احداث التغايرات الوراثية لفطر الازرار البيضاء *Agaricus bisporus* وتاثيرها في الصفات الكمية والنوعية

مصطفى رشيد القيسي* عبد الله عبد الكريم حسن* عبد الاله مخلف عبد الهادي**

الملخص

نفذ البحث في مختبرات ومزرعة كلية الزراعة-جامعة تكريت 2013-2014، لتقويم تأثير الكولشسين في الصفات الكمية والنوعية لثلاث سلالات (X20، Brown،B62) لفطر الازر *Agaricus bisporus*. أظهرت النتائج ان معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% الى تفوق معنوي في الحاصل على المعاملات جميعها ما عدا معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.5% الذي بلغ 23.06 و18.41 كغم/م^2 على التوالي. ازدات نسبة المادة الجافة للسلالة Brown الى 10.98% ثم تبعتها السلالة B62 وX20 الى 10.48 و9.45% على التوالي. في حين أعطت السلالة X20 افضل نسبة من الكربوهيدرات والدهون والمواد الصلبة الذائبة وصلت الى 54.38% و4.77% و5.18% على التوالي. اما السلالة B62 فقد تفوقت في كل من نسبة البروتين والالياف والرماد، اذ بلغت 32.26% و16.48% و16.48% على التوالي. اما الكولشسين فقد اثر في النسبة المئوية للمادة الجافة للاجسام الثمرية والمواد الصلبة الذائبة عند التركيز 0.3% والدهون عند التركيز 0.1% بزيادة معنوية بلغت 11.14% 5.51% و4.63% على التوالي ولم يؤثر في باقي الصفات النوعية. اما التداخل بين الكولشسين ونوع السلالة فقد حققت السلالة Brown والتركيز 0.1% اعلى نسبة من المادة الجافة وصلت الى 13.47%. وامتازت معاملة التداخل بين السلالة X20 والتركيز 0.5% بتسجيلها افضل نسبة معنوية للكربوهيدرات على جميع معاملات التداخل وصلت الى 57.05%. حققت معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% افضل نسبة للبروتين وصلت الى 34.25%. اما النسبة المئوية للدهون فقد اثر التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين معنويا اذ كانت افضل نسبة هي 6.17% عند معاملة التداخل بين السلالة X20 وتركيز الكولشسين 0.3%. اما النسبة المئوية للالياف فقد تميزت فيها معنويا معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% بزيادة وصلت الى 17.82%. ووجد ان النسبة المئوية للرماد عند معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% قد تفوقت عن المعاملات كافة معنويا بحصولها على اعلى نسبة وصلت الى 14.44%. وكانت قيمة المواد الصلبة الذائبة (TSS) عند معاملة التداخل بين السلالة X20 وتركيز الكولشسين 0.3% قد سجلت اعلى نسبة معنوية عن المعاملات جميعها بلغت 6.23%. وقد أظهرت نتائج اختبار DNA وجود تغييرات وراثية بين السلالات الاصلية والعزلات المعاملة بالكولشسين، فقد وصلت نسبة التباين الوراثي بين السلالة Brown وعزلتها المعاملة بالكولشسين عند التركيز 0.5% الى 55.6% وكان التركيز 0.1% اكثر التراكيز فعالية في احداث التباين الوراثي لكل من السلالة X20 وB62 وصل الى 33.3% و30.8% على التوالي.

جزء من أطروحة دكتوراه الباحث الاول.

* كلية الزراعة، جامعة تكريت،تكريت،العراق.

**كلية الزراعة، جامعة بغداد،بغداد،العراق.

تاريخ تسلم البحث:حزيران/2015.

تاريخ قبول البحث:ت$_1$/2016.

المقدمة

من اهداف تربية وتحسين الفطر الزراعي هي زيادة الإنتاج وتحسين النوعية فضلا عن مقاومتها للامراض (**17**). وان واحدا من المسوغات الرئيسة في افتقار قطاع برامج تربية وتحسين السلالات وإنتاج الهجن لهذا الفطر تعود الى دورة حياته الشائعة التي هي من نوع **secondary homothalic** (**15**). ويبدو ان التربية الفعالة لهذا الفطر وإنتاج السلالات ذات الأهمية الاقتصادية كانت تخضع في معظمها الى الصدفة حتى أواخر سنة **1970** (**32**). وكان انتاج اول هجينين في العالم سنة **1980** اطلق عليهما (**Horst U1** و**Horst U3**) بين صنفين تجاريين الأول ذو لون ابيض **white** والثاني مائل الى اللون الأصفر اطلق عليه **off white** (**10**) لذلك حتى أواخر سنة **1980** كانت معظم السلالات الزراعية في العالم هي مطابقة لهذين الهجينين او مشتقة منهما (**19**). وان الطفرات توفر مصدرا للتغيير الوراثي الى جانب التكاثر الجنسي في الاحياء الحقيقية النواة ومنها اغلب أنواع الفطريات، والطفرة هي تغير مفاجئ ودائم في صفة مورثة، تحصل الطفرات نتيجة تأثير عوامل مطفرة (**Mutagens**) الفيزيائية او الكيميائية تتعرض لها الخلايا في الطبيعة ولاحداث طفرات او استحثاثها تستعمل هذه المطفرات بشدات او تراكيز معلومة لمدد مختلفة (**4**). ولقد تم الحصول على تغييرات مظهرية وانتاجية للفطر ***Hypsizygus marmoreus*** بعد معاملته بالمطفر الكيميائي **methyl methanesulfonic acid** بتراكيز مختلفة تراوحت بين **0%** الى **1%** في المعلق السبوري لساعة واحدة تحت درجة حرارة **24** م^{0} (**18**). اما **Sharma** و **Sharma** (**30**) فقد استخدما المطفر الكيميائي **ethyl methanesulfonic acid** بالتراكيز المئوية (**0.001**،**0.002**،**0.003**،**0.004**،**0.005**) فضلا عن التطفير بالاشعة فوق البنفسجية على الفطر ***pleurotus ostereatus*** بالمدد التالية (**25,20,15,10,5**) دقيقة بمسافة **5** و**10** سم لتحسين بعض الصفات النوعية للفطر وهي تقليل نسبة الابواغ في الاجسام الثمرية التي تسبب الحساسية او الحصول على سلالات لاتنتج سبورات **spore less**. ذكر المختار (**2**) ان من الوسائل المتبعة لاحداث الطفرات هي معاملة الخلايا بمادة الكولجسين (**Colchicine**) وهي مادة قلويدية تستخرج من نبات اللحلاح **autumn crocus** (***autmnale Colchicum***)، وان هذه المادة تعمل على احداث التضاعف الكرموسومي من خلال منع تكوين خيوط المغزل في اثناء الانقسام الاعتيادي فتعيق حركة الكرموسومات بعد الانشطار دون تكوين جدار خلوي جديد وبذلك نحصل على ضعف العدد من الكرموسومات في الخلية ذاتها ويسمى هذا النوع من التضاعف التضاعف الذاتي **Autopolyploids**. ويعد حدوث صيغة التضاعف الكرموسومي **Polyploid** في كائنات حقيقية النواة عملية تطورية رئيسة، تم وصفها بصورة خاصة في النباتات، وإلى حد أقل في الحيوانات، اما في الفطريات فقد ظل البحث فيها قليل الى حد كبير. وليس من المفاجئ ان نرى حدوث التضاعف الكرموسومي في مدى واسع من شعب الفطريات مثل ***Pezizomycotina*** و***Saccharomycotina***. وعلى وجه الخصوص في جنس ***Saccharomyces*** و***Candida*** وامكن احداث التضاعف الكرموسومي عن طريق التهجين بين الاجناس والانواع او عن طريق التحفيز بواسطة معاملتها بمادة الكولجسين (7). وقد تم تحديد التضاعف الكرموسومي الذي حدث في الطبيعة للفطر الغذائي ***Cyathus stercoreus*** الاسم الشائع له **dung-loving bird's nest** التابع لشعبة **Basidiomycota** وكان التضاعف من النوع الرباعي **tetraploid** (**20**). وقد استعمل **Hosseini** وجماعته (**13**) مادة الكولشسين في احداث التضاعف الكرموسومي للفطر الزراعي ***Pleurotus ostreatus*** وكانت التراكيز (**0.05**، **0.1**، **0.3** %) وحصل على زيادة في كمية الإنتاج بنسبة **80%**. وتمكن **Toyama** (**34**) من احداث التضاعف الكرموموسومي للفطر الزراعي **shiitake** (***lentinula edodes***) وذلك بأستعمال مادة الكولشسين التي تمت بمعاملة الغزل الفطري بتركيز **0.1** % وسجلت كطريقة للتربية يمكن تطبيقها والاستفادة منها. وقد أجريت كثير من تطبيقات مؤشرات **DNA-Marker** على فطر الازرار البيضاء، ففي التسعينات من القرن السابق تم تطبيق الـ **PCR-RAPD** في تحديد مدى التنوع الوراثي لسلالات فطر الازرار البيضاء الناتج من التضريبات فيما بينها

