

اساسيات فسلجة الفطريات

FUNDAMENTAL OF FUNGAL PHYSIOLOGY

د. صلاح مهدي البدر

جامعة ذمار – كلية العلوم التطبيقية

قسم علوم الحياة

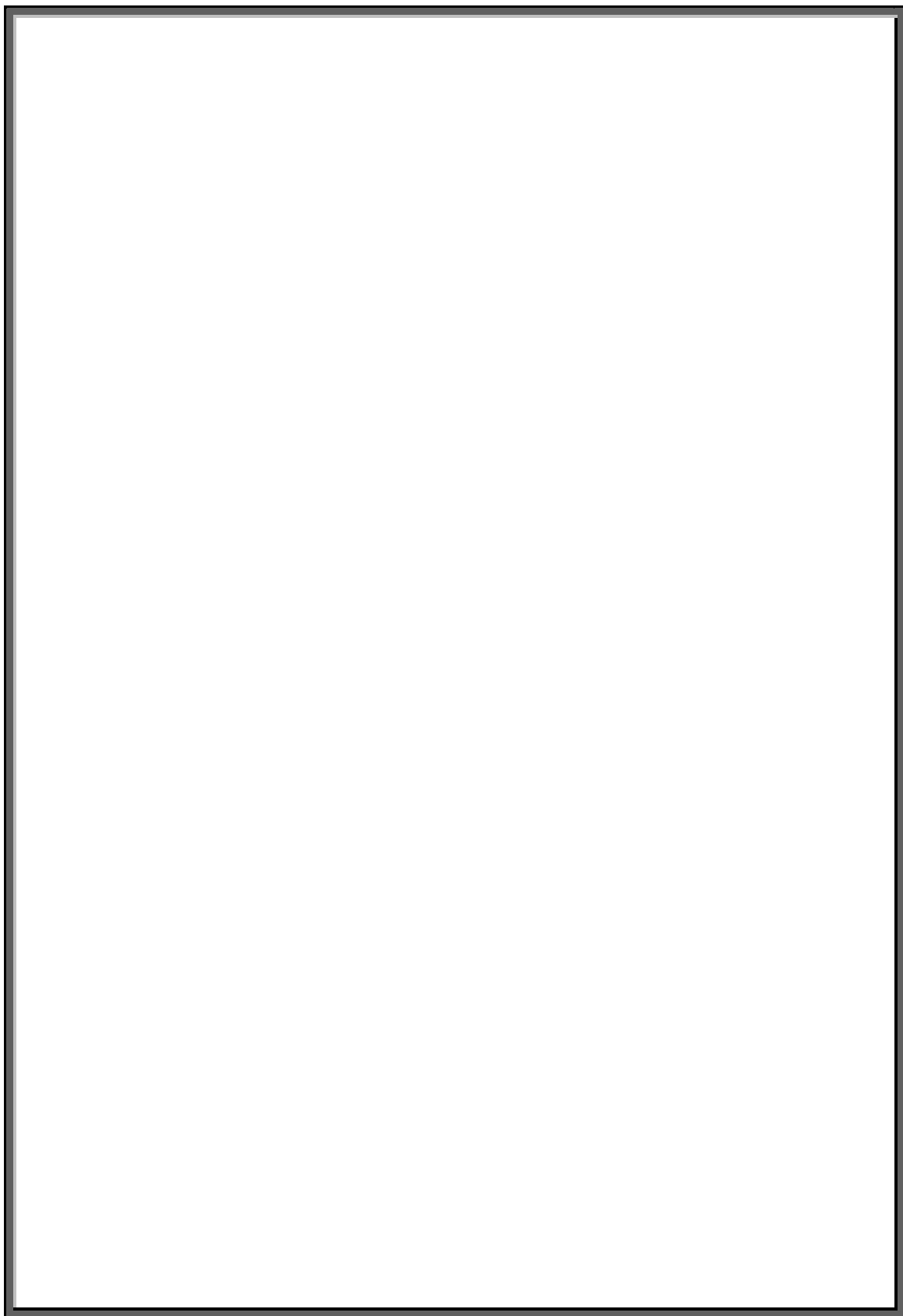
التنفيذ الطباعي والتنسيق : ماجد محمد الوشلي

E-Mail: malwashaly@yahoo.com - magedas2002@hotmail.com

موبايل : +967-777820718

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ
دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾ صدق الله العظيم

المجادلة الآية الحادية عشر



الإهداء

أقدم هذه الثمرة هديةً

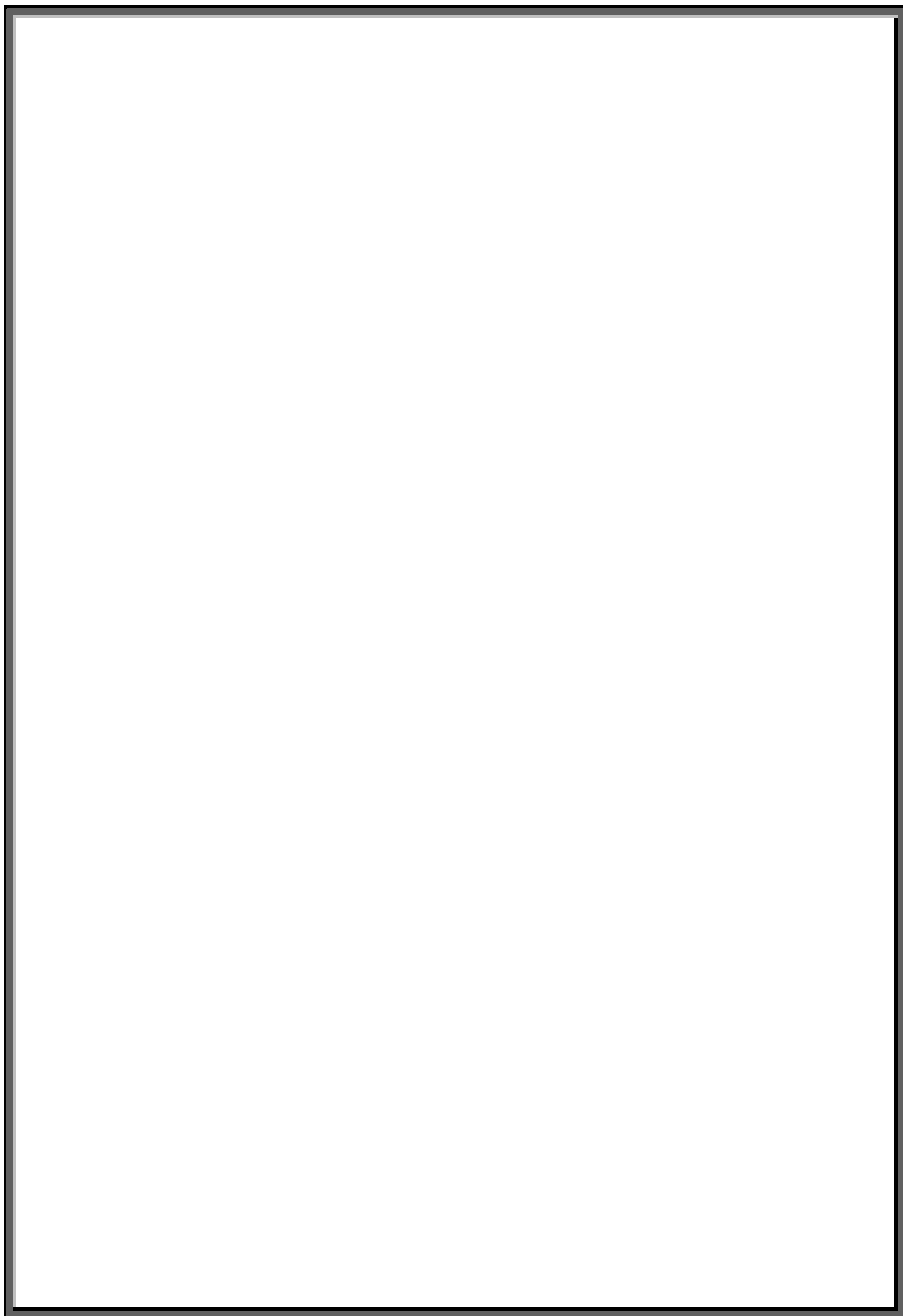
إلى زوجتي وأولادي الذين تغربوا معي
والى اليمن الذي خفف عنا مرارة الغربة
والى والدي وأهلي المرابطين في البصرة

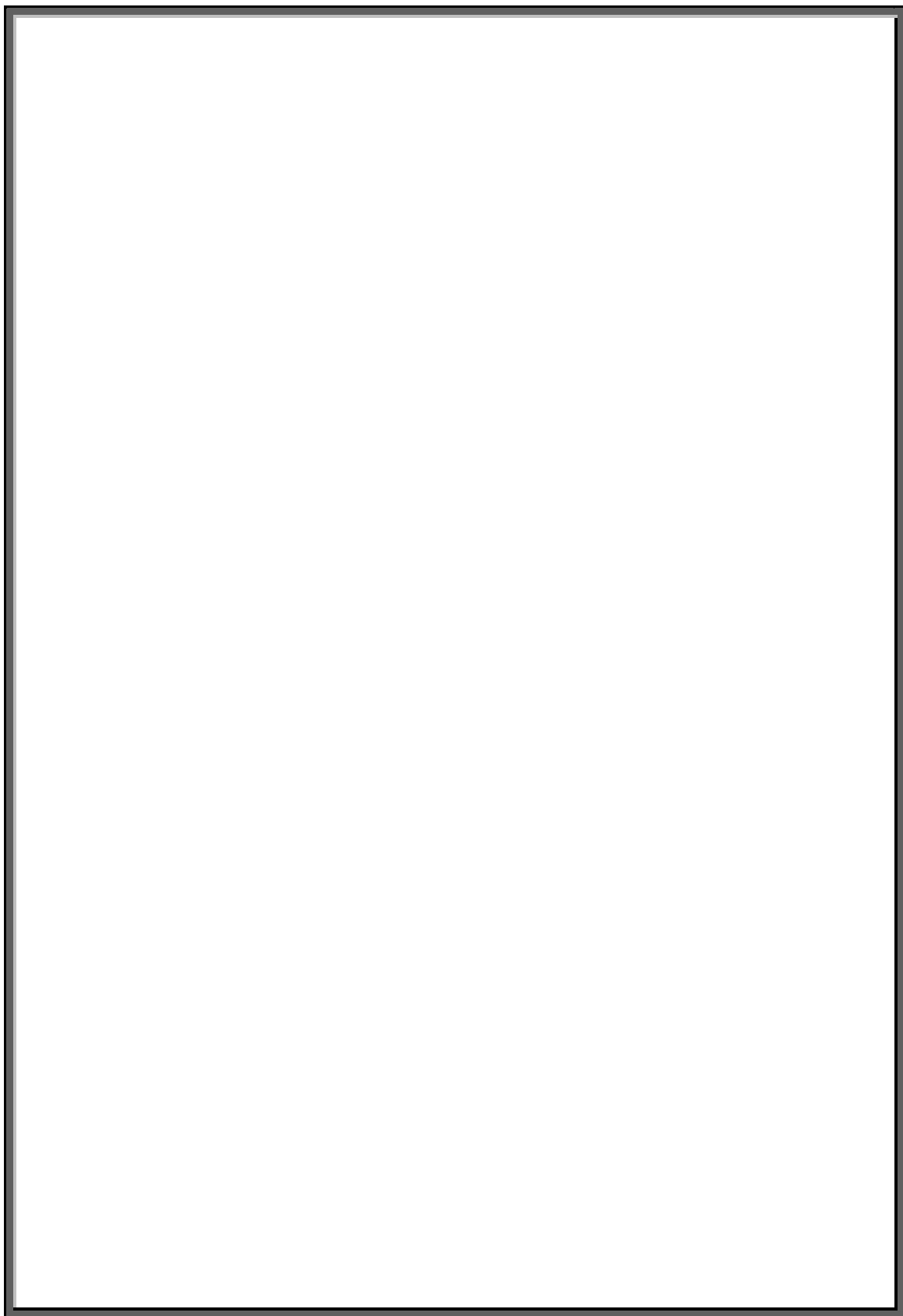
(مدينة المدن)

والى كل من قاوم الغزو والاحتلال
بيده . . . ولسانه . . . وقلبه

د. صلاح مهدي البدر

ذمار - اليمن





بسم الله الرحمن الرحيم

بتوفيق من الله جل في علاه ، تظل الشجرة التي حاول الغزاة اجتثاثها من أرض العراق مثمرة في أرض اليمن . فبعد ثمرتها الأولى { الفطريات الطبية . تصنيفها وامراضيتها } ، هاهي الثمرة الثانية { أساسيات فسلجة الفطريات } ، أدعو الله أن يطيب أكلها وأن تمكث في الأرض .

لقد حاولت في هذا الجهد المتواضع تسليط الضوء على جانبٍ مهم من العلوم المتشعبة لمملكة الفطريات ، ألا هو تغذيتها ووظائفها الخلوية ، ذلكم الجانب الذي تقل أو تندر الكتابات عنه بلغة الضاد . ولمعرفتي بأن فسلجة الفطريات بحر عميق القرار من ناحية ولأنني أهدف في هذا الجهد إلى نشر أساسياته على مستوى الطالب الجامعي من ناحية أخرى فقد أبحرت في شواطئه لإيضاح أهم مفاهيمه ، وأرجو أن أكون قد وفقت فيما ابتغيته .

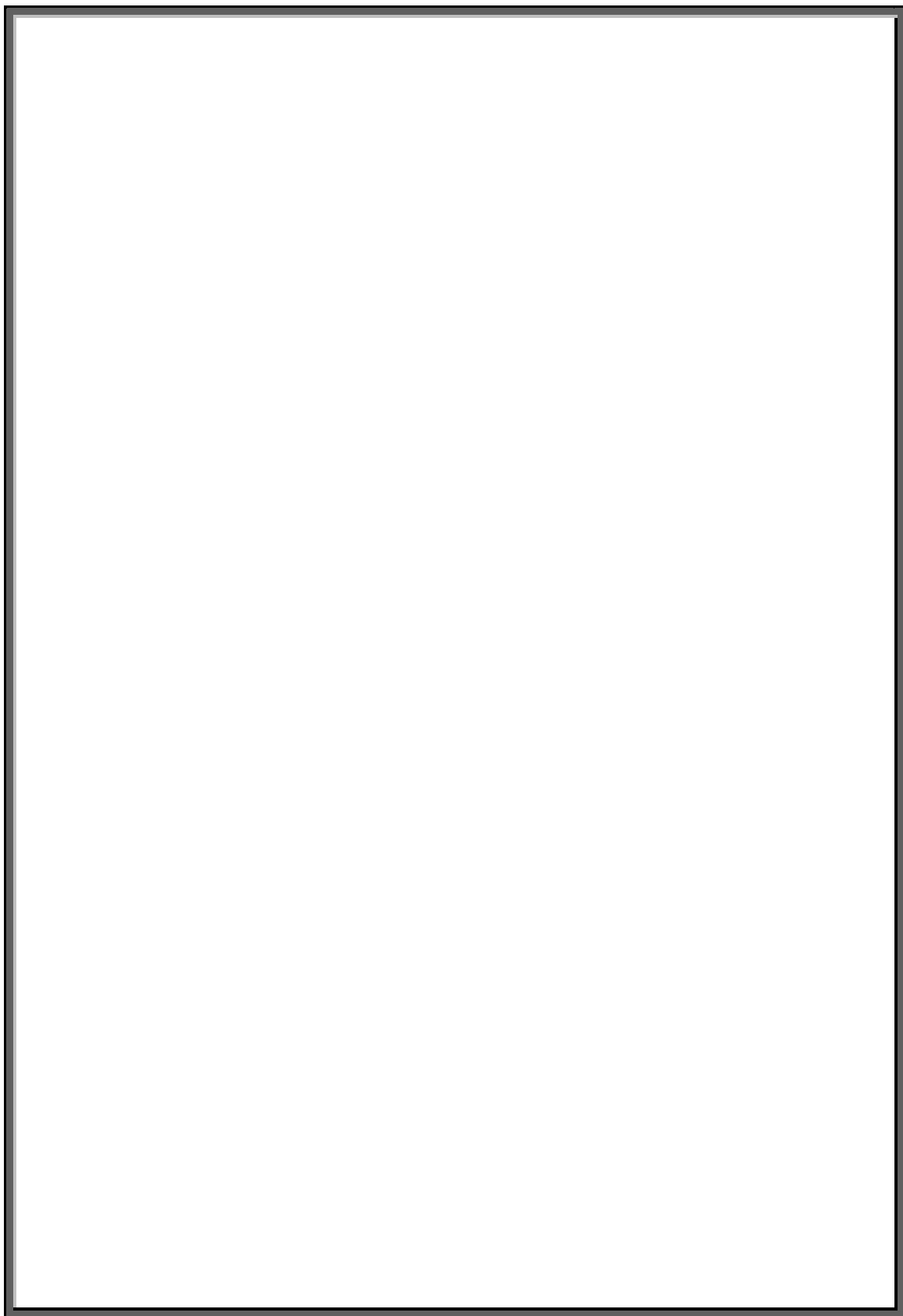
لا بد أن أسجل شكري للأستاذ الدكتور عيسى عبد عبدالحسن (جامعة صنعاء / اليمن) لمراجعته مسودات الكتاب وإلى الأستاذ الدكتور علي محمد خلف الركابي والدكتور جمال المعاضدي (جامعة ذمار / اليمن) للملاحظات التي سجّلها . جزاهم الله عني خير الجزاء .

شكري وتقديري إلى جامعة ذمار وكلية العلوم التطبيقية في الجامعة ، فهما الوسط الذي نمت فيه بذرة هذا الجهد العلمي عسى أن يوفي بعض الدين لهما .

شكري إلى ولدي مهدي لجهوده في تصميم الغلاف والمساعدة في الطباعة والتنسيق .

والله وليّ التوفيق»

د. صلاح مهدي البدر

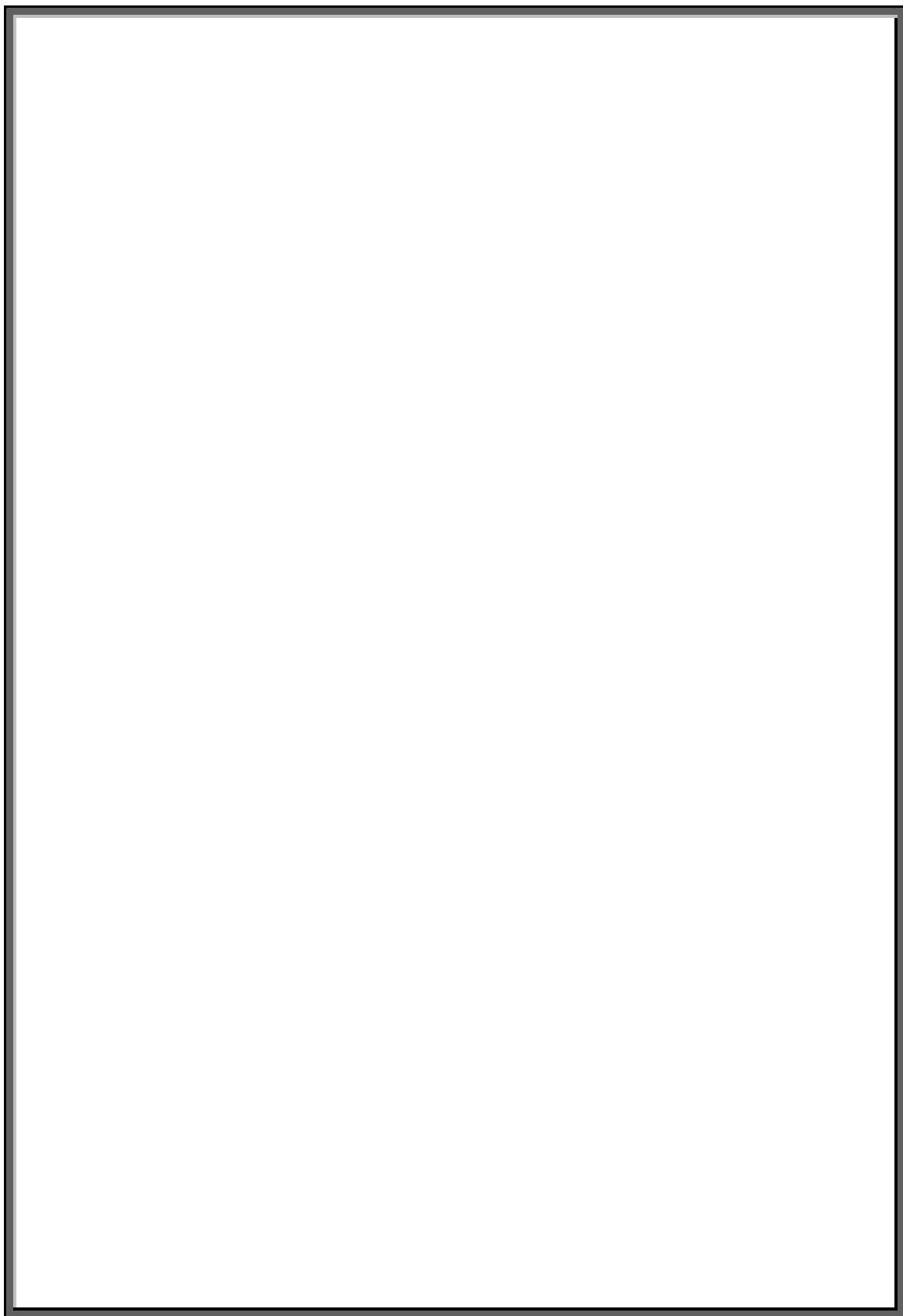


فهرست المحتويات

	الإهداء
	الشكر والتقدير
	المحتويات
1	المقدم
5	<u>الفصل الأول : مكونات الخلية افطرية وتركيبها</u>
7	- - الخلية
9	-!- الجدار الخلوي
12	-!- الغشاء الساييتوبلازمي
15	-!- العضيات في الساييتوبلازم
16	- - - الشبكة الاندوبلازمي
17	- - - جهاز كولجم
18	- - - الفجوات
19	- - - الماييتوكوندري
20	- - - الأجسام الدقيقة
21	- - - أجسام ورونيز
21	- - - الانبيبات الدقيقة
22	- - - الخيوط الدقيقة
22	- - - اللوماسو
22	- - - 0- الكيتوسو
23	<u>الفصل الثاني : المتطلبات الغذائية</u>
25	- - الكربوز
26	- - - الكربوهيدرات
29	- - - السييلوز
30	- - - النش
30	- - - اللكنيز
31	- - - الكحولات
32	- - - الأحماض الدهنية والكليسريدات الثلاثية والهيدروكربونات ...
34	- - - مصادر الكربون النتروجيني
35	- - - غاز ثاني أوكسيد الكربون
36	- - - النتروجيز
38	- - - أيون النتراة
39	- - - أيون النتريت
39	- - - أيون الأمونيا
41	- - - اليور
41	- - - الأحماض الاميني

43	- - - انتقال الأحماض الامينية
44	- - - العوامل المؤثرة على اخذ واستخدام الأحماض الامينية
46	- - نسبة الكربون إلى النتروجين
47	الفصل الثالث : التغذية اللاعضوية
50	- - المغنيسيوم
51	- - الفسفور
53	- - البوتاسيوم
54	- - الكبريت
56	- - الكالسيوم
58	- - النحاس
60	- - الحديد
62	- - المنجنيز
63	- - الزنك
65	0- - المولبدن
66	1- - الصوديوم
68	2- - الكوبلت
69	3- - عناصر معدنية أخرى
71	الفصل الرابع : التغذية العضوية
73	- - الفيتامينات
74	- - الثيامين
76	- - البايوتين
78	- - الرايبوفلافين
79	- - البايريدوكسين
80	- - النياسين
80	- - حامض البانتوثينيك
81	- - حامض الفوليك
82	عوامل النمو
82	- - الاينوسيتول
85	- - الأحماض الدهنية
85	- - هرمونات النبات الراقية
86	- - المواد المتطايرة وغيرها
87	الفصل الخامس : سيات الأبواغ
89	- - السبات الخارج
92	- - السبات الداخل
92	- - النفاذي
93	- - المثبطات الذاتية
94	- - تعويق يضر

95	لتحفيز	- -
97	الإنبات	- -
101	الفصل اله دس : النمو	
103	طرائق قياس النم	- -
104	تحليل منحنى النم	- -
105	آلية النم	- -
106	نمو الفطريات الخيطية	- - -
109	نمو الفطريات أحادية الخلية	- - -
112	النمو الثنائي الشكل	- - -
116	العوامل المؤثرة على النم	- -
116	الماء	- - -
116	درجة الحرارة	- - -
117	دالة الحامض	- - -
117	الإشعاع المرئي وغير المرئي	- - -
118	التهويد	- - -
118	ثاني أكسيد الكربون	- - -
119	الكيمياء غير المذبة	- - -
121	الفصل لسابع : التكاثر	
126	العوامل البيئية	- -
126	درجة الحرارة	- - -
127	الضوء	- - -
128	الأشعة فوق البنفسجية	- - -
129	التهويد	- - -
129	تركيز ايون الهيدروجين	- - -
130	العوامل الغذائية	- -
130	تركيز المواد الغذائية	- - -
131	المصدر النتروجيني	- - -
131	المصدر الكربوني	- - -
132	نسبة الكربون إلى النتروجين	- - -
132	العلاقة بالأحياء الأخرى	- - -
132	الفيتامينات	- - -
133	عوامل أخرى	- -
135	المراجع العلمية	



المقدمة

أهمية علم فسلجة الفطريات :

للفطريات دور مهم في النظام البيئي الحيوي Biotic-ecosystem وذلك من خلال تطفلها وتنافسها وتعايشها مع الكائنات الحية الأخرى في محيطها الحيوي ، كما إن لها دوراً في غاية الأهمية في النظام البيئي غير الحيوي Abiotic-ecosystem كمحللات decomposers عالية الكفاءة تتآزر مع كائنات أخرى في تفكيك الجزيئات العضوية المعقدة وإعادة العناصر الكيميائية إلى الطبيعة بصورها البسيطة التركيب، والمحافظة على التوازن في البيئة.

إن دور الفطريات هذا ، لا يمكن فصله عن طبيعة الكائن الفطري وأشكال معيشته ونشاطه الخلوي ، وهذا هو أساس الاهتمام بعلم فسلجة الفطريات Fungal Physiology الذي يتقصى الوظائف والأنشطة الحيوية في الخلايا الفطرية والكيفية التي تؤثر بها أو التي تتأثر بها في البيئة ، وليس بخافٍ إن معظم الحقائق المعروفة عن فسلجة الفطريات قد تم الحصول عليها من التجارب والاختبارات العملية التي يتم التحكم بظروفها وعواملها المؤثرة ، أما الدراسات الحقلية في هذا الخصوص فهي أقل أهمية ، وذلك بسبب التداخل العالي بين النشاط الفسلجي للفطر والمتطلبات الغذائية له مما يجعل من العسير دراسة وتبعية تأثير عامل واحد بشكل مستقل عن تأثيرات العوامل الأخرى في الطبيعة.

يرتبط النشاط الحيوي للفطر أو أي جزء منه بتركيب structure ذلك الجزء كما إن هذا النشاط الحيوي وكذلك التركيب يُحدَدان بالصفات الموروثة والتي تتكيف بدورها لعوامل البيئة المحيطة بالفطر. فعلم فسلجة الفطريات من هذا المنظور ليس علماً مستقلاً ، وإن فهم مبادئه يعتمد ولو جزئياً على فهم حقائق ونظريات في الكيمياء والفيزياء وعلم الخلية وعلم الوراثة وعلم الجراثيم .

لا شك إن معرفة العديد من الحقائق في مجموعة من الكائنات الحية قد يساعد في فهم الحقائق نفسها في كائنات حية أخرى، ولا تشذ الفطريات عن هذه القاعدة، فالفيتامينات المهمة للنمو الطبيعي للفطريات هي ذاتها التي يتطلبها النمو في الإنسان والحيوان والنباتات الراقية ، والوظيفة العامة لهذه الفيتامينات تبدو هي ذاتها في جميع الكائنات الحية ، أما الاختلافات بين مجاميع الكائنات الحية أو بين أفرادها فيظهر في إمكانية تخليق هذه الفيتامينات ومدى الحاجة إليها ، وعليه يمكن القول بأن إيضاح الحقائق في فسلجة الفطريات لابد وأن يقدم خدمة كبيرة لعلوم أخرى ويطور استعمال الفطريات كأدوات للبحث والتقصي العلمي الصرف، أو لزيادة المنافع التي يجنيها الإنسان منها في حقل التطبيق .

ويمكن إيجاز علاقة علم فسلجة الفطريات بالعلوم الأخرى بالمحاور التالية:

فسلجة الفطريات وعلاقتها بالأمراض الفطرية :

يتطلع المهتمون بالأمراض الفطرية للإنسان والحيوان إلى وسائل للتشخيص والمعالجة الكفوءة والى تصنيع مضادات فطرية فعالة تؤثر في الطفيلي دون خلايا العائل ولا يمكن أن يكتب لهذه التطلعات النجاح دون دراسة فسيولوجيا الفطريات المستهدفة ، أما المهتمون بأمراض النبات فأن كل من علماء الفطريات Mycologists وأمراض النبات Plant pathologists يجدون من الضروري دراسة فسلجة الفطر المتطفل وطريقة زرعه لحل العديد من المعضلات التي تواجههم. ومن المشكلات العالقة في علم أمراض النبات ، عدم التعرف على المتطلبات الغذائية للفطريات الإجبارية التطفل obligate parasites لغرض زرعها على الأوساط الزرعية المعلومة التركيب في المختبرات.

فلسجة الفطريات وعلاقتها بتصنيف الفطريات :

من المعروف إن علماء تصنيف الفطريات يستعملون الصفات الشكلية والمظهرية بدرجة كبيرة للتفريق بين الفطريات ولتشخيصها وتصنيفها ، فيما يهتم علماء الجراثيم بدرجة أكبر في دراساتهم عن البكتريا بالصفات الفسيولوجية وبدرجة أقل بصفات المظهرية إذ إن التعرف على الصفات الفسيولوجية ذات الأهمية التصنيفية للفطريات يحتاج إلى دراسات مستفيضة وعميقة. إن هذه الحقيقة وإن صحت على الفطريات الخيطية filamentous فإنها لا تصح تماماً على الخمائر حيث يعتمد على قابليتها على التخمر والتمثيل الغذائي فضلاً عن صفات لا شكلية أخرى في تصنيفها.

فلسجة الفطريات وعلاقتها بالأنشطة الصناعية :

دخلت الفطريات الحقل الصناعي قبل معرفة وظهور علم فلسجة الفطريات واستعملت الخمائر في الصناعات الغذائية منذ قرون ، كما إن اكتشاف المضادات الحيوية والاستعمال الواسع لها قد دفع للتوسع في دراسة فلسجة الفطريات ومتطلباتها الغذائية الكبيرة في المخمرات large scale cultivation ، وتعمقت الدراسات لتحديد أفضل تركيبة غذائية لرفع مستوى إنتاج العزلات الفطرية المنتخبة من المضادات الحيوية والإنزيمات والأحماض العضوية وغيرها من نواتج الأيض الثانوي في الفطريات.

فلسجة الفطريات وعلاقتها بالبيئة :

فتحت المعرفة بالنشاط الأنزيمي خارج الخلوي للعديد من الفطريات في البيئات المتطرفة المجال لاستعمالها في العقود الأخيرة للتخلص من أسباب التلوث المختلفة سواء ما ينتج عن الأنشطة البشرية كمخلفات المدن (القمامة) أو ما ينتج عرضياً كالتلوث النفطي .

ومن جانب آخر فقد وجد علماء الوراثة geneticist وعلماء الكيمياء
الحياتية في الفطريات مادة مناسبة للدراسة والإجابة عن بعض المشكلات التي
يواجهونها.

يتضح مما سبق إن فسلجة الفطريات ونشاطها الحيوي لا يمكن فصله عن
العديد من التطبيقات المهمة في حياتنا المعاصرة ، وأن كل من المتخصصين بعلم
الفطريات وغير المتخصصين به بحاجة إلى تفهم بعض الجوانب الوظيفية للخلية
الفطرية ، وما هذا الكتاب إلا محاولةً لبيان أساسيات علم فسلجة الفطريات لغير
المتخصصين به وللمهتمين بدراسة علوم الحياة عامةً والأحياء المجهرية خاصةً من
خلال تسليط الضوء على طبيعة الخلية الفطرية (الفصل الأول) كونها الأساس لفهم
الأنشطة الحيوية للفطريات ، ومن ثم إيضاح طبيعة التغذية في الفطريات وأهمية
العناصر المغذية وطرائق أخذها ومساراتها (الفصل الثاني) مع توضيح مبسط
للأنشطة الحيوية الأساسية للفطريات (الفصل الثالث - الفصل السابع) والله ولي
التوفيق.

الفصل الأول

مكونات الخلية الفطرية وتركيبها

Component and Structure of Fungal Cell

مكونات الخلية الفطرية
وتركيبتها

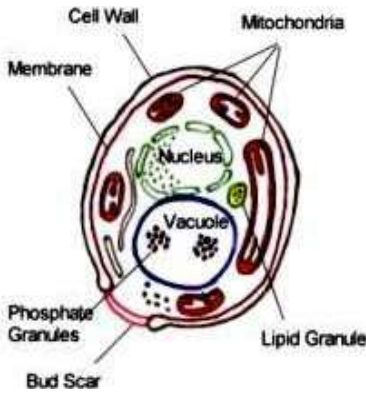
الفصل الأول

مكونات الخلية الفطرية وتركيبها

لابد من التنويه في بداية الحديث عن الخلية الفطرية بأن هذه الخلية - وكما أظهرته الدراسات الخلوية الحديثة - هي أقرب للخلايا الحيوانية مما للخلايا النباتية وذلك لأمرين أساسيين أولهما طبيعة تغذيتها المعتمدة على الهضم digestion أو على الالتهام لا على التركيب الضوئي ، وثانيهما خلو الجدار الخلوي لأغلب الفطريات من السليلوز - المكوّن الأساسي للأنسجة النباتية - ودخول الكايتين المشابه لما في الحشرات في تركيبته الكيميائية .

1-1 - الخلية The cell :

تتمثل الخلية الفطرية - شكل/1- في مكوناتها الأساسية مع الخلايا



الحية الحقيقية النواة، وإذا ما تباينت عنها، ففي نسب هذه المكونات وأشكال المركبات التي تظهر فيها، وهذا التباين يظهر كذلك في أجزاء الجسم الفطري نفسه أو في نفس التركيب الفطري باختلاف الظروف المحيطة به .

يؤلف الماء 85-90% من وزن الخلية

الشكل/1 مخطط لخلية خميرة تظهر فيه العضيات الرئيسة للخلايا الحقيقية النواة

الفطرية ، وتختلف هذه النسبة باختلاف التراكيب الفطرية ، ففي كونيديات conidia

الجنس *Penicillium spp.* يشكل 6% ، والجنس *Aspergillus spp.* 17.4% .

أما الجنس *Erysiphe spp.* فإن كونيدياته تحوي نسبة أعلى من الماء تساعد على

إنباتها في الظروف البيئية الجافة، وبشكل عام تنخفض نسبة الماء في الأجسام الحجرية Sclerotic والأجسام الثمرية الصلبة Hard fruiting bodies .

إن هذا التغير الملحوظ في نسبة الماء في الخلية الفطرية لا نلاحظه في بقية المكوّنات، فالكربون الذي يمثل المكوّن الثاني من حيث النسبة الوزنية يتغير بدرجة ضئيلة بتغير الظروف البيئية وباختلاف النوع الفطري . أما عنصر النيتروجين فإن تباين نسبته أكثر وضوحاً من الكربون ويتأثر بتركيب المصدر الغذائي وبنوع الفطر .

تشكل العناصر المعدنية 5-10% من الرماد الفطري ، وتختلف هذه النسبة بين الفطريات وبحسب المصدر الغذائي . وتشترك الخلايا الفطرية بتواجد عناصر معدنية رئيسة في تركيبها تتمثل بالفسفور (P) الذي يتواجد بهيئة مركبات لاعضوية orthophosphate و pyrophosphate أو مركبات عضوية adenosenphosphate ، sugar phosphate ، phosphoprotien ، phospholipids ، nucleic acid .

يتكون الجدار الخلوي في معظم الفطريات من الكايتين chitin والذي هو معقد متعدد من وحدات N-acetyl glucosamine وتختلف نسبته في الجدار من 2.6-26.2% بحسب الأنواع الفطرية . والكايتين يوجد بشكل عام في الفطريات اللاقحية Zygomycetes والفطريات الراقية ، كذلك يدخل السليلوز Cellulose في تركيب الجدار الخلوي الفطري وبالذات الفطريات البيضية Oomycetes كما تتواجد مواد البكتين Pectin والبروتين Protein والزيوت Lipids في تركيب الجدار وينسب متفاوتة .

تتواجد السكريات المضاعفة polysaccharides في تركيب الجدار الخلوي ومعظمها من مضاعفات الكلوكوز glucose مثل (الكلايكوجين glycogen

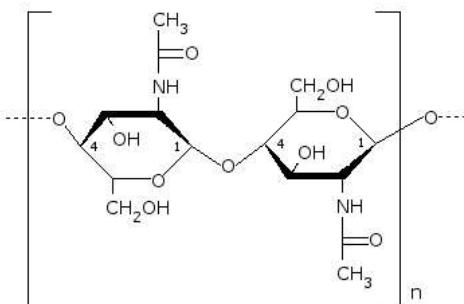
والمايكودكستران (mycodextran) وبعضها مضاعفات الفركتوز fructose أو الكلاكتوز galactose مثل (الليفان levan والركلوز rugulose) .

إن المركبات النيتروجينية تظهر معظمها في البروتين حيث يشكل 60-70% منها ، كما تدخل في تركيب الكايتين والحوامض الأمينية، وتختلف نسبة المكونات النيتروجينية باختلاف الفطر والوسط الغذائي ، فهي في الفطر البازيدي *Coprinus sp.* تبلغ 2.27% فيما تصل في الفطر الناقص *Trichoderma sp.* إلى 5.13% .

كذلك تختلف المكونات الدهنية Lipids بحسب نوع الفطر والظروف المحيطة به ، فهي تشكل 20-50% من الوزن الجاف ، وتحتوي الفطريات المترومة Saprophytic fungi نسبة أقل من الزيوت ، وفي الفطر الممرض *Claviceps purpurea* يشكل الزيت 43% من مكونات الأجسام الحجرية التي تظهر على السنبال المصابة . كما تحتوي الفطريات على الأحماض الدهنية fatty acids بنسبة عالية ، وتحتوي جميع الفطريات على نسبة من الستيرويدات steroids تبلغ 10% من الوزن الجاف .

2-1 - الجدار الخلوي Cell wall :

يحيط الجدار بجميع خلايا الفطر ، وهو يتألف من السكريات المضاعفة polysaccharides (80%) والتي تشكل منها الليفات الدقيقة microfibrils والحشية matrix ، وتركب الأولى من Chitin و Cellulose و non-cellulose و glucan وأحياناً مع protein مع polysaccharides .



إن مما يميز الفطريات عن النباتات الراقية هو وجود الكايتين Chitin في جدارها الخلوي والذي هو مضاعف β -1, 4-N-Acetylglucose amine

(شكل 2/) ، والكيتين أكثر تواجداً في الفطريات الناقصة والكيسية والبازيدية ، فضلاً عن مجموعة الفطريات الكتريدية Chytridiomycetes ، أما السليلوز الذي هو مضاعف β -1 4-glucose فيختلف عما في النباتات بأنه يبدو أقل بلورية عند فحصه تحت أشعة (X) ويتواجد في الفطريات البيضية Oomycetes والهايفوكتريديية Hyphochytridiomycetes . أما الكلوكان فيظهر بشكل مركبات متعددة السكر يدخل الكلوكوز في تركيبها ومعظمها معقد لا يعرف تركيبه الكيمياوي على وجه الدقة ، وتتميز الفطريات البيضية والكتريدية بوجود مركبات الكلوكان.

تشكل الحشية matrix من مركبات متباينة في تعقيدها ، وتختلف مكوناتها باختلاف المجاميع الفطرية ، حيث يدخل في تركيبها الكيتين والسليلوز والكلايكوجين ومضاعف galactosamine والمانوز manose والكتوسان chitosan والزيالوز xylose والراموس rhmose ، ويوضح الجدول التالي المجاميع الفطرية ومكونات حشية جدار الخلية فيها .

<u>Taxonomical class</u>	<u>Principal polymers in the wall</u>
Acrasiales	Cellulose + glycogen
Oomycetes	Cellulose + glucan
Hyphochytridiomycetes	Cellulose + chitin
Zygomycetes	Chitin + chitosan
Chitridiomycetes	Chitin + glucan
Ascomycetes (الخيوط الفطرية)	
Basidiomycetes (الخيوط الفطرية)	
Deuteromycetes	
Ascomycetes (الطور خميري)	Glucan + mannan
Deuteromycetes (الطور خميري)	
Basidiomycetes (الطور خميري)	Chitin + mannan
Trichomyces	Galctan + polygalactosamine

وإذا ما نظرنا للبروتين protein في حشية الجدار نرى أنه يشكل نسبة اقل من 10% ويكون بإحدى صورتين إما glycoprotein يتواجد على السطح الخارجي للجدار أو في أنزيمات الجدار الخلوي مثل α -amylase و phosphatase و protease وخاصة في الأجناس الثلاثة للفطريات المرضية الجلدية Dermatophytes وهي *Trichophyton* و *Microsporum* و *Epidermophyton* وكذلك الجنس *Aspergillus* .

تشكل الدهون Lipids اقل من 80% من حشية الجدار الخلوي ، وتظهر الأحماض الدهنية المشبعة بنسبة أعلى من تلك غير المشبعة ، كما يوجد الدهن بهيئة glycolipid .

عند حرق جسم الفطر بشكل كامل فإن الرماد يمثل الأيونات غير العضوية inorganic ions ، وأكثر العناصر تواجداً في الرماد هو الفسفور (P) الذي يكون بهيئة سكريات مفسفرة phosphorulate sugar و phospholipids كما يتواجد الكالسيوم Ca والمغنيسيوم Mg بكميات قليلة .

إن مكونات جدار الخلية تختلف بحسب العمر ودورة الحياة ، ففي الفطر اللاقحي *Mucor rouxii* الشائي الشكل dimorphic fungi والذي يظهر بشكل خيطي وآخر خميري . نلاحظ أن glucans هو المكون الأساسي لجدار السبورنجيم ، بينما يكون chitosan هو الأساس في جدار الخميرة والخيط الفطري ، ويظهر البروتين وصبغة الميلانين بنسبة أعلى في جدار السبورات منها في جدار التراكيب الخضرية ، إلا أن محتوى السبورات من الفوسفات أقل بشكل مميز عما في الخيوط الفطرية التي تتركز فيها عمليات الأيض .

وعند الفحص تحت المجهر الإلكتروني للجدار الخلوي لطوري الفطر السابق الذكر *M. rouxii* لوحظ أن للجدار نفس المكونات ، إلا أن تنظيمها

مختلف كلياً ، فهو في الخلايا المنفرده unicells سميك ذو طبقتين فيما يكون في الخيط الفطري بعشر السمك وأحادي الطبقة وبالتالي فإن اختلاف التركيب للجدار أنتج شكلين مختلفين لنفس الفطر .

3-1 - الغشاء الساييتوبلازمي Plasma membrane :

وهو عبارة عن غشاء نصف ناضح تضمن حيويته بقاء الخلية الفطرية حية وتجلى أهميته بوظائفه الآتية :

1. ينظم حركة المواد إلى داخل وخارج الخلية .
2. يوفر حماية ضد التأثيرات الكيميائية والفيزيائية الضارة بالخلية .
3. يُمكن وبآليات خاصة الخلية الفطرية من امتصاص مواد يحتاجها الفطر وإن كانت بتركيز أقل مما موجود في داخل الخلية .

يتركب الغشاء الساييتوبلازمي من مواد دهنية وبروتينية وكربوهيدراتية ، والدهن يكون بهيئة sphingolipid و phospholipid وينتشر البروتين بين الدهن وهو على صورتين ، الأولى خارجي peripheral protein سريع الإزالة بالأملاح ، والثانية أكثر تماسك وثبات وهو البروتين الداخلي أو المدمج integral protein ، ويؤثر البروتين في انتقال المغذيات عبر الغشاء ، كما يدخل في تركيب أنزيمات الغشاء الساييتوبلازمي . تتركز الكربوهيدرات على السطح الخارجي للغشاء وتجلى أهميتها في إعطاء شكل منتظم للخلية ، كذلك تساعد على تجمع الخلايا الفطرية مع بعضها كما في الأعفان المخاطية slim mold حيث تشكل البلازموديوم الكاذب pseudo- plasmodium .

الحركة عبر الغشاء الساييتوبلازمي :

تنتقل المغذيات الذائبة والغازات عبر الغشاء الساييتوبلازمي من وإلى الخلية الفطرية ، ويتم ذلك بأربع آليات هي :

1. الانتشار بلا واسطة Nonmediated diffusion:

وهو انتشار كيموكهربائي بدون مساعدة جزيئات أو وحدات ناقلة داخلية في تركيب الغشاء ، ولذلك فهو سلبي ولا تفقد فيه الخلية الفطرية طاقة حيوية ، ويعتمد على اختلاف التركيز للمادة المنتقلة . ويتم نقل الدهون والمواد الذائبة فيها وكذلك غازي الأوكسجين O_2 وثنائي أكسيد الكربون CO_2 بهذه الطريقة .

2. الانتشار الميسر Facilitated diffusion : وهو انتشار سلبي أيضاً إلا أنه أكثر سرعة من السابق ، ويعتمد على وجود جزيئه أو تركيب حامل في الغشاء الساييتوبلازمي . وتعتمد سرعة وكفاءة الانتشار على قطبية المواد النافذة عبر الغشاء كالكسكريات والحوامض الأمينية ، وهو لا يحصل ضد التركيز ، كما يتمتع بخصوصية عالية ومن أمثلته في الكائنات الحيوانية الراقية انتشار سكر الكلوكوز ، فسكر الكلوكوز (فقط) وليس أي سكر آخر في البلازما ، ينتشر بهذه الطريقة بين البلازما وكريات الدم الحمراء.

3. النقل الفعال Active transport :

وفيه تستخدم الطاقة الحيوية لغرض نقل الجزيئات عبر الغشاء الساييتوبلازمي دون الاعتماد على تدرج التركيز بين جانبيه ، فالفطر يحصل على غذائه بهيئة جزيئات ذائبة تنتقل من البيئة إلى داخل الخلية الحية ، والطاقة المستعملة لهذا الغرض هي جزيئات ATP و ADP . قد تتوقف عملية النقل الفعال إذا انخفضت درجة الحرارة إلى $2-4^{\circ}C$ ، ومن الفعاليات المهمة للخلية التي تعتمد هذه الآلية للنقل هي مضخة الصوديوم والبوتاسيوم Sodium and Potassium Pump التي يتم فيها

إبعاد أيونات الصوديوم Na^+ من داخل الخلية مقابل إدخال أيونات K^+ البوتاسيوم بديلاً عنها في الخلية .

4. النقل المرافق Co-transport :

وفي هذه الآلية تُدخل جزيئات مطلوبة من الخلية بترافق مع أيونات وبدون استهلاك طاقة حيوية ، كإدخال جزيئات السكر البسيط مترافقاً مع أيونات الصوديوم ، إلا أن إبعاد الصوديوم من الخلية سيحتاج حتماً إلى الطاقة الحيوية .

الساييتوبلازم Cytoplasm :

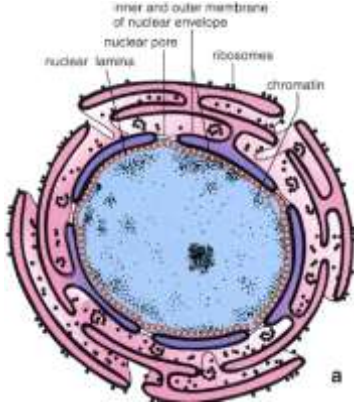
وهو المادة المائلة للخلية ويوجد مباشرة داخل الغشاء الساييتوبلازمي ، ويحتوي العديد من العضيات organelles منها الغشائي (النواة ، مايتوكوندرية ، أجسام كولجي) وغير الغشائية (رايوسومات، الخيوط الدقيقة ، الأنبيبات الدقيقة) ، كما تتواجد الأنزيمات في الساييتوبلازم بهيئة حجيرات مما يزيد من المساحة السطحية للتفاعلات الخلوية ويزيد من الفعالية الحيوية للخلية .

للساييتوبلازم القابلية على تغيير القوام ، فيكون بين السائل والهلام مما يساعد الفطر على تكامل فعاليته في النمو والحركة والاختراق ، وهذه الميزة تظهر واضحة في الاعفان الواطئة (المخاطية) slime mold كالفطر *physarum sp.* .

الساييتوبلازم في الخلية الفطرية يماثل في صفاته التركيبية ما موجود في الخلايا الحقيقية النواة بشكل عام لكنه يحتوي على البلازميدات Plasmids التي يصل عددها الى المائة في الخلية الخميرية وبعدهد أقل في بعض الفطريات الخيطية ويعتقد بعلاقتها بضرارة الامراض disease virulence التي تسببها الفطريات .

1-4- العضيات في الساييتوبلازم : Organelles in Cytoplasm

النواة Nucleus :



وهي أكبر العضيات وأكثرها وضوحاً في الخلية ، لكنها ال حد ما اصغر مما في بقية الخلايا الحقيقية النواة ، وتحتوي المادة الوراثية للنوع ، تختلف الأنوية في الشكل والحجم ، ويحوي غشائها ثقب pores كما يظهر في المخطط.(شكل/3)

الشكل/3 غشاء النواة وتظهر فيه الثقب و اتصاله بالشبكة الاندوبلازمية

تحتوي الخلايا لبعض الفطريات الكيسية

والبازيدية في جزء من دورة حياتها على نواتين في

الخلية الواحدة dikaryotic وذلك عندما يندمج الساييتوبلازم فقط plasmogamy ولا يعقبه حصول الاندماج النووي karyogamy ، ويمكن للخلية ثنائية النوى أن تنقسم لتعطي خيط فطري ثنائي النوى قبل أن تندمج الأنوية مع بعضها في مرحلة لاحقة من دورة حياة الفطر ، ولا يختلف المظهر الخارجي للنواة سواء كان محتواها من المادة الوراثية احادياً haploid أم كان ثنائياً diploid .

إن الفتحات في غشاء النواة تنتج من اندماج الغشاء الثنائي الطبقات لها من نقاط محددة ومتعددة ، ويختلف عدد الفتحات باختلاف النوع الفطري ومرحلة النمو ويصل العدد إلى 200 فتحة في الخلية الخميرية .

أما الساييتوبلازم النووي فثابت القوام ، حبيبي ، والجسم الواضح الوحيد داخل النواة هو النوية nucleolus ذات الشكل الكروي وهي تصطبغ بوضوح عند التحضيرات المجهرية ، تحتوي النوية على الحامض النووي الرايبوزي r-RNA والوحدات التركيبية له ، ولا يمكن مشاهدة المادة الوراثية في النواة إلا في مراحل الانقسام الخلوي ، وتختلف حالة الكروموسومات عند الانقسام باختلاف الموقع

التصنيفي ، فالكروماتين لا يتجمع خلال طور البروفيس prophase ، ولا يصطف عند الصفيحة المحيطة في طور Metaphase ، وبضوء هذه الملاحظات كانت مراحل الانقسام أكثر وضوحاً في الفطريات الاقية Zygomycetes يعقبها الفطريات البيضية Oomycetes والكيسية Ascomycetes والبازيدية Basidiomycetes كمجموعة وسطية ، أما Myxogastria و Protosteleidia فهي أقل وضوحاً وهذا عكس تسلسلها التطوري.

1-4-1- الشبكة الأندوبلازمية Endoplasmic reticulum :

تقسم الخلية الفطرية عمودياً وأفقياً بقنوات غشائية رابطة هي الشبكة الأندوبلازمية (ER) ، ويختلف تركيب (ER) بحسب الحالة الفسلجية للخلية ، إلا أنها تظهر بوضوح في الخلايا ذات النمو النشط ، حيث أن الشبكة تقوم بتكوين أجسام كروية مغلقة تعطي بدورها قنوات جديدة تظل متصلة بغشاء النواة وتمثل قنوات نقل بين النواة والسيتوبلازم .

تقسم الشبكة الأندوبلازمية اعتماداً على التركيب والوظيفة إلى شكلين هما:

1. الشبكة الأندوبلازمية الخشنة Rough E.R. : وهي التي تتواجد على سطحها الرايوسومات ، وتكون موقعاً لتخليق البروتين ، وهذه الرايوسومات إن اتصلت بالشبكة أو ظلت حرة في السيتوبلازم فهي موقع التماس مع الحامض النووي الرايوزي المرسال m-RNA .

2. الشبكة الأندوبلازمية الناعمة Smooth E.R. : وهي خالية من الرايوسومات ، وتمثل موقعاً لتخليق الدهون والكربوهيدرات والتخلص من السموم .

1-4-2- جهاز كولجي Golgi apparatus :

وهو عضوية غشائية تقوم بتمرير وتعبئة وتوزيع البروتينات والدهون لإخراجها من الخلية أو استعمالها داخلها ، يختلف شكل جسيمات كولجي خلال دورة حياة الفطر ، ففي الجنس *Chytridium sp.* الذي يكون سبورات سابحة يكون شكل أجسام كولجي ثابت خلال الساعتين الأولتين من نقل الفطر إلى وسط محفز لإنتاج السبورات السابحة ، وبعد ثلاثة ساعات فإنه ينتج أكياس غشائية إضافية (صهاريج) وانتفاخات خارجية ، وبعد أربع ساعات يزداد عرض الصهاريج ، وبعد فترة حضان إضافية للفطر تظهر حويصلات على الأغشية ، واثناء تكوين السبورات يعطي الفطر حويصلات بتعاقب وهي على أشكال :

1. حويصلات لتكوين الغشاء النووي .
2. حويصلات إفرازية .
3. حويصلات متفرعة لتكوين الغشاء البلازمي .
4. حويصلات تحوي مواد تكوين غلاف السبور السابح .

تفاوتت درجة ظهور أجسام كولجي في خلايا الفطريات بحسب المجموعة التصنيفية ، فهو واضح الظهور في الفطريات البيضية Oomycetes وأقل في الفطريات اللاقحية Zygomycetes والناقصة Deuteromycetes والكيسية Ascomycetes والبازيدية Basidiomycetes .

لقد لوحظ وجود الأنزيمات في جهاز كولجي في الفطر البيضي *Allomyces* بدلاً من وجودها في Smooth E.R. أما الفطر الناقص *Fusarium acuminatum* فإن خلاياه تحتوي تركيب مماثل لجهاز كولجي مكون من أنابيب متصلة وصفيحة مثقبة مع حويصلات متصلة بها .

1-4-3- الفجوات Vacuoles :

يمكن اعتبار الفجوات حويصلات كبيرة منشؤها smooth E.R. أو الدايكوسومات ، في حين تلاحظ بعض الفجوات نتيجة لعملية الالتهام endocytosis بنوعها الأكل الخلوي phagocytosis والشرب الخلوي pinocytosis .

إن الفجوات الناتجة من الأكل الخلوي تحوي مواد غذائية صلبة ، وهي شائعة في الفطريات التي لا تحتوي على جدار خلوي كالطور الأميبي للاعفان اللزجة ، وهي أقل ظهوراً في الفطريات من فجوات الشرب الخلوي الشائعة في الفطريات .

وفي داخل الخلية الفطرية قد تندمج الفجوات الهاظمة مع الفجوة الالتهامية فتَهضم حبيبات الغذاء داخلها وتطرح بقاياها إلى السايوبلازم، كما تتمكن الفجوة الهاظمة من هضم بعض العضيات داخل الخلية ، ومنها المايكونديا والشبكة الأندوبلازمية .

وعدى ما ذكر أعلاه فإن الفجوات تقوم بالوظائف التالية في الخلية الفطرية:

1. تمثل مخازن للغذاء ، ففي خميرة *Saccaromyces* يتراكم الفوسفات في سلاسل من 20-200 وحدة داخل الفجوة .

2. خزن الاحماض الأمينية وهذا ما يحصل في بعض الخمائر .

3. خزن الماء في الفجوات مما يساعد على انتفاخ الخلايا turgor وهذا بدوره يعطي للخيط الفطري شكله وحجمه الحقيقي ويمنع انكماشه عند تقدم الخلية في العمر وخاصة في الفطريات الخيطية filamentous إذ تتجمع الفجوات مع بعضها تاركة السايوبلازم كطبقة رقيقة في الطرف النامي من الخيط (في الخلية

الطرفية) الفطري أو مبطناً للغشاء الساييتوبلازمي مما يساعد على الاستفادة من النزر اليسير من الساييتوبلازم لإدامة حياة الخلية والمحافظة على حجمها .

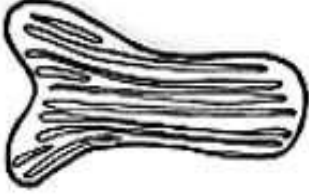
1-4-4- الماييتوكوندريا Mitochondria :

تمثل هذه العضيات الغشائية في الفطريات مثيلاتها في الحيوان والنبات ، وهي مركز لانزيمات التنفس وموقع لتكسير الأحماض الدهنية وفعاليات حيوية أخرى ، وجميع خلايا الفطر تحوي عضية واحدة على الأقل ويتغير عددها وحجمها ليس بين الأنواع الفطرية فحسب بل للنوع الواحد أثناء دورة حياته .

تكون الماييتوكوندريا من غشاء ثنائي الطبقة وساييتوبلازم يحوي RNA خاص بالعضية فضلاً عن الرايوسومات ، فهي بذلك تملك وسائلها لتصنيع البروتين. الطبقة الخارجية لغشاء الماييتوكوندريا ناعمة تتصل بالغشاء الساييتوبلازمي ، أما الداخلية ففيها طيات Cristae والتي تكون بأشكال أما صفيحية أو أنبوبية وبحسب المجموعة الفطرية ، فالفطريات التي يتكون جدارها الخلوي من chitinous تكون طياتها صفيحية وهي مجاميع Chytridiomycetes و Zygomycetes و Ascomycetes و Basidiomycetes ، أما الأنبوبية فتظهر في الفطريات التي يتكون جدارها الخلوي من السليلوز وهي مجاميع Myxomycetes و Hyphochytridomycetes ، تفيد الطيات في زيادة المساحة السطحية مما يزيد من مساحة سطح التفاعل وخاصة لأنزيمات التنفس التي تتواجد في الطيات ، فيما توجد بقية الانزيمات في الساييتوبلازم.

يختلف عدد عضيات الماييتوكوندريا في الخلية الواحدة بحسب نشاطها ، فهي تندمج وتزداد في الحجم عند زيادة النشاط ، وتعود لتتجزأ عند انخفاض النشاط ، إلا أن الحجم الكلي يظل ثابتاً .

في خميرة *Saccaromyces cerevisiae*



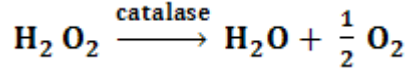
لوحظ عشرة اشكال من الماييتوكوندريا التي غالباً ما تكون متطاولة ومتفرعة ، وعند النمو النشط يصل عددها إلى (50) وتكون طياتها الصفحية عديدة ،

كما يلاحظ في خلية الخميرة في مرحلة التبرعم الشكل/4 - ماييتوكوندريا بهيئة عضية واحدة عملاقة تتفرع منها عضيات أصغر . صفائح

ويمكن ملاحظة الماييتوكوندريا في الخلايا المتقدمة في العمر في الفطريات الخيطية بشكل صفائح متوازية وممتدة مع المحور الطولي للخلية.

1-4-5- الأجسام الدقيقة Glyoxisome و Peroxisome :

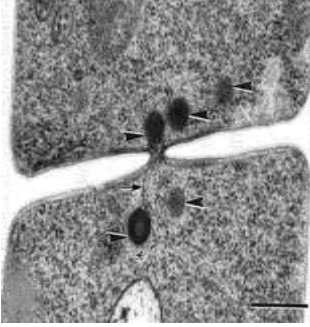
هي أجسام غشائية تمتاز بكثافة إلكترونية ، وتحتوي إنزيم catalase . تحتوي البروكسيسومات إنزيمات مؤكسدة تعمل على تفكيك بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 الذي يتراكم في الخلية كناتج عرضي لبعض التفاعلات ، وهو مركب سام ومثبط للتفاعلات ، كما يؤثر في عملية تركيب الأحماض النووية



يزداد عدد البيروكسيسومات في الخلية مع زيادة نشاطها وبوجود مصادر كربونية تحتاج للأكسدة ، كوجود الميثانول في وسط النمو لخميرة *Hansenula polymorpha* لأن أكسدته تنتج بيروكسيد الهيدروجين.

أما الكلايوكسيسومات فتحتوي انزيمات دورة glyoxylate التي يتم فيها تحويل الدهون إلى كربوهيدرات ، وهي تعمل كمخازن للدهون وتحرر الطاقة .

قد تأخذ هذه العضيات أشكال متميزة كما في السبورات للفطر *Blastocladiella emersonii* ، حيث تبدو بشكل جسم كبير متفرع يعرف بـ Symphyomyc body الذي يتجزأ خلال الإنبات ويندمج بعد ذلك .



1-4-6- أجسام ورونين Woronin's bodies :

عُضَيَّات دقيقة قطرها حوالي 0.02 ميكرون ، شكلها كروي ، تتواجد قرب الحواجز septa للخيط الفطري لبعض الفطريات الكيسية والناقصة ، وتتكون في مادة حشوية matrix ثابتة التركيب كثيفة إلكترونياً ومحاطة بغشاء مفرد وهي بروتينية غالباً كما في الاجزاء المؤشرة على صورة المجهر الالكتروني (الشكل/5).

شكل/5 أجسام ورونين (كروية غامقة اللون) قرب الحواجز

أشارت بعض الدراسات إلى احتواء هذه الأجسام على انزيمات للتحلل المائي وأنها تعمل كأجسام حالة lysosomes وهي تتطور من جسيمات دقيقة microbodies فتزداد في الحجم ثم تتبرعم وينفصل البرعم بعد تخريره ، وتتجمع قرب الحواجز المستعرضة وتعمل كسدادات للفتحات في الحواجز لتنظيم مرور الساييتوبلازم أو العُضَيَّات الموجودة فيه بين خلايا الخيط الفطري الواحد . ان عملية الغلق هذه قد تستغرق بضعة ثواني فقط ، وتمكن عملية الفصل هذه ان تقوم كل خلية على جانبي الحاجز septa بوظيفة مستقلة عن الخلية المجاورة لها ، كما انها تقلل أو تمنع فقد الساييتوبلازم من الخيط الفطري عند تعرضه للتلف . يمكن للساييتوبلازم في الخيط الفطري ان يحافظ على تكامله واستمراريته من خلال التفرعات الجانبية ومعاودة النمو الجانبي ومن ثم التشابك anastomosis للخيط الفطري وعلى جانبي منطقة الاغلاق.

1-4-7- الأنابيبات الدقيقة Microtubules :

هي تراكيب خيطية (غير غشائية) اسطوانية مجوفة قطرها 25 نانوميتر ، وتوجد في جميع الخلايا ، ولها دور مهم في إعطاء الخلية شكلاً وهيئة محددة ، وتتألف من نوعين من البروتين a&b tubulin ، وهي الوحدة الأساسية لبناء الأنابيبات .

تلاحظ الأنبيبات الدقيقة حرة في الساييتوبلازم كما أنها الأساس في تكوين الأهداب والاسواط ، وهو ما يماثل دورها في الكائنات الأرقى المكونة للأهداب والأسواط .

1-4-8- الخيوط الدقيقة Microfilaments :

وهي تراكيب أدق من الأنبيبات ولها دور مهم في حركة الفطريات الهلامية حيث يتوجب إنسيابية الساييتوبلازم . وفي فطر *Fesarum sp.* تتكون الخيوط الدقيقة من actine وهو بروتين حبيبي مشابه لما موجود في العضلات ، وتتحرك هذه المركبات حركة انزلاقية عكس بعضها البعض .

1-4-9- اللوماسوم Lomasome :

هي تراكيب غشائية بين جدار الخلية Cell wall والغشاء الساييتوبلازمي و Cell membrane ، وتتكون إما من حويصلات أو انابيب ، وأحياناً تكون متصلة بالغشاء البلازمي ، ويمكن اعتبارها انبعاجات من جانبي الغشاء . ويوجد في الأحياء الدقيقة البدائية النواة prokaryotic تراكيب مشابهة تسمى mesosome .

1-4-10- الكيتوسوم Chitosome :

هي أجسام صغيرة كروية ذات تركيب غشائي تحتوي إنزيمات تخليق الكايتين chitin synthesis .

الفصل الثاني

المتطلبات الغذائية

Nutrient Requirement

المتطلبات الغذائية

Nutrient Requirement

الفصل الثاني

المتطلبات الغذائية

تحتاج الفطريات إلى العديد من العناصر الغذائية الأساسية التي تدخل في تركيب الخلية الحية أو تكون مرافقات إنزيمية أو تلعب دوراً في تنظيم البيئة الداخلية للخلية ، وهذه العناصر تشمل الكربون والنيتروجين والفسفور والبوتاسيوم والكبريت والكالسيوم والنحاس والحديد والمنجنيز والزنك والمولبدنيوم والصوديوم والكوبلت .

1-2- الكربون (C) :

تحتاج الفطريات إلى عنصر الكربون العضوي بشكل أساسي في النمو ، فهو يدخل في تركيب ووظيفة الخلية ويحصل الفطر على الكربون من البيئة بتحليل المركبات الكربونية المعقدة ، وينقل الفطر الكربون إلى داخل الخلية بالنقل الفعال أو الانتشار الميسر أو بالتنافذ البسيط اعتماداً على طبيعة المادة الكربونية المتحللة .

إن الفطريات تفرز انزيمات خارج خلوية extracellular enzymes مثل السليوليز cellulase والاميليز amylase والبروتيز protease واللايباز lipase والفينول أوكسيداز phenoloxidase التي تكسر الجزيئات العضوية المعقدة الكبيرة إلى أحجام قابلة للنقل حيث يتم النقل بوسائط مستديمة constitutive أو مستحثة inducible ، أما التنافذ البسيط فيلاحظ في المركبات الدهنية ويمثل الوسيلة الأقل أهمية .

يتأثر نقل الكربون إلى داخل الخلية الفطرية بعوامل خارجية وداخلية هي :

1. التركيب الجيني للفطر genotype فهو يتحكم بإنتاج انزيمات أو بروتينات تساهم في النظام الدائم أو المستحث للنقل .

2. تركيز مصدر الكربون ويعتمد على منحني النمو فيما إذا كان الفطر جائع أو نشيط النمو أو مثبط النمو بفعل نواتج الأيض السامة .
3. وجود مواد أخرى بجانب المصدر الكربوني أو وجود أيونات كالبيوتاسيوم K^+ والهيدروجين H^+ أو مواد منافسة على الناقلات .
4. عوامل فيزيائية تشمل دالة الحامضية pH ودرجة الحرارة وتركيز غازي ثاني أكسيد الكربون والأوكسجين .

تحتاج الفطريات ، كونها كائنات متباينة التغذية heterotrophic للكربون لغرضين أساسيين هما ، إدخاله في عمليات بناء المركبات العضوية الأساسية في الخلية المتمثلة بالكربوهيدرات والبروتين والدهون والأحماض النووية ، والغرض الثاني هو أكسدته للحصول على الطاقة .

