سلسلة أساسيات الفطريات

فسلجة الفطريات

الدكتور فياض محمد شريف

الذاكرة
للنشر والتوزيع

إهداء

الى اصدقائي الأعزاء

محي الدين زنكنة

خليل المعاضيدي

عبد الأخوة مسلم جبر

داود محمد شريف

سفيان الخزرجي

صباح نجم الدين

محمد عبد الوهاب أحمد

منير العبيدي

مقدمة

تهتم الفسلجة بدراسة الفعاليات الحياتية المختلفة للكائنات الحية على مختلف المستويات الجزيئية والخلوية والنسيجية والأعضاء والكائن الحي ككل. هذا يتطلب بالضرورة معرفة العوامل الفيزيائية والكيميائية والكيموحيوية المسببة والمؤثرة والأسس الجزيئية للظواهر الفسلجية. ويمكن القول أن الكائن الحي يتألف من تراكيب (مظهر وتشريح) أو ماكنة أيضية أو برمجيات غليظة (Hardware) وبرمجيات ناعمة (Software) تتمثل بالمادة الوراثية تنتج عن تداخلهما وتفاعلهما الأنشطة الفسلجية.

من المعروف جيدا ان الأحياء تشترك في الصفات الأساسية للتركيب والوراثة وتختلف في القليل أو الكثير من تفاصيلهما إنطلاقا من مبدأ الوحدة والتباين. وهكذا تشترك الفطريات مع الأحياء الأخرى في الأنشطة الفسلجية وتختلف عنها من خلال عرضها لأنشطة فسلجية خصوصية أو في سلوك طرق مختلفة من أجل تحقيق غاية أو نشاط فسلجي معين. وعليه فإن دراسة الفسلجة تتطلب معرفة فسلجة المجاميع الأحيائية المختلفة بما فيها الفطريات كونها مجموعة كبيرة جدا ومتنوعة، بل أن التنوع الفسلجي يظهر حتى بين المجاميع التصنيفية للفطريات نفسها.

تتميز الفطريات بإمتلاكها لتراكيب جسمية وتكاثرية خاصة كالخيوط الفطرية والأبواغ كما أنها فاقدة لصبغات التركيب الضوئي وبالتالي إعتمادها طرق التغذية الغيرية. وتتميز الفطريات تبعا لذلك في طرق الحصول على المواد الغذائية والنمو القمي الطولي والتفرع وكذلك النمو الخميري. تمكنت الفطريات خلال نموها

التطوري من إمتلاك وسائل مختلفة للحصول على المواد الغذائية كالترمم والتطفل والتعايش بدرجات مختلفة. واستطاعت تطوير وسائل تكاثر جنسية مختلفة من أجل البقاء ووسائل لاجنسية من أجل الإنتشار والإستغلال الكفوء للبيئة. ومن أجل تحقيق هذه الأهداف كان لابد لها أن تدخل في المنافسة مع الأحياء الأخرى. ولهذا الغرض تكون الفطريات العديد من الإنزيمات الخارجية المحللة والسموم والمضادات الحيوية والمواد الفعالة بيولوجيا والكثير من النواتج العرضية كالأحماض العضوية والكحولات والصبغات وغيرها. هذه الأنشطة الفسلجية وجدت إستغلالا نافعا من قبل الإنسان منذ اقدم العصور (عمل الخبز وإعتماد الكمأة والعراهين كمواد غذائية وصناعة الأجبان وتطييب المأكولات والمشروبات الكحولية) وصولا الى عصر التقنية الحيوية بإستغلال الفطريات في إنتاج المضادات الحيوية والفيتامينات والأدوية. كما أن دراسة فسلجة الفطريات قدمت مساهمات علمية كبرى في فهم الظواهر البيولوجية.

تم إستعراض مواضيع التركيب الكيميائي للفطريات وأيض النتروجين والكاربون والنمو والإنتحاء وإنتاج الطاقة والتكاثر والتوافق الجنسي والتكاثر اللاجنسي وإنتشار الأبواغ وإنباتها ونواتج الأيض الأولي والثانوي والتقنية الحيوية الفطرية والتقنية النانوية الأحيائية والفطرية في فصول كاملة.

هذا الكتاب محاولة لتوفير كتاب مرجعي لطلبتنا الإعزاء في فسلجة الفطريات بلغتهم يمكن أن يسهم في إنارة الطريق للوصول الى مصادر المعرفة الأصيلة.

الكتاب هو الثاني من سلسلة كتب " أساسيات الفطريات " الذي يستكمل الكتاب الأول عن مظهر ومعاملة وبيئة الفطريات ويمهد للكتاب الثالث مدخل الى وراثة الفطريات والكتاب الرابع تصنيف وتقسيم الفطريات.

فياض محمد شريف

فسلجة الفطريات

Physiology of Fungi

الفصل الأول Chapter 1

التركيب الكيميائي للفطريات

Chemical Composition of Fungi

تشابهاً مع بقية الأحياء، يعتبر الماء المكون الكيميائي الأكبر لجسم الفطر حيث يمثل أكثر من 80 % من وزن الخيوط الفطرية. أما الخمائر فتكون نسبة الماء فيها أقل. وحيث أن الأبواغ تكون خالية لأمن الفجوات فإن نسبة الماء فيها أقل بكثير، فهي بحدود 40 الى 50 % وقد تختلف عن ذلك أبواغ بعض الفطريات مثل الفطريات المسببة لأمراض البياض الدقيقي *Erysiphales* حيث تصل الرطوبة فيها الى 70 %. وتبقى الأجسام الحجرية وأشكال الجذور تحتوي النسبة الأقل (Agriose,1997). وتحتوي الأجسام الثمرية للفطريات المأكولة عموما على الماء بحدود 90 % وفي الكماة بحدود 75 %.

أما الوزن الجاف للفطر فيتكون في أكثره من الكاربوهيدرات والبروتينات ثم الدهون والرماد (جدول1.1).

جدول 1.1: التركيب الكيميائي للفطريات الخيطية والخمائر

المكونات % من الوزن الجاف عدا الماء	الخمائر	الغزل الفطري
الماء (وزن رطب)	83 - 69.2	88.7 - 84.3
الرماد	7 - 3.8	12.2 - 6
الكاربون	55 - 45	55 - 45
النتروجين	12 - 5	8.3 - 2.3
الكاربوهيدرات	63 - 27	40 - 7.8
البروتينات	75 - 32	52 - 14
الدهون	15 - 2	41.5 - 4

عن: (Hawker,1950)

يتألف الرماد من نسبة أكبر من أملاح البوتاسيوم والفسفور ونسب أقل من كلوريدات المغنسيوم والصوديوم والكبريت والكالسيوم والسليكون إضافة الى الكلور كما يوجد الحديد وعناصر أثرية أخرى.

التركيب الكيميائي للخلية الفطرية

Chemical Structure of Fungal Cell

تشترك الفطريات مع بقية الأحياء الحقيقية النواة في التركيب الكيميائي الأساسي لخلاياها، لكنها تظهر إختلافات ملموسة في بعض التفاصيل. فالأحماض النووية والبروتينات والكاربوهيدرات والشحوم في الفطريات تمتلك ذات التركيب الأساسي كما في بقية الأحياء الحقيقية النواة، لكنها تظهر بعض الخصوصية في نسب وتراكيب هذه المواد. ومن هذه الخصوصيات التركيز المنخفض جدا للـ DNA

وإرتفاع نسبة RNA: DNA، ووجود عدد كبير من السكريات المعقـدة وكـذلك الكثير من نواتج الأيض الثانوي الخاصة بالفطريات.

المكونات الرئيسة

The Main Componets

جدول 1.2: المكونات الكيميائية الرئيسة للخلية الفطرية

المكونات	الوزن الجاف %
الكاربوهيدرات	85 – 16
الشحوم	87 – 0.2
البروتينات	44 – 14
RNA	10 – 1
DNA	0.3 – 0.15
الرماد	29 – 1

عن: (Griffin,1981)

يظهر الجدول (1.2) المكونات الكيميائية الرئيسة للخلية الفطريـة حيـث يلاحـظ الإختلاف الكبير في نسب وجود كل مكون والذي ربما يعكـس الإختلافـات بـين الأنواع أو خلال مراحل النمو المختلفة للنوع الواحد. ويلاحظ الإنخفاض الكبير في تراكيز الحامض النووي DNA حيث تقل نسبته بنحو 10 مرات عما هو في خلايا البكتريا والأحياء الحقيقية النواة. لكن هذا لا يعني إنخفاض نسـبة DNA الخليـة الفطرية في الجينوم حيث أن حجم جينوم الخلية الفطرية يقع بين ما هو في الأحياء البدائية النواة والأحياء الحقيقية النواة المتطورة. وتفسير ذلك أن الخلايا الفطريـة تمتلك مواد نووية أقل نسبة الى بقية مكونات جسم الفطر.

ويلاحظ عدم وجود تباين كبير في تركيز الـ DNA (0.15 – 0.3) بين الفطريات أو ضمن الفطر الواحد في فترات نمو مختلفة مقارنة بالتباين الكبير لبقية مكونات الخلية. وهذا يعكس إنتظام آلية التحكم بإنقسام النواة مقارنة بالمرونة الكبيرة لبقية المكونات(Griffin,1981).

البروتينات (Proteins)

تتألف بروتينات الفطريات كما في الأحياء الأخرى من إرتباط الأحماض الأمينية (التي يوجد منها في الطبيعة 20 نوعاً) بواسطة أواصر ببتيدية. وتختلف البروتينات في نوع الأحماض الأمينية المكونة لها وتكرارها وترتيبها في الجزيئة وهذا يتم التحكم به جينياً حسب ترتيب القواعد النتروجينية في الـ DNA. يمكن تقسيم البروتينات إلى بروتينات حامضية وهي التي تحتوي على أحماض أمينية حامضية أكثر وبروتينات قاعدية عندما تحتوي على أحماض قاعدية أكثر. الملاحظ أن معظم بروتينات الفطريات هي حامضية، ذات أنواع بنائية ووظيفية (إنزيمات). أما البروتينات القاعدية مثل الهستونات (Histones) والبروتامينات (Protamines) والبروتينات الرايبوسومية فتكون مترافقة مع الأحماض النووية.

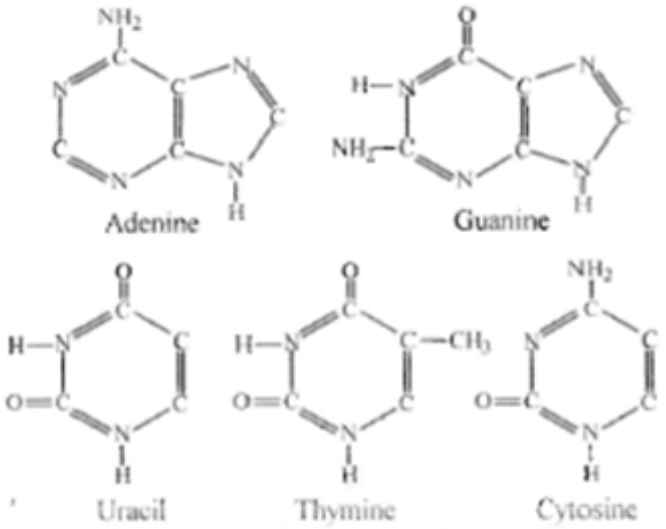
يوجد العديد من البروتينات المرتبطة مع الكاربوهيدرات مكونة البروتينات السكرية (Glycoproteins) والببتيدوكلايكانات (Peptidoglycans). وهذه توجد في غشاء الخلية وجدارها وبشكل إنزيمات خارجية لها دور في التغذية والإمراضية.

الأحماض النووية (Nucleic Acids)

كما في بقية الأحياء تكون الأحماض النووية على نوعين هما DNA وRNA. الـ DNA كما هو معروف جزيئة طويلة تحتوي على المعلومات الوراثية للكائن

الحي الخلوي والعديد من الكائنات الحية غير الخلوية (الفايروسات). تتواجد الـــ DNA داخل النواة في الأحياء الحقيقية النواة وفي السايتوبلازم في الأحياء البدائية النواة وداخل جسيم الكائن الحي غير الخلوي. كما توجد جزيئات DNA صـــغيرة في ميتاكوندريا الأحياء الحقيقية النواة والبلاستيدات الخضراء في النباتات. ويمكن أن تحتوي الخلايا البكتيرية والفطرية على جزيئات DNA صغيرة دائرية أو خطية تسمى البلازميدات.

جزيئة الـــ DNA تمثل بوليمر غير متجانس يتـــألف مـــن عـــدد كبيـــر مـــن النيوكليوتيدات (Nucleotides). الشريط المفرد للنيوكليوتيدة يتألف من إرتباط أحد القواعد النتروجينية الأربعة: أدنين، كوانين (بيورينـــات Purins)، سايتوســـين أو ثيامين (بيريميدينات Pyrimidines) مع جزيئة السكر الخماسي رايبوز منقـــوص الأوكسجين والذي بدوره يرتبط مع جزيئة فوسفات والتي ستقوم بالإرتبـــاط مـــع السكر في النيوكليوتيدة التالية وبذلك تتكون سلســـلة طويلـــة مـــن الـــ DNA. ولأغراض التعامل مع أجزاء الشريط وتحديد النيوكليوتيدات المفردة، ميز العلمـــاء نهاية النيوكليوتيدة بمجموعة الفوسفات بالنهاية '5 والنهاية بجزيئة السكر بالنهايـــة '3. وهكذا ستكون القواعد النتروجينية حرة في الشريط. لكن جزيئة الـــ DNA توجد في الغالب بشكل حلزون مزدوج متعاكس نتيجة إرتباط القواعد النتروجينيـــة البيورينية على أحد الشريطين مع متمماتها من القواعد النتروجينية مـــن الشـــريط المقابل بواسطة أواصر هيدروجينية. متممة القاعدة النتروجينية أدنين هي الثيامين ومتممة الكوانين هي السايتوسين. وهكذا ستقابل النهاية '5 في أحد الشريطين النهاية '3 في الشريط المقابل (شكل1.1).



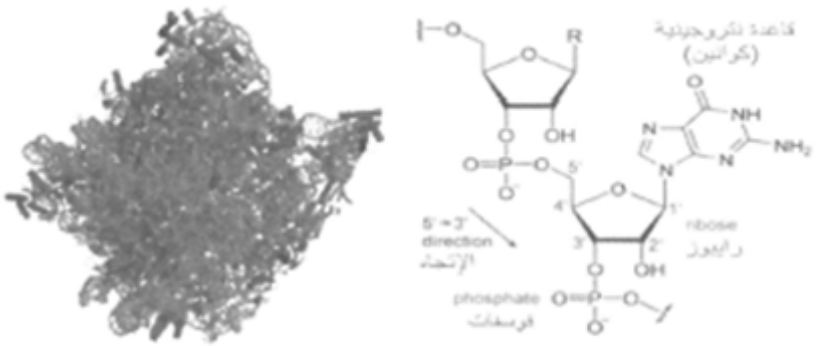
القواعد النتروجينية



شكل 1.1: مخطط تركيب النيوكليوتيدات والشريط المزدوج في جزيئة الـ DNA

جزيئة الـ RNA وهي النوع الثاني للحامض النووي تشابه الـ DNA لكنها تكون عموما أقصر وفي الغالب بشكل شريط مفرد، لا تكون بشكل حلزون وإنما تتخذ اشكال معقدة مشابهة للبروتينات. تتألف جزيئة RNA من سلسلة من النيوكليوتيدات لكن السكر يكون رايبوز وو القواعد النتروجينية نفسها عدا الثيامين الذ يستبدل بقريبه اليوراسيل (شكل1.2). جزيئة RNA تكون أقل ثباتا كيميائيا من جزيئة DNA. تتكون جزيئة RNA بنسخ قالب من جزيئة DNA بواسطة الإنزيم RNA Polymerase. لهذه الجزيئات وظائف متعددة بما فيها تكوين البروتين ويمكن أن تعمل كأنزيم فى معظم الخلايا لكنها ربما تمثل المادة الوراثية للكائن الحي كما في بعض أنواع الفايروسات.

توجد الـ RNA بثلاثة مجاميع هي RNA المرسال (mRNA) وRNA الرايبوسومي (rRNA) وRNA الناقل (tRNA). تشكل mRNA 80 % و tRNA 15 % و rRNA 5 % من الـ RNA الكلي. وتميز جزيئات RNA على اساس الوزن الجزيئي (دالتون) أو معامل الترسيب (s).



شكل 1.2: الصيغة التركيبية لجزء من شريط RNA يظهر النيوكليوتيدة (يمين) والتركيب الثلاثي الأبعاد لجزيئة rRNA في الرايبوسوم حيث أن جزيئة RNA باللون البني والبروتين باللون الأزرق والموقع الفعال باللون الأحمر(يسار)

عن: (Wikipedia,2011)

إن معظم DNA الخلية الفطرية كما في حالة الخميرة *Saccharomyces serevisiae* توجد في النواة بينما في السايتوبلازم لا يوجد سوى 10 – 20 % من الـ DNA في الميتاكوندريا و 1 – 5 % في البلازميدات.

تختلف نسب القواعد النتروجينية في الحامض النووي وهي تؤثر على قابلية الطوفان خلال الفصل بالطر المركزي حيث تكون الكثافة أعلى في المحتوى الأعلى من G + C كما يكون الثبات الحراري أعلى في هذه التشكيلة. في الجدول 3.1 نظرة الى توزع محتوى الحامض النووي للفطريات من القواعد G + C.

جدول 1.3: توزع محتوى القواعد النتروجينية G + C في الفطريات

	محتوى G + C(مول %)		
المجموعة	عدد الأنواع المدروسة	المدى	المعدل
جميع الفطريات	41	63 - 38	48
Zygomycetes	9	48 - 38	41
Ascomycetes	13	54 - 38	45
Basidiomycetes	9	63 - 50	55

عن: (Griffin,1994)

يتميز جينوم الفطريات بصغره حيث أنه الأصغر بين جينومات الأحياء الحقيقية النواة فهو لا يزيد عن جينوم البكتريا *Escherichia coli* سوى بمقدار 3 – 8 مرات، كما يتميز بقلة تكراراته (Repeats). أكثر التكرارات في جينوم الفطريات تحصل في rDNA. تغايرات تكرارت الجينات في rDNA تشمل الحجم والتتابعات. المناطق الجينية في rDNA تكون عالية المحافظة وهي تشفر لجزيئات rRNA، بينما المباعدات (Spacers) ما بين الجينات فتكون عالية التغاير. الأولى تستخدم في تشخيص الأجناس والمراتب التصنيفية العليا بينما الثانية تنفع في تشخيص الأنواع والسلالات.

الكاربوهيدرات (Carbohydrate)

تتألف جزيئات الكاربوهيدرات من عناصر الكاربون والهيدروجين والأوكسجين حسب الصيغة الوضعية $(CH_2O)n$ وتشمل السكريات والكحولات السكرية والسكريات المعقدة ومشتقاتها.

في الخلايا الفطرية توجد السكريات بنسب منخفضة جدا وعادة بشكل سكريات مفسفرة كمواد وسطية في الأيض. لكن الجزء الأكبر من الكاربوهيدرات في الفطريات يوجد بشكل سكريات معقدة، القليل منها مشابه لما هو موجود في الأحياء الأخرى.

توجد في الفطريات السكريات الثنائية تريهالوز (α-1,4 glucose) وPolyols بضمنها الكليسيرول والأرثريتول والأرابيتول التي يمكن أن تستخدم كمواد مخزونة.

ومن السكريات المعقدة الخيطية التركيب في الفطريات الكايتين (β-1,4 N-acetylglucosamine) والسليلوز (β-1,4 glucose) والمانان (β-1,4 mannose؛ β- 1,2؛ β- 1,6) خيطي أو متبلور وغير المتبلورة الكلايكوجين (α- 1,6glucose) وPullulan الشبيه التركيب بالكلايكوجين وChitosan (β-1,4-glucosamine) وGlucan (β-1,3 وβ-1,6-glucose) وGalactan (β- والسكريات المعقدة غير المتجانسة Glucomannan وGalactomannan. إن بعض هذه المواد تدخل في تركيب جدران الخلايا الفطرية أو تعمل كمواد مخزونة.

الشحوم (Lipids)

وهي مركبات تتألف أساساً من سلاسل هيدروكربونية اليفاتية يمكن أن تحتوي على مجاميع هيدروكسيل وكاربوكسيل ويمكن أن تكون مشبعة أو غير مشبعة،

ويمكن أن تكون مرتبطة مع الكاربوهيدرات أو الأحماض الأمينية وغيرها كما أنها يمكن أن تحتوي على تراكيب حلقية أو حلقية مضاعفة. تشترك هذه المواد في كونها تذوب في المذيبات غير المستقطبة.

إن المركبات الهيدروكربونية الأليفاتية توجد في جميع الأحياء. وهي يمكن أن تكون سلاسل خطية أو متفرعة يتراوح عدد ذرات الكربون فيها بين 16 و36. في الفطريات تكثر مثل هذه المركبات بأعداد ذرات كاربون 27 و29 و31 (Weete,1974).

من الوظائف المحتملة لهذه المركبات في أبواغ الفطريات هي تقليل الجفاف والعزل الحراري وتثبيط المهاجمة من قبل الأحياء الأخرى وتثبيط الإنبات وفي بعض الأنواع المسببة لأمراض النبات يكون لها دور في الإمراضية.

الأحماض الدهنية في الفطريات تكون أحادية مجموعة الكاربوكسيل وذات سلاسل اليفاتية خطية أو متفرعة ويتراوح عدد ذرات الكاربون فيها بين 10 الى 22 وعددها يكون زوجي دائما. ومن الأحماض الدهنية الرئيسة في الفطريات Palmiticacidو Oleicacid و. Linoleic acid

تتفاعل الأحماض الدهنية مع الكليسرول لتكوّن الدهون عندما تكون الأحماض الدهنية مشبعة أو الزيوت عندما تكون غير مشبعة. وهذه المواد توجد في الخلايا الفطرية بشكل قطرات زيتية وتدخل في تركيب أغشية الخلايا وجدرانها كمواد رئيسة. وللزيوت والدهون أنواع كثيرة كمواد مخزونة غنية بالطاقة.

تحتوي الخلايا الفطرية على الشحوم الفوسفاتية التي تنتج من تفاعل Phosphatidic acid مع الكليسرول والتي تحتوي على أسترات لأحماض دهنية. علماً أن أحد مجاميع الهيدروكسيل في جزء الفوسفات يحتوي على مركبات معوضة مثلCholine وEthanolamine أو Inositol أوSerine. وهكذا توجد

أنواع مختلفة من الشحوم الفوسفاتية التي توجد في الغشاء الخلوي وأغشية عضيات الخلية الأخرى حيث تكون معقدات مع البروتينات.

وتضم أغشية الخلايا شحوم سفكتية (Sphignolipids) حيث تكون الأحماض الدهنية أسترات مع كحولات أمينية طويلة السلسلة مثل Sphignosine المتكون من 18 ذرة كاربون. في الفطريات، تتفاعل الأحماض الدهنية مع مجاميع الأمين من Sphignosine أو غيرها من الكحولات الأمينية المختلفة بينما ترتبط مجموعة الهيدروكسيل الطرفية مع الكاربوهيدرات خاصة الكلوكوز وأحيانا الكالكتوز أو السكريات المعقدة أو Inositol phosphate وهذه المركبات تدخل في تركيب الأغشية.

ثمة مواد شحمية أخرى ذات أهمية فسلجية هي Isoprenoids التي تعتمد على وجود السلسلة الكاربونية الخماسية المتفرعة Isoprene. إن الجزيئة المتكونة من 2 جزيئة Isoprene تسمى Terpene والتي تتكون من 3 جزيئات Isoprene تسمى Sequiterpene والتي تتكون من 4 جزيئات تسمى Diterpene وتلك المؤلفة من 6 جزيئات Isoprene تسمى Triterpene.

إن العديد من الأيضات الثانوية الفطرية هي تربنويدات مختلفة التعقيد. فالكاروتينات هي Diterpene والسترولات هي Triterpene.

ومع أن وظائف السترولات الفطرية غير معروفة تماماً، لكن عدداً من الهرمونات الجنسية في الفطريات وهي Sirenin و Trisporic acid و Antheridol و Oogoniol هي تربنويدات. كما أنها يمكن أن تكون ذات أهمية تركيبية في الأغشية وكعوامل نمو (Griffin,1981).

أيض النتروجين Nitrogen Metabolism

تتمكن الفطريات من إستغلال النتروجين اللاعضوي بمختلف درجاته التاكسدية ويتم إختزاله وتضمينه في مواد الخلية بأكثر أشكاله إختزالاً. يتضمن إختزال نتروجين النترات الى أمونيا إشتراك الإنزيمين Nitrate reductase الذي يختزل النترات الى نتريت و Nitrite reductase الذي يختزل النتريت الى أمونيا

$$NO_3^- + NADPH + H \longrightarrow + NO_2^- + NADP + H_2O$$

نترات نتريت

$$HNO_3 \longrightarrow HNO_2 \longrightarrow (HNO)_2 \longrightarrow NH_2OH \longrightarrow NH_3$$

نترات نتريت أوكسيدالنتريك هيدروكسيلامين أمونيا

إن عملية إختزال النترات الى أمونيا تتطلب 8 ذرات H أو الكترونات

$$HNO_3 + 8\ H \longrightarrow NH_3 + 3\ H_2O$$

وحيث أن إنتقال الإلكترونات في عمليات الأكسدة – الإختزال البيولوجية تتم بأزواج فإن عملية إختزال النترات إلى أمونيا تتم بأربعة مراحل (Bilgrami & Verma,1980) إلا أن دراسات لاحقة بينت أن الإنزيم Nitrite reductase يتفرد بقدرته على نقل الأزواج الستة من الإلكترونات من النتريت الى الأمونيا في خطوة إنزيمية واحدة (Griffin,1981).

إن تضمين الأمونيا في مركبات عضوية يتم بواسطة الإنزيم Glutamic dehydrogenase ولهذا الإنزيم شكلين، الأول يعتمد على المساعد الإنزيمي نيكوتيناميد ثنائي النيوكليتيد فوسفات NADP ويقوم بدور بنائي حيث ينتج الحامض الأميني Glutamic acid من إضافة الأمونيا إلى α-ketoglutaric acid، بينما الشكل الثاني يعتمد المساعد الإنزيمي نيكوتيناميد ثنائي النيوكليتيد NAD ويقوم بتفاعل معاكس خلال عملية تحليل البروتينات.

ينظم ايض النتروجين بواسطة تراكيز أيونات الأمونيوم (NH_4+) فعلى الرغم من أن الإنزيم Nitrate reductase يحفز نوعياً بوجود النترات إلا أنه يثبط بوجود الأمونيوم حتى لو توفرت النترات. وهذا يفسر الإستغلال التفريقي لمركب نترات الأمونيوم NH_4NO_3 عند تجهيزه في وسط النمو حيث يستغل الأمونيوم أولاً ثم يتبع بإستغلال النترات. وثمة العديد من الإنزيمات التي تتأثر بوجود الأمونيوم كالبروتيزات الخارجية وغيرها.

عموما، بوجود مصادر النتروجين المفضلة (الأولية) تقوم الأحياء بكبح التعبير عن الجينات المطلوبة في إستغلال مصادر النتروجين الثانوية وهو ما يعرف بكبح النتروجين الهدمي (Nitrogen Catabolite Repression). تحت ظروف شحة النتروجين، أو عندما تكون مصادر النتروجين الأولية شحيحة والمصادر الثانوية عالية، تحصل إزالة لكبح النتروجين الهدمي (Steyaert *et al*.,2010).

أيض الكبريت Sulfur Metabolism

إستغلال الكبريت بكل أنواعه في الفطريات يتم من خلال إتحاده مع جزيئات كبريتية عضوية مثل الأحماض الأمينية الكبريتية Cystin وCysteine وMethionine والفيتامينات Thiamine وBiotin وكبريتات الكولين الحلقية والإنزيمات ذات مجموعة (SH- Sulfhydyl) أو الثيول وبعض البروتينات والببتيد الثلاثي Glutathione والمضادات الحيوية مثل البنسلين وGleotoxin وغيرها (Bilgrami & Verma,1980).

في البداية يتم فسفرة الكبريتات بالإتحاد مع جزيئة ATP ليتكون Adenosinephosphosulfate(APS) ثم يفسفر هذا المركب إلى (PAPS) -3' phosphoadenosinephosphosulfate بعدها يختزل هذا المركب بواسطة إنزيم يعتمد على NADPH الى مستوى الكبريتيت (Sulfite):

$ATP + SO_4^{--} \longrightarrow {}^{-} APS + Ppi$

(Pyrophosphate)

$APS + ATP \longrightarrow PAPS + ADP$

$NADPH + H+ + PAPS \longrightarrow PAP + NADP+ + RSO_3^{--}$

ويعتقد أنه لا يتكون كبريتيت حر ولكن يرتبط مع جزء بروتيني ويختزل بواسطة إنزيم Reductase يعتمد على NADPH عند إرتباطه. ثم ينتقل الكبريت المختزل الى Serine ليكون Cysteine

$SerineSO_4^{--} \rightarrow SO_3^{--} \rightarrow S_2O_3^{--} \rightarrow$ Cystein-S-sulfate → Cysteine

تخليق الجزيئات الضخمة

Macromolecules Synthesis

تخليق الجزيئات الضخمة مثل الأحماض النووية والبروتينات والسكريات المعقدة مشابه لما هو في الأحياء الأخرى، حيث يتضمن عمليات تنشيط المركبات الأحادية (Monomers) من أجل بلمرتها: بدء سلسلة البوليمر، إطالة سلسلة البوليمر ثم الإنهاء.

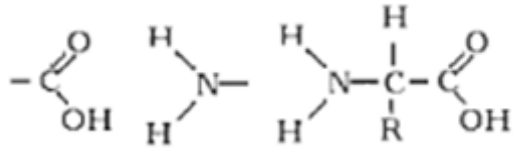
تخليق الأحماض النووية (Nucleic Acids Biosynthesis)

تفتقد الفطريات الحقيقية لإنزيم Thymidine kinase الذي يمكن من تضمين Thymidine في الـ DNA وبذلك تصعب دراسة عملية تكوين DNA داخل الجسم الحي، حيث سيتم الإعتماد على تضمين مواد أخرى غير خصوصية مثل Adenine أو الفوسفات.

في الفطريات يشابه إنزيم RNA polymerase المعتمد على DNA اشكاله المتعددة في الحيوانات والنباتات. فالأنواع الثلاثة الرئيسة تشمل الإنزيم RNA polymerase I لتخليق rRNA والإنزيم RNA polymerase II لتخليق mRNA والإنزيم RNA polymerase III لتخليق tRNA. أما الإنزيم RNA polymerase في الميتاكوندريا فيختلف ويكون مشابهاً كثيراً لمثيله في البكتريا. إن هذه الأشكال المختلفة من RNA polymerase تجعل تنظيم تخليق RNA لا يعتمد فقط على توفر مواقع البدء على شريط الـ DNA وإنما على كمية جزيئات الإنزيمات الفعالة في الفطر.

تخليق البروتينات (Protein Biosynthesis)

تخليق البروتينات في الفطريات مشابه لما يحصل في الأحياء الحقيقية النواة الأخرى حيث يتضمن نسخ الجين (جزء الـ DNA) لتتكون mRNA بترتيب متمم للشفرة الوراثية (ثلاثيات القواعد النتروجينية)، تخرج جزيئات mRNA من النواة الى السايتوبلازم وترتبط بالرايبوسوم. ثم تنشيط الأحماض الأمينية وإرتباطها بـ tRNA الخاصة بكل منها وارتباط هذه مع الأحماض الأمينية التي تحملها مع شريط متممها mRNA في الرايبوسوم مؤدية الى تكوين الببتيد المتعدد أو البروتين. تكوين الببتيد يتم من خلال تكوين الأواصر الببتيدية عبر تفاعل مجموعة الأمين من حامض أميني مع مجموعة الكاربوكسيل من الحامض الأميني المجاور.



مجموعة الكاربوكسيل مجموعة الأمين حامض أميني

تتمكن الفطريات والبكتريا أيضا من تخليق الببتيدات عن غير طريق الرايبوسومات (Nonribosomal Peptide Synthesis). هذه تمثل آلية رئيسة

مسؤولة عن تخليق الأيضات الفعالة. ثمة تجمع من الجينات المشفرة لإنزيمات تخليق الببتيدات غير الرايبوسومية NRP Synthetases. هذه الإنزيمات تقوم بتكوين الببتيدات المتعددة أو البروتينات. تتألف NRP Synthetases من مجالات منعزلة هي مجال الأدنلة (A) والكبرتة (T) أو البروتين الحامل للببتيد (PCP) والتكثيف (C) وهذه المجالات معا تمثل وحدة (Module) واحدة (شكل1.4). هذه الإنزيمات كما في حالة الفطر *Aspergillus fumigatus* تشفر من قبل الجين *pesM*. كل وحدة تكون مسؤولة عن التعرف على (من خلال A) وتضمين حامض اميني واحد في الناتج الذي هو الببتيد النامي. هذه الإنزيمات تتكون من وحدة واحدة أو اكثر وتنتهي بمجال Thioesterase الذي يحرر الببتيد المخلق من الإنزيم. كما أن تفاصيل عمل هذه الإنزيمات وإنتاج الأيضات معروفة(Stack *et al*.,2007).



شكل 1.4: ترتيب وحدة NRP synthetase (Module) المفترضة لجين *pesM* في الفطر *Aspergillus fumigatus*. يفترض أن الجين *pesM* يشفر 3 مجالات أدنلة (A) و3 للكبرتة (T) و3 للتكثيف (C) إضافة الى مجال واحد epimerase وواحد thioesterase (TE). الوحدة 1 لها كتلة جزيئية حوالي 90 ك د عن: (Stack *et al*.,2007)

تخليق السكريات المتعددة (Polysaccharides biosynthesis)

تتضمن عملية تفاعلات بلمرة السكريات إشتراك نيوكليوتيدات سكرية وإنزيمات Phosphatase. أول نيوكليتيد سكري أكتشف في الفطريات هو كلوكوز – يوريدين ثنائي النيوكليتيد فوسفات UDP-glucose حيث يرتبط النيوكليوتيد في ذرة الكاربون رقم 1 في السكر:

Epimerase

Glucose-1-P + UTP ⟶ UDP-glucose + Ppi

وبعض النيوكليوتيدات السكرية لا تتكون مباشرة ولكن من خلال تحوير السكر في النيوكليوتيد مثل:

Dehydrogenase

NAD+ UDP-glucose ⟶ UDP-galactose

Decarboxylase

UDP-glucuronic acid ⟶ UDP-xylose

أما المالتوز فيأيض من خلال GTP بدل UTP

Pyrophosphate

Mannose-1-P + GTP ⟶ GDP-mannose + Ppi

ويمكن تحوير GDP-mannose الى GDP-rhamnose وFucose.

الخطوة التالية في تكوين السكريات المعقدة تتضمن Trannsglycosylase لنقل جزء Glycosyl الى المستقبل. أما المستقبلات فهي دكسترينات مثل Cellodextrin أو Chitodextrin واحيانا تستخدم قطع الجدار لتسريع الضم.

وفي تخليق الكايتين تنقل UDP-N-acetylglucosamine اما الى ChitodextrinأوN-acetylglucosamine.

إنزيمات Chitinsynthatase تكون جسيمية حيث تسمى الأجسام الكايتينية (Chitinosomes) والتي تعمل كحزام ناقل للأنزيم الى موقع بناء الجدار الخلوي على سطح الخيط الفطري. الجسم الكايتيني يحتوي على Zymogen الذي ترجع له الفعالية الإنزيمية، وهذا لا ينشط إلا عندما يتعرض لتأثير الإنزيمات المحللة للبروتين التي توجد على سطح الخلية. أما الإنزيمات الأخرى المشتركة في بناء

الجدار الخلوي فتوجد في حويصلات مشابهة لتلك الموجودة في أطـراف الخيـوط الفطرية ونقاط تكوين فروع الخيوط الفطرية. هذه الحويصلات تكون اكبـر مـن الأجسام الكايتينية وربما تحتويها. وتحتوي هذه الحويصلات على الإنزيمات الملينة للجدار مثل Glucanase وCellulase وغيرها. ويبدو أن هذه الحويصلات تتكون في أجسام كولجي وتتراكم في أطراف الخيوط الفطرية وتلتحم مع الغشاء البلازمي في منطقة طرف الخيط الفطري مفرغة محتوياتها في منطقة بناء الجدار.

الفصل الثاني Chapter 2

النمو Growth

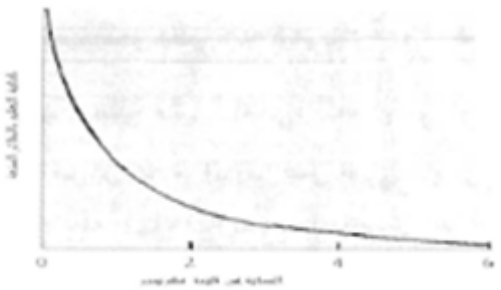
يعرف النمو في معظم الأنظمة البيولوجية على انه الزيادة المعتمدة على الـزمن في كمية المادة الحية في الخلية أو الكائن الحي. اما في الأحياء الدقيقة فإنه يعـالج على مستوى التعداد الكلي، وهكذا يعرف النمو على أنه الزيادة في عدد الخلايـا أو الكتلة الحيوية للكائن الحي في وحدة الزمن. ثمة جدل حول تعريـف النمـو فـي الفطريات ناشيء من طبيعة النمو الخيطي وتركزه في أطراف الخيـوط الفطريـة ووجود النمو الخميري بشكل خلايا مفردة(Bilgrami & Verma,1980). وحسب Cochrane (1958) فإن النمو يعني زيادة في كتلة أو عدد خلايا الفطر.

في الفطريات الأحادية الخلية مثل الخمائر، النمو يعني زيادة عدد الخلايا نتيجـة الإنقسـام الخيطـي والتبـرعم أو الإنشـطار فـي أنـواع قليلـة منهـا مثـل *Schizosaccharomyces*. اما في الفطريات الخيطية غير المقسـمة كمـا فـي الفطريات الكتريدية والفطريات اللاقحية والبيضية فإنه يتسبب عن الإنقسام الخيطي للنوى وزيادة كتلة السايتوبلازم وتوسع الخيوط الفطرية.

في الفطريات الخيطية المقسمة التي تشمل الفطريات الراقيـة مثـل الفطريـات الناقصة والكيسية والبازيدية يعتمد النمو على الإنقسام الخيطي وتوسع الخلايا.

يبدأ نمو الفطر عند ملامسة الغزل الفطري أو أي من أجزاءه المختلفـة (أبـواغ، خيوط فطرية، أجسام حجرية أو أشكال جذور) لوسط غذائي يحتوي كمية كافية من الرطوبة وتحت مدى واسع نسبياً من درجات الحرارة. ويبدو أن مقداراً مناسباً من

جزيئات الماء التي تدخل خلايا الفطر هي مفتاح عملية النمو. حيث أن ملامسة أبواغ معظم الفطريات للماء تكفي لبدء عملية الإنبات التي تتضمن إنتفاخ البوغ نتيجة إمتصاص كميات وافرة من الماء وتكوين إنبوب إنبات مؤلف من العديد من الخلايا الجديدة، معتمداً على المخزون الغذائي البسيط حيث يتوقف نمو إنبوب الإنبات بعدم توفر المصدر الغذائي. وعليه يتوجب توفر المادة الغذائية أيضاً لبدء عملية النمو. تتضمن عملية النمو قدح جينات مكبوتة وربما كبت بعض الجينات النشطة المسؤولة عن تنشيط الأيض وتكوين DNA وRNA، تنشيط الإنزيمات الموجودة أصلاً وتكوين إنزيمات جديدة، تحفيز التنفس وعمليات النقل عبر الأغشية وحصول العديد من تفاعلات البناء والهدم وبعبارة أخرى تنشيط الأيض (شكل2.1). ونتيجة لذلك ستنتج مواد بروتوبلازمية ومواد عضوية ولاعضوية جديدة تزيد عن حاجة الخلايا لإدامة نشاطها وبالتالي تكوين خلايا جديدة.



شكل 2.1: تضمين مواد الجدار المعلمة بالنضائر المشعة خلال فترة تعريض وجيزة (5 دقائق)

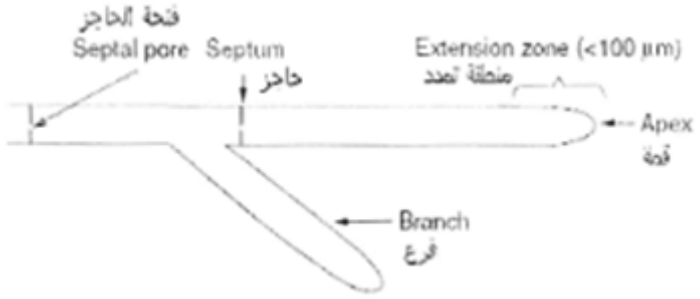
عن: (The University of Edinburgh، Deacon2003 f)

إن الخلايا الجديدة يمكن أن تبقى على صلة تركيبية ووظيفية بالخلايا المولدة لها مؤدية الى زيادة كتلتها وحجمها وتكوين مستعمرة. هذا ما يحصل في الفطريات الخيطية. أو أن الخلايا الجديدة تنفصل عن الخلايا المولدة لها حال إكتمالها مؤدية الى زيادة عددها كما يحصل في الخمائر.

النمو القمي الطولي

Apical Longitudinal Growth

أظهرت تجارب أجريت في بداية القرن العشرين أن نمو الفطريات يحصل في قمة أو طرف الخيط الفطري. فقياسات النمو على مسافات من طرف الخيط الفطري والحاجز الأول الذي يليه والمسافات بين الحواجز المتتالية على الخيط الفطري اظهرت أن الزيادة تحصل في الجزء الطرفي بينما تبقى المسافات الأخرى ثابتة الطول (شكل2.2). وعند تجهيز الغزل الفطري النامي بمركب N-acetylglucosamine موسم بالنظير المشع ^{14}C وهو مصدر تكوين المادة الأساسية في جدران الخلايا الفطرية وهو الكايتين، وجد أن العنصر المشع مضمن فقط في المنطقة الطرفية من الخيوط الفطرية وهي بحدود أقل من 100 مك. هذه التجارب تؤكد حصول النمو في طرف الخيط الفطري وكون النمو مستقطبا يسير بإتجاه طولي(Maheshwari,2005).



شكل 2.2: رسم تخطيطي لطرف الخيط الفطري

عن: (Maheshwari,2005)

تنمو الخيوط الفطرية طوليا إنطلاقا من قممهاالطرفية. ويمكن ان يكون معدل النمو الطولي لطرف الخيط الفطري عاليا جدا حيث يصل الى 40 مك/ دقيقة. هذا النمو يدعم بسيل المواد الغذائية المنقولة إليها من المناطق القديمة للخيط الفطري. وتشير إحدى الدراسات إلى أن متابعة التغيرات

المناطقية في إنتاج البروتينات وجزيئات RNA في الفطر *Neurospora crassa* الى أن المواد اللازمة لنمو قمة الخيط الفطري تأتي من مناطق من الغزل الفطري تبعد 12 ملم عن قمة الخيط الفطري (Watters & Griffiths,2001).

هذا النمط من النمو هو سمة مميزة للفطريات وله أهمية بيئية وإقتصادية كبيرة (Deacon,2003c). وهذا يمكّن الفطريات الخيطية من النمو على مواد معقدة تتمكن من (تخريبها) أو تحليلها بواسطة الإنزيمات المحللة التي تفرزها من أطراف الخيوط الفطرية الى مواد غذائية ابسط قادرة على إستغلالها.

ونظراً لمحدودية إنتشار الإنزيمات الخارجية فإن أطراف الخيوط الفطرية تندفع خارجاً إلى مناطق جديدة غير مستنزفة غذائياً. وهذا يفسر دورها البيئي كأفضل محلل للمواد العضوية ودورها في إمتصاص العناصر المعدنية في حالات الفطر- جذر.

في المقابل نجد أن الخمائر وهي الفطريات غير الخيطية الوحيدة الخلية نادراً ما تمتلك إنزيمات خارجية وغير قادرة على سبر مناطق غذائية بعيدة فهي متكيفة على الإستغلال السريع للمواد الغذائية الذائبة في الوسط.

وتتمكن أطراف الخيوط الفطرية للعديد من الفطريات إختراق جدران الخلايا النباتية وكيوتكل الحشرات جاعلة الفطريات مسببات مرضية هامة للنباتات والحشرات كما أنها مفسخات رئيسة لمواد قوية كالأخشاب (Deacon,2003c).

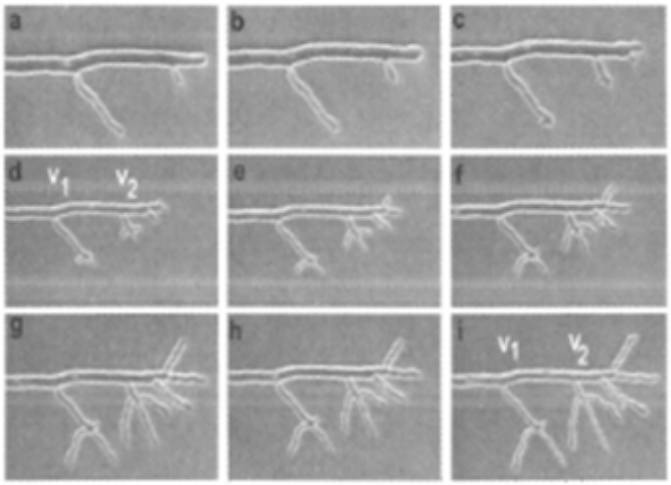
الفطريات هي الكائنات الحقيقية النواة الوحيدة غير محدودة النمو متى ما أستمر توفر المواد الغذائية والمكان والظروف البيئية الملائمة وحسب (Maheshwari,2005) يمكن القول أن الفطريات كائنات حية " لا تموت ".

تفرع الخيوط الفطرية

Branching of Hyphae

تنمو الخيوط الفطرية كمحور أساسي احادي التفـرع (Monopodial) بينمـا التفرع الثنائي الشعبة يحصل في أنواع قليلة فقط. تنشأ الفروع بعد مسافة معينة من طرف الخيط الفطري وخلف الحاجز العرضي. الفروع تكون أحادية في الخيـوط الفطرية الخضرية وفي حالات قليلة في التراكيب التكاثرية يمكن أن تكون متجمعة (أكثر من فرع قرب نقطة واحدة). ينمو الخيط الفطري بمعدل أُسّي إلى حد أقصى معين عن طريق إمتداد قمته وهذا النمو الطولي يسمى بـالنمو القمـي (Apical Growth). يتبع النمو الأسي بنمو خطي مع تكوين الخيط الفطري الرائد للأفـرع الجانبية. ينمو الفرع الجانبي أُسّياً إلى حدٍ أقصى معين ثم ينمو خطياً مع تكوينه هو أيضا لأفرع ثانوية وهكذا. تتكون الفروع على جوانب متبادلة من الخيط الفطـري المركزي أو الرائد. وجميع الفروع تتكون بطريقة معكوسـة (Acropetal) أي أن الفروع الأحدث تكون الأقرب إلى القمة (شكل2.3).

في المراحل الأولى للنمو حيث المواد الغذائية وافرة يكون الغزل الفطري غيـر متميز. وهكذا ستنمو المستعمرة عرضياً نحو الخارج حيث الوسط الغذائي الجديـد مكونةً فروعاً جديدة من أجل إستغلال الوسط. ومن أجل تنسيق نمو الخيوط الفطرية بإتجاه الوسط الجديد، تظهر العديد من الفطريات ما يعـرف بالإسـتقطاب الـذاتي السلبي (Negative Autotropism) حيث يتم تعديل إتجاه نمو الخـيط الفطـري نحو الوسط غير المستعمر. هذه الظاهرة تتوضح خصوصاً في المنـاطق القليلـة الكثافة بالخيوط



شكل 2.3: الخيوط الفطرية للفطر *Neurospora crassa* في حافة المستعمرة تحت غطاء الشريحة. تم تصوير 9 لقطات خلال ساعة واحدة من وضع الغطاء. (a) الخيط الفطري ينمو طبيعيا مع بروز فرعين خلف القمة الطرفية، (b و c) بعد وضع الغطاء تبدأ أطراف الخيوط بالانتفاخ نتيجة التشويش الذي احدثه وضع الغطاء ثم تتفرع بإستمرار من الأطراف؛ لاحظ: 1. أن وضع الغطاء سبب تغيرا فوريا في سلوك الخيوط الفطرية حيث التفرع في قمة الخيط وليس خلفه كما يحدث طبيعيا 2. حصول تشوه في نمو الخيط الفطري بشكل غير منتظم ربما بسبب قلة الأوكسجين تحت الغطاء (3) حصول تصلب سريع للجدار خلف منطقة القمة وهذا يتوضح ببقاء المسافة بين 1 و2 ثابتة في اللقطتين d و i

عن: (Deacon2003 f ،The University of Edinburgh)

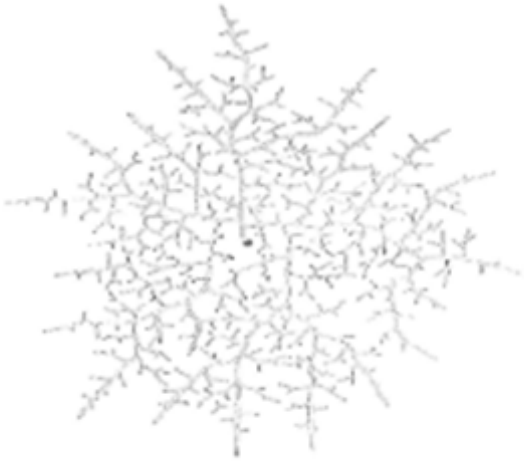
الفطرية في حافة المستعمرة. ويعتقد أن الخيط الفطري يتحسس وجود الخيط الفطري المجاور من خلال إستنفاذ الأوكسجين حوله وإرتفاع تركيز ثاني أوكسيد الكاربون أو وجود أيضات مفرزة (شكل2.4).

النمو الطولي للخيوط الفطرية وطبيعة التفرع وظاهرة الإستقطاب الذاتي السلبي ستجعل نمو المستعمرة الفطرية يتخذ شكلا دائريا وهو ما ينسجم مع حاجة المستعمرة الفطرية في إكتشاف مناطق غذائية جديدة(شكل2.5).



شكل 2.4: تحسس الخيط الفطري لوجود خيط فطري مجاور وترتيب نموه من خلال الإستقطاب الذاتي (Autotropism)

مرسوم عن: (Robson,1999)

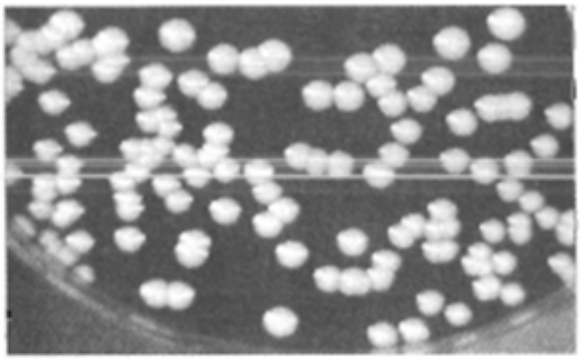


شكل 2.5: غزل فطري ناشيء من إنبات بوغ مفرد (النقطة الداكنة) وتفرع الخيوط الفطرية التي تضم 388 فرعا وهذا الرقم يتضاعف كل ساعة تقريباً.

عن: (Kendrick,2002)

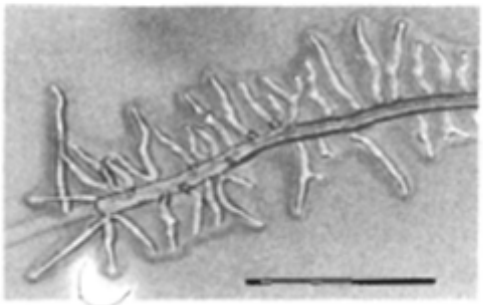
مع إستنفاذ المواد الغذائية وتراكم المواد الأيضية في مركز المستعمرة، تحفز عملية تكوين الأبواغ. وهكذا ستكون للمستعمرة منطقة نمو نشطة بعمر فسلجي حديث في حافة المستعمرة ومنطقة غزل فطري مكون للأبواغ بعمر فسلجي أقدم في مركز المستعمرة.إن تركز النمو في أطراف الخيوط الفطرية يمكن الفطريات الخيطية من النمو المتسع على الوسط حيث يكون معدل النمو أسرع من معدل

إنتشار المواد الغذائية في الوسط على عكس الأحيـاء الدقيقـة الأحاديـة الخليـة كالخمائر والبكتريا التي يكون معدل إتساع مستعمراتها اقل من معدل إنتشار المواد الغذائية وبذلك تكون أقطار مستعمراتها محدودة مقارنة باقطار المستعمرات الفطرية (شكل2.6).



شكل 2.6: مستعمرات الخميرة كل واحدة تحتوي على 10^7 خلية نامية من خلايا مفردة تم نشرها على الوسط الزرعي الصلب
عن: (Culbertson,2000)

سلوك الخيوط الفطرية القديمة التي تقطع نهاياتها الطرفية تعتمـد علـى مـدى الضرر الذي يصيب باقي المستعمرة. فإذا ما حصل ذلك لعددٍ قليلٍ مـن الخيـوط الفطرية لا يحصل تأثير منظور. الخيوط الفطرية المقطوعة النهاية لا تشفى بينمـا يستمر نمو الخيوط الفطرية السليمة. أما إذا قطعت معظم الخيوط الفطرية القائـدة فإن العديد منها يظهر تفرعاً عالياً وهذا يتم في منطقة تمتد من 50 إلى 150 مـك من الحاجز العرضي المغلق (Water & Griffiths,2001) (شكل2.7).



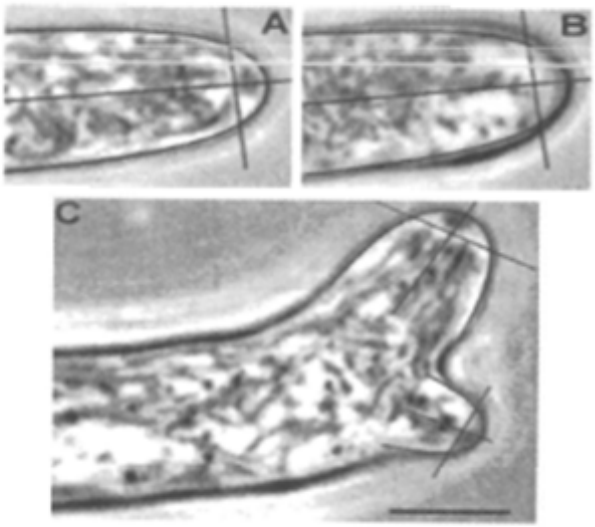
شكل 2.7: التفرع الكثيف لخيط فطري مقطوع الطرف (Tipless Hypha) من الجهة اليسرى حيث يلاحظ إنهيار الخيط الفطري (يسار) الخط = 100 مك
عن: (Water & Griffiths,2001)

وحسب Katz *et al* (1972) فإن تراكم واحد أو اكثر من المواد المصدرية للنمو في قمة الخيط الفطري وعندما يصبح معدل تجهيز الحويصلات أعلى من معدل إستغلالها في البناء تتحفز عملية تكوين الفروع.

ذكر (Akiyama *et al.*,2005) أن الستريكولاكتونات (Strigolactones) الطبيعية: 5-deoxy-strigol وSorgolactone وStrigol والمركب المشابه GR24 وبتراكيز واطئة جدا تحفز تفرع سريع وفعال للخيوط الفطرية لفطر المايكورايزا *Gigaspora margarita*.

كما تلعب جزيئات Strigolactones دور المحفز القوي والسريع للتفرع في فطر المايكورايزا *Gigaspora rosea* وفي تراكيز ضئيلة (10^{-13}مول) كما تفعل هذه المواد تأثيرات مماثلة في تفرع الخيط الفطري لفطريات مايكورايزا أخرى وتحفز إنبات بذور النباتات الطفيلية *Striga* و*Orobanche*. خلال ساعة واحدة من المعاملة زادت كثافة الميتاكوندريا في الخلايا الفطرية المعاملة وتغير شكلها وحركتها على نحو كبير(Besserer *et al.*,2006). واظهرت الأبحاث الحديثة ان هذه المواد، إضافة الى تأثيراتها المذكورة، تعتبر مجموعة جديدة من الهرمونات تنظم نمو الأجزاء الهوائية للنبات(Yoneyama *et al.*,2009).

يبين التنظيم فوق المجهري للخيوط الفطرية أن نهايات الخيوط الفطرية تمتلك عدداً قليلاً جداً من العضيات الخلوية، لكنها في المقابل تحتوي على جسم قمي (Apical Body) أو ما يعرف بالألمانية بجسم سبزنكوربر (Spitzenkörper) يتألف من مجموعة من الحويصلات الغشائية مطمورة في شبكة من خويطات الأكتين الدقيقة. إن لجسم Spitzenkörper الذي أكتشف سنة 1924 صلة وثيقة بإستطالة الخيط الفطري والنمو، فهو يوجد دائماً في الخيط الفطري النامي.



شكل 2.8: مظهر طرف الخيط الفطري وموقع جسم سبزنكوربر خلال التفرع القمي لطافر *Aspergillus niger* للفطر *ramosa-1*. (A) المظهر الطبيعي لطرف الخيط الفطري قبل ثانية واحدة من إنكماش السايتوبلازم. (B) طرف الخيط الفطري مكبر بعد 90 ثانية. (C) التفرع القمي بعد 424 ثانية من إنكماش السايتوبلازم. المخطط البياني يظهر جسم سبزنكوربر في (A) و(C) وغيابه في (B)

عن: (Reynaga-Peña *et al.*,1997)

ويختفي عند توقف النمو ثم يعاود الظهور بعد إستعادة النمو كما يتغير موقعه في قمة الخيط الفطري الى الأمام أو الخلف عند تغير إتجاه الخيط الفطري (Deacon,2003f; Reynaga-Pena *et al.*,1997 ;Cole,1986) (شكل2.8).

حسب (Webster & Weber,2007) يظهر هذا التركيب الخلوي في الخيوط الفطرية للفطريات الكيسية والبازيدية لكنه لا يكون واضحا في الفطريات اللاقحية والبيضية. ويمكن مشاهدة الجسم القمي في الخيوط الفطرية النامية حتى تحت المجهر الضوئي.

قدم Reynaga-Pena *et al.*(1997) فرضية أن جسم Spitzenkörper يلعب دوراً رئيساً في التشكل المظهري للخيط الفطري من خلال عمله كمركز مصدري للحويصلات (Vesicle Source Center) وتنظيم مرور الحويصلات البانية للجدار الخلوي. وحسب (Maheshwari,2005) فإنه يجهز طرف الخيط الفطري بمواد الجدار وما أن يفرغ محتوياته حتى يتكون جسم جديد. وهكذا فهو يقوم بتجميع وتفريغ الحويصلات المحتوية على مواد بناءالجدار وهذا يفسر الظاهرة النبضية للنمو كما سيتم ذكره لاحقا.

إن توابع جسم Spitzenkörper التي تنفصل عنه وتنتقل الى جدار الخلية الجانبي تسبق عملية تفرع الخيط الفطري. ويبدو أن تثبيت أجسام Spitzenkörper في مواقعها القمية يتم بواسطة التيوبيولينات الدقيقة (Microtubulins) والأكتينات (Actins).

تم دراسة دور جسم سبزنكوربر في التفرع القمي للخيوط الفطرية في طافر الفطر *Aspergillus niger*، *ramosa-1* الحساسة لدرجات الحرارة بإستخدام آلة التصوير الفيديوي. التحول الى درجات الحرارة المقيدة للنمو، أدى الى إنكماش السايتوبلازم وزعزعة جسم سبزنكوربر ومن ثم إختفائه. بعد فترة إنتقالية قصيرة ظهرت أجسام سبزنكوربر جديدة (ليست عن إنقسام الجسم الأصلي) في نقطتي بروز فرعي الخيط الفطري. لوحظ تغيرات في حجم الخلية ومعدل النمو وموقع جسم سبزنكوربر (Reynaga-Peña *et al.*,1997 ; Meyer *et al.*,2009). كما أن أجسام سبزنكوربر تتقدم مع نمو الخيط الفطري وبإتجاهه كما يظهر في الشكل2.9.

في الفطر *Candida albicans* إنقسامات الخلايا تكون غير متناضرة حيث تستورث الخلية الأمية تحت القمية معظم الفراغ الفجوي وتحتجز دورة الخلية في مرحلة G1 بينما الخلية البنوية الطرفية تكتسب معظم سايتوبلازم الخلية وتتقدم عبر مرحلة G1 الى الإنقسام الخيطي التالي في دورة الخلية. تبعا لذلك سيتأخر تفرع خلية الخيط الفطري لحين تخليق كمية كافية من السايتوبلازم من اجل تنفيذ امر " البداية " في G1. هذا ما أوضحته ثمان طافرات متأثرة في مراحل مختلفة من مسار وراثة الفجوة. تحت ظروف كابحة، طافرات *vac7* و*vac8* و *fab1* كونت خلايا غزل فطري متناضرة اكثر من حيث توزع الفجوات وزيادة تكرارية التفرع. بينما أدى كبح جينات *VAC1* ، *VAM2* و *VAM3* الى قلة التفرع مع تكوين فجوات كبيرة وتوسع حجم الخلايا. لذلك خلال النمو الخيطي للفطر *C. albicans* يمكن أن لا يتم ربط دورة الخلية والنمو وتكوين الفروع وهذا يؤدي الى صرف السايتوبلازم في دعم تمدد الخيط الفطري على حساب تفرعه حيث ان وراثة الفجوة تنظم حجم الخلية وتكرارية تفرع الخيط الفطري (Veses *et al*.,2009).



شكل 2.9: مخطط التصوير الفيدوي لمسار أجسام سبزنكوربر في الخيط الفطري للفطر *Trichoderma viride* اخذت خلال 9 دقائق

عن: (Maheshwari,2005)

مما تقدم يمكن الإستنتاج ان تفرع الخيوط الفطرية شانه شان العمليات الفسلجية الأخرى يخضع لتأثر عمل الجينات والظروف البيئية بما فيها بعض المحفزات

الكيميائية والميكانيكية. تترافق عملية التفرع مع تغيرات خلوية بما فيها حركة السايتوبلازم وجسم Spitzenkörper وكثافة الميتاكوندريا ومراحل دورة الخلية.

تفرع الخيط الفطري يظهر سيادة قمية (Apical Dominance) حيث يتم تثبيط الأفرع الثانوية على مقربة من طرف الخيط الفطري. يمكن أن يلعب الكالسيوم دورا إشاريا لكن (Semighini & Harris,2008) أظهرا دور أنواع الأوكسجين الفعالة (ROS) وتراكمها في قمة الخيط الفطري للفطر *Aspergillus nidulans* كآلية تعمل في هذا الإطار. فقد بينوا أن ROS يتراكم في قمم الخيوط الفطرية نتيجة نشاط NADPH oxidase (Nox) وتلعب البروتينات المنظمة NoxR و Rac1 و Cdc42 دورا في تنظيم تراكم Nox وحصول السيادة القمية.

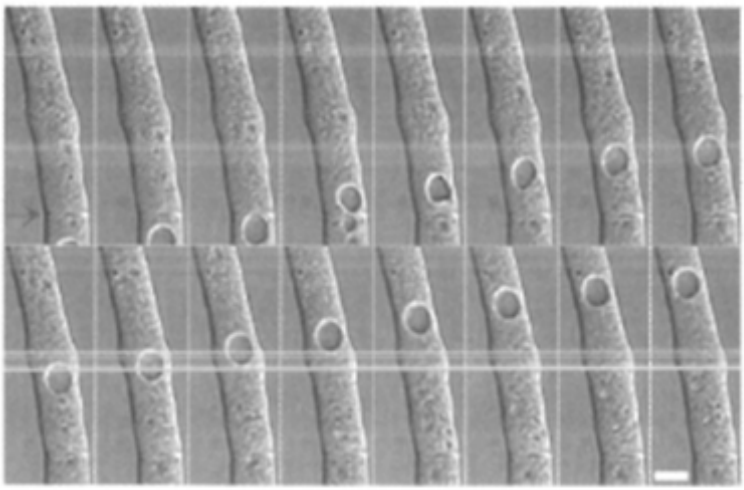
النمو في طرف الخيط الفطري

Growth in the Hyphal Apex

جدار الخلية في منطقة طرف الخيط الفطري يكون مرناً بحيث يستجيب لضغط الإمتلاء الداخلي. ولكن بعيداً عن هذه المنطقة يصبح الجدار قوياً بحيث يقاوم ضغط الإمتلاء. وهكذا سيمتد الجدار في طرف الخيط الفطري كونه الأضعف حيث يلعب ضغط الإمتلاء (يساوي حوالي 4 – 5 بار (Lew,2005) دور المحرك لتمدد الخيط الفطري بطريقة مشابهة لنفخ الزجاج. يتصاحب نمو الخيط الفطري بتجهيز سيل من الحويصلات التي تنشأ في السايتوبلازم خلف طرف الخيط الفطري. وهذه الحويصلات تنبثق عن الشبكة البلازمية الداخلية وتعالج في أجسام كولجي ثم تدفع نحو طرف الخيط الفطري. الى جانب ذلك، يلعب الجريان البلازمي في الخيط الفطري الذي يتحرك بسرعة 5 مك / ثانية وباتجاه القمة في حافة المستعمرة، دورا في تحريك عضيات الخلية ودفع قمة الخيط الفطري الى الأمام (شكل 2.10).

من خلال صور المجهر الإلكتروني أمكن التعرف على مجموعتين من الحويصلات: مجموعة حويصلات صغيرة تتراوح أقطارها بين 20 الى 80 ن م

ومجموعة حويصلات كبيرة تتراوح أقطارها بين 80 الى 200 ن م. ومع ان محتويات



شكل 2.10: الجريان البلازمي مستدل عليه هنا بحركة الفجوة (ويمكن ان يقاس بحقن قطرة زيت) عبر فتحة الحاجز في الخيط الفطري. السهم يشير الى في العمود الأول (أعلى يسار) الى الحاجز والذي تجتازه الفجوة في العمود 4 وتستمر بالحركة في الصور التالية علما أن الصورة تلتقط كل 0.5 ثانية. الخط = 10 مك

عن: (Lew,2005)

الحويصلات تختلف حسب نوعها إلا أنه يعتقد أنها تحتوي على الإنزيمات المشتركة في بناء الجدار والإنزيمات المشتركة في تحليل الجدار وعلى منشطات الإنزيمات وبوليمرات مسبقة التجهيز تدخل في بناء الجدار مثل المانوبروتينات علماً أن معظم مواد الجدار تخلق موقعياً في القمة.

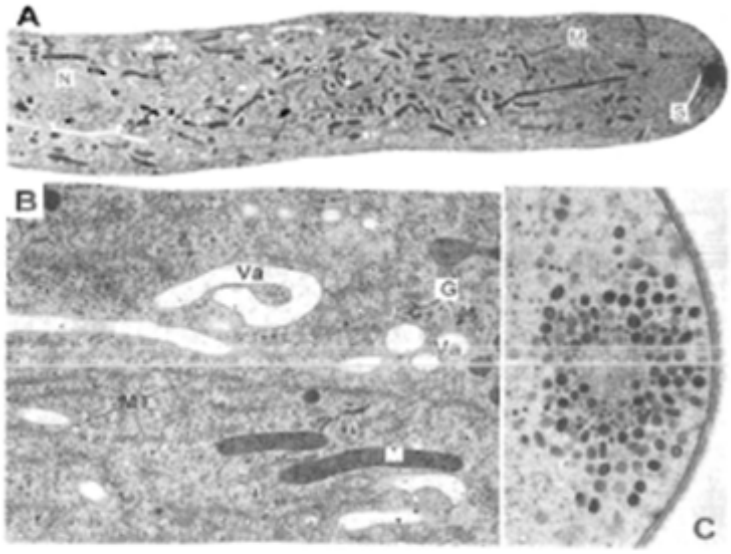
إن تليين الجدار في قمة الخيط الفطري بواسطة الإنزيمات المحللة للجدار ونشوء ضغط امتلاء متزايد نتيجة ضخ المواد الذائبة والماء من الخلايا التحتية هما العاملان اللذان يجبران قمة الخيط الفطري على الإندفاع إلى الأمام. بعد ذلك تقوم الإنزيمات المشتركة في بناء الجدار Chitin synthase و Glucan synthaseبالتقوية المستمرة للجدران المضعفة التي كانت سابقاً في قمة الخيط

الفطري النامي. حسب (Webster & Weber,2007) لا يقوى الجدار إلا بعد ربط اللبيفات المتكونة بأواصر عرضية. هذه الأواصر تتألف من جزيئات الكلوكان الكثيرة التفرع خصوصا تلك المتكونة من بوليمر الكلوكوز المرتبطة باواصر ß-1,3 و ß-1,6 والتي توفر الشكل الشبكي للجدار. على العكس من ذلك، تعمل الكلوكونات المتفرعة وغير المتفرعة المؤلفة من بوليمر كلوكوز مرتبطة بأواصر α-1.3 و/ أو α-1,4 كمواد بينية مالئة في الجدار.

الأجسام الكايتينية (Chitinosomes) تحتوي على شكلٍ غير فعال لإنزيم Chitin synthase لكن هذا الإنزيم ينشط بواسطة إنزيمات Protease. يقوم الإنزيم Chitin synthase ببناء سلاسل الكايتين من مركبات N-acetylglucosamine، ثم تؤلف هذه السلاسل لبيفات كايتين دقيقة عن طريق الأواصر الهيدروجينية. يقوم الإنزيم Glucan synthase بعد تنشيطه بواسطة Guanin triphosphate (GTP) بتخليق كلوكونات ß-1-3 من جزيئات (UDP-glucose) Uridindiphosphate –Glucose. وتكتمل عملية تقوية الجدار بعد تركيب الكايتين والكلوكان في الجدار. يحرر إلتحام الحويصلات مع الغشاء البلازمي في قمة الخيط الفطري آليات التخليق الحيوي لبناء الجدار ويضيف أيضاً غشاء بلازمي جديد للخيط الفطري النامي. وهكذا يكون تكوين الجدار والغشاء البلازمي متلازمي التنظيم (شكل2.11 و2.12).

تعمل هذه الحويصلات أيضاً كناقل للإنزيمات الخارجية والتي تقوم بتحليل المواد الغذائية المعقدة. لقد تم تخمين عدد الحويصلات الواجب التحامها مع الغشاء البلازمي في حالة الفطر *Neurospora crassa* لغرض معدل إستطالة أقصى قدره 25 مك/دقيقة بـ 38 000 حويصلة/ دقيقة. وبإستخدام المجهر الفيديوي وبقوى تكبير عالية تبين أن إستطالة قمة الخيط الفطري ليست ثابتة وإنما تتم

بنبضات دورية. إن طول النبضة يختلف بإختلاف نوع الفطر ويتراوح بين 2 الى 15 ثانية(Robson,1999).



شكل 2.11: التركيب فوق المجهري للخيوط الفطرية للفطر *Sclerotium rolfsii* المحضرة للمجهر الإلكتروني بطريقة التعويض الإنجمادي. A منطقة حديثة من الخيط الفطري تظهر التغيرات المتواصلة للتركيب الدقيق خلف قمة الخيط الفطري. تحتوي القمة على جسم Spitzenkörper (S) خلفها منطقة غنية بالميتاكوندريا (M، التراكيب الأنبوبية الداكنة) تليها منطقة تحتوي على حويصلات إنبوبية (فاتحة اللون) والنوى (N). B جزء ناضج من الخيط الفطري يظهر الميتاكوندريا (M)، الفجوات (Va)، أجسام كولجي (G أشكال حلقية داكنة) وأنيبيبات دقيقة تنطلق طوليا (MT). C صورة مقربة لجسم Spitzenkörper حيث يظهر تجمع لحويصلات غشائية مختلفة الأحجام والمكونات تحيط بلب مركزي غير حوصلي. غشاء الخلية يظهر كخط رفيع داكن على يمين جسم Spitzenkörperمباشرة وتظهر طبقتي جدار الخلية خارج غشاء الخلية.

عن: (The University of Edinburgh، Roberson & Deacon,2003 f

(Fuller,1998;

كما أن النمو الطولي في الفطريات الخيطية الذي يعتمد على نقل الحويصلات للمواد اللازمة للنمو داخل الخلايا يتم بواسطة التيوبيولينات الدقيقة والهيكل الأكتيني. الجريان الطولي للتيوبيولينات الدقيقة يلعب دورا في الهجرة النووية وإنقسام النواة والخلية وفي حركة الحويصلات وفي عمل أنظمة الفجوات الحركية وموضعة الميتاكوندريا، فكلا التركيبين مطلوبان في نقل المواد الغذائية بين مختلف مناطق الغزل الفطري. وأوضحت تجارب التثبيط أن التيوبيولينات الدقيقة مسؤولة بالأساس عن النقل للمسافات الطويلة بينما الأكتين مسؤول عن النقل للمسافات القصيرة. تثبيط تكوين التيوبيولينات الدقيقة يقلل النمو الطولي ويشجع عملية التفرع للخيوط الفطرية(Tarkka *et al.*,2006). وحسب هؤلاء الباحثين يعتبر الجين *AmTuba1* مؤشر مهم للنمو الطولي الفعال في الفطريات الخيطية ومنها *Amanita muscaria* ولكونه محافظ عليه، تستخدم بروتيناته للمساعدة في تصنيف الفطريات.

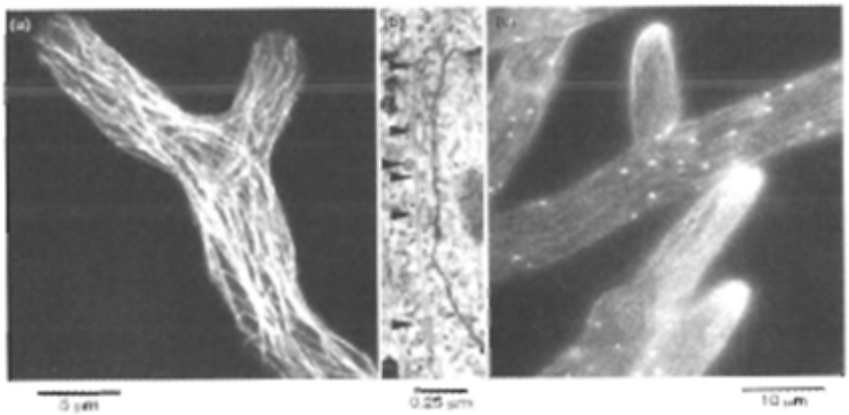


شكل 2.12: مخطط نموذج مبسط لنمو الجدار في طرف الخيط الفطري. تنقل الحويصلات الإنزيمات المكونة للجدار الرئيسة الى الطرف حيث تندمج مع غشاء الخلية كبروتينات الغشاء. وتنقل المانوبروتينات والبروتينات السكرية في الحويصلات من الشبكة البلازمية الداخلية وجهاز كولجي. كما تشترك محفزات ومثبطات الإنزيمات في هذه المنطقة بينما تنتقل المواد الأساس لبناء الجدار من سائل الخلية.

عن: (The University of Edinburgh، Deacon2003 f)

يختلف الهيكل الأكتيني في خلايا الفطريات عما هو في خلايا الحيوانات كون الأول عالي الديناميكية حيث يحصل التركيب والتفكيك إستجابة لحاجات الخلايا المتغيرة. وللهيكل الأكتيني دور أساس في إنتقال وموضعة عضيات الخلية(Maheshwari,2005).

الإستقطاب القمي لا يفسر فقط على أساس عمل أجسام Spitzenkörper حيث أنها غير موجودة في بعض الفطريات وكذلك في إنبوب إنبات حبوب الطلع التي تظهر هي أيضا إستقطابا قميا. الآليات الأخرى تشمل عمل الأنيبيبات الدقيقة (Microtubules) والكاينيسينات (Kinesins) وهي بروتينات ميكانوكيميائية معتمدة على الأنيبيبات الدقيقة وتتحرك بإتجاه النهايات الموجبة للأنيبيبات وهي جزيئات مولدة للقوة والتي يعتقد بقدرتها على نقل عضيات الخلية على طول الأنيبيبات الدقيقة(شكل2.13).



شكل 2.13: الهيكل الخلوي في الفطريات. (a) الأنيبيبات الدقيقة في الفطر البازيدي *Rhizoctonia solani* مصبوغة باجسام مضادة للتيوبيولين.(b) الحويصلات الإفرازية (رؤوس السهام) مترافقة مع أنيبيب دقيق في الفطر الكيسي *Botrytis cinerea*. (c) النظام الأكتيني في الفطر البيضي *Saprolegnia ferax* مصبوغ بالفالويدين – رودامين. لاحظ الأكتين الكثيف في طرف الخيط الفطري النامي.

عن: (Webster & Weber,2007)

الطافرات الفاقدة للكابنيسينات في الفطر *Neurospora crassa* تظهر تشوهات شديدة في التشكل المظهري خاصة إستطالة ومظهر وتفرع الخيط الفطري وفشل الخيوط الفطرية القمية في تكوين أجسام Spitzenkörper ذو الأهمية الكبيرة في الإستطالة والتشكل المظهري للخيوط الفطرية (Bloom & Seiler ; *et al.*,1997 ;Endow,1995).

أقترح Lehmler *et al.*(1997) وجود بروتين حركي (Motor protein) هو Kin2 في الشكل الخيطي للفطر *Ustilago maydis* يسهم في عملية ترتيب منطقة النمو المتخصصة في قمة الخيط الفطري ربما يعمل على توجيه نقل الحويصلات. كذلك تكوّن تدرج لتركيز أيونات Ca^{++} في طرف الخيط الفطري حيث يكون تركيزه الأعلى داخل طرف الخيط الفطري وذلك بمساعدة قنوات Ca^{++} في الغشاء الخلوي. ومن المعروف أن أيونات الكالسيوم تنظم تركيب الهيكل الخلوي وتساعد في التحام الحويصلات مع الأغشية الخلوية (Robson,1999).

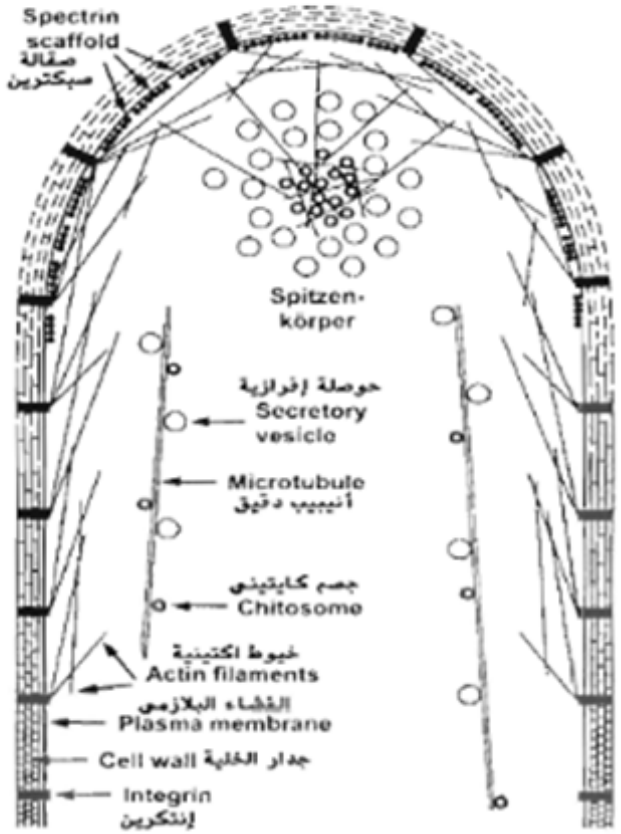
أفترض Heath (1995b) نموذجا لطريقة تنظيم القلنسوة الأكتينية لمعدل تمدد طرف الخيط الفطري في الفطريات البيضية. من المعروف أن قنوات تنشط بالتمدد إنتخابية لأيونات Ca^{++} تتركز في الغشاء البلازمي لطرف الخيط الفطري لفطريات *Saprolegnia*. ومن المعروف أيضا أن أيونات Ca^{++} تسبب تقلص الخيوط الأكتينية. الغشاء البلازمي المتمدد يسمح لأيونات Ca^{++} بالدخول الى السايتوبلازم القمي مسببة تقلصات موضعية في القلنسوة الأكتينية وبذلك تقلل معدل النمو القمي الذي يؤدي بدوره الى غلق قنوات أيونات الكالسيوم. يضمحل تركيز أيونات Ca^{++} من خلال نشاط الشبكة البلازمية الداخلية أو الفجوات مؤديا الى زوال تأثيره على القلنسوة الأكتينية مما يسبب تمددها وزوال تأثيرها المحدد للنمو القمي للخيط الفطري. يبدو أن آلية مشابهة تعمل في الفطريات الخيطية والخمائر وكذلك في النباتات (الشعيرات الجذرية) وإنابيب إنبات حبوب الطلع وخلية اشباه الجذور في

الطحلب *Fucus* حيث يوجد تركيز عال من ايونات الكالسيوم في أطراف هذه التراكيب(Maheshwari,2005). وقد أقترح أن الجزيئات الإشارية Inositol-(1,4,5)-trisphosphate (IP3) المحررة من Phospholipase C المنشطة بالتمدد في غشاء الخلية لطرف الخيط الفطري تعمل على الحوصلات الغنية بأيونات الكالسيوم في منطقة جسم Spitzenkörper مؤدية الى تحرير أيونات الكالسيوم ما يؤدي الى تقلص الصفالة القمية. ثم ينخفض مستوى أيونات الكالسيوم كما يحصل في الفطريات البيضية مسببا إنطلاق النمو. وهكذا يبدو ان السيطرة على النمو الطولي تتم من خلال الفعل المتعاكس والمتبادل بين الكايتين والأنيبيبات الدقيقة حيث أن لإستقطابية الأول تؤدي الى تمدد غير مسيطر عليه لطرف الخيط الفطري ليكوّن كرات عملاقة. بينما لا إستقطابية الأنيبيبات الدقيقة تؤدي الى تخفيض النمو(Webster & Weber,2007) (شكل2.14).

بين Bauer *et al.*(2004a) أن بروتينات مشابهة لبروتينات Ras هي GTPase Rsr1p/Bud1p تتموضع في قمة الخيط الفطري وتكون مسؤولة عن الإستقطاب القمي للهيكل الأكتيني المحدد لإتجاه النمو في الفطر *Ashbya gossypii*.

النمو عملية عالية التنظيم وتتأثر بعوامل عدة من بينها الضوء، درجة الحرارة، تغير الأزموزية، القوة الأيونية للوسط وكذلك الضغط. كما يتصاحب النمو بالإنقسام النووي وتكوين الجدران العرضية.

الجزء القمي من الخيط الفطري غالبا ما يكون متعدد النوى، أحياناً يضم أكثر من 50 نواة، وذلك بسبب الإنقسامات الخيطية المتكررة للنواة بموجة متزامنة تبدأ عند القمة وتتحرك الى الخلف بإتجاه الحاجز الأول. الإنقسام الخيطي سريعٌ جداً حيث يستغرق 4 دقائق مع إستمرار الخيط الفطري بالنمو الى الأمام. غير أن النمو غير المتميز لا يستمر الى ما لا نهاية.



شكل 2.14: رسم تخطيطي لنموذج الصقالة الداخلية لنمو طرف الخيط الفطري كما أفترضه Heath (1995b). تنقل الحوصلات الفرازية والأجسام الكايتينية على طول الأنيبيبات الدقيقة من مواقع تخليقها تحت القمية الى القمة النامية. ينشأ جسم Spitzenkörper حول تجمع من خيوط الأكتين. في النهاية القصوى لقمة الخيط الفطري ترتبط صقالة الأكتين بجزيئات الأنتكرين بمايشبه البرشام والتي تكون ممسكة بجدار الخلية الصلب تحت القمة. كما تثبت قمة الخيط الفطري أكثر بواسطة جزيئات السبكترين المبطنة لسطح السايتوبلازم للغشاء البلازمي

عن: (Weber & Pitt,2001 – In: Webster & Weber,2007)

إفراز الإنزيمات المحللة والجريان الخلوي

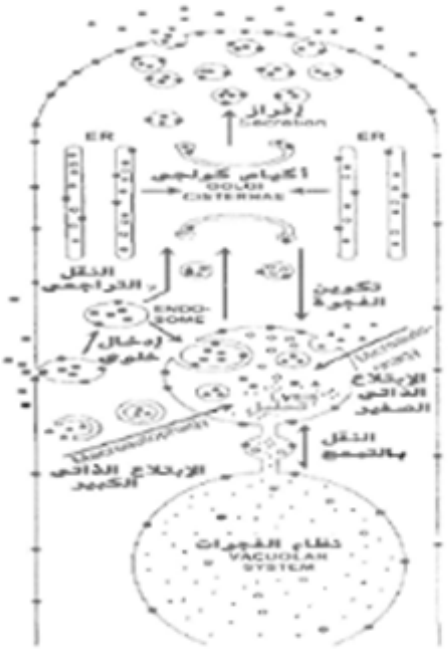
Secreation of Hydrolytic Enzymes and Cellular Flwo

أغلب المواد العضوية التي تمثل مصدر المواد الغذائية للفطريات في الطبيعة تكون معقدة وبشكل جزيئات أو كتل جزيئية ضخمة غير قابلة للنفاذ الى داخل الخلايا الفطرية من اجل إستغلالها. لذلك لابد من إخراج الإنزيمات المحللة من داخل الخلايا الى خارجها. هذا يتم عند طرف الخيط الفطري أو القمة النامية حيث يحصل النمو ايضا. ويقدر الباحثين أن بعض الفطريات يمكن ان تفرز الى الوسط الزرعي السائل 20 غم من الإنزيمات / لتر خلال بضعة ايام تحت الظروف الملائمة للنمو. لكن التجارب أظهرت أن الفطريات لا تفرز بنفس المعدل الى الخارج البروتينات الناتجة عن جينات غريبة منقولة إليها.

تقوم الرايبوسومات المتصلة أصلا بأغشية أنيبيبات الشبكة البلازمية الداخلية بتفريغ البيتيدات المتعددة (البروتينات) التي تكونها لتدخل الى داخل هذه الأنيبيبات إلا إذا كانت تحمل إشارة تمنعها من ذلك. خلال حركتها داخل الأنيبيبات يتم ربط البروتينات بسكريات مضاعفة من خلال أحماض أمينية معينة وخلال مسيرتها تتعرض لسلسلة تحويرات بإتجاه جهاز كولجي مباشرة أو عبر حوامل حوصلية علما ان جهاز كولجي في الفطريات الخيطية يكون مختزلا حيث يتألف من كيس مفرد بينما يكون جيد التكوين ويتألف من عدة أكياس مصفوفة مع حويصلات في الخمائر والفطريات البيضية والأحياء الحقيقية النواة الأخرى.

يتم إعادة تدوير الدهون الغشائية من جهاز كولجي الى الشبكة البلازمية الداخلية عبر الأنيبيبات. أما البروتينات فتتعرض لتحويرات إضافية وتفصل البروتينات التي يكون مستقرها الفجوات عن تلك التي يتم إفرازها. يتم النقل عبر الحويصلات حيث تنتقل الحويصلات الإفرازية على طول الأنيبيبات الدقيقة لتصل الى القمة النامية للخيط الفطري ليتم تفريغها الى الخارج.

الإدخال الخلوي (Endocytosis) يعمل في الخلايا الفطرية كما في خلايا معظم الأحياءالحقيقية النواة. بواسطة هذه الآلية التي تحصل من خلال الإنبعاج الـــداخلي لغشاء الخلية قرب القمة النامية يتم إسترجاع المواد التي تزيد عن حاجات النمـــو. يتم نقل هذه المواد الى الفجوات. وتخزن في الفجوات الكبيرة نواتج التحلل الـــذاتي أو الإبتلاع الخلوي الذاتي (Autophagocytosis) حيث تفكـــك وتحلـــل بعـــض مكونات الخلية خصوصا في حالات التجويع. ترتبط الفجـــوات المتقاربـــة للخليـــة الفطرية مع بعضها من خلال أنابيب غشائية يمكن أن تمتد عبر الحواجز العرضية تساعد على



شكل 2.15: مخطط ملخص لمسارات إنسياب الجزيئات عبر الغشاء في الخيط الفطري النامي. بروتينات مفرزة (•)، بروتينات داخل الفجوة (○)، بروتينات مرتبطة بالغشاء (*)، مواد مدخلة الى الخلية (■)، مواد مبتلعة ذاتيا(▲)، نواتج التحليل في الفجوة (•)

عن: (Webster & Weber,2007)

نقل المواد من خلال الحركة التمعجية ولمسافات قد تكون كبيرة مثلما يحصل في نقل الخيوط الفطرية في فطريات المايكورايزا للماء والعناصر المعدنية لمسافات طويلة(Webster & Weber,2007) (شكل2.15).

مناطق النمو (Growth Znes)

يمكن تمييز 4 مناطق نمو في المستعمرة الفطرية إبتداء من محيطها الخارجي:

1- منطقة التمدد (Extension zone): حيث تمتد الخيوط الفطرية الى الوسط الغذائي الجديد. التفرع ينحو لأن يشكل زاوية قائمة ويكون أحادي الشعبة. تترتب الفروع بشكل يمكّن من الإستغلال الأكفأ للوسط الغذائي دون تزاحمها كما أشرنا سابقا.

2- المنطقة المنتجة (Productive Zone): وتحصل فيها الزيادة الرئيسة بالكتلة الحيوية، ويتكون الغزل الفطري الهوائي وتتشخن الخيوط الفطرية.

3- المنطقة المثمرة (Fruiting Zone): تتوقف الزيادة في الكتلة الحيوية، وتتكون الأبواغ. إن هذا يماثل طور الركود في المزرعة المعزولة.

4- منطقة التعمير (Ageing Zone): ظهور الخيوط الفطرية كثيرة الفجوات أو الفارغة وحصول التحلل الذاتي. وهذا يماثل طور الإنحدار في المزرعة المعزولة (Cann,2004).

نمو الخمائر
Growth of Yeasts

النمو في الخمائر يرادف التكاثر كون الخمائر تتألف من خلايا مفردة كما هو الحال في أغلب البكتريا. أغلب الخمائر هي فطريات كيسية أو بازيدية. مع ان اغلب

الخمائر تتكاثر بواسطة التبرعم إلا أن بعضها يتكاثر بواسطة الإنشطار أو بتكوين الكونيدات، كما أن للتبرعم اشكال مختلفة كما هو معروض في جدول 2.1.

بعض الخمائر مثل *Saccharomyces cereviae* يمكن ان تتكاثر بطريقة لاجنسية وجنسية. توجد الخلايا الخضرية الأحادية التضاعف للخميرة *S. cereviae* بطرازين تزاوجيين *a* و α. يحصل التزاوج بين الخلايا التابعة لطرز تزاوجية متقابلة. الخلايا الخضرية من أي من الطرازين التزاوجيين والخلايا الثنائية التضاعف تتكاثر خضريا عن طريق التبرعم. عند حصول ظروف بيئية غير ملائمة للنمو الخضري كقلة الموارد النتروجينية يحص الإنقسام الإختزالي وتتكون الأبواغ الكيسية التي ستنعزل فيها العوامل الوراثية بما فيها محددات التوافق الجنسي (شكل2.16).

تبرعم الخميرة

Budding of Yeast

يمكن ملاحظة نمط التبرعم في الخميرة *Saccharomyces cereviae* بواسطة الصبغ بالصبغة المومضة Calcofluor من خلال إرتباطها بالكايتين الموجود في جدار الخلية والذي يتركز في منطقة أثر البرعم حيث يظهر مومضا (شكل20.17). في كل دورة إنقسام تختار الخلية موقع البرعم الجديد بنمط مكاني مميز. الخلايا الأحادية التضاعف من الطرازين التزاوجيين *a* أو α تختار النمط المحوري (Axial Pattern) حيث تتبرعم الخلية الأم والخلايا البنوية من نقاط مجاورة لأثر البرعم المتصل بالخلية الأم. أما الخلايا الثنائية التضاعف من كلا الطرازين التزاوجيين التزاوجيين فتختار نمط التبرعم الثنائي القطب (Bipolar Pattern) حيث تتبرعم الخلية الأم أما بجوار أثر البرعم للخلية البنوية الأخيرة أو في القطب المقابل له. لكن الخلية البنوية تتبرعم دائما من القطب المقابل للخلية الأم.

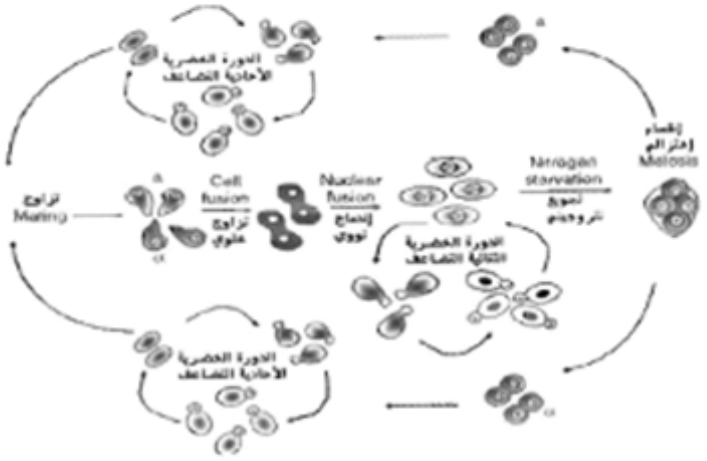
ثمة 5 جينات تتحكم في إختيار موقع التبرعم وهـي *BUD1* و*BUD2* و*BUD3* و*BUD4* و*BUD5*. الجينات *BUD1* و*BUD2* و*BUD5* مطلوبة من أجل تحديد موقع التبرعم الصحيح للخلايا الأحادية والثنائية التضاعف. بينما الجينين *BUD3* و*BUD4* مطلوبين في الخلايا الاحادية التضاعف فقط. كما تم تحديد جينات أخرى ذات علاقة في إختيار موقع التبرعم في الخلايا من نوعي التضاعف.

آلية تحديد موقع التبرعم تتم بعملية من خطـوتين: أولا تقـوم الخليـة بمكاملـة المعلومات المكانية الداخلية لتحديد موقع النمو للبرعم الجديـد. هـذه المؤشـرات توفرها البروتينات الباقية في موقع البرعم السابق بين الإنقسام الخلوي والذي يليه. هذه البروتينات تشمل *BUD3* و*BUD4* و*BUD10*. بعد أن يتحدد الموقع، الخطوة التالية تشمل توجيه البـروتين *BUD1* الـرابط لـ GTP ومنظميـه *BUD2* و*BUD5* الى الموقع الذي حدد سلفا بواسطة *BUD3* و*BUD4* و*BUD10* حيث يتم التنشيط الموضعي للبروتين *BUD1*. البروتين *BUD1* المنشط ينشط بـدوره *CDC42* موضعيا من خلال تفاعل GTP مع عامل المبادلة *CDC24*. البروتين *CDC42* المنشط يحفز إعادة تنظيم الهيكل الخلوي الأكتيني عن طريق تنظيم نشاط البروتينات الرابطة للأكتين. ونتيجة لإستقطاب الخلية، تقوم ماكنة البروتينات الناقلة بتوفير مكونات تخليق الأغشية والجدار الخلوي في موقع البرعم النـامي. إختيـار موقع البرعم في الخلايا الثنائية التضاعف يتم بواسـطة مجموعـة مختلفـة مـن البروتينات هي *BUD8* و*BUD9* والتي تحدد أقطاب الخليـة بتوجيـه البـروتين *RAX2p* الذي يبقى في الأقطاب لعدة أجيال ويقوم بتنشيط البـروتين *CDC42p* بواسطة *BUD1p*. في غياب البروتينـات *BUD8* و*BUD9*، يفشـل البـروتين *RAX2p* من التموضع الصحيح جاعلا الخلية الثنائية التضاعف تتبرعم بطريقـة عشوائية(Maheshwari,2005).

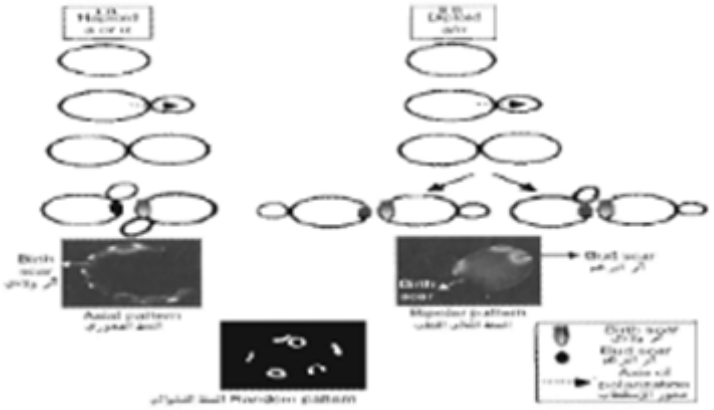
جدول 2.1: انماط التكاثر الخضري في الخمائر

نمط التكاثر	الوصف	أجناس الخمائر
التبرعم المتعدد الجوانب (Multilateral Budding)	البراعم تنشأ من أي نقطة على سطح الخلية الأم. يمكن أن تنشأ سلاسل تفرع نتيجة عدم إنفصال البراعم.	*Saccharomyces, Zygosaccharomyces, Torulaspora, Pichia, Pachysolen, Kluyveromyces, Williopsis, Debaryomyces, Yarrowia, Saccharomycopsis, Lipomyces*
التبرعم الثنائي القطب (Bipolar Budding)	التبرعم يقتصر على قطبي الخلية المتطاولة بموازاة محورها الطولي.	*Nadsonia, Saccharomycodes Haneniaspora, Wickerhamia, Kloeckera*
التبرعم الأحادي الموقع (Unipolar Budding)	التبرعم يتكرر على الموقع نفسه على سطح الخلية الأم.	*Pityrosporum, Trigonopsis*
التبرعم الأحادي القطب (Monopolar budding)	تنشأ البراعم من قطب واحد على سطح الخلية الأم.	*Malassezia*
الإنشطار الثنائي (Binary fission)	تكوين حاجز أو جدار عرضي في الخلية بعد نموها الطولي يقسمها الى خليتين.	*Schizosaccharomyces*
إنشطار البرعم (Bud fission)	يتكون جدار خلية عرضي عريض عند قاعدة البرعم حيث يفصل البرعم عن الخلية الأم.	يحصل أحيانا في *Saccharomycodes, Nadsonia Pityrosporum*
التبرعم السويقي (Budding from stalks)	تتكون البراعم من بروزات أو سويقات طويلة	*Sterigmatomyces*
تكوين الكونيدات المقذوفة (Ballistoconidiogenesi)	تقذف الكونيدات من نموات مدببة على الخلية الأم.	*Bullera, Sporobolomyces*

عن: (Walker&White,2005)



شكل 2.16: دورة حياة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. الخلايا الأحادية والثنائية التضاعف تتكاثر بواسطة التبرعم. تعاني الخلية الثنائية التضاعف ($2n$) إنقساما إختزاليا لتكوّن 4 خلايا أحادية التضاعف (n) ضمن خلية تسمى الكيس
عن: (Maheshwari,2005)



شكل 2.17: تعيين موقع البرعم في *Saccharomyces cerevisiae*. يتصف نمط التبرعم بترتيب آثار البراعم بالنسبة الى برعم الولادة. عند الصبغ بصبغة Calcofluor، تظهر آثار البراعم الولادية غير مصبوغة بينما تصطبغ آثار البراعم وتظهر مومضة. في النمط المحوري آثار البراعم تكون مجاورة دائما لأثر برعم الولادة ولبعضها البعض مكونة خطا مستمرا من الآثار. في التبرعم الثنائي القطب، آثار البراعم تظهر مقابلة الى أثر برعم الولادة وكذلك مجاورة له. في النمط العشوائي، تظهر آثار البراعم متوزعة عشوائيا على سطح الخلية
عن: (Maheshwari,2005)

طرق قياس النمو الفطري

(Methods of Fungal Growth Measurment)

ثمة طرق متعددة لقياس النمو في الفطريات تعتمد على طبيعة نمو الفطر مـا إذا كان خيطيا أو خميريا وكذلك ترتبط بالغرض من القياس. لقياس نمو الخميرة تتبع بعـض الطـرق المسـتخدمة لقيـاس نمـو البكتيريـا كالعـد الكلـي (Total Count) أو العد الحي (Viable Count) أو قياس العكورة (Turbidity) المستندة إلى قياس الوزن الجاف وهي الطريقة الأكثر إستخداما.