(16,15). وكان هناك استعمالات أخرى لمؤشرات DNA حسب طريقة RAPD في تحديد الغزل الفطري احادي النواة (Homokaryons) عن الغزل الفطري ثنائي النواة (Heterokaryons) لادخاله في برنامج التضريبات بين السلالات لانتاج الهجن (24). لذلك هدفت هذه الدراسة الى احداث تغييرات وراثية جديدة للفطر ***Agaricus bisporus*** لغرض انتخاب سلالات تحمل صفات كمية ونوعية افضل.

المواد وطرائق البحث

نفذ البحث في مختبرات ومزرعة كلية الزراعة– جامعة تكريت الخاصة بانتاج الفطر للموسم 2013–2014. صمم البحث على وفق تصميم القاعات العشوائية الكاملة (RCBD) بعاملين وبواقع اربعة تكرارات لكل معاملة، العامل الاول تضمن ثلاث سلالات من الفطر ***Agaricus bisporus*** هي (B62 ,X20,Brown) تم اعطاؤها الرموز (S_3،S_2،S_1) على التوالي والعامل الثاني كان معاملة تلك السلالات بمادة الكولجسين (colchecine) بالتراكيز الاتية (W/V) 0% 0.1% 0.3% 0.5% واعطيت الرموز(C_3،C_2،C_1،C_0) على التوالي. اذ تمت إضافة هذه التراكيز الى انابيب زجاجية حجم 20 مل تحتوي على وسط PDA منمى عليه الغزل الفطري للسلالات الثلاث وكان حجم الإضافة بواقع 1 مل لكل أنبوب (غطى سطح الوسط بحدود 4 ملم) وتركت لمدة 24 ساعة (Hosseini وجماعته ، 2009). تم تحليل النتائج احصائيا باستعمال البرنامج الاحصائي الجاهز Genstat Discovery Edition4. وقورنت المتوسطات بحسب اختبار LSD وعلى مستوى احتمال 5%.

مرحلة الانتخاب

بعد معاملة الكولشسين نقل جزء من المستعمرة المعاملة بالكولجسين الى اطباق بتري حاوي على الوسط PDA وحضنت على درجة 25°م لمدة أسبوعين تم فيها مراقبة الاطباق يوميا لتحديد النمو المظهري المختلف عن العزلة الاصلية غير المعاملة بالكولشسين وانتخبت المستعمرات الاسرع نموا.

تحضير اللقاح الفطري: كما جاء في Hadwan وAl-Habi (11) وShalee (29). **تحضير الوسط الزرعي:** حسب ما جاء في القيسي (1).

مرحلة إضافة اللقاح الفطرية: تمت إضافة اللقاح الفطري بنسبة 0.5% من الوزن الرطب للوسط الزراعي (33).

تحضير طبقة التغطية واضافتها: تم تحضير طبقة التغطية من البيت موس والرمل بنسبة 1:1 بعد ان تم اجراء عملية الغسل لكل من البيت موس والرمل من الاملاح بالماء الاعتيادي مرات عديدة وعدل pH الى 7 بعد إضافة كاربونات الكالسيوم وبسترة بواسطة البخار تحت درجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة 4 ساعات. أضيفت طبقة التغطية بعد ان انتشر الغزل الفطري بما يقارب من 90% في اثناء الوسط الزراعي بسمك 4 سم على سطح الكيس (21).

القياسات المدروسة

صفات الحاصل ومكوناته

–حاصل الجنية الواحدة (تم حسابها من خلال جمع حاصل القطفات للمدة من 7–10 ايام).

–عدد الاجسام الثمرية / م^2: تم حساب العدد من بداية الإنتاج حتى نهايته.

–معدل وزن الجسم الثمري: تم حسابه بحسب المعادلة التالية:–

$$\text{معدل وزن الجسم الثمري} = \frac{\text{حاصل الوحدة التجريبية الكلي (غم)}}{\text{عدد الاجسام الثمرية للوحدة التجريبية}}$$

–الحاصل الكلي (تم حسابها من خلال جمع الحاصل التراكمي للجينات الثلاث)

القيمة النوعية للاجسام الثمرية:

النسبة المئوية للكربوهيدرات: كما جاء في **Joslyn** (**14**).

–تقدير النتروجين:

تم تقدير نسبة البروتين في الاجسام الثمرية بصورة غير مباشرة عن طريق تقدير النتروجين الكلي بحسب طريقة كلدال.

النسبة المئوية للبروتين= النسبة المئوية للنتروجين **x 4.38** كما جاء في **Pardo** وجماعته (**27**).

–قدرت الدهون والنسبة المئوية للالياف الخام والنسبة المئوية للرماد: حسب الطريقة المذكورة في **A.O.A.C.** (**5**).

–قدرت النسبة المئوية للمادة الجافة والمواد الصلبة الذائبة (**TSS**): (**22**).

–اختبار التغيرات الوراثية للسلالات وتأثير الكولشسين في احداثها عن طريق مؤشرات ال**DNA**:

عزلت المادة الوراثية (**DNA**) من انسجة الاجسام الثمرية الجافة التابعة لمعاملات تأثير مادة الكولشسين في احداث التغيير الوراثي. بعد اجراء عملية الطحن لها.

استخلاص الDNA وعزله (Extraction and Isolation Genomic DNA)

استعملت محاليل استخلاص وتنقية **DNA** الجينوم (**i-genomic BYF DNA Extraction Mini Kit**) المنتجة من قبل شركة **iNtRON Biotechnology,Inc.** مع اجراء بعض التحويرات التي استبعد فيها استعمال بعض الانزيمات واستعاض عنها بمضاعفة كمية بعض محاليل الاستخلاص.

البوادئ (RAPD) Primers

اختبرت البوادئ التالية لمعرفة افضل بادئا عشوائيا بغية اعتمادها كأحد مؤشرات تقانة التضاعف العشوائي متعدد الاشكال لسلسلة **DNA**.

