جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ميسان ـ كلية العلوم

دراسة مظهريه وجزيئيه للفطريات المعزولة من روث بعض الحيوانات في محافظه ميسان

رسالة مقدمة الى مجلس كلية العلوم ـ جامعة ميسان كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

يقين علي مطشر

بكالوريوس تربية في علوم الحياة 2009

بأشراف

ا. د .علي عبدالواحد قاسم

1445 هـ

2023 م

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Misan - College of Science

Morphological and Molecular study of Fungi Isolated from some animal dung in Maysan Province

A Thesis Submitted to the council of College of Sciences/ University of Misan In partial/ Fulfillment of the Requirements For the Degree Master of Science in Biology

By

Yaqeen Ali Mutashar

B.Sc. Biology (2009)

Supervised by

Prof. Dr. Ali A. Kasim

2023 A.D **1445 A.H**

توصية الاستاذ المشرف

اقر ان اعداد هذه الرسالة الموسومة **(دراسة مظهريه وجزيئيه للفطريات المعزولة من روث بعض الحيوانات في محافظه ميسان)** من قبل الطالبة **(يقين علي مطشر)** قد جرت تحت اشرافي في قسم (علوم الحياة) كلية العلوم كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير .

التوقيع :

الاسم : أ . د. علي عبد الواحد قاسم

الدرجة العلمية : استاذ

التاريخ : / / 2023

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصية المقدمة من قبل الاستاذ المشرف احيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لتدارسها وبيان الراي فيها

التوقيع :

الاسم : أ. م .د. ميثم عبد الكاظم دراغ

الدرجة العلمية : استاذ مساعد

التاريخ : / / 2023

بسم الله الرحمن الرحيم

(يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ)

صدق الله العلي العظيم

(سورةالمجادلة:الآية11)

الاهداء

الى من قادوا عقول وقلوب البشرية الى بر الامان محمد وآل بيته الطيبين الطاهرين

الى زوجي العزيز المرحوم ميثم ثوابا دائما

الى الشمعة التي احترقت لتضيء لي طريق النجاح .....ابي الغالي

الى من تمنت ان تراني وانا احقق هذا النجاح .....امي الغالية

الى فلذات كبدي...علي... حسين...لامار

الى سندي في الحياة .....اخوتي واخواتي وخالاتي

يقين

شكر وتقدير

الحمد لله الذي جعل الحمد مفتاحا لذكره وسببا للمزيد من فضله ودليلا على الآئه وعظمته والصلاة والسلام على نبيه محمد واله الطيبين الطاهرين .

اتقدم بخالص الشكر والتقدير الى **الاستاذ الدكتور علي عبدالواحد قاسم** على ما قدمه لي من دعم ومساندة واراء علميه سديدة طيلة فترة البحث من اجل اكمال رسالتي ، متمنيتا له المزيد من العطاء والتألق العلمي.

كما يسرني ان اقدم شكري وتقديري الى عمادة كلية العلوم متمثلة **بالأستاذ الدكتور صبيح جاسم كاطع** والى رئاسة قسم علوم الحياة متمثلة **بالأستاذ المساعد الدكتور ميثم عبد الكاظم دراغ** لما قدموه لي من تسهيلات لإنجاز هذه الرسالة .

ومن العرفان بالجميل ان اتقدم بوافر الشكر والتقدير الى **الاستاذ الدكتور عبدالله السعدون والاستاذ الدكتور مصطفى عبد الوهاب** من كلية العلوم / جامعة البصرة لتقديمهم الاستشارات والنصائح والآراء العلمية السديدة اثناء فترة العمل .

واتقدم بالشكر الجزيل الى **الاستاذ المساعد الدكتور صلاح حسن فرج** لمساعدته لي في رسم الشجرة الوراثية للأنواع الفطرية التي تم تشخيصها جزيئيا .

والشكر والعرفان الى الاستاذة **Sigrid Jakob** رئيسة جمعية الفطريات في مدينة نيويورك في الولايات المتحدة الامريكية لما قدمته لي من مصادر علمية حديثة ومفاتيح تصنيفية تخص موضوع الدراسة عبر وسائل التواصل الاجتماعي .

المحتويات Contents

التسلسل	العنوان	الصفحة
	الفصل الاول : المقدمة واستعراض المراجع	
.1.1	المقدمة Introduction	1
.2.1	استعراض المراجع Literature review	3
.1.2.1	فطريات الروث Coprophilous fungi	3
.2.2.1	مكونات الروث Components of dungs	4
.3.2.1	مميزات فطريات الروث Properties of Coprophilous fungi	4
.4.2.1	دورة حياة فطريات الروث Life cycle of dungs fungi	5
.5.2.1	الاهمية البيئية لفطريات الروث	5
.6.2.1	تعاقب فطريات الروث Succession of dungs fungi	6
.7.2.1	العوامل المؤثرة على فطريات الروث	7
.1.7.2.1	عوامل غذائية Nutritional factors	7
.2.7.2.1	عوامل بيئية Ecological factors	8
.1.2.7.2.1	درجة الحرارة Temperature	8
.2.2.7.2.1	الأس الهيدروجيني potential Hydrogen (pH)	8
.3.2.7.2.1	التهوية Aeration	9
.4.2.7.2.1	الضوء Light	9
.5.2.7.2.1	محتوى الرطوبة Moisture content	10
.3.7.2.1	عوامل حياتية Biotic factors	10
.1.37.2.1	عوامل وراثية Genetic factors	10
.2.3.7.2.1	التنافس Competition	11
.3.3.7.2.1	التطفل Parasitism	12
.4.3.7.2.1	التآزر Synergism	13
.5.3.7.2.1	الافتراس Predation	14
.8.2.1	الفعالية الانزيمية لفطريات الروث Activity of enzymes in dungs fungi	14

.9.2.1	التشخيص الجزيئي للفطريات Molecular diagnosis of fungi	15
.10.2.1	الموقع التصنيفي Taxonomic position	16
.1.10.2.1	شعبة الفطريات المخاطية Myxomycota	16
.2.10.2.1	شعبة الفطريات اللاقحية Zygomycota	16
.3.10.2.1	شعبة الفطريات الكيسية Ascomycota	17
.4.10.2.1	شعبة الفطريات البازيدية Basidiomycota	18
.11.2.1	الدراسات المحلية السابقة previous local studies	18
	الفصل الثاني : المواد وطرائق العمل Materials and methods	
.1.2	الاجهزة والادوات Apparatus and Instruments	22
.2.2	المواد الكيميائية Chemical materials	24
.3.2	جمع عينات الروث Collection of dungs samples	25
.4.2	الاوساط الزرعية Culture media	25
.1.4.2	وسط خلاصة الشعير اكار Malt Extract Agar (MEA)	26
.2.4.2	وسط بطاطا دكستروز اكار Potato Dextrose Agar (PDA)	26
.3.4.2	وسط بطاطا – جزر اكار Potato Carrot Agar (PCA)	26
.4.4.2	وسط الذرة اكار Corn Meal Agar (CMA) (	26
.5.2	التعقيم Sterilization	26
.6.2	صبغة اللاكتوفينول Composition of lactophenol stain	27
.7.2	طريقة العزل Isolation method	27
.8.2	تحضير الشرائح الزجاجية Preparation of slides	27
.9.2	النسبة المئوية الظهور وللتردد Percentage of occurrence and frequency	28
.10.2	التشخيص الجزيئي لفطريات الروث Molecular diagnosis of dungs fungi	28
.1.10.2	استخلاص ال DNA من فطريات الروث Extraction of DNA from dungs fungi	28
.2.10.2	الترحيل الكهربائي ل DNA DNA Electrophoresis	29
.3.10.2	اختبار تفاعل سلسلة البوليمر Polymerase Chain Reaction (PCR)	30
	الفصل الثالث : النتائج والمناقشة Results and Discussion	

.1.3	التشخيص المظهري لبعض فطريات الروث	32
.1.1.3	الفطريات المخاطية Myxomycota	32
.2.1.3	الفطريات اللاقحية Zygomycota	33
.3.1.3	الفطريات الكيسية Ascomycota	35
.4.1.3	الفطريات البازيدية Basidiomycota	54
.2.3	الدراسة لمسحية لفطريات الروث	56
.1.2.3	الفطريات المخاطية Myxomycota	57
.2.2.3	الفطريات اللاقحية Zygomycota	57
.3.2.3	الفطريات الكيسية Ascomycota	59
.4.2.3	الفطريات البازيدية Basidiomycota	64
.3.3	التشخيص الجزيئي لبعض فطريات الروث	68
4. الاستنتاجات والتوصيات	**Conclusions and Recommendations**	
.1.4	الاستنتاجات Conclusions	82
.2.4	التوصيات Recommendations	83
5. المصادر	**References**	
.1.5	المصادر العربية	84
.2.5	المصادر الاجنبية	84

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
1	الاجهزة والادوات المستخدمة خلال الدراسة .	22
2	المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة .	24
3	الاوساط الزراعية المستخدمة في الدراسة .	24
4	اعداد العينات التي تم جمعها من روث الاغنام والابقار خلال فترة الدراسة	28
5	المواد المستخدمة في تضخيم الجين .	30

6	تتابع القواعد النيتروجينية للبادئات ITS1 , ITS4 المستخدمة في عملية التضخيم.	31
7	ظروف عملية تفاعل ال PCR	31
8	النسب المئوية للمجموعات التصنيفية اعتمادا على عدد الانواع المشخصة خلال هذه الدراسة	57
9	النسبة المئوية للتردد والظهور للفطريات المعزولة من روث الابقار والاغنام في المواقع المدروسة	64
10	عدد العزلات للأنواع التي ظهرت على روث الابقار والاغنام .	66
11	اسماء الفطريات التي تم تشخيصها جزيئيا .	69

قائمة الاشكال

الرقم	العنوان	الصفحة
1	*Physarum globuliferum* : A حامل الحوافظ البوغيه B حافظة بوغية ، C , D ابواغ	32
2	*Pilobolus crystallinus* : A ابواغ ، B حافظة بوغية وحوصلة غذائية وحامل .	33
3	*P. kleinii* A: الفطر نامي على الروث , B كيس ابواغ وحوصلة غذائية وحامل ,C ابواغ.	34
4	*Rhizopus oryzae* ، A ,B حوامل وحوافظ بوغية وابواغ .	35
5	*Ascobolus immersus* : A , B , C اكياس بوغية وابواغ وجسم ثمري منفجر .	36
6	*Ascobolus furfuraceus* : A جسم ثمري منفجر ,B ابواغ ,C اكياس بوغيه .	37
7	*Ascobolus aglaosporus* : A, B اكياس بوغية , C جسم ثمري منفجر,D كيس ثمري .	38
8	*Ascobolus crenulatus* : A اكياس بوغيه ,B جسم ثمري منفجر ,C جسم ثمري .	39
9	*Saccobolus citrinus* : A اكياس بوغيه ,B جسم ثمري .	40
10	*Saccobolus globuliferellus* : Aاكياس بوغيه B، اجسام ثمريه متفجرة .	40
11	*Saccobolus glaber* : A اكياس بوغيه B جسم ثمري منفجر .	41
12	*Sacobolus truncates* : A اكياس بوغيه ,B جسم ثمري متفجر ,C اجسام ثمرية على الروث .	42
13	*Sacobolus minimus* A: اكياس بوغيه , B جسم ثمري منفجر ,c اجسام ثمرية على الروث.	43
14	*Chaetomium bostrychodes* : A اجسام ثمريه مزودة بشعيرات، B جسم ثمري منفجر	44
15	*Chaetomium murorum* : A جسم ثمري مزود بشعيرات ,B ابواغ .	45
16	*Chaetomium cephalothecoides* : A جسم ثمري مزود بشعيرات , B ابواغ .	45

17	*Peziza fimeti* : A اجسام ثمريه حديثه , B اجسام ثمريه ناضجة .	46
18	*Podospora communis* A اجسام ثمرية على الروث , B بوغ ,C جسم ثمري منفجر .	47
19	*Kernia nitida* :A جسم ثمري مزود بشعيرات , B ابواغ .	48
20	*Ascodesmis nigricans* :A اكياس بوغيه , B جسم ثمري منفجر.	49
21	*Zopfiella* sp. :A كيس ثمري ,B اكياس ثمرية منتشرة على الروث ,C ابواغ .	50
22	*Nigrosabulum globosum* : A اكياس ثمرية منفجرة .	50
23	*Sporomiella leporina* : A جسم ثمري , B ابواغ .	51
24	*Spormiella minima* : A جسم ثمري ,B جسم ثمري منفجر ,C اكياس بوغيه .	52
25	*Preussia sp* : A جسم ثمري , B اكياس بوغيه .	53
26	*Alternaria alternata*: A ابواغ , B مستعمرات الفطر على الوسط الزرعي .	53
27	*Coprinopsis radiate*: A نمو فطري على الروث ,B Pileus , C ابواغ .	54
28	*Coprinopsis stercorea* : A القبعة والغلاصم ,B القبعة والابواغ المتناثرة منها ,C ابواغ.	55
29	*Parasola misera* : A : Pileus على الروث .	56
30	نواتج الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز لمنتج ال PCR باستخدام بادئات ITS 4 و ITS1	70
31	الشجرة الوراثية للنوع *Mucor circinelloides*	71
32	الشجرة الوراثية للنوع *Fusarium proliferatum*	72
33	الشجرة الوراثية للنوع *Fusarium solani*	73
34	الشجرة الوراثية للنوع *Ascobolus stercorarius*	74
35	الشجرة الوراثية للنوع *Chaetomium convolutum*	75
36	الشجرة الوراثية للنوع *Chaetomium murorum*	76
37	الشجرة الوراثية للنوع *Tulosesus bisporus*	77
38	الشجرة الوراثية للنوع *Collariella postrychodes*	78
39	الشجرة الوراثية للنوع *Microascus cirrosus*	79
40	الشجرة الوراثية للنوع *Geotrichum candidum*	80
41	الشجرة الوراثية للنوع *Preussia minima*	82

الخلاصة Summary

اجريت هذه الدراسة في مختبرات كلية العلوم – قسم علوم الحياة ، اذ جمعت 120 عينة روث لنوعين من الحيوانات آكلة الاعشاب وهما الاغنام والابقار (60 عينة من روث الاغنام و60 عينة من روث الابقار) من ثلاث مواقع مختلفة في محافظة ميسان شملت مركز العمارة وقضاء الكحلاء وناحية المشرح للفترة من نيسان 2022 ولغاية آذار 2023 ، لغرض اجراء دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية لفطريات الروث Coprophilous fungi المعزولة من روث الحيوانات المدروسة ، وتم عزل وتشخيص 59 نوعا تعود الى 34 جنسا من الفطريات . تم خلال هذه الدراسة الحصول على 256 عزلة فطرية توزعت على النحو التالي 103 عزلة من موقع العمارة (عزلتين من الفطريات المخاطية، 11 عزلة من الفطريات اللاقحية، 74 عزلة من الفطريات الكيسية و16 عزلة من الفطريات البازيدية) و85 عزلة من موقع الكحلاء (عزلة واحدة من الفطريات المخاطية، 13 عزلة من الفطريات اللاقحية، 63 عزلة من الفطريات الكيسية و8 عزلة من الفطريات البازيدية) اما موقع المشرح فعزلت منه 68 عزلة (5 عزلات من الفطريات اللاقحية، 49 عزلة من الفطريات الكيسية و14 عزلة من الفطريات البازيدية).

اظهرت نتائج هذه الدراسة ان اغلب الفطريات التي تم عزلها وتشخيصها تعود الى الفطريات الكيسية Ascomycota حيث تم عزل وتشخيص 46 نوع تعود الى 25 جنسا وبنسبة بلغت% 77.96، وقد سجل الجنسين *Ascobolus* و *Saccobolus* اعلى عدد من الانواع بلغت 8 انواع و5 انواع لكل منهما على التوالي، مقارنة مع بقية الاجناس الاخرى التي تم عزلها خلال هذه الدراسة، وان اكبر عدد من العزلات ظهر في الفطرين *Ascobolus furfureceus* و *Fusarium solani* (8 عزلات لكل منهما) ، وتلاها الفطريات اللاقحية Zygomycota بنسبة % 11.86 وكان عدد الانواع التي تنتمي اليها 7 انواع تعود الى 4 اجناس حيث اظهر الفطر *Rhizopus oryzae* اعلى عدد من العزلات بلغ 6 عزلات ، ثم الفطريات البازيدية Basidomycota بنسبة % 8.47 حيث عزلت 5 انواع تعود الى 4 اجناس ، حيث اعطى النوعين *Parasola misera* و *Coprinellus bisporus* اعلى عدد من العزلات بلغ 9 لكل منهما ، اما اقل عدد من الانواع فظهر في الفطريات المخاطية Myxomycota فسجل نوع واحد وبنسبة .% 1.69.

وبينت نتائج هذه الدراسة ان عددا الأنواع وكذلك عدد العزلات التي عزلت من عينات روث الاغنام كانت اكثر من تلك التي تم عزلها من روث الابقار ، فتم عزل وتشخيص 44 نوع و156 عزلة فطرية من روث الاغنام بينما شخص 34 نوع و100 عزلة على روث الابقار .

تم خلال هذه الدراسة اختيار 14 نوعا من الفطريات التي شخصت مظهرياً ودراستها على المستوى الجزيئي ومقارنة تتابعات قواعدها النيتروجينية مع الفطريات المحفوظة في بنك الجينات ، وقد بينت نتائج الدراسة الجزيئية ان هناك تطابقا واضحا تراوحت نسبته بين 95.32% الى 100% بين عزلاتنا والعزلات المحفوظة في البنك، وتم عمل شجرة وراثية للأنواع لتحديد نسبة تطابقها وقربها من العينات الموجودة في بنك الجينات باستخدام برنامج MEGA .

Summary

This study was conducted in the laboratories of the College of Science - Department of Biology, 120 dung samples were collected for two types of herbivorous animals, sheep and cows (60 samples of sheep dung and 60 samples of cow dung) from three different locations in Maysan Governorate, which included the center of Amarah, Al-Kahla, and Al Musharrah, during April 2022 to March 2023, for a phenotypical and molecular taxonomic study of coprophilous fungi isolated from the sheep and cow dung. 59 species belonging to 34 genera of fungi were isolated and identified. During this study, 256 fungal isolates were collected, distributed as follows: 103 isolates from Al-Amarah site (2 isolates of Myxomycota, 11 isolates of Zygomycota, 74 isolates of Ascomycota and 16 isolates of Basidomycota), and 85 isolates from Al-Kahla site (1 isolate of Myxomycota, 13 isolates Zygomycota, 63 isolates from Ascomycota and 8 isolates Basidomycota), moreover, 68 isolates of Al Musharrah (5 isolates Zygomycota, 49 isolates from Ascomycota and 14 isolates from Basidomycota).

The results of this study showed that most of the isolated fungi belong to the Ascomycota, (46 species belonging to 25 genera with a 77.96 %. While the rest genera that he isolated during this study, *Ascobolus furfureceus* and *Fusarium solani* showed the largest number of isolates (8 isolates each), followed by the zygomycota with 11.86% and 7 species belonging to 4 genera, *Rhizopus oryzae* had the highest number of isolates, reaching 6, Basidomycota revealed 8.47% and 5 species belonging to 4 genera, *Parasola misera* and *Coprinellus bisporus* gave the highest number of isolates (9 isolates each), while the lowest number of species appeared in Myxomycota (1 one species and 1.69%).

The results of this study showed that the number of species as well as the number of isolates isolated from sheep dung samples were more than of cow

dung, however, 44 species and 156 isolates were isolated from sheep dung, while 34 species and 100 isolates were identified on cow dung.

During this study, 14 species of fungi that were identified phenotypically were selected and studied at the molecular level, and the sequences of their nitrogenous bases were compared with the species kept in the Gen Bank. The results of the molecular study showed that there was a clear correspondence ranging from 100% to 95.32% between our isolates and the Gen Bank isolates. A genetic tree of the some isolated species was made to determine the percentage of its similarity and closeness to the Gen Bank species using the MEGA program.

الفصل الأول

المقدمة واستعراض المراجع

Introduction and Literature Review

الفصل الاول : المقدمة واستعراض المراجع Introduction and literature review

1.1. المقدمة Introduction

تعد الفطريات احدى اهم الكائنات الحية في البيئة وذلك لما تلعبه من دور حيوي في الانظمة البيئية المختلفة ، فضلا عن علاقتها بالكائنات الاخرى فهي اما ان تكون متطفلة على الاحياء الاخرى او تكون مترممة على النباتات والحيوانات الميتة ، بينما البعض الاخر منها يكون متعايشا مع احياء اخرى بهدف تبادل المنفعة (Mueller *et al.*, 2004) . تضم الفطريات اكثر من مليون ونصف نوع متوزعة في مختلف البيئات كالتربة والهواء والماء وروث الحيوانات شخص منها اكثر من 180 الف نوع لحد الان (Kuyper *et al*., 2021).

تلعب الفطريات دورا كبيرا في تحلل المواد العضوية الموجودة في البيئة بسبب فعالياتها الانزيمية المختلفة ، ومن اهمها فطريات الروث Coprophilous fungi وتسمى احيانا بالمحبة للروث Coprophilic fungi وهذا المصطلح مشتق من كلمتان يونانيتان هما Copros وتعني (روث) و Philous وتعني (المحبة) (Ghadma ,2019) وتمثل هذه الفطريات واحدة من اهم المجاميع الفطرية التي تتكيف للعيش في هذه البيئة (الروث) فهي تقوم بتحليل المواد العضوية الموجودة في الروث لتديم عملية تدوير العناصر في الطبيعة خاصة المغذيات والكربون لتحافظ على حيوية النظام البيئي (Melo *et al*., 2020 ;Richardson, 2001) ولكي تكون هذه الفطريات متكيفة في معيشتها على الروث قامت بالعديد من التكيفات التي تساهم في نجاحها واستمرار بقائها ، ومن اهم تلك التكيفات هي مقاومة ابواغها للعصارات الهاضمة والحرارة اثناء مرورها بالجهاز الهضمي للحيوان ، كما ان هذه العصارات احيانا تساهم في كسر سكون هذه الابواغ لتكون مهيأة للإنبات بعد خروجها مع براز الحيوانات الى الحقل وتكوينها للأجسام الثمرية عندما تكون الظروف البيئية ملائمة لنموها (Richardson, 2008). كما تمتاز هذه الفطريات بقدرتها العالية على انتاج العديد من مركبات الايض الثانوي مثل بعض الاحماض العضوية والانزيمات والفيتامينات والمضادات الحيوية (Jeamjitt, 2007) .تمتلك هذه الفطريات دورة حياة كاملة تبدأ بأكل الحيوانات للحشائش الملوثة بأبواغ هذه الفطريات في الحقول ثم مرورها مع الغذاء خلال القناة الهضمية للحيوان دون ان تتضرر من عمليات الهضم لتخرج مع براز الحيوانات اكلة الاعشاب (Herbivores) الى الحقل مرة اخرى لتبدأ بالإنبات مكونة اجساما ثمريه على الروث ثم تنثر ابواغها الناضجة بالهواء لتلصق بالحشائش المحيطة بالروث في الحقل(Kruys ,2005 ; Davies *et al*.,2022) .

تتميز بيئة الروث بخصائص فيزيائية وكيميائية خاصه مثل المحتوى العالي من الرطوبة والاس الهيدروجيني الحامضي الضعيف ، فضلا عن احتوائها على مصادر للكربون ونسبة عالية من المواد النيتروجينية والفيتامينات وعوامل نمو اخرى (Lehr *et al*., 2005) . وتعود هذه الفطريات الى المجاميع الفطرية التالية : Myxomycota و Zygomycota و Ascomycota و Basidiomycotaوبعض الفطريات التي توجد بالطور اللاجنسي وتعود الى الصف مثل Hyphomycetes ، وتشير الدراسات الى ان ظهور هذه الفطريات على الروث بشكل تعاقبي نموذجي يبدأ بالفطريات اللاقحية Zygomycota وينتهي بالبازيدية Basidiomycota (Richardson, 2002 ; Davies *et al*., 2022) ، وقد ركزت اغلب الدراسات العالمية على بيئة وتصنيف هذه الفطريات مظهريا ومعرفة نشاطها الأنزيمي ، بينما اجريت بعض الدراسات المحلية في مناطق متنوعة من العراق وعلى انواع مختلفة من الحيوانات ومن اهم هذه الدراسات (Abdullah,1987 الحبيب ،1988; العطبي ، 1990 ; Guarro *et al*., 1997; Abdullah *et al*., 1999 ; Mustafa and Abdullah , 2011 ; Al-Ameed *et al*., 2017 ; Jasim , 2022). اما هذه الدراسة فهي الاولى من نوعها فيما يخص هذه الفطريات في محافظة ميسان والتي تهدف الى ما يلي:

1. عزل وتشخيص فطريات الروث من الابقار والاغنام من مناطق مختلفة في محافظة ميسان .
2. تشخيص بعض الفطريات المعزولة خلال هذه الدراسة على المستوى الجزيئي ومقارنة تتابعات قواعدها النيتروجينية مع الفطريات المحفوظة في بنك الجينات .

2.1. استعراض المراجع Literature review

1.2.1 . فطريات الروث Coprophilous fungi

وهي مجموعة من الفطريات التي تتكيف بالنمو على روث الحيوانات آكلة الاعشاب الذي يحتوي على بقايا النباتات المبتلعة من قبل الحيوان التي تمتاز بمحتوى عالي من النتروجين والكربون ومواد غذائية اخرى ومحتوى عالي من الرطوبة، لهذا يعد الروث وسطا ملائما لنمو هذه الفطريات (Khiralla, 2007 ; Ghosta *et al*., 2016) . تختلف اعداد وانواع فطريات الروث باختلاف الحيوانات واختلاف المناطق البيئية ، اذ وجد ان عينات الروث التي تجمع من نفس الحقل تعطي انواعا ونسبا مختلفة من هذه الفطريات لكل نوع من انواع الحيوانات ، وكذلك تكون مختلفة لنفس الحيوان عند جمع العينات من مناطق مختلفة(Basumatary and McDonald, 2017) .

تمتاز هذه الفطريات بدورة حياة فريدة من نوعها فهي تلعب دورا كبيرا في تحلل روث الحيوانات آكلة الاعشاب مثل الأبقار والاغنام والجاموس والابل والخيول والماعز وغيرها الى عناصره الاولية ، لذا فهي تلعب دورا مهما في النظام البيئي وذلك من خلال اعادة تدوير المغذيات في الروث لغرض الاستفادة منها مرة اخرى من قبل الكائنات المنتجة (Watling and Richardson, 2010). تعد هذه الفطريات من الاحياء المثيرة للاهتمام كونها تتميز بالانتشار الواسع في البيئات المختلفة اينما توجد الحيوانات العاشبة فضلا عن قابلية ابواغها على الانتشار اما عن طريق الحيوانات او عن طريق الهواء اوعن طريق التصاقها بالبقايا النباتية لذك احيانا تصل الى مسافات بعيدة جدا(Baker *et al*., 2013) . تمتلك هذه الفطريات تنوع محددا كونها تضم اجناس محددة مقارنة مع الفطريات الاخرى التي تعيش مترممة على بقايا المواد العضوية للكائنات الميته (Abdullah and Nashat, 2014)

تتأثر هذه الفطريات بالعديد من العوامل البيئية مثل التغيرات في درجات الحرارة والفترات الضوئية ومحتوى الرطوبة وتوفر العناصر الغذائية فضلا عن دور الكائنات الحية الاخرى التي تتواجد في الروث في منافسة هذه الفطريات التي ستؤثر بالتأكيد على انواع واعداد هذه الفطريات (Khiralla, 2007 ; Gupta, 2010).

هناك العديد من الاسباب التي تجعل هذه الفطريات تنمو على الروث ومنها الجينات الوراثية الخاصة بهذه الفطريات واسباب اخرى تتعلق بالطبيعة الكيميائية والخصائص الفيزيائية للروث (Ebersohn and Jasim, 2022 ; Eicker, 1997).

2.2.1. مكونات الروث Components of dung

يعد الروث وسطا ملائما لنمو العديد من الانواع الفطرية وذلك لتميزه ببعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية فهو يحتوي على البقايا النباتية غير المهضومة بشكل كامل والغنية بالكربوهيدرات والسليلوز وللكنين وبقايا كريات الدم الحمراء الميته والصبغة الصفراء(Davies *et al*., 2022 ; Bell, 2005) . كما يمتاز بمحتوى عالي من المواد النيتروجينية تزيد عن محتواها بأضعاف المرات في الاعشاب التي يتغذى عليها الحيوان والسبب في ذلك يعود الى كون القناة الهضمية في هذه الحيوانات تكون مأهولة بأعداد كبيرة من البكتريا التي تساهم في هضم المواد المعقدة التركيب وتحويلها الى مواد ابسط ، وبالتالي عند موت هذه الاحياء المجهرية وتحصل عليها عملية الهضم فأنها سوف ترفد الروث بالمواد النيتروجينية الاضافية (Ghosta *et al*., 2016 ; Kendrick, 2000) . فضلا عن احتواءه على العديد من الفيتامينات الذائبة بالماء ، ومحفزات النمو الاخرى مثل الكوبروجين Coprogen الذي يعد من اهم العوامل التي تلعب دورا كبيرا في المساهمة في نمو وانبات ابواغ هذه الفطريات مثل الفطر *Pilobolus* sp . اضافة الى احتواءه على بعض الأيونات التي يحدث لها ايض من قبل الاحياء المجهرية داخل امعاء الحيوان . عموما فأن الروث عبارة عن وسطا بيئيا غنيا بالمواد العضوية ملائما لنمو الاكثير من الاحياء الرمية كالحشرات والديدان الخيطية والبكتريا والفطريات (العبد , 2014).

3.2.1. مميزات فطريات الروث Properties of Coprophilous fungi

يحتوي غذاء الحيوانات آكلة الاعشاب على اعداد كبيرة ومتنوعة من الابواغ الفطرية التي تمتاز بانها محاطة بغمدا هلاميا كليا او جزئيا او مجهزة بزوائد هلامية تمكنها من الالتصاق بالأعشاب المحيطة بالروث عند تناثرها في الهواء من الاجسام الثمريه لتزيد من فرص ابتلاعها من قبل الحيوانات العشبية ، علما ان هذه المادة الجيلاتينية تبدأ بالجفاف حال التصاق البوغ بالجزء النباتي لضمان عدم سقوطه على التربة (Kuyper *et al*., 2021; Baker *et al*., 2016).

كما ان هناك فطريات اخرى مثل *Mucor hiemalis* تحاط ابواغه بقطرات لزجه تساعد في التصاقها على اجسام الحشرات التي تزور الروث لتقوم بنقلها الى موقع بيئي اخر لتضعها على النباتات او على كومة اخرى من الروث (Khiralla, 2007). اضافة الى ذلك فان معظم ابواغ هذه الفطريات تمتلك الوانا داكنة تحافظ عليها من خطر الاشعة فوق البنفسجية ، فضلا عن مقاومتها للعصارات الهاضمة التي تتعرض لها اثناء مرورها في الجهاز الهضمي للحيوان وذلك لكونها محاطة بجدران سميكة وملونة (Altayyar *et al*., 2017 ; Goutam, 2010) . كما تمتلك الاجسام الثمرية لفطريات الروث خاصية مهمة حيث تقوم بأطلاق ابواغها بقوة باتجاه ضوء الشمس من خلال ظاهرة الانتحاء

الضوئي phototaxis التي تبديها معظم انواع هذه الفطريات لتزيد من فرص انتشارها في الهواء بعيدا عن الروث (Richardson ,2003) . كما ان الخيوط الفطرية لبعض الانواع مثل الفطر *Cyathus* sp يحتوي على مادة لزجة تمكنه من التعلق والالتفاف حول النبات بشكل محكم (Hauser, 1994)

4.2.1. دورة حياة فطريات الروث Life cycle of dung fungi

تبدأ العديد من فطريات الروث بالنمو فقط عن طريق انبات ابواغها بعد مرورها خلال القناة الهضمية للحيوانات آكلة الاعشاب عندما تكون الاعشاب ملوثة بابواغ هذه الفطريات التي تمتاز بمقاومتها للعصارات الهاضمة التي تفرز لهضم الغذاء لاحتوائها على تكيفات خاصة فهي مزودة بجدران سميكة وذات الوان معتمة ومحاطة بمواد جيلاتينية ، وبعد طرحها الى الخارج مع الروث في الحقل تبدأ بالنمو والتطور لتعطي اجساما ثمريه حاملة للابواغ ، بعد ذلك تقوم بأطلاق هذه الابواغ بقوة الى الهواء لتسقط بعد ذلك على الاعشاب المحيطة بالروث ، ولكونها تحتوي على اغلفة هلامية كلية او جزئية سوف تزيد من فرص التصاقها بالأجزاء النباتية ليتناولها الحيوان مرة اخرى وهكذا تعيد دورة حياتها (Newcombe *et al*., 2016 ; Griffith and Roderick, 2008)

5.2.1. الاهمية البيئية لفطريات الروث Environmental importance of dung fungi

ان من اهم العمليات التي تحدث في النظام البيئي هي تحلل روث الحيوانات آكلة الاعشاب من قبل الفطريات لغرض تدوير العناصر والمغذيات لإدامة الحياة ، ويعتمد تحرر هذه العناصر المغذية من الروث على معدلات تحلله من قبل الفطريات التي تلعب دورا مهما في اعادة تدوير الكربون والعناصر الاخرى وتحرر الطاقة التي تمر خلال السلاسل الغذائية (Masunga *et al*., 2006 ; Ghosta *et al* .,2016)

تقوم فطريات الروث بإفراز مجموعة من الانزيمات الهاضمة للسيليلوز والبكتين وانصاف السيليلوز والبروتينات التي تتواجد ضمن مكونات الاعشاب غير المهضومة التي تتغذى عليها الحيوانات ، فروث بعض الحيوانات العاشبة يشكل مصدرا مهما للفطريات التي تحلل السيليلوز ، كما ان هناك بعض الانواع من هذه الفطريات تبدأ بالنمو عند المراحل الاخيرة من تحلل الروث عند انخفاض تراكيز السكريات البسيطة لتقوم بإنتاج العديد من الانزيمات التي تسهم في تحلل اللكنين مثل Laccases , و Putative bilirubin oxidases و Ascorbate oxidases (Poggeler, 2011 ; Farouq *et al*., 2012) .

بعض الاحياء مثل الحشرات يمكن ان تتغذى على الخيوط الفطرية والابواغ ، بينما هناك فطريات مثل الفطريات المهلكة للنيماتود تقوم بافتراس الديدان الثعبانية (النيماتود) مثل الفطر *Arthrobotrys* (Singh *et al.*, 2005) ، كما استخدم البعض من انواعها في مجال المكافحة الحيوية ضد الفطريات التي تسبب امراضا للنبات على سبيل المثال النوعان*Chaetomium cupreum* و *C. cochliodes* و يمتلكان تأثيرا مثبطا لنمو الفطرين *Phytophthora palmivora* و *Fusarium oxysporum* اللذان يسببان مرض تعفن الجذور ومرض الذبول الوعائي على التوالي (Sibounnavong *et al.*,2012) ، اما الفطر *Ascodesmis sphaerrospora* يقوم بإنتاج موادا فعالة ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* (Bills *et al.*, 2013 ; Hein *et al* . .,1998)

6.2.1. تعاقب فطريات الروث Succession of dung fungi

يعبر عن التعاقب بأنه التغيرات التي تحصل في تركيب المجتمع الفطري على الروث مع الزمن ، وعلى الرغم من اجراء العديد من الدراسات حول ظاهرة التعاقب في فطريات الروث الا ان هناك الكثير من الحقائق ما زالت يكتنفها الغموض ، اذ وجد ان ظهور الانواع الفطرية على وسط الروث قد يستمر لفترة تتجاوز الشهرين لكي تساهم في تحليل الروث واعادة تدوير المغذيات ، وقد يعود هذا الاختلاف في الظهور الى مجموعة من العوامل الوراثية والبيئية كالحرارة والرطوبة والاس الهيدروجيني والضوء (Jasim, 2022 ; Mueller *et al*., 2004)

تعد المكونات الغذائية لوسط الروث واحدة من اهم العوامل المؤثرة على عملية التعاقب والتي تعتمد على ما يحتويه هذا الوسط من السيليلوز والهيميسيليلوز والكربوهيدرات ، وهناك فرضيتان لتفسير عملية التعاقب ، الفرضية الأولى تسمى بالفرضية الغذائية Nutrition hypothesis تم التركيز فيها على ظهور التراكيب التكاثرية ، اذ لوحظ بان الفطريات اللاقحية Zygomycota تبدأ بالظهور اولا خلال فترة قصيرة مستخدمة السكريات البسيطة المتواجدة في الروث ، وعندما تستنفذ هذه السكريات من وسط الروث ، تبدأ الفطريات الكيسية Ascomycota بالنمو لتستهلك السيليلوز وانصاف السيليلوز ، واخيرا تنمو الفطريات البازيدية Basidiomycota التي تستهلك مادة اللكنين ، على الرغم من ان هذه الفطريات لا يمكنها استخدام هذه المادة كمصدر وحيد للكربون فتحتاج ايضا الى مادة السيليلوز كمصدر للكربون ، لكن وجدت بعض الدراسات ان هناك بعض التداخلات في وقت الظهور الأول لفطريات الكيسية والبازيدية ، وهذه الفرضية لم تأخذ بنظر الاعتبار بعض الحقائق الفسيولوجية والبيئية المهمة

كالتنافس والتضاد (Calhim *et al*., 2018 ; Richardson, 2001 ; Fryar ,2002 . Sarrocco, 2016

بينما الفرضية الثانية تسمى بفرضية التنافس Competition hypothesis والتي تعتمد على الفترة الزمنية التي يستغرقها كل فطر للوصول الى مرحلة الاثمار ، فالحوافظ البوغية sporangia وحواملها sporangiophores في الفطريات اللاقحية تكون بسيطة التركيب وتحتاج الى متطلبات غذائية اقل من الفطريات الكيسية والتي تكون اكثر تعقيدا وتتطلب كميات اكبر من المواد الغذائية ، لهذا فهي تحتاج الى وقت اطول لتبدأ بالظهور . اما الفطريات البازيدية ذات الاجسام الثمرية الاكبر حجما من سابقاتها تتطلب كمية كبيرة من المواد الغذائية لذا فهي تحتاج الى فترة زمنية اطول لتبدأ بالنمو ، لذلك فهي تحتل المرحل الاخيرة في التعاقب (Hauser, 1994) . وهذه الفرضية هي اكثر قبولا من الأولى (Thilagam *et al*., 2015) , ولقد تم ملاحظة ذلك من خلال التجارب المختبرية ، اذ وجد ان زراعة بعض فطريات الروث بالمختبر لوحظ ان *Mucor* . sp يستغرق 2 الى 3 ايام للتكاثر في حين *Sordaria* sp يحتاج من 9 الى 11 يوم وفطر *Coprinus* يحتاج من 7 الى 13 يوم ليبدأ بالنمو وتكوين الاجسام الثمرية (Kendrick, 2000) . فضلا عن ذلك فأن عمليتي التضاد والتنافس قد تؤثران على فترة ظهور الانواع وكثافة الاجسام الثمرية على الروث (Baker *et al*., 2016 ; Holmer and Stenlid, 1997) .

