

## الملخص العربي

فى السنوات الأخيرة لوحظ إنتشار أعراض مرض العفن الطرى على ثمار التفاح والكمثرى فى أسواق محافظة الفيوم وسوق العبور بالجيزة وقد أجريت هذه الدراسة بغرض عزل وتعريف المسبب المرضى ودراسة المدى العوائلى ودراسة قابلية بعض الأصناف من التفاح والكمثرى للإصابة بالبكتريا المعزولة ووضع استراتيجية لمكافحة هذا المرض . وفى هذا المجال تم دراسة التأثير لبعض معاملات ما قبل وبعد الحصاد لتقليل أو منع الإصابة بالمرض أثناء التخزين والنقل والتسويق والتصدير مثل استخدام البكتريوسين المنتج من عزلات بكتريا حامض اللاكتيك ومستخلص البرويوليس الإيثانولى وبعض المستخلصات النباتية وبعض الأملاح ومضادات الأكسدة كبدايل للمبيدات. ويمكن تلخيص النقاط البحثية والنتائج المتحصل عليها على النحو التالى:

### النقطة البحثية الأولى :

- أجريت بغرض حصر وعزل وتعريف الميكروبات المسببة لمرض العفن الطرى البكتيرى على ثمار التفاح والكمثرى أصناف الأنا Anna والليكونت Le Conte حيث تم جمع العينات المصابة من أسواق مختلفة من محافظة الفيوم وسوق العبور بجمهورية مصر العربية وذلك خلال موسم 2010/2009 وتم العزل من هذه العينات المرضية على بيئات PDA , NA.

- أسفرت النتائج عن الحصول على (67) عزلة بكتيرية (40) من التفاح (27) من الكمثرى .تم تنقية هذه العزلات ثم تقسيمها إلى مجموعات بناء على Partial identification لإستخدامها لإجراء إختبار المرضية على ثمار التفاح والكمثرى . واختلفت هذه العزلات فى قدرتها المرضية فبعض العزلات

لم يظهر قدرة مرضية على الإطلاق ونم استبعاده. وثبت أن 25 عزلة فقط لهم قدرة مرضية مختلفة.

- أسفر إختبار المرضية للـ (25) عزلة عن وجود اختلاف بين هذه العزلات فى قدرتها المرضية حيث تتدرج من شديدة الى متوسطة الى ضعيفة القدرة المرضية, تم إختيار أشرس هذه العزلات لإتمام الدراسة . من إختبار المرضية للـ (25) عزلة تم الحصول عل (6) عزلات بكتيرية ممرضة (3) عزلات من ثمار التفاح (AB4, AB5, AB6) و(3) عزلات من ثمار الكمثرى (PB1, PB5, PB6) وتم عمل تلقیح تأكیدی لإثبات المرضية, كما تم تلقیح ثمار التفاح بعزلات الكمثرى والعكس وكذلك إختبار المدى العوائلى لإختبار قدرة العزلات على إصابة نباتات مختلفة (خضر, فاكهة).

- أسفرت تجربة المدى العوائلى بإستخدام العديد من نباتات الخضر مثل (الطماطم, البطاطس, الباميا, الفاصوليا والجزر) ونباتات الفاكهة مثل (الخوخ, المشمش) والثوم والبصل أنها قابلة للإصابة بهذه العزلات بدرجات متفاوتة وسجلت العزله AB6 أعلى قدرة مرضية من حيث الشدة والنسبة تبعث بالعزلة AB4 ثم العزلة PB6. تمت دراسة درجة القابلية للإصابة بأشد العزلات مرضية لستة أصناف من التفاح وثلاثة أصناف من الكمثرى ووجد أن صنف التفاح Royal gala أقل الأصناف قابلية للإصابة أما الصنف Anna 116 فكان أكثر الأصناف قابلية للإصابة بينما فى ثمار الكمثرى كان الصنف Yellow barlett كان أقل الأصناف قابلية للإصابة بينما الصنف Le- Conte كان أكثر الأصناف قابلية للإصابة.

