.*, 2000). Similar results have been reported by (Herman *et al.*, 1995; Dived, 2002).

This study also showed the frequency of UTI in diabetic & non-diabetic patients according to gender. The high incidence of UTI among diabetic females (60.8%) rather than in diabetic males (52.9%) is quite compatible with another study (El-Ali *et al.*, 2002). The explanations of these results may have related to the nature of diabetes mellitus for mainly a metabolic disorder under non-controlled to some extent, the autoimmune disease recently has been reported by (Evan, 2003). Whose majority of patients are females due to factors of hormones increasing the chance for autoimmune disease appears as a result of the activation (Roitt *et al.*, 1998; Goldspy *et al.*, 2000). In this study, we have found prominent UTI among females rather than males diabetic or non-diabetic patients. These results are in agreement with (El-Ali, *et al.*, 2002) who was reported that the percentage of this disease in Tunisian was higher in women (8.6 %) than that of men (7.1%).

(Evan, 2003) showed in his study that women with diabetes are about 2-3 times more likely to have UTI than non-diabetic women because of the combination of host and local risk factors, and to another extent, the autoimmune disease has been reported (Goldspy *et al.*, 2000). The prevalence of UTI in diabetes mellitus was higher when compared to controls (Goswami *et al.*, 2001). Since the increased sugar in urine enhances bacterial growth which in turn increases the chance for UTI development (Al-fatlawy, 2001). This study shows the description and frequency of each bacterial isolation. Among (60) samples were obtained from diabetic patients. five bacterial types have been diagnosed distributed among 49 isolates that have been recovered. It is observed that *Escherichia coli* (26 isolates) most of them (19 isolates) in the age of them more than 40 years, females (16 isolates), it was accepted by (Ali, 2000) that the immune response is reduced at the extremes of the life span (at infancy and elderly age), which explains the high incidence of diseases at these periods. These facts are compatible with this study's findings which reveal arising in UTIs by ages noncases (0.0%) at <20 years to 11 cases (22.4%) at 20-39 years increased to 38 (77.6%) above 40 years of age. Moreover, the incidence among females in 31 cases (63.3%) more than males 18 cases (36.7%) due to anatomical & physiological differences between gender, which encourage bacterial transmission from the rectal and genital area to the urinary tract (Lewis, 1989). The fact that most of the bacterial isolates are of the Enterobacteriaceae family which inhabit the GIT agreed with the current results revealed. While the other types of bacteria were (9 isolates) of Klebsiella, (4 isolates) of proteus, in addition to *Escherichia coli* as had been mentioned previously and (4 isolates) of streptococcus and (6 isolates) while *staphylococcus aureus* has been isolated, though it is considered as the skin normal flora which it may be easily transmitted to the urinary tract. These results concurred with another study (Al-Khazrachi, 2001) and abroad (Tan, 1990; Andersen, 1992; Guyer *et al.*, 1989). In this study, we found that the description and frequency of each bacterial isolates among (60) samples were obtained from non-diabetic patients to four bacterial types we diagnosed in distributed among (36 isolates) that have been recovered. It was observed that *Escherichia coli* is the most frequent (21 isolate); this agrees with (Farooqi *et al.*, 2000). Followed by *klebsiella* (7 isolates) and *Staphylococcus aureus* (7 isolates), finally *Proteus* (1 isolate); these results are in agreement with (Swiezko *et al.*, 2000).

Also, the result reveals that bacterial infection in non-diabetic women (55.6%) was more than in non-diabetic men (44.4%). UTI was observed higher in elderly in both genders, so it is (2.8%) for those < 20 increased to (44.4%) in 20-39 years and reached (52.8%) for patients $\geq$ 40 years. There was no marked difference in types of microorganism causing the UTIs in diabetic and non-diabetic women. *Escherichia coli* was the predominant pathogen in both groups, which agrees with (Asahara *et al.*, 2001; Pinero *et al.*, 2003; Sotto *et al.*, 2003) because *Escherichia coli* seems to have many antigens that play a role in adherence and pathogenicity (AL-Moaid, 2003).

adherence of *Escherichia coli* to an epithelial cell is dependent on the interaction between the Pilli and some sugar sequences in the form of glycolipids found in the urinary system. (Robertis *et al.*, 2000). The presence of *Staphylococcus aureus* in the urine is a result contamination from the skin (Al-Fatlawy, 2001). The rate of *Klebsiella* infection increases in patients with urinary tract infections because the

capsules of these bacteria are the main virulent factors. (Robertis *et al.*, 2000).

All of *Proteus* has a potent urease which is producing ammonia from urea.

Ammonia production has been observed of depressing the phagocytic activity of infiltrating leucocytes for this cause, thereby the destructions of complements actions (Al-Moaid, 2003).

Conclusion: The UTIs are most common in patients with diabetes than in non-diabetic patients, women have more frequent UTI than in men, Women with diabetes have more frequent and more severe UTI than those without diabetes, there was association between age in diabetic and non-diabetic patients and UTI, and finally.

There was no marked difference in the type of micro-organisms causing the UTI in diabetic and non-diabetic persons whereas *Escherichia coli* were the most common pathogen isolated in both group.

References:

Al-fatlawy, F.A. (2001). Urinary tract infections and their effects on Renal functions in diabetic and non – diabetic patients. M.Sc. Thesis of Science in Biology. College of Science, University of AL – Mustansiriyah.

Al-Khazrachi, M. R. (2001). Genetic studies of some gram negative Bacilli resistance isolated from urinary tract infection to some antimicrobial agents .M.Sc. thesis of science in Biology / Microbiology .College of Science , University of Al-Mustnasiriyah.

AL-Moaid, A. Q. (2003). Prevalence of resistance to some B – Lactam Antibiotics among some gram negative bacteria in Urinary tract patients with cancer. M.Sc. thesis of science in Biology.College of Science , University of Al-Mustnasiriyah.

Al-Ammar, N.G. (1999). An Epidemiological Profile of NIDDM in Baquba District .M.SC.thesis of Science in community medicine. College of medicine . Al-Mustansiriya university.

Ali, E. S. (2000). Immunostatus in diabetic patients .M.SC.thesis of science in microbiology. College of medicine , Al-Mustansiriya university.

American Diabetes Association (2012). Position statement. Standards of medical care in diabetes 2012. *Diabetes Care* 35: S11-S63.

Andersen, B. (1992). Mphyeamatons pyclonephritis. A serious complication of diabetes mellitus. Department of Health and Human Services, 11;154 (20):1419 – 21.

Asahara, T., Nomoto, K., Watanuki, M., and Yokokura, T. (2001). Antimicrobial activity of intraurethrally administered probiotic lactobacillus casei in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. ; antimicrob - agentschemother, 45(6):1751 – 60.

Boyko, E.J., Fihn, S.D., Scholes, D., Abraham, L., and Monsey, B. (2005). Risk of urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria among diabetic and nondiabetic postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 161: 557-564.

Boyko, E.J., and Lipsky, B.A. (1995). Infection and diabetes. In: *Diabetes in America, 2nd Edition*. Harris MI (ed). National Diabetes Data Group, Bethesda, pp 485-499.

Chin-Hong, P.V. (2006). Infections in patients with diabetes mellitus: importance of early recognition, treatment, and prevention. *Adv Stud Med* 6: 71-81.

De Boer, I.H., Rue, T.C., Hall, Y.N., Heagerty, P.J., Weiss, N.S., and Himmelfarb, J. (2011). Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA* 305: 2532-2539.

- Dived**, S. H. (2002). Urinary tract infection, femel,program director, section of emergency medicine, University of Chicago.
- El-Ali**, J., Haddad, S., Cherif, S., Farhat, A., and Danguir, J. (2002). Risk factor of diabetes in Tunisian , Adults, The National Nutrition Survery Data.
- Evan**, D. R. (2003). Diabetes and urinary tract infections : The case Against apre-emptive strike, Harvard Medical School.
- Farooqi**, B. J., Shareaq, F., Rizvi, Q.K., Qureshi, H.S., and Ashfaq, M. K. (2000). Changing pattern of antimicrobial susceptibility of organisms causing community acquired urinary tract infection . J – Pak –Med – Assoc. 50 (11) : 369 – 73.
- Geerlings**, S.E., Stolk, R.P., Campi, M.J.L., Netten, P.M., Collet, T.J., and Hoepelman, A.I.M. (2000). Risk factors for symptomatic urinary tract infection in women with diabetes.Diabetes care. 23:1737 – 1741,(Abstract).
- Goldspy**, R.A., Kindt, T.G., and Osborne, B.A. (2000). Immunology.4thed.,W.H Freeman and company. NewYork.USA.
- Goswami**, R., Bal, C.S., Tejaswi, S., Punqabi, G.V., Kapil, A., and Kochupillqi, N. (2001). Prevalence of uninary tract infection and renal scars in patients with diabetes mellitus; Diabetes- Res- Clin – Pract. 53 (3): 181-6.
- Guyer**, D.M., Kao, J.S., and Mobley, H.L. (1989). Genomic analysis of a pathogenicity island in urophogenic *Escherichia coli* CFTO 73 : distribution of homologous sequences among isolates from patients with pyelonephritis ,Cystitis,and Catheter associated bacteriuria and from Fecal samples, 66 (9) : 4411 – 7.
- Herman**, W. H. (1995). Diabetes mellitys in Egypt : risk factors and prevalence. Diabetic medicine, 12: 1126 – 31.
- International** Diabetes Federation (IDF) (2012). Diabetes Atlas, 5th edition Update, 2012, <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2012>.
- International** Diabetes Federation (IDF) (2011). Diabetes Atlas, 5th edition, 2011, <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/the-global-burden>.
- Lewis**, D.A. (1989). Bacteriology of urine in : Medical microbiology a partial approach, P – 1- 20. Hawkey, P. M. ; Lewis , DA.(eds.).
- Muller**, L.M., Gorter, K.J., and Hak, E. (2005). Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Infect Dis* 41: 281-288.
- National** Kidney Foundation (KDOQI) (2002). Clinical practice guidelines for chronic kidneydisease: evaluation, classification and stratification, 2002. http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_ckd/p4_class_g3.htm.
- Patrick**, X., Rajendran, T., and Salah, E.E. (2000). Acute renal failure. Oman medical Journal, Vol.16,No. 3.
- Pinero-Acin**, M.J., Martinez-Matias, M.R., Cordoba-Gutierrez, M.J., Senchez- Rojas, T., Lopez-juarez, D., and Rodrigueez-Alcala, F.J. (2003). Modifican nuestra actitud terapeutica los urocultivos . Aten-pvmaria,2003,31;26(7):459-63.
- Ribera**, M.C., Pascual, R., Orozco, D., Pérez- Barba, C., Pedrera, V., and Gil, V. (2006). Incidence and risk factors associated with urinary tract infection in diabetic patients with and without asymptomatic bacteriuria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 25: 389-393.

Robertis, K., Murray, P. A., Mayes, D. K., and Victor, W. (2000). Rodwell, Plasma protein, immunoglobulin's and clotting factors, Harpers biochemistry text book of biochemistry; 24th edition, losaltos, California, Appelton and Langer,P: 707-733.

Roitt, I., Brostoff, J., and Male, D. (1998). Immunology . 5th ed published by Mosby . London , UK.

Rostler, S. (2003). Diabetes may up urinary infections in older women, 2003, (Internet).

Sotto, A., dE-Boever, C.M., Fabbro-Peray, P., Gouby,A., Sirot, D., and Jourdan, J. (2003). Risk factor for antibiotic-resistance *Escherichia coli* isolated from hospitalized patient with urinary tract infections: aprospective study.J.Clinmicrobiol. 39(2): 438-44.

Swiezko, A.S., Kirikae, T., and Kirikae, E. (2000). Biology activites of lipopolysaccharide of proteus and their in teractions with polymyxin B and an 18- kda cationic antimicrobial protein (cap 18) derived peptide .J. med. Micro. 49:127-138.

Tan, J.S., and File, J.R. (1990). Urinary tract infections in Obstetrics and gynecology. Journal of reproductive medicine,35: 339 – 42.

US Renal Data System (USRDS) (2004). Annual Data Report. The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, 2004.

WHO. (1993). Diabetes prevention and control, acal for action.

Zimmet, P., Alberti, K.G., and Shaw, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414: 782-787.

In vitro propagation Technique of medicinal plants, A review

Laila S. Younes

Agricultural Research Center, Tripoli, Libya

laila_younes69@yahoo.com

تقنية التكاثر الدقيق للنباتات الطبية في المختبر، دراسة مرجعية

ليلي ساسي يونس

مركز البحوث الزراعية طرابلس - ليبيا

المستخلص:

تحتوي النباتات الطبية على مواد ثانوية فعالة مثل مضادات الأكسدة ومضادات السرطان ومضادات الالتهابات ومضادات الجراثيم والميكروبات. الطلب المتزايد على المنتجات الطبية بالإضافة إلى الزيادة السكانية والتجارة غير المشروعة هي مؤشرات إلى استنزاف العديد من النباتات الطبية، والكثير منها مهدد بالانقراض في مواقعها الطبيعية. التكاثر في المختبر هو أداة التكنولوجيا الحيوية التي تحل هذه المشكلة. أظهرت ممارسات زراعة الأنسجة أن ثلاثة عوامل هي اختيار النبات والوسط الغذائي والتحكم في البيئة المادية، مهمة في نجاح الزراعة. مجموعة من التقنيات لنمو وتكاثر الخلايا والأنسجة والأعضاء النباتية باستخدام المغذيات العضوية في بيئة معقمة وخاضعة للرقابة. لكل نوع نبات ظروفه المختلفة في الزراعة المخبرية والحفاظ عليها في المزرعة أو تجديد النباتات السليمة من الخلايا المستنبطة. تستعرض هذه الدراسة تقنية التكاثر الدقيق في المختبر عن طريق إنتاج كميات هائلة بواسطة التفرع، التجدير والتأقلم.

الكلمات المفتاحية: زراعة الأنسجة، الإكثار الدقيق، الموائل الطبيعية، التكاثر والتأقلم.

Abstract:

Medicinal plants contain active secondary substances such as antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, antibacterial and anti-microbial. The increasing demand for medicinal products in addition to the increase in populace and unlawful trade are indications to the reduction of several medicinal plants, many of which are threatened with extinction in their natural sites.

In vitro propagation is a biotechnological tool that solution to this problem. Tissue culture practices have shown that three factors namely explant choice, medium composition and control of the physical environment, are important in successful cultures. A set of techniques for the growth and reproduction of plant cells, tissues and organs using organic nutrients in a controlled and sterile environment. Each plant type has its own different conditions for initiating and maintaining plant cells in culture or regenerating healthy plants from cultured cells. This Study reviews in vitro micropropagation techniques by an achieving mass production by in vitro multiplication, rooting and acclimatization.

Keywords: Tissue culture, in vitro, micropropagation, natural habitat, multiplication and acclimatization.

Introduction:

Medicinal plants are plants that are generally and safely used for persons in the treatment of some diseases. In the past two decades, importance in medicinal plants has increased because of their health benefits in terms of safety and cost compared to synthetic drugs. (Thomford *et al.*, 2018; Anand *et al.*, 2019).

In all world civilizations, medicinal plants have played a large role in health care. Although the total number of flora in the world is not yet certain. However, the proportion of medicinal plants in the world does not exceed 10 % (Schippmann *et al.*, 2006). The estimate of the World Health Organization (Bannerman, 1982). Most of the rural population in the world, about 80%, chances its needs for main health carefulness from alternative medicine (Yuan *et al.*, 2016). Most of the world's population depends on medicinal plants because of their medicinal substances (Tripathi and Tripathi, 2003). Furthermore, More than 50% of the medicinal plants in the world are included in the red list and this is scary (Paunescu, 2009). Medicinal plants are used in many industries such as (drugs, make-ups, and flavoring) and others because they contain high-value materials, and therefore the demand for them is increasing. (Suneetha and Chandrakandh, 2006).

The World Health Organization (WHO) recorded that a large number of the world's population, especially the countryside, depend on medicinal herbs for their primary treatment (Vines, 2004).

Plants are the main source in the pharmaceutical industry, whether direct way or conversely. (Rout *et al.*, 2000). Because Manufacturing these chemical compounds is difficult, not easy, and economically unpracticable (Oksman-caldentey and Inze, 2004). Moreover, a large number of medicinal plants that contain secondary compounds that are valuable are threatened extinction with increased demand (Edwards, 2004). In addition, consumption of herbal medicines is widely spread and increasing.

Therefore, the reason for the decline in plant genetic resources and the loss of natural habitats for medicinal plants is random collecting in large quantities. High-demand plants face great challenges, and still today the world suffers from this problem (Kumari and Priya, 2020). Conversion of land into industrial area, over-collecting, urbanization, pollution, habitat destruction and degradation, and climate change are the leading causing a decline of total plant genetic resources (PGR) (McCune *et al.*, 2013). Because there is no regulations to preserve these valuable plants from extinction, are needed to increasing the mass production of medicinal plant by in vitro propagation techniques. *In vitro* culture techniques are now necessary for the production of disease-free plants, rapid multiplication of rare plant genotypes, plant genome transformation, obtaining transgenic plants, breaking dormancy and production of plant-derived metabolites of important commercial value (Sedaghati *et al.*, 2019; Debnarh *et al.*, 2006; Altpeter *et al.*, 2016). In addition, the cultivation of medicinal plants is the most effective way of addressing the gap between supply and demand (Wang, *et al.*, 2020). Plant tissue culture technique have great industrial importance in plant propagation, conservation of plant resources as well as the creation of secondary metabolites. This techniques deals new and sustainable opportunities in solving numerous problems in the field of medicinal plant breeding and conservation biology (Chandana, *et al.*, 2018; Chandana, *et al.*, 2020). Also by tissue culture techniques, it will be easier to produce high number of plant independently off season, weather, or climatic conditions, and without the effect of disease and pests or soil

problems. Moreover, it reduces land labor (Pierik, 1997). Plant tissue culture has been utilized for the last decade. Many protocols have been developed for many crops, shrubs, cut flowers and forest trees (George *et al.*, 2008; Pierik, 1997). *in vitro* cultivation of all plant parts, like cell, tissue, and organ for multiplication by using nutrient solutions in an aseptic and controlled environment (Ahmad *et al.*, 2013; Shatnawi *et al.*, 2011 ; Staden *et al.*, 2008 ;Victor, *et al.*, 2006). Some examples of culture types in plant tissue culture are meristematic cells, somatic cells, pollen grains, vegetative cells or undifferentiated cells (callus) (George, 1993). Simple screening of plantlets by tissue culture provides unique opportunity for studying many features of plant development and improvement under optimal conditions. (George *et al.*, 2008; Honda *et al.*, 2001; Shatnawi *et al.*, 2006). Therefore, tissue culture techniques became widely used for many plant species (Pierik, 1997; Shatnawi *et al.*, 2004). One of the goals of plant tissue culture technique is the speed of reproduction in a short time. Addition to producing plants identical to the mother plant (true to type). (George *et al.*, 2008; Hofman *et al.*, 2002; Shatnawi *et al.*, 2007; Staden *et al.*, 2008). The greatest potentials for tissue culture are the selection of agronomical desirable characteristics, increasing yield, disease resistance, water stress and salt tolerance, as well as conservation of genetic resources (Hofman *et al.*, 2002; Pierik, 1997; Shatnawi *et al.*, 2006). Plant tissue culture techniques are considered the most effective methods for propagating high number of plant species (George *et al.*, 2008). Tissue culture enables mass propagation of uniform plants and overcomes the problems of propagation. Hundreds or even thousands of rooted plants will be successfully acclimatized from a few plant materials in a short time. Different levels of various plant growth regulators (PGRs) were used in the previous studies to induce proliferation and rooting *in vitro* for some medicinal plants (Al- Qudah *et al.*, 2011; Evenor and Reuveni, 2004; Mostafa *et al.*, 2010; Musallam *et al.*, 2011; Owies *et al.*, 2009).

1- Micropropagation:

Micropropagation *in vitro* is technology fast grow elite plants using new plant tissue culture approaches. Which it is famous for its requests in the agro, horticultural and forestry industries (Li *et al.*, 2010). Micropropagation is carried out from plant tissues grown in fields and nurseries using different tissue culture techniques on sterile nutrient media containing different growth regulators and controlled environment (Pierik, 1997). The organogenesis is usually direct the safer way for multiplication of clonal, true-to-type plants (Sandhu *et al.*, 2018). *In vitro* propagation of medicinal plants has been documented such as using shoot tips/ axillary buds via organogenesis (Rout *et al.*, 2000), production of adventitious shoot (Thomas and Yoichiro, 2009) and somatic embryogenesis (Omar *et al.*, 2004). Micropropagation is considered to be easier and rapid for herbaceous plants than woody species (Schwarz and Beaty ,1996). In conventional cultivation many plant seeds do not germinate, flower and produce seed under certain climatic conditions or have long periods of growth and multiplication. Micropropagation assures a sure source of medicinal plants, using lowest space and time (Prakash and Van Staden, 2007). Micropropagation practices have been evolve for many essential species of medicinal plants such as *Swertia chirayita*, *Cathranthus roseus*, *Panax*, *Stevia rebaudiana*, *Artemisia annua-aremisin*, *Elettaria cardamomum*, *Allium chinense*, *Camellia sinensis*, and so on. (Pradhan *et al.*, 2013).

The success of the *in vitro* propagation technique depends on some important characteristics such as genotype, medium, plant growth regulators and type of explants (Kim *et al.*, 2017). But still all possible types of explants and hormonal combinations have not been exploited to develop more various and efficient protocols. *In vitro* propagation is more rapid than *in vivo* for many horticultural crops (Schwarz and Beaty, 1996). In addition *in vitro* culture can give virus and disease-free plants (Pierik, 1997).

Little starting material is needed when *in vitro* techniques is used to give thousands or even millions of genetically identical plants from single or few mother stocks (Furmanowa and Olszowska, 1992; Tamura *et al.*, 1993). Currently, a large number of protocols are available for the micropropagation of medicinal plants (Debnarh *et al.* 2006; Rizvi and Kukreja 2010; Sarasan *et al.* 2011; Kaul *et al.* 2013; Kun-Hua *et al.* 2013; Bhattecheryya *et al.* 2014; Chen *et al.* 2014; Atanasov *et al.* 2015; Younes, *et al.*, 2015; Al-Qudah *et al.*, 2011), as well as some commercially important plants, such as *Agave salmiana* (Puente- Garza *et al.* 2017), artichoke (Pandino *et al.* 2017), *Stevia rebaudiana* (Ramírez-Mosqueda *et al.* 2016) and *Moringa oleifera* (drumstick tree) (Juan-jie *et al.* 2017). The technology of micropropagation is generally goes through various stages such as choice of mother plant, beginning of explants, subculture of explants for multiplying, shooting, rooting, and Acclimatization.

1.1 Plant Materials:

Micropropagation start with the selection of plant tissue (explants) from a young, healthy mother plant. From the point of view of true-to-type propagation, explant choice is very important. Meristems or shoot tips (dormant or actively growing buds) can be used as explants due to their genetic stability. Several explants sources were selected in the establishment phase of the medicinal plants, The survival of explants depends on their rate of microbial contamination and of explant browning, which pertain not only to the explants used for culture initiation but also to the physiological stage of mother plants and to the season when explants are collected

(Werner and Boem, 1980; Yepes and Aldwinckle, 1994). Seeds were used as starting material in establishing *in vitro* *Origanum vulgare* (Arafah, 1999), *Amygdalus communis* (Shibli *et al.*, 1998), *Salvia fruticosa* (Arikat *et al.*, 2004), *Achillea fragrantissima* (Younes *et al.*, 2015), *Teucrium polium* L (Al-Qudah *et al.*, 2011). But in case of *Coffee arabica* (Ebrahim *et al.*, 2007) zygotic embryos were used. Other plant starting materials were used *in vitro*; like shoot tips, lateral buds, primordial leaves explants inoculated on medium with appropriate supplements of the required growth regulator uses to give shoot regeneration of some endangered medicinal plant (Guo *et al.*, 2007). Furthermore, apical and axillary meristems and single node cuttings were used for *Coffee arabica* (Ebrahim *et al.*, 2007). *In vitro* propagation may also be achieved by somatic embryogenesis and cell suspension culture with some important medicinal plants (Shibli *et al.*, 2012).

Tissue culture success mainly depends on the age, types and position of explants (Gamborg *et al.*, 1976). Because all plans have not equal Totipotency. Large size explants can increase chances of contamination and small explants (meristems) can show virus free (Fowler *et al.*, 1993; Staba and Seabrook 1980). Meristem culture were utilized to obtain virus-free plants by culturing. To increase the probability of success, the mother

plant should be *ex-vitro* cultivated under optimal condition to minimize contamination in the *in-vitro* culture.

1.2 Surface Sterilization:

Microbial contamination is a very common problem in plant tissue culture (Fowler *et al.*, 1993). For this reason explants is surface sterilized by different reagents then transferred into nutrient medium usually. Sterilization of explants is one of the major steps for successful *in vitro* micropropagation. Explants cleaned by distilled water and sterilized agents like calcium hypochlorite, sodium hypochlorite, ethanol, mercuric chloride, hydrogen peroxide, or silver nitrate are for sterilization (Mihaljevic *et al.*, 2013). The selection of sterilizing agent depends on the type of explants depending on the morphological characteristics like hardness and softness of the tissue (Yadav and Singh, 2011). Contamination it is considered more rapid in woody species than herbaceous plants (Niedz and Bausher, 2002; Das and Pal, 2005). Sterilization of laboratory tools carried out by autoclaving, alcohol washing, baking, radiations, flaming and fumigation. A great decrease in bacterial contamination was seen by using an ultrasonic sonicator (Monge *et al.*, 2008). Sources of *in vitro* contamination include culture containers, media, explants, tools, the environment of the culture room and transfer area, and operating personnel. The success of propagation *in vitro* mostly depends on the external steriliz of explants because this is critical, also, there are microorganisms that grow on the surface of the plant more rapidly than cultured plants.

Microbial contamination is one challenge facing plant tissue culture practices. (Leifert *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 2017). Wide range of microbes are found on the surface of plants, and these grow faster than the cultured explants. Explant contamination is connected to various causes such as basis of explants and location (Singh *et al.*, 2011). The most common problem of micropropagation suffers is pollution of all kinds, whether bacterial or fungal.

1.3 Media Composition:

Seeds and vegetative explants have been used on different types of media with different PGRs. Several types of medium formulation were identified as suitable for medicin plants in tissue culture. Basic nutrient basal media that are most frequently applicable and used include (Murashige and Skoog, 1962) medium is commonly used, Other media used are Gamborg (B5; Gamborg, *et al.*, 1968), (LS; Linsmaier and Skoog, 1965) and (NN; Nitsch and Nitsch, 1969)., (SH; Schenk and Hildebrandt 1972), Woody plant medium (WPM; Lloyd and McCown, 1981) , W medium (White, 1963).

