

عزل وتشخيص الاحياء المجهرية الملوثة لثمار بعض اصناف الطماطة
Lycopersicon esculenrum في الأسواق المحلية لمحافظة الديوانية

سولاف حامد تيموز
جامعة القادسية/كلية العلوم
وحدة ابحاث البيئة

مالك علي كريم
جامعة القادسية/كلية

قسم علوم الحياة

طيف مظهر مسلم
جامعة القادسية/كلية العلوم
العلوم

وحدة أبحاث البيئة

ولاء عباس عبدالرضا
جامعة القادسية/كلية العلوم

وحدة أبحاث البيئة

الخلاصة

استهدفت هذه الدراسة الكشف عن الأحياء المجهرية المرضية النامية على ثمار الطماطة المحلية والتي يجهل المستهلك خطورتها وشملت الدراسة اربعة اقضية في محافظة الديوانية (المركز، الشامية، عفك، الحمزة)، اذ اختلفت نسبة تردد الفطريات (*Penicillium sp.*, *Geotricum candidum*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Aspergillus sp.*, *Alternaria sp.*, *Pythium sp.*, *Stemphylium sp.*, *Stigmella sp.*, *Microsporium sp.*, *Sirosporium sp.*, *Ulocladium sp.* التي عزلت من ثمار الطماطة والتي لوحظ فيها سيادة جنس *Geotricum candidum* وبنسبة تردد (100، 100، 30، 50) % من بين الفطريات المعزولة من ثمار الطماطة في تلك الاقضية على التوالي، كما شملت الدراسة الكشف عن البكتريا التي يمكن لها ان تتواجد على ثمار الطماطة وتسبب لها التلف ولنفس الاقضية المذكورة اذ استعملت الاختبارات البايوكيميائية في عملية التشخيص، فقد عزل عدد من الاجناس البكتيرية في تلك الاقضية والتي تمثلت بـ (*Streptococcus faecium* , *Streptococcus lactis*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas sp.*, *Salmonella sp.*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Srvia marsence*) اذ اختلفت النسب لتواجد اجناس البكتريا والتي ساد فيها جنس *Shigella sp* والتي كانت نسب تردداتها (95، 100 ، 83) % على التوالي.

المقدمة

تعود الطماطة (*Lycopersicon esculentum*) الى العائلة الباذنجانية Solanaceae ويعتقد ان موطنها الاصلي شريط الساحل الغربي لامريكا الجنوبية(5).
الطماطة من المحاصيل الخضر الاقتصادية الاكثر انتشارا واهمية سواء كان ذلك على المستوى العالمي او العلمي لاستعمالاتها المتعددة واستهلاكها بكميات كبيرة ومما يزيد من اهميتها هو احتواء ثمارها على العديد من الفيتامينات مثل (A,E,C,B1,B2,B3,B6,Biotin folic acid,Niacin) والعديد من العناصر المعدنية اهمها (P,Ca,fe,K). (6).
والطماطة سريعة التأثر بالمرض خصوصا خلال عملية القطف اليدوي من الحقول ، والتي عادة تنقل العدوى بصورة رئيسية وبمساعدة الرياح فتبدا الثمار بالتحلل وتصبح اكثر طراوة وأكثر عرضة للإصابة بمسببات مرضية اخرى من الثمار المصابة المجاورة لها (5).
اذ انتشرت في السنوات الاخيرة اصناف عديدة من ثمار الطماطة المعروضة في الاسواق فمنها ما هو هجين ومنها ما هو عادي باختلاف الوانها ومقاومتها للأمراض. ان ثمار الطماطة ذات اهمية للمستهلك فقد تغلب من قبل معامل التعليب من خلال تحويلها الى معجون وبالتالي يستفاد منها المستهلك او تباع في الاسواق بصورة مباشرة من قبل المزارعين للعرض المباشر تختلف درجة تحملها للنقل والتخزين اذ ان نسبة كبيرة من المستهلكين

يجهلون مدى صلاحية تلك الثمار للتخزين او لتصنيع المعجون ، وقد تنتشر السبورات الفطرية او البكتريا عند عملية تحويل ثمار الطماطة الى عصير وتصبح اكثر خطورة على حياة المستهلك (4،5) ، كذلك في معامل التعليب قد تخطط الثمار المصابة مع الثمار السليمة من خلال تحويلها الى عصير الطماطة وبالتالي فإن هناك سبورات مقاومة تبقى لفترة من خلال تكيسها ومن ثم تظهر في علب التعليب ونظراً لعدم وجود جهاز القياس والسيطرة النوعية في تلك المعامل تصدر وتباع تلك العلب وهي حاوية على تلك الملوثات وبالتالي تعود وبالضرر على المستهلك لذلك جاءت هذه الدراسة لغرض عزل الأحياء المجهرية وتحديد اثارها السامة على ثمار الطماطة في الاسواق المحلية في محافظة القادسية.