الوزن الجاف (Dry Weight)

تعتمد هذه الطريقة مبدأ أن النمو يعبر عنه بتراكم كمي لمواد الخلية. وتتم بقياس الوزن الجاف للنمو الفطري بعد فترة حضانة على الوسط الغذائي السائل.

يتم الحصول على الوزن الجاف من خلال تعريض النمو للحرارة بدرجة 100 مْ لمدة ساعتين أو في 60 مْ لمدة 24 ساعة.

وبإستخدام مكررات يقاس وزنها الجاف على فترات حضانة مختلفة يمكن إيجاد النمو النوعي للفطر كما يلي:

معدل النمو النوعي u = التغير في الوزن الجاف dm/التغير بالزمن dt أي أن

$dt / dm = \mu$ يمكن حساب معدل النمو النوعي الأقصى μ_{max} لكتلة النمـو الخيطي للفطر أو أعداد خلايا الخميرة في مرحلة النمو اللوغارتمي حيث تتضاعف أعداد كتلة النمو او اعداد الخلايا لوغارتميا(Walker & White,2005).

$dx / dt = \mu_{max}x$ حيث أن x = الكتلة الخلوية او عدد الخلايا.

بإجراء التكامل تصبح المعادلة:

$\ln x - \ln x_0 = \mu_{max} t$ حيث أن x_0 = الكتلة الخلوية او عدد الخلايا الإبتدائية. أو:

$x = x_0 e^{(\mu max t)}$ وهي المعادلة الأسية الأساسية لنمو الدفعة (Batch Growth). بناء عليه عند رسم قيم $\ln x$ على الزمن نحصل على خط مستقيم ميله يساوي μ_{max}.

يمكن حساب زمن التضاعف (t_d) لعدد خلايا الخميرة او النمو للفطر الخيطي من خلال معرفة μ_{max} كما يلي:

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu_{max}} = \frac{0.693}{\mu_{max}}$$

تعتبر هذه الطريقة الأكثر مباشرة لقياس النمو مقارنة بالطرق الأخرى.

القياس المجهري (Microscopic Assay)

تتم بقياس نمو أطراف الخيوط الفطرية ومعدل التفرع للغزل الفطري تحت المجهر. وفيها يتم قياس وحدة نمو الخيط الفطري G والتي هي معدل طول الخيط الفطري (مك) المطلوب لدعم نمو طرف الخيط الفطري (حيث تحصل الزيادة الفعلية في الطول).

نمو الخيط الفطري G = مجموع اطراف الخيوط الفطرية/ الطول الكلي للغزل الفطري. إن G في معظم الفطريات تشمل الخلية الطرفية زائداً 2 الى 3 من الخلايا التالية لها. وهذه النسبة تزداد أسياً من وقت الإنبات ثم تستقر لتعطي قيمة ثابتة للسلالة الواحدة تحت أي مجموعة من الظروف البيئية. ويمكن تحديد طول الخيوط الفطرية اللازم لدعم النمو القمي بالضبط من خلال تجارب قطع في حافة المزرعة. وهذه تعرف بمنطقة النمو المحيطية ω وهي منطقة الغزل الفطري خلف قمة الخيط الفطري واللازمة لدعم أقصى نمو لطرف الخيط الفطري. إن هذه المنطقة تسمح بالتوسع القطري بمعدل يساوي معدل النمو النوعي للخلايا المفردة في المزرعة السائلة.

معدل إمتداد الخيط الفطري E هو دالة لوحدة نمو الخيط الفطري G ومعدل النمو النوعي (u/ساعة).

معدل إمتداد الخيط الفطري E (مك/ساعة) = نمو الخيط الفطري (G) X معدل النمو النوعي(u).

معدل الإمتداد القطري Kr هو دالة لمنطقة النمو المحيطية ω ومعدل النمو النوعي u Kr = ω u (Cann,2004؛ Robson,1999).

إن هذه الطريقة هي الأكثر دقة في التعبير عن النمو إلا أنها اكثر صعوبة مقارنة بالطرق الأخرى.

النمو القطري للمستعمرة (Radial Growth)

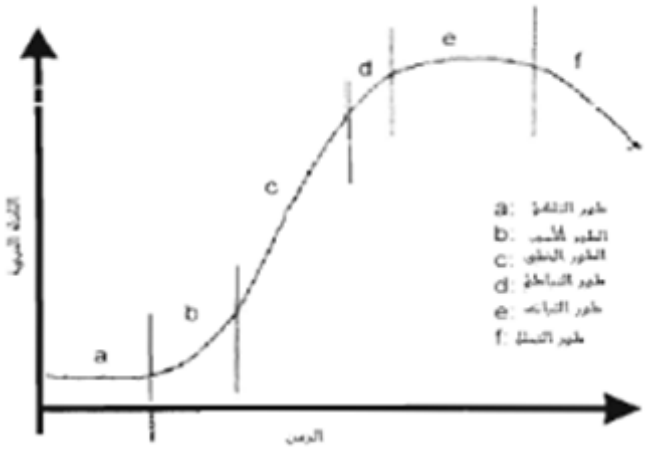
وفيها يتم قياس قطر المستعمرة النامية على الوسط الغذائي الصلب على أوقات مختلفة من الحضانة في درجة الحرارة المناسبة. إن هذه الطريقة وإن كانت أقل مباشرة من طريقة قياس الوزن الجاف إلا أن سهولتها وقلة الأخطاء مقارنة بالطرق الأخرى جعلتها واسعة الإستخدام. كما توجد طرق غير مباشرة أخرى كقياس النشاط الأيضي وقياس بعض المكونات الفطرية وغيرها.

منحنى النمو (Growth Curve)

منحني نمو الخمائر مشابه لمنحنى نمو البكتريا بسبب التركيب الجسمي الوحيد الخلية في الحالتين حيث تقوم كل خلية بعمليات الإمتصاص والنمو والإنقسام بصورة مستقلة. وعليه يظهر منحنى النمو كما في الشكل (2.18).

يبدأ النمو بمرحلة التلكؤ أو التكيف (Lag Phase) حيث لايحصل نمو منظور فيها بسبب الوقت المطلوب لتكوين إنزيمات مستحثة بمكونات الوسط وتنشيط إنزيمات أخرى. ويختلف طول هذه الفترة حسب نوع الفطر وكمية الخلايا والظروف البيئية

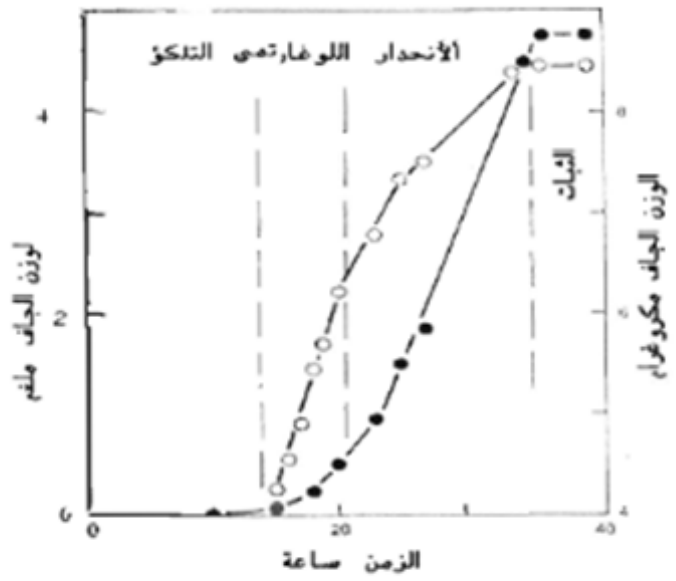
وظروف المزرعة المصدرية. ثم مرحلة التعجيل حيث يبدأ إنقسام الخلايا ويزداد ليصل الى مستوى الطور التالي. ومرحلة النمو الأسي أو اللوغارتمي ويتميز بمستوى الإنقسام المتجانس وبأقصى معدل ويترافق بإستهلاك متزايد للعناصر الغذائية وتراكم المواد الأيضية. ثم طور التباطؤ الذي يشهد إنخفاضاً في معدل الإنقسام بسبب الإنخفاض الشديد في مستويات المواد الغذائية وتراكم المواد الأيضية الضارة. وطور الثبات وفيه يتساوى معدل تكوين الخلايا الجديدة مع معدل موت الخلايا القديمة وهكذا يكون معدل عدد الخلايا الحية ثابت تقريباً.



شكل 2.18: منحنى نمو الخميرة
عن: (Cann,2004)

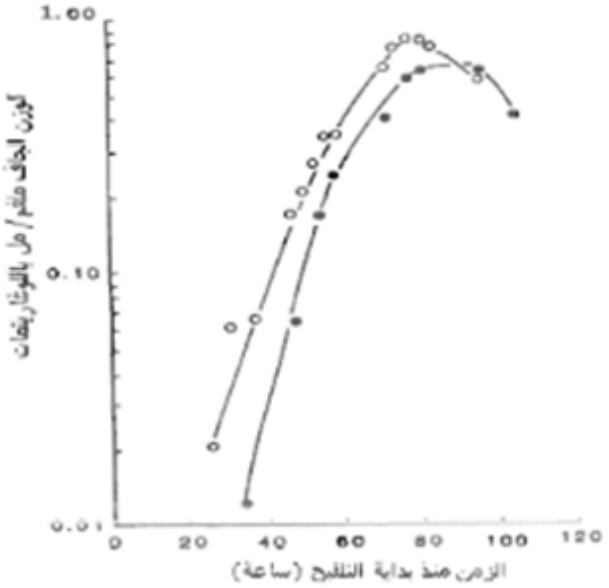
وأخيرا طور الإنحدار أو التحلل ويصبح فيه معدل عدد الخلايا الميتة أكثر بإستمرار من عدد الخلايا الحية وهنا يمكن أن تستغل الخلايا الحية المتبقية نواتج تحلل الخلايا الميتة كمواد غذائية. أما في حالة الفطريات الخيطية فإن منحنى النمو يمكن أن يكون كذلك لكنه يكون اقل تميزاً في عدد المراحل. والسبب يعود الى طبيعة التكوين الجسمي للفطر الخيطي وهو إعتماد أطراف الخيوط الفطرية التي يحصل فيها النمو على وصول المواد الغذائية من الخلايا البعيدة. أي أن اطراف الخيوط الفطرية ليست مستقلة كما هو الحال مع البكتريا أو الخمائر.

يمكن أن يظهر منحنى نمو الفطريات الخيطية أربعة مراحل هي: مرحلة التلكؤ وهي مشابهة في طبيعتها لنظيرتها في الخمائر، ثم مرحلة النمو الخطي التي تشهد معدلات النمو العالية ثم مرحلة الإنحدار ومرحلة الثبات كما هو الحال في الخمائر (Cann,2004؛ Robson,1999؛ Hawker,1950). ويبدو من الشكلين 2.19 و2.20 أن منحنى النمو متشابه بشكل عام بين الفطريات الهوائية واللاهوائية.



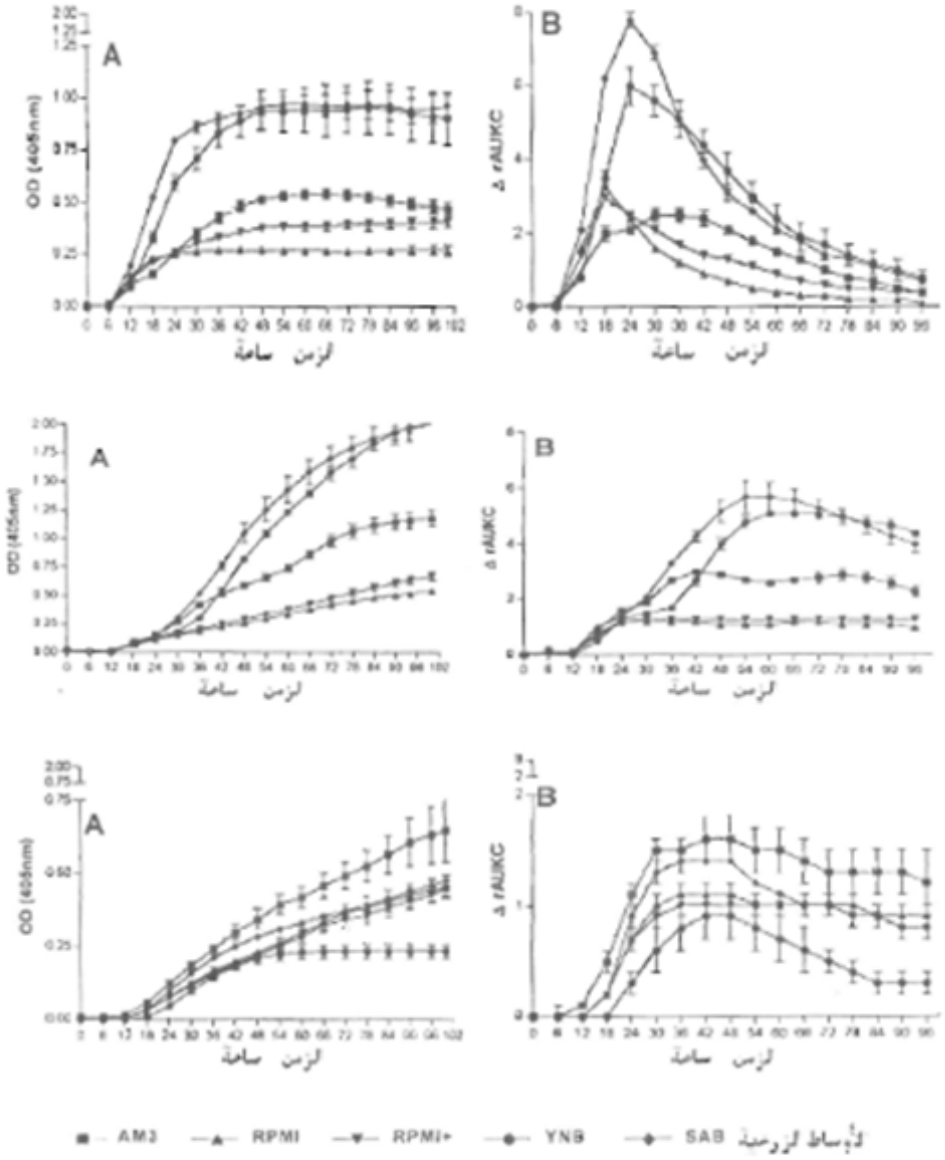
شكل 2.19: نمو الفطر *Aspergillus nidulans* بقيم خطية ● ولوغرتمية ○ وحددت مراحل منحنى النمو المختلفة بواسطة خطوط عمودية.

عن: (Griffin,1981)



شكل 2.20: نمو فطر لاهوائي R1 في سائل معدة الخراف -○- وفي وسط محضر - ●- يحتوي كل منهما 25 مليمول كلوكوز. النمو تحت الظروف اللاهوائية.عن: (Lowe *et al.*,1987)

من ناحية اخرى، يثبّت (Meletiadis *et al.* 2001) خمسة مراحل هي مرحلة التلكؤ ثم المرحلة الإنتقالية الأولى ومرحلة النمو اللوغارتمي والمرحلة الإنتقالية الثانية ومرحلة الثبات مستخدماً ثلاثة أنواع من الفطريات الخيطية هي *Aspergillus fumigatus* و *Rhizopus microsporus* و *Scedosporium prolificans* وعلى خمسة أنواع من الأوساط الزرعية السائلة: RPMI 1640 مع L-glutamine وبدون bicarbonate (RPMI) أو مضافا اليه 2% glucose (RPMI +)، Yeast Nitrogen Base (YNB)، Antibiotic Medium 3 (AM3)، Sabouraud Broth (SAB) معتمداً على قياس الكثافة الضوئية (OD) والمساحة تحت المنحنى الحركي (Area Under Kinetic Curve (AUKC))،



شكل 2.21: منحنى نمو الفطريات *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* (أعلى) و *A. fumigatus* (وسط) و*S. prolificans* (أسفل) على 5 أوساط زرعية مقدرة على اساس قياس الكثافة الضوئية (A) وΔrAUKC (B) الذي يظهر مراحل النمو المختلفة

عن: (Meletiadis *et al.* 2001)

ΔrAUKC تمثل التغير في ميل منحنى النمـــو وتتخـــذ كمؤشـــر لمعـــدل النمـــو (شكل2.21).

مرحلة التلكؤ Lag Phase

على خلاف البكتريا أو الخمائر لا تتضمن هذه المرحلة في الفطريات الخيطية خطوات تحضيرية من أجل الإنقسام وإنما من أجل إستطالة الخيوط الفطرية سواء استخدمت الأبواغ كلقاح حيث يتوجب إنباتها أو قطع الخيوط الفطرية حيث يتوجب تكوين نقاط نمو فعالة من أجل البدء بالنمو. ولبعض العناصر الغذائية في الوسط كالأحماض الأمينية أو مصادر الكاربون وتراكيزها تأثير في تقصير أو إطالة هذه المرحلة، حيث أن تكوين الإنزيمات المستحثة يطيل من مدتها.

مرحلة النمو السريع Logarithmic Phase

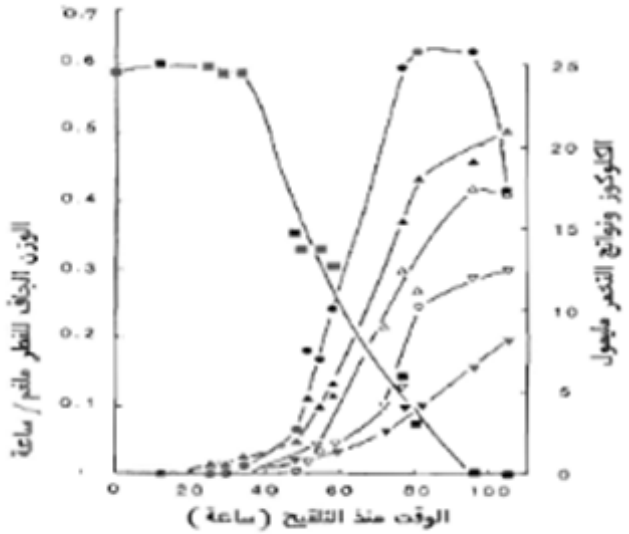
هذه المرحلة التي تستند الى ثابت النمو النوعي u تتأثر كثيراً بالمواد الغذائية المجهزة حيث يختلف مع إختلاف مصادر النتروجين والكربون أو إختلاف تركيزها. ويتأثر معدل النمو بمعدل تكوين مواد جداران الخلايا والتفرع الذي يستدعي تخليقاً تفريقياً لمواد الجدار. وتظهر هذه المرحلة إرتباط محتوى الـــDNA والبروتين مع معدل النمو وليس مع معامل النمو النوعي، بينما تزداد كمية RNA مع زيادة u في الفطريات الخيطية على خلاف الحالة في الخميرة حيث يختلف محتوى البروتين وRNA مع إختلاف معدل النمو.

مرحلة الإنحدار Decline Phase

تشهد هذه المرحلة إنحداراً في معدل النمو بسبب إستهلاك المواد الغذائية و/ أو تراكم النواتج التي تصبح محددة للنمو.

مرحلة الثبات والموت Stationary and Death Phase

المحافظة على حيوية الفطر في هذه المرحلة تتطلب وجود الكلوكوز بمستوى ادنى معين يسمى حصة الديمومة بينما يؤدي الحرمان التام من الكلوكوز (في المزرعة المستمرة) إلى حصول التحلل الذاتي وموت المزرعة. ويلعب نوع مصدر النتروجين دوراً مهماً في عملية التحلل الذاتي، فبينما يصل الفطر *Aspegillus flavus* إلى أدنى وزن جاف خلال 24 يوماً على وسط يحتوي على النترات فإنه يبقى لمدة 100 يوما على وسط يحتوي على الأمونيوم ليصل الى المستوى نفسه. في هذه المرحلة يتم إستهلاك شحوم الغزل الفطري بينما تظهر الكاربوهيدرات الذائبة فيه ثم تختفي مع تقدم التحلل، ويقل المحتوى النتروجيني في الغزل الفطري وتختفي الأحماض الأمينية الذائبة. ولوحظ تنشيط إنزيم Ribonuclease في هذه المرحلة حيث لا يكون فعالا.



شكل 2.22: نمو فطر لاهواتي R1 في وسط محضر سائل يبين
● الوزن الجاف؛ ■ تركيز الكلوكوز؛ ▲ حامض الفورميك؛
Δ حامض الخليك؛ ▽ D(−) حامض اللاكتيك؛ ▼ إيثانول
عن: (Lowe *et al.*,1987)

أثناء النمو ويثبط بمواد الغـزل الفطـري النشـط (Griffin,1981). وحسـب (Walker & White,2005) تعرف مرحلة الثبات بأنها قدرة الفطر على البقـاء لفترات طويلة (أشهر) دون إضافة مواد غذائية. يظهر الشكل2.22 العلاقة بين نمو الفطر وإستهلاك السكر وتكون الحوامض والكحول خلال نمو الفطر في المزرعـة السائلة. إن معدل إستهلاك السكر يزداد مع زيادة النمو ويبلغ أقصاه فـي مرحلـة الثبات ويختفي في مرحلة الإنحدار أوالموت. بينما تزداد الأحماض والكحول مـع زيادة نمو الفطر وتبلغ اقصى معدلاتها في مرحلة الإنحدار أو الموت

التحكم بمنحنى النمو

Control of Growth Curve

لأغراض التقنية الحيوية والصناعية يمكن التحكم في منحنى نمو الأحياء الدقيقة عموما ومنها الفطريات من أجل تحقيق معدلات إنتاج عالية.

تستخدم الفطريات والخمائر في الصناعة من اجل الحصول على الكتلة الحيويـة (خلايا الخمائر أو الخيوط الفطرية للفطريات الخيطية) أو الحصول علـى نـواتج الأيض كالبروتينات والأحماض العضوية، الفيتامينات، المضادات الحيوية الخ.

خلال مرحلة النمو اللوغارتمي، تقـوم الخلايـا بـالأيض الأولـي (Primary Metabolism) من أجل زيادة كتل النمو واعداد الخلايا. الصناعات التي تحتـاج الى الكتلة الحيوية (الخمير الصناعية، البروتين وحيد الخليـة) أو نـواتج الأيـض الأولي تبقي منحنى النمو في مرحلة النمو اللوغارتمي. أما في مرحلة الثبات فـإن الخلايا تتجه نحو الايض الثانوي. وهكذا فإن الصناعات التي تعتمد علـى نـواتج الأيض الثانوي ستبقي منحنى النمو في مرحلة الثبات.

هذا التحكم يتم من خلال السيطرة على أحد العناصر الغذائية الرئيسة المجهزة في وسط النمو(Walker & White,2005).

أشكال النمو الفطري
Forms of Fungal Growth

تنمو الفطريات على المواد الصلبة أو شبه الصلبة سواء في الطبيعة أو على الأوساط الزرعية وسواء كانت خيطية أو خميرية بشكل مستعمرات دائرية تقريبا. مستعمرات الفطريات الخيطية تكون أسرع توسعا وبالتالي أكبر من المستعمرات الخميرية التي تكون طرية أو معجونية بينما مستعمرات الفطريات الخيطية تكون زغبية أو قطنية وشبه جافة وتكون في الغالب مغطات بالأبواغ خصوصا في المركز. على الأوساط السائلة المستقرة تنمو الفطريات الخيطية بشكل مستعمرة أو قشرة تطفو على السطح ويمكن أن تحمل الأبواغ. أما على الوسط الغذائي السائل المعرض للرج المستمر، فإنها تنمو بشكل كتل خيطية منعزلة أو كرات من تجمعات الغزل الفطري، إعتمادا على نوع الفطر وحجم اللقاح ومعدل الرج والمواد الغذائية.

الشكل الآخر للنمو هو تكوين الغشاء الحيوي (Biofilm) على سطوح المواد الصلبة أو على أنسجة العائل بالنسبة الى الفطريات الممرضة. هذا الشكل من النمو يتضمن تجمع الخلايا الخميرية و/ أو الخيوط الفطرية وإحاطتها بمواد متبلمرة خارج خلوية تضمن بقاء الفطر ضد الظروف الطبيعية غير الملائمة للنمو بشكل خلايا حرة وتكون مقاومة للمواد الكيميائية الطارة والأدوية ومنطلقا لتحرير خلايا حرة (طافية) حسب الظروف.

ويمكن تحميل النمو الفطري على مواد خاملة غذائيا وتعريضه لتيار السائل الغذائي حيث يكون الإحتكاك بالمواد الغذائية والتهوية أكثر كفاءة بدل النمو المنتشر في الوسط السائل. كما يتم تشجيع تكوين الفطريات للأغشية الحيوية من خلال نموها على مواد صلبة لما لها من تطبيقات مفيدة في التقنية الحيوية(Walker & White,2005).

موت الخلايا الفطرية
Death of Fungal Cell

في جميع الأحياء ومنها الفطريات تتعرض الخلايا (أو الكائن الحي المتعدد الخلايا) للموت لأسباب خارجية و/ أو داخلية. ولموت الخلايا الفطرية إستخدامات صناعية تشمل الحصول على مواد مخزونة أو ايضات تتحرر من داخل الخلايا بعد موتها أو حفظ المواد الغذائية بسبب موت الخلايا أو قتلها أو إيقاف نمو وقتل خلايا الفطريات الممرضة للإنسان والحيوان والنبات وغيرها. من ناحية أخرى، موت الخلايا يسبب مشاكل للصناعات أو التطبيقات التي تتطلب إستمرار حيوية الخلايا.

الأسباب الخارجية لموت الخلايا تشمل عوامل فيزيائية وكيميائية وأحيائية. أهم العوامل الفيزيائية تشمل درجات الحرارة العالية والمنخفضة جدا، الفولتية العالية، الأشعة المؤينة والضغوط الهيدروليكية والأزموزية العالية. أما أهم العوامل الكيميائية فتشمل المبيدات والمضادات الحيوية الفطرية والسموم وجذور الأوكسجين الفعالة والمعادن الثقيلة والمواد الحافظة للأغذية. العوامل الأحيائية تشمل الإفتراس من قبل الحشرات والأحياء الأخرى، الإصابة بالفايروسات والبكتريا والفطريات المتطفلة أو المثبطة للنمو أو الخمائر القاتلة.

تعرض الفطر لواحد أو أكثر من هذه العوامل يؤدي الى إيقاف نمو الفطر أو موته إعتمادا على نوعية وشدة أو تركيز العامل ومدة التعرض له وفشل الإستجابات الدفاعية للخلايا الفطرية.

العوامل الداخلية أو الذاتية تشمل تراكم المواد الأيضية السامة خصوصا الكحول الأثيلي والأستالديهايد وغيرها. عمليات التحلل الذاتي بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات والكاربوهيدرات نتيجة التعرض لدرجات الحرارة العالية أو غير ذلك من العوامل. العوامل الوراثية التي تنشأ نتيجة تضرر الـ DNA وموت الخلايا المتأثرة لتجنيب إنتشار الأخطاء الوراثية للذرية. كذلك موت الخلايا المبرمج (Programed Cell Death) والشيخوخة(Walker & White,2005)،

الموضوعين الأخيرين سيتم التطرق اليهما بشيء من التفصيل في قسم وراثة الفطريات.

تعمير الفطريات

Longivity of Fungi

عدم وجود النمو في المزرعة الفطرية نتيجة إستهلاك المواد الغذائية وتراكم المواد الأيضية الضارة لا يعني موت جميع خلايا الفطر. فيمكن أن تحافظ العديد من الخلايا على حيويتها لفترات مختلفة حيث تمدها المواد الكاربوهيدراتية (كلايكوجين) والدهون المخزونة بالمواد العضوية المطلوبة لإدامة حيويتها وكذلك وجود بعض آليات التخلص من المواد الضارة يمكن أن تخفف من تأثيرها. والدليل على ذلك هو نمو الفطر عند نقل جزء من المستعمرة القديمة إلى وسط زرعي جديد. وهكذا يمكن ان تبقى معظم الفطريات لبضعة أشهر في المزارع القديمة في درجة حرارة الغرفة. وقد اتبع النقل المتكرر للنمو الفطري كل ثلاثة اشهر مثلاً كوسيلة لإدامة المزارع الفطرية في المختبر. لكن فترة مطاولة الفطريات تختلف بإختلاف نوع أو سلالة الفطر والوسط الزرعي وظروف النمو. فعند خفض درجة الحرارة بحفظ المزرعة في الثلاجة أو تقليل الأوكسجين بتغطية المزرعة بالكليسرول يمكن أن يمد في مطاولة العزل الفطري. فالسلالة الموجبة من الفطر *Rhizopus nigricans* إحتفظت بقدرتها على النمو بعد 5 سنوات من الخزن، بينما السلالة السالبة لم تتمكن من ذلك. وفي الطبيعة يحصل شيء مماثل حيث تتمكن العديد من أنواع الفطريات من البقاء لبضعة أشهر حية في الأنسجة المصابة أو في المواد العضوية والتربة. وعموماً، فإن الخيوط الفطرية أو العزل الفطري هي أقل مكونات الفطر قدرة على المطاولة مقارنة بالتراكيب الفطرية الأخرى مثل الأبواغ أو الأجسام الحجرية. ومع وجود أبواغ قصيرة العمر لا تحتفظ بحيويتها سوى لساعات مثل كونيدات فطريات البياض الدقيقي، إلا أن معظم الأبواغ خاصة الأبواغ الكلاميدية والأبواغ الجنسية تحتفظ بحيويتها لفترات أطول من الخيوط

الفطرية. إن سمك الجدار ونوعيته بوجود صبغات مثل الميلانين مقاومة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية ووجود المواد الكارهة للماء وقلة نسبة الماء في الأبواغ تمكنها من البقاء بمستوى أيضي منخفض لفترات أطول. فالأبواغ الكلاميدية لفطريات التفحم يمكن أن تبقى في ظروف الجفاف لمدة 25 سنة، كذلك أبواغ الفطريات *Rhizopus nigricans* و*Aspergillus* المحفوظة في أنابيب مختومة حفظت لمدة 22 سنة. كما تبقى أبواغ *Penicillium* و*Fusarium* و*Mucor* لمدة 8–10 سنوات(Hawker,1950).

التغيرات المزرعية (Cultural Variations)

الزرع المتكرر للعزلة الفطرية يؤدي إلى نشوء تغيرات مظهرية وفسلجية عديدة كتغير اللون أو طبيعة النمو وتكوين الأبواغ أو فقدان القدرة المرضية وغيرها. وهذه التغيرات يمكن أن تعقد عمل الباحثين مع الفطريات في مختلف المجالات كفسلجة وتصنيف الفطريات وأمراض النبات والفطريات الصناعية والتقنية الحيوية. بعض هذه التغيرات مثل تغير أبعاد الأبواغ كما في حالة الفطر *Botrytis cinerea* يمكن أن تستحث بفعل تغير عوامل البيئة المختلفة ويمكن أن تكون مؤقتة حيث تعود الى صفاتها الأصلية بعد عدد من عمليات النقل على أوساط زرعية جديدة.

وهناك تغيرات غير عكسية تبقى بغض النظر عن تغير الظروف البيئية. ومن العوامل المسببة لمثل هذه التغيرات التهجين (Hybridisation) ويمكن أن تحصل بين العزلات المختلفة للنوع نفسه للفطريات المتباينة الثالوس بل بين عزلات الأنواع المتقاربة. وهناك عامل الطفرات الوراثية التي تحدث نتيجة عوامل فيزيائية أو كيميائية مطفرة. كذلك يمكن أن تنشأ سلالات جديدة نتيجة لتباين النوى (Heterokaryosis) وهي ظاهرة وجود نوى مختلفة وراثياً في الخلية الفطرية

الواحدة والتي تنشأ بطرق مختلفة. تظهر بعض المزارع الفطرية نمواً قطاعياً مختلفاً ضمن المزرعة. يظهر النمو القطاعي أشبه بالمثلث الذي يكون رأسه في أو قرب مركز المزرعة بينما قاعدته العريضة تكون إلى الخارج. ويمكن أن يعزى هذا النمو القطاعي إلى حصول طفرة عندما تكون المزرعة ناشئة من زرع بوغ مفرد أحادي النواة، أحادية المجموعة الكروموسومية. وتعزى إلى تباين النوى والتهجين أو نتيجة نمو المزرعة من مجموعة خيوط فطرية أو مجموعة أبواغ.

عند نقل جزء من الغزل الفطري من المنطقة القطاعية فإنه يكوّن مستعمرة مماثلة للمنطقة القطاعية. ويمكن أن تحصل هذه الحالة نتيجة تنمية الفطر على أوساط تركيبية معينة أو نتيجة المعاملة ببعض المبيدات بتراكيز تحت قاتلة أو بتأثير درجات الحرارة العالية وغيرها (Hawker,1950).

ثمة عوامل وراثية أخرى تؤدي الى شيخوخة النمو الفطري حيث تحصل تغيرات مظهرية تؤدي في النهاية الى موت الفطر. تم دراسة هذا الموضوع في الفطر الكيسي *Podospora anserina* الذي يجسد الظاهرة والذي حضي بإهتمام الباحثين من أجل فهم آلية الشيخوخة في الأحياء ككل. تبين أن ظاهرة الشيخوخة في هذا الفطر تعود الى وجود جينات في الميتاكوندريا. تفاصيل الموضوع في القسم الثاني: وراثة الفطريات.

الإتصالات الخلوية

Celullar Communication

من بين ما يميز الأحياء عن غيرها من الكائنات قدرتها على تنظيم إستجاباتها للمؤثرات الخارجية والداخلية بفعاليات قابلة للتحكم الذاتي نطلق عليها السلوك. السلوك يعني إختيار الأنفع أو النافع وتجنب الضار من الممكنات التي توفرها البيئة أو الظرف البيئي المعين. تفاعل الأحياء مع البيئة المحيطة يجب أن يصب في

المحصلة بإتجاه تعزيز بقاء الكائن الحي. هذا يتطلب بالضرورة إمتلاك مقدرة أصغرية معينة على التفريق والتمييز بين الأشياء والتي تتوسع وتتعمق مع تكرار التجربة والحفظ في الذاكرة بالنسبة للفرد أو النوع وترقى مع التطور على مستوى الأنواع المختلفة. تحسس الأشياء في البيئة يقصد به تحسس المؤثرات الحية (التي تصدر عن كائنات حية) وغير الحية (تصدر عن عوامل البيئة) والتي يستقبلها الكائن الحي كإشارات (Signals).

حسب (Witzany,2010) يتفاعل الكائن الحي مع الإشارات كعلامات (Signs) حسب قواعد تركيبية (جملة Syntax) وقواعد قرينية (ذرائعية Pragmatic) وقواعد خصوصية المحتوى (دلالتية Semantic) والتي لا يمكن إحتزال قواعده بدل الأخرى وبذلك تكون أساسية من أجل تحقيق عمليات إتصال ناجحة. الإتصالات الإشارية للكائن الحي تشمل المؤثرات البيئية غير الحية والإتصالات مع الأحياء المختلفة وضمن النوع أو الأنواع القريبة وكذلك ضمن الكائن الحي نفسه (شكل2.23).



شكل 2.23: مستويات قدرات الإتصالات الأحيائية للبكتريا والفطريات والنباتات عن: (Witzany,2010)

في الفطريات والأحياء الأخرى الإشارات المرسلة أو المستلمة تكون بشكل جزيئات كيميائية أو بالملامسة والإحتكاك الفيزيائي. يتم تفسير الجزيئات الإشارية من أجل تنسيق أنماط السلوك المختلفة مثل طبيعة النمو (خيطي - خميري) ومعدله والتزاوج والإمراضية ومعرفة الذات أو غير الذات، العوامل غير الحية، الرسائل الأحيائية من أفراد النوع نفسه أو الأنواع القريبة أو البعيدة وكذلك الإشارات غير المفهومة " الضوضاء " وهي إشارات فاقدة لمحتوى قابل للتفسير.

يمكن تمييز 5 نظم إشارية في الفطريات:

1. Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) ويكون مسؤولا عن سلامة الخلية، بناء جدار الخلية، الفرمون / التزاوج وتنظيم الأزموزية.
2. نظام Cyclic Adenosine Monophosphate cAMP/PKA وهو مسؤول عن التكشف والضراوة.
3. بروتين RAS وينظم التناغم بين الشلالات الإشارية.
4. Calcium-Calmodulin-Calcineurin مسؤول عن بقاء الخلية تحت ظروف الإجهاد التأكسدي ودرجات الحرارة العالية وتشوش غشاء وجدار الخلية.
5. Rapamycin ويسيطر على نمو وتكاثر الخلية.

يبدو ثمة إتصالات إشارية كهربائية وأيونية بين خلايا الخيوط الفطرية وأنها تكون موضعية ومسيطر عليها جينياً. ويمكن ان تلعب الأشعة فوق البنفسجية وتدرج فرق الجهد الكهربائي للغشاء الخلوي بين الخلايا المتجاورة دور المنظم. وتوفر فتحات الحواجز في الفطريات ما توفره صلات الفراغات (GapJunctions) في الحيوانات والروابط البلازمية(Plasmodesmata) في النباتات والروابط البلازمية الدقيقة (Microplasmodesmata) في السيانوبكتريا في الإتصالات الخلوية.

تكامل الخلايا في تجمع خلوي غير متجانس فسلجياً وتركيبياً يتم من خلال التآثر الخلوي الموضعي بسبب التوزع غير المنتظم للمضخات الأيونية وأنظمة النقل الثانوية في الخلايا الطرفية والقريبة للخيط الفطري. ويحصل التمايز الخلوي خلال عملية نمو الخيط الفطري نتيجة إعادة توزيع الوظائف في مجموعة خلايا طرف الخيط الفطري. تزامن وظائف خلايا الخيط الفطري تظهر حصول عدم تجانس كهروفسلجي خلال نقل إشارات الضوء الأزرق التي تقدح عمليات تمايز الخيط الفطري (Belozerskaya,1997).

وتحصل إتصالات إشارية بين فطر المايكورايزا والنبات العائل في بداية عملية الإصابة. ويبدو أن هذه الإتصالات الخلوية تتم بواسطة مركبات الأيض الثانوي التي من بينها المركبات الفلافينويدية(Vierheilig & Piché,2002).

تلعب الإتصالات الخلوية دورا مهما في عملية تعرف الفطر الممرض على خلايا العائل. ويلعب حامض السلسليك دورا مهما في نقل الإشارات الخلوية في العائل الممتلمة من قبل الفطر (Dorey *et al*.,1997). كما تلعب الإتصالات الخلوية دورا في عمل الممصات التي تكونها الفطريات الممرضة. وتعمل الأوبسينات (Opsins) وبعض البروتينات المرتبطة بها في منظومة تحسس ونقل إشاري خلوي للضوء في الفطريات(Borkovich,2005).

مسارات النقل الإشاري في النمو الخيطي

Signal Transduction Pathway in Filamentous Growth

تظهر الدراسات الجزيئية الحديثة ان الفطريات تتحسس المواد الغذائية كمصادر النتروجين والكاربون مثل الأمونيا والأحماض الأمينية والكلوكوز وغيرها، كما تتحسس الفرمونات خلال التزاوج وكذلك الضوء والغازات كالأوكسجين وثاني أوكسيد الكاربون. وبإعتبار الفطريات من الأحياء الحقيقية النواة ولكون النظم

الإشارية الفعالة فيها هي محافظ عليها حتى في الأحياء الراقية، يصبح أمر دراستها مفيد جدا في فك رموز الظواهر المماثلة في الأحياء الحقيقية النواة الأكثر تعقيدا.

في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تعمل بضع مسارات إشارية في تنظيم النمو الخيطي والتمايز. أحد هذه المسارات البارزة يتضمن مكونات مسار MAPK والتي تنشط إستجابة لوجود الفرمونات والمواد الغذائية. في الخلايا الأحادية التضاعف يقوم مسار MAP kinase بتنظيم الإستجابة للفرمونات خلال التزاوج. أما في الخلايا الثنائية التضاعف، يقوم المسار نفسه بتحفيز النمو الخيطي إستجابة لشحة النتروجين وغيره من الإشارات البيئية. ويعمل مسار نقل إشاري آخر بموازاة مسار MAP kinase في الخميرة *S. cerevisiae* في تحسس العناصر الغذائية. يتضمن المسار مستقبل بروتين G ثلاثي الوحدات غير المتجانسة، Adenylate Cyclase والجزيئات الإشارية Cyclic AMP (cAMP) و Protein Kinase A (PKA) لتنظيم النمو الخيطي الكاذب (Pseudohyphal Growth). ما بعد التيار لـ PKA يوجد بروتينين صغيرين على الأقل هما بروتينين رابطين للـ GTP بسميان Ras1 و Ras2 وينظمان تكوين جزيئات cAMP من خلال تفاعلهما مع Adenylate Cyclase ويقوم Ras2 بتنظيم مسار MAP kinase خلال النمو الخيطي(Calvo *et al*.,2002).

تم تشخيص الجينات المشفرة للبروتينات التي لها القدرة على تنظيم النمو الخيطي في الخميرة *S. cerevisiae* وتشمل: جينات تنشيط النسخ *MCM1* و *MATα2* و *PHD1* و *MSN2* و *SIR4* و *HMS2* وجينات تمامية جدار الخلية *MPT5* و *WSC2* و *MID2* وجينات إستقطابية الخلية *BUD5*.

تحث عوامل النسخ *MCM1* و *MATα2* النمو الإجتياحي بتشجيعها التبرعم الثنائي القطب الخاص بالخلايا الثنائية التضاعف في الخلايا الأحادية التضاعف. تسهم مكونات مسار تمامية جدار الخلية بضمنها بروتينات سطح الخلية Slg1p/Wsc1p و Wsc2p و Mid2p و Slt2p/Mpk1p التابع الى MAPK في مختلف أوجه

إستجابات النمو الخيطي بضمنها إستطالة الخلية وإلتصاق خلية الى خلية وغزو الوسط الغذائي. Mid2p و Wsc2p يحفزان مسار MAPK للنمو الخيطي من خلال الميوسين Msb2p ومكونات شلال MAPK. يسهم مسار النمو الخيطي في تحقيق تمامية جدار الخلية بموازاة مسار تمامية جدار الخلية وفي مقابل مسار إستجابة الكليسرول العالي الأزموزية.

تعمل طبقة ß-1,3-glucan في جدار الخلية على منع إفراز بروتينات اللزوجة مثل Msb2p خارج الخلية وتستبقيه ليساعد في إلتصاق خلية الى خلية وإلتصاق الخلية على سطح الوسط. تفكيك الأواصر ß-1,3-glucan يؤدي الى عوق في هذه الوظائف(Birkaya *et al.*,2009).

في الخميرة المنشطرة *Schizosaccharomyces pombe* يلعب شبيه Ras1 دورا في تنشيط مسار MAP kinase ولكن ليس في تنظيم تكوين جزيئات cAMP. تم دراسة مسارات Protein kinase الإشارية في بعض الفطريات الخيطية الممرضة. ففي فطر التفحم على الذرة *Ustilago maydis* يبدو أن الجزيئات الإشارية cAMP تتحكم بالتحول بين التبرعم والنمو الخيطي. هذا التحول ضروري لقدرة الفطر على إحداث المرض. كما تلعب جزيئات cAMP دورا في تكوين العضو اللاصق في الفطر الممرض على الرز *Magnaporthe grisea* وهو التركيب المطلوب في تحقيق الإصابة. وحدات α أو β لبروتين G تنظم التزاوج والضراوة وتخليق صبغة الميلانين في الفطر الممرض للإنسان *Cryptococcus neoformans*. ويقوم المسار الإشاري بروتينG / cAMP/PKA بربط عملية تكوين الأبواغ مع إنتاج بعض السموم المهمة في فطريات *Aspergillus* spp.

وهكذا يبدو ان مسار بروتين G الإشاري ضروري في تنظيم نمو الفطر وتكوين الأيضات الثانوية وكذلك في تحقيق الإصابة في الفطريات الممرضة(Calvo *et al.*,2002).

التحسس الجمعي في الفطريات
Quorum Sensing in Fungi

تنشأ ظاهرة التحسس الجمعي نتيجة تكوين وتحرير ومن ثم الإستجابة لجزيئات شبه هرمونية أو محفزات ذاتية بعد تراكمها في الحيز المحيط بالكائن الحي المنتج ووصولها الى تركيز معين نتيجة زيادة كثافة الأهلة.

لوحظت هذه الظاهرة أولا في البكتريا حيث تتمكن الخلايا البكتيرية من تقدير كثافة أهلتها (العدد في الحيز أو الوسط) عن طريق جزيئات إشارية تتحسسها. تستخدم البكتريا هذه الآلية لأغراض مختلفة كتحفيز الأهلية الوراثية في البكتريا السالبة لصبغة كرام وتنظيم تكوين الضوء في الضامات البحرية وإنجاح الإمراضية من قبل المسببات المرضية أو الإصابة من قبل البكتريا المتعايشة وتكوين الغشاء الحيوي وغيرها. تم تداول هذا المصطلح سنة 1994، بعد ذلك تبين شيوع هذه الظاهرة في مختلف الأحياء بما فيها الفطريات. تتركز إستجابات التحسس الجمعي المختلفة على التخاطب ما بين الخلايا لتخمين الكثافة الخلوية التي وصلت إليها الأهلة. إستجابة الأحياء المختلفة قد تكون مختلفة ايضا لكنها تتم أما بتحسس أو إستقبال الجزيئة الإشارية أو عدم إستلامها نتيجة عمل عائق إنتشارها(Hogan,2006 ; Sprague Jr. & Winans,2006).

أولى الإشارات الى وجود ظاهرة التحسس الجمعي في الأحياء الحقيقية النواة كانت في الفطر الثنائي المظهر الممرض للإنسان *Histoplasma capsulatum* مسبب مرض النوسجة (Histoplasmosis). فهذا الفطر الذي يوجد بشكل نمو خيطي مكوّن للكونيدات في الطبيعة، سرعان ما تتحول كونيداته الى الشكل الخميري عند إنبائها في رئة المصاب. الخلايا الخميرية تكوّن بعض السكريات المتعددة في جدران خلاياها مثل α-(1,3)-glucan لها اهمية في ضراوة الفطر وتعتمد على كثافة الخلايا وتفقد معظم الخلايا هذا المكون عند تخفيفها بنقلها الى وسط زرعي

جديد. لكنها ستستمر بتكوين هذه المواد عند إضافة محلول من مزرعة للفطر في مرحلة الثبات من منحنى النمو. هذا يعني وجود مادة منتشرة محفزة لتضمين هذه المركبات الضرورية للضراوة ومرتبطة بكثافة الأهلة(Sprague Jr. & Winans,2006). لكن أغلب الدراسات في هذا الموضوع تركزت على الفطر الثنائي المظهر الممرض للإنسان *Candida albicans* مسبب أمراض المبيضات (Candidiasis). فهذا الفطر يتحول من الشكل الخميري الى الشكل الخيطي عن طريق تكوين الخلايا الخميرية في الكثافات الخلوية المنخفضة لبروزات خيطية تسمى انابيب الإنبات لكنها لا تتمكن من ذلك في التراكيز الخلوية العالية.

سواء في البكتريا أو الفطريات، الجزيئات الإشارية المستخدمة في التحسس الجمعي تكون صغيرة، منتشرة وتتراكم خارج الخلايا في الوسط المحيط. هذه الجزيئات تكون على العموم ذات تنوع تركيبي عالي وخصوصية للنوع او السلالة. يحصل تراكم الجزيئات الإشارية خارج الخلايا بوسائل الإنتشار البسيط، المضخات الدافقة والنواقل الخصوصية. عند تراكم هذه الجزيئات في الوسط الى تركيز عالي معين ينشط منظم الإستجابة المناسب داخل خلايا الأهلة مؤديا الى التعبير الجيني المعين. في الوقت الذي ما زالت تفاصيل آلية تحسس الجزيئات الإشارية في الفطريات غير محددة بعد، فهي معروفة في البكتريا وتتضمن عوامل نسخ رابطة للإشارة في السايتوبلازم ومستقبلات على سطح الخلية.

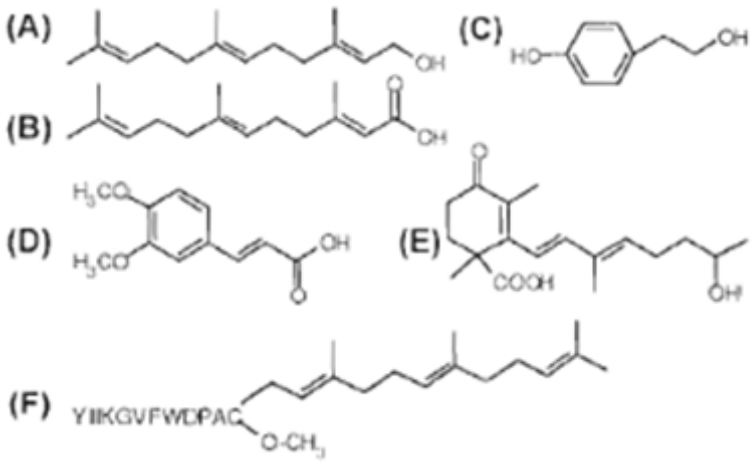
حسب (Hogan,2006) أول ملاحظة للتحسس الجمعي في الفطريات تمت في الفطر *Candida albicans* خلال عملية التحول من الشكل الخميري الى الشكل الخيطي حيث تثبط العملية عند وصول الخلايا الى كثافات عالية وكذلك عند إضافة محاليل مزرعة الفطر السائلة في مرحلة الثبات ما يشير الى وجود مادة ذائبة تتحكم جزئيا على الأقل في هذه العملية. كما يحصل تأثير مماثل مع محاليل من مزارع سلالة الفطر *Candida tropicalis* وليس من *C. laurentii* و *C. parapsilosis*.

محاولات عزل المادة أو المواد المسؤولة عن التحسس الجمعي في الفطر *C. albicans* بدات منذ سنة 1969 وشخصت المادتين Phenylethylalcohol و Tryptophol كونهما يثبطان نمو الفطر في تراكيز 160 و250 مكمول على التوالي، لكن الدراسات اللاحقة بينت انهما غير مسؤولتين عن تثبيط الإنبات (تكوين النمو الخيطي) في محلول مزرعة الفطر. باحثين آخرين سنة 1979 عزلوا مادة ذاتية التنظيم المظهري Morphogenic Autoregulatory Substance (MARS) تثبط الإنبات لكنها لا تثبط نمو الخلايا غير النابتة. سنة 2001 تم تشخيص المادة المسؤولة عن التحسس الجمعي في الفطر *C. albicans* وهي Farnesol وهي فعالة مع العديد من عزلات الفطر في تراكيز 1 – 50 مكمول. هذه المادة تثبط إنبات خلايا الفطر *C. albicans* على الرغم من وجود المواد المحفزة للإنبات Proline، *N*-acetylglucosamine أو مصل جنين العجل (Fetal bovine serum). ينتج الفارنيسول من قبل مزارع الفطر في درجات حرارة 37 – 40 مْ ولا يتأثر بمصدر الكاربون. وتم عزل مادة أخرى اقل فاعلية هي Farnesoic Acid من عزلة أخرى من الفطر *C. albicans*(شكل2.24).

يبدو أن الفارنيسول ينتج من Farnesyl pyrophosphate الذي هو مركب وسطي في تخليق الستيرولات. ومع أن آلية تحسس خلايا الفطر *C. albicans* للفارنيسول غير معروفة بعد، لكن إستخدام مشابهات كيمائية مومضة بينت أنها تتموضع في الأغشية البلازمية والنووية. وإن طافرات *C. albicans* المعاقة في Chk1 histidine kinase والمشابهة الى بروتينات إجهاد الأكسدة Mak2p و Mak3p في الخميرة *Schizosaccharomyces pombe* تكون مقاومة لفعل الفارنيسول في تثبيط الإنبات وتكوين الغشاء الحيوي في الفطر *C. albicans*. كما إن الفارنيسول يثبط شلال mitogen-activated protein (MAP) kinase الذي ينظم النمو الخيطي تحت ظروف شحة المواد الغذائية. الفارنيسول يشجع تكوين الأبواغ الكلاميدية في الفطر *C. albicans* لكنه لا يؤثر على تكوين الخلايا

الخيطية الحاملة لها. ويوفر الفارنيسول بعض الحماية ضد بيروكسيد الهيـــدروجين علما أن ذلك غير مرتبط بزيادة نسخ الجينات المسؤولة عـــن مضـــادات الأكســـدة Superoxide dismutase وCatalase. وجود الفارنيسول يزيد نسخ الجينـــات المسؤولة عن تشفير بروتينات مضخات الدفق *CDR1*و *CDR2* والتي يمكـــن ان تسهم في نقله خارج الخلايا او أنها جزء من آلية الإستجابة للفارنيسول في ظروف المزارع الكثيفة.

يختلف سلوك الفارنيسول عن MARS بالنسبة لثباتها في الـــ pH ما يشير الـــى وجود أكثر من جزيئة إشارية واحدة في عمل التحسس الجمعي فـــي الفطـــر *C. albicans*.



شكل 20.24: الصيغ التركيبية لبعض المواد الإشارية المحفزة للتحسس الجمعي في الفطريات.
(A) farnesol من *C. albicans*، (B) Farnesoic Acid من *C. albicans*، (C) Tyrosol من *C. albicans*، (D) Dimethoxycinnamate من *Uromyces phaseoli*، (E) Trisporic Acid من الفطريات اللاقحية و(F) a-factor من *Saccharomyces cerevisiae*
عن: (Hogan,2006)

ظاهرة التحسس الجمعي لوحظت في فطريات أخرى مثل فطر الصدأ *Uromyces phaseoli* الـذي ينـتج Methyl 3,4-dimethoxycinnamate (شـكل2.24) كمثبط ذاتي لإنبات أبواغ الفطر وتعمل بتراكيز ضئيلة (نانومول) ويزال تأثيرهـا عند التخفيف (الغسل بالماء) أو عندما يكون تركيز الأبواغ منخفض وهـي بـذلك تلعب دورا بيئيا. وفي حالة الفطر الكيسي *Glomerella cingulata* تتكون مادة منتشرة تخفض تكوين الغزل الفطري مع زيادة تكوين الكونيدات في الظروف التي تكون فيها تراكيز الخلايا تزيد عن 10^6 / مل. وحالة مماثلة ملاحظة أيضا في حالة فطر الذبول *Ophiostoma ulmi*. فهذا الفطر ينمو بشكل خلايا خميرية متبرعمة في التراكيز الخلوية العالية وبشكل نمو خيطي في التراكيز الخلوية الواطئة. ثمـة مادة مستخلصة بواسطة Ethyl acetate من راشح الوسـط الزرعـي للمزرعـة القديمة وليس الفارنيسول مسؤولة عن تثبيط النمو الخيطي في التراكيـز الخلويـة العالية. ويمكن تضعيف التحول المظهري في هذا الفطـر عـن طريـق التثبـيط الكيميائي لنشاط Lipoxygenase (LOX) ما يشـير الـى إحتمـال دور الـ oxylipins (تنشأ عن أكسدة أو تحويلات لأحماض دهنية غيـر مشـبعة) فـي التحسس الجمعي في هذا الفطر(Jensen *et al.*,1992).

ثمة جزيئة أخرى هي Tyrosol تنتج في المزارع الكثيفـة لخلايـا الفطـر *C. albicans* ولها دور في تقليل فترة التلكوء للفطر من خلال منع الهبوط المؤقـت للتعبير الجيني المشترك في تضاعف DNA وإنعزال الكروموسومات وتنظيم دورة الخلية التي تحصل طبيعيا عقب تخفيـف وسـط النمـو(Hogan,2006). فمـادة Tyrosol على عكس الفارنيسول، تشجع النمو وتكوين انابيب الإنبات في الكثافات الخلوية المنخفضة.

الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* يمكن أن تتحول مظهريا مـن الشـكل الخميري الى الشكل الخيطي إستجابة الى تغيرات عوامـل البيئـة ومنهـا شـحة النتروجين في وسط النمو وكما أشير الى ذلك سابقا. بين (Chen & Fink,2006)

أن التحسس الجمعي الذي يحكم التحول المظهري في هذه الخميرة ينتج عن تكوين الخميرة وإفرازها للكحولات عطرية Phenylethanol (مشتقة من الحامض الأميني Phenylalanine) وTryptophol (مشتقة من الحامض الأميني Trytophan) تقوم بتحفيز التغير المظهري عن طريق تنشيط التعبير عن الجين *FLO11* (ليتكون البروتين Flo11p على سطح الخلية والمرتبط مع GIP) من خلال آلية تعتمد على Tpk2p وهو مكون مفتاحي في مسار التوصيل الإشاري PKA. الطافرات المعاقة في تخليق هذه الكحولات تظهر نموا خيطيا منخفضا، يمكن ان يوقف جزئيا بإضافة هذه الكحولات. إنتاج هذه الكحولات ينظم بواسطة النتروجين حيث أن تركيز الأمونيا العالي يحددها بكبح التعبير عن مسار تخليقها. بينما مستوى النتروجين المنخفض ينشط هذا المسار.

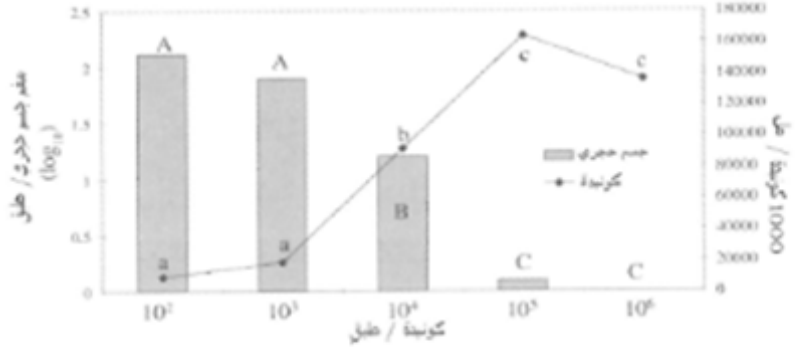
كما أن إنتاج هذه الكحولات يتم التحكم به بواسطة كثافة خلايا الخميرة في وسط النمو وهو معرض للتغذية الإسترجاعية الموجبة التي تتطلب نسخ عامل Aro80p. وهكذا فإن التحسس الجمعي في هذه الخميرةيستجيب لكثافة الخلايا والحالة التغذوية للبيئة. هذه الآلية لا تعمل مع الفطر *Candida albicans* ما يعني أنها خصوصية للنوع.

وبين (Van Dijck,2009) إرتباط التحول من الشكل الخميري الى الخيطي (الخيوط الفطرية الكاذبة) في الخميرة *S. cerevisiae* مع المستقبلات الرابطة لبروتينات G (G protein-coupled receptors (GPCRs)) خصوصا Gpr1 المستقبل المتحسس للكلوكوز/سكروز حيث أنه يحفز مسار cAMP-PKA المهم في هذا التحول وتحمل الإجهاد والإمراضية في الفطريات الممرضة.

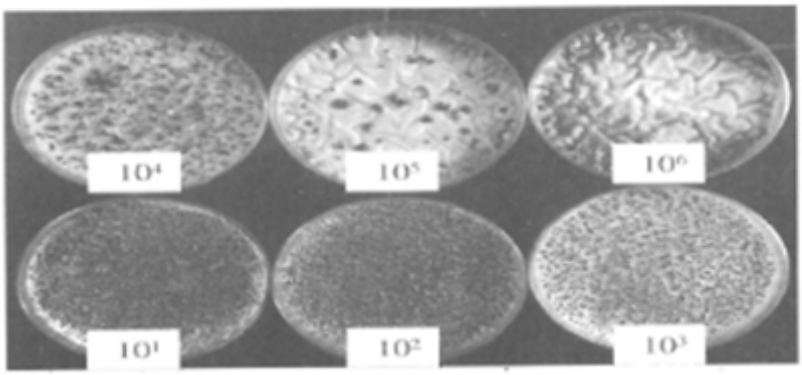
يمكن ان تعمل ظاهرة التحسس الجمعي في التحولات التكاثرية بين الطور الجنسي واللاجنسي أو بين الطور اللاجنسي والطور المقاوم كما في فطريات *Aspergillus*.

الفطر *Aspergillus flavus* يتكاثر لاجنسيا بتكوين كونيدات بإعتبارهـــا وســـيلة الإنتشار الرئيسة وأجسام حجرية مقاومة للظروف غير الملائمة. هاتان العمليتـــان متعاكستان من الخلال التنظيم بآليات تعتمد على كثافة الأهلة، فزيادة كثافة الخلايـــا (من 10^1 الى 10^7 خلية/طبق) تؤدي الى تخفيض أعداد الأجسام الحجرية وزيادة

A



B



شكل 2.25: ظاهرة إعتماد تكوين الأجسام الحجرية والكونيدات على الكثافة الخلوية في الفطر *Aspergillus flavus*. (A) تم توزيع كونيدات الفطر من السلالة البرية NRRL 3357 (بواقع 10^1، 10^2، 10^3، 10^4، 10^5 و10^6 كونيدة/طبق) على اطباق تحتوي على 10 مل من الوسط الزرعي Glucose Minimal Medium زائدا 2 % سوربيتول وحضنت في الظلام في 29 مْ لمدة 7 أيام. قُدر إنتاج الأجسام الحجرية (الأجسام السوداء) على أساس الوزن الجاف/طبق وتكوين الكونيدات قُدر بحساب عدد الكونيدات تحت المجهر. النتائج هي معدل لأربعة مكررات وكررت التجربة ثلاث مرات. الحروف المختلفة (a، b وc للكونيدات وA، B وCللأجسام الحجرية) تشير الى وجود فروقات معنوية(P - 0.05). ثم عرض المعطيات لتراكيز الكونيدات من 10^2 الى 10^6. (B) صور تظهر تاثير كثافة الخلايا على تكوين الأجسام الحجرية بعد أسبوع واحد من الحضانة عن: (Brown *et al.*,2008)

اعداد الكونيدات (شكل2.25). إضافة مستخلص من مزرعة قديمة للفطر قليلة الكثافة الخلوية يحفز تكوين الأجسام الحجرية بينما من مزرعة عالية الكثافة الخلوية يحفز تكوين الكونيدات. كما أن التكشف المعتمد على الكثافة الخلوية يتغير مع تغير وفرة الدهون في الوسط. فإضافة الحامض الدهني Linoleic يزيد من تكوين الأجسام الحجرية في ظروف كثافة خلوية متوسطة (10^4 و10^5 خلية/طبق) في حين يثبط الحامضين الدهنيين Oleic وLinolenic تكوين الأجسام الحجرية. التطفير بالحذف لجين *Aflox* المشفر لإنزيم Lipoxygenase (LOX) يحجم كثيرا التكشف المعتمد على الكثافة الخلوية لتكوين كل من الأجسام الحجرية والكونيدات مؤديا الى زيادة عامة في عدد الأجسام الحجرية وتخفيض في عدد الكونيدات في ظروف المزرعة العالية الكثافة الخلوية (> 10^5 خلية/طبق). الطافرات في الجين *Aflox* تظهر إنخفاض نشاط الإنزيم Linoleic acid LOX. وهكذا يبدو ان آلية التحسس الجمعي في هذا الفطر تعمل من خلال عامل أو عوامل (ربما أيضات مشتقة بواسطة LOX) تنتج في المزارع العالية الكثافة الخلوية تحفز تكوين الكونيدات، بينما ثمة عوامل في المزارع الواطئة الكثافة الخلوية تحفز تكوين الأجسام الحجرية.

في الفطر *A. nidulans* الذي يكون أجسام ثمرية كيسية مغلقة (Cleistothecia) في التكاثر الجنسي وكونيدات في التكاثر اللاجنسي، تلعب الأحماض الدهنية المعروفة بـ Oxylipins أو محفزات الجنس المبكر (Precocious Sexual Inducer)، إختصارا "psi factors" دورا في تنظيم تكشف الأجسام الثمرية الكيسية والكونيدات. يعتقد أن نسب هذه الأحماض الدهنية هي التي تنظم نسب التكشف اللاجنسي الى التكشف الجنسي(Brown *et al.*,2008).

قد يتعدى عمل الجزيئات الإشارية للتحسس الجمعي تاثيرها ضمن الأهلة للنوع ليشمل التاثير على أنواع أخرى أو أحياء اخرى وقد تشترك هذه الجزيئات كما هو الفارنيسول في التضاد وقد تعمل كمضادات حيوية ولبعضها ومنها الفارنيسول تأثير

على الخلايا البشرية والسرطانية(Hogan,2006). إن التغاير في طبيعة الجزيئات الإشارية وفي آليات تحسسها تعكس تكييف أنظمة التحسس الجمعي لأغراض مختلفة(Sprague Jr. & Winans,2006).

الغشاء الحيوي Biofilm

من الظواهر المهمة المعتمدة على التحسس الجمعي في االأحياء الدقيقة هي تكوين الأغشية الحيوية. الغشاء الحيوي هو نمط نمو ينتج عن تقارب شديد لخلايا النوع الواحد من الأحياء الدقيقة أو لأنواع قريبة أو بعيدة بل حتى مع أحياء من ممالك اخرى كالبكتريا والفطريات والطحالب. الهدف من بناء الغشاء الحيوي يتمثل في توفير الحماية من الظروف البيئية (درجات الحرارة المتطرفة والجفاف ومقاومة الإنجراف) والمواد الكيميائية الضارة والأدوية من خلال بناء معماري محكم في طبقات يحاط بمادة بينية متبلمرة خارجية (Exopolymeric Matrix) واقية وتحقيق قدر من النمو يكفل البقاء وإطلاق الخلايا الحرة لغرض مهاجمة بيئات جديدة وكذلك إمتلاك بعض مزايا الكائن الحي المتعدد الخلايا(شكل2.26).

أغلب الدراسات تركزت على الأغشية الحيوية البكتيرية كونها تسبب مشاكل خطيرة في الإصابات البشرية إضافة الى إستخداماتها البيئية. ثمة العديد من الدراسات التي تناولت تركيب الأغشية الحيوية البكتيرية(Beynal *et al*.,2004a ; Renslow *et al*.,2011) وإستخدام الحساسات الدقيقة لقياس فرق الجهد وتراكيز الغازات والايونات والصفات الضوئية(Lewandowski & Beyenal,2003 ; Beyenal *et al*.,2004b ; Mclean *et al*.,2010) وتركيب المادة البينية الخارجية(Cao *et al*.,2011) والغشاء الحيوي في خلايا الوقود الحيوي المعتمد على البكتريا *Shewanella oneidensis*(Dewan *et al*.,2008) ومعالجة البيئة(Yeon *et al*.,2009 ; Cao *et al*.,2010). فيما بعد وخصوصا مع إكتشاف المشاكل الصحية الخطيرة التي تسببها الفطريات الممرضة نتيجة تكوينها للأغشية الحيوية

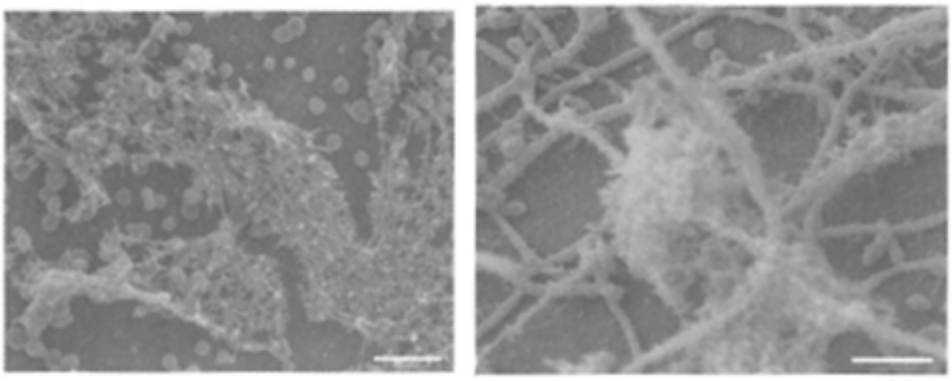
على الأنسجة أو الأدوات والصمامات المزروعة في الجسم وفي البيئة، تم إيلاء إهتمام متزايد بهذا الموضوع.

الغشاء الحيوي يتكون حيثما يوجد الفطر في بيئة سائلة سواء داخل الجسم الحي مثل الفطريات الممرضة *Candida albicans* و *Cryptococcus neoformans* أو خارج الجسم الحي في أحواض وأنابيب تصفية وتعقيم وتوزيع مياه الشرب وفي الخزانات المائية وعلى سطوح الأجسام الصلبة المغمورة الخ.

وحسب (Martinez & Fries,2010) تكوين الغشاء الحيوي يمثل النمط الأكثر شيوعا لنمو الأحياء الدقيقة في الطبيعة. فحوالي 80 % من كل البكتريا في البيئة توجد بشكل مجتمعات أغشية حيوية وإن 65 % من الإصابات المكروبية في الإنسان تتضمن تكوين أغشية حيوية.

من الفطريات الممرضة للإنسان المكونة للغشاء الحيوي *Candida albicans* و *Cryptococcus neoformans* و *Aspergillus fumigatus* و *Fusarium species* و *Pneumocystis species* و *Trichosporon asahii* و *Blastoschizomyces capitatus* و *Malassezia pachydermatis* و *Saccharomyces cerevisiae* و *Coccidioides immitis*. ومن الفطريات الأخرى المكونة للغشاء الحيوي *Acremonium* و *Alternaria* و *Aspergillus flavus* و *A. sulphureus* و *Aureobasidium pullulans* وخميرة النبيذ *Brettanomyces bruxellensis* و *Candida guilliermondii* و *C. parapsilosis* و *Cladosporium* و *Cryptococcus laurentii* و *Dendryphion microsporus* و *Doratomyces stemonitis* و *Gliocladium* و *Mucor racemosus* و *Nectria* و *Paecilomyces* و *Papulaspora* و *Penicillium chrysogenum* و *P. citrinum* و *P. expansum* و *Phoma* و *Rhizoctonia* و *Rhodotorula glutinis* و *R. mucilaginosa* و *Sporotrichum* و *Sporothrix* و *Stachybotrys*

chartarum و *Stysanus stemonites* وفطريات أخرى غير مكونة للأبواغ(Doggett,2000 ; Joseph *et al.*,2007).



شكل 2.26: صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح لغشاء حيوي ناضج (24 ساعة) للفطر *Candida albicans* على صمام في ورید فأر تظهر شبكة من خلايا الخميرة والخيوط الفطرية ومحاطة بكميات من المادة البينية المتبلمرة الخارجية. الخط = 5 مك(يمين) وصورة للغشاء الحيوي (48 ساعة) للفطر *Cryptococcus neoformans* حيث الخلايا محاطة بالمادة البينية الخارجية. الخط = 10 مك
عن: (Martinez & Fries,2010)

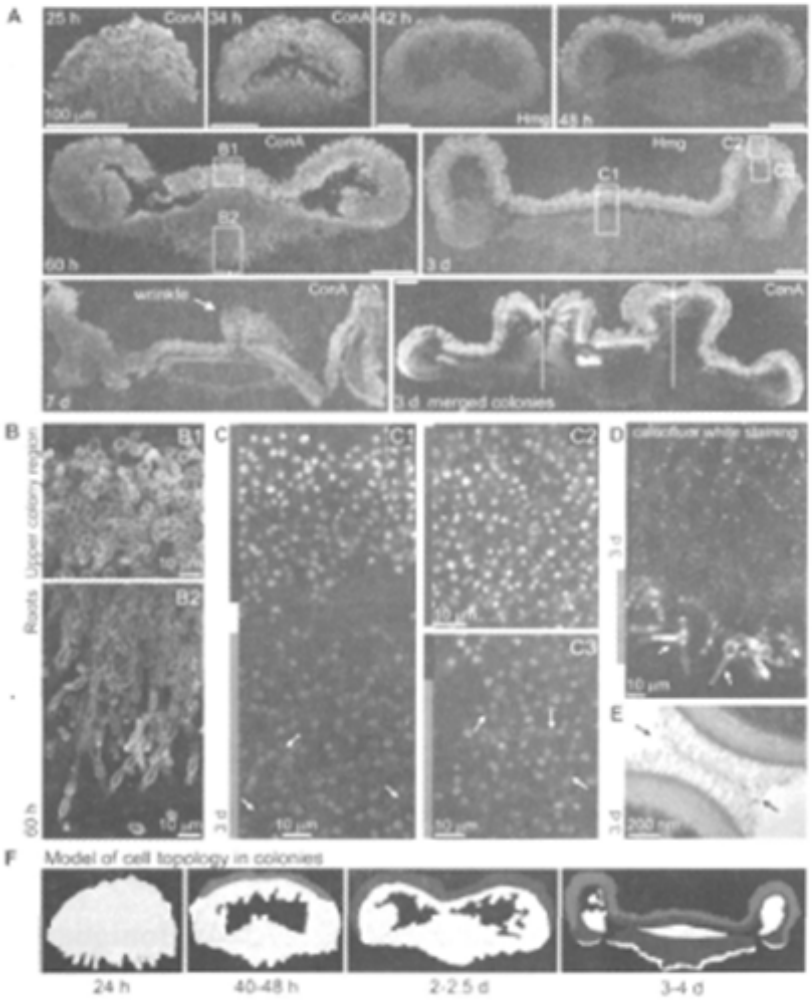
أستخدمت الخميرة وخاصة خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* كنموذج في العديد من الأبحاث الخلوية والوراثية للمزايا العديدة التي تقدمها ولكونها أول كائن حي حقيقي النواة تم كشف الجينوم الكامل له. إختبار إمكانية أن تكون الخميرة نموذج في دراسات الغشاء الحيوي يمكن أن يسهل ويكشف العديد من آليات ووراثة هذه الظاهرة الحياتية المهمة. بين (Reynolds & Fink,2001) أن إلتصاق خلايا الخميرة بالسطوح البلاستيكية يشجع بالتراكيز المنخفضة من الكلوكوز لكنه ينخفض في حالة الغياب الكامل للكلوكوز ما يشير الى حاجة الخميرة الى ايض نشط في هذه العملية. كما بينا أن الخلايا الثنائية التضاعف لا تلتصق جيدا مقارنة بالخلايا الأحادية التضاعف. كما أن الخلايا المنفصلة عن الغشاء الحيوي تكون خلايا خميرية كروية. وبين الباحثان أهمية الجين *FLO11* وهو الذي يشفر للبروتينات

السكرية على سطح الخلايا في الإلتصاق بالسطوح وإن الجين *FLO8* يشفر لبروتين منظم لنشاط الجين *FLO11*. المعروف أن البكتريا تحتاج الى هذا الجين من أجل الإلتصاق وتحقيق الغشاء الحيوي.

تكوين الغشاء الحيوي الفطري يتضمن الإلتصاق بالسطح وتكوين المادة البينية الخارج خلوية Extra Cellular Matrix (ECM)، وإمتلاك مضخات إنباذ وهي بروتينات ناقلة على غشاء الخلية تعمل كآلية مقاومة أدوية متعددة Multidrug Resistance (MDR) وأهلات من خلايا متخصصة مثل خلايا مرحلة الثبات والتي تكون مقاومة لمختلف الإجهادات.

الإلتصاق مابين الخلايا (خارة – خارة) ومابين الخارة – السطح تتم بواسطة بروتينات (ذات مادة لاصقة من Glycophosphatidylinositol) خصوصية مرتبطة بجدار الخلية. من أهم هذه البروتينات في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* بروتينات Adhesins من عائلة FLO حيث تعمل بروتينات Flo11p في إلتصاق الخلايا الى السطوح الخاملة وفي النمو الخيطي وتكوين مستعمرات مركبة وأغشية حيوية ونموات لبادية. عمل بروتينات Flo11p يكون خصوصي السلالة، بينما تعمل البروتينات القريبة Flo5p وFlo9p في إلتصاق خلية – خلية خلال عملية تكتل الخلايا. أما بروتينات Hwp1p من عائلة بروتينات ALS وهي بروتينات لاصقة قريبة من FLO فتعمل في الإلتصاق في الفطر *Candida albicans* وهي ضرورية في تكوين الغشاء الحيوي.

المادة البينية ECM تتكون في مستعمرات *S. cerevisiae* المركبة (أو مستعمرات الغشاء الحيوي) وليس في مستعمرات السلالات المدجنة (الملساء) كما تتكون في الغشاء الحيوي السطحي البيني هواء – سائل. وتكون الخلايا المتكتلة من الخميرة والمعبرة عن الجين *FLO1* مزيج من السكريات المعقدة والتي تعيق عبور الجزيئات الكبيرة مثل الأجسام المضادة الى الداخل. أما في أنواع *Candida* فتتكون ECM نظاميا في الغشاء الحيوي. في جميع الحالات:



شكل 2.27: معمار المستعمرة والخلايا المختلفة للخميرة. (A) مقطع عرضي عمودي في مستعمرات الطراز البري BR-F مصبوغة بـ ConA-AF (ConA) ومستعمرات BR-F– Hmg1p-GFP (Hmg) (سلالة محورة لكشف الخلايا المنقسمة عن الخلايا في مرحلة الثبات). (B) المظهر النموذجي للخلايا في منطقة القاعدة والمنطقة العليا من المستعمرة. (C) مظهر الخلايا في مستعمرات Hmg حيث تظهر المناطق خلايا في مرحلة الثبات (الخط الأحمر) ومرحلة الإنقسام(الخط الأخضر) وخلايا حديثة غير منقسمة(الخط الأزرق). (D) توزع الخلايا المنقسمة في الجزء السفلي. (E) الروابط بين الخلايا موضحة بالسهام. (F)توضيح تخطيطي لتوزع الخلايا المختلفة خلال تطور المستعمرة. الخلايا المنقسمة(أخضر)، خلايا مرحلة الثبات الحديثة(أصفر)، خلايا مرحلة الثبات(أحمر)، خلايا حديثة غير منقسمة(أزرق)

عن: (Váchová *et al.*,2011)

توفر ECM إمكانية تكوين ثقوب تسمح بعبور الماء والمواد الغذائية لوقاية الخلايا في الداخل من الجفاف. في البكتريا *Shewanella oneidensis* تتألف ECM من سكريات معقدة وبروتينات واحماض نووية وشحوم غشاء وأحماض دهنية. من البروتينات الموجودة Biofilm-Promoting Protein (BpfA) وعدد من الإنزيمات وحوالي 20 بروتينا ذات نشاط أكسدة إختزال(Cao *et al.*,2011).

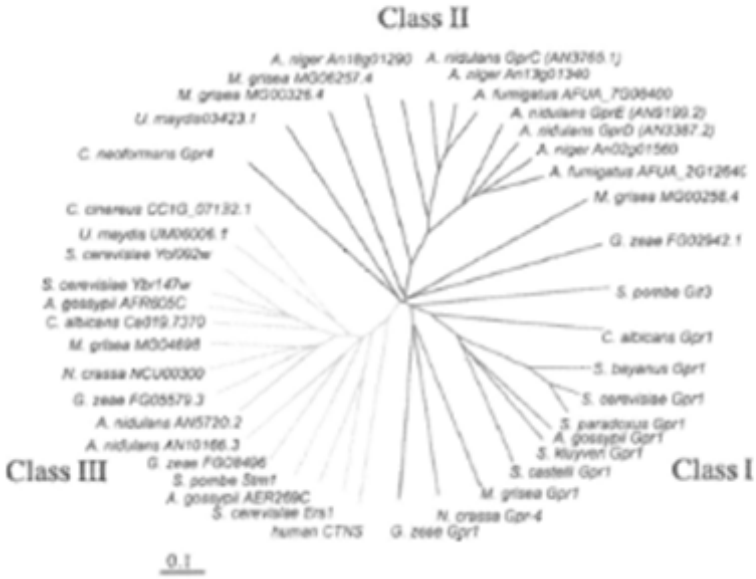
تعمل مضخات الإنباذ MDR التي تعود الى عائلة ABC في الإخراج المعتمد على ATP لطرد المواد الضارة المختلفة بضمنها الأدوية. مع أن MDR غير موثقة جيدا في الخميرة *S. cerevisiae* فإن الغشاء الحيوي في *C. albicans* يشهد زيادة التعبير عن جينات MDR، *CDR1* و*CDR2* و*MDR1*، كما أن حذف هذه الجينات يؤدي الى ضعف مقاومة الغشاء الحيوي.

دراسة تكوين الغشاء الحيوي في الخميرة بإستخدام مجهر التبئير المهيج بفوتونين (2P-CM) أظهر أنه تركيب ثلاثي الأبعاد يتألف من جزء هوائي ذو تجويف داخلي وسطح من خيوط فطرية كاذبة. هذا التجمع الخلوي يقوى بواسطة الياف ما بين الخلايا تتكون بوجود البروتين Flo11p ويحمى بواسطة ECM التي تفرز من الخلايا الداخلية والبروتينات الناقلة Pdr5p وSnq2p(Váchová *et al.*,2011; Honigberg,2011)(شكل2.27). وكان قد اشير الى أن شكل الخلية أو نمط التبرعم أو القدرة تكوين الخيوط الفطرية الكاذبة لا تؤثر على قابلية الخميرة على تكوين مستعمرات ثلاثية الأبعاد(St'ovíček *et al.*,2010).

التحسس الغذائي

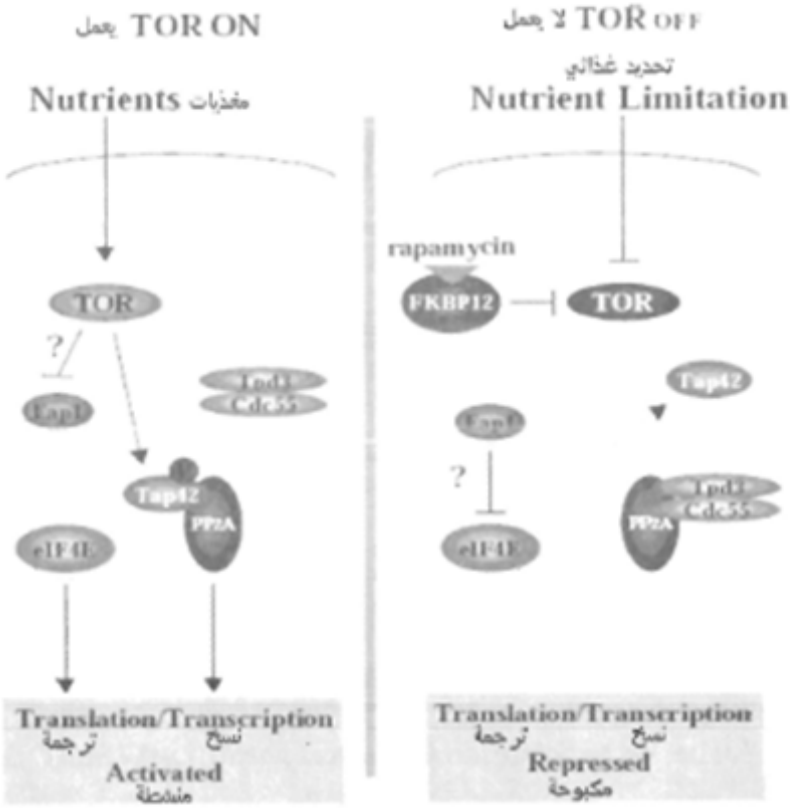
Nutrient Sensing

جميع الأحياء تستخدم العديد من أنظمة النقل الإشاري لتحسس عوامل البيئة والإستجابة لها ما يمكنها من النمو والبقاء في طيف من البيئات الأحيائية(Bahn *et al.*,2007).



شكل 2.28: شجرة نمو تطوري تظهر مجاميع المستقبلات الرابطة لبروتينات G (GPCRs) الفطرية المتحسسة للمواد الغذائية. المجموعة الأولى (الحمراء) تضم GPCRs الشديدة القرب من مستقبل Gpr1 في الخميرة *Saccharomyces serevisiae*. المجموعة الثانية (الزرقاء) تضم GPCRs الشديدة القرب من المستقبلGprD في الفطر *Aspergillus nidulans*. المجموعة الثالثة (الخضراء) تضم GPCRs مفترضة متحسسة للمواد الغذائية تظهر تشابه مع المستقبل $Stm1^{+}$ للخميرة *Schizosaccharomyces pombe* مع أنها غير مؤكدة الإرتباط مع بروتينات G.
عن: (Van Dijck,2009)

بروتينات G (الثلاثية الوحدات غير المتجانسة) ضرورية من أجل النمو والتكشف الجنسي واللاجنسي والضراوة في الفطريات الخيطية الممرضة للنبات والحيوان. تم



شكل 2.29: مسار TOR الإشاري الحساس للمضاد الحيوي Rapamycin يتحسس المواد الغذائية وعوامل النمو وينظم الإستجابات الخلوية. في خلايا الخميرة، يستجيب مسار TOR لوفرة المواد الغذائية ويشجع ترافق بروتين Tap42 مع الوحدة المحفزة من إنزيم Protein phosphatase. تداخل Tap42-PP2A يؤدي الى تحوير نشاط الإنزيم الذي ينظم الترجمة والنسخ.
عن: (Rohde *et al.*,2001)

تشخيص الكثير من الجينات المسؤولة عن وحدات بروتين G والمستقبلات الرابطة لبروتينات G. كما تم تحديد عدد من المسارات المنظمة بضمنها التحسس الغذائي والإستجابة الفرمونية والتزاوج والإمراضية(Li *et al.*,2007).

ذكر (Van Dijck,2009) وجود 3 مجاميع من المستقبلات الرابطة لبروتينات G والمتحسسة للمواد الغذائية في الفطريات (شكل20.28). إن TORkinases جزء من مسار التوصيل الإشاري المتحسس للمواد الغذائية Phosphatidylinositol 3-kinase (PI-3K) وينظم نسخ وترجمة وتحليل البروتينات. الطفرات في *TOR* أو التثبيط بواسطة المضاد الحيوي Rapamycin يثير إستجابات خلوية مميزة للتجويع بضمنها تثبيط تخليق البروتينات وتغيرات نسخية وإحتجاز دورة الخلية والإبتلاع الذاتي(Rohde *et al.*,2001) (شكل2.29).

بإستخدام برنامج Basic Local Alignment Search Tool program "blastp" الذي يوفر المعطيات الجزيئية، إفترض (Muthuvijayan & Marten,2004) مسارات التوصيل الإشاري للتحسس الغذائي في الفطر الكيسي النموذجي *Aspergillus nidulans* إعتمادا على دراسات تشابه التتابعات للبروتينات المعروفة في الخميرة المتبرعمة *Saccharomyces cerevisiae* والخميرة المنشطرة *Schizosaccharomyces pombe*. وجد الباحثان وبإستخدام طريقة عالية التحفظ، تشابها بحدود 70% وبحدود 90 % بإستخدام طريقة أقل تحفظا بقليل مع بروتينات النقل الإشاري للخميرة الأولى. هذه المسارات تشمل النمو الخيطي – الغزو وتكامل الخلية ومسار TOR، بينما كان التشابه اكثر مع بروتينات الخميرة الثانية في مسارات cAMP-PKA والإستجابة الفرمونية(Muthuvijayan & Marten,2004).

الخميرة المنشطرة *Schizosaccharomyces pombe* تتحسس الكلوكوز بالأساس من خلال المسار الإشاري cAMP. مكونات هذا المسار تتضمن Git3 المستقبل الرابط لبروتين G وبروتين G ثلاثي الوحدات غير المتجانسة، تقوم وحدته Gpa2 Gα بتنشيط adenylate cyclase (Git2/Cyr1). ثلاثة بروتينات أخرى هي Git1 و Git7 و Git10 مطلوبة من أجل إحداث إستجابة cAMP. كما أن تنظيم تنشيط PKA يتضمن تنظيم مابعد النسخ التقليدي لوظيفة مكونات مسار cAMP

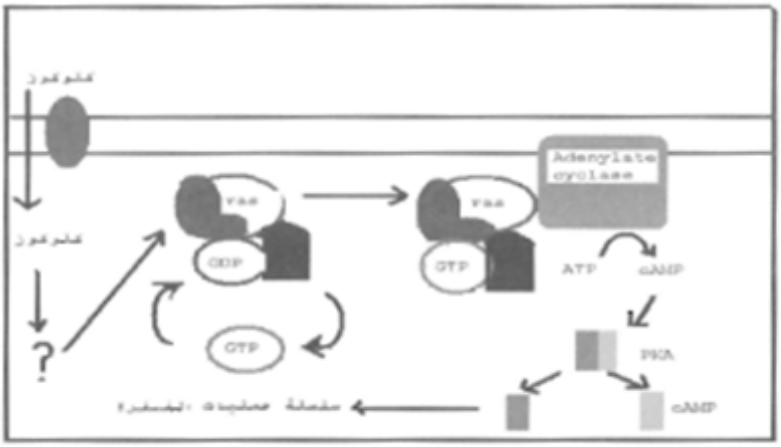
وتنظيم النسخ المعتمد على الكلوكوز لبعض جينات مسار cAMP(Hoffman,2005).

ذكر (Robson,1999) أنه عندما تضاف سكريات مثل الكلوكوز أو الفركتوز الى وسط نمو الفطر (المجوّع) لهذه السكريات، تحصل إستجابات أيضية سريعة تتصاحب بإرتفاع وقتي في تركيز جزيئات أدينوسين أحادي الفوسفات الحلقي cAMP. وتتضمن الإستجابة تنشيط عمليات تكوين الكلوكوز وتنشيط مسارات إستهلاك السكر مثل مسار التحلل السكري (Glycolysis) وانزيم Trehalase الذي يعمل في تحليل سكر الفطر Trehalose وكذلك إنزيم cAMP dependent protein kinase (PKA) (شكل2.30).

إن زيادة تركيز جزيئات cAMP يرجع الى تنشيط الإنزيم المرتبط بالغشاء Adenylate cyclase كنتيجة لتنشيط مجموعة من البروتينات الرابطة لجزيئات كوانوسين ثلاثي الفوسفات GTP-binding proteins المعروفة ببروتينات RAS. إن تنشيط RAS يؤدي الى إستبدال جزيئات كوانوسين ثنائي الفوسفات GDP المرتبطة به بجزيئات GTP، وهذا يسبب تغيرات شكلية في البروتين تقود الى تحفيز نشاط الإنزيم. Adenylate cyclase يتضمن معقد بروتينRAS إنزيم GTP-ase الذي يحول GTP المرتبطة بـ RAS الى GDP مرتبطة به، وهكذا تعيد RAS الى طوره الساكن بغياب المنشط. إن آلية تنشيط الكلوكوز لـ RAS غير معروفة لكن RAS يشكل جزءا من منظومة تحسس المواد الغذائية.

تم دراسة إشارات المركبات الدهنية لتحديد دورها في أحيائية الفطريات وإصاباتها البشرية. ومع أن الفارنيسول شخص على أنه جزيئة فعالة في التحسس الجمعي في الفطريات كما سبق ذكره، يبدو أن له دور أيضا في مسارات Ras1- adenylate cyclase وMAP kinase. ففي أنواع الفطر *Aspergillus*، التعرض للفارنيسول يحفز تغيرات شبيهة بالإستماتة (Apoptosis) وإنحرافات في

تخليق الإركسترول. ويبدو أن مسارات تحسس الدهون السفنجية (Sphingolipid) تتركز حول إنتاج Diacylglycerol في عملية تكوين Inositol phosphorylceramide. جزيئات Diacylglycerol بدورها تنشط تكوين صبغة الميلانين بواسطة إنزيم Lccase ونسخ البروتين المضاد للإبتلاع الخلوي وكليهما مطلوبين في ضراوة الفطر (Rhome & Del Poeta,2009).



شكل 2.30: مخطط يظهر تنشيط مسار ras-cAMP في الفطريات. إن تدفق الكلوكوز الى الخلية يحفز مبادلة GDP بـ GTP مؤديا الى تغيرات شكلية في معقد ras والذي ينشط بدوره إنزيم Adenylate cyclase المرتبط بالغشاء الخلوي. إن إرتفاع تركيز cAMP ينشط إنزيم Protein kinase المعتمد على cAMP (PKA) عن طريق الإرتباط بالمجال المنظم للإنزيم، وهذا يزيح الوحدة المحفزة الفعالة. إن تنشيط PKA يفدح عمليات الفسفرة والتنشيط لعدد من الأهداف المتتالية.

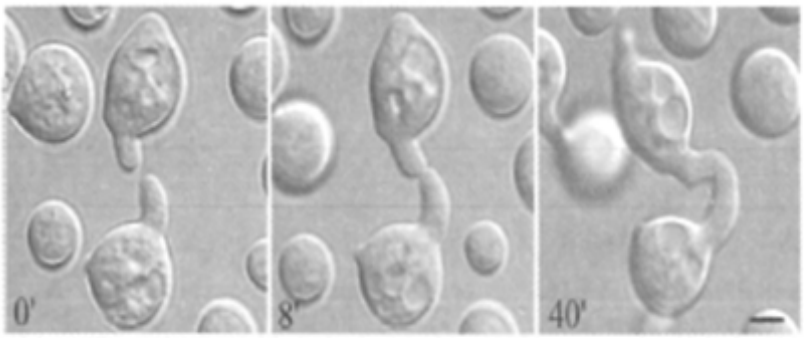
رسم عن: (Robson,1999)

التفمم (Anastomosis)

حسب (Hickey *et al.*,2002) التكشف المظهري للمستعمرة الفطرية يتضمن ثلاث عمليات تكاملية هي النمو القمي لأطراف الخيوط الفطرية وتفرع الخيوط الفطرية والتفمم، العملية الأخيرة كانت الأقل تناولا بالدراسة. درست ظاهرة التفمم

أولا من قبل Buller سنة 1931 علما انها لوحظت منذ بداية نشوء علم الفطريات.

التقمم هو ظاهرة إندماج الخيوط الفطرية حيث يتم تعزيز الصلات الوثيقة بين خلايا الغزل الفطري من خلال تحلل جدران الخلايا في نقاط الإتصال وتحقيق الإندماج البلازمي. بالإضافة الى التقمم الذي يشيع بين الخيوط الفطرية الخضرية، ثمة حالات عديدة مماثلة تحصل في الفطريات مثل حالات التزاوج في الخمائر والفطريات الخيطية وتكوين الغزول الفطرية الثنائية النوى في الفطريات البازيدية والكيسية وتكوين الخطافات وإندماجها مع الخلية المجاورة خلال تكوين الأكياس في الفطريات الكيسية وتكوين الصلات الكلابية في الفطريات البازيدية وتكوين الحلقات الصائدة والحلقات المتقلصة في الفطريات الصائدة للنيماتودا وغيرها(Glass *et al.*,2004).



شكل 2.31: صور تداخل تفاضلي تفريقي تظهر إثنين من أنابيب إنبات كونيدات الفطر *Neurospora crassa* تعاني التقارب والإندماج من نوع CAT بعد 8، و40 دقيقة من بدء التصوير في الوقت 0. الخط = 5 مك

عن: (Glass *et al.*,2004)

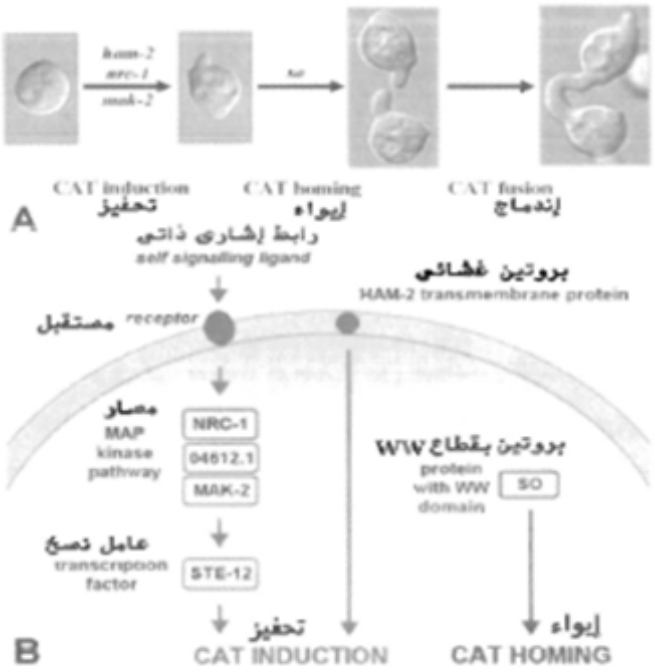
يمكن تمييز نوعين من التقمم في الفطريات الخيطية: التقمم بين الكونيدات النابتة وأنابيب إنباتها ويحصل في بداية تكوين المستعمرة والتقمم الذي يحصل بين الخيوط الفطرية في المستعمرة الناضجة. خلال النمو الخضري وتكوين المستعمرة الفطرية يشيع إندماج الخيوط الفطرية بواسطة أنابيب تقمم كونيدية (Conidial Anastomosis Tubes) متخصصة، إختصرا (CATs) (شكل2.31). في هذه

الحالة يحصل التقمم ما بين الكونيدات أو انابيب إنباتها. هذا ما تم توضيحه في حالة كونيدات الفطريات الكيسية والفطريات الناقصة والأبواغ الكيسية وكذلك الأبواغ اليوريدينية لفطريات الصدأ. فيما بعد يحصل التقمم في المستعمرة الناضجة بواسطة خيوط إندماج متخصصة. تتميز CATs مظهريا وفسلجيا عن أنابيب الإنبات وتخضع لسيطرة جينية مستقلة. CATs تكون بشكل خيوط فطرية قصيرة، رقيقة وغالبا غير متفرعة تنشأ من الكونيدات أو أنابيب الإنبات بينما الخيوط الفطرية المتقممة في المستعمرات الناضجة يمكن ان تكون قصيرة بشكل بروزات الى طويلة كما أنها تكون ذات تفرع ثنائي. عند إتمام تكوين CATs ويحصل الإندماج البلازمي، حركة العضيات بين الخليتين المندمجتين تكون بطيئة جدا مقارنة بما يحصل في حالة الخيوط الفطرية المندمجة عند نضج المستعمرة. هذا يحصل ربما لقلة أو عدم وجود فرق في ضغط الإمتلاء بين الخليتين المندمجتين في الحالة الأولى. أفضل فطر يوضح هذه الظاهرة هو الفطر الكيسي الخيطي النموذجي *Neurospora crassa*.

في الفطر *N. crassa* تكوين CAT يعتمد على كثافة الكونيدات ما يشير الى إحتمال عمل آلية التحسس الجمعي. ومع أن طبيعة المادة المحفزة لتكوين CAT غير معروفة لكنها تنشط شلال mitogen-activated protein (MAP) kinase الذي له أشباه من أصول مشتركة (Orthologs) في مسار MAP kinase الذي يعمل في: التأشير الفرموني في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وتكوين العضو اللاصق في الفطريات الممرضة للنبات. الطفرات في الجينات المشفرة لبروتينات MAP kinase kinase kinase و NRC-1 و MAP kinase، MAK-2 تفقد القدرة على تكوين CATs (شكل2.32).

