الفصل التاسع

المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

أولاً : التغليف الحيوى الفعال Bioactive Coating

ودورة فى مقاومة أمراض مابعد الجمع فى التفاح والحمضيات

مقدمـــة

أظهرت الدراسات المعملية فى السنوات القليلة الماضية ، أن بعض الكائنات الدقيقة ، يمكن استعمالها فى مقاومة أمراض مابعد الجمع . كذلك فإن بعض الخمائر والبكتيريا المضادة المعزولة من سطوح الثمار ، أظهرت فعالية ذات مدى واسع ضد عديد من الكائنات الممرضة ، لما بعد الجمع لكثير من أنواع الثمار . لقد وجد حديثاً أن الخميرة *Candida oleophila* وسلالتين من البكتيريا *Pseudomonas syringae* متوفرة وتباع تجارياً تحت أسماء Aspire و Biosave-100 و Biosave-110 بالترتيب . إن قبول عوامل المقاومة الحيوية المجهزة بديلاً عن المبيدات الفطرية ، يعتمد على كفاءتها التجارية . لغاية الآن (مارس ٢٠٠٠) فإن الكائنات الدقيقة المضادة المتوفرة ، عندما تستعمل لوحدها ، لا تظهر نفس المستويات من المقاومة ، مقارنة مع المبيدات الفطرية . أدت هذه النتيجة إلى البحث عن عملية مساعدة ، والتى تزيد كفاءة التضاد الميكروبى فى المقاومة الحيوية .

فى التجارب الحقلية (نصف تجارية) ، فإن استعمال جرعة منخفضة من المبيد الفطرى Thiabendazole وجدت بأنها تزيد فعالية الخميرة المضادة فى المقاومة الحيوية وتجعلها تصل مستويات مساوية لما تحدثه الجرعات الكاملة من المبيدات الفطرية .

وبالمثل فى دراسات معملية ، فإن الاتحاد بين المضادات الميكروبية مع كلوريد الكالسيوم، مركبات نيتروجينية أو 2- deoxy -D- glucose ، أظهرت زيادة فى كفاءة بعض الكائنات المضادة وخفضت بشكل كبير التركيزات المطلوبة من البكتيريا والخمائر للحصول على كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية .

لقد قام El-Ghaouth *et al* سنة ٢٠٠٠ بتطوير منتج يستعمل فى المقاومة الحيوية يسمى Bio-active coating (المغلف الحيوى الفعال) ، يتكون من اتحاد الخميرة المضادة

مع مادة Chitosan وهى مادة محولة كيماوياً ، وتحضر تجارياً بإضافة ٢ , ٪ جلايكو لشيتوزان مع معلق جراثيم الخميرة .

تبين فى الدراسات المعملية أن اتحاد *C. saitoana* مع Glycolchitosan ، كان أكثر فعالية فى مقاومة تحلل ثمار التفاح والحمضيات ، أفضل من استعمال كل منهما لوحده . إن هذا المركب الجديد المسمى المغلف الحيوى الفعال يسمح بالاستفادة من صفة الـ Glycolchitosan فى تضاد الفطريات وصفة التضاد فى الخميرة جدول رقم ١٠١ .

جدول رقم (١٠١) : تجمعات الخميرة *C.saitoana* فى تفاح جولدن دليشص ، فى الجروح وعلى سطح الثمار فى وجود وعدم وجود Glycolchitosan .

المعاملة	مدة التخزين يوم	عدد خلايا الخميرة (لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرات)	
		على سطوح الثمار	فى الجروح
الخميرة لوحدها	صفر	٤, ٤٧	٤, ٦
	٤٢	٤, ٩	٦, ٠١
المغلف الحيوى الفعال	صفر	٤, ٦٢	٤, ٥١
	٤٢	٤, ٨١	٥, ٩١

مقاومة الأمراض :

إن كفاءة المغلف الحيوى الفعال فى المقاومة الحيوية لأمراض مابعد الجمع فى ثمار التفاح والحمضيات ، قد قدرت تحت الإصابة الطبيعية والتى تشابه ظروف التخزين التجارى لهذه المنتجات . تبين أن نمو الخميرة *C. saitoana* فى جروح ثمار التفاح ، وعلى سطوح الثمار لم يتأثر بوجود Glycolchitosan . كان المغلف الحيوى الفعال أكثر فعالية فى مقاومة تحلل ثمار عديد من أنواع التفاح مثل ، رد دلشص ، Rome ، جولدن دليشص وإمبير ، أكثر من استعمال كل من الخميرة لوحدها أو المادة الكيماوية لوحدها . كذلك تبين أن المغلف الحيوى الفعال أفضل فى كفاءته فى خفض تحلل ثمار التفاح من استعمال الثيوبندازول . كذلك فإن المغلف الحيوى الفعال أفضل فى مقاومة تحلل الحمضيات من

الخميرة *C.saitoana* لوحدها ، وذلك بالنسبة للأصناف (Hamil ، Pine apple ، Valencia ، Washington navel) والصنف Eureka lemon وكانت نسبة الوقاية تشابه ماهو ناتج من استعمال Imazalil . إن المعاملة بالمغلف الحيوى الفعال والمبيد الفطري Imazalil تعطى مقاومة مستمرة لمرض تحلل ثمار البرتقال Washington navel و Eureka lemon فى المواسم المبكرة والمتأخرة ، بينما مكونات المغلف الحيوى الفعال كل لوحده (الخميرة *C.saitoana* ، ٠,٢ ٪ Glycolchitosan) كانت أكثر فعالية على الثمار فى الموسم المبكر. كذلك فإن المغلف الحيوى الفعال يخفض حدوث مرض عفن نهاية الساق فى الصنف Valencha أورانج ، ولكن المقاومة كانت أقل كفاءة من استعمال Imazalil .

