مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2024 ، 12 (1) : 9 – 13 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

كفاءة خل التفاح والعكبر الحلول بالماء في تثبيط فطر تكلس حضنة النحل مخبرياً

نورالدين ظاهر حجيج[1] و فراس عزام[1] و معتز حيدر[1] و محمد العلان[1] و محمد جمال مندو[1] و عبد اللطيف الغزاوي[1] و عادل المنوفي[1] و أحمد أبو السل[2] و رغدة البغدادي[1]
[1]إدارة بحوث وقاية النبات/ الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية/ دمشق/ سورية و [2] مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية/ كلية الزراعة/ جامعة دمشق / سورية.
***Corresponding author: nouraldinz@gmail.com, nouraldin1972@gmail.com**
استلام البحث : 09 / 10 / 2023 وقبول النشر : 29 / 01 / 2024 و نشر البحث : 10 / 02 / 2024

الخلاصة
يُعد فطر *Ascosphaera apis* العامل المسبب لمرض تكلس الحضنة الذي يُهاجم حضنة نحل العسل، أجريت التجربة في مخابر الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية لاختبار كفاءة خل التفاح والبروبوليس (العكبر) بتركيز 1 و2.5 و5% في تثبيط النمو الفطري *A. apis* المسبب لمرض تكلس الحضنة مخبرياً. أظهرت النتائج أن استخدام خل التفاح بالتراكيز الثلاثة أدى إلى تثبيط نمو الفطر *A. apis* بنسب متقاربة 47.9، 50.1% و54.7% على التوالي ولم يظهر هناك فروقاً معنوية بين المعاملات الثلاث، أما بالنسبة للعكبر فلم يُظهر التركيز 1% أي تأثير على النمو الفطري، بينما أظهر التركيز 5% تثبيط مرتفع وصل إلى 70.12%. يتبين مما سبق أن استخدام بعض المواد الطبيعية كخل التفاح والبروبوليس مع التغذية السكرية أو البدائل البروتينية (الكاندي) في فترة تحضير الطوائف للتشتية أو في بداية الربيع يرفع من مناعة النحل ضد المسببات المرضية المختلفة.
الكلمات المفتاحية: تكلس الحضنة، الفطر *Ascosphaera apis* ، نحل العسل، خل التفاح، العكبر.

Efficacy of apple vinegar and water-soluble propolis in inhibiting chalk brood in laboratory

Nouraldin Daher Hjaij[1], Feras Azzam[1], Muataz Haidar[1], Mohammad Al-Allan[1], Mohammad Jamal Mando[1], Abdullatif Alghazzaui[1], Adel. El-Menoufi[1], and Ahmad Abulsel[2] and Raghda AL-Baghdadi[1]

[1]Administration of Plant Protection Research, General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), Damascus, Syria and [2]Biological Control Studies and Research Center (BCSRC)- Faculty of Agriculture, Damascuse University.
***Corresponding author: nouraldinz@gmail.com, nouraldin1972@gmail.com**
Received: 09 / 10 / 2023; Accepted: 29 / 01 / 2023; Published: 10 / 02 / 2024

Abstract
Ascosphaera apis is the causal agent of chalk brood disease infecting honey bee brood. A laboratory experiment has been carried out at General Commission for scientific Agricultural Research to evaluate the efficacy of apple vinegar and water-soluble propolis at concentrations of 1, 2.5 and 5% to inhibit the growth of A. apis in petri dish. Results showed that the use of apple vinegar in all concentrations inhibited the growth of *A. apis* in similar ratios 47.9, 50.1 and 54.7% respectively with no significant differences between concentrations. In case of propolis, there was no effect of 1% concentrations on fungus growth where 5% conc. showed high inhibition reached to 70.12%. It is obvious from the above that the use of some natural products like apple vinegar and water-soluble propolis with sugar feeding and protein additives (candy) in hives preparation period for winter and the beginning of spring raises the resistance of honeybee to different diseases.
Keywords: Chalk brood, *Ascosphaera apis*, Honey bee, Apple vinegar, Propolis.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2024 ، 12 (1) : 9 – 13 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

