جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الأنبار
كلية العلوم

تقنية حيوية لتحضير وسط محلي لإنتاج فطر
Agaricus bisporus

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية العلوم - جامعة الأنبار وهي جزء من متطلبات نيل
شهادة الماجستير علوم في علوم الحياة

من الطالب
مصطفى ناظم عويد حمد الهيتي
بكالوريوس علوم حياة
كلية العلوم
جامعة الأنبار - 2003

إشراف
أ.د. ادهام علي عبد العسافي
كلية الزراعة

إشراف
أ.م.د موفق مزبان مسلط
كلية الزراعة

رمضان 1430 هـ   **أيلول 2009 م**

Email: Mustafa@alheeti.com

بسم الله الرحمن الرحيم

(إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ
الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ
ذَلِكُمُ اللَّهُ فَأَنَّى تُؤْفَكُونَ)

صدق الله العظيم
سورة الانعام
الآية : 95

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المشرفين على الرسالة

نشهد بأن هذه الرسالة قد تمت تحت إشرافنا ومتابعتنا في كلية العلوم / جامعة الأنبار وهي جزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير علوم في علوم الحياة.

التوقيع :
المشرف : د. ادهام علي عبد العسافي
الدرجة العلمية : استاذ
التاريخ : ٢٠/ ٨ / ٢٠٠٩
كلية الزراعة - جامعة الانبار

التوقيع :
المشرف : د. موفق مزبان مسلط
الدرجة العلمية : استاذ مساعد
التاريخ : ٢٤ / ٨ / ٢٠٠٩
كلية الزراعة - جامعة الانبار

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المقدمة من قبل المشرفين أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

الأستاذ المساعد الدكتور
ساجد صلاح الدين سليم
رئيس قسم علوم الحياة
كلية العلوم – جامعة الانبار
١ / ٩ / ٢٠٠٩

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة المشكلة لمناقشة هذه الرسالة قد أطلعنا على رسالة الماجستير الموسومة (**تقنية حيوية لتحضير وسط محلي لإنتاج فطر *Agaricus bisporus***) المقدمة من الطالب **مصطفى ناظم عويد حمد الهيتي** وقد جرت مناقشة الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونقر أنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير علوم في علوم الحياة وبتقدير (**امتياز**).

التوقيع :
الاسم : د. جاسم محمد الحديثي
اللقب العلمي : أستاذ
كلية الطب – جامعة بغداد
رئيس اللجنة

التوقيع :
الاسم : د. ساجد صلاح الدين سليم
اللقب العلمي : أستاذ مساعد
كلية العلوم – جامعة الأنبار
عضواً

التوقيع :
الاسم : د. محمد عبد الله فرحان
اللقب العلمي : أستاذ مساعد
كلية الزراعة - جامعة الأنبار
عضواً

التوقيع :
الاسم : د. ادهام علي عبد العسافي
اللقب العلمي : أستاذ
كلية الزراعة - جامعة الأنبار
عضواً (المشرف)

التوقيع:
الاسم : د. موفق مزبان مسلط
اللقب العلمي : أستاذ مساعد
كلية الزراعة - جامعة الأنبار
عضواً (المشرف)

نصادق على قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :
الاسم : د. عماد عبد الرحمن الهيتي
اللقب العلمي : أستاذ
العميد

الإهداء

إلى الرسول الكريم محمد صلى الله عليه وسلم ...

إلى النبع الصافي المتدفق حناناً وتضحية ...

أبي ... وأمي ..

إلى من سقى الأرض بدمه ...

أخي الشهيد ...

إلى من شاركوني وشاركتهم هناء العيش وقساوته ...

أشقائي .. وشقيقتي

إلى كل من أضاء فيّ نور المعرفة وأخذ بيدي ...

أساتذتي الأجلاء ..

إلى كل من حرص علي وأرشدني الى طريق الصواب ..

إلى أصدقاء الطفولة والصبا والشباب ..

إلى كل إنسان أحببته وأحبني بإخلاص ..

إلى كل السائرين في دروب العلم والمعرفة لخدمة وطنهم والإنسانية جمعاء ..

مصطفى

شكر وتقدير

الحمد لله حمدا يليق بجلاله وقدرته وأصلي على خاتم أنبيائه وخير خلقه محمد صلى الله عليه وعلى آله وصحبه أجمعين.

عرفانا بالجميل ووفاء لأصحاب الفضل الذين قدموا لي كل العون والمساعدة من أجل إنجاز هذا البحث المتواضع، أقدم لهم الشكر المقرون بالتقدير العالي والاحترام الفائق على سعيهم للأخذ بيدي للوصول إلى إنجاز هذه الرسالة التي طالما حلمت طيلة أيام العمل بتحقيقها.

وأخص بالذكر أستاذَيّ الفاضلين المشرفين على رسالتي وهما الأستاذ الفاضل الدكتور **ادهام علي عبد العسافي** الذي اختار لي عنوان البحث حيث اكتشفت بأن بحثي هذا كان مشوقا لي بقدر ما كان متعبا والذي أبدى مساعدة قيمة في تصميم وإنجاز التجربة الإحصائية، والأستاذ الفاضل الدكتور **موفق مزبان مسلط** الذي كان لإرشاداته وتوجيهاته والتعاون الكبير الذي أبداه دافع أساسي للتعجيل في إنجاز البحث والحصول على نتائج أفضل من المتوقع.

كما أتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى كلية العلوم وقسم علوم الحياة ورئيس القسم الدكتور ساجد صلاح الدين سليم والدكتور محمد قيس العاني والدكتور خالد فاروق الراوي والسيد صبحي عبد الغفور والسيد عمار عبد الهادي لمساعدتي في توافر بعض المواد والاحتياجات الأساسية اللازمة في البحث. وأعرج على شكري للسيد ثامر يوسف الدليمي الذي قام بتزويدي بعزلة البكتريا *Streptomyces* O3، والسيد عمر محمد والسيد ثائر الآلوسي التدريسيين في قسم علوم الحياة – كلية العلوم ، والسيد ستار جبير والسيد أحمد مشعل والسيد صدام حسين التدريسيين في قسم الكيمياء – كلية العلوم لما أبدوه من مساعدة جلية في توافر بعض المواد الكيمياوية والمستلزمات الضرورية لإنجاز البحث.

وثمة شكر كبير أخص به الشيخ فهد عبد الحميد الخربيط مسؤول مزرعة الحميدية لإنتاج الفطر المحدودة الذي قام بتوافر سلالة الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* X25، كما أتقدم بالشكر الجزيل للسيد أحمد لافي التدريسي في كلية التربية – قسم علوم الحياة لتوافره بعض متطلبات إنتاج اللقاح الفطري، والسيد حاتم عبد الإله مسؤول حقول الدواجن في هيت الذي ساعدني بتوافر مخلفات الدواجن، والسيد حيدر رافع والسيد خالد حمد والسيد فارس حسن علي والسيد عقيل عبد الوهاب والسيد علي عبيد والسيد حاتم عبد الرزاق لتوفيرهم بعض المستلزمات الضرورية في البحث، وأقدم شكري الجزيل إلى الأستاذ الفاضل عناد مخلف الهيتي الذي تفضل بالتدقيق اللغوي الأولي لهذه الرسالة.

اعتزازي واحترامي لزملائي طلبة الدراسات العليا في قسم علوم الحياة بكلية العلوم وأخص منهم السيد أحمد سامي والسيد أحمد خميس والسيد أحمد فرحان والسيد علي محمد سمين والسيد وليد خالد والسيدة إسراء عدنان والآنسة إيثار عبد الوهاب والآنسة بحار مقداد الذين كانوا عونا لي في إنجاز هذا البحث على أتم وجه.

وأخيراً أتقدم بالشكر إلى من ساعدني وتحمل معي عناء البحث من أقاربي وأهلي جميعاً وأخص بالذكر والدي ووالدتي اللذين لم يفارقاني في كل كبيرة وصغيرة فجزاهم الله جميعاً عني خير الجزاء.

مصطفى

الخلاصــة

أجري البحث بتاريخ 2008/10/22 في مختبر الأحياء المجهرية في قسم علوم الحياة في كلية العلوم – جامعة الأنبار وتمت الزراعة في غرفة أعدت لهذا الغرض في مدينة هيت، إذ تعد الفطريات الغذائية الصالحة للأكل (Edible Fungi) ومنها الفطر الغذائي الأبيض (Edible White Mushroom) *Agaricus bisporus* من الأحياء ذات المعيشة المترممة مما يعطيها درجة كبيرة من الأهمية في تحليل المخلفات العضوية ذات المحتوى السليلوزي التي تشكل معظم المخلفات النباتية المختلفة، وذلك بسبب نشاطها الحيوي والأنزيمي فتبن الحنطة مثلاً يستعمل مادة أساسية في تحضير الوسط الزرعي لإنتاج الفطر الغذائي الأبيض على مستوى العالم مما يجعله منافساً للحيوانات المجترة على هذه المادة التي تدخل في تغذيتها، لذلك هدفت هذه الدراسة إلى محاولة إيجاد البدائل فضلاً عن اختبار بعض المدخلات على الوسط الزرعي من الناحية التركيبية والكيمياوية وذلك باعتماد مخلفات نبات القصب مادة أساسية أو إدخالها جزئياً مع تبن الحنطة لتحضير الوسط وذلك بدراسة أثر التدعيم الحيوي ببكتريا *Streptomyces* O3 في تسريع تحلل وجاهزية تلك الأوساط وجعلها ملائمة لنمو غزل الفطر *Agaricus bisporus* .

من جهة ثانية هدفت الدراسة إلى اختبار تأثير استعمال تركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس المائي على سرعة نمو الغزل الفطري وكتلته الحيوية ومحتواها البروتيني .

ويمكن تلخيص أهم النتائج بما يأتي:

1- لم يكن للتركيزات المستعملة من مستخلص عرق السوس المائي 0.05 و 0.10 و 0.15 غم/لتر أثر في زيادة معدل نمو المستعمرة الفطرية على الوسط الصلب، وبينت النتائج

المختبرية في الأوساط الصلبة أن معاملة السيطرة من غير إضافة مستخلص عرق السوس أعطت أسرع معدل للنمو بلغ 3.46 ملم/يوم، في حين حققت المعاملة بالتركيز 0.05 غم/لتر، أعلى كتلة حيوية متكونة في الوسط السائل 51.3 ملغم/50 مل وسط PS السائل مقارنة مع معاملة السيطرة التي أعطت 37.5 ملغم/50 مل.

2- وأظهرت النتائج أن المدة اللازمة لإعداد وسط ملائم لنمو الفطر الغذائي من مخلفات القصب باستعمال التدعيم الحيوي قد استغرقت 41 يوماً مقارنة بوسط تبن الحنطة القياسي الذي استغرق 30 يوماً وهي المدة نفسها التي اختفت فيها رائحة الأمونيا. وعند دراسة التغاير الحراري في الأوساط سجلت أعلى درجة حرارة 32.0 مئوية في اليوم 7 من بدء التخمر مع وسط الخليط باستعمال التدعيم الحيوي. وعند مقارنة قيم الإيصالية الكهربائية وجد أنها 13.35 و 20.09 و 20.51 ملي سيمنز/سم مع وسط القصب ووسط الخليط ووسط تبن الحنطة القياسي على التوالي. في حين كان محتوى الأملاح المذابة الكلية 10.32 و 10.00 و 6.85 غم/لتر مع أوساط تبن الحنطة والخليط والقصب على التوالي. لكن قيم الرقم الهيدروجيني أظهرت 8.10 و 7.87 و 7.82 مع وسط القصب والخليط و تبن الحنطة على التوالي، بينما أدى استعمال اللقاح إلى زيادة pH وانخفاض قيم الأملاح الكلية المذابة.

3- بين التحليل الكيمياوي للأوساط الزرعية أن أعلى محتوى للكاربون تحقق بنسبة 22.35% مع وسط القصب ($P > 0.05$)، تلاه وسطا الخليط وتبن الحنطة بمعدل 21.36% و 20.05%. أما محتوى النتروجين فإن أفضل محتوى للنتروجين تحقق بنسبة 2.40% مع وسط تبن الحنطة القياسي ($P > 0.05$). وإن أقل نسبة كاربون إلى نتروجين (C:N Ratio) كانت 8.51:1 مع وسط تبن الحنطة.

4- وفيما يخص الإنتاج فإن أفضل معدل إنتاج للأجسام الثمرية هو 440.83 غم/5 كغم وسط زرعي مع وسط القصب بعد 21 يوماً من الجني مقارنة بما أعطاه وسط تبن الحنطة 371.17 غم/5 كغم ($P> 0.05$)، في حين أدى استعمال اللقاح البكتيري إلى زيادة الإنتاجية بمعدل 430.00 غم/5 كغم ($P> 0.05$) مقارنة بدون استعمال اللقاح 376.94 غم/5 كغم، وإن أفضل كفاءة حيوية تحققت بمعدل 26.5% مع وسط القصب، كما أعطت أعلى معدل معنوي ($P> 0.05$) لوزن الجسم الثمري 46.12 غم مع وسط القصب مقارنة مع وسط تبن الحنطة القياسي الذي أعطى معدل وزن 25.17 غم في حين أعطت معاملة وسط تبن الحنطة أكبر عدد للأجسام الثمرية 17.42 جسم ثمري/صندوق مقارنة مع وسط القصب الذي أعطى 7.42 جسم ثمري/صندوق ($P> 0.05$)، في حين أعطى استعمال اللقاح البكتيري 12.00 جسم ثمري/صندوق ($P> 0.05$) مقارنة مع 13.39 جسم ثمري/صندوق عند الرش بالماء.

5- أعطى وسط القصب أفضل قطر للقبعة وأطول ساق 55.5 ملم و 31.83 ملم مقارنة مع وسط تبن الحنطة 43.08 ملم و 31.58 ملم للصفتين على التوالي، في حين أدى استعمال اللقاح إلى زيادة في طول الساق بلغ 31.28 ملم وانخفاض قطر القبعة إلى 49.89 ملم، بينما زاد القطر إلى 52.83 ملم عند الرش بمستخلص عرق السوس.

6- إن أفضل محتوى بروتيني للأجسام الثمرية تحقق بمعدل 20.68% في وسط الخليط، مقارنة مع 18.27% مع وسط تبن الحنطة القياسي، بينما أدى استعمال اللقاح إلى زيادة المحتوى 19.82% مقارنة مع 17.64% بغير استعمال اللقاح، وأن أعلى محتوى للفينولات تحقق 9.75 غم/كغم مع وسط القصب، مقارنة مع وسط تبن الحنطة 8.76 غم/كغم.

المحتويـــات

الصفحة	العنوان	الفقرة
1	**الفصل الأول : المقدمة**	1
4	**الفصل الثاني : استعراض المراجع**	2
4	نبذة عن زراعة الفطريات الغذائية	1-2
7	الأهمية الغذائية والطبية والاقتصادية لتنمية الفطر *A. bisporus*	2-2
11	وصف وتصنيف الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*	3-2
14	الأوساط الزرعية المستعملة في زراعة الفطر *A. bisporus*	4-2
16	الاحتياجات الأساسية ومتطلبات النمو	5-2
16	المتطلبات التغذوية Nutritional Requirements	1-5-2
16	محتوى الكاربون Carbon Content	1-1-5-2
16	محتوى النتروجين Nitrogen Content	2-1-5-2
17	المتطلبات الفيزياوية Physical Requirements	2-5-2
17	درجة الحرارة Temperature	1-2-5-2
18	الإضاءة Light	2-2-5-2
18	الرطوبة Humidity	3-2-5-2
19	التهوية Aeration	4-2-5-2
19	الإيصالية الكهربائية Electrical Conductivity	5-2-5-2
20	الرقم الهيدروجيني pH	6-2-5-2
20	الأمونيا Ammonia	7-2-5-2
21	إنتاج اللقاح الفطري (البزار) Spawn	6-2
22	تحضير وتجهيز الوسط الزرعي Compost Preparation	7-2
22	تجهيز وسط الزراعة (الطور الأول) Phase 1	1-7-2
25	بسترة وتلطيف وسط الزراعة (الطور الثاني) Phase 2	2-7-2
27	طرائق زراعة البزار Spawning Methods	3-7-2
29	طبقة التغطية Casing Layer	4-7-2
31	التدعيم الحيوي بوساطة بكتريا *Streptomyces*	8-2

34	*Phragmites australis* نبات القصب	9-2
34	*Glycyrrhiza glabra* نبات عرق السوس	10-2
36	**الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل**	3
36	Materials المواد	1-3
36	Apparatus الأجهزة المستعملة	1-1-3
37	الزجاجيات والأدوات المختبرية	2-1-3
37	Chemicals المواد الكيمياوية	3-1-3
38	Other Different Materials مواد متفرقة أخرى	4-1-3
39	Cultural Media الأوساط الزرعية	5-1-3
39	Methods طرائق العمل	2-3
39	عزلات الأحياء المجهرية المستعملة	1-2-3
40	Sterilization التعقيم	2-2-3
41	تحضير الأوساط الزرعية المختبرية	3-2-3
41	تحضير الأوساط الزرعية الصلبة	1-3-2-3
43	تحضير الأوساط الزرعية السائلة	2-3-2-3
44	التجربة الأولى: دراسة أثر تركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس المائي على سرعة نمو الغزل الفطري للفطر *A. bisporus* وكتلته الحيوية ومحتواها البروتيني	4-2-3
44	قياس سرعة نمو الغزل الفطري على الوسط الصلب	1- 4-2-3
45	قياس الكتلة الحيوية المتكونة في الوسط السائل	2- 4-2-3
46	Spawn (البزار) إنتاج اللقاح الفطري	5-2-3
48	التجربة الثانية: التدعيم الحيوي للأوساط الزرعية	6-2-3
48	Phase 1 (الطور الأول) تحضير وتخمير الوسط الزرعي	1-6-2-3
49	Phase 2 (الطور الثاني) بسترة وتلطيف الوسط الزرعي	2-6-2-3
49	Spawning Method طريقة الزراعة	7-2-3
50	Casing Layer تحضير طبقة التغطية	8-2-3
50	التجربة الثالثة: تأثير رش مستخلص عرق السوس المائي في مرحلة الدبابيس على كمية ونوعية الأجسام الثمرية المتكونة	9-2-3
51	Harvesting الجني	10-2-3

3-3	القياسات	51
1-3-3	التحسس بوجود رائحة الأمونيا في الأوساط الزرعية	51
2-3-3	قياس درجة الحرارة للأوساط الزرعية	51
3-3-3	قياس الرقم الهيدروجيني pH للأوساط الزرعية	52
4-3-3	قياس الأملاح الكلية المذابة TDS للأوساط الزرعية	52
5-3-3	قياس الإيصالية الكهربائية EC للأوساط الزرعية	52
6-3-3	تقدير النسبة المئوية للنتروجين في الأوساط الزرعية	53
7-3-3	تقدير النسبة المئوية للكاربون في الأوساط الزرعية	53
8-3-3	قياس كمية الحاصل ومواصفاته	53
9-3-3	تقدير النسبة المئوية للكفاءة الحيوية Biological Efficiency	54
10-3-3	تقدير النسبة المئوية للوزن الجاف للكتلة الحيوية	54
11-3-3	تقدير النسبة المئوية للبروتين في الكتلة الحيوية والأجسام الثمرية	54
12-3-3	تقدير الفينولات (Ortho Dihydric Phenols) في أنسجة الأجسام الثمرية بطريقة أرنو Arnow's Method	54
13-3-3	التحليل الإحصائي	55
4	**الفصل الرابع : النتائج والمناقشة**	56
1-4	التجربة الأولى: دراسة أثر مستخلص عرق السوس المائي على سرعة نمو الفطر الغذائي *A. bisporus* وكتلته الحيوية ومحتواها البروتيني	56
2-4	الصفات الفيزياوية للأوساط الزرعية	61
1-2-4	التغاير الحراري في الأوساط الزرعية المختلفة خلال مدة التخمر	61
2-2-4	سلوك غاز الأمونيا في الأوساط الزرعية المختلفة	65
3-2-4	قيم الايصالية الكهربائية للأوساط الزرعية	67
4-2-4	الأملاح الكلية المذابة في الأوساط الزرعية	69
5-2-4	الرقم الهيدروجيني للأوساط الزرعية	70
3-4	الصفات الكيمياوية للأوساط الزرعية	72
1-3-4	محتوى الكاربون في الأوساط الزرعية في عملية التخمر	72
2-3-4	محتوى النتروجين في الأوساط الزرعية في عملية التخمر	75
3-3-4	نسبة الكاربون إلى النتروجين في الأوساط الزرعية في عملية التخمر	78
4-4	إنتاج الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	80

1-4-4	إنتاجية الأجسام الثمرية لكل 5 كغم وسط زرعي طري	80
2-4-4	الكفاءة الحيوية لإنتاج الأجسام الثمرية	83
3-4-4	معدل وزن الجسم الثمري للفطر الغذائي *A. bisporus*	84
4-4-4	عدد الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus* لكل صندوق	86
5-4	الصفات النوعية للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	91
1-5-4	قطر القبعة للأجسام الثمرية	91
2-5-4	طول الساق للأجسام الثمرية	93
3-5-4	نسبة قطر القبعة إلى طول الساق للأجسام الثمرية	95
6-4	المحتوى البروتيني للأجسام الثمرية للفطر الغذائي	98
7-4	محتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية للفطر الغذائي	101
	الاستنتاجات والتوصيات	104
	المصادر العربية والأجنبية	107
	الملاحق	118

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1	بعض المكونات الغذائية لمسحوق عرق السوس المحلي على أساس الوزن الجاف	35
2	مكونات ونسب المواد للأوساط الزرعية المستعملة في التجربة	48
3	معدل نمو هايفات الفطر الغذائي *A. bisporus* على الأوساط الصلبة والكتلة الحيوية ومحتواها البروتيني في الأوساط السائلة المعاملة بتركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس بعد 26 يوم من التلقيح	60
4	محتوى الكاربون في الأوساط الزرعية في مراحل التخمر	74
5	محتوى النتروجين في الأوساط الزرعية في مراحل التخمر	77
6	نسبة C:N Ratio في الأوساط الزرعية في مراحل التخمر	79

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1	الإنتاج العالمي للفطر الغذائي في عام 2005	6
2	مخطط توضيحي يبين الشكل العام للفطر الغذائي *A. bisporus*	13
3	المناطق الحرارية المتكونة داخل الكومة	24
4	تأثير نوع المصدر الكاربوني على تباين درجة الحرارة	64
5	تأثير استعمال اللقاح البكتيري على تباين درجة الحرارة	64
6	تأثير تداخل المعاملات على تباين درجة الحرارة فيما بينها	64
7	سلوك غاز الأمونيا في الأوساط الزرعية المختلفة	66
8	قيم الايصالية الكهربائية للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة	68
9	قيم الأملاح الكلية المذابة في الأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة	69
10	قيم الرقم الهيدروجيني للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة	71
11	الإنتاجية للفطر الغذائي *A. bisporus* لكل 5 كغم وسط زرعي طري لمدة 21 يوم	81
12	النسبة المئوية للكفاءة الحيوية في إنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus*	84
13	معدل وزن الجسم الثمري للفطر الغذائي *A. bisporus*	85
14	عدد الأجسام الثمرية لكل صندوق للفطر الغذائي *A. bisporus*	87
15	معدل قطر القبعة للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	92
16	معدل طول الساق للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	94
17	معدل نسبة قطر القبعة إلى طول الساق للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	96
18	النسبة المئوية للمحتوى البروتيني في الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	101
19	محتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	103

قائمة الصور

الصفحة	العنوان	رقم الصورة
13	أبواغ الفطر الغذائي *A. bisporus* كما تظهر تحت المجهر الالكتروني مكبرة آلاف المرات	1
47	إنتاج اللقاح الفطري (البزار) Spawn للفطر الغذائي *A. bisporus*	2
58	تأثير مستخلص عرق السوس المائي على معدلات نمو هايفات الفطر الغذائي *A. bisporus* على وسط PSA	3
82	غرفة الإنتاج تظهر نمو الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	4

قائمة الملاحق

الصفحة	العنوان	رقم الملحق
118	الوزن الجاف للكتلة الحيوية للفطر الغذائي *A. bisporus* المتكونة في الأوساط السائلة المعاملة بتركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس	1
118	النسبة المئوية للمحتوى البروتيني في الكتلة الحيوية للفطر الغذائي *A. bisporus* المتكونة في الأوساط السائلة المعاملة بتركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس	2
119	درجات الحرارة المئوية للأوساط الزرعية عند عملية التخمر يومياً	3
120	العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط تبن الحنطة بغير استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*	4
120	العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط تبن الحنطة باستعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*	5
121	العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط القصب بغير استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*	6
121	العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط القصب باستعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*	7

8	العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط الخليط (50% تبن الحنطة + 50% قصب) بغير استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*	122
9	العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط الخليط (50% تبن الحنطة + 50% قصب) باستعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*	122
10	قيم الايصالية الكهربائية للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة	123
11	قيم الأملاح الكلية المذابة في الأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة	123
12	قيم الرقم الهيدروجيني للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة	123
13	الإنتاجية للفطر الغذائي *A. bisporus* لكل 5 كغم وسط زرعي طري ولمدة 21 يوم	124
14	النسبة المئوية للكفاءة الحيوية في إنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus*	124
15	معدل وزن الجسم الثمري للفطر الغذائي *A. bisporus*	125
16	عدد الأجسام الثمرية لكل صندوق للفطر الغذائي *A. bisporus*	125
17	معدل قطر القبعة للأجسام الثمرية (ملم)	126
18	معدل طول الساق للأجسام الثمرية (ملم)	126
19	نسبة قطر القبعة إلى طول الساق للأجسام الثمرية	127
20	النسبة المئوية للمحتوى البروتيني في الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	127
21	محتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*	128
22	علاقة الارتباط بين الصفات المدروسة في إنتاج الفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*	129

قائمة المختصرات

ت	الرمز	اسم المختصر
1	ACVC	Advisory Committee on Vegetable Crops
2	BE	Biological Efficiency
3	EWM	Edible White Mushroom
4	EC	Electrical Conductivity
5	GADE	Garbage Automatic Decompose-Extinguisher
6	MC	Mushrooms Canada
7	PDA	Potato Dextrose Agar
8	PS	Potato Sucrose
9	PSA	Potato Sucrose Agar
10	pH	Hydrogen Ion Concentration
11	PFRU	Processed Foods Research Unit
12	PAAF	Public Authority of Agriculture Affairs & Fish Resources
13	SMS	Spent Mushroom Substrate
14	TDS	Total Dissolved Salts
15	USDA	United States Department of Agriculture
16	WBM	White Button Mushroom

قائمة الرموز

اسم المختصر	الرمز	ت
الأوساط	A	1
التداخل بين الأوساط ومدة التخمر	A*D	2
التداخل بين الأوساط والرش بمستخلص عرق السوس	A*G	3
التداخل بين الأوساط واستعمال بكتريا *Streptomyces*	A*S	4
وسط تبن الحنطة 100% (معاملة السيطرة)	A1	5
وسط تبن الحنطة 100% من غير إضافة لقاح بكتريا *Streptomyces* (معاملة السيطرة)	A1S0	6
وسط تبن الحنطة 100% بإضافة لقاح بكتريا *Streptomyces*	A1S1	7
وسط القصب 100%	A2	8

9	A2S0	وسط القصب 100% بغير إضافة لقاح بكتريا *Streptomyces*
10	A2S1	وسط القصب 100% بإضافة لقاح بكتريا *Streptomyces*
11	A3	وسط الخليط (50% تبن الحنطة + 50% قصب)
12	A3S0	وسط الخليط (50% تبن الحنطة + 50% قصب) بدون إضافة لقاح بكتريا *Streptomyces*
13	A3S1	وسط الخليط (50% تبن الحنطة + 50% قصب) بإضافة لقاح بكتريا *Streptomyces*
14	D1	في بداية عملية التخمر
15	D2	بعد 4 أيام من بدء التخمر أو (من إضافة اللقاح)
16	D3	بعد 8 أيام من بدء التخمر أو (من إضافة اللقاح)
17	D4	بعد 12 يوم من بدء التخمر أو (من إضافة اللقاح)
18	D5	بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا (بعد جاهزية الوسط للزراعة)
19	Days 1	مدة اختفاء رائحة الأمونيا من بدء عملية التخمر
20	Days 2	مدة اختفاء رائحة الأمونيا بعد انتهاء البسترة
21	G	استعمال مستخلص عرق السوس
22	G0	الرش بالماء فقط
23	G1	الرش بمستخلص عرق السوس بتركيز 0.05 غم/لتر
24	GL1	وسط مستخلص البطاطا بغير مستخلص عرق السوس (السيطرة)
25	GL2	وسط مستخلص البطاطا ومستخلص عرق السوس بتركيز 0.05 غم/لتر
26	GL3	وسط مستخلص البطاطا ومستخلص عرق السوس بتركيز 0.10 غم/لتر
27	GL4	وسط مستخلص البطاطا ومستخلص عرق السوس بتركيز 0.15 غم/لتر
28	GL5	وسط مستخلص البطاطا ومستخلص عرق السوس بتركيز 1.00 غم/لتر
29	R2	معامل التحديد
30	S	استعمال بكتريا *Streptomyces*
31	S*D	التداخل بين استعمال بكتريا *Streptomyces* ومدة التخمر
32	S*G	التداخل بين استعمال بكتريا *Streptomyces* والرش بالمستخلص
33	S0	بغير استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*
34	S1	باستعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*

الفصل الأول
المقدمة

يعد الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* من الفطريات اللحمية (Fleshy Fungi) الذي يمتاز بقيمته الغذائية العالية لاحتوائه على نسبة مرتفعة من البروتين تفوق معظم أنواع الخضراوات (قاسم، 1976 ; صفوت والخولي، 2006)، وينتمي الفطر الغذائي الأبيض إلى الفطريات البازيدية التي تحوي عدداً من الفطريات الغذائية التي تؤكل، وهي ذات انتشار واسع ومعروفة للإنسان منذ القدم، وقد أنشأت بعض البلدان المتقدمة مثل اليابان ودول أوربا والولايات المتحدة صناعات تعتمد على زراعة الأنواع ذات القيمة الغذائية الجيدة من الفطريات الغذائية وذلك على نطاق تجاري واسع لغرض استهلاكها بوصفها غذاء للإنسان (Chang and Miles, 2004).