### النقطة البحثية الثانية:

- تضمنت دراسة الخصائص المورفولوجية والفسيزيولوجية للعزلات البكتيرية التي تم اختيارها , وتمت الدراسة الفسيولوجية والبيوكيميائية بإستخدام نظام .  
(API 20E , API 20NE)

- أسفرت هذه التجارب عن وجود تشابه كبير فى الصفات المورفولوجية والفسيزيولوجية لهذه العزلات من حيث القدرة على النمو على تركيزات مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم وكذلك درجات مختلفة من PH وتمثيل مصادر مختلفة للكربون.

### النقطة البحثية الثالثة:

- وتضمنت الدراسة الفسيولوجية والوراثية لأكثر العزلات الواعده AB6, AB4 ثم PB6 حيث أختيرت من بين العزلات الستة لتعريفها وتصنيفها ومقارنتها بأقرب العزلات لها والمنشورة من جنس *Bacillus* .

- أظهرت النتائج أن العزلة AB6 تتشابه مع العزلة المرضية المنشورة *B. altitudinis* (41KF2b) فى معظم صفاتها كما أن العزلتين AB4, PB6 تتشابه مع العزلة المرضية المنشورة *B. pumilus* وبناء على درجة التشابه فى DNA gene sequencer 16S, ووجد ان العزلة AB6 قريبة جدا من العزلة *B. altitudinis* بنسبة 99% وأن العزلتين AB4, PB6 بنسبة 99% وفى النهاية وجد ان العزلات تتبع جنس *Bacillus* فسيولوجيا ووراثيا .

#### النقطة البحثية الرابعة:

- تتضمن هذه النقطة دراسة بعض المواد الطبيعية والكيميائية وتأثيرها على النمو البكتيري معمليا وتحديد أفضل هذه المواد أو المعاملات تحت ظروف المعمل .
- تم استخدام المواد الشبيهة بالبكتريوسين والمنتج من عزلات بكتريا حامض اللاكتيك ( Lab 2, Lab 105, L107, Lab 100, Lab 13, Lab 9, Lab ) 58 وتأثيرها على نمو العزلات البكتيرية الممرضة باستخدام تكنيك AWD .
- أسفرت النتائج عن وجود تثبيط للعزلات الممرضة من كل البكتريوسين المنتج من عزلات الاكتيك ولكن بدرجات متفاوتة , سجلت العزلة L2 اعلى قدرة تثبيطية بقطر (29.61 mm) تلاها العزلتين Lab 105 ثم Lab107 بقطر (27.50 mm) , (25.89 mm) على التوالي بينما سجلت العزلة Lab 58 أقل تثبيط بقطر ( 17.45 mm ) .
- تم استخدام مستخلص البروبوليس بأربعة تركيزات مختلفة (2.5 , 5, 7.5, 10 mg/ml) بطريقة Agar well diffusion وأسفرت النتائج عن تثبيط للبكتيريا الممرضة من كل التركيزات ووجد ان قطر منطقة التثبيط يزداد بزيادة التركيز حيث سجل التركيز (10 mg/ml) قطر (30.33 mm) .
- تم دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية باستخدام نباتات ( أوراق الكافور , أوراق الجوافة , أوراق التوت , قشر البرتقال , قشر الرمان , العرق سوس , الكمون , ثمار الشمر , ثمار القرع العسلى ) على النمو البكتيري وقدرة هذه المستخلصات على تثبيط البكتيريا معمليا .
- سجلت النتائج أن مستخلص أوراق الكافور كان أقوى المستخلصات ( 24.33mm ) تلاه مستخلص أوراق الجوافة (21.17mm) وكان أضعفهم

مستخلص الكمون وأوراق التوت بقطر ( 5.17 mm ) و ( 10.39 mm ) على التوالي.

- تم استخدام بعض الأملاح ومضادات الأكسدة أيضا لدراسة إمكانية تثبيط نمو البكتيريا الممرضة معمليا حيث تم استخدام أملاح (بيكربونات الصوديوم, كلوريد الكالسيوم , كبريتات النحاس, كلوريد البوتاسيوم, سوربات البوتاسيوم, حامض الإسكوريك, حامض الساليسليك, حامض البنزويك) بتركيز 1000 جزء في المليون تم دراسة تأثير هذه المركبات بطريقة Agar well diffusion أظهرت النتائج أن قدرة هذه المركبات على تثبيط النمو البكتيري تزداد بزيادة تركيزها حيث سجلت كل المركبات المستخدمة قدرة تثبيطية عالية في التركيز الأعلى مقارنة بالتركيز الأقل, حامض الساليسليك كان أكثر المركبات قدرة على تثبيط النمو البكتيري خلا التجربة وسجل قطر تثبيط (30.22 mm) بتركيز 1000 جزء في المليون ثم كبريتات النحاس (29.17mm) بينما سجل كلوريد البوتاسيوم اقل تثبيط (14.17 mm).

