الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي
جامعة حماة
كلية الزراعة

علم الأحياء الدقيقة

(الجزء العملي)

الجلسة العملية السابعة

إعداد

الدكتور عبد الواحد الطحلي

دكتوراه باختصاص الأحياء الدقيقة

جامعة حماة 2020 – 2021

الفطريات

Fungi – Mycota

• مقدمة:

هي كائنات حقيقية النوى فاقدة لليخضور لذلك تعيش حياة رمية أو طفيلية بعض أنواعها وحيدة الخلية كالخمائر ومعظمها ذات بنية خيطية، وتخترق المشيجة الإعاشية الوسط الذي تعيش فيه وترسل جذريدات أو ممصات (في حال الفطريات الممرضة) للحصول على غذائها، وتشكل غالباً مشيجة هوائية تحمل عليها بنيات تكاثرية. تنتشر الفطريات في الماء والتربة وتوجد أبواغها في الهواء كما تعيش على المواد العضوية الموجودة في البيئة، وتستطيع النمو في بيئات غير ملائمة لنمو الجراثيم فهي تنمو في البيئات الغنية بالكربوهيدرات المعقدة والسكريات البسيطة وتقاوم الضغط الاسموزي المرتفع أكثر من الجراثيم وتنمو معظم الفطريات بشكل بطيء مقارنة مع الجراثيم ويمكن مشاهدتها على بعض المواد منخفضة الرطوبة كالجلود والأعشاب الجافة والمواد الحامضية مثل عصير الفواكه والألبان المتخمرة، وتسبب تلفاً للمحاصيل والمواد الغذائية المخزونة، وقد تفرز سموماً خطيرة. تُستخدم بعض الفطريات للتغذية ولها فوائد جمة حيث تعتمد صناعات كثيرة عليها مثل صناعة الخبز والمعجنات والحموض العضوية والكحولات والفيتامينات والمضادات الحيوية وغيرها. تنجم معظم الأمراض النباتية عن الفطريات بينما تأتي معظم الأمراض الحيوانية عن الجراثيم والفيروسات.

• تكاثر الفطريات:

إنّ أبواغ الفطريات غالباً هي أعضاء التكاثر فيها وتختلف الأبواغ في الشكل والحجم والتركيب واللون، ويمكن الاستفادة من الاختلافات الكبيرة في الخواص الشكلية والمزرعية للفطريات في تمييز بعضها عن بعض كما يمكن تنمية الفطريات مخبرياً لدراسة خواصها الحيوية الكيميائية. تكفي في كثير من الحالات قطع صغيرة من المشيجة الفطرية لتعطي أفراداً جديدة مثل الفطريات الابتدائية، والزقية، والدعامية، والناقصة، ويسمى هذا النمط من التكاثر بالتكاثر الإعاشي، أما التكاثر اللاجنسي فيتم عن طريق الأبواغ الكونيدية أو المغطاة (الكلاميدية) أو الكيسية (السبورانجية)، وتتكاثر الفطريات جنسياً عن طريق تشكيل الأعراس التي قد تكون ضمن بنيات تكاثرية مختلفة، وبوساطة الأبواغ الازدواجية أو الزقية أو الدعامية.

- **تصنيف الفطريات Taxonomy of Fungi:**

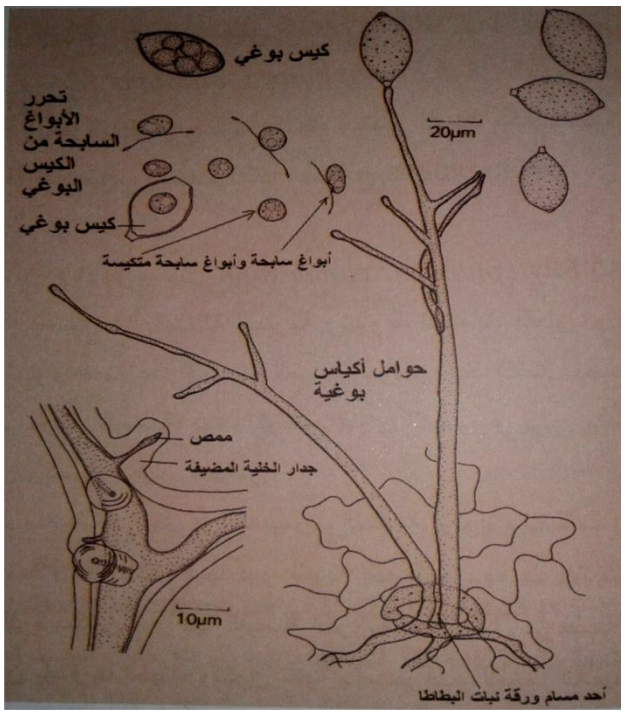
تقسم الفطريات حسب خصائصها لشعبتين رئيستين: الفطريات المخاطية، والفطريات الحقيقية.