يحتوي الفطر الغذائي *A. bisporus* على عناصر معدنية كالحديد والفسفور والنحاس والبوتاسيوم والكبريت والكالسيوم والليثيوم، في حين لا يحتوي على النشأ، وإن جميع مواده سهلة الهضم، لذلك يعد من المقويات غير الضارة كما يحتوي على الفيتامينات الأساسية A وB وC و Dوبعض الأحماض الأمينية الأساسية للحياة وحامض الفوليك والكولين الذي يساعد على هضم الدهون ويمنع تراكمها في جسم الإنسان، وحامض النياسين والبانتوثنيك الأساسي الذي يستعمل لمعالجة مرض الحصاف (Pellagra) (USDA, 2006).

وتحتوي الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus* على مواد فعالة تعمل على خفض الكولسترول في الدم مما يجعله مفيداً لمرضى السكر وتصلب الشرايين، وأن محتواه المنخفض من السعرات الحرارية يكسبه ميزةً أخرى في علاج السمنة، كما يعطي مناعة ضد الأنفلونزا وبعض الفايروسات الأخرى، وفي علاج بعض الأمراض الخطيرة كمرض الإيدز، ويستخدم لعلاج الحالات

النفسية والتوتر والصرع، فضلاً عن استخدامه في علاج الأورام، إذ بلغت نسبة الاستخدامات الطبيـــة والدوائيـــة للفطـــر الغـــذائي فـــي إنتـــاج مـــضادات الأورام حـــوالي 36% (Ren *et. al.*, 2008 ; Halpern, 2006).

تعود الفطريات إلى الأحياء متباينة التغذية (Heterotrophic) فهي لا تستطيع صنع غذائها بنفسها وإنما تعتمد على مصادر خارجية كالترمم على المواد العضوية والأنسجة غير الحية (السهيلي وآخرون، 1993)، ولقدرة الفطر الغذائي *A. bisporus* العالية على التحويل الحيوي للسليلوز الملكنن تم استعمال تبن الحنطة ونشارة الخشب في إنتاج الأجسام الثمرية بشكل واسع على مستوى العالم (Schmidt, 2006)، إذ تصل إنتاجيته إلى حوالي 25 كغم/م2 من الفطر الغـذائي فـي ثلاثـة أشـهر وهـذا بحـد ذاتـه يعـد مـصدراً مهمـاً لتـوافر الغـذاء للـسكان (رضوان، 2002).

يعد مصدر الكاربون من أهم العوامل المؤثرة في كمية الإنتاج، وعند اختيار مصدر الكاربون يؤخذ بنظر الاعتبار مدى توافر مصدره، فضلاً عن كلفة المواد الأولية التي عن طريقها تتأثر كلفة الإنتاج، وبالنظر لزيادة الطلب على المادة الأساسية في تحضير وسط زراعة الفطر الغذائي وهي تبن الحنطة (Wheat Straw) كونها مادة علفية للمجترات فقد ارتفعت أثمانها بشكل غير اعتيادي مما سبب ارتفاع تكاليف الإنتاج، وهذا مما يوجب البحث عن بدائل تمتلك صفات مشابهة لاحتياجات الفطر الغذائي مما يتوافر محلياً، ويعد نبات القصب *Phragmites australis* الذي ينمو طبيعياً على ضفاف الأنهار والمواقع الرطبة بديلاً عن تبن الحنطة في تحضير الوسط الزرعي (Compost) لإنتاج الفطر الغذائي، كما يجري البحث في استعمال أساليب وطرق متعددة لزيادة الإنتاج، ومنها تدعيم الأوساط بالمغذيات والأحياء المجهرية التي

تمتلك قابلية معينة تساعد في تحسين خصائص الوسط بحيث تكون المغذيات بأفضل صورة يفضلها الغزل الفطري، لذلك هدفت هذه الدراسة إلى:

1. دراسة إمكانية إدخال مخلفات القصب في تحضير الوسط الزرعي لإنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus* بدلاً من استعمال تبن الحنطة.

2. أثر استعمال التدعيم الحيوي ببكتريا *Streptomyces* لتحسين مواصفات الوسط وزيادة الإنتاجية للفطر الغذائي *A. bisporus*.

3. دراسة تأثير إضافة تركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس المائي في سرعة نمو الغزل الفطري والوزن الجاف للكتلة الحيوية للفطر الغذائي ومحتواها البروتيني.

4. تأثير الرش بمستخلص عرق السوس المائي في زيادة إنتاجية ونوعية الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*.

الفصل الثاني

استعراض المراجع Literature review

1-2 : نبذة عن زراعة الفطريات الغذائية

شكلت الفطريات الغذائية جزءاً لا بأس به من غذاء الإنسان القديم عندما كان يجمع غذاءه من الطبيعة قبل دخول الإنسان في عصر تكوين المجتمعات وعصر تدجين الحيوانات (البهادلي والزهرون، 1991)، وكان قدماء الصينيين يعتقدون بفوائد الفطريات الغذائية، فهم اعتقدوا أنّ أكلها يؤسس البنيان والصحة، ويحافظ على الشباب أطول مدة ممكنة، واستخدمت غذاء ودواء (صفوت والخولي، 2006)، كما استعمل الرومان أشكال الفطريات الغذائية في تزيين المباني ودور العبادة، هذا وتوجد أعمدة رخامية بهيئة الفطر *Agaricus* في مدينة تيميكاد الجزائرية حتى يومنا هذا وهي من آثار الرومان، وكان امبراطور روما (نيرون) مولعاً بها لاسيما *Amanita caesarea* غير السام (البهادلي والزهرون، 1991)، ويعد *Auricularia auricula* أول فطر غذائي تم زراعته عام 600 م، وجاء التطور الكبير في زراعته من فرنسا عندما زرع الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* لأول مرة عام 1600 م على وسط تم تحضيره لهذا الغرض، في حين يعد *Cantharellus cibarius* آخر أنواع الفطريات الغذائية تم زراعتها عام 1997 م (Chang and Miles, 2004).

وفي عام 1707 م كتب أحد العلماء الفرنسيين مقالة في الفطر الغذائي إذ لاحظ "أن أبواغ الفطر الغذائي في حظائر الخيول تنبت وتتطور إلى زغب، ثم ينبت الزغب على روث الخيل وعند تغطيته بالتربة فسوف ينمو الفطر الغذائي"، في حين كانت أول محاولة للإنتاج في

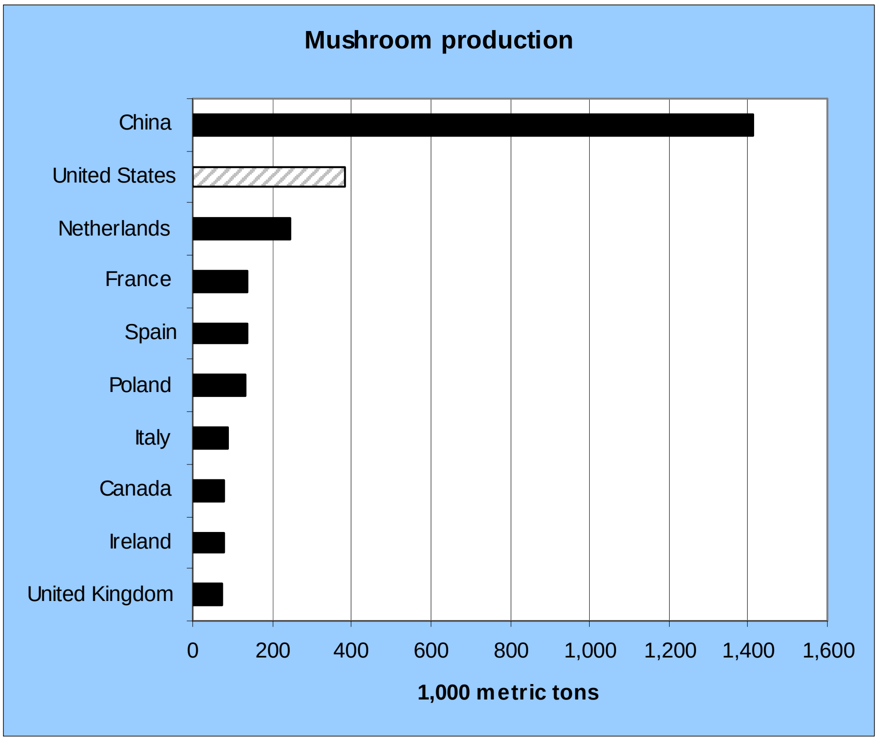
عام 1780 م عندما بدأ حدائقي فرنسي بزراعة الفطر الغذائي في محاجر تحت الأرض قرب باريس (Beyer, 2003A).

بدأ الانتاج التجاري منذ أكثر من مئة سنة في أمريكا وكندا، إذ تم بناء بيوت من الكونكريت ذات سقوف بسيطة واستعمل الخشب في التقطيع الداخلي لعمل الرفوف (البهادلي والزهرون، 1991)، ومازالت مثل هذه الرفوف الخشبية في تنزانيا (Kivaisi, 2007) وبيوت الطين في الريف وأبنية المداجن القديمة ومعاصر الزيت القديمة في سوريا بعد إضافة بعض التعديلات عليها وإضافة بعض التجهيزات الضرورية (رضوان، 2002)، وفي عام 1894 م تأسست أول هيئة متخصصة لتنمية الفطر الغذائي في ولاية بنسلفانيا التي يُشار لها بعاصمة الفطر الغذائي في العالم دائماً (Beyer, 2003A). وفي عام 1930م بدأت تظهر العديد من طرائق الزراعة المسيطر عليها، ففي ذلك الوقت بدأ اليابانيون بزراعة وتنمية الفطر شيتاكي (Shiitake) *Lentinula edodes* على نشارة خشب الأشجار المصرورة مع تبن الرز (Halpern, 2006)، وتعد عُمان والعراق أكثر الدول العربية تقدماً في إنتاج الفطر الغذائي (رضوان، 2002)، وتعد مزرعة الحميدية في محافظة الأنبار أول مزرعة للقطاع الخاص لإنتاج الفطر الغذائي في العراق (السعداوي، 2002).

ويعد *A. bisporus* من أكثر أنواع الفطر الغذائي شيوعاً في الولايات المتحدة وفي كندا (Halpern, 2006 ; Stephens, 2003)، أما في أوربا فإن *A. bisporus* و *A. campestris* تعد من أشهر وأجود أنواع الفطريات الغذائية التي تؤكل (السهيلي وآخرون، 1993)، ويزرع بشكل موسمي في الصين ويشّكل حوالي 70% من الإنتاج الكلي للصين (Chen *et. al.*, 2003)، حيث عدت 7000 نوع صالحة للأكل، وأكثر من 3000 نوع تنتمي إلى 31 جنساً صالحاً للأكل تماماً، ولها 200 نوع يمكن زراعتها، يزرع منها 100 نوع

بشكل اقتصادي، وحوالي 60 نوعاً بشكل تجاري، وحوالي 10 أنواع تدخل في الصناعة، في حين تعـد 200 نـوع مهمـة فـي الجانـب الطبـي، وحـوالي 30 نوعـاً قاتلـة (Chang and Miles, 2004)، ويظهر الشكل 1 الإنتاج العالمي في عام 2005 م لمختلف أنواع الفطر الغذائي الذي بلغ 3.228.930 طن، فيما كان أعلى انتاج في الصين 1.411.000 طن (USDA, 2007).

إن استهلاك الفرد الكندي من الفطر الغذائي يصل 2.4 كغم/سنة، في حين حصة الفرد العراقي بحسب ما ينتج في العراق من الفطر من المشروع الوحيد الموجود حالياً وهو مشروع مزرعة الحميدية في محافظة الأنبار وفي طاقة المشروع القصوى لاتتجاوز 30 غم/سنة وهذا يعني وجود طاقة استيعابية للسوق فضلاً عن المردود الاقتصادي المشجع لمشاريع إنتاج الفطر الغذائي (البهادلي والزهرون، 1991).



شكل (1) الإنتاج العالمي للفطر الغذائي في عام 2005 ، عن (USDA, 2007).

2-2 : الأهمية الغذائية والطبية والاقتصادية لتنمية الفطر الغذائي *A. bisporus*

إن الاستخدام التجاري للفطر الغذائي *A. bisporus* في كونه غذاء للانسان، ويستهلك بحالته الطازجة أو المجففة أو المعلبة، والأجسام الثمرية الناتجة تعد مادة غذائية من غير مخلفات تقريباً (Bernas *et. al.*, 2006 ; Thomas and Schumann, 1993)، فقد وصلت النسبة المئوية للوزن الجاف للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus* 8.40-10.12% على وسط تبن الحنطة (Colak *et. al.*, 2007)، أما .Tsai *et. al* (2007) فقد وجد أن محتوى الأجسام الثمرية من الكاربوهيدرات 38.3-48.9% والبروتين الخام 21.3-27.0% والألياف الخام 23.3-17.7% ورماد خام بنسبة 7.77-11.00% ودهون خام بنسبة 2.53-3.92% من الوزن الجاف للفطر الغذائي *A. bisporus*.

وإن معظم السكريات المتعددة التي تدخل في تكوين جدر خلايا الفطر هي Chitin و Glucans ويمكن أن تهضم من قبل الإنسان وبالتالي تعد أليافاً متخصصة بالحمية الغذائية (Beelman *et. al.*, 2003)، كما أشار Gordon (2002) أن الألياف الموجودة فيه تعد مصادر جيدة لألياف الحمية الغذائية يلتجىء اليها العديد من المستهلكين لأنها تساعد على منع العديد من الأمراض الشائعة في المجتمعات ذات الكثافة السكانية العالية، كما أنها علاج مهم ضد مرض السمنة ولتخفيف الوزن لقلة السعرات الحرارية التي يحتويها التي تصل الى 30 سعرة في كل 100 غم فطر غذائي طازج (البهادلي والزهرون، 1991).

يعد الفطر الغذائي *A. bisporus* مصدراً جيداً للفيتامينات (مجموعة فيتامين A و B و C و D والثيامين وحامض الفوليك والرايبوفلافين والنياسين وحامض البانتوثنيك)، كما يحوي على المعادن كالبوتاسيوم والحديد والزنك والمغنسيوم والنحاس والصوديوم والسلينيوم (USDA, 2006 ; Breene, 1990 ; Tseng and Mau, 1999)، فضلاً عن احتوائه على

أحماض أمينية أساسية مهمة لتغذية وصحة الإنسان منها Cystine و Methionine و Threonine و Valine و Isoleucine و Leucine و Lysine و Tyrosine و Phenylalanine (Mattila *et. al.*, 2002).

على الرغم من انتماء الفطر الغذائي *A. bisporus* الى الفطريات فهو يستخدم بشكل شائع كالخضراوات في العديد من أنحاء العالم حيث يتميز بنكهته الممتازة (Hegde *et. al.*, 2002)، فضلاً عن كونه مهماً لحماية صحة الانسان من خطر الأمراض (Vetter and Lelley, 2004)، واختير من قبل جمعية السرطان الكندية "The Canadian Cancer Society" من بين 5-10 أنواع من الخضراوات والفواكه لفعاليته ضد الأمراض، فهو مهم ضد سرطان البروستات والثدي ويخفض ضغط الدم العالي (MC, 2007)، حيث عرف الفطر الغذائي مصدراً طبياً منذ آلاف السنين (Schmidt, 2006)، كما أشار Roberts *et. al.* (2008) في دراسة عرض فيها الفطر الغذائي *A. bisporus* للأشعة فوق البنفسجية وبجرع موصى بها من قِبل وحدة أبحاث الأغذية المعاملة في ألبانيا (PFRU) "Processed Foods Research Unit" واكتشف أنها سوف تؤدي الى تراكم كمية مهمة من فيتامين D بصيغة V. D2 في أجسامه الثمرية، اذ يعد فيتامين D غذاءاً أساسياً لصحة العظام كما أنه يقلل بشكل كبير خطر سرطان البروستات والثدي.

أما التأثيرات المناعية للفطر الغذائي *A. bisporus* فلا يعرف عنها سوى القليل فهو يرفع الاستجابة المناعية ضد الأورام (Ren *et. al.*, 2008)، كما يحوي على اللاكتين (Lectin) الذي يساعد في منع انتشار خلايا السرطان الطلائية للإنسان من غير أي تأثير سام (Halpern, 2006)، وتزداد فعاليته ضد الأكسدة لاحتوائه على السلينيوم (MC, 2007) و 1-Ergothionine الذي لا يتحطم بالحرارة أو الطهو (Dubost *et. al.*, 2006).

ولقابلية الفطر الغذائي على تحويل المادة المتحللة جزئياً إلى غذاء (Thomas and Schumann, 1993) تم استخدام النفايات لإنتاج الفطر الغذائي بعد تحليلها بوساطة آلية تدعى تحلل وإزالة النفايات الذاتي (GADE) "Garbage Automatic Decompose-extinguisher" باستعمال الأحياء المجهرية وأعطى جنسا الفطر الغذائي *A. bisporus* و *Pleurotus ostreatus* أعلى معدل نمو للغزل الفطري على هذا الوسط (Sakae *et. al.*, 2006).

وإن لعملية تجزئة اللكنين أهمية بيئية وتجارية كبيرة على مستوى العالم للكميات الهائلة من السليلوز الملكنن التي تهدر والتي يمكن استعمالها مواد أساسية في عمليات التخمر (Thomas and Schumann, 1993)، كما أن للفطر *A. bisporus* أثراً حقيقياً في تحليل اللكنين بوساطة انتاج أنزيمات Peroxidases المسؤولة عن تحلل اللكنين، وهذا يحدث في وقت تكوين الغزل الفطري في الوسط الزرعي في تطور تكوين الأجسام الثمرية، إذ تنشط فعالية أنزيم Manganese Peroxidase في مرحلة تكوّن الدبابيس (Pinning stage) ثم تقل مع نضج الأجسام الثمرية للقطفة الأولى وهذا ينظم عمل أنزيم Laccase وبالتالي فإن لهذين الأنزيمين أثراً مهماً في تحليل اللكنين بواسطة الفطر الغذائي *A. bisporus* (Bonnen *et. al.*, 1994)، ويعد الفطر الغذائي *A. bisporus* مصدراً للأنزيمات ومنها أنزيم Laccase المهم في أكسدة المركبات الفينولية الذي ينتجه الفطر بكميات قليلة ويمكن زيادة إنتاجه من هذا الأنزيم بالوسائل الصناعية (Hou *et. al.*, 2004)، وتم حديثاً استخدام عدة سلالات من فطر *Trichoderma* لزيادة إنتاج هذا الأنزيم بوساطة *A. bisporus* و *Pleurotus ostreatus* في الأوساط الزرعية الصلبة والسائلة (Flores *et. al.*, 2009).

وإن استعمال مخلفات المزارع ومخلفات مصانع حفظ الأغذية التي تقدر بآلاف الأطنان بعد معالجتها لغرض زراعة وإنتاج الفطر الغذائي يمثل في حد ذاته حماية للبيئة من آثار التلوث المحتملة جراء تلك المخلفات (رضوان، 2002 ; PAAF, 2004).

لقد ازداد إنتاج الفطر الغذائي في الصين (شكل 1) بسبب إقبال المستهلكين على الطازج منه بشكل خاص، مما دفع القائمين على إنتاجه لوضع تصاميم لإعادة تدوير الفضلات (Recycling) الناتجة عن زراعة الفطر الغذائي SMS "Spent Mushroom Substrate" لاستخدامها أعلافاً للمواشي وإنتاج الوقود الحيوي (Biogas) ومخصبات للنباتات بوصفها مادة عضوية متحللة (Sharma *et. al.*, 2007)، فأعطت مردوداً جيداً، وكأعلاف للماشية والأغنام لاحتوائها على نسبة مرتفعة من البروتين، وفي تسميد الفاكهة لاسيما العنب والتفاح والبرتقال (Uzun, 2004)، وفي زراعة بعض أنواع الخضراوات كالطماطة (Beyer, 2006) واللهانة في بريطانيا (Noble, 2006)، ولهذا تعد مخلفات زراعة الفطر الغذائي مادة عضوية عالية الخواص الفيزيائية والكيميائية لذلك تستعمل مخصباً عضوياً ذا قيمة مرتفعة في جميع النشاطات الزراعية لاسيما نباتات الزينة والظل والنباتات المزهرة (رضوان، 2002).

وتعد مشاريع زراعة الفطر الغذائي من المشروعات الاستثمارية الناجحة، لاسيما مشاريع زيادة إنتاجية وحدة المساحة إذ يبلغ انتاج المتر المربع الواحد من 20–25 كغم في الدورة (ثلاثة أشهر)، أي بما يصل إلى حوالي 100 كغم في السنة، وهذا الانتاج يمكن أن يضمن دخلاً مناسباً للمزارعين والمستثمرين وتوافر العملة الصعبة، وأصبح الفطر الغذائي من المحاصيل البستانية الهامة وأحد مصادر الدخل القومي لبعض الدول (رضوان، 2002 ; PAAF, 2004).

3-2 : وصف وتصنيف الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*

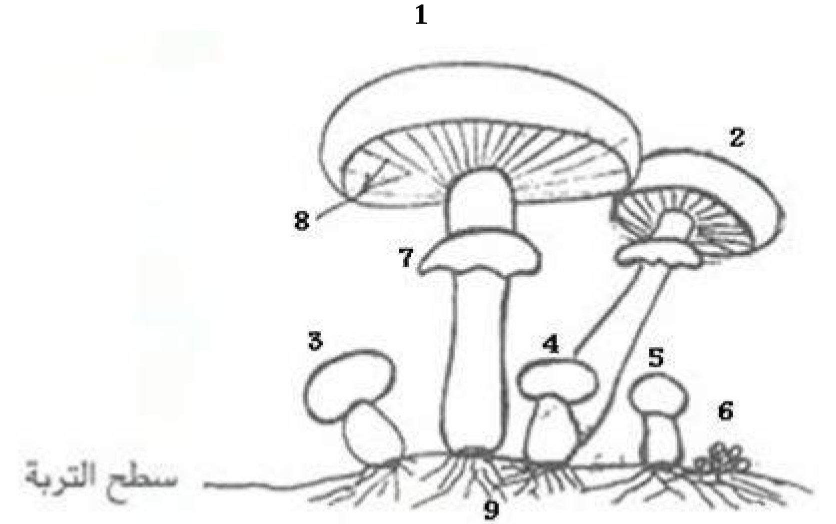
الاســم العلمــي لــه هــو *Agaricus bisporus* وكــان اســمه القــديم هــو *A. brunnescens* وأطلق على السلالات ذات اللون البني وتم توحيده بالاسم العلمي الحالي (Halpern, 2006 ; Stamets and Chilton, 1983)، أما الاسم الشائع فيختلف من منطقة إلى أخرى ومن مكان لآخر، فقد سماه قدماء المصريين غذاء الآلهة أما اليونانيون فأطلقوا عليه غذاء النبلاء والقادة، في حين أطلق عليه حكماء الصين القدامى غذاء الصحة والجمال والحياة (رضوان، 2002)، ويطلق عليه في فرنسا بالشامبينون (Champignon) (Futty, 2003)، وفي العــالم الغربــي يعــرف بالــشامبينون أيــضاً أو فطــر الأزرار (Button Mushroom) (Chang and Miles, 2004 ; Hall *et. al.*, 2003)، أو فطر الأزرار البيضاء (WBM) "White Button Mushroom" (Ren *et. al.*, 2008)، أو يدعى EWM "Edible White Mushroom" ويعني الفطر الغذائي الأبيض (Gartz, 1995)، كما يسمى باسم لحم الفقير أو اللحم النباتي (صفوت والخولي، 2006) أو عيش الغراب أو أكاريكس في مناطق إنتاجه في الوطن العربي (PAAF, 2004)، كما يسمى بعيش الغراب الخيشومي (Suslow and Cantwell, 2008)، أو العرهون (البهادلي والزهرون، 1991).

وينتمي الفطر الغذائي *A. bisporus* إلى مجموعة الفطريات البازيدية الكاملة غير مقسمة البازيدة Subclass: Homobasidiomycetidae التي تعد من أرقى المجاميع الفطرية وأكثرها تعقيداً وتضم 20-25 ألف نوع موزعة على أكثر من 550 جنساً (السهيلي آخرون، 1993)، ضمن مجموعة الفطريات البازيدية الخصيبة Series: Hymenomycetes ضمن رتبة الفطريات الخيشومية (الأكاريكات) Order: Agaricales التي تدعى بالفطريات الخيشومية Gill Fungi حيث تضم هذه الرتبة 11 عائلة، وإن عائلة Agaricaceae تحوي جنساً واحداً فقط

هو *Agaricus* (Martin *et. al.*, 1983) الذي يضم حوالي 26 نوعاً من ضمنها *A. campestris* و *A. bitorquis* (Hall *et. al.*, 2003 ; Moustafa, 1960)، والفطر الغذائي*A. bisporus* من الفطريات اللحمية (Fleshy Fungi) الصالحة للأكل (Edible Mushroom) (Cheung, 2008 ; Chang and Miles, 2004)، ومنه عدة سلالات مختلفة في طبيعة نموها ولون أجسامها الثمرية وكمية المحصول وصفات أخرى، وهنالك ثلاث مجاميع هي الأبيض والكريمي والبني التي يمكن تمييزها بسهولة (Stephens, 2003)، والأجسام الثمرية تكون بازيدية شحمية طرية ذات قلنسوة بيضاء وتتدلى منها إلى الأسفل صفائح خيشومية رقيقة وعديدة، وتتميز بأنها غير شمعية كما لايسهل فصل هذه الخياشيم عن بقية الجسم الثمري (السهيلي وآخرون، 1993) وتترتب الخياشيم (الغلاصم) (Gills) بشكل يشبه إطار الدراجة (Stephens, 2003) التي تحتوي على ملايين الأبواغ عند النضج (قاسم، 1976) محمولة على سطح البازيدة (Basidium) وتسمى أبواغها بالأبواغ البازيدية (Basidiospores) (الزيدي وآخرون، 1987)، وهي ذات لون أسود بنفسجي عند انفتاح القبعة (الشكري، 1991)، ويشبه الجسم الثمري (Fruiting Body) للفطر الغذائي الأبيض شكل المظلة ويتكون من قبعة (Cap) "Pileus" وساق (Stem) "Stipe"مع حلقة "Annulus" (Ring) (Chang and Miles, 2004)، عديمة الطوق (الشكري، 1991) كما في الشكل 2، ويتكون الجسم الثمري من غزل متماسك من خلايا أشبه بالبرنكيما (Pseudoparenchyma)، وهايفات الغزل الفطري مقسمة (ويبستر، 1980 ; Kavanagh, 2005).

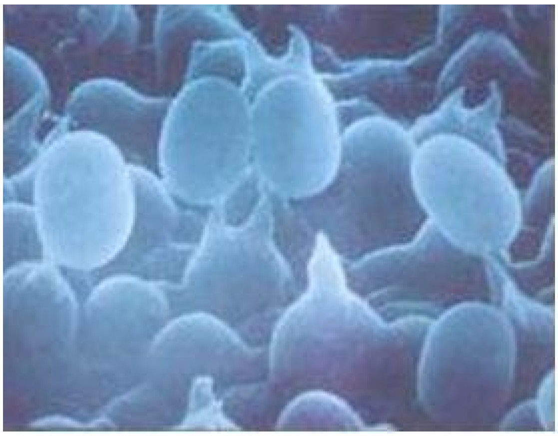
أما الأبواغ في النوع البري *A. campestris* فيكون رباعي الأبواغ وأما في النوع *A. bisporus* فهو ثنائي الأبواغ متماثلة الثالوس (Homothallic)، بدليل قدرة الغزل الفطري

المشتق من بوغ واحد على إعطاء الأجسام الثمرية (ويبستر، 1980)، ويتم حمل الأبواغ بشكل أزواج على البازيدة كما في صورة 1 (Thomas and Schumann, 1993).