- تم تحديد أفضل النتائج من كل المعاملات معمليا وكانت كالاتى (L2, L105, L107) من البكتريوسين, ( 2.5, 5, 7.5, 10 mg/ml ) من مستخلص البروبوليس, ( مستخلص أوراق نبات الكافور, مستخلص أوراق نبات الجوافة, مستخلص العرق سوس, مستخلص قشر ثمار الرمان ) من المستخلصات النباتية, تم استخدام كل الأملاح ومضادات الأكسدة لاختبار تأثيرها على المرض.

#### النقطة البحثية الخامسة :

- بعد تحديد أفضل المعاملات بعد اختبارها على نمو البكتيريا الممرضة معمليا تم إجراء إختبارها فى الحقل لدراسة تأثيرها على مرض العفن الطرى حيث تم

رش هذه المعاملات المختلفة على ثمار التفاح والكمثرى بتوقيتات مختلفة حيث كانت الرشة الأولى لأشجار التفاح والكمثرى أثناء مرحلة الأزهار وذلك خلال شهر مارس للتفاح , إبريل للكمثرى و تمت الرشة الثانية بعد العقد بإسبوع ثم الثالثة بعد الثانية بحوالى 20 يوم ثم الرشة الأخيرة قبل الحصاد بإسبوع .

- بعد جمع الثمار تم تقسيمها إلى الأقسام التالية:

- (1) ثمار لم تعامل قط تم تخزينها بعد الجمع مباشرة.
- (2) ثمار لم تعامل قط تم تلقيحها ثم تخزينها.
- (3) ثمار عوملت بماء مقطر وتم تخزينها بعد الجمع مباشرة.
- (4) ثمار عوملت بماء مقطر وتم تلقيحها بالعزلة *B. altitudinis* (AB6) ثم تخزينها.
- (5) ثمار عوملت بالمعاملات المختلفة السابقة كل معاملة على حده من قبل وتم تخزينها بعد الجمع مباشرة.
- (6) ثمار عوملت من قبل بالمعاملات المختلفة السابقة كل معاملة على حده وتم تلقيحها بالعزلة *B. altitudinis* (AB6) ثم تخزينها.
- (7) ثمار عوملت من قبل ثم معاملتها بالمعاملات المختلفة السابقة كل معاملة على حده ثانية بعد الجمع ثم التخزين .
- (8) ثمار عوملت من قبل ثم تم معاملتها بالمعاملات المختلفة السابقة كل معاملة على حده بعد الجمع ثم تم تلقيحها بالعزلة *B. altitudinis* (AB6) ثم تخزينها.
- (9) ثمار لم تعامل من قبل وتم معاملتها بالمعاملات المختلفة السابقة كل معاملة على حده ثم تخزينها.

(10) ثمار لم تعامل من قبل وتم معاملتها بالمعاملات المختلفة السابقة كل معاملة على حده ثم تلقيحها بالعزلة *B. altitudinis* (AB6) ثم تخزينها. أسفرت النتائج عن وجود خفض للمرض بدرجة ملحوظة في كل المعاملات ولكن بدرجات متفاوتة, ووجد أن أفضل المعاملات تأثيرا على مرض العفن الطرى هي معاملة الثمار قبل وبعد الحصاد تبعثها معاملات ما قبل الحصاد في أغلب المعاملات.

#### النقطة البحثية السادسة:

- وفي هذه النقطة تم دراسة تأثير المعاملات المختلفة سالفه الذكر على بعض الخواص الطبيعية والكيميائية لثمار التفاح والكمثرى مثل (الصلابة- والمواد الصلبة الذائبة الكلية ودرجة الحموضة والفينولات الكلية) . أسفرت النتائج عن زيادة في هذه الخواص مقارنة بالكنترول وذلك في معظم المعاملات سالفه الذكر.