7.2.1. العوامل المؤثرة على فطريات الروث Factors affecting on dung fungi

1.7.2.1. عوامل غذائية Nutritional factors

ترتبط فطريات الروث بعلاقة حيوية مع الحيوانات اكلة الاعشاب كالأبقار والاغنام والماعز والجاموس والخيول وغيرها ، وتختلف هذه الحيوانات في اجهزتها الهضمية وعمليات الهضم وطبيعة الروث الذي يخرج منها ، فهناك حيوانات تقوم بإفراز انزيم Celullase والانزيمات المحللة الاخرى وهذه الحالة مختصرة على انواع قليلة من الحيوانات الفقرية ، وقسم آخر منها يعتمد على الاحياء المجهرية المتعايشة في امعائها لتحليل السيليلوز كما في المجترات التي تقوم بتخمر الطعام قبل الهضم النهائي له، وقسم ثالث يستخدم الاحياء المجهرية المتعايشة للقيام بعملية التخمر الثانوي بعد ان يحدث لهضم الرئيسي كما في الخيول والفيلة ، لذلك نجد ان هناك اختلاف في انواع هذه الفطريات حسب نوع الحيوان الذي تمر من خلال جهازه الهضمي (Melo *et al*., 2016) .

2.7.2.1. عوامل بيئية Ecological factors

هناك العديد من العوامل البيئية التي تؤثر على نمو وتوزيع وانتشار فطريات الروث مثل التغيرات في درجات الحرارة والرطوبة والضوء والتهوية والاس الهيدروجيني pH وطبيعة الاحياء الاخرى المتواجدة معها على الروث والمنافسة الداخلية بين الانواع الفطرية ، كما ان هناك عوامل تخص بيئة الروث منها الطبيعة الفيزيائية للروث كالقوام وقابليته على الاحتفاظ بالرطوبة والطبيعة الكيميائية كالأس الهيدروجيني والمحتوى الغذائي فضلا عن الطبيعة الحيوية الي تتمثل بالأحياء الاخرى المتواجدة على الروث (Calhim *et al*., 2018) . ومن اهم هذه العوامل البيئية المؤثرة على فطريات الروث هي ما يلي :

1.2.7.2.1. درجة الحرارة Temperature

تؤثر التغيرات في درجات الحرارة على نمو وانبات وتطور وتكاثر وانتشار ابواغ فطريات الروث ، فضلا عن تأثيرها على معظم الفعاليات الحيوية والفسيولوجية للفطريات ، تنمو الفطريات على درجة حرارة تتراوح بين 18 الى 25 م˚ تكون مثالية لمعظم الانواع الفطرية ، لهذا نجد ان تنوع كبير ووفره عالية للفطريات في المناطق المعتدلة ، وهناك العديد من الدراسات التي اجريت لمعرفة مدى تأثير الاختلافات في درجات الحرارة على نمو فطريات الروث (Sreelatha *et al*., 2013; Krug *et al*., 2004).

لوحظ عند حضن مجموعة من فطريات الروث تحت درجات حرارة مختلفة 10 م˚ و24 مْ و 37.5 مْ ، انه في درجات الحرارة المنخفضة كان نمو الأنواع قليلا وتحتاج هذه الفطريات لتكوين السبورات الناضجة الى حوالي 20 الى 30 يوم ، وتحتاج الى 10 ايام فقط لتكوين سبورات ناضجة عند درجات حرارة 24مْ ، بينما لا يوجد نمو في درجة حرارة 37.5 مْ .كما ان درجة حرارة امعاء حيوانات الدم الحار هي حوالي 37 مْ لذلك فأن سبورات معظم هذه الفطريات يجب ان تكون قادرة على البقاء على قيد الحياة في هذه الدرجة لفترة تتراوح من ساعات قليلة الى ثلاثة ايام ، وقد لوحظ ان هناك انواع قليلة من فطريات الروث خاصة الفطريات الكيسية قادرة على النمو بدرجات حرارة 37 مْ (Yadav, 2011 ; Khiralla, 2007)

2.2.7.2.1. الأس الهيدروجيني potential Hydrogen (pH)

تتراوح قيمة الأس الهيدروجيني المثلى لنمو فطريات الروث بين 5.5 الى 6.5 ، لكن الاختلافات في فعالية وتركيب الانزيمات الهاضمة ونشاطها في امعاء الحيوانات العاشبة سوف تظهر تباينات كبيرة في

قيم الأس الهيدروجيني ، فلوحظ ان قيمة الأس الهيدروجيني في لعاب الابقار هو 8.1 وفي الكرش يتراوح بين 2.1 الى 4.1 وفي اعضاء اخرى من الجهاز الهضمي كالأمعاء الغليظة يتراوح بين 7.6 الى 8 (Sreelatha *et al*., 2013 ; Yadav, 2011) .

بينت البحوث والدراسات ان الأس الهيدروجيني للروث حامضيا ضعيفا واحيانا قريب الى القاعدية ، لكن الغالبية منها سجلت قيما للاس الهيدروجيني اعلى من 6.5 لوسط الروث ، وهذه قيمة مثالية تقريبا لنمو فطريات الروث التي غالبا ما تكون قريبة الى التعادل ، بينما انواع اخرى تنمو بشكل افضل عندما يكون الأس الهيدروجيني حامضي اقل من 6.5 بقليل . كما بين باحثين آخرين ان الأس الهيدروجيني المناسب لنمو انواع من فطر *Coprinus* .sp في الوسط تتراوح بين 6.5 الى 8.7 ، وهناك دراسات اخرى وجدت ان اضافة كمية قليلة من هيدروكسيد الصوديوم NaOH الى الوسط اعطت نتائج ايجابية في تنشيط نمو فطر *Ascobolus*. sp (Davies *et al*., 2022) .

3.2.7.2.1. التهوية Aeration

عادة ما تكون فطريات الروث اجسامها الثمرية على السطح الخارجي للروث لان السطوح عادة تكون معرضة للهواء ومزودة بفراغات مملوءة بالهواء وبالتالي تساعد على نمو الانواع المختلفة من هذه الفطريات ، وذلك لان جميع انواع فطريات الروث تحتاج الى الاوكسجين الحر والتهوية الجيدة ، ولقد ذكر علي (1998) ان قلة التهوية في الروث اضافة الى الماء الحر الموجود في الروث والمحتوى الرطوبي العالي يشجع نمو البكتريا ويعرقل نمو الفطريات عليه . وبين Richardson (2008) و Hayhoe (2016) في دراستهم ان الروث الاكثر خشونة هو اكثر تهوية وملائمة لنمو الفطريات مقارنة بالروث الاقل خشونة .

4.2.7.2.1. الضوء Light

العديد من فطريات الروث هي محبة للضوء وتتأثر به فعلى سبيل المثال وجد ان الفطر *Pilobolus* .sp يفرغ محتوياته من الابواغ باتجاه ضوء الشمس في الصباح (Viriato, 2008) وهناك دراسات اخرى بينت تأثير الفترات المختلفة من الضوء والظلام على انتاج Sporangia في فطر *Pilobolus sp.* ولوحظ بأنه على الرغم من ان استمرار التعرض للضوء هو ضروري لنضوج الاجسام الثمرية لكن هناك حاجة لفترة معينة من الظلام لإكمال عملية النضوج ، بينما هناك البعض من الفطريات الكيسية Ascomycetes مثل النوع *Sordaria fimicola* يفرغ ابواغه اثناء الظلام (Mungia *et al*., 2011) .

كما ان هناك بعض انواع فطريات الروث تمتلك حوامل كونيديه طويلة كما في الفطر *Podospora* .sp والابواغ في جنس *Ascobolus* .sp تكون محبة للضوء ، ومن المحتمل ان يكون هذا التكيف في هذه الفطريات هو لضمان نشر ابواغها في الهواء بعيدا عن وسط الروث لتسقط على الاعشاب المحيطة به (Hayhoe, 2016).

5.2.7.2.1. محتوى الرطوبة Moisture content

يتأثر نشاط وفعالية فطريات الروث بالمحتوى المائي للروث مما يؤثر على نمو وتكوين الابواغ الجنسية وانطلاقها من الاجسام الثمرية ، ولقد لوحظ ان هناك فطريات تختفي اجسامها الثمرية بسرعة عند انخفاض مستوى الرطوبة في الروث ، وبشكل عام فان الفترة اللازمة لنمو السبورات وتكوين الاجسام الثمرية يجب ان يكون فيها محتوى الرطوبة ملائما لهذه الانواع وبينت البحوث التي اجريت على هذه الفطريات لمعرفة تأثير المحتوى المائي يؤدي الى انخفاض في معدلات تكوين الاجسام الثمرية لبعض الفطريات الروثية مثل *Pilaira anomala* و *Ascobolus immerses* و *Sordaria hum ana* و *Thelebolus nanus* (Sreelatha *et al*., 2013) .

ولكون فطريات الروث قادرة على البقاء لفترات طويلة الجفاف، لذلك فهي تستغل فترة توفر الرطوبة المناسبة لا نتاج اجسامها الثمرية بحيث تكون متوافقة مع قصر او طول فترات توفر الرطوبة المناسبة ، ويعد هذا التكيف هو جزءا من استراتيجيتها الوراثية (Kuthubutheen and Webster, 1986 ; Pandey , 2009 ; Calaça *et al*., 2015).

3.7.2.1. عوامل حياتية Biotic factors

1.3.7.2.1. عوامل وراثية Genetic factors

يعود نجاح نمو فطريات الروث الى مساهمة العديد من العوامل البيئية والفسيولوجية والوراثية التي تلعب دورا مهما في تحديد الانواع الفطرية ، وهناك احتمالية كبيرة للتعاون بين العوامل البيئية والوراثية لتكوين التراكيب التكاثرية على الروث ، كما ان الاختلافات المظهرية والتشريحية والفسيولوجية بين هذه الانواع العائدة لفطريات الروث تعزى الى الاختلافات الوراثية التي تسهم في تكيف وتأقلم هذه الانواع المختلفة على مقاومة الظروف البيئية المعقدة التي تتعرض لها من اجل الاستمرار في تواجدها وانتشارها في مناطق متنوعة من العالم (Jasim, 2022) .

اشارات الدراسات والبحوث الى اهمية العوامل الوراثية في التحكم بانطلاق وحركة الابواغ في الهواء وهبوطها والتصاقها على الاعشاب ، وهذا له علاقة بحجمها، اذ ان المسافة التي تقطعها السبورات ترتبط ارتباطا وثيقا بمظهر البوغ والسرعة ترتبط بحجمه، وهذه التباينات المظهرية يتم التحكم بها جينيا ، فعلى سبيل المثال في الفطر *Pilobolus kleinii* فان السرعة اللازمة للمسافة التي يقطعها البوغ لكي يسقط على الاعشاب تتراوح بين 4.7 الى 27.4 م/ ثا والتي تختلف عن غيرها في ابواغ انواع اخرى من هذه الفطريات (Baker *et al*., 2016) .

ان ابواغ هذه الفطريات تنتشر بشكل مجموعات او على شكل كتل صغيرة محاطة بمادة هلامية ، ففي الفطر *Ascoblous sp*. السبورات تكون الكونيدا محاطة بمادة مخاطية والفطر *Sordaria* sp. تكون كونيداته محاطة بغلاف صمغي مميز وفي الفطر*Pilobolus* sp. محاطة بحلقة جيلاتينية بينما *Podospora* sp لها زوائد تساعدها على التعلق والالتصاق بالنباتات ، وهذه الاختلافات تعزى الى وجود تباينات وراثية تعطي صفات مظهرية ووظيفية مختلفة لهذه الانواع ، ومن التكيفات الوراثية الاخرى في هذه الفطريات والتي تميزها عن الفطريات الاخرى هي ان كونيداتها محاطة بجدران سميكة ومواد جيلاتينية تمنع نموها داخل امعاء الحيوان وتجعلها مقاومة للعصارات الهاضمة . فهي لا تنموا الا بعد تعرض هذه الطبقات السميكة التي تحيط بها للأنزيمات الهاضمة داخل الجهاز الهضمي للحيوانات والتي تقلل من سمك هذه الطبقات لتكون جاهزة للنمو والانبات على الروث في الحقل (Hayhoe , 2016 ; Bell, 1983). فضلا عن ذلك فان هناك تكيف وراثي اخر ومهم تتميز به هذه فطريات الروث ، هو ان غالبية ابواغ هذه الفطريات لا تنمو عند الزرع المباشر على وسط الاكار مختبريا ولا تنمو على الاعشاب حتى بعد ترطيبها بالماء ، لكون ابواغها تبقى في طور سكون لعدم توفر الظروف الفيزيائية والكيميائية الملائمة للنمو الا بعد مرورها بالجهاز الهضمي للحيوانات آكلة الاعشاب ، وهذا السبات حالة مسيطر عليها وراثيا في هذه الفطريات (Davies *et al*., 2022 ; Katoh and Standley, 2013).

2.3.7.2.1. التنافس Competition

التنافس واحدة من العلاقات البيئية المهمة والتي تلعب دورا كبيرا في الحفاظ على التوازن البيئي بين الكائنات الحية وتنظيم المجتمعات ، وتحدث عادة بين الانواع المختلفة او بين افراد النوع الواحد عندما تكون المصادر الغذائية محدودة في الموطن البيئي ، ففي الواقع يكون وسط الروث غنيا بالمواد العضوية التي تجهز الكائنات التي تنمو عليه بالعناصر الغذائية اللازمة لنمو الفطريات والبكتريا والحشرات والديدان ، فهي تتواجد بأعداد وانواع مختلفة ، وبالتالي تنشأ بينها مجموعة من العلاقات الحياتية

كالافتراس والتطفل وكذلك بعض المواد مثل المضادات الحيوية اثناء تواجدها معا في بيئة الروث (Pandey, 2009) .

اجريت العديد من البحوث بهذا الصدد ، فعلى سبيل المثال عند حضن روث الارانب لمدة اربعة اسابيع وجد انه يحتوي على عناصر مغذية كافية لنمو الاجسام الثمرية للفطريات اللاقحية، لكن هناك انواع من البكتريا تم عزلها من روث الارانب تقوم بإنتاج المضادات الحيوية تثبط نمو وتكوين التراكيب التكاثرية لفطريات Mucorales ، كما لاحظ (Kendrick, 2000) وجود نوع آخر من التنافس على المواد الغذائية يحدث بين الانواع المختلفة من فطريات الروث عندما تصبح الموارد الغذائية قليلة وغير كافية لجميع الانواع الفطرية، فقد لوحظ عند زراعة فطريات *Pilaria anomala* و *Pilobolus crystallinus* و *Ascobolus crenulatus* ان فطر *A . crenulatus* يثبط نمو النوعين *Pilaria anomala* و *Pilobolus crystallinus* وظهور *Coprinus* sp يثبط نمو *Ascobolus crenulatus* (Baker *et al*., 2016) .

3.3.7.2.1. التطفل Parasitism

علاقة التطفل واحدة من اشكال العلاقات التي تحصل بين الكائنات الحية والتي ينتفع فيها احد الطرفين وهو الطفيلي ويتضرر الطرف الآخر وهو المضيف ، وهناك العديد من الدراسات والبحوث التي اجريت على الفطريات وخاصة التي تحتل نفس المكان او الموطن البيئي habitat ، وتم تحديد نوعين من التطفل في الفطريات ، الاول هو تطفل اجباري Biotrophic parasites وفيه تحصل الفطريات على غذائها من الكائنات الحية الاخرى ، ويقسم هذا التطفل الى قسمين هما تطفل تعايشي Obligate Biotrophic وتطفل ليس تعايشي Facultative Biotrophic، بينما الثاني هو تطفل اختياري Necrotrophic parasites وفيه تحصل الفطريات على غذائها من خلال قتل خلايا المضيف والتغذية على المغذيات الموجودة فيها ، ويقسم هذا النوع من التطفل الى قسمين هما اجباري التطفل Obligate Necrotrophic وفيه فترة التطفل مرجحة على الترمم ، واختياري التطفل Facultative Necrotrophic وفيه يحصل توازن بين التطفل والترمم (العبد ، 2014 ; Davies *et al*., 2022).

وجد ان بعض الفطريات تقوم بمهاجمة انواع اخرى من فطريات الروث والتي تعرف بالفطريات المتطفلة Mycoparasitism ، فعلى سبيل المثال هناك جنسين من الفطريات المشهورة بالتطفل هما *Piptocephalis* sp و *Chaetocladium* sp يتطفلان على فطريات Mucorales خاصة الفطرين *Mucor* sp و *Pilaria* sp ، مثلا النوع *Piptocephalis fimbriata* يتطفل على اكثر من عشرين جنس من فطريات رتبة ال Mucorales ، بينما *P. virginiana* يتطفل على 15 نوع من

فطريات الروث التي تعود الى اصناف اخرى ، والنوع *P. xenophile* يتطفل على انواع مختلفة من فطريات الكيسية وانواع اخرى من الفطريات المتواجدة بالطور اللاجنسي (علي ، 1998 ,Jasim ; 2022) .

اما في التجارب المختبرية على الوسط الزرعي فقد لوحظ ان الفطرين وهما من الفطريات المتطفلة *Piptocephalis fimbriata* و *P. freseniana* يثبطان نمو الابواغ في الفطر الروثي *Pilaira anomala* عند النمو في درجات حرارة تتراوح بين 10 الى 30 م^0 ، بينما وجد ان تأثير الفطريات المتطفلة على الفطريات التي تنمو على روث الحيوانات العشبية يكون ضئيلا على نمو وتطور الفطريات اللاقحية الروثية في البيئة (Baker *et al*., 2016 ; Wood and Cook, 1986) . ولوحظ ان نمو وتطور الفطريات المتطفلة يتأثر بشكل كبير بالعوامل البيئية وتوفر الغذاء ، فقد وجد ان التغيرات التي تحدث في تغذية المضيف لها تأثير كبير على نمو الفطريات الطفيلية ، فكلما تنوعت مصادر الكربون والنتروجين يكون نمو وتطور الفطريات الطفيلية مختلف ايضا تبعا لتراكيز تلك المصادر (Hayhoe ,2016) .

4.3.7.2.1. التآزر Synergism

يبدو ان البعض من فطريات الروث تنمو وتثمر بشكل جيد عند وجود انواع اخرى من الاحياء المجهرية ، فالنوع *Pilobolus kleinii* ينمو بشكل افضل عند وجود الفطر *Mucor plumbeus* على الاوساط الصناعية ، وهذا يعود الى قابلية انواع جنس *Mucor* على تحرير الامونيا ، وقد تم اختبار تأثير الامونيا مختبريا على نمو وتكاثر فطر *P. kleinii* وذلك من خلال اضافة كبريتات الامونيوم ، وقد اظهرت نتائج هذه الدراسة ان ايون الامونيا يحفز على تكوين الاكياس البوغية في تراكيز معينة ، اذ لوحظ ان التراكيز القليلة لها تأثير ضئيل على عدد الاكياس المتكونة ، بينما تركيز كبريتات الامونيوم 0.01 M كان محفزا وبشكل جيد لإنتاج اعداد اكثر من هذه الاكياس ، وفي دراسة اخرى وجد ان *Mucor plumbeus* يحفز انتاج الابواغ في النوع *P. kleinii* ، بينما لا تحفزها في النوعين *P. crystallinus* و *P. umbonatus* ، كما لوحظ ان النمو وتكوين الاجسام الثمرية في النوع *Sphaeronaemella fimicola* يتأثر بوجود الفطر *Aspergillus repens* (Calaça *et al*., 2015 ; Hayhoe, 2016).

5.3.7.2.1. الافتراس Predation

لوحظ ان فطريات الروث ربما تكون هي الاكثر فعالية في تحليل مكونات الروث مقارنة بالكائنات الحية الاخرى كالبكتريا والابتدائيات والحشرات والديدان . اذ وجد ان هذه الاحياء تتنافس فيما بينها على افتراس الابواغ والاجسام الثمرية والغزل الفطري كمصدر غذائي للنمو و لحصول على الطاقة ، وعلى الرغم من ان هذه العلاقات بين الاحياء تكون معقدة جدا ،لكن من المدهش ان نلاحظ بأن الاحياء المتواجدة على الروث ليس لها دورا كبير في التأثير على نشاط فطريات الروث (Mungai *et al*., 2012) .

8.2.1. الفعالية الانزيمية لفطريات الروث Activity of enzymes in dung fungi

تنتج فطريات الروث انواعا مختلفة من الأنزيمات والتي تختلف كما ونوعا اعتمادا على نوع الفطر والظروف البيئية السائدة ، وتعزى القابلية العالية لهذه الفطريات في تحليل مكونات وسط الروث الى امتلاكها العديد من الانزيمات الخارجية التي تقوم بتحليل السليلوز وانصاف السيليلوز واللكنين وغيرها من المواد المتواجدة في الروث (Jasim , 2022) .

تمتلك الفطريات التي تنموا على بيئة الروث خلال مراحل التعاقب المختلفة قدرة عالية على تحلل المكونات النباتية المعقدة التركيب ، فالسليلوز يشكل حوالي 15 - 60 % من مكونات الجدار الخلوي في النباتات ، ولكن تتفاوت قدرة هذه الفطريات على انتاج الانزيمات المحللة لهذه المركبات ، فمثلا الفطريات الكيسية تمتلك قدرة عالية على تحلل السليلوز وانصاف السيليلوز بينما تكون ذات قدرة محدودة على تحليل البكتين والانيولين باستثناء الانواع التي تعود الى رتبة Xylariales ، بينما الفطريات البازيدية تمتلك قدرة عالية تجاه تحلل مركبات اللكنين (Paoletti and Saupe, 2008) .

لقد اشار Van Erven *et al*. (2020) ان النوع *Podospora anserine* في وقت متأخر من التعاقب على وسط الروث يمتلك قدرة على تحليل اللكنين بواسطة انزيم البكتنيز pectinase والسليلوز وانصاف السليلوز بواسطة انزيم السليليز Cellulases وانصاف السيليلوز Hemicellulases .

بين Mathe *et al*. (2019) قدرة النوع *P. anserine* على انتاج انزيم اللكنيز liginase ، لكن غالبا ما يتم اعاقة انتاج انزيمات Peroxidase في الفطريات الكيسية هو وجود النتروجين المعدني mineral nitrogen Peroxidase، بينما في الفطريات البازيدية لا يتأثر انتاج الأنزيمات المحللة للكنين ligninolytic enzymes بوجود النتروجين ، ومن بين اهم الفطريات المحللة للكنين هي *Phanerochaete chrysosporium, Ceriporiopsis subvermispora* .

درس Deltedesco *et al.*(2020) تأثير درجات الحرارة على قدرة المجتمع الفطري في انتاج الأنزيمات ، وقد اشار الى ان ارتفاع درجات الحرارة يزيد من قابلية الفطريات البازيدية على تحلل اللكنين ، ولوحظ ان الفطر *Coprinopsis cordispora* سجل نتيجة ايجابية في زيادة انتاج انزيم اللكنيز Liginase عند رفع درجة الحرارة من 20 الى 28 مْ.

9.2.1. التشخيص الجزيئي للفطريات Molecular diagnosis of fungi

ساهمت التقنيات الحديثة وبشكل كبير في معرفة العديد من المميزات للفطريات التي لم تكن معروفة من قبل عندما كان الباحثين يعتمدون في التشخيص على الصفات المظهرية ، لكون التشخيص المظهري يجعل الباحث يقع في متاعب في التشخيص ، كما انه لا يعطي صورة واضحة عن العلاقات التطورية بين هذه الانواع بسبب التقارب او التشابه الكبير بين هذه الانواع من حيث تعدد الاشكال والاحجام ، لذلك استخدمت الطرق الجزيئية في تصنيف الفطريات وذلك لكونها تتميز بالدقة العالية في تشخيص الانواع الفطرية (Yilmaz *et al.*, 2014; Bills *et al.*,1999) . كما انه في الحالات يكون التشخيص المظهري صعبا وغير مؤكدا بسبب التنوع الكبير للأنواع التي تقع ضمن جنس معين ، لذلك فان تحديد النمط الجيني للفطريات مهم جدا لكونه يمتاز بالدقة وسرعة التشخيص (Graser *et al* ., 2006) .

استخدمت تقنية Polymerase Chain Reaction (PCR) من قبل الباحثين في الحصول على المعلومات الكافية عن تتابع القواعد النيتروجينية للفطريات والبكتريا والطفيليات والفايروسات لغرض تشخيصها ، واصبحت المعلومات الوراثية لهذه الاحياء محفوظة في بنك الجينات (Khan and Bhadanria ,2018) ، كما تعد المقارنة التسلسلية لمنطقة لتصنيف الجزيئي للفطريات Internal Transcribed Spacer (ITS) اداة مهمه لتشخيص الجزيئي للفطريات بشكل واسع وذلك لسهولة تضخيمها حتى لو كانت كميات الحامض النووي DNA صغيرة جدا ، ويعزى السبب في ذلك الى ارتفاع عدد النسخ من جينات الحامض النووي الرايبوزي rRNA ، كما انها تمتاز بدرجة عالية من التباين حتى بين الانواع المتقاربة ، فضلا عن ذلك فان ITS هي من اكثر مناطق الحامض النووي تسلسلا في البنية الجزيئية للفطريات (Peay *et al.*, 2008) ، ومع ذلك فأنها غير حساسة في تشخيص بعض الاجناس لذلك يفضل اخذ جينات اضافية لكي تحدد بأكثر دقة (Stlelow *et al.*, 2015) . كما يساهم التحليل الوراثي التطوري الجزيئي (MEGA) في التحليل المقارن لتسلسل الجينات المتماثلة اما من عوائل متعددة الجينات او من انواع مختلفة من خلال التركيز على استنساخ نمط تطور الحامض النووي والبروتين (Kumar *et al.*, 2008) ، كما تستخدم الشجرة الوراثية لمعرفة ارتباط كل الأنواع

التابعة لجنس معين مع النوع المراد تحديده إضافة إلى الخصائص المظهرية كطريقة للحصول على التشخيص الدقيق (Jousson *et al.*, 2004) .

10.2.1. الموقع التصنيفي Taxonomic position

تضم فطريات الروث مجموعة واسعة من الفطريات الرمية المعيشة ، فهي تضم مئات الانواع التي تنتمي الى اكثر من 260 جنسا ، ولازالت الدراسات مستمرة لتسجيل انواع جديدة من هذه الفطريات (Mueller *et al.*, 2004 ; العبد ،2014) ، وفيما يلي اهم الشعب التي تعود اليها فطريات الروث :

1.10.2.1. شعبة الفطريات المخاطية Myxomycota

فطريات هذه المجموعة وجد انها تنمو على روث عدد من الحيوانات آكلة الاعشاب ، في حين تكون نادرة النمو والتواجد على روث الحيوانات آكلة اللحوم، وهي من الفطريات التي تظهر على الروث بعد سقوطه بالحقل (Mueller *et al.*, 2004) .

2.10.2.1. شعبة الفطريات اللاقحية Zygomycota

تضم شعبة الفطريات اللاقحية Zygomycota عشرة رتب وثمانية عشر عائلة و122 جنسا يقع اكثر من نصف هذه الاجناس ضمن رتبة Mucorales ، ولقد اعتمد الباحثين في التصنيف المظهري لهذه الفطريات على الابواغ والحوافظ البوغية وحوامل الحوافظ البوغية ، تم عزل وتشخيص الكثير من الفطريات اللاقحية التي تنمو على روث الحيوانات ،لوحظ ان بعض الفطريات اللاقحية يمكن زراعة وتنمية اجسامها الثمرية مختبريا على الاوساط الزرعية الصناعية (Mueller *et al.*, 2004 ; العبد 2014) .

من اهم هذه الانواع التي تم عزلها وتشخيصها من الروث هي الجنس *Basidiobolus* الذي يعود الى رتبة Basidiobolales وعائلة Basidiobolaceae ويضم هذا الجنس انواع من الفطريات الروثية وغير الروثيه . الاجناس *Dimargaris* و*Dispira* و *Tieghemiomyces* ينتمون الى رتبة *Dimargaritales* وعائلة *Dimargaritaceae* ويمتاز انواعها بان اغلبيتهم من الفطريات التي عزلت من الروث . الجنس *Conidiobolus* ينتمي الى رتبة Entomophthorales وعائلة Ancylistaceae . الاجناس *Kickxella* و *Spirodactylon* و*Spiromyces* و *Coemansia*تعود الى رتبة Kickxellales والعائلة Kickxellaceae وتضم انواع روثية واخرى غير روثية . الاجناس *Dissophora* و*Mortierella* تنتمي الى رتبة *Mortierellales* وعائلة *Mortierellaceae* وتضم الانواع غير الروثية . الرتبة *Mucorales* والعائلة *Mucoraceae* تضم

جنس *Pilobolus* وهو اجباري التغذية والاجناس التالية *Absidia, Mucor, Circinella, Parasitella, Mycotypha, Radiomyces, Pirella Rhizomucor , Rhizopus*, وهذه الاجناس تضم انواعا مختلفة عزلت اغلبها من روث الحيوانات . بينما الرتبة Zoopagales تضم ثلاثة عوائل هي Helicocephalidaceae وPiptocephalidaceae وSigmoideomycetaceae تنطوي تحتها عدد من الاجناس التي تكون غالبة انواعها من الفطريات الروثية ، والقليل منها يعود الى الفطريات غير الروثية مثل الجنس *Rhopalomyces* (Mueller *et al.*, 2004 ; العبد 2014).

3.10.2.1. شعبة الفطريات الكيسية Ascomycota

تعد هذه الشعبة من اكبر المجاميع التصنيفية في مملكة الفطريات يضم 55 ورتبة و291 عائلة واكثر من ثلاثمائة جنس واكثر من ثلاثة الاف نوع موصوف بشكل دقيق ومسجل ضمن هذه الفطريات . تمتاز انواعها بانها واسعة الانتشار في مناطق مختلفة من العالم ، وبعض انواعها الروثية تكون اجبارية بينما البعض الآخر اختيارية ، تتواجد على روث الحيوانات آكلة اللحوم بكثافة اقل مما هو عليه في روث الحيوانات آكلة الاعشاب (Webster and Weber, 2007; Richardson, 2001) .

يتأثر تنوع ووفرة فطريات الروث باختلاف عمليات الهضم في الحيوانات العشبية من خلال تأثير الانزيمات الهاضمة في معدة الحيوان العاشب ومحتوى الروث من الرطوبة والمكونات الغذائية للروث (Kruys and Ericson, 2008) . كما تمتاز بانها ذات تنوع شكلي كبير ، وغالبية انواعها يمكن تنميتها على الاوساط الصناعية مختبريا ، ويظهر نموها على وسط الروث بعد مرور عدة اسابيع (Kruys , 2005) .

من الاجناس التي تكون غالبية انواعها عزلت من وسط الروث وتم تشخيصها بشكل دقيق هو جنس *Caccobius* الذي يعود الى عائلة Orbiliaceae والاجناس *Ascozonus, Coprobolus, Leptokalpion Pseudascozonus, Ramgea, Thelebolus* التي تعود الى عائلة Thelebolaceae اللذان ينتميان الى رتبة واحدة هي Leotiales . الاجناس *Eoterfezia* الذي ينتمي الى عائلة Eoterfeziaceae والاجناس *Cheilymenia, Cleistothelebolus, Coprobia,* التي تنتمي الى عائلة Otideaceae والاجناس *Dennisiopsis, Lasiobolidium, Lasiobolus Mycoarctium, Ochotrichobolus Cleistoiodophan, Hapsidomyces, Iodophanus* التي تنتمي الى عائلة Pezizaceae ، والاجناس *Coprotiella, Dictyocoprotus , Coprotus* التي تنتمي الى عائلة Pyronemataceae وجميع هذه العوائل تقع ضمن الرتبة Pezizales . الجنس *Eremomyces* الذي ينتمي الى عائلة Eremomycetaceae والاجناس *Chaetopreussia,*

Delitschia ,Pleophragmia ,Preussia ,Sporormiella, Semidelitschia, Sporormia, Spororminula التي تنتمي الى عائلة Haeotrichaceae ، والجنس *Faurelina* الذي ينتمي الى عائلة Testudinaceae التي تقع جميعها تحت رتبة Dothideales .

الجنس *Pleuroascus* الذي يقع ضمن عائلة Pseudeurotiaceae ورتبة Eurotiales . والاجناس *Hapsidospora ,Selinia ،Bulbithecium, Leucosphaerina, , Roumegueriella* تنتمي الى عائلة Hypocreaceae ورتبة Hypocreales . الاجناس *Periamphispora , Podospora,* *Zygospermella, ,Tripterosporella ,Zygopleurage ,Strattonia ,Schizothecium* التي تنتمي الى عائلة Lasiosphaeriaceae ورتبة Sordariales (Mueller *et al.*, 2004 ; العبد، 2014).

4.10.2.1. شعبة الفطريات البازيدية Basidiomycota

تعد هذه الشعبة من اكثر المجاميع الفطرية من ناحية الرقي والتعقيد ويضم اكثر من ثلاثون الف نوع تنتمي الى اكثر من 500 جنسا تنضوي تحت عوائل ورتب مختلفة ، الا ان هناك عدد قليل من هذه الانواع ينتمي الى الفطريات الروثية والتي تكون اختيارية المعيشة (Webster and Weber , 2007; العبد ، 2014) . ومن بين اهم الاجناس التي تكون انواعها روثية هما *Copelandia , Anellaria* اللذان ينتميان الى عائلة Coprinaceae ورتبة Agaricales .والجنس *Schizostoma* الذي يعود الى عائلة Tulostomataceae ورتبة Tulostomatales . اما بقية الاجناس فتضم انواعا روثية واخرى غير روثية (Mueller *et al.*, 2004 ; العبد، 2014).

11.2.1. الدراسات المحلية السابقة previous local studies

هناك العديد من الدراسات المحلية التي اجريت على فطريات الروث في مناطق مختلفة من العراق وخلال العقود الماضية تمكن من خلالها الباحثين من تشخيص ووصف العديد من الانواع الفطرية التي تنمو على روث الحيوانات فضلا عن اجراء بعض الدراسات البيئية والفسيولوجية المتعلقة بهذه الفطريات ومن اهم هذه الدراسات هي دراسة Ahmed *et al* .(1971) دراسة تصنيفية لفطريات الروث الكيسية من عينات روث الابقار والاغنام والماعز ومن مواقع متنوعة جنوب العراق ، واظهرت نتائج هذه الدراسة تسجيل اربعة عشر نوعا ، كانت اربعة منها سجلت لأول مرة في العراق تعود لسبعة اجناس اربعة منها سجلت لأول مرة في العراق وهي *Ascobolus* و *Lophotrichus* و *Ryparobius* و *Tripterospora* .

قام Abdullah *et al* .(1976) بعزل وتشخيص فطريات الروث التي تنمو على روث الاغنام والابقار والماعز في جنوب العراق وتم تسجيل سبعة انواع مختلفة ، سجلت ستة انواع منها لأول مرة في العراق ، بينما النوع *Iodophanus basraneous* وصف بشكل مفصل لأول مره من خلال الرسوم التوضيحية والصور الفوتوغرافية .

عزل Abdullah (1982) اربعون نوعا من فطريات الروث لعينات روث تم جمعها من حيوانات الحمير والاغنام والابل التي تعيش في المناطق الصحراوية جنوب العراق ، وبينت نتائج هذه الدراسة ان هناك 34 نوعا تنتمي الى فطريات الكيسية وثلاثة ينتميان الى الفطريات التي فيها طور اللاجنسي فقط واثنان تنتميان الى الفطريات البازيدية وواحدا ينتمي الى الفطريات الناقصة ، وقد اكدت هذه الدراسة ان تراكيب الانواع الفطرية ونسبة تكرارها على عينات الروث المتنوعة تختلف حسب طبيعة الغذاء النباتي الذي تتناوله تلك الحيوانات .

قام Abdullah (1987) بتشخيص ووصف وتسمية نوع جديد في العراق من جنس *Podospora* وهو الفطر *P .euphratica* من روث الابقار ، وتم وصفه بشكل دقيق جدا من خلال القياسات والرسوم التوضيحية ومقارنتها مع الانواع الاخرى التي تعود الى نفس الجنس.

انجزت الحبيب (1988) دراسة تصنيفية للفطريات المحبة والمصاحبة لروث الابقار والاغنام والجاموس والحمير والخيول ومعرفة نشاطها الانزيمي السليلوزي من عينات الروث لحيوانات مختلفة في مناطق متنوعه من العراق، واظهرت نتائج هذه الدراسة عزل وتشخيص 47 نوعا ، كانت ستة انواع منها سجلت لأول مرة في العراق تعود الى 37 جنسا ، تميزت معظمها بقدرتها العالية على تحليل السليلوز لغرض استهلاكه من قبل هذه الفطريات ، لهذا فان هذه لفطريات تلعب دورا كبيرا في دورة الكربون في الطبيعة.

قام العطبي (1990) بدراسة الفطريات التي تنمو على روث الابقار والغنام والابل والجاموس والماعز والحمير والخيول ، وشخص 28 نوعا تعود الى ثمانية اجناس تنتمي الى رتية Pezizales جنسان منها تم وصفهما لأول مرة في العراق ، فضلا عن تسجيل 18 نوعا من هذه الفطريات لأول مرة في العراق وتم وصف جميع الانواع التي ظهرت في هذه الدراسة بشكل دقيق بالرسوم والصور ومقارنتها مع الانواع القريبة منها ، وحفظ عينات جافة منها في المعشب التابع لعلوم الحياة في جامعة البصرة كتبت عليها جميع المعلومات المهمة .

سجل Guarro *et al* .(1997) نوعين جديدين من الجنس *Preussia* هما *Preussia hexaphragmia* و *P .constrictaa* اللذان ينتميان الى فطريات Aacomycota من عينات روث الاغنام لأول مرة في العراق .

عزل Abdullah and Al-Utby (1999) اربعة انواع تعود الى الفطر *Lasioboldium* ونوع واحد من الفطر *Mycoarachis* ونوع من الفطر *Rhytidospora* من روث الاغنام والابقار في العراق .

اجرى Abdullah *et al* .(1999) دراسة على عينات من روث الاغنام والأبل تمكن من خلالها تسجيل النوع *Preussia variispora* لأول مرة من روث الاغنام في العراق فضلا عن تسجيل انواع اخرى من الفطريات الكيسية التالية *P. calomera* و *P.commutate* و *P. herculea* و *P. polymera* بينما الانواع *Rhytidospora cainii* و *Strattonia dissimilis* ظهرت على عينات الروث في الابل والاغنام .

قام Mustafa and Abdullah (2011) بعزل وتشخيص نوعين من جنس *Arnium* وثلاثة انواع من جنس *Cercophora* من روث الابقار في مواقع مختلفة من اقليم كردستان العراق *Arnium arizonense* و*A. olerurm* و *Cercophora caudate* و *C. coprophila* و *C. mirabilis*سجلت اربعة منها لأول مرة في العراق .

Al-Ameed *et al* .(2017) قاموا بجمع الروث من احدى عشر نوعا من الحيوانات التي تعيش في حديقة الزوراء في بغداد ، واظهرت نتائج هذه الدراسة ان النوع *Geotrichum candidium* شكل نسبا عالية من التواجد في عينات جميع الحيوانات ، يليه النوع *Rhyzopus sp* الذي ظهر في روث الدعلج والغزال والكنغر والحصان واللاما والقرود والجمال والاسود . كما عزلت فطريات ال *Fusarium sp* و *Aspergillus flavus* من الذئاب ، وعزل الفطر *Aspergillus niger* من القرود والغزلان ، كما اشارت نتائج هذه الدراسة الى ان هذه الحيوانات تعد مصدرا من مصادر الاصابة بالأمراض ونقل الفطريات .