شكل (2) مخطط توضيحي يبين الشكل العام للفطر الغذائي *A. bisporus* ، عن (رضوان، 2002).

1 و 2 القبعة (Cap)، 3 و 4 و5 قبعة غير متفتحة (في مرحلة الأزرار Buttons)، 6 مرحلة الدبابيس (Pins)، 7 الحلقة (Ring) "Annulus"، 8 الخياشيم (Gills)، 9 أشباه الجذور (Rizomorph).



صورة (1) أبواغ الفطر الغذائي *A. bisporus* كما تظهر تحت المجهر الألكتروني مكبرة آلاف المرات ، عن (رضوان، 2002).

4-2 : الأوساط الزرعية المستعملة في زراعة الفطر الغذائي *A. bisporus*

تعد الفطريات الغذائية من الأحياء متباينة التغذية (Heterotrophic organisms) لعدم قابليتها على تكوين المركبات العضوية من ثنائي أوكسيد الكاربون الموجود في الجو (Chang and Miles, 2004)، لذلك فإنها ذات طبيعة معيشة مترممة على المواد العضوية الميتة والمتحللة (البهادلي والزهرون، 1991 ; Thomas and Schumann, 1993)، ويطلق اسم Compost على الوسط الزرعي للفطر الغذائي الذي يتم تحضيره غالباً من مخلفات الخيول أومخلفات الدواجن مع الجبس وتبن الحنطة والمخصبات التجارية كنترات الأمونيوم أو اليوريا (ACVC, 2005 ; Kavanagh, 2005).

إن أغلب المواد الشائعة التي تستعمل أوساطاً زرعية هي مخلفات الحيوانات وتبن المحاصيل النباتية (Chang and Miles, 2004)، فقد عَدّت الشعوب جميعها فضلات حيوانات المزارع على مر القرون سماداً مهماً للتربة وأن وجود هذه الفضلات يتسبب في عدة مشكلات منها تلوث الهواء والماء أو مشكلات صحية في نقل الأمراض (هوجز، 1989)، وقد تم استعمالها في إنتاج الفطر الغذائي بعد أن كان يستعمل روث الخيل ومخلفات الدواجن مع تبن الحنطة في تحضير الأوساط (PAAF, 2004)، الذي بقي شائعاً بين بعض المهتمين بأنه فقط يزرع على روث الخيل، إذ إن الفرنسيين كانوا أول من فعل ذلك وزرعوه على مخلفات الخيول (رضوان، 2002)، التي عُدّت المادة المناسبة لمتطلبات نمو الفطر الغذائي لاسيما في نسبة C:N Ratio، كما أنها مصدر جيد للأحياء المجهرية فضلاً عن صفاتها الفيزياوية الجيدة حيث القوام الإسفنجي وبذلك يلائم نمو الفطر الغذائي *A. bisporus* وهذا الوسط له القدرة على امتصاص كمية كبيرة من الماء والاحتفاظ بقدرة عالية على تكوين فراغات هوائية تمنع الظروف اللاهوائية (البهادلي والزهرون، 1991)، كما تم زراعة *A. bisporus* على مواد أساسية متنوعة

اعتماداً على توافرها وبالتالي تم استعمال تبن الحنطة في كل من بريطانيا والولايات المتحدة وفرنسا (Kavanagh, 2005)، ويضاف الجبس (كبريتات الكالسيوم) ($CaSO_4$) إلى الوسط الزرعي في تحضيره لغرض إعطاء الوسط الزرعي قواماً جيداً يمنع تكتل والتصاق قطع تبن الحنطة مع بعضها وبقاء الوسط الزرعي مفككاً من الداخل فيساعد على التهوية الجيدة من ثم زيادة عملية التخمر وتسريعها كما ينشط نمو الأحياء المجهرية في المراحل الأولى من صناعة الوسط الزرعي (Compost) من زيادة الرقم الهيدروجيني (pH) للوسط الزرعي فيعمل على معادلة الوسط فيزيد من نشاط البكتريا الهوائية، إن نسبة الجبس المضافة للوسط الزرعي تعتمد على الوزن النهائي الجاف فتضاف بنسبة 2-3% وتعد هذه النسبة الحد الأدنى المطلوب، وإذا ارتفعت عن ذلك فتعد ذات فائدة، وكلما كانت المواد المستعملة ناعمة حسنت الوضع الفيزياوي للوسط الزرعي (البهادلي والزهرون، 1991).

ويعد تطور وتقدم زراعة الفطر الغذائي واكتشاف أسراره التي منها أن يكون محتوى النتروجين إلى الكاربون (C:N Ratio) بنسبة 20:1 تقريباً في تركيب الوسط الغذائي ليكون مناسباً لنمو الفطر وتكوين الأجسام الثمرية، أصبح تركيب وسط الزراعة ممكناً بخلط مواد عضوية مختلفة بحسب ما هو متوافر محلياً بحيث تصل C:N Ratio إلى الحد المطلوب (رضوان، 2002)، وإن نسبة C:N Ratio في وسط تبن الحنطة 18:1 وفي كوالح الذرة الصفراء 13.3:1 (السعداوي، 2002).

5-2 : الاحتياجات الأساسية ومتطلبات النمو

1-5-2 : المتطلبات التغذوية Nutritional Requirements

1-1-5-2 : محتوى الكاربون Carbon Content

تمتلك الفطريات قابلية فريدة في إمكانية استعمال مركبات كاربونية عديدة بوصفها مصدراً للطاقة في تغذيتها، وغالباً ما تكون مواد كاربوهيدراتية تستعمل في عملية البناء الحياتي، وإن العديد من الفطريات لاسيما الفطريات البازيدية يمكنها تحليل السليلوز، وبالتالي فإنها تأخذ المواد الغذائية من بقايا النباتات والحيوانات بشكل مواد عضوية (ديكن، 1983).

ويعد اللكنين أحد أكثر مصادر الكاربون انتشاراً ويأتي بالدرجة الثانية بعد السليلوز الذي يعد من أكثر مكونات المخلفات العضوية المتراكمة في البيئة، وتعمل الأحياء المجهرية على تحليله وبالتالي تستعمله مصدراً مهماً للطاقة (Alam *et. al.*, 2004 ; Crawford, 1981).

2-1-5-2 : محتوى النتروجين Nitrogen Content

هناك علاقة طردية (موجبة) بين محتوى النتروجين لوسط الزراعة وكمية الحاصل فيشترط أن يكون محتوى النتروجين في وسط الزراعة 2.0-2.5% عند بدء نمو هايفات الفطر (Royse, 2008)، اذ وصلت النسبة المئوية للبروتين في وسط تبن الحنطة إلى 14% وإلى 18% في وسط كوالح الذرة الصفراء بعد 20 يوماً من عملية التخمر وبعد جاهزية الوسط لزراعة الفطر الغذائي *A. bisporus* فيما كان محتوى النتروجين 2.1% في وسط تبن الحنطة و 2.4-1.9% على أوساط كوالح الذرة الصفراء بعد 30 يوماً من بدء التخمر (السعداوي، 2002)، ويمكن للفطر الغذائي الأبيض من استخدام الأحماض النووية والأحماض الأمينية مصدراً نتروجينياً (Alexander, 1982)، في حين لا تستطيع الفطريات البازيدية من

استغلال النترات مصدراً للنتروجين لعدم لحتوائها على انزيمات اختزال النترات (ديكن، 1983)، ويمكن زيادة محتوى النتروجين في وسط الزراعة بإضافة المدعمات النتروجينية ومنها مخلفات الخيول التي تزيد محتوى النتروجين الى 1.5%-1.7% والأسمدة الصناعية التي تزيد محتوى النتروجين إلى 1.5%-1.9% (Beyer, 2003A) أو بوساطة المدعمات الحيوية كالبكتريا المثبتة للنتروجين *Azotobacter* spp. (حمد، 2005)، ويكون نمو الغزل الفطري أسرع على الوسط الزرعي ذي المحتوى النتروجيني الواطىء في حين يكون أبطأ مع الوسط ذي المحتوى النتروجيني العالي لكن يكون نموه بشكل كامل وكثيف (Royse, 2008).

2-5-2 : المتطلبات الفيزياوية Physical Requirements

1-2-5-2 : درجة الحرارة Temperature

إن درجة الحرارة المثلى لنمو هايفات الفطر الغذائي تتراوح بين 23-26 درجة مئوية حيث أظهرت التجارب أن الحرارة بين 24-26 درجة مئوية تعطي أسرع نمو للهايفات (Royse, 2008)، كما بيّن Hayes and Shandilya (1977) أن أفضل درجة حرارة لغرف تنمية الفطر الغذائي تكون 25 درجة مئوية، وأوضح Chen *et. al.* (2003) بأن ارتفاع درجة الحرارة في مواقع التنمية فوق 32 درجة مئوية تسبب ضعف نمو الهايفات وينتج عنها أجسام ثمرية ذات نوعية رديئة، يستطيل فيها الساق وتنفتح القبعة، في حين أشار Royse (2008) بأن درجة حرارة غرف التنمية يجب أن لا ترتفع فوق درجة حرارة 30 درجة مئوية وأن درجة حرارة 40 مئوية تؤدي إلى موت الهايفات، كما جاء في ACVC (2005) بأن درجة حرارة 35 درجة مئوية تقتل اللقاح الفطري "البزار" (Spawn).

2-2-5-2 : الإضاءة Light

ذكر Stevens (1974) الى أنه يمكن تنمية الفطر الغذائي *A. bisporus* في درجة حرارة الغرفة في الضوء أو الظلام، في حين أشار الشكري (1991) إلى أن معظم الفطريات تنمو بصورة جيدة في الظلام، إذ أن الفطر الغذائي *A. bisporus* لايستخدم طاقة ضوء الشمس كما هو الحال في النباتات (Stephens, 2003) وذلك لخلو خلايا الفطريات من صبغات الكلوروفيل (البهادلي والزهرون، 1991 ; رضوان، 2002). فالفطر الغذائي كبقية الفطريات غير ذاتية التغذية التي تنمو على المادة العضوية المتحللة (Stephens, 2003) وتعيش مترممةً على تربة الغابات وكتل الأشجار الميتة (السهيلي وآخرون، 1993)، على الرغم من نمو الفطر الغذائي في أي مكان أو أية بناية مظلمة بغياب الضوء فإن الظلام لا يعد من احتياجات الفطر (Beyer, 2003A)، في حين يحتاج الفطر المحاري *Pleurotus* للضوء بشكل صناعي (مصابيح فلورسنت) في موسم الإنتاج وبغيره لا تتكون الأجسام الثمرية (Beyer, 2003B).

3-2-5-2 : الرطوبة Humidity

ينحصر نمو هايفات الفطر فقط في البيئات الرطبة، كما أن الفطريات قليلة الاعتماد على وجود الماء بشكل حر مقارنة مع البكتريا وذلك لقدرة الخيوط الفطرية على الامتداد الى بيئات جديدة، فالماء ضروري لنفوذ الأنزيمات والمواد المغذية (ديكن، 1983)، لذلك يجب توافر الرطوبة بشكل مستمر بتغطية الوسط الغذائي بورق الصحف أو البولي أثيلين مع حفظ ورق الصحف رطباً (ACVC, 2005)، وقد أشار Stephens (2003) الى وجوب بقاء الرطوبة أكثر من 70% وإلا تعرضت الأجسام الثمرية ونموات الفطر الغذائي للجفاف. إذ إن المحتوى الرطوبي للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus* يتراوح بين 92.8%-94.8% (Cheung, 2008).

4-2-5-2 : التهوية Aeration

إن درجة حرارة غرف التنمية تكون 25 درجة مئوية وبغير تهوية (Hayes and Shandilya, 1977)، ولا توجد بيانات دقيقة عن تأثير التهوية على نمو البزار (Royse, 2008).

إن تركيز ثنائي أوكسيد الكاربون الذي يزيد نمو الهايفات يقع بين 5000-1000 جزء بالمليون مع توافر رطوبة قدرها 95% (Royse, 2008)، وإن نجاح تنمية الفطر الغذائي بشكل تجاري يحتاج الى أنظمة تهوية كفوءة عند تكوّن الأجسام الثمرية (Beyer, 2003A)، ويستحسن استخدام مفرغات الهواء في الأماكن المغلقة لاسيما في مراحل تكوين الأجسام الثمرية (PAAF, 2004).

5-2-5-2 : الايصالية الكهربائية Electrical Conductivity

لم تُشِرْ الدراسات إلى وجود تأثير لتركيز الأملاح على نمو اللقاح الفطري (البزار) في الوسط الزرعي أو كمية المحصول، في حين تؤثر الأملاح عند ارتفاع تركيزاتها في جميع أنواع طبقات التغطية (Royse, 2008)، وقد بلغت الإيصالية الكهربائية 6.7 ديسي سيمنز/سم على وسط تبن الحنطة فيما وصلت الى 5.1-7.0 ديسي سيمنز/سم على أوساط كوالح الذرة الصفراء (السعداوي، 2002).

6-2-5-2 : الرقم الهيدروجيني (pH) للوسط الزرعي

يعد الوسط الخالي من رائحة الأمونيا الأفضل لنمو هايفات الفطر على الرغم من أن قيمة الرقم الهيدروجيني له كانت أعلى مما هو عليه للوسط الحاوي على رائحة الأمونيا التي تثبط أو توقف نمو الهايفات (Royse, 2008)، ويضاف الكلس ($CaCO_3$) لوسط الزراعة لتعديل قيمة الرقم الهيدروجيني لتصبح بحدود 7.5-8.0 (Shandilya, 1986)، وقد أمكن نمو اللقاح الفطري (البزار) في وسط قيمة الرقم الهيدروجيني له 6.5-8.2 (Royse, 2008)، وإن الدرجة المثلى لقيمة الرقم الهيدروجيني هي 7 (PAAF, 2004).

7-2-5-2 : الأمونيا Ammonia

هناك علاقة مباشرة بين محتوى الأمونيا ونمو هايفات الفطر والمحصول النهائي (Royse, 2008) وأن تركيز الأمونيا أكثر من 0.05% (Beyer, 2003A) أو لحد 0.07% يثبط نمو اللقاح الفطري (Royse and Beelman, 2005) لذلك يجب أن يقل محتوى الأمونيا عند نمو اللقاح الفطري (البزار) عن 0.05% وإذا زادت عن هذه القيمة سوف تمنع نمو الغزل الفطري، وإذا زاد تركيز الأمونيا عن 0.2% سوف تقتل الغزل الفطري (Royse, 2008)، كما أن الأمونيا تقتل اللقاح الفطري (البزار) (ACVC, 2005)، ويمكن شم رائحة الأمونيا بسهولة إذا كان تركيزها فوق 0.1% لذلك يجب أن تختفي رائحة الأمونيا قبل إجراء الزراعة (Royse and Beelman, 2005).

6-2 : إنتاج اللقاح الفطري (البزار) Spawn

يعد انتاج البزار (Spawn) خطوة مهمة في التطور المبكر لزراعة الفطر الغذائي، وكلمة بزار "سباون" (Spawn) مشتقة من فعل فرنسي قديم espandre وتعني انتشر للخارج أو امتدَّ، التي أشتقت من اللاتينية expandere وتعني نشراً، وعرّف البزار أيضاً في قاموس ويبستر (Webster's Dictionary) بأنه هايفات الفطر التي تستخدم للإكثار، في حين تعني to spawn تلقيح الوسط ببزار الفطر الغذائي، كما أطلق عليه في بعض المصادر العربية بالباديء الفطري (البهادلي والزهرون، 1991 ; Chang and Miles, 2004)، ولم يدّون في الأدبيات اسم الشخص الذي اكتشفه وعمل طريقة ثابتة للبزار للمدة بين 1678-1707 م بإدخال كتل صغيرة من المخلفات المصابة إلى فرشة الوسط (Chang and Miles, 2004).

وتوجد عدة تعريفات للبزار (Spawn) منها أنه أطلق على الكتل التنموية التي هي عبارة عن حبوب بعض النجيليات التي تحتوي على كتل من هايفات الفطر الغذائي (السهيلي وآخرون، 1993)، أو هو مزيج حبوب الحنطة المعقمة بالبخار مع الهايفات التي يتم إنتاجها بنقاوة وقوة نمو عالية من قبل الشركات المنتجة (Beyer, 2003B)، ويتم إنتاج البزار عالمياً بطرائق مختلفة وتستعمل في ذلك بذور بعض محاصيل الحبوب كالقمح والشعير والذرة البيضاء والدخن وغيرها أو باستعمال مخلفات الخيول وسيقان التبغ (قاسم، 1976).

ويمكن شراء البزار من أسواق خاصة بإنتاج البزار (Stephens, 2003) ويحضر من تعبئته في أكياس صغيرة من قبل شركات متخصصة لإنتاج التقاوي أو مراكز تجهيز المزارعين (ACVC, 2005)، كما أن إنتاج البزار يحتاج إلى نظافة وعناية إذ يجب أن يكون مكان إنتاجه أنظف من أي مكان مستعمل للعمليات الجراحية للبشر، كما يجب تنظيف الملابس والأحذية للعمال يومياً مع تغطية رؤوسهم ويتم التلقيح باستخدام غرف معقمة (Hood)

بالمبيد *A. bisporus* X25 ، كما يتم معاملة لقاح الفطر الغذائي (Kurtzman, 2006) الفطري Benlate ليعطي نتائج جيدة في منح اللقاح مستوى عالياً من السيطرة على الأعفان الخضراء Th4 *Trichoderma harzianum* ، حيث لوحظ أن مستوى المحصول للعينة الملقحة بالأعفان الخضراء والمعاملة بالمبيد الفطري أعطت نتائج مقاربة للعينة التي لم تلقح بالأعفان الخضراء وهي 12.8 كغم/م2 و 13.8 كغم/م2 على التوالي، في حين أعطت العينة الملقحة بالأعفان الخضراء من غير استعمال المبيد 6 كغم/م2 (Royse and Romaine, 2002).

7-2 : تحضير وتجهيز الوسط الزرعي Compost Preparation

1-7-2 : تجهير وسط الزراعة (الطور الأول) Phase 1

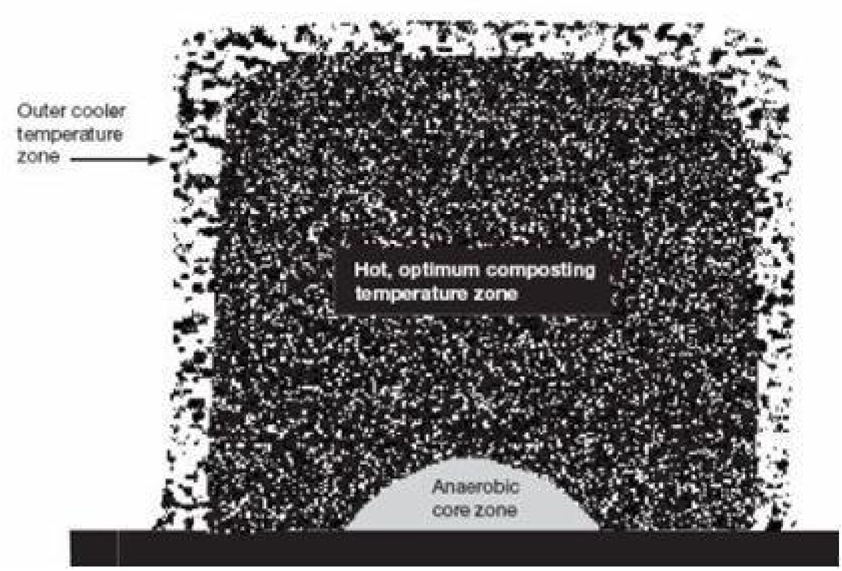
عند الإشارة إلى كلمة زراعة فإن أول مايتبادر الى الذهن التربة كونها بيئة يزرع فيها النبات، إلا أن هذا المفهوم لاينطبق على الفطر الغذائي فهو لايزرع في التربة وإنما على وسط خاص يتم تجهيزه بطريقة فنية (رضوان، 2002)، وتستعمل أنظمة التخمرات الصلبة لتحضير وسط زرعي لإنتاج الفطر الغذائي أو عندما يراد الحصول على الأنزيمات والمضادات الحياتية (Kavanagh, 2005)، إن عملية تحضير الوسط تدعى Composting وهي نسخة مطورة من عملية التحلل الطبيعي للمخلفات العضوية وتحلل السليلوز الملكنن التي تتم بنجاح بوساطة الأحياء المجهرية الموجودة في الطبيعة، حيث إن التغيرات التركيبية للّكنين تحدث في تحضير الوسط، وأن عملية تحضير الوسط تقع ضمن تخمرات المواد الصلبة (Smith, 2004 ; Iiyama *et. al.*, 1995)، ويتم تحضير وسط الزراعة خارج المزرعة على

أرض كونكريتية محمية بالمسقفات لحماية الوسط الزرعي من الأمطار ومفتوحة التهوية، وتعمل بشكل أكوام يتم تقليبها بوساطة معدات مهيئة لهذا الغرض (البهادلي والزهرون، 1991).

ويتضمن إنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus* تحضير وسط الزراعة بالطريقة الحديثة لمدة 10 أيام بشكل عمليات غير مسيطر عليها Outdoor (Phase 1) من أجل التحلل، يعقبها عمليات Indoor (Phase 2) مسيطر على حرارتها (Tautorus, 1985)، ولتحضير الوسط بالطريقة الحديثة يتم وضع طبقة من مخلفات الخيول في الأسفل ثم طبقة من تبن الحنطة وبشكل متكرر مع المخصبات الكيمياوية والجبس مع الترطيب والتقليب والخلط (ACVC, 2005)، أو يتم خلط المواد وترطيبها بشكل كومة يصل ارتفاعها الى 150-185 سم وعرض 150-185 سم وبطول بحسب مساحة المكان وعلى أرض صماء من الكونكريت الاسمنتي، حيث ينثر الجبس والمخلفات الحيوانية واليوريا فوق تبن الحنطة وتخلط جيداً، ويجرى التقليب في اليوم الثالث مع إضافة الماء عند الحاجة وتكرر العملية في اليوم السادس والتاسع والثاني عشر، فإذا توافرت الرطوبة الكافية والأوكسجين والنتروجين فإن درجة الحرارة سوف تصبح 60-66 درجة مئوية في داخل الكومة وسوف تتحرر الأمونيا وثنائي اوكسيد الكاربون والحرارة وتستمر العملية في المرحلة الأولى (Phase 1) لمدة 12-14 يوماً أو تصل الى 19 يوماً (Toker *et. al.*, 2007 ; Royse and Beelman, 2005 ; ACVC, 2005).

وإن تتابع نمو الأحياء المجهرية (التعاقب الحيوي) ضروري لإنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus* وإن معدل تحلل الوسط ينخفض عند ارتفاع الحرارة إلى درجة 60 مئوية وتعد درجة حرارة 40-50 مئوية الأفضل للتحلل، ولهذا يعتقد أن الأحياء المجهرية أهم عامل من عوامل تحلل الوسط مع تقليبه (ديكن، 1983)، في حين تحدث تفاعلات كيميائية غير مرغوب بها عند وصول درجة حرارة الوسط الى 70 مئوية في داخل الكومة (Beyer, 2003A).

إن عمليـة تحلـل الوسـط هـي عمليـة هوائيـة ويهبط معدلها بـشدة عنـد تطـور الظـروف اللاهوائيـة فـي مركـز الكومـة فيتم التقليب مـع إضـافة المـاء عنـد الحاجـة من أجل تهويـة الكومـة وتزويـــــــد الوســــــط بالأوكـــــــسجين الـــــــلازم لعمـــــــل الأحيـــــــاء المجهريـــــــة (ديكن، 1983 ; Royse and Beelman, 2005)، ويبين الشكل 3 المناطق منخفضة الحرارة التي تكون في المحيط الخارجي للكومة أما المناطق مرتفعة الحرارة فتكون للداخل مع تكوّن ظروف لاهوائية في أسفل الكومة.



شكل (3) المناطق الحرارية المتكونة داخل الكومة، عن (Beyer, 2003A)

وبإنتهاء المرحلة الأولى من عملية التخمر يكون الوسط الزرعي الناتج بني اللون وذو قوام ناعم وبدرجة رطوبة تبلغ 68%–74% ويعد هذا دليلاً على انتهاء هذه المرحلة وبدء عملية البسترة (Royse and Beelman, 2005).

أما الطريقة القديمة فقد استعملت لغاية عام 1935م وما زالت تستعمل إلى الآن في بعض الدول لكونها قليلة الكلفة فضلاً عن سهولة التعامل معها من قبل صغار المنتجين (السعداوي، 2002)، وتجري هذه العملية عن طريق ترطيب المواد الأولية لمدة من الوقت لحين وصول الرطوبة الى 75-80% ثم تخلط مع المدعمات النتروجينية والجبس وتكدس بشكل كومة بارتفاع

1.8-2.0 م وبعرض 1.8-2.0 م وبطول بحسب مساحة الموقع، وبعد مدة 5-7 أيام تنخفض درجة الحرارة داخل الكومة بسبب قلة نفاذ غاز الأوكسجين إلى داخل الكومة، فتكون بشكل مضغوط ويتم التقليب والترطيب عند الحاجة، وتكرر العملية 4-5 مرات في مدة تحضير الوسط البالغة 25-30 يوم (Flegg and Randle, 1980).

إن الطريقة الحديثة (القصيرة) أفضل من الطريقة القديمة (الطويلة) من حيث الوقت، كما أن الفقد بالمادة العضوية يكون بنسبة 30% في الطريقة القديمة وحوالي 10% في الطريقة الحديثة بسبب قصر مدة التخمر بهذه الطريقة من جهة والسيطرة على ظرف الحرارة من جهة أخرى (السعداوي، 2002)، وقد سجلت درجة حرارة وسط تبن الحنطة مع مخلفات الدواجن أعلى مايكون 69.3 درجة مئوية في اليوم التاسع من عملية التخمر ثم انخفضت إلى 43 درجة مئوية في اليوم 19 مع انتهاء عملية التخمر (Baysal *et. al.*, 2007).

2-7-2 : بسترة وتلطيف وسط الزراعة (الطور الثاني) Phase 2

تهدف عملية البسترة إلى القضاء على الحشرات والبكتريا الممرضة والديدان الثعبانية (النيماتودا) والفطريات الممرضة للفطر الغذائي كالأعفان، كما تساعد البسترة في إزالة رائحة الأمونيا بالتسخين وتشجيع نمو الأحياء المجهرية المحبة للأمونيا مع إضافة مغذيات جديدة إلى الوسط الزرعي، وبالتالي استكمال عملية التخمر وتجانس الوسط الزرعي الكامل وتحويله إلى بيئة مفضلة لنمو الفطر الغذائي (رضوان، 2002 ; Coles *et. al.*, 2002 ; Royse and Beelman, 2005 ; Beyer, 2003A).

وتتم البسترة بعدة طرائق منها استعمال البسترة بالبخار لمدة 2-8 ساعات بعد وضع الوسط داخل أكياس، ثم توضع داخل براميل ذات منصة حديدية في الداخل، ويتم إضافة الماء دون

مستوى الوسط ويتم التسخين بوساطة حرق الحطب (Kivaisi, 2007)، أو تتم عملية البسترة من ملئ الرفوف بالوسط لإكمال عملية التحلل بدرجة 60 مئوية لمدة 4-6 أيام حتى اختفاء رائحة الأمونيا ثم تتم عملية التهوية حتى يكون الوسط جاهزاً للزراعة بدرجة 24-27 مئوية (Stephens, 2003). وأن التهوية مهمة لإزالة أي رائحة كريهة أو تجرى البسترة بدرجة حرارة 50-60 مئوية لمدة 5-8 أيام اعتماداً على كفاءة التهوية (ACVC, 2005 ; Hall *et. al.*, 2003). كما يمكن إجراء البسترة حديثاً في غرف خاصة بوساطة البخار ويجب إبقاء درجة الحرارة مرتفعة من أجل نمو وتكاثر الأحياء المجهرية المحبة للحرارة التي تعتمد في نموها على النتروجين والمواد الكاربوهيدراتية المتوافرة حيث يمكنها أن تستعمل بعض النتروجين الموجود بشكل أمونيا وبالتالي تنتج مغذيات مهمة لهايفات الفطر الغذائي (Royse and Beelman, 2005). كما تجرى البسترة في غرف أو أنفاق خاصة لهذا الغرض حيث ترفع حرارة الهواء إلى 58-60 درجة مئوية لمدة 6-8 ساعات بوساطة بخار الماء الذي يعمل على إبقاء الوسط رطباً، ثم تخفض درجة الحرارة تدريجياً الى 48 درجة مئوية بمعدل 1.5-2.0 درجة مئوية في اليوم لتنتهي العملية بعد أسبوع (رضوان، 2002)، وتستمر عملية البسترة وتلطيف الوسط لمدة أسبوع تقريباً حتى اختفاء رائحة الأمونيا (Toker *et. al.*, 2007).

