بسم الله الرحمن الرحيم

جامعة ديالى **المادة : الفطريات العملي**

كلية التربية للعلوم الصرفة **المرحلة : الثالثة**

قسم علوم الحياة **المختبر : الثاني**

- **عزل الفطريات من مصادر مختلفة .**

تنتشر الفطريات بكثرة في الطبيعة فهي توجد في كل مكان وعلى سطوح الاجسام الحية والميتة ويسهل انتشارها وحملها بواسطة الهواء لصغر حجمها ، تتواجد الفطريات في جميع البيئات الصلبة والسائلة والغازية . ويمكن عزلها من بيئات مختلفة منها :-

١- **عزل الفطريات من الهواء .**

نضع طبق بتري غطائه مفتوح وحاوي على وسط غذائي معقم وتعرضه لجو الغرفة لمدة من الزمن (١٥ دقيقة) ثم نغلق الغطاء ووضعه في الحاضنة بدرجة ٢٥م لمدة ٢-٣ أيام ثم يفحص الطبق مع تدوين كافة الملاحظات .

٢- **عزل الفطريات من الاجزاء النباتية .**

نحضر طبق حاوي على وسط غذائي معقم (PDA) وبواسطة ملقط معقم تنقل البذور المراد عزل الفطريات منها الى هذا الطبق وتوزع بشكل مناسب ثم يوضع الطبق في الحاضنة وبعد ٣-٥ أيام يفحص مع ذكر كافة الملاحظات .

٣- عزل الفطريات من التربة .

التربة هي سطح الارض الذي نعيش عليه وفيه الاحياء المختلفة وبضمنها الاحياء المجهرية والتربة هي اغنى البيئات بالاحياء المجهرية وان اختلفت انواعها واعدادها من مكان لأخر والذي يعود الى عدة اسباب منها :

- حسب ما تتعرض له من ظروف جوية ، محتواها من المواد العضوية واللاعضوية .
- استغلالها من قبل الانسان لاغراض الزراعة والصناعة .... الخ .

ففي التربة تتواجد البكتريا والفطريات والابتدائيات والطحالب والرواشح (الفيروسات) والتي تتداخل سلبا وايجابا فيما بينها او مع الاحياء الاخرى بعلاقات معقدة ولاجل عزل الانواع الفطرية المتواجدة في العينة الماخوذه من التربة تقوم بالاتي :

١- ناخذ عينة من التربة بصورة عشوائية بمقدار (١ غم) لتكون ممثلة للحقل المراد دراسته ككل .

٢- تستخدم طريقة التخافيف Dilution method او الطريقة المباشرة Direct method لعزل الفطريات من التربة وذلك كما يلي :

أ- **الطريقة المباشرة Direct method .**

يؤخذ قليل من التربه الزراعيه على راس المشرط المعقم يوضع في طبق يحتوي على وسط غذائي P.D.A ثم تترك الاطباق في الحاضنه وحسب الظرف الملائم والمده الملائمه لنمو الكائن المراد عزله وتراقب الاطباق الموضوعه بصورة مقلوبه لحين ظهور النموات بعدها يؤخذ من المايسيليوم النامي على شريحه يوجد عليها قطره من صبغة الفطريات الخاصه اللاكتوفينول الزرقاء وتنقل تحت المجهر .

* **طريقة اخرى هي** : بأخذ عينة من التربة مقدارها (١غم) توضع في انبوبة اختبار حاوية على ماء مقطر مقدارة (٩مل) ثم نخذ عينة من هذه الانبوبة مقدارها (١مل) وتنقل لطبق فارغ ثم يصب فوقها الوسط الغذائي وتنقل للحاضنة وبعد ٢-٣ أيام تفحص وتسجل جميع الملاحظات للدراسة .

ب- **طريقة التخافيف Dilution method .**

١- تحضير الوسط الغذائي وليكن P.D.A مضاف له احد المضادات الحياتيه لمنع نمو البكتريا .

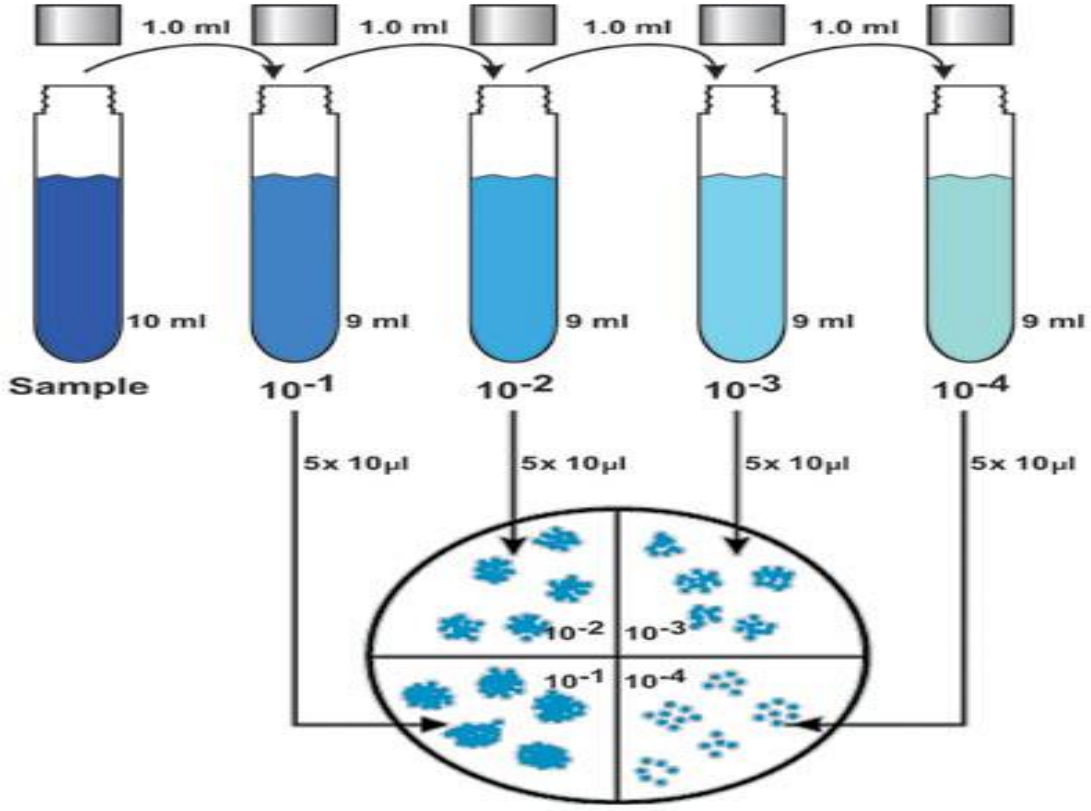
٢- اخذ ١ مل من كل تخفيف ويضاف اما فوق الوسط بنشره بواسطة قضيب زجاجي على شكل حرف L او يوضع في الطبق ويصب فوقه الوسط اللازم وبالمكررات المطلوبه وتحضن جميع الاطباق في الحاضنه بصورة مقلوبه بعد تعليمها بالمعلومات اللازمه. على الوقت والظروف المناسبه .

٣- تفحص الاطباق بعد المراقبه وانتهاء مدة الحضن وتسجل المعلومات الاتيه:

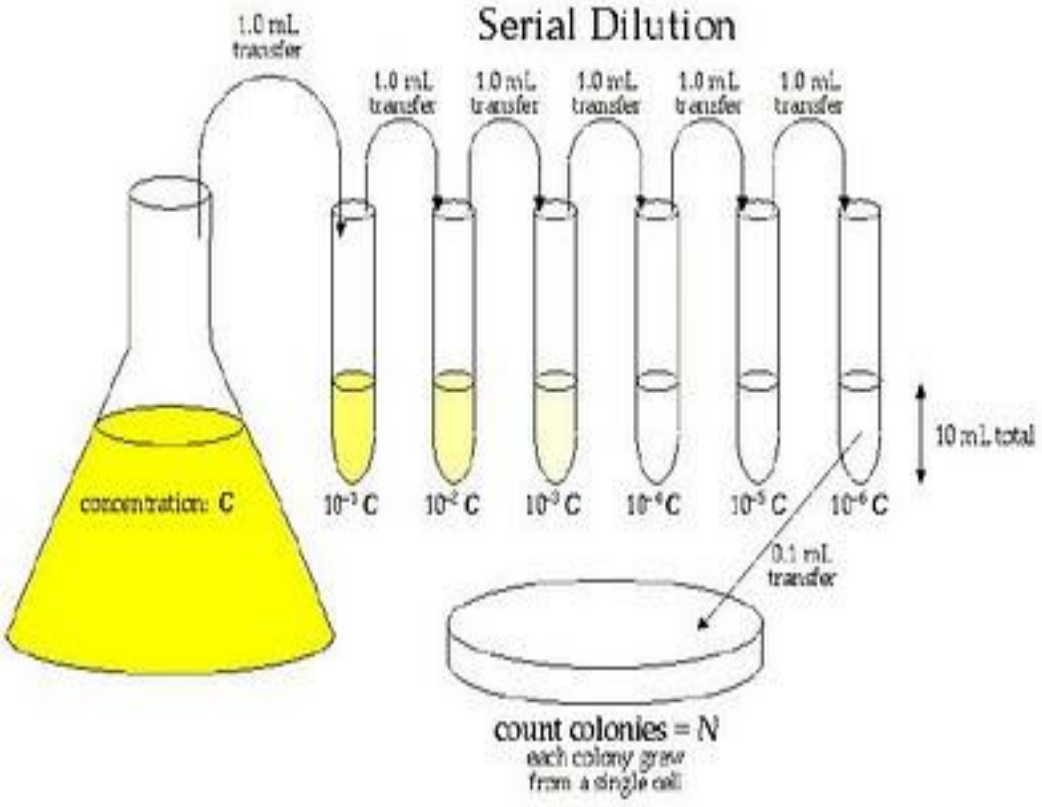
١- عدد المستعمرات الفطريه مع الوصف المزرعي