– شعبة الفطريات المخاطية Myxomycota:

عضويات مختلفة لها صفات الفطريات، وتوجد على شكل كتل مخاطية تتحرك حركة أميبية خلال فترة من دورة حياتها. تتكاثر بالانقسام البسيط، ولكن في فترة من دورة حياتها تتحد الكتل المخاطية مشكلة أجسام ثمرية تتكون فيها الأبواغ، وهي من الفطريات الكاذبة.

– شعبة الفطريات الحقيقية Eumycota، وتقسم لعدة تحت شعب أو صفوف منها الدنيا ومنها الراقية.

1– تحت شعبة الفطريات السوطية Mastigomycotina (من الفطريات الدنيا) تضم فطريات طفيلية على الأغلب معظمها مائية مثل الفطريات الكيتريدية والبيضية، وتتميز بأنّ المشيجة غير مقسمة، وتتكاثر لاجنسياً بالأبواغ الكيسية (السبورانجية) المتحركة وتكاثرها الجنسي من النمط البيضي (أعراس مختلفة بالشكل ذكرية وأنثوية) مثل فطريات البياض الزغبي، وينتسب إلى صف الفطريات البيضية فطر *Phytophthora infestans* (الشكل 9–1) الذي يصيب نباتات البندورة والبطاطا مسبباً لها مرض اللفحة المتأخرة، وقد سبب هذا الفطر مجاعة في إيرلندا عام 1845 عندما قضى على محصول البطاطا.



الشكل (9–1): حوامل الأكياس البوغية لفطر *Phytophthora infestans*

2- تحت شعبة الفطريات الازدواجية Zygomycotina (من الفطريات الدنيا) تتكاثر جنسياً بأبواغ زيجية (متماثلة بالشكل)، ولا جنسياً بأبواغ كيسية سبورانجية غير متحركة تكون داخل أكياس بوغية، ويوجد منها الرمي وبعضها الطفيلي تتميز معظم أنواعها بمشيجة صوفية المظهر مثل *Mucor*، وتضم مجموعة مهمة من الفطريات منها فطريات الميكوريزا الداخلية.

3- تحت شعبة الفطريات الزقية Ascomycotina (من الفطريات الراقية الأكثر انتشاراً) تتكاثر جنسياً بالأبواغ الزقية الموجودة ضمن زقاق قد تكون عارية أو محمولة على ثمار زقية مختلفة، وتتكاثر لا جنسياً بالأبواغ الكونيدية والكلاميدية مثل فطريات *Aspergillus*، و *Penicillium* والخميرة والكمأة.

4- تحت شعبة الفطريات الدعامية Basidymycotina (من الفطريات الراقية) تتكاثر جنسياً بالأبواغ الدعامية المحمولة على دعامات مختلفة الأشكال قد تكون لا ثمرية أو محمولة ضمن ثمار، وتتكاثر لاجنسياً بالتجزئة والتبرعم وتكوين الأبواغ الكونيدية والمفصلية والكلاميدية، ومن أهم الفطريات التابعة لها عيش الغراب وفطريات الأصداء والتفحمات.