يستطيع الفطر استعمال أكثر من نوع من المادة الأساس substrate كمصدر لعنصر الكربون ، وأن معرفة الآلية التي يحصل فيها النوع الفطري على الكربون ذات فائدة بحثية ، كما وجدت تطبيقات عديدة في الصناعة تعتمد على هذه المعرفة .

تتعدد مصادر الكربون التي تستخدمها الفطريات وهي تشمل :

2-1-1- أولاً : الكربوهيدرات :

تعيش معظم الفطريات إما مترمة أو متطفلة على النباتات ، وبالتالي فإن السكريات في الأنسجة النباتية تمثل مصدراً غنياً للكربون ، وتختلف كفاءة الفطريات في حصولها على الكربون بحسب نوع المصدر ، كما تختلف من نوع فطري لآخر ، فالفطر اللاقي *Rhizopus nigricans* ينمو ببطء على السكر ، لكنه ينمو بكفاءة عالية على سكري الكلوكوز والفركتوز اللذان يشكلان وحدات تكوين جزيئة السكر الشائبة ، وهذا يدل على أن الفطر لا يملك انزيمات

لتكسير السكر الشائي . وفي بعض الحالات قد يستخدم الفطر مصدر كربوني للنمو الخضري ولا يستطيع استخدامه في إنتاج وتكوين التراكيب التكاثرية مما يوضح تأثير نوع المصدر الكربوني على النمو .

لوحظ أن الفطر البازيدي *Coprinus sp.* ينمو بشكل ضعيف في وسط زرعي يحوي السكروز بتركيز منخفض كمصدر للكربون ، وإذا ما استبدل بالخلات acetate فإنه يكون ساماً عند التركيز العالي . إن هذه التأثيرات قد تعود إلى نضوب مغذيات أخرى في البيئة أو تراكم نواتج عرضية ذات أثر سمي ، أو أن هذه المصادر لها تأثير تنافذي متعاكس .

وفي تجارب أجريت على خميرة *Saccharomyces servicae* التي نمت على سكر الكلوكوز ثم نقلت إلى وسط زرعي يحول سكر galactose لوحظ انخفاض في معدل النمو وذلك لعدم وجود نظام ثابت لديها لنقل ال galactose ، إلا أن معدل النمو الخميري ازداد بعد أربع ساعات من الحضان على الوسط الثاني ، مما يشير إلى زيادة كفاءة استخدام ال galactose وذلك من خلال تكوين نظام نقل مستحث (بروتينات ناقلة في الغشاء الساييتوبلازمي) وهذا يعني أن الكلوكوز في الوسط يسبب تكوين بروتينات خلوية ، إما أن تلعب دور في تعطيل ناقلات ال galactose أو تقلل من كفاءتها .

إن ناقلات ال galactose المستحثة ذات عمر قصير يتراوح بين ساعة واحدة لساعتين، في حين يكون عمر ناقلات الكلوكوز الدائمة حوالي 24 ساعة . إن هذه التغيرات في معدل النمو توضح بأن للخلية الفطرية القابلية للتكيف مع بيئتها والحصول على عنصر الكربون الضروري لحياتها .

إن انتقال جزيئات السكر إلى داخل الخلية بالانتشار الميسر أو بالنقل الفعال تعتمد على نوع السكر وظروف البيئة ، فالخلايا غير المحفزة تنقل

الكلاكتوز بالانتشار الميسر ، أما إذا حفزت الخلايا فيتم نقل نفس السكر بالنقل الفعال في حين يتم نقل الكلوكوز بكلا الطريقتين إلا أنه يتعرض للفسفرة خلال النقل الفعال.

قد تحتاج بعض السكريات إلى ناقل مساعد (مرافق) كي تدخل الخلية الفطرية ، وهذا ما يلاحظ في أخذ المالتوز maltose حيث يرافقه أيون الهيدروجين ويصاحب دخول جزيئة مالتوز واحدة للخلية خروج أيون بوتاسيوم واحد أيضاً .

تتأثر قابلية الخلية الفطرية على أخذ السكر من محيطها بعوامل عديدة هي

:

1. تواجد أنواع مختلفة من السكر في نفس مادة التفاعل مما يؤدي إلى تنافس جزيئاتها على الموقع للبروتين الناقل في الغشاء البلازمي وحصول التثبيط .
2. تواجد أنواع مختلفة من السكر بحيث يحفز أحدهما الآخر من خلال زيادة نشاط الناقل البروتيني ، وهذا ما يلاحظ في نقل D and L-arabinose للذان يزداد نقلهما بوجود سكر galactose .
3. بما أن الناقل في الغشاء الساييتوبلازمي هو بروتين ، فإن العوامل المؤثرة على البروتين ستؤثر حتماً على كفاءة النقل وهي عوامل درجة الحرارة والذالة الحامضية pH والمثبطات الانزيمية .
4. وجود الأيونات المعدنية التي تلعب دوراً في النقل الفعال كمرافقات انزيمية Co-factor مثل أيون البوتاسيوم K^+ .
5. وجود ونسبة أيون الهيدروجين H^+ .

إن العوامل السالفة الذكر لا تؤثر على نوع المادة التي سيأخذها الفطر من محيطه بل على كميتها أيضاً ، علماً بأن تواجد سكريات متعددة في البيئة لا يحول دون استفادة الفطر منها ، إذ يوجد في جدار الخلية الفطرية انزيمات

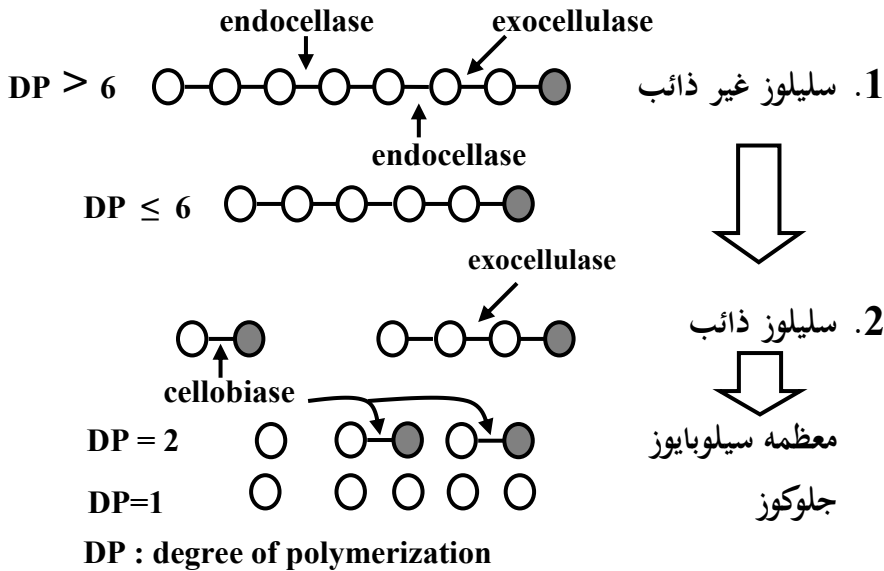
التحلل المائي للسكريات الثنائية والثلاثية ، وهذا ما لوحظ في الدراسات عن خميرة *S. cerevisiae* . كما أن لبعض السكريات الثنائية (maltose و trehalose) ناقلات متخصصة في الغشاء الساييتوبلازمي .

وبشكل عام فإن للفطريات القابلية على تحليل الكربوهيدرات المعقدة إلى سكريات بسيطة بفعل أنزيمات cellulase و amylase و pectinase و chitinas وكذلك تحليل الأحماض النووية بأنزيمات DNA ase و RNA ase .

2-1-2- ثانياً : السليلوز :

هو المصدر الأكثر وفرة بالكربون للفطريات فهو المكون الأساسي للأنسجة النباتية ، يتركب السليلوز من وحدات بنائية هي جزيئات الكلوكوز التي ترتبط بينها بأواصر β -1, 4-glucosidz ، يصل طول السلسلة إلى 1-4 ميكرون وتحتوي (2 - 10) آلاف جزيئة ، وهي غير متفرعة مما يسهل اتصالها مع بعضها ويجعلها أكثر تماسكاً (مرصوصة) ، ويسهل هذا التركيب استخدام السليلوز كمادة بنائية في جدار الخلية علاوة على عدم ذوبانه في الماء .

أنزيم cellulase المحلل للسليلوز ، هو معقد انزيمي من ثلاثة انزيمات ، يعمل كل جزء منه على آصرة كيميائية محددة من جزيئة السليلوز ، فانزيم endocellulase يعمل على الأواصر الداخلية التي تربط الجزيئات المختزلة من الكلوكوز (الجزيئات غير المرتبطة بالجزيئة الطرفية)، وانزيم exocellulase يعمل على الأواصر الطرفية التي تربط الجزيئة الأخيرة المختزلة من السلسلة ببقية الجزيئات المختزلة ، وانزيم cellobiase الذي يعمل على الآصرة الأخيرة في السلسلة والتي تربط الجزيئة الطرفية غير المختزلة ببقية الجزيئات المختزلة .



2-1-3- ثالثاً : النشاء :

يمثل النشاء مصدراً جيداً لعنصر الكربون لتغذية الفطريات ، وفي دراسة عن إنتاج الانزيم من الفطر الكيسي *Talaromyces emersonii* وهو من الفطريات المحبة للحرارة thermophilic وجد أن الفطر يفرز انزيم الاميليز amylase عند توفر النشاء في الوسط الزراعي فقط ، أي أن المادة الأساس (النشاء) تعمل كحافز لتكوين الانزيم .

2-1-4- رابعاً : اللكتين :

يشكل اللكتين المصدر الطبيعي الثاني من حيث الوفرة بعنصر الكربون ، وهو يتواجد في النباتات المعمرة ذات النمو الثانوي . يتكون اللكتين من مركبات كحولية معقدة ومتفرعة ، وتختلف نسب مكوناته بحسب نوع النبات .

إن التركيب المعقد لجزيئة اللكين جعله منيعاً نسبياً للتحلل بفعل الفطريات، وتدعى الفطريات المحللة له lignicolous ، وتسبب الفطريات البازيدية منها العفن الأبيض فيما تسبب الكيسية العفن الطري .

يكون دور الانزيمات الحالة للكين على طرفي السلسلة (الحلقة الأروماتية والسلسلة الإليفاتية المتصلة بها) ، وإن المعقد الأنزيمي phenoloxidase هو السبب في حصول أعراض العفن الأبيض white-rot التي تسببها العديد من الفطريات البازيدية النامية على جذور الأشجار . وتعد قابلية الفطر على إنتاج الانزيم صفة وراثية يمكن حجبها بالتطهير ، وهذا ما لوحظ في الفطر *Sporotricum pulverulentum* ، فسلالته المطفّرة لا تنتج إنزيم الفينول أوكسيديز ولا يستطيع تكسير اللكين . ان قابلية تكسير اللكين تتأثر بعدة عوامل هي :

1. وجود مركبات كربونية كالسيلولوز والهيميسليلوز والكلوكوز تساعد في زيادة الفعالية في تكسير اللكين ، ففي اختبار على فطرين مسببين للعفن الأبيض هما *Corirolellus versicolor* و *Phanerochaete chrysosporium* نمّيا على وسط زرعى حاوي على لكين معلّم (C^{14}) مدعم بالسليلوز وآخر خالي من السليلوز ، نما الفطران في الوسط الأول وانتجا ثاني أكسيد الكربون يحتوي الكربون المعلّم فيما لم ينمو أي منهما على الوسط الثاني .
2. زيادة تركيز غاز الأوكسجين يزيد من فعالية الإنزيم .
3. دالة الحامضية المثلى لفعل الانزيم والتي تتراوح بين 4-4.5 .
4. انخفاض مستوى النيتروجين .

تستطيع بعض الفطريات الفاقدة لصفة إنتاج إنزيم الفينول أوكسيديز تكسير اللكينين بإيجاد مسارات أيضية بديلة جانبية demethylation لتفتيت الحلقات الأروماتية وأمكن تتبع هذه المسارات بالكربون المعلم C^{14} .

2-1-5- خامساً : الكحولات :

تستطيع الفطريات عموماً والخمائر على وجه الخصوص استعمال الكحول كمصدر كربوني خلال عملية التخمير fermentation ، وهذا ما انعكس في العديد من التطبيقات الصناعية ، وتختلف الفطريات فيما تفضله من كحول كمصدر للكربون ، فخميرة *Candida utilis* تفضل الإيثانول والبروبانول عن سواهما ، وخميرة *Hansenula miso* تفضل glycerol ، والفطر البازيدي المتطفل على أشجار الغابات *Armellaria mella* يستعمل الإيثانول والبروبانول والبيوتانول ، في حين أن الفطرين *Aspergillus nidulans* و *Colletotricum sp.* لا يستطيعان استخدام الكحولات مصدراً للكربون .

إن الكحول الإيثيلي قد يمثل عامل تنشيط ابتدائي يمكن الفطر من استعمال بقية مصادر الكربون المتوفرة في محيط النمو الفطري ، وهذا ما أثبتته تجربة مختبرية على الفطر *Armellaria mella* حيث لم ينمو على وسط زرعى حاوي على 0.5% سكر الكلوكوز كمصدر كربوني ، في حين نمت على نفس الوسط واستعمل الكلوكوز حينما أضيف 0.05% إيثانول إلى نفس الوسط . ويبدو أن الإيثانول يؤثر على طبيعة الغشاء الساييتوبلازمي للخلية الفطرية ، فهو يزيد من امتصاص

L-asparagine كما يزيد من تحسّس خميرة *Saccharomyces cervicae* للمضاد الحيوي DCNA (2,6-dichloro,4-nitroaniline).

2-1-6- سادساً : الأحماض الدهنية والكليسيديدات الثلاثية والهيدروكربونات :

تستطيع الفطريات وخاصة الخمائر استخدام الجزيئات اللاقطبية كمصدر للكربون وهي تكسر السلاسل الدهنية بسهولة كلما قصرت السلسلة الهيدروكربونية .

تؤثر دالة الحامضية على كفاءة الفطر في تحليل الأحماض الدهنية فالفطر اللاقيحي *Cunninghamella achinulata* النامي على وسط زرعي حاوي على أملاح النترات المعدنية يستطيع تحليل السلاسل بطول (14-18) ذرة كربون في جميع مستويات الحامضية الملائمة لنموه ، أما في دالة حامضية (8) فإن السلاسل بطول (2-8) ذرة كربون ستكون المصدر الكربوني الأمثل .

تتحلل الكليسيديدات الثلاثية والدهون بإنزيم lipase ، الذي يتأثر إفرازه بعوامل البيئة والمغذيات المتوفرة ، فالفطر *P. chrysogenum* يعطي أفضل فعالية في (30) درجة مئوية ودالة حامضية (6) ، والفطر *A. mella* لا يتأثر إفرازه لللاييز باختلاف الأحماض الدهنية أو بإضافة الكلوكوز كمصدر ثاني للكربون ، في حين أن الفطر *Agaricus bisporus* (الصالح للأكل) يتحفز نموه عند زراعته على وسط يحوي L-asparagine + D-xylose عند إضافة كمية من الزيوت الاقتصادية كزيت القطن وزيت الذرة الصفراء ، ولا يعزى سبب التحفيز بشكل أساسي إلى زيادة مصادر الكربون المجهز للفطر ، فربما يعمل الدهن كمنظم نمو أو يساعد في تحليل الزايلول .

وفي تأثير معاكس لما ذكر آنفاً لوحظ أن نمو خميرة *S. cerevesiae* على وسط يحتوي الكلوكوز + كلوريد الأمونيوم كمصدرين للكربون والنيتروجين يشبط عند إضافة الحامض الدهني caproic (6 ذرات كربون) حيث يؤثر ارتفاع تركيز

الحامض الدهني على قابلية الفطر على أخذ الفوسفات وبالتالي تنخفض كفاءة التنفس ويتحفز إنتاج الإيثانول ، يعتقد أن هذا الفعل الشبثي يتم على غشاء الماييتوكونديريا .

إن التأثير الإيجابي للأحماض الدهنية قد يكون لجزء من النمو الفطري دون الآخر ، ففي *A. mella* يتحفز تكوين الأشكال الجذرية rhizomorph للفطر بإضافة الأحماض الدهنية ، وفي الفطر *Ceratocystis sp.* يتحفز تكوين الأجسام الثمرية بوجود أحماض oleic و linoleic و lenolenic ، كذلك تؤثر السيترويدات أيضاً في طبيعة النمو الفطري ، ويبدو أنها لا تستعمل كمصدر للكربون وإنما يتم تحليلها وتلعب دور منظمات للنمو أو يكون لها دور الهرمونات وصفاتها .

أما الهيدروكربونات فقد ازداد الاهتمام بها في السنوات الأخيرة ، وخاصة مع توسع استعمال النفط ومشتقاته في الحياة اليومية ، ومن المعروف تواجد فطريات *Cladosporium* و *Gliomastic* و *Candida* في خزانات وقود الطائرات، وهناك من الفطريات ما ينمو على النفط الأبيض (الكيروسين) وزيت الغاز وشمع البرافين ، أما النفط الخام فإن العشرات من الأجناس الفطرية تنمو عليه ولها القابلية على تحليله حين تدفقه على سطح التربة .

للأحماض الدهنية تأثير منشط للفطريات النامية على الهيدروكربونات كمصدر للكربون ، فالفطر الخميري *Candida tropicales* يمر بطور خمول قبل مرحلة قمة النمو ، ويختفي هذا الطور عند إضافة حامض دهني للوسط الزراعي ، وقد وجد أن الهيدروكربونات التي تحتاجها الخلية تمر مباشرة لداخلها بإذابتها في دهن الغشاء الساييتوبلازمي ، فيما لا تمر الهيدروكربونات غير المطلوبة من الخلية إلى داخلها وفي حالة خاصة تقوم الخلية الفطرية بتصنيع الناقل المطلوب عند الحاجة إليه، ففي خميرة *Candida tropicales* النامية على وسط سكر الكلوكوز

إذا ما نقلت إلى وسط هيدروكربوني مشبع (alkanes) فإنها تكون حامض دهني معقد mannan على سطح الخلية. يقوم بامتصاص alkanes.

2-1-7- سابعاً : مصادر الكربون النيتروجينية :

يشكل البروتين والأحماض الأمينية نسبة عالية من تركيب الخلية الفطرية ، واعتماداً على نوع الفطر فإن البروتين والأحماض الأمينية يمكن أن تكون مصدر للكربون أو النيتروجين أو لكليهما .

تختلف الفطريات فيما تفضله من الأحماض الأمينية ، فحامض الألانين (alanin) وحامض الكلوتميك (gulatamic) مفضلان من الفطرين *Pythium ultimum* و *Aphanomyces laevis* فيما يفضل الفطر الأول فقط أحماض البرولين (proline) والاسبارتيك (aspartic) والسيرين (serine) .

إن لكل حامض أميني مسار خاص به يمكن تتبعه في الخلية الفطرية بالكربون المعلم C^{14} ، وقد اقترح توظيف قابلية تحليل الأحماض الأمينية لتصنيف الفطريات .

تختلف استجابة الفطريات للأحماض الأمينية فالـ *Achyla heterosexualis* (من فطريات البيئة المائية) ينمو خضرياً بشكل جيد بوجود proline و gultamate إلا أنه لا يكون التراكيب التكاثرية وبالتالي لا يكمل دورة حياته . أما الفطر *Culcitalna achrara* فلا يمكنه استعمال أي من الأحماض الأمينية الأربعة والعشرين كمصدر للكربون على الرغم من أنه يستعملها كمصدر للنيتروجين .

2-1-8- ثامناً : غاز ثاني أكسيد الكربون :

لا يمثل غاز ثاني أكسيد الكربون CO_2 مصدراً مهماً للكربون للفطريات ، إلا أن العديد من الأجناس لها القابلية على تثبيته في مركبات عضوية بوجود مصادر كربونية أكثر تعقيداً ومنها الجنس *Fusarium spp*، وعدد من أنواع الجنس *Cephalosporium spp*. اللذان بينت الدراسات أنهما يشبتان غاز ثاني أكسيد

الكربون أو البيكربونات HCO_3^- عند الزرع على وسط تركيبي معدني خالي تماماً من الكربون وتجهيزه بالمصدرين السابقين الحاويين على الكربون المعلم . وفضلاً عن ذلك فإن للجنس *Cephalosporium* القابلية على الحصول على المواد العضوية الدقيقة من الهواء أيضاً .

وتختلف استجابة الفطريات لوجود غاز CO_2 في بيئتها ، فالفطر *Verticillium albo-atrum* إجباري الاحتياج لغاز CO_2 ولا ينمو الفطر بغيابه ، بينما يحتاج الفطر *Byssoschlamys nivea* للغاز في الوسط اللاهوائي فقط ، أما الفطر *Blastocladiella imersonii* فيتحفز لتكوين سبورانجيم سمكة الجدار وقوية بوجود الغاز، وأن النمو بوجود الضوء يزيد من قابلية الفطر على تثبيت CO_2 الجوي.

عند زيادة تركيز CO_2 (الضغط الجزئي له) في بيئة النمو فقد يؤدي ذلك إلى تغيرات شكلية *morphological changes* في هيئة الفطر فيأخذ شكل نمو خميري بدلاً من الخيطي كما في *Exophiala wernickii* و *Mucor rouxii* .

2-2- النيتروجين (N_2) :

يُعد النيتروجين من العناصر الأساسية والمهمة للتكاثر والنمو ، وهو يدخل في تركيب مواد مهمة في الخلية كالأحماض الأمينية والبروتينات والبيورين والبايرمدين والأحماض النووية والفيتامينات الذائبة في الماء .

إن معظم الفطريات تستطيع استخدام النيتروجين العضوي الموجود في المركبات العضوية كالأحماض الأمينية ، فضلاً عن النيتروجين غير العضوي ، وفي الخلية تسلك الأحماض الأمينية كواهبات للنيتروجين لمركبات أكثر تعقيداً والنيتروجين غير العضوي الذي يدخل إلى الخلية غالباً ما يتحول إلى أحماض أمينية قبل استعماله من قبل عضيات الخلية *organelles* .

تقسم الفطريات إلى مجاميع ، وحسب قابليتها على استعمال النيتروجين الجزيئي (نترات ، نترت ، أمونيا ، مركبات نيتروجين عضوية) .

المجموعة	النيتروجين	النيتروجين غير العضوي		النيتروجين العضوي
	N ₂	نترات	نترت	أمونيا
1	؟	+	+	+
2	-	-	+	+
3	-	-	-	+
4	-	-	-	-

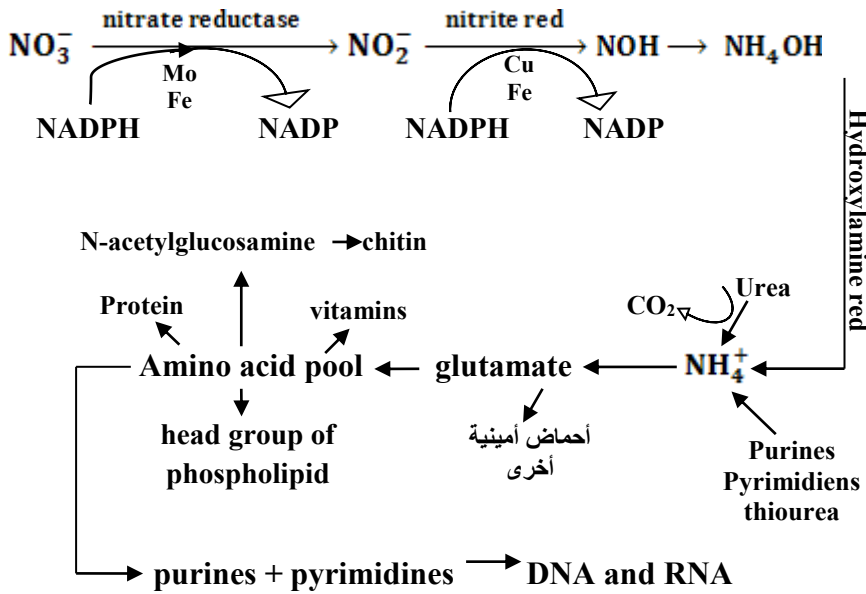
لا يوجد دليل على قابلية الفطريات على تثبيت النيتروجين N₂ الجزيئي الجوي مباشرة وأن الملاحظات السابقة في هذا المجال سببها تلوث بالبكتريا المثبتة للنيتروجين ، وفي تجربة لنقل قابلية تثبيت النيتروجين من البكتريا *Azotobacter* إلى فطر المايكورايزا *Rizopogon* ، ظهرت في الفطر صفة تثبيت النيتروجين ، لكن هذه القابلية تدهورت وانخفضت بعد بضعة شهور .

تفاوتت درجة الاستفادة من المصدر النيتروجين من قبل الفطريات اعتماداً على العزلة الفطرية ونوع المصدر النيتروجيني ، ففي تجربة على ثلاث عزلات من *Alternaria lenuis* وأربعة أنواع من المصادر النيتروجينية لوحظ أن النمو كان ضعيفاً على (NH₄⁺) وجيد على النيتروجين العضوي (الأحماض الأمينية) فيما كان التثبيت والنترات في الحدود الوسطى ، علماً بأن أيون (NO₃⁻) أعطى أفضل تجزئ sporulation من بقية المصادر ، كما أن إحدى العزلات الثلاث فاقت العزلتين الأخريتين في استعمال (NO₃⁻) .

ويفضل الفطر *Rhizoctonia sp.* النمو على الأحماض الأمينية كمصدر للنيتروجين ، ويكون نموه أفضل مما لو نمت على الوسط الزراعي الحاوي على الأمونيا. في حين أن الفطر *Blastocladiella emersonii* ينمو على الأحماض

الأمينية فقط كمصدر للنيتروجين ، أما الفطر *Tieghemiomyces parasiticus* فقد كان أكثر تخصصاً للمصدر النيتروجيني العضوي ، فكان نموه على الحامض الأميني L-cysteine .

على الرغم من أن الفطريات تعيش على أو تستطيع استعمال أنواع النيتروجين العضوي إلا أن التجارب تركزت على المصادر غير العضوية (NO_3^- ، NH_4^+ ، NO_2^-) والمصادر غير العضوية (Urea ، amino acids) وذلك لأنها تتبع المسار الأيضي العام لاستعمال النيتروجين.



2-2-1- أيون النترات NO_3^- (Nitrate Ion) :

تستطيع معظم الفطريات استعمال أيون النترات كمصدر للنيتروجين ، ويتم ذلك بعد اختزاله بإنزيم nitrate reductase إلى أيون النتريت وبعدها إلى أمونيا .

إن قسم الفطريات البازيدية Basidiomycetes وعائلة Saprolegniaceae ورتبة Blastochladiales لا تستعمل النيتروجين في النترات .

ولبيان طبيعة عمل الإنزيم المختزل أجريت تجربة على عزلتين من الفطر *Aspergillus nidulans* أحدهما مطفّرة (لا تملك الإنزيم) والثانية غير مطفّرة (تملك الإنزيم) ، زرعت العزلتان على وسط يحوي اليوريا كمصدر للنيتروجين ، ثم نقلتا إلى وسط يحوي أيون النترات المعلم $(NO_3^-)^{15}$ فلم يظهر النيتروجين المعلم في العزلة المطفّرة ، فيما ظهر في العزلة غير المطفّرة بعد 40 دقيقة ، بعدها نقلت العزلتان إلى وسط يحوي الأمونيا والنترات فلم يظهر النمو لكلا العزلتين . ويمكن إيضاح ذلك بأن ظهور $(NO_3^-)^{15}$ في العزلة غير المطفّرة بعد فترة من الزمن (40 دقيقة) أي بعد lag phase يعود إلى أن الإنزيم الناقل مستحث induced ، أما نقل العزلتين إلى وسط الأمونيا والنترات وعدم ظهور النمو فيهما فذلك يعني أن الأمونيا مشط لإنتاج الإنزيم ، أما العزلة المطفّرة فهي لا تحوي الإنزيم أساساً .

افترض الباحثان Pateman و Kinghorn أن أيون النترات (NO_3^-) يدخل الخلية مباشرة بارتباطه بالإنزيم المختزل بطريقة تشبه (ناقل - مادة تفاعل) وهذا يعني أن (NO_3^-) ربما يدخل الخلية بطريقة النقل الميسر والناقل هو الإنزيم ، وذلك يعني أيضاً وجود الإنزيم قرب أو على الغشاء البلازمي ، وهذا ما أثبتته Roldan ومساعدوه (1982) بأن الإنزيم موجود على الغشاء البلازمي أو غشاء الفجوات .

2-2-2- أيون النتريت (NO_2^-) Nitrite Ion :

على الرغم من أن أيون النتريت يمثل مصدر نيتروجين لبعض الفطريات ، فإنه مادة سامة للعديد منها ، وهو قد ينتزع مجموعة الأمين (NH_2) من الحامض الأميني أو يتداخل مع الكبريت لتماثله مع أيون (S^{2-}) ، وقد يرجع السبب في

النمو الضعيف للفطر بوجود (NO_2^-) إلى تأثيره على دالة الحامضية في الوسط ، إذ لوحظ زيادة النمو في *Aspergillus niger* على الوسط المجهز بالنترت عند رفع دالة الحامضية من 5.6 إلى 7.5 . إن الإنزيم الذي يختزل أيون النترت هو nitrite reductase وله نفس صورة إنزيم nitrate reductase .

2-2-3- أيون الأمونيوم (NH_4^+) : Ammonium Ion

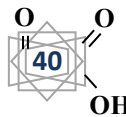
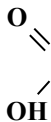
تستطيع معظم الفطريات استعمال الأمونيا كمصدر أساسي للنيتروجين ، وهو يؤثر على النمو ، كما يسلك كمنظم نمو للعديد من الفعاليات الحيوية .

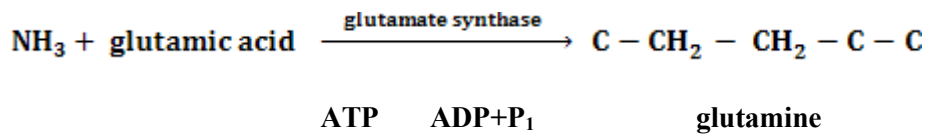
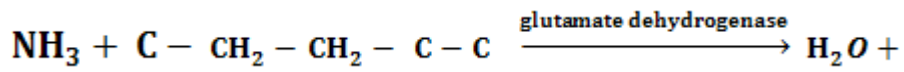
لوحظ أن الفطر *Calonectaria camelliae* يكون أجسامه الثمرية القارورية الخصبة بوجود الأمونيا كمصدر للنيتروجين ، بينما تكون الأجسام الثمرية غير خصبة (خالية من السبورات) عندما تكون أيونات النترت أو النترات هي مصدر النيتروجين ، وعند إضافة كربونات الكالسيوم CaCO_3 يتأثر تكوين الأجسام الثمرية وخصوبتها . ويظهر تأثير الأمونيا على خميرة *S.cerevisiae* بشكل مغاير ، حيث يتوقف تكوينها للأكياس في التراكيز الواطئة من الأمونيا ، وقد يعود السبب في ذلك إلى تأثير الأمونيا على مستوى الحموضة في الوسط الزراعي ، إذ أن استخدامها يصاحبه انخفاض في pH ، وقد يصل إلى 2.7 بغياب نترات البوتاسيوم KNO_3 التي تعمل كوسط دارئ buffer يثبت الحامضية .

إن انخفاض دالة الحامضية يصاحبه نمو ضعيف وتمثيل ضعيف للنيتروجين أيضاً ، ويمكن معالجة ذلك بإضافة حامض عضوي كالتترات والماليت tartaric & malic acids لتعديل دالة الحامضية والمساعدة على النمو .

تعد الأمونيا عامل مثبط للاستفادة من النترات كمصدر للنيتروجين ولا يحصل العكس ، وهذا يعني أن الأمونيا تكبح إنزيم nitrate reductase .

تسلك الأمونيا داخل الخلية مسارات أيضية لتكون الأحماض الأمينية





2-2-4- اليوريا $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$:

تنتج اليوريا داخل الخلية الحية بتكسير البيورين والبارمدين والأرجنين ، وهي تدخل مسارات النمو كما هي في الوسط الزراعي ، إلا أنها يجب أن تتحول إلى أمونيوم قبل ذلك .

تستطيع خميرة *S. cerevisiae* النمو على الأمونيا واليوريا كمصدرين للنيتروجين ودون تفاوت بين المصدرين ، أما *A. niger* فإن نموه وتكوينه للأجسام الحجرية *sclerotia* فيكون جيداً بوجود الأمونيا ومتوسطاً (أقل) بوجود اليوريا .

تنتقل اليوريا إلى الخلية بطريقتين هما :

1. النقل الفعال ، وذلك عندما ينخفض تركيزها خارج الخلية ، ويستحث النظام بوجود اليوريا ويكبح بوجود مصدر نيتروجيني آخر كالأحماض الأمينية ، والناقل قد ينقل مشابهاة اليوريا ، وهذا ما لوحظ في *A. nidulans* إذ يقوم بنقل الثايويوريا *thiourea* السامة .

2. الانتشار الميسر ، ويحصل عند زيادة تركيزها في البيئة ، والنقل هنا غير مستحث ولا يكبح بوجود مصادر نيتروجينية أخرى .

2-2-5- الأحماض الأمينية Amino acids :

تستطيع معظم الفطريات استخدام الأحماض الأمينية كمصادر للنيتروجين ، إلا أن كفاءتها غير متساوية في أخذه ، كما تختلف الأحماض الأمينية في تأثيرها على النمو والتجثرم .

لوحظ في دراسة على *Bipolaris maydis* عند تنميته على مصادر مختلفة من الأحماض الأمينية أن هنالك علاقة طردية بين الوزن الجاف للخيوط الفطرية والتجثرم لوحدة الوزن ، وكانت استجابة الفطر في النمو والتجثرم ضعيفة لأحماض

التريبتوفان tryptophan والليوسين leucine والميثيونين methionine ، فيما كان النمو والتجثرم جيدان باستعمال حامضي الكلوتاميك glutamic أو السيرين serine ، أما الحامضين الأرجنين arginine والأورنيتين ornithine فكانا مصدراً جيداً للنمو وضعيفاً للتجثرم .

