الفصل الاول

المجهر والتراكيب الفطرية

● المجهر والفحص ● النمو والتراكيب الفطرية

الدرس العملي الأول

أولاً : المجهر والفحص

١ – مقدمة

لعب المجهر الضوئي دوراً حيوياً في تطور علم الفطريات واكتشاف الفطريات . وبما أن الطالب سوف يستخدم هذا الجهاز بصورة مكثفة في الدروس العملية لذا يجب عليه التعرف على المجهر واستعملاته ، والمجهر الضوئي المركب يستخدم فيه الضوء كمصدر للإضاءة ويعطي تكبيراً عبر عدستين ، فالتكبير الأول يحدث عبر العدسة الشيئية Objective lenss . نجد أن معظم المجاهر مزودة بثلاث عدسات شيئية مركبة على القطعة الأنفية الدائرية ، والتي يمكن تحريكها حتى توازي العدسة العينية Eye lense ، ومن ثم يمكن تحديد قوة التكبير النهائية ، وتعرف العدسات الشيئية بعدسة القوى الصغرى(١٠×) وعدسة القوى الكبرى (٤٠×) والعدسة الزيتية (١٠٠×)، ومما تجدر الإشارة إليه أنه عند استخدام العدسة الزيتية يجب وضع قطرة من زيت السيدر Imersion oil على العينة حتى يشغل الزيت المسافة بين العينة المراد فحصها والعدسة الشيئية ، وهذا يؤدي إلى التقليل من كمية الضوء المنكسر بعيداً عن العينة . هذا من ناحية ، ومن ناحية أخرى يلاحظ أنه كلما يزيد التكبير يصغر حجم طرف العدسة ، وبالتالي يؤدي ذلك إلى إدخال كمية قليلة من الضوء . ويعتبر هذا أحد الأسباب الداعية لتغيير وضع المكثف Condonser والحجاب Diaphram عند استخدام عدة عدسات

شيئية مختلفة. هذا ويقوم المكثف بتركيز الضوء على العينة المراد فحصها، بينما يتحكم الحجاب في كمية الضوء الداخل إلى المكثف، وتقوم العدسات العينية بتكبير الصورة التي تكونت بالعدسة الشيئية، وعليه تكون قوة التكبير النهائية التي يتحصل عليها الفاحص عند استخدام العدسة الشيئية ذات تكبير (١٠×) والعدسة العينية ذات تكبير (٤٠X)

هي = ١٠ × ٤٠ = ٤٠٠

المواد

المجهر، زيت سيدر، ورق عدسات، شرائح زجاجية، أغطية شرائح، عينات مزارع فطرية، شرائح دائمة.

٢ ـ المجهر واستعمالاته

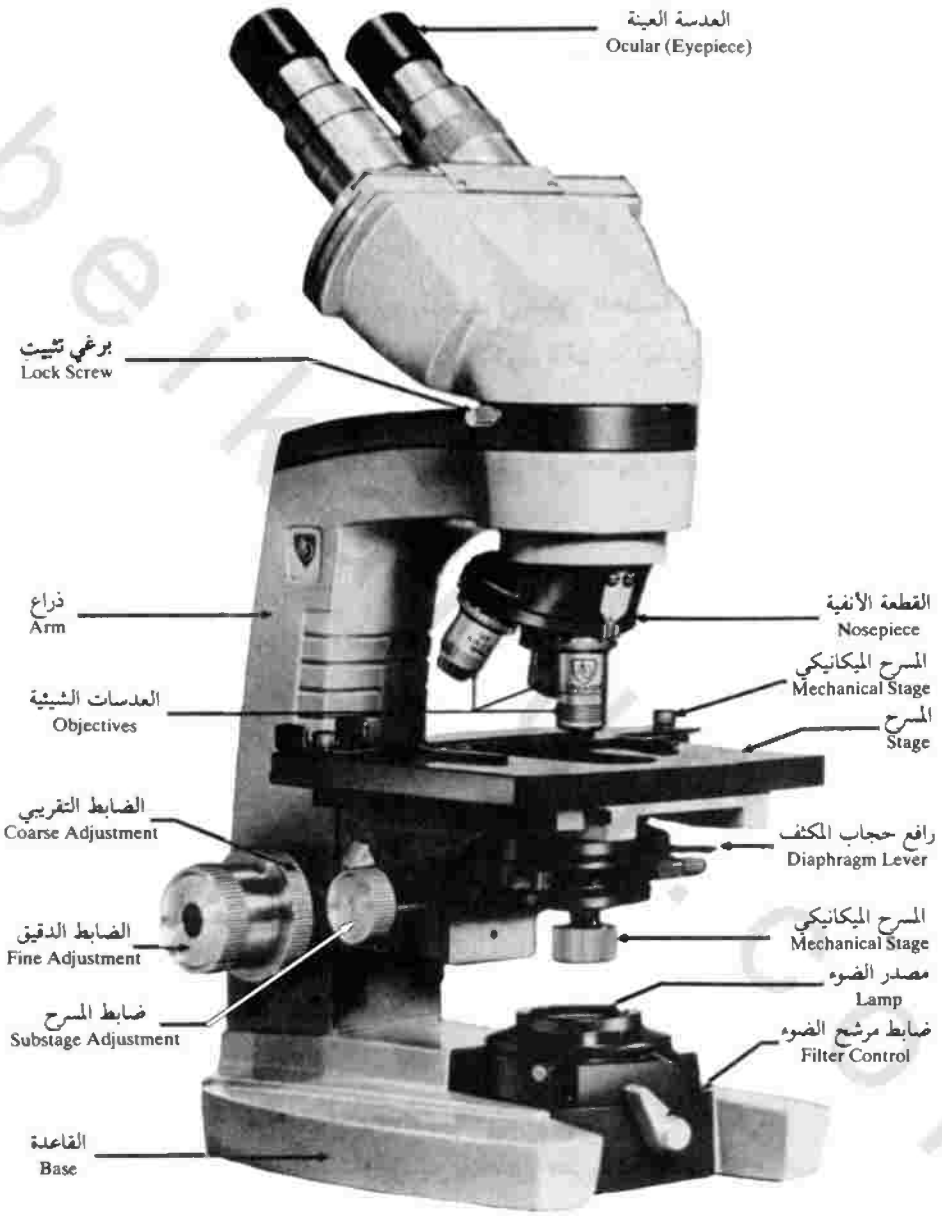
ا) ضع المجهر على الماصة، وتعرف على أجزاء المجهر (شكل ١ ـ ١) افتح مصدر الضوء الكهربائي.

