الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي
جامعة حماة
كلية الزراعة

علم الأحياء الدقيقة

(الجزء العملي)

الجلسة العملية الثامنة

إعداد

الدكتور عبد الواحد الطحلي

دكتوراه باختصاص الأحياء الدقيقة

جامعة حماة 2020 – 2021

عزل وتصنيف الفطريات

Isolation and Taxonomy of Fungi

وضعت الفطريات في مملكة منفصلة سميت Kingdom Myceteae (Fungi) مملكة الفطريات. يتكون اسم الفطر من جزئين وهذا ما يُعرف بالتسمية الثنائية، ومن الخصائص المهمة في تصنيف الفطريات معرفة نمط الخيط الفطري والمشيجة (شكلها، تفرعها، طريقة توضع الأبواغ عليها) وشكل الأبواغ (عدد الخلايا، طريقة التبوغ) ونمط التكاثر الجنسي وشكل البنيات التكاثرية.

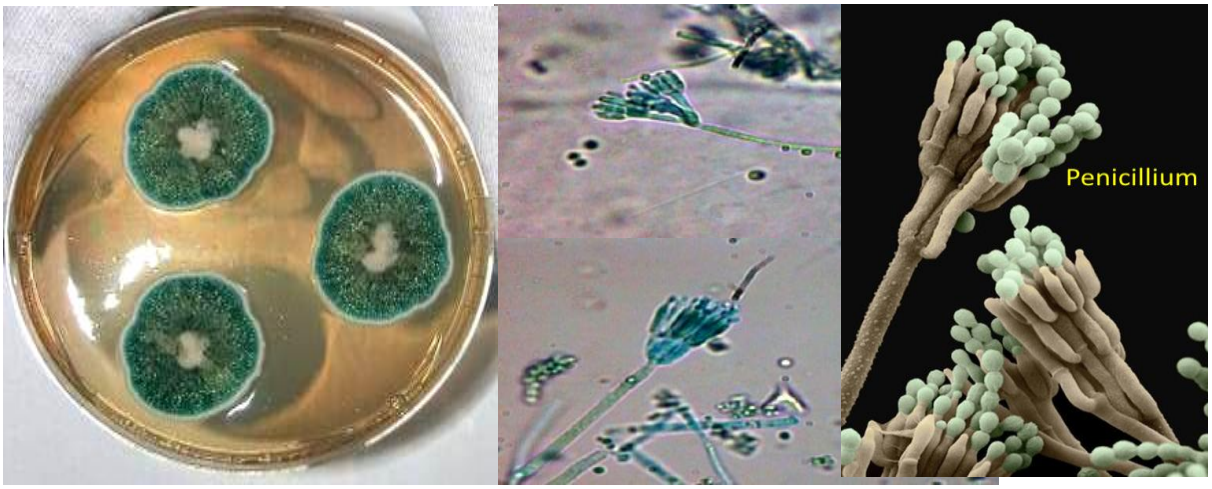
❖ **الفطريات الناقصة Deuteromycotina أو Fungi imperfecti:**

سميت بالناقصة لأنها لا تتكاثر جنسياً، ويتم تكاثرها اللاجنسي عن طريق الأبواغ الكونيدية أو الكلاميدية. تعيش في التربة بعضها يُفرز مضادات حيوية، وهي رمية على الأغلب، والمشيجة مقسمة بحواجز، ويمكن لبعض أفرادها أن تصيب النباتات سواء في الحقل أو في مستودعات التخزين.

- **رتبة مونيلياليز Moniliales**: ندرس منها 3 فصائل:

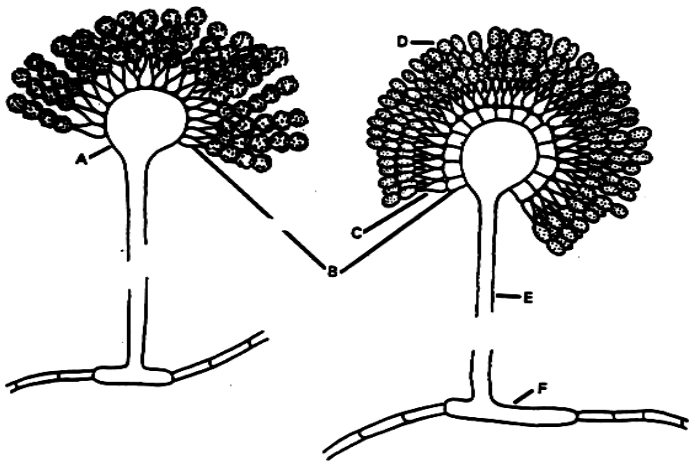
- **فصيلة مونيلياسي Moniliaceae**: المشيجة لا لون لها والأبواغ ذات لون فاتح أو أسود.