ملاحظة : كانت تجرح الثمار بجروح ٣ ملم بعمق ٥ ملم . كان المغلف الحيوى الفعال يحتوى 10^8 وحدة تكوين مستعمرات من الخميرة وكان يستعمل بمعدل ١٥ مل/كيلو غرام ثمار . أما مركب الثيابندازول كان يستعمل بنسبة ٦٠٠ ميكروغرام لكل مل . أما مركب الميزاليل كان يستعمل بنسبة ٢ ملغ/مل . جدول (١٠٢ ، ١٠٣ ، ١٠٤) .

جدول رقم (١٠٢) : تأثير استعمال المغلف الحيوى الفعال على تحلل ثمار التفاح بعد فترات تخزين مختلفة على حرارة ١٨° م .

المعاملة	٪ تحلل ثمار			
	جولدن دليشص ٣٥ يوم	روم ٣٥ يوم	إمباير ٢٢ يوم	رد دليشص ٢٢ يوم
كنترول	٣٧	٢٢	٥٥	١٥
Glycolchitosan	٢٥	١٠	--	--
الخميرة لوحدها	٢١	١٢	--	--
المغلف الحيوى الفعال	١٢	٤	٢٨	٤
ثيابندازول	٢٢	٣	٥٨	٢٥

جدول رقم (١٠٣) : تأثير استعمال المغلف الحيوى الفعال على أصناف البرتقال على فترات تخزين مختلفة على حرارة ١٨° م .

المعاملة	٪ أصابة بالفعن الأخضر للأنواع		
	Hamlin	Pine apple	Valencia
	تخزين ٢١ يوم	تخزين ٢٨ يوم	تخزين ٢١ يوم
كنترول	١٨	٢٢	١٠
المغلف الحيوى الفعال Imazalil	٠٧	٠٨	٠٥
	٠٦	٠٧	٠٤

جدول رقم (١٠٤) : تأثير استعمال المغلف الحيوى الفعال على الإصابة بعفن طرف الساق فى برتقال Valencia بعد تخزين ٢٨ يوم على حرارة ١٨° م .

المعاملة	٪ عفن طرف الساق
كنترول	١٤
المغلف الحيوى الفعال Imazalil	٠٧
	٣

تحسين فعالية الخميرة *C.saitoana* بإضافة 2- Deoxy -D- Glucose

لقد درس تأثير اتحاد الخميرة *C.saitoana* مع ٠,٢ ٪ من مركب ٢ – دى أكسى دى غلوكوز على مقاومة تحلل ثمار التفاح والليمون والبرتقال . وجد أن نمو هذه الخميرة فى المعمل قد حدث له خفضاً بواسطة المركب السكرى المذكور . وعلى أية حال فإنه فى جروح ثمار التفاح ، فإن الخميرة تنمو أيضاً فى وجود المركب السكرى المذكور بالتساوى كما لو كان غير موجود .

عند إضافة المحلول السكرى إلى جروح الثمار قبل حقنها بالكائن الممرض ، فإن الاتحاد

بين الخميرة ونسبة ٠,٢ ٪ من المحلول السكرى يكون فعالاً فى مقاومة تحلل ثمار التفاح والبرتقال والليمون المتسبب عن كل من الفطريات الآتية : *Penicillium expansum* ، *Botrytis cinerea* ، *P. digitatum* ، أكثر من استعمال كل من الخميرة أو ٠,٢ من المحلول السكرى كل لوحده ، جدول رقم (١٠٥) وجد أن زيادة تركيز المحلول السكرى من ٠,٢ ٪ إلى ٠,٥ ٪ لم يؤدى إلـــى تحسين المقاومة معنوياً ، ولكن عند اتحاد الخميرة مع ٠,٢ ٪ من المحلول السكرى ، كان أيضاً فعالاً ضد الإصابات التى نشأت حتى ٢٤ ساعة قبل المعاملة . عند إضافة هذا المخلوط بعد ٢٤ ساعة من الحقن ، فإن هذا الخليط يكون فعالاً جداً فى مقاومة مرض العفن الأزرق على التفاح والعفن الأخضر على البرتقال والليمون. إن مستوى مقاومة العفن الأخضر كان مساوياً للمعاملة بالمبيد Imazalil . عندما استعمل أى من الخميرة أو ٠,٢ ٪ من المحلول السكرى المذكور سابقاً خلال ٢٤ ساعة بعد الحقن ، فإن أى منهما لم يؤثر على تكشف المرض فى التفاح أو الليمون ، وكذلك فإن حدوث التحلل كان مشابهاً لما هو فى الكنترول جدول رقم (١٠٦) .

جدول رقم (١٠٥) : تأثير الاتحادات بتراكيز مختلفة من 2-deoxy -D- glucose **والخميرة** *C.saitoana* **على تحلل ثمار التفاح رد دليشص المتسبب عن الفطر** *B.cinerea* **و** *P.expansum* .

المعاملة	٪ أصابة ثمار	
	B.cinerea	*P.expansum*
كنترول	١٠٠	١٠٠
2-deoxy -D- Glucose ٪ ٠,٢	٧١	٦٥
2- deoxy -D- Glucose ٪ ٠,٦	٤١	٤٧
الخميرة لوحدها	١٩	٢٥
الخميرة + ٠,٢ ٪ المحلول السكرى	٠٧	١٢
الخميرة + ٠,٦ ٪ المحلول السكرى	٠٥	٨

ملاحظات على الجدول :

كانت تعامل جروح التفاح بمعلق من خلايا الخميرة بتركيز 10^9 وحدة تكوين مستعمرات/مل محتوية ٠,٢ ٪ أو ٠,٦ ٪ من المحلول السكرى (وزن/حجم) . كانت تحقن الجروح ، بعد المعاملة

بالمحلول السكرى أو معلق الخميرة ، بكمية ٢٠ ميكرولتر معلق جراثيم الفطر الأول أو الثانى . كانت تقدر نسبة الأصابة بعد ١٤ يوم من تخزين الثمار على حرارة ٢٤° م .

جدول رقم (١٠٦) : التأثير العلاجى لاتحاد الخميرة *C.saitoana* مع 2- deoxy -D- glucose على تحلل كل من ثمار التفاح رد دليشص وبرتقال أبو سرة والليمون .