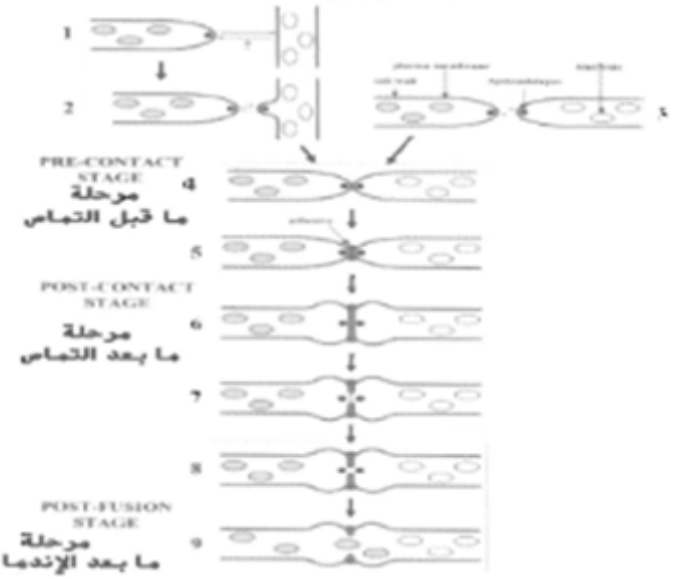
يعتقد أن تقارب CATs نحو بعضها يتضمن إفراز وإستلام جاذبات كيميائية في أطراف CATs لكن طبيعتها غير معروفة وهي ليست cAMP في

Neurospora. ثمة جين هو *so* (من Soft) له دور في هذا المجـــال حيـــث أن الطفرة به لا تمكن من إندماج CATs. بالإضافة الى ذلك، الطافرات في هذا الجين تكوّن خيوط فطرية



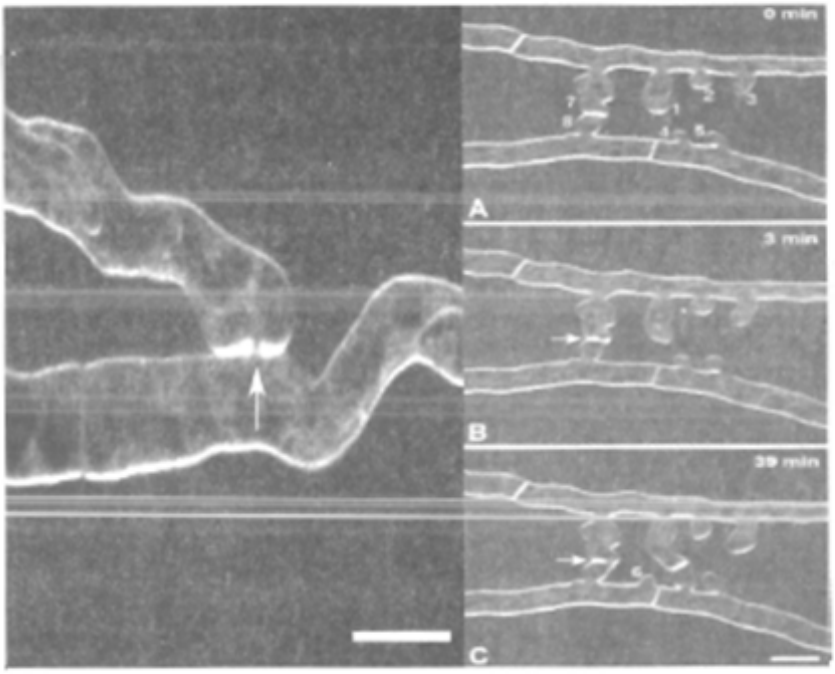
شكل 2.32: تحفيز إنبوب النفمم الكونيدي (CAT) والإيواء والإندماج في الفطر *Neurospora crassa* والعمليات الإشارية التي تحصل خلال تحفيز وإيواء CAT. (A) الطافرات المعاقة في تحفيز وايواء CAT. (B) نموذج لمسارات التأشير العاملة في تحفيز وإيواء CAT

عن: (Read & Roca,2000)



شكل 2.33: المراحل الثلاثة في عملية إندماج الخيوط الفطرية في المستعمرة الناضجة. الرسم يوضح نوعين من السلوك خلال مرحلة ما قبل التماس: أولا طرف خيط إندماج يحفز فرع لخيط إندماج آخر(الخطوات 1 و2)، ثانيا نمو طرفي خيطي إندماج نحو بعضهما حيث يلتحمان فيما بعد(الخطوة 3). نوع ثالث لم يعرض في الرسم يتضمن إلتحام طرف خيط فطري مع جانب خيط فطري آخر. النوى رسمت بلون داكن وفاتح لتمييز تبعيتهما للخيطين الملتحمين وهذا لا يعني أنهما بالضرورة مختلفين وراثيا. الخطوة 1: طرف خيط فطري يفرز مادة إشارية خارج خلوية منتشرة غير معروفة(سهم صغير) تحفز تكوين جسم Spitzenkörper، لا يعرف ما إذا كان الخيط الفطري المقابل هو أيضا يفرز مادة كهذه. الخطوتين 2 و3: طرفي خيطي الإندماج يفرزان مادة إشارية مستقطبة كيميائيا خارج خلوية منتشرة(سهام صغيرة) تنظم سلوك جسم Spitzenkörper. ينمو طرفي الخيطين نحو بعضهما. الخطوة 4: تتماس جدران الخلية لطرفي الخيطين ويتوقف إمتداد طرف الخيط وتبقى أجسام Spitzenkörper. الخطوة 5: تفرز مادة لاصقة في أطراف الخيوط الفطرية. الخطوة 6: يتم التحول من النمو المستقطب الى نمو أكثر تجانسا ما يؤدي الى إنتفاخ طرفي الخيطين الملتصقين. الخطوة 7: ذوبان جدران الخلايا والمادة اللاصقة في نقطة التلاقي ويتماس الغشاء البلازمي لطرفي الخيطين. الخطوة 8: يلتحم الغشاء البلازمي لطرفي الخيطين وتتكون فتحة الإندماج، تبقى أجسام Spitzenkörper مرافقة لفتحة الإندماج حيث تبدأ بالتوسع ويتحرك السايتوبلازم ما بين الخيطين. الخطوة 9: تتوسع فتحة الإندماج ويختفي جسم Spitzenkörper، عضيات الخلية تظهر حركة كتلة سريعة ما بين الخيطين الملتحمين ربما بسبب فرق ضغط الإمتلاء.

عن: (Read & Roca,2000)



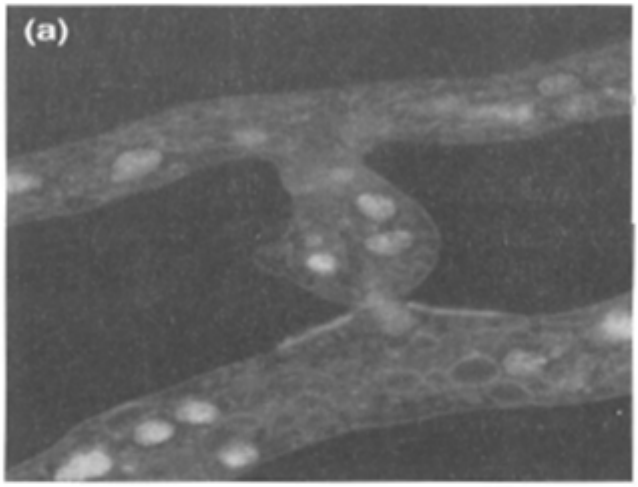
شكل 2.34: صور بمجهر التبنير يظهر تحفيز وإيواء وإندماج الخيوط الفطرية في المستعمرة الناضجة للفطر *Neurospora crassa* بعد المعاملة بصبغة FM1-43. (يمين) لاحظ نمو 3 فروع(1 - 3) من أحد الخيوط الفطرية بإتجاه فرعين على خيط فطري مقابل(4 و5). بعد 39 دقيقة ثمة فرع آخر(6) يتكون على الخيط الفطري التحتي. الفرعين 7 و8 يلتحمان قبل الوقت صفر. يمكن ملاحظة مراحل مختلفة من تكوين فتحة الإلتحام (السهام) بعد 3 و39 دقيقة. الخط = 10 مك. (يسار) صورة للتقمم بين طرف خيط فطري مع جانب خيط فطري آخر. لاحظ إستمرارية غشائي الخليتين ووجود فتحة التقمم. الخط = 10 مك

عن: (Read & Roca,2000) و(Hickey et al.,2002)

هوائية قصيرة وعقم أنثوي. بروتين SO يتمركز في سداد فتحة الحاجز في الغزل الفطري الذي يعاني تغيرات تكشفية تتصاحب مع التراكيب الجنسية أو الإستماتة نتيجة التعرف على غير الذات(Craven *et al.*,2008). تم تشخيص 3 مراحل خلال الإندماج ما بين الخيوط الفطرية في المستعمرة الناضجة للفطر *N. crassa*. مرحلة ما قبل التماس ومرحلة ما بعد التماس ومرحلة ما بعد الإندماج.

تفاصيل هذه المراحل معروضة في الشكل2.33 وموضحة بالصور (شكل2.34). تتكون الحواجز العرضية بالقرب من منطقة الإندماج(Read & Roca,2000). يعتقد أن دور أجسام Spitzenkörper في التقمم هو توفيره الحويصلات الإفرازية الناقلة للجزيئات اللاصقة وإنزيمات تكوين الجدار الخلوي المطلوبة في تكوين فتحة التقمم(Hickey *et al.*,2002).

يتيح التقمم تكوين شبكة محكمة من الخيوط الفطرية في وسط النمو الطبيعي أو على الأوساط الزرعية. حركة السايتوبلازم تكون بشكل حركة كتلة سريعة تعبر خلالها عضيات الخلية بما فيها النوى(شكل2.35) الأمر الذي يعزز وحدة المستعمرة الفطرية. وتتيح هذه الظاهرة إمكانية تكوين خلايا وغزول فطرية متباينة النوى وهو عامل



شكل 2.35: صورة بمجهر التبنير تظهر التقمم بين خيطين فطريين في الفطر *Neurospora crassa* وعبور النوى الموسمة بـ H1 histone-GFP من خيط فطري الى آخر. الخط = 10 مك

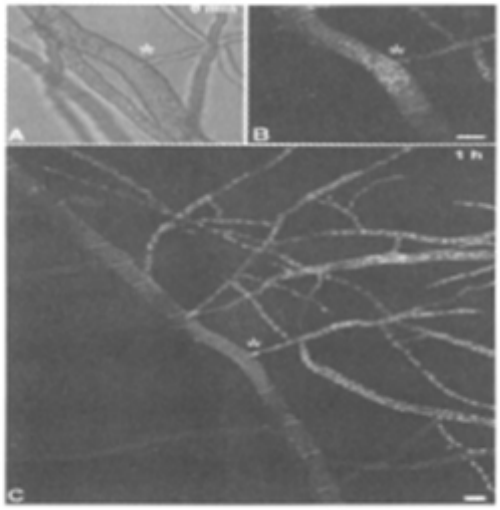
عن: (Glass *et al.*,2004)

ضروري في إحداث التغيرات الوراثية من خلال الدورة النظير جنسية خصوصا في الفطريات الناقصة. كما توفر حالة من المدمج الخلوي الذيبقوي قدرة الفطر كفرد وتمكين الإتصال ما بين الخلايا وتعزيز التوازن العام (General Homeostasis).

تحصل ظاهرة التقمم في الفطريات الراقية وفطريات المايكورايزا (*Glomeromycota*) بينما لا تتم في الفطريات اللاقحية والبيضية بينما الإتحاد أو الإندماج ما بين خلايا الخميرة يسمى بالتزاوج (Conjugation).

يحصل التقمم بحرية ما بين الخيوط الفطرية للغزول الفطرية المتوافقة جسميا (Vegetative Compatible). ثمة جينات للتوافق الجسمي تسيطر على إمكانية تحقيق التقمم وهي*het* (من متباين النوى Heterokaryon) أو *vic* (من اللاتوافق الجسمي Vegetative Incompatibility). الغزول أو المستعمرات الفطرية التي تحمل اليلات اللاتوافق الجسمي نفسها تتمكن من تحقيق التقمم وتمكن من الهجرة النووية وتكوين غزول فطرية متباينة النوى. في الإندماجات اللاتوافقية يحصل غلق للخلية المندمجة وتموت من خلال نوع من موت الخلية المبرمج. هذا يتضمن غلق فتحات الحواجز لعزل الخلايا المتقممة فسلجيا وزيادة فجوات السايتوبلازم وزيادة نفاذية أغشية الخلايا والعضيات الخلوية وتحرير إنزيمات محللة في السايتوبلازم وتحليل العضيات الخلوية. تحطيم الخلية غير المتوافقة غالبا ما يشمل بعض الخلايا المجاورة ويمكن أن يكتمل خلال 30 دقيقة بعد حصول التقمم (شكل2.36). حسب (Read & Roca,2000) يمكن ان تعمل CATs على تحقيق حالة تباين النوى المطلوبة في إحداث التفاير في حالة الإندماجات غير المتوافقة بين الخيوط الفطرية الناضجة بإعتبارها سابقة لها. في الفطر *N. crassa* يوجد 11 موقع *het* بأثنين أو ثلاثة أليلات في كل موقع. تم كلونة خمسة من جينات *het* (*mat A-1* و *mat a-1* و *het-c* و *het-6* و *un-24*) ووجد أن نواتجها متنوعة جدا ما يشير الى أن لكل

موقع *het* آلية تعرف على غير الذات مختلفة. لقد وجد أن آلية تعرف على غير الذات في موقع *het-c* تتم من خلال معقد غير متجانس من عديد الببتيدات يشفر له من قبل أليلات *het-c* ذات الخصوصية المختلفة ويقع على غشاء الخلية. كما وجد أن الجينين *tol* و *vib-1* تشفر لمؤثرات أسفل التيار لعدم توافق تباين *tol* يثبط عدم توافق تباين النوى المحكوم بـ *mat*، بينما *vib-1* (الذي يشفر لعامل نسخ مفترض) يثبط عدم التوافق المسيطر عليه من *mat* و*het-c*(Read & Roca,2000).



شكل 2.36: عدم التوافق المتباين النوى في المستعمرة الناضجة للفطر *Neurospora crassa* والناتج عن إندماج الخيوط الفطرية لسلالتي $het\text{-}c^{OR}$ و $het\text{-}c^{PA}$. تم صبغ كلا السلالتين بالصبغة الإنتخابية لغشاء الخلية FM4-64 والنوى في السلالة $het\text{-}c^{OR}$ علمت بالصبغة H1-GFP.
(A) صورة بالمجال البراق توضح تقمم بين خيط فطري نحيف مع خيط فطري سميك تحته(تجمة). (B) صورة بمجهر التبئير لنفس المجال المنظور كما في (A) يظهر إنتقال النوى(وميض أخضر) من سلالة $het\text{-}c^{OR}$ الى سلالة $het\text{-}c^{PA}$ التي تفتقد وميض توسيم النوى. الخط = 20 مك. (C) إستجابة عدم التوافق بعد ساعة واحدة من التقمم. لاحظ أولا التلون الكثيف للسايتوبلازم للخلية المتقممة بسبب زيادة النفاذية لغشاء الخلية لصبغة FM4-64 وثانيا فقدان وميض GFP من النوى بسبب تحللها. الخط = 20 مك

عن: (Read & Roca,2000)

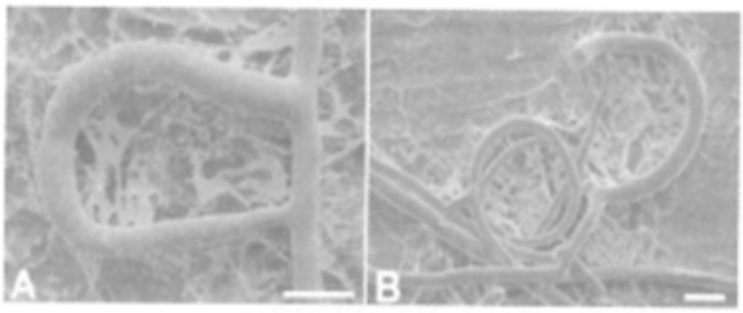
حسب (Read *et al.*,2009) التحسس الإشاري في حالة CATs في *N. crassa* يتضمن عمل بروتينات متذبذبة بين طرفي خيطي لتقمم يعمل لفترة قصيرة جدا ولا يتضمن تنظيم نسخي. هذا النظام يعمل في التقمم بين الخلايا المتماثلة وراثيا غيرالمتحركة. اللاتوافقات الأحادية العامل (Unifactorial Incompatibility) تتضمن إندماجات بين الغزول الفطرية التي تحمل البيلات مختلفة في موقع الطراز التزاوجي الواحد(Moore & Frazer,2002).

في حالات التقمم بين الخيوط الفطرية في المستعمرة الناضجة والتي تؤدي الى حالات تباين النوى تمنع لفترة طويلة خلال تثبيت نمو المستعمرة وهي عملية تهدف الى المحافظة على سلامة جينوم الفطر من المواد الوراثية الضارة. لكن CAT يمكن أن تعمل خلال هذه الفترة من أجل إتاحة الفرصة للدورة النظير جنسية التي تؤدي الى توفير متغايرات وراثية جديدة(Read & Roca,2000).

فطريات المايكورايزا الشجيرية تعرض نموذجا من التقمم يختلف الى حدما عما هو شائع في الفطريات الخيطية الأخرى. هذه الفطريات التي تعود الى شعبة *Glomeromycota*، الغزل الفطري فيها غير مقسم عديد النوى ويمكن ان يكون متباين النوى، ينمو داخل جذور معظم النباتات وكذلك يكوّن شبكة واسعة من الخيوط الفطرية خارج الجذور تربط جذور النباتات المتجاورة من انواع وأجناس وحتى عوائل مختلفة. هذه الفطريات لا تتكاثر جنسيا لذلك فهي قليلة التنوع الى حد كبير مقارنة بالفطريات الأخرى علما أن تأريخ نشوئها يعود الى 400 مليون سنة. وبالنظر الى حاجتها الى توفير متغايرات عبر الدورة النظير جنسية، إضافة الى العوامل الأخرى، فهي أولى في إشاعة التقمم بين خيوطها الفطرية. بينت الدراسات الحديثة أن هذه الفطريات تقيم علاقات تقمم ما بين الخيوط الفطرية للعزلة نفسها والخيوط الفطرية للعزلة نفسها والنامية على نباتات مختلفة من أجل إقامة شبكة واسعة من الخيوط الفطرية. تم دراسة ظاهرة التقمم في الأبوغ النابتة من 5

عزلات تعود الى الآهلة نفسها للفطر *Glomus intraradices*. بينت النتـــائج أن التقمم يحصل ما بين العزلات المختلفة وراثيا من الحقل نفسه وتنتج روابط بلازمية حية يمكن أن يحصل خلالها تبادلات وراثية. الأبواغ الناتجة من الزراعة المزدوجة لعزلات مختلفة وراثيا اعطت أبواغ حية وقادرة على تكوين المايكورايزا الشجيرية وبعضها بصفات وراثية جديدة تختلف عن أي من الأبوين(Croll *et al*.,2008).

ثمة نوع خاص من إلتحام الخيوط الفطرية الذاتي يحصل في الفطريات الصائدة للنيماتودا حيث تكوّن حلقات بسيطة أو معقدة تشكل تراكيب شبه شبكية أو حلقـــات متقلصة تحيط وتمسك بالنيماتودا لتفترسها (شكل2.37). وجود النيمـــاتودا يمثـــل الحافز لتكوين هذه الإندماجات الخيطية وفيما بعد تم تشخيص ببتيدات ثنائية وثلاثية تحتوي على الحامض الأميني فالين تحفز بفاعلية هذا النوع من التقمم تحت ظروف التغذية الفقيرة.



شكل 2.37: صور بالمجهر الإلكتروني المنخفض الحرارة لحلقات الصائدة للفطر *Arthrobotrys oligospora*. (A) حلقة صائدة بسيطة و(B) شبكة صائدة. الخط = 10 مك

عن: (Read & Roca,2000)

التحول المظهري في الفطريات
Metamorphosis in Fungi

التحول المظهري ظاهرة شائعة في الأحياء بدءا من البكتريا الى الإنسان وتعني تحول الكائن الحي من حالة مظهرية معينة الى حالة مظهرية اخرى. هذه الظاهرة هي التي تؤدي الى نشوء خلايا مختلفة المظهر والوظيفة في مختلف المستويات الأحيائية والأساس في تكوين الأنسجة والأعضاء في الأحياء المتعددة الخلايا. هذه الظاهرة محكومة بإشارات بيئية يمكن أن تحفز برنامجا وراثيا جديدا. الإشارات البيئية يمكن ان تنشأ عن تغيرات كمية في عوامل البيئة أو أنها تكون بشكل محفزات ذاتية تصدر عن خلايا الكائن الحي. في البكتريا ترتبط الجزيئات الإشارية الذاتية بكثافة الأهلة البكتيرية أو ما يعرف بالتحسس الجمعي. كما يشارك هذا العامل في التحولات المظهرية في الفطريات الهلامية مثل *Dictyostelium discoideum* الذي يحرر جزيئات cAMP تحت ظروف قلة تركيز المواد الغذائية (التجويع) تحفز تجمع الخلايا الأميبية لتكوين الجسم الثمري(Chen & Fink,2006).

إن إستكشاف البيئات الجديدة والنمو فيها يتطلب التعبير عن برنامج وراثي يؤدي الى التكشف بتكوين تراكيب خلوية جديدة وتكوين إنزيمات خارجخلوية تشترك في تحليل المواد الغذائية المعقدة وتمكن من النمو والإنتشار. من البروتينات المشتركة في تنظيم هذا التكيف في الفطريات هي Ste12 وشبيهات Ste12 والتي تعمل بتنسيق مع البروتينات المنظمة الأخرى ولها عدد من الفعاليات تشمل تنظيم التميز المظهري والإمراضية وغيرها(Hoi & Dumas,2010).

التحول المظهري في الأحياء الدقيقة الحقيقية النواة يتبدى بأشكال مظهرية وفسلجية مختلفة مثل إختلاف ستراتيجيات النمو وأنواع التراكيب المقاومة للظروف البيئية غير الملائمة وطرق التكاثر والتميز.

يبدو أن التحول المظهري بجميع أشكاله في الفطريات وفي الأحياء الأخرى يعتمد على ثلاثة ظواهر رئيسة: نمط النمو (Growth Pattern) وحالة فوق الأكسدة (Hyperoxidant State) والإستماتة (Apoptosis).

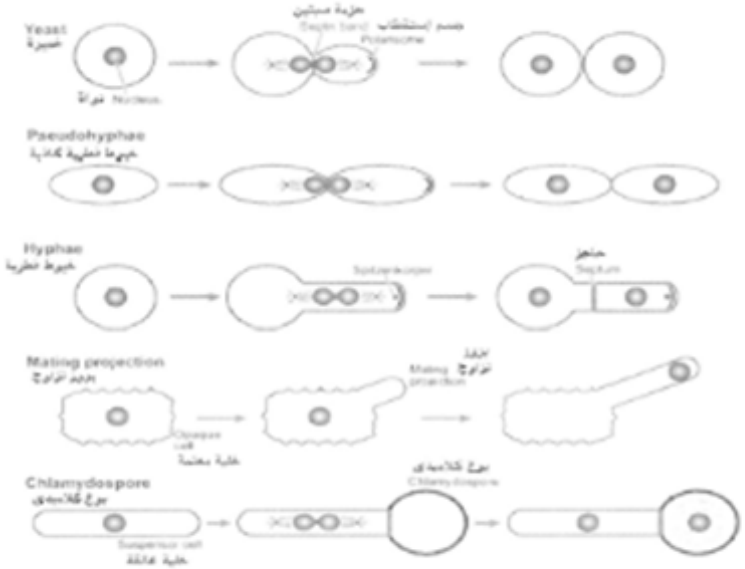
نمط النمو والتشكل المظهري

Growth Pattern in Morphogenesis

نمط نمو الخلايا يمكن أن يكون متناظرا (Isotropic) أو لا مستقطب (Non Polarized) حيث يحصل توسع منتظم في حجم الخلية بجميع الإتجاهات منتجا خلية كروية. هذا ما يحصل مثلا في تكوين الأبواغ الكروية وخلايا النسيج البرنكيمي الكاذب والأشكال الخلوية الكروية الأخرى، أولن يكون مستقطبا (Polarized) حيث يحصل تطاول أو بروز بإتجاه منطقة الإستقطاب، حجمه يعتمد على إستمرارية أو توقف الإستقطاب مثل الخيوط الفطرية والأبواغ المتطاولة. وقد يكون الإستقطاب بأكثر من نقطة او منطقة واحدة مكانيا وزمانيا مؤديا الى تشكيلات مظهرية متنوعة مثل الأبواغ غير المنتظمة الشكل والخلايا البيضوية أو النجمية الخ..

النمو المستقطب يحصل بفعل تداخل عوامل داخلية وإشارات خارجية لتعين شكل الخلايا وتوزعها المكاني في الكائن الحي المتعدد الخلايا. في هذا الإطار تستخدم الخلايا بعض إنزيمات Cdc42/Rac من مجموعة GTPases التابعة للعائلة الكبرى Rho لتنظيم بلمرة الأكتين والسيطرة على النمو من خلال تكييف الإستقطاب للهيكل الأكتيني. يلعب البروتين Cdc42p دورا مركزيا في تنظيم معقد البروتين المعروف بجسم الإستقطاب (Polarisome) الذي يضم الفورمين Bni1p والبروتينات Bud6p وSpa2p وPea2p. جسم الإستقطاب هو المسؤول عن تكييف إستقطاب النمو. وتلعب بروتينات الميوسين (type I myosin و Type V myosin المشفرة من الجينات *MYO5* و*MYO2*) دورا مهما في النمو الخيطي.

ولأجسام Spitzenkorper دورا مهما في النمو الخيطي كما سبق ذكره وليس في النمو الخميري.



شكل 2.38: الأشكال المظهرية المختلفة للفطر *Candida albicans*. في النمو الخميري يتبرعم بوغ برعمي ليكون خلية جديدة. الجسمين القطبيين المنفصلين يكونان خيوطا مغزلية تفصل الكروموسومات عبر رابط الخلية الأمية. الخلية البنوية موضح بشكل حزمة سبتين(عرضية خضراء). النمو المستقطب مشار إليه بجسم الإستقطاب الهلالي في طرف البرعم النامي. في نمو الخيوط الفطرية الكاذبة الإنقسام النووي يقطع أيضا رابط الخلية الأمية. الخلية البنوية في حزمة السبتين والنمو المستقطب يتميز بوجود جسم الإستقطاب. الخلايا تكون أكثر تطاولا مقارنة بخلايا النمو الخميري كما تبقى الخلايا متصلة ببعضها بعد الإنقسام الخلوي. النمو الخيطي يقاد بواسطة جسم الإستقطاب وجسم Spitzenkorper في طرف الخيط الفطري النامي. النواة تنقسم داخل إنبوب الإنبات النامي في المنطقة التي سيتكون فيها الحاجز وترجع إحدى النواتين الى الخلية الأمية بينما تندفع الأخرى أكثر نحو إنبوب الإنبات النامي. الخلايا المعتمة تكون قادرة على الإستجابة لفرمون التزاوج بإستطالة بروز التزاوج. تنتقل النواة الى البروز وبعد إلتحام بروز التزاوج مع خلية من طراز تزاوجي مقابل، تندمج مع النواة الأخرى بمساعدة العامل Kar3p. تتكون الأبواغ الكلاميدية في نهاية الخلايا العالقة. هذه الأبواغ تكون سميكة الجدار وأكبر من الأبواغ البرعمية. النواة تنقسم ضمن الخلية العالقة وتنتقل النواة البنوية الى البوغ الكلاميدي عابرة السبتين. البوغ الكلاميدي الكامل يحمل تركيب سبتيني معقد
عن: (Whiteway & Bachewich,2007)

الخميرة المتبرعمة تشهد تعاقب النمو المتناضر الذي يعطي الشكل الكروي للخلايا ويكون سائدا والنمو المستقطب الي يفضي الى تكوين البراعم. ويلعب تنظيم موقع الإنقسام النووي بالنسبة للحاجز العرضي وتوقيتات دورة الخلية وهجرة النوى المنقسمة دورا فعالا ايضا في تنظيم التشكل المظهري. في عملية إنبات الأبواغ، التكشف المظهري يسبق الإنقسام النووي.

في الشكل 2.38 توضيح لنمط النمو ودور جسم الإستقطاب والإنقسام النووي في التشكل المظهري للأنواع المختلفة من الخلايا التي يعرضها النمو الخميري والخيطي الكاذب والنمو الخيطي وتكوين الأبواغ الكلاميدية التي يعرضها الفطر الممرض للإنسان *Candida albicans*(Whiteway & Bachewich,2007).

حالة ثنائية المظهر كنتاج لنمط النمو Dimorphism as a Consequance of Growth Pattern

تنمو الفطريات بشكل خيوط فطرية أو غزل فطري (طور العفن أو الغزل الفطري (M-phase) أو بشكل خلايا مفردة (طور الخميرة Y-phase). إن طبيعة تركيب خلية الخميرة يناسب طبيعتها الفسلجية فهي لا تمتلك إنزيمات محللة للمواد العضوية المعقدة كالسليلوز والبروتينات، تفرزها خارج خلاياها كما تفعل الخيوط الفطرية، وإنما تعتمد على بيئة تتوفر فيها المواد العضوية البسيطة في الوسط السائل. كما إنها تفتقد قدرة الإختراق للكائنات الحية الأخرى التي تمتلكها الفطريات الخيطية. وبناءا على ذلك، يمثل الشكل الخيطي والشكل الخميري ستراتيجيتين مختلفتين للنمو تتناسب وطبيعتهما البيئية. وهكذا نجد فطريات تنمو دائماً تحت كل الظروف بشكل خيطي أو بشكل خميري ولكن توجد فطريات أخرى لها القدرة على الإستفادة من ميزات كلا الشكلين المظهريين بما يتلائم والظروف البيئية ويحفز بتأثيرها ومثل هذه الفطريات تسمى فطريات ثنائية المظهر (Dimorphic Fungi)

حيث تنمو بشكل خيطي تحت ظروف بيئية أو أحيائية معينة وتتحول الى الشكل الخميري في ظروف بيئية أو أحيائية أخرى.

تحصل هذه الظاهرة في الفطريات الممرضة بشكل خاص كما انها تحصل في الفطريات الرمية. من أمثلة الفطريات الممرضة، الفطريات الممرضة للإنسان مثل *Histoplasma capsulatum* و *Cryptococcus neoformans* و *Sporothrix schenkii* و *Blastomyces dermatitidis* و *Penicillium marneffei* و *Paracoccidioides brasiliensis* و *Coccidioides immitis* و *Wangiella dermatitidis* وغيرها (San-Blas & Nino-Vega,2004). وكمثال الفطر *Candida albicans* يوجد بشكل خميرة في الأنسجة المخاطية لجسم الإنسان ومنه يتحول الى النمو الخيطي لغرض غزو الأنسجة. كذلك الفطريات الطفيلية على الحشرات *Metarhizium* و.spp *Beauveria* حيث تخترق كيوتكل الحشرات بواسطة الخيوط الفطرية ثم تتكاثر في سائل الدوران للحشرة بشكل خميرة. وفي الممرضات الفطرية على النبات *Fusarium oxysporum* و *Ophiostoma novoulmi* تخترق النبات بشكل خيوط فطرية ثم تنتشر في أوعية الخشب بشكل خميرة، حيث أن شكل الخميرة يساعد على الإنتشار داخل الأوعية أفضل من الشكل الخيطي. كذلك تفعل بعض الفطريات الممرضة مثل *Taphrina deformans* وبعض فطريات التفحم.إن التحول من الشكل الخيطي إلى الخميري وبالعكس يحصل إستجابة لتأثير العوامل البيئية والأحيائية يمكن توضيحه بالتجربة كما مبين في الجدول 2.2.

تنمو العديد من الفطريات الممرضة الإنتهازية للإنسان بشكل خيطي كرميات على المواد العضوية في بيئتها الطبيعية وكذلك عند تنميتها في المختبر على الأوساط الزرعية في 20 – 25 مْ، لكنها تتحول الى الشكل الخميري في سوائل الجسم (37 مْ) أو عند تنميتها في المختبر في 37 مْ. وهذا النوع من حالة ثنائية

المظهر التي تتـــأثر جدول 2.2: تأثير بعض العوامل البيئية أو الجينية في تحويل الشكل الخيطي الى شكل خميري

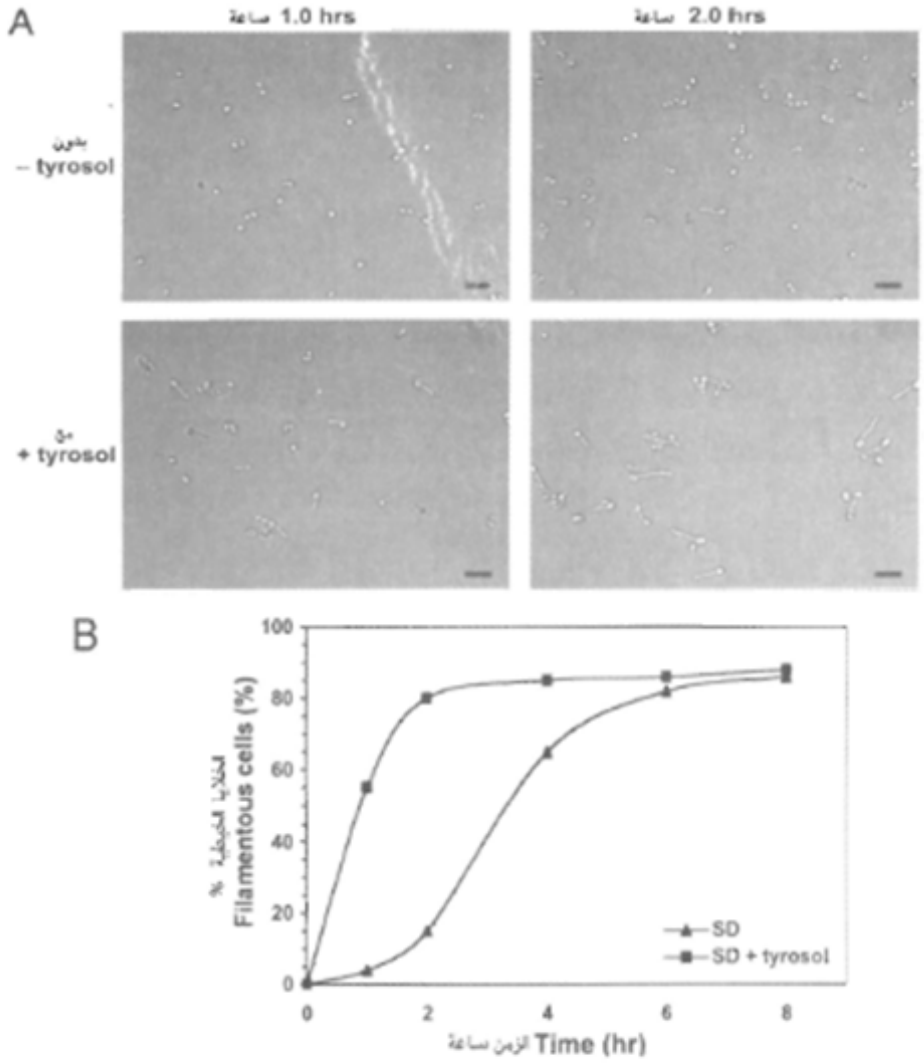
الفطر	ظروف النمو الخيطي	ظروف النمو لخميري
الممرضات البشرية		
Histoplasma capsulatum	25-20 مْ	37 مْ
Blastomyces dermatitidis	25-20 مْ	37 مْ
Paracoccidioides brasiliensis	25-20 مْ	37 مْ
Sporothrix schenekii	25-20 مْ	37 مْ
Coccidioides immitis	25-20 مْ	37 مْ
Candida albicans C. glabrata Cryptococcus neoformans	مستويات غذائية وكثافة خلوية منخفضة	مستويات غذائية وكثافة خلوية عالية
الفطريات الرمية		
Mucor rouxii M.racemosus Zygomycota وغيرها من فطريات *Saccharomyces cerevisiae*	نهوية مستويات نتروجين منخفضة وكثافة خلوية عالية	ظروف لاهوائية مستويات نتروجين عالية
الممرضات النباتية		
Ophiostoma ulmi	كالسيوم- بعض مصادر النتروجين	كالسيوم واطيء
Phialophora asteris		الغمر بالماء
Ustilago maydis	ثنائي النواة	أحادي النواة
ممرضات الحشرات		
Metarhizium anisopliae	أوساط صلبة	مزرعة مغمورة في سائل
Beauveria bassiana	أوساط صلبة	مزرعة مغمورة في سائل

عن: (Deacon,2005a ; Chen & Fink,2006)

بدرجة الحرارة يسمى ثنائية المظهر المحكومة بالحرارة وهو مهم بالنسبة للفطريات الممرضة للإنسان. وهناك حالات من ثنائية المظهر لا تتأثر بالحرارة وإنما بمستويات الأوكسجين. مثال على ذلك أنواع الفطر *Mucor* (*M. rouxii* و*M. racemosus*) فهذان الفطران ينموان بشكل خميرة في الظروف اللاهوائية لكنهما ينموان بشكل خيطي بوجود الأوكسجين حتى ولو بتركيز قليل. كذلك الفطريات المسببة لأمراض التفحم مثل *Ustilago maydis* تنمو بشكل خميرة عندما تكون أحادية النواة وتنمو بشكل خيوط فطرية عندما تكون في طور ثنائي النواة وهنا التحكم يكون وراثياً. بناءً على ما تقدم يبدو أن التحول من شكل الى اخر ليس محكوم بعامل معين وإنما ثمة آليات جزيئية محكومة وراثياً تقدح بهذا العامل البيني أو ذاك(Deacon,2005a ; Cho,2004). الآلية التي تحكم هذا النوع من التحول المظهري تعتمد على نمط النمو كما سبق شرحه وتقدح بمجموعة من الجزيئات الإشارية التي ذكرت أعلاه وأخرى سيتم تناولها هنا.

في عدد من الخمائر الممرضة مثل *C. albicans* و*C. glabrata* و*Cryptococcus neoformans* والخميرة غير الممرضة *S. cerevisiae* يتم التحول من الشكل الخميري الى الشكل الخيطي تحت ظروف التجويع النتروجيني. هذا الظرف يدفع خلايا الخميرة *S. cerevisiae* الثنائية التضاعف الى تكوين الخيوط الفطرية الكاذبة والخلايا الأحادية التضاعف الى النمو العدواني على الوسط الصناعي الأدنى. يتم تحسس حالة التجويع النتروجيني الذي يؤدي الى الإنتقال من الشكل الخميري الى الخيطي بواسطة مكونات المسار العالي المحافظة Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) و Protein Kinase A (PKA). تحسس هذه المكونات يؤدي الى تشجيع نسخ الجينات المطلوبة في عملية التحول الى الشكل الخيطي. لكن الجزيئات الإشارية الصادرة عن إنخفاض مستويات النتروجين غير معروفة. وتسهم جزيئات إشارية ذاتية مرتبطة بكثافة الأهلة

(التحسس الجمعي)، كما في حالة البكتريا، في التحول المظهري في العديد من الفطريات. في الخميرة *S.*



شكل 2.39: التيروسول يشجع تكوين انابيب الإنبات (النمو الخيطي) في الفطر *Candida albicans*. (A) تركيز منخفض من خلايا الفطر (1×10^{4} خلية/مل) في وسط أدنى في 37 م بوجود أو غياب التيروسول بتركيز 20 مكمول. (B) نسبة الخلايا المتحولة الى الشكل الخيطي بوجود أو غياب التيروسول مع الزمن
عن: (Chen *et al.*,2004)

cerevisiae تعمل الكحولات العطريـــة Phenylethanol وTryptophol هـــذا الدور. هذا يتم من خلال تحفيز التعبير عن الجين *FLO11* عبر آلية تعتمد علـــى بروتين Tpk2p.الطافرات المعاقة في تكوين الكحولات العطرية لا يمكنها التحول الى الشكل الخيطي، كما أن تكوين هذه الكحولات ينظم بواسطة تركيز النتـــروجين حيث يثبط بواسطة تركيز الأمونيا العالي. كما يرتبط تنشـــيط تكـــوين الكحـــولات العطرية، تحت ظروف قلة النتروجين، بالكثافة الأهلية للخميرة حيث تتعرض الـــى سيطرة تغذيـــة عكســـية موجبـــة تتطلـــب نســـخ العامـــل Aro80p(Chen & Fink,2006). الكحولات العطرية لا تحفـــز النمـــو الخيطـــي فـــي الفطـــر *C. albicans*. في هذا الفطر يعمل التيروسول (Tyrosol) على تقصير مدة طـــور التلكؤ في الكثافة الأهلية المنخفضة حيث يشجع تكوين أنابيب الإنبـــات أو النمـــو الخيطي (شكل2.39).

في الكثافة الأهلية العالية ينتج الفارنيسول (Farnesol) الذي يقوم بتثبيط التحـــول من الشكل الخميري الى الشكل الخيطي. في الفطر *C. albicans* يمكـــن تحفيـــز التحول الى الشكل الخيطي أيضا بالتأثير المشترك لإضافة المصل لإغناء الوســـط الزرعي ورفع درجة الحرارة الى 37 مْ وكذلك الوسط الفقير مثل وســـط Lee أو المحفـــز *N*-acetyl-glucosamine مـــع رفـــع درجـــة الحـــرارة الـــى 37 مْ(Whiteway & Bachewich,2007).

يسبب الفارنيسول المنتج من قبل الفطر *C. albicans* والمنتشر في وسط النمو أو المضاف إليه، تثبيط النمو في الخميرة القريبة *S. cerevisiae* والفطرين الخيطيين *Aspergillus nidulans* و*Penicillium expansum* ومن المحتمل في الكثير من الفطريات بل وحتى الفطر المنتج له *C. albicans* نفسه. تثبيط النمو ينتج عن تحفيزه الإستماته التي تشترك في إحداثها الميتاكوندريا وجزيئات الأوكسجين الفعالة Semighini *et al.*,2006 ; Liu *et al.*,2010a ; Shirtliff *et al.*,2009)ROS).

حالة فوق الأكسدة في التميز المظهري

Hyperoxidant State in Morphological Differentiation

1. العمليات الأساسية في التشكل المظهري في الفطريات تشمل الأهلية أو الإستعداد (Competence) والتحفيز (Induction) والتغيير (Change). الأهلية يمكن أن تكون وراثية لكنها ظرف فسلجي بالأساس. التحفيز هو تعرض النسيج المؤهل الى ظروف تمكن من تخطي المعوقات والتقدم نحو التغيير. التغيير يحصل بعد تحفيز النسيج المؤهل وحصول تغيير في سلوك وفسلجة الخيوط الفطرية. كل خطوة تشكل مظهري تنقل النسيج الفطري الى مرتبة أعلى من التميز أو التخصص. تحتاج خلايا الخيوط الفطرية المتميزة لأن تكون في بيئتها الطبيعية وعند رفعها منها تعود الى حالة الخيوط الفطرية الخضرية.

2. الآليات الجزيئية التي تسيطر على التشكل المظهري في الفطريات مماثلة لتلك التي تعمل في الحيوانات والنباتات. ثمة الكثير من الإشارات الفسلجية والإجهادات تسبب سيطرات على مستويات الترجمة توجه الأنسجة الفطرية المؤهلة لتعاني عمليات تميز خصوصية. فالبروتينات الناتجة يمكن أن تكون منشطات أو مثبطات خصوصية والتي ستنظم تتابعات الجين المطلوبة لبدء التميز. هذه ستمثل عوامل تغذية عكسية لمسار التميز حيث يمكن أن تصل الى حالة تنظيم ذاتي تكون مستقلة عن العوامل البيئية الخارجية التي حفزتها.

3. تتصل الخلية الفطرية بالبيئة من خلال تماسها بمواد بينية معقدة، وهنا تعتبر الخلايا المجاورة كجزء من بيئة الخلية الخارجية. التأثر مع البيئة الخارجخلوية يمكن ان يصير بشكل تواصل إشاري ينتقل الى داخل الخلية ويؤدي الى تغيرات في نشاط السايتوبلازم. التواصل الإشاري يمكن أن يكون بشكل جزيئات واطئة الوزن الجزيئي من المادة البينية الخارجية أو هرمونات أو عوامل نمو يمكن أن تدخل الخلية أو تستلم من قبل مستقبلات أو بروتينات Integrins داخل الخلية التي تشكل الهيكل الخلوي حيث تؤدي الى تغيرات فورية في واحدة أو اكثر من

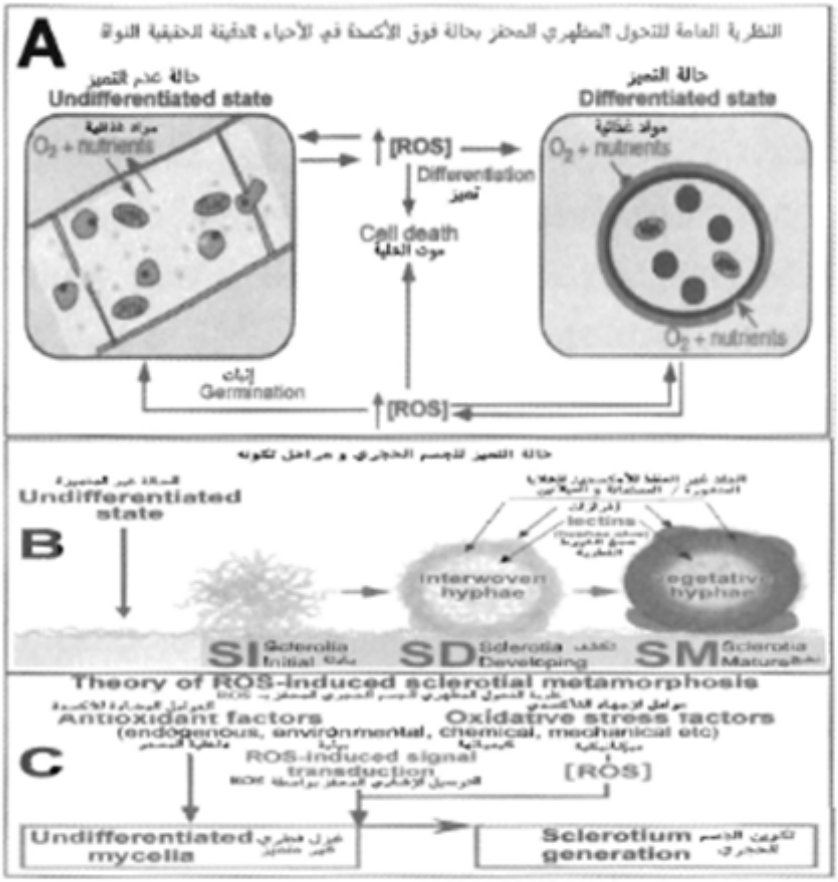
العمليات الأيضية أو أن الإشارات تؤثر مباشرة على نسخ الجينات. وهكذا فإن معرفة كيف تتحول المؤثرات خارج الخيط الفطري الى مؤثرات داخل الخيط الفطري تشكل حجر الزاوية في فهم التشكل المظهري.

يلعب جهد الأكسدة – الإختزال دورا مهما في العلاقات الإمراضية للفطريات بالنبات(Benada,1997) وكذلك سلوك الفطريات المستنبتة(Tanaka *et al.*,2006)، كما أن للبيئة الخارجية دور فعال في تنظيم جهد الأكسدة – الإختزال على بروتينات سطح الخلية في الخلايا البشرية وعلاقتها بمرض الأيدز(Sahaf *et al.*,2005).

4. حالة فوق الأكسدة (Hyperoxidant State) كأساس لتفسير التشكل المظهري في الأحياء الدقيقة الحقيقية النواة ومنها الفطريات (شكل2.40).

النظرية العامة للتميز الخلوي في الأحياء الدقيقة الحقيقية النواة تقول: أن ظاهرة التميز تقدح بحالة فوق الأكسدة (Hyperoxidant State) أو الإجهاد التأكسدي (Oxidative Stress) حيث تحفز الخلية على عزل نفسها عن الأوكسجين الغازي. حالة فوق الأكسدة وهي حالة غير مستقرة تحصل عندما تكون كمية جذور الأوكسجين الفعالة داخل الخلية اعلى من قدرة الخلية على معادلتها. ومن المعروف جيدا أن جذور الأوكسجين الفعالة وتسمى ايضا أنواع الأوكسجين الفعالة، إختصارا ROS ضارة جدا بالخلية حيث تؤدي الى تحطيم الحامض النووي والبروتينات والدهون وبالتالي موت الخلية. ROS تشمل $^1O_2$ وO^{-2} وHO^{-2} و$HO^{\cdot}$ وH_2O_2 و$NO^{\cdot}$(Gessler *et al.*,2007 Georgiou *et al.*,2006 ;). وبالنظر الى فاعليتها البيولوجية المدمرة تستخدم من قبل الفطريات ضد البكتريا في التغذي عليها وفي المنافسة وكذلك من قبل الأحياء الراقية، النباتات والحيوانات والإنسان ضد المسببات المرضية بما فيهاالفطريات(Gessler *et al.*,2007 ; Jain *et al.*,2009 ; Aguirre *et al.*,2006) ومن قبل النباتات المقاومة وغير العائلة للحشرات(Liu

et al.,2010b).من العوامل البيئية التي تكوّن ROS ويتعرض لها الفطر اثناء نموه،



شكل 2.40: (A) نموذج تنظيم تميز الخلايا المحفز بواسطة ROS في الأحياء الدقيقة الحقيقية النواة. حالة فوق الأكسدة هي حالة إنتقالية غير مستقرة حيث يتخطى تكوين ROS قابلية مضادات الأكسدة للخلية وتنظم الإنتقال بين حالتي عدم التميز والتميز. لحالة فوق الأكسدة ثلاث نتائج محتملة: (1) معادلتها من قبل الخلية بواسطة طاقة إختزالية(مواد غذائية) وتعود الى الحالة السابقة وبذلك تتكيف مع ظرف أكثر أكسدة.(2) تميز الخلية بعزل نفسها عن الأوكسجين البيئي. (3) عند الفشل في تحقيق أي من الخطوتين السابقتين، يتعادل الوسط المختزل الداخلي مع الوسط المؤكسد الخارجي وتموت الخلية. موت الخلية يساعد الخلايا الأخرى لأن تتكيف أو تتميز. الإنتقال من حالة التميز(مثل البوغ) الى حالة عدم التميز(الإنبات) يحصل عندما تتمكن القوة الإختزالية الناتجة من إستغلال المواد الغذائية معادلة حالة فوق الأكسدة المتولدة. يتم المحافظة على مستويات ROS بالموازنة بين معدل تكوين ROS(بواسطة الميتاكوندريا وNADPH oxidases و غيره من الإنزيمات) ومعدل تجريف ROS(بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة والجزيئات المضادة للأكسدة الداخلية والخارجية المصدر). (B)مراحل التخصص (SI, SD, SM) لجسم حجري كروي نموذجي للفطر الخيطي (كمثال *Sclerotium rolfsii*). الجسم الحجري الناضج SM يكون معزولا عن الأوكسجين وساكن، هذا يحصل في الظروف غير الملائمة حيث تتمكن من البقاء أحيانا لسنوات. (C) المبادىء العامة لتميز الأجسام الحجرية في الفطريات الخيطية تتماشى مع النظرية العامة للتميز المحفز بحالة فوق الأكسدة في الأحياء الدقيقة الحقيقية النواة
عن: (Georgiou *et al.*,2006)

الإشعاعات النووية والأشعة فوق البنفسجية والضوء المرئي والتغيرات في درجات الحرارة والأضرار الميكانيكية وغيرها.

أما مصادر $O^{\cdot}_2$ داخل الخلية فتنشأ عن الإختزال الجزئي للأوكسجين لتكوين H_2O خلال التنفس وفي التفاعلات التي تشمل Xanthine oxidase و Microsomal Monooxygenases و Lipoxygenase و Cyclooxygenase والأكسدة الذاتية لمركبات Thiols و Flavins و Quinones و Catecholamines وإختزال دورة Xenobiotic. إضافة الى ذلك ثمة إنزيمات تعمل على تكوين $O^{\cdot}_2$ خلال عمليات بيولوجية مختلفة من بين أهمها (NOX) NADPH-oxidase وهو معقد إنزيمي مقترن يتضمن وحدات على غشاء الخلية وأخرى في السايتوبلازم من بينها GTPases Ras الصغيرة و Rac(Gessler *et al.*,2007). يتكون H_2O_2 من $O^{\cdot}_2$ بواسطة الإنزيم Superoxide dismutases، يتكون $^1O_2$ من تفاعل $O^{\cdot}_2$ مع H_2O_2، يتكون $HO^{\cdot}$ من تفاعل H_2O_2 مع السستئين أو الحديد أو الكبريت أو العناصر المعدنية(Aguirre *et al.*,2006).

و هكذا فإن الأنظمة الإنزيمية الخلوية تنتج ROS المطلوب في تمييز الخلايا الفطرية. إن الزيادة في التركيز الداخلي لـ ROS قبيل مرحلة التميز التالية تؤدي الى تكوين نوع جديد من الخلايا في مختلف صفوف الفطريات.

بين (Semighini & Harris,2008) دور NADPH oxidase (Nox) في توليد وتراكم ROS في قمم الخيوط الفطرية حيث تسبب السيادة القمية بتثبيط تكوين فروع جديدة قريبة من القمة. هذا التأثير مشابه لما يحصل في تفرع الخلايا العصبية ونمو الشعيرات الجذرية. ويعمل الأوكسين وهو هرمون نباتي على تحفيز تكوين ROS من أجل الإستقطاب الأرضي للجذور في النباتات(Joo *et al.*,2001).

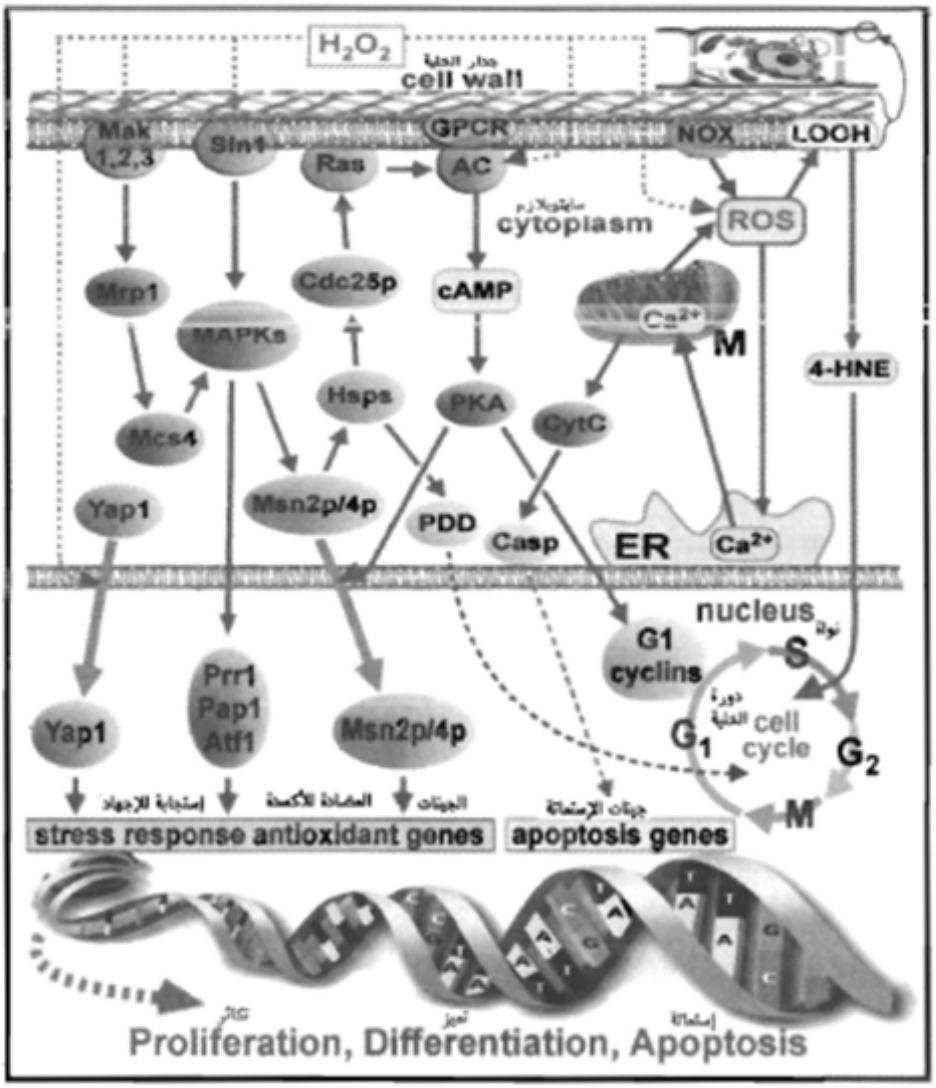
لا يوجد NOX في عدد من الخمائر والفطريات الثنائية المظهر لكنه يوجد خصوصا في الفطريات المكونة للأجسام الثمرية ويلعب دورا مهما في التكاثر

الجنسي. في الفطر الكيسي الخيطي *Aspergillus nidulans*، تثبيط جين *noxA* يخفض كثيرا من تكوين ROS ويثبط تكوين الأجسام الثمرية الكيسية المغلقة للفطر بينما يحفز النمو الخضري ويثبط التكاثر اللاجنسي. في الوقت نفسه فإن إزالة الكبح عن الجين *noxA* يترافق مع تكشف الأجسام الثمرية ونضجها قبل الأوان. كما أن إخماد الجينين *nox1* و*nox2* في الفطرين الكيسيين *Podospora anserine* و*Neurospora crassa* يثبط التكشف الجنسي وإنبات الأبواغ الكيسية. تكوين جذر الأوكسجين $NO^{\cdot}$ يتم من قبل الإنزيم Nitric oxide synthase ويلعب جذر الأوكسجين $NO^{\cdot}$ دورا مهما في تكشف الأجسام الثمرية للفطر *Flammulina velutipes* وتكوين الحامل البوغي للفطر اللاقحي *Phycomyces blakesleeanus* وتكشف الحوافظ البوغية في الفطر الهلامي *Physarum polycephalum*(Gessler *et al.*,2007).

في الوقت الذي تكون فيه حالة فوق الأكسدة غير مستقرة فإن حالة التميز وغير التميز (النمو) تكونان مستقرتين.

معادلة حالة فوق الأكسدة في الخلية تتم أما بمنع دخول الأوكسجين أو معادلته بواسطة الجزيئات المانحة للإلكترون أو الجزيئات المضادة للأكسدة مثل Ascorbic acid و β-carotene و Glutathione و Vitamin E وإنزيمات الكاتاليز و Superoxide dismutase و Glutathione peroxidase، عدم قدرة الخلية على معادلة حالة فوق الأكسدة تؤدي الى موت الخلية(Georgiou *et al.*,2006). في الواقع تتمكن الفطريات مثل أنواع *Cercospora* spp. الممرضة للنبات والمنتجة للسم Cercosporin المولد لـ $^1O_2$ على تفادي سميته من خلال معادلته بواسطة Glutathione المختزل(Solod *et al.*,1992).

عزل الخلية عن الأوكسجين الخارجي يترافق مع عزلها عن الماء الـذي يحتـوي على الأوكسجين المذاب وإعتماد الخلية على المصـادر الداخليـة لتوليـد القـدرة الإختزالية.



شكل 2.41: مسارات التوصيل الإشاري ($cAMP/H_2O_2$) المحفزة بواسطة ROS والمحتمل إشتراكها في تميز الأجسام الحجرية في الفطريات الخيطية. تم تكييف المعلومات المنشورة عن أبحاث إستجابات الخميرة لإجهاد ROS
عن: (Georgiou *et al.*,2006)

وعندما تصبح المصادر الداخلية محددة، ترتفع حالة فوق الأكسدة وتؤدي الى المزيد من عزل الخلية عن الأوكسجين الخارجي. وهكذا فإن توجيه مسار التخصص سيتحدد بهذين العاملين: العزل عن الأوكسجين الخارجي وتوفر مصادر القدرة الإختزالية الداخلية. يمكن أن تتم عملية التميز الخلوي بأكثر من مرحلة تتزايد بها حالة فوق الأكسدة وعملية العزل. الحالة النهائية من التميز هي الحالة الأكثر عزلا عن الأوكسجين الخارجي تحت الظروف الطبيعية.

في هذه الحالة يتوقف النمو أو يكاد يتوقف ويمكن ان يحصل موت لمجاميع من الخلايا تستغل من الخلايا الأخرى في إدامة العزل وكمواد مولدة للقدرة الإختزالية لمعادلة الأوكسجين المتكون داخليا. بعض المواد المتحررة من موت الخلايا الى الخارج يمكن ان تعمل كهرمونات أو جزيئات إشارية تحفز الخلايا الأخرى على مقاومة حالة الأكسدة.

هذا يمكن ان يؤدي الى تجمع وإندماج الخلايا وتكوين أجسام حجرية وأشكال جذور والبلازموديوم والتراكيب الجنسية وكذلك الإبتعاد من مناطق الحالة التأكسدية العالية الى مناطق أقل تأكسدا عن طريق تكوين الأسواط وتكوين مستعمرات جديدة. يمكن أن تعود الخلايا المتميزة الى حالة النمو الخضري عندما تنتهي عملية العزل عن الأوكسجين الخارجي ويوفر الوسط المواد اللازمة لتوليد قدرة إختزالية تعادل القدرة التأكسدية للأوكسجين الداخل الى الخلايا وتحافظ على حالة مستقرة (Georgiou *et al.*,2006) (شكل2.41).

الإستماتة (Apoptosis) وتكشف وتكوين الأنسجة

Apoptosis in Development and Tissue Formation

الإستماته أو الموت المبرمج للخلايا عملية محفوظة في الأحياء. تتحفز الإستماته بعوامل خارجية وداخلية تؤدي الى تحفيز الكابسيزات (و هي بروتيزات تحتوي على السستئين) التي تؤدي الى تحليل الميتاكوندريا وموت الخلية. هذا الموضوع تم

التطرق اليه بشيء من التفصيل في الفصل التاسع والعشرون من الكتاب. للإستمانة إستخدامات مختلفة في الأحياء ومنها نحت الأنسجة أو التشكل المظهري. ذلك يتوضح في الفطريات في عملية تكوين الأجسام الثمرية في العراهين (Mushrooms) حيث تحصل الإستمانة في صفوف من خلايا الطبقة الخصيبة لتوفير أخاديد تزيد من مساحة تكوين البازيدات وتسهل إنتشار الأبواغ البازيدية. وتعمل الإستمانة في تكوين المواد الجيلاتينية في الأجسام الثمرية للعراهين الجيلية (Jelly Fungi) كما تعمل في التشكل المظهري لحبال الغزل الفطري في الفطر المأكول *Agaricus bisporus*. وأرجح أن تحصل في خلايا قشرة الأجسام الحجرية في المراحل الأخيرة من تكونها لتسهم في تكوين التضاريس الخارجية للجسم الحجري حيث تكون هذه الخلايا ميتة خالية من السايتوبلازم.

وإذا كانت ظاهرتي نمط النمو والإستمانة هما ماكنتي التشكل المظهري في الفطريات فإنهما يحصلان بفعل تداخل مجموعة كثيرة من الجزيئات الإشارية الداخلية والخارجية المصدر حيث تلعب الفرمونات وأنواع من الجزيئات الفعالة بيولوجيا وحالة فوق الأكسدة أدوارا محفزة تؤدي الى تنشيط و/ أو تثبيط مجاميع من المسارت الجينية والإنزيمية التي تنتج المظهر المطلوب. ذلك يتوضح إضافة الى ما ذكر أعلاه في عمليات تكوين الأجسام الحجرية وحالة ثنائية المظهر في الفطريات.

العوامل المؤثرة في النمو

Factors Affecting Growth

يحصل نمو الفطر شأنه في ذلك شأن الأحياء الأخرى في بيئة معينة تتشكل من مجموعة من العوامل المتداخلة والمتأثرة كالتركيب الكيميائي وما يتضمنه من مواد غذائية أو سامة ودرجة الحموضة (pH) والقوة الأزموزية وكذلك درجة الحرارة وكمية الرطوبة الحرة والرطوبة النسبية والضوء والإشعاعات المختلفة وغيرها. إن

جميع هذه العوامل ليست مستقرة وإنما في حالة تغيرٍ دائم يلعب نمو الفطر نفسه وغيره من الأحياء دوراً مهماً في تغيير بعضها على الأقل.

تستطيع الفطريات النمو ضمن مدى محدود قد يتسع أو يضيق حسب نوع الفطر أو السلالة أو حتى العزلة الواحدة. وضمن هذا المدى يمكن تمييز ثلاث نقاط:

الأولى تمثل بداية المدى وتسمى الدرجة الصغرى (Minimum) وهي التي تمكن بالكاد من النمو ولا يتمكن الفطر من النمو في درجة أقل منها.

والثانية هي الدرجة المثلى (Optimum) التي يتمكن فيها الفطر من بلوغ أقصى معدل للنمو.

والثالثة هي الدرجة القصوى (Maximum) التي تمكن من حد أدنى من النمو بعدها يتوقف النمو نهائيا.

إن معدل النمو يتصاعد كلما تقدمنا من الدرجة الصغرى إلى المثلى، بعد ذلك يتناقص كلما تقدمنا من الدرجة المثلى إلى القصوى.

ومن المعروف وكما أشرنا سابقاً الى أن عملية النمو تستند إلى العديد من التفاعلات الحيوية التي تحفزها مجاميع مختلفة من الإنزيمات والجينات وتتطلب عمل الكثير من التراكيب والعضيات الخلوية وهي بمجموعها متداخلة ومعقدة ومنسقة بدقة بالغة وهي بالنهاية عملية تراكمية. وهكذا، يمكن أن يحدث التغير في واحد أو اكثر من العوامل تأثيرات مختلفة على الفعاليات المختلفة المشتركة في النمو. لكن التأثير النهائي سيكون المحصلة لمجموع التأثيرات الجزئية على العمليات المختلفة.

درجة الحرارة (Temperature)

إن المدى الحراري لنمو الفطريات يقع بين درجة الإنجماد و55 مْ. لكن المدى الحراري لمعظم الفطريات يقع بين 15 الى 30 مْ.

الفطريات المحبة للحرارة

Thermophilic Fungi

وتضم حوالي 30 نوعاً، تكون درجة حرارة نموها الدنيا حوالي 20 مْ والقصوى 50 الى 55 مْ (Maheshwari *et al.*,2000). بينما درجة الحرارة المثلى للفطر *Rhizopus chinensis* هي 40 مْ وللفطر *Coprinus fimetarius* أيضاً ودرجة حرارته القصوى هي 44 مْ.

ثمة دراسات تشير إلى تحمل بعض الفطريات أو أبواغها إلى درجات حرارة عالية تصل الى 85 مْ لمدة 10 دقائق كما هو الحال مع الأبواغ الكيسية للفطر *Byssochlamys flva*. وتحمل فطريات تعفن الخشب لدرجة حرارة 105 مْ لمدة تقل عن 12 ساعة (Belgrami & Verma,1980).

وتوجد أنواع قليلة مثل الفطر *Fsarium* الذي يسبب المرض المعروف بعفن الثلج في درجات الإنجماد. كما توجد أنواع قليلة مثل *Cladosporium* و*Sporotrichum* التالفة للأغذية تنمو في درجة حرارة منخفضة تصل إلى –5 أو –8 مْ. هذه الفطريات تسمى محبة للبرودة (Psychrophilic).

الفطريات المحبة للبرودة

Psychrophili Fungi

تضم الفطريات المتكيفة للنمو في درجة الحرارة الواطئة حيث تنخفض المنافسة من الأحياء الدقيقة الأخرى بالنسبة للفطريات الرمية وتضعف الأحياء العائلة وتقل

مقاومتها بالنسبة للفطريات الممرضة. درجة الحرارة القصوى لهذه الفطريات تكون بحدود 20 مْ والمثلى بحدود 15 مْ والصغرى أقل من 0 مْ.

في دراسة للفطريات النامية في القطب الشمالي تم عزل 40 نوعا تعود الى 20 جنسا من بينها أنواع *Acremonium* و *Geomyces* و *Mortierella* و *Phialophora* و *Phoma* و *Thelebolus* و *scoparia* *Eutypella* و *Hyphozyma variabilis* و *Ovadendron sulphureo-ochraceum* وفطريات عقيمة(Bergero *et al.*,1999). ومن الفطريات المحبة للبرودة الممرضة للنبات *Neopeckia coulteri* و *Phacidium infestans* على الصنوبر و *P. abietis* على المخروطيات و *Herpotrichia juniperi* على اشجار العرعر و *Coprinus psychromorbidus* و *Myriosclerotinia borealis* و *Typhula ishikariensis* و *T. incarnata* و *Microdochium nivale* (Hsiang *et al.*,1999) والفطر *Fsarium* الذي يسبب مرض عفن الثلج على القمح.

كما توجد أنواع قليلة من فطريات *Cladosporium* و *Sporotrichum* التالفة للأغذية تنمو في درجة حرارة منخفضة تصل إلى –5 أو –8 مْ. وذكر أن أبواغ فطر الصدأ *Puccinia coronata* قتلت بعد تعرضها لدرجات حرارة واطئة بحدود –10 مْ. وذكر Cochrane (1958) إمكانية بقاء الخلايا الفطرية حية في درجة حرارة دون الصفر المئوي إذا بردت وسخنت بصورة سريعة.

لهذه الفطريات اهمية أحيائية وبيئية كون بيئتها أقرب الى بيئات الكثير من الأقمار والكواكب في المجموعة الشمسية وخارجها فتزفد علم الحياة الفضائي، ولها دور في التنوع الأحيائي وتحليل المواد العضوية ويمكن أن تسهم في تحرير وتراكم غاز CO_2 في الفضاء الأرضي وما يتبعه من مفاقمة ظاهرة البيت الزجاجي ورفع درجة حرارة الأرض(Schmidt *et al.*,2009 ; Monson *et al.*,2006).

الأحياء المحبة للبرودة ومنها الفطريات، تتمكن من البقاء والنشاط في درجات الحرارة الواطئة من خلال زيادة نسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة وزيادة مجاميع الأحماض الدهنية ذات الرؤوس الدهنية الكبيرة وكذلك البروتينات وصبغات الكاروتين غير المستقطبة في أغشية الخلايا لزيادة سيولتها وتمكينها من العمل تحت ظروف الإنجماد.

وتكوّن هذه الأحياء بروتينات مضادة للإنجماد وسكر التريهالوز وبعض أنواع السكريات المعقدة الخارجية التي تساعد على تحمل الخلايا لدرجات الحرارة الشديدة الإنخفاض وتمنع تكوين البلورات الثلجية داخل الخلايا. كما تمتلك هذه الأحياء إنزيمات فعالة في البرودة حيث تكون درجة الحرارة المثلى لنشاطها بحدود 5 مْ.

هذه البروتينات ذات تركيب يسمح بتخفيض طاقة التنشيط اللازمة للتفاعل وتقاوم التشويه في درجات الحرارة المنخفضة(Kumar *et al*.,2011). ومما يساعد الفطر على مقاومة ظروف البرودة القاسية تكيف أبواغه على الإنبات في الربيع والصيف(Robinson,2001).

الفطريات المتوسطة الميل للحرارة

Mesophilic Fungi

أغلب الفطريات تكون متوسطة المدى الحراري حيث تقع درجة الحرارة المثلى لها بين 25 الى 28 مْ بينما درجة الحرارة الصغرى لها تكون بحدود 5 مْ والقصوى بحدود 35 مْ.

ويمكن ملاحظة أن درجات الحرارة المثلى لمعظم الفطريات لا تقع في المنتصف بين الدرجتين الدنيا والقصوى ولكنها تكون في الغالب أقرب إلى درجة الحرارة القصوى منها إلى الدنيا. ومن الضروري دائماً ربط تأثير درجة الحرارة مع زمن التعرض لها.

يمكن تلخيص تأثير درجات الحرارة على النمو بالنقاط التالية:

1. التأثير على سرعة التفاعلات الكيميائية والكيموحيوية. حيث تحصل زيادة في سرعة التفاعلات مع زيادة درجات الحرارة عن الدرجة الدنيا ووصولها الى الدرجة المثلى والعكس صحيح. كما أن الإستمرار في زيادة درجة الحرارة عن الدرجة المثلى يمكن أن يبطيء بعض التفاعلات بسبب تأثر الإنزيمات.

إن تخفيض النمو والنشاط الفسلجي في درجات الحرارة الواطئة طريقة روتينية لحفظ المزارع الفطرية والمكروبية عموما.

2. درجات الحرارة المنخفضة أو المرتفعة عن الحدود الدنيا والقصوى للنمو يمكن أن تؤدي الى تشويه البروتينات البنائية والوظيفية للخلية وبالتالي التأثير السلبي على فسلجة الخلية.

3. الإنجماد البطيء خاصةً يمكن أن يؤدي الى تمزق الأغشية أو الخلايا بسبب تكون البلورات الثلجية وما يصاحبها من زيادة فجائية في الحجم.

4. يؤدي التغير في درجات الحرارة (25 الى 37 مْ وبالعكس) إلى تغيير نمط النمو من الشكل الخيطي الى شكل الخميرة وبالعكس في الأنواع التي تظهر حالة ثنائية المظهر.

5. التأثير غير المباشر من خلال تداخلها مع عامل الرطوبة النسبية في الهواء وجاهزية الرطوبة الحرة في الوسط الغذائي.

الأس الهيدروجيني (pH)

الأس الهيدروجيني أو درجة الحموضة أو القاعدية أو الـ pH هي مقياس لتركيز أيونات الهيدروجين أو الهيدروكسيل للوسط حيث أن الـ pH تساوي – لوغارتم تركيز أيونات الهيدروجين ويمكن أن تساوي 1 الى 14 لأي محلول. الرقم

7 يعني أن الوسط متعادل بينما أقل من ذلك سيكون الوسط حامضياً وأكثر من ذلك يجعل الوسط قاعدياً.

جميع الأحياء الدقيقة تجد نفسها ملزمة للتكيف مع pH الوسط المحيط أو البيئة. من بين أهم أوجه هذا التكيف وخصوصا للأحياء التي تنمو على مدى واسع من الـ Ph كما هو الحال مع لكثير من الفطريات هو القدرة على التعبير عن الجينات التي يكون غاية عملها مرتبطا بوظائف على سطوح الخلايا أو في البيئة. هذه الجينات تشمل تلك المشفرة لإنزيمات Permeases والإنزيمات الخارجية والإنزيمات المشتركة في إخراج الأيضات من داخل الخلايا وطرحها الى الخارج كالسموم والمضادات الحيوية والإنزيمات المشتركة في تحوير مابعد الترجمة للبروتينات المفرزة الى الخارج. ثمة نظام مسؤول عن تنظيم نسخ هذه الجينات من أجل أن يتم التعبير عنها فقط عندما تكون pH الوسط تسمح بتحقيق عملها. لابد للخلية من تحسس الـ Ph وتوصيل الإشارة الى عامل النسخ الذي يتضمن مكون إندوسومي (من Endosome) واحد على الأقل. إن الإستجابة لـ Ph الوسط أساسية لنمو وإمراضية الفطريات الممرضة للحيوانات والنباتات(Peñalva & Arst, Jr,2004). في الفطر الكيسي الخيطي النموذجي *Aspergillus nidulans* يعاني عامل النسخ PacC الذي يعمل كمنشط للتعبير الجيني في الظروف القاعدية وككابح لها في الظروف الحامضية عمليتي تحلل: الأولى تعتمد على إشارة الـ Ph والثانية تكون بروتيوسومية. التوصيل الإشاري يتضمن ربط معقدين أحدها يشتمل على إثنين من بروتينات الغشاء الخلوي والبروتين Arrestin والثاني يشتمل على PacC وهو Cysteine protease من مكونات الإندوسوم. في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* يعمل Rim101p وهو شبيه PacC كمنشط مباشر للتعبير الجيني فقط. عمل PacC/Rim101 في تنظيم الإستجابة للـ pH ضروري في إمراضية الفطريات(Peñalva *et al.*,2008).

تختلف الأحياء الدقيقة في تفضيلاتها من درجة حموضة الوسط حيث تميل البكتريا إلى الوسط المتعادل إلى القاعدي قليلاً، بينما تميل الفطريات إلى الوسط المتعادل إلى الحامضي. ويستخدم pH الوسط المنخفض كعامل مساعد في عزل الفطريات وإستبعاد البكتريا من الأوساط الطبيعية. كما تختلف الأنواع الفطرية في مدى درجات الحموضة المناسبة للنمو.

بين Dursun *et al.* (2002) مدى الـ pH لعدد من الفطريات حيث كان بين 2.5-6.4 مع الفطر *Phoma exigua* و3 – 6 في حالة الفطر *Trichoderma viride* و4.5 – 9.6 مع الفطر *Cylindrocarpon orthosporum* وكان بحدود 6.4-9.1 في حالة الفطر *Mortierella ramanniana* و7.8- 9.6 في حالة الفطر *Fusarium lateritium*. وهناك أنواع مثل الفطر *Phoma destructiva* تنمو في مدى pH بين 2 و9 وهو أكبر مدى يمكن للفطر أن يتحمله ويتمكن من النمو فيه، بينما معظم الفطريات تنمو في مدى pH بين 4 و8 (Belgrami & ; Nester *et al.*,2001 Verma,1980).

تحضر معظم الأوساط الزرعية الفطرية الروتينية في pH 6.8 الى 7 وهي تزود عادة بمكونات كيميائية لها قدرة بفرية لمقاومة التغيير السريع في الـ pH. ومن المعلوم أن نشاط الفطر خلال النمو يؤدي الى تغيير pH الوسط بإتجاه الحامضية نتيجة:

1- الإدخال التفريقي للأيونات الموجبة والسالبة من الوسط.

2- إخراج H^+ خلال عملية النقل كما ذكر في آليات النقل الفعال.

3- إستغلال الفطريات لأيونات NH_4^+ يتم بأخذ NH_3 وإبقاء H^+ في الوسط.

4- لا تأخذ الفطريات الأيون السالب للحامض العضوي كما هو بل مع بروتون من جزيئة الماء تاركة أيون OH^- في الوسط.

5- طرح الحوامض العضوية وإنتاج غاز ثاني أوكسيد الكاربون الذي يتحول إلى حامض الكاربونيك نتيجة لذوبانه في الماء.

ومن المعلوم أن الخلية الفطرية كغيرها من خلايا الأحياء تمتلك pH داخلي تحافظ عليه من خلال وجود مواد بفرية النشاط.

يمكن أن تؤثر pH الوسط على نشاط الخلايا الفطرية من خلال:

1. التأثير على الجهد الكهربائي للأغشية عبر زيادة أيونات الهيدروجين الموجبة أو أيونات الهيدروكسيل السالبة. أن هذا العامل يؤثر على فاعلية الغشاء في عمليات النقل للعناصر المختلفة. وتوزع الشحنات الكهربائية لبروتينات الغشاء والتي هي ضرورية لعمل هذه البروتينات.

2. التأثير المباشر على عمل الإنزيمات خاصة الإنزيمات الخارجية وكذلك الداخلية من خلال تغيير pH الخلية حيث أن لكل إنزيم مدى معين من الـ pH لفاعليته، علماً أن معظم الإنزيمات تنشط في مدى pH 4 الى 8.

3. التأثير على وفرة العناصر المعدنية في الوسط الغذائي حيث أن عناصر المغنسيوم والحديد والكالسيوم والزنك تتوفر للفطر في الـ pH الحامضي كون ذوبانها يقل في الـ pH القاعدي(Griffin,1981 Belgrami & ; Verma,1980).

الضوء (Light)

تظهر البحوث المنشورة ان ثمة إستجابات مختلفة يعكسها نمو الفطريات لتأثير الضوء المرئي (400 – 800 ملمك). ففي حين يحفز الضوء نمو بعض الأنواع فإنه يثبط نمو البعض الآخر.

بين Yusef & Allam(1967) أن إستجابة نمو بعض أنواع الفطريات المدروسة لفترة التعرض للضوء تعتمد على شدة الضوء. فعند تعريض الفطريات للضوء بشدة منخفضة 160 و/ أو 300 قدم شمعة/ إنج^2، لم يتأثر نمو الفطرين *Myrothecium verrucaria* و *Pestalotia gracilis* بإطالة فترة التعريض للضوء، في حين تحدد نمو الفطر *Pleurotus ostreatus*. بينما في شدة الإضائة العالية (950 قدم شمعة/ إنج^2) لم يتأثر نمو الفطر *Myrothecium* لكن نمو الفطرين *Pestalotia gracilis* و *Pleurotus ostreatus* إنخفض مع زيادة مدة التعريض اليومي للضوء. إن نمو الفطر الأخير توقف عملياً مع التعريض المستمر للضوء. كما ان إضافة مستخلص الشعير مع مستخلص الخميرة شجع نمو الفطر *Pleurotus ostreatus* تحت هذه الظروف وليس تحت ظروف الظلام. وأرجع الباحثان هذه التأثيرات الى تنشيط الضوء لبعض المواد الأيضية الضرورية للنمو في خلايا الفطر المتأثر بينما يؤدي الى تحلل مواد ضرورية للنمو في الوسط الغذائي.

تشير الدراسات السابقة إلى إرتباط تأثير الضوء بحث تكوين بعض الصبغات كالكاروتينات أو الميلانين في بعض الفطريات. ويبدو أن الطيف الأزرق منه هو الأكثر تأثيراً.

تم إكتشاف وجود الأوبسينات (Opsins) وبعض البروتينات المرتبطة بالأوبسين في الفطر *Neurospora crassa*. وهذه المواد موجودة في خلايا اللبائن وبعض الأحياء الدقيقة الأخرى. إن هذه المواد تعمل في منظومة تحسس ونقل إشاري للضوء ينعكس على النمو وعدد من الفعاليات الفسلجية الأخرى (Borkovich,2005).

وتظهر بعض أنواع الفطريات إنتحاءات ضوئية لتراكيبها التكاثرية. كما تحدث الأطوال الموجية المختلفة خصوصا ضمن الطيف الأزرق والأشعة فوق البنفسجية من الضوء إنتحاءات سلبية في الخيوط الفطرية لها دور في زيادة تماسها بسطح

النبات مما يوفر فرص نجـــاح الإصـــابة(Islam & Honda,1996؛ Islam *et al.*1998). بعض أنواع الفطريات الممرضة للنبات مثـــل *Alternaria solani* و*Dreschleria sp.* تكون أبواغها على النباتات المصابة لكنها تفشل في ذلك على الأوساط الزرعية. لكن تعريضها للضوء أو الأشعة فوق البنفسجية يحفزها علـــى تكوين الأبواغ في المزارع المختبرية. إن الأطوال الموجية القصيرة للأشعة فـــوق البنفسجية تؤدي إلى إحداث طفرات وراثية قاتلة بينما تستخدم الأطـــوال الموجيـــة الأعلى(350 ن م) لأحداث طفرات غير قاتلة تستخدم كمصدر للتغاير يمكن مـــن الحصول على سلالات بمواصفات مطلوبة في الفطريات.

الرطوبة (Moisture)

الرطوبة تشير إلى الماء الموجود في الوسط وكذلك الموجود في الهواء بشـــكل بخار (رطوبة نسبية). يوجد الماء في الوسط بعدة أشكال فهنـــاك المـــاء المـــرتبط الداخل في تركيب جزيئات بعض المواد وهو غير جاهز للإستغلال من قبل الفطر. وهناك الماء المقيد أو المدمص على سطوح الجزيئات الغروية. كما يوجـــد المـــاء الحر وهو الجزء القابل للإنتشار الحر والإستغلال من قبل الفطر.

إن الماء الحر الموجود في الوسط ليس ماءاً مقطراً وإنما يحتـــوي علـــى ذرات وأيونات وجزيئات لعناصر عضوية ولاعضوية ذائبة فيه. وجود المـــذاب يكســـب الماء جهداً ازموزياً يتناسب مقداره مع تركيز المذاب. كما أن للماء جهـــداً مائيـــاً يتناسب مقداره عكسياً مع الجهد الأزموزي. إن الماء الموجود في خلايـــا الفطـــر داخل الفجوات والجدار يمتلك هو أيضاً جهداً ازموزياً وجهداً مائياً محكومان وراثياً (يعتمد على نوع الفطر) وقابلين للتنظيم في حدود معينة. وحسب قوانين الإنتشـــار عبر الأغشية تنتقل جزيئات الماء من منطقة جهد الماء العـــالي (جهـــد ازمـــوزي منخفض) أو الفعالية المائية aw العالية الى منطقة الجهـــد المـــائي الأقـــل (جهـــد

أزموزي عالي) أو الفعالية المائية aw الواطئة. وعليه، لكي يتمكن الفطر أو البكتريا من النمو على الوسط المعين عليه قبل كل شيء الحصول على الماء وذلك بأن يكون جهده الأزموزي أعلى مما للوسط وبالمعنى نفسه أن يكون جهد الماء أو الفعالية المائية aw داخل الخلايا أقل مما للماء في محلول الوسط. وفي هذه الحالة يقال أن المحلول منخفض القوة الأزموزية (Hypotonic). وبعكس ذلك فإن الماء سيخرج من داخل الخلايا الى الوسط حيث يكون المحلول عالي القوة الأزموزية (Hypertonic) وتحصل حالة الإنكماش أو البلزمة (Plasmolysis). وعندما تكون البلزمة شديدة ولفترة طويلة ستؤدي الى موت الخلايا. أما إذا كان محلول الوسط يمتلك جهداً ازموزياً مساوياً للجهد الأزموزي لمحلول الخلايا فيعتبر المحلول متماثل القوة الأزموزية (Isotonic)، عندها لن يكون ثمة كسب أو فقدان لجزيئات الماء. وفي الوقت نفسه إذا كان المحلول منخفض الأزموزية كثيراً فإن الخلايا يمكن أن تموت بسبب إمتصاصها لكميات كبيرة غير قابلة للضبط وبالتالي توسع حجمها وإنفجارها. وهكذا فإن الحالة المثلى أن يكون الجهد الأزموزي للوسط منخفضاً قليلاً عما هو للخلايا من خلال رفع الأخيرة لجهدها الأزموزي.

من أجل تخفيض جهد الماء أو الفعالية المائية aw (أو رفع الجهد الأزموزي) تقوم الفطريات بزيادة تركيز (إدخال) جزيئات الكحولات المتعددة (Polyols) خاصة الكليسرول وهذا مختلف عما تقوم به البكتريا المحبة للملوحة التي تدخل KCl مقابل طرد +Na لتحقيق الهدف نفسه. يتميز الكليسرول بإنخفاض معامل تثبيطه لعمل الإنزيمات بحيث أنه يستخدم لحفظ الإنزيمات (Griffin,1981).

كما تمت الإشارة إليه ثمة إختلاف في الجهود الأزموزية لأنواع الفطريات المختلفة ولهذا العامل أهمية بيئية حيث سيؤثر في قدرة الفطر على إختيار بيئة النمو. فالفطريات التي تتمكن من النمو على أوساط منخفضة الرطوبة كحبوب المحاصيل والمنسوجات والأغذية المجففة أو المواد المرضرلوة الجهد الأزموزي

مثل المربيات أو المواد الغذائية المملحة يجب أن تمتلك جهوداً أزموزية مرتفعة. إن مثل هذه الأنواع من الفطريات تسمى فطريات محبة للأزموزيـــة (Osmophilic) مثل أنواع *Eurotium* وبعض أنواع *Aspergillus* وغيرها. ومن أجـــل تنميـــة أنواع الفطر *Eurotium* يتوجب رفع الجهد الأزموزي للوسط وذلك بزيادة نســـبة السكر الموجود بصورة عادية في الوسط من 2 % الى 40 %. كمـــا أن الفطـــر *Xeromyces bisporus* يحتـــاج الـــى تراكيـــز أكبـــر مـــن أجـــل النمـــو (Malloch,1997).

حيث ان قطر الخيوط الفطرية بحدود 5 الى 10 مكم فإنها تمتلك مساحة سطحية كبيرة جدا. هذا يساعد الفطر كثيرا في زيادة معدلات الإمتصاص من الوسط وهو عملية جوهرية من أجل النمو. في الوقت نفسه، فإن لهذه الصفة ذاتهـــا مســـاوئها كونها تجعل الخيوط الفطرية أكثر عرضة للجفاف وبذلك نجد أن الفطريات ولكـــي تتجنب عملية الجفاف فإنها تعيش في بيئـــة مائيـــة (معظـــم الفطريـــات البيضـــية والفطريات الكتريدية) أو في اليابسة لكنها تفضل البيئة الرطبة والرطوبة النســـبية العالية والتي هي بحدود 95 الى 100 %. بينما تكون الرطوبة النسبية بحدود 85 الى 80 % محددة للنمو (Belgrami & Verma,1980 ; Maheshwari,2005). إن الرطوبة النسبية تكون محددة لنجاح المسببات المرضية في إحداث الإصـــابة على النبات. فعادة تحتاج الى رطوبة نسبية مشبعة أو قريبة من ذلك ولفترة 24 الى 48 ساعة من أجل إحداث المرض (Agriose,1997). كما أن ظروف الجفاف في العديد من الفطريات، تجعل طرف الخيط يتلقى الإشارة ويطلق عامل محفز لتكوين الكونيدات ينتشر الى الخلف حيث يحفز تكوين حواجز مزدوجة على طول الخيوط الفطريـــة. بعـــدها تقـــوم الخلايـــا بالإنفصـــال وتكـــوين الكونيـــدات المفصلية(Maheshwari,2005).

التهوية (Aeration)

الأوكسجين وثاني أوكسيد الكاربون هما الغازان المؤثران مباشـــرة فـــي نمـــو الفطريات.

الفطريات، بإستثناء أنواع قليلة من الفطريات الكتريدية، أحياء هوائية أو هوائية مجبرة.

تحتاج الفطريات الى الأوكسجين في عملية التنفس الهوائي حيث يكون المستقبل الأخير للإلكترونات. بينما ينتج غاز ثاني أوكسيد الكاربون كناتج عرضي للتـــنفس وبعض التفاعلات الأخرى، كما انه ينتج عن فعاليات الأحياء الأخرى في البيئة.

إن نمو الفطريات غالبا مايكون قريبا من مصدر الأوكسجين (الهواء) فهي تنمـــو على سطوح المواد العضوية ولا يتجاوز وجودها في التربة عمق 15 سم بسبب قلة الأوكسجين.

كفاءة النمو

Efficiency of Growth

لقياس كفاءة النمو في الفطريات يتم إستخدام مؤشرين. المؤشر الأول هـــو معـــدل النمو الأسي (μ) ويحدد من الجزء الأسي لمنحنى النمو شبه اللوغارتمي:

$$\mu = 2.303 \{ \log x_2 - \log x_1 / t_2 - t_1 \} h^{-1}$$

حيث أن x_1 وx_2 هي الوزن الجاف لنمو الفطر بالملغم فـــي الوقـــت t_1 وt_2 علـــى التوالي.

المؤشر الثاني هو ناتج النمو المولاري Y_G ويحدد كناتج (وزن جاف غزل فطري) لكل مول من الكلوكوز المستهلك. يمكن تنمية الفطر في الوسط السائل المعـــرض للرج المستمر حيث يمكن سحب نماذج من النمو بالماصة على فترات مختلفة تمكن من حساب المؤشرات أعلاه.

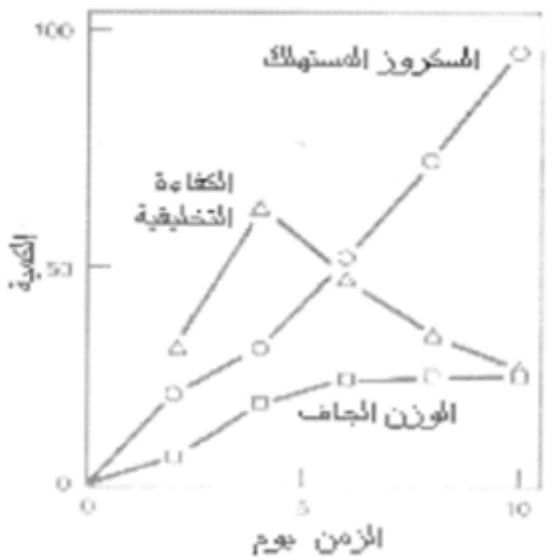
بمثل هذه التجارب أظهرت الفطريات المحبة للحرارة معدل نمو نوعي يساوي 0.23 / ساعة وناتج نمو مولاري يساوي 86 غم / مول بينما اظهرت الفطريات المتوسطة الميل للحرارة معدل نمو نوعي يساوي 0.16 – 0.37 / ساعة وناتج نمو مولاري يساوي 88 غم / مول. بالمتوسط تحول الفطريات المحبة للحرارة والمتوسطة الميل للحرارة تحول 55 % تقريبا من الكلوكوز الى كتلة حيوية وتستهلك 45 % من أجل الأيض. هذه الحالة مماثلة لما هو حاصل في البكتريا المحبة للحرارة(Maheshwari,2005).

الكفاءة البيولوجية

Biological Efficiency

الكفاءة البيولوجية أو كفاءة التحويل (Efficiency of Conversion) أو الكفاءة التخليقية (Synthetic Efficiency) هي حاصل قسمة الوزن الجاف للغزل الفطري على وزن مصدر الكاربون (أو وسط النمو) معبر عنه بالنسبة المئوية.

وتعني قدرة الكائن الحي على تحويل المواد الغذائية الى كتلة حيوية أو نمو أو منتج حيوي معين. علما ان المواد الأساس المستخدمة من قبل الفطر بعضها يتحول الى غزل فطري أو أجسام ثمرية أو أبواغ وبعضها إلى غازات ثاني أوكسيد الكاربون وبخار الماء ومواد أيضية مختلفة كالكحول والأحماض العضوية والسكريات المعقدة خارج الخلايا ومركبات الأيض الثانوي المختلفة.



شكل 2.42: العلاقة بين عمر المزرعة والنمو والكفاءة التخليقية في *Aspegillus niger*
عن: (Griffin,1981)

ولهذا الأمر أهمية كبيرة في الصناعات التخميرية والتقانة الحيوية عموماً. فقد يكون الغزل الفطري والأجسام الثمرية هي المطلوبة (زراعة الفطريات المأكولة) أو الخلايا (صناعة خميرة الخبز وغيرها) أو الأبواغ (صناعة المبيدات الحيوية) أو نواتج الأيض الثانوي (الأحماض العضوية، المضادات الحيوية، السموم الفطرية الخ.). تتميز الفطريات بكفاءة بيولوجية عالية، فعلى أساس حسابات العاملين في مجال زراعة الفطريات المأكولة، تتمكن الفطريات في المتوسط من تحقيق كفاءة بيولوجية بين 75 و125 % وأحياناً 250 % محسوبة على أساس الوزن الطري للفطر والوسط الغذائي، علماً أن الوزن الجاف للفطر هو 10 % وللوسط 25 % (Stamets,2000). تؤثر عوامل البيئة كثيراً على الكفاءة التخليقية، كما موضح من تأثير تركيز الكلوكوز وعمر المزرعة ومنحنى النمو (Griffin,1981) شكل 2.42.

Chapter 3 الفصل الثالث

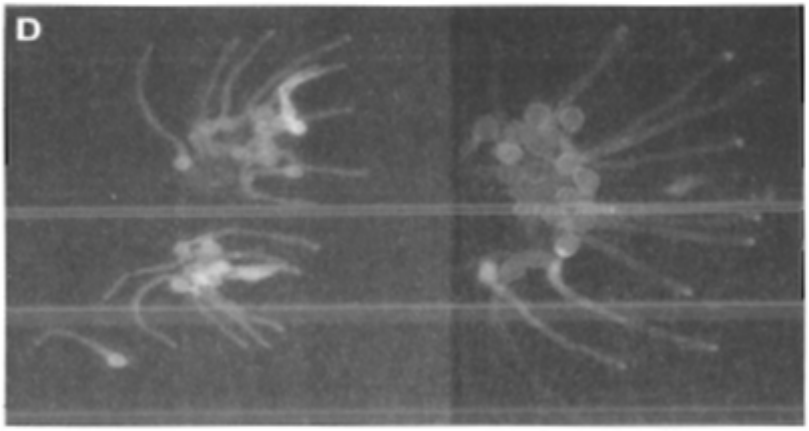
Tropism الإنتحاء

الإنتحاء يعني إستقطاب أو تموضع جسم الكائن الحي أو أجزاء منه نتيجة لمحفز خارجي. والإنتحاء يكون إيجابياً إذا كان إتجاهه نحو مصدر المحفز ويكون سلبياً إذا كان إتجاهه بعيداً عنه. وهذه الظاهرة موجودة في العديد من الفطريات والبكتريا والنباتات إستجابة لمحفزات غذائية، كيميائية، ضوئية، مغناطيسية أو لجاذبية وغيرها.

إنتحاء الخيوط الفطرية (Hyphae Tropism)

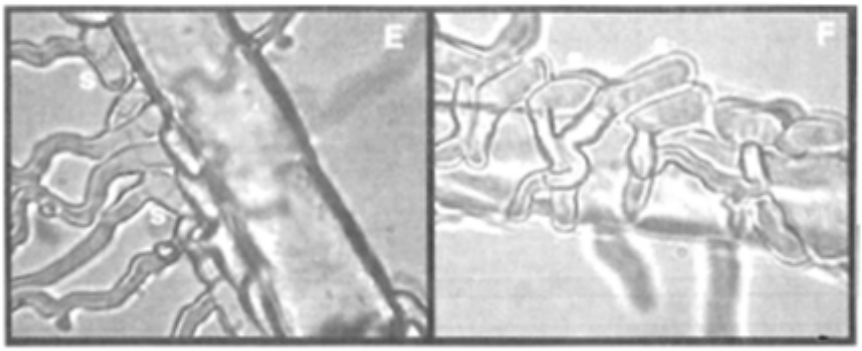
الإنتحاء الغذائي (Trophotropism)

تتجه الخيوط الفطرية لبعض أنواع الفطريات كما في حالة الأبواغ المتكيسة النابتة للفطر *Pythium aphanidermatum* نحو قطعة أكار غنية بالمواد الغذائية (شكل3.1). ويظهر مثل هذه الإستجابة عدد من الأنواع التابعة للفطريات البيضية *Oomycota* مثل أنواع *Saprolegnia* و*Achlya*. لكن الفطريات الحقيقية لاتظهر إنتحاءاً غذائياً كهذا (Deacon,2003f).



شكل 3.1: أنابيب إنبات الأبواغ المتكيسة للفطر *Pythium aphanidermatum* تنمو باتجاهات مختلفة(الى اليسار) وتتجه نحو المادة الغذائية (الى اليمين). الصورة تحت المجهر الفلوروسيني باستخدام الأشعة قرب البنفسجية
عن: (The University of Edinburgh، Deacon,2003 f)

تظهر أبواغ الفطر *Idriella bolleyi* وهو من الفطريات الناقصة *Deuteromycota* إنتحاءاً سلبياً تجاه الشعيرات الجذرية الحية حيث تتجه أنابيب الإنبات بعيدا عنها وإنتحاءاً إيجابياً تجاه الشعيرات الجذرية الميتة حيث تتجه أنابيب الإنبات نحوها وتخترقها. إن هذا ينسجم مع طبيعة الفطر حيث أنه من الفطريات الضعيفة التطفل فهو يهاجم المناطق القديمة من جذور نباتات الحشائش والمحاصيل (شكل3.2).



شكل 3.2: تبتعد انابيب إنبات أبواغ الفطر *Idriella bolleyi* (S) عن الشعيرة الجذرية الحية (شكل E) وتتجه نحو الشعيرة الجذرية الميتة (شكل F)
عن (Daccon,2005a:)

وتلتف الخيوط الفطرية للفطر *Verticillium biguttatum* وغيره من فطريات المكافحة الحيوية كأنواع *Trichoderma* والفطر *Fusarium proliferatum* حول الخيوط الفطرية للمسببات المرضية الفطرية لتحقيق تماس أقصى تمهيداً لإختراقها وإصابتها. وقد يكون الإنتحاء الغذائي جزءا من الإنتحاء الكيميائي حيث تقترب أو تبتعد الفطريات من مصادر بعض المواد الكيميائية.

الأبواغ المتحركة للفطريات الكتريدية *Rhizophydium littoreum* و *Schizochytrium* و *Thraustochytrium* و *Ulkenia* والفطر البيضي *Halophytophthora vesicula* تستجيب لمنحدر التركيز لمستخلصات المواد النباتية والطحلبية، الكحول والسكريات والأحماض الأمينية(West *et al.*,2006).