- **جنس *Penicillium***: يسمى بالفطر المكنسي له حوامل أبواغ كونيدية متفرعة تساعد على تصنيفه (الشكل 9-3)، ويوجد بنهاية حامل الأبواغ زوائد قارورية تسمى فياليدات Vialids تحمل أبواغ كونيدية سلسلية التوضع. هو المسبب للعفن الأزرق على الحمضيات، أحياناً يكون طفيلي على الإنسان والطيور. الفطر المفرز للبنسلين هو *P. chrysogenum* و *Penicillium notatum*.

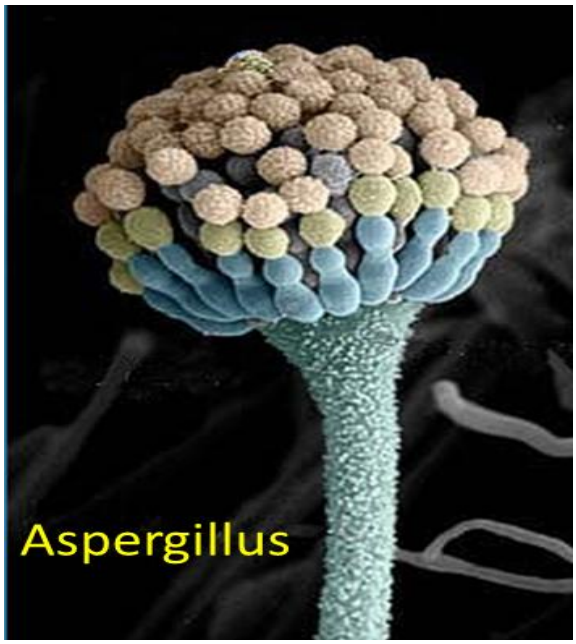


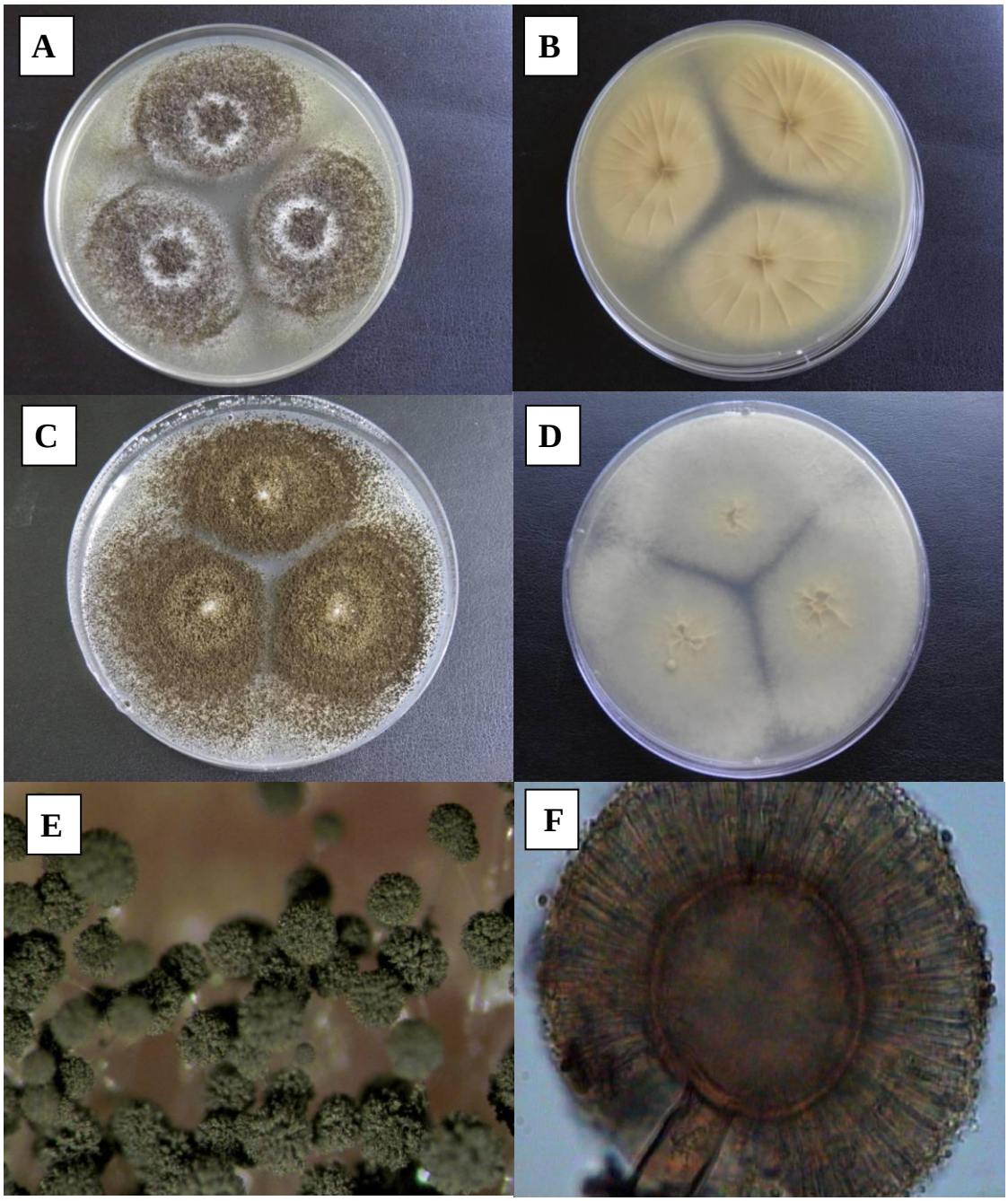
الشكل (9-3): الجنس *Penicillium* Link ex Fr.

– **جنس *Aspergillus***: تخرج حوامل الأبواغ الكونيدية من خلية قدمية وهي غير متفرعة تنتهي بانتفاخ (حويصل) يحمل صفاً واحداً من الزوائد القارورية Vialids فيكون من النمط البسيط، أو يحمل صفين من الزوائد فيكون من النمط المركب. توجد الأبواغ على الزوائد القارورية وتكون ملونة بلون فاتح أو أسود (الشكل 9–4). يُعدّ الجنس *Aspergillus* من الفطريات التي تتحمل الشروط البيئية الجافة ذات الحرارة المرتفعة، وينتشر في المناطق الجافة وشبه الجافة، وهذا الجنس معروف بإفساده للمواد الغذائية وإنتاجه لمواد استقلابية ثانوية سامة فمثلاً النوع *Aspergillus flavus* له قدرة على إفراز أكثر من سبعة سموم مختلفة في الحقل وفي المخازن أخطرها سموم الأفلاتوكسينات المسببة للسرطان وغيره من الأمراض، وينمو نحو 20 نوعاً منه في أجسام الكائنات الحية منها الإنسان مسببة أمراضاً تُعرف باسم الرشاشيات Aspergillosis.