اجرت Jasim (2022) دراسة تصنيفية مجهرية وجزيئية للفطريات المحبة للروث في محافظة البصرة ، وجمعت العينات من اربعة انواع من الحيوانات العشبية وهي الابقار والاغنام والجمال والجاموس ،واظهرت نتائج الدراسة ان الفطريات المعزولة شكلت اعلى نسبة في الابقار يليها الجاموس ثم الاغنام والجمال ، وتم عزل وتشخيص 35 نوعا تنتمي الى 24 جنسا ، وكانت اعلى نسبة مئوية (82.4%) للفطريات الكيسة Ascomycota تليها الفطريات البازيدية Basidiomycota بنسبة (10 %) ثم

الفطريات اللاقحية Zgomycota بنسبة (7.6%) ، وكانت نسبة فطر ال *Aspergillus niger* هي الاعلى من بين الانواع المعزولة ، بينما النوع *Ascobolus sp* هي الاقل ، واشارت الدراسة الجزيئية الى وجود ثلاثة عشر نوعا فطريا مختلفا عن السلالات المرجعية تم تسجيلها في بنك الجينات العالمي ، بالإضافة الى اظهار بعض الانواع فعالية كبيرة في تحلل السليلوز ونسبة كبيرة اكبر من 6 ملم كهالة صفراء حول المستعمرات الفطرية ، بينما البعض الآخر سجل فعالية اقل تجاه تحلل السليلوز تراوحت من 3 الى 6 ملم كهالة حول المستعمرات ، في حين بقية الانواع لم تظهر اي فعالية في تحلل مادة السليلوز .

الفصل الثانـي

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1.2. الاجهزة والادوات Apparatus and Instruments

استخدمت في هذه الدراسة العديد من الاجهزة والادوات المختبرية المبينة في الجدول (1).

جدول(1) : الاجهزة والادوات المستخدمة خلال الدراسة .

اسم الجهاز او الاداة	المنشأ
ثلاجة Refrigerator	Vestel (Poland)
حاضنه هزاز Shaking Incubator	Zenith lab(China)
حاضنه Incubator	Human Lab (Korea)
مجهر ضوئي Light Microscope	Olympus (Japan)
مجهر تشريحي Dissecting microscope	Olympus (Japan)
ميزان حساس Sensitive Balance	Sartorius (Germany)
المؤصدةAutoclave	Hirayama(Japan)
مصباح بنزن Benzen Burner	China
المازج الدوار Vortex Mixture	Medilab (Korea)
كابينة الزرع Biosafety Cabinet	Zenith lab (china)
المازج المغناطيسي Magnetic Stirrers	Heidolph (Germany)
جهاز تقطير Distal Water	GFR (Germany)
فرن كهربائي Electric oven	Memmert (Germany)
اطباق بتري petri dishes زجاجية وبلاستيكية	Bio zek Medical .(Holland)
اوراق ترشيح filter papers	Whatman(UK)
شرائح زجاجية واغطيه slides and cover slides	Superestar (India)

Broche (Malaysia)	gloves قفازات
China	cotton قطن
Iso Lab (Germnay)	flasks دوارق متنوعة الاحجام
China	اكياس نايلون واكياس ورقية
Superestar (China)	disposable syringes محاقن طبيه
Himedia(India)	wire loop ناقل زرعي
China	paraffin اشرطة برافين
Bio neer (Korea)	Eppindroff 2 ml ابندروف
Epindroff (Germany)	Epindroff Centrifuge جهاز طرد مركزي
Epindroff (Germany)	Cooling centrifuge جهاز طرد مركزي مبرد
Shownic (Korea)	Microwave مسخن
Gonsort (Belgium)	Electrophoresis جهاز الترحيل الكهربائي
Memmert (Germany)	water bath حمام مائي
Prime (UK)	Thermo cycler المضخم او المدور الحراري
Vilber lourmat (France)	Gel Documentation جهاز تصوير الهلام

2.2. المواد الكيميائية Chemical materials

استخدمت في هذه الدراسة بعض المواد الكيميائية المبينة في الجدول (2) .

جدول (2) : المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة .

اسم المادة الكيميائية	الشركة المصنعة
Lactic acid	Qualikemis (India)
Glyserol	Qualikemis (India)
Phenol	Qualikemis (India)
Lactophenol Cotton Blue	Bioneer (Korea)
Ethanol 70%	Unicare (Dubia)
Ethidium Bromide	Biobasic (Canada)
Ladder 100 bp	Bioneer (Korea)
TBE buffer	Biobasic (Canada)
Master mix	Bioneer (Korea)
Bromo Phenol Blue	Bioneer (Korea)

جدول (3): الاوساط الزراعية المستخدمة في الدراسة .

اسم الوسط	المنشأ
Corn Meal Agar (CMA)	Himedia (India)
Potato Dextrose Agar (PDA)	Himedia (India)
Malt Extract Agar (MEA)	Himedia (India)
Potato Carrot Agar (PCA)	Himedia (India)

جدول (4) : اعداد العينات التي تم جمعها من روث الاغنام والابقار خلال فترة الدراسة .

الشهر	مركز العمارة		الكحلاء		المشرح	
	غنم	بقر	غنم	بقر	غنم	بقر
نيسان	2	1	1	2	2	2
أيار	2	2	2	2	1	2
حزيران	2	2	1	1	2	2
تموز	2	2	2	2	2	2
آب	2	1	3	1	1	1
ايلول	1	2	1	2	2	2
تشرين الاول	2	1	2	2	1	2
تشرين الثاني	2	2	2	2	2	1
كانون الاول	1	2	1	2	2	2
كانون الثاني	2	1	2	1	1	2
شباط	1	2	2	1	2	1
أذار	1	2	2	1	1	2
المجموع	20	20	21	19	19	21
المجموع الكلي	40		40		40	

3.2. جمع عينات الروث Collection of dungs samples

جمعت 120 من العينات الطازجة من روث نوعين من الحيوانات آكلة الاعشاب وهما الاغنام والابقار من مناطق مختلفة من محافظة ميسان شملت مركز العمارة والكحلاء والمشرح للفترة من نيسان 2022 ولغاية آذار 2023 وبصورة شهرية ، كما في الجدول (4). وتمت عملية اخذ عينات الروث خلال فترة قليلة جدا من طرحها خارج جسم الحيوانات باستخدام ملعقة بلاستيكية معقمة خلال فترة قليلة جدا من طرحها خارج جسم الحيوانات في الحقل ، وذلك للتقليل من التلوث بالفطريات غير الروثيه وتجنبا لتداخل الحشرات ، ووضعت العينات في اكياس ورقية كتبت عليها كافة المعلومات (تاريخ جمع العينة ومكان جمع العينة ونوع الحيوان) ثم جلبت الى المختبر.

4.2. الاوساط الزرعية Culture media

استخدمت الاوساط الزرعية المبينة في الجدول (3) لعزل الفطريات وتنقيتها لغرض تشخيصها مظهرياً وكالاتي .

1.4.2. وسط اكار خلاصة الشعير Malt Extract Agar (MEA)

حضر هذا الوسط اعتمادا على توصيات الشركة المصنعة وذلك بإضافة 60 غم من الوسط الى 1لتر من الماء المقطر في دورق زجاجي وبعد اذابته بصورة جيدة اضيف له 250 ملغم / لتر من المضاد الحيوي الكلورومفينكول Chloramphenicol لتثبيط نمو البكتريا ، ثم عقم بواسطة جهاز المؤصدة Autoclave ، و ترك ليبرد وصب في اطباق بتري معقمة ليصبح جاهزا لتنمية وعزل هذه الفطريات.

2.4.2.وسط اكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA)

استخدم وسط PDA لعزل فطريات الروث وحضر اعتمادا على توصيات الشركة المصنعة وذلك بإضافة 41 غم من الوسط الى 1 لتر من الماء المقطر في دورق زجاجي ، ثم اضيف له 250 ملغم / لتر من المضاد الحيوي الكلورومفينكول ، وعقم الوسط بالمؤصدة ، ثم ترك ليبرد وصب في اطباق بتري معقمة ليصبح جاهزا لتنمية وعزل هذه الفطريات.

3.4.2. وسط اكار البطاطا والجزر Potato Carrot Agar (PCA)

حضر هذا الوسط اعتمادا على توصيات الشركة المصنعة وذلك بإضافة 24 غم من الوسط الى 1لتر من الماء المقطر في دورق زجاجي وبعد اذابته بصورة جيدة ، واضيف له 250 ملغم / لتر من المضاد الحيوي الكلورومفينكول ثم عقم بواسطة جهاز المؤصدة Autoclave ، ثم ترك ليبرد وصب في اطباق بتري معقمة ليصبح جاهزا لتنمية الفطريات .

4.4.2. وسط اكار الذرة Corn Meal Agar (CMA)

حضر هذا الوسط اعتمادا على توصيات الشركة المصنعة وذلك بإضافة 17 غم من الوسط الى 1لتر من الماء المقطر في دورق زجاجي وبعد اذابته بصورة جيدة ، واضيف له 250 ملغم / لتر من المضاد الحيوي الكلورومفينكول ثم عقم بواسطة جهاز المؤصدة Autoclave ، ثم ترك ليبرد وصب في اطباق بتري معقمة ليصبح جاهزا لتنمية الفطريات .

5.2.التعقيم Sterilization

استخدم الفرن الكهربائي لتعقيم الأدوات الزجاجية والمعدنية تحت درجة حرارة 150م° لمدة ساعتين ، بينما تم تعقيم الاوساط الزرعية والمحاليل والسوائل المستخدمة في الدراسة باستخدام جهاز المؤصدة Autoclave تحت درجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج ^{2} لمدة 15 دقيقة .

6.2. صبغة اللاكتوفينول Composition of lactophenol stain

حضرت هذه الصبغة من المواد التالية الفينول Phenol 10 gm والكليسرول Glycerol 20ml وحامض اللاكتك Lactic acid 20ml والماء المقطر Distill water 20ml وحضرت مختبريا اعتمادا على (2007). Ellis *et al* ، واضيف 0.5 ملغم من صبغة مثلين القطن الزرقاء للحصول على صبغة اللاكتوفينول قطن الزرقاء lactophenol cotton blue stain .

7.2. طريقة العزل Isolation method

استخدمت الغرفة الرطبة The Moist Chamber لعزل الفطريات من الروث ، اذ حضرت اطباق زجاجية قطر 15 سم حاوية على اوراق ترشيح نوع Whatman No .1 اضيف لها الماء المقطر لغرض الترطيب ثم عقمت بجهاز المؤصدة ، بعد ذلك وضعت كمية مناسبة من عينات الروث مع اضافة القليل من النفثالين لمنع نمو الحلم والحشرات والديدان، ورقمت الاطباق وحضنت تحت درجة حرارة 27 ± 2 ، وبدأنا بفحص الاطباق بعد ثلاثة ايام من الحضن ولمدة شهرين باستخدام مجهر التشريح Dissecting microscope ، مع الاستمرار باضافة القليل من الماء المقطر المعقم لغرض الترطيب (الحبيب ، 1988 ;العطبي، 1990 ; Khiralla, 2007 ; Jasim ,2022) .

استخدمت عملية الالتقاط لعزل الاجسام الثمرية باستخدام أبره رفيعة نظيفة ومعقمة ، ووضعت تلك الاجزاء على شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة وضعت عليها قطرة من الهايبوكلورايد المخفف (1:10) ، بعد ذلك التقط الجسم الثمري ونقل الى شريحة اخرى موضوع عليها ماء مقطر لإزالة آثار الهايبوكلورايد ، ثم نقل الى الوسط الزرعي المعقم وبعد ذلك يتم تغطية الاطباق بلفها بأشرطة parafilm لمنع التلوث ، وحضنت بالحاضنة بدرجة حرارة 27 م° ± 2.

8.2. تحضير الشرائح الزجاجية Preparation of slides

بعد ظهور الجسم الثمري وفحصه تحت المجهر تم نقله الى شريحة زجاجية نظيفة حاويه على قطرة من صبغة اللاكتوفينول lactophenol stain المحضرة مختبريا او من صبغة lacto phenol cotton blue stain ثم غطيت بغطاء الشريحة cover slide وتم الضغط عليه قليلا للحصول على الابواغ او الاكياس البوغية ، وعند مشاهدة الزوائد التي تتعلق بالنوع المدروس يستخدم الماء المقطر المعقم ، ثم وضعت مادة طلاء الاظافر او Canada balsam على حواف غطاء الشريحة لمنع جفافها ، بعد ذلك ثبتت عليه جميع المعلومات ، واستخدم المجهر الضوئي لمعاينة العينات وتصويرها باستخدام كاميرات ذات دقة وكفاءة عالية وتم تصنيف الفطريات باستخدام المعلومات في المفاتيح التصنيفية لغرض تشخيص

الفطريات التي ظهرت على عينات الروث (Bell, 1983; الحبيب ، 1988 ; العطبي 1990 ; Jasim, 2022 Khiralla, 2007 ; Kendrick, 2000;).

9.2. النسبة المئوية الظهور وللتردد Percentage of occurrence and frequency

حسبت النسبة المئوية للتردد والظهور للفطريات المعزولة من روث الابقار والاغنام اعتمادا على المعادلات التالية :

النسبة المئوية للظهور Occurrence % =(عدد العزلات لكل نوع /عدد العينات الكلية) x 100

النسبة المئوية للترددFrequency % = (عدد العزلات لكل نوع /عدد العزلات الكلية) x 100

10.2. التشخيص الجزيئي لفطريات الروث Molecular diagnosis of dung fungi

1.10.2. استخلاص ال DNA من فطريات الروث Extraction of DNA from dung fungi

استعملت عدة التنقية والاستخلاص Presto™ Mini gDNA Yeast Kit الخاصة باستخلاص DNA والمصنعة من قبل شركة Geneaid التايوانية وبحسب تعليمات النشرة المرفقة من قبل الشركة، حيث تم استخلاص الحامض النووي حسب الخطوات الاتية:

1. اخذ 0.2 مليكرام من المستخلص الفطري ووضع في أنبوب أبندروف سعة 1.5 مل.
2. اضيف 200 µl من محلول Nuclei Lysis الى انبوبة أبندروف معقمة وخلطت بصورة جيدة باستخدام الماصة.
3. حضن الخليط بالحمام المائي على درجة حرارة 65 مْ لمدة 30 دقيقة لغرض تحلل الخلايا، ثم ترك ليبرد تحت درجة حرارة الغرفة.
4. اضيف 200 µl من محلول ترسيب البروتين.
5. حطمت الخلايا الفطرية بواسطة الجهاز المازج Vortex لمدة خمسة دقائق لغرض تحرر ال DNA منها، ووضعت انابيب الأبندروف في جهاز الطرد المركزي وبسرعة 10000 دورة في الدقيقة ولمدة 20 ثانية لترسيب الحطام.
6. حضنت العينات في الثلج لمدة ثلاثة دقائق.
7. وضعت انابيب الأبندروف في جهاز الطرد المركزي وبسرعة 13000 دورة في الدقيقة ولمدة 20 ثانية.

8. اخذت الطبقة العلوية ووضعت فـي أنبوبــة أبندروف جديدة سعة 1.5 مل واضيف لها حجم 200 µl من مادة الـ ISO Propanol واجريت عليها عملية طرد مركزي وبسرعة 13000 دورة في الدقيقة ولمدة 20 ثانية.
9. تم التخلص مـن السائل المتواجد في الانبوبة وغسل الراسب ب 600µl من الكحول الاثيلي 70% واجريت عليه عملية الطرد المركزي مرة اخرى.
10. تم التخلص من الكحول وترك الانبوب ليجف في الهواء، وبعد ذلك اضيف اليه 100 µl من Elution buffer وحفظت العينات في الثلاجة.

2.10.2. الترحيل الكهربائي ل DNA DNA Electrophoresis

اجريت خطوات الترحيل الكهربائي ل DNA حسب الطريقة الموصوفة من قبل Sambrook (1989) وكما يلي :

1. اخذ 0.25 غم من الاكاروز واذيب في 25 مل من محلول TBE buffer ليكون التركيز 1x.

2. استخدم جهاز Microwave لتسخين المزيج لأذابه الاكاروز بصورة جيده ، ثم ترك بعدها ليبرد الى درجة حرارته تتراوح من 40 الى 50 درجه مئوية ، بعد ذلك اضيف اليها 0.5 µl من صبغة Ethidium bromide.

3. جهز قالب الترحيل وتم ربط المشط في احدى نهايتيه لغرض عمل حفر داخل الاكاروز ثم صب محلول الهلام ، ترك في درجة حرارة الغرفة لكي يتصلب ، بعدها تم رفع المشط والقطع المطاطية وتم اعادة المشط الى مكانه في جهاز الترحيل الكهربائي ، وبعدها غمر في محلول TBE buffer الى ان يصل الى ارتفاع 2 الى 3ملم .

4. مزج 5 µl من ال DNA و 2 µl من صبغة Bromo Phenol Blue stain وصب المزيج في حفر الاكاروز .

5. ربطت اقطاب جهاز الترحيل الكهربائي مع مجهز القدرة وتم تثبيت قوة التيار الكهربائي على 75 فولت وترك الهلام لمدة نصف ساعه ،وللتأكد من بدأ عملية الترحيل نلاحظ خروج فقاعات هوائية .

6. فحص الهلام بعد تحرك الصبغة الى نهاية الاكاروز تحت الاشعة فوق البنفسجية لمشاهدة وجود ال DNA ، واستخدمت الكاميرا لتصوير النتائج .

3.10.2. اختبار تفاعل سلسلة البوليمر Polymerase Chain Reaction (PCR)

اجري الاختبار اعتمادا على طريقة Mirhendi *et al* .(2006) بخلط المواد في انبوبة سعة 100 µl حسب تعليمات النشرة المرفقة مع Green Master Mix والمبينة فب الجدول (5) باستخدام بادئات ITS1, ITS4 المجهزة من قبل شركة Bioneer والمثبتة في الجدول (6) ، بعدها وضعت العينات في جهاز PCR Sprint Thermal Cycler وتم تشغيل الجهاز وفق البرنامج المبين في الجدول (7) لمدة 85 دقيقة، بعدها اجريت عملية الترحيل الكهربائي وحضر هلام الاكاروز بخلط 0.5 gm مع 25 ml من محلول TBE ، كما اضيف له 0.5 µl من صيغة Ethedium bromide وسخنت على صفيحة ساخنة وبعد تبريدها 40-50 درجة مئوية صبت في قالب الترحيل ، بعدها اخذ 1µlمن الصبغة و 5µl من Ladder وتم مزجهما بشكل جيد ووضعا في الحفرة الاولى من هلام الاكاروز ، ووضع 7µl من ال DNA في الحفرة الثانية من الهلام وهكذا للعينات الاخرى ، بعده مرر التيار الكهربائي في قالب الترحيل وبعد ساعة من الزمن تم الكشف عن الحزم الناتجة عن التضخيم باستعمال جهاز الاشعة فوق البنفسجية ليتم تصويرها ،ثم ارسلت العينات الى شركة Macrogen الكورية لمعرفة تسلسل القواعد النيتروجينية لهذه العينات وبعد الحصول على النتائج حللت وعمل شجرة وراثية لها باستخدام برنامج MEGA لغرض مطابقتها مع العزلات المحفوظة في بنك الجينات NCBI .

جدول (5) : المواد المستخدمة في تضخيم الجين .

المادة	الحجم(µl)
Master Mix (Promega)	**12.5**
DNA template	**2**
Forward primer	**1**
Reverse primer	**1**
Nuclease free water	**8.5**
Total	**25**

جدول (6): تتابع القواعد النيتروجينية للبادئات ITS4 , ITS1 المستخدمة في عملية التضخيم.

Primer	**Primer Sequences(5-3)**	Length
ITS1	F-5-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3	19 base
ITS4	R-5-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3	20 base

جدول (7): ظروف عملية تفاعل ال PCR

عدد الدورات	الزمن	درجة الحرارة	الخطوات	NO
1	5 minute	95 Ċ	Denaturation 1	**1**
30	30 second	95 Ċ	Denaturation 2	**2**
30	30 second	56 Ċ	Annealing	**3**
30	45 second	72 Ċ	Extension	**4**
1	5 minute	72 Ċ	Final Extension	**5**

الفصل الثالث

النتائـج والمنـاقشـة

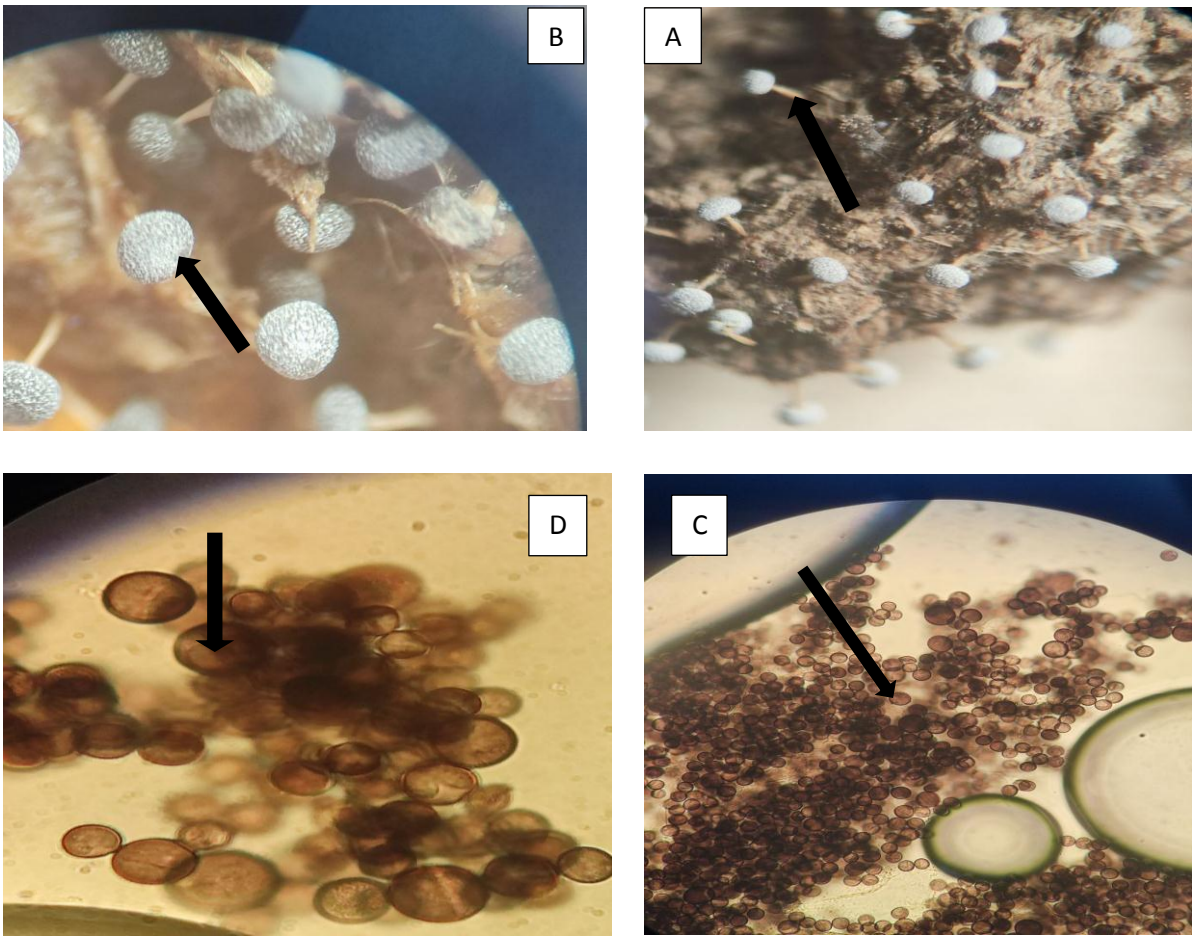
Results and Discussion

1.3. التشخيص المظهري لبعض فطريات الروث

1.1.3. الفطريات المخاطية Myxomycota

1. *Physarum globuliferum* (Bull) pers . 1801 .

يكون هذا الفطر حوافظ بوغية بيضوية او كروية الشكل رقيقة الجدران وذات لون برتقالي ،العويمد قصير مخروطي او كروي الشكل، الحافظة البوغية كروية او غير منتظمة الشكل ، كما انه ينمو بشكل كثيف على الوسط ، الابواغ صغيرة وشبه شفافة كروية او اهليليجية الشكل يتراوح قطرها من 6 الى 8 مايكرومتر ،البلازموديوم من النوع Phaneroplasmodium ذو لون اصفر باهت . وقد اتفق هذا الوصف مع (العبد ،2014) ، كما في الشكل (1: D,C,B,A). ظهر هذا الفطر في عينات روث الابقار التي جمعت من الكحلاء ومركز العمارة.

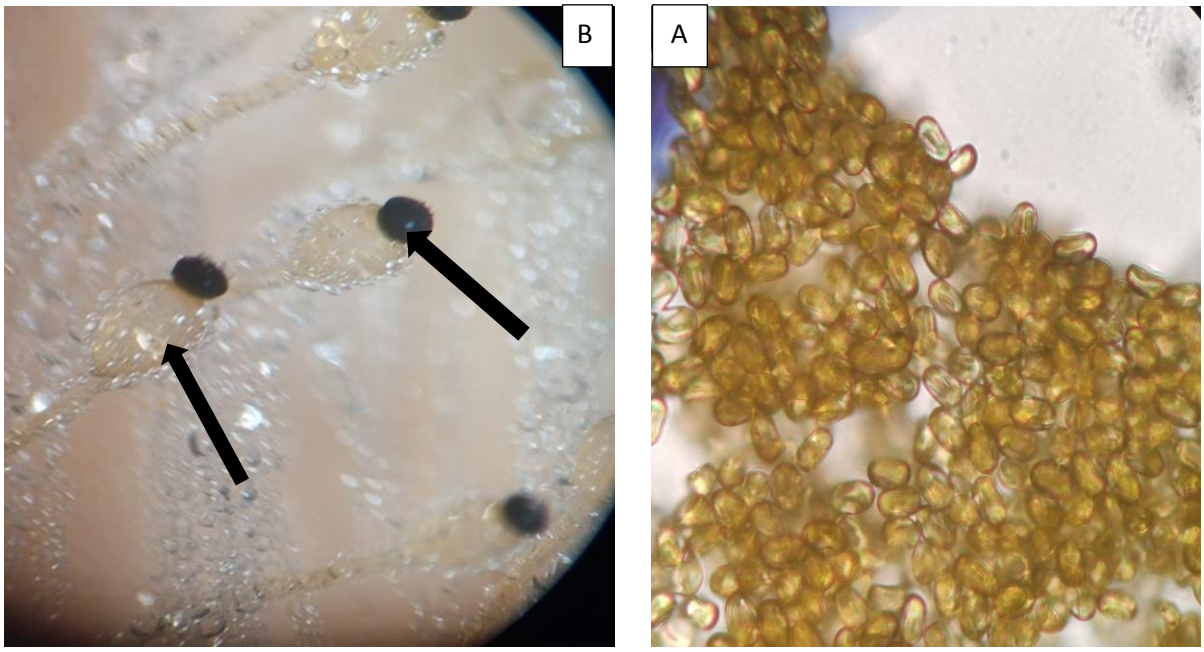


الشكل(1): *Physarum globuliferum* : A حامل الحوافظ البوغيه : B حافظة بوغية ، C , D ابواغ متحركة.

2.1.3. الفطريات اللاقحية Zygomycota

1 . *Pilobolus crystallinus* (Wiggers) Tode 1784.

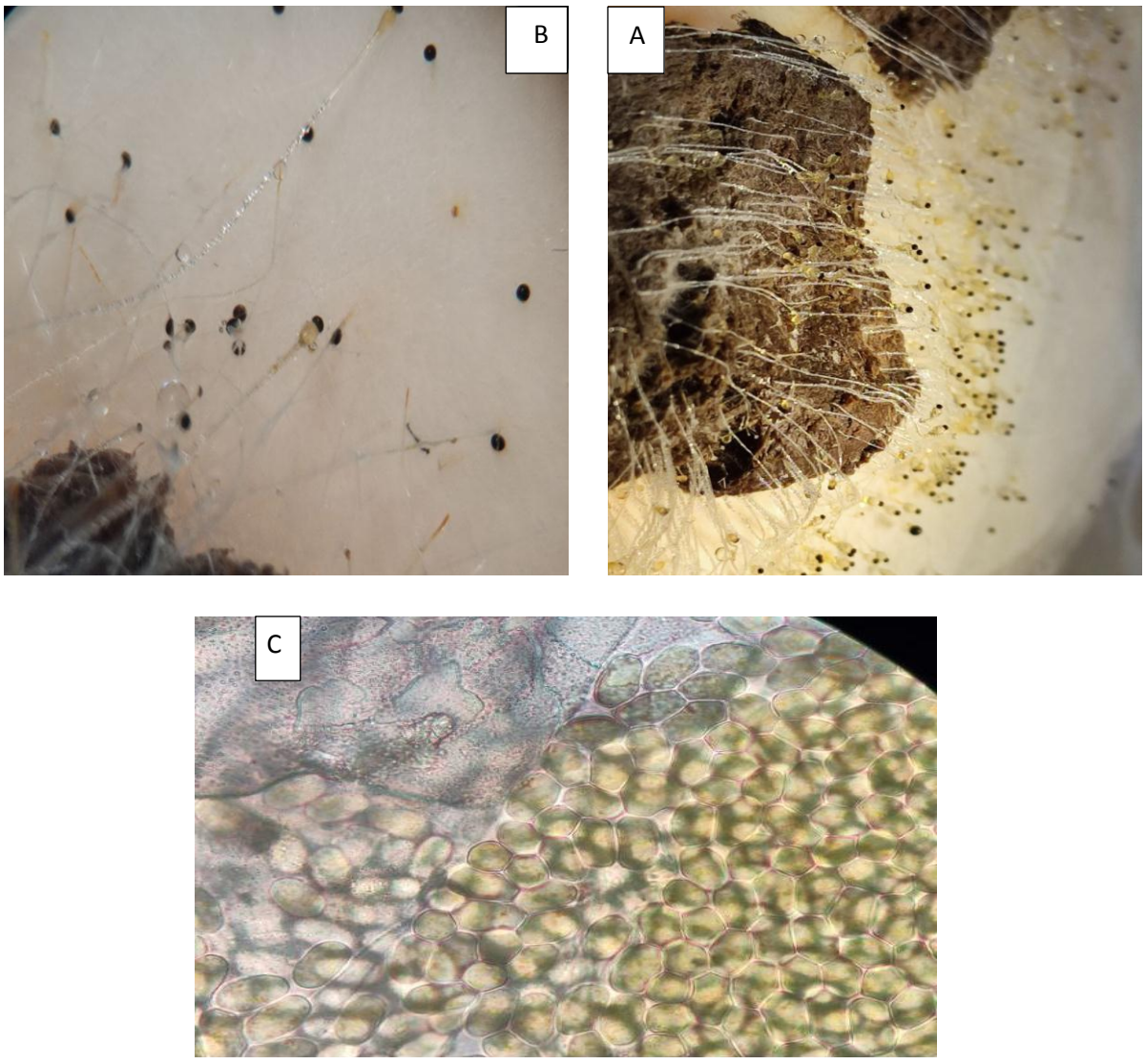
ينتج هذا الفطر حوصلة غذائية ذات شكل بيضوي ومطمورة تحت الروث ذات محتوى اصفر باهت ، كما انه يحتوي على اشباه جذور يصل طولها الى حوالي 400 مايكرومتر ، حامل الحوافظ البوغية اسطواني وغير مقسم وغير متفرع وشفاف وذو محتوى اصفر فاتح يبلغ طوله 3 سم، الحوصلة تحت الحافظة البوغية Subsporangial vesicle ذات شكل بيضوي وملساء وشفافة خاليه من الصبغات ومنتفخة والطول اكبر من العرض ابعادها 300-40 x 450- 230 مايكرومتر، العويمد Columella املس ، كما يلاحظ انتشار لقطرات الماء على طول الحوامل البوغية والحوصلة تحت البوغية ، الحوافظ البوغية تظهر بشكل عدسي محدب وجدار سميك املس النصف العلوي منه يكون ذو لون اسود قطره يتراوح بين 252 الى 348 مايكرومتر ، الابواغ اللاقحية اهليليجية الشكل ذات لون يتراوح من الشفاف الى الاصفر الباهت جدا ذات ابعاد 9 -8-10x7 مايكرومتر ، حافظة الابواغ sporangia تطلق محتوياتها حصرا باتجاه الضوء ، لذلك يطلق عليه رامي القبعة Hat thrower . اتفقت هذه النتائج مع (Abdullah,1982 ; Khiralla , 2007; Viriato,2008 ; العبد ،2014) ، الشكل (B,A: 2). عزل هذا الفطر من عينات روث الاغنام والابقار التي جمعت من جميع المواقع.



الشكل (2): *Pilobolus crystallinus* : A ابواغ ، B حافظة بوغية وحوصلة غذائية وحامل .

2. *Pilobolus kleinii* van Tieghem 1876

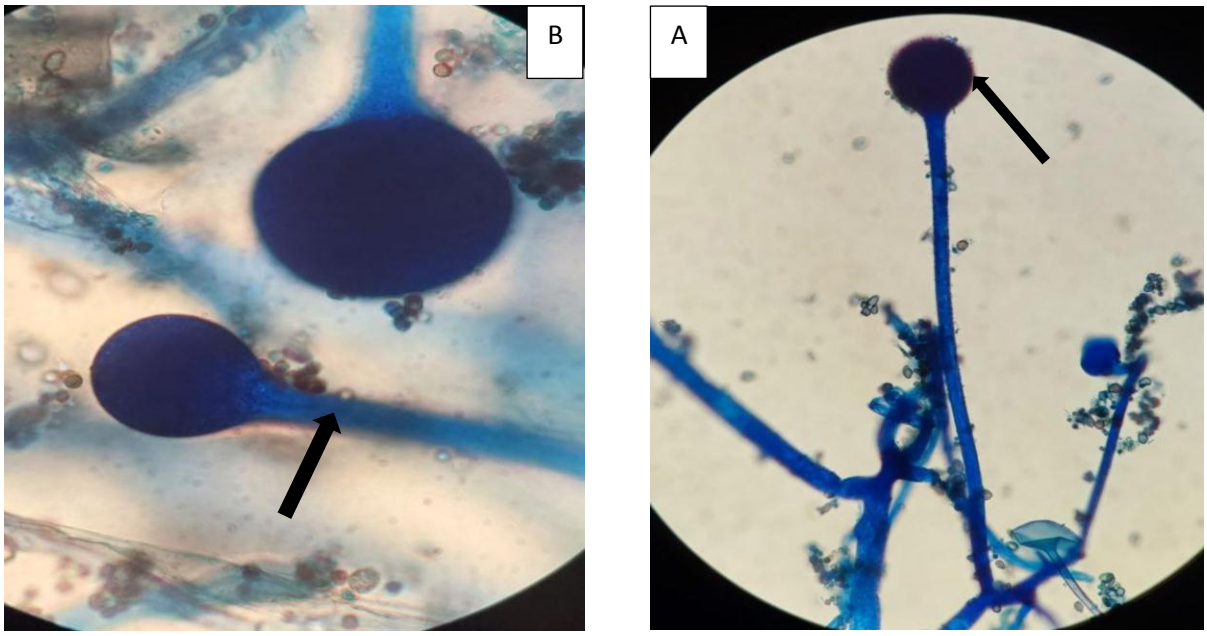
الحوصلة الغذائية شفافة بيضوية الشكل ذات محتوى حبيبي المظهر وذو لون برتقالي محمر ، حامل الحوافظ البوغية يكون شفافا يصل طوله الى 1.5 سم وذو محتوى اصفر باهت ، اشباه الجذور يصل طولها الى 250 مايكرومتر، ، العويمد Columella مخروطي الشكل ، الحوصلة تحت الحافظة البوغية ذات شكل يتراوح بين البيضوي الى شبه البيضوي وذات محتوى حبيبي برتقالي اللون ،الحوافظ البوغية نصف كروية ومحدبة ، الابواغ اللاقحية اهليليجية الشكل ذات لون يتراوح من الشفاف الى الاصفر الباهت وابعادها 10.8 – 9.5 x 8 - 7.5 مايكرومتر الشكل. اتفقت هذه النتائج مع (العبد ، 2014 ; Viriato,2008; Khiralla , 2007 ; Abdullah,1982) ، الشكل (3: C, B, A). تم عزل هذا النوع من روث الابقار والاغنام للعينات التي جمعت من موقع الكحلاء والعمارة ،



الشكل (3): *P. kleinii* A: الفطر نامي على الروث , B كيس ابواغ وحوصلة غذائية وحامل C, ابواغ.

3. *Rhizopus oryzae* Went and Prinsen Geerligs . 1895

الحوافظ البوغية كروية الشكل يتراوح قطرها بين 115 الى 200 مايكرومتر ، حوامل الحوافظ البوغية تكون مفردة او مزدوجة عرضها يتراوح من 8.9 الى 17.3 مايكرومتر ويصل طولها الى حوالي 2595 مايكرومتر ، العويمد Columella ذو شكل بيضوي او شبه كروي ذو قطر يتراوح من 97 الى 118.5 مايكرومتر ، الابواغ اللاقحية تكون اما متطاولة الشكل او معينية الشكل او تكون ليمونية تغطى سطوحها بالأخاديد . كما يمتاز بان اشباه الجذور تكون قليلة التفرعات (Domsch *et al.*, 1980 ; العبد ، 2014)، الشكل (4: B,A) . عزل هذا النوع من جميع المواقع المدروسة من عينات روث الاغنام والابقار .



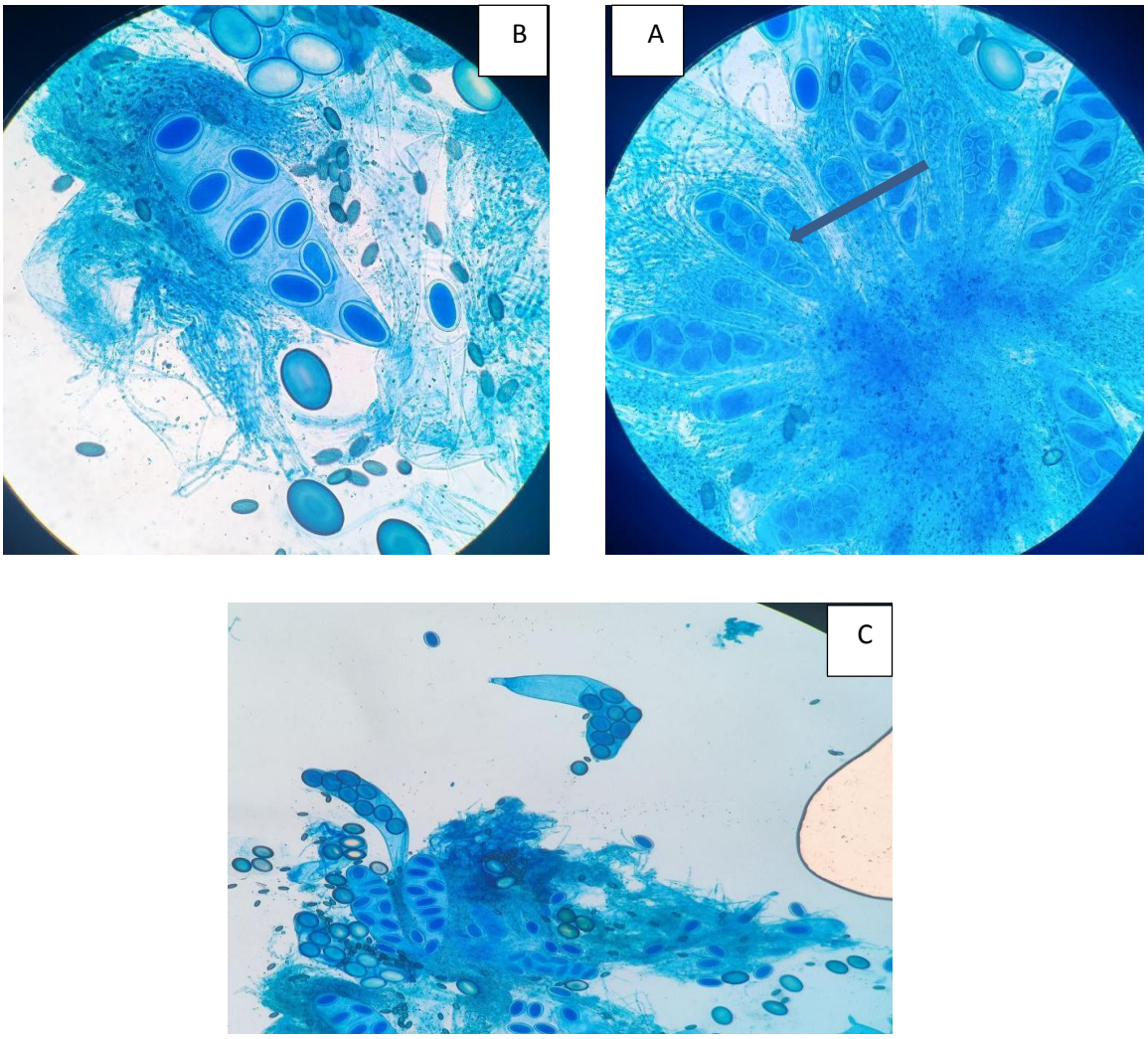
الشكل (4) : *Rhizopus oryzae* ، B, A حوامل وحوافظ بوغية وابواغ .

