وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
كلية مدينة العلم الجامعة
بغداد

علم الفطريات العملي

تأليف
الاستاذ الدكتور
عبد الرضا طه سرحان

الطبعة الاولى
بغداد - ٢٠١٢

علم الفطريات العملي

تأليف

الأستاذ الدكتور

عبد الرضا طه سرحان

الطبعة الاولى

بغداد - 2012

ساهمت في طبع الكتاب كلية مدينة العلم الجامعة
رقم الايداع في دار الكتب والوثائق ببغداد(٦١٤) لسنة ٢٠١٢

بسم الله الرحمن الرحيم

رَّبَنَا أَتْمِمْ لَنَا نورَنَا وأغْفِرْ لَنَا إِنَّكَ عَلى

كُلِّ شَيءٍ قَدير

صدق الله العظيم

السورة: التحريم ، الآية :8

المقدمة

علم الفطريات هو أحد علوم الحياة المهمة الذي يدخل في مجالات عديدة منها البيئة والطب، الطب البيطري والزراعة والصناعة حيث تستطيع الفطريات العيش تحت ظروف مختلفة ولذلك تتواجد في جميع البيئات من هواء وماء وتربة، فهي قريبة من الإنسان والحيوان والنبات ولها فوائد وأضرار عديدة. ونظرا لعدم وجود مصدر باللغة العربية عن مادة الفطريات العملي لطلبة الجامعة الذين يهتمون بدراسة علم الفطريات، بادرنا في تأليف هذا الكتاب ليكون عوناً لهم أثناء الدراسة في مختبرات الفطريات في الكليات المختلفة التي تدرس فيها هذه المادة، منها: العلوم والطب والطب البيطري والتربية والزراعة وقد روعي بأن يكون الكتاب شاملاً للمادة من خلال الاستعانة بالمراجع والمصادر العلمية العربية والأجنبية عند إعداده. لقد وضعت مفردات الكتاب لتفي بمتطلبات هذا الموضوع الحيوي والمهم إذ شملت مفرداته القواعد العملية الأساسية المتبعة في مختبرات الفطريات إضافة إلى التطبيقات العملية لهذا الموضوع. يتضمن الكتاب مجموعة من التطبيقات العملية لمادة الفطريات في مجالات مختلفة مثل طرق عزل الفطريات وتنمية الفطريات واصطياد الأبواغ وحفظ الفطريات والفطريات الطبية والفطريات السامة وغيرها من الموضوعات الأخرى التي دُعِمت بأشكال تخطيطية أو صور توضيحية تبين هذه الحالات إضافة إلى أشكال الفطريات وتراكيبها المختلفة. وأخيرا نتمنى أن نكون قد وفقنا في تأليف هذا الكتاب ونرحب بكل اقتراح بناء وداعم لهذا الجهد المتواضع.

والله ولي التوفيق

المؤلف

آذار / 2011

إرشادات عامة

General Informations

الفطريات كائنات حية مجهرية قسم منها غيرمرضية والقسم الآخر قادر على إحداث إصابات مرضية للإنسان والحيوان والنبات وعليه فإن التعامل مع هذه الكائنات بصورة مباشرة اثناء الدراسة العملية للفطريات داخل المختبر يتطلب اتباع الإرشادات والقواعد العامة خلال فترة العمل داخل مختبر الفطريات لكي يحمي الطلبة والعاملون في المختبر انفسهم من خطر الإصابة، بالإضافة إلى ذلك فإن المحافظة على نظافة وسلامة المختبر والأجهزة والمواد الموجودة فيه هي ضمان لسلامة الطالب أو الباحث او العاملين في المختبر، ومن بين أهم الإرشادات والتوجيهات العامة هي:

1- ارتداء صدرية مختبر بيضاء نظيفة قبل الدخول إلى المختبر والبدء بالعمل.

2- عدم تناول المأكولات والمشروبات أثناء التواجد في المختبر خوفاً من تلوثها بالفطريات.

3- يمنع منعاً باتاً لمس المناطق المكشوفة من الجسم اثناء العمل، وخاصة الفم والأنف والعيون.

4- تعقيم الأيدي بالمواد المعقمة أو المطهرة ثم غسلها بالماء والصابون بعد الانتهاء من العمل وقبل مغادرة المختبر.

5- التأكد من نظافة المكان الذي نعمل فيه وإعادة كل شيء إلى مكانه الصحيح قبل مغادرة المختبر.

6- وضع النفايات والمواد الفائضة من العمل في الأماكن المخصصة لها لغرض إتلافها منعاً للتلوث.

7- يجب تأشير وتعليم المواد والمحاليل والنماذج التي تترك في المختبر لأغراض الدراسة، ووضع العلامات وتسجيل المعلومات التي تؤدي الى التعرف عليها.

8- غسل وتنظيف الأدوات والزجاجيات التي استخدمت أثناء الدرس العملي بعد الانتهاء من العمل.

9- عدم رمي المحاليل والصبغات والحوامض والقواعد والمواد الكيميائية في مجرى تصريف مياه المختبر.

10- عدم استخدام الأدوات والزجاجيات في تحضير أكثر من مادة كيميائية قبل تنظيفها وغسلها جيداً بعد كل استخدام.

11- عند جمع النماذج لأغراض دراسة وعزل الفطريات تفحص بشكل دقيق وصحيح اعتماداً على الخطوات المذكورة في الكتاب العملي.

12- توخي الحذر أثناء التعامل مع النماذج وتجنب تلوثها أثناء العزل والفحص.

13- يستخدم كراس خاص بالمختبر لتدوين كافة المعلومات المتعلقة بالنماذج التي يتم فحصها ودراستها أثناء العمل.

14- تَذكر دائماً بأنه ليس بالضرورة أن تكون الأدوات النظيفة معقمة والعكس صحيح.

15- يمنع سحب المزارع السائلة والمحاليل الأخرى في الماصات بالفم وإنما باستعمال المنافخ المطاطية الخاصة بذلك.

16- لا يتم إخراج الزجاجيات المعقمة مثل الماصات والأطباق من الحاويات إلا قبل استخدامها مباشرة كي لا تتلوث.

17- يتم إخبار المشرف على المختبر عند كسر أو سكب أي من المزارع الفطرية المستخدمة أثناء العمل ليقوم بمعالجة الحالة ومنع التلوث.

18- يفضل استعمال القفازات ذات الاستعمال الواحد عند التعامل مع المواد السامة أو الملوثة.

19- الاستعانة بالمشرف على المختبر أثناء العمل للتأكد من طرق العمل التي تعطيك نتيجة أفضل.

20- في نهاية العمل وقبل مغادرة المختبر يتم تنظيف المناضد بالمحاليل المعقمة والمطهرة.

الفصل الأول

المجهر وكيفية استخدامه

The Microscope

المجهر جهاز بصري دقيق يستخدم لتكبير الأشياء الدقيقة وفحصها حيث تعتمد آلية التكبير على نوعين من العدسات هي العدسات العينية Ocular lenses والتي تكون في بعض المجاهر أحادية وفي قسم منها ثنائية العدسة مثبتة في أعلى أنبوبة المجهر، وتختلف قوة تكبيرها حسب نوع المجهر وغالباً ما تكون ذات قوة تكبير 5 أو 10 أو 12. والنوع الثاني هي العدسات الشيئية Objective lenses والتي غالباً ما تكون أربع عدسات تختلف في قوة التكبير مثبتة على قرص دائري يتيح للطالب أو الباحث اختيار العدسة ذات قوة التكبير المناسبة للجسم المراد فحصه وهي بثلاثة أنواع، الأول يضم عدستين للتكبير الواطئ low power إحدهما بقوة تكبير 4 مرات والثانية بقوة تكبير عشر مرات، الثاني يضم عدسة واحدة للتكبير العالي High power وهي بقوة تكبير 40 مرة، أما النوع الثالث فيضم عدسة واحدة هي العدسة الزيتية Oil immersion وهي بقوة تكبير 100 مرة ويستخدم معها زيت خاص هو زيت خشب السدر Cedar wood oil حيث توضع قطرة من الزيت على الشريحة الزجاجية بين النموذج المراد فحصه والعدسة الزيتية، وظيفة الزيت هي منع تشتت الضوء المار عبر النموذج وزيادة كميته، علماً أن كلا النوعين من العدسات تحمل أرقاماً تبين عدد مرات التكبير. ويمكن حساب عدد مرات التكبير للنموذج المفحوص بضرب الرقم على العدسة العينية بالرقم على العدسة الشيئية التي يتم من خلالها فحص النموذج ، كما في أدناه.

قوة تكبير النموذج = قوة تكبير العدسة العينية × قوة تكبير العدسة الشيئية

استخدام المجهر Usage of microscope

من الضروري جداً معرفة كيفية استخدام المجهر والعناية به والحفاظ عليه وحمايته من الضرر الذي قد يلحق به جراء سوء الاستخدام وعليه يجب اتباع الخطوات التالية:

1- التأكد من أن المجهر قد وضع على العدسة ذات التكبير الواطئ قبل وضع الشريحة.

2- توضع الشريحة الزجاجية الحاملة للنموذج على المسرح Stage بحيث يكون النموذج إلى الأعلى وفوق الفراغ الوسطي للمسرح.

3- اجعل المسافة بين الشريحة والعدة الشيئية ذات التكبير الواطئ بحدود ½ سم.

4- استخدم المنظم الكبير Coarse adjustment وانظر خلال العدسة العينية ثم ابدأ برفع العدسة الشيئية بهدوء حتى رؤية النموذج عندها يستخدم المنظم الدقيق fine adjustment لتوضيح النموذج، يحرك مكثف الإضاءة لضبط الإضاءة بحيث لا يكون النموذج براق ولا معتم.

5- تستخدم العدسة ذات التكبير العالي إذا كانت هناك حاجة لتكبير النموذج، ويتم توضيح النموذج باستخدام المنظم الصغير فقط ورفع العدسة للأعلى لأن الشريحة تكون قريبة جداً من العدسة وقد يتسبب استخدام المنظم الكبير في كسر الشريحة.

6- عند الحاجة لاستخدام العدسة الزيتية توضع في مكانها الصحيح ثم توضع قطرة من الزيت الخاص على مركز الشريحة وتخفض العدسة بهدوء حتى تلامس القطرة، وينظر خلال العدسة العينية ويستخدم المنظم الدقيق حتى وضوح النموذج، يجب تنظيف العدسة الزيتية بعد الانتهاء من استخدامها مباشرة بواسطة الزايلول.

ملاحظة:

يجب عدم ترك الشريحة الزجاجية على مسرح المجهر بعد الانتهاء من استعماله، كما يجب تغطية المجهر عند عدم استخدامه ووضعه في الصندوق الخاص به.

أنواع المجاهر Types of Microscopes

هناك العديد من المجاهر التي تستخدم في حقل الفطريات والأحياء المجهرية، فمنها البسيط ومنها المعقد الذي يستخدم في المجالات البحثية والمزودة بأجهزة تصوير وكاميرات دقيقة وحساسة لأخذ الصور الفوتوغرافية للنماذج التي يتم فحصها. فلا بد للطالب ان يتعرف على انواع المجاهر التي يحتاجها في مختبر الفطريات وهي:

1- مجهر مركب Compound microscope

وهو النوع الأكثر استخداماً في فحوصات الفطريات أثناء العمل داخل المختبر ويعمل بمنظومتين من العدسات (الشيئية والعينية) تعطي العدسة الأولى صورة كبيرة للنموذج، ثم تقوم العدسة الثانية بتكبير الصورة الناتجة عن العدسة الأولى.(شكل 1)

2- مجهر للتشريح Dissecting microscope

وهو مجهر ضوئي يستعمل لتكبير المواد الخاضعة للتشريح، وغالباً ما يتم فحص النماذج المصابة بالفطريات أو الحاملة لها بشكل مباشر دون الحاجة إلى عمل شرائح زجاجية من النموذج. (شكل 1)

معايرة المجهرة Calibration of the microscope

ان قياس أحجام وأبعاد التراكيب الفطرية الدقيقة من الأمور المهمة في مجال دراسة الفطريات وهذا يتطلب إجراء تعيير أو تنظيم للمجهر قبل استخدامه لهذا الغرض من خلال استخدام المواد وكما يأتي:

المواد Materials

1- المسطرة المجهرية العينية Ocular micrometer

وهي عبارة عن عدسة تشبه العدسة العينية إلا أنها تحتوي على مقياس مدرج دقيق مكون من 50 أو 100 جزء ولا توجد قيمة لكل جزء من هذه الأجزاء لأنها ستخضع للتعيير باستخدام المسطرة المجهرية الشيئية.

2- المسطرة المجهرية الشيئية **Stage (Objective) micrometer**

وهي عبارة عن شريحة زجاجية تشبه الشريحة الاعتيادية إلا أنها تحتوي في وسطها على مقياس مدرج دقيق مقسم إلى أجزاء وكل جزء يعادل 0.1 ملم ومقسم إلى عشرة اجزاء صغيرة، أي ان كل جزء يعادل 0.01 ملم (10^{-2} ملم).

طريقة العمل Procedure

1- تستبدل العدسة العينية للمجهر بالمسطرة المجهرية العينية.

2- توضع المسطرة المجهرية الشيئية على مسرح المجهر.

3- اختيار قوة التكبير المناسبة (العدسة الشيئية ×4 أو ×10 أو ×40).

4- توضح الصورة بمساعدة منظمات المجهر ويتم مطابقة المقياسين بتحريكهما وجعلهما متوازيين ومتطابقين.

5- يتم تحريك المسطرة الشيئية لحين تطابق بداية المقياس فيها مع بداية المقياس في المسطرة العينية، ثم يتم مطابقة الخط الآخير من مقياس المسطرة العينية مقابل الخط المقابل له في مقياس المسطرة الشيئية أوالخط الأقرب له، فمثلاً قد يتطابق الرقم الأخير (الـ 50) من المسطرة العينية مع الرقم 0.16 ملم من المسطرة الشيئية وكما موضح في الشكل (2-1) أدناه، وعليه يتم احتساب قيمة كل جزء من المسطرة العينية حسب المعادلة التالية:

$$\text{الجزء الواحد من المسطرة العينية} = \frac{\text{(0.16 ملم من الشيئية)}}{\text{50 جزء من العينية}} = \frac{\text{160 مايكرون}}{\text{50 جزء}} = \text{3.2 مايكرون}$$

6- ترفع المسطرة الشيئية وتوضع محلها الشريحة الزجاجية الحاملة للنموذج المطلوب قياس طوله فإذا وجد أن طول النموذج يغطي خمسة أجزاء من المسطرة العينية فيتم ضرب هذا الرقم بقيمة الجزء الواحد وهو 3.2 مايكرون لتصبح قيمة طول النموذج هي حاصل ضرب الرقمين ($5 \times 3.2 = 16$ مايكرون).

ملاحظة:

إذا تم تغيير العدسة الشيئية (قوة التكبير) ستتغير قيمة الجزء الواحد من المسطرة العينية، أي ان طول الجزء الواحد من المسطرة العينية يعتمد على العدسة الشيئية المستخدمة أثناء معايرة المجهر.

مثال:

لنفترض إنك استخدمت العدسة العينية المقسمة إلى 100 جزء والعدسة الشيئية ذات التكبير العالي وعند مطابقتهما كما ورد في أعلاه وجدت أن الخط الأخير من المسطرة العينية (الرقم 100) قد تطابق مع الخط الأول من المسطرة الشيئية وهو الرقم 0.1 ملم (100 مايكرون)، المكون من عشرة أجزاء دقيقة،

إذاً فإن الـ 100 جزء من المسطرة العينية = 100 مايكرون من المسطرة الشيئية

أي أن الجزء الواحد من العينية = 1 مايكرون

فإذا رفعت المسطرة الشيئية ووضعت مكانها الشريحة الزجاجية المجهزة لقياس ما عليها من نموذج فطري ووجدت أن النموذج قد غطى عشرة أجزاء من المسطرة العينية فإن ذلك يعني أن طوله أو قطره يساوي 10 مايكرون وهو حاصل ضرب قيمة الجزء الواحد بطول النموذج (1×10=10 مايكرون).

الفصل الثاني

الأجهزة والمواد المختبرية

Equipments and Materials

يحتاج العمل في مختبر الفطريات إلى الكثير من الأدوات والمواد الزجاجية وغير الزجاجية إضافة إلى الأجهزة المختبرية.

الأدوات الزجاجية Glass Wares

تستخدم العديد من الزجاجيات في تحضير الأوساط الزرعية. والبيئات الغذائية لتنمية الفطريات وجمع النماذج وحفظها في المختبر. توضع الزجاجيات التي استعملت لتحضير المزارع الفطرية في محلول أحد المواد المطهرة لمدة يوم واحد قبل استعمالها مرة ثانية مثل اللايسول 3% (Lysol 3%) أو الديتول 10% (Dettol 10%) أو في محلول الصابون ثم تغسل بماء الاسالة باستعمال الفرشاة ثم بالماء المقطر وتجفف، أما الزجاجيات الحاوية على مزارع الفطريات فيجب تعقيمها بعد الانتهاء منها باستخدام الموصدة Autoclave ثم نغسل وتجفف بنفس الطريقة أعلاه. وبالنسبة للماصات توضع في أسطوانات بلاستيكية تحتوي المحلول المطهر وتحتوي عند القاعدة طبقة قطنية تلافيا لكسر النهايات الدقيقة للماصات ويفضل غلق النهاية العليا للماصة بالقطن قبل استخدامها، وفيما يلي بعض الأدوات الزجاجية:

1- أطباق بتري **Petri dishes**

تستخدم في عزل وتنمية الفطريات وهي بأحجام مختلفة وغالباً ما يستخدم الحجم الذي قطره 9 سم.

2- أنابيب اختبار **Test tubes**

تستخدم لتهيأة البيئات المائلة slants لغرض حفظ الفطريات، وهي إما بسدادات قطنية أو سدادات لولبية Screw capped بلاستيكية، وتستخدم لأغراض أخرى.

3- شرائح زجاجية وأغطية Slides + cover slips

تستخدم في الفحص المجهري للمزارع والنماذج الفطرية، وهي اما مستويه flat slides أو مقعرة concave slides والثانية تستخدم لتحضير القطرة المعلقة ودراسة إنبات الأبواغ.

4- دوارق Flasks

تستخدم في تحضير أو حفظ الأوساط الزرعية والبيئات الغذائية والمحاليل والصبغات والسوائل الأخرى التي يتطلبها العمل في المختبر وهي بأحجام مختلفة.

5- كووس (بيكرات) **Beakers**

تستخدم في المختبر لأغراض عديدة تتعلق بالعمل في المختبر منها تحضير وحفظ الأوساط والسوائل، وهي بأحجام مختلفة.

6- أسطوانات مدرجة **Graduated cylinders**

تستخدم لتهيأة أحجام السوائل المطلوبة في تحضير الأوساط والبيئات والمحاليل التي يتطلبها العمل في المختبر، وهي بأحجام مختلفة.

7- ماصات **Pipettes**

تستخدم لسحب كميات محدودة من عالق لقاح الفطريات لغرض تلقيح الأوساط الزرعية بكميات متساوية من اللقاح، كما تستخدم لتحضير المحاليل المطلوبة في المختبر، وهي بأحجام مختلفة.

8- أقماع **Funnels**

تستخدم لترشيح وتصفية الأوساط الزرعية السائلة أثناء دراسة الأيضات الثانوية Secondary metabolites التي تفرزها الفطريات في الأوساط الزرعية، كما تستخدم في ترشيح السوائل والمحاليل التي يتطلبها العمل في المختبر وفي ترشيح المزارع السائلة عند احتساب الوزن الجاف للغزل الفطري، وهي بأحجام وأنواع مختلفة.

9- قناني صبغات **Staining jars**

تستخدم لحفظ الصبغات المستعملة في تحضير الشرائح الزجاجية.

10- مصابيح بنزين **Bensen burners**

تستخدم في تسخين النماذج أثناء تحضير الشرائح الزجاجية وفي تعقيم أبر نقل الفطريات.

11- قضبان زجاجية **Glass rods**

تستخدم في تحريك السوائل وإذابة المواد، كما تستعمل بشكل حرف (V) في داخل الأطباق أثناء دراسة انبات الأبواغ حيث توضع أسفل الشرائح الزجاجية داخل الطبق.

12- مجفف **Desicator**

يستخدم في تجفيف الغزل الفطري أو الاحتفاظ به جافاً لغرض الدراسة وتوضع فيه مواد محبه للماء تقوم بسحب الرطوبة من النموذج ومن هذه المواد كلوريد الكالسيوم ($CaCl_2$) ويجب أن يكون المجفف محكم الغلق باستخدام الفازلين.

الأدوات الأخرى Tools

لغرض دراسة الفطريات والتعرف عليها لابد من وجود مختبر فطريات مجهزاً تجهيزاً جيداً لغرض تسهيل العمل فيه لعزل الفطريات وتنميتها ودراستها مختبرياً. ومن بين التجهيزات المطلوبة مجموعة أدوات من غير الزجاجيات التي سبق ذكرها وتشمل ما يأتي:

1- إبر **Needles**

تستخدم في نقل وزراعة الفطريات من وإلى البيئات والأوساط الزرعية، وهي بعدة أشكال وأنواع، أما أن تكون رفيعة مدببة النهاية وتسمى أبرة العدوى inoculating needle ، أو على شكل سلك بلاتيني نهايته على شكل حلقة ويسمى بالناقل Loop.

2- ملاقط ومشارط **Forcapes & scalpel**

تستخدم في تحضير وتشريح النماذج المصابة بالفطريات، ولتحضير الشرائح الزجاجية لأغراض الفحص المجهري.

3- آلة العد اليدوي **Counting machine**

تستخدم في عد وحساب أعداد المستعمرات الفطرية النامية في الأطباق.

4- حامل أنابيب الاختبار **Test tubes rake**

تستخدم لحمل أنابيب الاختبار المستخدمة أثناء العمل في المختبر.

5- مناخل **Seives**

تستخدم في تصفية التربة من المواد العالقة والحصول على حبيبات ناعمة من التربة لأغراض عزل الفطريات عنها.

6- محارير **Thermometers**

تستخدم في قياس درجة حرارة المحاليل والسوائل والبيئات المستعملة وفي قياس درجة حرارة التربة والمياه أثناء عزل الفطريات.

7- قناني غسل **Washing bottles**

تستخدم لغسل الأدوات والزجاجيات أثناء العمل في المختبر.

الأجهزة المختبرية **Equipments**

وهي الاجهزة التي تستخدم في تهيأة وتحضير الأوساط والبيئات الغذائية لتنمية الفطريات، وحضن وحفظ مزارع ونماذج الفطريات مكملة لما ورد ذكره من أدوات ومعدات، وتشمل الأجهزة ما يأتي:

1- المجهر **Microscope**

وهو من الأجهزة المهمة جداً التي يتوجب توافرها في مختبر الفطريات ويستخدم لفحص ودراسة التراكيب الفطرية الدقيقة والتعرف عليها لأنه يستطيع تكبيرها بحدود معينة تمكن الباحث من رؤية شكلها وتفاصيلها بوضوح.

2- جهاز التعقيم (الموصدة) **Autoclave**

وهو جهاز يعمل بالبخار الناتج من تسخين الماء في حيز مغلق ينتج عنه توليد ضغط ويستخدم لتعقيم البيئات والأوساط الزرعية والمحاليل والمواد الكيميائية التي لا يتأثر تركيبها بدرجات الحرارة العالية التي تصل داخل الجهاز أثناء التعقيم إلى 121مْ وضغط 15 باوند/انج^2. وتعرض المواد تحت هذه الدرجة لمدة 15-20 دقيقة لقتل أغلب الخلايا الخضرية وأبواغ الأحياء المجهرية.

3- حاضنة **Incubator**

جهاز يمكن التحكم من خلاله بدرجة الحرارة المطلوبة لتنمية الفطريات وحضنها لفترة محددة عند درجة حرارة ثابتة وغالباً ما تكون عند 25 مْ للفطريات المترممة أو 37 مْ للفطريات المسببة في مرض الانسان، أو عند درجات حرارة مختلفة حسب حاجة الفطريات الخاضعة للدراسة.

4- فرن **Oven**

يستخدم لتعقيم الزجاجيات بالهواء الساخن ويفضل النوع ذا المروحة الداخلية، ويتم التعقيم غالباً عند درجة حرارة 160مْ لمدة ساعتين ويمكن عند الضرورة يجوز رفع درجة الحرارة إلى 180 مْ لاختصار الوقت إلى ساعة واحدة فقط. كما يستخدم لتجفيف النماذج أو الغزل الفطري عند درجة حرارة 40 مْ حتى الجفاف.

5- كابينة تلقيح **Inoculation chamber**

كابينة صغيرة مزودة بمفرغة هواء وفلتر هواء لتفريغ الهواء داخل الكابينة قبل استخدامها بالإضافة إلى مصباح للأشعة فوق البنفسجية ومصباح ضوئي (نيون) فهي توفر حيزا خاليا من الأحياء المجهرية ومقعما يسمح للعمل فيه بحرية اثناء تلقيح أو عزل الفطريات وتسمى أيضاً بصندوق العزل Isolation box.

6- أجهزة أخرى **Other equipments**

وتشمل جهاز قياس pH، جهاز طرد مركزي centrifuge ، خلاط mixer ، ميزان balance ، هزاز shaker ، حمام مائي water bath ، جهاز تقطير Distilatre ، ثلاجة ومجمدة Refregertor & freezer.

المواد Materials

تشمل بعض الأوساط الزرعية المصنعة والجاهزة التي سيرد ذكرها في موضوع الأوساط الزرعية بالإضافة إلى المواد التي تدخل في تحضير بيئات عزل وتنمية الفطريات، الصبغات، المعقمات، مواد تحميل الفطريات لأغراض الفحص المجهري وغيرها من المواد.

1- اكار – اكار **Ager – Agar**

مادة كاربوهيدراتية معقدة مستخرجة من بعض الأعشاب البحرية sea weeds ليس لها قيمة غذائية وتضاف إلى الأوساط الزرعية بنسبة 1.5 – 2.0 % تذوب عند تسخين الوسط فوق 45 مْ وتتصلب عندما يبرد الوسط وتنخفض حرارتها دون 40 مْ.

2- قطن **Cotton**

يستخدم في عمل سدادات أنابيب الاختبار والدوارق المعدة لتحضير البيئات الزرعية، كما يستخدم لأغراض التعقيم وأمور عديدة في المختبر.

3- أوراق ترشيح **Filter papers**

تستخدم في ترشيح البيئات السائلة والمحاليل المستخدمة أثناء العمل في المختبر.

4- الكحول **Alcohol**

يستخدم لأغراض تعقيم الأدوات ومناضد العمل في المختبر، وأمور أخرى عديدة.

5- اللاكتوفينول **Lactophenol**

يستخدم في قتل وتثبيت وتحميل الفطريات للمحافظة على شكلها الطبيعي أثناء الفحص المجهري.

6- الصبغات **Stains**

هناك عدة صبغات يتطلب تواجدها في المختبر لغرض صبغ الأجزاء الشفافة من الفطريات منها صبغة أزرق القطن Cotton blue.

8- مواد أخرى **Other materials**

وتشمل زيت العدسات lens oil وزايلول Xylol وورق عدسات lens paper وماء مقطر distilled water وبطاقات تأشير labels وغيرها من المواد.

المثبتات Fixatives

المثبتات هي محاليل لمواد كيميائية تستعمل لقتل الخلايا الحية قتلاً سريعاً لغرض تثبيت مكونات ومحتويات الخلية الفطرية أو اي جزء من جسم الفطر في حالته الاعتيادية والطبيعية أثناء فحصها مجهرياً، ويجب اختيار محلول التثبيت المناسب حسب طبيعة النموذج المطلوب تثبيته وأن يتم التثبيت مباشرة بعد أخذ النموذج من وسط النمو لكي لا يحدث أي تغيير على مكونات النموذج خارج حالته الاعتيادية من حيث الشكل والحجم والتركيب، وتتصف محاليل التثبيت بعدة صفات من أهمها:

1- تكون سريعة الانتشار في الانسجة الحية لضمان القتل والتثبيت.

2- عدم تأثيرها على بروتوبلاست الخلية.

3- عدم تأثيرها على قابلية الخلية في أخذ الصبغات التي قد يتطلب استعمالها لفحص النموذج ومن بين المثبتات المستخدمة في مختبر الفطريات هي:

محلول خليط الفورمالين – حامض الخليك – الكحول

Formalin – Acetic acid – Alcohol mixture (FAA)

هذا المحلول من أكثر المحاليل استخداماً في تثبيت وحفظ النماذج الحية ويسمى أيضاً بمحلول الحفظ القياسي standard preservative ويحضر من:

Formaldehyde 40% (Formalin)	5 ml
Acetic acid (glacial)	5 ml
Alcohol (ethyl 50%)	90 ml

- محلول خليط حامض الكروميك – حامض الخليك

Chromic acid – Acetic acid mixture

يعد هذا المحلول واحداً من أهم المحاليل المثبتة المستخدمة في الكائنات الحية الخيطية مثل الفطريات والطحالب والحزازيات والسرخسيات حيث يخترق بسهولة جسم هذه الكائنات ويثبت مكوناتها بسرعة، ويحضر من المواد التالية:

Aqueous chromic acid 10%	2.5 ml
Aqueous acetic acid 10%	5 ml
Distilled water	92.5 ml

محلول خليط حامض الكروميك – حامض الخليك – حامض الاوزميك

Chromic – Acetic and Osmic acid mixture

يطلق على هذا المحلول أيضاً اسم محلول فلمنك Flemming's solution ويعتبر من المحاليل ذات المدى الواسع لتثبيت النماذج الحية بضمنها الفطريات، ويفضل ان يحضر هذا المحلول قبل استخدامه مباشرة وكما يأتي:

Aqueous chromic acid 10%	1.5 ml
Aqueous acetic acid 10%	1.0 ml
Osmic acid 2% in 2% chromic acid	5.0 ml
Distilled water	92.5 ml

محلول كامبرلين Chamberlain's Solution

يعد من المحاليل المناسبة للكائنات الخيطية المائية مثل الطحالب والفطريات الخيطية والكائنات المشابهة لها وهذا المحلول خليط من المواد الثلاث المكونة لمحلول خليط حامض الكروميك – الخليك – الاوزميك المذكورأعلاه، وهي حامض الكروميك اللامائي وحامض الخليك الثلجي وحامض الاوزميك المائي ولكن بتراكيز مختلفة ويحضر كما يأتي:

chromic acid	1.5 g
Glacied acetic acid	2.5 ml
Aqueous Osmic acid 1%	1.0 ml
Distilled water	95 ml

محلول كلسون Gilson's Solution

هذا المحلول يستخدم لتثبيت الفطريات اللحمية وخصوصاً الطرية والجيلاتينية منها مثل الفطر *Tremella*، ولا تترك النماذج في المحلول أكثر من يوم واحد، ويفضل أن تبقى في المحلول لمدة 18-20 ساعة ثم تغسل بالكحول الاتيلي بتركيز 50% لإزالة بقايا وترسبات الزئبق من النموذج، ويحضر المحلول من المواد التالية:

Ethyl alcohol 60%	40.0 ml
Glacial acetic acid	2.5 ml
Nitric acid, 46°strength, about an 80% solution	7.5 ml
Mercuric chloride	10.0 g
Distilled water	440.0 ml

الصبغات Stains

تعد الصبغات واحدة من المواد المهمة جداً في مختبر الفطريات لدورها الأساسي في تمييز الأجزاء المختلفة من جسم الفطر سواء كانت في الخيط

الفطري أو الخلية الفطرية أو الأبواغ والأجسام التكاثرية الأخرى بالإضافة إلى الأجسام الثمرية. ان بعض الأصباغ قد تكون متخصصة في تأثيرها وعملها داخل الخلية فمنها ما يقوم بصبغ جدار الخلية والقسم الآخر يقوم بصبغ السايتوبلازم أو الأنوية وهكذا، خصوصاً وأن الكثير من الفطريات تبدو أثناء الفحص شفافة وغير واضحة المعالم مما يتطلب استخدام الصبغات لإبراز صفاتها بشكل واضح ومميز ومن أهم الصبغات المستخدمة في مختبرات الفطريات هي:

صبغة الانلين (أزرق القطن) **Anilin blue (cotton blue)**

وهي أكثر الصبغات التي تستخدم في فحص الفطريات عموماً وتتميز في صبغها للجدران السليلوزية والبروتوبلازم – تذاب الصبغة في الماء وتحضر بتركيز 0.1 %، إلا أن كفاءتها قد تكون أفضل في بعض الحالات عندما تحضر بتركيز 1 % في الكحول الأتيلي (90 %) وبالإمكان استخدام الصبغة مع محلول اللاكتوفيول لغرض التثبيت والصبغ في نفس الوقت بشرط أن تكون بنفس التركيز (0.1 %) وتحضر كما يأتي:

Lactophenol	75 ml
Distilled water	25 ml
Anilin blue (cotton blue)	0.1 g

ملاحظة:

سيرد ذكر طريقة تحضير محلول اللاكتوفينول في الفقرة التالية ضمن موضوع أوساط التحميل.

الصبغة البنفسجية البلورية Crystal Violet

يطلق على هذه الصبغة أيضاً اسم صبغة جنتين gentian violet ، وهي من الصبغات الكثيرة الاستخدام في صبغ محتويات الخلية، تذوب الصبغة في الماء بتركيز 1.6 % وفي الكحول بتركيز 1.3 % وتحضر بشكل محلول مائي بإذابة الصبغة في الماء المقطر بتركيز 1.0 %.

صبغة الاريثروسين Erthrosin

يحتوي تركيب هذه الصيغة على اليود مما يجعلها ذا كفاءة عالية في صبغ مكونات الخلية الحية، تحضر بتركيز 1 % بإذابتها في الكحول (95 %)، يمكن استخدام الصبغة للتحميل الوقتي، حيث تعطي ملامح واضحة لتجزوء الخيط الفطري وشكل الخلايا المولدة للأبواغ في الفطريات الشفافة وفي هذه الحالة تحضر بتركيز 1 % بإذابتها في الأمونيا (10 %).

صبغة الفوكسين – لاكتيك Lacto – Fuchsin

تحضر هذه الصبغة بتركيز 0.1 %، وذلك بإذابة صبغة الفوكسين في حامض اللاكتيك lactic acid.

صبغة جانوس الخضراء Janus Green

وهي صبغة حيوية للفطريات ويمكن تحضيرها بتركيز ذات مدى واسع من إذابة 0.001 إلى 0.41 غم من الصبغة في 100 مل من محلول ملحي Saline Solution.

<u>ملاحظة:</u>

يحضر المحلول الملحي بإذابة كلوريد الصوديوم NaCl في الماء بتركيز 8.5 غم / لتر ماء مقطر.

صبغة مالاجيت الخضراء Malachite Green

تحضر هذه الصبغة بتركيز 0.5%، بإذابتها أما في الماء المقطر أو الكحول (95 %)، تستخدم هذه الصبغة في صبغ نماذج النباتات المصابة بالفطريات، وتظهر نوى الفطر بلون أحمر بالإضافة إلى أنوية العائل والخشب والجدران

الحاوية على الكيوتين، أما سايتوبلازم العائل وجدرانه السليلوزية فتظهران بلون أخضر.

صبغة ازرق المثيلين Methylene Blue

وهي من الصبغات الجيدة لصبغ الخمائر، علماً أنها واسعة الاستخدام في صبغ البكتريا، تحضر أما على هيأة محلول مائي بتركيز 3.5 % أو محلول كحولي بتركيز 1.5 %.

صبغة السفرانين Safranin

تعد هذه الصبغة واحدة من بين أهم الصبغات الحيوية والتي تستعمل للفحوصات المظهرية والخلوية Morphological & Cytological وتحضر الصبغة بإذابتها في الماء المقطر بتركيز 5.5 % أو في الكحول بتركيز 3.5 %.

صبغة الثيونين Thionin

تحضر هذه الصبغة بتركيز 0.25 % بإذابة الصبغة أما في الماء المقطر أو الكحول، تعطي هذه الصبغة أحياناً ألوانا مختلفة لمكونات الخلية.

أوساط التحميل Mounting media

ان عملية فحص ودراسة الفطريات في المختبر تتطلب تحضير شرائح زجاجية مؤقتة أو دائمية، وللحصول على شرائح دائمية أو شبه دائمية يجب استعمال محاليل أو أوساط خاصة يطلق عليها أوساط التحميل، وللاحتفاظ بالشرائح الدائمية بشكل أفضل يتم لصق غطاء الشريحة بعد التأكد من فحص النموذج باستخدام مواد لاصقة sealing materials مثل الغلايسيل Glycel وهي مادة لاصقة ذات أساس سليلوزي للشرائح الدائمة وشبه الدائمة ويمكن استخدام طلاء الأظافر Nail polish لهذا الغرض أو مواد لاصقة أخرى. هناك نقطة مهمة جداً يجب الانتباه إليها قبل عملية لصق غطاء الشريحة هي ضرورة التأكد من عدم

وجود كمية زائدة من وسط التحميل على حافة غطاء الشريحة لأنها تؤثر على المادة الاصقة وعليه يجب سحبها باستخدام ورق النشاف أو ورق الترشيح قبل وضع مادة اللصق على حافة غطاء الشريحة. ومن أهم أوساط التحميل المستخدمة في مختبر الفطريات ما يلي:

وسط تحميل آمان (اللاكتوفينول)

Amman's mounting medium (lactophenol)

هذا الوسط مناسب جداً لتحضير الشرائح الزجاجية الدائمية وشبه الدائمية في معظم الفطريات، ويتكون من المواد التالية:

Phenol	20g
Lactic acid	20g
Glycerine	40g
Distilled water	20g (weight)

ملاحظة:

يفضل تسخين الفينول مع الماء حتى يذوب ثم يضاف حامض اللاكتيك والكليسيرول، يمكن إضافة إحدى الصبغات إلى المحلول مثل الانلين (أزرق القطن) أو اي صبغة مناسبة بتركيز 0.5 – 1.0%.

وسط تحميل هوير Hoyer's mounting medium

هذا الوسط استخدم في بداية الأمر لتحضير شرائح الحشرات، وقد استخدم بنجاح لتحضير شرائح الفطريات الهلامية وقسما من الفطريات الكيسية، ويتكون من المواد التالية:

Arabic gum lump	50g
Chloral hydrate	200g
Grlycerine	20g
Distilled water	50g (weight)

طريقة العمل:

1- يغمر الصمغ العربي في الماء لمدة 24 ساعة.

2- تضاف مادة الكورال ويترك المحلول حتى ذوبان المادتين تماماً وقد يتطلب ذلك عدة أيام.

3- يضاف الكليسيرول.

4- قبل استخدام الوسط، ترطب نماذج الفطريات بالكحول المطلق لمدة دقيقة واحدة، ثم تعامل بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم 2% لمدة دقيقة واحدة، ثم تغسل بالكحول 70%.

5- يوضع النموذج في قطرة من وسط التحميل على شريحة زجاجية ويوضع عليها غطاء الشريحة الزجاجية.

6- تفحص الشريحة تحت المجهر.

هلام الكليسرين Glycerine jelly

يستخدم هذا الوسط بشكل واسع في تحضير الشرائح الزجاجية للفطريات، ويتكون من المواد التالية:

Gelatine	1.0g
Glycerine	7.0g
Distilled water	6.0g (weight)

طريقة العمل:

1- يذاب جزء واحد (وزن) من الجيلاتين في ستة أجزاء (وزن) من الماء المقطر ويترك لمدة ساعتين على الأقل.

2- يضاف إلى المحلول سبعة أجزاء (وزن) من الكيسيرين، ولكل 100 غم يضاف غرام واحد من الفينول (أي بنسبة 1 %) يسخن المحلول مع التحريك لمدة 15 دقيقة حتى يذوب الفينول.

وسط حامض اللاكتيك Lactic acid medium

يمكن استخدام المحلول المائي لحامض اللاكتيك لوحده كوسط تحميل جيد للفطريات، ومن الممكن أيضاً إضافة صبغة الانيلين أو أزرق القطن بتركيز 0.1 %.

المحاليل الدارئة (المنظمة) Buffer solutions

تدعى المحاليل التي تضبط درجة الأس الهيدروجيني للأوساط الزرعية وخاصة السائلة منها وتقاوم تغيرات الأس الهيدروجيني (pH) التي تحصل في الوسط نتيجة نمو الفطريات بالمحاليل الدارئة أو المنظمة. وهي تتكون من مزيج من حامض ضعيف مع ملحه او قاعدة ضعيفة مع ملحها، وللملح المتشكل من حامض ضعيف وقاعدة ضعيفة فعل منظم لدرجة الأس الهيدروجيني، وأدناه بعض المحاليل الدارئة التي تعطي مديات أس هيدروجيني مختلفة هي:

1- داريء الخلات، ذو مدى أس هيدروجيني يتراوح ما بين 3.6 -5.6.

2- داريء الفوسفات، ذو مدى أس هيدروجيني يتراوح ما بين 5.8 - 8.0.

3- داريء السترات-الفوسفات، ذو مدى أس هيدروجيني يتراوح ما بين 2.6-8.0.

4- داريء الكاربونات – ثنائي الكاربونات، ذو مدى أس هيدروجيني يتراوح ما بين 9.2 – 10.6.

داريء الخلات Acetate buffer

يحضر محلول داريء الخلات من مزج كميات معلومة ومحددة من محلولين أساسيين Stock solutions، هما المحلول (أ) المحضر من حامض الخليك المركز والمحلول (ب) المحضر من خلات الصوديوم اللامائية، ثم تحضر منها محاليل بدرجات أس هيدروجيني مختلفة وكما يأتي:

طريقة العمل:

1- يحضر المحلول (أ) بإضافة 11.5 مل من حامض الخليك المركز إلى 100 مل ماء مقطر معقم.

2- يحضر المحلول (ب) بإذابة 16.4 غم من خلات الصوديوم اللامائية في 1000 مل ماء مقطر معقم.

3- تحضر محاليل دارئة بدرجات أس هيدروجيني مختلفة من محاليل أ و ب وباحجام مختلفة من المحلولين وتكمل إلى 100 مل باستخدام الماء المقطر وكما موضح في الجدول أدناه.

4- تضاف الـ 100 مل من المحلول الدارئ المطلوب الذي حضر في الفقرة (3) إلى 900 مل ماء مقطر لكي يصبح الحجم النهائي 1000 مل ويكون جاهزاً لاستخدامه في تحضير الأوساط الزرعية لتنمية الفطريات.

ت	المحلول أ	المحلول ب	درجة الأس الهيدروجيني (pH)
1	46.3	3.7	3.6
2	44.0	6.0	3.8
3	41.0	9.0	4.0
4	36.8	13.2	4.2
5	30.5	19.5	4.4
6	25.5	24.5	4.6
7	20.0	30.0	4.8
8	14.8	35.2	5.0
9	10.5	39.5	5.2
10	8.8	41.2	5.4
11	4.8	45.2	5.6

داريء الفوسفات Phosphate buffer

يحضر محلول داريء الفوسفات أيضاً من مزج كميات معلومة من محلولين أساسيين هما المحلول (أ) المحضر من فوسفات الصوديوم أحادية القاعدة $NaH_2PO_4.2H_2O$، والمحلول (ب) المحضر من فوسفات الصوديوم ثنائية القاعدة $Na_2HPO_4.12H_2O$، ثم تحضر منها محاليل بدرجات أس هيدروجيني مختلفة وكما يأتي:

طريقة العمل:

1- يحضر المحلول (أ) بإذابة 31.2 غم من فوسفات الصوديوم أحادية القاعدة في 1000 مل ماء مقطر.

2- يحضر المحلول (ب) بإذابة 71.7 غم من فوسفات الصوديوم ثنائية القاعدة في 1000 مل ماء مقطر.

3- تحضر محاليل دارئة بدرجات أس هيدروجيني حسب الحاجة من المحلولين(أ) و (ب) تأخذ احجام معلومة من كل منهما وكما في الجدول أدناه. وفي حالة عدم وصول الحجم إلى 100 مل تكمل إلى 100 مل بالماء المقطر.

4- تضاف الـ 100 مل من المحلول الداريء المطلوب الذي حضر في الفقرة (3) أعلاه إلى 900 مل باستخدام الماء المقطر لكي يصبح الحجم النهائي 1000 مل وعندها يكون جاهز لتحضير الأوساط الزرعية وتنمية الفطريات.

ت	المحلول أ	المحلول ب	درجة الأس الهَيدروجيني (pH)
1	92.0	8.0	5.8
2	87.7	12.3	6.0
3	81.5	18.5	6.2
4	73.5	26.5	6.4
5	62.5	37.5	6.6
6	51.0	49.0	6.8

7.0	61.0	39.0	7
7.٢	72.0	28.0	8
7.4	81.0	19.0	9
7.6	87.0	13.0	10
7.8	91.5	8.5	11
8.0	94.7	5.3	12

داريء السترات – الفوسفات Citrate – phosphate buffer

يحضر محلول داريء الفوسفات – السترات من مزج كميات محددة من محلولين أساسيين هما. المحلول (أ) المحضر من حامض الستريك، والمحلول (ب) المحضر من فوسفات الصوديم اللامائية ثنائية القاعدة Na_2HPO_4، ثم يحضر منهما محاليل بدرجات أس هيدروجيني مختلفة وكما يأتي:

طريقة العمل:

1- يحضر المحلول (أ) بإذابة 19.2 غم من حامض الستريك في 1000 مل ماء مقطر.

2- يحضر المحلول (ب) بإذابة 38.3 غم من فوسفات الصوديوم ثنائية القاعدة في 1000 مل ماء مقطر.

3- تحضر محاليل دارئة بدرجات أس هيدروجيني حسب الحاجة من المحلولين أ و ب أعلاه بأخذ احجام معلومة من كل منهما ويكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر وحسب الجدول أدناه.

4- تضاف الـ 100 مل من المحلول الداريء من الفقرة (3) إلى 900 مل ماء مقطر لكي يصبح الحجم النهائي 1000 مل وهو المحلول النهائي لتحضير الوسط الزرعي.

ت	المحلول أ	المحلول ب	درجة الأس الهيدروجيني (pH)
1	44.6	5.4	2.6
2	42.2	7.8	2.8
3	39.8	10.2	3.0
4	37.7	12.3	3.2
5	35.9	14.1	3.4
6	33.9	16.1	3.6
7	32.3	17.7	3.8
8	30.7	19.3	4.0
9	29.4	20.6	4.2
10	27.8	22.2	4.4
11	26.7	23.3	4.6
12	25.2	24.8	4.8
13	24.3	25.7	5.0
14	23.3	26.7	5.2
15	22.2	27.8	5.4
16	21.0	29.0	5.6
17	19.7	30.3	5.8
18	17.9	32.1	6.0
19	16.9	33.1	6.2
20	15.4	34.6	6.4
21	13.6	36.4	6.6
22	9.1	40.٩	6.8
23	6.4	43.6	7.0

داريء حامض البوريك – البوراكس Boric acid – borax buffer

يحضر بنفس الطرق الواردة في أعلاه ومن المحلولين (أ) و(ب) وكما يأتي:

1- المحلول (أ) يحضر بإذابة 12.4 غم من حامض البوريك في 1000 مل من الماء المقطر.

2- المحلول (ب) يحضر بإذابة 19.1 غم من البوراكس في 1000 مل ماء مقطر.

3- تحضر المحاليل الدارئة المطلوبة بمزج 50 مل من المحلول (أ) مع احجام مختلفة من المحلول (ب) ويكمل الحجم إلى 100 مل وكما موضح في الجدول أدناه.

4- تضاف الـ 100 مل من المحلول الداريء المطلوب المحضر في (3) أعلاه إلى 900 مل ماء مقطر ليصبح الحجم الكلي 1000 مل وهو المحلول النهائي لتحضير الوسط الزرعي.

ت	المحلول أ	المحلول ب	درجة الأس الهيدروجيني (pH)
1	50	2.0	7.6
2	50	3.1	7.8
3	50	4.9	8.0
4	50	7.3	8.2
5	50	11.5	8.4
6	50	17.5	8.6
7	50	30.0	8.8
8	50	39.0	9.0
9	50	48.0	9.2

داريء الكاربونات – ثنائي الكاربونات Carbonate – Bicarbonate Buffer

يحضر من المحلولين (أ) و(ب) وحسبما ورد في الطرق السابقة وكما يأتي:

1- المحلول (أ) يحضر بإذابة 21.2 غم من كاربونات الصوديوم اللامائية في 1000 مل ماء مقطر.

2- المحلول (ب) يحضر بإذابة 16.8 غم من ثنائي كاربونات الصودويم في 1000 مل ماء مقطر.

3- تحضر المحاليل الدارئة المطلوبة بمزج كميات مطلوبة من المحلولين أعلاه ويكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر وحسب الجدول أدناه.

4- تضاف الـ 100 مل من المحلول الداريء المطلوب الذي حضر في (3) أعلاه إلى 900 مل ماء مقطر ليصبح الحجم الكلي 1000 مل وهو المحلول النهائي لتحضير الوسط الزرعي.

ت	المحلول أ	المحلول ب	درجة الأس الهيدروجيني (pH)
1	4.0	46.0	9.2
2	9.5	40.5	9.4
3	16.0	34.0	9.6
4	22.0	28.0	9.8
5	27.5	22.5	10.0
6	33.0	17.0	10.2
7	38.5	11.5	10.4
8	42.5	7.5	10.6

ضبط وقياس درجة الأس الهيدروجيني (pH)

Adjustment and measurement of pH

يعتبر ضبط وقياس درجة الأس الهيدروجيني للوسط الزرعي من أهم الأمور الواجب مراعاتها عند تحضير الأوساط الزرعية فلكل نوع من الفطريات احتياجات خاصة للنمو فغالبيتها يفضل الأوساط الحامضية بينما تتطلب أنواع أخرى أوساط قلوية في حين أن البعض الآخر يفضل النمو في الأوساط المتعادلة. ان درجة الأس الهيدروجيني لأي وسط أو محلول هي مقياس لحموضته أو

قاعديته، وتعرّف عادة على إنها القيمة السالبة للوغاريتم تركيز أيونات الهيدروجين في غرام أيوني باللتر:

درجة الأس الهيدروجيني= - لغ 10 لتركيز H^+، ويمكن تمثيل تأين الماء بالمعادلة:

$$H_2O = H^+ + OH^-$$

وهذا التفاعل يكون في مرحلة توازن عند احتواء 10^7 لتر من الماء النقي على 1×10^{-7} غم أيوني / لتر، وعليه فإن درجة الأس الهيدروجيني = - لغ 10 لـ 1×10^{-7} = 7 وهي نقطة التعادل بين أيونات الهيدروجين والهيدروكسيل. فعند إذابة حامض في الماء المتعادل يزداد تركيز أيونات الهيدروجين وينخفض تركيز أيونات الهيدروكسيل من 1×10^{-7} إلى 1×10^{-6}، وانخفاض درجة الأس الهيدروجيني من 7 إلى 6، وبقدر ما تكون الحموضة عالية تكون درجة الأس الهيدروجيني منخفضة.

تكون درجة الأس الهيدروجيني لمعظم أنواع الأوساط الزرعية عند تحضيرها منخفضة قليلاً أو قريبة من المتعادلة ولهذا يجب قياسها قبل استخدام الأوساط للنمو ثم ضبطها وتعديلها باستخدام حامض مخفف او قاعدة مخففة، ويفضل إعادة فحصها بعد التعقيم الذي قد يسبب تغيير طفيف في درجة الأس الهيدروجيني. ومن أهم الطرق المعتمدة لقياس درجة الأس الهيدروجيني هي:

1- الأدلة الملونة pH indicators

الأدلة هي مواد تستخدم كمحاليل كاشفة أو أوراق دالة على درجة الأس الهيدروجيني للوسط الزرعي أو المحلول، والأدلة الملونة هي مواد يؤدي تغيير تركيبها أو تأينها عند قيمة الأس الهيدروجيني المختلفة التي تحدث عندها تغييرات لونية يتم مقارنتها مع ألوان محاليل قياسية ذات درجة أس هيدروجيني مختلفة، أما استخدام الأوراق الدالة فيتم أما بتغطيس الأوراق بسرعة في المحلول قيد الاختبار أو وضع نقطة من المحلول على الورقة بوساطة ماصة

شعرية ومقارنة اللون الحاصل على الورقة مع خارطة الألوان المرافقة لهذه الأوراق وقيمه درجة الأس الهيدروجيني لكل لون. (كما في الجدول أدناه).

<u>ملاحظة:</u> ان معظم الأدلة موجهة ومصممة للاستخدام عند درجة حرارة الغرفة (20-25 مْ).

نوع الكاشف	مدى الأس الهيدروجيني (pH)	التغير اللوني
ازرق الثيمول Thymol blue	2.8-1.2	أحمر إلى أصفر
أصفر المثيل Methyl yellow	4.0-2.8	أحمر إلى أصفر
ازرق البروموفينول Bremophenol blue	4.6-3.0	أصفر إلى بنفسجي
احمر المثيل Methyl red	6.2-4.4	أحمر إلى أصفر
ارجواني البروموكريزول Bromocresol purple	6.8-5.2	أصفر إلى بنفسجي
احمر الفينول Phenol red	8.4-6.6	أصفر إلى أحمر
ارجواني الكريزول Cresol purple	9.2-7.6	أصفر إلى بنفسجي
ازرق الثيمول Thymol blue	9.6-8.0	أصفر إلى أزرق
فينول فثالين Phenol phthaline	10.0-8.2	عديم اللون إلى أحمر
اصفر الاليزارين Alizarine yellow	12.0-10.3	عديم اللون إلى أصفر

2- قياس الجهد الكهربائي Electrical potentiometer

تعتمد هذه الطريقة في تحديد درجة الأس الهيدروجيني على اساس الفرق في الجهد الكهربائي بين محلول الاختبار والمحلول القياسي، الجهاز المستخدم لهذا الغرض هو pH-meter. يعتبر القطب الكهربائي الزجاجي Electrode الذي يحتوي على محلول كلوريد البوتاسيوم هو الأكثر استخداماً في مختبرات الفطريات والدراسات الحيوية عموماً، علماً أن الالكترود الهيدروجيني الغازي هو الأفضل لقياس درجة الأس الهيدروجيني. يقاس الفرق في الجهد الكهربائي بالفولت ويحول إلى الرقم الهيدروجيني الذي يتوضح على مقياس الجهاز.

الفصل الثالث

طرائـــق التعقيـــم

Methods of Sterilization

التعقيم هي عملية تجريد الأجسام أو المواد من الأحياء الدقيقة ومن كافة أنواع الحياة عن طريق تعريضها إلى عوامل فيزيائية أو كيميائية، وهي عملية مطلقة وليست نسبية فأما أن تكون معقمة أو لا تكون.

يعد التعقيم من الأمور المهمة جداً للعاملين في مختبرات الفطريات لأنه يهدف إلى القضاء التام على الأحياء الدقيقة والمجهرية وإزالتها من المادة أو الجسم الذي يتم تعقيمه. إن إجراء التعقيم يتضمن استخدام العوامل الفيزيائية والكيميائية التي تجعل الأدوات والمواد والأوساط الزرعية خالية تماماً من الكائنات الحية غير المرغوبة. إن اللجوء لعملية التعقيم في مختبرات الفطريات تستوجبها ضرورات متعددة من أهمها تجنب العدوى وانتشار الفطريات والأحياء المجهرية الأخرى المضرة بالإنسان، وضمان نقاوة المزارع والأوساط الفطرية تحت الدراسة وعدم تلوثها باحياء أخرى تفسد التجربة أو البحث. فمنذ اكتشاف الأوساط الغذائية والزرعية لتنمية الفطريات في مزارع نقية كانت الحاجة ملحة للتوصل إلى طريقة للتخلص من الأحياء المجهرية الأخرى التي تنمو في مثل هذه الأوساط لغرض الحصول على مزارع نقية للفطريات وبدأ المختصون في البحث عن طريقة لتعقيم الأوساط الزرعية والأدوات والزجاجيات المستخدمة في تحضيرها قبل استخدامها لعزل وتنمية الفطريات. هناك وسائل وطرق متعددة للتعقيم واختيار الوسيلة المناسبة يعتمد على طبيعة المادة ونوعية الأحياء الدقيقة المراد تعقيمها أو التخلص منها، ومن هذه الطرق ما يأتي:

أولاً: التعقيم بالطرق الفيزيائية Physical Sterilization

من الطرق الفيزيائية المعتمدة في التعقيم هي استخدام الحرارة والإشعاع.

التعقيم بالحرارة Heat sterilization

تعتمد هذه الطريقة على قدرتها السريعة لقتل وإتلاف الكائنات الدقيقة باستخدام درجات الحرارة العالية لفترة زمنية معينة حسب نوع وطبيعة المادة المطلوبة تعقيمها اي هناك علاقة بين الوقت ودرجة الحرارة تختلف من كائن حي لآخر، وعند اختيار وسيلة تعقيم عامة يجب أن تستعمل الوقت ودرجة الحرارة التي تقتل كل الكائنات بما فيها المقاومة أو المتحملة للحرارة وتشتمل هذه الطريقة على عدة أنواع هي:

الحرارة الجافة Dry heat

ويتم ذلك باستخدام الفرن الكهربائي Oven، حيث يتم فيه تعقيم الأطباق والزجاجيات الأخرى بالهواء الحار Hot air ويجب الا تكون المواد مرزومة بشكل مرصوص للسماح بدوران الهواء داخل الفرن وان يصل إلى جميع الأجزاء الملوثة. يفضل وضع الزجاجيات في حاويات معدنية مخصصة لكل نوع من الزجاجيات وخصوصاً الأطباق والماصات للإبقاء على التعقيم بعد المعاملة، ويتم تنظيف الزجاجيات المستخدمة في مختبر الفطريات مثل الدوارق والأطباق وأنابيب الاختبار والماصات والبيكرات وغيرها جيداً بإحدى المنظفات المتوافرة ثم غسلها بالماء العادي ثم بالماء المقطر قبل تعقيمها. بالنسبة لأنابيب الاختبار والدوارق تسد فوهاتها بسدادات قطنية ثم تغطى السدادات بورق معدني لمنع احتراق القطن من درجات الحرارة العالية وضمان استمرار التعقيم بعد إخراجها من الفرن. أما الماصات فيوضع في الفتحة المستخدمة للمص كمية من القطن، يتطلب الانتباه والحذر عند إخراج الزجاجيات من الفرن عندما يكون ساخناً وان لا توضع على سطح بارد لأنها قد تتعرض للكسر بسبب الفرق في درجة الحرارة، وأدناه درجات الحرارة والأوقات المطلوبة للتعقيم:

الوقت (ساعة)	درجة الحرارة (مْ)
8	120
3	140
2	160
1	180

الحرارة الحمراء (اللهب) Red heat (flame)

تعتمد هذه الطريقة على استخدام المصابيح ذات اللهب burners والتي تعمل أما بالكحول أو البنزين أو الغاز، وفيها يتم تعقيم أبر التلقيح Needles ، الناقل Loop والملاقط Forceps والادوات المعدنية الأخرى بالتسخين فوق اللهب حتى الإحمرار، ثم تبرد قبل استخدامها، ويمكن تغطيس الأدوات المعدنية المراد تعقيمها بالكحول ثم إلهابها.

الحرارة الرطبة Moist heat

ويتم ذلك باستخدام جهاز الموصدة (الاوتوكلاف) autoclave الذي يعمل بدرجة حرارة عالية تصل إلى 128 مْ وبخار الماء المضغوط الذي يصل إلى 20 باوند/انج^2 ففي هذا الجهاز يتم تعقيم الأوساط والبيئات الغذائية والمحاليل ذات العلاقة بها، ويمكن أيضاً تعقيم الأدوات الزجاجية اختصاراً للوقت لكن يجب أن تغلف بورق اسمر أو ورق صحف لكي لا تبتل أثناء التعقيم، غالباً ما يتم التعقيم تحت ضغط 15 باوند/انج^2 ودرجة حرارة 121 مْ لمدة تتراوح من 15- 20 دقيقة،وفيما يلي أدناه درجات الضغط ودرجات الحرارة المقابلة لها في جهاز الاوتوكلاف:

الضغط (باوند/انج^2)	درجة الحرارة (مْ)
5	107
7	110
10	115
15	121
20	128

يجب الانتباه إلى أن تعقيم الأوساط الغذائية بالموصدة قد يؤدي إلى خفض درجة الأس الهيدروجيني للبيئات الغذائية (pH) بحدود 0.2 – 0.4، كما ان المواد السكرية الموجودة في الأوساط والبيئات الغذائية، خاصة بوجود الأحماض الأمينية، قد تتحول إلى مواد مثبطة لنمو الفطريات وفي هذه الحالة ينبغي تعقيم المواد السكرية على حدة وإضافتها إلى الوسط الغذائي المعقم، وهنا يمكن استخدام التعقيم المتقطع (التندلة) tyndallisation وفيه يستعمل الغليان على درجة حرارة 100 مْ ثلاث مرات لمدة 30 دقيقة والفترة بينهما يوماً واحداً حيث تنمو الجراثيم في نهاية المرحلة الأولى حينما تنخفض درجة الحرارة وهذا يتسبب في قلة قدرتها على مقاومة المرات وبذلك تقتل الخلايات الخضرية في المرحلة الثانية أو الثالثة للغليان، وتعقم التربة بهذه الطريقة ولكن باستخدام بخار الماء أي تحت ضغط 15 باوند/انج^2 ثلاث مرات لمدة 60 دقيقة والفترة بينهما يوماً واحداً أي خلال ثلاثة أيام.

طريقة استعمال الموصدة (المعقم البخاري) **Autoclave**

هناك أنواع وأشكال مختلفة من الموصدة قسم منها يعمل على الغاز والقسم الآخر على الكهرباء وكلاهما يعتمد على الحرارة العالية وضغط بخار الماء وكما يأتي:

1- التأكد من وجود كمية كافية من الماء في الجهاز، ويجب استعمال الماء المقطر.
2- توضع المواد المطلوب تعقيمها داخل الجهاز وبصورة منتظمة وأن تترك فسحة كافية.
3- إغلاق الغطاء، شد اللولب ذات الاتجاهات المتعاكسة لكي نغلق الغطاء بشكل متجانس.
4- يفتح صمام البخار قبل إشعال الغاز أو فتح التيار الكهربائي للسماح للهواء بالخروج.
5- ترك البخار يخرج لمدة 5 دقائق على الأقل لإزالة كل الهواء داخل الجهاز قبل إغلاق الصمام.
6- ضبط الضغط المطلوب من خلال التحكم بالغاز أو التيار الكهربائي.
7- يترك الجهاز يعمل تحت الضغط المطلوب طيلة الوقت المطلوب للتعقيم، ثم يطفأ الجهاز.
8- لا يفتح صمام بخار الماء بعد إطفاء الجهاز مباشرة وإنما بعد أن يبرد الجهاز وينخفض الضغط.
9- الانتظار 5 دقائق على الأقل بعد انخفاض الضغط إلى الصفر ثم يفتح الغطاء وتخرج المواد.

التعقيم بالإشعاع Sterilization by radiation

ان لبعض الإشعاعات تأثيراً قاتلاً للفطريات والأحياء المجهرية الأخرى مثل الأشعة فوق البنفسجية (UV) Ultra Violate التي يبلغ طولها الموجي 2500 انكستروم، علماً أنها تتواجد بشكل طبيعي في أشعة الشمس، وفي المختبرات توجد أجهزة ذات مصابيح خاصة ببعث هذا النوع من الأشعة. وتستعمل الأشعة فوق البنفسجية بكثرة في المختبرات والمستشفيات للقضاء على الفطريات والأحياء المجهرية المرضية والملوثة، فهي ذات قوة اختراق ضعيفة للأشياء وخاصة

الصلبة منها لذلك فهي فعالة في تعقيم الهواء في الغرف وأماكن عزل الفطريات وأسطح المناضد والنماذج وفي تعقيم السوائل والمواد الغذائية والمصول واللقاحات. يتسبب الإشعاع في حالة من الاضطرابات الخلوية التي تؤثر على البروتوبلاست وبالنتيجة موت الخلايا. وبالرغم من ان هذه الطريقة تخفض حمولة الهواء من الأبواغ الفطرية والأحياء المجهرية ولكنها لا تقضي عليها كلياً بسبب عدم قدرة الأشعة في الوصول إلى المناطق والزوايا المظللة، تعرض كابينات العزل أو السطوح للأشعة لمدة ساعة على الأقل قبل استخدامها. ومن الإشعاعات الأخرى المستخدمة هي الأشعة السينية X-rays وتستعمل بشكل تجاري في تعقيم الأوراق والمعادن والمواد البلاستيكية والأدوات الطبية كالحقن والأطباق والمواد الأخرى المغلفة كما تستخدم في تعقيم الأغذية وخصوصاً اللحوم والخضروات.

ثانياً: التعقيم بالطرق الكيميائية Chemical Sterilization

هناك العديد من المواد الكيمياوية القاتلة للأحياء المجهرية ومنها الفطريات ولكنها قد تحتاج إلى وقت طويل ولا يمكنها الوصول إلى التعقيم الكامل. يتم التعقيم الكيميائي في مختبر الفطريات باستخدام المواد الكيمياوية المعقمة أو المطهرة مثل: الكحول وكلوريد الزئبق والديتول والفورمالين والفينول والهيبوكلوراكس. ويمكن استخدام بعض الغازات مثل غاز ثاني أوكسيد الاثيلين في الأغراض الأكثر تخصصاً ومع ذلك يمكن إدراك ان الكيمياويات غالباً ما تستخدم لمقاومة الميكروبات ونادراً ما تؤدي إلى التعقيم الكامل كما أشرنا اعلاه، وتتم علمية التعقيم الكيمياوي بطريقتين هما:

التعقيم بالمواد السائلة (التعقيم السطحي) **Surface sterilization**

تستخدم هذه الطريقة لتعقيم بعض الأدوات المختبرية وسطوح أماكن العمل والنماذج النباتية الحاملة للفطريات ويرعى فيها تركيز المادة الكيمياوية، ووقت

تعريض النموذج للمادة الكيمياوية ودرجة تلوث النموذج. وهناك عدد من المواد الكيمياوية المستعملة لهذا الغرض منها:

أ- الهالوجينات ومركباتها

وتشمل كل من اليود والكلور وهما من المواد المؤكسدة، ويستعمل الكلور بشكل واسع في التعقيم السطحي للنماذج النباتية والبذور خاصة عند عزل الفطريات المتواجدة داخل الانسجة. يستخدم هايبوكلوريت الصوديوم $NaOCl$ وبنسبة 4-6% كما في محلول القاصر التجاري اي ما يعادل 1% كلور حر.

طريقة العمل:

1- يحضر محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 5% (محلول القاصر التجاري).

2- توضع كمية من محلول التعقيم في طبق بتري او بيكر صغير وحسب الحاجة وحجم النموذج المطلوب تعقيمه.

3- تغمر النماذج في محلول التعقيم لمدة 3- 5 دقائق.

4- تغسل النماذج عدة مرات بنقلها إلى أطباق بتري أو بيكرات تحتوي على ماء مقطر معقم لإزالة آثار الكلور حتى لا يؤثر على نمو الفطريات.

5- تنتقل النماذج إلى ورق ترشيح معقم وتجفف ثم تنقل إلى البيئة أو الوسط الزرعي المعد سلفاً في أطباق بتري لغرض عزل الفطريات منها.

ب- مركبات المعادن الثقيلة

من المعادن الثقيلة المستخدمة في مجالات التعقيم هو الزئبق ومن مركباته السامة للفطريات والأحياء المجهرية هو كلوريد الزئبق $HgCl_2$ ويستعمل بتركيز 1 : 1000، ويستخدم أيضاً في التعقيم السطحي للنماذج النباتية.

طريقة العمل:

تعتمد نفس الخطوات الواردة في طريقه هيبوكلوريت الصوديوم المذكورة في (أ) أعلاه.

جـ- الكحول

الكحولات من المواد المعقمة التي تؤدي إلى قتل الفطريات والأحياء المجهرية الأخرى نتيجة لتخثر البروتين المكون الأساسي للبروتوبلاست. ويستخدم الكحول الأتيلي (الايثانول) بتركيز 50-70% لتعقيم الأدوات المعدنية كالأبر، المشارط الملاقط والمقصات ثم لتغطيس إلهابها.

د- الفينول

الفينول مادة سامة وقاتلة وفعالة جداً في قتل الخلايا الخضرية للفطريات نتيجة لتخثر البروتينات في البروتوبلاست وتمزيق جدار الخلايا أو الخيوط الفطرية.

هـ- الالديهايد

يعد الفورمالديهايد HCHO من المركبات الفعالة في عمليات التعقيم وفي قتل وإبادة الفطريات ولكنه نادراً ما يستعمل لتأثيره السام ورائحته النفاذة، ويستخدم بشكل محلول مائي يعرف بالفورمالين Formalin يحتوي على تركيز 37 - 40 % فورمالديهايد. ويعمل من خلال اتحاده بالمجموعات الأمينية الحرة لبروتينات بروتوبلازم الخلايا والخيوط الفطرية.

و- أوكسيد البروبلين

أوكسيد البروبلين C_3H_6O سائل سام شديد التطاير والتبخر ويذوب في الماء والكحول ويستخدم في تعقيم المرشحات والمصافي الورقية والمواد المشابهة لها بتعريضها له لمدة يوم واحد بوضعها في وعاء مغلق ويستخدم بمعدل 1 مل/ لتر ماء مقطر.

ملاحظة:

يمكن مزج أوكسيد البروبلين مع ثاني أوكسيد الكاربون فيصبح أكثر اماناً من تأثيراته السامة، ويستخدم لتعقيم المواد المصنعة من البلاستيك والبوليتيلين.

التعقيم بالغازات أو الأبخرة أو الدخان (التبخير) Fumigation

تستخدم هذه الطريقة لتعقيم الغرف والمختبرات والمخازن والمواد ذات السطوح غير المنتظمة، حيث تعرض المواد والأماكن المراد تعقيمها لغازات ثاني أوكسيد الاتيلين أو أوكسيد البروبلين، كما يمكن استخدام الغازات المنبعثة من الفورمالين لتعقيم المختبرات والغرف الصغيرة بعد أن تفتح قنينة الفورمالين في الحيز المطلوب تعقيمه لفترة 24 ساعة بشرط أن يكون محكم الإغلاق، او أن تغلق جميع نوافذ المختبر ثم توضع كمية من برمنغنات البوتاسيوم في أوعية حديدية في أرضية المختبر ثم تبلل بالفورمالين التجاري ويغلق المختبر بسرعة ويمنع الدخول إليه لمدة 24 ساعة، أما الكميات المطلوبة هي 250 مل فورمالين مع 250 غم برمنغنات لكل 10م^3 حيز فارغ.

ثالثاً: التعقيم بالترشيح Sterilization by filteration

التعقيم بالترشيح تستخدم هذه الطريقة في تعقيم المحاليل والسوائل التي لا يمكن تعقيمها بالحرارة لأنها تؤدي إلى تغيير صفاتها الطبيعية مثل المضادات الحيوية والانزيمات والسموم وغيرها من المواد التي تتأثر بالحرارة من خلال إزالة الفطريات والأحياء المجهرية باستخدام المرشحات، وهذا النوع من التعقيم يسمى أيضاً بالتعقيم الميكانيكي mechanical sterilization. حيث تمرر المحاليل المعدة للتعقيم خلال مرشحات ذو مساميه قليلة كافية لمنع أو حجز أي كائنات حية مجهرية أو دقيقة معلقة فيها من العبور مع المحلول، ومن بين المرشحات المستخدمة في هذه الطريقة هي:

مرشح الثقوب الدقيقية Millipore filter

وهو مرشح قرصي ورقي رقيق غشائي membrane filter ، مصنوع من نترات السليلوز أو خلات السليلوز مثقب بأقطار تتراوح بين 0.1 – 0.5 مايكرون ويعمل على منع مرور الفطريات والبكتريا من خلاله، و0.005 مايكرون لمنع الفايروسات.

مرشح زايتس Sitez filter

وهو مرشح قرصي مصنوع من الاسبستوس أو من الزجاج وهو لا يعمل على منع مرور البكتريا من خلاله وإنما يعتمد على امتزاز البكتريا.

ملاحظات:

أ- تعقيم المواد التي تحتاجها هذه الطريقة مثل الدوارق والأقماع في جهاز الموصدة تحت ضغط 15 باوند/ انج^2 لمدة 20 دقيقة.

ب- هناك مرشحات معقمة وجاهزة للاستخدام لمرة واحدة disposable مصنوعة من البلاستك.

جـ- يفضل اختبار دقة الطريقة وضمان تعقيم السوائل المرشحة قبل استخدامها وذلك بتلقيح وسط زرعي مناسب بقليل من المرشح ويحضن عند حرارة مناسبة ولفترة كافية بحيث لا يظهر أي نمو على الوسط.

الفصل الرابع

الأوساط الزرعية لتنمية الفطريات

Culture Media for Growing Fungi

تنمو الفطريات على بيئات وأوساط زرعية مختلفة قسم منها سائلة والقسم الآخر صلبة نتيجة لإضافة مادة الأكار Agar إليها. تنمو غالبية الفطريات نمواً جيداً في البيئات والأوساط الغنية بالكاربوهيدرات ودرجة أس هيدروجيني pH تتراوح ما بين 5 – 6 ، ومن المعروف انه لا يوجد وسط زرعي يناسب جميع الفطريات في الحصول على نمو مثالي بسبب المتطلبات الغذائية المختلفة من قبل الفطريات وخصوصاً حاجتها من العناصر الغذائية المختلفة. بعض الفطريات تنمو في أية بيئة أو وسط غذائي يحتوي على بعض المواد العضوية مع كمية من الرطوبة ودرجة حرارة مناسبة. ان معظم البيئات الغذائية الخاصة بالفطريات تحتوي على المواد الأساسية للنمو وهي الكاربوهيدرات والبروتينات والدهون والفيتامينات والأملاح وعلى الرغم من ذلك لا توجد بيئة غذائية معينة يمكن اعتبارها بيئة غذائية جيدة لجميع الفطريات ليس فقط من أجل النمو وإنما لإظهار صفاتها الشكلية والفسيولوجية سواء في البيئات السائلة أو الصلبة. قسمت الأوساط الزرعية إلى ثلاثة أقسام اعتماداً على تركيبها والمواد التي تتكون منها وهي أما من مواد طبيعية أو كيميائية أو من الاثنين معاً وكما يأتي:

1- الأوساط الطبيعية **Natural media**

2- الأوساط التركيبية - الطبيعية **Natural- synthetic media**

3- الأوساط التركيبية (الصناعية) **Synthetic media**

وقبل البدء في التعرف على الأوساط الزرعية وطرق تحضيرها يجب الانتباه إلى الملاحظات التالية:

1- تنمو الفطريات بشكل جيد في الأوساط الغنية بالكاربوهيدرات، علماً بأن هذه المواد قد تقلل من قدرة بعض الفطريات على تكوين الأبواغ خصوصاً عند حفظها على الوسط لفترة طويلة.

2- هناك أوساط غذائية تستخدم لأغراض خاصة غير النمو الخضري مثل تشجيع تكوين الأبواغ او تكوين بعض الايضات الثانوية secondary metabolites من قبل الفطريات.

3- الفطريات تفضل النمو في الأوساط الحامضية قليلاً (pH :6.5 – 5.5).

4- لمنع تلوث الأوساط الغذائية بالبكتريا تضاف إليها بعض المواد المثبطة لنمو البكتريا كالمضادات الحيوية لإفساح المجال لنمو الفطريات فقط والحصول على مزرعة نقية من الفطر.

5- تتحلل الكاربوهيدرات والبروتينات، الموجودة في الوسط الغذائي، بالحرارة في المحاليل الحامضية والقلوية لذا يجب عدم الإفراط في تعقيمها.

6- الأكار بطيء الذوبان، ويفضل إذابة الأكار في نصف كمية الماء المخصصة لتحضير الوسط وتسخينه مع التحريك المستمر حتى الذوبان، وإذابة المواد الغذائية في النصف الآخر ثم مزجهما.

7 - الأكار لا يتصلب جيداً في الأوساط او المحاليل عالية الحموضة أو القلوية.

8- يجب استخدام الماء المقطر في تحضير الأوساط الغذائية لأنه خالي من العناصر وخصوصاً النادرة التي قد تكون سامة للفطريات في حالة استخدام ماء الحنفية.

أولاً: الأوساط الطبيعية Natural media

تحضر هذه الأوساط من مستخلصات نباتية أو حيوانية معروفة التركيب مثل الأجزاء النباتية المختلفة أو الفواكه والبذور، وتمتاز هذه الأوساط بأنها تماثل إلى حد كبير البيئات او العوائل الطبيعية التي تنمو عليها الفطريات كما أنها سهلة التحضير ورخيصة الثمن، ومن أمثلتها:

وسط اكار البطاطا Potato agar medium

يعتبر هذا الوسط من بين الأوساط الغذائية الشائعة الاستخدام في مختبر الفطريات ويتركب من:

Potato	200g
Agar	15g
Distilled wate	1000ml

طريقة العمل:

1- تغسل البطاطا جيداً وتقشر ثم تقطع إلى قطع صغيرة.

2- يوزن 200 غم من قطع البطاطا ويضاف إليها 500 مل من الماء المقطر وتطبخ لدرجة الغليان في بيكر زجاجي لمدة نصف ساعة.

3- يؤخذ راشح البطاطا باستخدام الشاش ويفضل أن تعصر البطاطا أيضاً خلال قطعة شاش وتضاف العصارة إلى الراشح.

4- يذاب الأكار في 500 مل من الماء المقطر ويسخن بهدوء حتى الذوبان.

5- يمزج محلول الأكار مع راشح البطاطا ويكمل الحجم إلى 1000 مل.

6- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15-20 دقيقة.

وسط اكار البطاطا والجزر Potato carrot agar medium

وهو وسط ضعيف جداً يلائم أغراض حفظ المزارع الفطرية، ويتركب من المواد التالية:

Potato	20g
Carrot	20g
Agar	15g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

يحضر الوسط بتهيأة البطاطا والجزر بنفس الطريقة المذكورة أعلاه في تحضير وسط اكار البطاطا.

وسط أكار دقيق الفاصوليا Bean meal agar medium

يستخدم هذا الوسط لتكوين أبواغ الفطر *Phytophthora* spp. ويتركب من المواد التالية:

Bean meal	20g
Agar	15g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

1- توزن الكمية المطلوبة من دقيق الفاصوليا وتوضع في بيكر حجم 1000 مل ويضاف إليها 500 مل ماء مقطر.

2- تسخن في حمام مائي لمدة ساعة واحدة وحتى تبدأ بالغليان.

3- ترشح أما من خلال ورق ترشيح باستخدام قمع بخنر أو من خلال طبقتين من الشاش الطبي أو تترك حتى تركد ويعزل الرائق في بيكر آخر.

4- يذاب 15 غم من الأكار في 500 مل ماء مقطر مع التسخين البطيء ثم يمزج مع رائق الفاصوليا ويكمل الحجم إلى 1000 مل.

5- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15-20 دقيقة.

وسط اكار دقيق الشوفان Oat meal agar medium

يستخدم هذا الوسط في تنمية عدد من الفطريات المسببة لامراض النبات، ويتركب من المواد أدناه:

Oat meal	30g
Agar	15g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

1- توزن الكمية المقررة من دقيق الشوفان وتوضع في بيكر حجم 1000 مل مع 500 مل من الماء المقطر.

2- يسخن في حمام مائي حتى الغليان ولمدة ساعة واحدة.

3- يرشح باستخدام الشاش الطبي أو يترك حتى يركد ثم يعزل الرائق في بيكر آخر.

4- تذاب الكمية المقررة في الأكار في 500 مل ماء مقطر مع تسخين بطيء وتحريك أو في حمام مائي.

5- يمزج رائق دقيق الشوفان مع محلول الأكار ويكمل الحجم إلى 1000 مل ماء مقطر.

6- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15-20 دقيقة.

وسط مستخلص المالت Malt extract medium

يستخدم هذا الوسط لحفظ المزارع الفطرية، والمالت هو شعير مُنبت بالنقع في الماء، ويتركب الوسط من:

Malt extract	25g
Agar	15g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

1- إذابة 25 غم من مستخلص المالت في 500 مل من الماء المقطر.

2- إذابة 15 غم من الأكار في 500 مل ماء مقطر مع التسخين البطيء.

3- يمزج المحلولان ويكمل الحجم إلى 1000 مل.

4- يعقم الوسط باستخدام الموصدة.

وسط أكار الماء Water agar medium

وهو وسط بسيط جداً لانه خالي من العناصر الغذائية وبإمكانه أن يدعم الفطريات لتنمو بصورة بطيئة ولا تكون غزل فطري كثيف ولذلك يمكن فحصها والتعرف عليها بسهولة، ويتركب من الآتي:

Agar	20g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

يحضر الوسط بإذابة الأكار في الماء مع التسخين والتحريك ثم يعقم باستخدام الموصدة لمدة 15 دقيقة.

وسط فتات الخبز Bread crumb agar medium

هذا الوسط مفيد في تنمية الفطريات البازيدية لإظهار الغزل الفطري ثنائي الأنوية، ويتركب من المواد التالية:

Bread crumb	100g
Agar	15g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

1- توزن 100 غم من فتات الخبز وتوضع في بيكر حجم 1000 مل ويضاف لها 500 مل مقطر وتترك لمدة ساعة واحدة ثم ترشح وتصفى خلال شاش طبي.

2- يذاب 15 غم من الأكار في 500 مل ماء مقطر مع تسخين بطيء.

3- يمزج محلول الأكار مع راشح فتات الخبز ويكمل الحجم إلى 1000 مل.

4- يعقم الوسط باستخدام الموصدة لمدة 15 دقيقة.

وسط أكار رقائق الشوفان Oat flakes agar medium

يعد هذا الوسط واحداً من بين أكثر الأوساط استخداماً في العمل الروتيني اليومي لحفظ الفطريات.

المواد

1- رقائق شوفان
2- أنابيب اختبار
3- قطن طبي
4- وسط أكار الماء

طريقة العمل:

1- توضع رقائق الشوفان في قاع أنابيب اختبار مهيأة لهذا الغرض وعلى ارتفاع لا يتجاوز 1.5 سم.

2- يصب فوقها وسط أكار الماء المحضر سلفاً وبواقع 10-15 مل لكل انبوبة.

3- تسد فوهات الأنابيب بسدادات قطنية.

4- توضع في بيكر ثم تعقم باستخدام الموصدة لمدة 15 دقيقة.

5- بعد إخراجها من الموصدة توضع بشكل مائل حتى تتصلب عندها تصبح جاهزة للاستخدام.

وسط سويقات الذرة Corn stalks medium

يستخدم هذا الوسط في تحفيز الفطريات على تكوين التراكيب الثمرية ولتنمية الفطريات التي لا تكون التراكيب الثمرية على أوساط الأكار الأخرى، ويحضر الوسط من المواد التالية:

طريقة العمل:

1- تهيأة قطع صغيرة ورقيقة من سويقات الذرة بطول 5 سم.

2- توضع القطع في أنابيب أختبار وعلى ارتفاع لا يتجاوز 1.5 سم.

3- يضاف إلى كل انبوبة 1-2 مل ماء مقطر.

4- تسد فوهات انابيب الاختبار بسدادات قطنية.

5- يعقم الوسط باستخدام الموصدة لمدة 15 دقيقة ثم يستخدم.

وسط الحبوب Grain medium

تعتبر الحبوب الكاملة مثل الحنطة، الشعير، الرز والذرة أوساط مناسبة لنمو الفطريات، وتحضر مثل هذه الأوساط بطهي الحبوب حتى تصبح طرية وتعتمد الفترة الزمنية على نوع البذور المستخدمة.

المواد:

1- مجموعة من حبوب النجيليات مثل الحنطة، الشعير، الرز، الذرة، الشوفان.

2- أنابيب اختبار.

3- قطن طبي.

4- ماء مقطر.

طريقة العمل:

1- تطبخ الحبوب في ماء مقطر على حدة حتى تصبح طرية ولفترة زمنية تعتمد على طبيعة البذور.

2- يوضع قطن طبي في قاع أنابيب اختبار بعمق 2 – 3 سم لغرض ترطيب الحبوب.

3- توضع طبقة من الحبوب المختارة فوق القطن ثم يضاف إليها الماء المقطر وبكمية تكفي لنقع القطن وقواعد الحبوب.

4- تعقم الأنابيب مرتين بالموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 20 دقيقة في كل مرة وبفاصل يوم واحد بين المرة الأولى والثانية.

وسط بذور القنب Hemp seeds medium

ينمو عدد من الفطريات المائية خصوصاً التي تعود إلى رتبتي Saprolegniales و Leptomitales بشكل جيد على انصاف بذور القنب التي تم غليها سلفاً.

المواد:

1- بذور قنب، 2- أطباق بتري، 3- ماء مقطر، 4- بيكر حجم 250 مل.

طريقة العمل:

1- توضع كمية من أنصاف بذور القنب في بيكر متوسط الحجم ويضاف إليها كمية من الماء المقطر.

2- تسخن البذور حتى الغليان ثم تبرد.

3- توزع أنصاف البذور على أطباق بتري.

4- يضاف إلى الأطباق كمية من مياه البرك والأنهار.

5- تحضن الأطباق عند درجة حرارة المختبر لمدة 5-7 أيام ويتابع نمو الفطريات على البذور.

أوساط متنوعة للفطريات المائية

Miscellaneous media for aquatic Fungi

ان عدد من الفطريات الكتريدية التي تعيش في مياه البرك تنمو بنجاح على قطع من السيلوفان وأوراق الترشيح والشعر والريش وأوراق ذرة فتية معقمة وقشرة البصل وحبوب اللقاح أو أية مادة عضوية حيث توضع أي واحدة من هذه المواد في أطباق بتري معقمة فيها كمية قليلة من مياه البرك، ثم تتابع عملية نمو الفطريات المائية عليها.

وسط أكار الخضراوات (ف8) V8 – agar medium

هذا الوسط يحضر من عصير الخضراوات المتوافرة ويستخدم في تنمية عموم الفطريات ومن الخضراوات المستخدمة هي البازلاء والجزر والبطاطا والفاصوليا الخضراء، الطماطة، الخيار، الفلفل وغيرها من الخضراوات، ويتركب من:

Vegetable juice	200ml
Agar	15g
D.water	800ml

المواد:

1- مجموعة خضراوات من الأنواع المتوافرة.

2- اكار

3- بيكرات حجم 500 مل.

4- أطباق بتري.

طريقة العمل:

1- توزن كمية من كل نوع من الخضراوات المتوافرة بمعدل 10غم/لتر لكل نوع.

2- توضع الخضار في خلاط كهربائي ويضاف إليها كمية قليلة من الماء المقطر وتخلط جيداً ثم يرشح باستخدام شاش طبي أو يترك حتى يركد ثم يصفى.

3- يذاب الأكار في كمية كافية من الماء المقطر ويسخن فوق حمام مائي حتى الذوبان.

4- تمزج 200 مل من خلاصة العصير مع الأكار ويكمل الحجم إلى 1000 مل.

5- تضبط درجة الاس الهيدروجيني على درجة pH 6.0 باستخدام NaOH بتركيز 10%.

ثانياً: الأوساط التركيبية - الطبيعية Natural- synthetic media

تتكون هذه الأوساط من مواد طبيعية نباتية أو حيوانية مضافاً إليها مواد معروفة التركيب، ومن أهم هذه الأوساط أو البيئات هي:

وسط أكار الدكستروز البطاطا Potato dextrose agar (PDA)

هذا الوسط من أكثر الأوساط الزرعية والبيئات الفطرية استخداماً في مختبرات الفطريات وهو يشابه أكار البطاطا الذي مر ذكره في الأوساط الطبيعية مع إضافة الدكستروز، ويعتبر من الأوساط المناسبة جداً لنمو عدد كبير من

الفطريات وخاصة الفطريات التي تسبب الامراض للنبات، ويتكون الوسط من المواد التالية:

Potato	200g
Dextrose	20
Agar	15g
Distilled water	1000ml

طريقة العمل:

1- يوجد الوسط جاهزاً بشكل مسحوق يتكون من المواد الثلاث أعلاه وبالنسب ذاتها وفي هذه الحالة يحضر الوسط بإذابة 40 غم من مسحوق الوسط PDA في 1000 مل من الماء المقطر، ثم يعقم الوسط بالبخار باستخدام الموصدة لمدة 15 دقيقة.

2- وفي حالة عدم توفره بشكل جاهز فيحضر الوسط من المواد أعلاه بشكل مباشر بنفس الطريقة التي ورد ذكرها سابقاً في تحضير وسط أكار البطاطا ضمن الأوساط الطبيعية، مع إضافة الدكستروز إلى مزيج البطاطا والاكار، وفي حالة عدم توفر الدكستروز يمكن استخدام الكلوكوز بنفس التركيز 20 غم/لتر أو السكروز بمعدل 10 غم/لتر.

وسط أكار دقيق الذرة Corn meal agar medium

يستخدم الوسط في تنمية عدد غير قليل من الفطريات، وغالباً ما يستخدم لتحفيز الفطريات على تكوين الأبواغ بشكل جيد، ويتركب من:

Corn meal	20g
Peptone	20g
Dextrose	20g
Agar	15g
Distilled water	1000ml

طريقة العمل:

1- توزن الكمية المطلوبة من دقيق الذرة وتوضع في بيكر زجاجي حجم 1000 مل ويضاف إليها 500 مل من الماء المقطر.

2- يسخن في حمام مائي لمدة ساعة واحدة وحتى يبدأ بالغليان.

3- يرشح إما خلال ورق ترشيح في قمع بخنر Buchner funnel أو خلال طبقتين من الشاش الطبي أو تركه حتى يركد ويعزل الرائق (خلاصة الذرة) في بيكر آخر.

4- يذاب 15 غم من الأكار في 500 مل ماء مقطر مع التسخين والتحريك ثم يمزج مع خلاصة الذرة.

5- تضاف إلى المزيج مادتي الببتون والدكستروز ويكمل حجم الخليط إلى 1000 مل.

6- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15-20 دقيقة.

ملاحظة:

ان إضافة مادتي الببتون والدكستروز تعزز تكوين الأبواغ من قبل الفطريات ولكن يمكن حذف هاتين المادتين من الوسط واعتماده كوسط غذائي جيد للنمو مع تكوين قليل من الأبواغ، وفي هذه الحالة يعد الوسط من الأوساط الطبيعية.

وسط أكار زابكس – مالت Malt – Czapek's agar medium

ان غالبية الفطريات وبشكل خاص انواع الفطر *Mucor* spp. والفطريات المسببة لامراض النبات تنمو بشكل جيد على هذا الوسط.

طريقة العمل:

يحضر الوسط بإضافة 2 % من خلاصة المالت إلى وسط أكار تشابك الصناعي والذي سيرد ذكره لاحقاً في الأوساط الصناعية.

ملاحظة:

المالت مادة غذائية تصنع من حبوب الشعير النابتة بعد استنباتها في الماء وتجفيفها، وهي مادة أساسية في تحضير العديد من الأوساط الزرعية لتنمية الفطريات.

وسط أكار زابكس – خلاصة الخميرة

Yeast extract - Czapek's agar medium

يستخدم هذا الوسط لتنمية عدد من الفطريات البيضية وخصوصاً الفطر *Pythium* والفطر *Phytophthora* وبعض الفطريات المسببة لامراض النبات الأخرى مثل الفطر *Colletotrichum* والذي يستطيع أن يكون أعداد كبيرة من الأبواغ على هذا الوسط.

طريقة العمل:

1- يحضر وسط أكار تشابك بالطريقة نفسها الواردة في موضوع الأوساط التركيبية.

2- تضاف له خلاصة الخميرة بتركيز 1%.

3- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة.

ملاحظة:

تحضر خلاصة الخميرة بإذابة 100 غم من خميرة الخبز الصناعية التجارية في 400 مل ماء مقطر ثم تعقم باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 20 دقيقة، ثم ترسب ويستخدم الرائق كخلاصة للخميرة. يمكن استخدام طريقة الطرد المركزي للحصول على الرائق.

وسط أكار ليونيان Leonian agar medium

هذا الوسط مناسب جداً لتنمية الفطريات المكونة للاجسام الثمرية حيث يحفزها على تكوين الاجسام الثمرية الفطرية مثل الاجسام الثمرية الكيسية القارورية Perithecia والبكينيدات Pycnidia. كما يستخدم الوسط لمتابعة نظام او

طريقة تكوين الأبواغ من قبل الفطريات التي تنمو عليه، ويتركب الوسط من المواد التالية:

Malt extract	6.25g
Maltose	6.25g
Peptone	0.625g
$MgSO_4.7H_2O$	0.625g
KH_2PO_4	1.25g
Agar	15g
Distilled water	1000ml

طريقة العمل:

1- توزن الكميات المقررة من المواد أعلاه وتذاب في 500 مل ماء مقطر.

2- تذاب الكمية المقررة من الأكار في 500 مل ماء مقطر مع تسخين بطيء وتحريك مستمر.

3- يمزج المحلولان ويكمل الحجم إلى 1000 مل بالماء المقطر.

4- تعقيم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15- 20 دقيقة.

وسط أكار النشا – الخميرة Yeast starch agar medium

يستخدم هذا الوسط بشكل خاص لتنمية وحفظ الفطر *Allomyces* بالإضافة إلى إمكانية استخدامه في الفطريات الأخرى، ويتركب الوسط من المواد التالية:

Yeast extract	4g
Soluble starch	15g
K_2HPO_4	1g
$MgSO_4.7H_2O$	0.5g
Agar	15g
Distilled water	1000ml

طريقة العمل:

تعتمد الخطوات الواردة أعلاه في تحضير وسط أكار ليونيان.

وسط سابرويد دكتروز أكار Sabouraud's dextrose agar medium

هذا الوسط يدعم نمو عدد غير قليل من الفطريات وخصوصاً المسببة لامراض النبات والحيوان وحتى الإنسان، ويعتبر وسطاً تقليدياً لزراعة الفطريات الجلدية Dermatophytes ، ويتركب الوسط من:

Dextrose	40g
Peptone	10g
Agar	15g
Distilled water	1000ml

طريقة العمل:

1- يمكن الحصول على الوسط بشكل مسحوق جاهز محضر من المواد الثلاث أعلاه وبالنسب ذاتها وفي هذه الحالة يذاب 40 غم من المسحوق (أو حسب النسبة المثبتة من قبل الجهة المصنعة) في 1000 مل من الماء المقطر.

2- تعقيم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15- 20 دقيقة.

3- عند عدم الحصول على الوسط الجاهز يحضر الوسط بمزج المكونات الثلاث في الماء المقطر وتسخينها حتى الذوبان ثم تعقيم الوسط بنفس الطريقة.

وسط أكار كراينسكي Krainsky's agar medium

هذا الوسط مفيد في تنمية وزراعة الفطريات المترممة Actinomycetes، ويتركب من:

Glucose	10g
Asperagin	0.5g

K_2HPO_4	0.5g
Agar	15g
Distilled water	1000ml

طريقة العمل:

يحضر الوسط بإذابة المكونات أعلاه ثم يعقم باستخدام الموصدة.

وسط فرايز السائل Fries liquid medium

وهو من الأوساط السائلة التي تستخدم في الدراسات الفسلجية التي تتابع عمليات نمو الفطريات وتكوين الايضات الثانوية Secondary metabolites ويتركب من:

NH_4NO_3	1.0g
$MgSO_4.7H_2O$	0.5g
KH_2PO_4	1.0g
Glucose	20.0g
Yeast extract	5.0g
Microelements solution	2.0
Distilled water	1000ml

ملاحظة:

يحضر محلول العناصر الضئيلة Microelements solution الذي يدخل في تركيب الوسط بإذابة المواد التالية في الماء المقطر:

LiCl	0.167g
$CuCl_2.2H_2O$	0.107g
$MnCl_2.4H_2O$	0.072g
$CoCl_2.6H_2O$	0.080g
H_2MoC_4 (Molibidic acid)	34ml
Distilled water	1000ml

وسط أكار خلاصة مالت – الخميرة Yeast - Malt extract agar medium

هذا الوسط مفيد جداً في متابعة وتوضيح التكاثر الجنسي والتجمعات الجنسية في عدد من الخمائر، ويتركب من:

Yeast extract	3g
Malt extract	3g
Peptone	5g
Glucose	10g
Agar	15g
Distilled water	1000ml

طريقة العمل:

لتحضير الوسط تعتمد الطريقة نفسها الواردة في تحضير وسط أكار ليونيان.