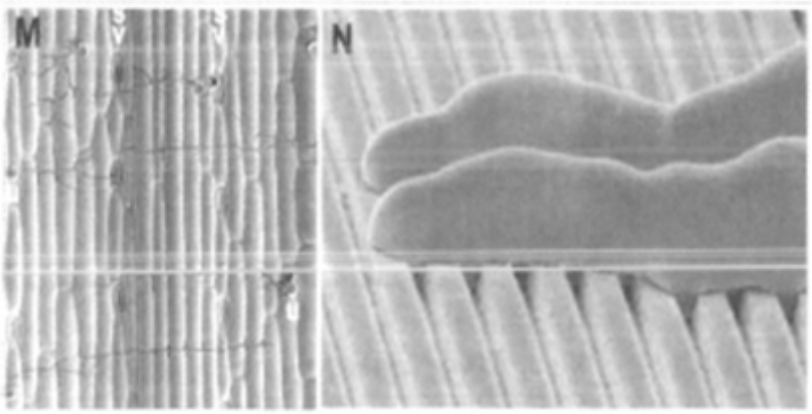
الإنتحاء الطوبوغرافي (Thigmotropism)

تظهر الفطريات المسببة لأمراض الصدأ على النباتات وهي من الفطريات البازيدية *Basidiomycota* إنتحاءات إيجابية تجاه ثغور أوراق النباتات العائلة لها فالثغور تمثل بوابة دخول الخيوط الفطرية. فأنابيب إنبات الأبواغ اليوريدية للفطر *Puccinia graminis* تنمو عمودياً على الصفوف المتوازية لخلايا البشرة. بهذه الطريقة تتمكن من الوصول الى الثغور الموجودة في خطوط ضمن صفوف خلايا البشرة سالكة أقصر الطرق (شكل3.3).

بينما لا تسلك فطريات الصدأ الأخرى التي تصيب نباتات ذوات الفلقتين هذا السلوك بسبب إختلاف توزع الثغور من دون ترتيب معين يمكن التنبؤ به كما في نباتات ذوات الفلقة الواحدة، حيث تتحسس وجود الثغور وتستجيب لها بتكوين عضو لاصق (Appressorium).

قام الباحثون بتسليط الضوء على سلوك أنابيب إنبات الأبواغ اليوريدية للفطر *Uromyces appendiculatus* على سطوح إصطناعية من البوليسترين محاكية

طوبوغرافياً لسطوح أوراق نبات الفاصوليا. لاحظوا أن أنابيب الإنبات تكون العضو اللاصق (دليل التعرف على الثغر) عندما تتحسس حافة أو إخدود بإرتفاع 0.5 مك ولكن ليس بإرتفاع يزيد عن 1 مك. وتستجيب فطريات أخرى لإرتفاعات مختلفة



شكل 3.3: (M) صورة مسح بالمجهر الإلكتروني توضح نمو أنابيب إنبات الأبواغ اليوريدية (u) للفطر *Puccinia graminis* عمودياً على حروف وأخاديد سطح أصطناعي مشابه لسطح ورقة نبات القمح الذي يحتوي على صفوف خلايا البشرة والثغور(S). (N) أطراف أنابيب الإنبات للأبواغ اليوريدية للفطر على حواف وأخاديد مصنوعة بدقة من رقاقة السليكون. قطر الأنبوب 4 مكومتر والمنطقة السفلى الملامسة للسطح تكون مسطحة لزيادة تحسس طوبوغرافية السطح.
عن: (The University of Edinburgh ، Deacon,2003 f)

بسبب تكيفها مع طبيعة سطوح عوائلها حيث يكون إرتفاع الخلايا الحارسة هو المحفز الإشاري لتكوين العضو اللاصق (Allen *et al.*,1991). وهكذا نجد أن الفطريات تتبع التكتيكات المناسبة مع كل حالة تكيفت معها أو تخصصت عليها.

آليات الإستجابة Mechanism of Respons

تم تحديد عدد من العوامل المؤثرة للإستجابات الطوبوغرافية:

1. الإلتصاق بالسطح متطلب للتحسس الطوبوغرافي وهذا يتحقق بواسطة مواد مخاطية ينتجها إنبوب الإنبات حيث أن إزالة هذه المواد بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتين يبطل التحسس.

2. موقع أجسام Spitzenkörper يلعب دورا مهما حيث يكون قرب السطح ويكون طرف إنبوب الإنبات كأنف منحني على السطح.

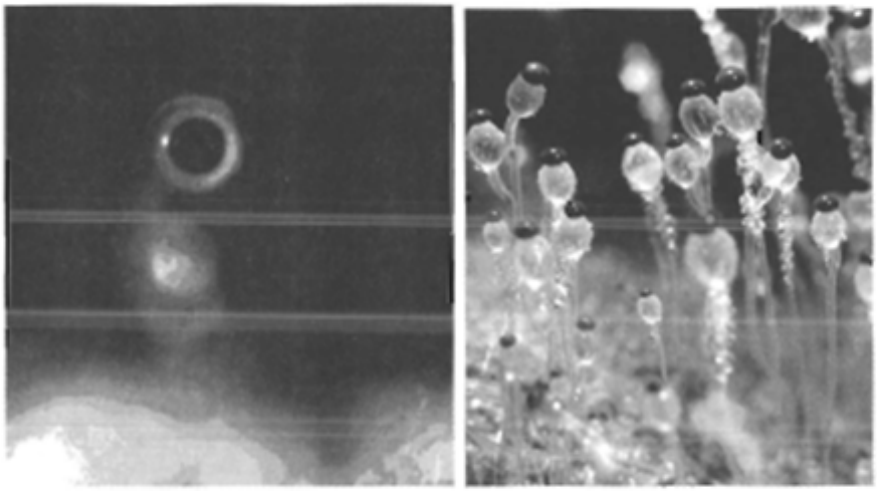
3. تكثف المواد الهيكلية الخلوية مثل الأنيبيبات الدقيقة في المنطقة القريبة من السطح في إنبوب الإنبات.

4. تظهر أغشية الخلايا تنشيط بالشد لقنوات أيونات الكالسيوم. ومن المعروف الدور المهم لأيونات الكالسيوم كمادة إشارية في الخلايا الحقيقية النواة وكناقل ثانوي للإشارات من سطح الخلية لإحداث تغيرات في التعبير الجيني (Jackson & Heath,1993).

وعليه فقد اقترح أن تغير طوبوغرافية السطوح يمكن أن تسبب إجهاد موقعي في غشاء لخلية الفطرية يتيح أخذ أيونات الكالسيوم التي تؤثر مباشرة في البناء الهيكلي للخلية أو بصورة غير مباشرة عن طريق تغيير التعبير الجيني الذي يؤدي الى التميز. ويعتقد أن آليات مشابهة تحصل في مستقبلات على اغشية الخلايا إستجابة لتحفيز المواد الكيميائية (Deacon,2003f).

الإنتحاء الضوئي (Phototropism)

تظهر بعض الفطريات خاصة الفطريات الروثية (Coprophylous Fungi) إنتحاءاً ضوئياً لتراكيبها التكاثرية للأطوال الموجية القريبة من أطوال الأشعة فوق البنفسجية. ولهذه الظاهرة أهمية في نشر أبواغ هذه الفطريات على مساحة واسعة من الحشائش التي تقتات عليها الحيوانات ومن ثم الإنبات والنمو على روثها.



شكل 4 .3: الحوافظ البوغية السوداء للفطر *Pilobolus* من الفطريات اللاقحية *Zygomycota*(يمين). تحتوي الحوافظ البوغية في قواعدها على حلقة من صبغة فلافينويدية تبدو فاتحة اللون تقع خلف الحوصلة الحاملة للحافظة والتي تعمل كعدسة مركزة للضوء وتتوضح هذه الحلقة خلف الحافظة البوغية السوداء المواجهة للكاميرا في الصورة (يسار).
عن: (The University of Edinburgh، Deacon,2003 f) و Kent Simmons
http://uk.images.search.yahoo.com/images/view?back=http%3A%2F%2Fuk.imag

من بين هذه الفطريات الفطر *Pilobolus* الذي يحمل حوافظه البوغية على حوامل طويلة. أسفل الحافظة توجد حوصلة منتفخة تعمل كعدسة لتسليط الضوء على حلقة الصبغة ونتيجة لذلك ينحني الحامل البوغي وتنطلق الحافظة بإتجاه مصدر الضوء (شكل3.4). ثمة إنتحاء ضوئي مماثل يظهره الفطر *Phycomyces* لكنه لا يطلق الحافظة.

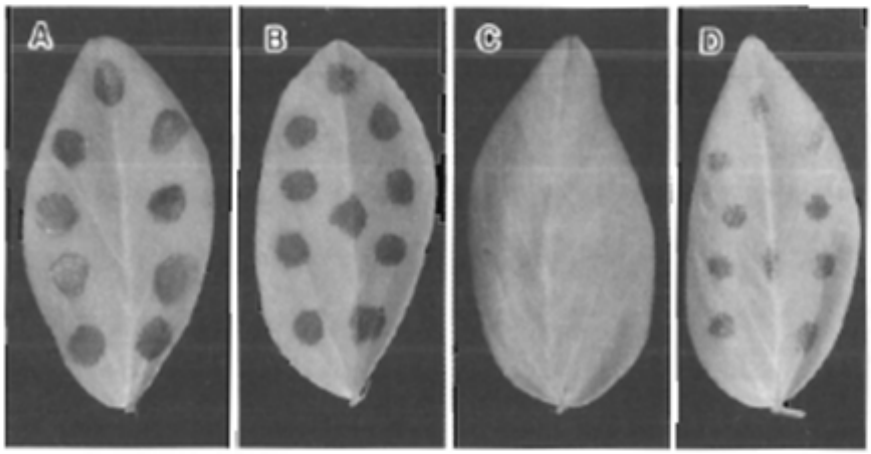
كما أن الإنتحاء الضوئي السلبي لأنابيب الإنبات لكونيدات الفطريات الممرضة للنبات مهم في عملية الإصابة كما سبق ذكره(Honda *et al*.,1992).

إن الإنتحاء الضوئي السلبي (بعيداً عن الضوء – قريباً إلى سطح النبات) يساعد على إلتصاق الخيط الفطري بسطح النبات العائل وهو من المتطلبات الأولية المهمة في عملية الإختراق (Mercure *et al*.,1994). أنابيب الإنبات للأبواغ اليوريدية

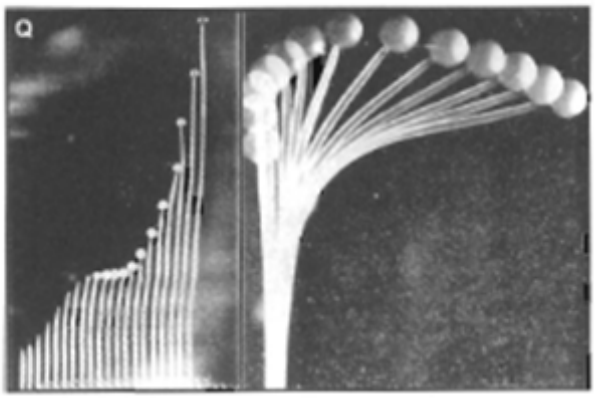
للفطر *Puccinia pachyrhizi* أظهرت إنتحاءاً سلبياً للضوء الأزرق بينما لم تكن هناك إستجابة للأطوال الموجية التي تزيد عن 600 ن م (الضوء الأحمر) (Koch & Hoppe,1987). وبالإتجاه نفسه إستجابت أنابيب الإنبات لكونيدات الفطر *Septoria obesa* حيث أظهرت إنتحاءا سلبيا تجاه الضوء في الأطوال الموجية 300 الى 520 ن م أقصاه عند الضوء قرب الأشعة فوق البنفسجية 380 والضوء الأزرق 460 ن م، بينما كان إنتحائها إيجابياً عند الأطوال الموجية الأعلى 580 الى 700 ن م (Honda & Miyawaki,1989). بينما كانت الحالة مع الفطر *Colletotrichum lagenarium* هو الإنتحاء السلبي للضوء في الأطوال الموجية للأشعة فوق البنفسجية والضوء الأزرق (300 إلى 520 ن م) والأشعة تحت الحمراء (أطول من 700 ن م) لكن الأطوال الموجية للضوء الأصفر – الأحمر (575 الى 700 ن م) حفزت إنتحاءاً إيجابياً، كما كانت إستجابة كونيدات الفطر *Botrytis cinerea* بالإتجاه نفسه تقريباً (Islam & Honda,1996؛ Islam *et al.*1998). وما يدعم هذه النتائج فشل كونيدات الفطر *Septoria obesa* في إختراق ثغور أوراق نبات الطماطة عندما عرضت للضوء الأقصر من 390 ن م عبر غشاء الفنايل الممتص للأشعة فوق البنفسجية (Honda *et al.*,1992). كما أدى الإنتحاء السلبي تجاه الضوء القريب من الأشعة فوق البنفسجية إلى تشجيع تكوين العضو اللاصق من قبل كونيدات الفطر *C. lagenarium* خيوط الإصابة في حالة الفطر *B. cinerea* في حين ثبط تكوين العضو اللاصق وخيوط الإصابة بالإنتحاء الأيجابي للضوء (شكل3.5) (Islam & Honda,1996؛ Islam *et al.*1998). مع ذلك لم يظهر الفطر *Bipolaris oryzae* إنتحاءاً ضوئياً مهماً لجميع الأطوال الموجية ولم يؤثر الضوء في تراكيب الإصابة التي يكونها (Islam *et al.*1998).

فسر Blaauw (1914) الإنتحاء الضوئي الذي يظهره الفطر *Phycomyces* (شكل3.6) على أساس أن جزء الحامل البوغي للفطر المواجه للضوء يعمل كعدسة

لامة حيث يسلط شدة أكبر من الضوء على الجهة البعيدة من الحامل البوغي مؤدياً الى إستطالة أكثر من الجهة المواجهة للضوء مما ينتج إنتحاءاً ضوئياً إيجابياً وقد عزز ذلك أن عمر الخلايا بسائل (مثل البرافين السائل) له معامل إنكسار أعلى من الهواء أدى الى تحول المنطقة المواجهة للضوء الى عدسة مفرقة وبذلك أستلمت المنطقة المواجهة للضوء شدة أكبر من الضوء زاد من معدل إستطالتها وحصل إنتحاء سلبي. وهناك تفسيرا آخر لظاهرة الإنتحاء الضوئي على أساس إشتراك إنزيمات محللة للجدار تقوم بتليين الجدار في المنطقة خلف القمة المواجهة للضوء، ونشاط الإنزيمات المسؤولة عن بناء الجدار مسببة إستطالته في الجهة المقابلة. إن الإنزيمات الحاوية على مجاميع فلافينية ملحقة شائع في الفطريات، وإن إختزال صبغة الفلافين نتيجة لتعرضها للضوء يمكن أن يؤدي الى تغيير في نشاط الإنزيمات المتعلقة بمواد الجدار (Deacon,2003f).



شكل 3.5: تطور القروح النخرية التي تشير الى نجاح إصابة الفطر *Botrytis cinerea* لأوراق الباقلاء بعد 48 ساعة من التلقيح تحت تأثير الضوء قرب الأشعة فوق البنفسجية (A) أو الضوء الأزرق (B) أو الضوء الأحمر (C) أو الظلام (D)
عن: (Islam *et al.*1998)

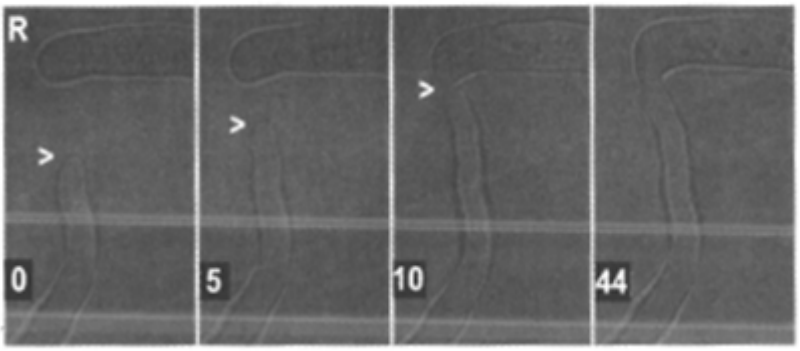


شكل 3.6: (Q)يظهر مراحل إستطالة الحامل البوغي للفطر *Pycomyces* ليصل الى إرتفاع 5 سم أو أكثر وعلى اليمين صور لعملية الإنتحاء الضوئي على مدى 15 دقيقة عن: The University of Edinburgh، (Deacon,2003 f)

تظهر الفطريات الكتريدية *Rhizophydium littoreum* و *Thalassochytrium gracilariopsidis* إنتحاءا ضوئيا (West *et al.*,2006).

الإنتحاء الجنسي (Sexual Tropism)

تعمل هذه الظاهرة في عدد من أنواع الفطريات حيث تقترب نهايات الفروع الهوائية للعزلات المتوافقة للفطريات اللاقحية Zygomycota وتلتحم لتكون الأبواغ الجنسية. إن ذلك يتم تحت تأثير هرمونات طيارة تسمى Trisporic acids كذلك تحدث مثل هذه الظاهرة حيث يحصل إندماج لأطراف الخيوط الفطرية الإعتيادية للعزلات المتوافقة في عملية تدعى التقمم (Anastomosis) (شكل3.7) تمهيداً لحصول عملية التكاثر الجنسي في عددٍ من أنواع الفطريات البازيدية *Basidiomycota*. إن هذه العمليات وكما يحصل أيضاً في الفطر *Rhizoctonia solani* تتضمن إستجابات إستقطابية عالية الدقة. وحيث إن ذلك لا يحصل بين الأنواع المختلفة فهذا يدلل على الخصوصية العالية للجزيئات الإشارية المشتركة مع إنها غير معروفة لحد الآن.



شكل 3.7: صور بالمجهر الفيديوي تبين عملية التقمم لخيطين فطريين للفطر *Rhizoctonia solani*، الأرقام تشير الى الوقت بالدقائق. ويلاحظ تغيير الخيط الفطري الأسفل لأتجاه نموه لحين لقاء الخيط الثاني نهاية بنهاية. الوقت المستغرق لأكمال عملية التقمم بزوال الجدران الفاصلة وإتحاد السايتوبلازم بين الصورة 3 و4 هو 30 دقيقة.
عن: (Deacon,2003 ، The University of Edinburgh)

الإنتحاء الأرضي (Gravitropism)

إن نمو الغزل الفطري لا يتأثر بالإنتحاء الأرضي لكن الخيوط الفطرية المفردة يمكن أن تتأثر به. هذا ما يتوضح بسلوك حامل الحوافظ البوغية في الفطر *Phycomyces* والتأثير الأوضح يكون مع الأجسام الثمرية للعراهين.

خلال نمو الجسم الثمري لهذه الفطريات تؤثر عدة إنتحاءات في فترات زمنية مختلفة من النمو. ويمكن ترتيب الإنتحاءات تصاعديا كما يلي: الإنتحاء الطوبوغرافي والإنتحاء الأرضي وإنتحاء الرياح (Anemotropism) والإنتحاء الضوئي.

تم تجريب قوى جاذبية مختلفة من +/- 0 الى 4.5 g تحت شدات إضاءة مختلف على بادئات الأجسام الثمرية لفطريات العراهين.

في مرحلة البادئة يعمل الإنتحاء الضوئي الموجب ثم يعمل الإنتحاء الأرضي السالب فيما بعد. وإن تبديل الإنتحاءات يرتبط بعملية الإنقسام الإختزالي. إن النسيج الحامل للأبواغ ينتحي إنتحاءا أرضيا موجبا بصورة مستقلة عن ساق الجسم

الثمري. الفطريات البازيدية المثقبة (Polypores) تظهر إستجابة أرضية مظهرية حيث تكوّن أجسام ثمرية جديدة عند تعرضها الى مؤثرات خارجية. ساق الجسم الثمري هو أكثر الأجزاء إستجابة لمؤثرات الإنتحاء.

تشير تجارب الجاذبية الأرضية والفضائية على أن نمو الأجسام الثمرية لا يتأثر بالجاذبية لكن النضج وتكوين الأبواغ عن طريق الإنقسام الإختزالي يحتاج الى عامل الجاذبية الطبيعي.

إن آلية الإستجابة لمؤثر الجاذبية صعب التشخيص لكن الأبحاث تشير الى أن إقلاق الهيكل الأكتيني للخلية يسهم في تحقيقه حيث أن النوى يمكن ان تعمل كأجسام موازنة (Statoliths) والنقل الإشاري الذي تسهم به أيونات الكالسيوم يشترك في التوجيه التفريقي للنمو (Moore, 1996 ; 1991). إن هذا لا يتعارض مع ما كشفته تجارب الجاذبية في الفضاء عن الإنتحاء الأرضي لجذور النباتات حيث أشارت الى أن أجسام الموازنة ليست حرة تماما في الترسب في خلايا الجذر الحساسة للجاذبية فهي متصلة بخيوط الأكتين عبر بروتينات محركة (Myosin) والتي تكون المسؤولة عن تحريكها(Perbal & Driss-Ecole,2002).

إستنتج (Grolig,*et al*.,2000) في دراستهم للإنتحاء الضوئي والأرضي في الفطر *Phycomyces blakeseeianus* أن كلا الإنتحائين مرتبطان بقوة بواسطة حلقة تقوية عكسية (Tonic Feedback Loop) تسمح بتأثير تعاضدي لسلاسل التوصيل الحائة لكل منهما. كما بينوا بإستخدام طافرات فاقدة للبلورات الثمانية الأوجه (Statoliths) أن هذه البلورات لا تشترك في حلقة التقوية العكسية.

الفصل الرابع Chapter 4

الإحتياجات الغذائية للفطريات

Nutrition Requirements of Fungi

جميع الأحياء تحتاج إلى مواد كيميائية تسمى المواد الغذائية من أجل تمكنها من بناء أجسامها والقيام بالأنشطة الحيوية المختلفة بما فيها النمو والتكاثر. ومن المعروف جيداً أن أجسام الأحياء تتكون بالأساس من مواد عضوية مختلفة التعقيد مع مواد لاعضوية بالإضافة إلى المواد الفعالة في التفاعلات الحيوية (الإنزيمات) وهي مواد عضوية مع بعض المواد اللاعضوية أحياناً.

النباتات الخضراء والطحالب وأنواع قليلة من البكتريا والطحالب الخضر المزرقة هي المجاميع الوحيدة من الأحياء التي تتمكن من الحصول على المواد الغذائية العضوية من مواد لاعضوية (ثاني أوكسيد الكاربون والماء) بواسطة عملية البناء الضوئي. إن عملية البناء الضوئي هي التفاعلات الوحيدة القادرة على تحويل بعض المواد الكيميائية اللاعضوية إلى مواد عضوية. هذه العملية تحتاج الى مصدر طاقة أولي كبير وهو ضوء الشمس في هذه الحالة وجزيئات كيميائية نشطة ضوئيا (صبغات الكلوروفيل والكاروتينات وغيرها).

إن الأحياء القادرة على القيام بالبناء الضوئي تسمى ذاتية التغذية (Autotrophic) كونها معتمدة على نفسها وليس على غيرها من الأحياء في الحصول على المواد العضوية.

الأحياء الأخرى بما فيها الحيوانات بجميع أشكالها والفطريات ومعظم أنواع البكتريا وبعض أنواع النباتات الفاقدة للكلوروفيل لا تتمكن من القيام بالبناء الضوئي فهي مضطرة للحصول عليه من الأحياء الذاتية التغذية مباشرة أو بصورة غير مباشرة من خلال نواتجها أو بقاياها وهذه الأحياء تسمى غيرية التغذية (Heterotrophic).

الحاجة إلى المواد العضوية من قبل الأحياء غيرية التغذية لا تعني بالضرورة الحصول على جميع المواد العضوية في أجسامها من الأحياء الذاتية التغذية، حيث أن حصولها على نوع أو مجموعة أنواع قليلة منها وبشكل دائم، يكفي أن يشكل منطلقاً لها للحصول على بقية حاجاتها العضوية بنفسها من خلال التفاعلات التحويلية فيها.

وفي سبيل الحصول على المواد العضوية وتأمينها سلكت الفطريات طريقين رئيسين هما:

1- الترمم (Saprophytism)

ويعني الحصول على المواد العضوية الميتة من مصادر نباتية أو حيوانية أو لأحياء دقيقة أخرى، والفطريات في هذه المجموعة تسمى رمية (Saprophytes).

خلال عملية التغذي هذه تحول الفطريات المواد العضوية المعقدة التركيب إلى مواد أبسط مستفيدة من جزء من الطاقة والمواد الوسطية الناتجة من عملية التحليل لبناء أجسامها وتراكيبها التكاثرية وإطلاق العديد من المواد الأبسط غير المستغلة الى المحيط بشكل غازات (CO_2، N_2) أو سكريات وحوامض وغيرها. وهي بذلك تلعب دوراً بيئياً غايةً في الأهمية في دورة الكاربون والنتروجين في الطبيعة. لكن السيء في هذا الأمر أن الفطر لا يفرق بين السليلوز الموجود في الأوراق أو الأغصان النباتية المتساقطة وذلك الموجود في الورق المصنع أو الأثاث الذي

يستخدمه الإنسان. وهكذا ستنتج عن هذه الأنشطة المفيدة بيئياً مضـــار إقتصـــادية مهمة تتمثل في إتلاف المواد الغذائية وغيرها من المواد الإقتصادية.

تتميز هذه المجموعة من الفطريات بغنى مخزونها من الإنزيمات المحللة الـــذي يمكنها من إستغلال المواد العضوية المختلفة.

2- التطفل (Parasitism)

ويعني الحصول على المواد العضوية من خلايا الكائنات الحية مباشرة من خلال مهاجمتها وإختراقها وصولا الى الأنسجة الحية، مسببة الأمراض علـــى الأحيـــاء المختلفة، والفطريات في هذه المجموعة تعتبر طفيلية (Parasites).

إن الترمم أو التطفل يمكن أن يتجلى بدرجات مختلفة:

أ- التطفل الإجباري (Obligate Parasitism)

الفطريات التي تكمل دورة حياتها طفيلية في جميع البيئات والظـــروف تســـمى طفيليات مجبرة (Obligate Parasite).

الفطريات الطفيلية المجبرة لا تنمو على الأوساط الزرعية المختبرية عادة. ومن أمثلة هذه الفطريات تلك المسببة لأمراض الصـــدأ والـــتفحم والبيـــاض الزغبـــي والدقيقي. وهذه لا تنمو على الأوساط الزرعية عادة.

ب- الترمم الإجباري (Obligate Saprophytism)

الفطريات التي تكمل دورة حياتها دائماً وفي جميع البيئات بصورة رمية تســـمى رمية مجبرة (Obligate Saprophytes) مثل فطريات *Chetomium* وأنواع من فطريات *Penicillium* و*Aspergillus* وعدد من أنـــواع الفطريـــات المأكولـــة وغيرها.

إن الكثيرمن الفطريات الرمية المجبرة يمكن أن تنمو على الأوساط الزرعية في المختبر.

ج- التطفل الإختياري (Facultative Parasitism)

وتمثله مجموعة من الفطريات تعيش عادة بطريقة رمية ولكن في ظروف معينة يمكن أن تعيش طفيلية وتسمى طفيلية إختيارية (Facultative Parasites). وكأمثلة عليها فطريات أنواع *Fusarium* و*Rhizoctonia* و*Alternaria* وغيرها.

د- الترمم الإختياري (Facultative Saprophytism)

وتقوم بذلك فطريات تعيش بطريقة طفيلية عادة وتحت ظروف معينة تعيش بصورة رمية وهذه الفطريات تسمى رمية إختيارية (Facultative Saprophytes). من أمثلة هذه الفطريات الفطر *Taphrina deformans* والفطر *Armilaria mella*.

هـ- التعايش (Symbiosis)

وهي طريقة تغذية غيرية حيث يقوم الفطر بالحصول على المواد الغذائية العضوية (سكريات) من كائن حي آخر هو طحلب عادة دون إحداث أضرار تركيبية أو فسلجية فيه بل يساعد الطحلب في الحصول على الملجأ الذي هو جسم الفطر وعلى الماء والعناصر المعدنية. أي نشوء علاقات منفعة متبادلة دائمة بين الفطر والطحلب تؤدي الى نشوء مجموعة من الأحياء تسمى الأشنات (Lichens).

كما تنشأ علاقة تعايشية بين بعض الفطريات وجذور النباتات تحصل الفطريات من خلالها على المواد العضوية وتوفر للنبات إمتصاص أفضل للماء والعناصر المعدنية والحماية من مهاجمة المسببات المرضية وهذه الحالة تسمى فطر- جذر (Mycorrhiza).

كما توجد الفطريات أحيانا داخل أنسجة النبات وتسمى في هذه الحالة مستنبتات (Endophytes). كذلك تعيش بعض أنواع الفطريات داخل الحشرات دون إيذائها متخطية الظروف غير الملائمة (Alexopoulos *et al.*,1996). وثمة علاقات تعايشية مختلفة بين عدد من الفطريات وحشرات النمل والنمل الأبيض والخنافس.

تتغذى الفطريات على أنواع مختلفة جداً من المواد، إلا ان هذه المواد يجب أن تكون عضوية في غالبيتها إضافة الى بعض المركبات والعناصر اللاعضوية، حيث ان جميع الفطريات غيرية التغذية (Heterotrophic).

البيئات الغذائية للفطريات سواء كانت طبيعية أو أصطناعية قد تختلف في محتوياتها وتراكيزها لكنها يجب ان توفر الحد الأدنى من المكونات التي تشمل مصادر الكاربون، النتروجين، وعناصر أساسية أخرى مثل الفسفور، الحديد، المغنسيوم، البوتاسيوم، والكبريت وعدد من العناصر النادرة مثل، الكالسيوم، المنغنيز، الكوبلت وغيرها.

مصدر الكاربون (Crbon Source)

مصدر الكاربون المستخدم في تغذية الفطر يجب ان يكون عضوياً. وهو يمثل مصدراً رئيساً للطاقة ولهياكل الجزيئات المختلفة التي يحتاجها أيض الفطر. وبناءً على ذلك يمثل مصدر الكاربون الجزء الأكبر من مكونات الأوساط الغذائية للفطريات، علاوةً على أن الكاربوهيدرات تمثل نسبةً مهمةً من مكونات جسم الفطر وإن جزءاً كبيراً منها يتحرر إلى الهواء بشكل غاز ثاني أوكسيد الكاربون.

الكاربوهيدرات أو السكريات (Carbohydrates or Sugars)

تتكون الكاربوهيدرات من عناصر الكاربون والهيدروجين والأوكسجين حيث تكون نسبة الهيدروجين الى الأوكسجين 2: 1. وتعرف الكاربوهيدرات كيميائياً

على أنها مشتقات ألديهايدية أو كيتونية لكحولات متعددة. تقسم الكاربوهيدرات حسب عدد وحدات السكر في الجزيئة إلى: سكريات أحادية حيث تحتوي الجزيئة على وحدة سكر واحدة. وسكريات ثنائية إذا إحتوت على جزيئتي سكر أحادي، وسكريات مضاعفة إذا احتوت على أكثر من إثنتين بقليل حيث تكون معروفة العدد من جزيئات السكر الأحادي، وسكريات متعددة إذا إحتوت على بضع الى عدة وحدات سكر أحادي غير معروفة العدد في الجزيئة.

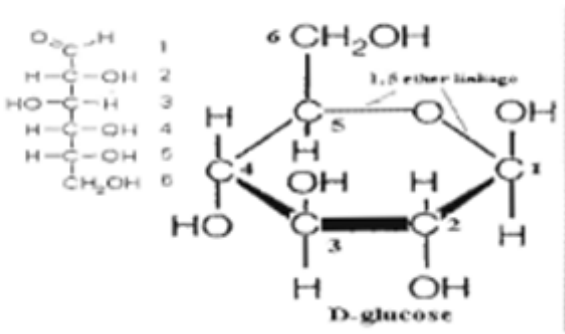
وتقسم السكريات الأحادية حسب عدد ذرات الكاربون في الجزيئة الى ثلاثية ورباعية وخماسية وسداسية وسباعية، كما تقسم تقسيماً ثانوياً ما إذا كانت الديهايدية أو كيتونية وما إذا كانت أيزوميرات فراغية D أو L أو + أو – حسب حرفها للضوء المستقطب في المحاليل.

تمتلك وحدات السكر ذات الأهمية البيولوجية الصيغة الكيميائية العامة التالية: $CH_2OH-(CHOH)_n-CHO$.

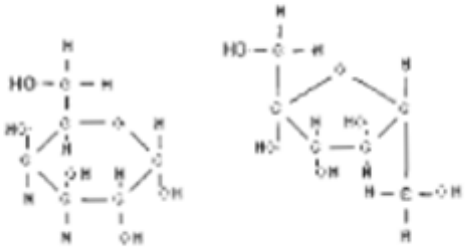
وهكذا فهي مكونة من سلسلة كاربونية ترتبط مع كل ذرة كاربون فيها مجموعة هيدروكسيل(OH-) ما عدا الذرة رقم 1 وأحيانا رقم 2 التي يمكن ان يكون لها مجموعة الديهايد أو كيتون.

السكريات الأحادية (Monosaccharides)

تعتبر السكريات الأحادية خاصة الكلوكوز مصدر الكاربون الذي تتمكن معظم الفطريات من النمو عليه كمصدر وحيد للكاربون.



إن إنزيمات نقل وتأييض الكلوكوز في الفطريات تكون تكوينية حيث يحصل النمو عليه دون مرحلة تلكؤ. يتبع الكلوكوز حسب سرعة إستغلاله من قبل الفطريات بالسكريات الأحادية فركتوز ومانوز ثم الكالكتوز حيث تحاج الفطريات الى وقت للتكيف من اجل إستغلالها. وما أن يحصل النمو فإنه يكون بنفس معدل النمو مع الكلوكوز، وإن إضافة كمية قليلة من الكلوكوز مع هذه السكريات يقلل كثيراً من فترة التلكؤ (Griffin,1981).



fructose $C_6H_{12}O_6$ galactose $C_6H_{12}O_6$

مع ذلك ثمة أنواع قليلة من الفطريات لا تتمكن من النمو على الكلوكوز بسبب تثبيطه لبعض الإنزيمات المحللة للكاربوهيدرات. وربما يرجع عدم القدرة على إستغلال السكر إلى الفشل في نقله إلى داخل الخلايا.

الخمائر التي تتمكن من إستغلال الكلوكوز تتمكن أيضا من إستغلال الفركتوز والمانوز وليس بالضرورة الكالكتوز، بينما تلك التي لا تتمكن من إستغلال الكلوكوز لا تتمكن ايضا من إستغلال هذه السكريات.

بعض الفطريات تستخدم السكريات الخماسية في التنفس افضل من الكلوكوز. وتتمكن الخميرة *S. cerevisiae* من إستغلال Xylulose وليس Xylose (Walker&White,2005). ومن السكريات الخماسية فإن D – زايلوز يدعم نمو عدد كبير من الفطريات خاصة تلك المحللة للأخشاب وكذلك L- أرابينوز مع وجود فشل في إستغلاله من قبل أنواع أخرى. وقد يرجع الفشل في إستغلاله إلى تكون المركب السام Furfural عند تعقيمه بالأوتوكليف (Cochrane,1958).

الكحولات السكرية (Sugar Alcohols)

وهي تنتج عن إختزال السكريات الأحادية ومنها المانيتول والسوربيتول والدلسيتول المشتقة عن السكريات السداسية والكليسرول والأرثريتول المشتقان عن السكريات الثلاثية والرباعية على التوالي. إن هذه الكحولات السكرية تدعم نمو بعض الفطريات لكنها على العموم تكون أقل كفاءة من السكريات المشتقة منها. والجدير بالذكر أن محدودية إستغلال بعض المصادر الكاربونية يمكن أن تفيد في إستنباط الأوساط الإنتخابية للفطريات القادرة على النمو المحدود عليها.

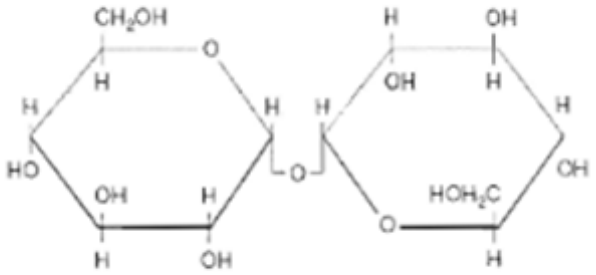
الحوامض السكرية (Sugar Acids)

ثمة عدد من الحوامض السكرية مثل حامض D- كلوكونيك وD- كلوكورونيك وD- كالكتورونيك يمكن أن تدعم نمو بعض أنواع الفطريات بدرجات مختلفة.

السكريات الثنائية (Disaccharides)

السكروز وهو سكر ثنائي مكون من الكلوكوز والفركتوز واسع الإنتشار في النباتات ومنتجاتها. وهو يدعم نمو العديد من الفطريات خاصة الممرضة للنبات حيث يمكنها تحليله إلى مكوناته إنزيمياً. القليل من أنواع الفطريات مثل *Rhizopus nigricans* لا تتمكن من إستغلال السكروز. والمالتوز وهو ناتج التحلل المائي للنشاء والمؤلف من جزيئتي كلوكوز يدعم نمو العديد من الفطريات بل أن بعض

الفطريات تفضله على الكلوكوز كما توجد أنواع تفشل من النمو عليه كمصدر وحيد للكاربون. الخمائر التي تستغل المالتوز لا تتمكن من إستغلال اللاكتـــوز والعكـــس صحيح(Walker & White,2005). كما تتمكن بعض الفطريات مـــن إســـتغلال سكر الفطر تريهالوز وهو سكر غير مختزل مؤلف من جزيئتي كلوكوز مرتبطتين بآصرة كليكوسيدية α1-1. لقد أشار (Fillinger *et al.*,2001) إلـــى أن ســـكر التريهالوز مطلوب من أجل إكتساب التحمل لمختلف عوامل الأجهاد مثل الصـــدمة الحرارية والأكسدة في الفطر الخيطي *Aspergillus nidulans*.



السكر الثنائي تريهالوز

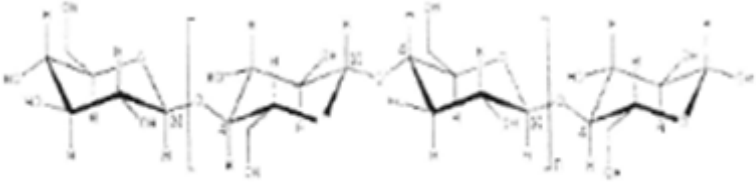
أما اللاكتوز فقليل من أنواع الفطريات تتمكن من النمو عليـــه كمصـــدر وحيـــد للكاربون. تستخدم القدرة على إستغلال السكر الثنـــائي Melibiose فـــي تفريـــق خمائر البيرة Ale وLager.

تتمكن أنواع من الفطريات الناقصة من إســـتغلال الســـكر الثلاثـــي رافينـــوز. وتستطيع الخميرة *S. cerevisiae* من الإستغلال الجزئي للرافينوز بينمـــا تـــتمكن الخمائر الأخرى من أنواع *Saccharomyces* spp. مثـــل *S. carlsbergensis* و*S. kluyveri* من الإستغلال الكامل له.

تتمكن الخمائر المحللة للنشاء من تأييض السكريات المضـــاعفة Maltotetraose وMaltodextrins لكن خمائر البيرة تفشل في ذلك(Walker&White,2005).

السكريات المتعددة (Polysaccharides)

تتكون السكريات المتعددة المهمة بيولوجيا من وحدات سكر بسيط خماسية أو سداسية الكاربون. تعتبر السكريات المتعددة أكثر أنواع المواد السكرية إنتشاراً في الطبيعة. فهي تضم السليلوز والبكتين واللكنين وأشباه السليلوز التي تشكل معظم جدران الخلايا النباتية وكذلك النشاء والكلايكوجين والأنيولين كمواد غذائية مخزونة في خلايا النباتات والحيوانات والفطريات. تعتبر الفطريات من أكثر الأحياء الدقيقة قدرة على إستغلال السليلوز (شكل4.1). وذلك يتم بعدد من الإنزيمات الخارجية التي تنتهي عند تحلله الكامل الى الكلوكوز (شكل4.2).



شكل 4.1: الصيغة التركيبية لسلسلة سليلوز مفردة وتتألف من تكرار آلاف وحدات السكر الثنائي سليبيوز المرتبطة. وحدة السليبيوز هي تلك المحصورة بين قوسين وتتوضح أواصر -β1 4 التي تربط جزيئات الكلوكوز مع بعضها
عن: (Deacon,2005b, The University of Edinburgh)

وتتوزع الفطريات المحللة للسليلوز على المجاميع التصنيفية: الفطريات الكيسية والبازيدية والفطريات الناقصة.



شكل 4.2: تركيب السليلوز ونواتج تحلله المختلفة
عن: (Deacon,2005b, The University of Edinburgh)

ثمة أنواع من الفطريات قادرة على مهاجمة أشباه السليلوز والتي تتبع بالبكتريـــا والفطريات الشعاعية.

ويتمكن العديد من أنواع الفطريات النمو على النشاء كمصدر للكاربون. وهو قـــد يدعم النمو أفضل من المواد المكونة له بسبب إحتوائه على مواد منشـــطة للنمـــو بشكل ملوثات وبسبب بطيء تحلله وتكوينه تراكيز أقل من الحوامض. والفطريات التي تنمو على النشاء تنمو جيداً على ناتج تحلله الجزئي المالتوز. كما أن الفطريات المحبة



شكل 4.3: منحنى تفضيلات الفطريات لمصادر الكاربون
عن: (Deacon,2005b, The University of Edinburgh)

للحرارة والتي تتمكن من تحليل السكريات المعقدة يمكن ان تنمو جيدا على مثل هذه المواد في الطبيعة. فالفطر *Sporotrichum thermophile* ينمو على السليلوز (الورق) كنموه على الكلوكوز وينمو الفطران *Chaetomium thermophile* و *Chaetomium thermophile* على الزايلان افضل من نموهما على السكريات البسيطة(Maheshwari,2005).

ويمكن أن يستغل الكلايكوجين خاصةً من قبل الفطريات المتطفلة على الحيوانات، كونه المادة الكاربوهيدراتية المخزونة فيها. ويستغل الإنيولين من قبل أنواع قليلة من الفطريات بسبب فشلها في إنتاج الإنزيم أنيوليز المحلل له.

وتتمكن بعض الفطريات خاصة الكتريدية من إستغلال الكايتين وهو بوليمر كلوكوزأمين ويمثل جزءاً رئيساً من قشور الحشرات. كما تستغل العديد من الفطريات المواد البكتينية من خلال التحليل الإنزيمي لها خاصة في الثمار والخضروات. وتستغل البنتوزانات من قبل الفطريات المحللة للأخشاب. كما تتمكن بعض هذه الفطريات من إستغلال اللكنين.

إن إستغلال السكريات المضاعفة والمعقدة يتم بواسطة إنزيمات خارجية ومستحثة (Griffin,1981).

الخمائر المخمرة للسكريات المعقدة نادرة. الخمائر *Saccharomycopsis* spp. و *S. diastaticus* تتمكن من إستغلال النشاء الذائب والخمائر من أنواع *Kluyveromyces* spp. تمتلك إنزيم Inulinase ما يشير الى إمكانية إستغلالها للإنيولين(Walker&White,2005). في المنحنى (شكل4.3) ملخص لتفضيلات الفطريات لمصادر الكاربون المختلفة.

غاز CO_2

مع أن غاز ثاني أوكسيد الكاربون لا يمثل متطلبا غذائيا لمعظم الفطريات، إلا أن بعض الفطريات المحبة للحرارة خصوصا تلك التي تنشط في عملية تخمير المخلفات النباتية ومنها الفطر *Thermomyces lanuginosus* يتأثر نموها كثيرا على الوسط السائل الخالي من غاز CO_2. كما أن تنمية فطر صدأ الكتان (من الفطريات الأحيائية التغذية) على الوسط الزرعي يحتاج الى وجود هذا الغاز (Maheshwari *et al*.,2000).

الدهون (Fats)

يمكن أن تستغل الدهون كمصدر للكاربون والطاقة من خلال تحليلها بواسطة إنزيمات اللايبيز (Lipases) الى أحماض دهنية وكليسرول. وتنشط الأحماض الدهنية من خلال ربطها مع Co-A لتدخل العمليات الأيضية.

البروتينات والأحماض الأمينية (Protein and Amino Acids)

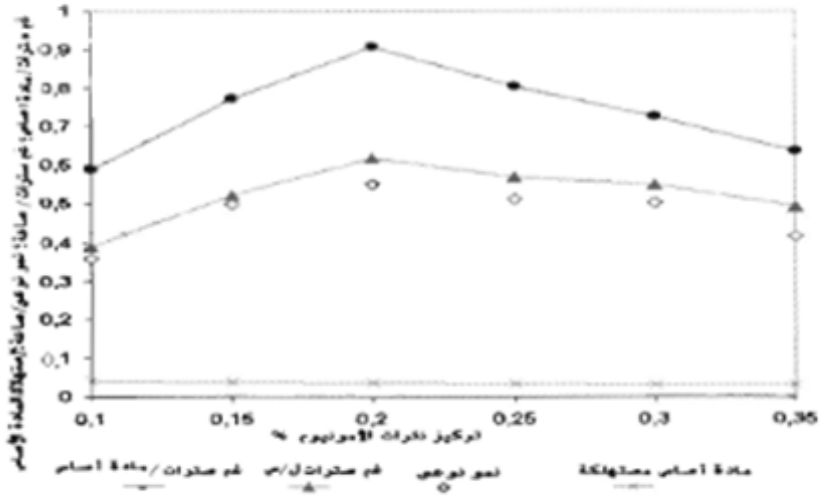
تتمكن الفطريات من إستغلال الأحماض الأمينية كمصدر مزدوج للكاربون والنتروجين. وتختلف إستجابة الفطريات إزاء الأحماض الأمينية المختلفة. كما تتمكن الفطريات من إستغلال البروتينات كمصادر للكاربون في حالة عدم وجود مصادر كاربون أخرى.

وهناك فطريات مثل الفطريات الممرضة الجلدية تتمكن من مهاجمة البروتينات خاصة الكيراتين في الجلد والأظافر وغيرها. كما توجد العديد من المواد الأخرى التي يمكن أن تستغل كمصدر للكاربون والطاقة مثل الأحماض النووية بعد تحليلها إنزيميا والكحولات والهيدروكاربونات(Hawker,1950; Bilgrami & Verma,1980). تتمكن الخمائر والقليل من الفطريات الخيطية من إستغلال

الألكانـــــــات (n-Alkanes) المكونـــــــة مـــــــن 12 الـــــــى 18 ذرة كاربون(Walker&White,2005).

مصدر النتروجين (Nitrogen Source)

يعتبر النتروجين المكون الأساس الثاني في الوسط الغذائي للفطريات. فهو يدخل في بناء الأحماض الأمينية والبروتينات والقواعد النتروجينية أحد مكونات الأحماض النووية وفي الفيتامينات.



شكل 4.4: تأثير تراكيز مختلفة من نترات الأمونيوم على إنتاج الفطر *Aspergillus niger* GCBT-7 لحامض الستريك.

عن: (Ali *et al.*2002)

تتمكن الفطريات وكذلك البكتريا من إستغلال النتروجين اللاعضوي والنتروجين العضوي. وقد وجد أنها تقع في أربعة مجاميع من هذه الناحية: مجموعة تتمكن من إستغلال النتروجين الجزيئي والنترات وأملاح الأمونيا والنتروجين العضوي ويمكن أن تضم *Aspergillus niger* وأنواع *Phoma* وعدد من أنواع البكتريا المثبتـــة للنتروجين وبعض الفطريات المكونة للفطر – جذر. ومجموعة تتمكن من إستغلال

هذه المواد دون النتروجين الغازي وتضم أغلب الفطريات. ومجموعة ثالثة تستغل أملاح الأمونيا والنتروجين العضوي وتضم بعض أنواع *Mucorales*. والمجموعة الرابعة تستغل النتروجين العضوي فقط ومن بينها *Diplodia zeae* وبعض أنواع *Phytophthora*. علما أن هذا السلوك يمكن أن يختلف بوجود مصادر كاربون مختلفة. يمكن للفطريات إستغلال النتروجين اللاعضوي الموجود بصيغ مختلفة.

إن تركيز مصدر النتروجين يمكن أن يكون محددا للنمو والنشاط الأيضي للفطر كما هو الحال مع الفطر *Aspergillus niger* حيث أن إنحراف تركيز نترات الأمونيوم عن 0.2 يؤثر على النمو وإنتاج حامض الستريك(Ali *et al*.2002) (شكل 4.4).

النترات (Nitrate)

تعتبر النترات من مصادر النتروجين الأكثر تفضيلاً من قبل العديد من الفطريات خاصة في الفطريات الناقصة والكيسية لكن الفطريات البازيدية خصوصا*Homobasidiomycetidae* وبعض مجاميع الفطريات الواطئة مثل *Chytridiomycota* و*Oomycota* لا تتمكن من إستغلال النترات(Griffin,1981). ويمكن أن يكون ثمة إختلاف في إستغلال نوع النترات حيث تفضل الفطريات نترات البوتاسيوم على نترات الصوديوم أو الكالسيوم أو المغنسيوم.

إن إستغلال نترات الأمونيوم شائع في الفطريات حيث يقوم الفطر أولاً بإستغلال أيون الأمونيوم ومن ثم جزء النترات. لكن ذلك يترافق مع خفض سريع في الـ pH. لكي تتمكن الخلايا من إستخدام نتروجين النترات في تفاعلات البناء يتوجب تخفيض مستواه التأكسدي ليكون بمستوى الأمونيا(NH_3):

نترات —> نتريت —> مركب مجهول —> هيدروكسيلامين—>أمونيا

الحالة التأكسدية: 3 - 1 - 1 - 3+ 5+

هذا التفاعل يجري بمساعدة الإنزيم Nitrate reductase.

النتريت (Nitrite)

لا تتمكن الكثير من أنواع الفطريات والبكتريا إستغلال النتريت كمصدر للنتروجين بسبب سميته. لكن هناك عدد من الأنواع تتمكن من ذلك مثل الفطر *Aspergillus niger*. لا تستخدم هذه الصيغة من النتروجين في الأوساط الزرعية للفطريات.

الأمونيوم (Amonium)

العديد من الفطريات لا تتمكن من إستغلال النترات كمصدر للنتروجين بل تحتاج الى صيغة اكثر إختزالاً من النتروجين بسبب عدم قدرتها على إختزال ايون النترات. وهكذا تستغل هذه الفطريات المركبات النتروجينية بهيئة الأمونيوم أو المركبات النتروجينية العضوية ذات المستوى التاكسدي المساوي لأيون الأمونيوم.

يمكن تجهيز الأمونيوم بشكل أملاح الأمونيوم. الأملاح العضوية للأمونيوم لا تسبب تخفيض pH الوسط بسبب العامل البقري للأيون العضوي السالب، لكن إستخدام نترات الأمونيوم يسبب تخفيض الـ pH حيث يستغل الفطر أيونات الأمونيوم أولا كونها أكثر إختزالاً وهذا التخفيض يمكن ان يحدد النمو(Landecker,1982).

الأحماض الأمينية (Amino Acids)

تعتبر الأحماض الأمينية من مصادر النتروجين العضوية وهي كما أشرنا سابقا يمكن أن تستغل في الوقت نفسه أيضاً كمصدر للكاربون. يمكن للأحماض الأمينية أن تدخل الخلايا كما هي وتستخدم مباشرة في تكوين البروتينات.

تعتبر الأحماض الأمينية القصيرة السلسلة مثل الكلايسين والألينين والكلوتامك والأسبارتك داعمة جيدة لنمو الفطريات الناقصة. ولوحظ أن استخدام مجموعة من الأحماض الأمينية سوية يدعم النمو أفضل من إستخدامها منفردة(Griffin,1981).

من الفطريات التي تحتاج الى الأحماض الأمينية بعض أنواع الفطريات البيضية و*Blastocladiales*. يمكن تجهيز الأحماض الأمينية في الوسط الزرعي بشكل أحماض امينية أو ببتيدات أو ببتونات(Landecker,1982).

الفسفور (Phosphorus)

يدخل الفسفور في بناء الأحماض النووية والشحوم الفوسفاتية في الأغشية والجزيئات الخازنة للطاقة مثل أدينوسين ثلاثي الفوسفاتATP وكوانوسين ثلاثي الفوسفات GTP وغيرها كما أن تأييض المركبات الكاربوهيدراتية يتم من خلال فسفرتها أي إضافة مجموعة فوسفات اليها. إن نقص الفسفور يؤدي إلى إضعاف النمو وإطالة مرحلة التأقلم. يتوفر الفسفور في الأوساط الطبيعية نتيجة تحلل الأحماض النووية كما يوجد بشكل لاعضوي مثل K_2HPO_4 وKH_2PO_4 واللذين يستخدمان في الأوساط الزرعية للفطريات بصورة روتينية. وتستخدم أي من صيغتي الفوسفات المذكورة حسب الـ pH المفضلة من قبل الفطر المزروع، فالمركب الأول يعطي وسطا حامضيا بينما الثاني معتدلا أو قاعديا.

الكبريت (Sulfur)

ضروري للنمو حيث يدخل الكبريت في تركيب عدد من الأحماض الأمينية الكبريتية مثل المستين والسيستئين والمثيونين والبروتينات وبعض الفيتامينات مثل الثيامين والبيوتين وبعض المضادات الحيوية. تتمكن الفطريات من إستغلال الكبريتات كمصدر للكبريت عدا فطريات *Saprolegniales* التي يمكن أن تستغل الثيوسلفات (Thiosulfate) والكبريتيد (Sulfide) و*Blstocladiales* التي تحتاج

الى الكبريت العضوي بشكل أحماض أمينية كبريتية وبعض الأنواع تحتاج إلى المثيونين تحديداً. وعادة يجهز الكبريت في الوسط الزرعي بشكل كبريتات الحديد أو المغنسيوم(Landecker,1982 ; Griffin,1981).

البوتاسيوم (Potassium)

يوجد البوتاسيوم بكمية كبيرة في الغزل الفطري والأبواغ. ويستخدم في الأوساط الزرعية بشكل فوسفات أو نترات وبتركيز بحدود 2 – 4 مليمول. وللبوتاسيوم دور في أيض الكاربوهيدرات وكذلك في فسلجة غشاء الخلية. يجهز البوتاسيوم في الوسط الزرعي عادة بشكل كلوريد أو فوسفات.

الحديد (Iron)

للحديد أهمية كبيرة في تفاعلات الأكسدة – الإختزال حيث يدخل في تركيب إنزيمات السايتوكروم وكاتاليز وعدد من الإنزيمات الأخرى. يوجد الحديد بصيغ مختلفة أهمها أكاسيده بشكل حديديك Fe^{+++} أو حديدوز Fe^{++} والذي هو أكثر قابلية على الذوبان.

تتمكن الخلايا من الحصول على الحديد بواسطة مواد تفرزها تسمى الخلابات (Chelators) لها القدرة على الأمساك بالحديد. وعند دخولها الخلية يختزل الحديديك الى حديدوز وهو ضعيف الإرتباط بها فيتحرر داخل الخلية. إن نقص الحديد يؤدي الى إعاقة النمو وتقليل تكوين الأبواغ ولونها. ويتم تجهيزه في الوسط الزرعي بشكل كبريتات. الجدير بالذكر أن التضاد الذي ينشأ بسبب المنافسة الغذائية المعدنية بين البكتريا والفطريات يعود أغلبه الى القدرة والكفاءة على أخذ الحديد.

المغنسيوم (Magnisium)

يعمل المغنسيوم على تنشيط عمل الأنظمة الإنزيمية وتثبيت تراكيب الأغشية والجدران الخلوية والأحماض النووية والرايبوسومات وله دورٌ مهم في ظاهرة التضاد الأيوني ضد المعادن السامة مثل الزئبق والألمنيوم والنحاس. يجهز في الوسط بشكل كبريتات وبتركيز 2 – 4 مليمول.

العناصر النادرة (Trace Elements)

وهي العناصر المعدنية التي يحتاجها الفطر بكميات ضئيلة إلا أنها ضرورية. وفي الكثير من الأوساط الغذائية لا يتم تعمد إضافة هذه المركبات بإعتبارها موجودة مع العناصر الكبرى الأخرى بشكل ملوثات كيميائية وقد تضاف بتراكيز قليلة في بعض الحالات الخاصة.

الزنك (Zinc)

له دورٌ في عمل بعض الإنزيمات وفي أيض الكاربوهيدرات وتخمر الحوامض العضوية وأيض الأحماض الأمينية والنووية وإنتاج بعض المضادات الحيوية. كما أنه ضروري من أجل النمو الطبيعي وتكوين الأبواغ ولونها كما يتوضح مع الفطريات *Aspergillus niger* و*Fusarium oxysporum* و *Rhizopus nigricans* وغيرها. مطلوب بتركيز 4 – 8 مكمول.

النحاس (Copper)

يعمل كعامل مساعد لعدد من الإنزيمات. كما أن له دورٌ في تكوين الأبواغ وصبغات الأبواغ. علما أن التراكيز المرتفعة منه تكون سامة فهو يدخل في تركيب عدد من المبيدات الفطرية النحاسية. مطلوب بتركيز 1.5 مكمول.

المنغنيز (Manganese)

للمنغنيز دورٌ في نشاط عدد من إنزيمات Reductase وله دور في تخليق عدد من الأيضات الأولية والثانوية. كذلك هو ضروري من أجل تكوين الأبواغ في عدد من الفطريات. مطلوب بتركيز 2 – 4 مكمول.

الكالسيوم (Calcium)

يعمل كناقل إشاري مهم في الفعاليات الخلوية وفي تكتل الخميرة، مطلوب بتركيز أقل من 1 مكمول.

النيكل (Nickel)

مطلوب لعمل إنزيم Urease وبتركيز حوالي 10 مكمول.

مولبدينوم (Molebdinum)

يشترك في ايض النتروجين وفي فيتامين B_{12} ومطلوب بتركيز 1.5 مكمول.

كوبالت (Cobalt)

مطلوب في فيتامين Cobalamin ومع الإنزيمات المرافقة، مطلوب بتركيز 0.1 مكمول.

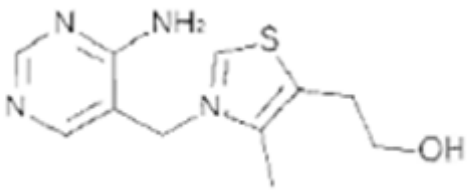
العناصر المعدنية السامة مثل الفضة Ag والزرنيخ As والباريوم Ba والسلينيوم Cs والكادميوم Cd والزئبق Hg والليثيوم Li والرصاص Pb تؤثر سلبا في نمو الفطريات في تراكيز تزيد عن 100 مليمول(Walker & White,2005).

الفيتامينات (Vitamines)

وهي مواد عضوية ضرورية لعمل عددٍ من الإنزيمات كمساعدات إنزيمية أو أجزاء منها وتحتاجها خلايا جميع الأحياء بتراكيز قليلة جداً. تتمكن النباتات من

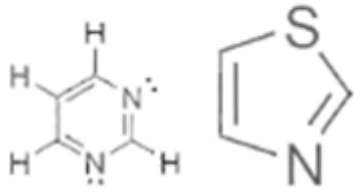
إنتاج معظم الفيتامينات بينما تحتاج الحيوانات للكثير منها في حين تتمكن الفطريات من تكوين بعضها وتحتاج للبعض الآخر. عموماً تحتاج الفطريات للفيتامينات الذائبة في الماء وهي مجموعة فيتامينات B ولا تحتاج لتلك الذائبة في الدهون مثل E وD وA و K.

الثيامين Thiamin (فيتامين B1)



الوزن الجزيئي 266.4

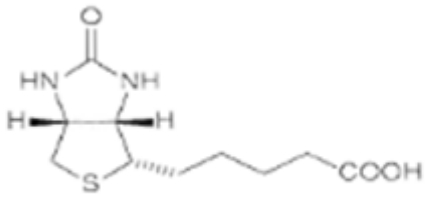
يتألف من جزئين بيريميدين وثيازول بإتحادهما تتكون جزيئة الفيتامين.



حلقة البريميدين حلقة الثيازول

يدخل في تركيب المساعد الإنزيمي ثيامين بيروفوسفات TPP. يشترك في تفاعلات إزالة مجموعة الكاربوكسيل في احماض ألفا- كيتو وبعض تفاعلات السكريات الكيتونية وتفاعلات أكسدة – إختزال مختلفة. ويؤثر الفيتامين في تكاثر العديد من الفطريات. أن هذا الفيتامين مطلوب من معظم الفطريات. بعض الفطريات تحتاج الى جزيئة ثيامين كاملة لكن أكثر الفطريات تتمكن من ربط الجزيئتين عند توفرهما.

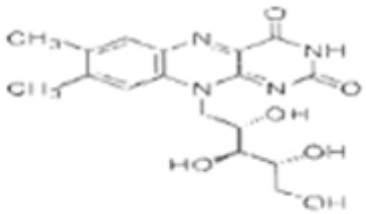
البيوتين Biotin (فيتامين H أو B7)



الوزن الجزيئي 244.31

يرتبط بالإنزيم. يشترك في تفاعلات تثبيت CO_2 وتخليق الأحماض الدهنية وإضافة مجموعة كاربوكسيل وغيرها. الحاجة إلى هذا الفيتامين تأتي بعد الحاجة إلى الثيامين وتكون في الخمائر أكثر منها في الفطريات الخيطية. كما تتصاحب الحاجة إلى البيوتين مع الحاجة الى الثيامين.

رايبوفلافين Riboflavin (فيتامين B2)



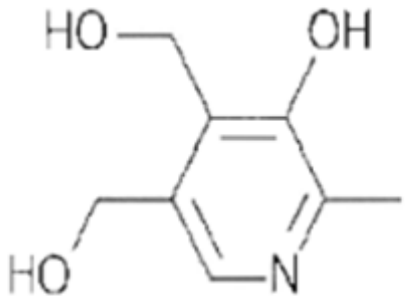
الوزن الجزيئي 376.369

يدخل في تركيب المساعد الإنزيمي Flavinmononucleotide (FMN) و Flavinadenindinucleotide (FAD).

يشترك في تفاعلات أكسدة – إختزال مختلفة خاصة اكسدة المساعدات الإنزيمية المختزلة NADH و NADPH لإستعادة دورها في التفاعلات الحيوية. كما تشكل مشتقات الرايبوفلافين مجاميع ملحقة لعدد من إنزيمات Dehydrogenase.

إن معظم الفطريات لا تحتاج إلى هذا الفيتامين بل أن بعضها مثل *Ashbya gossypii* و *Ermothecium ashbya* و *Candida spp.* تعتبر منتجة إقتصادية لهذا الفيتامين.

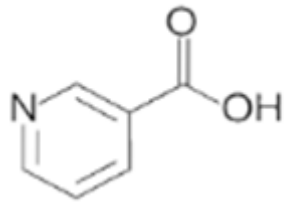
بيريدوكسين Pyridoxin (فيتامين B6):



الوزن الجزيئي 169.18

يشترك مع المساعد الإنزيمي Pyrrodoxal في تفاعلات الأحماض الأمينية مثل إزالة مجموعة الكاربوكسيل ونقل مجموعة الأمين. إن عدداً من أنواع الفطريات الكيسية والناقصة تظهر حاجة لهذا الفيتامين.

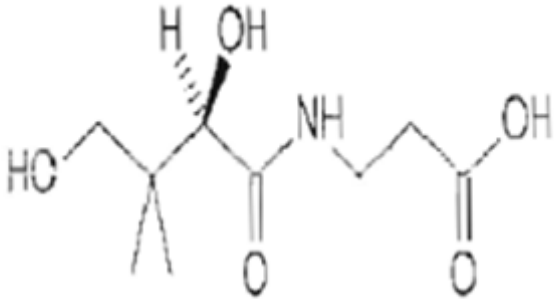
النياسين Niacin (حامض النيكوتينك) (فيتامين B3):



الوزن الجزيئي 123.11

وهو جزء من المساعد الإنزيمي NAD^+ و$NADP^+$. يشترك في تفاعلات أكسدة إختزال مختلفة. ثمة حاجة شائعة لهذا الفيتامين في الخمائر خاصة وبعض الفطريات الخيطية.

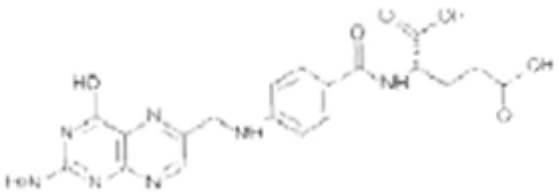
حامض البنتاثونك Pantathonic acid (فيتامين B5):



الوزن الجزيئي 219.235

تتألف جزيئة هذا الفيتامين من جزئين بيتا الانين وبنتويك. يشكل جزءاً رئيساً من المساعد الإنزيمي CoA-SH. يشترك في تفاعلات نقل مجاميع Acetyl وأحماض دهنية. إن هذا الفيتامين تحتاجه الخمائر أكثر من الفطريات الخيطية.

حامض الفوليك Folic acid (فيتامين B9):

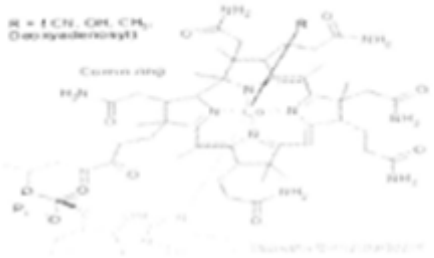


الوزن الجزيئي 441.1396

المساعد الإنزيمي حامض الفوليك رباعي الهيدروجين. يشترك في تفاعلات المركبات أحادية الكاربون. إن حاجة الفطريات إلى هذا الفيتامين أقل شيوعا من حاجة البكتريا.

سيانوكوبالامين Cyanocobolamin (فيتامين B12):

وهو بيرفيرين يتكون من 4 حلقات بايرول. المساعد الإنزيمي Cobomide. يشترك في أزمرة سلسلة الكاربون ونقل مجموعة المثيل. إن حاجة الفطريات إلى هذا الفيتامين أقل شيوعا من حاجة البكتريا. ثمة أنواع قليلة من الفطريات تحتاج الى هذا الفيتامين(Wikipedia,2007a ; ; Bilgrami & Verma,1980 .(Landecker,1982



الوزن الجزيئي 1355.37

Chapter 5 الفصل الخامس

نقل العناصر الغذائية

Transport of Nutrients

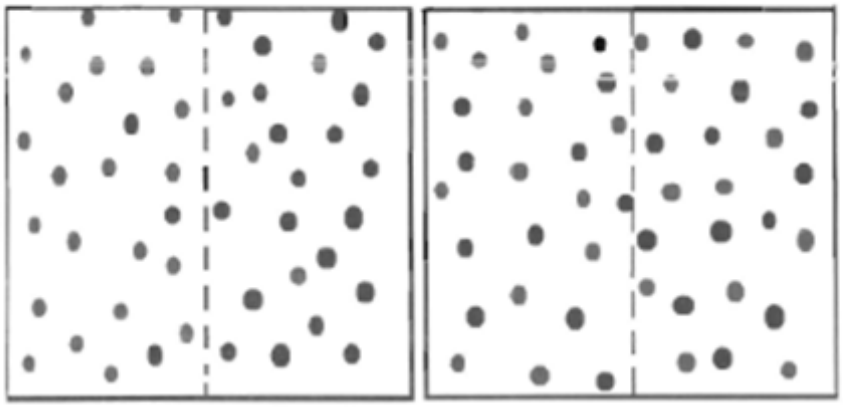
من أجل النمو على الفطر الحصول على المواد الغذائية ونقلها الى داخل الخلايا بمعدلات تتناسب وحاجاته الأيضية. من المعروف أن الخلايا الحية ومنها الخلايا الفطرية تحصل على ذرات، أيونات أو جزيئات المواد الغذائية بآليات نقل مختلفة منها:

الإنتشار البسيط (Simple Diffusion)

تنتقل المواد عبر الأغشية من منطقة تركيزها أو الأصح ضغط إنتشارها العالي إلى منطقة تركيزها أو ضغط إنتشارها الواطيء. وهكذا إذا كان ضغط إنتشار جزيئات مادة ما خارج الخلايا في الوسط أعلى مما هو داخل الخلايا فإن هذه الجزيئات ستدخل الخلايا وإذا كان ضغط إنتشارها داخل الخلايا أعلى مما هو في الوسط المحيط فإنها ستخرج من داخل الخلايا الى الخارج. وهذا ينطبق أيضاً على إنتقال الجزيئات ما بين الخلايا المتجاورة ضمن جسم الفطر نفسه. وهذا النوع من النقل لا يتضمن صرف طاقة من قبل الخلايا.

ثمة عوامل عديدة تتحكم بإنتشار الجزيئات الى داخل الخلايا منها حجمها حيث كلما قل سمح بمعدل إنتشار أعلى، وشحنتها حيث أن الجزيئات غير المشحونة

تدخل الخلايا بسهولة أكثر من تلك التي تحمل الشحنات الكهربائية (الأيونات) التي تدخل من قنوات خاصة، ودرجة إستقطابها، فالجزيئات غير المستقطبة الذائبة في الدهون أي الكارهة للماء(Hydrophobic) تمر عبر الغشاء الذي هو ذو تركيب دهني بالأساس أسرع من تلك المستقطبة أي المحبة للماء (Hydrophilic) والتي تعبر من خلال قنوات بروتينية. كما أن الفرق في ضغوط الإنتشار ودرجة الحرارة عوامل تتحكم بمعدل الإنتشار. في الشكل 5.1 تمثيل لعملية إنتشار الجزيئات عبر الغشاء.



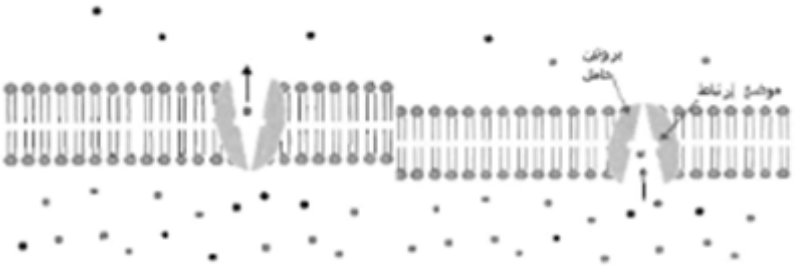
أ ب

شكل 5.1: رسم تخطيطي يوضح عملية الإنتشار البسيط: في أ محصلة إنتقال الجزيئات الزرقاء عبر الغشاء يكون من اليمين الى اليسار لأن تركيزها أكثر في جهة اليمين أما الجزيئات الحمراء فتنتقل من اليسار الى اليمين للسبب نفسه. وبعد فترة من الزمن (ب) تحصل حالة التوازن حيث تكون محصلة إنتقال الجزيئات الزرقاء والحمراء متساويا في الإتجاهين وبذلك يكون تركيزهما متساويا في كلا الجهتين.

الإنتشار الميسر (Facilitated Diffusion)

وهو نظام نقل تسهله بروتينات غشائية ذات ميل معين للإرتباط بالجزيئات المنقولة خارج الخلية وعند تحقيق الإرتباط يحصل تغير شكلي (فراغي) في

البروتين يؤدي الى حركة تجعل المادة المرتبطة به إلى جهة داخل الخلية حيث يفقد البروتين، وهو بهذا الوضع، الميل للأتحاد بالمادة وتحرر داخل الخلية (شكل5.2).



شكل 5.2: رسم تخطيطي يوضح عمل البروتين في الإنتشار الميسر

عن: The Biology Web

http://faculty.clintoncc.suny.edu/faculty/Michael.Gregory/files/Bio%20101/Bio%20101%20Lectures/Membranes/membrane.htm

إن هذا النوع من النقل يكون أسرع من الإنتشار البسيط إلا أنه مثله لا يستطيع نقل المواد من منطقة التركيز أو ضغط الإنتشار الواطيء الى العالي. كذلك يشابهه في كونه لا يستهلك طاقة.

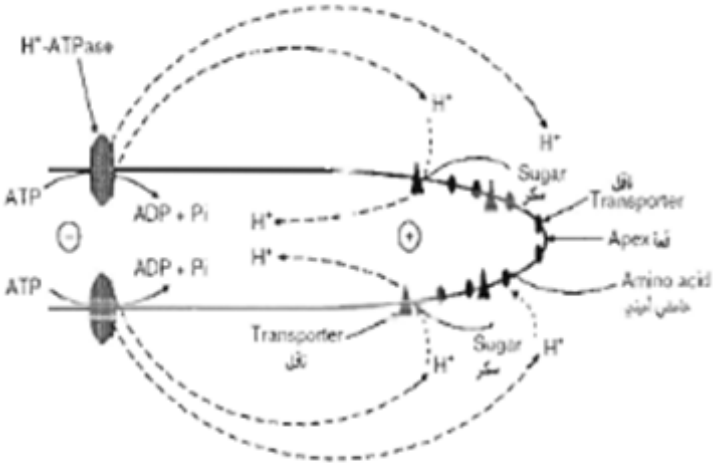
النقل الفعال (Active Transport)

وهو نظام نقل لا يعتمد على تركيز الجزيئات حيث بإمكانه نقلها عكس ميلها الطبيعي من المناطق القليلة التركيز خارج الخلايا الى المناطق العالية التركيز داخل الخلايا ولكن مع صرف طاقة تشتق من تحول جزيئات ATP الى جزيئات ADP ومجموعة فوسفات لاعضوية. إن ذلك يتم بعدة آليات منها:

1. القوة الدافعة للبروتونات (Proton Motive Force)

تعتمد التغذية الإمتصاصية للفطريات على مضخة البروتون المولدة للكهرباء – ATPase – H^+ في الغشاء البلازمي محولة طاقة جزيئات ATP من داخل

الخلية الى تدرج بروتوني كيميائي كهربائي $\Delta \mu H$ يعمل كقوة محركة لإمتصاص السكريات والأحماض الأمينية والأيونات اللاعضوية وتستهلك حوالي 38 – 50 % من رصيد الخلية من جزيئات ATP (Belozerskaya,1997).



شكل 5.3: رسم تخطيطي لمضخة البروتون والنقل المزدوج في الخيط الفطري عن: (Maheshwari,2005)

الخيط الفطري يظهر إستقطابا كهربائيا طوليا بين طرفه والأجزاء الخلفية منه. فالأجزاء الخلفية من الخيط الفطري للفطر *Neurospora crassa* كمثال ونتيجة لأكسدة السكريات تخرج بروتونات (أيونات الهيدروجين) مسببة تحولها الى الحامضية، بينما تدخل هذه البروتونات عبر طرف الخيط الفطري (200 – 300 مك) محيلة أياها الى القاعدية وبذلك ينشأ تيار من البروتونات(Maheshwari,2005) (شكل5.3).

عندما تنقل ذرات الهيدروجين من NADH الى الجزيئات الناقلة ضمن سلسلة نقل الإلكترونات الموجودة في غشاء الخلية، فإنها تعزل الى الكترونات وبروتونات. ثم تطرد البروتونات الى الخارج بمراحل تتضمن إشتراك فلافوبروتين وكوإنزيم Q وسايتوكروم aa3. إن منحدر تركيز البروتون الناشيء يمكن ان يستخدم لنقل بعض المواد الغذائية.

يعرف نوعين من عمليات النقل هذه:

النقل المزدوج (Symport): وفيه يتم نقل جزيئتين بالإتجاه والوقت نفسه وبهذه الطريقة تنقل مواد مثل السكسنات والمالات واللاكتوز. إن هذه المركبات تدخل عبر بروتينات ناقلة في الغشاء سوية مع إعادة إدخال البروتونات.

والنقل المتعاكس (Antiport): وفيه تنقل جزيئتين بإتجاهين متعاكسين في نفس الوقت. حيث تضخ أيونات الصوديوم إلى الخارج ويُعاد إدخال البروتونات إلى الداخل في الوقت نفسه. إن هذا سيخلق منحدر في تركيز أيونات الصوديوم يوفر الطاقة اللازمة لنقل الملوبيوز والكلوتومات. أيونات الصوديوم في الخارج يمكنها الإرتباط مع بروتينات ناقلة خاصة مما يؤدي إلى تغيرات في شكل البروتينات. وهي بحالة التنشيط هذه ترتبط البروتينات مع المواد المستهدفة في النقل وتترتب مواقع الإرتباط بإتجاه البروتينات الناقلة المناسبة عبر الغشاء. تنفصل أيونات الصوديوم من البروتينات المرتبطة بالمواد المنقولة قبل دخولها الخلية. ثم تنقل البروتينات الناقلة المواد المنقولة إلى داخل الخلية في نفس وقت إعادة دخول أيونات الصوديوم.

2. نظام فوسفوترانسفيريز (Phosphotransferase System)

بواسطة هذا النظام تنقل مواد مثل الكلوكوز والمانيتول. يستخدم هذا النظام ثلاثة بروتينات: بروتين مقاوم للحرارة HPr وأنزيم I (EI) وأنزيم II (EII). إن HPr وEI مع وحدتين من EII (EIIA وEIIB) توجد في السايتوبلازم بينما الوحدة الثالثة (EIIC) تمثل بروتين ضمن الغشاء. تنقل مجموعة فوسفات عالية الطاقة من المركب فوسفوإينول بايروفات الى EI ثم الى HPr واخيرا عبر EIIA وEIIB الى EIIC. إن خصوصية المادة المستهدفة في النقل تكمن في EIIC حيث تفسفر المادة الهدف قبل نقلها الى داخل الخلية. إن هذا النظام واحدٌ من مجموعة أنظمة نقل تعتمد مبدأ إحداث تغيير كيميائي في الجزيئة المنقولة (هنا الفسفرة) قبل نقلها.

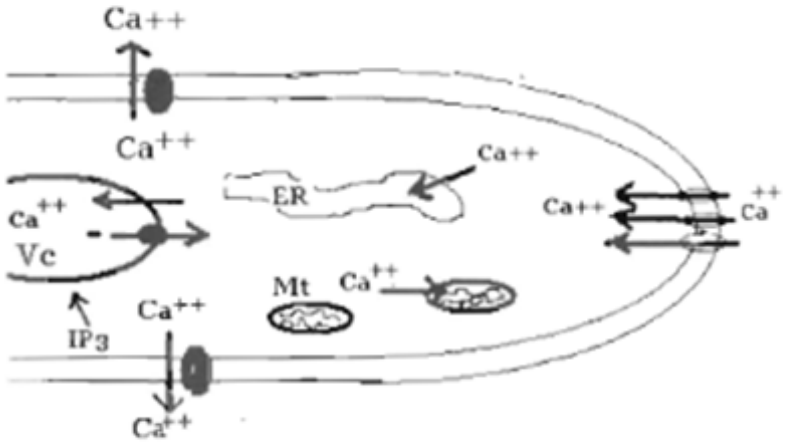
3. النقل بالإرتباط بـــ ATP

يتم النقل للمواد الغذائية من خلال بروتين ناقل عبر الغشاء له منطقة ارتباط مع ATP في السايتوبلازم. تقوم البروتينات الناقلة للمواد الغذائية مثل الرايبوز والليوسين والكلوتامات بإيصال هذه المواد الى بروتين الغشاء وتستخدم طاقة ATP في إدخال المادة الغذائية إلى داخل الخلية.

4. القنوات الأيونية (Ion Channels)

توجد قنوات أيونية وهي فتحات في الغشاء عالية التنظيم تسمح بإدخال أيونات معينة إلى داخل الخلية عندما تكون مفتوحة. لقد تم التعرف على وجود عدد من هذه القنوات في أغشية الفطريات مستخدمين طريقة Patch Clamping التي تتضمن قياس مرور التيار الكهربائي والأيونات عبر الغشاء.

تم التعرف على وجود قناتين K^+ محفزة بأيونات Ca^{++} في الفطر *Saprolegnia ferax* حيث تضخان أيونات K^+ الى داخل الخلايا. ويعتقد ان هذه القنوات تسهم في تنظيم الجهد الأزموزي داخل خلايا الفطر. كما تم التعرف في هذا الفطر ايضا على قناة ميكانيكية التحسس (Mechanosensetive) أو قناة Ca^{++} تنشط بالتمدد. وهذه يمكن أن تنفتح عندما يكون الغشاء تحت جهد ميكانيكي. تلعب هذه القناة دوراً مهماً في تحقيق تدرج عالي بأيونات Ca^{++} في قمة الخيطالفطري(Robson,1999) (شكل5.4).



شكل 5.4: نموذج لأتزان Ca^{++} في طرف الخيط الفطري. التدرج العالي للكالسيوم ينشأ عن تنشيط قنوات Ca^{++} بالشد عند قمة الخيط الفطري. ويخفض Ca^{++} الى مستوى منخفض ثابت بعمل مضخات ATPase Ca^{++} التي تدفع Ca^{++} الى خارج الخيط الفطري وحجزه في العضيات الخلوية. إضافة الى قيام المرسال الخلوي Inositol triphosphate (IP3) بتحريك Ca^{++} من الفجوة الأمر الذي يزيد تركيزه الخلوي ويحدث سلسلة عمليات تالية. Vc= فجوة، Mt = ميتاكوندريا، ER = الشبكة البلازمية الداخلية.

رسم عن: (Robson,1999)

الفصل السادس Chapter 6

إنتاج الطاقة
Energy production

ما هي الطاقة

تعرف الطاقة على أنها القدرة على إنجاز شغل. وهي يمكن ان تكون طاقة كامنة (Potential Energy) وهي طاقة مخزونة مثل الطاقة المخزونة في الأواصر الكيميائية التي تربط ذرات الجزيئات العضوية والطاقة الموقعية للأجسام على المرتفعات وطاقة المياه المحصورة في السدود الخ. وطاقة حركية (Kinetic Energy) متحققة كحركة الجزيئات وغيرها. إن العلاقات الطاقية الأساسية مضمنة في قوانين الديناميكية الحرارية (Thermodynamics).

القانون الأول للديناميكية الحرارية يبين ان الطاقة في الكون لا تفنى ولا تستحدث لكنها يمكن أن تتغير من شكل الى آخر.

وهكذا يمكن للطاقة الكامنة أن تتحول الى طاقة حركية والعكس صحيح. وخلال عمليات التحول هذه يتبدد جزء من الطاقة بشكل حرارة وهذا مايشير اليه القانون الثاني للديناميكية الحرارية الذي ينص على ان الإنتروبي (Entropy) في كل مكان من الكون في حالة تزايد دائماً.

وبناءاً على ذلك فالطاقة الكامنة التي تبدو مرتبة (قليلة الإنتروبي) لكنها غير مستقرة سرعان ما تتحول الى تبعثر بشكل حركة جزيئية عشوائية أو حرارة. وإن الحرارة هي الحالة الأكثر عشوائية للطاقة حيث تتبدد وتكون أقل نفعاً. وبسبب

الميل العام نحو العشوائية، فإن الحفاظ على الترتيب في النظام يستدعي إدخال طاقة إضافية. وحيث أن المواد والخلايا الحية هي حالات عالية الترتيب والتنظيم من المادة لذا توجب عليها الحصول على الطاقة من أجل المحافظة على هذا الترتيب والنظام لأجزائها.

وعند موت الخلايا حيث يتوقف إمداد الطاقة إليها، نتيجة توقف التنفس، فإن أجزاءها تتفكك بسبب توقف العملية المخفضة للأنتروبي وتتفسخ بفعل عوامل التحليل والتعرية المختلفة حيث تعود الى مكوناتها الجزيئية والذرية خاضعة للقانون العام نحو زيادة الإنتروبي (Kirk,1980).

إنسجاماً مع قوانين الديناميكية الحرارية تسعى الخلايا للحصول على الطاقة دون ان تكون قادرة على خلقها. وهنا تعتمد الخلايا كلية في توفير الطاقة على التفاعلات الكيميائية دون التفاعلات الفيزيائية بسبب كون معظم الخلايا من الدقة والرهافة أنها لا تتمكن من التعامل مع الحرارة والإشعاعات وأشكال الطاقة القوية الأخرى.

وهنا توفر الإلكترونات في المدارات الخارجية للذرات والجزيئات مصدرا مهما من الطاقة جاهزا للإستغلال والنقل. وفي الحقيقة فإن حركة الإلكترونات من جزيئة الى جزيئة هو الأساس لمعظم التبادلات الطاقية في الخلايا (Talaro & Talaro,1999).

وفي سبيل ذلك تسلك عدة طرق منها إستغلال طاقة الفوتونات في ضوء الشمس في عملية التركيب الضوئي كما تفعل النباتات والطحالب وأنواع من البكتريا لإحتوائها على صبغات الكلوروفيل وغيرها.

وإستغلال الطاقة الكيميائية المخزونة في الجزيئات اللاعضوية كما في بعض أنواع البكتريا والجزيئات العضوية كما هو حاصل في أغلب أنواع البكتريا وكافة الفطريات والحيوانات والإنسان.

الطاقة الحرة (Free Energy)

وهي كمية الطاقة التي يمكن كسبها من تكسير الأواصر الكيميائية في الجزيئات دون ذلك الجزء الذي يتبدد دائما بشكل حرارة.

في التفاعل الكيميائي ونتيجة تكسر أواصر وتكون أواصر جديدة ينشأ فرقٌ في الطاقة الحرة ΔF أو ΔG. يمكن حساب فرق الطاقة الحرة ΔG للتفاعل الكيميائي.

في التفاعل الكيميائي $A + B \longleftrightarrow C + D$

يكون التغير في الطاقة الحرة هو:

$$\Delta G = G^{\circ\prime} + RT \ln [C][D] / [A][B]$$

حيث أن R = ثابت الغاز و T = درجة الحرارة المطلقة. والأقواس تشير الى التراكيز المولارية الأولية للمواد المتفاعلة والناتجة. $G^{\circ\prime}$ ترمز الى تغير الطاقة الحرة القياسية للتفاعل وهي تكون ثابتة لأي تفاعل كيميائي حيث تمثل مقياس تناقص الطاقة الحرة للتفاعل في 25 مْ و7 pH حيث يتحول 1 مول من المواد المتفاعلة الى 1 مول من المواد الناتجة.

في حالة التوازن، لا يحصل تغير في الطاقة الحرة. وهذا يعني أن $\Delta G = 0$

كذلك $K'eq = [C][D] / [A][B]$

بالتعويض $\Delta = - RT \ln G^{\circ\prime} K'eq$

وهكذا يمكن حساب التغير القياسي في الطاقة الحرة لأي تفاعل من خلال ثابت التوازن الكيميائي للتفاعل K'eq (Willett,1992).

فإذا كانت الطاقة الحرة للمواد المتفاعلة أعلى منها للمواد الناتجة من التفاعل فإن التفاعل يكون محررا للطاقة (Exergonic Reaction) ويجري التفاعل تلقائياً. وΔGللتفاعل تكون سالبة كونها عانت تناقصا في الطاقة. وعلى العكس إذا كانت

الطاقة الحرة للمواد الناتجة أعلى منها للمواد المتفاعلة فإن التفاعل يكون ماصا للطاقة (Endergonic Reaction) ويجب إضافة طاقة لإتمام التفاعل. وفي هذه الحالة ΔGللتفاعل تكون موجبة.

إن الفرق في الطاقة الحرة لتفاعل ما يكون نفسه بغض النظر عن عدد مراحل التفاعل.

في الخلايا يجري تغذية التفاعلات المحتاجة للطاقة بربطها مع تفاعلات مانحة للطاقة من أجل تقليل ضياعها بشكل حرارة.

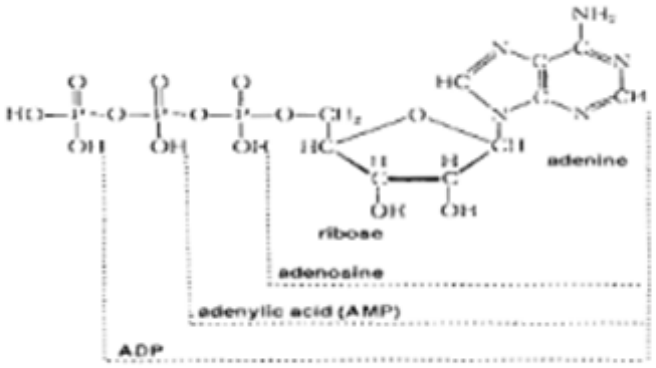
بصورة عامة، التفاعلات التي تؤدي الى تحليل المركبات المعقدة الى مركبات أبسط (تفاعلات الهدم Ctabolism) تكون محررة للطاقة والهياكل الكربونية الجزيئية على عكس التفاعلات التي تؤدي الى تكوين مركبات معقدة من مركبات أبسط (تفاعلات البناء Anabolism) حيث تكون بحاجة الى طاقة وهياكل كربونية جزيئية. وهكذا لكي يحصل نمو (تفاعلات بناء) يجب أن تحصل تفاعلات هدم. في الحالة الإعتيادية يتوجب تجهيز سيل من المواد المعقدة المحتوية على الطاقة الكيميائية (التغذية) كي لا يتم تحليل المواد المعقدة المخزونة (التجويع) أو حتى الداخلة في تركيب الخلايا (التجويع الشديد أو الطويل).

تجري التفاعلات الهدمية للمواد العضوية داخل الخلايا بخطوات متسلسلة بهدف التحرير التدريجي للطاقة والتي اما أن تستخدم مباشرة في تفاعل مستهلك للطاقة أو تخزن بهدف تحريرها في مراحل لاحقة.

الجزيئات الخازنة للطاقة

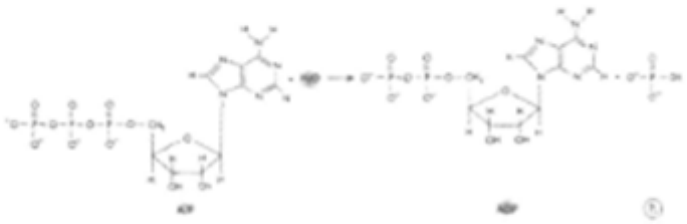
(Energy Storing Molecules)

إن الآلية الأكثر أهمية في عملية خزن الطاقة هي تكوين مركبات وسطية عالية الطاقة الكيميائية. ومن هذه المركبات مشتقات حامض الفوسفوريك: ATP (أدينوسين ثلاثي الفوسفات) وGTP (كوانوسين ثلاثي الفوسفات) وUTP (يوريدين ثلاثي الفوسفات) وفوسفات الأسيل ومتعددات الفوسفات اللاعضوية، كذلك مشتقات الأحماض الكاربوكسيلية مثل أسيتيل – CoA لكن اكثر هذه المركبات أهمية هو ATP.



إذا أردنا التشبيه المجازي، تلعب هذه الجزيئات في التفاعلات الكيميائية دور النقود في الإقتصاد حيث أنها مجهزة فورية للطاقة. في حين تلعب المساعدات الإنزيمية المختزلة مثل NADH أو FADH2 دور الصكوك والمركبات العضوية المختزلة دور السلع في المعاملات الإقتصادية. تتكون جزيئة ATP من سكر الرايبوز والقاعدة النتروجينية أدنين وثلاثة مجاميع فوسفات.

إن تحلل جزيئة ATP يعطي شريكها المستلم للطاقة الحرة ADP (أدينوسين ثنائي الفوسفات) ومجموعة فوسفات وطاقة تساوي 7.3 كيلوسعرة.



ATP ⟵⟶ ADP + Pi + طاقة

هذا التفاعل العكسي سريع، فيمكن ان تتحلل جزيئة ATP سريعا بعد تكونها.

مجاميع الفوسفات في جزيئة ATP مرتبة الواحدة تلو الأخرى بسبب كونها تحمل الشحنة السالبة مما يجعلها تتنافر وهذا أيضا يجعل الأواصر التي تربطها مع بعضها قلقة كيميائيا بحيث تتحلل مائيا بسهولة.

الطاقة المتحررة من تحلل جزيئة ATP تكفي لتغذية تفاعل محتاج للطاقة. تقوم الخلية بإستهلاك جزيئات ATP في التفاعلات المحتاجة للطاقة وعندما يقل تركيزها ويزيد تركيز ADP تقوم بتنشيط التفاعلات المانحة للطاقة لأعادة تكوين جزيئات ATP. إن ذلك يتم بطريقتين:

الفسفرة بمستوى المادة الأساس (Substrate – Level Phosphorylation) ويحصل ذلك بإستخدام الطاقة المتحررة في التفاعل المانح للطاقة لربط مجموعة فوسفات لاعضوية Pi مع ADP وتكوين ATP.

الفسفرة التأكسدية (Oxidative Phosphorylation) وفيها يتم إستغلال الطاقة الناتجة من نشاط القوة الدافعة للبروتونات للحصول على ATP (Nester *et al.*,2001).

تفاعلات الأكسدة – الإختزال

Oxidation – Reduction Reactions

تشتمل هذه التفاعلات على نقل الكترون واحد أو اكثر من مادة مانحة تؤكسد الى أخرى مستلمة تختزل. وعندما يزال الكترون من مركب يتبعه إنتقال بروتون فالذي يحصل عادة هو إنتقال زوج الكترون – بروتون أو بمعنى آخر ذرة هيدروجين. وهكذا فإن إزالة ذرة الهيدروجين من مركب هو أكسدة لهذا المركب وفي المقابل فإن إضافة ذرة هيدروجين الى مركب آخرهو إختزال لذلك المركب.

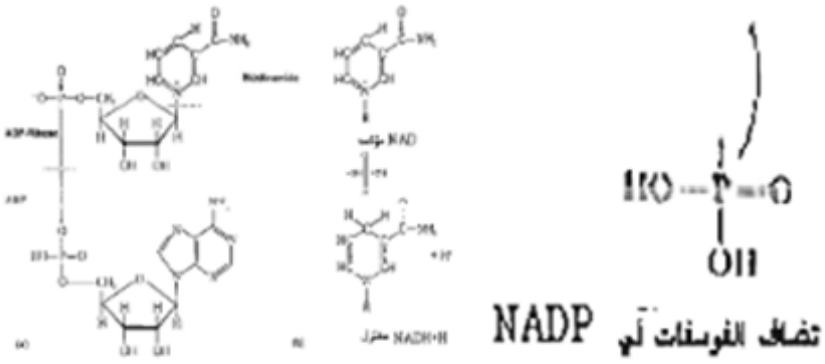
كمثال لتفاعل الأكسدة هو أكسدة الكحول الأثيلي الى حامض الخليك مع تحرير 2 الكترون و2 بروتون (H^+):



وتفاعل الأختزال:



عندما تزال الإلكترونات من المصادر المانحة لها أثناء التفاعلات الهدمية فإنها تكتسب وقتيا من قبل جزيئات معينة تسمى حاملة أو مستقبلة للإلكترون (Electron Acceptor) أو مستقبلة للهيدروجين (Hydrogene Acceptor) إذا ترافق مع الإلكترون بروتون.



تضاف الفوسفات إلى NADP

تستخدم الخلية 3 أنواع من مستقبلات الإلكترون القابلة للإنتشار هي: NAD^+ (نيكوتيناميد ادنين ثنائي النيوكليدات) وشكله المختزل NADH، وFAD (فلافين أدنين ثنائي النيوكليدات) وشكله المختزل $FADH_2$، و$NADP^+$ (نيكوتيناميد أدنين فوسفات ثنائي النيوكليدات) وشكله المختزل NADPH. يمكن اعتبار هذه المركبات نواقل هيدروجين لأنها تنقل بروتونات مع الإلكترونات. تنقل جزيئات NAD^+ و$NADP^+$ أيونات هجينة تتكون من زوج من الإلكترونات وبروتون أما FAD فينقل زوج من الإلكترونات وزوج من البروتونات. تمتلك نواقل الإلكترون هذه قدرة إختزالية حيث ان أواصرها تحتوي على طاقة مفيدة. تستخدم طاقة NADH و$FADH_2$ لتكوين جزيئات ATP خلال عملية التنفس. أما طاقة NADPH فتستخدم في التفاعلات التخليقية.

دور الإنزيمات (Role of Enzymes)

معظم التفاعلات التي تحصل في الخلايا الحية تحفز بواسطة الإنزيمات. يتألف الإنزيم من جزء رئيس بروتيني وجزء ملحق غير بروتيني(Prosthetic Group) يمكن أن يكون مركب عضوي أو لاعضوي. ونظراً للتنوع الشديد في التفاعلات الكيميائية داخل الخلايا، ثمة عددٌ كبيرٌ من الإنزيمات التي تختلف في مكوناتها ومرافقاتها ومنشطاتها ومثبطاتها. وتختلف في نوع التفاعلات التي تحفزها والمواد الأساس التي تعمل عليها. دور الإنزيم في التفاعل الكيميائي هو تخفيض طاقة التنشيط (Activation Energy) الضرورية لحصول التفاعل. فمثلا يتطلب أكسدة الكلوكوز خارج الخلية (بدون إنزيم) إلى رفع درجة الحرارة إلى 500 مْ، بينما بمساعدة الإنزيم يتم ذلك داخل الخلايا ضمن درجة الحرارة الفسلجية. إن تخفيض طاقة التنشيط يشمل أيضا التفاعلات المانحة للطاقة. يتمكن الإنزيم من ذلك عن طريق تغيرات يحدثها في المواد المتفاعلة في مراكز التفاعل الذي ترتبط به. وبواسطة الإنزيمات يتم تسريع التفاعلات الخلوية بمعدل الألف مرة.

التنفس (Respiration)

التنفس عملية حيوية جوهرية تقوم بها جميع أنواع الأحياء الخلوية. وفيها يتم تفكيك المركبات العضوية من اجل إنتزاع البروتونات (أيونات الهيدروجين) من قبل مستقبلات الهيدروجين والطاقة المرافقة لتكسير الأواصر التي تربط ذرات الجزيئة وإستغلال جزء منها. إن هذه العملية تنسجم والميل الطبيعي لذرات الهيدروجين في الإبتعاد عن ذرات الكاربون والذي أجبرت عليه بأواصر كيميائية في عملية التركيب الضوئي بإستخدام الطاقة الشمسية أو الفوتونات عند تكوين المركب العضوي.

تمتاز عملية التنفس بعدد من الخواص:

1. أنها عملية تحليل جزئية أو كلية تتضمن تفاعلات أكسدة – إختزال وتترافق مع إزالة الهيدروجين وتكسير الأواصر التي تربط ذرات الكاربون للمادة الأساس.

2. إنتقال الإلكترونات من المادة الأساس إلى مستقبلات إلكترون يتناسب والمستوى الطاقي للإلكترونات. ويتصاحب إنتقال الإلكترون مع إنتقال أيونات الهيدروجين.

3. العملية متدرجة تتم على مراحل متتابعة وليس دفعة واحدة. ومع أن الطاقة المتحررة تكون نفسها في الحالتين لكن إستغلالها من قبل الخلية يتم أفضل عندما تكون بالتدريج. والحالة هنا تشبه ترشيد صرف الطاقة في محرك السيارة بواسطة جهاز (Carborator). فلقطع مسافة 100 كم بالسيارة من مدينة الى أخرى يقوم هذا الجهاز بضخ كميات قليلة وبإستمرار لتحريك السيارة بسرعة معينة آمنة تكفي لدفع السيارة وتغطية طاقة الأحتكاك ومقاومة الهواء ورفع درجة حرارة المحرك الى حدود محتملة وضياع القسم الباقي بشكل حرارة. وعند الوصول يكون مجموع المصروف من البنزين 10 لتر مثلا. لكن صرف (حرق) هذه الكمية دفعة واحدة سيؤدي الى إنفجار المحرك بسبب الطاقة الهائلة الناتجة وعدم تحقيق الهدف.

4. جميع التفاعلات إنزيمية وإن تثبيط الإنزيم يوقف الخطوة التالية ويؤدي الى تراكم المادة الأساس التي يعمل عليها الإنزيم أو ناتج التفاعل السابق.