ب) مستخدمًا الضابط التقريبي (الخشن) Coarse adjustment ، حرك المسرح إلى أعلى (المجهر المزود بأنبوبة يجب تحريك الأنبوبة إلى أسفل) حتى يكون على بعد ٠ر٦ سم تقريبًا من طرف العدسة الشيئية الصغرى، تأكد أن الحجاب مفتوح وأن قمة المكثف مرفوعة إلى مستوى المسرح، انظر من خلال العدسة العينية ولاحظ كمية الضوء.

جـ) كرر الخطوة رقم ب، مستخدمًا العدسة الكبرى بدلاً من العدسة الصغرى، هل يمكنك أن تفسر اختلاف الإضاءة الناتجة من العدسات المختلفة.

د) ضع شريحة على المسرح وثبتها بوساطة ماسك الشريحة Slide holder .

هـ) مستخدمًا العدسة الشيئية الصغرى والضابط التقريبي (الخشن) ارفع المسرح بحيث تكون المسافة بين الشريحة والعدسات الشيئية ٠ر٦ سم تقريبًا.



شكل ١ ـ ١ . صورة توضح أجزاء المجهر الضوئي

و) انظر من خلال المجهر ثم أدر الضابط التقريبي حتى تظهر الصورة، وعندئذ استخدم الضابط الدقيق Fine adjustment لضبط الصورة بوضوح.

ز) افتح واقفل الحجاب، ثم اخفض وارفع المكثف، ولاحظ تأثير هذا على وضوح الصورة.

ح) أدر العدسة الشيئية الكبرى لتكون في مكان العدسة الصغرى، ارفع المسرح مستخدمًا الضابط التقريبي (الخشن) حتى تكون العدسة الكبرى ملامسة تقريبًا غطاء الشريحة، انظر في المجهر وحاول ضبط الصورة ببطء، ثم استخدم الضابط الدقيق لتوضيح معالم الصورة، قارن التكبير والتفاصيل التي تعطيها العدسات الشيئية المختلفة (Beck *et al.*, 1979) .

٣ ـ الفحص

ا) فحص العينات والمزارع والشرائح

مستعينًا بالمجهر التشريحي (مجهر ذو قوة تكبير منخفضة X١٠٠) خذ جزءًا من العينة (ع) أو المزرعة الفطرية (م) وضعه على شريحة زجاجية، وحمل بالماء أو الكحول أو اللاكتوفينول حسب نوعية العينة، ثم غط الشريحة بغطاء الشريحة. هذه الطريقة تعرف بالتحمل الرطب Wet mount .

بعد عملية التحضير هذه يمكنك استخدام المجهر الضوئي المركب لفحص هذه الشرائح المؤقتة والشرائح دائمة التحضير (ش) كما ذكر أعلاه في فقرة استخدام المجهر.

ب) استخدام العدسة الزيتية

يمكن استعمال العدسة الزيتية لفحص فطريات الخميرة وأهداب الجراثيم، وتتلخص خطوات استخدام هذه العدسات فيما يلي:

- اخفض المسرح، أدر القطعة الأنفية حتى تسمع صوت العدسة الزيتية، ثم ضع قطرة صغيرة من زيت الفحص على المنطقة المراد فحصها، ارفع المسرح حتى

ينغمس طرف العدسة في نقطة الزيت. انظر في المجهر واضبط ببطء مستخدمًا الضابط التقريبي حتى تظهر الصورة، ومن ثم استخدم الضابط الدقيق لتوضيح الصورة.

وهناك أيضاً طريقة أخرى في استخدام العدسة الزيتية هي إيجاد مكان المنطقة المصبوغة المراد فحصها بوساطة العدسة الصغرى، ثم ادر العدسة الزيتية فبذا تكون عملية الضبط أسهل.

بعد الانتهاء من استخدام المجهر، أدر القطعة الأنفية بحيث تظهر العدسة الشيئية الصغرى، ثم اخفض المسرح ونظف العدسة الزيتية مستخدمًا القطن والزيلول ومن ثم ورق العدسات.