ملاحظة:

لدراسة التجمعات الجنسية للخمائر يفضل استخدام المزارع الهزازة ويتطلب ذلك تحضير وسط سائل، وفي هذه الحالة تستخدم نفس المواد فيما عدا الأكار وتزاد كمية الكلوكوز إلى 30 غرام بدلاً من 10 غم / لتر.

وسط الفاسيل السائل Alphacel liquid medium

هذا الوسط يستخدم لخفض تكوين الغزل الفطري وزيادة تكوين الأبواغ، وهو من الأوساط المهمة في عملية التشخيص وفي الدراسات التي لها علاقة بتغذية الفطريات ويتركب من:

Alphacel	20g
MgSO4	1g
KH2PO4	1.5g
NaNO3	50g
Co count milk	50g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

يحضر الوسط باتباع طريقة تحضير وسط أكار ليوينان فيما عدا الأكار.

ملاحظة:

أحياناً يتم تحوير وسط الفاسيل وذلك بإضافة عصير الطماطة بتركيز 10غم، يتم تنظيم درجة الأس الهيدروجيني إلى (pH 5.5)، ثم يعقم الوسط لمدة 20 دقيقة تحت ضغط 15 باوند/انج$_2$.

ثالثاً: الأوساط التركيبية (الصناعية)　　　Synthetic media

وهي الأوساط التي تتكون من مواد كيمياوية معروفة التركيب والتركيز، قسم من هذه الأوساط تنتجها شركات متخصصة على هيأة مساحيق جافة يحتاج تحضيرها إضافة الماء فقط حسب النسب المثبتة على العلبة، وبعكسه يمكن تحضيرالأوساط في المختبر من إذابة المواد العضوية وغير العضوية المكونة للوسط في الماء حسب النسب المحددة لكل مادة. ومن أهم هذه الأوساط والبيئات هي:

وسط أكار زابكس Czapek's agar medium

هذا الوسط من أكثر الأوساط الصناعية استخداماً في عزل وتنمية الفطريات، ويمكن استخدامه كوسط سائل مغذي للفطريات عند حذف الأكار، الوسط مناسب جداً للتعرف على الأنواع المختلفة التابعة للفطر *Penicillium* والفطر *Aspergillus*. أما الفطر *A. glaucus* والفطريات التابعة له يمكنها أن تنمو افضل عند زيادة كمية السكر في الوسط من 1.5 إلى 5%، واشارت بعض الدراسات والبحوث ضرورة إلى إضافة بعض المواد مثل الفيتامينات أو الحوامض الأمينية إلى الوسط، ويتركب الوسط أساساً من المواد التالية:

NaNO3	3.0g
K2HPO4	1.0g
KCl	0.5g

$MgSO_4.7H_2O$	0.5g
$FeSO_4.7H_2O$	0.01g
Sucrose	30.0g
Agar	15.0g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

1- تذاب الكميات المقررة من المواد أعلاه في 500 مل من الماء المقطر المعقم، ويفضل ان تذاب مادة بعد أخرى وليس جميعها مرة واحدة لمنع تكوين مركب معقد غير ذائب، أما بالنسبة للسكر فيجب أن يكون آخر مادة تضاف وبدون تسخين لتحاشي عملية الكرملة caramelization.

2- أحياناً يفضل إذابة السكر في كمية قليلة من الماء ومن ثم يعقم باستخدام مرشحات زايتس Sietz filter، ويضاف إلى الوسط بعد تعقيمه.

3- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة.

وسط أكار واكسمان Waksman's agar medium

وهو وسط صناعي تركيبي حامضي acidic medium، صمم خصيصاً لعزل الفطريات من التربة، ويتركب من المواد التالية:

Glucose	10.0g
Peptone	5.0g
KH_2PO_4	1.0g
$MgSO_4.7H_2O$	0.5g
Agar	15.0g
D. water	1000ml

طريقة العمل:

1- يحضر الوسط بنفس الطريقة التي وردت في الوسط أعلاه.

2- يتم قياس وضبط درجة الأس الهيدروجيني إلى (pH 4.0) باستخدام حامض الكبريتيك، بعد أن يعقم ويبرد إلى درجة حرارة 45-50 مْ أي قبل تصلبه.

ملاحظة:

لا يجوز ضبط درجة الأس الهيدروجيني للوسط إلى هذه الدرجة (pH 4.0) قبل تعقيمه لأن ذلك يؤدي إلى عدم تصلب الوسط.

وسط أكار كلوكوز – ببتون Peptone –glucose agar

هذا الوسط مفيد لعزل فطريات التربة ويفضل إضافة صبغة الروز بنغال Rose bengal والمضاد الحيوي الستربتومايسين Streptomycin لأنها تمنع نمو البكتريا والاكتينومايسيتات وكذلك تمنع نمو الفطريات السريعة النمو التي تتواجد في التربة وتغطي الوسط الغذائي بسرعة مما يؤثر على عزل الفطريات الأخرى، ويتركب الوسط من المواد التالية:

KH_2PO_4	1.0g
$MgSO_4.7H_2O$	0.5g
Peptone	5.0g
Glucose	10.0g
Agar	15.0g
D.water	1000ml
Rose Bengal	3.2mg
Streptomycin	30.0mg

طريقة العمل:

1- إذابة الكميات المقررة من المواد في الماء المقطر مع التسخين والتحريك المستمر فيما عدا الصبغة والمضاد الحيوي.

2- يحضر محلول مخفف من صبغة روز بنغال بمعدل (1 : 300) وتضاف بمعدل 10 مل/لتر بعد اتمام إذابة المواد الأساسية للوسط وقبل تعقيمه.

3- يضاف المضاد الحيوي إلى الوسط بعد تعقيمه تحت ضغط 15 باوند/ انج^2 لمدة 15 دقيقة وتبريده إلى درجة حرارة 45 مْ أي قبل تصلبه.

ملاحظة:

يمكن استخدام مضاد البكتريا الكلورامفنيكول Chloramphenicol بتركيز 0.5 % في الكحول بإضافته للوسط قبل تعقيمه.

وسط سائل مغذي تركيبي Synthetic nutrient liquid medium

لقد صمم هذا الوسط السائل لتنمية الفطر *Phytophthora infestans* ويمكن إضافة الأكار (15 غم / لتر) عند الحاجة للحصول على وسط صلب منه، أيضاً يمكن تعزيز الوسط ببعض المواد الطبيعية مثل خلاصة البطاطا لتحفيز النمو، ويتركب الوسط من المواد التالية:

KH_2PO_4	400mg
$NaNO_3$	200mg
$CaCl_2$	150mg
$MgCO_3$	150mg
$NaSO_4$	100mg
$FeSO_4$	20mg
Succinic acid	200mg
D-or DL-aspartic acid	600mg
L-glutamic acid	400mg
Alanine	200mg
Glycine	200mg
Cystein hydrochloride	100mg
Thiamine	10-50 gamma
Sucrose	15g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

1- يحضر الوسط بإذابة المواد أعلاه في الماء المقطر.

2- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند/ انج^2 لمدة 15 دقيقة، ان درجة الأس الهيدروجيني المتوقعة للوسط بعد التعقيم هي 5.4- 5 pH.

وسط أكار الآسباراجين – الكلوكوز

Glucose – asparagine agar medium

هذا الوسط يستخدم لدراسة احتياجات الفطريات للفيتامينات، ويتركب من المواد التالية:

Glucose	40.0g
Asparagine	2.0g
KH_2PO_4	0.5g
$MgSO_4$	0.25g
Thiamine chloride	0.005g
Agar	15.0g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

يحضر الوسط بنفس الطرق التي وردت أعلاه.

وسط ريتشارد السائل Rhichard's liquid medium

وهو من الأوساط السائلة السهلة التحضير التي تستخدم بشكل واسع في تنمية الفطريات لغرض دراسة النمو وتكوين الأبواغ، ويتكون من المواد التالية:

KNO_3	10.0g
K_2HPO_4	5.0g
$MgSO_4.7H_2O$	2.5g

$FeCl_3$	0.02g
Sucrose	30.0g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

يحضر الوسط بإذابة المواد في الماء المقطر ويعقم بالموصدة.

رابعاً: إضافة مضادات البكتريا Antibacterial supplements

عند عزل وتنمية الفطريات قد يحصل تلوث بالمستعمرات البكتيرية مما يؤثر على نمو الفطريات وعلى إمكانية فحصها وتشخيصها ولذلك تضاف بعض مضادات البكتريا إلى الأوساط الزرعية المستخدمة لتنمية وزراعة الفطريات والتي تمت الإشارة إلى قسم منها في بعض الأوساط وتشمل مضادات حيوية ومواد أخرى مثل:

الستربتومايسين Streptomycin

وهو مضاد حيوي معروف بتأثيره على نمو ونشاط البكتريا، يحضر الوسط الزرعي ويضاف المضاد الحيوي إلى الوسط الزرعي بعد تعقيمه وقبل صب الوسط في الأطباق حيث يبّرد الوسط إلى درجة حرارة 45 مْ، تذاب 500 ملغم من المضاد الحيوي في 500 مل من الماء المقطر المعقم ثم يضاف إلى الوسط بمعدل 1 مل لكل 10 مل من الوسط الزرعي.

البنسلين Penicillin

وهو من المضادات الحيوية التي لها تأثير على طيف واسع من البكتريا، يحضر الوسط الزرعي ثم يضاف المضاد الحيوي إلى الوسط الزرعي بعد تعقيمه عندما يبرد إلى درجة حرارة 45 مْ، يحضر محلول مائي من المضاد بإذابة 250 ملغم/ لتر ماء مقطر معقم ويحفظ في الثلاجة، يضاف 1 مل من المحلول لكل 10 مل من

الوسط الزرعي. غالباً ما يستعمل البنسيلين والستيرتومايسين سوية في الأوساط الزرعية.

الايرومايسين Auromycin

يمكن استخدام هذا المضاد الحيوي في حالة عدم توافر المضادين المذكورين أعلاه، يضاف إلى الوسط بمعدل 25 ملغم/لتر وبالطريقة نفسها الواردة في إضافة المضاد الحيوي ستربتومايسين.

ملاحظة:

يفضل تحضير محلول أساس Stock solution من المضاد الحيوي بإذابة 250 ملغم من المضاد في 250 مل ماء فقط، ثم تضاف كمية منه إلى الوسط بمعدل 2.5 مل مضاد حيوي لكل 100 مل وسط زرعي.

الكلورامفنيكول Chloramphenicol

يضاف هذا المضاد إلى الوسط الزرعي قبل التعقيم مباشرة بمعدل 0.05 غم/لتر، وبعد أن يمزج جيداً مع الوسط يعقم الوسط عند درجة حرارة 118مْ لمدة 10 دقائق.

ملاحظة:

يفضل أن لا يضاف الكلورامفنيكول مباشرة إلى الوسط الزرعي وإنما بعد تعليقه في كمية قليلة من الكحول تركيزه 0.5% ثم يضاف للوسط وبنفس الكمية 0.05غم/لتر.

السايكلوهكسمايد Cyclohexamide

وهو من المواد الفعالة المضادة للبكتريا إلا أن كلفته عالية مقارنة بالمضادات الحيوية الأخرى، يضاف المضاد إلى الوسط قبل التعقيم مباشرة بمعدل 50 ملغم/لتر وسط زرعي وبعد أن يمزج جيداً يعقم تحت ضغط 15 باوند/أنج^2 لمدة 15 دقيقة.

تحضير الأوساط الغذائية الصلبة Preparation of solid media

تحضر أوساط الاكار الصلبة المطلوبة لعزل أو تنمية الفطريات حسب الأنواع المذكورة في فقرة الأوساط الزرعية، يصب الوسط المعقم بالموصدة في الأطباق المعقمة سلفاً بمعدل 15 – 20 مل في كل طبق، علماً بأن الوسط في هذه الحالة أما يعقم في دورق ويوزع بعد التعقيم على الأطباق بشكل تقريبي أو يوزع قبل التعقيم في أنابيب اختبار كل منها يحتوي على 15-20 مل وسط زرعي ثم تصب في الأطباق بعد التعقيم.

المواد:

1- وسط اكار مغذي مناسب.

2- أنابيب اختبار.

3- دوارق باحجام مختلفة.

4- قطن طبي.

5- أطباق بتري.

طريقة العمل:

1- يحضر الوسط الزرعي ويوزع في دوارق مخروطية أو أنابيب اختبار ثم يعقم باستخدام الموصدة.

2- تعقم الأطباق الزجاجية باستخدام الحرارة الجافة.

3- ترفع السدادة القطنية من فوهة الانبوبة الحاوية على الوسط بالقرب من لهب النار لمنع التلوث.

4- يصب الوسط في الطبق برفع الغطاء من أحد جهتيه بالقرب من لهب النار لتجنب تلوث الوسط ويجب عدم تماس الأنبوبة مع الطبق أثناء صب الوسط.

5- يعاد غطاء الطبق بعد انتهاء صب الوسط ويحرك الطبق بشكل دائري بهدوء لضمان توزيع الوسط في الطبق ثم يترك ليبرد ويتصلب.

تحضير الأوساط الغذائية السائلة Preparation of liquid media

ان غالبية الأوساط الزرعية السائلة ان لم تكن جميعها لا تختلف عن الأوساط الزرعية الصلبة من حيث تركيبها فيما عدا مادة الاكار Agar التي لا تضاف للوسط السائل لأنها المادة المسؤولة عن تصلب الأوساط المغذية.

تستخدم الأوساط الغذائية السائلة في الدراسات الفسيولوجية والايضية التي تتضمن الحاجة إلى معرفة ما ينتجه الفطر من مواد وايضات ثانوية وهي كثيرة منها المضادات الحيوية، الانزيمات، السموم وغيرها من المواد الايضية التي غالباً ما تفرز خارج الخلايا الفطرية إلى الوسط الزرعي، ويمكن تحضير الوسط السائل بإذابة الكميات المقررة من المواد المحددة لكل وسط، فيما عدا الاكار في لتر واحد من الماء المقطر ثم يعقم باستخدام الموصدة. هذا وان هناك عبوات تجارية جاهزة من الأوساط الغذائية السائلة جاهزة للاستخدام على شكل مسحوق تحضر بإذابة الكمية المقررة من الوسط والتي تثبت على العلبة ضمن تعليمات استخدام الوسط.

المواد:

1- الوسط الزرعي السائل (التجاري الجاهز).

2- دوارق مخروطية بأحجام مختلفة 250، 500، 1000 مل.

3- قطن طبي.

4- ماء مقطر معقم.

طريقة العمل:

1- تذاب الكمية المقررة من مسحوق الوسط السائل الجاهز، في الكمية المقررة من الماء المقطر في دورق مخروطي وتمزج جيداً حتى الإذابة بحيث يصبح المحلول رائقاً.

2- قد يتطلب العمل توزيع الوسط السائل في دوارق مخروطية صغيرة الحجم قبل تعقيمه لأغراض الدراسة.

3- قياس وضبط درجة الأس الهيدروجيني pH للوسط الزرعي.

4- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند/ انج^2 لمدة 15 دقيقة، ثم يترك ليبرد وعندها يكون جاهزا للاستخدام.

ملاحظة:

عند نمو الفطريات في الأوساط السائلة تتجمع في الوسط نواتج نهائية كثيرة نتيجة استهلاك مواد الوسط وقسم من هذه النواتج تغير من درجة الـ pH وتحد من نمو الفطريات ولتفادي هذه الحالة تضاف محاليل دارئة Buffer solutions تعمل على منع تغير درجة الـ pH نتيجة لتكوين الحوامض والقواعد في الوسط الزرعي.

الفصل الخامس

تحضير الشرائح الزجاجية

Slide Preparation

ان الهدف من تحضير الشرائح الزجاجية هو فحص العينات والنماذج الطبيعية التي تحتوي على الفطريات والتعرف عليها من خلال الصفات المظهرية والشكلية للخيوط الفطرية والأبواغ والحوامل الكونيدية وحوامل الحوافظ البوغية والتراكيب التكاثرية، وقد يتطلب ذلك عمل مقاطع في النماذج المصابة بالفطريات خصوصاً عندما تكون الإصابة داخلية وهناك أكثر من طريقة لتحضير الشرائح الزجاجية للفطريات منها ما يأتي:

شريحة من مزرعة فطرية حديثة Slide from fresh fungal culture

يمكن تحضير شريحة زجاجية من مزارع حديثة لبعض الفطريات المتوافرة لغرض دراسة الخيوط الفطرية والتراكيب الأخرى والاختلافات فيما بينها.

المواد:

1- شرائح زجاجية **Slides** مع الأغطية **Cover slips**

2- أبر عزل **Isolating nidles**

3- مصباح بنزين **Bunsen Burner**

4- صبغة أزرق القطن **Cotton blue**

5- لاكتوفينول **Lactophenol**

6- مزارع حديثة بعمر 3 – 5 أيام لبعض الفطريات مثل:

Alternaria sp., *Aspergillus* sp., *Pencillium* sp., *Rhizopus* sp.

طريقة العمل:

1- تعقم أبرة النقل باللهب حتى الإحمرار وتبّرد عند حافة الوسط الزرعي قبل نقل الفطر.

2- ينقل جزء صغير من الفطر بالأبرة المعقمة ويوضع على شريحة زجاجية نظيفة مع قطرة من الماء المقطر أو اللاكتوفينول ثم يوضع غطاء الشريحة.
3- افحص الشريحة تحت المجهر ولاحظ المظهر العام للخيوط الفطرية وصفاته التركيبية، قد تجد التراكيب الخضرية فقط وعدم وجود التراكيب التكاثرية مثل الأبواغ والكونيدات لان المزرعة حديثة النمو، وتأكد من الخيوط الفطرية هل هي من النوع عديمة الحواجز أم من النوع المقسم بحواجز عرضية.؟

شريحة من مزرعة فطرية جافة Slide from dried culture

لتحضير شريحة زجاجية من نموذج جاف للفطر أو من مستعمرة جافة يستخدم محلول مخفف من هيدروكسيد البوتاسيوم KOH بتركيز 2-10% لغرض ترطيب النموذج وإعطاء التراكيب الفطرية شكلها وحجمها الطبيعي.

طريقة العمل:

1- تؤخذ قطعة صغيرة من البيئة الجافة للفطر باستخدام أبرة معقمة باللهب وتوضع على شريحة مع قطرة من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المذكور أعلاه.
2- تسخن الشريحة مع النموذج بتمريرها فوق لهب هادئ وبعد أن تبرد يوضع غطاء الشريحة، ثم تفحص تحت المجهر وتدون المعلومات عن طبيعة الخيوط الفطرية والتراكيب الأخرى.

شريحة من نموذج مصاب جاف Slide from dried infected sample

ان اغلب النماذج التي تستخدم لهذا الغرض هي الاجزاء النباتية المصابة التي تبدو عليها علامات الإصابة أو المرض وتتمثل بالخيوط الفطرية أوالأبواغ أو التراكيب الثمرية التي يكونها الفطر في منطقة الإصابة. ومن أكثر الصعوبات التي تواجه عملية تحضير الشريحة من النموذج المصاب هو احتمال التلوث

بكائنات أخرى أو فطريات أخرى غير تلك المراد فحصها ودراستها، لذا لابد من أخذ الاحتياطات اللازمة لتعقيم جميع الأدوات المستعملة كالمشارط والملاقط وابر النقل. يمكن تحضير الشريحة بطريقة مباشرة ولكن في حالات كثيرة قد يتطلب عزل الفطر أولاً ثم تحضير الشريحة ومن أهم الطرق المتبعة لإنجاز هذا العمل هي ما يلي:

المواد:

1- كحول أثيلي 95 %.

2- مصباح غازي أو كحولي

3- شرائح زجاجية وأغطيتها.

4- نموذج نباتي جاف مصاب بالفطريات

1- التحضير المباشر

يستخدم ناقل معقم غمست نهايته أولاً في 95 % من مادة الكحول ثم عرضت للهب بعدها تبرد في ماء مقطر معقم ثم يمرر فوق المنطقة المصابة من النموذج لإزالة جزء من الخيوط الفطرية أو الأبواغ التي توضع على قطرة ماء وضعت في وسط شريحة زجاجية معدة لهذا الغرض ثم يوضع فوقها غطاء الشريحة وتفحص تحت المجهر.

2- التحضير غير المباشر

تعتمد هذه الطريقة في الحاجة إلى تحضير شريحة بحالة نقية للفطر الممرض المتبوغ في منطقة الإصابة وتتواجد معه فطريات أخرى، أو عندما يكون الفطر الممرض غير متبوغ وغير مرئي على سطح النموذج، وتعتمد في ذلك الطرق التالية:

أ- معلق الأبواغ:

إذا كان الفطر متبوغاً على سطح النموذج على هيأة مسحوق من الأبواغ أو مكوناً تراكيب ثمرية فيمكن عزله بعمل معلق من الأبواغ في الماء المقطر المعقم ثم تنميته في حالة نقية إما بطريقة الخط المتعرج (التخطيط) أو طريقة التخفيف، ثم تحضر الشريحة الزجاجية من المزرعة النقية التي نمت على الوسط الزرعي.

ب- الخيوط الفطرية

إذا كان الفطر غير متبوغ وغير مرئي على سطح النموذج المصاب فتؤخذ أجزاء صغيرة من البقعة المصابة تتراوح من 5-10 ملم بحيث تشمل جزء مصاب وجزء سليم، تعقم سطحياً بغمسها في 5 % من محلول ايبوكلورات الصوديوم لمدة ثلاث دقائق ثم تنقل بواسطة ملقط معقم إلى ماء مقطر معقم لكي يتم غسلها من مادة التعقيم ومن ثم تنقل إلى ورق ترشيح معقم لتجفيفها ثم تنقل إلى طبق بتري حاوي على الوسط الزرعي المناسب وبمعدل 5 قطع / طبق، وتعمل عدة أطباق كمكررات، وبعد حضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 72 ساعة، تفحص الأطباق لملاحظة الخيوط الفطرية الظاهرة من القطع ثم تؤخذ منها أجزاء صغيرة بواسطة أبرة معقمة لتحضير شريحة زجاجية للفطر الممرض حسب الطرق التي ذكرت سابقاً. أما إذا كان النموذج الحامل للفطر مادة غير شفافة مثل الأوراق النباتية فيتم تحضير الشريحة على الشكل التالي:

المواد :

1- هيدروكسيد البوتاسيوم تركيز 10%
2- انابيب اختبار.
3- مصباح غازي.
4- شرائح زجاجية واغطيتها.

طريقة العمل:

1- تؤخذ قطع صغيرة من ورقة النبات الجافة الحاملة للفطر وتوضع في انبوبة اختبار مع قليل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم تركيز 10%.

2- تسخن محتويات أنبوبة الاختبار حتى الغليان لدقائق قليلة لغرض إزالة الصبغات من الورقة (الخضراء منها أو البنية).

3- تنقل قطعة من ورقة النبات من انبوبة الاختبار باستخدام أبرة معقمة إلى شريحة زجاجية مع قطرة من ماء مقطر ويوضع عليها غطاء الشريحة.

4- تفحص الشريحة تحت المجهر وتدون المعلومات عن طبيعة الفطر وتواجده في أنسجة الورقة النباتية.

ملاحظة:

يمكن استخدام اللاكتوفينول بدلاً من هيدروكسيد البوتاسيوم في تحضير شرائح البيئات الفطرية الجافة في حالة عدم توفر المادة الثانية.

شريحة القطرة المعلقة Slide of hanging drop

تستخدم هذه الطريقة لفحص ودراسة انبات الأبواغ بالقطرة المعلقة (شكل 1.5).

المواد:

1- شرائح زجاجية خاصة ذات تقعر في وسطها hanging drop slides مع أغطية الشرائح Cover slips.

2- ناقل.

3- أعواد ثقاب.

4- فازلين – مرهم.

5- معلق أبواغ أحد الفطريات مثل الفطر *Alternaria* sp.

طريقة العمل:

1- يحضر معلق أبواغ الفطر وبتركيز واطئ لا يتجاوز 1.0×10^3 بوغ / مل، وحسب ما موضح في فقرة اللقاحات الفطرية ضمن موضوع تكوين وانبات الأبواغ.

2- تؤخذ قطرة من معلق الأبواغ بواسطة الناقل وتوضع في وسط غطاء الشريحة.

3- يوضع قليل من الفازلين على حافة التقعر في الشريحة الزجاجية بواسطة عود ثقاب ويمسح حول الحافة لمنع تبخر القطرة.

4- تقلب الشريحة المقعرة فوق غطاء الشريحة بحيث يكون التقعر مقابلاً تماماً للقطرة على الغطاء وتضغط بهدوء لضمان توزيع الفازلين حول حافة التقعر، ويمكن إنجاز ذلك بقلب الغطاء على الشريحة ولكن بهدوء.

5- تقلب الشريحة إلى وضعها الطبيعي بحيث تكون الفطرة معلقة في تقعر الشريحة مع ملاحظة عدم ملامسة القطرة للتقعر (شكل 5-1).

6- توضع الشريحة على قضيب زجاجي على شكل حرف V في طبق بتري نظيف وتحضن عند درجة حرارة الغرفة لمدة لا تتجاوز 10-15 ساعة.

7- تفحص الشريحة باستخدام العدسة ذات قوة التكبير الواطئ ثم بالعدسة ذات قوة التكبير العالي مع المنظم الدقيق وبحذر.

8- يمكن استخدام العدسة الزيتية حسب حجم الأبواغ وفي حالة هذا الفطر فإن الأبواغ الكونيدية الكبيرة لا تحتاج إلى العدسة الزيتية.

شريحة فحص الأسواط Slide of showing flagella

تمتلك عدد من الفطريات الواطئة أبواغ متحركة بأسواط مختلفة في الشكل والحجم والعدد، ويستوجب ذلك التعرف عليها من خلال الفحص المجهري وهناك عدة طرق لتحضير شرائح تظهر الأبواغ المسوطة منها طريقة استخدام محلول بوين Bouin's solution.

المواد:

1- شرائح زجاجية وأغطية.

2- ناقل.

3- محلول بوين.

4- معلق أبواغ متحركة Zoospores يعود لأحد الفطريات مثل الفطر *Achlya* sp., *Saprolegnia* sp.

طريقة العمل:

1- يحضر عالق الأبواغ المتحركة باستخدام الماء المقطر من مزرعة أحد الفطريات المنتجة للأبواغ المسوطة المذكورة أعلاه.

2- توضع قطرة من معلق الأبواغ المتحركة باستخدام الناقل على شريحة زجاجية ثم تضاف لها قطرة من محلول بوين ويوضع غطاء الشريحة.

3- تفحص الشريحة تحت المجهر باستخدام العدسة ذات قوة التكبير الواطئ ثم العدسة ذات قوة التكبير العالي، وتدرس طبيعة الاسواط وعددها وهل هي من النوع القرباجي whiplash أو من النوع الريشي tinsel أو النوعين معاً.

ملاحظة:

يحظر محلول بوين من المواد التالية:

Picric acid	300ml
Formalin	100ml
Glacial acetic acid	100ml

شريحة المقاطع التشريحية Slide of microtome sectioning

ان العديد من التراكيب الثمرية الفطرية الكبيرة الحجم لا يمكن فحصها مجهرياً إلا من خلال عمل مقاطع تشريحية بواسطة المشراح Microtome، كما ان النماذج النباتية والحيوانية المصابة بالفطريات يتم فحصها مجهرياً عن طريق عمل مقاطع تشريحية للانسجة المصابة لمعرفة أماكن تواجد الفطريات.

المواد:

1- مشراح Microtome أو مشراح مجمد Freezing Microtome.

2- صمغ عربي

3- شفرة حادة

4- برافين

5- زجاجة ساعة

6- نموذج من أحد الأجسام الثمرية الفطرية لأحد الفطريات البازيدية مثل العراهين أو ورقة نباتية مصابة باحد الفطريات المتطفلة.

طريقة العمل:

1- تؤخذ قطع صغيرة من نموذج الفطريات المراد فحصه وتوضع في محلول مخفف من الصمغ العربي في زجاجة ساعة لمدة يوم واحد.

2- توضع كمية من المحلول الصمغي فوق القاعدة المتجمدة للمشراح والمخصصة للنماذج ثم تحمل عليها احد القطع المغمورة في المحلول الصمغي مع استخدام رشات قليلة من غاز ثاني اوكسيد الكاربون CO_2 على النموذج بشكل كامل.

3- تعمل شرائح رقيقة من النموذج من خلال ضبط الجهاز على سمك الشريحة المطلوب أو المناسب. بحيث تعمل مقاطع عديدة وبشكل متسارع ثم تنقل إلى زجاجة ساعة تحتوي على ماء مقطر بواسطة فرشاة صغيرة وناعمة.

4- تفحص المقاطع تحت المجهر أما مباشرة أو بعد تحميلها باللاكتوفينول لوحده او مع صبغة أزرق القطن حسب طبيعة وحاجة النموذج للتحميل أم لا، وتدرس الخيوط والتراكيب الفطرية باختيار قوة التكبير المناسبة.

ملاحظة:

في حالة عدم توافر المشراح في المختبر يمكن استخدام شفرة نظيفة لعمل مقاطع يدوية رقيقة وفحصها مباشرة بالمجهر.

شريحة الشريط اللاصق الشفاف Slide of Scotch tape technique

تستخدم هذه الطريقة لتحضير الشرائح الزجاجية من المزارع ذات الخيوط الفطرية الهوائية aerial hyphae لغرض دراسة طبيعة هذا النوع من الخيوط والحوافظ البوغية وحوامل الحوافظ البوغية الموجودة على سطح المستعمرة، ونادراً ما تستخدم هذه الطريقة مع المزارع الفطرية ذات السطوح الناعمة أو الخميرية الشكل yeast – like colony.

المواد:

1- شريط لاصق شفاف

2- شرائح زجاجية

3- لاكتوفينول – ازرق القطن

4- مزرعة فطرية من نوع الغزل الهوائي مثل *الفطر* *Fusarium* sp. أو الفطر *Rhizopus* sp.

طريقة العمل:

1- يؤخذ 4 سم من الشريط اللاصق الشفاف (عرض 1-2 سم).

2- تمسك قطعة الشريط اللاصق من طرفيها بالسبابة والابهام ووضع الوجه اللاصق من الشريط على سطح مستعمرة الفطر المدروس ويضغط عليها جيداً.

3- يرفع الشريط اللاصق بلطف ويوضع فوق قطرة من صبغة أزرق القطن باللاكتوفينول وضعت على شريحة زجاجية أعدت لهذا الغرض.

4- تفحص الشريحة تحت المجهر باستخدام العدسة ذات قوة التكبير الواطئ ثم التكبير العالي، وندرس طبيعة الخيوط الفطرية والتراكيب الأخرى مثل الأبواغ والكونيدات وحواملها والحوافظ البوغية وحواملها.

ملاحظة:

إذا كانت الشريحة غير واضحة وغير وافية فإن السبب يعود إلى عدم ضغط الشريط جيداً فوق المستعمرة.

الفصل السادس

عزل وإنماء الفطريات

Isolation and Cultivation of Fungi

أن دراسة الفطريات والتعرف عليها وعلى اسرارها يتطلب الحصول على مزرعة نقية من الفطر المراد دراسته. كما ان المزرعة النقية من هذا الفطر مهمة في تحديد الأطوار الخضرية والتكاثرية والثمرية التي تعود لنفس الفطر والتي تكونت من نفس المستعمرة الفطرية الناتجة من بوغ مفرد single spore ، والمزرعة النقية تستخدم أيضاً في إثبات قدرة الفطر على اصابة الإنسان أو الحيوان أو النبات بالاعتماد على الفرضيات المعروفة بفرضيات كوخ Koch's postulates، ناهيك عن أهمية المزرعة النقية في التجارب والدراسات الفسلجية والوراثية لكل فطر.

تعد عملية عزل الفطر بمزرعة نقية وتنميته على الوسط والبيئة المناسبة طيلة الفترة المطلوبة لاتمام ما ورد أعلاه من متطلبات فهم واقع حال كل فطر على حدة. أن أكثر الصعوبات التي تواجه عملية العزل هي احتمال تلوث المزرعة بكائنات أخرى غير تلك المراد عزلها ودراستها، لذا لابد من أخذ الاحتياطات اللازمة لتعقيم جميع الأدوات المستعملة كالمشارط والملاقط والزجاجيات وأبر التلقيح أو الحقن، بالإضافة إلى ضرورة إجراء العزل في أماكن معقمة أو في غرف صغيرة أو كابينات أو صناديق inoculating chamber or box خاصة لأغراض العزل.

تتواجد الفطريات بكثرة في الطبيعة فهي تنتشر في كل مكان وعلى سطوح الاجسام الحية والميتة، ويسهل حمل غالبيتها بالهواء ونشر أبواغها إلى أماكن بعيدة لصغر حجمها. تتواجد الفطريات في جميع البيئات مثل الهواء والماء والتربة سواء في المناطق القطبية أو الاستوائية وحتى في المناطق المرتفعة والجبلية، إضافة إلى قدرتها على التواجد في جسم النبات، الحيوان والإنسان. وتختلف مستويات ومعدلات تواجد الأنواع المختلفة من الفطريات بسبب تأثرها بالظروف

البيئية والطبيعية مثل درجات الحرارة، درجة الأس الهيدروجيني (pH)، الإضاءة، التهوية، الملوحة والبعض منها قادر أن يعيش تحت ظروف غير اعتيادية مثل انعدام الهواء، زيادة الملوحة إلى أكثر من 25 %، زيادة الحموضة إلى pH 2.0 أو أقل والقاعدية إلى pH 11.0 أو أكثر، إضافة إلى الارتفاع الحاد أو الانخفاض الحاد في درجات الحرارة.

أولاً: طرق العزل Methods of isolation

هناك طرق عديدة لعزل الفطريات اعتمادا" على البيئات المختلفة التي تنمو وتتواجد فيها مثل الهواء أو الماء أو التربة ، سواء" كانت مترممة على المواد المتحللة أو متطفلة على الكائنات الحية، ومن هذه الطرق ما يأتي :

1- العزل المباشر Direct isolation

تستخدم هذه الطريقة عندما يكون الفطر متجرثماً على سطح الوسط الزرعي أو سطح العائل على هيأة مسحوق من الأبواغ أو مكوناً تراكيب ثمرية فيمكن عزله أما بتلقيح أطباق بتري حاوية على وسط غذائي معقم بنقل كمية من الأبواغ من مصدر الفطر باستخدام أبرة تلقيح عقمت باللهب وتبرد قبل ملامستها للمستعمرة الفطرية، يجب أخذ كافة الاحتياطات أثناء نقل الفطر إلى الوسط الغذائي وفي ظروف معقمة، أو بعمل معلق من أبواغ الفطر في الماء المقطر المعقم ثم تنمية الفطر في حالة نقية باستخدام أما طريقة التخطيط streaking method ، أو طريقة التخفيف Dilution method ، وكما يلي:

أ- العزل بطريقة التخطيط Streaking method

في هذه الطريقة يحضر معلق الأبواغ من البيئة التي ينمو فيها الفطر المراد تنقيته، يخفف المعلق حسب الحاجة، تنقل قطرة واحدة من المعلق باستخدام الناقل Loop المعقم وذلك بغمسه في المعلق ثم نقله إلى مركز سطح الوسط الزرعي المهيء لهذا الغرض، ويفضل أن يسحب الناقل على الوسط لمسافة

قصيرة من مكان ملامسته للوسط، ثم يترك الوسط تحت الحضن عند درجة حرارة 25 مْ ، سوف يلاحظ ظهور نمو للفطر باتجاه نهاية الخط الذي عمل على الوسط ويمكن أن يكون على شكل مستعمرات منفردة، يمكن نقل المستعمرة المنفردة إلى وسط زرعي جديد للحصول على مزرعة نقية للفطر. إلا أن التخطيط streaking يمكن أن ينجز باسلوبين، أما بعمل خطوط متعرجة zigzag line على الوسط الزرعي بواسطة الناقل الحامل لقطرة من معلق الفطر، وهو الأسلوب الأكثر استخداماً، أو بعمل ثلاثة خطوط قصيرة موازية لبعضها على الوسط الزرعي بواسطة الناقل الحامل لقطرة من المعلق ثم تعمل ثلاثة خطوط أيضاً موازية لبعضها تبدأ من الخط الأول وتكون بزوايا منفرجة مع هذا الخط ، وتكرر هذه الخطوط مرة أخرى على أن تبدأ من الخط الأول من المجموعة الثانية، ان الأسلوب الثاني يختزل كثيراً من عدد الأحياء المجهرية مقارنة مع الأسلوب الأول الذي يعتمد الخطوط المتعرجة فقط (شكل 6-1).

ب- العزل بطريقة التخفيف Dilution method

أن هذه الطريقة مفيدة ومناسبة للأغراض الكمية والنوعية بخصوص الفطر المدروس، فإذا كانت كمية المادة المفحوصة معروفة يمكن حساب كمية الفطر في النموذج.

طريقة العمل:

تحضر تخافيف لهذا الغرض تبدأ من 1 : 10، 1 : 100، 1 : 1000 وهكذا، ثم يؤخذ 1.0 مل من كل تخفيف باستخدام ماصة معقمة ويوضع على سطح الوسط الزرعي في أطباق بتري، أو بمزج 1.0 مل مع كمية معلومة من الوسط الزرعي 10-15مل في طبق بتري وذلك قبل تصلبه ، أي عندما تكون درجة الحرارة ما بين 42-45 مْ ، وبذلك يمكن الحصول على مستعمرات قليلة في التخافيف العالية، ويمكن نقل المستعمرات المنفردة إلى وسط زرعي جديد للحصول على مزرعة

نقية للفطر، كذلك يمكن حساب كمية الفطريات في النموذج من خلال حساب عدد المستعمرات على أساس حجم العينة والتخفيف.

2- عزل الفطريات على الشرائح وأغطيتها الزجاجية

Isolation of fungi on slides and cover slips

يكون الجهاز البوغي في قسم من الفطريات دقيقاً ورهيفاً ما يصعب تحميله بنجاح لأغراض الدراسة والفحص، وفي مثل هذه الحالات تنمى الفطريات على الشرائح الزجاجية أو الأغطية والتي ينبغي أن تتم تحت ظروف معقمة مع تعقيم كافة الأدوات المستخدمة ، وهناك أكثر من أسلوب لإتمام هذا العمل ، منها ما يأتي:

أ- مزرعة الشريحة الزجاجية Slide culture

يمكن الحصول على شريحة زجاجية دائمية من مزرعة الشريحة الزجاجية وهي طريقة مفيدة وعملية جداً في دراسة الفطريات مختبريا" (شكل 6 - 2).

المواد:

1- أبرة تشريح معقمة.

2- أطباق بتري حاوية على وسط زرعي مناسب.

3- قضيب زجاجي على شكل حرف V.

4- شرائح زجاجية وأغطيتها.

5- كليسيرين تركيز 20 %.

6- كحول اثيلي تركيز 95 %.

7- مزرعة فطرية لأحد الفطريات المتوافرة.

طريقة العمل:

1- يصب 10 مل من الأكار الذائب في طبق بتري معقم.

2- يتم تقسيم الوسط بعد تصلب الأكار إلى مربعات صغيرة (1 سم^2)، باستخدام أبرة تشريح معقمة وقضيب زجاجي معقم (مررت على لهب).

3- ترفع قطعة مربعة من الوسط وتوضع على شريحة زجاجية معقمة (مررت على لهب).

4- تلقيح الجوانب الأربعة لقطعة الأكار بالأبواغ أو بأجزاء من غزل الفطر المطلوب دراسته.

5- يوضع غطاء شريحة زجاجية معقمة (مررت على لهب) على سطح قطعة الأكار.

6- توضع الشريحة على قضيب زجاجي بشكل حرف V موضوع فوق ورقة نشاف في طبق بتري رطبت بماء مقطر معقم وكليسرين لتأمين الرطوبة ومنع تكوين الضباب على الشريحة او تنقل مزرعة الشريحة إلى كابينة رطبة تحتوي على كمية قليلة من الكليسيرين (تركيز20 %) لمنع تكوين الضباب على الشريحة الزجاجية.

7- يتابع نمو الفطريات وتكوين الأبواغ على فترات زمنية ، وبعد تكوين الأبواغ يمكن تحضير نوعين من الشرائح الزجاجية الفطرية الملونة باستخدام الصبغات المناسبة.

أ- النوع الأول يحضر بإزالة غطاء الشريحة من قطعة الأكار وضع قطرة من الكحول 95 % على مركز غطاء الشريحة لغرض ترطيب الفطر. قبل أن يجف الكحول بلحظات تضاف قطرة من صبغة أزرق القطن بالاكتوفينول، ثم ينزل الغطاء على شريحة زجاجية نظيفة ويفحص.

ب- أما النوع الثاني فيحضر باستخدام الشريحة الزجاجية التي نمي عليها الفطر جراء وجود قطعة الأكار، تتبع نفس الطريقة في الفقرة (6) والفقر (7) أعلاه، ثم يوضع غطاء شريحة نظيف ويفحص النمو.

ملاحظة:

يمكن غلق غطاء الشريحة مباشرة باستخدام مادة صبغ الأظافر بعد سحب المواد الزائدة من حواف الغطاء باستخدام ورق النشاف، وأحياناً يتطلب ترك الشريحة إلى اليوم التالي لضمان التخلص من المواد الزائدة التي قد تؤثر على غلق الغطاء بشكل محكم.

ب- مزرعة غطاء الشريحة الزجاجية Cover slip culture

طريقة العمل:

1- يصب 10 – 15 مل من الوسط الزرعي في طبق بتري ويترك حتى يتصلب.

2- يتم عمل شقين متعاكسين في الأكار في وسط الطبق بواسطة مشرط تشريح معقم.

3- ترفع الحواف الثلاثية الزوايا المتشكلة من عمل الشقين واحدة بعد الأخرى، ويدس تحت كل واحدة منها غطاء شريحة معقم باللهب ثم تعاد الزوايا إلى وضعها السابق.

4- يقلب الطبق ويؤشر مكان الأغطية بواسطة قلم شمعي وترسم مربعات صغيرة 6×8 ملم في وسط كل غطاء وتظهر هذه المربعات بشكل واضح عند إعادة قلب الطبق.

5- يزال الاكار المقابل لهذه المربعات ثم يلقح الوسط الزرعي بالفطر وتحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 3-5 أيام.

6- تفحص المناطق التي فوق المساحة المعرضة لكل غطاء مباشرة باستخدام عدسة مكبرة لحين تكوين الفطر كمية كافية من الغزل الفطري فوق الغطاء.

7- تزال الأغطية بعد قطع الاكار المجاور لها، ومن ثم يتم تحميلها باستخدام محلول تحميل مناسب وفحصها تحت المجهر وتسجيل المعلومات المتوافرة عنها.

3- عزل الفطريات الطبية Isolation of medical fungi

تعد الفطريات الجلدية Dermatophytes واحدة من بين أهم الفطريات الطبية الممرضة للانسان، إذ يمكنها أن تتغذى على المواد الكراتينية (شعر ، جلد وأظافر) مسببة التهابات جلدية مثل داء السعفة Tinea ، أو القوباء الجلدي Ring worm. تظهر الإصابات الفطرية على الطبقة السطحية من الجلد ذات النسبة العالية من الرطوبة المتولدة نتيجة افراز العرق خاصة في مناطق الطيات الجلدية بين أصابع القدم، الفخذين، تحت الأبط أو أماكن وجود الشعر في الرأس والجسم لاحتوائه على مادة الكيراتين التي تعد غذاءاً جيداً لها.

المواد:

1- أطباق بتري حاوية على وسط زرعي نوع سابرويد SDA .

2- كحول أثيلي 70 % .

3- هيدروكسيد البوتاسيوم 10 % .

4- أبرة تلقيح .

طريقة العمل:

1- تؤخذ عينات سريرية من إصابات جلدية فطرية (من الحافات الفعالة للبؤر الالتهابية)، قشور جلدية Skin scraping ، قصاصات أظافر Nails dipping أو أجزاء شعر Hair fragments باستخدام شفرة وملقط معقمتين بعد تعقيمهما بكحول الإيثانول (70 %) .

2- توضع كمية قليلة من العينة باستخدام ابرة تلقيح معقمة في قطرة من هيدروكسيد البوتاسيوم 10 % (KOH 10%) موضوعة على شريحة زجاجية نظيفة ثمَّ تغطى بوساطة غطاء الشريحة وتسخن الشريحة بهدوء بتحريكها فوق اللهب مرتين أو ثلاث مع تجنب التسخين لحد الغليان لأنَّ ذلك يؤدي الى تبلور هيدروكسيد البوتاسيوم.

3– بعد أن تلين العينة ، نتيجة معاملتها بهيدروكسيد البوتاسيوم ، يتم ضغط العينة بواسطة قاعدة الأبرة لفرشها على الشريحة ثم تفحص بهدوء مجهريا" لملاحظة الكونيدات والخيوط الفطرية.

4– عند التأكد من وجود الفطر الممرض في العينة يؤخذ جزء منها ويزرع على سطح طبق بتري معقم يحتوي على وسط زرعي نوع SDA مضاف اليه الكلورامفنيكول(0.5 غم/لتر) لمنع نمو البكتريا والفطريات المترممة.

5– تحضن الاطباق عند درجة حرارة 28-30°م لمدة 7-10 ايام ، بعد ذلك تفحص الأطباق مجهريا"

فالنتيجة الإيجابية تعطي العديد من المستعمرات التي يكون بالامكان التفريق بينها وبالتالي تحديد أنواع الفطريات المسببة للإصابات وتشخيصها شكلياً ومجهرياً والاستعانة بالمصادر المتخصصة حيث ان اكثر الفطريات الجلدية انتشاراً تعود للأجناس:.*Epidermophyton* spp , *Trichophyton* spp. و *Microsporum* spp. ، وللتعرف على الصفات المظهرية لمستعمرات الفطريات النامية يتطلب اجراء الآتي :

أ – افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA للفطر *E. floccosum* مأخوذة من قشور جلدية تمثل سعفة حلقية. ولاحظ أن المستعمرات صوفية و يكون مركز المستعمرة مرتفع دقيقي مع وجود أخاديد شعاعية تمتد من المركز الى المحيط ، لون المستعمرة أصفر الى بني وفي الجهة المقابلة من الطبق يكون أصفر فاتح الى بني فاتح (لوحة 6 . 1).

ب – عند فحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA للفطر *T. schoenleinii* مأخوذ من أجزاء شعر تمثل سعفة الرأس يلاحظ أن المستعمرات ذات طيات تمتد من المركز الى حافة المستعمرة وتكون ذات أنسجة جلدية وفي بعض الأحيان تسبب مثل هذه المستعمرات تشقق في الوسط الزرعي ، لون المستعمرة يكون اصفر فاتح الى أسمر، ذات سطح شمعي أصفراللون(لوحة 6 . 1).

جـ – عند فحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA للفطر *M. canis* مأخوذة من قشور جلدية تمثل سعفة حلقية يلاحظ آن المستمرات تكون في البداية ذات لون أبيض ثمَّ تتحول الى لون أصفر دباغي الى أصفر برتقالي(لوحة 6 . 1).

4- عزل الفطريات الانتهازية Isolation of opportunistic fungi

تعتبر الفطريات الانتهازية مسببات مرضية ثانوية لها علاقة في إحداث إصابات مرضية عديدة تتحدد بالعوامل البيئية والجغرافية من درجة حرارة ورطوبة وموقع جغرافي لحصول الإصابة، إضافة إلى الحالة الصحية للإنسان، ومن الأمثلة الشائعة لهذه الإصابات هي:

داء المبيضات الفموي Oral Candidiasis

وهو من الأمراض التي تسببها بعض الخمائر الناقصة المتعايشة مع جسم الإنسان وهي تصيب الأطفال الرضع والصغار وكبار السن حيث إنها تنتهز الفرصة المناسبة التي يمر بها جسم الإنسان مثل حالات الضعف والعوز المناعي فتنشط لتصيب الأنسجة المخاطية لتجويف الفم وللتأكد من الإصابة يجب اتباع الآتي:

طريقة العمل:

1- قبل البدء بعملية عزل الفطر الانتهازي من منطقة الإصابة يجب إجراء فحص مجهري لعينة تؤخذ من المريض للتأكد من وجود المسبب المرضي فيها، تؤخذ مسحة بواسطة حامل خشبي معقم من مناطق مختلفة من تجويف الفم وتوضع على شريحة زجاجية نظيفة ويضاف لها قطرة من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم تركيز 10% (KOH 10 %) وتسخن قليلاً، حيث يقوم هذا المحلول بتحليل خلايا الجلد تاركاً خلايا الفطر (الخميرة) أو الخيوط الفطرية الكاذبة مما

يسمح لرؤيتها بوضوح إن وجدت في العينة المفحوصة عندها يعد الفحص إيجابياً، يمكن استعمال صبغة اللاكتوفينول – أزرق القطن عند الحاجة.

2- بعد التأكد من أن الفحص المجهري إيجابي، تؤخذ مسحة من المنطقة المصابة بداء المبيضات الفموي بواسطة حامل خشبي معقم وتوضع مباشرة تحت ظروف معقمة على وسط سابرويد دكستروز اكار (SDA) في أطباق بتري المدعم بالمضاد الحيوي كلورامفنيكول (0.5 غم/لتر) لمنع نمو البكتريا. تحضن الأطباق عند درجة حرارة 37 مْ لمدة 48-72 ساعة.

3- تفحص الأطباق وتسجل المعلومات المتعلقة بشكل وطبيعة المستعمرات النامية في الأطباق والتي قد تساعد في معرفة نوع الخميرة المسؤولة عن الإصابة ولغرض تشخيصها بشكل دقيق يجب عمل شرائح زجاجية من المستعمرات النامية.

4- يتم التأكد من وجود الخيوط الفطرية الكاذبة والأبواغ الكلاميدية والأبواغ البرعمية إضافة إلى تكوين الأنابيب الجرثومية من الخلايا الخميرية، وهي صفات مهمة للتفريق بين الأنواع التابعة للجنس *Candida* spp. المسؤول عن الإصابة بهذا المرض، وهذه الصفات مميزة للنوع *C. albicans* عن الأنواع الأخرى التي تظهر أحياناً مع هذا النوع مثل *C. parapsilosis* ، *C. tropicalis* و *C.glabrata* وغيرها من الأنواع الأخرى.

ملاحظة:

قد لا تظهر الصفات الواردة في (4) أعلاه عند تنمية الخميرة على وسط SDA فيستخدم وسط اكار دقيق الذرة (CMA)، أو مصل الغنم.

ولمعرفة نوع الخميرة المعزولة يتم إجراء الفحوصات التالية ومقارنتها معها :

1- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA أو CMA تعود للخميرة *C.albicans* ، ولاحظ لون وشكل المستعمرة التي تبدو ملساء ولماعة وزيتية المظهر ذات لون أبيض إلى كريمي والمستعمرة القديمة تكون مجعدة.

2- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA او CMA تعود لنوع آخر من الخميرة هو *C.parapsilosis* ، ولاحظ أن شكل ولون المستعمرة يشبه الخميرة في (1) أعلاه، اعمل شريحة زجاجية وافحص خلايا الخميرة والأبواغ البرعمية وتأكد من عدم وجود الأبواغ الكلاميدية التي تظهر في النوع الأول في (1) أعلاه.(لوحة 6-2)

التهاب الأذن Otitis

وهو من المشاكل الصحية المهمة الشائعة التي تعاني منها مختلف الفئات العمرية، فمن المعروف والشائع أن هذه الإصابة تسببها أنواع مختلفة من البكتريا إلا أن استعمال المضادات الحيوية والمواد المثبطة للمناعة والستيرويدات بشكل واسع صاحبه ظهور إصابات متسببة من فطريات انتهازية opportunistic fungi لها علاقة في إحداث إصابة في الأذن والتهابها ، وقد اعتبرت هذه الفطريات مسببات مرضية ثانوية، وتعود للأجناس:*Aspergillus*، *Penicillium*، *Fusarium*، *Alternaria* و *Rhizopus* وللتأكد من وجود هذه الفطريات في منطقة الإصابة يجب إجراء الآتي:

طريقة العمل:

1- تؤخذ مسحات قطنية بعد الفحص المجهري للعينات التي تعود لمرضى مصابين بالتهاب الأذن الوسطى بعد أن شخصت سريرياً من قبل طبيب اختصاص انف وأذن وحنجرة، وتتبع نفس الخطوات الواردة في (1 و 2 و3)

من طريقة عمل داء المبيضات الفموي في أعلاه باستثناء عملية حضن الأطباق يجب أن يكون عند درجة حرارة 25 مْ.

2- التأكد من نوع الفطر المعزول بالاعتماد على الصفات المظهرية للمستعمرات والصفات المجهرية (لوحة 6 - 2) المتعلقة بشكل وحجم الأبواغ والحوامل الكونيدية والتراكيب الفطرية الأخرى وكما يلي:

أ- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA أو CZA للفطر *A. flavus* ولاحظ أن شكل المستعمرات ذات مظهر خشن ولونها زيتوني غامق وتنتج أعداد كبيرة من الكونيدات، أعمل شريحة وافحص التراكيب الفطرية.

ب- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA أو CZA للفطر *A. niger* ولاحظ أن لون المستعمرة أسود داكن وذات مظهر خشن، أعمل شريحة زجاجية وافحص التراكيب الفطرية.

جـ- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA أو CZA للفطر *A.fumigatus* ، ولاحظ أن لون المستعمرة أخضر مصفر إلى أخضر غامق وذات مظهرخشن،اعمل شريحة زجاجية وافحص التراكيب الفطرية.

د- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA أو CZA للفطر *F.oxysporum* ، ولاحظ أن لون المستعمرة أرجواني إلى بنفسجي فاتح وسطح المستعمرة قطني، أعمل شريحة زجاجية وافحص التراكيب الفطرية.

هـ- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA أو CZA للفطر *P.marnefei*، ولاحظ أن لون المستعمرة بني فاتح، اعمل شريحة زجاجية وافحص التراكيب الفطرية.

و- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA للفطر *Alt.alternata* ولاحظ ان لون المستعمرة بلون أسود إلى أخضر زيتوني، اعمل شريحة زجاجية وافحص التراكيب الفطرية.

ي- افحص مزرعة فطرية نامية على وسط SDA للفطر *R.stolonifer* ولاحظ أن لون المستعمرة الناضجة (بعد تكوين الحوافظ البوغية) يكون بني غامق، اعمل شريحة زجاجية وافحص التراكيب الفطرية.

5- عزل فطريات الهواء Isolation of air borne fungi

يلعب الهواء دوراً أساسياً في نقل الفطريات غير المرضية والمرضية التي تسبب الأمراض للإنسان والحيوان والنبات، حيث تنتقل الأبواغ محمولة في أنوية الرذاذ droplet nuclei أو على ذرات الغبار العالقة هي الأخرى في الهواء. تنتشر معظم الفطريات بواسطة الأبواغ أو الكونيدات خلال الطبقات الهوائية المتحركة الحاملة لها ثم استقرارها في الأماكن المختلفة. ان عملية انتقال الأبواغ والكونيدات بواسطة الهواء لها دور كبير في انتشار الإصابة بالأمراض الفطرية، ومن الممكن التخلص من مصادر الإصابة والوقاية منها إلا أنه من غير الممكن الحد من عملية انتشار الأبواغ والكونيدات وخاصة عندما يكون الهواء هو الناقل لها، وبذلك يكون وسيلة لانتشار الأمراض الفطرية بين الكائنات الحية وما تسببه من تلف للمواد الصناعية الخام وتعفن المواد الغذائية فضلاً عن كونها ملوثات أساسية للهواء، ويمكن إجراء تجربة مختبرية لعزل الفطريات من الهواء.

المواد:

1- أطباق بتري تحتوي على وسط اكار مغذي.

2- أقلام شمع.

طريقة العمل:

1- تقسم الأطباق إلى ثلاث مجاميع وبواقع ثلاثة أطباق لكل مجموعة كمكررات، الأولى للعزل من هواء المختبر والثانية للعزل من هواء الجو العادي خارج المختبر والثالثة من مكان قريب من مزرعة أو حقل قريب من مكان العمل.

2- يرفع غطاء كل طبق ويعرض للهواء لمدة 3-5 دقائق ثم يعاد الغطاء وتثبت عليه المعلومات الخاصة بطبيعة الهواء.

3- تترك ثلاثة أطباق دون تعريضها للهواء كمعاملة مقارنة.

4- تحضن جميع الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 3- 6 أيام.

5- تفحص الأطباق للتعرف على أنواع الفطريات التي نمت من كل مصدر والاختلافات فيما بينها وتدون المعلومات عن إعداد وأنواع الفطريات في كل مصدر.

6- عزل الفطريات المائية Isolation of aquatic fungi

تتميز هذه الفطريات بصورة رئيسية عما عداها من الفطريات بأن أبواغها تكون متحركة أما بسوط واحد كما في الفطريات الكتريدية التي يعيش العديد منها بصورة كلية في الماء، وتنمو مترممة على بقايا النباتات والحيوانات المائية الصغيرة ومن أهمها الفطر *Allomyces* والفطر *Monoblepharis*، والنوع الثاني متحركة بسوطين كما في الفطريات البيضية والتي تضم عددا أكبر من الفطريات التي تعيش في الماء العذب وتتطفل على الفطريات المائية أو على الطحالب مثل الفطر *Lagenidium* والفطر *Saprolegnia* الذي تتطفل بعض أنواعه على الأسماك والأحياء المائية وأنواع أخرى منه تترمم على البقايا النباتية والحيوانية.

ويتكون جسم الفطر أما من خلية واحدة أو من خيط ضعيف قد يكون متفرع أو غير متفرع. وقد أمكن عزل وزراعة بعض الأنواع المترممة في مزارع غذائية كونها تنمو على بيئات بسيطة مكونة من أملاح معدنية ومصدر كاربوني

ومعظمها لا يحتاج إلى إضافة الفيتامينات ومن السهل عزل أنواع من الفطريات المائية من بيئاتها بواسطة بذور القنب المغلي أو الذباب الميت.

المواد:

1- عينات مياه عذبة من الأنهار أو السواقي أو البرك.

2- أطباق بتري معقمة.

3- بذور قنب.

4- حشرات ذباب ميتة.

طريقة العمل:

1- توضع بذور القنب في الماء وتسخن حتى الغليان.

2- تؤخذ كميات قليلة من عينات الماء وتوضع في الأطباق بواقع 15- 20 مل لكل طبق.

3- تقسم الأطباق إلى مجموعتين الأولى تخصص للعزل على بذور القنب والثانية تخصص للعزل على حشرات الذباب الميتة، وبواقع ثلاثة أطباق لكل معاملة كمكررات.

4- توضع في كل طبق من أطباق المجموعة الأولى عدداً من بذور القنب المغلي، وفي كل طبق من أطباق المجموعة الثانية عدد من حشرات الذباب الميتة.

5- تحضن الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 5-7 أيام ثم تفحص الأطباق وتلاحظ النموات الفطرية المتكونة على البذور أو الحشرات والتي تمثل الفطريات المائية.

6- تفحص البذور والحشرات التي ظهرت عليها نموات فطرية وتحدد أنواع الفطريات المائية، التي غالباً ما تعود إلى الفطريات البيضية وأحياناً إلى الفطريات الكتريدية (لوحة 6 - 3).

7- عزل فطريات التربة Isolation of soil borne fungi

تعيش أنواعا مختلفة من الفطريات في التربة أما مترممة على البقايا النباتية والحيوانية أو متطفلة، ويعتمد دورها كطفيليات نباتية تستهدف جذور النبات او كطفيليات حيوانية تستهدف الديدان الثعبانية على عوامل عديدة منها الكثافة العددية لوحدات التكاثر وظروف التربة. أن اول الفطريات التي اكتشفت في التربة هو الجنس *Fusarium* ، بعد ذلك توالت الدراسات لتحديد الأنواع الأخرى من الفطريات المستوطنة في التربة soil borne fungi وتضمنت مجموعة من الفطريات منها:

Verticillium, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Plasmodiophora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Spongospora* و *Synchytrium* (لوحة 6 - 4).

ان الدراسات التي أجريت على توزيع الفطريات في التربة قد ركزت في الغالب على علاقة الفطريات بأمراض النبات ولذلك فإن الأراضي الزراعية غالباً ما تحتوي على عدد أكبر من الأنواع الفطرية مقارنة بالترب الأخرى غير الزراعية، ويمكن إجراء تجربة مختبرية لعزل الفطريات من أكثر من نوع من الترب.

المواد:

1- عينات تربة من عدة مواقع زراعية (تربة حديقة) وغير زراعية (تربة رملية طينية).

2- أطباق بتري معقمة.

3- وسط اكار ماء Water agar.

4- أنابيب اختبار.

5- ماء مقطر معقم.

6- ماصات معقمة وباحجام 0.5 مل و1.0 مل.

7- بيكرات بحجم 250 مل.

طريقة العمل:

تستخدم هنا طريقة التخفيف Dilution method وتتلخص بالآتي:

1- يوزن 10 غم من كل عينة من عينات التربة وتوضع في بيكر 250 مل ويضاف إليها 90 مل ماء مقطر معقم وتمزج جيداً بتحريكها لمدة 5-10 دقائق.

2- تعمل تخافيف عشرية من معلقات عينات التربة أعلاه وهي 1/100، 1/1000 و1/10000 (شكل 6 - 3).

3- توزع معلقات عينات التربة على قعر أطباق بتري وبواقع 1.0 مل لكل طبق وثلاث أطباق لكل معاملة كمكررات، ثم يضاف إليها وسط اكار ماء المذاب والمبرد إلى درجة حرارة 42 - 45 مْ مع تحريك محتويات الطبق رحوياً قبل تصلبه لغرض توزيع حبيبات التربة ضمن كل الوسط الزرعي.

4- تترك ثلاثة أطباق بدون تلقيح كمقارنة.

5- تحضن جميع الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 3-5 أيام ثم تفحص وتدرس أعداد وأنواع المستعمرات الفطرية النامية التي تعود للأجناس المشار إليها في أعلاه وتحسب في كل تربة وكل تخفيف وتسجل النتائج. وهناك طرق أخرى للعزل من التربة هي:

أ- طريقة الزراعة المباشرة Direct planting method

في هذه الطريقة يوضع على الوسط الزرعي الأساسي في أطباق بتري كمية قليلة من التربة المراد عزل الفطريات منها وذلك باستعمال ملقط معقم أو ملعقة معقمة بعد غسلها بالكحول وتعريضها للهب، ثم تحضن عند درجة حرارة 25 مْ ويتابع النمو الفطري الذي يحصل على الوسط يومياً بعد 48 ساعة من الحضن.

ب- طريقة صب الأطباق Pour plate method

والتي تتلخص بمزج كمية قليلة معلومة من التربة مع الوسط الزرعي المعقم والمبرد إلى درجة حرارة 42-45 مْ ثم يصب الوسط الممزوج مع التربة في الأطباق، ثم تحضن وتتابع بنفس الطريقة أعلاه.

هذه الطريقة يمكن تنفيذها بأسلوب آخر يطلق عليه أطباق التربة soil plates، وفيها يتم توزيع عينات صغيرة معلومة من التربة في أطباق بتري لا تتجاوز كميتها عن 20 ملغم / طبق، توضع في قعر طبق البتري المعقم، يضاف إليه أكار مائي Water agar معقم ومبرد قبل تصلبه، ثم يتم تحريك محتويات الطبق رحوياً من أجل توزيع حبيبات التربة ضمن كامل الوسط الزرعي. تحضن الأطباق وتتابع بنفس الطريقة أعلاه.

جـ الطعوم Beating

تعتمد هذه الطريقة على استخدام الطعوم من مواد نباتية وحيوانية في عزل الفطريات، والتي تشمل أجزاء من السيقان، الأوراق، الجذور، الثمار، بذور الكتان، بذور القنب، حبوب اللقاح، أجنحة الحشرات، الشعر، جلد الأفاعي والريش وغيرها من المواد الأخرى. وفي حالة المواد الكيتينية يفضل وضع الطعوم الجافة على سطح التربة في أطباق بتري معقمة، والذي يجب أن يبقى رطباً، وفي حالة الرغبة في عزل الفطريات ذات الأبواغ السابحة تضاف كمية من الماء إلى الطبق الحاوي على التربة ثم يضاف الطعم إلى الماء الذي يغطي التربة. تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ وبعد 48 ساعة يتم متابعة نمو الفطريات على الطعوم يومياً.

هذه الطريقة معتمدة أيضاً في عزل الفطريات المحبة للمواد الكيراتينية Keratinophilic fungi، وهي المواد الموجودة في الجلد والشعر والأظافر والريش، تجمع نماذج من التربة من أماكن مختلفة تشمل: مناطق حقول الدواجن، حقول تربية الحيوانات، مزارع أو حدائق تحتوي على بقايا نباتات وحيوانات، ويتم العزل باتباع الخطوات التالية:

طريقة العمل:

1- توضع كمية قليلة من عينة التربة في طبق بتري (الكمية لا تتجاوز نصف الطبق)، يضاف إليها 15 – 20 مل ماء مقطر معقم بحيث تبقى كمية زائدة من الماء فوق سطح التربة داخل الطبق، ثم يتم عمل مناطق في التربة بحيث يمكن تمييزها عبر الطبق.

2- تؤخذ أجزاء من شعر الإنسان أو الخيل المعقم سلفاً وتقطع فوق سطح التربة، سوف يكون بالإمكان ملاحظة قطع الشعر التي تظهر عليها نموات الفطريات عند فحص الأطباق تحت المجهر باستخدام القوة الصغرى من خلال المناطق التي تم عملها في التربة بعد عدة أسابيع من الحضن. يفضل أن يتم حضن الأطباق في الظلام عند درجة حرارة 20-25 مْ لمدة 4-6 أسابيع. تفحص قطع الشعردورياً خلال هذه المدة لملاحظة النموات الفطرية على جانبي قطع الشعر.

3- تنقل قطع الشعر التي نما عليها غزل فطري إلى وسط زرعي مائل في أنابيب اختبار culture slants أو إلى أطباق بتري تحتوي على وسط سابرود Sabouraud agar، المضاف إليه أحد مضادات البكتريا (السايكلوهكسمايد أو الكلورامفنيكول).

4- تفحص الأطباق بعد أسبوع واحد أو أكثر للتأكد من نمو الفطريات، ثم تفحص الفطريات للتعرف على الأجناس والأنواع النامية، ويمكن الحصول على مزارع نقية منها باستخدام طريقة البوغ المفرد single spore method.

د- التعويم Flotation

هذه الطريقة هي واحدة من الطرق السريعة والسهلة جداً والتي تستخدم في عزل الأبواغ من التربة، باتباع الخطوات التالية:

طريقة العمل:

1- تؤخذ عينة من التربة وتوضع في دورق مخروطي ويضاف إليها كمية معلومة من الماء المقطر حجم 1:1 تقريباً الممزوج معه زيت معدني.

2- ترج جيداً التربة المخلوطة مع الزيت المعدني بالماء.

3- تؤخذ قطرة من المستحلب المتجمع على سطح الماء الذي يحتوي معظم الأبواغ (80 - 90 %) الموجودة في التربة وتوضع على شريحة زجاجية ثم يوضع الغطاء.

4- تفحص تحت المجهر وبعد التأكد من وجود الأبواغ يمكن نقل كمية قليلة من المستحلب بواسطة ناقل معقم إلى سطح وسط زرعي في أطباق بتري وتحضن عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 15- 20 ساعة ثم تفحص وتتابع الأبواغ النابتة والتي ستكون غزل فطري.

8- عزل الفطريات المترممة Isolation of saprophytic fungi

من الفطريات المترممة شائعة الانتشار هي الفطر *Penicillium* أو ما يسمى بالعفن الأخضر والفطر *Aspergillus* أو ما يسمى بالعفن الأسود والفطر *Rhizopus* أو ما يسمى بعفن الخبز يمكن عزلها بسهولة بالعزل المباشر لأنها تنمو بشكل سريع على الأوساط الزرعية القياسية أي التي تتوافر فيها أبسط المتطلبات الغذائية. كما ان عددا من فطريات براز الحيوانات والمعروفة coprophilous يمكن عزلها وتنميتها على براز الحيوانات المعقم sterilize dung او على وسط أكار البراز dung agar.

كما ان الفطريات المائية على الأوساط الزرعية خصوصاً المترممة منها والتي تنمو على بقايا النباتات كالأغصان المتحللة وعلى الحشرات الميتة وبقايا الأحياء المائية الميتة والمواد العضوية الأخرى مثل الفطر *Saprolegnia* والذي فيه أنواع قادرة أن تتطفل على الأسماك والأحياء المائية مسببة قتلها ومن ثم الترمم عليها.

بالإضافة إلى ذلك فإن فطريات الهواء، وكما ورد سابقاً، بأمكانها البدء بالنمو بسهولة وبسرعة على أطباق الأكار بمجرد رفع غطاء طبق بتري الحاوي على الوسط الزرعي لمدة ثلاث دقائق اي لمجرد تعرض السطح المعقم من الوسط في الطبق إلى الهواء الحامل لأبواغ الفطريات المترممة المحمولة بالهواء Air borne fungi، ثم يعاد غلق الطبق وحضنه تحت درجة حرارة 25 مْ ومتابعة نمو المستعمرات الفطرية. ان الأبواغ التي تسقط وتستقر على سطح الوسط الزرعي سوف تنبت وتنمو مكونة مستعمرة فطرية والتي منها يمكن الحصول على مزرعة نقية اما بنقل جزء من هذه المزرعة إلى وسط زرعي مائل culture slant أو إلى وسط زرعي في طبق بتري، حسب الطريقة التي سوف يتم ذكرها لاحقاً ضمن موضوع نقل الفطريات إلى الوسط المائل أو الطبق.

قد يحصل ان بعض الأبواغ غير المرغوب فيها قد تدخل الوسط المائل أو الطبق وتنمو وتغزو الوسط الزرعي مسببة تلوثاً للمزرعة الفطرية النقية، مثل هذه المستعمرات يطلق عليها الملوثات contaminants.

9- عزل الفطريات الحقلية Isolation of field fungi

أ- عزل الفطريات من الجذور Isolation of fungi form roots

تتعرض جذور النباتات عموماً للإصابة بالفطريات المرضية المختلفة وخاصة فطريات التربة والتي تؤدي إلى موت أنسجتها مما يعرضها بعد ذلك للتلوث بالكائنات الأخرى المترممة.

طريقة العمل:

1- غسل الجذور جيداً بالماء لاستبعاد حبيبات التربة العالقة بها وانسجة النبات المتآكلة التي تحتوي على معظم الفطريات المترممة وأحياناً البكتريا أيضاً، وإذا كانت الأنسجة طرية والإصابة سطحية يغسل النسيج بالماء.

2- تؤخذ أجزاء صغيرة من الجذور وتغمر في محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 5% لمدة ثلاث دقائق ثم تنقل إلى الماء المقطر المعقم وبعدها إلى ورق ترشيح معقم لتجف.

3- تنقل إلى سطح الوسط الزرعي في أطباق بتري.

4- تحضن عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 72 ساعة ويتابع النمو الذي يظهر على الجذور الذي سينتشر على الوسط الزرعي.

5- تعمل شرائح زجاجية من الغزل الفطري وتفحص تحت المجهر للتعرف على أنواع الفطريات الموجودة على الجذور.

هناك طريقة أخرى للعزل من الجذور تتلخص بما يأتي:

1- تغسل الجذور جيداً في البداية بوضعها تحت ماء جار لمدة ستة ساعات، ثم تغمر كلياً (إذا كانت صغيرة) أو أجزاء منها (إذا كانت كبيرة) في مزيج من ماء بركة ضحل في أطباق بتري، ولا ينصح بإجراء تعقيم سطحي إلا إذا كان التلوث شديداً.

2- تفحص الأطباق بعد 24 ساعة وعلى أيام متتالية، بواسطة عدسة مكبرة أو باستخدام مجهر تشريح بحثاً عن خيوط فطرية وحوافظ بوغية والتي تنمو بسهولة في الماء.

3- تؤخذ قطع من الجذور الحاملة لهذه النموات وتوضع في ماء عذب يحتوي على طعمٍ مؤلفٍ من أجزاء صغيرة من أنصال أوراق الحشائش (مغلية لمدة 10 دقائق) أو من بذور صغيرة (معقمة على البارد باستخدام اوكسيد البروبلين).

4- إذا بدت الجذور حاوية على نوع واحد فقط قد تنمو بسهولة بأخذ أجزاء صغيرة منها (2-3 ملم) ستعطي مزرعة نقية عند نقلها إلى الوسط الزرعي في أطباق بتري، وبعكسه يجب تجديد الطعم وإعادة المحاولة من جديد لحين الحصول على نمو من نوع واحد على الجذور.

ب- عزل الفطريات من أجزاء النبات الهوائية

Isolation from aerial plant parts

كما هو الحال في الجذور فإن الأجزاء الهوائية من النباتات الأوراق، السيقان أو الثمار تكون عرضة للإصابة بالفطريات المرضية المختلفة، ومن الطرق الأخرى للعزل عندما يكون الفطر المسبب غير متجرثم وغير مرئي على سطح الورقة المصابة فتؤخذ أجزاء صغيرة تترواح مابين 5 - 10 ملم من البقعة المصابة بحيث تشمل جزءً مصاباً وجزءً سليماً، تعقم سطحياً بغمسها في محلول هيبوكلورين الصوديوم بتركيز5 % لمدة ثلاث دقائق ثم تنقل بواسطة ملقط معقم إلى ماء مقطر معقم حتى يتم غسلها من المادة المعقمة ومن ثم تنقل إلى ورق ترشيح لتجفيفها ثم تنقل إلى سطح الوسط الزرعي المعد في اطباق بتري وبمعدل 5 قطع / طبق. تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ ثم تتابع يومياً لملاحظة النمو على القطع النباتية، ويفضل خفض درجة الأس الهيدروجيني للوسط الزرعي (pH) باستخدام حامض اللاكتيك تركيز 50 %.

كذلك يتم عزل الفطريات المرضية بسهولة من داخل السيقان والثمار بتعقيم الجزء النباتي تعقيماً سطحياً كما ورد سابقاً ومن ثم شق الساق طولياً أو قطع الثمرة من الجانب السليم أولاً باستخدام أداة قطع حادة ومعقمة والاستمرار بالقطع تجاه الحافة المصابة. تؤخذ أجزاء صغيرة من الحافة المصابة بحيث تشمل الأجزاء المقطوعة أنسجة سليمة وأنسجة مصابة وتوضع مباشرة على سطح الوسط الزرعي المناسب.

ويمكن هنا أيضاً اعتماد طريقة العزل من الجذور التي مر ذكرها أعلاه، حيث تغسل الأجزاء المصابة وتقطع إلى أجزاء أو شرائح صغيرة لتشمل الجزء المتقدم من الإصابة والذي يكون لونه متغير، ثم توضع في ماء عذب في أطباق بتري وتعامل بطريقة معاملة الجذور نفسها. كما يمكن استخدام هذه الطرائق أيضاً لفصل مزارع مختلطة، مثل الفصل بين نوع ذو أبواغ متحركة وآخر بأبواغ غير متحركة بالتقاط الأول على طعم، أو لفصل نوعين ينتجان نوعين من الأبواغ

المتحركة أو يمكن تحفيزهما على إنتاج حوافظ بوغية وأبواغ متحركة في أوقات مختلفة بتنميتها عند درجات حرارة مختلفة.

ان عزل الفطريات التي تكون خيوط فطرية وأبواغ على سطح الأجزاء الهوائية المصابة يمكن أن يتم بطريقة العزل المباشر التي مر ذكرها، وذلك بنقل جزء من الخيوط الفطرية أو كمية من الأبواغ إلى سطح الوسط الزرعي المناسب، أما إذا كان نمو الفطر أو أبواغه غير مرئية على الأجزاء النباتية المصابة فيوضع في كابينة رطبة أو على ورقة ترشيح معقمة مرطبة بماء مقطر معقم لتوفير كمية كافية من الرطوبة مع درجة الحرارة المناسبة فسوف ينمو الفطر من النسيج الداخلي باتجاه السطح الخارجي وبذلك يمكن وبسهولة نقل جزء من النمو الفطري أو أبواغه إلى سطح الوسط الزرعي. في بعض الحالات قد تنمو بعض الفطريات المترممة والفطريات الثانوية على سطح الأجزاء النباتية المدروسة مما يعيق عملية عزل الفطريات المرضية والحصول على مزرعة نقية منها، ففي مثل هذه الحالات ينبغي تعقيم الأجزاء النباتية سطحياً بإحدى المعقمات المعروفة قبل وضعها في الكابينة الرطبة أو الأطباق الرطبة.

10- جمع فطريات العراهين وتنميتها في المختبر

Collection and cultivation of mashrooms

العراهين من الفطريات البازيدية التي يعيش أغلب أفرادها بصورة رمية على البقايا النباتية في الحقول والبساتين حيث تلعب دوراً كبيراً في تفسخ الأخشاب والبقايا النباتية وبقايا المراعي وفضلات المواشي، العديد من أفرادها صالحة للأكل والبعض منها سامة مميتة، كما يسبب البعض الآخر أمراضا عصبية كالهلوسة.

الجسم الثمري تركيب مؤلف من نسيج برنكيمي كاذب ويمثل الجزء البارز من الفطر، ويتكون عادة من الغزل الفطري الثانوي الذي قد يكون قصير العمر أو معمراً، وينبغي الإشارة هنا إلى أن الجسم الثمري في كافة الفطريات

العرهونية هو تركيب مؤقت ويتواجد لبضعة أيام فقط بينما يدوم الغزل الفطري لعدة سنوات متغذياً على المواد العضوية في التربة.

جمع العراهين Collection of mushrooms

هناك العديد من العراهين المهمة والشائعة التي يمكن جمعها من الحقول والبساتين ونقلها إلى المختبر لتحديد جنس ونوع العرهون اعتماداً على الصفات المظهرية (لوحة 6.6) وكما يأتي:

1- الجنس *Agaricus*، ويتميز بأبواغه البنفسجية وعدم وجود اللفافة Volva واحتوائه على الطوق annulus، ان اغلب أنواعه صالحة للأكل مثل عرهون الحقل *A. campestris* والعرهون الذي يكثر زراعياً *A. bisporus*.

2- الجنس *Coprinuus*، يمتاز بأبواغه السوداء وتميع الغلاصم إلى سائل أسود يشبه الحبر ينزل بشكل قطرات من الرأس المتحلل، يعيش البعض منها على المواد العضوية وفضلات المواشي بينما يعيش البعض الآخر على قطع الخشب الموجود على سطح التربة أو المدفونة في الأرض ومن أمثلته الشائعة *C.comatus* و *C.curtus* .

3- الجنس *Amanita*، يمتاز بأبواغه البيضاء واحتوائه على الطوق واللفافة، الكثير من افراده سامة مميتة، لهذا الفطر أجسام ثمرية مختلفة الألوان فمنها الأصفر أو البرتقالي أو الأحمر أو الحليبي، أكثر أنواعها سمية هي *A.phallodies* و*A.verna* و *A.verosa* التي تنتج سم امانيتا amanita toxin وهو مركب من مادتين هما أمانتين amanitin وفالويدين phalloidin ، هناك نوع آخر أقل سمية وهو النوع *A.muscaria* الذي ينتج سم الموسكارين muscarin الذي يسبب الهلوسة ويسمى بعرهون الذباب Fly-mushroom لاستعماله في السابق كمبيد للحشرات.

4- الجنس *Armillaria*، يتواجد عادة بشكل مجاميع حول جذور الأشجار والجذوع الميتة في البساتين والغابات، ويعتبر أحد طفيليات الجذور، لون الفطر عسلي ولذلك يطلق عليه العرهون العسلي honey mushroom وهو صالح للأكل، من أهم أنواعه *A. mellea*.

5- الجنس *Schizophyllum*، وهو من الأنواع الشائعة في العالم وينمو بصورة رمية أو طفيلية على الأوساط أو البيئات الخشبية، الجسم الثمري سنجابي اللون صغير مروحي الشكل fan-shaped وعديم الحامل وان وجد الحامل فيكون متصلاً من الجانب، ويمتاز بكون الغلاصم مشقوقة طولياً مشكلة ما يشبه الاخدود، من أهم أنواعه *S. commune*.

6- الجنس *Lactarius*، يتميز الرأس ونسيج الغلاصم باحتوائه على الحويصلات الكروية sphaerocysts والأنابيب اللبنية lactiferous، يعطي الجسم الثمري عند قطعه وهو طري سائلاً حليبياً، قد يكون السائل عديم اللون أو بلون أصفر أو أزرق أو أحمر، من الأنواع الصالحة للأكل ضمن هذا الجنس هو *L.deliciosus* الذي يعطي سائل ذا لون برتقالي زاهي إلا أنه يتغير إلى الأخضر.

7- الجنس *Boletus*، يتميز بجسم ثمري كبير الحجم يحتوي السطح السفلي من الرأس على سلاسل من الأنابيب، معظم أنواعه تكون متعايشة مع الأشجار وتشكل جذورا فطرية مثل النوع *B.elegans*، بعض أنواعه صالحة للأكل مثل *B.edulis* وأنواع أخرى منه سامة ذات طعم مر المذاق مثل *B.satanas*.

8- الجنس *Paxillus*، يتميز بجسم ثمري طري وبسهولة فصل الصفائح الغلصمية عن الحامل، كما ترتبط الصفائح مع بعضها بامتدادات مستعرضة، الرأس بني اللون وله حافة ملتوية إلى الداخل، المحتوى الداخلي أصفر فاتح يتحول إلى بني. من اشهر أنواعه *P. involutus* وهو مرافق شائع للأشجار.

9- الجنس *Psilocybe*، وهو من العراهين الصغيرة الحجم، يتميز بقبعة مخروطية أو جرسية الشكل، طويل وذو ساق دقيق، يطلق عليه عرهون الهلوسة hallucinogenic mushroom لأنه يحتوي مواد تسبب الهستريا، ومن الأنواع الشائعة لهذا الجنس هو *P. mexicana*، والذي يسمى بالفطر المفزع أو المروع sacred mushroom، لهذا النوع تأثيرات مخدرة psychedelic.

تنمية العراهين في المختبر Cultivation of mushrooms

1- إنبات الأبواغ

يمكن تنبيت الأبواغ البازيدية التي جمعت من أجسام ثمرية طازجة على وسط أكار – مستخلص المالت عند درجة حرارة 25 مْ، ويمكن إحياء أبواغ العينات الجافة بالتحضين في جو مظلم ومشبع بالرطوبة عند درجة حرارة 27 مْ، وذلك بوضع الأبواغ الجافة فوق شريحة مقعرة محمولة على قضيب زجاجي بشكل حرف (V) ضمن طبق بتري معقم ومحاطة بماء معقم على ارتفاع 5 ملم وتترك الشريحة هكذا طوال الليل، وفي اليوم التالي يتم رج الأبواغ في ماء معقم ثم زرعها في الوسط المناسب المعد لهذا الغرض.

2- إنتاج الجسم الثمري

أ- إملأ انبوب غلي، حتى 2.5 سم من سدادته، بنشارة خشب محتوية على 5% دقيق ذرة و2 % مسحوق عظام، رطب المزيج وعقمه بالموصدة لمدة 20 دقيقة.

ب- لقح النشارة بمعلق الأبواغ المحضر في (1) أعلاه وحضنها عند درجة حرارة 25 مْ حتى يصل نمو ساق الجسم الثمري إلى فوهة الأنبوب.

جـ- اعمل تجويفاً في جانب واحد في قطعة خشب مربعة قطرها 7.5 سم، بحيث يكون قطره مساوي لقطر فوهة الأنبوب، ثم عقم قطعة الخشب بالموصدة لمدة 45 دقيقة.

د- أزل سدادة الأنبوب وضع القطعة الخشبية على قمته بواسطة ملقطين معقمين، ثم غطي القطعة وعنق الأنبوب بكيس من البوليثين معقم واغلقه جيداً برابط مطاطي.

هـ- يتم حضن الانبوبة عند درجة حرارة 25 مْ ومراقبة اكتمال تكوين الجسم الثمري.

و- يجب الانتباه إلى الإضاءة، حيث تعتبر شدة الضوء وطول الفترة الضوئية وطول الموجة الضوئية من العوامل المهمة لتكوين وتطور الجسم الثمري في الفطريات الهلامية، قد يكون للضوء تأثيراً على استحثاث بدايات الجسم الثمري أو شكل الجسم الثمري مثل نسبة طول الساق إلى قطر الرأس، تبدأ حساسية تكوين الجسم الثمري لتأثير الضوء بعد حوالي سبعة ايام من النمو، ومن المؤكد بأن عدد الأجسام الثمرية يزداد بزيادة الفترة الضوئية.

تركيب الجسم الثمري Strucutre of fruting body

من الصعب اختبار نوع واحد من العرهونيات الحاملة للغلاصم كمثال لها ليعطي صورة واضحة عن بنية وتركيب الجسم الثمري، ويستخدم عادة عرهون الحقل لدراسة الجسم الثمري لسهولة الحصول عليه وهو النوع الأول ضمن الأنواع المذكورة أعلاه وكما يأتي:

طريقة العمل:

1- افحص جسم ثمري ناضج يعود لعرهون الحقل *Agaricus campestris* المضلي الشكل، ولاحظ الأجزاء الأساسية الظاهرية المكونة له والمتمثلة بساق

مركزية stripe تسند قبعة دائرية cap (قلنسوة pileus) تحتوي على العديد من الغلاصم Gills أو الصفائح الخيشومية Lamellae المرتبة قطرياً على السطح الأسفل للقبعة. تكون الطبقة الخصيبة محمية ببرقع جزئي ممتد من حافة القبعة حتى الساق وعندما يتمزق بعد النضج تبقى منه حلقة على الساق أسفل القبعة يطلق عليها الطوق Annulus.

2- يقطع الساق أو الحامل في منطقة اتصاله بالقبعة ثم تقلب القبعة وتفحص، لاحظ بأن الصفائح تكون بأطوال متساوية تمتد من بعضها البعض من المحيط إلى المركز، لونها قرمزي فاتح في الجسم الثمري الحديث ثم يتحول لونها إلى البني أو الأسود.

3- يؤخذ مقطع عمودي في القبعة ويفحص، لاحظ وجود ثلاث مناطق هي: الطبقة الخصيبة hymenium المكونة من البازيدات وخلايا صغيرة عقيمة، كما ستلاحظ أن البازيدات قد تكشفت بصورة متساوية، إضافة إلى ذلك لاحظ وجود طبقة من خيوط فطرية متماسكة تستند عليها الغلاصم يطلق عليها الطبقة تحت الخصيبة subhymenium، والطبقة الثالثة هي الترام trama وهي المنطقة الداخلية من الغلاصم، مؤلفة من نسيج فطري متكون من خيوط فطرية متشاركة بصورة غير منتظمة.

11- عزل الفطريات الهلامية Isolation of slime molds

يمكن عزل وتنمية عدد من الفطريات الهلامية مثل *Fuligo* و *Physarum* و *Stemonitis* على وسط الأكار، أوراق ترشيح معقمة وقلف أشجار معقم، ثم يعزز النمو على الأوساط الزرعية.

طريقة العمل:

1- يحضر وسط ضعيف من أكار دقيق الذرة (من نصف الكميات المقررة للوسط الكامل).

2- يصب 10- 15 مل من الوسط في كل طبق.

3- ينقل جزء من الجسم الثمري لهذه الفطريات (من الحامل) بواسطة ملقط معقم ثم يمسح الرأس الحافظي فوق سطح الوسط الزرعي لنشر الأبواغ على الوسط.

4- تحضن الأطباق لمدة 4-6 أيام عند درجة حرارة 25 مْ وسيتكون البلازموديوم، فإذا كان البلازموديوم المتكون ضعيف ينبغي نشر مسحوق ناعم من الشوفان على الوسط الزرعي.

5- تعمل شرائح زجاجية من النموات الفطرية وتفحص تحت المجهر للتعرف على أنواع الفطريات المعزولة (لوحة 6 - 5).

ملاحظة:

يمكن استخدام قلف الأشجار المعقم كوسط للنمو بدلاً من دقيق الذرة. الفطريات الهلامية قد تحافظ على نموها في الوسط الزرعي من خلال نقلها بشكل دوري إلى وسط جديد وهذا يكون واضح جلياً بالنسبة للفطر *Physarum polycephalum*. ويمكن متابعة حركة وسريان البروتوبلازم في عروق البلازموديوم باتباع الطريقة التالية:

طريقة العمل:

1- يحضر وسط أكار ضعيف مكون من 3 غم مالتوز و 1 غم ببتون.

2- يذاب 20 غم أكار في لتر ماء مقطر ثم يعقم بالموصدة، يصب في أطباق بتري وبكميات قليلة جداً لكي تشكل طبقة رقيقة وشفافة وبما يشبه الفلم.

3- توضع قطعة صغيرة من البلازموديوم على سطح الوسط الزرعي.

4- تحضن الأطباق لفترة 12-24 ساعة ثم تفحص ، لاحظ أنسياب وسريان البروتوبلازم في عروق البلازموديوم من خلال الفحص المجهري بوضع الطبق مباشرة على مسرح المجهر.

ثانياً: إنماء وزراعة الفطريات Cultivation of Fungi

تحتاج الفطريات كبقية الأحياء غير ذاتية التغذية إلى مواد غذائية وظروف بيئية مناسبة لزراعتها ونموها، فالوسط الزرعي المناسب لزراعة الفطريات يجب

أن يحتوي على المواد الغذائية والعناصر الأساسية لنموها إضافة إلى ضرورة توافر الظروف البيئية المهمة مثل درجة الحرارة، درجة الأس الهيدروجيني، التهوية، الإضاءة وغيرها. وعند زراعة الفطريات على الأوساط الزرعية يجب محاكاة الظروف البيئية الطبيعية قدر الإمكان، كتنمية الفطريات المحبة للحرارة العالية أو المنخفضة، أو الفطريات التي تنمو على السطوح المكشوفة المعرضة لأشعة الشمس المباشرة فهي تحتاج إلى كمية أكبر من الضوء أثناء التحضين وهكذا. وهناك نقطة مهمة أخرى تخص الفطريات المؤاكلة commensally أو المعايشة symbiotic فهي قد تحتاج أثناء زراعتها إلى وجود كائن حي آخر والذي غالباً ما يكون فطراً آخر، وعند الحاجة إلى مزرعة نقية من هذا النوع من الفطريات يمكن في البداية تنمية الفطر المؤاكل وتلقيح الوسط الزرعي فيما بعد بالفطر الرئيسي.

يتطلب الحصول على مزرعة نقية لفطر ما تعقيم الوسط الزرعي وتلقيحه بلقاح من مزرعة نقية غير ملوثة باستخدام أبرة التلقيح أو الناقل Loop المعقم وتحت ظروف معقمة باتباع ما يسمى بطريقة التقنية المعقمة Aseptic Technique. الأطباق بعد زرعها تحضن في الحاضنة عند درجة حرارة مناسبة وغالباً ما تكون 25 مْ ولوقت كاف لغرض نموها وتكوين مزرعة جديدة للفطر.

تقسم الأوساط الزرعية المستخدمة في زراعة وتنمية الفطريات إلى نوعين هما الأوساط السائلة Liquid media والأوساط الصلبة Solid media والأخيرة تختلف عن السائلة باحتوائها على المادة المصلبة للوسط وهي الاكار Agar، وكما ورد في موضوع الأوساط الزرعية.

1- تجديد المزارع الفطرية Maintenance of fungal cultures

ان عملية إدامة تواجد الفطريات بشكل دوري في المختبر يتطلب تجديدها وذلك بنقلها من المزارع القديمة إلى مزارع جديدة في أطباق بتري على فترات زمنية محددة ومختلفة تعتمد على نوع الفطر ونوع الوسط الزرعي. ان تجديد المزارع

الفطرية يجعلها تحتفظ بكامل صفاتها المظهرية والفسيولوجية والحيوية لغرض استخدامها عند الحاجة وهي نشطة.

المواد:

1- وسط زرعي صلب مناسب وغالباً ما يستخدم وسط PDA.

2- أطباق بتري معقمة.

3- أبر تلقيح.

4- مصباح غازي أو كحولي.

5- مزارع من الفطريات المطلوب تجديدها.

طريقة العمل:

1- يحضر الوسط الزرعي ويعقم ثم يصب في الأطباق.

2- تعقم أبرة التلقيح بإمرارها على لهب نار حتى الإحمرار ثم يبرد طرف الأبرة قبل نقل جزء من المزرعة بغمسها في حافة المزرعة الفطرية.

3- ينقل جزء من مزرعة الفطر باستخدام الأبرة المعقمة إلى وسط جديد بعد أن يرفع غطاء الطبق بشكل مائل من الجانب وبما يسمح بدخول أبرة التلقيح على أن يتم ذلك قرب لهب النار.

4- بعد اكتمال عملية النقل تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ بشكل مقلوب لمنع دخول الملوثات إلى الطبق.

5- عند التأكد من نمو الفطريات في المزارع الجديدة وبدون تلوث (يفضل أن تغلق حافة الطبق باستخدام الشريط اللاصق) وتوضع في الثلاجة عند درجة حرارة 4 مْ لحين استخدامها.

2- المزارع الصلبة Solid media

توجد الفطريات في الطبيعة بصورة حية وبأشكال مختلفة: كتل بروتوبلازمية، خلايا مفردة، خيوط فطرية، أبواغ ساكنة، أجسام حجرية أو تراكيب ثمرية.

ولذلك فمن البديهي أن الحصول على الفطر والتعامل معه يتطلب زراعته وتنميته في بيئة ملائمة، وغالبا" ما تستخدم البيئات الصلبة في هذا المجال ، وهي من أكثر الطرق شيوعاً.

المواد:

1- أطباق بتري حاوية على 15-20 مل من وسط اكار الدكستروز البطاطا PDA.

2- مصباح كحولي أو غازي.

3- أبرة تلقيح أو ناقل.

4- مزرعة نقية من الفطر المطلوب زراعته.

طريقة العمل:

1- تعقم أبرة التلقيح بإمرارها على اللهب حتى الإحمرار ثم يبرد عند حافة الوسط الزرعي الحاوي على الفطر.

2- يرفع غطاء طبق مزرعة الفطر مع مراعاة أن يكون الطبق قرب اللهب وفتح الغطاء بأقل زاوية ممكنة لإدخال أبرة التلقيح ورفع كمية كافية من النمو الفطري وسحب الأبرة وإعادة الغطاء.

3- يقرب الطبق المطلوب زراعته قرب اللهب ويرفع الغطاء بنفس الطريقة أعلاه لإدخال الأبرة الحاملة للنمو الفطري الذي يوضع في وسط الطبق.

4- تعقم الأبرة بعد انتهاء زراعة الفطر بإمرارها على اللهب قبل إعادة وضعها على الطاولة لتجنب التلوث.

5- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ بصورة مقلوبة لتَحاشي تكوين قطرات الماء على أغطيتها حيث تعيق عملية الفحص أو تسقط على الوسط وتعيق نمو الفطر. وبعد مدة 3-5 أيام تفحص الأطباق للتأكد من نمو الفطر ونقاوة المزرعة الجديدة.

ملاحظة:

يمكن تلقيح الأطباق بقطرة من العالق الذي يحضر مسبقاً من مزرعة الفطر باستخدام الناقل المعقم وتوضع في وسط الطبق المطلوب زراعته بدلاً من رفع جزء من النمو الفطري بأبرة التلقيح.