وبشكل عام فإن الأحماض الأمينية ذات السلسلة الجانبية الحامضية تمثل مصدراً جيداً للنمو والتجثرم ، أما ذات السلسلة الجانبية غير المشحونة فمتوسطة التأثير ، فيما تكون ذات السلسلة غير القطبية الأضعف في تأثيرها على النمو والتجثرم . وتتأثر جميع الأحماض الأمينية بعوامل الوسط الزراعي ، فعند إضافة Xylos ظهرت نتائج متباينة فقد ينشط النمو أو يثبطه وقد ينشط التجثرم أو يثبطه ، أو أن يكون عديم التأثير وذلك بحسب نوع الحامض الأميني ، ولنوع الحامض الأميني تأثير عالي على فسلجة الفطر (بحسب النوع) فما يكون مثالياً للنموات غير الجنسية ليس بالضرورة أن يكون ملائماً لتكوين السبورات . كما أن وجود الكحول كمصدر للكربون بدلاً من الكلوكوز قد يزيد من استعمال الفطر للمصدر النيتروجيني (حامض أميني) ، وهذا ما لوحظ في الفطر البازيدي *Armellaria mella* باستخدامه L-asparagine والعديد من الأحماض الأمينية من نوع (L) .

يؤثر الحامض الأميني على فعالية إنزيم polyphenol oxidase وعلى التجثرم sporulation ، فمزرعة *B.maydis* تُظهر نشاطاً عالياً للإنزيم polyphenol oxidase بوجود حامض glutamate و asparagine و aspartate ، بينما يكون نشاط الإنزيم أضعف في الأحماض الأمينية الأخرى . وهناك علاقة ضعيفة بين التجثرم وفعالية إنزيم polyphenol oxidase ، فنقصان تركيز الأخير تقابله زيادة التجثرم بوجود الحامضين serine و Gama – aminobutyric acid (GABA) .

2-2-5-1- انتقال الأحماض الأمينية :

تمثل الأحماض الأمينية أكثر المواد التي تمر عبر الغشاء الساييتوبلازمي تنوعاً، لذلك فإن طرق نقلها متنوعة وإن كان النقل الفعال هو الشكل الغالب .

في الطبيعة لا تتواجد الأحماض الأمينية بتراكيز عالية ، ولذا يتم إدخالها للخلية بالنقل الفعال، ويبدو أن هذه الطريقة قد ظهرت في مراحل مبكرة من تطور الفطريات ، وقد وصف الباحث Whitaker عام 1976 أربعة أنظمة لنقل الأحماض الأمينية في الفطريات هي :

1. نظام مفرد واسع التخصص Single system of broad specification.
2. نظام واسع لألف مختلفة System of broad but differing affinities
3. نظام متخصص لحوامض أمينية حامضية أو قاعدية أو متعادلة System specific for acidic or basic or neutral amino acids
4. نظام متخصص لحامض أميني مفرد Specific system for single amino acid .

اعتمد تحديد هذه الآليات على ثلاثة أنواع من الفطريات هي : *A. nidulans* و *N. crassa* و *P. chrysogenum* .

إن النظام الأول ينقل جميع أنواع الأحماض الأمينية وبكفاءة تعادل (50-5) مرة ما تقوم به الأنظمة المتخصصة ، وأثبت هذا النظام من خلال الدراسات الوراثية . أما النظام الثاني فقد لوحظ أن بعض الأحماض الأمينية تدخل الخلية بشكل أفضل إذا كانت مشتركة مع حامض أميني آخر عما إذا كانت بمفردها ، وهذا يعتمد على الألفة والتنافس بين الأحماض الأمينية على الناقل البروتيني في الغشاء الساييتوبلازمي وبين بعضها البعض .

نظام النقل الثالث لوحظ في *N. crassa* إذ يحتوي الغشاء الساييتوبلازمي على ناقلات متخصصة لصنف من الأحماض الأمينية القطبية والمتعادلة ولكل منها نظام نقل منفصل .

النظام المتخصص لحامض أميني مفرد لا يشبط بوجود أيون الأمونيوم NH_4^+ ويكون للناقل ألفة عالية مع مادة التفاعل كما لوحظ في الخمائر ، ويتأثر الناقل في هذا النظام بنقص النيتروجين والكربون في غذاء الفطر ، كما يتأثر بظروف البيئة ، فعند نقص الكبريت (S) يتأثر ناقلات السيستين والميثيونين systine & methionine لأن كلاهما يحتوي على الكبريت .

2-2-5-2- العوامل المؤثرة على أخذ واستخدام الأحماض الأمينية :

تتوقف قابلية الفطر على استخدام الأحماض الأمينية على تركيبه الوراثي ، وكذلك يتأثر بعوامل دالة الحامضية ودرجة الحرارة والتركيز والطاقة المطلوبة ، وتواجد بقية مصادر الغذاء الفطري ، وأخيراً تركيز الأحماض الأمينية داخل الخلية.

1. دالة الحامضية pH : يتوقف تأثير درجة الحموضة على شحنة الحامض الأميني وعلى شحنة الناقل البروتيني ودرجة التأثير بينهما . وتعتبر Proton symport ميكانيكية معتادة في نقل الأحماض الأمينية ، وبالرغم من اختلاف الأحماض الأمينية في أفضل دالة حامضية لأخذ أي منها فإن بعض الأجناس الفطرية تظهر نشاطاً أعلى في درجة حامضية معينة كالجنس *Penicillium* الذي أظهر أعلى نشاطاً بين (5-6) .

2. درجة الحرارة Temperature: تؤثر درجة الحرارة على التفاعلات الخلوية وبالتالي على سرعة أخذ الأحماض الأمينية من المحيط أو الوسط الزراعي ، وقد لوحظ في الفطر *P. chrysogenum* ارتفاع نشاط نقل الأحماض الأمينية

بارتفاع درجة الحرارة من 5 ° إلى 30 ° م وانخفاضه إذا ارتفعت الحرارة فوق ذلك

3. تركيز الحامض الأميني Concentration of amino acid : بما أن الحامض الأميني يعتمد على ناقل وسطي فإن زيادة تركيز الحامض يؤدي إلى زيادة النقل في حالة التركيز الواطئ ، إلا أن التركيز لا يكون ذو تأثير في التراكيز العالية، وإذا ما تواجد حامضين أميين في الوسط ولهما ناقل واحد فإن تأثير التركيز يعتمد على نسبة كل منهما للآخر وعلى ألفة كل منهما للناقل البروتيني .

4. متطلبات الطاقة Energy requirement : بما أن النقل الفعال هو الأساس في نقل الأحماض الأمينية وأن الآلية هي Proton transport لذا فإن العوامل الكيميائية والفيزيائية المؤثرة على إنتاج الطاقة ستؤثر بدورها على أخذ الأحماض الأمينية (الظروف اللاهوائية ومثبطات الكلايكوليسز glycolysis تؤثر على كمية الطاقة المجهزة) ، ومع ذلك فإن تراكيز واطئة من المثبطات 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid و azide قد تسلك كعوامل منشطة.

5. المغذيات Nutrients : إن زيادة أيون الأمونيوم NH_4^+ يشبط النمو للعديد من الفطريات المعتمدة على الأحماض الأمينية ، فيما تكون بعض حالات النقل للأحماض الأمينية أكثر نشاطاً عند نقص النيتروجين والكربون والكبريت . وبشكل عام فإن زيادة السكر في الوسط أو البيئة يزيد من كفاءة نقل الأحماض الأمينية لأنه يوفر مصدراً جديداً للطاقة .

6. تركيز الأحماض الأمينية داخل الخلية

: Concentration of interacellular amino acid

إن تركيز الأحماض الأمينية الحرة داخل الخلية قد يشبط أخذ أحماض إضافية من الوسط الزراعي ، ويطلق على ذلك تشبيط الانتقال trans inhibition ، وزيادة حامض اللايسين lysine داخل الخلية يوقف أو يشبط أخذه من الوسط ، إلا

أن هذه العملية ليست متخصصة بدرجة عالية ، فربما يتوقف تأثيرها على الحجم الكلي للأحماض الأمينية أكثر مما على حامض بعينه (نوع منها) وبالعكس ذلك في الأحماض الأمينية التي لها تخصص عالي على الناقلات البروتينية .

2-3- نسبة الكربون إلى النيتروجين (C/N ratio) :

لوحظ أن نسبة عنصر الكربون إلى النيتروجين ذات تأثير على النشاط الفسيولوجي للفطر ، فعند استزراع الفطر *Trichoderma viride* على وسط زرعى مجهز بكميات معلومة من glucose كمصدر للكربون و L-asparagine كمصدر للنيتروجين لوحظ أن أعلى وزن جاف للفطر ظهر عندما كانت نسبة الكربون إلى النيتروجين (10غم : 280 ملغم) ، فيما كان أدنى نمو عند نسبة (6غم : 93ملغم) .

تختلف استجابة الفطريات لأفضل نسبة بين عنصري الكربون والنيتروجين، فالفطر *Curvularia pallescens* يعطي أعلى كمية من الكونيدات إذا كانت النسبة 6 جلوكوز : 1 نترات البوتاسيوم (12غم / 2 غم) . أما *Alternaria alternata* فكان أفضل إنتاج للكونيدات عندما كانت نسبة N : C (4 : 1) (2غم / 0.48غم) .

الفصل الثالث

التغذية اللاعضوية

Inorganic Nutrition

التغذية اللاعضوية

Inorganic Nutrition

الفصل الثالث

التغذية اللاعضوية

تُعد العناصر المعدنية مغذيات مهمة وإن عدم وجودها في الوسط الزراعي يُضعف النمو الفطري أو يؤثر سلباً على التكاثر ، إلا أن الحاجة للعناصر المعدنية في الوسط الزراعي أقل كمياً من الحاجة للكربون والنيتروجين ، ففي الوقت الذي يستخدم الغرام لوزن المغذيات العضوية يستخدم الملغرام للمغذيات غير العضوية {بضع مئات من الملغرامات من الفسفور (P) إلى أقل من ملغرام واحد للنحاس (Cu)} .

تختلف الكمية المطلوبة من العنصر لإعطاء أقصى نمو اعتماداً على :

1- نوع الفطر .

2- تركيب الوسط الزراعي .

3- عوامل البيئة المحيطة بالفطر .

ويمكن تقسيم المغذيات المعدنية إلى مجموعتين رئيسيتين اعتماداً على الكمية المطلوبة لأعلى نمو : عناصر يحتاجها الفطر بكميات كبيرة Macronutrients تشمل Mg و P و K و S و Ca ، وعناصر يحتاجها الفطر بكميات ضئيلة (Trace) Micronutrients وتشمل Cu و Fe و Mn و Zn و Mo .

وتحتاج بعض الأنواع الفطرية لعناصر مثل الصوديوم Na والكوبلت Co البروم Br ، إلا أن وجودها في الماء والكواشف يجعل من الصعب تقدير النسب الدقيقة المطلوبة منها .

3-1- المغنيسيوم (Mg) : Magnesium

المغنيسيوم عنصر تحتاجه جميع الفطريات ويدخل في وظائف تنظيمية مختلفة ويختلف تركيزه في الخلية اعتماداً على نوع الفطر ، وعمره ، وتركيب الوسط الزراعي .

وفي دراسة لبيان العلاقة بين تركيز المغنيسيوم داخل الخلية بتركيزه في الوسط الزراعي تم زراعة ثلاثة أجناس فطرية مختلفة ، ف لوحظ أن تركيز المغنيسيوم الكلي داخل الخلية لكل فطر يزداد مع زيادة تركيز أيون Mg^{+} في الوسط ، كذلك يزداد المغنيسيوم الحر في الخلية الفطرية.

إن تركيز المغنيسيوم داخل الخلية أكثر ثباتاً (ثابت تقريباً) مقارنة بالتغيرات في تركيزه في الوسط الزراعي ، فعند زيادة التركيز الخارجي 14 ألف مرة يزداد التركيز الداخلي 1.5 – 3.3 مرة مما يدل ان انتقاله لداخل الخلية لا يعتمد على الفرق في تركيزه بين وجهي الغشاء البلازمي.

ويبدو أن تركيز Mg الخلوي يتأثر بمعدل النمو ، فالنمو السريع للخلايا في الفطرين *P. chrysogenum* و *Endomyces magnusii* يقلل نسبة Mg مقارنة بالخلايا النامية ببطء، كما يلعب عنصر الفسفور (P) دور مهم جداً لتجميع المغنيسيوم داخل الخلية ، وقد لوحظ ذلك عند نقل مستعمرة *P. chrysogenum* إلى وسط خالي من الفسفور فانخفضت كمية المغنيسيوم في خلايا الفطر ، ويعود السبب في دور الفسفور هذا إلى تكوين Mg- orthophosphate (مخزن للمغنيسيوم) ، كما يؤثر الفسفور وكذلك البوتاسيوم في قابلية أخذ المغنيسيوم في الفطريات الوحيدة الخلية (الخمائر)، إلا أنه في فطر *Neurospora sp.* لا يظهر تأثير للعنصرين (K و P) على أخذ أيون المغنيسيوم وذلك يعود إلى نظام نقل المغنيسيوم في هذا الفطر ، حيث أن البروتين الناقل للمغنيسيوم ينقل كذلك ايوني

الـ (Mn و Zn) ويشبط بالظروف اللاهوائية وبدرجة أقل بالـ azide . إن تركيز المغنيسيوم مؤثر بقوة على قابلية الأخذ والعلاقة عكسية بين مستوى Mg^{+2} في الساييتوبلازم ومعدل الأخذ ، وكلما زاد تركيزه في داخل الخلية انخفض أخذه حتى يصل الصفر، ويتواجد أيوني Mg^{+2} و Mn^{+2} داخل الساييتوبلازم متحدين مع ADP و ATP وذلك لوجود شحنة موجبة تتآصر مع شحنة الفوسفات السالبة .

تحتاج جميع التفاعلات الحيوية المتضمنة نقل مجموعة الفوسفات إلى Mg^{+2} و Mn^{+2} كـ Cofactor كما أن الإنزيمات التي لا تدخل في نقل الفوسفات تحتاجه أيضاً كـ Cofactor مثل أنزيم Mg enolase . يؤثر المغنيسيوم على الغشاء الخلوي ووظيفته ، وفي الفطر *N. crassa* يُعد وجود Mg^{+2} مهم لتخليق الكلايكوبروتين في الغشاء ، كما يزيد تركيز Mg^{+2} من تماسك المركبات البروتينية في الغشاء ويقلل من نفاذيته ويشبط النقل .

ويلعب أيون Mg^{+2} دوراً مهماً في تكاثر خميرة *Schizosaccharmyces pompe* ويتغير تركيزه حسب مراحل الانقسام ويصل أدنى تركيز عند انقسام الخلية .

3-2- الفسفور (P) Phosphorus :

إن معظم إن لم يكن جميع الفسفور الخلوي يظهر بشكل (PO_4^{-3}) وهو بهذا التركيب يمثل جزء مهم ومكمل للجزيئات الكبيرة DNA و RNA والفسفوليبيدات ، وكذلك لجزيئات أصغر هي Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) و Flavine adenine dinucleotide (FAD) وفيتامين B12 والمرافق الإنزيمي Co enzyme-A ، وكذلك مكون للنيوكليوتيدات Adenosine triphosphate (ATP) و Guanosine triphosphate (GTP) -5- و Cytidine triphosphate (CTP) و Uridine triphosphate (UTP). وأيون الفوسفات يمثل مخزن للطاقة المنقولة في الخلية .

إن الفسفور في جذر الفوسفات يمثل جزيئة من نوع resonance الهجين ، تكون فيها ذرة (P) في المركز تحيطها أربع ذرات (O_2) مرتبطة بأواصر (أوكسجين - فسفور) متعادلة بحيث يكون للآصرة المفردة بعض صفات الآصرة المزدوجة والعكس ، إن هذا التركيب يساعد الفسفور في تشكيل مركبات أكثر ثباتاً .

إن صفات الثبات لجذر الفوسفات (PO_4^{-3}) والشحنة الكهربائية الساكنة فيها وفرق الطاقة الحرة بين مادة التفاعل ونواتجها جعل لجزيئة ATP أهمية كبيرة في اقتصاد الطاقة الخلوية ، ويمكن للطاقة الموجودة في ATP الانتقال إلى جزيئات أخرى كالفوسفات الطرفي . تأخذ الفطريات الفسفور عادةً بشكل أيون أورثوفوسفيت (PO_4^{-2}) ، والعديد من الفطريات تفرز إنزيم Phosphatase للبيئة الخارجية ليلصق بـ (P) في المركبات المفسفرة ، وفي فطر *N. crassa* لوحظ نظامين لنقل الفسفور ، الأول ثابت Constitutive والثاني يستحث بنقص الفسفور ، بينما في الخميرة *S. cerevisiae* يكون نظام النقل Co-transport المتلازم وله صورتين في الأولى تطرح الخميرة جريئين صوديوم أو ليثيوم مقابل إدخال جزيئة فوسفات واحده ، وفي الثاني يتم النقل مقابل جزيئي هيدروجين لكل جزيئة فوسفات ، وتؤثر الأيونات الموجبة الشائبة مثل Ca^{+2} و Mg^{+2} على هذا النظام إذا كان pH 7.2 ، ولا تؤثر في pH 4.5 .

يتجمع الفوسفات داخل الخلية بسلاسل طويلة Polyphosphates في الفجوات ، ويساعد في تراكمه وجود Mg^{+2} وهذا ما لوحظ في *S. cerevisiae*. إن التغيرات في تركيز الفسفور في الوسط الزراعي تؤدي إلى تغيرات بايوكيميائية في الخميرة ، ففي *S. cerevisiae* لوحظ أن نقصان تركيز أيون الفسفور من (3غم) إلى (82.1 ملغم) أدى إلى نقصان في البروتين والكلوكان في جدار الخلية ، وبالعكس فإن إضافة أيون الفسفور إلى الوسط تزيد نمو الفطر ، وهذا ما لوحظ

على الخميرة *Candida sp.* باستخدام أكثر من مصدر للفسفور العضوي واللاعضوي .

يتباين تأثير تركيز الفسفور على الفعاليات الحيوية فقد ينشط أو يكون مثالياً لفعالية معينة ، إلا أنه في الوقت نفسه مثبط لفعاليات أخرى . بالرغم من أن معظم الأحياء المجهرية تنمو بشكل جيد بتركيز 0.03 - 300 ميكرومول إلا أن هذا التركيز مثبط للعديد من الفعاليات الحيوية .

3-3- البوتاسيوم (K) Potassium :

تحتاج جميع الفطريات للبوتاسيوم للنمو ، إلا أن حاجتها صعبة التحديد لوجود ملوثات بكميات ضئيلة في الوسط الزراعي ، فقد لوحظ النمو الجيد لـ *N. crassa* في الوسط الملوث بـ K^+ أو بالوسط الذي يضاف له البوتاسيوم ، وإن النمو يزداد بزيادة تركيز الأيون لغاية 1 mM ، ويكون التركيز فوق 10 mM مثبط للنمو .

عند تحليل البوتاسيوم الخلوي لوحظ أنه في فطر *N. crassa* تجمع البوتاسيوم بكميات ملحوظة ، وعند انخفاض تركيزه لأقل من 1 ملي مول فإن انخفاض البوتاسيوم داخل الخلية يتم معادلته بأيون الصوديوم ، أي من المتوقع في التراكيز الواطئة من البوتاسيوم أن يحصل تبادل بين أيوني (Na^+ و K^+) داخل الخلية ويمكن لأيوني (H^+ أو K^+) الخارجي التعويض عن أيون Na^+ في عملية التبادل .

يتم نقل أيونات (K^+ و Na^+ و H^+) في نفس الناقل ، وفي pH (4-6) يعتمد النقل على تركيز هذه الأيونات ، بينما لا يعتمد على التركيز في pH (8) وهذا يعني أن للناقل أكثر من موقع ارتباط ، فيكون بحركات (مايكل- ميتن) في الحالة الأولى و sigmoidal في الحالة الثانية .

الأهمية الأكبر للبوتاسيوم في الخلية هي تنظيم الضغط الأسموزي الخلوي ، وهذا يعتمد بدوره على وجود الماء في الوسط الزراعي والذي يعطي الضغط الانتفاخي المهم لحيوية الخلية .

إن قابلية الفطريات البحرية على النمو بتركيز عالية من كلوريد الصوديوم (NaCl) يعود لقابليتها الفسلجية المميزة ، فهذه الفطريات تأخذ أيون البوتاسيوم (K^+) وتطرح بالمقابل أيون الصوديوم (Na^+) أو الهيدروجين (H^+) . إن تدفق flux البوتاسيوم ينقص الضغط الأسموزي بين الوسط والسيتوبلازم ويمنع تراكم (Na^+) إلى الحد المشب ، ولذا نلاحظ في الفطريات المتحملة للملوحة أن نسبة K/Na داخل الخلية أعلى من الفطريات الأقل تحملاً .

يلعب البوتاسيوم داخل الخلية دوراً في عمليات النقل الداخلي فيها ، وكذلك ارتباطه ببعض الإنزيمات مثل aldolase و pyruvate kinase .

3-4- الكبريت (S) Sulphur :

من العناصر المطلوب وجودها وتوفرها لبقاء الخلية حية ونشطة وذلك دخوله في تركيب البروتين والفيتامينات والأحماض الأمينية مثل cysteine و methionine . إن مجموعة الثايول (SH) في السستين جعلت للكبريت أهمية في تركيب البروتين ، فعند اتحاد جزيئين منه ترتبط مجموعتين من HS-SH وبدورها تحافظ على البروتين ووظيفته في الخلية .

ويدخل الكبريت في تركيب الإنزيمات كمرافق إنزيمي لـ thiamin و biotine و lepoic و Co-enzyme-A وإنزيمات أخرى تحوي الحديد . فإنزيم Aconitase (iron-sulfur protein) في خميرة *Candida lipolytic* تقل كفاءته بغياب الكبريت ، كما يسلك الكبريت بصيغة أيون كبريتات (SO_4^{2-}) كمنشط إنزيمي لإنزيم phosphoglycerate kinase .

تأخذ الفطريات الكبريت بشكل (SO_4^{2-}) أكثر من سواه ، ومن تجارب على *N. crassa* و *S. cerevisiae* و *As. nidulans* لوحظ أنه ينقل بنظام النقل الفعال active transport وفي *N. crassa* يكون الناقل ذو ألفة ضعيفة في الكونيدات وألفه عالية في الخيوط الفطرية ، وفي الفطرين الآخرين لوحظت عدة صور يمكن أن ينقل بها الكبريت مثل ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) كما تنقل جزيئات مشابهة له على نفس الناقل (مولبيدات MoO_4^{2-} والسليينات SeO_4^{2-}) وتعتبر مثبطات تنافسية .

وفي دراسة نموذجية على نظام الأخذ uptake قام بها Reinter و 1974 Marzulf على الفطر *N. crassa* لوحظ أن مصدر الكبريت الأساسي هو $\text{glucose} - 6 - \text{SO}_4^{2-}$ ، وإن الفطر يستفيد من الكبريت في الجزيئة فقط . وفي داخل الخلية يتحول الكبريت بسرعة إلى جزيئات عضوية في البروتين ، وعند استعمال (SO_4^{2-}) معلّم في وسط زرع للفطر *P. chrysogenum* لوحظ ظهوره بعد (5) دقائق في البروتين في الخيوط الفطرية ، ويسلك (SO_4^{2-}) في داخل الخلية مرحلتين في الأولى ينشط بـATP ويتحول بمراحل إلى أيون الكبريتيد (S^{2-}) ، وفي الثانية يدخل أيون (S^{2-}) في تركيب المركبات العضوية ، وبالرغم من أخذ أيون الكبريتات (SO_4^{2-}) يبدو غير مرتبط مع الفعالية في تحويله داخل الخلية إلى كبريت عضوي (ميثونين وسيستين) إلا أن هذه المركبات تتأثر بالمركبات الوسطية . يخزن الكبريت بشكل مركبات ذائبة كالميثونين والسيستين ، فيما يخزن في الفطريات الراقية بشكل Cholin-O-sulfate .

لوحظ الكبريت العضوي (S_8) في العديد من الفطريات وكان تركيزه في السبورات والأجسام الحجرية والسبورات الحرشفية أعلى من الخيوط الفطرية ، أي أن تواجهه أعلى في التراكيب الساكنة والمشبطة ذاتياً Self - inhibitor ، وقد يكون وجوده في سبورات الفطر *Phomopsis viticola* هو السبب في عدم إنباتها

في الظروف الطبيعية ، وبسبب قابلية الكبريت على نقل الإلكترونات (e^-) خلال المراحل الوسيطة للسلسلة التنفسية وهو بالتالي قد يسبب خفض معدل التنفس ويؤدي بالتالي إلى طور السكون في هذه السبورات .

تختلف الفطريات في طريقة أخذها للكبريت ، فالفطر *Aureobasidium pullulans* له مسارات أكسدة لكبريت $S \leftarrow S_2O_3^{-2} \leftarrow S_4O_6^{-2} \leftarrow SO_4^{-2}$ وأن هذه الأيونات تمثل مصدراً للكبريت في جميع مراحلها .

فيما لا تستطيع الرتبة *Blastocladales* من اخذ الكبريت بشكل أيون الكبريتات (SO_4^{-2}) مطلقاً ، ولا تستطيع كافة الفطريات أخذ *thiourea* فيما تكون كبريتات المغنيسيوم ($MgSO_4$) مصدراً جيداً للنمو والتجثرم وكبريتيد الصوديوم ($NaSO_3$) مصدراً جيداً للنمو ومثبطاً للتجثرم .

الفطر *Puccinia graminis* لا يستطيع أخذ الكبريت اللاعضوي ، ويعتمد على *homocystine* وال *cysteine* و *methionine* كمصدر للكبريت .

إن ثاني أوكسيد الكبريت (SO_2) وأيون الكبريتات (SO_4^{-2}) وإن أخذهما الفطر *Puccinia graminis* فإن (SO_2) يتحول إلى حامض أميني الا أن الفطر لا يستفيد منه في البناء لأن سرعة تحول الكبريت من (SO_4^{-2}) إلى حامض أميني غير كافية لتعويض النقص الحاصل في الكبريت العضوي في الفطر والذي يخسره للخارج .

3-5- الكالسيوم (Ca) : Calcium

لوحظ أن إضافته إلى الوسط الزراعي يحسن نمو وتكاثر العديد من الأنواع، فإضافة (5) ملغم لكل لتر يزيد ثلاث مرات الوزن الجاف لـ *S. carlsbergensis* ، وكذلك وجوده يحفز إنتاج السبورانجيا في *Phytophthora iragariae* و *S. dictina* ، وتحتاجه العديد من أنواع *Pythium* لتكوين السبورات البيضية . Oospores

إن مصدر النيتروجين في الوسط الزراعي يحدد مدى الحاجة للكالسيوم فالـ *Phytophthora parasitica* يحتاج للكالسيوم إذا نمي على الترات كمصدر للنيتروجين ، ولكن في وسط يحوي L-asparagine كمصدر للنيتروجين يكون الكالسيوم مشجع لنمو الفطر .

استعملت السبورات البيضاء للـ *Achlya sp.* في العديد من الدراسات حول أهمية الكالسيوم ، ففي هذا الفطر يؤثر أيون (Ca^{+2}) في تكوين السبورنيجا ، وأظهرت الدراسة أن (0.1) و (1.0) ملي مول هما أفضل تركيزين للتجراثم .

لوحظت حركة في أيون (Ca^{+2}) خلال الغشاء الخلوي وباتجاهين (دخول وخروج) ويأخذ هذا التدفق شكل دورة ، وباستخدام الكالسيوم المعلم لوحظ أن الحركة تتأثر بمراحل الانقسام الخيطي ، فهناك تراكم للكالسيوم في anaphase و prophase ودفع للخارج في metaphase إلا أن الكمية الكلية من الكالسيوم تظل ثابتة في الخلية ويمكن تفسير ذلك بأن تراكم الكالسيوم في تجمعات خلوية صغيرة intracellular مصدرها تجمعات أكبر تحوي الجزء الأعظم من الكالسيوم الخلوي ، لأن الكالسيوم يسبب بلمرة لوحداث الأنبيبات الدقيقة microtubules subunits في الخلية الحيوانية ، فقد يكون لظهوره بحركة دورية خلال الانقسام الخيطي وتحرره من مخازنه قرب النواة علاقة بالانقسام الخيطي بتأثيره على الأنبيبات الدقيقة والألياف المغزلية .

التغيرات الدورية في تركيز الكالسيوم الخلوي لوحظت أيضا في حركة الساييتوبلازم للفطر الهلامي *Physarum polycephalum* ، وأن الكالسيوم ينظم العلاقة بين actin و myosin ، وفي العديد من الفطريات لوحظ أن الكالسيوم يؤثر قرب الغشاء البلازمي حتى وإن لم يدخل الخلية ، فهو يساعد على تكوين بلازموديوم كاذب في *Dictyostelium discoideum* . إن سرعة ظهور تأثير أيون

الكالسيوم (Ca^{+2}) في تجميع الخلايا خلال (4) ثواني من إضافته للوسط الزراعي يدل على أن (Ca^{+2}) يتصل مباشرة بغشاء الخلية ويكون مواد مساعدة على الربط .

يدخل الكالسيوم في تركيب العديد من مكونات الخلية فأوكزالات الكالسيوم calcium oxalate توجد في السبورانجيا sporangia والكاميتانجيا gametangia وحامل الزايكوت للعديد من الفطريات اللاقحية .

3-6- النحاس (Cu) :Copper

يعد النحاس عنصراً مطلوباً في الخلية الفطرية وذلك لدوره كمنشط للعديد من الإنزيمات وخاصة Oxidase وهو من جهة أخرى مشط للنمو ويدخل كمركب أساسي في مبيدات الفطريات ، لذا فإن تركيزه في الوسط الزراعي لا بد أن يقدر بدقة .

في معظم الأنواع الفطرية المختبرة يتم أخذ النحاس "بالنقل الفعال" فهو يتبع حركات (مايكل - منتن) ويشط بالمضادات الأيضية ويحفز بإضافة مصادر للطاقة . وهناك دليل على أن أيون النحاس (Cu^{+2}) يلتصق بسطح الخلية قبل دخوله ، وأن المعاملة بحامض الهيدروكلوريك بتركيز نورمالي (1 N.) HCl كافي لإزالة هذا النحاس .

في فطر *Dactylium dendroides* يُنقل أيون النحاس (Cu^{+2}) بالنفاذية ولا يتأثر بالمشبطات الأيضية وعند نقل خلايا من وسط حاوي على (Cu^{+2}) إلى آخر خالي منه يحصل تقييد لأيونات (Cu^{+2}) داخل الخلية لإدامة التدرج اللازم للتنافذ داخل الخلية .

يرتبط النحاس داخل الخلية بالبروتين ، وفي الغالب يكون الارتباط (نحاس-كبريت) في cystein ، ومعظم البروتين الحاوي على نحاس هو إنزيمات تحتاج النحاس لزيادة فعاليتها وتشمل Ascorbic acid oxidase و Cytochrome oxidase .

يختلف تجاوب الفطريات مع تركيز أيون (Cu^{+2}) وتأثير الـ pH ، فعند دالة التعادل يكون للنحاس تأثير حفزي لنمو *Monilia fruticola* و *P. notatum* ، فيما يكون مشط لأنواع أخرى عند زيادة تركيزه . ويمكن القول أن تركيز أيون الهيدروجين في الوسط الزراعي يغير من تأثير أيون النحاس (Cu^{+2}) ، فعلى سبيل المثال يظهر النمو في الفطرين *Asp. oryzae* و *Fusarium culmorum* بوجود 0.004 مولاري من النحاس و $\text{pH} = 7$ ، بينما في $\text{pH} = 4$ يتوقف النمو كلياً. كما لوحظ أن ارتفاع دالة الحامضية يزيد من سمية النحاس للفطر *Asp. niger* ، ويعني ذلك أن pH يؤثر على مواقع الارتباط الخلوية مع النحاس .

إن وجود مواد أخرى في الوسط الزراعي قد يؤثر أيضاً على تقبل الفطر للنحاس ، فتأثيره المشط لنمو *Aphynomyces cochloides* يتوقف عند إضافة الحديد للوسط الزراعي ، وتأثيره المشط لنمو *Candida utilis* ينخفض إما بإضافة أحماض أمينية مثل الكلايسين والأرجنين أو في pH قاعدي . إن الأحماض الأمينية تكون معقدات مع النحاس ، وكلما ازداد تكوين المعقد مع النحاس قل تأثير النحاس في التثبيط .

تتحمل بعض الأنواع الفطرية التركيز العالي للنحاس في البيئة فالـ *Penicillium ochro-chloron* ينمو في وسط مشبع بكبريتات النحاس 40% ، وقد أستعمل الفطر كدليل حيوي للتلوث بالنحاس .

وصف الباحث Sigel عام 1973 سلالة من *Peni. notatum* تعيش على النحاس المعدني وتستطيع النمو على صفائح النحاس المغطاة بخلاصة بيتون الخميرة والكلوكوز (GYP -glucose yeast pepton) ، إن معدل النمو تحت هذه الظروف يتناقص ويتحول لون الخيط الفطري إلى الأزرق ، وقد لوحظ أن الخيوط الفطرية تحفر في سطح صفيحة النحاس تاركة أثراً عليها ، أي أن هناك إنزيم يفرزه الفطر (خارج خلوي) سبب هذا التآكل على صفيحة النحاس .