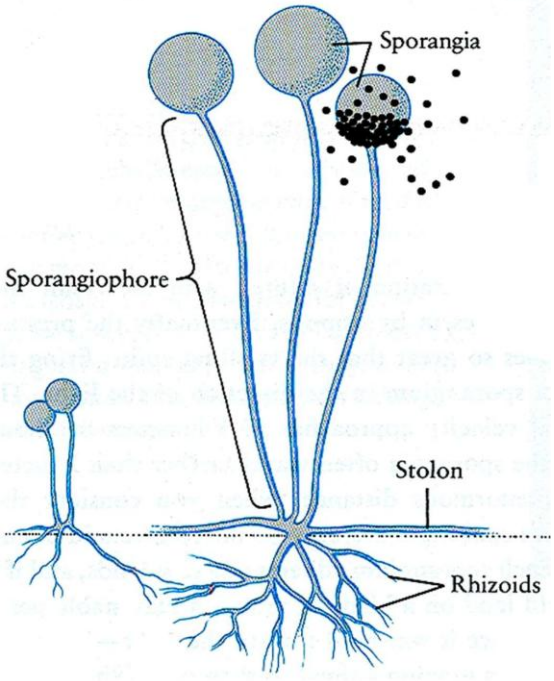
5- تحت شعبة الفطريات الناقصة Deuteromycotina أو Fungi imperfecti تضم جميع الفطريات الخيطية التي تشكل أبواغاً لا جنسية فقط أو لا تشكل أبواغاً (لا يعرف لها تكاثر جنسي، وفي حال عرف لها تكاثراً جنسياً في شروط بيئية معينة ينقل تصنيفها إلى تحت الشعبة المناسبة لذلك بعض أفرادها يأخذ أكثر من تصنيف). تتكاثر لاجنسياً بتكوين الأبواغ المفصلية والكونيدية والكلاميدية والبرعمية وتضم مجموعة مهمة من الفطريات مثل *Fusarium, Alternaria, Botrytis*.

معظم الفطريات التي تنمو فوق أطباق بتري (نمو رمي) تنتسب إلى الفطريات الناقصة والازدواجية.

• أهم الأجناس والأنواع الفطرية:

❖ الفطريات الازدواجية Zygomycotina:

تعيش في التربة أغلب أفرادها رمية عفنية، والمشيجة غزيرة التفرع لا حاجزية (مدمج خلوي متعدد الأنوية)، وأبواغها غير متحركة تكون ضمن أكياس بوغيةٍ كبيرة أو صغيرة، ويمكن أن تُشكل أبواغ مغطاة Chlamydospores (خلايا بينية ذات جدار ثخين). يحدث التكاثر الجنسي باتحاد أكياس عروسية تشكل الأبواغ الازدواجية الملقحة Zygospore أو ما يسمى بالبيضة الملقحة Zygote.



