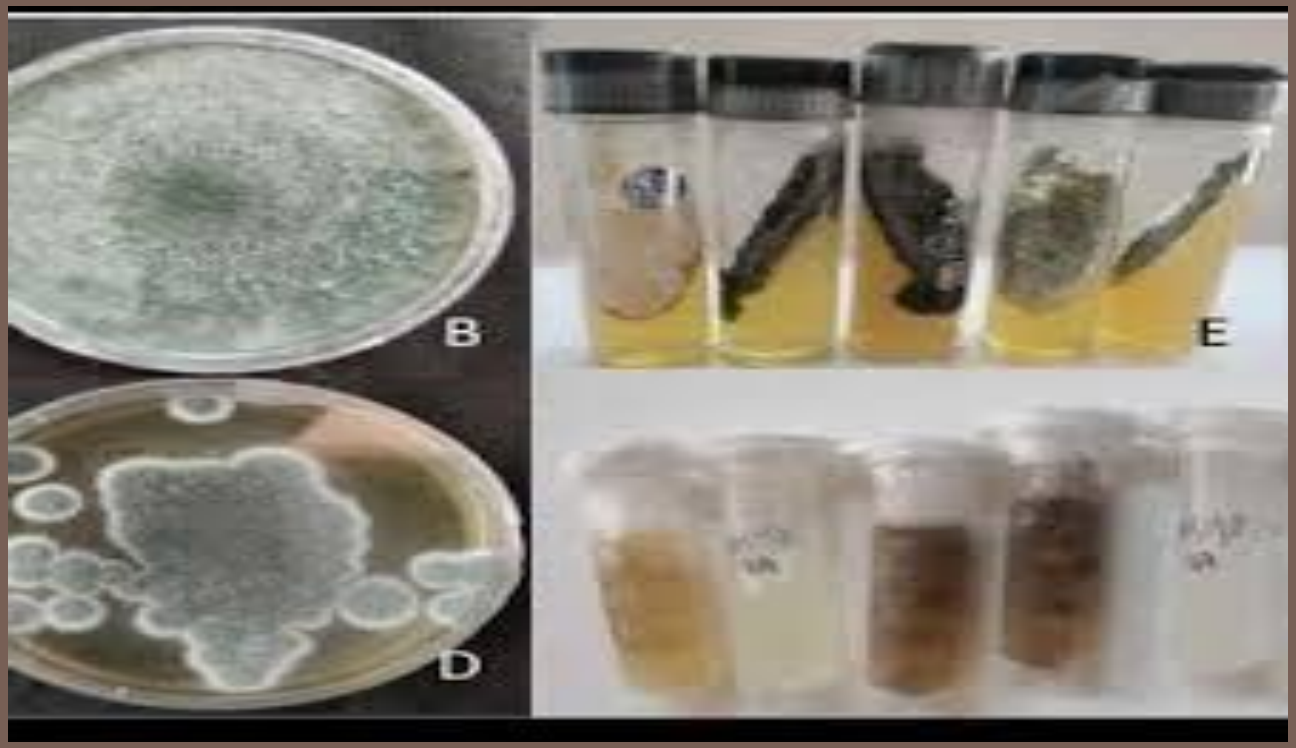

حفظ الفطريات

Preservation of Fungi

Dr.Hiba Fouad Abdulfatah

ان عملية حفظ الفطريات من الأمور المهمة والضرورية جداً لبقاء وديمومة الفطريات التي تم عزلها والتعرف عليها وتشخيصها، مع ضمان الاحتفاظ بحيويتها لفترة طويلة قد تصل إلى 10 سنوات، وإمكانية الحصول على مزارع فطرية بكامل حيويتها بعد هذه الفترة الطويلة من الحفظ. المهم هنا هو أن عملية الحفظ يجب أن تتم تحت نفس الظروف والشروط التي وجدت فيها الفطريات أثناء العزل كلما كان ذلك ممكناً، ولهذا السبب فقد اعتمدت عدة طرق للحفظ ويتوقف اختيار الطريقة المناسبة على أساس عدد المزارع، الوقت، الإمكانات المتاحة والظروف البيئية والمناخية السائدة.