إن ميكانيكية تحمل هذه الفطريات لتراكيز عالية من النحاس غير معروفة ، وفي السلالة المتحملة للنحاس من خميرة *S. cerevisiae* تبين أنها تُنتج كميات أكبر من غاز كبريتيد الهيدروجين (H_2S) والذي قد يؤدي إلى ترسيب النحاس بشكل ($CuSO_3^-$) مع فضلات الخلية الذي تطرحه للخارج ، وقد لوحظ أن للنحاس القابلية على تحفيز أحداث الطفرات الوراثية في سلالة الخميرة لزيادة مقاومتها للنحاس .

7-3- الحديد (Fe) :Iron

للحديد وظيفتين داخل الخلية الفطرية فهو يسلك إما منشطاً للإنزيمات أو مكوّن له hemilike prophyryns المهم في نقل الالكترونات .

الحديد عنصر غير ذائب وخاصة في pH القاعدي ولذا فليس من السهل تجميعه في الخلية ، وإن ذوبان أيون الحديدوز (Fe^{+2}) أعلى من أيون الحديدك (Fe^{+3}) . تستطيع الفطريات التغلب على هذه المشكلة بإفراز مواد ماسكة تعرف ب siderophors تعمل بطريقتين :

1. عندما يكون هناك نقص في الحديد تفرز هذه المواد خارج الخلية وبكميات كبيرة تعمل كالتوافات يعلق بها أيون الحديد، وتقوم الخلية باستعادتها بالنقل الفعال لتحرر الحديد منها داخل الخلية وتعود الطوافات مرة ثانية إلى خارج

الخلية ، أما كيف يتم تحرر الحديد من الطوافات داخل الخلية فإنه يحصل إما بواسطة استرات خاصة أو باختزاله من (Fe^{+3}) إلى (Fe^{+2}) الذي يكون أقل ألفة ل siderophore .

2. وجود siderophore لا تطرح للخارج حتى عند نقص الحديد ، كما في فطريات *N. crassa* و *P. chrysogenum* و *Asp. nidulans* . وفي الفطر الثاني يكون هناك نوعين من الناقلات داخلي هو ferrochrom وخارجي هو coprogen . وسجل إفراز ال fusgen في عزلات للجنس *Aspergillus* لتقوم بوظيفة siderophore .

إن ال siderophore يمكن أن تمثل ناقلات لأيونات الحديد بين العضيّات الخلوية أو مخازن الحديد ، وفي حالات أخرى تقوم بعض المركبات بمسك الحديد وإيصاله إلى سطح الخلية لتقوم الناقلات المرتبطة بالغشاء بنقله إلى الداخل .

تفتقد بعض الفطريات القابلية على تكوين ناقلات الحديد كالفطر *Pilobolus sphaerosporus* و *P. crystallins* ، ولزراعة هذين الفطرين يتوجب إضافة exogenous siderophor إلى الوسط الزراعي ، وقد لوحظ أن إضافة حامض الاسكوربيك إلى $FeSO_4$ يعمل ك coprogen و ferrichrom ويساعدان الفطر على النمو .

يخزن الحديد داخل الخلية إما بشكل siderophores أو بتواجد معقدات polyphosphate ، وفي *P. chrysogenum* يخزن 80% من الحديد بهذه الصورة، أما في *Phycomyces blakesleeana* فيخزن الحديد بشكل ferritin الذي يتكون من كتلة كبيرة من 4000 ذرة حديد محاطة بالبروتين .

ينقل الحديد داخل الخلية من حوامله إلى جزيئات heme أو hemelike ،
وتدخل الأولى في تركيب السايتركرومات الداخلة في السلسلة التنفسية وفي
إنزيمات الكاتليز والبيروكسيداز ، وفي معظم الإنزيمات الحاوية على الحديد يتغير
تكافؤه $Fe^{+2} \rightleftharpoons Fe^{+3}$ وهذا مهم في السلسلة التنفسية .

يؤثر نقص الحديد في العديد من الفعاليات ، فنقصه يقلل من مستوى
الطاقة في الخلية (ATP) ويقلل من تخليق الحامض النووي المنقوص الأوكسجين
(DNA) . ووجود الحديد في كونيديات *Colletotrichum musae* يشبط إنباتها ،
ويزال التشبث بإضافة عوامل مسك الأيونات .

إن التركيب الذي يضاف به الحديد للوسط الزراعي يؤثر على جاهزيته
وبالتالي يؤثر على معدل النمو ، فأيون الحديد الثنائي التكافؤ (Fe^{+2}) يستعمل من
قبل الخلية أسرع من استخدام الايون الثلاثي التكافؤ (Fe^{+3}) وإن العوامل
المشجعة لتحويل (Fe^{+3}) الى (Fe^{+2}) ستزيد من سرعة النمو (مثل إضافة حامض
الاسكوربيك) كما أظهرت الدراسات أن الأيون السالب المتحد مع الحديد له تأثير
على جاهزيته أيضاً ، ففي جزء واحد بالمليون يكون Fe_2O_3 مصدراً ضعيفاً للحديد
فيما يكون $Fe(OH)_2$ مصدراً غنياً له .

3-8- المنجنيز (Mn) :Manganese

من الصعب تحديد فيما إذا كان للفطر حاجة خاصة للمنجنيز لأنه يتداخل
وظيفياً مع أيون المغنيسيوم (Mg^{+2}) فكليهما يمكن أن يتصل بالادينوسين ثلاثي
الفوسفات (ATP) ويسلك كمستقبل للـ (e^-) ، وقد يتصل بالإنزيم كجزء منشط منه
، وتعتمد صفات الإنزيم على أي من المنجنيز أو المغنيسيوم مرتبط معه . وفي
بعض الإنزيمات يكون للمنجنيز تأثير منشط غير مباشر وفي معظم الأنواع المختبرة
لوحظ أن نقل المنجنيز والمغنيسيوم يتم على نفس الناقل وبنظام النقل الفعال .

تختلف الفطريات في حاجتها للمنجنيز ، وفي دراسة لـ Lilly و Barnett 1966 لوحظ تأثير نوعين من الـ *Chaetomium* بشدة بنقص المنجنيز في الوسط الزراعي وإن نموها يكون جيداً بإضافة 0.01 جزء بالمليون منجنيز . فيما أظهرت أنواع أخرى وكذلك *Alternaria sp.* عدم تأثرها بنقص المنجنيز .

الفطر *Hypoxyton punctulatum* وفطريات أخرى تنمو بشكل جيد بغياب المنجنيز ، إلا أن نموها يتحسن بوجوده . لوحظ أن الفطريات التي تعطي نمواً ضعيفاً بغياب المنجنيز تكون خيوطها الفطرية قصيرة ومنتفخة وذات تفرعات أكثر، فيما أخذ الفطر *Asp. parasiticus* شكل الخميرة بغياب المنجنيز ، وينمو طبيعياً إذا تغير تركيز المنجنيز من 0.73 إلى 7.3 ميلي ميكرون .

يعطي التركيز العالي من المنجنيز أحياناً نتائج مثيرة للانتباه ، ففي الخميرة وعند استعمال $MnSO_4$ بتركيز (10) ملي مول يشبط التضاعف الخلوي بدرجة عالية ويكون التشيط بدرجة أقل على تضاعف DNA في الماييتوكندريا ، وهذا التركيز يشبط تكوين البروتين في كل من الساييتوبلازم والماييتوكندريا ، ومن خلال 11 أيون موجب تم اختبارها كان المنجنيز العنصر الوحيد المحفز للطفرات في الماييتوكندريا .

3-9- الزنك (Zn) :Zinc

تقوم الخمائر *Sacch. cerevisiae* و *Candida utilis* وكذلك الفطر الخيطي *Neucosmospora vasinfecta* بتجميع الزنك بنفس الطريقة تقريباً . ومثل العديد من الأيونات ثنائية التكافؤ فإن الزنك يمتص في البداية إلى المواقع المشحونة من الغشاء الساييتوبلازمي ويدخل الأيون إلى داخل الخلية بالناقل الوسطي.

لوحظ في الفطر *N. vasinfecta* أن مجاميع الفوسفات polyphosphate على غشاء الخلية هي المجاميع السالبة التي يتجمع الزنك الممتص عليها ، وخلال عملية الأخذ فإن الإنزيمات تمسك المجاميع الفوسفاتية وتنقلها إلى داخل الخلية مع أيون (Zn^{+2}) ويتجدد الفوسفات الخارجي عن طريق (ATP) ، ويثبط أخذ الزنك في هذا الفطر بوجود phosphate والكلوكوز ، إذ يؤثر الفوسفات بشكل غير مباشر عند $(pH \leq 6.5)$ إذ أنه يرسب الزنك في الوسط الزراعي بشكل $Zn_3(PO_4)_2$. أما تأثير الكلوكوز فيكون مباشراً ، فهو ينافس الزنك على الفوسفات في سطح الخلية .

يدخل الزنك في تركيب العديد من الإنزيمات الفطرية التي تدخل في المراحل الوسيطة لأيض DNA و RNA ، وأكثر الإنزيمات التي أختبرت في هذا المجال أنزيم alcohol dehydrogenase الحاوي على (4) ذرات زنك ، وعند استبدالها بـ (4) ذرات كوبلت (Co) تنخفض الفعالية بنسبة 83% ، وفي الخميرة يساعد الزنك في اتصال معقد RNA مع سلسلة RNA النامية .

وبسبب حاجة العديد من الإنزيمات لهذا الأيون فإن فقدانه من الوسط الزراعي ربما يسبب ظواهر فسيولوجية متعددة ، فكمية RNA في الخميرة *Candida albicans* النامية لمدة (24) ساعة في وسط خالي من الزنك تكون ثلث الكمية الموجودة في وسط آخر يحوي الزنك .

وفي فطر *Rhodotorula gracilis* لا يؤدي نقص الزنك إلى نقصان RNA والبروتين بل يحدث نقص في أعداد الماييتوكوندريا وفي انتظام الطيات cristae فيها ، وفي *Verticillium albo - atrum* لوحظ أن إضافة 5 ميكروغرام زنك/مل للوسط الزراعي النامي يزيد المحتوى النيتروجيني ومعدل أخذ O_2 ، وقد لوحظ أن التحفيز في النمو يكون بنسبة 326% بعد ثلاثة أيام فقط ، وتكون الاستجابة للزنك

في هذا الفطر بشكل أعلى بوجود L-alanine كمصدر للنيتروجين مقارنة باليوربا وأيون النترات ونترات الأمونيوم .

وفي العديد من الفطريات ثنائية الهيئة dimorphic مثل *Histoplasma capsulatum* و *Mucor rouxii* و *Candida albicans* كانت زيادة الزنك محفزة لتكوين تراكيب تشبه خلايا الخميرة yeast like cell . وفي خميرة *C. albicans* كان التركيز المثالي لأعلى نمو يختلف عن التركيز المثالي الذي يؤدي لإنتاج أكبر عدد من الخلايا ، وهذا التأثير يخص الزنك فقط ولا يظهر في الأيونات الأخرى Mn^{+2} ، Co^{+2} ، Cu^{+2} .

وأخيراً يؤثر الزنك في إنتاج العديد من المركبات ففي *A. niger* تركيز الزنك الواطئ يشجع تكوين حامض الستريك citrate ، وعند انخفاض تركيز الزنك يزداد النمو ، إلا أن إنتاج الـ citrate ينخفض ويكون للزنك تأثير مشابه في إنتاج صبغة cynodontin في فطر *Helmenthosporium cynodontis* ، وهذه الدراسة تدعم التقارير العديدة التي تشير إلى أن إنتاج بعض المواد داخل الخلية metabolites يتم في ظروف دون المثالية للنمو suboptimal .

10-3- المولبدينيوم (Mo) :Molybdenum

ازدادت الدراسات حول هذا العنصر كونه مرافق للإنزيم nitrate reductase ، فقد لوحظ في دراسة مختبرية أن وجود المولبدينيوم يساعد على تجميع الإنزيم في فطر *N. crassa* وذلك بمتابعة أيون (Mo^{+2}) المعلم Radioactive ، كما لوحظ أن وجود المولبدينيوم مهم لنشاط إنزيم nitrate reductase في فطر *Asp. nidulans* .

وبسبب الحاجة المحددة لهذا الإنزيم لعنصر المولبدينيوم فإن الفطريات المزروعة في أوساط صناعية تحوي (NO_3^-) كمصدر للنيتروجين لابد أن تحتاج

عنصر المولبدينيوم ، إلا أن ذلك لم يلاحظ دوماً وربما لوجود كميات ضئيلة منه في الوسط الزراعي ، فعند زراعة نوعين من *Helminthosporium* في وسط يحوي النترات كان تأثير *H. oryzae* واضحاً وكبيراً بإضافة (Mo^{+2}) بينما النوع *H. sacchari* كان تأثيره طفيفاً ، وقد يرجع السبب في ذلك إلى اختلاف التفاعلات الأيضية التي يدخل فيها هذا العنصر .

ويعد المولبدينيوم مرافق إنزيمي لـ Xanthine dehydrogenase ، كما يستطيع أيون المولبيدات (MoO_4^{-2}) أن يعوض عن أيون الفوسفات في عدد من التفاعلات . من ناحية أخرى يشبط التركيز العالي من (MoO_4^{-2}) النمو في خميرة *S. cerevisiae* بالاتحاد مع سكر الكلوكوز في الوسط الزراعي ، وبإضافة سكر غير متخمر للوسط الزراعي يزال تأثير (MoO_4^{-2}) المشبط لأن هذا السكر ينافس الكلوكوز على المولبيدات .

إن أخذ Mo^{+2} يبدو مماثلاً لبقية الأيونات الموجبة الشحنة عدى في *P. chrysogenum* و *A. nidulans* فإن (Mo^{+2}) و (MoO_4^{-2}) تنقل بناقل كبريتي .

11-3- الصوديوم (Na) Sodium:

تعد الفطريات البحرية من أكثر الأنواع المختبرة حاجةً لأيون الصوديوم للنمو ، والعديد من أنواع الفطر البيضي *Thraustochytrium sp.* لا تنمو إلا بوجود أيون (Na^+) في الوسط الزراعي . إن التركيز المثالي لملاح كلوريد الصوديوم NaCl هو 2.5 - 3% ويكون مشبطاً للنمو بتركيز أعلى من 5% .

ولأن للصوديوم وظيفة أسموزية وأخرى غذائية في نفس الوقت فإن التجارب المختبرية من الضروري أن تميز تأثيراته الكيميائية عن تأثيراته الفيزيائية.

ففي الفطر البحري *Labyrinthula* يظهر أفضل نمو عند تركيز 2.4% من ملح كلوريد الصوديوم NaCl ولتحديد فيما إذا كان تأثير الصوديوم أسموزي فإن

النمو يتم قياسه في وسط زرعي يتم تقليل تركيز ملح الطعام NaCl فيه ويضاف إليه كلوريد البوتاسيوم KCl أو المانيتول للحفاظ على الشد الأسموزي ثابتاً كما في 2.4% NaCl ، وقد تبين أن كل من KCl والمانيتول لم يعوضا NaCl ، وهذا يعني أن أهمية (Na⁺) لا علاقة لها بالتنافذ في هذا الاختبار .

وقد اختبرت قابلية أخذ الصوديوم وتأثرها بأخذ غيره من العناصر ، وظهر إن أيون (Na⁺) يمكن أخذه بالنقل الميسر مع الفوسفات أو بالتبادل النشط مع أيونات (Na⁺ و K⁺ و H⁺) ، ويمكن تقليل الحاجة الخاصة للصوديوم للفطرين *Labyrinthula* و *Thraustochytrium* بتحفيز أخذ الفوسفات .

معظم الفطريات تثبط بالصوديوم بتركيز واطئة ، وهناك العديد من الدراسات حول الإمكانية التي تستطيع بها الفطريات تحمل ملوحة البيئة . اختبر الباحثان Treanser و Hayes سنة 1971 ، اختبرا (975) نوعاً فطرياً من ناحية تحملها للملوحة ، وظهر أن الفطريات البازيدية هي الأكثر حساسية لملاح الطعام ، وأن أكثر من نصف الفطريات في هذه المجموعة لم تتحمل أعلى من 2% NaCl . بعض الأنواع التابعة لـ *Penicilium* و *Aspergillus* كانت من بين أكثر الأنواع تحملاً ، والعديد من هذه المجموعة استطاعت النمو بتركيز تفوق 20% .

إن عدم قابلية العديد من الفطريات على النمو في التراكيز العالية من NaCl يعود لأسباب عدة ، فقد يكون الإجهاد الأسموزي الذي يُسلط على الخلية ويؤدي إلى فقدانها الماء هو السبب في توقف النمو ، أما الفطريات المتحملة لتركيز عالي من ملح الطعام كالفطر *Debaryomyces hansenii* فقد تبين عند نميته على وسط عالي تركيز الملحي إن إنتاجه من الكليسرول يزداد ، وإن تراكم الكليسرول يقلل من تأثير زيادة الملح بتداخله في التوازن الأسموزي للخلية .

ومن الصور الأخرى التي يؤثر فيها ملح الطعام NaCl ما لوحظ في إنتاج الأبواغ للفطرين *Paecilomyces lilacinum* و *A. niger* فتركيز 1% يعطي أفضل عدد من الأبواغ ويقل العدد بزيادة أو نقصان التركيز عن 1% .

يشبط ملح الطعام إنبات السبورانجيا وتحرر السبورات في *Phytophthora cacturum* وأن تركيزه العالي بين الخلايا يؤدي إلى تقليل التخمر والتنفس وتكوين الأفلاتوكسين والقابلية على تحليل السليلوز .

أما الفطريات البحرية فإنها تتخلص من التأثيرات الضارة بوجود ميكانيكية تمنع تراكم الصوديوم بين الخلايا ، وتتضمن الميكانيكية أغشية ذات نفاذية ضعيفة لإدخال أيون (Na^+) ، ونظام يشبه المضخة لإخراج أيونات (Na^+) وإدخال أيونات (K^+) بدلاً عنها .

توقع العالم Jennings 1972 أن السبب الرئيسي لانخفاض النمو بوجود تركيز عالي من (Na^+) يعود لتأثيره على نفاذية الغشاء الخلوي . إن إضافة 50 ملي مول من الصوديوم إلى وسط النمو يؤدي إلى مضاعفة تدفق أيون (K^+) من الخيوط الفطرية للفطر *Dendryphiella salina* ، ويزيد الصوديوم من نفاذية الغشاء الخلوي للسكر والسكريات الكحولية ، لذا فإن الصوديوم ربما يشبط النمو لأنه يسبب تدفق بعض المركبات الخلوية الى خارج الخلية.

3-12- الكوبلت (Co) Cobalt :

على الرغم من أن عنصر الكوبلت يتواجد في العديد من التفاعلات الخلوية ، ولكن الكيفية التي تجعل منه عنصراً أساسياً للفطريات غير محددة ، علماً بأن وظيفته الأساسية كمنشط إنزيمي يمكن استبداله بأيونات ثنائية موجبة مثل الزنك كما في *aldolase* و *glutamine synthetase* ، وفي الخلايا الحيوانية يدخل الكوبلت في تركيب فيتامين B_{12} (Coblamine) ولكن هذا المركب لم يلاحظ في الخلايا النباتية والفطريات .

الباحثين Poston و Hemmings 1979 لاحظا وجود coblamin في الخميرة *Candida utilis* فعند استخدام أيون الكوبلت (Co^{+2}) المعلم لوحظ الكوبلت بهيئة coblamin في عملية تخليق الميثيونين في الخميرة ، كما يحفز تكوين إنزيم lysine 2-3 aminomutase لذلك يمكن القول أن فيتامين B_{12} قد ينتج في *S. cerevisiae* و *Neu. crassa* .

يتم نقل الكوبلت بالنظام الشائع لنقل الأيونات الموجبة، فالأيون يرتبط أولاً بسطح الخلية ويعقب ذلك إدخاله للخلية بالنقل الفعال مقابل إخراج ذرتين K^{+} .

تقوم الماييتوكندريا في الخمائر بتجميع الكوبلت اعتماداً على تركيزه في الوسط الزراعي ، وأن تجميعه يسبب زيادة بسيطة في كثافة الماييتوكندريا وتغير في شكلها ، والكوبلت بتركيز (10^{-4}) وحتى (10^{-5}) مولاري يحفز وبشكل متبادل معدل التنفس عند التماس مع الماييتوكندريا وبوجود α -ketoglutarate . وعند وجود succinate كمادة تفاعل فإن تحفيز التنفس غير متبادل وذلك يبين أن للكوبلت موقعين على الأقل للارتباط مع الماييتوكندريا .

3-13- عناصر معدنية أخرى :

عناصر الكاديوم والنيكل والسيلينيوم والسترونتيوم وعلى الرغم من عدم المعرفة الدقيقة بأهميتها ووظيفتها إلا أن لها تأثير على بقية المعادن المهمة والمعروفة التأثير في تغذية الفطريات .

عنصر اليورانيوم لوحظ تجمعه على سطح خلايا خميرة *S. cerevisiae* ، إن القابلية لامتناس اليورانيوم على سطح الخلية ويمكن أن تأخذ دوراً أكثر أهمية في الصناعة وفي إزالة التلوث بالعناصر الثقيلة في الطبيعة.

عنصر البورون (B) من العناصر المحفزة للنمو في العديد من الفطريات
، أما عنصر السكانيديوم فيمكنه أن يحل محل Ca^{+2} في تغذية *Alternaria solani*
وكما عُرف حديثاً ً أهميته للنمو النموذجي للـ *Cercospora granati* .

عنصر الفناديوم يوجد بكميات ضئيلة في مستخلص الخميرة ، ولوحظ
اتحاد جزء منه مع RNA في خلية الخميرة ، وله تأثيرات أخرى متعددة في
الفطريات فهو مشبط لتخليق الدهون ومشبط للنمو في *Neurospora crassa* إذا
زرع على وسط يحتوي أيون النترات (NO_3^{-2}) كمصدر للنيتروجين لأنه يسلك
كمشبط تنافسي للإنزيم nitrate reductase .

الفصل الرابع

التغذية العضوية

Organic Nutrition

الفصل الرابع

التغذية العضوية

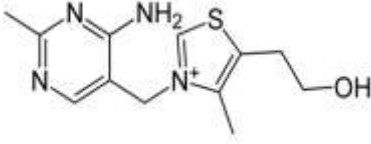
تحتاج الفطريات لكميات قليلة من مختلف المواد العضوية لغرض النمو ، وهي مواد ليست مغذية كالكربون والنيتروجين وغيرها من العناصر بل تعمل بطرق خاصة . فالفيتامينات تؤثر بالنمو بتركيز 0.01 - 1 جزء بالمليون كمراقات للإنزيمات ، أو تدخل في تركيب المرافقات الإنزيمية للعديد من مواد لا تعمل كفيتامينات ، لكنها تؤثر بتركيز واطئة عادة وأعلى من 10 جزء بالمليون ، وتعرف هذه المواد بعوامل النمو العضوية Organic growth factor وتشمل الحوامض الدهنية والهرمونات النباتية والايونوسيتول .

4-1- الفيتامينات Vitamins :

تحتاج جميع الفطريات للفيتامينات ، وتسمى الأحياء المصنعة لجميع حاجتها من الفيتامينات Auxoautotrophs في حين تكون Auxoheterotrophs إذا لم تصنع واحد أو أكثر من حاجتها من الفيتامينات من مكوناته البسيطة .

تباين الأنواع الفطرية في حاجتها للفيتامينات بشدة وحتى السلالات ضمن النوع الواحد ، وهناك مستويات من Auxoheterotrophs تستطيع سلالة منها تكوين كل الوحدات لتخليق فيتامين معين ماعدا واحدة ، أو قد تنتج جميع المكونات ولكن بكميات أقل من الحد النموذجي ، وفي هذه الحالة يستطيع الكائن الحي النمو من دون إضافة فيتامين خارجي ، لكن إضافة الفيتامين يشجع النمو في حين إن إضافة الفيتامين للفطر auxoautotroph قد يزيد من تركيز الفيتامين للحد المثبط . ومن الفيتامينات التي أختبر تأثيرها على أيض الفطريات :

1-4-1- الثيامين Thiamine :



إن الفطريات في الغالب لا تستطيع تكوين الثيامين (Vit.B₁) الذي تتألف جزيئاته

من وحدتين Pyrimidine moiety و Thiazol

group . وتحتاج فطريات Auxoheterotroph إلى واحدة منهما أو كلاهما ، وقد اعتمدت هذه الحاجة لتشخيص وتميز بعض الأنواع في الجنس *Pythium* ، فالنوع *P. delines* لا يحتاج للثيامين ولا لأي من وحدتيه . ولكن النوع *P. anadrum* يحتاج فقط للـ pyrimidine moiety ، والنوع *P. vexans* يحتاج لكلا جزئي الفيتامين ، وفي النوع الأخير عند إضافة كل وحدة subunit لوحدها فإن الفطر لا يستطيع الربط بينهما ، وهذا يوحي بأن الفطر ينقصه الإنزيم اللازم لذلك .

أختبرت الاستجابة للثيامين في نوعين من *Ramulispora* هما *R. sorghi* وهو ذاتي التخليق للثيامين وينمو بشكل جيد دون تأثره بتركيز الثيامين في الوسط الزراعي ، ونوع *R. scchari* الذي لا يستطيع تخليق الفيتامين وينمو بأفضل صورة عند إضافته للوسط الزراعي بتركيز جزئين / مليون.

لوحظ تأثير التركيز العالي من الثيامين في العديد من الفطريات التي تحتاج إلى إضافته للوسط ومنها *Rhizoctonia* و *Helminthosporium nodulosum* إذ يعيق النمو والتجراثيم فيها أو يعيق أحد الفعالتين.

يشيط تجراثم *Bipolaris maydis* بنسبة أكثر من 70% عن إضافة ميكروغرام واحد من الفيتامين لكل مل من الوسط الزراعي ، وهذا الشيط لوحظ عند زيادة تركيز الكلوكوز عن 4غم/لتر ، وعند استخدام L-asparagine أو سترات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين .

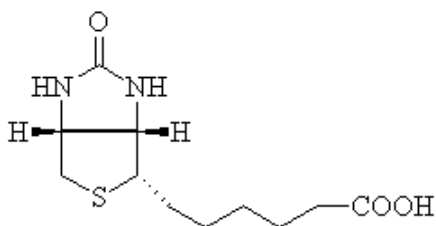
إن الحاجة للثيامين كما هي لبقية الفيتامينات تختلف حسب ظروف البيئة، ففي الفطر الثنائي الشكل *Mucor rouxii* تكون متطلباته الغذائية أكثر تعقيداً بغياب الأوكسجين ، ويكون معظم نموه هوائياً في الوسط الخالي من الفيتامين.

في *Sordaria fimicola* يثبط النمو وتكوين الأجسام الثمرية القارورية عند pH 3.4 - 3.8 ، ويزال التثبيط بإضافة ثيامين أو بايرمدين للوسط الزراعي ، بينما يحتاج أحد أنواع الجنس *Pythium* للثيامين كما لو كان ملحاً مكوناً للوسط الزراعي (بكمية عالية).

أظهرت الدراسات على الأنواع غير المصنعة للثيامين عدة أنظمة لنقل الثيامين ، ففي *S. cerevisiae* ينقل بناقل وسطي وأفضل دالة حامضية هي 4.5 ، ويثبط بالحوامض الدهنية القصيرة السلسلة التي تسبب نضح الثيامين خارج الخلية، وكذلك بالبايرمدين الذي يسلك كمثبط تنافسي . يرتبط بالثيامين نوعين من البروتين أحدهما في الغشاء الساييتوبلازمي والذي يدخل في النقل مباشرة ، والآخر من الجزء الذائب من الخلية soluble fraction ولا تعرف وظيفته ، إن كلا الحالتين (أخذ الثيامين وارتباط الثيامين) تحدث بمعدل أعلى في الوسط الزراعي الذي فيه نقص في الثيامين مما في الوسط الحاوي على التركيز المطلوب من الثيامين، وهذا يدل على أن تجميع الثيامين يضعف من تكوين البروتين الناقل . ويتراكم الثيامين داخل الخلايا Intracellular في *S. cerevisiae* وبعد حين يحول إلى (TPP) Thiamine pyrophosphate النشط حيوياً ، إن (TPP) يسلك كمرافق إنزيمي للعديد من إنزيمات الأيض الوسطي ، وبوجود الثيامين كعامل مرافق مهم بشكل (TPP) فإن له تأثيرات كيموحياتية واسعة .

لوحظ انخفاض معدل تنفس خلايا الخميرة *S. carlsbergensis* عند زراعتها على وسط لا يحوي الثيامين عن الوسط الحاوي على الفيتامين ، وقد يعود سبب ذلك إلى تأثيره على Pyridoxine المنتج من قبل الخميرة ، فالثيامين يسبب نقص الـ Pyridoxine والذي عند انخفاض مستواه يقلل من تخليق الهيم الذي يدخل في تركيب السايكرومات ، وبالتالي تؤدي إلى معدل تنفس منخفض.

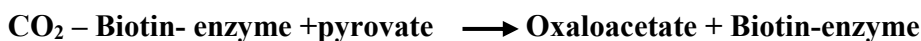
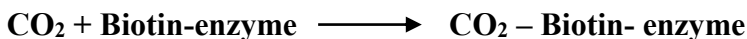
4-1-2- البايوتين Biotin :



ويعرف بـ (Vit.H) أو Co-enzyme-R ،

يأتي بالمرتبة الثاني بعد الثيامين في حاجة الفطريات إليه ، والشكل الفعال منه يتحد مع Lysine في الجزء الفعال من عدد من إنزيمات

الكربوكسيليز Carboxylase enzyme ويطلق على المعقد Biotin-lysine (Biocytin) ووظيفته كمرفق إنزيمي في نقل CO_2 أو مجموعة الكربوكسيل . والإنزيمات التي تحتاج للبايوتين هي بايروفيت كربوكسيليز pyruvate carboxylase و أسيتيل كوأى كربوكسيليز acetyl Co- A carboxylase ويوريا كربوكسيليز urea carboxylase . إن قاعدة عمل البايوتين واحدة في جميع الحالات ، فهو يتحد مع CO_2 أو مع جزيئة كربوكسيل وينتقل إلى مادة تفاعل . Substrate



في *S. cerevisiae* يؤخذ البايوتين بطريقة النقل الميسر ويشط بوجود تركيز عالي منه في الخلايا ، وذلك يعود إلى النقص في عدد الجزيئات الناقلة له والتي يعرف ارتباطها القوي بغشاء السايكوبلازم ، ويوجد حوالي (4 ألف - 8 ألف) موقع نقل للبايوتين لكل خلية خميرة .

يتأثر تصنيع البايوتين للكائنات ذات التغذية Auxoautotroph بالمغذيات في الوسط الزراعي، فالفطر *Phycomyces blackesleeanus* يتحفز تصنيع البايوتين في خلاياه بالهكسوز hexose والمالتوز maltose كمصدر كربوني و L-asparagine و Urea كمصدر للنيتروجين .

إن أكثر من 92% من البايوتين المصنع داخل خلية الفطر أو مشتقاته تطرح للوسط الزراعي، وإذا كان الوسط حاوياً لعنصر السلينيوم فإن البايوتين يحوي سيلينيم بدل الكبريت ويطرح للخارج ، وهذا المعقد يمكن أن يعوض البايوتين في العديد من الفعاليات الحيوية .

تتضح أهمية البايوتين في تصنيع الدهون ، فهو يرافق acetyl Co- A carboxylas المهم في تخليق الحوامض الدهنية في فطريات Auxoautotroph مثل *As. nidulans* و *Candida tropicales* ، وبذلك يؤدي نقص البايوتين إلى نقص الدهون الخلوية ، وهذا بدوره يزيد من نفاذية الغشاء الخلوي وتغيرات غير طبيعية في الجسيمات الدقيقة (كنقص في العدد) ، أو تضخم في حجم الخلية وزيادة سمك جدارها ، وغالباً ما يمكن معالجة الحالة بإضافة بايوتين للوسط الزراعي .

قد يؤدي نقص البايوتين أيضاً إلى موت خلايا الخميرة *S. cerevisiae* وذلك بسبب نقص تصنيع الدهون، ويؤثر كذلك في نقص مكونات الخلية الأخرى وانخفاض في نشاط isocitratelays وزيادة في DNA و RNA والبروتين ونقص الحوامض العضوية ، كما لوحظ تأثيره على التركيب الدقيق لجدار الخلية .

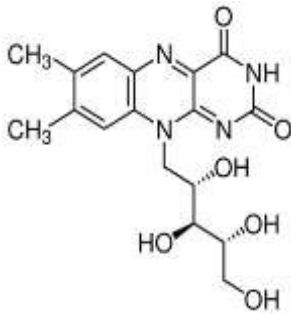
تباين الحاجة للبايوتين بين الفطريات ، ففي سلالتين من *Verticillium dahliae* الأولى auxoheteroph والثانية auxoautotrph لم يتأثر نمو العزلة

الثانية بإضافة البايوتين بعكس الأولى . وبعد تركيز 1ملغم/لتر يكون التأثير قليل جداً لكلا العزلتين .

يؤثر البايوتين على تكاثر العديد من الأنواع الفطرية ، وأظهر اختبار نمو لثلاثة سلالات مرضية من *Phialophora asteris* انخفاضاً في الوسط الزراعي المركب الذي ينقصه البايوتين ، في حين أن إضافة 0.5 ميكروغرام/مل يحفز النمو والتلون والتجثم ، وفي الـ *Sordaria macrospora* يتوقف الجسم الثمري القاروري عن النمو ويضل بهيئة جسم قاروري أولي صغير *Protoperithicium* بغياب البايوتين ، وعند إضافة كمية ضئيلة من البايوتين يعود النمو إلى طبيعته .

أن نوع المغذيات الأخرى في الوسط الزراعي وكذلك درجة pH يؤثران في استجابة الفطر للبايوتين ، فخميرة *Lipomyces starkey* تحتاج للبايوتين في الوسط الزراعي عندما يكون الـ pH 5.5 - 6.5 ولا تحتاجه في pH دون ذلك ويبدو أن تأثير الإنزيمات على فعاليات البايوتين يتوقف في pH المنخفض .

