جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ميسان/ كلية العلوم

قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص الفطريات من البقايا النباتية المغمورة في البيئة المائية لبعض مناطق محافظة ميسان

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية العلوم - جامعة ميسان، وهي جزءٌ من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من الطالبة

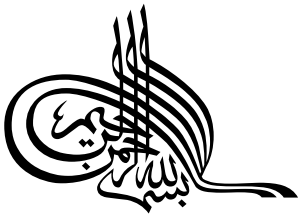
زينب جمعة عبد النبي

بكالوريوس تربية علوم الحياة 2009

بإشراف

أ.د .علي عبد الواحد قاسم

ربيع الاول / 1442هـ تشرين الأول / 2020م



﴿ قَالَ رَبِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي * وَيَسِّرْ لِي أَمْرِي * وَاحْلُلْ عُقْدَةً مِنْ لِسَانِي * يَفْقَهُوا قَوْلِي ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة طه: الآية 25–28

توصية الأستاذ المشرف

أقرُّ أنَّ إعداد هذه الرسالة جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة- كلية العلوم - جامعة ميسان كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة.

التوقيع:

الاسم: أ. د. علي عبد الواحد قاسم.

اللقب العلمي: أستاذ.

التاريخ: / / 2020 م

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصية المقدمة من قبل الأستاذ المشرف أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. ميثم عبد الكاظم .

اللقب العلمي:

التاريخ: / / 2020 م

المقومون

المقوم اللغوي :

قوّمت الرسالة لغوياً من قبل

المقوم العلمي :

قوّمت الرسالة علمياً من قبل

مصادقة عمادة كلية العلوم

بناءً على الصلاحيات المخوّلة لنا نصادق على ما جاء في قرار لجنة المناقشة في أعلاه.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. صبيح جاسم كاطع.

اللقب العلمي: أستاذ مساعد.

العنوان: جامعة ميسان/ كلية العلوم.

التاريخ: / / 2020 م.

الاهداء

إلى معلم البشرية ومنبع العلم نبينا محمد (صلى الله عليه وآله وسلم)

إلى امامنا صاحب العصر والزمان

إلى من ربياني صغيراً، وغمراني بحبّهما كبيراً ، إلى من كان لهما

وراء كلّ خطوةٍ فضل الحرص والإشفاق ،ووراء كلّ غربةٍ نبل الدعاء

والأشواق أبي وأمي مدّ الله في عمرهما .

إلى شريك العمر ، ورفيق الدرب، وقسيم السرّاء والضرّاء زوجي مقداد

إلى زهرة عمري لجين .

إلى قرّة عيني عباس .

إلى الشموع المضيئة في حياتي . . أخوتي وأخواتي

زينب جمعة عبد النبي

شكر وثناء

أشكر الله الباري عزّ وجلّ الذي غمرني برحمته وشملني بمحبته وأفاض عليَ من نعمه، فله الحمد وله الشكر والإجلال قولاً وعملاً، والصلاة والسلام على رسولنا الأكرم محمد بن عبد الله وآله الطيبين الطاهرين.

لا يسعني بعد انجاز رسالتي إلاّ أن أقف إجلالاً وإكراماً إلى كل من علّمني حروف العلم منذ اليوم الأول لرحلة العلم والدراسة ، وأخص بالذكر الاستاذ الدكتور (علي عبد الواحد قاسم) الذي أولاني رعايةً واهتماماً كبيرين ابتداءً من تفضله بقبول الإشراف على رسالتي وعلى ما أبداه من توجيهات وملاحظات علمية قيمة والتي كان لها عظيم الأثر في إكمال هذه الرسالة وإخراجها بشكلها الحالي فجزاه الله عني خير الجزاء ووفّقه لما تحب ويرضى .

كما أقدّم شكري وتقديري الى عمادة كلية العلوم – جامعة ميسان لما قدمته من التسهيلات لطلبة الدراسات العليا ، ووافر الشكر والتقدير الى رئيس قسم علوم الحياة الدكتور (ميثم عبد الكاظم) وإلى اساتذة قسم علوم الحياة واخص بالذكر الست(شيماء ربيع بعنون) لما بذلته من تعاون في إجراء فحوصات الـ DNA .

واقدم شكري وامتناني للأستاذ الفاضل (أسعد تحيى عايد) لإجرائه التحليل الاحصائي . والى زملائي طلبة الدراسات العليا واخص بالذكر الست(نور علي رحيم) و(الاستاذ مهند مهدي) والى جميع منتسبي القسم من مسؤولي المخزن والموظفين .

هذا العمل ما كان ليتم لولا مؤازرة أسرتي ومساعدتهم وصبرهم فلهم مني جزيل الشكر والامتنان .

زينب جمعة عبد النبي

الخلاصة

اجريت الدراسة في مختبر الفطريات / كلية العلوم / جامعة ميسان والتي تم خلالها اجراء مسح للفطريات الموجودة من البقايا النباتية في محافظة ميسان خلال الفترة من ايلول 2019- شباط 2020 بهدف عزل الفطريات المحللة للبقايا النباتية الطافية والمغمورة في البيئة المائية وتشخيصها، تم جمع 47 عينة من الاخشاب من اربعة مواقع في محافظة ميسان (قضاء الميمونة و ناحية السلام و قضاء المجر الكبير ومدينة العمارة) ، فشخص 48 نوعا من الفطريات المترممة على البقايا النباتية المغمورة في المياه تعود اغلبها الى الفطريات الكيسية بحالتها اللاجنسية ، وبلغ عددها 24 نوعاً بنسبة بلغت 50% ، ستة انواع منها توجد في الحالة الجنسية ، و 19 نوعا من فطريات Hyphomycetes بنسبة 39.58% واربع فطريات تعود الى الفطريات اللاقحية Zygomycota بنسبة 8.33% وعزل أيضاً فطراً واحداً يعود الى الفطريات البيضية Oomycota بنسبة بلغت 2.08 % ، كما بينت الدراسة أنّ أعداد الفطريات التي عزلت بطريقة الغرفة الرطبة 34 نوعاً ، بينما اعداد الفطريات التي عزلت بطريقة الزرع المباشر 27 نوعاً .

بينت الدراسة الى أنّ اعداد عزلات الفطريات اختلفت باختلاف انواع الفطريات ومناطق جمع العينات ، وبينت الدراسة ان الانواع *Aspergillus horti* و *Aspergills terrrus* و *Aspergillus fumigatus* و *Pencillium chrysogenum* عزلت من جميع مواقع الدراسة ، وعزل الفطر *Zopfiella latipes* من جميع مواقع الدراسة ماعدا موقع ناحية السلام ، في حين ظهر فطر *Fusarium solani* في ثلاثة مواقع ماعدا مدينة العمارة ، وأن نسب ظهور وتردد الأنواع الفطرية اختلفت فيما بينها ، فقد سجل أُعلى نسبة ظهور وتردد تعود الى فطر *A.terrrus* بنسبة ظهور 42.55 % وتردد 11.76% ، أما أقل نسبه ظهور وتردد سجلت لعدد من الأنواع منها *Aniptodera margiration* و فطر *Aspergillus oryzae* و فطر *Cirrenalia iberica* بلغت 2.12 %- 0.58 % لكل منهما (على التوالي).

سجلت الانواع *C.iberica* و *Cordana lignicola* و *Cordana verruculosa* و *Pseudoacrodicty appendiculata* و *Scytillidium thermophilum* و *A.margaration* لأول مرة بالعراق وقد تم وصفها بدقة .

أشارت الدراسة إلى إنَّ العوامل البيئية التي تم قياسها للبيئة المائية في مواقع جمع العينات قد اختلفت من موقع إلى اخر وكان أغلبها ضمن الحدود الطبيعية الملائمة لنمو الفطريات ، فدرجات حرارة المياه تراوحت بين 20.1 - 37.7 م°إذ سجّلت أعلى درجة حرارة في شهر أيلول في قضاء الميمونة وبلغت 37.7 م° بينما ادنى درجة حرارة سجلت في كانون الثاني في مدينة العمارة وبلغت 20.1 م°، أما قيم الأُس الهيدروجيني pH للمياه فتراوحت ما بين 7 - 8.43 أي أنّها تميل الى ان تصبح متعادلة الى قاعدة ضعيفة ، فقد سّجلت أعلى قيمة للأُس الهيدروجيني في شهر كانون الثاني في مدينة العمارة بلغت 8.43 وأدنى قيمة سجلت في شهر أيلول في قضاء المجر الكبير بلغت 7 ، أوضحت النتائج الخاصة بقياس نسبة الملوحة في المواقع جميعها أن المياه قليلة الملوحة (مويلحة) ، إذ تراوحت ما بين0.5-1.9 ملغم/لتر، سُجلت اعلى نسبة ملوحة في شهر ايلول في ناحية السلام بلغت 1.9ملغم/لتر ، بينما أدنى قيمة سجلت في مدينة العمارة بلغت 0.5 ملغم/لترفي شهر ايلول.

وبينت النتائج وجود تبايناً في قابلية الفطريات المختبرة على افراز انزيمات خارج خلوية ، فتم اختبار قابلية إحد عشر نوعا من الفطريات المعزولة اثناء الدراسة لقياس فعاليتها لإنزيم السليليز Cellulase وإنزيم الاميليز Amylase وإنزيم الفينول اوكسديز Phenol oxidase وإنزيم البكتنيز Pectinase

بنوعية Pectate lyase (pH7) و Polygalacturonase (pH5) ، وبينت النتائج أنَّ الفطريات المختبرة جميعها قادرة على إفراز إنزيم السليليز والاملیز بينما هناك تفاوتٌ في قابليتها على افراز إنزيم الفينول أوكسديز وانزيمات البكتنيز . وبيّنت النتائج أنَّ هناك ثلاثة أنواع من الفطريات أعطت كشفاً موجباً لجميع الانزيمات المدروسة وهم *A.niger* و *A.horti* و *Rhizopus oryzae* . في حين اظهر الفطرين *Mucor pseudolamprosporum* و *Fusarium oxysporum* فعالية انزيمية تجاه جميع الانزيمات المدروسة ماعدا إنزيم الفينول اوكسديز Phenol oxidase ، ولم يعط الفطر *Scedosporium prolificans* كشفاً موجبا لإنزيم Pectate lyase ، ولوحظ أيضاً أنَّ الفطريات *P.chrysogenum* و *Cladosporium cucumerium* و *Arthrobotrys dianchiensis* اظهرت فعالية فقط لإنزيم السليليز وإنزيم الاملیز .

أثناء الدراسة الجزيئية تم استخلاص الـDNA لستة أنواع من الفطريات المعزولة من البقايا النباتية الميتة المغمورة بالمياه ، فاستخدمت البادئاتITS1 و ITS4 لتضخيم الشريط الوراثي وظهرت مواقع الحزم المتضخمة بين 450bp- 600 ، وتّم أيضا تحليل تتابعات القواعد النيتروجينية للمادة الوراثية الـDNA للأنواع الفطرية المختبرة ومقارنتها مع العزلات الموجودة في بنك الجينات (NCBI)، وعملت الشجرة الوراثية لبعض الأنواع المعزولة اثناء الدراسة باستخدام برنامج MEGA.

أوضحت الدراسة أنَّ الفطريات المحللة للأخشاب تمتلك العديد من المركبات الكيميائية ، فقد أظهرت الدراسة الى ان الراشح الفطري للفطريات المختبرة *F.oxysporum* و *Geotrichum candidum* و*A.horti* و *C.cucumerium* و *S.prolificans* لها القدرة على انتاج مركبات كيميائية فعالة ووجد ان هناك سبعة مركبات فعّالة شُخّصت في الفطريات المدروسة جميعها وهي Cyclotetrasiloxane و 2,4-Di-tert-butylphenol و Phenol و Hexadecanoic acid و Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione,hexahydro-3-(2-methylpropyl)- و Dibutylphthalat و 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester .

المحتويات

التسلسل	العنوان	الصفحة
الفصل الاول : المقدمة		
1-1	المقدمة Introduction	1
2-1	الهدف من الدراسة The aim of the study	2
الفصل الثاني : استعراض المراجع		
1-2	المجاميع الفطرية التي تتواجد في البيئات المائية	3
2-2	أهمية الفطريات في تَحّلل البقايا النباتية في البيئة المائية	5
3-2	تصنيف الفطريات المتواجدة على البقايا النباتية المغمورة بالمياه	7
4-2	قابلية الفطريات التحليلية وفعاليتها الانزيمية	9
1-4-2	إنزيمات السليليز Cellulase Enzymes	12
2-4-2	إنزيمات اللكنين Lignin Enzymes	12
3-4-2	إنزيم الاملیز Amylase Enzymes	13
4-4-2	إنزيمات البكتينز Pectinase Enzymes	13
5-2	استخدام تقنية التفاعل التسلسلي البوليمر Polymerase Chain Reaction في تصنيف الفطريات	15
6-2	استخدام تقنية Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS) في تشخيص المركبات العضوية للفطريات	16
الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل		
1-3	المواد	18
1-1-3	الاجهزة والمعدات Equipment and Instrument	18
2-1-3	المواد الكيميائية Chemical Materials	19
3-1-3	الاوساط الزرعية Culture Media	20
2-3	طرائق العمل Method	21
1-2-3	جمع العينات Sample Collection	21
2-2-3	تحضير الأوساط الزراعية	21
1-2-2-3	وسط خلاصة الشعير Malt Extract Agar	21

2-2-2-3	وسط البطاطا والجزر Potato Carrot Agar	21
3-2-2-3	وسط Czapeks Doxe Agar	21
4-2-2-3	وسط البطاطا والدكستروز السائل Potato Dextrose Broth	21
5-2-2-3	التعقيم Sterilization	21
3-2-3	تحضير الكواشف	22
1-3-2-3	كاشف اليود - حامض الهيدروكلوريك	22
2-3-2-3	كاشف يوديد البوتاسيوم KI	22
3-3-2-3	كاشف عن إنزيم البكتنيز Pectinases	22
4-2-3	طرائق عزل الفطريات	22
1-4-2-3	طريقة الغرفة الرطبة Moist Chamber Method	22
2-4-2-3	طريقة الزرع المباشر على الوسط	22
5-2-3	الفحص المظهري للفطريات وتشخيصها	23
1-5-2-3	فحص الفطريات النامية بطريقة الغرفة الرطبة	23
2-5-2-3	الفحص المظهري للمستعمرات وعمل المزارع النقية للفطريات	23
3-5-2-3	الفحص المجهري للخيوط الفطرية	23
6-2-3	حساب النسبة المئوية للظهور والتردد Occurrence and Frequently	24
7-2-3	قياس بعض العوامل البيئية لمياه مواقع جمع العينات	24
8-2-3	قياس الفعالية الانزيمية للفطريات مختبريا	24
1-8-2-3	إنزيم السليليز Cellulase Enzyme	25
2-8-2-3	إنزيم الاملیز Amylase Enzyme	26
3-8-2-3	إنزيم الفينول اوكسديز Phenol Oxidase Enzyme	27
4-8-2-3	إنزيم البكتنيز Pectinase Enzyme	27
9-2-3	الدراسات الجزيئية لبعض الفطريات المدروسة	28
1-9-2-3	استخلاص الـ DNA من الفطريات المعزولة	28
2-9-2-3	الترحيل الكهربائي للـ DNA Electrophoresis of DNA	28
3-9-2-3	تحضير مزيج PCR master mix	29
4-9-2-3	اختبار تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction(PCR)	29
10-2-3	الكشف عن المركبات العضوية باستخدام تقنية Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GS-MS)	30

11-2-3	التحليل الاحصائي Statistical Analysis	31
الفصل الرابع : النتائج والمناقشة		
1-4	الوصف المظهري لبعض الفطريات التي عزلت اثناء الدراسة	32
2-4	الدراسة المسحية للفطريات المعزولة من البقايا النباتية	43
4-3	العوامل البيئية في البيئة المائية لمواقع الدراسة	55
1-4-3	درجة الحرارة Temperature	55
2-4-3	الأوس الهيدروجيني pH	56
3-4-3	الملوحة Salinity	56
4-4	الفعالية الانزيمية للفطريات Fungi Enzymatic Activity	57
5-4	استخدام تقنية الـ PCR لتشخيص الفطريات	64
6-4	الشجرة الوراثية ابعض أنواع الفطريات المحللة للبقايا النباتية المدروسة	66
6-4	الكشف عن المركبات العضوية باستخدام تقنية GC-MS	67
الاستنتاجات والتوصيات		
	الاستنتاجات والتوصيات	70
	المصادر العربية	72
	المصادر الاجنبية	73
	الملاحق	I

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1	المعدات والأجهزة المختبرية المستخدمة خلال فترة الدراسة مع اسم الشركة المصنعة والمنشأ	18
2	المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة مع اسم الشركة المصنعة والمنشأ	19
3	الاوساط الزراعية المستخدمة خلال الدراسة	20
4	الفطريات المختبرة لدراسة فعاليتها الانزيمية خلال الدراسة	24

5	المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم السليليز	25
6	المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم الاميليز	26
7	المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم الفينول اوكسديز	27
8	المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم البكتنيز	27
9	مكونات مزيج الـ PCR master mix لـ ITS1, ITS4	29
10	تتابع القواعد النيتروجينية باستخدام البادئات ITS1 و ITS4	30
11	برنامج التضخيم الـ PCR للبادئات ITS1 و ITS4	30
12	الانواع الفطرية المعزولة من البقايا النباتية في المحطات الاربعة	49
13	الانواع الفطرية المعزولة من البقايا النباتية المغمورة بالمياه باستخدام طرق العزل	53
14	الفعالية الانزيمية للفطريات المختبرة المعزولة من البقايا النباتات المغمورة بالمياه	59
15	التشخيص الجزيئي للفطريات المحللة للأخشاب المختبرة	65
16	المركبات الكيميائية المشخصة بتقنية GC-MS	67

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	الجسم الثمري للفطر *Aniptodera margaration* a : الاكياس b :الابواغ الكيسية	32
2	فطر *Kirschsteiniothelia maritime* A : الأكياس B : الأبواغ الكيسية	33
3	الأبواغ الكيسية للفطر *Leptosphaeria agnita*	34
4	فطر *Nais inornata* A : الجسم الثمري و الاكياس ، B : الأبواغ الكيسية	35
5	فطر *Savoryella lignicola* A : الجسم الثمري وخروج الأكياس ، B : الأبواغ الكيسية	36
6	الفطر *Zopfiella latipes* A : الجسم الثمري وخروج الأبواغ الكيسية ، B :الأبواغ الكيسية	37

7	الفطر *Cirrenalia iberica* A : كونيدة B : كونيديا مستقيمة	38
8	الفطر *Cordana lignicola* A : كونيدات ، B : كونيدات محمولة على حامل كونيدي	39
9	الفطر *Cordana verruculosa* A : الكونيدات والخيوط الفطرية، B : الحامل الكونيدي ، C : الخلية المولدة للكونيدة	40
10	الفطر *Pseudoacrodicty appendiculata* A : كونيده والحامل الكونيدي B : كونيدة	41
11	الفطر *Scytalidium thermophilum* , A : كونيدات B : الكونيدات والابواغ الكلاميدية	42
12	الفطر *Tricocladium achrasporum* A : كونيدة مكونة من خمسة خلايا B : كونيدة مكونة من أربع خلايا لفطر	43
13	قيم درجات الحرارة خلال اشهر الدراسة	55
14	قيم الأس الهيدروجيني خلال فترة الدراسة للمحطات الاربع	56
15	نسبه الملوحة لعينات المياه في المحطات الاربع خلال الدراسة	57
16	فعالية إنزيم Cellulase بوساطة A : *A.niger* ، B : *A.horti* ، C: *R.oryzae* ، D : *A.dianchiensis* ، E : *P.chrysogenum* ، F : *C.cucumerium*	62
17	فعالية إنزيم Amylase بوساطة A : *A.niger* ، B : *A.horti* ، C : *R.oryzae* ، D: *A.dianchiensis* ، E : *P.chrysogenum* ، F : *C.cucumerium*	62
18	فعالية إنزيم Phenol oxidase بوساطة A : *A. niger* ، B : *A.horti* ، C : *S. prolificans* ، D : *A.fumigatus*	63
19	فعالية إنزيم Pectate lyase بوساطة A : *F.oxysporum* ، B: *R.oryzae* ، C: *M.pseudolamprosporum* ، D : *A.niger*	63
20	فعالية إنزيم Polygalacturonase بوساطة A : *A.horti* ، B: *F.oxysporum.* ، C : *M. pseudolamprosporum* ، D : *A.niger*	64
21	نواتج الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لمنتج الـ PCR باستخدام البادئات ITS Marker: M 1: *B. nive* 2: *A.dianchiensis* 3:*C.globosium*	64

	M.circinelloides:6 *G.candida*:5 *C.tropicalis*:4	
66	الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات المحللة للبقايا النباتية المدروسة	22

قائمة المختصرات

المختصر	المعنى
DNA	Deoxyribonucleic acid
ITS	Internal Transcribed Spacer
UV	Ultra-Violet
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
PCR	Polymerase Chain Reaction
Am	مدينة العمارة
Sa	ناحية السلام
Mg	قضاء المجر الكبير
Ma	قضاء الميمونة
MEA	Malt Extract Agar
PCA	Potato Carrot Agar
CDA	Czapeks Doxe Agar
PDB	Potato Dextrose Broth

الفصل الاول

المقدمة

Chapter one

Introducation

1-1 المقدمة Introduction :

تعد الأنظمة البيئية المائية من أقدم الأنظمة الحيوية ، إذ تشكل هذه الأنظمة ما يقارب 70 % من حجم الكرة الأرضية منها ما يتمثل بالمياه العذبة والمالحة والمويلحة والأخيرة تتمثل بمصبات الأنهار وغيرها ، وتعيش في هذه الأنظمة مختلف الكائنات الحية سواء كانت نباتات أم حيوانات أو كائنات حيّة دقيقة ، وأنَّها تتزود بشكل دوري ومستمر بمواد عضوية تضاف أليها باستمرار ناتجة من المخلفات النباتية والحيوانية (خلف، 1999).

الفطرياتُ كائناتٌ حيةٌ دقيقةٌ واسعةُ الانتشار، حقيقية النواة ، خالية من الكلوروفيل ، لذا فهي غير قادرة على صنع غذائها بنفسها ، تعيش في مختلف البيئات ، ومنها البيئة المائية (Hussan *et al.*, 2017) وتشير الدراسات إلى وجود ما يقارب مليون ونصف فطر على سطح الكرة الأرضية (Hawksworth, 2012) ، وتتميز الفطريات بدورها الحيوي والمهم في الأنظمة البيئية لأنها تعد من أهم الأحياء المحللة التي تدخل ضمن الشبكة الغذائية ، أي لها القدرة على تحليل المواد العضوية الناتجة من البقايا النباتية والحيوانية الى جانب البكتريا ومن ثم توفر الطاقة في هذه البيئات ، ويطلق على هذه العملية بالتحّلل البايلوجي (Biodegradation) ، ومن جهة أخرى تُعد بعض الفطريات إحدى المسببات المرضية لكل من النبات والحيوان (Dusenbery, 1996)

إنَّ أهم ما يميز الفطريات قدرتها على انتاج العديد من الإنزيمات المحللة ، كما تتميز بإمكانية حصولها على غذائها من أي مصدر غذائي سواء أكان حياً أم غير حي بسبب طبيعة تغذيتها الامتصاصية Absorptive Nutrition ؛ لأنها تقوم بإفراز إنزيماتها إلى خارج خلاياها في المحيط الذي تعيش فيه ، فتحطم المواد الغذائية إلى مكوناتها البسيطة ، ثم تقوم بامتصاصها من خلال جدار الخلية والغشاء البلازمي ، تُعد هذه الانزيمات عاملاً مهماً جداً لتحويل المخلفات العضوية المعقدة إلى مواد بسيطة تدخل ضمن دورة النتروجين و الكاربون (Kantharaj *et al.*, 2017) .

يتكون جدار الخلية النباتية من مكون كاربوهيدراتي رئيس هو Lignocellulose ، فضلاً عن العديد من المركبات الأروماتية العطرية والبروتينات وغيرها ، وتوجد هذه المكونات بنسب مختلفة حسب نوع النبات وعمره (Menon and Rao, 2012 ; Perez *et al.*, 2002).

تُعد الفطريات هي المسؤولة عن إنتاج إنزيمات محللة للمواد الكاربوهيدراتية الموجودة ضمن الكتلة الحيوية النباتية الميتة التي تُعد اهم مصدر كاربوني (Sanchez, ; Rabinovich *et al.*, 2002) . 2009)

تعود الفطريات المحللة للأخشاب الى الفطريات الكيسية Ascomycota والبازيدية Basidiomycota واللاقحية Zygomycota والبيضية Oomycota (Kohlmeyer and Kohlmeyer, 1979) ، وقد سميت الفطريات التي تنمو على الأخشاب وتتخلل في بنيتها الليفية وتتسبب

فعلياً في تحللها lignicolous fungi ، وهذه الفطريات تحلّل الخشب بطرائق مختلفة فبعضها يهاجم المواد الكاربوهيدراتية وبعضها الآخر يحلل اللكنين (Deacon, 2005) ، وقد صُنفت اعتماداً على نوع التحلل على ثلاثة أنواع هي (Daniel, 2016 ; Schwarze, 2007) :

1- فطريات التعفن الطري Soft Rot Fungi

2- فطريات التعفن البني Brown Rot Fungi

3- فطريات التعفن الأبيض White Rot Fungi

ينتج كل نوع من هذه الأنواع إنزيمات مختلفة تحلل مواد نباتية مختلفة ، وبقايا نواتج التحلل مع مرور الوقت يتم دمجها في التربة والرواسب (Vane *et al.*, 2005).

هناك العديد من الدراسات حول الفطريات المحللة للبقايا النباتية المغمورة بالمياه في العراق منها الدراسة التي قام بها Muhsin and kalaf (2002) في البصرة ، والدراسة التي قام بها مشهد (2010) لعزل الفطريات من أهوار ذي قار ، ودراسة Al-Saadoon and Al- Dossary (2014) التي شملت بعض المناطق الجنوبية في العراق ولعدم وجود دراسة حول الفطريات المحللة للبقايا النباتية في البيئة المائية في مواقع الدراسة (قضاء الميمونة ، ناحية السلام ، قضاء المجر الكبير ، مدينة العمارة) في محافظة ميسان ارتأينا تنفيذ هذه الدراسة .

2-1 الهدف من الدراسة The aim of the study

1- عزل الفطريات الموجودة على البقايا النباتية الطافية والمغمورة في البيئة المائية من مواقع مختلفة في محافظة ميسان وتشخيصها.

2- اختبار قدرة بعض الفطريات المعزولة على انتاج إنزيم السليليز Cellulase والامليز Amylase والفينول اوكسديز Phenol oxidase و البكتنيز Pectinase بنوعية Pectate lyase عند pH7 و Polygalacturonase عند pH5.

3- دراسة تشخيصية جزيئية لبعض هذه الفطريات باستخدام تقنية الـ PCR وتحديد تتابعات القواعد النيتروجينية فيها.

4- تتشخيص مركبات الأيض الثانوي التي يتم انتاجها من بعض الفطريات المعزولة باستخدام تقنية GC- MS .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Chapter Two

Literature Review

1-2 المجاميع الفطرية المتواجدة في البيئات المائية

تعيش مجاميع مختلفة من الفطريات وتنتشر في البيئات المائية حيث تم عزل وتشخيص الكثير منها ، وإن العديد منها غالبا ما يكون متشابها مع الفطريات التي تعيش في التربة ، هناك ما يقارب من 1.5- 5 مليون نوعٍ من الفطريات يُعتقد أنّها موجودة على سطح الكرة الارضية تم تحديدها لحد الآن ، وأن نسبة قليلة منها تعيش في البيئات المائية ، فقد تم تشخيص ما لا يقل عن 1000 نوع من الفطريات تتواجد في البيئة المائية البحرية ، ويعود معظمها إلى الفطريات الكيسية والبازيدية (Amend *et al.,* 2019).

تكوِّن بعض هذه الفطريات أبواغاً سابحةً Zoospore في تكاثرها الجنسي واللاجنسي ، وتسمى بالفطريات المائية الحقيقية True aquatic fungi ، وأن بعضا منها ليس له القدرة على تكوين مثل هذه الابواغ بل تكوّن ابواغاً ساكنةً Aplanospores تعود إلى الفطريات اللاقحية والكيسية و البازيدية والناقصة (Ingold, 1975)، كما أن هناك مجموعة من الفطريات منحدرة من البيئات الارضية لها القدرة على أن تقضي جزءاً من دورة حياتها في الماء ، والباقي على اليابسة وتسمى بالفطريات البرمائية Amphibious Fungi (Amend *et al.,* 2019) ، ولهذا قسمت المجاميع الفطرية حسب طريقة معيشتها وتكيفها البيئي ، فهناك فطريات تقضي جميع اطوار حياتها في البيئة المائية ، وتكوّن ابواغاً سابحةً تسمى الفطريات المائية Aquatic fungi ، وفطريات اخرى لها القدرة على ان تقضي جزءاً من دورة حياتها في المياه وما تبقى يكون على اليابسة وتسمى Amphibious (Ingold, 1975) .

قام Hyde *et al.* (2000) بتقسيم الفطريات اعتماداً على نوع البيئة المتواجدة فيها ، فمنها ما يعيش تعيش في المياه المالحة أو المويلحة ، وأخرى تتواجد في بيئات المياه العذبة ، وأن بعضها متكيف للعيش في البيئات المائية المالحة والعذبة ، فالفطريات التي تعيش في البيئات المائية المالحة تسمى الفطريات البحرية Marine Fungi والتي تتميز بقدرتها على التكيف لتحمل درجة الملوحة والضغط الازموزي المرتفعين (Kohlmeyer and kohlmeyer, 1979) ، وهناك فطريات تمتاز بقدرتها على العيش بصورة تطفلية أو تعايشية مع الطحالب وتسمى Algicolous Fungi ، كما يمتاز بعضها بكونها تتواجد على الاخشاب والمواد السليلوزية التي غمرت بالمياه وتسمى الفطريات المصاحبة للمواد السليلوزية (المحللة للاخشاب) Lignicolous Fungi (Lumely *et al.*, 2000 ; Jones, 1976) .

بينما قام Goh *et al.* (2003) بتقسيمها على أربعة انواع اعتمادا على دورة حياتها وهي :

1 - الفطريات الانغوليدية Ingold Fungi : تتميز هذه الفطريات بقدرتها على البقاء تحت الماء ، وتنمو على البقايا النباتية التي غمرت بالمياه خاصة الاوراق منها ، وتتميز بتكوينها كونيدات ذوات اشكال مميزة كالكونيدات الرباعية أو المتفرعة أو الملتوية أو ذات الشكل السيني (Wurzbacher *et al.*, 2010).

2 - الفطريات الهوائية المائية Aero-aquatic Fungi : وهي الفطريات التي لا تستطيع أن تقضي دورة حياتها تحت الماء ، وإنما تحتاج إلى التعرض للهواء للتكاثر ، وتمتاز بتكوينها خيوط فطرية على البقايا النباتية والأخشاب المتساقطة المغمورة بالمياه ، وبمجرد تعرضها للهواء تبدأ بتكوين الكونيدات التي تنتقل مع تيارات المياه (Shearer *et al.*, 2007) .

3 - الفطريات الأرضية المائية Terrestrial Aquatic Fungi :هي الفطريات التي تنتمي إلى البيئة الأرضية لكنها تطلق سبوراتها في المياه لذا تقع ضمن الفطريات المائية (Gönczöl and Révay, 2003) .

4 - الفطريات المغمورة (الغاطسة) Submerged Fungi :هي الفطريات التي تستطيع أن تطلق سبوراتها ، أما عن طريق الماء أو الهواء ، وهي تعيش أيضاً على البقايا النباتية الميتة التي غمرت في المياه (Goh *et al.*, 2003) .

قام Shearer *et al.* (2007) بتقسيم فطريات المياه العذبة المتواجدة في الحالة اللاجنسية إلى ثلاثة مجاميع بيئية ، وهي فطريات المياه العذبة Freshwater Hyphomycetes و فطريات المياه العذبة الهوائية المائية Aeroaquatic Hyphomycetes و فطريات كيسية في الحالة اللاجنسية Freshwater Anamorphic Ascomycetes .

إنَّ الفطريات السائدة في تيارات المياه العذبة والمالحة والمويلحة في جميع انحاء العالم والتي تعتمد على البقايا النباتية والحيوانية المتحللة تنتج انواعاً واشكالاً مختلفة من التراكيب التكاثرية (الابواغ) التي تساعدها على الانتشار في الماء (Ghate and Sridhar, 2015).

قسمت الفطريات التي تقوم بتحليل الخشب إلى ثلاثة أنواع حسب نوع التعفن الذي يظهر عليه : (Daniel, 2016 ; Schwarze, 2007)

1 - فطريات التعفن الطري (الهش) Soft Rot Fungi .

2- فطريات التعفن البني Brown Rot Fungi .

3- فطريات التعفن الأبيض White Rot Fungi.

إنَّ التعفن الفطري الطري Soft Rot الذي تسببه مجموعة من الفطريات الكيسية التي تنمو في البيئات الرطبة تكون لها القدرة على تحلل جميع الاخشاب الموجودة على حافات الأنهار أو مصباتها ، ويُعد هذا النوع الاكثر شيوعاً وانتشاراً ، حيث يعمل على تحلل سريع للسليلوز بينما يكون له تأثيرٌ ضئيلٌ جداً على اللكنين (Deacon, 2005) .

أمّا التعفن البني Brown Rot الذي تسببه مجموعة واسعة من الفطريات الكيسية و البازيدية التي تعمل على تحلل المواد الكاربوهيدراتية بصورة كلية من الخشب ، بينما تترك اللكنين الذي هو ذو لون بني بدون تحلل ، ولهذا سُميَ بالتعفن البني (Daniel, 2016 ; Deacon, 2005) .

النوع الأخير من التعفن هو التعفن الأبيض White rot ، الذي تسببه مجموعة من الفطريات البازيدية وعدد من الفطريات الكيسية القادرة على تحلل جميع مكونات الخلايا الخشبية النباتية مع تبييض الخشب نتيجة لإزالة اللكنين بشكل كامل إلى ثنائي أوكسيد الكاربون والماء ، كما إنها تقوم بتحلل قليل للسليلوز وانصاف السليلوز(Urairuj *et al.*, 2003 ; Risna and Suhirman, 2002) ، ويكون على نوعين ، هما:انتقائي selective delignification ومتزامن simultaneous ، حيث يتسبب النوع الاول في تحلل المواد اللكنينية وأنصاف السليلوزية بصورة انتقائية وبشكل تدريجي ولديه قدرة ضئيلة على تحلل السليلوز ، أما النوع الآخر فيقوم بتحلل المواد اللكنينية والسليلوزية وأنصاف السليلوزية في وقت واحد .(Daniel, 2016 ; Schwarze, 2007) .

أظهرت الدراسات أنَّ الفطريات التي تعيش على الأخشاب مختلفة ومتنوعة تبعاً لنوع الأشجار والعوامل المحيطة بالنمو الفطري ، كما أظهرت الدراسات أنَّ بعض فطريات المياه العذبة بطيئة في تحلل الخشب ؛ لأنها تسبب تعفناً طرياً Soft rot مقارنة مع التعفن البني والأبيض الذي يحدث في البيئات الأرضية (Kodsueb *et al.*, 2016 ; Yuen *et al.*, 2000) . وبينت الدراسات قدرة بعض انواع من الخمائر في العيش على البقايا النباتية المتحللة ، وان اعدادها وانواعها تتأثر بعوامل متعددة كنوع النبات وطبيعة البيئة التي تعيش فيها ، وتوجد عادة في المراحل الاولى من عمليات تحلل الاخشاب وتتميز بقدرتها على افراز العديد من الإنزيمات المحللة للبقايا النباتية (Lara *et al.*, 2014) ، فأشارت دراسة Cadete *et al.* (2012) إلى عزل وتشخيص 224 نوعا من الخمائر من 40 عينة من الاخشاب المتحللة التي جمعت من غابات الامازون في شمال البرازيل .

2-2 أهمية الفطريات في تحلل البقايا النباتية في البيئة المائية :

تلعب الفطريات دوراً مهماً وحيوياً في جميع الأنظمة البيئية ، حيث يكون دورها أما ايجابيا من خلال استعمالاتها وفوائدها ، أو سلبياً من خلال أضرارها .

تستطيع الفطريات المترممة Saprophytes تحليل الانسجة النباتية الميتة المغمورة بالمياه المتواجدة على حافات الانهار (الصالحي، 2002) ، أذ تعمل على تحطيم البقايا النباتية وتحليلها إلى مكوناتها الأساسية لتحافظ على نظافة البيئة وتعيد العناصر الكيمياوية إلى الطبيعية ، وبهذا فإنَّ دورها الاساسي والمهم يتمثل في محافظتها على النظام البيئي من خلال معيشتها على السليلوز واللكنين (Alexopoulos *et al.*, 1996) ، وأعادة تدوير المغذيات وانتقال الطاقة عبر المستويات الغذائية (Wong *et al.*, 1998

(Rani and Panneerselvam, 2009 ;)، ومن جانب آخر يستفيد منها الفطر لنموه والقيام بفعالياته الحيوية، لهذا اعتمادها بالدرجة الأساس على البقايا النباتية المغمورة بالمياه خصوصاً الأوراق والأخشاب كمصدر عضوي تستخدمها الفطريات للحصول على الطاقة والمواد الغذائية (Ittner, 2018) .

أشار Kodsueb *et al.* (2016) إلى أنَّ فطريات المياه العذبة التي تعتمد على المياه في دورة حياتها وتستعمر أجزاء مغمورة من النبات والتي تسمى أحياناً بالفطريات البرمائية Amphbions fungi أو الانغولدية Ingold fungi ، أذ تنمو بكثرة على السيقان والأوراق النباتية الميتة المغمورة بالمياه وتنتج كميات ضخمة من الكونيدات التي قد تكون ذوات أشكال شعاعية multiradiate أو سينية الشكل sigmoid (Sati and Pathak, 2016 ; Barlocher, 2009) ، وتتميز أيضاً بتكوينها غزل فطري ينمو على البقايا النباتية والحيوانية المغمورة بالمياه وتتمكن من اختراق أنسجة النبات والحيوان الميتة (Sati and Pathak, 2016) ، وتُعد هذه الفطريات من العوامل الرئيسية للتحلل والمعالجة الحيوية للبقايا النباتية الميتة التي غمرت بالمياه إلى جانب البكتريا (Mille ; Muhsin and Khalaf, 2002 lindblom and Tranrik, 2003) ، كما أن بعض فطريات المياه العذبة لا يمكن أن تنمو بنسبة ملوحة تزيد عن 30% ، ولهذا فإنَّ أنواع جنس Saprolegnia غير قادرة على التكيف والنمو في بيئات شديدة الملوحة ، وتتميز أيضاً بعض الفطريات البحرية بقدرتها على العيش مترممة على البقايا النباتية المغمورة بالمياه البحرية ، إذ سّميت بالفطريات المحللة للأخشاب والمواد السليلوزية الملكننة fungi Lignicolons ، و تكمن أهميتها في قدرتها على تحلل المواد العضوية الميتة (Jones, 2000) .

تنتج هذه الفطريات إنزيمات خارج خلوية ، تعمل على تحلل المواد العضوية الموجودة في بيئتها وتحولها إلى مواد قابلة للامتصاص ، أي أنَّ الإنزيمات من العوامل الرئيسية في تحلل المواد الكاربوهيدراتية وخاصة المواد السليلوزية والمواد السليلوزية الملكننة lignocellulosic ، وهي من المكونات الأساسية لبقايا النباتات التي تعيش عليها الفطريات (Kantharaj *et al.*, 2017) .

لا تقتصر قدرة الفطريات على تحليل السليلوز فقط ، كذلك لها القدرة على تحليل أنواع أخرى من المكونات الأساسية لجدار الخلايا النباتية منها اللكنين Lignin والبكتين Pectin ، حيث أكدت دراسة قام بها Kashyap *et al.* (2001) أنَّ الفطريات تحلل البكتين بفعل مجموعة من إنزيمات Pectinase .

إنَّ تواجد الفطريات ونموها على البقايا النباتية في البيئات المائية تقوم بإضافة مواد عضوية ذات قيمة غذائية للبيئة المائية ، فقد وجد أنَّها تتسبب في انتاج مواد عضوية مذابة في الماء (Gessner *et al.*, 2007) تستخدمها بعض اللافقاريات خصوصاً الرتب الواطئة كمصدر رئيس للطاقة ، وبهذا يعدُّ تحلل الأجزاء النباتية الميتة عنصراً مهماً في الشبكة الغذائية للأنظمة البيئية للمياه ، كما وجد أنَّ اللافقاريات تفضل في تغذيتها الأوراق النباتية التي نمت عليها فطريات الانكولدية Ingoldian fungi ، من خلال

عملها على إفراز إنزيمات خارج الخلية تعمل على تحلل السكريات مما يزيد في القيمة الغذائية وقيمة الاستساغة للأنسجة النباتية عند زيادة نمو الفطريات بسبب تعرضها لعمليات هضم أولية بوساطة الإنزيمات المفرزة من قبل الفطريات (Sati and Pathak, 2016 ; Gessner *et al.*, 2007) لذا أن للفطريات التي تعيش في البيئات المائية أهمية في تحليل الفضلات النباتية والحيوانية وكذلك تعمل على إختزال الملوثات العضوية و تعمل على تجهيز الأحياء الأخرى التي هي في مستوى أعلى منها في السلسلة الغذائية بالغذاء ، فهي تُعدَّ غذاءً للأحياء المائية الاخرى (مشهد، 2010).

3-2 تصنيف الفطريات المتواجدة على البقايا النباتية المغمورة بالمياه :

نظراً لكون الفطريات من الكائنات التي تمتاز بتنوع بيئي هائل ، وأن غالبيتها تعيش في البيئات اليابسة وقليل منها يُعزل من الأخشاب التي غمرت بالمياه (Shearer *et al.*, 2007). ولدورها البيئي في تحليل المواد العضوية وتدويرها في البيئية ، فقد لاقت هذه الفطريات الكثير من الاهتمام والدراسة عالمياً ومحلياً ؛ نظراً لما تشكله هذه البقايا من اوساط مناسبة لنمو مختلف انواع الفطريات(Luo *et al.*, 2004).

تمكنت العديد من الدراسات عزل الكثير من الفطريات وتشخيصها من البقايا النباتية المغمورة بالمياه، ففي دراسة قام بها Hyde *et al.* (1998) تمكن من عزل وتشخيص 58 نوعاً من الفطريات المرافقة للبقايا النباتية المغمورة في نهر Palmiet وتشمل 28 نوعاً تابعاً للفطريات الكيسية Ascomycota و 30 نوعاً تابعاً للفطريات المائية Hyphomycetes كما قام Hyde and Goh (1998b) أيضاً بعزل 34 نوعاً من هذه الفطريات ، 12 نوعاً يعود إلى الفطريات الكيسية Ascomycota و 20 نوعاً للفطريات المائية Hyphomycetes وجنس واحد لـ Coelomycete من أحد أنهار جزيرة فيكتوريا .

تمكّن Hyde and Goh (1998a) في استراليا من عزل وتشخيص 15 نوعاً من Ascomycetes و 13 نوعاً من الفطريات Deuteromycetes وفطراً واحداً يعود للفطريات البازيدية التي وجدت مرتبطة بالخشب المغمور في بحيرة بارين .

وفي هونغ كونغ قام Tsui *et al.* (2001) بدراسة حول البقايا النباتية التي توجد في المياه ، فقد تم عزل عدد من الفطريات الكيسية التي تعود إلى أجناس *Aniptodera* و *Aquaticola* و *Helicosporium* و *Massarina* و *Pururascrns* و *Ophioceras* و *Sporoschisma* . وتم أيضاً تسجيل 80 فطراً على أخشاب الخيزران وأخشاب أخرى غير معروفة غمرت في مياه الفلبين من قبل Cai *et al.* (2003).

استطاع Abdel-Raheem and Ali (2004) عزل وتشخيص 26 نوعاً من الفطريات المحللة للأخشاب المغمورة في دلتا نهر النيل ، 12 نوعاً تنتمي إلى الفطريات Hyphomycetes ، وأكد أيضاً أن فطريات المياه العذبة جميعها لها القدرة على تحلل السكريات من البقايا النباتية

تمكن Hu *et al.* (2010) عزل 68 نوعاً من الفطريات وتشخيصها التي كانت مرافقة للأخشاب المغمورة بالمياه ، وتضمنت 17 نوعاً من الفطريات الكيسية 51 نوعاً من الفطريات الناقصة في شمال تايلند . و في السعودية فقد شخص Abdel-Wahab *et al.* (2014) 37 نوعاً من الفطريات البحرية من عينات الاخشاب الطافية المتحللة شملت 27 نوعاً تابعاً للفطريات الكيسية و8 انواع من الفطريات وجدت بالطور اللاجنسي وشخّص فطراً بازيدياً واحداً أيضاً .

عُزل Moro *et al.* (2015) 39 نوعاً من فطريات Hyphomycetes المغمورة بالمياه في البرازيل ، أما في شمال تايلند تمكن Luo *et al.* (2016a) من عزل نوع يعود للفطريات الكيسية وجد هذا النوع على الخيزران الميت المغمور بالمياه العذبة الذي يعود إلى عائلة Lentitheciaceae وهو *Poaceascoma aquaticum* ، وفي العام نفسه تمكن(2016b) Luo *et al.* من عزل نوعين من الفطريات *Helicascus* الكيسية وهما *H.chiangraiensis H.uniseptatus* ، وفي دراسة Abdel-Aziz (2016) تمكن من عزل عدد كبير من الفطريات النامية على البقايا النباتية المغمورة بالمياه العذبة لنهر النيل في مصر .

تم العثور على نوع من الفطريات البازيدية التي عزلت من سيقان نبات القصب المغمور والأوراق في الاهوار المالحة في بلجيكا من قبل Graca *et al.* (2016) ، وبناءاً على الدراسات الوراثية تم تشخيص نوعين من الفطريات التي تعود إلى عائلة Melanommataceae (Pleosporales) وهذان النوعان هما *Fusiconidium mackenziei* و *Fusiconidium aquaticum* من قبل (Li *et al.* (2017

قام Ghenghish *et al.* (2019) في ليبيا من عزل وتشخيص 5 أنواع من الفطريات الكيسية Ascomycetes و11 نوعاً من الفطريات المائية Hyphomycetes .

أما في العراق فقد أهتم الباحثون بعزل الفطريات المرافقة للبقايا النباتية المغمورة بالمياه العذبة وتشخيصها ، ففي محافظة البصرة قام Abdullah (1983) بعزل فطرين من البقايا النباتية وتم تسجيلهم لأول مرة في العراق وهما: *Zopfiella latipes* , *Strattonia karachiensis* كما تمكن من عزل الفطر *Strattonia mesopotamica* ، *وكذلك* تمكّن Abdullah *et al.* (1989) من عزل وتشخيص جنس ونوع جديد وهو *Basramyces marinus* ، وقام Guarro *et al.* (1996) بعزل نوع جديد من الفطريات مغمور على ساق نبات ميت غير معروف في نهر الفرات وهو *Zopfiella cephalothecoidea*. ، وكذلك تم عزل فطر جديد هو *Zopfiella submersa* من ساق نبات القصب

الميت من قبل Guarro *et al.* (1997) ، وكذلك قام كل من Al-Saadoon and Abdullah (2001) من عزل وتشخيص 6 أنواع من الفطريات التي ترافق البقايا النباتية في المياه العذبة والمالحة في مناطق مختلفة من العراق ، وقام أيضاً Muhsin and Kalaf (2002) بعزل 42 نوعاً من الفطريات المرافقة للبقايا النباتية المغمورة في محافظة البصرة وتشخيصها كما تم تسجيل عشرة أنواع جديدة في العراق ، كما استطاع النصراوي (2007) من عزل وتشخيص 24 نوعاً من الفطريات المرافقة للبقايا النباتية المغمورة بالمياه في موقع سدة الكوت في محافظة واسط حيث شملت 6 أنواع من الفطريات الكيسية Ascomycetes و16 نوعاً من الفطريات الناقصة وفطرين لاقحين .

استطاع Al-Saadoon and Al-Dossary (2010) عزل 8 فطريات مرافقة للبقايا النباتية المغمورة بالمياه قليلة الملوحة وتشخيصها في مواقع مختلفة من العراق وتتضمن 5 أنواع من الفطريات الكيسية و3 أنواع من الفطريات Mitosporic Fungi ، وتمكن Al-Nasrawi (2014) من عزل نوعين من الفطريات الكيسية المرافقة للبقايا النباتية المغمورة بالمياه من مواطن مختلفة هما *Halosphaeria cucullata* و *Halosphaeria sp.*.

تمكن Al-Saadoon and Al-Dossary (2014) من عزل مجموعة كبيرة من الفطريات شملت 67 نوعاً من الفطريات المرافقة للبقايا النباتية المغمورة بالمياه العذبة والمالحة وتتضمن 46 نوعاً من الفطريات الكيسية و19 نوعاً من الفطريات المائية Hyphomycetes وجنسين من Coelomycetes وتم وصف 11نوعاً سجلت لأول مرة بالعراق ، وقام الصالحي (2016) بعزل وتشخيص عددٍ من الفطريات البحرية المترممة على البقايا النباتية المغمورة في أهوار محافظة ذي قار تتضمن عدداً من الفطريات الكيسية والفطريات الناقصة حيث شملت الدراسة 15نوعاً من الفطريات المائية البحرية ، 7 منها فطريات ناقصة و 8 من الفطريات الكيسية .

4-2 قابلية الفطريات التحليلية وفعاليتها الإنزيمية :

تؤدي الفطريات دوراً هاماً وحيوياً في تحلل المواد العضوية المكونة للأنسجة النباتية الميتة ، وتعد من أكثر الاحياء الدقيقة أهمية في تحلل المواد الخشبية .

إنَّ الخشب الميت المتحلل هو تركيب مهم للغاية في الأنظمة البيئية وجزءٌ مهم من دورة العناصر ، ويمكن عدّه بمثابة نقطة للتنوع الحيوي ، وكذلك كمادة عضوية معقدة التركيبٍ ؛ لأنها تضم مجموعة متنوعة من المكونات التي تتراوح ما بين جزيئات بسيطة كالأحماض العضوية والسكريات إلى بوليمرات معقدة (السليلوز واللكنين) التي يصعب تحللها (Purahong *et al.*, 2017, ; Floudas *et al.*, 2012 2018).

إنَّ جميع الخلايا النباتية تتكون من نسب مختلفة من السليلوز وأنصاف السليلوز واللكنين ، وأن نسب اللكنين أيضاً تختلف حسب نوع النبات ، وهذا يؤثر على قدرة الفطريات على تحليلها (Lhate *et al.*, 2010 ; Daniel, 2016) ، وأن تحلل المواد الخشبية يتم من خلال العمليات البيولوجية التي يتم خلالها تحلل السليلوز واللكنين والمواد العضوية الاخرى في نسيج الخشب - وهي المواد الاكثر وفرة بالمركبات العضوية على الأرض - إلى ثنائي اوكسيد الكاربون وماء مع تحرير الطاقة ، ويعتمد التحلل على عدة ظروف منها درجة الحرارة والرطوبة والجفاف والمواد الغذائية المتاحة...الخ (Shortle and Dudzik, 2012) .

يّعد الخشب من المواد الصعبة التحلل لاحتوائه على مستويات منخفضة من النتروجين الضروري لإنتاج إنزيمات التحلل (Deacon, 2005) ، فالفطريات التي تحلل الاخشاب وخاصة الفطريات المترممة تلعب دوراً مهماً في عملية التحلل والتمعدن للخشب وأعادة تدوير المواد الغذائية في مختلف اشكالها لجعلها في متناول الكائنات الاخرى (Purahong *et al.*, 2018 ; Wei and Dai, 2004) .

أنَّ أغلب الفطريات لها القدرة على تحلل السليلوز وأنصاف السليلوز، غير أنَّ قدرتها على تحلل اللكنين تكون متفاوتة ، لذا لابد من امتلاكها القدرة في التغلب على حاجز اللكنين للوصول إلى السليلوز وانصاف السليلوز وتعمل على تحللهما (Daniel, 2016 ; Eastwood *et al.*, 2011) .

تُعد الفطريات الواطئة من الفطريات القادرة على تحلل السكريات الذائبة والمواد المخزنة ، بينما لها قدرة ضئيلة على تحلل اللكنين لذا فهذه الفطريات تهاجم خلايا الخشب غير الملكننة (Daniel, 2016) ، بينما الفطريات البازيدية والكيسية لها دور فعال في تحلل اللكنين (Cullen, 1997 ; Edwards *et al.*, 2008)

إنَّ انتشار المصادر النباتية الميتة في الطبيعة بصورة كبيرة تعد أحدى المشاكل البيئية المهمة في حالة تراكمها وعدم معالجتها ، ولأهمية مكوناتها الاساسية التي تتركب منها فضلاً عن مكونات جدرانها تُعدّ أكبر مستودع للكاربون في الطبيعة (Haltrich *et al.*, 1994) ، لذلك اتجهت أنظار العديد من الأبحاث العلمية إلى استغلال هذا المصدر الكاربوني الكبير من المواد النباتية التي يحصل عليها بكلفة قليلة لإنتاج سكريات بسيطة ذات أهمية صناعية باستعمال الإنزيمات المحللة التي تنتجها الكائنات الحية المجهرية ، وتعد الفطريات من أهم الاحياء المجهرية المستخدمة لهذا الغرض (Grohmann and Himmel, 1991) ، فالإمكانيات الفريدة التي تمتلكها الفطريات في مقدرتها على تحلل الاخشاب ومعالجة هذه الكتلة الحيوية lignocellulosic يعود إلى امتلاكها فعالية إنزيمية عالية كافية لتحطيم هذه البوليمرات ، وتفرز هذه الإنزيمات في اثناء نمو الخيوط الفطرية على الاخشاب حيث تعمل على تحلل جدار الخلايا

النباتية للوصول إلى المواد السكرية التي يستخدمها الفطر كمصدر للكاربون لبناء خلاياه (Sigoillot *et* .(Simeng *et al.*, 2015 ; *al.*, 2012

أشار Abdulkadir and Al–Habeeb (1995) إلى عزل عدد من الفطريات المحللة للبقايا النباتية المغمورة بالمياه لنبات القصب في الاهوار التي تقع جنوب العراق تقوم بتحلل السليلوز وهي الفطريات *Aspergillus* و *Alternaria* و *Acremonium* و *Aureobasidium* و *Cladosporium* و *Chaetomium* و *Fusarium* و *Pencillium* و *Rhizopus* .

قام Abdel-Raheem and Shearer (2002) بدراسة قدرة 30 نوعاً من الفطريات الكيسية المعزولة من الأخشاب تمكنت من إفراز الإنزيمات خارج الخلية Extracelluler Enzymes على الأوساط الصلبة حيث أظهرت الدراسة قدرة جميع الفطريات المعزولة على تحلل السليلوز بينما اختلفت في قدرتها على تحلل اللكنين ، وتم عزل 26 نوعاً من الفطريات المحللة للمواد السليلوزية الملكننة المرتبطة بالأخشاب من قبل Abdel-Raheem and Ali (2004) من دلتا نهر النيل ، حيث اعطت جميع الفطريات قدرتها على إفراز إنزيم Cellulases المحلل للسليلوز بينما تفاوتت النسب في قدرتها على إفراز أنواع أخرى من الإنزيمات .

بينت العديد من الدراسات قدرة الفطريات على إفراز الإنزيمات ، فدراسة Sanghvi *et al.* (2011) أوضحت أمكانية إنتاج إنزيم الاملیز Amalyase من الفطر *Chrysosporium asperatum* ، وبين Sudarson *et al.* (2014) قدرة الفطريات البازيدية Basidiomycetes المحللة للأخشاب على إفراز الإنزيمات المحللة للسليلوز واللكنين lignocellulolytic enzymes حيث سجلت هذه الدراسة مستويات عالية لإنتاج إنزيم المحلل للسليلوز مقارنة مع مستويات منخفضة لتحلل اللكنين ، وكذلك دراسة Dange and Harke (2018) التي أشارت إلى قدرة فطر *Aspergillus oryzae* على إنتاج إنزيم Pectin lyase و إنزيم polygalacturonase .

ومن الدراسات التي تناولت قدرة الفطريات على افراز إنزيمات خارج خلوية تعمل على تحلل المكونات العضوية للخشب ، الدراسة التي قام بها Legodi *et al.* (2019) حيث تمكن من عزل أنواع عديدة من الفطريات كان لها القابلية العالية على تحلل المواد السليلوزية منها *Aspergillus* و *Trichoderma* .

ومن أهم الإنزيمات التي تفرزها الفطريات المتواجدة على البقايا النباتية المغمورة بالمياه هي :

1-4-2 إنزيمات السليليز Cellulase Enzymes :

تتكون جدران الخلايا النباتية من مكون اساس وهو السليلوز ، والذي يعد المكون الرئيسي للكتلة الحيوية النباتية وأن استخدامه من قبل الكائنات الحية الدقيقة هي الخطوة الرئيسية لتحلل البقايا النباتية (Edwards *et al.*, 2008).

يعتبر السليلوز من اكثر المواد العضوية وفرة على الأرض ، والتركيب الكيميائي له بسيط جدا فهو عبارة عن بوليمر من جزيئات سكر الكلوكوز المرتبطة مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية من نوع β-1→4 glycosidic bond لتشكيل بوليمرات خيطية بالرغم من بساطة تركيبه الكيميائي إلاَّ أن نمط الترابط معقداً للغاية ، ويعد كذلك مصدراً هاماً لطاقة الكائنات الحية المترممة Saprotrophic. (Hon, 1994 ; Baldrian andValaskov, 2008) .

تتجمع ألياف السليلوز، وترتبط مع بعضها بوساطة أنصاف السليلوز ، ويعمل اللكنين على تغليفهما (Edwards *et al.*, 2008 ; Schmidt, 2006) .

إنَّ إنزيم السليليز Cellulases enzyme هو الإنزيم الذي يعمل على تحلل السليلوز من خلال تحطم الأواصر الكلايكوسيدية التي تربط جزيئات سكر الكلوكوز مع بعضها ، وبسبب عدم قدرة السليلوز على الذوبان لذا لابد من تحليله للوصول إلى جزيئات صغيرة قابلة للامتصاص ، ويتحقق هذا من خلال أنظمة تحلل السليلوز (Legodi *et al.*, 2019 ; Lynd *et al.*, 2002).

إنَّ أنظمة تحلل السليلوز تشترك فيها ثلاثة إنزيمات هي :

Exoglucanases (exo-1,4-β-glucanases, EC 3.2.1.91)

Endoglucanases (endo-1,4-β-glucanases, EC 3.2.1.4)

β- glucosidases (β-D-glucoside glucohydrolase, EC 3.2.1.21)

تعمل هذه الإنزيمات بطريقة منسقة ومتآزرة لتحلل السليلوز إلى سكريات قليلة oligosaccharides ثم إلى كلوكوز ، وإنَّ هذه الأنظمة تتميز بكفاءتها ، وإنها تختلف عن الأنظمة التي تستعملها البكتريا لتحلل السليلوز(Edwards *et al.*, 2008; Baldrian and Valaskov, 2008 ; Lynd *et al.*, 2002) ، إذ تشتهر فطريات *Aspergillus* و *Penicillium* و *Fusarium* و *Rhizopus* في مقدرتها على تحلل السليلوز(Smily *et al.*, 2014 ; El-Nagdy and Nasser, 2000) .

2-4-2 إنزيمات اللكنين Lignin enzymes :

اللكنين هو بوليمير عطري واسع الأنتشار مكون من مركبات فينولية وغير فينولية تشكل نسبة 80 - 90% (Dashtban *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2008) ، ويشكل من 20 - 30 % من الأنسجة

النباتية ، وهو تركيب مقاوم للكائنات الحية الدقيقة الممرضة ، ويمنعها من الوصول الى السليلوز(Edward *et al.*, 2008 ; Cullen,1997)، إذ يعمل كحاجز يحمي السليلوز وأنصاف السسليلوز من الإنزيمات المحللة (Abdel-Raheem and Ali, 2004) ، يُعدّ تحلله اكثر صعوبة مقارنة مع بقية مكونات جدران الخلايا النباتية ، وأحياناً تشترك مجموعة من البكتريا في عملية تحلل اللكنين غير أنَّ الفطريات لها الدور الأهم في هذه العملية (Dashtban *et al.*, 2009) .

إنَّ الإنزيمات التي تحلل اللكنين يطلق عليها ligninases والمتضمنة phenol oxidase(laccase) و peroxidases والذي يضم كلا الإنزيمين (lignin peroxidase و manganese peroxidase) (Dashtban *et al.*, 2009 ; Martinez *et al.*, 2005) وأيضاً إنزيم Mono - dioxygenases (خلف 1999) .

3-4-2 إنزيم الاملیز Amylase enzyme :

الإمليزات هي عبارة عن إنزيمات مسؤولة عن تحلل النشأ ولها العديد من الاستعمالات ، وتعدّ الكائنات الحية الدقيقة من أهم الأحياء المفرزة لهذه الإنزيمات ، فالإمليزات تستخدم في الصناعات لتحويل النشا إلى سكريات بسيطة ، حيث يمثل النشا مصدراً لخزن سكر الكلوكوز في اماكن مختلفة من جسم النبات كالثمار والبذور والاوراق ، ويتواجد في الطبيعة بشكل بوليمرات لسكر الكلوكوز ، وهو مكون اساسي للخلايا النباتية (Sanghvi *et al.*, 2011) .

لهذا الإنزيم العديد من الاستخدامات الصناعية ، حيث يستخدم في صناعات السكر وعمليات التخمر وفي العمليات الصناعية للمنسوجات والورق ، وتم توسيع استخدامه ليشمل المجالات الكيميائية والطبية والتحليلية ، على الرغم من إمكانية الحصول عليه من مصادر نباتية أو حيوانية إلاَّ أن الكائنات الحية الدقيقة تعد مصادر مهمة لتلبية الاحتياجات الصناعية ، فقد تم انتاجه من قبل الفطر *Chrysosporium asperatum* (Sanghvi *et al.*, 2011 ; Pandey *et al.*, 2000)

2-4-4 إنزيمات البكتينز Pectinase enzymes :

يعرف البكتين على أنه من الجزيئات المعقدة التي تدخل في تركيب الجدار الخلية النباتية (Mohnen, 2002 ; Benoit *et al.*, 2012) ، و البكتين هي جزيئات حيوية متنوعة ومعقدة ذات وزن جزيئي عالي للغاية وأن تركيبها يعتمد على نوع النبات وطبيعة الانسجة ، فهو يتكون من معقد α1→4 galacturonic acid ترتبط به مجموعة من السكريات الخماسية أو السداسية ، أو ترتبط به بعض البروتينات إذ يتشكل مما يقارب سبع عشرة من السكريات التي ترتبط مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية مختلفة (Benoit *et al.*, 2012 ; Ridley *et al.*, 2001) ،

أنَّ البكتين تُعد مادة مهمة ومتعددة الاستخدام للمواد الغذائية بسبب ما تملكه من طابع غروي مائي Gelling يعطي للمادة الغذائية سماكة واستقرار (Benoit *et al.*, 2012 ; Drusch, 2007) والفطريات من الاحياء المهمة التي تكون متخصصة بإفراز مجموعة واسعة من الإنزيمات التي تعمل على تحلل البكتين التي تدعى انزيمات الـ Pectinase (Benoit *et al.*, 2012) ، وهي من أهم الإنزيمات التي تنتجها البكتريا والفطريات حيث تعمل هذه الإنزيمات على كسر الاواصر الكلايكوسيدية وتحلل البكتين ، ولهذه الإنزيمات أهمية من خلال استعمالاتها الصناعية فهي تستخدم في تحضير العصائر واستخراج الزيوت النباتية وغيرها ، وإن أغلب المصادر للحصول على إنزيمات البكتين هي الفطريات (Jayani *et al.*, 2005 ; Singh *et al.*, 1999) وتُعد فطريات الـ *A.niger* من اكثر الفطريات المستخدمة لإنتاج هذه الإنزيمات (Ajayi *et al.*, ; ; Kumar *et al.*, 2011 ; Jayani *et al.*, 2005 2018) .

تشترك عدة إنزيمات في تحلل البكتين منها :

Endo-polygalacturonase (EC: 3.2.1.15)

Exopolygalacturonase (EC : 3.2.1.67)

Exo-poly α-galactouronosidase (EC: 3.2.1.82)

Endo-pectatelyase (EC: 4.2.2.2)

Exo-pectatelyase(EC : 4.2.2.9)

Oligo D-galactosiduronate lyase (EC: 4.2.2.6)

Endopectinylase (EC: 4.2.2.10)

تعمل هذه الإنزيمات على التحلل المائي للأواصر الاكلايكوسيدية للبكتين والحصول على السكريات المتعددة التي يتكون منها جدار الخلية النباتية (Banakar and Thippeswamy, 2014) .

5-2 استخدام تقنية التفاعل التسلسلي البوليمر Polymer Chain Reaction في تصنيف الفطريات :

تصنيف الفطريات هو مجال متجدد ، وإنَّ تصنيفها وتوصيفها يتغير بسرعة على وفق توفر التكنلوجيا الحديثة التي تساهم وبشكل كبير في اكتشاف مميزات جديدة لم تكن معروفة من قبل (Yilmaz *et al.*, 2014 ; Federhen, 2012). وتصنيف الفطريات بالاعتماد على المظهر الخارجي أو تكوين الكونيدات يخلق صعوبة في تصنيفها ولا يعكس العلاقات التطورية بين الأنواع لوجود التشابه والتقارب بين الأنواع من حيث أشكالها وأحجامها، كما أن التصنيف بالاعتماد على الطراز المظهري لا يعكس العلاقات التطورية ولا يفي بالغرض خصوصاً للدراسة التطبيقية بسبب التقارب في الشكل الخارجي للفطريات ، لذا فإنَّ استخدام الطرق الجزيئية هو الأمثل في تصنيف الفطريات (Bills *et al.*, 1999)

بفضل تطور تقنية الـ PCR (Polymerase Chain Reaction) أصبح العلماء يمتلكون معلومات عن تتابع القواعد النتروجينية للكائنات الحية وفي الوقت الحاضر فان المعلومات الوراثية لآلاف الفطريات المخزنة في بنك الجينات Gene bank ، والتي لها أهمية في الدراسات الجينية (Khan and Bhadanria, 2018) .

تُعد تقنية الـ PCR أحدى الطرق الحديثة والمستخدمة في تصنيف الفطريات ، وقد اكتشفت هذه التقنية على يد العالم Karry Mullis مع ميشيل سمث في عام 1985 (Weile and Knabbe, 2009) ولا تزال هذه التقنية تستخدم لوقتنا الحالي ؛ بسبب قلة تكلفتها من ناحية الأجهزة والمواد المستخدمة للمختبرات على الرغم من اكتشاف العديد من التقنيات (Bretagne and Costa, 2006) .

كما اصبحت تقنية الـ ITS (Internal Transcribed Spacer) التي تشفر الحامض النووي من أهم التقنيات الجزيئية وأداة مهمة لتحديد الأنواع (Schoch *et al.*, ; Quaedvlieg *et al.*, 2012 2012) ومع ذلك فإنَّ الـ ITS غير حاسمة في تصنيف بعض الأجناس لذا لابد من أخذ جينات إضافية لتحديد أكثر دقة (Stielow *et al.*, 2015) ، ففي الدراسة التي قام بها (2017) Hemandez-Restrepo حيث صُنفَ عددٌ كبيرٌ من الفطريات المترممة المحللة للبقايا النباتية جنوب اوروبا بناء على المميزات المظهرية والتحليلات الوراثية المتسلسلة للحامض النووي DNA .

إنَّ الأدوات المعرفية للفطريات المحللة للسليلوز لا تزال فقيرة على الرغم من زيادة المعرفة في تركيب جينات إنزيم السلليلوز (Poças-Fonseca *et al.*, 2000) celluloses enzyme gene ; (Edwards *et al.*, 2008) واستطاع Gielkens *et al.*, (1999) عزل اثنين من الشفرات الجينات المحللة للسليلوزcellobiohydrolase من الفطر *A. niger* ، وقام Amore *et al.* (2013) بعرض

التطورات الحديثة التي توضح الآليات الجزيئية المسؤولة عن تنظيم التعبير عن جينات السليلوز وأنصاف السليلوز في الفطريات ، وشملت هذه الفطريات الأنواع التابعة للجنسين *Aspergillus* و *Tricoderma* وكذلك بينوا أنَّ انتاج الإنزيمات يتم بشكل منظم ومنسق وان انتاجها يحتاج إلى استهلاك الطاقة ، لذا يتم انتاج الإنزيمات فقط في ظروف يحتاجها الفطر إلى استخدام البوليمرات النباتية كمصدر للطاقة والكاربون .

أصبحت تقنية الـ PCR من أهم التقنيات التي لا يمكن الاستغناء عنها في المختبرات البيولوجية لمختلف التطبيقات ، وخصوصاً في مجال تشخيص الأحياء المجهرية كالبكتريا والفطريات والفايروسات والطفيليات (Wellinghausen *et al.*, 2004) .

6-2 استخدام تقنية Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS) في تشخيص المركبات العضوية للفطريات :

إنَّ تقنية الـ GS-MS هي إحدى التقنيات المهمة التي تستعمل في فصل وتحليل المكونات المتعددة مثل الزيوت الأساسية والهيدروكاربونات والمذيبات ، وكذلك تحديد المواد العضوية المختلفة مثل الأحماض الكحولات الاسترات والالدهايدات والأحماض الدهنية وأكاسيد الدهون والفينوليك وغيرها (Kadhim *et al.*, 2016 ; Roze *et al.*, 2012) ، وتعدّ هذه التقنية واحدة من أهم التقنيات المهمة في مختبرات الكيمياء بسبب حساسيتها وفعاليتها في فصل المكونات التي يتركب منها المركبات وقدرتها على تحديد المواد الموجودة بتراكيز منخفضة جداً بصورة كمية ، وكذلك تحديد العناصر الفعالة في المركبات (Al-Rubaye *et al.*, 2017) ، وتستخدم أيضاً للكشف عن المركبات المتطايرة التي تنتج من قبل الفطريات الخيطية النامية في مزارع سائلة كالهيدروكربونات المشبعة والكحولات والألدهيدات والكيتونات ، اللاكتونات ، استرات ، الاثيرات ، الفينول وغيرها ، ولهذه المركبات أهمية في تطور الفطريات والدفاع والحماية (Roze *et al.*, 2012 ; Mendgen *et al.*, 2006) .

توجد العديد من الدراسات التي استخدمت هذه التقنية للكشف عن المركبات العضوية ، فقد أشار Bjurman and Kristensson (1992) إلى أنَّ الفطر *Chaetomium globosum* ينتج مركبات ايضية ثانوية التي تتأثر بشدة حسب طبيعة substrate التي تنمو عليه . وفي دراسة أخرى عثر على عددٍ من المركبات العضوية من الفطر *Serpula lacrymans* المعزول من أشجار الصنوبر، وبينت أيضاً إلى أنَّ المركبات العضوية الناتجة من الأيض الثانوي للفطريات المترممة على الاخشاب تتميز بكونها ذات رائحة قوية ، ويمكن أن تستخدم هذه الروائح كأداة للكشف إلى وجود حالة تعفن من قبل الفطريات (Ewen *et al.*, 2004) ، وفي دراسة Score and Palfreyman (1994) التي أثبت أن

الفطر *Trichoderma sp.* له القدرة على انتاج أيوض ثانوية ضد الفطريات التي تنمو على الأخشاب ، وأشار Peng and Don (2013) إلى إمكانية الفطر *Earliella scabrosa* المترمم على نبات المطاط على انتاج العديد من المركبات العضوية الثانوية .

الفصل الثالث

المواد وطرق العمل

Chapter Three
Methods and Materials

1-3 المواد :

1-1-3 الأجهزة والمعدات Equipment and Instrument

الجدول1 : المعدات والأجهزة المختبرية المستخدمة خلال فترة الدراسة مع اسم الشركة المصنعة والمنشأ.

اسم الجهاز	الشركة المصنعة (المنشأ)
اسطوانات مدرجة بأحجام مختلفة Cylinder	Iso lab (Germany)
اطباق بتري Petri Dishes	Bio zek medical(Holland)
انابيب اختبار Test Tubes	ALS (Canada)
اوراق ترشيح Filter Papers	Whatman No. 1(UK)
ثلاجة Refrigerator	Vistal (Poland)
جهاز المازج المغناطيسي Magnetic Stirrers	Heidolph (Germany)
جهاز تقطير Distal Water	GFR ® (Germany)
جهاز قياس الاس الهيدروجيني ودرجة الحرارة pH-meter	Hanna instruments (Italy)
حاضنة Incubator	Human Lab (Korea)
دوارق مختلفة الاحجام Different volume of flask	Iso Lab (Germany)
شرائح زجاجية وغطاء الشريحة Slides and Cover slides	Superestar (India)
فرن كهربائي Electric Oven	Memmert (Germany)
كابينة زرع Biosafety Cabinet	Zenith lab (china)
كفوف Gloves	Broche (Malaysia)
مجهر ضوئي Light Microscope	Olympus (Japan)
محاقن طبية Disposable Syringes	Superestar (India)
مصباح بنزن Benzen Burner	Iraq
المؤصدة Autoclave	Hirayama (Japan)
ميزان حساس Sensitive Balace	Sarorius (Germmany)
الناقل الزرعي Standard Wire Loop	Himedia (India)
الحاضنة الهزازة Shaking Incubator	Human Lab (Korea)
جهاز المازج الدوار Vortex Mixture	Medilab (Korea)
جهاز كروماتوغرافيا الغاز المتصل بمطياف الكتلة GC-MS	Agilent (USA)

Knf laboport (USA)	مضخة ضغط Vacuum Pump
Memmert (Germany)	الحمام المائي Water Path
Gonsort (Belgium)	جهاز الترحيل الكهربائي Electrophoresis
Vilber lourmat (France)	جهاز تصوير الهلام Gel Documentation
Prime (UK)	المدور او المضخم الحراري Thermo Cycler
Sartorius (China)	جهاز قياس الملوحة PT-20
Bio neer (Korea)	ابندروف Epindroff 2 ml
Epindroff (Germany)	جهاز الطرد مركزي Epindroff Centrifuge
Eppendorf (Germany)	جهاز نبذ مركزي مبرد Cooling Centrifuge
Shownic (Korea)	مسخن Microwave

2-1-3 المواد الكيميائية Chemical Materials

جدول 2 : المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة مع اسم الشركة المصنعة والمنشأ .

اسم المادة	الشركة المصنعة (المنشأ)
KH_2PO_4	Panreac (spain)
$(NH_4)_2SO_4$	Panreac (spain)
$MgSO_4.7H_2O$	CDH (India)
$CaCl_2$	Panreac (spain)
$FeSO_4.7H_2O$	Qualikemis (India)
$MnSO_4.H_2O$	Qualikemis (India)
$ZnSO_4.7H_2O$	Alpha chemika (India)
$CoCl_2$	Oxford (India)
Pepton	Qualikemis (India)
Tween 80	Panreac (spain)
Carboxy Methyl Cellulase (CMC)	CDH (India)
Urea	Himedia (India)
Malt Extract	Fluka (Germany)
Tannic Acid	Qualikemis (India)

Himedia (India)	Yeast Extract
Qualikemis (India)	Pectin
SCR (China)	.Cetyl trimethyl ammonium bromide
Alpha chemika (India)	$Mnso_4$
Panreac (spain)	Na_2HPO_4
Qualikemis (India)	$MgSO_4$
Qualikemis (India)	$ZnSO_4$
Qualikemis (India)	$CuSO_4$
Qualikemis (India)	KI
Qualikemis (India)	I_2
Unicare (Dubai)	70% Ethanol
Bio neer (Korea)	Lactophenol Cotton Blue
Bio neer (Korea)	Lactophenol
Chemlab (Belgium)	Ethyl Acetate
Bio basic (Canada)	Ethidium Bromide
Bio neer (Korea)	Ladder 100bp
Bio basic (Canada)	TBE buffer
Bio neer (Korea)	Bromo Phenol Blue
Bio neer (Korea)	Master Mix

3-1- 3 الاوساط الزراعية Culture media

الاوساط الزراعية المستخدمة اثناء الدراسة والموضحة في الجدول 3 .

جدول 3 : الاوساط الزراعية المستخدمة خلال الدراسة .

الشركة المصنعة (المنشأ)	اسم الوسط الزرعي
Himedia (India)	Malt Extract Agar (MEA)
Himedia (India)	Potato Carrot Agar (PCA)
Himedia (India)	Czapeks Doxe Agar (CDA)
Himedia (India)	Potato Dextrose Broth (PDB)

2-3 طرائق العمل Methods

1-2-3 جمع العينات Samples Collection :-

جُمعت 47 عينة من البقايا النباتية المغمورة أو الطافية في المياه ، التي تبدو عليها اثار التحلل من أربعة مواقع مختلفة من محافظة ميسان (ناحية السلام 11عينة ، قضاء الميمونة 12عينة ، قضاء المجر الكبير12عينة ، مدينة العمارة 12عينة) في محافظة ميسان خلال المدة من أيلول 2019 - شباط 2020 ووضعت القطع في أكياس من النايلون معقمة مع تسجيل تاريخ جمع العينات ومكانها ونقلت إلى المختبر .

2-3- 2 تحضير الأوساط الزراعية :

1-2-2-3 وسط خلاصة الشعير Malt Extract Agar

حُضَّر الوسط حسب توصيات الشركة المصنعة ، بإضافة 61 غم من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي ، وعُقّم الوسط بعد إذابته بجهاز المؤصدة Autoclave ، وبعد خفض درجة حرارة الوسط يتم أضافة (5 مل) من حامض الخليك الثلجي لمعادلة الحموضة .

2-2-2-3 وسط البطاطا والجزر Potato Carrot Agar

حُضَّر الوسط حسب توصيات الشركة المصنعة ، بإذابة 24 غم من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي ، وعُقم الوسط بعد إذابته بجهاز المؤصدة Autoclave .

3-2-2-3 وسط Czapeks Doxe Agar

حُضَّر الوسط حسب توصيات الشركة المصنعة ، بإذابة 49 غم من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي ، وعُقم الوسط بعد إذابته بجهاز المؤصدة Autoclave .

4-2-2-3 وسط البطاطا والدكستروز السائل Potato Dextrose Broth

حُضر الوسط حسب توصيات الشركة المصنعة ، بإذابة 40 غم من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر في دورق وعقم الوسط بعد إذابته بجهاز المؤصدة Autoclave .

5-2-2-3 التعقيم Sterilization

عُقمت الأوساط الزرعية اعلاه باستعمال جهاز التعقيم المؤصدة (Autoclave) تحت درجة حرارة 121 م° ، وضغط 15 باوند \ انج^2 ولمده 15 دقيقة . أما بالنسبة للزجاجيات وغيرها من الأدوات المستخدمة في تجارب سابقة باستعمال جهاز الفرن الكهربائي (Electric Oven)عند درجة حرارة 150م° ولمدة ساعتين .

3-2-3 تحضير الكواشف

1-3-2-3 كاشف اليود - حامض الهيدروكلوريك

استعمل هذا الكاشف للكشف عن إنزيم السليليزCellulase enzyme ويُحضرَّ من اذابة 1% I_2 + 2% KI في 500 مل من الماء المقطر المعقم ، ويضاف اليها 100 مل من HCl تركيز 0.1 مولاري.

2-3-2-3 كاشف يوديد البوتاسيوم KI

استعمل هذا الكاشف للكشف عن إنزيم الامليزAmylase Enzyme ويُحضرَّ من أذابه 15غم من KI في لتر من الماء المقطر المعقم و 3 غم من I_2 في لترمن الماء المقطر المعقم .

3-3-2-3 كاشف عن إنزيم البكتنيز Pectinases

استعمل هذا الكاشف للدلالة عن فعالية إنزيم البكتنيز، حُضّر المحلول المائي لمادة Cetyl trimethyl ammonium bromide وبتركيز 1 %.

4-2-3 طرائق عزل الفطريات :

1-4-2-3 طريقة الغرفة الرطبة Moist Chamber Method

هي طريقة يتم فيها عزل الفطريات النامية على البقايا النباتية الميتة المتحللة وقطع الأخشاب المتساقطة المغمورة أو الطافية بالمياه ، إذ بعد جمع العينات ونقلها الى المختبر يتم غسل العينات عدة مرات بالماء الجاري لإزالة الشوائب العالقة بها ، ثم غُسلت بالماء المقطر المعقم وبعدها تمَّ تقطيع العينة إلى قطع صغيرة بطول من 1-2 سم ، ووضعت حوالي 5 قطع في اطباق زجاجية حاوية على أوراق ترشيح نوع Whatman NO.1 مبللة بالماء المقطر المعقم (15 ملم) وحضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25 ± 2م°، واستمر حضنها لعدة أشهر ، مع إضافة الماء المقطر المعقم باستمرار كلما دعت الحاجة لغرض الترطيب .

2-4-2-3 طريقة الزرع المباشر على الوسط

غسلت العينات كما في الفقرة اعلاه وقطعت العينة الى قطع صغيرة بطول 1سم ووضعت من 4-5 قطع على سطح الاوساط الزرعية وسط البطاطا والجزرPotato Carrot Agar و وسط خلاصة الشعير Malt Extract Agar لغرض تنمية الفطريات وتشخيصها .

3-2-5 الفحص المظهري للفطريات وتشخيصها

3-2-5-1 فحص الفطريات النامية بطريقة الغرفة الرطبة

فحصت الاطباق الزجاجية الحاوية على اوراق الترشيح بعد اربعة اسابيع من الحضن وبشكل يومي تحت المجهر الضوئي لملاحظة الفطريات النامية على قطع الاخشاب المتحللة ، عملت مستعمرات للفطريات النامية وذلك بنقل جزء من الخيوط الفطرية بوساطة ناقل معقم إلى اطباق زجاجية حاوية على وسط Czapeks Doxe Agar ، وحُضنت بدرجة حرارة 25 ± 2 م° ، وبعد 7- 10 أيام فحُصت الأطباق لملاحظة النمو الفطري وتشخيص الفطريات النامية ، ثم عُملت مستعمرات نقية Pure culture للفطريات التي ظهرت في الأطباق ، أما الفطريات الكيسية النامية يتم تشخيصها وذلك بنقل الجسم الثمري النامي على القطع النباتية بوساطة ناقل معقم إلى شريحة زجاجية معقمة ، وباستعمال لوب طعن معقم تم كسر الجسم الثمري ، وأحياناً يتم إضافة بضع قطرات من محلول الهايبوكلوريد الصوديوم تركيزه 3% لغرض تحطيم الجسم الثمري وتحرر السبورات لغرض تشخيصها .

3-2-5-2 الفحص المظهري للمستعمرات وعمل المزارع النقية للفطريات

لدراسة الفطريات المعزولة وتشخيصها بشكل دقيق فحصت الأطباق بعد مرور 7- 10 وبشكل يومي تحت المجهر الضوئي، تم تحضير مزارع نقية للفطريات النامية على الأوساط الزرعية بنقل جزء من حافة المستعمرة الفطرية الظاهرة في الأطباق الحاوية على العينات باستعمال لوب معقم الى أطباق حاوية على الوسط الزرعي نفسه الذي زرعت عليه العينات في البداية ، وللغرض نفسه حُضّرت مزارع مائلة (Slant Cultures) ، حيث يتم تلقيحها أيضا بجزء من المستعمرة النقية وتُحضن بدرجة حرارة 25±2 م° لمدة 7- 10 أيام حسب نوع الفطر ، ثم تحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لاستخدامها عند الحاجة.

3-2-5-3 الفحص المجهري للخيوط الفطرية

شخصت الفطريات المعزولة من خلال فحص الخيوط الفطرية والكونيدات من حيث أشكالها ، أبعادها ، طريقة ترتيبها على الخيوط الفطرية ، وألوانها ، والأبواغ الكلاميدية . ولهذا الغرض تمَّ عمل شرائح زجاجية حاوية على جزء من المستعمرة الفطرية ووضع قطرة من صبغة اللاكتوفينول الزرقاء Lactophenol Cotton Blue ، اذا كانت الخيوط الفطرية والكونيدات شفافة ، و صبغة اللاكتوفينول Lactophenol عندما تكون الخيوط الفطرية والكونيدات ملونة ، وفحصها تحت المجهر على قوة تكبير (10x أو 40 x أو 100x).

شخصت الفطريات بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية الاتية ; Ellis, 1965, 1971,1976 ; Frisvad and Samson, ; Hyde *et al.*, 1999 ; Kohlmeyer and Kohlmeyer, 1979

; Samuels *et al.*, 2012 ; Samson *et al.*, 2011 ; Refai *et al.*, 2015 ; 2004
Luo *et al.*, 2019 ; Hemandez-Restrepo *et al.*, 2017 ; Raghukumar C., 2012

6-2-3 حساب النسبة المئوية للظهور والتردد Occurrence and Frequnaty

تمَّ حساب النسبة المئوية لظهور الأنواع الفطرية المعزولة من البقايا النباتية المغمورة بالمياه بالاستعانة بالمعادلة الاتية :

عدد عزلات النوع الواحد

النسبة المئوية للظهور % = ---------- x 100

عدد العينات الكلية

وكذلك تم حساب النسبة المئوية لتردد الأنواع بالاستعانة بالمعادلة الاتية :

عدد عزلات النوع الواحد

النسبة المئوية للتردد % = ---------- x 100

عدد العزلات الكلية

7-2-3 قياس بعض العوامل البيئية لمياه مواقع جمع العينات :

قيست درجة الحرارة والأس الهيدروجيني لمياه مناطق جمع العينات باستعمال جهاز pH-meter ، وقياس نسبه ملوحة المياه باستعمال جهاز PT-20 .

8-2-3 قياس الفعالية الانزيمية للفطريات مختبريا

تم اختبار قابلية احد عشر نوعاً من الفطريات التي عُزلت خلال هذه الدراسة لدراسة قابليتها على إفراز إلانزيمات على الأوساط الزرعية الصلبة (جدول 4) وهذه الإنزيمات هي Cellulases و Amylases و Phenol Oxidases و Pectate lyase (pH7) و Polygalacturonase (pH5)

جدول 4 : الفطريات المختبرة لدراسة فعاليتها الانزيمية خلال الدراسة

Fungal Species
Aspergillus niger
Arthrobotrys dianchiensis
Aspergillus fumigatus
Aspergillus horti
Byssochlamys nivea

Cladosporium cucumerium
Fusarium oxysporum
Mucor pseudolamprosporum
Pencillium chrysogenum
Rhizopus oryzae
Scedosporium prolificans

وحضرت أوساط الاختبار Test Media كالآتي :

1-8-2-3 إنزيم السليليز Cellulase Enzyme

فُحصت قابلية الفطريات على انتاج إنزيم السليليز على الوسط الصلب Solid media وذلك حسب الطريقة الموصوفة من قبل Mandels *et al.*, (1975) المكون من المواد الآتية (جدول 5) :

جدول 5: المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم السليليز

المادة	الكمية
KH_2PO_4	2 غرام
$(NH_4)_2SO_4$	1.4 غرام
$MgSO_4 . 7H_2O$	0.3 غرام
$CaCl_2$	0.3 غرام
$FeSO_4. 7H_2O$	0.004 غرام
$MnSO_4.7H_2O$	0.0016 غرام
$ZnSO_4.7H_2O$	0.0014 غرام
$CoCl_2$	0.002 غرام
Pepton	0.8 غرام
Tween 80	2 مليلتر
CMC	10 غرام
Agar	20 غرام
Urea	0.3 غرام
D.W.	1000 مليلتر

حُضّر الوسط بإذابة جميع المكونات بالماء المقطر، باستعمال خلاط مغناطيسي ، ماعدا اليوريا التي تُضاف بعد تعقيم الوسط ، صُبَّ الوسط في أطباق بتري وترك ليتصلب ، أُقح كلُّ طبق بقرص واحد قطره 5 ملم ، أخذ من حافة المزارع النقية بعمر7 أيام للفطريات المختبرة باستعمال ثاقب فليني معقم ووضع القرص الفطري في مركز الطبق .

حُضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ±2م° ، وبعد سبعة أيام تَمَّ الكشف عن الإنزيم باستعمال كاشف اليود- حامض الهيدروكلوريك عن طريق غمر الأطباق بالكاشف ، وتترك لمدة 10 دقائق ، ثم يسكب المحلول ويترك لمدة دقيقتين إلى ثلاث دقائق ، ويتم الاستدلال على الإنزيم بظهور هالة التحلل الشفافة حول المستعمرة .

2-8-2-3 إنزيم الاملیز Amylase Enzyme

للكشف عن فعالية الفطريات في تحلل النشأ وانتاج إنزيم الاملیز ، استخدم الوسط الموصوف من قبل Gessner (1980) ، الذي يتكون من المواد الآتية (جدول 6) :

جدول 6 : المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم الاملیز

المادة	الكمية
Starch	2 غرام
Pepton	1 غرام
Yeast extract	15 غرام
Agar	18 غرام
D.W.	1000 مليلتر

عُقّم الوسط بجهاز المؤصدة Autoclave وصُبَّ في أطباق بتري معقمة ، ولقحت الأطباق بأقراص ذات قطر5 ملم من المستعمرة الفطرية النقية للفطريات المختبرة ، وحُضنت الأطباق بدرجة حرارة25 ±2م° لمدة 3-7 أيام .

وتَمَّ الكشف عن الإنزيم باستعمال كاشف يوديد البوتاسيوم KI ، غمرت الأطباق بالكاشف وتُركت لمدة 15 دقيقة ، عند ظهور الهالة الشفافة حول المستعمرة الفطرية دلَّيل على قابلية الفطر على تحلل النشأ ، أما ظهور اللون البنفسجي في باقي الطبق دليل على تفاعل النشأ مع اليود (Hankin and Angnostakis, 1975) .

3-8-2-3 إنزيم الفينول اوكسديز Phenol Oxidase Enzyme

فحصت قابلية الفطريات المختبرة على أفراز هذا الإنزيم باستعمال طريقة Davidson *et al.* (1938) المحورة من قبل Gessner (1980) ويُحضّر الوسط من المواد التالية (جدول 7) :

جدول 7 : المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم الفينول اوكسديز

المادة	الكمية
Malt extract	15 غرام
Tannic acid	0.8 غرام
Agar	20 غرام
D.W.	1000 مليلتر

أُضيفَ Tannic acid بعد تعقيم الوسط بعد اذابته في ماء مقطر معقم . لُقحّت الأطباق الحاوية على الوسط بأقراص من المستعمرة الفطرية المراد دراستها قياس 5 ملم ، وحضنت الاطباق بالحاضنة بدرجة حرارة 25±2 م°ولمدة 3-5 ايام ، يتم الاستدلال على الإنزيم بظهور منطقة بنية اللون Brown zone حول المستعمرة الفطرية دلالة على أكسدة Tannic acid .

4-8-2-3 إنزيم البكتنيز Pectinase Enzyme

يَتمُّ الكشف عن مقدرة الفطريات على إفراز هذا الإنزيم باستعمال الوسط الموصوف من قبل Hankin and Angnostakis (1975) والمكون من المواد التالية (جدول 8) :

جدول 8 : المواد المكونة لوسط الكشف عن إنزيم البكتنيز

المادة	الكمية
500 مل من الماء المقطر الذي يحوي على	
Yeast extract	1 غرام
Pectin	5.0 غرام
Agar	20 غرام
500 مل من محلول ملحي يحضر من	
$(NH_4)_2SO_4$	2 غرام
KH_2PO_4	0.4 غرام

$MnSO_4$	1.0غرام
$FeSO_4.7H_2O$	0.0007 غرام
$CaCl_2$	2.0 غرام
Na_2HPO_4	5.0 غرام
$MgSO_4$	0.01غرام
$ZnSO_4$	0.07غرام
$CuSO_4$	0.05 غرام

يتمَّ الكشف على أنزيم Pectate lyase بجعل حامضية الوسط عند pH7 و الاستدلال على الانزيم Polygalacturonase بجعل حامضية الوسط عند pH5 ، لُقحّت الأطباق الحاوية على الوسط بأقراص من المستعمرة الفطرية 5 ملم المراد دراستها وحُضِنت بدرجة حرارة 25±2 م° ولمدة 3-5 أيام ، يتم الكشف على الإنزيم بغمر الأطباق بعد انتهاء فترة الحضن بمحلول مائي 1% من Cetyl trimethyl ammonium bromide ، وعند ظهور الهالة الشفافة حول المستعمرة دلالة على قدرة الفطر على انتاج الإنزيم.

3-2-9 الدراسات الجزيئية لبعض للفطريات المدروسة

3-2-9-1 استخلاص الـ DNA من الفطريات المعزولة

استخلص الـ DNA من بعض الفطريات المعزولة في هذه الدراسة من مستعمرات بعمر10-14 يوم باستعمال عدة الـ (Genomic DNA Mini Kit (Plant .

3-2-9-2 الترحيل الكهربائي للـ DNA Electrophoresis of DNA

تم اجراء التجارب الخاصة بالترحيل الكهربائي حسب طريقة Sambrook (1989) وفق الخطوات التالية :

1 - وزن 1 غم من الاكاروز وتمت إذابته في 100مل من TBE buffer لكي يصبح بتركيز 1x .

2 – سخن المزيج باستعمال جهاز Microwave إلى أن يذوبَ الأكاروز بصورة جيدة ، ثم ترك المزيج ليبردَ إلى درجة حرارة تتراوح ما بين 40-50 م° ثم أضيف إليه 0.5 مايكرولتر من صبغة Ethidium bromide .

3 - حُضِّر قالب الترحيل الكهربائي وربط المشط comb في احدى نهايتيه لعمل الحفر داخل الأكاروز ومن ثُمّ صُبَّ محلول الهلام ، وبعدها تُرك ليتصلب بدرجة حرارة الغرفة ، ثم رفع المشط والقطع

المطاطية وأعيد القالب في مكانه لجهاز الترحيل ، وغمر بمحلول TBE إلى أن يصل إلى ارتفاع 2-3 ملم تقريباً.

4 - مزج 2 مايكرولتر من صبغة Bromo Phenol Blue و 5 مايكرولتر من الـ DNA ووضع المزيج في حفر الأكاروز .

5 - ربطت اقطاب جهاز الترحيل الى مجهر القدرة وثبتت قوة التيار الكهربائي 75 فولت وترك الهلام حوالي 30 دقيقة ، وللدلالة على بدء عملية الترحيل نلاحظ خروج الفقاعات الهوائية .

6 - تمَّ فحص هلام الاكاروز بعد أن تحركت الصبغة إلى نهاية هلام الأكاروز ، ثم فُحصت تحت الأشعة فوق البنفسجية لملاحظة وجود ال DNA ، وتم تصوير النتائج باستخدام الكاميرا .

3-9-2-3 تحضير مزيج PCR master mix

عُمل مزيج التفاعل الـ PCR باستعمال عدة Accuoower ® PCR premix التي صُنعت من قبل الشركة الكورية Bioneer وبحسب تعليمات الشركة كما في الجدول 9 :

الجدول 9 : مكونات مزيج الـ PCR master mix للـ ITS4،ITS1

PCR master mix	Volume
DNA template	7ml
Forward primer (10 pmol)	2ml
Reverse primer (10 pmol)	2ml
PCR water	9ml
Total	20ml

3-9-2-4 اختبار تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction

لإجراء الاختبار ، اتبعت طريقة Liu *et al* . (1997) و Liu *et al* . (2000) ، فقد تمَّ خلط مكونات مزيج الـ master mix في انابيب اختبار ذات حجم 0.2 مل خاصة بعدة فحص الـPCR (Accuoower ® PCR premix) والمحتوية على باقي مواد التفاعل ،استخدمت البادئات ITS1 و ITS4 الموضحة في الجدول 10 ، أُجرى تخفيفها بإضافة 0.5 مل من TE حسب التعليمات المدونة من قبل الشركة المصنعة ، وخُلطت المكونات بواسطة جهاز Vortex ، وتم وضع العينات في جهاز المضخم الحراري PCR Thermocycler ، وشغل وفق البرنامج الموضح في الجدول 11 ، وبعد انتهاء البرنامج الـ PCR ، تم وضع 4 مايكروليتر من DNA Ladder (1000-100 pb) في الحفرة الاولى من هلام الاكاروز و 5 مايكروليتر من منتج الـ PCR ، في الحفرة الثانية ، وهكذا بالنسبة لباقي العينات

ومن ثم رُحِّل كهربائياً على هلام الأكاروز ، بوزن 1غم من الاكاروز واذابته في 100 مل من محلول الـ TBE buffer بتركيز 1x وتم اضافة 3 مايكروليتر من صبغة Ethidium bromide وثبتت قوة التيار على (70 فولت) ولمدة 75 دقيقة وبعد الانتهاء من عملية الترحيل تم فحص الهلام بجهاز UV وتصوير النتائج بالكاميرا . ثم ارسلت عينات المادة الوراثية الـ DNA المختبرة إلى معهد macrogen في كوريا لغرض معرفة تتابعات القواعد النتروجينية ومقارنتها مع العزلات في بنك الجينات NCBI .

جدول 10 : تتابع القواعد النيتروجينية باستخدام البادئات ITS1 و ITS4

Primers	Primers Sequences	Length
ITS1	5 - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3	19 Base
ITS4	5 - TCCTCCGCTTATTGATATGC- 3	20Base

جدول 11 : برنامج التضخيم الـ PCR للبادئات ITS1 و ITS4

PCR Step	Repeat cycle	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95°C	4 min
Denaturation	30	95 °C	1 min
Annealing		58 °C	1 min
Extension		72 °C	2 min
Final extension	1	75 °C	10 min
Hold	-	4 °C	Forever

10-2-3 الكشف عن المركبات العضوية باستخدام تقنية Gas Chromoatography - Mass Spectrometry (GC- MS)

تم دراسة قابلية خمسة أنواع من الفطريات المعزولة في هذه الدراسة (*G.candida* و *A.horti* و *F.oxysprium* و*C.cucumerium* و *S.prolificans*) على انتاج المركبات العضوية الناتجة من الأيض الثانوي ، نُمِّيت الفطريات على وسط PDB ، عُقِّم الوسط وصُبَّ 200 مل منه في دوارق زجاجية سعة 250 مل ثم تركت الدوارق لتبرد ، وتم إضافة خمسة أقراص (6 ملم) من المستعمرة الفطرية مأخوذة من حافة المستعمرة الفطرية ، وعمل ثلاث مكررات لكل فطر ، حُضنت الدوارق في الحاضنة

الهزازة (120 دورة \ دقيقة) تحت درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة أسبوعين . وبعد انتهاء فترة الحضن وظهور النمو الفطري ، رُشِّحت المزارع الفطرية باستخدام ورق الترشيح نوع Whatman No.1 وباستخدام جهاز Vacuum لإزاله العوالق من الراشح الفطري ، ثم تم مزج الراشح الفطري مع خلات الأثيل Ethyl Acetate بنسبة متساوية 1:1 وباستخدام قمع فصل معقم وتحت ظروف معقمة ، جُمعت الطبقة العضوية ووُضِعت في أطباق بتري معقمة ووُضِعت في الحاضنة وتُركت لتجف ، قُشطت المادة الجافة ووُضعت في أنابيب معقمة ، وتَمَّ الكشف عنها باستخدام جهاز GC- MS . وأُرسلت العينات إلى مختبرات نهر بن عمر، التابعة الى شركة نفط البصرة لتحليلها وتشخيص مركبات الأيض الثانوي لتلك الفطريات .

11-2-3 التحليل الاحصائي Statistical Analysis

تم إجراء التحليل الإحصائي للتجارب المختبرية باستخدام تحليل التباين الأحادي Univariate Analysis of Variance وتمت مقارنة نتائج الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) تحت مستوى ثقة ($p\leq0.05$) ، لإيجاد الفروقات المعنوية للقدرة الانزيمية للفطريات المختبرة ، وأجري التحليل الإحصائي من قبل الدكتور أسعد يحيى عايد جامعة البصرة / كلية الزراعة / قسم الإنتاج الحيواني.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

1-4 الوصف المظهري لبعض الفطريات التي عزلت اثناء الدراسة

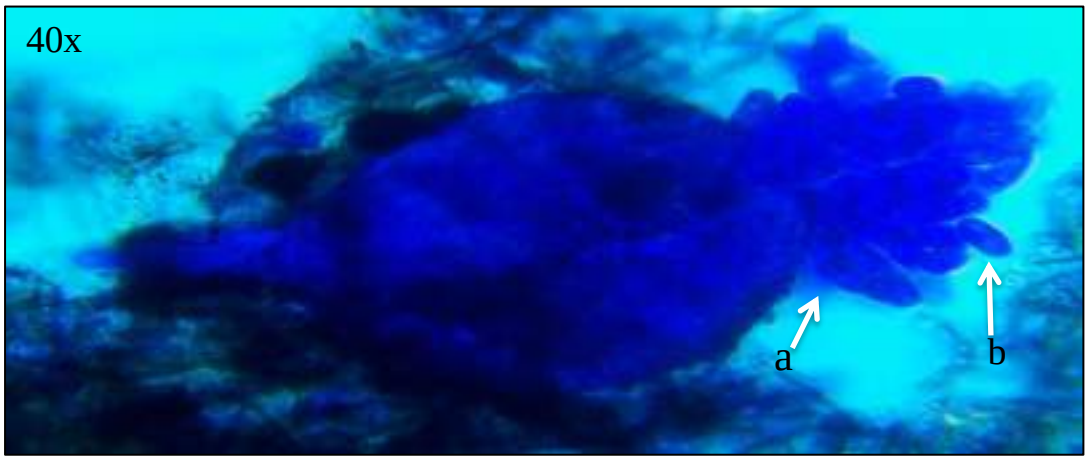
1 - *Aniptodera margaration* shearer, Mycology 81 : 139 (1989)

الجسم الثمري Ascocarp كروي أو شبه كروي ، شفافً ، ينمو سطحياً أو مطموراً جزئياً ،حاوٍ على فتحة قمية لخروج الأبواغ Ostiole ، أبعاده 145 - 162 مايكرون ، الأكياس Asci شبه كروية أو كمثرية ، شفافة قمتها مدورة ، أبعادها 20 - 35 X 45 - 70 مايكرون حاوية على ثمانية ابواغ كيسية ، الأبواغ الكيسية Ascospore بيضوية الشكل ، وفي بعض الأحيان اهليجية ، شفافة مكونة من خليتين لا تحتوي على تخصر ابعادها 7.5 - 10 X 20 - 25 مايكرون.

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور بالمياه في قضاء الميمونة .

رقم العزلة : Ma3570 شكل 1

يتفق هذا الوصف مع ما وصفه Shesrer (1989) ،أذ أشار Jones *et al.* (2009) الى قدرة بعض أنواع جنس *Aniptodera* على العيش في المياه العذبة والمالحة. وأهم ما يميز هذا النوع هو تكوينه أجسام ثمريه شفافة وقدرته على العيش بصورة مترممة على الاخشاب المغمورة بالمياه . وقد عزل لأول مرة من المياه المويلحة في مصر من قبل El-Sharouny *et al.* (2009). سجل هذا الفطر لأول مرة بالعراق.



شكل 1 : الجسم الثمري لفطر *Aniptodera margaration* a : الأكياس b : الأبواغ الكيسية

2 - *Kirschsteiniothelia maritime* (Linder) Hawksworth ., Bot. J. Linn. Soc. 91: 183 (1985) .

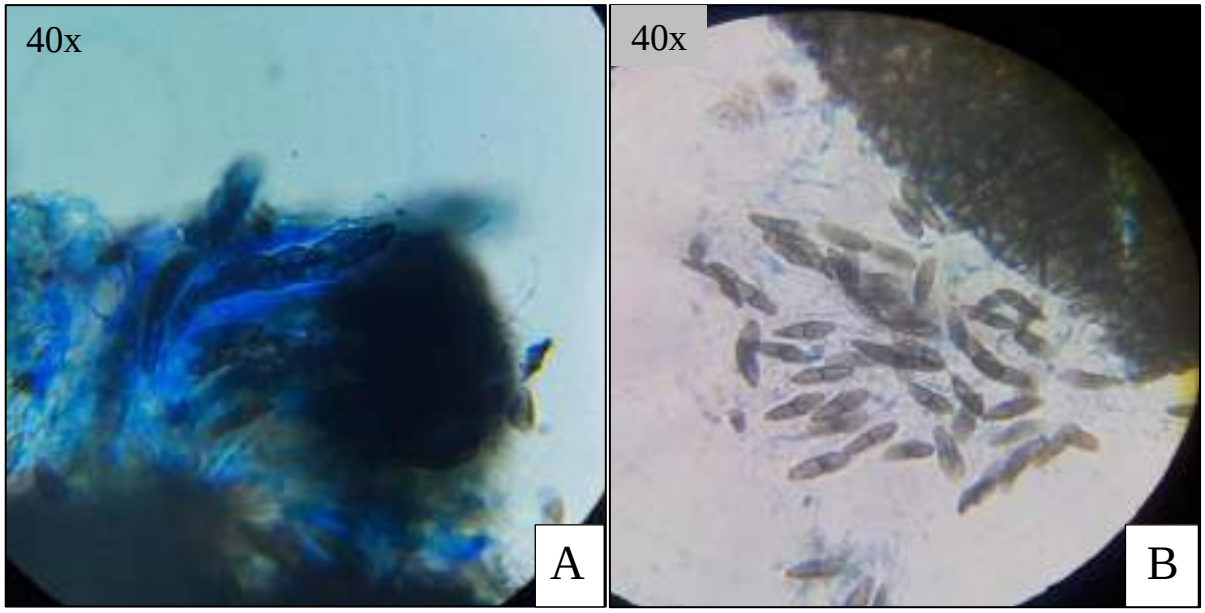
الجسم الثمري شبه كروي ينمو سطحياً على الخشب ، أسود داكن اللون Carbonaceous يحتوي على فتحة صغيرة يتم من خلالها نشر الأبواغ ، أبعاده 55 - 130 x 102.5 - 270 مايكرون .

الأكياس ذات شكل اهليجي متطاول أبعادها 7.5 - 12.5 x 37.5 - 50 مايكرون . الأبواغ الكيسية مغزليه الشكل ، ذات لون بني تمتلك حاجز واحد ابعادها 5 - 7.5 x 15 - 25 مايكرون .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور بالمياه في مدينة العمارة .

رقم العزلة : Am2053 شكل 2

تم وصف هذا النوع من قبل Hawksworth (1985) حيث وُجد على النباتات المائية ، عزل من الأخشاب الطافية من قبل Jones *et al.* (2009) ، وقام Al-Saadoon and Al-Dossary (2014) بعزلها من البقايا النباتية المغمورة في مياه نهر الفرات قرب القرنة .



شكل 2 : فطر *Kirschsteiniothelia maritime* A : الأكياس B : الأبواغ الكيسية

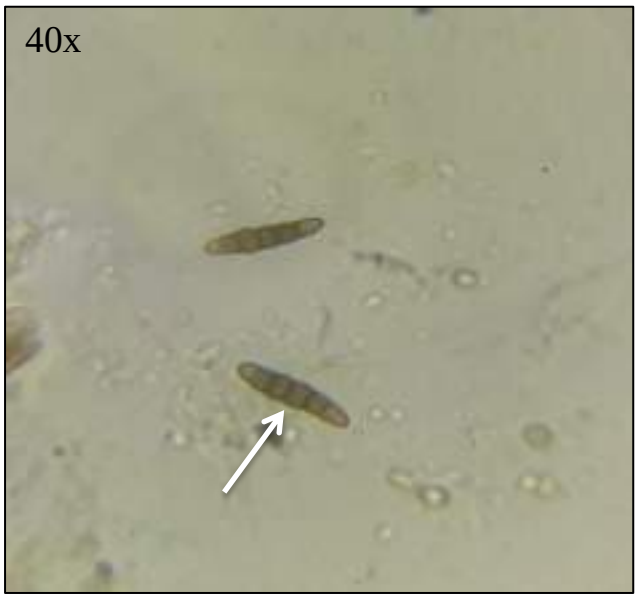
3 - *Leptosphaeria agnita* (Desm.) Ces. and De Not., Com. D. Soc. Cri. Ital: 1 (4) : 236 (1863) .

الجسم الثمري شبه كروي ، أسود اللون ، ينمو سطحياً فوق أنسجة الخشب ، حاوٍ على فتحة لنشر الأبواغ الكيسية ، ابعاده 280 - 345 مايكرون ، الأكياس أسطوانية أو صولجانية الشكل Clavate ابعادها 10 - 12.5 x 100 - 130 مايكرون حاوية على ثمانية ابواغ ، الأبواغ الكيسية اسطوانية الشكل ذات لون بني مائل للذهبي لها 5 - 6 حواجز تتميز الخلية الثالثة من الطرفين (الخليتين الوسطيتين) بكونها أعرض من بقية الخلايا ، قد تنحني قليلاً او تبقى مستقيمة أبعادها 5- 7.5 x 30 - 37.5 مايكرون .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور بالمياه لمدينة العمارة .

رقم العزلة : Am2053 شكل 3

هذا الوصف مطابقٌ تماماً مع وصف Ces. *et al.* (1851) ، وقد تم وصف العديد من الأنواع التابعة لـ *Leptosphaeria* (Crane and Shearer, 1991) ، وقام أيضاً Al-Saadoon and Al-Dossary (2014) بعزل فطر *L.agnita* من البقايا النباتية المغمورة في شط العرب.



شكل 3 : الأبواغ الكيسية لفطر *Leptosphaeria agnita* (السهم يشير الى الخليتين الوسطيتين الاوسع بين الخلايا)

4 - *Nais inornata* Kohlmeyer, Nova Hedwigia , 4 : 409 (1962).

الجسم الثمري كروي الشكل أو شبه كروي ،أسود اللون ، مطمور جزئيا، يحتوي على فتحة تسمح بخروج الأبواغ الكيسية ، ابعاده 260 - 300 مايكرون، الأكياس صولجانية الشكل، رقيقة الجدار ، أبعادها 20 - 30 x 90 - 100 مايكرون حاوية على ثمانية ابواغ كيسية ، والأبواغ الكيسية شفافة ذات حاجز واحد حاوية على تخصر ضئيل عند الحاجز ، مع وجود قطرات زيتية عند النهاتين ومنطقة الحاجز . ابعادها 7.5 - 15 x 20 - 25 مايكرون.

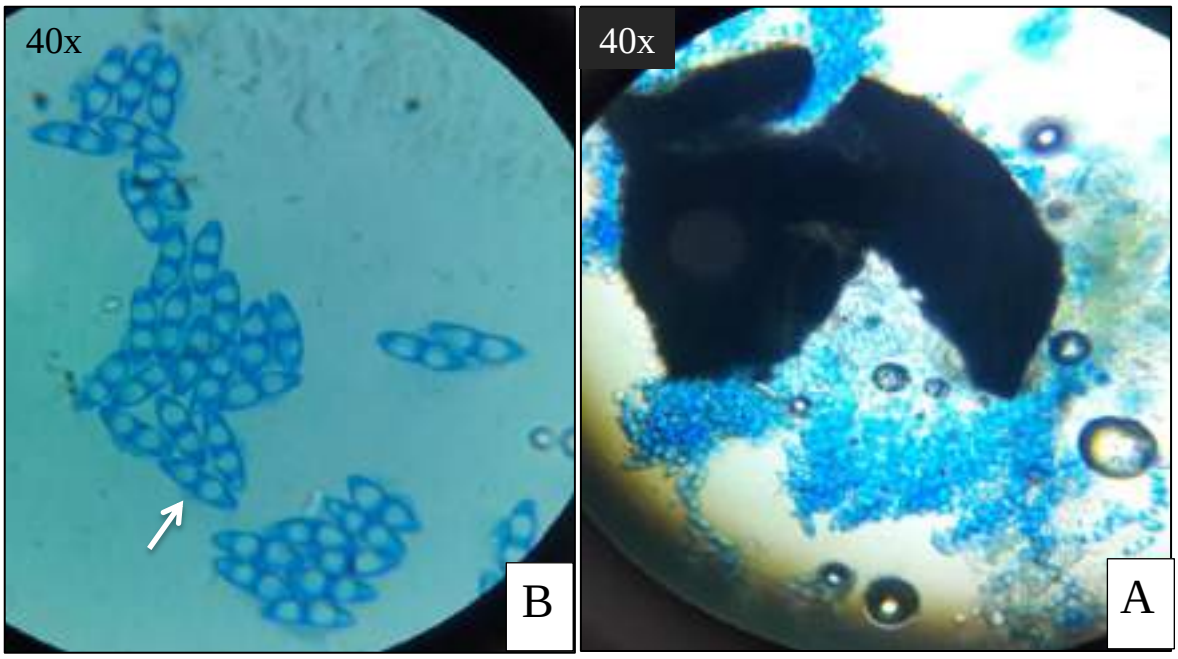
العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور في مياه قضاء المجر.

رقم العزلة : Mg0676 شكل 4

ينطبق الوصف مع ما تَمَّ وصفه من قبل Kohlmeyer (1962) ، إذ يتميز هذا النوع بكونه قريب الشبه من النوع *N.aquatic* غير أنَّ الاختلاف بينهما يكمن في حجم الأبواغ الكيسية حيث تكون الأبواغ الكيسية لفطر *N.aquatic* أكبر حجماً ، وتحتوي في بعض الأحيان على زوائد (Hyde, 1992) .

واكد Pang *et al.* (2003) أنَّ تسلسل البيانات الجزيئية للحامض النووي DNA لفطر *N.inornata* يثبت ارتباطه ارتباطاً وثيقا بأنواع *Aniptodera* ، وقد تمَّ وصفه على أنّه أحد

الفطريات البحرية من قبل Dethoup and Manoch (2009) ، وعُزل من البقايا النباتية المغمورة في المياه المويلحة من قبل Muhsin and Kalaf (2002) و مشهد (2010) و Al-Sadoon and Al-Dossary (2014) .



شكل 4 : فطر *Nais inornata* A : الجسم الثمري وخروج الأكياس ، B : الأبواغ الكيسية (يشير السهم الى التخصر الوسطي للأبواغ الكيسية)

5 - *Savoryella lignicola* Jones and Eaton, Trans. Br. Mycol. Soc. 52 : 161 (1969)

الجسم الثمري كمثري الشكل أو شبه كروي ، اهليجي ، يتميز بلونه الأسود أو البني الداكن ، سهل الكسر، مطمورٌ جزئياً في نسيج الخشب ، حاوٍ على فتحة علوية لنشر الأبواغ أبعاده 105 - 150 x 175 - 225 مايكرون ، العنق طويل ابعاده 50 - 110 مايكرون . الأكياس شفافة شبه أسطوانية او مضربية الشكل أبعادها 12 - 15 x 80 - 100 مايكرون حاوية على ثمانية أبواغ كيسية ، والأبواغ الكيسية اهليجية الشكل ، مقسمة ، ثلاثية الحواجز، الخليتان القميتان شفافتان تُعد ثقوب أنبات أما الخليتان الوسطيتان فذاتا لونٍ بني فاتح ، أبعادها 7.5- 12.5 x 20 - 27.5 مايكرون.

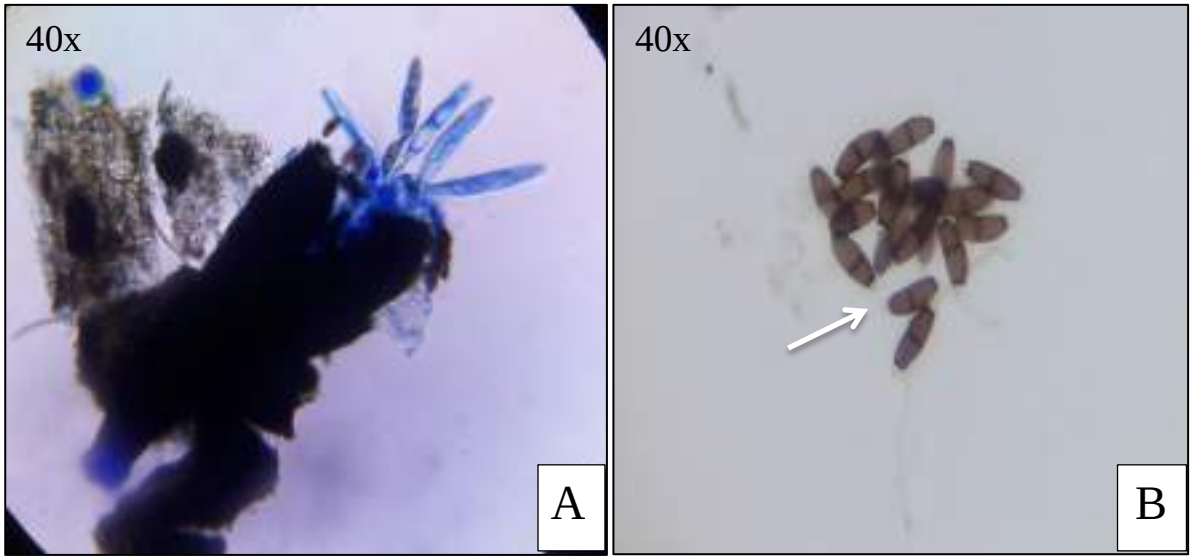
العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور في مياه مدينة العمارة.

رقم العزلة : Am1482 شكل 5

يتطابق وصف هذا النوع مع ما وصفه Jones and Eaton (1969) ، هذا النوع واسع الانتشار في المياه العذبة والمويلحة والمالحة كما انه يمتاز بقدرته على تحمل الملوحة العالية (Hyde, 1994) ،

قام Al-Sadoon and Abdullah (2001) بعزل هذا الفطر من سيقان نبات ميت مغمور في المياه العذبة في محافظة نينوى ، بينما قام Al-Sadoon and Al-Dossary (2014) بعزلها من المياه المويلحة جنوب العراق .

هذا النوع قريب الشبه من *S.fusiformis* و *S.longispora* ، ويمكن التمييز بينهما بحجم الأبواغ الكيسية والتراكيب الوراثية ، حيث أنَّ الأبواغ الكيسية للفطر *S.longispora* تكون أطول وأنحف (Ho *et al.*, 1997 ; Boonyuen *et al.*, 2011) ، كذلك يختلف عن الفطر *S.aquatic* بكون الأبواغ الكيسية لفطر *S.aquatic* أعرض من الأبواغ الكيسية لفطر *S.lignicola* (Jones and Hyde, 1992).



شكل 5 : فطر *Savoryella lignicola* A : الجسم الثمري وخروج الاكياس ، B : الأبواغ الكيسية (السهم يشير الى ثقوب الانبات)

6 - *Zopfiella latipes* (Lundq.) Malloch and Cain, Can. J. Bot. 49: 876 (1971).

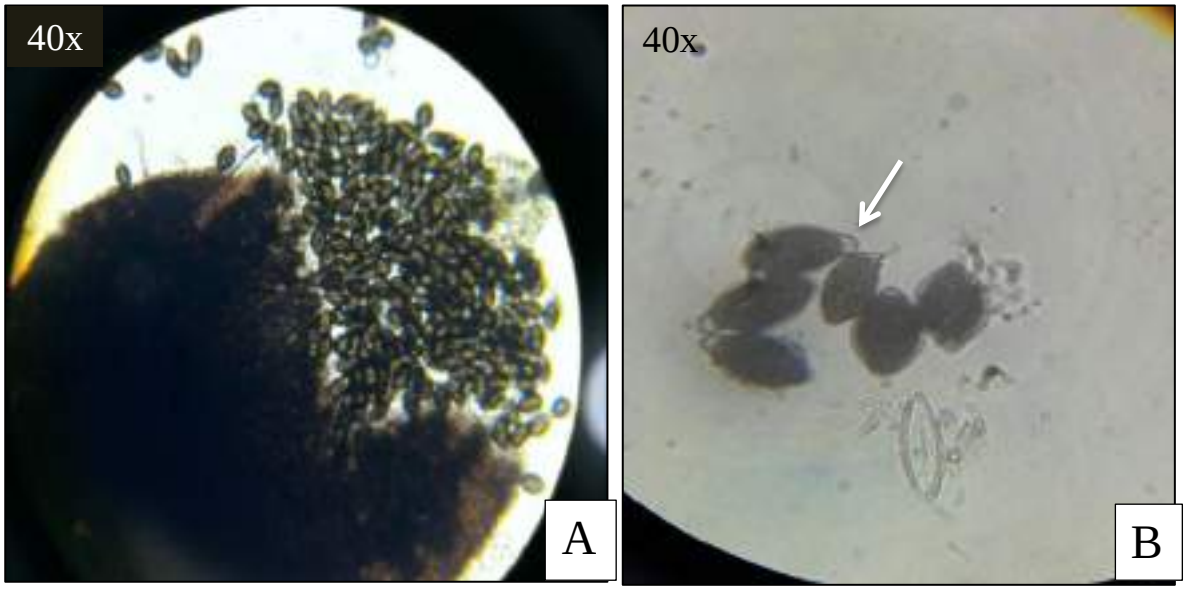
الجسم الثمري من النوع المغلق Cleistothecia ، كروي الشكل ، ذو لون أسود أبعاده 350 - 400 مايكرون ، يحتوي بداخله على أكياس أبعادها تتراوح ما بين 15- 20 x 100 يحتوي الكيس على ثمان أبواغ كيسية . الأبواغ الكيسية مخروطية أو بيضوية الشكل ذات لون أسود أو زيتوني، تحتوي على ثقب أنبات شفاف واحد يوجد بالقمة ، ويتميز باحتوائه على عدد من القطيرات الزيتية ، أبعادها 12.5 - 25 x 7.5 - 20 .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور في مياه مدينة العمارة

رقم العزلة : Am1965 شكل 6

يتفق هذا الوصف مع وصف Malloch and Cain (1971) ، ويتميز هذا النوع عن الأنواع الأخرى بلون الكيس الثمري الداكن ، وشكل البوغ الكيسي المخروطي أو الاهليجي ، واحتواء الأبواغ الكيسية على قطرات الزيتية ، يشبه فطر *Z.latipes* فطر *Z.pleuropora* ، إلا أنّ الاختلاف في شكل البوغ الكيسي والموطن الذي يعيش فيه ، فقد عزل فطر *Z.latipes* من التربة والبقايا النباتية المغمورة بالمياه ، ونادراً ما يُعزل من روث الحيوانات ، بينما عزل النوع *Z.pleuropora* من روث الغزلان (Malloch and Cain, 1971) .

عزل فطر *Z.latipes* من نبات القصب الميت المغمور بالمياه من هور الحمّار من قبل Abdulla (1983) ، وعزل من البقايا النباتية المغمورة في اهوار ذي قارمن قبل الميّاح واخرون (2006) و مشهد (2010) و(2014) Al-Saadoon and Al-Dossary .



شكل 6 : فطر *Zopfiella latipes* A : الجسم الثمري وخروج الأبواغ الكيسية ، B : الأبواغ الكيسية (يشير السهم الى ثقب الانبات) .

7- *Cirrenalia iberica* Hern-Restr. and Gene , Studies in Mycology 86: 86 (2017)

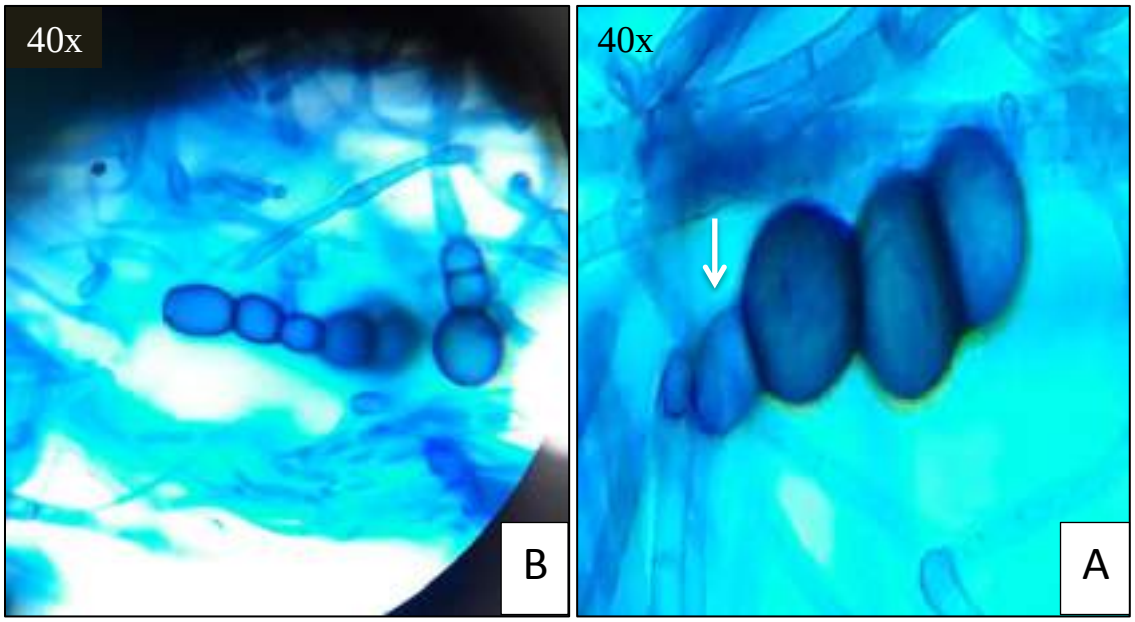
المستعمرة سطحية ، الخيوط الفطرية hypha شفافة ، متفرعة ، مقسمة ، سمكها 2.5 - 5 مايكرون، الحامل الكونيدي ذو لون بني فاتح تشبه الخيط الفطري micronematous أبعاده 7.5 - 10 x 12.5 - 15مايكرون ، الكونيدة مفردة ، عمودية او مستقيمة وقد تنحني وفي بعض الاحيان ، مقسمة بحواجز يتراوح عددها من 1-4 حاجز ، تعطي هذه الحواجز شكلاً كروياً أو شبه كروي للخلايا ، ونلاحظ أيضاً أنَّ هذه الخلايا تزداد في الحجم كلما اقتربنا نحو القمة وتتميز أيضاً بكون الخلية القاعدية شاحبة اللون ،

ابعاد الخلايا القاعدية 12.5-7.5 والخلايا الوسطية 15-10 والخلايا القمية 30-25 ، يسجل هذا النوع لأول مرة في العراق .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور بالمياه في موقع قضاء المجر الكبير.

رقم العزلة : Mg0512 شكل 7

تتطابق صفات هذا الفطر مع ما وصفه Hernandez- Restrepo *et al.* (2017) . ويتصف فطر *C.iberica* بكونه يتشابه مظهرياً مع *C.macrocephala* و *C.pseudomacrocephala* و *C.basiminuta* و *C.pallescens* ،الا أنَّ فطر *C.iberica* يمكن تمييزه من خلال تكوينه كونيدات طويلة تأخذ اشكالا مستقيمة على عكس الأنواع الأخرى التي تكون كونيداتها ملفوفة ، ويتميز أيضا بكون الخلية القاعدية ذات لون شاحب مقارنة مع الخلايا القمية (Hernandez– Restrepo *et al.*, 2017)



شكل 7 : فطر *Cirrenalia iberica* A : كونيدة (يشير السهم الى الخلية القاعدية الفاتحة اللون)
B : كونيديا مستقيمة

8 - *Cordana lignicola* Luo ; Hyde and Su, Fungal Diversity 163: (2019)

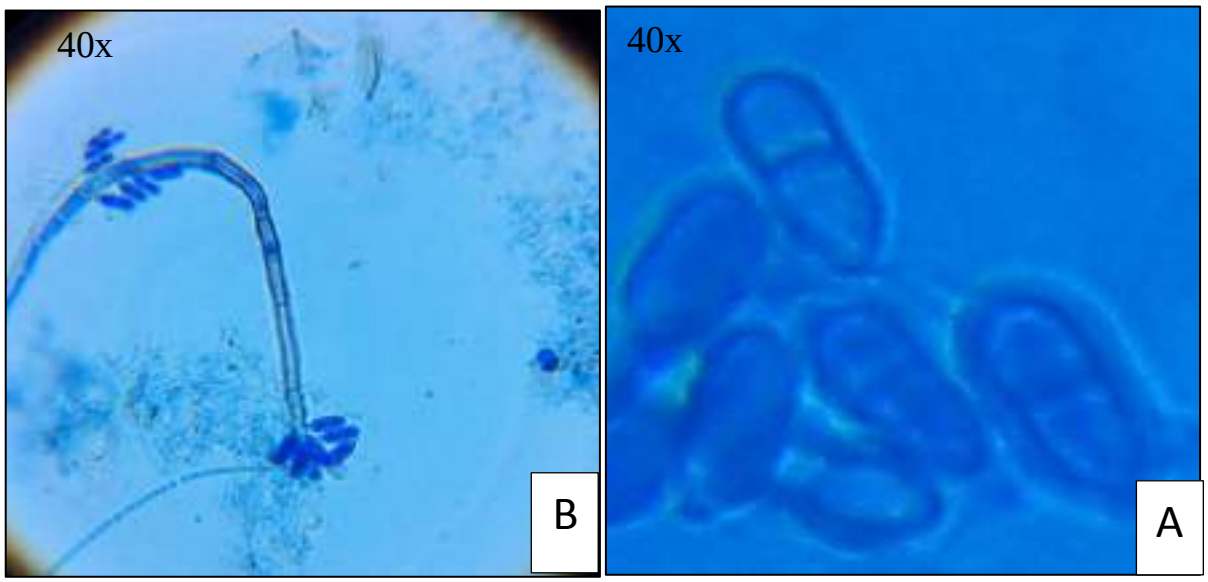
المستعمرات سطحية ، تشبه الشعر، ذات لون بني أو بني داكن ، والخيوط الفطرية متفرعة ، مقسمة بحواجز، والحامل البوغي Conidiophora ذو لون بني داكن ، غير متفرع يتميز باحتوائه على حواجز ذات ثنيات مع احتوائه على عقد بينية واضحة ، يحمل كونيدات قمية ومن الجانبين acropleurogenous ، يختلف في شكله عن الخيط الفطري macronematous أبعاده 2.5 - 5 x 100 - 120 مايكرون ، أما الكونيدة Conidium تكون ذات شكل اهليجي متطاول، الكونيده غير

الناضجة شفافة ولكن عند نضجها تصبح ذات لون بني مكونة من 1 - 2 حواجز ، الكونيدة ذات الحاجز الواحد تحتوي على تخصر ضئيل عند الحاجز ويكون التخصّر قريباً من القمة ، وفي بعض الأحيان تكون نهايتها كروية أو شبه كروية ، بينما لم يلاحظ وجود اي تخصر في الكونيدات الحاوية على حاجزين ، وتكون ذات شكل اسطواني متطاول ، أبعادها 2.5- 5 x 7.5- 12.5 مايكرون ، يسجل هذا النوع لأول مرة في العراق .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور بالمياه لقضاء الميمونة .

رقم العزلة : Ma1245 شكل 8

الوصف السابق للعزلة مطابق مع ما وصفه Luo *et al.* (2019) ، هذا النوع يشبه إلى حد كبير *Cordana mercadiana*، إلا أنَّ الاختلاف بينهم يعود إلى كون الحامل الكونيدي لفطر *C.lignicola* أصغر من *C.mercadiana* ، والكونيدة لفطر *C.mercadiana* بيضوية أو أسطوانية الشكل مكونة من خلية واحدة او خليتين ، فضلاً عن أنَّ التحليل الوراثي اظهر وجود اختلاف بينهما . (Luo *et al.*, 2019)



شكل 8 : فطر *Cordana lignicola* A : كونيدات ، B : كونيدات محمولة على حامل كونيدي

9 - *Cordana verruculosa* Hern.-Rest., Mena.,Gene´ and Guarro, Mycologia 106(4) 729. (2014).

المستعمرة الفطرية سطحية ، ذات لون بني إلى البني الفاتح ، والغزل الفطري ينمو سطحياً ومغمور جزئياً في نسيج الخشب ، الخيوط الفطرية مقسّمة بحواجز ، ذات لون بني فاتح ، سمكها 2.5 -5

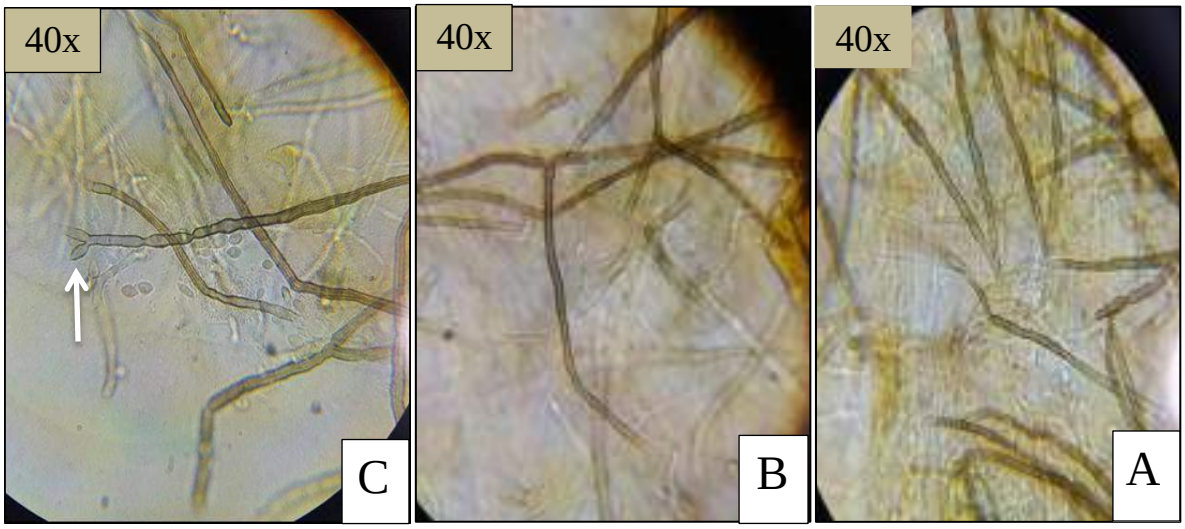
مايكرون ، والحامل الكونيدي نوع macronematous او mononematous ، بني فاتح ، غير متفرع ، يتميز باحتوائه على عقد بينية وخلية قاعدية كروية الشكل ، أبعاده 2.5 – 5 x 115 – 120 مايكرون ، الكونيدة اهليجية أو بيضوية الشكل ، وأحياناً مخروطية ذات لون بني شاحب ، تتميز بنموها على جانبي الحامل الكونيدي ، وحيدة الخلية ، ابعادها 2.5 - 5 x 2.5- 7.5 مايكرون .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور بالمياه لمدينة العمارة .

رقم العزلة : Am 40121 شكل 9

الوصف السابق مطابق مع ما وصفة Hernandez-Restrepo *et al.* (2014) ، إنَّ سبب تسمية هذا الفطر يعود إلى شكل الكونيدات المخروطية المزخرفة ، وتختلف عن غيرها من الانواع بصغر حجمها ، ولونها البني المتوهج الشاحب الذي تتميز به الكونيدات بالمقارنة مع غيرها من أنواع *Cordana* التي لا تمتلك كونيداتها حواجز أمثال *C.solitaria* و *C.semaniae* حيث أنَّ كونيدات النوعين السابقين تكون كبيرة الحجم ذات جدران ناعمة فضلاً عن اللون الأسود للكونيدة.

يتميز أفراد أجناس *Cordana* وخصوصاً *C. verruculosa* كون الحامل الكونيدي غير متفرع ويحمل كونيدات قمية وعلى الجانبين ، أما الخلية المولدة للكونيدة conidiogenous cell فتكون أما بينية أو طرفية (Hernandez-Restrepo *et al.*, 2014) . هذا الفطر يسجّل لأول مرة في العراق .



شكل 9 : فطر *Cordana verruculosa* A : الكونيدات والخيوط الفطرية، B : الحامل الكونيدي ، C : الخلية المولدة للكونيدة (السهم)

10 - *Pseudoacrodicty appendiculata* (Ellis, 1965), Baker and Morgan-Jones, Mycotaxon 85: 374,(2003).

المستعمرة الفطرية رقيقة ذات لون اسود ، وخيوطها الفطرية مقسمة تنمو بصورة سطحية ، ابعادها 2.5 - 5 مايكرون ، الحامل الكونيدي ذو لون أسود إلى اللون البني الداكن ، يختلف في شكله عن الخيط

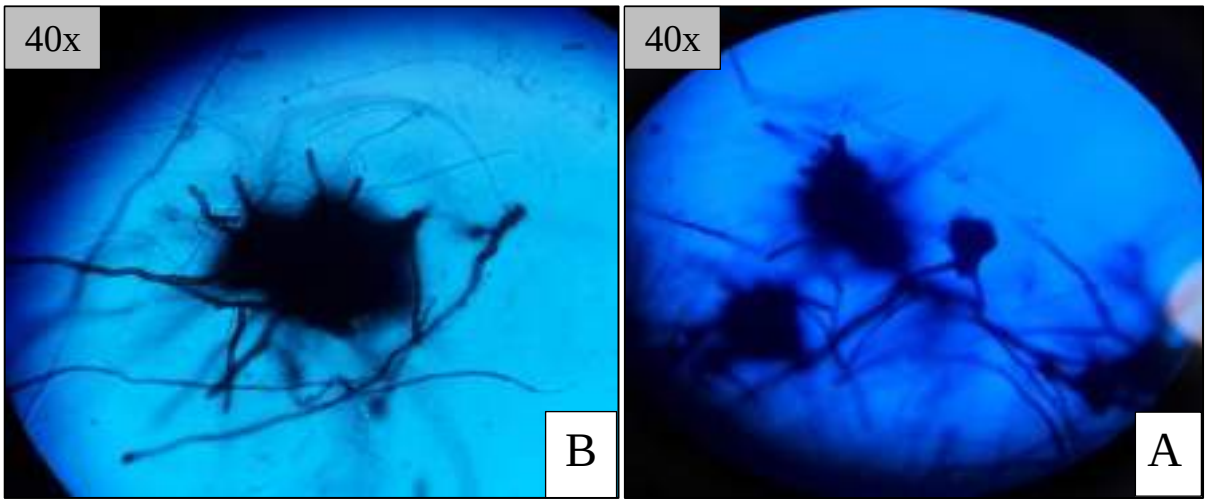
الفطري macronematous ، يكون أما مفرداً أو في مجاميع قليلة تصل ما بين 1-3 ، أبعاده 2.5 - 5 x 15- 35 مايكرون ، والكونيدة سوداء اللون ذات شكل كمثري مميز الى الشكل المخروط المقلوب Turbinate to pyriform حاوي سطحها على عدداً من الزوائد muriform سوداء اللون يتراوح أعدادها ما بين 1-4 ، أبعادها 25- 37.5 x 30 - 57.5 مايكرون .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور بالمياه في قضاء الميمونة .

رقم العزلة : Ma0510 شكل 10

الوصف السابق يتفق مع Ellis (1965) ، كان الفطر يسمى *Acrodictys appendiculata* ، وأُعيد تسميته من قبل Baker and Morgan- Jones (2003) بسبب حجم الكونيدة وشكلها غير المنتظم وانها تحتوي على العديد من الخلايا فضلاً عن لونها الداكن ، وقد تمَّ وصفها أيضاً من قبل Zhao *et al.* (2011) وسجّلت لأول مرة بالصين . وهذا النوع يسجل لأول مرة بالعراق .

هذا النوع يشبه الى حدٍ كبير نوع *Piricauda cochinensis* بشكل الكونيدة الكمثري المتعدد الفصوص واحتوائها على زوائد ، بينما يختلف بوجود أو عدم وجود حوامل كونيدية ، وكون الخلية المولدة للكونيدة كبيرة الحجم ، والكونيدة momotetric جدارها غير منتظم ولا تحتوي على خلية قاعدية ، كذلك يشبه *P. corniculata* و *P.eickeri* بامتلاك الكونيدة زوائد، إلا أنَّ الاختلاف يكمن في كون الكونيدات كروية الشكل ، زوائدها قصيرة ، تترتب بشكل متعاقب على الحامل الكونيدي (Baker and Morgan-Jones, 2003) .



شكل 10 : فطر *Pseudoacrodicty appendiculata* A : كونيده والحامل الكونيدي B : كونيدة

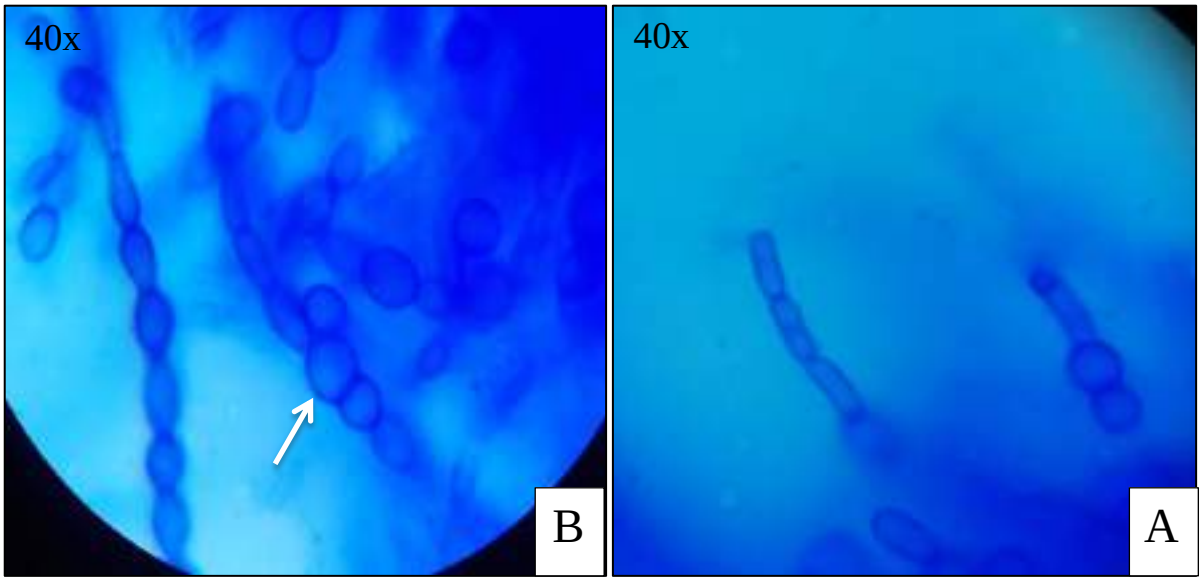
11 - *Scytalidium thermophilum* (Cooney and Emerson) Austwick, New Zealand Journal of Agricultural Research .19 : 29 (1976)

المستعمرة رقيقة بيضاء اللون ، الخيوط الفطرية شفافة ، متفرعة مقسمة بحواجز ، وتكون رفيعة سمكها حوالي 2 - 5 مايكرون ، يكون هذا الفطر كونيدات مفصلية Arthroconidia شفافة تتكون من انقسام الخيط الفطري ذات شكل شبه كروي أو اهليجي مائل للاستطالة ، يتراوح أبعادها ما بين 5 - 7.5 x 7.5 - 17.5 مايكرون ، يكون هذا الفطر أبواغاً كلاميدية شفافة ، كروية الشكل ابعاده بين 7.5 - 12.5 مايكرون .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور في مياه مدينة العمارة .

رقم العزلة : Am1334 شكل 11

أنَّ جميع الصفات التصنيفية السابقة تتفق مع ما ذكر من قبل Cooney and Emerson(1964) ، Austwick (1976) . يسجل هذا الفطر لأول مرة بالعراق .



شكل 11: فطر *Scytalidium thermophilum* , A : كونيدات B : الكونيدات والأبواغ الكلاميدية (السهم يشير إلى البوغ الكلاميدي)

12 - *Tricocladium achrasporum* (Meyers and Moore, 1960) Dixon ex shearer and Crane, Mycologia 63: 244 (1971)

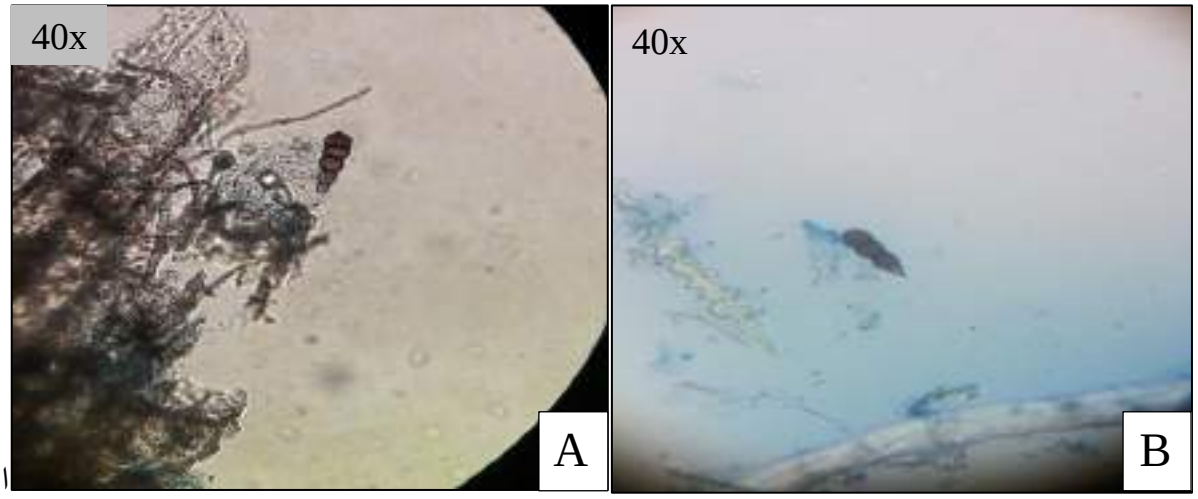
المستعمرة رقيقة سطحية ذات لون بني إلى الأسود الداكن ، الخيوط الفطرية سطحية بنية اللون ، الحوامل الكونيدية بسيطة أو قليلة التفرع ذات لون بني فاتح ، تتميز الكونيدة بكونها بنية اللون ، مقسمة بعدد من الحواجز تتراوح ما بين 2 - 5 حواجز ، الخلية القمية تكون ذات لون اغمق من بقية الخلايا ،

أبعادها 10 - 23 x 15 - 40 مايكرون ، يكون هذا النوع كونيدات قمية أو طرفية Acrogenous أو قمية وعلى الجانين Acropleurogenous .

العزلة الموصوفة من سيقان نبات غير معروف مغمور في مياه ناحية السلام .

رقم العزلة : Sa 2854 شكل 12

جميع هذه الصفات التي ذكرت متطابقة تماما مع ما ذكر من قبل Meyers and Moor (1960) ، وكان يطلق عليه سابقاً *Culcitalna achraspora* ، ونقلت فيما بعد إلى أجناس *Trichocladium* من قبل Shearer and Crane (1971) ، عزلت من البقايا النباتية المغمورة بالمياه من أهوار ذي قار من قبل مشهد (2010) .



الشكل 12: فطر *Tricocladium achrasporum* A : كونيدة مكونة من خمسة خلايا B : كونيدة مكونة من أربع خلايا لفطر

2-4 الدراسة المسحية للفطريات المعزولة من البقايا النباتية

تم خلال الدراسة عزل وتشخيص 48 نوعاً من الفطريات التي تنمو على البقايا النباتية الميتة وقطع الأخشاب المغمورة والطافية بالمياه (جدول 12) .أغلب الفطريات المعزولة تعود الى الفطريات الكيسية Ascomycotaوالتي يبلغ عددها 24 نوعاً بنسبة بلغت 50% ، ستة أنواع منها وجدت في الحالة الجنسية ، وشخص 19 نوعاً من فطريات الـ Hyphomycetes (Anamorph fungi) بنسبة 39.58% واربعة فطريات تعود الى الفطريات اللاقحية Zygomycota بنسبة 8.33% ، وعزل أيضاً فطراً واحداً يعود إلى الفطريات البيضية Oomycota بنسبة بلغت 2.08 % ، سجّلت ستة فطريات لأول مرة بالعراق وهي : *C.iberica* و *C.lignicola* و *C.verruculosa* و *P.appendiculata* و *S.thermophilum* و *A.margaration* ، كما بينت الدراسة أنَّ أعداد الفطريات التي عزلت بطريقة الغرفة الرطبة 34 نوعاً ، بينما أعداد الفطريات التي عزلت بطريقة الزرع المباشر 27 نوعا ، ولوحظ أنَّ

13 نوعاً من الفطريات عزل بالطريقتين ، 9 فطريات من الفطريات الكيسية ، 2 من فطريات Hyphomycetes وفطرين لاقحيين (جدول 13)

عَزلت خلال الدراسة 170 عزلة فطرية توزعت على مواقع الدراسة ، وبنسب تردد مختلفة ، فلوحظ أنَّ العينات المأخوذة من قضاء المجر الكبير أعطت أعلى عددٍ من العزلات بلغت 64 عزلة تليها عينات مدينة العمارة بلغت 43 عزلة ، والميمونة بلغت 39 عزلة وأقلها عينات ناحية السلام بلغت 24 عزلة . وبينت نتائج الدراسة أنَّ الغالبية العظمى من الفطريات المعزولة تعود الى الفطريات الكيسية بالحالة اللاجنسية (Anamorph state) ، أنَّ الأنواع *A.horti* و *A.terrrus* و *A.fumigatus* و *P.chrysogenum* عزلت من جميع مواقع الدراسة ، ولوحظ أنَّ *Z.latipes* عزل من جميع مواقع الدراسة ماعدا موقع ناحية السلام ، في حين ظهر فطر *F.solani* في ثلاثة مواقع ماعدا مدينة العمارة . كما عزلت الفطريات *A.niger* و *R.oryzea* و *A.corymbifera* و *F.oxysporum* و *C.lignicola* و *N.inornata* من قضاء الميمونة والمجر الكبير .

أنَّ نسب ظهور الأنواع الفطرية وترددها اختلفت فيما بينها (جدول12) ، فقد سجلت أعلى نسبة ظهور وتردد تعود إلى فطر *A.terrrus* بنسبة ظهور 42.55 % وتردد 11.76% ، تلاه فطر *A.horti* بنسبة ظهور 36.17 % و تردد 10% ، أما فطر *A.fumigatus* فبلغت نسبة ظهور 17.02 % وتردد 4.70 % ، وفطر *P.chrysogenum* فقد بلغ نسبة الظهور14.89% والتردد 4.11 % ، أما أقل نسبة ظهور وتردد سجلت لعدد من الأنواع منها *A.margiration* و فطر *A.oryzae* و فطر*C.iberica* بلغت 2.12 % ، 0.58 % لكل منهما (على التوالي).

ظهر الفطر *A.niger* بنسبة بلغت 19.14 % وتردد 5.29 % ، تلاه الفطران *F.solani* و *R.oryzea* بنسبة ظهور وتردد بلغت 17.02، 4.70 % على التوالي ، والفطريات *Z.latipes* و *K.maritime* و *P.communeon* بنسبة ظهور وتردد بلغت 11.36، 2.94 % (على التوالي) ، اما نسب ظهور وتردد الفطريات *A.flavus* و*B.nivea* و *N.inornata* و *S.lignicola* و *A.corymbifera* بلغت 8.51 ، 2.35 % على التوالي ، أما بقية الفطريات ، فقد لوحظ أنها كانت واطئة الظهور تراوحت ما بين 6.38 - 2.12 % وتردد 2.35 - 0.58 % .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أنَّ أغلب الفطريات المعزولة تعود الى الفطريات الكيسية بحالتها اللاجنسية Anamorph state ، وهذا متوافق مع أغلب الدراسات منها دراسة خلف (1999) ، فقد عزل42 نوعا من الفطريات المغمورة على البقايا النباتية في البصرة ، اغلبها يعود الى الفطريات الكيسية بالحالة اللاجنسية ، و دراسة الصالحي (2002) للفطريات في قناه خور الزبير حيث عزل 147 نوعاً من الفطريات كانت الفطريات الكيسية بالحالة اللاجنسية (الناقصة) هي الاكثر ظهورا ، فقد بلغ عدد انواعها

110 نوعاً مقارنة مع 29 نوعاً من الفطريات التي تعود للفطريات الكيسية و 8 أنواع يعود الى الفطريات اللاقحية . وكذلك تمكن المياح وآخرون (2006) من عزل وتشخيص 20 نوعاً من الفطريات التي عزلت من البقايا النباتية المغمورة بالمياه ، وكانت أعلى نسبة ظهور هي للفطريات الكيسية في الحالة اللاجنسية (الناقصة) بنسبة ظهور بلغت 65 % .

بينت الدراسة التي قام بها مشهد (2010) عزل وتشخيص 92 نوعاً من الفطريات التي تعود إلى 44 جنساً من العينات النباتية التي غمرت بالمياه ، حيث كانت غالبيتها تعود الى الفطريات الكيسية في الحالة اللاجنسية (الفطريات الناقصة) ، حيث تمَّ عزل67 نوعا من الفطريات الكيسية الحالة اللاجنسية و 22 نوعا يعود إلى الفطريات الكيسية (الحالة الجنسية) وثلاثة أنواع تعود الى الفطريات اللاقحية . وهذا يتطابق مع نتائجنا .

يعود السبب في ظهور الفطريات بالحالة اللاجنسية بصورة أكبر من بقية الفطريات ؛ لأنّها تتميز بسرعة نموها مقارنة مع الحالة الجنسية التي تحتاج الى أوساط خاصة وفترة زمنية أطول لنموها (Gessner,1980) ، وكذلك تتميز في انتاجها أبواغاً بأعداد كبيرة وقدرتها على أن تتكيف وتنمو في بيئات مختلفة ، فضلاً عن قدرة بعض فطريات التربة على العيش والنمو في البيئات المائية (Domsch *et al.*, 1980) . وبينت الدراسات في الوطن العربي أنَّ نسبة ظهور الفطريات الكيسية بالحالة اللاجنسية كانت بنسب عالية ، فقد عزل عدد من الفطريات في مصر تنتمي إلى الفطريات الناقصة من قبل Abdel-Aziz (2016) . ودراسة Ghenghish *et al.* (2019) الذي قام بعزل وتشخيص 5 أنواع من الفطريات الكيسية 11 نوعاً من الفطريات Hyphomycetes في ليبيا ، ومن أهم ما تتميز به الفطريات الكيسية أيضا وجودها بصورة واسعة وكبيرة على البقايا النباتية المغمورة بالمياه مثل الأخشاب (Shearer *et al.*, 2001) .

ومما تجدر الإشارة أليه أنَّ غالبية الأجناس التي عزلت أثناء دراستنا وظهرت بتردد عال كانت تعود إلى أجناس *Aspergillus* و *Pencillium* و *Fusarium* و *Rhizopus* . وكذلك تمَّ عزل أجناس *Alternaria* و *Cladosporium* و *Curvularia*, ، حيث أظهرت هذه الأجناس قدرتها على أفراز العديد من الانزيمات المحللة للمواد العضوية كالنشأ والسليلوز والبروتينات ، وخصوصاً جنس *Aspergillus* (Sohail *et al.*, 2009) .

أظهرت الدراسة الحالية أنَّ أكثر الأنواع المعزولة تعود الى جنس *Aspergillus* حيث تمَّ عزل 8 انواع منها خلال الدراسة ، ظهرت الأنواع *A.horti* و *A.terrrus* و *A.fumigatus* في مواقع الدراسة جميعها، ويعود السبب في تنوعه وظهوره إلى انتشاره العالمي ، وتمكَّن الكثير من أنواعه من التكيف والنمو في بيئات مختلفة ، كذلك ان الكثير من أنواعه تميزت بقدرتها على افراز مجموعة من الانزيمات

المحللة التي تكون قادرة على تحلل المواد العضوية والكتلة الحيوية النباتية (Adeniran and Abiose, 2009 ; Sohail *et al.*, 2009) .

عزل أيضا أثناء الدراسة الحالية عدد من الأنواع الفطرية المطابقة مع دراسات أخرى ، منها الدراسة التي قام بها Al-Saadoon and Al- Dossary (2010 , 2014) ، حيث تمكن من عزل عددٍ من الأنواع الفطرية المشابهة للأنواع الفطرية المعزولة في الدراسة الحالية ، فعزل فطر *A.alternate* و *A.pullulans* و *C.macrocephala* و *Z.latipes* و *M.varius* و *S.lignicola* و *C.globosum* وعزل ايضاً عدداً من الفطريات الكيسية بحالتها الجنسية من قطع نباتية مغمورة بالمياه في محافظة البصرة. وقد يعود التشابه في نتائج الدراسة الحالية مع دراسات سابقة وظهور الأنواع الفطرية نفسها تقريباً في مواقع مختلفة الى تشابه البقايا النباتية المتواجدة في جنوب العراق التي تعيش على ضفاف الأنهار والأهوار، حيث أنَّ أكثرها يعود إلى نباتي القصب والبردي وهذا متوافق مع ما أشار إليه Abdulla *et al.* (2000) .

عزل فطر *C.globosum* من بيئات مختلفة ، فقد عزل من التربة ومن المياه ، ووجد مرتبطاً بتحلل البقايا النباتية الميتة ، فعزل من البقايا النباتات الميتة لنبات *Carex oligosperma* المغمور في المياه العذبة في الولايات المتحدة الامريكية USA من قبل Fallah and Shearer (2001) . ومن بين الفطريات التي عزلت اثناء دراستنا فطر*T.acrosporium* الذي عزل سابقاً من قبل مشهد (2010) ، ومن مميزات هذا النوع قدرته على تحمل مستويات عالية من الملوحة (Shearer, 1972) وهذا متفق مع دراستنا حيث عزل هذا الفطر من موقع ناحية السلام التي أظهرت أعلى نسب للملوحة أثناء الدراسة ، أما Al-Saadoon and Al-Dossary (2014) فقد عزلا نوع *Trichocladium alopallonellum* .

اشارت الدراسة الحالية إلى ظهور أنواع من جنس *Fusarium* وهي : *F.solonia* و *F.oxysporium* و *F.aquiseta* وهذه النتائج جاءت متوافقة مع اغلب الدراسات في عزل الفطرين الأوليين ، أما الفطر الثالث أنه لم يعزل سابقاً من البقايا النباتية المغمورة بالمياه .

عُزلت أثناء الدراسة أربع فطريات لاقحيه وهي *R.oryzea* و *M.pseudolamprospor*um و *A.corymbifera* و *M.circinelloides* ، اتفقت مع Muhsin and Abdulkadir (1995) الذي عزل أنواع من أجناس *Rhizopus* و *Mucor* من نبات القصب المغمور بالمياه ، ومطابقة أيضاً مع دراسة مشهد (2010) إلاَّ انه عزل فطر *A.corymbifera* من عينات التربة .

شخصت الدراسة الحالية عدداً من الفطريات تسجل لأول مرة في العراق ، منها فطر *C.lignicola* وفطر *C.verruculosa* اللذان ينتميان إلى عائلة Sordariomycetes التي تُعد واحدة من أكبر أصناف الفطريات الكيسية التي لها أهمية في النظام البيئي ، فهي تضم مجموعة واسعة من الفطريات التي تعيش

بصورة مترممة على بقايا الأخشاب المغمورة في المياه العذبة ، التي تتميز بكون الجسم الثمري فيها أحادي الجدار، وقد عرفها Shearer على أنها : جميع الفطريات التي تعيش في المياه العذبة ، التي تتواجد على ركائز مغمورة جزئياً او كلياً في المياه ، أما Tomasعرّفها بأنَّها الفطريات التي تعتمد كلياً أو جزئياً على المياه العذبة في دورة حياتها (Luo *et al.*, 2019) .

أما فطر *S.prolificans* فقد أعيد تسميته إلى *Lomentospora prolificans* استناداً إلى البيانات الوراثية من قبل Lackner *et al.* (2014) ، ومن أهم ما تتصف به أنواع جنس *Scedosporium* أنَّها فطريات خيطية مترممة منتشرة على نطاق واسع في البيئة ، ولكنها معروفة بقدرتها على اصابة الإنسان بالأمراض (Mouhajir *et al.*, 2020 ; Morio *et al.*, 2010) ، كما تتصف بكونها مقاومة لدرجات الحرارة ولديه القدرة على البقاء في مستويات منخفضة من الأوكسجين ، وتحمل نسبة ملوحة عالية (Rougeron *et al.*, 2018 ; De Hoog *et al.*, 1994)، وتمَّ عزلها من مجموعة من البيئات ، فقد عزل من التربة وروث الحيوانات وعزل أيضاً من المياه الملوثة و الرسوبيات، إلاَّ أنَّ الترب الزراعية هي الموطن الرئيسي لهذا للفطر (Kaltseis *et al.*, 2009 ; Guarro *et al.*, 2006) ، وأشارت دراسة Ramirez-Garcia *et al.* (2018) إلى أنَّ البيئة المناسبة التي ينمو عليها الفطر هي التربة والبقايا او المواد المتحللة Decaying matter ، وأشار Rougeron *et al.* (2018) الى عزل أنواع جنس *Scedosporium* من المياه والترب الملوثة . وفي دراسة أجريت في المغرب ، فقد تمَّ عزل فطر *Lomentospora prolifican* من نباتات المشاتل (Mouhajir *et al.*, 2020) .

أظهرت الدراسة التي قام بها Prenafeta-Boldú *et al.* (2019) ألى أنَّ السلالات الفطرية التي لها علاقة بتحلل الهيدروكربونات ، قد تم تحديدها وأنها تطورت نتيجة للتفاعلات البيئية الطبيعية ، وأنَّ بعض الفطريات التي ليس لها علاقة بتحلل الهيدروكربونات مثل فطر *Scedosporium* و *Exophiala* و *Cladophialophora* تطورت أيضاً وأصبح لها علاقة بتحلل المواد الهيدروكربونية .

وأثناء دراستنا الحالية تم عزل نوع واحد من الفطريات البيضية التي تنتمي إلى رتبة *Saprolegniales* ، وجاءت هذه الدراسة متوافقة مع ما ذكره Muhsin (2012) حول الفطريات المائية التي عزلت في العراق ، حيث تم عزل ما يقارب 29 نوعاً من الفطريات المائية التي تعود إلى الرتبة *Saprolegniales* وعزلت جميعها من مياه شط العرب في محافظة البصرة ، كما لوحظ خلال هذا الاستعراض انخفاضٌ في تردد هذه الفطريات وظهورها مقارنة مع الدراسات السابقة ، ويرجع السبب في ذلك إلى ازدياد نسبة ملوحة المياه ، وكذلك أكد عزل ما يقارب 20 نوعاً من الفطريات البحرية من الأخشاب والبقايا النباتية التي غمرت بالمياه جنوب العراق ، فقد تمَّ عزل خمسة أنواع من جنس

Saprolegnia من مياه شط العرب من قبل Ismail *et al.* (1979) ، وكذلك تم عزل خمسة انواع اخرى من *Saprolegnia* من قبل Muhsin and Elhabeeb (1999) وسجّلوا لأول مرة في العراق .

من أهم العوامل التي تؤثر على توزيع الفطريات في البيئات المائية هي الملوحة (Shearer, 1972) ، وأشار Fryar *et al.* (2004) إلى أنَّ بعض أنواع الفطريات البحرية تكيفت للعيش في بيئات قليلة الملوحة ، وأنَّ بعض الفطريات التي تعيش في المياه العذبة تمَّ عزلها أيضاً من المياه المويلحة ، وهذا يدل على أنَّ الأنواع التي تتواجد في البيئات المائية قليلة الملوحة (المويلحة) هي مزيج بين فطريات المياه العذبة والفطريات البحرية ، وهذا يفسّر لنا ظهور بعض أنواع الفطريات البحرية في دراستنا كون هذه الفطريات تكيفت للعيش في البيئات العذبة والمويلحة .

أنَّ الظروف البيئية المقاسة لمواقع الدراسة من حيث درجات الحرارة والأُس الهيدروجيني والملوحة ، لم يؤثِّر على التنوع الفطري الحاصل على البقايا النباتية المغمورة ، وقد يعود السبب الى تشابه الأنواع النباتية التي جمعت في محطات الدراسة ، إذ تُعد المادة الأساس Substrate عاملاً يحدّد نمو الأنواع الفطرية التي تعيش عليها لاسيما هناك تشابها في العوامل البيئية ، وهذا يتفق مع ما تمت الإشارة إليه من قبل Shearer (1972) أثناء دراسته للفطريات المتواجدة على البقايا النباتية في مواقع مختلفة من الولايات المتحدة الامريكية .

عزل اثناء الدراسة الحالية احد انواع الخمائر وهي *C.tropicalis* وتُعد من اهم انواع الخمائر المحللة للبقايا النباتية والمواد العضوية والتي لها القدرة على تحلل البقايا النباتية من خلال افرازها لأنزيمات محللة للسليلوز والهيموسليلوز وتحرير السكريات ، وهذا ما أشارت اليه دراسة Cadete *et al.* (2017) التي اكدت ارتباطها بتحلل الاخشاب المتعفنة .

جدول 12 : الأنواع الفطرية المعزولة من البقايا النباتية في المحطات الاربع .

الانواع الفطرية **Ascomycetes & Anamorph fungi**	الميمونة	السلام	المجر	العمارة	المجموع	نسبة التردد %	نسبة الظهور %
Aniptodera margiration Shearer	1	-	-	-	1	0.58	2.12
Arthrobotrys dianchiensis (Hao and Zhang) Yu	-	-	-	1	1	0.58	2.12
Aspergillus flavus Link	1	2	1	-	4	2.35	8.51
A. fumigatus Fresen	1	3	1	3	8	4.70	17.02
A. horti (Langeron) Dodge	3	6	6	2	17	10	36.17
A. niger Van Tiegham	2	-	7	-	9	5.29	19.14
A. oryzae (Ahlburg) Cohn	1	-	-	-	1	0.58	2.12
Aspergillus sp.	-	-	-	1	1	0.58	2.12
A. terrus Thom	10	3	2	5	20	11.76	42.55
A.tubingensis Mosseray	-	1	-	-	1	0.58	2.12
Byssochlamys nivea Westling	-	2	-	2	4	2.35	8.51
Candida tropicalis (Castellani) Berkhout	-	-	-	1	1	0.58	2.12
Chaetomium globosum Kunze	-	-	-	1	1	0.58	2.12

Exophiala jeanselmei (Langeron) McGinnis and Padhye	-	-	-	1	1	0.58	2.12
Geotrichum candidum Link	-	-	1	2	3	1.76	6.38
Kirschsteiniothelia maritime (Linder) Hawksworth	2	-	-	3	5	2.94	10.63
Leptosphaeria agnita (Desm.) Ces. and De Not.	-	-	-	1	1	0.58	2.12
Nais inornata Kohlmeyer	2	-	2	-	4	2.35	8.51
Pencillium chrysogenum Thom	3	1	1	2	7	4.11	14.89
P.commune Charles Thom	2	2	-	1	5	2.94	10.63
Savoryella lignicola Jones and Eaton	-	-	2	2	4	2.35	8.51
Scedosporium prolificans (Hennebert and Desai) Guého and de Hoog	1	-	-	-	1	0.58	2.12
Trichoderma harzianum Rife	-	-	1	1	2	1.17	4.25
Zopfiella latipes (Lundquist) Malloch and Cain	1	-	2	2	5	2.94	10.63
Total	30	20	26	31	107		
Hyphomycetes							
Alternaria alternate Keissler	-	-	1	1	2	1.17	4.25

A.chlamedosporia Mouchacca	-	-	1	1	2	1.17	4.25
Aurobasidium pullulans (de Bary) Arnaud	1	-	-	-	1	0.58	2.12
Cirrenalia iberica Hern.-Restr. and Gene	-	-	1	-	1	0.58	2.12
C. macrocephala (Kohlm.) Meyers and Moore	-	-	3	-	3	1.76	6.38
Cladosporium cladosporioides (Fresen.) de Vries	-	-	1	-	1	0.58	2.12
C. cucumerium Ellis and Arthur	-	-	1	1	2	1.17	4.25
Cordana lignicola Luo , Hyde and Su	1	-	2	-	3	1.76	6.38
C. verruculosa Hern.-Rest. ,Mena., Gene and Guarro	-	-	-	1	1	0.58	2.12
Cuvularia lunata (Wakker) Boedijn	-	1	1	-	2	1.17	4.25
Fusarium aquiseti (Corde) Saccardo	-	-	-	1	1	0.58	2.12
F. oxysporum Schlecht	2	-	5	-	7	4.11	14.89
F. solani (Mart.) Sacc.	1	1	6	-	8	4.70	17.02
Graphium sp.	-	1	-	1	2	1.17	4.25
Moromyces vrains (Chatmala and somrith.)Abdel-wahab , Pang , Nagahama ,Abdel-Aziz and Jones	-	-	2	1	3	1.76	6.38

Pseudoacrodictys appendiculate (Ellis) Baker and Morgan	-	-	1	-	1	0.58	2.12
Ramichloridium schulzeri (Sacc.) Hoog	-	-	-	2	2	1.17	4.25
Scytalidium thermophilum(Conney and Emerson) Austwick	-	-	2	1	3	1.76	6.38
Tricocladium acrosporium (Meyers and Moore) Dixon	-	1	1	-	2	1.17	4.25
Total	5	4	28	10	47		
Zygomycetes							
Absidia corymbifera (Cohn.) Sacc. and Trotter	1	-	3	-	4	2.35	8.51
Mucor circinelloides Van Tieghem	-	-	-	1	1	0.58	2.12
M. pseudolamprosporum Nagan. and Hirahara	2	-	-	-	2	1.17	4.25
Rhizopus oryza Went and Prinsen Geerligs	1	-	7	-	8	4.70	17.02
Total	4	0	10	1	15		
Oomycetes							
Saprolegina sp.	-	-	-	1	1	0.58	2.12
المجموع	39	24	64	43	170	100	

(-) يشير الى عدم ظهور الفطر في محطة الجمع

جدول 13 : الأنواع الفطرية المعزولة من البقايا النباتية المغمورة بالمياه باختلاف طرائق عزلها

الانواع الفطرية	طرائق عزل الفطريات	
	طريقة الغرفة الرطبة	طريقة الوسط الزرعي
Ascomycetes& Anamorph fungi		
Aniptodera margiration	+	-
Arthrobotrys dianchiensis	+	-
Aspergillus flavus	+	+
A.fumigatus	+	+
A.horti	+	+
A.niger	+	+
A.oryzae	-	+
Aspergillus sp.	+	-
A.terrus	+	+
A.tubingensis	+	-
Byssochlamys nivea	+	+
Candida tropicalis	+	-
Chaetomium globosum	+	-
Exophiala jeanselmei	+	-
Geotrichum candidum	+	+
Kirschsteiniothelia maritima	+	-
Leptosphaeria agnita	+	-
Nais inornata	+	-
Pencillium chrysogenum	+	+
P. commune	+	+
Savoryella lignicola	+	-
Scedosporium prolificans	+	-

Trichoderma harzianum	-	+
Zopfiella latipes	+	-
Hyphomycetes		
Alternaria alternate	+	-
A.chlamedosporia	+	-
Aurobasidium pullulans	-	+
Cirrenalia iberica	-	+
C.macrocephala	-	+
Cladosporium cladosporides	-	+
C.cucumerium	-	+
Cordana lignicola	+	-
C.verruculosa	-	+
Cuvularia lunata	-	+
Fusarium aquiseti	-	+
F.oxysporium	+	+
F.solani	+	+
Graphium sp.	-	+
Moromyces varins	+	-
Pseudoacrodictys appendiculate	-	+
Ramichloridium schulzeri	+	-
Scytalidium thermophilum	-	+
Tricocladium acrosporium	+	-
Zygomycetes		
Absidia corymbifera	-	+
Mucor cirrinelloides	+	-
M.pseudolamprosporum	+	+
Rhizopus oryza	+	+

Oomycetes		
Saprolegina sp.	+	-
المجموع	34	27

(+) يشير إلى ظهور الفطر (-) عدم ظهور الفطر

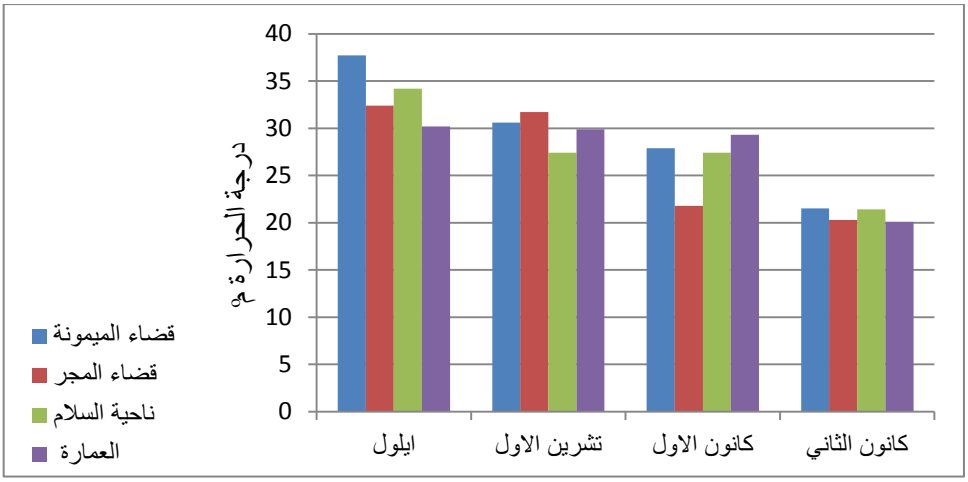
3-4 العوامل البيئية في البيئة المائية لمواقع الدراسة

أوضحت نتائج الدراسة الحالية أنَّ العوامل البيئية التي تم قياسها للمياه في مواقع جمع العينات قد اختلفت من موقع إلى آخر ، وكانت أغلبها ضمن الحدود الطبيعية التي تنمو فيها الفطريات . وكالآتي :

1 - درجة الحرارة Temperature

أظهرت نتائج الدراسة أنَّ درجة حرارة المياه في مواقع الجمع (شكل 13) كانت مختلفة باختلاف الموقع فقد تراوحت ما بين 20.1 - 37.7 م° ، حيث سُجلّت أعلى درجة حرارة في شهر أيلول في قضاء الميمونة ، وبلغت 37.7 م° ، بينما أدنى درجة حرارة سجلت في كانون الثاني في مدينة العمارة ، وبلغت 20.1 م° ، وتوافقت مع الصالحي (2016) الذي وجد أنَّ درجة حرارة المياه في أهوار محافظة ذي قار تتراوح ما بين 13 - 36 م° ، وأشار علي (2020) إلى أنَّ درجة حرارة المياه في نهر دجلة في محافظة ميسان تراوحت بين 11.8- 32.6 م° .

تتميز الفطريات بقدرتها على العيش ضمن المدى الحراري الذي يتراوح ما بين 10- 40 م° توصف بأنَّها محبة لدرجات الحرارة المتوسطة Mseophiles fungi وفق Maheshwari (2005) ، وبهذا فإنَّ اعتدال درجات حرارة المياه ساعد في نمو أنواع مختلفة من الفطريات وظهورها وخصوصا تلك التي توصف بأنَّها محبة للحرارة المتوسطة (المعتدلة) .

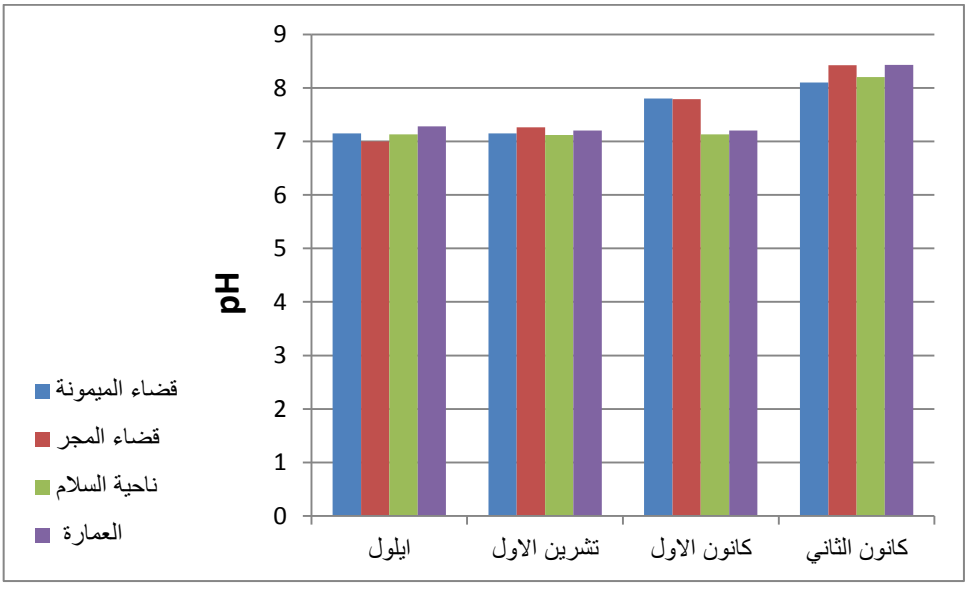


شكل 13 : قيم درجات الحرارة خلال أشهر الدراسة

2- الأُوس الهيدروجيني pH

أظهرت نتائج قياسات قيم الأُس الهيدروجيني pH (شكل 14) للمياه في مواقع جمع العينات أنها تراوحت ما بين 7 - 8.43 أي أنَّها تميل إلى أنَّ تصبح متعادلة الى قاعدة ضعيفة ، فقد سُجلت أعلى قيمة للأُس الهيدروجيني في شهر كانون الثاني في مدينة العمارة بلغت 8.43 ، وأدنى قيمة سجلت في قضاء المجر الكبير بلغت 7 في شهر أيلول ، وهذه النتيجة تطابقت مع دراسة علي (2020) الذي وجد أنَّ الأُس الهيدروجيني لمياه نهر دجلة في محافظة ميسان كانت ضمن المدى القاعدي فقد سجل اعلى قيمة بلغت 8.32 بينما ادنى قيمة 7.75 ، كما أنَّ عباس وجماعته (2013) وجد أنَّ قيم الأُس الهيدروجيني لنهر المجر كانت ضمن المدى القاعدي طيلة فترة دراسته ، ودراسة الصالحي (2016) الذي أكد أنَّ مياه اهوار محافظة ذي قار تميل إلى التعادل أو القاعدة الضعيفة ، وبين الصباح (2007) إلى أنَّ سبب قاعدية المياه يعود إلى زيادة معدلات التبخر الذي يؤدي إلى زيادة الاملاح وخصوصاً أملاح الكالسيوم . كما أنَّ تحلل المواد العضوية يعمل على تحرّر CO_2 الذي يرتبط بالماء ليكون حامض الكاربونيك الذي يتحول فيما بعد الى كاربونات ثم بيكاربونات جازع (2009).

أنَّ قيم الأُس الهيدروجيني تزداد خلال فصل الشتاء وقد يرجع لسبب استهلاك CO_2 من قبل النباتات المائية لإتمام عملية البناء الضوئي ، وهذا متفق مع جازع (2009).



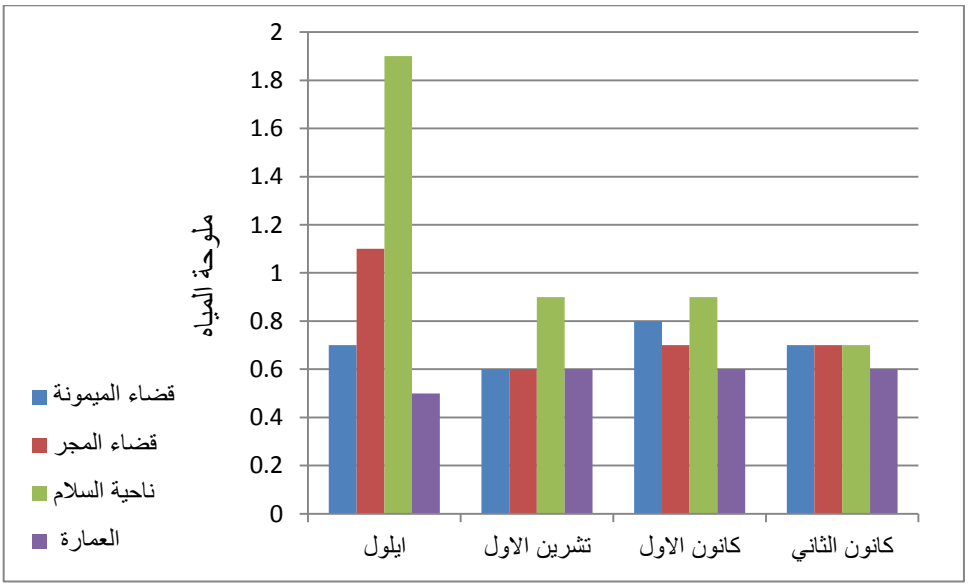
شكل 14: قيم الأُس الهيدروجيني خلال فترة الدراسة للمحطات الأربع

3- الملوحة Salinity

أوضحت نتائج الدراسة الخاصة بقياس نسبة ملوحة المياه (شكل 15) في مواقع الدراسة المعنية أنَّ المياه قليلة الملوحة (مويلحة) ،إذ تراوحت نسبة الملوحة ما بين 0.5-1.9 ملغم/لتر، سجلت أعلى نسبة ملوحة في شهر أيلول في ناحية السلام بلغت 1.9 ملغم/لتر، بينما أدنى قيمة سجلت في مدينة العمارة بلغت

0.5 ملغم/لتر في شهر أيلول ، اعتماداً على تصنيف Reid (1961) الذي وصف بأنَّ المياه قليلة الملوحة عندما تتراوح بين 0.5 - 5.0 ملغم/لتر ، وأشار علي (2020) إلى أنَّ ملوحة نهر دجلة في محافظة ميسان بين 1.747 -0.844 ملغم/لتر، وجاءت أيضاً دراستنا متوافقة مع الصالحي (2016) الذي بين أنَّ ملوحة أهوار محافظة ذي قار تتراوح بين 0.96 - 2.36 ملغم/لتر .

تعتبر ملوحة المياه عاملاً مهما يؤثر على توزيع الفطريات وانتشارها ، فقد أكدت دراسة قام بها Shearer (1972) أنَّ الفطريات تقل أعدادها بصورة عامة عند ازدياد نسبة الملوحة بينما من جانب آخر يزداد ظهور الفطريات الكيسية في حالتها الجنسية عن ارتفاع نسبه الملوحة ، وقد يرجع انخفاض نسبه ملوحة المياه كما أشار جازع (2009) الى ارتفاع مناسيب المياه حيث أنَّ التخفيف يلعب دوراً مهماً في قلة الأملاح الذائبة .



شكل 15: نسبه الملوحة لعينات المياه في المحطات الأربع خلال الدراسة

4- 4 الفعالية الإنزيمية للفطريات Fungi Enzymatic Activity

تم اختبار قابلية أحد عشر نوعاً من الفطريات المحللة للأخشاب التي عزلت من البقايا النباتية المغمورة بالمياه أثناء الدراسة لقياس فعاليتها الإنزيمية خارج خلوية (Exocellular Enzymes) على الأوساط الصلبة (جدول 14) . فقد اظهرت الدراسة أنَّ جميع الفطريات المدروسة أعطت كشفاً موجباً لإنزيم السليليز Cellulase enzyme وإنزيم الإمليز Amylase enzyme بينما كان هناك تفاوتٌ في مقدرتها على انتاج إنزيم الفينول اوكسديز Phenol oxidase enzyme وانزيمات البكتنيز Pectinase enzyme . وبينت النتائج أنَّ هناك ثلاثة أنواع من الفطريات أظهرت قابليتها على أفراز جميع الإنزيمات المدروسة وهم : *A.niger* و *A.horti* و *R.oryzea* ، في حين أظهر

الفطرين *M.pseudolamprosporum* و *F.oxysporum* فعالية إنزيمية تجاه جميع الانزيمات المدروسة ماعدا إنزيم الفينول اوكسديز ، ولم يعط فطر *S.prolificans* كشفاً موجباً لإنزيم Pectate lyase ، ولم يعط الفطر *A.fumigatus* كشفاً موجباً لأيٍّ من الإنزيمات المحللة للبكتين ، وأظهرت الفطريات *P.chrysogenum* و*C.cucumerium* و *A.dianchiensis* فعالية فقط لإنزيم السليليز وإنزيم الإمليز .

وعند قياس مقدار الفعالية الانزيمية على الأوساط الصلبة الخاصة بالكشف عن تلك الانزيمات ، فبالنسبة لإنزيم السليليز وجد أنَّ هنالك فرقاً معنوياً بين جميع الفطريات المختبرة ، حيث أظهر الفطر *A.fumigatus* أعلى نشاطاً انزيمياً بلغ 80 ملم ، تلاه الفطران *A.horti* و *A.niger* بفعالية أنزيمية بلغت 79.16 ، 75.66 ملم لكل منهما (على التوالي) ، في حين اظهر الفطر *R.oryzea* أقل نشاطاً انزيمياً بلغ 24.83 ملم (شكل 16).

ولوحظ أيضاً وجود فرقٍ معنويٍ بين جميع الفطريات المختبرة في قابليتها على انتاج إنزيم الإمليز، فقد أعطى فطر *A.horti* أعلى نشاطٍ انزيميٍ بلغ 80 ملم ، تلاه الفطران *A.niger* و *A.fumigatus* بنشاط بلغ 73.33، 72.33 ملم (على التوالي) ، بينما أعطى الفطر *B.nivea* أقلَّ معدلٍ للنشاط الإنزيمي بلغ 19.33 ملم (شكل 17).

أمّا إنزيم الفينول أوكسديز، فقد بينت الدراسة أنَّ خمسة فطريات فقط أظهرت قابليتها لإنتاج الإنزيم ولوحظ وجود فرقٍ معنوي بين هذه الفطريات المختبرة وكانت أعلى فعالية إنزيمية من قبل فطر*S.Prolificans* بنشاط بلغ 23 ملم يليه فطر *A. horti* بنشاط بلغ 17.16ملم بفارق معنوي ، أما اقل معدل للنشاط الانزيمي لفطر *R.oryzea* بنشاط بلغ 11.3ملم ، كما لوحظ عدم وجود فرقٍ معنويٍ بين الفطريات *A.fumigatus* و *A.niger* (شكل 18) .

أمّا بالنسبة لإنزيم Pectate lyase فقد أظهرت خمسة فطريات قابليتها لإنتاج الإنزيم ، ولوحظ وجود فرقٍ معنويٍ بين الفطريات جميع الفطريات المختبرة ، وكانت أعلى قيمة لإنتاج الإنزيم لفطر *M.Pseudolamprosporum* بلغت 69.16 ملم ، بينما أقل قيمة كانت لفطر *A.horti* بلغت 17 ملم بفارق معنوي بينهما (شكل 19)، وبيّنت نتائج الدراسة أنَّ ستة فطريات أعطت كشفاً موجباً لإنزيم Polygalacturonase ، فقد اعطى الفطر *A.niger* أعلى نشاطٍ انزيمي بلغ 80 ملم ، بينما أقل نشاطٍ أنزيميٍ سجله الفطر *S.prolificans* بلغ 18.3 بفارق معنوي بينهما ، وبيّنت الدراسة عدم وجود فرقٍ معنوي بين الفطريات *A.horti* و *S.prolificans* (شكل 20).

جدول 14 : الفعالية الانزيمية للفطريات المختبرة المعزولة من البقايا النباتات المغمورة بالمياه

Fungi species	الفعالية الانزيمية (ملم)				
	Cellulase	Amylase	Phenol oxidase	Pectate lyase	Polygalacturonase
A. dianchiensis	72*	70	-	-	-
A.fumigatus	80	72.33	16.33	-	-
A.horti	79.16	80	17.16	17	18.5
A.niger	75.66	73.83	16.33	65	80
B. nivea	59.16	19.33	-	-	-
C.cucumerium	71.66	41	-	-	-
F.oxysporum	54.83	59	-	48.16	40
M.pseudolamprosporum	66.16	57.66	-	69.16	40.83
P.chrysogenum	60.16	41.66	-	-	-
R.oryzae	24.83	38.66	11.33	27.16	35
S.prolificans	32.66	26.33	23	_	18.33
قيم LSD	LSD= 0.3	LSD= 0.6	LSD= 0.8	LSD = 1.4	LSD = 1.5

*كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات ، مستوى الاحتمال 0.05

أظهرت نتائج دراستنا الحالية للفطريات المختبرة أنَّها تختلف في مقدرتها على أفراز الإنزيمات ، فإفرازها لإنزيم السليليزو الاملیز يتراوح بين الإنتاج العالي والواطئ ، وجاءت دراستنا مطابقة مع مشهد (2010) الذي أكد أنَّ جميع الفطريات التي درسها اعطت نتيجة إيجابية لإفراز إنزيم السليليز و الإملیز، فقد أكد قدرة الفطريات *A.niger* و *A.fumigutas* و *F.oxysporum* على أفراز الأنزيمات السليليز والإملیز، ومطابقة دراستنا مع Abdel-Raheem and Shearer (2002) و Sohail *et al.*, (2009) ، وأشار Wang *et al.* (2016) إلى قدرة فطر *A.niger* على إنتاج إنزيم الإملیز ، كما درس Balkan and Ertan (2005) قدرة فطر *P.chrysogenum* على إنتاج إنزيم الإملیز.

أنَّ الفطريات التي لها القدرة على تحلل الأخشاب ناتجة من قدرتها على افراز الانزيمات التي تحللها وأهمها إنزيم السليليز(Gessner, 1980) ، تُعد الفطريات الخيطية من الفطريات الهامّة في استعمار الركائز الصلبة كالأخشاب لان شكلها يسمح لها باستعمال الركيزة واختراقها ومن ثمّ تعمل على تحللها (Rahardjo *et al.*, 2005) ، وأنَّ فطريات جنس *Aspergillus* وخصوصا *A.niger* من أكثر

الفطريات انتاجاً لإنزيم الاملیز، كونه فطراً له القدرة على تحمل درجة الحموضة العالية ، وله القدرة على تجنب الملوثات البكتيرية (Souza, 2010) .

يتكون جدار الخلية النباتية من ثلاثة مكونات أساسية وهي اللكنين والسليلوز والهيموسليلوز (أنصاف السليلوز) والتي يُطلق عليها مصطلح Lignocellulose (Sanchez, 2009) ، و أنَّ ارتباط هذه المكونات مع بعضها يعمل كحاجز يمنع تغلغل الانزيمات الى التركيب الداخلي لجدار الخلية النباتية ، يُعد اللكنين من أكثر المكونات التي تتصف بكونها ذات مقاومة عالية للتحلل ، غير أنَّهُ يهاجم من قبل أنواع مختلفة من الفطريات (Wong, 2009 ; Abbas *et al.*, 2005) .

بينّت دراستنا الحالية اختلاف الأنواع الفطرية في مقدرتها على تحلل اللكنين بفعل إنزيم الفينول اوكسديز ، وهذا يتطابق مع خلف (1999) و(2002) Abdel-Raheem and Shearer، وأشارت دراسة Supriya and Neehar (2014) قدرة فطر *A.niger* على إفراز إنزيم الفينول اوكسديز وجاءت هذه الدراسة مطابقة مع نتائجنا ، كما توصل Claußen and Schmidt (1998) إلى قدرة فطر *Scedosporium apiospermum* على تحلل المركبات الفينولية واستخدامها كمصدر للطاقة .

أنَّ عملية تحلّل اللكنين عملية معقدة جداً وتشترك بها العديد من الانزيمات ، وكما هو معروف أنَّ المركبات الفينولية مركبات سامة وخطرة للنظام البيئي ، و أنَّ التحلل البيولوجي بفعل الكائنات الحية الدقيقة وبضمنها الفطريات تعمل على تفكك وتحلل هذه المركبات ألى جزيئات أصغر، ومن ثمّ يسهل الوصول إلى مكونات جدران الخلايا لتحللها ، وقيام الفطر بفعالياته الحيوية ، كما تتميز الفطريات القادرة على تحلل اللكنين والسليلوز بقدرتها على تحمل الظروف البيئية القاسية من نقص التغذية وانخفاض الـ pH وقلة الرطوبة وغيرها من العوامل البيئية (Supriya and Neehar, 2014).

أنَّ البكتين هي مادة رابطة بين الخلايا و أنَّ تحللها يعمل على تفكك الخلايا ومن ثمّ تزداد المساحة السطحية المتاحة لعمل الفطريات ، تشترك عدة إنزيمات في عملية التحلل من بينهم الإنزيمين Pectate lyase عند pH7 و Polygalacturonase عند pH 5 ، وبينّت دراستنا أنَّ مايقارب نصف العدد من الفطريات المدروسة أعطت كشفاً موجباً للإنزيم ، وهذا يتّفق مع Abdel-Raheem and Shearer (2002) اللَّذينِ بينا أنَّ حوالي 50 % من الفطريات المدروسة اعطت كشفاً موجباً للإنزيمين ، وأشارت إلى أنَّ هناك ثلاثة أنواع من الفطريات التي عزلت من الاخشاب الميتة تفتقر لإنتاج إنزيمي البكتنيز وهي فطر *Nais inornate* و *Leptoshaeria sp.* و *Trichocladium lignicola* .

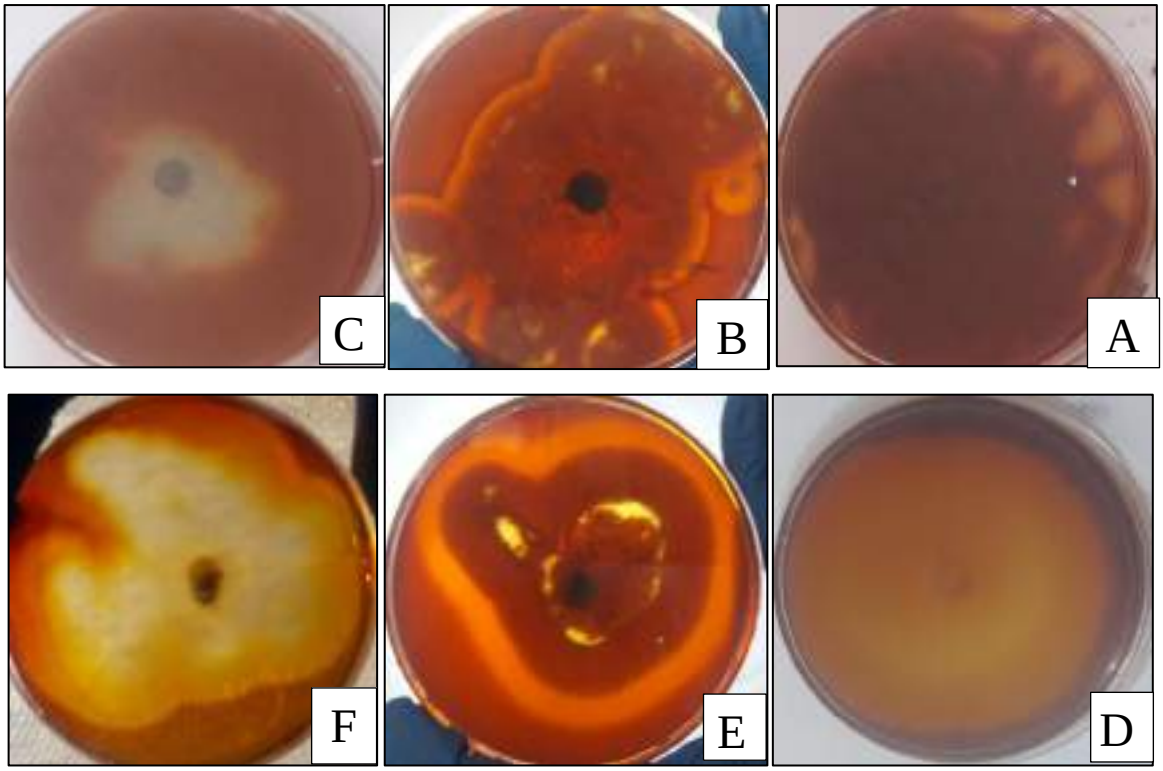
وبينّت دراستنا أيضا قدرة فطريات *A.niger* و *A.horti* على انتاج الانزيمات البكتنيز، وهذا متفقٌ مع ما أشارت إليه دراسة Sohail *et al.* (2009) من أنَّ فطريات *Aspergillus* قادرة على انتاج إنزيمات البكتنيز بسبب وفرتها وتنوعها .

وبيّنت دراسة قام بها Semenova *et al.* (2003) قدرة فطر *Aspergillus japonicus* على إفراز إنزيم Pectate lyase وإنزيم Polygalacturonase ، وأكّدت دراسة Chowdhury *et al.* (2017) قدرة فطر *R.oryzea* على انتاج إنزيمات Pectinase ، وهذا مطابق مع نتائجنا .

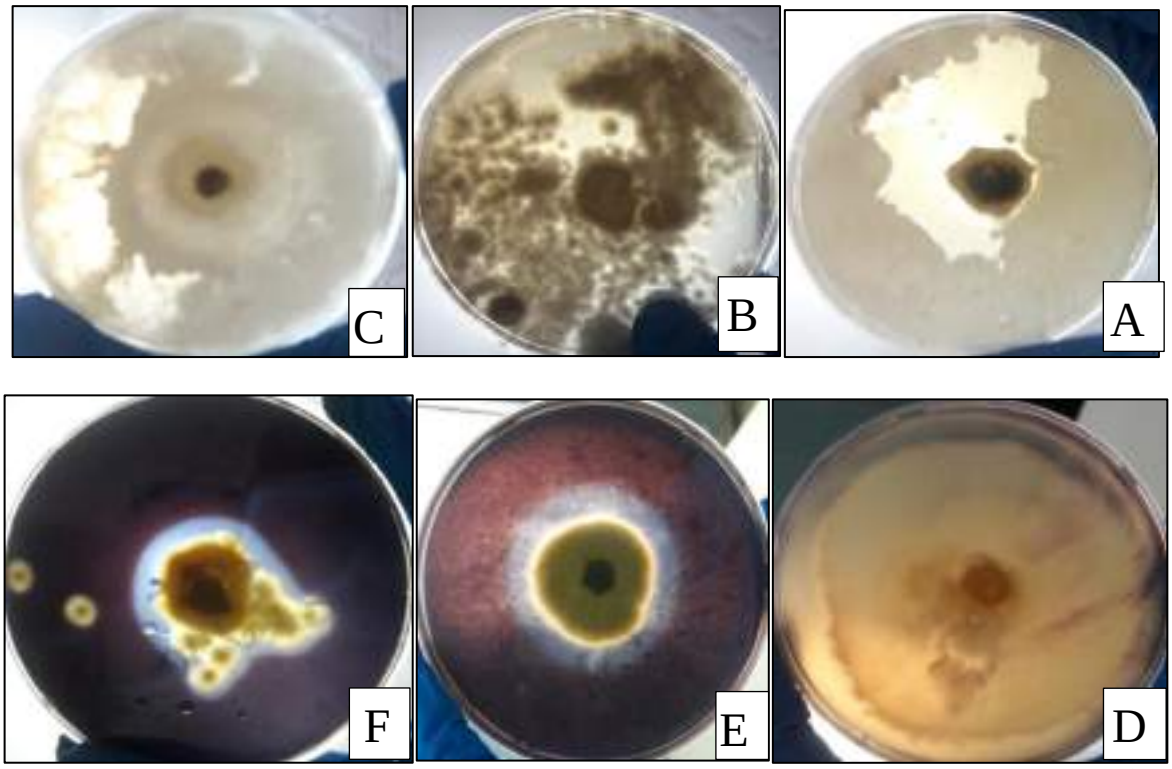
بينت نتائج الدراسة الحالية عدم قدرة فطر*P.chrysogenum* والفطر *A.fumigatus* على انتاج انزيمات البكتنيز Pectinase ، وهذا مخالف لما توصّل إليه Banu *et al.* (2010) الذي أثبت قدرة فطر*P.chrysogenum* على انتاج الإنزيم . ومخالف ايضاً مع Phutela *et al.* (2005) الذي اوضح قدرة فطر *A.fumigatus* لإنتاج إنزيمات الـ pectinase و polygalacturonase ، ومخالفة مع نتائج دراسة Elsababty *et al.* (2015) الذي بين عدم قدرة فطر *B.nivea* على أنتاج إنزيم السليليز بينما بين قدرته على تحلل البكتين .

النتائج السلبية التي تبيّن عدم قدرة الفطر المعزول أثناء الدراسة على انتاج إنزيماً معينٍ مستعيناً بالأوساط الصلبة غير مؤكدة بصورة مطلقة عن عدم قدرة الفطر المعني على انتاج الإنزيم ، فقد يكون الفطر قد أنتج الإنزيم ولم يخرج من غشاء الخلية أو أنَّه لم يُطرح خارج الجسم أو أنَّ الوسط المستعمل يمنع الكشف عنه ، ومن ثمّ عدم إعطاء نتيجة ايجابية بالكشف عن فعالية فطرٍ ما تجاه إنزيم معين غير مؤكدة عن عدم قدرة الفطر المعني على انتاج الإنزيم (Abdel-Raheem and Shearer , 2002) ، على الرغم من أنَّ أستعمال الأوساط الصلبة للاستدلال على قدرة الفطر لإفراز إنزيمات خارج خلوية تُعدُّ طريقة مناسبة لتحديد مقدرة الفطر على إفراز إنزيم معين (خلف ، 1999) .

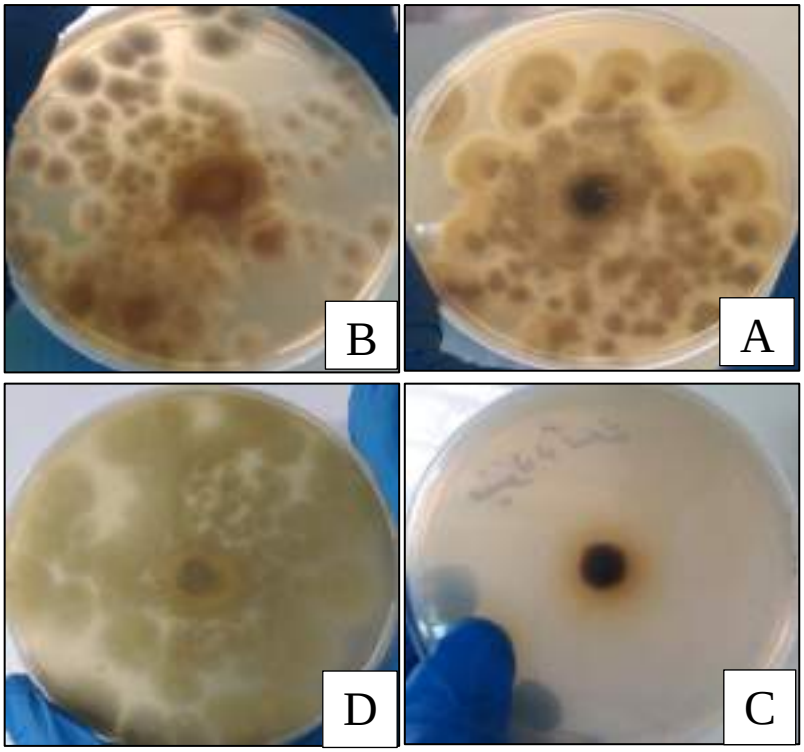
بينّت دراستنا ألحالية أنَّ الفطريات المختبرة افرزت انزيمات عند pH7 ، وعند مواقع الجمع كانت درجة الأُس الهيدروجيني المقاس للمياه هو 7 أو اكثر قليلاً ، وهذا يدل على أنَّ البيئة المدروسة ملائمة لنمو الفطريات ، ومن ثمّ لها القدرة على ألتكيف معها وتحلل الأخشاب .



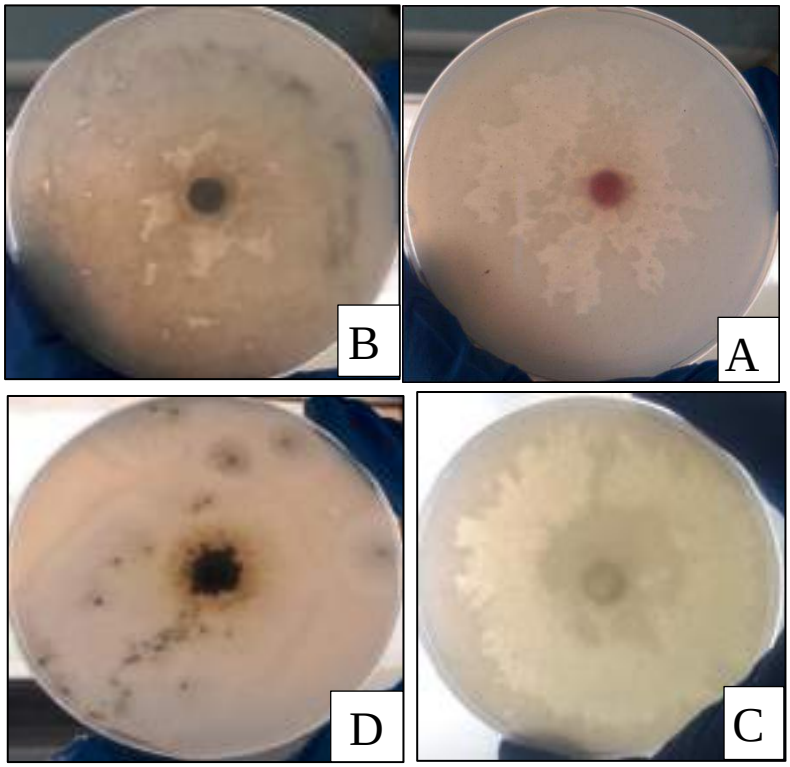
شكل 16: فعالية إنزيم Cellulase بوساطة A : *A.niger* ، B : *A.horti* ، C : *R.oryzae* ،
D : *A.dianchiensis* ، E : *P.chrysogenum* ، F : *C.cucumerium*



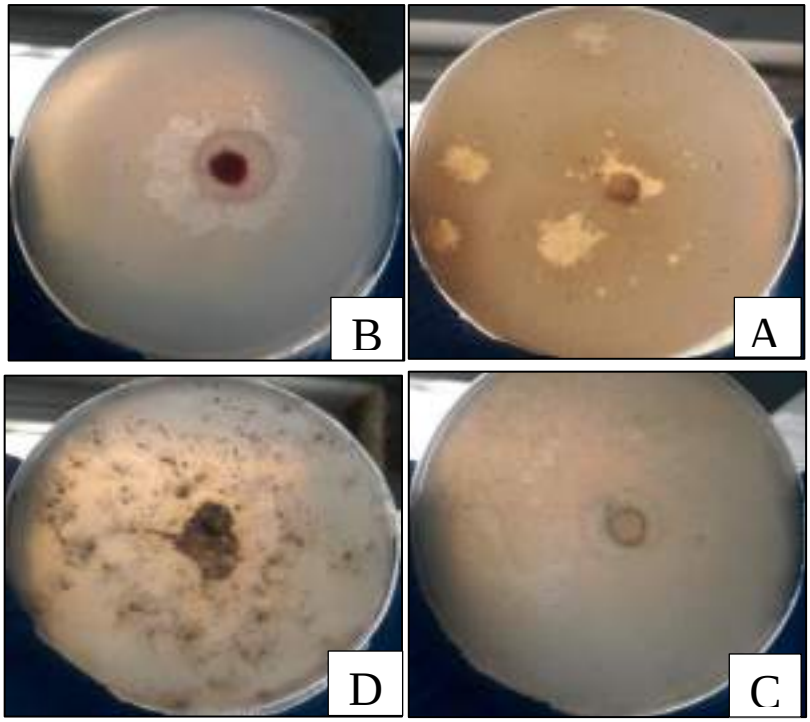
شكل 17: فعالية إنزيم Amylase بوساطة A : *A.niger* ، B : *A.horti* ، C : *R.oryzae* ،
D: *A.dianchiensis* ، E : *P.chrysogenum* ، F : *C.cucumerium*



شكل 18: فعالية إنزيم Phenol oxidase بوساطة A : *A. niger* ، B : *A. horti* ، C : *S.prolificans* ، D : *A.fumigatus*



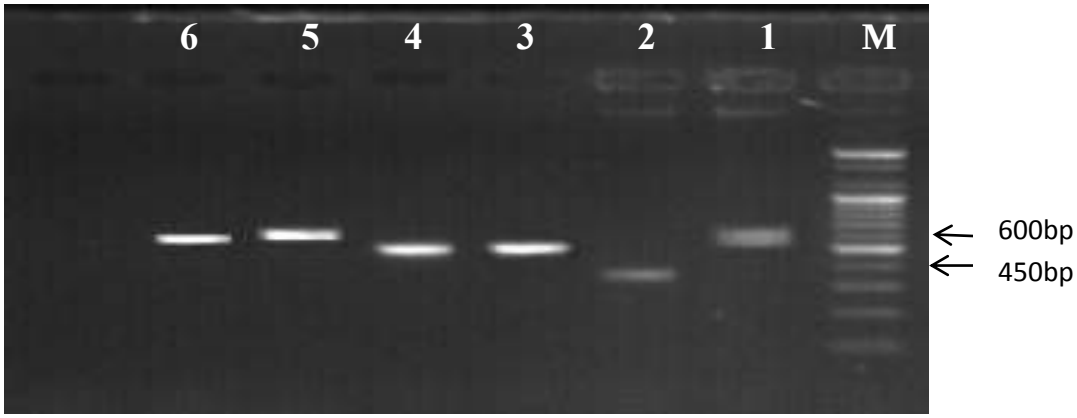
شكل 19: فعالية إنزيم Pectate lyase بوساطة A : *F.oxysporum* ، B: *R.oryzae* ، C:*M.pseudolamprosporum* ، D : *A.niger*



شكل 20: فعالية إنزيم Polygalacturonase بوساطة A : *A.horti* ، B: *F.oxysporum.* ، C: *M. pseudolamprosporum* ، D: *A.niger*

4- 5 استخدام تقنية الـ PCR لتشخيص الفطريات

تمَّ خلال الدراسة الجزيئية استخلاص الـ DNA لستة أنواع من الفطريات المحلّلة للأخشاب، حيث أظهرت النتائج باستخدام تقنية الـ PCR أنَّ البادئات (ITS1 و ITS4) قامت بتضخيم الشريط الوراثي ، وظهرت مواقع الحزم المتضخمة بين 450 pb- 600 (شكل 21).



شكل 21: نواتج الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز لمنتج الـ PCR باستخدام البادئات ITS

Marker: M :1 *B. nivea* :2 *A.dianchiensis* :3 *C. globosium*: 4 *C. tropicalis*: 5 *G.candida* :6 *M.circinelloides*

بيّنت نتائج تحليل تتابعات القواعد النيتروجينية للمادة الوراثية الـDNA للأنواع الفطرية المختبرة ومقارنتها مع العزلات الموجودة في بنك الجينات NCBI تشخيص ستة انواع من الفطريات التي عزلت من الأخشاب الميتة المغمورة بالمياه (الجدول 15) .

جدول 15 : التشخيص الجزيئي للفطريات المحللة للأخشاب المختبرة

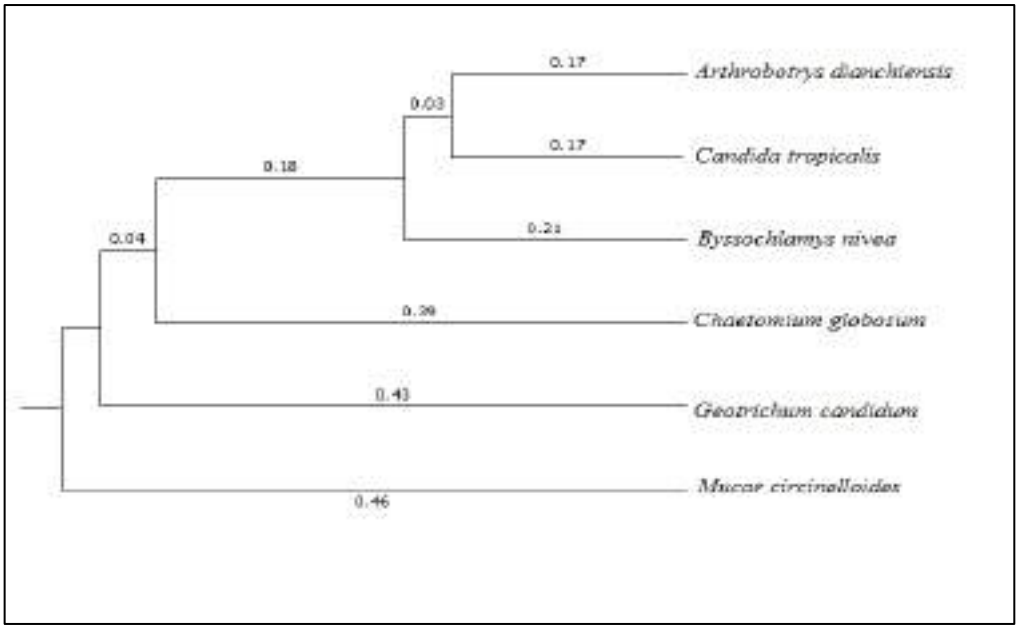
رقم العزلة	التشخيص المظهري	التشخيص الجزيئي	نسبة التطابق	Accession
A5	*C. tropicalis*	*C. tropicalis*	% 94.70	KX664498.1
A3	*A.dianchiensis*	*A.dianchiensis*	%98.82	MH179720.1
A1	*B. nivea*	*B.nivea*	% 95.48	MH860335.1
A7	*G.candidum*	*G.candidum*	% 99.12	KF112070.1
A9	*M.circinelloides*	*M.circinelloides*	% 89.84	FN598919.1
A4	*C. globosium*	*Sclerotium hydrophilum*	% 99.04	KT362098.1

أظهرت نتائج التحليل الجزيئي للمادة الوراثية تطابق التشخيص المظهري مع الجزيئي لخمسة أنواع من فطريات المدروسة هي *A.dianchiensis* و *B.nivea* و *G.candida* و *M.Circinelloides* و *C.tropicalis* بنسب تتراوح ما بين 89.84 - 99.12 % مع العزلات الموجودة في بنك الجينات ، فكانت نسبة تطابق الفطر *C.tropicalis* 94.70% ، وبلغت نسبة التطابق الفطر *G.candida* 99.12% ، أما الفطران *A.dianchiensis* و*B.nivea* فكانت نسب التطابق 98.82 ، 95.48 % (على التوالي) ، في حين ان نسبة تطابق الفطر*M.circinelloides* كانت 89.84 % ، بينما لم يحصل تطابق في العزلة الفطرية *C.globosium* وبنسبة 99.04 % حيث وجد أنَّ هناك اختلافاً عند مقارنتها وملاحظتها تحت المجهر الضوئي ، لذا فإنَّ نسبة التطابق بين التشخيص المظهري والجزيئي لم تكن 100% ، وقد يعود السبب الى العوامل البيئية المؤثرة على فقدان قابلية الفطريات المحللة للأخشاب على تكوين الكونيدات بعد عملية الزرع المتعدد (Simmons, 2007).

يوجد هناك العديد من التقنيات البيولوجية والفسيولوجية التي قدمت معلومات عن التصنيف ، إلاّ أنَّ تسلسل القواعد النيتروجينية وتنظيم الحامض النووي هو الأكثر احتمالاً لإعطاءِ تمييزٍ واضحٍ وحساسٍ بين أنواع الكائنات الحية ، وأيضاً للإشارة إلى العلاقات التطورية بينهم (Croft *et al.*, 1990 ; Demirel *et al.*, 2013) .

أنَّ تصنيف الفطريات بالاعتماد على الطرق الجزيئية أدّى الى إزالة جميع الأخطاء و المعوقات التي تحصل أثناء التشخيص المظهري ، لأنَّ التشخيص الجزيئي يعتمد على الصفات الوراثية لكل نوع فطري بالاعتماد على تسلسل القواعد النيتروجينية لشريط الـ DNA ، وهذا يعطي أوجه مقارنةٍ بين الأنواع الفطرية (Weber, 2009) ، كما أنَّ دراسة أوجه المقارنة لتسلسل النيوكليوتيدات في الجينات يوفر وسيلة لتحليل العلاقات الوراثية ورسم الشجرة الوراثية للسلالات على مجموعة واسعة من الأنواع (Demirel *et al*., 2013)

6-4 الشجرة الوراثية لبعض أنواع الفطريات المحللة للبقايا النباتية المدروسة



شكل 22 : الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات المحللة للبقايا النباتية المدروسة

شجرة ألنشوء وألتطور : هي عبارة عن شجرة تظهر العلاقات ألتطورية بين مختلف الأنواع الحيوانية أو مختلف ألكائنات ألحية وإلتي يعتقد بانها تمتلك اصلاً مشتركاً . وتمثل كل عقدة مع تفرعاتها السلف المشترك ألاحدث Most recent common ancestor لما يتفرع منه ، وأطول ألفروع تمثل ألتقديرات ألزمنية (Woese, 2002 ; Hodge and Cope, 2000) .

يتضح من النتائج إلتي تمّ الحصول عليها من شجرة ألنشوء وألتطور وللجينات المدروسة (شكل 22) وجود فرعين رئيسية ألفرع الأول *M.circinelloides* وألفرع الثاني تفرع إلى فرعين ، الأول *G.candidum* وألثاني تفرع الى فرعين أيضا ، الأول *C.globosum* والثاني تفرع إلى فرعين الأول *B.nives* وألثاني شمل كلٌ من *C.tropicalis* و *A.dianchiensis* ، وأظهرت نتائج الفطريات ألمدروسة وجود ثلاث سلالات من الفطريات قيد الدراسة الأولى *M.circinelloides* والثانية

G.candidum والثالثة تفرعت إلى فرعين هما *C.globosum* والثاني تفرع أيضا إلى *B.nives* و *C.tropicalis*و*A.dianchiensis* .

4- 7 الكشف عن المركبات العضوية باستخدام تقنية GC-MS

أوضحت النتائج التي تمّ الحصول عليها باستخدام تقنية الـ GC-MS لتشخيص المركبات الفعالة في مستخلصات رواشح خمسة أنواع من الفطريات المختبرة وهي : *F.oxysporum* و *G.candidia* و *A.horti* و *C.cucumerium* و *S.Prolificans* ، فوجد أنَّ هذه الفطريات قادرة على انتاج العديد من المركبات الكيميائية الفعالة (ملحق 1).

لوحظ من خلال النتائج أنَّ هناك سبعة مركبات كيميائية مشتركة ظهرت في رواشح جميع الفطريات المختبرة وهي : Cyclotetrasiloxane و 2,4-Di-tert-butylphenol و Phenol و Hexadecanoic acid و Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione,hexahydro-3-(2-methylpropyl)- و Dibutyl phthalate و 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester (جدول 16) .

جدول 16 : المركبات الكيميائية المشخصة بتقنية GC-MS

المركبات الكيميائية	الانواع الفطرية المختبرة				
	F.oxysprum	*C.cucumerium*	*S.prolificans*	*G.candida*	*A.horti*
Cyclotetrasiloxane	+	+	+	+	+
2,4-Di-tert-butylphenol	+	+	+	+	+
Hexadecane	+	+	+	-	+
1-Octadecene	-	+	-	-	-
Benzoic acid	-	+	+	-	+
Phenol	+	+	+	+	+
Hexadecanoic acid	+	+	+	+	+
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione , hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	+	+	+	+	+
Dibutyl phthalate	+	+	+	+	+
Tetracosyl acetate	-	+	-	-	-
Eicosane	+	+	+	-	+
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-methyl ester	+	+	+	+	+

+	+	-	+	+	9-Octadecenoic acid
+	-	+	+	+	Oxiraneoctanoic acid
+	+	-	+	-	Diethylene glycol dibenzoate
-	-	+	+	-	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
+	+	+	-	-	Benzenamine
+	+	-	+	-	Diethyl Phthalate
+	+	+	-	-	cis-13-Octadecenoic acid , methyl ester
+	+	+	-	-	3-Azabicyclo[3.3.0]octane-2,4-dione

(+) قابلية الفطريات المختبرة على انتاج المركب الكيميائي (-) عدم قابلية الفطريات المختبرة على انتاج المركب الكيميائي

في حين أنَّ المركبات Hexadecane و Eicosane و Oxiraneoctanoic acid قد ظهرت في رواشح جميع الفطريات ماعدا *G.candidia* ، بينما ظهرت المركبات Benzenamine و 3-Azabicyclo[3.3.0]octane-2,4-dione و cis-13-Octadecenoic acid , methyl ester في رواشح الفطريات *A.horti* و *G.candidia* و *S.prolificans* . كما لوحظ المركب Diethyl phthalate ظهر في رواشح ثلاثة أنواع من الفطريات .

من خلال مراجعة البحوث والدراسات وجد أنَّ للفطريات المختبرة العديد من المركبات الكيميائية الفعالة فالمركب Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione,hexahydro-3-(2-methylpropyl) أحد المركبات المثبطة لنمو الفطريات ، وله أيضاً خصائص مضادة للأكسدة لتخلص الجسم من الجذور الحرة ، ويسبب أيضاً انحلالاً دمويً لكريات الدم الحمراء (Kannabiran, 2016) .

المركب Diethyl Phthalate الذي ينتج كأيض ثانوي من الفطر *C.cucumerium* فهو مركب ذو سّمية قليلة ، يوجد غالباً في مدافن النفايات ، ويسبب اختلالاً في الغدد الصماء، كما أنَّه يُسهم في قتل يرقات ديدان النيماتودا، ويعد أحد السموم العصبية (Yang *et al.*, 2016) .

أما المركب 3-Azabicyclo[3.3.0]octane-2,4-dione الذي له استخدامات علاجية لعلاج الاضطرابات العصبية (Peçanha, 2001) ، يُعد المركب Propionic acid المنتج من قبل فطر *C.cucumerium* مركب مثبط للجراثيم والفطريات ، وله القدرة في تثبيط بعض انواع البكتريا من خلال سيطرته على بعض أنواع البكتريا في الحبوب المخزنة والقش، كما أثبت فعاليته في السيطرة على السالمونيلا (Haque *et al.*, 2009) .

ومن هنا نستنتج أنَّ الفحص الكيميائي لراشح العينات المختبرة أثبت أنَّه يحتوي على العديد من المركبات الفعالة التي قد يكون لها تأثير على تحلّل البقايا النباتية الميتة كون أغلب هذه المركبات لها

روائح مميزة قد تكون أداة للكشف على تعفن الأخشاب ، ومن جانب آخر يمتلك عددٌ من المركبات خطورة على الكائن الحي، وهذا متفق مع Ewen *et al.* (2004) الذي أشار إلى أنَّ الخشب المتعفن قد يكون عاملاً ممرضاً بسبب المركبات العضوية المتطايرة ذات الروائح المميزة المطلقة من الفطريات المترممة على الأخشاب مثل البنزين ، الذي له مخاطر صحية محتملة ، وكذلك ممكن أن نستخدم هذه الروائح كإشارة إلى وجود حالة تعفن من قبل الفطريات .

وأن البعض من هذه المركبات يدخل في مختلف الصناعات كصناعة الأدوية ومواد التنظيف ومواد التجميل ، وبعضها ممكن ان يستخدم كمضادات حيوية فعالة ، كما بينت أيضاً أنَّ رواشح الفطريات تحتوي على العديد من المركبات الكيميائية التي قد تستخدم في المعالجة الحيوية لمقاومة ديدان النيماتودا (رحيم، 2020).

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات :

1 - تميّزت البقايا النباتية المغمورة والطافية بالمياه في مواقع الدراسة الأربع بكونها اوساطاً ملائمة لتواجد مجتمع فطري متنوع .

2 - تمَّ خلال الدراسة عزل وتشخيص 48 نوعاً من الفطريات المحللة للبقايا النباتية ، التي تعود اغلبها إلى الفطريات الكيسية Ascomycota و Hyphomycetes .

3 - سجلت الفطريات *C.iberica* و *C.lignicola* و *C. verruculosa* و *P. appendiculata* و *S.thermophilum* و*A. margaration* لأول مرة في العراق .

4- ظهرت اثناء الدراسة عددا من الفطريات البحرية مما يدلّ على ان البيئة المائية ملائمة لنموها وأنَّها تكيفت للعيش في البيئات قليلة الملوحة .

5- اختلفت العوامل البيئية المقاسة في مواقع الدراسة وكانت جميعها ضمن الحدود الطبيعية التي تنمو فيها الفطريات بما يلائم نشاطها وخصوصا الدالة الحامضية .

6 - تميزت بعض الفطريات المختبرة بامتلاكها القدرة على إفراز العديد من الإنزيمات المحللة للأخشاب وبنسب متفاوتة ، لذا فهي تساهم بتزويد هذه البيئات بالمواد العضوية المتحللة تؤدي دوراً اساسياً في السلسلة الغذائية .

7 – بينت الدراسة ان اعتماد تقنية الـ PCR في تشخيص الفطريات ذات دقة عالية بالاعتماد على تحديد التتابعات النيتروجينية Sequences ومقارنة هذه النتائج في بنك الجينات NCBI .

8 - شخصت العديد من المركبات العضوية في مستخلصات الايض الثانوي لبعض الفطريات المختبرة باستخدام تقنية الغاز المتصل بمطياف الكتلة GC-MS .

التوصيات :

1 - إجراء مزيد من الدراسات والمسوحات الشاملة لمناطق أخرى من العراق بهدف عزل أكبر عدد ممكن من الفطريات ، وكذلك استخدام الطرق الجزيئية ومقارنتها مع الوصف المظهري بهدف الحصول على أنواع جديدة تسجل لأول مرة في العراق والعالم .

2 - عزل الفطريات التي تسبب امراضا للكائنات الحية وتشخيصها ومن ضمنها الانسان .

3 - دراسة العلاقة بين كيميائية المياه وتوزيع الفطريات في البيئات المائية.

4 - ظهرت بعض العزلات المختبرة بأنَّها تتميز بكونها ذات فعالية إنزيمية عالية يمكن استغلالها في عمليات الانتاج الصناعي لهذه الانزيمات او في تحليل البقايا النباتية .

5 - استخدام بادئات متخصصة أخرى لتشخيص تواجد جينات معينة في الفطريات المعزولة لإعطاء وصفٍ دقيقٍ للفطريات ، وللحصول على تفسير أكثر واقعية لعمل هذه الفطريات ودورها في النظام البيئي .

References المصادر

المصادر العربية :

جازع ، صالح حسن (2009). دراسة بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبكتريولوجية لمياه نهر الكحلاء محافظة ميسان \العراق . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة البصرة 67 ص .

خلف ، كوثر طعمة (1999) الفطريات المعزولة من البقايا النباتية المغمورة في البيئة المائية في البصرة ودراسة القدرة التحليلية والفعالية الانزيمية لبعض انواعها . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة البصرة .71 ص.

رحيم ، نور علي (2020) . تقييم الفعالية الضد ميكروبية لنواتج الأيض الثانوي للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة ميسان . 99ص.

الصالحي ، محمد حسين مشهد (2002) . دراسة حول الفطريات الخيطية المستوطنة لساحل قناة خور الزبير . رسالة ماجستير . كلية العلوم ، جامعة البصرة . 90 ص.

الصالحي ، محمد حسين مشهد (2016) . دراسة العوامل البيئية وعزل بعض انواع الفطريات البحرية من اهوار محافظة ذي قار . العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة ، كلية التربية للبنات، جامعة الكوفة.

الصباح ، بشار جبار جمعة (2007). دراسة السلوك الفيزيوكيميائي للعناصر المعدنية الملوثة لمياه ورواسب شط العرب . اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة .

عباس ، نيران عدنان و جازع ، صالح حسن و كريم ، صادق صبيح (2013) . دراسة فيزيوكيميائية لمياه نهر دجلة في قضاء المجر الكبير في محافظة ميسان. مجلة ميسان للدراسات الاكاديمية . 12(22) :123-131ص .

علي ، هدى حلو (2020) . تأثير بعض العوامل البيئية على وجود وانتشار النباتات المائية في نهر دجلة في محافظة ميسان . رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة البصرة .145ص.

مشهد، محمد حسين (2010) . عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة في التربة وعلى البقايا النباتية في اهوار محافظه ذي قار ودراسة الفعالية الانزيمية لبعض انواعها . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم. جامعة البصرة. 87 ص.

المياح ،عزت حسين و عبد الحسن ،احمد حسن و الموسوي ،محمد هاشم (2006) . عزل وتشخيص بعض الفطريات من البقايا النباتية المغمورة في بعض اهوار محافظه ذي قار ، مجلة جامعة ذي قار ، المجلد2(2) : 112-118 .

النصراوي ، حسين غانم (2007). تسجيل جديد لستة انواع من الفطريات المرافقة للبقايا النباتية المغمورة في نهر دجلة - موقع سدة الكوت . مجلة ابحاث ميسان . المجلد 3(6): 25ص .

المصادر الاجنبية :

Abbas, A., Koc, H., Liu, F., and Tien, M. (2005). Fungal degradation of wood: initial proteomic analysis of extracellular proteins of *Phanerochaete chrysosporium* grown on oak substrate. *Current Genetics*, 47(1):pp.49-56.

Abdel-Aziz, F. A. (2016). Freshwater fungi from the River Nile, Egypt. *Mycosphere*, 7(5): pp.741-756.

Abdel-Raheem, A., and Shearer, C.A. (2002). Extracellular enzyme production by freshwater ascomycetes. *Fungal Diversity*, 11: pp.1-19.

Abdel-Raheem, A. M., and Ali, E. H. (2004). Lignocellulolytic enzyme production by aquatic hyphomycetes species isolated from the Nile's delta region. *Mycopathologia*, 157(3): pp.277-286..

Abdel-Wahab, M. A., Hodhod, M. S., Bahkali, A. H., and Jones, E. G. (2014). Marine fungi of Saudi Arabia. *Botanica Marina*, 57(4): pp.323-335.

Abdulkadir, M., and Al-Habeeb, E. (1995). Celluulytic activity of fungi associated with *phragmites australis* . *Abhath Al-Yarmouk,* 4(1) : pp.51-57.

Abdullah, S. K. (1983). New and noteworthy ascomycetes from Iraq. *Transactions of the British Mycological Society*, 81(2): pp.392-396.

Abdullah, S. K., Abdulkadder, M. A., and Goos, R. D. (1989). Basramyces marinus nom. nov.(hyphomycete) from southern marshes of Iraq. *International Journal of Mycology and Lichenology*, *4*: pp.181-186.

Abdullah, S.K., Al- Dossary, M.A., and Al- Saad, H.T. (2000) . A mycoflora study on aquatic sediment of Shatt Al-Arab estuary and North – Weast Arabian Gulf . *Basrah Journal Science* , 18: pp.1-13 .

Adeniran, A. H., and Abiose, S. H. (2009). Amylolytic potentiality of fungi isolated from some Nigerian agricultural wastes. *African Journal of Biotechnology*, 8(4): pp.667- 672 .

Ajayi, A. A., Salubi, A. E., Lawal, B., Onibokun, A. E., Ajayi, O. M., and Ogunleye, T. A. (2018). Optimization of pectinase production by Aspergillus niger using central composite design. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 19(4): pp.314-319.

Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., and Blackwell, M. (1996). Introductory Mycology 4th. J. Wiley and Sons.pp880.

Al-Nasrawi, H. (2014). Two ascomycetes from different aquatic habitats.*International Journal of Modern Biology Research,* 2: pp.24-30.

Al-Rubaye, A. F., Hameed, I. H., and Kadhim, M. J. (2017). A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9(1): pp.81-85.

Al-Saadoon, A. H., and Al-Dossary, M. A. (2010). Some fungi isolated from submerged plant debris in Southern Iraq. *Marsh Bulletin*, 5(2): pp.207-221.

Al-Saadoon, A. H., and Abdullah, S. K. (2001). Some interesting ascomycetes from Iraq. *Iraqi J, Biology*, 1:pp.125-134.

Al-Saadoon, A. H., and Al-Dossary, M. N. (2014). Fungi from submerged plant debris in aquatic habitats in Iraq. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 6(6): pp.468-487.

Amend, A., Burgaud, G., Cunliffe, M., Edgcomb, V. P., Ettinger, C. L., Gutiérrez, M. H., and Kagami, M. (2019). Fungi in the marine environment: Open questions and unsolved problems. *MBio*, 10(2):pp.1-15

Amore, A., Giacobbe, S., and Faraco, V. (2013). Regulation of cellulase and hemicellulase gene expression in fungi. *Current genomics*, 14(4):pp. 230-249.

Austwick, P. K. C. (1976). Environmental aspects of Mortierella wolfii infection in cattle. *New Zealand journal of agricultural research*, 19(1): pp.25-33.

Baker, W. A., and Morgan-Jones, G. (2003). Notes on hyphomycetes. XCI. *Pseudoacrodictys*, a novel genus for seven taxa formerly placed in *Acrodictys*. *Mycotaxon* 85: pp.371-391

Baldrian, P., and Valášková, V. (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS microbiology reviews*, 32(3): pp.501-521.

Balkan, B., and Ertan, F. (2005). Production and properties of α-amylase from *Penicillium chrysogenum* and its application in starch hydrolysis. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 35(2): pp.169-178.

Banakar, S. P. , and Thippeswamy, B. (2014). Isolation, production and partial purification of fungal extracellular pectinolytic enzymes from the forest soils of Bhadra Wildlife Sanctuary, Western Ghats of Southern India. *Journal of Biochemical Technology*, 3(5): pp.138-143.

Banu, A. R., Devi, M. K., Gnanaprabhal, G. R., Pradeep, B. V., and Palaniswamy, M. (2010). Production and characterization of pectinase enzyme from *Penicillium chrysogenum*. *Indian Journal of Science and Technology*, 3(4): pp.377-381.

Bärlocher, F. (2009). Reproduction and dispersal in aquatic hyphomycetes. *Mycoscience*, 50(1): pp.3-8.

Benoit, I., Coutinho, P. M., Schols, H. A., Gerlach, J. P., Henrissat, B., and De Vries, R. P. (2012). Degradation of different pectins by fungi: correlations and contrasts between the pectinolytic enzyme sets identified in genomes and the growth on pectins of different origin. *BMC Genomics*, 13(1): pp.321.

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): pp.179-192.

Bjurman, J., and Kristensson, J. (1992). Production of volatile metabolites by the soft rot fungus *Chaetomium globosum* on building materials and defined media. *Microbios*, 72(290):pp. 47-54.

Boonyuen, N., Chuaseeharonnachai, C., Suetrong, S., Sri-Indrasutdhi, V., Sivichai, S., Jones, E. G., and Pang, K. L. (2011). *Savoryellales* (*Hypocreomycetidae*, *Sordariomycetes*): a novel lineage of aquatic ascomycetes inferred from multiple-gene phylogenies of the genera *Ascotaiwania*, *Ascothailandia*, and *Savoryella*. *Mycologia*, 103(6): pp.1351-1371.

Bretagne, S., and Costa, J. M. (2006). Towards a nucleic acid-based diagnosis in clinical parasitology and mycology. *Clinica Chimica Acta*, 363(1-2): pp.221-228.

Cadete, R. M., Melo, M. A., Dussán, K. J., Rodrigues, R. C., Silva, S. S., Zilli, J. E., and Rosa, C. A. (2012). Diversity and physiological characterization of D-xylose-fermenting yeasts isolated from the Brazilian Amazonian Forest. *Plos one*, 7(8) : pp.1-11.

Cadete, R. M., Lopes, M. R., and Rosa, C. A. (2017). Yeasts associated with decomposing plant material and rotting wood. *Yeasts in natural ecosystems: diversity* , Springer, pp.265-292.

Cai, L., Zhang, K., McKenzie, E.H.C., and Hyde, K.D. (2003). Freshwater fungi from bamboo and wood submerged in the Liput River in the Philippines. *Fungal Diversity* 13: pp.1-12.

Chowdhury, T. I., Jubayer, M. F., Uddin, M. B., and Aziz, M. G. (2017). Production and characterization of pectinase enzyme from *rhizopus*

oryzae. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 11(1): pp.641-651.

Claußen, M., and Schmidt, S. (1998). Biodegradation of phenol and p-cresol by the hyphomycete *Scedosporium apiospermum*. *Research in microbiology*, 149(6): pp.399-406.

Cooney, D. G., and Emerson, R. (1964). Thermophilic fungi. An account of their biology, activities, and classification.

Crane, J. L., and shearer, C. A. (1991). A nomenclator of Leptosphaeria V. Cesati & G. de Notaris (Mycota-Ascomycotina-Loculoascomycetes). *Illinois Natural History Survey Bulletin;* 034(03) :pp.195-335.

Croft, J. H., Bhattacherjee, V., and Chapman, K. E. (1990). RFLP analysis of nuclear and mitochondrial DNA and its use in *Aspergillus* systematics. *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification* . Springer, Boston, 185: pp.309-320

Cullen, D. (1997). Recent advances on the molecular genetics of ligninolytic fungi. *Journal of Biotechnology*, 53(2-3): pp.273-289.

Dange V.U., and Harke S. (2018) . Production and purification of Pectinase by fungal strain in solid-state fermentation using agro-industrial bioproduct . *International Journal of Life Sciences Research*, 6(4): pp.85-93.

Daniel, G. (2016). Fungal degradation of wood cell walls. In *Secondary xylem biology* . Academic Press, pp.131-167.

Dashtban, M., Schraft, H., and Qin, W. (2009). Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. *International Journal of Biological Sciences*, 5(6): pp.578.

Davidson, R.W., Campbell, W.A., and Blaisdell, D.J. (1938). Differentation of wood-decaying fungi by their reaction on gallic or tannic acid medium. *J.Agric. Res*. 57 : pp.683-695.

De Hoog, G. S., Marvin-Sikkema, F. D., Lahpoor, G. A., Gottschall, J. C., Prins, R. A., and Guého, E. (1994). Ecology and physiology of the emerging opportunistic fungi *Pseudallescheria boydii* and *Scedosporium prolificans*: Ökologie und Physiologie der opportunistischen Pilze *Pseudallescheria boydii* und *Scedosporium prolificans*. *Mycoses*, 37(3-4): pp.71-78.

Deacon j. (2005).wood decay and wood rooting fungi . textbook. University of Edinburgh. https://en.wikipedia.org/wiki/Wood-decay_fungus

Demirel, R., Sariozlu, N. Y., and Ilhan, S. (2013). Polymerase chain reaction (PCR) identification of terverticillate *Penicillium* species isolated from agricultural soils in eskişehir province. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(6): pp.980-984.

Dethoup, T., and Manoch, L. (2009). Diversity of marine fungi in eastern Thailand. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 43: pp.100-106.

Domsch, K. H., Gams , W., and Enderson , T. (1980) . Compenedium of soil fungi 1st . *Academic press* , London . pp.859 .

Drusch, S. (2007). Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocolloids*, 21(7): pp.1223-1228..

Dusenbery , D.B. (1996). Life at small scale – the behavior of microbes (Scientific American Library)1st . W.H. Freeman Company . New York. Pp.214 .

Eastwood, D. C., Floudas, D., Binder, M., Majcherczyk, A., Schneider, P., Aerts, A., and Blumentritt, M. (2011). The plant cell wall–decomposing machinery underlies the functional diversity of forest fungi. *Science*, 333(6043): pp.762-765.

Edwards, I. P., Upchurch, R. A., and Zak, D. R. (2008). Isolation of fungal cellobiohydrolase I genes from sporocarps and forest soils by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(11): pp.3481-3489.

Ellis, M.B. (1965). Dmatiaceous Hyphomycetes VI. *Mycolo*gical *Papers*, 103: pp.1-46.

Ellis,M.B.(1971).Dematiaceous Hyphomycetes . *Commonwealth Mycological Institute .Kew,Surrey,England* .pp.604.

Ellis M.B. (1976) . More Dematiaceous Hyphomycetes . *Commonwealth Mycological Institute .Kew,Surrey,England*. pp.504.

El-Nagdy, M. A., and Nasser, L. A. (2000). Occurrence of zoosporic and terrestrial fungi in accumulated rainfall water in the Riyadh region (Saudi Arabia). *Fungal Diversity*, 5: pp.175-183.

Elsababty, Z., Ali, A. M., and Houbraken, J. (2015). Cellulolytic and pectinolytic enzymes of some selected heat resistant fungi. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 2(2): pp.1- 4.

El-Sharouny, H. M., Gherbawy, Y. A., and Abdel-Aziz, F. A. (2009). Fungal diversity in brackish and saline lakes in Egypt. *Nova Hedwigia*, 89(3-4): pp. 437-450.

Ewen, R. J., Jones, P. R., Ratcliffe, N. M., and Spencer-Phillips, P. T. (2004). Identification by gas chromatography-mass spectrometry of the volatile organic compounds emitted from the wood-rotting fungi Serpula lacrymans and Coniophora puteana, and from Pinus sylvestris timber. *Mycological Research*, 108(7): pp.806-814.

Fallah, P.M., and Shearer, C. (2001).Freshwater ascomycetes: new or noteworthy species from north temperate lakes in Wisconsin. *Mycologia*, 93: pp.566-602.

Federhen, S. (2012). The NCBI taxonomy database. *Nucleic acids research*, 40(1): pp.136-143.

Floudas, D., Binder, M., Riley, R., Barry, K. ,Blanchette, R. A., Henrissat, B., and Aerts, A. (2012). The Paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. *Science*, 336(6089): pp.1715-1719.

Frisvad, J. C., and Samson, R. A. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate Penicillia and their mycotoxins. *Studies in Mycology*, 49: pp.1-174.

Fryar, S.C., Booth, W., Davies, J., Hodgkiss, I.J., and Hyde, K.D. (2004). Distribution of fungion wood in the Tutong River, Brunei. *Fungal Diversity*, 17: pp.17-38.

Gessner, M. O., Gulis, V., Kuehn, K. A., Chauvet, E., and Suberkropp, K. (2007). Fungal Decomposers of Plant Litter in Aquatic Ecosystems 2^{ed} . *in The Mycota*, Springer, Berlin, pp.301–324 .

Gessner, R. V. (1980). Degradative enzyme production by salt-marsh fungi. *Botanica Marina*, 23(2): pp.133-139.

Ghate, S. D., and Sridhar, K. R. (2015). A new technique to monitor conidia of aquatic hyphomycetes in streams using latex-coated slides. *Mycology*, 6(3-4): pp.161-167.

Ghenghish, M.S., Abdallah, A., Zariba, R., and Almasri, T.A.(2019) . New records for freshwater lignicolous fungi from Libya . *International Research Journal of Biological*, 8(4): pp.20-22 .

Gielkens, M. M., Dekkers, E., Visser, J., and de Graaff, L. H. (1999). Two cellobiohydrolase-encoding genes from *Aspergillus niger* require D-xylose and the xylanolytic transcriptional activator XlnR for their expression. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10): pp.4340-4345.

Goh , T.K., Clement, K.M., and Tsui , C.K.M. (2003) . Key to common dematiaceous hyphomycetes from freashwater . In : Tsui , C.K.M. & Hyde K.D.(eds) . Freashwater mycology . Fungal Diversity Press , Hong Kong , pp.325 - 343 .

Gönczöl, J., and Révay, Á. (2003). Treehole fungal communities: aquatic, aero-aquatic and dematiaceous hyphomycetes. *Fungal Diversity*, 12: pp.19-34.

Graça, M. A., Hyde, K., and Chauvet, E. (2016). Aquatic hyphomycetes and litter decomposition in tropical–subtropical low order streams. *Fungal Ecology*, 19: pp.182-189.

Grohmann, K., and Himmel, M.E. (1991). Enzyme for fuels and chemical feedstock . In : Enzymes in biomass conversion , (eds. Leatham , G.F. and Himmel , M.E.). American Chemical Society , Washington . pp. 2-11.

Guarro, J., Abdullah,S.K., and AL-Saadoon,A.H.(1996). A new *Zopfiella* (Lasiosphaeriaceae) from Iraq .*Mycotaxon*, 11:pp.197-202.

Guarro, J., AL-Saadoon , A. H., Gene, J., and Abdullah, S.K.(1997).Tow new Cleistothecial Ascomycetes from Iraq. *Mycologia*, 89: pp.955-961

Guarro, J., Kantarcioglu, A. S., Horré, R., Luis Rodriguez-Tudela, J., Cuenca Estrella, M., Berenguer, J., and Sybren De Hoog, G. (2006). *Scedosporium apiospermum*: changing clinical spectrum of a therapy-refractory opportunist. *Sabouraudia*, 44(4): pp.295-327.

Haltrich , D., Laussamayer , B., and Steiner ,W. (1994). Xylanase formation by Sclerotium rolfsii : effect of growth substrate of culture medium using statistically designedexperiments . *Applied Microbiology and Biotechnology*, 42 : pp.522 - 530.

Hankin, L., and Anagnostakis, S.L. (1975). The use of solid media for detection of enzyme production by fungi . *Mycoliga*, 67 : pp.597- 607.

Haque, M. N., Chowdhury, R., Islam, K. M. S., and Akbar, M. A. (2009). Propionic acid is an alternative to antibiotics in poultry diet. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 38(1-2): pp.115-122.

Hawksworth, D. L. (1985). *Kirschsteiniothelia,* a new genus for the Microthelia incrustans-group (Dothideales). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 91(1-2): pp.181-202.

Hawksworth, D. L. (2012). Global species numbers of fungi: are tropical studies and molecular approaches contributing to a more robust estimate?. *Biodiversity and Conservation*, 21(9): pp.2425-2433.

Hernandez-Restrepo, M., Gené, J., Castañeda-Ruiz, R. F., Mena-Portales, J., Crous, P. W., and Guarro, J. (2017). Phylogeny of saprobic microfungi from Southern Europe. *Studies in Mycology*, 86: pp.53-97.

Hernández-Restrepo, M., Gené, J., Mena-Portales, J., Cano, J., Madrid, H., Castaneda-Ruiz, R. F., and Guarro, J. (2014). New species of *Cordana* and *epitypification* of the genus. *Mycologia*, 106(4): pp.723-734.

Ho, W. H., Hyde, K. D., and Hodgkiss, I. J. (1997). Ascomycetes from tropical freshwater habitats: the genus *Savoryella* with two new species. *Mycological Research*, 101(7): pp.803-809.

Hodge, T., and Cope, M. (2000). A myosin family tree. *Journal of Cell Science*, 113(19): pp.3353-3364.

Hon, D. N. S. (1994). Cellulose: a random walk along its historical path. *Cellulose*, 1(1): pp.1-25.

Hu, D., Cai, L., Chen, H., Bahkali, A. H., and Hyde, K. D. (2010). Fungal diversity on submerged wood in a tropical stream and an artificial lake. *Biodiversity and Conservation*, 19(13): pp.3799-3808.

Hussain, M., M. Zouhar, and Ryšánek. (2017). Effects of Nematophagous Fungi on Viability of Eggs and Juveniles of Meloidogyne Incognita. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 27(1): pp.252–258.

Hyde, K. D. (1992). Tropical Australian freshwater fungi. II.* Annulatascus velatispora gen. et sp. nov., A. bipolaris sp. nov. and *Nais aquatica* sp. nov.(Ascomycetes). *Australian Systematic Botany*, 5(1): pp.117-124.

Hyde, K. D. (1994). The genus *Savoryella* from freshwater habitats, including *S.grandispora* sp. nov. *Mycoscience*, 35(1): pp.59-61.

Hyde, K. D., and Goh, T. K. (1998 a). Fungi on submerged wood in Lake Barrine, north Queensland, Australia. *Mycological Research*, 102(6): pp.739-749.

Hyde, K. D., and Goh, T. K. (1998 b). Fungi on submerged wood in the Riviere St Marie-Louis, the Seychelles. *South African Journal of Botany*, 64(6): pp.330-336.

Hyde, K. D., Goh, T. K., and Steinke, T. D. (1998). Fungi on submerged wood in the Palmiet river, Durban, South Africa. *South African Journal of Botany*, 64(3): pp.151-162.

Hyde K.D., Ho wai-H., and Tsui Clement K. M. (1999) . The genera *Aniptodera* , *Halosarpheia* , *Nais* and *Phaeonectriella* From freashwater habitats . *Mycoscience,* 40 : pp.165 - 183 .

Hyde, K. D., Sarma, V.V., and Jones, E. B. G. (2000). Morphology and taxonomy of higher marine fungi .In : Marine Mycology - A Practical Approach (eds. K.D. Hyde and S. B. Pointing) . *Fungal Diversity press,Hong Kong,* 1: pp.172 – 204 .

Ingold, C. T. (1975). Hooker lecture 1974: Convergent evolution in aquatic fungi: the tetraradiate spore. *Biological Journal of the Linnean Society*, 7(1): pp.1-25.

Ismail, A.L.S., Rattan, S.S., and Muhsin, T.M. (1979). Aquatic fungi of Iraq: Specie of *Saprolegnia*. *Hydrobiologia*, 65: pp.83-93.

Ittner, L. D., Junghans, M., and Werner, I. (2018). Aquatic fungi: a disregarded trophic level in ecological risk assessment of organic fungicides. *Frontiers in Environmental Science*, 6 (105) : pp.1-41.

Jayani, R. S., Saxena, S., and Gupta, R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: a review. *Process Biochemistry*, 40(9): pp.2931-2944.

Jones, E. G., and Eaton, R. A. (1969). *Savoryella lignicola* gen. et sp. nov. from water-cooling towers. *Transactions of the British mycological Society*, 52(1): pp.161-. 174.

Jones, E. B. G. (1976). Lignicolous and algicolous fungi. *Recent advances in aquatic mycology*, pp.1-51.

Jones, E. G., and Hyde, K. D. (1992). Taxonomic studies on *Savoryella* Jones et Eaton (Ascomycotina). *Botanica marina*, 35(2): pp.83-92.

Jones, E. G. (2000). Marine fungi: some factors influencing biodiversity. *Fungal Diversity*, 4(193): pp.53-73.

Jones, E. B. G., Sakayaroj, J., Suetrong, S., Somrithipol, S., and Pang, K. L. (2009). Classification of marine Ascomycota, anamorphic taxa and Basidiomycota. *Fungal Diversity*, 35(1): pp.187.

Kadhim, M. J., Sosa, A. A., and Hameed, I. H. (2016). Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of Ocimum basilicum using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, 8(6): pp.127-146.

Kaltseis, J., Rainer, J., and De Hoog, G. S. (2009). Ecology of *Pseudallescheria* and *Scedosporium* species in human-dominated and natural environments and their distribution in clinical samples. *Sabouraudia*, 47(4): pp.398-405.

Kannabiran, K. (2016). Bioactivity of Pyrrolo [1, 2-a] pyrazine-1, 4-dione, hexahydro-3-(phenylmethyl)-Extracted from Streptomyces sp. VITPK9 Isolated from the Salt Spring Habitat of Manipur, India. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP): Free full text articles from Asian J Pharm*, 10(4).

Kantharaj, P., Boobalan, B., Sooriamuthu, S., and Mani, R. (2017). Lignocellulose degrading enzymes from fungi and their industrial applications. *Int. J. Cur. Res. Rev.| Vol.,* 9(21): pp.1-12.

Kashyap, D. R., Vohra, P. K., Chopra, S., and Tewari, R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, 77(3): pp.215-227.

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): pp.1418-1423.

Khan, S. S., and Manimohan, P. (2011). Diversity and abundance of marine fungi on driftwood collected from Kerala State and Lakshadweep Islands, India. *Mycosphere*, 2: pp.223-229.

Kodsueb, R., Lumyong, S., McKenzie, E. H. C., Bahkali, A. H., and Hyde, K. D. (2016). Relationships between terrestrial and freshwater lignicolous fungi. *fungal Ecology*, 19: pp.155-168.

Kohlmeyer, J. (1962). Halophile Pilze von den Ufern Frankreichs. *Nova Hedwigia* 4 : pp.389-420.

Kohlmeyer, J., and Kohlmeyer, E. (1979) . Marine mycology : The higher fungi . Academic press . New York . pp.690.

Kumar, S., Sharma, H. K., and Sarkar, B. C. (2011). Effect of substrate and fermentation conditions on pectinase and cellulase production by *Aspergillus niger* NCIM 548 in submerged (SmF) and solid state fermentation (SSF). *Food Science and Biotechnology*, 20(5): pp.1289-1298.

Lackner, M., De Hoog, G. S., Yang, L., Moreno, L. F., Ahmed, S. A., Andreas, F.,and Rambach, G. (2014). Proposed nomenclature for *Pseudallescheria* , *Scedosporium* and related genera. *Fungal Diversity*, 67(1): pp.1-10.

Lara, C. A., Santos, R. O., Cadete, R. M., Ferreira, C., Marques, S., Gírio, F., and Fonseca, C. (2014). Identification and characterisation of

xylanolytic yeasts isolated from decaying wood and sugarcane bagasse in Brazil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105(6): pp.1107-1119.

Legodi, L. M., La Grange, D., Van Rensburg, E. L., and Ncube, I. (2019). Isolation of cellulose degrading fungi from decaying banana pseudostem and Strelitzia alba. *Enzyme Research*, pp.10 .

Lhate, I., Cuvilas, C., Terziev, N., and Jirjis, R. (2010). Chemical composition of traditionally and lesser used wood species from Mozambique. *Wood Material Science and Engineering*, 5(3-4): pp.143-150.

Li, J., Jeewon, R., Luo, Z., Phookamsak, R., Bhat, D. J., Mapook, A., and Hyde, K. D. (2017). Morphological characterization and DNA based taxonomy of Fusiconidium gen. nov. with two novel taxa within Melanommataceae (Pleosporales). *Phytotaxa*, 308(2): pp.206-218.

Liu, D., Coloe, S., Baird, R., and Pedersen, J. (1997) . PCR identification of *Trichophyton mentagrophytes* var. interdigitale and *T. mentagrophytes* var. mentagrophytes dematophytes with a random primer. *Journal of Medical Microbiology*, 46 (12): pp.1043-1046.

Liu, D., Coloe, S., Baird, R., and Pedersen, J. (2000). Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi . *Journal of Medical Microbiology*, 49 (6): pp.493-497.

Lumley, T. C., Abbott, S. P., and Currah, R. S. (2000) . Microscopic ascomycetes isolated from rotting wood in Boreal Forest . *Mycotaxon* , 24 : pp.395-414.

Lundqvist, N. (1969). *Tripterospora* (Sordariaceae s. lat., Pyrenomycetes). *Botaniska Notiser*, 122: pp.589-603.

Luo Z. H.,Hyde K. D., Liu J. K. j., Maharachchikumbura S. S. , Jeewon R., Bao D. F., Bhat D. J., Liu C.G., Li W. Li , Yong J., Liu N. G., Lu Y. Z., Jayawardena R.S., Li J. F., and Su H. Y. (2019) . Fresh water Sordariomycetes , *Fungal Diversity*, 99(1): pp.451-660

Luo, J., Yin, J.F., Cai, L., Zhang, K.Q., and Hyde, K.D. (2004). Freshwater fungi in lake Dianchi, a heavily polluted lake in Yunnan, China. *Fungal Diversity*, 16: pp.93-112.

Luo, Z. L., Bahkali, A. H., Liu, X. Y., Phookamsak, R., Zhao, Y. C., Zhou, D. Q.,and Hyde, K. D.(2016a). *Poaceascoma aquaticum* sp. nov.(Lentitheciaceae), a new species from submerged bamboo in freshwater. *Phytotaxa*, 253(1): pp.71-80.

Luo, Z. L., Yang, J., Liu, J. K., Su, H. Y., Bahkali, A. H., and Hyde, K. D. (2016 b). Two new species of *Helicascus* (Morosphaeriaceae) from submerged wood in northern Thailand. *Phytotaxa*, 270(3): pp.182-190.

Lynd, L. R., Weimer, P. J., Van Zyl, W. H., and Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 66(3): pp.506-577.

Maheshwari, R. (2005). Fungal biology in the 21st century . *Current Science* , 88(9): pp.1406 – 1418.

Malloch, D., and Cain, R. F. (1971). New cleistothecial Sordariaceae and a new family, Coniochaetaceae. *Canadian Journal of Botany*, 49(6): pp.869-880.

Mandels, M., Sternberg, D., and Andreotti, R. (1975). Symposium on enzymatic hydrolysis of cellulose Aulanko, Finland. (eds. Baily, M.; Enari, T.M. and Linke, M.) Den Ver Book- binding Co., Den Ver.

Martínez, Á. T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F. J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martinez, M.J., Gutierrez A., and Río Andrade, J. C. D. (2005). Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International Microbiology*, 8: pp.195-204.

Mendgen, K.,Wirsel, S. G.,Jux, A., Hoffmann, J., and Boland, W. (2006). Volatiles modulate the development of plant pathogenic rust fungi. *Planta*, 224(6): pp.1353-1361.

Menon, V., and Rao, M. (2012). Trends in bioconversion of lignocellulose: biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress In Energy and Combustion Science*, 38(4): pp.522-550.

Meyers, S. P., and Moore, R. T. (1960). Thalassiomycetes II. New genera and species of Deuteromycetes. *American Journal of Botany*, 47(5): pp.345-349.

Mille-Lindblom, C., and Tranvik, L. J. (2003). Antagonism between bacteria and fungi on decomposing aquatic plant litter. *Microbial Ecology*, 45(2): pp.173-182.

Mohnen, D. (2002). Biosynthesis of pectins. *Pectins and Their Manipulation. Blackwell Publishing and CRC Press, Oxford*, pp.52-98.

Morio, F.,Horeau-Langlard, D., Gay-Andrieu, F., Talarmin, J. P., Haloun, A.,Treilhaud, M., and Pattier, S.(2010). Disseminated *Scedosporium/Pseudallescheria* infection after double-lung transplantation in patients with cystic fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(5): pp.1978-1982.

Moro, L. B., Delgado, G., and Schoenlein-Crusius, I. H. (2015). Polylobatispora setulosa, a new freshwater hyphomycete from Ilhabela, Sao Paulo state, Brazil. *Mycosphere*, 6: pp.13-18.

Mouhajir, A., Poirier, W., Angebault, C., Rahal, E., Bouabid, R., Bougnoux, M. E., and Giraud, S. (2020). *Scedosporium* species in soils from various biomes in Northwestern Morocco. *Plos one*, 15(2):pp.1-15.

Muhsin, T.M. (2012) . Aquatic fungi of Iraq: A review . *Marsh Bulletinm,* 7(1) : pp.39-47

Muhsin, T.M., and Abdulkadir, M. A. (1995) . Ecology of fungi associated with *phragmites australis* in Iraq . *Abhath Al-Yarmouk,* 4 : pp.31-50 .

Muhsin, T.M., and El-Habeeb, E.K. (1999). Aquatic fungi from Iraq: New records of Saprolegniaceae. *Journal Basrah Research*, 22: pp.77-86 .

Muhsin,T.M., and Khalaf,K.T.(2002).Fungal from submerged wood in aquatic habitats,southern Iraq. *Iraqi Journal of Biology* 2: pp.455-463.

Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., and Mohan, R. (2000). Advances in microbial amylases. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 31: pp.135-152.

Pang, K. L., Vrijmoed, L. L., Kong, R.Y., and Jones, E. G. (2003). *Lignincola* and *Nais*, polyphyletic genera of the Halosphaeriales (Ascomycota). *Mycological Progress*, 2(1): pp.29-36.

Peçanha, E. P., Fraga, C. A., Barreiro, E. J., Braga, M. F., Pereira, E. F., and Albuquerque, E. X. (2001). Synthesis and pharmacological evaluation of a new 2-azabicyclo [3.3. 0] octane derivative. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(3), 408-412.

Peng, T. Y., and Don, M. M. (2013). Antifungal activity of in-vitro grown *Earliella scabrosa*, a Malaysian fungus on selected wood-degrading fungi of rubberwood. *Journal of Physical Science*, 24(2): pp.21-33.

Pérez, J., Munoz-Dorado, J., De la Rubia, T. D. L. R., and Martinez, J. (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology*, 5(2): pp.53-63.

Phutela, U., Dhuna, V., Sandhu, S., and Chadha, B. S. (2005). Pectinase and polygalacturonase production by a thermophilic *Aspergillus fumigatus* isolated from decomposting orange peels. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36(1): pp.63-69.

Poças-Fonseca, M. J., Silva-Pereira, I., Rocha, B. B., and Azevedo, M. D. O. (2000). Substrate-dependent differential expression of Humicola grisea var. thermoidea cellobiohydrolase genes. *Canadian Journal of Microbiology*, 46(8): pp.749-752.

Prenafeta-Boldú, F. X., De Hoog, G. S., and Summerbell, R. C. (2019). Fungal communities in hydrocarbon degradation. *Microbial communities utilizing hydrocarbons and lipids: Members, metagenomics and ecophysiology, handbook of hydrocarbon and lipid microbiology, Springer,Cham*, pp.1-36.

Purahong, W., Wubet, T., Lentendu, G., Hoppe, B., Jariyavidyanont, K., Arnstadt, T., and Bauhus, J. (2018). Determinants of deadwood-inhabiting fungal communities in temperate forests: molecular evidence from a large scale deadwood decomposition experiment. *Frontiers in Microbiology*, 9(2120) :pp.1-13.

Purahong, W., Pietsch, K. A., Lentendu, G., Schöps, R., Bruelheide, H., Wirth, C., Buscot F., and Wubet, T. (2017). Characterization of unexplored dead wood mycobiome in highly diverse subtropical forests using culture-independent molecular technique. *Frontiers in Microbiology*, 8 (574): pp.1-17.

Quaedvlieg, W., Groenewald, J. Z., de Jesús Yáñez-Morales, M., and Crous, P. W. (2012). DNA barcoding of *Mycosphaerella* species of quarantine importance to Europe. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 29: pp.101-115.

Rabinovich, M. L., Melnik, M. S., and Bolobova, A. V. (2002). Dedicated to the memory of IV Berezin and RV Feniksova Microbial Cellulases - AReview. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 38(4): pp.305-322.

Raghukumar C.(2012). Biology Of Marine Fungi . Springer Heidelberg Dordrecht , London , New York. Pp.334.

Rahardjo, Y.S.P., Weber, F.J., Haemers, S., Tramper, J., and Rinzema, A. (2005). Aerial mycelia of *Aspergillus oryzae* accelerate _-amylase production in a model solid-state fermentation system. *Enzyme Microbial Technology*, 36(7): pp.900–902.

Ramirez-Garcia, A., Pellon, A., Rementeria, A., Buldain, I., Barreto-Bergter, E., Rollin-Pinheiro, R., and Vandeputte, P. (2018). *Scedosporium* and *Lomentospora*: an updated overview of underrated opportunists. *Medical Mycology*, 56(1):pp.102-125.

Rani, C., and Panneerselvam, A. (2009). Diversity of lignicolous marine fungi recorded from muthupet environs, East coast of India. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 4: pp.1-6.

Refai, M., Hassan, A., and Hamed, M. (2015). Monograph on the genus Fusarium. Cairo University, Giza, Egypt, pp.275.

Reid, G. K. (1961). Ecology of inland waters. *Reinhold Co. New York*, 357 pp.

Ridley, B. L., O'Neill, M. A., and Mohnen, D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57(6): pp.929-967.

Risna, R.A., and Suhirman . (2002). Ligninolytic enzyme production by *Polyporaceae* from Lombok, Indonesia. *Fungal Diversity*, 9: pp.123-134.

Rougeron, A., Giraud, S., Alastruey-Izquierdo, A., Cano-Lira, J., Rainer, J., Mouhajir, A., and Bouchara, J. P. (2018). Ecology of *Scedosporium* species: present knowledge and future research. *Mycopathologia*, 183(1): pp.185-200.

Roze, L. V. ; Beaudry, R. M., and Linz, J. E. (2012). Analysis of volatile compounds emitted by filamentous fungi using solid-phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometry. *In Fungal Secondary Metabolism* . Humana Press, Totowa, NJ.pp.133-142

Sambrook, H.C.(1989). Molecular cloning: a laboratory manual 2nd . Cold Spring Harbor, NY.

Samson, R. A., Varga, J., and Frisvad, J. C. (2011). *Taxonomic studies on the genus Aspergillus*. *CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre*, 69(1-17): pp.103

Samuels, G. J., Ismaiel, A., Mulaw, T. B., Szakacs, G., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P., and Jaklitsch, W. M. (2012). The Longibrachiatum clade of *Trichoderma*: a revision with new species. *Fungal Diversity*, 55:pp. 77-108.

Sánchez, C.(2009).Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27(2): pp.185-194.

Sanghvi, G. V., Koyani, R. D., and Rajput, K. S. (2011). Isolation, optimization, and partial purification of amylase from Chrysosporium asperatum by submerged fermentation. *Journal or Microbiology and Biotechnol*ogy, 21(5):pp. 470-476.

Sati S. C., and Pathak R . (2016) . Anamorph (asexual stage) teleomorph (sexual stage) Connections in aquatic hyphomycetes . *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 8(2): pp.128-135.

Schmidt, O. (2006). Wood and Tree Fungi: Biology, Damage, Protection, and Use . Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany,pp.334.

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S.,Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., and Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16): pp. 6241-6246.

Schwarze, F. W. (2007). Wood decay under the microscope. *Fungal Biology Reviews*, 21(4): pp.133-170.

Score, A. J., and Palfreyman, J. W. (1994). Biological control of the dry rot fungus *Serpula lacrymans* by *Trichoderma* species. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 33(2):pp.115-128**.**

Semenova, M. V., Grishutin, S. G., Gusakov, A. V., Okunev, O. N., and Sinitsyn, A. P. (2003). Isolation and properties of pectinases from the fungus *Aspergillus japonicus*. *Biochemistry (Moscow)*, 68(5): pp.559-569.

Shearer, C.A., and Crane, J.L. (1971). Fungi of the Chesapeake Bay and its tributaries. I. Patuxent River. *Mycologia*, 63(2):pp. 237-260.

Shearer, C. A. (1972). Fungi of the Chesapeake Bay and its tributaries. III. The distribution of wood-inhabiting ascomycetes and fungi imperfecti of the Patuxent River. *American Journal of Botany*, 59(9): pp.961-969.

Shearer, C.A.(1989). *Aniptodera* (Halosphaeriaceae) from wood in freshwater habitats. *Mycologia*, 81(1): pp.139-146.

Shearer, C. A., Descals, E. , Kohlmeyer, B., Kohlmeyer, J., Marvanová, L., Padgett, D., and Voglymayr, H. (2007). Fungal biodiversity in aquatic habitats. *Biodiversity and Conservation*, 16(1):pp. 49-67.

Shearer, C. A., Anderson, J. L., & Pringle, C. M. (2001). Is there a pantropical freshwater ascomycota?. Existe un ascomiceto pantropical de agua dulce?. In *Joint Meeting of the American Phytopathological Society, the Mycological Society of America, and the Society of Nematologists, Salt Lake City, UT, US*, August, 25-29, 2001, (Vol.91,No. 6, p. S123).

Shortle, W. C., and Dudzik, K. R. (2012). Wood decay in living and dead trees: A pictorial overview. General Technical Report NRS-97. Newtown Square, PA: United States Department of Agriculture, Forest Service, Northern Research Station, 97: pp.1-26.

Sigoillot, J. C., Berrin, J. G., Bey, M., Lesage-Meessen, L., Levasseur, A., Lomascolo, A., and Uzan-Boukhris, E. (2012). Fungal strategies for lignin degradation. *Advances in Botanical Research*, 61: pp. 263-308

Simeng, Z., Sacha, G., Isabelle, H. G. and Marie-Noëlle, R. (2015). A PCR-based method to quantify fungal growth during pretreatment of lignocellulosic biomass. *Journal of Microbiological Methods*, 115: pp.67-70.

Simmons, E. G. (2007). *Alternaria: An Identification Manual*. *CBS Biodiversity Series*. Vol. 6. Utrecht, The Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre.pp.775.

Singh, S. A., Ramakrishna, M., and Rao, A. A. (1999). Optimisation of downstream processing parameters for the recovery of pectinase from the fermented bran of *Aspergillus carbonarius*. *Process Biochemistry*, 35(3-4): pp.411-417.

Smily, J. B., Sivakami, R., Kishore, G. P., and Sumithra, P. (2014). Fungal Abundance and Diversity in Two Contrasting Fresh water Systems of Tiruchirappalli, Tamil Nadu, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(7): pp.817-828.

Sohail, M., Naseeb, S., Sherwani, S.K., Sultana, S., Aftab, S., Shahzad, S., Ahmad, A.,and Khan, S.A. (2009) . Distribution of hydrolytic enzymes among native fungi : *Aspergillus* the pre-dominant genus of hydrolase producer . *Pakistan Journal of Botany*, 41(5): pp.2567- 2582 .

Souza, P. M. D. (2010). Application of microbial α-amylase in industry-A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4):pp.850-861.

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: pp.242-263.

Sudarson, J., Ramalingam, S., Kishorekumar, P., and Venkatesan, K. (2014). Expeditious quantification of lignocellulolytic enzymes from indigenous wood rot and litter degrading fungi from tropical dry evergreen forests of Tamil Nadu. *Biotechnology research international*,2014: pp.1-6.

Supriya, C. and Neehar, D. (2014). Biodegradation of phenol by *Aspergillus niger*. *Journal of Pharmacy*, 4(7): pp.11-17.

Tsui, C. K., Hyde, K. D., and Hodgkiss, I. J. (2001). Longitudinal and temporal distribution of freshwater ascomycetes and dematiaceous hyphomycetes on submerged wood in the Lam Tsuen River, Hong Kong. *Journal of the North American Benthological Society*, 20(4): pp.533-549.

Uraiuj, C., Khanongnoch, C., and Lumyong, S. (2003). Ligninolytic enzymes from tropical endophytic *Xylariaceae*. *Fungal Diversity*,13: pp.209-219.

Vane, C. H., Drage, T. C., Snape, C. E., Stephenson, M. H., and Foster, C. (2005). Decay of cultivated apricot wood (Prunus armeniaca) by the ascomycete Hypocrea sulphurea, using solid state 13C NMR and off-line TMAH thermochemolysis with GC–MS. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55(3): pp.175-185.

Wang, L., Yan, W., Chen, J., Huang, F., and Gao, P. (2008). Function of the iron-binding chelator produced by Coriolus versicolor in lignin biodegradation. *Science in China Series C: Life Sciences*, 51(3): pp.214-221.

Wang, S., Lin, C., Liu, Y., Shen, Z., Jeyaseelan, J., and Qin, W. (2016). Characterization of a starch-hydrolyzing α-amylase produced by *Aspergillus niger* WLB42 mutated by ethyl methanesulfonate treatment. *International journal of Biochemistry and Molecular biology*, 7(1): pp.1-10.

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

Wei, Y., and Dai, Y. (2004). Ecological function of wood-inhabiting fungi in forest ecosystem. *The Journal of Applied Ecology*, 15(10):pp.1935-1938.

Weile, J., and Knabbe, C. (2009). Current applications and future trends of molecular diagnostics in clinical bacteriology. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 394(3): pp.731-742.

Wellinghausen, N., Wirths, B., Franz, A. R., Karolyi, L., Marre, R., and Reischl, U. (2004). Algorithm for the identification of bacterial pathogens in positive blood cultures by real-time LightCycler polymerase chain reaction (PCR) with sequence-specific

probes. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 48(4): pp.229-241.

Woese, C. R. (2002). On the evolution of cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(13): pp.8742-8747.

Wong M.K., Goh T.K., Hodgkiss I.J., Hyde K.D., Ranghoo V.M. , Tsui C.K., and Yuen T.K. (1998). Role of fungi in freshwater ecosystems. *Biodiversity & Conservation*, 7(9): pp.1187-1206.

Wong, D. W. (2009). Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 157(2): pp.174-209.

Wurzbacher, C. M., Bärlocher, F., and Grossart, H.-P. (2010). Fungiin lake ecosystems. *Aquatic Microbal Ecology,* 59: pp.125-149.

Yang, G., Zhou, B., Zhang, X., Zhang, Z., Wu, Y., Zhang, Y., and Teng, L. (2016). Effects of tomato root exudates on *Meloidogyne incognita*. *Plos one*, 11(4): pp.1-16.

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): pp.643–648.

Yuen, T. K., Hyde, K. D., and Hodgkiss, I. J. (2000). Soft rot decay in tropical freshwater fungi. Short note. *AGRIS*, 33(2):pp.155-161.

Zhao, G. Z., Cao, A. X., Zhang, T. Y., and Liu, X. Z. (2011). *Acrodictys* (Hyphomycetes) and related genera from China. *Mycological Progress*, 10(1):pp.67-83.

Appendix الملاحق

ملحق 1 : نتائج الكشف عن المركبات الكيميائية العضوية لعينات الفطريات المختبرة باستخدام تقنية الـ GC-MS

1- *A.horti*

Compound name	Area%	RT	Peak
Cyclotetrasiloxane	1.44	9.608	1
Silane	0.72	11.410	2
2,4-Di-tert-butylphenol	7.30	17.182	3
Diethyl Phthalate	0.61	18.132	4
Hexadecane	0.54	18.225	5
Benzenamine	0.60	19.612	6
Heptadecyl trifluoroacetate	0.91	20.339	7
Benzoic acid	3.54	20.399	8
Phenol	0.77	20.534	9
Cyclononasiloxane	0.41	20.781	10
Phthalic acid	0.34	21.074	11
Hexahydro-2H-pyrido(1,2-a)pyrazin-3(4H)-one	4.72	21.535	12
Hexadecanoic acid	2.29	21.675	13
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione , hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	6.63	21.744	14
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione , hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	1.91	21.824	15
Dibutyl phthalate	12.74	22.019	16
1-Docosanol	1.47	22.340	17
Eicosane	0.80	22.405	18
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester	6.10	23.276	19
9-Octadecenoic acid	33.42	23.388	20

cis-13-Octadecenoic acid , methyl ester	2.60	23.411	21
3-Azabicyclo[3.3.0]octane-2,4-dione	0.90	23.811	22
Tricosyl trifluoroacetate	0.67	24.170	23
Tetracosane	0.50	24.226	24
Oxiraneoctanoic acid	0.36	24.896	25
Oxiraneoctanoic acid	0.56	25.003	26
cis-11-Eicosenoic acid	0.77	25.082	27
Hexanedioic acid	1.13	25.860	28
Diethylene glycol dibenzoate	4.37	26.465	29
Phthalic acid	0.88	27.024	30

2 - *C. cucumerium*

Compound name	Area %	RT	Peak
Cyclotetrasiloxane	1.34	9.613	1
1-Methoxy-1-methyl-1-silacyclohexane	0.44	12.443	2
2,4-Di-tert-butylphenol	5.08	17.182	3
1,5-Dimethyl-bicyclo[3.2.0]heptane-6-carboxylic acid	0.25	17.960	4
Diethyl Phthalate	0.52	18.127	5
Hexadecane	0.45	18.220	6
Propionic acid	0.84	19.612	7
1-Octadecene	0.45	20.339	8
Benzoic acid	5.66	20.394	9
Phenol	1.69	20.539	10
Phenol	7.68	21.535	11
Hexadecanoic acid	1.52	21.670	12

Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	10.29	21.758	13
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	0.71	21.819	14
Dibutyl phthalate	13.30	22.014	15
Tetracosyl acetate	0.93	22.336	16
Eicosane	0.39	22.401	17
2-(1-Methylethyl)perimidine	0.74	22.568	18
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z), methyl ester	3.88	23.267	19
9-Octadecenoic acid	24.90	23.355	20
9-Octadecenoic acid (Z,Z), methyl ester	2.08	23.392	21
4-Azatricyclo[6.3.0.0(2,6)]undecane-3	2.14	23.797	22
Heptacosyl acetate	0.30	24.165	23
Oxiraneoctanoic acid	0.40	25.003	24
Heptadecanedioic acid	0.44	25.087	25
Naphthalene	3.25	25.352	26
Benzidine	0.25	25.660	27
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(phenylmethyl)-	0.60	25.739	28
Hexanedioic acid	0.26	25.855	29
4-[3-Ethoxypropylamino]benzo-1,2,3-triazine	0.67	26.395	30
Diethylene glycol dibenzoate	7.56	26.451	31
Simvastatin	0.50	26.949	32
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	0.47	27.024	33

3- *F.oxysporium*

Compound name	Area	RT	Peak
Cyclotetrasiloxane	3.34	9.608	1
Cyclopentasiloxane	0.72	12.364	2
2,4a-Oxymethano-1,2,3,4,4a,4b,5,6, 7,8,8a,9-dodecahydrophenanthren-9 one , 8- cyanomethyl 2- methoxy – 7- met hoxycarbony1-1,1,7-trimethyl-	0.51	15.883	3
Di-tert-butylphenol 2,4-	7.00	17.178	4
Pentafluoropropionic acid	0.56	18.132	5
Hexadecane	0.95	18.225	6
2,4- Di-tert-butylthiophenol	0.42	19.622	7
Octadecyl trifluoroacetate	1.02	20.339	8
Eicosane	2.49	20.413	9
Phenol	0.63	20.534	10
Phthalic acid	0.63	21.074	11
Diethyltrisulphide	4.59	21.521	12
Hexadecanoic acid	3.25	21.675	13
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl-(	4.15	21.717	14
Dibutyl phthalate	9.47	22.010	15
1- Docosanol	1.28	22.340	16
Eicosane	0.89	22.406	17
Norharmane	0.68	22.624	18
Octadecadienoic acid (Z-Z), methyl ester 9,12-	6.27	23.276	19

9-Octadecenoic acid	40.34	23.369	20
9-Octadecenoic acid (Z-Z), methyl ester	3.46	23.397	21
Docosyl pentafluoropropionate	0.63	24.170	22
Dotriacontane	0.63	24.226	23
Oxiraneoctanoic acid	0.41	24.896	24
Oxiraneoctanoic acid	0.68	25.003	25
Tetratetracontane	1.10	25.078	26
Hexanedioic acid	0.64	25.864	27
Silane	0.93	26.525	28
Phthalic acid	2.32	27.028	29

4- *G.candidia*

Compound name	Area%	RT	Peak
Cyclotetrasiloxane	1.00	9.603	1
Benzene	0.53	13.621	2
Benzeneethanol	29.67	16.279	3
2,4-Di-tert-butylphenol	2.88	17.182	4
Diethyl Phthalate	0.32	18.132	5
Ethanone	0.30	19.454	6
Benzenamine	0.49	19.612	7
Tryptophol	21.71	20.031	8
Benzocaine	3.35	20.399	9
Phenol	1.29	20.562	10
Hexahydro-2H-pyrido(1,2-a)pyrazin-3	5.03	21.549	11

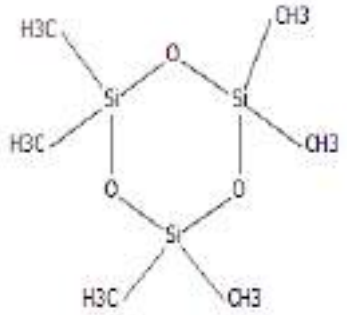
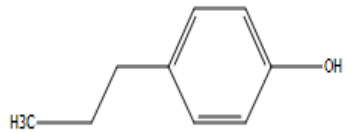
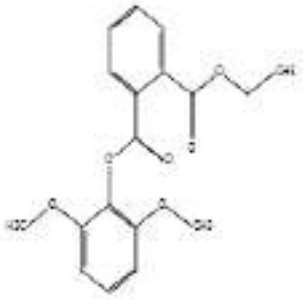
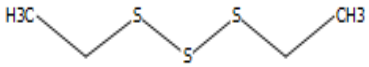
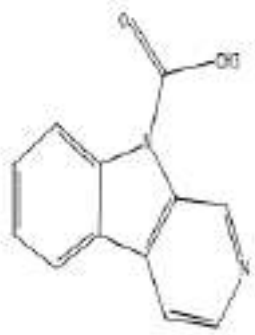
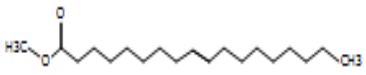
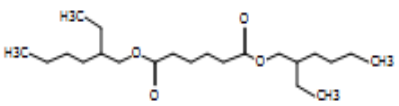
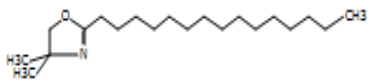
(4H) - one			
Hexadecanoic acid	0.68	21.670	12
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	6.44	21.763	13
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-(	0.47	21.828	14
Dibutyl phthalate	4.60	22.010	15
Tricosyl acetate	0.41	22.336	16
2-(1-Methylethyl)perimidine	0.73	22.568	17
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester	2.03	23.267	18
9-Octadecenoic acid	13.56	23.350	19
cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester	1.00	23.388	20
3-Azabicyclo[3.3.0]octane-2,4-dione	0.86	23.797	21
Diethylene glycol dibenzoate	2.64	26.470	22

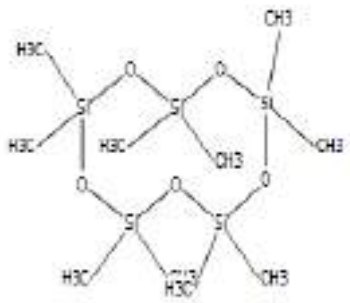
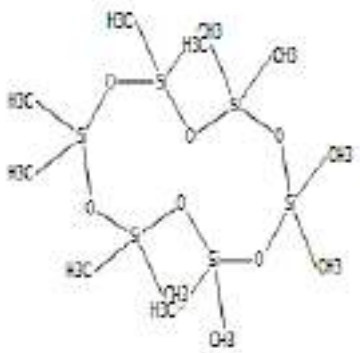
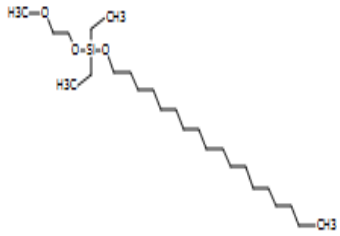
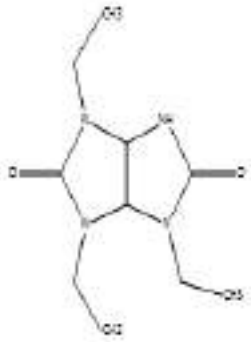
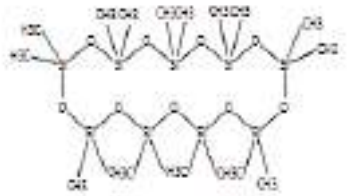
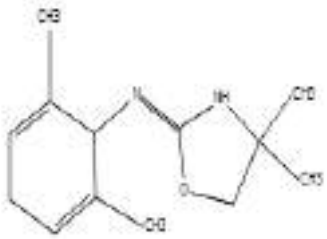
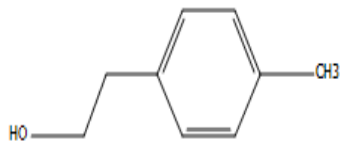
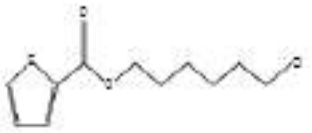
5- *S.prolificans*

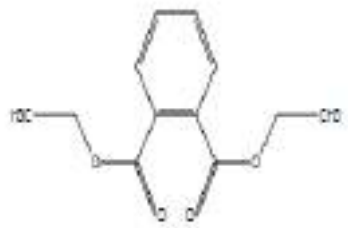
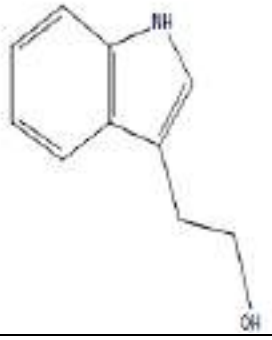
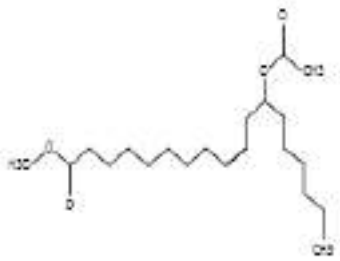
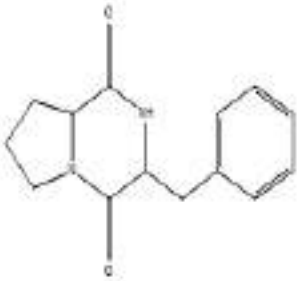
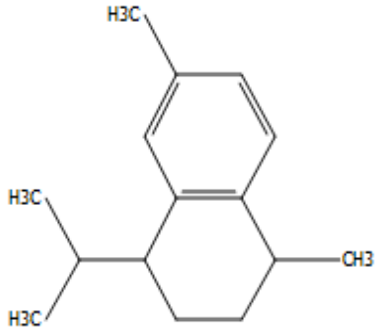
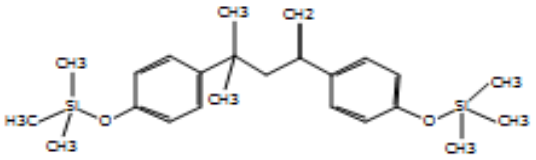
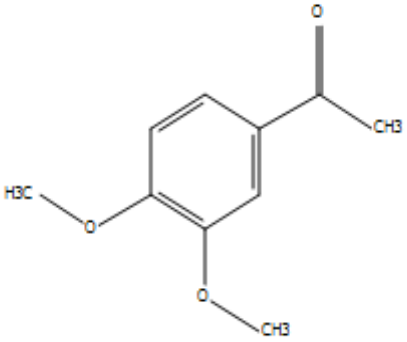
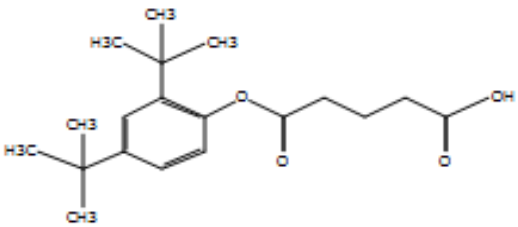
Compound name	Area%	RT	Peak
Cyclotetrasiloxane	9.61	9.580	1
Cyclopentasiloxane	1.89	12.364	2
Cyclohexasiloxane	0.56	14.883	3
N1,N1,N4 Tris(tertbutyldimethylsilyl)succinamide	0.92	15.883	4
Benzene ethanol	0.55	16.749	5
2,4-Di-tert-butylphenol	4.13	17.182	6

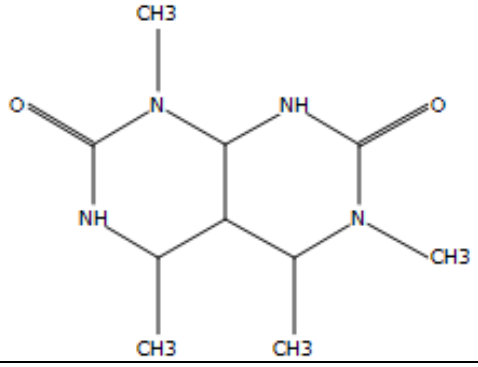
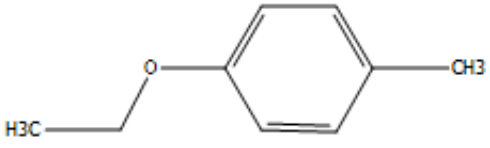
3-(Perfluoro-n-octyl)propenoxide	0.31	17.578	7
Heptadecyl trifluoroacetate	0.41	18.132	8
Hexadecanic acid	0.67	18.225	9
Benzenamine	0.85	19.617	10
Octadecyl trifluoroacetate	0.58	20.339	11
Benzoic acid	6.34	20.394	12
Phenol	0.97	20.529	13
Diethyltrisulphide	6.64	21.512	14
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)	11.71	21.707	15
Dibutyl phthalate	9.36	22.010	16
Heptacosyl acetate	0.77	22.340	17
Eicosane	0.51	22.401	18
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester	3.90	23.267	19
cis-13-Octadecenoic acid , methyl ester	29.85	23.341	20
cis-13-Octadecenoic acid , methyl ester	2.67	23.388	21
3-Azabicyclo[3.3.0]octane-2	1.75	23.797	22
n-Tetracosanol-1	0.34	24.170	23
Oxirane octanoic acid	0.47	25.008	24
Hexanedioic acid	0.92	25.864	25
Benzoic acid	2.90	26.507	26
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	0.42	27.028	27
4-Methyl-2,4-bis(p-hydroxyphenyl)pent-1-ene, 2TMS derivative	207	5.284	28

صور لبعض المركبات الكيميائية العضوية المشخصة اثناء الدراسة :

Cyclotetrasiloxane 	Phenol 
Phthalic acid 	Diethyltrisulphide 
Norharmane 	9-Octadecenoic acid, 12, methyl ester 
Hexanedioic acid 	Hexadecanoic acid 

Cyclopentasiloxane 	Cyclohexasiloxane 
Silane 	azabicyclo[3.3.0]octane-2,4-dione, 
Cyclononasiloxane 	Benzenamine 
Benzeneethanol 	Thiophenecarboxylic acid 

Diethyl Phthalate 	Tryptophol 
9-Octadecenoic acid 	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3 
Naphthalene 	4-Methyl-2,4-bis(p-hydroxyphenyl)pent-1-ene, 2TMS 
Ethanone 	2,4-Di-tert-butyphenol 

Pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,7(1H,3H)-dione, hexahydro-1,4,5,6-tetramethyl	Benzene
	

Sammars

The study was conducted in the laboratory of fungi \ collage of science\ university of misan during the survey of fungi that was isolated from plants litters in misan province , during September 2019 - February 2020 in aim to isolate and diagnose the saprophytic fungi on floating and submerged litters plant in aquatic environment , 47 sample collected from four sites in misan (Maymouna, Al-Salam, Mgr Al-kabeer and Amara) , 48 species of fungi diagnose on plant litters , Among them , 24 species belong to Ascomycota and six of which are sexual state 50% , 19 species to Hyphomycota 39.58 % , 3 to Zygomycota 8.33% and one of Oomycota 2.08 % and The study also showed that the number of fungi isolated in the mosit chamber is 34 species , while the number of fungi isolated in the direct Culture media is 27 types.

The study showed that the number of the isolated fungi was different according to the different fungal species and sample collectiog sites , showed the study the fungal *Aspergillus horti* , *Aspergillus terrrus* , *Aspergillus fumigatus* , *Pencillium chrysogenum* were isolated from all the sites , and the isolation of the fungus *Zopfiella latipes* from all study sites except the sites Al-Salam , while *Fusrium solani* appeared in three locations except Amara , the rates of Occurrence and frequency of fungal species differed between them, the highest Occurrence and frequency of *A.terrrus* was recorded at 42.55% and 11.76% (respectively), while the lowest recorded to numberous of the species, including *Aniptodera margiration* , *Aspergillus oryzae* and *Cirrenalia iberica* was 2.12% - 0.58% each (respectively).

Six species were recorded for the first time in Iraq these species are *A.margaration, C.iberica, Cordana lignicola, Cordana verruculosa, Pseudoacrodicty appendiculata* and *Scytalidium thermophilum* It has been meticulously described .

The study indicated that the aquatic environmental parameter that were measured in sites of collecting sample differed between the sites , The water temperature ranged between 20.1- 37.7 °C where the highest temperature was recorded in the September in Maymouna reached 37.7 °C While the lowest recorded in January in Amara was 20.1 °C , while the pH ranged between 7-8.43 that it tends to become a neutral to a weak base , the highest pH value was recorded in January in Amara site it reached 8.43, while the lowest value was recorded in the September in the Mgr Al-kabeer site was 7 . The results of measuring salinity in all locations showed that it is brackish water as it ranged between 0.5- 1.9 Mg/l , the highest salinity rate was recorded in September in

the Al-Salam site 1.9 Mg/l , while the lowest value recorded in Amara was 0.5 Mg/l in The September.

The result showed that there is a variation in the ability of the tested fungi to the secretion of extracellular enzymes. eleven species of the isolation fungi were selected during the study by measuring for Cellulase enzyme, Amylase enzyme, Phenol oxidase enzyme, and Pectinase enzyme types pectate lyase (pH7) , polygalacturonase (pH5) , the result showed all the species of fungi were able to secrete the enzyme cellulase and amylase while there was a variation in secreted to the enzyme phenol oxidase, and pactinase. The results showed that there are three species that gave a positive examination of all the studied enzymes, namely *A.niger*, *A.horti* and *Rhizopus oryzae* , While *Mucor pseudolamprosporum* and *Fusarium oxysporum* activity enzymatic all studied enzymes except Phenol oxidase . *Scedosporium prolificans* did not give positive detection of Pectate lyase, and *P.chrysogenum*, *Cladosporium cucumerium* and *Arthrobotrys dianchiensis* showed activity only for cellulase and amylase.

During the molecular study, the DNA was extracted for six species of fungi isolated from the submerged plant litters in water , Amplify the genetic tape using region ITS1 and ITS4 and the beams appeared at 450-600bp ,the analyzed of sequences of the nitrogenous bases of the genetic material of the fungal species and compared with the isolates in the gene bank (NCBI), and the genetic tree of the amino acid sequences isolated species worked using the MEGA program.

The study showed that wood-analyzing fungi have many chemical compounds , and showed that the fungi filtrates of all tested fungi *F.oxysporum*, *Geotrichum candidia*, *A. horti*, *C.cucumerium* and *S.prolificans* have the ability to produce chemical compounds and found there are seven compounds diagnosed in all studied fungi Cyclotetrasiloxane **,** 2,4-Di-tert-butylphenol **,** Phenol **,** Hexadecanoic acid **,** Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione,hexahydro-3-(2-methylpropyl) **,** Dibutylphthalat **,** 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester .

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

Isolation and diagnosis of fungi from submerged plant litters in aquatic environment of some areas of misan 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

Zainab Jumhia Abid Al-nabi

B.Sc. Biology

Supervised by
Prof. Dr. Ali A. Kasim

October 2020A.D **Rabi al-awwal 1441A.H**