كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : طحالب وفطريات

المحاضرة : الثانية/عملي/د.سومر

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z



2026

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر(What's app-Telegram)على الرقم 0931497960

عزل الفطريات Isolation of Fungi مع الإشارة لبعض أنواع الفطريات المتوقع الحصول عليها من مصادر العزل

## عـــــزل الفطريات : Isolation of fungi

إن الفطريات تتواجد في كل مكان من اليابسة والماء والمناطق المتجمدة في القطبين الشمالي و الجنوبي كما هي موجودة في خط الاستواء والمناطق المعتدلة وتوجد على ارتفاع آلاف الأمتار
في الجو وعلى عمق عدة أمتار تحت سطح التربة وتوجد ملتصقة أو متطفلة على الأجزاء
النباتية و الحيوانية وتخلو منها فقط المناطق الملتهبة وفوهة البراكين وكذلك المناطق والمواد المعقمة بأجهزة التعقيم.

إن الهدف الحقيقي لعزل الفطريات قد يعزى إلى عدة أسباب:

1. التعرف الحقيقي على المحتوى الكمي والنوعي للفلورا الفطرية وتنوعها وترددها وسيادة أنواعها وخصوصاً في الترب الزراعية.
2. تشخيص الفطريات المرضية عن الفطريات المترممة الأخرى.
3. الحصول على مزارع نقية Pure cultures للفطريات المعزولة من المكان المراد العزل منه.
4. لأجراء العديد من الدراسات العلمية عليها كالتضاد والحساسية و الامراضية وغيرها.

ولغرض عزل الفطريات لا بد من تهيئة متطلبات بيئية وغذائية لغرض إنماء الفطريات :

1. أوساط زرعيه مناسبة وملائمة لنمو وتكاثر الفطريات .
2. توفر أجهزة حضن Incubators لحضن الفطريات وهذه الأجهزة توفر كل الظروف المناسبة من درجة حرارة وتهوية والرطوبة إضافة إلى الإضاءة .
3. كما تتطلب عملية عزل الفطريات إلى السيطرة على تواجد أحياء أخرى مثل البكتيريا والفطريات المترممة التي قد تتداخل مع الغاية من عملية العزل وعلى هذا الأساس يجب أن تكون الأطباق والماصات والماء وغرفة العزل معقمة كلياً كما يضاف إلى الوسط الزرعي بعض المضادات الحيوية مثل Chloramphenicol أو القليل من مادة Rose Bengal لمنع نمو البكتيريا والتقليل من نمو بعض الفطريات .

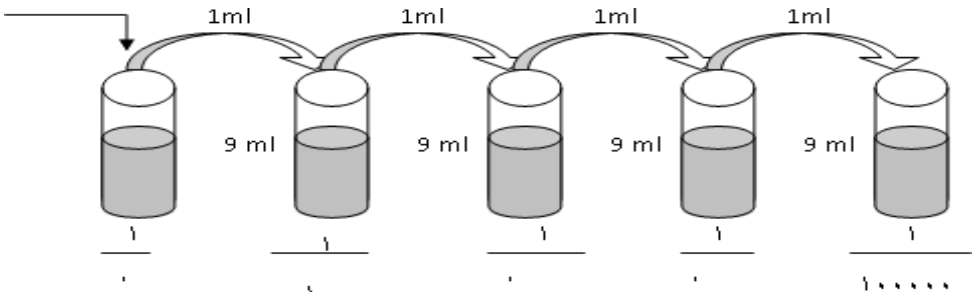
يمكن عزل الفطريات من مواقع عدة وبطرائق عدة منها :

1. عزل الفطريات من الهواء Isolation from air

لغرض التعرف على الفطريات الموجودة في الهواء يترك طبق بتري حاوي على وسط غذائي معقم مكشوفاً لفترة من الزمن في مكان الاختبار بصورة افقية او تحرك اليد الحاملة لقاعدة الطبق بصورة افقية من الاعلى الى الاسفل او من اليمين الى اليسار ثم يغطى الطبق بالغطاء
ويوضع في الحاضنة على درجة حرارة 25- 27 م لمدة 5 ايام ثم تفحص الاطباق يومياً
لملاحظة نمو الفطريات . ويوضع الطبق بالحاضنة بشكل مقلوب لتلافي نشوء قطرات الماء على السطح الداخلي لغطاء الطبق وبالتالي تلافي سقوطها على الوسط الغذائي وعلى الفطر النامي خلال الوسط .