3- المزارع السائلة Liquid media

تعتبر المزارع السائلة من إحدى الطرق البسيطة للتعامل مع الفطريات التي تنمى في دوارق مخروطية تحتوي على الوسط الغذائي السائل حيث يوجد عدد كبير من الأوساط السائلة ، وأحيانا" يعتمد اختيار نوع الوسط حسب الفطر المطلوب تنميته وما يحتاجه من مواد غذائية لهذا الغرض، علماً بأن المزارع السائلة غالباً ما تستخدم في زراعة وتنمية الفطريات التي تنتج أيضات ثانوية خارج خلايا الفطر تطرح في الوسط الزرعي ويمكن استخلاصها منه. ويأخذ نمو الفطر في الوسط السائل أشكالاً مختلفة ففي الأوساط السائلة الثابتة قد يكون على شكل حصيرة من الغزل الفطري Mycelial mat على سطح السائل الزرعي أو عبارة عن تكتلات من الخيوط الفطرية الطافية على سطح السائل الزرعي، أما في الأوساط السائلة المتحركة (الهزازة) فإن النمو يكون على شكل عكورة Turbidity والوسط الزرعي يأخذ شكلا ضبابيا كثيفا أو يكون النمو على شكل كتل غزلية عالقة في الوسط السائل أو مترسبة في قاع الوسط الزرعي.

المواد:

1- دوارق مخروطية حجم 100 مل يحتوي كل منها 20 مل وسط دكستروز بطاطا سائل PD.

2- مصباح كحولي أو غازي.

3- ناقل أو ابرة تلقيح.

4- ماصات معقمة حجم 1.0 مل.

5- ماء مقطر معقم.

6- مزرعة نقية من الفطر المطلوب زراعته.

طريقة العمل:

1- يعقم الناقل باللهب حتى الإحمرار ثم يبرد طرفه بغمسه في حافة الوسط الزرعي الحاوي على الفطر ثم تؤخذ كمية من النمو الفطري وأبواغه بطرف الناقل قرب اللهب.

2- تنزع سدادة الدورق وهو مائل قرب اللهب بواسطة خنصر اليد الحاملة للناقل وتسخن الفوهة بإمرارها على اللهب.

3- يتم إدخال الناقل وحمولته في الدورق ويوضع اللقاح على سطح الوسط السائل ثم يسحب الناقل مباشرة وتسخن فوهة الدورق قبل إعادة غلقها بالسدادة. مع تجنب تماس السدادة مع أي شيء قرب الدورق، تعاد هذه العملية مع كل دورق.

4- يعقم الناقل بعد الانتهاء من تلقيح الدوارق وقبل إعادة وضعه في المكان المخصص له منعاً للتلوث.

5- تحضن الدوارق عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 3-5 أيام ثم يفحص النمو وطبيعته.

ملاحظة:

في الأوساط السائلة تحتاج بعض الفطريات إلى أن يكون الوسط متحركاً وهذا يتطلب وضعها في جهاز هزاز لتسريع النمو أو تسريع إنتاج الإيضات الثانوية من قبل الفطر.

الفصل السابع

نمو الفطريات وتكوين الأبواغ

Fungal Growth & Spore Formation

أولاً: نمو الفطريات Fungal growth

يعبر عن النمو بالزيادة في كتلة أو عدد الخلايا وحجمها، وفي كمية المادة البنائية غير الحية. إذاً النمو هو الزيادة في كتلة الفطر والتي تحدث بعد فترة معينة من الوقت أو الحضن، والنمو هو الحصيلة النهائية لمجموعة من التغيرات الشكلية والخلوية والجزيئية والتي ما زال البعض منها ولحد الآن غير معروف تماماً. هناك أنواع مختلفة لنمو الفطريات (لوحة 7-1) تمت مناقشتها من قبل العديد من المختصين منها أنواع النمو، آليات النمو، العوامل المؤثرة على النمو، طرق قياس النمو وغيرها من الأمور ذات العلاقة، وكما يأتي:

1- أنواع النمو Types of growth

من المسلم به أن مضمون النمو يكمن في تضاعف المادة الحية أو البروتوبلاست، ان تضاعف البروتوبلاست تحت الظروف المثالية يؤدي إلى زيادة في كتلته بمعدل النمو اللوغارتمي. توجد مظاهر مختلفة لتضاعف البروتوبلاست في الفطريات ، وأحيانا" في أنواع الغزل الفطري وغير الغزل الفطري، على سبيل المثال، في الخمائر البروتوبلاست يكون مميزاً بشكل خلايا صغيرة فالنمو هنا يعني زيادة في عدد الخلايا المستقلة، أما في الفطريات الخيطية فإن البروتوبلاست يكبر حجمه بصورة رئيسية في المساحة كنتيجة للنمو، وأدناه البعض من أنواع النمو المهمة والتي يمكن متابعتها في المختبر وهي:

أ- نمط النمو الخميري Yeast type growth

هذا النوع من النمو تتميز به الخمائر من خلال عملية معروفة للنمو والتكاثر وهي عملية التبرعم Budding، في هذه العملية يؤدي البروتوبلاست النامي من الخلية الأم إلى تكوين برعم والذي يكبر في الحجم ثم ينفصل ليكون خلية جديدة وتتكرر هذه العملية بشكل سريع عند توافر الظروف الملائمة للنمو لتكون الخلية الواحدة عددا كبيرا من الخلايا وقد تكون الخلايا الجديدة مجتمعة أو تشكل أحياناً سلاسل من الخلايا تشبه الخيط الفطري يطلق عليها الغزل الفطري الكاذب pseudomycelium أو الخيط الفطري الكاذب pseudohyha ، لملاحظة ذلك يمكن فحص شريحة زجاجية لخميرة الخبز *Saccharomyces cerevasiae* لغرض التعرف على التبرعم والخيوط الفطرية الكاذبة.(لوحة 7-1).

ب- النمو البلازمودي Plasmodial growth

هذ النوع من النمو يحصل في الفطريات الهلامية والتي يكون فيها جسم الفطر عبارة عن كتلة من البروتوبلاست عديدة الخلايا يطلق عليها البلازموديوم plasmodium، وهنا يتضاعف البروتوبلاست في أي جزء أو أي مكان من البلازموديوم مما يؤكد بأن أي جزء من البلازموديوم له القدرة على توالد نفسه والزيادة في الحجم أي النمو إلى بروتوبلاست جديد وبلازموديوم جديد أي فطر جديد، وهذا يمكن ملاحظته في المختبر بشكل واضح في أنسجة العائل المصاب بأحد الفطريات الهلامية. (لوحة 7-1).

افحص شريحة زجاجية لنموذج جذر نبات مصاب بالفطر *Plasmodiophora brassicae* ولاحظ وجود البلازموديوم داخل خلايا العائل التي تبدو متضخمة مقارنة بالخلايا السليمة.

جـ- النمو القمي Apical growth

يحصل هذا النوع من النمو في الفطريات الخيطية، حيث يحصل نمو الخيط الفطري عند قمة الخيط لكي يمكن الخيط من القيام بالتقدم المستمر للوصول إلى مساحة أكبر، ان المنطقة التي يحصل فيها النمو تنحصر ما بين 50-100 مايكرون من قمة الخيط في حين يكون الجزء المتبقي وهو الجزء الأقدم غير قادر على النمو.

اثبتت الفحوصات بأن جزء قمة الخيط الفطري hyphal tip يكون متميزاً عن بقية الخيط الفطري حيث تكثر فيه الحوصلات الإفرازية التي تحتوي على مواد اساسية لتكوين جدار الخلية وهي التي تساهم في تمدد الجدار عند القمة وهذا يحصل بالتزامن مع سريان أو حركة البروتوبلاست باتجاه القمة مما يؤدي إلى تمدد الخيط ونموه. يمكن ملاحظة ذلك من خلال فحص طرف الخيط الفطري بالمجهر الالكتروني (لوحة 7 -1).

د- النمو ثنائي الشكل Dimorphic growth

ان للعديد من الفطريات القدرة على تغيير طبيعة نموها بين الشكل الخميري والشكل الخيطي (الغزل الفطري)، تبعاً للظروف البيئية وتعرف هذه الحالة بازدواج الشكل Dimorphism، وهي صفة مميزة لأنواع من الفطريات اللاقحية والكيسية والبازيدية والناقصة، وتظهر عدة فطريات ممرضة للإنسان ازدواجية الشكل، فيكون طور الخميرة yeast form متطفلاً وطور الغزل الفطري hyphal form مترمماً (لوحة 7-1). ومن وجهة النظر العملية فإن هناك اهتماماً كبيراً في فهم آليات تحولات ازدواج الشكل. فضلاً عن ذلك فإن ازدواج الشكل يوفر نظام نموذجي لدراسة تكوين الشكل Morphogenesis.

2- العوامل المؤثرة على نمو الفطريات Factors affecting fungal growth

تحتاج الفطريات الى بعض الظروف الفيزياوية والمتطلبات الكيمياوية المثالية لنموها وايضها، وبصورة عامة لوحظ أن الفطريات تظهر لمعظم هذه العوامل احتياجاً واطئاً وعالياً ومثالياً، ولكن تبقى الحاجة المثالية تدعم أفضل نمو فطري وبعبارة أخرى فإن الاحتياجات الواطئة والعالية تمثل نقاط محدودة والتي بعدهما لا يحصل أي نمو للفطر وان المدى المحدد عند هاتين النقطتين يمثل حاجة الفطر إلى اي عامل من هذه العوامل. ان العمليات الحيوية للخلية الفطرية وتفاعلاتها الايضية تشير إلى احتياجاتها لعوامل فيزياوية وكيمياوية، ولكون نمو الفطريات يتأثر بعوامل بيئية مختلفة، سيتم التركيز في هذا الجزء على عوامل كيمياوية وفيزياوية معينة وجد بأنها تؤثر كثيرا في نمو الفطريات.

العوامل الفيزياوية Physical factors

ان التفاعلات الايضية المختلفة التي ترافق النمو والتي تشمل عدداً كبيراً من التفاعلات الانزيمية كل منها يمكن أن يكون له حاجته الخاصة من الظروف الفيزياوية. وفي الحقيقة فإن عمليات الخلية الفطرية المختلفة أو حتى التفاعلات التي تحصل فيها تتطلب بصورة واسعة احتياجات لعوامل فيزياوية مختلفة. بصورة عامة ان الحاجة المثالية للنمو تتمثل في النقطة التي يحصل فيها أكبر عدد من التفاعلات أو العمليات الايضية داخل خلية الفطر، وتكون أما في معدلها المثالي أو على الأقل في معدلها المناسب للنمو، بالإضافة إلى ذلك فإن الحاجة إلى عامل واحد خاص قد تكون متحكمة بواسطة عوامل أخرى أيضاً.

وتشمل العوامل الفيزياوية درجة الحرارة، درجة الأس الهيدروجيني pH، الرطوبة النسبية، التهوية، الضوء والإشعاع المؤين وغير المؤين، وسوف يتم تناول تأثير هذه العوامل على النمو وكما يأتي:

درجة الحرارة Temperature

الفطريات بصورة عامة تتوقف عن النمو في درجات الحرارة العالية والتي تتجاوز الـ 40 مْ، كما تتوقف فعالياتها في درجة الحرارة دون 0 مْ، ولكن مهما يكن

فإنها تتكيف لكي تعيش. ان درجة الحرارة المثلى للفطريات لا تقع في منتصف الطريق بين النقاط العالية والواطئة. ينحصر المدى الواطئ من درجة الحرارة لمعظم الفطريات بين 0-5 مْ ولكن بعضها له القدرة على النمو الجيد تحت درجة الانجماد والتي تصل حتى -8 مْ مثل الفطر *Cladosporium*، في حين معظم الفطريات غير قادرة على النمو فوق مدى درجات الحرارة العالية الذي يتراوح ما بين 35-40 مْ ولكن مع ذلك توجد بعض الفطريات القادرة على النمو قرب هذه الحدود مثل الفطر *Rhizopus* الذي ينمو بشكل جيد حتى عند درجة حرارة 40 مْ، المعروف أن غالبية الفطريات تنمو بشكل أفضل (ولكن قد يكون ليس مثالياً) عند درجة حرارة 25 مْ.(تجربة1).

درجة الأس الهيدروجيني pH

ان اهمية درجة الاس الهيدروجيني مرتبطة بشكل أساسي بعلاقتها بقدرة الفطر على أخذ المغذيات المختلفة من الوسط الزرعي أو البيئة التي ينمو فيها، وبذلك فإن استجابة النمو مفهومة على أساس الاختلاف في معدلات الأخذ، وبمعنى آخر فإن هذا العامل يؤثر على جاهزية العناصر الغذائية الموجودة في الوسط الزرعي.

من المعروف ان الفطريات أكثر تحملاً لأيونات الحامض (H^+) من أيونات القاعدة (OH^-)، حيث تفضل الفطريات النمو في الوسط الحامضي أكثر من الوسط القاعدي. لكن تنمو معظم الفطريات عند مدى يتراوح ما بين pH 4-8 ولو ان هناك بعض الفطريات التي يكون لها مدى أضيق أو أوسع للتحمل، فمثلاً ينمو الفطر الفطر *Cladosporium* عند الأس الهيدروجيني pH 6.5 بيما ينمو الفطر *Alternaria* عند الأس الهيدروجيني pH 7.5 (تجربة 2).

الرطوبة النسبية Relative humidity

تحتاج الفطريات عموماً إلى مستوى عالي من الرطوبة لنموها وأيضها. ولو أن الماء الحر ضروري لنمو الفطريات كما هو الحال في الكائنات الحية الأخرى، فإن النمو يتطلب وجود طبقة رقيقة من الماء حول خلاياها والتي تنتشر خلالها (أي الطبقة المائية) المغذيات والانزيمات، ومع ذلك فإن هناك القليل من الأنواع الراقية بإمكانها النمو بدون الماء لفترة معينة معتمدة في ذلك على ما موجود منه في الخيوط الفطرية.

ان الرطوبة النسبية التي تتراوح ما بين 95-100% تعطي أفضل نمو لمعظم الفطريات مثل *Botrytis* و *Sclerotium* والرطوبة النسبية التي دون المعدل 80-85 % قد تكون مثبطة للنمو كما في الفطر *Aspergillus*، بالإضافة إلى كون الرطوبة النسبية مهمة لكل الفعاليات والعمليات الأيضية إلا أن العديد من الدراسات تشير إلى دورها الأساسي في تكوين الانزيمات المحللة من قبل الخلية الفطرية خصوصاً عند الرطوبة النسبية العالية والتي تصل إلى 100 %.

التهوية Aeration

يزداد نمو الفطريات عموماً بزيادة التهوية وان تنمية الفطريات في المزارع الهزازة يكون أكبر مما هو في المزارع الساكنة لأن عملية التحريك أو الهز Shaking توفر ما يحتاجه الفطر من الاوكسجين لنموه ولفعالياته الأيضية، فقد وجد بأن الوزن الجاف للفطر *Penicillium expansum* المنمى في مزرعة هزازة يكون أكبر مما هو في المزرعة الساكنة في جميع مراحل النمو، ومن خلال متابعة عدد من العمليات والتفاعلات المرافقة للنمو تبين بأن فعالية الأنزيم Polygalacturonase هي أيضاً أكبر في حالة المزرعة الهزازة مما يشير إلى أن التهوية تدعم تخليق أو إفراز هذا الانزيم، ويرجع تأثير التهوية في النمو إلى التغيرات الكمية والنوعية في فسلجة الفطر، فإن الزيادة في مستويات الأوكسجين تؤدي إلى معدلات عالية من التنفس الخلوي وهذا يعني إنتاج عالي للطاقة والذي

يرافقه زيادة في الفعاليات الخلوية والذي بدوره يؤدي الى زيادة في النمو. مع ذلك قد يكون مستوى الأوكسجين اللازم للنمو المثالي واطئاً فعلى سبيل المثال يكون نمو الفطر *Candida boidinii* أفضل تحت 0.008 ضغط جو أوكسجين مما هو تحت 0.08 ضغط جو أوكسجين.

ملاحظة:

إجراء تجربة عن تأثير التهوية على النمو بتنمية بعض الفطريات في بيئة سائلة وتقسم إلى مجموعتين أحدهما توضع في حاضنة هزازة والاخرى في حاضنة غير هزازة ومقارنة الفرق بينها.

الضوء المرئي Visible light

تتأثر عملية النمو، وكما هو الحال بالنسبة لتكوين وإنبات الأبواغ، بالضوء والإشعاعات المرئية منه (800-400 مليمايكرون). يظهر الضوء تأثيراً محفزاً ومثبطاً لنمو الفطريات فقد وجد أن الضوء يحفز نمو أنواعا معينة ويثبط نمو أنواعا أخرى، بينما هناك أنواع أخرى لا يؤثر فيها الضوء. يوجد نوعان من تأثيرات الضوء على تطور الخيوط الفطرية الأول هو الاستجابة غير الموجهة والتي تتضمن تحفيز أو تثبيط معدل النمو بدون أي علاقة اتساعية لاتجاه أشعة الضوء، والثاني هو الاستجابة الموجهة لنمو الغزل الفطري للضوء والتي تحمل علاقة اتساعية واضحة لمصدر الضوء، قد تكون هذه الاستجابة الموجهة مختصة بالحركة التي نسبت إلى التنسيق الذاتي أو تكون ذات علاقة بالنمو عندما يطلق عليها بالانتحاء الذاتي. قد يحفز الضوء النمو بقدر كبير ويعزى ذلك إلى الزيادة في تثبيت ثاني أوكسيد الكاربون كما أن الضوء يحفز إضافة مجموعة الكاربوكسيل الاختزالية لحامض السكسنيك إلى حوامض ألفا – كيتوكلوتاريك، كما هو الحال مع الفطر *Blastocladiella emersonii*. وهناك مجموعة أخرى من البيانات تشير إلى أن الضوء يكون عاملاً مثبطاً لنمو الفطريات فيتوقف النمو عند حضن الفطريات في الضوء، ومثال على ذلك الفطر *Botrytis squamous*،

وعندما ينقل الفطر إلى الظلام يعود النمو من جديد. ويوحي هذا بان الضوء يبعث عددا من التغييرات الأيضية في الفطريات ومنها مثلاً تخليق بعض الصبغات كما حصل مع الفطر *Cladosporium manosii* حيث حفز الضوء على تخليق صبغة الميلانين البنية. ان الاليات التي يظهر بموجبها الضوء تأثيراته يصعب تحديدها بدقة، ففي سلالات الفطر *Candida albicans* وجد إن الضوء يثبط تخليق البروتين ويحفز تخليق الكاربوهيدرات. أما في أنواع الفطر .*Penicillium* spp فإن تثبيط النمو بواسطة الضوء يرتبط بانخفاض تخليق الجدار الخلوي. لقد درست تأثيرات الإشعة فوق البنفسجية على نمو الفطريات وتبين أنها تسبب الطفرات أو الموت لأنها قد تؤثر على الحوامض النووية مباشرة أو تسبب ترسب السايتوبلازم، أما الأشعة المؤينة مثل أشعة X فهي الأخرى تؤثر في النمو وتسبب إعاقة الإنقسام الخلوي، كما إنها قد تسبب تغيرات في النفاذية، على العموم فإن الأشعة المؤينة الاخرى إضافة الى أشعة X مثل أشعة ألفا وبيتا وكاما أيضاً مؤثرة بل قد تكون قاتلة (تجربة 2).

العوامل الكيمياوية Chemical factors

ان الكثير من العوامل الكيمياوية تعمل كمحفزات للنمو Activators أو كمثبطات للنمو Inhibitors، ولكون الفطريات من الكائنات الحية الفاقدة للكلوروفيل سميت بالكائنات غير ذاتية التغذية heterotrophs لإنها تعتمد كلياً على المادة غير الحية بشكل مترمم أو على الكائنات الحية الأخرى بشكل متطفل ، فهي تحصل على غذائها بفعل نشاطها الانزيمي والامتصاص، وان المدى الذي يتمكن فيه الفطر من تحليل المغذيات وأخذها من بيئة كيمياوية معينة ثم تأيضها هو الذي يحدد فيما إذا كان بمقدور الفطر البقاء في تلك البيئة.

الكاربون Carbon

يعد الكاربون عنصراً أساسياً لتركيب ووظيفة الخلية الفطرية، وتعتمد الفطريات على بيئتها في الحصول على مصادر مختزلة ومعقدة نسبياً من الكاربون، ولكون الفطريات كائنات ماصة لجزئيات مركبات الكاربون فعليها أن تنقل هذه الجزئيات المعقدة عبر الغشاء البلازمي قبل أن يتم استغلالها لغرض النمو والتكشف (التطور). ان الغشاء البلازمي حاجز فعال لحركة معظم مصادر الكاربون وعليه فإن للفطريات العديد من الأنظمة المتكيفة لأخذ المواد الغذائية من البيئة التي تتواجد فيها. تقوم الفطريات أولاً بإفراز عدد من الانزيمات خارج خلوية والتي تتبنى تكسير الجزيئات العضوية الكبيرة إلى وحدات صغيرة قابلة للنقل والامتصاص. وقد يتم اخذ هذه الجزيئات عن طريق الانتشار البسيط كما هو الحال في بعض الدهون، إلا أن معظم مصادر الكاربون تؤخذ بالانتشار الميسر أو بالنقل الفعال، ومن بين مصادر الكاربون القابلة للاستغلال من قبل الفطريات هي السكريات والكحولات واللكنين والأحماض الدهنية والدهون والأحماض الأمينية.

ان تركيز مصدر الكاربون ونوعه يحدد طبيعة النمو حسب نوع الفطر والظروف البيئية الأخرى، كما أن وجود مواد كيمياوية أخرى في الوسط يؤثر في عملية استغلال مصدر الكاربون (تجربة 4).

النتروجين Nitrogen

تستخدم النترات والنتريت والامونيوم واليوريا والأحماض الأمينية كمصادر نتروجينية من قبل الفطريات بشكل واسع إضافة الى قدرتها في الحصول على النتروجين من عدد كبير من مركبات أخرى باستثناء النتروجين الجوي، وتتضمن هذه المصادر البروتينات والببتيدات والأميدات والبيورينات والبيريميدات.

حيث تتمكن الفطريات التي تفرز أنزيم البروتيز من النمو جيداً على الأوساط الحاوية على البروتينات والببتيدات والذي يحلل هذه المركبات إلى وحدات صغيرة قابلة للامتصاص. أما الأحماض الأمينية فقد اعتبرت مصادر نتروجين فقيرة جداً

لنمو الفطريات إلا ان استغلال الأحماض الأمينية من نوع D.amino acids يعتمد على وجود الأنزيم D.amino acid oxidase وهو الانزيم الذي يساعد على إزالة المجموعة الأمينية وبما ان عددا من الفطريات قادر على إنتاج هذا الإنزيم فهي قادرة على استغلال هذا النوع من الأحماض الأمينية.

ان النترات والنتريت تدخل الخلية الفطرية بطريقة الانتشار Diffusion فإن العوامل الأساسية المؤثرة في استغلالها ستكون تلك المتضمنة عمليات تمثيلها وليس نقلها إلى داخل الخلية، ومن هذه العوامل غياب الانزيمات المختزلة لهما وهما انزيم nitrate reductase وانزيم nitrite reductase (علماً بان النتريت قد يكون أحياناً مثبط لأنظمة معينة). ومن جهة أخرى فإن استغلال المركبات المنقولة بنشاط مثل الأمونيوم واليوريا والأحماض الأمينية يكون أكثر تعقيداً لأن ذلك يتم على كل من سطح الخلية وداخل الخلية وتؤثر على الحالتين عوامل عديدة، فمثلاً تؤثر درجة الحرارة ودرجة الاس الهيدروجيني على نشاط جزيئة الناقل بينما مصادر الكاربون ومستوى الاوكسجين تؤثر على تجهيز الطاقة ATP الضرورية للنقل الفعال وهكذا. ان معظم المركبات النتروجينية يتم تحليلها في الأقل جزئياً إلى الامونيوم قبل تمثيلها (تجربة 5).

العناصر اللاعضوية Inorganic elements

تعد العناصر اللاعضوية عوامل مهمة ومؤثرة في نمو وتطور الفطريات، ولكن تحتاجها الفطريات بكميات أقل من حاجتها للكاربون والنتروجين. ومن المعروف بأن هذه العناصر تقسم إلى مجموعتين اعتماداً على الكميات المطلوبة لضمان نمو الفطر بالحد الأدنى أو المثالي، فالعناصر الكبرى Macroelements (وتسمى أيضاً المغذيات الكبرى macronutrients) هي العناصر اللاعضوية التي تحتاجها الفطريات بكميات كبيرة نسبياً وتشمل الفوسفور والبوتاسيوم والمغنيسيوم والكبريت وأحياناً الكالسيوم، أما العناصر الصغرى microelements (وتسمى أيضاً المغذيات الصغرى micronutrients أو العناصر النادرة أو الضئيلة trace elements) هي العناصر اللاعضوية التي تحتاجها الفطريات بكميات اقل بكثير من العناصر الكبرى وهذه تشمل النحاس والحديد والمنغنيز والزنك وأحياناً المولبدين، وقد تحتاج بعض الفطريات عناصر أخرى مثل البورون والكوبلت والصوديوم.

ان دور العناصر الكبرى وطرق تأثيرها على نمو الفطريات اصبح واضحاً ومعروفاً، فمثلاً الفوسفور بالإضافة إلى دوره في تركيب الأحماض النووية والدهون المفسفرة والفيتامينات فإنه يعمل على خزن الأيونات الموجبة كالمغنيسيوم والحديد والبوتاسيوم، اما الكالسيوم فله تأثيرات عديدة على غشاء الخلية لأن أيونات الكالسيوم ترتبط بسرعة بالغشاء البلازمي لتشكل مواقع ارتباط مهمة على الغشاء، والكبريت يدخل في تركيب الأحماض الأمينية، أما المغنيسيوم فدوره مهم لاستقرار وثبات كل من ATP وRNA والانزيمات. أما الدور الرئيسي للبوتاسيوم فينحصر في تنظيم الجهد الاوزموزي الخلوي لذا فإن العديد من التأثرات الوظيفية لأيونات البوتاسيوم ترتبط بدورها في عمليات النقل من وإلى الخلية الفطرية.

أما العناصر الصغرى فإن دورها الأساسي ينحصر في كونها عوامل مساعدة للأنزيمات، فالنحاس لانزيمات الأكسدة المختلفة، والحديد للبروتينات الهيمية، والمنغنيز للانزيمات المحللة وأنزيمات مرتبطة بالعمليات الأيضية. أما الصوديوم فتحتاجه الفطريات البحرية أكثر من الفطريات الأخرى لدوره التنافذي بالإضافة إلى دوره التغذوي وهناك معلومات مؤكدة حول علاقة أخذ الصوديوم بأخذ عناصر أخرى مثل الفوسفات (تجربة 6).

الفيتامينات Vitamins

ان جميع الفطريات تحتاج إلى الفيتامينات، ومن المعروف فإن قسما من الفطريات تستطيع أن تصنع ما تحتاجه من الفيتامينات من مواد سلفية بسيطة هذه تسمى بذاتية التغذية للفيتامينات auxoautotrophs، أما القسم الآخر فهي غير قادرة

على تخليق الفيتامينات وتعتمد على التجهيز الخارجي للفيتامينات وهذه تسمى غير ذاتية التغذية للفيتامينات auxohetrotrophs، وتختلف الفطريات في حاجتها للفيتامينات وهذا الاختلاف وجد حتى في السلالات المختلفة للنوع الواحد.

الفيتامينات مركبات عضوية، فهي ليست مواد غذائية ولكنها تعمل بطرق أكثر دقة وتأثير لأنها توظف داخل الخلية الفطرية كمرافقات أنزيمية أو أحد مكوناتها، وان الحاجة إليها تكون بتراكيز واطئة تتراوح ما بين 0.01 - 0.1 مايكروغرام / مل.

ومن الفيتامينات ذات التأثير الواضح على نمو الفطريات وتطورها وتكشفها هي الثايمين، البيوتين، الرابيوفلافين، البايربروكسين، الثياسين، البانتوثنيت وحامض الفوليك.

تحتاج معظم الفطريات الثايمين (فيتامين B1) أكثر من أي فيتامين آخر وكما هو معروف فانه يتكون من وحدتين هما البيريميدين والثايزول، وقد تحتاج الفطريات جزيئة الثايمين كاملة أو إحدى الوحدتين المكونة له، وقد استخدمت هذه الصفة لتمييز الأنواع المختلفة من الفطر *Pythium*، ووجد أن النوع *P. deliense* لا يحتاج إلى الثايمين، أما النوع *P.vexan* فيحتاج إلى جزيئة الثايمين كاملة، والنوع *P.anadrum* يحتاج إلى وحدة البيريميدين فقط.

يتم تحويل الثايمين داخل الخلية الفطرية إلى ثايمين – بايروفوسفات وهو الشكل الفعال للثايمين ويعمل كمرافق انزيمي لعدد من الانزيمات في العمليات الايضية والتي تساعد على إزالة أو نقل مجاميع الالديهايد.

اما البايوتين فيأتي في المرتبة الثانية بعد الثايمين من حيث احتياج الفطريات له في النمو، ويرتبط هذا الفيتامين مع اللايسين في موقع فعال من انزيمات معينة من مجموعة أنزيمات الكاربوكسيل Carboxylase ويعرف هذا المعقد بالبايوسايتين Biocytin وهو يعمل كمرافق انزيمي في نقل ثاني أوكسيد الكاربون أو مجاميع الكاربوكسيل.

والرايبوفلافين (فيتامين B2) هو جزء حيوي من مرافقي الانزيمين فلافين أحادي النيوكليوتيد (FMN) وفلافين ادنين ثنائي النيوكليوتيد (FAD) ، تشترك

هذه المرفقات الأنزيمية في عمليات نقل الالكترونات وذرات الهيدروجين والتي تساعد في أنواع مختلفة من الأنزيمات، أما دور البايريدوكسين (B6) فينحصر في مشاركته في زيادة كفاءة المرافق الانزيمي فوسفات البايريدوكسال والذي يدخل في التفاعلات التي تتضمن نقل المجاميع الأمينية بين الجزيئات ولذلك فهو عامل مهم في تفاعلات نقل الأمين.

وبخصوص الثياسين (حامض النيكوتين) الذي يتم تحويله داخل الخلية إلى نيكوتين أمايد وهو جزء رئيسي من مرافقي الانزيمين النيكوتين أمايد ادنين ثنائي النيوكليوتايد (NAD) والنيكوتين أمايد ادنين ثنائي النيوكليوتايد فوسفيت (NADP)، وهذه الانزيمات لها أهمية كبيرة في التفاعلات التي تتضمن نقل الالكترونات. أما حامض الفوليك ومشتقاته فهي مرافقات أنزيمية تشترك في نقل المركبات الحاوية على ذرة كاربون واحدة (تجربة 7).

منظمات النمو Growth regulators

تعد منظمات النمو من عوامل النمو المهمة لكنها تختلف عن الفيتامينات لأنها لا تعمل كمرافقات انزيمية كما أنها فعالة بتراكيز أعلى من تراكيز الفتيامينات، وتشمل مركبات مختلفة مثل حامض الاسكوربيك، الكحول الاتيلي، حامض الخليك، حامض اللاكتيك وبعض الحوامض الأمينية مثل الكولين والادنين، كما ان الهرمونات النباتية مثل حامض الجبرليك والاوكسينات (اندول حامض الخليك IAA ونفثالين حامض الخليك NAA). ومن المعروف بأن هذه المواد لها تأثيرات متباينة في عملية تكوين التراكيب التكاثرية والأجسام الثمرية حسب نوع الفطر وتركيز المادة المستخدمة.

ملاحظة:

يمكن إجراء تجربة عن تأثير حامض الجبرليك (50 ملغم / لتر)، اندول حامض الخليك (10 ملغم/لتر) بإضافة كل منهما إلى وسط زرعي اساسي مثل PDA. تعتمد نفس الخطوات الواردة في تجربة (7) الخاصة بالفيتامينات.

3- طرق قياس معدل النمو Methods of measuring growth

يمثل النمو الزيادة في كتلة الفطر بعد فترة زمنية محددة ولابد من اعتماد طريقة معينة لقياس معدل النمو، للنمو أشكال مختلفة كما ورد سابقاً وهذا يعني بأن هناك أكثر من طريقة لقياس النمو اعتماداً على شكل الفطريات سواء كانت خيطية أو غير خيطية، وعلى ظروف تنمية الفطريات في أوساط زرعية صلبة أو سائلة، ومن بين أهم الطرق المستخدمة لقياس نمو الفطريات ما يأتي:

النمو الشعاعي (القطري) Radial growth

وتستخدم هذه الطريقة لقياس الزيادة في قطر مستعمرة الفطر النامي على الوسط الصلب في وحدة الزمن، وهي من أبسط واسرع الطرق المستخدمة في المختبرات لقياس معدل النمو تأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة بشكل علامة (+) ويؤخذ معدلهما والذي يمثل النمو في وحدة الزمن، إلا أن هذه الطريقة لا تخلو من سلبيات فهي غالباً ما تكون محدودة عند قياس قطر المستعمرة لانها لا تشمل النمو العمودي للخيوط القطرية خصوصاً عند استخدامها لقياس معدلات النمو لعدة فطريات مختلفة في النمو العمودي لخيوطها الفطرية مما يتطلب البحث عن طريقة أكثر ملائمة مثل طريقة الوزن الجاف التي ستوضح لاحقاً. هذه الطريقة تعتمد أساساً على تقدير الزيادة الخطية أو الامتداد الخطي linear extention في الخيط الفطري ، حيث أن الامتداد الخطي هو مقياس حقيقي للزيادة في النمو، ويمكن استخدام المسطرة العينية المجهرية لقياس الامتداد الخطي تحت المجهر.

الوزن الجاف Dry weight

ان هذه الطريقة شائعة الاستخدام في قياس نمو الفطريات المنماة في الأوساط السائلة، وفي الحقيقة تعد الطريقة الأكثر ملائمة والأكثر دقة لقياس النمو في وحدة الزمن، لأن الغزل الفطري يتم عزله عن الوسط بطريقة الترشيح على ورقة ترشيح معلومة الوزن مسبقاً ثم يجفف في فرن كهربائي عند درجة حرارة 60 مْ لمدة 24 ساعة ويبرد ثم يوزن ويستخرج وزن الورقة للحصول على وزن الغزل الفطري الجاف والذي يمثل النمو في وحدة الزمن، ومن أهم المحددات لاستخدام هذه الطريقة، أن لم نقل سلبياتها، هي الحاجة إلى كميات كبيرة من الغزل الفطري لأن كمية الوزن الجاف المقاسة غالباً ما تكون قليلة جداً لأنها تمثل في معظمها مواد الجدار الخلوي ولذلك تكون قليلة جداً خصوصاً عندما يتم قياس معدلات النمو في بداية عملية النمو.

عدد الخلايا Cell number

تستخدم هذه الطريقة لقياس نمو الفطريات وحيدة الخلية مثل الخمائر ويمكن حساب عدد الخلايا في الوسط الذي نمت عليه الخميرة باستخدام شريحة كريات الدم، الهيموسايتوميتر Haemocytomter، التي سيرد ذكرها في الجزء الخاص بالأبواغ. وأحياناً يتم إجراء قياس سريع وتقريبي لعدد الخلايا وهو قياس غير مباشر للعدد وذلك من خلال قياس عكورة المزرعة Turbidity باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وفيها يمكن تحويل درجة العكورة إلى عدد للخلايا من خلال اعتماد المنحنى القياسي stándard curve المعتمد على عدد الخلايا المستخرجة باستخدام شريحة كريات الدم ضد الكثافة الضوئية optical density، كما هو الحال في الطرق الأخرى توجد أيضاً محاذير من استخدام هذه الطريقة فعلى الرغم من تماثل معدلات نمو خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* التي تم قياسها بجهاز المطياف الضوئي وبواسطة الوزن الجاف إلا أن التقديرات المطلقة لعدد الخلايا في الطريقتين كانتا مختلفتين.

تركيز مكونات الخلية Concentration of cell components

ان هذه الطريقة مفيدة جداً في تقدير نمو الفطريات الممرضة للنبات لأنها تعتمد على تقدير الزيادة في مكونات خلوية معينة مثل الكايتين Chitin والكلوكوز أمين glucosamine كمقياس لنمو هذه الفطريات، وعلى سبيل المثال تم قياس نمو الفطر الممرض *Puccinia graminis tritici* في نسيج نبات الحنطة المصابة وذلك بتقدير كمية الكلوكوز أمين التي تم فصلها بطريقة الكروما توغرافيا حيث وجد بأن الكمية المفصولة تتناسب تناسباً طردياً مع نمو الفطر الممرض، كما تستخدم الستيرولات مثل الاركوستيرول ergosterol والكوليسترول cholesterol أدلة لقياس النمو الفطري. فقد لوحظ أن مستويات الاركوستيرول توازي مستويات الكايتين الذي بدوره يوازي معدلات نمو الفطر الممرض.

الأيض Metabolism

يمثل الأيض حركيات النمو في الفطريات وكثيراً ما تستخدم الفعاليات الأيضية في قياس نمو الفطريات، فقد اعتمد معدل إنتاج ثاني أوكسيد الكاربون لتقدير حركيات نمو الفطر *Saccharomyces lipolytica* في أجهزة التخمير. كما تم مراقبة نمو الفطريات الخيطية مثل الفطر *Trichophyton mentagrophytes* باستعمال الكلوكوز المشع Glucose – C^{14} وارتباطه بمكونات الخلية.

هناك الكثير من الفعاليات الأيضية التي تقوم بها الفطريات من خلال أيض الكاربون وأيض النتروجين وأيض المواد اللاعضوية والتي يمكن الاعتماد عليها في قياس معدلات النمو حسب نوع الفطر.

4- إظهار النمو في المختبر

Demonstrating of growth in the laboratory

يمكن توضيح وإثبات عملية نمو الفطريات في المختبر خلال الوقت القصير المحدد لفترة الدرس العملي التي لا تتجاوز 2-3 ساعات، وذلك باستخدام الأبواغ الداكنة والكبيرة الحجم للفطريات الناقصة السريعة النمو مثل الأجناس

وكذلك الأبواغ الكيسية الداكنة والكبيرة *Alternaria* و *Helminthosporium.* الحجم للفطرين *Sordaria* و *Anthostomella* . توضع عددا من الأبواغ على سطح وسط أكار زرعي في أطباق بتري وتحضن لمدة 8-12 ساعة قبل بدء فحصها أثناء الدرس العلمي، لمتابعة وملاحظة الفطريات بعد انتهاء فترة الحضن، يرفع غطاء الطبق وتوضع أغطية شرائح زجاجية على الأبواغ النابتة. لاحظ وعلى فترات زمنية متقاربة خلال ساعات الوقت العملي، (كل 15 دقيقة) وسجل الملاحظات التي تحصل على أنبوبة الانبات، تكوين التفرعات، الحواجز داخل الخيوط الفطرية والتراكيب الأخرى التي يمكن مشاهدتها. أحياناً تكون عملية إنبات الأبواغ الكيسية قليلة أو بطيئة وهذا يتطلب تسخين الأبواغ الكيسية في فرن كهربائي فترفع درجة الحرارة حتى تصل إلى 70 مْ ثم يطفئ الفرن مباشرة، تترك الأطباق في الفرن لحين عودة درجة الحرارة إلى 30 مْ أو أدنى. بعد ذلك يتم إخراجها من الفرن وتبقى عند درجة حرارة الغرفة حتى يحين وقت الفحص.

ثانياً: تكوين وانبات الأبواغ Spore Formation and Germination

الأبواغ هي وحدات تكاثر دقيقة ذات أشكال وأحجام وألوان مختلفة تكونها جميع الفطريات تقريباً وعلى الأقل في طور واحد من دورة حياتها، وتنتشر الأبواغ عادة بواسطة الرياح والماء، والحشرات، والحيوانات وتكون عاملاً مهماً لتوطن الفطريات في مواطن وبيئات عديدة. ولكونها عامل الانتشار الرئيسي للفطريات فقد حظيت باهتمام مستمر من قبل الباحثين والمختصين، وعلى الرغم من استخدام العديد من التسميات والمصطلحات للأنواع العديدة من الأبواغ فهناك نوعان أساسيان من الأبواغ اعتماداً على انتاجها ، أما بالطرق الجنسية وتسمى الأبواغ الجنسية Sexual spores أو بالطرق اللاجنسية وتسمى الأبواغ اللاجنسية Asexual spores، والأخيرة فيها أيضاً نوعان حسب طريقة تكوينها هي الأبواغ الحافظية sporangiospores والأبواغ الكونيدية Conidiospores.

ان عملية تكوين الأبواغ وإنباتها تمر بمراحل عديدة تشمل:

1- تكوين أو إنتاج الأبواغ.

2- تفريق أو إطلاق أو تحرر الأبواغ.

3- نشر الأبواغ وانتقالها إلى مناطق جديدة.

4- فترة كمون أو سكون الأبواغ إن وجدت.

5- إنبات الأبواغ إلى خيط فطري وغزل فطري جديد.

ملاحظة:

تفتقر الأبواغ اللاجنسية إلى الفجوات لذلك يكون البروتوبلازم مركزاً جداً وان فترة حيويتها قصيرة ويكون لها القدرة على الإنبات السريع.

تكوين الأبواغ Spore formation

يبدأ تخصص الخلايا للشروع بعملية التكاثر المتمثلة بتكوين الأبواغ اللاجنسية والجنسية بعد نمو الفطر ونضجه في المراحل الأخيرة من طور النمو السريع وتكوين الغزل الفطري والزيادة في الوزن الجاف والحجم والصفات الأخرى.

أ- الأبواغ اللاجنسية

تتكون الأبواغ اللاجنسية خلال دورة حياة الفطر من اعداد كبيرة عند ملائمة الظروف البيئية ووفرة المغذيات، وقد تتكون في مثل هذه الظروف عدة أجيال من الأبواغ اللاجنسية، لهذه الأبواغ عادة القدرة على الإنبات في الحال بعد تحررها. أن الدورات المتكررة لإنتاج وتكوين الأبواغ في قسم من الفطريات الرمية تزيد من فرص استيطان هذه الفطريات على أنواع واسعة من الأوساط والبيئات.

تتكون مجموعة من الأبواغ اللاجنسية الحافظية sporangiospores في خلية فطرية محورة تعرف بالحافظة البوغية sporangium وهذه تكون بنوعين هي الأبواغ المتحركة (الحيوانية) zoospores وتتحرك بواسطة الأسواط Flagella وقد

تكون أحادية السوط أو ثنائية السوط، وطبيعة الأسواط في الفطريات أما اعتيادية (كرباجية) whiplash flagellum أو ريشية (ذو لواحق جانبية) tensel flagellum تبعاً للنوع. أما النوع الآخر من الأبواغ اللاجنسية فهي الساكنة أو غير المتحركة aplanospores والتي تكون فاقدة للأسواط (لوحة 7-2).

الأبواغ بنوعيها تتكون نتيجة لتجزئة محتويات الحافظة عديدة النوى إلى أجزاء وحيدة النواة ومن ثم يتكون غشاء يحيط بكل جزء أحادي النواة ثم بعد ذلك جدار خلوي ثم الأسواط إذا كانت الأبواغ مسوطة. قد تتكون ثقوب في جدار الحافظة لتحرير الأبواغ أو قد يتمزق الغلاف نتيجة للضغط الحاصل عليه بعد عملية نضج الابواغ مما يؤدي إلى تحرير الأبواغ وانتشارها، تحمل الحافظة البوغية على حامل متخصص يطلق عليه حامل الحافظة البوغية sporangiophore أما الأبواغ اللاجنسية اللاحافظية أي الأبواغ الكونيدية conidiospores التي لا تنتج داخل حافظة بوغية يطلق عليها ايضاً بالكونيدات conidia (ومفردها كونيدة conidium). ويعتقد أن الكونيدة تطورت من حافظة بوغية تحتوي على بوغ واحد اتحد جداره بجدار الحافظة البوغية. قد تتكون الكونيدات على سطح الخيوط الفطرية مباشرة وتكون جالسة أو محمولة على أطراف حوامل يطلق عليها بحوامل الكونيدات conidiophores وهذه الحوامل قد تكون منفردة أو قد تتجمع حوامل الكونيدات مكونة تراكيب ثمرية لاجنسية بأشكال مختلفة منها ما يشبه الحشية تسمى بالوسادة البوغية sporodochium في حين البعض الآخر يشكل ما يشبه الظفيرة الكونيدية synnema والنوع الثالث يتكون من تجمع حوامل قصيرة قائمة بصورة عمودية تسمى بالكويمة الكونيدية Acervulus والنوع الرابع عبارة عن تجمع حامل بوغي مركب كروي قاروي الشكل يسمى بالبكنيدة pycnidium (لوحة 7-3).

الأبواغ الجنسية Sexual spores

تتكون الأبواغ الجنسية بعد الانقسام الاختزالي الذي يعقب الاتحاد النووي لنواتين متوافقتين جنسياً، تكون بأنواع وأشكال مختلفة حسب نوع الفطر وهي: الأبواغ البيضية oospoers، الأبواغ اللاقمية zyyospres، الأبواغ الكيسية ascospores والأبواغ البازيدية basidiospores (لوحة 7-2)، تُعتمد الاختلافات في شكل وطريقة تكوين الأبواغ الجنسية كمعايير أساسية للتمييز بين المجاميع الرئيسية للفطريات فيما عدا مجموعة تصنيفية واحدة هي الفطريات الناقصة والتي لاتنتج أبواغا جنسية لافتقارها للطور الجنسي أو عدم اكتشافه لحد الآن، وسميت بالفطريات الناقصة بسبب عدم وجود طور جنسي في دورة حياتها، كما إن دور الهرمونات الجنسية في تكوين التراكيب التكاثرية الجنسية قد تم أثباته في العديد من الفطريات، إلا أن تفاصيل الخطوات الفسلجية والكيموحيوية لاتزال غير مكتملة في معظمها.

ان الأبواغ البيضية واللاقحية هي لاقحات سميكة الجدار تعاني من انقسام اختزالي بعد فترة من السبات أو السكون. وينتج البوغ البيضي من اخصاب بيضة غير متحركة داخل خلية منتفخة تعرف بالحافظة البيضية oogonium (الاووكونه) من قبل التركيب التكاثري الذكري الذي يعرف بالانثريده antheridium، وينتج البوغ اللاقحي zygospore من اتحاد نهايات فرعين متخصصين من الخيوط الفطرية تعرفان بحافظات الأمشاج gametangia وتكونان متشابهتان في الحجم والشكل ولكنهما متوافقتان جنسياً. أما الأبواغ الكيسية والبازيدية فهي نواتج للانقسامات الاختزالية، حيث تنتج الأبواغ الكيسية داخل خلية شبيهة بالعلبة تعرف بالكيس ascus، وقد تكون الأكياس عارية أو داخل أجسام ثمرية تعرف بالثمار الكيسية ascocarps والتي قد ينمو بعضها إلى حجم يمكن رؤيته بالعين المجردة (كما في الكمأ truffles)، وهي بأنواع مختلفة مثل الكروية cleistothecium او الدورقية perithecium أو القرصية apothecium.لوحة (9-1 ، 9-13 ، 9-15).

أما بالنسبة للأبواغ البازيدية فإنها تتكون نتيجة انقسام اختزالي في خلية منتفخة تعرف بالبازيدية basidium ويعقبه هجرة او انتقال النوى خلال زوائد متخصصة تسمى بالذنيبات sterigmata باتجاه الأبواغ البازيدية والتي يعتقد بأنها نتيجة لانتفاخ طرف الذنيب، قد تكون البازيدة مقسمة بحواجز (كما هو في فطريات الصدأ والتفحم) أو غير مقسمة بحواجز. قد تتجمع البازيدات وتحمل في جسم ثمري يعرف بالثمرة البازيدية basidiocarp. كما هو الحال في الفطريات النافخة والعراهين.

2- تأثير العوامل البيئية على تكوين الأبواغ

Effect of environmental factors on spore formation

تؤثر العوامل الفيزياوية والكيمياوية (الغذائية) تأثيراً عميقاً على عملية تكوين الأبواغ الفطرية، فدرجة الحرارة والضوء والرطوبة والتهوية وتركيز أيون الهيدروجين (pH) هي من أهم العوامل الفيزياوية التي تؤثر على تكاثر الفطريات. وتحدد العوامل الغذائية كمصدر الكاربون والنتروجين والفيتامينات والعناصر النادرة معدل تكوين الأبواغ عند الظروف الفيزياوية الطبيعية. ان التعرف على طرق السيطرة على تكوين الأبواغ (التي غالباً ما تشكل لقاح الفطريات المرضية) من الأمور المهمة في الوقاية والعلاج من الأمراض وحماية النبات والحيوان والإنسان من الإصابة جراء تكون وانتشار الأبواغ.

درجة الحرارة Temperature

ان درجة الحرارة لا تحدد تكوين الأبواغ فقط، وإنما تمثل عاملاً أساسياً في تحديد انتشارها وتوزيعها الجغرافي، ان مدى درجات الحرارة المطلوب لتكاثر الفطريات يكون أضيق بكثير عند مقارنته بمدى درجات الحرارة المطلوب لنمو الفطريات. كما ان تكوين الأبواغ اللاجنسية يحصل عادة في حدود أوسع من درجات الحرارة التي يحصل فيها تكوين الأبواغ الجنسية. ان المدى الحراري

الضيق نسبياً والذي يسمح بالتكاثر يوحي بأن هذا الطور يتضمن بعض العمليات الفيزيايوية والكيمياوية التي هي ليست ضرورية للنمو الخضري وهي ذات متطلب حراري أدق مما تتطلبه عمليات النمو الخضري (تجربة 1).

درجة الأس الهيدروجيني (pH)

لقد درس تأثير هذا العامل المهم في تكاثر الفطريات بصورة واسعة، لكن معظم الدراسات تعطي استنتاج نهائي غير دقيق لأنها غالباً ما تتعامل فقط مع الـ pH الابتدائي للوسط الزرعي مهملة حقيقة أن pH الوسط الزرعي دائم التغيير بسبب نشاط الفطر. بصورة عامة ان مدى pH الأكثر ملائمة لتكوين الأبواغ والتراكيب التكاثرية يتراوح بين 5.0-5.8، مع ذلك فإن بعض الفطريات تحتاج إلى درجات مثلى مختلفة من أجل تكوين أنواع مختلفة من الأجسام التكاثرية، مثال على ذلك الفطر *Mycosphaerella* الذي يحتاج إلى درجة pH 5.0 لتكوين البكنيدات، ودرجة pH 7.0 لتكوين الأبواغ الكلاميدية (تجربة 2).

الضوء Light

أوضحت الكثير من البحوث والدراسات أثر الضوء على تكوين الأبواغ في المزارع الفطرية وعلى تكوين وتطور التراكيب الحاملة لها في بعض الفطريات، تستطيع الفطريات أن تكون الأبواغ في الضوء وفي الظلمة وفي الضوء المتقطع، غير أن لبعض الفطريات احتياجات مطلقة للضوء كي تتمكن من تكوين الأبواغ. في المختبر غالباً ما يلاحظ وبسهولة أن بعض الفطريات النامية في الأطباق تظهر مناطق متبادلة من الغزل الفطري الحامل وغير الحامل للأبواغ مكونة مظهر الحلقات المتراكز، ان هذا النوع من مناطق النمو تتكون بسبب الاختلاف في معدل تكون الأبواغ في الضوء والظلام ومثل هذه الظاهرة يمكن ملاحظتها مع العديد من الفطريات منها *Alternaria* ، *Aspergillus*، *Penicillium* و *Trichoderma*. ان فترة ظلام 1-12 ساعة على الأقل متعاقبة مع فترة مماثلة للضوء يمكن أن تكون كافية لتكوين حلقات نمو متباينة. قد يؤثر الضوء في نوع التكاثر الجنسي

أواللاجنسي بطريقة مختلفة تماماً، والتاثير المتعاكس للضوء في السلوك الجنسي واللاجنسي للفطر *Phytophthora* ربما يعود إلى وجود تنافس بين المسالك الأيضية المؤدية إلى تكوين كلا النوعين من الأبواغ. تنحصر معظم موجات الضوء المحدثة لتكوين الابواغ في المنطقة القريبة من الأشعة البنفسجية من الطيف الضوئي، وعند إجراء تجربة عن تأثير الضوء يجب الانتباه إلى الأمور التالية:

1- استعمال مصابيح لاصفة (فلورسنت) لأنها تعطي أشعة ضوئية كافية، وتكون ذروة الإشعاع منها على موجة طولها 3650 أنغستروم.

2- إتباع دورة ضوئية، 12 ساعة إضاءة و12 ساعة ظلام، لتكييف الفطريات التي تحتاج لفترة ظلام.

3- يبدأ التعريض للإضاءة بعد يوم إلى أربعة أيام من النمو، وان يستمر حتى نهاية النمو ومن غير المفيد تشعيع المزرعة بعد نمو الفطر مباشرة.

4- وجد أن تكوين الأبواغ في عدد من الفطريات أفضل عند درجة 21 مْ ، وأن درجات الحرارة العالية قد تفقد الضوء تأثيره على تكوين الأبواغ.

5- ان الضوء ينفذ بشكل جيد خلال زجاج الأطباق الزجاجية والبلاسيتيكية، بينما يكون نفاذه ضعيفاً من خلال زجاج النوافذ العادي، لذا يجب عدم وضعه فوق الأطباق أو بين الإضاءة والأطباق (تجربة 2).

مصدر الكاربون Carbon source

أن لطبيعة مصادر الكاربون وتراكيزها في وسط النمو تأثيراً مهما على تكوين الأبواغ الفطرية، فقد أظهرت الدراسات بأن التراكيز العالية من مصادر الكاربون تؤدي الى تثبيط تكوين الأبواغ على العكس من النمو، والسبب قد يعود إلى أن النمو الخضري الجيد قد يؤدي إلى تراكم متزايد لواحدة أو أكثر من الأيضات الثانوية السامة التي لها تأثير ضار بعملية تكوين الأبواغ، كما وجد بأن السكريات المضاعفة والسكريات المتعددة تحث عملية تكوين الأبواغ أكثر مما تفعله السكريات السداسية ويمكن أن تعزى هذه النتائج إلى معدل النمو الأقل نسبياً

على الكاربوهيدرات المعقدة مقارنة بالكاربوهيدرات البسيطة التي تدعم النمو بشكل جيد، ومع ذلك وجد أيضاً أن عددا غير قليل من الفطريات مثل الفطر *Aspergillus* والفطر *Alternaria* تتمكن من النمو الجيد وتكوين الأبواغ على نحو ممتاز في الكلوكوز وغيره من السكريات السداسية (تجربة 4).

مصدر النتروجين Nitrogen soruce

تستطيع الفطريات أن تسد حاجتها من النتروجين من مصادر النترات والأمونيا ومن المصادر العضوية خاصة الأحماض الأمينية. ان مصادر النتروجين على العكس من مصادر الكاربون تكون ملائمة للنمو وتكوين الأبواغ على السواء. يعد نتروجين النترات مصدرا جيدا للنمو وتكوين الأبواغ أيضاً، وعادة تكون التراكيز العالية من المواد النتروجينية مؤذية لعملية التكاثر بشكل عام، وان مدى التركيز الداعم لتكوين الأبواغ يكون عادة أضيق بكثير من مصادر الكاربون.

تؤدي مصادر النتروجين الى احداث تغيرات في pH الوسط ، علاوة على ذلك فأن تراكم الأيضات الثانوية قد يؤثر أيضا" على عملية تكوين الأبواغ ، أما مركبات الأمونيوم وكذلك الأحماض الأمينية فتؤدي الى تثبيط تكوين الأبواغ في العديد من الفطريات.

العناصر المعدنية الكبرى و النادرة Macro & Microelements

ان الدراسات المتعلقة بتأثير هذه العناصر في عملية تكوين الأبواغ الفطرية قليلة ومقتصرة تقريباً على عدد قليل من العناصر. لقد أدى النقص الجزئي في البوتاسيوم والمغنيسيوم وحتى الحديد والمنغنيز إلى تثبيط قوي لعملية تكوين الأبواغ دون أن تؤثر على النمو الخضري للفطريات *Aspergillus* و *Penicillium* ، ومن بين العناصر المعدنية الإضافية المؤثرة في عملية تكوين الأبواغ دون أن تؤثر على النمو الخضري هو الكالسيوم حيث وجد أن الفطر *Chaetomium* ينمو بشكل جيد في وسط غذائي صناعي خالي من الكالسيوم ولكنه لا يكون التراكيب

التكاثرية إلا بعد إضافة الكالسيوم الى الوسط الزرعي ، ومن ناحية أخرى فقد تسبب نقص النحاس في الوسط الزرعي إلى هبوط حاد في عملية تكوين الأبواغ في الفطر *Aspergillus* (تجربة 6).

الفيتامينات Vitamins

ان التأثير المحفز لبعض الفيتامينات لعملية تكوين الأبواغ الفطرية أصبح معروفاً (تجربة 7)، ولكن يصعب احياناً تمييز تأثيرها على تكوين الأبواغ من تأثيرها على النمو، مع ذلك هناك توصيتان أثنتان بهذا الخصوص متفق عليهما من قبل معظم المختصين تقريباً هما:

1- يمكن أن تحتاج عملية تكوين الأبواغ والاثمار إلى أحد الفتيامينات أكثر مما يتطلبه النمو.

2- الفيتامينات يمكن أن تعجل استغلال السكر وبذلك تسرع في بدء التكاثر.

3- إنبات الأبواغ Spore germination

تشتمل عملية إنبات الأبواغ على سلسلة من التغييرات المظهرية والخلوية والفسلجية والتي تؤدي في النهاية إلى تحويل البوغ غير الفعال نسبياً إلى غزل فطري خضري عالي الفعالية. ان الآلية الأساسية في عملية إنبات البوغ تتمثل في تكوين بروتوبلازم جديد للنمو الخضري الناشيء، على الرغم من أن الأبواغ مجهزة وراثياً بمعظم الفعاليات التركيبية المطلوبة لتكوين البروتوبلازم الجديد إلا أنها مع ذلك تتميز بفعالية ايضية منخفضة، فحتى التنفس يجري بمعدل منخفض جداً في البوغ السابت، لذلك يمكن بسهولة تصور أن بدء عملية الإنبات تحفز النشاط الأيضي للأبواغ وتعجل الماكنة الكيموحيوية بمجملها إلى مستوى يفي باحتياجات البوغ النابت الذي يعطي في الفطريات الهلامية إما خلايا أميبية myxamoebae أو خلايا سابحة swarm cells ، أما في الفطريات الحقيقية فيعطي أنبوبة إنبات germ tube تتطور بسرعة إلى غزل فطري نامي (لوحة 7 -3).

ان البوغ وان كان ذو طاقة واطئة إلا أنه ربما يكون معبأ بمتطلبات أيضية عالية الفعالية وتفاعلات تخليقية معقدة وان حالة البوغ الأكثر مثالية تفترض وجود: طاقة جاهزة ومصدر كاربون ومجموعة كاملة من الانزيمات ومختلف المركبات الوسطية لدورة TCA مع وفرة من الأحماض الأمينية لغرض تكوين البروتين وأحماض نووية أو مكوناتها. لكن مع ذلك فإن انبات البوغ غالباً ما يتأخر وقتياً إما بسبب الحاجة لعنصر غذائي معين أو الحاجة لتاثير أحد العوامل البيئية التي تعتبر أحياناً أشبه بالقادح لعملية الانبات، علاوة على ذلك فإن الأبواغ تحتوي على كميات قليلة جداً من الماء الذي لا يسمح الا بنشاطات أيضية تحصل بحدها الأدنى. لذلك فإن توافر الماء قبل الانبات مهم لمعظم الأبواغ ان لم يكن جميعها وهو المتطلب الأول لعملية الانبات يُتبع بارتفاع معدل التنفس إذا ما بقيت العوامل الأخرى وخاصة درجة الحرارة ملائمة.

ان عملية إنبات غالبية الأبواغ الفطرية أن لم تكن جميعها هي ظاهرة هوائية على نحو صارم، ولذا فإن توافر الاوكسجين مهم لعملية الإنبات الطبيعية للأبواغ وقد تعلق عملية الإنبات أو حتى تتوقف إذا لم يتوافر الأوكسجين.

تستغل الأبواغ المواد الغذائية المخزونة فيها أثناء الإنبات إلى مستوى أنبوبة إنبات قصيرة أو حتى إلى مستوى بداية الخيط الفطري أو الغزل الفطري الجديد وبحدود ضيقة جداً وكما هو الحال في بعض الفطريات مثل الفطر *Neurospora* والفطر *Puccinia* والفطر *Melampsora*. من الملاحظ ايضاً أن أبواغ بعض الفطريات تحتاج إلى عناصر غذائية تجهز من الخارج من أجل إنباتها مع إنها تحتوي على مواد غذائية مخزونة فيها، حيث تحتوي كونيدات الفطر *Fusarium* والفطر *Cochliobolus* على كميات كافية من الغذاء المخزون مع ذلك فإنها تحتاج إلى عناصر غذائية تجهز من الخارج لانباتها، مثل السكريات وغيرها من المواد.
هناك عوامل فيزياوية وكيمياوية (غذائية) متعددة تؤثر على عملية إنبات الأبواغ من بينها درجة الحرارة والرطوبة ودرجة الأس الهيدروجيني (pH) والضوء وتركيب الوسط الزرعي وعمر الأبواغ ، إضافة إلى ذلك فأن سرعة الإنبات

تختلف باختلاف نوع الفطر وعمره، وبالرغم من توافر الظروف البيئية الملائمة المثالية لإنبات الأبواغ فإنها تحتاج إلى فترة زمنية تتراوح من 4-20 ساعة أو أكثر قليلاً ، ويمكن متابعة إنبات الأبواغ في المختبر كما يأتي:

المواد:

1- أطباق بتري تحتوي على وسط زرعي أساسي هو اكار الماء water agar.

2- دوارق مخروطية حجم 100 مل معقمة، ماصات معقمة حجم 1.0 مل.

3- ماء مقطر معقم.

4- قطن طبي.

5- أبرة تلقيح أوناقل.

6- مزرعة فطرية متبوغة بعمر أسبوع واحد.

طريقة العمل:

1- يحضر معلق أبواغ الفطر حسب الطريقة المذكورة سابقاً ويضبط التركيز إلى 2×10^{3} بوغ / مل.

2- ينقل 1.0 مل من المعلق إلى سطح كل طبق وينشر على الوسط بتحريك الطبق بهدوء وبمعدل ثلاثة أطباق كمكررات على الأقل.

3- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ ولفترة 10-20 ساعة ثم تفحص الأطباق تحت المجهر للتأكد من الإنبات لأنها قد تحتاج إلى وقت إضافي حسب نوع الفطر.

4- تحسب نسبة الأبواغ النابتة.

ملاحظة:

1- يمكن دراسة الإنبات بطريقة أسرع وأسهل باستخدام الشريحة الزجاجية المقعرة بوضع قطرة من معلق الأبواغ في مكان التقعر ووضعها على قضيب زجاجي بشكل حرف(V) داخل طبق معقم يحتوي على ورق ترشيح معقم مرطب بماء مقطر معقم.

2- يمكن إجراء عدة تجارب على الإنبات يدرس من خلالها تأثير الظروف البيئية والكيمياوية على الإنبات.

4- اللقاحات الفطرية Fungal inoculums

ان اللقاح الفطري هو جزء حي من النمو الفطري (الأجزاء التكاثرية للفطر) والذي له القدرة على أن ينتج أو يكون نمواً جديداً عند توافر الظروف الغذائية والبيئية الملائمة لذلك، ويعتبره المختصون بأنه الجزء الفعال والمهم في انتشار الفطريات في الطبيعة او النمو في الأوساط و البيئات سواء في الطبيعة أو حتى في المختبر، كذلك مهم في إصابة الكائنات الحية، ان اللقاح يشمل الأبواغ بانواعها، أجزاء من الخيوط الفطرية والأجسام الحجرية. من الأمور المهمة جداً هنا هي كمية اللقاح وتركيزه خصوصاً عند الحاجة لإحداث الإصابة لأن قسما من الفطريات تحتاج إلى كمية معينة لذلك وأحياناً يجب أن تكون مرتفعة لضمان حدوث الإصابة ولكن في القسم الآخر من الفطريات قد يكون العدد القليل من الأبواغ كافياً لإنجاز المهمة إذا توافرت الظروف المناسبة. سيتم تناول طريقة الحصول على اللقاحات الفطرية وطريقة تقدير تركيز اللقاح وكما يأتي:

معلق الأبواغ Spore suspension

لغرض الحصول على تركيز عالي من معلق الأبواغ ينبغي استخدام مزارع حديثة متجرثمة للفطر بعمر لا يتجاوز 5-7 أيام في أطباق بتري.

طريقة العمل:

1- يضاف إلى كل طبق (مزرعة) 20 مل ماء مقطر معقم ثم يمسح سطح المزرعة بأبرة معقمة أو ناقل معقم مع تحريك السائل لتسهيل عملية فصل الأبواغ.

2- ينقل الماء الحاوي على كتل الأبواغ إلى دورق مخروطي بواسطة ماصة معقمة ثم يرج العالق جيداً لفصل الأبواغ وتحريرها من حواملها.

3- يرشح المعلق عبر قطع من الشاش المعقم لغرض التخلص من الخيوط الفطرية والحوامل البوغية وبقايا الوسط الزرعي للحصول على معلق للأبواغ.

ملاحظة:

في حالة عدم التخلص من بقايا الوسط الزرعي بهذه الطريقة يمكن استخدام طريقة الطرد المركزي لترسيبها على سرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق.

تركيز الأبواغ Spore concentration

يعد تركيز الأبواغ وكما أشرنا أعلاه من الأمور المهمة جداً في الدراسات الفسلجية والكيموحيوية، ويمكن تقدير كثافة الأبواغ في المعلق بأكثر من طريقة نختار منها ما يلي:

قياس درجة التعكر Turbidity

هذه الطريقة تسمى ايضاً بالطريقة غير المباشرة، حيث يمكن قياس عكورة معلق الأبواغ باستخدام المطياف الضوئي spectrophotometer. ويلجأ المختصون إلى تقدير العكورة لقياس عدد خلايا الخميرة أو الأبواغ في معلق فطر ما، وتستخدم كبريتات الباريوم لتحضير تخفيفات مختلفة من المحلول القياسي، كما يمكن استخدام أنابيب براون لقياس درجة العتامة. تقارن الألوان مع جداول جاهزة معدة لهذا الغرض ومن خلالها تحدد كمية أو عدد الأبواغ / مل.

طريقة العد Counting method

تسمى هذه الطريقة ايضاً بالطريقة المباشرة والتي تعتمد على حساب أو عد الأبواغ في حجم مجهري دقيق باستخدام شريحة زجاجية خاصة هي شريحة عد كريات الدم Haemocytometer، وهي شريحة تحتوي في وسطها على غرف صغيرة ودقيقة جداً معلومة الحجم، لحساب الأبواغ تحت العدسة الصغرى 10X وبتطبيق المعادلة الآتية:

عدد الأبواغ / مل = معدل عدد الأبواغ في 4 مربعات × 10^4

وعند تعيين تركيز الأبواغ في المعلق الأصلي يمكن الحصول على أي تركيز مطلوب أما عن طريق التخفيف للحصول على تركيز أقل أو عن طريق تقليل الحجم للحصول على تراكيز أعلى.

لقاحات أخرى Other inoculums

من اللقاحات الأخرى هي معلق خيوط الفطر للفطريات التي لا تكون أبواغ مثل الفطر *Rhizoctonia*، وفيها يمكن استخدام مزرعة حديثة عمرها 5-7 أيام ، فتوضع في جهاز خلاط كهربائي مع 100 مل من الماء المقطر المعقم وتمزج لمدة 5 دقائق، يترك المحلول لحين ترسب بقايا الوسط ويؤخذ العالق ويفحص للتأكد من وجود أجزاء الخيوط الفطرية والتي تمثل اللقاح.

النوع الآخر من اللقاحات المستخدمة بشكل واسع في المختبر هي أقراص الغزل الفطري، حيث يجري تقطيع المزرعة الحديثة للفطر باستخدام ثاقب فلين معقم ويراعى في ذلك أن تكون الأقراص مأخوذة من الجزء المحيطي وليس من وسط المزرعة لأن الخلايا المحيطية تكون حديثة التكوين ونشطة وأكثر حيوية، وعند تلقيح وسط جديد بأحد الأقراص يتم رفعه بأبرة معقمة ووضعه بصورة مقلوبة على الوسط الجديد.

5- تقنية البوغ المفرد Single spore technique

ان تقنية البوغ المفرد أو الوحيد مهمة جداً في الدراسات الوراثية للتمييز بين الضروب biotypes والسلالات الفسيولوجية physiological races التي يمكن الحصول عليها من البوغ المفرد، لأن المزرعة الفطرية النقية قد لا تكون كافية للحصول على ضرب أو سلالة نقية من الفطر من اجل تنقية النوع species وراثياً بالحصول على مزرعة نقية ولكن من بوغ منفرد. هناك نقطة مهمة جداً يجب الانتباه إليها وهي أن البوغ المفرد يجب أن يكون أحادي الخلية (شكل 7-1) لأن البوغ المفرد إذا كان مكون من خليتين أو عدة خلايا فإن

المزرعة التي تتكون قد يتكون منها عدة ضروب اعتماداً على عدد الضروب الموجودة في البوغ المفرد الحاوي على أكثر من خلية، وهناك عدة طرق لتحقيق هذا الغرض:

طريقة نقل البوغ المفرد بالأنابيب الشعرية

وتعتمد هذه الطريقة على التقاط بوغ واحد مفرد، نابت أو غير نابت، من معلق بوغي مخفف في ماء مقطر معقم على شريحة معقمة باستخدام أنبوبة شعرية، أو من معلق بوغي في وسط أكار مغذي مبرد (درجة حرارة 42-45 مْ)، ويفضل أن تفحص هذه الأنابيب الشعرية مجهرياً للتأكد من أحتوائها على أبواغ مفردة ثم تنقل إلى وسط زرعي جديد.

طريقة نقل البوغ المفرد النابت

يحضر معلق بوغي مخفف في ماء مقطر معقم ، ثم يتم تغطيس أبرة تلقيح معقمة أو ناقل معقم في المعلق ويخطط على سطح طبقة رقيقة من وسط أكار الماء في طبق بتري ، ويحضن عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 15-18 ساعة (يمكن عملها الساعة 4 بعد الظهر وفحصها في اليوم الثاني الساعة 8 صباحاً) سيكون الإنبات قد بدأ فعلاً والأبواغ مهيأة للنقل ، يفحص الطبق على طول الخط ويتم اختيار بوغ منفرد نابت مناسب. فتؤخذ قطعة مربعة من الأكار (4 ملم^2) حول البوغ بواسطة أبرة معقمة وتفحص تحت المجهر للتأكد من وجود بوغ وحيد مفرد ثم تنقل القطعة مع البوغ النابت بواسطة أبرة معقمة إلى طبق بتري يحتوي وسط زرعي مناسب.

طريقة نقل البوغ المفرد باستخدام الأجهزة الآلية

هذه الطريقة تعتمد على استخدام أجهزة متخصصة مختلفة يطلق عليها القاطعة الدقيقة Micromanipulator أو الملعقة الدقيقة Microspatula، يمكن تثبيتها على أنفية (انبوية) المجهر، وفي القسم منها تستبدل إحدى العدسات الشيئية

للمجهر بانبوب معدني ذي نهاية حادة طوله حوالي 5 ملم وقطره 1.5 ملم، ويركز الأنبوب على العدسة الشيئية الصغرى ويتم قطع الأكار بتخفيض القاطعة حتى تصل إلى قاع الطبق، وعند رفع القاطعة ترفع معها قطعة اسطوانية من الوسط الزرعي الحاوية على البوغ المفرد، يمكن نقلها إلى وسط زرعي جديد بواسطة أبرة معقمة.

6- اصطياد الأبواغ pore trapping

تعد طرائق صيد الأبواغ المنقولة بالهواء أكثر تطوراً من غيرها، ولو أنه يمكن تطبيق مبادئ مشابهة لاصطياد أبواغ الفطريات المائية، مع الأخذ بنظر الاعتبار الفروقات بين الصفات الفيزياوية للماء والهواء، وهناك أكثر من هدف لاصطياد الأبواغ، منها ما يأتي:

أهداف اصطياد الأبواغ المحمولة بالهواء:

أ- تقدير حمولة الهواء من الأبواغ الممرضة.

ب- إمكانية التنبوء بحصول حالات أوبئة مرضية للكائنات الحية سواء الانسان أو الحيوان أو النبات.

جـ- الحصول على معلومات دورية عن الفطريات الموجودة في الهواء من اجل تحديد التوقيت المناسب للرشات الوقائية وطريقة المكافحة.

د- توفير معلومات مفيدة عن مسببات الحساسية للجهاز التنفسي وأمراض التهاب الجهاز التنفسي (الأنف والرئة).

طرائق اصطياد الأبواغ المحمولة بالهواء:

يمكن ترتيب طرائق صيد الأبواغ تبعاً لإعطائها تقديرات مرتكزة على الفحص المختبري لفطريات الهواء المتمثل بعدد الأبواغ المعروفة مظهرياً تحت المجهر، أو على عدد المستعمرات النامية فوق الوسط الزرعي، ومن هذه الطرائق ما يلي:

طرائق الترسيب Deposition methods

تعتمد هذه الطرائق بشكل أساسي على تعريض شريحة زجاجية لاصقة أو عليها طبقة رقيقة من الوسط الزرعي (يمكن استخدام طبق بتري مفتوح حاوي على وسط مناسب)، فتكون الشريحة موضوعة بشكل أفقي، ويفضل أن توضع هذه الشريحة تحت واقية لدرء الأمطار أو الأضرار التي قد تتعرض لها إذا وضعت في العراء، وتعتبر هذه الطريقة من أسهل الطرق وأقلها كلفة، ومن سلبيات هذه الطريقة تحيزها للأبواغ الكبيرة الحجم بنسبة تعادل مربع أقطار هذه الأبواغ تقريباً، ويكون تمثيل الأبواغ الصغيرة الحجم قليل وغير دقيق وقد يهمل أحياناً، ومن إيجابياتها أنها تعطي نتائج مقارنة مفيدة تخص نمطاً وحيداً من الأبواغ. كما يمكن استخدام شريحة زجاجية لاصقة (أو طبق بتري) موضوعة بشكل عمودي، وقد أعطي استخدام شريحة لاصقة أو طبق بتري بشكل مائل بزاوية 45 درجة ومحمول على دولاب هوائي نتائج ممتازة في اصطياد أبواغ العديد من الفطريات، ويرتبط عدد الأبواغ التي يتم اصطيادها بسرعة الريح المرتبطة بسرعة الدولاب، وهناك طرق جديدة وأجهزة مطورة وحديثة لاصطياد الأبواغ.

طرائق التركيز Concentration methods

تعتمد هذه الطرائق بشكل رئيسي على سرعة الريح إلا أنه من الخطأ الاعتماد على السرعة الخارجية للريح لأنها تعطي نتائج سلبية، ولذلك يمكن التغلب عليها باتباع طريقة توليد سرعة ريح ثابتة تقريباً فوق سطح الوسط المعَد للاصطياد. وقد يكفي استخدام ذراع دوار مثبت على السطح اللاصق والذي يتحرك مع الذراع خلال الهواء لزيادة فعالية تثبيت الأبواغ عليه، وتعتبر هذه الطريقة التي تعتمد على ما يسمى بالجامع الدوار rotored sampler من أبسط الطرق والجهاز هو من أبسط الأجهزة التي يمكن تصنيعها باستخدام أي محرك صغير يعمل على البطارية. ومن الطرق المستخدمة أيضاً في هذا المجال هي طريقة إجبار الهواء على الدخول أو المرور عبر حاجز مثقب يوضع خلفه السطح اللاصق لجمع

الأبواغ أو وسط زرعي أو سائل أو ماء مقطر معقم، بعد ذلك يصب فوق سطح الوسط الزرعي المناسب. يمكن أن تحصل عملية اصطياد الأبواغ طبيعياً وذلك أثناء سقوط الامطار، فإن استقبال ماء المطر أثناء هطوله يؤدي إلى إزالة ما يحمله الهواء من أبواغ والتي يفضل جمعها وترسيبها بالطرد المركزي ومن ثم تعليقها في ماء مقطر معقم ونقلها إلى الوسط الزرعي المناسب.

تجارب عن تأثير العوامل الفيزياوية والكيمياوية على نمو الفطريات وتكوين الأبواغ :

تجربة رقم 1: تأثير درجة الحرارة على نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في المزارع الفطرية.

ان الهدف من التجربة هو التعرف على تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في الوسط الزرعي.

المواد والأجهزة:

1- الوسط الزرعي الأساسي اكار الدكستروز والبطاطا PDA

2- دوارق مخروطية بأحجام مختلفة.

3- أبر تلقيح، ملاقط، ثاقب فلين قطر 0.5 أو 0.8 سم

4- أطباق بتري معقمة.

5- مصباح كحولي أو غازي

6- حاضنات بدرجات حرارة 10، 15، 20، 25 و 30 مْ.

7- مزارع حديثة لبعض الفطريات المتوافرة مثل:

Penicillium، *Aspergillus*، *Helminthosporium*، *Fusarium*، *Alternaria*.

طريقة العمل:

1- يحضر18 طبق من الوسط الزرعي لكل فطر يخضع للدراسة ، توزع على ست معاملات، ثلاثة أطباق كمكررات لكل معادلة بالإضافة لمعاملة المقارنة.

2- تلقح جميع الأطباق بالفطر المدروس بنقل قرص قطره 0.5 سم من مزرعة الفطر باستخدام ثاقب فلين معقم باللهب ووضعه في مركز الطبق.

3- تحقن الأطباق عند درجات حرارة 10، 15، 20، 25، 30مْ ولمدة كافية من 5-7 أيام.

4- تحسب معدلات النمو الشعاعي لمستعمرة الفطر بأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة ويستخرج معدلهما.

5- يحضر عالق الابواغ من الاطباق ويفحص بالمجهر ثم يقاس تركيز الابواغ في كل عالق وتدون النتائج.

6- إجراء مقارنة بين تراكيز عالق الأبواغ لكل فطر عند درجات الحرارة المذكورة لمعرفة تأثيرها على النمو وتكوين الأبواغ وما هي الدرجة المثلى للإنتاج.

تجربة رقم 2: تأثير درجة الأس الهيدروجيني (pH) على نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في المزارع الفطرية.

ان الهدف من التجربة هو التعرف على تأثير درجة الأس الهيدروجيني في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في الوسط الزرعي.

المواد والأجهزة:

1- وسط زرعي أساسي مثل أكار دكستروز بطاطا PDA.

2- أطباق بتري معقمة.

3- ثاقب فلين، ملاقط، أبر تلقيح.

4- مصباح كحولي أو غازي

5- حاضنة بدرجة حرارة 25 مْ.

6- مزارع حديثة لبعض الفطريات المتوافرة.

7- دلائل قياس درجة الأس الهيدروجيني pH indicators.

طريقة العمل:

1- تحضر الأطباق الحاوية على الوسط الزرعي PDA بدرجات أس هيدروجيني (pH) مختلفة هي 4، 5، 6، 7 و 8 ، والتي عدلت باستخدام حامض (HCl) مخفف وقاعدة (NaOH) مخففة.

2- تلقح الأطباق بأقراص من مزرعة الفطر المدروس قطرها 0.5 سم في مركز الأطباق.

3- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ لمدة أسبوع واحد.

4- تحسب معدلات النمو الشعاعي لمستعمرات الفطر بأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة ويستخرج معدلهما.

5- يحضر عالق أبواغ الفطر من الأطباق وتحسب كمية الأبواغ (بوغ / مل) وتسجل النتائج وتقارن التراكيز المختلفة لتحديد العلاقة بين درجة الأس الهيدروجيني على النمو وتكوين الأبواغ.

ملاحظة:

أن دراسة تأثير هذا العامل على النمو غالباً ما تنفذ في الوسط السائل ويتم حساب الوزن الجاف للغزل الفطري.

تجربة رقم 3: تأثير الضوء في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في المزارع الفطرية.

ان الهدف من التجربة هو التعرف على تأثير الضوء المرئي في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في الوسط الزرعي.

المواد والأجهزة:

1- الوسط الزرعي الأساسي أكار الدكستروز والبطاطا PDA

2- أطباق بتري معقمة ودوارق مخروطية بأحجام مختلفة.

3- ثاقب فلين، ملاقط ، أبر تلقيح.

4- مصباح كحولي أو غازي.

5- حاضنتان بدرجة حرارة 25 مْ، الأولى مظلمة والثانية مضاءة.
6- مزارع حديثة لبعض الفطريات المتوافرة وكما ورد في تجربة رقم(1).

طريقة العمل:

1- تلقح الأطباق الحاويه على الوسط الزرعي PDA بأقراص نمو قطرها 0.5 سم من المزارع الفطرية.
2- توزع الأطباق إلى ثلاث مجاميع كل منها يضم ثلاثة أطباق كمكررات للفطر الواحد، المجموعة الأولى تغلف بورق أسود وتوضع في الحاضنة المظلمة، المجموعة الثانية توضع الأطباق في الحاضنة المضاءة، أما المجموعة الثالثة فتنقل من الحاضنة المضاءة إلى الحاضنة المظلمة كل 24 ساعة لكي تكون الإضاءة متقطعة.
3- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 مْ لمدة 5-7 أيام ثم تفحص.
4- تحسب معدلات النمو الشعاعي لمستعمرات الفطر بأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة ويستخرج معدلهما.
5- ان الفطريات التي تتأثر فيها عملية تكوين الأبواغ بالضوء ستكون واضحة للعيان في المجموعة الثالثة المتقطعة لأن الأطباق ستظهر حلقات نمو متناوبة في شكلها وأحياناً في لونها مما يدل على أن عملية نقلها من الضوء إلى الظلام أثر على تكوين الأبواغ وما يعزز ذلك هو نتائج المجموعتين الأخريتين.

تجربة رقم 4: تأثير مصدر الكاربون في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في المزارع الفطرية.

ان الهدف من التجربة هو التعرف على تأثير مصدر الكاربون في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في الوسط الزرعي.

المواد والأجهزة:

1- وسط ريتشارد الصلب، كلكوز، مالتوز، كالكتوز، أو أي مصدر كاربوني آخر.
2- أطباق بتري معقمة.

3- حاضنة بدرجة حرارة 25 مْ.

4- مزارع حديثة لبعض الفطريات المتوافرة وخاصة *Alternaria* و *Aspergillus*.

طريقة العمل:

1- تحضر أوساط زرعية من الوسط الأساس الذي اختير وهو وسط ريتشارد ، مع تغيير المصدر الكاربوني لإجراء التجربة مثل :

- وسط ريتشارد بدون مصدر كاربوني – بدون سكروز كمقارنة.
- وسط ريتشارد كامل مع مصدر كاربوني (سكروز).
- وسط ريتشارد مع مصدر كاربوني (كلوكوز).
- وسط ريتشارد مع مصدر كاربوني (كالكتوز).

2- تلقح الأطباق وتحضن بنفس الطريقة الواردة في التجارب السابقة.

3- تحسب معدلات النمو الشعاعي لمستعمرات الفطر بأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة ويستخرج معدلهما.

4- يحضر عالق أبواغ الفطريات المدروسة من الأطباق بعد انتهاء التجربة وتحسب كمية الأبواغ (بوغ / مل) وتسجل النتائج.

5- إجراء مقارنة بين نتائج الاوساط الزرعية وتأثير مصدر الكاربون على النمو وتكوين الأبواغ.

ملاحظة:

في مثل هذه الدراسات يفضل تنفيذها في الأوساط السائلة لاحتساب النمو على اساس الوزن الجاف.

تجربة رقم 5: تأثير مصدر النتروجين في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في المزارع الفطرية.

ان الهدف من التجربة هو التعرف على تأثير مصدر النتروجين في قدرة الفطريات على تكوين الأبواغ في الوسط الزرعي.

المواد والأجهزة:

1- وسط ريتشارد الصلب، كبريتات الأمونيوم، نترات البوتاسيوم، يوريا، أو اي مصدر نتروجين آخر.

2- أطباق بتري معقمة.

3- حاضنة بدرجة حرارة 25 مْ.

4- مزارع حديثة من الفطريات المتوافرة.

طريقة العمل:

1- تحضر اوساط زرعية من الوسط الأساس المذكور أعلاه مع تغيير مصدر النتروجين مثل :

- وسط ريتشارد بدون مصدر نتروجين - مقارنة.
- وسط ريتشارد كامل مع مصدر نتروجين (نترات البوتاسيوم).
- وسط ريتشارد مع مصدر نتروجين (كبريتات الأمونيوم).
- وسط ريتشارد مع مصدر نتروجيني (يوريا).

2- تلقح وتحضن الأطباق كما ورد في التجربة السابقة.

3- تحسب معدلات النمو الشعاعي بأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة ويستخرج معدلهما.

4- يحضر عالق أبواغ من الأطباق بعد انتهاء التجربة وتحسب كميات الأبواغ (بوغ / مل) وتسجل النتائج.

5- إجراء مقارنة بين نتائج النمو وكمية الأبواغ في الأوساط الزرعية وتأثيرات مصدر النتروجين عليها.

ملاحظة:

يمكن إعادة هذه التجربة في الأوساط السائلة واحتساب معدل النمو على أساس الوزن الجاف للغزل الفطري.

تجربة رقم 6: تأثير العناصر المعدنية في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في المزارع الفطرية.

ان الهدف من التجربة هو التعرف على تأثير العناصر الغذائية في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في الأوساط الزرعية.

المواد والأجهزة:

1- وسط أكار زابكس والمواد التي تدخل في تحضيره

2- كاربونات الكالسيوم

3- أطباق بتري معقمة.

4- حاضنة عند درجة حرارة 25 مْ.

5- مزارع حديثة من الفطريات المتوافرة منها *Penicillium*، *Aspergillus*.

طريقة العمل:

1- تحضر اوساط زرعية من الوسط الأساسي المذكور أعلاه مع تغيير في محتواه من العناصر وكما يأتي:

- وسط زرعي كامل – كمقارنة.
- وسط زرعي بدون كاربون (ناقص كلوكوز).
- وسط زرعي بدون نتروجين (ناقص نترات الأمونيوم).
- وسط زرعي بدون فوسفور (ناقص فوسفات البوتاسيوم).
- وسط زرعي بدون بوتاسيوم (ناقص فوسفات البوتاسيوم وكلوريد البوتاسيوم).
- وسط زرعي بدون مغنيسيوم (ناقص كبريتات المغنيسيوم).
- وسط زرعي بدون حديد (ناقص كبريتات الحديد).
- وسط زرعي كامل ومضاف إليه كالسيوم (زائد كاربونات الكالسيوم).

2 - تلقح وتحضن الأطباق كما ورد في التجارب السابقة.

3- تحسب معدلات النمو الشعاعي بأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة ويستخرج معدلهما.

4 – تحسب كمية الأبواغ (بوغ / مل) باتباع نفس الخطوات الواردة في التجارب السابقة.

5- إجراء مقارنة بين النتائج لمعرفة تأثير العناصر الغذائية في النمو وتكوين الأبواغ.

تجربة رقم 7: تأثير الفيتامينات في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في المزارع الفطرية.

ان الهدف من التجربة هو التعرف على تأثير الفيتامينات المختلفة في نمو الفطريات وتكوين الأبواغ في الأوساط الزرعية.

المواد والأجهزة:

1- وسط زرعي أساسي هو اكار دكستروز بطاطا PDA.

2- مجموعة فيتامينات مثل الثيامين، البيوتين والاينوسيتول.

3- أطباق بتري معقمة.

4- حاضنة بدرجة حرارة 25 مْ.

5- مزارع حديثة لبعض الفطريات المتوافرة.

طريقة العمل:

1- تحضر أوساط زرعية من الوسط الأساسي المذكور أعلاه مع إضافة واحد أو أكثر من الفيتامينات مثل :

- وسط زرعي اساسي خالي من الفيتامينات – مقارنة.
- وسط زرعي أساسي + ثيامين (150 مايكروغرام / لتر = 150 كاما Gamma)
- وسط زرعي أساس + بيوتين (5 مايكروغرام / لتر = 5 كاما)
- وسط زرعي أساس + اينوسيتول (20 مايكروغرام / لتر = 20 كاما)

2- تلقح وتحضن وتحسب كمية الأبواغ في جميع المعاملات كما ورد في التجارب السابقة.

3- تحسب معدلات النمو الشعاعي بأخذ قراءتين متعامدتين لقطر المستعمرة ويؤخذ معدلهما ، وتحسب كمية الأبواغ باعتماد نفس الطرق أعلاه.

4- إجراء مقارنة بين نتائج المعاملات وتحديد تأثير الفيتامينات على النمو وتكوين الأبواغ.

ملاحظة:

يفضل أن تعاد هذه التجربة في الوسط السائل لغرض احتساب معدل النمو على أساس قياس الوزن الجاف للغزل الفطري.

تركيب جسم الفطريات Structure of fungal body

تتفاوت أجسام الفطريات تفاوتا" كبيرا" من حيث حجمها وشكلها بدءا" من الفطريات أحادية الخلية والتي لا ترى بالعين المجردة مثل الخمائر yeasts حتى فطريات العراهين mushrooms التي تكون عديدة الخلايا وفي الغالب خيطية التركيب filamentous (والذي يرى منها بالعين المجردة هو فقط الجسم ألثمري للفطر fruiting body). توجد أعدادا قليلة من الفطريات وحيدة الخلية unicellular منها الخمائر كما ذكرنا أعلاه ومنها بعض الفطريات الهلامية slime molds التي يكون جسمها متمثل بكتلة بروتوبلازمية عديدة الانوية فاقدة للجدار الخلوي يطلق عليها البلازموديوم plasmodium (التي تكون أقرب إلى الحيوان في تغذيتها وسلوكها) ومنها أيضا" بعض الفطريات الكتريدية الوحيدة الخلية، إضافة الى الفطريات الخيطية عديدة الخلايا multicelluar التي سيتم تناول في الفصل التاسع الذي يهتم بالمجاميع الفطرية والصفات المميزة لها.

الخلية الفطرية Fungal cell

أن التركيب الأساسي للخلية الفطرية مشابه لتركيب خلايا الكائنات الحية الأخرى حقيقية النواة eukaryote ، يتكون بروتوبلاست الخلية الفطرية من سايتوبلازم محبب granular أو شبكي reticulate يحيط بفجوة vacuole ويحتوي على نواة nucleus واحدة أو أكثر، والأنوية كاملة من حيث وجود الغشاء النووي nuclear membrane والنوية nucleolus (واحدة أو أكثر) والمادة الكروماتينية chromatin التي تظهر في بادئ الأمر على هيأة شبكة دقيقة ثم تنتظم على هيأة كروموسومات إثناء عملية الانقسام الخلوي ، كما تحتوي الخلية على المايتوكوندريا mitochondria ، الرايبوسومات ribosomes ، الايزوزوم lysosome ، الشبكة الاندوبلازمية endoplasmic reticulum ، جهاز كولجي Golgi apparatus وأجسام دهنية lipid bodies (لوحة 7 -4).

تحاط الخلية الفطرية (الخيط الفطري) بجدار خلوي يختلف تركيبه باختلاف نوع الفطر، كما يختلف في الخلايا المسنة عنها في الخلايا الحديثة التكوين، وبشكل عام يشكل السليلوز المكون الرئيسي للجداران الخلوية في الفطريات البيضية oomycetes والكايتين للجدران الخلوية في الفطريات اللاقحية zygomycetes والكيسية ascomycetes والبازيدية basidiomycetes إضافة إلى بعض المواد الأخرى (لوحة 7 -4).

الخيوط الفطرية Types of fungal hyphae

يتكون جسم الفطر في الغالب من تراكيب خيطية filamentous غير متفرعة أو متفرعة والأخيرة تكون عموما" كثيرة التفرعات تسمى الخيوط الفطرية hyphae ، وتكون عادة" شفافة عديمة اللون وتتخذ شكلا" قطنيا" أبيض اللون، وأحيانا" تأخذ ألوانا مختلفة منها الداكنة ذات اللون الأسود ومنها ذات الألوان

الزاهية كالأحمر والأصفر والبرتقالي والأخضر والأزرق وغيرها من الألوان الأخرى.

هناك نوعان من الخيوط الفطرية الأول غير مقسم بحواجز عرضية أي لا يوجد فيها حواجز عرضية وتسمى الخيوط غير المقسمة aseptate hyphae تكون انبوبية الشكل ويطلق عليها أيضا" المدمج الخلوي coenocytes (coenocytic hyphae)، والثاني مقسمة بحواجز عرضية septa وتسمى الخيوط المقسمة septate hyphae ، الحواجز العرضية تؤدي إلى تجزئة الخيط الفطري إلى أجزاء غير متساوية ، وفي الحواجز ثقوب مركزية central pores تسمح بمرور السايتوبلازم والأنوية بين أجزاء الخيط الفطري، ولذلك فأن عدد الانوية في كل جزء يكون غير متساوي وغير ثابت، فقد يكون أحادي النواة uninucleate أو ثنائي النوى binucleate أو متعدد النوى multinucleate (لوحة 7 -4).

الأنسجة الفطرية Fungal tissues

الخيوط الفطرية عندما تكون على هيأة مجموعة (مجتمعة) تشكل ما يسمى بالغزل الفطري mycelium. الغزل الفطري قد تبقى خيوط غير متماسكة كما هو الحال في أنواع العفن molds ومنها عفن الخبز (الأسود) *Rhizopus stolonifer*، أو تكون متماسكة في مراحل معينة من حياة الفطر(عموم المجاميع الفطرية) وتشكل النسيج الفطري المحاك plectenchyma والذي في الغالب يكون بنوعين هما:

1. النسيج البروزنكيمي prosenchyma ، وهو نسيج مفكك loosely تبدو فيه الخيوط الفطرية منسقة بشكل متوازي أي موازية لبعضها البعض ولذلك يمكن تمييز الخيوط بسهولة.
2. النسيج البرنكيمي الكاذب pseudoparenchyma ، وهو نسيج متراص compact ولا يمكن فيه تمييز الخيوط الفطرية عن بعضها وفي

المقطع العرضي تظهر بأنها تشبه النسيج البرنكيمي (ألحشوي) في النبـــات (لوحة 7 -4).

التراكيب الفطرية Fungal structures

1- تتكون من الانسجة الفطرية في عدد كبير من الفطريات، (خاصة المحاكة منها) تراكيب فطرية قسم منها تكاثري reproductive، مثل الحشية الثمرية stroma ، التي تكونها أنسجة النوع الأول ، حيث تتواجد بداخلها الأجسام التكاثرية reproductive bodies كما في الفطر الكيسي *Daldinia* sp. ، والقسم الآخر خضري vegetative أي جسمي somatic مثل الجسم الحجري sclerotium الذي تكونه أنسجة النوع الثاني ويمثل مرحلة سكون resting لبعض الفطريات عندما تمر بظرف غير ملائم ، كما في الفطر *Claviceps purpurea* ، ويكون قادرا على معاودة النمو عند عودة الظروف المحيطة به إلى الحالة الطبيعية (لوحة 7 -5).

2- هناك نوع من الخيوط الفطرية غير المتخصصة التي تتجمع بشكل أشرطة طويلة موازية لبعضها البعض يطلق عليها الأشرطة الغزلية mycelial strands ، كما في الفطريات البازيدية مثل خيوط فطر العرهون *Agaricus bisporus* الفتية التي تنمو على الوسط الغذائي والفطر *Serpula lacrymans*. ويوجد نوع آخر من الأشرطة الفطرية المثخنة تنشأ من الخيوط الفطرية الجسمية تدعى الجديلة الفطرية rhizomorph التي تمتلك قمة مرستيمية (قمة نامية) تشبه القمة النامية لجذر النبات ولذلك تسمى أيضا" الجديلة الجذرية أو الشكل الجذري. أحيانا" يتكون مركز الجديلة الفطرية من خلايا كبيرة متطاولة رقيقة الجدران وتحاط بخلايا صغيرة مثخنة الجدران، وفي هذه الحالة تستطيع الجديلة الفطرية مقاومة الظروف غير الملائمة التي تمر بها كما في الفطر *Armillaria mellea* (لوحة 7 -5).