1-4-3- الريبوفلافين Riboflavin :



هو فيتامين (B2) ويتكون من وحدتين subunit أحدهما تعد المكوّن المركزي لـ (Co FMN) coenzyme والآخرى المكوّن المركزي لـ flavine mononucleotide ، ينقل (Co FAD) flavine adenine dinucleotide ، الريبوفلافين مباشرة إلى داخل خلية خميرة الـ *cerevisiae*

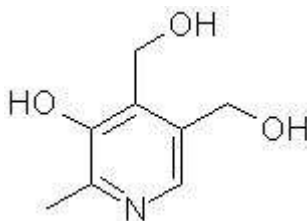
. S. غير المصنعة له ، أما الخلايا المصنعة له فلا تمرر الفيتامين إلى داخلها، ففي دراسة على سلالة برية من خميرة *S. cerevisiae* المصنعة للفيتامين لوحظ إن لها قابلية ضعيفة لأخذ الريبوفلافين من الوسط الزراعي ، لكن سلالتين مطفرتين منها

- لا تصنعه - تأخذان هذا الفيتامين بسرعة خاصة خلال بداية ومنتصف طور النمو logphase .

يتم أخذ الريبوفلافين بالناقل المحور ويحفز بعدد من الأيونات الموجبة الأحادية ويكون أخذه بنشاط أعلى في الظروف اللاهوائية منها في الهوائية ، والناقل متخصص للفلافين ويعتبر الريبوفلافين مشط تنافسي له ، وفي *S.cerevisiae* يوجد دليل بوجود ناقل ثانوي يؤثر في نقل الريبوفلافين ، وهذا الناقل موجود في كلا السلالتين البرية والمطفرة ، وهو يحفز بوجود أو إضافة السكريات للوسط الزراعي مثل الكلوكوز والمانوز والفركتوز ولا يظهر اختلافات حسب مرحلة النمو .

إن معدل الأخذ والتدفق للريبوفلافين يعتمد على pH والحرارة وتركيز الفيتامين في الخلايا ، ومن غير الواضح إذا كان النقل في خلايا خميرة *S. cerevisiae* يتم بالنقل الفعال أو الانتشار الميسر ، وعلى الرغم من أن النقل يتم ضد التركيز فليس معروفاً الحاجة للطاقة الفعلية الحيوية .

يمكن للريبوفلافين أن يقلل من التأثير السلبي لدرجة الحرارة على النمو ، فالسلالات المطفرة من *P. vermiculatum* لا تنمو بدرجة قصوى عند حرارة تزيد عن 30م إذا كان الوسط الزراعي خالي من الفيتامين ، وإذا ما أضيف الفيتامين فإن النمو يظل نشيطاً في درجات الحرارة تلك . يمتص الريبوفلافين الضوء القريب من الأشعة فوق البنفسجية (UV) واللون الأزرق ، ويمكن اعتباره المستقبل (المستلم) الأول للضوء في مسارات التحفيز الضوئية في الخلية الفطرية ، إن مثل هذه التحفيزات تشمل تكوين الكونيدات ، إنبات السبورات ، ابتداء تكوين الأجسام الثمرية ، فالضوء يحفز تكوين الأجسام القارورية في *Hypomyces solani* ويزداد



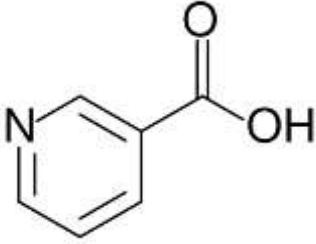
التحفيز بزيادة وإضافة رايبوفلافين للوسط الزراعي، كما يزيد معدل التجزئ إحصائياً عند إضافته لمزرعة *Cercospora personata* .

4-1-4- البايريدوكسين Pyridoxine :

عرف أيضاً بـ (Vit.B₆) أو Pyridoxal وهو مرافق إنزيمي Co-enzyme لإنزيمات transaminase التي تقوم بنقل مجموعة الأمين من جزيئة إلى أخرى ، وهو حساس للضوء (يشبط بالضوء) .

تتأثر فعالية البايريدوكسين بوجود thiamine الذي يبدو أنه مشبط مهم للـ B₆ وفي بعض الفطريات المتطفلة يمكن التعويض عنه بالبايوتين أو أن الطفيلي يصنع B₆ من البايوتين المكون في خلايا العائل .

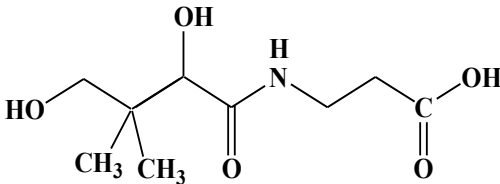
4-1-5- النياسين Niacin :



ويعرف بـ Nicotinic acid ، وهو فيتامين غير ثابت إلكترونياً ، ولذا فهو مهم في سلسلة نقل الإلكترونات (مؤكسد $\Rightarrow$ مختزل) وأن نسبة الصيغة

المؤكسدة إلى الصيغة المختزلة مؤثرة في العديد من الفعاليات كما في النوع المطفر من الـ *Neurospora crassa* كما لوحظ أن إضافته إلى الوسط الزراعي تحفز النمو في نوع من *Helminthosporium sp.* ، ويتحول في بعض الظروف إلى pyridoxine ويؤثر أيضاً في تكوين السبورات .

4-2- حامض البانتوثنيك Pantothenic acid :

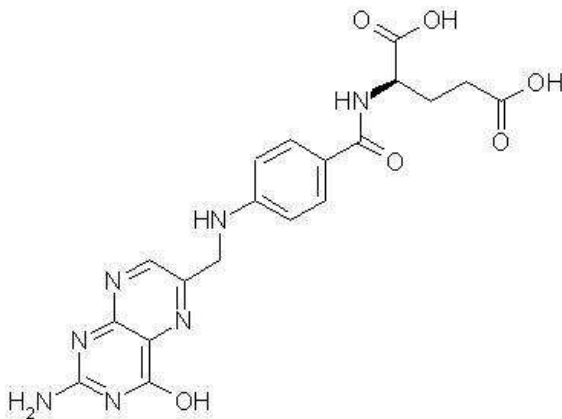


إحدى المرافقات الإنزيمية Co-A المهمة في نقل مجموعة الـ Acetyl ، وأهم مشتقاته Acetyl-Co A الذي له دوراً

أساسياً في تخليق وتكسير الكربوهيدرات و الأحماض الدهنية و الأحماض الأمينية

إن نقص المرافق الإنزيمي في خلية *S. cerevisiae* يعني نقص في السايتركرومات ومن ثم في معدل التنفس ويسبب نقص الأحماض الدهنية والدهون مما يزيد نفاذية الغشاء السايتركرومات وزيادة إنتاج H_2S . وتستعاد الحالة الطبيعية للخلية عند إضافة حامض Pantothenic . وقد لوحظ إن إضافة مواد عديدة للوسط الزراعي تؤثر على قابلية الفطر لاستعمال الـ Pantothenate فكمية قليلة من (C.h) Casien hydrolysate يقلب استجابة *S. carlsbergensis* . إن (C.h) مشط للنمو عندما يكون تركيز Pantothenate اقل من 0.1 ميكروغرام ، لكنه محفز للنمو في تركيز أعلى، ولذلك يستعمل هذا الفطر لتحليل الحيوي bioassay لحامض الـ Pantothenate . كما يجب العناية بتركيز مكونات الوسط الزراعي لتجنب التأثيرات غير المرغوبة .

3-4- حامض الفوليك Folic acid :



يعد حامض الفوليك مرافق إنزيمي مهم إذ تقوم مشتقاته بنقل - على الأقل - واحد من مركبات الكربون وهو يتكون من ثلاث وحدات Subunits كما أن أحد مشتقات folic acid له دور مهم في تخليق البروتين . ففي الأحياء بدائية النواة أو في المايكوبلازما

للخلايا الحقيقية النواة يكون الحامض الأميني الأول في السلسلة الببتيدية هو methionine ، وهذا الحامض الأميني الابتدائي initiator amino acid يحور

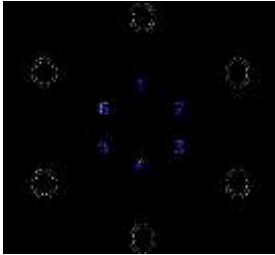
بإضافة formyl group الذي يتم نقله بواسطة THFA (tetrahydrofolic acid) وهو الصورة الفعالة بيولوجيا من folic acid ويتم ذلك في الوقت الذي يتصل فيه الحامض الأميني بـ t-RNA وقبل أن يتصل t-RNA بالرايوسومات .

عوامل النمو : Growth factors

أظهرت العديد من جزيئات المواد العضوية تأثيراً على نمو الفطريات وهي تؤثر بتركيزات قليلة ، وتدعى هذه المركبات «منظمات النمو» أو «عوامل النمو» وتختلف عن الفيتامينات بأنها تؤثر بكميات أكبر من الفيتامينات ولا تسلك كمرافقات إنزيمية ، وتشمل هذه المواد أحماض أمينية amino acids وحامض الاسكوربيك ascorbic acid ، والكحول الأيثلي ethyl alcohol وحامض ألكليك succinic acid وحامض اللاكتيك lactic acid وحامض السكسونيك succinic acid وأدينين كولين adenine choline . إن طريقة فعل هذه المواد غير معروفة بالكامل إلا أنها تعمل بطرق مختلفة وتتأثر بنوع الفطر .

4-4- الاينوسيتول Inositol:

أحد المشتقات الحلقية السداسية ويعرف أحد



مشابهاته الفراغية Stereoisomer بالمايوإينوسيتول myoinositol ، وغالباً ما يسلك وظيفياً كفيتامين أو يدخل تركيباً في phospholipids في *S. cerevisiae* . يظهر 90% من inositol بشكل مركبات فوسفاتية تدخل

في تركيب الدهون ، وفي هذه الخميرة يؤخذ ال inositol بطريقة النقل الفعال المفرد .

باستخدام عزلة مطفرة من *S. cerevisiae* تحتاج لإضافة inositol للوسط الزرعي كونها auxoheterotroph. فعند إضافة inositol معلّم إلى الوسط فإنه يظهر بداية النمو في مركبات phosphatidyl inositol ومن ثم في مركبات دهنية أكثر قطبية وباستخدام autoradiograph. لوحظ أن inositol يندمج داخل الغشاء وبعدها ينتقل إلى داخله ، وعند حضن هذه السلالة في وسط يحوي كمية

أقل من inositol يلاحظ مجموعة تغيرات في نشاط الإنزيمات المرتبطة بالغشاء ، ومن المتوقع أن الغشاء قد تحور تركيباً في تركيب الدهون المفسفرة .

إن الإنزيمات الحساسة لنقص inositol تشمل monoaminoxidase و cytochromoxidase في الغشاء الداخلي والخارجي للميتوكوندريا . وتشمل كذلك phosphofructokinase و aldolase و ATP-citrate lyase و cetratesynthase وغيرها .

بالإضافة إلى ذلك لوحظ أن لد inositol علاقة ببعض الظواهر في الغشاء الساييتوبلازمي منها تحمله للحرارة والعلاقات الأسموزية . فقد لوحظ تأثير الدهون الخالية من inositol على توسع الغشاء الخلوي عند انقسام خلية الخميرة . وقد درست الظواهر المتعاقبة في الخلية بعد زراعة السلالة المطفرة في وسط كامل ومن ثم نقلها إلى وسط خالي من inositol فخلال (30) دقيقة يتأثر تخليق Phosphatidyl inositol ، يستمر توسع الخلية وانقسامها 1.5 ساعة ، ويتوقف تخليق DNA و RNA والبروتينات والدهون المختلفة بعد ساعة . ينخفض مستوى ATP و K بعد 4.5 ساعة ويبدأ الموت بعدها سريعاً . وتوقع الباحثان أن نقص ال inositol المميت بسبب عدم التوازن بين وظيفته وزيادة حجم الساييتوبلازم فيها وبين مساحة سطح الخلية المتوقف عن النمو .

إن موقع ال inositol في الدهن المفسفر للغشاء يجعل من الممكن معرفة الطريقة التي يؤثر بها ال inositol على تخليق السكريات المضاعفة في جدار الخلية. فعند نقل النوع المطفر من *S. cerevisiae* إلى وسط خالي من ال inositol فإن تخليق glycan ينخفض بسرعة حتى قبل ظهور انخفاض في معدل النمو أو في تخليق الجزيئات الكبيرة . لذلك فإن ال inositol ربما يكون مطلوباً في موقع محدد من عملية تخليق ال glycan ويقوم بأي من الأدوار التالية :

(1) يعمل كمرفق إنزيمي .

(2) يكيف موقع معين من الغشاء لخطوة تخليق خاصة .

(3) وظيفة إفراز أو خزن الـ glycan في حويصلات غشائية.

إن تأثيرات الـ inositol على الغشاء الخلوي لوحظت أيضاً في *Neur.crassa* ، ففي هذا النوع هناك كمية معتبرة من الـ inositol في جدار الخلية وأن النوع المطفر يتأثر بتركيب جدار الخلية فيه ، وتكون الخيوط الفطرية عديدة التفرع . فعند زيادة تركيز الـ inositol في الوسط الزراعي من 3.3 إلى 55.4 ميكروغرام زادت نسبة الـ inositol في جدار الخلية ، إلا أن وزن الجدار انخفض . من ناحية ثانية فإن الـ inositol في الوسط الزراعي كان له تأثير طفيف على الأحماض الأمينية والـ hexoes في جدار الخلية . لذلك فإن التفرعات العديدة في الخيط الفطري ربما تحدث بسبب ضعف الجدار الناتج من نقص الـ glucose amine أي نقص مستوى الـ Chitin .

من غير المعروف بدقة كيف يؤثر inositol في الـ aminosugar أو في هيئة (شكل) الخيط الفطري والغشاء الساييتوبلازمي وكذلك الجدار الخلوي وربما يحصل التغير فيه بسبب نقص الدهون المفسفرة فيه ولهذا أهمية خاصة في طرف الخيط الفطري (النمو الطرفي) حيث قد يؤدي تغير الدهون إلى عدم اصطفاف السكريات المعقدة وترتيبها على سطح الغشاء .

وهناك تأثير أكثر لد inositol لوحظ على شكل الخيط للخميرة (ثنائية الشكل) *Candida tropicalis* فيكون التركيز الواطئ من الايثانول مشجع لتحويل شكل الفطر من الخلوي إلى الخيطي . وعند وجود الـ inositol بتركيز 5 ميكروغرام/مل فإنه يعادل تأثير الايثانول ويشجع تكوين الحالة الخلوية .

4-5- الأحماض الدهنية Fatty acids :

لوحظ أن الحوامض الدهنية بتركيز واطئي تحفز النمو والتطور في بعض الفطريات وفي السلالة المطفرة من *N. crassa* تحتاج للتزود بالأحماض الدهنية لأنها فقدت قابلية تصنيعها ذاتياً . لا تنحصر أهمية الأحماض الدهنية المطلوبة من الخلية الفطري في إبقاء الخلية حية ولكنها مطلوبة لإدامة الفعاليات المتنوعة في الخلية ، فحوامض Oleic و Linoleic و Linolenic على سبيل المثال محفزة للنمو الابتدائي لأشباه الجذور لفطر *Armillaria mella* .

4-6- هرمونات النباتات الراقية :

لأهمية الفطريات في أمراض النبات تركزت العديد من الدراسات على تأثير الهرمونات النباتية الطبيعية على الفطريات وعلى تخلق هذه الهرمونات . في العديد من الحالات يكون لهذه الهرمونات تأثير محفز . فحامض الجبريلك GA والأوكسينات أندول حامض الخليك Indol Acetic Acid (IAA) ونفثالين حامض الخليك Naphthalene Acetic Acid (NAA) ودايكلوروفينول حامض الخليك Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) تحفز تكوين السبورات في *Neurospora* والنمو للخيوط الفطرية في *Rhizoctonia solani* ، وللهرمونات النباتية تأثيرات متباينة على تكوين الأجسام الثمرية لـ *Lentinus solani* ، فأوكسين IAA يسبب انخفاض ملحوظ في عدد الأجسام الثمرية بتركيز 100ppm ويزداد تكون الأجسام عند رفع التركيز إلى 300ppm . يحفز IAA أيضاً زيادة وزن الجسم الثمري وقطر القبة وطول الساق . بينما GA يؤثر فقط على عدد الأجسام الثمرية وطول الساق . أما Kinetin يؤثر فقط في قطر القبة وطول الساق ويتغير تأثير الهرمونات من تثبيط إلى تحفيز بتغير تركيزها .

4-7- المواد المتطايرة وغيرها :

في الفطرين *Mucor racemosus* و *M. mucedo* ، يبدو أن المواد الطيارة ناتجة من حامض Trisporic ولها تأثير حفزي لتشكيل وتكوين morphogenesis التراكيب الجنسية ، وهناك العديد من التقارير حول تحفيز المواد الطيارة للتجثم والنمو وتأثيرها السمي . وعند دراسة المواد الطيارة المنبثقة من خشب الصنوبر وتأثيرها على خمسة أنواع من الفطريات المسببة لعفن الخبز . لوحظ أن المواد الطيارة من الخشب الطري هي عموماً مشبطات ، ولكن عند تسخين الخشب تنخفض كمية المشبطات وأحياناً تختفي كلياً .

لقد عزل المنظم mycotrophin من عدد من الفطريات أو العائل (النباتات) ، ولوحظ تأثيره على خمسة أنواع من الفطريات المتطفلة ، وقد تم عزله وتنقيته.

الفصل الخامس

سبات الأبواغ

Spores Dormancy

الفصل الخامس

سبات الأبواغ

إن الأبواغ التي تُنتج كوحيدات للتكاثر جنسياً أو لا جنسياً قد لا تستطيع في بعض الأنواع الفطرية الإنبات مباشرة بعد تكوّنها ، فهي تحتاج لفترة سكون ثم تنبت بعدها . إن ظاهرتي السبات والإنبات متداخلتين مع بعضهما، وقد أُجري عنهما العديد من الدراسات.

يمثل السكون Dormancy فترة راحة في دورة حياة الفطر ، وتحصل خلاله تغيرات عكسية رجعية في التطور المظهري للكائن . إن بعض السبورات يكون سباتها خارجياً *exogenously* وهي لا تنبت بسبب ظروف بيئية غير ملائمة وفي هذه الحالة يحصل الإنبات بمجرد تحسن ظروف البيئة . وهناك سبات داخلي *endogenous* وفيه لا تنبت السبورات حتى وإن توفرت لها الظروف البيئية المناسبة، وفي هذا النوع من السبات ينبت البوغ بعد بلوغ عمر معين أو أنه يحتاج لمعاملة خاصة لتنشيط فعالية الإنبات .

5-1- السبات الخارجي Exogenous D :

لوحظ وبشكل عام عدم إنبات الأبواغ تحت ظروف غير ملائمة من الحرارة و الرطوبة و O_2 و pH وتختلف هذه المتطلبات حتى بين أفراد النوع الفطري الواحد .

إن لبعض الفطريات متطلبات إضافية مثل الكثافة العالية من الضوء الأبيض أو الأزرق التي تحفز إنبات أبواغ *A. niger* وزيادة CO_2 يحفز إنبات أبواغ *A.nidulans* ، في حين يكون الضوء و CO_2 مشطبان لفطريات مثل *Trichophyton ajelloi* و *Colletotricum sp.*

يجب أن تكون الدراسات والتحليل الكيماوية للأبواغ السابتة بدرجة عالية من الدقة ، لأن تعريضها لمدة (30) دقيقة للماء أثناء جمعها يجعلها نشطة في فعاليتها الأيضية ويسبب بظهور نتائج غير حقيقية كما في *Rhizopus stolonifer* .

قد تكون شحة المتطلبات الغذائية سبباً في السبات الخارجي لبعض أنواع الأبواغ ، فالفطر *P. grescofulvum* تحتاج أبواغه إلى الكلوكوز لبداية الإنبات ، أما أبواغ الفطر البيضي *Pythium sp.* فتتبت في الماء المقطر ، إلا أن إضافة المغذيات تزيد النسبة المئوية للإنبات .

أُختبر إنبات أبواغ الفطر *Neur.crassa* في وسط زرعي يحوي مصدر كربون (سكروز، جلوكوز) وأملاح وعناصر دقيقة وبايوتين، وقد لوحظ أن المغذي الأكثر تحديداً للإنبات هو مصدر الكربون والأملاح المطلوبة بنسبة عالية *major salt* ، ومع ذلك فالعناصر الدقيقة هي أحد المتطلبات الإضافية لنمو أنبوب الإنبات. وقد لوحظ أن انخفاض نسبة KH_2PO_4 و NH_4NO_3 و MgSO_4 يؤدي إلى انخفاض نسبة الإنبات عند التحليل بعد (3) ساعات . فيما لا يكون KH_2PO_4 مؤثراً بعد (5) ساعات ولا لـ NH_4NO_3 بعد (24) ساعة . وتقل الحاجة لأيون المغنيسيوم Mg^{+2} إلا أنها تستمر بالظهور حتى بعد مدة الحضان الطويلة هذه .

أما تأثير العناصر الدقيقة بشكل مفرد فقد أظهرت الأبحاث أن ZnSO_4 كان له أكبر تأثير على نمو أنبوب الإنبات بالرغم من أن الإنبات نفسه لم يتأثر بهذا العنصر .

إن الدراسات اللاحقة على هذا الفطر أظهرت إمكانية تنشيط تصنيع البروتين و RNA بحضن الكونيدات في مصدر كاربوني لوحده ، حتى وإن لم يظهر (بيداً نمو) أنبوب الإنبات فيه ، وإن تحويل تركيب الوسط الزراعي يمكننا من

ملاحظة تأثير المواد المختلفة، فالوسط الزراعي الحاوي على مصدر كاربوني فقط يحفز الفعالية الأيضية ، والذي ينقصه أيون المغنيسيوم Mg^{+2} يستخدم لدراسة نشوء أنبوب الإنبات ، والذي ينقصه أيون الزنك Zn^{+2} يستعمل لدراسة نمو أنبوب الإنبات .

يمكن لمواد أخرى في البيئة أن تسبب السبات الخارجي ، فالمركبات المثبطة موجودة في الطبيعة في النباتات والتي قد تسلك كعوامل مقاومة ضد إنبات الأبواغ للفطريات المرضية ، وتعتبر المركبات الفينولية أهم المثبطات . وأحد المشتقات الشائعة في النبات تعود لحامض *cinnamic acid* الشائع في النبات كـ *monomers* أو بمركبات أكثر تعقيداً مثل *lignin* .

وقد درس *Stahman* وجماعته (1975) تأثير (25) مشتق من هذا المثبط على الفطريات المسببة لصدأ القهوة (السيورات اليوريدية) وكان نصف المواد مثبط للإنبات . وأحد مشتقات *cinnamic acid* هو حامض *ferulic acid* وأن أحد مشتقات الفيروليك يشبط إنبات السيورات على النباتات ، إلا أنه يحفز إنبات السيورات المترمة في التربة لفطر *Penicillium* .

ويمكن لكائنات أخرى غير العائل (host) أن تؤدي إلى فشل إنبات السيورات ، وتعرف هذه المواد بـ *fungistatis* وتتلّف عند تعقيم الوسط الزراعي أو إضافة مغذيات لها . فالفطريات تنافسها البكتريا على المغذيات اللازمة لإنبات الأبواغ . إن إضافة سيورات فطرية للتربة قد لا يؤدي إلى تعطيل إنباتها فحسب وإنما يسبب زيادة في عدد البكتريا في التربة ، ويفسر ذلك أن البكتريا تعمل على نقص المغذيات (*nutrient sink*) وهي تنمو على مركبات تتحرر من الأبواغ عند ترطيبها ، وهذه المواد تستخدم أساساً من قبل البوغ الفطري للإنبات .

وعند الغسل المستمر للأبواغ الموجودة على غشاء مرشح (محاكاة ما تفعله البكتريا) لوحظ ضعف الإنبات ، وكان الإنبات ممتازاً عند توقف الغسيل أو عند الاستعاضة عن الماء بمحلول جلوكوز معقم .

يمكن للبكتريا إنتاج مواد مثبطة لإنبات السبورات ، و allyl alcohol والاثلين (هرمون نباتي) ومركبات أخرى غير محددة تسلك كوابح للفطريات fungistatic . إن مثل هذه المواد يمكنها أن تؤثر مباشرة على فعالية إنبات البوغ أو بشكل غير مباشر على قابلية أخذ المغذيات أو الأيض . ان العديد من مبيدات الفطريات وكذلك المضادات الحيوية للفطريات تؤثر على إنبات الأبواغ بالعديد من هذه الآليات .

ويبدو أن السبات الخارجي هو نوع من التكيف يؤجل إنبات البوغ لحين ملائمة الظروف البيئية لمعيشته ، وبذلك تضمن انتشاره ونموه على الوسط أو في البيئة وإكمال دورة حياته .

2-5- السبات الداخلي Endogenous D :

وفيه لا يتم إنبات البوغ لأسباب داخلية ، وهناك ثلاثة ميكانيكيات عامة توضح هذا النوع من السبات هي : النفاذية و وجود مشبطات ذاتية و تعويق الأيض.

2-5-1- النفاذية Permeability :

إن ملاحظة تأثير بعض الكيماويات على نفاذية الغشاء قد يؤدي أيضاً إلى تحفيز إنبات الأبواغ لبعض الأنواع وبالذات تلك التي كان السبب في عدم إنباتها هو عدم نفاذية الغشاء للمغذيات والماء والأكسجين وغيرها من المركبات إلى داخل الخلية . فالمعاملة بمادة nonylalcohol يحفز انبات الأبواغ اليوريدية لفطر الصدأ rust . وباستخدام درجة حرارة (40)م ولمدة (5) في معاملة أبواغ الفطر اللاقحي *Dictyoselium discoideum* يحصل تأثير بفعل الحرارة يؤدي إلى تغيير

نفاذية الغشاء الساييتوبلازمي ، ومن خلال التصوير واستخدام تقنية التجزئة بالتجميد freeze fracture أمكن ملاحظة تغير في توزيع الجزيئات في الغشاء فنتج تغيرات في الهيئة وربما في وظيفة الغشاء الساييتوبلازمي .

5-2-2- Self-Inhibitors المثبطات الذاتية :

من المعلوم أن أبواغ بعض الفطريات تملك مركبات تثبط الإنبات لذاتها وقد لوحظ في هذا الخصوص بأن :

- الأبواغ بتركيز عالي تنبت بكفاءة أقل .
- غسل الأبواغ ذات التركيز العالي يحفز الإنبات .
- ماء الغسيل يكون مثبط للإنبات .
- التثبيط في هذه الفطريات سريع ويتعكس ببساطة .

أن التثبيط الذاتي معروف لـ 53 نوع على الأقل من الفطريات ، إلا أن التركيب الكيميائي وطريقة التأثير أقل وضوحاً . ولقد أجريت أكثر الدراسات على التضاد الذاتي على الأبواغ اليوريدية للصدأ ، وأظهرت النتائج أنه في العديد من الأنواع كانت المثبطات من مشتقات حامض cinnamic ، وهذه المركبات تكون مؤثرة بتركيز 10^{-9} و 10^{-10} مولاري لكنها عديمة التأثير عندما يظهر نتوء أنبوب الإنبات .

إن ثقب الإنبات في الأبواغ الذي يخرج منه أنبوب الإنبات يكون مغلق بمواد يجب إذابتها بالماء قبل الإنبات وإن المثبطات الذاتية تمنع إذابة السدادات وبالتالي تثبط الإنبات .

ينبت 20% من الأبواغ اليوريدية لـ *Uromyces pontederuae* عند حضنها في الماء المقطر ، ويرتفع إلى 90% عند تعريضها للماء الحاوي على Ketons . إن

الفطر أعلاه ممرض لنبات مائي وكميزة تطورية لأبواغه فهي لا تنبت أصلاً عند تلامسها مع الماء الحر بل تفضل ساكنة حتى توفر مغذيات مناسبة ، وأن وجود محفزات الإنبات هو الذي يوقف تأثير السبات الداخلي .

وفي الفطر *Peronospora tabacina* تم عزل المشط الذاتي والتعرف عليه وُسِّمَ quiesone والمكون الأساسي له مماثل لهرمون نباتي abscisic الذي يشبط إنبات البذور والبراعم الأبضية في النبات . ومن الملفت للانتباه أن quiesone يحفز إنبات الأبواغ اليوريدية للصدأ .

أما في الفطر *Dictyoselium discoideum* فقد لوحظ أن المشط فيه يؤثر على الإنبات ، وقبل انتفاخ البوغ وتأثيره يكون على تكوّن البروتين ، كما عُزل مشط آخر في الفطر سُمي discadenine .

كذلك ظهر أن الكبريت يعمل كمشط غير متخصص في إنبات الأبواغ للعديد من الفطريات . فقد لوحظ عنصر الكبريت بصيغة (S₈) في العديد من التراكيب الساكنة (كونيديات ساكنة وأجسام حجرية) ويعتقد بأنه يتداخل مع السلسلة التنفسية ونقل (e⁻) في الماييتوكوندريا ويضعف التنفس .

5-2-3- تعويق الأيض Metabolic Impairment :

قد لا تستطيع الأبواغ الإنبات لتوقف في فعالية أيضية محددة ، ولا علاقة لذلك بالمشبطات الذاتية أو بمشاكل التنافذ ، وقد لا يحصل الإنبات لأن الإنزيم المسيطر على فعالية التنفس أو غيرها من المسارات الوسيطة لا يعمل بشكل طبيعي أو أن RNA والبروتين لا يتم تصنيعه .

في فطر *Phycomyces blackesleeanus* ينشط إنزيم trehalase (الذي يكسر المخزون من trehalose) عند تعريض البوغ للحرارة ويتضاعف النشاط

(10-15) مرة ، إلا أن من الصعب الفصل بين تحفيز الأبواغ وتحفيز الإنزيمات.
كذلك لا يمكن تحديد حالة الشيط .

3-5- التحفيز Activation :

الفطريات السابطة داخلياً تحتاج لتحفيز بطريقة ما قبل أن تتمكن من الإنبات ، وطرق التحفيز مختلفة وأحياناً تحتاج أكثر من طريقة لتحفيز البوغ .

1. الحرارة : تستخدم بشكل واسع لتحفيز إنبات السبورات للعديد من الأنواع ، فدرجة 40-75م° لفترة من بضع دقائق إلى بضع ساعات مهمة للتحفيز ، ويمكن تنشيط الإنبات بدرجات الحرارة المنخفضة (-5 إلى 10م°) ولفترات مختلفة.

تمر أبواغ الـ *Phycomyces blackesleeenanus* بسبات داخلي وتحتاج لحرارة 50م° ولمدة 3 دقائق للتحفيز ، وأظهرت الدراسات أن التأثير الحراري يتركز على تكوين البروتين ويغير تركيبه ويؤثر بالتالي على تركيب الغشاء الساييتوبلازمي، فضلاً عن أن للحرارة تأثير على المغذيات . فالأبواغ المسخنة لمدة (3) دقائق بدرجة (44)م° تعطي إنبات كامل للأبواغ ، وإذا نقلت الأبواغ إلى وسط جلوكوز-اسبارجين-فوسفات ، لكن عند نقل هذه الأبواغ إلى الماء يحصل تدهور في التنشيط deactivation ، وعُرف ذلك بالتنشيط المتعكس ، وهو لا يحصل في المعاملة الأولى، ويحصل التنشيط المضاد عند نقص تصنيع RNA والبروتين ، وكذلك نقص في معدل التنفس ، ويبدو أن الكلوكوز هو المكون المؤثر والمهم في الوسط الزراعي للإنبات بعد المعاملة بالحرارة بدرجة دون (50)م° . وإن الخلايا يمكن أن تعوض درجة الحرارة لهذا الغرض بعد المعاملة بالحرارة دون (50)م° .

2. الكيمياويات : أستعمل العديد من الكيمياويات لتنشيط إنبات الأبواغ الفطرية ، ومعظم هذه المواد تتداخل مع lipoprotien ، لذا فإن تأثيرها يبدو بزيادة نفاذية الغشاء . بعض الأنواع تفرز مواد تنشط إنبات أبواغ أنواع أخرى ، فالفطر *Ceratocystis sp.* ينتج كحول متطاير والديهيد تنشط أبواغ العديد من أنواع

الجنس *Lactarius spp.* ، وقد ينتج النبات كيماويات تؤدي نفس الدور كما في نبات العصفور الذي ينتج مواد متطايرة Polyacetylene تحفز إنبات الأبواغ التيلية للصدأ .

3. العمر : أن العديد من الأبواغ ذات السبات الداخلي لا تستجيب للمعاملات التحفيزية إلا بعد انقضاء فترة زمنية محددة . هذه الظاهرة سميت بعد النضج (after – ripening) ، وقد تكون هذه الظاهرة تكييف تطوري للتأكد من أن البوغ لا ينبت إلا بعد أن يكون ناضجاً كلياً . وأظهرت الدراسات أن إنبات الأبواغ لـ *Pythium* يزداد من صفر % إلى أكثر من 80% بعد مدة (6) أسابيع في مستخلص تربة غير معقمة ، وأن معاملات التحفيز أو التسريع يمكن أن تفيد قليلاً في اختصار مدة السبات ولكن لا يمكن إلغاؤها كلياً . وقد لوحظ أن بعض المعاملات بالحوامض أو القواعد تكون عديمة الفائدة إلا بعد انقضاء مدة (5) أسابيع وذلك في الأبواغ الحرشفية *chlamydospore* للفطر *Protomycopsis sp.*

4-5- الإنبات Germination :

عند زوال مسببات السكون فإن الإنبات قد يحصل ، ويمكن تقسيم فترة الإنبات إلى مرحلتين :

1. مرحلة الزيادة في حجم البوغ spore (مرحلة الانتفاخ) .
2. مرحلة انبثاق أنبوب الإنبات .