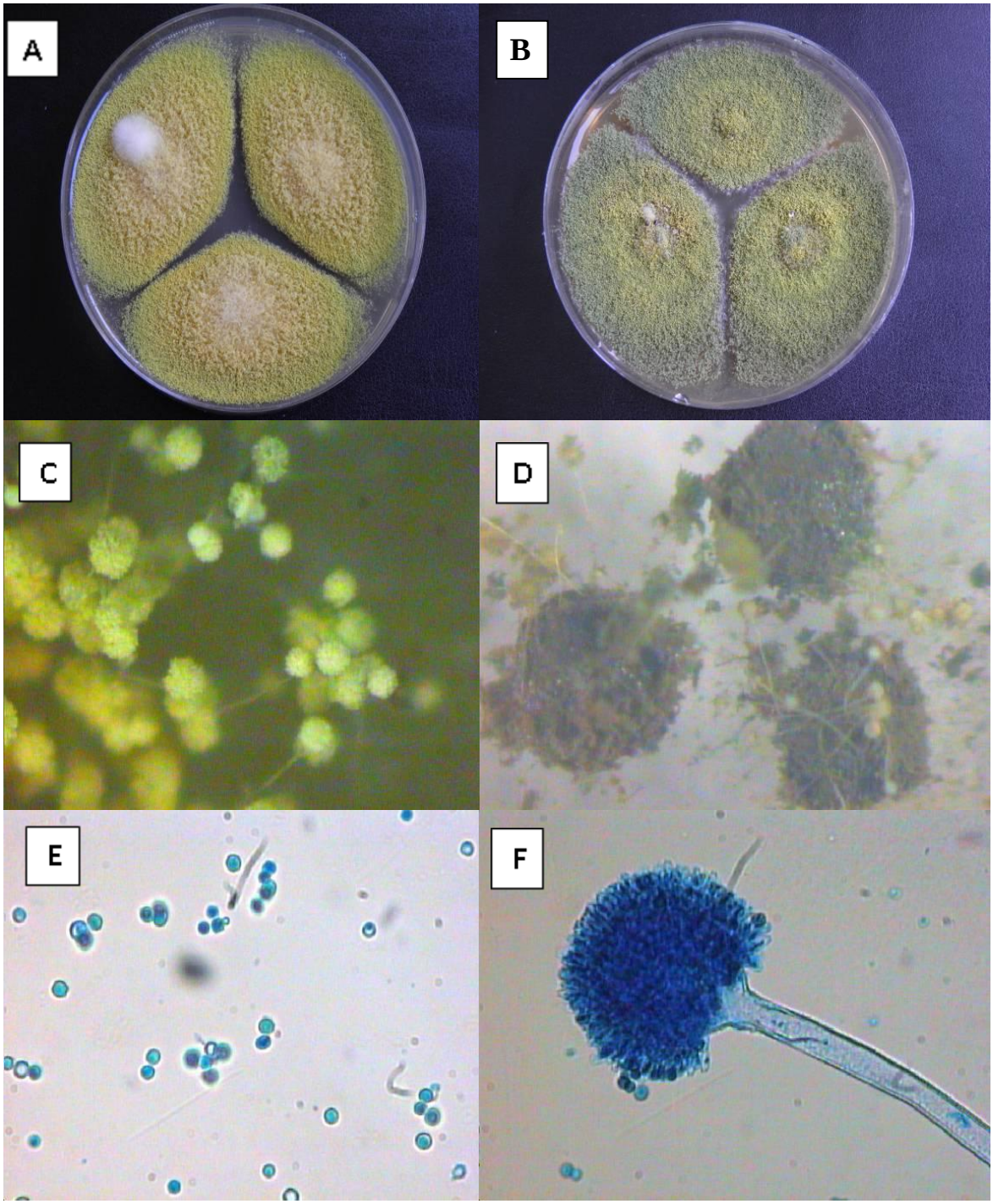
A . الحويصل — B . البراعم الأوّلية — C . البراعم الثانوية — D . الأبواغ الكونيدية — E . السويقة — F . الخلية القدمية .