٢- عمل شرائح للوصف المجهري

٣- المقارنه بين الكائنات



طريقة اخرى هي : بعمل عدة تخافيف (١٠ ^-١^، ١٠^-٢^ ، ١٠^-٣^ ،..... ، ١٠^-٧^) بمزج (١كيلو) من التربه مع (٩ مل) ماء مقطر معقم في انبوبة اختبار معقمة ثم ناخذ منه (١غم) ونضيفه الى (١٠مل) من الماء المقطر والمعقم في انبوبة اختبار ثانية لصبح التخفيف (١٠^-١^ مل) ثم نجري سلسة من التخافيف في انبوبة ثالثة ورابعة الى ان تصل الى التخفيف ١٠^-٧^ .



٣- عزل الفطريات من ماء الساقية .

كما هي الحال في التربة فان مجاميع الاحياء المجهرية من رواشح وبكتريا وفطريات وطحالب تتواجد طبيعيا في البيئة المائية . للاحياء المجهرية في الماء اهمية خاصة لعلاقة انشطتها المختلفة بصحة الانسان والحيوان ولاتخاذها مواقع متميزا في سلسلة الغذاء حيث توفر المغذيات للاحياء المجهرية الاكثر تعقيدا . فالماء مصدر غذاء ووباء . تستخدم كرائق عده للتحري عن الاحياء المجهرية في الماء وكما يلي :

أ- **الطريقة المباشرة Direct method .**

أخذ عينة من ماء الساقية مقدارها (١مل) وتوضع في طبق فارغ معقم حاوي علىوسط غذائي ثم نضع في الطبق طعوم صائدة وينقل للحاضنة وبعد ٢-٣ أيام يفحص .

الطعوم الصائدة هي عبارة عن بذور السمسم او القنب ، حشرات او اجزاء من الحشرات مثل (الذباب) تعقم بجهاز الموصدة ثم توضع في الاطباق لتصبح مركز لتجمع الفطريات عليها اي انها تمثل اوساط غذائية طبيعية Natural media وهذه

تستخدم مع الفطريات المائية بصورة عامة لكون هذه الفطريات تفضل هذا النوع من الاوساط الغذائية .

ب-**طريقة التخافيف Dilution method** .

ان الغرض من القيام بهذه العملية هو التقليل من الاحياء المجهرية وللحد من التداخل فيما بينها . لذا يفضل استخدامها عندما تكون عينة الماء ذات درجة عالية من التلوث بالنمو المكروبي وكالاتي :

١- تؤخذ عينة من ماء الساقية ويتم عمل عدة تخافيف عشرية لها (١٠ $^{-١}$، ١٠ $^{-٢}$، ... الخ) كما في الطريقة السابقة .

٢- ناخذ من كل تخفيف (١مل) وينقل الى طبق فارغ معقم ثم نضع في الاطباق طعوم صائدة (مثل الذباب المنزلي) وتنقل الاطباق الى الحاضنة وبعد ٢-٣ أيام تفحص .