## 2- عزل الفطريات من الماء Isolation from water

الطريقة المستخدمة لعزل الفطريات من الماء هي طريقة التخافيف Dilution method حيث يؤخذ حجم معين من المصدر المائي ( بركة ، نهر،.....الخ) الذي يراد عزل الفطريات منة بواسطة قناني خاصة ومعقمة ثم يؤخذ 10 مل من العينة وتنقل الى دورق مخروطي معقم يحتوي 90 مل من الماء المقطر المعقم ويرج المحلول فنحصل على التخفيف 10 ثم ينقل 1 مل من التركيز الاول و باستخدام ماصة معقمة الى انبوبة اختبار تحوي 9 مل من الماء المقطر المعقم فنحصل على التخفيف 10 ، نكرر العملية عدة مرات باستخدام ماصات معقمة فنحصل على مجموعة تخافيف ( 10 ، 10 ،....) ثم ينقل 1 مل من التخفيف المطلوب (الاخير ) الى طبق بتري معقم ثم يصب مقدار مناسب من البيئة السائلة (45 م ) في طبق بتري الحاوي على العينة وبثلاث مكررات لمقارنة النتائج ويحرك الطبق حركة دورانية بسيطة بصورة افقية كي يختلط اللقاح مع البيئة ثم تترك الاطباق ليتصلب الوسط ثم تنقل الى الحاضنة على درجة حرارة 25- 27 م لمدة 5 ايام ثم تفحص الاطباق لملاحظة نمو الفطريات وعزلها .




## 3- عزل الفطريات من التربة Isolation from soil

### أ- طريقة التخافيف Dilution method

هي نفس خطوات الطريقة السابقة ( 2 ) ولكن هناك اختلاف بسيط حيث يؤخذ نموذج من التربة المراد فحصها وتزال الشوائب منها باستخدام منخل ثم يؤخذ 10 غرام من التربة الجافة وتضاف الى دورق مخروطي حاوي 90 مل من الماء المقطر المعقم وترج ثم تترك لمدة 20 ثانية لتترسب دقائق التربة فنحصل على التخفيف 10 ثم نجري بعدها تخفيفات متتالية كما سبق مع رج الانبوبة عند اخذ اللقاح منها في كل مرة ثم ينقل 1 مل من التخفيف الاخير الى طبق بتري معقم وبثلاث مكررات ثم يصب مقدار مناسب من البيئة السائلة مع حركة دورانية بسيطة للطبق وتترك لتتصلب ثم توضع في الحاضنة لمدة 4 ايام ويلاحظ نمو الفطريات ليتم عزلها .

عدد الفطريات في 1غم تربة = معدل عدد المستعمرات في الأطباق x مقلوب التخفيف المستعمل

### ب- الطريقة المباشرة

يؤخذ 0,1 غرام من التربة ( كمية قليلة جداً ) نظيفة وناعمة على حافة مشرط معقم وتوضع في طبق بتري معقم وبثلاث مكررات ثم يوضع عليها قطرة من الماء المعقم ( لتوفير الرطوبة وتشجيع نمو الفطريات ) ثم تصب عليها البيئة السائلة مع تحريك الطبق حركة دورانية بسيطة على المنضدة لتوزيع اللقاح بالتساوي على البيئة السائلة ثم تترك الاطباق ليتصلب الوسط ثم تنقل الى الحاضنة وتفحص بعد 4 ايام .