المواد وطرق العمل:

1- جمع ثمار الطماطة:

تم جلب ثمار الطماطة من اربعة اقضية (الديوانية، الشامية ، عفاك ، الحمزة) في محافظة القادسية إذ اختيرت العينات عشوائياً ومن عدد من البقالين والتي جلبت من المزارع المحليه في المحافظة وكذلك التي جلبت من المحافظات مثل محافظة كربلاء والبصرة ، إذ كانت العينات من الدرجة الثانية ذات الكلفة البسيطة والتي يمكن تحويلها الى عصير طماطة بسهولة لاحتوائها على العصارة المائية بنسبة كبيرة. ومن الملاحظ ان المستهلك في تلك الاقضية يرغب الى تلك الاصناف بصورة اكبر من النوعية الصلبة. إذ تجلب العينات بصورة منفردة بأكياس نايلون معقمة ونظيفة الى المختبر. إذ كان وقت جمع العينات من تشرين الاول – كانون الثاني 2008.

2- تحضير الاوساط الزراعية:

تم تحضير الاوساط الغذائية بالطرق المثبتة والمتواجدة على العبوات . إذ حضر وسط الـ PDA الخاص بتتمية الفطريات وكذلك وسط Neureint Agar ووسط Sabrouid لغرض التعرف على الاحياء المجهرية النامية على ثمار الطماطة وقد استعمل (20 مكرر) طبق بتري من كل وسط من الاوساط لكل قضاء. إذ تمت عملية الزرع بأخذ الجزء المصاب بقطع وتقسيمه الى اجزاء ومن ثم زرعت في منتصف الطبق الحاوي على وسط الـ PDA ثم تحضن على درجة حرارة (25 ± 2) وبدون استخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم أي زرعت مباشرة على الاطباق ولمدة 7 ايام . اما بالنسبة للبكتريا فقد اخذت مسحات من المناطق المصابة من الثمار وخططت على وسط Nutrient Agar ووسط Sabrouid لغرض تشخيص الاحياء المجهرية المرضيه وحضنت على درجة حرارة (37) °م ولمدة 24 ساعة بالنسبة لنمو البكتريا.

عدد العينات التي ظهر فيها الجنس

$$\text{النسبة المئوية للتكرار} = \frac{\text{عدد العينات الكلية}}{100 \times}$$

3- عزل وتشخيص الفطريات:

اذ استعملت بعض المفاتيح التصنيفية (Domsch, 1980) لتشخيص الفطريات، إذ تم التشخيص من خلال الصفات المزرية والصفات المجهرية لكل من الفطريات باستخدام المجهر الضوئي والعين المجردة

4- عزل وتشخيص البكتريا:

للتعرف على الاجناس البكتيرية المتواجدة على ثمار الطماطة والمرافقة للفطريات فقد تم باستعمال الاختبارات البايوكيميائية للتشخيص البكتيري اذ كانت الاختبارات كالتالي:

1. اختبار Motility medium

2. اختبار Indole test medium

3. اختبار Starch agar medium

4. اختبار Gelatin medium

5. اختبار Urea Agar Base medium
 6. اختبار Methyl red-Vogas proskauer test medium
 7. صبغة كرام
 8. اختبار توليد H₂S
 9. اختبار استخدام الستريت
 10. اختبار انتاج انزيم Catalase
- ثم بالاعتماد على الاختبارات المظهرية والفسلجية والكيموحيوية تم تشخيص عزلات البكتيريا استناداً للمفتاح التصنيفي الذي اوردته Buchana and Gibbons (1974) فقد ظهرت عدد من العزلات البكتيرية على ثمار الطماطة.