بعد إكمال عملية البسترة يُترك الوسط حتى تنخفض درجة حرارته الى 21-27 مئوية حيث تختفي رائحة الأمونيا فيكون الوسط جاهزاً للزراعة بوساطة اللقاح الفطري (البزار) (Royse and Beelman, 2005 ; ACVC, 2005)، إذ إن علامة انتهاء البسترة هي اختفاء رائحة الأمونيا وتصبح رائحة الوسط مقبولة وهذا شرط لنمو اللقاح الفطري (البزار) وتكون رطوبة الوسط بنسبة 68% وبدرجة حرارة تصل الى 25-28 درجة مئوية (رضوان، 2002). ولمعرفة كمية

الوسط الكافية للاستعمال فإن وسط زرعي بأبعاد 3 م طولاً و 1.2 م عرضاً وبإرتفاع 15 سم، يبلغ حوالي 0.57 م3 (ACVC, 2005).

3-7-2 : طرائق زراعة البزار Spawning Methods

تحتاج زراعة الفطر الغذائي إلى إمكانيات خاصة وخبرة عملية وهنالك مزارع نموذجية تدار آلياً من التحكم بالعمليات عن طريق الحاسوب، وتنتج 7000 طن سنوياً، أي بمعدل يزيد عن 19 طناً يومياً (PAAF, 2004)، فبعد أن يكون الوسط الزرعي جاهزاً لعملية التلقيح بالبزار (Spawning) بعد انتهاء البسترة، تخفض درجة حرارته إلى 27 درجة مئوية (Royse, 2008)،ثم يتم ضبط درجة حرارة وسط الزراعة عند 21-25 درجة مئوية للأسبوع الأول،وتكون درجة حرارة غرف الزراعة 25 مئوية ورطوبة 90% من غير تهوية (Hayes and Shandilya, 1977 ; رضوان، 2002)، ويوضع وسط الزراعة على مساطب الزراعة بعرض 120-150 سم وعمق 15-20 سم بغض النظر عن الطول بحسب حجم المزرعة أو طول الرفوف، كما أن الرفوف تحوي على شقوق في الأسفل بعرض 2-4 سم وتترك مسافات بين الشقوق تصل الى 12-20 سم من أجل التهوية (ACVC, 2005).

إن الجسم الأساسي للفطر الغذائي يتكون من كتلة الخيوط البيضاء النامية التي تشاهد في الوسط الذي يتغذى عليه والتي تدعى بالهايفات (Hyphae) (Stephens, 2003)، وتنشأ الهايفات من نمو البزار حيث تخترق وسط الزراعة وتدعى هذه العملية (Spawn Running) (Chang and Miles, 2004)، وإن سرعة نمو الهايفات تعتمد على سلالة الفطر الغذائي *A. bisporus* (Royse, 2008)، وتنمو الهايفات التي تنشأ من البزار بشكل شبكة في الوسط الزرعي وبجميع الاتجاهات ويكتمل النمو بعد 14-21 يوم من التلقيح، وهذا

يعتمـد علـى معـدل نمـو البـزار وانتـشاره ورطوبـة وحـرارة وطبيعـة أو نوعيـة وسـط الزراعـة (Beyer, 2003A).

هنالك عدة طرائق لزراعة البزار، منها طريقة النشر Broadcast Method حيث ينثر البزار فوق سطح الوسط ويسمح لـه بـالنمو (Stephens, 2003)، وهذه الطريقة مريحة وتقلل الوقت، لكنها غير مرغوبة نتيجة تعرض البزار للجفاف فيما يتسبب في بطء نمو الهايفات، وهذه الطريقة ناجحة في المزارع التجارية (Royse, 2008).

أما الطريقة الثانية فهي نثر البزار ثم خلطه مع الوسط Ruffling-in Method حيث ينثر البزار فوق سطح الوسط ويخلط معه باليد (رضوان، 2002 ; Royse, 2008) وتتم التسوية على عمق بين 1-7 سم،وهذه الطريقة تعالج معظم الأضرار الناتجة عن نثر البزار ماعدا انتظار ظهور الهايفات في سطح الوسط وتستعمل هذه الطريقة لدى المزارعين الذين لايملكون آلات لهذا الغرض (Royse, 2008).

أما الطريقة الثالثة فهي خلط البزار مع الوسط Mixed Spawning وتستعمل بشكل كبير في أنظمة الإنتاج، حيث يمزج البزار مع الوسط داخل حاويات ثم تمرر ماكنة خاصة في الوسط للخلـط،ولهـذه الطريقـة فوائـد منهـا اختـزال مـدة نمـو البـزار وزيـادة محـصول الفطـر الغـذائي (Royse, 2008).

وهنالـك طرائـق أخـرى منهـا وضـع قطعـة صـغيرة مـن البـزار داخـل حفـر بعمـق 4 سـم وبمسافات تبعد 25 سم (Stephens, 2003)، كما يتم الإنتاج داخل أكياس بلاستيكية من أجل المحافظـة علـى مـستويات الرطوبـة، وتـستعمل هـذه الطريقـة بـشكل تجـاري فـي أوربـا (ACVC, 2005)، كما يتم تغطية الوسط بورق نظيف معقم بمادة مطهرة كالفورمالين او محلول القاصر (رضوان، 2002).

إن كمية البزار تعتمد على طول مدة نمو البزار والوزن الرطب للوسط الزرعي (Beyer, 2003A) أو يكون معدل البزار معتمداً على الشركة المجهزة (ACVC, 2005)، وتستعمل كمية بزار 6-7 لتر وتعادل 3.5-4.5 كغم للطن الواحد من الوسط الزرعي الجاهز عند الزراعة بطريقة النثر (رضوان، 2002)، وإن زيادة معدل البزار يقلل عدد الأيام اللازمة لاكتمال نمو الهايفات ويسرع جني المحصول ويقلل ظهور الأمراض أو المنافسات الأخرى (Beyer, 2003B ; Beyer, 2003A)، لذا يعتبر اكتمال نمو الغزل الفطري للفطر الغذائي *A. bisporus* في الوسط خطوة أساسية لإنتاج الفطر الغذائي (Gillmann *et. al.*, 1994).

4-7-2 : طبقة التغطية Casing Layer

يتم تغيير نمو هايفات الفطر الغذائي من الطور الخضري إلى الطور التكاثري (الأجسام الثمرية) بتغطية سطح وسط الزراعة الذي نمت عليه هايفات الفطر الغذائي النامية من البزار بغطاء من مواد مناسبة كالبيتموس وبالتالي تكوين الأجسام الثمرية، فبعد اكتمال نمو الغزل الفطري وظهوره بشكل خيوط بيضاء فوق سطح الوسط الزرعي، يتم تجهز طبقة من البيتموس (Peatmoss) المخلوط مع التربة أو التربة الكلسية وتوضع فوق الهايفات النامية على وسط الزراعة، ويطلق على هذه الطبقة بطبقة التغطية (Casing Layer) أو الطبقة السوداء (Schmidt, 2006 ; PAAF, 2004)، وتكون تربة التغطية بسمك 2.5 سم ويجب أن تكون خالية من الأملاح والحجارة وبذور الأدغال وأن تكون مسامية تحتفظ بنسبة جيدة من الماء وأن لايزيد الرقم الهيدروجيني عن 8 والأفضل أن يكون بين 7.2-7.5 (قاسم، 1976 ; Toker *et. al.*, 2007)، ويتم ضبط الرقم الهيدروجيني لطبقة التغطية الى 7.5 بإضافة الكلس (Sassine *et. al.*, 2005).

ثم يسمح للغزل الفطري بالنمو في طبقة التغطية عند درجة حرارة 25 مئوية لمدة 8-12 يوماً بعدها تخفض درجة الحرارة بين 15-18 درجة مئوية من أجل تكوّن الدبابيس التي تتطور إلى الأجسام الثمرية (Schmidt, 2006 ; Shandilya, 1986)، مع رش الماء عند الحاجة للمحافظة على الرطوبة بحدود 85% من أجل منع جفاف طبقة التغطية والأجسام الثمرية، ويمكن دفع هواء نقي للمزرعة لمنع تراكم ثنائي أوكسيد الكاربون (رضوان، 2002).

ويمكن استعمال طبقة تغطية تحوي كمية من البيتموس مع كمية مساوية لها من الكلس توضع بإرتفاع 2-4 سم (ACVC, 2005)، أو تستعمل طبقة تغطية مكونة من 50-70% من مخلفات الورق مع البيتموس والرمل (Sassine *et. al.*, 2007)، كما يمكن استعمال 30% مخلفات الورق مع 70% مخلفات القطن أو مع 70% تبن الرز (Sassine *et. al.*, 2006)، أو استعمال مواد محلية متوافرة من بيتموس بعض النباتات مع الكلس بإضافة الرمل أو بغيره (Simsek *et. al.*, 2008 ; Baysal *et. al.*, 2007 ; Toker *et. al.*, 2007)، ويعتمد البعض استعمال الطريقة الحديثة للحصول على تربة التغطية من استعمال بقايا الوسط الزرعي (SMS) لهذا الغرض (قاسم، 1976)، ويتم إضافة $CaCO_3$ إلى طبقة التغطية من أجل تعديل الرقم الهيدروجيني وجعله متعادلاً أو قاعدياً قليلاً (رضوان، 2002).

كما تفيد طبقة التغطية في حفظ الرطوبة للفطر الغذائي من تعويض الماء المفقود نتيجة التبخر والتنفس، كما تفيد طبقة التغطية في منع أو تقليل العدوى بالأمراض التي قد تصيب الفطر الغذائي، كما تسهل عملية القطف، وأن أشباه الجذور (Rizomorph) التي تشبه الوتر السميك تتكوّن نتيجة اتصال الهايفات سويةً مع بعضها وتنمو في طبقة التغطية لنقل المغذيات الذائبة من الوسط الزرعي إلى الأجسام الثمرية وتتكون بدايات الفطر الغذائي وهي الدبابيس

(Pins Primordia) فوق أشباه الجذور متطورة إلى الأجسام الثمرية، من غير أشباه الجذور لاتتكون الأجسام الثمرية (رضوان، 2002 ; Beyer, 2003A).

وهـذه الآلية غير معروفة وتوجد عدة نظريات لتفسير هذه الظاهرة (Beyer, 2003A)، منها أن خيوط الفطر تتجمع وتتكتل وتعطي أشبه مايكون بالبراعم وهي كتلة مشيجية صغيرة بيضاء تدعى بالدبابيس التي تتطور وتنمو وتكبر في الحجم لتشكل فيما بعد رأس الجسم الثمري المأكول وتستغرق عملية الأثمار هذه أسبوعاً تقريباً، وقد تظهر الدبابيس في مجموعة متراصة ومتلاصقة حول بعضها، لذلك فإن الغرض الأساسي من وضع طبقة التغطية على سطح الوسط الزرعي الحاوي على الغزل الفطري هو لتحفيز وتشجيع تكوّن الأجسام الثمرية (Chang and Miles, 2004).

8-2 : التدعيم الحيوي بوساطة بكتريا *Streptomyces*

تنتمي بكتريا *Streptomyces* لعائلة Streptomycetaceae التابعة لرتبة Actinomycetales (Goodfellow and Cross, 1984)، وهي بكتريا متباينة التغذية (Heterotrophic Bacteria) (Paul, 2007)، وتتواجد البكتريا الخيطية (Actinomycetes) في التربة والماء والمخلفات والهواء (David and Sheare, 1998 ; Lacey, 1973)، ويعد جنس *Strepotomyces* من أهم الأحياء المجهرية على الصعيد الاقتصادي (Hopwood and Chater, 1980)، فقد استطاع Song *et. al.* (2001) من عزل عدة سلالات تابعة الى 7 أنواع من بكتريا *Streptomyces* من عدة أوساط لزراعة الفطر الغذائي *A. bisporus*، وأن حوالي 70% من البكتريا الخيطية الموجودة في التربة هي من جنس

Streptomyces ، ولها أثر واضح في الطبيعة ينجلي في قدرتها على تحليل المواد العضوية (Buscot and Varma, 2005 ; Ishaque and Kluepfel, 1980).

يعد اللكنين أحد أكثر المواد المعقدة التركيب التي يتكون منها الجدار الثانوي للخلية النباتية، وهو شديد المقاومة للتحلل المائي بالأحماض إلا أنه يتحلل بفعل نشاط ميكروبات التربة ويأتي بالدرجة الثانية بعد السليلوز الذي يعد من أكثر مكونات المخلفات العضوية المتراكمة في البيئة، وتعمل الأحياء المجهرية على تحليله وتستعمله مصدراً مهماً للطاقة، وهو أكثر المركبات الأروماتية وفرة على الأرض (Alam *et. al.*, 2004 ; Crawford, 1981).

وعمليـة تجزئتـه تـتم بوسـاطة أنزيمـات Oxygenase فهـي عمليـة تحلـل مـائي (Hydrolytic Process) وبهذا فإنّ تكسير اللكنين لايحدث إلا بوجود الأوكسجين، كذلك تحتاج الأحيـاء المجهريـة وجـود بعـض المـواد الأساسـية كالسليلوز (Cellulose) والسليلوبايوز (Cellobiose) ويعود ذلك إما لكون نواتج تحلل اللكنين غير كافية لسد حاجة ومتطلبات نمو الفطريات أو لأن هذه المركبات تحجز مركبات ضرورية للخطوات الأنزيمية في عملية تكسير اللكنين (ديكن، 1983).

إن الفطر الغذائي *A. bisporus* هو من الكائنات رمية المعيشة ويعتمد في معيشته على وجود المادة العضوية في الوسط الزرعي للحصول على الماء والكاربون والنتروجين من اللكنين بعد تحللها إلى مكوناتها الأولية لذلك يعد محللاً ثانوياً، ولابد من إجراء تحليل أولي لمكونات الوسط لتستطيع هايفات الفطر الغذائي من بدء النمو (البهادلي والزهرون، 1991)، ولقدرة بكتريا *Streptomyces* علـى تحليـل السليلوز ولفعاليتهـا العاليـة فـي هـذا المجـال (Tawfiq *et. al.*, 2002)، فقد تمكنت من تحليل المخلفات النباتية وانتاج انزيم Cellulase الذي يحلل السليلوز (الزيدي وآخرون، 1987)، ولها القدرة على تحليل اللكنين حيث تستطيع

Streptomyces تحليل المركبات الأروماتية مفردة الحلقة (Tuomela *et. al.*, 2000)، واستطاعت تحليل نشارة الخشب من انتاجها الأنزيم نفسه، ولها القدرة على تحليل مخلفات المزارع كمخلفات المحاصيل الزراعية نشارة الخشب (McCarthy and Williams, 1992 ; مطر، 2008)، وأن العزلة *Streptomyces coelicolor* أفضل العزلات في تحليل السليلوز (Tawfiq, 2000)، كما أن لها القدرة على انتاج أنزيم Chitinase الذي يحلل الكايتين والذي تستخدمه هذه البكتريا مصدراً كاربونياً ونتروجينياً (Chigaleichik *et. al.*, 1978)، كما ذكر Benimelia *et. al.* (2007) بأن بكتريا *Streptomyces* تفرز عدة أنزيمات كأنزيمات Cellulases و Xylanases و Xylosidase Arabinofuranosidase و Xylosidase وهي بذلك تكون محللة للمخلفات الزراعية.

كما لاحظ Edit *et. al.* (2006) فقدان الكتلة الحيوية لرايزومات القصب *Phragmites australis* وبقاء حوالي 13.6% من الكتلة الجافة له بعد سنتين في تحلل حيوي للقصب في بحيرات المياه الضحلة، إذ لاحظ أن البكتريا أول من تتواجد على نبات القصب ثم الفطريات، فكان هنالك تواجد للبكتريا المحللة للسليلوز وتشمل البكتريا اللاهوائية *Clostridium* والبكتريا الهوائية *Streptomyces* و *Bacillus* و *Micromonospora* وكانت نسبها في السنة الأولى 10% و 22% و 68% على التوالي وكانت نسبها بعد سنتين 37% و 33% و 30% على التوالي، كما أشار إلى أن تحلل أنصاف السليلوز هو الأسرع في حين كان اللكنين الأبطأ تحللاً.

9-2: نبات القصب *Phragmites australis*

يعد *Phragmites australis* واحداً من أوسع أنواع النباتات الوعائية انتشاراً في العالم ويتميـــز بكتلتـــه الحيويـــة العاليـــة مقارنـــة مـــع جميـــع أنـــواع النباتـــات (Ali *et. al.*, 2002 ; Clevering and Lissner, 1999)، إذ يوجد نوع واحد من القصب في العراق وهو القصب *P. australis* (Cav.) Trin ex stend (السعدي والمياح، 1983)، الذي يرادف النوع *P. communis* Trin المذكور من قبل Al-Rawi (1964)، أما الاسم الانكليزي له فهو Common Reed (Hansson and Fredriksson, 2004).

وينتمي القصب إلى العائلة النجيلية (Gramineae) ضمن النباتات ذات الفلقة الواحدة، والقصب نبات بري شائع وهو معمر رايزومي يصل ارتفاعه إلى أكثر من 3 متر، والساق بسيط غيـــر متفـــرع صـــلب أملـــس، والأوراق شـــريطية ذات نهايـــة رفيعـــة مدببـــة (السعدي والمياح، 1983).

10-2 : نبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra*

إن الاسم العلمي لنبات عرق السوس هو *Glycyrrhiza* sp. الذي يتبع الفصيلة البقولية (Fabaceae) ومن أصنافه Typical *G. glabra* و *G. violacae* و *G. grandalifera* والاسم الانكليزي له Liquorices (قطب، 1977 ; خلف الله، 1988).

ويعد من النباتات المعمرة، وله رايزومة أرضية طويلة صفراء من الداخل وجذور درنية غليظة وهما الجـــزآن المـــستعملان، ويحمـــل أوراقـــاً مركبـــة ريـــشية وأزهـــاراً حمـــراء والثمـــرة بقلـــة (خلف الله، 1988)، والصنف الأسباني هو المنتشر في العراق (الدروش، 1977).

أمـا المكونـات الفعالـة فهـي الأسـبارجين 2% و Glycyrrhizin وهـو مركـب أحلـى مـن السكر بنحـو 50 مرة فهو أحلـى مـادة طبيعيـة معروفـة (خلـف الله، 1988)، ويوجد بـشكل أمـلاح

الكالسيوم والبوتاسيوم لحامض الكلسرهيزين، كما يحتوي على مواد راتنجية (Resins) وصابونين وكلايكوسيدات (قطب، 1977).

ولعدم وجود دراسات عن تأثير الرش بمستخلص عرق السوس على الفطريات الغذائية فقد تم الإشارة إلى تأثيره على بعض النباتات وذلك لما تحتويه جذوره من بعض المكونات الغذائية جدول 1، وتم استعماله في زيادة قطر النورة الزهرية وزيادة النمو الخضري لنبات البصل *Allium cepa* L كونه يعد مستخلصاً نباتياً يسلك سلوك الجبرلين في تأثيره الفسلجي على النبات المرشوش به وبتراكيز 1-3 غم مسحوق/لتر ماء (المرسومي، 1999)، كما أوضح حسين (2002) أن رش مستخلص عرق السوس على نبات الخيار *Cucumis sativus* L بتركيز 2.5 غم/لتر سبب زيادة في عدد أوراق وأفرع النبات وبتركيز 5 غم/لتر أدى إلى زيادة في طول النبات، كما أدى الرش بمستخلص عرق السوس إلى الحصول على زيادة في قطر الزهرة وأعدادها لنبات الفريزيا *Freesia hybrida* L مقارنة بمعاملة المقارنة (الربيعي، 2003).

جدول (1) بعض المكونات الغذائية لمسحوق عرق السوس المحلي على أساس الوزن الجاف ، عن (موسى وآخرون، 2003)

المكونات	النسبة المئوية (%)
الرماد الكلي	7.84
المستخلص الذائب في الماء	32.60
البروتين	5.20
الزيوت	3.75
السكريات المختزلة	2.25
الألياف الخام	24.42
المواد التانينية	3.66
الكليسيرايزين	4.22

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

1-3: المواد Materials

1-1-3: الأجهزة المستعملة Apparatus

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة ومنشؤها
1	Refrigerator ثلاجة	Concord (France)
2	Spectrophotometer جهاز المطياف الضوئي	APEL
3	جهاز قياس الايصالية والأملاح الكلية المذابة Electrical Conductivity	Mettler Toledo (China)
4	pH - Meter جهاز قياس الرقم الهيدروجيني	Mettler Toledo(China)
5	Kjeldahl جهاز قياس النتروجين	Gallenkamp Kjeldahl Apparatus
6	Cooled Incubator حاضنة مبردة	Memmert
7	Controlled Enviroment حاضنة هزازة Incubator Shaker	New Brunswick Scientific (USA)
8	Water bath حمام مائي	Gerhardt
9	Electrical Oven فرن كهربائي	Carbolite (England)
10	Autoclave المؤصدة	Marubeni (Japan)
11	Air Cooler مبردة هواء	Berfab (Iran)
12	Light microscope مجهر ضوئي	Olympus (Japan)
13	**المحرك المغناطيسي الساخن** Magnetic Stirrer Hotplate	Stuart Scientific (England)
14	Oil-Filled Radiator مدفئة زيتية	Sunny (Korea)
15	Disposable Filterware 0.22 µ مرشح بكتيري	Nalge (USA)
16	مقياس حرارة ورطوبة رقمي Digital Thermometer and Hygrometer	Shanghai Jingchuang Electronics Manufacturing (Shanghai)
17	Electrical Balance ميزان كهربائي	Sartorius (Germany)
18	Hood (Laminar Flow) هـود	Oliphant

3-1-2: الزجاجيات والأدوات المختبرية

ت	الأدوات	الجهة المجهزة
1	Petridishes أطباق بتري	BYREX (England)
2	Test tubes أنابيب اختبار	BYREX (England)
3	Flasks (50, 200, 250, 500 ml) دوارق زجاجية	BYREX (England)
4	Microscope Slides شرائح زجاجية	ALTAY (China)
5	Cover slids غطاء شرائح زجاجية	ALTAY (China)
6	Ceramic mortar هاون خزفي	Harold (China)

3-1-3: المواد الكيمياوية Chemicals

ت	اسم المادة	الشركة المجهزة ومنشأها
1	Agar أكار	Oxoid (England)
2	Benomyl بينوميل	DuPont (France)
3	Gypsum ($CaSO_4$) الجبس (كبريتات الكالسيوم)	الأهلية (العراق)
4	Sulforic acid (H_2SO_4) حامض الكبريتيك المركز	Ajax
5	HCl حامض الهيدروكلوريك	BDH (England)
6	Pumice Stone Granula حجرات البيومك	Switzerland
7	Diazinon ديازينون	U.S
8	Sucrose سكروز	Local Market
9	Formalin الفورمالين (فورمالديهايد)	Sina Chemical Industrial (Iran)
10	فوسفات البوتاسيوم أحادي الهيدروجين Dipotassium phosphate(K_2HPO_4)	BDH (England)
11	Phenols فينول	BDH (England)
12	$CaCO_3$ كاربونات الكالسيوم (غبرة)	Local Market
13	كاشف كلدال	مكتب الرافدين الزراعي (العراق)
14	K_2SO_4 كبريتات البوتاسيوم	BDH (England)
15	$FeSO_4.5H_2O$ كبريتات الحديد المائية	BDH (England)

BDH (England)	$MgSO_4.7H_2O$	كبريتات المغنسيوم المائية	16
BDH (England)	$CuSO_4.5H_2O$	كبريتات النحاس المائية	17
BDH (England)	Ethanol 96%	كحول اثيلي	18
Sartol (Jordan)	Alcohol	كحول طبي (مطهر ومعقم)	19
BDH (England)	NaCl	كلوريد الصوديوم	20
BDH (England)	$NaMoO_2$	مولبيدات الصوديوم	21
BDH (England)	KNO_3	نترات البوتاسيوم	22
BDH (England)	$NaNO_2$	نتريت الصوديوم	23
Local Market	Starch	نشأ	24
Ajax	NaOH	هيدروكسيد الصوديوم	25
الشركة العامة للفوسفات (العراق)	Urea $CO(NH_2)_2$	يوريا	26

3-1-4: مواد متفرقة أخرى Other Different Materials

الجهة المجهزة	الأدوات		ت
Local Market	Bags	أكياس نايلون سميكة	1
Flamora 85 (Turkey) Local Market	Wheat Seeds	بذور الحنطة	2
Local Market	Drum	برميل حديدي 200 لتر	3
Local Market	Potato	بطاطا	4
SAB (Germany)	Peatmoos	بيتموس	5
Local Market	Wheat Straw	تبن الحنطة	6
China	Knife	سكين	7
Local Market	Boxes	صناديق فلين	8
Local Market	Chicken Manure	مخلفات الدواجن	9
Local Market	Common Reed Wastes	مخلفات نبات القصب	10
Turkey	Spray water	مرشة مياه	11
Local Market	Powder of Liquorices	مسحوق عرق السوس	12
Whatman (England)	Filter Paper	ورق ترشيح	13

3-1-5: الأوساط الزرعية Culture Media

ت	اسم المادة	الجهة المجهزة
1	Nutrient broth وسط المرق المغذي	Mast diagnostic (England)
2	Gauze Agar وسط كاوزا الصلب	محضر مختبرياً
3	Potato Dextrose Agar وسط أكار البطاطا والدكستروز	Oxoid (England)
4	Potato Sucrose Agar وسط أكار البطاطا والسكروز	محضر مختبرياً
5	Potato Sucrose وسط مستخلص البطاطا والسكروز السائل	محضر مختبرياً

3-2: طرائق العمل Methods

3-2-1: عزلات الأحياء المجهرية المستعملة

أجري البحث بتاريخ 2008/10/22 في قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة الأنبار وحضر الوسط الزرعي وتم زراعة الفطر الغذائي في غرفة هيئت لهذا الغرض في مدينة هيت.

أ– **عزلة الفطر *Agaricus bisporus*** : تم الحصول على عزلة من الفطر الغذائي وهي سلالة *A. bisporus* X25 من شركة LeLion الفرنسية جهزت عن طريق مزرعة الحميدية لزراعة الفطر المحدودة في محافظة الأنبار.

ب– **عزلة بكتريا *Streptomyces*** : استعملت عزلة بكتيرية واحدة من جنس *Streptomyces* O3 تم الحصول عليها من مختبر الأحياء المجهرية في قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة الأنبار والمعزولة من ترب مزارع مدينة الرمادي.

ت	العزلة	المصدر
1	*Agaricus bisporus* X25	مزرعة الحميدية لزراعة الفطر المحدودة – العراق
2	*Streptomyces* O3	كلية العلوم – جامعة الانبار

2-2-3: التعقيم Sterilization

أ. التعقيم بالحرارة الرطبة مع الضغط Autoclaving

عقمت الأوساط الزرعية (Culture Media) كافة بوساطة المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121 درجة مئوية وتحت ضغط 1.5 جو ولمدة 20 دقيقة أو لمدة نصف ساعة لبذور الحنطة المستعملة في إنتاج اللقاح الفطري "البزار" (Spawn) (Stamets and Chilton, 1983 ; الزيدي وآخرون، 1987).

ب. التعقيم بالحرارة الجافة Dry Heat

استعمل الفرن الكهربائي (Electrical Oven) لتعقيم الزجاجيات بدرجة حرارة 160-180 درجة مئوية ولمدة ساعتين، كما استعمل لتجفيف نماذج الوسط الزرعي (Compost) والأجسام الثمرية بدرجة حرارة 60 مئوية لمدة 48 ساعة (الزيدي وآخرون، 1987).

ج. التعقيم بالترشيح (الإزالة) Sterilization by Filteration

استعملت طريقة التعقيم بالترشيح (Filteration) بمرشحات دقيقة (Membrane Filters) بقطر 0.22 مايكروميتر لتعقيم مستخلص عرق السوس المائي عن طريق منع الأحياء المجهرية من المرور منه للمحافظة على المواد التي تتعرض للتلف بدرجات الحرارة العالية، من أجل استعماله في التجارب اللاحقة (البهادلي والزهرون، 1991).

د. التعقيم الكيمياوي Chemical Sterilization

1- تعقيم طبقة التغطية: تم تعقيم طبقة التغطية بمادة الفورمالين بتركيز 38% حيث جرى تخفيف 3 لتر من هذه المادة في 10 لتر من الماء ولكل متر مكعب من تربة التغطية، ويتم إضافة المادة بنشر التربة على قطعة بلاستيكية ورشها بالفورمالين مع تقليب التربة، ثم يعاد تجميعها وتغطيتها بطبقة أخرى من البلاستيك وتركت معرضة للشمس لمدة ثلاثة أيام، حيث يتبخر الفورمالين وينتشر في أجزاء تربة التغطية مع إرتفاع درجة الحرارة وبعد ذلك رفع الغطاء البلاستيكي وتركت التربة لمدة أسبوع قبل استعمالها وذلك لفسح المجال لغاز التبخير بالتطاير وتكون التربة صالحة للتغطية في حالة خلوها من رائحة الفورمالين (قاسم، 1976).