تكاثر الفطريات Reproduction of Fungi

أن التعريف العام لتكاثر الكائنات الحية هو تكوين أفراد جديدة تحمل جميع الصفات النموذجية للنوع Species، والفطريات تتكاثر بطريقتين هما :

1 . التكاثر اللاجنسي **asexual reproduction**

هو التكاثر الذي يحصل بدون الحاجة إلى اتحاد أو اندماج نووي بين الخلايا.

2 . التكاثر الجنسي **sexual reproduction**

هو التكاثر الذي يحصل نتيجة لاتحاد أو اندماج نووي بين الخلايا الجنسية، الذكرية والأنثوية.

التكاثر اللاجنسي:

يتضمن التكاثر اللاجنسي تكوين وحدات تكاثرية لا جنسية مثل الأبواغ spores دون أي اتحاد بين الخلايا أو أي اندماج نووي، كما يشمل جميع أنواع التكاثر الخضري vegetative reproduction التي ينتج عنها أفراد جديدة. تعتمد الفطريات على التكاثر اللاجنسي أكثر من التكاثر الجنسي إذ ينتج عنه أعداد كبيرة ، ويحدث التكاثر اللاجنسي بالطرق الآتية:

1 . التبرعم **Budding**

ينشأ عن الخلية الخضرية الأم برعم (واحد أو أكثر) بعدها تنقسم النواة انقسام خيطي وتنتقل أحدى النواتين إلى البرعم وتبقى الأخرى في الخلية الأم ويكبر في الحجم مع تكوين جدار خلوي جديد ثم ينعزل عن الخلية الأم مكونا" فردا" جديدا". وقد يحدث أن يبقى البرعم متصلا" بالخلية الأم وتتكون من

ذلك سلسلة من البراعم يطلق عليها الغزل الفطري الكاذب pseudomycelium كما في الخمائر (لوحة 7 -6).

2 . التجزوء (التفتت أو التقسيم) **Fragmentation**

في هذه الطريقة يتجزأ أو يتفتت جسم الفطر أو الغزل الفطري الى أجزاء صغيرة كل جزء منها يحتوي على نواة واحدة أو أكثر يمثل وحدة تكاثر لها القدرة على النمو لتكوين فطرا" جديدا". وقد يحدث في الطبيعة انفصال خلايا متكاملة وفي هذه الحالة تسمى كل خلية باسم أويدة oidium أو بوغ مفصلي arthrospore أو تتغلف (تتثخن) أحد الخلايا في الخيط الفطري بغلاف سميك قبل انفصالها سواءا اكانت طرفية أو وسطية مكونة بوغ مقاوم للظروف البيئية غير الملائمة للفطر ثم تنفصل عن بعضها فتسمى البوغ الكلاميدي chlamydospore وبامكانها أن تقوم بمهمة التكاثر ومعاودة الانبات لتكوين فطر جديد عند عودة الظروف المحيطة بها إلى حالتها الطبيعية. وتستعمل طريقة التجزوء في زراعة الفطريات في المختبرات من خلال عمل مزارع جديدة subcultures حيث يتم قطع جزء من الكتلة الحيوية biomass للفطر بما تحتويه من غزل فطري وأبواغ ليتم زراعتها مجددا" في مزرعة جديدة (لوحة 7 -6).

3 . الانشطار **Fission**

في هذا النوع من التكاثر تنشق الخلية الخضرية إلى خليتين بنويتين، يحدث انقسام خيطي للنواة تهاجر فيه كل نواة إلى أحد أطراف الخلية الأم ثم يحصل انقباض الخلية الام أو تخصرها من الوسط وتكوين جدار فاصل بين الخليتين البنويتين، هذا النوع من التكاثر شائع بين الخمائر (لوحة 7 -6).

4. تكوين الأبواغ (التبوغ) **Spore formation (sporulation)**

تعتبر هذه الطريقة هي الأكثر شيوعا" بين عموم الفطريات كما أنها تنتج أعدادا كبيرة من وحدات التكاثر وهي الأبواغ، حيث يستطيع كل بوغ عند توفر الظروف المناسبة للإنبات ينبت ويكون فطر جديد. تتباين الأبواغ الفطرية ذاتها في اللون والشكل والحجم وعدد الخلايا المكونة لها وطريقة تكونها، ويستفاد من هذه الصفات في تشخيص وتصنيف الفطريات. والأبواغ اللاجنسية يمكن تقسيمها إلى مجموعتين حسب طريقة تكوينها:

أ . الأبواغ الحافظية **Sporangiospores**

وهي الأبواغ التي تتكون أو تحمل داخل حافظة (علبة) sporangium وتحمل على حامل متخصص يسمى حامل الحافظة sporangiophore. تتكون الحافظة نتيجة لانتفاخ طرف حامل الحافظة ويحاط بجدار رقيق يسمى جدار الحافظة peridium وهو امتداد لجدار حامل الحافظة مع انتقال كمية من البروتوبلازم إليه. تكون عديدة الأنوية احادية المجموعة الكروموسومية ، ثم يتشقق البروتوبلازم إلى أجزاء وحيدة النواة سرعان ما تستدير كل واحدة منها ليتكون من مجموعها عددا كبيرا من الأبواغ اللاجنسية داخل الحافظة ، وعند نضجها يتمزق الغلاف وتتحرر الأبواغ وتكون قادرة على الإنبات عند توفر الظروف البيئية وكل بوغ ينتج عنه فطر جديد. الأبواغ الحافظية قد تكون متحركة planospores ، وتسمى أيضا" سابحة zoospores ، كونها تحمل أسواطا" flagella وقد تكون ذات سوط واحد أو سوطين والنوع الأول قد يكون ارتباطه أمامي أو خلفي، أما النوع الثاني فقد يكون السوطين أماميين أو على جانب واحد يتجه احدها إلى الأمام والآخر الى الخلف وأحيانا" قد يكون أحدهما قرباجيا" (أملس) whiplash والآخر ريشيا" tinsel (لوحة 7 -7).

ب . الأبواغ الكونيدية **Conidiospores**

وهي الابواغ التي لا تتكون داخل حافظة وإنما تحمل مباشرة على الحوامل الكونيدية conidiophores أي تكون عارية أو مكشوفة وتسمى أيضا" الكونيدات conidia ومفردها كونيدة conidium (لوحة 7-8).

وتنتظم الكونيدات على الحوامل إما فرادا أو مجتمعة أو على هيأة سلاسل (لوحة 7-7)، وفي الأخيرة يكون التسلسل إما قاعدي basipetal أي تكون الكونيدة الحديثة عند القاعدة والقديمة عند القمة أو يكون تسلسل قمي acropetal أي تكون الحديثة عند القمة والقديمة عند القاعدة. تكون الحوامل منفصلة ومتميزة عن الغزل الفطري أو تكون مجتمعة (لوحة 7-3) على هيأة حوامل مركبة وبطرق مختلفة ينتج عنها التراكيب التالية:

1 . الظفيرة الكونيدية **Synnema (pl. synnemata)**

وفيها تتحد الحوامل الكونيدية على هيأة عمود قائم غير محدد النمو أحيانا" وعندئذ تنتج الكونيدات جانبيا" بينما تستمر القمة على النمو وفي أنواع أخرى قد تنتج الكونيدات على القمة ذاتها، وتسمى أيظا" الكوريمة coremium.

2 . الوسادة البوغية **Sporodochium**

وفيها يكون الحامل الكونيدي المركب على هيأة وسادة حيث تنشأ الحوامل الكونيدية من قاعدة حشوية Stroma وتنبثق عنها عموديا" وتكون وثيقة الارتباط مع بعضها البعض.

3 . الكويمة الكونيدية **Acervulus**

وتتكون من حامل كونيدي مركب، الحوامل فيه قصيرة قائمة ومرتبة بصورة عمودية على قاعدة حشوية بحيث تأخذ شكل أو هيأة مسطحة تشبه

الحصيرة تكون في بادئ الأمرمغطاة بنسيج العائل لكنها تظهر بعد تمزق النسيج.

4 . البكنيدة **Pycnidium**

وهي حامل كونيدي مركب كروي أو قاروري الشكل محاط بنسيج حشوي كاذب مبطن من الداخل بحوامل كونيدية قصيرة بسيطة أو متفرعة، وقد تكون البكنيدة إما مغلقة وتتفتح عند النضج بطريقة غير منتظمة أو تكون مفتوحة للخارج بواسطة فوهة ostiole تنطلق من خلالها الابواغ البكنيدية pycniospores عند نضجها. وتكون البكنيدات إما سطحية أو غائرة في حشية خاصة أو في أنسجة العائل كما في الفطر المسبب لمرض صدأ نبات الحنطة *Puccinia graminis*.

التكاثر الجنسي :

يتضمن هذا النوع من التكاثر إتحادا" بين نواتين متوافقتين جنسيا" تحملهما التراكيب الجنسية التي تسمى الأمشاج gametes، وهي إما متحركة planogametes أو غير متحركة aplanogametes ، تنشأ في حوافظ مشيجية gametangia أو في خلايا جسدية من بين خلايا الغزل الفطري. وفي جميع الاحوال فأن التكاثر الجنسي يحدث على ثلاث مراحل متتابعة هي:

1. الاقتران البلازمي plasmogamy ، ويتضمن اتصالا" بين خليتين واندماجا" بين بروتوبلاست الخليتين للجمع بين نواتين مختلفتين جنسيا" في خلية واحدة ثنائية النوى dikaryon احادية المجموعة الكروموسومية.

2 . الاقتران النووي karyogamy ، ويتضمن اندماجا" أو اتحادا" بين النواتين ليعطي خلايا ثنائية المجموعة الكروموسومية (2N) وهي اللاقحة (البيضة المخصبة) zygote.

3 . الانقسام الاختزالي meioses ، وفيه تعاني اللاقحة (النواة ثنائية المجموعة الكروموسومية) انقساما" اختزاليا" إلى نواتين أحادية المجموعة الكروموسومية يعقبه انقساما" عاديا"، بعدها يتوزع السايتوبلازم على النوى الجديدة ثم تتكون جدران حول هذه النوى لتكوين الابواغ بعد أن تنفصل عن بعضها.

وبالنسبة للتراكيب أو الأعضاء الجنسية المتخصصة أي الحوافظ المشيجية تكون إما متماثلة وتسمى isogametangia أو متغايرة وتسمى heterogametangia والأخيرة يمكن تمييزها الى نوعين كما في الفطريات البيضية هما:

1 . حوافظ مشيجية ذكرية (انثريدات) **antheridia**

2 . حوافظ مشيجية انثوية (أوكونات) **oogonia**

ويحدث التكاثر الجنسي بآليات أو طرق مختلفة أهمها:

1 . تزاوج الأمشاج المتحركة **Planogametic conjugation**

في هذا النوع تكون الأمشاج المتزاوجة متحركة أو سابحة (مسوطة) ويتطلب مثل هذا التزاوج وجود وسط مائي في مرحلة من دورة حياة الفطر، ولذلك يقتصر على الفطريات التي تعيش في الماء أو على سطح التربة المبتل أو بصورة متطفلة داخل أنسجة العائل حيث يوفر العصيرَ الخلوي الوسط اللازم لتحرك الأمشاج مثل الفطريات الكتريدية. وتكون الأمشاج المتحركة متشابهة في معظم الحالات ويكون التزاوج متشابه الأمشاج فيدعى isogamous ولكن قد تختلف الأمشاج فقط في الحجم فتدعى الأمشاج غير المتشابهة anisogametes. وهناك حالات من تزاوج أمشاج متحركة متباينة heterogamous planogametic وهو تزاوج نادر بين الفطريات وقد سجل

في الفطر الكتريدي .*Monoblepharis* sp. حيث يكون المشيج الذكري متحرك antherozoid يتكون داخل حافظة مشيجية ذكرية هي الأنثريدة antheridium وبين مشيج أنثوي غير متحرك يسمى البيضة oosphere يتكون داخل حافظة مشيجية أنثوية oogonium ، ويسمى هذا النوع التكاثر الاوكامي oogamy (لوحة 7- 5).

2 . تلامس الحوافظ المشيجية **Gametangial Contact**

هو أحد أنواع التزاوج متباين الأمشاج heterogamous وما يميزه عن الأنواع الأخرى أن كلا المشيجين (الحافظتين) الذكري(انثريدة) والانثوي (أوكونة) غير متحركان. تتلامس الحافظتان وتنتقل الأمشاج الذكرية إلى الحافظة المشيجية الانثوية (من خلال ثقب ذائب في الجدار المشترك عند نقطة التلامس أو من خلال أنبوب إخصاب fertilization tube) حيث توجد البيضات oospheres لتخصبها وتكون أبواغ بيضية oospore، ويطلق أيضا" على هذا النوع من التكاثر التزاوج الاوكامي oogamous، وهو شائع في الفطريات البيضية (لوحة 7- 9).

3. تزاوج الحوافظ المشيجية **Gametangial Conjugation (Copulation)**

تعمل المحتويات الكاملة للحوافظ المشيجية عمل الأمشاج ويحدث الالتقاء والاندماج بطريقتين هما:

أ . في الفطريات المائية تلتقي الحافظتان المشيجيتان وتندمج محتوياتهما في الحافظة المشيجية الانثوية.

ب . في الفطريات غير المائية تلتقي الحافظتان المشيجيتان وتنتقل محتوياتهما إلى خلية بينهما تتكون نتيجة ذوبان الجدار الفاصل بينهما عند نقطة الالتقاء وينتج عن ذلك بوغ ساكن مثخن (سميك) الجدار

يسمى البوغ اللاقحي zygospore ، هذا النوع شائع في الفطريات اللاقحية (لوحة 7- 9).

4 . اقتران بذيري **Spermatization**

يحصل هذا النوع من الاقتران عن طريق خلايا ذكرية صغيرة وحيدة النواة أحادية المجموعة الكروموسومية تسمى البذيرات spermatia وتكون محمولة خارجيا"على حامل بذيري spermatiophore تنتقل عن طريق الماء أو الرياح أو الحشرات الى حيث تلتصق بجدار حافظة مشيجية أنثوية مختزلة إلى خيط فطري متخصص يسمى الخيط الفطري المستقبل receptive hypha (trichogyne) وتنتقل محتويات البذيرة إلى الخيط المستقبل من خلال ثقب عند نقطة التلامس ويؤدي الاندماج البلازمي إلى خلية ثنائية النوى (لوحة 7-9).

5 . الاقتران الجسدي (الجسمي) **Somatogamy**

في هذا التكاثر لا تتكون تراكيب أو أعضاء جنسية متخصصة وإنما تقوم خلايا عادية بهذه المهمة وهي ظاهرة شائعة بين الفطريات الراقية وتكاد تكون محدودة جدا" بين الفطريات الواطئة ، حيث ينتج عنه الجمع بين خليتين في خلية واحدة ذي نواتين مختلفتين ولكنهما متوافقتين جنسيا" ، يعقبه الاقتران النووي وتكوين اللاقحة (لوحة 7- 9).

الفصـل الثامـن

حفـظ الفطريــات

Preservation of Fungi

ان عملية حفظ الفطريات من الأمور المهمة والضرورية جداً لبقاء وديمومة الفطريات التي تم عزلها والتعرف عليها وتشخيصها، مع ضمان الاحتفاظ بحيويتها لفترة طويلة قد تصل إلى 10 سنوات، وإمكانية الحصول على مزارع فطرية بكامل حيويتها بعد هذه الفترة الطويلة من الحفظ. المهم هنا هو أن عملية الحفظ يجب أن تتم تحت نفس الظروف والشروط التي وجدت فيها الفطريات أثناء العزل كلما كان ذلك ممكناً، ولهذا السبب فقد اعتمدت عدة طرق للحفظ ويتوقف اختيار الطريقة المناسبة على أساس عدد المزارع، الوقت، الإمكانات المتاحة والظروف البيئية والمناخية السائدة.

فعلى سبيل المثال يجب حفظ الفطريات المجهرية بطريقة قابلة للحياة والنمو في مزرعة نقية خلال فترة إجراء تجربة معينة ولفترة زمنية محددة، وهذا يتطلب نقلها إلى وسط غذائي جديد وعلى فترات زمنية معقولة تضمن الحفاظ على حيوية ونشاط الفطر خلال فترات النقل هذه والتي تعتمد على قدرة الفطر في البقاء حياً ونشطاً قبل نقله مرة أخرى. أما بالنسبة للفطريات الكبيرة الحجم مثل الفطريات اللحمية والأجسام الثمرية اللامجهرية فيمكن حفظها والاحتفاظ بها ولكن ليس بالضرورة بشكل حي وإنما تحفظ في مواد ومحاليل حافظة لكي تحافظ على شكلها الطبيعي لأغراض البحث والدراسة.

أما بخصوص الفطريات الممرضة للبناتات فيمكن حفظها مع النموذج النباتي أما في محاليل حفظ خاصة أو بطريقة التجفيف وفي كلا الحالتين فإن الهدف هو الحفاظ على هذه النماذج النباتية لمواسم غير مواسم نموها أو تواجدها سواء لأغراض الدراسة أو البحث العلمي أو لمتابعة موضوع محدد يخص هذه الفطريات. وسوف يتم تناول هذه المواضيع في الفقرات التالية:

أولاً: حفظ المزارع الفطرية Preservation of fungal cultures

ان أغلب الفطريات المجهرية يمكن الاحتفاظ بها حية على عدد من أوساط الأكار الصلبة ولفترة تتراوح ما بين ستة أشهر إلى سنة واحدة قبل نقلها إلى وسط زرعي جديد، كما هو الحال مع الفطريات *Penicillium* و *Aspergillus* ، بينما هناك فطريات أخرى يتطلب نقلها إلى مزارع جديدة كل شهر او كل ثلاثة أسابيع لضمان بقائها حية. المعروف بان الفطريات والاجزاء الفطرية تختلف في مطاولتها Longivity للبقاء حية على الوسط الزرعي او الغذائي الذي تنمو عليه قبل نقلها إلى وسط جديد، وبشكل عام تملك الخيوط الفطرية أو تحتفظ بحيوية أكثر مما هو عليه في الأبواغ، والأبواغ هي الأخرى تختلف فيما بينها في المطاولة فالابواغ الكونيدية أكثر مطاولة من الأبواغ الحافظية. كذلك وجد بأن الفطريات المائية aquatic fungi تعيش لفترة أقصر من الفطريات الأخرى وهكذا، ولكن عموماً فإن العوامل الأكثر اهمية في تحديد مطاولة الفطريات او الأجزاء الفطرية هي الرطوبة والحرارة، وعادة تستخدم الرطوبة المنخفضة والحرارة الواطئة لحفظ الأجزاء أو المزارع الفطرية حية لفترات زمنية طويلة، وقد اعتمدت عدة طرق لتحقيق هذا الغرض منها ما يأتي:

مزرعة مائل الأكار Agar slant culture

تعتمد هذه الطريقة على التجديد الدوري لمزارع الفطريات وهي من أكثر الطرق شيوعاً. تنمى المزارع في أنابيب اختبار على وسط زرعي صلب يحتوي بعض المغذيات الضعيفة جداً والتي قد تكون قطعاً من الخضروات أو المواد النباتية أو مستخلصات الخضروات أو أملاح معدنية مع مصدر للكاربون. ان أكثر هذه المغذيات نفعاً هومستخلص البطاطا أوالجزر مع الأكار في أنابيب اختبار أو زجاجيات مناسبة، وبعد تكون النمو على الوسط الزرعي تحفظ المزارع في الثلاجة أو الحاضنة المبردة في درجة حرارة 5 مْ، ويجب تجديد المزرعة في هذه الحالة مرة كل ستة اشهر على الأقل، وقد تكون بعض الفطريات والسلالات

حساسة للبرودة فتحفظ في درجة حرارة أعلى قليلاً تتراوح ما بين 10-15مْ. يجب الانتباه هنا إلى نقطة ضرورية تضمن موضوع حفظ المزارع الفطرية ألا وهي عمل أكثر من مكرر لكل مزرعة لكي توضع في أكثر من مكان لأن حفظها في مكان واحد وبمكرر واحد قد يعرضها للتلف أو الضياع أو تحصل حالة طارئة في المكان الأساسي قد تؤدي إلى فقدان أو كسر أو تلوث المزارع أو توقف الحاضنة مما يؤدي إلى فقدان أحد المزارع فهذه الطريقة توفر لنا فرصة جيدة في الحصول على المزارع التي فقدت بالاستعانة بالمزارع في المكان الآخر.

المواد:

1- وسط اكار البطاطا معقم.

2- أنابيب اختبار معقمة.

3- مصباح كحولي أو غازي.

4- أبر تلقيح.

5- مزارع فطرية.

طريقة العمل:

1- تحضر أنابيب اختبار تحتوي على الوسط الزراعي وبكميات لا تتجاوز ثلث حجم الانبوبة.

2- توضع الأنابيب على سطح مائل قبل تصلب الوسط الزرعي مع الانتباه إلى ضرورة ترك مسافة بين حافة الوسط وفوهة الأنبوبة، ثم تركها حتى تبرد ويتصلب الوسط.

3- تلقح الأنابيب بالفطر بنقل جزء من المزرعة الفطرية المعدة لهذا الغرض إلى السطح المائل بواسطة أبرة معقمة مع الحذر الشديد من عدم تخديش سطح الاكار.

4- تترك أنوبة أو أكثر بدون تلقيح كمقارنة.

5- تحقن أنابيب الاختبار عند درجة حرارة 25مْ لحين نمو الفطر والتأكد من كونها مزرعة نقية.

6- تنقل الأنابيب التي تحتوي مزارع مائل الاكار إلى الثلاجة وتحفظ عند درجة حرارة 4 مْ.

التجفيد (تجفيف - تجميد) Lyophilization (Freeze – drying)

تعتمد هذه الطريقة على سحب الماء من الأبواغ أو الخلايا أو الخيوط الفطرية بواسطة التجميد السريع، ومن فوائد هذه الطريقة هي استبعاد الأثر الضار لتركيز بعض المواد أو الأملاح السامة خلال عملية سحب الماء. تجفف المزارع المجمدة بنزع بخار الماء تحت ضغط منخفض باستخدام جهاز التجفيف Lyophilizere، ثم تحفظ المزارع أو معلقات الأبواغ المجفدة في انبولات أو أنابيب محكمة الغلق لتفادي خطورة التلوث أو الإصابة المتبادلة. تعتمد هذه الطريقة بشكل أساسي في حفظ الأبواغ والخيوط الفطرية. علماً أن أنواع الفطريات *Pythium* spp. و *Phytophthora* spp. لا يمكن حفظها بهذه الطريقة لأنها لا تحتمل المعاملة البدائية بهذه العملية. ان غالبية الفطريات وخصوصاً المكونة للأبواغ بكميات كبيرة يتم حفظها بهذه الطريقة.

تحت الزيت المعدني Under mineral oil

تنمى الفطريات على وسط مائل وبعد نموها تغمر بزيت معدني معقم بحيث يرتفع الأخير بمقدار 1.0 سم فوق قمة الأكار المائل عندما تكون الأنابيب في وضع قائم. يفضل أن تكون المزارع الفطرية قد نمت جيداً وكونت كمية جيدة من الأبواغ علماً بأن الخيوط الفطرية فقط في بعض الفطريات مثل *Pythium* و *Phytophthora* بإمكانها أن تعمر لفترة طويلة عند حفظها بهذه الطريقة. من فوائد هذه الطريقة وخاصة في المناطق الحارة تمنع جفاف المزارع ولا تسمح

بدخول الحلم الذي غالباً ما يهدد مزارع حفظ الفطريات، كما إنها سهلة التنفيذ ولا تحتاج إلى أجهزة أو معدات.

تحت نتروجين سائل Under liquid nitrogen

تعتمد هذه الطريقة على مبدأ خفض النشاط الحيوي للأبواغ او الخلايا الفطرية بتأثير درجات الحرارة الواطئة جداً ، حيث تعامل المزارع الفطرية أو معلقات الأبواغ بمادة واقية مثل مادة الكليسرول 10%، وتوضع في انبولات وتجمد في النتروجين السائل عند درجة حرارة فائقة الانخفاض تصل إلى 196 مْ تحت الصفر. ويفضل أن تتم العملية ببطء من خلال التبريد او الخفض التدريجي لدرجة الحرارة والتي قد تصل إلى 35مْ تحت الصفر ثم ننقل إلى النتروجين السائل، هذه الطريقة تجعل المزارع تعمر لفترة أطول مما لو عوملت مباشرة بالنتروجين السائل لأنها قد لا تتحمل صدمة التجميد البدائية. يمكن اعتماد هذه الطريقة لحفظ الفطريات النامية على الأوساط الزرعية أو على الأوساط الطبيعية.

الخزن المائي Water storage

تعد هذه الطريقة من الطرق الحديثة لحفظ الفطريات، فقد ظهر حديثاً اهتمام كبير بإمكانية استخدام الماء في حفظ الفطريات وخزنها لفترة قد تصل إلى أكثر من سنة كاملة. من أهم إيجابياتها هي كونها رخيصة، لا تحتاج الى مواد ، بسيطة ومضمونة النتائج.

طريقة العمل:

1- تنقل قطع أو أجزاء مربعة من حواف المزارع الفطرية الفتية إلى أنابيب اختبار ذات سدادات لولبية محكمة حاوية على الماء المقطر المعقم، ثم تسد أغطيتها بشكل جيد.

2- تحفظ الأنابيب عند درجة حرارة 4 مْ .

ملاحظة:

احتفظت العديد من الفطريات بحيويتها لعدة سنوات، ويمكن تكرارها حسب الحاجة، فقد وجد أن أنواع الفطر .*Ascochyta* spp تبقى حية لمدة سنتين على وسط زرعي مغطى بالماء المعقم ومحفوظ تحت درجة حرارة 10-12مْ.

سحب الماء Dehydration

تستخدم هذه الطريقة في حفظ الفطريات بسحب الماء من الخلايا أو النموات الفطرية وكذلك الأبواغ باستعمال المجفف الزجاجي البسيط Dissicator الحاوي على مواد محبة للماء Hydrophilic مثل كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$، أو باستخدام الضغط السالب حيث تجفف وتحفظ لفترات زمنية طويلة.

استخدام البارافين With paraffin

تستخدم مادة البارافين لحفظ المزارع الفطرية في أنابيب الاختبار المائلة، حيث يغطى النمو الفطري بالبارافين النقي وبعد غلق الأنابيب جيداً تحفظ تحت درجة حرارة الغرفة أو في الثلاجة تحت درجة حرارة 4 مْ. ان هذه الطريقة سهلة التنفيذ ورخيصة التطبيق ومناسبة جداً للفطريات غير المتجرثمة.

استخدام هلام السليكا With silica gel

ان هذه الطريقة مفيدة في حفظ معلقات الأبواغ، وتنفذ بالطريقة التالية:

طريقة العمل:

1- يضاف عالق الأبواغ (في الحليب الخالي من الدسم 5 %) إلى هلام السليكا النقي المبرد الموضوع في دوارق ذات أغطية حلزونية.

2- تترك الدوارق مفتوحة تحت درجة حرارة الغرفة لمدة أسبوعين تقريباً حتى تجف وتنفصل البلورات.

3- تسد الدوارق بشكل محكم ثم تحفظ في الثلاجة عند درجة حرارة 4 مْ.

4- تستخدم النماذج عند الحاجة لتنمية الفطريات من جديد بنشر بضع بلورات فوق سطح الوسط الزرعي المناسب في أطباق بتري.

ملاحظة:

يمكن حفظ الفطريات بهذه الطريقة لفترة زمنية تصل إلى 10 سنوات.

استخدام التربة With soil

تستخدم التربة أو الرمل المعقم في حفظ الفطريات وهناك اسلوبين لتنفيذ هذه الطريقة هما:

1- تضاف كمية قليلة من معلق الأبواغ أو الخيوط الفطرية إلى التربة أو الرمل المعقم الجاف في أنابيب الاختبار وتمزج جيداً ثم تترك التربة لتجف تحت درجة حرارة الغرفة باستخدام الهواء الساخن، بعدها تغلق أنابيب الاختبار وتحفظ المزارع بنفس الأسلوب والطريقة التي تخزن بها مزارع مائل الاكار. علما" بأن هذه الطريقة هي من أفضل الطرق لحفظ الأبواغ وان عددا كبيرا من الفطريات تحفظ لفترة تصل إلى أكثر من 25 سنة.

2- تضاف كمية قليلة من معلق الأبواغ أو الخيوط الفطرية إلى التربة أو الرمل المعقم الرطب في أنابيب الاختبار وتمزج جيداً ثم تترك التربة لتجف تدريجياً بعدها تحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ ، وعند الحاجة تذر كمية قليلة من حبيبات التربة على الوسط الزرعي المناسب.

ان أهم فائدة لحفظ الفطريات في التربة هي احتفاظ الأبواغ بكافة صفاتها وبدون أي تغييرات تذكر. كما أن هذه الطريقة تضمن الحصول على لقاح متجانس طيلة فترة الخزن أو الحفظ وتعد من الطرق الفعالة في حفظ الفطريات المطلوبة بشكل دوري للأعمال الصناعية المجهرية Industrial microbiology، مثل إنتاج المضادات الحيوية.

ثانياً: حفظ نماذج الفطريات Preservation of fungal samples

ان موضوع دراسة الفطريات على مدار السنة يتطلب الاحتفاظ بالفطريات الموسمية وحفظها بالطريقة المناسبة لتبقى تحت متناول اليد عند الحاجة لها. ومن الأمثلة على ذلك الفطريات اللحمية والتي يعود قسما منها إلى الفطريات البازيدية مثل العراهين Mushrooms والقسم الآخر يعود للفطريات الكيسية مثل الكمأ Truffles، والعديد من الفطريات الملونة Colored fungi والاجسام الثمرية الفطرية، بالإضافة إلى النماذج النباتية والثمار المصابة بالفطريات، تحفظ مثل هذه النماذج في مواد ومحاليل حافظة تبقي الفطريات بهيأتها وشكلها الطبيعي طيلة فترة حفظها. هناك العديد من محاليل حفظ النماذج الفطرية منها ما يأتي:

حافظ عام General preservative

يمثل هذا المحلول(FAA) أحد أهم محاليل حفظ نماذج الفطريات ومن أهم مميزاته هي إمكانية استخدامه لحفظ النماذج لفترة زمنية غير محددة، وفي نفس الوقت يستخدم كمثبت جيد لمكونات الخلية الحية ، ويتكون من:

Formaldehyde (40%)	50ml
Glacial acetic acid	50ml
Alcohol (50 or 70%)	900ml

حافظات الفطريات الملونة Preservatives for colored fungi

من الأمور المهمة جداً في عملية حفظ الفطريات الملونة هي الحفاظ على الألوان الطبيعية لهذه الفطريات طيلة فترة حفظها للاستفادة منها للتدريس أو البحث خصوصاً وان قسما من ألوان الفطريات يذوب في الماء والقسم الآخر لا يذوب في الماء وعليه فهناك أكثر من محلول لضمان المحافظة على الألوان منها:

1- حافظ اللون غير الذائب في الماء Preservitive for Color not water soluble

يستخدم هذا المحلول لحفظ الفطريات الملونة التي تكون ألوانها غير ذائبة في الماء، ويتكون من:

Mercuric acetate	10g
Glacial acetic acid	5ml
Distilled water	1000ml

2- حافظ اللون الذائب في الماء Preservitive for Color soluble in water

يستخدم هذا المحلول لحفظ الفطريات الملونة التي تكون ألوانها ذائبة في الماء، ويتكون من:

Mercuric acetate	1g
Neutral lead acetate	10g
Glacial acetic acid	10ml
Alcohol (90%)	1000ml

3- حافظ كبريتات الزنك Zinc sulphate preservative

يستخدم هذا المحلول أيضاً لحفظ للفطريات الملونة في حالة تعذر الحصول على المحاليل أعلاه، ويتكون من:

Zinc sulphate	25g
Formaldehyde (40%)	10ml
Distilled water	1000ml

4- حافظ هسلر للثمار الملونة Hesler's preservative for colored fruits

يستخدم لحفظ الثمار الفطرية الملونة والتي يتطلب بقاء لونها وشكلها الطبيعي خلال فترة الحفظ او الخزن، ويتكون من:

Zinc chloride	50g
Formaldehyde (40%)	25ml
Glycerine	25g
Distilled water	1000ml

5- حافظ الاجزاء النباتية الخضراء مع الفطريات المتطفلة

Preservative for green plants parts with parasitic fungi

كثيراً ما يتطلب حفظ النباتات أو الأجزاء النباتية وخصوصاً الأجزاء الخضراء الحاملة للفطريات المتطفلة عليها. وهناك طريقتين لحفظ مثل هذه النماذج هي:

أ- توضع العينات الطازجة في مزيج يغلي، مؤلف من جزء واحد من حامض الخليك glacial acetic acid مشبع ببلورات خلات النحاس العادية Copper acetate crystals أو أربعة أجزاء ماء، وتستمر عملية الغليان حتى يعود اللون الأخضر إلى الأجزاء النباتية، ثم تحفظ النماذج في الفورمالين 5 % (المحلول المائي للفورمالديهايد 40 %).

ب- توضع العينات الطازجة في محلول كبريتات النحاس 5 % Copper sulphate لمدة لا تقل عن 6 ساعات ولا تزيد عن 24 ساعة، ثم تغسل جيداً تحت ماء جارٍ لعدة ساعات بعد ذلك تحفظ النماذج في قناني محكمة الغلق في محلول مكون من 15 مل حامض الكبريتيك (5 – 6 %) / لتر ماء مقطر.

ملاحظة:

في حالة الثمار يجب إضافة 20-30 مل من مادة الكليسيرين الى المحلول.

6- حافظ عينات المتحف **Preservative for museum specimens**

يعد هذا الحافظ عام لعينات المتحف والتي تحفظ لفترات زمنية طويلة، هذه العينات قد لا تخضع لأمور تتعلق بالدراسة أو البحث العلمي وإنما للحفاظ على اللون فقط لأنها قد تفقد بعض خواصها وصفاتها الأخرى مع مرور الزمن ، علما" إنها طريقة بسيطة وسهل التحضير، ويتكون المحلول من:

Formaldehyde (40%)	25ml
Alcohol (ethyl 95%)	150ml
Distilled water	1000ml

ثالثاً: الحفظ بالتجفيف Preservative by drying

تعتمد هذه الطريقة على امكانية سحب الماء من نماذج الفطريات المطلوب حفظها ، وهناك بعض الأساليب التي يمكن اعتمادها في هذا المجال منها :

تجفيف النباتات المصابة بالفطريات Drying of infected plants

ان غالبية الفطريات يمكن حفظها بصورة غير محددة بواسطة التجفيف، إلا أن هذه الطريقة تكون نافعة ومفيدة جداً للقسم الآخر من الفطريات وهي الفطريات المتطفلة على النماذج النباتية مثل الأوراق والسيقان العشبية والتي تجفف عادة بوضعها بين أوراق صحف أو ورق نشاف ثم تكبس في كابس نباتي Plant press ، ويفضل ان تتم هذه العملية حال جمع نماذج النبات للحفاظ على نظارتها وخواصها المظهرية وقبل أن تتعرض للذبول أو يحدث تغيير في اللون، يمكن أن تنجز العملية في الحقل مباشرة. في الأوقات الحارة والجافة تترك كابسة النماذج في الشمس لمدة يومين أو ثلاثة أيام لكي تجف. أما في الأوقات والظروف الرطبة يتطلب تغيير الورق كل يوم لتحاشي نمو الفطريات المترممة جراء الرطوبة العالية، وأحياناً قد يتطلب الأمر تعريض النماذج إلى هواء ساخن لإتمام التجفيف بفترة زمنية أقل حفاظاً على النماذج من التلف. بعد أن تجف النماذج تخرج من الكابس وتوضع في ظرف دونت عليه كافة المعلومات المتعلقة بالنموذج، والتي تشمل عادة اسم النبات واسم المرض واسم الفطر ومكان الجمع ووقت الجمع واسم الشخص الذي قام بجمع النموذج وأخيراً تاريخ الجمع.

أما في حالة النماذج اللحمية fleshy specimens، يستخدم مجفف يمكن عمله بسهوله من صندوق معدني أو خشبي أو من الازبست Asbestos بداخله مصباح كهربائي، توضع النماذج على سطح الصندوق الذي يجب أن يكون من المعدن، بعد أن تجف النماذج توضع في صندوق كارتوني pasteboard box وينبغي أن

توضع في الصندوق كمية قليلة من بلورات احدى المدخنات الحشرية insect fumigant لضمان عدم مهاجمتها من قبل الحشرات أثناء الحفظ أو الخزن.

تجفيف مزارع الفطريات **Drying of fungal cultures**

يمكن تجفيف المزارع الفطرية المنماة في أطباق بتري وحفظها في المختبر والرجوع إليها عند الحاجة ، وكما يأتي.

طريقة العمل:

1- قتل المزرعة الفطرية بوضع ورقة ترشيح مشبعة بالفورمالين في غطاء الطبق وتركها لمدة 10-12 ساعة.

2- تزال المزرعة من الطبق بهدوء وتوضع فوق سطح ناعم من خشب الفورمايكا أو اي سطح أملس.

3- تترك المزرعة لمدة 5-7 أيام حتى تجف تماماً.

4- تقشر المزرعة الجافة باستخدام شفرة حادة.

5- تثبت المزارع الجافة على حلقات معمولة في وسط شرائح كارتونية (1×3 أنج) شبيهة بالشرائح الزجاجية المجهرية ويمكن فحصها عند الحاجة.

رابعاً: الحفظ بتقنية مزرعة السيلوفان Cellophane culture technique

هذه التقنية مفيدة في التصوير الفوتوغرافي للفطريات أثناء حفظها وكمصدر للمعلومات في المستقبل، وتنفذ على الشكل التالي:

1- توضع أقراص من السيلوفان قطرها 7 سم بالتناوب بين أوراق ترشيح في طبق بتري.

2- تعقم الأطباق الحاوية على أقراص السيلوفان بالموصدة تحت ضغط 15 باوند/أنج^2 لمدة 20 دقيقة.

3- تغمر أقراص السيلوفان في ماء مقطر معقم باستخدام ملقط معقم وتحت ظروف معقمة، ثم ترتب فوق سطح وسط أكار الماء (2.5%) في أطباق بتري.

4- عندما تتكون فقاعات بين أقراص السيلوفان والوسط الزرعي ترفع الاقراص بهدوء من الحافة وتعاد بهدوء أيضاً للتخلص من الفقاعات.

5- تحضن الأطباق لمدة 48 ساعة تحت درجة حرارة الغرفة قبل تلقيحها بالفطريات المطلوب حفظها.

6- تلقح الأقراص بالفطريات بوضع جزء قليل جداً من المزرعة الفطرية على الأقراص، ثم تحضن الأطباق على درجة حرارة مناسبة ويفضل أن تكون نفس درجة الحرارة التي كانت المزارع الاصلية تنمو فيها لكي تنمو الفطريات على أقراص السيلوفان.

7- بعد اكتمال نمو الفطريات على الأقراص يمكن حفظها كنموذج معشبي بعد أن تثبت على كارت ورقي أو كارتوني دونت عليه كافة المعلومات المتعلقة بالفطر.

الفصـل التاسـع

المجاميع الفطرية والصفات المميزة لـها

Fungal Groups and General Characteristics

قبل البدء بتناول المجاميع الفطرية ومميزاتها العامة لابد من التطرق إلى أساسيات التقسيم والتصنيف الذي اعتمد في توزيع الفطريات إلى المجاميع الرئيسية المعروفة.

ان التعريف العام لكلمة تصنيف Classification هو التقسيم العلمي للكائنات الحية إلى مجاميع ضمن طبقات أو فئات كل منها يضم مجموعة متشابهة في عدد من الصفات المظهرية أو التركيبية او الفسلجية. وبالرغم من وجود عدد من الضروب Varieties، والعزلات Strains والسلالات Races، يبقى النوع Species هو أصغر وحدة تصنيف في النظم التصنيفية عموماً. فإن الأنواع المتشابهة توضع ضمن جنس واحد Genus، الأجناس المتشابهة توضع ضمن عائلة Family واحدة، العوائل المتشابهة توضع ضمن رتبة Order واحدة، والرتب المتشابهة توضع ضمن صنف Class واحد، الأصناف المتشابهة توضع ضمن قسم Division واحد، والأقسام توضع ضمن المملكة Kingdom والتي هي أعلى مستوى تصنيفي في الفطريات.

لنأخذ فكرة تأريخية عن بدايات تصنيف الفطريات وموقعها بين الكائنات الحية الأخرى قبل أن تصبح مملكة مستقلة بحد ذاتها. لقد قسمت الكائنات الحية التي مثلت أصل الحياة إلى مملكتين هما المملكة الحيوانية والمملكة النباتية وقد وضعت الفطريات ضمن المملكة النباتية وشملت ست مجاميع هي: الطحالب Algae، البكتريا Bacteria، الفطريات Fungi، الحزازيات Mosses، السرخسيات Ferns، والنباتات البذرية Seed plants.

وقد استمرت هذه الحالة لسنوات طويلة حتى جاء اقتراح النظام الجديد من قبل العالم وايتكر عام 1969 الذي يقوم على توزيع الكائنات الحية إلى خمس ممالك

وان تكون الفطريات ضمن مملكة مستقلة. واعتمد هذا النظام في توزيع الكائنات الحية إلى المجاميع الخمس على مبادئ أساسية منها أن بعض الكائنات أجسامها أحادية الخلية ولكنها تختلف فيما بينها من حيث امتلاكها للتراكيب النووية المحددة والواضحة من عدمها، والقسم الآخر أجسامها عديدة الخلايا إلا أنها تختلف في طريقة حصولها على الغذاء فهناك ثلاثة نظم للتغذية فهي التركيب الضوئي photosynthesis والامتصاص absorptive والإطعام ingestion. وقد وضعت الفطريات ضمن المجموعة الثانية التي تتغذى بالامتصاص (Sharma, 1997).

أما موقع الاعفان الهلامية slime melds فقد بقي وفي أكثر من نظام تصنيفي متأرجحاً ما بين النباتات والحيوانات، حيث يضعها علماء الفطريات ضمن الفطريات الهلامية Mycetozoa. بالإضافة إلى ذلك فإن موقع الفطريات الهلامية المتطفلة Plasmodiophoromycetes هو الآخر كان أيضاً موضع نقاش واختلاف بين المختصين فقد وضعت في البداية مع الفطريات الهلامية ثم نقلت إلى الفطريات الطحلبية (الواطئة) Phcomycetes التي تضم الفطريات الكتريدية Chytridiomycetes، البيضية Omycetes واللاقحية Zygomycetes. والآن هي في مجموعة مستقلة ضمن الفطريات أحادية السوط. علماً أن الفطريات الكبسية Ascomycetes والفطريات البازيدية Basidiomycetes والفطريات الناقصة Deuteromycetes احتفظت منذ البداية بمواقعها التصنيفية لأنها تمتلك خصائص محددة وواضحة تميزها عن بعضها البعض مثل وجود الأكياس asci في الفطريات الكيسية، وجود البازيدات Basidia في الفطريات البازيدية وعدم وجود التكاثر الجنسي sexual reproductim في الفطريات الناقصة.

ان التاريخ العرقي phylogeny للفطريات ونشأتها وتطورها، أو تفاصيل النشوء النوعي لها لا يزال موضع جدال بين المختصين وهناك أكثر من نظرية عن هذا الموضوع ومن بين اقرب هذه النظريات للواقع في حينها هي التي تقول بأن الفطريات تكونت نتيجة لفقدان المادة الخضراء chlorophyll في الطحالب وهذا واحد من أسباب وضعها ضمن المملكة النباتية.

معايير تصنيف الفطريات Criteria of fungal taxonomy

هناك عدة معايير أو مقاييس اعتمدت في معظم نظم تصنيف الفطريات وشملت سبع معايير اعتمدت في التصنيف وهي:

1- الصفات المظهرية او الشكلية Morphological characters

2- التخصص العوائلي Host specialization

3- الصفات الفسلجية Physiological characters

4- الصفات الخلوية والوراثية Cytological and genetical characters

5- الصفات المصلية Serological characters

6- الصفات الكيمو حيوية Biochemical haracters

7- التصنيف العددي Numerical taxonomy

ان هذه المعايير تؤكد بان المعلومات المطلوبة لتصنيف الفطريات لا تقتصر على الصفات المظهرية والتشريحية بل تتعداها إلى عدد من الصفات والمعايير الأخرى وهذا ما أكدته العديد من الدراسات ، فمثلاً ان إنتاج الايضات الثانوية يساهم في تصنيف الفطريات، ولذلك يعد تصنيف الفطريات من الأمور المهمة لغرض تقسيمها وترتيبها ضمن مستويات تصنيفية معينة ومحددة كل منها يضم مجموعة من الفطريات التي تشترك في عدد من الصفات الرئيسية المميزة لكل مستوى تصنيفي. ويتطلب التصنيف جمع المعلومات الشكلية والتركيبية والتكاثرية والفسلجية ، وبما ان مثل هذه المعلومات لم تكتمل عن جميع الفطريات فقد تعددت وتنوعت النظم التصنيفية للفطريات التي اقترحها المختصون ، ولكن من الصعوبة بمكان وضع جميع نظم تصنيف الفطريات أمام القراء. وفي هذا الكتاب سيتم تناول نظام تصنيف الفطريات المتداول في كتب الفطريات، وهو النظام الذي اعتمده أغلب المختصين والباحثين المقترح من قبل Alexopoulos & Mims (1974)، الذي قسمت فيه الفطريات إلى ثلاثة مجاميع كل منها بمستوى قسم Division هي:

1- قسم الفطريات الهلامية Gymnomycota

2- قسم الفطريات المسوطة Mastigomycota

3- قسم الفطريات عديمة الأسواط Amastigomycota

الصفات العامة للفطريات General characteristics

تمتلك الفطريات العديد من الصفات والمميزات التي تميزها عن الكائنات الحية الأخرى وهي:

1- الفطريات مجموعة من الكائنات الحية و فاقدة للمادة الخضراء.

2- غير ذاتية التغذية وتعيش مترممة على المواد غير الحية أو متطفلة على الكائنات الحية الأخرى.

3- التراكيب الجسمية تحاط بجدران خلوية نموذجية.

4- حقيقة النواة والأنوية محاطة بغشاء نووي وتحتوي على نوية واحدة أو أكثر.

5- الطور الجسمي (الخضري) مؤلف من كتلة من الخيوط المتفرعة يطلق عليها الخيوط الفطرية hyphae ومجموعها يشكل الغزل الفطري mycelium، علماً بأن عدد من الفطريات (الوحيدة الخلية) جسمها لا يكون من نوع الغزل الفطري.

6- تتكاثر لا جنسيا وجنسياً، التكاثر اللاجنسي يحصل بعدة طرق ينتج عنها وحدات تكاثر أو تكوين أنواعا مختلفة من الأبواغ والكونيدات، أما التكاثر الجنسي فيحصل نتيجة لاقتران الأمشاج الذكرية والانثوية وبطرق مختلفة حسب نوع الفطريات ينتج عنها تكوين اللاقحة.

7- فاقدة للحركة فيما عدا الحركة الاميبية للفطريات الهلامية وحركة الأبواغ والخلايا السابحة أو المسوطة.

قسم I. الفطريات الهلامية Gymnomycota

يشتمل هذا القسم على العفنيات المخاطية Slime molds والتي يعتبرها العديد من المختصين كائنات حية شديدة القرابة بالفطريات، ويحتمل إنها أكثر قرابة للكائنات الحيوانية الابتدائية protozoa لأن الطور الجسمي (الخضري) فيها يتألف إما من بلازموديوم كاذب pseudoplasmodium (تجمع لخلايا أميبية منفصلة)، أو من بلازموديوم حقيقي plasmodium (كتلة بروتوبلازمية عديدة النوى فاقدة للجدران الخلوية). وزعت فطريات هذا القسم إلى مجموعتين بمستوى تحت قسم Subdivision هما: تحت قسم الفطريات الهلامية الخلوية Acrasiogymnomycotina وتحت قسم الفطريات الهلامية البلازمودية Plasmodiogymnomycotina.

تحت قسم 1. الفطريات الهلامية الخلوية

Acrasiogymnomycotina (Cellular slim molds)

يضم الفطريات الهلامية التي تتميز بكون الجسم الخضري ناتج من تجمع خلايا أميبية هلامية منفصلة تشكل فيما بعد بلازموديوم كاذب.

الصفات العامة:

1- كائنات حية دقيقة أو مجهرية ونادراً ما يمكن ملاحظتها في الطبيعة.

2- التراكيب الثمرية سريعة الزوال أي تتكون وتختفي بسرعة.

3- الوحدة التركيبية لهذه الفطريات هي خلايا أميبية هلامية وحيدة النواة، أحادية المجموعة الكروموسومية وعارية.

4- تتغذى بطريقة الالتهام أو ابتلاع الغذاء وخاصة البكتريا.

5- الجسم الخضري أو الطور الجسمي (الخضري) عبارة عن بلازموديوم كاذب.

6- يضم صنف واحد هو Acrasiomycetes.

صنف 1: الفطريات الهلامية الخلوية Acrasiomycetes

يشتمل على فطريات هلامية تتكون من خلايا أميبية هلامية منفصلة.

الصفات العامة:

1- كائنات دقيقة مجهرية اكتشفت لأول مرة من قبل العالم الألماني بريفيلد Brefild عام 1869 الذي قام بعزلها من التربة.

2- الأبواغ تنتج في أنواع مختلفة من التراكيب الثمرية والتي غالباً ما تشبه العلبة أو الحافظة capsule – shaped أو كروية أو بيضوية، ذات جدار ناعم يحتوي على السليلوز.

3- الأبواغ في بعض الأنواع تكون فاقدة للجدران الخلوية وتسمى بالأبواغ الكاذبة pseudospores.

4- الطور الخضري يتكون من تجمع الخلايات الاميبية الهلامية المنفصلة على هيأة بلازموديوم كاذب.

5- أفرادها تنتج نوعين من الاميبا الهلامية، الأول ذو أقدام كاذبة مفصصة lobose pseudopodia والثاني ذو أقدام كاذبة خيطية filose pseudopodia.

6- تتكاثر لا جنسياً بالانقسام الاعتيادي حيث تنقسم الخلايا الاميبية الهلامية بسرعة.

7- في بعض الأنواع تتجمع الخلايا الاميبية لتشكل مجموعة كبيرة من الخلايا، وفي وسط هذا التجمع تنشأ خلية عملاقة تبتلع الخلايا المحيطة بها وتفرز جدارا سميكا مكونا من عدة طبقات مكونة تركيباً كيسياً يطلق عليه الكيس الكبير Macrocyst.

8- تتكاثر جنسياً باقتران او اتحاد الخلايا الاميبية المتوافقة جنسياً لتتكون اللاقحة.

9- يضم الصنف مجموعتين بمستوى تحت صنف subclass:

الأولى Acrasiomycetidae وتتميز أفرادها بتكوين الاقدام الكاذبة المفصصة وفيها الرتبة Acrasiales، والثانية Dictyosteliomycetidae وتتميز أفرادها بتكوين الاقدام الكاذبة الخيطية وفيها الرتبة Dictyosteliales.

10- يضم الصنف عددا قليلا من الاجناس منها: *Acrasis* ، *Polysphondylium* و *Dictyostelium*.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة جاهزة تخص تجمع الخلايا الاميبية للنوع *D. discoideum* ولاحظ البلازموديوم الكاذب والتركيب الثمري البوغي وطبيعة الأقدام الكاذبة الخيطية الشكل (لوحة 9-1).

2- افحص شريحة جاهزة تخص مقطع من الكيس الكبير للنوع *P. violaceum* ولاحظ الجدار السميك للكيسي (لوحة 9-1).

تحت قسم 2. الفطريات الهلامية البلازمودية (الملتهمة)

Plasmodiogymnomycotina

يختلف هذا التحت قسم من الفطريات الهلامية عن الذي سبقه بأن الخلايا الاميبية الهلامية لا تتجمع أو تتكتل وإنما قد تعطي مباشرة حامل بوغي sporophore أو تعطي بلازموديوم. وعلى هذا الاساس وضعت افراده ضمن مجموعتين بمستوى الصنف Class هما صنف الفطريات الهلامية الأولية وصنف الفطريات الهلامية الحقيقية.

صنف 1: الفطريات الهلامية الأولية Protosteliomycetes

يضم كائنات دقيقة غير معروفة حتى عام 1960 حيث اكتشف الفطر *Protostelium mycophaga* واستمرت الدراسات حتى عام 1975 حيث اعتبر من الفطريات الهلامية الأولية.

الصفات العامة:

1- تغذيتها حيوانية.

2- تعاني الخلايا الاميبية في البعض منها انقسامات نووية متعددة فتعطي بلازموديوم شبكي.

3- تكوين الأبواغ يبدأ من خلية البوغ الأولي prespore cell التي تبدأ بتكون الحامل البوغي أو الجسم الثمري البوغي.

4- يضم رتبة واحدة فقط هي Protosteliales وفيها عائلتين هما Cavosteliaceae و Protosteliaceae .

5- كلا العائلتين فيها أنواع تكون البلازموديوم وأنواعاً لا تكون البلازموديوم، إلا أن الفرق بينهما هو ان الاولى تمتلك خلايا مسوطة أما الثانية فهي فاقدة للخلايا المسوطة.

6- العائلة الأولى Cavosteliaceae تضم جنسين مثيرين للاهتمام هما الجنس *Protosporansium* والجنس *Certiomyxella*.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص دورة حياة أحد أنواع الجنس *Protosporansium* ولاحظ الخلايا المسوطة ومراحل تطور البلازموديوم.

2- افحص شريحة جاهزة توضح الطور البوغي لأحد أنواع الجنس الثاني مثل C.*tahitiensis* وقارن بينه وبين الجنس الأول في (1) أعلاه (لوحة 9-1).

صنف 2: الفطريات الهلامية الحقيقية Myxomycetes

ان الفطريات الهلامية الحقيقية كائنات حية تظهر صفات في الطور الجسمي (الخضري) تشبه الحيوانات الابتدائية الاميبية بافتقارها إلى الجدار الخلوي.

الصفات العامة:

1- الطور الجسمي (الخضري) على هيأة كتلة بروتوبلازمية عديدة النوى ومتحركة تعرف بالبلازموديوم plasmodium.

2- الطور التكاثري على هيأة كتلة بوغية غالباً ما تحاط بغلاف غشائي غير خلوي يحتوي بداخله على خصله من الخيوط العقيمة تسمى Capillitium.

3- عند نضج الطور الجسمي يبدأ تكوين الأبواغ فيتحول كل البلازموديوم إلى واحد أو اكثر من التراكيب الثمرية المختلفة الأشكال وهي أما حافظة بوغية sporangium أو جسم ثمري بلازمودي (هلامي) plasmodiocarp أو ايثاليا aethalia.

4- عند الانبات يتمزق جدار البوغ (أو يحصل فيه ثقب) وينتج عن ذلك أما تحرير خلايا أميبية هلامية أو خلايا سابحة ذو سوطين كرباجيين غير متساويين في الطول أمامية الاتصال.

5- الخلايا الاميبية تنقسم بشكل متكرر وينتج عن ذلك أعدادا من الخلايا الاميبية أحادية المجموعة الكروموسومية وعندما تصل أعدادها لحد معين يحصل فيما بينها أو فيما بين الخلايا السابحة اندماج خلوي وتكوين لاقحة أميبية أو لاقحة مسوطة رباعية الاسواط والتي سرعان ما تسحب أسواطها وتصبح لاقحة أميبية.

6- كل لاقحة تعاني انقسامات خيطية متعددة وتنمو وتتطور لتكوين البلازموديوم ثنائية المجموعة الكروموسومية.

7- يضم ثلاث مجاميع بمستوى تحت صنف هي:

خارجية الأبواغ Certiomyxomycetidae، داخلية الأبواغ Myxogastromycetidae، والسداتيه Stemonitomycetidae.

تحت صنف 1: الفطريات الهلامية خارجية الأبواغ

Certiomyxomycetidae (exosporeae)

يشتمل على فطريات هلامية تحمل أبواغها على تراكيب ثمرية عمودية فاقدة للغلاف او مجردة من الغلاف فهي مكشوفة إلى الخارج مباشرة.

تمثل هذه المجموعة واحده من المجاميع الصغيرة جداً فهي تضم رتبة واحدة هي Ceratiomyxales وتضم عائلة واحدة Ceratiomyxaceae وتضم جنس واحد فقط *Ceratiomyxa* الذي يضم ثلاثة أنواع فقط ، من أهمها وأكثرها انتشاراً هو النوع *C. fruticulosa*.

الصفات العامة:

1- تنتج أبواغها الساكنة على سطح عدد من التراكيب البيضاء العمودية التي تشكل التراكيب الثمرية.

2- كل بوغ ساكن يملك جدارا خلويا مستقلا ولا يوجد غشاء أو غلاف يحيط بالأبواغ.

3- ينشأ من انبات البوغ مباشرة الطور الخيطي thread stage، وهو تركيب متطاول عمودي رباعي النوى ينشق إلى أربع خلايا ثم إلى ثمان خلايا تصبح مسوطة، تنفصل وتتصرف كأمشاج ويتحد كل اثنين منها مكونة اللاقحة التي تتطور إلى البلازموديوم.

4- البلازموديوم الناضج يصبح جاهزاً لتكوين الحامل البوغي.

طريقة العمل:

1- افحص نموذج أو شريحة جاهزة تخص الجسم الثمري للفطر *C. fruticulosa* باستخدام مجهر التشريح او المجهر المركب، لاحظ التركيب البسيط أو المتفرع الذي يحمل الأبواغ خارجياً (لوحة 9-2).

2- حضر شريحة زجاجية بتحميل جزء من الحامل العمودي للجسم الثمري للفطر أعلاه في اللاكتوفينول وادرس اتصال الأبواغ بالحامل، لاحظ شكل، لون وجدار الابواغ.

تحت صنف 2: الفطريات الهلامية داخلية الأبواغ

Myxogastromycetidae (endosporeae = myxogasters)

تشتمل على الفطريات الهلامية التي تنتج أبواغها في داخل تراكيب ثمرية محاطة بغلاف خارجي peridium.

الصفات العامة:

1- تعطي ثلاثة أنواع من التراكيب الثمرية الهلامية هي الحافظة البوغية sporangium، الجسم الثمري الهلامي plasmodiocarp والايثاليا aethalia (لوحة 9-2).

2- تتواجد وتنمو بشكل حر على المواد الزراعية المتفسخة في البساتين ويمكن تمييزها من أجسامها الثمرية الملونة.

3- الاجسام الثمرية قد تحتوي بداخلها على تراكيب عقيمة شبه خيطية تسمى بالخصلة capillitum (لوحة 9-2).

4- الطور الخضري عبارة عن كتلة بروتوبلازمية حية عديدة النوى فاقدة للجدار الخلوي يسمى البلازموديوم.

5- يمكن تمييز ثلاثة أنواع من البلازموديوم هي: البلازموديوم الأولي protoplasmodium، البلازموديوم غير المرئي aphanoplasmodium، والبلازموديوم المرئي phaneroplasmodium.

6- قد تتحول بعض أنواع البلازموديوم (خاصة النوع المرئي) في الظروف غير الاعتيادية إلى أجسام حجرية يمكنها أن تعطي بلازموديوم عند عودة الظروف إلى حالتها الاعتيادية.

7- يضم أربع رتب هي : Liceales ، Echinosteliales ، Trichiales و Physarales .

الرتبة Liceales

تضم فطريات هلامية حرة المعيشة ذات أشكال متنوعة من التراكيب الثمرية الملونة الفاقدة لمادة اللايم (الكلس) والفاقدة للخصلة ولكنها تمتلك خصلة زائفة pseudocapillitium.

الصفات العامة:

1- تنتج التراكيب الثمرية الهلامية من نوع الايثاليا.

2- تضم عدة عوائل من أهمها العوائل الثلاث التالية:

Reticulariaceae ، Cribrariaceae و Liceaceae

العائلة Reticulariaceae

عائلة صغيرة جداً أفرادها ذات تركيب ثمري هلامي من نوع الايثاليا ولكنه متميز كونه مرجاني اللون، وتضم الجنس *Lycogala*.

طريقة العمل:

1- افحص جسم ثمري يعود لأحد أنواع الجنس *Lycogala*، وادرس طبيعة الجسم الثمري وشكله ولونه وتأكد انه من نوع الايثاليا.لوحة(9-2)

2- حضر شريحة زجاجية من الجسم الثمري، حاول أن تمزق الغلاف الخارجي وحمل جزءا من الكتلة البوغية في اللاكتوفينول وافحصها تحت المجهر للتعرف على الأبواغ والأجزاء الأخرى.

3- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطعا في التركيب الثمري للنوع *L. epidendrum*، وادرس الخصلة الزائفة.

العائلة Cribrariaceae

هي واحدة من العوائل الصغيرة التي تتميز افرادها بتكوين تراكيب ثمرية هلامية من نوع الحافظة البوغية والتي تشكل فيها الخيوط الأفقية مع الأضلاع الطويلة ما يشبه المروحة. تضم الجنس *Dictydium*.

طريقة العمل:

1- افحص جسم ثمري يعود لأحد أنواع الجنس *Dictydium*، لاحظ الشكل المروحي للحافظة البوغية (لوحة 9-3).

2- افحص شريحة جاهزة تخص مقطع في التركيب الثمري للنوع *D.cancellatum* ولاحظ لون وشكل الأبواغ.

العائلة Liceaceae

تضم هذه العائلة فطريات هلامية حرة المعيشة تنمو في الحقول وغالباً ما يتواجد على قلف الأشجار الحية في الظروف الرطبة، ومن أهم أفرادها الجنس *Licea* الذي يتميز بجسم صغير جداً يمكن مشاهدته تحت مجهر التشريح.

الرتبة Echinosteliales

وهي من أصغر الرتب ضمن الفطريات الهلامية داخلية الأبواغ ، وأفرادها تكون حامل بوغي صغير جداً ينشأ من البلازموديوم الأولي protoplasmodium.

الصفات العامة:

1- التركيب الثمري يتمثل بحامل بوغي صغير جداً.

2- الأبواغ تكون عديمة اللون أو ملونة أو بنية داكنة.

3- الغلاف المحيط بالأبواغ يختفي مبكراً عند تكوين الحامل البوغي الذي يصبح عارياً.

4- تضم عائلتين هما: Echinosteliaceae و Clastodermataceae وسيتم تناول العائلة الأولى فقط.

العائلة Echinosteliaceae

عائلة صغيرة جداً تضم ستة أنواع تعود للجنس *Echinostelium* وجميعها تتميز بفقدان الغلاف المحيط بالأبواغ أثناء تطور الحامل البوغي الهلامي ويبقى الحامل عارياً ومن أهم الأنواع التابعة لهذا الجنس هو *E. minutum*.

طريقة العمل:

1- افحص نماذج من قلف الأشجار الحية تحت مجهر التشريح ولاحظ التراكيب الثمرية الهلامية (الحوافظ البوغية) الصغيرة ان وجدت وادرسها بشكل جيد.

2- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص الحافظة البوغية للفطر *E. minutum* وادرس الخصلة والابواغ ولاحظ الجدران المثخنة التي تحيط بالأبواغ.

الرتبة Trichiales

تضم هذه الرتبة فطريات هلامية تتميز بتكوين تراكيب ثمرية هلامية من نوع الحافظة البوغية أو البلازموديوكارب.

الصفات العامة:

1- التراكيب الثمرية أما محمولة أو جالسة.

2- الخصلة أما خيطية صلدة أو انبوبية، ناعمة أو خشنة.

3- الحافظة البوغية فاقدة للعويمد.

4- الأبواغ تظهر بشكل كتل ملونة بألوان جذابة وغالباً الاصفر والبرتقالي والأحمر.

5- تضم عائلتين هما Trichiaceae وDianemaceae وسيتم التطرق إلى العائلة الأولى فقط.

العائلة Trichiaceae

وهي واحدة من عوائل الفطريات الهلامية الشائعة حيث تتواجد أفرادها في الحقول والبساتين وفي جميع الأوقات. تضم عدة أجناس من أهمها: *Trichia* ، *Arcyria* و *Hemitrichia*.

طريقة العمل:

1- افحص تراكيب ثمرية هلامية تخص أحد الأنواع تعود لكل من الأجناس الثلاثة أعلاه وقارن بينها، ادرس الجسم الثمري للجنس *Trichia* (لوحة 9-3).

2- حضر شريحة من جزء من التراكيب الثمرية وحمله في اللاكتوفينول وافحص الخصلة وقارن بين الأجناس الثلاثة.

3- ادرس شريحة جاهزة تخص التركيب الثمري من نوع البلازموديو كارب نوع *H. serpula* ، أو النوع *H. calyculata* لاحظ الخصلة العارية نتيجة لتمزق الغلاف.

الرتبة Physarales

تشتمل هذه الرتبة على فطريات هلامية البلازموديوم فيها من النوع المرئي.

الصفات العامة:

1- تنتشر افرادها في الحقول والبساتين وتزحف على المروج والنباتات النامية.

2- البلازموديوم من النوع المرئي والخصلة أما بشكل خيوط أو أنابيب دقيقة.

3- غلاف الحوافظ البوغية يحتوي على المواد الكلسية.

4- تضم عائلتين هما: Physaraceae و Didymiaceae.

العائلة Physaraceae

تضم هذه العائلة عدة أجناس من أكثرها انتشاراً وشيوعاً هي:

Physarum ، *Fuligo* و *Badhamia*.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة جاهزة تخص بلازموديوم أحد أنواع الجنس *Physarum* ولاحظ البلازموديوم المرئي والعروق المكونة له (لوحة 9-3).

2- ادرس حافظة بوغية تعود للنوع *P. polycephalum* ولاحظ القاعدة الغشائية (الثالوس التحتي) hypothallus ، الحامل والحافظة البوغية التي تحتوي على كمية عالية من المواد الكلسية.

3- ادرس تركيب ثمري يعود لأحد أنواع الجنس *Fuligo* ولاحظ انه من النوع ايثاليا وستجد أن مجموعة من الحوافظ البوغية تجتمع ضمن غلاف واحد يحيط بها (لوحة 9-3).

4- افحص تركيب ثمري يعود لأحد أنواع الجنس *Badhamia* ولاحظ الخصلة المميزة لهذا الفطر وقارنها مع الأنواع الأخرى.

العائلة Didymiaceae

هي عائلة صغيرة ومهمة ضمن الفطريات الهلامية تضم عددا قليلا من الأجناس منها الجنس *Diderma* والجنس *Didymium* يستخدم النوع *Didymium iridis* في الدراسات الوراثية.

تحت صنف 3: الفطريات الهلامية السداتية Stemonitomycetidae

هذه المجموعة وصفت حديثاً وفصلت من تحت صنف الفطريات الهلامية داخلية الأبواغ وتتميز أفرادها بعدد من الصفات.

الصفات العامة:

1- أبواغها بنفسجية – بنية غامقة اللون.

2- التركيب الثمري سداتي Stemonitoid.

3- الخصلة والغلاف غير متكلسة، وان وجدت المادة الكلسية فتتركز في الثالوس التحتي، أو الحامل أو العويد.

4- البلازموديوم من النوع غير المرئي.

5- إنبات الأبواغ يحصل بطريقة الثقب pore method.

6- يضم رتبة واحدة فقط هي Stemonitales.

الرتبة Stemonitales

لقد وضعت جميع أفرادها في عائلة واحدة فقط هي Stemonitaceae وتضم عدة أجناس من أهمها *Stemonitis* ، *Diachea* و *Lamproderma*.

طريقة العمل:

1- افحص نموذج او شريحة تخص التركيب الثمري لأحد أنواع الجنس *Stemonitis* ولاحظ الحوافظ البوغية التي تخرج من الثالوس التحتي وفيها لا يمكن مشاهدة الغلاف، لاحظ أيضاً العويمد.

2- ادرس تطور التراكيب الثمرية من البلازموديوم في الاجناس أعلاه.

3- افحص التراكيب الثمرية التي تخص الاجناس الأخرى أعلاه وقارن فيما بينها من حيث وجود المواد الكلسية وطبيعة هذه التراكيب (لوحة 9-3).

قسم II. الفطريات المسوطة Mastigomycotina

يتضمن هذا القسم الفطريات الحقيقية التي تنتج خلايا أو ابواغا مسوطة.

الصفات العامة:

1- تتغذى بطريقة الامتصاص وليس بالالتهام أو الابتلاع كما في الفطريات السابقة.

2- معظم أفرادها خيطية والخيوط الفطرية عديمة الحواجز وتكون مدمج خلوي.

3- بعض أفرادها أحادية الخلية وغالباً ما تمتلك أشباه الجذور Rhizoids.

4- التكاثر اللاجنسي عن طريق تكوين الأبواغ المتحركة Zoospores.

5- التكاثر الجنسي عن طريق اقتران الأمشاج والتي هي أما مسوطة أو غير مسوطة، متماثلة أو غير متماثلة وبطرق عديدة.

6- يضم مجموعتين بمستوى تحت قسم Subdivision هي:

تحت قسم 1. الفطريات أحادية السوط Haplomastigomycotina

وضعت أفراد هذه المجموعة ضمن ثلاثة أصناف هي:

صنف 1. الفطريات الكتريدية Chytridiomycetes

صنف 2. الفطريات الطحلبية Hyphochytridiomycetes

صنف 3. الفطريات الهلامية المتطفلة Plasmodiophoromycetes

تحت قسم 2: الفطريات ثنائية الأسوط Diplomastigomycotina

وضعت أفراد هذه المجموعة ضمن صنف واحد فقط هو:

صنف 1. الفطريات البيضية Oomycetes

تحت قسم الفطريات أحادية السوط Haplomastigomycotina

يشمل الفطريات التي تمتلك أبواغا متحركة بسوط واحد فقط ويتضمن الآتي :

صنف الفطريات الكتريدية Chytridiomycetes

يضم الفطريات الكتريدية التي تتميز بأبواغها المتحركة بسوط واحد خلفي الموقع ومن النوع الكرباجي Whiplash.

الصفات العامة:

1- يعيش معظم أفرادها في الماء وقسم منها على سطح التربة أو متطفلة على الطحالب.

2- جسم الفطر متباين بين أفرادها، بعض الأنواع يكون على هيأة خلية واحدة كروية أو بيضوية عديدة النوى ذات أشباه جذور أو بدونها، وفي البعض الآخر على هيأة خيط بسيط عديم الحواجز أو مدمج خلوي وفيه البروتوبلازم مستمر عديد النوى، أما في الأنواع المتقدمة فيتكون من غزل فطري جيد التكوين.

3- في التكاثر اللاجنسي تتكون الأبواغ المتحركة في حوافظ بوغية.

4- التكاثر الجنسي يحصل عن طريق تزاوج الامشاج المتحركة وهي اما متماثلة isogametes او غير متماثلة anisogametes.

5- اللاقحة تتحول إلى بوغ ساكن او حافظة بوغية ساكنة أو تنمو إلى مدمج خلوي ثنائي المجموعة الكورموسومية.

6- يضم أربع رتب هي : Chytridiales ، Hypochytriales ، Blastocladiales و Monoblepharidales

الرتبة Chytridiales

أن أفراد هذه الرتبة تمثل أبسط أنواع الفطريات الطحلبية Phycomycetes.

الصفات العامة:

1- افرادها تتواجد في الماء أو في التربة وتعيش مترممة على بقايا النباتات والحيوانات أو متطفلة على النباتات فتسبب أمراضا" مهمة اقتصادياً.

2- جسمها إحادي الخلية كلي الأثمار holocarpic، أو يتكون في نظام شبه جذري فيه عضو تكاثري واحد أو أكثر وهو حقيقي الأثمار eucarpic.

3- الجدار الخلوي يتكون من الكايتين.

4- في هذه الرتبة عددٌ قليل جداً من الفطريات المهمة اقتصادياً كونها تتطفل على النباتات مثل *Synchytrium endobioticum* الذي يسبب الثآليل السوداء في

البطاطا، *Physoderma zeaemaydis* الذي يسبب التبقع البني على الذرة، *Urophlyctis alfalfa* الذي يسبب التثألل التاجي على البرسيم.

5- قسمت الرتبة إلى عدة عوائل على اساس تكوين الحوافظ البوغية وطريقة تطورها ومنها Olpidiaceae، Synchtriaceae، Phlyctidiaceae، Rhizidaceae، Physodermataceae، Chytridiaceae و Megachytriaceae . وسيتم التطرق إلى أربع عوائل منها فقط لأهميتها.

العائلة Olpidiaceae

تشتمل على الفطريات الكتريدية كلية الأثمار holocarpic متطفلة على الطحالب والفطريات الأخرى، الحوافظ البوغية لا غطائية.

الصفات العامة:

1- أفرادها فطريات متطفلة على الطحالب والفطريات والنباتات الزهرية.

2- جسم الفطر يتطور إلى حافظة بوغية مفردة أو حافظة بوغية ساكنة.

3- التكاثر الجنسي يحصل عن طريق اتحاد أمشاج متحركة متماثلة.

4- تضم عددا من الأجناس من أهمها الجنس *Olpidium* والجنس *Rozella*.

طريقة العمل:

1- افحص بعض الطحالب المائية أو الأحياء المغمورة والمصابة بأحد أنواع الفطر *Olpidium sp.* تحت المجهر ولاحظ الحوافظ البوغية الكروية الشكل الموجودة في نسيج العائل وحاول أن تجد الفتحة التي تخرج منها الأبواغ المتحركة لكون الحافظة لا غطائية.

2- افحص شريحة جاهزة توضح الأبواغ المتحركة والحوافظ الساكنة للفطر *O.viciae*، ولاحظ الجدران السميكة للحوافظ الساكنة.

3- افحص شريحة زجاجية تخص تطفل احد أنواع الجنس *Rozella* على بعض الفطريات وافحص الخيوط الفطرية ولاحظ الحوافظ البوغية داخل خيوط الفطر العائل (لوحة 9 - 4).

4- افحص نموذج من مزرعة فطرية تبين تطفل الفطر *R. allomycis* على الفطر البيضي *Allomyces* sp. ومزرعة أخرى تبين تطفل الفطر *R. achlyae* على الفطر البيضي *Achlya* sp. ولاحظ تضخم أطراف الخيوط الفطرية المصابة (لوحة 9-4).

العائلة **Synchtriaceae**

تشتمل على فطريات كتريدية كلية الأثمار، متطفلة على النباتات، الحوافظ البوغية لاغطائية.

الصفات العامة:

1- أفرادها متطفلة داخلياً على أنسجة النباتات وتسبب أمراضا" مهمة أقتصادياً.

2- جسم الفطر ينقسم إلى عدة اعضاء تكاثرية (حوافظ بوغية أو حوافظ مشيجية) وتحيط نفسها بغلاف لتعطي بثرة pustule.

3- تضم ثلاثة أجناس أكبرها الجنس *Synchytrium* والذي يتضمن أكثر من 200 نوع من أهمها النوع *S. endobioticum*، وهو مسبب مرضي خطير على البطاطا ويسبب مرض الثآليل السوداء على الدرنات.

طريقة العمل:

1- أدرس درنات بطاطا مصابة بالفطر *S. endobioticum* ، لاحظ النموات الصغيرة السوداء على الدرنة ثم أعمل مقطعا فيها فسوف تجد خيوط الفطر الممرض داخل الدرنة.

2- حضر شريحة من مقاطع لدرنه مصابة بالفطر أعلاه وادرس بثرات الفطر الفتية منها والناضجة وكذلك الحوافظ البوغية الساكنة.

3- افحص شريحة جاهزة تخص مقطع في درنة بطاطا مصابة بالفطر *S.endobioticum*، ابحث عن البثرات التي تضم عددا من الحوافظ البوغية ضمن النسيج المصاب والحوافظ البوغية قبل تكوينها للبثرات (لوحة 9-4).

العائلة Chytridiaceae

هي واحدة من العوائل الكبيرة والتي تضم عددا من الاجناس، أفرادها تعيش في المياه متطفلة على الطحالب والفطريات المائية الأخرى أو مترممة على بقايا الطحالب أو النباتات المائية.

الصفات العامة:

1- حقيقة الاثمار وحيدة المركز.

2- جسم الفطر يتحول إلى تركيب تكاثري (حافظة بوغية) وأشباه جذور والحافظة أما خارج العائل أو داخل العائل.

3- تتكون الحافظة البوغية من البوغ المتحرك المتحوصل، والتي تتكون خارج العائل وأشباه الجذور داخل العائل.

4- تتكون الحافظة البوغية الساكنة داخل العائل وتكون سميكة الجدار.

5- التكاثر الجنسي يحصل نتيجة لتماس واتحاد اثنين من اشباه الجذور متوافقين جنسياً ينتج عنه تكوين لاقحة فتية.

6- تضم 12 جنساً من بينها الجنس *Chytridium* والجنس *Chytriomyces*.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة جاهزة تخص بعض الأنواع التابعة لكل من الجنسين أعلاه، ادرس الحافظة البوغية الكروية الجالسة ولاحظ أشباه الجذور عند قاعدة الحافظة (لوحة 9-4).

2- ادرس الابواغ الساكنة أو الحوافظ البوغية الساكنة داخل العائل ولاحظ جدرانها السميكة وشكلها الكروي.

العائلة Phlyctidiaceae

تشتمل على 100 نوع من الفطريات الكتريدية حقيقة الاثمار eucarpic، تتطفل على الطحالب والفطريات.

الصفات العامة:

1- جسم الفطر مؤلف من بوغ متحرك متكيس ينشأ منه عند الانبات أشباه الجذور rhizoides وحافظة أبواغ متحركة أو حافظة مشيجية.

2- التكاثر الجنسي يتم بطريقة واحدة هي اندماج الحوافظ المشيجية ينتج عنه تكوين حافظة بوغية ساكنة.

3- تضم 18 جنساً من أكبرها الجنس *Rhizophidium*.

طريقة العمل:

1- افحص أحد أنواع الفطر *Rhizophidium* المتطفلة على الحوافظ البيضية للفطر *Saprolegnia* ، لاحظ أشباه الجذور الممتدة في الحوافظ البوغية للعائل والحوافظ البوغية التي تخص الفطر المتطفل الفاقدة للغطاء. (لوحة 9- 4)

2- افحص شريحة جاهزة تخص دورة حياة النوع *R. couchii* وادرس الثالوس والحوافظ البوغية وأشباه الجذور.

الرتبة Blastocladiales

تشتمل على الفطريات الكتريدية حقيقية الأثمار، غالبيتها يعيش في الماء بشكل مترمم على البقايا النباتية والحيوانية وقليل منها يتواجد في التربة وهناك جنس واحد فقط ضمن الرتبة يتطفل إجبارياً على الحشرات هو *Coelonomyces*.

الصفات العامة:

1- جسم الفطر حقيقي الأثمار، وفي الأنواع البسيطة مؤلف من خلية قاعدية يتصل بها أشباه الجذور، يحمل حافظة بوغية واحدة (أحادي المركز monocentric)،

أما من الأنواع المتطورة فيتكون من أشباه جذور وجذع دقيق يتفرع في الأعلى ويحمل عدة حوافظ بوغية عند نهاية الأفرع (متعدد المركز polycentric).

2- الطور اللاجنسي يتميز بتكوين حوافظ بوغية سميكة الجدران منقرة تسمى الحوافظ البوغية المقاومة (الساكنة) resistant sporangia والتي تعطي أبواغا غير متحركة.

3- التكاثر اللاجنسي يحصل نتيجة لاتحاد أمشاج متحركة بسوط واحد متماثلة أو غير متماثلة.

4- قسمت الرتبة إلى ثلاث عوائل هي:

أ- العائلة Coelomomyceraceae وتتميز أفرادها بتطفلها على يرقات الحشرات وخاصة البعوض، كما ان جسم الفطر فاقد لأشباه الجذور.

ب- العائلة Catenariaceae وتتميز أفرادها بجسم فطر أنبوبي الشكل محاط بجدران ومزود بأشباه الجذور وتتطفل على الديدان والفطريات الأخرى.

جـ- العائلة Blastocladiaceae وهي أكبر واهم عائلة ضمن الرتبة ومؤلفة من ثلاث مجاميع هي: (1) فطريات جسمها من خلية قاعدية وأشباه جذور جيدة ومتنوعة تساعد في تثبيتها على الوسط الذي تنمو فيه، (2) فطريات تمتلك جسم متين اسطواني جذعي الشكل، (3) فطريات جسمها مكون من جذع متفرع والتفرعات تحمل تراكيب تكاثرية. وسيتم التطرق إلى العائلة الأخيرة فقط.

العائلة Blastocladiaceae

تشتمل على فطريات كتريدية حقيقية الأثمار وجسم الفطر فيها بأشكال متعددة منها الأحادي الخلية ومنها الخيطي.

الصفات العامة:

1- بعض أنواعها يمتلك دورة حياة فيها تبادل الأطوار التكاثرية الحرة، ففيها طور مشيجي حر gametothallus وطور بوغي حر sporothallus.

2- الطور البوغي في بعض الأنواع ينتج نوعين من الحوافظ البوغية، حوافظ مقاومة (اختزالية)، وحوافظ متحركة (خيطية).

3- قسم منها لا يوجد فيها طور مشيجي حر وإنما يتمثل في حوصلة (حافظة) مشيجية.

4- الجدران الخلوية تحتوي على الكايتين.

5- الخيوط الفطرية في البعض منها قد يوجد فيها حواجز كاذبة.

6- تتضمن خمسة أجناس هي: *Allomyces*، *Blastocladiella*، *Blastocladia*، *Balastocladiopsis* و *Microallomyces*.

ويعد الجنس الأول والجنس الثاني من بين الأجناس الأكثر انتشاراً وشيوعاً بين الفطريات الكتريدية وسيتم تناولهما بشيء من التفصيل.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة جاهزة تخص جسم الفطر لأحد أنواع الجنس *Allomyces* ولاحظ أنه مكون من أشباه الجذور، الجذع ذو تفرعات ثنائية متعاقبة تحمل التراكيب التكاثرية.

2- افحص شريحة جاهزة تخص الطور البوغي للنوع *A. jovanicus* ولاحظ وجود نوعين من الحوافظ البوغية هما الحوافظ البوغية المقاومة التي تكون سميكة الجدار منقرة resistuat sporangia وحوافظ الأبواغ المتحركة zoosporangia التي تكون رقيقة الجدران وغير منقره فاتحة اللون(لوحة 9-5).

3- افحص شريحة جاهزة تخص الطور المشيجي للنوع *A. maerogynus* ولاحظ وجود الأمشاج الذكرية والانثوية على التفرعات وقارن بينها من حيث الحجم

(الانثويـة أكبـر)، اللـون (الانثويـة افـتح) والموقـع (الانثويـة تحـت الذكريـة) ، لوحة(9-5).

4- افحـص نمـوذج أو شـريحة جـاهزة تخـص أحـد أنـواع الفطـر *Blastocladiella* ولاحـظ وجـود أشـباه الجـذور، خليـة قاعديـة متطاولـة غيـر متفرعـة وتركيـب تكاثري واحد فوق جسم الفطر.

5- افحص شريحة جاهزة تخص الطـور البـوغي للنـوع *B. variabilis* ولاحظ إمـا وجود حافظة أبواغ متحركة رقيقة الجدار فيها بوغ واحد أو أكثر، أو وجـود بـوغ ساكن سميك الجدار داكن اللون.

6- افحــص شــريحة جــاهزة تخــص التكــاثر الجنــسي لاحــد أنــواع الجــنس *Blastocladiella* ولاحـظ انـدماج الامـشاج المتحركـة وتكـوين اللاقحـة ثنائيـة الأسواط.

الرتبة Monoblepharidales

هي رتبة صغيرة ضمن الفطريات الكتريدية، تعيش أفرادها في الماء، وان اهم صفة مميزة تنفرد بها بين الفطريات الكتريدية هي إنها تمتلك مشيج أنثوي (بيضة) غير متحركة تخصب بواسطة مشيج ذكري متحرك.

الصفات العامة:

1- تعيش في المياه العذبة مترممة على بقايا النباتـات المغمـورة فـي الميـاه، وتظهـر بشكل خصل أو كتل بيضاء إلى بنية قاتحة اللون غير محددة الحواف.

2- أفرادها فطريات كلية الاثمار.

3- جسم الفطر خيطي، وسايتوبلازم الخيوط الفطرية كثير الفجوات.

4- التكاثر اللاجنسي بواسطة الحوافظ التي تحتوي أبواغا أحادية السوط.

5- تضم عائلة واحدة هي Monoblepharidaceae وتتضمن عددا قليلا من الأنواع توزعت بين ثلاثة أجناس *Monoblepharis*، *Monoblepharella* و *Gonapodya* وسيتم دراستها.

طريقة العمل:

1- حاول ان تعزل أحد انواع الجنس *Monoblepharella* من المياه العذبة باستخدام بذور القنب، افحص الخيوط الفطرية الدقيقة الكثيرة الفجوات ولاحظ الحوافظ البوغية والأبواغ المتحركة التي تنطلق منها عن طريق ثقب قمي صغير.

2- افحص شريحة جاهزة تخص التكاثر الجنسي لأحد أنواع الجنس *Monoblepharis*، ولاحظ موقع التركيب التكاثري الذكري (الانثريدة) من التركيب الانثوي (الاوكونه) ، لوحة (9-5).

3- افحص شريحة جاهزة تخص الخيوط الفطرية والتراكيب اللاجنسية لأحد أنواع الفطر *Gonapodya*، لاحظ الحوافظ المشيجية الانثوية الكبيرة الحجم والأمشاج الانثوية الفاقدة للأسواط أما الحوافظ المشيجية الذكرية صغيرة والامشاج الذكرية متحركة أحادية السوط (لوحة 9-5).

صنف الفطريات الطحلبية Hyphochytridiomycetes

تشتمل على فطريات تشبه لفطريات الكتريدية ، فطريات مائية تعيش في المياه العذبة أو المالحة، الصفة المميزة لها هي إنها فطريات ذات سوط واحد أمامي الارتباط anterior ومن النوع الريشي tensile.

الصفات العامة:

1- صنف صغير يضم عددا قليلا من الأجناس لا يتجاوز ستة أو سبعة أجناس وعددا قليلا من الأنواع لا يتجاوز 15 نوعاً.

2- متطفلة على الطحالب والفطريات المائية أو مترممة على البقايا النباتية والحيوانية المائية.
3- الجدار الخلوي يحتوي على الكايتين.
4- جسم الفطر من النوع كلي الأثمار أو حقيقي الأثمار وهي بذلك تشبه الفطريات الكتريدية.
5- جسم الفطر أحادي المركز أو متعدد المراكز.
6- التكاثر الجنسي غير معروف في معظم أفرادها وهناك حالات قليلة معروفة التكاثر الجنسي.
7- يضم رتبة واحدة فقط Hyphochytriales وزعت فيها الفطريات على ثلاث عوائل هي: Rhizidiomycetaceae، Hyphochtriaceae وAnisolpidaceae وسيتم تناول العائلة الأولى فقط.

العائلة Rhizidiomycetaceae

وهي عائلة صغيرة تضم ثلاثة أجناس، أهمها وأكبرها الجنس *Rhizidiomyces* الذي يتضمن خمسة أنواع من أهمها النوع *R. apophysatus*، سيتم دراسة المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- افحص مزرعة نقية أو شريحة جاهزة تخص أحد الأنواع المتوافرة العائدة للجنس *Rhizidiomyces*، وادرس جسم الفطر المكون من الحافظة البوغية الكروية وأشباه الجذور، حاول أن تجد ضمن الشريحة انبوبة إطلاق الأبواغ الطويلة والمميزة التي تتكون في أعلى الحافظة.
2- افحص شريحة من الأبواغ المتحركة ولاحظ الارتباط الأمامي للسوط ونوعه الريشي.(لوحة 7-7)

صنف الفطريات الهلامية المتطفلة Plasmodiophoromycetes

يشتمل الصنف على فطريات متطفلة إجبارياً على النباتات الوعائية والطحالب والفطريات الأخرى. كانت تصنف سابقاً ضمن الفطريات الهلامية بسبب تكوينها البلازموديوم ، إلا أنها تشبه الفطريات الحقيقية حيث وضعت ضمن قسم الفطريات أحادية السوط ، بالرغم من إنها تملك أبواغا بسوطين أحدهما طويل والآخر قصير، والسبب لإنها تظهر طور أحادي المجموعة الكروموسومية خلال دورة حياتها كما إن جدرانها تحتوي على الكايتين.

الصفات العامة:

1- جسم الفطر يتخذ شكل البلازموديوم عديد الأنوية ويتكون بشكل كامل داخل خلايا جسم العائل، وقد يحاط الجسم الخضري بجدار خلال فترة تكوين الأبواغ فقط.

2- لبعض أفرادها دورة حياة تتميز بطورين بلازموديين الأول ينتج من إصابة العائل بالأبواغ المتحركة ويعطي حوافظ بوغية رقيقة الجدران، والثاني ينتج من إصابة العائل بالأمشاج المتحركة ويعطي أبواغا ساكنة أو أكياس (cysts).

3- الأبواغ متحركة بسوطين مختلفين في الطول ومتصلين بمقدمة البوغ.

4- أفرادها متطفلات إجبارية داخلية وتسبب نمو غير طبيعي في أنسجة العائل إما نتيجة لتضخم خلايا العائل hypertrophy أو زيادة عدد خلايا العائل hyperplasia.

5- بعض أفرادها تسبب أمراضا مهمة اقتصادياً مثل مرض الجذور الصولجانية على نباتات العائلة الصليبية ومرض الجرب الدقيقي على البطاطا.

6- يضم رتبة واحدة فقط Plasmodiophorales وفيها عائلة واحدة فقط Plasmodiophoraceae وتتضمن تسعة أجناس من أهمها الجنس *Plasmodiophora* الذي يصيب اللهانة والجنس *Spongospora* الذي يصيب البطاطا ، وسيتم دراستهما.

طريقة العمل:

1- افحص جذر لهانة مصاب بالفطر *P. brassicae* وقارنه مع جذر سليم، ثم حضر شريحة زجاجية من النموذجين بعمل مقاطع عرضية في الشعيرات الجذرية، لاحظ الخلايا المصابة وادرس البلازموديوم الفتي والناضج وعدد الأبواغ فيه وفي حالة تعذر ذلك افحص شريحة جاهزة للمرض.

2- افحص درنات بطاطا مصابة بالفطر *S.subterranea*، وحضر شريحة زجاجية بعمل مقاطع فيها ولاحظ تأثير المرض على خلايا الورقة والكرات البوغية التي تتكون داخل الانسجة (لوحة 9-5).

تحت قسم الفطريات ثنائية الأسواط Diplomastingmycotina

يضم الفطريات التي تمتلك أبواغا متحركة بسوطين قد يكونان متشابهين أو مختلفين في الطول والشكل ، ويتضمن الآتي :

صنف الفطريات البيضية Oomycetes

يشتمل هذا الصنف على عدد كبير من الفطريات وتتواجد معظم افرادها ، وخاصة البدائية منها ، في المياه ولذلك تسمى اعفان الماء Water molds وتعيش بشكل قديم على بقايات النباتات والحيوانات المائية او متطفلة على الطحالب. اما الانواع المتقدمة منها فتعيش متطفلة على النباتات الراقية مسببة أمراضاً مهمة اقتصادياً مثل البياض الزغبي downy mildew والصدأ الأبيض white rust.

الصفات العامة:

1- جسم الفطر في الانواع البدائية احادي الخلية وكلي الاثمار وفي الانواع المتقدمة خيطي وحقيقي الاثمار.

2- تمتلك ابواغا لا جنسية متحركة ثنائية الاسواط ويقعان على جانب واحد من البوغ إلا انهما مختلفان في الشكل وفي الاتجاه، احدهما ريشي يتجه للاعلى والاخر كرباجي يتجه للأسفل.
3- الجدران الخلوية مؤلفة أساساً من الكلوكان ولكنها تحتوي أيضاً على السليلوز، وغالبيتها لا تحتوي على الكايتين.
4- الانقسام الاختزالي مشيجي (يحصل في الامشاج)، اي ان الخلايا الجسمية تكون ثنائية المجموعة الكروسوسومية وهذه الصفة هي التي جعلت المختصين يضعونها تحت قسم مستقل.

التكاثر الجنسي من النوع الاووكامي oogamous ويحصل عن طريق حوافظ مشيجية متباينة وينتج عنه ابواغا بيضية oospore يكتمل نضجها داخل الحافظة البيضية والتي تكون ذو بيضة واحدة أو أكثر.

يضم الصنف اربع رتب هي: Leptomitales, Lagenidiales, Peronosporales, Saprolegniales.

الرتبة Lagenidiales

وهي رتبة صغيرة فيها عدد قليل من الفطريات التي تعيش في المياه العذبة متطفلة على الطحالب او الأحياء المائية الأخرى.

الصفات العامة:

1- يتكون جسم الفطر من خلية واحدة كلي الأثمار وداخلي التغذية endobiotic، أو من خبط فطري بسيط وضعيف يتقسم إلى عدد من الخلايا وهنا قد يكون حقيقي الاثمار حيث تتحول بعض هذه الخلايا او جميعها إلى تراكيب تكاثرية.
2- التكاثر اللا جنسي بواسطة الابواغ المتحركة ثنائية الاسواط التي تنتج في حوافظ بوغية وتتحرر عن طريق واحدة أو أكثر من الحليمات او الحويصلات التي تتكون من الحافظة.

3- التكاثر الجنسي من النوع الاووكامي والحوافظ المشيجية من النوع المتباين.

4- الابواغ الساكنة قد تتكون نتيجة التكاثر اللاجنسي او التكاثر الجنسي وفي الحالة الاخيرة تعاني انقسام اختزالي قبل الانبات إلى بوغ متحرك.

5- قسمت إلى ثلاث عوائل هي: Olpidiopsidaceae افرادها فطريات أحادية الخلية كلية الاثمار وقريبة الشبه بالفطريات الكتريدية وكانت تصنف معها، أما Sirolpidiaceae و Lagenidiaceae فان جسم الفطريات فيهما متعددة الخلايا. وسيتم تناول العائلة الاخيرة كونها العائلة النموذجية ضمن الرتبة.

العائلة Lagenidiaceae

تشتمل على فطريات من الصعب الحصول عليها أو حتى عزلها على أوساط زرعية لأسباب عديدة منها طبيعة جسم الفطرالمكون من خيط بسيط متفرع أو غير متفرع ينمو داخل خلية الطحلب او أي كائن حي مائي.

طريقة العمل:

1- أفحص نموذج طحلب (او شريحة جاهزة) مصابا بأحد أنواع الفطر *Lagenidium* لاحظ جسم الفطر المقسم إلى عدد من الأجزاء (الخلايا) في خلية العائلة ، الحافظة البوغية والأبواغ الساكنة.

2- أفحص شريحة جاهزة تخص التكاثر الجنسي أو دورة حياة النوع *L. rabenharstii* ، لاحظ الحوافظ المشيجية وتكوين الأبواغ الساكنة.

الرتبة Leptomitales

وهي أيضاً واحدة من الرتب الصغيرة ضمن الفطريات البيضية والتي لا يتجاوز عدد الأنواع فيها العشرين نوعاً جميعها مائية مترممة على الأحياء المائية و بقايا النباتات المغمورة.

الصفات العامة:

1- الخيوط الفطرية الجسمية بسيطة وعديمة الحواجز لكن في بعض الأنواع تظهر فيها تخصرات على طول الخيط نتيجة لتجمع حبيبات السيلولين cellulin وتبدو وكأنها حواجز كاذبة pseudosepta، و بإمكان أي جزء من الخيط أن يعطي وحدة تكاثرية أو خيط جديد.

2- الطور الحركي إما أحادي الفترة السابحة monoplanetic أو ثنائي الفترات السابحة diplanetic.

3- التكاثر الجنسي من نوع تلامس الحوافظ المشيجية، وتتكون بيضة واحدة في الحافظة البيضية والبلازم المحيطي موجود حول البيضة.

4- بعض أفرادها تعد ملوثات مهمة للبيئة حيث تتواجد في المياه الملوثة خصوصاً الجنسي *Leptomitus*.