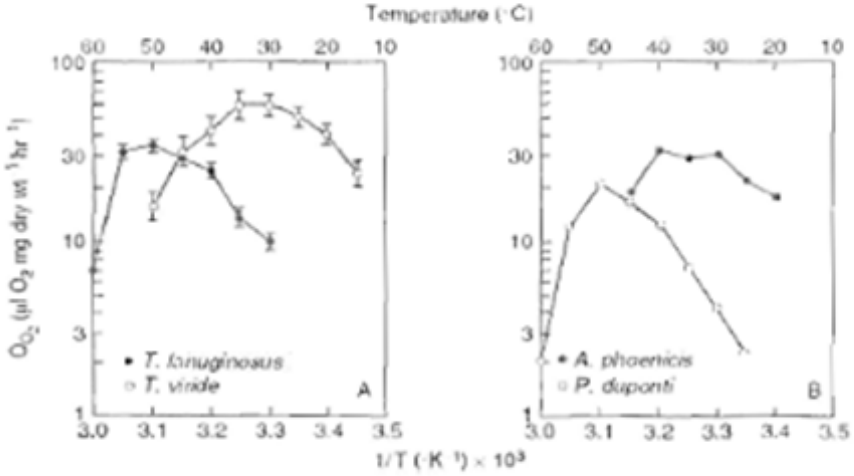
5. يخزن جزء مهم من الطاقة المتحررة أثناء التنفس في جزيئات خازنة للطاقة (ATP) أو مركبات مختزلة عالية المحتوى الطاقي والتي يمكن أكسدتها لاحقا ويتبدد الباقي بشكل حرارة.

6. تنتج عدد من المركبات الوسطية يمكن أن تستغل في عمليات البناء المختلفة.

سلكت الأحياء طرقاً مختلفة لإنجاز هذه المهمة الأساسية.

الطريق الأقدم الذي إبتكرته الأحياء البدائية النواة وتوارثته الأحياء الأخرى يتسم بكونه أكسدة جزئية تحرر كمية محدودة من الطاقة تتناسب والطبيعة البسيطة لتلك الأحياء. لقد تم ذلك في ظروف لم يكن الأوكسجين الغازي الحر متوفراً أو شحيحا في جو الأرض. تراكم الأوكسجين في جو الأرض نتيجة التركيب الضوئي للطحالب الخضر المزرقة وبكتريا التركيب الضوئي مكّن من ظهور طرق تنفسية يشترك فيها الأوكسجين حيث يساعد على الأكسدة التامة للمادة الأساس وإطلاق أكبر قدرٍ من الطاقة المخزونة.

إن تعقيد وتطور الأحياء الذي يتطلب مقادير أكبر من الطاقة كان الدافع لإستنباط طرق تنفسية جديدة. كما كان للعوامل البيئية المتغيرة والتأثرات البيولوجية دورٌ في ظهور عدد من المسالك التنفسية.



شكل.6.1: تنفس الغزل الفطري للفطرين المحبين للحرارة *Thermomyces lanuginosus* و*Penicillium duponti* والفطرين المتوسطي الميل للحرارة *Trichoderma viride* و*Aspergillus phoenicis*. تم القياس بواسطة جهاز واربرغ ورسم المنحني بشكل لوغارتم معدل التنفس Q_{O_2} على معكوس درجات الحرارة المطلقة للغزل الفطري النامي في المزرعة السائلة المعرضة للرج المستمر
عن: (Maheshwari,2005)

المواد الأساس التي تجرى عليها عملية التنفس تكون عضوية تحتوي أواصر كاربونية قابلة للتحليل التنفسي. وهذه المواد تتوفر في الكاربوهيدرات والدهون بالأساس ويمكن أن تكون من البروتينات ومشتقاتها الأخرى.

يمكن أن تدخل السكريات البسيطة مثل الكلوكوز والفركتوز والكالكتوز المسارات التنفسية. أما إستغلال الكاربوهيدرات المعقدة فيتم عن طريق تحليلها الى سكريات أحادية أولاً.

تبين الدراسات أن معدل التنفس في الفطريات المحبة للحرارة والفطريات المتوسطة الميل للحرارة متقارب (شكل6.1). تعمل في الفطريات المسارات التنفسية الرئيسة: التحلل السكري، دورة الحامض الثلاثي الكاربوكسيل أو دورة كريبز والأكسدة النهائية. إضافة الى عدد من المسارات الأخرى.

التحلل السكري (Glycolysis)

الهدف من هذا المسار وغيره من المسارات التنفسية هو بالأساس الحصول على الطاقة. ولكن لاحظ أن سعي الخلية للحصول على الطاقة يبدأ أولاً بصرف طاقة في خطوتين ومن ثم يتم إسترجاعها وتحقيق (الربح). ويبدو أن هذا الدرس الذي تعلمنا إياه الخلايا الصغيرة هو قاعدة عامة تنطبق حتى على سلوك الناس في النشاط الإقتصادي.

فعند التفكير في إنشاء معملٍ مثلاً يكون الدافع لصاحبه هو تحقيق الربح. ولكن يجب عليه أولاً الصرف لشراء الأرض التي يقيم المعمل عليها والمكائن والأدوات والمنشئات والكلف التشغيلية بعدها يمكن ان يأتي الربح إذا كان عائد بيع المنتجات اكثر من التكاليف. المسار كان قد تحقق بعدم وجود الأوكسجين الغازي الحر كما أسلفنا لكن وجوده لا يعيق عمل المسار، أي أن المسار يعمل بوجود أو عدم وجود الأوكسجين.

تفاعلات هذا المسار تتحقق في السايتوبلازم حيث توجد الإنزيمات اللازمة له وقد أبتكرته البكتريا وهي لا تمتلك الميتاكوندريا. وهكذا أستمرت الأحياء الحقيقية النواة ومنها الفطريات، رغم إمتلاكها بيوت الطاقة (الميتاكوندريا)، في تقليد البكتريا باجراءه في السايتوبلازم. يبدأ مسار التحلل السكري بجزيئة كلوكوز (شكل6.2).



شكل 6.2: مخطط مسار التحلل السكري
عن: (King,2010)

الخطوة 1: لكي تدخل جزيئة الكلوكوز التفاعل يجب أن تنشّط وذلك بفسفرتها حيث ترتبط مجموعة فوسفات ناتجة من تحلل جزيئة ATP إلى ذرة الكاربون السادسة في الكلوكوز لينتج المركب كلوكوز- 6 فوسفات. الطاقة اللازمة لهذا الربط تأتي من تحلل جزيئة ATP وتتم بمساعدة الإنزيم Glucokinase الذي يحتاج لمساعدة أيونات Mg^{++}.

الخطوة 2: تحويل الكلوكوز- 6 فوسفات إلى فركتوز – 6 فوسفات بمساعدة الإنزيم Phosphohexose isomerase.

الخطوة 3: تنشيط الفركتوز- 6 فوسفات وذلك بتحليل جزيئة ATP ثانية من أجل توفير مجموعة الفوسفات والطاقة اللازمة للربط بمساعدة الإنزيم Phospho-fructokinase-1، وبذلك يتكون الفركتوز 1، 6- ثنائي الفوسفات.

الخطوة 4: تبدأ عملية شطر جزيئة السكر، حيث تنشطر جزيئة الفركتوز 1، 6- ثنائي الفوسفات إلى جزيئتي سكر ثلاثي الكاربون: دايهيدروكسي أستون فوسفات وكليسرالدهايد – 3- فوسفات وذلك بمساعدة الإنزيم Aldolase. إن هذين المركبين الثلاثيين قابلين للتحول من أحدهما الى الآخر بمساعدة الإنزيم Triosphosphate isomerase. وإن عامل التركيز لأي منهما هو الذي ينظم هذا التحول حيث يتم بإتجاه المركب القليل التركيز. وعادةً يجري تحول المركب الأول إلى الثاني لأن الأخير سيقل تركيزه بتحوله الى مركب آخر لكي يستمر المسار. ولكن تحت ظروف معينة مثل التخمر وفي الظروف القاعدية كالتي تحصل في الخمائر يتحول الدايهيدروكسي أستون فوسفات إلى كليسرول وغيره من الكحولات.

الخطوة 5: تتم بأكسدة كليسرالدهايد – 3- فوسفات الى حامض كليسريك1، 3 – ثنائي الفوسفات بمساعدة الإنزيم Glyceraldehydes -3-phosphate dehydrogenase. تترافق عملية الأكسدة هذه بعملية فسفرة وبإختزال المساعد الإنزيمي NAD^+ الى $NADH + H^+$. إن أستر الفوسفات في الكاربون رقم 1

يمتلك طاقة عالية للتحلل المائي وبذلك يمهد الطريق لتكوين جزيئة ATP من ADP في الخطوة التالية.

الخطوة 6: وفيها يتحول المركب حامض كليسريك1، 3- ثنائي الفوسفات إلى حامض الكليسريك 3- فوسفات بمساعدة الإنزيم Phosphoglycerate kinase مع إطلاق مجموعة فوسفات وطاقة حيث تتكون جزيئة ATP من جزيئة ADP.

الخطوة 7: بمساعدة الإنزيم Phosphoglycerate mutase يتحول المركب حامض الكليسريك 3- فوسفات الى حامض الكليسريك 2- فوسفات.

الخطوة 8: بمساعدة الإنزيم Enolase يتم سحب جزيئة ماء من المركب حامض الكليسريك 2- فوسفات ليتحول الى المركب فوسفو إينول بايروفات. إن هذا المركب يحتوي آصرة مزدوجة بين ذرتي الكاربون 2 و3 حيث يكون استر الفوسفات المجاور ذو طاقة عالية تمكن من تكوين جزيئة ATP في الخطوة التالية.

الخطوة 9: وهي الأخيرة يتحول فيها المركب فوسفوإينول بايروفات إلى بايروفات بمساعدة الإنزيم Pyruvate kinase وتكوين جزيئة ATP ثانية.

يجب ملاحظة أن الخطوات من الخامسة إلى التاسعة تكرر مرتين من أجل تحليل جزيئة كلوكوز واحدة. وهكذا بدأ المسار بمركب سداسي الكاربون هو الكلوكوز وأنتهى بجزيئتين من المركب الثلاثي بايروفات.

حصيلة المسار:

ATP: المصروف منها (في الخطوتين الأولى والثالثة) = 2

المستحصل منها (في الخطوتين السادسة والتاسعة) = 4

الربح الصافي = 2

القدرة الإختزالية: جزيئات $NADH + H^+$ = 2

بوجود الهواء (O_2) تؤكسد جزيئات NADH لتعطي كل واحدة 3 جزيئات ATP ولكن بعدم وجود الهواء فإنها يجب أن تفقد الهيدروجين الى مستقبلات أخرى لكي تعاود جزيئات +NAD المؤكسدة عملها في المسار وإلا يتوقف المسار.

مصادر أيضية: 5 مركبات وسطية + البايروفات = 6

يمكن أن تسحب بعض هذه المركبات في تفاعلات خارج هذا المسار، لكن ذلك يؤثر سلباً على سير المسار.

وبرغم الأهمية الكبيرة لمسار التحلل السكري إلا أنه يعاني من نواقص يمكن إجمالها فيما يلي:

1. التأثيرات السمية المحتملة لتراكم حامض البايروفيك.

2. تقييد عمل المساعد الإنزيمي NAD^+.

3. الكفاءة الطاقية المنخفضة للمسار حيث أنه لا يستخرج سوى 20 % منها (Bilgrami & Verma,1980).

إن التغلب على نواقص هذه العملية قاد إلى ظهور مسارات تنفسية أكفأ هي دورة الحامض الثلاثي الكاربوكسيل (دورة كريبز) والأكسدة النهائية (الفسفرة التأكسدية).

دورة الحامض الثلاثي الكاربوكسيل أو دورة كريبز

(Kreb's Cycle or Tricarboxylic Acid Cycle)

المادة الأساس لهذه الدورة هو ناتج مسار التحلل السكري أى حامض البايروفيك. في الأحياء البدائية النواة مثل البكتيريا والطحالب الخضر المزرقة تتم العملية في السايتوبلازم حيث توجد الإنزيمات ولكن في الأحياء الحقيقية النواة بضمنها الفطريات يجب أن تدخل البايروفات إلى الميتاكوندريا حيث توجد إنزيمات هذه الدورة التنفسية.

ولكي يدخل حامض البايروفيك دورة كريبز ثمة مرحلة إنتقالية تمكنها مجموعة كبيرة من معقد متعدد الإنزيمات وتتم بخطوات متتالية هي:

1. إزالة ذرة كاربون من حامض البايروفيك بشكل جزيئة غاز CO_2.

2. حصول أكسدة حيث يختزل المساعد الإنزيمي المؤكسد NAD^+ الى NADH $+ H^+$.

3. تربط جزيئة الأسيتيل الثنائية الكاربون الى المساعد الإنزيمي CoA لينتج أسيتيل- CoA وهو المصدر الأيضي لتخليق الأحماض الدهنية (شكل6.3).

حاصل المرحلة الإنتقالية لكل جزيئة كلوكوز هو:

القدرة الإختزالية: - 2 ($NADH + H^+$)

المصادر الأيضية: - 2 جزيئة أسيتيل-CoA

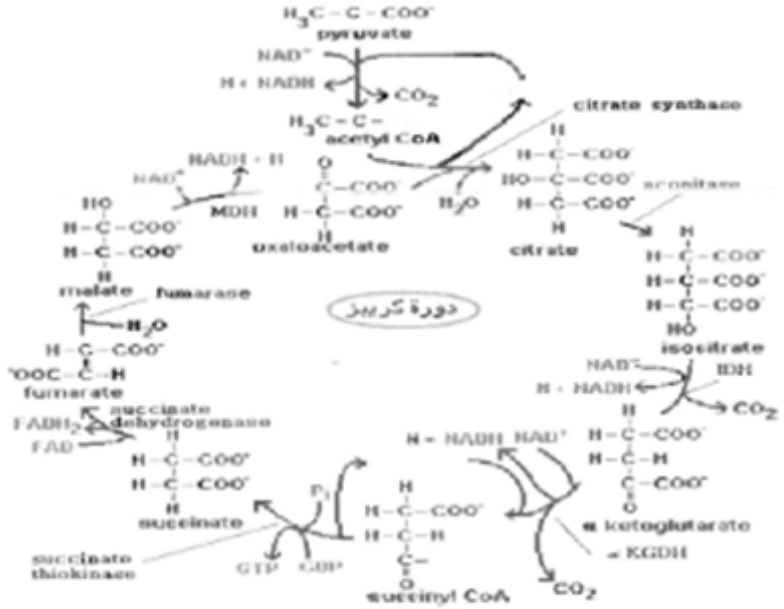
علما أن هذه الجزيئة يمكن أن تتكون من تفاعلات هدمية أخرى للدهون أو البروتينات.

الخطوة 1: تنقل مجموعة الأسيتيل من أسيتيل-CoA الى الحامض الرباعي الكاربون أوكزالوأسيتيك الموجود أصلاً عبر تفاعل تكثيف ليتكون حامض الستريك السداسي الكاربون والثلاثي مجموعة الكاربوكسيل. من هنا تم تسمية الدورة، مع تحرر CoA. إن الإنزيم المساعد في هذا التفاعل هو Citrate synthatase.

الخطوة 2: تكوين أيزومير لحامض الستريك هو حامض أيزوستريك بمساعدة الإنزيم Aconitase.

الخطوة 3: أكسدة حامض ايزوستريك لينتج حامض α- كيتوكلوتاريك الخماسي الكاربون مع إزالة ذرة كاربون بشكل جزيئة CO_2 وإختزال جزيئة NAD^+ إلى $NADH + H^+$.

الخطوة 4: إن هذه الخطوة مشابهة لما يحصل في المرحلة الإنتقالية في تحويل حامض البايروفيك الى أسيتيل-CoA حيث تتضمن سلسلة تفاعلات بمساعدة معقد أنزيمي. وفيها يؤكسد حامض α- كيتوكلوتاريك، تزال ذرة كاربون بشكل CO_2، يضاف CoA ليتكون مركب رباعي الكاربون سكسنيل-CoA. وخلال عملية الأكسدة تختزل جزيئة NAD^+ إلى $NADH + H^+$.



شكل 6.3: مخطط دورة كريبز
عن: (Robert J. Huskey,2001, و King,2010)

الخطوة 5: إزالة CoA من سكسنيل-CoA وتحرير طاقة لتكوين كوانوسين ثلاثي الفوسفات (GTP) وتكوين حامض السكسنيك الرباعي الكاربون بمساعدة الإنزيم Succinate thiokinase.

الخطوة 6: يؤكسد حامض السكسنيك إلى حامض الفيوماريك الرباعي الكاربون. بمساعدة الإنزيم Succinate dehydrogenase وإختزال المساعد الإنزيمي FAD الى FADH2.

الخطوة 7: تضاف جزيئة ماء الى حامض الفيوماريك ليتكون حامض الماليك بمساعدة الإنزيم Fumarase.

الخطوة 8: يؤكسد حامض الماليك ليعاد تكوين حامض أوكزالواستيك الرباعي الكاربون وبذلك تنتهي الدورة. وعندما يتفاعل مع جزيئة أستيل-CoA جديدة تبدأ دورة جديدة. وخلال هذه الخطوة يختزل المساعد الإنزيمي NAD^+ لينتج NADH $+ H^+$.

حصيلة دورة كريبز:

تؤكسد جزيئة أستيل-CoA في دورة واحدة. لكن جزيئة الكلوكوز تنتج خلال التحلل السكري 2 جزيئة بايروفات وعليه تنتج 2 جزيئة أستيل-CoA في المرحلة الإنتقالية وهكذا، لأكسدة نواتج تحلل جزيئة الكلوكوز يجب ان تدور دورة كريبز مرتين. ATP: = 2

كما ان جزيئة GTP المتكونة في الخطوة 5 يمكن أن تتحول الى ATP.

القدرة الإختزالية: = 6 (NADH + H+) + 2 FADH2

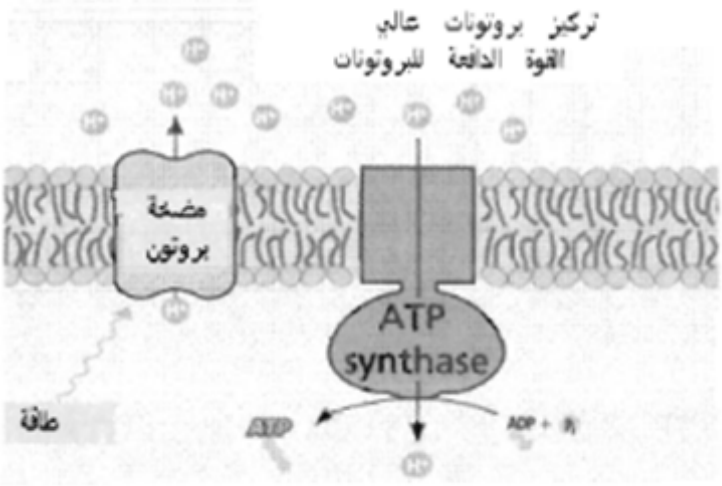
المصادر الأيضية: = 7

توفر دورة كريبز مصادر تكوين الأحماض الأمينية كلوتاميك وأسبارتك من المصدر حامض α- كيتوكلوتاريك، عن طريق إضافة أو نقل مجاميع الأمين. كما يمثل سكسنيل - CoA مصدراً للمثيونين والبيرفورينات وتوفر الدورة مصادر تخليق البروتينات والبيورينات والبريميدينات.

الأكسدة النهائية أو الفسفرة التأكسدية

(Terminal Oxidation or Oxidative Phosphorylation)

في عملية الفسفرة التأكسدية يتم الإستفادة من القدرة الإختزالية الناتجة من عملية التحلل السكري ودورة كريبز لتخليق جزيئات ATP ويحصل ذلك من خلال نقل الكترونات NADH وFADH2والسكسنات إلى سلسلة نقل الإلكترون التي تستخدمها في توليد قوة دافعة للبروتون تمكن من تخليق ATP.



شكل 6.4: مخطط عام لنظام نقل الإلكترون

في التنفس الهوائي تنتقل هذه الإلكترونات أخيراً إلى الأوكسجين حيث يكون المستقبل الأخير للإلكترونات.

من مميزات نواقل الإلكترون في الغشاء أن بعضها يتقبل ذرات هيدروجين أو ازواج الكترون – بروتون بينما تتقبل الأخرى الإلكترونات فقط. إن ترتيب هذه

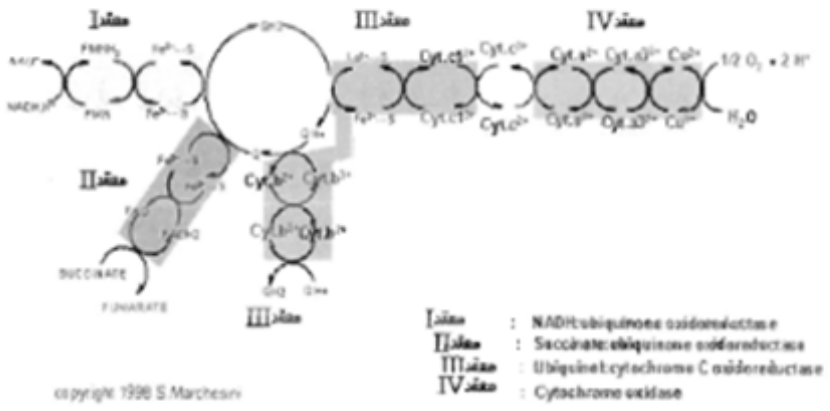
النواقل في الغشاء يؤدي الى إخراج البروتونات من داخل الغشاء الى الخارج. وهذا يحصل بسبب أن حامل الهيدروجين الذي يستلم الكترونات من ناقل الإلكترون يجب أن يلتقط بروتونات أيضاً. وبسبب الموقع النسبي لحوامل الهيدروجين في الغشاء فإن البروتونات تأتي من الداخل. وعندما يمنح حامل الهيدروجين الإلكترونات إلى مستقبل يتقبل الإلكترونات فقط دون البروتونات فإن البروتونات الحرة ستنطلق الى الخارج. إن محصلة ذلك هو نشوء منحدر تركيز للبروتونات عبر الغشاء.

إن المنحدر الكيموأزموزي هذا يسمى القوة الدافعة للبروتون (Proton Motive Force) ويمكن ان يوفر الطاقة اللازمة لتخليق ATP وكذلك تسيير عمليات النقل وغيرها (Nester *et al.*,2001) (شكل6.4).

إن مستقبلات الإلكترون المطمورة في الغشاء تنقل الإلكترونات بصورة متسلسلة من واحد إلى الآخر كما في الشكل 6.5. في الأحياء البدائية النواة توجد هذه النواقل في غشاء الخلية ولكن في الأحياء الحقيقية النواة توجد في الغشاء الداخلي للميتاكوندريا. الطاقة الحرة المتوفرة عن نقل 2 الكترون من NADH أو السكسنات الى الأوكسجين الجزيئي هي – 57و –36 كيلو سعرة/المول على التوالي. عملية الفسفرة التاكسدية تقتنص هذه الطاقة في مجموعة فوسفات جزيئات. ATP ولكي تتم عملية الفسفرة التأكسدية يجب تحقق شرطين:

أولاً: يجب أن يكون الغشاء الداخلي للميتاكوندريا سليماً بحيث لا تدخل البروتونات (H^+) ثانيةً الى الميتاكوندريا إلا من خلال عملية مرتبطة بتخليق ATP.

ثانياً: يجب أن ينشأ تركيز عالي من البروتونات (H^+) خارج الغشاء الداخلي للميتاكوندريا.



شكل 6.5: مخطط لسلاسل نقل الإلكترونات على الأغشية

عن: (Marchesini,S.1998)

http://www.tamu-commerce.edu/agscience/clasnote/pls381/ch5a/tsld010.htm

إن طاقة منحدر البروتون (Proton Gradient) تعرف بالجهد الكيموأزموزي أو القوة الدافعة للبروتون. وهذا الجهد هو حاصل جمع لفرق تركيز البروتونات والفرق في الشحنة الكهربائية عبر الغشاء. يولد زوج الإلكترونات من NADH منحدر من 6 بروتونات. وهكذا فإن اكسدة 1 مول من NADH يؤدي الى توفر قوة دافعة للبروتون بطاقة حرة تساوي حوالي -. 2 31 كيلوسعرة (- 5.2 كيلوسعرة X 6). تستخدم طاقة منحدر البروتون لتخليق ATP مع إعادة ضخ البروتونات إلى داخل الميتاكوندريا دون منحدر ديناميكيتها الحرارية. تعود الإلكترونات إلى الميتاكوندريا من خلال بروتين غشائي هو ATP synthase (أو معقد V). إن ATP synthase معقد عديد الوحدات حيث يربط ADP ومجموعة الفوسفات اللاعضوية في الموقع الفعال داخل الميتاكوندريا ويحتاج الى منحدر بروتون لنشاطه بهذا الإتجاه. في الميتاكوندريا المتضررة يعمل هذا الإنزيم عكس هذا العمل حيث يحلل ATP. مقابل كل زوج من الإلكترونات المنقولة من

NADH تتكون 3 مول ATP. حيث أن 31.2 كيلوسعرة من الطاقة المتوفرة تجعل منحدر البروتون الناشيء من نقل الإلكترونات يمتلك الطاقة الكافية لتسيير تخليق ATP. لكن الإلكترونات من السكسنات تمتلك 3/2 من طاقة الكترونات NADH لذلك ستكون قوة دفع بروتون تعادل 3/2 من طاقة NADH وستمكن من تكوين 2 مول ATP لكل مول سكسنات مؤكسد (King,2005).

حاصل الفسفرة التأكسدية:

6 ATP من القدرة الإختزالية الناشئة من عملية التحلل السكري.

6 ATP من القدرة الإختزالية الناتجة من المرحلة الإنتقالية.

22 ATP من القدرة الإختزالية الناتجة من دورة كريبز.

المجموع: 34 ATP

مسار السكر الخماسي المفسفر (Pentose Phosphate Pathway)

يعتبر مسار السكر الخماسي المفسفر مسارا بنائيا حيث يستخدم الكلوكوز السداسي الكاربون لتكوين سكريات خماسية ومواد مختزلة (شكل6.6). غير ان هذا المسار يؤكسد الكلوكوز وتحت ظروف معينة يؤكسده بالكامل الى ثاني أوكسيد الكاربون وماء.

يؤدي هذا المسار الوظائف التالية:

1. يوفر مسار للأكسدة الكلية للكلوكوز دون مشاركة دورة كريبز.

2. إنتاج الجزيئات ذات القدرة الإختزالية بشكل NADPH لحاجة الخلية إليها في التفاعلات الأيضية.

3. تكوين المركب رايبوز -5- فوسفات المطلوب في تخليق النيوكليدات والأحماض النووية.

4. له دور في تخليق السكريات الخماسية والرباعية والسباعية.

يتكون المسار من مرحلتين: الأولى مرحلة الأكسدة حيث تعاني جزيئة الكلوكوز أكسدة جزئية مكونةً سكراً خماسياً وثاني أوكسيد الكاربون. والثانية مرحلة لا تأكسدية تتضمن إعادة تكوين السكر السداسي عبر عدد من السكريات المختلفة عدد ذرات الكاربون.



شكل 6.6: مخطط دورة السكر الخماسي المفسفر
عن: (King,2010)

المرحلة التأكسدية

الخطوة 1: أكسدة الكلوكوز- فوسفات إلى كلوكونولاكتون- فوسفات بمساعدة الإنزيم Glucose-6-phosphate dehydrogenase ويعمل المرافق الإنزيمي $NADP^+$ كمستقبل للإلكترونات.

الخطوة 2: تكوين حامض كلوكونيك -6- فوسفات بإضافة جزيئة ماء وبمساعدة الإنزيم Glucolactonase.

الخطوة 3: أكسدة تؤدي الى إزالة ذرة كاربون بشكل CO_2 وتكوين السكر الخماسي ريبيولوز- 5 - فوسفات وجزيئة NADPH ثانية بمساعدة الإنزيم 6-Phosphogluconate dehydrogenase.

المرحلة اللاتأكسدية

تتضمن مجموعة تحولات معقدة تحت تأثير عدد من الإنزيمات Transketolase وTransaldolase وIsomerase و. Epimerase وتنتج السكريات رايبوز 5 - فوسفات وزايلولوز - 5 - فوسفات والسكر السباعي سيدوهبتلوز - 7 - فوسفات والسكر الثلاثي كليسرالدهايد - 3 - فوسفات والسكر الرباعي ارثروز - 4 - فوسفات والسكر السداسي فركتوز - 6- فوسفات (Bilgrami & verma,1980 ; King,2005).

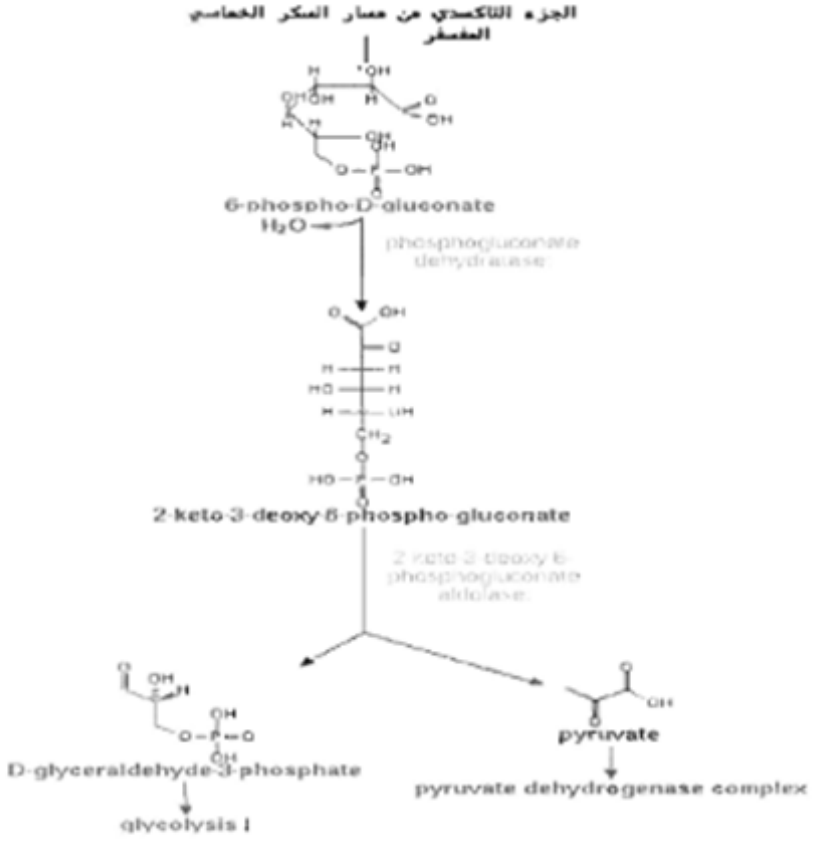
حصيلة المسار:

القدرة الإختزالية: 2 جزيئة NADPH

المركبات الأيضية: عدد من السكريات الثلاثية والرباعية والخماسية والسداسية والسباعية الكاربون.

مسار انتنر دودوروف (Entner Doudoroff Sequence)

يبدأ هذا المسار بخطوات مماثلة لمسار السكر الخماسي المفسفر ويفترقان بعد تكوين حامض الكلوكونيك –6 –فوسفات (شكل6.7).



شكل 6.7: مخطط مسار ED

عن: Nucleic Acids Research 33:D334-7 2005

http://biocyc.org/ECOLI/NEW-IMAGE?type=PATHWAY&object=ENTNER-DOUDOROFF-PWY

الخطوة 1: تنشيط الكلوكوز بإضافة مجموعة فوسفات ليتكون كلوكوز- 6 - فوسفات بواسطة الإنزيم Hexokinase.

الخطوة 2: أكسدة الكلوكوز -6- فوسفات وتكوين حامض كلوكونيك-6- فوسفات بواسطة الإنزيم Glucose-6-phosphate dehydrogenase، مع إختزال +NADP الى NADPH.

الخطوة 3: إزالة جزيئة ماء وتكوين 2 -كيتو-3 -ديأوكسي-6 - فوسفوكلوكونات بواسطة الإنزيم 6-Phosphogluconate dehydratase.

الخطوة 4: شطر جزيئة 2 -كيتو-3- ديأوكسي-6 - فوسفوكلوكونات الى كليسر الدهايد

-3-فوسفات وحامض البايروفيك بواسطة الإنزيم 2-Keto-3-deoxy 6- phosphogluconate aldolase.

حصيلة المسار:

1 = ATP

القدرة الإختزالية = 1 NADPH

المركبات الأيضية = 2

البايروفات وكليسر الدهايد 3- فوسفات

هذه المركبات يمكن أن تستغل في مسارات دورة كريبز والتحلل السكري ويعتقد ان هذا المسار هو أقدم من مسار EMP (Conway,1992). كما أنه أقل إنتشاراً من بقية المسارات في الفطريات فهو لم يسجل إلا في فطريات *Telletia caries* و *Caldariomyces fumago* (Griffin,1981).

التخمر (Fermentation)

تحصل الأحياء الغيرية التغذية على الطاقة من خلال تفاعلات الأكسدة – الإختزال. في تفاعلات الأكسدة كما هي تفاعلات التنفس يكون المستقبل الأخير للإلكترونات عادة هو الأوكسجين الجزيئي. التخمر وسيلة أخرى لإستخراج الطاقة من المركبات العضوية حيث تنتقل الإلكترونات من الجزيئة المانحة، وهي عادة تكون مركب وسطي ناتج من عملية أكسدة لمادة الأساس، الى مستقبلات الكترون هي أيضا مركبات وسطية لعملية التخمر ولا يكون المستقبل الأخير للإلكترونات هو الأوكسجين. وهكذا يمكن إعتبار التخمر هو نوع من التنفس اللاهوائي.

تؤدي عملية التخمر الى تكوين مركبات أكثر أكسدة وأخرى أكثر إختزالا من المادة الأساس لكن مستوى الأكسدة الكلي للنواتج والمادة الأساس يكون متساويا.

عملية التخمر تكون اقل كفاءة من التنفس في إستخلاص الطاقة من المادة الأساس حيث لا تتم أكسدة كاملة لها. فعند الأكسدة الكاملة لجزيئة الكلوكوز في التنفس الهوائي ΔG للتفاعل تساوي – 686 كيلو سعرة / مول. بينما في تخمير جزيئة الكلوكوز الى 2 جزيئة حامض اللاكتيك ΔG للتفاعل تساوي – 47 كيلو سعرة / مول(Willett,1992).

إن إنتاج الطاقة بشكل جزيئات ATP في عملية التخمر لا يحصل في المراحل الأخيرة من عملية التخمر ذاتها وإنما يتم ذلك في مسار التحلل السكري (Glycolysis) وهي المرحلة التي تسبق تفاعلات التخمر المعروفة.

يبدأ مسار التحلل السكري بجزيئة كلولكوز وينتهي بجزيئتي بايروفات مع 2 جزيئة ATP.

في الظروف الهوائية (توفر الأوكسجين) تجري أكسدة كاملة لجزيئات البايروفات في دورة كريبز والأكسدة النهائية ليكون الناتج الكلي من أكسدة جزيئة الكلوكوز 34 جزيئة ATP. عند عدم توفر الأوكسجن أو إنخفاض تركيزه عن حد معين

تدخل جزيئات البايروفات في عملية التخمر، بينما يمكن ان يعمل مسار التحلل السكري بغياب أو وجود الأوكسجين، وهو لايشترك في تفاعلاتها.
تختلف نواتج عملية التخمر بإختلاف المادة الأساس (السكريات) التي يعمل عليها.
تمثل عملية التخمر أحد أقدم الطرق لإستخراج طاقة المركبات العضوية حيث لم يكن الأوكسجين الغازي متوفرا أو لم تصل تراكيزه الى مستويات كافية في جو الأرض.

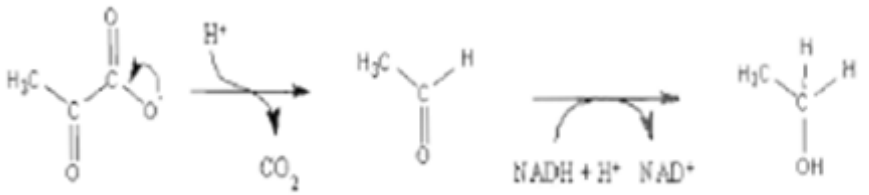
وهكذا إستخدمت البكتريا هذه الوسيلة لإستخراج الطاقة وأستمرت عليها أنواع البكتريا اللاهوائية حتى اليوم كطريقة تسد حاجتها المحدودة للطاقة. لكن الأنواع الأخرى من البكتريا وكذلك الأحياء الدقيقة الأخرى الحقيقية النواة مثل أغلب الفطريات وبقية الأحياء الراقية كالنباتات والحيوانات وهي تمتلك آلية التخمر، أصبحت هوائية بعد توفر الأوكسجين الغازي الحر في جو الأرض نتيجة تراكمه من عملية التركيب الضوئي للطحالب والنباتات الخضراء. والقول بأنها اصبحت هوائية يعني إمتلاكها لمسارات التنفس الهوائي الذي يوفر قدرا كبيرا من الطاقة يتناسب وتزايد حاجاتها اليه نتيجة تعقد أجسامها وفعالياتها.

لم تستغن الأحياء الهوائية عن التخمر رغم إمتلاكها لوسيلة افضل في إستخراج الطاقة. والسبب في ذلك هو مسالة تقنية تتمثل بضرورة تفريغ المساعد الإنزيمي المختزل NADH من الهيدروجين، الذي يكون عمله أساسيا في مسار التحلل السكري، ليعاود نشاطه وهو مؤكسد بشكل +NAD. وحيث أن عدد جزيئات المساعد الإنزيمي هذا محدود في الخلية فإن عدم حصول ذلك يؤدي الى توقف مسار التحلل السكري والذي هو مقدمة لابد منها للمسارات التنفسية الهوائية.

وهكذا، يمكن إعتبار نواتج التخمر النهائية على أنها نواتج عرضية لعملية أكسدة المساعد الإنزيمي +NAD.

التخمر الكحولي (Alcoholic Fermrntation)

أكتشف التخمر الكحولي لأول مرة من قبل العالم لويس باستور سنة 1857 في خميرة الخبز *Saccharomyces serevisiae*. تتمكن عدد من الفطريات الخيطية من التخمير الكحولي مثل الفطريات اللاقحية *Mucor* و *Rhizopus* والفطريات الكيسية *Ashbya gossypii* و *Neurospora crassa* و الفطريات الناقصة *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium* وغيرها. يتم تحويل البايروفات التي هي بالأساس ناتج مسار التحلل السكري الى أستالديهايد بواسطة الإنزيم Pyruvate decarboxylase ثم يجري إختزال الأستالديهايد بواسطة الإنزيم Alcohol dehydrogenase والمساعد الإنزيمي المختزل NADH الذي يفرغ شحنته من الهيدروجين ليتكون الكحول الأثيلي.



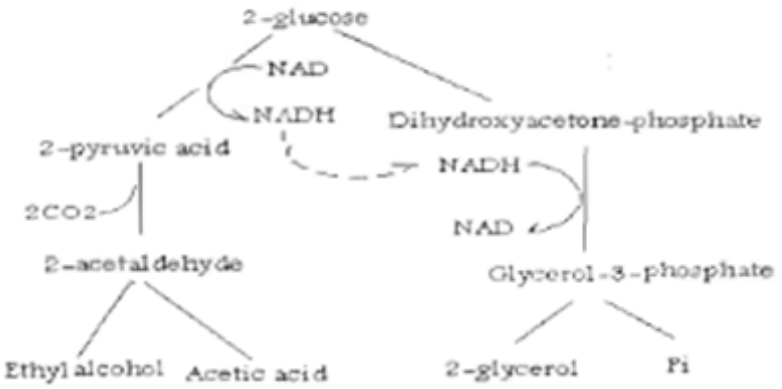
بايروفات　　أستالديهايد　　كحول أثيلي

وهكذا تكون نواتج التخمر غير تامة الأكسدة كالكحول الأثيلي هنا والتي لا تكتمل أكسدتها إلا بوجود الأوكسجين أو مستقبل إلكترونات آخر عالي الأكسدة. يستغل التخمر الكحولي هذا في عمل الخميرة في تليين العجين عن طريق تحليل بوليمر النشاء وتكوين غاز ثاني أوكسيد الكاربون الذي يساعد على إنتفاخ الخبز والمعجنات في الوقت الذي يحترق فيه الكحول بواسطة الحرارة. كما يستخدم في إنتاج البيرة والمشروبات الكحولية والكحول الصناعي.

تخمر الكليسرول والكحولات المتعددة الأخرى

(Glycerol and Other Polyhydric Alcohols)

تحت الظروف القاعدية تقوم الخميرة *Saccharomyces serevisiae* بتخمير السكر الى كليسرول. يقوم المساعد الإنزيمي NADH بإختزال المركب الوسطي في التحلل السكري Dihydroxyacetone phosphate الى Glycerol-3-phosphate والذي يتحول الى كليسرول بإزالة مجموعة الفوسفات. إن هذا يؤدي الى عدم كفاية جزيئات المساعد الإنزيمي NADH لإختزال الأستالديهايد. وبدل تراكم الأستالديهايد فإنه يحول الى مزيج من الكحول الأثيلي وحامض الخليك. تقوم العديد من الخمائر التي تنمو في تراكيز عالية من السكريات وتحت ظروف ليست قاعدية بتحويلات مماثلة منتجة كحولات متعددة مثل Arabitol و Erythritol و Manitol .(Landecker,1982)

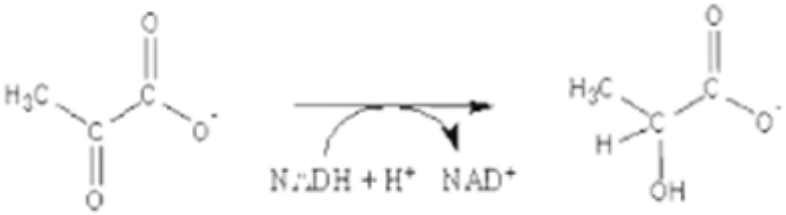


تخمر حامض اللاكتيك (Lactic Acid Fermentation)

يقتصر التخمر اللاكتيتي في الفطريات على الفطريات الكتريدية والفطريات الناقصة. يمكن ان يكون حامض اللاكتيك هو المنتج الوحيد للتخمر أو ان يكون مع مركبات أخرى مثل الكحول الأثيلي والأستالديهايد وحامض السكسنيك. في حالة كون حامض اللاكتيك هو الناتج الوحيد فإن طريقة تخميره تشبه التخمر الكحولي،

اي ان حامض البايروفيك يختزل بالمساعد الإنزيمي NADH أو $NADPH_2$ وباشتراك الإنزيم Lactic dehydrogenase (Landecker,1982).

يحصل التخمر اللاكتيكي في عضلات الإنسان والحيوانات خلال الحركات العضلية المكثفة كالتمارين والألعاب الرياضية والعمل الشاق حيث لا تكفي حركة الدم لتوفير الأوكسجين اللازم لقيام الخلايا بالتنفس الهوائي الإعتيادي. وهذا سيؤدي الى إنخفاض كبير في تراكيز جزيئات ATP المطلوبة للقيام بهذه الأنشطة. ولتجنب إنهيار العضلات تلجأ الخلايا الى إستخدام التخمر اللاكتيكي (وإن كان غير إقتصادي حيث لا يوفر سوى 2 ATP لكل جزيئة كلوكوز) من اجل توفير جزيئات ATP بسرعة لتعويض نقص ATP حيث أن هذا المسار أسرع بمئة مرة من الفسفرة التأكسدية. لكن التخمر اللاكتيكي لا يمكن أن يستمر لفترة طويلة في الأحياء الهوائية المعقدة. ففي الإنسان يمكن أن يعمل فقط لفترة 30 الى 120 دقيقة متواصلة.



بايروفات

لاكتات

إن تراكم حامض اللاكتيك يخفض الـ pH في خلايا العضلات ويسبب الام فيها علما أن السبب الرئيس لإنخفاض الـ pH هو تراكم الهيدروجين الناتج من تحلل جزيئات ATP.

وفي البكتريا تقوم أنواع *Lactobacillus* بتخمير سكر الحليب لاكتوز الى حامض اللاكتيك الذي يؤدي الى تشويه البروتين كازائين وتكتله وتكون اللبن ذو الطعم الحامض (Wikipedia,2007b).

Chapter 7 الفصل السابع

Reproduction التكاثر

التكاثر يعني زيادة عدد افراد الكائن الحي. وحسب Alexopoulus *et al.*(1996) فإن التكاثر يعني تكوين افراد جدد لهم جميع الصفات النموذجية للنوع. الأحياء الحقيقية النواة تظهر طريقتين للتكاثر: التكاثر اللاجنسي (Asexual Reproduction) والتكاثر الجنسي (Sexual Reproduction). وإذا كان التكاثر الجنسي يكاد يكون إجباريا في الحيوانات فإنه ليس كذلك في الفطريات. ثمة أنواع قليلة من الفطريات يكون فيها التكاثر الجنسي إجباريا لكن معظم الفطريات تتمكن من التكاثر بكلتا الطريقتين مع وجود أقلية مهمة تتكاثر حصريا بالطريقة اللاجنسية(Sun & Heitman,2011).

التكاثر اللاجنسي (Asexual Reproduction)

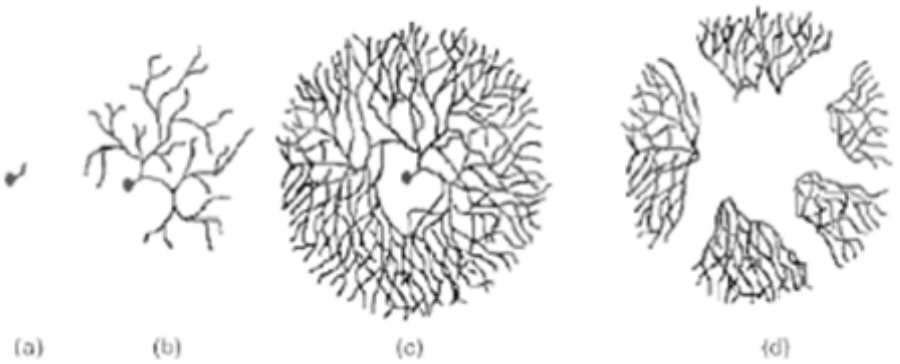
التكاثر اللاجنسي يعني أن يولد الفرد نسخة وراثية عنه دون مشاركة وراثية من فرد آخر. أي أن يكون للفرد أباً واحداً وأن جميع أجزاء الجينوم تكون ذات تاريخ تطوري واحد (Taylor *et al.*,2004 ; Encyclopidia Britannica,2006).

إن دور التكاثر اللاجنسي بالأساس هو زيادة عدد الأفراد دون تغيير مهم في تركيبتهم الوراثية. ولهذا العامل أهمية كبيرة في نشر الفطر وإستثمار البيئات الغذائية المختلفة. تتمكن معظم الفطريات من التكاثر اللاجنسي. ويتحقق ذلك بطرق مختلفة:

1. التجزؤ (Fragmentation)

تتمكن العديد من أنواع الفطريات من التكاثر اللاجنسي بطريقة تجزؤ الخيط الفطري أو الغزل الفطري وخاصة من منطقة النمو المحيطية (حافة المستعمرة) حيث توجد الخيوط الفطرية الأكثر حيوية. إن الخلايا المتضررة لا تتمكن من النمو لكن الخلايا التي تحتها يمكن أن تتفرع وتكوّن نمو. من ناحية أخرى يمكن أن يحصل التجزؤ نتيجة قدم، شيخوخة أو تهالك الأجزاء القديمة المركزية من المستعمرة المتسعة النامية في الطبيعة كما في الشكل7.1.

تستخدم هذه الطريقة من التكاثر اللاجنسي بشكل روتيني في مختبرات الفطريات من أجل الحصول على نموات جديدة لتجديد نمو المستعمرات المصدرية (Stock Cultures) أو لإكثار الفطر.



شكل 7.1: مخطط تشكل وتجزؤ الغزل الفطري النامي في الطبيعة. (a) إنبات البوغ الفطري. (b) تفرع الخيوط الفطرية. (c) تكوين مستعمرة من الغزل الفطري. (d) تجزؤ المستعمرة نتيجة قدم أو موت الأجزاء المركزية القديمة

عن: (Maheshwari , 2005)

حيث يقتطع جزء من الغزل الفطري وينقل إلى وسط زرعي ليكوّن مستعمرة جديدة. بعض الفطريات خصوصا الفطريات غير المكونة للأبواغ (الفطريات العقيمة) تستخدم هذه الطريقة كوسيلة للتكاثر اللاجنسي.

2. الإنشطار الثنائي (Binary Fission)

هذه الطريقة تعتبر أبسط أشكال التكاثر اللاجنسي وتحصل في بعض أنواع الخمائر كما في *Schizosaccharomyces bombi* وهي الطريقة النموذجية لتكاثر البكتريا. إن بساطة التركيب الخلوي (خلايا مفردة) يسمح بمثل هذا النوع من التكاثر والذي لا يصلح مع الفطريات الأخرى المعقدة التركيب والفسلجة.

3. التبرعم (Budding)

أغلب الخمائر تتكاثر بتكوين البراعم. كما تقوم بذلك الفطريات الثانية المظهر. تبدأ عملية التبرعم بتكوين حلقة كايتينية في النقطة التي سيظهر منها البرعم. تقوم الإنزيمات المحللة للجدار بتليين الجدار وبفعل تأثير ضغط الإمتلاء ينشأ بروز في الجدار يترافق مع بناء مواد جدار جديدة. تدفع مواد خلوية نحو البرعم وينشأ جدار عرضي من الحلقة الكايتينية نحو المركز مع إكتمال الإنقسام الخيطي. تنفصل البراعم مكونةً خلايا جديدة وتاركة أثر البرعم على جدار الخلية الأم. يمكن لخلية الخميرة أن تعطي 14 برعماً ولكن ليس من منطقة أثر البراعم السابقة.

4. تكوين الأجسام الحجرية وأشكال الجذور (Sclerotia and Rhizomorphs)

تتكاثر بعض الفطريات لاجنسياً عن طريق تكوين أعداد كبيرة من الأجسام الحجرية الصغيرة (Microsclerotia) مثل الفطر *Sclerotinia minor* و*Sclerotium rolfsii* وبعض أنواع *Verticillium* وبعض أنواع *Aspergillus* مثل *Aspergillus flavus* و*A. parasiticus*.

فطريات أخرى تكون أجسام حجرية متوسطة الى كبيرة (Macrosclerotia) مثل الفطر *Sclertinia sclerotiorum* و*Rhizoctonia solani* و *Claviceps purpurea* وأنواع من الفطريات البازيدية.

الأجسام الحجرية هي تراكيب جسمية لاجنسية سميكة الجدران، داكنة تفيد الفطر في تخطي الظروف البيئية غير الملائمة ويمكن أن تنبت بتكوين خيوط فطرية أو أحياناً تراكيب تكاثرية جنسية.

بعض الفطريات البازيدية مثل الفطر *Armilaria milla* تكون أشكال جذور تمتد على مسافات طويلة ومتشعبة بحثاً عن المصادر الغذائية ويمكن أن تتجزأ وينمو كل جزء إلى غزل فطري جديد علماً أنها هي أيضا تراكيب جسمية مقاومة للظروف البيئية غير الملائمة.

5. تكوين الأبواغ (Sporulation)

تعتمد هذه الطريقة من التكاثر على الإنقسام الخيطي (Mitosis). وهي أهم طرق التكاثر اللاجنسي في الفطريات. حيث تكوّن الفطريات القادرة على التكاثر بهذه الطريقة أعداداً هائلة من الأبواغ ولمراتٍ عديدة أو طيلة العام. وهذه العملية تتم في طور من دورة الحياة يسمى الطور الناقص (Anamorphic Phase) أو البوغي- الخيطي (Mitosporic Phase) تفريقاً له عن الطور الكامل (Teleomorphic Phase) أو البوغي-الإختزالي (Meosporic Phase) وهو الطور الجنسي.

بالإضافة إلى الأنواع الأخرى، ثمة مجموعة كبيرة من الفطريات تعتمد في تكاثرها على هذه الطريقة بسبب إفتقادها للطور الجنسي أو عدم إكتشافه فيها وتسمى الفطريات الناقصة (Fungi Imperfecti أو Deuteromycota).

معظم الفطريات تكوّن نوع واحد من الأبواغ اللاجنسية ويمكن أن يكوّن النوع الواحد من بعض الفطريات أكثر من نوع واحد من الأبواغ، كما أن أنواع مختلفة من بعض الفطريات يمكن أن تكون الأنواع نفسها من الأبواغ، وهذا يزيد من تعقيد عملية تصنيف الفطريات. إن هذا الأمر يدفع بإتجاه الإعتماد على الطور الجنسي الذي هو أكثر إستقراراً في التصنيف.

والبوغ عبارة عن وحدة تكاثرية مؤلفة من خلية واحدة، إثنتين أو بضع خلايا وله اشكال وألوان وأحجام مختلفة وسمك جدار مختلف حسب نوع الفطر المنتج له.

تمتلك خلية البوغ مادة غذائية محدودة تكفي لدعم نمو عدد محدود من الخلايا. فعند توفر الظروف الملائمة ينبت البوغ مكونا إنبوب إنبات يتكون من عدد محدود من الخلايا يتطور الى خيط فطري إذا توفرت الرطوبة والمواد الغذائية. أما إذا نبت البوغ ولم تتوفر الرطوبة والمواد الغذائية الكافية فإن إنبوب الإنبات يتوقف عن التطور ويموت بعد فترة وجيزة.

تختلف مطاولة الأبواغ في البقاء حية في حالة سكون من بضع ساعات الى أيام أو أسابيع بل لأشهر وحتى لسنوات إعتماد على نوع البوغ، لكنها على العموم تكون أقل مطاولة في حالة الأبواغ اللاجنسية مقارنة بالأبواغ الجنسية.

ثمة عوامل عديدة تتحكم بعملية التكاثر اللاجنسي في الفطريات بعضها داخلي والبعض الآخر بيئي مثل مستويات المواد الغذائية والضوء ومستويات CO_2 سنأتي على ذكرها.

الأبواغ اللاجنسية في الفطريات الكتريدية (Chytridiomycota)

الفطريات الكتريدية (Chytrids) بسيطة التركيب حيث تتكون أجسامها من خلية واحدة قد يكون لها أشباه جذور (Rhizoids) تساعدها على تثبيت نفسها في الوسط الغذائي أو من غزل فطري بسيط التركيب.

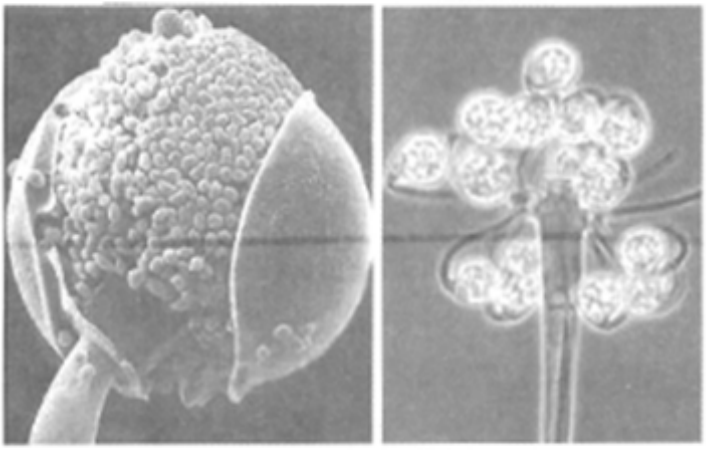
تتكاثر هذه الفطريات لاجنسيا عن طريق تحول جسمها بالكامل الى جسم ثمري. الفطريات التي تسلك مثل هذا السلوك تسمى كلية الأثمار (Holocarpic) على خلاف ما يحصل في أنواع أخرى وفي أغلب الفطريات الأرقى حيث تكون التراكيب الثمرية جزءا من جسم الفطر وهذه الفطريات تسمى حقيقية الأثمار (Eucarpic).

إن محتوى جسم الفطر يتحول الى أبواغ متحركة (Zoospores) تنطلق الى الخارج. يتكون البوغ المتحرك من خلية مفردة تتحرك بواسطة سوط خلفي واحد.

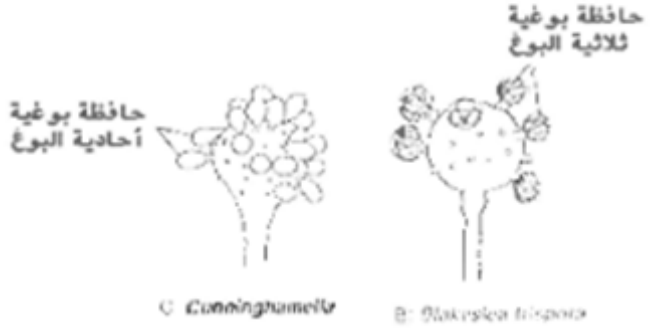
الأبواغ اللاجنسية في الفطريات اللاقحية (Zygomycota)

عند تحفز التكاثر اللاجنسي في هذه الفطريات تتكون أعداد كبيرة من الخيوط الفطرية الهوائية. يتركز السايتوبلازم في اطراف هذه الخيوط الفطرية وتعاني النوى إنقسامات خيطية متكررة ويتجمع السايتوبلازم والعضيات الخلوية حول كل نواة وتتجمع الحويصلات حولها وتحاط كل نواة ومايحيطها من تجمع السايتوبلازم والعضيات والحويصلات بغشاء بلازمي يفصلها عن التجمعات المجاورة. ومن خلال نشاط أجسام كولجي والحويصلات يتكون جدار خلية يحيط بكل غشاء بلازمي والذي يمثل جدار البوغ. وهكذا تتكون الحافظة البوغية (Sporangium) حيث تحتوي على أعداد كبيرة من الأبواغ تصل الى 000 100 بوغ في الحوافظ الكبيرة. ومع تكون العويمود (Columella) وإمتصاص كمية كبيرة من الماء نتيجة زيادة الجهد الأزموزي ينشأ ضغط إمتلاء عالي يؤدي الى تمزق الحافظة وخروج الأبواغ. لاحظ الفرق التطوري في هذه المجموعة من الفطريات عن سابقتها بغياب الأبواغ المتحركة وإعتمادها في الإنتشار على الهواء إذ ان هذه الفطريات أرضية مع ذلك فهي تفضل البيئات الرطبة (Kendrick,2002).

الأبواغ إذن تكون غير متحركة وتسمى الأبواغ الحافظية (Sporangiospores) كونها متكونة في حوافظ بوغية (شكل7.2).



شكل 7.2: الحافظة البوغية لفطريات *Mucoraceae* تحتوي على 10 – 20 بوغ(يمين)
و للفطر *Helicostylum* تحتوي على أعداد كبيرة من الأبواغ(يسار)
عن: (Kendrick,2002)



شكل 7.3: الحويفظة البوغية تحتوي على 3 أبواغ(يمين) وبوغ واحد (يسار)
عن: (Kendrick,2002)

تختلف أحجام الحوافظ البوغية بين الكبيرة التي تسمى حافظة بوغية والصغيرة التي تسمى حويفظة بوغية (Sporangiola) أو Merosporangium وبعضها تحتوي على بوغ واحد ولا تختلف كثيرا عن الكونيدة (Conidium) للفطريات الراقية إلا من خلال إحتوائها على جدار مزدوج (شكل7.3).

وكما يلاحظ في الصور اعلاه ثمة إتجاه إختزالي لعدد الأبواغ في الحافظة تعرضه الفطريات اللاقحية.

التكاثراللاجنسي في الفطريات الكيسية (*Ascomycota*)

هنا أيضا تتكون الأبواغ أو الكونيدات في أطراف الخيوط الفطرية الهوائية أو ضمن أجسام ثمرية. لكن طريقة تكونها تختلف عن طريقة تكون الأبواغ في الفطريات اللاقحية. حيث أنها أما أن تتكون بطريقة برعمية (Blastic Conidiogenesis) حيث يمكن تمييز الكونيدة قبل إنفصالها بالجدار المستعرض فهي تعرف بالأبواغ البرعمية (Blastospores) أو بطريقة ثالوسية (Thalic Conidiogenesis) حيث تتكون الجدران المستعرضة قبل تكشف الكونيدة.

تتكون الأبواغ البرعمية بطريقة مشابهة لتكون البراعم في الخمائر. وهنا ايضا ينشأ البوغ كنتوء من طرف الخلية المولدة نتيجة تليين الجدار إنزيميا وتحت ضغط الإمتلاء تندفع المحتويات السايتوبلازمية والنواة بعد إنقسامها الخيطي مع عملية تكوين الجدار في المناطق الأقدم من البوغ الناشيء ثم يتكون الجدار العرضي الذي يفصل البوغ عن الخلية المولدة. إنها عملية مشابهة من حيث الشكل لعملية نفخ الزجاج. وتتكون الأبواغ الثالوسية عن طريق تجزؤ خلايا الخيط الفطري أو تكوين جدران مستعرضة تفصل البوغ المفرد في نهاية الحامل.

يمكن إن تكون الكونيدات محمولة على حوامل كونيدية مفردة أو ان تحمل على مجموعة حوامل متجمعة بشكل ظفيرة فطرية (Synnemata). كما يمكن ان تتكون الكونيدات ضمن تراكيب ثمرية مختلفة مثل البكنيدة (Pycnidium) أو الحصيرة الفطرية(Acervulus)أو الوسادة الفطرية (Sporodochium)(Kendrick,2002 ; School of Biological Sciences,2004). كذلك ثمة أنواع مختلفة من طرق تكوين الكونيدات البرعمية أو الثالوسية.

التكاثر اللاجنسي في الفطريات البازيدية (*Basidiomycota*)

يبدو أن التكاثر اللاجنسي في الفطريات البازيدية هو أقل إنتشارا وتنوعاً مما هو في الفطريات الكيسية والناقصة. مع ذلك تكوّن العديد من الفطريات البازيدية الكونيدات البرعمية وكذلك الأجسام الحجرية وتراكيب أخرى تسهم في التكاثر اللاجنسي في هذه المجموعة من الفطريات. ثمة عدد من أجناس الفطريات المأكولة (Mushrooms) العائدة لرتبة *Agaricales* تنتج كونيدات برعمية. وتكوّن بعض الفطريات البازيدية المحللة للأخشاب العائدة لرتبة *Aphyllophorales* كونيدات مفصلية.

ويكوّن الفطر *Gonoderma colossum* أبواغ كلاميدية سميكة الجدران.

ويكوّن فطر التفحم *Entyloma* كونيدات ثنائية المجموعة الكروموسومية.

كما تكوّن بعض أنواع *Coprinus* كتل كثيفة من الأجسام الحجرية الصغيرة (Microsclerotia).

ثمة العديد من الفطريات المحللة للأخشاب وكذلك الفطريات الممرضة للنبات مثل *Sclerotium rolfsii* و *Rhizoctonia solani* تكوّن أجسام حجرية (Alexopoulos *et al.*,1996).

فسلجة التكاثر اللاجنسي

Physiology of Asexual Reproduction

على الرغم من تكوين الفطريات لأنواع مختلفة من الكونيدات إلا أنها تشترك جميعا في كونها وحدات تكاثرية لاجنسية تنشأ من نهاية أو جوانب خلايا مولدة ولا تتكون نتيجة التجزؤ المتواصل للسايتوبلازم. إن عملية تكوين الكونيدات تتضمن التنظيم الزماني والمكاني لعمل الجينات، التخصص الخلوي والإتصالات الخلوية.

تركزت الدراسات الوراثية التفصيلية على إثنين من الفطريات الكيسية هما *Aspergillus nidulans* و*Neurospora crassa* حيث أظهرا تشابها عاما مع وجود إختلافات بينهما.

وحسب الدراسة الإستعراضية التي قدمها (Adams *et al.*,1998) فإن دورة التكاثر اللاجنسي في الفطر *A. nidulans* تقسم الى ثلاثة مراحل. تبدأ بمرحلة نمو تتمكن الخلايا بعدها من القدرة على الإستجابة للإشارات التحفيزية والبدء بمسلك تكشفي وتنتهي بتغيرات منظمة تفضي الى تكوين الكونيدات.

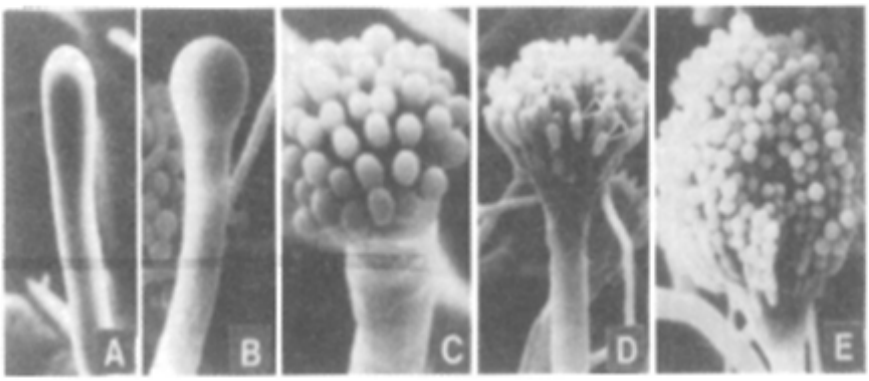
يمكن فصل هذه المراحل جزئيا على الأقل في المختبر من خلال حقيقة إستمرار نمو الفطر (وعموم الفطريات) الخضري بشكل غزل فطري في المزرعة السائلة. وبعد فترة من النمو يمكن حث تكوين الكونيدات عن طريق تعريض الخيوط الفطرية للهواء بفترات زمنية مختلفة وإخضاعها للتحليلات الكيموحيوية. إن تأثير تعرض الغزل الفطري المغمور للهواء في حث تكوين الأبواغ ظاهرة عامة بين الفطريات (Bilgrami & Verma,1980).

يبدأ النمو الخضري في الفطريات عموما والفطر *A. nidulans* بإنبات البوغ حيث يعطي إنبوب إنبات يتحول الى خيط فطري ومن خلال نمو الخيط الفطري طوليا وتفرعه ونمو وتفرع فروعه تتكون شبكة من الخيوط الفطرية تسمى الغزل الفطري. يكوّن الغزل الفطري مستعمرة متناظرة شعاعيا تنمو بمعدل 0.5 ملم / ساعة في درجة حرارة 37 مْ. وعلى الرغم من التشابه المظهري لخلايا الغزل الفطري، يبدو من الناحية الوظيفية أن ثمة أدوار مختلفة في الحصول على المواد الغذائية وفي تحديد تطور التخصص لتكوين التراكيب التكاثرية.

بعد حوالي 16 ساعة من إنبات البوغ، يبدأ تخصص الخيوط الفطرية بالظهور. حيث تتكون وسط المستعمرة الخيوط الهوائية التي يتطور بعضها الى حوامل كونيدية. بعد ذلك بـــ 6 الى 8 ساعات تتكون طلائع الأبواغ. وهكذا يبدأ تكون

الأبواغ بعد 24 ساعة من إنبات البوغ. في اطراف المستعمرة تسير عملية تكوين الأبواغ بمعدل اسرع حيث تستغرق 2 الى 4 ساعات من تكون الخيوط الفطرية الجديدة. وحسب (Maheshwari , 2005) يكون الترتيب الزمني لتكوين الأبواغ في الفطر *A. nidulans* كالتالي: خيوط فطرية غير متميزة (0 ساعة)

الساق الهوائي (5 ساعة) ← الحوصلة(10 ساعة)← الذنيبات والفاليدات (15 ساعة)← الكونيدات غير الناضجة (20 ساعة)← الكونيدات الناضجة الخضراء الداكنة (25 ساعة) (شكل7.4).

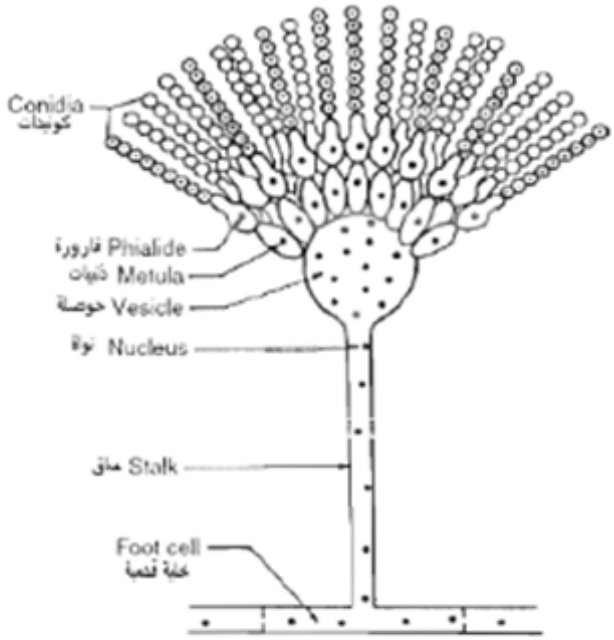


شكل 7.4: التغيرات المورفولوجية في عملية تكوين الكونيدات في الفطر *A. nidulans* تحت المجهر الإلكتروني.A: تكوين ساق الحامل،B: تكوين الحوصلة في قمة الساق، C: تكوين الماتيولا، D: تكوين الفاليدات، E: الحامل الكونيدي البالغ يحمل الكونيدات.

عن: (Adams *et al.*,1998)

إن دورة الخلية (Cell Cycle) في هذا الفطر هي 100 دقيقة ويحتوي الحامل الكونيدي على دزائن من النوى (شكل7.5). هذا النمو السريع للحوامل الكونيدية يتطلب إمدادات للنوى من الخيوط الفطرية وربما تعطيل في دورة الخلية. تبدأ نهاية عملية التكاثر اللاجنسي في وسط المستعمرة مترافقة مع بداية عملية التكاثر الجنسي وتشير الدلائل على وجود تأثرات بين العمليتين. وكما يحصل مع الكونيدة، فإن إنبات البوغ الكيسي يؤدي الى تكوين خيوط فطرية وإستكمال دورة حياة جديدة.

تكوين الحوامل الكونيدية (Frmation of Conidiophores)



شكل 7.5: رسم تخطيطي للحامل الكونيدي للفطر *Aspergillus nidulans*

عن: (Maheshwari , 2005)

تبدأ العملية بنشوء الخلية القاعدية السميكة الجدران ونمو ساق (Stalk) الحامل الكونيدي منها نتيجة إستطالة الخيط الفطري الهوائي.

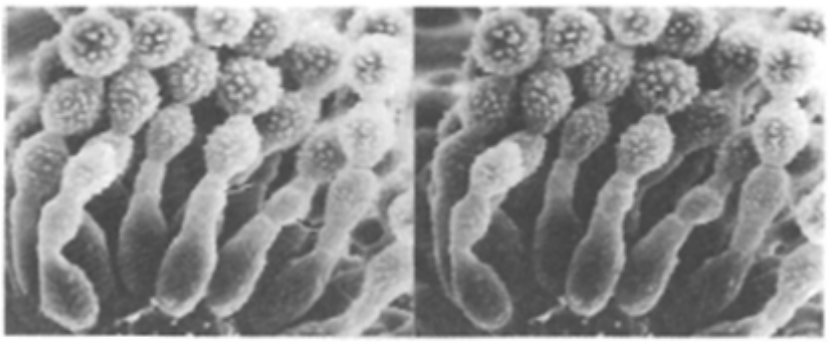
يختلف الساق عن الخيط الفطري الإعتيادي بالنقاط التالية:

1. يمتد الساق من خلية قاعدية (Foot Cell) سميكة الجدران.
2. قطر الساق 4 – 5 مك مقابل 2 – 3 مك للخيط الفطري الإعتيادي.
3. الساق محدود النمو ونادرا ما يتفرع.

عندما يتوقف نمو الساق، تبدأ نهايته بالإنتفاخ لتصل الى قطر حوالي 10 مك. لا يتشكل حاجز يفصل الحوصلة، وهكذا تكون الحوصلة والساق والخلية القاعدية وحدة متكاملة. يصطف عدد من النوى في المحيط الخارجي للحوصلة التي تعاني

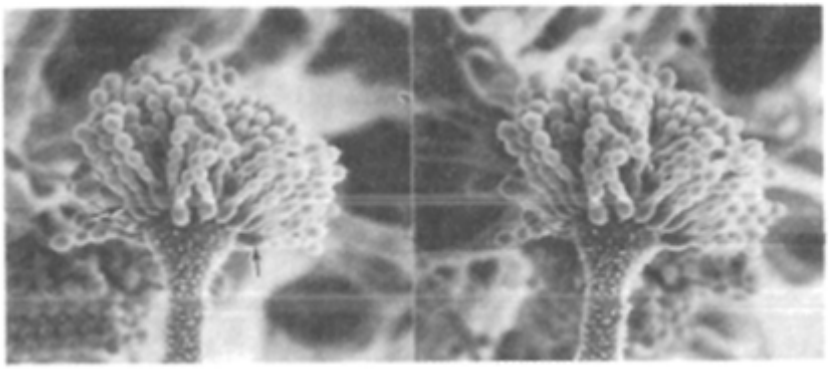
من إنقسامات متزامنة مع تكوين براعم من سطح الحوصلة حيث تشكل ذنيبات أولية تعرف بالمانيولا عددها 60 بطول 6 وعرض 2 مك. بدورها تتفرع قمبا كل مانيولا الى فرعين حيث تنشا 120 خلية فارورية أو فاليد. تنتقل نواة واحدة لكل فاليد وتعاني النواة سلسلة من الإنقسامات الخيطية لتتكون سلاسل من الكونيدات حيث تكوّن كل واحدة 100 كونيدة، أقدمها يكون في قمة السلسلة، وهكذا يحمل الحامل الكونيدي ما يزيد عن 000 10 كونيدة. إن طول الساق وتكوين الذنيبات مسألة تعود لنوع الفطر(شكل7.6 و7.7).

السبتينات (Septins) عائلة من البروتينات تعمل كسقالة منظمة تعمل في مناطق الإنقسام الخلوي والنموات الجديدة في مختلف الأحياء. بين Westfall & (2002) Momany أن السبتين AspB ربما يلعب دورا في تحديد موقع بروز المتيولا من الحوصلة وبروز الفاليدات من المتيولا في الفطر *A. nidulans*. حيث ان هذا يفسر تموضع السبتين AspB الإنتقالي في السطح البيني



شكل 6. : فاليدات وسلاسل كونيدات الفطر *A. parasiticus* موضحة النمو القاعدي للكونيدات. لاحظ أن الكونيدات في قاعدة السلسلة (السهم) تكون الأحدث تكوينا. X 3000

عن: (Reddy & Waliyar,2000)



شكل 7.7: الجزء العلوي من الحامل الكونيدي للفطر *A. flavus* يبين الجزء القاعدي للحوصلة وتوزع الفياليدات شعاعيا. X 1000

عن: (Reddy & Waliyar,2000)

لهذين التركيبين، وفشل عزلة الفطر aspB – 318 في تكوين طبقة متيولا طبيعية في درجة حرارة مجهدة. كما يحدد السبتين AspB في نهايات الفياليدات مواقع بروز الكونيدات أو منظما لماكنة الإنقسام الخلوي أو كليهما، مذكرا بعمل مماثل تلعبه هذه البروتينات في تحديد موقع بروز البراعم في الخميرة والدور الذي تلعبه السبتينات في تثبيت التراكيب التي تخلّق مواد الجدار التي ستفصل البرعم عن الخلية الأم.

تكوين الكونيدات في الفطر *Trichoderma*

فطريات *Trichoderma* تمثل الطور الكونيدي للفطر الكيسي *Hypocrea*. هذه الفطريات سريعة النمو وغزيرة الكونيدات. وبالنظر لأهمية الكونيدات في حياة هذه الفطريات ولإستخداماتها في المكافحة الحيوية، نعرض أهم خصائص عملية تكوين الكونيدات في هذه الفطريات.

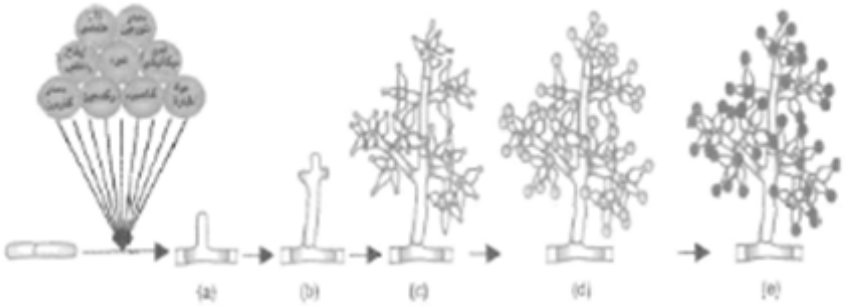
1. الإنتقال من حالة الغزل الفطري الى تكوين الأبواغ يتحدد بتداخل عوامل البيئة والتي تشمل في حالة الفطر *Trichoderma* (شكل7.8) الضوء والإيقاع الداخلي

ونسبة الكاربون الى النتروجين وpH الوسط والكالسيوم الخارجي والضرر الميكانيكي للغزل الفطري ووجود مركبات عضوية طيارة ينتجها الفطر.

2. النسخ والترجمة من جديد (*de novo*) مطلوبة خلال التجرثم الضوئي بعد 3 الى 7 ساعات من التعرض الى الضوء.

3. القدرة على تكوين الكونيدات إستجابة لتأثير الضوء يرتبط بمعدل أيض خلية الخيط الفطري وليس حجم المستعمرة أو عمر الخلية.

4. الأطوال الموجية للضوء المحفزة لتكوين الكونيدات تقع ضمن (تأثيرات الضوء الأزرق) حيث تكون قمم الإمتصاص قرب الأشعة فوق البنفسجية (320 – 380 ن م) والضوء الأزرق (380 – 500 ن م).



شكل 7.8: تكوين الكونيدات في *Trichoderma* بعد إستلام الإشارات المختلفة. (a) ظهور الخيوط الفطرية العمودية، (b) تفرع الخيوط الفطرية، (c) نشوء الفياليدات، (d) ظهور الكونيدات الشفافة، (e) إستكمال صبغات الكونيدات

عن: (Steyaert *et al.*,2010)

5. ثمة تمنطق (Zonation) بشكل حلقات متداخلة مختلفة الكثافة الكونيدية كل 24 ساعة تنشأ عند حفظ المزارع في الظلام بسبب عمل الأيقاع اليومي الداخلي (Endogenous Rhythm) (Steyaert *et al.*,2010).

المتطلبات الفسلجية لتكوين الكونيدات

Physiological Requirements for Conidiation

1. ضرورة توفر فترة نمو تأهيلية بحدود 18 ساعة، حيث تظهر التراكيب التكاثرية بعد حوالي 5 ساعات، أما إذا قلت فترة التأهيل فتطول فترة تكوين التراكيب التكاثرية بالمقابل. وهذا يتوضح من خلال تعريض النمو المغمور للهواء(Adams *et al.*,1998) والضوء لمدة 15 الى 30 دقيقة على الأقل(Maheshwari , 2005).

2. يبدو ان دور التعرض للهواء هو من خلال تكوين سريع للسطح البيني هواء– ماء(Adams *et al.*,1998). بينما يبرز (Maheshwari , 2005) أهمية الضوء في تحفيز تكوين الكونيدات خصوصا الضوء الأحمر (الطول الموجي 680 ن م). هذا التأثير يبطل بواسطة الأشعة فوق الحمراء. حالة مشابهة لما يحصل في النباتات الخضراء خلال الإستجابة الضوئية التي تتم بواسطة الفايتوكروم.

3. أن هذا التحول نحو التكاثر اللاجنسي هو جزء من دورة الحياة وليس للظروف غير المناسبة ولا لتغيير تركيز O_2 أو CO_2.

4. ظرف الأجهاد بالتجويع يمكن أن يحفز التكاثر اللاجنسي، حيث إن نقل النمو من الوسط الكامل الى وسط خالي من مصدر النتروجين أو من مصدر الكاربون يحفز تكوين الأبواغ سواء كان النمو مغمورا أو على سطح الوسط ولكن يبقى شرط تأهل الخلايا لفترة من الزمن قبل نقلها ضروريا(Adams *et al.*,1998).

فترة النمو التأهيلية يمكن تخطيها في عملية تكوين الكونيدات القصيرة الدورة (Microcycle Conidiation). هذا ما يلاحظ في حالة الفطر *Neurospora crassa* حيث يكوّن البوغ النابت حامل كونيدي وكونيدات مباشرة في المزرعة السائلة المعرضة للرج. كذلك في حالة بعض سلالات الفطر *Aspergillus niger*

المعرضة لنظام تغذية ودرجات حرارة معين. في هذه الحالة، يظهر أن الجينات المسؤولة عن تكوين الكونيدات تنشط مبكرا بواسطة جينات منظمة رئيسة. وقد تكون هذه الظاهرة شائعة في الفطريات تحت الظروف الطبيعية.

التكاثر الجنسي

Sexual Reproduction

العالم يتغير، البيئة تتغير بإستمرار هذا هو الدرس الذي تعلمته الأحياء في سعيها للنجاح في إمتحان الإنتخاب الطبيعي. ولكي تتمكن الأحياء من البقاء عليها أن تجاري متطلبات تغير البيئة وأن تتكيف معها وهذا يعني أن عليها أن تتغير وراثيا، تراكم التغير يمكن أن يصل الى مستوى التغير النوعي الذي يعني التطور.

إعتمدت الأحياء البدائية النواة وبما يتناسب وبساطة تركيبها وفسلجتها على عامل الصدفة (الطفرة الوراثية) وبعض الآليات الأخرى كالتزاوج (Conjugation) والتوصيل (Transduction) والتحول (Transformation) التي تشير الى طريق التكاثر الجنسي لتوفير مصادر التغاير من اجل تقليل تراكم الأخطاء الوراثية نتيجة التكاثر اللاجنسي المستمر.

اما الأحياء الحقيقية النواة فقد مكنتها وسائلها التركيبية والوظيفية الأكثر تنوعا وتعقيدا الى إعتماد طريق أكثر ضمانة لتوفير مصادر التغاير التي هي وسيلة التغير والتكيف أو التطور عبر التكاثر الجنسي. إن فكرة التكاثر الجنسي تعتمد على إيجاد صفات مختلفة للكائن الحي وهذا يعني بيولوجيا تركيبة وراثية مختلفة.

الإختلاف إذن هو حجر الزاوية للتكاثر الجنسي. كيف يتحقق ذلك؟

أولا، من خلال خلط الجينات وإعادة قسمتها أو توزيعها. فإذا خلطت مجموعتين متماثلتين من الخرز الملونة وكانت كل مجموعة متكونة من عدد الخرز نفسه ونوع ونسب الألوان نفسها، وأعدت تقسيمها الى مجموعتين متساويتي العدد فثمة إحتمال

أن تكون نسب الألوان في كل منهما مختلفة عما كانت عليه في أي من المجموعتين قبل الخلط.

ثانيا، إذا كررت التجربة السابقة ولكن بدأت بمجموعتين من الكرات غير متماثلتين بالألوان ونسبها أصلا فإنك ستحصل على مجموعتين أكثر إختلافا. وهكذا فإن تكوين التصالبات (Chiasma) والعبور (Crossing Over) ثم الإنعزال المستقل للجينات توفر الإمكانية في الحصول على تشكيلات وراثية مختلفة. ففي حالة الفطر *Aspergillus nidulans* الذي يمتلك عدد كروموسومات n = 8 يمكن الحصول على 2^8 تشكيلة كروموسومية مختلفة(Wubah,1997).

من ناحية اخرى يوفر التكاثر الجنسي فرص إنتاج ذرية اكثر أهلية من خلال تخفيض نسبة الطفرات الضارة مقارنة بالتكاثر اللاجنسي وإنتخاب تشكيلات وراثية (أمشاج أو لاقحات) أكفأ(Bruggeman *et al.*,2003).

مع ذلك فإن للتكاثر الجنسي كلفته الإقتصادية (مواد وطاقة) على الكائنات الحية. هذه الكلفة تتأتى من خلال كلفة إنتاج الشريك الذكري، إنتاج الفرمونات والجزيئات الإشارية المطلوبة لإجتذاب الشريك، إستقبال الفرمونات والجزيئات الإشارية. هذه الكلفة واضحة في الأحياء المجبرة على التكاثر الجنسي (نباتات وحيوانات) كما تم توضيحها حتى في الأحياء إختيارية التكاثر الجنسي كالفطريات والتي يحفز التكاثر الجنسي فيها بشحة الموارد الغذائية خصوصا النتروجينية. ومع أن التكاثر اللاجنسي المطول يمكن أن يخفض من كلفة التكاثر الجنسي، إلا أن إنتاج المتغايرات وإسهامها في إدامة وتطوير النوع تبرر الكلفة وإصرار معظم الأحياء الحقيقية النواة على القيام بالتكاثر الجنسي(Xu,2005). من ناحية أخرى يمكن أن تتراجع القدرة على التكاثر الجنسي أو تفقد في الأحياء ومنها الفطريات نتيجة الطفرات. ففي الفطريات المتقاربة تطوريا نجد إختلافات كبيرة في أنظمة التكاثر بين العالي القدرة على التكاثر الجنسي الى الفقدان الكامل لها. هذا يعني حصول

تغاير كبير في القدرة على التكاثر الجنسي خلال النمو التطوري. في الفطر الممرض للإنسان *Cryptococcus neoformans* وبعد 600 إنقسام خيطي تنخفض القدرة على التزاوج والإنتقال الى النمو الخيطي من النمو الخميري الذي هو متطلب للإنقسام الإختزالي في هذا الفطر وبعض الفطريات الأخرى الى 67 و24 % على التوالي. السبب في ذلك تراكم الطفرات المخفضة لكلا المؤشرين بما يزيد عن 0.0172 و0.0036 على التوالي(Xu,2002).

في الفطريات كما في باقي الأحياء الحقيقية النواة الأخرى يتضمن التكاثر الجنسي ثلاث خطوات متتالية:

1. الإتحاد البلازمي (Plasmogamy):

الغرض منه تقريب المواد الوراثية الموجودة في نوى الخليتين المتزاوجتين في خلية واحدة. يتم ذلك من خلال تماس الخليتين المتزاوجتين وتحلل جدران الخليتين في منطقة التماس للسماح بإندماج بروتوبلازم الخليتين ليشكلا عمليا خلية واحدة تحتوي على نواتين.

2. الإندماج النووي (Karyogamy):

الغرض منه خلط المادة الوراثية من النواتين الأبويتين لتكوين خلية بنواة مدمجة واحدة هي اللاقحة (Zygote). لكن ذلك يؤدي الى مضاعفة كمية المادة الوراثية أي عدد الكروموسومات. فإذا كانت كل نواة تحتوي على مجموعة واحدة من الكروموسومات عددها n فإن نواة اللاقحة ستحتوي على 2n من الكروموسومات. وهذه الحالة هي الوحيدة في دورة حياة الفطريات تكون الخلية فيها مضاعفة العدد من الكروموسومات. وبما أن خلايا جسم الفطر تحتوي نوى على 1n من الكروموسومات وجب حصول المرحلة الثالثة والأخيرة في عملية التكاثر الجنسي.

3. الإنقسام الإختزالي (Meosis):

تنظم عملية خلط الجينات بين الكروموسومات المتناظرة في سلسلة من الأطوار العالية التنظيم وإعادة توزيعها على نواتين بنويتين تحتوي كل منهما على مجموعة واحدة من الكروموسومات (1n) ولكن بتركيبة جينية مختلفة عن كل من النواتين الأبويتين. بعدها تنقسم كل نواة إنقسامات خيطية لتعطي نوى متشابه تتبع بإنقسامات خلوية لتتكون أبواغ أحادية المجموعة الكروموسومية وهي الأبواغ الجنسية والتي تمثل ناتج عملية التكاثر الجنسي.

من الضروري التشديد على حقيقة أن هذه المراحل الثلاثة للتكاثر الجنسي في الفطريات وإن كانت تسير الواحدة بعد الأخرى، إلا أن توقيتاتها تختلف في الزمان والمكان. وهكذا فبعد حصول الإتحاد البلازمي الذي ينتج خلايا تحتوي على نواتين يمكن أن يتبع مباشرة بالإندماج النووي في بعض الفطريات، ولكن في فطريات أخرى يمكن أن يتاخر الإندماج النووي الى مراحل متاخرة من دورة حياة الفطر.

وعند إنقسام هذه الخلايا المحتوية على نواتين تنقسم النواتين أيضا حيث تستلم كل خلية جديدة نواتين وهذا سيؤدي الى نشوء خيوط فطرية وغزول فطرية تحتوي كل خلية فيها على نواتين حرتين. إن هذه الحالة تسمى ثنائية النواة (Dikaryon). وهكذا ستكون خلايا الفطريات الحقيقية أما أنها تحتوي على نواة واحدة أحادية المجموعة الكروموسومية (Haploid) أو أنها تحتوي على نواتين كل منهما أحادية المجموعة الكروموسومية (ثنائية النواة) ولا توجد بحالة نواة واحدة ثنائية المجموعة الكرموسومية (Diploid) إلا في خلية اللاقحة (Zygote) وعدد قليل جدا من الفطريات مثل بعض الخمائر والفطر *Candida albicans*.

التكاثر الجنسي في الفطريات البيضية

Sexual Reproduction in *Oomycota*

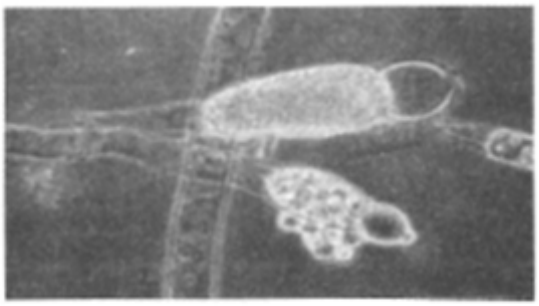
لا يحصل التقمم بين الخيوط الفطرية الجسمية في هذه المجموعة من الفطريات لكن يمكن ان يحصل فقط بين التراكيب التكاثرية. هذه الفطريات تكون تراكيب تكاثرية جنسية انثوية هي الحافظة البيضية (Oogonium) حيث تحتوي على بيضة (Oosphere) واحدة او اكثر هي ناتج الإنقسام الإختزالي وتكون أحادية النواة، أحادية المجموعة الكروموسومية (1n). وتكوّن تراكيب تكاثرية ذكرية هي الأنثريدات (Anthredia) على قرب او تماس مع الحوافظ البيضية. يتم تلقيح البيوض بواسطة الأمشاج الذكرية التي هي ايضا أحادية النواة، أحادية المجموعة الكروموسومية. ناتج التخصيب سيكون اللاقحة التي تكون ثنائية المجموعة الكروموسومية (2n) والتي تحاط بغلاف سميك ليصبح البوغ البيضي (Oospore).

في فطريات *Achlya* المتخذة كنماذج لدراسة التكاثر الجنسي في الفطريات البيضية، غالبا ما تكون العزلات متباينة الثالوس حيث لا يتم الإخصاب ضمن العزلة الواحدة وإنما بين عزلتين متوافقتين جنسيا. مع ذلك لا يوجد فصل واضح بين العزلات المتماثلة والمتباينة الثالوس لكن العزلات المختلفة تظهر قدرات تكاثر جنسي متباينة. بعض العزلات تسلك سلوك انثوي حيث تكوّن حوافظ بيضية وأخرى تسلك سلوك ذكري حيث تكوّن أنثريدات. وسلالات أخرى تكون وسطية، حيث تكوّن انثريدات في التزاوج مع الغزول الفطرية المكونة للحوافظ البيضية وتكوّن حوافظ بيضية في التزاوجات مع الغزول الفطرية المكونة للأنثريدات. هذا ما يسمى بالتكاثر الجنسي النسبي (Relative Sexuality) (Moore & Frazer,2002).

التكاثر الجنسي في الفطريات الكتريدية *Chytridiomycota*

Sexual Reproduction in *Chytridiomycota*

يحصل التكاثر الجنسي في بعض أنواع الفطريات الكتريدية بتكوين أبواغ ثنائية المجموعة الكروموسومية إثر إتحاد الأمشاج أو الخلايا الجسمية التابعة لطرازين تزاوجيين مختلفين.البوغ الناتج يمكن ان ينبت ليعطي غزلا فطريا ثنائي المجموعة الكروموسومية. وهذا الغزل الفطري ينتج حوافظ بوغية ساكنة يحصل فيها إنقساما إختزاليا لتكوّن أبواغ متحركة أحادية المجموعة الكروموسومية. تنبت هذه الأبواغ لتكون غزلا فطريا أحادي المجموعة الكروموسومية أو أن البوغ الثنائي المجموعة الكروموسومية يعاني إنقساما إختزاليا ليعطي غزلا فطريا أحادي المجموعة الكروموسومية. وهكذا تظهر بعض أنواع هذه المجموعة من الفطريات ظاهرة تعاقب الأجيال أي غزلا فطريا ثنائي المجموعة الكروموسومية يتبع بآخر احادي المجموعة الكروموسومية.



شكل 7.9: *Allomyces sp.* يظهر الحوافظ المشيجية

عن:

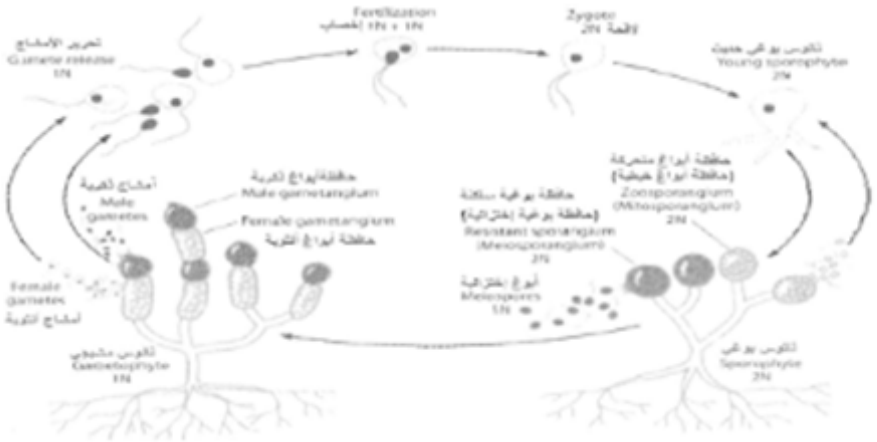
http://rds.yahoo.com/S=96062883/K=allomyces/v=2/SID=w/TID=F616_90/l=IVR/SIG=12oa211l94/EXP=1127996212/-http%3A//www.biltek.tubitak.gov.tr/canlilar/fungi/chytridiomycetes.htm*

وكمثال الفطر *Allomyces macrogynus*: يكون الفطر الأحادي المجموعة الكروموسومية حافظة مشيجية طرفية ذكرية فوق حافظة مشيجية أنثوية (شكل7.9). تتحرر الأبواغ المتحركة (الأمشاج) في السائل المحيط حول الثالوس. تنجذب الأمشاج المتحركة الذكرية والأنثوية نحو بعضها بتحفيز من فرمونات وتندمج لتكون لاقحة ثنائية المجموعة الكروموسومية، يتكون منها ثالوس ثنائي المجموعة الكروموسومية وهذا بدوره يكون حافظة بوغية ساكنة (Resting Sporangium) سميكة الجدار مقاومة للظروف غير الملائمة للنمو. يحصل إنقسام إختزالي وتتكون أبواغ متحركة احادية المجموعة الكروموسومية تكوّن ثالوس احادي المجموعة الكروموسومية.

يحصل التكاثر الجنسي في الفطريات الكتريدية بعدة اشكال:

1. تزاوج الأمشاج المتحركة (Planogametic Copulation)

أ – تزاوج الأمشاج المتحركة المتماثلة (Isogametes)



شكل 7.10: دورة حياة الفطر *Allomyces macrogynus*

عن: (Lee *et al.*,2010)

يتضمن إتحاد مشيجين متحركين متشابهين مظهريا ومختلفين فسلجيا ليكونا لاقحة متحركة، في بعض الأنواع لا يتحد المشيجان الناشئان من الحافظة المشيجية (Gametangium) نفسها طلبا للإختلاف كما هو واضح.

ب – تزاوج الأمشاج المتحركة غير المتماثلة (Anisogamets) يتم الإتحاد بين مشيجين أحدهما كبير والآخر صغير لينتجا لاقحة متحركة كما في *Blastocladiales* مثل أنواع *Allomyces*.

ج – التزاوج البيضي (Oogamy) تلقيح مشيج أنثوي (بيضة) غير متحرك بمشيج ذكري (أنثريدي Antherozoid) متحرك. تتكون الأمشاج الذكرية في حافظة مشيجية ذكرية تسمى أنثريدة (Antheridium) تتحرر الى الماء، تسبح بإتجاه الحافظة المشيجية الأنثوية التي تسمى أوكونة(Oogonium) لينجح احدها في تلقيح البيضة التي في الأوكونة. هذه الطريقة تتميز بها أنواع *Monoblepharidales*.

2. تزاوج الحوافظ المشيجية (Gametangial Copulation) وتتضمن أنتقال المحتويات البروتوبلازمية لأحد الحافظتين المشيجيتين الى الأخرى.

3. التزاوج الجسمي (Somatogamy) وهو إتحاد أجزاء جسمية مثل أشباه الجذور لتكوين بوغ ساكن كما في الفطر *Chytriomyces hyalinus*(Alexopoulus *et al.*,1996 ; School of Biological Sciences,2004;). في الشكل 7.10 رسم تخطيطي لدورة حياة فطر كتريدي.

التكاثر الجنسي في الفطريات اللاقحية Zygomycota

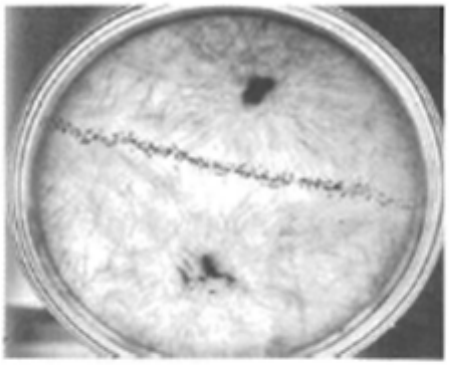
Sexual reproduction in Zygomycota

في هذه المجموعة من الفطريات يمكن تمييز سلوكين لتحقيق التكاثر الجنسي:

1. الفطريات المتماثلة الثالوس (Homothallic) كما في الأنواع *Absidia spinosa* و *Rhizopus sexualis* و *Syzygites megalocarpus* و *Zygorhynchus moelleri* وفيها يتمكن الغزل الفطري الناشيء من بوغ حافظي واحد بالتكاثر الجنسي دون الحاجة الى التماس مع غزل فطري آخر.

2. الفطريات المتباينة الثالوس (Heterothallic) وتشمل أغلب الأنواع لا يتمكن الغزل الفطري من القيام بالتكاثر الجنسي لوحده ولكن فقط بوجود غزل فطري آخر متوافق معه (Compatible) جنسيا. يمكن أن يغير الفطر سلوكه التزاوجي من المتماثل الثالوس الى المتباين الثالوس وبالعكس في ظروف معينة.

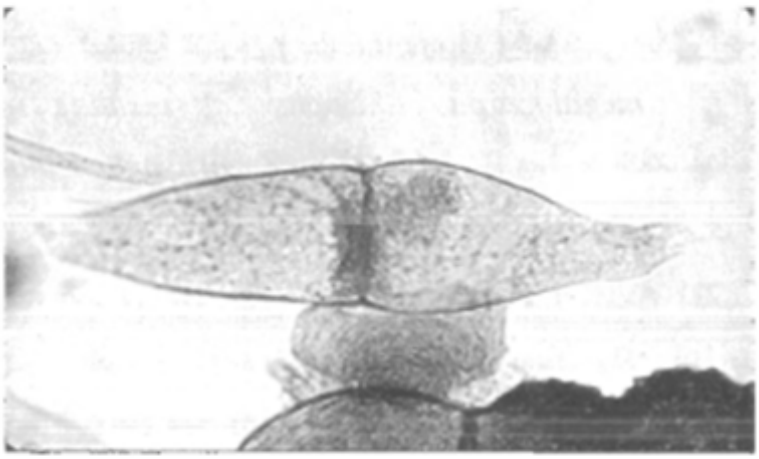
تؤثر الظروف البيئية على تحفيز التكاثر الجنسي حيث يستجيب بعظها للظلام والبعض الآخر لدرجات الحرارة المنخفضة نسبيا. يتم التكاثر الجنسي في الفطريات اللاقحية عن طريق إتحاد الحوافظ المشيجية المتعددة النوى. تنشأ الحافظة المشيجية من خيط فطري غير مميز أو من خيط فطري متخصص يسمى حامل اللاقحة (Zygophore) حسب نوع الفطر.



شكل 7.11: الفطر *Phycomyces blakesleeanus* ناتج عن نمو سلالتين متوافقتين جنسيا، حيث تتكون الأبواغ الحافظية (النقاط السوداء) في الوسط

عن:

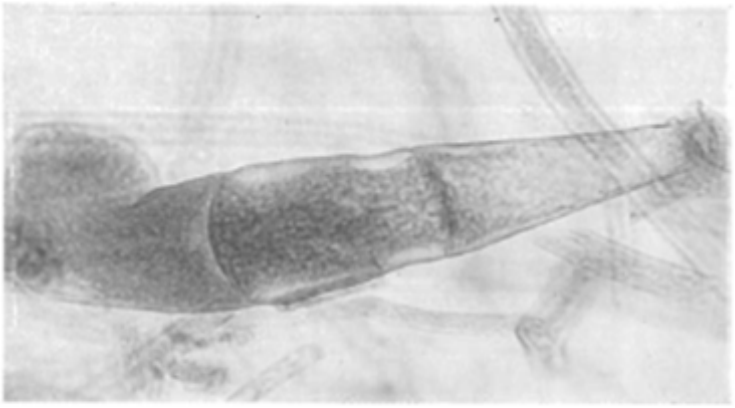
http://rds.yahoo.com/S=96062883/K=phycomyces+blakesleeanus/v=2/SID=w/TID=1056_77/l=IVR/SIG=11ue8sb71/EXP=1129573796/*-http%3A//www.msafungi.org/image_archive.html



شكل 7.12: الحوافظ المشيجية الأولية للفطر *Rhizopus sp.* يثوب حاجز الإلتحام ويحصل الإتحاد البلازمي ومن ثم الإندماج النووي.ينتفخ الجدار وتصير حافظةلاقحية (Zygosporangium) تنتج بداخلها بوغ لاقحي واحد (Zygospore).

عن:

http%3A//botit.botany.wisc.edu/images/332/Zygomycota/Zycomycotina_Z_pa_my_sw_sl_so/Rhizopus_progametangia_tjv.html



شكل 7.13: *Rhizopus sp.* بوغ لاقحي حديث

عن:

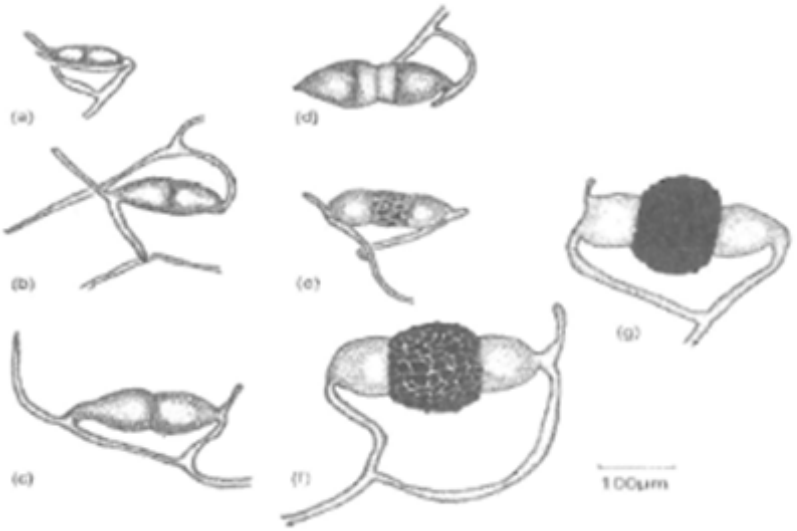
http://rds.yahoo.com/S=96062883/K=rhizopus/v=2/SID=w/TID=F616_9-*/0/l=IVR/SIG=1444vubdg/EXP=1128006767



شكل 7.14: *Rhizopus sp.* بوغ لاقحي ناضج داكن اللون مثالل والخليتين العالقتين الى يمين ويسار البوغ

عن:

http://rds.yahoo.com/S=96062883/K=rhizopus/v=2/SID=w/TID=F616-*/ 90/l=IVR/SIG=1444vubdg/EXP=1128006767



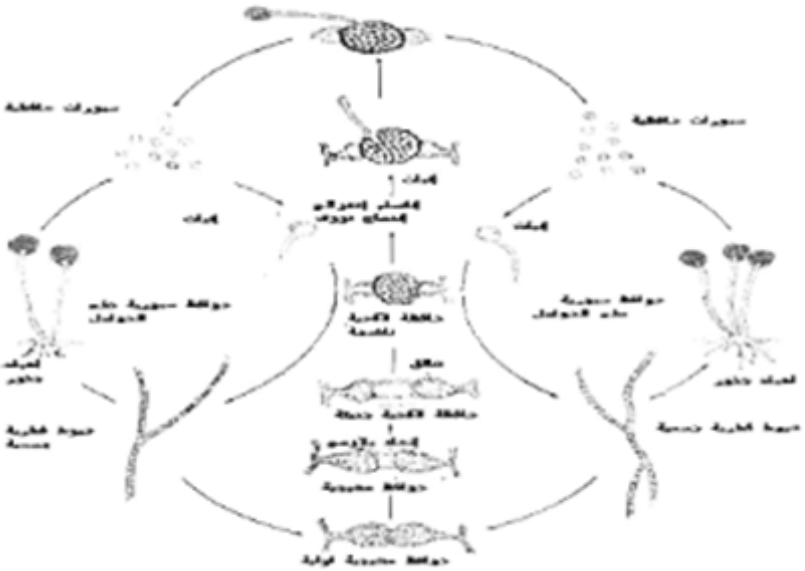
شكل 7.15: مراحل تكوين البوغ اللاقحي في الفطر *Rhizopus sexualis*. الفطر متماثل الثالوس

عن: (Webster & Weber,2007)

تلعب الفرمونات والهرمونات دورا مهما في تحفيز التكاثر الجنسي. الهرمونات تكون من عائلة Trisporic Acid ومشتقاته وهي مواد مشتقة من ß-Carotene. يتم تكوين المركب المحفز للتكاثر الجنسي من قبل كل من الغزلين الفطريين المتزاوجين حيث يكون كل منهما بعض هذه المكونات بسبب إمتلاكه لبعض الإنزيمات المطلوبة وفقدانه للإنزيمات المطلوبة لتخليق المكونات الأخرى. عند إلتقائهما يصبح تخليق الهرمون ممكنا ويتحفز التكاثر الجنسي. يظهر خط إلتقاء الغزلين الفطريين المتوافقين تكون الأبواغ اللاقحية (Zygospores) (شكل7.11).

يحصل إستقطاب إيجابي لهذه الحوامل اللاقحية المتعاكسة الطراز التزاوجي، وعندما يتماسان تنتفخ نهايتيهما ليكونا حافظتين مشيجيتين أوليتين (Progametangia) تلتحمان في فمتيهما ليشكلا حاجز التحام (Fussion Septum) ثم ينشا حاجز في نهاية كل حافظة أولية ليفصلها عن البقية التي ستمثل العالق (Suspensor) كما في الأشكال 7.12 الى 7.14. في الشكل 7.15 مراحل تكوين البوغ اللاقحي في الفطر *Rhizopus sexualis*. وفي الشكل 25.15 رسم تخطيطي لدورة حياة الفطر اللاقحي *Rhizopus stolinifer*.

في حال فشل تزاوج الحوافظ المشيجية يمكن أن تتميز أي من الحافظتين أو كليهما عذريا الى تركيب يكون مظهريا مشابه للبوغ اللاقحي يسمى البوغ اللالاقحي (Azygospore) أو الحافظة البوغية اللالاقحية (Azygosporangium). وهكذا يظهر هذا التركيب مع خلية عالق واحدة. تشيع هذه الظاهرة مع الفطرين *Mucor bainieri* و *M. azygospora* وهما لا يكونا أصلا أبواغ لاقحية حقيقية. كما سجل تكوين البوغ اللالاقحي في الفطر *Rhizopus azygosporus*. الأبواغ اللالاقحية يمكن أن تنشأ في التضريبات بين الأنواع المختلفة (Intergeneric) كما هو



شكل 7.16: دورة حياة الفطر *Rhizopus stolinifer*
عن: (Kendrick,2002)

بين سلالة من *Gilbertella persicaria* وسلالة من *Rhizopus stolonifer* وبين أنواع الجنس الواحد كما في *Rhizopus* أو سلالات النوع الواحد (Interspecific) كما بين بعض سلالات الفطر *M. hiemalis* (Webster & Weber,2007).

التكاثر الجنسي في الفطريات الكيسية *Ascomycota*

Sexual Reproduction in *Ascomycota*

يتحقق الإتحاد البلازمي في هذه الفطريات الكيسية بعدة وسائل هي:

1. إتحاد الحوافظ المشيجية المتماثلة تلتقي الحافظتين المشيجيتين المتشابهتين مظهريا، تتماسان عند طرفيهما أو تلتفان على بعضهما وتلتحما. الخلية الملتحمة تكوّن الكيس (Ascus). ويحصل الإندماج النووي سريعا بعد الإتحاد البلازمي. في

الخمائر تقوم الخلايا الجسمية الإعتيادية مقام الحوافظ المشيجية وتتحول اللاقحة الى كيس.

2. إتحاد الحوافظ المشيجية غير المتماثلة تعبر النواة الذكرية من الأنثريدة الى الأسكوكونة (Ascogonium) من نقطة الإلتحام بين الحافظتين عبر الشعيرة الأنثوية (Trichogeyne).

3. الإتحاد البذيري (Spermatization) تنتقل البذيرة (Spermatium) وهي الخلية الذكرية التي تتكون داخل حافظة بذيرية (Spemogonium) الى عضو الإستقبال الأنثوي حيث تفرغ محتوياتها. ويمكن ان تقوم مقام البذيرات في بعض الأنواع الكونيدات الصغيرة (Microconidia) أو الكونيدات.

4. الإتحاد الجسمي (Somatogamy) ويتم الإلتحام بين خيطين فطريين غير متخصصين ثم تنتقل النوى الى الأسكوكونة من خلال فتحات الحواجز. هذه الطريقة ليست شائعة في الفطريات الكيسية لكنها شائعة في الفطريات البازيدية.

بإستثناء الخمائر يمكن أن تتأخر عملية الإندماج النووي الى أن تحصل في الكيس الحديث. بعد الإندماج النووي مباشرة يحصل الإنقسام الإختزالي الذي ينتج أربعة نوى احادية المجموعة الكروموسومية تتبع بإنقسام خيطي لتتكون ثمانية نوى تحاط بما يلزم من سايتوبلازم وجدران خلوية لتمثل الأبواغ الكيسية (Ascospores) داخل الكيس.

الأكياس يمكن ان تكون حرة كما في الخمائر أو عارية في حالة الفطر الممرض للنبات *Taphrina deformans* لكنها في كثير من الحالات تكون مرتبة ضمن أجسام ثمرية مثل الثمرة الكأسية (Apothecium) في الفطريات القرصية *Discomycetes* التي تكون كأسية الشكل، أوالثمرة الدورقية (Perithecium) في فطريات *Pyrenomycetes* أو الثمرة المغلقة (Clestothecium) الكروية الشكل

في فطريات *Plectomycetes*. إن هذه التراكيب الثمرية تكون كبيرة بما يكفي لتمييزها بالعين المجردة.

تكوين الجسم الثمري والأكياس

(Formation of Fruiting Body and Asci)

لنتابع تكوين الجسم الثمري الكأسي وتكوين الأكياس فيها. عند إنبات البوغ الكيسي ينشأ غزل فطري مقسم خلاياه أحادية النواة. يكوّن الغزل الفطري حوافظ مشيجية أنثوية تسمى أسكوكونة وحوافظ مشيجية ذكرية هي الأنثريدة وكلاهما يكونا متعددي النواة.



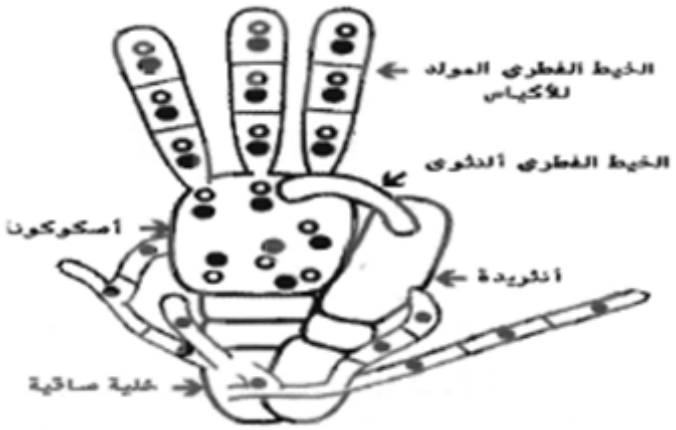
شكل 7.17: الحوافظ المشيجية وإنتقال النوى من الأنثريدة الى الأسكوكونة

عن: (Wong,2005)

تكوّن الأسكوكونة خيط انثوي (Trichogyne) تلتحم نهايته الحرة مع الأنثريدة حيث تنتقل نوى الأنثريدة عبرها الى الأسكوكونة وتزدوج كل نواة من نوى الأنثريدة مع نواة من نوى الأسكوكونة (شكل7.17). ما ان تزدوج النوى حتى تتكون خيوط فطرية مولدة للأكياس (Ascogenous Hyphae) وتعاني النوى المزدوجة إنقسامات خيطية متزامنة فتصبح خلايا هذا الخيط الفطري ثنائية النواة ولفترة طويلة لا يحصل خلالها إندماج نووي. وفي الوقت نفسه تكوّن الخلية الساقية

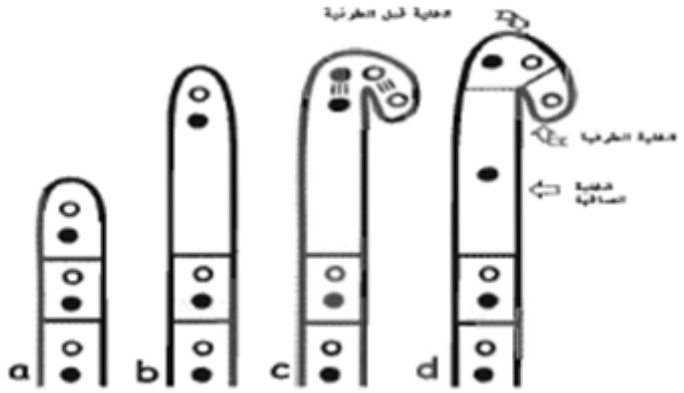
(Stalk cell) غزلا فطريا أحادي النواة ينشأ عنه معظم الجسم الثمري والخيوط الفطرية العقيمة (Paraphyses) (شكل7.18).

تنمو الخيوط المولدة للأكياس وتتفرع بصورة متكررة الى ان تصل أطرافها الى مواضع تكوّن الأكياس والأبواغ الكيسية حيث تستطيل الأطراف وتنحني لتكون خطافات (Croziers). يتبع ذلك إنقسام النواتين في هذه الخلية وإنقسام خلية الخطاف الى خلية طرفية وخلية قبل طرفية وهنا يحصل الإندماج النووي والإنقسام الإختزالي حيث تتكون الأكياس والأبواغ الكيسية. خلف الخلية قبل الطرفية توجد الخلية الساقية الأحادية النواة (شكل7.19). تندمج نواتي الخلية قبل الطرفية لتكون اللاقحة وهي الخلية الثنائية المجموعة الكروموسومية الوحيدة في دورة الحياة كما في معظم الفطريات. تتبع بإنقسام إختزالي لتتكون 4 نوى، يليها عادة إنقسام خيطي لتتكون 8 نوى والتي ستنشأ عنها الأبواغ الكيسية الثمانية. وخلال عملية إنقسام النوى وتكون الأكياس يصبح الكيس متطاولا (شكل7.20).



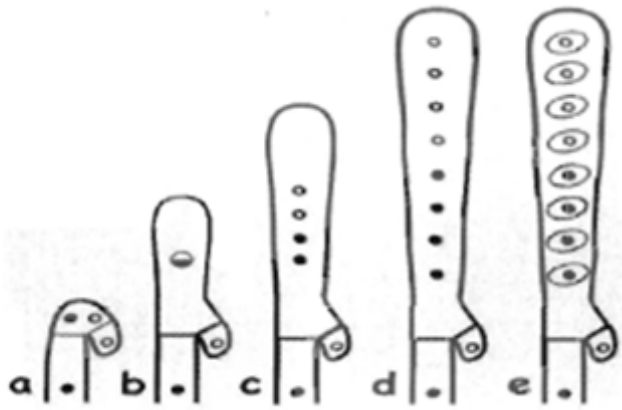
شكل 7.18: تطور الخلايا المولدة للأكياس والخلية الساقية

عن: (Wong,2005)



شكل 7.19: تكوّن الخطاف والخلية قبل الطرفية

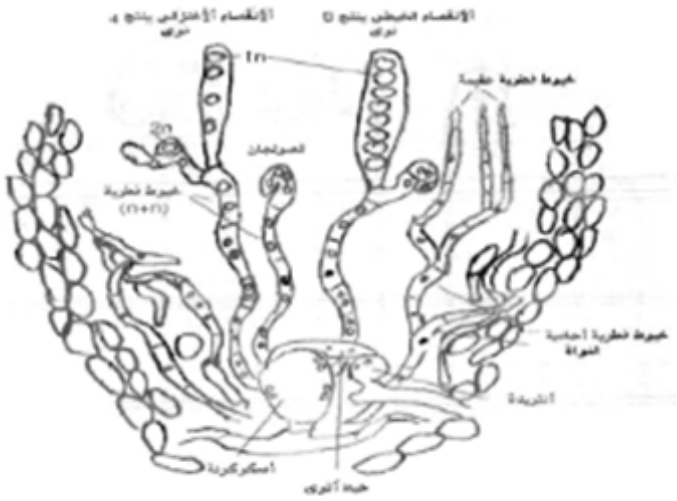
عن: (Wong,2005)



شكل7.20: تكوّن الكيس والأبواغ الكيسية

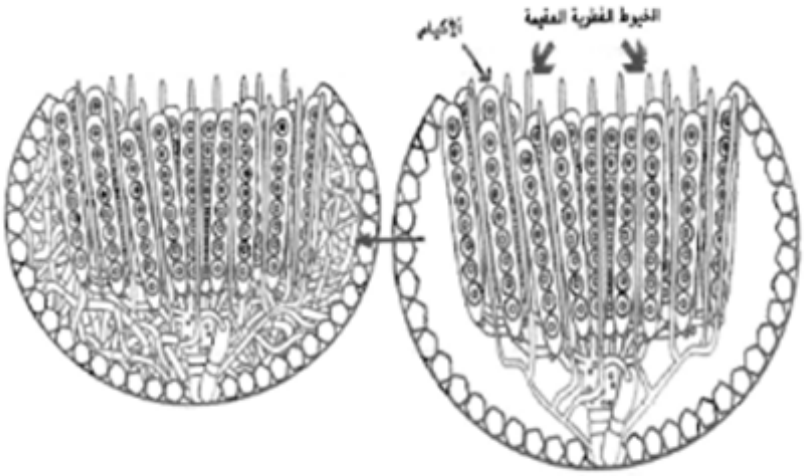
عن: (Wong,2005)

وخلال تفرع الخلية المولدة للأكياس تتكون الطبقة الخصيبة المؤلفة من الأكياس والأبواغ الكيسية والخيوط الفطرية العقيمة وباقي أجزاء الجسم الثمري الناشئة من الخلايا السافية (شكل7.21 و7.22).



شكل 7.21: مخطط يلخص تكوين الأكياس والأبواغ الكيسية

عن: (Curry & Baird,2006)



شكل 7.22: تطور الجسم الثمري

عن: (Wong,2005)

التكاثر الجنسي في الفطريات البازيدية (*Basidiomycota*)

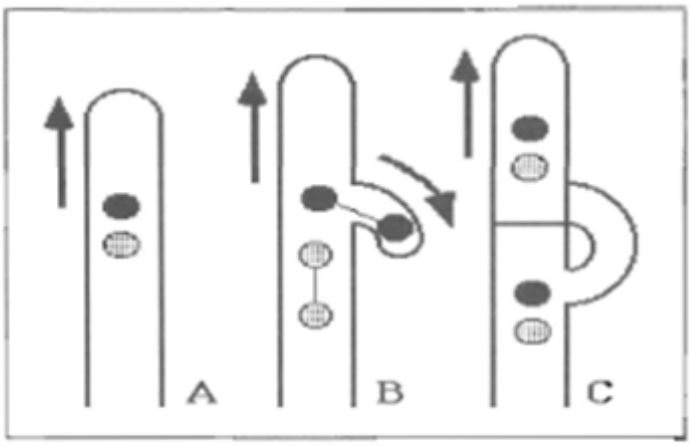
Sexual Reproduction in *Basidiomycota*

يحتل التكاثر الجنسي في الفطريات البازيدية موقعا أكبر من التكاثر اللاجنسي.

وكل الأنواع هي غير متماثلة الثالوس وتظهر الفطريات البازيدية أكثر ادوات التكاثر الجنسي تعقيدا بين الفطريات.

الخطوة الأولى للتكاثر الجنسي تتضمن جلب النوى المتوافقة جنسيا عن طريق إتحاد الخيوط الفطرية المتوافقة.

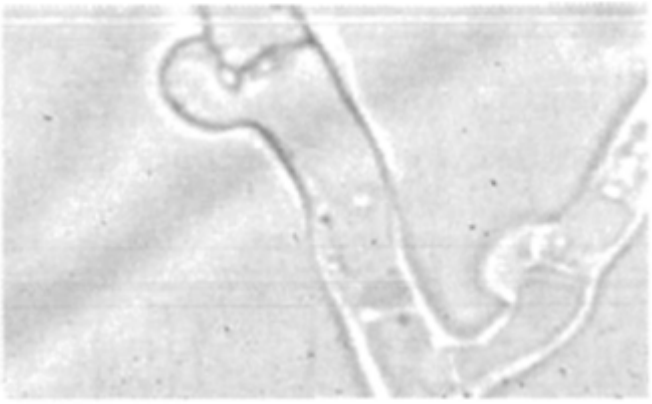
تنشأ حالة ثنائية النواة في جميع خلايا الغزل الفطري. وهذا يتطلب وجود حواجز مؤهلة وإشتراك الصلات الكلابية (Clamp Connections) وهي تراكيب إنبوبية معكوفة تكونها الخيوط الفطرية لأنواع من الفطريات البازيدية توصل سايتوبلازم



شكل 7,23: تكوين الكلابات A: خيط فطري ثنائي النواة، الأسهم تشير الى إتجاه نمو طرف الخيط الفطري، B: خلية الكلاب تنمو الى الخلف،النوى تعاني إنقساما متزامنا، C: كلاب كامل

عن: (School of Biological Sciences,2004)

خليتين متجاورتين لتؤمن حصول كل خلية على نسخة واحدة من كل من النواتين (Casselton & Olesnicky,1998). تتكون الكلابات عندما تبدأ الخلايا الثنائية النواة بالإنقسام. تنقسم أحدى النواتين في المحور الرئيس للخيط الفطري، بينما تنقسم الثانية بإتجاه الكلاب النامي. يتكون جدار عرضي (حاجز) عبر الخيوط المغزلية للإنقسام الخيطي، تلتحم نهاية الخلية الكلابية المعكوفة مع الخلية تحت القمية محققة حالة ثنائية النواة. يقتصر تكوين الكلابات على الفطريات البازيدية وبعض الفطريات الكيسية الثنائية النواة التي تكونها عند قواعد الأكياس (شكل7.23 و7.24).



شكل 7.24: الكلابات عند حواجز الخيوط الفطرية في الفطريات البازيدية

عن: Deacun,2003c, (The University of Edinburgh)

تقدح عملية تكوين الأبواغ الجنسية بعوامل بيئية، وتبدأ بتكوين بادئة جسم ثمري. تتوسع لتتطور الى جسم ثمري للفطر. تبقى خلايا الغزل الفطري في حالة ثنائية النواة، وتتكون حالة النواة الثنائية المجموعة الكروموسومية (2n) في البازيدة (Basidium) وهي التركيب الجنسي المميز لهذه المجموعة من الفطريات والتي أشتق أسمها منها.

تعاني نواة البازيدة إنقساما إختزاليا لتكون اربعة أبواغ بازيدية أحادية المجموعة الكروموسومية (1n) تحمل على ذنيبات تخرج من البازيدة (شكل7.25). يحتوي الجسم الثمري عادة طبقة خصبية واسعة تزدحم بالبازيدات تسمى Hymenium تمتد الى تراكيب نسيجية عقيمة تشكل معظم الجسم الثمري.

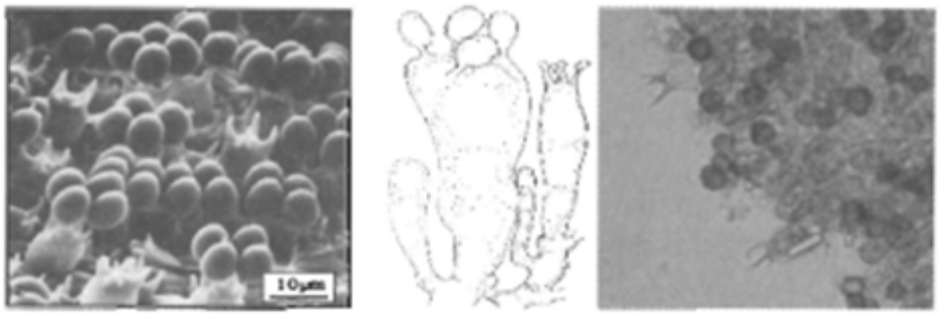


شكل 7.25: رسم تخطيطي لعملية تكوين الأبواغ البازيدية: الإندماج النووي والإنقسام الإختزالي وتكوين الأبواغ البازيدية

عن: (Kües,2000)

توجد أربعة أنواع من البازيدات هي:

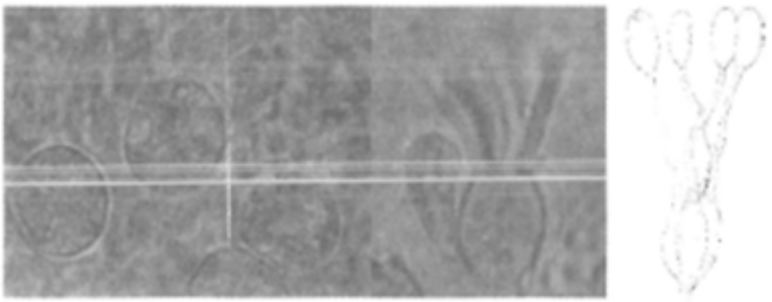
1. البازيدات الكلية (Holobasidia) وهي البازيدة غير المقسمة بحواجز (شكل7.26). تتكون في معظم الفطريات



شكل 7.26: البازيدات الكلية في الفطر *Russula*(يمين) و*Coprinus cinereus*(يسار) ورسم تخطيطي لها (وسط)

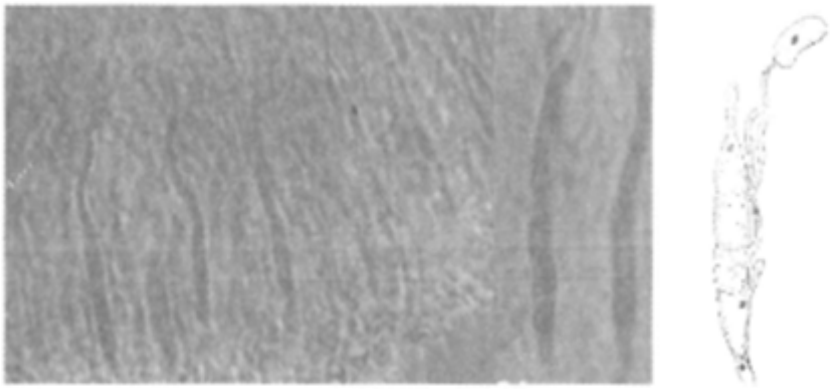
عن: (McLaughlin; et al-,1985; School of Biological Sciences,2004)

2 البازيدية بضمنها العراهين الغلصمية والمثقبة (Polypores) والبوليتات والفطريات المعوية (*Gasteromycetes*) وغيرها.البازيدات الصليبية أو التربملية وتكون مقسمة بحواجز عمودية متصالبة وتتكون في الأنواع التابعة لرتبة *Tremellales*(شكل 7.27).



شكل 7.27: البازيدات الصليبية أو التريميلية في أنواع *Tremella*(يسار) ورسم تخطيطي لها(يمين) عن: (Volk,2004)

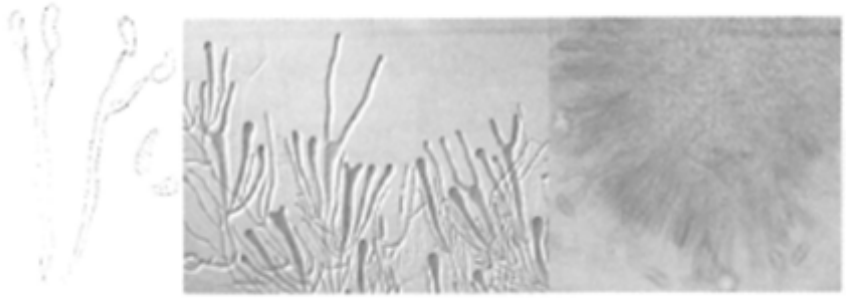
3. البازيدات الأوركولارية وتكون مقسمة بحواجز عرضية وتكونها الفطريات التابعة لرتبة *Auriculariales*(7.28).



شكل 7.28: البازيدات الأوركولارية في الفطر *Auricularia inserinei-judae*(يسار) ورسم تخطيطي لها(يمين) عن: (Volk,2004)

4. البازيدات الثنائية التفرع(Bifurcated Basidia)

وتكون بشكل شوكة رنانة ثنائية التفرع وتكوّنها فطريات الرتبة *Dacrymycetales*(شكل7.29).



شكل 7.29: البازيدات الثنائية التفرع في الفطر *Dacrymyces*

عن: (Volk,2004) و(Hibbett,2003)

في الشكل 7.30 رسم تخطيطي لدورة حياة الفطريات البازيدية.



شكل 7.30: دورة حياة الفطريات البازيدية

عن: (Deacon,2003c,)

الى جانب طرق التكاثر الجنسي المذكورة أعلاه، ثمة طريقة تتضمن الحصـــول على بعض مزايا التكاثر الجنسي بالحصول على التغاير من خلال حصول عمليات الإتحاد البلازمي وإعادة الإختلاط الوراثي دون الإنقسام الإختزالي بينما يتم تنصيف عدد الكروموسومات بواسطة الإنقسام الخيطي. هذه الطريقة هي الـــدورة النظيـــر جنسية (Parasexuality) (شريف، 2011a).

العوامل المؤثرة في عملية التكاثر

(Factors Affecting Reproduction)

أولا – طرق الزرع (Culture Methods) تؤثر طرق زرع الفطريات على عملية التكاثر وكثافة الأبواغ المتكونة.

1. الزرع على الأوساط الصلبة إن هذه الطريقة تؤدي الى تكوين مستعمرة سطحية جزء من خيوطها الفطرية تنمو الى داخل الوسط (مغمورة) لإمتصاص المواد الغذائية وطرح نواتج الأيض الفائضة. بينما تنمو خيوط فطرية أخرى الى أعلى في الهواء ومنها تنشأ الحوامل البوغية والأبواغ. تتميز مثل هذه المزرعة بوفرة الأوكسجين للخيوط الفطرية الهوائية. إن معظم الفطريات تكون أبواغ بهذه الطريقة.

2. المزرعة السطحية على الأوساط السائلة يمكن للكثير من الفطريات النمو على سطح الوسط الغذائي السائل المستقر ويمكن ان تكوّن بعـــض الفطريـــات أبواغ اقل مما في الطريقة الأولى، ربما بسبب قلة الأوكسجين.

3. المزرعة المغمورة يتم الحصول على هذه المزرعة بتلقيح الوسط الغذائي السائل وتعريضه للرج المستمر. بعض الفطريات تكون كتلة من النمو والبعض الآخر يكون كرات من النمو. عموما لاتكوّن الفطريات أبواغ بهذه الطريقـــة. وتستغل هذه الظاهرة في الدراسات المتعلقة بالتكاثر حيث يمكن التحكم بوقـــت

تكوين الأبواغ والحصول على نموات بمراحل نمو مختلفة وعند تعريضها للهواء تعطي الأبواغ.

4. المزرعة المستمرة وتتضمن إستمرار ضخ المواد الغذائية في الوسط السائل والتحكم بمعدل النمو من خلال التحكم بتركيز احد العناصر الأساسية. يمكن لبعض الفطريات ان تكوّن أبواغ إذا كان معدل النمو بطيئا. تلعب العوامل البيئية دور المحفز الخارجي لبدء عملية التكاثر كما أن الكثير من الجينات يتأثر نشاطها بالعوامل البيئية. وإن عملية تكوين الأبواغ تكون حساسة أكثر من النمو لتأثير عوامل البيئة، ويمكن ان يكوّن الفطر أنواع مختلفة من الأبواغ بتأثير التغير في عوامل البيئة (Wubah,1997a).

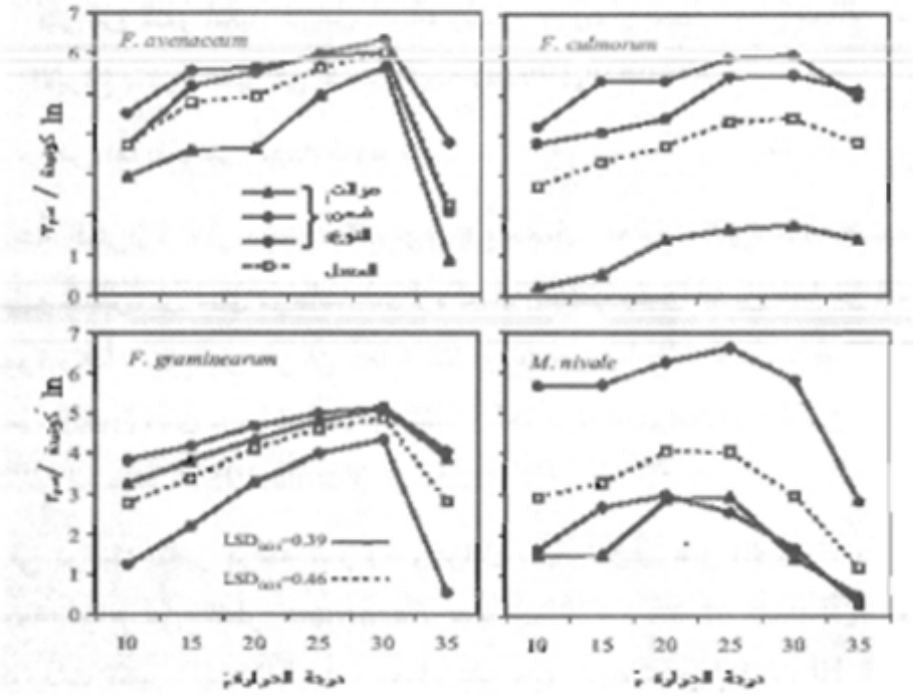
من اهم العوامل البيئية المؤثرة:

درجة الحرارة تؤثر درجات الحرارة على مجمل الفعاليات البيولوجية بضمنها عملية التكاثر. إن مدى درجات الحرارة لعملية التكاثر يكون أضيق مما هو لعملية النمو، وهذا ربما يشير الى ان عملية التكاثر تتضمن تفاعلات ليست ضرورية للنمو. ويكون مدى درجات الحرارة للتكاثر الجنسي أضيق مما هو متاح لعملية التكاثر اللاجنسي(Bilgrami & Verma,1980).

في دراسته لتأثير درجة الحرارة وعوامل بيئية أخرى على تكوين الأبواغ في اربعة أنواع من الفطر *Fusarium* بين Rossi *et al.* (2002) أن تكوين الكونيدات الكبيرة لهذه الفطريات حصل على مدى درجات حرارة من 10 الى 35 مْ، ولم تكن الفروقات في العزلات المختبرة تتعدى الفروقات بين الأنواع (شكل7.31).

أن درجة الحرارة المثلى لتكوين الكونيدات الكبيرة كانت 32 مْ للفطرين *F. culmorum* و *F. graminearum* و 28 مْ للفطر *F. avenaceum* و26 مْ للفطر

F. nivale. ودرجات الحرارة هذه كما هو معروف هي اقرب الى درجات الحرارة القصوى للنمو في عموم الفطريات. وذكر Su *et al.* (2004) أن درجة الحرارة المثلى لتكوين أبواغ فطر البياض الزغبي على الخس *Bremia lactucae* تقع بين 10 و20 مْ. بين Cops & Hendrix (2004) أن ثلاثة أنواع من الفطريات هي *Botryosphaeria dothidea* و*B.cinerea* و*B. rhodina* كونت الأبواغ البكنيدية في مدى 6 الى 30 مْ بمدى امثل هو 18 الى 24 مْ.



شكل 7.31: عدد الكونيدات الكبيرة/سم2 من المستعمرة على PDA المنتجة من قبل 3 عزلات لكل نوع من 4 أنواع *Fusarium* نميت لمدة 1 الى 21 يوما في 10 الى 35 مْ.
__ للعزلات و---- للأنواع، المعدل – □ – (Rossi *et al.*,2002).

الضوء ربما يؤثر الضوء على تكوين الأبواغ أكثر من تأثيره على العمليات الفسلجية الأخرى. ومع أن بعض الفطريات تكوّن أبواغها بوجود أو عدم وجود الضوء إلا ان المتابع لتأثير الضوء على تكوين الأبواغ سيجد علاقة ما بين طبيعة الضوء وطول فترة التعرض وتبادل فترات الضوء والظلام الخ. مع بدء عملية تكوين الأبواغ وكثافة الأبواغ ونضجها. ومن الطبيعي ان يتبدى تأثير الضوء من خلال تأثيره على تكون وتحلل ونشاط مواد نشطة ضوئيا مثل الصبغات والفلافينات وغيرها والتي تلعب أدوارا تحفيزية أو بنائية في عملية تكون الأبواغ.

فقد وجد تراكم لمواد معينة في الفطر الروثي *Pilobolus* أثناء الظلام تكتسب حساسية وتحفز تكوين حوامل الحوافظ البوغية بوجود الضوء. كما وجد حاجة لفطريات مثل *Coanephora cucurbitarum* و *Pyronema omphalodes* و *Coprinus* و *Fusarium* للضوء المرئي لفترات مختلفة من اجل تكوين الأبواغ.

من تأثيرالضوء ظهور حالة الحلقات المتراكزة سواء على الأوساط الزرعية أو على الأوساط الطبيعية التي تشير الى تأثير الضوء من خلال تعاقب فترات الضوء والظلام في فطريات مثل *Aspergillus* و *Penicillium* و *Trichoderma*، حيث الحلقات الكثيفة بالأبواغ والحلقات القليلة الكثافة بالأبواغ. كما تعتبر هذه الظاهرة من الأعراض المميزة لأصابات *Alternaria* و *Phyllosticta* على الأوراق.

وحسب(1980) Bilgrami & Verma يمكن تقسيم إستجابة عملية تكاثر الفطريات للضوء الى خمسة مجاميع:

1. فطريات لاتتاثر ظاهريا بالضوء.
2. فطريات يقل تكاثرها أو يثبط نتيجة تعرضها للضوء.
3. فطريات تحتاج الى ضوء متناوب مع الظلام من اجل تكوين الأبواغ.
4. فطريات يزداد فيها تكوين الأبواغ عند تعرضها للضوء.

5. فطريات تحتاج للضوء من اجل تكوين أجسام تكاثرية.

ومن المعروف ان الأطوال الموجية المختلفة للضوء لها تأثيرات مختلفة على تكوين الأبواغ.

وعموما فإن الأطوال الموجية القصيرة من الضوء المرئي (الأزرق والبنفسجي القريب من الأشعة فوق البنفسجية) لها دور محفز لعملية تكوين الأبواغ.

بين Leach & Tulloch (1972) أن إبقاء الفطريات في ظلمة تامة أو لفترات متساوية مع الضوء المرئي القريب من الأشعة فوق البنفسجية أدى الى أن 24 نوعا كونت أبواغ بعد التعرض للأشعة قرب فوق البنفسجية بضمنها 7 أنواع من *Dreschlera* و5 أنواع *Fusarium* وأنواع *Ascochyta* و*Phoma* و *Septoria* و *Pyrenochaeta* و *Rhynchophoma* و *Staganospora*.

ستة أنواع كونت أبواغ خفيفة في الظلام لكنها تكثفت بعد تعرضها للأشعة قرب فوق البنفسجية. وعشرين نوعا كونت أبواغ سواء تعرضت للضوء أم لا. ونوعين لم تكون أبواغ.

ويشير Wubah (1997 a) الى حاجة بعض الفطريات من كل المجاميع الى الضوء من اجل تكوين الأبواغ مثل: *Physarum polycephalum* (*Myxomycota*) و*Piloboulus kleinii* (Zygomycota) و *Necteria hematocca* (*Asomycota*) و (*Schizophyllum commune* (*Basidiomycota*) و*Trichoderma viride* (Deuteromycetes). واشار الى ان الفطرين *Pilobolus* و*Coprinus* يحتاجان الى تناوب الضوء والظلام من أجل تكوين الأبواغ.

وأورد Calvo *et al.* (1999) عددا من المراجع التي تشير الى إعتماد تكوين الفطريات للكونيدات والأجسام الثمرية الكيسية المغلقة والأجسام الحجرية على

الضوء. وإن الضوء الأحمر يؤخر التطور الجنسي في سلالات الفطر *Aspergillus nidulans*. كما أن الحوامل الكونيدية والأجسام الثمرية تظهر إنتحاءا ضوئيا. وكذلك حاجة بعض الفطريات مثل *Pleosporum herbarum* الى التعرض للأشعة فوق البنفسجية من أجل تكوين الأبواغ، وإن الأشعة فوق البنفسجية يمكن ان تستخدم من قبل الفطر كمؤشر للإقتراب من سطح النبات العائل.

pH إن مدى الـ pH من 5 الى 5.8 هو الأكثر ملائمة لتكوين الأجسام التكاثرية في الفطريات. كما قد تختلف حاجة الفطر الواحد من الـpH حسب نوع الأبواغ، فالفطر *Mycosphaerella pinodes* يحتاج الىpH 5 لتكوين البكنيدات وpH 7 للسيدوثيسيات وpH 8 لتكوين الأبواغ الكيسية. أشار Saxena (2001) *et al.* الى ان عاملي الـpH والإجهاد الغذائي أثرا كثيرا على تكوين الأبواغ الكلاميدية للفطر *Ceriporiopsis subvermispora* حيث أن الـpH المنخفضة 3 – 4 أدت الى تكوين اعداد كبيرة من الأبواغ.

العناصر الغذائية

يبدو أن ثمة علاقة عكسية بين تركيز الوسط الغذائي وعملية التكاثر. ربما يعود ذلك لتكريس الجهد الفسلجي للفطر نحو مزيد من النمو وهذا يمكن ان يؤدي الى تراكم ايضات ضارة بعملية التكاثر حيث انها اكثر حساسية من النمو وربما بتغيير الـpH بما لا يلائم التكاثر.

تم ملاحظة ان نسبة الأجسام الثمرية الكيسية الدورقية التي يكونها الفطر *Melanospora destruens* تقل مع زيادة نسبة الكلوكوز الى 0.5 % علما ان نمو الفطر يستمر مع زيادة هذا السكر الى 10 %.

كما ان الفطر *Pyronema confluens* لايكون الأجسام الثمرية الدورقية في الأنابيب المغلقة لكنه يكونها بوجود قاعدة تمتص ثاني أوكسيد الكاربون المتراكم (Verma,1980 Bilgrami).

ومعروف ايضا مثل هذا التأثير الضار لثاني أوكسيد الكاربون على تكوين الأجسام الثمرية في الفطريات المأكولة(Stamets ,2000). كما لوحظ ان السكريات المعقدة تدعم التكاثر افضل من السكريات البسيطة وعزي ذلك الى بطيء النمو على هذه الأوساط. تحتوي الأوساط الزرعية في المختبر عادة على مواد غذائية اكثر مما تجده الفطريات في الطبيعة.

بعض الفطريات تبدأ بتكوين الأبواغ بعد فترة نمو قصيرة. لكن البعض الآخر الذي يكون أجسام ثمرية كبيرة يحتاج الى نمو كثيف للغزل الفطري. يمكن ان يؤدي النمو الى تراكم مواد سامة مثل أيونات H^+و $NH4^+$، وهذا يجعل الوسط غير ملائم لإستمرار النمو مما يحفز تكوين الأبواغ.

إستعرض (Calvo *et al.*(1999 المراجع بخصوص الإشارات الخارجخلوية التي تؤثر على التكاثر الجنسي واللاجنسي في الفطر *Aspergillus spp.* وبين انها الضوء وعامل محفز الجنس المبكر (precocious sexual inducer (psi). يتألف عامل psi من ثلاث مشتقات هيدروكسيلية لحامض لينولينيك هي psiA وpsiB وpsiC تتحكم بتطور الأجسام الثمرية الكيسية المغلقة والحوامل الكونيدية في الفطر *A. nidulans*. وتدعم مركبات psiB وpsiC النقية التكاثر الجنسي وتثبط تكوين الكونيدات، أما psiA فإنه يعاكس تأثير العاملين الآخرين وهو ذو فعالية بيولوجية قليلة.

وبين Calvo *et al.*(1999) أن حامض لينولينيك يحفز ويبكر تكوين الأبواغ اللاجنسية في سلالات الفطر *Aspergillus flavus* و*A. parasiticus* ويعيق تكوين الأجسام الحجرية في بعض السلالات.

بالنسبة لمصدر النتروجين وجد ان النترات تدعم النمو وتكوين الأبواغ على السواء لكن بعض الأحماض الأمينية مثل الأسبارجين غير ملائمة لتكوين الأبواغ. كما ان مركبات الأمونيوم تثبط تكوين الأبواغ في بعض الفطريات. ويمكن ان يحتاج الفطر للفيتامينات خلال التكاثر اكثر من حاجته لها أثناء النمو، كما ان الفيتامينات يمكن ان تعجل إستغلال السكر وبذلك تسرع التكاثر(Bilgrami & Verma,1980).

الأيضات الثانوية ثمة عد من الأيضات الثانوية مثل الصبغات تؤثر في حيوية الأبواغ. تترسب صبغة الميلانين في كونيدات الفطر *Alternaria alternata* و إن تعطيل الجين *brm2* المسؤول عن التخليق الحيوي للصبغة يؤدي الى إنخفاض كبير في كميتها وبالتالي تكون الكونيدات مختزلة الحجم وحساسة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية(Kawamuara *et al.*,1999).

وفي الفطر *Cochliobolus heterotrophus* الممرض علي نبات الذرة تفشل الكونيدات الفاقدة للميلانين (Albino) من نشر الفطر وإحداث الإصابة، كما إن صبغة الميلانين من عوامل ضراوة الفطر الممرض للإنسان *Asprgillus fl awaiifl ia* (Calvo *et al.*,2002). ويورد Calvo *et al.* (2002) عددا من المراجع التي تشير الى وجود علاقة بين إنتاج السموم الفطرية وتكوين الأبواغ في عدد من الفطريات.

ففي حالة الفطر *Aspergillus parasiticus* وجد أن مواد كيميائية معينة تثبط تكوين الأبواغ تثبط في الوقت نفسه تكوين السموم الفطرية الأفلاتوكسينات. وفي هذا الفطر وكذلك الفطر *A. nidulans*، المادة الكيميائية التي تثبط تخليق الأيضة الثانوية بولي امين تثبط تكوين الأبواغ وكذلك تخليق الأيضة الثانوية Sterigmatocystin وسموم أفلاتوكسين.

وتشير المصادر الى ان طافرات الفطر *Claviceps purpurea* التي تفقد القدرة على تكوين الأبواغ تكوّن كميات أقل من القلويدات السامة. وفي الفطر *Fusarium verticillioidis* الطافر القليل القدرة على تكوين الأبواغ كان منخفض الإنتاج للسم Fumonisin B1.

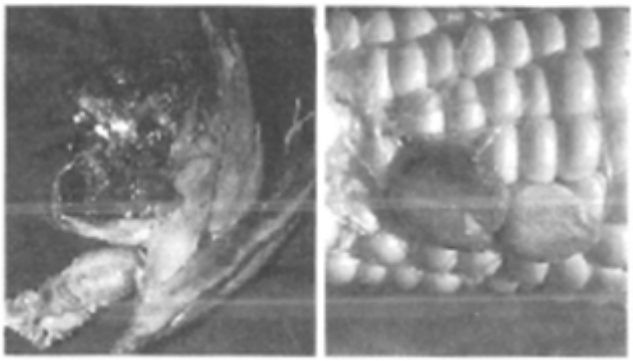
Chapter 8 الفصل الثامن

إنتشار الأبواغ

Spore Dispersal

إن الهدف من تكوين الأبواغ اللاجنسية خاصة هو نشر الفطر على بيئات غذائية جديدة لتكوين مستعمرات حديثة تؤمن بقاء الفطر. هذا يفسر تكوين معظم الفطريات للأبواغ اللاجنسية. ومن المعروف ان الأبواغ الناضجة هي أكثر مقاومة للظروف البيئية غير المناسبة من الخيوط الفطرية الإعتيادية.

تختلف مطاولة البوغ حسب نوعه، فهناك إختلاف في عدد الخلايا المكونة للبوغ، إختلاف في سمك جدار البوغ وفي وجود الصبغات خاصة صبغة الميلانين ونسبة الرطوبة والمواد الغذائية. وكقاعدة عامة فإن الجدار الرقيق وشفافية البوغ بإنعدام الصبغة أو قلة تركيزها وزيادة نسبة الرطوبة فيها وقلة المواد الغذائية عوامل تجعل هكذا أبواغ غير مطاولة. فكونيدات فطريات البياض الدقيقي تفقد حيويتها خلال ساعات قليلة عند التعرض لأشعة الشمس. على العكس من ذلك الأبواغ الداكنة اللون والأبواغ الكلاميدية قد تطاول لأسابيع أو أشهر وحتى لسنوات. التغلب على مشكلة المطاولة يتم من خلال النشر السريع للأبواغ عند نضجها.



شكل 8.1: على اليسار كوز ذرة يظهر أورام كثيرة مليئة بأبواغ الفطر *U. maydis* وعلى اليمين عقدتين

عن: (Wong,2003)

ما يميز الفطريات هو إنتاجها لأعداد هائلة من الأبواغ. فيمكن لفطر واحد أن ينتج من الأبواغ في فترة قصيرة ما يفوق عدد البشر الذين هم من أكثر اللبائن عددا والبالغ حوالي 6.5 مليار نسمة.

فالفطر *Ustilago maydis* (شكل8.1) مسبب مرض التفحم على الذرة يكوّن 25 مليار بوغ في عقدة ورم واحدة حجمها 1 إنج^3، كم عدد الأبواغ التي يكونها هذا الفطر في مجموع الأورام على نبات واحد من الذرة وكم سيكون عددها في حقل الذرة المصاب؟

ويكوّن عفن الخبز، الفطر *Rhizopus stolonifer*، 50 000 بوغ في الحافظة البوغية الواحدة، ويمكنه خلال أيام قليلة تكوين آلاف الحوافظ البوغية على قطعة خبز صغيرة (Wong,2003).

الإنتاج الهائل العدد للأبواغ هو من أجل ضمان تغطيتها لأكبر مساحة ممكنة وضمان وصولها الى مختلف مناطق البيئة علها تجد المواقع المناسبة للإنبات وتكوين مستعمرات جديدة حيث أن المواقع غير المناسبة (الصحاري، أسطح الأبنية، المياه لفطريات اليابسة، النباتات أو الأحياء غير العائلة للفطريات الممرضة

الخ.) التي تصل اليها عديدة وواسعة. بقاء الفطر لملايين أو مئات آلاف السنين دليل قوي على نجاح ستراتيجيته وإستمراره في إعتماد الأبواغ كوسيلة أساسية للبقاء والإنتشار. إن تكوين الأبواغ لوحده، حتى وإن كانت بأعداد هائلة، لايكفي لإكثار كفوء للفطر إذ لابد من نشر هذه الأبواغ بعيدا عن المزرعة المكونة لها لتضمن عدم الأزدحام والمنافسة ولتستثمر أوساط زرعية جديدة.

تتأثر عملية الإنتشار فيما إذا كانت الأبواغ قابلة للبلل، سطحها مغطى بمواد مخاطية وتكوّن كتل لزجة مثل أبواغ الفطر *Botrytis* أو *Verticillium* وغيرهما. أو انها جافة سطحها كاره للماء (Hydrophobic) لايبتل مثل أبواغ الفطر *Penicillium* و*Aspergillus* وغيرهما.

ثمة طريقتين رئيستين لتحرير الأبواغ:

التحرير السلبي (Passive Liberation) وتعتمد هذه الطريقة على الطاقة الخارجية التي تتطلبها عملية تحرير الأبواغ، وهي عملية تتطلب طاقة بإعتبارها شغل يتضمن نقل أجسام لها كتلة من نقطة الى نقطة أخرى. والتحرير الفعال (Active Dessimination) وتعتمد على الطاقة التي يكون مصدرها الفطر نفسه.

الإنطلاق السلبي للأبواغ القابلة للبلل

1. تكوين قطرة أبواغ على الحامل بعض الفطريات تتجمع أبواغها بشكل قطرة على الحامل حيث تعلق باي من عوامل النشر كالحشرات. هذه الطريقة تتوضح في فطريات عديدة منها (*Myxomycota*) *Dictyostelium* و *Mucor* (Zygomycota) و(*Ascomycota*) *Ceratocystis* و *Cephalosporium* (Deuteromycota).

2. بواسطة رشاش المطرإصطدام قطرات المطر بالسطوح المائية على الأرض أو الأوراق النباتية يؤدي الى تشظيها الى عدد كبير من القطيرات التي يمكن ان تحمل معها أبواغ الفطريات الموجودة فيها. أن قطرات المطر تكون أقطارها بحدود 0.2 الى 0.5 ملم. والقطرات الكبيرة (0.5 ملم) التي تضرب غشاء مائي بعمق 1 ملم بسرعة 8 م/ ثانية تقذف 5000 قطيرة بقطر 5 – 2400 مك. وإن المطر بمعدل 1 ملم على مساحة 1 م2 ينشر 1 x 10^9 قطرة. إن هذه الأرقام تشير الى إمكانية هذا العامل في نشر أبواغ الفطريات.

3. الرياح الرطبة يمكن ان تحمل الرياح المصحوبة برذاذ المطر أبواغ بعض الفطريات مثل *Verticillium alboatrum* والتي لا تحمل عادة بالرياح الجافة.

الإنتشار السلبي للأبواغ الجافة

يمكن للأبواغ الجافة ان تنتشر بسهولة اكثر من الأبواغ الرطبة لكونها غير ملتصقة بالسطح الذي تنمو عليه. ولأنها لاتتشرب بالماء فتكون خفيفة الوزن.

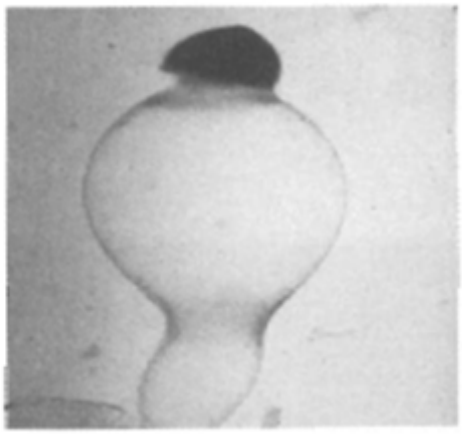
هناك طريقتان لإنطلاقها:

1. **الأنطلاق الميكانيكي:** ويتم ذلك بواسطة تيارات الهواء حتى البسيطة منها (20 – 40 سم / ثانية) وتيارات الحمل التي تتسبب عن حرارة الشمس والإهتزازات التي تحدثها قطرات المطر وكذلك حركة اجزاء الجسم الثمري نتيجة الفرق في كمية الرطوبة كما في *Myxomycota* و *Podaxis (Gasteromycete)* كلها عوامل يمكن ان تساعد في نشر الأبواغ.

2. **تنافر الشحنات الكهربائية المستقرة:** حيث ان الأبواغ والحوامل البوغية تحمل نوع الشحنة الكهربائية نفسها، هذا يؤدي الى تباعد وتطاير الأبواغ.

الإنطلاق الفعال

1. إنفجار الخلايا الممتلئة إن إرتفاع الجهد الأزموزي بسبب إرتفاع تركيز المذابات في بعض الخلايا يسبب إمتصاصها لكميات كبيرة من الماء وهذا يؤدي الى حصول حالة إمتلاء متزايدة لايتمكن جدار الخلية من مقاومتها وبالتالي تنفجر الخلية قاذفة الأبواغ. مثل هذه الحالات تحدث في فطريات مثل *Nigrospora* (Deuteromycota) و*Pilobolus* (Zygomycota) وتطلق الأبواغ الكيسية من الأكياس نتيجة إنفجارها بالطريقة المذكورة كما في *Sodaria* و*Neurospora* و*Claviceps*(*Ascomycota*).يمكن ان تنطلق الأبواغ الكيسية لإرتفاع 30 سم.



شكل 8.2: الفطر *Pilobolus* حيث تطلق الحوصلة المنتفخة كامل الحافظةالبوغية

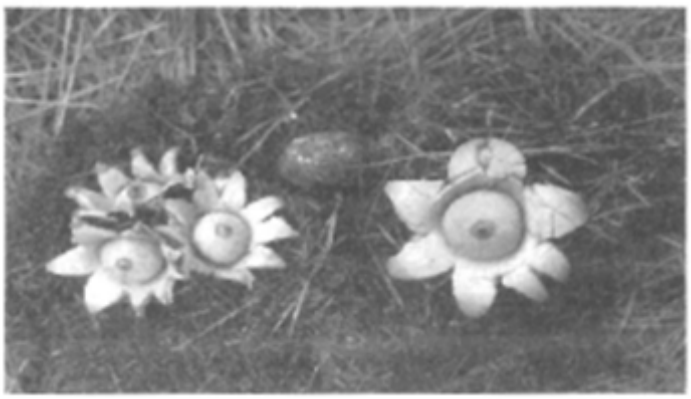
عن: (Wong,2003)

من مصلحة الفطريات الروثية مثل الفطر *Pilobolus* إطلاق أبواغها بعيدا كون الأبقار لا ترعى قرب روثها وهي بحاجة لأن تبتلع أبواغها مع الحشائش كي تنزل مع كومات روثية جديدة لتكون مستعمرات جديدة (شكل8.2).

2. تغيير شكل الخلية يمكن ان يؤدي تغيير شكل خلايا الأبواغ نتيجة إمتصاصها للماء الى قوة تدفعها خارج تجمعاتها وتساعد في نشرها كما يحصل في حالة الفطر *Puccinia* حيث يتغير شكلها من المتعدد الوجوه المرتب ضمن تجمع للأبواغ الى الشكل الكروي. كما يتغير شكل الجسم الثمري الكأسي في الفطر *Sphaerobolus* لينبعج ويقذف الأبواغ التي يحملها الى إرتفاع 1 م.

3. قذف الأبواغ

تحصل في بعض الفطريات البازيدية، فعند نضج الأبواغ تتكون قطرة سائل عند قاعدة البوغ تساعد على قذفه لمسافات محدودة. كما تقوم الأجسام الثمرية لبعض الفطريات البازيدية والتي تتخذ شكل المثانة أو الكرة في تركيب يسمى البريديوم (Peridium) وهو مغلق ويحتوي على فتحة فمية واحدة تسمى (Ostiole) لخروج الأبواغ. عند تعرض الجسم الثمري لقوة خارجية (قطرات مطر أو حشرات) تنطلق سحابة من الأبواغ بما يشبه الدخان ولذا يطلق على هذه الفطريات بالكرات النافثة (Puffballs) (شكل8.3).



شكل 8.3: الأجسام الثمرية للفطر *Geaster* (نجم الأرض) تظهر الفتحة الفمية لهذا الفطر من مجموعة الكرات النافثة

عن: (Wong,2003)

كما تقذف أبواغ الفطر *Cyathus* المعروف شعبيا باسم " عش العصفور " لتشابه أجسامه الثمرية مع عش العصفور الى إرتفاع 3 – 4 أقدام نتيجة سقوط قطرة ماء على الجسم الثمري مما يحفز آلية إنطلاق الأبواغ (شكل8.4). ويعتقد ان الأبواغ البازيدية التي تطلق من البازيدة بواسطة فقاعة زيتية تتوسع في الحجم لتقذف البوغ بقوة 25 000 g وهي تعادل 10 000 مرة القوة التي يطلق بها رواد الفضاء للتخلص من الجاذبية الأرضية(Money,1998).



شكل 8.4: الأجسام الثمرية للفطر *Cyathus* لاحظ الشبه بينها وعش العصفور حيث أنها تحتوي بضع أجسام تشبه " البيض " وكأنه في عش وهي تحمل الأبواغ

عن: (Wong,2003)

تحرير الأبواغ المتحركة

يتم تحرير الأبواغ المتحركة من حوافظها بطرق عدة من بينها زيادة ضغط السائل كما في حالة الفطريات *Pythium* و *Phytophthora* والتفريغ بقوة كما في *Saprolegnia* والسباحة كما في *Allomyces*.

وسائل الإنتشار

ثمة وسائل عديدة تنتشر بواسطتها أبواغ الفطريات وهي في غالبيتها تتم بطريقة سلبية:

1. الإنتشار بواسطة الرياح تعتبر الرياح من أهم وسائل إنتشار أبواغ الفطريات خاصة تلك المسببة لأمراض النبات. حيث بإمكان الرياح وحسب سرعتها وإتجاهها ان تنقل أبواغ الفطريات المتكونة على الأوراق والأجزاء الهوائية الى الحقول المجاورة والبعيدة كما في حالة معظم الفطريات الممرضة. بل يمكن ان تنقل الرياح أبواغ الفطريات من منطقة الى أخرى ضمن البلد الواحد ومن بلد الى بلد كما يحصل خاصة مع الفطريات المسببة لأمراض الصدأ على محاصيل الحبوب وكذلك الفطر *Peronospora tabacina* مسبب مرض البياض الزغبي على التبغ(Agriose,1997).

وقد تم الحصول على أبواغ بعض الفطريات بواسطة الطائرات من على إرتفاع 10 000 قدم. كما تم الحصول على أبواغ بواسطة البالونات (وإن كانت قليلة، 5 أبواغ) من على إرتفاع بين 36 000 الى 71 000 قدم، وأنها يمكن ان تقطع أفقيا مسافة 8400 ميل في أسبوع(Wong,2003). ويمكن للرياح نقل بعض أبواغ الفطريات من على سطح التربة بشكل غبار وتلك التي في بقايا النباتات المصابة.

2. الإنتشار بواسطة مياه الري تعتبر مياه الري وسيلة مهمة لنقل الأبواغ ضمن الحقل والحقول المتجاورة. واهميتها تتضاعف في نقلها للأوراق وبقايا النباتات المصابة حيث يكون نقلها بكتل كبيرة. ويمكن لمياه السقي نشر الأبواغ بصورة عمودية من المناطق السطحية الى اعماق الجذور. ميزة هذه الطريقة انها توفر الرطوبة اللازمة لإنبات الأبواغ المنتشرة.



شكل 8.5: أشكال أبواغ بعض الفطريات المائية

عن: (School of Biological Sciences,2004)

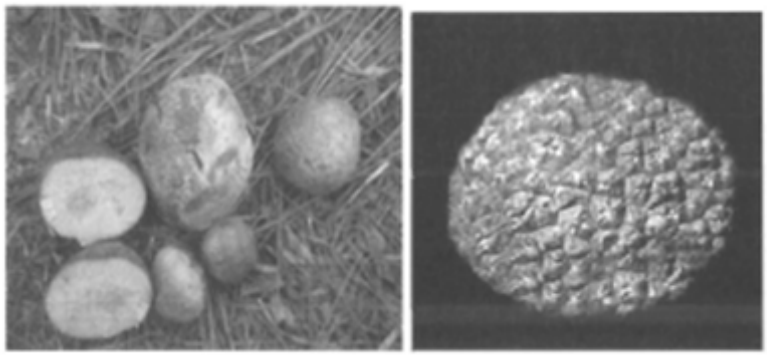
وقد تكيفت بعض الفطريات لنقل أبواغها بواسطة المياه من خلال اشكال الأبواغ التي تحتجز كمية من الهواء تساعدها على الطوفان يساعدها في ذلك الشد السطحي العالي للماء (شكل8.5).

3. الإنتشار بواسطة الحشرات والحيوانات الأخرى تنتقل أبواغ العديد من الفطريات من نبات الى آخر ومن حقل الى آخر بواسطة الحشرات حيث تعلق بأجسامها خلال عملية تغذيها على النباتات. كمثال نشر أبواغ الفطر *Ophiostoma novo-ulmi* بواسطة خنافس القلف. كما تنتج بعض الفطريات مواد سكرية وعطرية مثل الفطر *Claviceps* و*Puccinia graminis* لجذب الحشرات ونشر أبواغها بواسطتها. وتنتشر أبواغ الفطريات الروثية مثل *Pilobolus* خلال تغذي الحيوانات الآكلة للحشائش.



شكل 8.6: الفطر المنتن *Aseroe rubra* تظهر أجسامه الثمرية الحمراء
مادة مخاطية داكنة تحتوي على الأبواغ التي تلتصق بالحشرات
عن: (Wong,2003)

تستخدم بعض الفطريات المنتنة (Stinkhorn) مثل *Phallus rubicundus* و *Aseroe rubra* الروائح النفاذة والمواد اللزجة لجذب الحشرات وإلتصاق الأبواغ بها. كما ينتشر أغلى نوع من الكمأة في العالم الفطر *Tuber melanosporum* بواسطة الحيوانات وكذلك الفطر المنتن *Rhizopogon* حيث لاتعرف له وسيلة إنتشار أخرى(Wong,2003) (شكل8.6 و 8.7).



شكل 8.7: فطرالكمأة *Tuber melanosporum*(يمين)والفطرالمنتن *Rhizopogon*(يسار)
عن: (Wong,2003)

4. الإنتشار بواسطة البذور يمكن ان تنتشر أبواغ العديد من الفطريات خاصة تلك الممرضة للنبات على البذور من خلال تلوثها بالأبواغ أو بداخل البذور عن طريق إصابتها. وهي لبعض الفطريات وسيلة رئيسة للبقاء والإنتشار مثل فطريات التفحم المغطى على محاصيل الحبوب *Tillitia caries* و*T. foetida* وفطريات التفحم السائب *Ustilago spp.* كما تنتقل بهذه الواسطة أبواغ فطريات مثل *Alternaria* و*Fusarium* و*Penicillium* و*Aspergillus* وغيرها.

5. العمليات الزراعية إن عمليات الحراثة يمكن ان تسهم في نشر أبواغ الفطريات في الحقل والحقول المجاورة والمساعدة على حملها بواسطة تيارات الهواء. كذلك عمليات التسميد العضوي وعمليات الحصاد ونقل المحاصيل والتبن.

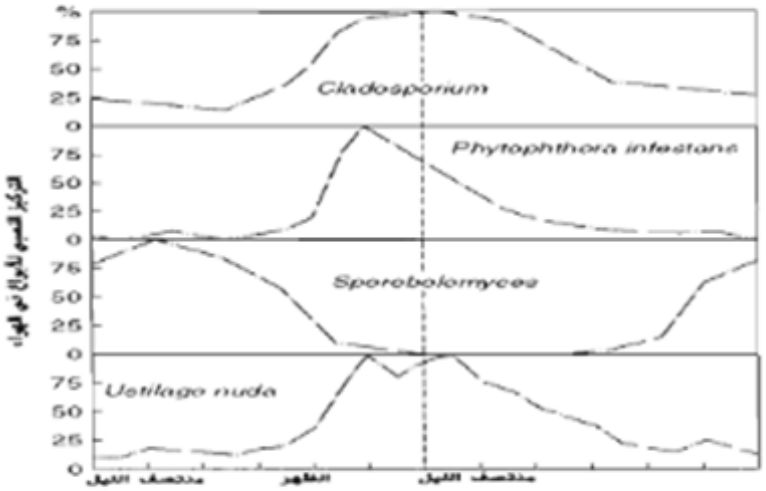
6. الإنتشار بواسطة الحركة الذاتية تتمكن الأبواغ المتحركة للفطريات الكتريدية والبيضية من الإنتشار من حوافظها الى السطوح المناسبة داخل التربة الرطبة إعتمادا على حركتها الذاتية. لكن هذه القدرة محددة بطول فترة السباحة وتوفر المواد الجاذبة والظروف البيئية الملائمة لكنها في جميع الأحوال تكون محدودة حيث لا تتعدى بضع ملمترات الى سنتمترات.

العوامل البيئية المؤثرة في إنتشار الأبواغ

Environmental Factors Affecting Spore Dispersal

الضوء (Light)

من الظواهر المعروفة إستجابة الفطريات للضوء في تحرير الأبواغ. يمكن قياس كثافة الأبواغ الفطرية عن طريق إستخدام شرائح زجاجية تحتوي على مواد لاصقة. في دراسة لكثافة الأبواغ الفطرية في هواء الحقول الزراعية في إنكلترا، لوحظ إختلاف في موجات تحرير الأبواغ تختلف بإختلاف الفطر ووقت النهار أو الليل ما يعني وجود إيقاعية مع وجود أو غياب الضوء (شكل8.8).



شكل 8.8: التغيرات اليومية في محتوى الأبواغ في هواء الحقل الزراعي في إنكلترا عن: (Maheshwari,2005)

لوحظ أن اعلى تركيز لأبواغ الفطر البيضي المسبب لمرض اللفحة المتأخرة على البطاطا *Phytophthora infestans* يكون في الصباح الباكر وللفطر البازيدي المسبب لمرض التفحم السائب في القمح *Ustilago nuda* يكون قبل الظهر والفطر الناقص *Cladosporium* حوالي الظهر والفطر *Sporobolomyces* خلال الليل. كما تبلغ كثافة الأبواغ قمتها بالنسبة للفطر الكيسي المسبب لمرض التعفن البني على الأشجار اللوزية *Monilinia laxa* خلال الليل. ويظهر الفطر البازيدي المسبب لمرض صدأ الأوراق على القمح *Puccinia graminis* إيقاعا يوميا لكثافة الأبواغ اليوريدية قرب سطح التربة. وتبلغ أعلى كثافة للأبواغ الكيسية للفطر *Sordaria fimicola* خلال النهار بينما تلك التي للفطر *Daldinia awaii ial* فتكون في الليل(Maheshwari,2005).

الرطوبة (Moisture)

تؤثر الرطوبة على عملية تكوين الأبواغ بالتأكيد حيث أن أغلب الفطريات خصوصا فطريات البياض الزغبي واللفحة المتأخرة تكون كميات كبيرة من الأبواغ

في رطوبة نسبية تقترب من الإشباع. وبالتالي فإن الرطوبة النسبية العالية توفر الفرصة اللازمة لإنتشار الأبواغ. من ناحية أخرى تعتمد الكثير من الفطريات كفطريات البياض الزغبي على التغيرات الشكلية في الحوامل الكونيدية نتيجة تغير الرطوبة ما يوفر قوة ميكانيكية لإطلاق الأبواغ. كذلك دور العويميد داخل الحوافظ البوغية في الفطريات اللاقحية يستند الى إمتصاص كمية كبيرة من الرطوبة تؤدي الى إنتفاخه وتسليط ضغط لتمزيق غلاف الحافظة ونشر الأبواغ. كما يعتمد عمل التراكيب الشعرية في الفطريات الهلامية على التغيرات الشكلية التي تنتج عن إمتصاص الرطوبة وتساعد في نشر الأبواغ. وتكوين قطرة السائل في قاعدة البوغ البازيدي (زائدة هيلاري) متطلب أساسي من أجل الإطلاق الفعال للبوغ. ويمكن أن يكون إمتصاص الرطوبة داخل الأكياس أو التراكيب الثمرية الكيسية مطلوب من أجل تكوين الضغط اللازم لتحرير الأبواغ. وتلعب الرطوبة الحرة دورا أساسيا في إنتشار الأبواغ المتحركة للفطريات الكتريدية والبيضية والهلامية.

حركة الهواء (Air Movement)

الى جانب عامل الرياح وسرعتها كعامل حيوي في نشر أبواغ معظم الفطريات، يعتمد أكثر من 100 000 نوعا من الفطريات على الهواء في نشر الأبواغ (Kendrick,1990). الهواء الخارجي والهواء داخل الأبنية يحمل الأبواغ وقطع الخيوط الفطرية بتراكيز تختلف حسب توفر مصدر النمو الفطري ونوعه وحركة الهواء: إهتزازات، تيارات الحمل والرياح. فالهواء حتى داخل الأبنية المغلقة والذي يتحرك بسرعة 0.3 م / ثا يحمل أبواغ فطرية لكن الإهتزازات هي العامل الأهم في نشر الأبواغ الفطرية داخل الأبنية(Górny *et al.*,2002).

عموما يكون تركيز الأبواغ الفطرية في هواء الريف أكثر من تركيزه في هواء المدينة وهو على العموم يكون بتركيز 10 – 10 000 بوغ / م^3(Gots *et al.*,2003).

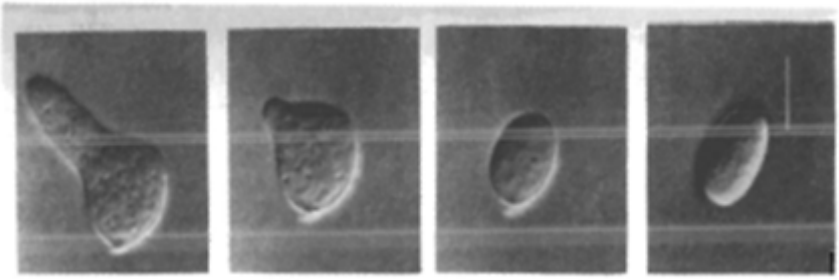
الفصل التاسع Chapter 9

إنبات الأبواغ

Spore Germination

من المعروف أن الأبواغ هي وسيلة إكثار ونشر الفطر في الطبيعة وهي خطـــوة أساسية من أجل إستكشاف وإستغلال الأوساط الغذائية. وهكذا فهي مبرمجة للإنبات في الظروف الملائمة والتي تختلف حسب طبيعة حياتية الفطر وإحتياجاته الغذائية. أبواغ الفطريات الممرضة للنبات يحفز إنباتها في الغالب بواسطة جزيئات إشـــارية تصدر عن النبات أو بواسطة الصفات الفيزيائية والكيميائية لسطح النبات كصـــفة كراهية الماء (Hydrophobicity) أو وجود الشمع على سطوح الأجزاء الهوائية. أما فطريات التربة فتحفز في الغالب بمواد تخرج من الجـــذور. وتحفـــز أبـــواغ فطريات الصدأ على الإنبات بتحسس تضاريس سطوح الأوراق للأجزاء الهوائيـــة للنبات(Nesher *et al*.,2008).

تمثل الأبواغ، الفطر وهو في حالة توقف النمو. فجدار البوغ يكون اكثر ســـمكا والسايتوبلازم اكثر كثافة ونشاطه الأيضي منخفض. يمر البوغ في مرحلة السكون هذه لفترة قد تطول أو تقصر إعتمادا على عدد من العوامـــل الذاتيـــة والخارجيـــة سنأتي على ذكرها. إعادة نشاط خلية أو خلايا البوغ تعني بدء عملية الإنبات التـــي تتضمن إمتصاص كميات مهمة من الماء وتنشيط الأيض تنتهي عادة بتكوين إنبوب الإنبات (شكل9.1).



شكل 9.1: إنبات بوغ الفطر *Fusarium solani*
بعد 0.6، 5.5، 7.8 و9.1 ساعة من الزرع
عن:
http://www.cnb.uam.es/~genus/germination.html

فسلجة إنبات الأبواغ

Physiology of Germination

يتسم البوغ بإنخفاض كبير في معدل الفعاليات الأيضية المختلفة، ومحدودية المادة الغذائية المخزونة والماء، وهكذا فإن عملية الإنبات تتطلب أولا تنشيط هذه العمليات وسرعة إنجاز عملية الإنبات برمتها من اجل الوصول الى خيوط فطرية تتمكن من إمتصاص المواد الغذائية من الوسط لمواصلة تكوين الغزل الفطري الجديد. إن تحقيق ذلك يتطلب إمتصاص كميات مهمة من الماء وتشغيل ماكنة الإنزيمات من خلال تنشيط الموجود منها وتكوين إنزيمات جديدة لإنتاج الطاقة المطلوبة والمركبات الوسطية اللازمة في عمليات البناء النشطة.

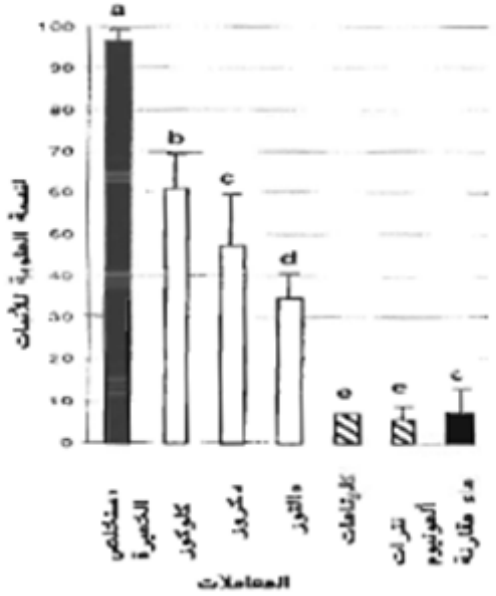
في دراسته لإنبات الأبواغ الكيسية للخميرة *Saccharomyces sereviceae* يقرر Herman & Rine (1997) ان بدء برنامج الإنبات يتطلب أولا التعرف على العامل الخارجي القادح لبدء عملية الإنبات، ثم تكوين الإشارة الداخلية، وتحويل هذه الإشارة الخلوية الى نسخ وترجمة جينية، وتخفيف أو إزالة جدار البوغ واخيرا الدخول في دورة الخلية.

لقد إعتمد نشاط الإنزيم Zymolase المحال لجدار البوغ الكيسي دالة لمعدل عملية الإنبات بإعتبار ان تحليل الجدار متطلب أولي لبدء عملية الإنبات. وبين ان وجود الكلوكوز أو الفركتوز كمواد قابلة للتخمر تقدح عملية إنبات الأبواغ وإن تخليق البروتين مطلوب في المرحلة المبكرة للإنبات كما أن مسلك Ras وهو مسلك تنظيم إشاري مطلوب في المرحلة المبكرة جدا من عملية الإنبات. ويخلص الى ان المسلك الإشاري Ras – بروتين هو المفتاح المنظم لعملية إنبات الأبواغ في الخميرة.

وذكر Fillinger *et al.* (2002) أن جزيئات cAMP ونظام Ras يؤشران بصورة مستقلة للسيطرة على إنبات كونيدات الفطر *Aspergillus nidulans*. حيث ان سلالات هذا الفطر الفاقدة لإنزيمات Adenylate cyclase أو cAMP-dependent protein kinase (PkaA) أو SchA protein kinase تظهر إعاقة حركة سكر الفطر تريهالوز وحركية بروز إنبوب الإنبات إضافة لتأثيرات أخرى. تقدح عملية تحليل التريهالوز المعتمدة على cAMPبإضافة مصدر كاربون بصورة مستقلة عن عملية الهدم اللاحقة، مما يرجح أن إشارات cAMP تسيطر على المراحل المبكرة لإنبات الكونيدات إستجابة لتحسس مصدر الكاربون.

تشير بعض الدراسات الى ضرورة وجود مواد مجهزة للطاقة خلال المراحل المبكرة لإنبات الأبواغ حيث أن عمليات التنفس لم تبدأ بفاعلية بعد. ومن هذه المواد بولي ميتافوسفات والشحوم الفوسفاتية والتي تبين وجودها في أبواغ عدد من الفطريات. إن هذه المواد تعطي جزيئات ATP عن طريق التحلل المائي.

التنفس هو المصدر الرئيس للطاقة من اجل إكمال عملية الإنبات والتطور اللاحق لإنبوب الإنبات. تلاحظ زيادة معدلات التنفس للأبواغ النابتة يرتبط في بعضها مع تجهيز مصدر غذائي خارجي.

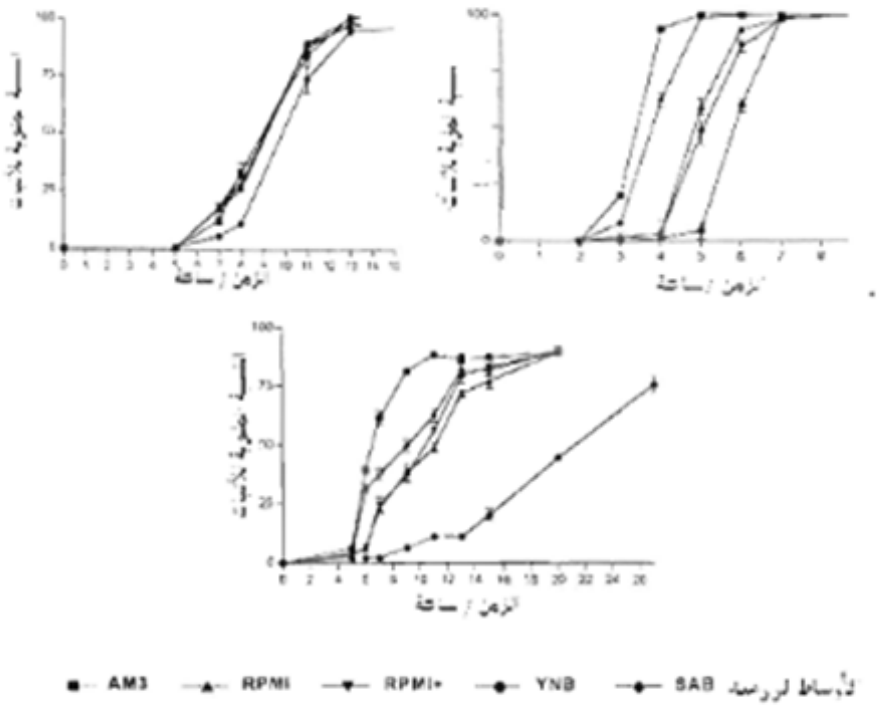


شكل9.2: تأثير إضافة العناصر الغذائية على إنبات أبواغ الفطر *Colletotrichum graminicola* في شريحة ذات حفر.تحتوي المواد الغذائية على مصدر معقد من الكاربون/النتروجين (مستخلص الخميرة 1% و/ح) (العمود الملأن)، ومصادر كاربون مختلفة بتركيز 100 ملي مول (العمود المفتوح) مصادر نتروجين مختلفة بتركيز100 ملي مول (العمود مخطط)، والماء كمقارنة. الأعمدة ذات الأحرف المتشابهة لا تختلف معنويا حسب إختبار دنكن المتعدد (p=0.05). عن: (Chaky *et al.*,2001)

المواد الأساس التي تستخدم في التنفس أو عمليات الأيض البنائي قسم منها موجود في الأبواغ أصلا وتشمل أحماض عضوية مثل حامض الماليك والأحماض الأمينية مثل حامض الكلوتاميك والأسبارتيك وكذلك سكريات بسيطة ومتعددة ودهون (شكل9.2).

وتختلف أبواغ الفطريات المختلفة في كميات المواد المخزونة فيها. وهذا يتوضح في حاجة البعض الى مصدر غذائي من اجل إكمال عملية الإنبات مما يشير الى ضعف المخزون الغذائي في البوغ بينما يمكن للبعض الآخر إكمال عملية الإنبات في الماء المقطر مؤكدا وجود مخزون غذائي كافي. مع ذلك ثمة إشارات الى الحاجة الى مصدر غذائي خارجي رغم وجود المخزون الغذائي في البوغ. إن

هذا ربما يرتبط بنظام سيطرة يرتبط بالمكون البيئي بحيث لا تتم عملية الإنبات إلا بضمان وجود غذاء كافي لغرض التطور اللاحق بعد الإنبات (شكل9.3).



شكل 9.3: منحنى إنبات أبواغ الفطر *Aspergillus awaiiia* (أعلى يمين) و *Rhizopus awaiiia* (أعلى يسار) و *Scedosporium prolificans* (أسفل) على خمسة أوساط غذائية.

عن: (Meletiadis *et al*.2001)

في بداية عملية الإنبات تكون التفاعلات الهدمية أنشط من تفاعلات البناء بحيث يمكن ملاحظة إنخفاض الوزن الجاف للأبواغ النابتة بينما تتغير الصورة في المراحل اللاحقة حيث تنشط تفاعلات البناء لتنعكس بزيادة الوزن الجاف للأبواغ تصل الى اربعة أضعاف(Bilgrami & Verma,1980).

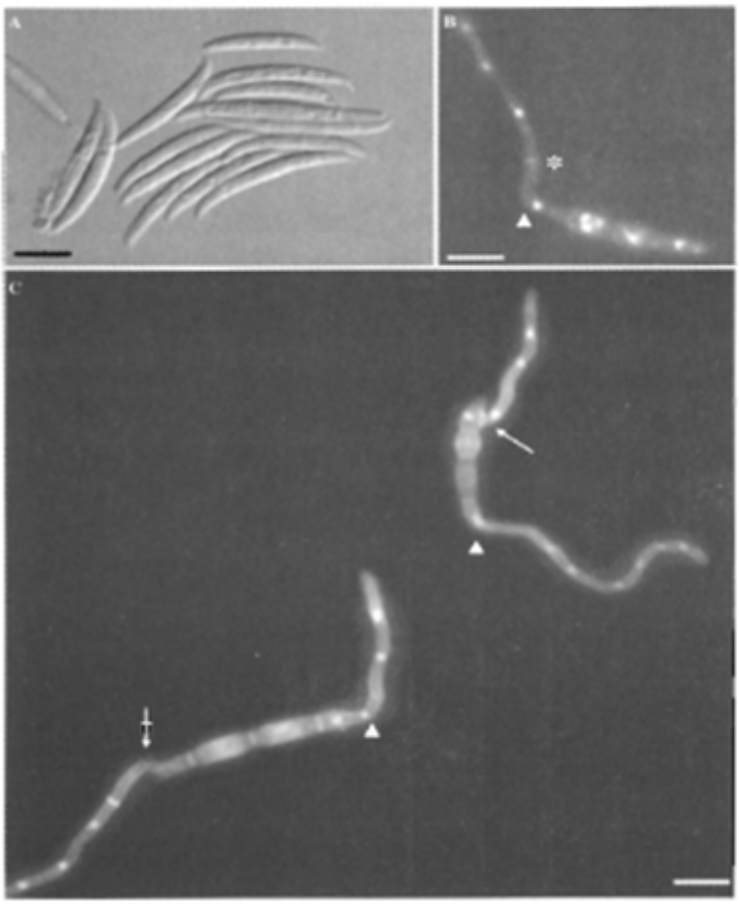
أستعرض Bressan (2001) تأثير عنصري النتروجين والفسفور على إنبات أبواغ فطر المايكورايزا *Glomus etunicatum* وبين ان إضافة الفسفور الى وسط ذو تركيز منخفض النتروجين زاد من نسبة إنبات الأبواغ. وأورد نتائج باحثين آخرين تدعم هذه النتيجة وأخرى تناقضها.

التغيرات المظهرية المصاحبة لإنبات الأبواغ

Morphological Changes Associated with Spore Germination

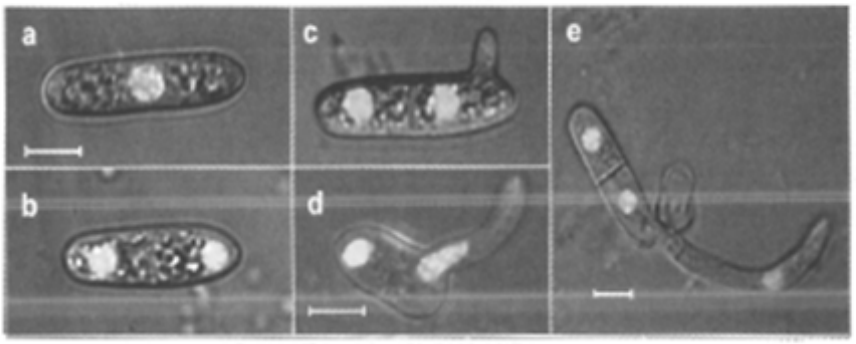
1. إنبات البوغ في الفطريات الخيطية يكون ثنائي القطب (Bipolar) أي ان إنبوب الإنبات يخرج من أي من قطبي البوغ أو كليهما.
2. في الأبواغ المتعددة الخلايا كما في حالة الكونيدات الكبيرة للفطر *Fusarium graminearum*، الخلية الطرفية (و ليس الوسطية) للبوغ هي المفضلة في تكوين إنبوب الإنبات الذي يكون من نهايتها في الغالب أو من الجانب.
3. يحصل الإنبات في الغالب من طرفي البوغ(Harris,2005) (شكل9.4).
4. إن بزوغ إنبوب الإنبات وتكوين الحاجز العرضي في الفطر الرمي *A. nidulans* يخضع لسيطرة مكانية شديدة ويرتبط بقوة مع النمو والإنقسام النووي. في معظم الحالات (*C. gloeosporioides* و*F. graminearum* والخميرة و*Aspergillus fumigates* وغيرها) إنبات الأبواغ يكون مستقلا عن دورة الخلية، لكن في الفطر *A. nidulans* إنبات الكونيدات على الأوساط الغنية يرتبط بقوة مع الإنقسام النووي، لكنه ليس كذلك في الظروف الأقل ملائمة. التكشف المظهري خلال عملية إنبات الأبواغ تسبق الإنقسام النووي. فبعد الإنقسام الخلوي الأول يخرج إنبوب الإنبات من إحدى خلايا كونيدة الفطر *C. gloeosporioides* بعدها فقط تنقسم النواة في هذه الخلية وتنتقل الى إنبوب الإنبات النامي. وبطريقة مشابهة تنقسم النواة التي في خلية إنبوب الإنبات المجاورة للعضو اللاصق فقط بعد

تكوين العضو للالصق الناضج لإنبوب الإختراق(Nesher *et al.*,2008) (شكل9.5).



شكل 9.4: (A) الكونيدات غير النابتة للفطر *Fusarium graminearum*. (B) و(C) إنبات الكونيدات، رؤوس السهام تشير الى خروج إنبوب إنبوب الإنبات من قمة الخلية الطرفية للكونيدة. السهام تشير الى خروج إنبوب الإنبات من جانب الخلية الطرفية. النجمة تشير الى الحاجز الأول في الخيط الفطري الجديد. الخط = 10 مك

عن: (Harris,2005)



شكل 9.5: الإنقسام النووي والتكشف المظهري خلال المراحل المبكرة لإنبات البوغ في الفطر *Colletotrichum gloeosporioides* مسبب مرض الأنثراكنوز على النبات. الأبواغ نابتة على شريحة زجاجية تحتوي على مستخلص نبات البزاليا. (a) بوغ ساكن، (b) الإنقسام النووي الأول بعد 75 – 90 دقيقة. (c) تكوين إنبوب الإنبات بعد 90 – 120 دقيقة. (d,e) إستطالة إنبوب الإنبات وحصول الإنقسام النووي الثاني بعد 150 – 180 دقيقة. الخط = 5 مك

عن: (Nesher *et al.*,2008)

سكون الأبواغ (Spore Dormancy)

يمكن ان تسهم فترة سكون الأبواغ في إتاحة الفرصة لإستكمال نضج البوغ وزيادة فرص الإنتشار بعيدا عن المزرعة الأم وكذلك توقيت الإنبات مع توفر بعض الظروف البيئية اللازمة للنمو. يقسم سكون الأبواغ الى سكون تكويني (Constitutive Dormancy) وسكون خارجي العوامل (Exogenous Dormancy).

السكون التكويني: ترجع حالة السكون التكويني الى إنخفاض التغذية والكبح الأيضي ووجود مثبطات ذاتية.

1. التغذية: ربما بإستثناء كونيدات فطريات البياض الدقيقي فإن المحتوى المائي للأبواغ منخفض بدرجة لاتسمح بالنشاط الأيضي اللازم للنمو. وعليه يتسم جدار البوغ بإنخفاض نفاذيته للماء والعناصر المذابة فيه. هذا يتوضح من خلال سرعة الإنبات في الحالات التي يتم فيها، تحت ظروف معينة، الحصول على عزلات ذات

جدار رقيق وملاحظة نشاط الإنزيمات المحللة أو تشقق الجدار قبيل بدء عملية الإنبات. ربما تكون عملية إمتصاص الماء أعقد من مجرد التنافذ الأزموزي حيث وجد انها تتاثر بوجود مصادر الكاربون والنتروجين.

2. التثبيط الذاتي: من الملاحظ وجود ظاهرة التثبيط الذاتي لإنبات أبواغ عدد من الفطريات مثل أنواع *Colletotrichum*(Tsurushima *et al*.,1995 ; Lax *et al*.,1985).

إن ذلك يتوضح من خلال إنخفاض نسبة الإنبات للأبواغ تتناسب وزيادة تركيز الأبواغ في سائل الإنبات. حيث ان البوغ الواحد يحمل تركيز قليل من المادة المثبطة ولكن مع زيادة عدد الأبواغ في حجم صغير يرتفع تركيز هذه المادة المثبطة ليصبح مؤثرا. ومن المواد المثبطة للإنبات المعزولة من أبواغ الفطريات حامض الكافيئيك وبارا- هيدروكسي بنزويك وحامض الفيروليك والفانيليك والمادة الطيارة ترايمثيل أثيلين. ربما يكون لهذا العامل تأثير بيئي من اجل ضمان الفطر لوجود كمية كافية من الرطوبة حيث ان تخفيف المادة المثبطة بالماء هو دليل توفر الرطوبة.

من جهة أخرى يعتقد بإحتواء الأبواغ على مواد تعاكس عمل المواد المثبطة للإنبات ولستدل على ذلك من خلال تأثير مواد مشجعة للإنبات مثل الكحولات والألديهيدات والسترولات والصابونينات والكومارينات والفينولات وقد تم عزل بعضها من أبواغ الفطريات (Bilgrami & Verma,1980).

3. السيطرة الأيضية: يمكن ان تسهم السيطرة الأيضية على سكون البوغ من خلال فقدان مادة معينة أو عدم نشاط إنزيمات ونشاط إنزيمات أخرى. فقد لوحظ إرتفاع نسبة إنبات الأبواغ في العديد من الفطريات عند إضافة مواد غذائية أو منشطة. كما لوحظ زيادة في نسبة إنبات الأبواغ الكيسية السابتة للفطر *Neurospora crassa* مع زيادة معدل الإنتاج اللاهوائي لثاني أوكسيد الكاربون

وفقدان أو إنخفاض نشا ط الإنزيم Pyruvic carboxylase. كما تترافق زيادة نسبة الإنبات بتحطيم المادة المثبطة للأنزيم المحلل لسكر تريهالوز.

وبينت الدراسات حاجة أبواغ الفطر *Rhizopus suinus* في الإنبات الى مادة ميزوأينوسيتول التي لا يحتاجها لغرض النمو. كما سجلت حالات تبين حاجة أبواغ بعض الفطريات الى مواد مثل نياسيناميد وL- برولين و L- الآنين من أجل الإنبات(Bilgrami & Verma,1980).

ذكر Bagga & Straney (2000) أن تحفيز مركبات Flvonoids لإنبات الكونيدات الكبيرة للفطر *Nectria haematococca* (الطور الناقص *Fusarium solani*) يتم عبر تحفيز زيادة تركيز cAMP ومن خلال تثبيط الإنزيم cAMP phosphodiesterase. وبين تثبيط هذا الإنزيم بواسطة عشرة مركبات فلافينويدية أهمها كان Naringenin الذي كان أكبر محفز لإنبات الأبواغ وأقوى مثبط لهذا الإنزيم.

السكون الخارجي العوامل

يمكن ان تلعب عوامل البيئة مثل درجة الحرارة والـ pH والرطوبة ونسبة O_2 /CO_2 ووجود مواد كيميائية مثبطة دورا في إيقاف إنبات الأبواغ. يمكن ان تلعب الأحياء الدقيقة في التربة دورا في إنتاج المواد المضادة لإنبات الأبواغ.

كما تنتج بعض النباتات المقاومة للأصابات الفطرية مواد فينولية وغيرها تثبط إنبات الأبواغ سواء من قبل الأجزاء الهوائية أو الجذور.

العوامل الخارجية المؤثرة في إنبات الأبواغ:

الماء: يعتبر توفر الماء الحر أو الرطوبة النسبية مفتاح عملية الإنبات لأبواغ الفطريات. العديد من الفطريات تحتاج الى وجود الماء الحر كشرط لإنبات أبواغها أو لتحقيق نسبة إنبات عالية كما هو الحال في أنواع *Phytophthora* وفطريات

Peronosporales الأخرى والفطريات الكيسية *Sclerotinia fructigena* و*Venturia inaequalis* وفطر *Alternaria solani*. لكن كونيدات فطريات البياض الدقيقي *Erysiphales* يثبط إنباتها بوجود الماء الحر بسبب إحتوائها على نسبة عالية من الماء أو ربما بسبب قلة الأوكسجين. وتتمكن الأبواغ اليوريدية لعدد من أنواع فطريات الصدأ *Puccinia* من الإنبات في جو من الرطوبة النسبية 100 %.

تركيز الأوكسجين: تنبت الأبواغ في قطرات الماء الصغيرة افضل من القطرات الكبيرة أو المحاليل العميقة ويعزى السبب الى قلة الأوكسجين في الحالات الأخيرة. ومع حاجة الأبواغ للأوكسجين كي تنبت فإن التركيز المطلوب من الأوكسجين يكون منخفضا.

وهكذا تنبت أبواغ الفطر *Botrytis* في جو يحتوي على 1 % أوكسجين علما انها تتحمل تركيز يصل الى 80 %. وتنبت أبواغ *Mucor* في تركيز أوكسجين منخفض بحدود 0.003 %.

تركيز ثاني أوكسيد الكاربون: إن ثاني أوكسيد الكاربون بتركيز 10 % يخفض إنبات أبواغ العديد من الفطريات بينما بتركيز 30 % يثبط الإنبات، علما ان سمية الغاز تقل بوجود العناصر الغذائية في محلول الإنبات. ويتأثر طول إنبوب الإنبات للأبواغ اليوريدية بتركيز 1 % ثاني أوكسيد الكاربون. على العكس من ذلك لاتنبت أبواغ الفطر *Aspergillus niger* بالغياب التام لغاز ثاني أوكسيد الكاربون. ويحفز إنبات الأبواغ الكلاميدية للفطر *Ustilago zeae* في تركيز 15 % CO_2.

درجة الحرارة: تستجيب عملية إنبات الأبواغ لتأثير درجة الحرارة كإستجابة النمو أو العمليات الأيضية الأخرى حيث تكون درجات الحرارة الصغرى مباشرة بعد درجة الإنجماد والمثلى في مدى 20 الى 25 مْ والقصوى بين 30 الى 35 مْ. ويلاحظ ان المدى الحراري لإنبات أبواغ فطريات *Peronosporales* يكون

منخفضا بينما لإنبات أبواغ الفطريات الكيسية يكون مرتفعا. ويمكن ان يكون ثمة إختلاف بين منحنى نسبة إنبات الأبواغ ومنحنى طول إنبوب الإنبات. وهذا ربما يعكس تأثير درجات الحرارة على طورين في عملية الإنبات: طور فيزيائي يتمثل بإمتصاص الماء والثاني كيميائي يتمثل بالنشاط الإنزيمي. ويمكن ان تؤثر درجات الحرارة على طبيعة إنبات بعض الأنواع بشكل أبواغ متحركة أو كونيدات.

الضوء: عموما يمكن ان تنبت الأبواغ في ضوء النهار أو الظلمة. بعض الأنواع من الفطريات يحفز إنبات أبواغها بواسطة الضوء. حيث تكون أبواغ فطريات البياض الزغبي أبواغ متحركة بوجود الضوء بينما لاتنبت أو تعطي نسبة قليلة من أنابيب الإنبات بغياب الضوء. وهناك فطريات أخرى مثل *Phragmidium mucronatum* تنخفض نسبة إنبات أبواغها بواسطة الضوء.