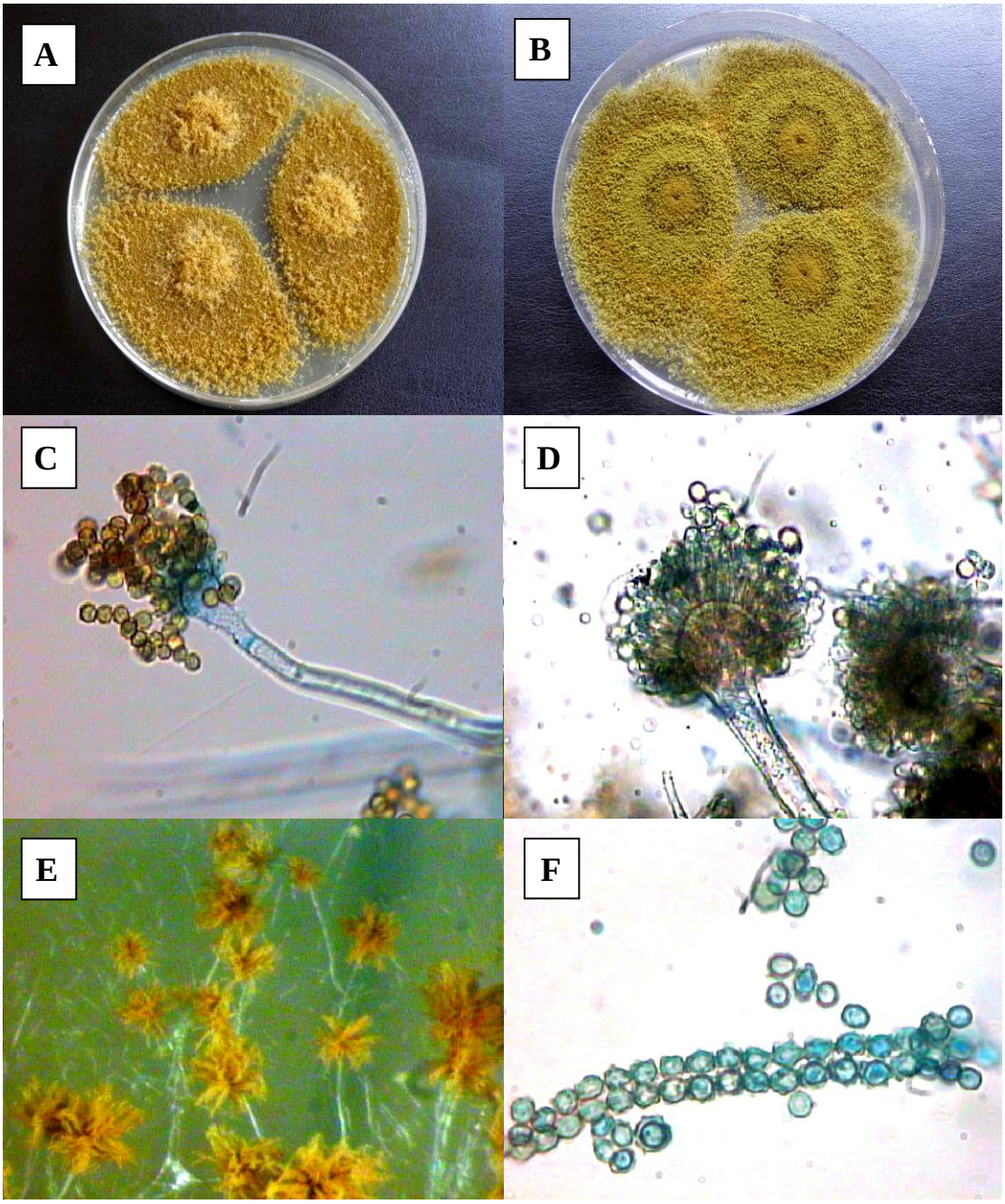
الشكل (8) النوع *Aspergillus niger* van Tieghem

A, B: مستعمرات النوع على وسط خلاصة الشعير أغار MEA بعد 10 أيام من الحضن عند 2±28°م من الأعلى والأسفل. C, D: المستعمرات نفسها على مستنبتCzapek Dox من الأعلى والأسفل. E: حوامل الأبواغ تحت المكبرة بتكبير X15. F: الرأس الكونيدي أو الحامل البوغي المركب ثنائي الطبقات بتكبير X 400.



الشكل (9-4): النوع *Aspergillus flavus* Link

A, B: مستعمرات النوع على وسط خلاصة الشعير أغار MEA ووسط Czapek Dox بعد 10 أيام من الحضن في درجة حرارة 2±28°م. C: حوامل الأبواغ أو الرؤوس الكونيدية تحت المكبرة تكبير 15 X.D: الأجسام القاسية الحجرية Sclerotia. E: الأبواغ الكونيدية تحت المجهر تكبير X600. F: الحامل البوغي المركب ثنائي الطبقات بتكبير X400.