فعلى سبيل المثال يجب حفظ الفطريات المجهرية بطريقة قابلة للحياة والنمو في مزرعة نقية خلال فترة إجراء تجربة معينة ولفترة زمنية محددة، وهذا يتطلب نقلها إلى وسط غذائي جديد وعلى فترات زمنية معقولة تضمن الحفاظ على حيوية ونشاط الفطر خلال فترات النقل هذه والتي تعتمد على قدرة الفطر في البقاء حياً

ونشطاً قبل نقله مرة أخرى. أما بالنسبة للفطريات الكبيرة الحجم مثل الفطريات اللحمية والأجسام الثمرية اللامجهرية فيمكن حفظها والاحتفاظ بها ولكن ليس بالضرورة بشكل حي وإنما تحفظ في مواد ومحاليل حافظة لكي تحافظ على شكلها الطبيعي لأغراض البحث والدراسة.

أما بخصوص الفطريات الممرضة للنباتات فيمكن حفظها مع النموذج النباتي أما في محاليل حفظ خاصة أو بطريقة التجفيف وفي كلا الحالتين فإن الهدف هو الحفاظ على هذه النماذج النباتية لمواسم غير مواسم نموها أو تواجدها سواء لأغراض الدراسة أو البحث العلمي أو لمتابعة موضوع محدد يخص هذه الفطريات. وسوف يتم تناول هذه المواضيع في الفقرات التالية:

1- حفظ المزارع الفطرية Preservation of Fungal cultures

ان أغلب الفطريات المجهرية يمكن الاحتفاظ بها حية على عدد من أوساط الأكار الصلبة ولفترة تتراوح ما بين ستة أشهر إلى سنة واحدة قبل نقلها إلى وسط زرعي جديد، كما هو الحال مع الفطريات *Penicillium* و *Aspergillus* ، بينما هناك فطريات أخرى يتطلب نقلها إلى مزارع جديدة كل شهر او كل ثلاثة أسابيع لضمان بقائها حية. المعروف بان الفطريات والاجزاء الفطرية تختلف في مطاولتها Longivity للبقاء حية على الوسط الزرعي او الغذائي الذي تنمو عليه قبل نقلها إلى وسط جديد، وبشكل عام تملك الخيوط الفطرية أو تحتفظ بحيوية أكثر مما هو عليه في الأبواغ، والأبواغ هي الأخرى تختلف فيما بينها في المطاولة فالابواغ الكونيدية أكثر مطاولة من الأبواغ الحافظية. كذلك وجد بأن الفطريات المائية aquatic fungi تعيش لفترة أقصر من الفطريات الأخرى وهكذا، ولكن

عموماً فإن العوامل الأكثر اهمية في تحديد مطاولة الفطريات او الأجزاء الفطرية هي الرطوبة والحرارة، وعادة تستخدم الرطوبة المنخفضة والحرارة الواطئة لحفظ الأجزاء أو المزارع الفطرية حية لفترات زمنية طويلة، وقد اعتمدت عدة طرق لتحقيق هذا الغرض منها ما يأتي:

1- مزرعة مائل الاكار Agar slant culture

تعتمد هذه الطريقة على التجديد الدوري لمزارع الفطريات وهي من أكثر الطرق شيوعاً. تنمى المزارع في أنابيب اختبار على وسط زرعي صلب يحتوي بعض المغذيات الضعيفة جداً والتي قد تكون قطعاً من الخضروات أو المواد النباتية أو مستخلصات الخضروات أو أملاح معدنية مع مصدر للكاربون. ان أكثر هذه المغذيات نفعاً هومستخلص البطاطا أوالجزر مع الأكار في أنابيب اختبار أو زجاجيات مناسبة، وبعد تكون النمو على الوسط الزرعي تحفظ المزارع في الثلاجة أو الحاضنة المبردة في درجة حرارة 5 مْ، ويجب تجديد المزرعة في هذه الحالة مرة كل ستة اشهر على الأقل، وقد تكون بعض الفطريات والسلالات

حساسة للبرودة فتحفظ في درجة حرارة أعلى قليلاً تتراوح ما بين 10-15مْ. يجب الانتباه هنا إلى نقطة ضرورية تضمن موضوع حفظ المزارع الفطرية ألا وهي عمل أكثر من مكرر لكل مزرعة لكي توضع في أكثر من مكان لأن حفظها في مكان واحد وبمكرر واحد قد يعرضها للتلف أو الضياع أو تحصل حالة طارئة في المكان الأساسي قد تؤدي إلى فقدان أو كسر أو تلوث المزارع أو توقف الحاضنة مما يؤدي إلى فقدان أحد المزارع فهذه الطريقة توفر لنا فرصة جيدة في الحصول على المزارع التي فقدت بالاستعانة بالمزارع في المكان الآخر.