2- تعقيم غرفة الزراعة: تم تعقيم غرفة الزراعة برش الفورمالين المحضر من تخفيف 40 مل من الفورمالين المركز 38% في 1 لتر من الماء وأغلقت غرفة الزراعة لمدة 24-48 ساعة بعدها جرت عملية تهوية للتخلص من أي أثر لرائحة الفورمالين (الزيدي وآخرون، 1987).

3-2-3: تحضير الأوساط الزرعية المختبرية

3-2-3-1: تحضير الأوساط الزرعية الصلبة

1. وسط أكار البطاطا والسكروز Potato Sucrose Agar

غسل 250 غم من البطاطا غير المقشرة بماء الحنفية ثم قطعت إلى شرائح بسمك 3 ملم بعدها غسلت بالماء جيداً ونقلت الشرائح إلى إناء أعدّ لهذا الغرض وغطيت بالماء المقطر وتم طبخها على مصدر حراري حتى أصبحت الشرائح طرية، جمع السائل المتكوّن ورشح في قطعة قماش سميكة وأعيدت الشرائح إلى الإناء ثانية وأضيف إليها كمية من الماء المقطر وتركت على

مصدر حراري ثم جمع السائل المتكوّن وتم التخلص من البطاطا وأكمل الحجم إلى 1 لتر بإضافة الماء المقطر وإضافة 15 غم من الأكار و 10 غم من السكروز ووضعت على المحرك المغناطيسي الساخن لحين ذوبان الأكار بعدها تم التعقيم بالمؤصدة ثم الصب بالأطباق (البهادلي والزهرون، 1991)، وتم إدامة وإكثار وحفظ العزلات الفطرية باستعمال هذا الوسط حيث تم تحضيرها كما يأتي:

أ- تحضير مزارع العمل اليومي

لغرض الاستعمال اليومي للعزلات لقحت أطباق حاوية على وسط PDA بهايفات من الغزل الفطري للمزرعة الأم وهي البزار ثم حضنت في درجة حرارة 25 درجة مئوية لمدة أسبوع وحفظت بعدها بدرجة حرارة 4 مئوية لحين الاستعمال (Stamets and Chilton, 1983).

ب - حفظ غزل الفطر *A. bisporus* على الوسط PDA المائل

لغرض حفظ العزلات لقح وسط PDA المائل بهايفات من الغزل الفطري للمزرعة الأم ثم حضنت في درجة حرارة 25 مئوية لمدة أسبوع وحفظت بعدها بدرجة حرارة 4 درجة مئوية في الثلاجة، وتمت إدامة هذه العزلات بإعادة زرعها (Sub Culturing) في الوسط نفسه بعد ثلاثة أشهر (الزيدي وآخرون، 1987).

2. وسط كاوزا الصلب Gauze Agar

تم تحضير الوسط من المكونات الآتية:

نشأ ذائب	Starch Soluble	20 غم
نترات البوتاسيوم	KNO_3	1 غم
كلوريد الصوديوم	NaCl	0.5 غم
كبريتات المغنسيوم المائية	$MgSO_4.7H_2O$	0.5 غم
فوسفات البوتاسيوم أحادي الهيدروجين	K_2HPO_4	0.5 غم
كبريتات الحديد المائية	$FeSO_4.5H_2O$	0.001 غم

أذيبت المكونات في لتر من ماء الحنفية وعدّل الرقم الهيدروجيني إلى 7.2-7.4 ، أضيف بعدها 20 غم من الأكار (Jackson *et. al.,* 1990)، واستعمل هذا الوسط في إدامة بكتريا *Streptomyces*.

2-3-2-3: تحضير الأوساط الزرعية السائلة

حضر وسط المرق المغذي (Nutrient broth) بإذابة 8 غم/لتر ماء مقطر في دوارق زجاجية ثم عقمت بالمؤصدة، بعدها وضعت الدوارق في الحاضنة بدرجة 28 مئوية ولمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها، واستعمل وسط المرق المغذي السائل لتحضير لقاح بكتريا *Streptomyces* إذ تم تنميتها فيه وتم التلقيح والحضن في درجة 28 مئوية في الحاضنة الهزازة 100 دورة/الدقيقة لمدة 48 ساعة، تم إضافة كرات زجاجية صغيرة لتجزئة المايسليوم التي نمت بشكل كرات طافية (Pellets) (Shirling and Gottlieb, 1966)، وأضيفت البكتريا إلى خلطات تبن الحنطة والقصب والخليط (A1S1 و A2S1 و A3S1) بنسبة 10^6 خلية/غم وسط زرعي بعد عملية ترطيب للمخلفات المزرعية.

4-2-3: التجربـة الأولـى: دراسـة أثـر تركيـزات مختلفـة مـن مـستخلص عـرق الـسوس المـائي علـى سـرعة نمـو الغـزل الفطـري للفطـر *A. bisporus* وكتلتـه الحيويـة ومحتواها البروتيني

أذيب مسحوق جذور عرق السوس في ماء مقطر معقم بنسبة 4:1 (1غم: 4 مل) وترك لمدة 24 ساعة ثم رشح المستخلص عبر مرشح دقيق قطر ثقوبه 0.22 ملي مايكرون تحت ظروف التعقيم (الزيدي وآخرون، 1987)وجمع الراشح في دورق حجمي معقم واعتمد الراشح محلولاً قياسياً عند تحضير المعاملات على وفق التركيزات التي اعتمدت في التجربة، إذ تم تحضير 1.5 لتر من وسط PSA بأخذ 15 غم سكروز مع 375 غم بطاطا استخلصت بالماء المقطر وأكمل الحجم بالماء المقطر إلى 1.5 لتر وعومل كالآتي:

1-4-2-3: قياس سرعة نمو الغزل الفطري على الوسط الصلب

تم أخذ حجم 0.5 لتر من الوسط في دورق حجمي سعة 1 لتر وأضيف له 7.5 غم من مادة أكار (Agar) واستعمل المحرك المغناطيسي الساخن للإذابة، بعدها تم تقسيم هذا الوسط إلى 5 أقسام، كل منها 100 مل وضع في دورق حجمي سعته 250 مل وتم تعقيمه لمدة 20 دقيقة وبدرجة حرارة 121 مئوية وضغط 1.5 جو وأعيد التعقيم في اليوم التالي (الزيدي وآخرون، 1987)، وبعد أن ترك ليبرد حتى درجة حرارة 45 مئوية وقبل أن يتصلب الوسط تمت إضافة الحجوم المطلوبة لكل وسط من المستخلص القياسي لعرق السوس وفق التركيزات 0.0 (من غير المستخلص) و 0.05 و 0.10 و 0.15 و 1.00غم/لتر للمعاملات GL1 و GL2 و GL3 و GL4 و GL5 على التوالي وبواقع 5 مكررات لكل معاملة، بعدها تم صب الأوساط في أطباق بتري 9 سم بعد أن رج الوسط جيداً لمزج المادة المضافة.

ووضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 مئوية لمدة 48 ساعة واستبعدت الأطباق الملوثة بعدها تم التلقيح بقطعة من الغزل الفطري قطرها 4 ملم في وسط الطبق وتم الحضن بدرجة حرارة 25 درجة مئوية وتم قياس قطر المستعمرة يومياً حتى وصول الغزل الفطري إلى حافات الطبق.

2-4-2-3: قياس الكتلة الحيوية المتكونة في الوسط السائل

تم أخذ المتبقي من الوسط PS وهو 1 لتر وسطاً سائلاً إذ تم تقسيمه أيضاً إلى 4 أقسام، وضع كل قسم 250 مل في دورق حجمي سعة 500 مل وأجري التعقيم بالمؤصدة وفق فقرة 2−2−3-أ لمدة 15 دقيقة وأعيد التعقيم في اليوم التالي (الزيدي وآخرون، 1987)، بعدها تم إضافة الحجوم المطلوبة من مستخلص عرق السوس على وفق التركيزات الآتية 0.0 (من غير المستخلص) و 0.05 و 0.10 و 0.15 غم/لتر للمعاملات GL1 و GL2 و GL3 و GL4على التوالي وبواقع 4 مكررات لكل معاملة، وتم تقسيم الأوساط تحت ظروف التعقيم بمعدل 50 مل في دوارق زجاجية معقمة سعة 250 مل. وضعت الدوارق الحجمية في الحاضنة بدرجة حرارة 25 مئوية لمدة 48 ساعة واستبعدت الدوارق التي ظهر فيها تلوث، بعدها أجري التلقيح بقطعة من الغزل الفطري بقطر 4 ملم وتم الحضن بدرجة 25 مئوية لمدة 30 يوماً على أن يتم رج الدوارق أسبوعياً بشكل يدوي، بعدها تم ترشيح الأوساط وحساب الوزن الجاف من تجفيف الكتلة الحيوية بالفرن بدرجة 60 مئوية لمدة 24 ساعة، بعدها تم قياس كمية البروتين.

5-2-3: إنتاج اللقاح الفطري (البزار) Spawn

تم تحضير البزار (Spawn) على بذور الحنطة نوع فلامورا 85 تركيا من السوق المحلية، بعد تنظيفها من البذور المكسرة والشوائب، غسلت بماء الإسالة ووضعت في وعاء معدني وغمرت بالماء ثم سخنت حتى الغليان وتركت لمدة 15 دقيقة، بعدها تم ترشيح الماء ووضعت البذور على قطعة نظيفة من البولي أثلين وأضيف إليها كاربونات الكالسيوم ($CaCO_3$) بنسبة 2% من الوزن الجاف (للحفاظ على الرقم الهيدروجيني) وكبريتات الكالسيوم ($CaSO_4$) بنسبة 4% (لامتصاص الرطوبة الفائضة) وتركت حتى أصبحت الرطوبة في البذور 52% ويجب أن لا تزيد على 55% لأنها تكون ظروفاً مثلى للتخمر البكتيري، تم توزيع البذور على قناني زجاجية سعة 750 مل بواقع 150 غم بذور/قنينة وأغلقت بسدادات بلاستيكية وعقمت بالمؤصدة لمدة نصف ساعة بدرجة 121 مئوية وضغط 1.5 جو ثم تركت في المختبر إلى اليوم الثاني وأعيدت عملية التعقيم ثم تركت لتبرد بعدها أجريت عملية التلقيح بقطعة من الغزل الفطري أخذت من مزرعة نقية عمرها أسبوعان، إذ وضعت قطعة الغزل الفطري داخل القنينة وغطيت ببذور الحنطة ثم أغلقت ووضعت في الحاضنة بدرجة 25 مئوية ثم رجت القناني من أجل انتشار الغزل الفطري إلى بقية بذور الحنطة وأجريت عملية الرج كل 4 أيام واكتمل نمو الغزل الفطري بعد 27 يوماً من التلقيح كما في صورة 2، ثم حفظت في الثلاجة بدرجة 4 مئوية لحين الاستعمال حيث يمكن حفظها لمدة ثلاثة أشهر (Stamets and Chilton, 1983).

أ- صورة اللقاح الفطري على اليمين والمقارنة بدون تلقيح على اليسار

ب-نمو هايفات الفطر الغذائي *A. bisporus* على بذور الحنطة

صورة (2) إنتاج اللقاح الفطري (البزار) Spawn للفطر الغذائي *A. bisporus*

3-2-6: التجربة الثانية: التدعيم الحيوي للأوساط الزرعية

3-2-6-1: تحضير وتخمير الوسط الزرعي Phase 1

تمت عملية تهيئة المخلفات النباتية (القصب وتبن الحنطة) ومخلفات الدواجن واليوريا والجبس ومن ثم عملية تقطيع المخلفات النباتية وتم خلط المكونات وفق النسب المبينة في جدول 2 (Vedder, 1978)، بعدها أجريت عملية ترطيب المخلفات النباتية بماء الحنفية وتركت لمدة 18 ساعة إلى أن تشبعت بالكامل بالماء، وتم التخلص من الماء الزائد ثم أضيفت لها مخلفات الدواجن واليوريا والجبس (كبريتات الكالسيوم) في اليوم الثاني وتم خلطها جيداً، جمعت الخلطات بشكل أكوام وأضيف لقاح بكتريا *Streptomyces* بمعدل 10^6 خلية/غم وسط زرعي إلى بعض الخلطات بحسب المعاملات A1S1 و A2S1 و A3S1 مع إجراء عملية الخلط والتقليب في اليوم السادس والسابع والتاسع والثالث عشر والسابع عشر مع الترطيب عند الحاجة، استمرت العملية لمدة 21 يوماً بعدها تمت عملية البسترة للأوساط (Beyer, 2003A).

جدول (2) مكونات ونسب المواد للأوساط الزرعية المستعملة في التجربة

الخلطات(كغم)	خلطة A1 (القياسية) وسط تبن الحنطة 100%		خلطة A2 وسط القصب 100%		خلطة A3 وسط الخليط 50% تبن + 50% قصب	
المواد	الوزن الرطب	الوزن الجاف	الوزن الرطب	الوزن الجاف	الوزن الرطب	الوزن الجاف
تبن الحنطة	12.000	11.316	-	-	6.000	5.658
قصب	-	-	12.000	11.376	6.000	5.688
مخلفات دواجن	9.600	9.331	9.600	9.331	9.600	9.331
يوريا	0.560	0.560	0.560	0.560	0.560	0.560
جبس	1.440	1.440	1.440	1.440	1.440	1.440
المجموع الكلي	23.600	22.647	23.600	22.707	23.600	22.677
C:N Ratio	-	9.5:1	-	21.7:1	-	20.3:1

3-2-6-2: بسترة وتلطيف الوسط الزرعي Phase 2

أجريت عملية البسترة بوضع الأوساط الزرعية داخل أكياس بولي أثيلين متينة وغلفت بأكياس مقاومة للحرارة ثم وضعت في براميل حديدية سعة 200 لتر، أضيف داخلها 30 لتراً ماء ثم وضعت على مصدر حراري، تم وضع حامل حديدي داخل البراميل لكي لا تنغمر أكياس الوسط بالماء بعدها وضعت أكياس الأوساط فوق الحامل وأغلقت البراميل بغطاء حديدي، واستمرت العملية لمدة 8 ساعات في اليوم الأول و 6 ساعات في اليوم الثاني و 3 ساعات في اليوم الثالث، نقلت الأوساط إلى داخل غرفة خاصة بدرجة حرارة 40 مئوية تحوي مدفئة زيتية ورشت الأوساط بالماء المعقم عند الحاجة مع التقليب وأجريت التهوية بواسطة مفرغة الهواء، تم خفض درجة الحرارة إلى 27 درجة مئوية بعد اختفاء رائحة الأمونيا تماماً، تركت الأوساط الزرعية لتبرد ثم نقلت إلى الصناديق وأصبحت بعدها جاهزة للزراعة (Kivaisi, 2007).

3-2-7: طريقة الزراعة Spawning Method

تمت الزراعة في غرفة الإنتاج إذ عقمت الغرفة بالفورمالين 38% بتخفيف 40 مل في 1 لتر ماء مقطر لمدة 48 ساعة بعدها أجريت عملية التهوية، أضيف وسط الزراعة داخل صناديق فلين بطول 40.0 سم وعرض 25.7 سم وارتفاع 19.0 سم وشملت 36 مكرراً بواقع 6 مكررات لكل خلطة وكان الوسط بارتفاع 15 سم وأجريت الزراعة بنثر البزار (Spawn) بنسبة 2% من الوزن الجاف وتم خلطه مع الوسط بطريقة Ruffling-in Method وتمت تغطيته بالبولي أثلين للمحافظة على الرطوبة وتم الحضن بدرجة 25 مئوية تم توافرها باستعمال مدفئة زيتية لحين ظهور نمو الهايفات واكتماله في كامل الوسط ليكون جاهزاً لإضافة طبقة التغطية (قاسم، 1976 ; Royse, 2008).

3-2-8: تحضير طبقة التغطية Casing Layer

أستعمل البيتموس (Peatmoos) 100% في تحضير طبقة التغطية وكان رقمه الهيدروجيني 7.5 ومستوى الأملاح 1 غم/لتر وكانت المادة العضوية بنسبة 95%-99% من الوزن الجاف ونسبة NPK Ratio تبلغ 14:16:18 ويحوي بعض العناصر الضرورية النادرة كالحديد والنحاس والزنك والمنغنيز والمولبدينيوم والبورون، وتمت عملية الترطيب بالماء حتى يصبح البيتموس مجتمعاً بشكل كتلة متماسكة عند أخذه باليد وتم تعقيمه باستعمال الفورمالين 38% وترك حتى اختفاء رائحة الفورمالين (Carroll, 1989)، حيث استعمل لتغطية وسط الزراعة بعد اكتمال نمو الغزل الفطري بطبقة رقيقة بسمك 2.5 سم (قاسم، 1976).

3-2-9: التجربة الثالثة: تأثير رش مستخلص عرق السوس المائي في مرحلة الدبابيس على كمية ونوعية الأجسام الثمرية المتكونة

بعد اكتمال تغطية الوسط الزرعي ونمو الغزل الفطري في طبقة التغطية تم خفض درجة الحرارة إلى 16-18 مئوية وعند بدء تكوين الدبابيس (Pin stage) تم رش نصف عدد المكررات وهي 3 مكررات لكل معاملة من الأوساط الزرعية بمستخلص عرق السوس بالتركيز 0.05 غم/لتر الذي أعطى أفضل نتائج في التجربة الأولى فقرة 3-2-4-2، والنصف الآخر 3 مكررات من أوساط كل معاملة ترك للسيطرة إذ تم رشه بالماء المعقم فقط وتم الرش باستعمال مرشات يدوية، وإن حجم الماء المستعمل وعدد مرات الرش بحسب متطلبات الوسط، إذ رشت طبقة التغطية فقط مع تجنب انسياب الماء، وقد تطلب إعادة الرش لمرة أو مرتين يومياً حسب ظروف الجفاف (قاسم، 1976).

3-2-10: الجني Harvesting

أجريت عمليات الخدمة حسب ما ذكره قاسم (1976) حتى بدأت الأجسام الثمرية بالظهور في الأسبوع الثاني وازداد حجم الأجسام الثمرية للفطر الغذائي إلى أن وصلت مرحلة الأزرار (Button stage) التي عندها تم جني الأجسام الثمرية بمسك قبعة الفطر بالأصابع الأمامية (الإبهام والسبابة) وبتدوير الساق قليلاً يتم قطع الجزء السفلي من الساق باستعمال سكين صغيرة حادة، وهنالك أوعية بلاستيكية تم تحضيرها لوضع الأجسام الثمرية لكل معاملة وهي التي تؤخذ لها القياسات المطلوبة، وبعد الانتهاء من عملية الجني يتم تغطية الحفر المتكونة نتيجة الجني باستعمال تربة التغطية للمحافظة على إنتاجية الفطر الغذائي.

3-3: القياسات

3-3-1: التحسس بوجود رائحة الأمونيا في الأوساط الزرعية

تم معرفة تواجد رائحة الأمونيا في الأوساط الزرعية من حاسة الشم إذ يمكن شم رائحة الأمونيا بسهولة إن كان تركيزها فوق 0.1% لذلك يجب أن تختفي رائحة الأمونيا قبل إجراء الزراعة (السعداوي، 2002 ; Royse and Beelman, 2005).

3-3-2: قياس درجة الحرارة للأوساط الزرعية

تم قياس درجة حرارة الأوساط الزرعية يومياً عند عملية التخمر بوساطة محرار الكتروني يحوي متحسس تم وضعه داخل الوسط لمدة 3 دقائق.

3-3-3: قياس الرقم الهيدروجيني pH للأوساط الزرعية

تم قياس الرقم الهيدروجيني عن طريق جمع نماذج عشوائية من وسط الزراعة بعد انتهاء عملية البسترة واختفاء رائحة الأمونيا حيث تم تجفيف النماذج في الفرن الكهربائي بدرجة 60 مئوية لمدة 48 ساعة، بعدها تم طحن النماذج وأخذ وزن معين من المادة الجافة وأضيف له الماء المقطر بنسبة (5:1) بعدها وضعت في الحاضنة الهزازة لمدة ساعة ثم رشحت النماذج وتم قياس الرقم الهيدروجيني (السعداوي، 2002).

4-3-3: قياس الأملاح الكلية المذابة (TDS) للأوساط الزرعية

تم قياس الأملاح الكلية الذائبة بطريقة قياس الإيصالية الكهربائية نفسها عن طريق جمع نماذج عشوائية من وسط الزراعة بعد انتهاء عملية البسترة واختفاء رائحة الأمونيا حيث تم تجفيف النماذج بنفس الطريقة التي ذكرت في 3-3-3 وتم قياس الأملاح الكلية المذابة (السعداوي، 2002).

5-3-3: قياس الايصالية الكهربائية Electrical Conductivity (EC)

تم قياس الإيصالية الكهربائية عن طريق جمع نماذج عشوائية من وسط الزراعة بعد انتهاء عملية البسترة واختفاء رائحة الأمونيا حيث تم تجفيف النماذج في الفرن الكهربائي بدرجة 60 مئوية لمدة 48 ساعة، بعدها تم طحن النماذج وأخذ وزن معين منها وأضيف له الماء المقطر بنسبة (5:1) بعدها وضعت في الحاضنة الهزازة لمدة ساعة ثم رشحت النماذج وتم قياس الإيصالية الكهربائية (السعداوي، 2002).

3-3-6: تقدير النسبة المئوية للنتروجين في الأوساط الزرعية

قدّر النتروجين بإتباع طريقة كلدال الواردة في Sawhney and Randhir (2000) التي تضمنت 3 خطوات شملت عملية الهضم والتقطير والتسحيح، ثم حسبت كمية النتروجين بحسب المعادلة الآتية:

$$\text{نسبة N\%} = \frac{\text{حجم الحامض المستهلك في التسحيح} \times \text{عيارية الحامض } 0.01 \times \text{حجم العينة المخففة} \times \text{الوزن الذري للنتروجين (14)}}{\text{حجم العينة الموضوعة في زجاجة التقطير} \times \text{وزن العينة المهضومة} \times 1000} \times 100$$

(Rangana, 1977).

3-3-7: تقدير النسبة المئوية للكاربون في الأوساط الزرعية

جففت النماذج المراد قياس الكاربون فيها في فرن كهربائي على درجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة يومين بعدها تمت عملية الحرق بوساطة الفرن الكهربائي على درجة حرارة 500 مئوية لمدة ثلاث ساعات في أواني خزفية معدة لهذا الغرض حتى أصبح لون الرماد أبيض، بعدها تم وزن الرماد المتكون لمعرفة الكاربون الموجود اعتمادا على كمية ثنائي أوكسيد الكاربون (CO_2) المتطاير أثناء الحرق (Page, 1982).

3-3-8: قياس كمية الحاصل ومواصفاته

تم قياس كمية الحاصل بأخذ أوزان الأجسام الثمرية لكل صناديق فلين بطول 40.0 سم وعرض 25.7 سم وارتفاع 19.0 سم، كما تم قياس معدل وزن الجسم الثمري وقطر القبعة وطول الساق وعدد الأجسام الثمرية لكل صندوق (القيسي، 2006).

3-3-9: تقدير النسبة المئوية للكفاءة الحيوية Biological Efficiency

ويقصد بها تقييم كفاءة السلالة في الإنتاج نسبة إلى مقدار الوسط الزرعي.

$$\text{الكفاءة الحيوية \%} = \frac{\text{الوزن الطري للأجسام الثمرية}}{\text{الوزن الجاف للوسط الزرعي عند مرحلة البزار (Spawning)}} \times 100$$

(Beyer and Muthersbaugh, 1996).

3-3-10: تقدير النسبة المئوية للوزن الجاف للكتلة الحيوية

تم تقديرها كما في المعادلة في أدناه:

$$\text{الوزن الجاف \%} = \frac{\text{الوزن الجاف}}{\text{الوزن الرطب}} \times 100$$

(القيسي، 2006).

3-3-11: تقدير النسبة المئوية للبروتين في الكتلة الحيوية والأجسام الثمرية

أخذ وزن جاف معين من الكتلة الحيوية التي تكوّنت في الأوساط السائلة وكذلك الحال للأجسام الثمرية وتم قياس النتروجين كما في طريقة قياسها للمخلفات النباتية وتم حساب كمية البروتين وفق المعادلة الآتية: البروتين%= نسبة النتروجين × 6.25 × 100

(Colak *et. al.*, 2007).

3-3-12: تقدير الفينولات (Ortho Dihydric Phenols) في أنسجة الأجسام الثمرية بطريقة أرنو Arnow's Method

1- الاستخلاص: أخذ 1 غم من أنسجة الأجسام الثمرية ووضع في 5-10 مل كحول اثيلي تركيز 96% في حمام مائي لمدة 5-10 دقائق بعد ذلك بردت العينة وسحقت بهاون خزفي إذ لا يمكن سحق النسيج قبل ذلك لأنه يؤدي إلى إطلاق الأنزيمات المسؤولة عن تحلل الفينولات،

رشحت العينة بعد ذلك بوساطة قطعتين من القماش المخملي وأعيد مرة أخرى استخلاص النسيج بإضافة 2-3 مل كحول اثيلي لكل غرام واحد من العينة في حمام مائي لمدة 3 دقائق ورشح ثانية بقطعة قماش مخملي، بعدها رشح الراشح بالكامل عن طريق ورقة الترشيح Whatman وأكمل إلى الحجم الأصلي 10 مل بالكحول الأثيلي 80%.

2- تحضير الكاشف: حضر الكاشف بإذابة 10 غم من نتريت الصوديوم ($NaNO_2$) "Sodium Nitrite" و 10 غم من موليبدات الصوديوم ($NaMoO_2$) "Sodium Molybdate" في 100 مل ماء مقطر، وحفظ في عبوات معتمة.

3- طريقة العمل: أخذ 1 مل من المستخلص الكحولي وأضيف له 1 مل من HCl عياريه 0.5N مع 1 مل من الكاشف و 10 مل من الماء المقطر و 2 مل من NaOH عيارية 1N إذ لوحظ بعد إضافة القاعدة تحوّل لون المستخلص إلى اللون الوردي، وأجريت القراءة على الطول الموجي 515 nm لجهاز Spectrophotometer وبعد ذلك تم تقدير تركيز الفينول من المنحني القياسي (Stander Curve) للفينول النقي لثمانية تركيزات بين 1.88-16.92 غم/لتر (Mahadevan and Sridhar, 1986).

13-3-3: التحليل الاحصائي

جمعت البيانات وحللت إحصائياً وتم مقارنة معدلاتها باعتماد (LSD) Least Significant Differences. كما تم قياس معاملات الارتباط بين صفات الأجسام الثمرية المتكونة على الأوساط الزرعية.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة Results and Discussion

4: النتائج والمناقشة

4-1: التجربة الأولى: دراسة أثر مستخلص عرق السوس المائي على سرعة نمو الفطر الغذائي *A. bisporus* وكتلته الحيوية ومحتواها البروتيني

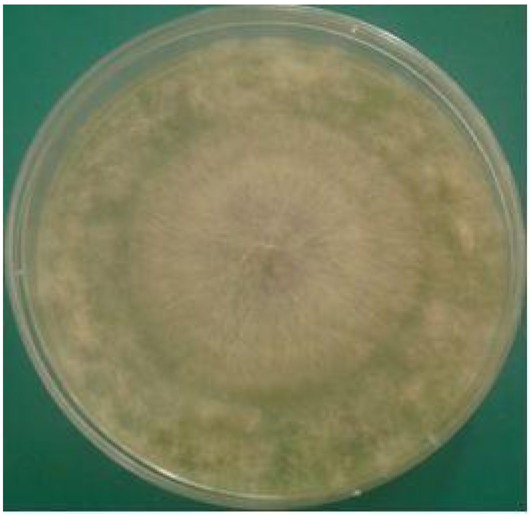
تم دراسة تأثير أربع تركيزات من مستخلص عرق السوس المائي على معدل نمو هايفات الفطر الغذائي في وسط PSA الصلب وقياس الوزن الجاف للكتلة الحيوية المتكونة في وسط PS السائل ومحتواها البروتيني مع استعمال وسط مستخلص البطاطا من غير إضافة لمستخلص عرق السوس (GL1) كمعاملة سيطرة.