In 1962, Murshige and Skoog were able to formulate a revised medium for culturing *Nicotiana tabacum* callus (Vasil and Vasil, 1972), *Salvia fruticosa* Mill (Arikat *et al.*, 2004), *Ceratonia siliqua* (Naghmouchi *et al.*, 2008), *Morus alba* (Anis *et al.*, 2003) and *Coffea Arabica* (Ebrahim, *et al.*, 2007). *Thymus vulgaris* was established on (NN) medium (Tamura, 1993). While modified MS medium (MMS) was used in seed germination and establishment of *Origanum vulgare* (Borovec, 1988). In general, Medium contains a macro and micro nutrients and vitamins dissolved in distilled water with carbon source 3% sucrose, solidified with 0.8% Agar powder is not essential media component but is used as gelling agent (Bhojwani and Razdan 1996; Rayns *et al.*, 1993). It prevents death of cultured cells due to submerging and lack of oxygen in liquid

medium. The pH was adjusted to 5.8 before adding the agar, followed by autoclave sterilization at 121°C for 20 min. The pH of the medium was adjusted to 5.7 with 0.1M NaOH or 0.1M HCl after the addition of growth regulators, prior to the addition agar. The medium was autoclaved at 121°C, for 20 min. All the cultures were maintained in sterilized culture room at $26 \pm 2^\circ\text{C}$, under 16/8h light regime provided by cool white fluorescent light ($60\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ light intensity) and with 55 - 60% relative humidity (Bhojwani and Razdan 1996).

1-4 In Vitro shoot proliferation:

Shoot formation is promoted by light, temperature, culture medium, PGRs, explant type, and physiological development of tissue used (Pierik, 1997). In many cases it is possible to place explants directly on a medium that will encourage shoot multiplication, but cultures of some species are best initiated with different PGRs that are required for shoot formation (George, *et al.*, 2008). Multiplication rates depend on species, cultivar, auxin /cytokinin ratio and explant type (Iqbal *et al.*, 1999).

For successful plant tissue culture first shoots are formed by culture of explants or callus on media containing PGRs (mainly cytokinin but sometimes auxins also). Different types and concentrations of cytokinin such as 6-Benzylamino-purine (BA), 6-Furfurylaminopurine (kinetin), zeatin, Thidiazuron (TDZ) and 6-(gamma,gamma-Dimethylallylamino) purine (2ip), are used for shoot formation.

Ali *et al.*, (2010) reported that maximum shoot multiplication *in vitro* was obtained on MS medium supplemented with 1.0 mg /L BA in *Stevia rebaudiana*. Also, Bipasha *et al.*, (2010) achieved *in vitro* clonal propagation of *Wedelia chinensis* on MS medium containing (2.0 mg/L BA +1.0 mg/L IAA) for shoot elongation while they used MS medium supplemented with (1.5 mg/L BA+ 0.5 mg/L Gibberellic Acid (GA_3)) for shoot proliferation. Maximum proliferation rate in *Achillea filipendulina* was obtained on MS medium supplemented with 1.0 mg/L IAA plus 2.0 mg/L BA (Evenor and Reuveni, 2004). The highest proliferation rate in *Arbutus andrachne* L. was obtained on MS medium complemented with 2.0 mg/L zeatin (Mostafa *et al.*, 2010). The best result proliferation of *Achillea fragrantissima* was achieved while used MS medium complemented with 1.2 mg/L kinetin (Younes *et al.*, 2015).

In *Senecio macrophyllus* shoot proliferation rate was highest when explants were cultured on MS medium supplemented with 4.4 μM BA in combination with 0.54 μM 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) (Trejgell *et al.*, 2010). Kinetin was found to be more efficient cytokinins used to induce proliferation in different plant species (Bouhouche and Ksiksi, 2003) while BA and kinetin was found to be more efficient cytokinins used to induce proliferation rate in *Origanum syriacum* (Arafah *et al.*, 2003).

There are many reported on the benefits and problems associated with *in vitro* multiplication of medicinal plants (Bajaj, 1993). Most known species studied were *Mentha* spp. (Cellarova, 1992), *Origanum syriacum* (Arafah *et al.*, 2003), *Origanum vulgar* (Borovec, 1988), *Salvia fruticosa* (Arikat *et al.*, 2004), *Coffea arabica* (Ebrahim *et al.*, 2007), *Teucrium polium* (Al-Qudah, *et al.*, 2011), wild cyclamen (Al-Majathoub and Karam, 2006), *Gundelia tournefortii* (Owies *et al.*, 2009), *Achillea fragrantissima* (Younes *et al.*, 2015) and *Artemisia herba alba* (Shatnawi, 2011). *Artemisia herba-alba* (Shibli, *et al.*, 2018). Different levels of various cytokinins are being used in previous

studies to induce proliferation, a cytokinin is required and applied either alone or combined with small amounts of auxin (Kahia and Owuor, 1990). Each treatment consisted of five replicates (flasks), with four explant / replicate. Cultures were incubated at growth room and kept under a regime of 16- hr. light, 8- hr. dark and $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Data was collected after 4 weeks from culture such as: number of shoots/ explant, shoot height, callus Formation and rooting percentage.

1.5 In vitro rooting:

Auxins are main agent in *in vitro* rooting stage as they driving the signal transduction alleyway in plant cells into transferred to roots (Taiz and Zeiger, 2002).

Root formation after producing healthy shoots, plantlets transferred to different media for root formation. Auxins such as Indole-3-butyric acid (IBA), naphthaleneacetic acid (NAA) or Indole-3-acetic acid (IAA) are mainly used in root induction and their effect varies with type and concentration used in different plant species (Pierik, 1997 ; Swamy *et al.*, 2002) . NAA and IBA are most commonly used anxins (Bhojwani, and Razdan, 1996). Different levels of various rooting growth regulators were used in the previous studies to induce rooting. There are many reported associated with *in vitro* rooting of medicinal plants. Most known species studied are *Arbutus andrachne* (Mostafa *et al.*, 2010) reported that, The maximum rooting was obtained with 1.0 mg /L NAA. While, *Capparis spinosa* (Musallam, *et al.*, 2011) the highest number of roots was obtained at 5.0 mg/L IAA on 1/2 MS media.

Ali *et al.*, (2010) found best *in vitro* rooting was reported on MS medium containing 1.0 mg /L NAA of *Stevia rebaudiana* , in *Senecio macrophyllus* rooting was achieved on full- and half-strength MS medium without auxin (Trejgell *et al.*, 2010). In *Origanum syriacum* the maximum number of roots was obtained on MS medium supplement with 0.8 mg/L IAA (Arafeh *et al.*, 2003). In *Salvia fruticosa* Mill root formation was completely inhibited on MS medium free of auxins or containing high concentrations of IAA, NAA, or IBA, highest roots number were obtained at 0.5 mg/L IBA or 0.5 mg/L IAA (Arikat *et al.*, 2004). With 20 replicates (test tube) per treatment and one explant / replicate. Cultures were incubated at growth chamber and saved under a system of 16- hr. light, 8- hr. dark and $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Data was collected after 4 weeks from culture such as: rooting percentage, number of roots/ explant, root height and callus formation.

1.6 Ex Vitro Acclimatization:

Acclimatization is the final, but necessary, step in all micropropagation schemes (Van-Huylenbroeck and Debergh, 1996). The process of acclimatization is important for all types grown *in vitro* to ensure survival sufficient number of plants survives and grows strongly when moved to the soil (Preece and Sutter ,1991). *Ex vitro* acclimatization was performed for plantlets with well-developed roots. Cotton plugs were removed off vessels and agar was removed by washing the roots gently under running tap water, plantlets were transferred to sterilized plastic cups (5×5 cm) containing sterilized growing medium mixtures of peatmoss and perlite at (1:1, v/v) and adapted to growth chamber conditions by gradual exposure to reduced relative humidity by covered by perforated plastic bags, Each cup were irrigated with distilled water every 2 days for 4 weeks. keep the potted plantlets in growth chamber for 4 weeks and later transferred to normal GH ($33 \pm 1^\circ\text{C}$) conditions 4 weeks and the survival percentage was recorded (George *et al.*, 2008).

Successful acclimatization of regenerated plants in greenhouse on potting mixture was reported. Various cultivars reported to growth well in pots containing soil-less medium of vermiculite, peat, perlite or compost and other on salt: sand soil.

Rooted shoots were successfully re-established in soil under controlled conditions in most studies: For example, *in vitro* rooted *Senecio macrophyllus* plantlets were obtained after four weeks of cultivation on the rooting medium. The author reported 92% survival (Trejgell *et al.*, 2010).

(Goel *et al.*, 2009; Lal and Singh, 2010) were record about the success of acclimatization and transfer to open field of both *Peganum harmala* and *Celastrus paniculatus* respectively. Moreover, completely rooted resulting from the multiplication of *Albizia lebbeck* were successfully adapted in vessels containing a mixture of sterile soil and sand (1:1) with a survival rate of 60% under open field conditions (Yadav and Singh, 2011).

Rooted plantlets of *Teucrium stocksianum* were successfully acclimatized, with a survival rate of 75–80% (Bouhouche and Ksiksi, 2007). While for *Arbutus andrachne* acclimatization was successful, with a survival rate of 80% (Mostafa *et al.*, 2010). Al Qudah *et al.*, (2011) reported that, rooted plants of *Teucrium polium* were successfully acclimatized, with 75% survival and grown in the greenhouse. In addition, Arikat, *et al.*, (2004) obtained 80% survival of acclimatized *Salvia officinalis* plantlets. While *Capparis spinosa* acclimatization was successful, with a survival rate of 63% (Musallam *et al.*, 2011). The best result achieved of *Achillea filipendulina* were survival rate about 90% after roots successful acclimatized (Evenor and Reuveni, 2004).

Conclusion:

Medicinal plants are potential renewable natural resources and are play a beneficial role in human health care. The medicinal value of these plants contains phytochemicals such as glycosides, alkaloids, volatile oils, flavonoids, tannins, terpenoids, saponins, fatty acid and phenolic compounds as a secondary metabolites. Legislations has failed to stop the indiscriminate harvesting of the plants as the trade is the major source of livelihood for an estimated one million people, mostly the rural poor. In recent years, the requirement for medicinal plants has increased dramatically, which leads to a shortage and depletion of natural resources in the wild. To compensate for this loss, we must use plant tissue culture for the propagation *in vitro*. A huge number of medicinal plants of high economic value and their metabolites have been produced by *in vitro* techniques in a short duration of time compared to conventional approaches.

In conclusion, this study could be the beginning of the road for researchers who have a desire to learn more about the *in vitro* propagation of medicinal plants. *In vitro* cultures allow conservation of rare and endangered plant.

References:

- Ahmad, I.**, Tanveer, H., Irfan, A., Muhammad, N., Muhammad, R and Muhammad, I. (2013). Lethal effects of secondary metabolites on Plant Tissue Culture, American-Eurasian J Agric. & Environ. Sci. 13(4):539-547.
- Ali, A.**, Gull, I., Naz, S. and Afghan, S. (2010). Biochemical investigation during different stages of *in vitro* propagation of (*Stevia rebaudiana* L.), Pakistan Journal of Botany, 42, 2827-2837.
- Al-Majathoub, M.** and Karam, N.S. (2006). *In vitro* propagation of wild *Cyclamen persicum* Mill. from seedling tissue. Acta Horticulturae, 350, 243-251.
- Al-Qudah, T.**, Shibli, R. A. and Alali, F. (2011), *In vitro* propagation, and secondary metabolites production in wild germander (*Teucrium polium* L.), *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* , 47, 496-505.
- Altpeter, F.** Springer, N. M. Bartley, L. E, Blechl, A. E. Brutnell, T.P. Citovsky, V. Conrad, L. Gelvin, S.B. Jackson, D. Kausch, A.P. Lemaux, P.G, Medford, J.I. and Orozco-Cardenas, M. (2016). Advancing crop transformation in the era of genome editing. *Plant Cell* 28:1510–1520.
- Anand, U.**, Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A. and Lakhssassi, N. (2019). A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites* 9, 258.
- Anis, M.**, Faisal, M. and Singh, S. K. (2003), Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through *in vitro* culture of shoot tip and nodal explants. *Plant Tissue Culture*, 13, 47-51.
- Arafah, R.** (1999). Factors affecting *In vitro* propagation, callusing cell suspension culture and secondary metabolites production in sweet marjoram (*Origanum vulgare* L.) and Syrian marjoram (*Majorana syriaca* L.) Rafin (*Origanum syriacum* L.), M.Sc. Thesis. Jordan University of Science and Technology, Irbid, Jordan.
- Arafah, R.**, Mahmoud, M. S. and Shibli, R.A. (2003). *In Vitro* Seed Propagation of Wild Syrian Marjoram (*Origanum syriacum* L.), *Advances in Horticultural Science* 17(4):241-244.
- Arikat, N. A.**, Jawad, F. M., Karam, N. S. and Shibli, R. A. (2004), Micropropagation and accumulation of essential oils in wild Sage (*Salvia fruticosa* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 100, 193-202.
- Atanasov, A.G.**, Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, A.M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E.H., Rollinger, J.M., Schuster D., Breuss, J.M., Bochkov, V., Mihovilovic, M.D., Kopp, B., Bauer, R., Dirsch, V.M. and Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. *Biotechnol Adv* 33:1582–1614.
- Bajaj, Y. P. S.** (1993). *Biotechnology in agriculture and forestry*, (ed). Medicinal and Aromatic Plants –IV. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, edition, 21, 413-426.
- Bannerman, R.H.** (1982). Traditional medicine in modern health care. *World Health Forum* 3(1):8–13.
- Bhattecheryya, P.**, Kumaria, S., Diengdoh, R. and Tandon, P. (2014). Genetic stability and phytochemical analysis of the *in vitro* regenerated plants of *Dendrobium nobile* Lindl., an endangered medicinal orchid. *Meta Gene* 2:489–504.

- Bhojwani**, S.S. and Razdan, M.K. (1996). Plant tissue culture: Theory and Practice: Developments in crop science Vol. 5. Elsevier, Amsterdam.
- Bipasha**, A., Safiul, A., Farhana, R. and Mohammed, R. (2010). Simultaneous shoot regeneration and rhizogenesis of (*Wedelia chinensis*) for *in vitro* clonal propagation. American Journal of Sustainable Agriculture, 4, 65-69.
- Borovec**, V. (1988), Micropropagation of clones of marjoram (*Origanum vulgare* L.) under *in vitro* conditions. Bull VyzSlech Us ZelOlom, 32, 49–54.
- Bouhouche**, N. and Ksiksi, T.(2007). An efficient *in vitro* plant regeneration system for the medicinal plant *Teucrium stocksianum* Boiss, Plant Biotechnology Reports 1(4):179-184
- Cellarova**, E. (1992). Micropropagation of *Mentha* L. In: Biotechnology in Agriculture and Forestry. By Bajaj, Y.P.S. (ed.). High Tch and Microproagation III, Springer-Verlag Berlin Hiedelberg, 19, 262-276.
- Chandana**, B.C., Nagaveni, H.C., Kumari, Lakshmana, D., Shashikala, S.K. and Heena, M.S. (2018). Role of plant tissue culture in micropropagation, secondary metabolites production and conservation of some endangered medicinal crops. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7, 246-251.
- Chandran**, H., Meena, M., Barupal, T and Sharma, K. (2020). Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. Biotechnology Reports, 26, e00450, 1-10.
- Das**, M and Pal, A.(2005). Clonal Propagation and Production of Genetically Uniform Regenerants from Axillary Meristems of Adult Bamboo. Plant Biochemistry & Biotechnology. 14: 185-188.
- Debnarh**, M. Malik, C.P and Baisen, P.S. (2006). Micropropagation :a tool for the production of high quality plant based medicines. Curr Pharm Biotechnol 7:33–49.
- Ebrahim**, N., Shibli, R., Makhadmeh, I. and Shatnawi, M. (2007). *In vitro* propagation and *in vivo* acclimatization of three coffee cultivars (*Coffea Arabica* L.) from Yemen. World Applied Sciences Journal, 2, 142-150.
- Edwards**, R. 2004. No remedy in sight for herbal ransack. New Scientist, 181, 10-11.
- Evenor**, D. and Reuveni, M. (2004), Micropropagation of (*Achillea filipendulina*) cv. 'Parker. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 79, 91-93.
- Fowler**, M.R., Rayns, F.W. and Hunter, C.F. (1993). The language and aims of plant cell and tissue Cultur. *In Vitro* Cultivation of Plant Cells, Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, Page 1-18.
- Furmanowa**, M. and Olszowska, O. (1992). Micropropagation of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). In: Biotechnology in agriculture and forestry. Springer-Verlag Heildelberg Berlin, 19, 230-234.
- Gamborg**, O., Miller, R. A. and Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. — Exp Cell Res. 50: 151-158.
- George**, E. F., Hall, M. A. and De- Klerk, G. J. (2008). Plant propagation by tissue culture. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 93,353-355.
- George**, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G. J. D. (2008). Plant growth regulators I: Introduction; auxins, their analogues and inhibitors. In *Plant propagation by tissue culture* (pp. 175-204). Springer, Dordrecht.

- George**, E.F. (1993). Plant Propagation by Tissue Culture: The Technology. Exegetics Ltd., Edington, UK.
- Goel**, N., Singh, N and Saini, R.(2009). Efficient *in vitro* multiplication of Syrian Rue (*Peganum harmala* L.) using 6-benzylaminopurine pre-conditioned seedling explants. Nat Sci. 7:129–134.
- Guo**, B., Gao, M. and Liu, C. Z. (2007). *In vitro* propagation of an endangered medicinal plant (*Saussurea involucrata*). Plant Cell Reports, 26, 110-1121.
- Hofman**, P., Haisel, D., Komenda, J. ,Vonger, M., Tichm, J., Chofer, C.and Papkov, V. (2002), Impact of *in vitro* cultivation conditions on stress responses and on changes in thylakoid membrane proteins and pigments of tobacco during *ex vitro* acclimation. Biology Plant, 45, 189-195.
- Honda**, H., Liu, C. and Kobayashi, T. (2001). Large-scale plant micropropagation. Advances Biochemical Engineering Biotechnology, 72, 157-182.
- Iqbal**, R., Ahmad, Z., Shoaib, K. and Akram, M. (1999). Bud proliferation and regeneration in Dumb-cane (*Dieffenbachia seguine*) leaf callus. Pakistan Journal of Plant Sciences. 5 (1): 29 – 35.
- Juan-jie**, Z., Yue-sheng, Y., Meng-fei, L., Shu-qi, L., Yi, T., Han-bin, C and Xiao-yang, C. (2017). An efficient micropropagation protocol for direct organogenesis from leaf explants of an economically valuable plant, drumstick (*Moringa oleifera* Lam.). Ind Crops Prod 103:59–63.
- Kahia**, J. W. and Owuor, J. B. (1990). *In vitro* propagation of disease resistant (*Coffea arabica* L.). Kenya-Coffee, 55, 901-905.
- Kaul**, S., Das, S and Srivastava, P.S. (2013). Micropropagation of *Ajuga bracteosa*, a medicinal herb. Physiol Mol. Biol. Plants 19:289–296.
- Kim**, D.H., Gopal, J and Sivanesan, I. (2017). Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed. RSC Adv. 7, 36492–36505.
- Komakech**, R., Kim, Y.G ., Kim, W. J., Omujal, F., Yang, S., Moon, B.C., Okello, D., Rahmat, E., Kyeyune, G.N., Matsabisa, M.G.and Kang, Y. A. (2020). Micropropagation Protocol for the Endangered Medicinal Tree *Prunus africana* (Hook f.) Kalkman: Genetic Fidelity and Physiological Parameter Assessment. Frontiers in Plant Science. volume, 11.
- Kumari**, R. and Priya, A. (2020). Optimization of Concentrations of Plant Growth Regulators for *In Vitro* Multiple Shoot Formation and Efficient Root Induction in *Phyllanthus nodiflora* L. (*Lippia nodiflora* L.) An Important Medicinal Plant. Indian J. Sci. Res. 10 (2): 39-44.
- Kun-Hua**, W., Lin-Xuan, L., Young-Caim W., Mei-Ying, W., Cui, L. and Jian- Hua, M. (2013). Tissue culture of *Sophora tonkinensis* Gapnep. And its quality evaluation. Pharmacogn Mag 9:323–330.
- Lal**, D and Singh, N. (2010). Mass multiplication of *Celastrus paniculatus* Willd: An important medicinal plant under *in vitro* conditions via nodal segments . International Journal of Biodiversity and Conservation Vol. 2(6), pp. 140-145.
- Leifert**, C., Morris, C.E. and Waites, W.M. (1994) .Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field-grown plants: Reasons for contamination problems *in vitro*. Crit. Rev. Plant Sci., 13, 139–183.

- Li, S., Yuan, W., Yang, P., Antoun, M., Balick, M. and Cragg, G. (2010). Pharmaceutical crops: An overview. *Pharm. Crop.* 1:1–17.
- Linsmaier T. and Skoog F. (1965). *Physiologia Plantarum*, 18 (1) 100 - 127.
- Lloyd, G. and McCown, B. (1981). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by shoot tip culture. *Intl. Plant Prop. Soc. Proc.*, 30: 421-427.
- McCune, J.L., Harrower, W.L., Avery-Gomm, S., Brogan, J.M., Czergo, A.-M and Davidson, L.N.K. (2013). Threats to Canadian species at risk: an analysis of finalized Recovery Strategies. *Biological Conservation*, 166, 254–265.
- Mihaljevic, I., Dugalic, K., Tomas, V., Viljevac, M., Pranjic, A., Cmelik, Z., Puskar, B and Jurkovic, Z. (2013). *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska' sour cherry. *Journal of Agricultural Sciences*. 58: 117-126.
- Monge, G.G., Gatica, A.M. and Melara, M.V. (2008). Somatic embryogenesis, plant regeneration and acemannan detection in aloe (*Aloe barbadensis* Mill.). *Agronomía costarricense: Revista de ciencias agrícolas*, 32(2), 41-52.
- Mostafa, S. E., Karam, N.S., Shibli, R. A. and Alali, F. Q. (2010), Micropropagation and production of arbutin in oriental strawberry tree (*Arbutus andrachne*). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 103, 111–121.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962), A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-479.
- Musallam, I., Duwayri, D. and Shibli, R. A. (2011). Micropropagation of caper (*Capparis spinosa* L.) from wild plants. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 5, 17-21.
- Naghmouchi, S., Khouja, M. L., Rejeb, M. N. and Boussaid, M. (2008). Effect of growth regulators and explant origin on *in vitro* propagation of (*Ceratonia siliqua* L.) via cuttings. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 12, 251-258.
- Niedz, R.P and Bausher. M.G.(2002). Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse and field-grown trees. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 38: 468–471.
- Nitsch, J.P. and Nitsch, C. (1969). Haploid plants from pollen grains. *Science*, 163: 85-87.
- Oksman-Caldentey, K. M. and Inzé, D. (2004). Plant cell factories in the postgenomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends in Plant Science*, 9, 433-440.
- Omar, R., Abdullah, M.P., Hasan, M, A. and Marziah, M. (2004). Development of Growth Medium for *Centella Asiatica* Cell Culture Via Response Surface Morphology. *American Journal of Applied Science*. 1(3): 215–219.
- Owies, D., Shibli, R. A., Ereifej, K. I and Shatnawi, M. A. (2009), *In vivo* propagation of akub (*Gundelia tournefortii* L.) by seeds. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 5, 266-272.
- Pandino G, Lombardo S, Antonino LM, Ruta C and Mauromicale G. (2017). *In vitro* micropropagation and mycorrhizal treatment influences the polyphenols content profile of globe artichoke under field conditions. *Food Res Int* 99:385–392.
- Paunescu, A. (2009). Biotechnology for Endangered Plant Conservation: A Critical Overview. *Romanian Biotechnological Letters*. 14, (1): 4095-4103.

- Pierik, R.** (1997). *In vitro*- culture of higher plants. Kluwer Academic Publishers. Netherlands, 344 .
- Pradhan, S., Paudel, Y.P. and Pant, B.** (2013). Efficient regeneration of plants from shoot tip explants of *Dendrobium densiflorum* Lindl., a medicinal orchid. *Afr. J. Biotechnol* 12(12):1378–1383.
- Prakash, S. and Van Staden, J.** (2007). Micropropagation of *Hoslundia opposita* Vahl--a valuable medicinal plant. *South African Journal of Botany*, **73**, 60-63.
- Preece, J.E. and Sutter, E.G.** (1991). Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and fields. In: P.C. Deebergh and R.H. Zimmerman (eds.). *Micropropagation*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 71-93.
- Puente-Garza, C.A., García-Lara, S and Gutiérrez-Urbe, J.A.** (2017). Enhancement of saponins and flavonols by micropropagation of *Agave salmiana*. *Ind Crops Prod* 105:225–230.
- Ramírez-Mosqueda, M.A., Iglesias-Andreu, L.G., Ramírez-Madero, G and Hernández-Rincón, E.U.** (2016). Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bert. In temporary immersion systems and evaluation of genetic fidelity. *S Afr J Bot* 106:238–243.
- Rayns, F.W., Fowler, M.R and Hunter, C.F.** (1993). Media design and use. *In Vitro Cultivation of Plant Cells*, Butterworth-Heinemann Ltd. Oxford, pp: 43-64.
- Rizvi, M.Z and Kukreja, A.K.** (2010). *In vitro* propagation of an endangered medicinal herb *Chlorophytum borivilianum* Sant. et Fernand. through somatic embryogenesis. *Physiol Mol Biol Plants* 16:249–257.
- Rout, G. R., Samantaray, S. and Das, P.** (2000). *In Vitro* Manipulation and Propagation of Medicinal Plants. *Biotechnology Advances*. 18: 91–120.
- Sandhu, M, Wani, S.H, Jiménez, V.M.** (2018). *In vitro* propagation of bamboo species through axillary shoot proliferation: a review. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 132:27–53.
- Sarasan, V., Kite, G.C., Sileshi, G.W and Stevenson P.C.** (2011). Applications of phytochemical and *in vitro* techniques for reducing overharvesting of medicinal and pesticidal plants and generating income for the rural poor. *Plant Cell Rep* 30:1163–1172.
- Schenk, R.V. and Hildebrandt, A.C.** (1972) Medium and Techniques for Induction and Growth of Monocotyledonous and Dicotyledonous Plant Cell Cultures. *Canadian Journal of Botany*, 50, 199-204.
- Schippmann, U., Danna, L and Cunningham, A.B.** (2006). A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. In: Bogers R.J, Craker L.E, Lange D. (eds). *Medicinal and aromatic plants*. Springer, New York.
- Schwarz, O. J. and Beaty, R. M.** (1996). Propagation from nonmeristematic tissues, organogenesis. In: Trigiano R.N, Gray D.J, eds. *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises*. Boca Raton, New york, London,Tokyo: CRC Press, 95-103.
- Sedaghati, B., Haddad R and Bandehpour M.** (2019). Efficient plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation via somatic embryogenesis in purslane (*Portulaca oleracea* L.): An important medicinal plant. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 136:231–245.
- Shatnawi, M. A., Anfoka, G., Shibli, R. A., Al-Mazra'awi, M. S., Shahrour, W. and Arebiat, A.** (2011), Clonal Propagation and cryogenic storage of virus free grapevines

(*Vitis vinefera* L.) via meristem culture. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35, 173-184.

Shatnawi, M. A., Johnson, K. A. and Torpy, F. R. (2004). *In vitro* propagation and cryostorage of syzygium francissi (myrtaceae) by the encapsulation– dehydration method. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* ,40, 403–407.

Shatnawi, M. A., Shibli, R. A., Migdadi, H. ,Obeidat, A., Ereifej, K. and Abu-Ein, A. M. (2006). Influence of different carbon sources on wild pear (*Pyrus syriaca*) growth and sugar uptake. *World Journal of Agricultural Science*, 2, 156-161.

Shatnawi, M. A., Shibli, R. A., Qrunfleh, I., Bataineh, K. and Obeidat, M. (2007). *In vitro* propagation and cryopreservation of (*Prunus avium*) using vitrification and encapsulation dehydration methods. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5, 204-208.

Shibli ,R.A., Sharaf ,S.A. , Kasrawi, M.A and. Al-Qudah,T.S. (2018). *In Vitro* Multiplication of the White Wormwood, *Artemisia herba-alba*. *Jordan Journal of Biological Sciences*. Pages 265 – 271.