المعاملة	٪ ثمار مصابة		
	تفاح	برتقال	ليمون
كنترول	٩٨	١٠٠	٨٣
2-deoxy -D- glucose	٩٣	٨٧	٨١
الخميرة لوحدها	٨٨	٨٣	٧٧
الخميرة + المحلول السكرى	١٢	١٤	١١
المبيد الفطرى Imazalil	--	٩	٧

ملاحظات على الجدول :

كانت تحقن الثمار بمعلق جراثيم الفطر *P.expansum* على التفاح أو *P.digitatum* على الليمون والبرتقال بتركيز 10^5 كونيدية/مل . بعد ٢٤ ساعة تعامل بمعلق خلايا الخميرة بتركيز 10^9 وحدة تكوين مستعمرات/مل محتوية صفر أو ٠,٢ ٪ محلول سكرى (وزن/حجم) ، ٠,٢ ٪ (وزن/حجم) لوحده . كان المبيد الفطرى Imazalil بنسبة ١٠٠٠ ميكروغرام/مل وتعامل به ثمار البرتقال والليمون فقط بنسبة ألف ميكروغرام/مل . كانت تقدر نسبة تحلل الثمار بعد سبعة أيام من التخزين على حرارة ٢٠° م .

ثانيا : مقاومة العفن الازرق فى التفاح

باستعمال الخميرة Candida sake

مقدمـــة

لقد نجحت المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة التى تهاجم الثمار بعد الجمع نجاحاً كبيراً . هناك أعداداً من عوامل المقاومة الحيوية تحضر تجارياً ، ومتوفرة فى الأسواق وتستعمل لمقاومة أمراض مابعد الجمع ، منها الاسم التجارى Aspire وهو السلالة 182 من الخميرة *Candida oleophila* والسلالة Esc10 من البكتيريا *Pseudomonas syringae* تباع تحت اسم Bio-save-100 والسلالة Esc11 من نفس البكتيريا تباع تحت اسم Bio-save-110 .

أجريت في أسبانيا دراسات على الخميرة *Candida sake* السلالة CPA-1 وثبت بأنها فعالة فى مقاومة أهم الكائنات الممرضة لبعد الجمع ، على التفاحيات مثل *Penicillium expansum* ، *B.cinerea* . غالباً ما تكون إصابة الثمار بعد الجمع ، ناتجة عن الاصابة بالكائن الممرض فى الحقل قبل الجمع ، وبالتالى يكون من المفيد حتماً استعمال الكائنات الحية الدقيقة فى الحقل لمقاومة أمراض قبل الجمع وبالتالى تنخفض الاصابة الأولية بعد الجمع ، وتبقى فعالة وتثبط فعالية الكائنات الممرضة فى المخزن .

فى سنة ١٩٩٧ استعمل Leibinger *et al* خليط من الخمائر والبكتيريا ، لمقاومة أمراض ما بعد الجمع فى التفاح وحصل على مستوى عال من المقاومة ضد *P.expansum* ، *B.cinerea* كانت مساوية لما يتم الحصول عليه من المعاملات بالمبيدات الفطرية . لكى يكون هذا الاجراء ناجحاً نحتاج إلى لقاح يكون محتملاً لضغوط الظروف البيئية ، خاصة إرتفاع درجة الحرارة ، انخفاض نسبة الرطوبة الفعالة low water activity (a_w) وانخفاض نسبة المغذيات وتحمل الاشعاع فوق البنفسجى . أجريت بعض الدراسات لتحسين كفاءة ، بقاء ونشاط عوامل المقاومة الحيوية ، هذه فى الحقل ، وذلك لتحسين كفاءتها فى مقاومة المرض .

أثبتت الدراسات الحديثة على فسيولوجية الخميرة السلالة *C. sake* CPA-1 ، أثبتت أنه يمكن تحوير ظروف نمو هذه الخميرة ، وبالتالى فإن المركبات المتخصصة الداخلية مثل تجمعات السكر ، الكحول و Trehalose فى الخلية ، يؤدى إلى تحسين قابليتها للحياة على

مدى واسع من الرطوبة ، مع الاحتفاظ بكفاءتها فى المقاومة الحيوية . إن تجمعات مركبات السكريات الكحولية ذات الجزيئات المنخفضة الوزن الجزيئى مثل (Glycerol and erythri-ol) أو ذات الوزن الجزيئى العال مثل (Mannitol ، arabitol) يحدث فى كثير من الفطريات النامية تحت ظروف بيئية قاسية . إن التجمعات بين الخلوية لهذه الـ Polyols يخفض كفاءة السيتوبلازم المائية (a_w) وتسهل للإنزيمات لأن تبقى فعالة خلال فترة نضوب الماء . كونيديات فطريات المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة الحشرية مرتفعة التركيز من (Glycerol & erythritol) تتحمل نشاط الماء المنخفض وكانت أكثر شدة مرضية من الكونيديات غير المحورة . تكون اللقحات المعالجة فسيولوجياً فى عامل المقاومة الحيوية *Epi-coccum nigrum* محتوية تركيزات عالية من جليسرول والإريثيرول يزودها بمقاومة فى الحقل أفضل ضد *Monilinia laxa* على الخوخ منه فى اللقاحات غير المحورة .

ذكرت بعض الدراسات أن Disaccharide trehalose يمكن أن يكون مهماً بسبب أنه يزيد تحمل الجفاف ويزيد حيوية وانبات الفطريات فى مستويات كفاءة الماء المنخفضة (a_w).

