مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (16) العدد (1) – (2016)
ISSN-1813-1646

انتاج العزلات النقية لبعض سلالات الفطر الزراعي *Agaricus bisporus* باستعمال تقانة الزراعة النسيجية

مصطفى رشيد مجيد القيسي
قسم البستنة وهندسة الحدائق/كلية الزراعة/جامعة تكريت

الخلاصــة

الكلمات المفتاحية:
العزلات النقية، الفطر الزراعي، زراعة الانسجة.

للمراسلة :
مصطفى رشيد مجيد القيسي
قسم البستنة وهندسة الحدائق ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، **العراق** .

هدف هذا البحث الى اختبار كفاءة بعض سلالات الفطر الزراعي *Agaricus bisporus* والأوساط الزرعي والتقانات المختبرية في انتاج العزلات النقية من خلال تطبيق تقانة الزراعة النسيجية. السلالات التي أدخلت هي X25 وX20 وB62 مع أربعة اوساط زرعية ذات مصادر كاربون مختلفة ما بين المعقدة الى البسيطة وهي PDA وMalt extract و Czapek-Agar%20 Sucrose وCzapek-Agar%20 Glucose. وكان معيار الكفاءة للسلالة والوسط نسبة نجاح تكوين الغزل الفطري من قطعة النسيج للجسم الثمري وسرعة تكوينه وذلك للحد من زيادة نسبة التلف الناتجة من الإصابات الفطرية والبكتيرية والموت الذاتي للنسيج، وقد طبقت إجراءات اضافية لغرض تقليل حدوث الإصابات من خلال تعقيم الجسم الثمري ككل باللهب واضافة المضاد البكتيري الى الأوساط الزرعية. وقد وجد تفوق السلالة X25 وX20 بعد 10 ايام من بدأ الزراعة في زيادة نسبة نجاح الزراعة النسيجية الى 75% و45.83% بالتتابع على السلالة B62 33.33% وتفوق الوسطين Czapek-Agar%20 Glucose وCzapek-Agar%20 Sucrose بنسبة 46.67% لكل منهما على الوسيطن Malt extract وPDA والتي بلغت نسبتهما 13.33% و5% بالتتابع في مؤشر سرعة تكوين الغزل الفطري.

Production of Pure Isolates For Some Strains of Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus* by Using Technology of Tissue Culture

Mustafa Rashid Majeed Alkaisi
Dept. Horticulture & Landscape Design/Agriculture Faculty/Tikrit University

ABSTRACT

Key words:
pure isolates, cultivated mushroom, tissue culture

Correspondence:
Mustafa R.M. Alkaisi
Dept. Horticulture & Landscape Design/Agriculture Faculty/Tikrit University/ **IRAQ**.

The aim of this research is to test the efficiency of some strains of *Agaricus bisporus*, media and laboratory technologies in the production of pure isolates Through the application of technology of tissue culture. The strains which enter that's X25, X20 and B62 with four kind of media have different carbon sources between complex to simple they PDA, Malt extract, Czapek-Agar%20 Sucrose, Czapek-Agar%20 Glucose. And it was the standard of efficiency for strains and media the percent of mycelium initiation successful from tissue of fruit body and speed of mycelium initiation For their confine of increase the damage percent which produce from fungal and bacterial infections death of the self-tissue, It has been applied additional procedure For the purpose of reduce the occurrence of infections through sterilization of the fruit body as a whole by a flame and the addition of anti-bacterial to the media. It has been found Superiority the X25 and X20 strains after 10 days of culture began to increase the success rate of tissue culture to 75% and 45.83% sequentially on B62 strain 33.33% and the superiority the two media Czapek-Agar% 20 Glucose and Czapek-Agar% 20 Sucrose to 46.67% on each Malt extract and PDA, which rated to 13.33% and 5% sequentially in the indicator of mycelium initiation speed.

المقدمة:

صنفت الفطريات التي تكون الاجسام الثمرية والتي يشار اليها عادة بكلمة (mushroom) الى شعبتين (phyla) هما Ascomycota و Basidiomycota وعليه فان التصنيف العلمي الحديث للفطر *Agaricus bisporus* يتبع شعبة الفطريات البازيدية ضمن صف Agaricomycetes ورتبة Agaricales وعائلة Agaricaceae (**Kirk واخرون، 2008؛Kendrick، 2000؛ Binder واخرون 2005؛ Hibbett واخرون، 2007**) وبالرغم من انتماء الفطريات الزراعية الى مملكة الفطريات فهي تتداول بشكل شائع كمنتج من محاصيل الخضر في كثير من أنحاء العالم حيث يمتلك النكهة الرائعة والمتميزة (**Hegde واخرون، 2002**) وأصبح الفطر الزراعي من المحاصيل البستانية المهمة وأحد مصادر الدخل القومي لبعض الدول وتعد مخلفات زراعة الفطر الزراعي مادة عضوية عالية الخواص الفيزيائية والكيميائية لذلك استعملت كمخصب عضوي ذا قيمة مرتفعة (**رضوان، 2002 ؛ PAAF؛2004**). وقد احتل هذا الفطر المرتبة الأولى من الإنتاج العالمي لشعبيته الاستهلاكية العالية والذي تنتجة المزارع الصغيرة والمتوسطة والكبيرة على مدار السنة مع تطور التكنولوجيا وتوفر المخلفات الزراعية (**Kariaga،2005**). وتتلخص عملية زراعة هذا الفطر وانتاجة بأربعة مراحل لكل منها ظروفها البيئية والتقنية الخاصة بها، وهي مرحلة تحضير الوسط Composting واضافة اللقاح الفطري Spawning واضافة طبقة التغطية Casing Layer ومرحلة الإنتاج والجني Cropping and Harvesting، لذا تعتبر مرحلة إضافة اللقاح الفطري من محددات الإنتاج والذي يجب يمتلك القاح الفطري Spawn فيها المواصفات الجيدة وهي خلوه من الملوثات من باقي الفطريات المنافسة والبكتريا فضلا عن تحديد عدد الأجيال subculture بمراحل محددة التي تجرى لغرض تنمية واكثار اللقاح الفطري لان الاستمرار بعملية subculture يؤدي الى تدهور السلالة والذي قد يعود الى حدوث تغاير وراثي لـDNA المايتوكندريا والذي يستمر الى الأجيال الجديدة دون عملية اصلاح له على عكس ما يحدث في DNA النواة التي تقاوم عملية التغاير باجراء اصلاح الـDNA وهذا مايفسر عدم ثبوت بعض الطفرات الى الأجيال الأخرى (**القيسي، 2015؛ شريف،2012a؛ Kariaga،2005؛ Calvo-Bado واخرون، 2000**). وان انتاج العزلة النقية والتي تدعى cloning بالمفهوم المايكروبايولوجي هي العزلة النامية بمفردها في الوسط الزرعي من دون وجود نموات ميكروبية أخرى ملوثة وهناك العديد من الطرق التي يمكن عزل الفطريات من المصادر ومنها النقل المباشر مثل نقل الابواغ او قطعة من النسيج الثمري كما في الفطريات اللحمية(**شريف،2012b**). وقد وجد ان للأوساط الزرعية الخاصة بتنمية الفطريات (mycological nutrient agar) دور في الحصول على زراعة نقية (pure culture) من البوغ مفرد (single spore) او خليط من الابواغ (multispore) او انسجة الاجسام الثمرية من ساق او قبعة، ويفضل ان تكون الانسجة المأخوذة من الاجسام الثمري الحديثة من منطقة القبعة والجزء العلوي من الساق بسبب سرعة استطالة الخلايا في هذه المناطق وهي طريقة ملائمة لاكثار الفطريات من نوع heterothallic و homothallic وذلك لانها لاتحدث تغايرات وراثية وذلك بسبب طبيعة تكوينها من خلايا جسمية والتي لاتمر بمرحلة الانعزالات، لذا فان تكثير سلالة عن طريق الزراعة النسيجية تحمل صفات انتاجية عالية فستبقى هذه الصفة في العزلة التي تم انتاجها بهذه الطريقة (**Chang و Miles ، 2004؛ Stamets، 2000**).

يعتبر هذا الفطر من الأحياء ذات التغذية المتباينة Heterotrophic Organisms وذلك لعدم قابليته على تصنيع المركبات العضوية من ثنائي أوكسيد الكاربون الموجود في الجو لذا فان طبيعة معيشته رمية Saprophytic على المواد العضوية الميتة والمتحللة (**Chang و Miles ، 2004؛ Thomas واخرون،1993**). والتي يستمد الكاربون العضوي منها من خلال انتشار الغزل الفطري وافرازه للانزيمات المختلفة خلال دورة حياته التي تعمل على تجزئة السكريات المعقدة والمتعددة مثل السليلوز واللكنين الى سكريات بسيطة او أحادية ذائبة، وقد استدل على ذلك انخفاض نسبة السكريات المتعددة في الوسط النامي علية اثناء انتشاره ومرحلة تكوين الاجسام الثمرية(**Patyshakuliyeva واخرون، 2013**). وتستطيع الفطريات امتصاص السكريات البسيطة والاحماض الامينية مباشرة من الوسط كمصدر للكاربون وتكون الية انتقالها عن طريق الامتصاص ازموزيا Osmotrophic لذا يجب ان يكون مصدر الكاربون عضويا لكي يستفاد منه الفطر في التغذية (**شريف، 2012c**). وان من

الأوساط الزرعية التي تستعمل في عزل وتنمية واكثار الكتلة الحيوية لهذا الفطر وباقي الفطريات متعددة من الطبيعية التي لايضاف اليها أي عناصر او مركبات كيميائية صناعية كأوساط طحين الحنطة وباقي الحبوب والبقوليات والخضروات كالجزر واخرى شبه طبيعية يضاف اليها مركب كيميائي واحد او اكثر مثل PDA اواوساط تركيبية يدخل فيها مركبات كيميائية صناعية فقط مثل وسط Czapek، وقد اثبتت الدراسات ان افضل مصدر من مصادر الكاربون هي السكريات البسيطة والأحادية مثل الكلوكوز والفركتوز (**Lishma وDas ، 2015**).

المواد وطرائق العمل:

اجريت الدراسة في مختبر مزرعة الفطر–كلية الزراعة جامعة تكريت بتاريخ 2014/4/1. تم فيها اختبار ثلاث سلالات من الفطر الزراعي *Agaricus bisporus* وهي X25 وX20 وB62 (هولندية المنشأ) وأربعة أنواع من الأوساط الزرعية هي Potato dextrose agar (PDA) و Malt extract agar وCzapek-Agar%20 Sucrose و Czapek-Agar%20 Glucose في زيادة نسبة نجاح زراعة الأجزاء النسيجية المأخوذة من الجسم الثمري وبثلاثة احجام مختلفة.

تحضير الوسط الزرعي:

حضرت الأوساط الزرعية الصلبة PDA وMalt extract حسب ما مذكور من تعليمات من قبل الشركة المنتجة (Himedia) اما وسطي Czapek-Agar للسكروز والكلوكوز فكانت 200غم/لتر سكر وAgar 15غم/لتر الاملاح المضافة حسب الكميات التالية $NaNO_3$ 3.0غم/لتر، K_2HPO_4 1.0غم/لتر، KCl 0.5 غم/لتر، $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 غم/لتر، $FeSO_4.7H_2O$ 0.01 غم/لتر حسب جاءه في **Atlas (2010)**.

أدخلت الاوساط بعد تحضيرها في الدوارق الحجمية الى جهاز Autoclave على درجة حرارة 121 م^o وضغط 15 psi لمدة 30 دقيقة. تركت لتبرد تدريجيا وقبل ان يتم صبها في اطباق بتري يتم إضافة المضاد البكتيري (**ampicillin-cloxacillin**) بمقدار 250ملغرام/لتر.

تحضير القطعة النسيجية وزراعتها:

اختيرت الاجسام الثمرية السليمة من رفوف قاعات الانتاج ووضعت في علب ثم تم نقلها الى المختبر ازيلت أي اثار عليها من شوائب وقبل ان تقطع الى نصفين حملت بملقط معقم ورش عليها كحول اثيلي تركيز 97% ثم وضعت بالقرب من اللهب ليشتعل ما موجود من كحول على سطح الجسم الثمري لمدة ثواني ثم يتم اطفائها بحركة سريعة. قطع الجسم الثمري بشفر معقمة الى نصفين ثم اخذت قطع بواسطة اللملقط بعد تعقيمة على اللهب بأحجام مختلفة صنفت الى الى ثلاثة انواع صغيرة ومتوسطة وكبيرة والتي كانت بحدود 0.25 و0.5 و 0.75 سم^2 بالتتابع من منطقة اتصال الساق بالجسم الثمري وضعت قطعت النسيج في وسط طبق بتري الحاوي على الوسط الزرعي حضنت الاطباق جميعها في الحاضنة على درجة حرارة 26 م^o في الظلام.

جدول B. صفات الاجسام الثمرية التابعة لكل سلالة

اسم السلالة	حجم الجسم الثمرية	طبيعة انسجة الجسم الثمري	سرعة تفتح الجسم الثمري
X25	كبير	متماسك	بطيء
X20	متوسط	اقل تماسك	متوسط
B62	صغير	ضعيف	سريع

مؤشرات الدراسة المقاسة:

- حساب النسبة المئوية لنجاح نمو الزراعة النسيجية لانتاج العزلات وتم حسابها من خلال تحديد عدد القطع النسيجية الناجحة التي كونت غزل فطري

نسبة نجاح الزراعة النسيجية= عدد القطع النسيجية النامية/ عدد القطع النسيجية الكلية× 100

ISSN-1813-1646

- حساب سرعة تكوين خيوط الغزل الفطري لقطع النسيج المزروعة وقد حسب عند اول ظهور للغزل الفطري حول قطع النسيج المزروعة خلال مدة زمنية محددة

  سرعة تكوين خيوط الغزل= عدد قطعة النسيج التي كونت غزل فطري/عدد الأيام من بدأ الزراعة×100

- تحديد النسبة المئوية للاصابة البكتيرية والفطرية تم تشخيصها مظهريا وقد حددت الإصابة عند حدوثها على قطعة النسيج المزروعة في الطبق وحسب المعادلة التالية

  نسبة الإصابة الفطرية = عدد القطع النسيجية المصابة بالفطريات/ عدد القطع النسيجية الكلية×100

  نسبة الإصابة البكتيرية = عدد القطع النسيجية المصابة بالبكتيريا/ عدد القطع النسيجية الكلية×100

- الموت الذاتي للقطع النسيجية المزروعة تم تحديدها من خلال علامات ظهرت على القطعة النسيجية وهي الاسوداد والذبول دون وجود او ظهور أي من المسببات البكتيرية والفطرية

  النسبة المئوية للموت الذاتي للنسيج = عدد القطع النسيجية الميتة/ عدد القطع النسيجية الكلية×100

- ونسبة التلف الكلية والتي تشمل جميع ما ذكر من أنواع التلف الثلاثة التي ذكرت

  نسبة التلف الكلية = عدد القطع النسيجية التالفة (الإصابة الفطرية+الإصابة البكتيرية+الموت الذاتي)/ عدد القطع النسيجية الكلية ×100

- النسبة المئوية للعزلات النقية المنتجة من زراعة القطع النسيجية

  نسبة العزلات النقية = عدد العزلات النقية/ عدد القطع النسيجية الكلية×100

التحليل الاحصائي:

نفذت جميع التجارب المختبرية بإجراء التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) وتم اعتماد تحليل القيم في حالة النسب المئوية وذلك بسبب انخفاض معامل اختلافها C.V عن معامل اختلاف قيم التحويل الزاوي لمعكوس الجيب arcsine واجري مقارنة المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي L.S.D تحت مستوى احتمال 0.05 (الراوي، 1980). وحللت البيانات باستخدام برنامج GENESTAT.

النتائج والمناقشة :

يتضح من نتائج الجدول (1) ان لنوع السلالة تأثير معنوي في تبكير نجاح الزراعة النسيجية وزيادة نسبتها، اذا وجد بعد 10 أيام من بدأ الزراعة تفوق السلالة X25 معنويا على كل من السلالتين X20 وB62 اذ سجلت 75% و45.83% و33.33% بالتتابع. اما بعد 20 و30 يوم من بدأ الزراعة بلغت نسب النجاح للزراعة النسيجية 80.00% و72.50% للسلالاتين X25 و X20 وبفارق معنوي عن السلالة B62 التي بلغت 37.50%. اما تأثير الأوساط الزرعية فقد تميز كل من الوسط الزرعي Czapek –Agar %20 Glucose وCzapek-Agar %20 Sucrose معنويا في زيادة نسبة نجاح الزراعة النسيجية اذ وصلت بعد 10 أيام من بدأ الزراعة الى 88.89% و83.33% بالتتابع في حين بلغت النسبة ضمن نفس المدة الزمنية عند كل من الوسط PDA وMalt-extract الى 33.33% و0.00% بالتتابع اما بعد 20 و30 زادت النسب لما ذكر من هذه الأوساط الى 94.84% و88.89% و50% و20% بالتتابع. وكان للتداخل بين السلالة والوسط الزرعي التأثير المعنوي الواضح في تباين نسب نجاح الزراعة النسيجية من حيث التبكير والزيادة، اذ وجد ان اعلى نسبة بعد 10 أيام من بدأ الزراعة كانت 100% عند معاملة التداخل بين السلالة X25 وكل من الوسط Malt extract و Czapek-Agar %20 Sucrose و Czapek –Agar %20 Glucose و معاملة التداخل بين السلالة X20 و Czapek –Agar %20 Glucose في حين كانت النسبة 83.33% عند معاملة التداخل بين نفس السلالة والوسط Czapek-Agar %20 Sucrose وقد تفوقت هذه المعاملات معنويا عن باقي معاملات التداخل. اما معاملة التداخل بين السلالة B62 وكل من الوسط Czapek-Agar %20 Sucrose والوسط Czapek –

Agar %20 Glucose قد سجلت نسبة بلغت 66.67 لكل منهما بعد 10 أيام من بدأ الزراعة وهي بذلك تتفوق معنويا على جميع معاملات التداخل التي لم تسجل أي نسبة نجاح (0%).

جدول 1 تأثير السلالة والوسط الزرعي والتداخل بينهما في نجاح نمو الزراعة النسيجية ونسبتها لانتاج العزلات النقية للفطر الزراعي *Agaricus bisporus*

نوع السلالة / نوع الوسط	X25	X20	B62	متوسط نوع الوسط
	نسبة نجاح النمو بعد 10 أيام من الزراعة%			
PDA	0.00	0.00	0.00	0.00
Malt extract	100	0.00	0.00	33.33
Czapek Agar-%20Sucrose	100	83.33	66.67	83.33
Czapek Agar-%20Glucose	100	100	66.67	88.89
L.S.D	24.32			14.04 / 12.16
متوسط السلالة	75.00	45.83	33.33	
	نسبة النجاح بعد 20 أيام من الزراعة%			
نوع السلالة / نوع الوسط	X25	X20	B62	متوسط نوع الوسط
PDA	20	40	0.00	20.00
Malt extract	100	50	0.00	50.00
Czapek Agar-%20Sucrose	100	100	66.67	88.889
Czapek Agar-%20Glucose	100	100	83.33	94.44
L.S.D	38.20			22.06 / 22.06
متوسط السلالة	80.00	72.50	37.50	
	نسبة النجاح بعد 30 يوم من الزراعة%			
نوع السلالة / نوع الوسط	X25	X20	B62	متوسط نوع الوسط
PDA	20	40	0.00	20.00
Malt extract	100	50	0.00	50.00
Czapek Agar-%20Sucrose	100	100	66.67	88.89
Czapek Agar-%20Glucose	100	100	83.33	94.44
L.S.D	38.20			22.06 / 22.06
متوسط السلالة	80.00	72.50	37.50	

ويمكن تفسير تفوق تأثير الوسط التركيبي Czapek في كل من النوعين من مصادر الكاربون (الكلوكوز، السكروز) الى دور السكريات الأحادية في ملائمة الفطريات كمصدر للغذاء في الأوساط الزرعية ولا سيما هذين المصدرين من السكريات وهذا يتفق مع الدراسات التي أجريت على مصادر الكاربون المختلفة من المعقدة الى البسيطة لاوساط تنمية للغزل الفطري للفطريات الغذائية مثل الفطرين *Agaricus bisporus* و *Lentinus tuberregium* من ان السكريات الأحادية من الكلوكوز والفركتوز

ISSN-1813-1646

والدكستروز اعطت اكبر كتلة حيوية من الغزل الفطري (Dijkstra، 1976؛ Manjunathan و Kaviyarasan،2011؛ Fasidi و Olorunmaiye ، 1994) وان الكلوكوز يعد الوسط الملائم لعملية تنفس هذا الفطر(Hammond، 1978). وأيضا قد يعود تفوق وسط Czapek في زيادة نسبة نجاح الزراعة النسيجية الى ان الأوساط التركيبية تحتوي على العناصر الغذائية الجاهزة مباشرة للامتصاص مقارنة مع باقي الأوساط الطبيعية والشبة طبيعية والتي تكون صعبة في تجهيزها للمغذيات نسبيا او تحتاج الى انزيمات معينة تفرز من قبل الفطريات لكي تجهز والتي قد لاتتوفر بكميات في الجزء النسيجي المزروع اي المخزون الانزيمي لها محدود علما ان تواجد الانزيمات يوجد بوفر في نهايات خيوط الغزل الفطري.