Shibli, R. A., Duwayri, M. A., Sawwan, J. S., Shatnawi, M. A. and Al-Qudah, T. S. (2012). Regeneration via somatic embryogenesis of the endangered wild arum (*Arum palaestinum*). *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 48:335–340

Shibli, R. A., Jaradat, A., Ajlouni, M., Aljanabi, S. and Khawaldeh, W. (1998). *In vitro* Multiplication of bitter almond (*Amygdalus communis* L.). Damascus University, Journal for Agricultural Sciences, 14, 111-119.

Singh, V., Tyagi, A., Chauhan, P.K., Kumari, P and Kaushal, S.(2011). Identification And Prevention Of Bacterial Contamination On Explant Used In Plant Tissue Culture Labs. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (4):160-161.

Staba, E.J and Seabrook, J.E.A. (1980). Laboratory Culture. *Plant Tissue Culture As a Source of Biochemicals*, CRC Press, Boca Raton, Pages 1-20.

Staden, J., Zazimalova, E. and George, E. F. (2008). Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. In: George, E. F., Michael, A., Klerk, G. *Plant propagation by Tissue Culture*. 3rd ed. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 206-226.

Suneetha, M. S. and Chandrakanth, M. G. (2006). Establishing a Multi-Stakeholder Value Index in Medicinal Plants—An Economic Study on Selected Plants in Kerala and Tamil Nadu States of India. *Ecological Economics*. 60(1): 36–48.

Swamy, S.L., Puri, S. and Singh, A.K. (2002). Effects of auxins (IBA and NAA) and seasons on rooting of juvenile and mature hardwood cuttings of Robinia pseudoacacia and Grewia optiva. *New Forest*, 23, 143-157.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2002) *Plant Physiology* (Third Edition). Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, 67-86.

Tamura, H., Takebayashi, T and Sugisawa, H. (1993). *Thymus vulgaris* L. (Thyme): *In vitro* culture and production of secondary metabolites. In: Biotechnology in agriculture and forestry. By Bajaj, Y.P.S (ed). Medicinal and Aromatic Plants IV, Springer-Verlag Heidelberg berlin, 21,413-426.

Thomas, T. D. and Yoichiro, H. (2009). *In Vitro* Propagation for the Conservation of A Rare Medicinal Plant *Justicia Gendarussa* Burm. F. By Nodal Explants And Shoot

Regeneration From Callus. *Acta Physiologiae Plantarum*, **32** (5):943-950.

Thomford, N.E., Senthebane, D.A., Rowe, A., Munro, D., Seele, P., Maroyi, A and Dzobo, K. (2018). Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery. *Int. J. Mol. Sci.* 19(6), 1578.

Trejgell, T., Mahaska, M and Tretyn, A. (2010). Micropropagation of *Senecio Macrophyllus* M. Bieb, *Acta biologica Cracoviensia. Series botanica*, 52(1):67-72.

Tripathi, L. and Tripathi, J. N. (2003). Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2 ,243-353.

Van-Huylenbroeck, J. M., and Debergh, P. C. (1996). Physiological aspects in acclimatization of micropropagated plantlets. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 2, 136-141.

Vasil, I. K., and Vasil, V. (1972). Totipotency and embryogenesis in plant cell and tissue cultures. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 8, 117-125.

Victor, M., Loyola-Vargas, A. and vazquez-Flota, F. (2006). *Plant Cell Culture Protocols*, Second Edition.

Vines, G. (2004). Herbal Harvest with future: towards sustainable source for medicinal plants. *Plantlife International*, www.plantlife.co.uk .

Wang, W., Xu, J., Fang, H., Li, Z., and Li, M. (2020). Advances and challenges in medicinal plant breeding. *Plant Sci.* 298:110573.

Werner, E.M and Boem A.A. (1980). *In vitro* propagation of Malling 7 apple rootstock. *HortScience*; 15:509–10.

White, P.R. (1963). *The Cultivation of Animal and Plant Cells*. 2nd Edn., Ronald Press Co., New York., pp: 228.

Yadav, K., and Singh, N. (2011). Effect of seed harvesting season and sterilization treatments on germination and *in vitro* propagation of *Albizia lebbeck* (L.) Benth. *Tom*, 18(2):151-156.

Yepes, L.M., and Aldwinckle, H.S. (1994). Micropropagation of thirteen *Malus* cultivars and rootstocks, and effect of antibiotics on proliferation. *Plant Growth Regul*;15:55–67.

Younes, L.S., Shibli, R.A and Al-Qudah, T.S. (2015). *In vitro* Propagation and Acclimatization of *Achillea fragrantissima* Frossk Sch. Bip, *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, Volume 11, No.2-339.

Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., and Piao, G. (2016). The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules* 21(5), p. 559.

Gene Expression Analysis of Selected Deubiquitinating Enzymes in Lung Cancer

Wedad Mohamed Alkut^{1,2}

¹ Biomedical sciences, University of Liverpool, Crown Street, Liverpool, L69 3BX, UK.

² Department of Biology/ Faculty of Sciences, El-mergib University, El-Khoms, Libya.
wmalikut@elmergib.edu.ly

تحليل التعبير الجيني لأنزيمات إزالة اليوبيكويتين المختارة في سرطان الرئة

المستخلص:

الغرض من الدراسة: الهدف من هذه الدراسة تصميم بادئات تفاعل البوليميراز المتسلسل الكمي في الوقت الحقيقي (qRT-PCR) الخاصة بنظائر USP4 و USP15 و USP11 و UCHL1 . وكذلك فحص التعبير الجيني لنظائر DUB في الرئة الطبيعية، وسرطان الرئة ذو الخلايا الصغيرة (SCLC)، وسرطان الرئة ذو الخلايا غير الصغيرة (NSCLC) وخطوط الخلايا المشتقة من سرطان الرئة. بالإضافة إلى ذلك، دراسة العلاقة بين هذه DUBs والأنواع الفرعية لسرطان الرئة التي لها تعبير بروتين REST مختلف.

الطريقة: تم تصميم أزواج البرايمرز لـ QRT-PCR وفحصها باستخدام BLASTA و Netprimer حيث تم استخراج الحمض النووي الريبي RNA من 17 خطاً من خلايا الرئة، 7 خلايا SCLC، و 6 خلايا NSCLC، و 3 رئات طبيعية وخط خلية سرطانية واحدة. بعد التحقق من صحة البرايمرز و RNA عبر سرطان الرئة، تم فحص خطوط الخلايا الطبيعية والسرطانية بواسطة qRT-PCR.

النتائج: كانت بادئات QRT-PCR ذات علاقة نوعيه و خاصة بـ DUB و نظائرها المختارة (USP4 iso1 و 2 و USP15 iso1 و 2 و USP11 iso1 و UCHL1) حيث تم التعبير عن جميع DUBs على نطاق واسع في خطوط الخلايا المشتقة من الرئة، باستثناء USP4 iso و USP15 iso1 ، أن مستوى نسخ USP15 iso1 و 2 في كل من خطوط الخلايا الطبيعية وخطوط خلايا سرطان الرئة كانت متشابهة جداً. ومع ذلك، في هذه الدراسة، حددنا أيضاً نسخة من USP11 (iso 2) والتي تم التعبير عنها أعلى في معظم خطوط الخلايا من التسلسل المرجعي (USP11 iso1). أخيراً، وجدنا أنه لا يوجد ارتباط واضح بين مستويات التعبير عن هذه DUBs مع مستوى بروتين REST في سرطان الرئة.

الكلمات المفتاحية: تفاعل البوليميراز المتسلسل الكمي، بروتين REST، SCLC، NSCLC، DUBs.

Abstract:

Purpose: The aims of this study were to design quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) primers specific for isoforms of USP4, USP15, USP11 and UCHL1 and to screen for gene expression of these DUB isoforms in normal lung, small cell lung cancer (SCLC), non- small cell lung cancer (NSCLC) and lung carcinoid derived cell lines. Additionally we would look into any correlation of these DUBs with lung cancer sub-types that have different REST expression.

Method: QRT-PCR primer pairs were designed and checked using BLASTA and Netprimer. RNA was extracted from 17 lung cell lines, 7 SCLC, 6 NSCLC, 3 normal lungs and 1 carcinoid cell line. Following primer and RNA validated across lung cancer, normal and carcinoid cell lines were screened by qRT-PCR.

Results: QRT-PCR primers were specific for related DUBs and their selected isoforms (USP4 iso1 and 2, USP15 iso1 and 2, USP11 iso1 and 2 and UCHL1). All DUBs were widely expressed in lung derived cell lines, with the exception of USP4 iso2. Interestingly, the level of USP15 isoform 1 and 2 transcripts in both normal cell lines and lung cancer cell lines were very similar. However, in this study we also identified a transcript of USP11 (iso 2) which was more high expressed in most cell lines than the reference sequence USP11 (iso1). Finally, we found that there was no clear correlation between expression levels of these DUBs with REST protein level in lung cancer.

Keywords: *QRT-PCR, SCLC ,NSCLC, DUBs, REST protein.*

Introduction

Ubiquitin is a highly conserved regulatory protein and it is one of the major post-translational modifications of proteins. The best known function of ubiquitin is in labeling proteins for proteasomal degradation. However, they also control the stability, function, and intracellular localization of a wide variety of proteins. The activation of ubiquitin is achieved by a series of enzymatic reactions that involve coordinated activities of ubiquitin-activating (E1), ubiquitin-conjugating (E2) and ubiquitin ligase (E3) enzymes (Hershko & Ciechanover, 1998; Pickart & Fushman, 2004). Whilst there is only a single E1 enzyme, several E2 enzymes are able to interact with a specific E3 partner and thus transfer ubiquitin to the target protein. In humans, there are about 600 E3 ubiquitin ligases that ensure the specificity of substrate selection. The range functions for ubiquitylation are partly achieved by the generation of ubiquitin chains assembled through isopeptide bond formation between the carboxy-terminal Gly and any one of seven internal Lysine residues of ubiquitin (Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33, Lys48 or Lys63) (Hicke et al., 2005).

However, like phosphorylation, ubiquitination is a reversible modification. The human genome encodes about 79 active deubiquitinating enzymes (DUBs) that play several roles in the ubiquitin pathway (Komander et al., 2009). DUBs may activate ubiquitin propeptides, recycle ubiquitin and regenerate monoubiquitin from unanchored polyubiquitin (Haglund & Dikic, 2005). Importantly, DUBs can also reverse the ubiquitination of target proteins. They can be divided into: (1) ubiquitin C-terminal hydrolases (UCHs), (2) ubiquitin-specific proteases (USPs), (3) ovarian tumour proteases (OTUs), (4) Josephins and (5) JAB1/MPN/MOV34 metalloenzymes (JAMMs). The

UCH, USP, OTU and Josephin families are Cysteine proteases, whereas the JAMMs are zinc metalloproteases (Komander et al., 2009; Reyes-Turcu, et al., 2009). DUBs are emerging as crucial regulators of many tumour suppressors and oncoproteins (Sacco et al., 2010). They can influence the stability of cancer-associated proteins or negatively control ubiquitin mediated signaling. Both oncogenic and tumour suppressive function have been demonstrated for several DUBs. There are numerous examples of DUBs linked to cancer for example USP6 which was the first DUB identified as an oncogene (Onno et al., 1993) and USP4 which is oncoprotein linked to lung cancer (Gray et al., 1995).

Lung cancer is the most common cancer in the UK and the biggest cancer killer worldwide (Reports-Mortality, February 2007). There are two main types of lung cancer, small cell lung cancer (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC). Whilst NSCLC is more common than SCLC accounting for 75 percent of all lung cancers, both types have a poor prognosis with 5 years survival of 7% - 9% (Reports-Mortality, February 2007). SCLC is characterized by a neuroendocrine phenotype and aggressive disease progression. In contrast, carcinoids of the lung also express neuroendocrine markers, but they are a rare type of relatively benign cancer (Coulson et al., 2003) SCLC have the most common form of neuroendocrine (NE) lung cancer and express slight REST. However, NSCLC do not usually have neuroendocrine gene expression and express REST although this present at variable levels (Coulson et al., 2003).

The repressor element 1-silencing transcription factor (REST) is a transcriptional repressor that restricts the expression of many neuronal genes through interaction with the neuron-restrictive silencer element (NRSE) at the promoter level (Ballas & Mandel, 2005; Chong et al., 1995). REST was originally identified as a crucial transcription factor that repressed expression of neuron-specific genes in non-neuronal cells (Coulson, 2005) and NRSEs were identified in 18 neuron-specific genes (Schoenherr & Anderson, 1995). However, genome-wide analyses have identified REST binding sites in several thousand gene control regions (Gopalakrishnan, 2009) and REST is now known to play essential roles in multiple biological processes and disease states (Westbrook et al., 2005) REST has been demonstrated to have both oncogenic and tumor-suppressor functions in different types of cancer. A splice variant of REST that absences the carboxy terminus has been linked with neuronal cancer and small-cell lung carcinomas which have very low expression of normal REST (Coulson et al., 2000). REST is a labile protein targeted for ubiquitin-dependent proteasomal degradation by interaction with the F-box protein β -SCF^{TrCP} through a phospho-degron in REST. REST is degraded by the E3 ubiquitin ligase SCF^{TrCP} through the G2 stage of the cell cycle to let transcriptional derepression of Mad2 (Guardavaccaro et al., 2008). We therefore reasoned that there may be a DUB that can reverse SCF^{TrCP} mediated REST ubiquitination and this may be altered REST-deficient NE lung cancer. Specific DUBs may have a key role in the stabilisation of REST. The specificity of DUBs and their participation in stabilisation of proteins dysregulated in cancer could make them a potential drug targets (Daviet & Colland, 2008). Here we will focus on four DUBs. The ubiquitin Carboxyl-terminal Hydrolase-L1 gene (UCHL1) and the ubiquitin-specific protease USP15 are two candidates that arose

from library a siRNA screen for DUBs that could increase the stability of REST (Westbrook et al., 2008). USP15 is closely related to two other DUBs: USP4, which has been implicated in lung cancer and USP11. Interestingly, in the screen USP4 did not appear to affect REST stability, whereas USP11 may destabilize REST.

The aims of this study, were three-fold: (i) to design and validate qRT-PCR primers for isoforms of the four candidate DUBs, (ii) to screen for gene expression of these DUB isoforms in normal lung, SCLC, NSCLC and carcinoid-derived cell lines, and (iii) to investigate any correlation of DUB expression with lung cancer sub-types that have different REST expression.

Materials and Methods

Cell culture: four types of human cell lines were used in this study. Group A are normal cell lung lines: normal human bronchial epithelium (NHBE), normal lung fibroblasts (MRC5) and SV40 transformed human bronchial epithelium (BEAS2B)). Group B are small cell lung cancer (SCLC) cell lines NCI-H69, NCI-H345, COR-L88, COR-L47, GLC19, U2020 and Lu-165. Group C are non-small lung cancers (NSCLC): NCI-H460, NCI-H2170, A549, NCI-H322, COR-L23 and NCI-H647. Finally group D was a lung carcinoid line NCI-H727. All cells were maintained in culture medium RPMI + 10 % BCS and were incubated in 5 % CO₂ at 37°C. Harvest Cells were by pellet the appropriate number of cells by centrifuged for 5 min at 1500 rpm in a centrifuge tube and removed all supernatant by aspiration. Then the cells washed with PBS and centrifuging for 5 min at 1500 rpm in a centrifuge tube aspirate the PBS.

RNA extraction

Total RNA was extracted from approximately 5×10^6 cells using the RNeasy plus Mini Kit (Qiagen) according to the manufacturer's instructions. Briefly, cells were disrupted by adding RLT buffer with β - mercaptoethanol and precipitated with 70% ethanol before applying to the spin column membranes. Columns were washed with RWI buffer and RPE buffer, the final elution of the total RNA was performed using 30 μ l of RNase free water. Total RNA samples were stored at -80°C. The concentration of total RNA was estimated for each sample by using a NanoDrop (The NanoDrop® ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer) to measure absorbance at 260 nm and 280 nm. The RNA integrity was confirmed by 1% agarose gel electrophoresis in 0.5× TBE and ethidium bromide.

cDNA preparation

cDNA synthesis was carried out using the Reverse Transcription System (Promega) and RevertAid H minus M-MuLV Reverse Transcriptase (MBI Fermentas). 1 μ l RNA and 1 μ l of oligodT primer were incubated at 70°C for 5 min. Then a mix of 5x reverse transcription buffer (MBI), PCR nucleotide mix, RNasin (Promega) and nuclease free ddH₂O was added to RNA and incubated at 37°C for 5 min. Reverse a transcriptase was added (1.0 μ l M-MuLV RT) and incubated at 42°C for one hour, followed by 70 °C for 10 mins. Finally, the cDNA was diluted to 100 μ l with RNAase free water. The cDNA was amplified using ACTB primers in end-point PCR, (as described below), and Then the products were analyzed by 2% agarose gel electrophoresis.

Primer design and end-point RT- PCR

Seven primer pairs were designed to amplify, USP4 isoform 1 and 2, USP11 isoform 1 and 2, USP15 isoform 1 and2 and UCHL1. Sequences used to design primers were

USP4 iso1 (NM_003363.3), USP11 iso1 (NM_004651.3), USP15 iso1 (NM_006313.1) and UCHL1 (NM_004181.4) USP4 iso2 (NM_199443.2), USP15 iso2 (EC gene alternative variant6), USP11 iso2 (Aceview alternative variant bApr07). cDNA or reverse transcriptase-negative control (RT-) were amplified with HotStar Taq using 28 cycles for ACTB and 40 cycles for other genes (95°C for 15min, then cycle of 94°C for 30 sec, 60°C for 30sec and 72°C for 30sec). 2% agarose gels stained with ethidium bromide was used to load PCR products, and visualized under ultraviolet light.

QRT—PCR

Quantitative real-time RT-PCR (qRT-PCR) was performed in triplicate with 1 µl cDNA and 0.25µl each of the forward and reverse primer and IQ SYBR Green Supermix using an IQ5 real time PCR detection system (Bio-Rad). Samples underwent 40 cycles of amplification at 95°C (30 s) and 60°C (30 s). Melt curves analysis was conducted at the end of each run and the quantification cycle (C_q) values for test genes were normalized to the reference gene β-actin (ACTB) using the $2^{-\Delta q_t}$ or $2^{-\Delta\Delta q_t}$ equations.

Results:

Primer design and validation for deubiquitinating enzyme (DUB) targets.

QRT-PCR is one of the most powerful tools for studying gene expression, particularly as primers can be designed to specific exons or across exon boundaries to determine expression of specific splice variants encoding different isoforms. In this study, primers have been designed to amplify different isoforms (USP4 isoform 1 and 2, USP11 isoform 1 and 2, USP15 isoform 1 and 2, and UCHL1 isoform 1). During the design processes, primers were checked with the BLAST database to ensure that the primers are specific for the target we are interested in, that will be amplified in the RT-PCR reaction. Then all primers were tested on cDNA and RT- samples for one SCLC line (NIC-H69) and one NSCLC line (NCI-H460) (Figure 1). Primers were in each case specific for the cDNA over genomic DNA and amplified the correct sized products. RT-PCR products were successfully amplified in each case except for USP4 iso 2 which did not give any product (data not shown).

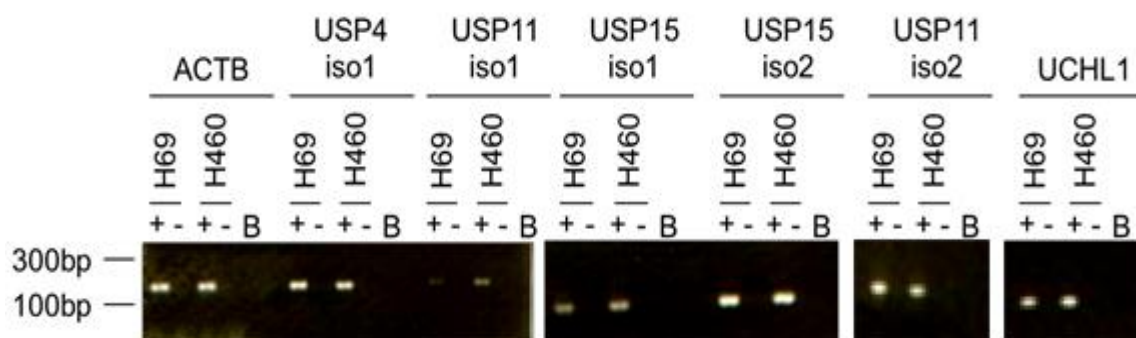


FIG.1. Standard end-point RT-PCR shows primers are specific for cDNA.

The primer pairs (ACTB, USP4iso1, USP11iso1, USP11iso2, USP15iso1, USP15iso2 and UCHL1) were tested with cDNA (+) and RT- (-) samples for two cell lines: NCI-H69 and NCI-H46 a no template control (Blank) (B) was included. 2% agarose gels stained with ethidium bromide was used to load PCR products, and visualized under ultraviolet light.

Next, it was tested whether the primers were selective between closely related DUBs by amplifying cloned cDNA from the plasmids pEGFP-USP15, pEGFP-USP4 and pEGFP-USP11 using the appropriate primers (USP15 iso1, USP4 iso1 and USP11 iso1 respectively) by qRT-PCR. As shown in Figure 2 the primers were selective for the intended DUBs. For example product from pEGFP-USP15 template was only amplified with the USP15 iso1 primer pair. Therefore we concluded that the primers were specific for DUBs.

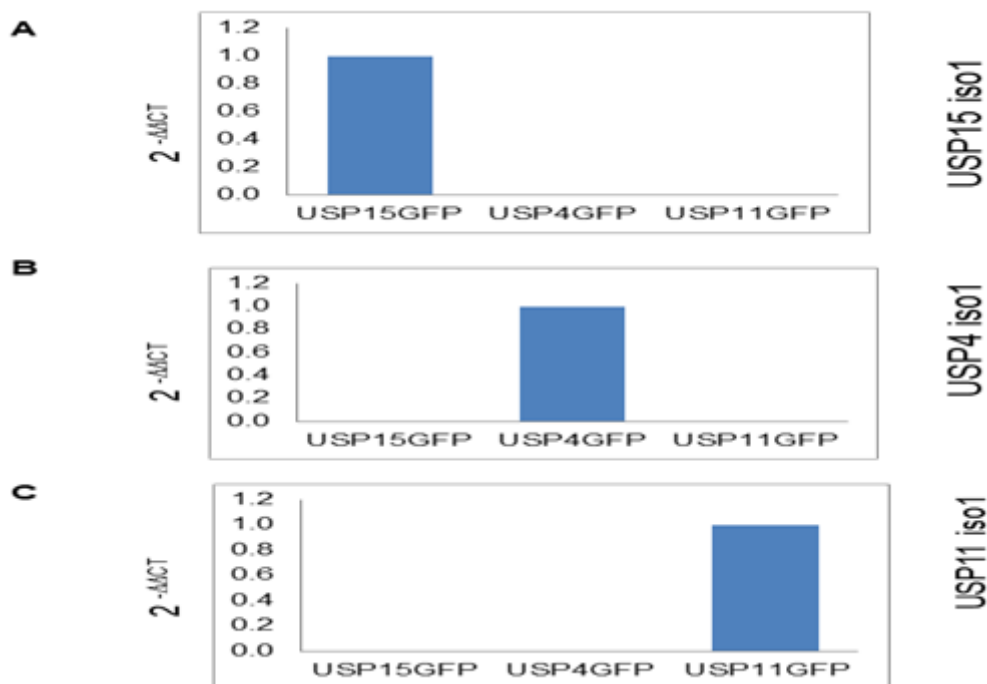


FIG.2. Specificity of RT-PCR primer pairs for DUB paralogs. The plasmids pEGFP-USP15, pEGFP-USP4 and pEGFP-USP11 were amplified by qRT-PCR with the USP15 iso1, USP4 iso1 and USP11 iso1 primer pairs. **A-** USP15 iso 1 primer pair. **B-** USP4 iso1 primer pair. **C-** USP11 iso1 primer pair. Expression data is shown for mean of three replicates normalized to the intended template gene.

Determination of relation Primer Efficiency for qRT-PCR

Estimation of relative transcript amounts using SYBR green by the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method relies on the assumption that the amount of product doubles each cycle. The most common method for the calculation of the amplification efficiency of a qRT-PCR reaction requires preparation of a series of serial dilutions of the sample and creation of a standard curve, whereby efficiency is estimated from the slope of the standard curve. This method was used to test the efficiency of all primer pairs and an example of the standard curve derived for USP4 iso1 is shown in Figure 3. A high R^2 value of > 0.98 for qRT-PCR and

acceptable amplification efficiencies of 90-105 %, except for UCHL1, which had an amplification efficiency of 115.4%. One explanation for the high efficiency observed with the UCHL1 primers (Table 1) would be amplification of nonspecific products. SYBR green based qRT-PCR has been used and amplification of non-specific products will increase the signal product. To confirm that we were amplifying a single product, melt curves were analyzed at the end each qRT-PCR reaction. Representative examples for each primer pair are shown in Figure 4. In each case a single major peak was seen with little evidence of non-specific amplification and primer dimer.

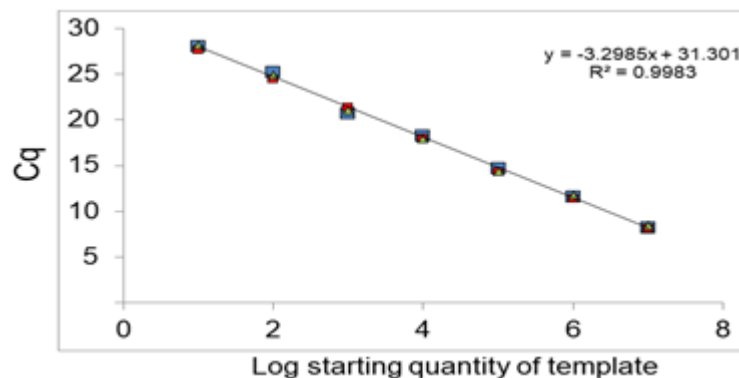


FIG.3. Standard curve with C_q for 3 independent replicates plotted against the log of the starting quantity of plasmid pEGP-USP4 for each dilution. A slope of -3.3 corresponds to template doubling in each cycle.

Table1. QRT-PCR primer efficiency. An R^2 value close to 1.00 indicates linearity across the template concentration range and efficiency of primers should be 100% (+ / - 10%) to use the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method to most accurately estimate target abundance in cDNA samples.