5- قسمت الرتبة إلى عائلتين الأولى: Rhipidiaceae والتي تتميز افرادها بجسم فطر مكون من ماسك جذري hold fast ، خلية قاعدية وتفرعات خيطية. كما ان ابواغها المتحركة من النوع احادي الفترة السابحة، والحافظة البيضية فيها بلازما محيطي، الجدران فاقدة للكايتين، وتضم عدة أجناس من اهمها الجنس *Rhipidium*. والثانية Leptomitaceae وتتميز أفرادها بكون جسم الفطر خيطي، والابواغ المتحركة ثنائية الفترات السابحة، كما ان الحافظة البيضية تفتقر إلى البلازما المحيطي، وعلى الرغم من ان جدران الفطريات البيضية فاقدة للكايتين إلا ان جدران افراد هذه العائلة تحتوي على الكايتين، وتضم عِددا من الاجناس من اهمها الجنس *Apodachlya* والجنس *Leptomitus*.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة جاهزةعن التكاثر الجنسي للفطر *Rhipidium amaricanum* ولاحظ الحافظة البيضية والبلازما المحيطي.

2- أفحص مزرعة فطرية (أو شريحة جاهزة) تخص أحد أنواع الجنس *Apodachlya* وأدرس طبيعة النمو الذي يبدو هلامي الشكل.

3- حضر شريحة زجاجية (او شريحة جاهزة) من الغزل الفطري للنوع *A. pyrifera* وأفحص الخيوط الفطرية ولاحظ تجمعات السيلولين التي تظهر بشكل حواجز كاذبة داخل الخيوط.

4- أفحص شريحة جاهزة تخص الغزل الفطري لأحد أنواع الجنس *Leptomitus* ولاحظ ان حجم الغزل الفطري أكبر من الجنس *Apodachlya* (لوحة 9-6).

الرتبة Saprolegniales

تشتمل على فطريات معظمها تعيش في المياه العذبة مترممة على البقايا النباتية والحيوانية ويطلق عليها اعفان الماء water molds، ويعيش قسما منها متطفلا على الأسماك وتسمى اعفان الأسماك fish molds ، كما ان عددا قليلا منها يعيش في التربة بصورة مترممة وبعضها يتطفل على جذور النباتات الاقتصادية مثل البنجر السكري والبزاليا منها الفطر *Aphanomyces*.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها فطريات مائية والقليل منها يعيش في التربة.

2- الغزل الفطري جيد التكوين وجسم الفطر حقيقي الأثمار، كما ان قسما قليلا منها بسيطة وكلية الأثمار.

3- افرادها ثنائية فترات السباحة وأحادية فترة السباحة أو غير متحركة.

4- التكاثر الجنسي من النوع الاووكامي ويحصل عن طريق تلامس الحوافظ المشيجية (الاووكونه والانثريدة)، الاووكونه تحتوي على أكثر من بيضة، وينتج عنه أبواغ بيضية.

5- في أحدث تصنيف لها قسمت إلى خمس عوائل هي: العائلة Ectrogellaceae وتضم فطريات أحادية الخلية، كلية الأثمار، ومتطفلة على الطحالب، العائلة

Thraustochytriaceae تضم جنسا واحدا شبيها بالكتريديات، العائلة Halipthoraceae وتضم فطريات تفضل العيش في المياه المالحة (مياه البحار)، العائلة Leptolegniellaceae وتضم فطريات يشك في عائديتها للرتبة السابقة، والعائلة الأخيرة هي Saprolegniaceae التي تعد العائلة النموذجية ضمن هذه الرتبة.

العائلة Saprolegniaceae

تضم هذه العائلة اعفان الماء التي تتواجد في المياه العذبة كمترممات على بقايا الاحياء المائية او متطفلة على الأسماك وبعضها يتواجد في التربة ويتطفل على جذور النباتات.

الصفات العامة:

1- جسم الفطر حقيقي الأثمار والغزل الفطري جيد التكوين.
2- حركة وسلوك الأبواغ المتحركة من الصفات المهمة وهي ثنائية فترات السباحة.
3- تضم عدة أجناس بعضها تتواجد في الماء مثل *Saprolegnia* و *Achlya*، وقسم منها في التربة مثل *Aphanomyces*.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة جاهزة تخص أحد أنواع الجنس *Saprolegnia* توضح الخيوط الفطرية التي تحمل حوافظ بوغية اسطوانية الشكل أو حوافظ مشيجية أنثوية كبيرة كروية وذكرية صغيرة متطاولة (لوحة 9-6).
2- أفحص شريحة جاهزة تخص أحد أنواع الجنس *Achlya* توضح الحوافظ البوغية الاسطوانية الشكل المتفرعة والابواغ المتحررة عند قمة الحافظة بشكل مجاميع.

3- حاول أن تعزل بعض الأنواع من المياه العذبة في الأنهار بوضع انصاف بذور القنب في اطباق بتري معقمة كطعم ثم أضف إليها كمية قليلة من مياه البرك او الأنهار وأفحصها بشكل مستمر لحين ظهور نموات فطرية عليها.

4- ومن الطرق الأخرى لعزل بعض الأنواع العائدة لهذه العائلة تعتمد على جمع بعض القطع الصغيرة من الاغصان والأوراق والحشرات الميتة والأسماك الميتة وقليل من تربة الأنهار والبرك والبحيرات وتوضع كل منها في أطباق بتري منفصلة، ويضاف إليها كمية من المياه التي جمعت من المصادر أعلاه أو ماء مقطر معقم (كمقارنة)، ثم تضع في كل طبق أنصاف من بذور القنب أو البذور الأخرى أو حشرات ميتة. وتترك لمدة 2 - 6 أيام ولاحظ وجود النموات الفطرية عليها.

5- أفحص النماذج أو البذور تحت المجهر وحاول أن تحدد أنواع الفطريات النامية عليها.

6- أفحص جذور مصابة بالفطر *Aphanomyces euteiches* (أو شريحة جاهزة)، أدرس الحوافظ البوغية ولاحظ أن الابواغ المتحركة قد تتكيس داخل الحافظة وتفقد الطور المتحرك او السابح (لوحة 9-6).

الرتبة Peronosporales

تعتبر هذه الرتبة من أكبر الرتب ضمن صنف الفطريات البيضية وأكثرها تطوراً وتخصصاً، وتضم ثلاث أنواع من الفطريات من حيث معيشتها مائية ، برمائية وأرضية، وتتواجد بشكل مجاميع ذات تخصص عالي في تطفلها الإجباري على النباتات الإقتصادية مسببة امراضاً وبائية مهمة وخطرة. مثل البياض الدقيقي ، موت البادرات والصدأ الأبيض.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها فطريات متطفلة إجبارياً داخل النباتات الوعائية ما بين خلايا العائل وترسل ممصات إلى داخل الخلايا وقسم منها ترسل خيوطها داخل الخلايا.

2- الغزل الفطري جيد التكوين عديم الحواجز وغير مقسم وجميعها فطريات حقيقية الأثمار.
3- الممصات تختلف في شكلها فقد تكون كروية او مستطيلة او متفرعة او على هيأة عقد وذلك حسب نوع الفطر.
4- التكاثر اللا جنسي بواسطة الحوافظ البوغية البيضوية او الليمونية الشكل، وقد تبقى الحوافظ متصلة بالحوامل حتى بعد اطلاق الابواغ المتحركة او تتحرر منها عند النضج، الابواغ المتحركة كلوية الشكل ذات سوطين واحادية الفترة السابحة.
5- الابواغ المتحركة بعد تحررها من الحافظة تسبح لفترة قصيرة ثم تسكن وتتكيس بعد ذلك تنبت لتعطي انبوبة إنبات مكونة غزل فطري جديد.
6- الحافظة البوغية في بعض الأنواع لا تعطي ابواغاً متحركة وإنما تسلك كبوغ وتنبت مباشرة لتعطي انبوبة إنبات مكونة غزلا فطريا جديدا.
7- التكاثر الجنسي يحصل بواسطة تلامس الحوافظ المشيجية وينتج عنه تكوين الأبواغ البيضية، في كل حافظة بيضية تتكون بيضة واحدة (أحادية النواة او متعددة النوى وفي كلا الحالتين تتخصب النوى وتصبح ثنائية المجموعة الكروموسومية) تحاط بالبلازم المحيطي.
8- تتطور البيضة بعد الاخصاب مكونة جدارا سميكا وتتحول إلى بوغ بيضي، جدار البوغ البيضي مؤلف من ثلاث طبقات خارجية، وسطى وداخلية.
9- تحمل الحوافظ البوغية في بعض الانواع الواطئة، وخاصة ضمن العائلة Pythiaceae ، على أطراف الخيوط الفطرية الجسمية وفي الأنواع المتقدمة تحمل على أطراف خيوط فطرية تكاثرية متخصصة، وفي حالة وجود حوامل الحوافظ فهي محاور كاذبة Sympodium.
10- غالباً ما تقسم الرتبة إلى ثلاثة عوائل هي Pythiaceae، Peronosporaceae، وAlbuginaceae. وحديثاً أضيف إليها عائلة رابعة هي Peronophythoraceae وهي عائلة وسط بين العائلتين الأولى والثانية وتضم

جنسا واحدا فقط ، فهي قريبة من العائلة الأولى لأن أنواعها ليست متطفلة إجبارياً أما قربها من العائلة الثانية فلأنها تمتلك حوامل حوافظ بوغية محددة وواضحة.

العائلة Pythiaceae

تضم هذه العائلة أنواعا متباينة في تواجدها ومعيشتها فهي إما مائية أو برمائية أو أرضية، والأخيرة منها تصيب الأجزاء النباتية تحت سطح التربة وتسبب أمراضا خطيرة على النباتات خاصة موت البادرات.

الصفات العامة:

1- الغزل الفطري جيد التكوين، غير مقسم وقد تتكون منه الممصات في بعض الأنواع.
2- حوامل الحوافظ البوغية لا تختلف كثيراً عن الخيوط الفطرية فهي غير محددة وغير مميزة.
3- الحوافظ البوغية في الانواع الواطئة تبقى متصلة بالخيوط الحاملة لها حتى عند النضج وتتحرر منها الأبواغ المتحركة، وفي الأنواع المتقدمة تسقط الحافظة عند النضج وتسلك كبوغ وتنبت لتعطي انبوبة انبات تتطور إلى غزل فطري جديد.
4- التكاثر الجنسي من نوع الاووكامي وكما هو معروف في جميع افراد الرتبة، ولكن هناك بعض الأنواع التي تعطي أبواغا بيضية عن طريق التكاثر العذري Parthenogenesis.
5- تضم عدة اجناس من أهمها *Pythium* المسبب لمرضى سقوط وموت البادرات و *Phytophthora* المسبب لمرض اللفحة المتأخرة، وسيتم دراستهما.

طريقة العمل:

1- أدرس مزرعة نقية تعود للفطر *Pythim debaryanum* نامية على بذور قنب (او شريحة جاهزة)، افحصها تحت المجهر ولاحظ الحوافظ البوغية عند اطراف الخيوط الفطرية والتي تتميز بأن البروتوبلازم جيبي ويميل إلى اللون البني الفاتح، تابع فحص النموذج او الشريحة ستجد تراكيبا حوصلية متصلة بالحافظة تحتوي على الابواغ المتحركة، يمكن متابعة إنطلاق الابواغ المتحركة من الحوصلة (لوحة 9-7).

2- حضر شريحة من المزرعة اعلاه وذلك بوضع جزء من الغزل الفطري على الشريحة مع قليل من الماء وبعد وضع الغطاء افحصه تحت المجهر وأدرس الخيوط الفطرية، ثم حاول أن تجد الحوافظ المشيجية الانثوية الاووكونة الكبيرة الكروية والذكرية الانثريدة الصغيرة الحجم.(لوحة 7-9)

3- افحص نماذج أوراق بطاطا أو طماطة مصابة بالفطر *Phytophthora infestans*، خذ مقاطع من الأجزاء المصابة وضعها في أنابيب أختبار ثم أضف إليها قليلا من هيدروكسيد البوتاسيوم بتركيز 10% (10% KOH)، سخن المحلول والنماذج لحين البدء بالغليان إزالة المادة الخضراء لجعلها شفافة، بعد ذلك ضع النماذج على شريحة زجاجية وافحصها تحت المجهر. لاحظ حوامل الحوافظ البوغية الخارجة من الثغور ثم حاول أن تجد الحوافظ البوغية المتصلة بالحوامل وتأكد من صفاتها.

4- أفحص شريحة تخص الفطر *P. infestans*، وأدرس حوامل الحوافظ البوغية ولاحظ التفرعات المحورية والحوافظ البوغية الليمونية الشكل. (لوحة 9-7)

5- أعمل شريحتين زجاجيتين من نماذج لدرنات أو أوراق بطاطا مصابة بالفطر *P. infestans* وذلك بوضع قطرة من الماء المقطر على كل شريحة ثم يمسح سطح النموذج بفرشاة صغيرة لغرض رفع عدد من الحوافظ البوغية ، بعدها تتم ملامسة الفرشاة بالقطرة وعلى كل من الشريحتين، ثم أحضن الشريحة

الأولى عند درجة حرارة 10 مْ والثانية عند درجة حرارة 25 مْ وتابع الانبات على فترات زمنية كل 3 - 5 ساعات وسجل الدرجة المناسبة والوقت المناسب للانبات.

العائلة Peronosporaceae

تعد هذه العائلة من أكبر عوائل الفطريات البيضية ومن أكثرها تطوراً، كما إنها من أكثر العوائل تخصصاً وجميع افرادها فطريات متطفلة إجبارياً على النباتات الوعائية وتسبب أمراضا تسمى بالبياض الزغبي downy mildew.

الصفات العامة:

1- الغزل الفطري جيد التكوين وغير مقسم عديم الحواجز وغزير التفرعات التي قد تنتهي بالممصات داخل العائل.
2- الحوافظ البوغية بيضوية أو كروية الشكل ومحمولة على ذنيبات دقيقة، وهي سهلة الانفصال وغالباً تنبت مباشرة لتعطي إنبوبة إنبات تتطور إلى غزل فطري، وفي بعض الأنواع تعطي الحافظة البوغية أبواغاً متحركة.
3- حوامل الحوافظ البوغية مختلفة بين الأجناس وتعد صفة مميزة لكل منها ففي الجنس *Peronospora* ثنائية التفرع والفروع طويلة ومقوسة مكونة زوايا حادة، أما في الجنس *Plasmopara* فيكون التفرع من محور رئيسي (أحادي المحور) والفروع تشكل زوايا قائمة مع المحور، أما في الجنس *Bremia* فيكون التفرع قرصي أو كفي الشكل عند نهاية الحوامل، وفي الجنس *Basidiophora* فيكون الحامل منتفخ عند القمة حاملاً عددا من الذنيبات الدقيقة، أما الجنس *Sclerospora* فيكون الحامل متضخم عند نهايته والتفرع شجيري الشكل ويحمل التفرعات عند القمة فقط وهي تعطي تفرعات أخرى ثانوية.
4- التكاثر الجنسي يحصل بطريقة تلامس الحوافظ المشيجية ،الاووكونات والانثريدات التي تتكون داخل أنسجة العائل.

5- تضم العائلة عدة أجناس من أهمها *Plasmopara* و *Peronospora* و *Bremia* سيتم دراستها.

طريقة العمل:

1- إفحص نماذج من أوراق عنب مصابة بالفطر *Plasmopara viticola*، لاحظ نمو زغبي قطني على السطح السفلي للأوراق وهي تمثل الحوافظ البوغية و حوامل الحوافظ البوغية.

2- حضر شريحة زجاجية من النموات الزغبية في (1) أعلاه برفع جزء منها باستخدام إبرة معقمة وضعها على الشريحة، وبعد وضع قطرة من الماء المقطر ضع الغطاء ثم إفحصها تحت المجهر ولاحظ تفرعات حوامل الحوافظ والحوافظ البوغية التي تخص هذا الفطر. (لوحة 9-7)

3- إفحص شريحة جاهزة تخص مقطعا في أوراق عنب مصابة بالفطر *P.viticola* ولاحظ الخيوط الفطرية التي تنمو ما بين خلايا العائل والممصات التي تتكون في خلايا العائل ويتطلب فحصها استخدام العدسة الزيتية.

4- إفحص أوراق نبات بصل مصابة بالفطر *Peronospora destructor*، ولاحظ النمو الزغبي القطني على السطح السفلي للأوراق التي تمثل حوامل الحوافظ والحوافظ البوغية. (لوحة 9-7)

5- حضر شريحة زجاجية من النمو الزغبي في (4) أعلاه برفع جزء من النمو باستخدام إبرة معقمة وضعه على الشريحة وبعد وضع قطرة من الماء المقطر ضع غطاء الشريحة ثم افحصها تحت المجهر، إدرس تفرعات حوامل الحوافظ الثنائية التفرعات وكما ورد ذكرها أعلاه.

6- إفحص شريحة جاهزة تخص الابواغ البيضية لأحد أنواع الأجناس التي تعود لهذه العائلة ولاحظ الجدار السميك للبوغ البيضي.

7- حاول أن تفحص نماذج تخص الأجناس الأخرى مثل أوراق خس مصابة بالفطر *Bremia lactucae* ، وأوراق نبات نجيلي مصاب بالفطر *Sclerospora* *graminicola* وادرس تفرعـــات حوامـــل الحـــوافظ والحـــوافظ البوغيـــة (لوحة 9-7).

العائلة Albuginaceae

وهي عائلة صغيرة ضمن الرتبة وتضم جنسا واحدا فقط يشتمل على أنواع قليلة جميعها فطريات إجبارية التطفل على النباتات وتسبب أمراض الصدأ الأبيض white rust.

الصفات العامة:

1- جميع أفرادها متطفلات إجبارية على النباتات الوعائية.
2- الغزل الفطري جيد التكوين، عديم الحواجز وغير مقسم وينمو بشكل كثيف داخل أنسجة العائل.
3- حوامل الحوافظ البوغية قصيرة صولجانية الشكل وتحمل الحوافظ البوغية الكروية الشكل بهيأة سلاسل على قمم الحوامل.
4- التكاثر الجنسي من النوع الأووكامي وتلامس الحوافظ المشيجية، الانثوية الاووكونة كبيرة كروية والذكرية الانثريدة صغيرة صولجانية وتنشأ من فرع جانبي لحامل الاووكونة أي إنهما يتكونان على طرف الخيط الفطري نفسه.
5- جدار البوغ البيضي يختلف حسب نوع الفطر وهي صفة مميزة للأنواع المختلفة.
6- تضم جنسا واحدا هو *Albugo* وفيه عدة أنواع منها النوع *A.candida* الذي يصيب نباتات العائلة الصليبية وخاصة الفجل واللهانة، النوع *A. portulaceae* الذي يصيب البربين والنوع *A. occidentalis* الذي يصيب السبانخ،وسيتم دراسة النوع الأول فقط.

طريقة العمل:

1- إفحص نماذج من أوراق الفجل أو اللهانة مصابة بالفطر *Albugo candida* لاحظ البثرات البيضاء على الأوراق حيث تشبه القشور البيضاء على سطح الأوراق والتي تمثل الحوافظ البوغية للفطر الممرض.

2- حضر شريحة زجاجية من البثرات البيضاء بإزالة البعض منها باستخدام إبرة معقمة، استخدم اللاكترفينول لتحميل النموذج على الشريحة ثم ضع الغطاء وافحصها تحت المجهر ولاحظ الحوافظ البوغية الكروية الشكل.

3- إدرس شرائح جاهزة لمقطع عرضي في أوراق مصابة بأحد أنواع الجنس *Albugo* توضح كل من: الخيوط الفطرية، الممصات، حوامل الحوافظ البوغية، سلاسل الحوافظ البوغية عند أطراف الحوامل، الأمشاج الذكرية والأنثوية (الاوكونة والانثريدة)، البيضة والبلازم المحيطي والأبواغ البيضية وجدرانها السميكة (لوحة 9-7).

قسم III: الفطريات عديمة الأسواط Amastigomycota

يشمل الفطريات التي تكون فيها الأبواغ فاقدة للأسواط وغير متحركة ويتضمن أربعة مجاميع بمستوى تحت قسم Sub-division وهي:

تحت قسم 1. الفطريات اللاقحية (الزيجية) Zygomycotina، وقد وضعت في مجموعتين بمستوى صنف Class وهي :

يضم الفطريات التي تتميز بتكوينها الأبواغ اللاقحية Zygospores .

صنف 1. الفطريات اللاقحية Zygomycetes

الفطريات اللاقحية من الفطريات الواسعة الانتشار ويعود سبب ذلك إلى مداها الواسع في اسلوب معيشتها وتغذيتها فهي تتدرج من الترمم مثل عفن الخبز bread mold، الى التطفل الاختياري والتطفل المتخصص مثل فطريات الحشرات

وقسم منها تعيش متطفلة اجبارياً على الفطريات اللاقحية entomophilous fungi الأخرى وعدد منها ممرضات خطرة على الإنسان human pathogens.

الصفات العامة:

1- الغزل الفطري جيد التكوين، غير مقسم ونموه نشط جداً ، علماً ان بعض الأنواع قد تظهر حواجز غير حقيقية.

2- تفتقر إلى الخلايا والابواغ المتحركة او المسوطة.

3- التكاثر اللاجنسي بواسطة الحوافظ البوغية التي تعطي ابواغاً غير متحركة aplanospores، كما وجد ان بعض الأنواع تنتج أيضاً الأبواغ الكلاميدية، وفي عدد قليل منها تتكاثر بالتبرعم.

4- بسبب التباين في طرق التكاثر اللا جنسي فإن بعض المختصين يطلق على الأبواغ اللا جنسية بالكونيدات او وحدات التكاثر propagules.

5- التكاثر الجنسي يتم عن طريق تزاوج الحوافظ المشيجية المتماثلة والذي ينتج عنه تكوين بوغ جنسي ساكن هو البوغ اللاقحي zygospore.

6- أفرادها مهمة بيئياً، فسيولوجياً وحيوياً وذلك لقدراتها المتعددة في مجالات التحلل وفساد الأغذية واستخداماتها في التخمر، قسم منها تدخل في مجالات الصناعة لانتاج الانزيمات والحوامض.

7- بعض افرادها تنفرد في طريقة اطلاق الابواغ بقوة ولذلك تسمى بندقية الفطر fungus shotgun، او في طريقة اصطياد الفريسة من خلال التصاق الغزل الفطري (المغلف بمواد لاصقة) بجسم الفريسة والتفافه عليها وإرسال ممصات إلى داخل جسمها.

8- قسم الصنف إلى ثلاث رتب هي: Mucorales، Entomophthorales و Zoopagales، علماً إن بعض المختصين اقترح تقسيم الصنف إلى سبع رتب من بينها الرتب الثلاث أعلاه، سيتم اعتماد التقسيم الأول وتناول الرتب الثلاث ضمن الصنف.

الرتبة Mucorales

تعد هذه الرتبة من أكبر رتب الفطريات اللاقحية، معظم افرادها فطريات مترممة على المواد النباتية او الحيوانية المتفسخة او المتحللة، وقسم قليل منها يعيش بشكل طفيليات ضعيفة على الفواكه والخضروات وتسبب التعفن الطري مثل الفطر *Rhizopus stolonifer*، بالاضافة إلى ذلك فان البعض منها يصيب الإنسان مثل *Absidia corymbifera*، وهناك أفراد خاصة ضمن العائلة Piptocephaidaceae متطفلات إجبارية على فطريات أخرى وخاصة الفطريات اللاقحية.

الصفات العامة:

1- الغزل الفطري جيد التكوين ومن النوع غير المقسم ولكن في المزارع القديمة قد تتكون حواجز كاذبة في بعض الانواع، تمتد الخيوط فوق سطح الوسط وينشأ منها إلى الأسفل خيوط فرعية شبه جذرية تسمى أشباه الجذور Rhizoids والخيوط الممتدة التي تربط فيما بينها المدادات stolons.

2- معظم افرادها مترممات على بقايا النباتات والحيوانات وقسم منها متطفلات ضعيفة على النباتات وتسبب تعفن الفواكه والخضراوات وأخرى مرافقة للإصابات المرضية في الحيوان والإنسان.

3- التكاثر اللا جنسي إما بتكوين الحوافظ البوغية الكروية الحاوية في الغالب على العويمد columella او بتكوين الحويفظات البوغية sporangiola، وهناك بعض الحوافظ الفاقدة للعويمد التي تصطف فيها الأبواغ في تركيب كيسي اسطواني الشكل يطلق عليها الحوافظ البوغية الجزيئية merosporangia إضافة إلى ذلك فإن البعض من الأنواع قد يلجأ إلى تكوين الأبواغ الكلاميدية عند تعرضه لظروف غير اعتيادية.

4- التكاثر الجنسي بواسطة تزاوج (اتحاد) الحوافظ المشيجية التي غالباً ما تكون متماثلة وينتج عنه تكوين ابواغ سميكة الجدران هي الأبواغ اللاقحية.

5- لها القدرة على انتاج الحوامض العضوية على نطاق واسع منها الفوماريك ، السكسنيك والاوكزاليك ، كما إن البعض منها استغل في مجالات التخمر لإنتاج الكحول.

6- تضم الرتبة إحدى عشر عائلة هي: Mucoraceae ،Pilobolaceae، Choanephoraceae، Radiomycetaceae، Endogonaceae، Cunninghamellaceae، Thamnidaceae، Syncephalastreaceae، Mortierellaceae، Helicocephalidaceae و Piptocephalidaceae .

وسيتم تناول العائلتين الأولى والثانية بشيء من التفصيل، أما بالنسبة للعوائل الأخرى فسيتم الإشارة إلى الصفات المميزة لها بشكل مختصر وإلى الأجناس المهمة فيها.

العائلة Mucoraceae

تعد هذه العائلة من أكبر العوائل الاحد عشر ضمن الرتبة، وتضم فطريات واسعة الانتشار في الطبيعة فقسم منها يعيش ويتواجد في التربة والقسم الآخر على براز الحيوانات وبعضها ينمو على العراهين، بالإضافة إلى ذلك فان عددا منها يعيش بشكل متطفلات ضعيفة على النباتات وأخرى ترافق الإصابات المرضية على الحيوانات والإنسان.

الصفات العامة:

1- الحوافظ البوغية فيها عويمد وجدرانها فاقدة للكيوتين.

2- الأبواغ اللاقحية سميكة الجدران ولكنها فاقدة لاية خيوط فطرية متشابكة على السطح، مع إحتمال وجود زوائد على الأبواغ.

3- ذات أنشطة عديدة لها علاقة مباشرة بحياة الإنسان فمنها ما يسبب تلف الفواكه والخضراوات وأخرى تنمو على الخبز *Rhizopus* spp. وثالثة تسبب حالات مرضية خطيرة مثل *Absidia* spp.

4- بعض أفرادها مهمة في المجالات الصناعية منها إنتاج الحوامض والكحولات مثل *Rhizopus* spp.

5- تضم أكثر من عشرين جنساً منها: *Rhizopus*، *Mucor*، *Absidia*، *Phycomyces*، *Zygorhynchus*، *Actinomucor*، *Chlamydomucor*.

طريقة العمل:

1- افحص تحت القوى الصغرى في المجهر قطعة من الخبز عليها نموات قطنية من الفطر *Rhizopus stolonifer* ، لاحظ أشباه الجذور، المدادات، الحوافظ البوغية الكروية الداكنة المنتصبة على حوامل غير متفرعة (لوحة 9-8).

2- حضر شريحة زجاجية من مزرعة تخص الفطر *R. slotonifer* وذلك بتحميل جزء من الغزل الفطري في اللاكتوفينول، أفحص التراكيب الأساسية للفطر والتي وردت في (1) أعلاه والأبواغ داخل الحوافظ ثم إضغط بلطف على غطاء الشريحة لتكسير غلاف الحافظة لتتحررالأبواغ ومشاهدة العويمد (الذي هو امتداد للحامل داخل الحافظة البوغية).

3- أفحص شريحة جاهزة تخص التكاثر الجنسي للفطر *R. slotonifer* وأدرس مراحل تطور الحوافظ المشيجية الأولية Progametangia، الحوافظ المشيجية، اقتران (تزاوج) الحوافظ المشيجية وتكوين البوغ اللاقحي (لوحة 9-8).

4- حاول أن تنمي الفطر *R. slotonifer* على قطعة من الخبز وذلك بترطيب قطعة الخبز ووضعها في كيس نايلون أو في طبق بتري وأتركها عند درجة حرارة الغرفة لفترة 3 - 5 أيام ثم أفحصها ستجد عليها نموات قطنية تمثل الفطر أعلاه (مع الإنتباه إن بعض أنواع الفطر *Mucor sp.* قد تسبب أيضا" تلف الخيز).

5- أفحص شريحة جاهزة تخص غزل الفطر *Mucor racemosus*، لاحظ حوامل الحوافظ البوغية المتفرعة، والحوافظ البوغية الكروية، العويمد الصولجاني الشكل وعليه نتوءات شوكية وقد تجد ابواغاً كلاميدية في الغزل الفطري أو

أحياناً حتى على حوامل الحوافظ البوغية، عدم وجود أشباه الجذور (لوحة 9-8).

6- أفحص شريحة جاهزة تخص الفطر *Absidia glauca*، أدرس الحوافظ البوغية الكمثرية الشكل ولاحظ أن حامل الحافظة يتسع عند نهايته ليكون قاعدة عريضة للعويمد الذي يوجد عليه بروز شوكي واحد، وفي حالة وجود الأبواغ اللاقحية لاحظ وجود اللواحق المقوسة للمعلقات suspensors والمحيطة بالبوغ (لوحة 9-8).

7- أفحص شريحة جاهزة تخص التكاثر الجنسي للفطر *Phycomyces blakesleeanus*، أدرس مراحل تطور الحوافظ المشيجية وتكوين البوغ اللاقحي ولاحظ لواحق المعلّق الثنائية التفرع، علماً بأن الفطر متباين الغزل الفطري (لوحة 9-8).

8- أفحص شريحة جاهزة تخص الفطر *Zygorhynchus molleri* ، أدرس حوامل الحوافظ البوغية غير المتفرعة والحوافظ البوغية الكروية الشكل والحوافظ المشيجية والمعلقات غير المتساوية في الحجم والبوغ اللاقحي (علماً بأن الفطر متماثل الغزل الفطري).

العائلة Pilobolaceae

هذه العائلة من العوائل الصغيرة إلا انها مهمة لكونها تتميز بظاهرة انطلاق الحوافظ البوغية بقوة عند النضج ولذلك يطلق على الفطر من هذا النوع بقاذف القبعة cap thrower.

الصفات العامة:

1- أفرادها فطريات مترممة تعيش وتتواجد على براز الحيوانات آكلة الحشائش.

2- حوامل الحوافظ البوغية الكاملة النمو ذات إنتحاء ضوئي شديد.

3- جدران الحوافظ البوغية والعويمد تحتوي على الكايتين.

4- تنطلق الحوافظ البوغية عند نضجها بقوة من الحوامل وتلتصق على الحشائش حيث تتناولها الحيوانات فتتحرر الأبواغ في القناة الهضمية وتخرج مع البراز.

5- يتكون الجهاز الحافظي sporangial apparatus في بعض أفردها من أربعة أجزاء هي الكيسي الغذائي trophocyst عند القاعدة وحامل الحافظة sporangio phore وحوصلة تحت حافظية subsporangial vesicle والحافظة البوغية sporangium، مثل الجنس *Pilobolus*.

6- الأبواغ اللاقحية غير محاطة بشبكة من الخيوط الفطرية.

7- تضم ثلاثة اجناس هي: *Pilobolus*، *Pilaria*، *Utharomyces* وسيتم تناول الجنس الأول لتواجده وانتشاره على براز الحيوانات.

طريقة العمل:

1- أجلب إلى المختبر براز خيل حديث واحفظه في وعاء زجاجي عند درجة حرارة الغرفة قرب الشباك، راقب ظهور الحوامل البصلية الشكل الخاصة بالجنس *Pilobolus* ولاحظ إنتحاء الحوافظ البوغية الشديد للضوء واستجابتها لمصدر الضوء.

2- أفحص شريحة جاهزة تخص الجهاز الحافظي للنوع *Pilobolus longipes*، أدرس الأجزاء الأربعة المكونة له وهي الكيس الغذائي والحامل والحوصلة تحت حافظية والحافظة البوغية (لوحة 9-8).

العائلة Thamnidiaceae

لهذه العائلة نوعان من التراكيب التكاثرية اللا جنسية وهما : حوافظ بوغية اعتيادية ذات عويمد sporangia وحوافظ بوغية صغيرة فاقدة للعويمد تعرف بالحويفظات البوغية sporangiola وهي غالباً ما تكون محمولة بهيأة دوائر عند نهايات الفروع .تختلف التفرعات الحاملة للحويفظات البوغية ، فقد تكون التفرعات محمولة على جوانب حامل الحافظة كما في الجنس *Thamnidium*

والذي وجد إنه ينمو على براز الحيوانات والتربة واشير إلى وجوده على اللحوم المخزونة، أو تكون التفرعات منتهية بشوكة كما في الجنس *Helicostylum*.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة جاهزة تخص حوامل الحوافظ البوغية للفطر *Thamnidium elegans*، لاحظ حامل حافظة بوغية نهائية يظهر فيها العويمد والابواغ وتفرعات جانبية حاملة للحويفظات البوغية الفاقدة للعويمد (لوحة 9-8).
2- أفحص مزرعة تخص أحد أنواع الجنس *Helicostylum*، أو شريحة جاهزة للنوع *H. fresenii*، لاحظ وجود حافظة بوغية نهائية وحويفظات بوغية جانبية وفرع ينتهي بشوكة نهائية يحمل حويفظات جانبية.

العائلة Choanephoraceae

تتواجد في هذه العائلة الحوافظ والحويفظات البوغية أيضاً، والحوافظ البوغية تحتوي على العويمد وغالباً ما تكون متدلية. أما حوامل الحوافظ البوغية تنتهي بحويصلات كروية تحمل الحويفظات البوغية التي تحتوي كل منها على 3 - 4 أبواغ كما في الفطر *Choanephora trispora*، وفي النوع *C.cucurbitarum* فإن الحويفظة تحتوي على بوغ واحد فقط وهذه يطلق عليها بالكونيده.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة جاهزة تخص الحوافظ البوغية للفطر *Choanephora trispora*، لاحظ حوامل الحوافظ البوغية التي إما تنتهي بحوافظ بوغية متدلية أو حويصلات كروية تحمل الحويفظات البوغية والابواغ المخططة المزودة بلواحق هلامية أو مخاطية. (لوحة 9-8).
2- أفحص شريحة جاهزة تخص الأبواغ اللاقحية للفطر *C.trispora*، لاحظ ان جدران الابواغ مخططة.

3- أفحص شريحة جاهزة تخص النوع *C.cucurbitarum*، لاحظ إن الحويفظات احادية البوغ.

العائلة Piptocephalidaceae

أن الصفة المميزة لإفراد هذه العائلة هي إن التكاثر اللاجنسي يحصل بواسطة تكوين حوافظ بوغية اسطوانية الشكل تحتوي على صف واحد من الأبواغ وتعرف بالحوافظ البوغية الجزئية merosporangia، وهي تتكون بهيأة مجاميع على حوصلة متضخمة عند نهاية كل فرع من فروع الحامل الذي عادة يكون ثنائي التفرع كما في الجنس الأهم ضمن العائلة *Piptocephalis*. هذا الفطر يعيش إما متمرساً على براز الحيوانات أو متطفلاً على الفطريات الأخرى فعندما تتواجد أبواغه بالقرب من خيوط فطر آخر ويحصل تماس بينهما ستنبت مكونة انبوبة انبات واحدة أو أكثر يتكون منها اعضاء التصاق appressoria تتكون تحتها ممصات دقيقة ثم تتطور الخيوط الفطرية والغزل الفطري للفطر الطفيلي. الأبواغ اللاقحية تتكون بين معلقات لسانية الشكل أو تشبه اللسان. وتضم العائلة الاجناس *Syncephalis* و *Dispira* بالاضافة للجنس اعلاه ، الذي ستتم دراسته.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة جاهزة تخص الحوافظ البوغية للفطر *Piptocephalis virginianae*، لاحظ حامل الحافظة البوغية ثنائي التفرع، الخلايا الرأسية التي تحمل الحوافظ البوغية الجزئية الاسطوانية (لوحة 9-9).

2- أفحص شريحة جاهزة توضح تطفل الفطر *P. virginianae* على فطريات أخرى.

3- أفحص شريحة جاهزة تخص الأبواغ اللا قحية لأحد الاجناس التي تعود للعائلة وافحصها جيداً.

العائلة Cunninghamellaceae

تتميز أفراد هذه العائلة بأنها تتكاثر لا جنسياً بواسطة الكونيدات، علماً بأن بعض المختصين يعتقد بأن الكونيدات هي بمثابة حويفظات بوغية أحادية البوغ ولكن لا توجد تأكيدات لذلك. تحمل الكونيدات بشكل منفرد على حويصلات كروية عند نهاية الحوامل الكونيدية المتفرعة أو غير المتفرعة، الكونيدات إما ملساء او شوكية، شفافة وتحمل بصورة فردية على حويصلات كروية. تضم ثلاثة اجناس هي: *Cunninghamella*، *Thamnouphalis*، *Mycotypha*، سيتم دراسة الجنس الأول فقط لأهميته.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة جاهزة تخص التكاثر اللاجنسي (الطور البوغي) للفطر *Cunninghamella elegans*، لاحظ الحوامل الكونيدية التي قسم منها متفرع والآخر غير متفرع وتوجد عند النهايات التراكيب الحوصلية التي تحمل الحويفظات بشكل منفرد على ندب صغيرة حيث تنشأ من الحوصلة الحويفظات شوكية الجدار (لوحة 9-9).

2- أفحص شريحة زجاجية تبين انبات الكونيدات التي تخص الفطر في (1) أعلاه ولاحظ إنها تعطي أنبوبة انبات واحدة او انبوبتي انبات من أطراف الحويفظات.

العائلة Mortierellaceae

أن الصفة المميزة لأفراد هذه العائلة هي فقدان العويمد من الحوافظ البوغية ، كما إن البوغ اللاقحي محاط بنسيج من الغزل الفطري وبالاضافة إلى ذلك تتكون الأبواغ الكلاميدية سميكة الجدران في الخيوط الفطرية الهوائية. تضم عددا قليلا من الاجناس، من أهمها وأكثرها انتشاراً الجنس *Mortierella* الذي يعيش في التربة على بقايا النبات والحيوان، يسبب الفطار الرئوي في القوارض وستتم دراسته.

طريقة العمل:

1- أفحص مزرعة نقية تعود لأحد أنواع الجنس *Mortierella*، قارن الخيوط الفطرية مع الأجناس الأخرى ضمن العائلة *Mucoraceae*.

2- حضر شريحة زجاجية من مزرعة الفطر بأخذ جزء من المستعمرة وحمله في ماء مقطر وأفحصه بالمجهر ولاحظ حوامل الحوافظ البوغية المتفرعة وغير المتفرعة والنهايات المدببة التي تحمل الحوافظ البوغية، لاحظ أيضاً أن الحوافظ البوغية عديمة العويمد وتأكد من وجود الأبواغ الكلاميدية (لوحة 9-9).

3- أفحص شريحة جاهزة تخص النوع *Mortierella zonata* أو أي نوع آخر وأدرس حوامل الحوافظ البوغية والتفرعات وغيرها من المعلومات الواردة في الفقرة (2) أعلاه.

العائلة Endogonaceae

بالرغم من إن هذه العائلة هي جزء من رتبة العفنيات بسبب وجود الأبواغ اللاقحية المتكونة بعد الاخصاب، إلا ان البعض يضعها حالياً في رتبة مستقلة لوحدها لأن أفرادها تتميز بعدة نقاط منها إنها تحمل أبواغها بشكل منفرد في التربة او تعطي جسما ثمريا بوغيا يحتوي إما على أبواغ لاقحية أو أبواغ كلاميدية أو حوافظ بوغية دقيقة صغيرة الحجم تتكون جميعها تحت التربة. بالإضافة إلى ذلك فان معظم أفرادها هي فطريات تتعايش مع النبات مكونة أشباه جذور مثل الجنس *Endogone* الذي يتعايش مع جذور اليوكالبتوس، والاجناس *Glomus* و *Sclerocystis*، سيتم دراسة الجنس الأول فقط.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة جاهزة تخص الجسم الثمري للنوع *Endogone sphagnophila*، لاحظ تكوين الحوافظ البوغية من نوع الميوكور.

2- أفحص شريحة جاهزة تخص الجسم الثمري للنوع *E. lactiflua*، لاحظ أن الجسم الثمري كلياً من نوع البوغ اللاقحي (لوحة 9-9).

3- أفحص شريحة جاهزة تخص الجسم الثمري للنوع *E. microcarpa*، لاحظ أن الجسم الثمري يتكون من الأبواغ اللاقحية والأبواغ الكلاميدية.

الرتبة Entomophthorales

أن معظم أفراد هذه العائلة فطريات متطفلة على الحشرات والحيوانات الأخرى، وقسم منها مترمم على بقايا الحشرات ويرقاتها وبقايا الحيوانات المائية وبراز الضفادع والسحالي والمواد العضوية، بالإضافة إلى ذلك فإن عددا قليلا منها يسبب أمراضاً خطرة للإنسان مثل الفطر *Basidiobolus ranarum*.

الصفات العامة:

1- الغزل الفطري ضعيف التكوين وقليل التفرعات مقارنة بأفراد الرتبة السابقة.

2- يميل الغزل الفطري لتكوين حواجز تؤدي إلى تجزئة الخيوط الفطرية إلى أقسام يطلق عليها الأجسام الخيطية الفطرية hyphal bodies.

3- تتضاعف الأجسام الخيطية الفطرية بالأنقسام أو التبرعم ويتكون عنها إما حوامل حافظية أو كونيدية أو أبواغ ساكنة.

4- الأبواغ الحافظية أو الكونيدات تنطلق بقوة في معظم الأنواع (الكونيدات هي في الواقع حوافظ بوغية وحيدة البوغ أو حويفظات بوغية).

5- معظم أفرادها تقوم بتكوين أبواغ ساكنة سميكة الجدران، وهي تتطور إما من تزاوج الحوافظ المشيجية كأبواغ لاقحية أو من التكاثر العذري كأبواغ لا لاقحية azygospores.

6- كانت توزع أفراد هذه الرتبة بين عائلتين هما Entomophthoraceae و Basidiobolaceae، ولكن حديثاً وضعت جميع أفرادها ضمن عائلة واحدة هي العائلة الأولى المذكورة أعلاه.

العائلة Entomophthoraceae

تشتمل على فطريات تتطفل على النبات والحيوان أو تترمم على البقايا النباتية والحيوانية، ولكن الشيء الملاحظ فيها هو قدرتها المميزة في استهداف الحشرات والتطفل عليها. واشهر الأجناس التابعة لها هو *Entomophthora* ، وتعني هذه الكلمة محطم الحشرات ، يضم الجنس ما يقرب من 100 نوع معظمها يتطفل على الحشرات وأشهرها النوع *E. muscae* الذي يتطفل على الذباب المنزلي وحشرات أخرى، والنوع *E. coronata* الذي بالامكان تنميته مختبرياً في الأوساط الزرعية.

أما الجنس *Conidiobolus* فهو من الأجناس المعقدة، بعض أفراده مترممة وقسم منها يتطفل على الحشرات والحيوانات الأخرى، كما إن الفطار الحشري الأنفي rhinoentomophthoromycosis الذي يصيب بطانة أنف اللبائن ومنها الإنسان تسببه أنواع تعود لهذا الجنس. والجنس الثالث *Basidiobolus* وهو أساساً فطر مترمم ولكن وجدت بعض أنواعه متطفلة على الدطريات الإنسان وخاصة النوع *B. haptosporus* والذي يعرف أيضاً باسم (*B. meristosporus*) وهو ممرض للإنسان ويسبب إصابات تحت جلدية subcutaneous infections، سيتم دراسة الأجناس الثلاثة.

طريقة العمل:

1- أفحص تحت مجهر التشريح ذبابة منزلية ميتة ملتصقة على الشبابيك أو الجدران، ولاحظ الهالة الكبيرة من الكونيدات حول الحشرة التي تعود للفطر *Entomophthora muscae*.

2- أدرس شريحة جاهزة تخص مقطع في ذبابة مصابة بالفطر *E. muscae*، لاحظ الحوامل الحافظية (الكونيدية) والحوافظ البوغية (لوحة 9 . 9) الخارجة من بين حلقات بطن الحشرة والاقسام الصغيرة من الاجسام الخيطية الفطرية الموزعة في جسم الحشرة.

3- أفحص شريحة زجاجية تخص الأبواغ اللاقحية للفطر المذكور ولاحظ إنه ينشأ كبرعم من خلية الالتحام والجدار السميك المحيط بالبوغ والذي يشبه الأبواغ البيضية في فطريات البياض الزغبي.

4- لغرض دراسة الجنس *Basidiobolus* حاول أن تحصل على براز ضفادع أو سحالي ثم ضع قليلا منه على وسط اكار ماء water agar أو 1 % ببتون أكار واتركه لمدة يوم واحد عند حرارة الغرفة ثم أفحصه ولاحظ تطور الحوامل الحافظية والحوافظ (الكونيدات)الكمثرية الشكل.

5- أفحص شرائح جاهزة تخص كل من الطور اللاجنسي والطور الجنسي للفطر *B. ranarum*، لاحظ العويمد المخروطي الشكل والحويصلة المنتفخة عند قاعدة الحافظة البوغية أحادية البوغ (لوحة 9-9)، ولاحظ أيضاً تطور البوغ اللاقحي من الحوافظ المشيجية الاولية وتكوين امتدادات تشبه المنقار على جانبي خط تماس الحافظتين المشيجيتين.

6- أدرس مزرعة نقية (او شريحة جاهزة) تخص أحد أنواع الجنس *Conidiobolus*، أفحص حوامل الحوافظ والحوافظ ومراحل تكوين الأبواغ اللاقحية (لوحة 9-9).

الرتبة Zoopagales

إن غالبية أفراد هذه الرتبة هي فطريات مفترسة للاميبا amoeba وجذريات الاقدام rhizopods (حيوانات مجهرية وحيدة الخلية) والديدان الخيطية (الثعبانية) nematodes ويرقات الحشرات، أو تعيش متطفلة فيها أو عليها.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها تتواجد متطفلة على أحياء التربة والأحياء المائية، كما تتواجد على المواد النباتية المتعفنة.

2- جسم الفطر يختلف بين الأنواع ففي المفترسة منها الغزل الفطري يكون واسع، الخيوط الفطرية انتشارية كثيرة التفرعات، مقسمة بجدران

مستعرضة، مغلفة بمادة لاصقة، تلتف على العائل وتقوم بتكوين ممصات متفرعة في جسم العائل. أما في الأنواع المتطلفة داخلياً الغزل الفطري يتكون من خيوط قصيرة وسميكة، متفرعة او غير متفرعة تعزو جسم العائل.

3- تتكاثر لاجنسياً بتكوين الأبواغ (الكونيدات) الخيطية الشكل، الحلزونية الشكل أو الكروية الشكل، وتنشأ بشكل منفرد، في سلاسل أو في رؤوس سائبة عند أطراف تفرعات الخيوط الفطرية او جوانبها أو من الخلايا المولدة للأبواغ sporogenous cells.

4- التكاثر الجنسي بواسطة تكوين الأبواغ اللاقحية، حيث تتكون حوافظ الأبواغ اللاقحية Zygosporangia بعد اتحاد الحوافظ المشيجية المتماثلة او المتباينة التي تنشأ من انبات الأبواغ أو الغزل الفطري.

5- تتضمن الرتبة عائلة واحدة فقط هي Zoopagaceae تشتمل على عشرة أجناس، ولكن اضيفت لها حديثاً عائلة ثانية هي Cochlonemaceae نقلت إليها بعض الأجناس من العائلة الأولى.

العائلة Zoopagaceae

تتميز أفرادها بتكوين أنواع مختلفة من الممصات أو الغزل الفطري الداخلي في جسم العائل والذي هو في الغالب إما الأميبا أو الديدان الثعبانية، كما تنشأ خيوطا فطرية طويلة اسطوانية الشكل لتعطي الكونيدات. تضم عددا قليلا من الأجناس من أهمها *Cochlonema*، *Cystopage*، *Zoopage*، سيتم دراسة الجنس الأول فقط.

طريقة العمل:

1- أفحص نموذج من الأميبيا اوالديدان الثعبانية أو يرقات الحشرات مصابة بأحد أجناس هذه العائلة، لاحظ الغزل الفطري النامي وادرسه جيدا".

2- أفحص شريحة جاهزة تخص تطفل الفطر *Cochlonema verrucosum* على الاميبا، لاحظ الخيوط الفطرية داخل العائل، سلاسل الأبواغ والابواغ اللاقحية (لوحة 9-9).

صنف 2- الفطريات اللاقحية الشعرية Trichomycetes

يتألف هذا الصنف من فطريات لاقحية شعرية، الغزل الفطري غير مقسم بسيط التكوين مقارنة بصنف الفطريات اللاقحية. أفرادها فطريات تنمو داخل القناة الحوضية للحيوانات المفصلية وخصوصاً الحشرات والقشريات (الصدفيات والروبيان). تلتصق بالبطانة الداخلية الكيتينية للامعاء بواسطة تراكيب تعرف بالماسك الجذري hold fast وتحصل على غذائها مباشرة من جوف الامعاء ولذلك تعتبر فطريات تعايشية إجبارية او فطريات مؤاكلة. يضم الصنف ما يقارب ثلاثين جنساً ويتحدد تواجدها بوجود العوائل التي تتعايش معها، وغالباً ما تكون غير تخصصية تجاه العائل الذي تعيش عليه.

الصفات العامة:

1- جسم الفطر مكون من غزل فطري محدود جداً، بسيط غير متفرع ، غير مقسم، ولكن قد تتكون أحياناً حواجز عند قواعد الخلايا التكاثرية، يمتلك ماسك جذري للالتصاق بالعائل.
2- الأبواغ الحافظية بنوعين إما أحادية النواة أو متعددة الانوية، والأحادية النواة تكون سميكة الجدار.
3- الأبواغ غالباً ما تكون خيطية الشكل ويطلق عليها الأبواغ الشعرية (الخيطية) trichospores وتتكون ضمن حافظة بوغية احادية البوغ وتحتوي على زائدة واحدة أو عدة زوائد.
4- التكاثر الجنسي غير واضح ولم يتم اثباته بشكل قاطع، علماً بأن عددا قليلا منها يعطي تركيبا جنسيا قريب الشبه بالبوغ اللاقحي (أبواغ جنسية)، محمول

على حامل بوغي لاقحي ينشأ من جانب أحد الخيوط الفطرية المتزاوجة بعد اقترن غزول فطرية متوافقة جنسياً.

5- قسمت فطريات هذا الصنف الى اربع رتب اعتماداً على شكل المظهر الخارجي للغزل الفطري بالإضافة إلى الطورين اللاجنسي والجنسي وهي:

أ- Harpellales ، من بين أهم أجناسها *Harpella* و *Smittium* وتتميز بتكوينها الأبواغ الشعرية

ب- Amoebidiales ، من أهم أجناسها *Amoebidium* ويتميز بتكوينه خلايا أميبية أو أبواغ.

ج- Asellariales، من أهم أجناسها *Asellaria* ويتميز بتكوين خلايا ماسك جذري Hold fast cells وأبواغ مفصلية Arthrospores.

د- Eccrinales ومن أهم أجناسها *Enterobryus* وهي تشبه الرتبة السابقة وتعد من الرتب النموذجية ضمن الصنف كونها تعطي جسما فطريا خيطيا وماسكا جذريا وحوافظ بوغية، سيتم دراسة المتوافر من الأجناس أعلاه.

طريقة العمل:

1- أفحص شرائح زجاجية تعود للأجناس المذكورة أعلاه وأدرس الخيوط الفطرية التي تكون غير متفرعة وغير مقسمة، الحوافظ البوغية والأبواغ الحافظية عند أطراف الخيوط والابواغ الحفظية وخلية الماسك الجذري والأبواغ اللاقحية الجانبية (لوحة 9-10).

تحت قسم 2: الفطريات الكيسية (الزقية) Ascomycotina

يشمل الفطريات التي تتميز بأن أبواغها الجنسية تنشأ داخل أكياس asci ولذلك تسمى أبواغ كيسية ascospores ويتضمن الاصناف التالية :

صنف 1: الفطريات الكيسية Ascomy cetes

تعد هذه المجموهة من أكبر المجاميع الفطرية الأخرى حيث يتجاوز عدد أفرادها 30000 نوعاً بضمنها الاشنات الكيسية ، وتكتشف بين الحين والآخر أنواعاً أخرى جديدة تضاف إليها بعد الوصف والتسجيل، يطلق على هذا الصنف إضافة الى صنف الفطريات البازيدية بالفطريات الراقية higher fungi.

تتواجد هذه الفطريات في بيئات مختلفة وتعيش مترممة على البقايا النباتية والحيوانية وفي التربة الغنية بالمواد العضوية وبراز الحيوانات وفي المياه العذبة أو المالحة أحياناً، أو تعيش متطفلة على النباتات مسببة أمراضاً مهمة مثل البياض الدقيقي وجرب التفاح. كما تصيب الإنسان والحيوان بأمراض خطيرة. علماً أن عددا منها له فوائد اقتصادية كبيرة سواء في مجال الصناعة كأنتاج المضادات الحيوية والفيتامينات والحوامض العضوية او في تحضير الأجبان، كما إن الخمائر yeasts هي الأخرى مهمة في مجالات التخمر وصناعة الخبز والمعجنات وانتاج الكحول. قسم منها له القدرة على انتاج الانزيمات المحللة للمواد السليلوزية وهذه تسبب تلف الأخشاب والأنسجة القطنية والمواد الغنية بالسليلوز. وأخيراً فإن بعض أفرادها يكون أجساما ثمرية كبيرة الحجم غنية بالمواد الغذائية يستخدمها الإنسان كغذاء تعرف بالكمأة Truffles.

الصفات العامة:

1- الأبواغ التي تنتج عن التكاثر الجنسي يطلق عليها الأبواغ الكيسية ascospores وتحمل داخل خلية كبيرة يطلق عليها الكيس ascus الذي يضم عادة ثمانية أبواغ كيسية.

2- الاكياس قد تتكون بشكل منفرد أو تكون مجتمعة وتعطي تراكيب ثمرة كيسية ascocarps تختلف في شكلها حسب نوع الفطر فهي اما كروية مغلقة، قارويه ذو فتحة قمية او كأسية، وفي أنواع أخرى تتكون الأكياس في حشيه ثمرية كيسية ascostroma.

3- الخيوط الفطرية من النوع المقسم لوجود الحواجز العرضية septa داخل الخيوط الفطرية وهي صفة تطورية لهذه المجموعة تميزها عن الفطريات التي سبقتها.

4- اختفاء الحوافظ البوغية والتكاثر اللاجنسي يتم بواسطة تكوين الكونيدات (الأبواغ اللاحافظية) التي تكون مباشرة عند أطراف الحوامل الكونيدية.

5- جسم الفطر إما وحيد الخلية كما في الخمائر أو خيطي متفرع كثير التفرعات وفي الحالة الثانية يؤدي تشابك الخيوط إلى تكوين الأنسجة الفطرية plecten chyma، وهي بنوعين النوع البروزنكيمي prosenchyma أو من النوع الحشوي الكاذب pseudoparanchyma.

6- تتكاثر أفرادها وحيدة الخلية (الخمائر) بالتبرعم والانشطار أما عديدة الخلايا (الخيطية) فتتكاثر بالتجزوء وتكوين الكونيدات وأحياناً بتكون الأبواغ البرعمية blastospores والأبواغ الكلاميدية chlamydospores.

7- تتكون الكونيدات في معظم أفرادها من الفياليديات (الذنيبيات) phialides عند أطراف الحوامل الكونيدية وتسمى phialoconidia، وغالباً ما تترتب بشكل سلاسل وتتعاقب أثناء تكوينها عن الحامل بطريقتين من حيث التسلسل إما تسلسل قمي acropetal أو تسلسل قاعدي basipetal.

8- الغزل الفطري فيها يكون على نوعين من حيث التوافق الجنسي compatibility متماثل الغزل الفطري homothallic (خصب ذاتياً) أو متباين الغزل الفطري heterothallic (عقيم ذاتياً).

9- التكاثر الجنسي يتم بطرق عديدة تعتمد على تكوين حافظة كيسية انثوية ascogonium تنشأ منها شعيرة أنثوية trichogyne تقوم باستقبال الحافظة الذكرية الاسطوانية (انثريدة) antheridium ويحصل تلامسهما ثم اندماج محتوياتهما وتكوين اللاقحة. وفي بعض الأنواع لا تتكون تراكيب جنسية متخصصة فيحصل اقتران جسدي somatogamy بين خلايا الخيوط الفطرية المتوافقة جنسياً.

10- كان الصنف يقسم إلى مجموعين (تحت صنف subclass) هما الفطريات الكيسية الأولية والفطريات الكيسية الحقيقية والأخيرة قسمت إلى سلاسل series ولكن حالياً قسمت أفراد هذا الصنف إلى خمس مجماميع كل منها تحت صنف اعتماداً على تكوين الأجسام الثمرية الكيسية من عدمه وعلى نوع الأجسام الثمرية الكيسية وكما يأتي:

تحت صنف1: الفطريات الكيسية الأولية Hemiascomycetidae

تشتمل هذه المجموعة على الفطريات الكيسية البدائية (البسيطة) الفاقدة للأجسام الثمرية الكيسية، فهي غير قادرة على تكوين الأجسام الثمرية الكيسية فتبقى الأكياس مكشوفة أو عارية. بعد أن كان فيها رتبتين، تضم حالياً ثلاث رتب هي:

أ- الرتبة Protomycetales.

ب- الرتبة Endomycetales.

جـ- الرتبة Taphrinales.

تحت صنف 2: الفطريات الكيسية الكروية (المغلقة) Plectomycetidae

وهي أول مجموعة ضمن الفطريات الكيسية الحقيقية (المتقدمة) والتي تتميز أفرادها بتكوين أجسام ثمرية كيسية كروية مغلقة تتواجد بداخلها الأكياس والأبواغ الكيسية، وتضم خمس رتب هي:

أ- رتبة Ascosphaeriales.

ب- الرتبة Elaphomycetales.

جـ- الرتبة Onygenales.

د- الرتبة Eurotiales.

هـ- الرتبة Microascales.

تحت صنف 3: الفطريات الكيسية الغشائية Hymenoascomycetidae

تشتمل على الفطريات الكيسية الغشائية التي تتميز أفرادها بأكياس أحادية الغلاف وتنشأ في طبقة قاعدية مشكلة نوعين من الأجسام الثمرية الكيسية الدورقية والقرصية وعلى هذا الأساس قسمت إلى مجموعتين ضمن مستوى تصنيفي هو السلسلة series هي:

سلسلة 1: الفطريات الكيسية الدورقية (القارورية) Pyrenomycetes

تشتمل على الفطريات الكيسية التي تتميز أفرادها بتكوين أجسام ثمرية كيسية دورقية الشكل ومزودة عند القمة بفوهة (فتحة) ostiole لخروج الأبواغ الكيسية عند النضج، وفي بعض الأنواع يكون للفوهة عنق طويل. تضم خمس رتب هي:

أ- الرتبة Erysiphales.

ب- الرتبة Sphaeriales.

جـ- الرتبة Hypocreales.

د- الرتبة Chaetomiales.

هـ- الرتبة Claviceptales.

سلسلة 2: الفطريات القرصية (الكأسية) Discomycetes:

تشتمل على الفطريات الكيسية التي تعطي ثماراً كيسية قرصية كأسية أو قمعية الشكل والطبقة الخصبة مكشوفة. وقسمت على أساس تواجدها إلى مجموعتين الأولى فوق أرضية epigeal وأفرادها تعطي نوعينِ من الأكياس أما عديمة الغطاء inoperculate أو غطائية operculate، أما المجموعة الثانية فهي تحت أرضية hypogeal وتسمى بفطريات الكمأة Truflles. وتضم أربع رتب هي:

أ- الرتبة Helotiales.

ب- الرتبة Phacidiales.

جـ- الرتبة Pezizales.

د- الرتبة Tuberales.

تحت صنف 4: الفطريات الكيسية شبه القارورية Laboulbeniomycetidae

يشتمل على مجموعة من الفطريات الكيسية القارورية التي تفتقر إلى الغزل الفطري الحقيقي وتعطي ثماراً كيسية شبيه بالأجسام الثمرية القارورية، وتضم رتبة واحدة هي: الرتبة Laboulbeniales

تحت صنف 5: الفطريات الكيسية الحجيرية Loculoascomycetidae

يشتمل على الفطريات الكيسية التي تعطي ثماراً كيسية من نمط الحشية الكيسية ascostrma والأكياس ثنائية الغلاف (الجدار)، حيث تتجمع الأكياس في حجيرات صغيرة محاطة بالأنسجة الفطرية وتكون أما أحادية الحجيرة أو متعددة الحجيرات. يضم خمس رتب هي:

أ- الرتبة Myriangiales.

ب- الرتبة Dothideales.

جـ- الرتبة Pleosporales.

د- الرتبة Hystriales.

هـ- الرتبة Hemisphaeriales.

تحت صنف 1: الفطريات الكيسية الأولية Hemiascomycetidae

إن أفراد هذه المجموعة فطريات كيسية غير قادرة على تكوين الأجسام الثمرية الكيسية وعليه فالأكياس تكون مكشوفة أو عارية.

الصفات العامة:

1- الغزل الفطري جيد التكوين والخيوط الفطرية من النوع المقسم بحواجز مستعرضة.

2- الأبواغ الكيسية تتكون داخل تراكيب تشبه الكيس يطلق عليها بالأكياس وكل كيس يحتوي على ثمانية أبواغ أحادية المجموعة الكروموسومية.

3- فقدان الجسم الثمري الكيسي، وتتخصص مجموعة من الخلايا العقيمة لتحيط بالأكياس.

4- تتكون الأكياس بصورة منفردة، يحصل الاقتران النووي والانقسام الاختزالي في الكيس الفتي وقبل تطور الكيس ونضج الأبواغ.

5- يضم ثلاث رتب هي: Protomycetales، Endomycetales، Taphrinales.

الرتبة Protomycetales

إن الموقع التصنيفي لهذه الرتبة هنا لا يزال موضع شك، لذا سوف لن يتم تناولها بشكل تفصيلي.

الصفات العامة:

1- فطريات متطفلة على النباتات الراقية.

2- الغزلي الفطري داخلي التطفل.

3- الأبواغ الكيسية تتكون في كيس بوغي spore sac وهو كيس حركي synascus يمثل مجموعة من الأكياس.

الرتبة Endomycetales

تعرف هذه الرتبة بأنها رتبة الخمائر Saccharomycetales لأنها تضم العديد من الخمائر ومن بين أفرادها الخمائر المكونة للأبواغ الكيسية وخاصة خميرة الخبز (الخميرة المتبرعمة) *Saccharomyces cerevisiae* والخميرة الانشطارية *Schizosaccharomyces octosporus*.

الصفات العامة:

1- أفرادها تشمل الخمائر والفطريات ذات الأشكال القريبة من الخمائر.

2- تتضمن الخمائر العديمة الأبواغ asporogenous yeasts منها الأجناس *Cryptococcus*، *Torulopsis*، *Pityrosporum* و *Candida*.

3- معظمها فطريات مترممة وقسم منها طفيلية على الإنسان والحيوان.
4- الغزل الفطري مفقود أحياناً في بعض أفرادها.
5- اللاقحة خلية مفردة تتحول مباشرة إلى كيس.
6- تفضل العيش على المواد الغنية بالسكريات.
7- مهمة اقتصادياً لدورها الأساسي في عمليات التخمر وإنتاج الكحولات والحوامض.
8- تضم ست عوائل هي: Ascoideaceae، Dipodascaceae، Endomycetaceae، Saccharomycetaceae، Cephaloascaceae، Spermophthoraceae.

العائلة Endomycetaceae

تضم هذه العائلة الخمائر والفطريات ذات الغزل الفطري الحقيقي الشبيه بالخمائر.

الصفات العامة:

1- جسم الفطر في غالبية أفرادها أحادي الخلية (خميري الشكل) وقسم منها شبيه بالخميرة بالرغم من تكوينه غزل فطري حقيقي.
2- الأكياس تحتوي على ثمانية أبواغ كيسية أو أقل.
3- الامشاج عموماً وحيدة النواة.
4- تضم الأجناس *Endomyces*، *Eremascus*، *Endomycodes*، و *Endomycopsella*. وسيتم التطرق إلى اثنين منهما فقط هما الفطر *Endomyces magnusii* الذي يتواجد على أشجار البلوط ويمكن عزله من الإفرازات المخاطية للشجرة، والفطر *Eremascus fertilis* الذي يرافق الأوساط عالية المحتوى السكري مثل المربيات المتعفنة.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة زجاجية مستديمة وجاهزة خاصة بالصفات الشكلية والتركيبية للفطر *E. magunsii* ولاحظ الغزل الفطري والخيوط الفطرية عديدة النوى المقسمة بحواجز septa، حيث تتقسم إلى قطع صغيرة تعرف بالأبواغ المفصلية arthrospores، ونهايات الخيوط الفطرية تكون اضيق وأحادية النواة تتحد لتكون الأكياس.لوحة(9-11)

2- ادرس مزرعة للفطر *E. fertilis* واعمل شريحة باخذ قسم من الغزل الفطري ثم لاحظ النمو المميز لهذا الفطر وحواجز الخيوط الفطرية والخلايا الغير نظامية.

3- دقق جيداً الشريحة في (2) أعلاه لكي تدرس مراحل تكوين وتطور الأكياس إن وجدت حيث تلاحظ نشوء فروع للحوافظ المشيجية قصيرة ومنتفخة النهايات ملتفه حول بعضها، هذه النهايات المشيجية أحادية النوى يحصل بينها إتحاد نووي بعد تحطم الجدران الفاصلة بينها واندماجها وتكوين اللاقحة والأكياس.

العائلة Saccharomycetaceae

الصفات العامة:

1- جسم الفطر أحادي الخلية، الخلايا بيضوية الشكل صغيرة الحجم.

2- تضم الخمائر الكيسية، الخمائر التي تتكاثر لا جنسياً وجنسياً.

3- تتواجد في الطبيعة على سطوح الثمار الناضجة، في رحيق الأزهار، في الأوساط السكرية، في التربة، في المخلفات الحيوانية والنباتية وفي الحليب ومنتجات الالبان.

4- تتكاثر لا جنسياً في الظروف الملائمة بالتبرعم أو بالانشاطر.

5- قد يتكون غزل فطري كاذب من التبرعم نتيجة لعدم انفصال البراعم من الخلية الأم وتكوينها سلاسل تشبه الخيوط الفطرية.

6- التكاثر الجنسي غالباً ما يكون بالاقتران الجسدي بين خليتين جسديتين متوافقتين جنسياً تتكون منهما اللاقحة ثم الكيس الذي يحتوي أربعة أو ثمانية أبواغ كيسية.

7- تضم الأجناس *Saccharomyces* spp.، *Schizosaccharomyces* spp.، *Hansenula* spp.، *Nematospora* spp و *Spermophthora* spp. وسيتم التطرق إلى جنس واحد فقط وهو *Saccharomyces* spp والذي يضم ما يقارب 30 نوعاً وا النوع المعروف أكثر من غيره هو *S. cerevisiae* الواسع الانتشار في الطبيعة والمعروف باستخداماتها الواسعة في الحياة اليومية والأغراض المنزلية لصناعة الخبز والمعجنات والتخمرات المختلفة.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة مستديمة وجاهزة للخميرة *S.cerevisiae* ولاحظ شكل الخلايا البيضوي الشكل (لوحة 9-11).

2- ازرع الخميرة *S.cerevisiae* على وسط اكار خلاصة الخميرة أو اي وسط مناسب متوافر وتابع طبيعة النمو وإمكانية تطور خلايا الخميرة إلى الأكياس.

3- اعمل تحضيراً من مزرعة الخميرة في (2) أعلاه وافحصه تحت المجهر لتشاهد الصفات الشكلية للخميرة وعملية التكاثر بالتبرعم وتكوين الغزل الفطري الكاذب.

4- أفحص شريحة مستديمة وجاهزة للخميرة *S. cerevisiae* تبين شكل الأكياس وعدد الابواغ الكيسية في كل كيس وهي أربعة أبواغ فقط بيضوية الشكل.

5- لغرض المقارنة، حاول أن تفحص شرائح لخمائر أخرى توضح الاختلافات في شكل وحجم الأكياس وشكل وعدد الأبواغ الكيسية.

الرتبة Taphrinales

تتطفل فطريات هذه الرتبة على النباتات الوعائية مسببة تشوهات للانسجة التي تستهدفها وينتج عن ذلك أعراضا مرضية عديدة منها التفاف الأوراق، الجيوب ومكنسة الساحرة.

الصفات العامة:

1- افرادها تتطفل على النباتات.

2- تشبه الخمائر في نموها في الوسط الزرعي فتكون مستعمرات شبيهة بالخمائر وخلاياها تتكاثر بالتبرعم.

3- تعطي غزلاً فطرياً خلاياه ثنائية النوى عند تطفلها داخل العائل.

4- الكيس ينشأ من خلية مكونة للكيس ثنائية النواة شبيهة بالأبواغ الكلاميدية.

5- تضم عائلة واحدة فقط هي Taphrinaceae.

العائلة Taphrinaceae

الصفات العامة:

1- تتطفل على النباتات الراقية والمهمة اقتصادياً.

2- الغزل الفطري داخل جسم العائل ينقسم إلى أجزاء ثنائية النوى شبيهة بالأبواغ الكلاميدية مسؤولة عن تكوين الأكياس.

3- الأكياس تتكون على سطح العائل وهي عارية مكونة طبقة خصيبة.

4- الأبواغ الكيسية بعد نضجها وتحررها تعطي أبواغا برعمية من خلال التبرعم والتي تنبت وتعطي أنبوبة إنبات قادرة على إصابة العائل.

5- تضم جنس واحد هو .*Taphrina* spp والذي يضم حوالي مائة نوع تعيش معظمها مترممة ولكن بعضها يتطفل على النباتات الوعائية. سوف يتم تناول نوعا واحدا هو *T. deformans* الذي ينتشر على أشجار الخوخ ويسبب تجعدات والتفاف الأوراق.

طريقة العمل:

1- حضر شريحة من نسيج مصاب بالفطر *T. deformans* في أوراق الخوخ بعمل مقاطع من النسيج المصاب ثم أفحص المقاطع بالماء تحت المجهر، لاحظ أكياس الفطر التي لا تضم بينها الشعيرات العقيمة كما لا تحيطها الخيوط الفطرية فهي لا تشكل جسماً ثمرياً وبذلك تعتبر مكشوفة أو عارية (لوحة9-11).

2- أدرس مقاطع محضرة ومصبوغة باللاكتوفينول الأزرق تظهر الطبقة الخصيبة مع الأكياس في مراحل مختلفة من التطور، لاحظ الخلية السويقية (القدمية)، الأكياس وعدد الأبواغ الكيسية فيها والتي غالباً ما تكون ثمانية أبواغ مع احتمال وجود أكياس عديدة الأبواغ لأن قسما من الأبواغ تتبرعم وهي داخل الكيس لتعطي أبواغا" جديدة فيصبح الكيس متعدد الأبواغ.

3- لإجراء مقارنة بين الأبواغ بالامكان فحص شرائح مستديمة وجاهزة لأنواع أخرى من الفطر *Taphrina*.

4- أفحص مقاطع طولية محضرة من نسيج الأوراق المصابة توضح غزلاً فطرياً بين خلوي والخلايا الثنائية النوى المولدة للأكياس (خلايا شبيهة بالأبواغ الكلاميدية).

تحت صنف 2: الفطريات الكيسية الكروية (المغلقة) Plectomycetidae

اشتملت هذه المجموعة على الفطريات الكيسية ذات الأجسام الثمرية الأثرية أو المؤلفة من خيوط فطرية غير متماسكة أو ذات أجسام ثمرية كروية الشكل من النوع المغلق Cleistotheeium.

الصفات العامة:

1- تعطي أجساما ثمرية كروية مغلقة فاقدة الفتحة أو الفوهة.

2- الأكياس كروية أو بيضوية عريضة، مبعثرة داخل الجسم الثمري.

3- تذوب جدران الأكياس عند النضج محررة الأبواغ الكيسية داخل تجويف الجسم الثمري.

4- تضم خمس رتب هي: Ascosphaerales، Elaphomycetales، Onygenales، Eurotiales و Microascales. وسوف يتم التطرق إلى رتبة Eurotiales فقط لأنها تضم اعدادا كبيرة من الفطريات ولأهميتها للإنسان والحيوان والنبات.

الرتبة Eurotiales

تشتمل هذه الرتبة على فطريات مهمة اقتصادياً وصحياً، فهي تضم مئات الأنواع من الفطريات تعيش معظمها مترممة وتسبب تلفاً كبيراً للمواد الغذائية والمنسوجات وبعضها تنتهز الفرصة وتصيب الإنسان والحيوان والنبات مسببة أمراضاً مختلفة.

الصفات العامة:

1- تمتلك غزلاً فطرياً يطلق تفرعات غزيرة.

2- تتواجد بشكل متكرر او دائم على الفواكه واللحوم المتحللة، على المواد العضوية في التربة وعلى طبف واسع من المواد الأخرى.

3- التكاثر اللا جنسي بواسطة انتاج اعداد كبيرة من الكونيدات على حوامل كونيدية متخصصة.

4- تضم حالياً سبع عوائل هي: Eurotiaceae، Gymnoascaceae، Amorphothecaceae، Thermoascaceae، Monoascaceae، Cephalothecaceae، Trichocomaceae وسيتم تناول عائلتين اثنتين فقط لاهميتها الاقتصادية والصحية، العائلة Eurotiaceae والعائلة Gymnoascaceae.

العائلة Eurotiaceae

تعد هذه العائلة واحدة من العوائل واسعة الانتشار عالمياً، وغالباً ما يطلق عليها بالعائلة Aspergillaceae لأن الطور الكونيدي (اللا جنسي) لمعظم أفراد هذه العائلة يعود إلى شبه - الجنس *Aspergillus* وبعضها يعود إلى شبه الجنس *Penicillium*.

الصفات العامة:

1- أفرادها مهمة اقتصادياً في انتاج الحوامض العضوية.

2- بعض أفرادها انتهازية Oportunistic وتعد مسببات مرضية للإنسان والحيوان.

3- الأكياس ضمن جسم ثمري مغلق محاطة بغلاف يتكون من خيوط فطرية منسوجة ونوعا ما متراصة، الأبواغ الكيسية الكروية تتوزع بشكل غير منتظم أو عشوائي داخل الجسم الثمري.

4- تضم عددا من الأجناس قسم منها الطور اللا جنسي يعود إلى شبه الجنس *Aspergillus* مثل *Eurotium*، *Emericella* و *Sartorya* والقسم الآخر الطور اللا جنسي يعود إلى شبه الجنس *Penicillium* مثل *Carpenteles* و *Tallaromyces*.

طريقة العمل:

1- أفحص جيداً مستعمرات أنواع مختلفة من الأجناس اعلاه وخاصة الفطر *Aspergillus*، وأدرس الصفات الشكلية والتركيبية للخيوط الفطرية والطور اللا جنسي (الكونيدي) بالإضافة للطور الجنسي إن وجد.

2- أقطع جزء شريطي من مستعمرة الفطر *Aspergillus* باستخدام شفرة حادة وضعه على شريحة بشكل جانبي ثم افحص تركيب الخيوط الفطرية والحوامل الكونيدية الهوائية ولاحظ الخلية السويقية (الخلية القدمية)، الحويصلة، الذنيبات وسلاسل الكونيدات. (لوحة 9-11).

3- لغـرض المقارنــة أفحـص أنواعــا أخـرى مــن الفطــر *Aspergillus* ولاحــظ الاختلافات في لون المستعمرة وشكل السطح وشكل الحوامل الكونيدية وعدد صفوف الذنيبات.

4- أدرس مزارع نامية على اكار جابك تحمل الأجسام الثمرية الكيسية المغلقة للأجناس *Eurotium*، *Emericella* و *Sartorya* والتي تعطي طورا ناقصا (لا جنسي) يعود للفطر *Aspergillus* (لوحة 9-11).

5- ضع غطاء شريحة زجاجية فوق جزء فتي من مستعمرة عمرها أسبوع واحد لواحد أو اكثر من الأجناس أعلاه وأضغطها بلطف حتى تلامس سطح الوسط (لتفادي تكون فقاعات يفضل وضع قطرة من الماء على المستعمرة قبل وضع الغطاء)، أفحص المنطقة المغطاة تحت القوى الكبرى في المجهر وحاول إن تجد الملفات الانثوية الكيسية ascogonial coils ومراحل تطور الأكياس والاجسام الثمرية الكيسية المغلقة الفتية.

6- أفحص مستعمرة بعمر 10 - 14 يوماً ولاحظ الجسم الثمري الكيسي الكروي تحت الغطاء الزجاجي، حاول أن تضغط على الغطاء لكي يتكسر الجسم الثمري ولاحظ الأكياس والأبواغ الكيسية.

7- أفحص شرائح مستديمة وجاهزة تظهر مقاطع عرضية للجسم الثمري الكيسي المغلق والتوزيع غير المنتظم للأكياس، لاحظ شكل الأكياس والأبواغ الكيسية وجدار الجسم الثمري المكون من خيوط فطرية متشابكة ونوعا ما متراصة.

8- حاول ان تعيد نفس الفحوصات أعلاه مع الفطر *Penicillium* والأجناس الأخرى التي طورها الكونيدي (اللا جنسي) يعود لهذا الفطر، لاحظ إن الحوامل الكونيدية تشبه المكنسة broom - shaped أو تشبه الفرشاة الصغيرة brush وهي من النوع البنيسيلي penicillus، الحوامل الكونيدية منتصبة ومتفرعة وتنتهي الفروع بعدد من الذنيبات (الفياليدات) التي تحمل سلاسلا من الكونيدات. (لوحة 9-11).

9- أفحص بعض الأنسجة من الفواكه المصابة بأنواع مختلفة من الفطر *Penicillium* ولاحظ لون الكونيدات التي تنتجها هذه الأنواع مثل العفن الأخضر *P. digitatium* والعفن الأزرق *P. italicum* على الحمضيات والفطر *P.expansum* على التفاح.

10- إن عدد الأنواع المعروفة الآن والتي تعود للجنس *Aspergillus* تتجاوز الـ 150 نوع تنتشر في المناطق الحارة أكثر من الباردة في العالم على العكس من الأنواع التي تعود للفطر Penicillium والتي تجاوز عددها 250 نوعاً تنتشر في المناطق الباردة أكثر من الحارة في العالم.

العائلة Gymnoascaceae

إن لإفراد هذه العائلة علاقة وثيقة بمسببات أمراض الجلد في الإنسان والحيوان، تتواجد في التربة والثمار والأوساط الحيوانية مثل الريش والصوف والجلد والعظام بالإضافة إلى براز الحيوانات.

الصفات العامة:

1- تتضمن فطريات جلدية مرضية للإنسان والحيوان.

2- قادرة على أن تنمو على المواد الكيراتينية مثل الشعر والاظافر، وقسم منها على براز الحيوانات.

3- غلاف الجسم الثمري شبكي أو عنكبوتي شائك مكون من خيوط فطرية دقيقة متشابكة مهلهلة.

4- تضم الأجناس: *Arachniotus*، *Arthroderma*، *Gymnoascus*، *Myxotrichum* و *Nannizzia*.

5- الجنس *Nanrizzia* يتضمن الطور الجنسي (الكيسي) لبعض أنواع الفطر *Microsporum*، والجنس *Arthroderma* يتضمن الطور الجنسي لبعض أنواع

الفطر *Trichophyton* والفطر *Keratinomyces* وجميعها فطريات جلدية، سيتم التطرق إليها لاحقاً ضمن موضوع الفطريات الطبية.

طريقة العمل:

1- ضع كمية من براز الأرانب او الحيوانات الأخرى في كابينة أو غرفة رطبة لعدة أيام، لاحظ وتابع ظهور أجسام ثمرية كيسية قطنية تحمل زوائد مميزة تعود لبعض فطريات هذه العائلة.

2- أنقل عددا من هذه الأجسام الثمرية إلى شريحة زجاجية وضع عليها قطرة أو قطرتين من اللاكتوفينول ثم سخن الشريحة بهدوء وأفحصها تحت المجهر وحاول أن تحدد الأجناس التي تعود لها هذه الأجسام الثمرية بالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية المناسبة.

3- ضع قليلا من التربة الغنية بالمواد العضوية في طبق بتري ورطبها بالماء المقطر المعقم، أنثر قطعا صغيرة معقمة من شعر الإنسان أو الحيوان بعد ذلك أفحصها ولاحظ الأجسام الثمرية المغلقة الكروية الشكل التي قد تعود إلى أكثر من نوع من فطريات هذه العائلة وخاصة الأجناس *Nannizzia* و *Arthroderma* (لوحة 9-11).

تحت صنف 3: الفطريات الكيسية الغشائية Hymenoascmycetidae

سلسلة 1: الفطريات الكيسية الدورقية (القارورية) Pyrenomycetes

تشتمل هذه المجموعة على الفطريات التي تعطي ثماراً كيسَية قارورية الشكل من نوع Perithecium مزودة بفتحة أو فوهة ostiole عند القمة تشبه العنق مبطنة بشعيرات عقيمة وتساعد في خروج الأكياس والأبواغ الكيسية بعد النضج.

وتضم هذه السلسلة أيضاً فطريات تكون أجساما ثمرية كروية لكنها وضعت ضمن هذه المجموعة بدلاً من سلسلة الفطريات الكروية لأن الأكياس تكون مرتبة

في طبقة واحدة وتنشأ عند قاعدة الجسم الثمري ولم تكن مبعثرة كما في الاجسام الثمرية الكروية.

الصفات العامة:

1- الأكياس أحادية الغلاف، وعديمة الغطاء وتنشأ في مجموعة على طبقة خصيبة قاعدية للجسم الثمري الكيسي الذي غالباً ما يكون قاروري وأحياناً كروي الشكل مغلق وتوجد بين الأكياس خيوط فطرية عقيمة.

2- الجسم الثمري النموذجي هو من النوع القاروري أو الدورقي الشكل.

3- بعض أفرادها ذات حشية ثمرية كيسية ووضعت هنا لأن الأكياس أحادية الغلاف.

4- قسم منها يكون أجسام ثمرية كيسية مغلقة (كروية).

5- تضم ست رتب هي: Erysiphales، Chaetomiales، Clavicipitales، Hypocreales، Diaporthales وSphaeriales.

الرتبة Erysiphales

إن جميع أفراد هذه الرتبة فطريات متطفلة إجبارياً على النباتات وتصيب الأجزاء الهوائية وتكسيها بطبقة مسحوقية بيضاء اللون هي كتل من كونيدات الفطر الممرض لذلك سميت هذه الرتبة برتبة البياض الدقيقي powdery mildew.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية الكيسية مغلقة كروية الشكل تحتوي على كيس واحد أو أكثر وتنشأ عند قاعدة الجسم الثمري في طبقة واحدة ولا توجد بينها الشعيرات العقيمة paraphyses.

2- جدار الجسم الثمري الكيسي المغلق من نسيج برنكيمي كاذب يحمل زوائدا طويلة مختلفة الشكل حسب نوع الفطر.

3- الأكياس كروية أو بيضوية عريضة وتنشأ من قاعدة الجسم الثمري المغلق.

4- أفراد هذه الرتبة فطريات تخصصية التطفل على النباتات وتسبب مرض البياض الدقيقي على العديد من النباتات.

5- تضم هذه الرتبة عائلة واحدة هي Erysiphaceae.

العائلة Erysiphaceae

بالرغم من إن فطريات هذه العائلة تبدو بأنها متخصصة في تطفلها إلا ان البعض منها له مدى واسع وقدرة كبيرة على التنوع في التطفل كما في الفطر *Erysiphe polygoni* الذي سجل على أكثر من 352 نوعاً من النباتات.

الصفات العامة:

1- الغزل الفطري جيد التكوين وينمو عادة فوق بشرة الأجزاء الهوائية ملتصقاً بها بواسطة أعضاء الألتصاق ويأخذ غذائه من خلايا العائل بواسطة ممصات متفرعة.

2- الحوامل الكونيدية في الطور اللا جنسي قائمة، غير متفرعة، شفافة وتظهر باعداد كبيرة من الغزل الفطري السطحي.

3- تنشأ سلسلة من الكونيدات على الحامل الكونيدي من خلية مولدة للكونيدات generative cell طرفية قارورية الشكل، والكونيدات عادة برميلية الشكل.

4- تحاط الأجسام الثمرية الكيسية المغلقة الكروية بعدد من الزوائد المتباينة الاشكال وتعد من الصفات المميزة للاجناس ضمن هذه العائلة.

5- تضم الأجناس: *Erysiphe*، *Podosphaera*، *Phyllactinia*، *Microsphaera*، *Sphaerotheca*، *Leveillula* و *Uncinula*.

طريقة العمل:

1- أفحص تحت مجهر التشريح نماذج من الأوراق والسيقان المصابة بمرض البياض الدقيقي، ولاحظ الخيوط الفطرية المتشابكة التي تكون حصيرة بيضاء فوق الأجزاء المصابة.

2- حضر شريحة من الفطر النامي على سطح النبات بقشط او سلخ البشرة باستخدام أدوات التشريح وقليل من الماء وأفحصها تحت المجهر، أدرس خيوط الفطر الممرض (يمكن أستخدام اللاكتروفينول الأزرق إذا كانت الخيوط الفطرية شفافة وعديمة اللون).

3- أعمل مقطع رقيق من ورقة نبات مصابة وضعها على شريحة نظيفة وافحصها مباشرة كعينة جافة، وبدون استخدام غطاء شريحة، لاحظ الحوامل الكونيدية القائمة والمنتصبة وعليها سلاسل الكونيدات، كرر العملية مع أكثر من جنس وسجل الاختلافات فيما بينها. (لوحة 9-12).

4- حضر في الماء او اللاكتوفينول شرائح لبعض الأجسام الثمرية المغلقة تخص اجناسا مختلفة ثم ضع غطاء الشريحة وأفحصها تحت المجهر. لاحظ الزوائد التي تحيط بالأجسام الثمرية والاختلافات بين أطراف ونهايات الزوائد وقواعد اتصالها بالجسم الثمري وتفرعاتها. حاول أيضاً أن تضغط على غطاء الشريحة بلطف وتابع خروج الأكياس والأبواغ الكيسية من الجسم الثمري بعد تمزق جداره الخارجي (لوحة 9-12).

5- أفحص شرائح مستديمة وجاهزة خاصة بأنواع واشكال الممصات التي تكونها الاجناس والأنواع المختلفة، لاحظ إن بعضها متفرعة وتتواجد في خلايا البشرة كما في الفطر *Erysiphe graminis*، او حويصلية كما في الفطر: *E. polygoni*، وفطر آخر *Leveillula taursica*، خيوطه تدخل من الثغور وتستقر في النسيج الميزوفيلي وغيرها من الحالات الأخرى في الأجناس الواردة أعلاه ضمن هذه العائلة (لوحة 9-12).

الرتبة Chaetomiales

وهي من الرتب الصغيرة ولكنها مهمة اقتصادياً لأنها تضم فطريات كيسية تفضل العيش على المواد الغنية بالسليلوز ولذلك فهي تسبب أضراراً كبيرة بالمنسوجات القطنية والورق والأخشاب.

الصفات العامة:

1- رتبة صغيرة نسبياً وقد عزلت مؤخراً عن الرتبة Sphaeriales (Xylariales).

2- فطريات مترممة على المخلفات النباتية وبراز الحيوانات والمواد الغنية بالسليلوز.

3- قادرة على انتاج انزيم سيلوليز cellulase المحلل للسليلوز ولهذا السبب يعزى عيشها على المواد السليلوزية.

4- تضم عائلة واحدة فقط هي Chaetomiaceae.

العائلة Chaetomiaceac

لا يزال البعض من المختصين يضع هذه العائلة ضمن الرتبة Xylariales أو كما تسمى عادة Sphaeriales حيث عزلت عنها مؤخراً الرتبة Chaetomiales التي تعود لها هذه العائلة حالياً.

الصفات العامة:

1- أفرادها فطريات تعيش على المواد السليلوزية.

2- الجسم الثمري القاروري السطحي مزود بعدد كبير من الشعيرات الطويلة المموجة او الملتفة حلزونياً خصوصاً عند الجزء العلوي أما تلك التي عند الجزء السفلي فتكون قصيرة ومستقيمة.

3- الأكياس تنشأ في حزمة الخيوط الفطرية عند قاعدة الجسم الثمري وتذوب في المرحلة الأولى من تكوينها ولهذا السبب يعتبرها عدد من المختصين جزء من سلسلة الفطريات الكروية.

4- تنحل جدران الأكياس قبل نضج الأبواغ ويمتلئ تجويف الجسم الثمري بمادة جلاتينية تحتوي على الأبواغ والتي تنساب من فوهة الجسم الثمري إلى الخارج بهيأة اسطوانية أو شريطية الشكل.

5- تضم العائلة ثلاثة أجناس هي: *Chaetomium*، *Ascotricha* و *Lophotrichus*. وأكثرها انتشاراً وشيوعاً هو الجنس الأول الذي يضم أكثر من 80 نوعاً.

طريقة العمل:

1- استخدم المجهر المجسم وأفحص قطعة من الورق أو القماش القطني او اي مادة تكونت عليها الأجسام الثمرية القارورية للفطر *Chaetomium* sp.، ولاحظ شكل وصفات هذه الأجسام.

2- أدرس الخيوط الفطرية لأحد أنواع الفطر *Chaetomium*.

3- لغرض المقارنة أفحص شرائح مستديمة وجاهزة توضح الأجسام الثمرية الكروية لعدة أنواع من الفطر *Chaetomium* spp.، وأدرس الاختلافات بين تركيب الشعيرات الموجودة عليها.

4- أسحق جسم ثمري قاروري ناضج على شريحة زجاجية مع قطرة من الماء ولاحظ خروج العديد من الأبواغ الكيسية السوداء والتي غالباً ما تكون ليمونية الشكل.

5- أسحق جسما ثمريا قاروري فتي مأخوذ من مزرعة للفطر ثم افحص الأكياس مع الأبواغ الكيسية المتطورة حديثاً وأدرس أصل الأكياس ولاحظ شكلها.

6- أفحص شرائح زجاجية مستديمة أو مزارع تخص الأجناس الأخرى وقارنها مع الجنس *Chaetomium* (لوحة 9-13).

الرتبة Sphaeriales (Xylariales)

هذه الرتبة واحدة من أكبر الرتب ضمن سلسلة الفطريات القارورية التي يعيش أغلب أفرادها مترممة على المخلفات النباتية وبراز الحيوانات وقسم منها متطفل ويصيب النباتات بأمراض مختلفة.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية القارورية بنية داكنة أو سوداء، جلدية ، كمثرية أو كروية، لها عنق طويل أو فاقدة له والفوهة موجودة دائماً ومبطنة من الداخل بشعيرات عقيمة.

2- الأكياس اسطوانية أو صولجانية عديمة الغطاء وتخرج منها الأبواغ عن طريق فتحة صغيرة عند طرفها، وتنشأ الأكياس من طبقة خصيبة عند قاعدة الجسم الثمري.

3- الخيوط العقيمة تتواجد بين الأكياس في المراحل الأولى من تطور الأكياس ولكنها تختفي نهائياً عند نضج الأجسام الثمرية.

4- تضم أربع عوائل هي: *Sordariaceae*، *Phyllachoraceae*، *Xylariaceae* و *Diatrypaceae* وسيتم تناول اثنتين منها هما *Sordariaceae* و *Xylariaceae* .

العائلة Sordariaceae

غالباً ما تتواجد وتنمو أفراد هذه العائلة على براز الحيوانات أو المواد النباتية المتحللة، وهي مهمة في الدراسات العلمية المختبرية وبصورة خاصة في مجال الوراثة.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية القارورية ذات عنق نموذجي ومحاطة بشعيرات ناعمة.

2- الأبواغ الكيسية بنية داكنة أو سوداء وعليها زخرفة مميزة ومختلفة، بعضها محاطة بغلاف أو بزوائد هلامية او مخاطية وهذه واحدة من الصفات المهمة في التشخيص.

3- غير مهمة اقتصادياً لكنها ذات أهمية علمية كبيرة لاستخدام الفطر *Neurospora* في التجارب الوراثية والكيميائية الحياتية المختبرية وذلك لسرعة استجابته الوراثية للمتغيرات البيئية وسهولة متابعة ذلك وراثياً في داخل

المختبر، والفطر *Sordaria* في تجارب التغذية والفسلجة وما يتعلق بتكوين الأجسام الثمرية والأبواغ.

4- تضم الأجناس: *Sordaria*، *Podospora*، *Neurospora* و*Gelasinospora*، سيتم دراسة المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- أدرس الأجسام الثمرية والأكياس والأبواغ الكيسية التي تعود للأجناس أعلاه وكلما أمكن ذلك وسجل الملاحظات لكل واحد منها (لوحة 9-13).

2- حمل بعض الأكياس في محلول اليود وأدرس تركيب قمة الكيس ولاحظ امكانية أخذ الصبغة وذلك دليل على وجود المواد النشوية عند قمة الكيس أو المكونة لسدادة الثقب في بعض الأكياس.

3- أفحص نماذج أو شرائح جاهزة تخص غزل فطري متجانس وآخر متباين، ولاحظ إمكانية تكوين الأجسام الثمرية القارورية.

العائلة Xylariaceae

إن معظم أفراد هذه العائلة يعيش مترمماً على الأخشاب وأحياناً على براز الحيوانات، والبعض منها يتطفل على الأشجار الخشبية مثل أشجار الزان.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية من نوع الحشية الثمرية وتكون مغمورة في الحشية الفطرية، وإن شكل الحشية الثمرية واحدة من الصفات المميزة للأجناس المختلفة ضمن العائلة.

2- تحتوي النهاية العلوية للكيس على جهاز قمي يتكون باليود باللون الأزرق دلالة على وجود المواد النشوية ويخترقه ثقب ضيق لخروج الأبواغ الكيسية.

3- الأبواغ الكيسية وحيدة الخلية، سوداء اللون، غير متساوية الجوانب وتحتوي في الغالب على ثقب أو فتحة انبات germ pore شفافة استوائية الموضع.

4- تضم عدة أجناس هي: *Hypoxylon*، *Xylaria*، *Nummularia*، *Daldinia*، *Ustulina*، *Poronia*، *Podosordaria*، *Rosellinia* علماً بأن الجنسين *Hypoxylon* و*Daldinia* معروفين أكثر ونالا اهتماماً أوسع وسيتم دراستهما.

طريقة العمل:

1- أفحص نماذج أو شرائح مستديمة وجاهزة تخص أنواعا مختلفة من الحشية الثمرية للأجناس *Hypoxylon* و *Daldinia* ولاحظ الاختلافات في الشكل والحجم والصفات الأخرى (لوحة 9-13).

2- أعمل مقطعا عرضيا في حشية ثمرية لأحد أنواع الفطر *Hypoxylon* وأدرس الأجسام الثمرية المطمورة ولاحظ الأكياس والأبواغ الكيسية. يمكن فحص شريحة مستديمة في حالة عدم توافر الفرصة لايجاد جسم ثمري نامٍ على سيقان الأشجار.

3- أفحص الحوامل الكونيدية والكونيدات في الحشية الثمرية الفتية للفطر *Hypoxylon* لاحظ انها تحمل الكونيدات على سطحها الخارجي.

4- أعد الفحوصات أعلاه مع الأجناس الأخرى وخاصة *Daldinia* الذي يكون حشية كروية على أشجار الدردار ويتواجد على الفروع والجذوع الميتة (لوحة 9-13).

الرتبة Diaporthales

هذه الرتبة تشبه الرتبة Sphaeriales التي سبق ذكرها، خيث يضع عددا من المختصين أفراد هذه الرتبة ضمنها، حوامل الأكياس جيلاتينية وتتحرر الأكياس من الطبقة الخصيبة حيث تملئ تجويف الجسم الثمري ثم تتحرر من الفوهة.