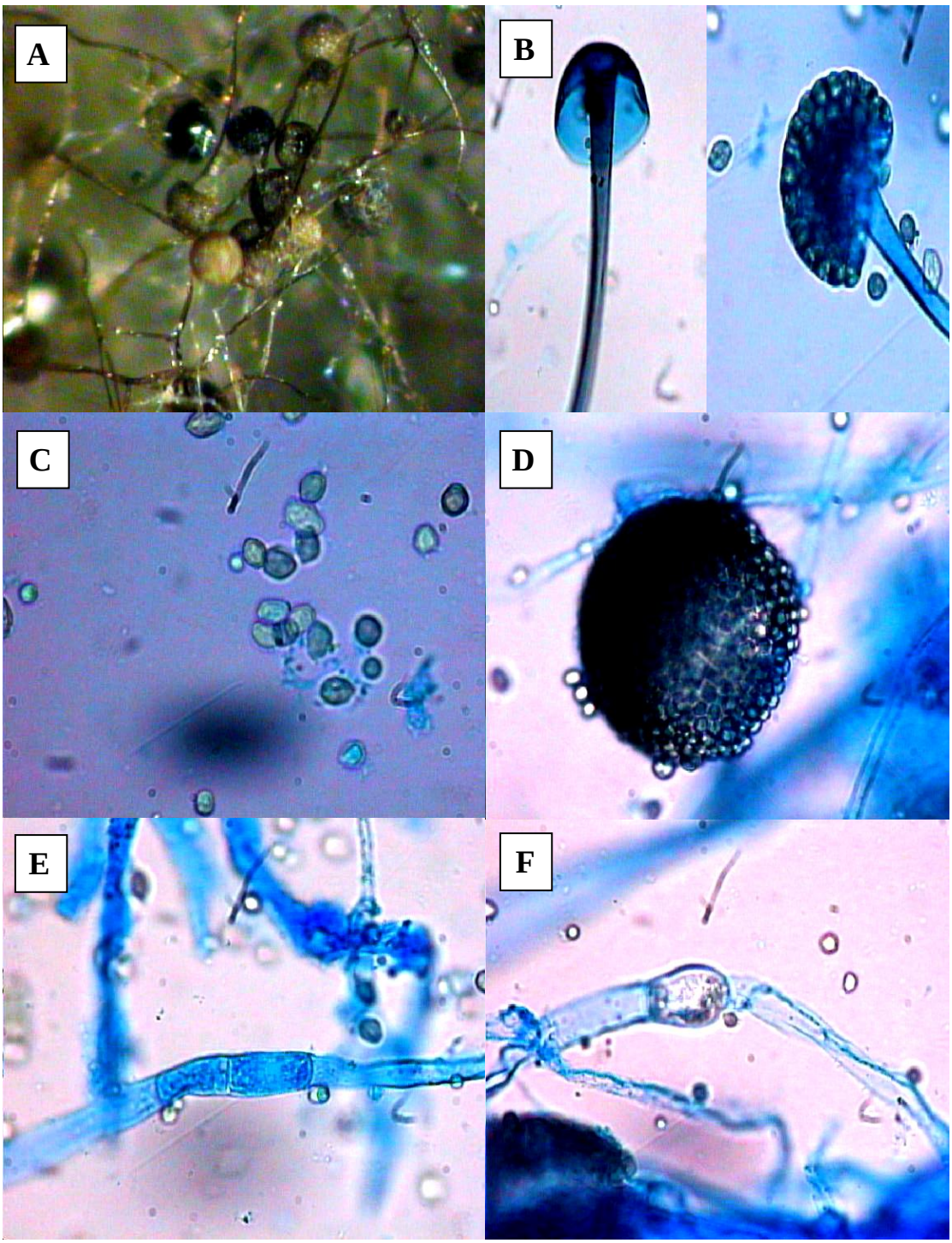
Rhizopus stolonifer

رتبة موكورااليز Mucorales:

فصيلة موكوراسي Mucoraceae:

جنس *Rhizopus*: أو ما يسمى بفطر عفن الخبز أو العفن الأسود، تشكل المشيجة جذريدات (أشباه جذور) يخرج حامل الكيس البوغي مقابل الجذريدات، ويكون متفرع طويل ينتهي بانتفاخ (الشكل 9-2) يسمى العماد Columella شكله يساعد على التصنيف، والأبواغ سوداء اللون ويشكل الأبواغ الكلاميدية. وللفطر مشيجة صوفية المظهر تملأ الفراغ الهوائي في طبق بتري.

جنس *Mucor*: تشكل المشيجة أرآد وجذريدات يخرج حامل الكيس البوغي مقابل الرئد يكون غير متفرع طويل، وينتهي بعماد شكله يساعد على التصنيف، يحمل الكيس البوغي عدداً كبيراً من الأبواغ رمادية اللون، وللفطر مشيجة صوفية المظهر تملأ الفراغ الهوائي في طبق بتري، ويسبب تعفن المواد الغذائية. يشكل الأبواغ المغطاة (الكلاميدية).



الشكل (9–2): النوع *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Geerl.

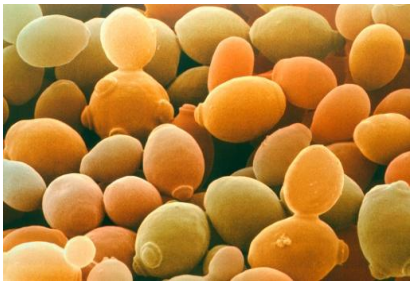
A: الأكياس البوغية تحت المكبرة بتكبير X15. B: الكيس البوغي تحت المجهر بتكبير X400. C: أبواغ الكيس البوغي. D: الكيس البوغي تحت المجهر بتكبير X400. E,F: الأبواغ المغطاة (الكلاميدية).