وأظهرت نتائج سرعة نمو غزل الفطر *A. bisporus* على وسط PSA الصلب المدعم بمستخلص عرق السوس المائي جدول 3 وصورة 3 أن التركيزات التي استعملت من المستخلص قللت من سرعة النمو وكان التأثير منسجماً مع زيادة تركيز المستخلص، إذ أعطت معاملة السيطرة من غير إضافة مستخلص عرق السوس (GL1) أسرع معدلاً للنمو 3.46 ملم/يوم إذ امتلأ الطبق (قطر 9 سم) بالهايفات بعد 26 يوماً من التلقيح في الحاضنة بدرجة 25 مئوية، تلاه وسط PDA مع مستخلص عرق السوس بتركيز 0.05 غم/لتر (GL2) بمعدل 2.66 ملم/يوم وبنسبة انخفاض 34.63% بعد المدة نفسها إذ لم تمتلئ بقية أطباق المعاملات، في حين انخفض معدل النمو إلى 2.57 و 2.01 ملم/يوم مع الوسط الصلب ومستخلص عرق السوس بتركيز 0.10 و 0.15 غم/لتر (GL3 و GL4) بعد المدة نفسها على التوالي، في حين لم يظهر نمو لمستعمرة الفطر مع الوسط GL5 باستعمال المستخلص بتركيز 1 غم/لتر.

وأظهر التحليل الإحصائي أن أفضل معدل معنوي (P> 0.05) للنمو تحقق بمعدل 90.0 ملم مع وسط GL1، تلاه بمعدل 69.2 ملم مع وسط GL2 بنسبة انخفاض قدرها 30.06%، في حين انخفض معدل النمو معنوياً (P> 0.05) إلى 66.8 و 52.2 ملم مع وسطي GL3 و GL4 بنسبة قدرها 34.73% و 72.41% على التوالي.

أما تأثير التركيزات المستعملة من مستخلص عرق السوس على الوزن الجاف للكتلة الحيوية المتكونة في 50 مل من وسط PS السائل، فقد أظهرت النتائج جدول 3 والملحق 1 أن المعاملة GL2 بتركيز 0.05 غم/لتر من المستخلص أعطت أفضل معدل للوزن الجاف للكتلة الحيوية 51.3 ملغم/50 مل بعد 30 يوماً من الحضن بدرجة حرارة 25 مئوية، تلتها المعاملة GL4 بتركيز 0.15 غم/لتر بمعدل للوزن الجاف بلغ 48.5 ملغم/50 مل مقارنة بمعاملة السيطرة (GL1) التي أعطت معدل وزن جاف قدره 37.5 ملغم/50 مل وأعطت المعاملة GL3 بالتركيز 0.10 غم/لتر أقل معدل لوزن الكتلة الحيوية 37.0 ملغم/50 مل.

أما المحتوى البروتيني للكتلة الحيوية المتكونة في وسط PS السائل فيظهر الجدول 3 والملحق 2 بأن أفضل معدل معنوي (P> 0.05) للنسبة المئوية للمحتوى البروتيني في الكتلة الحيوية قد تحقق 22.57% مع معاملة السيطرة (GL1)، تلاه وسط PS مع المستخلص بتركيز 0.10 غم/لتر (GL3) بمعدل 21.88% وبنسبة انخفاض 3.15%، في حين انخفضت النسبة مع زيادة تركيز المستخلص للتركيزين 0.05 و 0.15 غم/لتر ليصل إلى 17.78% و 13.11% وبنسبة انخفاض 26.94% و 72.16% على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة (GL1).



GL1 (0.00 gm/L)

GL2 (0.05 gm/L)

GL3 (0.10 gm/L)

GL4 (0.15 gm/L)

GL5 (1.00 gm/L)

صورة (3) تأثير مستخلص عرق السوس المائي على معدلات نمو هايفات الفطر

الغذائي *A. bisporus* على وسط PSA

إن انخفاض معدل نمو هايفات الفطر الغذائي على الأوساط الصلبة المضاف إليها مستخلص عرق السوس المائي بالتراكيز 0.05 و 0.10 و 0.15 غم/لتر يتطابق مع نسب الكليسيرازين (Glycyrrhizin) والمواد التانينية الموجودة في مستخلص عرق السوس التي تصل نسبها إلى 4.22% و 3.66% من الوزن الجاف لمسحوق عرق السوس على التوالي (موسى وآخرون، 2003)، إذ يمتلكان فعالية مثبطة لبعض الأحياء المجهرية (الجنابي، 1984)، مما أضعف النمو أو تسبب في عدم ظهوره، وشوهد ذلك بوضوح عند تثبيط النمو في الأوساط الصلبة مع المعاملة GL5 بتركيز 1.00 غم/لتر من مستخلص عرق السوس صورة 3.

أما سبب زيادة الوزن الجاف للكتلة الحيوية المتكونة في الوسط السائل المضاف إليه تركيز 0.05 غم/لتر من مستخلص عرق السوس فقد يعود إلى محتوى عرق السوس من المغذيات كالجبرلين، إذ يعطي مستخلص عرق السوس أثراً مشابهاً للجبرلين في تحفيز زيادة انقسام واستطالة الخلايا (Taiz and Zeiger, 1998) الذي شجع على النمو داخل الوسط السائل مما يمكّن الخلايا من امتصاص المغذيات بصورة أكبر مما عليه عند نموها على الوسط الصلب هذا ما أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية، حيث كانت تركيزات هذه المغذيات عند الحد الذي يفضله الغزل الفطري حيث إن زيادة التركيز فيه أدت إلى تثبيط النمو من ثم قلة الوزن الجاف للكتلة الحيوية بسبب محتواه من بعض المركبات كالمواد التانينية والكليسيرازين (Glycyrrhizin) (الجنابي، 1984)، أو لتغير الرقم الهيدروجيني للوسط الذي يبلغ لمستخلص عرق السوس المائي 6-5 (Hartung, 1979) وعدم ملائمته لنمو الفطر الغذائي *A. bisporus* الذي قد أمكن نمو اللقاح الفطري (البزار) له في وسط قيمة الرقم الهيدروجيني له 8.2-6.5 (Royse, 2008)، واعتماداً على نتائج الكتلة الحيوية التي اعتمدت عند استعمال مستخلص عرق السوس المائي

بتركيز 0.05 غم/لتر فقد اعتمد هذا التركيز لرش مزرعة الفطر عند مرحلة الدبابيس مقارنة بمعاملة السيطرة التي رشت بالماء فقط.

جدول (3) معدل نمو هايفات الفطر الغذائي *A. bisporus* على الأوساط الصلبة والكتلة الحيوية ومحتواها البروتيني في الأوساط السائلة المعاملة بتركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس بعد 26 يوم من التلقيح

تركيز مستخلص عرق السوس (غم/لتر)	معدل نمو هايفات الفطر في الوسط الصلب (ملم) بعد 26 يوم	معدل سرعة النمو في الوسط الصلب ملم / يوم	الوزن الجاف للهايفات في الوسط السائل (ملغم/50 مل)	النسبة المئوية للمحتوى البروتيني للكتلة الحيوية
0.00 غم/لتر GL1	90.0	3.46	37.5	%22.57
0.05 غم/لتر GL2	69.2	2.66	51.3	%17.78
0.10 غم/لتر GL3	66.8	2.57	37.0	%21.88
0.15 غم/لتر GL4	52.2	2.01	48.5	%13.11
1.00 غم/لتر GL5	0.00	0.00	-	-
LSD (P> 0.05)	0.833	–	19.13	3.058

2-4: الصفات الفيزياوية للأوساط الزرعية

4-2-1: التغاير الحراري في الأوساط الزرعية المختلفة خلال مدة التخمر

إن لنوع المخلفات السليلوزية تأثيراً على التباين في درجات الحرارة، ويظهر الشكل 4 والملحق 3 أن وسط الخليط (50% تبن الحنطة مع 50% قصب) سجل أعلى درجات حرارة طيلة مدة التخمر مقارنة مع وسط السيطرة (وسط تبن الحنطة) (A1)، إذ سُجلت أعلى درجة حرارة 26.9 درجة مئوية في اليوم 6 من بدء التخمر وانخفضت إلى 19.3 درجة مئوية في اليوم 17 في وسط الخليط (A3)، تلاه وسط السيطرة (A1) إذ سجلت أعلى درجة حرارة 24.4 درجة مئوية في اليوم 6 وانخفضت إلى 17.5 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر، في حين سجل وسط القصب (A2) أعلى درجة حرارة 22.7 درجة مئوية في اليوم 6 وانخفضت إلى 17.0 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر.

كما إن لعملية التدعيم الحيوي تأثيراً على التباين في درجات الحرارة للأوساط الزرعية، ويبين الشكل 5 والملحق 3 أن أعلى درجة حرارة سجلت 25.8 درجة مئوية باستعمال التدعيم الحيوي بلقاح بكتريا *Streptomyces* في اليوم 6 وانخفضت إلى 18.9 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر، في حين سجلت الأوساط غير المعاملة باللقاح أعلى درجة حرارة بمعدل 23.9 مئوية في اليوم 5 وانخفضت إلى 17.7 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر.

ويبين الشكل 6 والملحق 3 أن أعلى معدل لدرجة الحرارة سجلت 32.0 درجة مئوية في اليوم 7 في وسط الخليط باستعمال لقاح بكتريا *Streptomyces* (A3S1) وانخفضت درجة الحرارة إلى 20.5 درجة مئوية في اليوم 17 من بدء التخمر، فيما سجلت أعلى درجة حرارة في وسط الخليط من غير لقاح (A3S0) 26.9 درجة مئوية في اليوم 5 وانخفضت إلى 18.1 درجة مئوية في اليوم 17 من بدء التخمر، كما سجلت أعلى درجة حرارة في وسط القصب غير المعامل

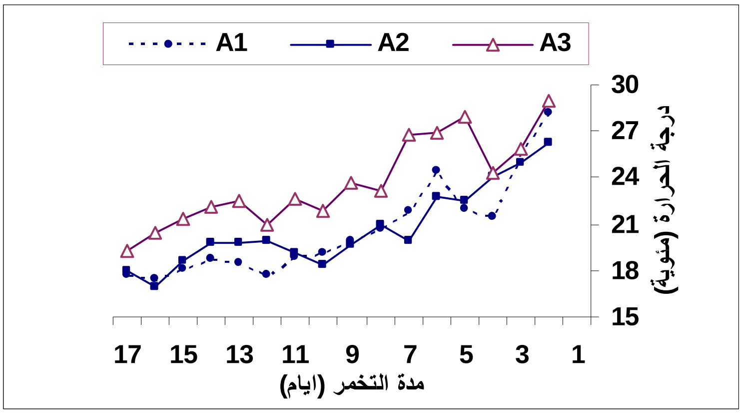
باللقاح (A2S0) بمعدل 26.9 درجة مئوية في اليوم 4 وانخفضت إلى 17.2 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر، تلا ذلك وسط تبن الحنطة المعامل باللقاح (A1S1) الذي سجل أعلى درجة حرارة بمعدل 25.3 مئوية في اليوم 6 وانخفضت إلى 17.8 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر، تلاه وسط السيطرة وهو وسط تبن الحنطة غير المعامل باللقاح (A1S0) إذ سجلت أعلى درجة الحرارة بمعدل 23.5 مئوية في اليوم 6 وانخفضت إلى 17.2 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر، في حين كانت أعلى درجة حرارة 23.2 مئوية في وسط القصب المعامل باللقاح (A2S1) في اليوم 6 وانخفضت إلى 16.7 درجة مئوية في اليوم 16 من بدء التخمر، علماً أن معدل درجة حرارة المحيط كانت بين 16-19 درجة مئوية.

وأظهرت الملاحق 4 و 5 و 6 و 7 و 8 و 9 وجود علاقة خطية سالبة بين مدة التخمر ودرجات الحرارة المسجلة، وأن أكبر قيمة لمعامل التحديد 0.825 مع وسط القصب بغير استعمال اللقاح (A2S0)، تلاه وسط الخليط بغير استعمال اللقاح (A3S0) بمعامل تحديد بلغ 0.805 ثم وسط تبن الحنطة القياسي (A1S0) بمعامل تحديد 0.778، في حين انخفضت قيمة معامل التحديد إلى 0.761 و 0.662 مع وسطي A1S1 و A2S1 على التوالي، فيما كانت أقل قيمة لمعامل التحديد 0.519 مع وسط A3S1.

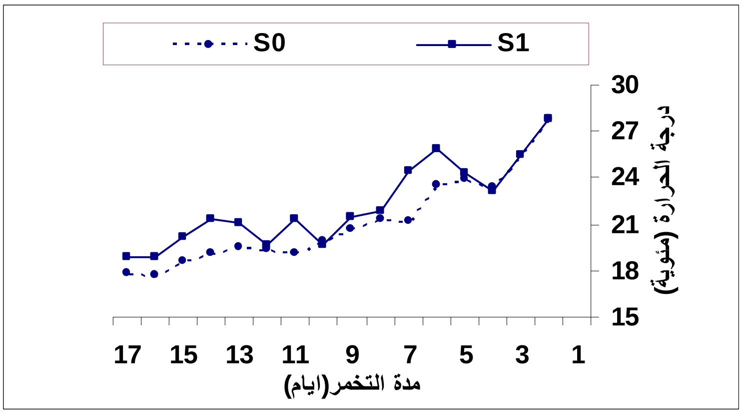
وتؤكد قيم معامل التحديد أن 82% من التغير الحاصل في درجة الحرارة يعود سببه لمكونات الوسط وتأثير ظروف المعاملة A2S0 المستعملة في التجربة، وأن 80% من التغير الحاصل في درجة الحرارة يعود سببه لمكونات الوسط وتأثير ظروف المعاملة A3S0، تلاه 77% و 76% و 66% من التغير الحاصل في درجة الحرارة الذي يعود سببه لمكونات الأوساط وتأثير ظروف المعاملات وسط تبن الحنطة القياسي (A1S0) و A1S1 و A2S1 على التوالي، في حين كان أقل تغير حاصل في درجة الحرارة 52% مع المعاملة A3S1.

وقد تبين من القياس اليومي لدرجات الحرارة داخل الكومات الانخفاض في درجات الحرارة مع تقدم عملية التخمر وربما يعود السبب في ذلك إلى قلة تهوية محتويات الوسط بسبب انضغاط محتويات الوسط الزرعي مما يقلل تغلغل الهواء النافذ للكومة وانخفاض نسبة الرطوبة مع تقدم العملية الذي سبب انخفاض نشاط الأحياء المجهرية، وما يؤيد ذلك فإن معدلات درجة الحرارة في وسط الخليط كانت أعلى من الوسطين الآخرين إذ إن تداخل نوعي المخلفات يوافر ظروفاً هوائية أفضل ويقلل انضغاط مكونات الوسط المتشابهة سواء تبن الحنطة لوحده أو القصب وحده، ولتلافي هذه الحالة تم إجراء عملية التقليب لمكونات الأوساط من أجل التهوية وتجانس المواد مع بعضها ورطبت الأوساط بالماء من أجل نمو الأحياء المجهرية ومنع الجفاف، وهذه النتائج تتفق مع كل من Roy (1982) و Colak (2004) و Baysal *et. al.* (2007).

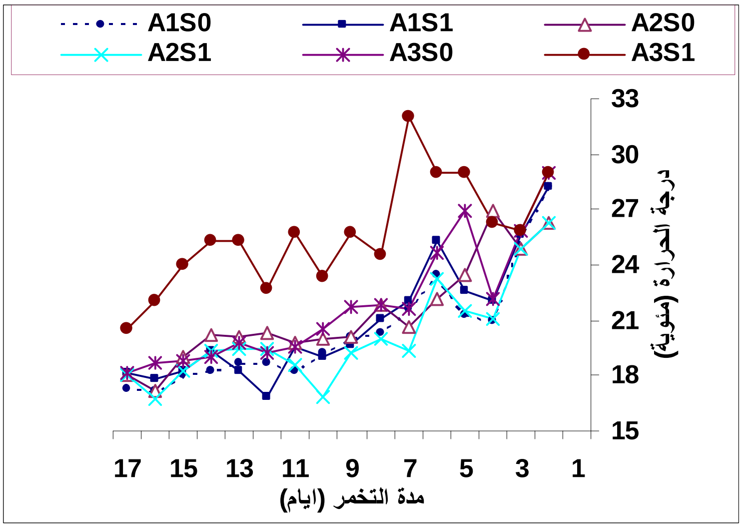
وعلى الرغم من أن درجات الحرارة في الأوساط التي تم تحضيرها كانت أقل مما توصل إليه الباحثون في أعلاه إلا أن ذلك يعود لأسباب عدة، منها صغر حجم الكومات وانخفاض درجة حرارة المحيط 16–19 درجة مئوية مما يقلل من نشاط الأحياء المجهرية المحللة، ومع ذلك فإن بكتريا *Streptomyces* O3 استمرت في تحليل المخلفات، إذ يمكن لهذه العزلة من النمو بدرجات حرارية مختلفة 17 و 20 و 28 و 37 و 42 و 47 و 50 درجة مئوية معطية أفضل نمو بدرجة حرارة 37 مئوية (مطر، 2008).



شكل (4) تأثير نوع المصدر الكاربوني على تباين درجة الحرارة



شكل (5) تأثير استعمال اللقاح البكتيري على تباين درجة الحرارة



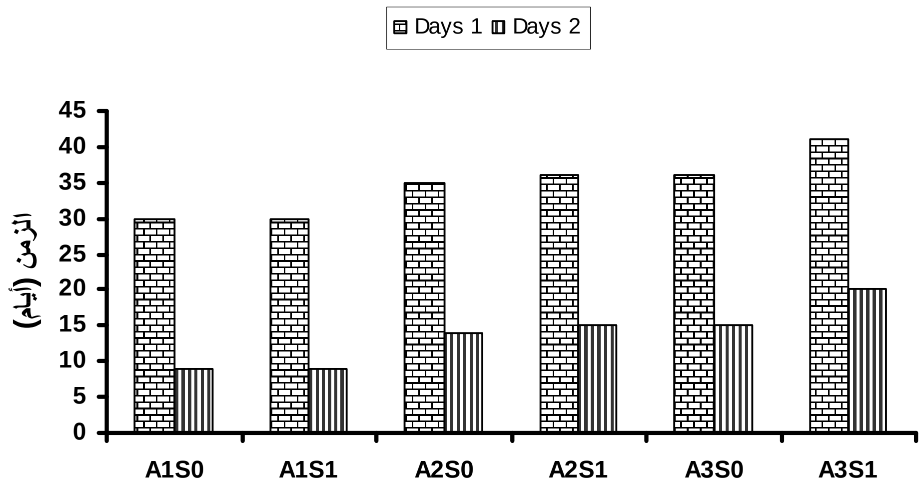
شكل (6) تأثير تداخل المعاملات على تباين درجة الحرارة فيما بينها

4-2-2: سلوك غاز الأمونيا في الأوساط الزرعية المختلفة

بعد إكمال عملية البسترة تركت الأوساط حتى انخفضت درجة حرارتها إلى 21-27 درجة مئوية واختفاء رائحة الأمونيا عندها أصبحت الأوساط جاهزة لإضافة اللقاح الفطري (Spawn) (Royse and Beelman, 2005 ; ACVC, 2005)، إذ إن علامة انتهاء البسترة هي اختفاء رائحة الأمونيا وبالتالي يعد مؤشراً لملائمة أو جاهزية هذه الأوساط لنمو الفطر الغذائي *A. bisporus* ، ويظهر الشكل 7 أن رائحة الأمونيا اختفت أولاً في وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح (A1S1) وبغيره (القياسي) (A1S0) بعد مدة 30 يوماً من بدء عملية التخمر وبعد 9 أيام من عملية البسترة، في حين ازدادت المدة التي اختفت فيها رائحة الأمونيا إلى 35 يوماً من بدء التخمر وبعد 14 يوماً من البسترة في وسط القصب بغير استعمال اللقاح (A2S0)، تلاه وسطي القصب باستعمال اللقاح (A2S1) والخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) بغير استعمال اللقاح (A3S0) إذ اختفت فيهما رائحة الأمونيا بعد 36 يوماً من بدء التخمر وبعد 15 يوماً من البسترة، فيما بلغت أطول مدة لاختفاء رائحة الأمونيا 41 يوماً من بدء التخمر وبعد 21 يوماً من البسترة في وسط الخليط باستعمال اللقاح (A3S1).

وقد يرجع تأخر اختفاء رائحة الأمونيا في وسطي القصب والخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) إلى انخفاض درجة الحرارة بسرعة فيهما بعد البسترة مما أخر في اختفاء رائحة الأمونيا وجاهزية الوسطين للزراعة، ويتفق هذا مع ما جاء به السعداوي (2002) إذ اختفت رائحة الأمونيا بعد 25-30 يوماً من بدء عملية التخمر مع وسط تبن الحنطة، في حين استمر وجود غاز الأمونيا في أوساط كوالح الذرة الصفراء بعد مرور 45 يوماً من بدء التخمر، هذا وقد يعود السبب في تأخر رائحة الأمونيا إلى رداءة التهوية إذ إن التهوية مهمة لإزالة أي رائحة كريهة

فقـــد يـــستمر وجـــود غـــاز الأمونيـــا لمـــدة 5-8 أيـــام اعتمـــاداً علـــى كفـــاءة التهويـــة (ACVC, 2005 ; Hall *et. al.*, 2003).



شكل (7) سلوك غاز الأمونيا في الأوساط الزرعية المختلفة

3-2-4: قيم الإيصالية الكهربائية للأوساط الزرعية

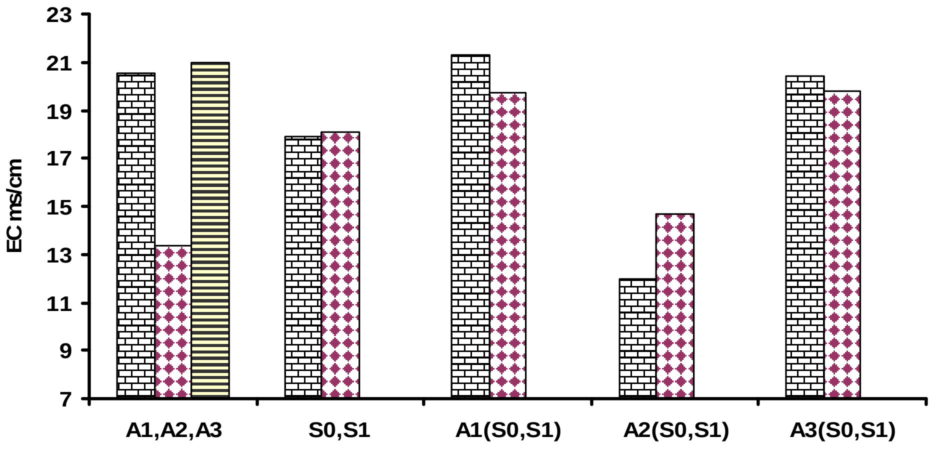
يبين الشكل 8 والملحق 10 أن أعلى ايصالية كهربائية تحققت بمعدل 20.51 ملي سيمنز/سم مع وسط تبن الحنطة القياسي، تلاه وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) بمعدل 20.09 ملي سيمنز/سم، في حين انخفضت معنوياً ($P > 0.05$) مع وسط القصب إلى 13.35 ملي سيمنز/سم بنسبة 50.48%.

وارتفعت الإيصالية الكهربائية باستعمال اللقاح البكتيري إلى 18.07 ملي سمينز/سم مقارنة مع 17.90 ملي سيمنز/سم من غير استعمال اللقاح وبفرق معنوي ($P > 0.05$) وبنسبة انخفاض قدرها 0.95%.

وقد تحققت أعلى ايصالية بمعدل 21.30 ملي سيمنز/سم مع وسط تبن الحنطة القياسي بغير استعمال اللقاح البكتيري (A1S0)، تلاه وسط الخليط بغير لقاح (A3S0) ومع اللقاح (A3S1) ووسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح (A1S1) بمعدل 20.40 و 19.78 و 19.73 ملي سيمنز/سم على التوالي، في حين انخفضت معنوياً ($P > 0.05$) إلى 14.70 و 12.00 ملي سيمنز/سم مع وسط القصب باستعمال اللقاح (A2S1) وبغير لقاح (A2S0) بنسبة انخفاض بلغت 44.90% و 77.50%.

إن قيم الإيصالية الكهربائية للأوساط المحضرة ترتبط بتحرر الأمونيا من الوسط وارتفاع درجة الحرارة المسجلة إذ تقل كلما تأخر زمن اختفاء الأمونيا من الوسط وهذا يدلل على حدوث عملية المعدنة لعنصر النتروجين العضوي وتحوله إلى أمونيا التي تتطاير اعتماداً على درجة الحرارة المتحققة في الوسط التي تنعكس وترتبط بمعدلات التحلل وتكوين المركبات الوسطية التي إما أن تكون حامضية أو قاعدية أو متعادلة بحسب طبيعة المواد الناتجة وبالتالي تغير من قيم الإيصالية الكهربائية وأحياناً تكون المواد الناتجة من التحلل هي أحماض عضوية تظهر قراءات

عاليـة لقـيم الإيـصالية الكهربائيـة لكنهـا لا تـؤثر سـلباً علـى نمـو هايفـات الفطـر الغـذائي (Buscot and Varma, 2005)، ويعزى انخفاض قيم الإيصالية الكهربائية في وسط القصب مقارنة بوسطي تبن الحنطة والخليط إلى صلابة مخلفات نبات القصب وكبر أحجامها مما قلل من احتفاظها بالماء وقلل المواد المتجمعة فيما بينها والمواد المتراكمة على خلاف بقية الأوساط إذ إن صـغر الجزيئـات تحجـز المـواد الذائبـة وتقلـل انـسياب المـاء ممـا أدى إلـى رفـع قيمـة الإيـصالية الكهربائيـة لهذه الأوسـاط فـي حـين أدى رش المـاء علـى وسـط القصب إلـى زيـادة الغسل وفقدان الأملاح، ولم تؤثر هذه القيم على الانتاج أو نمو اللقاح الفطري وهذا ما أكده Royse (2008) إذ أشار إلى عدم وجود تأثير لتركيز الأملاح على نمو اللقاح الفطري (البزار) في الوسط الزرعي ولا حتى المحصول، في حين يؤثر ارتفاع تركيزها في طبقة التغطية في نمو الغزل الفطري، وكانت الإيصالية الكهربائية التي حصل عليها السعداوي (2002) 6.7 ديسي سيمنز/سم على وسط تبن الحنطة فيما وصلت إلى 5.1-7.0 ديسي سيمنز/سم على أوساط كوالح الذرة الصفراء.

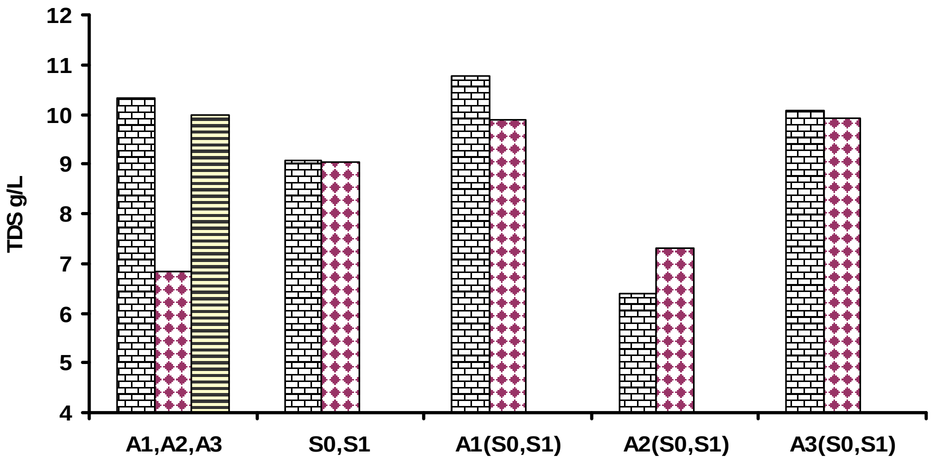


شكل (8) قيم الإيصالية الكهربائية للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة

4-2-4: الأملاح الكلية المذابة في الأوساط الزرعية

يظهر الشكل 9 والملحق 11 أن أعلى محتوى للأملاح الكلية المذابة بمعدل 10.32 غم/لتر في وسط تبن الحنطة، تلاه وسط الخليط 10.00 غم/لتر، وانخفض المحتوى معنوياً (P> 0.05) 6.85 غم/لتر مع وسط القصب بنسبة انخفاض 50.66%.

وأظهر استعمال اللقاح البكتيري أن محتوى الأملاح بمعدل 9.04 غم/لتر، في حين ارتفعت معنوياً (P> 0.05) إلى 9.08 غم/لتر بغير استعمال اللقاح. وتحقق أفضل معدل لمحتوى الأملاح الكلية المذابة 10.76 غم/لتر مع وسط تبن الحنطة القياسي من غير استعمال اللقاح (A1S0)، تلاه وسط الخليط بدون ومع استعمال اللقاح ثم جاء بعدها وسط تبن الحنطة ووسط القصب مع استعمال اللقاح (A3S0 و A3S1 و A1S1 و A2S1) بمعدل 10.09 و 9.91 و 9.88 و 7.32 غم/لتر على التوالي، في حين كان اقل محتوى 6.38 غم/لتر مع وسط القصب بغير استعمال اللقاح (A2S0). وتنسجم النتائج التي تم الحصول عليها للأملاح الكلية المذابة مع قيم الإيصالية الكهربائية لأن زيادة الأملاح المذابة تعمل على رفع قيم الإيصالية الكهربائية.