جـ) معايرة المجهر

يتطلب تحديد أبعاد العينات توافر الميكرومتر العيني المدرج (العدسة العينية)، وتتألف هذه العدسة من ٥٠ وحدة ذات أبعاد متساوية، ولما كانت العدسة العينية ذات أبعاد غير معلومة القيم ـ والتي يرجع إليها في قياس أبعاد الخلايا والتراكيب ـ لزم أن يؤتى بشريحة ذات أبعاد معلومة القيمة تسمى بالميكروميتر المسرحي (شريحة ميكروميتر)، لتوضع على مسرح المجهر وينظر إليها من خلال العدسة العينية، ومن ثم يتم تحديد مقدار أبعاد وحدات العدسة العينية بالميكرون.

خطوات إجراء القياس:

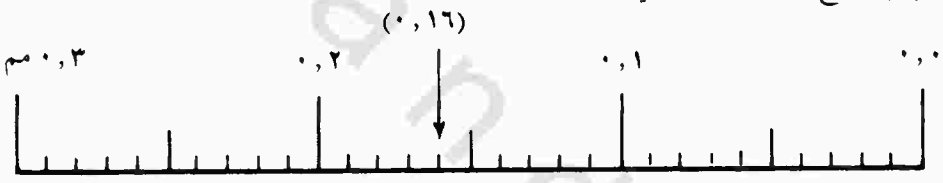
١ ـ ضع العدسة العينية المدرجة والميكرومتر المسرحي المدرج على المجهر (شكل ١ ـ ٢).

٢ ـ وازن بين التدريجين علماً بأن كل خط من الخطوط الصغيرة في الميكرومتر المسرحي يعادل ١ر٠ مم.

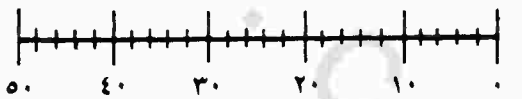
٣ ـ فإذا غطت الـ ٥٠ وحدة التابعة للعدسة العينية مسافة ٠,١٦ مم (على سبيل المثال)، وكانت قوة تكبير العدسة العينية (X١٥) والشيئية (X٤٤)، تحول هذه القيمة (٠,١٦) في ميكرون وتصبح ١٦٠ ميكرون (١ مم يساوي ١٠٠٠ ميكرون) وتقسم هذه القيمة على ٥٠ وحدة ومنها تنتج قيمة كل خط من الخطوط على العدسة العينية التي تساوي في حالتها هذه ٣,٢ ميكرون.

٤ ـ ومما ينبغي الانتباه إليه أنه كلما تغيرت قوة التكبير اختلفت هذه القيمة، لذا لزم معرفة كل وحدة على حدة، وذلك على حسب قوة تكبير العدسات الشيئية والعينية.

(ا) تدرج الميكروميتر المسرحي



(ب) تدرج الميكروميتر العيني $\frac{٠,١٦}{٥٠ \text{ وحدة}} = \frac{١٦٠}{٥٠} = ٣,٢$ ميكرون



شكل ١ ـ ٢ . رسم توضيحي يوضح :
(ا) تدرج الميكرومتر المسرحي
(ب) تدرج الميكرومتر العيني (العدسة العينية المدرجة)

الدرس العملي الثاني

ثانيًا : النمو والتراكيب الفطرية

يؤدي النمو من الخيط الفطري إلى تكوين تراكيب فطرية مختلفة (Funder, 1961; Hanlin and ulloa, 1979)).

١ - النمو

ا) من الغزل الفطري

خذ بوساطة إبرة معقمة قطعة صغيرة من الغزل الفطري (٢ مم^2 تقريبًا) من مزرعة *Pythium ultimum* وضعها في وسط طبق بيئة دقيق الذرة *Corn meal agar* (CMA) ، ثم كرر العملية نفسها باستخدام فطر *Fusarium solani* ، وحضن الأطباق في وضع مقلوب لمدة خمسة أيام ولاحظ الفرق في النمو.

ب) إنبات الجراثيم

خذ (بماصة) من ثلاث إلى خمس قطرات من المعلق الجرثومي الموجود أمامك، وضعها في طبق من أطباق بتري الحاوية على بيئة دقيق الذرة، وافحص الجراثيم غير النابتة في هذا الطبق في الحال وذلك تحت المجهر.

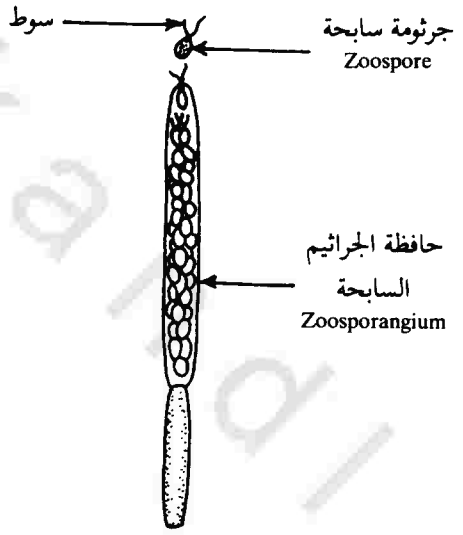
حضن الطبق البتري الملقح بالجراثيم عند درجة حرارة الغرفة، ثم بعد مدة وجيزة لاحظ على فترات عملية الإنبات، حيث تبدأ أنابيب الإنبات الجرثومية بالاستطالة. ومن الجدير بالذكر أن عمليات الإنبات الكاملة تتطلب وقتًا معينًا وأن هذا الوقت يتوقف على نوع الفطر المستخدم. أما العملية التي تلي ما سبق أعلاه فتتمثل بتفرع خيوط جديدة Hyphae تنشأ من الأنابيب الجرثومية، ولا يلبث أن يتكون من هذه الفروع جراثيم جديدة.