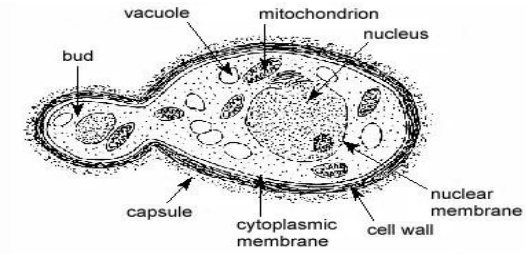
❖ **الفطريات الزقية Ascomycotina:**

تعد الفطريات الزقية أكبر أقسام الفطريات تتضمن حوالي 30 ألف نوع بالإضافة إلى 25 ألف نوع موجودة ضمن الأشنيات، والأشنيات كائنات حية تنجم عن اجتماع فطر زقي مع طحلب أخضر أو بكتيريا خضراء مزرقة. يوجد العديد من الأعفان الشائعة التي صُنفت ضمن الفطريات الزقية منها العفن الأزرق المخضر وفطر الكمأة والخميرة والفطر الأحمر نوروسبورا *Neurospora* المتطفل على الخبز والذي لعب دوراً مهماً في تطور تجارب علم الوراثة الحديث. تتكاثر لاجنسياً بالأبواغ الكونيدية وجنسياً بالأبواغ الزقية، وتتطفل على النباتات مثل مرض الأرغوت الذي يصيب حبوب المحاصيل مسبباً تشكل أجسام سوداء قاسية تحل محل الحبة، وينجم هذا المرض عن الإصابة بفطر *Claviceps purpurea*.

• **فطريات الخميرة Yeast:**

تُعد الخمائر Yeast كمجموعة من الأحياء الدقيقة وحيدة الخلية التي تتكاثر جنسياً أو لا جنسياً، وتصنف الخمائر حسب طريقة تكاثرها مثل الخمائر التي تنتمي إلى الفطريات الزقية تكاثرها جنسي (الزق)، ويتم التكاثر اللاجنسي عن طريق البرعمة Budding مثل خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* (الشكل 9-3)، أو بالانقسام النصفي البسيط Fission مثل *Schizosaccharomyces* (تُستخدم في صناعة المعجنات)، ويوجد خمائر مكونة للأبواغ الأسكية الزقية Ascomycetes، ومنها المكونة للأبواغ الدعامية Basidiomycetes، ومنها غير المكونة للأبواغ. توجد الخمائر في بيئات طبيعية مختلفة ولكل جنس منها بيئة مفضلة مثلاً الجنس *Zygosaccharomyces* يفضل التمر والعسل أو المواد ذات التركيز المرتفع من السكر، ويوجد الجنس *Debaromyces* في المخللات واللحوم المحفوظة كالسجق وغيرها، كما أنّ الجنس *Rhodotorula* يكثر في الهواء الجوي، ويمكن فصل *Saccharomyces* من الألبان المتخمرة، وتوجد أنواع تسبب التهابات جلدية في جسم الإنسان مثل *Candida albicans*.





الشكل (9-3): شكل وبنية الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*

استنبات الفطريات وإحصائها في 1غ من التربة بالطريقة الرطبة

1- جهز أوساط مغذية خاصة للفطريات (أغلب الفطريات في التربة من رتبة Moniliales بالدرجة الأولى أو من رتبة Mucorales بالدرجة الثانية)، وأهم الأوساط المستخدمة هي إما وسط شابيك أو وسط خلاصة الشعير أو وسط دكستروز البطاطا أو وسط سابورود آغار ....الخ.