## ج - طريقة السلايد أو الملامسة :

تتمثل الطريقة بوضع سلايد زجاجي معقم في شق تربة حيث يضغط السلايد في التربة، يترك هناك لعدة أيام ثم يؤخذ السلايد وتنزع منه الكتل الترابية الكبيرة بعد ذلك يوضع السلايد على سطح وسط غذائي كأن يكون وسط PDA بحيث يكون السطح الذي لامس التربة على الوسط الغذائي بعد ( 3- 5 ايام ) وعلى درجة (25° م ) يتم فحص الهايفات الخارجة والنامية خارج منطقة السلايد ثم يتم نقل هذه القطع إلى وسط غذائي لغرض التنقية والتشخيص .

## -د- طريقة الثمار :

تجرح الثمار كالخيار أو الجزر أو التفاح ثم توضع في تلك الجروح نموذج من التربة المراد فحص الفطريات فيها وبعد ( 3 أيام ) يتم فحص نمو الفطريات خارج منطقة وضع التربة في الجرح نفسه ثم تنقل أجزاء مصابة من الثمار إلى أوساط غذائية للتنقية، يتم معرفة تواجد الفطريات في منطقة الإصابة من خلال تطور المناطق المصابة مكن الثمار والتي تختلف أنسجتها عن تلك السليمة.

### ه- طريقة التعويم flotation :

واحدة من الطرق السريعة والسهلة والتي تستخدم في عزل الابواغ من التربة باتباع الخطوات التالية :

1. تؤخذ عينة من التربة وتوضع في دورق مخروطي ويضاف اليها كمية معلومة من الماء المقطر حجم 1:1 ممزوج معه زيت معدني .
2. ترج التربة المخلوطة مع الزيت المعدني بالماء جيدا .
3. تؤخذ قطرة من المستحلب المجتمع على سطح الماء الذي يحتوي معظم الابواغ (80-90 %) الموجودة في التربة وتوضع على شريحة زجاجية ثم يوضع الغطاء .
4. تفحص تحت المجهر وبعد التأكد من وجود الابواغ يمكن نقل كمية قليلة من المستحلب بواسطة ناقل معقم الى سطح وسط زرعي في اطباق بتري وتحضن ويلاحظ تكون الغزل الفطري .

### 4- عزل الفطريات من الانسجة النباتية المصابة

تغسل الاجزاء النباتية المصابة بالماء للتخلص من التربة العالقة بها ثم تقطع الى قطع صغيرة بحدود 0,5 سم من حافة البقعة المصابة بحيث تشمل كل قطعة على النسيج المريض والنسيج الذي يبدو سليماً ثم توضع القطع في احد المحاليل المعقمة سطحياً مثل هيبوكلورات الصوديوم Nacl بتركيز 1% او كحول اثيلي بتركيز 70 % لمدة من 1- 3 دقائق ثم تنقل بواسطة ملقط معقم الى الماء المقطر المعقم تغسل للتخلص من الكمية الزائدة من مادة التعقيم ثم تنقل بواسطة ملقط معقم الى ورق الترشيح للتنشيف ثم تنقل بواسطة ملقط معقم الى طبق بتري حاوي على الوسط الغذائي ويتم ترتيب القطع بحيث يحوي الطبق الواحد 3- 5 قطع ثم تحضن الاطباق وبعدها يتم ملاحظة نمو الفطريات لعزلها .

يقصد بالتعقيم السطحي Surface Sterilization هي عملية ازالة او القضاء على الكائنات المجهرية الموجودة على سطح المنطقة المصابة .

**ملاحظة :**

لمنع حدوث التلوث ببعض السبورات المتطايرة في هواء المختبر يضاف الى الوسط المضاد البكتيري Chloramphenicol بنسبة 0,05 ملغم / مل من الوسط الغذائي ، وكذلك يضاف الى الوسط المضاد الفطري Cyclohaxamide بتركيز 0,5 ملغم/ مل لاعاقة نمو الفطريات السريعة النمو .