المقدمة

يوجد حالياً العديد من التهديدات لمجتمعات النحل حول العالم، كالتعرض للمبيدات الحشرية، التنوع الوراثي، فقر المراعي وتأثير عدد كبير من العوامل الممرضة. ويُعد فطر *Ascosphaera apis* (Olive and Spiltoir) المسبب لمرض تكلس الحضنة على يرقات نحل العسل *Apis mellifera* L.، والمنتشر في أغلب دول تربية النحل (Bailey and Ball, 1991). يعتمد تطور الفطر في طوائف النحل على وسط غير متوازن من الناحية الفيزيولوجية أو على حالات من الإجهاد المرتبطة بالحضنة أثناء تطورها (Aronstein and Murray, 2010; Castagnino *et al.*, 2020)، مسبباً خسائر كبيرة في أعداد النحل وإنتاجية الطائفة مع أضرار اقتصادية كبيرة في العديد من مناطق تربية النحل في كافة أنحاء العالم (Klouceka *et al.*, 2012). تم اختبار قدرة مجموعة واسعة من المركبات الكيميائية في مكافحة تكلس الحضنة. ولكن لسوء الحظ، لم تحقق أي من المركبات المختبرة مستوى المكافحة المطلوبة للقضاء على المرض (Omar وآخرون، 2014)، إضافة إلى وجود أثر متبقي ناتج عن استخدامها في منتجات النحل، وظهور المقاومة التي ينتج عنها مشاكل خطيرة، ولهذه الأسباب فمن غير المسموح استخدام المبيدات الفطرية، والمضادات الحيوية لمكافحة أمراض النحل في دول الاتحاد الأوروبي، لذلك هناك حاجة متزايدة لإيجاد طرائق صديقة للبيئة للسيطرة على مسببات أمراض نحل العسل (Mraz *et al.*, 2019). ومن المواد الطبيعية المستعملة البروبوليس الذي يشكل بديلاً للأدوية الصناعية المستخدمة، ومكونًا مهماً لمناعة الخلية بسبب تأثيره كمضاد للميكروبات (Castagnino *et al.*, 2020). أما بالنسبة لخل التفاح فقد استعمل كمنكه أو مادة حافظة للطعام، وكذلك استعمل في الصناعات الصيدلانية نظراً لخصائصه العلاجية والطبية (Mathew *et al.*, 2019)، يُعد حمض الخليك ، المكون العضوي الرئيسي للخل، ومعروف بخصائصه الحافظة والمنكهة (Busta and Foegeding, 1983; Sholberg *et al.*, 2000). لذلك هدف هذا البحث إلى دراسة فاعلية البروبوليس وخل التفاح في تثبيط النمو الفطري للفطر *A. apis* مخبرياً، وإمكانية استعمالها كبديل للمواد الكيميائية داخل طوائف النحل.

المواد وطرق العمل

أجريت التجربة في مختبر قسم بحوث أمراض النبات، وقاية النبات، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية.

أولاً: عزل الفطر (المسبب المرضي): جُمعت المومياات من منحل مصاب في محافظة ريف دمشق 2019، عُقمت اليرقات المصابة سطحياً بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم تركيز 2% لمدة 3 دقائق ثم غُسلت عدة مرات بالماء المقطر المعقم ثم جففت، قُسمت كل يرقة الى عدة أقسام، ثم وضعت في أطباق بتري تحوي مستنبت بطاطا دكستروز أغار (PDA) على درجة حرارة 24 س لمدة ثلاثة أيام. وللحصول على عزلات نقية من الفطر أُخذ جزء من خيط قمي لميسيليوم الفطر من كل من الفطريات النامية عند ظهور النموات الفطرية ، وزُرعت مرة أخرى على مستنبت (PDA) وحضنت على درجة حرارة 24 سْ لمدة عشرة أيام (Bailey and Ball, 1991).