Primers pair	Sequence ccession	Template	R^2	Efficiency
USP15 iso1	NM_006313.1	USP15 Plasmid	0.99	98.6 %
USP15 iso2	EC gene alternative variant6	GLC19 cDNA	1.00	104.4 %
USP4 iso1	NM- 003363.3	USP4 Plasmid	0.99	100.9 %
USP11 iso1	NM- 004651.3	USP11 Plasmid	0.98	91.8 %
USP11iso2	Aceview alternative variant bApr07	COR-L88 cDNA	1.00	102.5%
UHCL1	NM_004181.4	COR-L88 cDNA	0.98	115.4 %

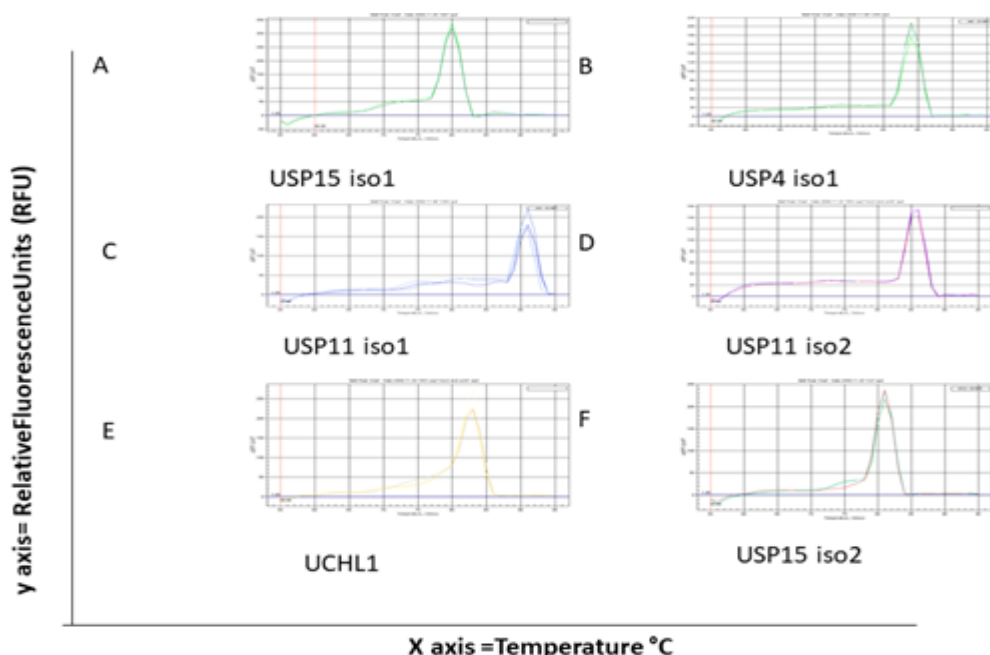


FIG.4. Example of representative melt curves for each primer pair on amplification of lung cell lines cDNA using SYBR® Green. The cDNA showing highest amplification was selected and the melt curve for three replicates is shown in each case:

A): USP15 iso1 primers for COR-L23 cDNA. **B):** USP4 iso1 primers for NCI-H460 cDNA. **C):** USP11 iso1 primers for NCI-H727 cDNA. **D):** USP11 iso2 primers for NCI-H460 cDNA. **E):** UCHL1 primers for U2020 cDNA. **F):** USP15 iso2 primers for COR-L88 cDNA.

Expression of DUB transcripts in lung cancer cell lines

To examine expression in lung cancer cells, RNA was prepared from 17 cell lines. Of these 7 cell lines were small cell lung cancer (SCLC), NCI-H345, NCI-H69, Lu165, COR-L88, COR-L47, U2020 and GLC19. One cell line was a lung carcinoid (NCI-H727). Six were non-small lung cancers (NSCLC), NCI-H460, NCI-H2170, A549, NCI-H322, CORL23 and NCI-H647. Lastly, three normal lung derived cell lines were used: normal human bronchial epithelial cells (NHBE), normal lung fibroblasts (MRC5), and SV40-transformed human bronchial epithelial cells (BEAS2B). To check the quantity and purity of RNA, a Nanodrop was used to measure the absorbance at 260nm and 280nm. Pure RNA should have A260:A280 ratio of greater than 1.8. A ratio of between (1.9–2.1) was obtained for all RNA extracted from the 17 cell lines. RNA has a maximum absorbance at 260 nm and this is used to calculate the concentration of RNA in each sample which had the range between 0.9- 2.8 µg/µl. Representative scans for RNA samples are shown in Figure 5.

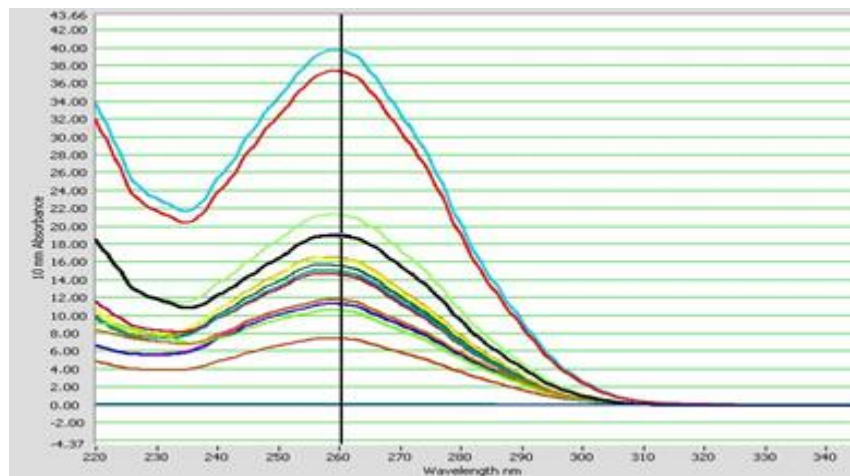


FIG.5 Absorbance scans used to determine the purity and concentration of RNA extracted from the 17 cell lines.

To establish the integrity of RNA, 5 µl of total RNA were loaded on 1% agarose gel with ethidium bromide. As shown in Figure 6A the 18S and 28S ribosomal RNA bands were clearly observable in all RNA samples. No low molecular or degradation products were seen except in NCI-H2170 RNA which was a little degraded related to other samples. Next cDNA was synthesized and amplified by end point PCR with ACTB primers and the correct product was observed for each sample Figure 6 B.

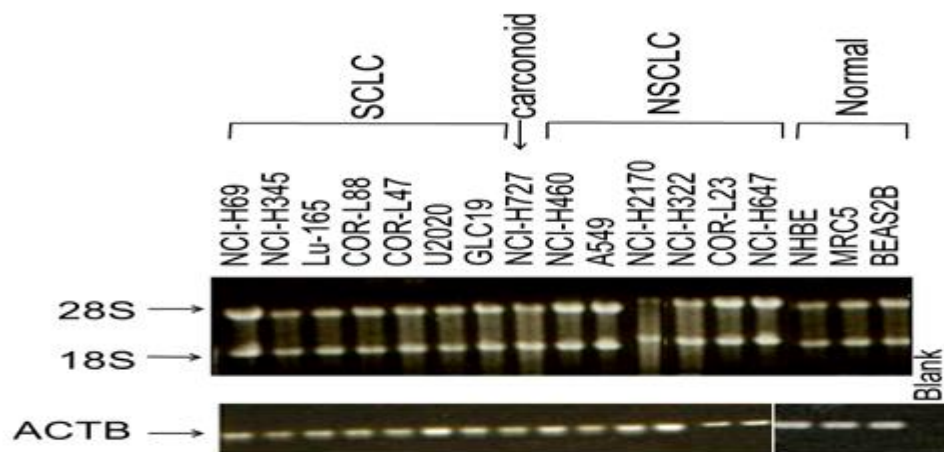


FIG.6. Quality control of RNA and cDNA prepared from lung cancer and normal lung cell lines. **A** - Gel images illustrate the quality of RNA by loading on a 1% agarose gel with ethidium bromide. **B**- Amplification of cDNA by RT-PCR using RNA extracted from lung cancer cells and ACTB primers. PCR products were resolved on a 2% agarose gel stained with ethidium bromide and visualized under ultraviolet light.

To quantify gene expression of the DUBs, we screened cDNA from the cell panel (SCLC, NSCLC and normal) cell lines with all six primers and normalized to ACTB as a reference gene in each case (Figure7). There are two reference sequence of USP4 for different splice variants. But we found that only isoform 1 was detected and isoform 2 was not detected. In contrast, there is a single reference cDNA sequence of USP15, but there is also predicted alternative splice variant. In fact both were expressed at similar levels in cell lines tested and regression analysis showed that these correlated well with each other ($R^2 = 0.63$). For USP11 there is also a single reference sequence and a predicted alternative splice variant. In fact this variant (iso2) was expressed more highly in most cells and had little correlation with isoform 1 ($R^2 = 0.058$). Finally, UCHL1 had a variety of expression across the cell lines.

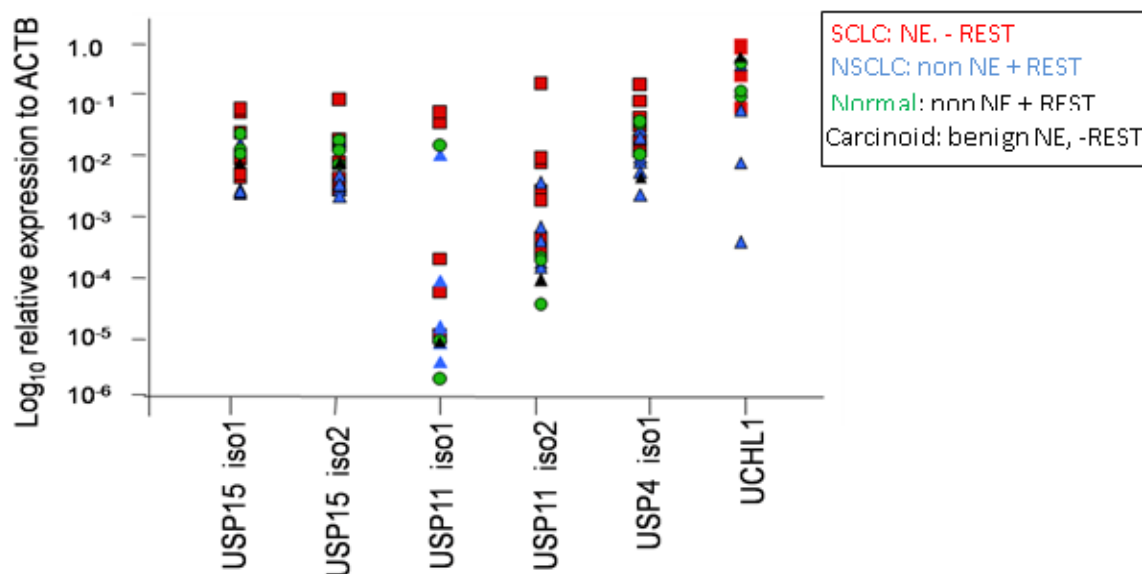


FIG.7. The gene expression of six DUB transcripts in lung cancer and normal lung cell lines. USP15 iso1, USP15 iso2, USP11 iso1, USP11 iso2, USP4 iso1 and UCHL1 were amplified a panel of 14 lung cancer (SCLC, NSCLC, Carcinoid) and three normal lung cell lines by qRT-PCR and the means of three technical replicates normalized to ACTB is shown in each case ($2^{-\Delta\Delta ct}$).

The association of USP transcript levels was also tested with specific lung cancer types as shown in table 2. The relative fold-expression in NE cell lines compared to non-NE cell lines was highest for USP11 iso 2 and UCHL1 (Table 2). Interestingly, although, like SCLC, the carcinoid cell line lacks REST and expresses neuroendocrine genes; its expression of DUB transcripts was generally lower than SCLC, with the exception of UCHL1. USP11 iso2 was also over expressed in some non-NE NSCLC compared to normal lung cells and so appeared to be more generally elevated in cancer.

Gene Expression Analysis of Selected Deubiquitinating Enzymes in Lung Cancer(102-115)

Table 2. The relative expression of DUB transcripts in different lung cell types, the mean $2^{-\Delta\Delta Ct}$ value was compared for different groups of cell lines.

Cell line compared	USP15 iso1	USP15 iso2	USP11 iso1	USP11 iso2	USP4 iso1	UCHL1
NE/non-NE	2.77	2.60	4.58	61.54	3.01	38.23
SCLC/carcinoid	3.74	3.15	4381.19	703.24	16.33	57.51
cancer / non-cancer	1.03	1.14	1.76	243.36	1.30	82.25
SCLC/normal	1.65	1.75	2.97	387.52	2.07	148.80
NSCLC/normal	0.31	0.42	0.35	7.77	0.41	4.62

REST expression in the cell lines was also compared to DUBs based on table 2. There is no indication in SCLC or carcinoid, where REST protein is not detectable, that expression of DUBs, which might increase its stability, is altered. REST protein is variable in NSCLC cell lines, but regression analysis revealed the best correlation for REST was with UCHL1 ($R^2 = 0.35$).

Discussion:

It is clear that a sense of balance among ubiquitination and deubiquitination procedures plays a key role in regulating the destiny of proteins within cells. The altered of balance of ubiquitination and deubiquitination may lead to the aberration of intracellular processes including cell cycle progression, transcriptional activation, signal transduction, antigen presentation, apoptosis oncogenesis, preimplantation, and DNA repair (D'Andrea & Pellman, 1998). In this study, gene expression of candidates DUBs associated with REST stability was examined. QRT-PCR was used to measure DUB expression owing to its wide dynamic range for quantification and its precision for accurate evaluation of gene expression and quantification of splice isoforms. We have, therefore, designed primers specific to DUBs and used these to amplify cDNA from 17 lung cell lines by RT-PCR. The data shows a wide range of gene expression in SCLC, NSCLC, carcinoid and normal cell lines.

The expression of these DUBs has not previously been investigated by qRT-PCR in lung cancer. However, DNA microarray data is available from a study of lung tumour samples. In this study, just one isoform of USP4 was identified. USP4 isoform 2 did not give any product when the primer pair was tested by RT-PCR. According to Bhattacharjee et al., (2001) (Figure 8), there was a slightly increased expression of USP4 in carcinoid compared to normal lung tissue and in another report based on human lung cancer tissue (Gray et al., 1995), it was found that USP4 had high gene expression levels in small cell lung tumors and adenocarcinomas of the lung, which may lead to suggestion of a possible oncogenic role lung for USP4 in neoplasia. In addition, in a further study of cell lines rather than primary tissue, USP4 protein levels were slightly but constantly

Gene Expression Analysis of Selected Deubiquitinating Enzymes in Lung Cancer(102-115)

reduced in cell lines derived from small cell tumors therefor the expression and role of USP4 in cancer remains controversial (Frederick et al., 1999) .

Bhattacharjee et al (2001)

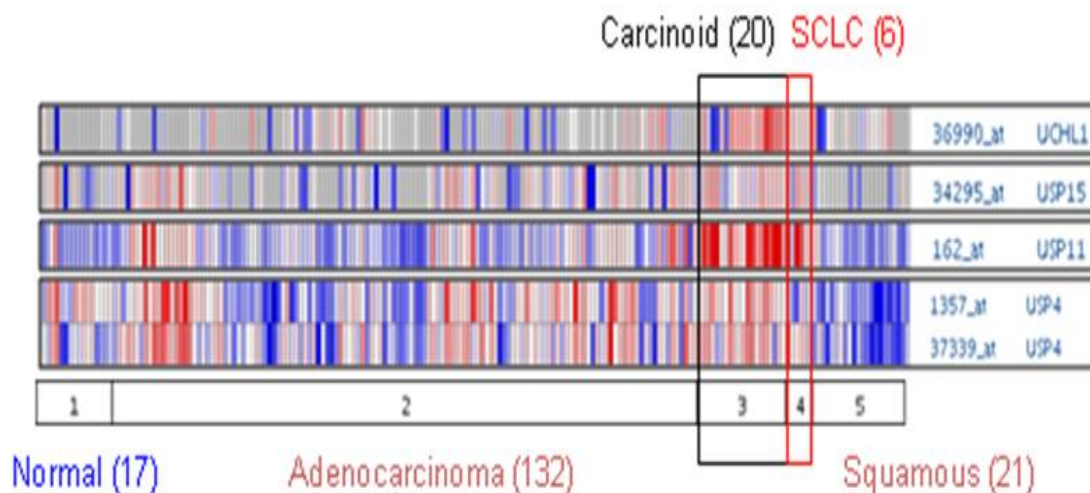


FIG.8. Oncoming (compendia Bioscience) was used for analysis and visualisation of microarray DNA from the study of Bhattacharjee et al, (2001).

To our knowledge there is little published information available on alternative USP11 splice variants isoforms. Two different isoforms of USP11 had been identified in this study. Both isoforms have 21 exons but they differ only in that they have a different exon 1. This results in the deletion of a DUSP domain in isoform 2 which may affect USP11 protein. (Figure 9). Both isoforms were amplified in lung cancer as well as normal cell lines but USP11 iso1 showed a highly variable expression and was expressed at a very low level in most cell lines, while USP11iso2 had much higher expression in all cell lines compared to isoform 1. In agreement with our data, Bhattacharjee, showed USP11 to be over expressed in SCLC and carcinoid NE lung tumors Figure 9. It was added to this data by showing that the major isoform in most cases is splice variant 2 rather than the published reference sequence.

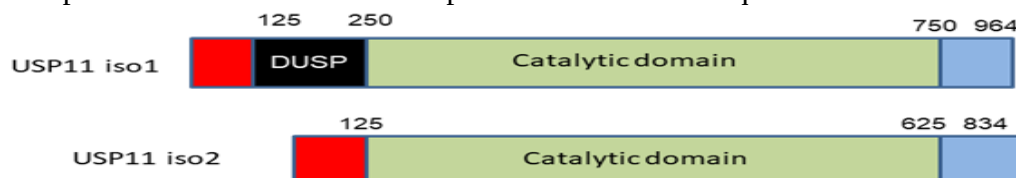


FIG.9. Diagrammatic scheme showing the difference between USP11 isoform 1 (NM_004651.3) and isoform 2 (Aceview alternative variant bApr07).

Microarray data from Bhattacharjee study showed that USP15 had a variable expression level in SCLC and carcinoid. Both USP15 iso1 and 2 showed a similar expression level and pattern across cell lines. Both had the highest expression level in the GLC-19 cell line (SCLC), while the lowest expression was in A549 and NCI- H647 cell lines (NSCLC). UCHL1 had more expression in carcinoid and SCLC according to Bhattacharjee et al., 2001. Also in our results, UCHL1 had high expression in carcinoid and in some SCLC. According to Sacco and *et al* UCHL1 expression in esophageal squamous cell carcinoma and pancreatic carcinoma and has been describe in NSCLC. UCHL-1 is also involved in neural cell apoptosis (Sacco et al., 2010).

In this experiment, qRT-PCR was used to study gene expression of DUBs in lung cancer but because qRT-PCR could not tell us about DUBs activity or protein level, it can be suggested that the next step would be using Westren blot to look at DUB protein level.

Acknowledgements

I would like to express my special thanks of gratitude to Prof. Judy Coulson who gave me the golden opportunity to do this wonderful project.

References .

- Ballas**, N., & Mandel, G. (2005). The many faces of REST oversee epigenetic programming of neuronal genes. *Curr. Opin. Neurobiol*, 15, 500–506
- Bhattacharjee**, Richards, W. J., Staunton, J., Monti, S., Vasa, P., Ladd, C., Beheshti, J., & Sugarbaker, D. J. (2001). Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *pubmed*, 20, 13790-13795.
- Chong**, J. A., Tapia-Ramirez, J., Kim, S., Toledo-Aral, J. J., Zheng, Y., Boutros, M. C., & Mandel, G. (1995). REST: a mammalian silencer protein that restricts sodium channel gene expression to neurons. *Cell*, 80, 949-957.
- Coulson**, J. M. (2005). Transcriptional Regulation: Cancer, Neurons and the REST. *Curr Bio*, 15, 65-66.
- Coulson**, J. M., Edgson, J. L., Woll, P. J., & Quinn, J. P. (2000). A splice variant of the neuronrestrictive silencer factor repressor is expressed in small cell lung cancer: a potential role in derepression of neuroendocrine genes and a useful clinical marker. *Cancer Research UK*, 60, 1840-1844.
- Coulson**, J. M., Ocejo-Garcia, & Woll, P. J. (2003). Neuroendocrine phenotype of small cell lung cancer. *Methods Mol Med*, 74, 61-73.
- D'Andrea**, A., & Pellman, D. (1998). Deubiquitinating enzymes: a new class of biological regulators. *Critt. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 33, 337-352.
- Daviet**, L., & Colland, F. (2008). Targeting ubiquitin specific proteases for drug discovery. *Biochimie*, 90(2), 270-283.
- Frederick**, A., Rolfe, M., & Chiu, M. I. (1999). Identification, Functional Characterization, and Chromosomal Localization of USP15, a Novel Human Ubiquitin-Specific Protease Related to the UNP Oncoprotein, and a Systematic Nomenclature for Human Ubiquitin-Specific Proteases. *Oncogene*, 16, 153–165.
- Gopalakrishnan**, V. (2009). REST and RESTless: in stem cells and beyond. *Futture Neurol*, 4, 317-329.
- Gray**, D. A., Inazawa, J., Gupta, K., Wong, A., Ueda, R., & Takahashi, T. (1995).

Elevated expression of Unph, a proto-oncogene at 3p21.3, in human lung tumors. *Oncogene*, 10, 2179–2183.

Guardavaccaro, D., Frescas, D., Dorrello, N. V., Peschiaroli, A., Multani, A. S., Cardozo, T., ... & Pagano, M. (2008). Control of chromosome stability by the β -TrCP–REST–Mad2 axis. *nature*, 452(7185), 365-369

Haglund, K., & Dikic, I. (2005). Ubiquitylation and cell signaling. *EMBO J*, 24, 3353 – 3359.

Hershko, A., & Ciechanover, A. (1998). The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*, 67, 425 – 479.

Hicke, L., Schubert, H. L., & Hill, C. P. (2005). Ubiquitin - binding domains. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6, 610 – 621.

Komander, D., Clague, M. J., & Urbe, S. (2009). Breaking the chains: Structure and function of the deubiquitinases *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 10, 550-563.

Onno, M., Nakamura, T., Mariage-Samson, R., Hillova, J., & Hill, M. (1993). Human TRE17 oncogene is generated from a family of homologous polymorphic sequences by single-base changes. *DNA Cell Biol*, 12, 107–118.

Pickart, C. M., & Fushman, D. (2004). Polyubiquitin chains: polymeric protein signals. *Curr Opin Chem Bio*, 8, 610–616.

Reports-Mortality, C. S. (February 2007). Cancer Research UK.

Reyes-Turcu, F. E., Ventii, K. H., & Wilkinson, K. D. (2009). Regulation and cellular roles of ubiquitin-specific deubiquitinating enzymes. *Annu Rev Biochem*, 78, 363-397.

Sacco, J., Coulson, J. M., Clague, M. J., & Urbe, S. (2010). Emerging roles of deubiquitinases in cancer associated pathways. *IUBMB in press*.

Schoenherr, C. J., & Anderson, D. J. (1995). The neuron-restrictive silencer factor (NRSF): a coordinate repressor of multiple neuron-specific gene. *Science*, 267, 1360-1363.

Westbrook, T. F., Hu, G., Ang, X. L., Mulligan, P., Pavlova, N. N., Liang, A., ... & Elledge, S. J. (2008). SCF β -TRCP controls oncogenic transformation and neural differentiation through REST degradation. *Nature*, 452(7185), 370-374.

Predisposing Local Factors Contributing to Denture Stomatitis

Hussein M. Abuzgaya¹, Adel O. ben abid²

Removable Prosthodontics Department, Faculty of Dentistry, Al Marqab University – Libya.

Removable Prosthodontics Department, Faculty of Dentistry, AL-Asmarya University – Libya

h.abuzgaya@gmail.com

العوامل الموضعية التي تساهم في التهاب الفم أثناء استعمال طقم الأسنان

الملخص:

أجريت الدراسة في قسم التركيبات السنية. وشملت 93 مريضا (42 امرأة و 51 رجلاً)، تم اختيار العينة من المرضى الذين يرتدون أطقم أسنان كاملة. تم الحصول على البيانات المتعلقة بالجنس والعمر ومدة استخدام أطقم الأسنان والرعاية الصحية وارتداء أطقم الأسنان ليلا والأعراض ووجود التهاب الفم. تم تقسيم المرضى إلى مجموعتين. المجموعة (أ): تضمنت 60 مريضاً فحصوا التغيرات الالتهابية في الغشاء المخاطي أسفل قاعدة طقم الأسنان؛ المجموعة (ب) المصابة بالتهاب الفم السيئة لنظافة الأسنان (73%). لم يلاحظ أي فرق معتمد به إحصائياً بين المجموعتين ($X^2 = 0.5$) لم يكن هناك أي تمييز كبير إحصائياً في العناصر الموضعية مثل عمر طقم الأسنان، والنظافة بين مجموعة الاختبار ومجموعة المراقب. اعتاد تقرير صحة الفم والأسنان السيئة كالعامل الموضعي أولي يزيد الإصابة بالتهاب الفم.

الكلمات المفتاحية: طقم أسنان، مرتدي أطقم الأسنان، التهاب الفم، الأحياء الدقيقة في الفم.

Abstract:

The study was conducted in the Prosthodontics Department. It included 93 patients (42 women and 51 men), the sample was selected from patients with a completely edentulous wearing complete dentures. Data related to gender, age, length of denture use, hygiene care, nocturnal denture wear, symptoms, and presence of DS was obtained. Patients were divided into 2 groups. Group (a): included 60 patients who examined with inflammatory changes of the mucosa below the denture base; Group (b): 33 patients without inflammatory changes of the mucosa below the denture base. Sixty patients (65 %) had been observed positive with inflammatory signs of the mucosa beneath the denture base. Group (a) with denture stomatitis bad denture hygiene (73%). No statistically significant difference was seen between both groups ($X^2 = 0.5$). There was once no statistically tremendous distinction in the local elements such as denture age, and hygiene between the test and control groups. Poor oral and denture hygiene used to be decided as preliminary local thing predisposing to denture stomatitis.

Keywords: *Denture; denture wearers, stomatitis, oral micro flora.*

Introduction:

The clinical diagnosis of denture stomatitis (DS) is a disease that affects persons who wear removable dentures. Objective indications of the condition include edema and inflammation of the mucosa covered by the denture base (Arendorf, & Walker, 1987; Newton, 1962). Pain, itching, and a burning sensation are characterized as subjective signs and symptoms, yet the majority of DS sufferers are asymptomatic (Wilson, 1998).

Denture stomatitis, also known as prosthetic stomatitis, is an infection of the oral mucosa,

particularly the palatal and gingival mucosa that comes into direct contact with the denture base. It affects 25–67% of the population (Jerolimov, 1983; Moskona, 1992), predominantly women, and the risk of developing it increases as one gets older (Arendorf, 1987). Newton's type is the most widely used clinical phase and categorization system (Newton, 1962).

Denture Stomatitis (DS) reasons sure pathological changes with inside the oral mucosa of the denture bearing tissues (Jeganatha, 2008). These changes are characterized via flat or granular erythematic region and are observed below complete or partial denture each jaws, however extra regularly in the maxilla (Jeganatha, 2008; Greenberg, 2008).

Numerous research have been accomplished in the previous to learn about the motives of the sickness (Jerolimov, 1983; Jurcic, 1999), however the major motive has no longer been agreed upon. Studies have said extraordinary elements inflicting denture stomatitis like annoying occlusion (Newton, 1962) , terrible oral and denture hygiene (Arendorf, 1987), microbial elements (Sweeney, 1994), age of the denture (Jerolimov, 1983 & Lucas, 1989), hypersensitivity to the denture base substances (Fernstr 1997 & Oquist, 1997), residual monomer (Waltimo, 2001), smoking, a number sorts of irradiation, dryness of mouth (Jerolimov, 1983; Jeganatha, 2008; Kreher, 2001), systemic conditions, diabetes mellitus and the internal surface of the denture inflicting irritation of the mucosa (Sweeney, 1994; Budtz, 198).

The objective of this study about used to be designed to inspect of denture stomatitis sings and its relationship to quite a number nearby elements like oral and denture hygiene habits, age of the denture in a pattern of patients admitted to removable Prosthodontics Department, Faculty of Dentistry, University of Asmarya.

Methodology:

The research was carried out at the Prosthetics Department, Faculty of Dentistry, and University of Al-asmariya. It included 93 patients (42 women and 51 men), aged 39 to 76 years with a mean of 63 years the sample was selected from patients with a completely edentulous wearing complete dentures. Patients with systemic conditions (such as diabetes, hypertension, etc), with medications and patients with relined or rebased dentures were not included in the study. They also had to have used the prostheses for at least two years.