الصفات العامة:

1- أفرادها متطفلة على النباتات وتسبب أمراض الفحومة وتعفن الثمار، وقسم منها متعايش مع النباتات.

2- مركز الجسم الثمري في بداية تكوينه يتألف من نسيج برنكيمي كاذب، ولكن تطور الأكياس وتكوينها يؤدي إلى تحطيم هذا النسيج.

3- الخيوط العقيمة تتواجد في الجسم الثمري في المراحل الأولى لتكوينه ولكنها تختفي تماماً اثناء تطور ونضج الأبواغ الكيسية.

4- قمم الأكياس سميكة وفيها قناة مركزية ضيقة لخروج الأبواغ الكيسية من الأكياس التي قد تبقى داخل الجسم الثمري او تخرج منه.

5- تضم ثلاث عوائل هي: Melanosporaceae، Gnomoniaceae و Diaporthaceae وسيتم تناول العائلتين الأخيرتين، علماً بأن أفراد العائلة الأولى أكياسها ذائبة أو زائلة.

العائلة Gnomoniaceae

أفراد هذه العائلة فطريات متطفلة على النبات وتصيب الأوراق مسببة أمراض فحومة أوراق الجوز وسفعة أوراق الكرز.

الصفات العامة:

1- الكونيدات في جميع الأنواع التابعة للجنس *Gnomonia* تنتج في كويمة كونيدية.

2- الأكياس غير ذائبة وقممها تحمل حلقات انكسارية.

3- الأجسام الثمرية الكروية القارورية لا تتكون في حشية ثمرية ولكنها مطمورة في نسيج العائل.

4- جدار الجسم الثمري رقيق وشبه شفاف.

5- تضم جنسين هما: *Gnomonia* و *Gaumannomyces*.

طريقة العمل:

1- أفحص شريحة مستديمة وجاهزة تخص الطور الكونيدي (كويمة كونيدية) للفطر *Marssonina juglands* والذي يمثل الطور الناقص (اللاجنسي) للفطر

(*Gnomonia leptostyla*)، لاحظ الكونيدات ثنائية الخلية المنجلية الشكل المحمولة على الحوامل الكونيدية التي تشكل كويمة كونيدية.

2- لتعزيز الفحص أعلاه أعمل باليد مقطعا رقيقا للكويمة الكونيدية للفطر *G. leptostyla*، ولاحظ الكونيدات والحوامل الكونيدية التي تتجمع لتشكل الكويمة الكونيدية (لوحة 9-13).

3- أفحص شريحة مستديمة وجاهزة تخص الطور الكونيدي (بكنيدة) للفطر *Zythia fragariae* والذي يمثل الطور الناقص للفطر *Gnomonia fragariae*.

4- أدرس مزرعة للفطر *G. fragariae* والتي تنتج الكونيدات في بكنيدات، ضع بكنيدة مفردة على شريحة زجاجية ثم ضع غطاء الشريحة واضغط عليه بلطف حتى تتكسر البكنيدة، لاحظ شكل الحوامل الكونيدية فيما إذا كانت متفرعة أم لا والكونيدات المحمولة على اطرافها.

العائلة Diaporthaceae

أن أفرادها متطفلة على النباتات وتصيب ثمار الباذنجان وتسبب تعفنها، كما تسبب لفحة الكستناء.

الصفات العامة:

1- إن جميع الانواع التابعة للجنس *Diaporthe* يبدو إنها تمتلك الطور الناقص (اللا جنسي) الذي يشبه الطور الكونيدي لشبه الجنس *Phomopsis*.

2- التراكيب الثمرية القارورية ضمن حشية ثمرية كيسية ولها عنق طويل يصل إلى سطح الحشية.

3- الأكياس هراوية الشكل والأبواغ الكيسية ثنائية الخلية.

4- تضم ثلاثة أجناس: *Diaporthe*، *Glomerella* و *Endothia*، سيتم دراستها.

طريقة العمل:

1- أفحص مزرعة الفطر *phomopsis vexans* الفطر الواسع الانتشار على الباذنجان والذي يمثل الطور الناقص للفطر *Diaporthe vexans*، ولاحظ الأبواغ الخيطية المتقوسة والمتداخلة مع الأبواغ البكنيدية البيضوية.

2- أدرس الأجسام الثمرية القارورية لبعض أنواع الجنس *Diaporthe*، لاحظ أن قواعد الأجسام الثمرية غائرة في الحشية الثمرية مع وجود عنق طويل يمتد إلى سطح الحشية. (لوحة 9-13).

3- أفحص أكثر من مستعمرة للفطر *Glomerella*، ولاحظ الاختلافات في لون المستعمرة وطبيعة الغزل الفطري الهوائي.

4- ضع قطعا من ثمار تفاح مصابة بالفطر *G. cingulata* في كابينة رطبة لعدة أيام، لاحظ ظهور كويمة كونيدية مع كتل من الكونيدات ذات لون وردي، اعمل مقطعا رقيقا فيها وأفحصها تحت المجهر، وهي مماثلة للطور اللاجنسي للفطر *Gleosporium* spp.

5- أدرس الطور الكونيدي للجنس *Endothia* ولاحظ الكونيدات الدقيقة المقوسة وهي مماثلة للطور الناقص لشبه الجنس *Cytospora*.

6- أعمل مقطعا طوليا لحشية ثمرية كيسية أو أفحص شريحة مستديمة تخص مقطع طولي لحشية ثمرية للفطر *E. parasitica* ولاحظ الشكل الدورقي للأجسام الثمرية ضمن الحشية والعنق الطويل الذي يتميز به الجسم الثمري.

الرتبة Hypocreales

تختلف هذه الرتبة عن الرتب الأخرى التي سبقتها بأن الأجسام الثمرية لأفرادها تكون زاهية الألوان وطرية.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية نموذجية والأكياس تتكون في جسم ثمري كيس قاروري حقيقي، وقد تكون مباشرة على الغزل الفطري أو في حشية ثمرية.

2- جدران الأجسام الثمرية القارورية طرية او لحمية وعادة ما تكون براقة وبالوان زاهية (حمراء، برتقالية، بنفسجية، زرقاء، صفراء وبيضاء مائلة للصفرة)، وهذه الحالة تعتبر صفة مميزة لها عن الرتب الأخرى خصوصاً الرتبة *Sphaeriales*.

3- وجود الخيوط العقيمة الكاذبة او كما يطلق عليها أيضاً بالخيوط العقيمة القمية لأنها تتواجد عند قمة الجسم الثمري وتنمو في الأعلى نحو الأسفل وهي من الصفات المهمة جداً والمميزة لهذه الرتبة ايضا.

4- تضم الرتبة ثلاث عوائل هي: Nectriaceae، Hypocreaceae و Hypomycetaceae وسيتم تناول العائلتين الأولى والثانية فقط.

العائلة Nectriaceae

أفراد هذه العائلة تعطي أجساما ثمرية سطحية سواء كانت على غزل فطري أو في حشية ثمرية، حيث لم تكن غائرة في الحشية وإنما عند السطح مباشرة.

الصفات العامة:

1- أفرادها فطريات متطفلة على أشجار الفواكه وأشجار الظل وخاصة الفطر *Necteria* الذي يسبب مرض تقرح الخشب، والفطر *Gibberella* الذي يسبب مرض البادرة الحمقاء على الرز.

2- الأجسام الثمرية التي تتكون في حشية ثمرية شكلها يشبه الوسادة وبالوان جذابة.

3- الأبواغ الكيسية ثنائية الخلية شفافة تشبه القارب.

4- الطور الكونيدي لبعض أنواع الفطر *Necteria* هلالية الشكل، عديدة الحواجز (الخلايا) تشبه تماماً الكونيدات الكبيرة للفطر *Fusarium*.

5- تضم اثنين من الاجناس: *Necteria* و *Gibberella*، سيتم دراستها.

طريقة العمل:

1- أفحص مستعمرة نقية للفطر *N. cinnabarina* والفطر *G. zeae*، لاحظ لون المستعمرة والصفات الأخرى لهما وأعمل شريحة من الغزل الفطري وأدرس الخيوط الفطرية والحوامل الكونيدية والكونيدات الهلالية الشكل. (لوحة 9-14).

2- أفحص شريحة مستديمة وجاهزة عن الوسادة البوغية لأحد أنواع الفطر *Gibberella* sp.، أدرس العلاقة بين الحوامل الكونيدية وتكوينها للوسادة ولاحظ الكونيدات وطريقة اتصالها بالحوامل الكونيدية (لوحة 9-14).

3- حاول ان تجد بعض الأجسام الثمرية أو الحشيات الثمرية التي تعود للأجناس أعلاه وأفحصها تحت مجهر التشريح او أعمل مقاطع طولية منها وأدرسها وثبت الملاحظات التي تشاهدها، وخاصة الخيوط العقيمة الكاذبة.

العائلة Hypocreaceae

تتواجدالأجسام الثمرية لأفراد هذه الرتبة على جذوع الأشجار الميتة وأحياناً على الأجسام الثمرية الميتة لفطريات عديدة الثقوب.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية القارورية اللون (بيضاء، بيضاء مائلة للصفرة، حمراء أو بنفسجية).

2- الأجسام الثمرية القارورية طرية أو لحمية ومغمورة في الطبقات العليا من الحشية الثمرية.

3- الأكياس رقيقة الجدران، والأبواغ الكيسية ثنائية الخلية قد تتكسر داخل الكيس لتكون أبواغاً مجزأة فيتحرر من الكيس 16 جزءاً بوغياً.

4- الكونيدات من النوع الفياليدي (كونيدات فياليدية) وتتكون بشكل كتل لزجة عند نهاية الفياليدات.

5- تضم جنسين هما: *Hypocrea* و *Chromocrea* علماً بأن الطور الكونيدي للجنس الأول ينتمي إلى شبه الجنس *Cephalosporium* أو إلى *Penicillium* أو *Trichoderma* وخصوصاً في النوع *H. rufa*، أما الجنس الثاني يتميز بتكوينه اكياسا تحتوي على ثمانية أبواغ كيسية أربعة أبواغ كبيرة واربعة صغيرة والأخيرة تعطي غزلا فطريا عقيما.

طريقة العمل:

1- أدرس الجسم الثمري القاروري او الحشية الثمرية لبعض الأنواع المتوافرة من الجنسين *Hypocrea* و *Chromocrea*، لاحظ الاجسام الثمرية الغائرة في الحشية ولون الحشية.

2- اعمل مقاطع في الأجسام الثمرية القارورية ولاحظ جدار الجسم الثمري والفوهة والخيوط العقيمة المبطنة لها.

3- أفحص الأكياس والأبواغ الكيسية ولاحظ الجدار الشفاف للأبواغ الكيسية.

4- أفحص شرائح مستديمة وجاهزة تخص الطور الكونيدي للجنسين أعلاه ولاحظ الكونيدات الفياليدية التي تتجمع عند نهاية الحوامل الكونيدية وقارن بين الجنسين (لوحة 9-14).

الرتبة Clavicipitales

تضم هذه الرتبة فطريات معظمها يتطفل على الحشائش وخاصة نباتات العائلة النجيلية مثل الجنس *Claviceps*، او تتطفل على الحشرات والعناكيب مثل الجنس *Cordyceps*.

الصفات العامة:

1- تتكون الأجسام الثمرية الكيسية القارورية في حشية ثمرية طرية ولحمية.

2- الأكياس ذات قبعة قمية سميكة جيدة التكوين ومتميزة.

3- الأبواغ الكيسية طويلة ضيقة أبرية الشكل قد تنكسر إلى أجزاء صغيرة وتخرج من الكيس بشكل منفرد أو متتابعة من فتحة ضيقة في قمة الكيس.

4- بعض أفرادها يسبب مرض الأركوت على الحبوب وتتكون بدلها أجساما حجرية والتي عند تناولها كغذاء تسبب التسمم الاركوتي لما تحتويه من سموم الاركوتين.

5- تضم عائلة واحدة فقط هي Clavicipitaceae.

العائلة Clavicipitaceae

أن أفرادها فطريات متطفلة على النباتات والحشرات وتتميز بصفات عديدة.

الصفات العامة:

1- أفرادها تسبب مرض الاركوت على الحبوب الذي يسبب التسمم الاركوتي للانسان والحيوان.

2- أفرادها تكون أجساماً حجرية في السنابل المصابة بدلاً من الحبوب وتحتوي على مواد قولويدية سامة.

3- النسيج الداخلي للأجسام الحجرية هو من النوع الحشوي الكاذب.

4- الأجسام الثمرية تحتوي على العديد من الأكياس التي يحتوي كلا منها على حزمة مؤلفة من ثمانية أبواغ كيسية خيطية.

5- الكونيدات أحادية الخلية بيضوية متطاولة تنشأ في الفطر *C.purpurea* من الغزل الفطري المشتق من الأبواغ الكيسية أو من نسيج الجسم الحجري.

6- يكون الفطر *Cordyceps militaris* حشية ثمرية سويقية حمراء برتقالية يطلق عليها بالعسكري militaris لأنها منتصبة تشبه قبعة الضابط العسكري.

7- تضم جنسين فقط: *Claviceps*، *Cordyceps*، سيتم تناولهما.

طريقة العمل:

1- أفحص مزرعة نقية من الفطر *Claviceps purpurea* عند توافرها وأدرس صفات هذه المستعمرة وطبيعة الغزل الفطري والخيوط الفطرية.

2- أدرس شرائح جاهزة ومستديمة لكلا الجنسين *Claviceps* و *Cordyceps* تظهر مقاطعا في الغزل الفطري والحوامل الكونيدية والاعداد الكبيرة من الكونيدات (لوحة 9-14).

3- حاول أن تجد سنابلا من الحبوب المصابة بمرض الاركوت لغرض فحصها ودراستها وتسجيل الملاحظات عن شكل وحجم الأجسام الحجرية المتكونة بدل الحبوب (لوحة 9-14).

4- أعمل مقاطعا عرضية في الاجسام الحجرية وأفحصها، او أفحص شرائح جاهزة، لاحظ النسيج الحشوي الكاذب الذي يكون الجزء الداخلي فيها.

5- أفحص حشية ثمرية لكل من الفطر *Claviceps purpurea* والفطر و *Cordyceps militaris* وقارن بين الاثنين من حيث الأجسام الثمرية والفوهة والأكياس والأبواغ الكيسية الخيطية والخيوط العقيمة المبطنة للفوهة.

سلسلة 2: الفطريات الكيسية القرصية (الكأسية) Discomycetes

اشتملت هذه المجموعة على الفطريات الكيسية التي تعطي ثماراً كيسية قرصية او كأسية او قمعية من النوع apothecium وفيه الطبقة الخصيبة مكشوفة.

قسمت أفرادها على اساس تواجدها إلى قسمين، الأول يضم الفطريات الكيسية القرصية الفوق أرضية (فوق سطح التربة) (epigeous) epigeal والأكياس فيها على نوعين حسب إطلاق الأبواغ، ففي البعض منها فاقدة للغطاء او لا غطائية Inoperculate وتقع ضمن الرتب Heloltiales، Phacidiales وOstropales، وفي البعض الآخر مزودة بغطاء أو غطائية operculate وتقع ضمن الرتبة Pezizales، أما القسم الثاني يضم الفطريات الكيسية القرصية التحت أرضية (تحت سطح التربة) (hypogeous) hypogeal وتقع ضمن الرتبة Tuberales.

الصفات العامة:

1- تعيش معظم أفرادها مترممة على بقايا النباتات المتحللة وبراز الحيوانات وفي التربة الغنية بالمواد العضوية.

2- تكون أجساما ثمرية مفتوحة بسيطة أو معقدة متباينة في الحجم والشكل واللون والقوام فهي في بعض الأنواع قرصية أو كأسية أو قمعية وفي البعض الآخر سرجية أو جرسية أو تشبه اللسان أو تشبه الملعقة وبعضها تشبه المخ وقد تكون محمولة أو جالسة.

3- تحمل الأجسام الثمرية المختلفة المذكورة أعلاه الأكياس في طبقة خصيبة أما على سطوح أو تجاويف مفتوحة ومشكوفة، عدا فطريات الكمأ التي تكون أجسامها مغلقة وتبقى تحت سطح التربة.

4- يتألف الجسم الثمري الكأسي من ثلاثة أجزاء هي الطبقة الخصيبة hymenium المبطنة لسطح الجسم الثمري مكونة من الأكياس والخيوط العقيمة، يليها طبقة تحت خصيبة subhymenium مكونة من خيوط فطرية منسوجة، ثم الجزي اللحمي أو التخت excipulum المكون من نسيج حشوي كاذب والتخت يقسم إلى جزأين خارجي ectal ونخاعي medullary.

5- تختلف أفرادها في طريقة إطلاق الأبواغ الكيسية من الأكياس حسب وجود أو فقدان الغطاء، فهي تحرر الأبواغ من الأكياس عبر ثقب ضيق عند طرف أو قمة الكيس وتكون الأكياس من النوع اللاغطائي، أو تحرر الأبواغ عبر فتحة صغيرة مزودة بغطاء وتكون الأكياس من النوع الغطائي.

6- الطور اللاجنسي (الكونيدي) موجود في البعض منها وغير موجود في القسم الآخر، تنبت الأبواغ الكيسية لتعطي غزلاً فطرياً يعطي كونيدات فياليدية صغيرة تنشأ من فياليدات صغيرة عند نهاية الحوامل الكونيدية.

7- تضم خمس رتب موزعة على الشكل التالي:

أ- ثلاث رتب فوق أرضية لا غطائية هي: Ostropales ،Phacidiales، Helotiales، ويتم تناول الرتبة الأخيرة فقط لأهميتها.

ب- رتبة واحدة فوق أرضية غطائية هي: Pezizales.

جـ- رتبة واحدة تحت أرضية مغلقة هي: Tuberales.

الرتبة Helotiales

وهي من أكبر رتب الفطريات الكيسية القرصية وأهمها اقتصادياً، وتكون أجساما ثمرية كأسية لحمية سطحية وغير حشوية.

الصفات العامة:

1- تضم فطريات متباينة من حيث تكوينها للأجسام الثمرية القرصية.

2- الأجسام الثمرية القرصية أما كأسية أو قمعية محمولة على ساق قصير.

3- الأكياس غير غطائية وطرف الكيس مثخن، الأبواغ الكيسية بيضوية أو كروية طويلة ولكنها ليست خيطية.

4- معظمها فطريات مترممة في التربة أو على بقايا النباتات وقسم منها يتطفل على النباتات ويسبب أمراض العفن البني للثمار الصخرية والذبول للعديد من النباتات.

5- تضم ثمان أو تسع عوائل سنذكر ثلاث منها هي Sclerotiniaceae، Dermataceae و Geoglossaceae وسيتم التطرق إلى العائلة الأولى فقط.

العائلة Sclerotiniaceae:

تعد هذه العائلة من أكبر عوائل الفطريات القرصية اللاغطائية أو الفاقدة للغطاء كما إنها من العوائل المهمة اقتصادياً.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها فطريات متطفلة على النباتات وبالإمكان تنميتها مختبرياً (الطور الكونيدي) في الأوساط الزرعية.

2- بداءة الأجسام الثمرية القرصية تنشأ من الحشية الثمرية أو الجسم الحجري.

3- الأجسام الثمرية القرصية صغيرة أو متوسطة الحجم، وغالباً ما تكون محمولة على سويقات طويلة.

4- الأكياس لا غطائية، الأبواغ الكيسية شفافة، وحيدة الخلية وبيضوية أو متطاولة.

5- إن طبيعة الجسم الحجري، الحشية الثمرية والطور الكونيدي هي من الصفات المميزة لأفراد هذه العائلة.

6- الغزل الفطري ينشأ من أنبوبة الإنبات المتكونة من الأبواغ الكيسية أو الكونيدات، وعندما يصل الغزل إلى مرحلة محددة من التطور يعطي حوامل كونيدية طويلة ومتفرعة وبسرعة يتكسر إلى سلاسل من الكونيدات البيضوية أو الليمونية الشكل.

7- تضم جنسين مهمين هما: *Monilinia* الذي يسبب التعفن البيني للثمار الصخرية و *Sclerotinia* الذي يسبب الذبول للعديد من النباتات.

طريقة العمل:

1- إدرس بشكل تفصيلي نماذج من ثمار الخوخ مصابة بالفطر *Monilinia fructicola* أو من مزرعة نقية للفطر، وفي حالة تعذر ذلك شرائح مستديمة وجاهزة، افحص الخيوط الفطرية، الحوامل الكونيدية المتفرعة وسلاسل الكونيدات الليمونية الشكل (لوحة 9-15).

2- إفحص جزءا من المزرعة، أو شريحة جاهزة تخص إنتاج البذيرات (الكونيدات الدقيقة)، لاحظ التفرعات الوردية الشكل لحوامل البذيرات على الخيوط الفطرية وسلاسل البذيرات المحمولة عليها.

3- إعمل مقطعا رقيقا في جسم ثمري قرصي معزول من ثمار خوخ مصابة بالفطر *M. fructicola*، بعد تحميله في محلول اليود تركيز 1%، إفحص الأكياس مع الأبواغ الكيسية والخيوط العقيمة (لوحة 9-15).

4- اتبع نفس الخطوات أعلاه لفحص نماذج نباتات، مزرعة فطرية أو شرائح جاهزة للفطر *Sclerotinia sclerotiorum*، إدرس الخيوط الفطرية، الأجسام الحجرية والبذيرات والأجسام الثمرية القرصية وقارنها مع الفطر الآخر أعلاه.

الرتبة Pezizales

هذه الرتبة من الرتب الكبيرة التي تضم أكثر من 500 نوع ، والأجسام الثمرية مفتوحة والأكياس غطائية.

الصفات العامة:

1- كافة أفرادها فطريات تعيش مترممة على الأخشاب أو براز الحيوانات أو على المواد العضوية في التربة، البعض منها يظهر علاقات تعايشية مع النبات.

2-تكون أجساما ثمرية قرصية كبيرة الحجم معظمها يمكن رؤيتها بالعين المجردة.

3- الأكياس من النوع الغطائي، الفتحة القمية مزودة بغطاء يتحكم بخروج الأبواغ الكيسية.

4- الطور الكونيدي لبعض الأنواع يتكون بشكل واضح في المزارع المختبرية.

5- تضم خمس عوائل هي: Sarcoscyphaceae، Helvelaceae، Pezizaceae، Ascobolaceae و Morcheliaceae وسيتم تناول العوائل الثلاث الأخيرة فقط.

العائلة Pezizaceae

الأجسام الثمرية لأفراد هذه العائلة متباينة جداً معظمها قرصية، كأسية أو عديسية الشكل، جالسة أو سويقية، صغيرة جداً أو كبيرة، براقة أو داكنة، ناعمة أو مخملية أو هلبية، وبسبب هذه الاختلافات الواسعة قام المختصون بتقسيم هذه العائلة إلى عدة مجموعات وحديثاً وضعت أفرادها ضمن أربعة أجناس من أكبرها الجنس *Peziza*.

الصفات العامة

1- أفرادها فطريات تعيش على التربة، براز الحيوانات والأخشاب بالإضافة إلى قدرتها على الإثمار.

2- الأكياس والأبواغ الكيسية موجبة الانتحاء الضوئي حيث تتجه في أنواع الفطر *Peziza* باتجاه الضوء.

3- بعض أفرادها صالح للأكل وخصوصاً الفطر *Peziza aurantia*.

4- الطور الكونيدي مفقود في معظم أفرادها، في حين اكتشفت الكونيدات في عدة أنواع تعود للفطر *Peziza* spp.، أما الكونيدات الدقيقة فهي معروفة في العديد منها.

5- تضم العديد من الأجناس من أهمها: *Anthracobia*، *Peziza*، *Pyronema* و *Scutellinia*، سيتم تناول الجنس الثاني لأهميته.

طريقة العمل:

1- ضع كمية من براز الحيوانات في كابينة لعدة أيام ثم إفحصه ولاحظ الأجسام الثمرية الكيسية النامية عليه وحدد الجنس الذي تعود إليه.

2- إفحص مزرعة فطرية لبعض الأنواع المنتجة للطور الكونيدي التي تعود للجنس *Peziza* وخاصة النوع *P. repanda* أو النوع *P. vesiculosa*، إدرس الخيوط الفطرية، الحوامل الكونيدية والكونيدات.

3- إفحص أجساما ثمرية لبعض الأنواع التابعة للأجناس العائدة لهذه العائلة وادرس الأكياس والأبواغ الكيسية. (لوحة 9-15).

4- إفحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص أكياس أحد أنواع الفطر *Peziza* spp. ولاحظ تنظيم الأبواغ الكيسية داخل الأكياس بصورة مائلة وفي صف واحد (لوحة 9-15).

5- تتحرر الأبواغ الكيسية من الأكياس بقوة وتندفع لمسافة بعيدة عن الأكياس نتيجة للضغط الذي يحصل داخل الأكياس.

العائلة Ascobolaceae

هي عائلة صغيرة أفرادها تمتلك أبواغا كيسية داكنة، سميكة الجدران، وحيدة النواة ومتجانسة الشكل، تعيش مترممة على براز الحيوانات وخاصة الخيول أو بقايا النباتات أو الأخشاب المتحللة.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية قرصية الشكل، صفراء اللون، وصغيرة الحجم.

2- الأكياس موجبة الانتحاء الضوئي وتأخذ بالاستطالة حتى تبرز فوق مستوى الطبقة الخصيبة.

3- الأبواغ الكيسية عند نضجها وانطلاقها تقذف بقوة وتكون محاطة بطبقة هلامية تساعدها على الالتصاق.

4 - تضم جنسين فقط هما *Ascobolus* و *Saccobolus*، سيتم دراسة الجنس الأول,

طريقة العمل:

اتبع الخطوات المذكورة في طريقة العمل للعائلة Pezizaceae وادرس بعض الأنواع التابعة للجنس *Ascobolus* مثل *A.immersus* و *A. furfuraceus*.

العائلة Morchellaceae

تسمى هذه العائلة بالغوشنات الموريلات Morels (العراهين الاسفنجية)، الجسم الثمري أسفنجي القوام وجرسي الشكل كبير ومحمول على ساق.

الصفات العامة:

1- أفرادها تنتج أجساما ثمرية كبيرة محمولة على ساق كبير وصالحة للأكل.

2- الطبقة الخصيبة عديدة التجاويف مبطنة بالطبقات الخصيبة، الأكياس طويلة إسطوانية وغطائية.

3- الأبواغ الكيسية عديدة النوى (صفة مميزة ومهمة لها) تصل إلى 60 نواة في البوغ الواحد.

4- أفرادها مترممة وتنمو في التربة الغنية بالمواد العضوية وسرعان ما تكون غزلاً فطرياً متشعباً لا يلبث أن يكون الأجسام الثمرية فوق سطح التربة.

5- من أهم الأجناس التابعة لهذه العائلة *Mocrchella* ويطلق على الأنواع التابعة له بالغوشنات الحقيقية true morels وهي صالحة للأكل منها *M. esculenta*.

طريقة العمل:

اتبع الخطوات المذكورة في طريقة العمل للعائلة Pezizaceae وادرس بعض الأنواع التابعة للجنس *Morchella* منها *M. deliciaosa* و *M. crassipes*.

الرتبة Tuberales

تعطي أفراد هذه الرتبة أجساما ثمرية تحت أرضية مغلقة، يعيش معظمها مترمماً على المواد العضوية في التربة، وتسمى فطرياتها بالكمأة Truffule وأغلبها صالحة للأكل.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها فطريات تعيش مترممة على المواد العضوية في التربة وقسم منها يتعايش مع جذور النباتات مثل الفطر *Tuber melanosporum* المتعايش مع أشجار البلوط.

2- الأجسام الثمرية غير متفتحة وتنمو في التربة تحت سطح الأرض وتضم بداخلها نسيجاً خلاياه مثخنة الجدران يتخلله العديد من القنوات والعروق.

3- الجسم الثمري يتألف من غلاف خارجي خلاياه مثخنة الجدران ومنطقة داخلية خصيبة تتخللها عروق وقنوات وكثيرة الغريفات أو الحجيرات التي تحمل على

جوانبها الأكياس الكروية أو البيضوية الشكل كل منها يحتوي على بوغين أو أربعة أبواغ ذو جدران سميكة شوكية أو خشنة ذو طيات مختلفة.

4- الاسكوكونة غير موجودة ويحصل الانتقال النووي من خلال الاقتران الجسدي وتتكون الخيوط الكيسية من الخلايا ثنائية النوى.

5- تضم ثلاث عوائل هي: Geneaceae، Tuberaceae و Terfeziaceae. في العائلة الأولى والثانية تكون الأكياس طبقة خصيبة مميزة بينما في العائلة الثالثة الأكياس تتكون في وضع يشبه عش الطيور أي غير مميزة ومتداخلة بعضها مع البعض الآخر.

طريقة العمل:

1- إفحص الأجسام الثمرية التي تعود لأنواع كل عائلة من العوائل الثلاث أعلاه مثل الجنس *Tuber*، لاحظ أن بعض الحجيرات مفتوحة إلى الخارج.

2- إفحص شرائح جاهزة ومستديمة تخص مقاطع طويلة للأجسام الثمرية للفطر *Tuber* spp.، لاحظ التلافيف الداخلية التي تشكل جدران الحجيرات وادرس شكل وطبيعة الأكياس والأبواغ الكيسية (لوحة 9-15).

3- افحص بعض الأنواع المنتشرة في العراق التي تعود للأجناس *Terfezia* و *Trimania* (لوحة 9-15).

تحت صنف 4: الفطريات الكيسية شبه القارورية (عديمة الغزل الفطري)

Laboulbeniomycetidae

مجموعة خاصة من الفطريات الكيسية القارورية التي تفتقر إلى الغزل الفطري الحقيقي، بعض أفرادها يعيش متطفلا على الحشرات والقسم الآخر متطفل على الطحالب الحمراء البحرية.

الصفات العامة:

1- أفرادها فاقدة للغزل الفطري الحقيقي والكونيدات.

2- جسم الفطر بسيط جداً وينشأ من انبات البوغ الكيسي أو حتى الجسم الثمري نفسه.

3- جسم الفطر مؤلف من التخت والزوائد الملحقة به.

4- يلتصق الفطر بجسم العائل بواسطة خلية قاعدية (قدمية) foot cell سوداء ينشأ منها ممص يخترق سطح العائل.

5- أفرادها متطفلة على الحشرات والطحالب ولا يمكن تنميتها مختبرياً.

6- الأكياس مرتبة بانتظام في ثمرة كيسية قارورية وذلك على شكل طبقة قاعدية أو محيطية، تزول بسرعة وتثمر الأبواغ لتملئ تجويف الجسم الثمري.

7- تضم رتبتين هما: Laboulbeniales وهي تضم فطريات تتطفل على الحشرات وخاصة النمل والصراصر والذباب. Spathulosporales وهي تضم فطريات تتطفل على الطحالب الحمراء البحرية.

طريقة العمل:

1- أدرس بعض الحشرات المصابة وبعض الطحالب الحمراء وأفحصها بحثاً عن الفطريات المتطفلة عليها.

2- حاول أن تزرع الفطر *Stigmatomyces ceratophorus* على اجنحة معقمة من حشرة الذباب.

3- أفحص شريحة جاهزة ومستديمة لاحد الأنواع من الفطر *Laboulbenia* (لوحة 9-16!) وخاصة النوع *L.uhleri* وأدرس جسم الفطر وطبيعة الزوائد، والنوع *L. formicarum* وأدرس جسم الفطر الذكري ولاحظ الانثريدة وجسم الفطر الانثوي ولاحظ خيط الاستقبال (الترايكوجين).

4- أفحص شريحة جاهزة تخص الجسم الثمري القاروري، لاحظ الأكياس إن وجدت والأبواغ الكيسية المتطاولة الموجودة داخل تجويف الجسم الثمري.

تحت صنف 5: الفطريات الكيسية الحجيرية (المسكنية)

Loculoascomycetidae

تشتمل هذه المجموعة على الفطريات الكيسية التي تقوم بتكوين أجسام ثمرية من نمط الحشية الثمرية الكيسية والتي تنشأ فيها الأكياس ضمن تجاويف أو مساكن و حجريات صغيرة داخل الحشية الفطرية.

الصفات العامة:

1- الأكياس ثنائية الغلاف والجدار الخارجي سميك وغير قابل للتمدد بل يتشقق عند النضج من طرفه او من الجوانب حيث يتمدد الجدار الداخلي الرقيق حاملاً بداخله الأبواغ الكيسية.

2- الجسم الثمري من نوع الحشية الثمرية الكيسية عديد التجاويف او الحجيرات multilocular التي تتواجد فيها الأكياس، في بعض الأحيان قد تكون الحشية وحيدة الحجيرة unilocular وذي فوهة وتشبه الجسم الثمري القاروري وهنا يطلق عليها الجسم القاروري الكاذب pseudothecium.

3- مركز الجسم الثمري قد يكون خاليا من الخيوط العقيمة، ولكن قد يحتوي على الخيوط العقيمة الكاذبة.

4- ينفتح الجسم الثمري بواسطة ثقب انحلالي يتكون فوق الأكياس.

5- الطور الكونيدي موجود في البعض منها وغير موجود في القسم الآخر وأن وجد فهو مختلف أحياناً حتى ضمن نفس الفطر.

6- غالبية أفرادها فطريات تتطفل على النباتات وتسبب أمراضا مهمة اقتصادياً.

7- تضم خمس رتب هي: Myriangiales، Dothideales، Pleosporales، Hysteriales و Hemisphaeriales وسيتم تناول الرتبتين الثانية والثالثة لأهميتهما.

الرتبة Dothideales

تقوم أفرادها بتكوين أجسام ثمرية المركز فيها من نوع *Dothidea* type والذي تنشأ فيه الحوافظ المشيجية الانثوية (الاسكوكونه) أما في نسيج بروزنكيمي أو نسيج حشوي كاذب.

الصفات العامة:

1- فقدان الخيوط ما بين الأكياس في داخل الحجيرات.

2- الأكياس تكون بشكل حزيمات وتدفع خلال تطورها الأنسجة الحشوية التي حولها ويذوب قسما من هذه الأنسجة مكونة تجاويف حول الأكياس.

3- أفرادها فطريات تتطفل على النباتات وتسبب أمراضا تبقع الأوراق على العرموط والشليك.

4- تضم خمس عوائل هي: Dothideaceae، Capnodiaceae، Pseudosphaeriaceae، Dothioraceae وHerpotrichiellaeae وسيتم تناول الرتبة الرابعة فقط لأهميتها الاقتصادية وانتشارها على العديد من النباتات.

العائلة Dothioraceae:

معظم أفرادها فطريات مترممة وقسم منها فطريات متطفلة على النباتات مثل أنواع الفطر *Mycosphaerella* spp. التي تسبب أمراض تبقع الأوراق على النباتات.

الصفات العامة:

1- الأجسام الثمرية مطمورة في أنسجة العائل أو في الحشية الثمرية وقد تكون من نوع الحشية الكاذبة أي أحادية الحجيرة.

2- الأجسام الثمرية مزودة بفوهة مبطنة بالخيوط العقيمة أو غير مبطنة بها.

3- معظم أفرادها يمكن تنميتها بسهولة في المختبر ولكنها قد تكون الطور الكونيدي فقط.

4- تضم عدة أجناس أهمها هي: *Mycosphaerella* و *Guignardia*، سيتم دراسة المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- إفحص شرائح جاهزة ومستديمة تعود لأكثر من نوع للجنس *Mycosphaerella* ولاحظ الطور الكونيدي الذي يختلف من نوع لآخر ويشبه الطور الناقص في شبه - الأجناس *Ascochyta*، *Septoria*، *Cercospora* وغيرها من الفطريات الناقصة، لاحظ أيضاً أن الأبواغ الكيسية شفافة وثنائية الخلايا (لوحة 9-16).

2- إفحص شريحة جاهزة تخص الحشية الثمرية الكيسية للفطر *M. tulipiferae* وادرسها جيداً ستلاحظ أنها أحادية الحجيرة والفوهة مبطنة بالخيوط العقيمة (لوحة 9-16).

3- إفحص شريحة جاهزة تخص الحشية الكيسية لأحد أنواع الجنس *Guignardia* ولاحظ الاختلافات بينه وبين الجنس الأول حيث أن الأبواغ الكيسية ثنائية الخلية ولكن خلاياه غير متساوية وتبدو وكأنها أحادية الخلية، كما إن الفوهة غير مبطنة بالخيوط العقيمة.

4- إفحص شريحة جاهزة تخص النوع *G.bidwellii* وادرسها جيداً وثبت الملاحظات التي تخص الخيوط الفطرية، والحوامل الكونيدية والكونيدات.

5- إفحص مزارع نقية تعود للجنسين أعلاه في حالة توافرها وادرسها جيداً من حيث شكل المستعمرة، لونها وطبيعة النمو.

الرتبة Pleosporales

هي رتبة كبيرة ضمن الفطريات الكيسية وتضم عددا من الأجناس المهمة اقتصادياً لما تسببه من أمراض على النباتات، وقسم منها مترممة أو طفيليات ضعيفة على النباتات العشبية وقليل منها ينمو ويترمم على براز الحيوانات.

الصفات العامة:

1- الأكياس ثنائية الغلاف تنشأ وتتطور ما بين الخيوط العقيمة الكاذبة.

2- الجسم الثمري يمثل نوعا نموذجيا من الجسم الثمري الكيسي القاروري الكاذب.

3- أفرادها فطريات متطفلة على نباتات الحبوب مثل *Cochliobolus* و *Pyrenophara* أو على النباتات العشبية مثل *Ophiobolus* و *Pleospora* أو مترممة على براز الحيوانات مثل *Sporomia*.

العائلة Pleosporaceae

أفراد هذه العائلة فطريات تتواجد اساساً على الخشب وعلى السيقان الميتة للنباتات العشبية وهي من أكبر العوائل وقد وضعت فيها معظم أفراد الرتبة وشملت أكثر من 60 جنساً.

الصفات العامة:

1- الحشية الثمرية الكيسية أحادية الحجيرة أي إنها من نوع الجسم الثمري القاروري الكاذب، متوسط أو كبير الحجم.

2- الأبواغ الكيسية لا تمتلك شقا أو ثقب انبات، عديدة الحواجز، معظمها كمثرية أو هراوية الشكل.

3- الطور الكونيدي لمعظم أنواعها يعود إلى الطور الناقص لأشباه - أجناس عدد من الفطريات الناقصة.

4- تضم عددا كبيرا من الاجناس من أهمها: *Pyrenophara*, *Pleospora*, *Cochliobolus* و *Leptosphaeria*.

طريقة العمل:

1- ادرس مزرعة فطرية لنوع أو اكثر من الجنس *Pleospora* الذي يتواجد منه أكثر من 18 نوع جميعها طفيليات ضعيفة مثل *P.herbarum* والنوع

P.infectoria والتي تسبب التبقع أو اللفحة على الباقلاء والبرسيم ونباتات أخرى. ولاحظ لون وطبيعة الغزل الفطري، شكل الكونيدات الكمثري الشكل والحواجز الطولية والعرضية.

2- الطور الكونيدي للنوع *P.herbarum* يعود للطور الناقص لشبه الجنس *Stemphylium* والنوع الثاني يعود للطور الناقص لشبه الجنس *Alternaria*.

3- أفحص شريحة جاهزة تخص الأكياس والأبواغ الكيسية لأي نوع من الأنواع الأخرى للفطر *Pleospora*، لاحظ شكل الأكياس المتطاولة او الأسطوانية والأبواغ الكيسية عديدة الحواجز الطولية والعرضية وقارن بين الأنواع.

4- أدرس مزرعة تعود للجنس *Pyrenophora* الذي يتطفل على نباتات الحبوب، لاحظ طبيعة المستعمرة وافحص الغزل الفطري والكونيدات، علماً بأن الطور الكونيدي يعود لشبه الجنس *Drechslera*.

5- أدرس أحد أنواع الجنس *Leptosphaeria* الذي يتواجد على الشوفان وغيرها من النباتات العشبية، لاحظ الجسم الثمري الكاذب، الأكياس تستطيل بشكل مميز داخل الجسم الثمري ويرافق تكوين الأجسام الثمرية ظهور بكنيدات كروية صغيرة ذات جدران رقيقة.

العائلة **Venturiaceae**

أفرادها فطريات متطفلة على النباتات وتسبب أمراضا" مهمة اقتصادياً منها مرض الجرب على التفاح.

الصفات العامة:

1- الحشية الثمرية الكيسية تتكون اسفل بشرة العائل مباشرة (لوحة 9 -16).

2- الحشية الكيسية ذات اشكال مختلفة حسب جنس ونوع الفطر، وتتكون فتحة فوق الأكياس الناضجة وتحيط بها شعيرات ناعمة.

3- تتطور الحوامل الكونيدية من الحشية الفطرية وتدفع باتجاه السطح حيث تتكون الكونيدات.

4- الخيوط العقيمة قد تختفي مع تطور ونضج الأبواغ الكيسية.

5- الأبواغ الكيسية في بداية تكوينها عديمة اللون ثم تتحول إلى لون داكن ثنائية الخلية وأحياناً الخليتين تكون غير متساويتين.

6- تضم عدة أجناس من أهمها وأكبرها الجنس *Venturia*.

طريقة العمل:

1- أدرس بعض الأنواع التي تعود للجنس *Venturia* وخاصة النوع *V. inaequalis* الذي يسبب مرض جرب التفاح والنوع *V.pyrina* الذي يسبب مرض جرب العرموط، النوعان يستهدفان الأوراق والثمار.

2- حاول أن تحصل على مزرعة نقية للأنواع أعلاه باتباع الطريقة التالية:

حضر وسط أكار مسحوق الذرة في أطباق بتري، ضع ورق ترشيح معقم ومرطب بماء مقطر معقم داخل غطاء الطبق لتوفير رطوبة عالية ثم ضع قطعة من ورق تفاح أو عرموط مصاب بعد ذلك اعد الغطاء وأفحص سطح الوسط بشكل دوري لمتابعة انبات الأبواغ الكيسية وتكوين غزل فطري.

3- أفحص الغزل الفطري من المزرعة، أو من شريحة جاهزة، لاحظ لون المستعمرة، الخيوط الفطرية وتفرعاتها، الحوامل الكونيدية القصيرة والتي يحمل كلا منها كونيدة واحدة احادية الخلية والتي تشبه لهب الشمعة عند اتصالها بالحامل الكونيدي وهذا يشبه الطور الناقص لشبه الجنس *Fusicladium*.

4- أعمل مقاطع رقيقة في ثمار تفاح أو عرموط مصابة والتي تظهر عليها حوامل كونيدية أو كونيدات، أفحصها بعد تحميلها في اللاكتوفينول الأزرق.

5- أفحص أوراق تفاح او عرموط مصابة من الموسم السابق (بعد فترة تشتيه)، ولاحظ وجود الأجسام الثمرية الكيسية. حاول أن تعزل او تحرر أحد الأجسام

الثمرية من أنسجة الأوراق وضعها على شريحة زجاجية مع قليل من الماء ثم اضغط غطاء الشريحة بلطف وأفحص الأكياس والأبواغ الكيسية.

تحت قسم2 الفطريات البازيدية (الدعامية) Basidiomycotina

يشمل الفطريات التي تمتلك تراكيبا تسمى البازيدات Basidia خاصة لحمل الأبواغ الجنسية البازيدية Basidiospres ، ويضم صنفا واحدا وكما يأتي :

صنف الفطريات البازيدية Basidiomycetes

هذه المجموعة من أكثر المجاميع الفطرية تقدماً وتطوراً وتعقيداً، وهي ثاني أكبر الأصناف بعد صنف الفطريات الكيسية حيث تضم ما يزيد على 13000 نوع وتعود لها معظم الفطريات اللحمية الكبيرة الحجم المألوفة التي تشاهد في الحقول والبساتين وعلى الأخشاب مثل العراهين والفطريات الرفيه وحلقات الجن والكرات النافثة والقرون النتنة ونجوم الأرض وفطريات اعشاش الطيور والفطريات الجيلاتينية. بالإضافة إلى ذلك يضم هذا الصنف فطريات مجهرية عديدة وضعت في مجموعتين كبيرتين من الفطريات الهامة الاجبارية التطفل على النباتات هي فطريات الأصداء وفطريات التفحمات وكل منها بمستوى تصنيفي هو الرتبة.

الصفات العامة:

1- البازيدة هي الصفة البارزة والمميزة لهذه المجموعة، تحمل اربعة أبواغ بازيدية على بروزات متخصصة هي الذنيبات، ويعد شكل البازيدة المقسمة وغير المقسمة من الصفات التصنيفية الهامة.

2- تكون أغلب افرادها أجساماً ثمرية كبيرة الحجم وتشكل في العديد منها الجزء البارز والمتميز من الفطر كما في العراهين والفطريات الرفيه وما شابه.

3- العديد منها رمي المعيشة ويسبب وتحلل الخشب وبقايا النباتات وبراز الحيوانات، كما ان البعض الآخر منها يعيش طفيلياً على النباتات وقليل منها يرافق جذور الأشجار بعلاقات تعايشية وتكوين جذور فطرية.

4- الغزل الفطري جيد التكوين ومؤلف من خيوط فطرية مقسمة بحواجز مثقبة برميلية الشكل وتتفرع بشكل مروحي وتتداخل فيما بينها لتشكل شبكة ذات ثلاثة أبعاد، ويمر الغزل الفطري بثلاثة أطوار قبل أن يكمل الفطر دورة حياته وهي الطور الابتدائي والثانوي والثالث.

5- تسير الخيوط الفطرية في البعض من الأجناس بصورة موازية لبعضها البعض لتشكل معاً حزما خيطية مكونة تركيباً مميزاً يطلق عليه جديلة هيفية (خيطية) rhizomorph.

6- الخيوط الفطرية فيها ميل شديد لتكوين الخلايا ثنائية الأنوية، وفي أنواع كثيرة تظهر اتصالات كلابية Clamp conections عند الحواجز المستعرضة.

7- تتكاثر جنسياً لتكوين الأبواغ البازيدية بطريقة الأقتران الجسدي أو الأقتران البذيري، وقليل منها تتكاثر لا جنسياً بتكوين الكونيدات.

8- التكاثر اللا جنسي غير مهم في حياة الكثير من أفرادها، ويتم بعدة طرق هي، تكوين الكونيدات مثل الأبواغ اليوريدية والأسيدية، الأويدات والتجزوء.

9- بعض أفرادها مجهرية وتعيش متطفلة إجبارياً على النباتات الوعائية مسببة أمراضاً مهمة اقتصادياً هي أمراض الأصداء وأمراض التفحمات.

10- وزع أفراد هذا الصنف على ثلاث مجاميع كل منها تحت صنف Subclass أعتماداً على نوع البازيدة وعلى تكوين الأجسام الثمرية من عدمه وكما يأتي:

تحت صنف1: الفطريات البازيدية المقسمة (المتباينة)

Phragmobasidiomycetidae (Heterobasidiomycetidae)

تشتمل على الفطريات التي فيها الأجسام الثمرية البازيدية موجودة او مفقودة وإن كانت مفقودة فالطبقة الخصيبة مكشوفة، والبازيدات مقسمة بحواجز طولية او مستعرضة إلى أربع خلايا أو مشقوقة تشبه الشوكة الرنانة، يضم ثلاث رتب هي:

1- الرتبة Tremellales

2- الرتبة Auriculariales

3- الرتبة Septobasidiales

تحت صنف2: الفطريات البازيدية الكاملة (المتجانسة)

Holobasidiomycetidae (Homobasidiomycetidae)

تشتمل على الفطريات التي فيها الأجسام الثمرية البازيدية موجودة او مفقودة وإن كانت مفقودة فالطبقة الخصيبة مكشوفة، والبازيدات غير مقسمة أي أحادية الخلية، قسمت إلى مجموعتين هي السلاسل Series وذلك على أساس الأختلاف في تكشف الطبقة الخصيبة.

سلسلة 1: الفطريات البازيدية الكاملة المكشوفة Hymenomycetes

وفيها البازيدات منتظمة في طبقة خصيبة مكشوفة تنطلق منها الأبواغ بقوة عند النضج، وتضم ست رتب هي:

1- الرتبة Aphyllophorales

2- الرتبة Agaricales

3- الرتبة Exobasidiales

4- الرتبة Dacrymycetales

5- الرتبة Tulasnellales

6- الرتبة Brachybasidiales

سلسلة 2: الفطريات البازيدية الكاملة المغلقة Gastromycetes

تنتظم البازيدات في طبقة خصيبة ولكنها غير مكشوفة ولا تنطلق الأبواغ منها بقوة لأن الجسم الثمري محاط بغلاف، تضم ست رتب هي:

1- الرتبة Hymenogastrales

2- الرتبة Sclerodermatales

3- الرتبة Tulostomatales

4- الرتبة Lycoperdales

5- الرتبة Phallales

6- الرتبة Nidulariales

تحت صنف3: الفطريات البازيدية عديمة الجسم الثمري Teliomycetidae

أفرادها غير قادرة على تكوين الأجسام الثمرية البازيدية، البازيدة تنشأ من خلية سميكة الجدار وهي بمثابة بوغ ساكن (البوغ التيلي teliospore)، تضم رتبتين هما:

1- الرتبة Uredinales

2- الرتبة Ustilaginales

تحت صنف1: الفطريات البازيدية المقسمة Phragmobasidiomycetides

يشتمل على الفطريات البازيدية التي تنقسم فيها البازيدة التالية metabasidium إلى أربع خلايا بواسطة حواجز عرضية او طولية.

الصفات العامة:

1- البازيدة من النوع المقسم بحواجز طولية او عرضية.

2- معظم أفرادها فطريات مترممة وقسم منها متطفل أو تطفلي - تعايشي على الحشرات القشرية.

3- تضم ثلاث رتب كما ورد أعلاه، وسيتم تناول الرتبة الأولى بشيء من التفصيل مع الاشارة إلى أهمية الرتبتين الأخريين.

الرتبة Tremellales

تشتمل هذه الرتبة على الفطريات المعروفة باسم الفطريات الجيلاتينية.

الصفات العامة:

1- الجسم الثمري البازيدي جيد التكوين ذو قوام جيلاتيني وأحياناً شمعي أو جلدي أو ورقي.

2- البازيدة مقسمة بطرق مختلفة وبحواجز طولية أو عرضية، طبيعة البازيدة صفة مهمة لتمييز العوائل المختلفة ضمن الرتبة.

3- البازيدة تتألف من جزأين، قاعدي هو البازيدة السفلى (hypobasidium) وعلوي هو البازيدة العليا (epibasidium) تحمل الأبواغ البازيدية على ذنيبات.

4- أفرادها فطريات مترممة على أغصان وتفرعات الأشجار الميتة.

5- تضم عدة عوائل تم تحويل قسم منها إلى رتب كما في الرتبتين أعلاه والقسم الآخر حول إلى رتب أخرى نقلت إلى مجاميع أخرى، سيتم تناول العائلة الأكثر أهمية هي Tremellaceae.

العائلة Tremellaceae

ان افراد هذه العائلة هي الفطريات البازيدية الجيلاتينية وهي فطريات مترممة على تفرعات الأشجار الميتة.

الصفات العامة:

1- البازيدة مقسمة بحواجز طولية إلى أربع خلايا تتطور فيما بعد إلى أربعة أبواغ بازيدية محمولة على ذنيبات مدببة.

2- تنبت الأبواغ البازيدية بطرق مختلفة، فهي قد تعطي غزلاً فطرياً أو تعطي بوغ بازيدي ثانوي أو كونيدة جديدة.

3- الجسم الثمري يأخذ أشكالاً مختلفة، فقد تكون منتصبة متفرعة أو تشبه القمع مع حامل قصير، كما يأخذ ألواناً عدة من الأبيض إلى الارجواني والبرتقالي.

4- تضم العائلة خمسة أجناس هي: *Tremella*، *Exidia*، *Phlogiotis*، *Pseudohydnum* و*Tremellodendron*، سيتم تناول المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- افحص عددا من الاجسام الثمرية تعود للأجناس أعلاه التي يمكن أن تجدها على بقايا الأشجار ولاحظ الاختلافات والتغاير فيما بينها من البسيط إلى المعقد، من حيث القوام ومن حيث الشكل (لوحة 9-17).

2- ادرس الاجسام الثمرية في الاجناس وحتى الانواع المختلفة ضمن نفس الجنس فهي قد تكون بهيأة وسادية مسطحة كبيرة الطيات بيضاء أو ارجوانية كما في الجنس *Tremella* والجنس *Exidia*، واما في الجنس *Phlogiotis* يكون شبيه بالقمع ذي لون برتقالي محمر، وفي الجنس *Pseudohydnum* يتألف من رأس مسنن على حامل قصير.

3- حضر شريحة زجاجية من جسم ثمري يعود لكل من الجنس *Tremella* والجنس *Exidia* وذلك بأخذ جزء من الجسم الثمري وتحميله في لاكتوفينول أزرق، افحص جيداً البازيدة ولاحظ الأجزاء المكونة لها الجزء العلوي والحواجز الطولية التي تقسمها إلى أربعة أجزاء أو خلايا، ولاحظ أيضاً الأبواغ البازيدية واتصالها بالذنيبات.

الرتبة Auriculariales

تشتمل على الفطريات البازيدية التي فيها البازيدة مقسمة. بحواجز مستعرضة، وأغلب أفرادها مترممة على بقايا الأشجار الميتة وقليل منها متطفل على الحزازيات والخشاريات، والجسم الثمري جيلاتيني جيد التكوين يلاحظ على

فروع الأشجار الميتة ويشبه الاذن خاصة في الجنس *Auricularia* الذي يلاحظ عليه العديد من الطيات.

تضم عائلة واحدة فقط هي Auriculariaceae، فيها عدد قليل من الأجناس مثل *Auricularia*، *Helicobasidium* و *Eocronartium*.

طريقة العمل: اتبع الخطوات الواردة في طريقة العمل في للرتبة الأولى لدراسة الأجناس التابعة لهذه العائلة.

الرتبة Septobsidiales

فطريات هذه الرتبة تشبه فطريات الرتبة السابقة من حيث شكل البازيدة كونها مقسمة بحواجز مستعرضة ولكن تختلف عنها في طبيعة الجسم الثمري الذي يكون جاف، قشري أو أسفنجي وليس جيلاتيني، كما ان افرادها تعيش متطفلة او تطفلية - تعايشية على الحشرات القشرية وخاصة الجنس *Septobsidium*. تضم عائلة واحدة فقط هي Septobaidiaceae، فيها جنسين هما *Septobasidium* و *Uredinella*.

طريقة العمل:

اتبع الخطوات الواردة في طريقة العمل التي استخدمت في الرتبة الأولى لدراسة الاجناس التابعة لهذه العائلة.

تحت صنف2: الفطريات البازيدية الكاملة Holobsidiomycetidae

تشتمل على الفطريات البازيدية التي فيها البازيدية غير مقسمة، كاملة واحادية الخلية، قسمت إلى مجموعتين هما السلاسل series اعتماداً على تكشف الطبقة الخصيبه.

سلسلة1: الفطريات البازيدية الكاملة المكشوفة Hymenomycetes

وهي أكبر مجموعة في الفطريات البازيدية تشتمل على العراهين والفطريات الرفيه، الفطريات المرجانية والفطريات المسننة والفطريات عديدة الثقوب وحلقات الجن وغيرها من الفطريات التي تنتظم فيها البازيدات بطبقة خصيبه مكشوفة تشبه الطبقة العمادية.

الصفات العامة:

1- معظم افرادها مترممة على الخشب وقليل منها متطفل على النباتات وأخرى تتعايش مع جذور الأشجار.
2- تنتظم البازيدات بطراز يشبه الطبقة العمادية مكونة طبقة خصيبة تكون مكشوفة كلياً عند النضج.
3- الجسم الثمري أما من النوع الطري أو غير الطري والطبقة الخصيبة محموله على صفائح تعرف بالغلاصم Gills أو توجد مبطنه للثقوب.
4- الجسم الثمري الطري مكون من نوع واحد من الخيوط الفطرية المتضخمة رقيقة الجدران أما الجسم الثمري غير الطري فغالباً ما يتكون من ثلاثة أنواع من الخيوط هي المولدة والهيكلية والحازمة أو الرابطة.
5- قد يحاط الجسم الثمري ببرقع واحداً أو أكثر وخصوصاً الطرية منها.
6- معظم الأجسام الثمرية الطرية صالحة للأكل وخاصة العرهون الأبيض الذي يزرع بشكل واسع للاستهلاك البشري.
7- تضم ست رتب، كما ذكرت سابقاً، سيتم التطرق إلى أهم رتبتين هما هي Aphyllophorales وAgaricales.

الرتبة Aphyllophorales (Polyporales)

هذه الرتبة معروفة أيضاً باسم رتبة عديدة الثقوب Polyporales، أفرادها تنتج بازيدات وحيدة الخلية وهراوية الشكل في طبقة خصيبة مميزة.

الصفات العامة:

1- بعض افرادها فطريات مترممة على أغصان الأشجار الميتة وقسم منها فطريات متطفلة وتسبب أمراضا مهمة اقتصادياً للأشجار.

2- أفرادها تحمل البازيدات بطرق متباينة، والطبقة الخصيبة قد تكون ناعمة، ثآلوليه، شوكية أو قد تبطن السطح الداخلي للأنابيب او الثقوب او السطح الخارجي للغلاصم.

3- الجسم الثمري غير طري بسبب وجود الأنابيب، الثقوب او الغلاصم.

4- الطبقة الخصيبه مكشوفة منذ بداية تكوينها لعدم وجود القناع الداخلي او العام.

5- تضم ست عوائل وسيتم تناول أربع عوائل مهمة منها هي:

Theleophoraceae، Clavariaceae، Hydnaceae و Polyporaceae.

العائلة Polyporaceae

تشتمل على الفطريات التي يطلق عليها فطريات الثقوب porefungi لان اجسامها الثمرية تحتوي على العديد من الثقوب وتسمى أيضاً فطريات عديدة الثقوب polyporus fungi.

الصفات العامة:

1- الجسم الثمري غير طري وغالباً ما يكون خشبياً أو فلينياً أو جلدياً متعدد الثقوب.

2- الطبقة الخصيبه تبطن جدران الأنابيب أو الثقوب المكونة للجسم الثمري.

3- بعض أفرادها مهمة اقتصادياً لأنها تتطفل على أشجار الغابات وتسبب تعفن الخشب.

4- تضم أكثر من 1000 نوع قسم منها يعود للأجناس الشائعة الانتشار مثل الجنس *Polyporus*، *Fomes*، *Poria* و *Ganoderma* ، سيتم تناول الجنس الأول فقط.

طريقة العمل:

1- ادرس بعض الاجسام الثمرية المتوافرة والتي تخص أنواعاً تعود للأجناس الممثلة للعائلة، حاول أن تميز بينها وما هي الاختلافات الأساسية من حيث الشكل والتركيب (لوحة 9-17).

2- افحص جسم ثمري يعود لأحد أنواع الجنس *Polyporus*، مثل *P.sulphureus* و *P.versicolor*، لاحظ الثقوب العديدة التي تنتشر على سطح الجسم الثمري.

3- ادرس شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع عرضي خلال الطبقات الخصيبه لبعض الأنواع عديدة الثقوب، لاحظ خيوط اللحُمة (تراما Trama)، البازيدات والأبواغ البازيدية المكونة للطبقة الخصيبه وأنواع الخيوط الفطرية الثلاث (المولدة generative hyphae، الهيكلية skeletal hyphae والرابطة binding hyphae).

العائلة Hydnaceae

وهي عائلة صغيرة تشتمل على فطريات الاسنان tooth fungi، والتي فيها تتواجد الطبقة الخصيبة على بروزات تشبه الأشواك أو الاسنان والتي قد تكون واضحة ومتميزة أو صغيرة جداً دائرية.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها فطريات مترممة وقسم منها يسبب تفسخ وتحلل الخشب.

2- الجسم الثمري أما صغير جالس أو كبير ذو رأس محمول على حامل مركزي أو جانبي، وينقسم الرأس إلى عدد من الرؤوس الصغيرة، وللجسم أشكالاً مختلفة منها المرجاني، القشري وغيرها.

3- يضم عددا قليلا من الأجناس منها: *Hydnum* ، *Hericium*، سيتم تناول المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- افحص جسم ثمري طازج أو محفوظ يعود لواحد أو أكثر من الأجناس ضمن هذه العائلة، لاحظ الطبقات الخصيبه المحمولة على تراكيب سنية الشكل أو شوكية الشكل (لوحة 9-17).

2- ادرس شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع للطبقة الخصيبه للجسم الثمري ولاحظ تركيب البازيدات والخيوط اللحمية (تراما).

العائلة Clavariaceae

وهي عائلة بسيطة تتكون من الفطريات المرجانية coral fungi، والتي فيها الاجسام الثمرية منتصبة، متفرعة، هراوية أو اسطوانية الشكل وتغطي الطبقة الخصيبه جميع جوانبها.

الصفات العامة:

1- أفرادها فطريات مترممه تتواجد في المراعي والغابات.

2- معظم اجسامها الثمرية ذات ألوان زاهية منها الأبيض، الأصفر، الأحمر والبنفسجي.

3- غالباً ما يكون الجسم الثمري هراوي الشكل مغطى بالطبقة الخصيبة.

4- تضم عدة أجناس منها: *Clavaria*، *Clavicorona* و *Ramaria*، سيتم تناول الجنس الأول فقط.

طريقة العمل:

1- اتبع طريقة العمل الواردة في العائلة اعلاه لفحص الأجسام الثمرية المتوافرة لأنواع تخص هذه العائلة وخاصة النوع *Clavaria cristata* الذي له جسم ثمري كثير التفرعات (لوحة 9-17).

2- حاول أن تحضر شريحة زجاجية لمقطع من جسم ثمري لأحد أنواع هذه العائلة وادرسه جيداً.

العائلة Thelephoraceae

تضم هذه العائلة الفطريات الأكثر بدائية ضمن عوائل الرتبة حيث ان الجسم فيها بسيط جداً ويظهر على هيأة طبقة رقيقة ولا يتجاوز سمكها سمك الورقة والبعض يصفها بأنها تشبه طبقة طلاء على السطح الذي تنمو عليه وهي غالبا"الأغصان الميتة وتظهر بلون سنجابي أو قرمزي.

الصفات العامة:

1- أفرادها فطريات مترممة على فروع وأغصان الشجار الميتة.

2- الجسم الثمري بسيط بهيأة طبقة رقيقة من الخيوط الفطرية الحاملة للبازيدات وذي قوام ورقي أو جلدي أو خشبي علماً أن البعض منها يكون طرياً.

3- تضم عددا قليلا من الأجناس منها: *corticium*، *Stereum* و*Thelephora*، سيتم تناولها.

طريقة العمل:

1- افحص بعض الأغصان وفروع الأشجار الميتة التي تحمل طبقات رقيقة من الاجسام المثرية لأنواع من هذه العائلة والتي تعود للجنس *Corticium*، وتتميز هذه الاجسام بطبقة رقيقة من الخيوط الفطرية القطنية التي تحمل البازيدات (لوحة 9-17).

2- حضر شريحة زجاجية من الجسم الثمري أعلاه، وافحصها بعد تحميلها بالاكتوفينول الأزرق، ولاحظ الخيوط الفطرية والبازيدات المكونة للجسم الثمري.

3- حاول أن تفحص أجساما ثمرية تعود للجنس *Stereum* والجنس *Thelephora*، لاحظ إنها ورقية أو جلدية أو خشبية وتحمل طبقة خصيبه قد تكون ناعمة أو مجعدة حسب نوع الفطر، وكلا الجنسين تعطي أجساما ثمرية مروحية الشكل (لوحة 9-17).

الرتبة Agaricales

وهي من اكبر رتب الفطريات البازيدية التي تضم العراهين الغلصمية والانبوبية، وتعيش أفرادها مترممة على بقايا النباتات وتلعب دوراً مهماً في تحلل وتفسخ الخشب وبعضها متطفل على الاشجار الخشبية مثل الجنس *Armillaria* وأخرى تتعايش مع الأشجار مكونة جذورا فطرية فضلاً عن الأنواع الصالحة للأكل التي تعود للجنس *Agaricus*، ومنها السامة التي تعود للجنس *Amanita*.

الصفات العامة:

1- الاجسام الثمرية غالباً ما تكون مظلية، تحتوي على ساق مركزية تستند عليها قبعة أو رأس يحتوي على العديد من الغلاصم المرتبة قطرياً على السطح السفلي للقبعة.

2- قد تغطي الجسم الثمري الحديث التكوين طبقة نسيجية تعرف بالبرقع العامة universal veil الذي يتمزق أثناء تمدد القبعة مخلفاً تركيباً قاعدياً كأسي الشكل يعرف باللفافة Volva وقد يخلف أحياناً حراشف على القبعة حسب نوع الفطر.

3- قد تكون الطبقة الخصيبه من الجسم الثمري (القبعة) محمية ببرقع داخلي (جزئي) inner veil ممتد من حافة القبعة حتى الساق، وعندما يكون البرقع الداخلي رقيقاً وشفافاً يتمزق ويتدلى ويدعى بالستارة cortina، أما بقاياه على الحامل فيطلق عليه بالطوق annulus.

4- يتواجد الغزل الفطري في الأرض وبعد أن تصبح خلاياه ثنائية النوى تنشأ منه الأجسام الثمرية كما في العراهين حيث يبدأ بتكوين عقد كثيفة من الخيوط

الفطرية تنمو إلى تركيب بيضوي أو كروي ويطلق على هذه المرحلة بالطور الزراري Botton stage.

5- قد تتجمع الخيوط الفطرية على هيأة حزم من الغزل الفطري تسمى بالجديله الفطرية أو شكل الجذور rhizomorph

6- يتميز الغزل الفطري في بعض العراهين بظاهرة التآلف الحيوي bioluminescence، حيث تبدو الأجزاء الخشبية التي تتخللها الخيوط الفطرية لمثل هذه الأنواع وهاجة في الظلام.

7- تضم حوالي 15 عائلة ومن بين هذه العوائل:

Agaricaceae، Boletaceae، Russulaceae، Amamitaceae وCoprinaceae.

وسيتم التطرق إلى العائلتين الأولى والثانية فقط.

العائلة Agaricaceae

كانت هذه العائلة تشتمل على العراهين، وقد قام العديد من المختصين بنقل البعض منها ووضعها في عوائل مستقلة، مع ذلك يبقى العرهون الصالح للأكل هو من ابرز وأهم أفرادها خصوصاً العرهون الحقلي *A.campestris* والعرهون المزروع *A.bisporus*.

الصفات العامة:

1- الغلاصم لا يمكن فصلها عن محتويات القبعة لكون الغلاصم ليست شمعية.

2- التراما فاقدة للحويصلات الكروية.

3- كانت تضم العديد من الأجناس منها *Agaricus*، *Amanita*، *Armillariella* و*Coprinus* ولكن حالياً بقي فيها الجنس الأول ونقلت الأخرى إلى عوائل مستقلة.

طريقة العمل:

1- افحص الحامل البوغي أو الجسم الثمري للعرهون الحقلي *Agaricus campestris*، العرهون المزروع *A.bisporus*، لاحظ أجزاء الجسم الثمري المتضمنة الساق، القبعة، البرقع الطوق والغلاصم (لوحة 6-6).

2- افحص الحامل البوغي أو الجسم الثمري لأحد أنواع العرهون السام *Amanita* sp. ولاحظ وجود اللفافة (لوحة 6-6).

3- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع عرضي في غلاصم أحد أنواع الجنس *Coprinus* ولاحظ وجود الحويصلات الكروية sphaerocysts في الطبقة الخصيبه أو في الترامـا، علماً أن غلاصم هذا الفطر تفرز سائل أسود يشبه الحبر ولذلك يطلق عليها قبعة الحبر (لوحة 9 -18).

4- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص الجديلة الفطرية (الشكل الجذري) لأحد أنواع الجنس *Armillariella* النامي على الخشب، علماً ان هذا الفطر يتواجد بشكل مجاميع حول جذور الأشجار ويسمى الفطر العسلي(لوحة 6-6).

5- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص الاتصالات الكلابية، وادرسها بشكل دقيق تحت العدسة الزيتية (لوحة 9-18).

العائلة **Boletaceae**

تشتمل على فطريات لحمية تشبه العراهين وتختلف عنها بأن الطبقة الخصيبه محمولة في ثقوب أو أنابيب بدلاً من الغلاصم، وتختلف عن الفطريات المتعددة الثقوب بان الطبقة الخصيبه يمكن فصلها بسهولة عن القَبعة اللحمية (القرينه context). ولدراسة هذه الاختلافات افحص أحد الانواع للفطر *Boletus*، ولاحظ تركيب القبعة وطبقات الانابيب المكونه لها (لوحة 6-6).

سلسلة2: الفطريات البازيدية الكاملة المغلقة Gasteromycetes

تتضمن مجموعة من الفطريات البازيدية التي تشترك بصفة أساسية واحدة هي ان البازيدات تتكون ضمن أجسام ثمرية بازيدية مغلقة لا تتحرر عنها الأبواغ البازيدية إلا بعد تحلل أو تكسر الجسم الثمري بسب الظروف البيئية أو بسبب حادث ما، تضم الفطريات المعروفة بالكرات النافثة، القرون النتنة، نجمة الأرض، واعشاش الطيور.

الصفات العامة:

1- افرادها فطريات بازيدية مترممة على أغصان وفروع الاشجار الميتة، بقايا النباتات، براز الحيوانات أو على المواد العضوية في التربة، او تتعايش مع جذور الأشجار مثل الفطر *Scleroderma*.

2- تتكون البازيدات ضمن طبقة غشائية مبطنة لتجاويف عديدة ضمن الجسم الثمري المغلق وتتحرر الأبواغ البازيدية عند نضجها إلى التجاويف ثم تتحرر إلى الخارج عند تمزق أو تكسر غلاف الجسم الثمري.

3- تحاط الاجسام الثمرية المغلقة بغلاف قد يكون صلداً قوياً أو طرياً غشائياً مؤلف من طبقة واحدة أو طبقتين أو ثلاث طبقات، خارجية ووسطى وداخلية، وقد يحتوي الغلاف أحياناً فتحة صغيرة أو فوهة تسهل خروج الأبواغ البازيدية.

4- الجزء الداخلي من الجسم الثمري المغلق هو اللب الخصيب والذي يتكون اما من كتلة واحدة أو مقسماً بصفائح نسيجية عقيمة إلى مجموعة من الغريفات أو بأغلفة إضافية إلى ثميرات.

5- يتحلل الجسم الثمري البازيدي المغلق وخاصة اللب الخصيب بعد نضج الأبواغ البازيدية ولا يبقى منه سوى الأبواغ البازيدية وأحياناً بعض الخيوط التي تشكل الخصلة التي تساعد في نشر الأبواغ البازيدية.

6- تضم ست رتب كما وردت سابقاً، وسيتم تناول ثلاث رتب هي:

Hymenogastrales، Nidulariales و Lycoperdales.

الرتبة Lycoperdales

تشتمل هذه المجموعة على الفطريات البازيدية المعروفة باسم الكرات النافثة ونجمة الأرض والتي تبدأ بتكوين اجسامها الثمرية تحت سطح التربة إلا إنها تنضج فوق سطح الأرض.

الصفات العامة:

1- الاجسام الثمرية هراوية الشكل أو كمثرية مقلوبة (رأسية الشكل)، وغالباً ما تبرز من الغزل الفطري على هيأة حزم.

2- غلاف الجسم الثمري مؤلف من طبقتين أو ثلاث طبقات تحيط بلب خصيب.

3- اللب الخصيب اسفنجي القوام محتوياً على عدد من التجاويف أو الغريفات الصغيرة التي تبطنها البازيدات المكونة للطبقة الخصيبة، ويصبح دقيقاً عند النضج.

4- تضم الرتبة اربع عوائل هي: Arachniaceae، Mesophelliaceae، Geastraceae وLycoperdaceae وسيتم تناول العائلتين الأخيرتين فقط.

العائلة Lycoperdaceae

تنتمي لهذه المجموعة الفطريات البازيدية المعروفة باسم الكرات النافثة، والتي تنمو وتتواجد على فروع وأغصان الأشجار الميتة والمتحللة.

الصفات العامة:

1- الغلاف الثمري يتألف من طبقتين، الخارجية منها سميكة خشنة قد تختفي أو تزول مع الظروف البيئية الرطبة اما الداخلية رقيقة تفتح بفوهة صغيرة عند قمة الجسم الثمري تخرج منها الأبواغ البازيدية.

2- الطبقة القاعدية العقيمة من اللب الخصيب تكون واسعة.

3- تضم جنسين فقط هما: *Lycoperdon* و *Clavatia*، وسيتم تناولهما.

طريقة العمل:

1- افحص الحامل البوغي (الجسم الثمري) لأنواع تعود للجنسين *Lycoperdon* و*Clavatia*، ولاحظ وجود الفتحة في الغلاف الداخلي للجسم الثمري للجنس الأول وفقدانها من الثاني ولاحظ اللب الخصيب القشري في الاثنين. (لوحة 9-18).

2- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع في اللب الخصيب، ولاحظ الأبواغ البازيدية والخصلة.

العائلة Geastraceae

تنتمي لهذه العائلة الفطريات البازيدية المعروفة باسم نجوم الأرض، تعيش مترممة وتتواجد على بقايا النباتات فوق سطح التربة.

الصفات العامة:

1- الغلاف الثمري يتألف من طبقتين الخارجية منها تتشقق إلى ما يشبه النجمة وتبقى الطبقة الداخلية للغلاف سليمه تحافظ على الطبقة الخصيبه.

2- الطبقة الداخلية للغلاف الثمري تحتوي فوهة واحدة كما في الجنس *Geastrum* أو عدد من الفوهات كما في الجنس *Myriostoma*.

3- الجسم الثمري أما جالس أو محمول على ساق قصيرة.

4- تضم جنسين هما: *Geastrum* و *Myriostoma*، سيتم تناولهما.

طريقة العمل:

1- افحص عينات من الجسم الثمري التي تعود لنوع أو أكثر من الجنس *Geastrum* أو الجنس *Myriostoma*، ولاحظ تشقق الغلاف الثمري الخارجي إلى شكل يشبه النجمة ويستند على كيس بوغي يمثل الغلاف الداخلي الذي بداخله الأبواغ البازيدية. حاول أن تشاهد الفوهة على الغلاف الداخلي. (لوحة 9-18).

2- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع في اللب الخصيب وادرس الأبواغ البازيدية والخيوط الفطرية المتبقية والخصلة.

الرتبة Nidulariales

تشتمل هذه المجموعة على الفطريات البازيدية المعروفة باسم أعشاش الطيور، وتنمو أفرادها على أغصان وفروع الأشجار الميتة أو بقايا النباتات وعلى براز الحيوانات.

الصفات العامة:

1- الاجسام الثمرية كروية أو قمعية الشكل.

2- يتفتح غلاف الجسم الثمري عند النضج تاركاً اللب الخصيب مكشوفاً.

3- اللب الخصيب متميز إلى كتل من اللب الخصيب هي الثميرات Peridioles وقد تكون كروية أو عديسيه تحتوي على الأبواغ البازيدية.

4- تضم عائلتين هما: Nidulariaceae وSphaerobolaceae، وسيتم تناولها.

العائلة Nidulariaceae

تتواجد أفرادها نامية بين مخلفات المحاصيل الحقلية كما تنمو على أغصان الأشجار الميتة، وبعض أنواعها قادرة أن تنمو على براز الحيوانات.

الصفات العامة:

1- الاجسام الثمرية قمعية الشكل وتغطى بغشاء رقيق.

2- اللب الخصيب ينفصل عن الغلاف على شكل غريفات (حجيرات) صغيرة محاطة بجدار سميك تعرف بالثميرات.

3- تنطلق الثميرات إلى خارج الجسم الثمري وتنتشر بقوة بتأثير قطرات المطر ولذلك يطلق على هذه الأجسام الثمرية بالكؤوس الرشاشة splash-cups.

4- تـضـم خمـسة أجنــاس هــي: *Nidularia*، *Nidula*، *Crucibulum*، *Cyathus* و *Mycocalia*، سيتم تناول المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- افحص الأجسام الثمرية التي تعود للأجناس أعلاه ولاحظ شكل ولون كل منها، ثم ادرس الثميرات، الحبل السري ان وجد والغلاف لكل جنس من الأجناس المتوافرة. (لوحة 9-18).

2- اغمر جسم ثمري يعود للجنس *Cyathus* أو للجنس *Crucibulum* في الماء لعدة دقائق ثم استخدم ملقطين لفتح واحد من الثميرات وحاول أن تسحب الحبل السري للتعرف على طول هذا الحبل (لوحة 9-18).

3- اعزل ثميرة واحدة من جسم ثمري يعود للجنس *Cyathus* واغمرها في كلوريد الزئبق $HgCl_2$: ماء (1 : 500) لعدة ثواني ثم اغسلها بماء مقطر معقم بعد ذلك انقلها إلى وسط أكار مسحوق الذرة أو أي وسط آخر يدعم نمو الفطريات وافحصها بشكل دوري لمعرفة النمو والأثمار.

العائلة Sphaerobolaceae

تنمو أفرادها ملتصقة بالخشب المتفسخ وسيقان النباتات العشبية المتحللة وبراز الحيوانات القديم.

الصفات العامة:

1- الاجسام الثمرية كروية الشكل برتقالية اللون.

2- اللب الخصيب ينفصل عن الغلاف ليكون غريفه (حجيرة) واحدة فقط محاطة بجدار سميك تعرف بالثميرة.

3- غلاف الجسم الثمري مؤلف من ست طبقات الثلاثة الأولى تؤلف الكأس الخارجي والثلاثة الأخرى تؤلف الكاس الداخلي.

4- تتفتح الاجسام الثمرية الناضجة ويوجد في الكأس الداخلي ثميرة واحدة أو كتلة من اللب الخصيب بنية اللون.

5- تضم جنسا واحدا فقط هو: *Sphaerobolus*، سيتم تناوله.

طريقة العمل:

1- افحص جسم ثمري يعود للنوع *S. stellatus* ، لاحظ الشكل الكروي للجسم الثمري ولونه (لوحة 9-18).

2- افحص مقطع عرضي لجسم ثمري ناضج ولاحظ غلاف الجسم الثمري، اللب الخصيب والخيوط الفطرية الموجودة.

الرتبة Hymenogastrales

تشتمل هذه المجموعة على الفطريات البازيدية المغلقة معظمها تحت أرضية وهي تشبه في شكلها الفطريات الكيسية التي تعرف بالكمأة ولذلك يطلق عليها بالكمأة الكاذبة False truffles.

الصفات العامة:

1- الجسم الثمري في معظم أفرادها تحت أرضي وتشبه الكمأة.

2- الجسم الثمري في بعض أفرادها محمول على ساق ويشبه العرهون وبعضها جالسة.

3- الجسم الثمري طري أو غضروفي ويحتوي في معظمها على العويمد.

4- تضم أربعة أجناس هي: *Melunogaster*، *Leucogaster*، *Hymenogaster* و*Rhizopogon*، سيتم تناول المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- افحص الجسم الثمري للأنواع المتوافرة من الأجناس المذكورة أعلاه مثل الفطر *Rhizopogon* ولاحظ شكل وطبيعة كل واحد منها وفيما إذا كانت جالسة أو محمولة (لوحة 9 -18).

2- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع في الجسم الثمري للفطر *H.rehsteineri*، ولاحظ النسيج الداخلي والخصلة والعويمد والطبقة الخصيبه.

تحت صنف3: الفطريات البازيدية عديمة الجسم الثمري Teliomycetidae

وتشمل مجموعتين مهمتين من الفطريات البازيدية المتطفلة على النباتات الاقتصادية هما مجموعة فطريات الصدأ rust fungi ومجموعة فطريات التفحم smut fungi ويشك في إنهما شديدتا القرابة من بعضهما وقد وضعتا في رتبتين مستقلتين هما: رتبة الصدأ Uredinales ورتبة التفحم Ustilaginales

الرتبة Uredinales

ان الاسم الشائع لهذه الرتبة هو رتبة الأصداء أو فطريات الصدأ. لكونها فطريات تتطفل إجبارياً على العديد من النباتات مسببه لها المرض المعروف بالصدأ بسبب اللون البني المحمر للأبواغ التيليه في منطقة الإصابة والتي تشبه الصدأ على الحديد.

الصفات العامة:

1- ليس لهذه الفطريات القدرة على تكوين أجسام ثمرية بازيدية.

2- لها دورات حياة معقدة تتضمن خمسة أنواع من الأبواغ (بخمسة أطوار) وهذا النوع يسمى بالدورة الطويلة أو الكبيرة، إلا أنه في البعض منها يحصل تحور قد يفقدها واحدا أو أكثر من هذه الأطوار وهذا النوع يسمى بالدورة القصيرة أو الصغيرة، والاطوار أدناه تمثل مراحل الدورة الطويلة وهي:

أ- الطور صفر(stage0) = حافظة البذيرات وتحمل البذيرات + خيوط لاستقبال

ب- الطور 1 (stage I) = الاسيدات (الايشات) وتحمل الأبواغ الاسيدية.

جـ- الطور 2 (stage II) = اليوريدات وتحمل الأبواغ اليوريدية.

د- الطور 3 (stage III) = التيليات وتحمل الأبواغ التيلية.

هـ- الطور 4 (stage IV) = الغزل الفطري الأولي ويحمل الأبواغ البازيدية.

3- ان العديد من أفرادها يكمل دورة حياته على عائلين نباتيين مختلفين.

4- الغزل الفطري يتواجد ما بين خلايا العائل ويحصل على غذائه من خلال الممصات، وبعد أن يصبح ثنائي الانوية يعطي العديد من الأبواغ أحدها سميكة الجدار هي الأبواغ التيليه وهو مناظر للبازيده الأولية (probasidium) ولها القدرة على الانبات إلى بازيده تالية (metabasidium) والتي تعرف أيضاً بالغزل الفطري الأولي promycelium :

Teleutospore (probasidium) $\xrightarrow{\text{تنبت}}$ metabasidium (promycelium)

5- تضم ثلاث عوائل هي: Pucciniaceae، Melampsoraceae و Coleospraceae.

العائلة Pucciniaceae

أن معظم أفراد هذه العائلة فطريات متباينة العائل وتهاجم العديد من النباتات وخاصة محاصيل الحبوب.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها لها دورة حياة طويلة أو كبيرة.

2- الأبواغ التيلية تحمل حرة عن بعضها البعض على سويقات وقد تكون على شكل حزم أو عناقيد وقد يحتوي السويق الواحد على ثلاثة ابواغ أو أكثر.

3- البوغ التيلي يكون أما أحادي الخلية كما في الفطر *Uromyces* أو ثنائي الخلية كما في الفطر *Puccinia* والفطر *Gymmosporangium* أو عديد الخلايا كما في الفطر *Phragmidium*.

4- تضم أربعة أجناس هي: *Puccinia*، *Uromyces*، *Phragmidium* و*Gymnosporangium*، سيتم تناول المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- ادرس الأطوار الخمسة التي تخص دورة حياة الفطر *Puccinia graminis*، المذكورة أعلاه وافحص الأنواع الخمسة من الأبواغ والاختلافات فيما بينها (لوحة 9-19).

2- افحص شرائح جاهزة ومستديمة تخص أنواعا مختلفة من الأبواغ التيلية لأنواع اخرى من الفطر مثل *P.menthae* و *P.malvacearum* ولاحظ الاختلاف في شكل الأبواغ.

3- افحص شريحة دائمية تخص الأبواغ التيلية لأحد أنواع الجنس *Gymnosporangium* ولاحظ الاختلاف بينه وبين الفطر الأول أعلاه ستجد أن حامل البوغ التيلي في هذا الفطر أطول بكثير مما في الفطر *Puccinia*، ولكن ستجد أن الأبواغ التيلية للفطرين متشابهين في عدد الخلايا لكل منهما فهو مكون من خليتين. (لوحة 9-19).

4- افحص الأبواغ التيلية للجنسين الآخرين (صدأ البقوليات) *Uromyces* و(صدأ الورد) *Phragmidium* ستجد انها في الفطر الأول تتكون من خلية واحدة فقط وفي الفطر الثاني متعددة الخلايا (لوحة 9-19).

العائلة **Melampsoraceae**

وهي عائلة صغيرة وبسيطة أفرادها تتطفل إجبارياً على بعض النباتات وتسبب مرض الصدأ مثل الفطر *Melampsora lini* الذي يسبب الصدأ على الكتان، والفطر *Cronartium ribieola* الذي يسبب الصدأ على الصنوبر الأبيض.

الصفات العامة:

1- الأبواغ التيلية فيها غير محمولة على سويقات وإنما تكون جالسة.

2- الأبواغ التيلية أما متحدة من الجوانب مكونة قشوراً أسفل بشرة العائلة كما في فطر صدأ الكتان، أو تكون متحدة بشكل أعمدة كما في فطر صدأ الصنوبر.

3- تضم جنسين فقط هما: *Melampsora* و *Cronartium* سيتم تناولهما.

طريقة العمل:

1- افحص أوراق صنوبر مصابة بالصدأ الذي يسببه الفطر *C. ribicola* وادرس تحت مجهر التشريح الأطوار المختلفة الموجودة عليها.

2- افحص شريحة جاهزة تخص مقطع عرضي للتيليات في كل من الجنسين *Melampsora* و *Cronartium*، لاحظ ترتيب وتسلسل الأبواغ التيلية (لوحة 9-19).

3- افحص شرائح جاهزة تخص الأطوار المختلفة للصدأ على كل من الكتان والصنوبر وقارن بين حوافظ البذيرات في كل منهما.

العائلة Coleospraceae

عائلة صغيرة جداً تضم جنس واحد فقط هو *Coleosporium* الذي يقضي دورة حياته على عائلين مختلفين، من أشهر أنواعه النوع *C. solidaginis* المسبب لمرض الصدأ على عصا الذهب Golden rod.

الصفات العامة:

1- أفرادها تنتج أبواغها التيلية متحدة جانبياً في طبقات أو قشور.

2- أثناء انبات البوغ التيلي تحصل عملية اتحاد النوى والانقسام الاختزالي بعدها تتكون ثلاثة حواجز لينقسم إلى اربع خلايا، بدلاً من إنتاج غزل فطري أولي، وكل خلية تعطي بوغ بازيدي محمول على ذنيب.

3- تضم جنسا واحدا فقط هو *Coleosporium*.

طريقة العمل:

1- ادرس نماذج من نبات عصا الذهب المصاب بالصدأ الذي يسببه الفطر *C. solidaginis*، ولاحظ الطورين اليوريدي والتيلي باستخدام مجهر التشريح.

2- أدرس شريحة جاهزة تخص مقطع للطور اليوريدي لفطر صدأ عصا الذهب ولاحظ إنها تتكون على شكل سلاسل تشبه طريقة تسلسل الأبواغ الاسيدية.

الرتبة Ustilaginales

ان الاسم الشائع والمعروف لهذه الرتبة هو رتبة التفحمات أو فطريات التفحم كونها متطفلات إجبارية على النبات وتسبب المرض المعروف بالتفحم بسبب الأبواغ التيلية السوداء في منطقة الإصابة والتي تشبه مسحوق الفحم.

الصفات العامة:

1- أفرادها تشبه افراد رتبة الصدأ بعدم قدرتها على تكوين أجسام ثمرية بازيدية.

2- الغزل الفطري يتواجد ما بين خلايا العائل ونادراً ما يكون ممصات داخل الخلايا وقد تدخل تفرعات دقيقة من الخيوط الفطرية إلى داخل خلايا العائل.

3- تتكون الأبواغ التيلية ضمن بثرات أما مغطاة بغشاء مؤلف من الخلايا الفطرية أو تكون مكشوفة أو عارية.

4- البوغ التيلي الفتي ثنائي النوى، يسلك كبازيده اوليه، لاحقاً تتحد فيه النواتان ويعطي عند الإنبات بازيدة تاليه وهي تمثل غزل فطري أولي يكون محدود النمو أو متفرع وفيها تعاني النواة انقساما اختزاليا، والتفرعات تحمل أبواغ بازيدية.

5- تختلف فيها طريقة إنبات الأبواغ التيلية وهي صفة مميزة لعوائل الرتبة.

6- التبرعم هي من طرق التكاثر الشائعة في هذه المجموعة، وان كلا من الأبواغ البازيدية والكونيدات تتبرعم بشكل متكرر.

7- تضم عائلتين هما: Ustilaginaceae وTilletiaceae.وسيتم تناولهما.

العائلة Ustilaginaceae

تشتمل على فطريات بازيدية إجبارية التطفل على النباتات وهي مسببات مرضية مهمة على عدد من النباتات الاقتصادية وخاصة محاصيل الحبوب، ومن أهم الأمراض هي التفحم السائب والمغطى.

الصفات العامة:

1- ينتج من إنبات الأبواغ التيليه غزلاً فطرياً أولياً مقسماً بحواجز عرضية إلى أربعة خلايا أحادية النوى كل منها يعطي بوغاً بازيدياً.
2- يمثل الغزل الفطري الثانوي معظم حياة (دورة حياة) الفطريات ويتكون بعدة طرق هي: الاتحاد الجسدي للخيوط الفطرية، اتحاد أنابيب انبات الأبواغ البازيدية، اتحاد الأبواغ البازيدية الثانوية (براعم الأبواغ البازيدية)، اتحاد خيوط الإصابة واتحاد خليتين أحاديتي المجموعة الكروموسومية.
3- تضم بعض الخمائر البازيدية، التي تمتلك دورة حياة متشابه لدورة حياة أفراد هذه العائلة، منها الجنس *Rhodosporidium* والذي سابقاً كان يوضع مع الفطريات الناقصة وطوره الجنسي يعود للفطر *Rhodotorula* وهي من الخمائر ثنائية الشكل الخميري والخيطي.
4- أحياناً الأبواغ التيليه لا تنبت إلى غزل فطري أولي وإنما تكون انبوباً صغيراً وقصيراً تتبرعم منه السبوريدات sporidia.
5- تضم عدة أجناس من أهمها الجنس *Ustilago*، سيتم تناوله.

طريقة العمل:

1- افحص جزءا من نبات ذرة مصاب بمرض التفحم العقدي gall smut الذي يسببه الفطر *U.maydis*، لاحظ كرات التفحم التي قد تتكون على أي جزء من النبات المصاب.
2- افحص شريحة جاهزة تخص الغزل الفطري الثانوي للفطر أعلاه ولاحظ الاقتران الجسدي بين الخيوط الفطرية.

3- أعمل شريحة من أبواغ التفحم (أبواغ تيلية) وافحصها بالمجهر تحت القوى الكبرى أو الزيتية، لاحظ كلا من شكل الأبواغ، الأشواك الدقيقة على سطح الأبواغ، سمك جدار الأبواغ ولون الأبواغ (لوحة 9-19).

5- حضر قطرة معلقة من الأبواغ التيلية في الماء المقطر وافحصها بشكل دوري لملاحظة انبات البواغ.

6- افحص شريحة جاهزة تخص تكوين الأبواغ البازيدية من الغزل الفطري الأولي وتبرعم الأبواغ البازيدية.

7- ادرس الأبواغ التيليه لأنواع مختلفة تعود للجنس *Ustilago* مثل *U.tritici*، *U.avenae*، *U.nuda* و*U.hordei* وغيرها،ولاحظ الفروفات في الشكل والحجم.

العائلة Tilletiaceae

تتضمن فطريات بازيدية إجبارية التطفل، تستهدف نباتات عديدة وتسبب أمراضا مهمة اقتصادياً لمحاصيل الحبوب منها التفحم النتن bunt smut والتفحم العَلَمي flag smut.

الصفات العامة:

1- ينتج عن انبات الأبواغ التيلية غزلاً فطرياً أولياً لكنه غير مقسم بحواجز عرضية كما في العائلة السابقة ويحمل الغزل الأولي أبواغاً بازيدية أكثر من اربعة أبواغ قد تتراوح ما بين 8-16 بوغاً عند نهايته العليا ويطلق عليها السبوريدات الأولية.

2- تتحد اثنان من السبوريدات الأولية المتحررة من الغزل الأولي والمتوافقة جنسياً لتكون سبوريدات ثانوية تنشأ من إحدى السبوريدات الأولية secondary sporidium.

3- قد تتحد السبوريدات الأولية فيما بينها وهي لازالت متصلة بالغزل الأولي ويحصل تزاوج بيها لتتكون السبوريدات الثانوية والتي هي بمثابة كونيدات ثانوية.

4- تضم عددا من الأجناس من أهمها الجنسين: *Tilletia* و *Urocystis*، سيتم تناولهما.

طريقة العمل:

1- افحص سنابل حنطة مصابة بالتفحم النتن الذي يسببه الفطر *T.caries* وادرسه جيداً وحاول أن تقارن بينه وبين التفحم العقدي الذي سبق ذكره.

2- ادرس نماذج من الحنطة مصابة بالتفحم العَلَمي الذي يسببه الفطر *U.agropyri* وادرسها بشكل جيد وقارن الأعراض وطبيعة الإصابة مع التفحم النتن أعلاه.

3- اعمل شرائح من الأبواغ التيلية في كلا الإصابتين أعلاه وافحصها ولاحظ الاختلافات بين الفطرين من حيث، شكل الأبواغ، حجمها، سطح الأبواغ، لون الأبواغ وسمك الجدران.

4- حظر قطرة معلقة من الأبواغ التيلية للفطريات المدروسة في ماء مقطر وافحصها بشكل دوري لمتابعة إنبات الأبواغ التيلية والاختلافات فيما بينها.

5- حاول دراسة بعض الأنواع الأخرى المتوافرة تعود للجنسين أعلاه مثل النوع *T. foetida* على الحنطة و *U. cepulae* على البصل وقارنها مع الأنواع المدروسة أعلاه.

تحت قسم 4: الفطريات الناقصة Deuteromycotina

يشمل الفطريات الفاقدة للتكاثر الجنسي التي وضعت في شبه صنف واحد هو:

شبه ـ صنف الفطريات المناقصة Form – Class: Deuteromycetes

تضم هذه المجموعة عدداً كبيراً من الفطريات التي بلغ تعدادها ما يقارب 10.000 نوع، وهي الأنواع التي تفتقر إلى الطور الجنسي، فهو أما موجود ولكن لم يكتشف بعد أو أنه غير موجود أصلاً، ولذلك فإن عدد الفطريات الموجودة ضمن هذه المجموعة آخذ بالتناقص وذلك لاكتشاف الطور الجنسي في العديد منها ونقلها منه إلى مواقعها الصحيحة من الأصناف الأخرى.

تتكاثر الغالبية العظمى منها بواسطة الكونيدات وأنواع مختلفة من الأبواغ الكلاميدية وبعضها يكون خيوط عقيمة فقط ولا يكون الكونيدات. ولما كانت الفطريات الكيسية تولد أبواغ لاجنسية إضافية وقد تصبح هي السائدة في دورة حياتها، فمن المحتمل جداً أن تعود معظم الفطريات الناقصة إلى تلك الفطريات الكيسية التي فقدت طورها الجنسي خلال تطورها. علماً بأن أغلب الفطريات الناقصة التي تم اكتشاف الطور الجنسي فيها تنتمي إلى الفطريات الكيسية وان قليلا جداً منها يعود إلى الفطريات البازيدية.

يكتشف علماء الفطريات سنة بعد أخرى الأطوار الجنسية لفطريات ناقصة معروفة بطورها اللاجنسي فقط، وعليه يجب أن تنقل من هذا الصنف وتوضع في مكانها الملائم ضمن الصنف الذي تعود إليه اعتماداً على الطور الجنسي، وان اسم الطور اللاجنسي أو الكونيدي الذي كان معروفاً به لايزال يستعمل لسهولة تداوله مثل الفطر *Aspergillus*، الفطر *Penicillium*، الفطر *Helminthosporium* والفطر *Cercospora* وغيرها من الفطريات الأخرى.

الصفات العامة:

معظم أفرادها فطريات مترممة وقسم منها تسبب أمراض خطرة للإنسان والحيوان والنبات.