2- حضّر الوسط الغذائي بوضعه في المعقام Autoclave، ثمّ ضع الوسط الغذائي في حمّام مائيّ بدرجة حرارة 45- 50°م، وعند ذلك أضف 1مل من مزيج المضادّ الحيويّ (Oxytetracycline وStreptomycin) المتعادل مع حرارة الغرفة لكلّ قارورة تحتوي على 200 مل من الوسط الغذائي. ثم امزج الوسط جيداً وصبه في أطباق بتري معقمة وفارغة بشروط عقيمة واتركه حتى يتصلب.

3- جهز أكياس بلاستيكية معقمة وسكين معقمة ومسطرة ومنكاش .....لأخذ عينة التربة.

4- سجل ملاحظاتك المتعلقة بصفات التربة (نبات – مناخ – عمق – معالجة ....).

5- اعمل حفرة في التربة واجمع ثلاث عينات من كل مكان (حوالي 250غ من التربة).

6- اسحق العينة جيداً بالهاون المعقم ثم قم بعملية الاستنبات.

- **الاستنبات:**

يمكن أن يكون الاستنبات بالطريقة الجافة أو الطريقة الرطبة التي تلخص بما يلي:

1- اسحق 10غ من التربة بالهاون وصب فوقها بالتدريج مع السحق المستمر 100 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم لتحصل على معلق التربة، وضع المزيج في قوارير تّمديد.

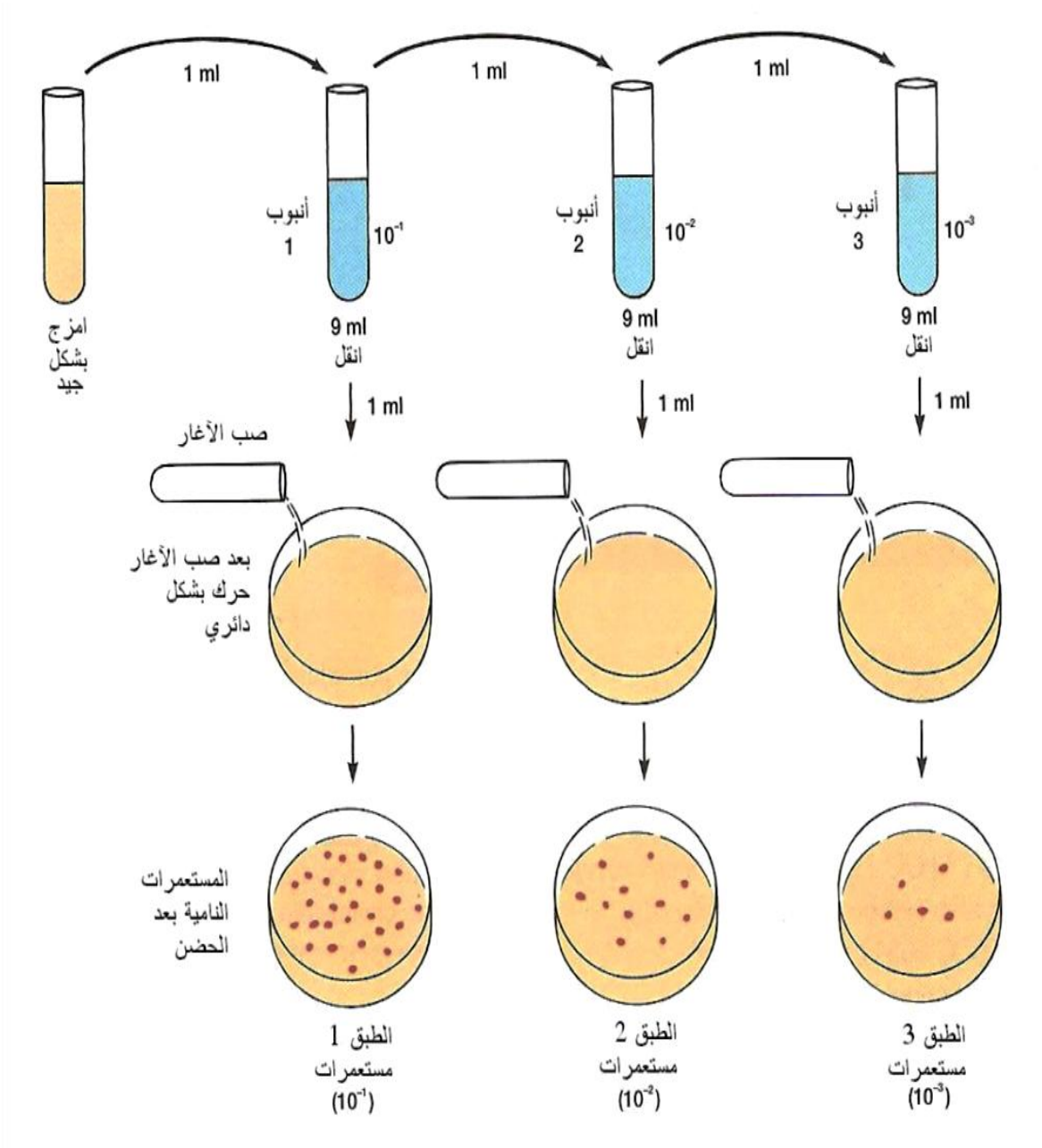
2- ضع قوارير التّمديد على جهاز رجاج آليّ لمدّة 20- 30 دقيقة.