الشكل (4-9) النوع Kita *Aspergillus tamarii*

A, B: مستعمرات النوع Kita *Aspergillus tamari* على وسط خلاصة الشعير أغار MEA ووسط Czapek Dox بعد 10 أيام من الحضن عند 28±2°م. C, D: الرؤوس الكونيدية أو الحامل البوغي ثنائي الطبقات بتكبير 200 و400 X. E: حوامل الأبواغ تحت المكبرة بتكبير X15. F: الأبواغ الكونيدية تحت المجهر تكبير 600 X.

❖ **فصيلة ديماتياسي Dimatiaceae:**

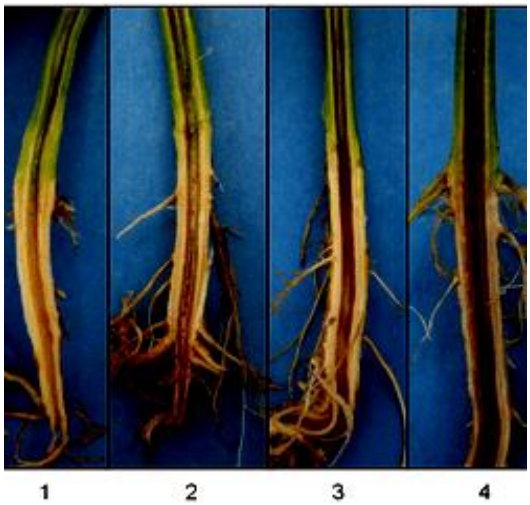
المشيجة ملونة ثخينة نوعاً ما، والأبواغ ملونة.

- **جنس *Alternaria***: تحمل الأبواغ على حوامل الأبواغ الكونيدية القصيرة نوعاً ما بشكل سلسلي، وتكون البوغة سوداء اللون ومتعددة الخلايا مخروطية الشكل أو بيضوية. يعيش في التربة بشكل رمي، ويكون طفيلي في حال وجود المضيف إذ يصيب النوع *Alternaria solani* نباتات الفصيلة الباذنجانية بمرض اللفحة المبكرة مما يسبب تلف المحاصيل الزراعية. على طبق بتري له مظهر مخملي أسود.

- **جنس *Stemphylium***: تحمل الأبواغ على حوامل الأبواغ الكونيدية القصيرة نوعاً ما بشكل متفرع، وتكون البوغة سوداء اللون متعددة الخلايا كروية الشكل ملساء أو مزودة بأشواك. يعيش في التربة بشكل رمي ويصيب نباتات الفصيلة الباذنجانية بمرض اللفحة المبكرة مما يسبب تلف المحاصيل الزراعية. له مظهر مخملي أسود على طبق بتري.

❖ **فصيلة توبركولارياسي Tuberculariaceae:**

- **جنس *Fusarium***: تكون المشيجة رقيقة تحمل ثلاثة أنواع من الأبواغ هي الأبواغ الكونيدية الصغيرة بيضوية الشكل مكونة من خلية واحدة أو من خليتين محمولة على حوامل قصيرة، والأبواغ الكونيدية الكبيرة منجلية الشكل مكونة من عدة خلايا، والأبواغ المغطاة التي تتشكل في الظروف السيئة توجد بشكل بيني ضمن الخيط الفطري ذات غلاف ثخين مقاوم للظروف البيئية القاسية. له شكل ومظهر القطن على طبق بتري (الشكل 9-5). يعيش في التربة حياة رمية لكنه يصيب العديد من النباتات مثل القطن والبندورة مسبباً أمراض الذبول الفوزارية.