3.1.3. الفطريات الكيسية Ascomycota

1. *Ascobolus immersus* . Pers 1822

الجسم الثمري له يكون في البداية مغمورا في وسط الروث ثم يظهر عند النضج بشكل واضح ، وتكون تلك الاثمار اما متجمعة او منتشرة بشكل غير منتظم ، الابواغ الكيسية تكون شفافة قبل النضج ثم تصبح ذات لون بنفسجي عند النضج وتتخذ شكلا كرويا او بيضويا ويمتاز كل سبور بوجود خطان واضحان على السطح ،الاكياس البوغية صولجانية الشكل محاطة بغلاف جيلاتيني سميك تصطبغ باللون الازرق وتحتوي على ثمان ابواغ، وقد اتفقت النتيجة مع ما توصل اليه (الحبيب ،1988 ; العطبي ، 1990 ،

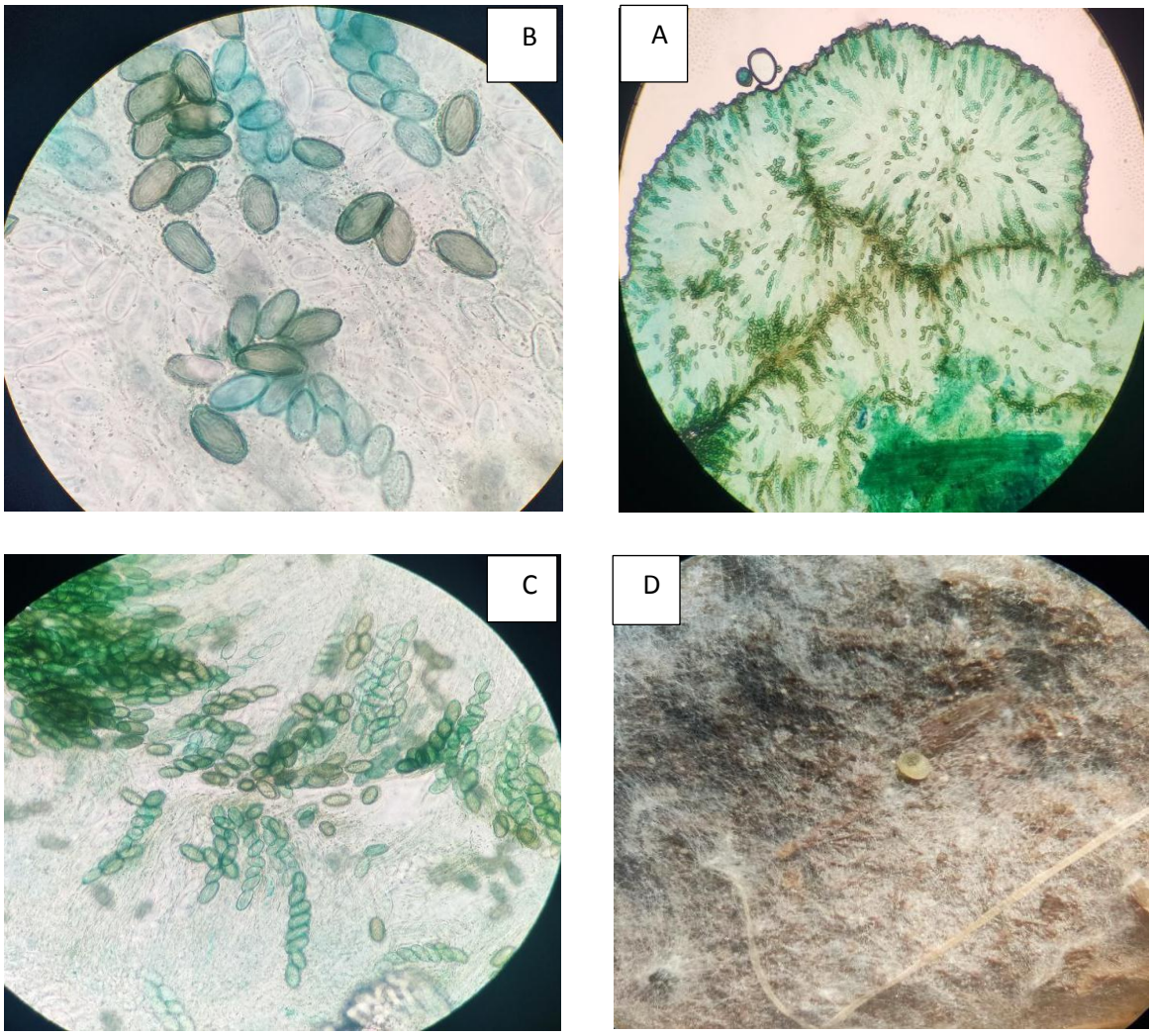
Mungai *et al*., 2011 ; العبد، 2014) ، كما في الشكل (5: A , B , C) . من الانواع التي ظهرت على عينات روث الابقار في كافة المواقع المدروسة .



الشكل (5): *Ascobolus immersus* : A , B , C اكياس بوغية وابواغ وجسم ثمري منفجر .

2. *A. furfuraceus pers per Hook 1822.*

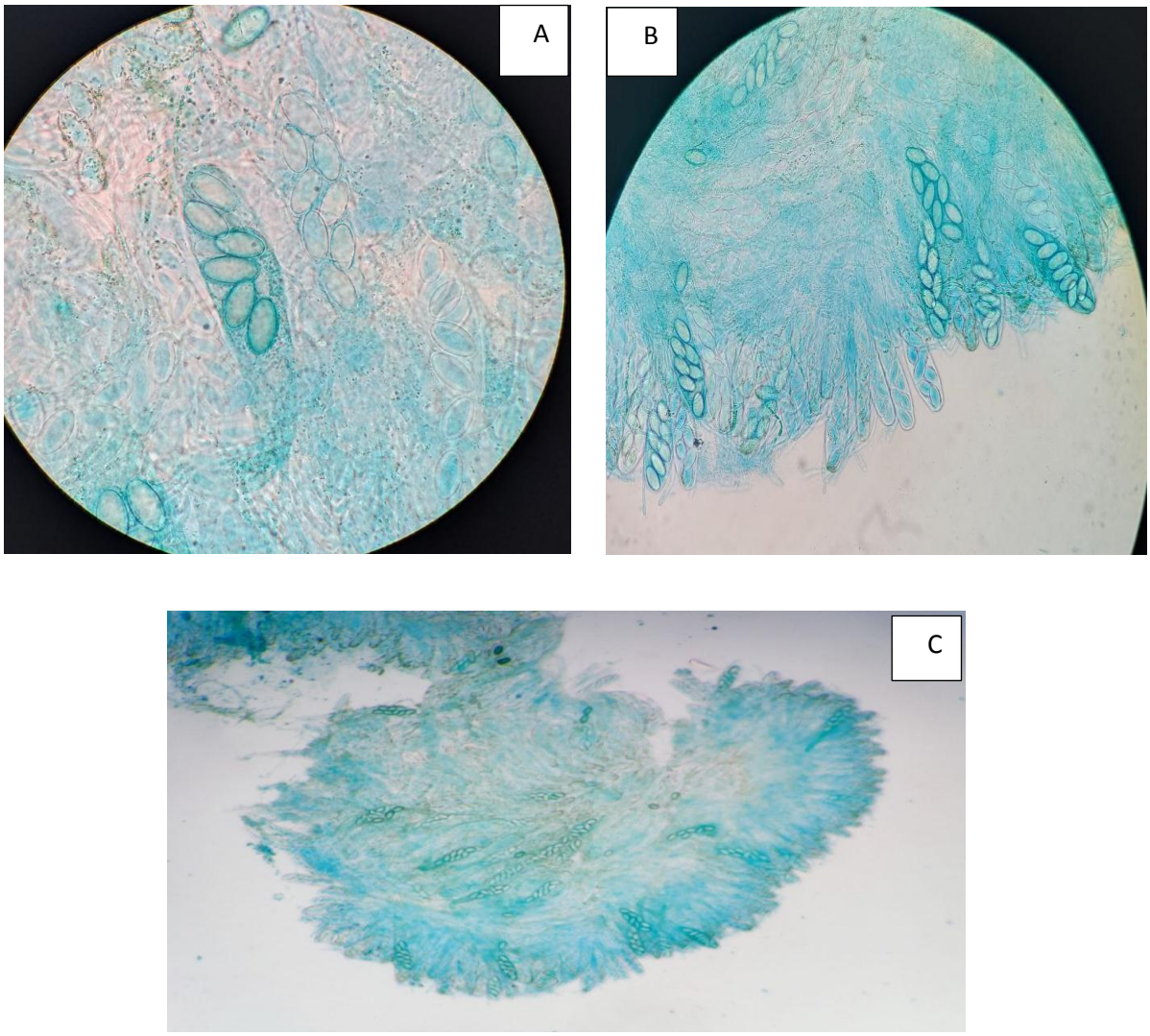
الاجسام الثمرية تكون اما معزولة عن بعضها البعض او تكون متجمعة ابعادها 1-2 x0.5 -1 mm ، التخت يكون شبه كروي ولونه اصفر ، الاكياس صولجانية الشكل ، الابواغ الكيسية اهليليجية الشكل ذات لون شفاف قبل النضج ثم تصبح ذات لونا ارجوانيا عند ضجها مزودة بخطوط طولية واحيانا تكون ثنائية التفرع ، وقد اتفقت نتائجنا مع (العطبي، 1990 ; العبد ، 2014) ، كما في الشكل (D,C,B,A:6) . اظهر نموا واضحا على روث الابقار في جميع المناطق المدروسة .



الشكل (6) : ***Ascobolus furfuraceus*** **: A جسم ثمري منفجر ,B ابواغ ,C اكياس بوغيه ,D كيس ثمري**

3. *A. aglaosporus* Heimerl, K.K. Ober - Realsch. 1889.

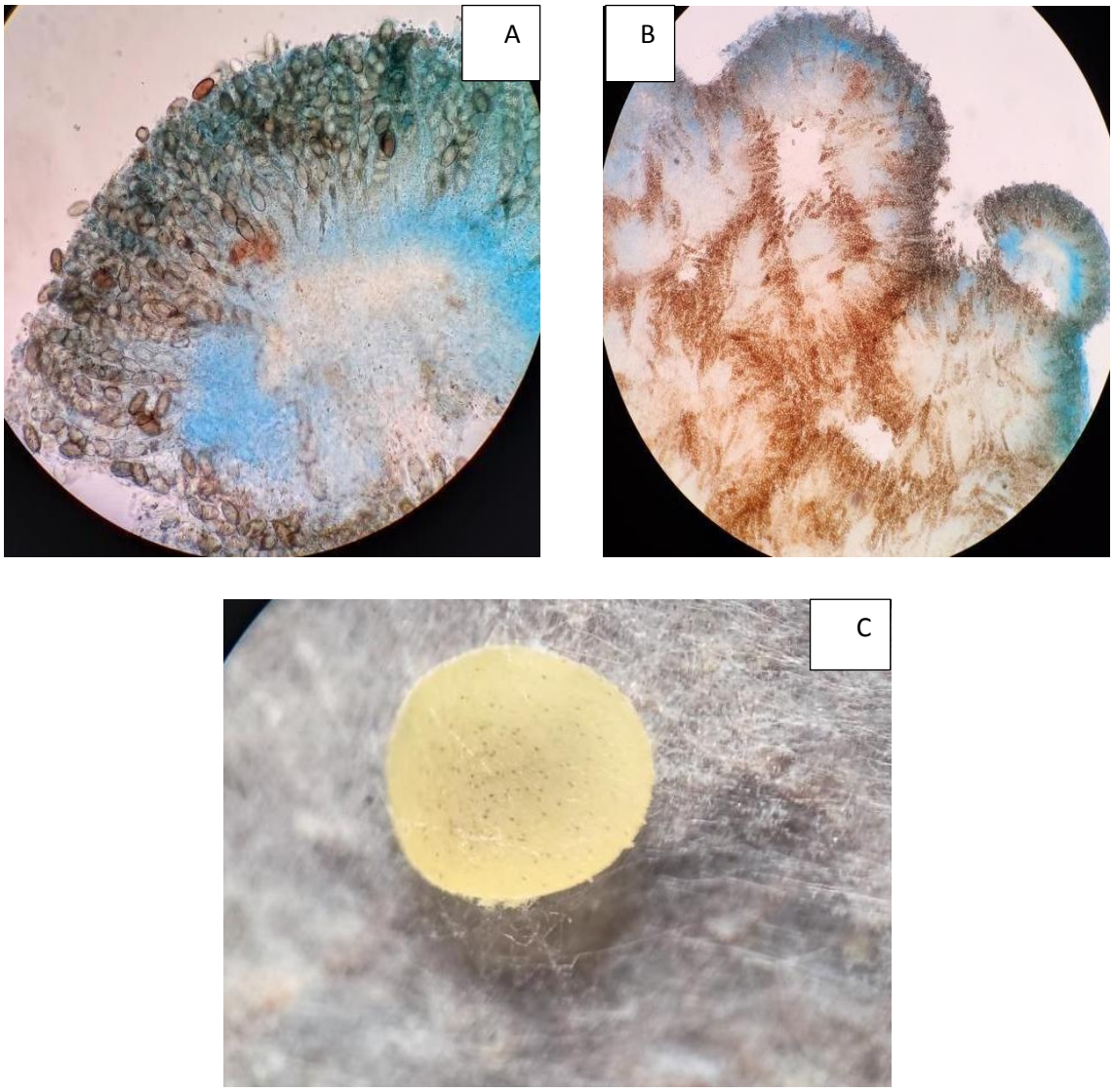
الشكل الخارجي للجسم الثمري املس قرصي الشكل وذو لون ابيض محدب قليلا ، تضم الاكياس البوغية ثمانية ابواغ واحيانا 3 الى 6 ابواغ كيسية ابعادها 110 -100x 70-20 مايكرومتر محاطة بغلاف جيلاتيني سريع الزوال ، تظهر بلون شفاف قبل النضج ثم تتحول الى اللون البنفسجي عند النضج وذات شكل بيضوي او اهليليجي ، وقد اتفقت هذه النتيجة مع (Doveri , 2014) ، كما في الشكل (C,B,A:7).ظهر هذا الفطر على عينات روث الابقار التي جمعت من الكحلاء والمشرح والعمارة .



الشكل (7) : ***Ascobolus aglaosporus*** **: A, B اكياس بوغية , C جسم ثمري منفجر .**

A. crenulatus P. Karst. .4

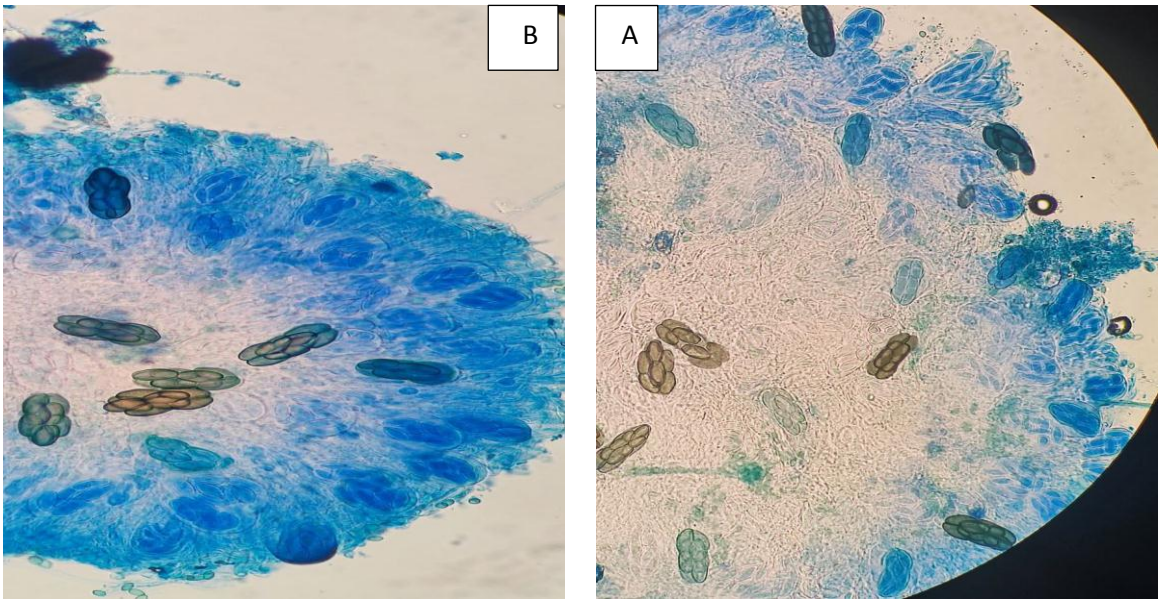
يمتاز بان الاجسام الثمرية ذات لون اخضر مصفر وقطر اقل من 1.8 ملم مسطحة الشكل عند مرحلة النضج مع وجود نقطة مركزية تساعد على الالتصاق ، الاكياس البوغية اسطوانية الشكل ابعادها 15-12 x135-200 مايكرومتر ، الابواغ الكيسية صغيرة نسبيا شبه اسطوانية ذات لون اخضر مصفر . اتفقت هذه النتيجة مع (Richardson, 2011) ، كما في الشكل (C, B,A:8) . عزل الفطر من روث الابقار للعينات التي جمعت من الكحلاء والمشرح ومركز العمارة .



الشكل (8): *Ascobolus crenulatus* : A اكياس بوغيه ,B جسم ثمري منفجر ,C جسم ثمري .

5. *Saccobolus citrinus* Boud and Torrend *1911*

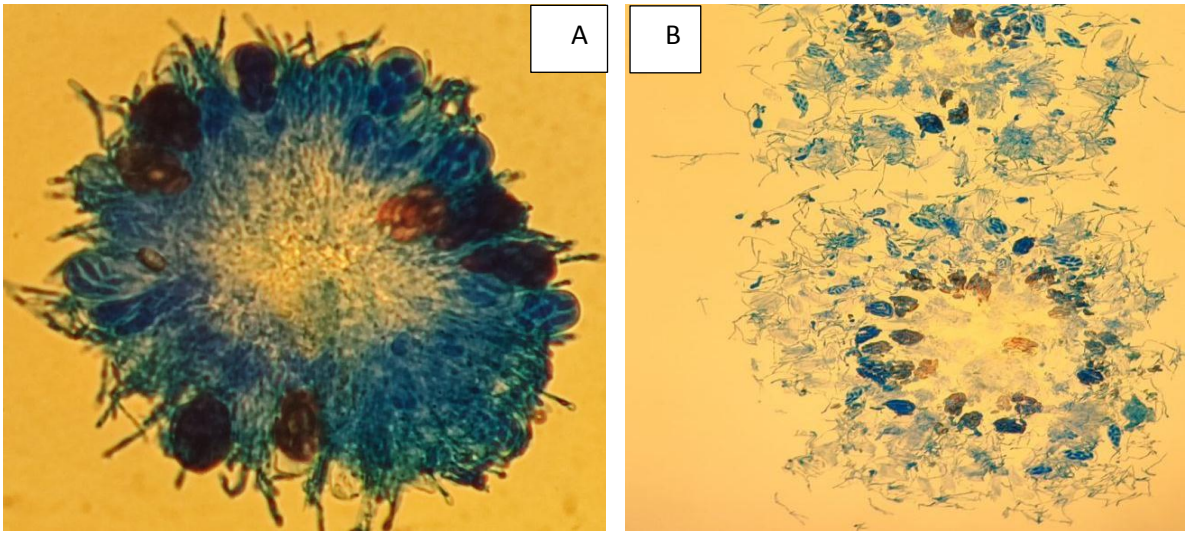
يمتاز بان الاجسام الثمرية تكون سطحية قرصية الشكل محدبة ذات لون اصفر مع وجود نقاط بنية او سوداء داكنة تمثل الاكياس الناضجة ، الاكياس شفافة صولجانية الشكل تضم ثمانية ابواغ كيسية اهليليجية او بيضوية الشكل ذات لون بنفسجي بالبداية ثم تتحول الى اللون البني مزودة بجدار سميك يزين بالأخاديد او الثآليل ابعادها 9-8 x 21-17 مايكرومتر ، تحاط الابواغ بكتله جيلاتينية سميكة تتحرر منها الابواغ بشكل كتلة وتحتاج الى بعض الوقت لكي تنفصل عن بعضها البعض ، توافقت هذه النتيجة مع (Mungai *et al*., 2012 ; العبد ،2014) ، كما في الشكل (B,A:9). ظهر في عينات روث الابقار والاغنام الي جمعت من المشرح والعمارة.



الشكل (9) : ***Saccobolus citrinus*** **: A اكياس بوغيه ,B جسم ثمري .**

6. *S. globuliferellus* Seaver ,N. Amer .(Opercul) 95 .1928 .

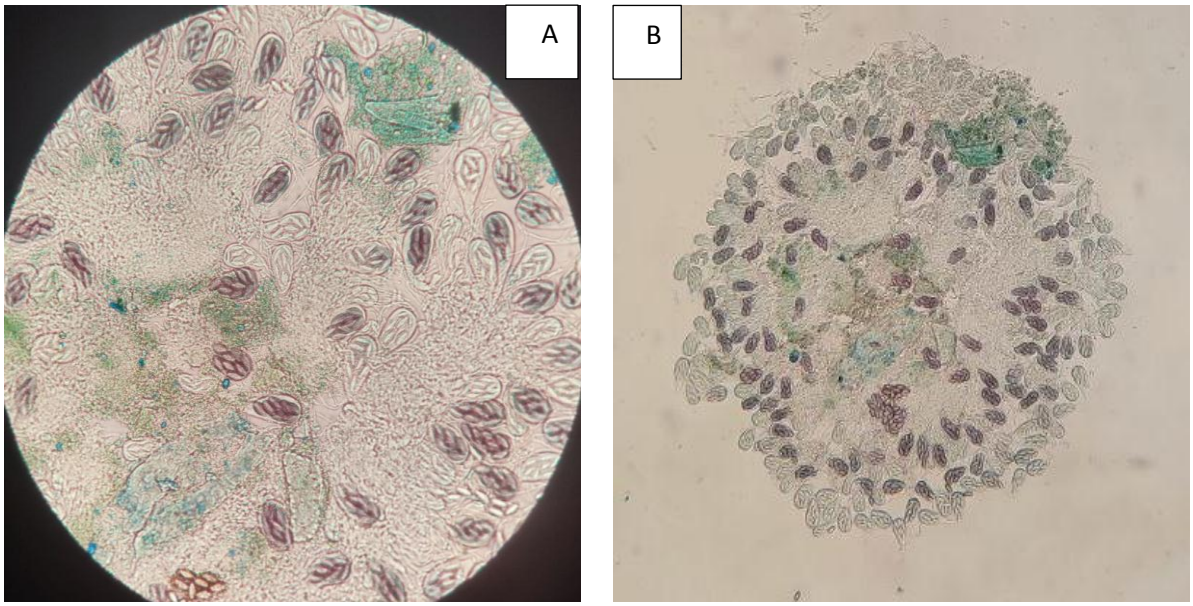
الاجسام الثمرية مبعثرة ومسطحة ملساء قطرها من 0.3-0.4 ملم، الاكياس البوغية بيضوية الشكل من الاعلى مستدقة بالقرب من القاعدة يصل طولها الى 60 مايكرومتر وقطرها يتراوح بين 22-25 مايكرومتر تحتوي على ثمانية ابواغ كيسية ذات لون شفاف في البداية ثم يتحول الى ازرق فاتح واخير الى اللون الاسود تتحرر من الاكياس بشكل كتله تحتاج الى فترة زمنيه لكي تنفصل عن بعضها الآخر ، اتفقت النتيجة مع ما توصل اليه (Coué ,2006) ، كما في الشكل (B,A:10). عزل هذا الفطر من عينات روث الابقار والاغنام التي جمعت من كافة المناطق المدروسة.



الشكل (10) : ***Saccobolus globuliferellus*** **: A اكياس بوغيه B، اجسام ثمريه متفجرة .**

S. glaber (Pers) Lambotte , Fl. Mycol. Belg , suppl.1: 284(1887) .7

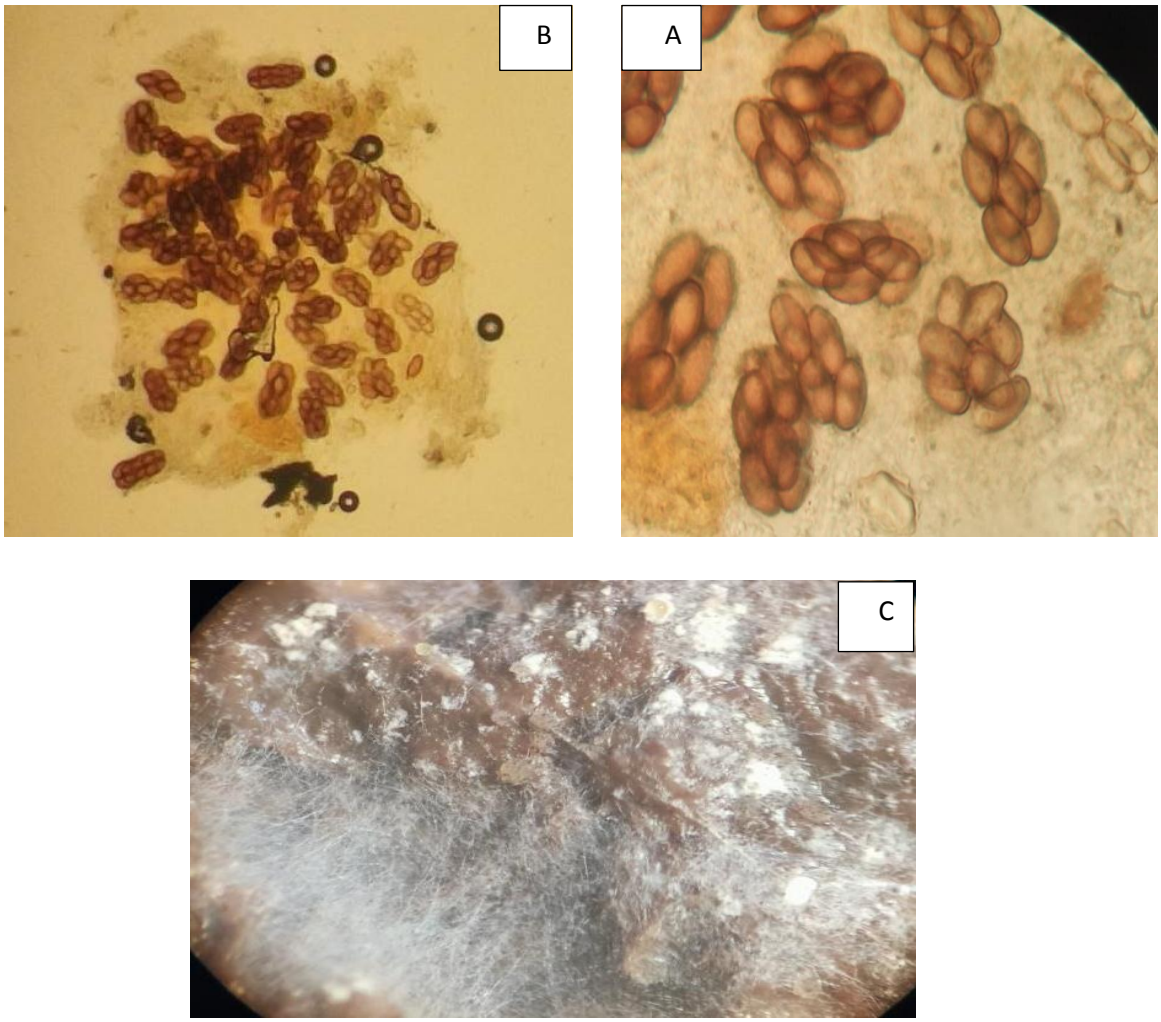
الاجسام الثمرية سطحية مبعثره بشكل فرادى او متجمعة قطرها ما بين 1- 2 ملم ، التخت كروي ذو حافة ملساء اصفر ذهبي او كهرماني ، الاكياس البوغية ابعادها 270-150 x 48-25 تضم ثمانية ابواغ محاطة بغلاف جيلاتيني سميك ، الابواغ الكيسية مغزلية الشكل وغالبا ما تكون غير متماثلة في البداية تكون شفافة اللون ثم تصبح بنفسجي ورديه او بنفسجية بنية ابعاده 20-14.5x 16 -8.5 مايكرومتر . اتفقت نتاجنا مع (Doveri ,2014) ، كما في الشكل (B,A:11) . ظهر هذا النوع في كافة مناطق الدراسة على عينات روث الاغنام والابقار .



الشكل (11): *Saccobolus glaber* : A اكياس بوغيه B جسم ثمري منفجر .

S. truncatus Velen. 1934 .8

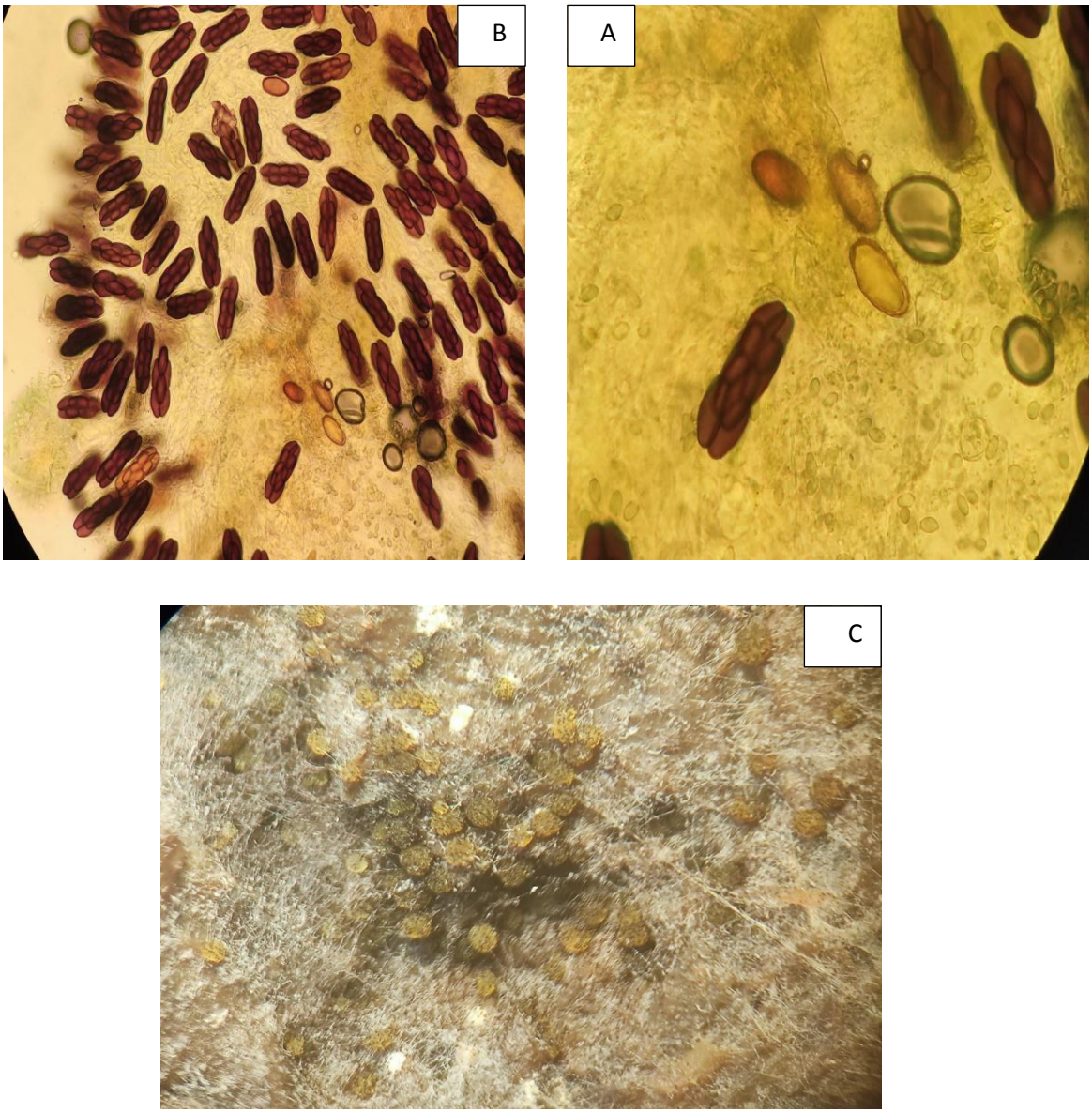
يمتاز بان الاجسام الثمرية تكون جالسة سطحية متجمعة او مبعثرة بشكل فردي قطرها اقل من 0.5 ملم ذات لون اصفر الى بني باهت ، التخت بيضوي الشكل اصفر اللون املس ، الاكياس البوغية صولجانية قمتها دائرية مسطحة مستدقة باتجاه الاسفل ابعادها 28-18 x 120-70 مايكرومتر ، الابواغ الكيسية ذات جدار سميك بيضوية او مغزليه الشكل ذات نهاية مقطوعة تكون في البداية شفافة ثم تصبح عند النضج بنية ، ملساء واحيانا مزينه بنقاط دقيقة ابعادها 9.5- 7.5 x 18.5-12 مايكرومتر ، وقد اتفقت هذه النتيجة مع (Mungai *et al*., 2012 ; العبد ،2014) ، كما في الشكل (C, B, A :12) . ظهر على عينات الروث في الاغنام والابقار في موقع العمارة.



الشكل (12) : *Sacobolus truncates* A اكياس بوغيه ,B جسم ثمري متفجر ,C اجسام ثمرية على الروث .

9. *S. minimus* .Vel .,Monogr .Disco.Boh 1: 370 (1934) .

الاجسام الثمرية مسطحة جالسه مفردة او متجمعة يبلغ قطرها 0.2 ملم ، التخت بيضوي الشكل في البداية ثم ينتفخ بشكل وسادة كهرماني او اصفر ذهبي ذو حافة ملساء ، الاكياس البوغية صولجانية الشكل مستدقة من الاسفل ابعادها 75-55 x 18- 15 مايكرومتر محاطة بغلاف هلامي ، الابواغ الكيسية مغزليه او اهليليجيه ذات لون شفاف في البداية ثم تصبح قرنفلية اللون عند النضج ابعادها 16-11 x 9-6 مايكرومتر، ملساء او مزينه بنقاط دقيقة، اتفقت هذه النتيجة مع العطبي (1990) ، كما في الشكل (C,B,A:13) . ظهر على عينات روث الابقار والاغنام في الكحلاء والمشرح .

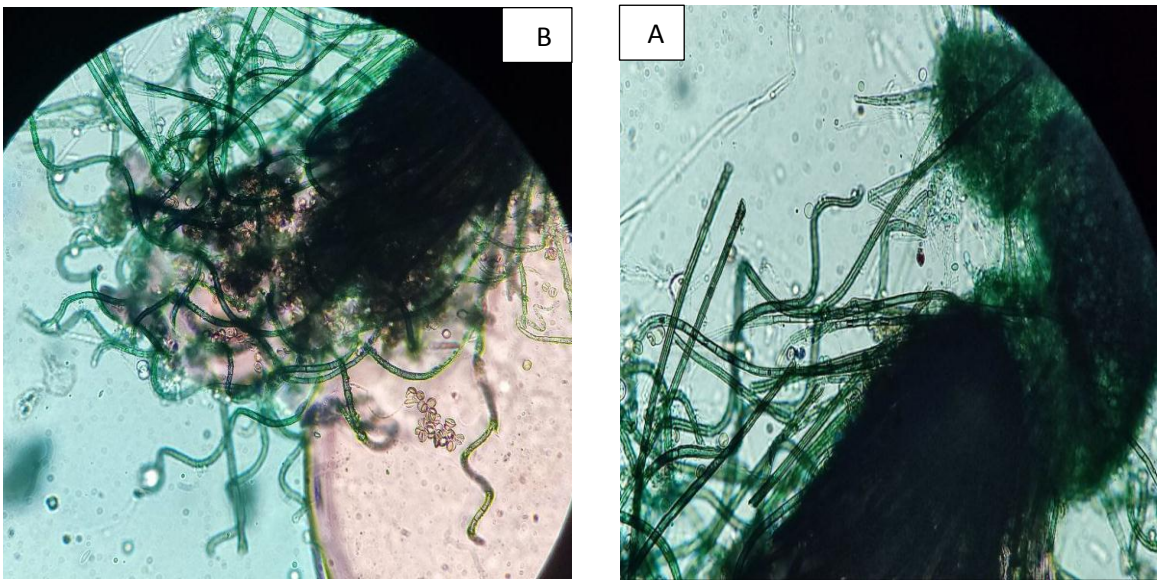


الشكل (13) : ***Sacobolus minimus*** **A: اكياس بوغيه , B جسم ثمري منفجر ,c اجسام ثمرية على الروث.**

.10 .1877 .Zopf . ***Chaetomium bostrychodes***

الاجسام الثمرية تكون في البداية ذات لون رمادي فاتح ثم تتحول بمرور الوقت الى الرمادي الغامق ثم الى البني ، شكلها برميلي او بيضوي ، الشعيرات الي تظهر على القاعدة اعدادها قليليه بنية اللون قطرها 3.4 مايكرومتر ، الشعيرات القميه بنيه ملتفة من الجزء العلوي يتراوح عدد لفاتها بين 7 الى 8 لفه مع نهاية حرة تظهر بشكل مستقيم ومستقيمة في الجزء القاعدي ، الاكياس البوغية تضم ثمانية ابواع كيسية اهليليجية الشكل مدببة من لطرفين بشكل خفيف مزودة بثقب قمي تظهر بلون زيتوني عندما تصبح ناضجة ، ابعادها 11 - 9.5 x 8 - 6.5 مايكرومتر ، وقد توافقت النتيجة مع (Mungai *et al*., 2011

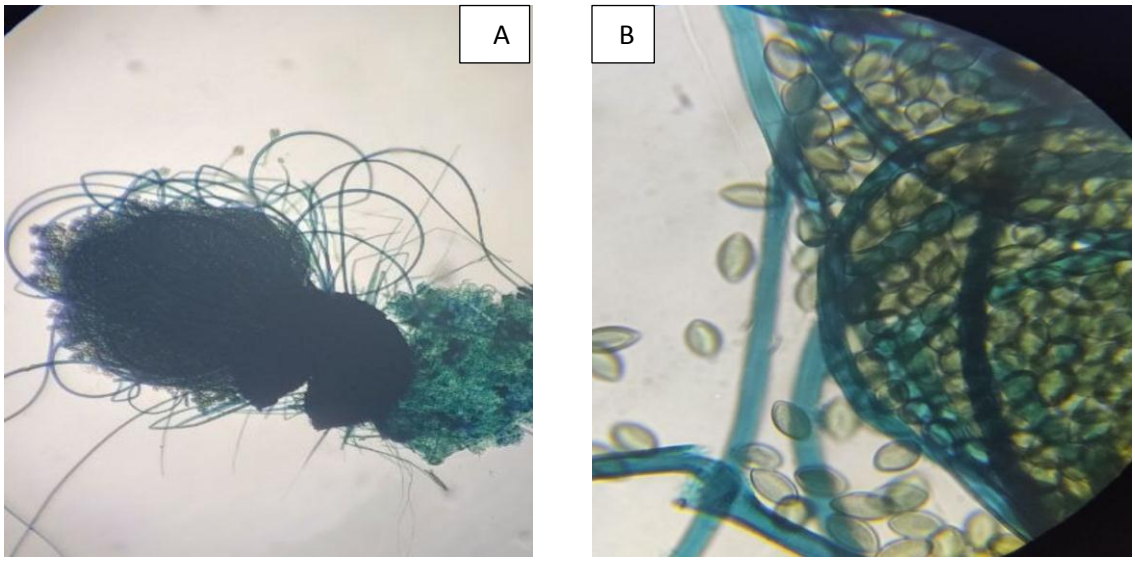
; العبد ،2014)، كما في الشكل (B,A:14). ظهر على عينات روث الاغنام في موقع الكحلاء والعمارة.