٢ ـ التراكيب الفطرية المختلفة

١) أنواع الجراثيم

الجراثيم السابحة Zoospores : افحص شريحة السابرولجينا *Saprolegnia* sp. (ش ، شكل ١ ـ ٣) ولاحظ أن :

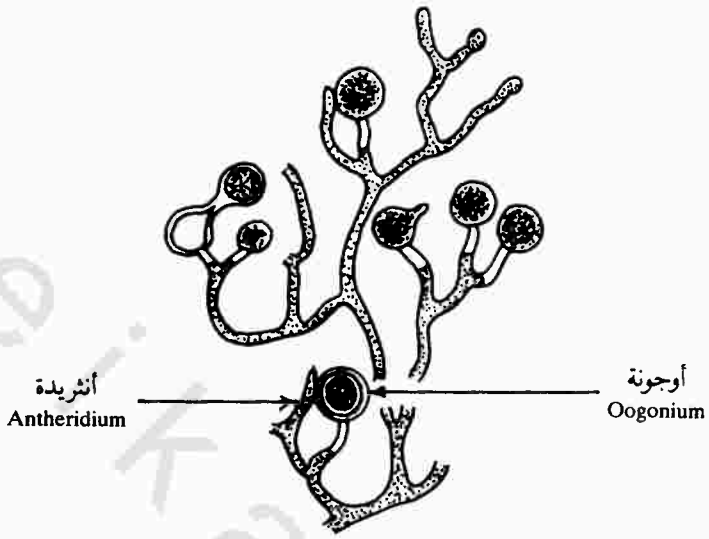
- الجراثيم تتكون داخل كيس جرثومي (حافظة) Zoosporangium وهي مزودة بسوط (أو أكثر) يساعدها على السباحة Motile spores (شكل ١ ـ ٣)



شكل ١ ـ ٣ . الجراثيم السابحة Zoospores
(مثال فطر *Saprolegnia* sp. Funder, 1961)

الجراثيم البيضية Oospores : افحص الشريحة التابعة لفطر البوجو *Albugo candida* (ش، شكل ١ ـ ٤) ولاحظ ما يلي :

- الأوجونات وهي تتميز بوجود طبقات، الأولى بروتوبلازمية محيطية ذات قوام خفيف وتسمى البروتوبلازم المحيطي ، وبروتوبلازم داخلي قوامه كثيف ويسمى بروتوبلازم البيضة Ooplasm والذي يكون البيضة .
- اللاقحة أو الجرثومية البيضية تحتوي على نواة واحدة فيما عدا الحالات الشاذة (شكل ١ ـ ٤) .

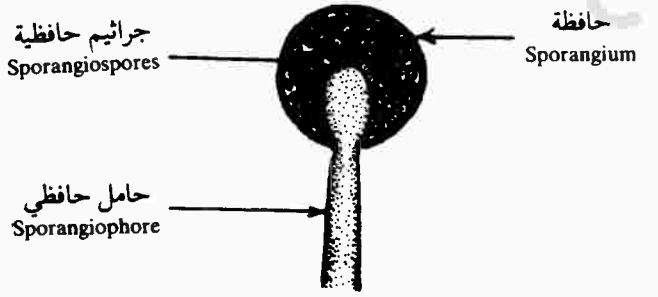


شكل ١ ـ ٤ . الجراثيم البيضية Oospores

(مثال فطر *Albugo candida* (Funder, 1961

الجراثيم الكيسية (الحافظية) Sporangiospores : افحص الشريحتين والمزرعتين التابعتين لفطرتي عفن الخبز والميوكر (ش، م، شكل ١ ـ ٥) وتبين وجود:

- الأكياس (الحوافظ) الجرثومية Sporangia المحمولة على حوامل حافظية Sporan-giophores .
- الجراثيم الحافظية داخل الحوافظ الجرثومية، وهي عديمة الحركة Non-motile لفقدانها الأسواط، لذا تعتمد في انتشارها على التيارات الهوائية (شكل ١ ـ ٥).