The patents were 42 women and 51 men of various ages, with denture wear ranging from two to more than ten years. Hygiene habits, signs of nighttime denture wear, and the presence of a soft tissue lesion were all gathered. Two groups of patients had been created. Group (a): 60 patients with mucosa beneath the denture base inflammatory signs; Group (b): 33 patients with mucosa beneath the denture base inflammatory signals but no mucosa beneath the denture base inflammatory indications.

Case records sheets have been organized alongside with particular for the dental findings of irritation of oral mucosa. Oral hygiene was once estimated with the aid of degrees: degree 0: bad oral hygiene, degree 1: pleasant oral hygiene, and degree 2: good oral hygiene. Degrees of hygiene have been additionally estimated for denture: degree 0: bad

hygiene of the denture (over 1/3rd denture covered with plaque and calculus), degree 1: fine (less than 1/3rd included with plaque and calculus), and degree 2: properly denture hygiene (No plaque and calculus). The age of the denture was previously recorded as well, as seen in Table1.

After comparing the variables in the investigate group to those in the control group which is contained of 33 patients (18 male & 15 female) , the data was evaluated. The significance of the differences was determined using the Chi-square test.

Table 1: Distribution of Patients according to denture age

Code No	Denture age	Group (a)	Group (b)
0	≤ 2 years	0	0
1	3 – 5 years	9	4
2	6 – 10 years	28	8
3	> 10 years	23	21

Results:

Sixty patients (65 %) had been observed positive with inflammatory signs of the mucosa beneath the denture base (Figure 1). Out of ninety three, thirty-three s patients barring inflammatory signs of the mucosa under the denture base.

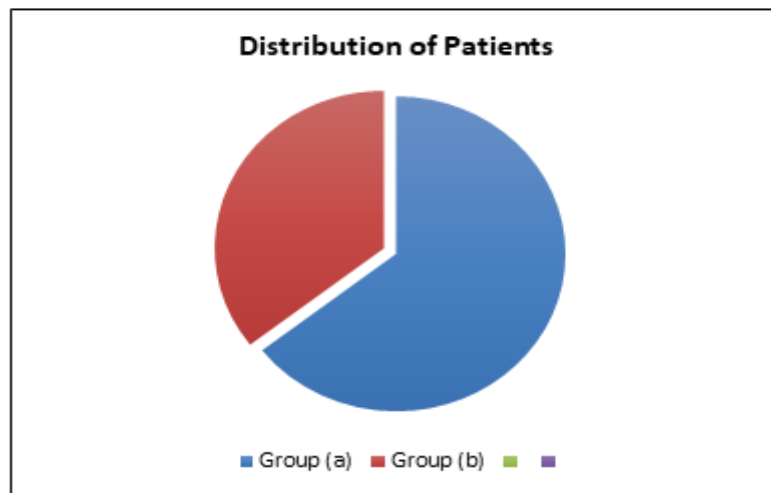


Fig-1: Distribution of Patients in Examined Cases

More than 62% of both groups had s pleasant oral hygiene ($X^2 = 0.6$). Group (a) with denture stomatitis bad denture hygiene (73%). No statistically significant difference was seen between both groups ($X^2 = 0.5$).

Predisposing Local Factors Contributing to Denture Stomatitis(116-121)

Bad oral hygiene used to be viewed to be immediately proportional to depth of inflammation. 84% of the patients had class II irritation (Newton), whereas solely 7% had extreme infection (class III) ($X^2 = 0.3$).

Group (a) confirmed most dentures to be in the vary of 5 to 10 years old, whereas group (b) had dentures greater than 10 years old. The distinction in denture put on time used to be no longer statistically widespread ($X^2 = 0.4$)

Denture age was once now not extensively accountable for the depth of infection ($X^2 = 0.3$) as nicely as denture contamination ($X^2 = 0.9$), though older dentures had been extra infected with stomatitis group (a) as showed in table 2.

Table 2: Significance of variables according to groups

variables	Group (a)	Group (b)	P-Value
Oral hygiene	46	28	0.08
Denture hygiene	32	24	0.5
Age of the denture	10	8	0.3

*Age of the denture (Average of years)

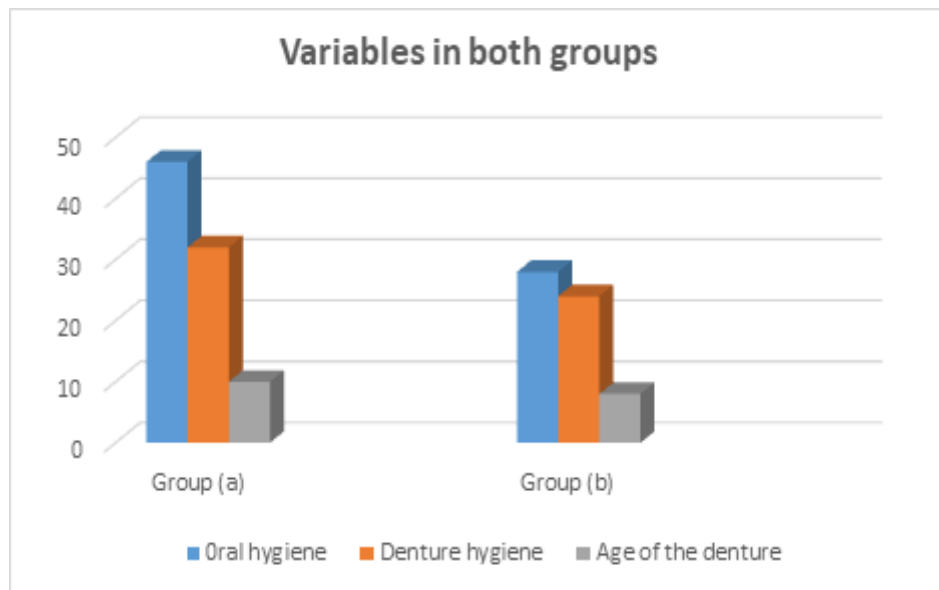


Fig-2: Distribution of variables in both groups

Discussion:

The elements contributing to denture stomatitis have been proven to be assorted and have interplay with nearby and systemic factors. Oral microorganisms exchange after carrying the denture, and this circumstance favors the boom of organisms inflicting denture stomatitis. Newton's class I has been proven to be the end result of trauma, whereas Newton's class III has multivariable interplay phenomenon (Wilson,1998; Cook, 1991).

My research looked at many factors including denture age, denture kind, and dental cleanliness, revealing that there was seldom any statistically significant variation between the control and test teams, demonstrating that the disease can't be totally caused by way of a single neighborhood component.

Palatal infection has been proven to be greater outstanding in patients having bad denture hygiene however manage team did now not exhibit inflammatory changes, which factors out the significance of resistance of oral mucosa to be greater essential predisposing issue, (Waltimo, 2001; Apasalo, 2001). Denture age is proven with the aid of preceding research to be an necessary element as a end result of poor fit, roughness, insufficient hygiene, and accumulation of plaque due to growing older of denture (Sadamori, 1990; Nikawa, 1990; Hamada, 1990). In our study, it was once viewed that best of denture was once more important than the age of the denture (Harrison, 1995; Jagger, 1995; Harrison, 1995).

Highly finished and polished dentures had much less probabilities to get contaminated as in contrast to old dentures which have been maintained in a right condition. However, it may want to now not be denied that getting old of the denture and launch of residual monomer with time effects in poorer in shape which impacts the infection of the denture, Hence, it is proven that denture stomatitis consequences in the mouths of older patients beings as an interaction of a variety of neighborhood and systemic elements and completely denture put on can't be taken as a reason of stomatitis when applicable oral and denture hygiene strategies are adopted.

Conclusion:

There was once no statistically tremendous distinction in the local elements such as denture age, and hygiene between the test and control groups. However, the severity of infection of the denture with the aid of fungus had a said relation with the depth of inflammation. Poor oral and denture hygiene used to be decided as preliminary local thing predisposing to denture stomatitis.

Denture hygiene instructions, follow-up, and reinforcement are very integral for the common fitness of the oral cavity after denture rehabilitation.

References:

Arendorf, T. M., & Walker, D. M. (1987). Denture stomatitis: a review. *Journal of oral rehabilitation*, 14(3), 217-227.

Budtz-Jørgensen, E. (1981). Oral mucosal lesions associated with the wearing of removable dentures. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 10(2), 65-80.

Cook, R. J. (1991). Response of the oral mucosa to denture wearing. *Journal of dentistry*, 19(3), 135-147.

Dorocka-Bobkowska, B., Budtz-Jørgensen, E., & Wtoch, S. (1996). Non-insulin-dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 25(8), 411-415.

Fernstrom, A., I., & Oquist, G. (1997). Location of the allergenic monomer in warm-polymerized acrylic dentures. Part I: causes of denture sore mouth, incidence of allergy, different allergens and test methods on suspicion of allergy to denture material—a survey of the literature. Case report, allergenic analysis of denture and test casting,” *Swedish Dental Journal*, 4(6).

- Jagger**, D. C., & Harrison, A. (1995). Denture cleansing--the best approach. *British dental journal*, 178(11), 413-417.
- Jeganathan**, S.; Payne, J.A. & Thean, H. P. (1997). Denture stomatitis in an elderly edentulous Asian population. *J Oral Rehabil*; 24: 468-472.
- Jerolimov**, V. (1983). Učestalost upalnih promjena sluznice ispod gornje totalne proteze. *Acta Stomatologica Croatica*, 17(3), 227-231.
- Kreher**, J. M., Graser, G. N., Handelman, S. L., & Eisenberg, A. D. (1991). Oral yeasts, mucosal health, and drug use in an elderly denture-wearing population. *Special Care in Dentistry*, 11(6), 222-226.
- Lucas**, V. S. (1993). Association of psychotropic drugs, prevalence of denture-related stomatitis and oral candidosis. *Community dentistry and oral epidemiology*, 21(5), 313-316.
- Moskona**, D., & Kaplan, I. (1992). Oral lesions in elderly denture wearers. *Clinical preventive dentistry*, 14(5), 11-14.
- Naik**, A. V., & Pai, R. C. (2011). A study of factors contributing to denture stomatitis in a north Indian community. *International journal of dentistry*, 2011.
- Newton**, A.V. (1962). Denture sore mouth: A possible etiology. *Br Dent J*; 112: 357-60.
- Sadamori**, S., Kotani, H., Nikawa, H., & Hamada, T. (1990). Clinical survey on denture stomatitis. 2. The relation between the maintenance of denture and denture stomatitis. *Nihon Hotetsu Shika Gakkai Zasshi*, 34(1), 202-207.
- Sweeney**, M. P., Bagg, J., Fell, G. S., & Yip, B. (1994). The relationship between micronutrient depletion and oral health in geriatrics. *Journal of oral pathology & medicine*, 23(4), 168-171.
- Waltimo**, T., Vallittu, P., & Haapasalo, M. (2001). Adherence of *Candida* species to newly polymerized and water-stored denture base polymers. *International Journal of Prosthodontics*, 14(5).
- Wilson**, J. (1998). The etiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Br Dent J*; 185(8): 380-4.
- Woo**, S. B., & Greenberg, M. S. (2008). Ulcerative, vesicular and bullous lesions. *Burket's oral medicine*, 10, 41-76.

The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants

Sadg Saleh Abdlnabi Saleh¹, Amtir Alhade Amran², Abdulnaser Ahmed Aldeeb³
^{1,2,3}Higher Institute for Agricultural Technology, Alkhadra, Tarhuna, Libya
allwysadg@gmail.com

التأثير التثبيطي لأربعة مستخلصات نباتية لمقاومة الفطريات التي تصيب نبات الطماطم

المستخلص:

يختلف النشاط التضادي لكل مستخلص نباتي باختلاف كلا من الفطريات وتركيز المستخلص. حيث تزداد النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري بزيادة تركيز المستخلص - لوحظ أن حساسية أو مقاومة الفطريات ضد فعل كل مستخلص نباتي تعتمد على اختلاف الفطريات اتجاه المركبات الكيميائية لكل مستخلص. وجد أن مستخلص الثوم والزعرتر كانا ذو قدرة فائقة وتأثير تضادي فعال ضد نمو الفطريات الممرضة للنبات (60.14، 56.31% على التوالي) في المتوسط. وأظهرت مستخلصات كلا من الحلبة والزنجبيل أنهما ذات قدرة تضاد قليلة من حيث تأثيرهما على نمو الفطريات (41.41، 35.60% على التوالي) في المتوسط. ولوحظ أن استعمال 10% من مستخلص الثوم تحت ظروف الصوبة أدى إلى مقاومة الفطر *Fusarium solani* (أحد مسببات موت البادرات) حيث زادت النسبة المئوية للنباتات القائمة الحية إلى 60% عند مقارنتها بالكنترول (6.66%) وأن استعمال الثوم بمعدل 5% لمقاومة الفطر *Fusarium oxysporum* (المسبب الثاني للمرض) أدى إلى زيادة في النسبة المئوية للنباتات القائمة (46.67%) بالمقارنة مع الكنترول (13.33%). لوحظ أن استعمال الزعرتر بمعدل 20% لمقاومة الفطر، *Sclerotinia sclerotiorum*، *Rizoctonia solani* أدى إلى زيادة النسبة المئوية للنباتات السليمة القائمة إلى 33.34، 33.33% بالمقارنة بالكنترول لكلا منها (0.0%).

الكلمات المفتاحية: الفطريات، الأمراض، المستخلص النباتي، نبات الطماطم.

Abstract:

Fungal diseases of cultivated crops remain the principal limitation to increase agricultural production every year. In the present research, it was found that the antifungal activity of each tested plant extract was differed with its used concentration. The in vitro studies revealed that inhibition percentage of fungal growth was increased with increasing of applied concentration. The sensitivity or resistance of fungi was depending on their variability. Garlic extract, followed by thyme exhibited a good antifungal effect since they caused a severe reduction of the fungal growth, being 60.14 and 56.31%, respectively. On the contrary, the extract of ginger and fenugreek had least activity in this concern, being 35.60 and 41.41%, respectively. Under the greenhouse conditions, it was noticed that use of 10% of garlic extract led to control of *Fusarium solani* which causes On the contrary, the extract of ginger and fenugreek had least activity in this concern, being 35.60 and 41.41%, respectively. Under the greenhouse conditions, it was noticed that use

The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants(122-132)

of 10% of garlic extract led to control of *Fusarium solani* which causes seedlings damping-off disease of tomato since it increases the percentage of survival plants to 60.00 % if compared to the control (6.66%).

Meantime, usage of 5% of the same extract, i.e. garlic extract was the second treatment in its effect to control *Fusarium oxysporum* compared to the control, the analogous values of survival plants were 46.67 and 13.33%, respectively.

On the other hand, it was found that use of thyme extract at the rate of 20% to control either *Rhizoctonia solani* or *Sclerotinia sclerotiorum* led to 33.33% of survival tomato plants compared with the control. being 0%.

Keywords: *Fungal, diseases, plant extract inhibition.*

Introduction:

The protection of plant from various pathogens remains a primary concern of agriculture scientists (Guleria and Kumar, 2006). In the greenhouse and fields, the use of fungicides is considered the most mean of controlling fungal diseases. Although this method has been effective, some major problems are involved besides their negative effect on human and animal health and also on the agro – ecosystem (Pinto *et al.*, 1998). The plants have ability to synthesize aromatic secondary metabolites and have antimicrobial effect (Das *et al.*, 2010).

One of the major pharmacological properties of medicinal plants is their antimicrobial activity (Bansod and Rai, 2008). Plant extracts have been reported to be effective antimicrobials

against food and grain storage fungi, foliar pathogens and soil – borne fungi (Bowers and Locke, 2000).

Therefore, the application of plant extracts for control diseases is non-hazardous and friendliness to the environment.

Seedling damping-off and root rot disease is worldwide spread in crop growing area and causing significant economic losses

The present research aims to study the *in vitro* antifungal activity of four different aqueous extracts namely; garlic, thyme, ginger and fenugreek on the growth of four pathogenic fungi that caused damping- off and root rot disease of tomato caused by *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* and *Sclerotinia sclerotiorum*. In addition to the effect of some extracts that were more active in vitro studies to control the disease under the greenhouse conditions was evaluated.

Materials and methods:

1- Source of the plant materials:

Four different plants namely: fenugreek (*Trigoneila foenumgraecum*L.), garlic (*Allium sativum* L.), ginger (*Zingiber officinale* L.) and thyme (*Thymus vulgaris*L.) were collected from the local markets at Tarhona- Libya.

2-Used fungi:

Four different fungi(*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*) were isolated from infected tomato with seedlings damping – off and root rot disease and used in this research. All the above fungi were maintained on Potato Dextrose + Agar medium (PDA) in the refrigerator until use.

3- Preparation of aqueous plant extracts:

Plants were washed with tap water to remove any dust, and then left to dry at room temperature. The dried samples were soaked with distilled water for 3 days and dried at 30C for 3 days in a hot air oven, then crushed to make powder. One hundred gms. of each plant were extracted in a blender by adding 100ml of distilled water (1:1W/v).

The obtained extracts were individually filtered through What man N0.1 filter Erlenmeyer flasks, plugged with separately cotton and heated at 50 C° for 15 minis. to avoid contamination and kept in the refrigerator for a maximum time of one week.

4- Antifungal activity of plant extracts in vitro:

The antifungal activity of aforementioned four plant extracts (fenugreek, garlic, ginger and thyme) was evaluated by poisoned food technique as described by (Bansal and Gupta, 2012) for their efficacy against of the growth of previous our phytopathogenicfungi.

Different concentrations (1, 5, 10, 15 and 20%) of each plant extract were prepared with sterilized distilled water and incorporated to sterilized PDA medium, just before solidification and thoroughly mixed with the medium.

Each concentration was poured in sterilized Petri dishes.

The medium without any extract was used as control.

The mycelia discs of the phytopathogenic fungi were prepared using a sterilized cork borer (5mm in diameter) from 10-days old cultures margin and placed in the center of each Petri dish.

Each treatment was replicated three times. All the plates were incubated at 25±2 C°. The fungal growth was measured (mm) when the growth in the control treatment reached to the edge of plate. The growth inhibition percentage was calculated by using the following formula (Nwachukwu and Umechuruba, 2001).

$$\% \text{ MGI} = \frac{x_1 - x_2}{x_1} \times 100$$

Where:

%MGI refers to% of mycelia growth in inhibition.

X1 refers to the diameter (mm) of the growth in the control.

X2 refers to the diameter (mm) of the growth in any treatment.

5- Antifungal activity of plant extracts under the greenhouse conditions:

In this part, the plant species extract that proved to be more active on the fungal growth inhibition *in vitro*, were used to evaluate their role to control tomato seedlings ping damping- off and root rot disease according to the method of (Watterson, 1986).

5.1. Inoculums preparation:

Barley medium consisting of 75gm barley grains and 100ml of distilled water was prepared in a 500ml glass bottles. The medium was sterilized and left to cool, then inoculated with (5mm) disc of 15 days- old agar culture of each used fungus. The inoculated bottles were incubated at 25±2 C° for 15 days.

5.2. Pots and soil infestation

Plastic pots (No.15) were rinsed in 5% formalin solution for 10 mines. and left to air

dry for 10 days. The soil was sterilized using the autoclave.

5.3. Inoculation process

The aforementioned prepared pots were filled with the sterilized soil. The inoculum of each desired fungus was thoroughly mixed with the soil at the rate of 3% of soil weight (Elian, 1978). The inoculated soil was irrigated periodically for 14 days before seed planting to ensure each of the inoculum spreading.

The tomato seeds cultivar Rey Kharandy were surface sterilized as usually with sodium hypochlorite solution (2%), then soaked in each tested concentration of the active extracts for 24 hrs. that resulted from the in vitro studies (5 and 10% of garlic extract and 20% of thyme extract). Five seeds of tomato were grown in each pot. Other post that inoculated with each fungus and the tomato seeds were soaked for the same period in sterilized distilled water instead of the extract was used as control. Three post were employed for each treatment. After 2 and 4 weeks of sawing, the percentage of pre- and post-emergence damping-off was determined, respectively. Also, the percentage of survival tomato plants was calculated after 6 weeks from sowing.

Statistical analysis

The analysis of variance according to the procedure of (Snedecor and Cochran, 1980) Significant used to verify was. the Differences between treatments.

Results and discussion:

Antifungal activity of aqueous plant extracts in vitro the aqueous extract of four different medicinal plants were screened against the growth of four pathogenic fungi to investigate their antifungal activities by poisoned food technique.

1- Effect of aqueous extract of thyme on the growth inhibiton of four phytopathogenicfungis:

Data obtained are presented in Table (1).

It was found that there was significant increase in the inhibitory effect of the mycelia growth with the increase of concentration from 1 to 20 %. At 20 % of thyme extract, the growth of all tested fungi was completely inhibited (100%) and this might be attributed to that highly concentration of inhibitory effect. Meantime, the action of thyme extract was significantly differed from one fungus to another. *Fusarium oxsporaum* was more sensitive, followed by *Rhizoctonia solanion* the contrary: *Fusarium solani* was most resistant to the action of plant extract.

The corresponding values of growth inhibition were 69.23, 61.56 and 41.30 %, respectively.

The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants(122-132)

Table (1): The inhibitory effect of aqueous extract of thyme (*Thymus vulgaris* L.) at different concentrations on the growth of four phytopathogenic fungi.

Phytopathogenic fungi	Growth inhibition (%)					Average
	Extract concentration (%)					
	1	5	10	15	20	
<i>Fusarium oxysporum</i>	27.81	38.89	87.96	91.48	100.0	69.23
<i>Fusarium solani</i>	21.30	25.00	27.78	32.41	100.0	41.30
<i>Rhizoctonia solani</i>	23.15	32.41	63.89	88.33	100.0	61.56
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	17.62	31.48	34.36	82.41	100.0	53.15
Average	22.47	31.95	53.50	73.66	100.0	56.31
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

L.S.D. (0.05) for fungi =1.957, 0.649, 0.205, and 0.444 respectively.

The obtained results are in agreement with those recorded by (ALRahmah *et al.*, 2013) who studied the fungicidal activity of methanolic plant extracts of thyme for its antifungal efficiency

On tomato phytopathogenic fungi (*Fusarium oxysporum*, *Pythium aphanidermum* and *Rhizoctonia solani*)

2- Effect of fenugreek aqueous extract on the growth inhibition of four phytopathogenic fungi:

Data in Table (2) show that as the concentration of extract increased, the percentage of pathogen growth inhibition also significantly increased.

No fungal growth inhibition even using 20% of fenugreek extract concentration and this indicates that this extract has least potential to inhibit the growth. On the other hand, the pathogenic fungi were differed in their sensitivity to the action of fenugreek extract. *Fusarium solani* was significantly more sensitive, whereas *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani* were significantly more resistant to the extract. The analogous values were 55.62, 20.37 and 40.74 %, respectively. This variation among the pathogenic fungi might be due to difference in their genetic construction and / or difference in the chemical and structural composition of the fungal cell walls.

The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants(122-132)

Table (2): The inhibitory effect of aqueous extract of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) at different concentrations on the growth of four phytopathogenic fungi:

Phytopathogenic fungi	Growth inhibition (%)					Average
	Extract concentration (%)					
	1	5	10	15	20	
<i>Fusarium oxysporum</i>	35.19	43.52	45.37	47.22	48.15	43.89
<i>Fusarium solani</i>	47.22	48.15	50.82	64.11	67.78	55.62
<i>Rhizoctoniasolani</i>	19.44	33.33	35.18	52.78	62.96	40.74
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	11.11	11.11	13.89	18.52	47.22	20.37
Average	18.24	33.78	36.32	45.66	56.53	41.41
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

L.S.D. (0.05) for fungi: 0.052, 0.213, 4.564 and 0.218, respective

The obtained data are in disagreement with those recorded by (Makai and Balatincz, 1998) who stated that the use of plant extracts that contain a lot of active compounds are considered to be successful alternative to the chemicals in improving the shelf life of fruits and vegetables. The extract of fenugreek seeds is rich in protein, fat, carbohydrates, fluid materials, nutrients and vitamins, beside contains many active substances such as alkaloids and glycosides.

Also (Othman et al., 2020) determined the antifungal activities of nine kinds of powdered plant extracts and five essential oils in vitro against four of the most common fungal species *Aspergillus* spp. *Penicillium* sp.

3- Effect of ginger aqueous extract on the growth inhibition of four phytopathogenic fungi:

It was found a significant increase of the inhibitory effect on the mycelia growth accompanied with concentration increased (Table 3) only the growth of *Rhizoctonia solani* was completely inhibited at the highest concentration, i.e. 20%.

Fusarium solani was more sensitive to the action of ginger extract. On the other hand, *Fusarium oxysporum*, followed by *Rhizoctonia solani* were more significantly resistant to the extract. The corresponding values were 42.93, 21.86 and 38.54%, respectively.

The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants(122-132)

Table (3): The inhibitory effect of aqueous extract of ginger (*Zingiberofficinole* L.) at different concentrations on the growth of four phytopathogenicfungi:

Phytopathogenic fungi	Growth inhibition (%)					Average
	Extract concentration (%)					
	1	5	10	15	20	
<i>Fusarium oxysporum</i>	11.11	11.11	19.44	23.18	44.44	21.86
<i>Fusarium solani</i>	24.26	34.07	45.74	51.67	58.89	42.93
<i>Rhizoctoniasolani</i>	13.92	14.88	21.29	42.59	100.00	38.54
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	14.88	17.59	44.44	51.85	66.46	39.54
Average	16.04	19.41	32.73	42.32	67.45	39.05
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

L.S.D. (0.05) for fungi =0.103, 0.251, 0.239 and 0.122, respectively

The obtained data are in the line of those recorded by (Shovan *et al.*, 2008) who reported that ginger extract gave 39.83% reduction in colony diameter at the highest concentration due to its fungi static and fungicidal activity. The low effect on the other hand indicates that it has least potent to inhibit the growth among all the studied plant extracts.

On the contrary, the results are somewhat in agreement with those recorded by (Ramanathan *et al.*, 2004) who found that thyme extract showed complete suppression on colony growth of *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctoniasolani*, followed by extract of ginger. The difference between these results might be due to varied of the fungal species.

4- Effect of garlic aqueous extract on the growth inhibition of four phytopathogenicfungi:

Data in Table (4) reveal that the percentage of growth inhibition of the pathogen was significantly increased as concentration of garlic extract was increased. On the average, at 1 % concentration, the growth inhibition was 19.13%, whereas at 20%, the growth inhibition reached to 88.20% at 20% concentration, the growth of each of *Rhizoctoniasolani*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* was completely inhibited being 100%. In addition, the growth of the *Fusarium oxysporum* was also completely inhibited at 5% of garlic extracts while *Fusarium solani* was completely inhibited at 10%. Only *Sclerotinia sclerotiorum* still grows at all used concentrations and this might be due to that, this fungus formed sclerotia in the cultures that resistant to some compounds of the extract. Therefore, *Sclerotinia sclerotiorum* proved to be more resistant to the action of extract, followed by *Rhizoctonia solani*. The corresponding values were 35.37 and 52.97 %, respectively.