## بعض أنواع الفطريات المتوقع الحصول عليها من مصادر العزل

وجد أن بعض الفطريات الموجودة في الهواء والتي تسبب التلوث في المختبرات قد تصبح في بعض الأحيان فطريات ممرضة , ولما كان عدد كبير من الأجناس والأنواع هي من صف الفطريات الناقصة والصفوف الأخرى ومن هذه الفطريات.

1- البنسليوم Penicillium .

شكل المستعمرة :

تنمو بسرعة ويكون لونها أخضر أو أزرق مخضر أو تكون بألوان أخرى تكون بيضاء في البداية ثم تتلون بعد نضوج الكونيدات ويكون سطحها مخملي أو دقيقي نتيجة وجود الكونيدة بكثرة

.

تنمو حوامل الكونيدات Conidiophores الشبيه بالفرشاة من هايفات مقسمة والكونيدات وحيدة الخلية كروية الشكل ملساء أو خشنة الجدار وتكون على نهاية ذنيبات دورقية الشكل وتختلف أنواع البنسليوم في تفرع الحوامل الكونيدية والكونيدات ويكون هذا الفطر في بعض الأحيان مرضياً

## 2.الأسبرجلس Aspergillus

شكل المستعمرة : تكون المستعمرة بطيئة الى سريعة النمو بيضاء اللون في بداية نموها ثم تتلون فتصبح زرقاء مخضرة أو صفراء مخضرة أو سوداء سطحها مخملي الى قطني.

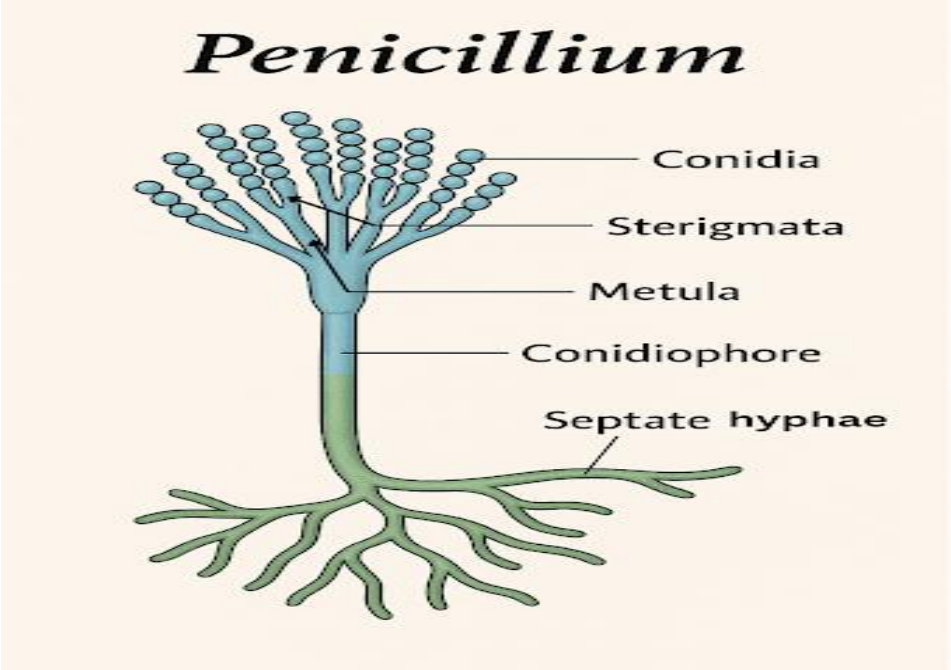
الفحص المجهري: يكون الميسليوم من النوع المقسم, والحامل الكونيدي طويل وينتهي بحوصلة يحتوي سطح الحوصلة على عدد كبير من الذنيبات الدورقية الشكل وعليها سلاسل من الكونيدات الأحادية الخلية كروية الشكل وينتهي الحامل الكونيدي بخلية قدم Foot cell.