ويعتقد أن الضوء الأزرق والأشعة فوق البنفسجية تكون ذات تأثير سلبي أو مؤذي لإنبات الأبواغ. كما أن ذلك مرتبط بلون الأبواغ نفسها. إن وجود صبغة الميلانين التي تكسب الأبواغ اللون الداكن تقلل من التأثير السلبي للضوء كما يتوضح في الأبواغ اليوريدية لفطريات الصدأ.

تأثير العناصر الغذائية

يمكن لأبواغ معظم الفطريات ان تنبت في الماء المقطر، لكن نسبة الإنبات يمكن ان تزيد كثيرا بتأثير وجود بعض العناصر الغذائية في وسط الإنبات.

إن الفركتوز والسكروز يمكن ان تشجع إنبات أبواغ بعض الفطريات بينما تخفض النسبة بوجود الكلوكوز والمالتوز. كما أن نترات البوتواسيوم والكالسيوم تشجع الإنبات بينما تخفضه نترات الصوديم. ويمكن أن يكون وجود مستخلص الأجزاء النباتية مشجعا للفطريات الممرضة لتلك الأجزاء كما هو الحال في الفطريات المعفنة للأخشاب. إن إستخدام عصير البرتقال بنسبة 4 % يزيد كثيرا

من نسبة إنبات العديد من الفطريات. ويمكن ان يرجع ذلك لأحتوائه على السكريات والفيتامينات والأملاح. ويمكن الحصول على نتائج مماثلة بإستخدام عصير العنب.

وجود المواد والأحياء الدقيقة المثبطة كما تنتج سطوح النباتات مواد مشجعة لإنبات الأبواغ فإن العديد منها تكوّن مواد مثبطة لإنبات الأبواغ، وربما ينتج سطح النبات مادة مشجعة للإنبات بتركيز منخفض لكنها تصبح مثبطة بتراكيز مرتفعة.

تحتوي أغلفة أبواغ بعض الفطريات على مواد مثبطة ذاتية لإنبات الأبواغ تصبح فعالة عندما تصل الى تراكيز معينة. وهذا يتحقق في التجمعات أو التراكيز العالية من الأبواغ، ولهذا الأمر أنواع بيئية في نشر الفطر كما سبق ذكره.

إن العديد من مبيدات الفطريات تركز على تثبيط إنبات الأبواغ حتى تكون ذات فاعلية اكبر في مكافحة المرض. كما ان لوجود الأحياء الدقيقة في وسط الإنبات كما يحصل على سطوح النبات في الظروف الطبيعية تأثير سلبي في الغالب على إنبات أبواغ بعض الفطريات. فعلى سطوح النبات توجد كثافات مختلفة من أنواع البكتريا والخمائر والفطريات، وهذه يمكن ان تنتج مواد مثبطة أو تنافس على المواد الغذائية المحدودة.

الفصل العاشر Chapter 10

الأيض الأولي والثانوي للفطريات والتقنية الحيوية الفطرية

Primary and Secondary Metabbolism of Fungi and Fungal Biotechnology

الأيض الأولي أو الأساسي يشمل جميع التفاعلات الكيموحيوية في الخلايا والتي تؤدي الى إنتاج الطاقة والمواد الوظيفية والمواد المكونة لجسم الخلية والفطر وينتج عنه أيضات اساسية للنمو والتكاثر كالأحماض النووية والبروتينات بضمنها الإنزيمات والمرافقات الإنزيمية والأحماض الأمينية والأحماض العضوية والسكريات بأنواعها والشحوم والأحماض الدهنية وبعض الكحولات والفيتامينات والهرمونات وغيرها. نموذجيا، يترافق الأيض الأولي مع مرحلة النمو السريع في منحنى نمو الفطر ويبلغ ذروته قرب نهاية هذه المرحلة. لكن حتى بعد بلوغ الفطر لمرحلة الثبات في منحنى النمو يمكن ان يستمر الفطر في تكوين الأيضات الأولية. هذا يشمل الإنزيمات والدهون والكحول والأحماض العضوية حيث يمكن أن يستمر في تكوينها بغزارة. وحيث ان المسارات الأيضية المسؤولة عن إنتاج هكذا مواد واسعة الإنتشار ضمن مملكة الفطريات، فإن العثور على الأنواع الفطرية المنتجة لمثل هذه المواد تكون سهلة الإكتشاف(Murphy & Horgan. 2005).

وحسب (Fox & Howlett,2008) فإن الأيض الثانوي يشمل مركبات قليلة الوزن الجزيئي ليست ضرورية للنمو والتكشف، لكنها تنتج تكيفا مع وظائف معينة في الطبيعة.

يتم الأيض الثانوي في خلايا إعتيادية لاتعاني إنقسام، وهكذا فإن الأيض الثانوي يحصل في وقت متاخر من النمو وبعد توقف التكاثر الخلوي وهو يحصل في طور الثبات (Stationary Phase) من منحنى النمو(Bilgrami & Verma,1980)، ويكون مترافقا مع تكوين الأبواغ (Hicks *et al.*,1997). إن الظهور المبكر لبعض الأيضات الثانوية يعني أنها أنتجت من خلايا إستكملت نشاطات الأيض الأساسي أو الأولي.

وحسب Bilgrami & Verma(1980) يعتقد ان الأيضات الثانوية قد تؤدي الوظائف التالية:

وظائف عامة ووظائف خاصة بعضها يؤثر في الكائن المنتج نفسه ووظائف متخصصة تؤثر في الكائنات الحية الأخرى.

أ – الوظائف العامة

1 – تعمل بإعتبارها نواتج عرضية للأيض الخلوي.

2 – تعمل كمواد خازنة.

3 – نواتج تحلل للجزيئات الخلوية الضخمة.

4 – كصمامات أمان لتحويل مصادر جد واطئة الوزن الجزيئي تراكمها يكون ضارا الى منتجات غير ضارة.

وبعد ان يقلل من أهمية الوظائف الثلاثة الأولى، يبين تركيز عدد من الباحثين على الوظيفة الرابعة. حيث ان الأيضات الثانوية لاتتراكم سواء في طور النمو أو طور الثبات المتأخر، وان الكثير منها يطرح الى الخارج ولايعاني مزيدا من

التأبيض في الخلية المنتجة، كما أنها تخلق من جديد (*de novo*) بعد توقف عمليات التخليق الحيوية الأولية.

وحسب الوظيفة الرابعة فإن الأيضات بذاتها لا تكون مهمة للكائن المنتج لكن العملية الأيضية الثانوية هي الأهم. فمع نهاية أطوار النمو النشطة تتراكم العديد من المواد مثل الخلات والمالونات والبايروفات واحماض أمينية معينة أو نيوكليدات بيورينية رغم وسائل السيطرة الأيضية الفعالة.

ب – وظائف خاصة تؤثر في الخلايا المنتجة إن بعض المضادات الحيوية التي تنتجها الخلايا يمكن ان أن تكون ضارة بها وكذلك بعض السموم مثل البريكولارين الذي ينتجه الفطر *Pyricularia oryzae* للتأثير على عائله نبات الرز يكون أكثر سمية للفطر نفسه لولا إنتاجه لبروتين يقوم بتثبيط الجزء السام بالفطر.

وتنتج بعض الفطريات بوليمرات شبيهة باللكنين في الأجسام الثمرية وبوليمرات البيريلين كينون في الثمار الكيسية تعمل كمواد بنائية.

ج – وظائف متخصصة تؤثر في كائنات حية أخرى يمكن ان تعمل المضادات الحيوية والسموم التي تنتجها الفطريات في البيئة دورا في المنافسة البيئية مع الكائنات الحية الأخرى، لكنه يقلل من أهميتها في الأوساط الطبيعية. غير أن الباحثان (Fox & Howlett,2008) وغيرهما يؤكدان اهميتها في المنافسة البيئية.

أما Calvo *et al.*(2002) فإنه يربط الأيض الثانوي بتكشف الفطر ويبين دوره في عملية تكوين الأبواغ ويربط بين تكوين الأيضات الثانوية مثل السموم الفطرية والصبغات بعملية التكاثر والتآثر مع الأحياء الأخرى مبررا إنتاجها بما تقدمه من فوائد للفطر المنتج.

ومما يعزز هذا التوجه هو أن كل من الأيض الثانوي والتكاثر اللاجنسي في الفطر *Aspergillus nidulans* محكوم بمسلك منظمات بروتينات G.

وثمة إعتقاد بأن الأبضات الثانوية يمكن ان تلعب دورا في عملية تكوين الأبواغ. فالفطر *Fusarium graminearum* يكوّن سم فطري أستروجيني هو الزيرالينون الذي يشجع تكوين الأجسام الثمرية الدورقية (Perithecia)، وأن إضافة Dichloros الذي يثبط تخليق الزيرالينون يوقف تكوين هذه الأجسام الثمرية في الفطر. بعض الأبضات الثانوية تؤدي دور في ضراوة (Virulence) الفطريات الممرضة كما في حالة الفطر *Colletotrichum lagenarium* حيث يترافق تخليق الميلانين مع تكوين العضو اللاصق الذي هو ضروري في إحداث الإصابة(Takano *et al.*,2000). يظهر الجدول10.1 بعض من هذه العلائق.

وحسب Calvo *et al.*(2002) فإن تخليق الأبضات الثانوية عملية معقدة بسبب: (1) تأثير العوامل الخارجية والداخلية على إنتاجها، (2) إشتراك العديد من الإنزيمات المتتابعة في التفاعلات المطلوبة لتحويل الوحدات البنائية من الأبض الأولي الى منتجات أبض ثانوي، (3) التنظيم المحكم لجينات الإنزيمات المسؤولة عن إنتاج الأبضات الثانوية بواسطة واحد أو اكثر من منشطات النسخ، (4) العلاقة الوثيقة بين تخليق الأبضات الثانوية والأبض الأولي و(5) العلاقة الوثيقة بين الأبضات الثانوية وتكوين الأبواغ.

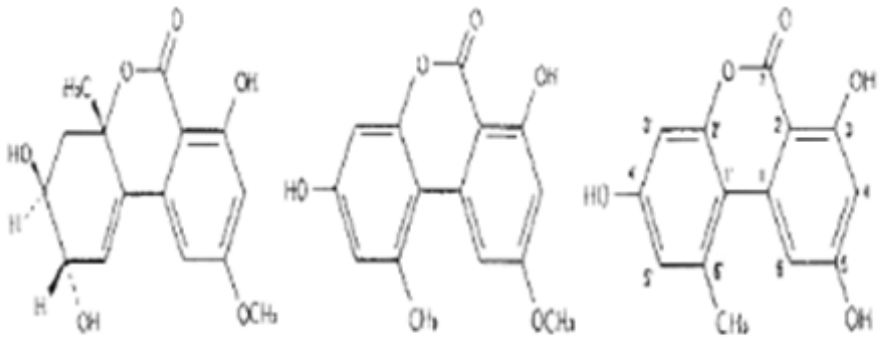
إن الجينات المسؤولة عن تخليق بعض الأبضات الثانوية متجمعة وهذا بحد ذاته يؤشر الى فوائد هذه المنتجات لحياتية الفطر(Fox & Howlett,2008). يعتقد الباحثون أن للسموم الفطرية مثل الأفلاتوكسين والمضادات الحيوية مثل البنسلين أدوارا مختلفة تخدم الفطر المنتج، علما أنهما وإن كان تخليقهما يتم من قبل المسلك الإشاري بروتين G إلا أنه ينظمهما على نحو متعاكس وهذا يتماشى أيضا مع التأثير المتعاكس الذي تظهره الـpH عليهما (البنسيلين تلائمه الـpH القاعدية بينما تلائم مصدر الأفلاتوكسين Sterigmatocystin الـ pH الحامضية).

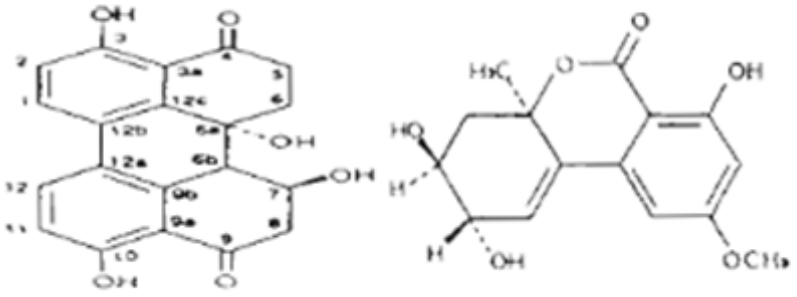
للتغلب على مشكلة إصابة نباتات فستق الحقل بفطريات *Aspergillus* المنتجة للسموم أجريت البحوث بهدف إنتاج أصناف مقاومة (Waliyar *et al.*,1994؛ Anderson *et al.*,1995).

ألترناريول وسموم الفطر *Alternaria*

(Alternariol and *Alternaria* Toxins)

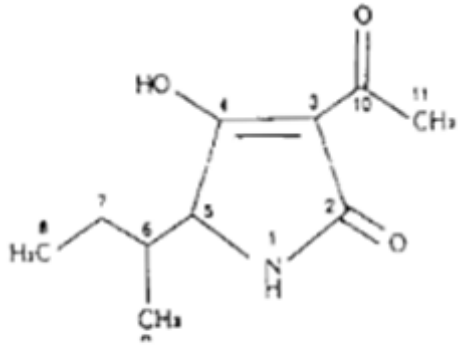
يضم الجنس *Alternaria* أنواع مختلفة واسعة الأنتشار في البيئة بعضها يسبب أمراضا نباتية على الأوراق أو الثمار أو المنتجات النباتية خاصة الزيتية. من اهم الأنواع المنتجة للسموم الفطرية هذه هو الفطر *A. ▯awaii▯ia* الذي ينتج مجموعة من السموم اهمها Alternariol وAltenuene وAltertoxin وTenuazonic acid. تسبب هذه السموم تداعيات صحية في الحيوانات والإنسان وبعضها يظهر نشاطا مضادا للبكتريا وقدرة تطفيرية في الخلايا.



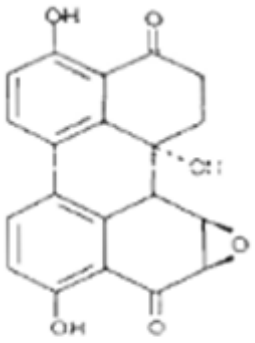


ATX-I

ISOALTENUENE



TENUAZONIC ACID



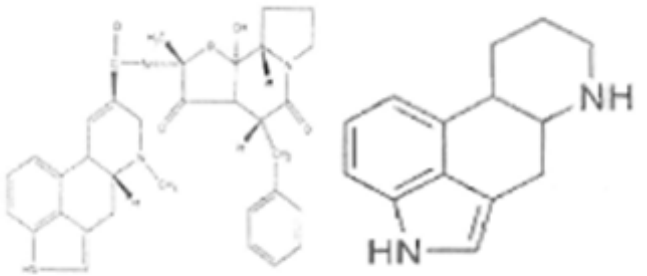
ATX-II

القلويدات الأركوتية (Ergot Alkaloids)

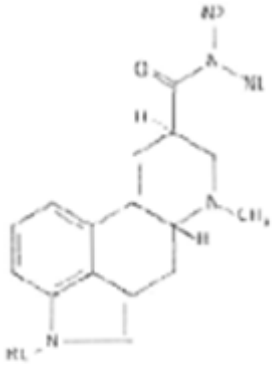
تنتج هذه المركبات في الأجسام الحجرية التي يكونها الفطر *Claviceps purpurea* في سنابل القمح وغيره من المحاصيل الحقلية. وتشمل القلويدات الأركوتية قلويدات إندولية مشتقة من حلقة أركولين(Ergoline) رباعية.

ثمة ثلاث مجاميع رئيسة من مشتقات الأركولين هي أميدات Lysergic acid الذائبة في الماء والقلويدات Ergopeptide غير الذائبة في الماء ومجموعة الكلافين (Clavine). إن تناول الخبز المصنوع من الدقيق الملوث بالأجسام الحجرية للفطر سبب تسممات مسجلة منذ اقدم العصور ولازالت تسبب أمراضا في الحيوانات التي تاكل أعلاف تحتوي على الأجسام الحجرية لهذا الفطر. كما تستخدم بعض مشتقاته كمخدرات.

مع ذلك، أستخدمت هذه المركبات في صناعة العديد من الأدوية مثل معجلات الولادة (Oxitocics) وأدوية معالجة مرض الشقيقة (Migraine) والشلل الأرتعاشي (مرض Parkinson) والأمراض النفسية وغيرها.



ergolin Ergotamine



في الجدول 10.2 عدد من المركبات الأركوتية مشتقة من الجزيئة اعلاه.

جدول 10.2: أنواع القلويدات المتكونة من المعوضات R1 و N1 و N2 في الجزيئة

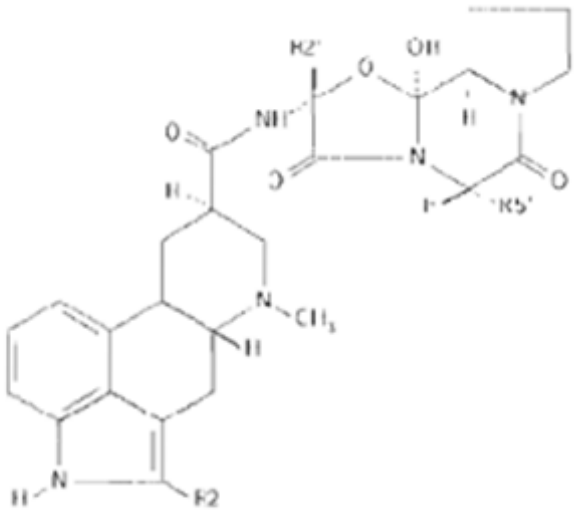
الأسم	R1	N1	N2
Ergine			
Ergonovine		$CH(CH_3)CH_2OH$	
Methergine		$CH(CH_2CH_3)CH_2OH$	
methysergide	CH_3	$CH(CH_2CH_3)CH_2OH$	
LSD		CH_2CH_3	CH_2CH_3

عن: (Wikipedia,2006a)

جدول 10.3: أنواع القلويدات المتكونة من المعوضات R2 و'R2 و'R5 في الجزيئة أدناه.

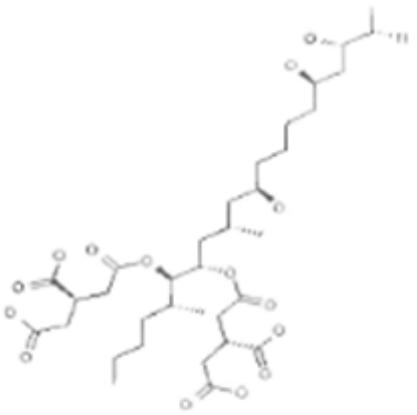
الأسم	R2	R2'	R5'
Ergotamine		CH_3	benzyl
Ergocristine		$CH(CH_3)_2$	benzyl
Ergocornine		$CH(CH_3)_2$	$CH(CH_3)_2$
Ergocryptine		$CH(CH_3)_2$	$CH_2CH(CH_3)_2$
Bromocriptine	Br	$CH(CH_3)_2$	$CH_2CH(CH_3)_2$
Ergovaline		CH_3	$CH(CH_3)_2$

عن: (Wikipedia,2006a)

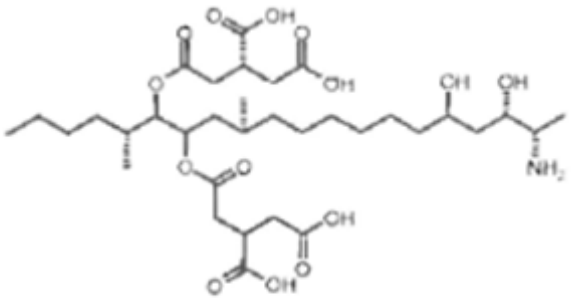


الفيومونيسينات (Fumonisins)

أكتشفت هذه السموم لأول مرة سنة 1988 في أفريقيا الجنوبية(Marasas,2001). تنتج هذه السموم من قبل عدد من أنواع الفطر *Fusarium* خاصة *F. verticillioides*, الذي يتصاحب مع نبات الذرة ويمكن ان يسبب له عدد من الأمراض و *F. proliferatum* و *F. nygamai* وكذلك الفطر *Alternaria* ▯ *nserine*▯. تتكون هذه المركبات السامة من خلال تفاعلات تكثيفية للحامض الأميني الأنين لإنتاج مصدر مشتق من الخلات.



تركيب الجزيئة Fumonisin B1

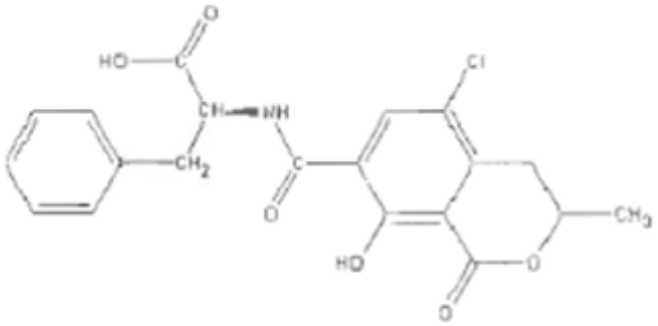


تركيب الجزيئة Fumonisin B2

تسبب هذه السموم أمراضا في عدد من أنواع الحيوانات ويمكن ان تسبب سرطان المريء في الإنسان. تم عزل وتشخيص أكثر من 10 مركبات ومن بين اهم الفيومونيسينات وأكثرها سمية هو السم fumonisin B1(FB1) أضافة الى (B2(FB2 و(B3 FB3) (Theil *et al.*,1992 Musser & Plattner,1997;).

أوكراتوكسين (Ochratoxin)

اشتق اسم هذا السم من اسم الفطر الذي عزل منه أول مرة وهو الفطر *Aspergillus ochraceus*. وتم التعرف على مجموعة من الأوكراتوكسينات في عدد من أنواع *Aspergillus* منها*A. Alliaceus* و*A. auricomus* و *A. glaucus* و*A. niger* وغيرها.



تركيب جزيئة أسم Ochratoxin A

كما تم عزله من الفطر *Penicillium verrucosum* و*P. viridicatum* (Wong,2003).

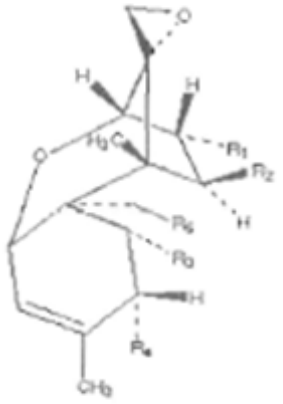
السم Ochratoxin A يعتبر سم كلوي فعال في الإنسان والحيوانات كما أن لهذه المركبات فعاليات سمية أخرى بمافيها السمية ضد الكبد واستثارة السرطان وغيرها. وتعتبر بمستوى أنواع الأفلاتوكسينات التي تنتجها فطريات *Aspergillus*.

بين (Bayman *et al.*,2002) أن الفطر *A. alliaceus* كان منتجا فعالاً للسم Ochratoxin A بينما كان إنتاج فطريات *A. ochraceus* و*A. melleus* للسم ضعيفة.

التراكوثيسينات (Trichothecenes)

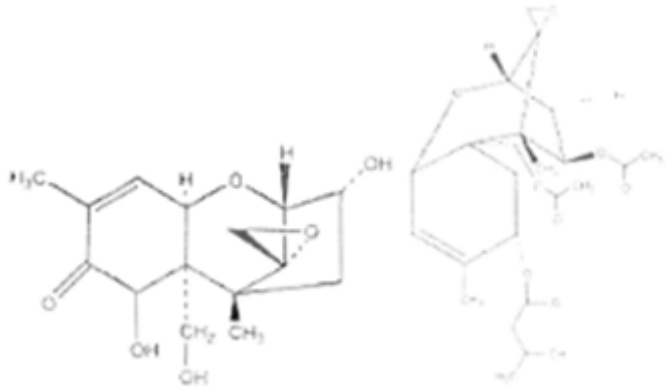
التراكوثيسينات تكوّن مجموعة من السموم تضم اكثر من 60 مركبا تتكون من هيكل 12,13-Epoxytrichothene وفيها آصرة أوليفينية مزدوجة وجذور معوضة عديدة. تنتج هذه المجموعة من السموم من قبل عدد من أنواع الفطريات تعود لأجناس مختلفة منها *Fusarium* و*Trichoderma* و*Trichothecium* و*Phomopsis* و*Myrothecium* و*Stachybotrys*، وتعتبر أنواع *Fusarium* أكثرها نشاطا في إنتاج هذه السموم.

تنتج الفطريات هذه السموم عند نموها على الأغذية والأعلاف ويؤدي إستهلاكها الى نزيف معوي وتقيؤ. من بين هذه السموم السم T-2 وHT2 وDAS وDeoxynivalenol السم الفطري الواسع التواجد في الحبوب الملوثة وTrichodermin.



جزيئة 12,13-Epoxytrichothene وتظهر المجاميع التعويضية R1... R5 التي تنتج الترايكوثيسينات المختلفة تعتبر الترايكوثيسينات مثبطات فعالة لتخليق البروتينات في الأحياء الحقيقية النواة. وحظيت لأهميتها بأهتمام باحثين عديدين(; Beremand & El-Sharkawy & Abbas,1991 Demain,1981 .(McCormick,1992 ;

أجريت العديد من البحوث لإيجاد طرق فيزيائية وكيميائية وبيولوجية للتخلص من هذه السموم (Hamilton & Thompson,1992; Cameron & Colivin ; .(Sharif *et al.*,2003a,b *al.*,1989

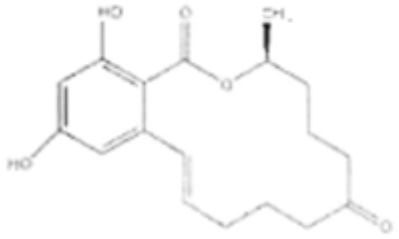


السم T-2 السم Deoxynivalenol

الزيرالينون (Zearalenones)

يخلق الزيرالينون من قبل فطريات *Fusarium graminearum* و *F. culmorum* و *F. equiseti* و *F. crookwellense* وهي فطريات مصاحبة للحبوب. أنه ذو فعالية بيولوجية عالية لكن تأثيره السمي ضعيف (Bennett & .(Klich,2003

الزيرالينون ذو تأثير هرموني إستروجيني، في التراكيز الواطئة يزيد من حجم أو يبكر نضوج الغدد اللبنية والأعضاء الجنسية. أما في التراكيز العالية فإنه يتداخل مع الحمل وتكوين البيوض وتطور الجنين وحيوية الحيوانات حديثة الولادة.

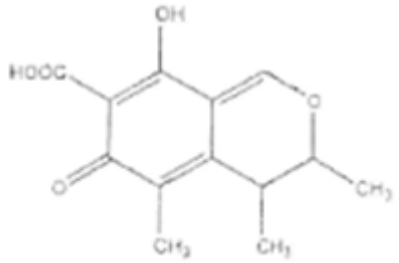


Zearalenone

سم سترنين (Citrinin)

تم عزل السترينين لأول مرة من الفطر *Penicillium citrinum*، بعدها تم عزله من دزينة من فطريات *Penicillium* أخرى وعدد من أنواع *Aspergillus* مثل *A. terreus* و *A. oryzae* وبعض سلالات الفطر المستخدم في صناعة الجبن *Penicillium camemberti* كما تم عزله من الفطر *Monoascus ruber* وكذلك *M. purpureus* الفطر المنتج للصبغات الحمراء.

يسبب هذا السم في الحيوانات تسمم كلوي وسميته للإنسان غير معروفة .(Bennett & Klich,2003)



Citrinin سم سترنين

سم Gleotoxin وسموم (ETPs)

Epipolythiodioxopiperazines

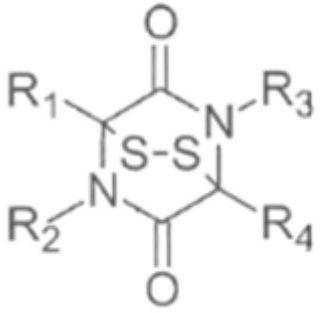
إن سم كليوتوكسين من السموم المعروفة جيدا ضمن مجموعة سموم (ETPs) Epipolythiodioxopiperazines والتي تنتج من قبل أنواع مختلفة من الفطريات. وهو أول سم أكتشف في هذه المجموعة وأشتق أسمه من الفطر المنتج له أول مرة *Gliocladium fimbriatum* الذي ربما يكون أحد أنواع *Trichoderma*.

يرتبط سم كليوتوكسين بضراوة الفطر *Aspergillus fumigatus* المسبب لمرض الرشاشيات (Aspergillosis) الفعال في المرضى المنخفضي المناعة.

تتميز جزيئة هذا السم بوجود الأصرة الثنائية الكبريت الداخلية وحلقة Diketopiperazine التي تشتق من ببتيد ثنائي حلقي.

ترجع سمية سموم (ETPs) الى وجود الأصرة الثنائية الكبريت (Disulphide bridge) S—S التي يمكن ان تثبط البروتينات من خلال تفاعلها مع مجاميع الثيول والى تحرير أنواع من الأوكسجين الفعالة عن طريق تفاعلات الأكسدة – الإختزال.

إن السم مخفض للمناعة ويسبب الإستماتة (Apoptotic Death) والموت النخري للخلايا خارج الجسم الحي. وقد أستقطبت سمية هذا السم إهتمام العلماء لإستخدامه في علاج السرطان.



سم Gleotoxin

تنتج سموم (ETPs) من قبل فطريات كيسية خيطية مختلفة ممثلة في 14 جنسا تعود الى 5 أصناف هي *Dothideomycetes* و*Eurotiomycetes* و*Lecanoromycetes* و*Saccharomycetes* و*Sordariomycetes*. وهناك أثنين من الفطريات البازيدية على الأقل هما *Stereum hirsutum* و*Hyalodendron* sp. ينتجان نوعين من هذه السموم. وهكذا فإن الفطريات المنتجة غير مترابطة تصنيفيا وإن سلوك الأنواع المتقاربة غير متشابه في إنتاج السم(Gardiner *et al*.,2005).

السموم الفطرية في الأجسام الثمرية

ثمة عدد من السموم الفطرية تنتج في الأجسام الثمرية لعدد من الفطريات البازيدية أو الكيسية وتناولها يسبب حالات تسمم خطيرة قد يؤدي بعضها الى الوفاة.

سموم الأمانيتين (Amanitins)

وهي ببتيدات حلقية (Cyclopeptides) تكون على نوعين: الأماتوكسينات Amatoxins (أمانيتين Amanitins) وتتألف الجزيئة من 8 احماض أمينية والفالوتوكسينات Phallotoxins (فالويدين Phalloidins) حيث تتألف الجزيئة من 7 احماض أمينية.

عند حقن هذه السموم في الفار فإن الفالوتوكسينات تكون قاتلة بعشرة أمثال سم السيانيد حيث ان الجرعة القاتلة 50 % (LD50) لها تساوي 2 ملغم/ كغم. لكنها عندما تؤخذ عن طريق الفم لايكون لها تأثير ربما بسبب تعطيلها أو تكسيرها بالإفرازات الهضمية أو انها لا تمتص من قبل القناة الهضمية. على عكس ذلك سموم الأمانوكسينات تكون أكثر فتكا حيث أنها سامة عندما تؤكل (LD50 = 0.1 ملغم / كغم).

يرتبط السم α – amanitin بالإنزيم RNA-polymerase II في نواة الخلية وهو المسؤول عن ترجمة الـ DNA لتكوين mRNA مؤديا الى تثبيطه وبالتالي إيقاف تكوين البروتينات وموت الخلية. ومن الخلايا السريعة التأثر بالسم الخلايا المبطنة للأمعاء وخلايا الكبد والكلى وبالتالي تأثر الكائن الحي بشكل خطير.

لايوجد ترياق مضاد للسم كما ان الأعراض لا تظهر إلا بعد حصول تخريب كبير للخلايا مما يجعله من اخطر أنواع السموم الصعبة العلاج.

وللكشف السريع عن وجود الأمانوكسينات في الفطر، يستخدم كشف Meixner حيث تعصر قطعة من نسيج الفطر لتقطر على دائرة معلمة من ورق جريدة. تترك لتجف ربما بمساعدة مجفف الشعر ثم تضاف قطرة من محلول حامض الهيدروكلوريك (HCl) المركزالى البقعة. إن ظهور لون ازرق على فترة 20 دقيقة يشير الى وجود السم، وإذا وجد بتركيز عالي يظهر اللون خلال 1 – 2 دقيقة. يجب ان تكون الجريدة مستعملة حيث ان التفاعل يعتمد على وجود اللكنين. لكن النتيجة السالبة لا تؤكد ان الفطر صالح للأكل حيث انه ربما يحتوي على سموم أخرى. عند تناول فطر يحتوي على هذا السم، تمر عملية التسمم باربعة مراحل:

1. فترة كمون من 6 – 24 ساعة وعلى الأغلب 10 – 14 ساعة غير أعراضية.

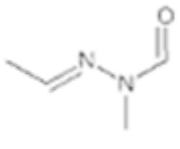
2. تقيؤ عنيف وإسهال وأوجاع في البطن تستمر ليوم واحد أو نحو ذلك.

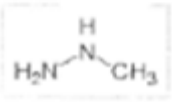
3. فترة قصيرة خادعة تخف فيها الأعراض.

4. إنهيار وظائف الكلى والكبد والتأثيرات الثانوية على القلب والدماغ مؤدية الى الغيبوبة والموت(Kendrick,2002 CPCS,2000 ;).

ثمة عدد قليل نسبيا من أنواع *Amanita* وأجناس الفطر الأخرى تحتوي على كميات مهمة من هذا السم منها *Galerina autumnalis*.

سموم Monomethylhydrazine



إن مصدر السم هو Gyromitrin $C_4H_8N_2O$ وعند تحلله المائي يصبح Monomethylhydrazine (MMH)  والذي يستخدم كوقود للصواريخ وهو سام جدا. يوجد هذا السم في المورياات الزائفة *Gyromitra* خصوصا *G. esculenta* المشابه مظهريا لفطر المورييل المأكول المحبب *Morchella esculenta*. إن جميع المورياات الزائفة سامة عندما تؤكل نيئة أو مطبوخة بالغلي أو التقلية وحتى بخار الطبخ يكون ساما.

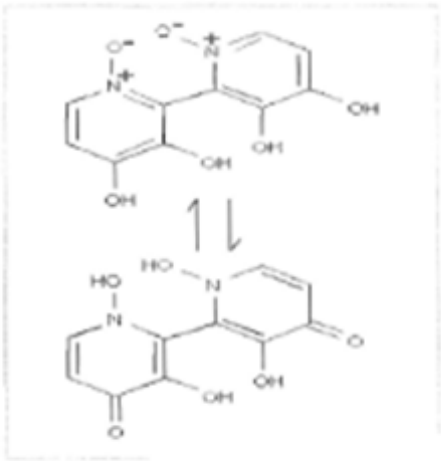
يبدو ان السم يؤثر فقط عندما يصل في الجسم الى تركيز معين بينما لا يؤثر في التراكيز الأقل القريبة (أي تأثير نعم أو لا) وهذا يفسر عدم تسمم اشخاص يأكلون الفطر عدة مرات ولكن تأثير السم يتوضح عندما ياكل الشخص كمية معينة يصبح السم فيها بتركيز مؤثر. تظهر الأعراض بعد 2 – 12 ساعة (نموذجيا 6 – 8 ساعات) حيث يبدأ شعور بالإنتفاخ يتبع بغثيان وتقيؤ وإسهال وتشنجات بطنية وإغماء وفقدان السيطرة على العضلات والحرارة. وفي الحالات الشديدة، اليرقان والتشنج والغيبوبة وقد يحصل الموت بعد 2 – 7 أيام.

سموم Orellanine

سموم Orellanine هي (3,3',4,4'-tetrahydroxy-2,2'-bipyridine-1,1'-dioxide) ويمكن ان يكون سم Orelline هو ناتج سمي عن الـ Orellanine.

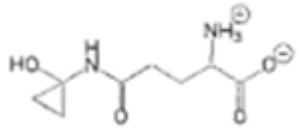
من سموم الكلى المتعددة البيتيد الأخرى الموجودة في الفطريات السامة Cortinarin A و Cortinarin B و Cortinarin C(Brozen,2005).

إن الـ LD50 (قطط) لهذا السم 4.9 ملغم / كغم، و إن 100 – 200 غم من الفطر *Cortinarius rainierensis* كافية لإفشال الكلى نهائيا.



الأعراض الأولية تتمثل بالضمأ الشديد مصحوبا بحرقة وجفاف الحلق. تتبع بالصداع والقشعريرة ووجع البطن والغثيان والتقيؤ. ومع ان التبول يحفز في البداية لكنه سرعان ما ينخفض واحيانا يتوقف نهائيا. وفي الحالات الخطرة يرتفع مستوى نتروجين يوريا الدم نظرا لتاثر الكلى. ووجد السم في فطر ينمو في أوربا هو *C. orellanoides* (Kendrick,2002;CPCS,2000 Brozen,2005;).

سموم Coprine

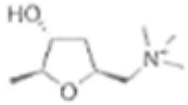


سموم الكوبرين (N5-1-hydroxycyclopropyl-L-glutamine) بذاتها هي سموم أولية غير عالية السمية لكن تاييض السم الى 1-aminocyclopropanol الذي يثبط الإنزيم Aldehyde dehydrogenase وهو المسؤول عن تحويل Acetaldehyde الى Acetic acid هو الذي يكون ساما. يحصل التسمم خلال 5 ايام من تناول الفطر *Coprinus atramentarius* وتناول المشروبات الكحولية حيث تظهر الأعراض بعد 30 – 60 دقيقة من تناولها. تتمثل الأعراض بتدفق الدم في الوجه والرقبة وطعم معدني في الفم والشعور بوخز في الأطراف وخدر في اليدين والخفقان وصداع نابض وغثيان وتقيؤ، لكن التسمم ليس مميتا. والعلاج الضروري الوحيد ربما هو لإضطراب نبضات القلب. تستمر الأعراض طالما ثمة كحول في الجسم – عادة لمدة 2 – 4 ساعات – ثم تشفى فجاة.

إن آلية التسمم تعتمد على كون الكوبرين هو حامض اميني يوقف ايض الكحول الأثيلي في مرحلة أستالدهايد وهكذا فإن التسمم بالكوبرين هو تسمم بالأستالدهايد في الواقع. وإن تأثير الكوبرين مشابه لتأثير العقار Antabuse (Disulfiram) الذي يوصف لمساعدة مدمني الكحول على الأقلاع عن الشرب مع كونهما مختلفين تركيبيا(Kendrick,2002 CPCS,2000 ;).

سموم Muscarine (متلازمة PSL)

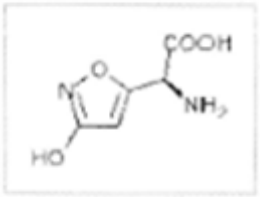
السم هو trimethyl-ammonium -(tetrahydrofuran-2-ylmethyl) -(2*S*,4*R*,5*S*)-(4-hydroxy-5-methyl-.



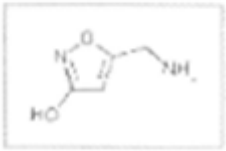
أول إكتشاف له كان في الفطر *Amanita muscaria* ومن هنا أشتق اسمه وهذا الفطر يحتوي على 0.005 % بينما يحصل تأثير السم إذا كان الفطر يحتوي على 0.01 % من السم على الأقل كما هو في أنواع *Inocybe* و*Clitocybe*(Herman & Chyka,2006).

بعد 30 دقيقة الى ساعتين من استهلاكه، يحفز هذا السم الغدد الخارجية الإفراز على زيادة أنتاج العرق واللعاب والدموع باقصى معدل حيث ينشأ ما يعرف بمتلازمة (PSL زيادة التعرق واللعاب والدموع) كما يسبب تقلص البؤبؤ وعشو البصر وتشنج العضلات والإسهال وتباطؤ ضربات القلب وهبوط ضغط الدم. الخطر الوحيد هنا هو إحتمال توقف القلب إذا تم إمتصاص كميات كافية من السم وهي نادرة الحدوث. كذلك في حالة الأشخاص المصابين بأمراض القلب والشرايين(Kendrick,2002 CPCS,2000 ;).

سموم Ibotenic Acid-Muscimol



(α-Amino-2,3-dihydro-2-oxo-5-oxazoleacetic acid) Ibotenic Acid



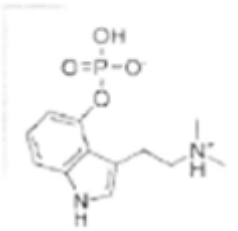
(5-(Aminomethyl)-3(2H)-isoxazolone) Muscimol

يحصل التسمم بعد 30 – 120 دقيقة من إستهلاك الفطر الذي يحتويه. تؤثر هذه السموم على الجهاز العصبي المركزي مسببة أعراض مشابهة للتسمم الكحولي. وتشمل الغثيان والتقيؤ وعدم السيطرة أو القدرة على المشي تتبع بالنوم العميق وتنتهي بعد ساعتين. ولكن عندما تستهلك كميات من الفطر *Amanita muscaria* يحصل إعتلال شديد ثم يحصل الشفاء عادة(; Yong,2005 CPCS,2000).

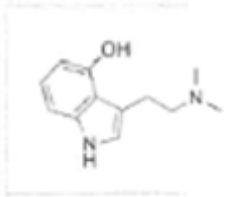
إن الفطر الطري يحتوي على المادة السامة Ibotenic acid التي لها تأثير معين على الجهاز العصبي المركزي غير أن الفطر المجفف يكون اكثر تأثيرا حيث يتحول Ibotenic acid الى Muscimol وهو 5 – 10 مرات أكثر سمية من السم الأول. ويمكن ان يحتفظ الفطر المجفف بتأثيره السام لخمس الى عشر سنوات. ومع

انه لم تسجل حالات وفيات إلا قليلا فإن 10 أجسام ثمرية من الفطر أو اكثر يمكن ان تكون قاتلة(Kendrick,2002).

سموم Psilocybin-Psilocin



Psilocybin السم Psilocybin (4-Phosphoryloxy-N,N- dimethyl-tryptamine)



Psilocin السم Psilocin (4-Hydroxy-N,N-dimethyl-tryptamine).

هذه السموم من المواد المهلوسة. المادة الفعالة فيها هي قلويات إندولية تسمى Psilocybin و Psilocin وهي مشتقات Hydroxyltryptamine مرتبطة بالناقل العصبي Serotonin.

إن معدل الجرعة المؤثرة من Psilocybin هي 4 – 8 ملغم والتي توجد في حوالي 2 غم من الفطر المجفف. أما الكميات الأكبر منه فلها تأثيرات مهلوسة كبيرة جدا، علما أنه من غير المرجح أن يحصل تسمم خطير إلا إذا تم إستهلاك كميات كبيرة جدا. تأثيره على الأطفال يكون سميا حيث تظهر عليهم أعراض الحمى والتشنج (Kendrick,2002; Yong,2005).

السموم المهيجة للمعدة والأمعاء

تضم هذه المجموعة سموم غير مشخصة وتتواجد في عدد غير قليل من أجناس الفطريات، العامل المشترك بينها هو تسببيها لدرجات مختلفة من الإضطرابات في

الجهاز الهضمي خلال 30 – 90 دقيقة من إستهلاك الفطر. وعادة تذهب الأعراض تلقائيا بعد 3 – 4 ساعات والشفاء التام يحصل خلال يوم تقريبا. حالات الوفيات القليلة تحصل في الأفراد المستهلكين لكميات كبيرة من هذه الفطريات أو في الأطفال(CPCS,2000 ; Kendrick,2002; Yong,2005).

السموم الفطرية المؤثرة في النبات (Phytotoxins)

تنتج العديد من الفطريات المسببة لأمراض النبات عددا من السموم التي لها دور في إحداث المرض (Pathotoxins) أو التي ليس لها دور مباشر في ذلك. وهذه السموم يمكن ان تكون عامة التأثير حيث تؤثر فى عدد كبير من أنواع النباتات مثل Tentoxin وهو ببتيد رباعي حلقي يرتبط ببروتين له دور في نقل الطاقة في التركيب الضوئي ويثبطه كما يثبط الفسفرة الضوئية لتحول جزيئات ADP الى ATP. وللسم دور تثبيطي لأنزيم Polyphenol oxidase الذي ينشط في مقاومة النبات للأمراض.

وسموم Am – toxin وAF – toxin التي تنتج من قبل الفطر *Alternaria alternate*. وتنتج فطريات *Alternaria* سموم Alternaric acid وAlternariol وZinniol. وينتج الفطر *Ceratiocystis ulmi* سم Ceratioulmin والفطر *Fusicoccum amygdali* سم Fusicoccin والفطر *Pyricularia oryzae* سم Pyricularin والفطر *Cercospora spp.* سم Cercosporin وينتج الفطر *Fusarium oxysporum* سموم Fusaric acid وLycomarasmin.

هناك سموم خصوصية التأثير حيث تؤثر في نوع واحد أو عدد قليل من الأنواع مثل:

سم Victorin

وهو معقد مكلور لببتيد خماسي شبه حلقي يعمل من خلال تغيير تركيب جدران الخلايا وفقدان الأليكتروليتات وزيادة معدل التنفس وإنخفاض تخليق البروتينات والنمو. ينتج من قبل الفطر *Cochliobolus victoriae* والذي يؤثر في نباتات الشوفان من صنف Victoria أو الأصناف المشتقة منه.

سم T – toxin

وهو عبارة عن سلسلة خطية طويلة من 35 – 45 ذرة كاربون من Polyketoids يؤثر اساسا على الميتاكوندريا من خلال إتحاده مع البروتين URF 13 في الغشاء الداخلي للميتاكوندريا مما يؤدي الى إحداث ثقوب في الغشاء وفقدان الميتاكوندريا لوحدتها ونضوحيتها الطبيعية وبالتالي تخفيض إنتاج جزيئات. ATP

ينتج السم من قبل الفطر *C. heterostrophus* الذي يصيب نباتات الذرة التي تحمل السايتوبلازم المحتوي على الجين Texas Male Sterile ذو الوراثة السايتوبلازمية.

سم HC – toxin

إن آلية عمل هذا السم غير معروفة لكن الوراثة الجزيئية وكيمياء المقاومة للسم معروفة جيدا. حيث يحتوي النبات المقاوم للسم على الجين *Hm1* الذي يشفر لأنزيم HC – toxin reductase وهذا يختزل السم ويعطل تأثيره. وربما لايكون هذا السم هو سما بحد ذاته لكنه يمكن ان يعطل وسائل تنشيط الجين الذي يقود آلية المقاومة. ينتج السم من قبل الفطر *C. carbonum*.

سم Am – toxin

وهو جزيئة Depsipeptide حلقية يسبب إنبعاجات غشاء الخلية ويفقدها الإليكتروليتات ويسبب فقدان سريع للكلوروفيل مما يرجح وجود أكثر من آلية تأثير

واحدة. ينتج السم من قبل الفطر *Alternaria alternata* مسبب مرض لفحة أوراق التفاح.

وثمة العديد من السموم الخصوصية الأخرى منها: HS – toxin و – ACL toxin و ACT – toxin و AL – toxin و AF – toxin و AK – toxin تنتج اغلبها من قبل أنواع *Alternaria*. وكذلك PC – toxin الذي ينتج من قبل *Periconia circinata* و PM – toxin وينتج من قبل *Phyllosticta maydis* و CC – toxin وينتج من قبل الفطر *Corynespora cassicola* وغيرها(Agrios,1997).

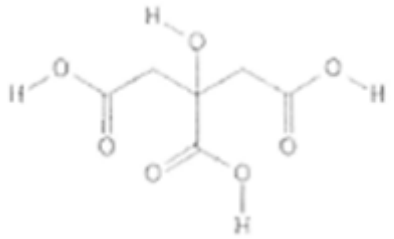
ثانيا – الأحماض العضوية (Organic Acids)

إنتاج الفطريات للأحماض العضوية يمكن أن يكون بدافع الحصول على العناصر المعدنية حيث أن هذه الأحماض تكون أكثر جاهزية في الوسط الحامضي كما أنها يمكن أن تكون عوامل خلابة للعناصر المعدنية. ويمكن ان يكون الدافع هو المنافسة مع الأحياء الأخرى على البيئة كون معظم الفطريات والبكتريا لا تنمو في pH تقل عن 3.

على الرغم من كون الأحماض العضوية تنتج طبيعيا من قبل الخلايا الحية، إلا أن إنتاجها التجاري يقتصر على عدد قليل منها. حامض الستريك والكلوكونيك (Gluconic Acid) وحامض إيتاكونيك (Itaconic Acid) واللاكتيك تنتج على نطاق تجاري واسع.

عموما تستخدم الأحماض العضوية على نطاق تجاري في تنظيف المعادن ومعالجتها وفي الصناعات الغذائية والعلفية كمواد نكهة أو محمضات أو مثبتات أو مواد حافظة أو في الصناعات الدوائية وغيرها(Magnuson & Lasure. 2004).

حامض الستريك (Citric Acid)

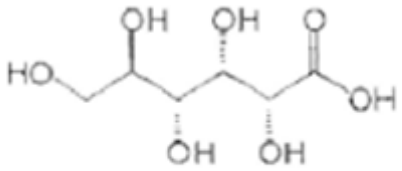


في البداية كان حامض الستريك يستخرج من الليمون، لكن إكتشاف قدرة الفطر *Aspergillus niger* على إنتاج الحامض في سنوات 1920 جعلته المصدر الأساس للإنتاج التجاري لهذا الحامض بنسبة تبلغ 95 %. ينتج 000 400 – 000 500 طن من حامض الستريك سنويا في الوقت الحاضر وهو يمثل اهم المنتجات التخميرية الفطرية.

مسار تكوين حامض الستريك يتضمن التحلل السكري للكلوكوز الى 2 جزيئة بايروفات ومن ثم تحويلهما الى Oxaloacetate و Acetyl-CoA التي تمثل مصدر تكوين حامض الستريك. هذا سيؤدي الى إنتاج 0.7 كغم / كغم سكر. لكن عمليا، الإنتاج يكون اكبر من ذلك من خلال نشاط الإنزيم Pyruvate Carboxylase الذي يقوم بتثبيت CO_2 الى Oxaloacetate. ثمة محاولات مستمرة لمعرفة الجينات وعوامل النسخ المسؤولة عن إنتاج الحامض في خلايا الفطر ومن ثم الحصول على عزلات ذات كفاءة إنتاجية عالية(Prade & Bohnert,2006). الكفاءة الإنتاجية للفطر *Aspergillus niger* في إنتاج حامض الستريك تبلغ 80 %. تستخدم الخميرة *Yarrowia lipolytica* والأنواع القريبة منها أيضا في الإنتاج التجاري للحامض(Magnuson & Lasure,2004).

المواد السكرية المستخدمة في إنتاج حامض الستريك تشمل المولاسات والمواد النشوية والهيدروكاربونات(Murphy & Horgan,2005).

حامض الكلوكونيك (Gluconic Acid)



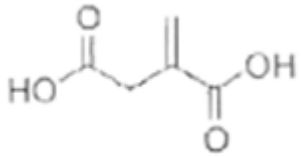
مع أن حامض الكلوكونيك ينتج من قبل البكتريا، أصبح الفطر *Aspergillus niger* المنتج الرئيس لهذا الحامض حيث ينتج بواسطته في الوقت الحاضر حوالي 60 000 طن سنويا.

يحضر الحامض من خلال تنمية الفطر على وسط غني بالسكريات وفي pH مرتفعة حيث ينتج الفطر الإنزيم Glucose Oxidase الذي يحول الكلوكوز الى D-glucono-δ-lactone

و الذي بدوره يحول الى حامض الكلوكونيك بواسطة الإنزيم Lactonase(Prade & Bohnert,2006). تكوين هذا الحامض يتم خارج الخلايا. يمكن إنتاج حامض الكلوكونيك بواسطة إنزيمي Glucose Oxidase و Catalase المستخرجين من الفطر *Aspergillus niger* وبدون وجود الفطر وتكون إنتاجية التحويل 100 %(Magnuson & Lasure,2004).

يستخدم أستر الكلوكونات Quinine Gluconate في علاج مرض الملاريا.

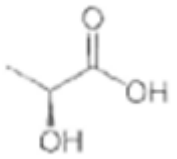
حامض إيتاكونيك (Itaconic Acid)



ينتج هذا الحامض من قبل الفطر *Aspergillus tereus* وبطريقة مشابهة لإنتاج حامض الستريك. يستخدم هذا الحامض في صناعات البوليمر حيث يدخل بنسبة 1 – 5 % في بعض أنواعها. كما يستخدم في صناعة الألياف والمواد اللاصقة

والرابطة.. إنتاج هذا الحامض عالميا بحدود 15 000 طن سنويا(Magnuson & Lasure,2004).

حامض اللاكتيك (Lactic Acid)



الإنتاج الأحيائي لهذا الحامض يتم بواسطة الفطر *Rhizopus oryzae*. يستهلك الفطر الكلوكوز ليطرح حامض اللاكتيك خارج الخلايا وهو ليس من المركبات الناتجة في دورة كريبز. ينتج الحامض هوائيا مما يستدعي المزج والتهوية. كما يثبط نمو الفطر المنتج وإنتاج الحامض كذلك في pH دون 4.5. هذا يتطلب معادلة وسط النمو بإستمرار من اجل الوصول الى تركيز 80 غم / لتر.

يستخدم حامض اللاكتيك كمادة حافظة ومنكهة ومحمضة ويستخدم في الوقت الحاضر أيضا في إنتاج المذيب القابل للتحلل الأحيائي Ethyl Lactate(Magnuson & Lasure,2004).

ثالثا – المضادات الحيوية (Antibiotics)

المضادات الحيوية الطبيعية مركبات عضوية تنتج من قبل بعض الأحياء الدقيقة وتكون مثبطة لنمو أحياء دقيقة أخرى.

أول مضاد حيوي أكتشف من قبل الباحث الإنكليزي Alexander Fleming سنة 1928 من مزرعة الفطر *Penicillium notatum* مثبطا نمو البكتريا *Staphylococcus aureus* والبكتريا الموجبة لصبغة كرام.

لم يتم الإنتاج التجاري للمضاد الحيوي ممكنا إلا خلال سنوات الحرب العالمية الثانية على يد العالمين الإنكليزيين Florey و Chain وأستحقوا مع Fleming

جائزة نوبل. قدم إكتشاف المضادات الحيوية ولايزال خدمة كبرى للإنسانية من خلال إنقاذ أرواح ملايين الناس من خطر الأمراض البكتيرية والفطرية.

إن المضادات الحيوية تمثل مفخرة الأيض الثانوي للفطريات بالنسبة للبشرية وقد تكون كذلك بالنسبة للفطريات نفسها في سعيها من اجل البقاء. تختلف المضادات الحيوية من حيث أنواع الأحياء الدقيقة المنتجة لها فهي يمكن ان تنتج من قبل بعض أنواع الفطريات أو البكتريا خاصة الفطريات الشعاعية وكذلك بعض أنواع الطحالب. كما تختلف من حيث التركيب الكيميائي وآلية التأثير ومدى الأحياء الدقيقة المتأثرة.

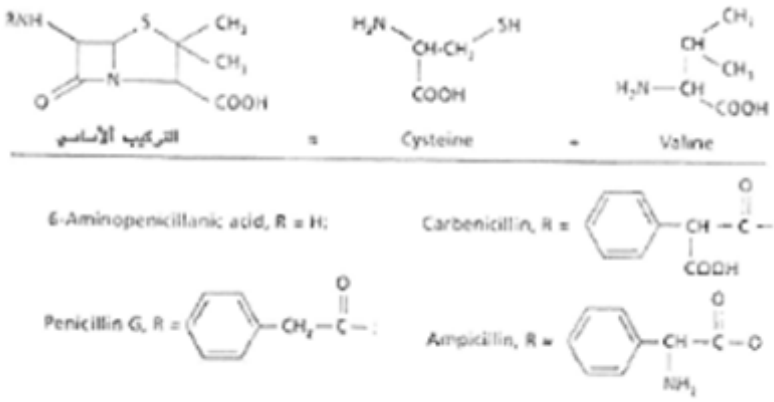
بين الواقع أن للأبحاث العلمية فوائد كبرى يمكن أن تنعكس بزيادة الإنتاج. فبعد معرفة قدرة الفطر *P. notatum* على إنتاج البنسيلين، أظهرت أبحاث الغربلة لعدد من الفطريات، أن الفطر القريب *P. chrysogenum* يتفوق كثيرا على الفطر الأول في إنتاج المضاد الحيوي. فإنتاجية عزلة Fleming من الفطر *P. notatum* كان منخفضا حيث يبلغ 3 مغم / لتر. إجراء التطفيرات وإنتخاب العزلات الأكثر أو الأفضل إنتاجا أوصل إنتاج الفطر *P. chrysogenum* من المضاد الحيوي الى 7000 مغم / لتر.

دراسة فسلجة الفطر بينت أن إنتاج المضاد الحيوي وهو من الأيضات الثانوية يحصل في مرحلة الثبات ويرتبط بتكوين الأبواغ. تراكم بعض الأيضات الهدمية يثبط إنتاج المضاد الحيوي. هذا الأمر فرض ضرورة تقليل تراكم هذه الأيضات من خلال السيطرة على تركيز سكر الكلوكوز في وسط التخمير أو الحصول على عزلات مقاومة لتأثير أيضات الهدم. كما وجد أن التراكيز العالية من النتروجين والفوسفات تثبط إنتاج المضاد الحيوي ما يستدعي مراقبتها. إضافة الى ذلك ضرورة معالجة تأثير التغذية العكسية بالمضاد الحيوي. فالتراكيز العالية منه تثبط نمو الفطر. لذلك يتم إضافة مضاد حيوي آخر هو Amphotericin B ولكن

بتراكيز قليلة ما يؤدي الى زيادة نضوحية خلايا الفطر وعدم تراكم البنسلين فيها. تركز الأبحاث الحديثة في هذا المجال على نقل الجينات المسؤولة عن تكوين المضاد الحيوي الى كائنات حية اخرى اكثر قدرة على الإنتاج(Kavanagh,2005).

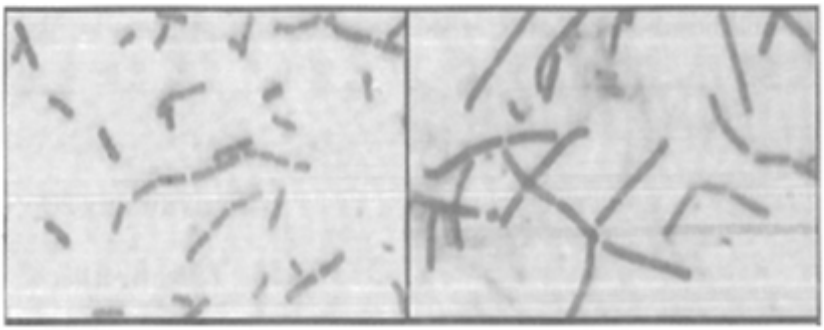
البنسلين (Penicillin)

تم الحصول على نوعين من البنيسيلينات الطبيعية من إنتاج الفطر *P. notatum* هما Penicillin G و Penicillin V الأكثر مقاومة للحوامض. إن هذين المضادين الحيويين يؤثران فقط على البكتريا الموجبة لصبغة كرام ولا يؤثران على البكتريا السالبة لصبغة كرام.



التركيب الأساسي لجزيئة 6-Aminopenicillanic acid

ومشتقاتها من المضادات الحيوية



شكل 10.1: البكتريا *Bacillus cereus* مصبوغة بصبغة كرام على اليسار طبيعية غير معاملة وعلى اليمين معاملة بتركيز قليل من أمبيسيلين لاحظ تكون خلايا كبيرة بسبب تثبيط إنقسامها.

عن: (Deacon,2003d)

من خلال دراسة علاقة التركيب الكيميائي للمضاد الحيوي وفعاليته البيولوجية، تم إكتشاف إمكانية إنتاج مضادات حيوية جديدة شبه مصنعة من خلال إزالة مجموعة الأسايل من المركب لينتج 6-Aminopenicillanic acid ثم إضافة مجاميع أسايل للحصول على مركبات جديدة مثل Ampicillin و Carbenicilli و Oxacillin بفعاليات ومواصفات مختلفة منها مقاومة تأثير الإنزيم المحال Penicillinase الذي تنتجه بعض البكتريا المقاومة وطيف تأثير أوسع الخ.

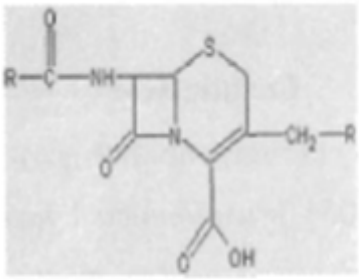
إن تأثير البنسيلين على البكتريا يتم من خلال منعه تكوين الأواصر العرضية اللازمة لربط السلاسل الببتيدية في الببتيدوكلايكانات وهو البوليمر الأساس في تكوين الجدار البكتيري. وهكذا سوف لن تتمكن البكتريا من بناء جدار طبيعي وبالتالي تتحلل نتيجة الضغط الأزموزي (شكل 10.1) (Deacon,2003d).

سيفالوسبورين (Cephalosporin)

أول أكتشاف للسيفالوسبورين كان سنة 1948 على يد العالم الأيطالي Guiseppe Brotzu من مزرعة الفطر *Cephalosporium acremonium*

حيث لوحظ تأثيره المثبط للبكتريا *Salmonella typhi*، وفي سنوات 1960 تم إنتاجه تجاريا.

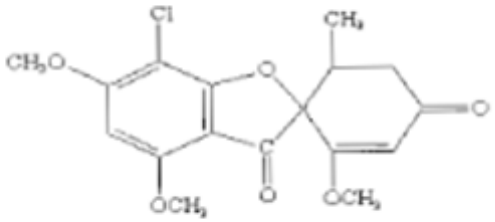
يمكن تغير التركيب الأساس للسيفالوسبورين لتنتج مضادات حيوية مختلفة: الجيل الأول مثل Cephazolin و Cephalexin والتي تمتلك تأثير ضد البكتريا الموجبة وعدد قليل من البكتريا السالبة لصبغة كرام. والجيل الثاني مثل Cephuroxime و Cephaclor التي تظهر تأثيرا على عدد اكبر من البكتريا السالبة لصبغة كرام. ثم الجيل الثالث مثل Cephtriazone و Cephtazidime التي لها تأثير أوسع على البكتريا المعوية السالبة لصبغة كرام. والجيل الرابع مثل Cefepime وهذه لها طيف تأثير أوسع من سيفالوسبورينات الجيل الثالث واكثر مقاومة لتأثير الإنزيم المحلل(Wikipedia,2006c).



نواة السيفالوبوغين

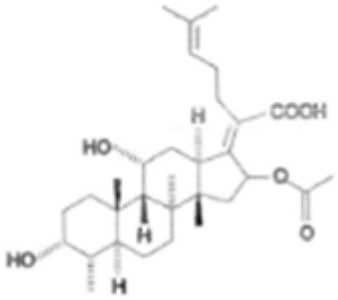
كريسيوفولفين (Griseofulvin)

ينتج من قبل الفطر *Penicillium griseofulvum* وهو ناتج من إتحاد سبع وحدات خلات. الكرسيوفولفين مضاد حيوي يستخدم ضد الفطريات الجلدية. يعمل تأثيره من خلال إرتباطه بالبروتينات المشتركة في تكوين الأنيبيبات الدقيقة ويمنع إنفصال الكروموسومات في الإنقسام الخيطي للخلايا.



المضاد الحيوي كرسيوفولفين

فيوسيدين (Fusidin)



Fusidic acid

وهو مضاد حيوي ترايتربنويدي (Triterpenoidic) رباعي الحلقة أنتج لأول مرة سنة 1962 من الفطر *Fusidium coccineum*(Deacon,2005a) ومؤخرا من الفطر *Mucor ramannianus* و*Isaria kogana*، وهو يعمل ضد البكتريا الموجبة لصبغة كرام حيث يستخدم اساسا ضد إصابات *Staphylococcus* وغيرها. يعمل المضاد الحيوي من خلال التداخل مع تكوين البروتين بتثبيط إنتقال عامل الإستطالة G (EF-G) من الرايبوسوم(Wikipedia,2006b). إضافة الى عمله كمضاد حيوي بكتيري فأنه يظهر نشاطا مضادا للسرطان في الفئران(Genovese *et al*.,1996).

المضاد الحيوي Plectasin

تنتج الحيوانات والنباتات مضادات حيوية ذاتية ذات طبيعة ببتيدية غنية بالحامض الأميني Cysteine تسمى Defensins. وهذه المضادات الحيويـــة تعمـــل ضـــد

البكتريا والفطريات والفايروسات كجزء من وسائل الدفاع ضد الممرضات. تم إكتشاف أول مضاد حيوي من هذه المجموعة هو Plectasin ينتج من قبل فطر كيسي رمي هو *Pseudoplectania nigrella*. إن المضاد الحيوي Plectasin المهندس وراثيا عالي النقاوة والكمية وذو أهمية تجارية. يعمل هذا المضاد الحيوي أساسا ضد البكتريا مثل *Streptococcus pneumoniae* المقاومة للمضادات الحيوية الأخرى. إن هذا الإكتشاف يسهم في رفد عالم المضادات الحيوية بمصادر جديدة تسهم في كسر مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية التقليدية(Mygind *et al*.,2005).

تنتج الفطريات المستنبتة (Endophytes) عددا من المضادات الحيوية والقلويدات المضادة للحشرات وبعض العقاقير المضادة للسرطان والمخفضة للمناعة وعلاج مرض السكري.

الإنتاج الصناعي للمضادات الحيوية يعتبر ضعيف الكفاءة الإنتاجية كونه لا يحول سوى 10 % من مصدر الكاربون الى مضاد حيوي. هذا يرجع ربما الى كون عملية إنتاج المضادات الحيوية من نوع β-lactam تتم في ظروف تنمية تكون فيها تراكيز مصادر الكاربون والنتروجين والفسفور محددة للنمو وفي معدل نمو منخفض. تتضمن عملية إنتاج المضاد الحيوي تلقيح وسط النمو الأولي الذي هو في الغالب وسط أكار مائل بلقاح الفطر المصدري الذي يكون بشكل أبواغ محفوظة بطريقة التجفيد أو تحت النتروجين السائل. يستخدم اللقاح الأولي الناتج في عمل اللقاح الثانوي الذي هو ايضا يحتوي على وسط غذائي صلب الغرض منه إنتاج أكبر كمية من الأبواغ الفطرية. يستخدم اللقاح الثانوي في تلقيح الوسط الغذائي السائل على 3 أو 4 مراحل. في الأولى يتم تلقيح الوسط الغذائي السائل وهو بحجم يقل عن 10 لتر، في المرحلة التالية يتم إستخدام اللقاح الثالثي (بعد فترة حضانة مناسبة) في تلقيح الوسط الغذائي السائل بحجم 000 20 لتر، وهذا بعد نضجه

يستخدم في تلقيح الوسط الغذائي النهائي وهو بحجم 300 000 لتر. بالتأكيد يجب أن تتم جميع العمليات تحت ظروف تعقيم صارمة. كما يتوجب المحافظة على إنتاجية السلالة وهذا يتطلب عمل ورقابة وراثية. بعد إنتهاء عملية التخمير يتوجب فصل المضاد الحيوي وهو المنتج عن الغزل الفطري والأيضات ومكونات الوسط الأخرى. هذا ما يعرف بمعالجة تحت التيار (Downstream Processing). تفاصيل هذه العملية يمكن أن تختلف حسب نوع المضاد الحيوي إلا أنها يمكن أن تنجز بواسطة التعريض للطرد المركزي أو الترشيح من أجل التخلص من الغزل الفطري وإستخلاص المضاد الحيوي بواسطة المذيبات العضوية، الترشيح الفائق، الكروماتوكرافي وتجفيف المضاد الحيوي(Murphy & Horgan. 2005).

رابعا – الصبغات الفطرية

Fungal Dyes

الكثير من أنواع الفطريات تظهر ألوان مختلفة في الأبواغ وحواملها والأجسام الثمرية والخيوط الفطرية وكذلك خارج الخلايا في الوسط الزرعي. هذه الألوان ترجع الى إنتاج هذه الفطريات لصبغات مختلفة لبعضها أهمية حياتية كتقليل أضرار الأشعة فوق البنفسجية أو كمواد مضادة للبكتريا أو لإجتذاب الحشرات كما في الفطريات البازيدية أو كرد فعل للأضرار الميكانيكية والرضوض وغيرها. يمكن أن تستخدم هذه الصبغات في تمييز الفطريات وتصنيفها. لصبغة الميلانين، إضافة الى مذكر، أهمية في إمراضية الفطريات الممرضة للإنسان *Paracoccidioides brasiliensis* (Gómez *et al*.,2001) وكذلك بعض الفطريات الممرضة للنبات المكونة للعضو اللاصق مثل *Colletotrichum lagenarium*.

قد يختلف إنتاج الفطر للصبغات حسب مرحلة النمو. معظم الفطريات تظهر في البداية نموات شفافة خالية من الصبغة لكنها خلال أيام تظهر صبغات قد تبقى أو تتغير مع تقدم عمر النمو.

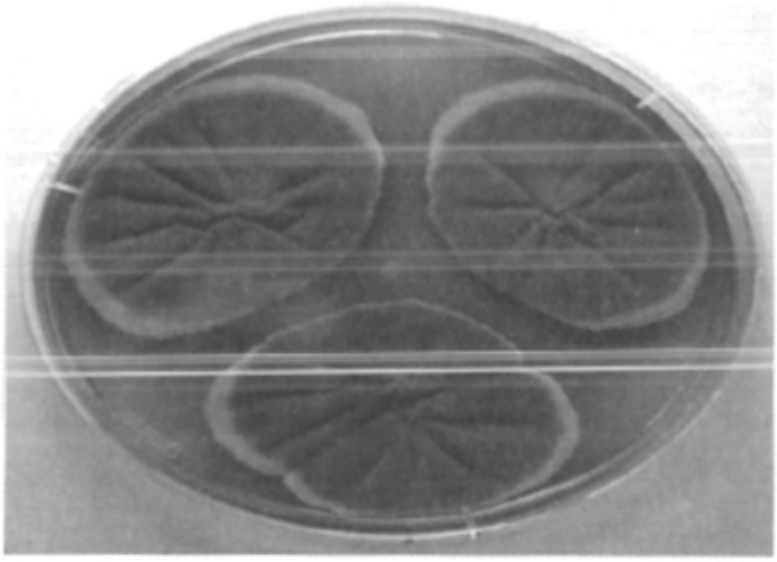
ويمكن أن يظهر الفطر صبغة معينة على الأبواغ والغزل الفطري وصبغة مختلفة على ظهر المستعمرة أو منتشرة في الوسط الزرعي.تختلف الصبغات الفطرية عن الصبغات التي تكونها النباتات.

فالفطريات لا تكوّن صبغات الكلوروفيل أو الأنثوسيانين التي تتميز بها أزهار النباتات. أغلب الصبغات الفطرية تكون من الكينونات والكينونات المرتبطة.

بعض الكينونات تخزن في الخلايا الفطرية بصيغ قليلة المظهر اللوني بشكل كينول (Quinol) أو فينول. تعاني هذه المركبات عمليات اكسدة لتتحول الى كينونات أثناء الرضوض أو الجروح وقد توجد مركبات Quinhydrone أو معقدات معدنية.

تتميز الصبغات الفطرية بالمزايا التالية:

1. على عكس الصبغات المشتقة من المواد النباتية والطحلبية الخام والتي تتأثر بتقلبات ظروف المناخ ما يعني عدم ثبات مواصفاتها، تنتج الصبغات الفطرية في مفاعلات أو مخمرات مضبوطة الظروف البيئية.
2. العديد من الفطريات الكيسية تنتج صبغات توفر مصادر " عضوية " أمينة وبعيدة عن التحويرات الورائية.
3. الصبغات الفطرية عديدة جدا وتوفر طيف واسع يصلح كصبغات غذائية.
4. يمكن إنتاج كميات كبيرة من الصبغات الفطرية تنافس الإنتاج بالطرق الأخرى.
5. الإحتياط الرئيس الذي يتوجب الإحتراس منه هو أن يكون الفطر المنتخب غير منتج للسموم وأن لا يكون ممرضا للإنسان(Mapari *et al*.,2009).



شكل 10.2: الفطر *Penicillium purpurogenum* IBT 11180 نامي على الوسط الزرعي مستخلص الخميرة سكروز اكار لمدة 7 ايام يظهر تكوين الصبغة الخارجخلوية
عن: (Mapari *et al.*,2009)

العديد من الكينونات يتم تخليقها عبر مسار البوليكيتايد في الفطريات. لكن اللون قد لا يكون للكينون حيث تتكون مركبات مختزلة له بشكل Quinhydrone. الشكل 10.2 يظهر إنتشار الصبغة المنتجة من قبل الفطر في الوسط الزرعي. في الجدول 10.4 قائمة بأهم الصبغات البوليكيتايدية.

جدول 10.4: قائمة شاملة بصبغات البوليكيتايد المنتجة من قبل فطريات *Penicillium* و*Aspergillus* وأشكالها التامة المعروفة

الفطر	تركيب الصبغة (اللون) المركبات السامة الملونةبالخط السميك	المركبات السامة الرئيسة غير الملونة	مستوى الأمان الحيوي لتصنيف1	الملاحظات 2
Penicillium subgenus *Penicillium*				
P. atramentosum	غير مشخصة بنية داكنة	Roquefortine C Rugulovasine A & B	غ م	لا
P. trosanguineum	غير مشخصة Phoenicin (أحمر) أصفر واحمر	غ م	غ م	ي ب
P. atrovenetum	Atrovenetin (أصفر) Norherqueinone(أحمر)	beta-Nitropropionic acid	غ م	لا
P.aurantiogriseum	غير مشخصة	Nephrotoxic glycopeptides Penicillic acid Verrucosidin	1 1	لا
P.brevicompactum	Xanthoepocin(أصفر)	Botryodiploidin Mycophenolic acid	1	لا
P. chrysogenum	Sorbicillins (أصفر) Xanthocillins (أصفر)	Roquefortine C	1	لا
P. citrinum	Anthraquinones(أصفر) Citrinin (أصفر)		غ م غ م	لا لا
P. cyclopium	Viomellein(بني محمر) Xanthomegnin(برتقالي)	Penicillic acid	غ م غ م	لا لا
P. discolor	غير مشخصة		غ م	ي ب
P. echinulatum	غير مشخصة (اصفر)		غ م	لا
P. flavigenum	Xanthocillins	Chaetoglobosin A, B & C		

نعم	غ م	Territrems	(بني)	*P. freii*
لا	غ م	غ م	(محمرViomellein) Vioxanthin (برتقالي)Xanthomegnin	
لا	غ م		(أصفر) Atrovenetin (أحمر و	*P. herquei*
لا	غ م	غ م	(أصفر Herqueinones	*P.oxalicum*
لا		Botryodiploidin Patulin Roquefortine C	Arpink red™- (أحمر)anthraquinone derivative (احمر) Secalonic acid D	*P. paneum*
			غير مشخصة (أحمر)	*P. persicinum*
		Roquefortine C Penicillic acid Viridic acid	غير مشخصة (أحمر كرزي) (بني محمر)Viomellein Vioxanthin (برتقالي) Xanthomegnin	*P. viridicatum*
لا	غ م	Duclauxin Islanditoxin Rubratoxin	(أصفر) Mitorubrin	*Talaromyces* (anamorph *Penicillium* subgenus *Biverticillium*)
نعم	غ م		غير مشخصة	*T. ▯ awaii▯ ia▯ ▯*
لا	غ م		غير مشخصة	
		Rugulovasine A &B	غير مشخصة	*P. aculeatum*
نعم	غ م	Spiculisporic acid	(أصفر) Emodin (برتقالي	
لا	غ م		(أحمر Erythroskyrin (أصفر) Luteoskyrin (برتقالي) Skyrin	*P. crateriforme*
لا	3	Cyclochlorotine Islanditoxin Rugulosine		*P. funiculosum* *P. islandicum*

		Rugulovasin e A & B	Mitorubrinol Monascorubramine (أرجواني محمر)	*P. marneffei*
نعم	غ م		Purpactin (برتقالي) Rubropunctatin	
نعم	1		(أصفر) Secalonic acid D	
			غير مشخصة	*P. pinophilum*
لا	1		(أصفر) Mitorubrin (برتقالي	*P. purpurogenum*
لا	غ م		(محمرMitorubrinol (أرجواني محمر) PP-R (أصفر (برتقاليPurpurogenone	*P. rugulosum*
			(أصفر) Rugulosin (أصفر)Rugulosin	*P. variabile*
لا	1	Echinulin	(برتقالي)Auroglaucin (احمر)Erythroglaucin (أصفر)Flavoglaucin	*Eurotium* (anamorph *Aspergillus* subgenus *Aspergillus*)
لا	1	Echinulin	(أصفر) Physcion Auroglaucin Erythroglaucin Flavoglaucin	*E. amstelodami* *E. chevalieri*
لا	1	Echinulin	(أصفر) Physcion (أصفر) Aspergin (أصفر) Flavoglaucin (أصفر) Physcion	*E. herbariorum*
لا	1	Ochratoxin A	Viomellein (بني محمر)	*Aspergillus* section *Circumdati*
لا	غ م	Penicillic acid	Vioxanthin (برتقالي)Xanthomegnin (أحمر) Rubrosulphin Viomellein (بني محمر)	*A. ochraceus* *A. melleus*
لا	غ م		(أرجواني)Viopurpurin (برتقالي) Xanthomegnin	*A. sulphureus*

لا	غ م	Ochratoxin A Penicillic acid	Rubrosulphin (أحمر) Viomellein (بني محمر) Viopurpurin(أرجواني) Xanthomegnin (برتقالي) Rubrosulphin (أحمر) Viomellein (بني محمر) Viopurpurin(أرجواني) Xanthomegnin (برتقالي)	*A. westerdijkiae*
لا لا	1 غ م	Fumonisins Ochratoxin A Ochratoxin A	(برتقالي Flavioline (احمر Nnaptho-γ-pyrones (أصفر) غير مشخصة صفراء	*Aspergillus* section *Nigri* *A. niger* *A. scleroiioniger*
ي ب ي ب لا	غ م غ م 1	غ م غ م غ م	Falconensins(أصفر) C-H Falconensones(أصفر) Zeorin(أصفر) Epurpurins (أصفر) A-C Sterigmatocystin(أصفر)	*Emericella* (anamorph *Aspergillus* subgenus *Nidulantes*, section *Nidulantes* and section *Versicolores*) *Em. Falconensis* *Em. Purpurea* *A. versicolor*

1: مستوى الأمان 1 = رمي او ممرض للنبات يعيش في بيئة لافقاريات أو ماكلات. الفصابات عرضية، سطحية وغير عدوانية أو خفيفة. مستوى الأمان 3 = ممرض له القدرة على إحداث أمراض فطرية عميقة وشديدة في الناس الأصحاء.

2: مفتاح للإنتخاب حيث نعم = منتخب أصلا كمصدر محتمل للصبغات، لا = غير منتخب كمصدر محتمل للصبغات، ي ب = يمكن البحث فيه كمصدر محتمل للصبغات

غ م = غير معروف

عن: (Mapari *et al.*,2009)

صبغات مسار Shikimate

تمثل مجموعة من الصبغات تعزل من الفطريات البازيدية منهـا فطـر البوليـت *Suillus grevillei* و *Corticium caeruleum* و *Paxillus atromentosus*

و *Polyporus nidulans*. لبعض هذه الصبغات تـأثيرات مضـادة للمكروبـات والحشرات.

صبغات Pulvinic Acids

مجموعة من الصبغات تعزل من الفطريات البازيدية كفطريـات الـتعفن الجـاف *Serpula lacrimans* و *Pisolithus arrhizus* وفطريـات الكـرات النافثـة *Scleroderma citrinum* و *Tricholoma aurantium*.

الصبغات التربنويدية (Terpenoid)

تنتج من قبل أنواع الفطر البازيدي *Lactarius*.

الكاروتينات الفطرية (Fungal Carotenoids)

مع أن الكاروتينات صبغات نباتية وتلعب أدوار مهمة فـي فسـلجتها خصوصـا إشتراكها في التركيب الضوئي، إلا أن بعض أنواع الفطريات تكـون كاروتينـات أيضـا منهـا *Blakeslea trispora* و *Phycomyces blakesleanus* و *Neurospora crassa*. ومع أن أغلب الكاروتينات هي من الهيدروكاربونات – α و–β و-γ، إلا أنه تم عزل الصبغة الكاروتينية الصفراء canthaxanthin مـن الفطر البازيدي *Cantharellus cinnabarinus* و *C. infundibilis*. لصـبغات الكاروتين في الفطريات أدوار لونية والأهم من ذلك الأدوار الفسلجية في الإنتحـاء الضـوئي وتحسـن الضـوء وكونهـا مصـادر لـبعض الهرمونـات الجنسية(Hanson,2008).

خامسا – الجبريلينات (Gibberellins)

الجبريلينات مجموعة من مركبات Diterpenoid تحتـوي علـى 19 أو 20 ذرة كاربون وتمثل مجموعة من الهرمونات النباتية الهامة في تحفيز النمـو وتشـكيله بالتداخل مع الهرمونات الأخرى. يتم تخليق الجبريلينات مـن Mevalonic Acid بواسطة الفطر *Gibberella fujikora*. كما توجد فطريات منتجة أخـرى هـي *Sphaceloma manihoticola* و *Neurospora crassa*. للجبريلينات تطبيقات

زراعية كثيرة تساعد على زيادة الإنتاج من خلال تنشيط عقد الثمار وزيادة حجومها ونضج الثمار وغيرها(Murphy & Horgan. 2005).

سادسا – إنتاج الفطريات المأكولة
Production of Edible Mushrooms

عرف الإنسان أهمية الفطريات المأكولة، العراهين والكمأة منذ آلاف السنين، وبالتأكيد عرفت الحيوانات ذلك قبله بآلاف أو ملايين السنين. إستخدم الإنسان الفطريات المأكولة لقيمتها الغذائية العالية كونها غنية بالبروتينات وتنافس اللحوم من حيث التفضيل الغذائي والأسعار. كما تستخدم بعض أنواعها في الطب الشعبي وبعضها تكون مخدرة وأخرى سامة ولبعضها أهمية في الطقوس الدينية لبعض الشعوب.

الأجسام الثمرية الكمأة والكمأة الكاذبة (الترفاس) فطريات مايكورايزية مجبرة مع جذور بعض النباتات. لذلك لا يتم إنتاجها تجاريا إلا على نطاق ضيق جدا في الوقت الحاضر وإنما تجمع من الحقول حيث تنمو طبيعيا. أما العراهين، فبعضها مايكورايزي أو طفيلي وأغلبها رمية. لذلك فإن جمعها من الحقول لا يشكل مصدرا مهما خاصة وإن بعضها مشابه للعراهين السامة. وهكذا تطورت زراعة العراهين المأكولة على نطاق واسع حيث نشأت شركات كبرى تقوم بزراعة هذه الفطريات وتوفير مستلزمات زراعتها المختلفة. ففي الصين يبلغ الإنتاج السنوي من العراهين 442 000 طنا وفي الولايات المتحدة 358 000 طنا وهولندا 225 000 طنا، بينما يبلغ الإنتاج السنوي العالمي حسب سنة 2001 أكثر من 7 500 000 طن بقيمة 22.5 مليار دولار.

هناك حوالي 1000 نوع من العراهين، أغلبها مأكول بينما الأنواع السامة لا تتعدى المئة. الأنواع المفضلة للإستهلاك البشري والتي تزرع تجاريا تشمل الفطر العادي *Agaricus bisporus* و *A. bitorquis* و *Agaricus subrufescens* وفطر الشايتيك *Lentinula edodes* الذي ينمو على الأخشاب وفطريات المحاري مثل

Pleorotus ostreatus والفطـــر *Stropharia rugosoannulata* ومئـــات الأنواع الأخرى.

الجزء المأكول من الفطر هو الجسم الثمري الذي يكون بمختلف الأحجام والأشكال والألوان والصفات، بينما جسم الفطر (الغزل الفطري) فيتألف من مجموعة كبيرة من الخيوط الفطرية التي لا ترى بالعين المجردة بشكل مفرد. الغزل الفطري هـــو الذي يقوم بإمتصاص وتحويل المواد الغذائية الى الأجسام الثمرية.

تنطلق زراعة الفطريات على النطاق التجاري من الحصول على اللقـــاح. اللقـــاح يمكن أن يحضر عن طريق زراعة جزء من الجسم الثمري أو الأبواغ على اوساط زرعية معقمة وتحت ظروف معقمة، أو يستحصل من شـــركات معروفـــة تـــوفر سلالات عالية الإنتاجية. بعدها يتم إكثار اللقاح بتنميته على حبوب (دخـــن، قمـــح الخ.) معقمة للحصول على ما يسمى بلقاح البذرة (Spawn). يحضر وسط النمـــو الرئيس الذي يمكن ان يكون ألواح خشب أو خليط من التبن وكوالح الذرة ونشـــارة الخشب الخ. أو وسط مخمر من خليط التبن وروث الخيـــول أو التـــبن ومخلفـــات الدواجن. التخمير يستغرق حوالي 40 يوما يتم خلالها ترطيب الخليط وتقليبه ثـــم تكويمه بأبعاد معينة من أجل الحفاظ على الحرارة وتوفير التهوية. يتم تقليب الكومة عدة مرات بعدها يتحول الخليط الى مواد محللة تشبه البتمـــوس. يـــوزع الوســـط الزرعي في صناديق أو اكياس أو مصاطب، يبستر وينثر عليه لقاح البذرة. يترك لينمو حوالي اسبوعين في درجة حرارة 25 مْ مع التهوية المستمرة وفـــي غـــرف خاصة وتحت ظروف معقمة. بعدها بعض الأنواع تحتاج الى تغطية بتربة خاصة، تخفض الحرارة الى 16 مْ في حالة الفطر العادي *Agaricus bisporus* من أجل تشجيع تكوين الأجسام الثمرية التي ستظهر بعد حوالي اســـبوعين آخـــرين. يـــتم الحصول على 3 وجبات من الأجسام الثمرية. تختلف الأنواع المختلفة في مؤشرات ومتطلبات التنمية والإنتاج(Kavanagh,2005 ; Stamets,2000 ; Stamets & Chilton,1983).

سابعا – الإنزيمات المنتجة من قبل الفطريات

Enzymes Produced by Fungi

تنتج الفطريات العديد من الإنزيمات، بعضها تستحصل من نموات بعض الفطريات نظرا لكفائتها وسهولة الحصول عليها واهميتها الصناعية. ومع ان الإنزيمات هي

جدول 10.5: بعض الإنزيمات المنتجة تجاريا من الفطريات

الإنزيمات	الفطريات المنتجة	الغرض
alpha-amylase	*Aspergillus niger, A. oryzae*	تحويلات النشاء
Alcohol dehydrogenase	*Ssccharomyces cerevisiae*	قياسات الكحول
Amyloglucosidase	*A. niger*	عصائر النشاء واغذية الدكستروز
Glucose aerohydrogenase	*A. niger*	إنتاج حامض الكلوكونيك
Glucose isomerase	*Aspergillus* و *Mucor*	العصائر العالية بالفركتوز
Glucose oxidase	*A. niger*	الصناعات الغذائية
b-Glucanase	*A. niger*	صناعة البيرة
Hemicellulase	*A. niger*	المعجنات والاصماغ
Invertase	الخمائر *S. cerevisiae*	تحويلات السكروز، الحلويات
Lactase	*Kluyveromyces lactis*	صناعات الألبان
Lipases	*Mucor* و *Aspergillus* *Penicillium* و	صناعات الألبان والمنظفات
Pectinases	*Rhizopus* و *Aspergillus*	ترويق عصائر الفواكه
Proteases (الحامضية والقاعدية والمتعادلة)	أنواع *Aspergillus* وغيرها	تحليل البروتينات (عصل الخبز والبيرة وغيرها)
Pullulanase	*Aureobasidium pullulans*	إزالة الأفرع الجانبية لجزيئات النشاء
Rennet	*Mucor spp.*	تخثير الحليب

عن: (Deacon,2005a ; Kavanagh,2005)

ليست من نواتج الأيض الثانوي بل من المواد الفعالة في الأيض الأولي والثانوي فقد أدرجت هنا بأعتبارها منتجات فطرية ذات أهمية إقتصادية (جدول 10.5).

تقليديا يتم إنتاج الإنزيمات من الفطريات عن طريق التنمية على وسط صلب مثل النخالة أو الحبوب، مع ذلك تستخدم في الوقت الحاضر تقنيات تنمية أخرى بما فيها التغذية المتقطعة أو النمو المغمور الخ. وإستخدام مصادر كاربون اخرى. في الشكل 10.3 مخطط عملية إنتاج الإنزيمات الفطرية.

تفضل الفطريات على الأحياء الأخرى في هذا المجال لسهولة التعامل معها ومرونتها الفسلجية وإمكانية التطوير والتحويل الوراثي(Kavanagh,2005).



شكل 10.3: مخطط عملية إنتاج الإنزيمات الفطرية

عن: (Murphy & Horgan. 2005)

ثامنا – البروتين وحيد الخلية
Single Cell Protein

البروتين وحيد الخلية (SCP) يمثل مواد غنية بالبروتين والتي تنتج بواسطة أحياء وحيدة الخلية كالبكتريا والخمائر والأحياء الدقيقة عموما بما فيها الفطريات الخيطية. وهكذا سيكون البروتين جزءا من الكتلة الحيوية الناتجة عن النمو على وسط غذائي يعتمد على مواد كاربوهيدراتية أو زيتية رخيصة هي في الغالب من مخلفات الصناعات الغذائية. برزت هذه التقنية إستجابة للحاجات المتزايدة للمواد الغذائية خصوصا البروتينية بسبب عدم كفاية الناتج العالمي للغذاء والأعلاف ومن أجل تقليل آثار سوء التغذية.

تركز البحث عن إمكانية إستخدام الفطريات في إنتاج SCP سنة 1968 من قبل شركة تجارية غربلت أكثر من 3000 نوعا من الفطريات المعزولة من التربة والقادرة على النمو على النشاء وإنتاج البروتين. أظهر الفطر الخيطي *Fusarium graminearum* عزلة A3/5 كفاءة عالية في إنتاج البروتين حيث أنه يكوّن كتلة حيوية مقدارها 54 غم، نسبة البروتين فيها 45 % عندما ينمى على وسط يحتوي على 100 غم كلوكوز في درجة حرارة 30 مْ.

جدول 10.6: المواد والفطريات المستخدمة في إنتاج البروتين وحيد الخلية

المادة	الفطر
السليلوز	*Trichoderma viride*
الكحول الأثيلي	*Candida utilis*
قشور الموز	*Pichia* species
دهون البقر	*Saccharomycopsis* species *Candida utilis*
الكيروسين	*Candida lipolytica* *Candida utilis*
السكريات	طيف من الخمائر
النشاء	*Saccharomycopsis fibuliger*

عن: (Kavanagh,2005)

ينتج SCP من هذا الفطر وبالأسم التجاري المعروف QuornTM في مخمرات تعتمد الجريان المستمر والتدوير بواسطة الهواء (Air-Lift Continuous Fermentation).

يتميز البروتين الفطري كونه ليس غريبا عن التذوق البشري والحيواني حيث أن الإنسان والحيوان يرغب في تناول الفطريات المأكولة كالكمأة والعراهين بل اعتاد عليها وفضلها. كما أن وجود الخيوط الفطرية في QuornTM وغيره من المنتجات المعتمدة على الفطريات الخيطية يقرب هذا النوع من البروتين من البروتينات الحيوانية حيث انها هي ايضا تحتوي على الألياف. للبروتين الفطري مؤشر إستغلال صافي البروتين (Net Protein Utilization) يساوي 75 مقارنة بـ 80 للحم البقري و83 للحم السمك. عرض البروتين الفطري QuornTM في السوق سنة 1985 وبلغ إنتاجه سنة 1999 ما يزيد عن 790 طنا. وهو يباع كوجبات جاهزة أو بشكل مكعبات معدة للطبخ الخ.

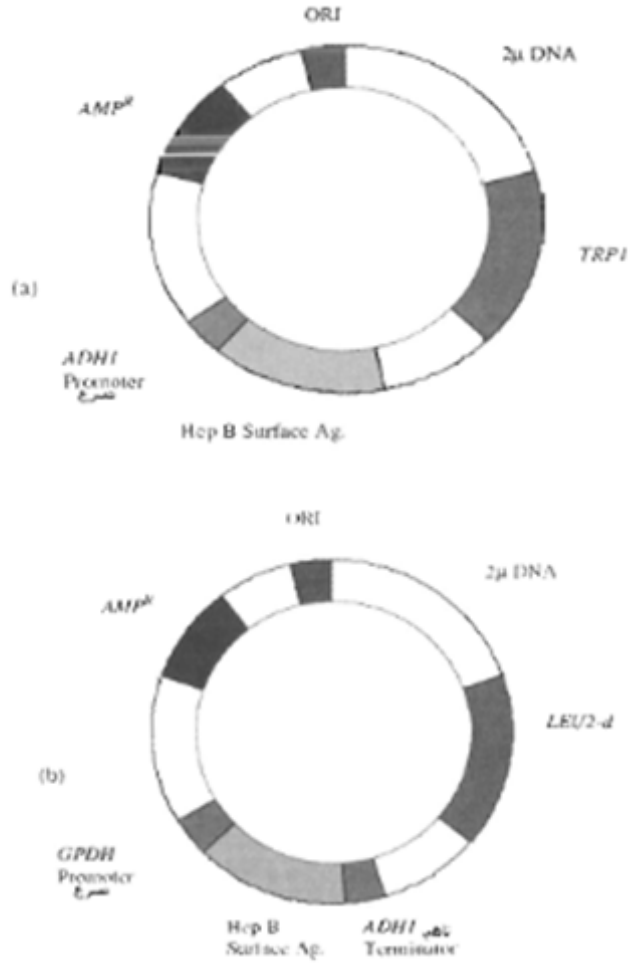
في الجدول 10.6 أنواع الفطريات المستخدمة في إنتاج SCP والمواد المصدرية المستخدمة(Kavanagh,2005).

تاسعا – مصل فايروس إلتهاب الكبد الفايروسي B
Vaccin of Hepatitis B Virus

يباع من هذا المصل سنويا بما قيمته 2 مليار دولار أمريكي. أنتج في البداية كبروتين غريب في خميرة الخبز *S. cerevisiae* وفيما بعد في الخميرتين المثيلتي التغذية *Pichia pastoris* و*Pichia pastoris*. إنتاج هذا البروتين الغريب يلخص النجاح في التقنية الحيوية الفطرية.

المعروف أن أمراض إلتهاب الكبد الفايروسي من الأمراض البشرية الشديدة الخطورة. يوجد الفايروس بسلالات متعددة تميز بحرف مختلف تبدأ بالحرف A ولحد الإن المكتشف منها سلالات A – E. ومع أن السلالة A أقلها خطورة

وتتمثل أعراضها بالإصفرار (Jundice) إلا أنها واسعة الإنتشار. لكن السلالة B أكثرها خطورة وتظهر أعراض منها الإصفرار وتنتهي بتشمع الكبد (Cirrhosis) وسرطان الكبد الخلوي الأولي (Primary Hepatocellular Carcinoma) في الإصابات المزمنة. على نطاق العالم تسبب هذه السلالة وفيات سنوية تصل الى 250 000. في الإصابات المزمنة يبقى الفايروس في جسم المريض ويصبح حاملا له ومعديا.



شكل 10.4: بلازميد التجارب الإختبارية الأولية (a) وبلازميد الإنتاج الكبير (b) عن: (Curran & Bugeja,2005)

لعلاج المرض يستخدم الإنترفيرون المضاد للفيروس، لكنه أما غير متوفر أو غير فعال عند إستعماله بعد ظهور الأعراض. لذلك فإن التلقيح بلقاح الفايروس هو الطريق الأكثر فاعلية.

اللقاح التجاري الأول كان يستخلص من بلازما المريض الحامل للمرض وهو بشكل جسيمات بروتينية فايروسية. اللقاح ذو فاعلية مناعية عالية جدا يتألف من جسيمات بطول 22 ن م هي جزيئات مضاعفة من بروتين سكري يسمى Hepatitis B Surface Antigen (HbsAg) محاطة بغشاء من الشحوم الفوسفاتية ذو أصل خلوي. وعلى الرغم من نجاح إستخدام هذا اللقاح، إلا أنه يتصاحب مع بعض النواقص مثل ضرورة تجهيز المصل المصاب بإستمرار، إجراء العديد من عمليات المعالجة والإحتياطات الصحية وإحتمال نقله لجسيمات الفايروس الفعالة او جسيمات فايروس آخر كفايروس الأيدز. لذلك إتجهت الأنظار نحو تقنية الـ DNA المركب (Recombinant DNA) لتفادي نواقص المصل الأول. وهكذا تطلب الأمر هندسة وراثية تقوم على عزل تتابع DNA المشفر لبروتين المصل HbsAg من جينوم الفايروس ثم نقله الى خلية قادرة على نسخ وترجمة (إنتاج) هذا البروتين.

محاولة إنتاج هذا البروتين في البكتريا *Escherichia coli* لم تنجح على الرغم من إنتاج البروتين بسبب عدم قدرة البكتريا على تكوين جسيمات البروتين – الفوسفاتي الشحوم 22 ن م وبالتالي فشل البروتين الناتج في تحفيز المناعة. إنتاج هذا البروتين بواسطة الخميرة *S. cerevisiae*، وهي كائن حي حقيقي النواة، عبر إستخدام البكتريا *E. coli* كناقل حيوي للتتابع المشفر للبروتين تمكن من تحفيز المناعة في الإنسان بسبب القدرة على تجميع البروتين – الشحوم الفوسفاتية. في التجارب الأساسية تم نقل الـ DNA المشفر للبروتين HbsAg تحت التيار لباديء إنزيم Alcohol dehydrogenase (*ADH1*) للخميرة في الناقل من

البكتريا *E. coli* الذي يحمل اصل التضاعف 2μ وجين *TRP1* (شكل 10.4a). تم بناء البلازميد الذي سيستخدم في الإنتاج الكبير عن طريق إستبدال الجين *TRP1* بالجين *LEU-2d*. لهذا الجين الأخير مسرع مقطوع ما يعني حصول نسخ غير فعال له لذلك ستحتاج الخلية الى نسخ كثيرة من البلازميد الحامل له من أجل أن تنمو بغياب الحامض الأميني Leucine. وهكذا تحمل الخلية 150 – 300 نسخة من البلازميد الحامل للجين *LEU-2d* مقابل 30 نسخة من البلازميد الحامل للجين *TRP1*. كما أن للبلازميد الصناعي تتابع ناهي لتأمين عملية الإنهاء والتي يفتقدها البلازميد الأولي. وتم إستبدال المسرع *ADH1* في البلازميد الأولي بالمسرع *GPDH* الأكثر كفاءة (شكل 10.4b). للنموذج الصناعي له تتابعات DNA تأمن عدد أكبر من نسخ البلازميد وعملية بدء النسخ والإنهاء أكثر كفاءة. ذلك يؤدي الى تكوين مستويات عالية من mRNA وبالتالي مستويات عالية من البروتين المطلوب(Curran & Bugeja,2005).

تنظيم الأيض Regulation of Metabolism

الأيض الأولي Primary Metabolism

تنظيم الأيض يتم من خلال العديد من الآليات التي ترتكز على مبدأ الإقتصاد في الطاقة والمواد من اجل الوصول الى نواتج التفاعلات الكيموحيوية.

وحيث ان معظم التفاعلات الحيوية تتم بواسطة الإنزيمات، فإن تنظيم الأيض في الفطريات يتم من خلال السيطرة على وجود الإنزيمات بتتابع معين أو السيطرة على نشاطها.