The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants(122-132)

Table (4): The inhibitory effect of aqueous extract of garlic (*Allium sativum* L.) at different concentrations on the growth of four phytopathogenic fungi:

Phytopathogenic fungi	Growth inhibition (%)					Average
	Extract concentration (%)					
	1	5	10	15	20	
<i>Fusarium oxsporaum</i>	20.37	100.0	100.0	100.0	100.0	84.07
<i>Fusarium solani</i>	13.89	26.85	100.0	100.0	100.0	68.15
<i>Rhizoctoniasolani</i>	15.77	22.22	44.45	82.41	100.0	58.97
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	26.39	27.78	34.73	35.18	52.78	35.37
Average	19.13	44.13	69.80	79.40	88.20	60.14
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

L.S.D. (0.05) for fungi =0.104, 0.290, 0.175 and 0.165, respectively.

The obtained results are in the line with those reported by (Shukla and Dwivedi, 2012) who used garlic to control two *Fusarium* species that causing wilt Also disease, (Tagoe *et al.*, 2011) indicated that garlic had potential antifungal properties (contains essential oils with sulfur compounds, vitamins, hormones and antiseptic substances as allicin).

From all the above-obtained results, it could be concluded that *Allium stivum* was the best-effected extract, followed by *Thymus vulgaris*

5- Effect of some plant extracts at specific concentrations on the control of seedlings damping-off and root rot disease of tomato under the greenhouse conditions:

Under the greenhouse conditions, the effect of two plant extracts i.e. thyme at 20% and garlic at 5 and 10% were evaluated for their role to control seedlings damping-off and root rot disease of tomato using cultivar Rey Khrandy.

Results in the (5) dealing with the effect of different treatments on the percentage of pre-emergence damping –off reveal that use 5 and 10% of garlic extract significantly reduced the infection with the disease caused by *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solanito* 20.00 % and 0.0, respectively compared to the control (46.67 and 26.67 %) respectively. On the other hand, thyme extract at 20% also significantly reduced the infection caused by *Rhizoctonia solani* to 46.67 % in comparison with the control, being 66.67. On the contrary, thyme at 20% significantly increased the infection caused by *Sclerotinia sclerotiorum* to 53.33% compared to the control (40.00%). This might be due to produce developing sclerotia and led the fungus to be resistant against the preliminary of its present in the soil.

The inhibitory effect of four different plant extracts to control some fungi infecting tomato plants(122-132)

Table (5): Effect of soil infestation, individually, with some fungi that previously isolated from infected from tomato plants on the percentage of pre-, post- emergence damping – off and percentage of survival tomato plants:

Soil infestation treatments	Pre-emergence	Post-emergence	% survival tomato plant
<i>Fusarium oxysporum</i> +immersed tomato seeds in 5%garlic extract	20.00	33.33	46.67
Control	46.67	40.00	13.33
<i>Fusarium solani</i> +immersed tomato seeds in 10%garlic extract	0.0	40.00	60.00
Control	26.67	66.67	6.66
<i>Rhizoctonia solani</i> +immersed tomato seeds in 20% thyme extract	46.67	20.00	33.33
Control	66.67	33.33	0.0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> +immersed tomato seeds in 20% thyme extract	53.33	13.33	33.34
Control	40.00	60.00	0.0

L.S.D. (0.05) =17.23

The obtained results are in agreement with those reported by (Shukla and Dwivedi, 2012) who used garlic extract to control two fusarial species that causing with disease (AL-Rahmah *et al.*, 2013) Concerning with the effect of two used plant extracts on the percentage of post- emergence damping off, results in Table (5) indicate that thyme extract at 20% significantly reduced the infection with post- emergence damping-off caused by *Sclerotinia sclerotiorum* to 13.33% compared with the control((60.00%), followed by that caused by *Rhizoctonia solani*(20.0 and 33.33%, respectively).

Meantime, usage of 5% and 10% garlic extract also decreased the infection caused by *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* to 33.33 and 40.0% compared to the control, being 40.0 and 66.67%, respectively. Dealing with the effect of the disease on the percentage of survival tomato plants, results in Table (5) show that usage of 10% of garlic extract in the presence of *Fusarium solani* in the soil led to a significant increase of the percentage of survival plants to 60.00% if compared with the control (6.66%). Meantime, the soil infested with *Fusarium oxysporum* and use of 5% of garlic extract was the second in this respect, being 46.67 % and 13.33 % respectively. The least percentage of survival tomato plants was obtained when the soil was individually infested with *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*.The analogous values were 33.34 and 33.33%, respectively compared with the control of each one (0.0%).

The variation in the fungi toxicity of plant extracts against the phytopathogenic fungi might be due to considerable variations in their constituent's fungal species (Manorantitham, *et al*, 2001). It could be concluded that the action of plant extract in vitro was in par ell of its activity under greenhouse conditions.

**The inhibitory effect of four different plant extracts to control some
fungi infecting tomato plants(122-132)**

Recommendations

- 1-Plant extracts have a great potential as antifungal compounds against most microorganism. Thus, they can be used in the treatment of plant diseases caused by resistant fungi to other methods of control.
- 2- Further studies are needed to find new plants that have more effect on the in vitro growth of most pathogenic fungi and hence decrease of plant diseases.
- 3- More studies should be carried out to determine the major active components of the excellent plant extracts that have a high antifungal activity.

References:

- Al-Rahmah**, A. N., Mostafa, A. A., Abdel-Megeed, A., Yakout, S. M., & Hussein, S. A. (2013). Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 7(6), 517-524.
- Bansal**, R. K., & Gupta, R. K. (2012). Evaluation of plant extracts against *Fusarium oxysporum*, wilt pathogen of fenugreek. *Indian Phytopathology*.
- Bansod**, S., & Rai, M. (2008). Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *World Journal of Medical Sciences*, 3(2), 81-88.
- Bowers**, J. H., & Locke, J. C. (2000). Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of Fusarium wilt in the greenhouse. *Plant disease*, 84(3), 300-305.
- Das**, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4(2), 104-111.
- Elian**, M. I. (1978). Studies on root rots disease of barley in ARE MSc thesis. Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Egypt, 20-22.
- Guleria**, S., & Kumar, A. (2006). Antifungal activity of some Himalayan medicinal plants using direct autography. *J. Cell Mol. Biol*, 5, 95-98.
- Makai**, S., & Balatincz, J. (1998). Study of seed produce and protein content of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Man-Agriculture-Health*, Gödöllő, 9, 167-171.
- Manorantitham**, S. K., Prakasam, V., & Rajappan, K. (2001). Biocontrol of damping off of tomato caused by *Pythium aphanidermatum*. *Indian Phytopathology*, 54(1), 59-61.
- Nwachukwu**, E. O., & Umechuruba, C. I. (2001). Antifungal activities of some leaf extracts on seed-borne fungi of African yam bean seeds, seed germination and seedling emergence. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 5(1), 29-32.
- Othman**, M., Saada, H., & Matsuda, Y. (2020). Antifungal activity of some plant extracts and essential oils against fungi-infested organic archaeological artifacts. *Archaeometry*, 62(1), 187-199.
- Pinto**, C. M. F., Maffia, L. A., Casali, V. W. D., & Cardoso, A. A. (1998). In vitro effect of plant leaf extracts on mycelial growth and sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum*. *Journal of phytopathology*, 146(8-9), 421-425.
- Ramanathan**, A., Marimuthu, T., & Raguchander, T. (2004). Effect of plant extracts on growth in *Pythium aphanidermatum*. *J. Mycol. Plant Pathol*, 34, 315-317.

**The inhibitory effect of four different plant extracts to control some
fungi infecting tomato plants(122-132)**

Shovan, L. R., Bhuiyan, M. K. A., Begum, J. A., & Pervez, Z. (2008). In vitro control of *Colletotrichum dematium* causing anthracnose of soybean by fungicides, plant extracts and *Trichoderma harzianum*. Int. J. Sustain. Crop Prod, 3(3), 10-17.

Shukla, A., & Dwivedi, S. K. (2012). Bioefficacy of plant extracts against *Fusarium* species causing wilt in pulses. IOSR Journal of Engineering, 2(1), 136-144.

Snedecor, G. W., & Cochran, W. G. (1980). Statistical methods. 7th edn (Iowa State University Press: Ames, IA).

Tagoe, D. N. A., Nyarko, H. D., & Akpaka, R. (2011). A comparison of the antifungal properties of onion (*Allium cepa*), ginger (*Zingiber officinale*) and garlic (*Allium sativum*) against *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Cladosporium herbarum*. Research Journal of Medicinal Plants, 5(3), 281-287.

Watterson, J. C. (1986). Diseases, the tomato crops. Atherton and Rudich. Chapman and Hall Ltd. Ny, 461-462.

Assessment of vitamin D deficiency for those who visit some laboratories in Tarhuna

Saleh Abdualkarim

Biology Department, Faculty of Science, Azzaytuna University, Tarhuna, Libya.

Saleh.abdualkarim@yahoo.com

تقييم نقص فيتامين د لدى الافراد المترددين علي المعامل الطبية بمنطقة ترهونة

المستخلص:

نقص فيتامين د يؤثر بشكل سلبي علي تكلس العظام مسببا مرض الكساح في صغار السن وهشاشة العظام لدى البالغين. الفيتامين يلعب دور هام في الاتزان الداخلي لعنصر الكالسيوم وترسب المعادن بالعظام. البيانات المتعلقة بمستويات الفيتامين لدى مجتمع الدراسة المتمثل في اولئك الافراد الذين ترددوا علي معامل التحليل بمدينة ترهونة لغرض اجراء تحليل الفيتامين، تم تقريغ البيانات في ثلاث فئات بناء علي تصنيف المعهد الطبي (IMO) حيث كانت الفئات كالتالي: أفراد لديهم مستويات كافية للفيتامين (أكثر من 30 نانوجرام/ مليلتر) أفراد بمستويات غير كافية للفيتامين (30 إلى 20 نانوجرام/ مليلتر) أفراد لديهم عوز الفيتامين (أقل من 20 نانوجرام/ مليلتر)، الدراسة الحالية هنا أظهرت انتشار نقص الفيتامين فيما بين الاناث أكثر من الذكور حيث أن أعداد الإناث اللواتي لديهن مستويات طبيعية للفيتامين تمثل فقط 15% في حين أن أعداد الذكور الذين لديهم مستويات طبيعية من الفيتامين مثلت 40%، كما أوضح التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي انتشاراً ذو معنوية عالية ($P=0.01$) لنقص الفيتامين فيما بين الاناث مقارنة بالذكور. بالنسبة لمستويات الفيتامين فيما بين الفئات العمرية في مجتمع الدراسة كانت كما يلي: أظهرت نتائج الدراسة أن الفئة العمرية من 17 سنة أو أقل 21.6 % من عدد أفرادها لديهم مستويات طبيعية أما الفئة العمرية من 18 إلى 35 سنة 13.8 % فقط من عدد أفرادها لديهم مستويات طبيعية في حين الفئة العمرية من 36 إلى 55 سنة 19.3 % من عدد أفرادها لديهم مستويات طبيعية والفئة العمرية من 56 إلى 70 سنة 22.7% من عدد أفرادها لديهم مستويات طبيعية وأخيرا الفئة العمرية 71 سنة فما فوق 28.6 % من عدد أفرادها لديهم مستويات طبيعية. التحليل الإحصائي أظهر اختلافاً ذو معنوية لانتشار نقص الفيتامين فيما بين الفئات العمرية المختلفة حيث تبين أن الفئة العمرية من 18 إلى 35 سنة لديها أقل مستويات من الفيتامين وذلك من خلال استخدام اختبار LSD.

الكلمات المفتاحية: فيتامين د، كاف، غير كاف، نقص حاد.

Abstract:

vitamin D low levels negatively affect bone mineralization causing rickets in children and osteomalacia in adults it is involved calcium homeostasis and mineralization of bones. All data regarding levels of vitamin D have been classified as sufficient (>30 ng/mL),

insufficient (20–30 ng/mL) and deficient (<20 ng/mL) according to the classification of institute of medicine (IMO). Current study is reported here prevalence vitamin D deficiency in females more than males. The study is showed by the chi square test that the females exhibits highly significant prevalence vitamin D deficiency ($P= 0.01$). Males who having sufficient level of vitamin D represent 40% whereas females who having sufficient level of vitamin D represent 15%. According to the age group The finding in this research are as following, the age group ($17 \geq$ years old), recorded 21.6% as sufficient level of vitamin D. In the age group (18-35years old), recorded just 13.8% as sufficient which is the normal level that is the lowest found. The third age group (36-55 years old), recorded 19.3% as sufficient. The fourth age group (56-70 years old), recorded 22.7% as sufficient level. Finally The fifth age group ($71 \leq$ years old), the sufficient recorded cases were 28.6. There are significant differences in the level of vitamin D between age groups, using Multiple comparison the study indicated that the group 18-35 years has the lowest level.

Keywords: *vitamin D, sufficient, insufficient, deficient.*

Introduction

Vitamin D considered as a hormone it has very important function in calcium balance in the body and bone calcification (Weaver, 2007). Vitamin D is unique, in terms of its metabolism and physiologic features. Human requirements of vitamin D are obtained from internal synthesis which is activated through exposure to sun light accounts for about 90% of vitamin D (vitamin D3) and external sources which is obtained from food rich in vitamin D. (Chakrabarty et al., 2005; Holick, 2007). Pathway of both Vitamins D3 (cholecalciferol) and D2 (ergocalciferol) are identical so they metabolize in the liver to 25-hydroxyvitamin D (Haddad and Hahn 1973), by the enzyme cytochrome P450 (vitamin D 25-hydroxylases) to 25-hydroxyvitamin D3, which is the common form of vitamin D in the circulation. Further hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D to 1,25 (OH) 2D (active vitamin D) by the 1α -hydroxylase enzyme occurs in the kidney (Garg et al., 2012). A circulation of approximately 10–15 days half life of 25 (OH) D makes it the ideal measure for vitamin D, although the concentration of 25(OH)D in the serum was 8–60 ng/mL or 20–150 nmol/L (Jones, 2008). Vitamin D is an important nutrient for healthy bones, Many researchers have reported that vitamin D low levels negatively affect bone mineralization causing rickets in children and osteocalcin in adults (Holick, 2007; Holick and. Chen, 2008). 25(OH) D below 20 ng/ml is described as vitamin D deficiency, a 25(OH)D of 21–29 ng/ml is described as vitamin D insufficiency. The sufficient level is (>30 ng/mL); (Holick et al., 2011) and (Annweiler et al., 2009), level of vitamin is regulated through the interaction of various factors, including intestinal absorption, renal function, serum calcium level and parathyroid hormone (PTH) (Eastell et al., 2003). The 2 main sources for vitamin D are dietary intake and synthesis in the skin on exposure to ultraviolet-B (UVB) light from sunlight (Chan et al., 2009). Skin pigmentation may play an important role in determining vitamin D levels as darker skin colour may limit the amount of UVB light that penetrates, thereby reducing the cutaneous synthesis of vitamin D (Aloia et al., 2008). Serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] level

is considered to be the best indicator of vitamin D status, with reference ranges from 15 or 16 ng/mL to more than 40 or 48 ng/mL (Heaney, 2004). A 25(OH)D level less than 8 ng/ mL is usually stated as vitamin D insufficiency (Vieth, 1999). Another important measure is the serum PTH level which increases in response to insufficient calcium in order to stimulate bone resorption and increase the serum calcium necessary for the different biological processes in the body, e.g. muscle contraction and nerve conduction (Lips et al., 2001). Many studies have reported an inverse association between serum PTH concentrations and serum 25 (OH) D concentrations (Lips et al., 2001; Nakamura et al., 2008).

Aim of this study

The aim of this study is to evaluate the conditions of vitamin D deficiency in Tarhuna city and to base on wide range of data has been collected from those who visit some laboratories in Tarhuna during period of year 2020.

Material and Methods

Study Population. This study was conducted in Tarhuna city with results of one thousand one hundred and ninety-three subjects those have been collected for the substantiate the study.

Sample: The sample was 1193subjects (males and females). All of them were Libyan nationals living in the Western region of Libya in Tarhuna city. The samples were collected during the year 2020.

Blood Sampling and Laboratory Analysis around 5 mL blood sample was taken from each participant under sterile conditions. Blood was centrifuged to separate the serum and then the serum was analyzed promptly to determine the levels of 25-hydroxyvitamin D. In this study Vitamin D levels are classified into 3 major groups according to the classification of the Institute of Medicine (IOM) (Holick et al., 2011; Annweiler et al., 2009)) sufficient (>30 ng/mL) ,insufficient (20–30 ng/mL) and deficient (<20 ng/mL)

Statistical analysis

Vitamin D levels are compared as per the mentioned categories (sufficient, insufficient and deficient) between gender and ages, the age have been divided into five groups Data presented in tables 1 and 2. Comparison between gender was conducted using chi-square test, whereas comparison between ages was compared using F test to determine whether differences. Data were then presented in tables and figures. The data presented in table 1 and table 2 are levels of vitamin D (sufficient, in sufficient and deficient) according to the gender and ages respectively.

Results and Discussion

The data presented in table 1 is re-represented in table 3 so the observed number of male and female who has sufficient level of vitamin D referred to them as normal and who has insufficient and deficient level incorporated in one category and referred to them as abnormal level of vitamin D. The data in table 3 is used to make comparison between gender regarding the level of vitamin D using chi square test, the chi square test has shown highly significant prevalence vitamin D deficiency in females than males ($P=0.01$). This result appears to be in accordance with the high rates of vitamin D deficiency in female than male which has been reported in previous research 2011 in Saudi Arabia (Elsammak et al., 2011). Normal levels of vitamin D in males were significantly higher

Assessment of vitamin D deficiency for those who visit some laboratories in Tarhuna.....(133-140)

than females Fig. 1 the number of males who having sufficient level of vitamin D represent 40% whereas in females were 15% ($P < 0.01$). Many epidemiology studies, men typically have higher serum 25(OH)D levels than women (Jacques et al. 1997), (Looker et al 2002) and (Zadshir et al., 2005). In current study significant differences ($P < 0.01$) in vitamin D levels were detected between total male and female, which might be explained by the outdoor activity of males, that is, the sun light exposure duration which is more than that of females, and also may be due to the use of sun block by females (Norman et al., 2006), and breast-feeding in nursing mothers (Holick, 2006).

Table 1: The number of male and female who has sufficient, insufficient and deficient level of vitamin D.

Gender	Sufficient (< 30 ng/ml)	Insufficient (20-30 ng/ml)	Deficient (< 20 ng/ml)	Total
Male	80	186	14	280
Female	140	629	147	916
Total	220	815	161	1196

Table 2: The number of each age group that has sufficient, insufficient and deficient level of vitamin

Age	Sufficient (25-100 ng/ml)	Insufficient (12-20 ng/ml)	Deficient (< 12 ng/ml)	Total
17 $\geq$	21	57	19	97
18-35	54	272	65	391
36-55	98	367	44	509
56-70	34	90	26	150
71 $\leq$	14	29	6	49
Total	221	815	160	1196

Table 3: Observed number of male and female who has normal and abnormal level of vitamin D.

Gender	Normal (< 30 ng/ml)	Abnormal (less than 30	Total
Male	81	199	280
Female	140	776	916
Total	221	975	1196

Assessment of vitamin D deficiency for those who visit some laboratories in Tarhuna.....(133-140)

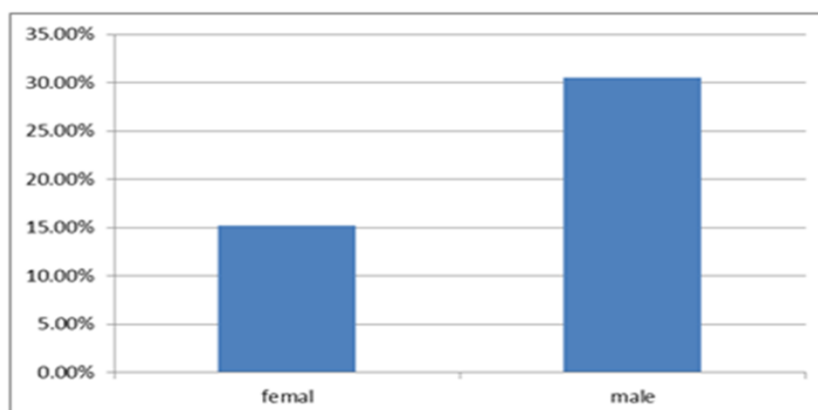


Fig 1: Number of male and female who having normal level of vitamin D as percentage. Females who have normal level of vitamin D represent 15% whereas male with normal level of vitamin D represent 40%.

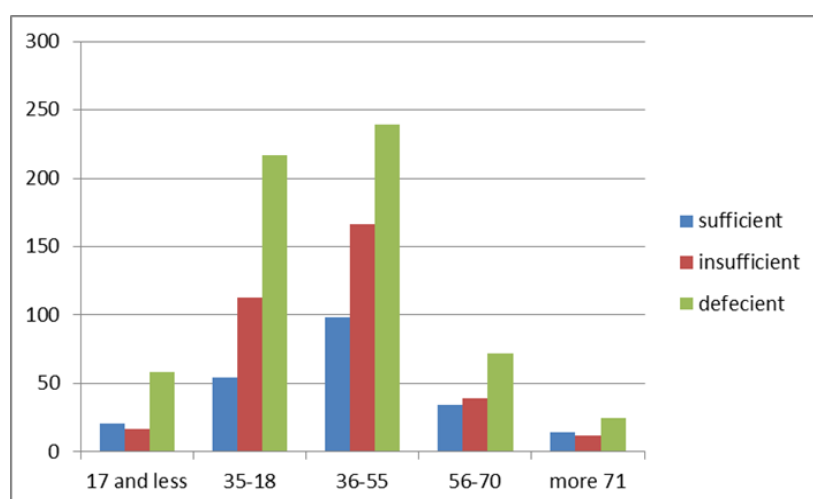


Fig 2: The total cases (normal, insufficient and deficient) according to age group

Fig 2 represents the total cases (normal, insufficient and deficient) depend on age. Normal level of vitamin D according to the age group can be seen from table 2. In the age group (17 $\geq$ years old), there were 21 out of 97 cases recorded as sufficient represent 21.6% In the age group (18-35 years old), there were 54 out of 391 cases recorded as sufficient represent 13.8%. The third age group (36-55 years old), the recorded cases as sufficient were 98 out of 509 that represent 19.3%. The fourth age group (56-70 years old), the sufficient recorded cases were 34 out of 150 represent 22.7%. The fifth age group (71 $\leq$ years old), vitamin normal level of vitamin D was 14 out of 49 represent 28.6% (Fig 3). Vitamin D level in the age group 18-35 has just 13.8 % which is the normal level that is the lowest found in Fig 3.

Assessment of vitamin D deficiency for those who visit some laboratories in Tarhuna.....(133-140)

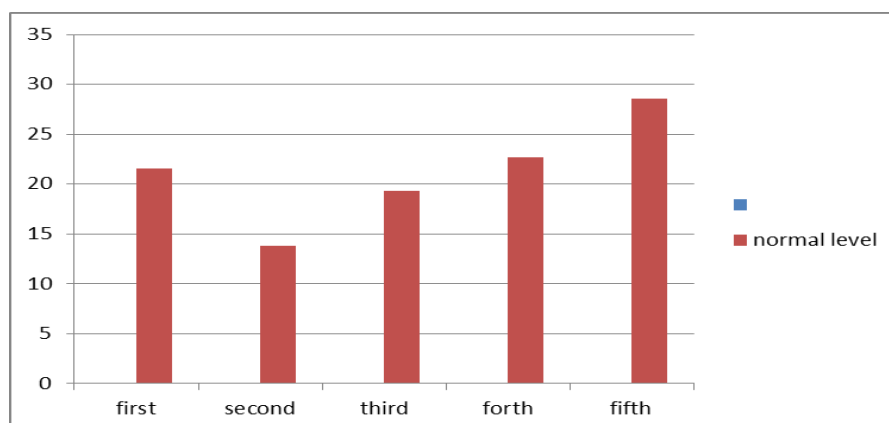


Fig 3: Normal level of vitamin D according to the age group

There was significant difference between ages in these results, F test has shown significant differences table 4. Multiple comparison between the five-age group is illustrated in Table 5 using Least Significant Differences Test (LSD), the test has shown that vitamin D level in the age group 18-35 years is lesser than vitamin D level in the age group 36-55 years and age group 71. In current study this result might be explained by the daily vitamin D intake of young adults is often below the recommended intake of 200 international units (IU) daily (Gartner and Greer 2003) and (Misra et al. 2006). We suggest that many individuals of the age group 18-35 drink carbonated beverages instead of milk, which lead to decreasing the intake of both calcium and vitamin D, these findings are similar to earlier discoveries (Tucker et al., 2006) at the vit D deficiency prevalent in the age group between 18-35.

Table 4: Analysis of variance between ages (Data of 1193 subjects have been used)

Source of variance	Df	Sum square	Means square	F value
Treatment	4	49026.12	12256.53	163.2*
Error	1188	89214.85	75.097	
Total	1192	138240.97		

Table 5: Least significant differences test

comparison	5	4	3	2
1	8.4	6.35	5.39	5.5
2	3.22*	4.7	0.108*	
3	7.12	4.5		
4	7.8			

The age group 1 (17 ≥ years), 2, (18-35 years) 3, (36-55 yers) 4, (56-70years) 5 (71 ≤ years)

Conclusion:

Data of 1193 subjects (279 males and 916 females). All of them living in the Western region of Libya in Tarhuna city. The samples were collected during the year 2020. The current study showed that there was significant differences between male and female regarding levels of vitamin D, the prevalence of vitamin D deficiency in female is much more than male (($P= 0.01$). In addition age categories showed significant difference between ages so the age group (18-35years old), recorded just 13.8% as sufficient which is the normal level that is the lowest found. Further studies are needed to elucidate the mechanism involved in the prevalence of vitamin D deficiency among ages.

References:

- Aloia, J. F., Patel, M., DiMaano, R., Li-Ng, M., Talwar, S. A., Mikhail, M., & Yeh, J. K. (2008). Vitamin D intake to attain a desired serum 25-hydroxyvitamin D concentration. *The American journal of clinical nutrition*, 87(6), 1952-1958.
- Annweiler, C., Allali, G., & Allain P. (2009) "Vitamin D and cognitive performance in adults: a systematic review," *European Journal of Neurology*, vol. 16, no. 10, pp. 1083–1089.
- Chakraborty, S., Wang, H., Canaff, L., Hendy, G. N., Appelman, H., and Varani, J. (2005). "Calcium sensing receptor in human colon carcinoma: interaction with Ca^{2+} and 1,25-dihydroxyvitamin D₃," *Cancer Research*, vol. 65, no. 2, pp. 493–498.
- Chan, J., Jaceldo-Siegl, K., and Fraser, G.E. (2009). Serum 25-hydroxyvitamin D status of vegetarians, partial vegetarians, and nonvegetarians: the Adventist Health Study-2. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89:1686S–1692S.
- Eastell, R., Barton, I., Hannon, R. A., Chines, A., Garnero, P., & Delmas, P. D. (2003). Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *Journal of Bone and Mineral Research*, 18(6), 1051-1056.
- Elsammak., M.Y., Al-Wossaibi, A.A., Al-Howeish, A., and Alsaeed, J. (2011). *High prevalence of vitamin D deficiency in the sunny Eastern region of Saudi Arabia: a hospital-based study*. Eastern Mediterranean Health Journal, Vol. 17 No. 4.
- Garg, M., Lubel, J. S., Sparrow, M. P., Holt, S. G., and Gibson, P. R. (2012). "Review article: vitamin D and inflammatory bowel disease— established concepts and future directions," *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, vol. 36, no. 4, pp. 324–344.
- Gartner, L.M., and Greer, F.R. (2003). Prevention of rickets and vitamin D deficiency: new guidelines for vitamin D intake. *Pediatrics*;111(4 Pt 1):908–10. [PubMed: 12671133].
- Haddad, J. G., and Hahn, T. J. (1973). "Natural and synthetic sources of circulating 25-hydroxyvitamin D in man," *Nature*, vol. 244, pp. 515–527.
- Heaney, R.P. (2004). Functional indices of vitamin D status and ramifications of vitamin D deficiency. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(Suppl.):1706S–1709S.
- Holick, M. F. (2006). "Resurrection of vitamin D deficiency and rickets," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 116, no. 8, pp. 2062– 2072.
- Holick, M. F. (2007). "Medical progress: vitamin D deficiency," *New England Journal of Medicine*, vol. 357, no. 3, pp. 266–281.
- Holick M. F. and Chen, T. C. (2008). "Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences," *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 87, no. 4, pp.