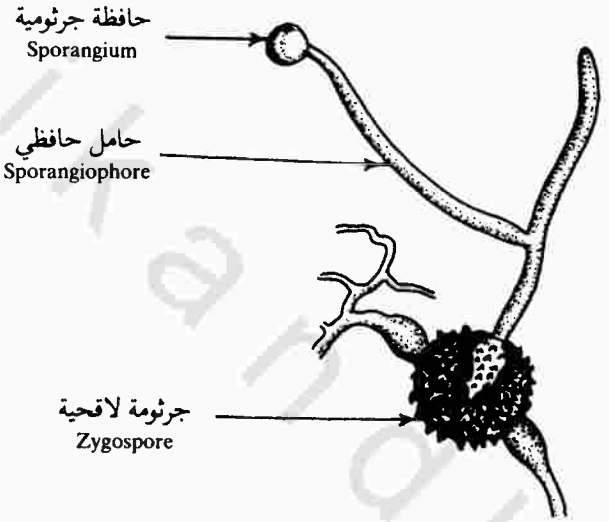


شكل ١ ـ ٥ . الجراثيم الحافظية Sporangiospores

(مثال فطر *Rhizopus* sp. (Funder, 1961

الجراثيم اللاقحية Zygospores : افحص شريحة التزاوج Conjugation (ش، شكل ١ ـ ٦) في فطرة عفن الخبز أو الميوكر ولاحظ :

- الحوافظ المشيجية الأولية Progametangium والمعلق Suspensor ، كذلك تبين عند اكتمال الاندماج يتغلظ جدار الخلية الخارجي ويبدو داكنًا مجعدًا ويعرف بالجرثومة اللاقحية Zygospore .



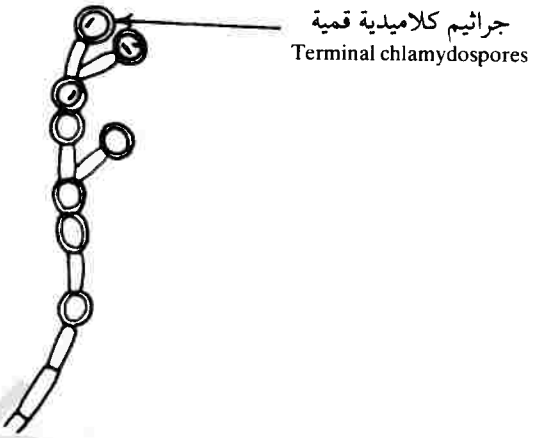
شكل ١ ـ ٦ . الجراثيم اللاقحية Zygospores
(مثال فطر عفن الخبز .*Rhizopus* sp (Funder, 1961)

الجراثيم الكلاميدية Chlamydospores : افحص شريحة مرض التفحم Smut (ش، شكل ١ ـ ٧) لترى الآتي :

- الجراثيم إما أن تكون مفردة أو في سلاسل، وهي بنية غامقة ذات جدار سميك .

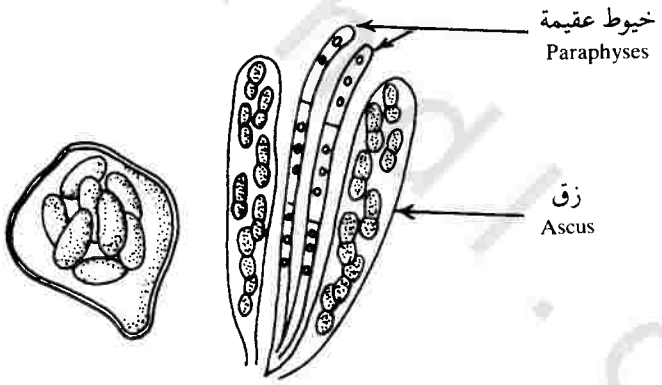
الجراثيم الزقية Ascospores : افحص شريحة فقطرة البيزايزا (ش، شكل ١ ـ ٨) وتمعن مايلي :

- الجراثيم الزقية تكون داخل كيس زقي Ascus، وغالباً ما يكون عددها ثمانيـة وهي كروية الشكل في هذه الفطرة، وربما تكون شبه خيطية في فطريات أخرى، كذلك لاحظ الخيوط العقيمة Paraphyses بين الأكياس الزقية .



شكل ١ ـ ٧ . الجراثيم الكلاميدية Chlamydospores

(مثال فطر *Ustilago* sp. (Funder, 1961

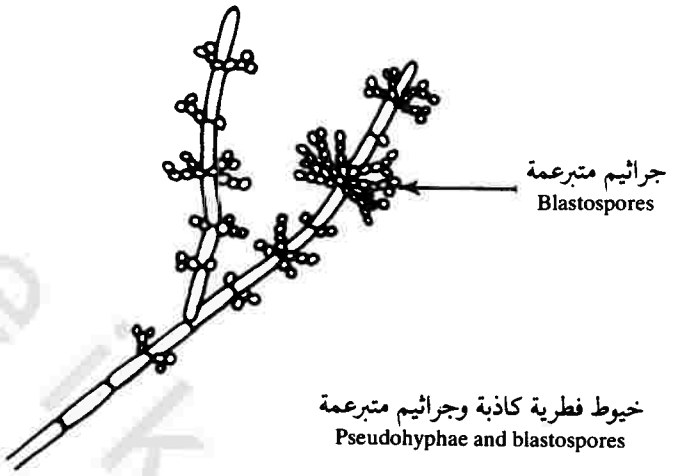


شكل ١ ـ ٨ . الجراثيم الزقية Ascospores

(مثال فطرة البيزايزا *Peziza* sp. (Funder, 1961

الجراثيم المتبرعمة Blastospores : افحص الشريحة والمزرعة التابعة لفطرة الخميرة Yeast (ش، م، شكل ١ ـ ٩) ولاحظ:

- بروزًا خارجيًّا من الخلية الأم، وهذا يمثل البرعم الذي ما يلبث أن ينفصل عن الخلية الأم مكونًا فردًا جديدًا.