الشكل (14):*Chaetomium bostrychodes* : A اجسام ثمريه مزودة بشعيرات، B جسم ثمري منفجر .

11. *C. murorum* .Corda . 1837 .

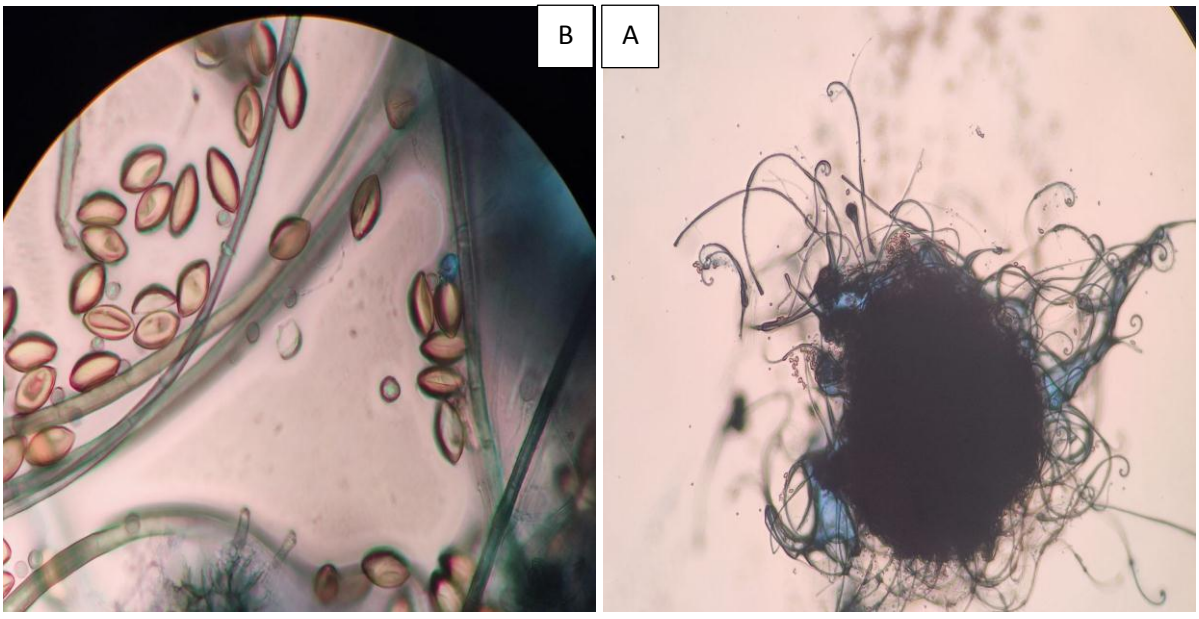
الجسم الثمري بيضوي الشكل رمادي الى رمادي مزرق مزود بشعيرات متموجة وطويلة في البداية ثم تصبح منحنية او تلتف بشكل دائري يتراوح قطرها بين 4 الى 4.5 مايكرومتر ، الشعيرات القاعدية تتميز بلون غامق عند القاعدة ، الاكياس البوغية صولجانية الشكل تضم بداخلها ثمانية ابواغ كيسية مغزليه او ليمونية الشكل ذات لون داكن عند النضج مدببة من الطرفين ذات ثقب قمي الموقع ابعادها - 7 14.5- 13 x 7.5 مايكرومتر ، توافقت النتيجة مع (Doveri, 2011 ; العبد ، 2014) ، كما في الشكل (B,A:15). ظهر هذا النوع على عينات روث الاغنام التي جمعت من الكحلاء والعمارة .



الشكل (15):*Chaetomium murorum* : A جسم ثمري مزود بشعيرات ,B ابواغ .

12 . *C. cephalothecoides*

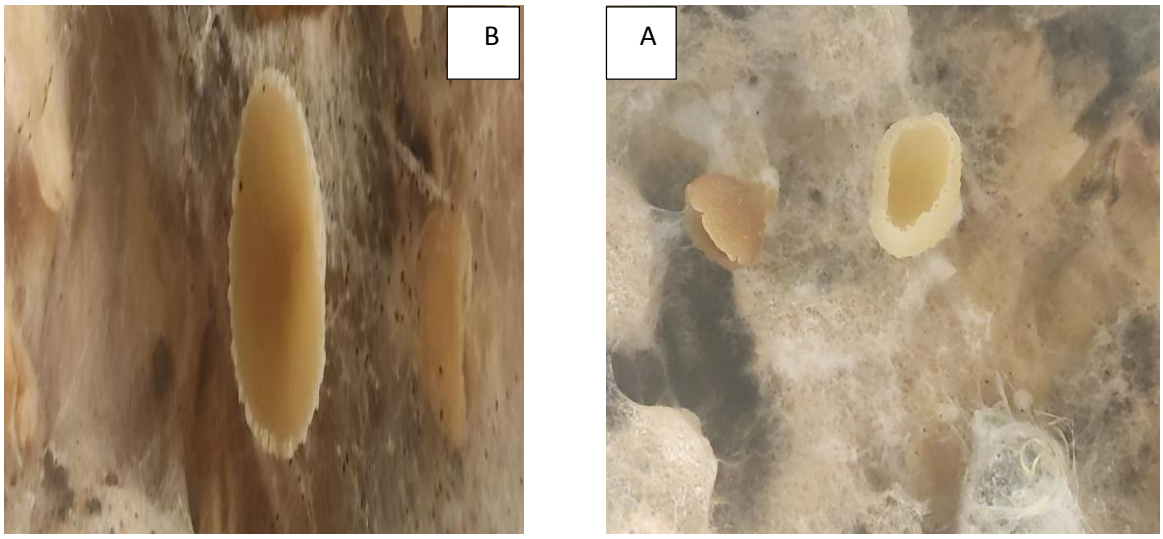
الجسم الثمري كروي الى شبه كروي ذو لون اسود داكن ، مغطى بالشعيرات الطويلة غير المتفرعة ، البعض منها ذات استدارة قليلة عند الطرف بينما البعض الآخر تكون مستقيمة النهايات تقريبا ،الاكياس شفافة بيضوية ، الابواغ الكيسية بيضوية او مغزليه الشكل تقريبا ، ذات لون بني ، وقد اتفقت نتائجنا مع ما توصل اليه (Khiralla,2007) ، كما في الشكل (B,A:16). ظهر على عينات روث الاغنام في جميع مناطق الدراسة.



الشكل (16) : *Chaetomium cephalothecoides* : A جسم ثمري مزود بشعيرات , B ابواغ .

13. *Peziza fimeti* (Fuckel .) Seaver , N, Amer .cup fungi 232 :(1928)

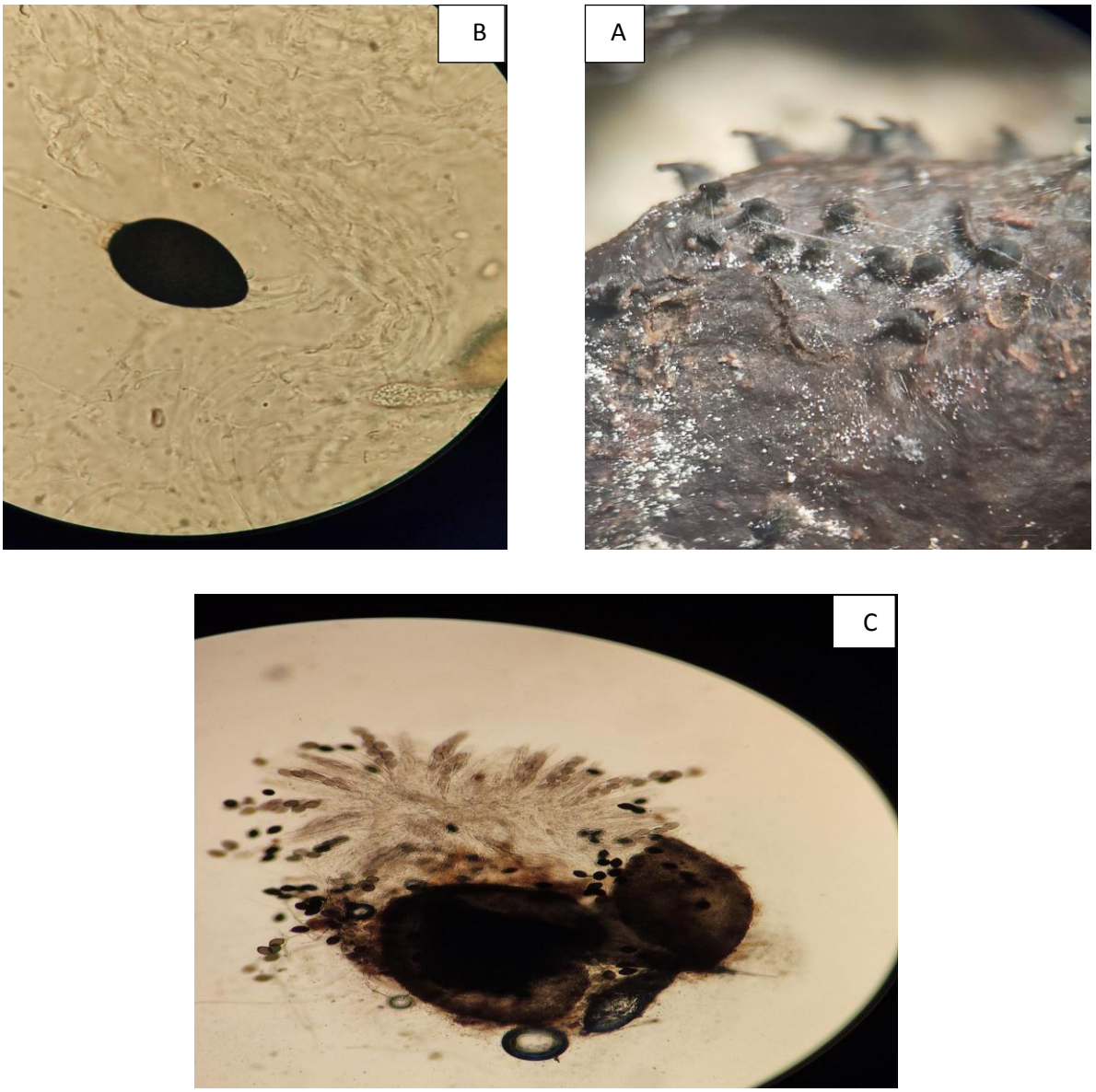
الاجسام الثمريه جالسة مفردة او مجتمعة ذات عنق قصير في البداية تكون شبه كروية بيضاء ثم تتحول الى كروية قهوائية اللون وعندما يكبر القرص يتقعر ثم يتحدب ، الاكياس البوغية اسطوانية واحيانا شبه اسطوانية ابعادها 270- 230 x 15-19 مايكرومتر تحتوي على ثمانية ابواغ كيسية اهليليجة الشكل ملساء شفافة ابعادها 18-23 x 8-10 مايكرومتر ، توافقت النتائج مع (العطبي ، 1990 ; 2013, Adhikari) ، كما في الشكل (B,A:17). ظهر على عينات روث الابقار في الكحلاء والعمارة .



الشكل (17): *Peziza fimeti* : A اجسام ثمريه حديثه , B اجسام ثمريه ناضجة

14. *Podospora communis* (speg). Neissle ,1883 .

يمتاز هذا النوع بان الاجسام الثمرية كمثرية الشكل، لونها بني غامق مغطاة بشعيرات عند النضج ، ذات عنق اسطواني او مخروطي ، مبعثره او متجمعة سطحية او نصف مغمورة في الوسط ، ابعادها تتراوح بين 795-670 x 450-355 مايكرون . الاكياس صولجانية تضم ثمانية ابواغ كيسية مرتبة في صفين زيتونية الى بنية غامقة اهليليجية الشكل ، ابعادها 30-28 x 22-19 ما يكرون ، تنتهي بزوائد هلامية شفافة من كلا الطرفين . توافقت نتائجنا مع (الحبيب ، 1988 ; العبد ، 2014) ، كما في الشكل (C,B,A:18) . ظهر على عينات روث الاغنام في الكحلاء والعمارة .

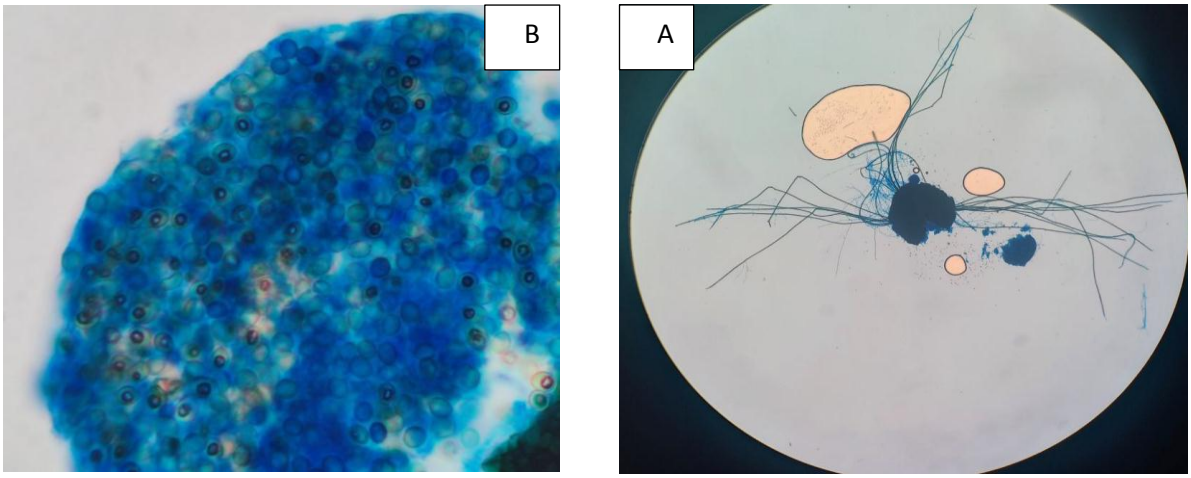


الشكل (18) : ***Podospora communis*** **: A اجسام ثمرية نامية على الروث , B بوغ , C جسم ثمري منفجر .**

Kernia nitida **(sacc).Nieuwland .Amer .1916 .15**

الجسم الثمري بيضوي او شبه كروي مضلع ابعاده 325-100 x 170-140 ميكرون ، تتواجد الاجسام الثمرية بشكل مبعثر ، وذات لون اسود مغطاة بعدد من الزوائد الشعرية ذات اللون الرصاصي او الاسود ،طويلة ملساء غير متفرعة احيانا تلتف نهاياتها بشكل دائري . الاكياس شفافة بيضوية او شبه كروية قطرها يتراوح بين 210-260 ميكرون تحتوي على ثمانية ابواغ كيسية ذات لون بني او اصفر عندما تصل الى مرحلة النضج ، تحتوي على فقاعة غازية وثقب قمي الموقع ، ابعادها 5.5-5 x 4.5- 3.5

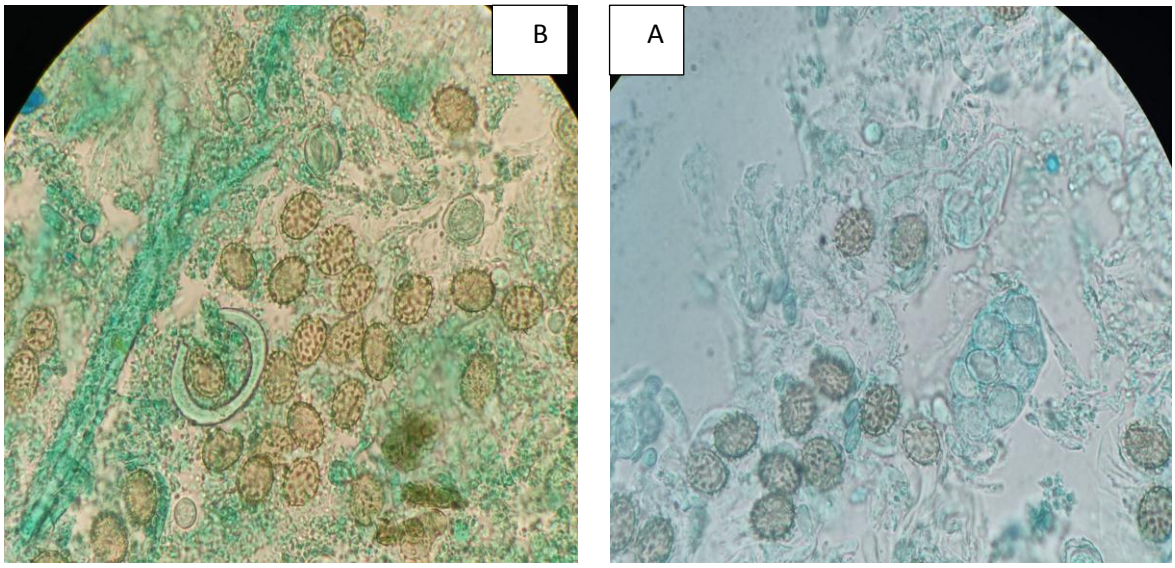
ميكرون . اتفقت نتائجنا مع (الحبيب ، 1988 ; Guarro *et al* .,2012 ; العبد ، 2014 ; Jasim ,2022) ، كما في الشكل (B,A:19) . ظهر على عينات روث الابقار في العمارة والمشرح .



الشكل (19): *Kernia nitida* A: جسم ثمري مزود بشعيرات , B ابواغ .

16. *Ascodesmis nigricans* Van .sac . fr .1876 .

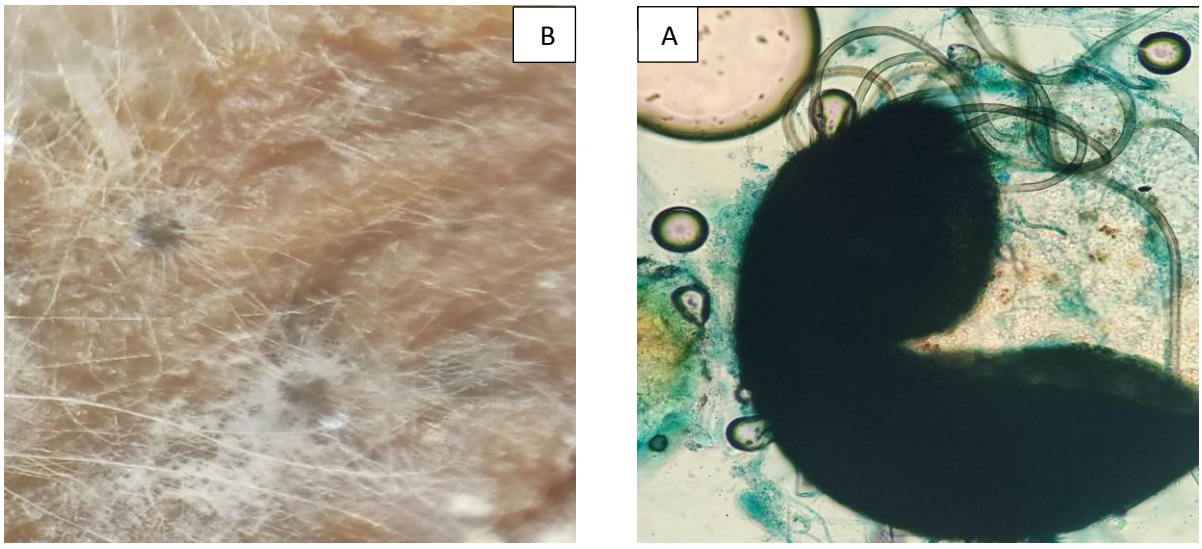
الجسم الثمري يكون كأسي الشكل شفاف يحتوي على اكياس بشكل عناقيد ذو قطر يتراوح بين 90-175 ميكرون . الاكياس بيضوية او صولجانية الشكل ابعادها 45-57 x 20-27 ميكرون رقيقة الجدران تتضخم قليلا عند اقتراب موعد انطلاق ابواغها ، الابواغ الكيسية كروية شفافة اللون عندما تكون فتية ويتغير لونها ليصبح بنيا عند النضج ، ابعادها 12-13 x 9-11 ميكرون مرتبة بشكل غير منتظم واحيانا ترتب في صفين ، يكون طول البوغ اكبر قليلا من عرضه ، كما ان الابواغ تمتاز بانها مزودة بأشواك بارزه . اتفقت النتيجة مع (الحبيب ، 1988 ; العطبي ، 1990; Nguyen *et al* ., 2018) ، كما في الشكل (B,A:20). ظهر على روث الابقار في المشرح والكحلاء .



الشكل (20) : *Ascodesmis nigricans* A: اكياس بوغيه , B جسم ثمري منفجر.

17. *Zopfiella* sp.

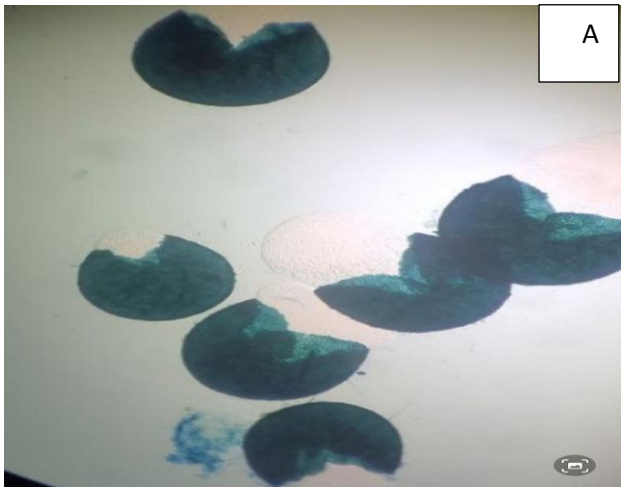
الاكياس الثمرية سوداء متطاولة تكون شبه مغمورة تنتهي بشعيرات ملساء شفافة ،كيس الابواغ شفاف سريع الانحلال يضم ثمانية ابواغ كيسية مرتبة بشكل غير منتظم ليمونية الشكل تقريبا ، في البداية تكون وحيدة الخلية ثم تتحول في وقت لاحق الى خليتين احدهما علوية والاخرى سفلية تختلفان في ابعادهما ، كما في الشكل (C,B,A :21). ظهر على عينات روث الابقار التي جمعت من مناطق الكحلاء والعمارة .



الشكل (21) : A: *Zopfiella* sp. كيس ثمري ,B اكياس ثمرية منتشرة على الروث ,C ابواغ .

18. *Nigrosabulum globosum*

من الانواع الي تمتلك تشقق غير منتظم ، سوداء اللون ، واكياس بوغية سريعة الزوال وصغيره ، البعض منها يستطيل ليعطي شكلا اسطوانيا بينما البعض الآخر يبقى محتفظا بالشكل الكروي ، ويعزى السبب في ذلك الى حجم المساحة الضيقة وتزاحم هذه الاكياس داخل المركز ، واتفقت هذه النتائج مع (Plishka *et al.*, 2009) ، كما في الشكل (A: 22). ظهر على روث الاغنام في جميع المواقع المدروسة .

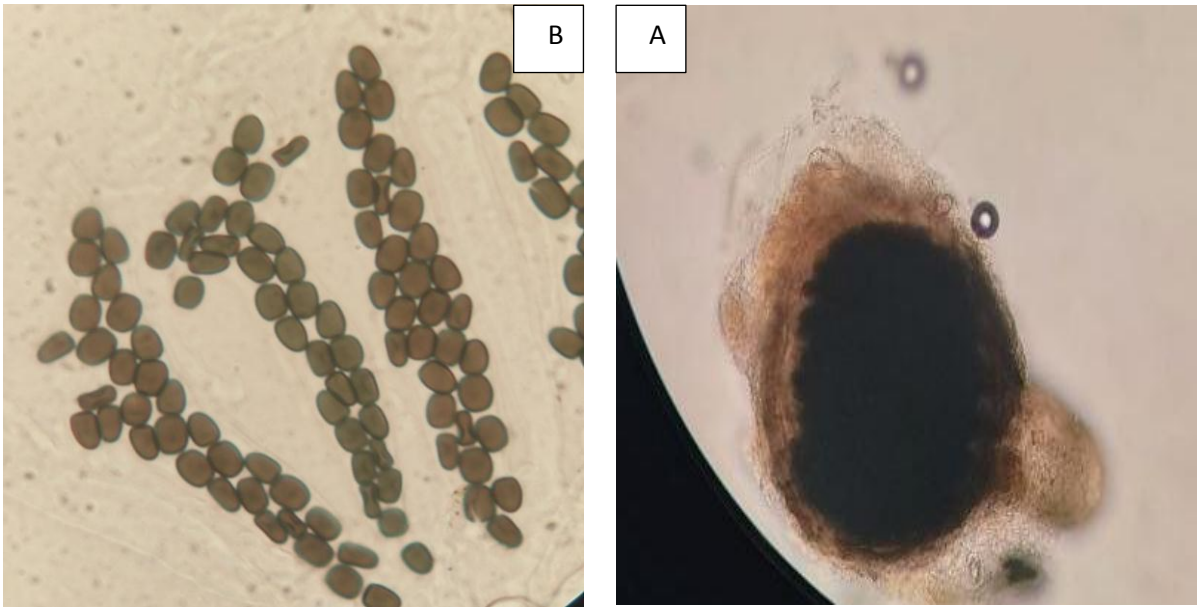


الشكل (22) : *Nigrosabulum globosum* . A اكياس ثمرية منفجرة .

19. *Sporomiella leporina* .Ahmed and Cain .1974

الاجسام الثمرية تكون مغمورة عندما تكون فتية ، وشبه مغمورة عند النضج ، وتكون اما مبعثرة او مجتمعة ، ابعادها 320-200 x 250- 160 ميكرون ، ذات لون بني غامق الى اسود ، كمثرية الشكل

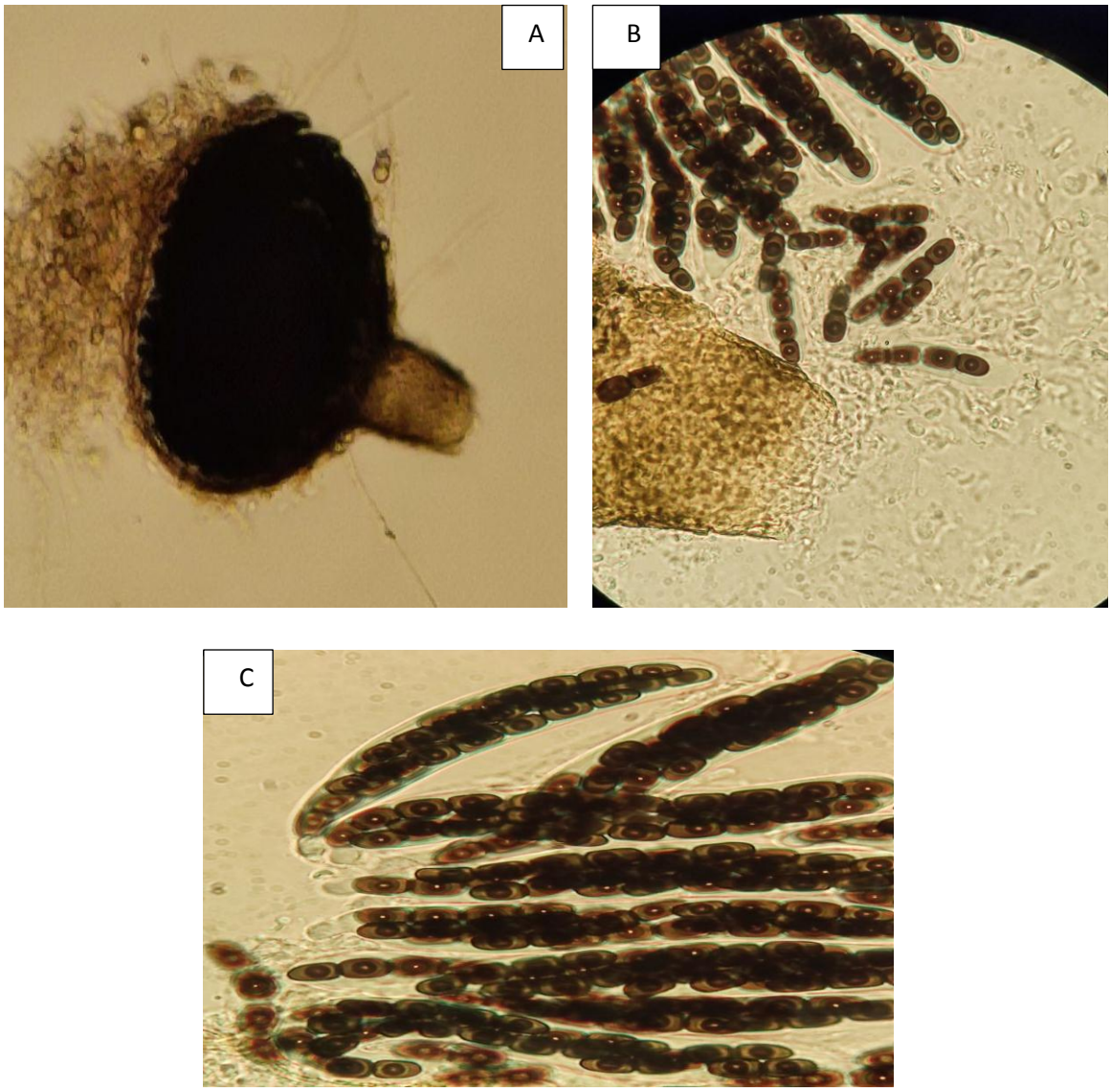
ذات عنق قصير اسطواني الى حلمي الشكل ، ونادرا ما يتضخم عند القمة مع وجود انحناء طفيف ، الاكياس اسطوانية ، ابعادها 156-92 x 16-11 ميكرون تضم بداخلها ثمانية ابواغ كيسية مكونة من اربع خلايا متساوية الحجم بنية اللون اسطوانية الشكل تقريبا ، ابعادها 35.5- 6.5 X30 -5.5 ميكرون، وقد اتفقت هذه النتيجة مع (Mungai *et al.*,2012 ; Melo *et al.*, 2017)، كما في الشكل (B,A:23)، ظهر على روث الاغنام في العينات التي جمعت من الكحلاء والمشرح .



الشكل (23) : *Sporomiella leporina* : A جسم ثمري , B ابواغ .

20. *S. minima* (Auersw) Ahmed and Cain .1972

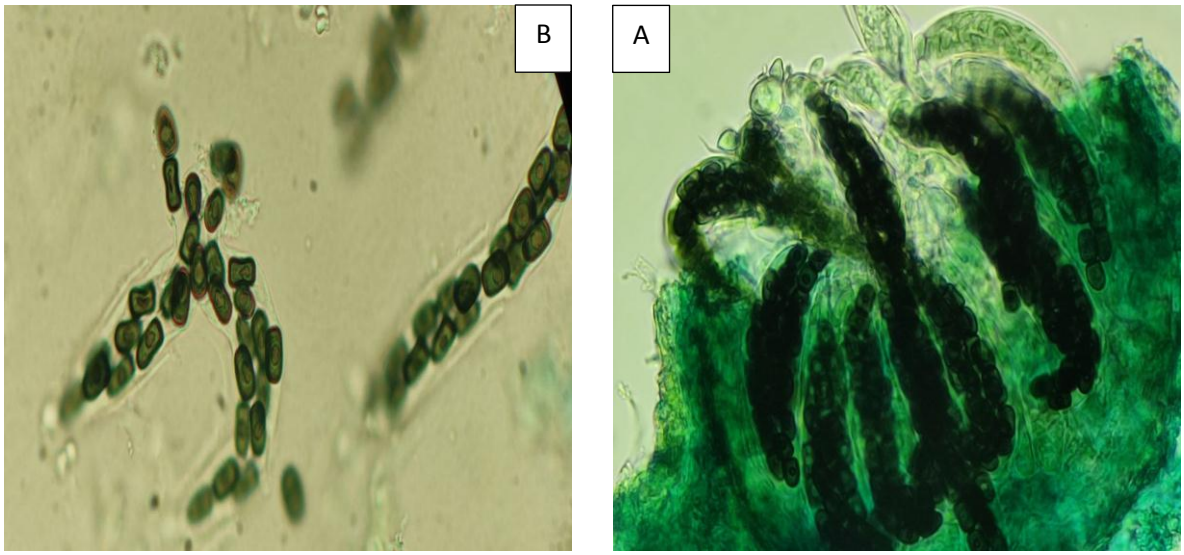
لوحظ من خلال هذه الدراسة ان الاجسام الثمرية مبعثره او متجمعة ، مغمورة في الروث عندما تكون فتية وتصبح سطحية الى شبه مغمورة عند النضج ، شبه كروية بنية غامقة الى سوداء ، ذات عنق قصير حلمي الشكل ، الاكياس اسطوانية الشكل ذات قمة عريضة او مدورة تضيق من الاسفل تنتهي بسويق قصير ، ابعادها 135-125x 19-16 ميكرون ، الابواغ الكيسية مرتبة بصفوف ثنائية او ثلاثية ابعادها 36-32x 6-5 ميكرون وفيها اربعة خلايا بنفس الحجم ذات لون بني الى داكن ،وتحاط الابواغ بمادة جيلاتينية رقيقة ،يعد هذا الفطر من الفطريات المسجلة بالعراق منقبل الحبيب (1988) ، وقد اتفقت نتيجتنا مع ما توصل اليه (Melo *et al.*, 2017) ، كما في الشكل (C,B,A:24) . ظهر في عينات روث الاغنام التي جمعت من الكحلاء والعمارة .



الشكل (24) : *Spormiella minima* A جسم ثمري ,B جسم ثمري منفجر ,C اكياس بوغيه .

Preussia sp .21

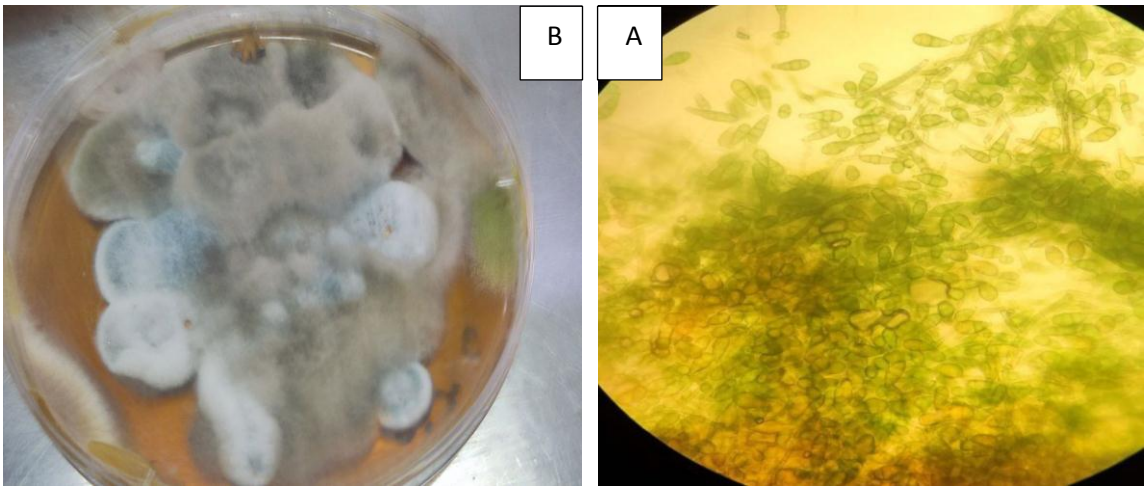
اظهرت النتائج ان الاجسام الثمرية لهذا الفطر مبعثره او متجمعة ، الاكياس اسطوانية الشكل ذات قمة عريضة او مدورة تضيق من الاسفل تنتهي بسويق قصير ، الابواغ الكيسية مرتبة بصفوف ثنائية او ثلاثية ، كما في لشكل(B,A:25).ظهر هذا الفطر على عينات روث الابقار في موقع العمارة والكحلاء .



الشكل (25) : *Preussia* sp : A جسم ثمري , B اكياس بوغيه .

22 . *Alternaria alternata* (Fr.) .Keisser 1912

لوحظ ان المستعمرات تكون سريعة النمو على الاوساط الزرعية ذات لون اخضر زيتوني مائل الى السواد الحافات بيضاء اللون يصل قطرها بعد اسبوع من النمو الى 9 سم واسفل المستعمرات محاط بدائرة بنية غامقة ، الحامل الكونيدي متفرع او بسيط وينشأ بشكل مفرد او من مجاميع صغيرة يصل ارتفاعة الى حوالي 50 مايكرومتر ، الكونيدات متطاولة الشكل مفرد او مقيدة بسلاسل اما ان تكون ملساء او تحتوي على ثآليل في البداية ذات لون اصفر بني ثم تتحول الى بني اسود ، اتفقت نتائجنا مع (الحبيبب ،1988 ; Zhang *et al.*, 2023) . كما في الشكل (B,A:26).ظهر على عينات روث الاغنام في جميع المواقع المدروسة .