ثانياً: المواد الطبيعية المستخدمة: العكبر (البروبوليس): جُمع العكبر البلدي من مناحل متواجدة في منطقة مصياف، تم استخدام العكبر الحلول بالماء.

أ. خل التفاح الطبيعي: تم تصنيع خل التفاح منزلياً بطريقة الغمر، لأن أي تفاح مكشوف قد يبدأ بالتعفن، وتم إتباع الطريقة المتبعة للحصول على الخل خلال خمسة أشهر من بدء عملية التصنيع. يُعد حمض الخليك Acetic acid، المكون العضوي الرئيس للخل، والمعروف بخصائصه الحافظة والمنكهة (Sholberg et al., 2000)

ثالثاً: تنفيذ التجربة: تم تهيئة دوارق بحجم 250 مل من الوسط الغذائي PDA المعقم وقبل تصلبه أضيف لكل دورق التركيز المقترح لكل مادة مختبرة (1 و2.5 و5%) وبثمانية مكررات لكل تركيز، وتم مجانسة محتوى الدوارق، ثم سكب الوسط الغذائي في أطباق بتري معقمة قطرها 9 سم، وبعد تصلبها زُرع في كل طبق قرص فطري من مستعمرة الفطر النقي *A. apis* قطره 5 مم، بعد ذلك حضنت الأطباق على درجة حرارة 24 س°، تم قياس النمو الفطري بأخذ معدل قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة كل 48 ساعة لحين وصول النمو في معاملة الشاهد (وسط غذائي PDA دون مواد مختبرة) إلى حافة الطبق ومن ثم حسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري باستعمال معادلة Abbot's formula:

$$\text{نسبة التثبيط \%} = \frac{\text{قطر نمو الفطر في الشاهد- قطر نمو الفطر في المعاملة}}{\text{قطر نمو الفطر في المعاملة}} \times 100$$

تم استخدام التصميم العشوائي الكامل للتجربة، وحللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج G-state، وتم حساب أقل قيمة فرق معنوي L.S.D عند مستوى 1%.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2024 ، 12 (1) : 9 – 13 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

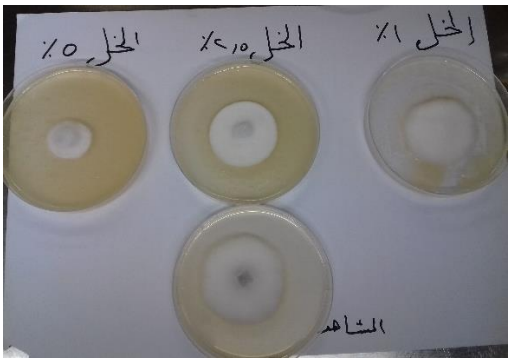
النتائج والمناقشة

بينت النتائج الواردة في الجدول 1 أن خل التفاح قد أعطى نتائج متميزة للتراكيز الثلاثة المستخدمة في تثبيط نمو الفطر الممرض بمتوسط تثبيط قدره 48.05، 50.14 و54.71% للتركيز 1، 2.5 و5% على التوالي، وكان الفارق ظاهرياً بين التركيز 5% والتركيزين 1 و2%، كذلك أظهرت النتائج تثبيط الخل للنمو الفطري بصورة كبيرة خلال 48 الساعة الأولى من التحضين في أطباق المعاملات مقارنة بالشاهد وبصورة خاصة في التركيز الأعلى.