1080S–1086S.

Holick, M. F., Binkley, N. and Bischoff-Ferrari . H. A. (2011). “Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 96, no. 7, pp. 1911– 1930.

Jacques PF, Felson DT, Tucker KL, Mahnen B, Wilson PW, Rosenberg IH, et al.(1997) Plasma 25- hydroxyvitamin D and its determinants in an elderly population sample. *Am J Clin Nutr* ;66(4): 929–36. [PubMed: 9322570].

Jones, G. (2008). “Pharmacokinetics of vitamin D toxicity,” *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 88, no. 2, pp. 582S–586S.

Lips, P., Duong, T. U., Oleksik, A., Black, D., Cummings, S., Cox, D., ... & Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation Study Group. (2001). A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(3), 1212-1221.

Looker, A.C., Dawson-Hughes, B., Calvo, M.S., Gunter, E.W. and Sahyoun, N.R. (2002). Serum 25- hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone*;30 (5):771–7. [PubMed: 11996918].

Misra, M., Tsai, P., Anderson, E. J., Hubbard, J. L., Gallagher, K., Soyka, L. A., ... & Klibanski, A. (2006). Nutrient intake in community-dwelling adolescent girls with anorexia nervosa and in healthy adolescents. *The American journal of clinical nutrition*, 84(4), 698-706.

Nakamura, K., Tsugawa, N., Saito, T., Ishikawa, M., Tsuchiya, Y., Hyodo, K., ... & Yamamoto, M. (2008). Vitamin D status, bone mass, and bone metabolism in home-dwelling postmenopausal Japanese women: Yokogoshi Study. *Bone*, 42(2), 271-277.

Norman, A. W. (2006). Vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor. *Endocrinology*, 147(12), 5542-5548.

Vieth, R. (1999). Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D . concentrations, and safety. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69:842–856.

Tucker, K.L., Morita, K., Qiao, N., Hannan, M.T., Cupples, L.A. and Kiel, D.P. (2006). Colas, but not other carbonated beverages, are associated with low bone mineral density in older women: The Framingham Osteoporosis Study. *Am J Clin Nutr*;84(4):936–42. [PubMed: 17023723].

Weaver, C. M. (2007). “Vitamin D, calcium homeostasis, and skeleton accretion in children,” *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 22, supplement 2, pp. V45–V49.

Zadshir, A., Tareen, N., Pan, D., Norris, K. and Martins, D. (2005). The prevalence of hypovitaminosis D among US adults: data from the NHANES III. *Ethn Dis*;15(4 Suppl 5):S5-97–101.

Investigation on Domestic Groundwater Contamination by Oil Ponds, Using Groundwater Flow Modeling. A case study in the city of Jikharrah. eastern Libya

Taher Masoud Almizoiqui¹, Gamal Abdalla Et Toam²

¹Department of Environmental Science - Azzaytuna University, Libya.

²Department of Geophysics, Al Neelain University, Sudan.

saidt44@yahoo.com

التحقيق في تلوث المياه الجوفية المحتمل بواسطة برك النفط، باستخدام نمذجة تدفق المياه الجوفية. دراسة حالة في مدينة اجخره شرق ليبيا

الملخص:

منطقة الدراسة هي منطقة اجخره في الصحراء الليبية جنوب إجدابيا، الهدف الرئيسي من هذا البحث هو دراسة تأثير أحواض المياه المصاحبة للنفط في منطقة الدراسة على آبار المياه الجوفية المجاورة، لهذا الغرض تم جمع سبع عينات من برك النفط التي تحتوي على المياه المصاحبة للنفط في المنطقة، تم إجراء التحليل الكيميائي لتحديد نسبة تواجد وتركيز الملوثات الكيميائية الضارة في هذه المياه وهي (زيت وشحم (oil & grease)، زنك (Zn)، حديد (Fe)، رصاص (Pb)، صوديوم (Na)، كاديوم (Cd)، كبريتيدات (S) والنيكل (Ni) والكبريتات (SO₄) والملوحة (TDS) والألمنيوم (Al) وأوضح التحليل الكيميائي أن بعض هذه العينات بها مستويات تركيز أعلى من المواصفات المحلية والعالمية، باستخدام حزمة MODFLOW من هيئة المسح الجيولوجي الأمريكية (USGS) وهي عبارة عن برنامج نمذجة لتدفق المياه الجوفية، تم تحديد نمط تشتت هذه الملوثات حيث تشير نتائج التحليل الكيميائي إلى جانب نمذجة تدفق المياه الجوفية إلى أنه في حالة استمرار تدفق المياه المصاحبة للنفط إلى برك النفط المجاورة والمحيطية بمنطقة الدراسة دون معالجة علمية مناسبة، فإن كارثة بيئية واجتماعية واقتصادية ستؤثر على هذه المدينة، وقد توقعت النمذجة وصول هذه الملوثات إلى المياه الجوفية لأبار منطقة الدراسة المجاورة لهذه البرك مباشرة خلال السنة الأولى من النمذجة، سيسود التلوث بهذه الملوثات في منطقة الدراسة بأكملها خلال عشرين سنة بعد بدء ضخ هذه المياه الملوثة. مشيرة إلى أن بعض هذه الأحواض النفطية قد تم إنشائها قبل 40 سنة، وأحدثها أقيم قبل 10 سنوات. يجب على جميع الجهات الحكومية وشركات النفط الرسمية العاملة في المنطقة أن تقي بالتزاماتها الإنسانية والأخلاقية لوقف هذا التلوث وتأمين المدينة من كارثة بيئية.

الكلمات المفتاحية: التلوث، المياه المصاحبة للنفط، المياه الجوفية، أحواض النفط،

Abstract:

The study area is Jikharrah area in the Libyan Desert, south of Ajdabiya. The main objective of this research is to study the effect of the pools of the accompanying water in the study area on the groundwater wells in the vicinity. For this purpose, seven

samples were collected from oil ponds containing accompanying water in the area. Chemical analysis was performed to determine the occurrence and concentration of harmful chemical pollutants in this water which are (oil and grease, Zinc (Zn), Iron (Fe), Lead (Pb), Sodium (Na), Cadmium (Cd), Sulphides (S), Nickel (Ni), Sulphates (SO₄), Salinity (TDS) and aluminum (Al)). The chemical analysis indicated that some of the samples have higher concentration levels than local and international standards. Using US Geological Survey (USGS) MODFLOW package, the dispersion pattern of these pollutants was determined. The chemical analysis results together with groundwater flow modelling indicate that an environmental, social and economic disaster will affect this town. Modelling has predicted the arrival of these pollutants to the groundwater wells adjacent to these ponds immediately during the first year of modeling. Contamination with these pollutants will prevail in the entire study area during twenty years after the start of pumping these polluted waters. All official state agencies and oil companies operating in the area must fulfill their human and moral obligations to stop this pollution and save the town from an environmental disaster.

Keywords: Pollution, water associated with oil, Groundwater Flow Modeling, MODFLOW, oil ponds.

Introduction:

Oil is one of the primary energy sources in modern society; with the development of the social economy, oil demands have increased dramatically. However, many oil spills cause soil and groundwater pollution, and these have become irreversible environmental problems (Allan and Elnajjar, 2012), Oil spill is an unintended release of petroleum hydrocarbon liquids into the environment, and it represents a form of pollution. This term usually refers to oil spills in the seas, Where oil is poured into sea water, and also may happen on land (Allan and Elnajjar, 2012), Groundwater may also be polluted as a result of transporting oil by road by cracking or breaking of pipes and oil leakage from them in addition to collision of oil transport trucks. Other ways of groundwater pollution may be through water contained in oil pools carrying multiple wastes; or by the contents of water accompanying the oil, which leads to its penetration into soil causing severe damage to that area, as oil may reach groundwater (Alexandros et al., 2015). Groundwater is the supply of freshwater found beneath the earth's surface. It is our most valuable natural resource.. Groundwater provides about 97 percent of the world's total supply of drinkable water. Groundwater is a source of lifestyle for many people, but human activity without supervision contributes a lot to polluting various water sources contamination, Contaminants are generally dissolved and carried by infiltrating rainwater into unsaturated soil above the water table. (Allan and Elnajjar, 2012),The oil is characterized by its high ability to interact and spread in several forms and access to air, soil, freshwater, seas or oceans based on many vital factors. The various forms of reaction of oil in nature are diffusion, drifting, evaporation, natural dispersion, emulsion (water in oil emulsification), dissolution, oxidation, sedimentation and biodegradation. There are a large number of harmful compounds contained in crude oil, all of which pollute the earth and water environment, which are in the form of toxic organic oil pollutants or toxic inorganic oil pollutants. (Clark, 1995). The water found in petroleum reservoirs is usually

brine consisting mostly of sodium chloride (NaCl) in quantities from 10 to 350 ppt; seawater has about 35 ppt. Other compounds (electrolytes) found in reservoir brines include calcium (Ca), magnesium (Mg), sulfate (SO₄), bicarbonate (HCO₃), iodine (I), and bromine (Br). Brine specific gravity increases with salinity in units of about 0.075 per 100 ppt. (Engle et al., 2014).

Objectives of the study: -

- 1- To assess the effects of various pollutants on shallow and deep groundwater.
- 2- To know groundwater quality trends and to determine the damage caused by pollutants to groundwater
- 3- To determine the time period for pollution in order to treat and avoid pollutants from reaching groundwater.

Material and Methods:

The study site:

Jikharra is an oasis and a town in eastern Libya in the Libyan Desert, and is located within the “oases south of Benghazi”. It forms an almost equilateral triangle with each of the oases of Gallo and Oujla, and it is located at Longitude 21.39 E and Latitude 29.18 N, and about 200 km south to the town of Ajdabiya (Fig.1).

This area is rich in oil resources that surround Jikharra from all directions (oil fields - natural gas fields). Due to the suspension of oil exports in Libya during the period (2014/2015), oil companies were forced to empty their daily production of oil in large and huge pools at different distances from the town's location (Fig. 1) for fear of damage in the facilities of those oil wells. Seven oil pools of different sizes and depths surrounding the town were chosen to study the extent of the effect of water accompanying the oil on eleven groundwater wells in the study area (Fig. 1).

(Al-Labbad, 2017)

Methods of Investigations:

Chemical Analysis Methods:

The aim and purpose of the chemical analysis is to know and calculate the amount of chemical toxins that will seep through the soil and deep gaps in the soil and rocks and reach the surface water or groundwater in the study area.

The concentrations of the elements in the pond were determined, and their suitability and conformity with the international specifications of WHO was examined; if they are in accordance with the standard specifications of the water accompanying the petroleum or not.

Groundwater Flow Modelling:

The groundwater flow in the study area is modeled using USGS Modflow V. 6 Software. The modeling process requires the input of certain parameters such as recharge and discharge data, topographic data, pollutants data in addition to other flow data. In this study the following data were used as input for modeling the diffusion of harmful pollutants in the area.

Oil-Water ponds (recharge data):

Seven oil ponds were chosen to serve as input data for recharge as well as source of pollution (Table 1). Some of these ponds are located in the near vicinity of Jikharra, while the others are a little bit remote (Fig. 1). Results of chemical analysis of ponds' water are

Investigation on Domestic Groundwater Contamination by Oil Ponds, Using Groundwater Flow Modeling. A case study in the city of Jikharrah, eastern Libya.....(141-157)

shown in the next section Table (3) shows a summary of the concentrations of these eleven pollutants together with safe concentration limits as set by WHO for Libya.

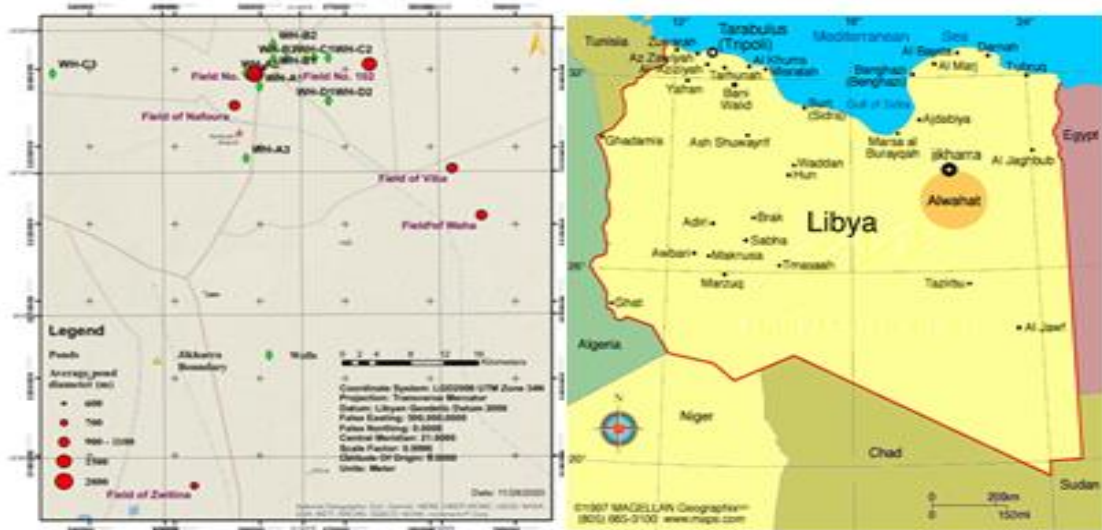


Figure (1): Location map of Jikharra Town, oil ponds and well sites. Variation in ponds' diameter is shown in red circles.

Surveys of environmental protection organizations, experts and some of the company's engineers in the study area indicate that the amount of water accompanying the oil that flows into the oil lakes can reach a minimum of (2000 cubic meters) per day. So, for an individual pond the flow is estimated to be in the average of 300 cubic meters per day.

Table 1: Oil ponds in the study area (for locations see figure 2; note that Field of Jikharra and Field No. 104 are located very close to Jikharra Town).

Oil Field	Oil ponds	Pond depth (m)	Pond circle diameter (m)
Field No. 102	19 - 771	3 – 1.5	1500
Field of Viba	19 - 772	2.5 - 2	1000
Field of Waha	19 - 773	2 – 1	1000 – 1200
Field of Zwaitina	19 - 774	1.5 – 2	600 – 800
Field of Nafoura	19 - 775	1 – 2	800 – 1000
Field of Jikharra	19 - 776	3 m	2000
Field No. 104	19 - 777	3 m	600 m

Domestic Water wells (discharge data):

Eleven wells were chosen for the purpose of this study (Fig. 1). All wells are utilized for agricultural purposes, with five of them used for drinking purposes as well. In our model, these wells serve as a discharge source (Sink). Table (2) shows details of these wells; of which discharge rate is entered in the model.

Digital elevation model (DEM):

The digital elevation model of the area (Fig. 2) is obtained from the USGS web site and is used to construct the model top. Attempts were made to use DEM as a General Head Boundary (GHB), but unfortunately that was not possible and a persistent error message appears and hence the authors used elevation data instead.

Topographic data:

Topographic data for the area is obtained from Satellite Geodesy web site https://topex.ucsd.edu/cgi-bin/get_data.cgi. These data are used to construct the topographic map of the area (Fig. 3).

Pollutants – contaminants concentration data:

Results of chemical analysis of wastewater of the seven ponds are entered in the model as initial values of contaminants in the ponds (Table 4).

Table (2): Total depths and discharge rates of some of the wells in the study area. (For locations see Fig. 1).

Well No.	Purpose of use	Total depth (m)	Discharge rate (m ³ /day)
WH – A1	Agriculture	51	216
WH – A2	Agriculture + drinking	8	864
WH-A3	Agriculture + drinking	40	1872
WH – B1	Agriculture	6	72
WH – B2	Agriculture	45	2016
WH – B3	Agriculture + drinking	6	1008
WH – C1	Agriculture	50	1728
WH – C2	Agriculture	50	1872
WH – C3	Agriculture + drinking	50	206
WH – D1	Agriculture + drinking	18	1296
WH – D2	Agriculture + Industrial	54	1152

Hydraulic conductivity:

Hydraulic conductivity (Kx) of top layer (which is sand) is entered in the model as 1×10^{-5} m/s or 0.864 m/day

General Head Boundary (GHB):

As mentioned earlier the topography is utilized to serve as GHB for the studied area. Contours of 85, 65, 45 and 35 m were used as GHB.

In MODFLOW, the Conductance is described as having units of L^2/T and is equal to KLW/M where:

K = the hydraulic conductivity of the sediment in the boundary condition such as a river or drain,

L = the length of the boundary condition in the cell,

W = the width of the boundary condition, and

M = the thickness of the sediment in the boundary condition perpendicular to flow between the boundary and the cell. Usually this will be vertical thickness of the sediment. However, if Conductance Interpretation is set to Calculated, Conductance should be treated as if it were KW/M instead of KLW/M, its units would be L/t, and an appropriate formula would be

$(K_z * \text{DrainWidth}) / \text{DrainSedimentThickness}$

if Conductance Interpretation is set to Calculated for a Polygon Object, Conductance should be treated as if it were K/M instead of KLW/M, its units would be 1/t, and an appropriate formula would be

$K_z / \text{DrainSedimentThickness}$

In our model Kz is assumed to be Kx/10, drainWidth is averaged using Global Mapper Software, the thickness of the top layer is assumed (based on well data) to be 60 m and hence the conductance for GHB is calculated based on the above equations as shown in Table (3).

Table (3): Conductance values for GHB.

GHB	Type	Conductance	Unit	Attribute
85 m	Polyline	17.16	m/day	Calculated
65 m	Polyline	24.54	m/day	Calculated
45 m	Polyline	9.57	m/day	Calculated
45 m	Polygon	0.00144	1/day	Calculated
35 m	Polygon	0.00144	1/day	Calculated

Results:

Results of chemical analysis and groundwater flow modeling will be shown in this section.

Chemical Analysis:

Chemical analysis of wastewater of oil ponds reveals the concentrations of eleven pollutants: Oil & Grease, Zn, Fe, Pb, Na, Cd, S, salinity, Ni, Al and SO₄.

Table (4) shows the Concentration of pollutants in the oil ponds adjacent to the study area.

From the table (4) it is clear that iron (Fe), lead (Pb), sodium (Na), salinity, Sulphate and three samples of Cd fall within the safe concentration range according to WHO standards for Libya. The other five contaminants (oil and grease, zinc (Zn), Sulphur (S) nickel (Ni) and aluminum (Al) show high concentrations and in some cases extremely high concentrations as in the case of Zn and Ni.

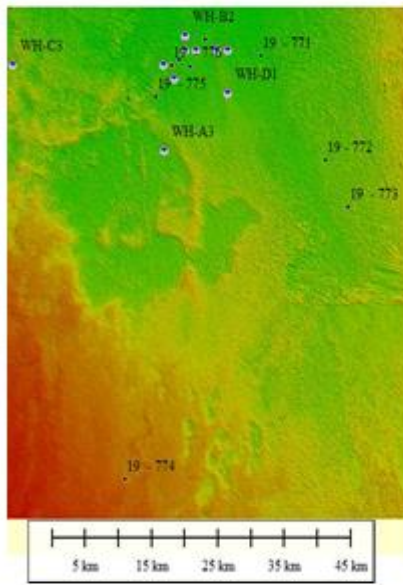


Figure (2): Digital Elevation Model of the study area.

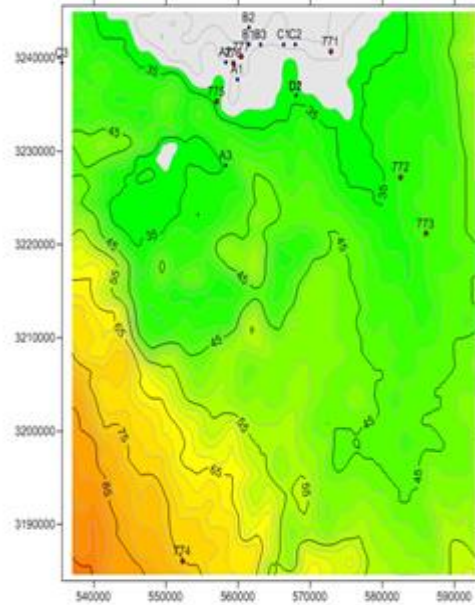


Figure (3): Topographic map of the study area.

(Fig. 4) shows the distribution of the concentrations of four of these pollutants in the area. Judging by the size of the symbol, it is very clear that the ponds around Jikharra contain very high concentrations of most of these pollutants.

Groundwater Flow Modeling:

The groundwater flow is modeled using USGS MODFLOW V. 6 Software. The parameters mentioned in section 2.2.2. are used as input for the model. The groundwater flow is modeled for 20 years. Results of the modeling are shown in Figures 5, 6, 7 and 8 for oil and grease, Zinc, Sulphur and Nickel respectively.

Discussion:

A large volume of water (called produced water) is usually extracted as a byproduct during oil and gas production, which is mixed with dispersed oil, grease, dissolved solids and suspended solids (Chakrabarty, et al., 2010). Discharging of produced water may pollute surface and underground water as well as soil.

Within the results of the laboratory analysis table (4) and the statistical analysis table (5) it was found that there are four chemical elements that are very high in their concentration and that exceeded international and local standards and specifications within these oil ponds, and these elements are - (oil and grease, zinc, sulfur, Nickel) and to support our research with advanced scientific methods and to give results and indicators that support the previous two analyzes, the method of the US Geological Survey program was used, and the results were as follows:

Table (4): Concentration of pollutants in the area (in ppm). Red color indicates that the concentration of the pollutant is above the standard concentration for domestic water use.

Field Name	Oil & Grease	Zn	Fe	Pb	Na	Cd	S	Salinity	Ni	Al	SO ₄
Field No. 102	2.48	69.8	5.08	0.02	15	0.003	5.07	67	52.1	0.5	0.311
Field of Viba	12.15	70.1	7.88	0.2	31.5	0.005	0.91	89	56.3	1	1.44
Field of Waha	2.967	60.8	4.8	0.004	18	0.02	6.17	75	48.8	1.2	0.16
Field of Zwitina	3.79	65.5	3.9	0.1	16	0.1	5.23	77	48.26	0.55	0.19
Field of Nafoura	1.874	62.9	8.51	0.6	31	0.12	6.11	69	61.2	0.23	1.8
Field of Jikharra	1.55	70.1	6.23	0.02	20	0.23	0.85	80	55.3	0.5	0.63
Field No. 104	5.072	70.8	5.13	0.01	25	0.009	5.8	65	49.8	1.3	0.255
Max. allowable concentration for Libya.	0.1	0.7	100	8.8	200	0.005	0.2	97000	0.004	0.2	400
Max. allowable concentration for world.	-	-	0.1 – 1.0 (0 – 50)	0.1 – 1.0	1 – 100	0.004 – 0.024	14 – 17	2 – 1500	0.6 – 9.0	0.005 – 0.010	40 – 50

Table (5) Statistical analysis of some pollutants in the oil ponds adjacent to the study.

Pollutant	Mean X	S.R	S.D	V	F.pr	L.S.d 95%	C.V%	Min	Max
Oil and Grease	4.269	1.389	3.674	13.50	0.989	6.968	86.1	1.550	12.15
Fe	5.933	0.642	1.698	2.885	1.000	7.180	-9.24	3.93	8.510
Pb	0.13	0.08	0.21	0.04	0.295	<0.001	10.56	0.004	0.60
Na ⁺	22.36	2.602	6.884	47.39	1.000	27.41	-8.21	15.00	31.50
S	5.933	0.993	2.628	6.908	0.99	7.863	-4.97	0.91	9.130
Salinity	74.57	3.176	8.404	70.62	1.000	80.74	-23.16	65	89
SO ₄	0.683	0.25	0.66	0.44	0.128	1.173	1.26	0.160	1.80
Zn	67.14	1.534	4.059	16.48	1.000	70.12	6	60.80	70.80
Ni	53.11	1.789	4.735	22.42	1.000	56.59	-29.12	48.26	61.20

Investigation on Domestic Groundwater Contamination by Oil Ponds, Using Groundwater Flow Modeling. A case study in the city of Jikharrah, eastern Libya.....(141-157)

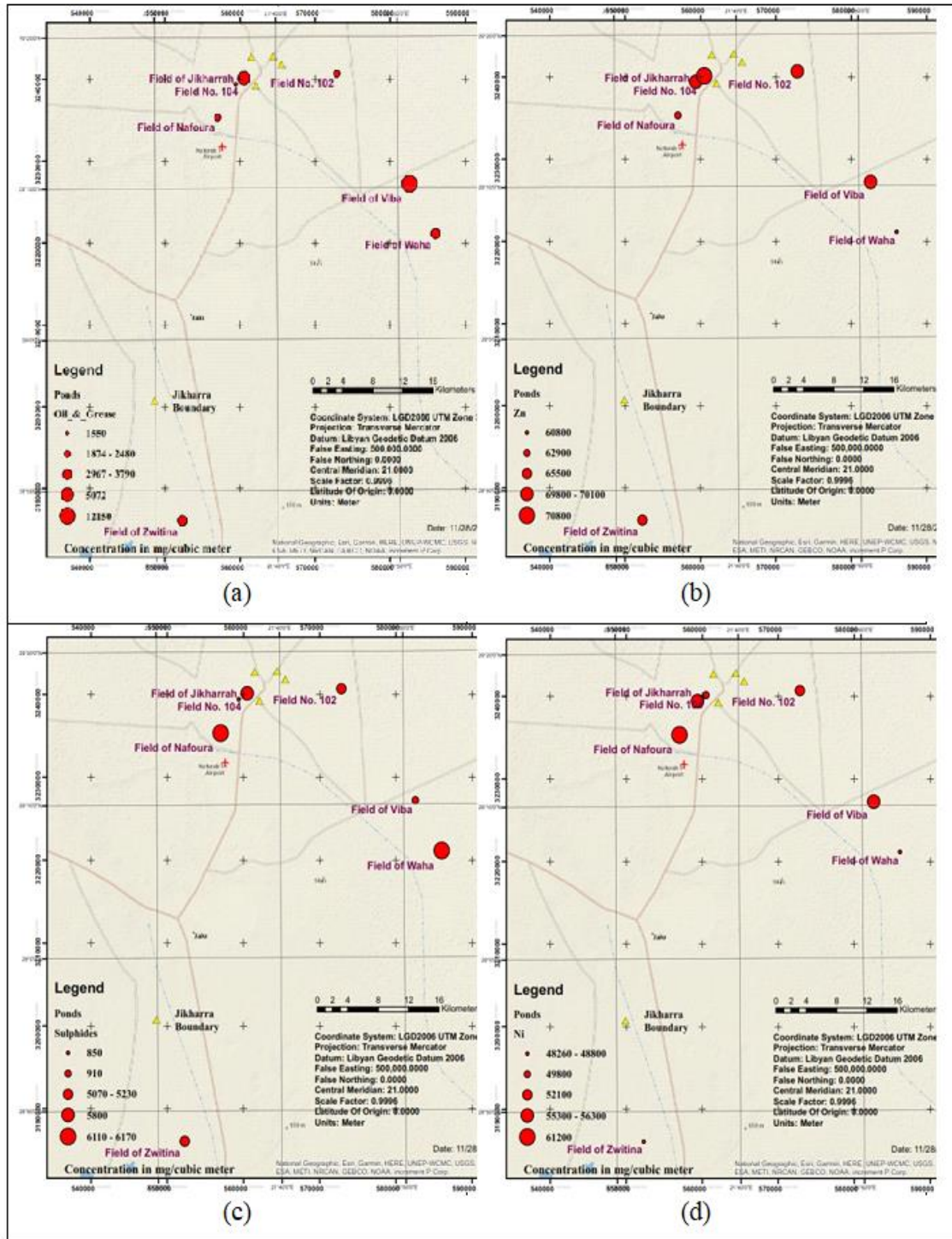


Fig. 4: Distribution of the concentrations of some pollutants in the area; (a) oil and grease, (b) Zn, (c) S, (d) Ni.