تشير نتائج الجدول 2 الى ان لحجم قطعة النسيج المأخوذة من الجسم الثمري دور في بعض الصفات المدروسة، فوجد ان القطع الصغيرة تبدأ بتكوين الغزل الفطري بوقت ابكر عن كل من القطع النسيجية المتوسطة والكبيرة فضلا عن مدى انتشار الغزل الفطري خلال الوسط الزرعي ولكن مع هذا لم يلاحظ أي اختلاف واضح في نسبة نجاح الزراعة النسيجية. وهذا قد يعود الى ان القطع الصغيرة من الانسجة تكون ملامسة للوسط الزرعي الصلب بمساحة اكبر نسبة الى حجمها.

جدول 2 تأثير حجم النسيج في نسبة نجاح الزراعة النسيجية وسرعة تكوين الغزل الفطري ومدى انتشاره على جميع الأوساط الزرعية والسلالات للفطر الزراعي *Agaricus bisporus*

حجم النسيج	سرعة تكوينه*	نسبة نجاحه**	مدى انتشار الغزل***
قطعة صغيرة	+++++	+++++	+++++
المتوسطة	++++	+++++	++++
الكبيرة	++++	+++++	++++
استدلال الرموز	* بطيء+ متوسط+++ سريع+++++	** منخفضة+ متوسطة+++ عالية+++++	*** قليل+ متوسط+++ واسع +++++

تبين نتائج الجدول 3 ان للوسط الزرعي دور في سرعة تكوين الغزل الفطري اذ وجد ان كل من الوسط Czapek-Agar %20 Sucrose و Czapek–Agar %20 Glucose قد حفز من سرعة تكوين الغزل معنويا الى 46.67% مقارنة بكل من الوسط Malt extract و PDA التي بلغتالنسبة لكل منهما 13.33% و 5% بالتتابع. اما نسبة الإصابة الفطرية فلم تكن هناك فروق معنوية بين المعاملات. اما الإصابة البكتيرية لم يتم تسجيل أي إصابة في الاطباق المزروعة وقد يعود ذلك الى إضافة المضاد البكتيري الى الأوساط. وجد ان اعلى نسبة معنوية من الموت الذاتي للنسيج بعد الزراعة عند الوسط PDA ثم الوسط Malt-extract اذ بلغت النسبة لكل منهما 72.20 و 38.90% بالتتابع. في حين لم يلاحظ أي نسبة من الموت الذاتي للنسيج عند كل من الوسط Czapek-Agar %20 Sucrose و Czapek–Agar %20 Glucose. وبهذا ارتفعت نسبة التلف معنويا في كل من الوسطين PDA و Malt-extract الى 83.34% و 61.11% بالتتابع وانخفضت عند كل من الوسطين Czapek-Agar %20 Sucrose و Czapek–Agar %20 Glucose الى 11.11% و 22.22% بالتتابع. وبذلك سجل الوسطين Czapek-Agar %20 Sucrose و Czapek–Agar %20 Glucose اعلى نسبة معنوية من العزلات النقية وصلت الى 88.89% و 77.78% بالتتابع مقارنة بكل من الوسطين Malt extract و PDA التي وصلت النسبة فيهما الى 38.89% و 16.66% بالتتابع. وقد يعزى سبب زيادة نسبة العزلات النقية في وكل من الوسيطين Czapek-Agar %20 Sucrose و Czapek –Agar %20 Glucose الى دور سكري الكلوكوز والسكروز في تحفيز سرعة تكوين الغزل الفطري كما موضح في علاقة الارتباط في الجدول(4) ويتفق مع **Sati و Bisht** **(2006)** عندما استعمال مجموعة من مصادر الكربون في الأوساط

الزرعية في عزل أربعة أنواع من الفطريات *Tetracheatum elegans* و *Tetracladium marchalianum* و *Pestalotiopsis submerses* و *Flagellospora penicillioides* وكانت السكريات glucose و fructose و sucrose و xylose و cellulose و dextrin و Lactose ووجد ان اكثر السكريات ملائمة لعزل هذه الفطريات هي glucose و sucrose. ويتفق أيضا مع **Fasidi واخرون (1994)** عند اختبر مجموعة من مصادر الكاربون في الوسط الزرعي من السكريات الأحادية والعديدة والمتعددة والكحولية والتي كانت من ضمها سكر الكلوكوز ضمن مجموعة السكريات الأحادية والنشأ و Malt extract ضمن السكريات المتعددة على الفطر الغذائي *Pluerotus tuber-rigem* حيث وجد ان الوسط الذي يحتوي على كلوكوز وصلت فيه كثافة النمو للغزل الفطري الى 30/110مل على أساس الوزن الجاف في حين وصلت كثافة النمو لهذا الفطر لكل من الوسط الذي يحتوي على والنشأ و Malt extract الى 30/56.7مل على أساس الوزن الجاف.

جدول 3 تقييم كفاءة الوسط الزرعي في انتاج العزلات النقية من الزراعة النسيجية وسرعة تكوين الغزل الفطري والحد من نسبة الإصابة الفطرية والبكتيرية والموت الذاتي ونسبة التلف الكلية ومقدار فاعليتها في زيادة نسبة نجاح الزراعة لسلالات الثلاثة مجتمعة للفطر الزراعي *Agaricus bisporus*

الوسط الزرعي	سرعة تكوين الغزل الفطري%	نسبة الإصابة الفطرية%	نسبة الإصابة البكتيرية%	نسبة موت النسيج ذاتيا%	نسبة التلف الكلية%	نسبة العزلات النقية%
PDA	5.00	11.10	0.00	72.22	83.34	16.66
Malt extract	13.33	22.20	0.00	38.89	61.11	38. 89
Czapek Agar–%20 Sucrose	46.67	11.10	0.00	0.00	11.11	88.89
Czapek Agar–%20 Glucose	46.67	22.20	0.00	0.00	22.22	77.78
L.S.D	23.54	n.s	*	40.51	38.43	38.43

تشير نتائج الجدول (4) الى وجود علاقة ارتباط متباين من الإيجابية الى السلبية بين المؤشرات التي تم قياسها في هذه الدراسة. اذ وجد ان سرعة تكوين الغزل الفطري لها ارتباط سلبي عالي المعنوية مع النسبة المئوية للموت الذاتي للنسيج ونسبة التلف الكلية وعلاقة ارتباط إيجابي عالي المعنوية مع النسبة المئوية للعزلات النقية. وهذا دليل واضح ان لهذه الصفة دور كبير في زيادة نسبة انتاج العزلات النقية عن طريق استعمال الزراعة النسيجية كما يظهر من خلال الجدول(3).

ISSN-1813-1646

جدول 4 علاقة الارتباط بين صفة سرعة تكوين الغزل الفطري مع الصفات من نسبة الإصابة البكتيرية والفطرية والموت الذاتي للنسيج ونجاح الزراعة

مؤشرات الدراسة	سرعة تكوين الغزل الفطري	الإصابة الفطرية	الإصابة البكتيرية	الموت الذاتي للنسيج	نسبة التلف الكلية	نسبة العزلات النقية
سرعة تكوين الغزل الفطري	**1**	0.21879 0.4945	**0**	-0.93830 <0.0001	-0.89930 <0.0001	0.89930 <0.0001
الإصابة الفطرية	0.21879 0.4945	**1**	**0**	-0.28131 0.3758	0.05844 0.8568	-0.05844 0.8568
الإصابة البكتيرية	**0**	**0**	**1**	**0**	**0**	**0**
الموت الذاتي للنسيج	-0.93830 <0.0001	-0.28131 0.3758	**0**	**1**	0.94154 <0.0001	-0.94154 <0.0001
نسبة التلف الكلية	-0.89930 <0.0001	0.05844 0.8568	**0**	0.94154 <0.0001	**1**	-1.00000
نسبة العزلات النقية	0.89930 <0.0001	-0.05844 0.8568	**0**	-0.94154 <0.0001	-1.00000 <0.0001	**1**

المصادر

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.488 صفحة.

رضوان، جمال الدين (2002). الفطر البستاني، مشروع تنمية المجتمع الريفي في جبل الحص. وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. مطبعة البراق. سوريا.

شريف، فياض محمد. (2012a). سلسلة اساسيات الفطريات–مدخل الى وراثة الفطريات. الذاكرة للنشر والتوزيع، بغداد، العراق. 277 صفحة.

شريف، فياض محمد. (2012b). سلسلة اساسيات الفطريات–بيئة الفطريات. الذاكرة للنشر والتوزيع، بغداد، العراق.608 صفحة.

شريف، فياض محمد. (2012c). سلسلة اساسيات الفطريات–فسلجة الفطريات. الذاكرة للنشر والتوزيع، بغداد، العراق.397 . صفحة.

القيسي، مصطفى رشيد مجيد (2015). تأثير البروتين الحيوي والتغاير الوراثي في الصفات الإنتاجية والنوعية والخصائص الطبية لبعض سلالات فطر الازرار البيضاء Agaricus bisporus. أطروحة دكتوراه.كلية الزراعة-جامعة بغداد.

Atlas, R. M. (2010). Handbook of microbiological media. *CRC press*.

Binder, M., D.S. Hibbett, K.H. Larsson, E. Larsson, E. Langer and G.Langer. (2005). The phylogenetic distribution of resupinate forms across the major clades of mushroom-forming fungi(Homobasidiomycetes). Syst. Biodiv.3(2):113-157.

Calvo-Bado, L., R. Noble, M. Challen, A. Dobrovin-Pennington and T.Elliott. (2000). Sexuality and Genetic Identity in the Agaricus Section Arvenses.Applied and Environmental Microbiology, 66(2): 728-734.

Chang, S.T and Miles P.G.(2004). Mushrooms Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Enviromental Impact, 2nd Ed. CRC Press LLC. USA. pp. 451.

Dijkstra F. Y.(1976)Submerged cultures of mushroom mycelium as sources of protein and flavour compounds : Ph.D.Thesis, Delft Univ. Technol. - Delft,106 p.

Fasidi, I. O., & Olorunmaiye, K. S. (1994). Studies on the requirements for vegetative growth of Pleurotus tuber-regium (Fr.) Singer, a Nigerian mushroom.Food Chemistry, 50(4), 397-401.

ISSN-1813-1646

Hammond, W, B, J.(1978). Changes in composition of harvested mushrooms (Agaricus bisporus).Phytochemistry, 18, 415– 418.

Hegde, V. L., J.R. Das and Y. P. Venkatesh. (2002).Anaphylaxis Caused by the Ingestion of Cultivated Mushroom (Agaricus bisporus): Identification of Allergen as Mannitol. Allergology International. 51:121-129.

Hibbett, D. S., M.Binder, J. F.Bischoff, M. Blackwell, P. F. Cannon, O. E. Eriksson and V. Reeb. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. Mycological research. 111(5): 509-547.

Kariaga,M,G.(2005). Important factors in composting for production of high yields in button mushrooms and Agaricus bitorquis(Quel) Saccardo. African Crop Science Conference Proceedings. 7: 1273-1277.

Kendrick, B.(2000). The Fifth Kingdom, 3rd Ed. Focus Publishing,USA.373. pp.

Kirk, P.M., P.F. Cannon, D.W. Minter, and J. A. Stalpers (eds.). (2008). Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi, 10th edition. CAB International, Oxon, UK.370. pp.

Lishma, N. P., & Das, L. (2015). Influence of different nutrient sources on the growth of white button mushroom (Agaricus bisporus) in Kerala. Inter. J. of Applied and Pure Scie. and Agri.1(4):27-30.

Manjunathan, J., & Kaviyarasan, V. (2011). Optimization of mycelia growth and antimicrobial activity of new edible mushroom, Lentinus tuberregium (Fr.). Tamil Nadu, India. Int J Pharm Technol Res, 3, 497-504.

PAAF, Public Authority of Agriculture Affairs and Fish Resources. (2004). The Fungus Agaricus bisporus (Mushroom). 1st Ed.Published by PAAF. Kuwait. 19.pp.

Patyshakuliyeva, A., E. Jurak, A. Kohler, A. Baker, E. Battaglia, W. de Bruijn and R. P. De Vries. (2013). Carbohydrate utilization and metabolism is highly differentiated in Agaricus bisporus. BMC genomics. 14(1): 663.

Sati, S.C and Bisht S. (2006). Utilization of various carbon sources for the growth of waterborne conidial fungi. Mycologia, 98, 678-681.

Stamets, P. (2000). Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Berkeley, CA: Ten Speed Press.

Thomas, M. G. and D. R. Schumann. (1993). Income Opportunities in Special Forest Products-Self-Help Suggestions for Rural Entrepreneurs. Agriculture Information Bulletin AIB, U.S. Department of Agriculture, Washington. 139. pp.