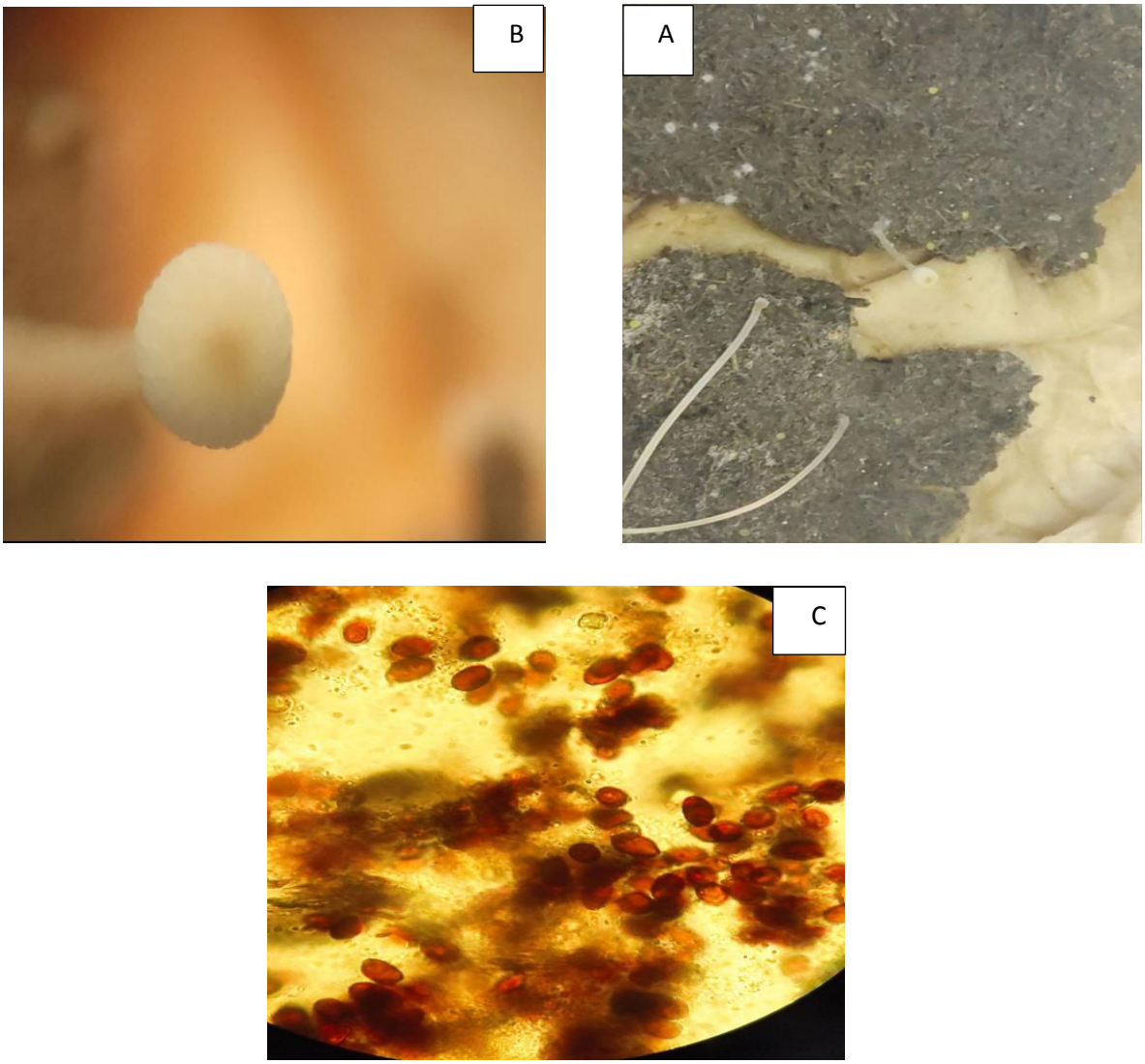


الشكل (26) : *Alternaria alternata* : A ابواغ , B مستعمرات الفطر على الوسط الزرعي .

4.1.3. الفطريات البازيدية Basidiomycota

1. *Coprinopsis radiata* . (Bolton: Fr.) Redhead, Vils and Mon in *Taxon* 50(1):230,2001.

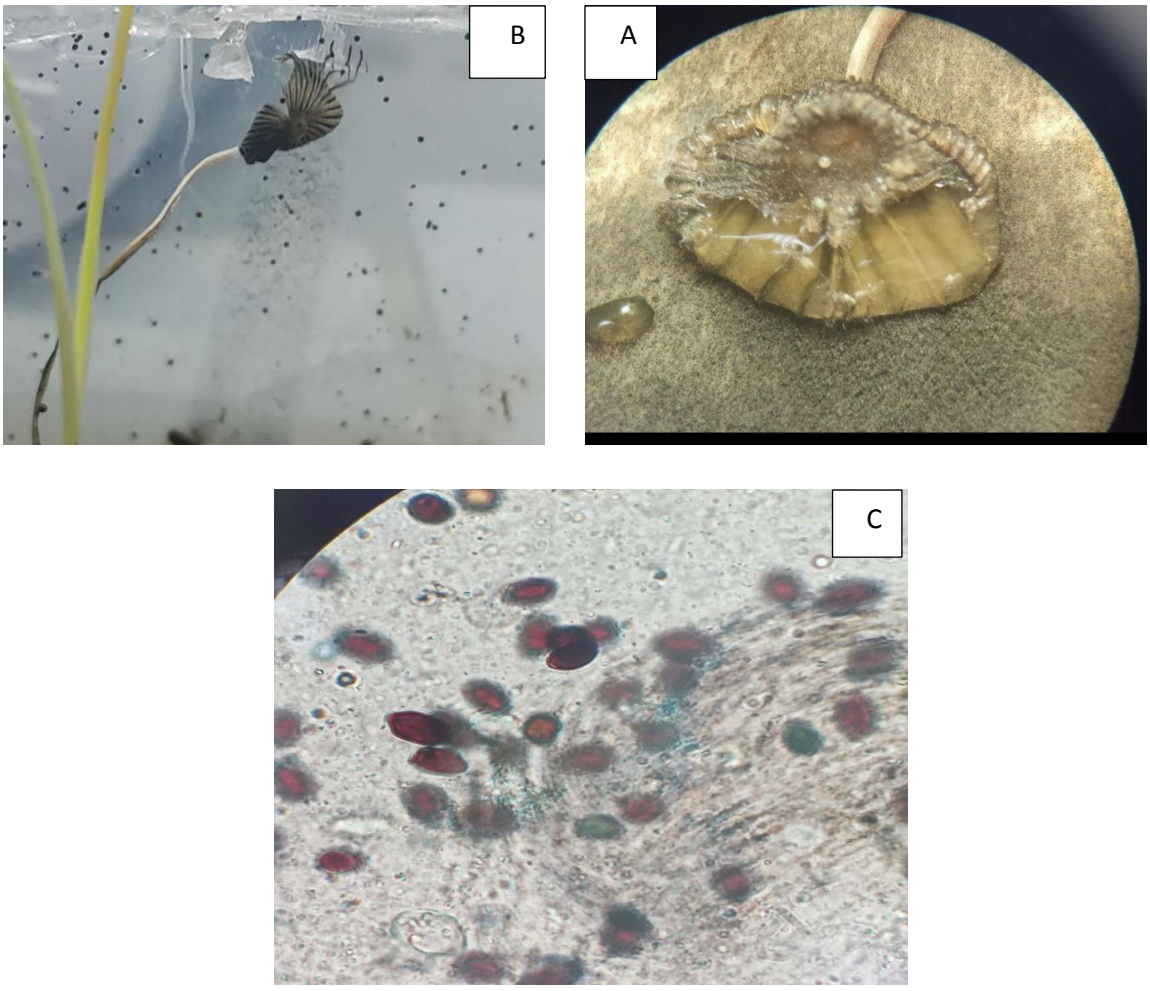
يمتاز بأن ال Carpophores صغير ويصل ارتفاعه الى حوالي 5 سم ، pileus تكون واسعه يتراوح عرضها بين 2.9–2.7 ، الابواغ البازيدية اهليليجية سميكة الجدران ذات لون بني محمر غامق الى بني مسود ابعادها 7.5- 6.5 X 14-10 مايكرومتر مزودة بثقب للإنبات germ pore مركزي الموقع ،الغلاصم Gills تكون متقاربه مع بعض مع بعضها ذات لون فاتح في بداية تكونها بينما تصبح ذات لون رمادي الى الاسود عندما تنضج الابواغ ، اتفقت النتيجة مع ما توصل اليه Amandeep *et al.*, (2014) ، كما في الشكل (C,B,A:27) . ظهر على روث الابقار في العينات التي جمعت من الكحلاء والمشرح .



الشكل (27): *Coprinopsis radiate* : A نمو فطري على الروث , B Pileus , C ابواغ .

2. *Coprinopsis stercorea* (fries) Vils and Mon in Taxon 50(1):231,2001

يمتاز بان القبعة Cap تكون عريضة دائرية الشكل يتراوح عرضها من 4 – 10 ملم ، السطح ابيض الى رمادي فاتح مع وجود بعض الشعيرات عند حافتها ،الغلاصم الموجودة في الصفيحة متقاربة مع بعضها شفافة في المراحل الاولى من النمو لكن عند النضج تصبح سوداء ، الحامل stipe يبلغ طوله حوالي 3 سم وسمكه يتراوح بين 0.5-1 ملم يكون مجوف ذو سطح رطب ذو لون يتراوح بين الابيض الى الرمادي الفاتح ، تغطى بعض اجزاءه بالشعيرات ماعدا الجزء القاعدي ، الابواغ البازيدية ملساء ذات ابعاد 10-14 x 6-7.5 مايكرومتر ذات لون اسود تحتوي على germ spore مركزي الموقع ، اتفقت نتائجنا مع (Keirle *et al*., 2004 ; Desjardin and Stevevns, 2015) ، كما في الشكل (C,B,A:28) . من الانواع التي ظهرت على روث الاغنام في العمارة والمشرح .



الشكل (28) : *Coprinopsis stercorea* A القبعة والغلاصم ,B القبعة والابواغ المتناثرة منها,C ابواغ.

3. *Parasola misera* (P.Karst) Redhead Vilgalys and Hopple

من الانواع الروثية الشائعة الانتشار في كافة انحاء العالم ، يمتاز بأن Pileus تكون متطاولة وذات لون بني ملساء بشكل كامل مزودة بجدار سميك ، البازيدا Basidia رباعية الابواغ ، والابواغ البازيدية صغيرة الى متوسطة الحجم بيضوية او قلبية الشكل عند ملاحظتها من جانب آخر تحتوي على germ pore مركزي الموقع وابعادها 11 – 10 x 8.5 - 6 مايكرومتر ، واتفقت نتائجنا مع ما توصل الية (Richardson, 2008) ، كما في الشكل (A:29) . ظهر على روث الاغنام في العينات التي جمعت من الكحلاء والعمارة .

الشكل (29) : *Parasola misera* : A : Pileus على الروث .

2.3. الدراسة المسحية لفطريات الروث

تم خلال هذه الدراسة جمع 120 عينة روث (60 عينة من روث اغنام و 60 عينة من روث ابقار) كما في الجدول (4)، حيث تم عزل وتشخيص 59 نوعا تعود الى 34 جنسا من الفطريات التي تنمو على روث الاغنام والابقار للعينات التي جمعت من مواقع الكحلاء والمشرح ومركز العمارة في محافظة ميسان ، كما في الجداول (10, 9,8) . وقد اظهرت نتائج هذه الدراسة ان اغلب الفطريات التي تم عزلها وتشخيصها تعود الى الفطريات الكيسية Ascomycota وقد بلغت نسبتها % 77.96 وكان عدد الانواع التي تنتمي اليها 46 نوعا تعود الى 25 جنسا ، تليها الفطريات اللاقحية Zygomycota بنسبة % 11.86 وكان عدد الانواع التي تنتمي اليها 7 تعود الى 4 اجناس ، ثم الفطريات البازيدية

Basidiomycota بنسبة % 8.47 تضمنت خمسة انواع تعود الى اربعة اجناس ، اضافة الى نوع واحد يعود الى الفطريات المخاطية Myxomycota ينتمي الى جنس *Physarum* .

تم خلال هذه الدراسة الحصول على (256) عزلة فطرية توزعت على النحو التالي مركز العمارة 103 عزلة تليها الكحلاء 85 عزلة ثم المشرح 68 عزلة ، اذ لوحظ ان هناك سيادة لعدد العزلات الفطرية في موقع مركز العمارة مقارنة بالموقعين الآخرين .

جدول (8) : النسب المئوية للمجموعات التصنيفية اعتمادا على عدد الانواع المشخصة خلال هذه الدراسة .

المجموعة التصنيفية	عدد الاجناس	عدد الانواع	النسبة المئوية %
Myxomycota	1	1	**1.69**
Zygomycota	4	7	**11.86**
Ascomycota	25	46	**77.96**
Basidiomycota	4	5	**8.47**
Total	**34**	**59**	**100**

1.2.3. الفطريات المخاطية Myxomycota

تم عزل وتشخيص النوع *Physarum globuliferum* اذ تم الحصول على ثلاثة عزلات توزعت على مواقع الكحلاء والعمارة من عينات روث الابقار في حين لم تسجل اية عزلة على روث الاغنام ، وقد بلغت نسبة التردد لهذا النوع % 1.17 ، بينما نسبة الظهور % 2.5 ، كما في النتائج المبينة في الجدولين (9، 10) ، وقد بينت العبد (2014) ان هذا النوع يعد من الفطريات المخاطية الشائعة النمو على روث الابقار .

2.2.3. الفطريات اللاقحية Zygomycota

تم عزل وتشخيص 29 عزلة فطرية من هذه الفطريات توزعت بالشكل التالي الكحلاء (13) المشرح (5) ومركز العمارة (11) ونسبة تردد كليه بلغت(% 11.32)، وقد سجل خلال هذه الدراسة نوعان من جنس *Pilobolus* هما *P. crystallinus* و *P. kleinii* وثلاثة انواع من جنس *Mucor* هما *M.hiemalis* و *M. racemosus* و *M. circinelloides* ، اضافة الى النوعين الاخرين من *Rhizopus oryzae* و *Pilaira* sp .

بالنسبة للجنس *Pilobolus* كان النوع *P. crystallinus* اكثر ترددا وانتشارا اذ بلغت عدد العزلات (7) ظهرت على عينات روث الاغنام والابقار في جميع المواقع المدروسة ، وسجل اعلى نسبة للتردد بلغت (2.73 %) ونسبة ظهور (5.83 %) , يليه النوع *P. kleinii* كان عدد العزلات (4) ظهرت على روث كلا الحيوانين موزعة على موقعي الكحلاء والعمارة ، ونسبة التردد بلغت (1.56 %) ونسبة ظهر (3.33 %)، كما في الجداول(10,9) ، وقد اتفقت نتائجنا مع الدراسات المحلية (الحبيب ،1988 ; Jasim, 2022) . اذ يعد جنس من *Pilobolus* من الفطريات الواسعة الانتشار على روث الحيوانات آكلة الاعشاب ويعزى السبب في ذلك الى الآلية الخاصة بتحرر الابواغ اذ يقوم بقذف الحافظة البوغية لمسافة تصل الى اكثر من مترين نحو الضوء نتيجة لتأثير الضغط الكبير في الحوصلة الغذائية التي تقع تحت الحافظة البوغية وذلك بسبب حساسية الحلقات الموجودة في قاعدة كل من الحويصلات والحوافظ البوغية للضوء (Foos and Sheehan, 2011; Viriato, 2008 ; العبد ،2014) .

تم عزل وتشخيص ثلاثة انواع من جنس *Mucor* هي *M.hiemalis* و *M. racemosus* و *M. circinelloides* ، اذ بلغت عدد عزلات النوع الاول (5) ظهرت على روث الاغنام والابقار في موقعي الكحلاء والعمارة ، وكانت نسبة التردد (1.95 %) ونسبة ظهور (4.16 %)، والنوع الثاني كان عدد العزلات (3) ظهرت على روث الاغنام والابقار في موقعي الكحلاء والمشرح ، ونسبة التردد 1.17) (%ونسبة ظهور (2.5 %) ، بينما النوع الثالث كان عدد العزلات (2) ظهرت في موقعي الكحلاء والعمارة ، ونسبة التردد (0.78%) ونسبة ظهور (1.66 %) ، الجداول (10,9) . يعد جنس ال *Mucor* من الفطريات الروثية الشائعة ويعزى سبب انتشار انواع هذا الفطر الى القدرة العالية لأبواغ هذا الجنس على تحمل ظروف القناة الهضمية للحيوانات آكلة الاعشاب وامتلاكها نظام انزيمي جيد ومتكامل في تحليل السليلوز (Altayyar *et al.*, 2017; Santiago *et al.*, 2011; Saha, 2004) .

اما الجنس *Rhizopus* فقد سجل نوعا واحد *R. oryzae* اذ كانت عدد العزلات (6) ظهرت على روث الابقار والاغنام تورعت على جميع مناطق الدراسة ، كما سجل ثاني نسبة للتردد (2.34%) وضمن الانواع التي سجلت في هذه المجموعة ، ونسبة ظهور(% 5)، ويعد هذا النوع من الفطريات الواسعة الانتشار في الاوساط البيئية المتنوعة وخاصة في التربة ، ومن الفطريات التي تسبب امراضا للإنسان والحيوان (Baghel *et al.*, 2010) ، وقد عزل من روث الاغنام والابقار والجمال والجاموس والارانب (Jasim, 2022 ; Altayyar *et al.*, 2017 ;Yadav, 2011).

كما تم تسجيل عزلتين فقط من النوع *Pilaira* sp من روث الابقار نوزعت على موقع المشرح والعمارة ، وسجل هذا النوع اقل نسبة تردد ضمن الفطريات المسجلة في هذه المجموعة بلغت (0.78 %) ونسبة

ظهور (1.66 %) ، وقد توافقت نتائجنا مع دراسة الحبيب (1988) اذ تم عزل هذا الفطر من روث الابقار للعينات التي جمعت من مناطق مختلفة من العراق .

3.2.3. الفطريات الكيسية Ascomycota

اظهرت نتائج الدراسة الحالية المبينة في الجداول (9,8) سيادة واضحة للأنواع التي تعود الى هذه المجموعة مقارنة مع المجاميع الفطرية الاخرى ، فقد تم خلال هذه الدراسة عزل وتشخيص 46 نوعا منها تعود الى 25 جنس ، وكان عدد العزلات الكلية (186) عزلة توزعت على مناطق الدراسة بالشكل التالي : العمارة (74) عزله والكحلاء (63) عزله والمشرح (49) عزلة ، وكان التردد الكلي لهذه المجموعة (72.65 %) . كما اظهر الجنس *Ascobolus* سيادة واضحة بعدد الانواع التي تعود اليه والتي بلغت ثمانية انواع ، ثم يليه الجنس *Saccobolus* بخمسة انواع ، ثم الجنسين *Chaetomium* و *Fusarium* اللذان يضمان اربعة انواع لكل منهما ، ثم جنس *Aspergillus* الذي ضم ثلاثة انواع ، اما بقية الاجناس فكان عدد الانواع فيها تراوح من واحد الى اثنان . سيادة الأنواع الروثية التابعة للأجناس *Ascobolus* و*Saccobolus* و *Chaetomium* مقارنة مع غيرها من الفطريات ضمن هذه المجموعة في الظهور على روث الحيوانات المدروسة توافقت مع العديد من الدراسات المحلية كدراسة (الحبيب ، 1988 ; العطبي ،1990 ; Jasim ,2022 ;Adbdullah ,1982) والدراسات العالمية (Mumpuni *et al*., 2020; Doveri,2014 ; Mungai *et al*., 2011; Doveri, 2011) ، وربما يعزى السبب في ذلك الى ملائمة وسط الروث لنموها او للمقاومة الكبيرة لأجسامها الثمرية للظروف البيئية غير الملائمة ، اضافة الى ذلك لوحظ ان ابواغ هذه الفطريات تمتاز بانها تكون ملونة بالوان داكنة وذلك لاحتوائها على صبغة الميلانين التي تسهم في حمايتها من خطر التأين الاشعاعي ، كما ان غالبية ابواغها تحتوي على زوائد ومحاطة بمواد جيلاتينية تساعد في التصاقها على الادغال في الحقل والبقاء لفترة من الزمن ليتم بعد ذلك ابتلاعها من قبل الحيوانات آكلة الاعشاب ، كما ان وجود الزوائد او الشعيرات على الاجسام الثمرية تعد من الوسائل الدفاعية المهمة ضد الاحياء الاخرى المتواجدة معها (Melo *et al*., 2017 ; Wang *et al*., 2016 ;Melo *et al*., 2013; Baker *et al* ., 2013) ; Melo *et al*., 2019).

بالنسبة للأنواع التابعة لجنس *Ascobolus* تم عزل ثمانية انواع وسجل النوع *A. furfuraceus* اعلى عدد للعزلات اذ بلغت (8) عزلة توزعت على جميع مواقع الدراسة لعينات روث الابقار ، ونسية التردد (3.12 %) ونسبة ظهور (6.66%) ،يليه النوع *A. aglaosporus* كان عدد العزلات (6) توزعت على جميع مناطق الدراسة لعينات روث الابقار ، ونسبة التردد (2.34 %) ونسبة ظهور (5%) ، ثم

النوعين *A. immersus* و *A. stercorarius* اذ كانت عدد العزلات لكل منها (5) توزعت على جميع مناطق الدراسة لعينات روث الابقار والاغنام على التوالي ، ونسبة التردد لكل منهما (1.95 %) ونسبة الظهور لكل منهما (4.16 %) ، ثم النوع *A.brassicae* كان عدد العزلات (4) توزعت على مواقع الكحلاء والمشرح لعينات روث الاغنام، ونسبة تردد (1.56 %) ونسبة ظهور (33.3 %) ، ثم النوع *A.hawaiiensis* كان عدد العزلات (3) توزعت على العمارة والمشرح لعينات روث الاغنام ، ونسبة التردد (1.17 5%) ونسبة ظهور (2.5 %) ،ثم النوعين *A.crenulatus* و *A. albides* وكان عدد العزلات لكل منهما (2) توزعت على موقعي الكحلاء والعمارة لعينات روث الابقار ، ونسبة الترد لكل منهما (0.78 %) ونسبة ظهور لكل منهما (1.66%) . وقد اتفقت نتائجنا مع العديد من الدراسات التي اشارت الى انواع هذا الجنس تكون واسعة الانتشار على روث الحيوانات آكلة الاعشاب كالأبقار والاغنام والماعز والخيول والجاموس (Altayyar *et al*., 2017; Doveri, 2014; Mungai *et al*., 2011).

يأتي الجنس *Saccobolus* بالمرتبة الثانية ضمن الفطريات الكيسية من حيث عدد الانواع والبالغ عددها خمسة انواع تم تشخيصها خلال هذه الدراسة على روث الاغنام والابقار ،كما في الجداول (9,8)، وكان النوع *S.glaber* اكثرها انتشارا مسجلا (6) عزلات توزعت على جميع مواقع الدراسة ، ونسبة تردد (2.34 %) ونسبة ظهور (5%) ، ثم النوع *S. minimus* مسجلا (5) عزلات توزعت على العينات التي جمعت من موقعي الكحلاء والعمارة ، وكانت نسبة التردد له (1.95%) بينما نسبة الظهور (4.16%) ، ثم النوع *S. citrinus* الذي سجل (4) عزلات توزعت على موقعي المشرح والعمارة ، ونسبة تردد (1.56%) ونسبة ظهور (3.33%) ، ثم النوعين *S. globuliferellus* و*S. truncatus* اذ بلغ عدد العزلات لكل منهما (3) عزلة توزعت على مواقع الكحلاء والعمارة بالنسبة للنوع الاول وعلى موقع العمارة للنوع الثاني ، ونسبة تردد كل منهما (1.17%) ونسبة ظهور كل منهما (2.5%) . وتعد الانواع التابعة لهذا الجنس من الفطريات الروثية الواسعة الانتشار على روث الحيوانات آكلة الاعشاب ، وقد اتفقت النتائج التي توصلنا اليها مع العديد من الدراسات المحلية كدراسة Jasim(2022) والعالمية (Melo *et al*., 2019;Altayyar *et al*., 2017;Baker *et al*., 2013;Mungai *et al*.,2011)

بالنسبة لجنس *Chaetomium* فقد تم خلال هذه الدراسة تشخيص اربعة انواع ظهرت جميعها على عينات روث الاغنام فقط ، وكان النوع *C. murorum* الاكثر انتشارا مسجلا اعلى عددا للعزلات بلغت (5) عزلة توزعت على موقعي الكحلاء والعمارة ، ونسبة تردد بلغت (1.95 %) ونسبة ظهور (4.16%) ،كما سجلت اربعة عزلات لكل من *C. bostrychodes* و *C. convolutum* توزعت على جميع مواقع جمع العينات بالنسبة للنوع الاول وفي موقع المشرح والعمارة للنوع الثاني ، وقد بلغت نسبة

التردد لكل منهما (1.56%) ونسبة الظهور (3.33%) ، بينما سجل النوع *C. cephalothecoides* عزلتين فقط على عينات روث الاغنام التي جمعت من المشرح والكحلاء ، وسجل اقل نسبة للتردد بلغت (0.78%) والظهور (1.66%) ، وقد توافقت النتيجة مع الدراسات المحلية(Abdullah, 1982 ; الحبيب,1988 ; Jasim,2022) الذين قاموا بعزل هذه الانواع من روث الاغنام للعينات التي جمعت من مناطق مختلفة في العراق ، كما اكدت العديد من البحوث على ان هذه الانواع التي تعود لجنس *Chaetomium* تتواجد بشكل كبير على روث الحيوانات العشبية كالأغنام والابقار والجاموس وغيرها (Melo *et al.*, 2019; Altayyar *et al*., 2017; Doveri, 2014 ;Mungai *et al*.,2012) . ربما تعزى الاختلافات في ظهور هذه الفطريات على اوساط الروث المختلفة الى العديد من العوامل كالحرارة والاس الهيدروجيني ومحتوى الرطوبة للروث اضافة الى بعض العوامل الحيوية كالتنافس والافتراس والتضاد (Richardson, 2019; Santiago *et al*., 2011) .

سجل النوع *Peziza fimeti* ستة عزلات ظهرت اربعة منها في الكحلاء واثنان في العمارة على عينات روث الابقار ، وسجل نسبة عالية من التردد (2.34 %) والظهور (5 %) ، وقد توافقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه العطبي (1990) الذي عزل هذا النوع من العينات التي جمعها من روث الابقار من الكحلاء في محافظة ميسان ، ومع (Adhikari, 2013) في دراسته على العينات التي جمعها من روث الابقار في النيبال .

بالنسبة للنوع *Podospora communis* سجل خمسة عزلات ظهرت على عينات روث الاغنام في العينات التي جمعت من المشرح والعمارة ، وبلغت نسبة التردد (1.95%) ونسبة ظهور (4.16%) ،ولم تتفق هذه النتيجة مع الحبيب (1988) اذ سجلت هذا النوع على روث الابقار للعينات التي جمعت من منطقة كرمة علي في محافظة البصرة ، بينما توافقت نتائجنا مع Abdullah (1982) الذي سجل هذا النوع على روث الاغنام للعينات التي جمعت من المناطق الصحراوية جنوب العراق، كما اكدت الكثير من البحوث على ان هذا النوع من الفطريات الواسعة الانتشار على روث الحيوانات آكلة الاعشاب (Doveri, 2011 ;Bell, 2005) . بينما النوع *Kernia nitida* فقد الحصول على ستة عزلات من العينات روث الابقار للعينات التي جمعت من المشرح والعمارة ، وبلغت نسبة تردده (2.34 %) ونسبة ظهوره (5 %) ، ولم تتفق نتيجتنا مع بعض الدراسات المحلية كدراسة الحبيب (1988) التي عزلت هذا النوع من روث الغنم في السماوة ،في حين اتفقت مع Jasim (2022) التي سجلت انواع من هذ الجنس على روث الابقار والاغنام في دراستها على روث الحيوانات في محافظة البصرة .كما اظهر النوع *Ascodesmis nigricans* ظهورا قليلا اذ سجل عزلتين فقط على روث الابقار للعينات التي جمعت من الكحلاء والمشرح ، نسبة قليلة للترد (0.78%) والظهور (1.66%) ، وقد اتفقت هذه النتيجة مع العطبي

(1990) الذ عزل من خلالها هذا النوع على عينات روث الابقار للعينات التي جمعت من مناطق متنوعة من العراق ، ومع Yadav (2011) الذي عزل هذا النوع من روث الابقار ، ولقد بين Kristiansen(2011) ان هذا النوع كثير الظهور على روث الحيوانات ويمتاز بصغر جسمه الثمري مقارنه مع الانواع الاخرى من هذا الجنس . تم الحصول على خمسة عزلات من النوع *Zopfiella* sp ظهرت على عينات روث الاغنام في العينات التي جمعت من الكحلاء والعمارة ، وكانت نسبة التردد (1.95%) والظهور (4.16%) ، وقد سجل هذا النوع من قبل Altayyar *et al.*(2017) على روث الاغنام في الاردن . النوع *Nigrosabulum globosum* اظهر انتشارا قليلا حلال هذه لدراسة اذ تم الحصول على ثلاثة عزلات ظهرت على روث الاغنام في موقع المشرح والعمارة ، وبلغت نسبة التردد (1.17%) ونسبة الظهور (2.5%) ، وقد توافقت هذه النتيجة مع (Plishka *et al*., 2009) . تم تسجيل نوعين من الجنس *Sporomiella* هما *S. leporina* و *S. minima* اذ سجل النوع الاول ثلاثة عزلات بينما سجل النوع الثاني عزلتين ظهرت على روث الاغنام ، وكانت نسبة التردد (1.17%) والظهور (2.5%) للنوع الاول ، بينما كانت نسبة التردد (0.78 %) والظهور (1.66%) للنوع الثاني ، وقد اتفقت النتيجة مع الحبيب (1988) التي عزلت النوع الاول من روث الاغنام . كما تم خلال هذه الدراسة تسجيل نوعين من جنس *Preuessia* هما *P. minima* و *Preussia* sp من عينات الابقار ، وبواقع ثلاثة عزلات للنوع الاول وعزلتين للنوع الثاني توزعت على مناطة الدراسة ، وبلغت نسبة ترددهما (1.17%) و (0.78%) على التوالي ،ولم تتفق نتائجنا مع (Guarro *et al*., 1997) الذي عزل عدة انواع تعود لهذ الجنس من روث الاغنام من مناطق مختلفة في العراق .

وتم الحصول على اربعة عزلات للنوع *Collariella postrychodes* وسجل نسبة تردد بلغت (1.56%) ونسبة ظهور (2.5%) ، وعزلتين من *النوع Microascus trigonosporus* ونسبة تردد (0.78%) وظهور (1.66%) ، ولقد بين Revankar and Sutton (2010) ان افراد هذا النوع من الفطريات المرضية المسببة للالتهابات الرئوية الحادة للإنسان ،كما تم الحصول على اربعة عزلات من النوع *Geotrichum candidum* ، ونسبة تردد بلغت (1.17 %) وظهور (2.5%) ، وتعد هذه الانواع فطريات روثية عزلت من روث الحيوانات آكلة الاعشاب(Mueller *et al*., 2004) . سجلت اربعة عزلات من النوع *Coprotus* sp ظهرت على روث الابقار في العينات التي جمعت من الكحلاء والعمارة ، وبلغت نسبة التردد (1.56 %) ونسبة الظهور (3.33%) ، وقد اتفقت هذه النتيجة مع Doveri (2011) والعبد (2014) الذين عزلوا وشخصوا العديد من الانواع التابعة لهذا الجنس من روث البقر والغنم .اما النوع *Hypocopra* sp فقد سجل خمسة عزلات ظهرت على روث الابقار في جميع مواقع الدراسة ، وكانت نسبة تردده (1.95%) ونسبة ظهوره (4.16%) ،سجل النوع

Cephalotrichum sp عزلتين فقط ظهرت على روث الاغنام في الكحلاء والمشرح ، وكانت نسبة تردده (0.78%) وظهوره (1.66%) ، ويعد هذا النوع من الفطريات الروثية (Mueller *et al.*, 2004) .

كما تم خلال الدراسة الحالية عزل وتشخيص مجموعة من الفطريات التي تمثل الطور اللاجنسي ظهرت في عينات روث الابقار والاغنام، ويعزى الانتشار الواسع لهذه الفطريات الى قدرتها العالية على التكيف للظروف البيئية المعقدة ، فضلا عن ذلك فان هذه الفطريات تمتاز بكونها ذات تغذية رمية فهي قادر على استغلال المصادر الكربونية العضوية للحصول على الطاقة ، وقد اشتملت هذه الفطريات على احدى عشر نوعا تعود الى خمسة اجناس ، سجل جنس *Fusarium* سيادة واضحة على بقية الاجناس بأربعة انواع وهي *F. solani* ,*F.proliferatum* ، *F. incornatum* ، *F. oxysporum* ، وكان عدد العزلات (5) و(8) و (2) و (3) عزله للأنواع الاربعة على التوالي ، ظهرت جميعها على عينات روث الابقار ، بينما بلغت نسب التردد (3.12%) و (1.17 %) و (0.87%) و (1.95%) للأنواع الاربعة على التوالي ، وتعد هذه الانواع من الفطريات الواسعة الانتشار في العالم وخاصة في التربة او تعيش متطفلة على بعض النباتات مسببة لها بعض الامراض كمرض تعفن الجذور والسيقان ومرض الذبول الوعائي (Yadav,2011 ; Ellis, *et al.*, 2007) ،يأتي الجنس*Aspergillus* بالمرتبة الثانية اذ سجل ثلاثة انواع هي*A. terreus* ، *A.niger* ، *A. flavus* بلغت عدد العزلات للنوع الاول (6) بينما النوعين الاخيرين سجلا (4) عزلات لكل منهما ، ظهرت على روث الابقار والاغنام ، وبلغت نسبة التردد (2.34%) للنوع الاول ، بينما بلغت (1.56%) لكل من النوع الثاني والثالث ،وقد عزل العديد من الانواع التي تعود الى هذا الجنس من روث الحيوانات آكلة الاعشاب كالغنم والبقر والجاموس والماعز (Jasim, 2022 ; Altayyar *et al.*, 2017) . كما عزل نوعان من جنس *Alternaria* تمثلا في النوع *A. alternata* (7 عزلات ونسبة تردد 2.73%) الذي عزل من روث البقر في جميع مواقع الدراسة والنوع *A. consortialis* (2 عزله ونسبة تردد 0.78%) الذي عزل من روث الغنم من المشرح ، يعد النوع *A. alternata* من اكثر الانواع شيوعا وقد عزل من روث البقر والغنم والماعز والخيول والجاموس (الحبيب ،1988; Jeamjitt *et al.*, 2006 ; Jasim ,2022) ويسبب امراضا للإنسان والحيوان وينتج سموما فطرية مثل Altenyene (Jeamjitt, 2007 ; Ellis *et al.*,2007) ، كما ان بعض انواع جنس *Alternaria* تعيش متطفلة على النباتات والبعض الآخر تعيش مترممة على المواد العضوية (العبد ،2014) . كما سجلتخمسة عزلات للنوعين *Stemphylium solani* و *Drechslera avenae* وكانت نسبة التردد (1.95%) والظهور (4.16%) لكل منهما، وثلاثة عزلات من*Graphium* sp ظهرت على عينات روث الاغنام في المشرح والعمارة ، وقد عزل

Yadav(2011) ثلاثة انواع من هذا الجنس من روث الغنم والبقر والماعز في الهند ،وعزل (Altayyar *et al.*(2017 هذا النوع من عينات روث الاغنام والابقار في الاردن ، واخيرا سجل نوعا واحدا من *Penicillium crustosum* عزل من روث الابقار وبواقع اربعة عزلات توزعت على جميع المواقع المدروسة ، ونسبة تردده بلغت (1.56%) ، وقد عزلت انواع كثيرة من هذا الجنس من روث الحيوانات آكلة الاعشاب (Jasim, 2022 ; Jeamjitt *et al.*,2006)

4.2.3. الفطريات البازيدية Basidiomycota

اظهرت نتائج هذه الدراسة والمبينة في الجداول (9,8) تسجيل 38 عزله من الفطريات البازيدية توزعت على مناطق الدراسة بالشكل التالي : العمارة (16) عزله والمشرح (14) والكحلاء (8) عزله ، وقد شخصت خمسة انواع منها تعود الى اربعة اجناس ، بالنسبة للجنس *Coprinopsis* سجل نوعين هما *C. stercorea* (8 عزله ونسبة تردد 3.12%) ظهرت عل عينات روث الابقار والاغنام في جميع المواقع المدروسة ، والنوع *C. radiate* (7 عزلات ونسبة تردد 2.73%) ظهرت على عينات روث الابقار في جميع المواقع، وقد عزل (Jasim ,2022 ; Kuyper *et al.*, 2021 ; Mumpuni *et al.*, 2020) هذه الانواع من روث العديد من الحيوانات آكلة الاعشاب . ما سجل النوع *Parasola misera* نسبة تردد عالية بلغت (3.51%) اذ سجل (9) عزلات ظهرت على روث الاغنام في الكحلاء والعمارة . وتم الحصول على (9) عزلات من النوع *Coprinellus bisporus* ظهرت على روث الاغنام في جميع المناطق المدروسة ، وسجلت نسبة تردد عالية لهذا النوع بلغت (3.51%) ونسبة ظهور (7.5%) ، واخير تم الحصول على (5) عزلات من النوع *Tulosesus bisporus* ظهرت على روث الغنم في جميع المواقع ، وكانت نسبة التردد لهذا النوع (1.95%) والظهور (4.16%)،وقد اتفقت هذه النتيجة مع Kuyper *et al.* (2021) وRichardson (2008) اللذين عزلوا هذه الانواع من روث الحيوانات العشبية .

جدول(9) : النسبة المئوية للتردد والظهور للفطريات المعزولة من روث الابقار والاغنام في المواقع المدروسة .

الانواع	مناطق جمع العينات			العدد الكلي للعزلات	نسبة التردد %	نسبة الظهور %
	الكحلاء	المشرح	العمارة			
Myxomycota						
Physarum globuliferum	2	-	1	3	1.17	**2.5**
Zygomycota						
Pilobolus crystallinus	2	2	3	7	2.73	**5.83**
P. kleinii	3	-	1	4	1.56	**3.33**
Rhizopus oryzae	3	1	2	6	2.34	**5**
Mucor hiemalis	1	-	4	5	1.95	**4.16**

M. racemosus	-	1	2	3	1.17	**2.5**
M. circinelloides	1	-	1	2	0.78	**1.66**
Pilaira sp	1	1	-	2	0.78	**1.66**
Total	**11**	**5**	**13**	**29**	11.32	
Ascomycota						
Ascobolus immersus	1	3	1	5	1.95	**4.16**
A.furfuraceus	4	1	3	8	3.12	**6.66**
A.aglaosporus	2	1	3	6	2.34	**5**
A. crenulatus	1	-	1	2	0.78	**1.66**
A. brassicae	-	2	2	4	1.56	**3.33**
A.hawaiiensis	2	1	-	3	1.17	**2.5**
A.albides	1	-	1	2	0.78	**1.66**
A. stercorarius	2	2	1	5	1.95	**4.16**
Saccobolus citrinus	2	2	-	4	1.56	**3.33**
S.globuliferellus	2	-	1	3	1.17	**2.5**
S.glaber	3	2	1	6	2.34	**5**
S.truncatus	3	-	-	3	1.17	**2.5**
S.minimus	3	-	2	5	1.95	**4.16**
Chaetomium bostrychodes	1	1	2	4	1.56	**3.33**
C.murorum	2	-	3	5	1.95	**4.16**
C.cephalothecoides	-	1	1	2	0.78	**1.66**
C. convolutum	3	1	-	4	1.56	**2.5**
Peziza fimeti	2	-	4	6	2.34	**5**
Podospora communis	2	3	-	5	1.95	**4.16**
Kernia nitida	5	1	-	6	2.34	**5**
Ascodesmis nigricans	-	1	1	2	0.78	**1.66**
Zopfiella sp.	2	-	3	5	1.95	**4.16**
Nigrosabulum globosum	1	2	-	3	1.17	**2.5**
Sporomiella leporina	-	1	2	3	1.17	**2.5**
S. minima	1	-	1	2	0.78	**1.66**
Preussia minima	-	2	1	3	1.17	**2.5**
Preussia sp	1	-	1	2	0.78	**1.66**
Collariella postrychodes	3	1	-	4	1.56	**2.5**
Microascus trigonosporus	1	1	-	2	0.78	**1.66**
Geotrichum candidum	-	1	2	3	1.17	**2.5**
Coprotus sp	1	-	3	4	1.56	**3.33**
Hypocopra sp	3	1	1	5	1.95	**4.16**
Cephalotrichum sp	-	1	1	2	0.78	**1.66**
Graphium* sp	1	2	-	3	1.17	**2.5**
Alternaria alternatea	2	3	2	7	2.73	**5.83**

A.consortialis	-	2	-	2	0.78	**1.66**
Stemphylium solani	1	-	4	5	1.95	4.16
Drechslera avenae	-	2	3	5	1.95	4.16
Aspergillus niger	1	3	-	4	1.56	**3.33**
A.terreus	3	1	2	6	2.34	**5**
A. flavus	1	2	1	4	1.56	**3.33**
Fusarium solani	5	-	3	8	3.12	**6.66**
F. incornatum	2	-	1	3	1.17	**2.5**
F.oxysporum	1	1	-	2	0.78	**1.66**
F.proliferatum	2	-	3	5	1.95	**4.16**
Penicillium crustosum	1	1	2	4	1.56	**3.33**
Total	**74**	**49**	**63**	**186**	**72.65**	
Basidiomycota						
Coprinopsis radiata	1	5	1	7	2.73	**5.83**
C. stercorea	3	3	2	8	3.12	**6.66**
Parasola misera	7	-	2	9	3.51	**7.5**
Coprinellus bisporus	3	5	1	9	3.51	**7.5**
Tulosesus bisporus	2	1	2	5	1.95	**4.16**
Total	**16**	**14**	**8**	**38**	**14.84**	
المجموع الكلي للعزلات	**103**	**68**	**85**	**256**		

*** الفطريات باللون الغامق تمثل الطور اللاجنسي**

جدول (10) : عدد العزلات للأنواع التي ظهرت على روث الابقار والاغنام .