مقاومة مرض العفن الأزرق فى التفاح :

عند استعمال الخميرة *Candida sake* السلالة CPA-1 سواء المحورة لتحمل إنخفاض الماء أو غير المحورة بتركيز ٣ × $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل فى كل معاملة بمدة يومين قبل الجمع فى الحقل على ثمار التفاح ، وذلك لمقاومة العفن الأزرق فى التفاح المتسبب عن الفطر *Penicillium expansum* تحت ظروف التخزين التجارية . وجد أن تجمعات الخميرة غير المحورة فى الحقل تبقى نسبياً دون تغير ، فى حين أن حجم تجمعات الخميرة المحورة لتحمل إنخفاض الرطوبة الفعالة (a_w) تزداد . خلال التخزين البارد ، فإن تجمعات كلا السلالتين يزداد من $١٠^{٣}$ إلى $١٠^{٥}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام من التفاح بعد ٣٠ يوم ، ثم بعد ذلك تنخفض إلى حوالى ٢,٥ × $١٠^{٤}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام تفاح . أثبتت الدراسات المعملية أن الخميرة المتحملة لانخفاض الرطوبة تعطى مقاومة حيوية أفضل معنوياً بالمقارنة مع الخلايا غير المحورة وتخفض إصابة الجروح وحجم البقع المتحللة حوالى ٧٥ ٪ ، ٩٠ ٪ بالترتيب بالمقارنة مع الكنترول . بعد ٤ شهور من التخزين فى المخزن المبرد ، فإن كلا السلالتين المحورة وغير المحورة كانت ذات تأثير متساوى ضد الفطر *P.expansum* على التفاح وكان الخفض أكبر من ٥٠ ٪ فى حجم البقع وأصابة الجروح .

ثالثاً : استعمال أنواع مختلفة من الخميرة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى الكمثرى

مقدمـــة

تنشأ معظم أمراض مابعد الجمع فى الكمثرى عن طريق الجروح التى تحدث أثناء الجمع أو التعبئة . تحدث الأصابات اللاحقة عن طريق الجروح ، بواسطة واحد أو أكثر من عديد من الكائنات الممرضة مثل *P.expansum* و *B.cinerea* (مسببات مرض العفن الأزرق والرمادى) تكون بشكل عام ضارة كثيراً وسريعة النمو . أما *Phialophora malorum* ، *Cladosporium herbarum* ، *Alternaria alternata* فهى كائنات ممرضة ، ولكنها أقل عنفاً من المجموعة الأولى (مسببة الأعفان الجانبية) والتى تخلق مشاكل فى الثمار المخزنة لفترات طويلة . إن كلاً من *Phialophora malorum* و *A.alternata* غير حساسة للمبيد الفطرى Thiabendazole (TBZ) ، أكثر المبيدات الفطرية استعمالاً لمقاومة أمراض مابعد الجمع لثمار الكمثرى . معظم سلالات *P.expansum* و *B.cinerea* تكون حساسة للمبيد TBZ مع أن هناك سلالات مقاومة تتواجد بالصدفة .

هناك بعض سلالات الخميرة منها *Cryptococcus infirmo - miniatus* YY6 والسلالة *Rhodotorula glutinis* HRB6 والسلالة *Cryptococcus laurentii* RR87-108 وهى تعزل أساساً من أسطح ثمار الكمثرى أو التفاح فى مناطق شمال غرب الباسفيك عندما تحقن هذه الخمائر فى الجروح على الكمثرى والتفاح بعد الجمع متحدة مع الكائنات الممرضة ، فإنها تسبب مقاومة جيدة للأعفان المتسببة عن *B.cinerea* ، *P.expansum* و *Phialophora malorum* . أما الخميرة *Candida oleophila* سلالة I-182 ، فقد تبين أنها فعالة فى تخفيض تحللات مابعد الجمع ، وهى المركب الفعال فى المبيد الحيوى التجارى Aspire والذى سمح تداوله فى الأسواق ليستعمل على الكمثرى .

ذكرت عديد من الدراسات أنه للحصول على مقاومة جيدة لأمراض مابعد الجمع ، يجب أن تضاف عوامل المقاومة الحيوية ، بعد الجمع ، أكدت أبحاث قليلة ، أنه يجب استعمال عوامل المقاومة الحيوية على الثمار ، أثناء وجودها فى الحقل ، وذلك بغرض

مقاومة تحللات مابعد الجمع . لقد وجد Spott & Chand-Goyal سنة ١٩٩٧ أن الخميرة *C.infirmo-miniatus* و *C.laurentii* تخفض الأصابة بالعفن الأزرق عندما تضاف على جروح الكمثرى بعد ٢٤ ساعة من الحقن بالفطر *P.expansum* ، ولكن بعد ٧٢ ساعة ، فقد تسبب مقاومة عندما تتحد مع المبيدات الفطرية . هذا يدل على أهمية الإضافة الفورية لعوامل المقاومة الحيوية فى الحقل قبل حدوث الجروح أثناء الجمع . من أهم الاعتبارات التى يجب مراعاتها فى مقاومة أمراض مابعد الجمع ، هو مقدرة الكائنات الحية الدقيقة لأن تبقى حية بتجمعات كافية على سطح الثمرة ، بعد رشها عليه . يكون الطقس فى مناطق زراعة المكثرى بشكل عام حار جاف وقت الجمع ، والذى له تأثير محدد لتجمعات الخميرة ، كذلك فإن الخميرة يمكن أن تتأثر بالرش بمبيدات الآفات ، أو أثناء غسل الثمار أثناء المطر أو الرش . وعلى اية حال ، نظراً لأن هذه الخمائر تعزل أساساً من سطوح الثمار بعد أو أثناء الجمع ، فمن المحتمل أن تكون متحملة لهذه الظروف . بعض الخمائر يمكن أن تستعمر سطوح النبات أو الجروح لمدة زمنية طويلة تحت ظروف الجفاف ، وتنتج عديدات التسكر خارج الخلايا والذى يزيد مدة بقاءها وتخفض من المناطق المستعمرة من قبل الكائن الممرض .