2- التجفيد(التجفيف –التجميد)Lyophilization(Freeze-Drying)

تعتمد هذه الطريقة على سحب الماء من الأبواغ أو الخلايا أو الخيوط الفطرية بواسطة التجميد السريع، ومن فوائد هذه الطريقة هي استبعاد الأثر الضار لتركيز بعض المواد أو الأملاح السامة خلال عملية سحب الماء. تجفف المزارع المجمدة بنزع بخار الماء تحت ضغط منخفض باستخدام جهاز التجفيف Lyophilizere، ثم تحفظ المزارع أو معلقات الأبواغ المجفدة في انبولات أو أنابيب محكمة الغلق لتفادي خطورة التلوث أو الإصابة المتبادلة. تعتمد هذه الطريقة بشكل أساسي في حفظ الأبواغ والخيوط الفطرية. علماً أن أنواع الفطريات *Pythium* spp. و *Phytophthora* spp. لا يمكن حفظها بهذه الطريقة لأنها لا تحتمل المعاملة البدائية بهذه العملية. ان غالبية الفطريات وخصوصاً المكونة للأبواغ بكميات كبيرة يتم حفظها بهذه الطريقة.

3- تحت الزيت المعدني Under mineral oil

تنمى الفطريات على وسط مائل وبعد نموها تغمر بزيت معدني معقم بحيث يرتفع الأخير بمقدار 1.0 سم فوق قمة الأكار المائل عندما تكون الأنابيب في وضع قائم. يفضل أن تكون المزارع الفطرية قد نمت جيداً وكونت كمية جيدة من الأبواغ علماً بأن الخيوط الفطرية فقط في بعض الفطريات مثل *Pythium* و *Phytophthora* بإمكانها أن تعمر لفترة طويلة عند حفظها بهذه الطريقة. من فوائد هذه الطريقة وخاصة في المناطق الحارة تمنع جفاف المزارع

كما انها سهلة التنفيذ لا تحتاج الى اجهزة ومعدات

4- تحت النتروجين السائل Under liquid nitrogen

تعتمد هذه الطريقة على مبدأ خفض النشاط الحيوي للابواغ او الخلايا الفطرية بتأثير درجات الحرارة الواطئة جداً ، حيث تعامل المزارع الفطرية أو معلقات الأبواغ بمادة واقية مثل مادة الكليسرول 10%، وتوضع في انبولات وتجمد في النتروجين السائل عند درجة حرارة فائقة الانخفاض تصل إلى 196 مْ تحت الصفر. ويفضل أن تتم العملية ببطء من خلال التبريد او الخفض التدريجي لدرجة الحرارة والتي قد تصل إلى 35مْ تحت الصفر ثم ننقل إلى النتروجين السائل، هذه الطريقة تجعل المزارع تعمر لفترة أطول مما لو عوملت مباشرة بالنتروجين السائل لأنها قد لا تتحمل صدمة التجميد البدائية. يمكن اعتماد هذه الطريقة لحفظ الفطريات النامية على الأوساط الزرعية أو على الأوساط الطبيعية.

5- الخزن بالماء Water storage

تعد هذه الطريقة من الطرق الحديثة لحفظ الفطريات، فقد ظهر حديثاً اهتمام كبير بإمكانية استخدام الماء في حفظ الفطريات وخزنها لفترة قد تصل إلى أكثر من سنة كاملة. من أهم إيجابياتها هي كونها رخيصة، لا تحتاج الى مواد ، بسيطة ومضمونة النتائج.

طريقة العمل:

1- تنقل قطع أو أجزاء مربعة من حواف المزارع الفطرية الفتية إلى أنابيب اختبار ذات سدادات لولبية محكمة حاوية على الماء المقطر المعقم، ثم تسد أغطيتها بشكل جيد.

2- تحفظ الأنابيب عند درجة حرارة 4 مْ .