الانواع	اغنام	ابقار
Myxomycota		
Physarum globuliferum	**-**	**3**
Zygomycota		
Pilobolus crystallinus	**2**	**5**
Pilobolus kleinii	**1**	**3**
Rhizopus oryzae	**2**	**4**
Mucor hiemalis	**-**	**5**
Mucor racemosus	**2**	**1**
Mucor circinelloides	**-**	**2**
Pilaira sp	**-**	**2**
Total	**7**	**22**
Ascomycota		

Ascobolus immersus	**-**	**5**
A.furfuraceus	**-**	**8**
A.aglaosporus	**-**	**6**
A. crenulatus	**-**	**2**
A. brassicae	**4**	**-**
A.hawaiiensis	**3**	**-**
A.albides	**-**	**2**
A. stercorarius	**5**	**-**
Saccobolus citrinus	**2**	**2**
S.globuliferellus	**2**	**1**
S.glaber	**4**	**2**
S.truncatus	**2**	**1**
S.minimus	**3**	**2**
Chaetomium bostrychodes	**4**	**-**
C.murorum	**5**	**-**
C.cephalothecoides	**2**	**-**
C. convolutum	**4**	**-**
Peziza fimeti	**-**	**6**
Podospora communis	**5**	**-**
Kernia nitida	**-**	**6**
Ascodesmis nigricans	**-**	**2**
***Zopfiella* sp.**	**5**	**-**
Nigrosabulum globosum	**3**	**-**
Sporomiella leporina	**3**	**-**
S. minima	**2**	**-**
Preussia minima	**-**	**3**
***Preussia* sp**	**-**	**2**
Collariella postrychodes	**4**	**-**
Microascus trigonosporus	**2**	**-**
Geotrichum candidum	**3**	**-**
***Coprotus* sp**	**-**	**4**
Hypocopra sp	**-**	**5**
***Cephalotrichum* sp**	**2**	**-**
Graphium* sp	**3**	**-**
Alternaria alternata	**7**	**-**
A.consortialis	**-**	**2**
Stemphylium solani	**5**	**-**

Drechslera avenae	**5**	**-**
Aspergillus niger	**3**	**1**
A.terreus	**4**	**2**
A. flavus	**2**	**2**
Fusarium solani	**-**	**8**
F. incornatum	**-**	**3**
F.oxysporum	**-**	**2**
F.proliferatum	**-**	**5**
Penicillium crustosum	**-**	**4**
Total	**98**	**88**
Basidiomycota		
Coprinopsis radiata	**-**	**7**
C.stercorea	**5**	**3**
Parasola misera	**9**	**-**
Coprinellus bisporus	**9**	**-**
Tulosesus bisporus	**5**	**-**
Total	**28**	**10**
عدد العزلات الكلية	**133**	**123**

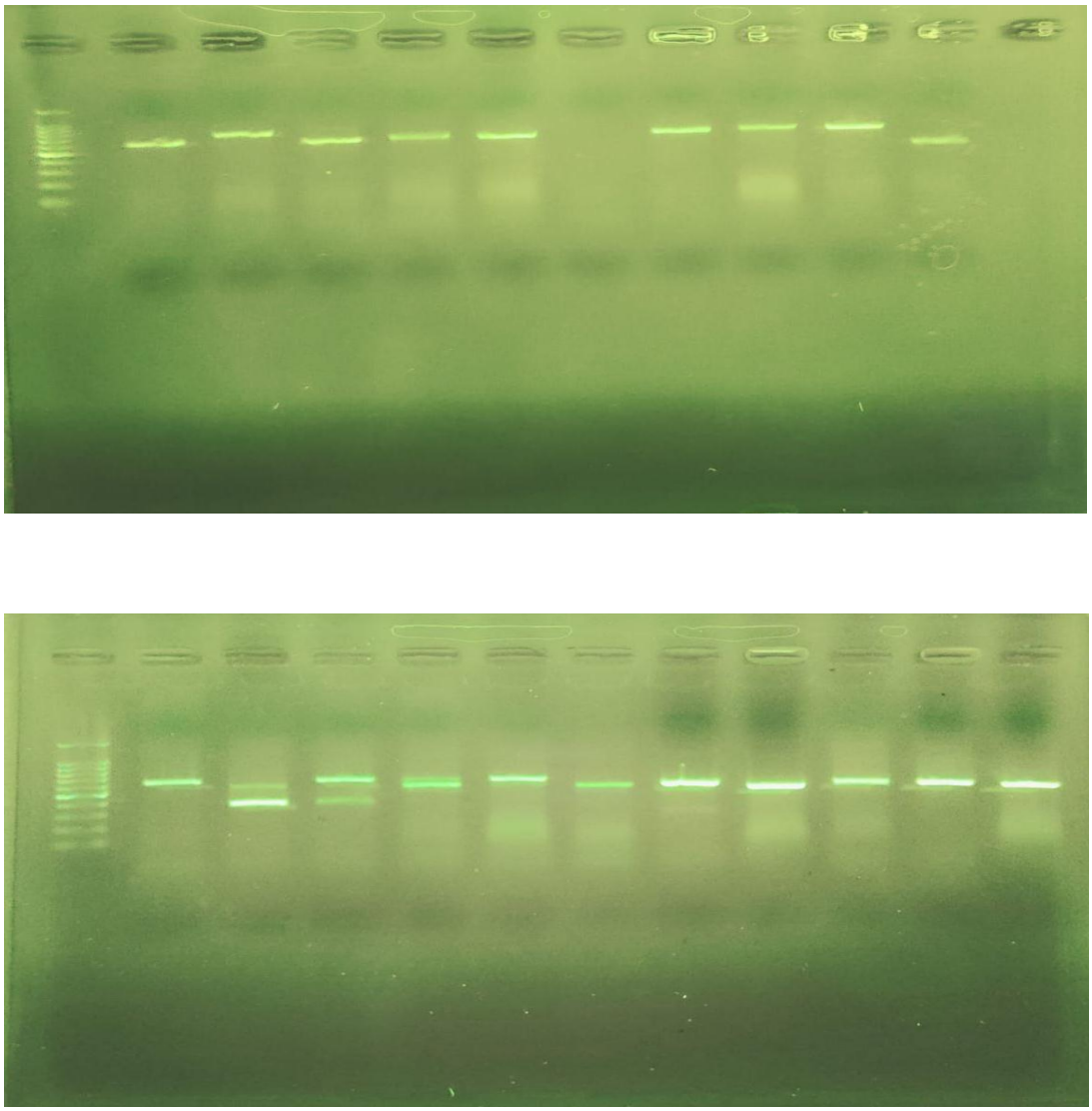
3.3. التشخيص الجزيئي لبعض فطريات الروث

اظهرت نتائج الدراسة الجزيئية المبينة في الجدول (11) والاشكال (30-41) تطابق التشخيص الجزيئي مع التشخيص المظهري لأربعة عشر نوعا من الفطريات التي تم عزلها من روث الاغنام والابقار في محافظة ميسان ، اذ تراوحت نسبة التطابق بين % 95.32 - 100 للفطريات المشخصة بعد مقارنتها مع العزلات الموجودة في بنك الجينات . ان تشخيص الفطريات بالاعتماد على تسلسل القواعد النيتروجينية في شريط الحامض النووي ال DNA هي الاكثر استخداما في الوقت الحاضر في الوصول الى التشخيص الدقيق والواضح للأنواع الفطرية مقارنة مع طرق التشخيص المظهري ، لكونها تؤدي الى ازالة جميع الصعوبات والمعوقات وتجاوز الاخطاء التي تواجه الباحث في التصنيف المظهري ، لكون الشخيص الجزيئي يعتمد على تسلسل النيوكليوتيدات في المورثات والتي تمثل الصفات الوراثية الخاصة لكل نوع من الفطريات ، كما ان الدراسة الجزيئية تعد من الوسائل الحديثة المهمة لتحليل العلاقات

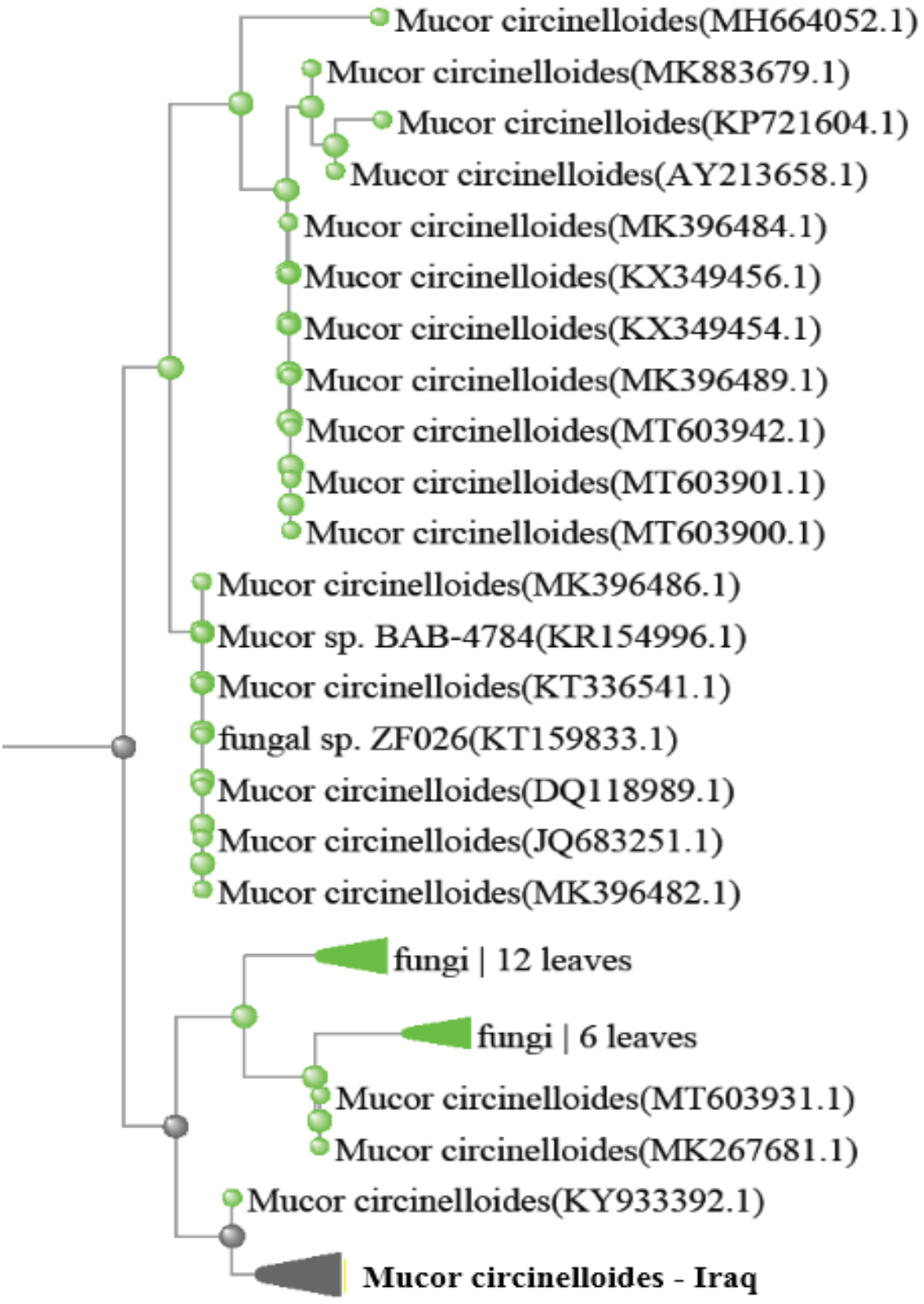
الوراثية من خلال رسم الشجرة الوراثية لسلالات مجموعة كبيرة من الانواع (Weber, 2009 ; Demirel *et al.*, 2013)

جدول (11): اسماء الفطريات التي تم تشخيصها جزيئيا .

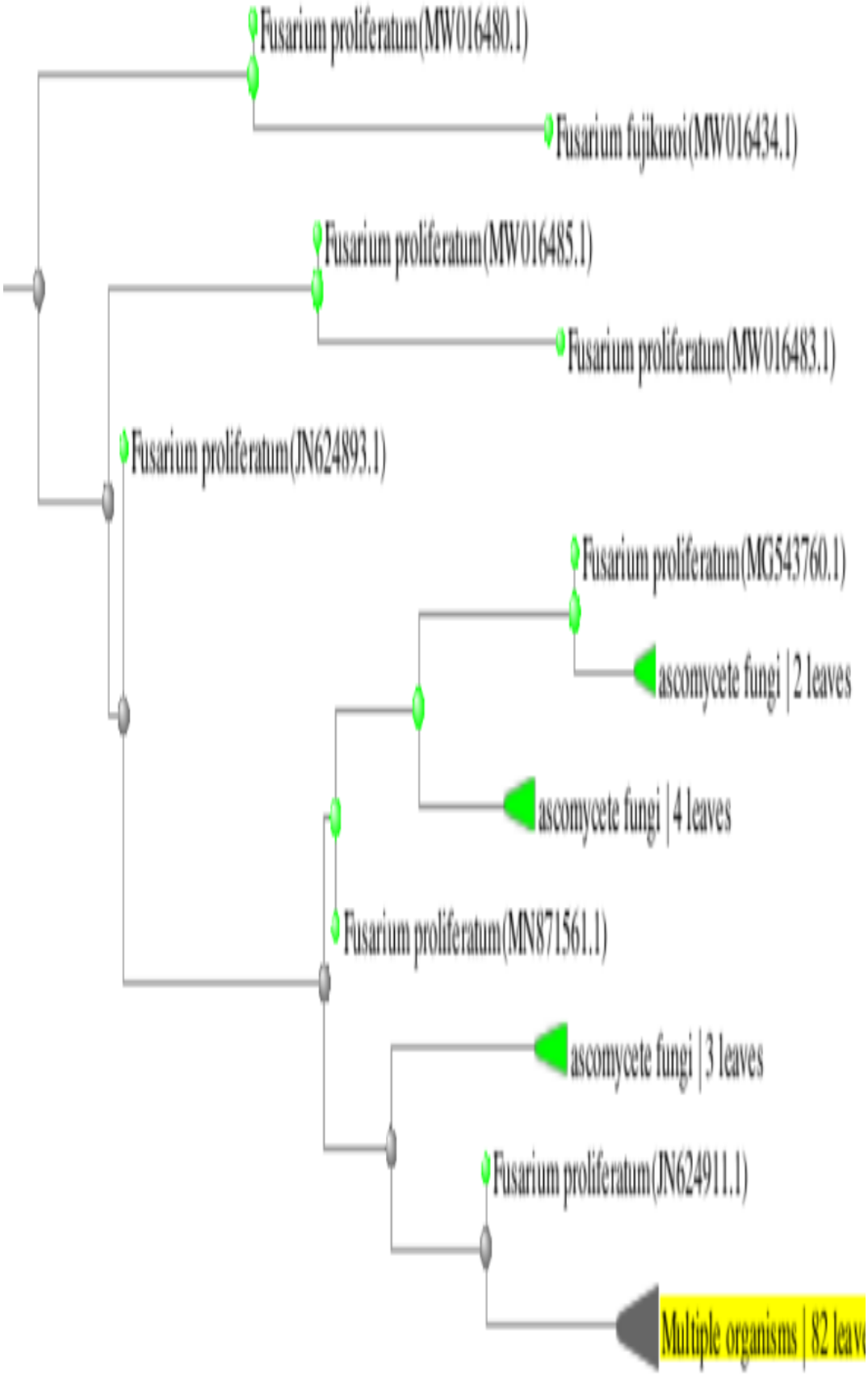
Phenotypic identification	Molecular identification	Number of references	GenBank sequence accession numbers	Percentage identification
Mucor circinelloides	*M. circinelloides*	64e751283a01a500600d8727.A1	LC777599	99.51%
Preussia minima	*P. minima*	64e751283a01a500600d8727.A2	LC777600	99.41%
Fusarium proliferatum	*F. proliferatum*	64e751283a01a500600d8727.A7	LC777601	99.6%
Fusarium solani	*F. solani*	64e751283a01a500600d8727.A8	LC777602	99.44%
Penicillium crustosum	*P. crustosum*	64e751283a01a500600d8727.A11	LC777603	95.32%
Ascobolus stercorarius	*A. stercorarius*	64e751283a01a500600d8727.A13	LC777604	97.99%
Chaetomium convolutum	*Ch. onvolutum*	64e751283a01a500600d8727.A14	LC777605	97.16%
Chaetomium murorum	*Ch. murorum*	64e751283a01a500600d8727.A15	LC777606	99.63%
Tulosesus bisporus	*T. bisporus*	64e751283a01a500600d8727.A16	LC777607	99.54%
Collariella postrychodes	*C. postrychodes*	64e751283a01a500600d8727.A18	LC777608	96.63%
Stemphylium solani	*S. solani*	64e751283a01a500600d8727.A19	LC777609	99.46%
Microascus trigonosporus	*M. trigonosporus*	64e751283a01a500600d8727.A20	LC777610	99.83%
Drechslera avenae	*D. avenae*	64e751283a01a500600d8727.A9	LC777611	100%
Geotrichum candidum	*G. candidum*	64e751283a01a500600d8727.A17	LC777612	99.4%



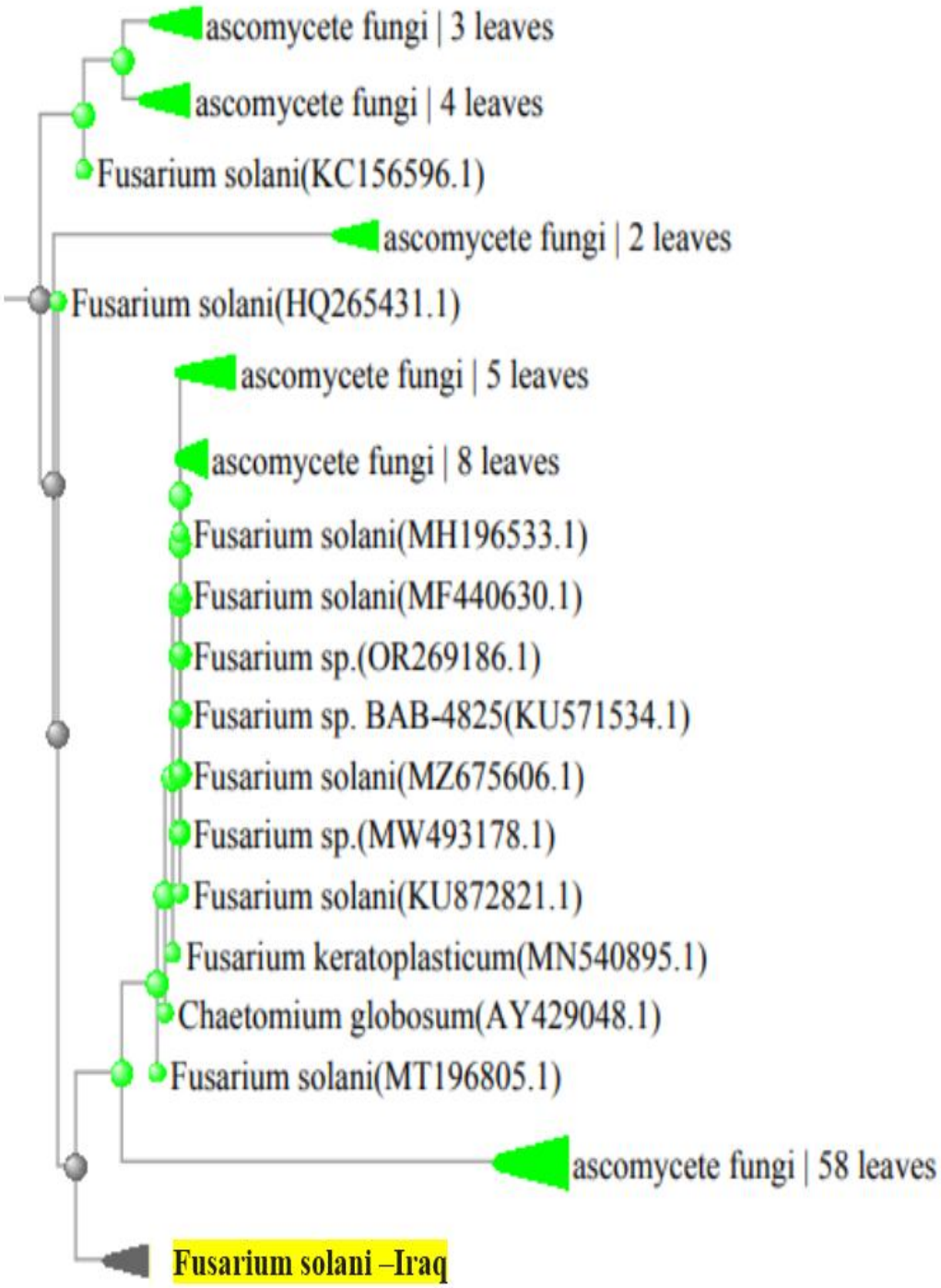
الشكل (30) : نواتج الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز لمنتج ال PCR باستخدام بادئات ITS 4 و ITS1



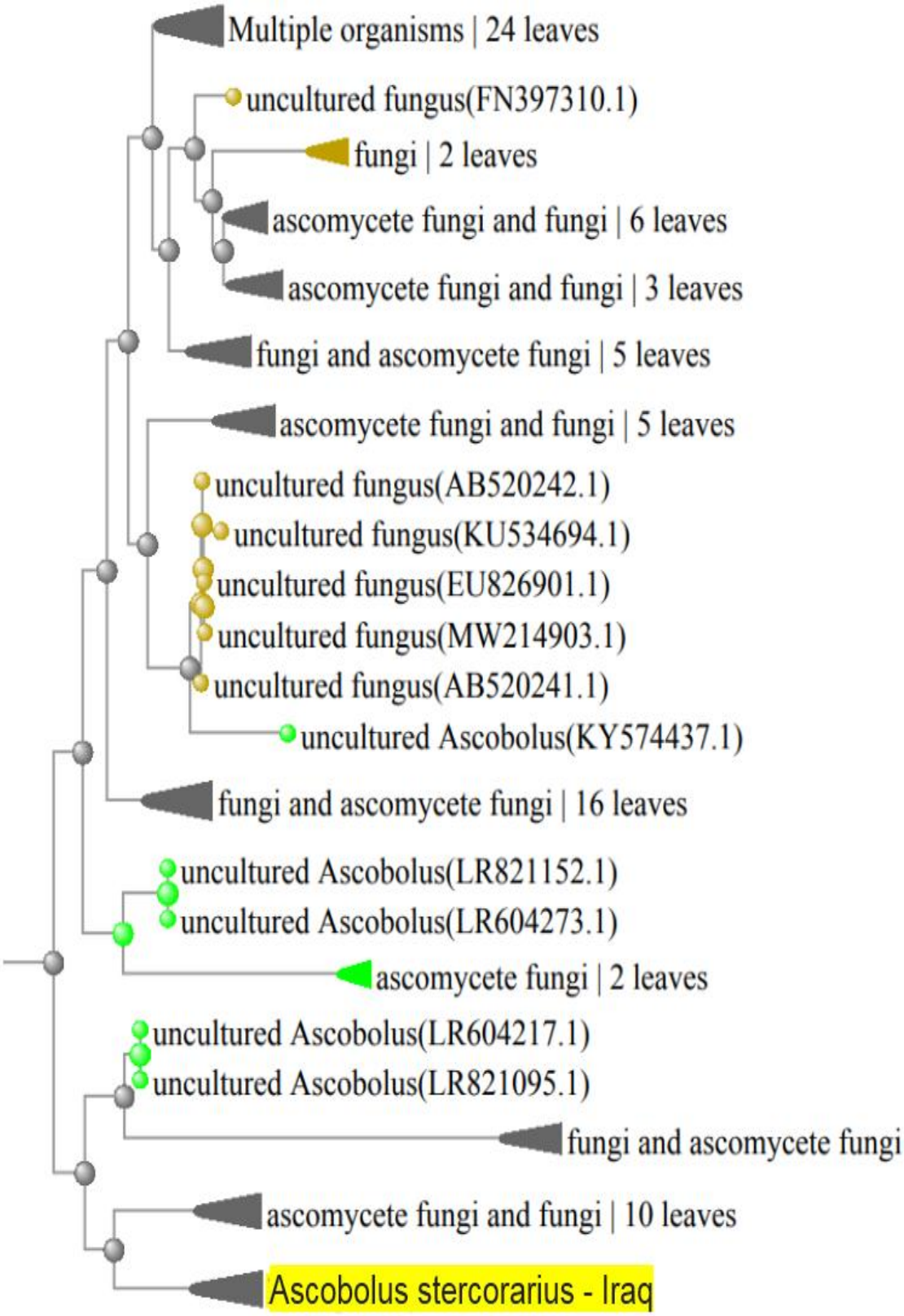
الشكل (31) : الشجرة الوراثية للنوع *Mucor circinelloides*



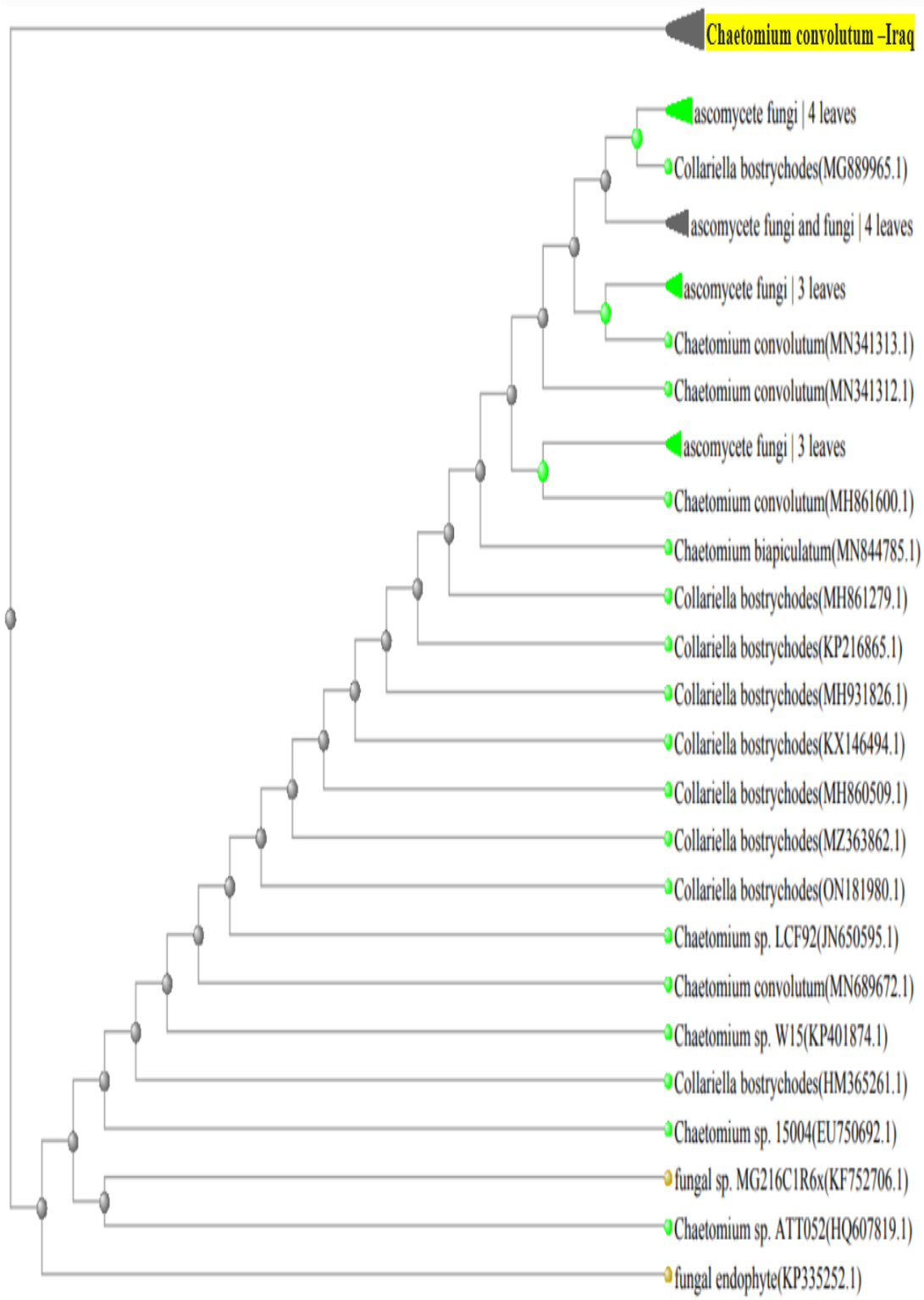
الشكل (32) : الشجرة الوراثية للنوع *Fusarium proliferatum*



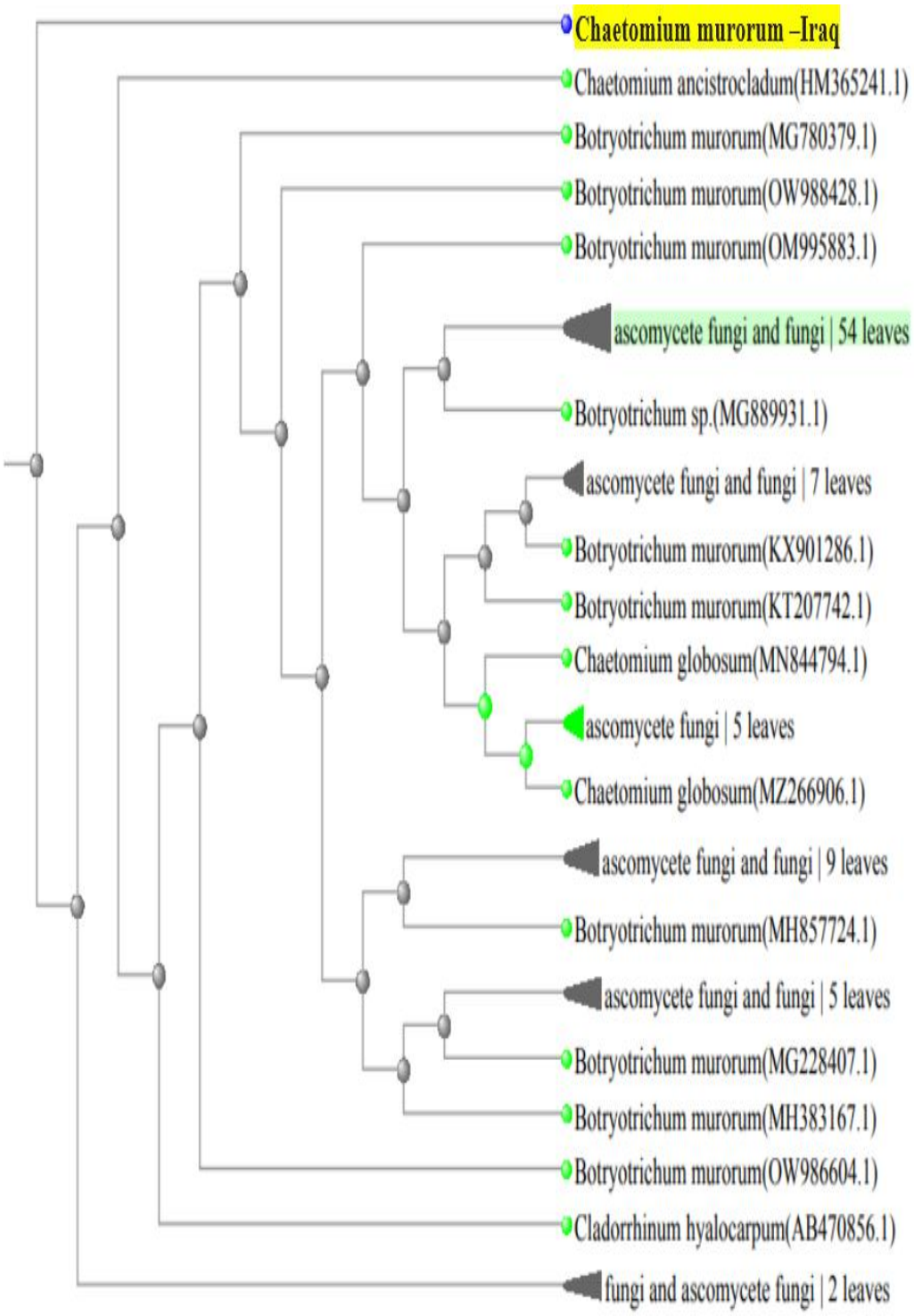
الشكل (33) : الشجرة الوراثية للنوع *Fusarium solani*



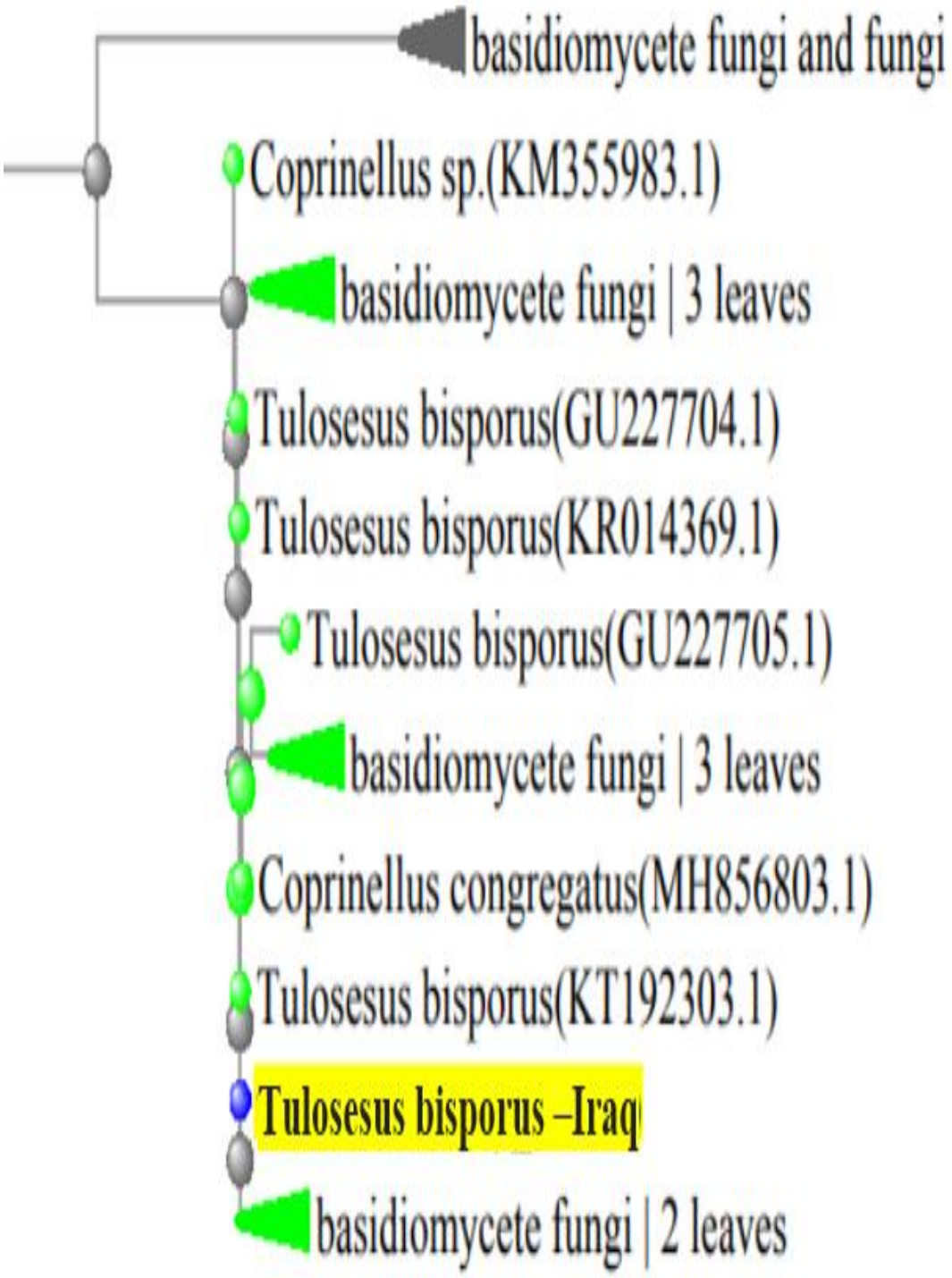
الشكل (34) : الشجرة الوراثية للنوع *Ascobolus stercorarius*