مقاومة المرض :

لقد وجد أن الخمائر المذكورة سابقاً *Cryptococcus infirmo - miniatus* ، *C.laurentii , Rhodotorula glutinis* عند استعمالها على بعض أنواع الكمثرى فى الحقل على فترة ثلاثة أسابيع قبل الجمع ، تحافظ على مستويات عالية من التجمع أثناء الجمع ، بينما تجمعات الخميرة *Candida oleophila* تنخفض بعد أسبوع أو أسبوعين ، ولا يكون هناك فرق معنوى فى وقت الجمع عن مجموع التجمعات على الثمار غير المعاملة. عندما تستعمل الخمائر رشاً على الثمار كل لوحده بتركيز (١-٣) × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل بمعدل ٢ مل تقريباً لكل ثمرة ، فإن حجم التجمعات الأولى للأربعة أنواع يصل ٥ × $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل ثمرة . وجد أن أفضل الخمائر فى مقاومة مرض تحلل الثمار ، هى الخميرة *C.infirmo - miniatus* وذلك عند رشها على الثمار قبل الجمع بمدة ثلاثة أسابيع ، وكذلك فإن هذه الخميرة والخميرة *R.glutinis* تسبب مقاومة معنوية للمرض فى نوع الكمثرى Bosc إذا رشت قبل الجمع بيوم واحد جدول رقم ١٠٧.

جدول رقم (١٠٧) : مقاومة أمراض مابعد الجمع فى بعض أصناف الكمثرى بعد معاملتها فى الحقل ببعض الخمائر وذلك بحقنها عن طريق الجروح الصناعية .

نوع الخميرة ووقت الاستعمال	أ. أصابة جروح							
	الصنف Bosc				الصنف d'Anjou			
	عفن رمادى	عفن أزرق	عفن جانبى	عفن التحليل	عفن رمادى	عفن أزرق	عفن جانبى	عفن التحليل
٣ أسابيع قبل الجمع								
كنترول	١٣,١	٣,٩	١٤,٦	٣١,٧	٧,٠	١٠,٥	٨,١	٢٥,٦
R.glutinis	٥,٥	١,٣	١٤,٠	٢٠,٨	٥,٠	٢,٣	١,٣	٨,٦
C.inf-min	٤,٠	١,٠	١,٧	٦,٦	١,٠	١,٠	٤,٣	٦,٣
C.laurentii	٤,٠	١,٧	٢١,٧	٢٧,٤	٥,٣	صفر	٩,٧	١٥,٠
C.oleophila	١٦,٧	١,٧	٢٤,٥	٤٤,٩	١٥,٠	٥,٠	١,٣	٢١,٣
يوم واحد قبل الجمع								
كنترول	١٦,٠	١,٠	٢٥,٠	٤٢,٠	٢,٠	٣,٠	١١,٧	١٦,٧
R.glutinis	٣,٠	١,٣	١١,٣	١٥,٥	١,٠	٤,٠	١٣,٢	١٨,٢
C.inf-min	٣,٠	صفر	٨,٥	١١,٥	صفر	صفر	١٠,٠	١٠,٠
C.laurentii	٥,٠	صفر	١٤,٨	١٩,٨	١,٧	٦,٠	١٠,٠	١٧,٧
C.oleophila	٣,٠	١,٣	١٢,٥	١٦,٨	صفر	٥,٣	١٤,٧	١٩,٩

ملاحظات على الجدول :

كانت ترش الثمار بالمعلق البكتيرى المحتوى (١-١,٥) × ١٠ ^{٨} وحدة تكوين مستعمرات لكل مل ، بالنسبة لكل من الخمائر *R.glutinis* و *C.inf-min* . أما بالنسبة للخميرة *C.laurentic* فكانت تستعمل بتركيز (٢,٨-٣) × ١٠ ^{٨} وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما الخميرة *C.oleophila* فكانت تستعمل بنسبة ١ × ١٠ ^{٨} وحدة تكوين مستعمرات/مل .

رابعاً : مقاومة مرض العفن البنى لما بعد الجمع فى اللوزيات

مقدمـــــة

يتسبب مرض العفن البنى فى اللوزيات Stone Fruits عن الفطر *Monilinia fructicola* وهو من أكثر الأمراض تحطيماً لثمار اللوزيات . يبدأ هذا المرض على شكل لفحة براعم، ثم يتقدم بعد ذلك إلى الأفرع الصغيرة ويسبب لفحة الفريعات ، ثم تقرح والذى يؤدى إلي إكثار اللقاح ويبقى كامناً لأصابة الثمار الخضراء . يتكشف من هذه الإصابات الكامنة مرض العفن البنى فى الثمار قبل الجمع وخلال التخزين وأثناء النقل إلى الأسواق . أحياناً فإن مرض العفن البنى أيضاً يهاجم الثمار فى مراحل تكوينها وأثناء دخول الثمار فى المصنع . تختلف شدة انتشار المرض قبل الجمع من سنة لأخرى ، وهذا يعتمد على الظروف الجوية . وبالمقابل فإن نسبة التحلل فى الثمار تزيد عن ٥٠ ٪ ويكون سبب ذلك الإصابة أثناء طور مابعد الجمع ، بغض النظر عن ابتداء حدوث المرض بعد الجمع .

هناك عديد من العوامل تؤثر على حدوث مرض تحلل الثمار فى اللوزيات المتسبب عن الفطر *M.fructicola* قد درس كل واحد منها لوحده . كلما زاد تركيز اللقاح ، كلما زادت سرعة وشدة مرض التحلل المتكشف على ثمار الخوخ والكرز المجروحة . إن الجروح بما فيها الكدمات والخدوش ، أيضاً ، لها تأثير كبير فى تسهيل حدوث المرض فى ثمار المشمش ، الخوخ والبرقوق .

هناك اقتراحين قد قدما لمقاومة مرض العفن البنى الحادث بعد الجمع : الاقتراح الأول ، يقول باستعمال المبيدات الفطرية قبل الجمع ، وذلك لمنع تنشيط الإصابات الكامنة و/أو لوقاية الثمار من الإصابات المستقبلية ، يعتمد نجاح هذه الخطة بشكل كبير على التنبؤ عن الإصابات الكامنة . أما الاقتراح الثانى : فيقول يجب الاعتماد على استعمال المعاملات بالمبيدات الفطرية بعد الجمع ، أساساً .