## 3. الفيوزاريوم Fusarium

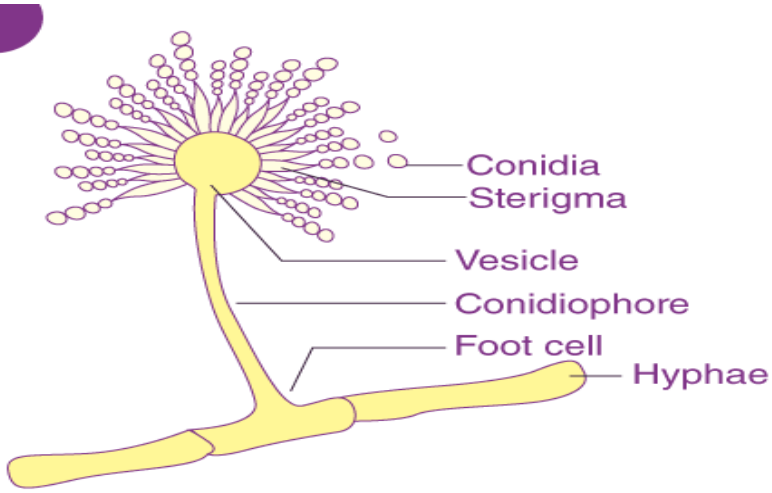
شكل المستعمرة: فطر ينمو بسرعة لونه أبيض في البداية بشكل قطني , غالبا ما يصبح لون المستعمرة وردي أو بنفسجي .

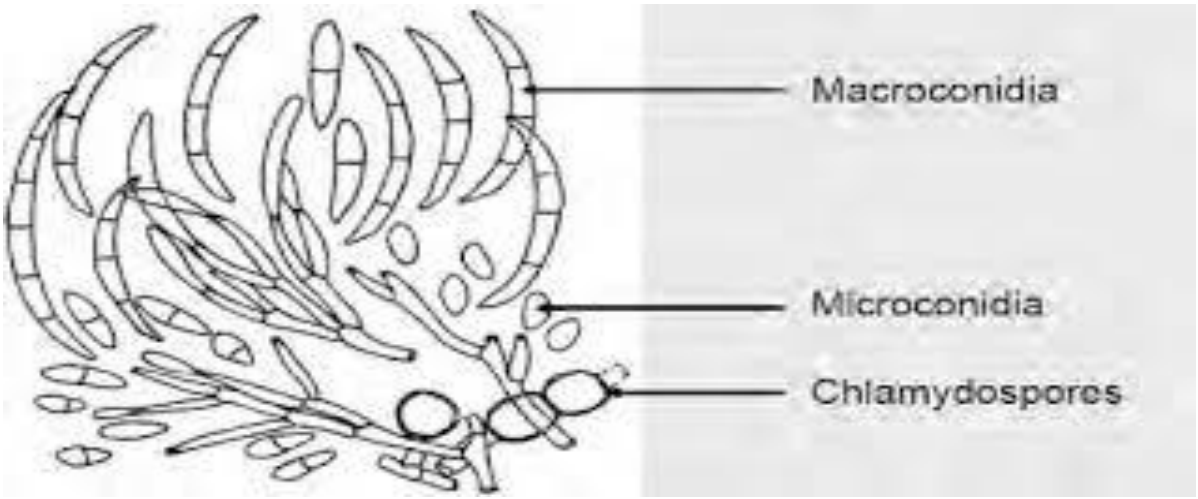
الفحص المجهري: يكون المايسليوم من النوع المقسم , تحمل الكونيدات إما بشكل مفرد أو سلاسل وتكون الحوامل الكونيدية قصيرة متفرعة بشكل غير منتظم ويكون أنواع من الكونيدات إما أن تكون كونيدات صغيرة Microconidia أحادية الخلية بيضوية الشكل أو مستطيلة أو كونيدات كبيرة Macroconidia

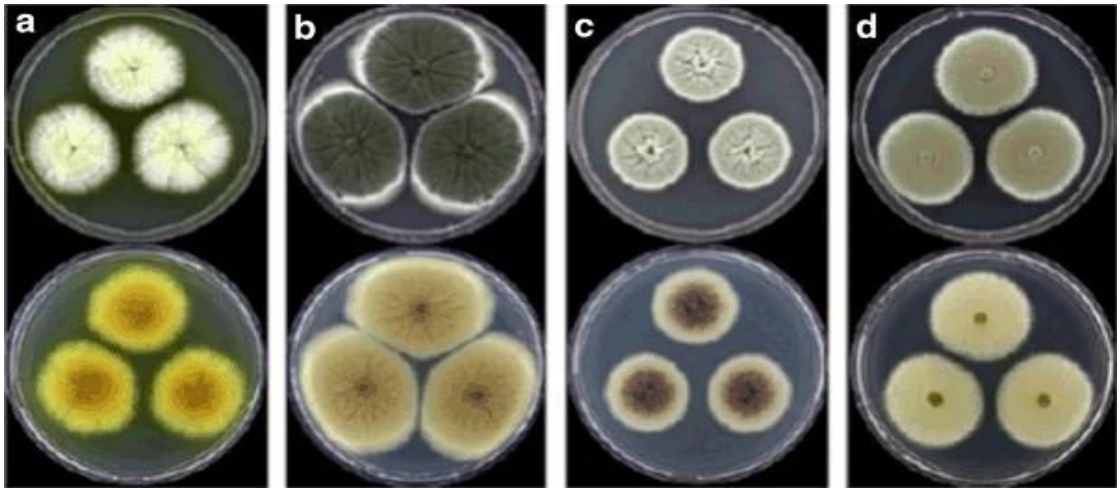
تكون بشكل الهلال منحنية في نهاياتها الدقيقة وتتكون من 2-6 خلايا . أما النوع الثالث فيسمى جراثيم كلاميدية Chlamidiospores التي تتكون من خلية واحدة أما طرفية أو بينية في المايسليوم ومتغلضة الجدار.



# ASPERGILLUS



ج- تحت شعبة Pezizomycotina SUB-PHYLUM: Pezizomycotina

a- صف Eurotiomycetes a-CLASS: Eurotiomycetes

*المميزات العامة للصف:

1- تحتوي على ثمار كيسية كروية الشكل تدعى الثمرة المغلقة (Cleistothecium).
2- الاكياس كروية وصولجانية الشكل ووحيدة الغلاف (الجدار).
3- قد ينحل جدار الكيس بصورة مبكرة محررة الابواغ داخل فجوة الثمرة الكيسية أو لا ينحل جدار الكيس حتى عند النضج.
4- لها غزل فطري مقسم عديد الانوية ومتشعب.
5- تضم فطريات رمية المعيشة بعضها لها أهمية اقتصادية تستعمل في انتاج العديد من الحوامض والاجبان، بعضها يفرز السموم والبعض الاخر طفيلية اختيارية أو اجبارية.

رتبة Eurotiales ORDER: Eurotiales

*المميزات العامة للرتبة:

1- الاكياس تكون مبعثرة في الجسم الثمري وغير دائمية، تنحل جدرانها بصورة مبكرة وتتحرر الابواغ الكيسية داخل الثمرة.
2- ليس للثمرة الكيسية زوائد خيطية.
3- معظمها رمية المعيشة والبقية طفيلية ضعيفة.