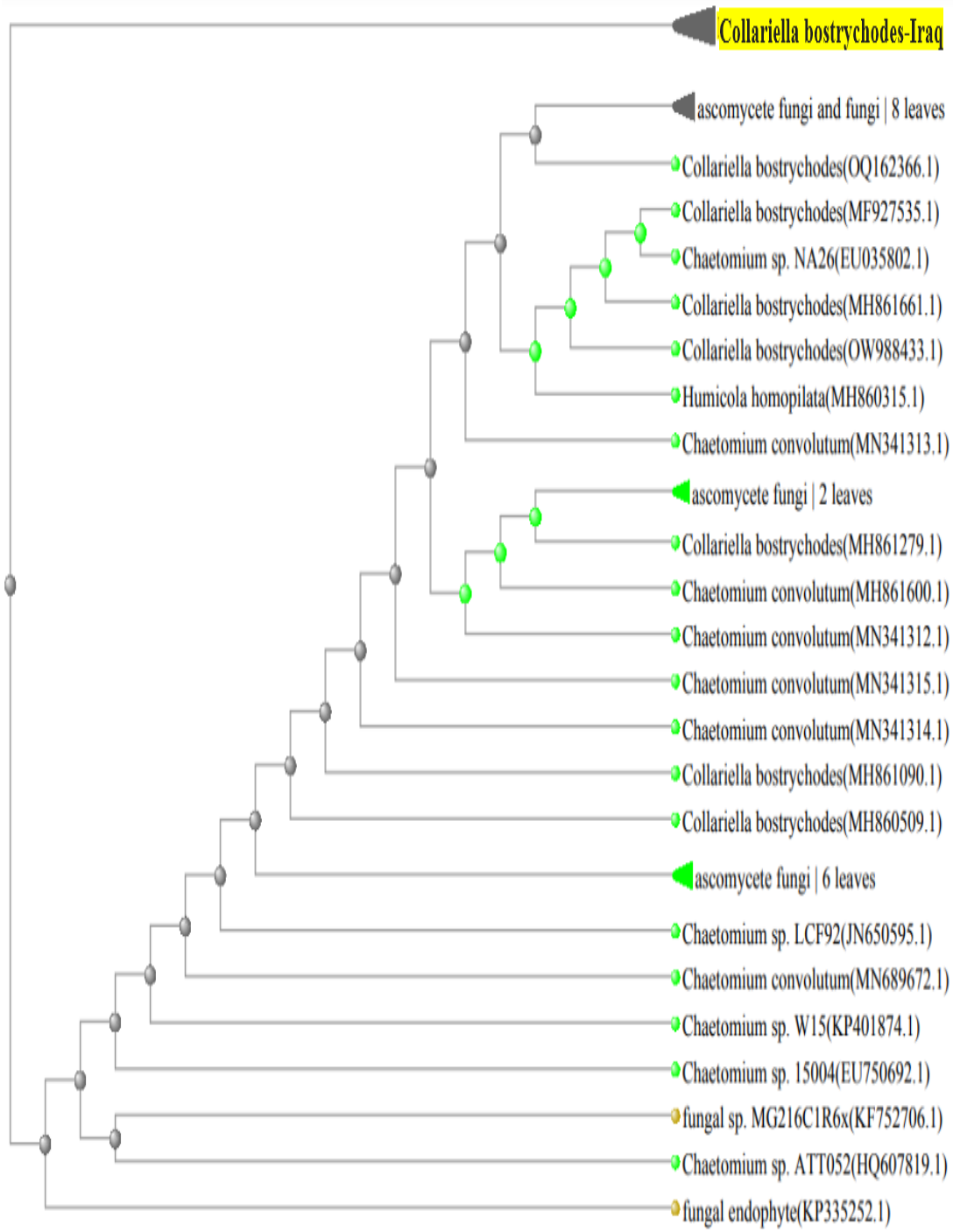
الشكل (35) : الشجرة الوراثية للنوع *Chaetomium convolutum*



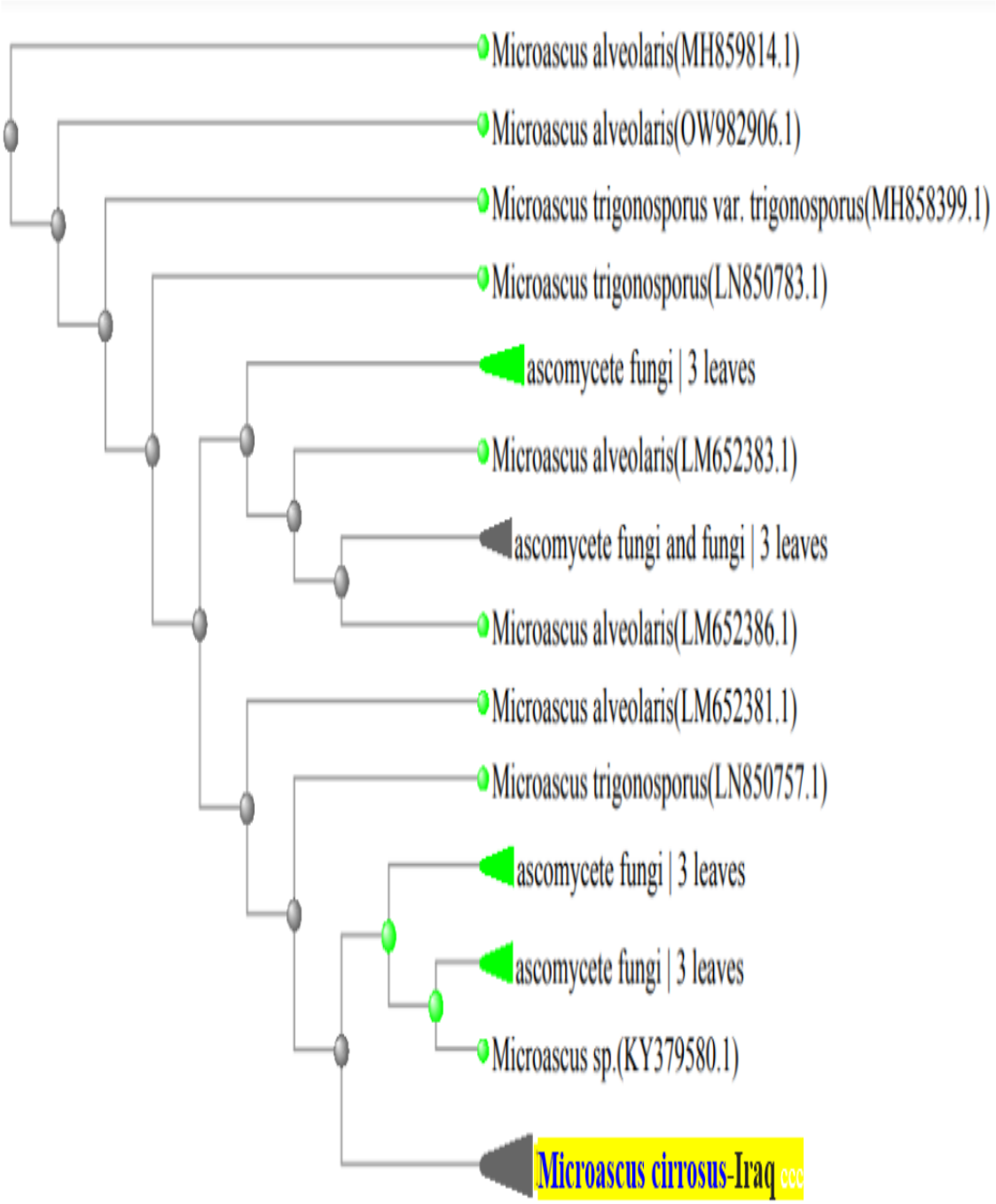
الشكل (36) : الشجرة الوراثية للنوع *Chaetomium murorum*



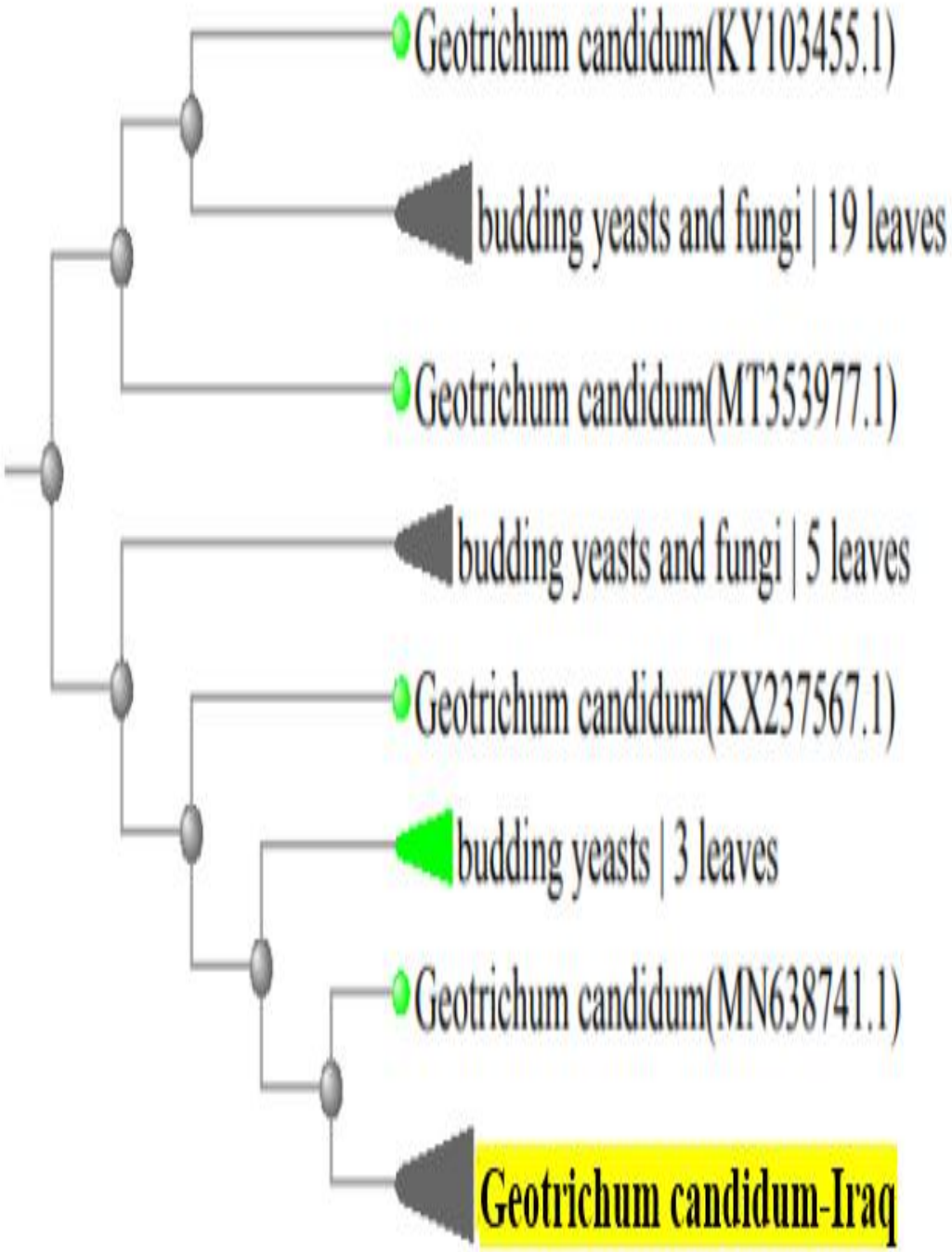
الشكل (37) : الشجرة الوراثية للنوع *Tulosesus bisporus*



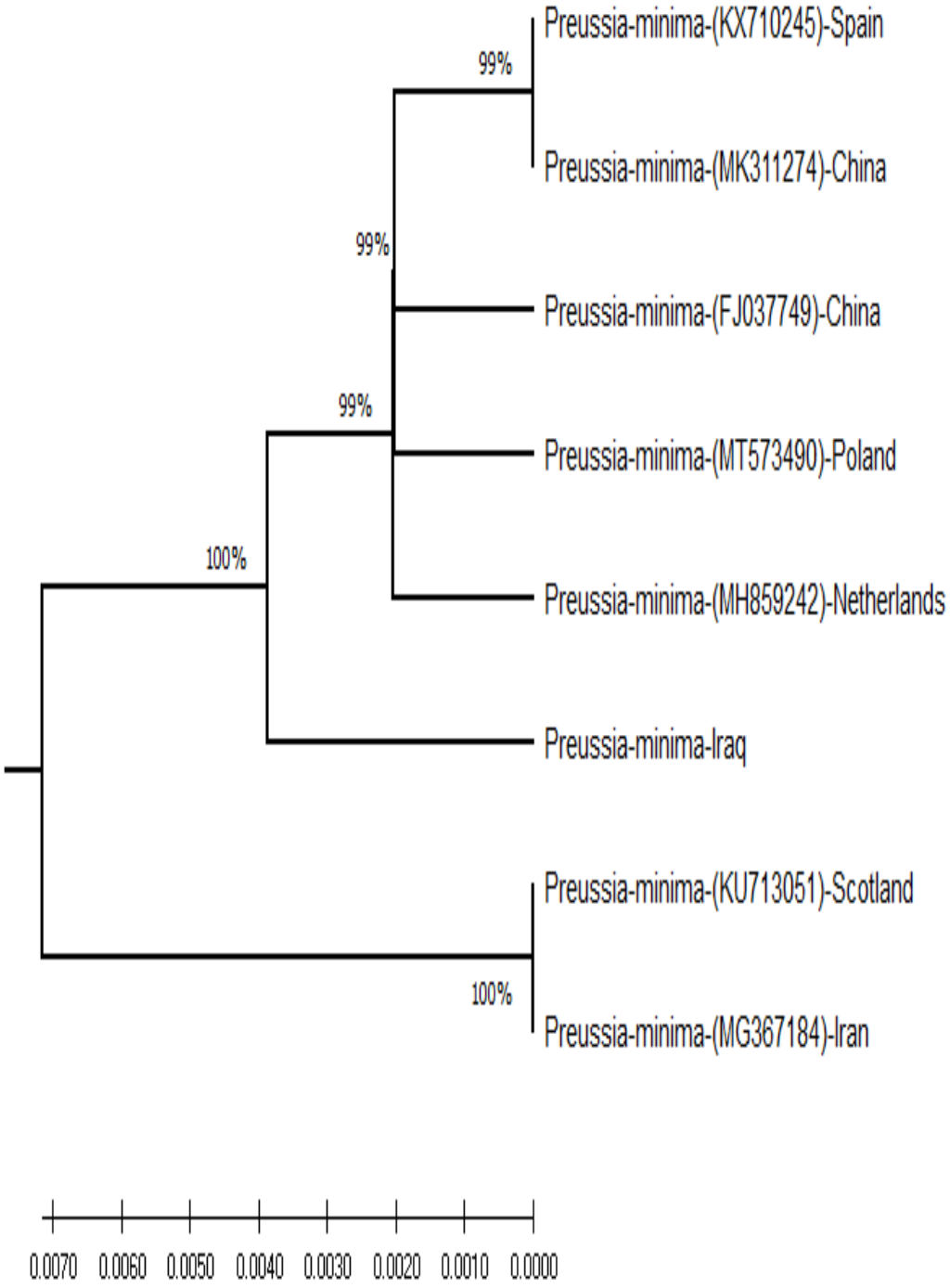
الشكل (38) : الشجرة الوراثية للنوع *Collariella postrychodes*



الشكل (39) : الشجرة الوراثية للنوع *Microascus cirrosus*



الشكل (40) : الشجرة الوراثية للنوع *Geotrichum candidum*



الشكل (41) : الشجرة الوراثية للنوع *Preussia minima*

4. الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

1.4. الاستنتاجات Conclusions

1. اظهرت نتائج هذه الدراسة وجود تنوع فطري كبير على عينات روث الاغنام والابقار فقد تم الحصول على 256 عزله تم تشخيصها من عينات الروث، اذ سجل موقع مركز العمارة عددا اكبر من العزلات.

2. وجد ان الفطريات الكيسية Ascomycota هي الاكثر تواجدا ثم اللاقحية Zygomycota والبازيدية Basidomycota والمخاطية Myxomycota التي عزلت من عينات روث الابقار والاغنام.

3. اظهرت عينات روث الاغنام تنوعا اكثر من ناحية ظهور الفطريات مقارنة بظهورها في عينات الابقار.

4.اظهرت بعض الاجناس سيادة واضحة في تواجدها على الروث مقارنة مع بقية الاجناس الاخرى .

5. اظهرت نتائج الدراسة الجزيئية نسبة تطابق تراوحت بين 95.32% الى 100% لاربعة عشر نوعا من الفطريات المشخصة مظهريا .

2.4. التوصيات Recommendations

1. اجراء المزيد من الدراسات المظهرية والجزيئية لعزل وتشخيص الفطريات النامية على روث حيوانات اخرى من آكلة الاعشاب وآكلة اللحوم في محافظة ميسان .

2. دراسة الفعالية الانزيمية للفطريات المعزولة من روث الحيوانات آكلة الاعشاب واللحوم في محافظة ميسان .

3. دراسة قابلية فطريات الروث المعزولة من الروث على انتاج الوقود الحيوي.

4. تحديد المركبات الفعالة في الفطريات المعزولة من روث الحيوانات آكلة اللحوم والاعشاب .

5. دراسة العلاقات البيئية بين الانواع الفطرية والاحياء الاخرى كالبكتريا والحشرات والطفيليات المتواجدة على الروث مثل التنافس والافتراس والتطفل والتضاد .

6. دراسة التعاقب البيئي لهذه الفطريات النامية على روث الحيوانات بمختلف انواعها .

5. المصادر References

1.5. المصادر العربية

العبد ، وئام عبدالله (2014) . دارسة التنوع الفطري لروث بعض الثدييات الأليفة في محافظة اللاذقية. رسالة ماجستير ،كلية العلوم ، جامعة تشرين . 103 صفحه.

الحبيب ، اخلاص كاظم جباره (1988) . دراسة تصنيفية للفطريات المحبة والمصاحبة لروث الحيوانات ونشاطها الانزيمي السليلوزي . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة البصرة . 128 صفحة

على ، أحمد محمد .(1998) .عالم الفطريات .الطبعة الأولى .الدار العربية للنشر والتوزيع .القاهرة.

العطبي ، صبيح داود محمد (1990) . دراسة تصنيفية للفطريات القرصية المحبة لروث الحيوانات في العراق . رسالة ماجستير ، كلية العلوم، جامعة البصرة .

2.5. المصادر الاجنبية

Abdullah, S.K and Nashat ,L. H. (2014). Diversity of Soil Microfungi in Pine Forest at Duhok Governorate, Kurdistan Region. *Journal of University of Zakho*. 2(1): 97-106.

Abdullah, S.K. (1987). Additions to coprophilous fungi of Iraq 1.A new species of *Podospora*. *Nova Hedwigia*, 44:345-349.

Abdullah, S.K. and Al-Utby, S.D. (1999). Additions to coprophilous fungi of Iraq V. Cleistothecial ascmycetes. *J.Basrah Research*, 18:81-89.

Abdullah, S.K., Al-Saadoon, A.H.and Guarro, J.(1999).New and interesting coprophilous ascomycetes from Iraq. *Nova Hedwigia*,69**:**211-216.

Abdullah, S.K.; Ismail, A.L.S. and Rattan, S.S. (1976). New and interesting coprophilous fungi from Iraq. *Nova Hedwigia*, 28, 241-250.

Abdullah.S.K. (1982).Coprophilous mycoflora on different dung types in southern desert of Iraq. *Sydowia Annals mycologici*. 35,1-5 .

Adhikari ,M.K (2013). *Pezaza fimeti* (Pezizales : pezazaceae): New record of a cup fungus from Nepal . *Ecoprint* .20: 37-39

Ahmed, S.I ; Ismail, A. L.S. and Abdullah,S.K. (1971). Contribution to the fungi of Iraq II. Coprophilous fungi. *Bull. Biol. Res. Centre*, 5,16-32.

Al-Ameed, A; Al-Gburi ,N.M and Talib ,A .N (2017). Isolation of some species of fungi from fecal samples in Zawraa zoo in Baghdad . *The Iraq Journal of veterinary medicine* ,41(1): 34-37.

Altayyar ,I . A ; Ismail, M. A.S and Abdullah , S. K .(2017). A Preliminary Study of Coprophilous Fungi in North of Jordan . *Int. J. Appl. Med. Biol. Res*. 2 (1): 11-15.

Amandeep ,K.1., Atri ,N.S and Munruchi , K (2014). Taxonomic study on coprophilous species of *Coprinopsis* (*Psathyrellaceae, Agaricales*) from Punjab, India . *Mycosphere* 5 (1) : 1-25.

Baghel, A .A.; Thungpathra ,M.; Shivaprash,M. R. and Chakrabarti , A. (2010). *Multilocus microsatellite* typing for *Rhizopus oryzae*, *Journal of Medical Microbiology 59:1449-1455*.

Baker, A.G; Bhagwat ,S.A. and Willis, K.J(2013).Do dung fungal spores make a good proxy for past distribution of large herbivores? *Quaternary Science Reviews,* 62: 21–31

Baker, A. G; Cornelissen, P; Bhagwat, S. A; Vera, F. W. M., and Willis, K. J. (2016). Quantification of population sizes of large herbivores and their long-term functional role in ecosystems using dung fungal spores. *Methods Ecol. Evol.* 7:1273-1281.

Basumatary ,S.K and McDonald ,H .G (2017). Coprophilous fungi from dung of the Greater One-Horned Rhino in Kaziranga National Park, India and its implication to paleo herbivory and paleoecology. *Quaternary Research* .88, 14-22.

Bell ,A**. (**2005).An Illustrated Guide to the Coprophilous Ascomycetes of Australia. Biodiversity Series 3. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. The Natherland .

Bell, A. (1983). Dung Fungi an Illustrated Guide to Coprophilous Fungi in New Zealand. Victoria Univ. Press, Wellington.

Bills ,G .F; Gloer, J. B. and An, Z.(2013).Coprophilous fungi: antibiotic discovery and functions in an underexplored arena of microbial defensive mutualism ,Current Opinion in Microbiology ,16, 1-17.

Bills, G. F., Platas, G., Peláez, F., and Masurekar, P. (1999). Reclassification of a pneumocandin-producing anamorph, Glarea lozoyensis gen. et sp. nov.,

previously identified as Zalerion arboricola. *Mycological Research*, 103(2): 179-192.

Calaça ,F.J.S; Delpont ,M and Xavier-Santos, S (2015).*Delitschia gigaspora* var. *pescanii*: a new variety of coprophilous fungus from Brazil , *Mycosphere* 6 (1): 122-126.

Calhim, S;Halme, P; Petersen, J.H; Læssøe, T.; Bässler, C; Heilmann-Clausen, J.(2018) .Fungal Spore Diversity Reflects Substrate-Specific Deposition Challenges. *Sci. Rep.,* 8, 5356.

Coué ,B. (2006). *Saccobolus* Boud., généralités et description de deux espèces : *S. glaber et S. globuliferellus*. *Bulletin de la Société mycologique du Massif d'Argenson*, 24: 15-19

Davies, A. L., Harrault, L., Milek, K., McClymont, E. L., Dallimer, M and Hamilton, A. (2022). A multiproxy approach to long-term herbivore grazing dynamics in peatlands based on pollen, coprophilous fungi and faecal biomarkers Palaeogeogr. *Palaeoclimatol. Palaeoecol*. 598:111032.

Deltedesco, E; Keiblinger, K.M; Piepho, H.P; Antonielli, L; Potsch, E.M; Zechmeister-Boltenstern, S. and Gorfer, M. (2020). Soil microbial community structure and function mainly respond to indirect effects in a multifactorial climate manipulation experiment. Soil Biology and Biochemistry 142: article 107704.

Demirel, R ; Sariozlu ,N.Y and İlhan, S (2013) .Polymerase Chain Reaction (PCR) Identification of Terverticillate *Penicillium* Species Isolated from Agricultural Soils in Eskişehir Province . *Brazilian Archeives of Biology and Technology Journal* , 56(.6): 980-984.

Desjardin , D. E and Stevevns , F.A(2015). California Mushrooms . The comprehensive identification guide .*Timber press* .*Portland* .*OR* . 560.

Domsch , K.H.; Gams , W. and Anderson,T.H.(1980).Compendium of Soil Fungi. Vol. 1, Academic Press, London.

Doveri ,F .(2011). Addition to Fungi Fimicoli Italici : An update on the occurrence of coprophilous Basidiomycetes and Ascomycetes in Italy with new *Mycosphere* 3: 978-995.

Doveri , F (2014) . An update on the genera *Ascobolus* and *Saccobolus* with keys and descriptions of three coprophilous species, new to Italy . *Mycosphere* 5 (1): 86-135 .

Ebersohn ,C. and Eicker ,A. (1992). Coprophilous fungi species composition and species diversity on various dung substrates of Africa game animals. *Bot. Bull. Acad.* 33,85-95.

Eebersohn ,C. and Eicker , A. (1997).Determination of the coprophilous fungal fruit body successional phases and the delimitation of species association classes on dung substrates of African game animals, *Bot. Bull. Acad. Sin*. 38,183-190.

Ellis, D., Davis, S., Handke , R., and Bartley, R. (2007). Description of medical fungi second edition. Mycology Unit, Women's and Children's Hospital. North Adelaide Australia book, 181-7.

Farouq ,A.A.; Abdullah ,D.K.; Hooiling ,F. and Abdullah ,N.(2012) . Isolation and Characterization of Coprophilous Cellulolytic Fungi from Asian Elephant Dung,*Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, (2)7,44-51.

Foos, M.K and Sheehan, K.B(2011). Molecular identification of *Pilobolus* species from Yellowstone National Park .*Mycologia*, 103(6): 1208-1215.

Fryar, S.C. (2002).Fungal succession or sequence of fruit bodies? In: Fungal Succession. Hyde, K.D. and Jones, E.B.G. Eds. *Fungal Diversity*. 10, 5-10.

Ghadmal, K. P. (2019). Determination of Coprophilous Fungal Species and Their Diversity on the Dung Substrates. Flora and Fauna, 25(1): 935–940.

Ghosta , Y ; Poursafar , A and Qarachal ,J.F (2016) .Study on coprophilous fungi: new records for Iran mycobiota . Rostaniha 17(2): 115-126 .

Goutam ,C.(2010). Studies on Coprophilous fungi from dung Of elephant ,sri sathya sai University, India .

Graser, Y., De Hoog, S. and Summerbell, R. C.(2006). Dermatophytes: recognizing species of clonal fungi. *Med Mycol* 44, 199-209.

Griffith, G.W. and Roderick, K .(2008). Saprotrophic basidiomycetes in grasslands: distribution and function. In: L. Boddy, J.C. Frankland and P. van West (eds), Ecology of saprotrophic Basidiomycetes, p. 277-299. *Elsevier, Amsterdam.*

Guarro,J ; Al-Saadoon ,A.H. and Abdullah,S.K. (1997).Two new coprophilous species of *Preussia* (Ascomycota) from Iraq . *Nova Hedwigia* ,1(2):177-183.

Guarro ,J.; Gene J.; Stichigel ,A.N.; and Figuerasm .J.(2012), Atlas of Soil Ascomycetes, CBS Biodiversity Series 10.

Gupta, A.K. (2010). Studies on fungi from the dung of some herbivorous inmates of Prince of Wales Zoological Garden, Lucknow; PhD thesis (Lucknow: University of Lucknow). 178pp.

Hauser , J.T. (1994). Be It Ever So Humble, There's No Place Like Dung, Fungal Succession on Dung, Carolina Biological Supply Company , Appendix 23 , 1-3.

Hayhoe , E (2016). Coprophilous Fungi from Koala Faeces: A Novel Source of Antimicrobial Compounds ,Ph .D,thesis Faculty of Science, Engineering and Technology Swinburne University of Technology 188 pp.

Hein,S.M.;Gloer ,J.B.;Scott ,J.A. and Mallochd. (1998) .Arugosin F*:* a new antifungal metabolite from the coprophilous fungus *Ascodesmis sphaerospora*. Jou.Nat. Prod. 61: 1566-1567.

Holmer , L. and Stenlid, J. (1997) ,Competitive hierarchies of wood decom posing basidiomycetes in artificial systems based on va riable inoculum sizes.Oikos 79:77-84.

Jasim ,A.S.(2022). Molecular Identification and Evaluation the Enzymatic and Antibiotic Activity of Dung Fungi and Improvement of Cellulose biodegradation by Cloning *cbhlB* Gene to Bacteria .Thesis of Ph .D University of Basrah /College of Veterinary Medicine ,158pp.

Jeamjitt T,O.(2007).Diversity of coprophilous fungi ,antagonism against plant pathogenic fungi, and secondary metabolites of *Ascodesmis macrospora* AND Sordaria fimicola , Thesis of Master , Kasetsart University, Thailand .

Jeamjitt,O ; Mnoch, L. and Visarathanonth ,N. (2006). Diversity and distribution of0hyphomycetes from dung in Thailand, Kasetsart J. *Nat. Sci.* 40: 890-901.

Jousson, O. Lechenne, B. Bontems, O. Capoccia, S. Mignon, B. Barblan, J. Quadroni, M and Monod, M. (2004).Multiplication of an ancestral gene encoding secreted fungalysin preceded species diffentiation in the dermatophytes Trichophyton and Microsporum.Microbiology 150, 301-310.

Katoh, K. and Standley, D.M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability.Molecular Biology and Evolution 30: 772-780.

Keirle ,M.R ; Hemmes ,D.E and Desjardin , D. E (2004). Agaricales of the Haawaaiian island .8. Agaricaceae : C*oprinus and Podaxis* ; psythyrellaceae : *Coprinopsis ,Coprinellus and Parasola* . *Fungal diversity* 15:30-124 .

Kendrick , B. (2000). The Fifth Kingdom. Third edition. Focus Publishing. USA.

Khan, A. M., and Bhadauria, S. (2018). Molecular characterization of keratin degrading fungi isolated from semi-arid soil by PCR using ITS4 and ITS5 primers. Journal of King Saud University-Science, 31(4): 1418-1423.

Khiralla ,A .I (2007) .A Study on the Ecological Group Coprophilous (Dung) Fungi in Khartoum .Ms .thesis , University of Khartoum ,151 p.

Kristiansen ,R.(2011).The genus *Ascodesmis* (Pezizales) in Norway ascomycetes , org, 2 (4) : 65-69.

Krug, J.C., Benny, G.L., and Keller, H.W. (2004). Coprophilous fungi. In Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring, G.M. Mueller, G.F. Bills, and M.S. Foster, eds. (*San Diego, CA: Elsevier*), 589-593pp.

Kruys , A. N. L. (2005).Phylogenetic Relationships and Species Richness of Coprophilous Ascomycetes, Thesis of Master ,Umeå University, Denmark.

Kruys , A. and Eircson , L. (2008), Species richness of coprophilous ascomycetes in relation to variable food intake by herbivores. *Fungal diversity*.30: 73-81.

Kumar, S.; Nei, M.; Dudley, J. and Tamura, K. (2008). MEGA: a biologistcentric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences.n Bioinform.; 9: 299-306.

Kuthubutheen, A. J. and Webster, J. (1986). Effects of water availability on germination, growth and sporulation of coprophilous fungi. *Transactions of the British Mycological Society*. 86(1): 77-91.

Kuyper , T.W.M ; Van Peer, A.F and Baars, J.J.P.(2021). Coprophilous fungi; Closing the loop: improving circularity with manure-loving mushrooms . *Wageningen Research, Report WPR*-1. 39 pp.

Lehr,N.A ;Meffert, A; Antelo, L ;Sterner, O ; Anke, H. and Weber, R.W (2005). Antiamoebins, myrocin B and the basis of antifungal antibiosis in the coprophilous fungus *Stilbella erythrocephala (syn. S. fimetaria*). FEMS Microbiology, Ecology 55: 105-112.

Masunga , G.S; Andresen, Q; Taylor, J. E. and Dhillion ,S.S. (2006). Elephant dung decomposition and coprophilous fungi in two habitats of semi-arid Botswana, *mycological research* 110, 1214-1226.

Mathe, C., N. Fawal, C. Roux and C. Dunand (2019). In silico definition of new ligninolytic peroxidase sub-classes in fungi and putative relation to fungal life style. Scientific Reports 9: article 20373.

Melo ,R.F.R; Maia, L.C and Miller, A.N.(2017). Coprophilous ascomycetes with passive ascospore liberation from Brazil. *Phytotaxa* 295: 159–172.

Melo, R. F. R ; De Brito Gondim, N. H ; De Azevedo Santiago, A. L. C. M ; Maia, L. C. and Miller, A. N. (2020). Coprophilous fungi from Brazil: Updated identification keys to all recorded species. *Phytotaxa*, 436(2): 104-124.

Melo, R.F.R ; Chikowski, R.D.S; Miller, A.N. and Mala, L.C. (2016). Coprophilous *Agaricales* (*Agaricomycetes*, *Basidiomycota*) from Brazil. Phytotaxa 266: 001-014.

Melo, R.F.R ;Miller ,A.N; Santiago, A.L.C and Maia, L.C. (2014). The genera *Ascobolus* and *Saccobolus* (*Ascobolaceae*, *Pezizales*) in Brazil. *Mycosphere* 4: 363–454.

Melo,R.F.R ; Miller ,A.N and Maia ,L.C (2017). *Sporormiella longicolla* sp. nov. and new *Sporormiella* records on herbivore dung from Brazil . *Mycotaxon* ,132 :459-470 .

Melo1,R.F.R. ; Monte ,D.B.P ; Gondim, N. H.B ;Maia ,L. C. and Miller, A. N.(2019). Coprophilous fungi from Brazil: new records for the Neotropics . *Mycotaxon* ,(134): 335-352.

Mirhendi, H; Makimura, K; Khoramizadeh, M and Yamaguchi, H. (2006). A one-enzyme PCR-RFLP assay for identification of six medically important *Candida* species. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 47(3):225-229.

Mueller ,G.M.; Bills,G.F. and Foster ,M.S.(2004), Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods.(Eds.). Elsevier Academic Press San Diego. Mycological Research. 105: 387-402.

Mumpuni, A; Ekowati ,N and Wahyono ,D.J (2020).The existence of coprophilous macrofungi in Banyumas, Central Java, Indonesia, *Biodiversitas* .1(21) : 282-289.

Mungai, P.G., Chukeatirote, E., Njogu, J.G. and Hyde, K.D. (2012). Studies of coprophilous ascomycetes in Kenya. *Podospora* species from wildlife dung. *Mycosphere* 3(6):978-995.

Mungia ,P.G; Hyde ,K.D.; CAI ,L; Njogu ,J. and Chukeatirote , K. (2011). Coprophilous Ascomycetes of northern Thailand. *Cream*. 2: 135-159.

Mustafa,K.M and Abdullah,S.K (2011). The Coprophilous Genera *Arnium* and *Cercophora* fromNorth Iraq . 2*nd* Scientific Conference for Biological Science-Sci College –Mosul Unversity.285-300.

Nagy, L. A. and Harrower, K. M. (1979). Analysis of two Southern Hemisphere Newcombe, G.; Campbell, J.;Griffith, D.; Baynes, M.; Launchbaugh, K. and Pendleton, R. (2016). Revisiting the life cycle of dung fungi, including *Sordaria fimicola*. *PLos One*, 11:1-12

Nguyen, T. T ; Pangging, M ; Lee, S.H and Lee, H. B .(2018). Four New Records of Ascomycetes Species from Korea . Mycobiology Journal . 46 (4): 328-340.

Pandey , S. (2009). Studies on fungi growing on the Dung of some herbivores. Ph. D. thesis, University of Lucknow, Lucknow, 207pp.

Paoletti, M. and Saupe , S.J. (2008). The genome sequence of Podospora anserina, a classic model fungus. Genome Biology 9: article 223.

Peay, K.G; Kennedy, P.G and Bruns, TD. (2008). Fungal Community Ecology: A Hybrid Beast with a Molecular Master. *Bioscience;* 58(9):799-810.

Plishka , M, J. R.; Tsuneda ,A and Currah , R, S. (2009). Morphology and development of *Nigrosabulum globosum*,a cleistothecial coprophile in the Bionectriaceae (Hypocreales) . *Elsevier. Mycological research* 113 :815-821.

Poggeler,S.(2011).Evolution of Multicopper Oxidase Genes in Coprophilous and Non-Coprophilous Members of the Order Sordariales , Current Genomics, 12, 95-103.

Revankar ,S.G. and Sutton ,D.A.(2010). Melanized fungi in human disease, clinical microbiology reviews, 884-928.

Richardson ,M (2019).Coprophilous Ascomycetes , *Ascomycete.org*, 11 (6) : 205-209.

Richardson ,M ,J(2011). Additions to the Coprophilous Mycota of Iceland , *Acta Bot. ISL*. 15: 23-49.

Richardson, M. J. (2001). Diversity and occurrence of coprophilous fungi. *Mycological Research*. 105: 387-402.

Richardson, M.J. (2002).The coprophilous succession. Fungal Succession, Fungal Diversity 10, 101-111.

Richardson, M.J. (2003).Coprophilous fungi, *Field Mycology* ,4(2):41-43.

Richardson ,M. J. (2008).Records of Coprophilous Fungi from the Lesser Antilles and Puerto Rico. *Caribbean Journal of Science*, 44 (2): 206-214.

Saha, B.C. (2004) .Production, purification and properties of endoglucanase from a newly isolated strain of *Mucor circinelloides*. Process Biochem., 39: 1871-1876.

Sambrook, J; Fritsch, E. F and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press.

Santigo , A.A ;Trufem ,S. B; Malosso,E; Santos,P. P. and Cavalcanti , M. Q. (2011).Zygomycetes from herbivore dung in the Ecological Reserve of Dois Irmãos, Northeast Brazil, *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 89-95.

Sarrocco, S. (2016). Dung-inhabiting fungi: a potential reservoir of novel secondary metabolites for the control of plant pathogens. *Pest Management Science*, 72: 643-652.

Sibounnavong P.S.;Kanokmedhakul , S. and Soytong, K.(2012) . Antifungal activities of *Chaetomium brasilense CB01 and Chaetomium cupreum CC03 against F. oxysporum f. sp. lycopersici race 2. Journal of Agricultural Technology* 8(3), 1029-1038.

Singh ,R.K .; Kumar ,N. and Singh ,K.P.(2005). *Morphological Variations in Conidia of Arthrobotrys oligospora on Different Media, Mycobiology,* 33(2), 118-120.

Sreelatha ,B; Priya, A.S and Girisham ,S. (2013). Incidence of Thermophilic Fungi in Different Dung Samples of Warangal District OF AP. *IJPBS.* 3 (2): 355-359.

Stielow, J. B., Levesque, C. A., Seifert, K. A., Meyer, W., Iriny, L., Smits, D., and Lomascolo, A. (2015). One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. Persoonia: *Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 35: 242 -263.

Thilagam ,L; Nayak ,B.K and Nanda ,A. (2015). Studies on the diversity of coprophilous microfungi from hybrid cow dung samples. *Int.J. PharmTech Res.* 8(9): 135-138.

Van Erven G., Kleijn, A.F. ; Patyshakuliyeva, A ; De Falco, M ;. Tsang,A ; de Vries, R.P ;Van Berkel ,W.J.H. and Kabel ,M.A.. (2020). Evidence for ligninolytic activity of the ascomycete fungus *Podospora anserina*. *Biotechnology for Fuels* 13: art. 75.

Viriato,A.(2008).*Pilobolus* species found on herbivore dung from the São Paulo Zoological Park, Brazil, *Acta bot. bras*. 22(3)**:** 614-620.

Wang, X.W; Houbraken. J; Groenewald,J.Z; Meijer, M;Andersen, B; Nielsen, K.F; Crous, P.W and Samson, R.A.(2016). Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and *chaetomium*-like fungi from indoor environments. Studies in Mycology 84: 145-224.

Watling ,R and Richardson , M.J. (2010). Coprophilous fungi of the Falkland Islands. *Edinburgh Journal of Botany*. 67 (3): 399- 423.

Webster , J and Weber, R.(2007) .Introduction to Fungi, 3th. ed., Cambridge university press.

Weber, R. W. (2009). Recent developments in the molecular taxonomy of fungi. In *Physiology and Genetics*. *Springer, Berlin, Heidelberg*. 15:1-5.

Wood, S. N. and Cook, C. (1986). Effect of *Piptocephalis* species on germination and sporulation of *Pilaira anomala*. Transactions of the British Mycological Society. 86(4): 672-674.

Yadav, S.K (2011). Studies On Diversity, Ecology And Activity Of Coprophilous Fungi From Goa And Neighboring Regions Of Maharashtra And Karnataka, Thesis of doctor ,India, Goa University.

Yilmaz, P., Parfrey, L.W., Yarza, P., Gerken, J., Pruesse, E., Quast, C., Schweer, T., Peplies, J., Ludwig, W., and Glöckner, F.O.(2014). The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks .*Nucleic Acids Research*, 42(1): 643–648.

Zhang ,M ; Zheng ,Z. ; Li, H and Chen ,F (2023). *Alternaria alternata*, the Causal Agent of a New Needle Blight Disease on Pinus bungeana . *Journal of Fungi* .9(71) :1-12 .