تسلسل البوادئ العشوائية

رقم البادئ	تسلسل القواعد	رقم البادئ	تسلسل القواعد
1	TGGCGCAGTG	6	GAGGGAAGAG
2	CAGCACCGCA	7	ACGATGAGCC
3	CCCGGCATAA	8	GGGCGGTACT
4	TGGCCCTCAC	9	AAGAGAGGGG
5	GACTGCACAC	10	AGGTTGCAGG

برمجة جهاز **PCR** على وفق البرنامج التالي:

رقم المرحلة	اسم المرحلة	درجة الحرارة	الوقت	عدد الدورات
1	initial Denaturation1 المرحلة الابتدائية لمسخ DNA	94 °C	5 min	1cycle
2	` Denaturation	94 °C	1 min	40 cycle
3	Annealing الارتباط اوالتحام البادئ	44 °C	1:50 min	
4	Extension المرحلة الأولى لاستطالة الشريط الجديد	72 °C	2 min	
5	Final Extension المرحلة النهائية لاستطالة الشريط الجديد	72 °C	7 min	1 cycle
6	Holding التحضين	4 °C	∞	

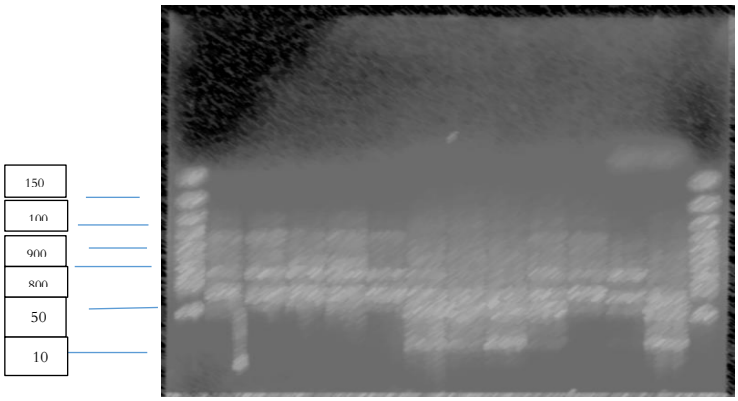
كما جاء في **Yuan** وجماعته (**35**).

تحضير هلام الاكروز

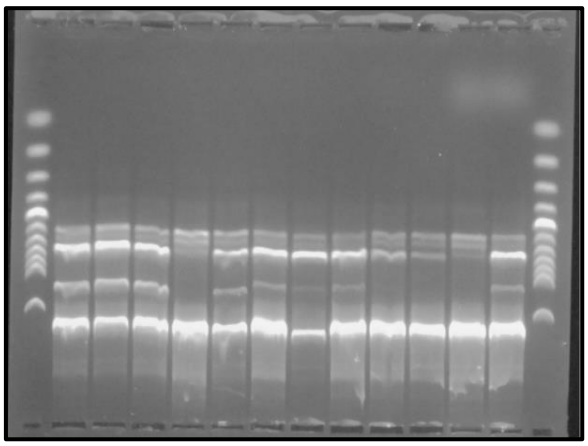
رحلت نواتج **PCR** في هلام الاكروز بتركيز **1.5%** بفولتية مقدارها **100** فولت وبعد مضي **100** دقيقة تم

إيقاف الترحيل. فحصت الحزم المتحركة في اثناء الهلام عند تعريضها للاشعة فوق البنفسجية باستعمال جهاز **UV-Cleaner** المجهز لطول موجي بين (**260-280**) نانوميتر. كما جاء في **Yuan** وجماعته (**35**).

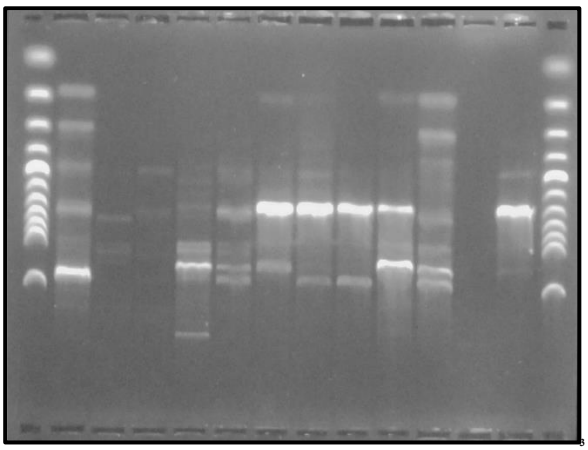
وفيما ياتي نواتج الترحيل الكهربائي لمؤشرات **DNA-RAPD** وظهور الحزم ضمن هلام الاكروز:



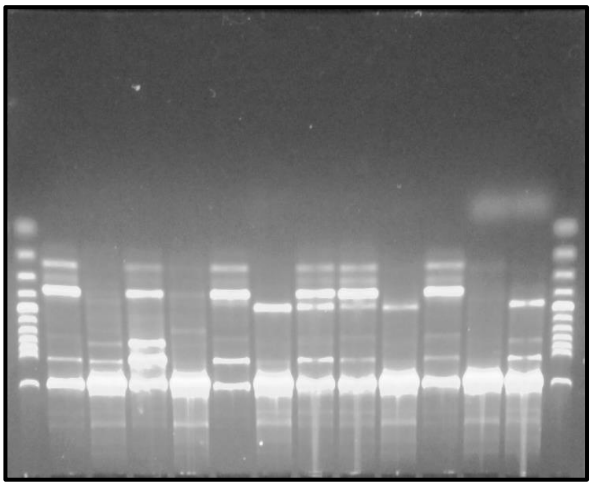
شكل 1: نواتج الترحيل الكهربائي لـ**12** عينة (السلالات **Brown**، **X20**، **B62** وطافراتها) بأستعمال تقانة **DNA-RAPD** لل بادئ رقم **1**.



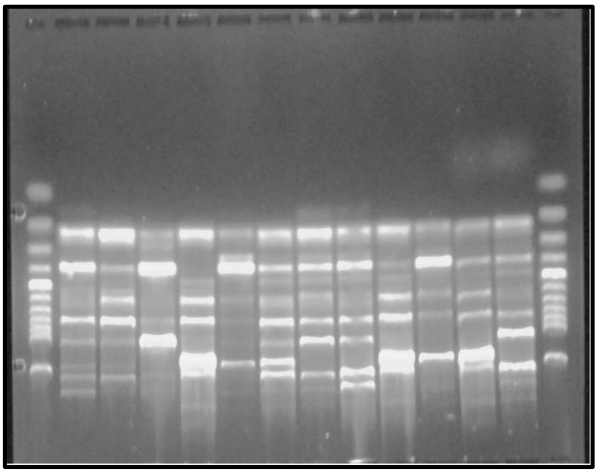
شكل 2: نواتج الترحيل الكهربائي لـ**12** عينة (السلالات **Brown**، **X20**، **B62** وطافراتها) بأستعمال تقانة **DNA-RAPD** للبادئ رقم **4**.



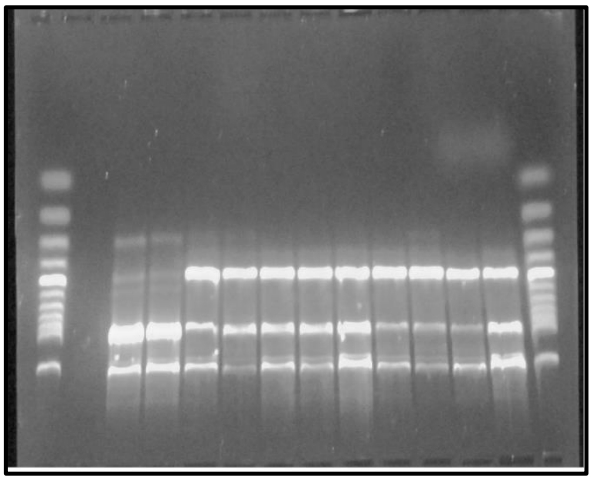
شكل 3: نواتج الترحيل الكهربائي لـ**12** عينة (السلالات **Brown**، **X20**، **B62** وطافراتها) بأستعمال تقانة **DNA-RAPD** للبادئ رقم **5**.



شكل 4: نواتج الترحيل الكهربائي لـ**12** عينة (السلالات **Brown**، **X20**، **B62** وطافراتها) بأستعمال تقانة **DNA-RAPD** للبادئ رقم **7**.