شكل ١ ـ ٩ . الجراثيم المتبرعمة Blastospores
(مثال فطرة الخميرة Yeast, 1961, Funder)

الجـراثـيم الـكـونيدية Conidiospores : ادرس مجهـريًّا شريحتي البنيسيليوم والاسبيرجيلس (ش، شكل ١ ـ ١٠) وتبين أن:

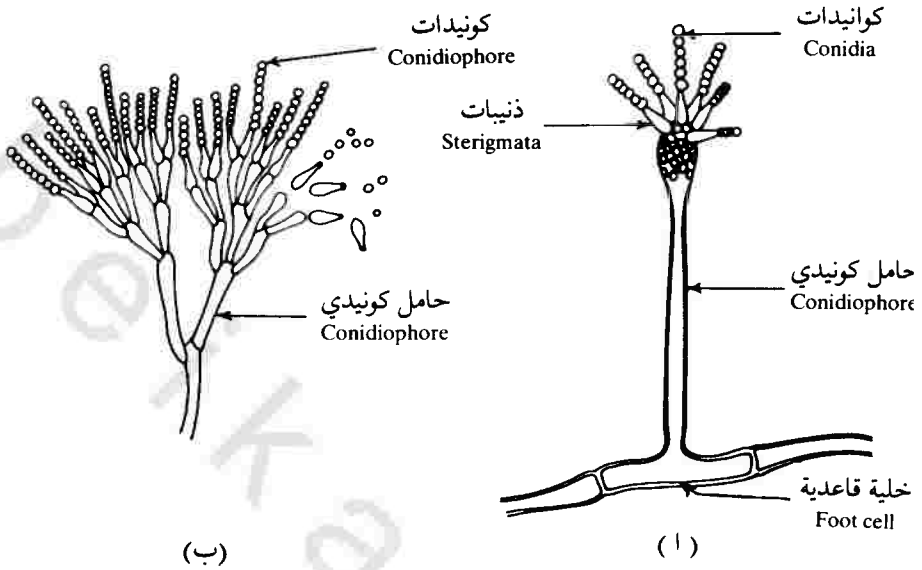
- الجراثيم الكونيدية هي جراثيم خارجية تتكون على هيئة سلاسل ترتبط بالذنيبات، ولكن قد تتفكـك وتتسـاقط (تنـداح) بين الحـاملات الكونيدية، وهي تقع على التراكيب المولدة لها أي الحوامل Conidiophores .

الجـراثيم المفصلية Arthrospores : افحص الشريحـة التابعة لجنس *Erysiphe* (ش، شكل ١ ـ ١١) وتحرى الآتي:

- أن هذه الجراثيم تتمثل بوصلات Segments تشبه أرجل المفصليات وتكون خلاياها غليظة الجدران.

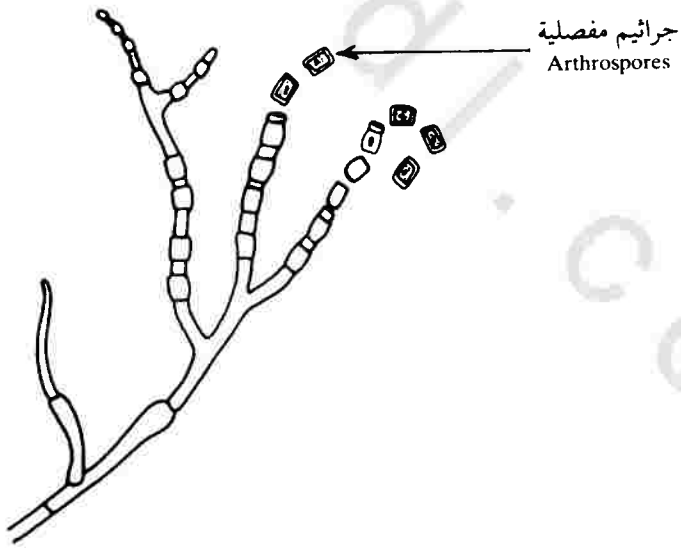
الجراثيم البازيدية Basidiospores : ادرس مجهريًّا الشريحة التي تمثل قطاعًا طوليًّا في خياشيم فطر عيش الغراب *Agaricus bisporus* (ش، شكل ١ ـ ١٢) وتبين أن:

- الجـراثيم البـازيدية تختلف عن الجراثيم الزقية بأنها تتولد خارج تركيب صولجاني الشكل يعرف بالحامل البازيدي Basidium ، وأن كل أربع جراثيم تلتصق بوساطة