❖ **آلية حدوث الذبول الوعائي:**

نلاحظ حين حدوث أمراض الذبول الفوزارية اسوداد الأوعية الخشبية على شكل حلقات أو خطوط أو بقع، ويظهر ذلك على المقطع العرضي لساق نبات مصاب حيث يتلون الخشب بلون بني أو أسود يتناسب غمق اللون مع شدة الإصابة، ويعزى ذلك إلى نشاط الإنزيم المؤكسد لعديد الفينول Polyphenol oxidase الذي

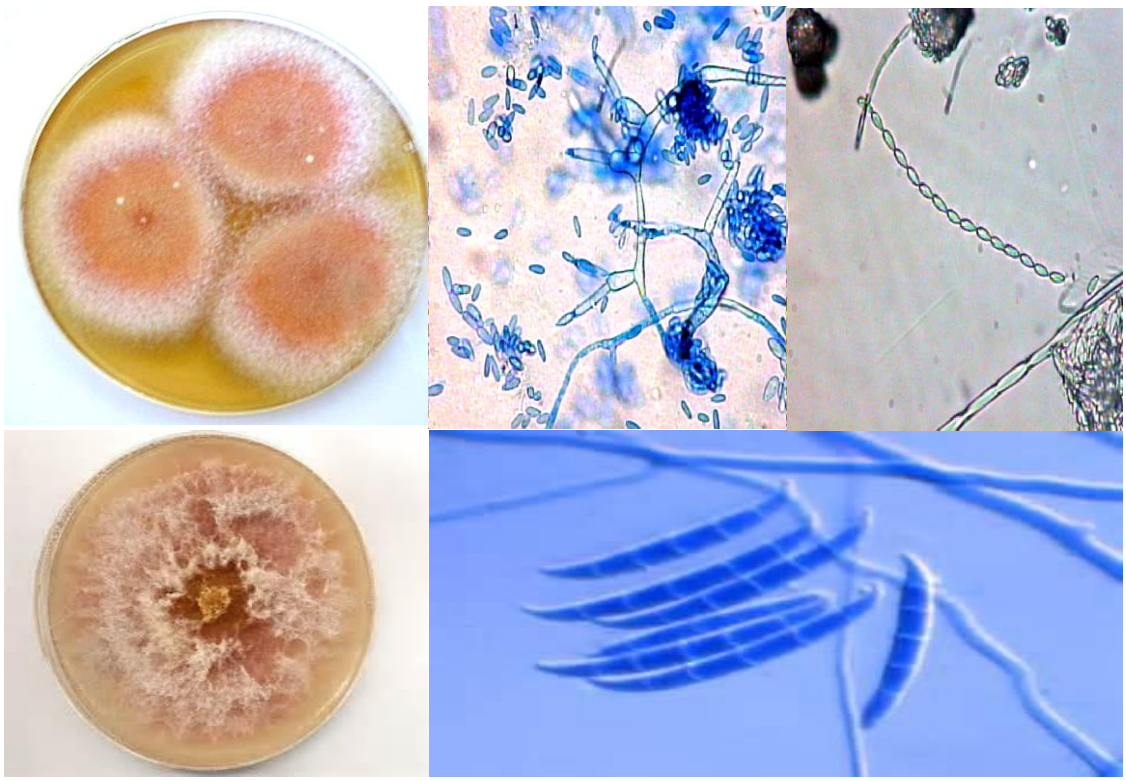
يؤكسد مركبات الكينون إلى مركبات الميلانين الداكنة. تُعزى آلية الذبول الوعائي إلى عدة آليات فيزيولوجية تتضافر مع بعضها في كسر التوازن المائي للنبات من أهمها ما يلي:

1- تراكم مكونات الفطر داخل الأوعية الخشبية (مشيجة – أبواغ – منتجات الفطر الأخرى) مما يعيق حركة الماء نحو الأعلى.

2- يفرز الفطر إنزيمات معينة تؤثر على المواد البكتينية حيث تتحلل الصفائح المتوسطة وتتحول إلى مركبات بكتينية لزجة تنتشر في الأوعية الخشبية وقد تتحد مع بعض الشوارد مثل Ca^{++} و Mg^{++} مكونة مركبات ذات طبيعة جيلاتينية تعيق مرور الماء. كما تؤثر إنزيمات الفطر سلباً على عملية تكوين الخشب فتتكون أوعية خشبية صغيرة تساهم في ظهور أعراض الذبول.