النتائج والمناقشة:-

- 1- وعزل وتشخيص الفطريات الممرضة :
اظهرت نتائج الزرع على وسط PDA وجود عددا كثيرة من الفطريات المرضية المتواجدة على ثمار الطماطة
ويبين الجدول رقم (1) نسبة ظهورها في مناطق الاقضية المنتخبة في البحث.

جدول رقم (1)

الأجناس الفطرية النامية من عينات الطماطة المأخوذة من أفضية محافظة القادسية

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 15 العدد 4 سنة 2010
(بحوث الندوة البيئية الخامسة للبيئة والتلوث والمنعقدة بتاريخ 13-14 ايار 2009)

النسبة المئوية للتكرار (%)	عدد العينات التي ظهرت فيها الأجناس الفطرية	الجنس	المنطقة
100	20	<i>Geotricum candidum</i>	مركز قضاء الديوانية
35	7	<i>Penicillium sp.</i>	
35	7	<i>Fusarium sp.</i>	
35	7	<i>Rhizopus sp.</i>	
25	5	<i>Rhizoctonia sp.</i>	
25	5	<i>Aspergillus sp.</i>	
65	13	<i>Alternaria sp.</i>	
5	1	<i>Pythium sp.</i>	
100	20	<i>Geotricum candidum</i>	قضاء الشامية
5	1	<i>Penicillium sp.</i>	
20	4	<i>Fusarium sp.</i>	
10	2	<i>Rhizopus sp.</i>	
5	1	<i>Rhizoctonia sp.</i>	
20	4	<i>Aspergillus sp.</i>	
30	6	<i>Geotricum candidum</i>	قضاء عفاك
30	6	<i>Fusarium sp.</i>	
5	1	<i>Rhizopus sp.</i>	
35	7	<i>Rhizoctonia sp.</i>	
15	3	<i>Alternaria sp.</i>	
50	10	<i>Geotricum candidum</i>	قضاء الحمزة
15	3	<i>Trichogalum sp.</i>	
60	12	<i>Alternaria sp.</i>	
25	5	<i>Fusarium sp.</i>	
15	3	<i>Rhizopus sp.</i>	
5	1	<i>Pithomyces sp.</i>	
5	1	<i>Aspergillus sp.</i>	
5	1	<i>Stemphylium sp.</i>	
5	1	<i>Stigmella sp.</i>	
5	1	<i>Microsporium sp.</i>	
10	2	<i>Sirosporium sp.</i>	
5	1	<i>Ulodadium sp.</i>	

ويبين الجدول اعلاه وجود اصابه بأنواع من التعفنات الفطرية ولكن بترددات مختلفة وحسب المناطق المأخوذة منها حيث شملت الاصابة بالتعفن الالترناري (العفن الأسود) الذي يسببه الفطر *Alternaria alternata*، العفن الفيوزارمي الذي يسببه الفطر *Fusarium sp.*، العفن البليوسبوري الذي يسببه الفطر *Stemphylium botryosum* العفن الرايزوبي الذي يسببه الفطر *Rhizopus stolonifer*، العفن الطري *Geotricum candidum* وهذا مطابق لما ذكره (3،6) من ان أعلى تردد كان للفطر *Geotricum candidum* إذ ظهر في الاقضية الأربعة المنتخبة في هذه الدراسة وقد استمرت فترة ظهوره في المكررات من شهر تشرين الاول إلى شهر شباط فقد كانت النسبة المئوية لتكراره (100، 100، 30، 50) % لكل من الاقضية الديوانية والشامية وعفاك والحمزة لكل منها على التوالي كما موضحة في الجدول وتفسر هذه

النتيجة إلى ان ذلك الفطر يحتاج إلى درجة حرارة منخفضة وبالتالي ظهر في تلك الفترة التي تنخفض فيها درجة الحرارة أي ان الظروف كانت مهيأة لظهوره وهذا ما اكده (4). كذلك فقد اختلفت الفطريات الأخرى في ظهورها على عينات الطماسة المصابة وكما مبينة في الجدول اعلاه كـ *Fusarium sp.* و *Rhizoctonia sp.* و *Pythium sp.* فقد لوحظ ان أكثر العينات المصابة حاملة لتلك الفطريات والتي تساعد على تلف ذلك المحصول فقد كانت أعلى الترددات في قضاء الحمزة وبلغت نسبة (60%) اما الفطر *Rhizoctonia sp.* في قضاء الديوانية وقضاء عفك فقد كانت نسبة التردد (35%) وقد كانت أعلى ترددات الفطر *Pythium sp.* في قضاء الديوانية (5%) وهي نسبة قليلة بالمقارنة مع عدم وجوده في الاقضية الأخرى وقد تفسر هذه النتائج في وجود أو عدم وجود الفطريات اعلاه في منطقة الدراسة واختفاءه في منطقة أخرى إلى مصادر ثمار الطماسة التي جمعت منها . وهذا ما اكده (6).