العامل الأول يتم من خلال السيطرة على إنتاجها أو تثبيطها أو تحليلها أو إفرازها الى خارج الخلية.

إن حث تكوين الإنزيمات يتم بواسطة وجود المادة الأساس التي يعمل عليها الإنزيم أما التثبيط فيتم بواسطة النواتج النهائية للمسار الذي يعمل فيه الإنزيم، حيث ان تراكم الناتج النهائي للمسار يثبط تخليق الإنزيم الأول في المسار. وإن ناتج الإنزيم الأول يحفز تكوين الإنزيم التالي وهكذا. وفي أيض الكلوكوز ثمة تأثير تنظيمي متعاكس بين تخمير الكلوكوز عندما يكون تركيزه عاليا عبر عملية التحلل السكري ومن ثم إختزال NADH في عملية التخمر حيث تبطأ عملية التنفس والعكس صحيح وهو ما يعرف بتأثير باستور (Pastuer effect) حيث ينشط التنفس ويبطأ التخمر (Griffin,1981).

الأيض الثانوي Secondary Metabolism

ينظم الأيض الثانوي بطرق مماثلة لتنظيم الأيض الأولي. فالأيض الثانوي يثبط بتوفر مصادر النتروجين السريعة الإستغلال مثل الأمونيا وهكذا حتى تصبح مستويات النتروجين أقل من متطلبات دعم النمو.

كذلك تلعب تراكيز العناصر اللاعضوية خاصة الزنك والحديد والنحاس والمنغنيز دورا في تحفيز أو تثبيط الأيض الثانوي بتراكيز تختلف عن تلك التي تحفز أو تثبط النمو.

كما يلعب تركيز الفوسفات وكذلك درجات الحرارة دوراً في تنظيم الأيض الثانوي. حيث تكون المديات التي يحصل فيها الأيض الثانوي محدودة مقارنة مع الأيض الأولي، فهي بحدود 1 – 10 مليمول للفوسفات و5 – 10 درجات مئوية للحرارة.

وتلعب بعض أيضات الأيض الأولي مثل Trypyophan دوراً مهماً في تخليق Ergoline وMethionine في تخليق سيفالوسبورين (Griffin,1981).

تضم مجاميع جينات الأيض الثانوي عوامل نسخ تعمل خصوصيا على جينات ضمن المجموعة ويمكن ان تؤثر على جينات خارجها. كمثال عامل النسخ aflR الذي ينظم مجاميع الجينات المشفرة للأفلاتوكسين في *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus* ومجموعة الجينات المشفرة لـ Sterigmatocystin في الفطر *A. nidulans* تنظم أيضا 3 جينات خارجها. لكن مجاميع جينية أخرى لا تتضمن منظم نسخ كما في حالة جينات تشفير Ergovaline وLolitrem المنتجة من قبل المستنبتات الفطرية *Neotyphodium lolii* و*Epichloe festucae* والتي يمكن ان تنظم من قبل مسارات إشارية من النبات.

و يمكن ان ينظم عمل مجاميع الجينات المسؤولة عن الأيض الثانوي من قبل عوامل نسخ عامة والتي تستجيب للإشارات البيئية كدرجة الحرارة والـ pH والتغذية. كمثال AreA المنظم لأيض النتروجين مطلوب في تكوين سموم Fumonisin B1 في الفطر *Fusarium verticillioides*.

من المظمات الرئيسة للأيض الثانوي في فطريات *Aspergillus*، البروتين النووي LaeA.

الجين *veA* المشفر للبروتين VeA ينظم الأيض الثانوي والتكشف في الفطر *Aspergillus nidulans* وهو منظم لتكشف التكاثر الجنسي واللاجنسي إستجابة لتأثير الضوء.

ثمة بروتينات تعمل على عكس عمل عوامل النسخ المتعلقة بالأيض الثانوي وتسهم بذلك في تنظيمه. في الفطر *A. nidulans* يعمل Histone (HdaA) deacetylase عكس دور LaeA في تنظيم الأيض الثانوي. الطافرات الفاقدة HdaA تظهر التنشيط المبكر وزيادة التعبير عن الجينات المسؤولة عن تشفير Sterigmatocystin وPenicillin ويسهم في زيادة إنتاج أيضات ثانوية في فطريات *Alternaria alternate* و*Penicillium expansum*(Fox & Howlett,2008 ; Bok & Keller,2004).

الفصل الحادي عشر Chapter 11

التقنية النانوية الأحيائية والفطرية
Bio- and Myconanotechnology

علم النانو (Nanoscience) هو العلم الذي يبحث في خواص المواد وحركياتها وفعالياتها والقوانين التي تحكمها في (العالم الصغير) ضمن مدى 1 الى 100 نانومتر(1 نانومتر = 1 10 ⁻ x^{9}متر). غير ان هذا العلم لا يزال في بداياته ويرتكز على علوم اخرى مثل ميكانيك الكم (Quantum Mechanics) وعلم السطوح (Surface Science) والكيمياء العضوية والبيولوجيا الجزيئية والتقنية الحيوية وفيزياء شبه الموصلات وعلم البلورات وغيرها. وعليه ولأسباب تقنية وإقتصادية أيضا، برز الى الواجهة مفهوم التقانة النانوية (Nanotechnology) كتطبيقات عملية تبرز إمكانات العالم النانوي وما يمكن ان يقدمه للبشرية من منافع عديدة وتقرب آفاق علم النانو الذي هو علم المستقبل الى الناس وتسهم في الوقت نفسه في إرساء قواعده وتطوره.

تعتبر الفكرة التي طرحها Richard Feynman سنة 1958 في محاضرة له بعنوان " ثمة الكثير من المجال في القعر There's a lot of room at the bottom " المنطلق الحديث لتأسيس أفكار علم النانو بعد حوالي 30 سنة على يد K. Eric Drexler الذي طرح أفكاره في كتاب " ماكنات الخلق: عصر التقنية النانوية القادم Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology ". لكن (Vo-Dinh,2007) يرجع نشوء أفكار علم النانو الى العهد الأغريقي قبل آلاف السنين على يد الفيلسوفان Leucippus وDemocritus

اللذان صرحا بأن جميع المواد تتألف من دقائق غاية في الصغر هي الذرات. الفكرة الثورية لديكسلر تقول بإمكانية عمل جهاز أو مجمع نانوي يتمكن من بناء ونسخ نفسه وتكوين المنتج المطلوب. هذه الفكرة وغيرها تنطلق من مبدأ أن الظواهر الفيزيائية الكيميائية والبيولوجية على مستوى النانو تكون محكومة بقوانين ميكانيكا الكم والتي تتبدى بإمكانات مختلفة كثيرا عن هذه الظواهر وهي في مستوى العالم المنظور (الكبير) والتي تحكمها قوانين الميكانيك التقليدي أو النيوتني. فالمساحة السطحية للمواد تزداد آلاف المرات في مستوى النانو عنها وهي في المستوى المنظور والمواد المعتمة مثل النحاس تصبح شفافة على مستوى النانو، والمواد الخاملة مثل الألمنيوم تصبح قابلة للإشتعال والمواد غير الذائبة كالذهب تصبح ذائبة ومحفزة للتفاعلات الكيميائية وغير ذلك. الخلية الحية تقوم بإنتاج الكثير من المواد (المنتوج) في عضيات (مصانع او مجمعات) نانوية تتمكن من نسخ نفسها ايضا (البروتينات والإنزيمات والأحماض النووية والرايبوسومات الخ.). إنها في الواقع محاولة لمحاكاة البيولوجيا في الهندسة والصناعة. مثل هذه الأفكار لم تكن لتتحفز لولا الظهور اللافت والإنجازات العظيمة والتطور السريع لعلم البيولوجيا الجزيئية منذ ثمانينات القرن العشرين وكذلك التطور الهائل في تقنية البصريات مثل إبتكار Scanning Tunneling Microscope الذي يمكن من رؤية ذرات السطوح وAtomic Force Microscope الذي يمكن من التعامل مع الذرات المفردة وتشكيلها وغير ذلك.

ثمة ستراتيجيتان تتبعان في التقنية النانوية: الأولى تسمى أعلى – أسفل (Top-Down) حيث يتم بناء الآلة النانوية على مراحل قطعة فقطعة كما تصنع الآلات. هذه الستراتيجية بطيئة لأغراض الإنتاج الكبير لكنها ملائمة للتجارب المختبرية. الستراتيجية الثانية وتسمى قعر – أعلى (Bottom - Up) حيث يتم تنمية التركيب المطلوب ذرة بذرة أو جزيئة بجزيئة. هذا يشمل التحضيرات الكيميائية والتركيب

الـــذاتي والمـــوقعي كمـــا أســـتخدم مـــن قبـــل فـــي صـــناعة اشـــباه الموصلات(Wikipedia,2011).

التقنية النانوية الأحيائية

Bionanotechnology

حيث تتميز الدقائق النانوية بصفات بصرية وكيميائية وكهربائية فريدة، صارت إستخداماتها تشمل مجالات شتى كعالم المحفزات (Catalysts) والبصريات وعلوم الحياة والصيدلة والطب والمغناطيس والميكانيك والعمارة والطاقة وغيرها. تبعا لذلك، بات إنتاجها يحضى بأهمية عالية ومتزايدة. تنتج هذه المواد بطرق فيزيائية وكيميائية تتمكن من تحديد الحجم والشكل وبكميات كبيرة في وقت قصير نسبيا، لكنها تكون معقدة ومكلفة وملوثة للبيئة. وهكذا دخلت التقنية النانوية الحيوية التي تمتاز عن الطرق الأخرى بالمزايا التالية:

1. إستخدام مواد رخيصة وامينة وصديقة للبيئة.
2. ذات إنتاجية عالية ومنخفضة الكلف الطاقية.
3. إنتاج دقائق نانوية على النطاق الواسع بابعاد اصغر مما ينتج بالطرق التقليدية.
4. إمكانية تكييف الكائنات الحية المنتجة من خلال الهندسة الوراثية لتلبية متطلبات الإنتاج النوعية والكمية.
5. للدقائق النانوية الأحيائية فعالية تحفيزية ومساحة سطحية نوعية أعلى.
6. عدم حاجتها الى مثبتات لمنع التكتل للدقائق النانوية وحتى في حال تجمعها فإنها لا تتماس فيما بينها بسبب فاعلية البروتينات الخلوية خصوصا سايتوكروم C.

في مجال التقنية النانوية الأحيائية تستخدم انواع من البكتريا والخمائر والفطريات الخيطية والطحالب والفايروسات والنباتات لتخليق دقائق نانوية بأنواع وأشكال وأحجام محددة تستخدم في شتى المجالات.

البكتريا (Bacteria)

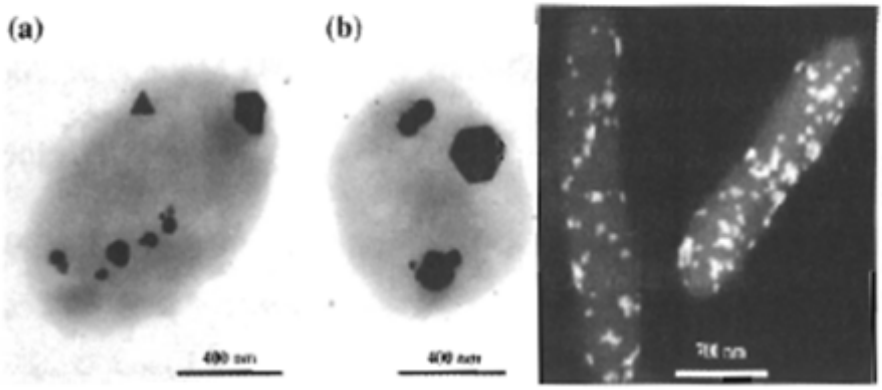
ثمة العديد من أنواع البكتريا التي يتم إختبارها لمعدنة وتكوين لدقائق النانوية ذات الأهمية.

البكتريا المتحسسة للمغناطيس
Magnetotactic bacteria

تنتج انواع البكتريا *Aquaspirillum magnetotacticum* و*Magnetospirillum magneticum* و*Magnetotactic bacterium* و *M. magnetotacticum* و*M. gryphiswaldense* أشكال مختلفة من الدقائق النانوية المغناطيسية بأبعاد 1 – 120 ن م(Narayanan & Sakthivel,2010 ; Talebia *et al*.,2010 ; Mohanpuria *et al*.,2008).

بكتريا *Pseudomonas*

تكوّن بكتريا مناجم الفضة *Pseudomonas stutzeri AG259* بلورات فضة نانوية في الفضاء المحيط بالبلازم (شكل 11.1)، كما تتمكن من إختزال ايونات السلانايت الى سليتيوم معدني غير ذائب. وتمكن البكتريا *P. aeruginosa* من إختزال ايونات الذهب لتكون بلورات ذهب نانوية خارج الخلايا(Riddina *et al*.,2010 ;Talebia *et al*.,2010 ; Mohanpuria *et al*., 2008 ; Husseiny & Abd El-Aziz,2008).



شكل 11.1: مظهر البلورات النانوية الفضية التي تنتجها البكتريا *Pseudomonas stutzeri*. تلاحظ وجود الأشكال المثلثة والمضلعة والكروية في مناطق إرتباط خلوية مختلفة(a و b) وترسيب دقائق البلاتينيوم النانوية في جوار البلازم لخلايا *Shewanella algae*(يسار) عن: (Riddina *et al.*,2010)

بكتريا *Lactobacillus*

يتمكن نوع من هذه البكتريا على تخليق تجمعات من دقائق نانوية كروية من ثاني اوكسيد التيتانيوم TiO_2 بمواصفات مختلفة حيث تكون أكثر مقاومة للتآكل واخف وزنا. وتتمكن سلالات من البكتريا *Lactobacillus* من تكوين بلورات مجهرية من الفضة والذهب والفضة- ذهب باشكال محددة. بلورات الذهب بأبعاد 20 – 50 ن م وباشكال مثلثة ومضلعة وتجمعات منها بقطر 100 ن م(Narayanan & Sakthivel,2010 ; Jha & Prasad,2010 ; Talebia *et al.*,2010).

البكتريا المختزلة للحديد

البكتريا *Geobacter ferrireducens* تمكن من إختزال أيونات الحديديك حيث يترسب الحديد في فراغ جوار البلازم وتتمكن *Shewanella algae* من إختزال أيونات الذهب Au+3 الى دقائق نانوية بقطر 1- 20 ن م وكذلك تتمكن من تكوين دقائق بلاتينيوم نانوية. وتتمكن البكتريا المحبة للحرارة *Thermoanaerobacter ethanolicus* من تكوين دقائق نانوية مغناطيسية بقطر يقل عن 12 ن

Narayanan & Sakthivel,2010 ; Riddina *et al*.,2010 ;Talebia *et*)م
.(*al*.,2010 ; Krumov *et al*.,2009 ; Moon *et al*.,2007

Entrobacteriacea

تتمكن البكتريا *Klebsiella pneumonia* و*Escherechia coli* و*Enterobacter cloacae* من تخليق دقائق فضة نانوية من ايونات الفضة +Ag الى الصيغة المعدنية Ag^0.(Talebia *et al*.,2010 ; Murali,2003)

الفطريات الشعاعية Actinomycetes

من الفطريات الشعاعية المكونة للدقائق النانوية المعدنية *Thermomonospora* sp. التي تكون دقائق الذهب النانوية وكذلك *Rhodococcus* sp. (Mohanpuria .(*et al*.,2008 ; Krumov *et al*.,2009 ; Talebia *et al*.,2010

Cyanobacterium

تتمكن السيانوبكتريا نوع *Plectonema boryanum* من ترسيب دقائق نانوية غير متبلورة من gold(I)–sulfide على جدرانها الخلوية عند تنميتها على وسط يحتوي على gold(III)–chloride ومن ثم ترسيب الذهب المعدني في المحلول بجوار الخلايا بشكل صفائح ثمانية الأضلاع بأبعاد 6 ن م الى 6 مك. كذلك تتمكن من تكوين بلورات نانوية كروية من البلاتين عند تنميتها على محلول يحتوي على كلوريد البلاتين $PtCl_4$بأقطار 0.3 مك في المحلول ودقائق نانوية منتشرة في الخلايا(Talebia *et al*.,2010 ; Baia *et al*.,2009 ; Mohanpuria *et* .(*al*.,2008

الطحالب Algae

تم إستخدام الطحلب البحري *Sargassum wightii* في إنتاج دقائق الذهب النانوية خارج الخلايا(Singaravelu *et al*.,2007).

النباتات Plants

تم إستخدام أنواع مختلفة من النباتات لإنتاج دقائق معدنية نانوية. من هذه النباتات أنواع *Medicago sativa* و*Pelargonium graveolans* و *Azadirachta indica* و*Triticum* و*Cinnamomum camphora* و *Capsicum annum*(Rai *et al.*,2010). كما تم تكوين دقائق ذهب نانوية بواسطة المستخلص الكحولي لأزهار نبات *Nyctanthes arbortristis* الذي وفر القوة الإختزالية(Das *et al.*,2011).

التقنية النانوية الفطرية
Myconanotechnology

تتميز الفطريات عن الأحياء الأخرى بتنوعها الهائل وطبيعة نموها السريع والكثير التفرع والإتساع وتكوينها لبطارية كبيرة من الإنزيمات المحللة الخارجية وإختلاف طرق تغذيتها الغيرية وإنتاجها العالي للبروتينات وكفاءتها التحويلية العالية لمواد الوسط وقدرتها على النمو في ظروف غاية في الإختلاف وتحملها لمختلف أنواع السموم ومرونتها الوراثية العالية كونها نصفية التضاعف ما يؤهلها للتحويل الوراثي الأسهل. هذه الصفات وغيرها مكنت من إستخدام الفطريات في مختلف المجالات ومنها التقنية النانوية.

أظهر العديد من انواع الفطريات قدرات كبيرة على تكوين الدقائق النانوية المهمة. وهكذا برز مصطلح التصنيع الفطري (Mycofabrication) الذي يعنى تصنيع الدقائق النانوية المعدنية بواسطة الفطريات. وأصبح ينظر الى الفطريات بإعتبارها مصانع نانوية احيائية (Bionanofactories) لإنتاج دقائق نانوية من الذهب والفضة والبلاتين وكبريتيد الكادميوم وغيرها تستخدم في مجالات حيوية مختلفة (Rai *et al.*,2010).

هذه الفطريات تشمل أنواع من الخمائر والفطريات الخيطية ومن المؤكد ان إستمرار البحث سيكشف عن المزيد منها.

الخمائر Yeasts

عرفت الخمائر بتكوينها دقائق نانوية شبه موصلة. فالدقائق النانوية المغلفة بالبيبتيدات تكون مشابهة لنقاط الكم شبه الموصلة (Semiconductor Quantum Dots) في فيزياء الحالة الصلبة لكنها تتميز عليها بعدم تكتلها وتثبت بواسطة طبقة Phytochelatin تتحكم بحجومها. تمكن (Kowshik *et al.*,2003) من عزل دقائق الفضة النانوية بقطر 2 – 5 ن م من سلالة الخميرة المتحملة للفضة MKY3 بعد تجهيزها بمحلول فضة ذائبة. إن دقائق كبريتيد الكادميوم النانوية تظهر صفات الدقائق النانوية الغروية في التطبيقات البيولوجية والتي تشمل التبلور وصغر الحجم والذوبان في الماء. الخميرتان *Candida glabrata* و *Schizosaccharomyces pombe* تتمكنا من إختزال ايونات Cd^{2+} تكوين نقاط الكم. وتمكن الخميرة *Torulopsis sp.* من تكوين بلورات نانوية من كبريتيد الرصاص بأبعاد 2 – 5 ن م عند تجهيزها بايونات الرصاص Pb^{2+} (Talebia *et al.*,2010 ; Krumov *et al.*,2009 ; Mandal *et al.*,2006). وبين (Agnihotri *et al.*,2009) تكوين الخميرة البحرية غير الشائعة *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 لدقائق الذهب النانوية على جدران خلاياها. وتمكن (Mourato *et al.*,2011) من الحصول على دقائق فضة نانوية أصغر من 20 ن م ودقائق ذهب نانوية بابعاد 30 الى 100 ن م من سلالة خميرة متحملة للحموضة معزولة من مجاري منجم حامضية. يعتقد الباحثون ان البروتينات الخارجخلوية هي الفعالة في تخليق دقائق الفضة بينما يمكن ان يلعب جدار الخلية دورا في تخليق دقائق الذهب. وسجل (Seshadri *et al.*,2011) قدرة الخميرة البحرية *Rhodosporidium diobovatum* على تكوين دقائق نانوية من كبريتيد الرصاص بقطر 2 – 5 ن م وكانت كفاءة إستخلاص الرصاص بحدود 90 %.

جدول 11.1: الفطريات المنتجة للدقائق النانوية المعدنية مرتبة حسب الجدول الزمني

الفطريات	نوع التخليق	الدقائق النانوية	المراجع
Verticillium sp.	خلوي	Au الذهب	Mukherjee *et al.*, 2001
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	كبريتيد الكادميوم CdS	Ahmad et al., 2002
Phoma sp. 3.2883	خلوي	Ag فضة	Chen *et al.*, 2003
Colletotrichum sp.	خارجخلوي	Au	Shankar *et al.*, 2003
Usnea longissima	خارجخلوي	Usnic acid	Shahi & Patra, 2003
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	Zirconia	Bansal *et al.*, 2004
Trichothecium sp.	خلوي/خارجخلوي	Au	Ahmad *et al.*, 2005
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	سليكون Si و تيتانيوم Ti	Bansal *et al.*, 2005
Fusarium oxysporum *Verticillium sp.*	خارجخلوي	مغناطيسية Magnetite	Bharde *et al.*, 2006
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	Ag	Duran *et al.*, 2005
Aspergillus fumigates	خارجخلوي	Ag	Bhainsa & D' Souza, 2006
Fusarium oxysporum f. *sp. Lycopersici*	خلوي/خارجخلوي	بلاتينيوم Pt	Riddin *et al.*, 2006
Verticillium luteoalbum	خلوي	Au	Gericke& Pinches, 2006
Fusarium semitectum	خارجخلوي	Ag	Basavaraja *et al.*, 2007
Aspergillus flavus	خلوي	Ag	Vigeshwaran *et al.*, 2007
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	نقاط كم كبريتيد الكادميوم CdSe quantum dots	Kumar et al., 2007a
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	Ag	Kumar *et al.*, 2007b
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	Ag	Mohammadian *et al.*, 2007
Aspergillus niger	خارجخلوي	Ag	Gade *et al.*, 2008
Fusarium acuminatum	خارجخلوي	Ag	Ingle *et al.*, 2008
Trichoderma asperellum	خارجخلوي	Ag	Mukherjee *et al.*, 2008
Penicillium sp.	خارجخلوي	Ag	Sadowski *et al.*, 2008
Fusarium semitactum	خارجخلوي	Au وخليط Au-Ag	Sawale *et al.*, 2008
Helminthosporum solani	خارجخلوي	Au	Kumar *et al.*, 2008
Phoma glomerata	خارجخلوي	Ag	Birla *et al.*, 2009
Fusarium solani	خارجخلوي	Ag	Ingle *et al.*, 2009
Coriolus versicolor	خارجخلوي	Ag	Sanghi and Verma, 2009
Cladosporium cladosporioides	خارجخلوي	Ag	Balaji *et al.*, 2009
Fusarium oxysporum	خارجخلوي	Pt	Govender *et al.*, 2009
Bipolaris nodulosa	خارجخلوي	Ag	Saha *et al.*,2010
Nigrospora oryzae	خارجخلوي	Ag	Saha *et al.*,2011
Trichoderma Reesei	خارجخلوي	Ag	Vahabi *et al.*,2011
Aureobasidium pullulans, *Fusarium sp.* ,*Fusarium oxysporum*	خلوي	Au	Zhang *et al.*,2011
Aspergilus clavatus	خارجخلوي	Au	Verma *et al.*,2011

عن: (Rai *et al.*,2010) وآخرون

الفطريات الخيطية

Filamentous Fungi

تم تجريب العديد من الفطريات الخيطية الرمية والممرضة والمستنبتة كمنتجات للدقائق النانوية المعدنية. في الجدول 11.1 عرض لعدد منها.

كمثال يبين طرق العزل والتشخيص للدقائق النانوية الفطرية نقدمها في المثال التالي:

إنتاج مثلثات الذهب النانوية:

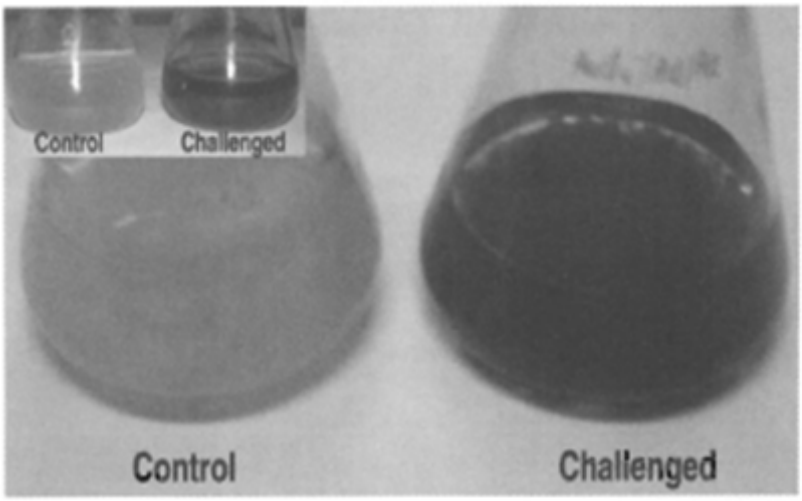
إزداد الطلب في السنوات الأخيرة على الدقائق والمنتجات النانوية خصوصا تلك التي تكون أمينة صحيا ودقيقة وصديقة للبيئة. هذا ما يمكن تحقيقه بواسطة ما بات يعرف بالكيمياء الخضراء التي تستخدم الأحياء الدقيقة ومنها الفطريات في إنتاجها. قدم (Verma *et al.*,2011) طريقة سهلة ومباشرة لإنتاج مثلثات الذهب النانوية بواسطة الفطر *Aspergillus clavatus* المستنبت في نبات *Azadirachta indica*. تتضمن الطريقة تنمية الفطر على وسط زرعي مناسب للحصول على العزل الفطري ومن ثم تنميته على وسط يحتوي على محلول مخفف من كلوروارت الذهب $HAuCl_4$ وإستخدام راشح المزرعة ايضا في إختزال الذهب (شكل11.2) والحصول على اشكال ذهبية نانوية خصوصا المثلثات الذهبية النانوية بأبعاد 20 – 35 ن م وإمكانية التحكم في ظروف النمو للحصول على اشكال مضبوطة (شكل11.3).

لهذه التراكيب أهمية خاصة حيث أنها تمتلك خواص بلازمونية (من Plasmon) في الضوء المرئي وفوق الحمراء تجعلها ذات صفات فيزيائية وبصرية فريدة تستخدم في مجال البصريات والإلكترونيك والتحفيز الكيميائي والطب الحيوي.

ومع أن عملية إنتاج هذه الدقائق النانوية سهل كما تم ذكره ومراقبة تكوينها تتم بواسطة مطياف الضوء المرئي والأشعة فوق البنفسجية إلا أن تحديد مظهرها

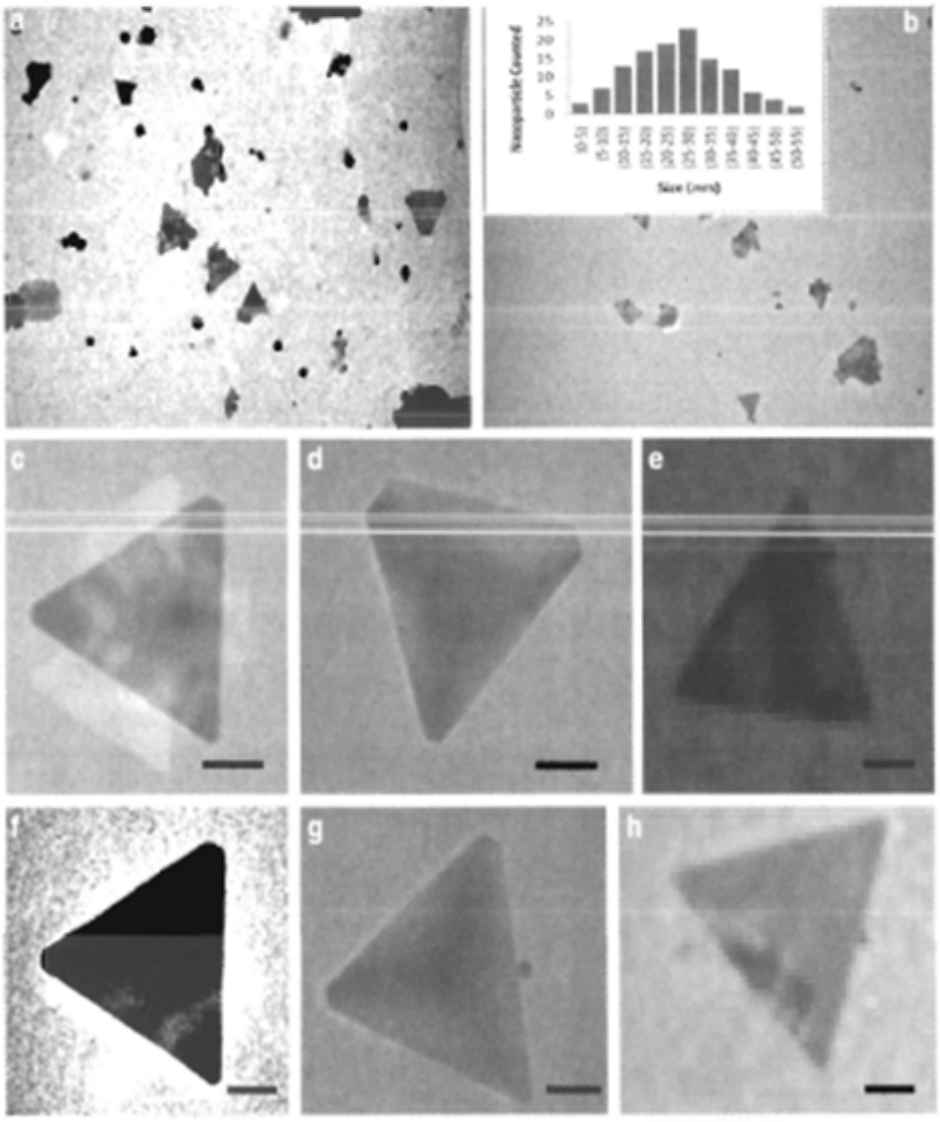
وطبيعتها البلورية تتطلب إستخدام المجهر الإلكتروني النافذ ومجهر القوة الذرية (AFM) ومطياف حيود الأشعة السينية (X-ray diffractionspectroscopy). هذه الطريقة حسب الباحثين توفر إمكانية تخليق تراكيب نانوية غير متناضرة بتصاميم محددة سلفا وإنتاجها على النطاق التجاري لإستخدامات تطبيقية مختلفة.

في الشكل (11.4) يظهر الكثير الدقائق الذهبية النانوية المثلثة والمضلعة والكروية مرتبطة بسطوح الخلايا حيث تكون الأشكال المثلثة أصغر حجما. هذا يشير الى عدم تحول العديد من الدقائق الى الشكل المثلث. في الشكل 11.5 تكوين الدقائق النانوية للفضة وتجمعها دون تماسها مباشرة ما يمكن من الحصول على دقائق مفردة..

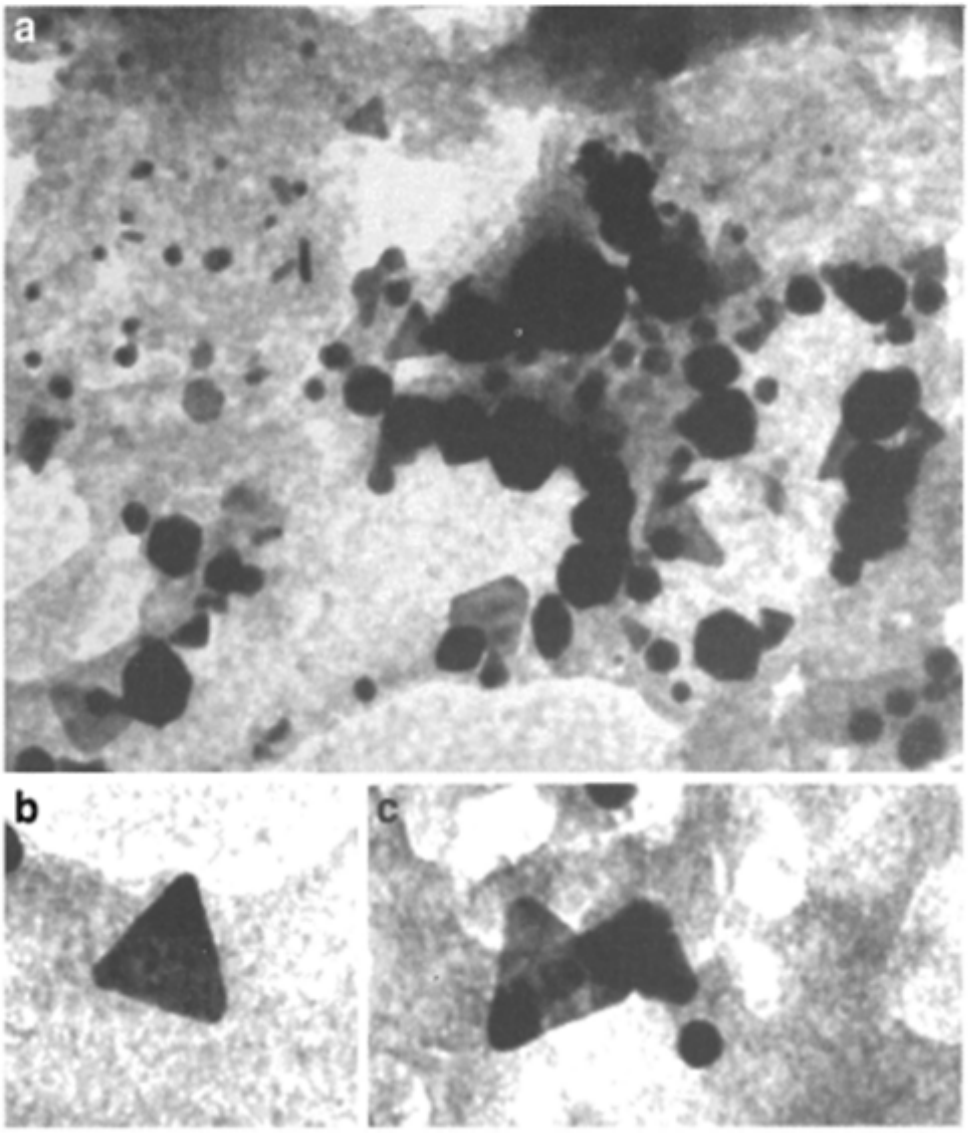


شكل 11.2: الدوارق المحتوية على الكتلة الحيوية للفطر *Aspergillus clavatus* في الماء المقطر(مقارنة) وفي المحلول المائي لكلورورات الذهب $HAuCl_4$بتركيز 1 مليمول بعد 72 ساعة حيث تغير لون الكتلة الحيوية الى الإرجواني الداكن. الصورة المحشورة تظهر راشح المزرعة مع محلول الكلورورات.

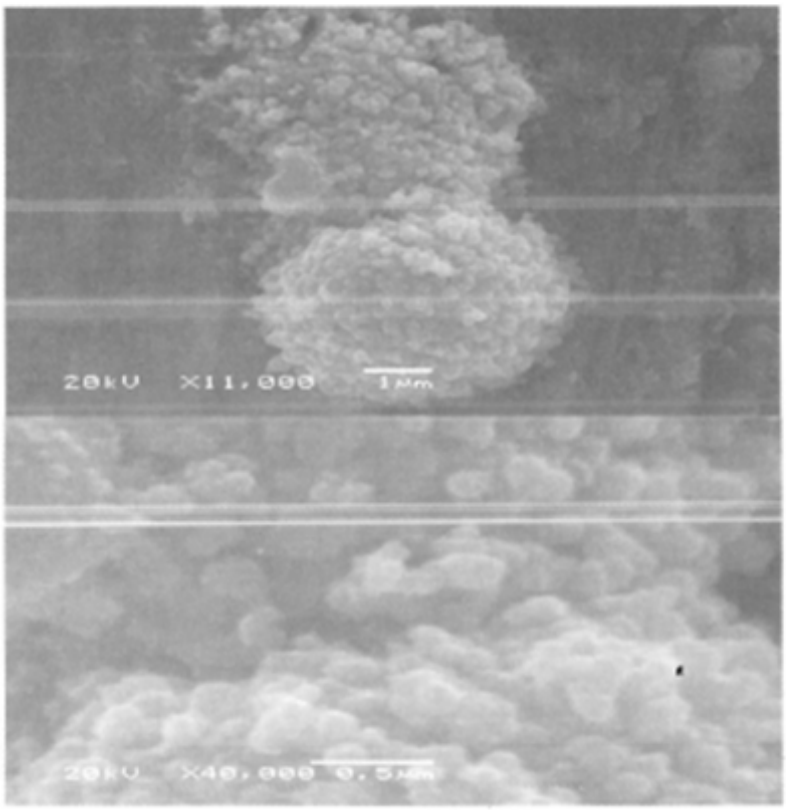
عن: (Verma *et al*.,2011)



شكل 11.3: صور بالمجهر الإلكتروني النافذ لمثلثات الذهب النانوية المحضرة عن طريق إختزال كلوروارت الذهب $HAuCl_4$ تركيز 1 ملمول بواسطة الفطر المستنبت *Aspergillus clavatus* (a–b). الشكل المحشور في (b) يظهر تحليل الهستوكرام لطول (حرف جنب حرف) المثلث الذهبي النانوي. وتلاحظ أنواع مختلفة من المثلثات الذهبية النانوية كالمثلثات الحادة الحرف (e, h) والمقطوعة (c, f, g) والمقصوصة (d). الخطوط: 100 ن م لـ a وb و50 ن م لـ c–h عن: (Verma *et al.*,2011)



شكل 11.4: مقطع رقيق في الغزل الفطري للفطر *Aspergilus clavatus* بعد المعاملة بكلوروات الذهب $HAuCl_4$بتركيز 1 مليمول لمدة 72 ساعة. يلاحظ تشتت مظهر دقائق الذهب الثانوية (a–c). مع ذلك، تسود المثلثات الثانوية مع تغير شكل وحواف الحرف (a–b). الخط = 200 ن م في a و50 ن م في b وc
عن: (Verma *et al.*,2011)

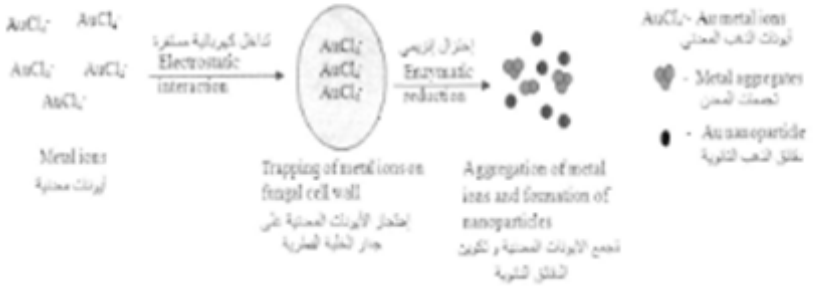


شكل 11.5: صور بالمجهر الإلكتروني النافذ يبين تكون الدقائق النانوية للفضة من قبل الفطر *F. oxysporum* سلالة 07 SD تحت قوتي تكبير مختلفتين
عن: (Duran *et al*.,2005)

آلية تكوين الدقائق النانوية الفطرية

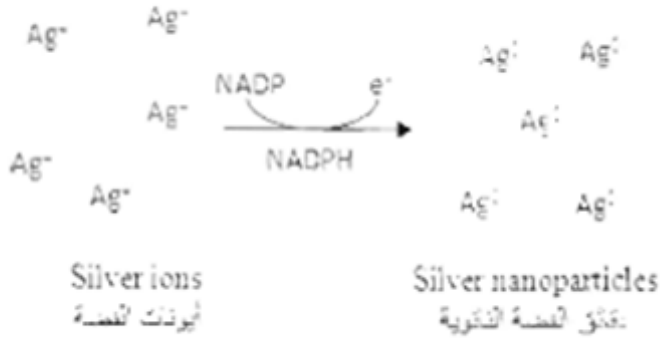
Mechanism of Myconanoparticles Formation

على الرغم من إختبار أعداد هائلة من السلالات فإن آلية التشكل والتخليق الحيوي لهكذا دقائق نانوية لا تزال غير معروفة بالضبط وتتطلب مزيدا من البحث. وحسب (Rai *et al*.,2010) يتم إختزال الأيونات المعدنية (Ag^+ وAu^+ كأمثلة) الى ذرات معدنية (Ag^0 وAu^0) بواسطة الإنزيمات المختزلة مثل Nitrate reductase المعتمدة على NADPH أو مكوكات الإلكترون Quinones أو كليهما. العملية تتم على مراحل ويلعب جدار الخلية والإنزيمات التي عليه دورا مركزيا.

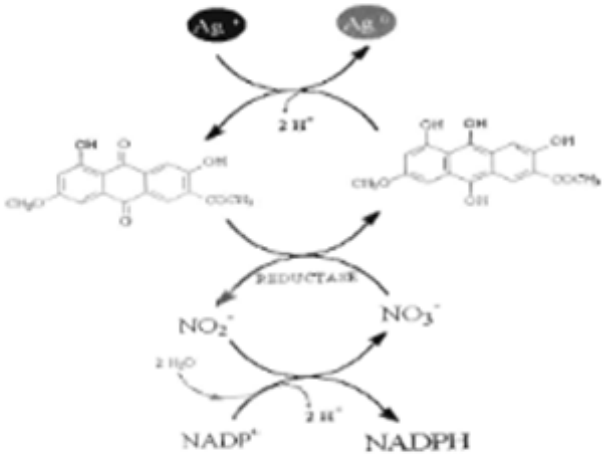


شكل 11.6: الآلية الإفتراضية للتخليق الخلوي لدقائق الذهب النانوية
عن: (Rai *et al.*,2010)

في المرحلة الأولى يتم إمصاص أيونات المعادن السالبة الشحنة على المجاميع الموجبة الشحنة للإنزيمات التي على سطح الخلية الفطرية. بعدها تتبع بإختزال الأيونات المعدنية الى شكلها الذري المتعادل وتكوين وتجمع الدقائق النانوية على جدار الخلية. ويمكن عبور بعض الأيونات الى داخل الخلية حيث يتم إختزالها بواسطة الإنزيمات المختزلة على غشاء الخلية أو داخل السايتوبلازم (شكل 11.6 و11.7 و11.8).



شكل 11.7: الآلية الإفتراضية للتخليق الخلوي الخارجخلوي لدقائق الفضة النانوية
عن: (Rai *et al.*,2010)



شكل 11.8: الآلية الإفتراضية لتخليق الدقائق النانوية الفضية
عن: (Duran *et al.*,2005)

ذكر (Zhang *et al.*,2011) أن عملية تكوين بلورات الذهب النانوية خلويا في 3 فطريات هي *Aureobasidium pullulans* و*Fusarium oxysporum* و*Fusarium sp.* تتوسطها سكريات مختزلة وبروتينات. البروتينات كانت بأوزان جزيئية 100 و25 و19 ك د شخصت على انها ATPase و 3-glucan binding protein و Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase على التوالي. دقائق الذهب النانوية كونت داخل الخلايا في الفجوات حيث لعبت السكريات المختزلة دورا في تكوين الدقائق الكروية بينما ساعدت البروتينات على تجميعها.

إستخدامات الدقائق النانوية الفطرية
Use of Myconanoparticles

تستخدم الدقائق النانوية المنتجة من قبل الفطريات في مجالات شتى. تظهر الدقائق النانوية الفضية فعالية عالية مضادة للبكتريا والفطريات الممرضة(Saha *et al.*,2010 ; Saha *et al.*,2011; Nasrollahi *et al.*,2011). وهكذا يتم إستخدامها في إنتاج الأدوية المضادة لهذه الممرضات وكذلك في إنتاج الأدوات

الجراحية والمراهم. ولهذه الدقائق فعالية مثبطة للفايروسات من خلال تداخلها مع جسيمات الفايروس المعتمد على الحجم. هذا يتوضح في حالة فايروس الأيدز حيث تميل الى الإرتباط مع وحدة غلاف البروتين المؤلفة من بروتين سكري(Rai *et al.*,2010). وأستخدمت الدقائق النانوية الفروية للفضة في تثبيط الأجسام الحجرية والفطريات المكونة لها الممرضة للنبات(Min *et al.*,2009). وفي الصناعة: تستخدم الدقائق النانوية الفضية في إنتاج البطاريات الكهربائية والمرشحات المستقطبة وصبغات لتلوين الزجاج والسيراميك. تستخدم ف الدقائق النانوية الذهبية ي علاج السرطان من خلال قدرتها العالية على إمتصاص الضوء وتحويله الى طاقة حرارية تدمر الخلايا السرطانية. كذلك كدقائق حاملة للأدوية المضادة للسرطان. كما تستخدم هذه القدرة مع الضوء المرئي في تعقيم مياه الشرب. ولهذه الدقائق النانوية إستخدامات في تقنيات الطاقة الشمسية. ثمة تخليق حيوي فطري للدقائق النانوية للعديد من المعادن الأخرى والتي لها إستخدامات مختلفة(Rai *et al.*,2010).

Reference المراجع

شريف، فياض محمد. 2012. مدخل الى وراثة الفطريات. تحت الطبع

- Adams, T. H. ,J. K. Wieser, and J. H. Yu. 1998. Asexual Sporulation in Aspergillus nidulans. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 62 (1): 35 – 54
- Agnihotri ,M., S. Joshi, A. R. Kumar, S. Zinjarde and S. Kulkarni. 2009. Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. Materials Letters , 63 (15): 1231-1234
- Agrios G. N. 1997. Plant Pathology.4th edition. Academic Press
- Aguirre , J., W. Hansberg and R. Navorro. 2006. Fungal responses to reactive oxygen species. Medical Mycology , 44: S101- S107
- Ahmad, A, P. Mukherjee, D. Mandal, S. Senapati, M I. Khan, R. Kumar and M. Sastry. 2002. Enzyme mediated extracellular biosynthesis of CdS nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. Journal of American Chemical Society , 124: 12108-12109
- Ahmad, A, S. Senapati, M. I. Khan, R., Kumar and M. Sastry. 2005. Extra-/Intracellular Biosynthesis of Gold Nanoparticles by an Alkalotolerant Fungus *Trichothecium* sp. Journal of Biomedical Nanotechnology , 2005; 1: 47-53
- Ali , S. , I-ul-Haq , M. A. Qadeer and J. Iqbal. 2002. Production of citric acid by ***Aspergillus niger*** using cane molasses in a stirred fermentor. Electronic Journal of Biotechnology , 5 (3) fulltext-3

- Allen, E. A., B. E. Hazen, H. C. Hoch, *et al.* 1991. Appressorium formation in response to topographical signals in 27 rust species. Phytopathology, 81: 323-331
- Anderson, W.P., C. C. Holbrook ,D. M. Wilson and M. E. Matheron. 1995. Evaluation of preharvest aflatoxin contamination in several potentially resistant peanut genotypes. Peanut Science , 22:29–32
- Bagga, S. and D.C. Straney 2000. Modulation of cAMP and phosphodiesterase activity by flavonoids which induce spore germination of *Nectria haematococca* MP VI (*Fusarium solani*). Physiological & Molecular Plant Pathology 56: 51-61
- Bahn , Y-S, C. Xue , A. Idnurm , J. C. Rutherford , J. Heitman and M. E. Cardenas. 2007. Sensing the environment: lessons from fungi. Nature Reviews Microbiology , 5: 57–69
- Baia , H. J., Z.M. Zhangb and Y. Guo. 2009. Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by photosynthetic bacteria *Rhodopseudomonas palustris*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces ,70: 142–146
- Balaji, D. S., S. Basavaraja, R. Deshpande, D. Bedre, B. K. Prabhakar and A. Venkataraman. 2009. Extracellular biosynthesis of functionalized silver nanoparticles by strains of *Cladosporium cladosporioides* fungus. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces , 68(1): 88-92
- Bansal, V, D. Rautray, A. Ahamd and M. Sastry. 2004. Biosynthesis of zirconia nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. Journal of Material Chemistry , 14: 3303- 3305
- Bansal, V, D. Rautray, A. Bharde, K. Ahire, A. Sanyal, A. Ahmadand M. Sastry. 2005. Fungus-mediated biosynthesis of silica and titania particles. Journal of Material Chemistry , 15: 2583-2589

- Basavaraja, S, S. D. Balaji, A. Lagashetty,A. H. Rajasab and A. Venkataraman. 2007. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium semitectum*. Material Research Bulletin , 43(5): 1164-1170
- Bayman, P. , J. L. Baker, M. A. Doster, T. J. Michailides, and N. E. Mahoney. 2002. Ochratoxin Production by the *Aspergillus ochraceus* Group and *Aspergillus alliaceus*. Appl Environ Microbiol. 68 (5): 2326–2329. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid =127519

- Belozerskaya, T. A. 1997. Cell-to-Cell Communication in Differentiation of Mycelial Fungi. Membr.Cell Biol. 11 (6): 831-840
- Benada , J. 1997. Mechanism of plant disease resistance to obligate parasites in relation to biophysical states. Pflanzenschutzberichte (Austria) , 57: 37-48
- Bennett ,J. W. and M. Klich. 2003. Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews, 16 (3): 497-516
- Beremand , M. N. and S. P. McCormick. 1992. Biosynthesis and regulation of trichothecenes production by Fusarium species. In Handbook of Applied Mycology. Vol. 5 ,D. Bhatnagar , E. B. Lillehoj and K. Arora eds. Pp. 359 – 383. Marcel Dekker Inc. New York, USA
- Bergero, R., M. Girlanda, G. C. Varese, D. Intili and A. M. Luppi. 1999. Psychrooligotrophic fungi from Arctic soils of Franz Joseph Land. Polar Biology , 21 (6): 361-368
- Beynal , H., Z. Lewandowski and G. Harking. 2004a. Quantifying biofilm structure: Facts and fiction. Biofouling , 20 (1): 1 – 23
- Beyenal , H., C. Yakymyshynb, J. Hyungnakb, C. C. Davisc and Z. Lewandowski. 2004 b. An optical microsensor to measure fluorescent light intensity in biofilms. Journal of Microbiological Methods , 58: 367– 374

- Bhainsa, K. C. and S. F. D'Souza. 2006. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigates*. Colloids and Surfaces B: Biointerface , 47: 160-164
- Bharde, A, D. Rautray, V. Bansal, A. Ahmad, I. Sarkar, S. M. Yusuf, M. Sanyal and M. Sastry. 2006. Extracellular Biosynthesis of Magnetite using fungi. Small , 2(1): 135-141
- Bilgrami, K. S. and R. N. Verma. 1980. Physiology of fungi.New Delhi.
- Blaauw, A. H. 1914. Licht und Wachstum Int.Z. Bot. 6:641-703. Cited by (Islam *et al.*1998)
- Birkaya, B., A. Maddi, J. Joshi, S. J. Free and P. J. Cullen. 2009. Role of the cell wall integrity and filamentous growth mitogen-activated protein kinase pathways in cell wall remodeling during filamentous growth. Eukaryotic Cell , 8 (8): 1118–1133
- Birla, S. S., V. V. Tiwari, A. K. Gade,A. P. Ingle,A. P. Yadav and M. K. Rai. 2009. Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Letters in Applied Microbiology , 27: 76-83
- Bok , J. W. and N. P. Keller. 2004. LaeA, a regulator of secondary metabolism in Aspergillus spp. Eukaryotic Cell, 3 (2): 527-535
- Borkovich, K. A. 2005. Opsins and Opsin-Related Proteins. Center for Plant Cell Biology at UC Riverside
  D:\Fungal Physiology\CEPCEB – Center for Plant Cell Biology at UC Riverside.htm
- Bressan , W. 2001. The interactive effect of phosphorus and nitrogen on "in vitro" spore germination of *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, root growth and mycorrhizal colonization. Braz. J. Microbiol.[online] , 32 (4): 276-280

- Brozen , R. 2005. Toxicity – mushroome – orenalline. eMedicine http://www.emedicine.com/EMERG/topic460-htm
- Brown , S. H., R. Zarnowski, W. C. Sharpee and N. P. Keller. 2008. Morphological transitions governed by density dependence and lipoxygenase activity in *Aspergillus flavus*. Applied and Environmental Microbiology , 74 (18): 5674–5685
- Bruggeman, J., A. J. M. Debets, P. J. Wijngaarden, J. A. G. M. deVisser and R. F. Hoekstra. 2003. Sex slows down the accumulation of deleterious mutations in the homothallic fungus *Aspergillus nidulans*. Genetics , 164: 479–485
- Caldwell, G. A., F. Naider and J. M. Becker. 1995. Fungal lipopeptide mating pheromones: a model system for the study of protein prenylation. Micrbiol Rev. , 59 (3): 406 – 422
- Calvo, A. M. , L. L. Hinze, H. W. Gardner and N. P. Keller. 1999. Sporogenic effect of polyunsaturated fatty acids on development of *Aspergillus spp.* Applied and Environmental Microbiology , 65 (8): 3668 – 3673
- Calvo, A. M, R. A. Wilson, J. W. Bok, and N. P. Keller. 2002. Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66 (3): 447-459
- Cameron, S. and E. W. Colivin. 1989. Chemical deoxygenation of the trichothecenes diacetoxyscripenol and deoxynivalenol. J Chem Soc Perkin Trans , 1: 365 -370
- Cann, A. 2004. Introduction to mycology. http://www-micro.msb.le.ac.uk/224/myc1.html
- Cao, B., B. Ahmed and H. Beyenal. 2010. Immobilization of uranium in groundwater using biofilms. Chapter 1, Pages 1 – 37 In: V. Shah (ed.), Emerging Environmental Technologies. Springer Science+Business Media B.V. 2010

- Cao, B., L. Shi, R. N. Brown, Y. Xiong, J. K. Fredrickson, M. F. Romine, M. J. Marshall, M. S. Lipton and H. Beyenal. 2011. Extracellular polymeric substances from *Shewanella* sp. HRCR-1 biofilms: characterization by infrared spectroscopy and proteomics. Environmental Microbiology , PDF 12 pp doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02407.x

- Casselton, L. A. 2002. Mate recognition in fungi. Heredity, 88: 142 – 147
- Casselton, L. A. and N. S.Olesnicky. 1998. Molecular Genetics of Mating Recognition in *Basidiomycete* Fungi. Microbiology and molecular Biology Review, 62 (1): 55 – 70
- Chaky, J., K. Anderson, M. Moss, and L.Vaillancourt. 2001. Surface hydrophobicity and surface rigidity induce spore germination in *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology , 91:558-564
- Chen, J. C., Z. H. Lin and X. X. Ma. 2003. Evidence of the production of silver nanoparticles via pretreatment of *Phoma* sp 32883 with silver nitrate. Letters in Applied Microbiology , 37: 105-108
- Chen , H. and G. R. Fink. 2006. Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. Genes Dev., 20: 1150-1161
- Chen , H., M. Fujita, Q. Feng, J. Clardy and G. R. Fink. 2004. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. PNAS , 101 (14): 5048–5052
- Cho , T. 2004. Morphogenesis in *Candida albicans*. Chapter 4 In: Pathogenic Fungi: Structural Biology and Taxonomy. Eds. Gioconda San-Blas and Richard A. Calderonehttp://www.horizonpress.com/hsp/books/pfsb.html
- Cochrane V. W. 1958. Physiology of fungi. John Wiley & Sons Inc. New York.

- Brozen , R. 2005. Toxicity – mushroome – orenalline. eMedicine http://www.emedicine.com/EMERG/topic460-htm
- Brown , S. H., R. Zarnowski, W. C. Sharpee and N. P. Keller. 2008. Morphological transitions governed by density dependence and lipoxygenase activity in *Aspergillus flavus*. Applied and Environmental Microbiology , 74 (18): 5674–5685
- Bruggeman, J., A. J. M. Debets, P. J. Wijngaarden, J. A. G. M. deVisser and R. F. Hoekstra. 2003. Sex slows down the accumulation of deleterious mutations in the homothallic fungus *Aspergillus nidulans*. Genetics , 164: 479–485
- Caldwell, G. A., F. Naider and J. M. Becker. 1995. Fungal lipopeptide mating pheromones: a model system for the study of protein prenylation. Micrbiol Rev. , 59 (3): 406 – 422
- Calvo, A. M. , L. L. Hinze, H. W. Gardner and N. P. Keller. 1999. Sporogenic effect of polyunsaturated fatty acids on development of *Aspergillus spp.* Applied and Environmental Microbiology , 65 (8): 3668 – 3673
- Calvo, A. M, R. A. Wilson, J. W. Bok, and N. P. Keller. 2002. Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66 (3): 447-459
- Cameron, S. and E. W. Colivin. 1989. Chemical deoxygenation of the trichothecenes diacetoxyscripenol and deoxynivalenol. J Chem Soc Perkin Trans , 1: 365 –370
- Cann, A. 2004. Introduction to mycology. http://www-micro.msb.le.ac.uk/224/myc1.html
- Cao, B., B. Ahmed and H. Beyenal. 2010. Immobilization of uranium in groundwater using biofilms. Chapter 1, Pages 1 – 37 In: V. Shah (ed.), Emerging Environmental Technologies. Springer Science+Business Media B.V. 2010

- Cao, B., L. Shi, R. N. Brown, Y. Xiong, J. K. Fredrickson, M. F. Romine, M. J. Marshall, M. S. Lipton and H. Beyenal. 2011. Extracellular polymeric substances from *Shewanella* sp. HRCR-1 biofilms: characterization by infrared spectroscopy and proteomics. Environmental Microbiology , PDF 12 pp doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02407.x

- Casselton, L. A. 2002. Mate recognition in fungi. Heredity, 88: 142 – 147
- Casselton, L. A. and N. S.Olesnicky. 1998. Molecular Genetics of Mating Recognition in *Basidiomycete* Fungi. Microbiology and molecular Biology Review, 62 (1): 55 – 70
- Chaky, J., K. Anderson, M. Moss, and L.Vaillancourt. 2001. Surface hydrophobicity and surface rigidity induce spore germination in *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology , 91:558-564
- Chen, J. C., Z. H. Lin and X. X. Ma. 2003. Evidence of the production of silver nanoparticles via pretreatment of *Phoma* sp 32883 with silver nitrate. Letters in Applied Microbiology , 37: 105-108
- Chen , H. and G. R. Fink. 2006. Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. Genes Dev., 20: 1150-1161
- Chen , H., M. Fujita, Q. Feng, J. Clardy and G. R. Fink. 2004. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. PNAS , 101 (14): 5048–5052
- Cho , T. 2004. Morphogenesis in *Candida albicans*. Chapter 4 In: Pathogenic Fungi: Structural Biology and Taxonomy. Eds. Gioconda San-Blas and Richard A. Calderonehttp://www.horizonpress.com/hsp/books/pfsb.html
- Cochrane V. W. 1958. Physiology of fungi. John Wiley & Sons Inc. New York.

- Copes, W.E. and F. F. Hendrix. 2004. Effect Of Temperature On Sporulation Of *Botryosphaeria Dothidea, B. Obtusa*, And *B. Rhodina*. Plant Disease , 88:292-296
- Coppin, E ,R Debuchy , S Arnaise and M Picard. 1997. Mating types and sexual development in filamentous Ascomycetes. Microbiology and Molecular Biology Reviews , 61 (4): 411 – 428
- CPCS and Regents. 2000. Mushrooms. University of California D:\Poisonous 375awaii375ia\CPCS Mushrooms.htm

- Craven, K. D., H. Ve´lëz, Y. Cho, C. B. Lawrence and T. K. Mitchell. 2008. Anastomosis is required for virulence of the fungal necrotroph *Alternaria brassicicola*. Eukaryotic Cell , 7 (4): 675–683
- Croll , D., M. Giovannetti, A. M. Koch, C. Sbrana, M. Ehinger,P. J. Lammers and I. R. Sanders. 2008. Nonself vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. New Phytologist , (2008) doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02726.x. PDF,14 pp.
- Curran , B. and V. Bugeja. 2005. The biotechnological exploitation of heterologous protein production in fungi. Chapter 6 In: Fungi biology and applications. Ed. Kavanagh , K. John Wiley & Sons Ltd. 293 pp.
- Curry , K. J. and R. E. Baird. 2006. Ascomycota: The Filamentous Fungi Forming Perithecia, Apothecia, and Ascostromatahttp://eppserver.ag.utk.edu/Trigiano/PPCLE/1037_C15.pdf#search='ascomycetes
- Das , R. K., N. Gogoi and U. Bora. 2011. Green synthesis of gold nanoparticles using *Nyctanthes arbortristis* flower extract. Bioprocess Biosyst Eng. , 34 (5): 615-619
- Deacon. 2003 c. The Microbial World:Basidiomycota: activities and lifestyle. http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/basidio.htm

- Deacon J. 2003 d. The Microbial World: Microorganisms and microbial activitieshttp://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/index.htm#choice
- Deacon, J. 2003 f. The Microbial World: Fungal tip growth and hyphal tropisms http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/apical.htm#top
- Deacon, J. 2005 a. Fungal Biology. Chapter 1: Introduction – The fungi and fungal activities. Blackwell Publishing E:\Chpt 1 pictures.htm

- Deacon, J. 2005 b. Chapter 6. Fungal nutrition. In: Fungal Biology.Blackwell Publishing E:\DEACON FUNGAL BIOL\6.htm
- Demain, A. L. 1981. Industrial microbiology. Science 214:987-994.
- Dewan , A. , H. Beyenal and Z. L ewandowski. 2008. Scaling up microbial fuel cells. Environ. Sci. Technol. , 42: 7643–7648

- Doggett , M. S. 2000. Characterization of fungal biofilms within a municipal water distribution system. Applied and Enviromental Microbiology , 66 (3): 1249–1251

- Dorey , S. , F. Baillieul, M. A. Pierrel, P. Saindrenan, B. Fritig, and S. Kauffmann. 1997. Spatial and temporal induction of cell death, defense genes, and accumulation of salicylic acid in tobacco leaves reacting hypersensitively to a fungal glycoprotein elicitor. Molecular Plant-Microb Interaction , 10:646-655 (Abstract)
- Duran, N, P. D. Marcato, O. L. Alves, G. DeSouza and E. Esposito. 2005. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver

nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. Journal of Nanobiotechnology , 3: 1-8

- Dursun, F. , L. Boddy and J. C. Frankland. 2002. Effects of pH and aluminium ion concentration on spore germination and growth of some soil fungi. Turk J Biol , 26: 99 – 107

- El-Sharkawy, S. and H. K. Abbas. 1991. Metabolism of T-2 toxin by Mucor and Aspergillus sp. Acta Pharm. Jugosl., 41 91 – 101

- Encyclopedia Britannica Online. 2006. Asexual reproduction. *http://www.britannica.com/eb/article-57956?tocId=57956*

- Fillinger, S., M. K. Chaveroche ,K. Shimizu ,N. Keller and C. d'Enfert . 2002. cAMP and ras signalling independently control spore germination in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. Mol Microbiol.44(4):1001-16
- Fox, E. M. and B. J. Howlett. 2008. Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. Current Opinion in Microbiology, 11:481–487 Available online at www.sciencedirect.com
- Gade, A K, P. Bonde, A. P. Ingle, P. D. Marcato,N. Duran andM. K. Rai. 2008. Exploitation of *Aspergillus niger* for synthesis of silver nanoparticles. Journal of Biobased Material and Bioenergy , 2: 243-247

- Gardiner, D. M. , P. Waring and B. J. Howlett. 2005. The epipolythiodioxopiperazine (ETP) class of fungal toxins: distribution, mode of action, functions and biosynthesis. Microbiology , 151: 1021-1032
- Genovese, F. , G. Mancuso , M. Cuzzola , V. Cusumano , F. Nicoletti , K. Bendtzen and G. Tetti. 1996. Improved Survival and Antagonistic Effect of Sodium Fusidate on Tumor

Necrosis Factor Alpha in a Neonatal Mouse Model of Endotoxin Shock. Antimicrobial Agents and Chemotherapy , 40 (7): 1733–1735

- Georgiou, C. D., N. Patsoukis, I. Papapostolou and G. Zervoudakis. 2006. Sclerotial metamorphosis in filamentous fungi is induced by oxidative stress. Integrative and Comparative Biology 2006 46(6):691-712
- Gericke, M and A. Pinches. 2006. Microbial production of gold nanoparticles. Gold Bulletin , 39(1): 22-28
- Gessler , N. N., A. A. Aver'yanov and T. A. Belozerskaya. 2007. Reactive oxygen species in regulation of fungal development. Biochemistry (Moscow) , 72 (10): 1091-1109http://www.protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v72/pdf/bcm_1091.pdf
- Glass , N. L., C. Rasmussen, M. G. Roca and N. D. Read. 2004. Hyphal homing, fusion and mycelia interconnectedness. TRENDS in Microbiology , 12 (3): 135 – 141
- Gómez, B. L., J. D. Nosanchuk, S. Díez,S. Youngchim, P. Aisen, L. E. Cano, A. Restrepo, A. Casadevall and A. J. Hamilton. 2001. Detection of melanin-like pigments in the dimorphic fungal pathogen *Paracoccidioides brasiliensis* In Vitro and during infection. Infection and Immunity, 69 (9): 5760-5767
- Górny, R. L. , T. Reponen , K. Willeke , D. Schmechel , E. Robine, M. Boissier and S. A. Grinshpun. 2002. Fungal fragments as indoor air biocontaminants. Applied and Environmental Microbiology, 68 (7): 3522 – 3531
- Gots , R. E. , N. J. Layton and S. W. Pirages. 2003. Indoor health: background levels of fungi. AIHA Journal , 64: 427 - 438

- Govender, Y, T. Riddin, M. Gericke and C. G. Whiteley. 2009. Bioreduction of platinum salts into nanoparticles: a mechanistic perspective. Biotechnology Letters , doi 10.1007/s10529-008-9825-z.
- Griffin, H. G. 1981. Fungal Physiology. 1st. Ed. John Willey & Sons Publication
- Griffin, H. G. 1994. Fungal Physiology. 2nd. Ed. John Willey Lis Inc. 463 pp.
- Grolig, F., P. Eibel, C. Schimek, T. Schapat, D. S. Dennison and P. A. Galland. 2000. Interaction between Gravitropism and Phototropism in Sporangiophores of *Phycomyces blakesleeanus*. Plant Physiol., 123 (2): 765–776
- Hamilton, R. M. and B. K. Thompson. 1992. Chemical and nutrient content of corn (*Zea mays*) befor and after being flame roasted. J Sci Food Agric 58: 425 – 430
- Hanson , J. R. 2008. The chemistry of fungi. Published by The Royal Society of Chemistry,Thomas Graham House, Science Park, Milton Road,Cambridge CB4 0WF, UK. 221 pp.
- Harris , S. D. 2005. Morphogenesis in germinating *Fusarium graminearum* macroconidia. Mycologia , 97 (4): 880–887
- Hawker, L. E. 1950. Physiology of fungi. University of London Press LTD. London
- Herman, P. K. and J. Rine. 1997. Yeast spore germination: a requirement for Ras protein activity during re-entry into the cell cycle. The EMBO Journal 16 (20): 6171-6181
- Herman, M. I. and P. chyka. 2006. Toxicity- mushroome muscarine.Medicine.http://www.emedicine.com/ped/topic2863.htm
- Hibbett, D. S.. 2003. Hymenomycetes Jelly Fungi, Yeasts, and Mushrooms

- Hickey, P. C., D. J. Jacobson, N. D. Read and N. L. Glass. 2002. Live-cell imaging of vegetative hyphal fusion in *Neurospora crassa*. Fungal Genetics and Biology , 37: 109–119
- Hicks, J., J.-H. Yu, N. Keller, and T. H. Adams. 1997. *Aspergillus* sporulation and mycotoxin production both require inactivation of the FadA G-alpha protein-dependent signaling pathway. EMBO J. 16:4916-4923.
- Hoffman , C. S. 2005. Glucose sensing via the protein kinase A pathway in *Schizosaccharomyces pombe*. Biochemical Society Transactions , 33, part 1: 257 – 260
- Hogan , D. A. 2006. Talking to themselves: autoregulation and quorum sensing in fungi. Eukaryotic Cell , 5 (4): 613–619
- Hoi , J. W. S. and B. Dumas. 2010. Ste12 and Ste12-like proteins, fungal transcription factors regulating development and pathogenicity.Eukaryotic Cell , 9 (4): 480–485
- Honda, Y., and Miyawaki, T. 1989. Phototropic response of conidium germ tubes in *Septoria 380awai*. Trans. Mycol. Soc. Jpn.30:411-414
- Honda, Y., Kashima, T., and Kumagai, T. 1992.Suppression of brown spot disease of cultivated chrysanthemum by manipulating phototropic response of conidium germ tubes of *Septoria 380awai*. J. Phytopathol. 136:270-278
- Honigberg , S. M. 2011. Cell signals, cell contacts, and the organization of yeast communities. Eukaryotic Cell , 10 (4): 466-473
- Hsiang , T., N. Matsumoto and S. M. Millett. 1999. Biology and management of Typhula snow molds of turfgrass. Plant Dis , 83:788–798
- Husseiny, M. I. and M. Abd El-Aziz,. 2008. Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using Pseudomonas Aeruginosa. Spectrochimica Acta Part A. Issue III-A, October 2008
- Ingle, A, A. Gade, S. Pierrat, C. Sonnichsen and M. K. Rai. 2008. Mycosynthesis of silver nanoparticles using the fungus

Fusarium acuminatum and its activity against some human pathogenic bacteria. Current Nanoscience , 4: 141-144

- Ingle, A, M. K. Rai, A. Gade and M. Bawaskar. 2009. *Fusarium solani*: a novel biological agent for the extracellular synthesis of silver nanoparticles. Journal of Nanoparticle Research , doi 101007/s11051-008-9573-y
- Islam, S. Z., and Y. Honda. 1996. Influence of phototropic response of spore germ tubes on infection process in *Colletotrichum lagenarium* and *Bipolaris oryzae*. Mycoscience ,37(3):331-337
- Islam, S. Z., Y. Honda and M. Sonhaji. 1998. Phototropism of conidial germ tubes of *Botrytis cinerea* and its implication in plant infection processes. Plant Dis. 82:850-856
- Jackson , S. L. and I. B. Heath. 1993. Roles of calcium ions in hyphal tip growth. Microbiol Mol Biol Rev. , 57(2): 367-382
- Jain , C., M.Yun, S. M. Politz and R. P. Rao. 2009. A pathogenesis assay uing *Saccharomyces cerevisiae* and *Caenorhabditis elegans* reveals novel roles for yeast AP-1, Yap1, and host dual oxidase BLI-3 in fungal pathogenesis. Eukaryotic Cell , 8 (8): 1218–1227
- Jensen, E. C., C. Ogg and K. W. Nickerson. 1992. Lipoxygenase inhibitors shift the yeast/mycelium dimorphism in *Ceratocystis ulmi*. Appl. Environ. Microbiol. , 58: 2505–2508
- Jha , A. K. and K. Prasad. 2010. Biosynthesis of metal and oxide nanoparticles using Lactobacilli from yoghurt and probiotic spore tablets. Biotechnology Journal , 5 (3): 285 – 291
- Joo, J. H., Y. S. Bae and J. S. Lee. 2001. Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. Plant Physiology, 126: 1055–1060

- Joseph , C. M. L., G. Kumar, E.Su and L.F. Bisson. 2007. Adhesion and biofilm production by wine isolates of *Brettanomyces bruxellensis*. Am. J. Enol. Vitic. , 58 (3): 373-378
- Kavanagh , K. 2005. Fungal fermentation , systems and products. Chapter 4 In: Fungi biology and applications. Ed. Kavanagh , K. John Wiley & Sons Ltd. 293 pp.
- Kawamura, C., T. Tsujimoto, and T. Tsuge. 1999. Targeted disruption of a melanin biosynthesis gene affects conidial development and UV tolerance in the Japanese pear pathotype of *Alternaria 382awaii382ia*. Mol. Plant-Microbe Interact., 12:59-63
- Kendrick , B. 2002. The fifth kingdom. http://www.mycolog.com/fifthtoc.html
- King, M. W. 2010. The medical biochemistry page. Glycolysis regulating blood glucose. http://themedicalbiochemistrypage.org/glycolysis.html
- Kirk , D. 1980. Biology today.Third ed. Random House (New York)
- Koch, E., and H. Hoppe. 1987. Effect of light on uredospore germination and germ tube growth of soybean rust (Phakopsora pachyrhizi Syd.). J. Phytopathol. 118:64-74
- Kowshik , M., S. Ashtaputre, S. Kharrazi, W. Vogel, J. Urban, S. K. Kulkarni and K M Paknikar. 2003. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology* , 14 95 doi:10.1088/0957-4484/14/1/321(Abstract)
- Krumov , N., I. Perner-Nochta ,S. Oder and V. Gotcheva. 2009. Production of inorganic nanoparticles by microorganisms. Chem. Eng. Technol. , 32 (7): 1026–1035
- Kumar, A S, A. A. Ansary, A. Ahmad and M. I. Khan. 2007a. Extracellular Biosynthesis of CdSe Quantum Dots by the

Fungus *Fusarium oxysporum*. Journal of Biomedical Nanotechnology , 3: 190-194

- Kumar, S A, M. K. Abyaneh, S. W. Gosavi, S. K. Kulkarni,R. Pasricha, A. Ahmad and M. I. Khan. 2007b. Nitrate reductase-mediated synthesis of silver nanoparticles from AgNO3. Biotechnology Letters , 29: 439-445
- Kumar, S A, Y. A. Peter and J. L. Nadaeu. 2008. Facile biosynthesis, separation, conjugation of gold nanoparticles to doxorubicin.Nanotechnology , doi:10.1088/0957-4484/19/49/495101
- Kumar , P. S., M. Ghosh , K.K. Pulicherla and K.R.S. Sambasiva Rao. 2011. Cold active enzymes from the marine psychrophiles: Biotechnological perspective. Advanced Biotech. , 10 (9): 16 - 20
- Kües , U. 2000. Life History and Developmental Processes in the Basidiomycete *Coprinus cinereus*. Microbiol Mol Biol Rev. 2000 , 64(2): 316–353
- Landecker , E. M. 1982. Fundamentals of the fungi. 2nd.ed.Prentice-Hall,Inc.,Engelewood Cliffs,New Jersey
- Leach C. M. and M. Tulloch. 1972. Induction of sporulation of fungi isolated from *Dactylis glomerata* seed by exposure to near-ultraviolet radiation. Ann. Appl. Biol., 72 (2): 155-159
- Lee , S. C., M. Ni, W. Li, C. Shertz and J. Heitman. 2010. The evolution of sex: a perspective from the fungal kingdom. Microbiology and Molecullar Biology Reviews , 74 (2): 298–340
- Lew , R. R. 2005. Mass flow and pressure-driven hyphal extension in *Neurospora crassa*. Microbiology , 151: 2685–2692
- Lewandowski , Z. and H. Beyenal. 2003. Use of microsensors to study Biofilms. Chapter 21 pages 375 – 412 In: Biofilm in medicine, industry and environmental biotechnology,

characteristics , analysis and control. Eds. L. P. O'Flaherty , M. A. Stoodley and T. Mahony. IWA Publishing London

- Li, L., S. J. Wright, S. Krystofova, G. Park, and K. A. Borkovich. 2007. Heterotrimeric G protein signaling in filamentous fungi. Annual Review of Microbiology , 61: 423-452 (Abstract)
- Liu , P., L. Luo , J. Guo , H. Liu , B. Wang , B. Deng , C-a Long and Y. Cheng 2010a. Farnesol induces apoptosis and oxidative stress in the fungal pathogen Penicillium expansum. *Mycologia*, 102 (2): 311-318
- Liu , X., C. E. Williams, J. A. Nemacheck, H. Wang, S. Subramanyam,C. Zheng and M-S Chen. 2010b. Reactive oxygen species are involved in plant defense against a gall midge. Plant Physiology , 152: 985–999
- Lowe, S. E. , M. K. Theodorou and A. P. Trinci. 1987. Growth and fermentation of an anaerobic rumen fungus on various carbon sources and effect of temperature on development. Appl Environ Microbiol. , 53(6): 1210–1215
- Magnuson,J. K. and L. L. Lasure. 2004. Organic acid production by filamentous fungi. Lane-12. Qxd 11/11/03 6: 41 PM pages 307 – 340 http://www.pnl.gov/biobased/docs/organic_acids_ch_12.pdf
- Maheshwari, R., G. Bharadwaj and M. K. Bhat. 2000. Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64 (3): 461–488
- Maheshwari , R. 2005. Fungi Experimental Methods in Biology. Vol 24 In Mycology Series, Ed. J. W. Bennett. CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742. PP. 240
- Malloch , D. 1997. Moulds ,isolation , cultivation and identification. Department of Botany, University of Torontohttp://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Moulds.html

- Mandal , D. , M. E. Bolander and D. Mukhopadhyay. 2006. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. Appl Microbiol Biotechnol , 69: 485–492
- Marasas W. F. O. 2001. Discovery and Occurrence of the Fumonisins: A Historical Perspective. Environmental Health Perspectives, 109 Suppl. 2: 239 – 243
- Mapari, S. A. S., A. S Meyer, U. Thrane and J. C. Frisvad. 2009. Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale. Microbial Cell Factories, 8: 24 pdf 15 pp. http://www.microbialcellfactories.com/content/8/1/24
- Martinez , L. R. and B. C. Fries. 2010. Fungal biofilms: Relevance in the setting of human disease. Curr Fungal Infect Rep., 4 (4): 266–275
- Mclean , J., G. W anger,Y. Gorby, M. W aistein , J. Mcquaid, S. I. Chiishii, O. Bretschger , H. Beyenal and K. Nealson. 2010. Quantification of electron transfer rates to a solid phase electron acceptor through the stages of biofilm formation from single cells to multicellular communities. Environ. Sci. Technol. , 44: 2721–2727
- Meletiadis , J., J. F. G. M. Meis, J. W. Mouton and P. E. Verweij. 2001. Analysis of Growth Characteristics of Filamentous Fungi in Different Nutrient Media. Clin Microbiol. , 39(2): 478–484
- Mercure, E. W., H. Kunoh, and R. L. Nicholson. 1994. Adhesion of *Colletotrichum graminicola* conidia to corn leaves: a requirement for disease development. Physiol.Mol. Plant Pathol., 45(6): 407-420
- Meyer , V., M. Arentshorst, S. J. Flitter, B. M. Nitsche and other coauthors. 2009. Reconstruction of signaling networks regulating fungal morphogenesis by transcriptomics. Eukaryotic Cell , 8 (11): 1677–1691

- Min , J. S., K. S. Kim, S. W. Kim, J. H. Jung, K. Lamsal, S. B. Kim,M. Jung and Y. S. Lee. 2009. Effects of colloidal silver nanoparticles on sclerotium-forming phytopathogenic fungi. Plant Pathol. J. , 25(4): 376-380
- Mohammadian, A, S. A. Shaojaosadati and M. H. Rezee. 2007. *Fusarium oxysporum* mediates photogeneration of silver nanoparticles. Scientia Iranica , 14(4): 323-326
- Mohanpuria, P, N. K. Rana and S. K. Yadav. 2008. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. Journal of Nanoparticle Research., 7: 9275-9280
- Moon ,J-W., Y. R. Leas and W. Yeary. 2007. Microbial formation of lanthanide-substituted magnetites by *Thermoanaerobacter* sp. TOR-39. Extremophiles , 11:859–867
- Money, N. P. 1998. More g's than the space shuttle: ballistospore discharge. Mycologia , 90:547-558
- Monson , R. K., D. A. Lipson , S. P. Burns, A. A. Turnipseed , *et al*. 2006. Winter forest soil respiration controlled by climate and microbial community composition. Nature , 439: 711–714
- Moore , D. 1991. Perception and response to gravity in higher fungi – a critical appraisal. New Phytol. 117: 3 – 23
- Moore , D. 1996. Graviresponses in fungi. Adv Space Res ,17 (6-7):73-82
- Moore , D. and L. N. Frazer. 2002. Essential fungal genetics. Springer- Verlag, New York Inc. 343 pp.
- Mourato , A., M. Gadanho, A. R. Lino and R. Tenreiro. 2011. Biosynthesis of crystalline silver and gold nanoparticles by extremophilic yeasts. Bioinorganic Chemistry and Applications , Article ID 546074, 8 pages doi:10.1155/2011/546074

- Mukherjee, P, M., Roy, B. P. Mandal, G. K. Dey, P. K. Mukherjee, J. Ghatak, A. K. Tyagi, K, Kale and S P. Green. 2008. synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *asperellum*. Nanotechnology , 19: 103-110

- Mukherjee, P, A. Ahmad, D. Mandal,S. Senapati, S. R. Sainkar, M. I. Khan, R. Ramani, R. Parischa, P. V. Ajayakumar, M. Alam,M. Sastry and R. Kumar. 2001. Bioreduction of AuCl4 - ions by the fungus *Verticillium* sp and surface trapping of the gold nanoparticles formed. Angewante Chemie International Edition, 40(19): 3585-3588
- Murali , S. 2003. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. Current Science , 85: 2
- Murphy , R. A. and K. A. Horgan. 2005. Antibiotics, enzymes and chemical commodities from fungi. Chapter 5 In: Fungi biology and applications. Ed. Kavanagh , K. John Wiley & Sons Ltd. 293 pp.
- Musser, S. M. and Plattner, R. D. 1997. Fumonisin composition in cultures of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum*, and *Fusarium nygami*. Journal of Agricultural and Food Chemistry , 45:1169-1173
- Muthuvijayan , V. and M. R. Marten. 2004. In silico reconstruction of nutrient-sensing signal transduction pathways in *Aspergillus nidulans*. In Silico Biology , 4 (4): 605-631 (Abstract)
- Narayanan, K. B. and N. Sakthivel. 2010. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. Advances in Colloid and Interface Science , 156: 1–13
- Nasrollahi , A., K. Pourshamsian and P. Mansourkiaee. 2011. Antifungal activity of silver nanoparticles on some of fungi. Int.J.Nano.Dim , 1(3): 233-239
- Nesher,I., S. Barhoom and A. Sharon. 2008. Cell cycle and cell death are not necessary for appressorium formation and

plant infection in the fungal plant pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. BMC Biology , 6:9 doi:10.1186/1741-7007-6-9. PDF, 11 pp. http://www.biomedcentral.com/1741-7007/6/9

- Nester E. W. ,D. G. Anderson , J. C. E. Roberts, N. N. Pearsall and M. T. Nester. 2001. Microbiology ahuman perspective. Third ed. McGraw Hill.

- Peñalva , M. A. and H. N. Arst, Jr. 2004. Recen advances in the characterization of ambient ph regulation of genes expression in filamentous fungi and yeasts. Annual Review of Microbiology , 58: 425 – 451
- Peñalva , M. A., J. Tilburn, E. Bignell and H. N. Arst Jr. 2008. Ambient pH gene regulation in fungi: making connections. Trends in Microbiology , 16 (6): 291-300
- SPerbal , G. and D. Driss-Ecole . 2002. Contribution of space experiment to the study of gravitropism. J Plant Growth Regul , 21 (2): 156 – 165
- Pommerville , J. C., J. B. Strickland, D. Romo and K. E. Harding. 1988. Effects of analogs of the fungal sexual pheromone sirenin on male gamete motility in *Allomyces macrogynus*. Plant Physiol. , 88: 139-142

- Prade, R. A. and H. J. Bohnert eds.. 2006. Genomics of plants and fungi. Mycology, Vol. 18.Marcel,Dekker,Inc. 381 pp.
- Rai, M., A. Yadav and A. Gade. 2010. Mycofabrication, mechanistic aspect and Multifunctionality of Metal Nanoparticles - Where are we? And where should we go? Pages 1343 – 1353 In: Current research,technology and education topics in applied microbiology and microbial technology. Ed. A. Mendez Vilas. Formatex

- Read , N. D. and G. M. Roca. 2000. Madame Curie Bioscience Database [Internet].Austin (TX): Landes Bioscience http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5993/
- Read , N. D., A. Lichius, J-y Shoji and A. B. Goryachev. 2009. Self-signalling and self-fusion in filamentous fungi.Current Opinion in Microbiology , 12 (6) : 608-615
- Reddy, S.V. and F. Waliyar. 2000. Properties of aflatoxin and itproducing ungi.http://www.aflatoxin.info/aflatoxin.aspflavus
- Renslow, R., Z. Lewandowski and H. Beyenal. 2011. Biofilm image reconstruction for assessing structural parameters. Biotechnology and Bioengineering , 108 (6): 1383 – 1394
- Reynolds T. B. and G. R. Fink. 2001. Bakers' yeast, a model for fungal biofilm formation. Science , 291 (5505): 878 – 881
- Rhome , R. and M. Del Poeta. 2009. Lipid signaling in pathogenic fungi. Annual Review of Microbiology , 63: 119 – 131 (Abstract)
- Riddin, T. L., M. Gericke, C. G. Whiteley. 2006. Analysis of the inter- and extracellular formation of platinum nanoparticles by *Fusarium oxysporum* f sp *lycopersici* using response surface methodology. Nanotechnology , 17: 3482-3489
- Riddina , T., M. Gerickeb and C.G. Whiteleya. 2010. Biological synthesis of platinum nanoparticles: Effect of initial metal concentration. EMT J 46: 501–505
- Robinson , C. H. 2001. Cold adaptation in Arctic and Antarctic fungi. New Phytologist , 151 (2): 341–353
- Robson, G. 1999. Hyphal cell biology. In: Molecular fungal biology , by Oliver R. and Schweizer M. Cambridge University Press.

- Rohde , J., J. Heitman and M. E. Cardenas. 2001. The TOR kinases link nutrient sensing to cell growth. J Biol Chem. , 276 (13): 9583-9586
- Rossi, V. , E. Pattori , A. Ravanetti and S. Giosue. 2002. Effect of constant and 390awaii390ia390390 temperature regimes on sporulation of four fungi causing head blight of wheat. Journal of Plant Pathology ,84 (2): 95 – 105
- Sadowski, Z., G. B. Maliszewska, I. Polowczyk, and T. Kozlecki. 2008. Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms. Material Science-Poland , 26(2): 419-425
- Saha , S., J. Sarkar, D. Chattopadhyay , S. Patra, A. Chakraborty and K. Acharya. 2010. Production of silver nanoparticles by a phytopathogenic fungus *Bipolaris nodulosa* and its antimicrobial activity. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures , 5 (4): 887-895
- Saha , S., D. Chattopadhyay and K. Acharya. 2011. Preperation of silver nanoparticles by bio-reduction using *Nigrospora oryzae* culture filtrate and its antimicrobial activity. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures , 6 (4): 1526-1535
- Sahaf , B., K. Heydari , L. A. Herzenberg and L. A. Herzenberg. 2005. The extracellular microenvironment plays a key role in regulating the redox status of cell surface proteins in HIV-infected subjects. Arch Biochem Biophys. ,434 (1): 26-32
- San-Blas , G. and G. Niño-Vega. 2004. Morphogenesis in Other Agents of Systemic Mycoses. Chapter 5. In: Pathogenic Fungi: Structural Biology and Taxonomy. Eds. Gioconda San-Blas and Richard A. Calderone *http://www.horizonpress.com/hsp/books/pfsb.html*
- Sanghi, R and P. Verma. 2009. Biomimetic synthesis and characterisation of protein capped silver nanoparticles. *Bioresorce* Technology, 100 (1): 501-504

- Saxena, R. K., L. Sangeetha, A. Vohra,R. Gupta and R.Gulati. 2001. Induction and mass sporulation in lignin degrading fungus *Ceriporiopsis subvermispora* for its potential usage in pulp and paper industry. Current Science, 81 (5): 591 – 594

- Sawale, B D, Salimath, B, Deshpande, R, Bedre, M D, Prabhakar, B K, Venkataraman, A. 2008. Biosynthesis and stabilization of Au and Au–Ag alloy nanoparticles by fungus, *Fusarium semitectum*. Science Technology Advanced Materials ,doi:10.1088/1468-6996/9/3/035012
- Schmidt , S. K., K. L. Wilson , R. K. Monson and D. A. Lipson. 2009. Exponential growth of ''snow molds'' at sub-zero temperatures: an explanation for high beneath-snow respiration rates and *Q*10 values. Biogeochemistry , 95:13–21
- School of Biological Sciences, University of Sydney. 2004. Fungalbiology. http://bugs.bio.usyd.edu.au/Mycology/contents.shtml
- Semighini , C. P. and S. D. Harris. 2008. Regulation of apical dominance in *Aspergillus nidulans* hyphae by reactive oxygen species.Genetics , 179: 1919–1932
- Semighini, C. P., J. M. Hornby, R. Dumitru , K. W. Nickerson and S. D. Harris. 2006. Farnesol-induced apoptosis in *Aspergillus nidulans* reveals a possible mechanism for antagonistic interactions between fungi. Molecular Microbiology , 59 (3): 753–764
- Seshadri , S., K. Saranya and M. Kowshik. 2011. Green synthesis of lead sulfide nanoparticles by the lead resistant marine yeast, *Rhodosporidium diobovatum*. Biotechnology Progress , 5: 1464 – 1469
- Shahi, S K and Patra, M. 2003. Microbially synthesized bioactive nanoparticles and their formulation active against human pathogenic fungi. Reviews Advanced Material Science , 5: 501-509

- Shankar, S S, Ahmad, A, Pasricha, R, Sastry, M. 2003. Bioreduction of chloroaurate ions by *Geranium* leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes. Journal of Material Chemistry , 13: 1822-1826
- Sharif , F. M. , A. M. Okasha and K. T. Kazem. 1988. *Penicillium stipitatum* and *Trichoderma harzianum* in the biological control of cucumber damping-off disease caused by *Pythium aphanidermatum*.J. Univ. Kuwait (Science) 15: 107 – 114
- Sharif, F. M. , M. H. Jubouri. And I. A. Khlifawi. 2003a. Antagonism of certain fungi against Trichothecene producing *Fusarium species*. Journal of Union Arab Biologist,Cairo. 12 (b): 9 – 28
- Sharif, F. M. , I.A. Khlifawi. And M. H. Jubouri. 2003b. *Bacillus species* a potent antagonist against growth,spore germination and trichothecene production by two *Fusarium species*. Journal of Union Arab Biologist,Cairo, 12 (B): 29 – 46
- Shirtliff , M. E., B. P. Krom, R. A. M. Meijering, B. M. Peters, J. Zhu,M. A. Scheper, M. L. Harris and M. A. Jabra-Rizk.. 2009. Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy , 53 (6): 2392–2401
- Singaravelu , G., J. S. Arockiamary, V. G. Kumar and K. Govindaraju. 2007. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces , 57 (1): 97-101
- Solod , C. C., A. E. Jenns and M. E. Daub. 1992. Cell surface redox potential as a mechanism of defense against photosensitizers in fungi. Applied and Environmental Microiology , 58 (2): 444- 449
- Sprague Jr., G. F. and S. C. Winans. 2006. Eukaryotes learn how to count: quorum sensing by yeast. Genes Dev., 20: 1045-1049

- Stack, D., C. Neville and S. Doyle. 2007. Nonribosomal peptide synthesis in Aspergillus 393awaii393ia and other fungi. Microbiology ,153: 1297-1306
- Stamets, P.. 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Third ed. Ten Speed Press. Berkeley ,Toronto
- Stamets, P. and J. S. Chilton. 1983. The mushroom cultivator. Agarikon Press. Olympia , Washington.
- Steyaert , J. M., R. J. Weld, A. Mendoza-Mendoza and A. Stewart. 2010. Reproduction without sex: conidiation in the filamentous fungus *Trichoderma*. Microbiology , 156: 2887–2900
- Sťovíček , V., L. Váchová , M. Kuthan and Z. Palková. 2010. General factors important for the formation of structured biofilm-like yeast colonies. Fungal Genet Biol. , 47 (12): 1012-1022
- Su, H., van Bruggen, A. H. C., Subbarao, K. V., and Scherm, H. 2004. Sporulation of *Bremia lactucae* affected by temperature, relative humidity, and wind in controlled conditions. Phytopathology , 94:396-401
- Sun , S. and J. Heitman. 2011. Is sex necessary? BMC Biology , 9: 56 http://www.biomedcentral.com/1741-7007/9/56
- Talaro , K. P. and A. Talaro. 1999. Foundation in microbiology. 3rd. ed.WCB McGraw-Hill
- Talebia , S., F. Ramezanib and M. Ramezani. 2010. Biosynthesis of metal nanoparticles by microorganisms. 12. - 14. 10. 2010, Olomouc, Czech Republic, EU. 7 pp.
- Tanaka ,A., M. J. Christensen, D. Takemoto, P. Park and B. Scotta. 2006. Reactive oxygen species play a role in

regulating a fungus–perennial ryegrass mutualistic interaction. The Plant Cell , 18:1052-1066 http://www.plantcell.org/cgi/content/abstract/18/4/1052

- Taylor , J. W. , D. J. Jacobson and M. C. Fisher. 1999. The evolution of asexual fungi: reproduction , speciation and classification. Annu. Rev. Phytopathol. , 37: 197 – 246
- Taylor , J. W.,J. Spatafora ,K. O'Donnell , F. Lutzoni ,T. James , D. S. Hibbett , D. Geiser , T. D. Bruns and M. Blackwell. 2004. The fungi. Pages 171 – 194 In: Assembling the Tree of Life.Eds, Cracraft , J. and M. J. Donoghue.OxfordUniversityPresshttp://plantbio.berkeley.edu/~taylor/papers/taylor2004.TOL.pdf
- Thiel, P. G., Marasas, W. F. O., Sydenham, E. W.,Shephard, G. S. and Gelderblom, W. C. A. 1992. The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. Mycopathologia , 117: 3-9
- Váchová , L., V. Šťovíček , O. Hlaváček , O. Chernyavskiy, L. Štěpánek, L. Kubínová and Z. Palková. 2011. Flo11p, drug efflux pumps, and the extracellular matrix cooperate to form biofilm yeast colonies. JCB , 194 (5): 679-687
- Vahabi , K., G. A. Mansoori and S. Karimi. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus Trichoderma Reesei (A Route for Large-Scale Production of AgNPs). Insciences J. , 1(1): 65-79 doi:10.5640/insc.010165
- Van Dijck , P., 2009. Nutrient sensing G protein-coupled receptors: interesting targets for antifungals? Medical Mycology , 1 – 10. DOI: 10.1080/13693780802713349
- Verma , V. C., S. K Singh, R. Solanki and S. Prakash. 2011. Biofabrication of anisotropic gold nanotriangles using extract of endophytic *Aspergillus clavatus* as a dual functional reductant and stabilizer. Nanoscale Res Lett , 6: 16 , 7 pp.
- Vigneshwaran, N, Ashtaputre, M, Nachane, R P, Paralikar, K M, Balasubramanya, H. 2007. Biological synthesis of silver

nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*. Material Letters , 61(6): 1413-1418

- Vierheilig , H., Y. Piché. 2002. Signalling in arbuscular mycorrhiza: Facts and hypotheses, In: Flavonoids in Cell Functions, Eds. Buslig B, and Manthey J; Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York; p.23-39. ISBN 0-306-47254-6
- Volk ,T. 2004. Tom Volk's Fungus of the Month for April 2004. *Auricularia 395awaii395ia-judae*, wood ear or cloud ear mushroom a.k.a. Judas' ear fungus, in honor of Easterhttp://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/apr2004.html
- Vo-Dinh , T. 2007. Nanotechnology in Biology and Medicine: The new frontier. Chapter 1 In: Nanotechnology in Biology and Medicine. Edited by Tuan Vo-Dinh Methods, Devices, and Applications. Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press.
- Waliyar, F., A. Ba , H. Hassan, S. Bonkoungou and J. P. Bosc. 1994. Sources of resistance to *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in groundnut in West Africa. Plant Disease 78:704–708
- Walker , G. M. and N. A.White. 2005. Introduction to fungal physiology. Chapter 1 In: Fungi biology and applications. Ed. Kavanagh , K. John Wiley & Sons Ltd. 293 pp.

- Watters, M. K. and A. J. F. Griffiths. 2001. Tests of a cellular model for constant branch distribution in the filamentous fungus *Neurospora crassa*. Applied and Environmental Microbiology , 67 (4): 1788 – 1792

- Webester, J and R. W. S. Weber. 2007. Introduction to fungi. Third Ed.Cambridge. 841 PP.

- Weete, J. D. 1974. Fungal lipid biochemistry. Plenum Press. New York. Cited by Griffin (1981)
- West, J. A., T. A. Klochkova, G. H. Kim and S. Loiseaux-de Goër. 2006. *Olpidiopsis* sp., an oomycete from Madagascar

that infects *Bostrychia* and other red algae: Host species susceptibility. Phycological Research, 54: 72–85

- Wikipedia. 2011.Buckminsterfullerene. http://en.wikipedia.org/wiki/Buckyball
- Whiteway , M. and C. Bachewich. 2005. Fungal genetics. Chapter 2 In: Fungi biology and applications. Ed. Kavanagh , K. John Wiley & Sons Ltd. 293 pp.
- Whiteway , M. and C. Bachewich. 2007. Morphogenesis in *Candida albicans*. Annu. Rev. Microbiol. , 61:529–53
- Wikipedia. 2006 a. Ergoline http://en.wikipedia.org/wiki/Ergoline
- Wikipedia. 2006 b. Fusidic acid. http://en.wikipedia.org/wiki/Fusidic_acid
- Wikipedia.2006c.Cephalosporin. http://en.wikipedia.org/wiki/Cephalosporin
- Wikipedia. 2007a. Vitamine Wikipedia. 2007 b. Fermentation (biochemistry)
- Willett , H. P. 1992. Energy metabolism. In Zinsser microbiology.ed. by Joklik,W.K ,H. P. Willett ,D. B.Amos andC.M.Wilfert.Appletn&Lange.Norwalk,Connecticut/SanMateo,CaliforniaWitzany, G. 2010.Uniform categorization of biocommunication in bacteria, fungi and plants. World J BiolChem1(5):160-180Availablefrom:URL: http://www.wjgnet.com/1949-8454/full/v1/i5/160.htm DOI: http://dx.doi.org/10.4331/wjbc.v1.i5.160
- Wong , G. 2003. Fungi and Insect Symbiosis. http://www.botany.hawaii.edu/faculty/wong/BOT135/lect24.htm
- Wong , G. 2005. Introduction ot the fungi. In: Magical Mushrooms and Mystical Molds. http://www.botany.hawaii.edu/faculty/wong/Bot201/Chytridiomycota/Chytridiomycota.htm

- Wubah, D.A. 1997 a. Spore , dormancy and dispersal. Lecture outline. D:\Mycology\SPORULATION\Mycology, Fall, 1997 Spores dispersal and dormancy.htm
- Xu , J. 2002. Estimating the spontaneous mutation rate of loss of sex in the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*.Genetics , 162: 1157–1167
- Xu , J. 2005. Cost of interacting with sexual partners in a facultative sexual microbe. Genetics , 171: 1597–1604
- Yeon , K-M., W-S Cheong, H-S Oh, W-N Lee,B-KHwang, C-H Lee, H. Beyenal and Z. Lewandowski. 2009. Quorum sensing: A new biofouling control paradigm in a membrane bioreactor for advanced wastewater treatment. Environ. Sci. Technol., 43 (2): 380-385
- Young , K. 2005. Hardy lichen shown to survive in space. NewScientist.com news survice , 16:17 November
- Yusef , H. M. and M. E. Allam. 1967. The effect of light on growth and sporulation of certain fungi. Mycopathologia , 33 (2): 81 – 89

- Zhang , X., X. He , K. Wang and X. Yang. 2011. Different active biomolecules involved in biosynthesis of gold nanoparticles by three fungus species. Biomed Nanotechnol. , 7 (2): 245-254