تأثير نوع الوسط والمدعم ومستوى اللقاح في بعض الصفات النوعية للفطر *Pleurotus sapidus* .

ثامر حميد خليل الصالحي موفق مزبان مسلط سعد راضي حمزة العامري
الكلية التقنية- المسيب كلية الزراعة- جامعة الانبار الكلية التقنية- المسيب
saadradhi73@gmail.com

الخلاصة

اجريت الدراسة في مشروع تحضير الاسمدة العضوية وزراعة الفطر– كربلاء المقدسة التابع لمركز الزراعة العضوية – بغداد خلال عامي 2015 – 2016 لدراسة تاثير ثلاثة عوامل (A) نوع الوسط وتضمن سبعة توليفات شملت: تبن الحنطة (W) وكوالح الذرة (C) ومخلفات سعف النخيل (P) و50 % تبن حنطة + 50 % كوالح ذرة (WC) و75 % تبن حنطة + 25 % كوالح ذرة (WwC) و50 % تبن حنطة + 50 % سعف نخيل (WP) و75 % تبن حنطة + 25 % سعف نخيل (WwP)، (B) ونوع المدعم بثلاثة أنواع: بدون تدعيم (SU0) و20 % نخالة الحنطة (SU1) و20 % مخلفات قص الثيل (SU2) و(C) مستوى اللقاح الفطري بثلاثة مستويات: 3% (SP1) و5% (SP2) و7% (SP3) في نمو وإنتاجية الفطر المحاري Oyster mushroom نوع *Pleurotus sapidus* كتجربة عاملية وفق تصميم تام التعشية Completely Randomized Design (CRD) وبثلاثة مكررات ولخصت النتائج كالأتي :

اظهرت النتائج تباين تأثير نوع الوسط الزرعي في الصفات النوعية للأجسام الثمرية الناتجة تميز فيها وسط تبن الحنطة بإعطاء اعلى محتوى من البروتين والدهون والألياف الخام بلغ 23.76 و1.83 و29.58 % على التوالي وأقل محتوى من الكاربوهيدرات بلغ 38.52 %، فيما أعطى الوسط WwP أقل محتوى للبروتين بلغ 12.63 % وأعلى محتوى من الكاربوهيدرات بلغ 49.66 % وسجل وسط كوالح الذرة أقل محتوى للدهون والألياف الخام بلغ 1.63 و27.37 % على التوالي. أعطى التدعيم بنخالة الحنطة أعلى محتوى للأجسام الثمرية من البروتين والرماد والدهون والألياف الخام بلغ 19.64 و6.75 و1.79 و32.31 % للصفات على ألتوالي. تباين تأثير مستوى اللقاح الفطري على الصفات النوعية للجسم الثمري للفطر، فقد حقق المستوى SP2 أعلى محتوى من البروتين والدهون الخام بلغ 18.08 و1.77 % على التوالي، وأعطى المستوى SP1 أعلى محتوى من الألياف الخام بلغ 29.84 %، فيما سجل المستوى SP3 أعلى محتوى من الكاربوهيدرات بلغ 48.21 %. حقق عدد من التداخلات الثنائية والثلاثية بين عوامل الدراسة زيادة معنوية في أغلب الصفات النوعية للفطر المحاري Oyster mushroom نوع *Pleurotus sapidus* .

كلمات مفتاحية : فطر محاري ، الوسط الزراعي ، المدعم ، مستوى اللقاح

EFFECT OF SUBSTRATE TYPE, SUPPLEMENT AND SPAWN LEVEL ON SOME QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF OYSTER MUSHROOM (*Pleurotus sapidus*)

TH. H. KH. AL-Salihy
AL-Musaib Technical College

M. M. MUSLA
Agriculture College
Anbar University
saadradhi73@gmail.com

S.R.H.AL- Amery
AL-Musaib Technical College

ABSTRACT

This study was conducted at the project of Organic Fertilizer Preparing and Mushroom Cultivation in Karbala governorate that belongs to the organic farming center of Baghdad, during 2015 and 2016 to study the effects of three factors (A) substrate type included : wheat straw (W), corn cobs (C), date palm fronds wastes (P), 50% wheat straw+50% corn cobs (WC), 75% wheat straw+25% corn cobs (WwC), 50% wheat straw+50% date palm fronds wastes (WP) and 75% wheat straw+25% date palm fronds wastes (WwP). (B) supplement type were three levels : without supplement (SU0), 20% wheat bran (SU1) and 20% grass land cutting wastes (SU2). (C) spawn level were three levels : 3%(SP1), 5%(SP2) and 7%(SP3), on growth and productivity of Oyster mushroom type *Pleurotus sapidus* as an experiment according to Completely Randomized Design (CRD) with three replicates.

Results showed a differently effect on fruit bodies quality.The fruit bodies produced from the (W) substrate were higher in protein, fat and crud fiber 23.76, 1.83 and 29.58% respectively, and gave a lower carbohydrate content was 38,52% . (WwP) substrate gave lower protein content 12.63%, lower fat,crude fiber and higher carbohydrate content 1.63%, 27.37 and 49.66 % respectively. Wheat bran supplementation gave higher content of protein, ash, fat and crud fiber 19.64, 6.75, 1.79 and 32.31% respectively. Effects of spawn level on fruit bodies quality were different where SP2 given a protein and fat content 18.08 and 1.77% respectively**.** SP1 level given a higher content of crud fiber 29.84% and carbohydrate 48.21%. A numbers di- interactions and tri-interactions between the factors of this study recorded a significant increase in the most morphological, productivity and quality characteristics of Oyster Mushroom fungi *P.sapidus*.