قبل سنة ١٩٩٦ كانت المبيدات الفطرية مثل البينومايل ، Iprodione ، Triforine ، مسجلة لاستعمالها بعد الجمع على ثمار اللوزيات لمقاومة مرض العفن البنى . بسبب ظهور سلالات مقاومة للمبيد الفطرى بينومايل، فإنه لم يستعمل مدة طويلة. أما الـ Iprodione ، فقد استغنى عنه اختيارياً بواسطة الشركة Rhone - Poulence Ag.Co. فى سنة ١٩٩٦ . ثم من بعد ذلك لم يتوفر مبيد فطرى مصرح باستعماله لمقاومة أمراض ثمار اللوزيات بعد

الجمع خاصة مرض العفن البنى . بعد ذلك اتجهت طرق مقاومة أمراض مابعد الجمع فى اللوزيات إلى :

١ – معاملة الثمار بماء ساخن ممزوجاً بالكحول بنسبة ١٠ ٪ .

٢ – تبخير الثمار بمركب ثانى أكسيد الكربون ، حمض الخل أو أى مركبات متطايرة أخرى من ثمار الخوخ .

٣ – معاملة الأجزاء النباتية بالأشعة الفوق بنفسجية .

٤ – استعمال أنواع معينة من أملاح الكالسيوم أو Sugar analogs .

٥ – المقاومة الحيوية .

٦ – استعمال خليط من الأجراءات المذكورة سابقاً .

اتجهت الأبحاث إلى المقاومة الحيوية ، وجد أن البكتيريا *Bacillus subtilis* ، تقاوم مرض العفن البنى فى الخوخ بعد الجمع فى محطات التجارب وفى الانتاج التجارى . أما البكتيريا *Pseudomonas corrugata* و *P.cepacia* ، فإنها أيضاً تخفض فعلياً حدوث المرض على الثمار المجروحة صناعياً فى النكترين والخوخ وتحسن صفات ثمار الخوخ المصنعة . زيادة على ذلك فإن بعض الخمائر إما أن تخفض حدوث مرض العفن البنى أو تخفض من مساحة البقعة المتكونة . وعلى أية حال فإن فعالية جنس الفطر *Trichoderma* (أكثر أنواع الفطريات شهرة فى المقاومة لمعظم أمراض النبات) ، قد أجريت عليه تجارب عديدة لمقاومة مرض العفن البنى فى اللوزيات .

مقاومة المرض :

استعملت فى مقاومة هذا المرض ثلاثة سلالات من الفطر *Trichoderma sp.* وسلالة أخرى من فطر آخر ، هذه السلالات هي :

١ – العزلة New من الفطر *T.atroviride* .

٢ – العزلة Ta 291 من نفس الفطر السابق .

٣ – العزلة 23-E-6 من الفطر *T.viride* .

٤ – عزلة BI-54 من *Rhodotorula sp.* .

كانت توضع الثمار فى مخزن حرارته ٢٠ °م ورطوبة نسبية ٩٥ ٪ . كان يلاحظ مرض العفن البنى كثيراً على ثمار النكترين ، الخوخ والبرقوق المجروحة والمحقونة بجرثومتين

من الفطر الممرض *M.fructicola* لكل جرح ، وأحياناً تحدث الأصابة بدون جروح ، على ثمار النكترين والخوخ بنفس العدد من الجراثيم . أما على البرقوق فلا تحدث إصابة بالفطر إلا بعد التجريح فقط . كذلك يحدث زيادة كبيرة فى قطر البقع المتكونة بسبب المرض على كل من النكترين والخوخ المجروحة والمحقونة بمعلق يحتوى عشرين جرثومة أو أقل من الفطر لكل جرح مقارنة بالثمار غير المعاملة .

عند استعمال معلق جرثومى تركيز $١٠^{٧}$ و $١٠^{٨}$ جرثومة/مل ، فإن جميع عزلات الفطر *Trichoderma* خفضت فعلياً مرض العفن البنى على الخوخ بنسبة ٦٣–٩٨ ٪ وبنسبة ٦٧–١٠٠ ٪ على البرقوق ، وذلك عندما حقنت الثمار بالفطر الممرض بعد حقنها بعامل المقاومة الحيوية . وبالمثل فإن تركيز $١٠^{٨}$ جرثومة لكل مل من عزلة الخميرة BI-54 ، فإنها أيضاً ثبطت مرض العفن البنى على الخوخ كلية وعلى البرقوق بنسبة ٥٤ ٪ . كذلك أمكن الحصول على خفض معنوى فى حدوث مرض العفن البنى باستعمال العزلة (New) بتركيز $١٠^{٨}$ جرثومة/مل ، حتى عندما كان عامل المقاومة الحيوية يستعمل بعد ١٢ ساعة من الحقن بالفطر الممرض وتحت ظروف مستمرة من الرطوبة النسبية ٩٥ ٪ .

كذلك فإن العزلتين Ta-291 و 23-E-6 أيضاً تخفض مرض العفن البنى معنوياً تحت ظروف جفاف و ٥٠ ٪ رطوبة نسبية . أعطت هذه العزلات أفضل مقاومة حيوية لمرض العفن البنى فى البرقوق عندما استعملت قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ١٢ ساعة . أما من ناحية اقتصادية ، فإن أفضل مقاومة أمكن الحصول عليها لهذا المرض على البرقوق عند حقنه بالكائن الممرض بتركيز ٨ × $١٠^{٤}$ جرثومة/مل هو استعمال العزلة (New) بتركيز $١٠^{٦}$ جرثومة/مل ، والعزلة Ta-291 بتركيز $١٠^{٧}$ جرثومة/مل . كذلك فإن إجراءات منع حدوث جروح أو أضرار للثمار تساعد أيضاً فى خفض نسبة حدوث المرض على ثمار اللوزيات ، حتى عند وجود أية كمية من جراثيم الفطر الممرض على ثمار البرقوق ، ولكن على ثمار الخوخ يجب أن لا تزيد عن ٥٠ جرثومة/مل مربع من سطح الثمرة حتى لا تحدث أصابة عند عدم وجود جروح . أما بالنسبة للنكترين (حساس جداً للإصابة) يجب أن لا يزيد عدد جراثيم الفطر الممرض عن خمسة جراثيم لكل ملم مربع من سطح الثمرة .