جدول (2)

الأجناس البكتيرية النامية على عينات الطماسة المأخوذة من أقضية محافظة القادسية

النسبة المئوية للتكرار (%)	الجنس	المنطقة
95%	<i>Shigella</i>	مركز قضاء الديوانية
90%	<i>Streptococcus lactis</i>	
73%	<i>Streptococcus faecium</i>	
77%	<i>Srvia marsence</i>	
23%	<i>Salmoella typhi</i>	
5%	<i>Pseudomonas</i>	
52%	<i>Salmonella typhi</i>	قضاء الشامية
81%	<i>E. coli</i>	
100%	<i>Bacillius subtilus</i>	
16%	<i>Staphylococcus aurens</i>	
100%	<i>Shigella</i>	قضاء عفك
83%	<i>Streptococcus lactis</i>	
61%	<i>Pseudomonas sp .</i>	
35%	<i>Bacillius subtilus</i>	
42%	<i>E. coli</i>	
100%	<i>Actinococcus sp</i>	قضاء الحمزة
83%	<i>Shigella</i>	
62%	<i>Salmonella typhi</i>	
10%	<i>Staphylococcus aureas</i>	

اذ يمكن تفسير النتائج الخاصة بالأجناس البكتيرية كما هو موضح في الجدول (2) الى ان تواجد البكتريا *Shigella* على عينات الطماسة بغض النظر عن المناطق الأخرى . تعني ان هناك البكتريا المعوضة ذات العصيات غير المتحركة لها عدة احتمالات في الاصابة اعتمادا على النوع فقد تسبب الزحار العضوي *Bacillary olysentry* والذي يتميز بالإسهال *Diarrhea* ومغص *Abdomanl* وحمى *Fever* وقيء *Vomiting* وفي الحالات الشديدة براز دموي حاوي قيحا . اما بالنسبة للاصابات البكتيرية التي تسبب العفن بانواعه على ثمار الطماسة فقد شملت بعض من هذه الاعفان مثل العفن البكتيري الطري الذي تسببه البكتريا

Bacillus sp. و *Pseudomonas sp.* وهذا ما اشار اليه كل من (1،2). اما تواجد بكتريا *Streptococcus lactis* منها ما هو Normal flora في جسم الإنسان وبما ان هذه البكتريا شخصت على ثمار الطماطة فان الاصابة للإنسان ستكون غير مباشرة فتحصل نتيجة تحسس الجسم لبعض ذراري البكتريا. ومن ذلك نستنتج ان جميع ثمار الطماطة المعروضة في الاسواق المحلية (الرقيقة) حاوية على العديد من الفطريات والبكتريا الممرضة للإنسان. من الناحية الاقتصادية فان التخلص او تلف هذا المحصول والذي يسبب خسائر فادحة للباعة لذلك يلجا بعض الباعة الى الغش في عملية بيع المحصول المتضرر. (1)

ان تضرر المحصول والذي تم تسويقه من قبل المزارع ياتي نتيجة سوء عمليات التخميل او ان المحصول اصلا مصاب باحد انواع الافات الفطرية او البكتيرية في الحقل او سوء عملية الخزن من قبل البائع وعدم اختيار الطريقة الصحيحة للعرض، كذلك فان تكس كميات كبيرة من المحصول عند البائع وعدم ملائمة درجة الحرارة (ارتفاع درجة الحرارة) يؤدي الى تلف ثمار الطماطة. (8)

تزامن حصول بعض الأمراض للأفراد في الفترة التي اجريت في الاختبارات على محصول الطماطة كالنزلات الشعبية والتهاب الرئة المتسبب عن فطر *Goetrichum candidium* والذي كان من اكثر الاحياء المجهرية ترددا.