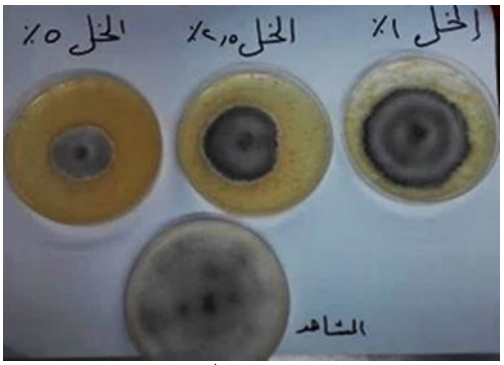
الجدول (1): تأثير تراكيز من خل التفاح الطبيعي على نمو الفطر الممرض *A. apis*

القراءات	التراكيز		
	%1	%2.5	%5
بعد 2 يوم	20.56 **ab**	32.25 **bcd**	51.21 **fg**
بعد 4 يوم	16.04 **a**	23.15 **abc**	36.43 **cde**
بعد 6 يوم	25.18 **abcd**	31.15 **bcd**	38.73 **def**
بعد 9 يوم	48.05 **efg**	50.14 **efg**	54.71 **g**
LSD	t/ **ct**	**Time**	**t*t**
	7.32	8.45	14.63

ويتبين من الشكل (1) أن تأثير خل التفاح مميز حتى بالتركيز الأدنى والذي يظهر من خلال ميل الفطر للتبوغ والذي يُعزى للوسط غير المناسب لنموه، وقد لوحظ أيضاً توقف نمو الفطر بصورة نهائية بعد مراقبة الأطباق لمدة أسبوع بعد نهاية التجربة.



بعد 4 يوم من التحضين



بعد 9 يوم من التحضين

الشكل (1): فاعلية خل التفاح في تثبيط النمو الفطري للممرض *Ascosphaera apis*

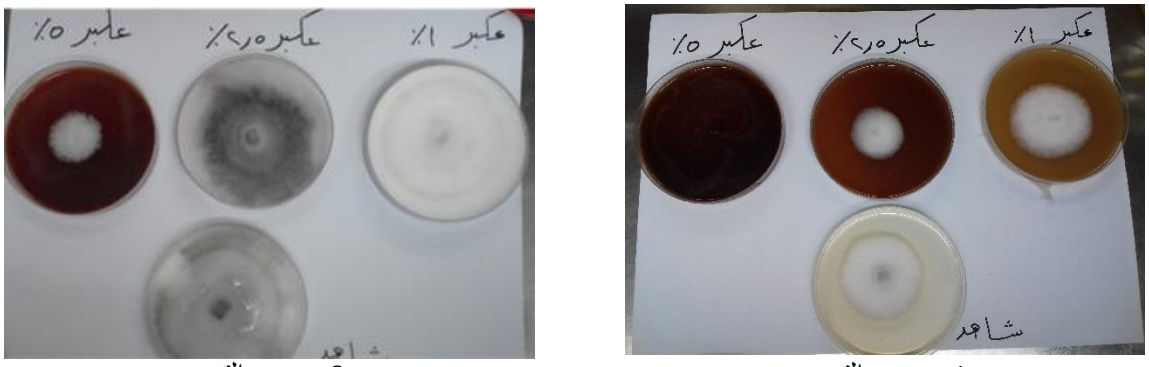
أما بالنسبة للعكبر الحلول فقد أظهرت النتائج الواردة في الجدول 2 أن التركيز 5% للعكبر الحلول قد أعطى نتائج متميزة في تثبيط نمو الفطر الممرض بمتوسط قدره 72.21% بعد 9 يوم، وكان الفارق معنوياً بين التركيز 5% والتركيزين 1 و2%، كذلك أظهرت النتائج تثبيط العكبر الحلول للنمو الفطري بصورة كبيرة خلال 48 الساعة الأولى من التحضين في أطباق المعاملات مقارنة بالشاهد وبصورة خاصة في التركيز الأعلى، واستمرت هذه الفاعلية بالنسبة للتركيز الأعلى، بينما انخفضت الفاعلية بالنسبة للتركيز 1 و2.5%.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2024 ، 12 (1) : 9 – 13 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