خلال المرحلة الأولى يتضاعف حجم معظم أبواغ الفطريات مرتين أو ثلاثة مرات ، وتعود الزيادة إلى التشرب inhibition ولصنع مواد خلوية جديدة .

في أبواغ الـ *Mucor rouxii* يتضاعف الحجم أربع مرات خلال ستة ساعات، ويلاحظ وجود قطع من الجدار البوغ الأصلي ، وقد ظهرت صفة بناء ونمو غشاء جديد في العديد من الفطريات ويبدو أنها ظاهرة طبيعية في الفطريات . تظهر العديد من التغيرات الخلوية في البوغ خلال الانتفاخ وتكوين أنبوب الإنبات :

1. اختفاء الأجسام الدهنية .
2. زيادة تمدد الشبكة الأندوبلازمية .
3. زيادة عدد وحجم المايوتوكندريا .
4. زيادة عدد وحجم الأنوية .
5. الزيادة في عدد الرايوسومات .
6. ومن الملاحظات المهمة هي تجمع حويصلات vesicles صغيرة على جهة واحدة من البوغ وفي طرف أنبوب الإنبات ، وهذه الحويصلات تماثل المتواجدة عند نمو الجدار ، ويعتقد أنها تحوي نفس الإنزيمات المهمة لرخاوة loosening الجدار ، وكذلك الوحدات subunit لبناء جدار جديد . وقد يعود السبب في تجمع الحويصلات في مكان واحد هو قطبية البوغ .

في تجربة للباحثين Lipman و Bartnicki-Garica (1977) على قطبية أبواغ *Mucor rouxii* تم تصويرها بـ autoradiography وباستعمال حبيبات الفضة . أظهرت التحليلات الكمية أنه لا يوجد تغير في نسبة (معدل) تكوين الجدار الخلوي خلال هذه المراحل ، وأن بعض الفعاليات تنشط (فعاليات بايوكيميائية) وتزداد ، وأهم هذه الفعاليات هي مسار تصنيع DNA و RNA والبروتين . وفي فطر *Rhizopus stolonifer* يزداد البروتين و RNA في الساعة الأولى من الحضانة ، بحيث يسبقه بعدة ساعات ظهور الإنبات الفعلي ، في حين أن أبواغ *Botryodipoldia theolromae* يظهر فيها تغير قليل لهذه الجزيئات الكبيرة macromolecules في الثلاث الساعات الأولى . ويبدو أن البوغ قبل الإنبات يحوي جميع أنواع RNA المهمة (m-RNA و T-RNA و r-RNA) وبذا يمكنه تكوين البروتين دون تكوين RNA جديد ولوحظ ذلك في العديد من الفطريات ، وكذلك في *B. emersonii* يحوي على بروتين و RNA قبل إنباته .

في *Asp.nidulans* هناك زيادة ملحوظة في الكايتين المتكون وإنزيم zymogen Chitin synthetase وهي تتخلق ذاتياً داخل الفطر . وفي *Achlya biseruolis* يحتاج الإنبات إلى تكوين البروتين و RNA .

لوحظ زيادة التنفس في فترة إنبات البوغ، ففي أبواغ *B. theolromae* ينقص الماييتوكندريا نوعين من الإنزيمات التي تساهم بنقل (e^-) خلال التنفس هما Cytochrom-c-oxidase و Oligomycin-sensitive ATPase ، وخلال الإنبات يزداد نشاط الإنزيمين بسرعة فتكون ATPase بوجود m-RNA . ويتكون الإنزيم الآخر من وحدات موجودة في الساييتوبلازم للسبور الساكن الذي يتحرك خلال الماييتوكندريا ، ويتحد مع ثلاث وحدات أخرى مكوناً معقد الإنزيم .

تحتوي أبواغ *N. crassa* كافة الإنزيمات اللازمة لسلسلة نقل (e^-) ، وهذا يفسر الزيادة السريعة في تنفس الأبواغ بمجرد حضانها .

المواد المخزونة في الأبواغ مثل lipid و trehaose و manitol يتم
تكسيرها وتحرير الطاقة منها لإنتاج مواد خلوية جديدة . ففي أبواغ *Achlya sp.*
ينخفض المحتوى الدهني من 10% إلى 6% من الوزن الجاف خلال أول ساعتين
من الإنبات.

تحتاج أبواغ *R. stolonifera* إلى الدهون لغرض الإنبات ، وهي تقوم
بصنعها أثناء الإنبات . وعند حضان الأبواغ مع cirulenine وهي مادة مثبطة لإنتاج
الأحماض الدهنية فإنها تثبط انتفاخ الأبواغ وتكوين أنبوب الإنبات وتعيق فعالية
المائتوكندريا من دون التأثير على البروتين وتكوين RNA وأخذ الأوكسجين.

الفصل السادس

النمو

Growth

النمو
Growth

الفصل السادس

النمو

النمو هو زيادة كتلة الكائن الحي التي تظهر خلال مدة الحضانة ، وهو المحصلة النهائية لتغيرات جزيئية وخلوية وشكلية .

6-1- طرائق قياس النمو :

1. الوزن الجاف : يتم في الوسط الزراعي السائل ، وذلك عند تجفيف الكتلة النامية تحت درجة حرارة 80م° ولمدة 24 ساعة ، وهو يمثل في معظم الأحيان وزن الجدار الخلوي ويؤدي إلى تلف المزرعة الفطرية .

2. النمو الخطي : ويتم قياسه أما لخيط فطري hyphae مفرد أو لمجموعة خيوط mycelia (قياس قطر النمو) ، ويمكن بهذه الطريقة أخذ قياسات متعاقبة ، إلا أن النمو العمودي أو التفرعات لا يمكن قياسها بهذه الطريقة .

3. حساب عدد الخلايا : ويتم ذلك اعتماداً على (العكرة) التي تسببها زيادة عدد الخلايا ، ويعتمد ذلك في دراسات الخمائر ، ويتم استعمال إما شريحة عدد الكريات الدموية hemocytometer للحساب المباشر أو مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer لحساب درجة العكرة ومقارنتها بجداول خاصة . وعند استخدام الطريقة الثانية وطريقة الوزن الجاف للخميرة *S. cerevisiae* لوحظ أن عدد الخلايا غير متساوي لوحدة الحجم .

4. تركيز المركبات الخلوية : يمكن اعتماد تركيز بعض المكونات الخلوية كدليل على النمو مثل chitin و glucosamine . وهي طريقة جيدة في دراسات الأمراض النباتية ، وقد درست درجة الإصابة بـ *P. grominis tritici* ، الحامض المحلل مائياً للـ glucosamine يمكن فصله بالكروماتوغراف ، والكمية المتبقية توضح علاقتها

بالوزن الجاف للفطر . كما أن كمية glucosamine يمكن أن تعطي دليل على غزو الفطر الممرض للذرة cron وفول الصويا ال(soybeans) . وكذلك السيترول كال(ergosterol) والكولسترول تعد دلائل جيدة للنمو الفطري كما سجلها Seitz (1977) حيث لاحظ مستوى الاركوسترول يوازي مستوى الكايتين وبالمقابل يوازي مستوى الوزن الجاف ، إضافة إلى ذلك لاحظ أن تحليل الاركوسترول أكثر حساسية وأسرع من تحليل الكايتين كدليل للنمو .

5. الأيض : يمكن الاعتماد على الفعالية الحيوية للفطر في تقدير النمو ، فكمية CO₂ المنتجة استخدمت لقياس معدل نمو *S. lipolytica* في المخمرات ، وفي تجربة على الفطر الجلدي *Trichophyton mentagrophytes* استعمل الكربون المعلم في جزيئة الكلوكوز C¹⁴-glucose لتتبع نشاط الفطر الحيوي ودخول الكربون المعلم إلى الخلايا كدليل على النمو .

6-2- تحليل منحنى النمو Analysis of Growth :

❖ الفطريات أحادية الخلية : يظهر منحنى النمو بشكل Sigmoid ، ويمكن ملاحظة مراحله خلال مدة الحضان وتختلف مدة المرحلة أو أي تغاير آخر باختلاف الفطريات والأوساط الزراعية وطريقة الحضان ونوع نواتج النمو وتركيزها ، إلا أن المنحنى العام يبقى ثابتاً .

Lag phase : وهي المرحلة الأولى من النمو ، إذا يبدأ الفطر بالتكيف على الوسط الزراعي بتكوين أو تحفيز إنزيمات أو تثبيط إنزيمات ، وقد ينتج الفطر H₂ أو CO₂ ليجعل البيئة أكثر ملائمة لنموه .

Log phase : وهي مرحلة النمو القصوى ، ويكون النمو والتكاثر على أشده ، وهي مرحلة الزيادة الخطية ، ويكون التكاثر الخلوي في هذه المرحلة ثابتاً لوحدة الزمن ، ويرمز له μ . وفي هذه المرحلة يمكن مقارنة كفاءة الأوساط الزراعية

ومقارنة أنواع الفطريات مع بعضها . عندما ينمو الفطر في وسط محدود Batch culture فإن نواتج النمو تتراكم في الوسط ، وقد تصل إلى حد السمية أو الشيط، كما أن المادة الغذائية تنفذ وكذلك O_2 ويبدأ النمو بالانخفاض ويتغير pH الوسط الزراعي .

Deceleration phase : مرحلة التباطؤ ، وهي تحصل في ال Batch culture عند تراكم نواتج النمو في البيئة التي ينمو فيها الفطر ولا يحصل في Continuous flow system الذي يستعمل في المخمرات ، حيث تُضاف مادة تفاعل substrate جديدة وتسحب نواتج التفاعل باستمرار من فتحة أخرى . وعند تساوي الكمية المضافة مع الكمية المسحوبة (يبقى تركيز الوسط الزراعي ثابتاً) فإن النمو يبقى ثابتاً ومستمراً، وأن تركيز الخلايا الفطرية يبقى ثابتاً أيضاً ، وتسمى هذه المرحلة بمرحلة Stationary phase ويكون فيها عدد الخلايا المتكونة بقدر عدد الخلايا الميتة .

Decline phase : وهي المرحلة التي يزيد فيها الموت على معدل النمو ، وتنتهي بموت الفطر .

❖ الفطريات الخيطية : وهي تنمو بمنحنى Sigmoid ، إلا أن قياس النمو ليس بسهولة الخمائر لوجود نموات عمودية وأخرى متفرعة ، ويمكن اعتبار النمو الطرفي للخيط الفطري مماثل لانقسام الفطريات أحادية الخلية . وهناك اختلاف كبير يحصل في شكل المنحنى عند استعمال أوساط زرعية مختلفة لنمو نفس الفطر .

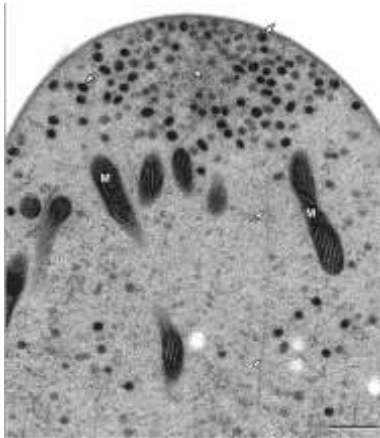
6-3- آلية النمو :

حصل تطوير كبير في معرفة الكيفية التي يتم فيها النمو في خلايا الفطريات، ويظهر أن هناك تماثل كبير في الميكانيكية للفطريات الخيطية وغير الخيطية .

6-3-1- النمو في الفطريات الخيطية Growth of filamentous fungi

هناك العديد من الأدلة المورفولوجية والبايوكيميائية على أن النمو الطولي للخیوط الفطرية يحصل عادة في طرف الخیط الفطري ، وتوضح ذلك من خلال تصوير المواد المعلمة التي تدخل في تركيب خلايا الجدار مثل H-glucose و H.N-acetyl glucose amine .

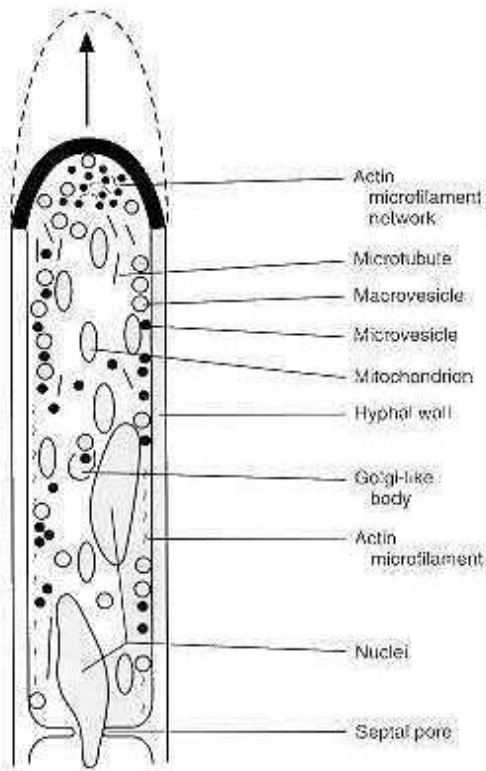
يكون طرف الخیط الفطري من (1-2) ميكرون خالي من العضيات عدا العديد من الحويصلات السايٲوبلازمية ، وفي بعض الحالات لوحظ التحام هذه الحويصلات بالغشاء السايٲوبلازمي ، كما لوحظ في العديد من الفطريات الكيسية والبازيدية والناقصة أن هناك مساحة تأخذ لون أسود بصبغة iron-hematoxalin تعرف "Spitzenkorper" تشكل الجزء الطرفي من الخیط . ان وظيفة هذا التركيب غير معروفة على الرغم أن له علاقة بنمو الخیط الفطري ، فهي توجد في الخیوط النامية فقط ، وإن تواجدھا على جهة واحدة من الخیط يسبق انحرافه بذلك الاتجاه (نفس الاتجاه) .



إن صورة المجهر الالكتروني (الشكل/6) لطرف الخیط الفطري لفطر *Fusarium acuminatum* بعد تثبيته بالتجميد اظهر أن منطقة Spitzenkorper تتكون من عناقيد من الحويصلات محاطة بشبكة من الخیوط الدقيقة ، ويمكن لشبكة الخیوط الدقيقة أن تنظم حركة Spitzenkorper .

الشكل 6/ الطرف النامي
لخيط الفطر *F. acuminatum* قد يكون منشأ الحويصلات السايٲوبلازمية من الديكتوسومات في المساحة تحت الطرفية الحاوية على المايٲوكوندريا والنواة

والشبكة الاندوبلازمية . من الصعب تحديد ما تحويه الحوصلة، وهي بشكل عام تحوي المواد الأولية للغشاء الساييتوبلازمي والإنزيمات المحللة للسليولوز والبروتين و β 1,3-glucanase والإنزيمات الداخلة في تصنيع السكريات. كما يتواجد إنزيم Chitin synthetase في جسيمات كروية تعرف Chitosomes ، ولهذه الجسيمات غشاء يشبه القشرة وتستطيع تصنيع microfibrils خارج الجسم الحي ، وقد عزلت Chitosome من جميع المجاميع التصنيفية الرئيسية المكونة للكائتين وهي تنتج إنزيم Chitinsynthetase .



الشكل/7- مخطط يبين النمو الطرفي للخيوط الفطرية ومشاركة العضيات الخلوية فيه مع زيادة الحويصلات عند النهاية الطرفية

هذه الملاحظات قادت إلى وضع نموذج لنمو طرف الخيط الفطري (الشكل 7/)وهو أن الحويصلات الحاوية على إنزيمات محللة للجدار تتكون في dictiosomes وتنقل إلى طرف الخيط الفطري (الجدار) ثم تندمج مع الغشاء الساييتوبلازمي وتحرر ما تحمله من إنزيمات تؤدي إلى تفكك الجدار وأضعاف الانسيبات ، وبوجود الضغط الانتفاخي في الخلية يتمدد الجدار ثم يتم البناء عن طريق إنزيمات البناء التي توجد منفصلة في الدكتيوسومات .

هناك نقاط غير واضحة في هذا النموذج ، خاصة حول السبب الذي يدفع الحويصلات للهجرة إلى طرف الخيط الفطري ، هل هو الجريان

السايتوبلازمي ، أم الأنابيب الدقيقة ، أم التدرج الكهربائي وجميعها حالات محتملة لتوضيح هذا النموذج . كذلك ربما يكون مفتاح تنظيم النمو الطرفي مرتبط بالتنشيط أو عدمه لإنزيمات موجودة أساساً في جدار الخلية .

أُفترض أن وظيفة *spitzenkorper* هي المساهمة في دمج الحويصلات في موقعها المحدد في الغشاء الساييتوبلازمي وأن الـ *microtubules* تمتد متوازيةً مع اتجاه النمو وبهذا تسهل نقل الحويصلات باتجاه طرف الخيط لمنطقة *spitzenkorper* ، أما *microfilaments* فتقوم في هذا الجزء بنقل الحويصلات إلى الغشاء الساييتوبلازمي .

ويمكن اعتبار النمو هو التوازن الحركي بين تحلل الجدار القديم وتكوين الجدار الجديد والضغط الانتفاخي وأن العوامل المؤثرة على التوازن تؤثر أيضاً على النمو . فعلى سبيل المثال إضافة *Polyxin-D* وهو مثبط تنافسي لتكوين الكايتين إلى المزرعة *Mucor rouxii* تؤدي إلى ضعف الجدار الذي ينتفخ وينفجر من طرفه . كذلك استعمال الـ *Coumarin* المثبط لتكوين السليلوز يعيق النمو والتفرع لفطر *Saprolegnia monoica* ويثبط نمو وتفرع هذا الفطر بـ *glucanylactone* الذي يشبط إنزيم كلوكانيز *glucanase*، و في هذه الحالة يكون الجدار أكثر سمكاً لضعف عملية التحلل فيه .

إن كلا *Coumarin* ومثبط الكلوكانيز تحوّر التنظيم الخلوي للخيط الفطري ، وتحوّر القطبية ويكون تجمع الحويصلات في موقع تحت طرفي ، بدلاً من طرف الخيط الفطري.

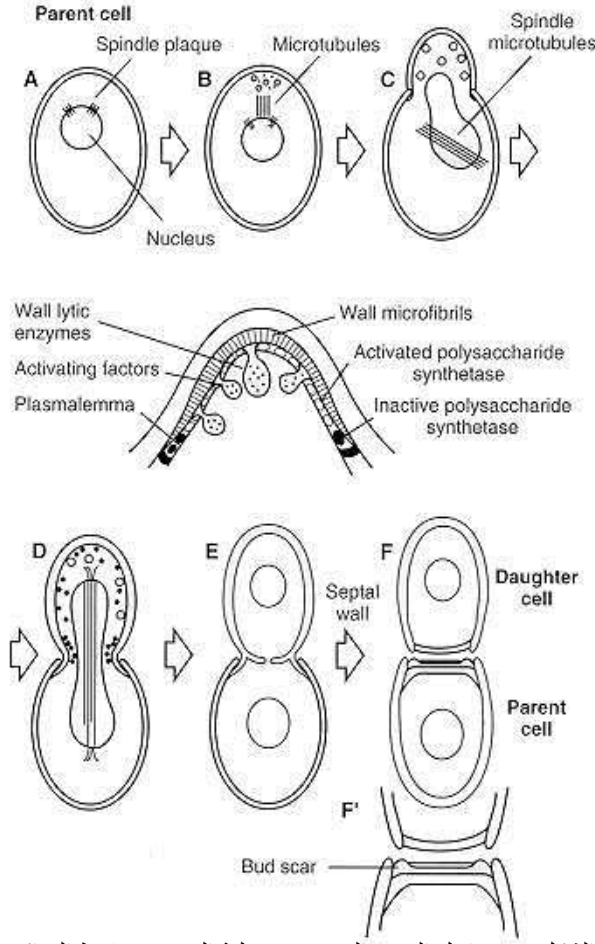
ويُعد تفرع الخيط الفطري طريقة محورة من نمو الخيط الفطري ، فتجمع الحويصلات الساييتوبلازمية على جانب الخيط (على الغشاء الساييتوبلازمي) وفي بعض الأنواع يكون التفرع بجوار الحاجز ، وفي هذه الحالة تُمسك الحويصلات

المتحركة قرب الحاجز ، ويؤدي التجمع إلى تحليل الجدار وانتفاخه ، ومن ثم تكون الفرع ، إلا أنه في العديد من الأنواع لا توجد علاقة بين موقع الحواجز وتكوين التفرعات . وهناك فرضيتان لتوضيح حدوث التفرعات ، الأولى هي أن التدرج الكهربائي بين الحويصلات والموقع الخاص من الساييتوبلازم يؤدي إلى تجمع موقعي للحويصلات ، والثانية أن الحويصلات تتجمع عندما يكون معدل تكوينها أكبر من معدل نقلها إلى طرف الخيط الفطري .

يدعى حجم الساييتوبلازم الطرفي بوحدة النمو (Hyphal growth unit) ، وأن زيادة عدد الحويصلات فيه يؤدي إلى تكوين تفرعات جديدة للخيط الفطري . وتظهر تفرعات الخيط الفطري عادة في منطقة تحت طرفية ، وفي الموقع الأكبر عمراً يكون هناك قليل من الساييتوبلازم مع زيادة الفجوات في العدد والحجم ، وهي منطقة مهمة للفاعليات الحيوية الرئيسية والثانوية ، ويمكن اعتبار الخيط الفطري كأنبوب يجري خلاله الساييتوبلازم باتجاه طرف الخيط الفطري، وهناك استثناءات لذلك ، ففي الفطر البازيدي *Coprinus cinereus* تحصل استطالة بنية وليس طرفية ، تم كشفها عن طريق المركبات المشعة N-acetylglucosamine .

6-3-2- نمو الفطريات أحادية الخلية Growth of unicellular fungi :

يحصل النمو في الفطريات غير الخيطية (الخمائر) إما بالانقسام الثنائي أو بالتبرعم . ففي خميرة *S. cerevisiae* تتكون فيها براعم متعددة ، في حين يكون التبرعم من طرفين فقط لبعض الخمائر ، ويكون موقع التبرعم ثابت في خميرة *S. ludwigii* وبشكل عام فإن البرعم هو تمدد يشبه البالون في الخلية الأمية (الشكل/8) يتبعه تكون جدار خلوي وتكوين حاجز بين الخليتين .



الشكل/8- مراحل النمو والتبرعم في خلية الخميرة، لاحظ التراكيب الخلوية في منطقة التبرعم.

الخلية التي تتكاثر بهذه الطريقة تعاني في البداية استطالة من طرف واحد أو من الطرفين مكونة شكل الاسطوانة ، وبعدها تعاني انقسام مايتوسي (اعتيادي) وبداية تكون الحاجز من الجدار ونموه إلى الداخل حتى يتم الانفصال وتكوين خليتين بنويتين ويوضح المخطط اللاحق مراحل تكوّن البرعم في الخلية الخميرية.

هناك العديد من الدراسات حول ميكانيكية التبرعم ، إلا أن هناك القليل مما يوضح بداية وموقع التبرعم . ومن

المعلوم أن الخلية يجب أن تصل إلى حجم معين قبل أن يحصل فيها التبرعم ، كما أن العديد من الحويصلات الساييتوبلازمية تتكون وتتجمع في موقع التبرعم ، وربما تحوي إنزيمات تحلل وبناء الجدار الخلوي ، كذلك تتجمع الأنابيبات microtubules في هذا الموقع وربما يكون لها دور في تجميع الحويصلات في موقع التبرعم .

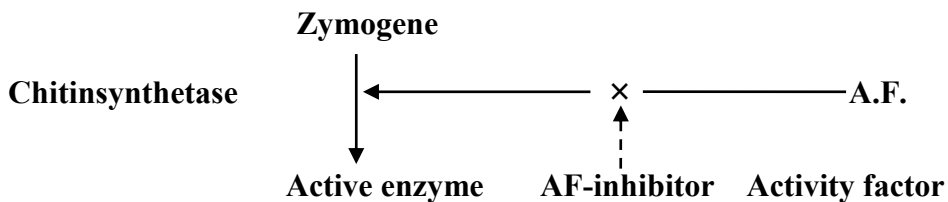
إن نمو البرعم يحصل من تداخل النمو الطرفي والزيادة المحيطية في الحجم ، ويندمج الكلوكون مع الكلوكون بشكل أكثر أو أقل انتظام حول جدار

البرعم . المانوز من جهة أخرى يتجمع بشكل منتظم أولاً ومن ثم في الطرف وبعدها في كلا الطرفين والجوانب . العالم Cabib (1975) ذكر أن حزمة الحويصلات تتجمع باتجاه نقطة بداية البرعم وتنتج عنه ترسيب المانوز في بادئة البرعم ومن ثم ترسيبه في الطرف في نفس الوقت الذي يبدأ فيه النمو الطرفي .

عند تمام البرعم ينحني الجدار من منطقة الالتحام بين الأم والبرعم وينمو الغشاء الساييتوبلازمي والحاجز الأولي للكيتين باتجاه المركز ، وبعدها يترسب الحاجز الثانوي المكون من الكلوكان والمانان على كلا الجانبين وعند ذلك تفصل الخلية الأمية ومعها الجدار الأولي كتركيب يشبه ندبة الولادة Birth scar .

في خميرة *S. cerevisiae* يبدأ ظهور الكيتين في الحاجز بفعل إنزيم chitinsynthetase الذي يرتبط بأكثر من نقطة مع الغشاء الساييتوبلازمي ، والإنزيم يكون بحالة غير نشطة أو زاييموجين zymogene ، إلا أن البروتينات المرتبطة بالجدار كإنزيم protease تقوم بتنشيطه ، ويفقد هذا المنشط تأثيره (يثبط) إذا ما تواجد في الساييتوبلازم بارتباطه مع بروتينات أخرى .

إن الإنزيم المساعد على ترسيب الكيتين وتكوين الحاجز يستعاض عنه بإنزيمات polysaccharide synthetase أثناء نمو البرعم لتكوين الشكل الكروي للخلية ومنها β -glucan synthetase الذي يتواجد في الوجه الداخلي للغشاء الساييتوبلازمي وينشط أثناء نمو البرعم ويتحفز بوجود ATP و GTP .



6-3-3- النمو الثنائي الشكل Dimorphic Growth :

تستطيع العديد من الفطريات تغيير شكلها من الخميرة إلى النمو الخيطي اعتماداً على الظروف المحيطة (البيئية) ، ويطلق على هذه القابلية Dimorphism وهي توجد في الفطريات اللاقحية والكيسية والبازيدية والناقصة . والعديد من هذه الفطريات ممرض للإنسان ، فتكون بشكل الخميرة عند التطفل وبشكل خيط عند الترمم . ويمكن بشكل عام تقسيم الفطريات ثنائية الهيئة إلى ثلاثة مجاميع حسب عوامل البيئة المحفزة لحدوث التغيير في شكلها.

1) ثنائية الشكل المعتمدة على الحرارة

Temperature dependent dimorphisim

يظهر تبدل الشكل في الفطر *Paracoccidioides brasiliensis* بتأثير الحرارة ، فهو ينمو بشكل خميرة في 37م° وبشكل خيط فطري في 20م° ، وأحد أهم الفوارق بين الحالتين هو تركيب جدار الخلية ، ففي الخميرة يكون السكر المضاعف الرئيسي α -1,3-glucan ، في حين يكون في الطور الخيطي β -1,3-glucan . كما يتغير الكايتين والبروتين أيضاً عند تغير درجة الحرارة

في الحاضنة من 37م° إلى 20م° ، ينخفض تكوين α -1,3-glucan ويزداد تكوين β -1,3-glucan . بالإضافة إلى فعالية إنزيم β -1,3-glucanases أعلى في الطور الخيطي مما في شكل الخميرة ويزداد مع تحويل درجة الحرارة من 37م° إلى 20م° في حين أن فعالية α -1,3-glucanases منخفضة جداً في كلا الشكلين .

يظهر α -glucan في طور الخميرة على السطح والكايتين في الطبقة السفلى للجدار الخلوي . أما β -glucan فيتواجد في مواقع تكوين البرعم في الجدار وهي ذات الحالة في الخمائر الحقيقية *S. cerevisiae* .

عند درجة حرارة 37م يكون نشاط β -glucanase موهناً β -glucan- في موقع البناء والمنطقة الضعيفة المتكونة بسبب ذلك تنتفخ وتكون البرعم . إن انخفاض نشاط α, β -glucanase يؤدي إلى ضعف موحد للجدار الجديد وبالتالي يكون هناك نمو كروي .

وعند درجة 20م تؤدي زيادة نشاط β -glucanase إلى استمرار التمدد لموقع البرعم ، ويعطي نمو طرفي ويحصل نمو طرفي بتحلل الجدار بتشجيع β -glucanase وتكوين جدار بسبب زيادة β -glucan وتكون النتيجة هو جدار يحوي كمية كبيرة من β -glucan مع البروتين والكيتين .

2) ثنائية الشكل المعتمدة على الحرارة والغذاء:

Temperature & Nutrient dependent dimorphisim

ينمو الفطر *Histoplasma capsulatum* بشكل خميرة في 37م وبشكل خيط عند خفض درجة الحرارة إلى 20م ، وأن رفع درجة الحرارة لا يسبب تحول الشكل إلى خميرة ، فالعوامل المطلوبة الأخرى قد تكون الجهد الاختزالي Redox potential أو التركيز الملائم من أيون مجموعة الكبريتات . ويمكن أن يحصل تحويل الخيط إلى خميرة في درجة حرارة 20م إذا كان الوسط الزرعي يحوي Cystine أو Cystiene أو يكون الجهد الاختزالي منخفض .

إن دور مجموعة الكبريت يبدو أكثر وضوحاً من سواه ، فالخميرة والخيط يأخذان S¹⁵-cystine بدرجات متفاوتة في درجتي حرارة 25م و 37م . وفي سلالات مطفرة من الخميرة التي لا تستطيع أخذ Cystine لكنها تستطيع الاستمرار بتكوين الخيوط ، مما يدل على أن cystine ليس ضرورياً أو مطلوباً لتكوين الخميرة أو لبقائها .

يتواجد إنزيم Cystine reductase الذي يسهل اختزال Cystine إلى Cystiene في الغشاء البلازمي ، ويظهر هذا الإنزيم عند تغير درجة الحرارة من 25م° إلى 37م° ويتواجد بعد ذلك في خلايا الخميرة ، والإنزيم يبدو ضرورياً لبقاء طور الخميرة ، فالحلايا المعاملة بمشط للـ Cystine reductase تبقى بشكل خيطي حتى درجة حرارة 37م° ، لذا فإن الإنزيم ربما يسبب زيادة مستوى مجموعة SH في الخلايا المطلوبة لتحويل الخيط الفطري إلى خميرة . أظهرت الدراسات حول التنفس الخلوي خلال التحول من الخيط إلى الخميرة أن هناك ثلاثة تغيرات أيضية :

- 1) ففي أعقاب ارتفاع درجة الحرارة هنالك نقص سريع في تنفس الخلية وفي Cystiene داخل الخلية وغيرها من الأحماض الأمينية ، وقد يعود السبب إلى أن الحرارة تحفز الزيادة في الجهد الاختزالي .
- 2) عند الوصول إلى الدور الثاني يتوقف التنفس كلياً ، وفي هذا الطور تكون هناك حاجة لـ Cystiene خارجي ، وأظهرت الدراسات حول الماييتوكندريا المعزولة بأن الـ Cystiene ينشط تنفس الماييتوكندريا .
- 3) وفي الطور الثالث يرتفع معدل التنفس وتركيز Cystiene داخل الخلية وبقية الأحماض الأمينية ويكتمل تغير الشكل .

من المعتقد أن الحاجة للـ Cystiene هي لتنشيط التنفس وإدامة فترة الخميرة وأن الزيادة العشوائية لدرجة الحرارة لا تسبب تغير الشكل بل يحصل التحول إلى طور الخميرة فقط في العائل المناسب حيث يتوفر Cystiene .

3) ثنائية الشكل المعتمدة على الغذاء

Nutrient dependent dimorphism

في فطر *Candida albicans* و *M. rouxii* يتأثر الشكل بعوامل أخرى غير الحرارة ، وهي تعرف بالعوامل الغذائية ففي *Candida albicans* تنمو بشكل خميرة في (37 و 25)م عند الحضان في وسط زرعي يحوي جلوكوز . في حين يتكون الطور الخيطي إذا انتقلت إلى وسط يحوي كاربون أقل وفرة وجاهزية كالنشاء والكلاليكوجين . إن التحول من الخميرة إلى الخيط يمكن احباطه بإضافة Cystiene مما يشير إلى أهمية ودور مجموعة الكبريت أما التركيز الضئيل من Zn^{+2} فيحبط تكوين الخيط في درجة حرارة 25م فقط وليس في 37م .

العديد من أنواع *Mucor* تظهر تغير في الشكل ، والعامل الأساسي هو غاز CO_2 والسكريات الأحادية الحاوية على ست ذرات كاربون. ينمو *M. rouxii* بشكل خيوط في الظروف الهوائية واللاهوائية بغياب CO_2 وينمو بشكل خميرة عندما يصل مستوى CO_2 إلى 0.3 جو في الظروف اللاهوائية و 0.9 جو في الظروف الهوائية .

تركيز السكر عامل مهم أيضاً لتغيير شكل الفطر ، ففي الظروف اللاهوائية و 0.3 جو CO_2 يكون النمو خيطي وعندما يحوي الوسط الزرعي كمية منخفضة من السكر ، وعند ارتفاع تركيز الكلوكوز يحصل نمو بشكل الخميرة .

إن CO_2 ليس مطلوباً تماماً لجميع الخمائر إذا كان تركيز الكلوكوز مرتفع للحد الكافي أما الفركتوز والمانوز والكالكتوز فإنها تشجع نمو الخميرة عند انخفاض تركيزها ، وتحت الظروف الهوائية يتكون الخيط فقط من دون تأثير بمستوى السكر. ومن الملفت للانتباه أن التركيز العالي من السكر قد يحفز إنتاج CO_2 ، ومن المتوقع أن السكر يشبط تكوين الخيوط الفطرية بتأثيره بطريقة ما على بدء النمو الطرفي .

