الأوساط الزرعية لتنمية الفطريات

الأوساط الزرعية لتنمية الفطريات
Culture media for growing fungi

تنمو الفطريات على بيئات وأوساط زرعية مختلفة قسم منها سائلة والقسم الآخر صلبة نتيجة لإضافة مادة الأكار Agar إليها. تنمو غالبية الفطريات نموا جيدا في البيئات والأوساط الغنية بالكاربوهيدرات ودرجة أس هيدروجيني pH تتراوح ما بين 5 – 6 ، ومن المعروف انه لا يوجد وسط زرعي يناسب جميع الفطريات في الحصول على نمو مثالي بسبب المتطلبات الغذائية المختلفة من قبل الفطريات وخصوصا حاجتها من العناصر الغذائية المختلفة. بعض الفطريات تنمو في أية بيئة أو وسط غذائي يحتوي على بعض المواد العضوية مع كمية من الرطوبة ودرجة حرارة مناسبة.

الرطوبة ودرجة حرارة مناسبة. ان معظم البيئات الغذائية الخاصة بالفطريات تحتوي على المواد الأساسية للنمو وهي الكاربوهيدرات والبروتينات والدهون والفيتامينات والأملاح وعلى الرغم من ذلك لا توجد بيئة غذائية معينة يمكن اعتبارها بيئة غذائية جيدة لجميع الفطريات ليس فقط من أجل النمو وإنما لإظهار صفاتها الشكلية والفسيولوجية سواء في البيئات السائلة أو الصلبة. قسمت الأوساط الزرعية إلى ثلاثة أقسام اعتمادا على تركيبها والمواد التي تتكون منها وهي أما من مواد طبيعية أو كيميائية أو من الاثنين معا وكما يأتي:

أنواع الأوساط الزرعية :

1 - الأوساط الطبيعية Natural Media

2 – الاوساط التركيبية – الطبيعية Natural – synthetic media

3 - الأوساط الصناعية Synthetic Media

وقبل البدء في التعرف على الأوساط الزرعية وطرق تحضيرها يجب الانتباه إلى الملاحظات التالية:

1- تنمو الفطريات بشكل جيد في الأوساط الغنية بالكاربوهيدرات، علماً بأن هذه المواد قد تقلل من قدرة بعض الفطريات على تكوين الأبواغ خصوصاً عند حفظها على الوسط لفترة طويلة.

2- هناك أوساط غذائية تستخدم لأغراض خاصة غير النمو الخضري مثل تشجيع تكوين الأبواغ او تكوين بعض الايضات الثانوية secondary metabolites من قبل الفطريات.

3- الفطريات تفضل النمو في الأوساط الحامضية قليلاً (pH :6.5 – 5.5).

4- لمنع تلوث الأوساط الغذائية بالبكتريا تضاف إليها بعض المواد المثبطة لنمو البكتريا كالمضادات الحيوية لإفساح المجال لنمو الفطريات فقط والحصول على مزرعة نقية من الفطر.

5- تتحلل الكاربوهيدرات والبروتينات، الموجودة في الوسط الغذائي، بالحرارة في المحاليل الحامضية والقلوية لذا يجب عدم الإفراط في تعقيمها.

6- الأكار بطيء الذوبان، ويفضل إذابة الأكار في نصف كمية الماء المخصصة لتحضير الوسط وتسخينه مع التحريك المستمر حتى الذوبان، وإذابة المواد الغذائية في النصف الآخر ثم مزجهما.

7 - الأكار لا يتصلب جيداً في الأوساط او المحاليل عالية الحموضة أو القلوية.

8- يجب استخدام الماء المقطر في تحضير الأوساط الغذائية لأنه خالي من العناصر وخصوصاً النادرة التي قد تكون سامة للفطريات في حالة استخدام ماء الحنفية.

أولاً: الأوساط الطبيعية Natural media

تحضر هذه الأوساط من مستخلصات نباتية أو حيوانية غير معروفة التركيب مثل الأجزاء النباتية المختلفة أو الفواكه والبذور، وتمتاز هذه الأوساط بأنها تماثل إلى حد كبير البيئات او العوائل الطبيعية التي تنمو عليها الفطريات كما أنها سهلة التحضير ورخيصة الثمن، ومن أمثلتها:

وسط اكار البطاطا Potato agar medium

يعتبر هذا الوسط من بين الأوساط الغذائية الشائعة الاستخدام في مختبر الفطريات ويتركب من:

Potato	200g
Agar	15g
Distilled wate	1000ml

طريقة العمل:

1- تغسل البطاطا جيداً وتقشر ثم تقطع إلى قطع صغيرة.

2- يوزن 200 غم من قطع البطاطا ويضاف إليها 500 مل من الماء المقطر وتطبخ لدرجة الغليان في بيكر زجاجي لمدة نصف ساعة.

3- يؤخذ راشح البطاطا باستخدام الشاش ويفضل أن تعصر البطاطا أيضاً خلال قطعة شاش وتضاف العصارة إلى الراشح.

4- يذاب الأكار في 500 مل من الماء المقطر ويسخن بهدوء حتى الذوبان.

5- يمزج محلول الأكار مع راشح البطاطا ويكمل الحجم إلى 1000 مل.

6- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15-20 دقيقة.

Plant
Pathology

ومن الأوساط الطبيعية الأخرى الأوساط المدرجة تراكيبها كما موضح والتي يلاحظ فيها انها تتكون من مواد طبيعية معروفة التركيب

وسط اكار البطاطا والجزر Potato carrot agar medium

وهو وسط ضعيف جدا يلائم أغراض حفظ المزارع الفطرية، ويتركب من المواد التالية:

Potato	20g
Carrot	20g
Agar	15g
D.water	1000ml

وسط أكار دقيق الفاصوليا Bean meal agar medium

يستخدم هذا الوسط لتكوين أبواغ الفطر *Phytophthora* spp. ويتركب من المواد التالية:

Bean meal	20g
Agar	15g
D.water	1000ml

وسط أكار الماء Water agar medium

وهو وسط بسيط جداً لانه خالي من العناصر الغذائية وبإمكانه أن يدعم الفطريات لتنمو بصورة بطينة ولا تكون غزل فطري كثيف ولذلك يمكن فحصها والتعرف عليها بسهولة، ويتركب من الآتي:

Agar	20g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

يحضر الوسط بإذابة الأكار في الماء مع التسخين والتحريك ثم يعقم باستخدام الموصدة لمدة 15 دقيقة.

أوساط متنوعة للفطريات المائية

Miscellaneous media for aquatic Fungi

ان عدد من الفطريات الكتريدية التي تعيش في مياه البرك تنمو بنجاح على قطع من السيلوفان وأوراق الترشيح والشعر والريش وأوراق ذرة فتية معقمة وقشرة البصل وحبوب اللقاح أو أية مادة عضوية حيث توضع أي واحدة من هذه المواد في أطباق بتري معقمة فيها كمية قليلة من مياه البرك، ثم تتابع عملية نمو الفطريات المائية عليها.

ثانياً: الأوساط التركيبية - الطبيعية Natural- synthetic media

تتكون هذه الأوساط من مواد طبيعية نباتية أو حيوانية مضافاً إليها مواد معروفة التركيب، ومن أهم هذه الأوساط أو البيئات هي:

وسط أكار الدكستروز البطاطا Potato dextrose agar (PDA)

هذا الوسط من أكثر الأوساط الزرعية والبيئات الفطرية استخداماً في مختبرات الفطريات وهو يشابه أكار البطاطا الذي مر ذكره في الأوساط الطبيعية مع إضافة الدكستروز، ويعتبر من الأوساط المناسبة جداً لنمو عدد كبير من الفطريات وخاصة الفطريات التي تسبب الامراض للنبات، ويتكون الوسط من المواد التالية:

Potato	200g
Dextrose	20
Agar	15g
Distilled water	1000ml

ملاحظة :

وفي حالة عدم توفر الدكستروز يمكن استخدام الكلوكوز بنفس التركيز 20 غم/لتر أو السكروز بمعدل 10 غم/لتر.

ثالثاً: الأوساط التركيبية (الصناعية) Synthetic media

وهي الأوساط التي تتكون من مواد كيمياوية معروفة التركيب والتركيز، قسم من هذه الأوساط تنتجها شركات متخصصة على هيأة مساحيق جافة يحتاج تحضيرها إضافة الماء فقط حسب النسب المثبتة على العلبة، وبعكسه يمكن تحضيرالأوساط في المختبر من إذابة المواد العضوية وغير العضوية المكونة للوسط في الماء حسب النسب المحددة لكل مادة. ومن أهم هذه الأوساط والبيئات هي:

وسط أكار زابكس Czapek's agar medium

هذا الوسط من أكثر الأوساط الصناعية استخداماً في عزل وتنمية الفطريات، ويمكن استخدامه كوسط سائل مغذي للفطريات عند حذف الأكار، الوسط مناسب جداً للتعرف على الأنواع المختلفة التابعة للفطر *Penicillium* والفطر *Aspergillus*. أما الفطر *A. glaucus* والفطريات التابعة له يمكنها أن تنمو افضل عند زيادة كمية السكر في الوسط من 1.5 إلى 5%، واشارت بعض الدراسات والبحوث ضرورة إلى إضافة بعض المواد مثل الفيتامينات أو الحوامض الأمينية إلى الوسط، ويتركب الوسط أساساً من المواد التالية:

NaNO3	3.0g
K2HPO4	1.0g
KCl	0.5g

MgSO4.7H2O	0.5g
FeSO4.7H2O	0.01g
Sucrose	30.0g
Agar	15.0g
D.water	1000ml

طريقة العمل:

1- تذاب الكميات المقررة من المواد أعلاه في 500 مل من الماء المقطر المعقم، ويفضل ان تذاب مادة بعد أخرى وليس جميعها مرة واحدة لمنع تكوين مركب معقد غير ذائب، أما بالنسبة للسكر فيجب أن يكون آخر مادة تضاف وبدون تسخين لتحاشي عملية الكرملة caramelization.

2- أحياناً يفضل إذابة السكر في كمية قليلة من الماء ومن ثم يعقم باستخدام مرشحات زايتس Sietz filter، ويضاف إلى الوسط بعد تعقيمه.

3- يعقم الوسط باستخدام الموصدة تحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة.