Fungal spores

تمثل السبورات الوحدة الرئيسية في دورات حياة الفطريات حيث ان كل دورة حياة تبدا بالسبور وتنتهي بتكوين السبور؛ كما ان السبورات تعتبر ايضا الوحدات المسؤولة عن الانتشار وتُنتج في كلا الطورين الجنسي واللاجنسي.

❖ Spore characteristics (features) صفات السبور الفطري

1. Spore with thick wall in many layers.
2. Spore contains a dense cytoplasm.
3. Spore contains storage substances.
4. Spore contains low water.
5. Spore has different shapes, sizes, and color.

تتميز سبورات بعض الفطريات بقدرتها على الانبات مباشرة بعد انفصالها من الخلية الام في حين ان سبورات انواع اخرى تدخل في فترة من السكون (سباة dormancy) قبل ان يحدث بها الانبات. لذلك فان ظاهرتي الانبات germination والسباة dormancy هما ظاهرتان مرتبطتان ببعضهما البعض وقد اجريت دراسات عديدة للبحث عن الآلية التي تسبب دخول السبورات في فترة السباة اضافة الى تلك الآليات التي تنشط السبور وتجعله قادرا على الانبات.

❖ Dormancy

هي فترة الراحة (طور التشتية) في دورة حياة الفطر التي يحدث فيها اعاقة التطور المظهري للكائن الحي. بعض السبورات تفشل في الانبات بسبب الظروف البيئية غير الملائمة ويحدث الانبات حال توفر الظروف الملائمة ويطلق على سباتها مصطلح Exogenously dormant ; على العكس من السبورات التي لا تنبت حتى عند توفر الظروف الملائمة التي يطلق على فترة سباتها بـ Endogenously dormant حيث ان السبورات في هذه الحالة تحتاج الى فترة من النضج او معالجات خاصة specific treatments لتنشيطها والبدء بعملية الانبات.

Exogenous dormancy

بصورة عامة ان السبورات الفطرية لا تنبت في الظروف البيئية غير الملائمة من درجة حرارة, رطوبة, اوكسجين, دالة حامضية. وهناك اختلاف كبير بين الانواع الفطرية المختلفة في متطلبات انباتها البيئية كما ان بعض الفطريات تحتاج الى بعض المتطلبات الخاصة لانباتها:

- *Aspegillus nidulans* يزداد معدل انبات سبوراته بزيادة مستويات CO_2
- *A. niger* يتحفز الانبات بزيادة شدة الإضاءة باللونين الابيض او الازرق
- *Trichophyton ajelloi* الضوء و CO_2 يثبطان الانبات
- *Rhizopus stolonifer* يتنشط آيضيا ويتحفز على الإنبات عند تعرضه للماء ولو لفترة قصيرة.

بعض السبورات الفطرية تكون فترة سباتها من نوع Exogenous dormancy كونها تحتاج لمتطلبات غذائية متعددة للإنبات:

- *Penicillium griseofulvum* يحتاج لوجود سكر الكلوكوز لبدء الإنبات
- *Pythium hydnosporum* ينبت في الماء المقطر لكن اضافة المغذيات له تزيد من نسبة الإنبات

تعاني سبورات بعض الفطريات سباة Exo بسبب وجود مثبطات في البيئة وعادة ما تكون هذه المثبطات ذات مصدر نباتي كعوامل مقاومة لمنع سبورات الفطريات الممرضة للنبات من الإنبات مثل هذه المواد:
المركبات الفينولية phenolic compounds ومشتقات حامض السينامك الهيدروكسية hydroxylated cinnamic acid derivatives و phytoalexins الذي ينتجه النبات كرد فعل للإصابة.
كما ان التثبيط قد يحدث للسبورات الفطرية بسبب وجود مثبطات بيئية اخرى لا ينتجها المضيف يطلق عليها fungistasis هذه المثبطات نجدها في حالة وجود الفطريات مع البكتريا في نفس البيئة حيث تقوم البكتريا بمنافسة الفطريات على الغذاء او قد تتغذى على الفطريات اثناء فترة الجفاف او قد تفرز مواد تثبط الفطريات مباشرة بتثبيط الإنبات او بشكل غير مباشر من خلال تاثيرها على الحصول على المغذيات والآيض.

Endogenous dormancy

لا يحدث انبات للسبورات في هذا النوع من السباة بسبب عوامل داخلية وليست خارجية وهناك ثلاث آليات تم اقتراحها لتوضيح هذا النوع من السبات

1. Permeability phenomena
2. The presence of self-inhibitors
3. Metabolic impairment

1. Permeability

لوحظ ان بعض المواد الكيماوية المختلفة التي تغير من نفاذية الغشاء البلازمي وقد تحفز السبورات على الانبات ايضا وجد ان بعض الانواع الفطرية تسبت بسبب عدم دخول المغذيات , الماء والاوكسجين او المتطلبات الاخرى للإنبات الى داخل الخلية . على سبيل المثال معالجة سبورات الصدأ اليوريدية rust uredospores بـ nonyl alcohol يزيد من الإنبات ويزيد ايضا من تسرب محتويات السبور الى الوسط.
Dimethylsulfoxide (DMSO) ايضا يؤثر على نفاذية الغشاء ويحفز على إنبات سبورات فطر *Lycogola epidendrum* كما انه يسبب الإنتفاخ swelling لسبورات الفطر *Dictyostelium discoideum*
سبورات الفطر *Dictyostelium discoideum* لوحظ انها تتحفز على الإنبات عند حضنها لمدة خمسة دقائق بدرجة حرارة ٤٠°م حيث وجد ايضا ان التنشيط بالحرارة قد يسبب تغيرات بنفاذية الغشاء حيث ان السبورات تبدأ بالانتفاخ بعد فترة حضن تتراوح ٦٠-٧٥ دقيقة كما يحدث عند تعريض السبورات للـ DMSO .

2. Self –inhibitors

اظهرت التجارب ان السبورات المتجمعة accumulating spores لبعض الفطريات التي تمتلك مركبات تثبط إنباتها

- ✓ التركيز العالي للسبورات يؤدي الى إنبات اقل مما هو عليه في التراكيز الواطئة
- ✓ غسل السبورات ذات التركيز العالي يحفز على إنباتها
- ✓ بعض المستخلصات المائية تثبط الإنبات
- ✓ عادة ما يكون هذا النوع من التثبيط سريع وبسيط الالغاء

بينت الدراسات التي اجريت على سبورات الصدأ اليوريدية ان العديد من مثبطاتها الذاتية تعود الى مشتقات حامض السينامك حيث ان هذه المركبات تكون ذات تاثير مثبط حتى عند تركيز 10^{-9} و 10^{-10}.

تفسير هذا التثبيط هو ان السبورات اليوريدية عادة ما تقوم بتحلل مكان محدد من الجدار لتكوين فتحة ينشأ منها انبوب الانبات حيث تقوم هذه المركبات بمنع تكون هذه الفتحة التي ينشا منها ابوب الإنبات وبالتالي يتم ثبيط الإنبات.

3. Metabolic impairment

بعض السبورات التي يكون سباتها من نوع .endo تفشل بالإنبات بسبب وجود حواجز او عوائق آيضية غير مرتبطة بالمثبطات الذاتية او ظاهرة النفاذية. فقد لا يحدث الإنبات بسبب مفتاح من الانزيمات المرتبطة بالمسارات الآيضية للتنفس وغيرها من العمليات الآيضية التي لا تعمل بشكل طبيعي او بسبب إعاقة تصنيع الحامض النووي RNA والبروتينات على سبيل المثال: الانزيم المسؤول عن تكسير سكر التريهالوز في الفطر *Phycomyces blakesleeanus* يزداد ١٠ الى ١٥ ضعف عند تنشيط السبورات بالحرارة لذلك فان تنشيط الانزيم يرتبط بشكل عام مع تنشيط السبور.

❖ Activation

السبورات الفطرية التي يكون سباتها من نوع Endogenous يجب ان تتنشط بطريقة ما قبل ان يحدث الإنبات والطرق التي يتم فيها تنشيط السبورات مختلفة وعادة ما تحتاج الى مجموعة من المعاملات :

1. Temperature

تستخدم المعاملة بالحرارة عادة لتنشيط العديد من الانواع الفطرية وعادة ما تكون الحرارة اللازمة للتنشيط تتراوح ٤٠-٧٥° م ولفترات مختلفة تتراوح من دقائق معدودة لعدة ساعات.

سبورات الفطر*Phycomyces blakesleeanus* تتنشط عند تعرضها للحرارة ٥٠°م لمدة ثلاث دقائق واوضحت الدراسات ان آلية التنشيط بالحرارة لهذا النوع تتم بشكل اولى من خلال التغيير بالتركيب الجزئي للبروتين اكثر مما يسبب انحراف في تركيب الغشاء. وإضافة للحرارة فان المكونات الغذائية للفطر *Phycomyces blakesleeanus* تؤثر على تنشيط سبوراته حيث لوحظ ان تعريض سبوراته للحرارة بدرجة ٤٤ م لمدة ثلاث دقائق ينتج عنها إنبات كامل تقريبا إذا نقلت السبورات بسرعة الى وسط زرعي حاوي على كلوكوز- اسبارجنين- فوسفات ,

في حين يحدث تناقص بالتنشيط rapid deactivation اذا نقلت السبورات الى الماء. هذا التناقص بالنشاط سببه تناقص تصنيع RNA والبروتينات فضلا عن تناقص معدلات التنفس مما يشير الى اهمية مصادر الكربون لبدء عملية الإنبات.

2. Chemicals

استخدمت العديد من المركبات الكيمياوية لتنشيط السبورات الفطرية واغلب هذه المركبات تكون بروتينات دهنية ثنائية الطبقة lipoprotein bilayers لذلك فان آلية عملها mode of action تسبب زيادة بنفاذية الغشاء البلازمي. حيث لوحظ ان بعض الفطريات تفرز مواد تنشط سبورات لانواع فطرية اخرى على سبيل المثال المزارع الفطرية للفطر *Ceratocystis fagacearum* يحرر كحولات والديهايدات طيارة تنشط سبورات انواع عديدة للفطر *Lactarius*.

3. Aging

العديد من السبورات endogenously dormant قد لا تستجيب لمعاملات التنشيط حتى تمر بفترة زمنية محددة. مثل هذه السبورات قد لا تكون ناضجة بشكل كافي حتى تكون قادرة على ان تتنشط ويطلق على هذه الظاهرة after-ripening التي تعرف على انها جزء من فترة السباة يحدث خلالها بعض التغييرات التي تؤدي الى الإنبات والتي تعتبر نوع من التطور التكيفي evolutionary adaptation لضمان اكتمال نضج السبور قبل بدء الإنبات , حيث بينت التجارب ان معالجة السبورات الحرشفية chlamydospores للفطر *Protomcopsis* بالحامض الو القاعدة يؤثر على تحفيز الإنبات فقط بعد مرور السبورات بفترة نضج تتراوح من خمسة الى ستة اشهر وبدون هذه الفترة فان التنشيط لا يسبب الإنبات .

4. Multiple activation treatments

تحتاج بعض انواع السبورات الفطرية التعرض لمعاملات مختلفة للتنشيط مثل التعرض المتناوب للرطوبة والجفاف او التعرض المتناوب للدرجات الحرارية المرتفعة والمنخفضة, حيث بينت التجارب ان تعرض السبورات البازيدية للفطر *Coprinus radiatus* لدرجة حرارة ٤٥م ولمدة ٤ ساعات ينتج عنه نسبة انبات ٢٣% في حين معاملة السبورات بالمواد الكيمياوية ينتج نسبة انبات ٣% بينما التحفيز بالحرارة والكيمياويات معا يعطي انبات بنسبة ٨٨%.

❖ Germination

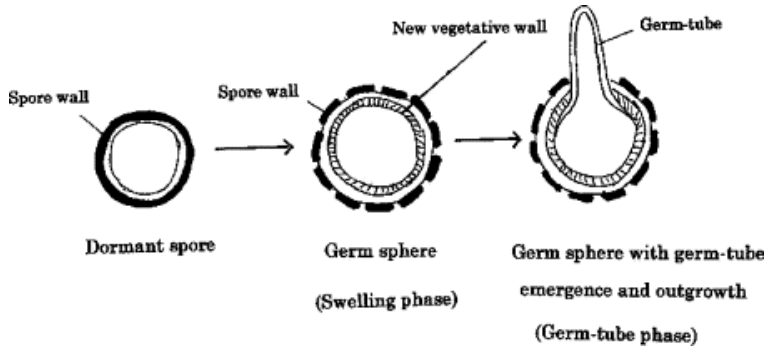
يحدث الإنبات عند توفر الظروف التي تنهي فترة السباة للسبورات ويمكن تقسيم الإنبات الى مرحلتين:

١. الفترة التي يتم فيها زيادة حجم السبور ويطلق عليها swelling phase
٢. يتبعها فترة انبثاق انبوب الإنبات

خلال المرحلة الاولى تعاني سبورات اغلب الفطريات بزيادة في قطرها من ضعفين الى ثلاثة اضعاف وهذه الزيادة تعود الى كل من التثبيط والتصنيع الذي يحدث للمواد الخلوية.

يمكن ملاحظة الانبات للفطر *Mucor rouxii* حيث ان سبورات هذا الفطر المسبتة تعاني زيادة عشوائية بقطرها لاربعة اضعاف خلال فترة ٦ ساعات كما ان القطع المتبقية من جدار السبور الاصلي تبدء تغطي الجدار الجديد الناتج من النمو الكروي, بعدها يبدء انبوب الانبات بالانبثاق والتمدد من الجدار الجديد.

هناك العديد من التغيرات الخلوية التي لوحظت عند انتفاخ السبورات الفطرية وتكوين انبوب الانبات تتضمن: اختفاء للاجسام الدهنية مع زيادة واتساع في الشبكة الاندوبلازمية وزيادة بحجم وعدد المايتوكوندريا والنواة وزيادة في عدد الرايبوسومات, اضافة الى تجمع الحويصلات الصغيرة في احدى جهات السبور وفي قمة او طرف انبوب الانبات. هذه الحويصلات مشابهة للحويصلات المتكونة عند نمو الجدار والمحتوية على الانزيمات الضرورية لتحليل الجدار اضافة للوحدات البنائية المهمة لبناء الجدار الجديد. احدى النظريات التي تفسر هذه الظاهرة تبين ان السبور يصبح قطبي نتيجة لتجمع الحويصلات في متطقة الجدار التي ينبثق منها انبوب الانبات



Stages of spongiospore germination in *Mucor rouxii*