Keyword: Oyster Mushroom, Substrate, Supplement, Spawn
Part of Ph.D. dissertation of the author third

المقدمة

يعد الفطر من اقدم الكائنات الحية التي وجدت على سطح الارض، ويصل عدد الانواع المعروفة حاليا من الفطريات الغذائية اكثر من 2000 نوع صالح للأكل، ينتج منها على نطاق تجاري حوالي 25 نوع فقط (5). وتعتبر الولايات المتحدة الامريكية اكثر الدول إنتاجاً له تليها فرنسا وهولندا، ومن الشرق الصين واليابان، ومن المتوقع أن يصل الإنتاج إلى 20 مليون طن في عام 2020 والى أكثر من 30 مليون طن في عام 2025 (11). وفي الوقت الحاضر يحتل الفطر المحاري المرتبة الثانية بعد الفطر الزراعي الأبيض *Agricus bisporus* ويشكل إنتاجه ما نسبته 25 % من الانتاج العالمي من الفطريات الغذائية (17). تحتوي الأجسام الثمرية للفطر ألمحاري على نسبة عالية من البروتين، إذ تراوحت نسبته 20-40 % من الوزن الجاف (14). كما يمتاز بروتين الفطر *Pleurotus* باحتوائه على معظم الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية، وعلى نسبة مرتفعة من الحامضين الأمينين اللايسين Lysine والتربتوفان Tryptophan، فضلا عن احتوائه على حامض الفولك Folic acid، مما يجعل قيمته الغذائية تفوق القيمة الغذائية لبعض محاصيل الخضروات ومحاصيل الحبوب التي تفتقر إلى تلك الأحماض (7). وتشكل الكاربوهيدرات نسبة تتراوح من 37 - 69 % كما تحوي على 3 % دهن و 8 % الياف من الوزن الجاف للأجسام الثمرية (4). ينمو الفطر المحاري على مدى واسع من المخلفات الزراعية والنباتات البرية كأوساط زراعية على الرغم من ان تبن الحنطة يعد الوسط المثالي للنمو والإنتاج في العالم إلا انه في العراق يستعمل كعلف حيواني اضافة الى ارتفاع اسعاره وعدم توفره على مدار السنة، فضلاً عن ذلك توجد كميات كبيرة من المخلفات الزراعية والنباتات البرية منها مخلفات النخيل وغيرها والتي يمكن استعمالها كأوساط زراعية لتنمية الانواع المختلفة من الفطر المحاري، إذ وجد لها القدرة على النمو على أوساط زراعية مختلفة (16). فضلاً عن أمكانية تدعيم تلك الاوساط بإضافة أنواع واسعة من المواد مثل سحالة الرز أونخالة الحنطة، وغيرها الكثير من المواد التي من شانها تحسين نوعية الاجسام الثمرية للفطر، ومن تلك المواد التي تترك بدون استعمال مخلفات قص الثيل الغنية بمحتواها من السليلوز والعناصر (13). من جهة ثانية تلعب كمية اللقاح الفطري دوراً مهماً في تحديد مراحل النمو المختلفة وكمية ونوعية الانتاج (6). لذلك هدف الدراسة لمعرفة تأثير نوع اوساط النمو والتوليف بينها، ونوع المدعم ومستوى اللقاح في بعض الصفات النوعية للفطر المحاري Oyster mushroom نوع *P. sapidus* .

المواد وطرائق البحث

نفذت الدراسة في مشروع تحضير الأسمدة العضوية وزراعة الفطر في ناحية الحسينية محافظة كربلاء المقدسة، التابع الى مديرية زراعة كربلاء – وزارة الزراعة خلال المدة من 15 / 12 / 2015 ولغاية 20 / 7 / 2016 على الفطر ألمحاري Oyster Mushroom اذ تم الحصول على عزلة النوع *Pleurotus sapidus* من جامعة فيوجان للزراعة والغابات– معهد جانكاو للابحاث - جمهورية الصين الشعبية University of Fujian Agriculture and Forestery JUNCAO Research Institute بوساطة المركز الوطني للزراعة العضوية وإنتاج الفطر التابع لوزارة الزراعة– مشاريع الادارة المتكاملة لإنتاج ووقاية المزروعات – بغداد وتمت عملية تكثير اللقاح الفطري Spawn للسلالة البيضاء نسيجيا من الأجسام الثمرية المنتجة من الجيل الأول المستورد. اذ تعد زراعة هذا النوع من الفطر المحاري الأولى من نوعها في العراق.

تحضير اللقاح الأم mother culture :

استعملت تقنية الزراعة النسيجية لهذا الغرض وذلك باستعمال الأجسام الثمرية المنتجة من الجيل الأول المستورد، إذ تم اخذ الأجسام الثمرية للفطر ومسحت بالكحول التجاري، ثم أخذت أجزاء منه بواسطة قاطع فليني خاص وعلى شكل دوائر بقطر1 سم وزرعت على الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar (PDA)، في وسط الطبق ثم وضعت في حاضنة بدرجة حرارة 24 ºم ولمدة 14 يوماً ، وبعد اكتمال نمو الغزل الفطري على الأطباق تم حفظها في حاضنة بدرجة 4 ºم لحين الاستعمال (7).

اكثار اللقاح الفطري الـ Spawn :

تم إكثار اللقاح الفطري على حبوب الحنطة حسب طريقة (18). وبعد3-4 أسابيع أصبحت الحبوب جاهزة للاستعمال.

تحضير الوسط الزراعي Substrate culture:

استعمال كل من تبن الحنطة، كوالح الذرة ومخلفات سعف النخيل كأوساط زراعية والتي تم تحضيرها حسب طريقة (2). تم أضافت المدعمات (نخالة الحنطة ومخلفات قص الثيل) للأوساط بنسبة 20% وعلى أساس الوزن الجاف (1). حللت مكونات الاوسط والمدعمات قبل الزراعة لمعرفة مكوناتها الأساسية جدول (1) وحسب ما موصوف في A.O.A.C (3). تمت تعبئة كل وسط في أكياس Polyproline شفافة مقاومة للحرارة المرتفعة ذات قياس 20×40 سم مزودة بحلقة بلاستيكية، أغلقت فوهات الأكياس بواسطة قطن طبي نظيف لغرض ضمان التبادل الغازي بين داخل الاكياس وخارجها، وتمت التعبئة بواسطة ماكنة مصنعة محليا نسخة عن ماكنة هولندية الصنع، وكانت كمية الوسط في الاكياس 1 كغم محسوبة على اساس الوزن الرطب. عقمت الاكياس الحاوية على الاوساط في جهاز التعقيم بالحرارة الرطبة Autoclave سعة 5000 لتر عراقي الصنع، انتاج شركة العطاء الهندسية، على درجة حرارة 90 ºم لمدة 5 ساعات (2). تركت الاكياس لمدة 24 ساعة حتى تبرد استعداداً لتلقيحها باللقاح الفطري الـ Spawn للفطر المحاري نوع *Pleurotus sapidus*.