شكل (9) قيم الأملاح الكلية المذابة في الأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة

5-2-4: الرقم الهيدروجيني pH للأوساط الزرعية

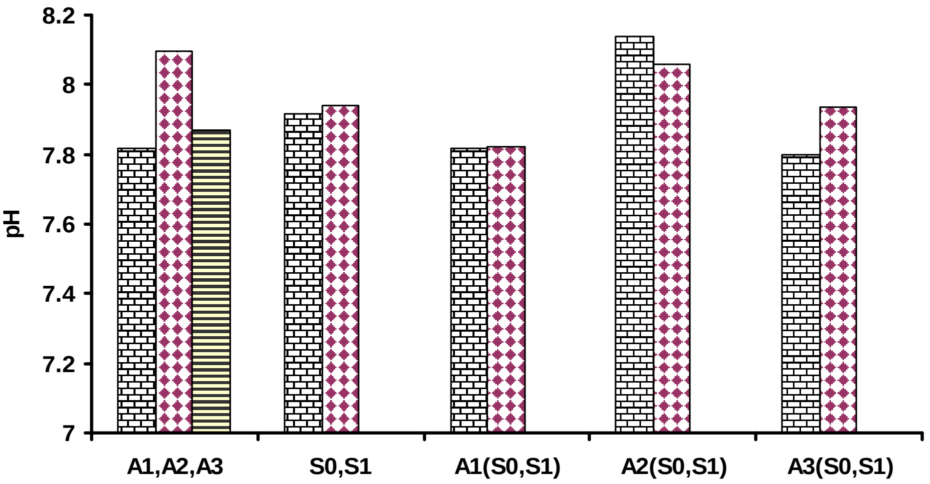
للرقم الهيدروجيني أهمية في سير عمليات التحلل فضلاً عن تأثيره على نمو الفطر الغذائي عند جاهزية الوسط للزراعة، ويظهر الشكل 10 والملحق 12 أن أعلى قيمة للرقم الهيدروجيني تحققت مع وسط القصب بمعدل 8.10، تلاه وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) ووسط تبن الحنطة القياسي بمعدل 7.87 و 7.82 وبنسبة انخفاض 2.94% و 3.58% على التوالي. وأظهر استعمال اللقاح زيادة طفيفة في قيمة الرقم الهيدروجيني 7.94 مقارنة من غير استعمال اللقاح 7.92.

وتحقق أعلى معدل للرقم الهيدروجيني 8.14 مع وسط القصب بغير استعمال اللقاح (A2S0)، تلاه وسط القصب باستعمال اللقاح (A2S1) 8.06، في حين انخفض إلى 7.80 مع وسط الخليط بغير استعمال اللقاح (A3S0) بنسبة 4.40%.

ويبين الشكل 10 أن قيم الرقم الهيدروجيني لمستخلص الأوساط تتجه نحو القاعدية مع وسط القصب وهذا يدلل على أن المركبات الناتجة من التحلل هي قلوية، وهذا ما أكدته قيم الإيصالية الكهربائية ومحتوى الأملاح الكلية المذابة، كذلك أكدت هذه النتائج استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces* مع وسط القصب حيث تميل هذه البكتريا في نموها إلى زيادة قيم الرقم الهيدروجيني للوسط بفعل إنتاجها للمركبات من القلويدات والقواعد في الوسط (Lacey, 1973).

وعلى الرغم من تغاير قيم الرقم الهيدروجيني للأوساط الزرعية فإن الوسط الخالي من رائحة الأمونيا هو الأفضل لنمو هايفات الفطر كونها تثبط نمو الهايفات إذ أن الرقم الهيدروجيني يرتفع مع وجود الأمونيا لأنها من القواعد فتزيد قيمة pH (Royse, 2008)، وتتوافق النتائج التي تم الحصول عليها مع ما توصل إليه السعداوي (2002) إذ حصل على رقم هيدروجيني 7.4 مع

وسط تبن الحنطة و 8.7-7.4 مع وسط كوالح الذرة الصفراء، هذا وتم إضافة الجبس $CaSO_4$ لوسط الزراعة لأثره في تعديل قيمة الرقم الهيدروجيني إلى القيمة 8.0-7.5 التي يفضلها الفطر الغذائي *A. bisporus* في النمو (Nobel and Gaze, 1996 ; Shandilya, 1986)، وقد أمكن نمو اللقاح الفطري (البزار) في وسط قيمة الرقم الهيدروجيني له 8.2-6.5 (Royse, 2008).



شكل (10) قيم الرقم الهيدروجيني للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة

3-4: الصفات الكيمياوية للأوساط الزرعية

4-3-1: محتوى الكاربون في الأوساط الزرعية في عملية التخمر

اعتماداً على نوع الوسط الزرعي يبين الجدول 4 بأن أعلى محتوى معنوي (P> 0.05) للكاربون تحقق بمعدل 22.35% مع وسط القصب، تلاه وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) بمعدل 21.36%، في حين انخفض إلى 20.05% مع وسط تبن الحنطة وبنسبة انخفاض قدرها 11.49%. وأدى استعمال اللقاح البكتيري إلى زيادة طفيفة في محتوى الكاربون بمعدل 21.28%، في حين كان معدله 21.22% بغير استعمال اللقاح. كما أظهرت مدة التخمر تأثيراً على المحتوى الكاربوني للأوساط الزرعية فقد سجلت 22.85% عند الخلط في بدء التخمر، تلاه بمعدل 20.90% بعد 4 أيام من بدء التخمر، في حين انخفض المحتوى معنوياً (P> 0.05) إلى 20.15% بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا وبنسبة انخفاض بلغت 13.40%.

وأظهر التداخل بين نوع الوسط الزرعي واستعمال اللقاح البكتيري أن أعلى محتوى معنوي (P> 0.05) للكاربون تحقق بمعدل 22.60% مع وسط القصب بغير استعمال اللقاح (A2S0)، تلاه وسط القصب باستعمال اللقاح (A2S1) بمعدل 22.10%، في حين انخفض المحتوى إلى أقل ما يكون 19.89% مع وسط تبن الحنطة القياسي (A1S0) وبنسبة انخفاض 14.72%.

وبين التداخل بين نوع الوسط الزرعي ومدة التخمر أن أعلى معدل لمحتوى الكاربون تحقق 24.10% مع وسط الخليط في بدء التخمر، في حين انخفض إلى 19.33% و 19.15% مع وسط تبن الحنطة بعد 8 أيام من التخمر وبعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا بنسبة انخفاض 24.66% و 25.85% على التوالي.

ويظهر جدول 4 تأثير استعمال اللقاح البكتيري على المحتوى الكاربوني للمعاملات المختلفة مع تقدم مدة التخمر، فقد سجل أعلى معدل لمحتوى الكاربون 22.90% عند الخلط في

بدء التخمر بغير استعمال اللقاح، تلاه بمعدل 22.80% عند بدء التخمر باستعمال اللقاح، في حين انخفض محتوى الكاربون معنوياً ($P > 0.05$) إلى 20.16% و 19.97% بعد 8 أيام من التخمر من غير استعمال اللقاح وبعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا باستعمال اللقاح بنسبة 13.61% و 14.69% على التوالي.

فيما تحقق أعلى معدل معنوي ($P > 0.05$) لمحتوى الكاربون 24.10% مع الأوساط A3S0 و A3S1 عند بدء التخمر و A2S0 بعد 12 يوماً من بدء التخمر، في حين كان أقل معدل معنوي ($P > 0.05$) لمحتوى الكاربون 18.60% و 18.70% بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا مع وسطي A1S0 و A3S0 على التوالي.

تتميز الفطريات البازيدية باحتياجها إلى مركبات عضوية جاهزة بوصفها مصادر للطاقة التي غالباً ما تكون مواد كاربوهيدراتية تستخدم في عملية البناء الحياتي، كما يمكنها تحليل السليلوز من قدرتها على إنتاج أنزيمات خارج خلوية (Exo-enzyme)، وبالتالي يمكن استعمال بقايا النباتات والحيوانات أوساطاً لزراعتها (رضوان، 2002 ; ديكن، 1983)، ويصل محتوى الكاربون في وسط تبن الحنطة وكوالح الذرة الصفراء بين 36.5-38.7% (السعداوي، 2002)، ويرجع سبب ارتفاع محتوى الكاربون في بدء عملية التخمر إلى نسبة السليلوز الموجودة في تبن الحنطة التي تبلغ 29-35% وأنصاف السليلوز 26-32% واللكنين 16-12% وكذلك الحال مع القصب الذي ترتفع فيه المواد اللكنينية (Prassad *et. al.,* 2007)، في حين يقل محتوى الكاربون مع استمرار عملية التخمر بفعل البكتريا المسؤولة عن تفتت وتحليل المادة العضوية وإطلاق غاز ثنائي أوكسيد الكاربون (السهيلي وآخرون، 1993)، وبالتالي يقل محتوى الكاربون مع انتهاء التخمر وهذا ما كان متوقعاً من استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*.

جدول (4) محتوى الكاربون في الأوساط الزرعية في مراحل التخمر

المعاملات		A1	A2	A3	المعدل S*D
S0	D1	22.100	22.500	24.100	22.900
	D2	20.100	22.400	19.900	20.800
	D3	19.167	20.300	21.000	20.156
	D4	19.500	24.100	22.200	21.933
	D5	18.600	23.700	18.700	20.333
المعدل A*S0		19.893	22.600	21.180	المعدلS0 21.224
S1	D1	21.800	22.500	24.100	22.800
	D2	19.500	21.500	22.000	21.000
	D3	19.500	22.800	20.300	20.867
	D4	20.500	23.800	21.000	21.767
	D5	19.700	19.900	20.300	19.967
المعدل A*S1		20.200	22.100	21.540	المعدلS1 21.280
المعدل A		20.047	22.350	21.360	المعدل D
المعدلA*D1		21.950	22.500	24.100	22.850
المعدلA*D2		19.800	21.950	20.950	20.900
المعدلA*D3		19.333	21.550	20.650	20.511
المعدلA*D4		20.000	23.950	21.600	21.850
المعدلA*D5		19.150	21.800	19.500	20.150

LSD P> 0.05 A=0.1325 , S=0.1082 , D=0.1710 , AS =0.1873 , AD=0.2962, SD=0.2418, ASD=0.4189

2-3-4: محتوى النتروجين في الأوساط الزرعية في عملية التخمر

يبين الجدول 5 اعتماداً على نوع الوسط أن أفضل محتوى للنتروجين تحقق بمعدل 2.40% مع وسط تبن الحنطة، في حين انخفض إلى 1.90% و 1.57% مع وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) ووسط القصب على التوالي.

وأظهر استعمال اللقاح البكتيري محتوى نتروجين بمعدل 1.90% مقارنة مع 2.00% من غير استعمال اللقاح. كما بين أن لمدة التخمر أثراً واضحاً في المحتوى النتروجيني الذي تحقق بأفضل صورة عند معدل 2.54% بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا، تلاه بمعدل 2.07% بعد 8 أيام من بدء التخمر مقارنة بما كان عليه عند 1.51% في بدء التخمر.

وبين التداخل بين نوع الوسط الزرعي واستعمال اللقاح البكتيري أن أفضل محتوى معنوي ($P > 0.05$) للنتروجين تحقق بمعدل 2.45% مع وسط تبن الحنطة من غير استعمال اللقاح (A1S0)، تلاه وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح (A1S1) بمعدل 2.35%، في حين انخفض المحتوى إلى 1.64% و 1.50% مع وسط القصب بغير ومع استعمال اللقاح (A2S1 و A2S1) وبنسبة انخفاض 49.44% و 63.64% على التوالي.

كما أثر التداخل بين نوع الوسط الزرعي ومدة التخمر على محتوى النتروجين، فكان أعلى معدل لمحتوى النتروجين 2.93% مع وسط تبن الحنطة بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا، تلاه وسط الخليط بعد المدة نفسها بمعدل 2.65%، في حين كان المحتوى بمعدل 1.18% و 1.04% مع وسطي الخليط والقصب عند بدء التخمر.

وأظهر التداخل بين استعمال اللقاح ومدة التخمر أن أفضل محتوى معنوي ($P > 0.05$) للنتروجين تحقق 2.59% بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا من غير استعمال اللقاح، مقارنة بما كان عليه عند بدء التخمر 1.51% بغير ومع استعمال اللقاح.

في حين تحقق أفضل معدل معنوي ($P> 0.05$) لمحتوى النتروجين بمعدل 3.05% مع وسط A1S0 بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا، تلاه وسط A1S1 بعد المدة نفسها بمعدل 2.81%، في حين كان أقل معدل معنوي ($P> 0.05$) لمحتوى النتروجين 1.04% مع وسطي A2S0 و A2S1 عند بدء التخمر.

يرتبط المحتوى من النتروجين في الأوساط بعد التحلل بمحتوى تلك الأوساط أساساً من النتروجين ونوع الأحياء المجهرية المحللة، كذلك ظروف التهوية ودرجة الحرارة، وتؤكد النتائج السابقة انخفاض كمية الكاربون في الأوساط بعد انتهاء عملية التخمر ويعد هذا ناتجاً طبيعياً لعمليات التحلل الحيوي وإطلاق غاز ثنائي أوكسيد الكاربون مما يقلل من مكونات الوسط ويزيد نسبة النتروجين، علماً أن بكتريا *Streptomyces* O3 المستعملة في التحلل غير مثبتة للنتروجين تحت ظروف المختبر (مطر، 2008)، وتعمل على تمثيل النتروجين المتوافر في أجسامها لغرض تحليل مصادر الكاربون في الأوساط لذا يحدث تحسين في نسب C:N Ratio في مكونات نواتج التحلل (Buscot and Varma, 2005).

ويأتي سبب انخفاض محتوى النتروجين في بدء التخمر إلى أن مكونات هذه الأوساط منخفضة أساساً من محتواها من المواد البروتينية وتتكون أساساً من المركبات السليلوزية، فضلاً عن قلة الأحياء المجهرية النامية في الأوساط الزرعية التي تزداد كتلتها الحيوية مع تقدم عملية التخمر، حيث إن الكتلة الحيوية للأحياء المجهرية المتبقية في الوسط عند انتهاء التخمر تعد مصادر بروتينية تزيد المحتوى النتروجيني للأوساط (Savoie, 1998)، وربما يرجع سبب قلة محتوى النتروجين في وسط القصب مقارنة مع وسطي تبن الحنطة والخليط إلى قلة الأحياء المجهرية النامية فيه وكان واضحاً من انخفاض درجة حرارة التخمر في وسط القصب مقارنة ببقية الأوساط ملحق 3، ويجب أن يكون محتوى النتروجين في وسط الزراعة

2.0-2.5% عند بدء نمو هايفات الفطر الغذائي (Royse, 2008)، وهذا ما تم تحقيقه مع جميع الأوساط المستعملة في الدراسة، وقد يرجع سبب زيادة محتوى النتروجين إلى الأسمدة الصناعية (اليوريا) أو مخلفات الدواجن المضافة عند بدء التخمر التي تزيد محتوى النتروجين إلى 1.5-1.9% (Beyer, 2003A).

جدول (5) محتوى النتروجين في الأوساط الزرعية في مراحل التخمر

المعاملات		A1	A2	A3	المعدل S*D
S0	D1	2.3240	1.0360	1.1830	1.5143
	D2	2.1280	1.4140	1.7010	1.7477
	D3	2.3800	1.7290	2.1420	2.0837
	D4	2.3660	1.9880	2.0020	2.1187
	D5	3.0520	2.0300	2.6740	2.5853
المعدل A*S0		2.4500	1.6394	1.9404	المعدلS0 2.0099
S1	D1	2.3240	1.0360	1.1830	1.5143
	D2	2.0300	1.0850	1.5890	1.5680
	D3	2.2960	1.8480	2.0230	2.0557
	D4	2.2750	1.4490	1.8830	1.8690
	D5	2.8140	2.0680	2.6250	2.5023
المعدل A*S1		2.3478	1.4972	1.8606	المعدلS1 1.9019
المعدل A		2.3989	1.5683	1.9005	المعدل D
المعدلA*D1		2.3240	1.0360	1.1830	1.5143
المعدلA*D2		2.0790	1.2495	1.6450	1.6578
المعدلA*D3		2.3380	1.7885	2.0825	2.0697
المعدلA*D4		2.3205	1.7185	1.9425	1.9938
المعدلA*D5		2.9330	2.0490	2.6495	2.5438

LSD P> 0.05 A=0.03500 , S=0.02858 , D=0.04519 , AS =0.04950 , AD=0.07826, SD=0.06390, ASD=0.11068

4-3-3: نسبة الكاربون إلى النتروجين في الأوساط الزرعية في عملية التخمر

يبين الجدول 6 أن أقل نسبة كاربون إلى نتروجين (C:N Ratio) تحققت في وسط تبن الحنطة بمعدل 8.51:1 وبفرق معنوي ($P> 0.05$) مقارنة مع وسطي الخليط والقصب بمعدل 12.32:1 و 15.32:1 على التوالي.

وأعطى استعمال اللقاح البكتيري C:N Ratio بمعدل 12.45:1، في حين انخفضت النسبة معنوياً ($P> 0.05$) إلى 11.64:1 عند عدم استعمال اللقاح بنسبة انخفاض بلغت 7.02%.

وبينت مدة التخمر أن أقل C:N Ratio تحققت 8.19:1 بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا، في حين كانت أقل نسبة بمعدل 17.21:1 في بدء التخمر وبنسبة انخفاض 52.42%.

وأظهر التداخل بين نوع الوسط الزرعي واستعمال اللقاح البكتيري أن أقل C:N Ratio تحققت 8.28:1 و 8.74:1 مع وسط تبن الحنطة بغير ومع استعمال اللقاح (A1S0 و A1S1) على التوالي، في حين ارتفعت النسبة إلى 16.00:1 و 14.64:1 مع وسط القصب باستعمال اللقاح وبغيره (A2S1 و A2S0) على التوالي. وبين التداخل بين نوع الوسط ومدة التخمر بأن أقل C:N Ratio تحققت بمعدل 6.55:1 مع وسط تبن الحنطة بعد جاهزية الوسط، في حين كانت أعلى نسبة 21.72:1 مع وسط القصب في بدء التخمر.

في حين تحقق أقل معدل لنسبة C:N Ratio 6.09:1 مع وسط A1S0 بعد البسترة واختفاء رائحة الأمونيا، في حين كان أعلى معدل لنسبة C:N Ratio 21.72:1 مع وسط A2S1 عند بدء التخمر.

ويعود سبب انخفاض نسبة C:N Ratio في انتهاء التخمر إلى انخفاض محتوى الكاربون بسبب تحلل السليلوز وفقدان الكاربون بشكل غاز ثنائي أوكسيد الكاربون مع زيادة محتوى النتروجين وصولاً إلى الحد الذي يفضله الفطر الغذائي إذ أصبح تركيب وسط الزراعة ممكناً بخلط

مواد عضوية متوافرة محلياً بحيث تصل نسبة C:N Ratio إلى الحد المطلوب التي يجب أن تكون بنسبة 20:1 تقريباً في تركيب الوسط الغذائي ليكون مناسباً لنمو الفطر الغذائي *A. bisporus* وتكوين الأجسام الثمرية (رضوان، 2002)، وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه السعداوي (2002).

جدول (6) نسبة C:N Ratio في الأوساط الزرعية في مراحل التخمر

المعدل S*D	A3	A2	A1	المعاملات	
17.208	20.380	21.720	9.523	D1	S0
12.362	11.730	15.910	9.447	D2	
9.879	9.807	11.763	8.067	D3	
10.484	11.087	12.123	8.243	D4	
8.253	6.993	11.673	6.093	D5	
المعدل S0 11.637	11.999	14.638	8.275	المعدل A*S0	
17.206	20.373	21.723	9.520	D1	S1
14.427	13.850	19.820	9. 610	D2	
10.306	10.033	12.367	8.517	D3	
12.212	11.167	16.447	9.023	D4	
8.121	7.733	9.627	7.003	D5	
المعدل S1 12.454	12.631	15.997	8.735	المعدل A*S1	
المعدل D	12.315	15.317	8.505	المعدل A	
17.207	20.377	21.722	9.522	المعدل A*D1	
13.394	12.790	17.865	9.528	المعدل A*D2	
10.092	9.920	12.065	8.292	المعدل A*D3	
11.348	11.127	14.285	8.633	المعدل A*D4	
8.187	7.363	10.650	6.548	المعدل A*D5	

LSD P> 0.05 A=0.2375 , S=0.1939 , D=0.3066 , AS =0.3359 , AD=0.5311, SD=0.4337, ASD=0.7511

4-4: إنتاج الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

4-4-1: إنتاجية الأجسام الثمرية لكل 5 كغم وسط زرعي طري

يظهر الشكل 11 والصورة 4 والملحق 13 أن أفضل إنتاج للأجسام الثمرية تحقق بمعدل 440.83 غم/5 كغم وسط زرعي مع وسط القصب بعد 21 يوماً من الجني، في حين انخفض الإنتاج معنوياً (P> 0.05) إلى 398.42 و 371.17 غم/5 كغم مع وسطي الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) وتبن الحنطة القياسي بنسبة انخفاض 10.64% و 18.77% على التوالي.

كما يظهر أثر استعمال اللقاح البكتيري المعنوي (P> 0.05) في زيادة الإنتاج بمعدل 430.00 غم/5 كغم وبنسبة زيادة قدرها 12.34% مقارنة مع 376.94 غم/5 كغم عند عدم استعمال اللقاح. وبين الرش بمستخلص عرق السوس المائي انخفاضاً معنوياً (P> 0.05) في الإنتاج بمعدل 391.56 غم/5 كغم بنسبة 6.09% مقارنة مع 415.39 غم/5 كغم عند الرش بالماء.

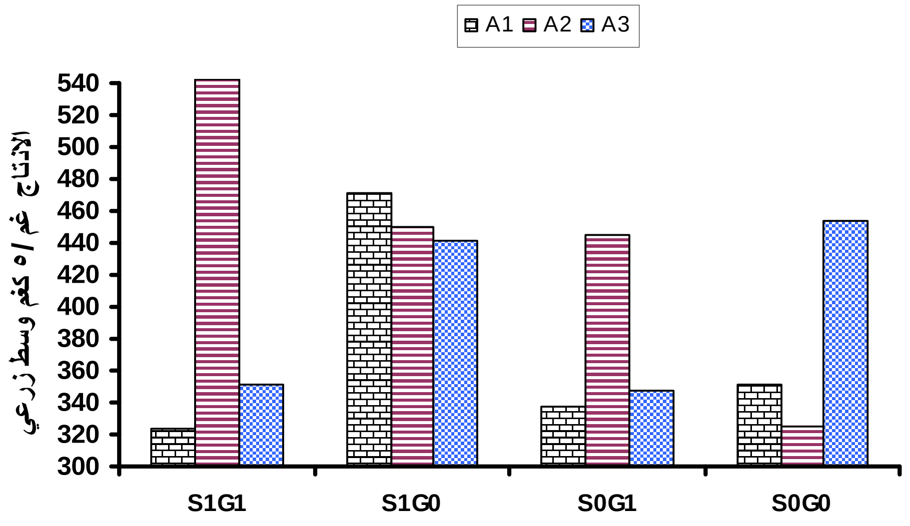
وبين التداخل بين نوع الوسط الزرعي واستعمال اللقاح أن أفضل إنتاج تحقق بمعدل 496.33 غم/5 كغم مع وسط القصب باستعمال اللقاح، تلاه وسط الخليط بغير استعمال اللقاح ووسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح بمعدل 400.67 و 397.50 غم/5 كغم وبنسبة 23.88% و 24.86% على التوالي، في حين كان أقل إنتاج بمعدل 344.83 غم/5 كغم مع وسط تبن الحنطة القياسي بغير استعمال اللقاح بنسبة 43.93% وبفرق معنوي عند (P> 0.05).

وأظهر التداخل بين المصدر الكاربوني والرش بالمستخلص أن أفضل إنتاج تحقق بمعدل 494.00 غم/5 كغم مع وسط القصب عند الرش بالمستخلص، تلاه وسطي الخليط وتبن الحنطة القياسي عند الرش بالماء بمعدل 447.17 و 411.33 غم/5 كغم وبنسبة 10.47% و 20.10%

على التوالي، في حين انخفض الإنتاج معنوياً (P> 0.05) إلى 331.00 غم/5 كغم مع وسط تبن الحنطة عند الرش بالمستخلص بنسبة 49.24%.

وبين التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص أن أفضل إنتاج تحقق بمعدل 454.00 غم/5 كغم من المعاملة التي استعمل فيها اللقاح بغير الرش بمستخلص عرق السوس فيما أعطت معاملة استعمال اللقاح مع الرش بالمستخلص معدلاً قدره 406.00 غم/5 كغم، في حين انخفض الإنتاج معنوياً (P> 0.05) إلى 377.11 و 376.78 غم/5 كغم للمعاملة التي لم يستعمل فيها اللقاح البكتيري والتي رشت بالمستخلص أو بالماء حيث كان الانخفاض بنسبة قدرها 20.39% و 20.49% على التوالي.

وتحقق أفضل معدل لإنتاج الأجسام الثمرية 542.67 غم/5 كغم مع وسط A2S1G1، تلاه وسطي A1S1G0 و A3S0G0 بمعدل 471.00 و 453.33 غم/5 كغم، في حين كان أقل إنتاج بمعدل 324.00 غم/5 كغم مع وسط A1S1G1 وبفرق معنوي عند (P> 0.05).



شكل (11) الإنتاجية للفطر الغذائي *A. bisporus* لكل 5 كغم وسط زرعي طري لمدة 21 يوم

أ- صورة الأجسام الثمرية في غرفة الإنتاج

ب- الأجسام الثمرية بعد الجني

صورة (4) غرفة الإنتاج تظهر نمو الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

2-4-4: الكفاءة الحيوية لإنتاج الأجسام الثمرية

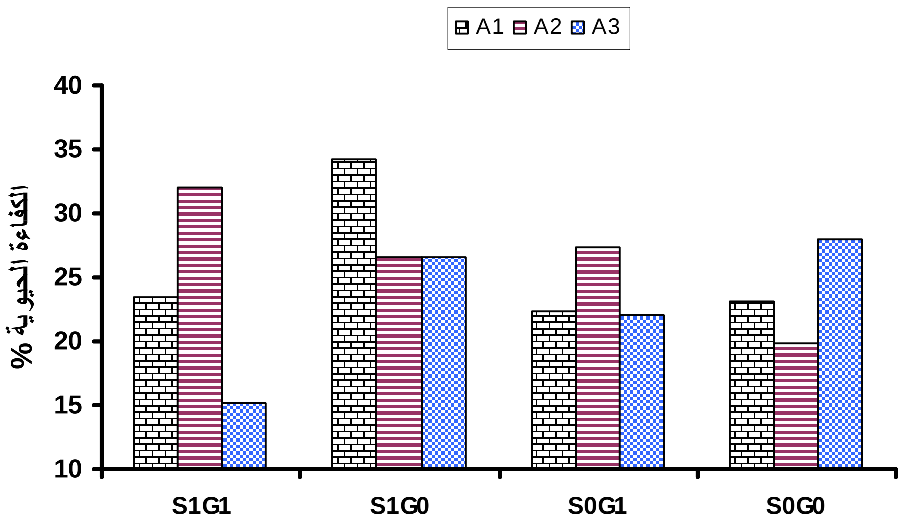
اعتماداً على نوع وسط الزراعة المستعمل يبين الشكل 12 والملحق 14 بأن أفضل كفاءة حيوية تحققت بمعدل 26.5% مع وسط القصب، تلاه وسط تبن الحنطة ثم وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) بمعدل 25.8% و 22.9% على التوالي.

وبين استعمال اللقاح البكتيري أفضل كفاءة حيوية بمعدل 26.3%، في حين انخفضت إلى 23.8% بغير استعمال اللقاح بنسبة 10.5%. وأظهر الرش بمستخلص عرق السوس المائي انخفاض الكفاءة الحيوية إلى 23.7% مقارنة مع 26.4% عند الرش بالماء بنسبة 10.23%.

وأظهر التداخل بين نوع الوسط واستعمال اللقاح أن أفضل كفاءة حيوية تحققت بمعدل 29.3% مع وسط القصب باستعمال اللقاح، تلاه وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح بمعدل 28.8%، في حين كانت أقل كفاءة حيوية 20.8% مع وسط الخليط بغير استعمال اللقاح.

وبين التداخل بين نوع الوسط الزرعي والرش بالمستخلص أن أفضل كفاءة حيوية 29.7% مع وسط القصب عند الرش بالمستخلص، تلاه وسط تبن الحنطة القياسي عند الرش بالماء بمعدل 28.7%، في حين كانت أقل كفاءة حيوية 18.6% مع وسط الخليط عند الرش بالمستخلص منخفضة معنوياً (P> 0.05) بنسبة 59.68%. وأظهر التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالماء أفضل كفاءة حيوية بمعدل 29.1%، في حين انخفضت إلى 23.6% باستعمال اللقاح عند الرش بالمستخلص بنسبة 23.31%.