يمكن القول بشكل عام أن السلالة New و Ta-291 من الفطر *T.atroviride* والعزلة 23-E-6 من الفطر *T.viride* والعزلة BI-54 هى عوامل مقاومة حيوية فعالة فى مقاومة مرض العفن البنى فى اللوزيات .

خامساً : مقاومة العفن البنى والعفن الأزرق

فى ثمار الكرز الحلو بعد الجمع

مقدمـــة

هناك عديداً من أمراض ما بعد الجمع تهاجم الكرز الحلو Sweet cherry ، وتسبب خسائر كبيرة فى الانتاج ، من هذه الأمراض العفن الأزرق الذى يتسبب عن *Penicillium expansum* والعفن البنى الذى يتسبب عن *Monilinia fructicola* وعفن الترناريا المتسبب عن *Alternaria alternata* ، عفن رايزوبس المتسبب عن *Rhizopus stolonifer* والعفن الرمادى المتسبب عن *Botrytis cinerea* ، تسبب معظم هذه الفطريات تحلل وتعفن الثمار بعد الجمع .

ثبت فى الدراسات الحديثة التى أجريت على حصر انتشار هذه الأمراض ، أن مرض العفن الأزرق ، هو أكثر الأمراض أضراراً وتحطيماً للكرز الحلو ويسبب خسارة تقدر بحوالى ٣٥ ٪ فى الكرز أثناء نقله لمسافات طويلة فى أمريكا ، كلما طالت فترة التخزين كلما زادت شدة المرض .

اتجهت أنظار كثير من الباحثين إلى عوامل المقاومة الحيوية ، لمقاومة أمراض مابعد الجمع فى ثمار اللوزيات . وجد أن العفن البنى وعفن رايزوبس فى الخوخ قد نجحت مقاومتها باستعمال البكتيريا *B.subtilis* و *Enterobacter cloacae* بالترتيب . كذلك وجد أيضاً أن البكتيريا *B.subtilis* تقاوم أمراض مابعد الجمع ، مثل العفن البنى وعفن الترناريا فى الكرز الحلو . إن مقاومة مرض العفن البنى فى الخوخ والنكترين ، قد تم الحصول عليها باستعمال *Pseudomonas corrugate* و *P.capacia* ويستمر مفعولهما لمدة ١٢ ساعة بعد الحقن بالكائن الممرض . إن استعمال كل من *Aureobasidium pullulans* و *Epicoccum purpurascens* على براعم الكرز الحلو ، تخفض أعداد الإصابة المتأخرة بالعفن البنى فى الثمار الخضراء. أما الخميرة *Candida oleophila* ، فإنها تخفض مستوى الإصابة بالفطر *P.expansum* فى ثمار النكترين بعد الجمع . ولقد وجد أيضاً أن الخميرة *C.oleophila* فعالة فى الهواء وفى الجو المتحكم به فى المخزن عندما تتحد مع المبيد الفطرى Dichloran .

لقد وجد حديثاً أن هناك ثلاثة أنواع من الخميرة الرمية ، تتواجد طبيعياً ويمكن عزلها

من سطح ثمرة الكمثرى ، هذه الخمائر فعالة فى مقاومة خمسة أمراض من أمراض مابعد الجمع فى الثمار ، من أهمها العفن البنى فى ثمار الكرز الحلو . لقد تم الحصول على مقاومة للعفن البنى فى الكرز الحلو عندما كان هناك معاملة يتحد فيها كل من *Crypto-coccus laurentii* أو *C.infirmo miniatus* مع جرعة منخفضة من المبيد Iprodione . كان هذا المبيد الفطرى يستعمل بكثرة فى مقاومة أمراض مابعد الجمع فى الكرز لغاية شهر مارس ١٩٩٦ ثم تقرر عدم استعماله على الكرز الحلو فى التخزين واستعماله قبل جمع الثمار بمدة سبعة أيام على الأقل .

مقاومة المرض :

قبل وقف استعمال المبيد الفطرى Iprodione ، كان يستعمل بتركيز ١,١٣ كغم مادة فعالة /هكتار ، وكان يخفض مرض العفن البنى فى ثمار الكرز الحلو . ولقد تم الحصول على مقاومة معنوية أفضل لهذا المرض ، عندما كانت تعامل ثمار الكرز الحلو بعد الجمع بهذا المبيد ، ثم بعد ذلك تغمر الثمار فى معلق من جراثيم الخميرة *C. infirmo-miniatus* بتركيز (٠,٥–١,٥) × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . لقد تم خفض نسبة المرض من ٤١,٥ ٪ فى الكنترول إلى ٠,٤ ٪ فى المعاملة التى استعملت فيها الخميرة مقترنة مع المبيد الفطرى المذكور ، خاصة عندما يكون هناك تحسيناً فى طرق التخزين (جدول رقم ١٠٨) .

جدول رقم (١٠٨) : مقاومة مرض تحلل الثمار (العفن البنى) فى الكرز الحلو باستعمال المبيد الفطرى Iprodione **قبل الجمع والخميرة** *C.infirmo miniatus* **بعد الجمع .**

المعاملة	٪ تحلل الثمار الناتج عن	
	العفن الأزرق	العفن البنى
الخميرة لوحدها	٤	١٦
الخميرة + المبيد الفطرى قبل الجمع بخمسة أيام	صفر	٢,٤
الخميرة + المبيد الفطرى قبل الجمع ١٢ يوم	صفر	٣,٢
المبيد الفطرى لوحده قبل الجمع ٥ يوم	٢,٤	٦,٨
المبيد الفطرى لوحدة قبل الجمع ١٢ يوم	٤,٤	٨,٤
كنترول	١٩,٦	٢٠,٨

ملاحظات على الجدول :

كانت تستعمل الخميرة بتركيز ١,٤٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما المبيد الفطرى يستعمل بتركيز ١,١٣ كغم مادة فعالة/هكتار . كان العفن الأزرق ينشأ من أصابة طبيعية . بالنسبة لمرض العفن البنى ، حتى يحدث كانت تلوث الثمار بجراثيم الكائن الممرض *M.fructicola* بنسبة ١٠^٤ جرثومة كونيدية/مل .