ونتيجة لمخاطر الاحياء المجهرية التي تم الكشف عنها في هذا البحث نوصي بالتوعية البيئية للبائع والمستهلك من خلال نشر بعض البوسترات والنشرات الدورية التي تعرف باهمية المحاصيل الحقلية للإنسان واهم الكائنات المرضية التي تصيبها والتي تعود بالضرر على حياة الانسان. اذ تعتبر ثمار الطماطة التالفة من الوسائل الناقلة للمرض في حالة تناولها من قبل الانسان ولو ان بعض الافراد لايعيرون اهمية الى هكذا موضوع ان تأثير بعض مسببات المرضية وبالاخص سمومها يكون تراكميا بمرور الوقت.

يجب ان توجد هناك رقابة صحية دورية على عمال المطاعم وملاحظة مدى نظافة المحاصيل التي يستعملونها في المطاعم ومكافحة حالات الغش في ذلك توعية ربان البيوت على المحاصيل التي تتعامل معها اذ ان المحاصيل التالفة وبالاخص ثمار الطماطة التالفة والتي تتعامل معها بكثرة نظرا لجهلها ظنا منها انها اكثر اهمية واسرع في عمليات التحويل العصير. ومن جانب اخر فان استعمال بعض المبيدات الحيوية والتي تعود بالنفع على ثمار الطماطة وتحافظ عليها من التلف كمبيد (Bacillin) .

المصادر:

- 1- Bartz, J.A. , N.C. Hodge, Y. Perez and D. Concelmo. 1995. Two different bacteria cause a decay in tomatoes that is similar to sour rot. *Phytopathology* 85:1123.
- 2- Conn, K. E., J.M. Ogawa, B.T. Manji and J. E. Adaskaveg . 1995 .*leuconostoc mesenteroides* sub sp. *Mesenteroides*, the first report of a coccoid bacterium causing a plant disease. *Phytopathology* 85:593-599.
- 3- Jones, J.B., J. Jones, R. Stall and T. Zitter. 1991. *Compendium of tomato diseases* , APS Press, St. Paul MN.
- 4- Marcellino, N. E. Beuvier, M. Gueguen and D. R. B. (2001). Diversity of *Geotrichum candidum* Strain isolated from tomato .
- 5- Steven A. and Celso L. (2005). *Tomato*. Horticultural Sciences Department, University of Florida , Gainesville.
- 6- Snowdon, A.L. 1992. *Color atlas of postharvest diseases and disorders of fruits and vegetables*. Vol. 2, *Vegetables*. CRC Press, Roca Raton FL.
- 7..Domsch ,K.H. ;Gams ,W.; and Anderson ,T.1980.*Compendium of soil fungi* .V.I. Academic press.589pp.
8. Walker, J. C. (1952) *Disease of Vegetable crops*. McGrow Hill Book Comp. Inc. U.S.A. 529 pp.

Isolated and Diagnosis Microbiology For Contamination Fruit For Some Tomato Species *Lycopersicon esculentum* From Local Market To Al_Diwaniya City

Sulaf. H. Teamooz
Sciences College /university AL_Qadisyia
Wala A. Abd-Alreda Taif M. Muselm Malik A .Kareem
College of Sciences / university AL_Qadisyia

Abstract:

The aim of this study is discover about pathogenic microorganism which are growth on tomato fruit that provide in the local market and consumptive unknown there dangerous . This is include four cities in Diwaniya governorate (The Center, Alshamiya, Afak, Alhamza), the different which the percent of frequency fungi geneses (*Penicillium sp.*, *Geotricum candidum*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Aspergillius sp.*, *Alternaria sp.*, *Pythium sp.*, *Stemphylium sp.*, *Stigmella sp.*, *Microsporium sp.*, *Sirosporium sp.*, *Ulocladium sp.*)and that isolated of tomato fruit and that appeared is(*Geotricum candidum*) of dominance the percent frequency (100, 100,30,50)% from between isolated of fungi from tomato fruit in cities , and the study include discover at bacteria which it on the tomato fruit and caused it decay at the same of cities . it used the biochemical testes in diagnosis process. The number of bacteria genus is isolation in cities which such as (*Streptococcus faecium*, *Streptococcus lactis*, *Shigella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Salmonella sp.*, *Srvia marsence*, *Bacillius subtilus*, *E. coli* , *Staphylococcus aureas*) and the found of the different percent in bacteria genus which is *Shigella sp* of the genus dominance that the frequency of the percent (95, 0 ,100, 83) % .