2- الغزل الفطري في أغلب أفرادها يتألف من خيوط فطرية جيدة التكوين، مقسمة بحواجز وخلاياها عديدة النوى.

3- لها قدرة عالية على إنتاج أعداد كبيرة من الكونيدات سواء في الطبيعة أو في المزارع المختبرية، وتحمل على حوامل كونيدية خاصة تنشأ من الغزل الفطري وغالباً ما تكون بهيأة سلاسل وبتعاقب أما قاعدي أو قمي.

4- الحوامل الكونيدية مختلفة في الطول والشكل فقد تكون متفرعة أو بسيطة، مقسمة أو غير مقسمة، منفردة أو مجتمعة وفي الحالة الثانية تعطي تراكيب

مختلفة مثل الظفيرة الكونيدية synnema، الوسادة الكونيدية sporodochium، الكويمة الكونيدية acervlus والبكنيدة pycnidium.

5- البكنيدة (الوعاء البكنيدي)، تركيب كونيدي قاروري يشبه الجسم الثمري الكيسي perithecium القاروري في الفطريات الكيسية، ويجب الإشارة هنا إلى أن الكثير من الفطريات الكيسية تكون هذا النوع من التراكيب الكونيدية عند تكاثرها اللاجنسي، وهذا يؤكد ما ذكر أعلاه من أن معظم الفطريات الناقصة قد تعود إلى الفطريات الكيسية.

6- معظم أفرادها تمتلك الدورة النظير جنسية parasexual – cycle ويعتقد بأن انتشار هذه الظاهرة في هذه المجموعة قد يجعلها أن تحل محل التكاثر الجنسي الحقيقي.

7- وزعت فطريات شبه الصنف على ثلاث مجموعات رئيسية هي شبه تحت صنف Form – subclass اعتماداً على ثلاث أسس هي: (أ) شكل الفطر هل هو خميري أم خيطي، (ب) تكاثر بالكونيدات وتتكون أما في بكنيدات أو كويمات كونيدية، (جـ) فقدان الكونيدات (الخيوط عقيمة) أو وجودها في ظفيرة كونيدية أو وسادة بوغية وكما يأتي:

شبه - تحت صنف 1: الخمائر الناقصة (الخمائر اللابوغية)

Blastomycetidae وتضم شبه رتبتين هما Sporobolomycetales و Cryptococcales

شبه - تحت صنف 2: فطريات البكنيدات والكويمات الكونيديه

Coelomycetidae وتضم شبه رتبتين هما Melanconiales و Sphaeropsideles

شبه – تحت صنف 3: فطريات الظفائر والوسائد البوغية والعقيمة

Hyphomycetidae وتضم شبه رتبتين هما Moniliales و Agonomycetales

شبه - تحت صنف 1: الخمائر الناقصة (الخمائر اللابوغية)

Blastomycetidae

تشتمل هذه المجموعة على الخمائر الناقصة أو الخمائر اللابوغية asporgenous وهي الخمائر التي تفتقر إلى إنتاج الأبواغ الكيسية (كون الخمائر تقع ضمن صنف الفطريات الكيسية)، علماً أن بعض هذه الخمائر تمثل الأطوار اللاجنسية لعدد من الفطريات البازيدية، وقد قسمت هذه المجموعة إلى شبه رتبتين ورد ذكرها في أعلاه.

شبه – الرتبة Sporobolomycetales

ان معظم أفراد هذه الشبه رتبة هي خمائر تتكاثر بالتبرعم أو بواسطة الأبواغ القذفية الكونيدات البالستية (ballistoconidia) والتي تتكون باعداد كبيرة من قبل البعض منها وتشكل على غطاء الطبق في المزارع المختبرية صورة معكوسة للمستعمرة ولذلك يطلق عليها خمائر المرآة mirror yeant.

تضم هذه المجموعة شبه – عائلة واحدة هي Sporobolomycetaceae، وتضم أربعة شبه أجناس هي *Sporobolomyces*، *Tilletiopsis*، *Bullera* و *Itersonilia*.

تتضمن خمائر شائعة الاستيطان على الأوراق النباتية ولذلك يمكن عزلها بسهولة في المختبر بوضع الأوراق على سطح وسط زرعي من الاكار المغذي. الأوراق النباتية المصابة بالفطريات المرضية الإجبارية التطفل تكون من أفضل المصارد لعزل هذه الخمائر، فمثلاً تم عزل عددا من خمائر هذه المجموعة بسهولة من الأوراق النباتية المصابة بالصدأ أو البياض الدقيقي أو الزغبي.

كما وجد أن الأبواغ القذفية لأفراد هذه العائلة من بين الأبواغ الفطرية الهوائية أو المحمولة بالهواء Airborne. الغزل الفطري لشبه الجنس *Itersonilia* يمتلك صفة تكوين الاتصالات الكلابية.

شبه – الرتبة Cryptococcales

ان افراد هذه الشبه رتبة متباينة المنشأ (غريبة المنشأ) heterogenous وتضم بحدود عشرة أشباه أجناس ويعتقد بأنها تمثل الطور اللاجنسي لخمائر كيسية وبازيدية (لوحة 9-20).

الصفات العامة:

1- تتكاثر لاجنسيا بالتبرعم فقط ولا تكون الكونيدات القذفية، بعضها قادرة على تكوين غزل فطري كاذب وأحياناً أبواغ مفصلية وأبواغ كلاميدية.

2 - بعض أفرادها فطريات مترممة وقسم منها ممرضة للإنسان وعدد منها تستعمل كغذاء أو مصدر للبروتينات والفيتامينات منها الخميرة *Candida utilis*.

3 - تضم عددا من أشباه الأجناس منها: *Rhodotorula*، *Cryptococcus*، *Trichosporon*، *Candida*، *Torulopsis* و *Pityrosporum*.

4 -ان الجنسين *Rhodotorula* و *Cryptococcus* يمثلان الأطوار اللاجنسية لبعض الفطريات البازيدية، أما الجنسين *Candida* و *Torulopsis* فيمثلان الأطوار اللاجنسية لبعض الفطريات الكيسية.

5 - تتعايش الخميرة *Candida albicans* مع جسم الانسان والحيوان ولكنها في الوقت نفسه تصبح مرضية وتسبب داء الميضات وأمراض عديدة منها التهاب الفم والتهاب المهبل وغيرها من الإصابات المهمة، أما *Trichosporon cutaneu* تسبب اخماج عقدية بيضاء على الشعر، أما *Pityrosporum ovale* فتسبب النخالية البيضاء وهو مرض جلدي يصيب فروة الرأس.

شبه - تحت صنف 2: فطريات البكنيدات والكويمات الكونيدية

Coelomycetidae

تشتمل هذه المجموعة على الفطريات الناقصة التي تنتج الكونيدات في تراكيب فطرية من نوع البكنيدات أو من نوع الكويمات الكونيدية، وقد وضعت فطريات النوع الأول ضمن شبه – الرتبة Sphaeropsideles ووضعت فطريات النوع الثاني من التراكيب الفطرية ضمن شبه – الرتبة Melanconiales.

شبه – الرتبة Sphaeropsideles

تضم فطريات ناقصة أفرادها تكون الكونيدات ضمن تراكيب فطرية من نوع البكنيدات.

الصفات العامة:

1- تنتج الكونيدات في تراكيب داكنة قارورية تسمى البكنيدات تحتوي بداخلها الحوامل الكونيدية والكونيدات، وهي بانواع وأشكال مختلفة مهمة عند تصنيف الرتبة إلى عوائلها.
2- تختلف الكونيدات في شكلها وطريقة تكوينها ولذلك تعد من الصفات التصنيفية لهذه المجموعة.
3- تضم أربع شبه عوائل هي: Sphaeropsidaceae، Nectrioidaceae، Leptostromataceae و Excipulaceae. وسيتم تناول العائلة الأولى فقط لأهميتها.

شبه – العائلة Sphaeropsidaceae

تضم الفطريات الناقصة التي تكون بكنيدات غالباً ما تكون سوداء اللون قارورية الشكل ومع وجود بعض الاختلافات في الشكل ما بين الاجناس فقد تكون كروية او متطاولة.

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها فطريات ذات تطفل اختياري على النباتات وقسم منها مترممة.

2- جميع افرادها تكون بكنيدات صغيرة، ذو فوهات، غائرة في النسيج الذي تنمو فيه.

3- الكونيدات شفافه أو ملونة، كروية إلى بيضوية الشكل، تتكون على فياليدات قصيرة. وقد قسمت إلى سبع مجاميع مختلفة (لوحة 7-8)على أساس الشكل واللون وهي:

Amerosporae – كونيدات أحادية الخلية، كروية أو بيضوية أو متطاولة، عديمة اللون أو ملونة.

Didymosporae – كونيدات ثنائية الخلية، كروية أو بيضوية أو متطاولة، عديمة اللون أو ملونة.

Phragmosporae – كونيدات عديدة الخلايا، ذات حواجز مستعرضة، عديمة اللون أو ملونة.

Dictyosporae – كونيدات عديدة الخلايا، ذات حواجز طولية ومستعرضة، عديمة اللون أو ملونة.

Scolecosporae – كونيدات خيطية، رفيعة أو دودية الشكل، أحادية الخلية أو عديدة الخلايا، عديمة اللون أو ملونة

Helicosoporae – كونيدات أسطوانية ملتفة أو حلزونية، أحادية الخلية أو عديدة الخلايا، عديمة اللون أو ملونة.

Staurosporae – كونيدات مفصصة نجمية أو صليبية، أحادية الخلية أو عديمة الخلايا، عديمة اللون أو ملونة.

4- تضم عدة أشباه – أجناس تقع ضمن المجموعة الأولى من الكونيدات أعلاه منها:

Phyllosticta، *Macrophoma*، *Dendrophoma*، *Phomopsis*، *Ascochyta*، *Septoria* و *Diplodia* ، سيتم دراسة المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- افحص نماذج من أوراق نبات عنب مصابة بالفطر *Phyllosticta labruscae* الذي يسبب التعفن الأسود، لاحظ البكنيدات في نسيج الورقة وحاول ان ترفع واحدة منها على شريحة وحملها في اللاكتوفينول الأزرق ثم افحصها وادرس الحوامل الكونيدية ولاحظ الفوهة، الكونيدات شكلها ولونها. (لوحة 9-21).

2- افحص شريحة جاهزة تخص مقطع لبكنيدة تعود لأحد أنواع الفطر *Dendrophoma obscurans* والذي يسبب لفحة الأوراق على الشليك، لاحظ المنقار المميز لها عند الفوهة، ولاحظ أيضاً تفرعات الحوامل الكونيدية والكونيدات الشفافة والمتطاولة. (لوحة 9-21).

3- افحص بكنيدات الفطر *Phomopsis vexans* ولاحظ أن هذا الفطر يكون نوعين من الكونيدات يطلق على النوع الأول (ألفا) بيضوية الشكل والثانية (بيتا) رفيعة طويلة قلمية الشكل وهي لا تنبت ودورها غير معروف.

4- افحص شريحة أو نموذج بكنيدات الفطر *Ascochyta pisi* أو أي نوع آخر متوافر لهذا الجنس وحاول أن تحملها في اللاكتوفينول الأزرق ولاحظ الكونيدات الشفافة ثنائية الخلية. (لوحة 9-21).

5- أفحص شريحة جاهزة (أو حضر شريحة) لبكنيدات الفطر *Diplodia zeae* على الذرة وبعد تحميلها في اللاكتوفينول لاحظ الكونيدات البنية اللون ثنائية الخلية. (لوحة 9-21).

6- ادرس نماذج من أوراق الكرفس المصابة باللفحة المتأخرة التي يسببها الفطر *Septoria apii*، أفحص البكنيدات على الأوراق تحت مجهر التشريح ثم انقل بكنيدة من نسيج النبات وحملها في اللاكتوفينول وافحصها تحت المجهر ولاحظ الكونيدات الخيطية الشكل عديدة الحواجز (عديدة الخلايا). (لوحة 9-21).

7- ادرس نماذج أو شرائح جاهزة تعود لأجناس أخرى ضمن هذه العائلة مثل شبه الجنس *Macrophoma phoma* والذي تشبه كونيداته كونيدات النوع آلفا التي تعود للفطر *Phomopsis*.

شبه – الرتبة Melanconiales

تضم فطريات ناقصة أفرادها تكون الكونيدات ضمن تراكيب فطرية من نوع الكويمات الكونيدية.

الصفات العامة:

1- تنتج الكونيدات في تراكيب خاصة هي الكويمات الكونيدية حيث تحمل الكونيدات على حوامل تصطف بعضها قرب البعض الآخر مكونة طبقة تشبه الحصيرة تحت بشرة العائل.

2- تتحرر الكونيدات بعد نضجها من بشرة العائل على شكل قطرات ذات الوان مختلفة حسب نوع الفطر.

3- معظم أفرادها تتطفل على النباتات وتسبب أمراضاً مهمة مثل الفحومة (انثراكنوز Anthracnose).

4- تضم شبه – اجناس عدة من بينها: *Colletotrichum*، *Gleosporium*، *Melanconium*، *Marssonina*، *Entomosporium*، *Pestalotia* و *Cylindrosporium* سيتم دراسة المتوافر منها.

طريقة العمل:

1- افحص نماذج من نباتات الخيار، الرقي، الباذنجان، الطماطة أو الفاصوليا المصابة بمرض الفحومة والذي تسببه أنواع مختلفة من الجنس *Colletotrichum* spp. منها النوع *C. lagenarium* على الرقي وأدرس مناطق الإصابة والكويمة الكونيدية التي يكونها الفطر والكونيدات ولاحظ وجود الهلبه (Seta) الداكنة في الكويمة الكونيدية، في حالة عدم وضوح النموذج ادرس شريحة جاهزة تخص التراكيب المذكورة. (لوحة 9-21).

2- افحص مزرعة (او شريحة) تخص الفطر *G . rufomaculans* ولاحظ عدم وجود الهلبه مع تكوين كتل من الكونيدات الوردية اللون، ادرس شكل وحجم الكونيدات.

3- افحص الكويمة الكونيدية الخاصة بالفطر *M. fuligineum* المسبب لمرض التعفن المر لثمار العنب، حيث تبدو لا تختلف في شكلها عن البكنيدة.

4- افحص بكنيدة تعود لبعض أنواع الجنس *Marssonina* الذي يسبب البقع السوداء على نباتات مهمة اقتصادياً مثل النوع *M.juglandis* الذي يصيب الجوز ولاحظ الكونيدات الشفافة ثنائية الخلايا.

5- ادرس مزرعة تخص الفطر *Pestalotia guepini* (أو اي نوع آخر لهذا الجنس) وافحص الكونيدات بعد تحميلها في الماء ولاحظ الزوائد الخيطية الشكل أو الهلبة على أطراف الكونيدات، والخلايا الداكنة للكونيدات والتي تحتوي على صبغات دخانية اللون (لوحة 9-21).

6- ادرس كونيدات الفطر *Cylindrosporium pumi* الذي يصيب التفاح، أو أي نوع آخر يعود لهذا الجنس ولاحظ إنها طويلة اسطوانية الشكل.

شبه – تحت صنف 3: فطريات الظفائر والوسائد البوغية والفطريات العقيمة

Hyphomycetidae

تشتمل على مجموعتين من الفطريات الناقصة الأولى تنتج الكونيدات ولكن ليس في بكنيدات Pycnidia أو كويمات كونيدية acervuli كما في المجاميع السابقة وإنما في أنواع أخرى من التراكيب الفطرية مثل الظفيرة الكونيدية synnemata والوسادة البوغية sporodochia، لقد وضعت هذه المجموعة ضمن شبه – الرتبة Moniliales، أما المجموعة الثانية فهي فاقدة للكونيدات وتتكاثر بتجزوء الغزل الفطري فهي فطريات عقيمة الغزل الفطري وقد وضعت في شبه – الرتبة Agonomycetales.

شبه - الرتبة Moniliales

تعتبر هذه المجموعة من المجاميع الكبيرة ضمن الفطريات الناقصة وتضم أكثر من 7000 نوع، ويوجد من بينها من هو ذو أهمية كبيرة لنا، سواء كانت ممرضات بشرية أو ممرضات نباتية أو مهمة في الصناعات المختلفة، ومن بين النوع الأخير الفطريات *Penicillium* و *Aspergillus*. بالإضافة إلى ذلك فهناك أفرادا منها تسبب تلوثات مهمة في المختبرات وأخرى مترممات ضرورية كالتي تتواجد في التربة وتساهم في الحفاظ على النظام البيئي فيها.

الغزل الفطري جيد التكوين ومن النوع المقسم بحواجز مستعرضة وغالباً ما يكون كثير التفرعات، الحوامل الكونيدية إما حرة أو مجتمعة وفي الحالة الأخيرة تعطي أما تراكيب خاصة من نوع الظفيرة الكونيدية أو من نوع الوسادة البوغية وتحمل عليها الكونيدات بأعداد كبيرة، أو تراكيب ثمرية من نوع البكنيدة أو الكويمة الكونيدية.

لقد قسمت هذه المجموعة إلى أربع أشباه – عوائل هي: Moniliaceae، Dematiaceae، Stilbellaceae و Tuberculariaceae.

شبه – العائلة Moniliaceae

تعد هذه العائلة من أكبر العوائل ضمن الرتبة حيث تضم جميع الفطريات الناقصة التي تتكون فيها الكونيدات على حواكل كونيدية شفافة إما أن تكون غير منتظمة أو منتظمة ضمن تراكيب كونيدية هي الظفيرة أو الوسادة الكونيدية، أحياناً قد تتكون الكونيدات مباشرة من خيوط فطرية شفافة.

الصفات العامة:

1- الكونيدات تنتج مباشرة على خيوط فطرية شفافة أو على حوامل كونيدية متخصصة.

2- الحوامل الكونيدية قد تكون بسيطة او متفرعة، منفردة أو مجتمعة فتكون تراكيب كونيدية هي الظفيرة الكونيدية والوسادة الكونيدية ولا تتكون البكنيده والكويمة الكونيدية.

3- ان عددا من الأمراض النباتية المهمة وغالبية أمراض الإنسان تسببها أفراد تعود لهذه العائلة.

4- الفطريات الجلدية Dermatophytes، مسؤولة عن العديد من الأمراض الجلدية في الإنسان والحيوان منها أمراض الشعر والأظافر والجلد والصوف، مثل الجنس *Trichophyton* والجنس *Trichosporon* والجنس *Geotrichum* والجنس *Microsporum* والجنس *Epidermatophyton*.

5- لقد اكتشف بان الطور الجنسي لمعظم الفطريات الجلدية يعود أو ينتمي إلى العائلة الكيسية الكروية Gymnoascaceae.

6- هناك فطريات أخرى ضمن هذه العائلة غير الفطريات الجلدية تسبب أمراضا أخرى للإنسان مثل الفطر *Blastomyces* الذي يسبب فطار برعمي والفطر *Histoplasma* الذي يسبب داء النسوجات والفطر *Aspergillus* الذي يسبب داء الرشاشيات والفطر *Penicillium* الذي يسبب حالات تسمم كثيرة.

7- عدد منها يصيب النباتات ويسبب أمراضا مهمة اقتصادياً مثل الفطر *Verticillium* الذي يسبب أمراض الذبول والفطر *Botrytis* الذي يسبب أمراض التعفن العنقي والرمادي.

8- قسم منها تعيش وتنمو بشكل مترمم على بقايا النبات والحيوان وأحياناً تعد كملوثات مهمة مثل الفطر *Trichothceium* والفطر *Cephalotheeium*، علماً أن هذه الفطريات قد تسبب حالات تعفن الثمار مثل تعفن ثمار التفاح بعد إصابتها بالمسببات المرضية.

طريقة العمل:

1- افحص نماذج شعر مصابة بالفطر *Microsporum* أو الفطر *Trichophyton* ولاحظ الخيوط الفطرية المقسمة والكونيدات عديدة الخلايا الموجودة حول الشعرة ولاحظ ايضاً ان معظم الخيوط الفطرية تتجزء أو تنقسم إلى أبواغ مفصلية مع وجود قطيرات زيتية وحبيبات صبغ الشعر والتي قد تربك فحص النموذج. (لوحة 9-22).

2- افحص شرائح جاهزة تخص كل من الفطر *Blastomyces* والفطر *Histoplasma* وهما من الفطريات ثنائية الشكل، ولاحظ إنهما في نماذج العائل يكونا بشكل خيمري متبرعم والبراغم كبيرة الحجم في الفطر الأول مقارنة بالفطر الثاني الذي تكون فيه البراعم صغيرة جداً (لوحة 9-22).

3- افحص شرائح جاهزة تخص كل من الفطر *Aspergillus* والفطر *Penicilluim* وهما من الفطريات الانتهازية في الإنسان والحيوان بالإضافة إلى نشاطهما في مجالات التحلل والتعفن للمواد المخزونة والفواكه والخضراوات، لاحظ الخيوط الفطرية مقسمة والحوامل الكونيدية في الفطر الأول تنتهي بتركيب حوصلي يحمل الذنيبات التي تحمل الكونيدات الكروية الصغيرة بشكل سلاسل، أما في الفطر الثاني فالحامل الكونيدي يحمل في نهايته تفرعات ثانوية تحمل الذنيبات والكونيدات الكروية الصغيرة بشكل سلاسل، تختلف ألوان وأشكال المستعمرات في كلا الجنسين حسب نوع الفطر.

4- افحص شريحة جاهزة تخص الفطر *Geotrichum* المسبب لداء الورم الحبيبي، ولاحظ الخيوط الفطرية المقسمة والتي تتجزء أو تنقسم إلى أبواغ مفصلية (كونيدات مفصلية) ولاحقاً تصبح دائرية (لوحة 9-22).

5- افحص شريحة جاهزة تخص الفطر *Trichothceium*، لاحظ الحوامل الكونيدية التي تكون طويلة وغير متفرعة والكونيدات ثنائية الخلايا (لوحة 9-22).

6- افحص نموذج نبات مصاب بمرض الذبول الذي يسببه الفطر *Verticillium* ولاحظ الغزل الفطري المقسم، الحوامل الكونيدية بسيطة أو متفرعة والتفرعات

دائرية، الفياليدات (الذنيبات) طويلة وذو نهاية مدببة تحمل الكونيدات البيضوية المتطاولة أحادية الخلية.

7- افحص نموذج من البصل أو العنب المصاب بالتعفن الذي يسببه الفطر *Botrytis*، لاحظ الغزل الفطري المقسم، الحوامل الكونيدية متفرعة وذات نهايات منتفخة تحمل مجموعة من الكونيدات بشكل عناقيد (لوحة 9-22).

شبه – العائلة Dematiaceae

تضم هذه العائلة الفطريات الناقصة التي تكون فيها الخيوط الفطرية مهلهلة وعلى هيأة كتل قطنية، الخيوط الفطرية والكونيدات أو أحدهما أحياناً داكنة اللون.

الصفات العامة:

1- أفرادها داكنة اللون.
2- معظمها فطريات مترممة والبعض منها متطفل على النبات والحيوان والإنسان مثل الفطر *Cladosporium* الذي يسبب فطار برعمي ملون Chromomycosis، والفطر *Cercospora* الذي يصيب الإنسان ويسبب تقرحات على الوجه وأجزاء أخرى من الجسم، علماً بان هذا الفطر يتطفل على النباتات ومنها الكرفس.
3- بعض أفرادها متطفلة على النباتات وبنفس الوقت تفرز أكثر من نوع من السموم الضارة للإنسان والحيوان مثل الفطر *Helminthosporium* الذي يسبب أمراض التبقع والتخطط على أوراق نباتات الحبوب، والفطر *Alternaria* الذي يسبب مرض اللفحة على أكثر من نبات.
4- تضم فطريات أخرى مهمة مثل الفطر *Stemphylium* وهو من الفطريات المتطفلة على النباتات.

طريقة العمل:

1- افحص شريحة جاهزة للفطر *Cladosporium*، ولاحظ الحوامل الكونيدية التي تحمل سلاسل متفرعة طويلة من الكونيدات الداكنة البيضوية المدببة الأطراف (لوحة 9-22).

2- افحص مزارع فطرية تخص الأجناس *Helminthosporium*، *Alternaria* و *Stemphylium* ولاحظ لون المستعمرات الداكن، حضر شرائح زجاجية لكل منها وافحصها تحت المجهر ولاحظ الخيوط الفطرية وشكل الكونيدات العديدة الخلايا وقارن بينها، كونيدات الفطر الأول اسطوانية عديدة الحواجز المستعرضة وذات جدار أملس، أما كونيدات الفطر الثاني كمثرية الشكل عديدة الحواجز الطولية والمستعرضة والفطر الثالث الكونيدات مستديرة عند النهايتين وذات حواجز طولية ومستعرضة وشوكية.

3- افحص شريحة جاهزة تخص الفطر *Cercospora*، لاحظ الحوامل الكونيدية مقسمة وتحمل عند نهايتها كونيدات طويلة تصبح ضيقة عند نهايتها وعديدة الخلايا (لوحة 9-22).

شبه - العائلة Stilbellaceae

وهي عائلة صغيرة وغير مهمة تضم عددا قليلا من الفطريات التي تنتج الكونيدات على حوامل كونيدية مجتمعة تشكل ظفيرة كونيدية، تعيش أفرادها مترممة على الأخشاب ومعروفة بانتاجها للصبغة الزرقاء blue-stain التي تتعرض لها الأخشاب المصابة بالفطر *Graphium* الذي يعتبر لهذا السبب من الفطريات المهمة اقتصادياً.

شبه - العائلة Tuberculariaceae

تشتمل على فطريات ناقصة تمتاز بتكوينها الكونيدات على حوامل كونيدية قصيرة وتشكل تركيب كونيدي من نوع الوسادة البوغية على الأخشاب وغالباً ما

تكون ملونة ودائرية الشكل، مثل الفطر *Tubercularia* الذي ينتج كونيدات مفردة بيضوية صغيرة عديمة اللون، علماً أن النوع *T.vulgaris* هو الطور الجنسي للفطر *Necteria cinnabarina* وهناك فطر آخر مهم جداً هو *Fusarium* الذي يتطفل على النباتات ويسبب أمراضا عديدة منها الذبول وتعفن الجذور، كما يسبب حالات تسمم خطيرة للإنسان والحيوان لما يفرزه من مواد سامة خطرة. يمتاز هذا الفطر بقدرته على إنتاج بعض الصبغات التي تميز بعض أنواعه المعروفة بتطفلها على النبات. ينتج الفطر ثلاثة أنواع من الكونيدات الصغيرة Microconida والكبيرة Macroconida والكلاميدية Chlamydoyspores، كما بإمكانه تكوين الأجسام الحجرية sclerotia خاصة عند تعرضه لظروف غير طبيعية.

طريقة العمل:

1- افحص مزرعة تخص نوعا واحدا أو أكثر تخص الجنس *Fusarium* وادرس شكل، لون وطبيعة المزرعة.

2- حضر شرائح زجاجية من الغزل الفطري للأنواع *F.solani* أو *F.oxysporum*، ولاحظ الخيوط الفطرية، الحوامل الكونيدية والكونيدات الصغيرة احادية الخلية والكبيرة متعددة الخلايا هلالية الشكل والأبواغ الكلاميدية سميكة الجدار والأجسام الحجرية (ان وجدت) صغيرة الحجم سوداء اللون.

شبه – الرتبة Agonomycetales

يطلق على هذه الرتبة اسم رتبة عقيمة الغزل الفطري Mycelia Sterilia لأنها تضم الفطريات الناقصة التي لا تنتج الكونيدات والغزل الفطري فيها عقيم، ويتكاثر لاجنسياً بتجزوء الغزل الفطري.

الصفات العامة:

1- أفرادها غير قادرة على تكوين الكونيدات وتتكاثر بالتجزوء.

2- لا توجد بين أفرادها أية علاقة أو رابطة سوى إنها لا تكون كونيدات.

3- يلاحظ في بعض أفرادها تكوين الاتصالات الكلابية بين الخيوط الفطرية مما يشير إلى أنها تنتمي إلى الفطريات البازيدية.

4- تضم أكثر من عشرين نوعاً أكثرها فطريات مترممة على بقايا النباتات والمواد العضوية حيث يتواجد القسم منها في التربة.

5- بعضها متطفلة على النباتات وتسبب أمراضا مهمة وخطرة على النبات مثل الذبول منها الفطر *Rhizoctonia* والفطر *Sclerotium*، علماً أن الطور الجنسي للفطر *R.solani* يعود للفطر البازيدي *Thanatephorus eucumeris*.

6- معظم أفرادها تقوم بتكوين أجسام حجرية سطحية غير منتظمة تشبه القشور السوداء اللون على الأجزاء النباتية المصابة خصوصاً تحت سطح التربة أو داخل السيقان.

7- يعتمد نوع الغزل الفطري والخيوط الفطرية في التمييز بين أفرادها.

طريقة العمل:

1- ادرس مزرعة تعود للفطر *Rhizoctonia solani*، ولاحظ تفرعات الخيوط الفطرية المميزة لهذا الفطر والتي يبدو عليها تخصرات واضحة عند بداية التفرعات مع الخيط الفطري (لوحة 9-22).

2- ادرس مزرعة تعود للفطر *Sclerotium rolfsii*، ولاحظ الأشرطة السميكة من الغزل الفطري الأبيض اللون والأجسام الحجرية الصغيرة الكروية الشكل المميزة لهذا الفطر، أعمل مقطع في واحدة من الأجسام الحجرية وادرس النسيج الداخلي (لوحة 9-22).

3- ادرس أجزاء نبات بصل أو ثوم مصابة بالتعفن الأبيض الذي يسببه الفطر *S.cepivorum*، ولاحظ وجود الأجسام الحجرية السوداء الصغيرة الحجم المنتشرة على الغزل الفطري القطني الأبيض اللون في الانسجة المصابة وخاصة داخل الساق.

4- ادرس أحد نباتات الخضراوات المصابة بتعفن الجذور أو سقوط وموت البادرات بسبب إصابتها بالفطر *R.solani*، ولاحظ الجذور المتحللة التي قد يتغير لونها إلى اللون البني، أما البادرات الميتة يلاحظ عليها تحلل أنسجة قاعدة السويق عند مستوى سطح التربة ولذلك تسقط البادرة، افحص تحت مجهر التشريح هذه المنطقة،لاحظ خيوط الفطر الممرض تنتشر في الأجزاء المصابة.

الأشنات Lichens

هي مجموعة من الكائنات الحية التي تتكون نتيجة لاتحاد صميمي بين فطر وطحلب ينموان معاً بشكل تعايشي، ويتكون من الاثنين جسم ثابت وتركيب متميز. ان فطر الاشنة (الجزء الفطري من الاشنة) الذي يسمى mycobiont غالباً ما يكون من الفطريات الكيسية والقليل جداً يعود إلى الفطريات البازيدية أو الناقصة، أما طحلب الاشنة (الجزء الطحلبي من الاشنة) يسمى phycobiont.

الصفات العامة:

1- تتواجد افرادها في كل البيئات والظروف المناخية من القطبية الشمالية إلى المناطق الصحراوية الحارة.

2- تنمو وتعيش على الصخور، قلف الأشجار وأوراق النباتات.

3- ان فطر الاشنة الذي ينشأ من أبواغ كيسية أشنية قد يختلف عن الفطر الأصل الذي اشترك في تكوين الاشنة.

4- تقوم الاشنات بتكوين تراكيب خاصة لتثبيتها على الاجسام أو التراكيب التي تنمو عليها، وبعض هذه التراكيب ذات اصل فطري والآخر ذات أصل طحلبي.

5- تتكاثر لاجنسياً بعدة طرق منها تكوين الكونيدات، تكوين الاويدات، فضلاً عن التكاثر الخضري بواسطة التجزوء او تكوين نموات خارجية تشبه البراعم تستطيع أن تكون جسم جديد عند انفصالها من الأشنة تسمى بالسوريدات soridia.

6- تتكاثر جنسياً بالاقتران البذيري، وفي بعض الاشنات الكيسية يحصل التكاثر الجنسي عن طريق تكوين الحوافظ الانثوية الكيسية.

7- معظم أفرادها ذات أهمية اقتصادية فهي تنتج عددا من الحوامض وعددا من الصبغات وعددا من المواد ذات التأثير المضاد للمسببات المرضية.

8- لها تأثيرات بيئية إيجابية من خلال مساهمتها في تفتيت الصخور ودعم التربة بمواد جديدة نتيجة لهذا الفعل الكيميائي المهم.

9- تضم ثلاث مجاميع رئيسية هي:

أشنات كيسية Ascolichens، اشنات بازيدية Basidolichens وأشنات ناقصة Deuterolichens (Lichenes Imperfecti).

الأشنات الكيسية Ascolichens

تشتمل على الاشنات التي يكون فيها الشريك الفطري (الفطر الاشني) هو أحد الفطريات الكيسية. وضعت هذه الاشنات تحت ثلاث مجاميع اعتماداً على الاكياس والاجسام الثمرية الكيسية التي تنتجها وهي:

1- مجموعة الاشنات الغشائية ذات الاجسام الثمرية الكأسية

Loculoascolichens with apothecia

2- مجموعة الاشنات الكيسية الحجيرية ذات الاجسام الثمرية الكأسية أو القاربية

Loculoascolichens with hysterothecia

3- مجموعة الاشنات الكيسية الحجيرية ذات الاجسام الثمرية القارورية الكاذبة

Loculoascolichens with pseudothecia

وتشكل المجموعة الأولى أكبر المجاميع الثلاث وأهمها وسيتم تناولها بشيء من التفصيل.

مجموعة الاشنات الغشائية ذات الاجسام الثمرية الكأسية

Loculoascolichens with apothecia

تشتمل هذه المجموعة على الاشنات الكيسية الغشائية ذات الاكياس أحادية الغلاف واجسام ثمرية كأسية. تضم ثلاث رتب هي: Lecanorales، Caliciales وGraphidiales، وسيتم تناول الرتبة الأولى فقط.

الرتبة Lecanorales

ان اغلب الاشنات الكيسية الكأسية الكبيرة والمميزة تعود لهذه الرتبة.

الصفات العامة:

1- تمتاز أفرادها بتكوين جسم ثمري كيسي كأسي جيد التكوين ينشأ على سطح جسم الاشنة مع خيوط عقيمة حقيقية وأكياس سميكة الجدار أحادية الغلاف.

2- جدار الاكياس يتلون بلون أزرق مع اليود.

3- قسمت إلى اربع مجاميع هي تحت رتبة : Cladonineae، Peltigerineae، Lecanorineae وBuelliineae وسيتم تناول التحت رتبة الأولى والأخيرة فقط.

تحت رتبة Cladonineae

تضم مجموعة من الاشنات الكيسية غالبيتها أشنات تربة (أرضية).

الصفات العامة:

1- معظم أفرادها اشنات ذات أجسام قشرية أو حرشفية.

2- يتكون من جسم الاشنة تراكيب متخصصة منتصبة لحمل الاجسام الثمرية تسمى البوديشات Podetia.

3- تعد بعض افرادها غذاء رئيسيا للحيوانات وخاصة حيوان الأيل (الرنة).

4- تضم عددا من الاجناس من اهمها الجنس *Cladonia*.

طريقة العمل:

1- افحص نموذج يعود لجسم حرشفي لاشنة كيسية من النوع *Cladonia cistalella* يظهر حوامل الاجسام الثمرية المنتصبة فوق جسم الاشنة (podetia) ولاحظ تفرعاتها التي تحمل نهايات كأسية حمراء اللون يطلق عليها الجندي البريطاني British Soldier الذي يرتدي قبعة حمراء (لوحة 9-23).

2- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع عرضي لجسم أشنة كيسية لنفس النوع أعلاه وافحص القشرة الخارجية upper cortex، الطبقة الطحلبية algal layer والحشوة النسيجية الداخلية medulla.

3- افحص نموذج أو شريحة جاهزة لنوع آخر من الاشنات التي تعود لنفس الجنس مثل C.rangiferina، وقارن بينه وبين النوع في (1) أعلاه.

4- افحص شريحة جاهزة لاحد أنواع الجنس Cladonia تخص الكونيدات.

تحت رتبة Buelliineae

تشتمل على أشنات كيسية كأسية بعض أفرادها تمتلك صبغات ملونة حمراء وصفراء والقسم الآخر فاقد لها ولكن يمتلك أبواغا داكنة عديدة الخلايا.

الصفات العامة:

1- جسم الاشنة صغير، أبيض – رمادي ورقي الشكل ينمو على أشجار الطرق الخارجية أو العامة.

2- تتلون قشرة الاشنة بلون أصفر عند اختبارها مع هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH).

3- تضم عددا قليلا من الأجناس من أهمها: *Buellia* و *Physica*، سيتم دراستها.

طريقة العمل:

1- افحص نموذج لجسم أشنة كيسية يعود للنوع *B.pulchella* ولاحظ شكلها الورقي والذي يمتلك عند قاعدته تراكيب اتصال تستعملها للتثبيت على الاجسام التي تنمو عليها، وهي أشرطة ريزينوزيه rhizinose strands (لوحة 9-23).

2- افحص شريحة جاهز ومستديمة تخص مقطع عرضي في جسم ثمري كأس يعود للاشنة *P.stellaris*، ادرس الطبقة الخصيبه، الخلايا الطحلبية، الأبواغ الكيسية ثنائية الخلية.

(في حالة النماذج التي يتم تجميلها في KOH تظهر القشرة بلون أصفر والأبواغ الكيسية بلون بني).

3- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص مقطع عرضي في بكنيدة تعود لأحد أنواع الجنس *Physica*، ادرس الحوامل الكونيدية ، الكونيدات التي بداخلها، القشرة الخارجية، الخلايا الطحلبية والحشوة النسيجية.

4- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تخص ابواغا كيسية تعود للنوع *P.parietia*، لاحظ الأبواغ الكيسية النابتة (لوحة 9-23).

5- افحص شريحة جاهزة ومستديمة تعود لأحد أنواع الاشنات الكيسية التي توضح التداخل بين الخيوط الفطرية والخلايا الطحلبية وتكوين جسم الاشنة.

الاشنات البازيدية Basidiolichens

تشتمل على الاشنات التي يكون فيها الشريك الفطري (الفطر الاشني) هو أحد الفطريات البازيدية ، علماً بأن الفطريات من هذا النوع لازالت موضع شك ولم يتم التأكد منها. ان الفطريات البازيدية المشكوك في تداخلها مع الطحالب لتكوين الاشنات قليلة جداً وتعود بعضها للعائلة Tricholomataceae ضمن رتبة متعددة الثقوب Aphyllopharales والبعض الآخر يعود للعائلة Clavariaceae ضمن رتبة العراهين Agaricales. ومن بين أهم الفطريات البازيدية الشائعة

ضمن المناطق المعتدلة التي بدأت تجلب انتباه المختصين في هذا المجال هو الجنس *Omphalina* الذي يعود للعائلة الأولى أعلاه.

الاشنات الناقصة Deuterolichens (Lichens Imperfecti)

تشتمل على الاشنات التي يكون فيها الشريك الفطري (الفطر الاشني) هو أحد الفطريات الناقصة. وتتميز بكونها اشنات عقيمة وغير قادرة على إنتاج الأبواغ. وقد صنفت على اساس شكلها والتركيب الكيميائي لجسمها وقد لوحظت عليها بعض الحالات حول الأبواغ البكنيدية في هذا النوع من الفطريات قد تسلك كبذيرات وتلتصق بخيوط الاستقبال (كما لو أنها فطريات أشنية كيسية) لكن لم يحصل بينهما اندماج بلازمي أو نووي ولذلك فهي فطريات ناقصة.

الفصل العاشر

الفطريت الطبية والفطريات السامة

Medical and Toxic Fungi

أولاً : الفطريات الممرضة للإنسان Human pathogenic fungi

من المعروف أن للفطريات كما لغيرها من الكائنات الدقيقة الأخرى دوراً مهماً في الطبيعة، إذ يوجد ما يزيد على 50.000 نوعاً من الفطريات تعيش في الطبيعة بصور مختلفة ومن الناحية الطبية يوجد حوالي 80-100 نوعاً من الأعفان والفطريات الخيطية والخمائر لها القدرة على أن تسبب أمراضاً مختلفة للإنسان، حيث تتباين هذه الفطريات المرضية في تواجدها الطبيعي ما بين الماء والتربة والهواء والمواد العضوية المتحللة. بشكل عام يكون تطور حالات الإصابة الفطرية للإنسان متعلقاً بعوامل عدة منها الحالة المناعية للمضيف، العوامل البيئية المحيطة بالمضيف، نوع الفطر المسبب للإصابة وغيرها من العوامل الأخرى.

أنواع الإصابات الفطرية:

إن كلمة Mycoses هو المصطلح الطبي الذي يطلق على الإصابات (الاخماج) التي تسببها الفطريات، وهذه الإصابات يمكن تمييزها حسب الموقع السريري للإصابة وكما يأتي:

1. الإصابات الفطرية السطحية Superficial mycoses

وهذه الإصابات تحدث في الطبقة المتقرنة للجلد وقد تتضمن الشعر، ونادراً ما تحدث استجابة التهابية للمضيف ضد هذه الفطريات التي تتميز بكونها قليلة

الأمراضية ونادراً ما تهاجم الأنسجة أو تثير الاستجابة المناعية للمضيف، أغلب الإصابات السطحية غير شائعة باستثناء الإصابة بالنخالية المبرقشة Pityriasis (Tinea veriscolor). التي تعد مهمة من الناحية الجمالية فقط، حيث تظهر الإصابة بشكل مناطق بيضاء متقشرة في الجلد الأسمر في فصل الصيف وتفضل الجو الحار والرطب. ان الفطر المسبب هو *Malassezia furfur* وهي من الخمائر المحبة للدهون (لوحة 10-1).

زرع العينات:

1- تؤخذ عينة من القشور الجلدية من منطقة الإصابة وتزرع على سطح طبق بتري معقم يحتوي على وسط زرعي نوع SDA مدعم بالكلورامفنيكول 0.05غم/لتر وحاوي على زيت الزيتون (50 مل/لتر)، وتعمل عدة مكررات لكل عينة.

2- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 37 مْ لمدة 7-10 أيام ثم تفحص المستعمرات التي نمت وتعطي لون كريمي مصفر لماع وذات طيات واضحة.

3- تحضر شريحة زجاجية يتم فحصها تحت المجهر، لاحظ خلايا الخميرة التي تتكون منها براعم ذات قاعدة ضيقة.

4- أفحص شريحة جاهزة للخميرة *M. furfur* وقارن مع نتيجة الفحص أعلاه.

2. الإصابات الفطرية الجلدية Cutaneous mycoses

هذه الإصابات تحدث بواسطة فطريات تصيب الأنسجة المتقرنة السطحية مثل الجلد والشعر والأظافر، وتتميز هذه الإصابات بوجود تفاعل التهابي حاد لوجود الفطر الممرض الذي يكون من الفطريات الجلدية الخيطية dermatophytes، وهذه الإصابات هي من أكثر الأمراض الفطرية انتشاراً وشيوعاً في العالم ولكن على الرغم من كونها دائمية ومزعجة إلا أنها لا تشكل خطراً على حياة الإنسان. لقد

أشرنا سابقاً إلى مرض السعفه أو القوباء الجلدي أو ما يسمى بالدودة الحلقية ring worm أو Tinea وهي كلمة لاتينية تعني العثة أو الدودة الصغيرة في إشارة إلى أن الأعراض الظاهرية التي تسببها الفطريات الجلدية الخيطية تشبه الأعراض التي تسببها حشرة أو دودة العثة، حيث أن الأعراض النموذجية للإصابات الفطرية الجلدية الخيطية هي لطخ حلقية متقشرة مع حافة مرتفعة، بينما الأعراض الرئيسية هي حكة بدرجات متفاوتة، والجلد يصبح حرشفي مع تشقق البشرة. الفطريات الجلدية الخيطية تعود إلى ثلاثة أجناس هي: *Microsporum*، *Trichophyton* و *Epidermophyton* (لوحة 10-1)، ولغرض التأكد من هوية الفطر الممرض تجرى عملية زرع العينات مختبرياً وكالآتي:

قبل التطرق إلى طريقة زرع العينات لابد من الإشارة إلى أن الفطريات الجلدية الخيطية تصيب مواقع مختلفة من الجسم، حيث أن الأشكال السريرية وأنواع الفطريات تختلف باختلاف تلك المواقع، لذلك فإن الإصابات الفطرية الخيطية صنفت على اساس موقع الإصابة إضافة إلى الأعراض السريرية وهي:

1- سعفة الرأس Tinea capitis

2- القرع Tinea favosa

3- سعفة الذقن Tinea barbae

4- السعفة الحلقية Tinea corporis

5- سعفة الفخذ Tinea cruris

6- سعفة الوجه Tinea faciei

7- سعفة القدم Tinea pedis

8- سعفة الأظافر Tinea ungium

ومن الأنواع الشائعة التي تعود للأجناس الثلاثة أعلاه وتسبب الإصابات الفطرية الجلدية آنفة الذكر هي:

M. audouinii ، *M. canis* ، *M. gypseum* ، *T. schoenleinii* ، *T. violaceum* ، *T.rubrum* ، *T.mentagrophytes* ، *T.verrucosum* ، *E.floccosum* ، وللتعــــرف على نوع الفطر المسبب للإصابة تجرى عملية زرع العينات مختبرياً وكما يأتي:

زرع العينات:

تؤخذ عينة من أجزاء الشعر أو قصاصات الأظافر أو قشور جلدية وتزرع على وسط زرعي كما ورد في الفقرة (1) أعلاه الخاصة بزرع الفطريات السطحية (بدون إضافة زيت الزيتون) وتتبع نفس الخطوات باستثناء الحضن يكون عند درجة حرارة 28 – 30 مْ، تحضر شرائح زجاجية من المزارع النامية وملاحظة شكل وحجم ولون الكونيدات وخصوصاً الكونيدات الكبيرة يتم مقارنتها بشرائح زجاجية جاهزة للأنواع التالية:

1- افحص شريحة زجاجية جاهزة للفطر *M. canis* ولاحظ الكونيدات الكبيرة تكون مغزلية الشكل وذات جدار خشن ذو أشواك، الكونيدات الصغيرة تكون هراوية الشكل. (لوحة 10-1).

2- افحص شريحة زجاجية جاهزة للفطر *T. mentagrophytes*، ولاحظ الكونيدات الكبيرة ذات شكل اسطواني إلى صولجاين ملساء عديدة الخلايا، الكونيدات الصغيرة ذات شكل صولجاني أحادية الخلية. (لوحة 10-1).

3- افحص شريحة زجاجية جاهزة للفطر *E. floccosum*، ولاحظ الكونيدات الكبيرة صولجانية الشكل ذات جدران ملساء ذات قمة دائرية وقاعدة عريضة، ويتميز بعدم وجود كونيدات صغيرة. (لوحة 10-1).

4- افحص شرائح زجاجية جاهزة للأنواع الأخرى ولاحظ الاختلاف في شكل وحجم الكونيدات الكبيرة التي تعتمد في التفريق بين الأجناس والأنواع أعلاه.

3. الإصابات الفطرية الجهازية Systemic Mycoses

وهي أكثر الإصابات خطورة على الإنسان وغالباً ما تكون هذه الإصابات مميتة، وتسببها فطريات ثنائية الشكل Dimorphic أثناء نموها، الشكل الأول هو العفني(الخيطي) mold form عندما تنمو عند درجات الحرارة التي تتراوح بين 25-30 مْ (درجة حرارة الغرفة أو الجو) وغالباً ما يكون خارج جسم المضيف، والشكل الثاني هو الخميري yeast form وهو الشكل الذي يتكون داخل العائل وينمو عند درجة حرارة 37 مْ وهي درجة حرارة جسم الإنسان. في الظروف الاعتيادية تتواجد الفطريات ثنائية الشكل في التربة وخصوصاً التربة الغنية بفضلات الطيور أو في الغبار وبالشكل العفني،وهو الشكل المعدي أو المسؤول عن العدوى أو الإصابة.

تعود الفطريات ثنائية الشكل إلى أربعة أجناس هي *Blastomyces*، *Paracoccidioides*، *Histoplasma*، *Coccidioides* (لوحة 2-10)، تسبب الإصابات الجهازية وبإمكانها أن تصيب الأعضاء الداخلية وتنتشر إلى مواقع بعيدة في جسم الإنسان ولذلك يطلق عليها الإصابات العميقة Deep mycoses، والأنواع التالية هي المسؤولة عن هذا النوع من الإصابات وكما مبينة في ادناه:

ت	نوع الفطر	نوع الإصابة
1	*Blastomyces dermatitidis*	فطار برعمي Blastomycosis
2	*Paracoccidiodes brasiliensis*	داء شبيه الفطريات الكروانية Paracoccidioidomycosis
3	*Histoplasma capsulatum*	داء النسوجات Histoplasmosis
4	*Coccidioides immitis*	فطار الكرويات Coccidioidomycosis

الفطر *Blastomyces dermatitidis*

يصيب الفطر الجهاز التنفسي للإنسان ويسبب فطار برعمي رئوي Pulmonary Blastomycosis ويؤدي إلى آلام في الصدر وخصوصاً ذات الجنب مع حمى قليلة، ينتشر إلى الأعضاء البعيدة وعادة الجلد، الأغشية المخاطية للفم والأنف والعظام وقد يتواجد في الجهاز العصبي المركزي، المصدر الأولي للمسبب المرضي هو في الغالب التربة. (لوحة 10-2).

الفطر *Paracoccidioides brasiliensis*

يسبب هذا الفطر داء شبيه الفطريات الكروانية ويسمى أيضاً بالفطار البرعمي الجنوب أمريكي، المرض أساساً يظهر في الجهاز التنفسي للإنسان ويتواجد بشكل عقد صغيرة تساعد على الإصابة بمرض التدرن الرئوي، ينتشر المرض لاحقاً ليشمل الفم والجيوب الأنفية واللوزتين وحتى الحنجرة، كما يؤدي إلى اتساع العقد اللمفاوية في الرقبة وقد ينتقل إلى مناطق وأعضاء أبعد من ذلك. (لوحة 10-2).

الفطر *Histophasma capsulatum*

يسبب الفطر داء النسوجات أو ما يسمى أيضاً بالالتهاب البلازمي النسيجي، وهو مرض يصيب الرئتين ويسبب التهاب الرئة، وقد يتطور المرض وينتشر إلى الأحشاء الداخلية. (لوحة 10-2).

الفطر *Coccidioides immitis*

يسبب الفطر داء الفطريات الكروانية أو ما يسمى بفطار الكرويات، وهو مرض معدي يصيب الإنسان، يتسبب من استنشاق الكونيدات المفصلية للفطر الممرض وتظهر الأعراض الأولية شبيهة بأعراض مرض الإنفلونزا الموسمية

مع سعال خفيف، والانسجة المصابة تظهر تورمات حبيبية دقيقة أو كريات صغيرة مميزة. (لوحة 10-2).

وللتأكد من نوع الفطر المسبب للحالة المرضية يتم إجراء محاولة لزرع مختبري لعينة تؤخذ من المناطق المصابة التي يمكن أخذ مسحة منها مثل الفم والأنف واللوزتين ويمكن استخدام عينة من البلغم والدم والإدرار لتنفيذ عملية الزرع على أوساط زرعية CMA وSDA وYEA وتتبع الخطوات نفسها في فحص الفطريات الجلدية المشار اليها اعلاه.

علماً بأن نتيجة الزرع المختبري ستعطي الطور العفني (الخيطي) فقط لأن الطور الخميري يتكون داخل العائل ولغرض مقارنة نتائج الزرع يتم فحص شرائح جاهزة للفطريات المرضية ثنائية الشكل وكما يأتي:

طريقة العمل:

1- افحص شريحة زجاجية جاهزة تمثل الطور الخيطي للفطر *B.dermutitidis*، ولاحظ أن الكونيدات تكون صغيرة الحجم دائرية إلى كمثرية الشكل وتنشأ على حوامل كونيدية قصيرة أو طويلة. (لوحة 10-2).

2- افحص شريحة زجاجية جاهزة تمثل الطور الخيطي للفطر *P.brasiliensis*، ولاحظ عدم تكوين كونيدات مميزة، بينما تتكون أعدادا كبيرة من الأبواغ الكلاميدية، وتظهر خيوطا فطرية ملتفة، وعندما تتكون الكونيدات تكون قريبة الشبه بكونيدات الفطر الأول في (1) أعلاه. (لوحة 10-2).

3- افحص شريحة زجاجية جاهزة تمثل الطور الخيطي للفطر *H.capsulatum*، ولاحظ أن نوعين من الكونيدات يمكن مشاهدتها، الكونيدات الكبيرة Macroconidia تكون دائرية إلى كمثرية الشكل وذات سطح خشن، أما الكونيدات الصغيرة Microconidia فتكون كمثرية الشكل أحادية الخلية.

4- افحص شريحة زجاجية جاهزة تمثل الطور الخيطي للفطر *C.immitis*، ولاحظ أن الكونيدات المفصلية البرميلية الشكل تتكون على هيأة سلاسل، ولاحظ أيضاً أن خيوطا فطرية تتكون أحياناً لها شكل مضرب التنس. (لوحة 10-2).

ثانياً : الفطريات الانتهازية Opportunistic Fungi

تعتبر الفطريات الانتهازية مسببات مرضية ثانوية لها علاقة في إحداث العديد من الإصابات المرضية للإنسان، وهي جزء من الإصابات الفطرية الجهازية. أما الأضرار الصحية التي تسببها الفطريات الانتهازية فهي متنوعة ومختلفة في شدتها باختلاف نوع الكائن المسبب للإصابة (لوحة 10-3) ، والظروف البيئية والعوامل المحددة للإصابة وهي كثيرة مثل العمر والجنس والإصابة بالأمراض المزمنة وتعاطي الأدوية والمضادات الحيوية والستيرويدات بشكل مستمر إضافة إلى الظروف البيئية مثل الحرارة والرطوبة. ومن الإصابات الفطرية الانتهازية Opportunistic Mycoses التي تسببها الفطريات الانتهازية للإنسان هي:

1- داء الرشاشيات الفطري Aspergillosis

وهو من الأمراض الرئوية الجهازية التي تصيب الإنسان، ويسمى ايضاً التهاب القصبات الفطري bronchomycosis تسببه الأنواع العائدة للجنس *Aspergillus* وخصوصاً النوع *A. fumigatus* الذي يسبب حساسية تنفسية عند دخول أبواغه في القصبات الهوائية، كما وجد أن الأنواع الأخرى مثل *A. flavus*، *A. niger* ، *A.terreus* لها القدرة على إصابة أماكن مختلفة من الجسم منها إصابات الأذن الخارجية والوسطى والجيوب الأنفية ومحجر العين إضافة إلى بعض الإصابات الجلدية وخصوصاً الأظافر. من المعروف أن استنشاق أبواغ الفطر *Aspergillus* الموجودة في الهواء يؤدي إلى ظهور تفاعل فرط الحساسية ويحفز حساسية الحويصلات الرئوية وبعض الحالات المرضية مثل الربو والتهاب الغشاء المخاطي للأنف.

يعد هذا الفطر من أخطر الفطريات الانتهازية لسعة انتشاره في الطبيعة وقدرته الكبيرة على إنتاج أعداد هائلة من الأبواغ التي تنتشر في الهواء التي هي مصدر الاصابة إضافة إلى قابليته العالية على تحمل الظروف البيئية الحرجة وقدرته على إنتاج مختلف الأنزيمات والأيضات الثانوية التي تمكنه من استغلال المصادر الغذائية المختلفة.

يمكن عزل الفطر في المختبر من الهواء على أوساط زرعية بسيطة مثل PDA والتعرف على الأنواع المختلفة الموجودة في الهواء، المستعمرات تعطي ألوانا مختلفة منها الأسود للنوع *A. niger* والأخضر رمادي للنوع *A. fumigatus* والأصفر كركمي للنوع *A. terreus* والأصفر مخضر أو الأصفر للنوع A.flavus كونيدات الفطر كروية صغيرة أحادية الخلية محمولة على ذنيبات حويصلية الشكل في نهاية الحامل الكونيدي.

طريقة العمل:

افحص شرائح زجاجية جاهزة لانواع مختلفة من الجنس *Aspergillus* ولاحظ الخيوط الفطرية وشكل الحوامل الكونيدية والكونيدات.

2- داء الفطريات المقترنة Zygomycosis

وهو من الأمراض الجهازية التي تصيب الجهاز التنفسي وتسبب التهاب حبيبي رئوي ويسمى أيضا داء الفطريات العفنية *Mucormycosis*. تسببه أنواعا مختلفة من الفطريات اللاقحية التي تعود للأجناس *Absidia* و *Mucor* و *Rhizopus*، تتواجد هذه الفطريات في التربة وتنتشر أبواغها بأعداد كبيرة في الهواء وعادة تحصل الإصابة نتيجة لاستنشاق أبواغ هذه الفطريات ولذلك فإن الإصابة الأولية تحصل في الجهاز التنفسي وتسبب التهاب ذات الرئة، وقد تنتقل إلى أماكن أخرى في الجسم مثل الدماغ وتسبب التهاب الأغشية المخاطية أو السحايا، والى القناة الهضمية وتسبب نزفا دمويا نتيجة لتلف الأنسجة الطلائية

إضافة إلى الالتهابات التي تحصل في الجلد نتيجة للجروح التي تحصل للجلد وتلوثها بالتربة الحاملة للأبواغ.

يمكن عزل الفطريات المشار إليها أعلاه في المختبر بسهولة من الهواء أو من التربة حسب طرق العزل التي سبق ذكرها في موضوع طرق العزل، وتستخدم أوساطا زرعية بسيطة ولا تحتاج إلى متطلبات غذائية خاصة، الوسط المناسب هو PDA، تمتاز هذه الفطريات بسرعة نموها على الوسط الزرعي وتعطي مستعمرات فطرية متشابهة تقريباً تكون زغبية أو قطنية وذات لون أبيض في بداية تكوينها ثم تتحول تدريجياً إلى رمادي ثم بني ثم اسود نتيجة لتكوين الحوافظ البوغية السوداء اللون.

طريقة العمل:

أ- افحص شريحة زجاجية جاهزة لأحد أنواع الفطر *Absidia* sp.، لاحظ خروج حامل الحافظة البوغية من منتصف المدادات بين عُقد أشباه الجذور، والحوافظ البوغية الكمثرية الشكل (لوحة 10-3).

ب- افحص شريحة زجاجية جاهزة لأحد أنواع الفطر *Mucor* sp.، لاحظ عدم وجود اشباه الجذور في هذا الفطر. (لوحة 10-3).

جـ- افحص شريحة زجاجية جاهزة لأحد أنواع الفطر *Rhizopus* sp.، لاحظ خروج حامل الحافظة من مناطق تواجد أشباه الجذور. (لوحة 10-3).

3- داء المكورات الخفية Cryptococcosis

وهو من الأمراض الجهازية التي تصيب الجهاز التنفسي أولاً ثم تنتقل إلى أجزاء أخرى من الجسم وخصوصاً الجهاز العصبي المركزي، يسببه الفطر *Cryptococcus neoformans*.

طريقة العمل:

إفحص شريحة زجاجية جاهزة لهذا الفطر تمثل الشكل الخميري له ولاحظ الخلايا الكروية التي تختلف في الحجم وتحاط بعلبة كبيرة، ولاحظ التبرعم حيث يتصل البرغم مع الخلية الأم في منطقة ضيقة ويتكون من كل خلية برعم واحد، (لوحة 10-3).

4- داء المبيضات Candidiasis

هو من الأمراض التي تصيب الجلد والأغشية المخاطية والتناسلية والأحشاء الداخلية للإنسان وقد تصيب الرئتين، وهو من الأمراض الفطرية الجهازية، كما يطلق عليه داء الطوقيات أو داء السبحيات Moniliasis.

تسببه عددا من الأنواع الفطرية التابعة للجنس *Candida* spp.، ومن المعروف أن النوع *C. albicans* هو أكثرها إمراضية، ومن الأنواع الأخرى التي تشترك في إظهار الإصابة بهذا المرض هي *C.parapsilosis* ، *C.tropicalis* ، *C.glabrata* و *C.kruseii*. ومن الإصابات التي تسببها هذه الأنواع هي:

أ- داء المبيضات الجلدية Cutaneous Candidiasis

وهو من الإصابات التي تظهر على الأطفال حديثي الولادة وتعتبر منطقة المهبل في الأم المصدر الرئيسي للإصابة.

ب- داء المبيضات الفموي Oral Candidiasis

ويسمى أيضاً بمرض القلاع Thrush، وهي إصابة تظهر في الغشاء المخاطي بتجويف الفم في الأطفال والبالغين ذوي النقص المناعي والمصابين بداء السكري واللذين يتناولون المضادات الحيوية بشكل مستمر، ومن العوامل الأخرى التي تساعد على ظهور الإصابة هي الرطوبة والجو الحار.

جـ- التهاب المهبل بالمبيضات Candidal Vulvovaginitis

وهو من الحالات المرضية التي تظهر عند النساء وخصوصاً الحوامل حيث يستهدف الفطر الأغشية المخاطية للمهبل.

د- التهاب شغاف القلب بالمبيضات Candidal endocarditis

مرض يصيب الغشاء المبطن للقلب ويسبب التهاب الشغاف مؤدياً إلى آلام في الصدر من جهة القلب.

طريقة العمل:

1- افحص شرائح زجاجية جاهزة للخميرة *C.albicans* ولاحظ الخلايا الخميرية والتبرعم والخيوط الفطرية الكاذبة، والأبواغ الكلاميدية.

2- افحص شرائح زجاجية جاهزة للأنواع الأخرى ولاحظ الفروقات فيما بينها من حيث عدم وجود الخيوط الفطرية الكاذبة أو الأبواغ الكلاميدية.

5- داء الحزميات Alternariosis

هو مرض تسببه عددا من الفطريات الداكنة Dematiaceous fungi وخصوصاً الأنواع التابعة للجنس *Alternaria* ، التي تتواجد في التربة أو على البقايا النباتية كونه فطرا ممرضا للنباتات، ومن الأمراض التي تنتج عن الإصابة بهذا الفطر هي التقرن او زيادة الطبقة المتقرنة Karatomycosis للمزارعين بعد الإصابة بالكدمات، الخراجات الجلدية الدقيقة، التهاب العظام، والتهاب بطانة الأنف، وللتعرف على الفطر مختبريا يتم إجراء الآتي:

طريقة العمل:

1- افحص مزرعة فطرية تعود للنوع *A. alternata* ، ولاحظ أن لون المستعمرة رمادي – بني داكن أو أخضر إلى أسود.

2- اعمل شريحة زجاجية من المزرعة الفطرية ولاحظ أن شكل الكونيدات متعددة الخلايا وذات حواجز طولية وعرضية، الكونيدات تكون بشكل سلاسل على الحوامل الكونيدية، الكونيدات لونها بني داكن، غالباً ما تكون كمثرية الشكل (لوحة 10-3).

ثالثا": الفطريات المنتجة للسموم Fungi producing toxins

هناك العديد من الفطريات، إضافة إلى العراهين السامة التي سبق ذكرها، تنتج موادا سمية في البيئة أو الوسط الذي تنمو عليه ولها القدرة على تحطيم الأنسجة المختلفة في الإنسان وخصوصاً الكبد والكلية، وقسم كبير من هذه السموم ذو تاثيرات مسرطنة ومطفرة، ويمكن لهذه المركبات أن تدخل إلى جسم الإنسان بمسارين هما:

1- المسار المباشر، نتيجة تناول الإنسان للحبوب والمحاصيل والأغذية الملوثة بهذه السموم.

2- المسار غير المباشر، نتيجة تناول لحوم الحيوانات التي تغذت على اعلاف وعلائق ملوثة بهذه المركبات، كما يمكن أن تنتقل إلى الإنسان نتيجة تناوله كل المنتجات الحيوانية الملوثة بالسموم مثل الحليب والبيض.

ان الجانب المهم في هذا الموضوع الذي يجب التأكيد عليه هو أن هذه المركبات السمية بعد أن تدخل إلى جسم الإنسان فإنها تترسب في أعضاء وأنسجة مختلفة في الجسم، هناك على الأغلب تخصص نوع واحد أو أكثر من السموم في

التاثير على عضو أو أكثر، وان هذا الترسب لهذه المواد يشكل خطورة كبيرة على صحة الإنسان للأسباب التالية:

أ- تحول السموم إلى مركبات أكثر خطورة بعد تأيضها مثل تحول الافلاتوكسين إلى الافلاتوكسيكول الأشد خطورة من الافلاتوكسين.

ب- انتقال السموم من الأم الحامل إلى الجنين، أو انتقالها مع الحليب من الأم إلى الطفل أثناء عملية الرضاعة مسببة اخطارا كبيرة على صحة الطفل.

جـ- ان البعض من هذه السموم يتحول من مركب خطر في جسم الأم إلى مركب يدر مع الحليب ذو تاثير أكثر على الطفل الرضيع، مثل تحول الافلاتوكسين نوع B1 إلى الافلاتوكسين M1 أو ما يسمى بسم الحليب، Milk toxin.

ومن أهم السموم الفطرية فعالية والأكثر انتشاراً هي سموم الافلاتوكسين Aflatoxins والتي ينتجها الفطر *Aspergillus flavus* والأنواع الأخرى التابعة لهذا الجنس، ويمكن أن تنتج من قبل أجناس أخرى مثل *Penicillium* و *Alternaria* وغيرها، في حين أن هناك سموم لا تقل خطورة عنها مثل الاوكراتوكسين Ochratoxin والسترنين Citrinin وتنتجهما عدة سلالات من فطريات الـ *Aspergillus* والـ *Penicillium*، والترايكوثيسين Trichothecin والزيرالينون Zearalenone أيضاً تنتجهما عدة سلالات من الفطر *Fusarium*، والاركوتامين Ergotamine الذي ينتجه الفطر *Claviceps*. وتكون المحاصيل الزراعية عرضة للتلوث بالفطريات التي تفرز هذه السموم كالذرة والشعير والحنطة والرز والشوفان والشيلم وفستق الحقل وفول الصويا والفواكه المجففة والعصائر إضافة إلى الأغذية المصنعة من هذه الحبوب، ويمكن ان تحدث هذه الإصابات قبل الحصاد أو اثناء خزن المحصول أو تداوله أو تصنيعه.

استخلاص وتقدير السموم الفطرية

Extraction and determination of toxins

تعتمد أكثر من طريقة لاستخلاص وتقدير السموم الفطرية من الحبوب والأغذية الملوثة، وسيتم تناول إحدى الطرق المستخدمة لاستخلاص وتقدير سموم الافلاتوكسين وطريقة أخرى لاستخلاص وتقدير سموم الاوكراتوكسين والسترنين، وقبل البدء بخطوات الاستخلاص تطحن عينات الحبوب أو البذور أو العينات الجافة.

المواد والأجهزة:

1- عينات مختلفة من الحبوب أو البذور أو المواد المصنعة منها.

2- محاليل من اسيتونايترال، هكسان، كلوروفورم، بنزين، ميثانول، حامض الخليك، إضافة إلى كاربونات النحاس وكبريتات الصوديوم.

3- صفائح كروماتوغرافيا السيليكاجيل (TLC).

4- هزاز، حمام مائي، منبذة، مبخر دوار وخلاط مغناطيسي.

5- جهاز الأشعة فوق البنفسجية U.V.light.

6- جهاز ماسح الكتروني TLC-scanner.

7- مجموعة زجاجيات.

استخلاص سموم الافلاتوكسين Extraction of aflatoxins

طريقة العمل:

1- توضع 25 غم من العينة في دورق مخروطي زجاجي سعة 250 مل ويضاف لها 250 مل ميثانول: ماء (60 : 40) وترج بجهاز الهزاز بسرعة 300 هزة / دقيقة لمدة ساعة.

2- يوزع خليط الدروق في أنابيب منبذة الطرد المركزي وتطرد بسرعة 2700 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق.

3- ينقل 125 مل من الراشح إلى قمع فصل ويضاف إليه 30 مل محلول ملحي مشبع و50 مل هكسان ويرج جيدا لمدة دقيقة مع مراعاة فتح الصنبور مرتين ثم يترك لفصل طبقة الهكسان (في الأعلى) عن طبقة الميثانول: ماء (في الأسفل).

4- تنقل طبقة الميثانول: ماء إلى قمع فصل آخر ويضاف لها 50 مل كلورفورم وترج جيداً لمدة دقيقة مع مراعاة فتح الصنبور مرتين ثم يضاف لها 50 مل ماء مقطر وترج جيداً لمدة دقيقة بعدها تترك لإتمام الفصل (طبقة الكلورفورم السفلى).

5- تنقل طبقة الكوروفورم (السفلى) إلى دورق زجاجي سعة 250 مل حاوي على 5 غم كاربونات النحاس وترج جيداً، ويضاف 50 مل كلوروفورم إلى قمع الفصل (في النقطة 4) ويرج جيدا ويترك حتى ينفصل، وتضاف طبقة الكلوروفورم إلى الدورق الحاوي على المستخلص الأولي (كاربونات النحاس) ويرج جيداً مرة أخرى ثم يترك لتترسب كاربونات النحاس في الأسفل.

6- تجرى عملية ترشيح لطبقة الكلوروفورم باستعمال ورق ترشيح Whatman2 ويغسل الدورق بـ25 مل كلوروفورم وترشح مرة أخرى.

7- يجفف الراشح بوضعه في حمام مائي 60 مْ، ثم يذاب في واحد مل من مزيج بنزين : اسيتونايترال (98 : 2) مل.

8- تؤخذ 10 مايكروليتر بواسطة ماصة دقيقة وتنقط على صفاح TLC من السيليكاجيل مع استخدام 5 مايكروليتر من قياسي الافلاتوكسين، ثم تنقل إلى الحوض الزجاجي الذي يحتوي على وسط الترحيل المكون من بنزين: ميثانول: حامض الخليك (85: 10: 5) مل على التوالي وبعد انتهاء عملية الفصل تفحص

صفائح الكروماتوغرافيا تحت الأشعة فوق البنفسجية U.V 366 nm، وتقاس كمية السم الفطري باستخدام الماسح الالكتروني TLC-scanner، مقدرة بجزء بالبليون (PPB).

استخلاص سموم الاوكراتوكسين والسترنين

Extraction of ochratoxin and citrinin

طريقة العمل:

1- يمزج 25 غم من العينة مع 40 مل من الماء في خلاط مغناطيسي وتترك لمدة ساعة ثم تعدل الحامضية إلى pH 2-3 بإضافة 5N HCl.

2- يضاف إلى المزيج 100 مل كلوروفورم ويوضع في الهزاز لمدة 30 دقيقة، ثم يمرر المزيج على ورقة ترشيح whatman2 وإلى دورق يحتوي 10 غم كبريتات الصوديوم اللامائية.

3- يبخر المستخلص بجهاز المبخر الدوار، ثم يضاف إلى المتبقي بعد التبخير والتجفيف 50 مل ميثانول + 75 مل هكسان ويوضع في قمع فصل ويرج جيداً ثم تؤخذ طبقة الميثانول وتجمع لثلاث مرات.

4- يرشح المستخلص خلال ورق ترشيح Whatman2 إلى دورق يحتوي على 10 غم كبريتات الصوديوم اللامائية، ثم يبخر كلياً بجهاز المبخر الدوار.

5- تستخدم صفائح السيليكاجيل ووسط الترحيل لغرض فصل السموم في المستخلص وكما ورد في الطريقة أعلاه عند استخلاص الافلاتوكسين، ثم تفحص البقع مقارنة مع السموم القياسية حيث أن كل سم يعطي لوناً مميزاً، وتقاس كمية السموم باستخدام الماسح الالكتروني مقدرة بجزء بالبليون (PPB).

رابعاً: تشخيص الأمراض الفطرية Diagnosis of Mycotic Diseases

ان تشخيص المرض الفطري من الأمور المهمة جداً للباحث المختص والطبيب المختص بهدف الوصول إلى التعرف على المسبب الحقيقي للمرض أو الإصابة التي تظهر على جسم المريض. لتحقيق هذا الهدف هناك ثلاثة طرق لتشخيص المرض الفطري سواءً كان سطحي ظاهري أو جهازي عميق وهي:

1- التشخيص السريري Clinical Diagnosis

يعتمد التشخيص السريري للمريض المصاب بمرض فطري على وجود العلامات والأعراض المرضية signs and symptoms التي تدل على وجود المرض الفطري، مثل نقصان الوزن، الكسل، السعال، الألم الموضعي، تقرحات في الجلد أو الأنسجة المخاطية وغيرها من العلامات والأعراض التي تساعد على تحديد الحالة المرضية ولو بشكل أولي.

وبما أن الأبواغ الفطرية وأجزاء الخيوط الفطرية تحمل في الهواء بسهولة فيتم استنشاقها من قبل الإنسان ولذلك تعد الرئتين موقع الإصابة الأول لمعظم الإصابات الفطرية، وغالباً ما يظهر المريض علامات وأعراض مرضية مزمنة في الجهاز التنفسي. حيث يعد السعال المزمن مع بلغم أو بدون بلغم، ألم الصدر وعسر التنفس هي أعراض اعتيادية للإصابات الفطرية. أن استمرار ارتشاح الجهاز التنفسي من خلال الأشعة السينية، أو ظهور جيوب فيها كرات فطرية، أو ظهور تقرحات صغيرة قد تشير إلى أن حالة الإصابة خاملة أو كامنة أو تتطور بشكل بطيء، وفي مثل هذه الحالات المشكوك فيها تحتاج إلى مزيد من الفحص. أن مثل هذه الأعراض قد لا تشير إلى وجود إصابات فطرية باطنية، نتيجة لاستنشاق الغبار الحامل للأبواغ أو أجزاء الغزل الفطري التي تسبب تفاعلات فرط الحساسية لدى العائل.

يعد الجلد موقعاً طبيعياً للأمراض الفطرية التي تسببها مجموعة من الفطريات يطلق عليها الفطريات الجلدية Dermatophytes التي تحدث التهابات الجلد الفطرية. حيث ان معظم حالات العدوى بهذا النوع من الفطريات تنحصر أعراضها السريرية بالحكة، الأحمرار، التقشر، تبقع أحمر حلقي وهي أعراض سريرية نموذجية للإصابة بما يسمى بالدودة الحلقية (Ringworm (Tinea، فقدان الشعر أو ما يسمى بسعفة الرأس Tinea capitis هو أحد الأعراض السريرية للإصابة بالفطريات الجلدية، عدوى المبيضات Candidiasis التي تصيب الأغشية المخاطية للفم وتعطي مظاهر سريرية متمثلة بقرحات متقبة مغطاة بغشاء كاذب أبيض تغطي الأغشية المخاطية للسان، الشفتين، مخاطية الشدق، اللوزتين، البلعوم وقد تصيب كامل الغشاء المخاطي للمجاري التنفسية.

ان معظم الحالات المرضية الفطرية التي تصيب الجلد والأغشية المخاطية قد تنحصر أعراضها على الحكة والإحمرار ولكن قد تكون الأعراض شديدة وقاتلة لدى فئة معينة من المرضى وخصوصاً المصابين بالعوز المناعي، حيث تصيب العدوى تجويف الفم والبلعوم والمريء والجهاز الهضمي والمجاري البولية والتناسلية، كما يمكن ان تتفاقم إلى حد وجودها في الدم أو القلب أو الدماغ، وعليه يجب إجراء بعض الفحوصات الإضافية منها أشعة للصدر، فحص الدم والإدرار للتأكد من عدم وجود حالات غير طبيعية تدلل على وجود إصابة فطرية جهازية.

2- التشخيص الجراحي Surgical Diagnosis

يعتمد التشخيص الجراحي على أخذ مقاطع تشريحية لعينات للمريض الذي يشك بأن لديه إصابة عميقة أو جهازية للتأكد من التغيرات النسيجية في المناطق المصابة إضافة إلى التأكد من وجود الفطر الممرض في الأنسجة المصابة. حيث تُظهر الإصابة الفطرية استجابات مختلفة من قبل أنسجة العائل من السهولة بمكان تمييزها وتشخيصها عند مقارنتها بالنسيج السليم غير المصاب. تنتج الفطريات أثناء تفاعلها مع الأنسجة المصابة أربعة أنواع من الالتهابات النسيجية Inflammatory tissues وهي:

أ- التهاب تقيحي .Purulent infl

ب- التهاب مزمن غير متخصص .Nonspecific chronic infl

جـ- التهاب ورمي حبيبي .Granulomatous infl

د- التهاب تنكرزي (موت موضعي) .Necrotizing infl

علماً بأن أي فطر ممرض يستطيع أن يسبب واحدا أو أكثر من هذه الالتهابات اعتماداً على العامل المناعي للمريض.

النوع الأول من الالتهابات يتميز بتجمع أعداد كبيرة من كريات الدم البيضاء متعددة الأشكال في موقع الإصابة والتي تظهر على شكل خراجات abscesses، أو تفرز بشكل سائل يبدو وكأنه قيح Pus. مثل هذه التفاعلات يسببها الشكل الخميري للفطر *Blastomyces dermatitides* وتسببها الأبواغ الداخلية للفطر *Coccidioides immitis*، كما أن الخيوط الفطرية العريضة وغير المقسمة وغير المنتظمة والملتفة للفطر *Zygomycetes* sp. تشترك عادة بمثل هذا النوع من الالتهابات. تعطي الإصابات التي تحصل تحت الجلد subcutaneous التي يسببها الفطر *Sporothrix schenckii* أيضاً التهاباً قيحياً.

في الإصابات الحادة قد يفشل المختص في فرز الفطر المسبب للمرض نتيجة للتجمع الكبير لخلايا الدم البيضاء وخلايا البلازما والخلايا البلعمية، كما يحصل مع النوع الثاني من الالتهابات.

أما النوع الثالث من الالتهابات فيستخدم لوصف حالة النسيج الذي تعرض لإصابة فطرية نتج عنها تكوين تجمعات عقدية صغيرة تظهر بشكل تورمات أو عناقيد أو خلايا عملاقة عديدة الأنوية. ان تكتل وتجمع الخلايا العملاقة وكريات الدم البيضاء وخلايا البلازما تمثل صورة نسيجية للالتهاب الذي يسببه كل من الفطر *Histoplansma capsulatum* والفطر *Coccidioides immitis*.

وبخصوص النوع الرابع من الالتهابات الذي يظهر في المرضى الفاقدين للمناعة واللذين ليس لأجسامهم القدرة على الاستجابة الخلوية. ان الإفرازات التي تتكون من النسيج المصاب تتكون بسبب حالات الاستسقاء edema، النزف الداخلي hemorrhage أو موت الخلايا بسبب الإصابة. يعد الفطر *Cryptococcus neoformans* الممرض الوحيد الذي لا يظهر استجابة التهابية للانسجة. كذلك الإصابات بأنواع الفطريات الانتهازية مثل *Aspergillus* sp. و *Candida* sp. لا تظهر استجابة خلوية.

3- التشخيص المختبري Laboratory Diagnosis

يعتمد هذا النوع من التشخيص على ما يقوم به المختصون في المختبرات الطبية من جهود للتعرف على طبيعة الفطر المسبب للمرض من خلال اتباع إحدى الطريقتين التي سبق التطرق إليهما في موضوع عزل الفطريات المرضية والفطريات الانتهازية والتي تتضمن وبشكل موجز الآتي:

أ- الفحص المجهري المباشر للعينة، يتم فحص المسحة (العينة) من المنطقة المصابة تحت المجهر المركب بعد معالجتها بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم 10% وتثبيتها على الشريحة الزجاجية، حيث يقوم محلول هيدروكسيد البوتاسيوم بتحليل خلايا النسيج تاركاً خلايا وخيوط الفطر الممرض مما يسمح برؤيتها بسهولة.

ب- زرع العينة، يتم أخذ مسحة (عينة) من المنطقة المدروسة (المصابة)، ثم توضع في طبق بتري يحتوي على الوسط الزرعي SDA ويحضن عند درجة حرارة 37 مْ لعدة أيام، ويمكن من خلال ملاحظة لون وشكل المستعمرات الفطرية أن تساعد في التعرف على الكائن الحي الموجود في العينة المدروسة (المنطقة المصابة)، إضافة إلى ذلك يمكن عمل شرائح زجاجية من المستعمرات النامية وفحصها مجهرياً للتأكد من نوع الفطر الممرض، علماً بأن هذه الطريقة

أقل استخداماً من الأولى لأنها تستغرق وقتاً طويلاً كما أنها حساسة وقد تكون عرضة للتلوث.

خامساً: التضاد الحيوي (الفطري) Myco – antagonism

لقد بدأت الفطريات بالدخول في المجالات الطبية من خلال هذا الموضوع الحيوي والمهم لأول مرة عام 1928 عندما اكتشف العالم الكسندر فلمنك Alexander Fleming عقار البنسلين Penicillin، والذي كان نتيجة لمتابعة هذا العالم لنمو مجموعة من الأحياء المجهرية بالقرب من بعضها البعض في بيئة واحدة ومكان واحد حيث لاحظ أن البعض منها يؤثر على البعض الآخر ويمنعها من النمو أو يثبط نموها، جعلته يبحث عن اسباب ذلك وقد توصل إلى أن النوع الأول منها له القدرة على أن يعمل بالضد من النوع الثاني الذي يتأثر نموه بشكل واضح مقارنة بالنوع الأول الذي يستطيع أن ينمو بحرية كاملة، واستطاع هذا العالم ان يعرف سبب ذلك وهو قدرة أحد الفطريات على إنتاج مواد في الوسط الذي تنمو فيه تعمل على منع نمو عدد من الفطريات والبكتريا الأخرى التي تنمو معه وهذا الفطر هو *Penicillium chrysogenum* وتمكن من عزل المادة المضادة التي أسماها بالبنسلين Penicillin حيث استخدمت في علاج الجروح والالتهاب الرئوي وأمراض أخرى في حينها واعتبر مضاداً فعالاً لعدد من البكتريا موجبة الكرام لإيقاف بناء مواد الجدار الخلوي للجراثيم. ومن هنا بدأ الاهتمام بموضوع التضاد الحيوي بين الأحياء المجهرية والبحث عن أنواع أخرى تعود لهذا الفطر أو أجناس أخرى، وفعلاً اكتشف أن نوع آخر يعود للفطر نفسه هو *P.griseofulvum* ينتج مضادا حيويا فعال جداً سمي griseofulvin، وهو من المضادات الحيوية الفعالة جداً في مكافحة الفطريات الجلدية Dermatophytes، ثم أعقبها اكتشاف جنس آخر من الفطريات هو *Cyathus helenae* ينتج أيضات ثانوية لها تاثيرات مضادة للأحياء المجهرية سميت بالـ Cyathin، وبعدها اكتشف فطر آخر له تأثيرات مماثلة هو *Chaetomium cochliodes* الذي ينتج مادة مثبطة

للأحياء المجهرية الأخرى سميت بالـ Chaetomin، ثم توالت الاكتشافات لتشمل فطريات أخرى من أهمها الفطر *Trichoderma* والفطر *Gliocladium* وغيرها من الفطريات.

ان أغلب الأحياء المضادة ولاسيما الفطريات لها القدرة على انتاج بعض المواد الأيضية التي بواسطتها تستطيع أن تنافس وتقاوم الأحياء الأخرى التي تكون موجودة معها في البيئة نفسها وهذا بالنتيجة يؤدي إلى تغلب الكائن المضاد وسيطرته على الفعاليات الحيوية للأحياء الممرضة، حيث أن هذه المواد التي تنتجها الأحياء المضادة هي غالباً ما تكون أنزيمات محللة تستخدمها هذه الأحياء في تحلل الجراثيم، أو تكون مواد مثبطة للنمو مثل المضادات الحيوية التي تتمكن من إيقاف نمو الجراثيم.

وللتأكد من القدرة التضادية لأي فطر من الفطريات مختبرياً تجاه الفطريات والبكتريا المرضية يجب إجراء بعض التجارب في المختبر لدراسة تاثير الفطر المضاد على نمو ونشاط الفطريات والبكتريا المرضية وكما يأتي:

تجربة رقم (8):

دراسة تأثير الفطر المضاد على نمو الأحياء المرضية في الوسط الصلب باستخدام طريقة الزرع المزدوج Dual – culture technique.

المواد:

1- أطباق بتري تحتوي على أوساط زرعية PDA، SDA، CZA.

2- ثاقب فلين قطر 8 ملم، أبرة تلقيح، ملاقط.

3-مصباح غازي أو كحولي.

4- مجموعة زجاجيات.

5- مزارع فطرية نقية وحديثة النمو للفطر المضاد والفطريات والبكتريا المرضية المتوافرة.

طريقة العمل:

1- تزرع الفطريات قيد الدراسة (المضادة والممرضة) كلٍ على حدة في أطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي المناسب، وذلك بأخذ قرصين من حافة المزرعة باستخدام ثاقب فلين معقم على لهب نار ويوضع القرصين في مراكز نصفي الطبق ويزرع كل فطر في طبق لوحده للمقارنة Control.

2- يزرع كل من الفطر المضاد والكائن الممرض في طبق بتري واحد بنفس الطريقة في (1) أعلاه بحيث يوضع قرص الفطر المضاد في مركز أحد نصفي الطبق ويوضع قرص الكائن الممرض في مركز النصف الآخر من الطبق نفسه (بالنسبة للبكتريا المرضية يمكن استخدام طريقة التخطيط في النصف الثاني من الطبق بدل القرص)، وهكذا بالنسبة للفطريات الأخرى وبتشكيله كاملة.

3- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 28 مْ أو 37 مْ حسب نوع الفطريات والأحياء المرضية.

4- تفحص الأطباق على فترات زمنية 3، 7، 10 أيام أو أكثر ولحين التقاء النمو من القرصين للفطر المضاد في أطباق المقارنة في (1) أعلاه.

5- تقاس قدرة الفطر المضاد تجاه الأحياء الأخرى باعتماد مقياس مكون من خمس درجات استخدمه Bell وآخرون (1982) لحساب مساحة النمو التي يشغلها كل من المضاد والممرض في داخل كل طبق وكما يأتي:

درجة 1= الكائن المضاد يغطي كل الطبق.

درجة 2= الكائن المضاد يغطي ¾ الطبق.

درجة 3= الكائن المضاد يغطي ½ الطبق.

درجة 4= الكائن الممرض يغطي ¾ الطبق.

درجة 5= الكائن الممرض يغطي كل الطبق.

علماً بأن درجة (1)ودرجة (2) تدل على أن الكائن المضاد له قدرة على التضاد الحيوي ويمكن اعتماده ككائن مضاد للأحياء المدروسة ويمكن أن تدرس قدرته على كائنات حية أخرى بنفس الطريقة، وللتأكد من قدرة هذا الفطر الذي أعطى درجات تضاد جيدة تجاه نمو الأحياء المرضية يفضل إجراء بعض الفحوصات على الأطباق التي أعطت درجات تضاد (1) و(2) وكما يأتي:

طريقة العمل:

1- تؤخذ أجزاء من النمو في منطقة تماس أو التقاء الكائن المضاد بالكائن الممرض وتوضع على شريحة زجاجية نظيفة مع قطرة ماء مقطر معقم، وتعمل شرائح من أطباق المقارنة للكائنين.

2- تفحص الشرائح الزجاجية، وتلاحظ الخيوط الفطرية وأبواغ الكائن الممرض وتسجل التغيرات الحاصلة عليها بعد فحص معاملات المقارنة، ستلاحظ مثلاً، تكتل محتويات السايتوبلازم في خلايا خيوط الفطر الممرض أو تحلل الخيوط الفطرية أو انتفاخ أطراف أو نهايات الأبواغ وانفجارها.

3- لاحظ أنه قد لا يحصل تماس بين الفطر المضاد والكائن الممرض حيث تظهر منطقة منع أو تثبيط نمو Inhibition Zone دلالة على النشاط التضادي للفطر المضاد (لوحة 10-4).

تجربة رقم (9):

دراسة تأثير رواشح الفطر المضاد على نمو الأحياء المرضية في الوسط الصلب

المواد:

1- المواد نفسها الواردة في تجربة (8) أعلاه.

2- أوساط زرعية سائلة PD، SD، CZ.

طريقة العمل:

1- تستخدم دوارق مخروطية حجم 250 مل، يوضع في كل دورق 50 مل من الوسط الزرعي ويتم تعقيمها بالموصدة عند درجة حرارة 121 مْ لمدة 15 دقيقة.

2- تلقح الدوارق يوضع قرص واحد قطره 8 ملم من مزرعة الفطر المضاد بعمر 7-10 أيام في كل دورق، وبالنسبة لمعاملة المقارنة تركت الدوارق الحاوية على الوسط الزرعي فقط تحت الظروف نفسها، ثم تحضن الدوارق عند درجة حرارة 28 مْ ولفترات حضانة مختلفة 7، 14، 21 يوماً وبعد انتهاء كل فترة حضانة يتم ترشيح مزارع الفطر المضاد ودوارق معادلة المقارنة وذلك باستخدام قمع بخنر معقم وتحت ظروف معقمة.

3- يتم تعقيم الراشح باستخدام مرشحات بكتيرية نوع Millipore filter قطر ثقوب ورق الترشيح 0.4 مايكرون.

4- تحضر الأوساط الزرعية الصلبة المطلوبة وبعد أن تعقم تبرد إلى درجة 42 مْ ثم يضاف الراشح بنسبة 10% إلى الأوساط الزرعية قبل تصلبها وتمزج جيداً، وبالنسبة لمعاملة المقارنة يضاف لها النسبة نفسها 10% من الوسط السائل PD إلى الأوساط الزرعية الصلبة قبل تصلبها.

5- تلقح الأطباق بأقراص من مزارع الأحياء المرضية وتوضع بشكل مقلوب في مركز كل طبق ثم تحضن عند درجة حرارة 28 مْ ولمدة أسبوع ثم يتم قياس النمو الفطري.

6- تجرى عملية مقارنة بين نتائج تأثير الراشح على نمو الأحياء المرضية مع نتائج التجربة رقم (8) للتأكد من أن الفطر المضاد ينتج مواد مثبطة للأحياء المرضية.

سادساً: التطفل الحيوي (الفطري) Myco-parasitism

ان ظاهرة التطفل الفطري معروفة منذ أمد بعيد بين المجاميع الفطرية لكن أهميتها تكمن في إمكانية حدوثها في الظروف الطبيعية بوجود الكائنات المتنافسة وتحت التأثير المباشر للظروف البيئية المتغيرة، فقد وجد أن أنواعا من جنس الفطر *Trichoderma* وجنس الفطر *Gliocladium* تهاجم الكثير من الفطريات إما عن طريق إرسال خيوط فطرية على شكل حلزوني أو لولبي hyphal coils تلتف على خيوط الفطر الممرض، أو بواسطة نمو فطري على هيأة خطاطيف hooks تحيط بخيوط الفطر الممرض، أو عن طريق تكوين تراكيب ضاغطة appressoria تلامس خيوط الفطر الممرض وجميع هذه التراكيب تساعد الفطر المتطفل في الحصول على غذائه من الفطر الممرض، كما وجد أن لهذه الفطريات إضافة للتطفل المباشر نشاط أنزيمي عالي يعمل بواسطة تحلل الجدار الخلوي للفطر الممرض واختراقه بسهولة، مثل انزيم الكلوكانيز Glucanase وأنزيم الكايتنيز Chitinase، والحصول على الغذاء مباشرة دون الحاجة إلى تكوين أي من التراكيب المشار إليها أعلاه، ولتوضيح هذه الحالات في المختبر يمكن إجراء التجربة التالية:

تجربة رقم (10):

دراسة ظاهرة التطفل الحيوي باستخدام أحد الفطريات المتطفلة ضد عدد من الفطريات الأخرى

المواد:

1- الأوساط الزرعية والمواد الأخرى التي استخدمت في التجربة (8).

2- مزرعة حديثة من الفطر المتطفل *Trichoderma harzianum* ومزرعة حديثة من أحد الفطريات الأخرى المتوافرة لكي يستخدم كعائل host للفطر أعلاه.

طريقة العمل:

1- يزرع كل من الفطر المتطفل والفطر العائل في أطباق بتري باستخدام طريقة الزرع المزدوج التي سبق ذكرها في التجربة (8).

2- تتبع الخطوات نفسها في التجربة (8) أعلاه من حيث حضن الأطباق ومتابعة النمو لحين التداخل بين الفطرين.

3- تحضر شرائح زجاجية من مناطق تماس نمو الفطرين وتفحص تحت المجهر للتأكد من وجود حالات تطفل الفطر المتطفل على الفطر العائل من خلال فحص التراكيب المتكونة حول خيوط الفطر العائل.

4- لاحظ وجود الخيوط الحلزونية الملتفة على خيوط الفطر العائل والتي تمثل خيوط الفطر المتطفل، ولتتميز خيوط كل من الفطر المتطفل والفطر العائل يجب فحص خيوط كل من الفطرين من مزارع أخرى نقية لكل منهما. (لوحة 10-5).

5- في حالة عدم العثور على اي من التراكيب الفطرية التي يستخدمها الفطر المتطفل للحصول على غذائه من الفطر العائل يمكن ترك الأطباق الحاوية على الفطرين المتطفل والعائل المشار إليها في الخطوة (2) أعلاه لفترة زمنية أطول ستلاحظ أن الفطر المتطفل سينمو فوق الفطر العائل ويغطيه دلالة على النشاط

الأنزيمي للفطر المتطفل الذي ينتج عنه تحلل الفطر العائل ونموه عليه مباشرة (لوحة 10-5).

سابعاً : السيطرة على الفطريات Fungal Control

هناك الكثير من المواد السامة للفطريات،عضوية كانت أم غير عضوية ، يستخدمها الإنسان لمقاومة الفطريات والسيطرة على مختلف الأضرار التي تسببها إضافة إلى معالجة الأمراض التي تحدثها هذه الكائنات الدقيقة للإنسان والكائنات الحية الأخرى.

ان عمل المواد الكيمياوية وطبيعة تاثيراتها على الفطريات يختلف حسب نوع المادة، فقسم منها يطلق عليه بالمواد الموقفة للنمو Fungistatic أي لا تؤدي إلى قتل الفطريات وإنما إيقاف نموها لفترة زمنية محددة، والقسم الآخر يطلق عليه المواد القاتلة (المبيدة) للفطريات Fungicidal أو المبيدات Fungicides. وقد قسمت المبيدات الفطرية على أساس فعلها وتأثيرها إلى نوعين، الأول تلامسي Contact لتأثيرها الموضعي نتيجة تلامس المبيد مع المنطقة المعاملة به وعدم قدرته في التأثير على المناطق الأخرى من جسم الكائن البعيدة عن المنطقة المعاملة بالمبيد، والثاني جهازي Systemic ويتميز بتأثيره العام وقدرته على الانتقال إلى اجزاء ومناطق أخرى من جسم الكائن وحمايته من انتقال الفطر أو الإصابة وهذا النوع يستخدم في الإصابات الداخلية أو العميقة، بينما النوع الأول يستخدم في الإصابات السطحية أو الخارجية.

تختلف المبيدات الفطرية في درجة تأثيرها على الفطريات المختلفة فمنها ما هو مؤثر على نوع معين ومحدد ولا يؤثر على نوع آخر أي أن قسما منها تخصصية Specific، والقسم الآخر ذو مدى واسع في التأثير على أكثر من نوع من الفطريات، كما أن قسـ آخر من المبيدات قد ينحصر تأثيرها على نمو الخيوط الفطرية (الطور الخضري) ولا يتعداه إلى التاثير في الأبواغ (الطور التكاثري)، أو العكس، وقد يعتمد ذلك على آلية عمل المبيد فمنها ما يؤثر على الانقسام

الخلوي وأخرى تؤثر على العمليات الحيوية والفسلجية، أو الجدار الخلوي والنفاذية وهكذا.

تحضر غالبية المبيدات الفطرية بشكل تجاري على هيأة مزيج من مركبات كيمياوية مختلفة منها الناشرة ومنها المثبتة وهي مواد خاملة إضافة إلى المادة الفعالة، جميع هذه المواد تعطي للمبيد الفطري مجال نشاط أوسع أو أطول. تجرى عملية فحص كفاءة المبيد الفطري بقياس كمية المادة الفعالة (a.i.) Active ingredient اللازمة لتثبيط نمو الفطر وقتله بنسبة إما 50% أو 100% وتعرفان بالجرعة المميتة Lethal dose (LD_{50} أو LD) على التوالي.