جدول (1) :يبين التركيب الكيميائي لكل من الاوساط والمدعمات (النايتروجين، الفسفور ، البروتين، الكاربوهيدرات، الدهون والألياف)% و(البوتاسيوم ، الكالسيوم و الصوديوم) ملغم.100 غم$^{-1}$.

Table(1): Chemical Structure of Substrate and Supplement (Nitrogen, Phosphor, Protein, Carbohydrate, Fat, Fiber)% , (P, Ca, Na) mg.100gm^{-1} .

نوع الوسط والمدعم	N	P	K	Ca	Na	البروتين	الكاربوهيدرات	الرماد	الدهون	الالياف
W	0.77	0.03	48.50	17.20	8.30	4.81	52.84	8.75	1.55	32.05
C	0.46	0.02	22.9	9.80	1.10	2.88	61.47	2.35	1.45	31.85
P	0.63	0.01	7.50	22.50	2.00	3.94	52.36	6.42	2.20	35.08
SU1	1.70	0.32	34.30	10.10	1.70	10.63	77.57	5.72	2.00	4.08
SU2	0.97	0.09	21.60	18.20	5.60	6.06	71.64	11.01	2.00	9.20

اجريت التحاليل في مختبرات (كلية الزراعة – جامعة القاسم الخضراء والكلية التقنية – المسيب – جامعة الفرات الاوسط التقنية)

لقحت الأوساط بمعدل 30 و50 و70 غم من لقاح الفطر لكل كيس أضيف من الفوهات العلوية تحت ظروف معقمة، إذ تمت إضافة لقاح الفطر على أساس الوزن الجاف لكل وسط من الأوساط المذكورة أعلاه وذلك بعمل حفرة بعمق 2-3 سم داخل الوسط الزراعي ووضع اللقاح الفطري الـ Spawn داخل الحفرة (15). وضعت الأكياس الملقحة على رفوف في غرفة التحضين المسيطر على الظروف البيئية بداخلها تحت درجة حرارة 24 °م ورطوبة نسبية 70%، على وفق التصميم تام التعشية (CRD) و باستعمال3 مكررات وبواقع 3 اكياس لكل معاملة، تم ضبط الرطوبة داخل غرفة التحضين باستعمال جهاز الرطوبة أما الإضاءة والتهوية فلم تكن هناك حاجة لها لحين اكتمال نمو الغزل الفطري على جميع الأوساط تمهيدا لنقل الأكياس إلى غرفة الإنتاج. بعد اكتمال نمو الغزل الفطري على جميع الأوساط نقلت الأكياس إلى غرفة الإنتاج. خفضت درجة الحرارة وصولا إلى 16 °م لكسر طور التحضين ولغاية ظهور الثمار داخل الأكياس، وفي هذه المرحلة فتحت الأكياس باستعمال مشرط حاد ومعقم على شكل حرف X وبعدد متساوٍ باتجاه الضوء. رفعت الرطوبة باستعمال جهاز المرطاب Humidefier من 80 -90 % ، وتم أجراء التهوية باستعمال مفرغة جانبية موجودة على جدار الغرفة يتم تشغيلها 2 – 4 ساعة يوميا وذلك لمنع تراكم غاز CO_2 داخل غرفة الإنتاج إلى الحد الضار(18).

المعاملات التي تضمنتها التجربة :

تضمنت التجربة اختبار كفاءة الأوساط المختلفة بدون مدعمات وكذلك اختبار كفاءة هذه الأوساط مع المدعمات وبثلاث مستويات من اللقاح الفطري والتي تم تحليلها وفق التصميم تام التعشية (CRD) وبثلاثة مكررات، كتجربة عاملية وبثلاث عوامل :

العامل الأول(نوع الوسط الزرعي)	والعامل الثاني(نوع المدعم)	والعامل الثالث(مستوى اللقاح الفطري)
تبن الحنطة (W) معاملة المقارنة	**بدون اضافة المدعم (SU0) معاملة المقارنة**	**3 % (SP1)**
كوالح الذرة (C)	**نخالة الحنطة (20 %) (SU1)**	**5 % (SP2) .**
سعف النخيل (P)	**مخلفات قص الثيل (20 %) (SU2)**	**7 % (SP3)**
50 % تبن الحنطة + 50 % كوالح الذرة (WC)		
75 % تبن الحنطة+25 % كوالح الذرة (WwC)		
50% تبن الحنطة + 50% سعف النخيل (WP)		
75% تبن الحنطة+25 % سعف النخيل (WwP)		

الصفات المدروسة :

النسبة المئوية للبروتين :

تـم حسـابها عـن طريـق تقـدير النسـبة المئويـة للنتـروجين بواسـطة الهضـم بجهـاز مايكروكلدال Micro kjeldahl (Jackson، 1958). ثم استخرجت على وفق المعادلة التالية :

% للبروتين = 6.25 × N % (9) .

النسبة المئوية للرماد :

قدر الرماد وذلك باخذ 3 غم من مسحوق ثمـار الفطـر حسـب طريقـة Elliott (8). ثـم حسبت النسبة المئوية للرماد على وفق المعادلـة الاتية:

$$\% \text{ للرماد Ash} = \frac{\text{وزن الجفنة مع الرماد – وزن الجفنة فارغة}}{\text{وزن الانموذج}} \times 100$$

النسبة المئوية للدهون الخام Crud Fat:

قدرت باستعمال جهاز Soxtec System 1040 Extraction Unit وحسب ما جاء في A.O.A.C (3). حسبت النسبة المئوية للدهن الخام على وفق المعادلة الاتية:

$$\% \text{ للدهن} = \frac{\text{وزن الكوب مع الدهن – وزن الكوب فارغ}}{\text{وزن الانموذج}} \times 100$$

النسبة المئوية للألياف الخام Crud Fiber:

قـدرت باسـتعمال جهـاز الاسـتخلاص الحـار Fibertec System1010 Heat Extractor وحسـب مـا جـاء فـي A.O.A.C (3). حسبت النسبة المئوية للألياف الخـام علـى وفق المعادلة الاتية:

$$\% \text{ للألياف} = \frac{\text{(وزن الجفنة بعد التجفيف – وزنها فارغة) – (وزن الجفنة بعد الحرق- وزنها فارغة)}}{\text{وزن الانموذج}} \times 100$$

النسبة المئوية للكاربوهيدرات :

قدرت النسبة المئوية للكاربوهيدرات على وفق المعادلة الاتية:

% للكاربوهيدرات = 100– (% للبروتين+% للرماد+% للدهون+% للألياف). (19).

النتائج والمناقشة :

تأثير نوع الوسط والمدعم ومستوى اللقاح في النسبة المئوية للبروتين:

تبين نتائج الجدول (2) وجود تأثيراً معنوياً للأوساط الزراعية المختلفة في النسبة المئوية للبروتين، اذ تفوق فيها وسط تبن الحنطة W بأعطاء أعلى نسبة للبروتين بلغت 23.76 %، قياساً مع الوسط WwP الذي اعطى أقل نسبة بلغت 12.63 %. كما تشير النتائج الى وجود تأثيراً معنوياً للمدعمات المضافة الى الاوساط الزراعية المختلفة في النسبة المئوية للبروتين، اذ أعطى المدعم نخالة الحنطةSU1 أعلى نسبة للبروتين بلغت 19.64 %، قياسا لمعاملة المقارنة SU0 التي أعطت

نسبة بلغت15.62 % ويعزى السبب في ارتفاع نسبة البروتين في الأجسام الثمرية النامية على تبن الحنطة جراء التدعيم بنخالة الحنطة إلى المحتوى االعالي من البروتين الموجود في تبن الحنطة وكذلك نخالة الحنطة وهذا ما أكدته نتائج تحليل الأوساط قبل الزراعة جدول (1) مما زاد محتوى الاجسام الثمرية من البروتين.

وتظهر النتائج ان اضافة اللقاح الفطري الى الاوساط الزرعية المختلفة أثر معنوياً في النسبة المئوية للبروتين، اذ أعطى المستوى SP2 أعلى نسبة للبروتين بلغت 18.08 %، في حين أعطى المستوىSP3 اقل نسبة للبروتين بلغت 16.59 %.

جدول (2) تأثير نوع الوسط و نوع مادة التدعيم و مستوى اللقاح وتداخلاتها في النسبة المئوية للبروتين.

Table(2): Effect of Substrate type, Supplement, Spawn level and their interaction on %protein.

SP *SU	نوع الوسط الزرعي M							اللقاحSP	المدعم SU
	WwP	WP	WwC	WC	P	C	W		
16.86	11.25	14.15	15.29	16.92	17.73	20.96	21.69	SP1	SU0
15.62	11.17	10.67	15.88	16.02	16.90	16.02	22.71	SP2	
14.38	10.98	11.17	15.75	16.15	15.92	15.27	15.44	SP3	
19.16	11.48	15.75	19.81	21.61	22.29	14.50	28.69	SP1	SU1
20.67	13.17	17.15	18.88	23.02	15.61	27.92	28.94	SP2	
19.08	15.69	17.98	15.94	22.83	17.96	15.34	27.83	SP3	
17.32	11.67	17.36	16.09	14.56	15.61	20.46	25.52	SP1	SU2
17.95	15.40	20.59	14.02	16.10	21.02	15.77	22.77	SP2	
16.30	12.88	13.96	13.61	15.46	16.65	21.23	20.29	SP3	
	12.63	15.42	16.14	18.08	17.74	18.61	23.76	معدل الوسط M	
M*SU*SP = 2.81 SU*SP= 1.06 M= 0.94								LSD 0.05	
SU	SU * M								
15.62	11.13	11.99	15.64	16.36	16.85	17.42	19.95	SU0	M * SU
19.64	13.45	16.96	18.21	22.49	18.62	19.25	28.49	SU1	
17.19	13.31	17.30	14.57	15.38	17.76	19.16	22.86	SU2	
M*SU= 1.62 SU= 0.61								LSD 0.05	
SP	SP * M								
17.78	11.47	15.75	17.06	17.70	18.54	18.64	25.30	SP1	M * SP
18.08	13.24	16.13	16.26	18.38	17.84	19.90	24.81	SP2	
16.59	13.18	14.37	15.10	18.15	16.84	17.28	21.19	SP3	
M*SP= 1.62 SP= 0.61								LSD 0.05	

أعطى التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزراعي M ونوع المدعم SU تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للبروتين، اذ اعطت التوليفة W+SU1 اعلى نسبة للبروتين بلغت 28.49% في حين اعطت التوليفة WwP+SU0 اقل نسبة بلغت 11.13 %.حقق التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزراعي M ومستوى اللقاح الفطري SP تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للبروتين، اذ اعطت التوليفة W+SP1 اعلى نسبة للبروتين بلغت 25.30

%، في حين اعطت التوليفة WwP+SP1 اقل نسبة للبروتين بلغت11.47 %. أثر التداخل الثنائي بين نوع المدعم SU ومستوى اللقاح الفطري SP معنوياً في النسبة المئوية للبروتين، اذ اعطت التوليفة SU1+SP2 اعلى نسبة للبروتين بلغت 20.67 %، في حين اعطت التوليفة SU0+SP3 اقل نسبة للبروتين بلغت 14.38 %. كما تشير نتائج التحليل الاحصائي للجدول نفسه ان تأثير التداخل الثلاثي للعوامل المدروسة كان معنوياً في النسبة المئوية للبروتين، اذ أعطت التوليفة W+SU1+SP2 أعلى نسبة للبروتين بلغت 28.94%، في حين أعطت التوليفة WP+SU0+SP2 أقل نسبة للبروتين بلغت 10.67 %.

تأثير نوع الوسط والمدعم ومستوى اللقاح في النسبة المئوية للرماد:

تبين نتائج الجدول (3) وجود تأثيراً معنوياً للأوساط الزراعية المختلفة في النسبة المئوية للرماد، اذ حقق الوسط WwPاعلى نسبة بلغت 6.49 % في حين اعطى وسط المقارنة W اقل نسبة بلغت 6.27 %. في حين أظهرت النتائج عن وجود تأثير معنوي للمدعمات المضافة للأوساط الزراعية المختلفة في النسبة المئوية للرماد، اذ اعطى المدعم نخالة الحنطةSU1 اعلى نسبة للرماد بلغت 6.75 %، قياساً لمعاملة المقارنة SU0 التي اعطت نسبة بلغت 6.05 %، ان ارتفاع نسبة الرماد في الاجسام الثمرية للفطر يمثل قيمة غذائية لأنه مؤشر للمكونات غير العضوية والتي تمثل العناصر المعدنية في الاجسام الثمرية، اذ بين كل من Hung وNhi (10) ان القيمة الغذائية للفطريات اللحمية تتأثر بعدة عوامل اهمها نوع الوسط الزراعي، المدعمات، التغاير الجيني والظروف البيئية التي تتعرض لها عند الاكثار. كما لوحظ من النتائج وجود تأثيراً معنوياً لمستوى للقاح الفطري في النسبة المئوية للرماد، اذ اعطى المستوى SP2 اعلى نسبة بلغت 6.54 % في حين اعطى المستوى SP1 اقل نسبة بلغت 6.30 %.

حقق التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزرعي M ونوع المدعم SU تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للرماد، تفوقت فيها التوليفة WC+SU1 بأعطاها أعلى نسبة للرماد بلغت 7.04%، ومن دون فروق احصائية عن ما حققته التوليفتان W+SU1 وWwP+SU1 بنسبة بلغت (6.80 و7.00) % لكل منهما على التوالي، في حين اعطت التوليفة W+SU0 اقل نسبة للرماد بلغت 5.67 %، والتي لم تختلف احصائياً عن ما حققته التوليفة WC+SU0 التي اعطت نسبة بلغت 5.86 %. أعطى التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزرعي M ومستوى اللقاح الفطري SP تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للرماد، تفوقت فيها التوليفة W+SP2 بأعطائها اعلى نسبة للرماد بلغت 6.88%، والتي لم تختلف احصائياً عن ما حققته التوليفتان P+SP2 وWC+SP3 بنسبة للرماد بلغت (6.64 و6.75) % لكل منهما على التوالي، في حين اعطت التوليفة W+SP3 اقل نسبة للرماد بلغت 5.82 %، ومن دون فروق احصائية عن ما حققته التوليفة WC+SP1 التي اعطت نسبة بلغت 5.99 %. أثر التداخل الثنائي بين نوع المدعم SU ومستوى اللقاح الفطري SP معنوياً في النسبة المئوية للرماد، تفوقت فيها التوليفة SU1+SP2 بإعطائها اعلى نسبة للرماد بلغت 7.00%، في حين اعطت التوليفة SU0+SP1 اقل نسبة للرماد بلغت 5.93 %. كما بينت نتائج التحليل الاحصائي للجدول نفسه ان تأثير التداخل الثلاثي للعوامل المدروسة كان معنوياً في النسبة المئوية للرماد، اذ اعطت التوليفة WC+SU1+SP2 اعلى نسبة للرماد بلغت 7.69 %، في حين اعطت التوليفة W+SU0+SP1 اقل نسبة للرماد بلغت 5.19 %.

جدول (3) تأثير نوع الوسط و نوع مادة التدعيم و مستوى اللقاح وتداخلاتها في النسبة المئوية للرماد.

Table(3): Effect of Substrate type, Supplement, Spawn level and their interaction on %Ash.

SP *SU	نوع الوسط الزرعي M							اللقاح SP	المدعم SU
	WwP	WP	Ww C	WC	P	C	W		
5.93	5.57	6.29	6.11	5.41	6.60	6.35	5.19	SP1	SU0
6.13	5.97	6.63	5.96	5.54	6.56	5.89	6.36	SP2	
6.09	6.36	5.68	6.27	6.62	6.69	5.55	5.47	SP3	
6.57	7.02	7.03	6.39	6.41	6.13	6.68	6.31	SP1	SU1
7.00	7.26	6.48	6.71	7.69	6.68	6.56	7.63	SP2	
6.67	6.73	6.78	6.42	7.01	6.21	7.11	6.45	SP3	
6.39	6.76	6.30	5.99	6.16	6.55	6.16	6.81	SP1	SU2
6.48	6.46	6.45	6.51	7.15	6.69	6.47	6.66	SP2	
6.18	6.29	6.25	6.65	6.62	5.35	5.96	5.55	SP3	
	6.49	6.43	6.33	6.40	6.45	6.30	6.27	معدل الوسط M	
M*SU*SP = 0.44			SU*SP= 0.17				M= 0.15	LSD 0.05	
SU	SU * M								
6.05	5.97	6.20	6.11	5.86	6.62	5.93	5.67	SU0	M * SU
6.75	7.00	6.76	6.51	7.04	6.34	6.78	6.80	SU1	
6.35	6.50	6.33	6.38	6.31	6.40	6.20	6.34	SU2	
M*SU= 0.26			SU= 0.10					LSD 0.05	
SP	SP * M								
6.30	6.45	6.54	6.16	5.99	6.43	6.40	6.10	SP1	M * SP
6.54	6.56	6.52	6.39	6.46	6.64	6.31	6.88	SP2	
6.32	6.46	6.24	6.44	6.75	6.28	6.21	5.82	SP3	
M*SP= 0.26			SP= 0.10					LSD 0.05	

تأثير نوع الوسط والمدعم ومستوى اللقاح في النسبة المئوية للدهون الخام:

بينت نتائج التحليل الاحصائي للجدول (4) وجود تأثير معنوي للأوساط الزراعية المختلفة في محتوى الاجسام الثمرية من الدهون الخام، تفوق فيها وسط تبن الحنطة W بإعطائه اعلى نسبة للدهون بلغت 1.83 % ، قياسا مع وسط كوالح الذرة C الذي اعطى اقل نسبة بلغت 1.63 %، كما تميزت الاجسام الثمرية الناتجة من الاوساط الزراعية المختلفة بمحتوى منخفض من الدهون الخام وهي سمة من سمات الفطريات اللحمية الغذائية عن باقية المنتجات الغذائية الأخرى مما جعلها غذاء مناسب لكثير من الحالات المرضية ومنها ارتفاع نسب الكولسترول.

جدول (4) تأثير نوع الوسط و نوع مادة التدعيم و مستوى اللقاح وتداخلاتها في النسبة المئوية للدهون الخام.

Table(4): Effect of Substrate type, Supplement, Spawn level and their interaction on %crud Fat.

المدعم SU	اللقاحSP	نوع الوسط الزرعي M							SP *SU
		W	C	P	WC	WwC	WP	WwP	
SU0	SP1	1.97	1.43	1.56	1.94	1.48	1.74	1.57	1.67
	SP2	1.13	1.63	1.70	1.99	1.75	1.73	1.66	1.66
	SP3	1.50	1.15	1.75	1.78	1.83	1.49	1.82	1.62
SU1	SP1	2.52	1.78	1.53	1.58	1.72	1.57	1.71	1.77
	SP2	2.58	1.73	1.70	1.69	1.92	1.71	1.85	1.88
	SP3	1.94	1.71	1.63	1.53	1.62	1.77	1.82	1.72
SU2	SP1	1.59	1.71	1.87	1.92	1.76	1.72	1.55	1.73
	SP2	1.66	1.80	1.92	1.80	1.92	1.61	1.71	1.77
	SP3	1.54	1.68	1.90	2.15	1.95	1.76	1.42	1.77
معدل الوسط M		1.83	1.63	1.73	1.82	1.77	1.68	1.68	
LSD 0.05		M= 0.09		SU*SP= 0.10		M*SU*SP = 0.28			
M * SU	SU0	1.53	1.41	1.67	1.90	1.69	1.65	1.68	1.65
	SU1	2.35	1.74	1.62	1.60	1.75	1.68	1.79	1.79
	SU2	1.60	1.73	1.89	1.95	1.87	1.70	1.56	1.76
LSD 0.05		SU= 0.06			M*SU= 0.16				SU
M * SP	SP1	2.03	1.64	1.65	1.81	1.65	1.68	1.61	1.73
	SP2	1.79	1.72	1.77	1.83	1.86	1.68	1.74	1.77
	SP3	1.66	1.51	1.76	1.82	1.80	1.67	1.68	1.70
LSD 0.05		SP= 0.06			M*SP= 0.16				SP

كما أظهرت النتائج وجود تأثير معنوي للمدعمات المضافة الى الأوساط الزراعية المختلفة في النسبة المئوية للدهون، اذ اعطى المدعم نخالة الحنطةSU1 اعلى نسبة للدهون بلغت 1.79 %، قياساً لمعاملة المقارنة SU0 التي اعطت اقل نسبة بلغت 1.65 %. وتشير النتائج الى ان مستوى اضافة اللقاح الفطري الى الاوساط الزراعية المختلفة أثر معنوياً في النسبة المئوية للدهون، اذ اعطى المستوى SP2 اعلى نسبة للدهون بلغت 1.77 %، قياساً مع ما حققه المستوى SP3 الذي أعطى أقل نسبة للدهون بلغت 1.70 %. أعطى التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزرعي M ونوع المدعم SU تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للدهون، اذ اعطت التوليفة W+SU1 اعلى نسبة للدهون بلغت 2.35 %، في حين اعطت التوليفة C+SU0 اقل نسبة للدهون بلغت1.41%. حقق التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزراعي M ومستوى اللقاح الفطري SP تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للدهون، اذ اعطت التوليفة W+SP1 اعلى نسبة للدهون بلغت 2.03 %، في حين اعطت التوليفة C+SP3 اقل نسبة للدهون بلغت 1.51 %. سبب التداخل الثنائي بين نوع المدعم SU ومستوى اللقاح الفطري SP تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للدهون، اذ اعطت التوليفة SU1+SP2 اعلى نسبة للدهون بلغت1.88%، في حين اعطت التوليفة

SU0+SP3 اقل نسبة للدهون بلغت 1.62 %. كما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي للجدول أعلاه ان تأثير التداخل الثلاثي للعوامل المدروسة كان معنوياً في النسبة المئوية للدهون الخام، إذ أعطت التوليفة W+SU1+SP2 أعلى نسبة للدهون بلغت 2.58 %، في حين أعطت التوليفة W+SU0+SP2 أقل نسبة للدهون بلغت 1.13 %.

تأثير نوع الوسط والمدعم ومستوى اللقاح في النسبة المئوية للالياف الخام:

بينت نتائج الجدول (5) وجود تأثير معنوي للأوساط الزراعية المختلفة في محتوى الاجسام الثمرية من الالياف الخام، اذ تفوق وسط تبن الحنطة W بتحقيق أعلى نسبة للألياف بلغت 29.58 %، قياسا مع وسط كوالح الذرة C الذي اعطى اقل نسبة بلغت 27.37 %. وتظهر نتائج الجدول نفسه وجود تأثيراً معنوياً للمدعمات المضافة الى الاوساط الزراعية المختلفة في النسبة المئوية للألياف الخام، تفوق فيها التدعيم بنخالة الحنطةSU1 بتسجيل أعلى نسبة للألياف بلغت 32.13 %، قياساً الى معاملة المقارنة SU0 التي أعطت اقل نسبة للألياف بلغت 23.32 % وقد يعود السبب الى انخفاض نسبة الكاربوهيدرات فيها (2). اذ تعد الالياف مكونا مهما في الاغذية الصحية للإنسان. كما تظهر النتائج ان مستوى اضافة اللقاح الفطري الى الاوساط الزراعية المختلفة أثر معنوياً في النسبة المئوية للألياف الخام، اذ اعطى المستوى SP1 اعلى نسبة للألياف بلغت 29.84 % في حين اعطى المستوى SP3 اقل نسبة للألياف الخام بلغت 27.18 %.

حقق التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزراعي M ونوع المدعم SU تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للألياف ألخام، اذ اعطت التوليفة WwC+SU1 اعلى نسبة للالياف بلغت 33.53 % في حين اعطت التوليفة WC+SU0 اقل نسبة للألياف الخام بلغت 22.27%. أعطى التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزرعي M ومستوى اللقاح الفطري SP تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للألياف الخام، اذ اعطت التوليفة W+SP1 اعلى نسبة للألياف الخام بلغت 32.10 % في حين اعطت التوليفة C+SP3 اقل نسبة للألياف بلغت 25.92%. أثر التداخل الثنائي بين نوع المدعم SU ومستوى اللقاح الفطري SP معنوياً في النسبة المئوية للألياف الخام، اذ اعطت التوليفة SU1+SP1 اعلى نسبة للالياف بلغت33.69%، في حين اعطت التوليفة SU0+SP3 اقل نسبة للالياف بلغت 21.86 %. كما بينت نتائج التحليل الاحصائي للجدول نفسه ان تأثير التداخل الثلاثي للعوامل المدروسة كان معنوياً في النسبة المئوية للألياف الخام، اذ اعطت التوليفة W+SU1+SP1 اعلى نسبة للألياف بلغت 36.17 %، في حين اعطت التوليفة C+SU0+SP3 اقل نسبة للألياف بلغت 21.24 %.

تأثير نوع الوسط والمدعم ومستوى اللقاح في النسبة المئوية الكاربوهيدرات:

بينت نتائج التحليل الاحصائي للجدول (6) وجود تأثير معنوي للأوساط الزراعية المختلفة في محتوى الاجسام الثمرية من الكاربوهيدرات، اذ تفوق الوسط WwP بأعلى نسبة للكاربوهيدرات بلغت 49.66 % قياسا مع وسط تبن الحنطة W الذي اعطى اقل نسبة للكاربوهيدرات بلغت 38.52 %. اشارت النتائج الى وجود تأثير معنوي للمدعمات المضافة الى الاوساط الزراعية المختلفة في النسبة المئوية للكاربوهيدرات، فقد حقق المدعم نخالة الحنطةSU1 اقل نسبة للكاربوهيدرات بلغت 39.68 %، قياساً لمعاملة المقارنة SU0 التي اعطت اعلى نسبة للكاربوهيدرات بلغت 53.48% وربما يعزى السبب الى ارتفاع نسبة البروتين والألياف فيها (2). كما لوحظ من

النتائج ان مستوى إضافة اللقاح الفطري الى الأوساط الزراعية المختلفة أثر معنوياً في النسبة المئوية للكاربوهيدرات، اذ اعطى المستوى SP3 اعلى نسبة للكاربوهيدرات بلغت 48.21 %، تلاه المستوى SP2 ثانيا بنسبة بلغت 45.07 %، في حين اعطى المستوى SP1 اقل نسبة للكاربوهيدرات بلغت 44.04 %.

جدول (5) تأثير نوع الوسط و نوع مادة التدعيم و مستوى اللقاح وتداخلاتها في النسبة المئوية للألياف الخام.

Table(5): Effect of Substrate type,Supplement,Spawn level and their interaction on %crud Fiber.

SP *SU	نوع الوسط الزرعي M							اللقاح SP	المدعم SU
	WwP	WP	Ww C	WC	P	C	W		
24.80	25.46	23.81	24.53	23.08	25.55	24.52	26.65	SP1	SU0
23.31	24.14	22.74	22.90	22.41	23.70	22.20	25.10	SP2	
21.86	23.28	21.75	21.32	21.31	22.14	21.24	21.95	SP3	
33.69	34.33	32.47	34.26	33.52	32.67	32.40	36.17	SP1	SU1
32.20	33.58	30.85	33.87	33.19	30.82	30.29	32.82	SP2	
30.50	31.42	29.16	32.44	31.73	29.22	29.40	30.10	SP3	
31.04	32.71	30.96	26.05	31.43	31.97	30.69	33.47	SP1	SU2
30.48	30.86	29.83	30.97	30.96	30.94	28.52	31.28	SP2	
29.20	30.01	28.72	30.55	29.52	29.77	27.10	28.69	SP3	
	29.53	27.81	28.55	28.57	28.53	27.37	29.58	معدل الوسط M	
M*SU*SP = 2.57 SU*SP= 0.97 M= 0.86								LSD 0.05	
SU	SU * M								
23.32	24.29	22.77	22.92	22.27	23.80	22.65	24.57	SU0	M * SU
32.13	33.11	30.82	33.53	32.81	30.90	30.70	33.03	SU1	
30.24	31.20	92.84	29.19	30.64	30.89	28.77	31.15	SU2	
M*SU= 1.48 SU= 0.56								LSD 0.05	
SP	SP * M								
29.84	30.83	29.08	28.28	29.35	30.07	29.20	32.10	SP1	M * SP
28.67	29.53	27.81	29.25	28.85	28.49	27.00	29.74	SP2	
27.18	28.24	26.54	28.10	27.52	27.04	25.92	26.91	SP3	
M*SP= 1.48 SP= 0.56								LSD 0.05	

جدول (6) تأثير نوع الوسط و نوع مادة التدعيم و مستوى اللقاح وتداخلاتها في النسبة المئوية للكاربوهيدرات.

Table(6): Effect of Substrate type,Supplement, Spawn level and their interaction on %Carbohydrate.

SP *SU	نوع الوسط الزرعي M							اللقاحSP	المدعم SU
	WwP	WP	Ww C	WC	P	C	W		
50.69	56.15	54.01	52.58	52.65	48.55	46.74	44.17	SP1	SU0
53.71	57.07	58.23	56.51	54.04	51.14	54.27	44.70	SP2	
56.05	57.56	59.91	54.83	54.15	53.50	56.78	55.64	SP3	
38.81	45.47	43.18	37.81	36.88	37.37	44.64	26.31	SP1	SU1
38.19	44.14	43.76	38.62	34.08	45.20	33.50	28.03	SP2	
42.03	44.36	44.32	43.58	36.89	44.98	46.44	33.67	SP3	
42.61	47.31	43.65	44.11	45.93	44.00	40.65	32.60	SP1	SU2
43.31	45.58	41.53	46.58	44.99	39.42	47.44	37.63	SP2	
46.54	49.32	49.32	47.24	46.26	45.73	44.02	43.92	SP3	
	49.66	48.66	46.87	45.10	45.55	46.05	38.52	معدل الوسط M	
M*SU*SP = 3.49			SU*SP= 1.32			M= 1.16		LSD 0.05	
SU	SU * M								
53.48	56.93	57.38	54.64	53.61	51.07	52.60	48.17	SU0	M * SU
39.68	44.66	43.75	40.00	35.95	42.52	41.53	29.34	SU1	
44.15	47.40	44.83	45.98	45.73	43.05	44.04	38.05	SU2	
M*SU= 2.01				SU= 0.76				LSD 0.05	
SP	SP * M								
44.04	49.64	46.95	44.83	45.15	43.31	44.01	34.36	SP1	M * SP
45.07	48.93	47.84	47.23	44.37	45.25	45.07	36.78	SP2	
48.21	50.41	51.18	48.55	45.76	48.07	49.08	44.41	SP3	
M*SP= 2.01				SP= 0.76				LSD 0.05	