شكل 5: نواتج الترحيل الكهربائي لـ**12** عينة (السلالات **Brown**، **X20**، **B62** وطافراتها) بأستعمال تقانة **DNA-RAPD** للبادئ رقم **8**.



شكل 6:نواتج الترحيل الكهربائي لـ**12** عينة (السلالات **Brown**، **X20**، **B62** وطافراتها) بأستعمال تقانة **DNA-RAPD** للبادئ رقم **10**.

تحليل نتائج مؤشرات DNA-RAPD احصائيا

عبر عن بيانات الترحيل بالتحليل الوصفي لاستخراج قيم التشابه المقدرة **Average similarity coeficient** ثم الى قيم الاختلاف **Genetic Variation** بآستخدام برامج التحليل الاحصائي آستناداً الى معادلة **Nei** و **Lei** (**25**).

رُسم مخطط البُعد الوراثي بين العزلات الاصلية والمنتخبة بعد المعاملة بالكولشسين بآستخدام طريقة **The un-weighted pair group method for the arithmetic average (UPGMA)** .

قيمت البادئات لايجاد افضلها من خلال:

1–عدد الحزم الكلية والتعددية الشكلية او الحزم المتباينة (number of Polymorphic Bands): تم تحديدها عن طريق خط النظر الافقي لكل العينات للبادئ الواحد فان وجد تباين في الحزم عن الأخرى تم حسابها كحزمة ذات تعددية شكلية

2–النسبة المئوية للحزم ذات التعدد الشكلي (Polymorphism%)=عدد الحزم ذات التعددية الشكلية (المتباينة) لكل بادئ/عدد الحزم الكلية للبادئ X 100

3–كفاءة البادئ (Primer efficiency)= عدد حزم الناتجة من كل البادئ/ عدد الحزم الكلي للبادئاتX 100

4–النسبة المئوية للقدر التميزية لكل بادئ (discriminatory power)=عدد الحزم ذات التعددية الشكلية (المتباينة) لكل بادئ/ عدد الحزم ذات التعددية الشكلية (المتباينة) لكل البوادئ X 100كما جاء في **AL-Assie** وجماعته (**6**).

النتائج والمناقشة

تأثير السلالة و الكولشسين والتداخل بينهما في الحاصل الكلي

أظهرت نتائج جدول (**1**) ان للسلالة تأثيرا معنويا في زيادة الحاصل الكلي، فقد تفوقت السلالة **B62** معنويا بوصول حاصلها الى **18.94** كغم/م^2 مقارنة بالسلالتين **Brown** و **X20** اللتين بلغ حاصلهما الكلي **15.17** و **14.98** كغم/م^2 على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه **Pardo** وجماعته (27) عند اختبار ثلاثة أنواع من السلالات تباينت قيمها بكمية الحاصل التي تراوحت بين **14.10– 21.60** كغم/م^2. وقد يعزى هذا التباين الى الاختلاف الوراثي بين السلالات وبالتالي فان كل سلالة تختلف في متطلباتها البيئية كما أظهرت نتائج **RAPD** ان هناك اختلاف وراثي واسع بين السلالات فقد وزعت هذه السلالات الثلاثة الى مجموعتين كما موضح في جدول (**12**) وشكل (**7**) فالسلالة **B62** ضمن مجموعة **A1** والسلالة **Brown** و**X20** ضمن المجموعة **A2** ولكن كل منهما وضعت في اقصى بعد وراثي ضمن المجموعة نفسها .اما عن تأثير مستوى تراكيز الكولشسين فلم يتحقق أي تأثير معنوي بين المعاملات على الحاصل الكلي لهذا الفطر.

بينت نتائج التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين أثرا معنويا في الحاصل الكلي، الذي تفوقت بها معاملة التداخل بين السلالة **B62** والتركيز **0.1%** على المعاملات جميعها ما عدا معاملة التداخل بين السلالة **B62** والتركيز **0.5%** الذي بلغ الحاصل الكلي لكل منها **23.06** و**18.41** كغم/م^2 على التوالي. في حين انخفض الحاصل الكلي الى **12.06**كغم/م^2 عند معاملة القياس التابعة للسلالة **Brown**. ويمكن تفسير ذلك بان بعض تراكيز الكولشسين احدث تغييرا وراثيا في التركيب الوراثي للسلالة فالسلالة **B62** المعاملة بالتركيز **0.1%** من الكولشسين كانت متباينة في البعد والقرب عن باقي السلالات أي في المنتصف تقريبا من باقي السلالات كما يتضح من جدول

(**11**) وشكل (**7**). مما انعكس إيجابيا على كمية الحاصل عند كل جنية من الجنيات والحاصل الكلي. وقد اثبت احداث التغيير الوراثي عن طريق المعاملة بمادة الكولشسين من خلال التحليل الوراثي للمؤشرات الجزيئية **RABD** الذي اظهر بشكل واضح هذا التغيير.

جدول 1: تأثير السلالة و الكولشسين والتداخل بينهما في الحاصل الكلي

السلالة / تراكيز الكولشسين	الحاصل الكلي كغم/ م^2			متوسط التركيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
C_0 (%0.0)	12.06	16.52	17.74	15.44
C_1 (%0.1)	15.58	13.86	23.06	17.50
C_2 (%0.3)	16.60	14.57	16.56	15.91
C_3 (%0.5)	16.42	14.99	18.41	16.61
متوسط السلالة	15.17	14.98	18.94	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	2.39	n.s	4.77	

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في عدد الاجسام الثمرية للحاصل الكلي

يتضح من نتائج جدول (**2**) ان السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين لم يكن لها تأثير معنوي في عدد الاجسام الثمرية للحاصل الكلي لفطر الازرار البيضاء. اما التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين فكان لها اثر معنوي في عدد الاجسام الثمرية للحاصل الكلي، اذ وصلت معاملة التداخل بين السلالة **X20** والتركيز **0.0%** الى **525.00** جسم ثمري محدثة بذلك فرقا معنويا عن معاملتي التداخل بين السلالة **Brown** والتركيز **0.0%** و **B62** والتركيز **0.5%** الذي بلغ عدد الاجسام الثمري لكل منهما **255.00** و**270.00** جسم ثمري على التوالي.

جدول 2: تأثير السلالة و الكولشسين والتداخل بينهما في عدد الاجسام الثمرية للحاصل الكلي

السلالة / تراكيز الكولشسين	عدد الاجسام الثمرية للحاصل الكلي			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
C_0 (%0.0)	255.00	525.00	338.00	372.00
C_1 (%0.1)	330.00	330.00	315.00	325.00
C_2 (%0.3)	315.00	310.00	420.00	348.00
C_3 (%0.5)	360.00	315.00	270.00	315.00
متوسط السلالة	315.00	370.00	336.00	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	n.s	n.s	245.0	

تأثير السلالة و الكولشسين والتداخل بينهما في معدل وزن الجسم الثمري للحاصل الكلي

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي لنتائج جدول (**3**) عدم وجود فروق معنوية فيما يخص تاثير السلالة فضلا عن مستوى تراكيز الكولشسين. بينما أظهرت نتائج التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين اثرا معنويا في معدل وزن الجسم الثمري للحاصل الكلي، اذ امتازت معاملة التداخل بين السلالة **B62** والتركيز **0.1%** بحصولها اعلى معدلا لوزن الجسم الثمري بلغ **73.20** غم. في حين أدت معاملة التداخل بين السلالة **X20** والتركيز **0.0%** في خفض معدل وزن الجسم الثمري الى ادناه الذي بلغ **40.30**غم.

جدول 3: تأثير السلالة و الكولشسين والتداخل بينهما في معدل وزن الجسم الثمري للحاصل الكلي

السلالة / تراكيز الكولشسين	معدل وزن الجسم الثمري للحاصل الكلي (غم)			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
(%0.0) C_0	50.8	40.3	52.6	47.9
(%0.1) C_1	46.8	47.9	73.2	56.0
(%0.3) C_2	52.7	67.3	41.2	53.7
(%0.5) C_3	45.6	47.6	68.2	53.8
متوسط السلالة	49.0	50.8	58.8	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	n.s	n.s	29.04	

القيمة النوعية للاجسام الثمرية

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للوزن الجاف للاجسام الثمرية

يبين جدول (4) ان السلالة كان لها عمل في تباين نسبة المادة الجافة للاجسام الثمرية، اذ سجلت السلالة **Brown** اعلى نسبة مئوية للوزن الجاف وصلت الى **10.98%** تلتها السلالتين **B62** و**X20** اذ بلغت النسبة لكل منهما **10.48** و**9.45%** على التوالي. اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه **Sobieralski** وجماعته (**31**) من تباين في نسبة المواد الجافة للاجسام الثمرية بين **6.8–11.2%** ليست سلالات مختلفة من فطر الازرار البيضاء. وقد أعطت المعاملة بالكولشسين اثرا معنويا في نسبة المادة الجافة للاجسام الثمرية، اذ امتازت المعاملة ذات التركيز **0.3%** باعطائها اعلى نسبة معنوية عن المعاملات كافة وصلت الى **11.14%**. اما التداخل بين الكولشسين والسلالة فقد وجد ان هناك فروقا معنوية في نسبة المادة الجافة للاجسام الثمرية، اذ حققت السلالة **Brown** والتركيز **0.1%** اعلى نسبة وصلت الى **13.47%**. وهذه النتائج تتفق مع **Colak** وجماعته (**9**) التي تم فيها اختبار نوعين من الاوساط الزراعية، اذ وجد ان الوسط الذي يحتوي على نسبة نتروجين اكثر اعطى نسبة اعلى من المادة الجافة للاجسام الثمرية. اذ تراوحت نسبة المادة الجافة في الوسط الأول بين **7.90–11.36%** والثاني بين **7.74–11.46%**. وفي المقابل فقد وجد **Han** (**12**) ان نسبة المادة الجافة من الاجسام الثمرية لفطر الازرار البيضاء تراوحت بين **7.19–9.14%**. في حين وجد **Oei** (**26**) ان نسبة المادة الجافة لفطر الازرار البيضاء تراوحت بين **6–12%**.

جدول 4: تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للمادة الجاف للاجسام الثمرية

السلالة / تراكيز الكولشسين	النسبة المئوية للمادة الجاف			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
(%0.0) C_0	10.80	9.51	11.45	10.60
(%0.1) C_1	13.47	8.01	8.03	9.84
(%0.3) C_2	10.64	10.86	11.90	11.14
(%0.5) C_3	9.01	9.36	10.56	9.65
متوسط السلالة	10.98	9.45	10.48	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	0.0010	0.0012	0.0020	

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات للاجسام الثمرية

أظهرت نتائج جدول (5) ان هناك فروق معنوية في النسبة المئوية للكربوهيدرات بين السلالات نتيجة لتأثير السلالة، فقد أعطت السلالة X20 زيادة معنوية في هذه الصفة عن السلالات جميعها بلغت نسبتها 54.38%. في حين لم يؤثر مستوى تراكيز الكولشسين تاثيرا معنويا في النسبة المئوية للكربوهيدرات.

بينما اثر التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين معنويا في صفة النسبة المئوية للكربوهيدرات، اذ امتازت معاملة التداخل بين السلالة X20 والتركيز 0.5% و0.0% بتسجيلها افضل نسبة معنوية عن معاملات التداخل كافة التي وصلت الى 57.05% لكليهما.

جدول 5: تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات للاجسام الثمرية

السلالة / تراكيز الكولشسين	النسبة المئوية للكربوهيدرات			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
C_0 (0.0%)	51.76	57.05	52.04	53.62
C_1 (0.1%)	50.52	51.67	51.87	51.35
C_2 (0.3%)	51.76	51.76	52.04	51.85
C_3 (0.5%)	51.80	57.05	51.97	53.61
متوسط السلالة	51.46	54.38	51.98	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	2.026	n.s	4.051	

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للبروتين للاجسام الثمرية

يتضح من خلال التحليل الاحصائي للجدول (6) ان للسلالة تأثيرا معنويا في النسبة المئوية للبروتين، وقد حصلت السلالة B62 على افضل نسبة معنوية وصلت الى 32.26%. وهذا يتفق مع Pardo وجماعته (27) من ان السلالة لها تأثير في اختلاف نسبة البروتين لفطر الازرار البيضاء، اذ تراوحت النسبة المئوية لبروتين الاجسام الثمرية بين 20.63 الى 24.59%. لم تكن هناك فروق معنوية لمستوى تراكيز الكولشسين في النسبة المئوية للبروتين. قد اعطى التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين تأثيرا معنويا في النسبة المئوية للبروتين، اذ حققت معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% افضل نسبة وصلت الى 34.25%.

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للدهون للاجسام الثمرية

تشير نتائج جدول (7) الى ان السلالة اعطت فروقا معنوية لصفة النسبة المئوية للدهون التي كانت افضلها عند السلالة X20 التي وصلت النسبة فيها الى 4.77% وهذا ما يجعلها تتفوق معنويا على كل من السلالة B62 والسلالة Brown التي بلغت نسبة الدهون فيهما 3.66 و3.55% على التوالي.

اما مستوى تراكيز الكولشسين فقد حقق التركيز 0.1% زيادة معنوية بلغت 4.63% عن كل من التركيزين 0.5% و0.0% اللذين وصلا الى 3.62 و3.47%.

جدول 6: تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للبروتين للاجسام الثمرية

السلالة / تراكيز الكولشسين	النسبة المئوية للبروتين			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3B62	
C_0 (0.0%)	33.25	30.44	30.65	31.45
C_1 (0.1%)	31.20	31.96	34.25	32.47
C_2 (0.3%)	33.25	31.20	30.65	31.70
C_3 (0.5%)	30.44	30.44	33.49	31.46
متوسط السلالة	32.04	31.01	32.26	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	1.18	n.s	2.37	

جدول 7: تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للدهون للاجسام الثمرية

السلالة / تراكيز الكولشسين	النسبة المئوية للدهون Fat			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
C_0 (0.0%)	3.54	3.82	3.06	3.47
C_1 (0.1%)	3.45	5.27	5.15	4.63
C_2 (0.3%)	3.54	6.17	3.06	4.26
C_3 (0.5%)	3.67	3.82	3.37	3.62
متوسط السلالة	3.55	4.77	3.66	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	0.91	1.05	1.82	

اثر التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين معنويا في النسبة المئوية للدهون وكانت افضل نسبة هي 6.17% عند معاملة التداخل بين السلالة X20 وتركيز الكولشسين 0.3% تلاها النسبة 5.27 و5.15% التابعة لكل من معاملة التداخل بين السلالة X20 والتركيز 0.1% ومعاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% على التوالي مما مكن هذه النسب من ان تتفوق معنويا عن النسبة 3.06% التي انخفضت فيها كمية الدهون عند معاملتي التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.0% و السلالة B62 والتركيز 0.3%. وهذه النتائج مقاربة الى نتائج Nasiri وجماعته (32) عندما تم تقدير الدهون في الاجسام الثمرية لفطر الازرار البيضاء.وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره Biswas وجماعته (8) ان نسبة الدهون في فطر الازرار البيضاء تتراوح بين 3.0–6.4%. وأشارت الدراسات الى ان نسبة الالياف تقريبا 9.1%.