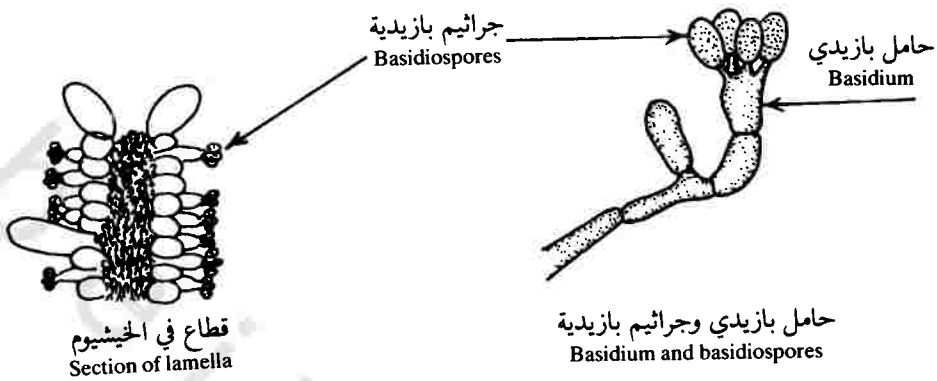
شكل ١ ـ ١٠ . الجراثيم الكونيدية Conidiospores

(مثال فطر (ا) *Aspergillus* sp. و (ب) *Penicillium* sp. (Funder, 1961, .



شكل ١ ـ ١١ . الجراثيم المفصلية Arthrospores

(مثال فطر *Erysiphe* sp. (Funder, 1961,



شكل ١ ـ ١٢ . الجراثيم البازيدية Basidiospores
(مثال فطر عيش الغراب *Agaricus bisporus* (Funder, 1961

الذنيبات بالحامل البازيدي، وغالبًا ما تنفك هذه الجراثيم من الدعامة وتتساقط بين الخياشيم.

الجراثيم البكنية Pycniospores : افحص شريحة فطرة باكسينا جرامينيس *Puccinia graminis* (الوعاء البكني) (ش، شكل ١ ـ ١٣) ولاحظ:

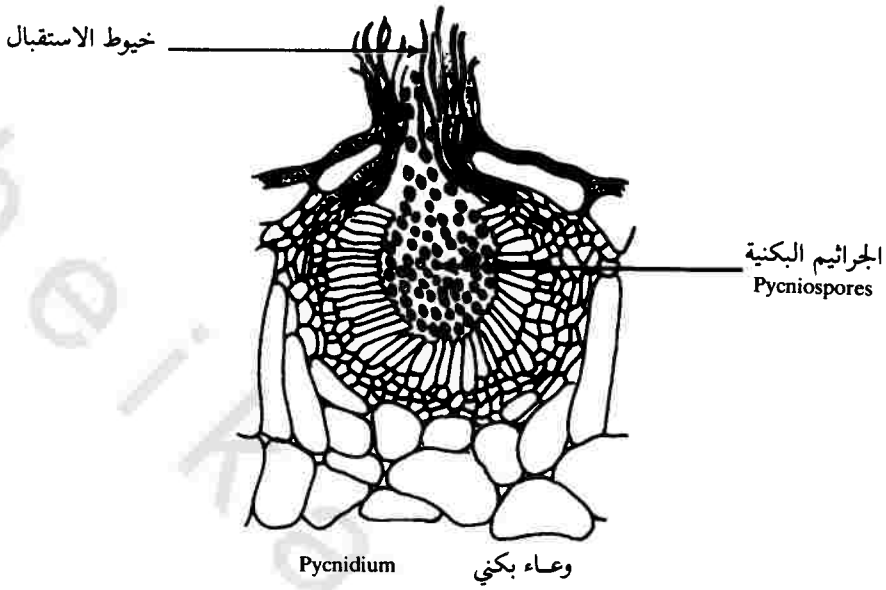
- الأوعية الدورقية الشكل التي تفتح إلى أعلى، وكذلك الجراثيم البكنية وحيدة الخلية داخل الأوعية الدورقية.

الجراثيم الأسيدية Aecidiospores : افحص شريحة فطرة باكسينا جرامينيس (الكأس الأسيدي) (ش، شكل ١ ـ ١٤) ولاحظ:

- الكؤوس الأسيدية وهي تفتح إلى أسفل وأن الجراثيم الأسيدية داخل الكأس على شكل سلاسل تفصلها خلايا بينية.

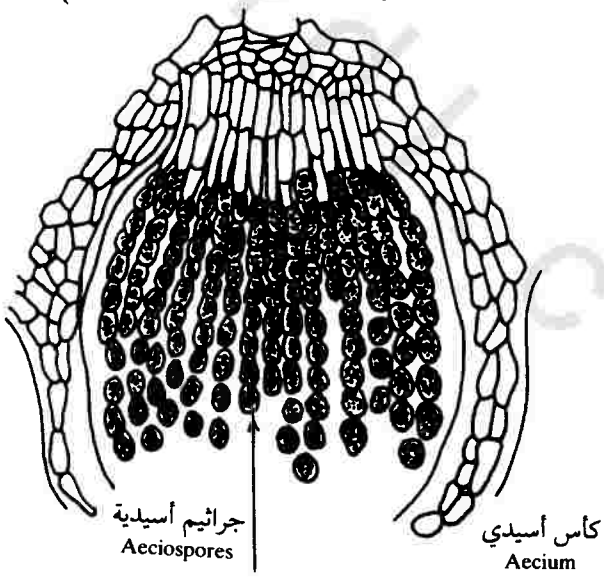
الجراثيم اليوريدية Urediospores : افحص شريحة فطرة باكسينا جرامينسس (البثرة اليوريدية) (ش، شكل ١ ـ ١٥) ولاحظ:

- الجرثومة اليوريدية أحادية الخلية ذات نواتين مترافقتين، وأن كل جرثومة تحمل على حامل، ويوجد بين الجراثيم اليوريدية عادة خيوط عقيمة.