عائلة Eurotiaceae FAMILY: Eurotiaceae

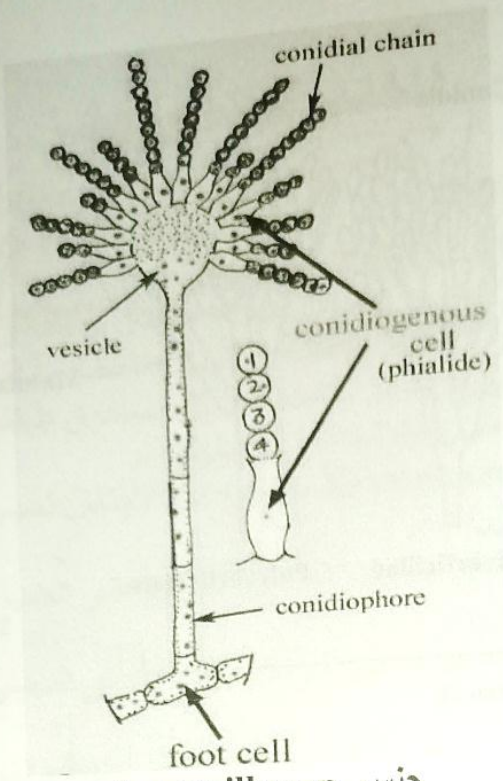
1- جنس Aspergillus sp. e.g.: Aspergillus sp.

*المميزات العامة للجنس:

1- رمي واسع يصيب البذور، المواد الغذائية والجلود.
2- واسع الانتشار في البيئة والسبب بذلك:
   أ- قابليته على تكوين كونيدات بأعداد هائلة وتكون صغيرة الحجم، خفيفة الوزن يمكن انتشارها بسهولة.
   ب- قابلية الفطر على تحمل مديات واسعة من درجات الحرارة و pH أي انه يتحمل ظروف بيئية مختلفة.
   ج- قابليته على افراز العديد من الانزيمات التي تجعله قابلاً على النمو في الأوساط المختلفة.
3- الطور اللاجنسي يسمى Anamorph (Imperfect).
4- في مرحلة التكاثر اللاجنسي هناك خلايا متخصصة تنشأ منها الحوامل الحوامل الكونيدية تسمى هذه الخلايا بالخلايا القدمية Foot cells.
5- ناتج التكاثر الجنسي تكوين جسم ثمري كروي مغلق من النوع Cleistothecium والطور الجنسي يتمثل بجنسين:

جنس Emericella sp.

جنس Eurotium sp.




جنس Aspergillus sp.

e.g.: Penicillium spp.

2- جنس Penicillium spp.

*المميزات العامة للجنس:

1- واسع الانتشار يسمى بالعفن الأزرق Blue mould له أهمية اقتصادية في صناعة المضادات الحيوية والانزيمات.

2- شكل الطور اللاجنسي يكون من النوع الناقص Imperfect، الغزل الفطري مقسم جيد التكوين خلاياه أحادية النواة.

3- ينشأ من الغزل الفطري مباشرة حوامل كونيدية (لا تنشأ من خلايا قدمية).

4- تصنف أنواع جنس Penicillium spp. اعتماداً على عدد من الأسس وهي:

أ- الحامل يحمل صف واحد من الذنيبات Stregmata فيسمى الشكل احادي محيطي Monoverticillate.

ب- الحامل يحمل صفين من الذنيبات زوائد سفلية تسمى الفريعات Metulae تنتظم على الفريعات عدد من التراكيب الاصبعية تسمى الفاليدات Phialides فيسمى الشكل ثنائي محيطي Biverticillate.

ج- الحامل يحمل ثلاث صفوف من الذنيبات (صفين من الفريعات وصف من الفاليدات) فيسمى الشكل محيطي متعدد الحوامل Polyverticillate.

اما الحوامل الكونيدية لفطر Penicillium spp. تكون على نوعين:

A- Symmetrical متناظرة وتضم الاشكال (Monoverticillate، Biverticillate وPolyverticillate.

B- Asymmetrical غير متناظرة.

5- الطور الجنسي لفطر Penicillium spp. يتمثل بجنسين:

جنس Talaromyces sp.

جنس Carpentales sp.