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للالياف للاجسام الثمرية

يبين جدول (8) وجود تأثير معنوي للسلالة في هذه الصفة، اذ امتازت السلالة B62 بتسجيلها اعلى نسبة وصلت الى 16.48% التي تفوقت معنويا عن كل من السلالة X20 وBrown الذي بلغت النسبة فيهما الى 13.50 و11.71% على التوالي. ولم يكن لمستوى تراكيز الكولشسين تأثير معنوي في النسبة المئوية للالياف.

اما التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين فقد تميزت فيها معنويا معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% بزيادة النسبة المئوية للالياف الى 17.82%. في حين قلت النسبة المئوية لهذه الى 9.88% عند معاملة التداخل بين السلالة Brown والتركيز 0.1%.

جدول 8: تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للالياف للاجسام الثمرية

السلالة / تراكيز الكولشسين	النسبة المئوية للالياف Crude Fiber			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
C_0 (%0.0)	12.19	14.23	17.03	14.48
C_1 (%0.1)	9.88	13.77	17.82	13.83
C_2 (%0.3)	12.19	11.75	17.03	13.66
C_3 (%0.5)	12.57	14.23	14.03	13.61
متوسط السلالة	11.71	13.50	16.48	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	2.153	n.s	4.305	

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للرماد للاجسام الثمرية

يتضح من جدول (9) ان للسلالة تأثيرا معنويا في النسبة المئوية للرماد، اذ وجد ان للسلالة B62 عملا في الزيادة المعنوية للنسبة المئوية للرماد الذي بلغ 11.99% وبذلك تتفوق معنويا على كل من السلالة X20 وBrown اللتين وصلت نسبتهما الى 10.31 و10.10% على التوالي. وهذا يتفق مع ما توصل اليه Pardo وجماعته (27) من خلال نتائج البحث الذي اختبر فيها ثلاث من السلالات تابعة لفطر الازرار البيضاء من ان للسلالة عمل في تباين النسبة المئوية للرماد التي كانت بين 10.36–12.71%.

اما استعمال المستويات المختلفة لتراكيز الكولشسين فتشير النتائج الى انه كان لها عمل في زيادة النسبة المئوية للرماد لكنها لم تصل الى المعنوية. بينت النتائج ان للتداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين تأثيرا معنويا في النسبة المئوية للرماد، اذ امتازت معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% على المعاملات جميعها معنويا بحصولها على اعلى نسبة من النسبة المئوية للرماد وصلت الى 14.44%. في حين أدت معاملة التداخل بين السلالة X20 والتركيز 0.1 % الى خفض النسبة المئوية للرماد الى 8.87%. وهذا يتفق مع ما توصل اليه Nasiri وجماعته (23) عندما تم تقدير الرماد في الاجسام الثمرية لفطر الازرار البيضاء.

جدول 9: تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للرماد للاجسام الثمرية

السلالة / تراكيز الكولشسين	النسبة المئوية للرماد Ash			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
C_0 (%0.0)	9.44	10.72	11.30	10.49
C_1 (%0.1)	9.49	8.87	14.44	10.93
C_2 (%0.3)	9.44	10.91	11.30	10.55
C_3 (%0.5)	12.06	10.72	10.92	11.23
متوسط السلالة	10.10	10.31	11.99	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	0.892	n.s	1.784	

تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة لعصير الاجسام الثمرية

اشارت نتائج جدول (10) الى ان هناك تأثير معنوي للسلالة في قيمة المواد الصلبة الذائبة TSS والتي تفوقت فيها السلالة X20 عن السلالات كافة اذ بلغت قيمتها 5.18%. اما تراكيز الكولشسين، فقد حققت معاملة

التركيز 0.3% زيادة معنوية لهذه الصفة التي بلغت قيمتها 5.51% متفوقة بذلك عن باقي معاملات مستويات التراكيز من الكولشسين.

جدول 10: تأثير السلالة والكولشسين والتداخل بينهما في نسبة المواد الصلبة الذائبة لعصير الاجسام الثمرية

السلالة / تراكيز الكولشسين	المواد الصلبة الذائبة TSS (%)			متوسط التراكيز
	S_1 Brown	S_2 X20	S_3 B62	
C_0 (%0.0)	5.100	4.567	4.233	4.633
C_1 (%0.1)	4.500	5.200	3.967	4.556
C_2 (%0.3)	5.333	6.233	4.967	5.511
C_3 (%0.5)	5.100	4.700	5.400	5.067
متوسط السلالة	5.008	5.175	4.642	
L.S.D	السلالة	تركيز الكولشسين	التداخل بين السلالة و تركيز الكولشسين	
	0.1654	0.1910	0.3309	

اثر التداخل بين السلالة ومستوى تراكيز الكولشسين معنويا في قيمة المواد الصلبة الذائبة TSS، اذ تميزت معاملة التداخل بين السلالة X20 وتركيز الكولشسين 0.3% معنويا عن المعاملات اذ بلغت قيمة المواد الصلبة الذائبة TSS 6.23%. بينما أعطت معاملة التداخل بين السلالة B62 والتركيز 0.1% ادنى قيمة للمواد الصلبة الذائبة TSS التي بلغت 3.97%. وهذه النسب من المواد الصلبة الذائبة من مستخلص الاجسام الثمرية تتفق مع كل من ماتوصل اليه Pardo وجماعته (27) وMami وجماعته (22) التي وصلت الى 4.7– 6.1 و5–6% على التوالي.

تأثير الكولشسين في احداث التغييرات الوراثية لفطر الازرار البيضاء

يتضح من جدول (11) ان الكولشسين قد احدث تغيرا وراثيا بين كل من السلالات الثلاث (Brown، X20، B62) ومستويات التراكيز الأربعة التي عوملت بها (0.0، 0.1 ، 0.3 ، 0.5%). فكما موضح في هذا الجدول ان اقصى تباينا وراثيا بين السلالة Brown والتي رمز لها (B) وتاثير التركيز كان عند 0.5% (CB3) الذي وصلت نسبة التغيير الى 55.6% في حين اقل تباعدا وراثيا كان عند التركيز 0.3% (CB2) الذي بلغت قيمته 29.2%. اما السلالة X20 فقد اثر الكولشسين في احداث تغييرات وراثية في التراكيز وكان التركيز 0.1% اكثر التراكيز فعالية في زيادة نسبة التغيير والتي كانت 33.3% واقل نسبة تغاير سجلت كانت 26.9% عند التركيز 0.5%. ووجد ان السلالة B62 عند معاملتها بالكولشسين ابتعدت عنها وراثيا العزلات المعاملة وبحسب النسب التالية 30.8 % عند التركيز 0.1% و26.3% عند التركيز 0.3% و26.1 عند التركيز 0.5%.

