

## عزل الفطريات : Isolation of fungi

التربة تفتت المايسيليوم والسبورات ما يؤدي الى زيادة الاعداد الناتجة.  
هناك عدة طرق لتقدير اعداد الفطريات دون الحاجة الى تخفيفها كما انها تساعد على دراسة خصائصها. فتستخدم طريقة العد المجهرى المباشر لتقدير اعداد الفطريات في طبقة التربة السطحية، كما تستخدم طريقة الشريحة المطمورة للعالمين Rossi-Cholodny لمشاهدة الهيافات وطرق توزيعها وانتشاره في وضع اقرب للطبيعي في التربة.

تأثير العوامل البيئية:

تؤثر العوامل البيئية التي ذكرت سابقا في انتشار الفطريات في التربة. تزداد اعداد اجناس *Fusarium* , *Mucor* , *Penicillium* , *Trichoderma* , *Aspergillus* عند إضافة المواد العضوية.

تسود الفطريات في البيئات الحامضية ولا يعود ذلك الى كونها تفضل تلك البيئات وانما الى كون الوسط الحامضي لا يوجد فيه تنافس يذكر معها على المواد الغذائية.

تفضل الفطريات النمو في الأوساط الرطبة الى حد ما حيث يلاحظ انخفاض مستوى نشاطها عند الانخفاض الملحوظ في مستوى الرطوبة كما ان الرطوبة الزائدة تثبط نموها لتأثيرها على عملية نقل الأوكسجين.

تعتبر الفطريات الخيطية أحياء هوائية رغم وجود شواذ تنمو بدرجة بسيطة عند نفاذ الأوكسجين، وهذا ما يفسر وجود المايسيليوم في الطبقات السطحية للتربة وغيابه في اعماق التربة وفي الاراضي ذات الرطوبة العالية.

معظم انواع الفطريات وسطية الحرارة ونادرا ما تنمو في درجات الحرارة العالية . والفطريات التي تنمو بدرجة 37م تتمركز على سطح التربة ، اما المحبة للحرارة فتتنمو بين 50-55م وتوجد في الاسمدة العضوية حيث ترتفع الحرارة بفعل عملية التخمر.

من الفطريات المحبة للحرارة انواع تابعة للاجناس *Aspergillus* , *Mucor* , *Humicola* اما المحبة للبرودة فتابعة للاجناس *Mucor* , *Pinicillum* , *Cladosporium* , *Cylendrocarpon* تنمو في درجة 6م ويزداد نموها بزيادة عمق التربة.

الفطريات هي كائنات حية حقيقية النواة (Eukaryotic) تمتلك كل خلية فطرية نواة واحدة على الأقل محاطة بغشاء نووي ثنائي الطبقة وسايتوبلازم يحوي على الشبكة الاندوبلازمية والمايتوكوندريا وجهاز كولجي والعضيات السايتوبلازمية الأخرى. تفتقد الفطريات إلى البلاستيدات وهذا ما يميزها عن الخلايا النباتية لذلك تكون غير ذاتية التغذية (Heterotrophic) بل تعتمد في حصولها على الغذاء على مصادر خارجية إما تكون مواد عضوية متفسخة أو كائنات حية أخرى كالنباتات والحيوانات ومن هذا الأساس نشأت أساليب التغذية والمعيشة الفطرية فهي إما تكون رمية التغذية Saprophytic أو طفيلية Parasitic أو متعايشة Symbiotic.

لا تكون الفطريات الجزء الأكبر من كائنات التربة الحية، الا انها تمثل جزءا كبيرا من الكتلة الحية للاحياء المجهرية في كثير من الترب جيدة التهوية. ويعود ذلك الى غزارة نموها الخيطي السميك المتشابك. تعتبر العامل الاول المسئول عن تحليل المواد العضوية في الاوساط الحامضية.

تنمو الفطريات على هيئة هايفات تتشابك مع بعضها مكونة نسيجا يعرف بالمايسيليوم، والمايسيليوم اما ان يقسم بجدران عرضية أو يبقى بدون تقسيم ، ويكون ساينو بلازم هايفات الفطر غير المقسمة كتلة واحدة مستمرة محتوية على عديد من الانوية. تتميز هايفات الفطر عن مثيلاتها في البكتيريا الخيطية بسمكها الواضح. والهايفات اما ان كون خضرية أو تكاثرية ،فالتكاثرية هي التي تحمل السبورات الجنسية أو اللاجنسية ، والاولى تكون محددة الانتشار بينما تكون الكونيديات أو السبورات اللاجنسية وفيرة وواسعة الانتشار في الطبيعة. الميسيليوم عديم اللون في المزارع عادة في حين تأخذ السبورات اللاجنسية الوانا واضحة ويعكس البكتيريا فان للصفات المورفولوجية للفطر مثل الحجم والشكل والتركييب والخواص المزرعية اهمية كبرى في التقسيم.

تتعرض عملية تقدير كثافة الفطريات بطريقة الاطباق الى نقد شديد وذلك لان المجاميع التي تظهر تنشا من السبورات أو من اجزاء من المايسيليوم الخضري لذا يصعب تمييز ما إذا كان الكائن في حالة نشطة ام ساكنة في التربة. بالاضافة الى ان الاجناس التي تنتج اعدادا غزيرة من السبورات مثل *Aspergillus* و *Fusarium* تظهر باعداد كبيرة على الاطباق وبذلك تكون هي الاجناس السائد عزلها. كما ان عملية رج تخفيفات

### الغرض من التجربة:

عزل وعد وتشخيص الاعفان الموجودة في عينة التربة ودراسة صفاتها المظهرية.

### المواد المستخدمة:

1. يستخدم الوسط ( Potato Dextrose Agar PDA أو Rose Bengal Media )
2. أنابيب اختبار، ماء مقطر معقم ، محلول اللاكتوفينول ، أطباق زجاجية، سلايدات زجاجية، أغطية الشريحة cover slip .

### طريقة العمل:

1. تحضر التخافيف المطلوبة من نماذج التربة المختلفة لغاية التخفيف  $10^5/1$  وينقل 0.1 مل من التخفيف المطلوب إلى طبق زجاجي معقم (ثلاث أطباق لكل تخفيف).
2. يصب الوسط الغذائي المختار (وسط الروز بنكال Rose Bengal Media) أو (وسط أكار البطاطا دكستروز Potato Dextrose Agar PDA) ثم يمزج الوسط مع العينة مباشرة ويترك ليتصلب.
3. احضن الأطباق في حاضنة عند درجة حرارة  $30^{\circ}\text{C}$  مدة أسبوع وتلاحظ مستعمرات الاعفان النامية على الوسط (النمو خيطي، المستعمرات هشة وذات ذات حبيبات صبغية مختلفة منها البيضاء والخضراء والسوداء) وتقاس أقطار المستعمرات وتفحص نماذج من مستعمرات مختلفة تحت المجهر. وذلك بوضع قطره من محلول اللاكتوفينول (فينول وحامض اللاكتيك وكليسيرول وماء مقطر) على شريحة زجاجية نظيفة ثم ينقل جزء من مستعمره العفن بواسطة إبرة التلقيح ويوزع هذا الجزء برفق على قطرة اللاكتوفينول ثم يوضع غطاء الشريحة على العينة ثم تفحص الشريحة وتسجل الملاحظات التالية:

- تشعبات خيوط العفن Hyphae.
- أشكال الكونيدات وحواملها Conidia & Conidiophore .
- أشكال حافظات الابواغ وحواملها Sporangia & Sporangiphore.
- أشكال الابواغ.
- رسم الأجناس المعزولة