Contaminant (Oil and Grease):

The range of concentration of oil and grease is between 1.550 - 12.15 mg/l (Table 5), which indicates that all the samples are above the safe concentration level for drinking water in Libya (0.1 mg/l). Groundwater flow modelling shows that pollution by oil and grease will commence immediately (first year) affecting the vicinity of the ponds and continues steadily to affect all the area (Fig. 5. b). From the figure it can be readily seen that Jikharra area is dominated by bluish and greenish colors in the first year which indicates that concentration levels of > 1.4 mg/l are affecting the water wells of the area. In the following years the area of safe concentration level (indicated by a deep blue color) diminishes leaving space for more pollution (Fig. 5. c and d).

All countries of the world and international and local organizations and others indicate their technical recommendations that the natural waters are free of high concentrations of oil and grease and that the maximum limit for them should not exceed from (0.1 - 2.0 mg / liter) because higher concentrations result in change of its chemical and physical characteristics and make it unsuitable for drinking. In the results obtained in this study, the concentration of oil and grease was very high, especially in some samples, where it was found to be 12.150 mg/l.

Modeling result confirms that the percentage and spread of oils and grease in the oil ponds adjacent to the study area is high. These pollutants may reach the underground water wells in the town and cause several changes in the properties of drinking water.

Contaminant (Zn):

The range of concentration of Zinc is between 60.80 - 70.8 mg/l (Table 5). These concentrations are almost hundred times the safe concentration level for drinking water in Libya (0.7 mg/l). Figure 6 (a) indicates that even in the initial stage, the concentration of Zn is very high in Jikharra area (red and orange colors). As in the previous contaminant groundwater flow modelling shows that pollution by Zn will commence immediately in the first year, affecting the vicinity of the ponds and continues steadily to affect all the area (Fig. 6. b). From the figure it can be readily seen that Jikharra area is dominated by red and orange colors in the first year which indicates that concentration levels of > 70 mg/l are affecting the water wells of the area. In the following years the area of safe concentration level (indicated by a deep blue color) diminishes leaving space for more pollution (Fig. 6. c and d).

Zinc is a trace element that is essential for human health. When people absorb too little zinc they can experience a loss of appetite, decreased sense of taste and smell, slow wound healing and skin sores. Zinc-shortages can even cause birth defects.

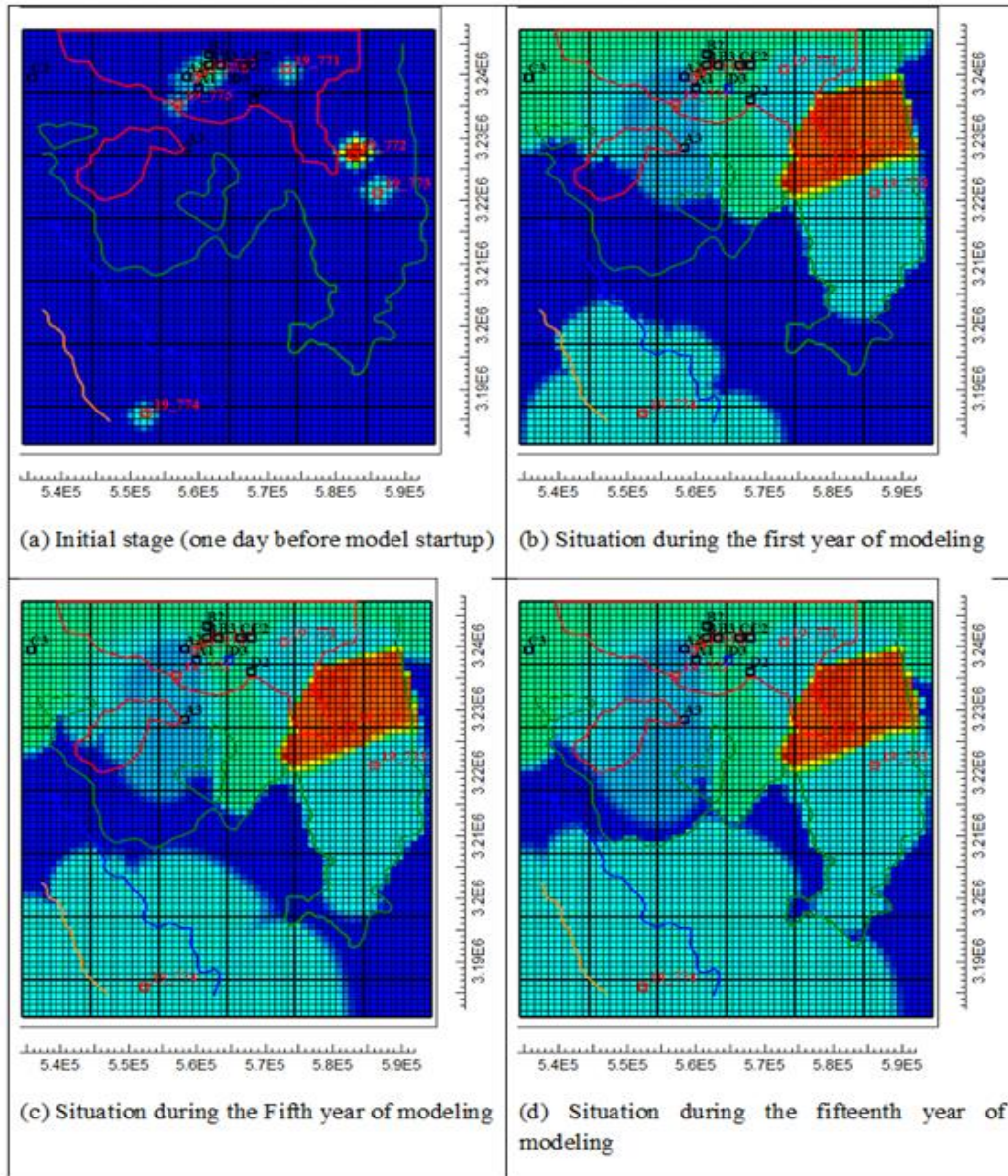
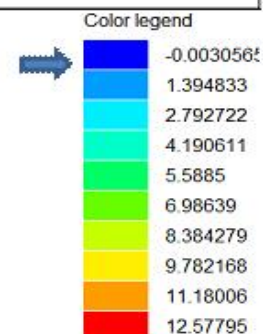


Fig. 5: Dispersion pattern for contaminant **Oil and Grease**:(a) The initial stage (one day before model startup), (b) during the first year, (c) during the fifth year and (d) during the fifteenth year.

Note that the safe concentration is 0.1 ppm which lies between the first and second degrees of the color scale.



Although humans can handle proportionally large concentrations of zinc, too much zinc can still cause eminent health problems, such as stomach cramps, skin irritations, vomiting, nausea and anemia. Very high levels of zinc can damage the pancreas and disturb the protein metabolism, and cause arteriosclerosis. Extensive exposure to zinc chloride can cause respiratory disorders. (Degremont, 1991).

There is no evidence that zinc causes cancer in humans. Zinc may also increase the acidity of the water. Zinc can not only pose a threat to livestock, but also plant species. Often plants have a zinc absorption that their systems cannot handle, due to a buildup of zinc in the soil. Zinc can interrupt activity in the soil, as it negatively affects the activity of microorganisms and earthworms. The decomposition of organic matter may be seriously slowed down due to the excess of zinc in these contaminated waters (Degremont, 1991)

Zinc can be a danger to unborn and newborn children; when their mothers have absorbed large concentrations of zinc the children may be exposed to it through blood milk of their mothers. (Milkins, 2013).

Contaminant (Sulfur S):

Results of chemical analysis indicate that the concentration of S in the area ranges between 0.85 and 9.130 mg/l (Table 5). All these values are well above the maximum allowable safe concentration level for Sulphur as per Libyan standard (0.2 mg/l). The same phenomenon is observed in the modeling of the dispersion of S in the area; immediate pollution of the areas surrounding the ponds from the first year (Fig. 7. b). Once more, the same scenario is repeated here with the safe zone diminishes with time to less than 20% of the total study area after 15 years.

Elemental sulfur is a non-metallic mineral yellow in color, brittle, does not dissolve in water, tasteless and odorless, highly flammable with a blue flame. Sulfur is present in crude oil in the form of hydrogen sulfide (H_2S) and sometimes in the solid form. Crude oil containing a very small percentage of sulfur content (less than 0.5%) is considered sweet oil, and oil containing a high percentage of sulfur (higher than 0.5%) is considered or called sour oil. The element sulfur in general is undesirable in crude oil because of the problems it causes many problems such as: difficulty in distilling the sulfur-containing crude oil, the ability of sulfur to cause corrosion and the accumulation of sulfur inside equipment in the refineries, which increases the cost and time of its maintenance.

Sulfur dioxide can affect health and the environment. Short-term exposure to sulfur dioxide can damage the human respiratory system and make breathing difficult. People with asthma, especially children, are sensitive to the effects of SO_2 . At high concentrations, gaseous sulfur oxides can harm trees and plants by damaging foliage and reducing growth. Sulfur dioxide and other sulfur oxides can contribute to acid precipitation that can harm sensitive ecosystems.

In a recent study by (Brinkmann et al., 2019), it was found that chemical elements such as nitrogen, sulfur or oxygen of heterocyclic aromatic hydrocarbons, pose a threat to human health and the ecosystem.

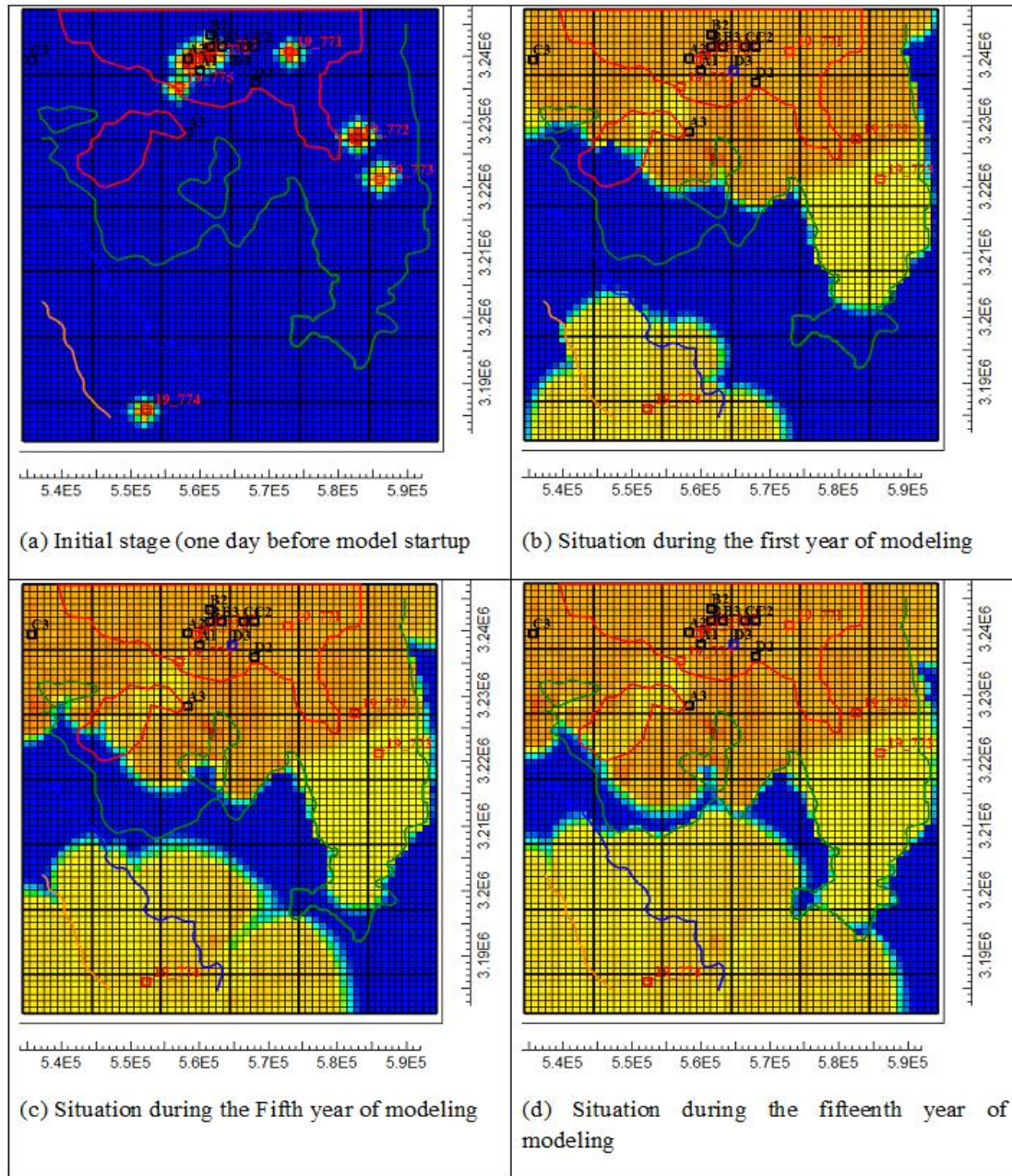


Fig. 6: Dispersion pattern for contaminant Zinc (Zn): (a) The initial stage (one day before model startup), (b) during the first year, (c) during the fifth year and (d) during the fifteenth year.

Note that the safe concentration level is 0.7 ppm which lies between the first and second degrees of the color scale.

Contaminant (Nickel Ni):

Nickel represents the most hazardous contaminant in the area with concentration values ranging between 48.26 and 61.2 mg/l which is 12000 times the maximum allowable concentration level for Ni according to Libyan standards (0.004 mg/l). Again, like zinc, even in the initial stage, concentrations of Ni in the ponds' sites appear in red and yellow colors indicating high concentration levels (Fig. 7 (a)). These red and yellow colors dominate more than 50% of the study area during the first year of modeling. This indicates the rapid wide spread of the contaminant in the area. Even the areas with blue color here represent zones of higher concentration than the safe concentration level (Fig. 7 (a)). Nickel concentrations in groundwater depend on soil usage, pH, and depth. Acid rain increases nickel movement in soil and thus may increase nickel concentrations in groundwater. (Brinkmann et al., 2019). Human exposure to nickel by mouth is primarily associated with gastrointestinal and nervous symptoms after acute exposure and exposure through the skin or inhalation may lead to an allergy to nickel. Oral nickel absorption is able to trigger eczema reactions in the skin in individuals who are sensitive to nickel. (World Health Organization. (WHO)., 2019).

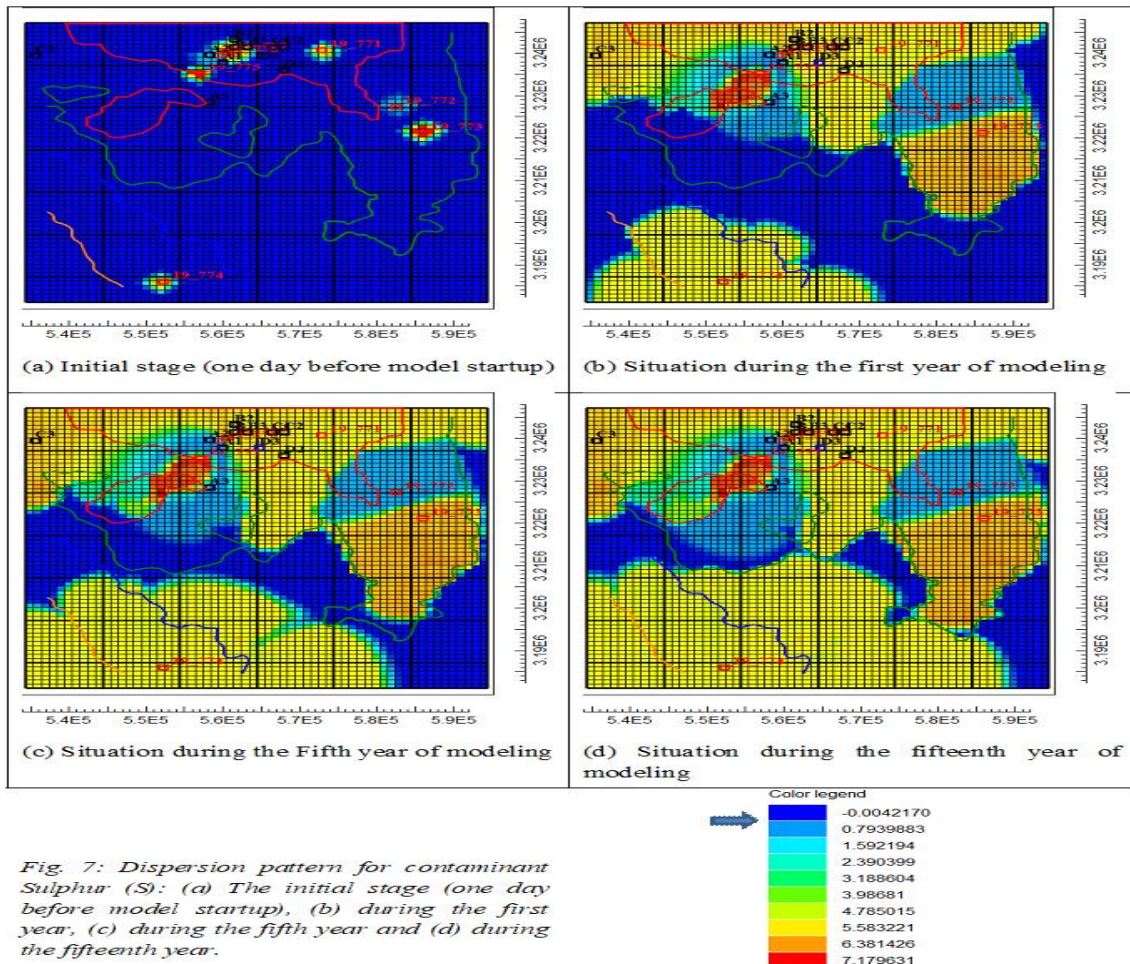


Fig. 7: Dispersion pattern for contaminant Sulphur (S): (a) The initial stage (one day before model startup), (b) during the first year, (c) during the fifth year and (d) during the fifteenth year.

Note that the safe concentration is 0.2 mg/l which lies between the first and second degrees of the color scale.

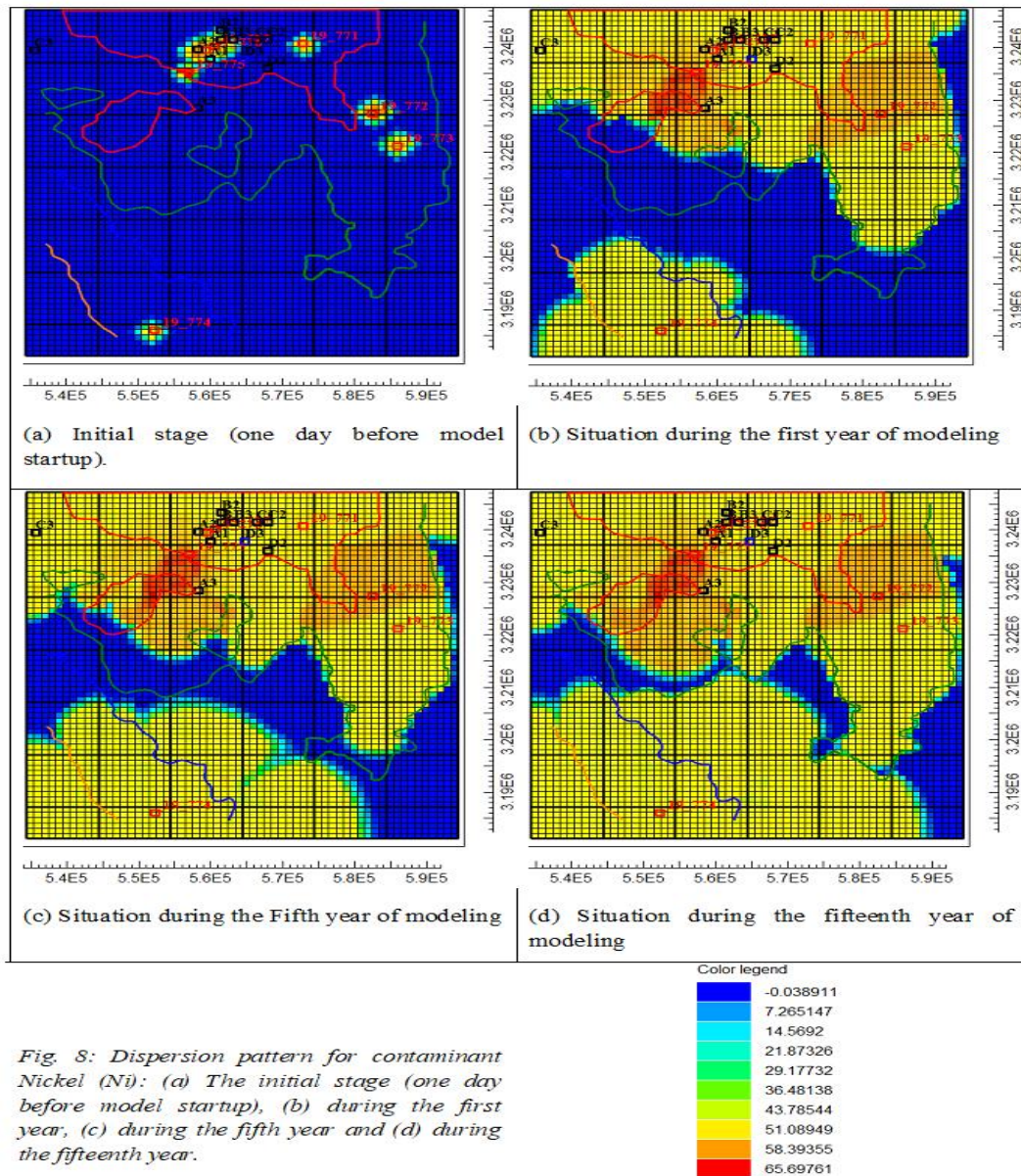


Fig. 8: Dispersion pattern for contaminant Nickel (Ni): (a) The initial stage (one day before model startup), (b) during the first year, (c) during the fifth year and (d) during the fifteenth year.

Note that the safe concentration is 0.004 ppm which is even not encountered in this scale.

Conclusions:

The chemical analysis results and statistical analysis indicate that at least five contaminants in the wastewater of oil ponds are of concentrations that don't conform with Libyan standards for drinking water. These contaminants are: oil and grease, Zn, S, Al and Ni and to a lesser extent Cd with some samples lying within the safe concentration range. The results of Zinc (Zn) and Ni represent very high concentration levels compared to the standard levels.

Groundwater flow modeling indicates that pollution by the five contaminants is immediate and continues steadily with time to cover almost the whole area in about 20 years.

Some of the chemical elements present in the water associated with the oil in the study area were at the permissible limit according to the international and local standard specifications, so the focus should be on the accompanying chemical elements of oil, which is considered the most harmful components to the environment of the study area.

Recommendations:

In view of the huge environmental, economic and health damage resulting from these oil ponds, work must be done to end, close or change their course so that the sites of these oil ponds are at a distance of at least 150 km from the study area.

Work must be taken to continue monitoring groundwater wells and inspecting them periodically by taking samples and analyzing them for the purpose of controlling any increase in pollutant concentrations beyond the permissible limits.

Local and foreign oil companies must strictly follow environmental protection systems and contribute in providing technical and material assistance in closing these oil ponds or limiting their presence, especially those oil ponds very close to the study area.

Many foreign and Arab companies have submitted several proposals to the Libyan Oil Corporation to get rid of these ponds and moreover to take advantage of these oil ponds to recycle their contents and extract from them several useful materials such as the different oils used for automatic vehicles and others, but these projects on industrial environment is not yet implemented for unknown reasons.

The study area is considered an arid region with a dry climate and little rain throughout the year. If these oil ponds of large size are reused (the method of separating water from oil), a very large amount of water with acceptable chemical, physical and microbial characteristics, they will represent an important water resource that can be used in agriculture, industry, public services and other needs of the study area.

The Public Authority for Agriculture in the study area must cultivate or use the method; pollutants absorbing plants, so that plants that have the ability to absorb oils, salts and others must be multiplied and raised in their roots, leaves, or stems, and then they perform vital operations in order to break, destroy and then get rid of these pollutants, such as wild reed plant, American alfalfa plant, squid plant and sunflower plant. The method of cultivation must be in the form of terraces as this happens when agriculture is done in mountainous areas.

The state and the competent authorities must encourage environmental organizations, civil organizations and researchers to develop methods for detection and reduction of these pollutants and to find methods and scientific means to get rid of them permanently, by using several modern means and methods and various techniques.

References:

Al-Labbad, J. S. M. (2017). *Health and environmental hazards caused by solid waste pollution*. Paper presented at the The third scientific conference of Al-Nahm Al-Shining University, under the title of Occupational Safety and Health and Environmental Protection, Geographical Department, College of Arts, Al-Asaba, Western Mountain University.

Alexandros, I., Stefanakis, A., and Marsellos, D. Z. (2015). Groundwater Pollution: Human and Natural Sources and Risks. Environmental Sci.and Eng. Vol 4 : water pollution. p - 82 – 83.

Brinkmann, M., Schneider, A. L., Bluhm, K., Schiwy, S., Lehmann, G., Deutschmann, B., and Hollert, H. (2019). Ecotoxicity of Nitrogen, Sulfur, or Oxygen Heterocycles and Short-Chained Alkyl Phenols Commonly Detected in Contaminated Groundwater. *Environ Toxicol Chem*, 38(6), 1343-1355. doi:10.1002/etc.4423

Chakrabarty, B., Ghoshal, A. K., & Purkait, M. K. (2010). Ultrafiltration of oil-in-water emulsion: Analysis of fouling mechanism. *Membrane Water Treatment*, 1(4), 297-316. doi:10.12989/MWT.2010.1.4.297

Degremont, G. (1991). *Water Treatment Handbook* (6th ed.): Springer-Verlag.

Engle, M. A., Cozzarelli, I. M., & Smith, B. D. (2014). *USGS investigations of water produced during hydrocarbon reservoir development* (2014-3104). Retrieved from Reston, VA: <http://pubs.er.usgs.gov/publication/fs20143104>

Allan, F. M. and Elnajjar, E. (2012). The Role of Mathematical Modeling in Understanding the Groundwater Pollution. *Int. J. of Thermal & Environmental Engineering*, 4, 171-176.

Clark, L. (1995). Hydrocarbon pollution control and remediation of groundwater: a brief review. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology*, 28, S93-S100,. London.

Milkins, T. (2013). *How to Prevent and Treat Illness Through Nutrition: Healthy Eating Choices That Can Save Your Life*: Xlibris Corporation.

World Health Organization, (WHO). (2019). *Nickel in Drinking-water Draft Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality* World Health Organization 201x.