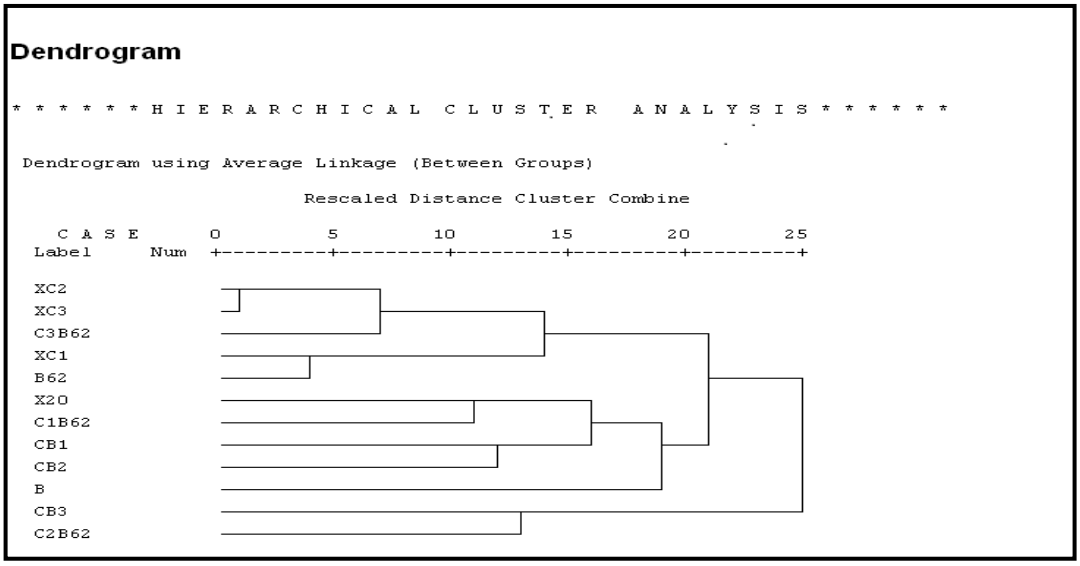
يتضح من الشكل (7) ان السلالات وعزلاتها المعاملة بالكولشسين بمجموعها الاثني عشر تم ترتيبها عنقوديا بحسب القرب الوراثي وبعده، تكونت مجموعتين رئيستين (A وB) تفرعت المجموعة A الى A1 وA2 احتوى كل فرع منها على خمس عزلات بينما كان للمجموعة B سلالتين فقط. وهذا يتفق مع ما توصل اليه حسين (3) من ان استعمال تقانة RAPD في الكشف المبكر عن حدوث تضاعف كروموسومي في نباتات الكاسيا بعد معاملتها بالكولشسين من خلال قياس البعد الوراثي قد اثبتت نجاحها بدلا من اجراء الفحص المختبري لعدد الكروموسومات للنباتات المعاملة جميعها وبذلك نختصر الوقت فضلا عن دقتها العالية.

نتائج تحليل DNA-RAPD من حيث عدد الحزم الكلية والمتباينة عددا ونسبة وكفاءة البادئ والقدرة التمييزية له.

يتضح من جدول (**12**) ان ست بوادئ فقط من اصل عشر بوادئ أظهرت حزم. وقد يعزى عدم ارتباط باقي البوادئ الاربعة الى عدم وجود ما يقابلها من تسلسلات للقواعد النتروجية على شريط **DNA** المعزول من هذا الفطر. ووجد ان البادئ رقم خمسة اعطى اكبر عدداً من الحزم وصل الى **12** وعليه ارتفعت التعددية الشكلية وونسبتها الى **11** حزمة و**91.66%** على التوالي وكفاءة البادئ والقدرة التمييزية الى **27.27%** و**30.56** على التوالي حزمة في حين اعطى البادئ رقم أربعة اقل عددا من الحزم وصل الى **4** حزمة الذي اثر في التعددية الشكلية ونسبتها والنسبة المئوية لكفاءة البادئ وقدرته التمييزية اذ بلغت **2** حزمة و**50%** و**9.09%** و**5.56%** على التوالي. وقد ذكر **Rauf** وجماعته (**28**) ان الكولشسين قد يحدث تغييرات في تتابع الـ**DNA** والـ**Allele Frequencies** عند معاملته للنبات.

جدول **11**: قيم التباعد الوراثي بين السلالات ومدى تاثير الكولشسين في احداث التغييرات الوراثية

Case	B	CB1	CB2	CB3	X20	XC1	XC2	XC3	B62	C1B62	C2B62	C3B62
B		375	292	566	280	417	170	231	429	321	487	362
CB1	375		217	349	292	348	412	360	319	255	297	289
CB2	292	217		488	250	435	294	280	489	294	405	289
CB3	556	349	488		422	349	542	532	227	375	235	476
X20	280	292	250	422		333	321	269	347	208	385	362
XC1	417	348	435	349	333		216	240	106	412	297	156
XC2	170	412	294	542	321	216		065	308	393	476	160
XC3	231	360	280	532	269	240	055		333	382	463	143
B62	429	319	489	227	347	106	308	333		308	263	261
C1B62	321	255	294	375	208	412	393	382	308		381	480
C2B62	487	297	405	235	385	297	476	463	263	381		389
C3B62	362	289	289	476	362	156	160	143	261	480	389	



شكل **7**: التحليل العنقودي للسلالات **Brown** و**X20** و**B62** لفطر الازرار البيضاء وعزلاتها الطافرة اعتمادا على مؤشرات الـ**RAPD**.

جدول **12**: نتائج تحليل مؤشرات **RAPD** من حيث عدد الحزم الكلية وتعدداتها الشكلية عددا ونسبة وكفاءة البادئ والقدرة التمييزية

رقم البادئ	عدد الحزم الكلي No. of band	عدد الحزم المتباينة no. of polymorphism	الحزم المتباينة (%) Polymorphism (%)	كفاءة البادئ (%) Primer efficiency (%)	القدرة التميزية لكل بادئ (%) discriminatory power (%)
1	6	5	83.33	13.63	13.89
4	4	2	50.00	9.09	5.56
5	12	11	91.66	27.27	30.56
7	8	7	87.50	18.18	19.44
8	9	9	100	20.45	25.00
10	5	2	40.00	11.36	5.56
المجموع	44	36	452.49	100	100.
المتوسط	7.33	6	75.42	16.67	16.67

ومن خلال هذه الدراسة نستنتج ان للكولشسين تاثير في احداث تغييرات وراثية لهذا الفطر منها ما أدت الى زيادة الحاصل الكلي وخصوصا عند التركيز **0.1**% و**0.5**%. اما مؤشرات **RAPD** فقد حققت نجاحا في الكشف عن التغييرات الوراثية لاسيما البادئان رقم **5** و**8**.

المصادر

1- 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،العراق.

2- المختار، فيصل عبد الهادي (**1988**). وراثة وتربية النباتات البستنية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، بغداد بيت الحكمة. **232** صفحة.

3- حسين، جنان قاسم. (**2016**). الكشف المبكر عن التضاعف الكروموسومي الناتج عن تاثير الكولشسين في نبات الكاسي. مجلة ديالى للعلوم الزراعية. (**8**) **2**: مقبول للنشر.

4- شريف، فياض محمد. (**2012**). مدخل الى الفطريات. الذاكرة للنشر والتوزيع،بغداد، العراق. **277** صفحة.

5- **A.O.A.C. (1980). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Washington, U.S.A.**

6- **AL-Assie, A.H., A. F. Al-azawy and W.S. Al-Dori (2012). Molecular characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Isolated from Clinical Patients by Using RAPD-PCR Technique. J. of university of anbar for pure science: 6(3): 2012.**

7- **Albertin, W. and P. Marullo (2012). Polyploidy in fungi: evolution after whole-genome duplication. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sci., 279(1738), 2497-2509.**

8- **Biswas, S.; M. Datta and S.V. Ngachan V. (2012). Mushrooms: a Manual for Cultivation. PHI Learning Pvt. Ltd..pp.14-17.**

9- **Colak, M.; E. Baysal; H. Simsek; H. Toker and F. Yilmaz (2007). Cultivation of *Agaricus bisporus* on wheat straw and waste tea leaves based composts and locally available casing materials Part III: Dry matter, protein, and carbohydrate contents of *Agaricus bisporus*. African Journal of Bio., 6(24).**

10- Fritsche G. (1983). Breeding *Agaricus bisporus* at the Mushroom Experimental Station, Horst. Mushroom J., 122:49–53.

11- Hadwan, H.A. and M.N. Al-Habi (1994). Mushroom Cultivation and Spawn production in Iraq. Mush. Res., 3:83.

12- Han, J. (1999). The influence of photosynthetic bacteria treatments on the crop yield, dry matter content, and protein content of the mushroom *Agaricus bisporus*. Scientia horticulturae, 82(1): 171-178.