الجدول (2): تأثير تراكيز من العكبر الحلول على نمو الفطر الممرض *A. apis*

التركيز			القراءات
%5	%2.5	%1	
100 **g**	50.38 **e**	12.91 **d**	بعد 2 يوم
93.35 **g**	15.40 **d**	– 8.5 **ab**	بعد 4 يوم
92.62 **g**	– 2.25 **bc**	– 15.42 **a**	بعد 6 يوم
72.21 **f**	7.50 **cd**	0 **bc**	بعد 9 يوم
t*t	**Time**	**t/ ct**	**LSD**
11.83	6.83	5.91	

يُظهر الشكل (2) التأثير المميز للعكبر مع زيادة التركيز، فالاستخدام المستمر للعكبر داخل الطوائف إما عن طريق رش النحل مباشرة بمحلول سكري مخفف يحتوي على العكبر، أو تقديمه ضمن محلول التغذية مما يرفع مناعة النحل، وبالتالي زيادة مقاومته للمسببات المرضية.



بعد 4 يوم من التحضين بعد 9 يوم من التحضين

الشكل(2): فاعلية العكبر في تثبيط النمو الفطري للممرض *Ascosphaera apis*

تُعد هذه الدراسة الأولى بما يخص مكافحة مرض التكلس باستخدام خل التفاح بالرغم من استخدامه كمعقم ومضاد للكثير من المسببات الفطرية والبكتيرية، فقد أكد Yagnik *et al.* (2018) أن لخل التفاح تأثير إيجابي في قتل المسببات البكتيرية والفطرية، فمثلاً يمنع خل التفاح المسبب الفطري *Candida albicans* من النمو بصورة طبيعية. كما أثبت jabir et al. (2011) أن لخل التفاح 5% وحمض الخليك 2% تأثير مضاد للفطريات وذو دلالة معنوية في التراكيز المختبرة ضد *Aspergillus niger*، و*Aspergillus flavus* علماً بأن الفطر الأخير يسبب مرض تحجر الحضنة على النحل.

أما بالنسبة للمستخلص المائي للعكبر فقد أعطى فاعلية متقاربة مع الدراسة التي أجراها Abou El-Enain *et al.* (2009) والذي اختبر فيها المستخلص الإيثانولي للعكبر ضد مرض تكلس الحضنة تحت ظروف المختبر، وقد تحصل على فاعلية تثبيط قدرها 68.11%. كما أكد Wilson *et al.* (2015) أيضاً أن البروبوليس أظهر فاعلية تثبيط عالية ضد تكلس الحضنة مخبرياً. بينما درس Damiani *et al.* (2017) التأثير الفطري لحمض السينامك والبينوسيمبرين (Pinocembrin) وهما المكونان الرئيسيان للعكبر على العامل الممرض Ascosphaera *apis* الذي يسبب مرض تكلس الحضنة في طوائف النحل مخبرياً، وكان أقل تركيز مثبط للفطريات 0.5٪ لحمض سينامك و1.5٪ لبينوسيمبرين.

يوجد هناك تهديدات عديدة في الوقت الراهن لمجتمعات النحل حول العالم، كالتعرض للمبيدات الحشرية، التنوع الوراثي، فقر المراعي وتأثير عدد كبير من المسببات المرضية، ويعتمد تطور الأمراض في طوائف النحل بصورة عامة على وسط غير متوازن من الناحية الفيزيولوجية أو حالات من الإجهاد المرتبطة بالحضنة خلال تطورها أو الإجهادات البيئية المختلفة، لذلك من الضروري الحصول على نحل صحي من خلال الإدارة السليمة للمنحل، وأحد هذه العناصر تقليل الحمولة الجرثومية من خلال استبدال الأقراص الدوري، أو التركيز على سلامة القناة الهضمية للنحلة من خلايا المحافظة على البكتيريا النافعة والقضاء على الحمولة الجرثومية الضارة كأبواغ مرض التكلس والنوزيما وتعفن الحضنة، فقد تبين من خلال بعض التجارب عدم ظهور أعراض الإصابة لبعض الأمراض بالرغم من وجود المسبب المرضي بسبب عدم الوصول إلى الحمولة الجرثومية الضارة،