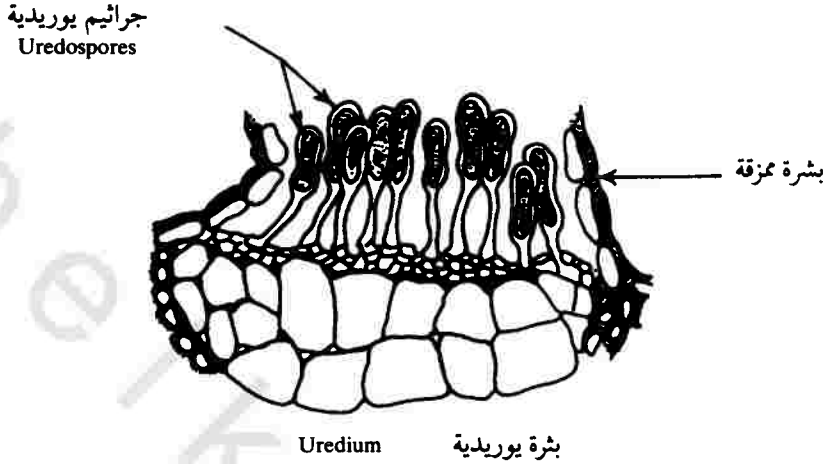
شكل ١ ـ ١٣ . الجراثيم البكنية Pycniospores

(مثال فطرة *Puccinia graminis* (Funder, 1961



شكل ١ ـ ١٤ . الجراثيم الأسيدية Aeciospores

(مثال فطر *Puccinia graminis* (Funder, 1961

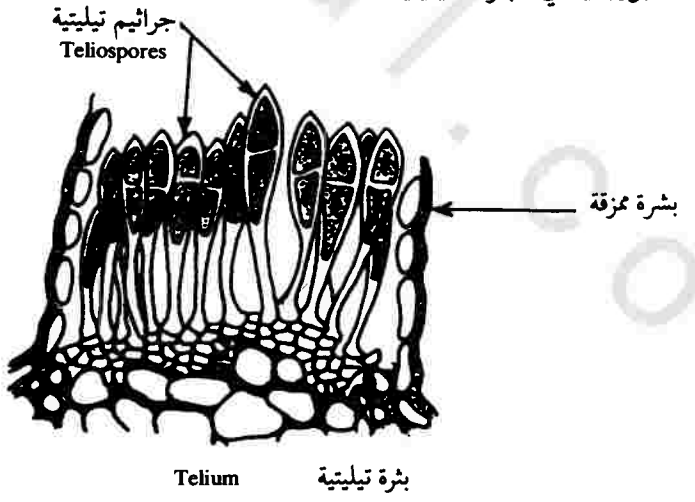


شكل ١ ـ ١٥ . الجراثيم اليوريدية Urediospores

(مثال فطر *Puccinia graminis* (Funder, 1961

الجراثيم التيليتية Teliospores : افحص شريحة فطرة *باكسينا جرامينيس* (البثرة التيليتية) (ش، شكل ١ ـ ١٦) ولاحظ:

- الجرثومة التيليتية سهمية الشكل ذات خليتين، وقد تكون هنالك بعض الجراثيم اليوريدية في البثرة التيليتية.



شكل ١ ـ ١٦ . الجراثيم التيليتية Teliospores

(مثال فطر *Puccinia graminis* (Funder, 1961

ب) طباعة الجراثيم Spore prints

يمكن طباعة جراثيم من الأجسام الثمرية في فطر عيش الغراب باستخدام سكين حادة أو موسي لقطع عنق الجسم الثمري لفطر عيش الغراب، وذلك عند حافة الخياشيم، ضع الآن القلنسوة (بحيث تقع الخياشيم بالاتجاه الأسفل) على قطعة ورق بيضاء (يفضل أن يكون نصف القلنسوة فوق ورقة بيضاء والنصف الآخر فوق ورقة سوداء)، غط القلنسوة بناقوس أو كأس لعدة ساعات أو إلى اليوم التالي، ارفع الغطاء عن القلنسوة ومن ثم انزع الفطر بحذر شديد فستلاحظ لون الجراثيم مطبوعة على الورقة (Singer, 1962) .

جـ) خيوط فطرية مختلفة

- خيوط فطرية غير مقسمة Coenocytic hyphae : ويمكن مشاهدة ذلك في فطرتي *Pythium ultimum, Rhizopus* sp. .
- خيوط فطرية مقسمة Septate hyphae ويمكن مشاهدة ذلك في فطرة الخميرة *Alter-naria* sp. .
- ثواليس غير خيطية Non-filamentous thalli : ويمكن مشاهدة ذلك في فطرة *Can-dida albicans* .

د) تحورات خيطية مختلفة

- أجسام حجرية Sclerotia : يمكن رؤيتها في فطرة *Sclerotium rolfsii* .
- أشكال جذرية Rhizomorphs : نشاهدها في فطرة *Armillaria medlea* .