سادساً : مقاومة عفن رايزوبس فى النكترين

مقدمـــة

يتسبب مرض عفن رايزوبس فى النكترين عن الفطر *Rhizopus stolonifer* ، وهو من الأمراض الخطيرة والمدمرة للنكترين بعد الجمع ، وقد ذكر كثيراً فى بلاد الصين . إن جراثيم هذا الفطر شائعة الوجود فى كل مكان . تحدث الإصابة للثمار بشكل أساسى عن طريق الجروح خلال الجمع أو أثناء التعبئة .

مع أن المقاومة الحيوية لأمراض مابعد الجمع قد ذكرت ودرست كثيراً ، إلا أن مقاومة الفطر *R.stolonifer* لم تحصل على دراسة وافية . وجد أن الخمائر *Kloeckera apiculata* ، *Candida guilliermondii* و *Enterobacter cloacae* ، تقاوم جزئياً مرض عفن رايزوبس بعد الجمع فى ثمار الخوخ ، بينما الخميرة *Cryptococcus laurentii* و *Rho-dotorula glutinis* أيضاً تخفض مرض العفن الرايزوبى فى التفاح ، عنب المائدة والفراولة . يبدو أن الخمائر تكون عوامل مقاومة حيوية فعالة فى مقاومة أمراض مابعد الجمع ، حيث أن انتاج المضادات الحيوية من المحتمل أن لا يكون داخلاً فى نشاطها .

لقد عزلت الخميرة *Pichia membranefaciens* من ثمار الخوخ واستعملت فى مقاومة مرض العفن الرايزوبى فى النكترين .

مقاومة المرض :

لقد وجد أن استعمال الخميرة المذكورة سابقاً بتركيز ٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل من المعلق الخلوى يثبط كلية العفن الرايزوبي فى النكترين المجروح صناعياً والمحقون بتركيز ٥ × ١٠^٤ جرثومة/مل على درجات الحرارة ٢٥ ، ١٥ و ٣°م . إن راشح مزرعة الخميرة لم يكن له أى تأثير على هذا المرض . عند خلط الخميرة مع المبيد الفطرى

Iprodione بتركيز ١٠٠ ميكروغرام مادة فعالة/مل يعطى مقاومة أفضل للفطر *R.stolonifer* من استعمال كل منهما لوحدة . كذلك فإن استعمال محلول مكون من ٢٠ غرام كلوريد كالسيوم / لتر يزيد كفاءة الخميرة عند استعمالها بتركيز $١٠^{٧} - ١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات / مل كمعلق مائي .

يلاحظ الاستعمار السريع للخميرة فى الجروح خلال الثمانية والأربعين ساعة الأولى على حرارة ٢٥ °م ، ١٥ °م . لقد وجد أن الخميرة على تركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل تكون فعالة عند استعمالها قبل الحقن بالفطر الممرض بمدة صفر إلى ٧٢ ساعة ، بينما على تركيز ١ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل ، تكون فعاليتها أفضل عندما تستعمل قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ٢٤–٤٨ ساعة . وعلى أية حال فإن فعالية الخميرة كانت معنوية أيضاً فى خفض المرض عند استعمالها فى نفس الوقت مع الحقن بالكائن الممرض . جدول رقم (١٠٩) ، (١١٠) .

عند دراسة تأثير الخميرة على إنبات جراثيم الفطر ، وعلى استطالة أنبوبة الإنبات ، وجد أن الخميرة بتركيز ٥ × $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل تثبط إنبات الجراثيم من ٩٧٪ إلى ٣٠٪ . أما تركيز ٥ × $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل ثبطت نسبة الإنبات إلى ١٣٪ أما تركيز ٥ × $١٠^{٨}$ فقد ثبطت الإنبات إلى صفر . أما النسبة لاستطالة أنبوبة الإنبات ، فقد خفضت من ٢١٨ ميكروميتر فى الكنترول إلى ١٥,٤ ميكروميتر فى تركيز ٥ × $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل وإلى صفر فى تركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل

جدول رقم (١٠٩) : تأثير الخميرة *P.membranefaciens* والمعاملة الكيماوية بالمبيد الفطرى Iprodione ضد الفطر الممرض R.stolonifer على النكترين .

المعاملة	٪ جروح مصابة	قطر البقعة ملم
المبيد الفطرى لوحده قبل الجمع	٨٥	٦٠
الخميرة + المبيد الفطرى	٢٠	١٢,٥
الخميرة لوحدها	٤٥	٣٨
المبيد الفطرى قبل وبعد الجمع	صفر	صفر
كنترول	١٠٠	٧٥

ملاحظات على الجدول :

كانت تستعمل الخميرة بتركيز ٥ × ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما المبيد الفطرى كان يستعمل بتركيز ١٠٠ ميكروغرام/مل .

جدول رقم (١١٠) : تأثير التجريح والمعاملة بالخميرة المذكورة فى الجدول السابق ، قبل حقن ثمار النكترين بالفطر الممرض *R.stolonifer* لمقاومة مرض العفن الرايزوبى .

الوقت بالساعات بين استعمال الخميرة والحقن بالكائن الممرض	٪ جروح مصابة		قطر البقع المتكشفة ملم	
	٥ × ١٠^{٨} وحدة/مل	١٠^{٨} وحدة/مل	٥ × ١٠^{٨} وحدة/مل	١٠^{٨} وحدة/مل
صفر	صفر	٦٠	صفر	٣٧
٤	صفر	٥	صفر	٢
٢٤	صفر	صفر	صفر	صفر
٤٨	صفر	صفر	صفر	صفر
٧٢	صفر	٧٠	صفر	٥
كنترول	١٠٠	١٠٠	٧٥	٧٥