3- انقل بوساطة الماصة وبشكل عقيم 1مل من معلق التربة إلى أنبوب يحوي 9 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم، رجه جيداً لتحصل على التركيز 10^{-1} أو 10/1 (الشكل 9-4).

4- كرر العملية لتحصل على التراكيز 10^{-2} ، 10^{-3} ، 10^{-4} ، 10^{-5} مع مراعاة تغير الماصة كل مرة.

5- خذ من التراكيز 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4} مقدار 0.5 مل وضعها فوق سطح طبق بتري الحاوي على الوسط المغذي افرشها على سطح الطبق بوساطة سباتيول معقم، اترك الطبق حتى يتشرب كمية السائل، واحضن الطبق بالوضع المقلوب. اعمل أكثر من مكرر للتركيز الواحد. يمكن وضع في كلّ طبق بتري فارغ 1 مل من أنبوب التّمديد المقابل، ثمّ إضافة الوسط المغذي السائل بسرعة إلى كلّ طبق بعد تمرير فوّهته على اللّهب بمقدار 15 مل لكلّ طبق مع تحريك الطّبق بشكل رحوي مع

وعكس عقارب السّاعة لضمان تجانس وانتشار مناسب لكلّ المواد، ثمّ اترك الأطباق على طاولة العمل فترة زمنيّة قصيرة ليبرد الوسط المغذي ويتصلّب، ثمّ اقلب الأطباق وضعها في الحاضنة بدرجة حرارة 2±28ْ م لمدّة 7 أيّام دون تحريك.



الشكل (9-4): رسم يوضح مراحل طريقة التخفيف

سنقوم في الجلسة العملية القادمة بالخطوات التالية:

6- بعد الحضن أجري تعداد المستعمرات النامية على سطح الطبق واستنتج عدد الفطريات في 1غ من التربة colony forming units(CFU) بالشكل التالي:

عدد الفطريات في 1غ تربة = متوسط عدد المستعمرات في المكررات × مقلوب نسبة التخفيف / وزن العينة

7- ندون النتائج في جدول كالآتي:

التركيز	10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}	
عدد المكررات	1	2	1	2	1	2
عدد المستعمرات						
× مقلوب نسبة التخفيف						
الوسطي لكل تركيز						
الوسطي العام						

الوسطي العام يمثل عدد الأحياء في 1غ من العينة (CFU).

8- قم بعزل الفطريات النامية في أنابيب تحوي أوساطاً مغذية على شكل أرومات كي تحدد هويتها وتقوم بتصنيفها. أهم الأنواع الفطرية في التربة هي من الفطريات الزقية والناقصة رتبة Moniliales، والابتدائية خاصة الازدواجية من رتبة Mucorales، وبعض الفطريات البيضية وأنواع من الخمائر.

اكتب بعض الخواص الشكلية المساعدة لتصنيف أجناس الفطريات التالية:

Rhizopus, Alternaria, Penicillium, Aspergillus, Mucor.

انتهت المحاضرة