6-4- العوامل المؤثرة على النمو Factors effecting growth :

6-4-1- الماء Water : حاجة الفطر للماء أساسية كما في بقية الأحياء

والفطر يحتاج إلى طبقة رقيقة من الماء حول الخلية لغرض ذوبان المغذيات والإنزيمات .

وفي الفطريات المسببة للعفن الجاف تحصل على الماء إما من خيوط الفطر نفسه الممتدة في أجزاء أخرى من الإصابة أو تنتج عرضياً من الفعاليات الأيضية .

تتأثر الفطريات بأشكال مختلفة في حالة غياب الماء فلا تعطي بعض الفطريات الأبواغ عند نموها داخل الوسط الزراعي ، وذلك قد يعود للظروف اللاهوائية كما يمكن إيقاف نمو الفطر بالتجفيف وهذا ما يستخدم في الصناعة ، كذلك فإن فرق الضغط الاسموزي باستعمال محاليل سكرية أو ملحية مركزة (السكر بتركيز 50-70% أو الملح بتركيز 2-25%) يكون مؤثر لهذا الغرض، إلا أن هناك نوع من الخمائر تتحمل الجهد الاسموزي Osmophillic ومنها *Saccoromyces rouxii* وبعض أنواع الفطريات الخيطية *Asp. glucus* تقاوم الجهد الاسموزي .

6-4-2- درجة الحرارة Temperature : تختلف الفطريات في درجة

الحرارة المثلى لنموها . وبشكل عام يكون النمو ضعيفاً في درجة حرارة (5)°م ويزداد مع رفع درجة الحرارة حتى حدٍ معين ، وتتطلب بعض الفطريات درجة حرارة فوق 20°م وبعضها يقاوم فوق 50°م ، ويتواجد قسم منها في البيئات الحارة ، فيما تفضل فطريات أخرى درجات حرارة واطئة وهي تنمو بشكل طبيعي إذا توفر الغذاء لها . ويمكن حفظ الفطريات بالتجميد ، ويمكنها البقاء حية لعدة سنوات لبعض السلالات .

6-4-3- دالة الحامضية الـ pH : يختلف pH النموذجي للنمو باختلاف السلالة أو النوع أو طبيعة الوسط الزراعي . إن دالة الحامضية pH تؤثر في جاهزية المغذيات في الوسط الزراعي . فـ *Trichoderma viride* يزداد خطياً مع زيادة تركيز H^+ وقد لوحظ أنه يتعلق بتأثير pH على أخذ المغذيات .

6-4-4- الأشعة المرئية وغير المرئية Visible & Nonvisible Irradiation: تم الاهتمام في السنوات الأخيرة والتأكيد على نمو وتكاثر الفطريات والعوامل المؤثرة عليه ، وهناك معلومات قليلة حول تأثير الأشعة على الفطريات الخيطية وغير الخيطية . فقد لوحظ أن الضوء يحفز نمو بعض الأنواع ويشبط أنواع أخرى ، في حين لا يكون مؤثراً على نمو أنواع ثالثة . ويمكن تحديد تأثير الضوء على الفعاليات الحيوية للفطر في خمسة حالات :

1. فطريات لا تتأثر ظاهرياً بالضوء .
2. فطريات تقل فعاليتها أو تنشط نتيجة التعرض للضوء .
3. فطريات تحتاج إلى ضوء متناوب مع الظلام .
4. فطريات تكوّن أبواغ حية في ظلام تام لكنها تعطي أبواغ أكثر غزارة عند تعريضها للضوء .
5. فطريات تحتاج إلى الضوء لتكوين الأجسام الثمرية .

وعند اختبار تأثير الضوء على أربعة سلالات من *Candida albicans* لوحظ تباين في تأثير الضوء باختلاف السلالة وباختلاف نوع الأشعة (مرئية أو قريبة من UV) . إلا أن من العسير تحديد ميكانيكية تأثير الضوء على الفطريات ، فقد يؤثر (كما في أحد السلالات أعلاه) على تكوين البروتين ويشبطه ، في حين يحفز تكوين الكربوهيدرات .

في الجنس *Penicillium spp.* يثبط النمو بالضوء ولهذا التثبيط علاقة بتكوين الجدار الخلوي ، أما في *Blastocladiella emersonii* فإن الضوء يشجع تكوين السكريات المضاعفة ويقلل نشاط إنزيم *glucose-6-phosphate dehydrogenase* .

دُرس تأثير الأشعة غير المرئية على العديد من الأنواع ، وتبين أن أشعة (X) (1.6-4.1 راد/ساعة) تحفز النمو وتزيد إنتاج الأحماض العضوية في *Asp. niger* والمستوى المنخفض من الأشعة يزيد النمو وإنتاج aflatoxin في *Asp. flavus* ، ولكن المستوى العالي يكون مثبطاً .

6-4-5- التهوية Aeration : يزداد نمو الفطر بشكل عام مع زيادة التهوية ، فعند زراعة الفطر *Pen. expansum* في وسط سائل مع الرج كان الوزن الجاف دائماً أعلى ولجميع مراحل النمو من النمو في وسط ساكن ، كذلك كان إنتاج Polygalaacacuronase أعلى .

إن كمية O_2 المطلوبة للنمو النموذجي ضئيلة وأحياناً قد تكون زيادة الأوكسجين مثبطة للنمو كما في *Candida albicans* فيكون نموها في 0.008 جو O_2 أعلى مما في 0.08 جو .

إن تغيرات كمية ونوعية تحصل في الفطر بتأثير تغير التهوية ، فزيادة O_2 تؤدي إلى زيادة التنفس وبالتالي تحرر طاقة أعلى للفعالية الخلوية . ويتأثر عدد السايتركرومات في فطريات أخرى حسب تركيز O_2 .

6-4-6- مستوى ثاني أكسيد الكربون CO_2 : تتعرض الفطريات لتركيز ملائم من CO_2 إما كناتج عرضي للفعالية الحيوية للفطر نفسه ، أو كناتج من فعاليات الأحياء الأخرى معه في نفس البيئة . ويختلف تأثير CO_2 على النمو حسب نوع الفطر ، وقد لوحظ تراكم CO_2 في الوسط الزراعي يؤدي إلى تثبيط نمو

الفطر *Candida utilis* ، ويمكن التغلب على هذا التثبيط إما بزيادة التهوية أو بتغيير pH في الوسط الزراعي . كما تبين أن التأثير المثبط للغازات الناتجة من عدد من الفطريات ومنها *Trichoderma sp.* يكون لـ CO_2 دور فيها .

أما الفعل المحفز لـ CO_2 على نمو بعض الفطريات فقد لوحظ في *Blasto. ramosa* إذ يحفز بتركيز عالي من CO_2 . ويحتاج *Verticillium albo atrum* إلى CO_2 للنمو إذا كان مصدر الكربون الأصلي هو الكلوكوز أو الكليسرول . علماً بأن غاز CO_2 يمكن أن يكون مصدر للكربون لبعض الفطريات (سبق شرحه) .

6-4-7- الكيماويات غير المغذية Non-Nutrient Chemicals: أهمية الفطريات كطفيليات وكعوامل تحليل حيوي وكمنتجات للسموم دفعت للدراسة حول الكيماويات التي لا تمثل غذاء لها وتثبط نموها ، وقد اختبرت العديد من المواد العضوية واللاعضوية لهذا الغرض لمعرفة تأثيرها على النمو .

المبيدين الفطريين Triforine و Triarimol يشبطان النمو بتثبيط تكوين ergosterol ، المبيد Polyene الذي يُعد مضاد حيوي antibiotic لفطريات مثل *Colletotrichum lagrnarium* فإنه يؤثر على ارتباط Sterol في جدار الخلية والذي يزيد النفاذية والتي يعقبها نقص المحتويات المهمة داخل الخلية ومن ثم موتها .

بعض الفطريات البيضية لا تحوي أساساً في جدارها على sterol وهي بذلك تكون غير متحسسة لـ polyene antibiotic . أما المواد اللاعضوية مثل azide و cyanide فتندمج في الفعاليات الحيوية في الماييتوكندريا وتسبب تثبيطها .

إن العديد من المواد المستعملة كمبيدات للحشرات والأعشاب والأوثة قد تثبط نمو بعض الفطريات ، ولكنها قد تكون منشطة أو عديمة التأثير على

الفطريات في حالات أخرى . فمبيد النيما تود ethoprop يشبط نمو *Rhizoctonia solani* و *Sclerotium nolfsii* عندما تستزرع على وسط PDA بتركيز 10-100 جزء بالمليون ، ولكن *Trichoderma sp.* و *Rhiz. stolonifer* والعديد من أنواع *Aspergillus* لا تتأثر به .

كذلك فالعديد من مبيدات الأدغال مثل *basagran* و *treflan* و *avadex* ومبيدات الحشرات *nicotine* و *hostathion* تحفز النمو والإصابة في الفطر الممرض للفاصوليا *Fusarium solani* .

وجد أن مستخلصات النباتات كالذرة *Corn* والتفاح *apple* والفلفل *pepper* مثبطات واسعة لنمو الفطريات ، إضافة إلى أن مستخلص بعض الفطريات يكون مثبط لفطر آخر . فمستخلص *Trichoderma viride* مثبط لنمو *Fomes annosus* . وأحياناً يكون مستخلص الفطر *Armillaria mella* مثبط ذاتي تحت ظروف خاصة . وتوجد أدلة على أن الفينولات هي المركبات المثبطة الموجود فيه .

الفصل السابع

التكاثر

Reproduction ☐

التكاثر

Reproduction

الفصل السابع

التكاثر

التكاثر هو تكوين كائن منفصل جديد ، وفي الفطريات ينتج الفرد الجديد أما بالتكاثر الجنسي الذي يتم باندماج نواتين متماثلتين يعقبه انقسام اختزالي للزايغوت أو بالتكاثر اللاجنسي الذي لا يحصل فيه الاندماج ولا الانقسام الاختزالي .

التكاثر في الفطريات لا يحصل بتكوين وحدات منفصلة جديدة فحسب بل بظهور وسائل انتشار وتراكيب مقاومة لظروف البيئة القاسية. ويوفر التكاثر الجنسي ميكانيكية لزيادة التغير الوراثي للمجتمع الفطري ، والفطريات تُظهر بشكل عام آليات تكاثر متنوعة ، وقد استعمل الاختلاف في صور التكاثر الجنسي كأحد القواعد لتصنيف الفطريات ، كما استعمل التكاثر اللاجنسي لهذا الغرض وخصوصاً لتشخيص الفطريات الناقصة ، علماً بأن معظم الفطريات لها القدرة على تكوين الأبواغ الجنسية أو لا جنسية أو كلاهما .

في التكاثر الجنسي يظهر الفرد الجديد في تراكيب مثل السبور اللاقحي Zygosporidium والسبور السابح Zoospore والسبور الكيسي Ascospore والسبور البازيدي Basidiospore. في حين أن التكاثر اللاجنسي يظهر بالتجزؤ البسيط للخييط الفطري (تكاثر خضري) أو بتكوين تراكيب خاصة تعرف بالسبورات المفصلية arthrospore و sporangiospore و conidia وفي الخميرة يتم التكاثر اللاجنسي بالتبرعم أو بالانقسام .

بسبب التنوع الكبير في آليات التكاثر للفطريات ، فمن الصعب وضع صورة عامة لفلسفة التكاثر ، كذلك فإن عوامل البيئة كالحرارة والضوء و دالة الحامضية (pH) والتهوية والمغذيات تعطي تأثيرات مختلفة على نمو الفطريات وتظهر أيضاً تأثيرات متباينة على التكاثر الجنسي واللاجنسي .

اقترحت الباحثة Hawker (1966) خمس صور عامة تتعلق بتأثير البيئة المحفز لبدء طور التكاثر وتكوين التراكيب التكاثرية :

1. الظروف الملائمة لإعطاء أعلى نمو في الخيوط الفطرية ربما لا تكون هي المفضلة للتكاثر اللاجنسي ، وهي عادة غير مفضلة للتكاثر الجنسي .
2. المدى range لأي ظروف خارجية خاصة تسمح بالتجراثيم هي عادة أضيق من تلك التي يتم فيها نمو الخيوط الفطرية ، وأحياناً هي أضيق للتكاثر الجنسي مما للتكاثر اللاجنسي .
3. التجراثيم sporulation، وبشكل خاص إنتاج الجراثيم الجنسية يحتاج عادة إلى ثلاثة أضعاف مستوى الغذاء مما يحتاجه النمو، ولكن التجراثيم يثبط عادة في تركيز أدنى بقليل من الحد اللازم لأقصى نمو .
4. الظروف الملائمة لبدء التكاثر ليس ضرورياً تماثلها مع الظروف المفضلة للمراحل اللاحقة من نمو ونضج التراكيب التكاثرية .
5. بما أن متطلبات النمو الخضري و التكاثر الجنسي و التكاثر اللاجنسي متباينة فمن المستطاع نظرياً السيطرة على طبيعة النمو والتكاثر بالتحكم بالبيئة .

إن عمر الكائن الفطري المنفرد individual عادة ما يكون قصيرا وغير محدد تماما وان استمرارية ذلك الفرد وبقائه حيا تتوقف على قابليته لتكوين ونشر الوحدات التكاثرية الجنسية واللاجنسية ، وفي الطبيعة يتعرض الفطر إلى العديد من العوامل المؤثرة على تكاثره سواء ما تعلق منها بعوامل البيئة أو الغذاء. إن بعض الفطريات المتطفلة على النبات مثل *Claviceps purpurea* و *Venturia inaequalis* تنتج أطوارها النامية على الأنسجة الميتة للعائل في فصل الربيع ،

فهل يعود السبب في ذلك لملائمة درجة الحرارة أم طول فترة الضوء أم إلى المتطلبات الغذائية التي توفرها الأنسجة الميتة للعائل ؟

إن الحصول على إجابات دقيقة لهكذا تساؤلات يتطلب تنمية الفطر في ظروف مسيطر عليها تمكن الباحث متابعة عامل متغير واحد والسيطرة على بقية المتغيرات ، وعليه فأن دراسة فسلجة الفطر تتطلب إمكانية تنميته مختبرياً على الأوساط الزرعية الصناعية أو شبه الصناعية ، ويجب ألا يغيب عن أذهاننا بان استجابة الفطر في الوسط الزراعي لا تكون دائماً نسخة مكررة لما يحصل في الطبيعة. إن الخلية الحية بشكل عام تتأثر لما يحيط بها من خلال تركيبها الذاتي ، والعوامل الداخلية ، والعوامل الخارجية وفي الكثير من الأحيان تكون العوامل الخارجية ذات تأثير حفزي فقط، فيما يكون التأثير على التكاثر للعوامل الذاتية (الوراثية) أو الداخلية والتي منها علاقة الخلية الفطرية بعموم جسم الفطر .

لا تستجيب جميع الفطريات بنفس الطريقة للمتغيرات الخارجية كالضوء والحرارة والغذاء فلكل نوع من الفطريات ظروفه الداخلية المناسبة التي لا تتماثل مع الأنواع الأخرى. وحتى عند توفر جميع العوامل الخارجية والداخلية الملائمة للتجراثيم ، قد لا يتم تكوين الوحدات التكاثرية للفطر من غير الاستعداد الوراثي ، وهل إن الفطر (تحت التجربة) أحادي أم متباين الثالوس.

النمو الخضري لا بد أن يسبق مرحلة التكاثر ، ألا إن المدة التي يستغرقها تتباين بين الفطريات وللفطر نفسه اعتماداً على العوامل الخارجية المحيطة به، إن الفترة السابقة للتكاثر هي في الحقيقة فترة تحضيرية له ، فتزداد أثنائها كمية البروتوبلازم والطاقة المخزونة في الخلية . وفي هذا الخصوص فأن التكاثر اللاجنسي اقل تبايناً عن النمو الخضري من التكاثر الجنسي ، وعليه يمكن القول إن الظروف المحددة للتكاثر الجنسي أضيق من تلك الظروف المساعدة للتكاثر اللاجنسي والنمو الخضري.

ويمكن تلخيص الأسس التي تتحكم بطبيعة التكاثر في الفطريات بالنقاط الأربعة الآتية:

1- إن النمو والتكاثر هما انعكاس للحياة وهما يختلفان في حصول أي منهما لجميع الكائنات اعتماداً على عوامل مختلفة ، ففي الكائنات الواطئة تكون العوامل الخارجية هي الفاصل بينهما .

2- لا يظهر التكاثر في الكائنات الواطئة إن لم تكن الظروف الخارجية ملائمة للنمو وإن متطلبات التكاثر هي دوماً أكثر من متطلبات النمو .

3- إن للنمو مدى أوسع من الظروف المهيأة له مما للتكاثر وبالتالي قد ينمو الفطر تحت ظروف مثبطة للتكاثر .

4- يمكن اعتبار النمو الخضري مرحلة تحضيرية للتكاثر أو انه يهيئ البيئة الداخلية للتكاثر .

إن هذه الحقائق وعلى الرغم من مضي حوالي مائة سنة على اقتراحها فإنها مقبولة ليومنا الحالي مع إدخال بعض التحويرات عليها بضوء ما تم اكتشافه من حقائق ، وهذا ما يمكن إيضاحه من دراسة عوامل البيئة وعوامل التغذية التالية المؤثرة على النمو :

7-1- العوامل البيئية Environmental factors :

7-1-1- درجة الحرارة Temperature :

وهي من العوامل المهمة التي تحدد التوزيع الجغرافي للفطريات ولا ينحصر تأثيرها على النمو بل يشمل تكوين الأبواغ وإنباتها مما يعني إمكانية البقاء survival للفطر ، ومن المعروف إن المدى الحراري للنمو أوسع من مثيله للتجراثيم وهو لتكوين التراكيب التكاثرية اللاجنسية أوسع مما للتراكيب الجنسية ، إن تأثير درجة الحرارة والتراكم الحراري لابد أن يتم دراستها كمؤثرات مباشرة أو

غير مباشره تلعب دوراً في عوامل التغذية أو البيئة الأخرى كما إنها قد تؤثر في نواتج الأيض الفطري مما ينعكس على مواصفات الوسط الزراعي في التجارب المعملية.

7-1-2- الضوء Light :

عادة ما يتم إغفال عامل الضوء في الدراسات الفسيولوجية حول التجثرم ، علماً بأن بعض الفطريات لا تكون جراثيمها في الطبيعة إلا بوجود الضوء أو تحت أشعة الشمس لفترة من الزمن ، فالجنس *Coprinus* لا يكون تراكيبه الثمرية الطبيعية إذا ما ابعد عن الضوء ولكن إذا ما تم تعريضه للضوء لفترة 2-3 ساعات فإنه ينتج تلك التراكيب وأن حجب عنه الضوء . وبينت بعض الدراسات بان الحرارة يمكنها أن تعوض جزئياً تأثير الضوء هذا، كما في الفطر *Phoma urens* الذي ينتج عدداً أكبر من البكنيديا pycnidia في درجة حرارة 30م في الظلام مما ينتجه في درجة حرارة أدنى وبوجود الضوء . إن التداخل بين تأثير عاملي الضوء والحرارة أو إن يكون احدهما بديلاً عن الآخر يدل على أن تأثيرهما التحفيزي على البيئة الداخلية للفطر متماثل إلى حدٍ ما، ولقد لوحظ التأثير المشترك لكل من درجة الحرارة والضوء على تجثرم الفطر *Helmithosporium gramineum* حيث كان أفضل تجثرم للفطر في ظروف الحقل هو 14-15 ساعة أضاءه ودرجة حرارة بين 8.2-26.8 م ، في حين لم تتكون الأبواغ على الوسط الزراعي آكر البطاطا والكلوكوز في غياب تام للضوء لكلا الموقعين . لقد كان الضوء الصناعي أقل تأثيراً من الضوء الطبيعي ومع ذلك فإن التعريض المستمر للضوء وتحت درجة حرارة 13 م سمح بتكوين عدد قليل من الأبواغ .

وعلى قطع صغيرة من أوراق الشعير المصابة بالفطر أمكن تكوين الأبواغ من دون التعريض للضوء وبدرجة حرارة ضمن المعدل ، ويمكن تفسير ذلك بأن الخيوط الفطرية قد خزنت في الطبيعة كفايتها من عوامل التحفيز الابتدائي التي

ساعدت على تكوين الأبواغ ، أما الخيوط الفطرية التي تنمو من الأوراق المصابة إلى سطح الآكر فإنها لا تنتج الأبواغ في الظلام . إن الضوء قد يكون قد ساعد أنسجة العائل (بوجود الطفيلي) على تكوين مواد تساعد الطفيلي على التجزئ عند استزاعه.

وفي صورة أخرى من تأثير الضوء والظلام ما سجل في الفطر *Choanephora cucurbitarum* حيث يؤثران على تكوين الأبواغ لكنهما لا يؤثران (أو يكون تأثيرهما طفيفاً) في تكوين الحواظ السبورانجية. وفي دراسة على عزلة ثانية لنفس الفطر لوحظ أن تبادل الإضاءة مع الظلام (12) أعطى أفضل تجزئ وان اللون الأصفر إلى الأحمر كان مفضلاً لتكوين الأبواغ مما للأطوال الموجية الأقصر كما إن هذه العزلة كونت الأبواغ في ظلام تام.

لقد سبب التعرض لجرعات مختلفة من الضوء والظلام في تغيرات شكلية واضحة في عزلة من الفطر *Fusarium* ، ومن الصفات التي تأثرت بهذه المعاملات، اللون وحافة المستعمرة وشكل المستعمرة ووجود أو غياب الحاصرة الكونيدية sporodochia المميزة للفطر وتكوين الأجسام الثمرية وشكل وحجم الكونيديات الكبيرة والحواجز فيها ، وكان الضوء مهماً لتكوين الأبواغ الكبيرة ، وقد كان تأثير الضوء على فترة النمو النشط للخيوط الفطرية. يمكن لبعض العوامل المؤكسدة مثل H_2O_2 بيروكسيد الهيدروجين أن تعطي تأثيراً مماثلاً للتعرض للضوء ويتوقف ذلك على عمر المستعمرة الفطرية وطبيعة الوسط الزراعي .

من جانب آخر فان للضوء الشديد تأثير مثبط على النمو وطبيعة التراكيب التكاثرية وان لهذا التأثير علاقة بطبيعة الوسط الزراعي.

7-1-3- الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light

إن التأثير المميت لهذه الأشعة على البكتريا قد استعمل في علم الأحياء المجهرية للحصول على الأوساط الزرعية المعقمة وتتوقف درجة التأثير على الطول الموجي للأشعة وعلى مدة التعرض لها وعلى طبيعة الكائن المجهري .

أظهرت الدراسات حول الأشعة فوق البنفسجية إن لها تأثير مثبط وآخر محفز للتجراثيم ، وكانت فترة التعريض مهمة في هذا الشأن ، فضلاً عن طبيعة الوسط الزراعي وعمر المستعمرة ودرجة الحرارة ، إن الأشعة تسبب تلف النهايات النامية للخيوط الفطرية مما ينتج عنه تغيرات لاحقه تتعلق بإنتاج الوحدات التكاثرية.

7-1-4- التهوية Aeration:

على الرغم من أن الفطريات كائنات هوائية المعيشة ، إلا أن الأوكسجين الحر يؤثر بشكل متفاوت بين الفطريات، وتكون كميته اللازمة للنمو أقل من تلك المطلوبة للتجراثيم ، كما إن من المتوقع نمو الفطريات المائية وتجراثمها في تركيز أقل من الأوكسجين الحر مما للفطريات البرية المعيشة ، وفي الوقت الذي تستطيع الفطريات المائية التكاثر في الماء فإن الفطريات البرية لا تنتج تراكيبها تلك إلا إذا نمت خيطها الفطري إلى الهواء الحر بعيداً عن الماء .

إن النتائج التي يتم الحصول عليها من التجارب المختبرية للنمو في الأطباق الزرعية المحكمة الغلق sealing Petri dishes قد تعود لأكثر من سبب عدا النقص الحاصل في الأوكسجين ومنها تراكم المواد الطيارة السامة الناتجة من النمو (كالأمونيا) أو زيادة تركيز ثاني أوكسيد الكربون أو ارتفاع مستوى الرطوبة في الطبق الزراعي.

7-1-5- تركيز ايون الهيدروجين hydrogen – ion concentration:

من المعروف بأن درجة الحموضة في الوسط الزراعي تؤثر على التجراثيم ، وعلى سبيل المثال تتكون الأجسام القارورية للفطر *Chaetomium globosum*

تتكون في الوسط الحمضي إلا أن محتواها من الأكياس السبورية قليل ، ومع ارتفاع دالة الحامضية إلى 7-8 تزداد نسبة الخصوبة في الأجسام الثمرية . أما الفطر اللاقحي *Phycomyces blakesleeanus* فلا ينتج أبواغ zygo spores ناضجة على وسط مكون من (كلوكوز - أسبارجين) ، ولكن هذه الأبواغ تتكون عندما يدعم الوسط الزراعي بأحماض عضوية وأخرى أمينية و protein hydrolysatase حيث أن هذه المضافات ستشكل محيط دارى buffur يحول دون انخفاض دالة الحامضية للحد المثبط لتكوين السبورات.

هنالك عوامل غير التي ذكرت آنفاً تؤثر أيضاً على التجثرم في الفطريات منها قوام الوسط الزراعي حيث لوحظ أن بعض الفطريات تتجثرم في الأطباق الزراعية الحاوية على الوسط الزراعي الصلب أو شبه الصلب وليس الوسط السائل، وقد يرجع السبب إلى عامل التهوية حيث تكون التهوية أفضل في الأوساط الصلبة. كما سجل التأثير الايجابي لغاز الأوزون على التجثرم لجنس *Alternaria* . إن الرطوبة النسبة المرتفعة كانت مؤثرة في تكون البازيديات واستطالتها في العديد من أفراد عائلة Polyporaceae . كما أن تركيز غاز ثاني أكسيد الكربون يؤثر على التكاثر أيضاً وكان مفضلاً لإنتاج الأكياس السبورانية المقاومة في بعض أنواع الجنس *Blastocladia* . وأخيراً فإن المحتوى الخلوي للخيوط الفطرية الميتة قد استعمل لتحفيز التجثرم.

7-2- العوامل الغذائية Nutritional factors :

إن ظروف التغذية التي يكون فيها الفطر تراكيبه التكاثرية والأبواغ هي في أغلب الأحيان لا تتشابه مع الظروف المطلوبة للنمو الخضري النموذجي كذلك فإن الأوساط الزراعية تختلف في مدى ملائمتها للتجثرم ويمكن إيضاح العوامل الغذائية المؤثرة في تكاثر الفطريات بما يأتي :

7-2-1- تركيز المواد الغذائية :Concentration of nutrients

لقد أمكن الحفاظ على عزلة للفطر المائي المعيشة *Saprolognia* بطور النمو الخضري لستين ونصف وذلك بتنميتها في مستوى منخفض من المغذيات ، لكنه أنتجت وحداتها التكاثرية بعد أيام قليلة من ضخ العناصر الغذائية لوسط النمو. إن تأثير تركيز الغذاء يعطي نتائج متفاوتة بين التكاثر الجنسي والتكاثر اللاجنسي ، كما أن هذه التأثيرات لا تنحصر بكمية الغذاء وتنوعه بل التوازن بين مكوناته.

7-2-2- المصدر النيتروجيني Nitrogen source :

يؤثر المصدر النيتروجيني على تكوين الوحدات التكاثرية المختلفة لنفس الفطر بشكل متباين ، كذلك فالعزلات المختلفة لنفس النوع الفطري تتباين استجابتها باختلاف المصدر النيتروجيني . وهنا علينا أن ندرك بان المصادر النيتروجينية المختلفة تسبب تغيرا في مستوى الحامضية للوسط الزراعي وبالتالي ستؤثر بدرجات متباينة على التجزئ.

7-2-3- المصدر الكربوني Carbon source :

لا تعطي جميع المصادر النيتروجينية تأثيرات متشابهة على التجزئ ، كما أن بعضها المفضل للنمو الخضري لا يكون كذلك للتكاثر ، إن مصادر الكربون الكربوهيدراتية قد تدخل مسارات أيض مختلفة داخل الخلية الفطرية لعملية النمو والتكاثر مما يوضح الاختلاف في التحفيز الحاصل لكل نشاط أيضي . ولنفس الفطر فأن بعض السكريات تشجع تكوين الأجسام الثمرية فيما تشجع سكريات أخرى تكوين الأبواغ ، ومن الدراسات السابقة في هذا الخصوص لوحظت الاحتياجات المختلفة للمصدر الكربوني لغرض التكاثر لعدد من الفطريات فالفطر *A. niger* يفضل سكريات الكلوكوز والسرروز والسكرور والسكرور

Glomerella sp. والفطر *Phoma betae* يفضلان السكر والفطر
N. vasinfecta يفضل المالتوز والنشا والكلوكوز .

7-2-4- نسبة الكربون إلى النيتروجين C:N ratio :

وهي من العوامل الغذائية المهمة للنمو ولتكوين التراكيب التكاثرية وقد سجل التأثير المشبط لتكوين الأجسام الثمرية للفطر *N.crassa* مع ارتفاع تركيز الكلوكوز ونترات البوتاسيوم.

7-2-5- العلاقة بالإنحياز الأخرى Association with other organisms :

يمكن لفطر أن يحفز تكاثر فطر آخر ينمو مع في ذات الحيز البيئي، كذلك فمن المعروف أن تجرثم *Alternaria* و *Helmenthosporium* يزداد عند وجود أحياء أخرى معهما . ويمكن لنواتج الايض للفطر *A. niger* إن تحفز conjugation في ثلاثة أنواع من الخميرة ، أن احد المكونات التي استخلصت من ناتج الفطر هو الرايوسفلافين . بكتريا *Bacillus wiedmaniensis* أو مستخلص الخلايا البكتيرية يحفز تكوين الأبواغ الكبيرة macroconidia في الفطر *Microsporium audouini* ويعود جزء من هذا التحفيز إلى الباريديوكسين. ويمكن القول بأن جميع الفطريات التي تنقصها القابلية لإنتاج عوامل النمو والفيتامينات المختلفة يمكنها أن تستفيد من هذه المواد إذا ما طرحت للبيئة (الوسط الزراعي) من قبل كائن آخر له القابلية لإنتاج هذه المواد.

7-2-6- الفيتامينات Vitamins :

بما أن العديد من الفطريات لا تصنع كفايتها من الفيتامينات وان عليها الاعتماد على مصدر خارجي ، فمن الطبيعي أن تكون جاهزية هذه الفيتامينات مؤثرة على النمو والتكاثر ، إن النقص في فيتامين معين قد لا يؤثر بشكل مباشر

على تكوين ونشوء الوحدات التكاثرية الجنسية وإنما يسبب تشويشا في فسيولوجيا الفطر الذي تنقصه القابلية للتخليق الذاتي للفيتامين وبالتالي الفشل في تكوين الوحدات التكاثرية.

الفطر *Melanosporra destruens* ينمو بوجود البايوتين كعامل للنمو إلا أنه لا ينتج الأجسام الثمرية الجنسية إلا بإضافة الثيامين للوسط الزراعي ، وان هذه الاستجابة تتأثر بمستوى المغذيات الأخرى في الوسط الزراعي.

7-3- عوامل أخرى :

فضلا عما سبق ذكره من عوامل خارجية وأخرى داخلية تؤثر على التكاثر في الفطريات فان هناك عوامل تتعلق بالتعامل مع الفطر هي :

1- طريق اخذ اللقاح الفطري Method of inoculation :

إن طريقة اخذ اللقاح وطبيعة اللقاح الفطري تنعكس لاحقاً على تجرثمه ، فبعض الفطريات تنمو بكثافة أعلى وانتشار أوسع عند نشر معلقها من الأبواغ على سطح الوسط الزراعي بدلاً من وضعه في موقع واحد على سطح الوسط الزراعي . بينما يلاحظ العكس في فطريات أخرى تتجاوب في نموها مع تزامم ابواغ القاح المستعمل ويعتقد أن الأبواغ التي تسبق في الإنبات ستفرز أنابيب إنباتها مواد تحفز إنبات بقية الأبواغ في اللقاح.

2- طريقة تعقيم الوسط الزراعي Method of sterilizing media :

أن أكثر الطرائق شيوعاً لتعقيم الأوساط الزراعية هي استعمال ضغط البخار في جهاز الموصدة autoclave والزمن القياسي للحصول على أفضل تعقيم يتراوح بين 15-20 دقيقة وضغط قدره كغم / سم² . ان درجة الحرارة هذه تسبب تكسير بعض السكريات وتؤثر على حامضية الوسط الزراعي . وإذا ما كان الوسط الزراعي عبارة عن عينات طبيعية (كأجسام الحشرات) ، فان تغيرات أخرى تحصل قد لا تكون ملائمة لتكاثر الفطر على هذه المادة الغذائية.

3- تأثير العائل Influence of the host :

لم تنتج العديد من الفطريات المتطفلة تراكييها التكاثرية على أي نوع من الأوساط الزراعية وتحت أي ظرف ، بعض هذه المتطفلات تنتج التراكيب التكاثرية على العائل فقط ، فمعظم مسببات التفحيمات تنمو كخيوط فطرية لكن القليل منها يكون السبورات التيلية teliospores . مسبب الايركوت ergot الفطر *Claviceps* لا ينتج الأجسام الحجرية على الأوساط الزراعية الصناعية ، وهناك من المتطفلات ما ينمو عقيماً على الأطباق الزراعية لكنه يستعيد قابليته للتكاثر عند إعادة تنميته على العائل.

المراجع العلمية

1. **The fungal colony by Neil A.R.Gow ; Geoffrey D. Robson , and Geoffrey M. Gadd . Cambridge university press . 1999 .**
2. **The physiology of fungal nutrition by D.H. Jennings . Cambridge university press . 2006.**
3. **Fungal physiology 2nd edition by David H. Griffin. 1996.**
4. **The growing fungus by Gow N.A.R. and Gadd G.M.Chapman and Hall .London. 1995.**