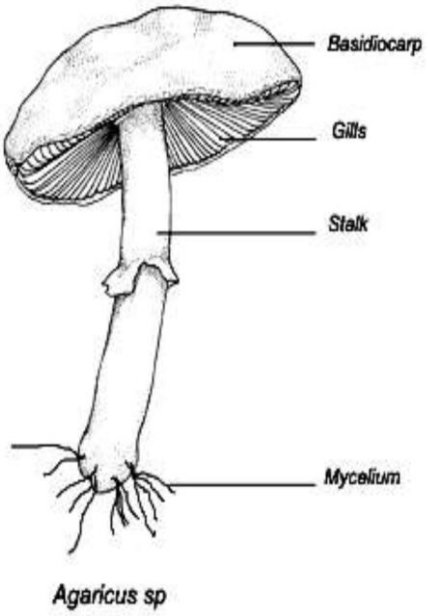
3- يُسبب انخفاض المحتوى المائي للأوراق حدوث قوة شد للماء في الأوعية الخشبية مما يؤدي إلى تكوين بلورات ضمن أوعية الخشب تعيق مرور الماء.

4- تفرز فطريات الذبول مواد سامة ضمن الأوعية الناقلة تسير مع النسغ الناقص لتصل إلى أجزاء النبات العلوية، وتعمل على اختلاف نفاذية الأغشية الخلوية، وزيادة معدل سرعة النتح، كما تؤدي إلى تدهور الكلوروفيل واصفرار الأوراق.



الشكل (9-5): شكل وبنية فطريات الجنس *Fusarium* في الأعلى النوع *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

4- الفطريات الدعامية:



Agaricus sp

تحتوي الفطريات الدعامية كالفطريات الزقية على خيط فطري مقسم بجدر عرضية، وتتشكل الأبواغ بشكل خارجي على دعامات تمثل خيوطاً فطرية متخصصة تتشكل على السطح السفلي للجسم الثمري.

• **فطر عيش الغراب *Agaricus***: هو فطر دعامي يتألف الجسم الثمري الذي يحمل الأبواغ من مجموعات من الخيوط الفطرية المتراصة يُعرف بفطر الحقل الشائع مثل *Agaricus campestris* المنتشر في سورية. تعد معظم الفطريات الدعامية المعروفة سامة، ويعد فطر أمانيتا *Amanita* أكثر سمّية من بين كل أنواع الفطريات الدعامية (الشكل 9-6).

الشكل (9-6): شكل ولون فطر أمانيتا *Amanita* السام (يمين) وفطر *Agaricus campestris* المأكول

- **عزل الفطريات وتصنيفها:**

1- 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

2- 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).

3- قم بعزل الفطريات النامية في أطباق بتري أو أنابيب تحوي أوساطاً مغذية على شكل أرومات كي تحدد هويتها وتقوم بتصنيفها.

4- يتم فحص المستعمرات الفطرية بوساطة المكبرة ثم بالمجهر.

5- توضع نقطة من صبغة اللاكتوفينول وأزرق القطن على شريحة زجاجية، ثم يزال بهدوء جزء بسيط من طرف المستعمرة الفطرية النامية في الطبق وتوضع في الصبغة.

6- يفرد المحضر بهدوء على الشريحة بحيث يمكن رؤية الأجزاء المختلفة للفطر.

7- توضع ساترة فوق المحضر ويوضع على رف المجهر للفحص.

8- يفحص المحضر بالعدسة الصغرى ثم بالمتوسطة ثم الكبرى.

ملاحظة: يمكن أخذ قطعة من لاصق أو لزيق شفاف بقدر مساحة الساترة، وتوضع على طرف المستعمرة وتسحب للجانب ثم توضع فوق صبغة أزرق القطن.

9- حاول وصف الفطر ورسمه بالاستناد على الملاحظات التالية:

شكل المشيجة الفطرية متفرع أم لا، والمشيجة مقسمة أم لا، وطريقة توزع الحوامل البوغية وتوضع الأبواغ، ثم أشكال الأبواغ والحوامل البوغية.

10- أهم الأنواع الفطرية في التربة هي من الفطريات الناقصة رتبة Moniliales، والابتدائية خاصة الازدواجية من رتبة Mucorales، وبعض البيضية وأنواع من الخمائر. اكتب بعض الخواص الشكلية المساعدة لتصنيف أجناس الفطريات التالية:

Rhizopus, Alternaria, Penicillium, Aspergillus, Mucor.

انتهت المحاضرة