يتوقف نجاح عملية السيطرة على الفطريات بواسطة المواد الكيمياوية على الأسلوب الصحيح والطريقة الصحيحة والجرعة الصحيحة لاستعمال مثل هذه المواد والتي لا تخلو من مخاطر حقيقية على صحة الإنسان والكائنات الحية الأخرى. فمثلاً في حالة الفطريات الطبية هناك نوعين من المبيدات الفطرية الأول يستخدم لمعالجة الإصابات السطحية حيث تستعمل على شكل مرهم Ointment أو كريم Cream لمعالجة المنطقة المصابة من سطح جسم الإنسان، والثاني يستخدم لمعالجة الإصابات العميقة أو الداخلية حيث يستعمل على شكل أقراص أو كبسولات أو تحاميل. ولتوضيح تاثير المبيدات الفطرية على نمو الفطريات في المختبر يمكن إجراء التجربة التالية:

تجربة رقم (11)

دراسة تأثير المبيدات الفطرية على نمو الفطريات في المختبر

المواد:

1- اطباق بتري معقمة تحتوي على أوساط زرعية متنوعة PDA، SDA، CZA، مضافا إليها المبيد الفطري بتراكيز مختلفة ويعقم ويضاف إلى الأوساط الزرعية بالطريقة نفسها التي استخدمت في راشح الفطر المضاد في تجربة (8).

2- مجموعة من المبيدات الفطرية أو الأدوية المضادة للفطريات مثل Chlotrimazole، Fluconazole، Cyclosporine وغيرها.

3- المواد نفسها التي استخدمت في التجارب السابقة.

4- مزارع فطرية تعود لفطريات مرضية أو انتهازية من التي ورد ذكرها في هذا الفصل، نميت في أطباق بتري على أوساط زرعية مناسبة.

طريقة العمل:

1- تحضر الأوساط الزرعية المناسبة لنمو الفطريات التي اختيرت لإجراء التجربة، وتوزع في دوارق مخروطية وبالكمية المطلوبة لعدد المعاملات (نوع المبيد + التراكيز)، ثم يضاف إليها المبيد بالطريقة نفسها التي استخدمت في راشح الفطر المضاد في تجربة (8)، وتمزج جيداً.

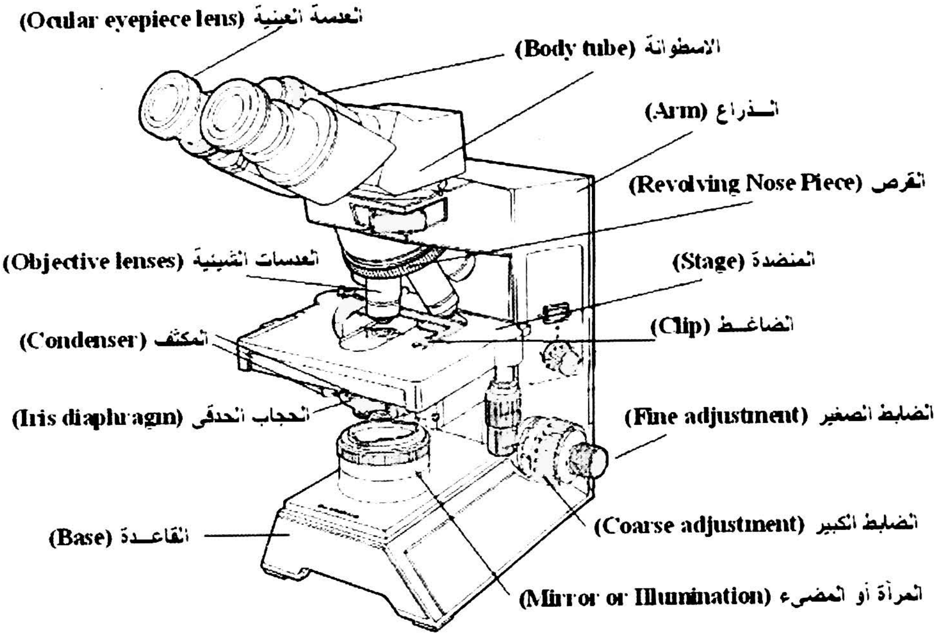
2- يصب الوسط الزرعي الحاوي على المبيد في أطباق بتري معقمة ثم تترك حتى تبرد وتتصلب.

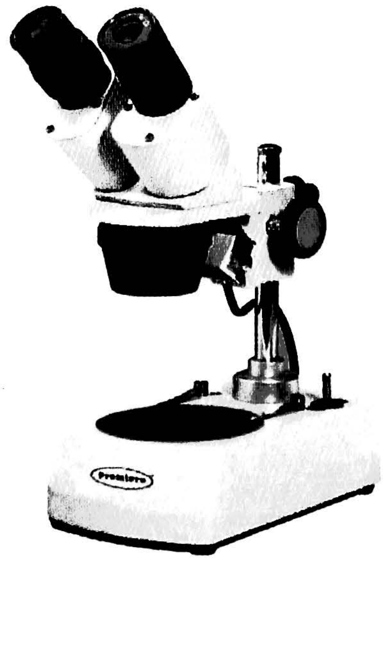
3- تلقح الأطباق بأقراص من مزرعة الفطر الخاضع للدراسة باستخدام ثاقب فلين معقم قطره 0.8 ملم، حيث تنقل الأقراص بواسطة أبرة معقمة إلى الأطباق وبواقع قرص واحد في مركز كل طبق.

4- تحضن الأطباق عند درجة حرارة 28 مْ أو 37 مْ، حسب نوع الفطر، وتترك لمدة 7-10 أيام ثم تفحص.

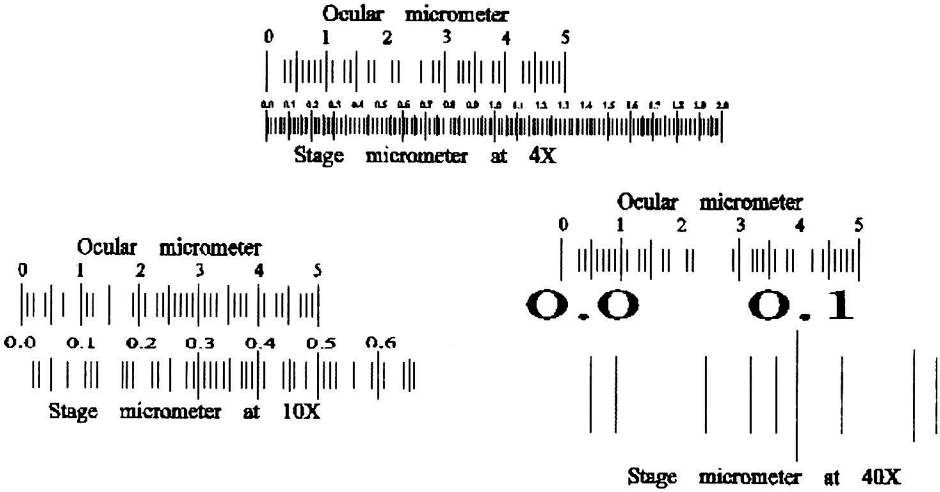
5- يقاس معدل نمو الفطر في جميع المعاملات بقياس معدل قطر مستعمرة الفطر وباتجاهين متعامدين، وتتم مقارنة النتائج مع نتيجة معاملة السيطرة لمعرفة مدى تأثير المبيد قيد الدراسة على الفطر الممرض والتركيز المناسب لذلك.

الاشكال واللوحات

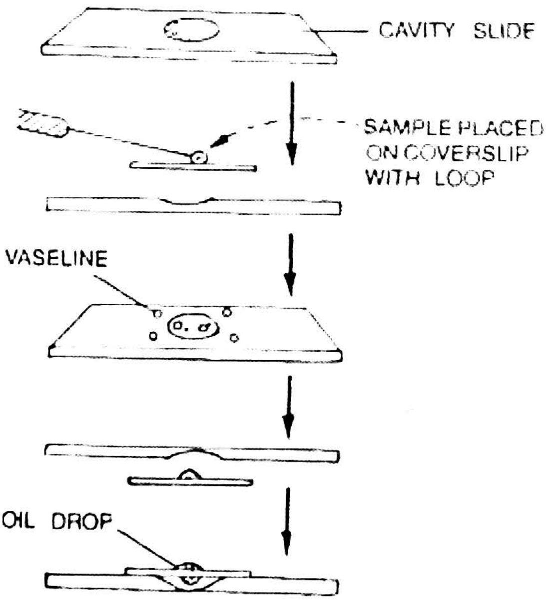




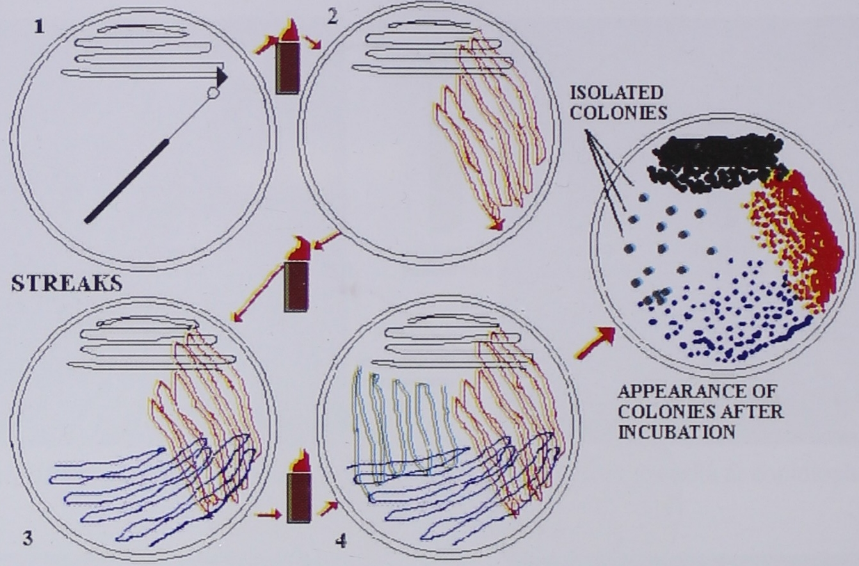
شكل.1.1. يوضح المجهر المركب وأجزائه المختلفة (في الاعلى)، إضافة إلى مجهر التشريح (في الأسفل).



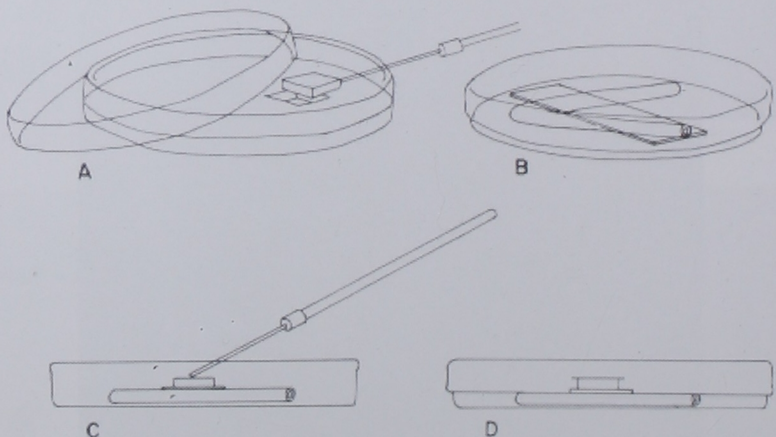
شكل 2. 1. يوضح المسطرة العينية والمسطرة الشيئية ومطابقتهما (معايرتهما) على قوى تكبير مختلفة .(40X,10X,4X)



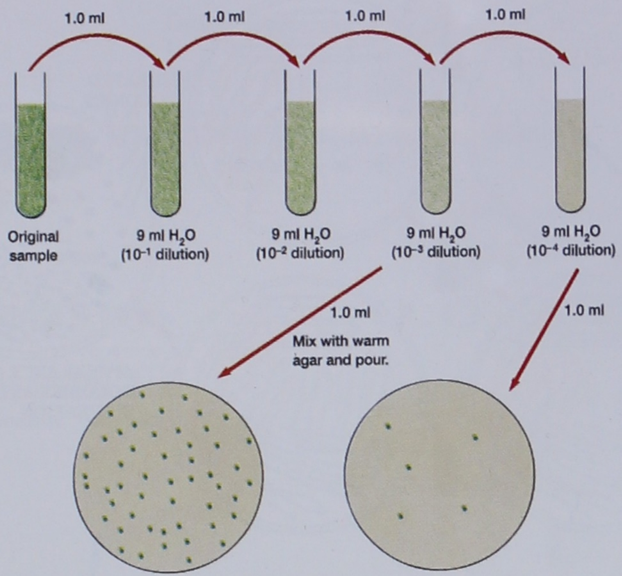
شكل 5. 1. يوضح خطوات تحضير نموذج لإنبات الأبواغ بطريقة شريحة القطرة المعلقة



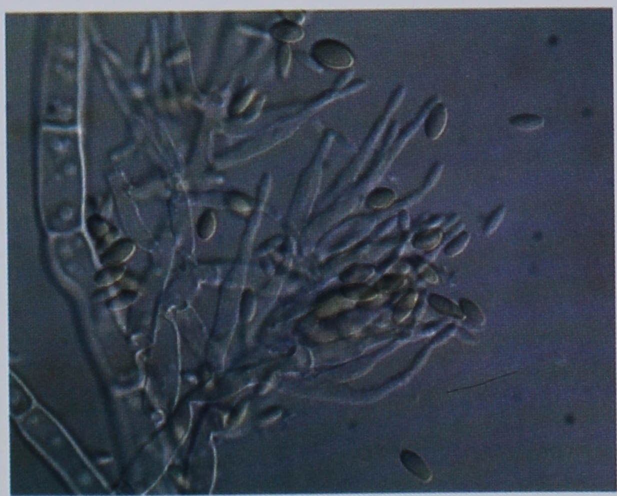
شكل 1.6 . يوضح طريقة التخطيط في عزل الفطريات للحصول على مزرعة نقية.



شكل 6. 2. يوضح خطوات طريقة تحضير مزرعة الشريحة الزجاجية



شكل 6. 3 . يوضح عزل الفطريات من التربة بطريقة التخفيف.



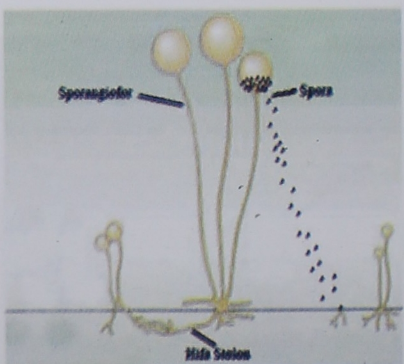
شكل 7. 1. يوضح الابواغ المفردة أحادية الخلية المطلوبة في تقنية البوغ المفرد .

Penicillium , conidia & conidiophores

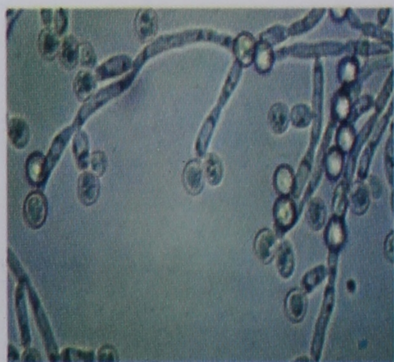
Aspergillus, conidia & conidiophores

Alternaria, conidia

Fusarium, conidia



Rhizopus, sporangia & sporangiophores



Candida, pseudohyphae & chlamydospores

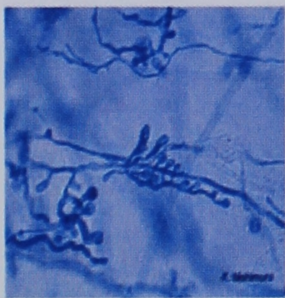
لوحة 6. 2. مجموعة من الفطريات الانتهازية التي تستهدف الإنسان والحيوان.

Epidermophyton \ conidia

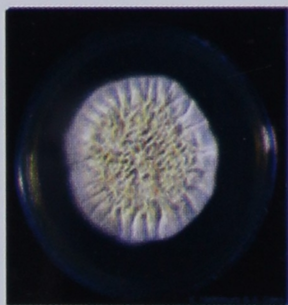
Epidermophyton \ hyphae

Epidermophyton \ colony

Trichphyton \ conidia



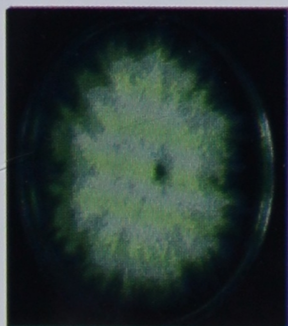
Trichphyton \ hyphae



Trichphyton \ colony

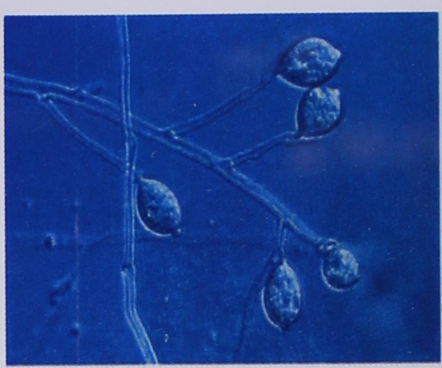
Microsporum \ conidia

Microsporum \ hyphae



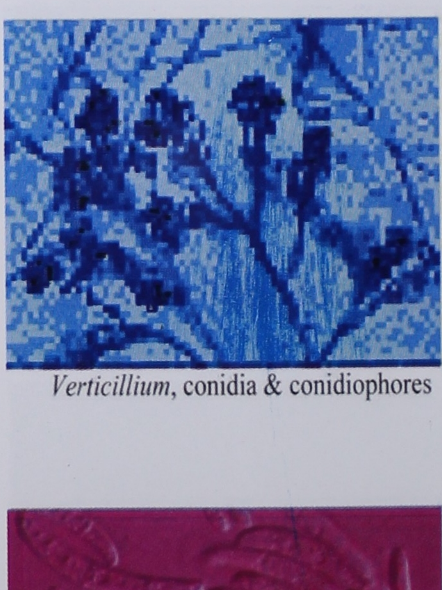
Microsporum \ colony

لوحة 6 . 1 . توضح عدد من الفطريات الجلدية الطبية الممرضة للانسان والتي يمكن عزلها من الجلد ومشتقاته.

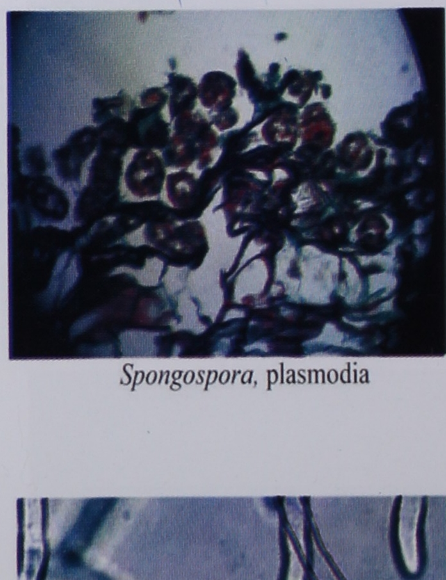


Phytophthora , sporangia

Pythium, sporangia & vesicles

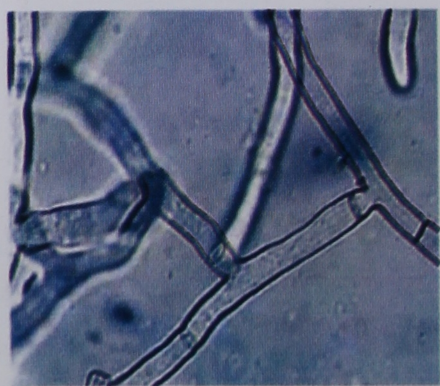


Verticillium, conidia & conidiophores



Spongospora, plasmodia

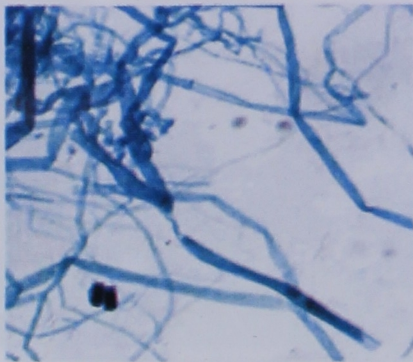
Fusarium, conidia



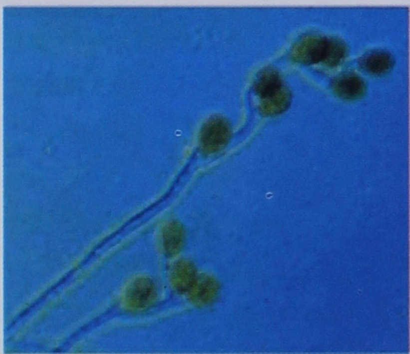
Rhizoctonia, hyphae

لوحة 6 . 4 . مجموعة من الفطريات المستوطنة في التربة التي تستهدف النباتات في الحقل.

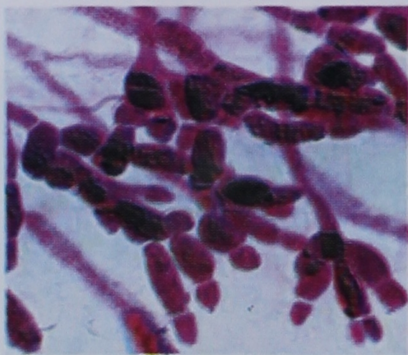
Saprolegnia \ sporangium



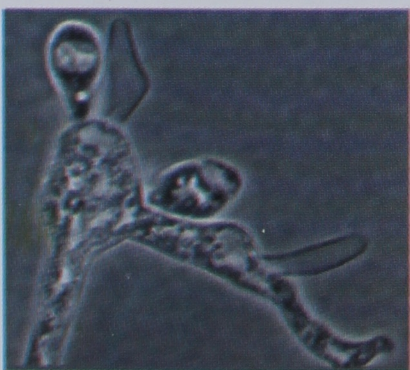
Saprolegnia \ mycelium



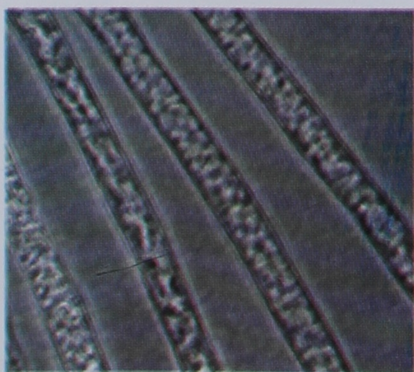
Allomyces \ sporothallus



Allomyces \ gametothallus



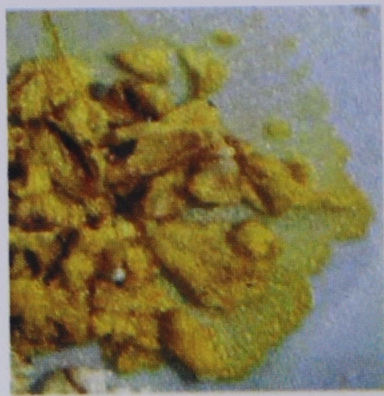
Monoblepharis \ oogonium & antheridium



Monoblepharis \ somatic hyphae

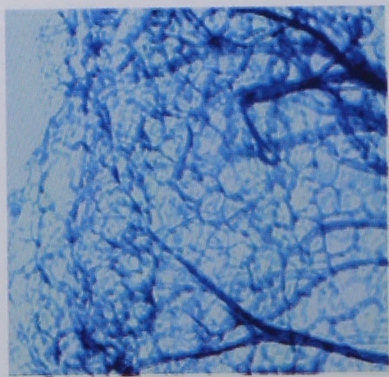
لوحة 6 . 3 . توضح الغزل الفطري والوحدات التكاثرية لعدد من الفطريات المائية .

Physarum \ plasmodium



Physarum \ growth on agar

stemonitis \ sporing stage



Stemonitis \ plasmodium

Fuligo \ sporing stage

Fuligo \ slimy plasmodium

لوحة 6. 5 . تبين عدد من الفطريات الهلامية وامكانية عزلها على الوسط الزرعي وملاحظة حركةالبروتوبلازم في عروق البلازموديوم.

Armillaria

Amanita

Agaricus

Boletus

Lactarius

Coprinus

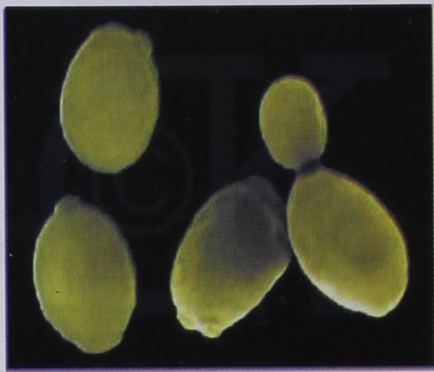
Psilocybe

Schizophyllum

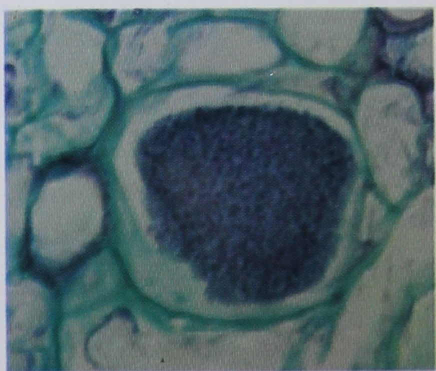
Paxillus

لوحة 6.6 . الاجسام الثمرية لمجموعة من فطريات العراهين المهمة والشائعة التي تنتشر في الحقول والبساتين.

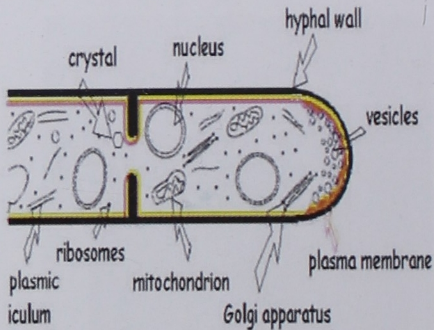
Yeast type growth \ pseudohyphae



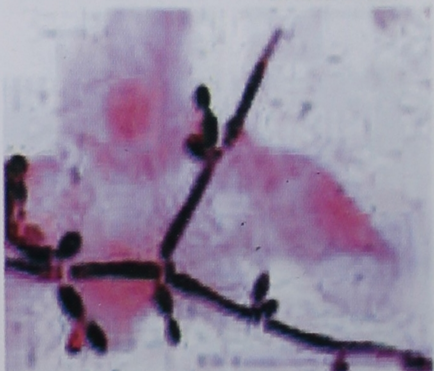
Yeast type growth \ budding



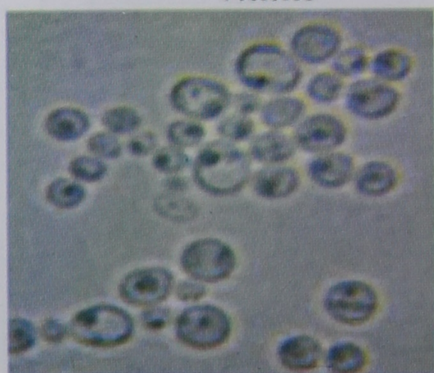
Plasmodial growth \ plasmodium in host cell



Apical growth \ hyphal tip with vesicles

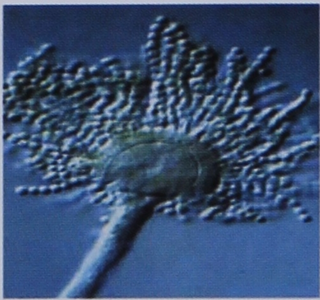


Dimorphic growth \ hyphal form



Dimorphic growth \ yeast form

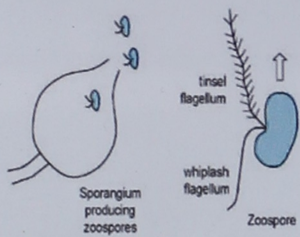
لوحة 7 . 1 . توضح أنواع النمو في الفطريات ، الخميري ، البلازمودي ، ألقمي والثنائي الشكل.



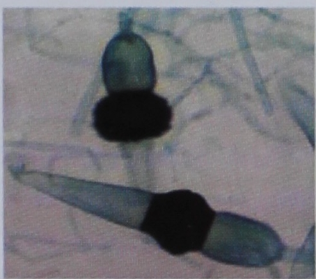
Conidiospores \ aplanospores

sporangiospores \ aplanospores

Vesicle \ zoospores

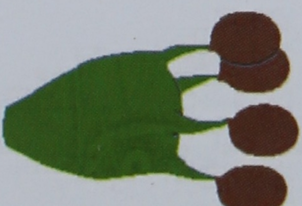


sporangium \ zoospores



Zygosores

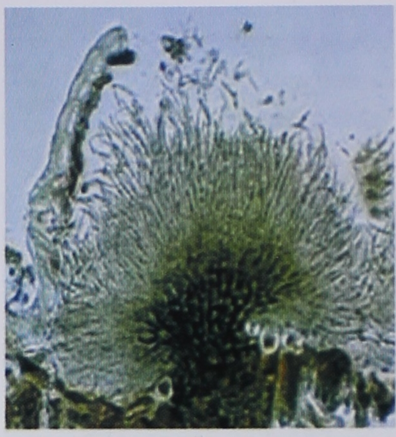
Oospores



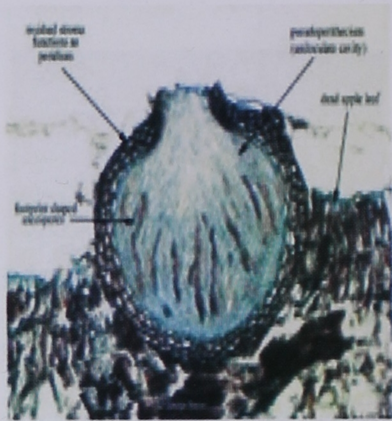
Bsidiospores

Ascospores

لوحة 7 . 2 . توضح أنواع الأبواغ اللاجنسية ،الساكنة والمتحركة الحافظية والكونيدية إضافة إلى الأبواغ الجنسية التي تكونها الفطريات (الاربعة السفلى).

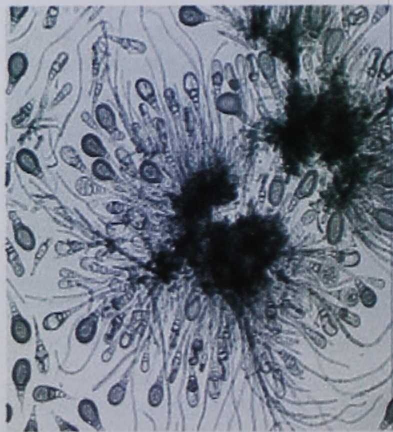


Acervulus الكويمة الكونيدية

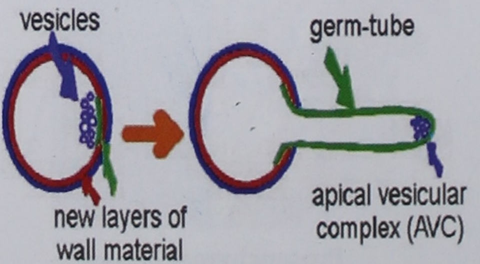


Pycnidium البكنيدة

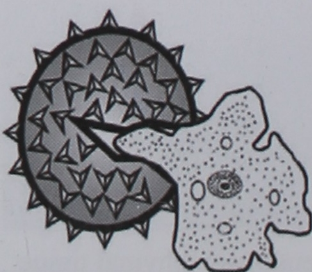
Synnema الظفيرة الكونيدية



Sporodochium لوسادة البوغية

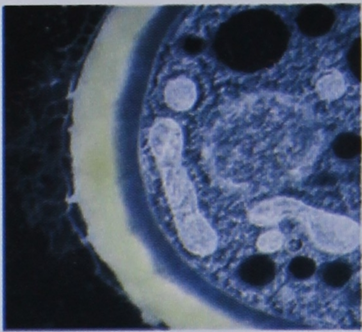


Germinating spore of true fungi /
forming germ tube

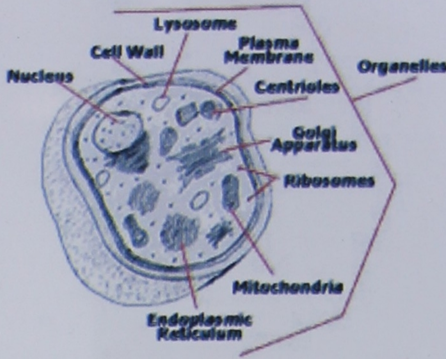


Germinating spore of slime molds/
forming myxamoeba

لوحة 7 . 3 . تبين التراكيب الفطرية اللاجنسية التي تتكون من تجمع الحوامل الكونيدية وإنبات الأبواغ.

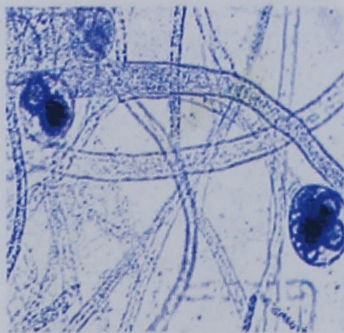


Fungal cell wall

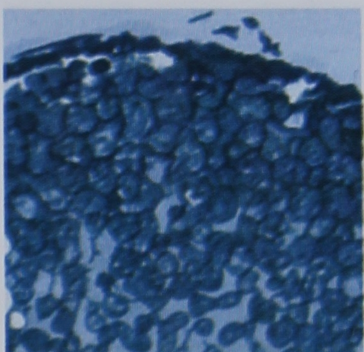


Fungal cell

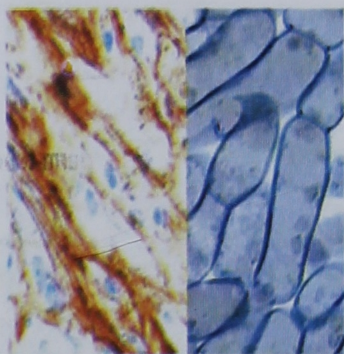
Septate hyphae



Aseptate hyphae (Coenocytes)



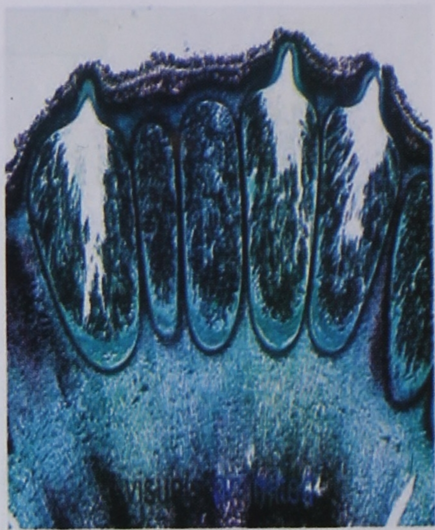
Pseudoparenchymal tissue



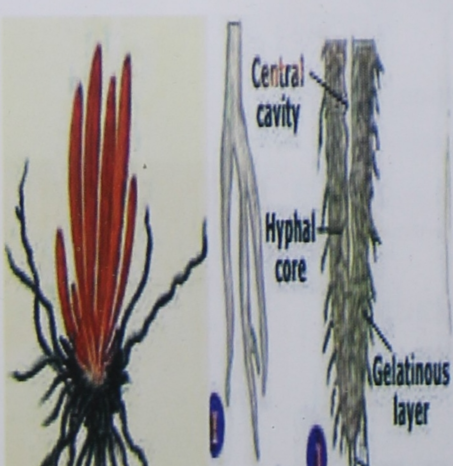
Prosenchymal tissues

لوحة 7 – 4 . توضح التركيب الأساسي لجسم الفطريات، عضيات الخلية الفطرية ، أنواع الخيوط الفطرية و أنواع الأنسجة الفطرية.

Sclerotium / somatic structure



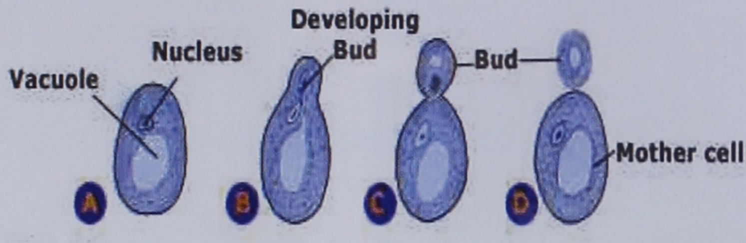
Stroma / reproductive structure



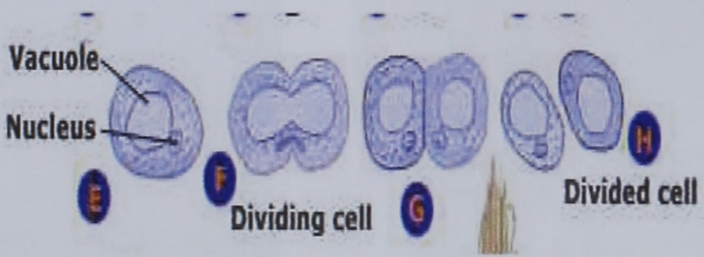
Rhizomorph / vegetative stracture

Hyphal (mycelial) strands

لوحة 7 – 5 . تبين بعض التراكيب الفطرية ، تراكيب تكاثرية ، تراكيب جسمية و تراكيب خيطية (غزلية) خاصة.

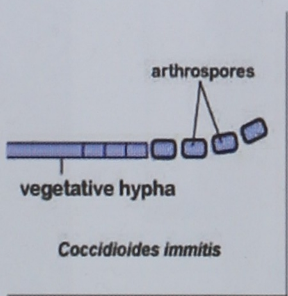


Asexual reproduction / budding



Asexual reproduction / fission

Oidiospores

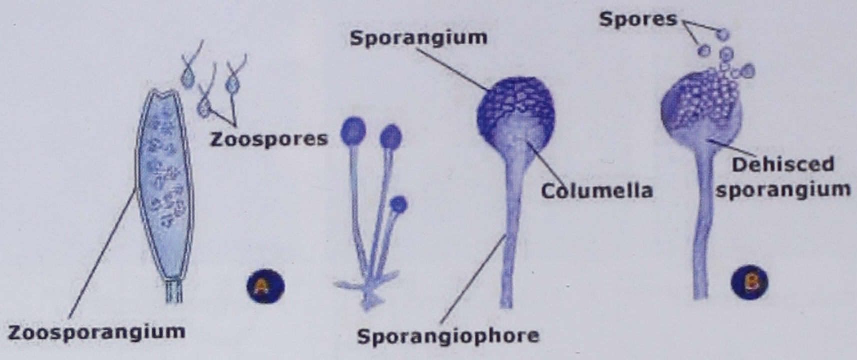


Arthrospores

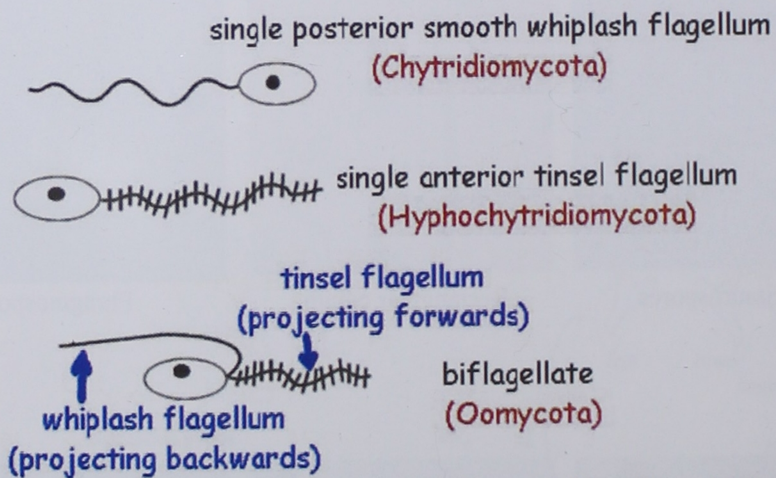
Chlamydospores

Asexual reproduction / fragmentation

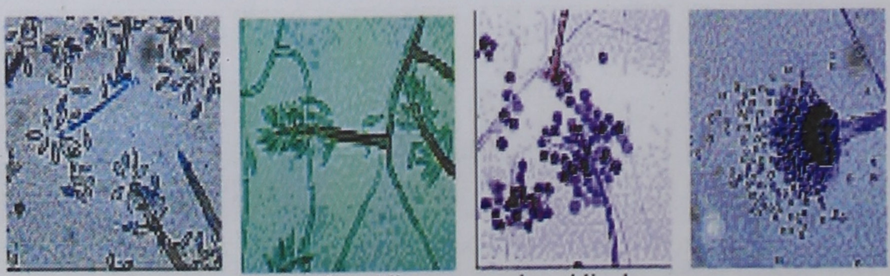
لوحة 7 . 6 . تبين طرق التكاثر اللاجنسي في الفطريات أحادية الخلية والفطريات الخيطية.



Aseual reproduction / spore formation (sporangiospores)



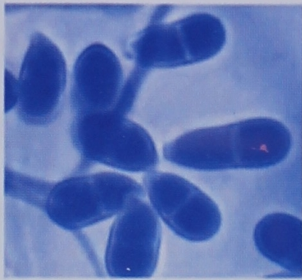
Types of planospores (zoospores), monoflagellate and biflagellate, whiplash or tens



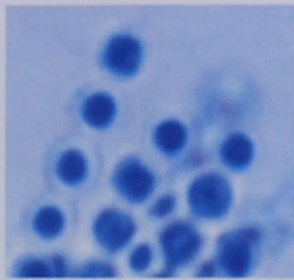
Types of conidiospores and conidiophores

لوحة 7 . 7 . توضح التكاثر اللاجنسي في الفطريات بطريقة تكوين الأبواغ الحافظية غير المتحركة والمتحركة بأسواط مختلفة الأنواع ، إضافة الى الأبواغ الكونيدية أو الكونيدات.

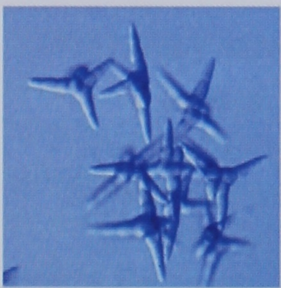
Crescent-shaped conidia



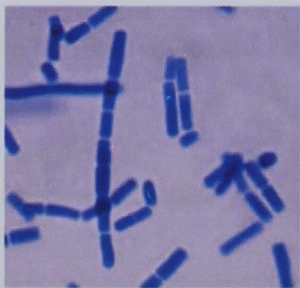
Didymospores



Amerospores

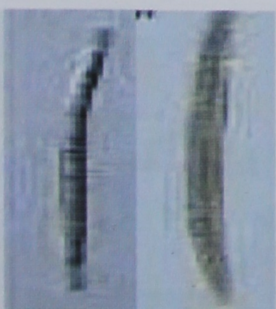


Staurospores



Rectangular conidia

Phragmospores



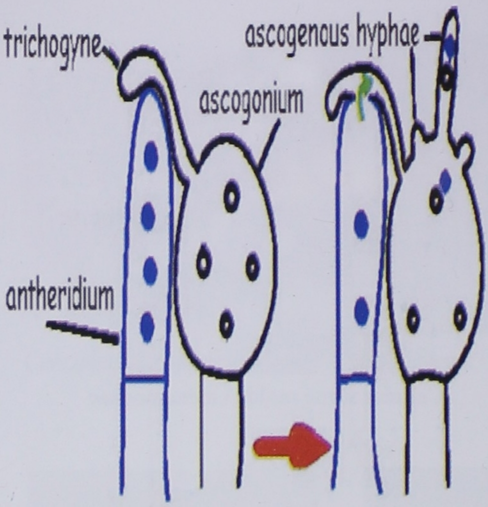
scolecospore

Dictyospore

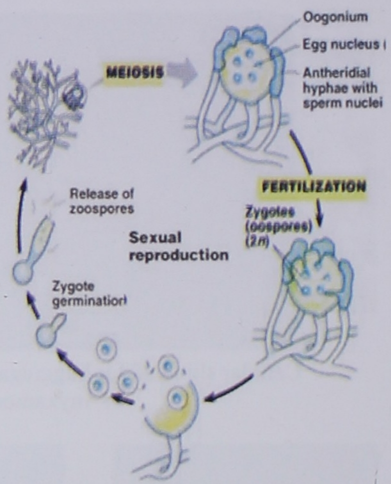
Helicospore

Different types of fungal conidia

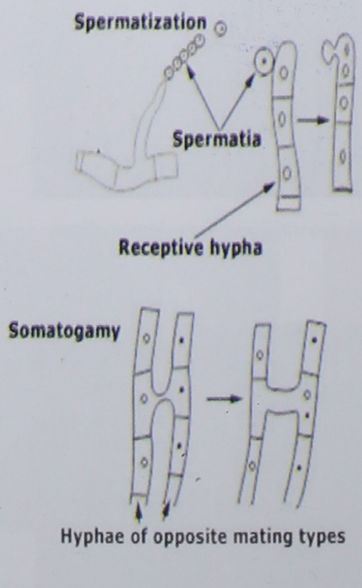
لوحة 7. 8 . ألأنواع المختلفة من الأبواغ الكونيدية (الكونيدات) التي تنتج عن طريقة التكاثر اللاجنسي.



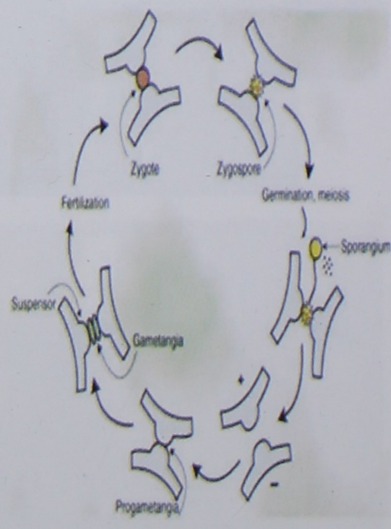
Gametangial contact (Ascomycetes)



Gametangial contact (Oomycetes)

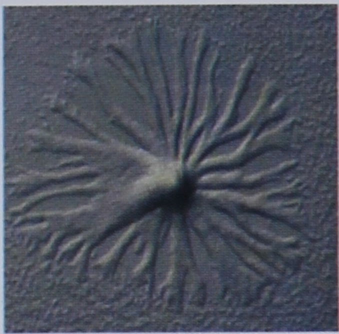


Spermatization & Somatogamy
(Basidiomycetes)



Gametangial copulation (Zygomycetes)

لوحة 7. 9 . توضح طرق التكاثر الجنسي المختلفة في الفطريات عموما".

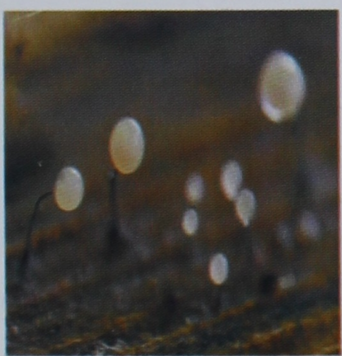


Cellular slime molds \ aggregation of myxamoebae

Cellular slime molds \ mexamoebae

Cellular slime molds \ sorocarp

Dictyostelium \ pseudomycelium



Ceratiomyxella \ sporogenesis

Polysphendylium \ macrocysts

لوحة 9 . 1. توضح مراحل تطور الطور البوغي في الفطريات الهلامية الخلوية .

Ceratiomyxa \ single column

Ceratiomyxa \ enlarged view

Ceratiomyxa \ habit

Plasmodiocarp

Plasmodium

Sporangium

Sporangium initials

Capillitium

Aetalia

لوحة 9. 2 . توضح الفطريات الهلامية خارجية الأبواغ وداخلية الأبواغ وأنواع الأجسام الثمرية الهلامية

Stemonitis

Fuligo

Dictydium

Trichia

Arcyria

Physarum

Hemitrichia

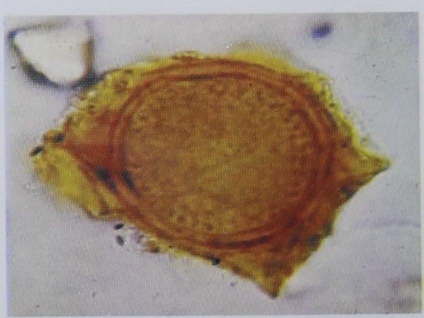
Lycogala

Didymium

لوحة 9 . 3 . الأجسام الثمرية لعدد من الفطريات الهلامية داخلية الأبواغ

Rhizophidium / parasitic on oogonia of water molds

Rozella / parasitic in *Allomyces*



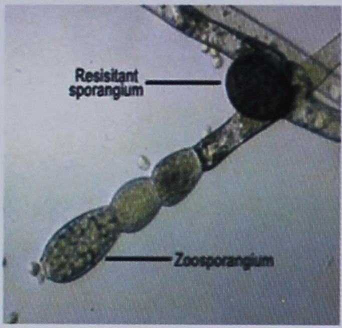
Synchytrium / sporangia in host cell

Chytridium / rhizoidal system

Chytrid \ sporangia in host cell

Chytriomyces \ rhizomycelium

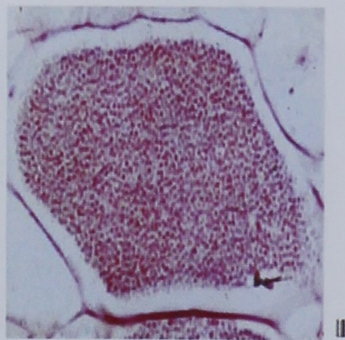
لوحة 9 . 4 . عدد من الفطريات الكتريدية كلية الأثمار وهي من الفطريات المسوطة احادية السوط.



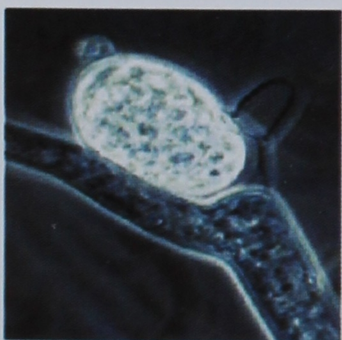
Allomyces \ sporothalus

Allomyces / gametothallus

Gonapodya / antherozoid



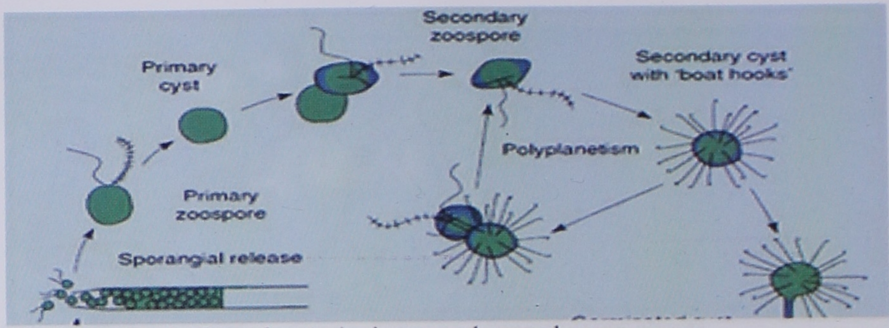
Plasmodiophora / resting spores in host cell



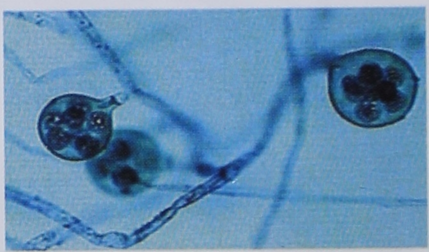
Monoblepharis /oogonium and antheridium

Spongospora / sporosori

لوحة 9 . 5 . عدد من الفطريات الكتريدية حقيقية الإثمار
وهي من الفطريات المسوطة أحادية السوط.

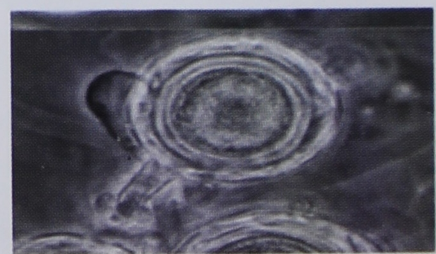


Saprolegnia / primary and secondary zoospoes



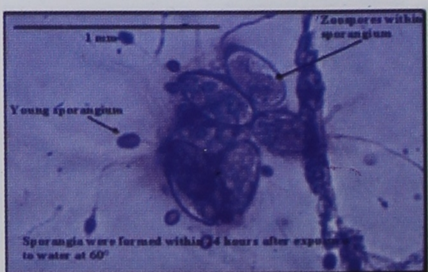
Saprolegnia / oospores

Saprolegnia / sporangia

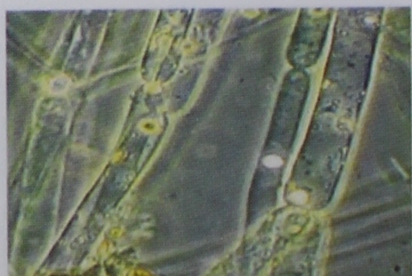


Aphanomyces / oogonia

Aphanomyces / sporania

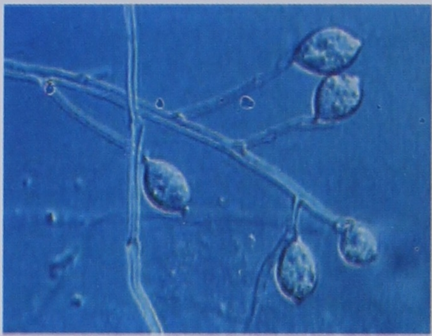


Leptomitus / sporangia

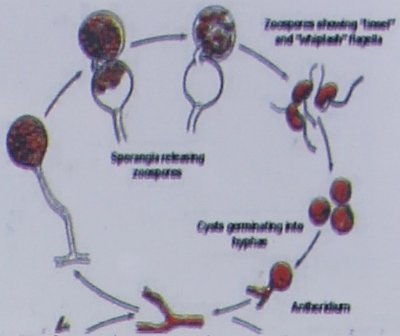


Leptomitus / hyphae

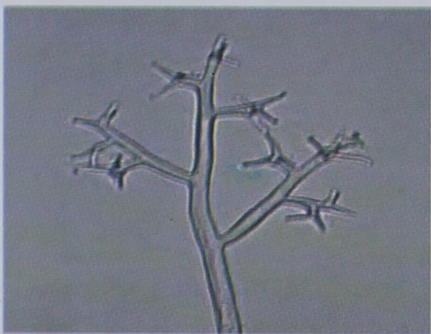
لوحة 9 . 6 . توضح عدد من الفطريات البيضية المسوطة ثنائية الأسواط، الحوافظ البوغية والمشيجية.



Phytophthora / sporangia

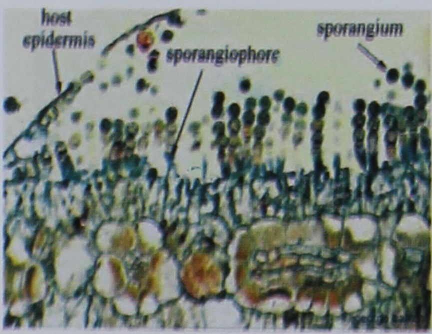


Pythium / sporangium and vesicle



Peronospora / sporangiophores

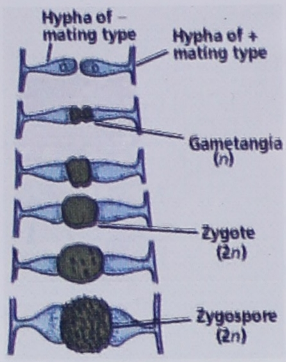
Plasmopara / sporangiophores



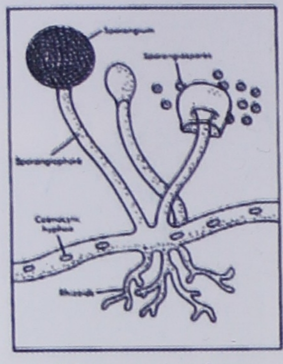
Albugo / chains of sporangia

Bremia / sporangiophores

لوحة 9 . 7 . تبين مجموعة من الفطريات البيضية المتطفلة على النباتات الراقية وطبيعة الاختلافات بين حوامل الحوافظ البوغية .



Rhizopus / zygospore

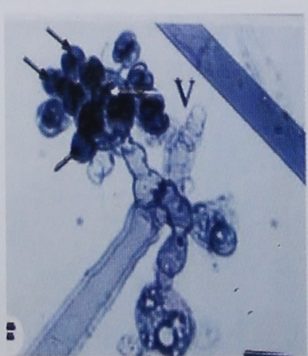

Rhizopus / stolons


Rhizopus / sporangia

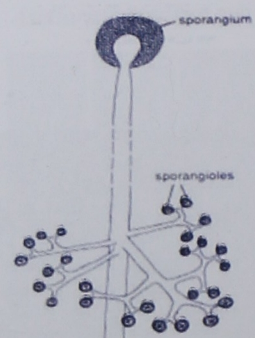

Phycomyces / suspensors


Absidia / columella


Mucor / sporangiophore



Choanephora / sporangiola



Thamnidium / sporangiola


Pilobolus / sporangium

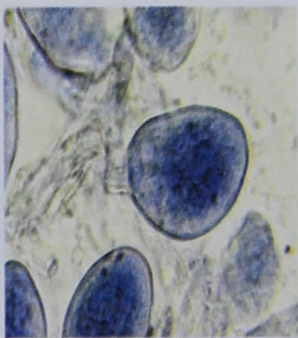
لوحة 9 . 8 . الحوافظ البوغية والمشيجية والحويفظات البوغية لعدد من الفطريات اللاقحية .


Cunninghamella\ sporangiola


Piptocephalis \ zygospre

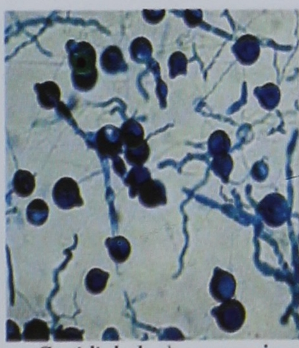

Piptocephalis \ merosporangia


Basidiobolus \ sporangium


Endogone \ zygospore


Mortierella \ sporangiophore

Cochlonema \ in amoeba

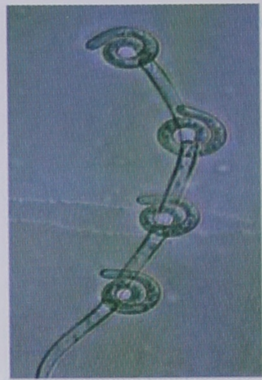

Conidiobolus \ sporangia


Entomophthora \ sporangia

لوحة 9 . 9 . توضح الحوافظ والحويفظات البوغية وحواملها إضافة إلى بعض الابواغ االجنسية لعدد من الفطريات اللاقحية المتطفلة على الحشرات.

Amoebidium \ trichospores

Smittium \ trichospres



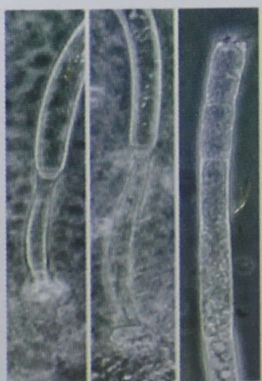
Harpella \ trichospres

Asellaria \ arthrospores

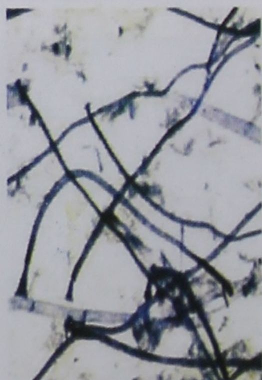
Asellaria \ holdfast cell

Amoebidium \ amoebae

Enterobryus \ holdfast cell

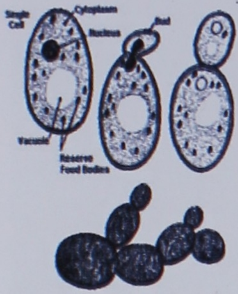


Enterobryus \ sporangium

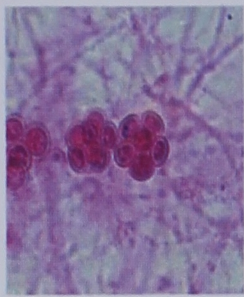


Enterobryus \ thallus

لوحة 9 . 10 . توضح الابواغ الخيطية والمفصلية إضافة إلى بعض التراكيب اللاجنسية لعدد من الفطريات اللاقحية الشعرية (الخيطية) .

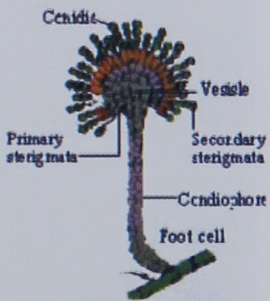


Saccharomyces \ budding



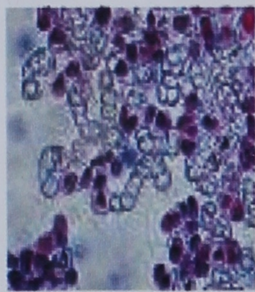
Eremascus \ asci

Endomyces \ arthrospores

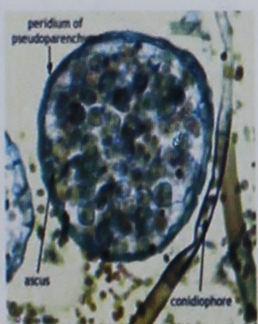


Aspergillus \ conidia

Taphrina \ asci



Schizosaccharomyces \ cell fission



Eurotium \ cleistothecium

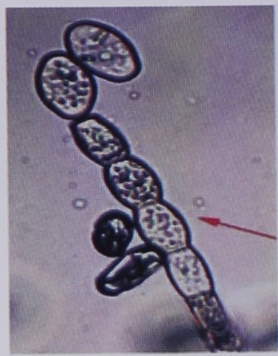
Penicillium \ conidia

Arthroderma \ cleistothecium

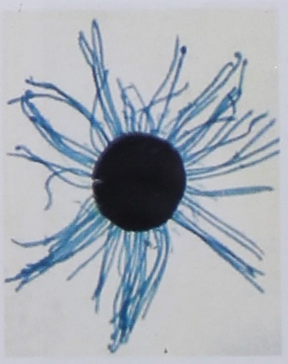
لوحة 9 . 11 . توضح عدد من الفطريات الكيسية الأولية الفاقدة للجسم ألثمري والطور الجنسي لاثنين من الفطريات الكيسية التي تمتلك طور ناقص (كونيدي) للفطرين أعلاه بنيسيليوم واسبرجلس .

Leveillula\ conidiophores and conidia

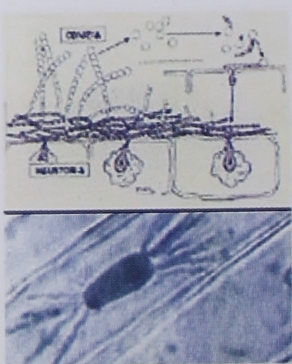
Erysiphe \ conidiophores and conidia



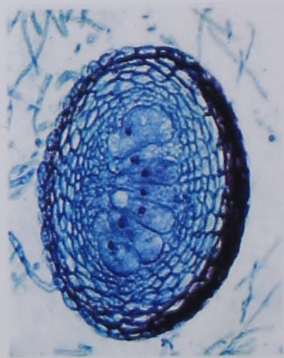
Erysiphe \ conidia in chains



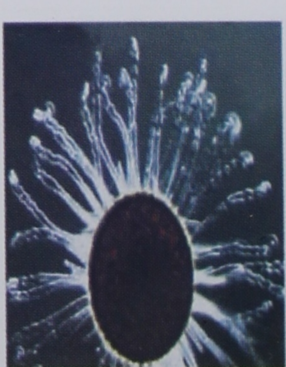
Myceloid appendages \ in *Erysiphe* spp



Types of haustoria \ in Erysiphales



Cleistothecium \ c.s.\ covered with pseudoparenchyma cells



Curled tips appendages \ in *Uncinula* spp.

Bulbous appendages \ in *Phyllactinia* spp.

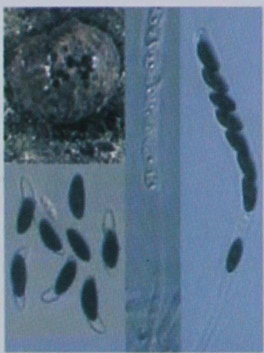
Dichotomous appendages\ in *Microsphaera & Podospaera*

لوحة 9 . 12 . الفطريات الكيسية المسببة لأمراض البياض الدقيقي ، الحوامل الكونيدية والكونيدات ، الأجسام الثمرية الكروية المغلقة والزوائد الملحقة بها إضافة الى أنواع الممصات التي تستخدمها في التطفل.

Sordaria \ perithecium

Chaetomium \ perithecium

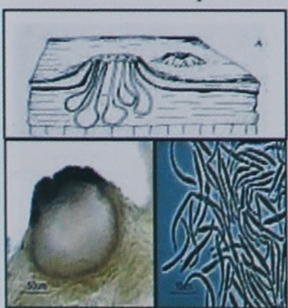
Chaetomium\ hyphae & conidia



Hypoxylon \ ascostroma , ascus & ascospores

Neurospora \ mycelium

Podospora \ perithecium & ascospores

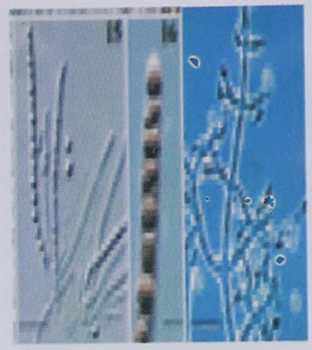


Diaporthe \ stroma , conidia & pycnidia

Gnomonia \ acervulus

Daldinia\ ascostroma & perithecia

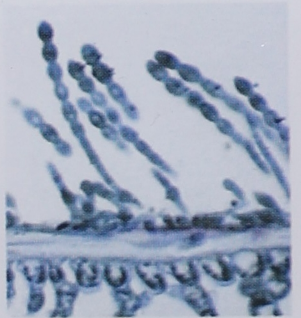
لوحة 9 . 13 . توضح عدد من التراكيب اللاجنسية والجنسية والأجسام الثمرية لمجموعة من الفطريات الكيسية القارورية



Hypocrea \ conidiophores & asci with ascospores

Gibberella \ sporodochium

Necteria \ conidia & conidiophores



Claviceps \ conidia & Conidiophores

Claviceps \ sclerotium

Chromocrea \ perithecia in stroma

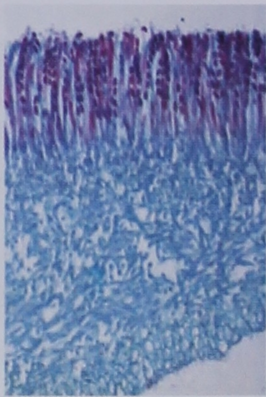
Cordyceps \ thread – shaped ascospores

Cordyceps \ stromata with perithecia

Claviceps \ perithecia

لوحة 9 . 14 . تبين مجموعة من الفطريات الكيسية الحوامل للكويندية والكونيدات والوسادة البوغية والاجسام الحجرية والحسيه الثمرية الكيسية.

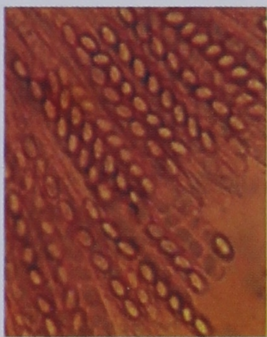
Sclerotinia \ apothecia arise from sclerotium



Monilinia \ section in apothecium

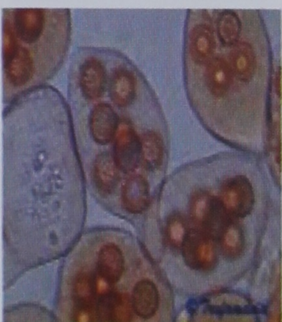
Monilinia \ conidiophores with lemon-shaped conidi

Tuber \ fruiting body



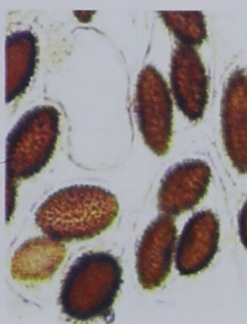
Peziza \ asci & ascospores

Peziza \ apothecium



Terfezia \ asci & ascospores

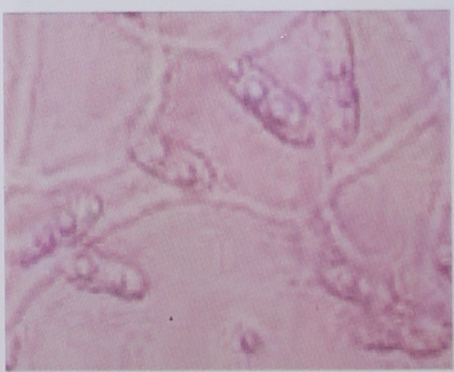
Terfezia \ fruiting body



Tuber \ asci & ascospores

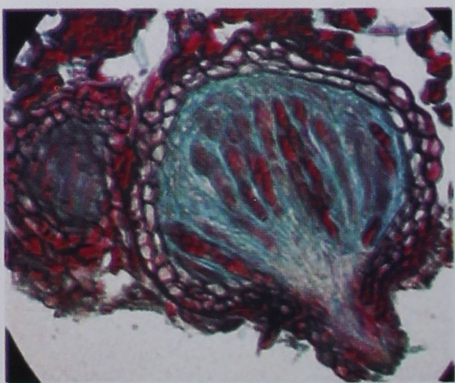
لوحة 9 . 15 . توضح الأجسام الثمرية والأكياس والأبواغ الكيسية في الفطريات الكيسية القرصية

Laboulbenia \ foot cell & fruiting body

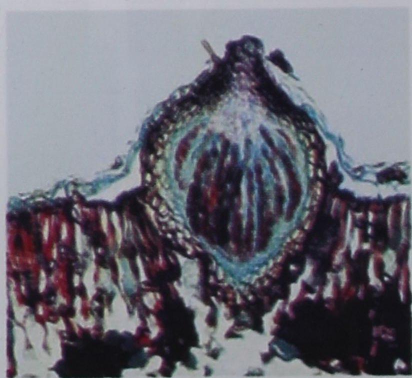


Mycosphaerella \ conidia

Guignardia \ conidia



Ascostroma \ multilocular



Venturia \ pseudothecium

لوحة 9 . 16 . توضح عدد من الفطريات الكيسية شبه القارورية والفطريات الكيسية الحجيرية(المسكنية).

Exidia

Tremella \ basidia

Tremella

Phologoitis

Pseudohydnum

Phlogiotis

Clavaria

Hydnum

Polyporus

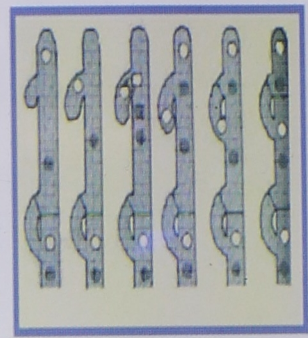
Stereum

Thelephora

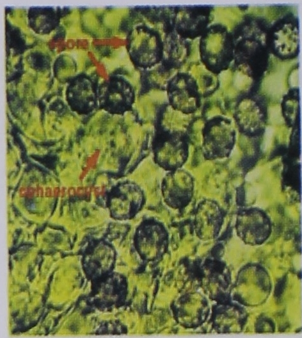
Corticium

لوحة 9 . 17 . الأجسام الثمرية المرئية لمجموعة من الفطريات البازيدية.

Lycoperdon



Clamp connection



Coprinus \ sphaerocysts

Cyathus\ peridioles

Geastrum

Clavatia

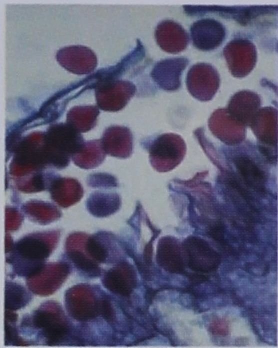
Sphaerobolus

Rhizopogon

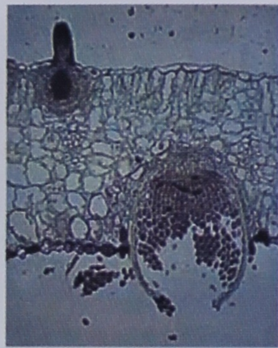
Cyathus \ L.S in fruiting body

لوحة 9 .18 . الفطريات البازيدية التي تضم العراهين الغلصمية والانبوبية والفطريات البازيدية المغلقة

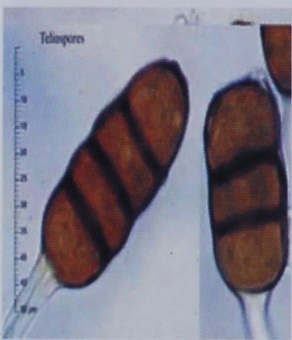
Pucccinia \ telium



Pucccinia \ uredinium



Pucccinia \ spermogonia & aecia



Phragmidium \ teliospores

Uromyces \ teliospores

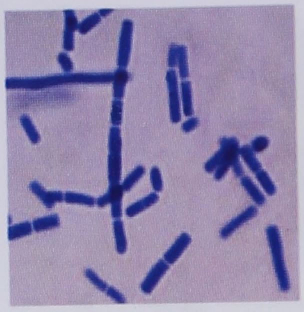
Gymnosporangium \ teliospores

Ustilago maydis\ teliospores

Cronartium \ teliospores

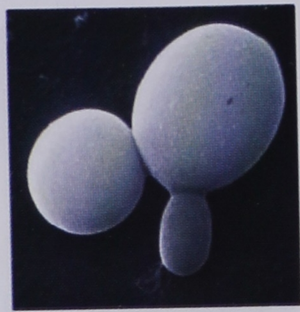
Melampsora\ teliospores

لوحة 9 . 19 . أنواع الأبواغ التي تخص الفطريات البازيدية عديمة الجسم اثمري التي تسبب أمراض الصدأ والتفحم.



Candida \ arthrospores

Candida \ pseudomycelium



Candida \ budding

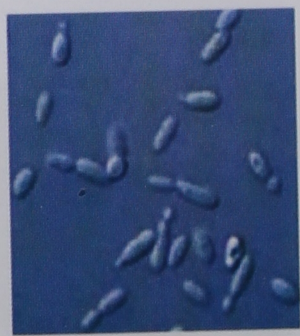
Pityrosporum

Cryptococcus \ budding

Candida \ chlamydospores

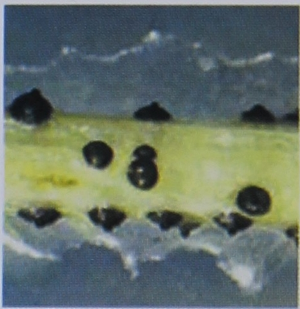
Torulopsis

Trichosporon

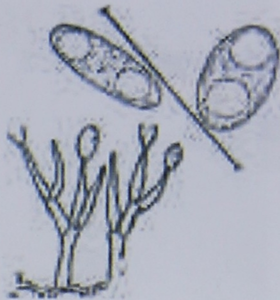


Rhodotorula

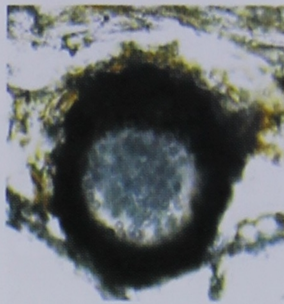
لوحة 9 .20 . توضح. مجموعة من الفطريات الناقصة، الطور اللاجنسي لعدد من الخمائر الناقصة (الخمائر اللابوغية).



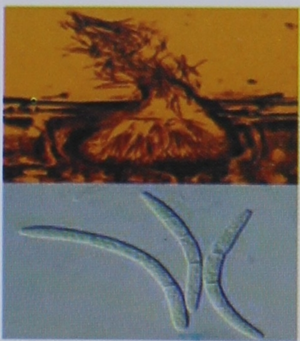
Phmomopsis \ pycnidia



Dendrophoma \ conidia



Phyllosticta \ C.S. in pycnidium

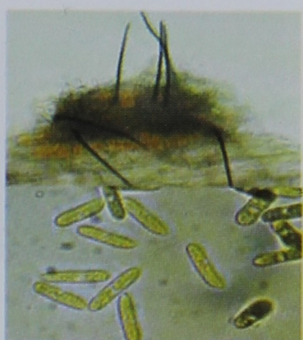


Septoria \ pycnidia & conidia

Diplodia \ pycnidia & conidia

Ascochyta \ pycnidia & conidia

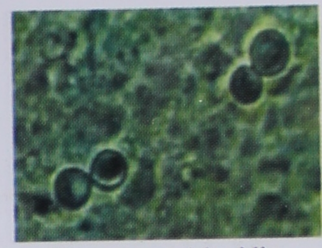
Pestalotia \ dark conidia with hyaline pointed ends



Colletotrichum \ acervulus , seta & conidia

Phoma \ pycnidia & conidia

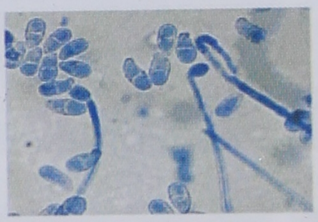
لوحة 21.9 . مجموعة من الفطريات الناقصة المكونة للبكنيدات والكويمات الكونيدية .



Blastomyces \ budding

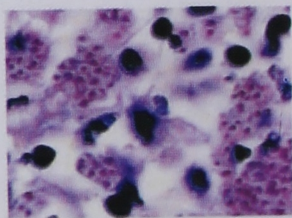
Trichophyton \ conidia

Microsporon \ conidia



Trichothecium\ conidiophores

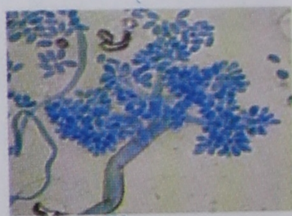
Geotrichum \ arthrospores



Histoplasma \ budding

Helminthosporium \ conidia

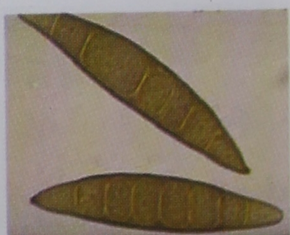
Cladosporium \ conidiophores



Botrytis \ conidiophores

Sclerotium \ sclerotia

Rhizoctonia \ mycelium

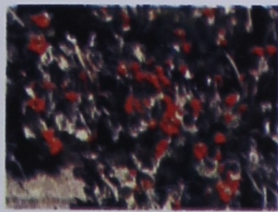


Cercospora \ conidia

لوحة 9 . 22 . توضح عدد من الفطريات الناقصة المكونة للظفائر الكونيدية والوسائد البوغية ، إضافة إلى الفطريات عقيمة الغزل الفطري .

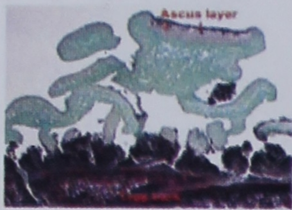
Buellia \ rhizinose strands

Cladonia \ poditia

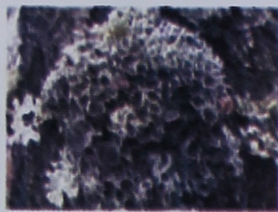


Cladonia \ thallus

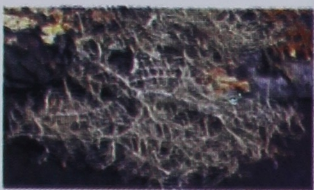
Physica\ germinated ascospores



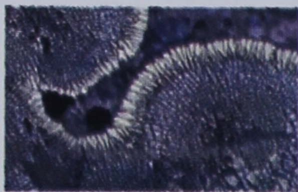
Physica \ c.s. in pycnidium



Physica \ thallus



Usnea \ fruticose lichen



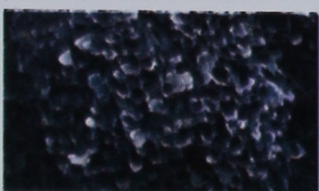
Dimelaena \ crustose lichen

Peltigera \ foliopse lichen

Lichern \ diaspores (soredia)

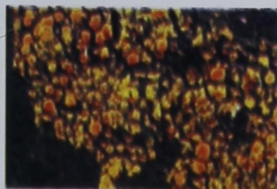
Lichern \ diaspores (isidia)

Parmelia \ basidiolichen



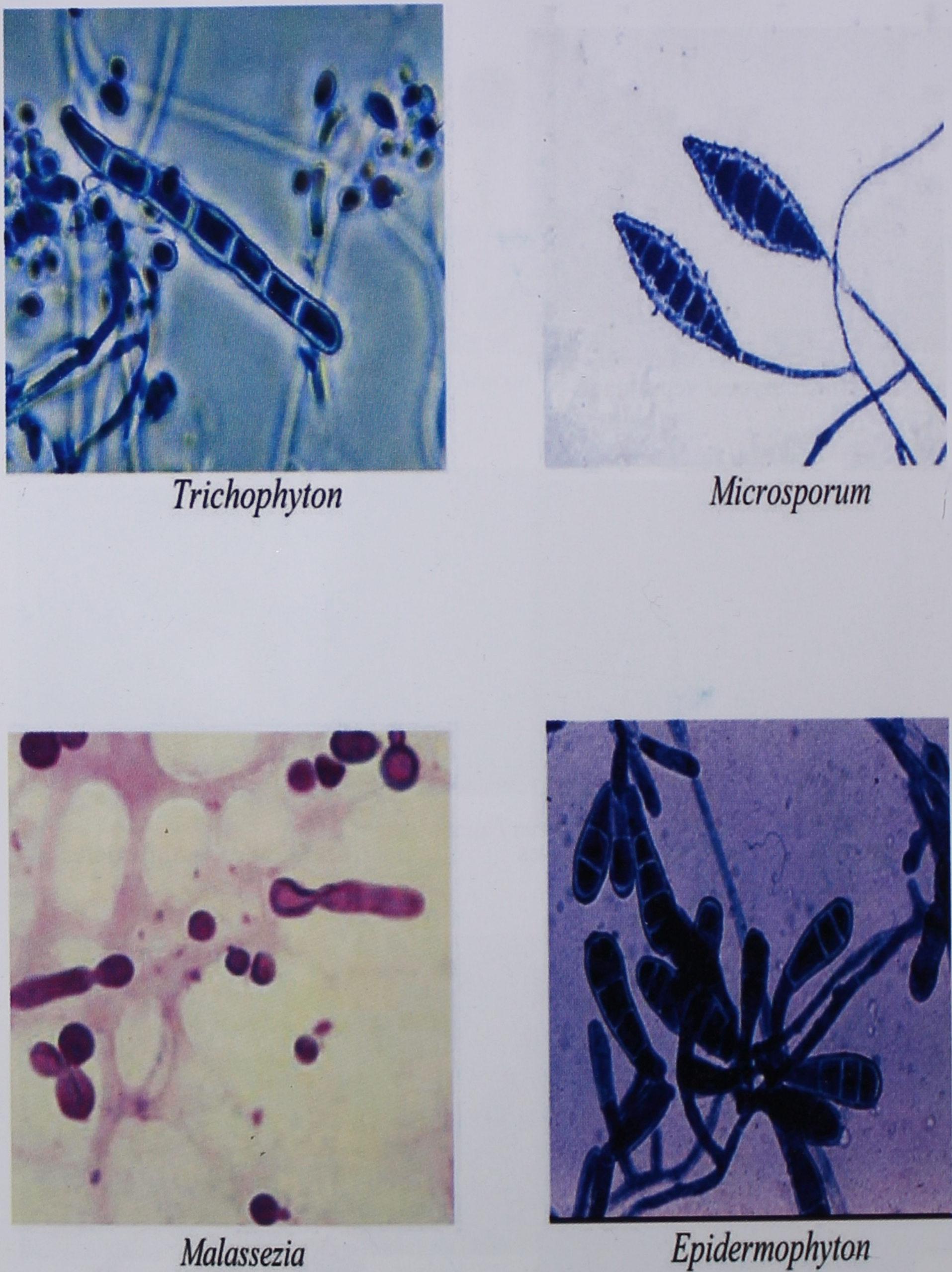
Dictyonema \ basidiolichen

Collema \ lichen

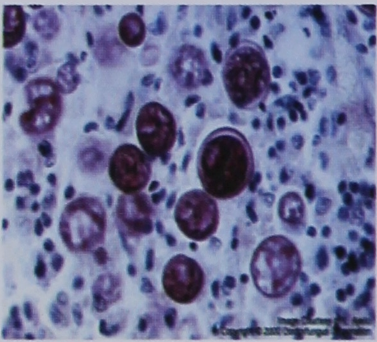


Verrucaria\ pseudothecia

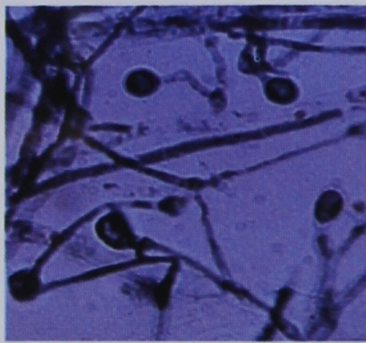
لوحة 9 . 23 . توضح الأجسام الثمرية لمجموعة من الأشنات الكيسية والبازيدية والوحدات التكاثرية التي تكونها.



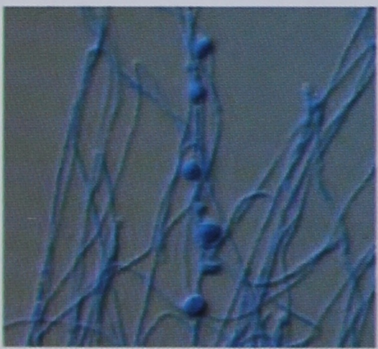
لوحة 10. 1 .توضح بعض الفطريات الطبية السطحية وأشكال الخلايا والكونيدات.



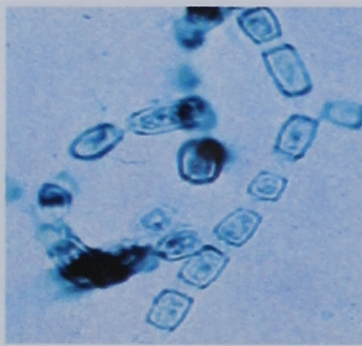
Blastomyces/ yeast stage



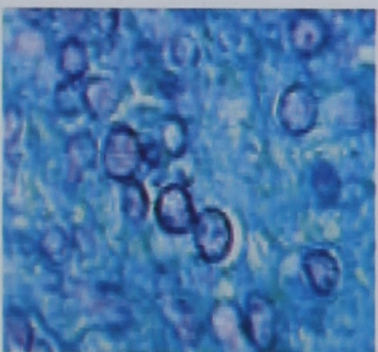
Blastomyces / mycelial stage



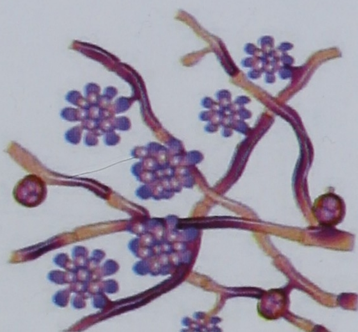
Paracoccidioides \ chlamydospores



Coccidioides / arthrospores

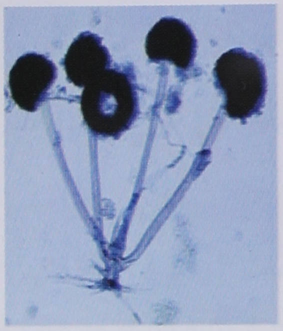


Histoplasma \ yeast form



Histoplasma \ mold form

لوحة 10 . 2 . توضح عدد من الفطريات الطبية الجهازية ، احادية الشكل وثنائية الشكل.



Rhizpous

Mucor

Absidia

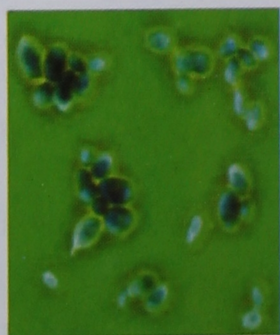
Alternaria

Cryptococcus \ mold form

Cryptococcus \ yeast form

Aspergillus

Candida \ pseudohyphae & chlamydospores



Candida \ yeast form

لوحة 10 . 3 . تبين مجموعة من الفطريات الانتهازية التي تستهدف الإنسان وتسبب العديد من الإصابات .

المراجع Reference

1- الجمعية العربية لوقاية النبات. (1990). المرشد الوجيز في أمراض النبات. بيروت، لبنان.

2- الحسني، مثال كريم. (2002). دراسة بيئية للفطريات الجلدية والانتهازية الممرضة للإنسان في محافظة القادسية. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة القادسية، الديوانية ، العراق.

3- الحسني، مثال كريم، عدنان حمد الحمداني وعبد الرضا طه سرحان. (2005). دراسة وبائية لبعض أنواع جنس *Candida* المسببة لداء المبيضات في محافظة القادسية. مجلة القادسية للعلوم الصرفة. المجلد (15)، العدد (3): 45-55.

4- الزيدي، حامد، الهام سعيد عبد الكريم وضياء محمد إبراهيم. (1987). علم الأحياء المجهرية العملي. جامعة بغداد، العراق.

5- السامرائي، طه حسين. (1987). علم الجراثيم، الجزء الأول. مؤسسة المعاهد الفنية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العراق.

6- السلمي، أمين عبد الجبار وجوليت أوشان ايواز. (1991). الأحياء المجهرية. جامعة البصرة، العراق.

7- السهيلي، إبراهيم عزيز خالد، قيصر نجيب صالح وعبد اللطيف سالم إسماعيل (1980). الفطريات. جامعة بغداد، العراق.

8- العاني، سؤدد عبد القادر مجيد. (1997). عزل وتشخيص الفطريات الانتهازية من مستشفيات مركز محافظة البصرة مع دراسة تأثير المطهرات عليها. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة.

9- الهيتي، إياد عبد الواحد. (1992). السموم الفطرية المفهوم العام. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العراق.

10- انكولد. سي. تي. (1980) بايولوجيا الفطريات. ترجمة عبد اللطيف سالم إسماعيل. جامعة البصرة، العراق.

11- بلكرامي. ك. س. وفيرما. ر. ن. (1988) فسلجة الفطريات.. ترجمة عبد الرضا طه سرحان وفياض محمد شريف. جامعة صلاح الدين، أربيل، العراق.

12- حسان، حسن أحمد حسن. (2001). التلوث البيئي وأثره على النظام الحيوي والحد من آثاره. دار المعارف، القاهرة، جمهورية مصر العربية.

13- حسن، فاروق خالد، خليفة أحمد خليفة، حامد حسن طنطاوي وجاسم محمد العبدالله. (1982) علم الأحياء المجهرية البيطرية. جامعة بغداد، العراق.

14- سرحان، عبد الرضا طه وماجد هزاع البياتي، (1991). التضاد الحيوي للفطر *Alternaria alternata* باستخدام بعض الفطريات والكبتريا. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 22 (1): 205-215.

15- سرحان، عبد الرضا طه وزهراء رسول جليل. (2009). عزل وتشخيص الفطريات الانتهازية المصاحبة لجروح المرضى المصابين بأنواع مختلفة من الحروق. مجلة كلية المأمون الجامعة. العدد 14: 139-148.

16- سرحان، عبد الرضا طه وسامي موسى أبو طبيخ. (2010). عزل الفطريات المرافقة لحاصل الذرة الصفراء والتحري عن سموم الافلاتوكسين التي تنتجها. مجلة كلية مدينة العلم الجامعة. المجلد (2)، العدد (1): 6-12.

17- عبد الحسين، محمد محسن. (2001). دراسة حول الفطريات الانتهازية المصاحبة لالتهابات الأذن الوسطى. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة القادسية، الديوانية ، العراق.

18- كاراوي. أم. أو. وايفانس. ار. سي. (1990). تغذية وعلم وظائف الفطريات. ترجمة رياض فرنسيس دنحا وطالب عويد الخزرجي. جامعة صلاح الدين، أربيل، العراق.

19- محمود، وجدان رضا. (2000). مسح للإصابات الفطرية الجلدية في محافظة بابل. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل.

20- نخيلان، عبد العزيز مجيد. (2009). الفطريات. الطبعة الأولى. دار دجلة للنشر. عمان، الأردن.

21- نوار، مصطفى ورشاد الناطور. (1989). الميكوتوكسينات والتسمم الميكوتوكسيني في الإنسان والحيوان. الجامعة الأردنية، عمان، الأردن.

22- وبستر، جون. (1980) مدخل إلى الفطريات. ترجمة إبراهيم عزيز السهيلي. جامعة بغداد، العراق.

23- ولكنسون، ج. ف. (1985). مدخل إلى علم الأحياء الدقيقة. ترجمة خضر داوود سلمان، مزاحم قاسم الملاح ووائل ياسين الدباغ. جامعة الموصل، العراق.

24- ياسين، حسن هاشم. (1990). انتان الأذن الوسطى دراسة وبائية وإحصائية. رسالة ماجستير. كلية الطب، جامعة البصرة، العراق.

25- Alexopoulos, J. and Beneke, E. S. (1964). Laboratory Manual for Introductory Mycology. 2nd. ed. Burgess Publishing Company, Minnesota, USA.

26- Alexopoulos, C. J. and Mims, C. W. (1979). Introductory Mycology. 3rd. ed. John Wiley & Sons. Inc. New York, USA.

27- Al-Rekabi, S. A. , Naeem, R. A. And Butty, A. N. (1993). Specificity of baits in isolating Saprotegniaceae.

Al- Mustansinya J. Sci. 7(1): 20-22.

28- Burge, H. A. (2001), Fungi: toxic killers or unavoidable nuisances? Annals of Allergy, Astohma and Immunology.87, Supplement 3: 52-56.

29- Campbell, N. A. (1996). Biology. 4th. ed. The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Inc., California, USA.

30- Degreed, H. (2008). Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). Mycopathology. 166 (5-6): 256-265.

31- Ellis, D. H. (1994). The human opportunistic mycosis, In: Clinical Mycology. Pfizer, New York, USA.

32- Elmer, W. K. and Glemn, D. R. (1985). Practical Laboratory Mycology. 3rd. ed. Waverly Press Inc. Baltimore, USA.

33- Evan, W. G. V. (1997). Fungi: thrush, ringworm, subcutaneous and systemic mycoses, In: Medical Microbiology. 15th. ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

34- Griffin, D. H. (1981). Fungal Physiology. John Wiley and Sons, Inc. New York, USA.

35- Jawetz, E, Melnich, J. L. and Adelberg, E. A. (1998). Medical Microbiology. Middle East edition. Librairie du Liban Appletton & lange. 45: 584-610.

36- Kiraly, Z. Klement, Z., Solymosy, F. and Voros, J. (1974). Methods in Plant Pathology. Publishing House of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary.

37- Koneman, E. W. and Roberts, G. D. (1984). Clinical and laboratory diagnosis. In Henry, J. B. (ed): Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 17th. ed. Philadelphia, W. B. Saunders Co. USA.

38- Kuhn, D.M. and Ghannoum, M.A.(2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*. Infectious disease perspective. Clinical Microbiology Reviews. 16: 144-172.

39- Quinn, P. J. , Carter, M. E., Markey, R. T. and Carter, G. R. (1998). Clinical Veterinary Microbiology, section 3: Mycology. Mosby – Year Book Europe Limited, Spain.

40- Rhichardson, M. (2003). Fungal Infcetion: Diagnosis and Management. Cambridge, MA: Black Well Publishers.

41- Rippon, J. W. (1982). The pathogenic fungi and the pathogenic actionycetes. In Medical Mycology. Philadelphia, W. b. Sannders Co. USA.

42- Robert, G. D. (1990). Laboratory methods in basic mycology, In: Diagnostic Microbiology. C. V. Mosby Co.

43- Sharma, O. P. (1997). Text Book of Fungi. 3rd. ed. Tato. Mc Graw-Hill Publishing Co. Limited, New Delhi, India.

44- Weitzman, I. and Kane, J. (1991). Dermatophytes and agent of superficial mycoses. Manual of Clinical Microbiology. 5th. ed. 606-616.

المحتويات

Practical Mycology

Edited by
Prof. Dr.
Abdel Retha Taha Sarhan

First Edition
2012