أعطى التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزراعي M ونوع المدعم SU تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للكاربوهيدرات، تفوقت فيها التوليفة WP+SU0 بإعطائها أعلى نسبة للكاربوهيدرات بلغت 57.38 %، في حين أعطت التوليفة W+SU1 أقل نسبة للكاربوهيدرات بلغت 29.34 %. حقق التداخل الثنائي بين نوع الوسط الزراعي M ومستوى اللقاح الفطري SP تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للكاربوهيدرات، اذ اعطت التوليفة WP+SP3 اعلى نسبة للكاربوهيدرات بلغت 51.18 %، في حين اعطت التوليفة W+SP1 اقل نسبة للكاربوهيدرات بلغت 34.36%. كما أثر التداخل الثنائي بين نوع المدعم SU ومستوى اللقاح الفطري SP معنوياً في النسبة المئوية للكاربوهيدرات، اذ اعطت التوليفة SU0+SP3 اعلى نسبة للكاربوهيدرات بلغت 56.05%، في حين اعطت التوليفة SU1+SP2 اقل نسبة للكاربوهيدرات بلغت 38.19 %. كما بينت نتائج التحليل الاحصائي للجدول أعلاه ان تأثير التداخل الثلاثي للعوامل المدروسة كان معنوياً

في النسبة المئوية للكاربوهيدرات، إذ أعطت التوليفة WP+SU0+SP3 أعلى نسبة للكاربوهيدرات بلغت 59.91 %، في حين أعطت التوليفة W+SU1+SP1 أقل نسبة للكاربوهيدرات بلغت 26.31%.

كما ان للتداخل الثنائي والثلاثي تأثيراً معنوياً في اغلب الصفات النوعية للفطر، نتيجة التأثير المشترك بين العوامل الثلاثة المتمثلة بنوع الوسط الزراعي ونوع مادة التدعيم ومستوى اللقاح الفطري.

المصادر

1- HASSAN, I. A. 2011. Effect of Sterilization Method and Supplementation on the Yield and Storage life of Oyster Mushroom Cultivated on Date Palm Byproducts. M.Sc. Thesis, of Dept.of Horticulture and Sci., Coll. of Agric., Univ. of Baghdad, (in Arabic) PP. 100.

2-AL-Sadaawwy,A. K. A. 2015. Evaluation the Efficiency of Substrate and Casing in Quantities and Qualities Characteristics of *Flammulina velutipes* and *Pleurotus eryngii* and their effect in Control of Some Plant Pathogenes. Ph.D. thesis, Dept. of Plant Pathology Sci., Coll. of Agric., Univ. of Baghdad, (in Arabic)PP. 129

3-A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Artington, Virginia, USA.

4-Ahmed, S.A., J.A. Kadam, V.P. Mane, S.S. Patil and M.M.V. Baig .2009. Biological efficiency and nutritional contents of *Pleurotus florida* cultivated on Different agro-waste. Nature. Sci. 7(1): 44-48.

5Chang,S.T.andJ.A.Buswell.1999.*G anoderlucidum*(curt.fr.)P.Karst. (Aphyllophoromycetideae)-a medicinal mushroom .Int.J.Med. Mushrooms,1:39-148.

6-Dahmardeh, M. 2013. Use of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Grown on Different Substrates (Wheat and Barley Straw) and Supplemented at Various Levels of Spawn to Change the Nutritional Quality Forage. International Journal of . 3(4): 138-140.

7-Dundar, A.,H. Acay and A.Yildiz. 2008.Yield performances and nutritional contents of three oyster mushroom species cultivated on wheat stalk, Afric. J. of Biotec.,7 (19): 3497-3501.

8-Elliott, C.E. (1991). Reproduction In Fungi, first edition.

9-Haynes,R.J.1980.Acomperation of two modified Kjeldhal digestion techniques for multi-element plant analysis with conventional wet and dry ashing methods.Commun . Soil

Sci.Plant Analysis ; 11(5):459-467.

10-Hung, P. V. and N. Y. Nhi. 2012. Nutritional composition and antioxidant capacity of several edible Mushroom growing in southern Vietnam. International Food Research Journal, 19 (2) : 611- 615.

11-ICAR (Indian Council of Agricultural Research).2007.National Research Center For Mushroom. Chambaghat ,Solan-17321 (Himachal Pradesh), India. ;pp : 48.

12-Jackson, M. L, 1958. Soil Chemical Analysis. Prentice Hall Inc Englewood, Cliffs, N. J.USA.

13-Kumari, D., V. Achal.2008. Effect of different substrates on the production and non-enzymatic antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom), Life Sci. J. 5(3): 73-76.

14- Kurtzman, R.H., J.R.2005. Mushroom: Sources for modern western medicine. Micolo. Apli. Inter., 17(2): 21-33 .

15-Kwon, H. and B. S. Kim. 2004. Mushroom Growers' Handbook: Shiitake Cultivation, PP: 260. Mushworld, Korea .

16- Miah ,Md. N.; Brinti. A. N.; Ahmed. K. U. 2016. Effect of Different Sawdust on the Growth, Yield and Proximate Composition of *Pleurotus Sajor-Caju.* Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS).9 (1) : PP 40-52.

17-OECD(Organisatio for Economic Co-operation and Development).2008. Oyster mushroom Pleurotus Spp., Source OECD Agri. and food. 2006 (21) :319 -338 .

18-Oei,P.2005.Small-scale mushroom cultivation (oyster,shiitake and wood ear mushrooms).Digigrafi, no 40 Wageningen,Netherlans; pp.86.

19- Raghuramulu, N.; Madhavan, N.K. and Kalyanasundaram, S. 2003. A Manual of Laboratory Techniques. National Institute of Nutrition. Indian Council of Medical Reasearch, Hyderabad-500007, India.pp:56-58.