13- Hosseini, S. Z.; G. Karimzadeh and E.Mohammadi-Goltapeh (2009). Effect of Colchicine on Nuclei Diameter, Yield and Some Morphological Characteristics of Oyster Mushroom (*Pleurotuse ostreatus*). Journal of dansh. Iran, 19(2):254-261.

14- Joslyn, M.A. (1970). Methods in Food Analysis, Physical, Chemical and Instrumental Methods of Analysis. 2nd ed. Academic Press, New York and London.

15- Khush R.; E. Becker and M. Wach (1992). DNA amplification polymorphisms of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2971-2977.

16- Khush R.; L. Morhan; E.Becker; M. Wach and L.J. Griensven (1991). Use of the polymerase chain reaction (PCR) in *Agaricus bisporus*. Proc. 1st Intern. Seminar on Mushroom.

17- Kothe, E. (2001). Mating-type genes for basidiomycete strain improvement in mushroom farming. Applied Microbiology and Bio., 56(5/6): 602-612.

18- Lee Byung-Joo; L. B. J.; L. M. A. Lee Mi-Ae; K. Y. G. Kim Yong-Gyun; L. K. W. Lee Kwang-Won;L. B. E. Lee Byung-Eui and S. H. Y Song Ho-Yeon (2014). Varietal characteristics of new white button mushroom 'Seolwon'in *Agaricus bisporus*. Journal of mushroom, 12(2): 82-87.

19- Loftus M.G.; D. Moore and T.J. Elliot (1988). DNA polymorphisms in commercial and wild strains of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. Theor. Appl. Genet. 76:712-718.

20- Lu, B. (1964). Polyploidy in the Basidiomycete Cyathus stercoreus. Am. J. Bot., 51: 343–347.

21- MacCanna, C. (1984). Commercial mushroom production. Kinsealy Res. Center, Dublin.367p.

22- Mami, Y.; G. Peyvast; M. Ghasemnezhad and F. Ziaie (2013). Supplementation at casing to improve yield and quality of white button mushroom. Agric., Sci., 4(1): 27-33.

23- Nasiri, F.; B. G. Tarzi; A. Bassiri and S. E. Hoseini (2012). Comparative study on some chemical compounds of button mushrooms (*Agaricus Bisporus*) cap and stipe during the first to third flushes. Ann Biol Res., 3:5677-80.

24- Nazrul, M. I. and B.YinBing (2011). Differentiation of homokaryons and heterokaryons of *Agaricus bisporus* with inter-simple sequence repeat markers.Microbiological research, 166(3): 226-236.

25- Nei, M. and W. H.Li. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sci., 76(10): 5269-5273.

26- Oei P. (2003). Mushroom Cultivation., Backhuys Publisher,Leiden, Netherlands, p. 429.

27- Pardo, A.; A. de Juan; M. Alvarez-Ortí and J. E. Pardo (2010). Screening of *Agaricus bisporus* (Lange, Imbach) strains and the casing variables for quality mushroom production in Spain. Hort Sci., 45(2): 231-235.

28- Rauf, S.; I. A. Khan and F. A. Khan (2006). Colchicine-Induced Tetraploidy and Changes in Allele Frequencies in Colchicine-Treated Populations of Diploids Assessed with RAPD Markers in *Gossypium 75rboretum* L. Turkish Journal of Bio., 30(2): 93-100.

29- Shalee, A. A. (1994). Studies about White bottun mushroom Agaricus bisporus and Agaricus campestris.thesis. Biology Department, Science College, Sulaimani University.

30- Sharma, R. and B. Sharma (M.2014). Strain improvement in *Pleurotus ostreatus* using UV light and ethyl methyl sulfonate as mutagens. African J. of Microbiology Res., 8(5), 432-436.

31- Sobieralski, K.; M. Siwulski; J. Lisiecka; J. Szymański and A. Jasińska (2011). Carpophore Dry Matter Content of Several *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach and *Agaricus bitorquis* (Quel) Sacc. Strains Found in Natural Habitats. Vegetable Crops Res., Bulletin, 75, 145-151.

32- Sonnenberg, A. S.; P. W. de Groot; P. J. Schaap; J. J. Baars; J. Visser and L. J. Van Griensven (1996). Isolation of expressed sequence tags of *Agaricus bisporus* and their assignment to chromosomes. Applied and environmental microbiology, 62(12):4542-4547.

33- Straatsma, G.; J. P. Gerrits; T. M. Gerrits; H. J. Op den Camp and L. J. van Griensven (1991). Growth kinetics of *Agaricus bisporus* mycelium on solid substrate (mushroom compost). Journal of General Microbiology, 137(7): 1471-1477.

34- Toyama, H. (2010). Construction of higher growing mycelia of the Shiitake mushroom, *Lentinula edodes* using a mitotic arrester. Bulletin of Minamikyushu University. A, Natural Sci. (Japan). 40A:87-90.

35- Yuan, L.; C. Wen-bing; S. Bi-ying; W. Ze-sheng; L. Jian-hua; L. Shou-song and J. Shu-xun (2009). Detection of Genetic Diversity of *Agaricus bisporus* Using RAPD Markers. Food Sci., 30(20): 272-276.

Iraqi J. Agric Res. Vol.21 No.2 pp.59-76 Dec./2016

EFFICIENCY EVALUATION OF COLCHCINE FOR INDUCING GENETIC VARIATIONS OF THE WHITE BUTTONS MUSHROOM *Agaricus Bisporus* AND THEIR REFLECTION ON THE CHARACTERISTICS OF QUANTITATIVE AND QUALITATIVE

M.R. Alqaisi* A.A. Hassan* A.M.Abdul-Had**

ABSTRACT

Research carried out at the Agriculture Faculty-Tikrit University for the year of 2013-2014, to evaluate colchicine efficiency for inducing genetic variation in three strains (X20, Brown, B62) of white button mushroom *Agaricus bisporus* as well as for quantitative and qualtitave characteristics in this fungus. The result show that interaction between the strain B62 and concentrations 0.1% and 0.5% were increased the total yield to 23.06 and 18.41 kg/m2 sequentially compaired with 12.06 kg/m2 for the control of the Brown strain. The dry matter of Brown strain reached to 10.98% followed by B62 and X20 which reached to 10.48 and 9.45% sequentially. While X20 have the best ratio of carbohydrates, fat and total soluble solid which reached to 54.38%, 4.77% and 5.18% sequentially. The B62 strain is the highest in protein, fiber and ash content which reached to 32.26%, 16.48% and 16.48% sequentially. The effect of colchicine on the percentage of dry matter and total soluble solids was the best at concentration of 0.3% and fat at concentration of 0.1% significantly. When the ratio was 11.14%, 5.51% and 4.63% sequentially. But it did not affect the other of the qualitative characteristics. The interaction between colchicine and strain it has been found that there are significant differences in the dry matter of the fruiting bodies, between the Brown strain and the concentration 0.1% which reached to 13.47%. The interaction between the X20 strain and concentration 0.5% is the best on all Treatment interaction, which reached to 57.05%. the interaction between the B62 strain and the concentration 0.1% better percent of protein reached to 34.25%. In the percentage of fat, the interaction between the strain and the concentration of colchicine effected significantly, and the best rate is 6.17% at the interaction between the X20 strain and concentration of colchicine 0.3%. The interaction between the B62 strain and concentration 0.1% increased The percentage of fibers to 17.82%. The percentage of ash at the interaction between the strain B62 and concentration 0.1% increased significantly at all treatments obtaining the highest percentage reached to 14.44%. The value of total soluble solids at the interaction between the strain X20 and concentration 0.3% was the highest percentage of all treatments which reached to 6.23%.

Part of Ph.D. Thesis for the first author.

*** College of Agric., Tiakrit Univ., Baghdad,Iraq.**

****College of Agric., Baghdad Univ., Baghdad,Iraq.**