ويعزى ذلك للحالة الصحية الجيدة للطائفة. وبالتالي يمكن الاستفادة من هذه التجربة من قبل النحال بإضافة خل التفاح لمحلول التغذية في الخريف أو الربيع المبكر مما يساعد في تعقيم القناة الهضمية للنحل من المسببات الفطرية، فمن المعروف أن العسل وسط حامضي بمتوسط قدره PH=4، لذلك فإن إضافة الخل إلى المحلول السكري يعدل الحموضة ويجعله قريباً من حموضة العسل ويصبح أكثر استساغة من قبل النحل، بالإضافة إلى منع تجمد المحلول السكري وبصورة في الغذايات السطحية، ويُنصح إضافة 2 مل خل لكل ليتر محلول سكري (1:1، سكر: ماء) أو 4مل لكل ليتر محلول سكري (1:2، سكر: ماء)، أما بالنسبة للعكبر يمكن إجبار النحل على تناوله العكبر (التغذية القسرية) من خلال إضافة العكبر لمياه الشرب، أو رش محلول سكري مخفف يحتوي على تركيز 5% عكبر على الجدار الداخلي للخلية أو فوق الأقراص.

شكر وتقدير

شكر خاص للسيد إبراهيم هواري لتقديمه العكبر الحلول (المائي) لأبحاث النحل.

المصادر

Abou El-Enain, H.T.; M.F. Abdel-Rahman and K.A.M. Abo- Elyousr (2009). Inhibitory activity of certain natural products on the growth of Ascosphaera Apis. Ass. Univ. Bull. Environ. Res. 12 (2).

Aronstein, K.A and K. D. Murray (2010). Chalkbrood disease in honey bees. Journal of Invertebrate Pathology, v.103, n.1, 20-29.

Bailey, L. and B.V. Ball (1991). Honeybee pathology (second edition). Academic Press, London, pp. 53-63, 154-158.

Gende, B. and M. J. Eguaras (2017). Effect of propolis oral intake on physiological condition of young worker honey bees, Apis mellifera L. J. APIC. SCI.61 (2): 193- 202.

Castagnino, G. L. B., A. Mateos, A. Meana, L. Montejo, L. V. Zamorano Iturralde, M. T. Cutulide Simón (2020). Etiology, symptoms and prevention of chalkbrood disease: a literature review. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., Salvador, v.21, 01 – 16.

Damiani N., M. P. Porrini, J. M. Lancia, E. Álvarez, P. M. Garrido, E. Domínguez, L.

Jabir H.B., F. N. Abbas, and R. M. Khalaf (2011). In Vitro Assessment of Antifungal Potential Of Apple Cider Vinegar And Acetic Acid Versus Fluconazole In Clinical Isolates Of Otomycosis. Thi-Qar Medical Journal (TQMJ): 5 (1): 126-133.

Klouceka P., J. Smida, J. Flesarb, J. Havlikb, D. Titerac and V. Radab (2012). In vitro Inhibitory Activity of Essential Oil Vapors against *Ascosphaera apis*. Natural Product Communications. 7 (2): 253-256.

Mathew B., S. Agrawal, N. Nashikkar, S. Bundale and A. Upadhyay (2019). Isolation of acetic acid bacteria and preparation of starter culture for apple cider vinegar fermentation. Advances in Microbiology. 9: 556-569.

Omar M.O.M., A.M. Moustafa, M.J. Ansaril, A.M.Anwar, B.F. Fahmy, A. AL.Ghamdil (2014). Antagonistic effect of gut bacteria in the hybrid carniol an honey bee, *Apis mellifera carnica*, against *Ascosphaera Apis*, causal organism chalkbrood disease. J. APIC. SCI. 58 (1).

Wilson M.B., B. Brinkman. , M. Spivak, G. Gardner, and J.D. Cohen (2015). Regional variation in composition and antimicrobial activity of US propolis against Paenibacillus larvae and *Ascosphaera apis*. Journal of Invertebrate Pathology 124: 44–50.