وتحقق أفضل معدل للكفاءة الحيوية 34.2% و 32.1% مع وسطي A1S1G0 و A2S1G1 على التوالي، في حين كانت أقل كفاءة حيوية بمعدل 15.1% مع وسط A3S1G1 منخفضة معنوياً (P> 0.05) بنسبة 186.09%.



شكل (12) النسبة المئوية للكفاءة الحيوية في إنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus*

3-4-4: معدل وزن الجسم الثمري للفطر الغذائي *A. bisporus*

يبين الشكل 13 والملحق 15 أن لنوع الوسط الزرعي تأثيراً معنوياً (P> 0.05) على معدل وزن الجسم الثمري إذ تحقق أفضل معدل له 46.12 غم مع وسط القصب، تلاه بمعدل 42.13 غم مع وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) مقارنة مع وسط تبن الحنطة القياسي الذي انخفض معه إلى 25.17 غم وبنسبة انخفاض بلغت 83.23%.

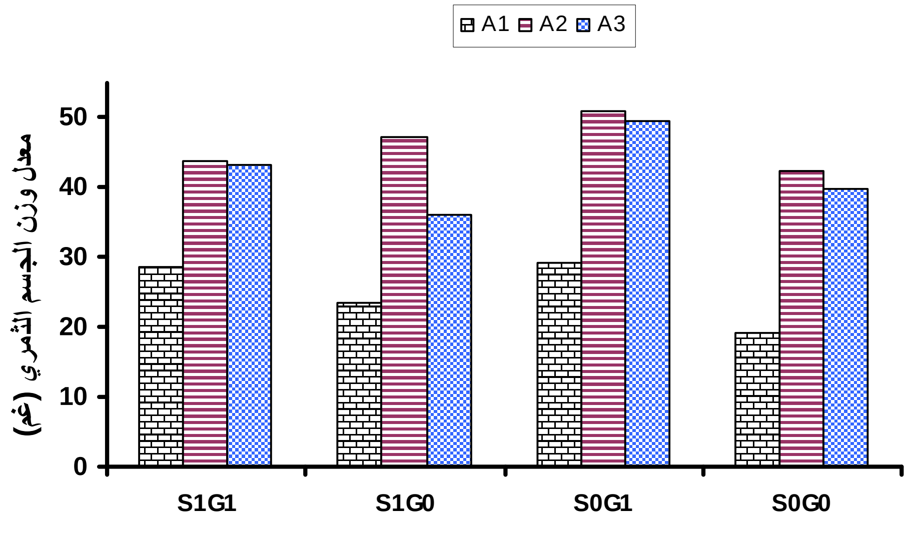
وبين استعمال اللقاح البكتيري معدل وزن الجسم الثمري 37.09 غم، في حين ازداد معنوياً (P> 0.05) إلى 38.53 غم عند عدم استعمال اللقاح البكتيري وبنسبة زيادة قدرها 3.74%. وأثر الرش بمستخلص عرق السوس المائي معنوياً (P> 0.05) في زيادة معدل وزن الجسم الثمري الذي بلغ 40.87 غم بنسبة زيادة قدرها 15.00% مقارنة مع 34.74 غم عند الرش بالماء.

وأظهر التداخل بين نوع المصدر الكاربوني واستعمال اللقاح البكتيري أن أفضل معدل لوزن الجسم الثمري تحقق 46.72 غم مع وسط القصب بغير استعمال اللقاح، تلاه بمعدل 45.52 غم

مع الوسط نفسه عند استعمال اللقاح، في حين انخفض معنوياً (P> 0.05) إلى 24.26 غم مع وسط تبن الحنطة القياسي بغير استعمال اللقاح منخفضاً بنسبة 92.58%.

كما بين التداخل بين نوع الوسط الزرعي والرش بمستخلص عرق السوس أن أفضل معدل متحقق لوزن الجسم الثمري 47.39 غم مع وسط القصب عند الرش بالمستخلص، تلاه وسط الخليط عند الرش بالمستخلص بمعدل 46.30 غم أيضاً، في حين انخفض معدل وزن الجسم الثمري معنوياً (P> 0.05) إلى 21.42 غم مع وسط تبن الحنطة القياسي عند الرش بالماء وبنسبة انخفاض قدرها 121.24%. وأظهر التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص أن أفضل معدل لوزن الجسم الثمري 43.22 غم بغير استعمال اللقاح مع الرش بالمستخلص، في حين انخفض المعدل معنوياً (P> 0.05) إلى 33.83 غم عند الرش بالماء بغير استعمال اللقاح.

وتحقق أفضل معدل لوزن الجسم الثمري 50.94 غم مع وسط A2S0G1، تلاه بمعدل 49.44 غم مع وسط A3S0G1، في حين كان أقل معدل متحقق 19.23 غم مع وسط تبن الحنطة القياسي A1S0G0 منخفضة معنوياً (P> 0.05) بنسبة قدرها 164.90%.



شكل (13) معدل وزن الجسم الثمري للفطر الغذائي *A. bisporus*

4-4-4: عدد الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus* لكل صندوق

اعتماداً على نوع وسط الزراعة المستعمل يظهر الشكل 14 والملحق 16 بأن أفضل معدل لعدد الأجسام الثمرية 17.42 جسم ثمري/صندوق مع وسط تبن الحنطة، في حين انخفض عددها معنوياً ($P> 0.05$) إلى 9.42 و 7.42 جسم ثمري/صندوق مع وسطي الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) والقصب بنسبة 84.93% و 134.77% على التوالي.

وبين استعمال اللقاح البكتيري أفضل عدد للأجسام الثمرية بمعدل 12.00 جسم ثمري/صندوق، في حين انخفض العدد معنوياً ($P> 0.05$) إلى 10.83 جسم ثمري/صندوق بغير استعمال اللقاح بنسبة 10.80%. وأظهر الرش بمستخلص عرق السوس المائي أفضل عدد للأجسام الثمرية تحقق 9.44 جسم ثمري/صندوق، في حين ازداد عددها معنوياً ($P> 0.05$) إلى 13.39 جسم ثمري/صندوق عند الرش بالماء بنسبة زيادة قدرها 29.50%.

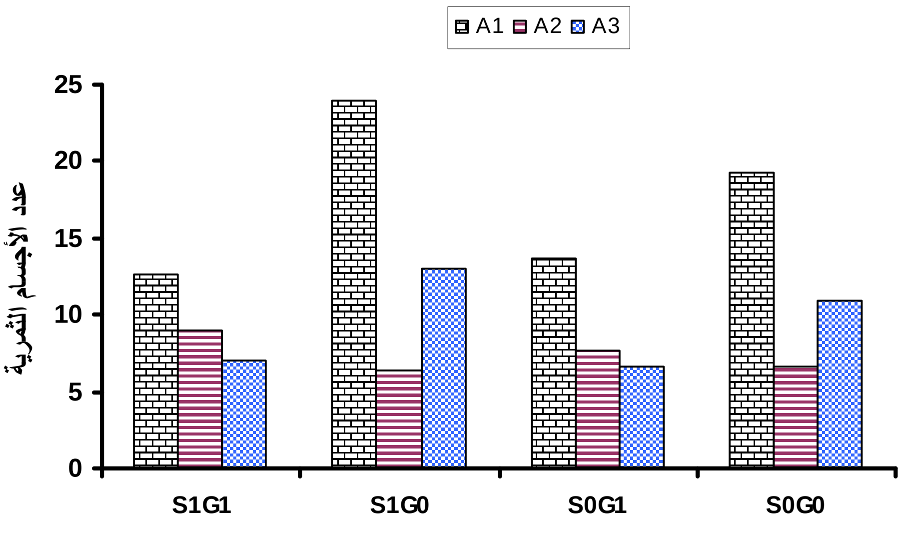
وبين التداخل بين نوع الوسط الزرعي واستعمال اللقاح أن أفضل معدل معنوي ($P> 0.05$) لعدد الأجسام الثمرية تحقق 18.33 و 16.50 جسم ثمري/صندوق مع وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح وبغيره (القياسي)، في حين انخفض عددها إلى 8.83 و 7.67 و 7.17 جسم ثمري/صندوق مع وسط الخليط بغير استعمال اللقاح ووسط القصب باستعمال اللقاح وبغيره منخفضة بنسب 107.59% و 138.98% و 155.65% على التوالي.

وأثر التداخل بين نوع الوسط والرش بالمستخلص معنوياً ($P> 0.05$) على عدد الأجسام الثمرية فتحقق أفضل معدل 21.67 جسم ثمري/صندوق مع وسط تبن الحنطة (القياسي) عند الرش بالماء، تلاه الوسط نفسه عند الرش بالمستخلص بمعدل 13.17 جسم ثمري/صندوق، في حين انخفض عددها إلى 12.00 و 8.33 و 6.83 و 6.50 جسم ثمري/صندوق مع وسط الخليط عند الرش بالماء ووسط القصب عند الرش بالمستخلص والخليط عند الرش بالمستخلص والقصب

عند الرش بالماء بنسب انخفاض 80.58% و 160.14% و 217.28% و 233.38% على التوالي.

وبين التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص معدل عدد الأجسام الثمرية 9.33 و 9.56 جسم ثمري/صندوق عند الرش بالمستخلص بغير ومع استعمال اللقاح، في حين ازداد عددها معنوياً (P> 0.05) إلى 12.33 و 14.44 جسم ثمري/صندوق مع الرش بالماء بغير ومع استعمال اللقاح بنسبة زيادة بلغت 35.39% و 24.33% على التوالي.

وتحقق أفضل معدل لعدد الأجسام الثمرية 24.00 جسم ثمري/صندوق مع وسط A1S1G0، تلاه الوسط القياسي (A1S0G0) و A1S0G1 بمعدل 19.33 و 13.67 جسم ثمري/صندوق منخفضاً معنوياً (P> 0.05) بنسبة 24.35% و 75.57% على التوالي، في حين أظهر وسط القصب A2S1G0 أقل عدد للأجسام الثمرية بلغ 6.33 جسم ثمري/صندوق.



شكل (14) عدد الأجسام الثمرية لكل صندوق للفطر الغذائي

A. bisporus

واعتماداً على وزن الوسط الزرعي فقد تفوق الإنتاج مع وسط القصب مقارنة بوسطي تبن الحنطة والخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب)، وقد يعود اختلاف إنتاج الفطر الغذائي في الأوساط الزرعية المختلفة إلى اختلاف قابلية تلك الأوساط في توافر وإمداد الفطر الغذائي بمتطلباته الغذائية والبيئية واختلاف محتواها من السليلوز وأشباه السليلوز واللكنين والمركبات الأخرى الجاهزة للامتصاص، إذ تتحلل مركبات أشباه السليلوز أسرع من السليلوز واللكنين الموجود في القصب أو تبن الحنطة وذلك لانخفاض درجة بلمرتها وطبيعتها غير البلورية (Edit *et. al.*, 2006 ; Kuhad *et. al.*, 1997)، وتم ملاحظة ازدياد الإنتاجية بازدياد عدد الأجسام الثمرية ومعدل وزن الجسم الثمري وقطر القبعة لتلك الأوساط وهذا ما أكدته علاقة الارتباط الموجبة ملحق 22 بين الإنتاجية من جهة وبين هذه الصفات من جهة أخرى.

كما أن لنوع وحجم مكونات الوسط أثراً مهماً في نمو الفطر الغذائي وهذا يفسر زيادة عدد الأجسام الثمرية في وسط تبن الحنطة القياسي كون حجوم مكونات وسط تبن الحنطة أصغر مما في وسط القصب، مما يزيد المساحة السطحية لهذا الوسط وبالتالي زيادة سرعة تحللها ويعطي فرصة تكوين كتلة أكبر من الغزل الفطري الذي يعمل على تكوين عدد أكبر من الأجسام الثمرية تظهر بشكل عناقيد (حمد، 2005)، في حين انخفض عدد الأجسام الثمرية في وسط القصب مقارنة بوسطي تبن الحنطة والخليط مع زيادة معدل وزن الجسم الثمري وهذا ما فسرته علاقة الارتباط المعنوية السالبة بين معدل وزن الجسم الثمري وعدد الأجسام الثمرية ملحق 22. وأن التفوق في زيادة عدد الأجسام الثمرية وانخفاض معدل وزنها في وسط تبن الحنطة يعود لبعض مميزاته في محتواه من السليلوز وأشباه السليلوز واللكنين وأثر هذه المركبات في عمليات التحلل، وقد يعود ذلك إلى الصفات الفيزياوية الجيدة لوسط القصب مما يجعله أكثر ملائمة لنمو الفطر

الغذائي *A. bisporus* فيعمل على تكوين فراغات هوائية أكثر مما في بقية المعاملات فيمنع الظروف اللاهوائية (البهادلي والزهرون، 1991)،

ويمكن تفسير الزيادة في الإنتاج باستعمال بكتريا *Streptomyces* إلى قابليتها في الإسهام بتجهيز العناصر الغذائية (كالنتروجين) التي يتطلبها نمو الغزل الفطري حيث تعمل على انتخاب *A. bisporus* من إفرازاتها التي تثبط نمو بعض أنواع الأحياء المجهرية المنافسة في حين يكون لهذه الإفرازات كالإنزيمات تأثير ايجابي على معدل امتداد هايفات الفطر الغذائي (Fermor and Grant, 1985).

وتحقق الأحياء المجهرية ومنها بكتريا *Streptomyces* فعلاً مهماً في زيادة الإنتاج وتحسين الصفات الفيزياوية للوسط الزرعي من كتلتها الحيوية التي تمتد بين مكونات الوسط الزرعي (حمد، 2005)، فهنالك علاقة طردية بين محتوى النتروجين لوسط الزراعة وكمية الحاصل (Royse, 2008)، ويعد نمو الأحياء المجهرية ضرورياً لإنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus* لأنها تعد من أهم عوامل تحليل السليلوز الملكنن وإطلاق العناصر الغذائية (ديكن، 1983)، مما يؤدي إلى تحسين نسبة C:N Ratio ليكون مناسباً لنمو الفطر وتحفيز تكوين الأجسام الثمرية (رضوان، 2002)، فضلاً عن استعمال الفطر الغذائي للأحياء المجهرية المتنوعة لاسيما بكتريا *Streptomyces* بعد إجراء البسترة بوصفها مصدراً غذائياً ومحفزاً لنموه من كتلتها الحيوية ومحتواها البروتيني وإفرازاتها للأنزيمات (Tuomela *et. al.*, 2000 ; Mercer *et. al.*, 1996)، فالغزل الفطري في أثناء نموه يطلق موادَ تساعد على بقاء الطور الخضري للفطر بتوافر الحيز والغذاء، ولكن وجود هذه البكتريا قد يمنع أو يقلل هذه المواد مما يحفز الغزل الفطري على تكوين الأجسام الثمرية (Wood, 1976)، وهذا يتفق مع Sanchez و Royse (2008) و Straatsma *et. al.*

(1989) باستعمال *Scytalidium thermophilum* وبعض الفطريات المحبة للحرارة على تبن الحنطة ومخلفات الذرة لإنتاج وسط ملائم لنمو الفطر الغذائي الأبيض.

ويمكن تفسير انخفاض الإنتاج مع بعض المعاملات باستعمال الرش بمستخلص عرق السوس المائي عند مرحلة الدبابيس بسبب تأثير المواد التانينية الموجودة في مستخلص عرق السوس بنسبة 3.66% من الوزن الجاف (موسى وآخرون، 2003) التي ظهر تأثيرها بوضوح في وسطي تبن الحنطة والخليط، كما إن للكليسيرازين (Glycyrrhizin) فعالية مثبطة لبعض الأحياء المجهرية (الجنابي، 1984) مما قد يقلل من النمو على الرغم من وجود المواد السكرية فيه حيث ظهر ذلك مع وسطي تبن الحنطة والخليط في حين أعطى نتائج جيدة مع وسط القصب وجاء هذا منسجماً مع نتائج معدل نمو قطر المستعمرة للفطر في الأوساط الصلبة.

إن نتائج الكفاءة الحيوية تعتمد على الإنتاج الذي تم حسابه لمدة 21 يوماً، إذ إن الكفاءة ازدادت مع زيادة الانتاج وهذا ما أكدته علاقة الارتباط الموجبة مع الإنتاجية ملحق 22، وحصل القيسي (2006) على كفاءة حيوية بنسبة 64.4% مع وسط تبن الحنطة بعد 3 جنيات.

وقد يعود سبب قلة الإنتاج مقارنة بنتائج عدد من الباحثين في هذا المجال في أدناه وذلك لأن الإنتاج تم اعتماده لمدة 21 يوماً منذ بدء الجني، في حين وصل مجمل الإنتاج بعد 60 يوماً وفي أربع جنيات إلى 2.656 كغم لكل 10 كغم من وسط تبن الحنطة مع نخالة الحنطة وحوالي 2.388 كغم على وسط تبن الحنطة مع مخلفات الدواجن وحوالي 1.922 كغم على وسط تبن الحنطة مع سيقان الذرة المثرومة (Colak, 2004)، في حين كان الإنتاج حوالي 1.611 كغم لكل 7 كغم وسط تبن الحنطة مع مخلفات الحمام والى 1.659 كغم على وسط مخلفات أوراق الشاي مع نخالة الحنطة (Simsek *et. al.*, 2008)، كما استعمل Sassine *et. al.* (2006) تبن الحنطة مما أعطى إنتاج بلغ حوالي 13 كغم/م2.

4-5: الصفات النوعية للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

4-5-1: قطر القبعة للأجسام الثمرية

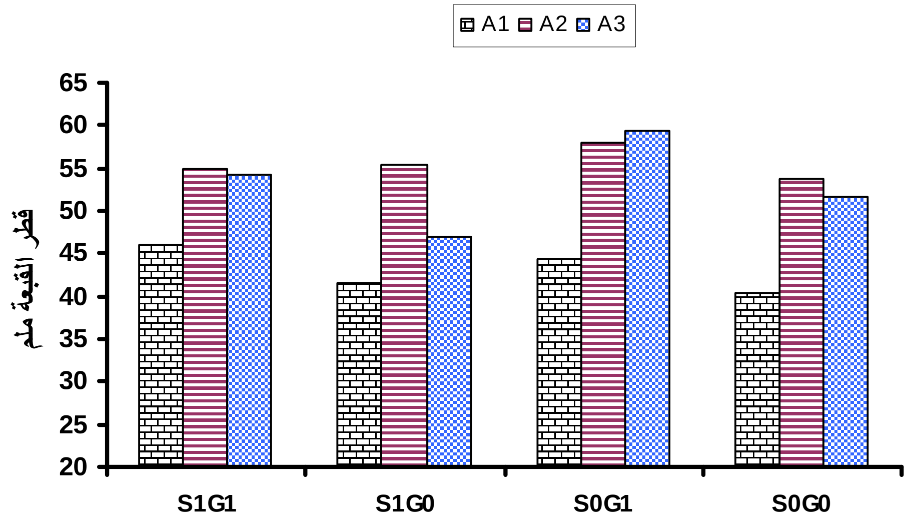
يعد قطر القبعة من الصفات المهمة التي تحدد نوعية الأجسام الثمرية ويبين الشكل 15 والملحق 17 أن أفضل قطر للقبعة تحقق في وسط القصب بمعدل 55.5 ملم، تلاه وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) بمعدل 53.08 ملم، في حين انخفض قطر القبعة إلى 43.08 ملم مع وسط السيطرة (وسط تبن الحنطة) بنسبة انخفاض 28.83%. وقد أعطت المعاملة التي استعمل فيها اللقاح البكتيري قطراً للقبعة بمعدل 49.89 ملم في حين كان قطر القبعة 51.22 ملم بدون استعمال اللقاح. وأظهر أثر الرش بمستخلص عرق السوس المائي أفضل معدل لقطر القبعة 52.83 ملم، في حين انخفض المعدل معنوياً ($P > 0.05$) إلى 48.28 ملم بغيره بنسبة بلغت 9.42%.

وبين التداخل بين نوع الوسط واستعمال اللقاح أن أفضل قطر للقبعة تحقق بمعدل 55.83 ملم مع وسط القصب بغير استعمال اللقاح، تلاه وسط الخليط من غير استعمال اللقاح ثم وسط القصب باستعمال اللقاح بمعدل 55.50 و 55.17 ملم على التوالي، في حين أنخفض قطر القبعة معنوياً ($P > 0.05$) بمعدل 50.67 و 43.83 ملم مع وسطي الخليط و تبن الحنطة باستعمال اللقاح وبنسبة 10.18% و 27.38% على التوالي.

أما التداخل بين نوع الوسط الزرعي والرش بالمستخلص فأعطى أفضل معدل لقطر القبعة 56.83 ملم مع وسط الخليط عند الرش بالمستخلص، تلاه وسط القصب عند الرش بالمستخلص والرش بالماء بمعدل 56.50 و 54.50 ملم على التوالي، في حين انخفض قطر القبعة إلى 41.00 ملم مع وسط تبن الحنطة عند الرش بالماء بنسبة انخفاض 38.61%.

وأظهر التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص أن أفضل قطر للقبعة تحقق بمعدل 53.89 ملم عند الرش بالمستخلص من غير استعمال اللقاح، في حين انخفض قطر القبعة معنوياً ($P> 0.05$) إلى 48.56 و 48.00 ملم عند الرش بالماء بغير وباستعمال اللقاح بنسبة انخفاض 10.98% و 12.27% على التوالي.

وتحقق أفضل معدل معنوي ($P> 0.05$) لقطر القبعة 59.33 و 58.00 ملم مع وسطي A3S0G1 و A2S0G1 على التوالي، تلاه وسطي A2S1G0 و A2S1G1 بمعدل 55.33 و 55.00 ملم بنسبة انخفاض بلغت 7.23% و 7.87% على التوالي، في حين كان أقل معدل لقطر القبعة 40.33 ملم مع وسط A1S0G0 منخفضاً بنسبة 47.11%.



شكل (15) معدل قطر القبعة للأجسام الثمرية للفطر الغذائي

A. bisporus

2-5-4: طول الساق للأجسام الثمرية

يعد طول الساق للجسم الثمري من الصفات المظهرية المهمة التي تُعتمد في الجني، واعتماداً على نوع وسط الزراعة المستعمل تشير النتائج في الشكل 16 والملحق 18 بأن أطول ساق تحقق معدل 31.83 ملم مع وسط القصب، تلاه وسط تبن الحنطة القياسي بمعدل 31.58 ملم، في حين انخفض طول الساق إلى 29.33 ملم مع وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) بنسبة انخفاض قدرها 7.67%.

وبين استعمال اللقاح البكتيري زيادة بطول الساق بمعدل 31.28 ملم وبنسبة زيادة قدرها 2.30% مقارنة عند عدم استعمال اللقاح بمعدل 30.56 ملم.

وبين الرش بمستخلص عرق السوس المائي طولاً للساق بمعدل 30.11 ملم، في حين ازداد طول الساق معنوياً ($P > 0.05$) عند الرش بالماء بمعدل 31.72 ملم وبنسبة زيادة 5.08%.

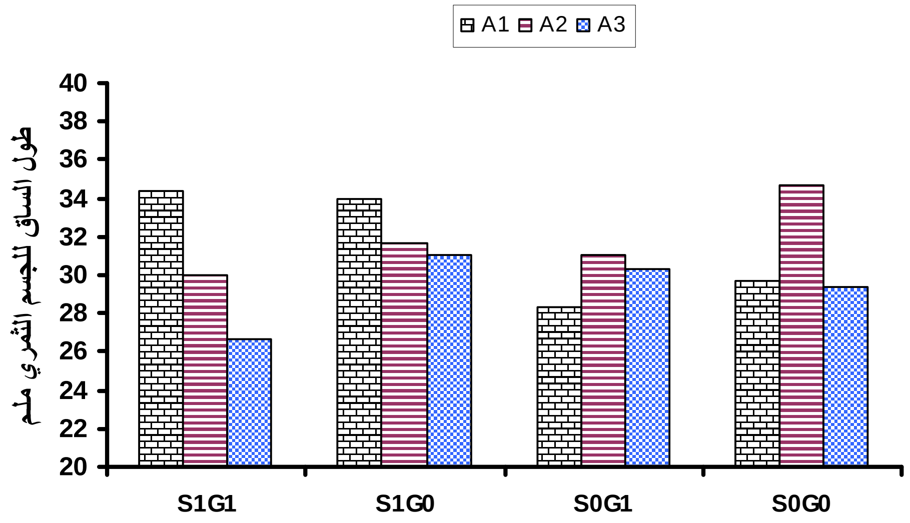
وأظهر التداخل بين نوع الوسط الزرعي واستعمال اللقاح أن أطول ساق تحقق بمعدل 34.17 و 32.83 ملم مع وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح ووسط القصب بغير استعمال اللقاح على التوالي، في حين انخفض طول الساق إلى 29.0 و 28.83 ملم مع وسط تبن الحنطة بغير استعمال اللقاح ووسط الخليط باستعمال اللقاح بنسبة انخفاض قدرها 17.83% و 18.52% على التوالي.

وبين التداخل بين نوع الوسط الزرعي والرش بالمستخلص أن أطول ساق تحقق بمعدل 33.17 ملم مع وسط القصب عند الرش بالماء، في حين انخفض إلى 30.17 و 28.50 ملم مع وسط الخليط عند الرش بالماء وعند الرش بالمستخلص بنسبة 9.94% و 16.39% على التوالي.

وأظهر التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص أن أطول معدل للساق تحقق 32.22 و 31.22 ملم عند الرش بالماء باستعمال اللقاح وبغيره على التوالي، في حين انخفض

الطول معنوياً (P> 0.05) إلى 30.33 و 29.89 ملم عند الرش بالمستخلص باستعمال اللقاح وبغيره بنسبة انخفاض بلغت 6.23% و 7.80% على التوالي.

وتحقق أطول معدل للساق 34.67 ملم مع وسط A2S0G0، تلاه وسطي A1S1G1 و A1S1G0 بمعدل 34.33 و 34.00 ملم على التوالي، في حين كان أقل معدل للطول 26.67 ملم مع وسط A3S1G1 منخفضاً معنوياً (P> 0.05) بنسبة 30%.



شكل (16) معدل طول الساق للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

3-5-4: نسبة قطر القبعة إلى طول الساق للأجسام الثمرية

يظهر الشكل 17 والملحق 19 أن لنوع الوسط المستعمل تأثيراً معنوياً ($P> 0.05$) في زيادة نسبة قطر القبعة إلى طول الساق وبمعدل 1.82 مع وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب)، تلاه وسط القصب بمعدل 1.76، في حين انخفضت النسبة إلى 1.38 مع وسط السيطرة (وسط تبن الحنطة).

ولم يظهر استعمال اللقاح البكتيري أي تأثير على نسبة قطر القبعة إلى طول الساق إذ بلغت النسبة بمعدل 1.62 مقارنة مع 1.68 عند عدم استعمال اللقاح البكتيري.

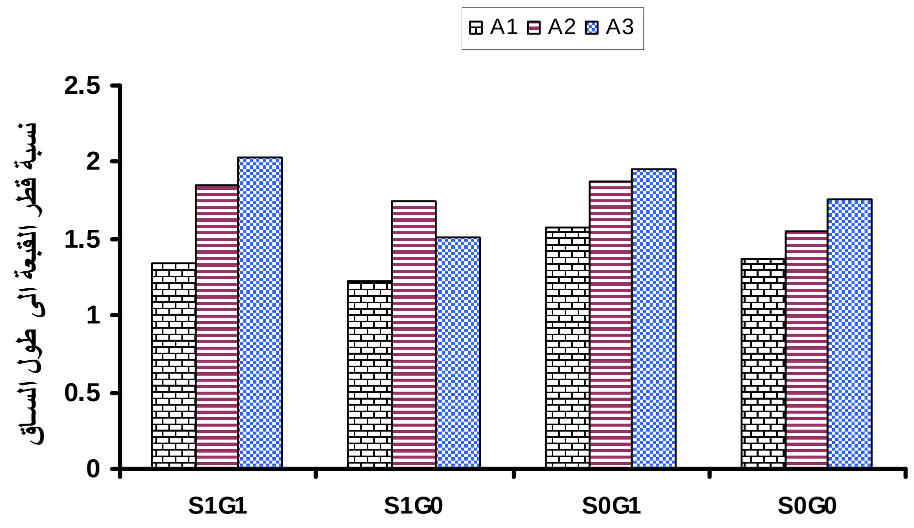
وبين الرش بمستخلص عرق السوس المائي تأثيراً معنوياً ($P> 0.05$) على نسبة قطر القبعة إلى طول الساق إذ بلغت 1.77 مقارنة مع 1.53 عند الرش بالماء.

وأظهر التداخل بين نوع الوسط واستعمال اللقاح البكتيري أن أفضل معدل لنسبة قطر القبعة إلى طول الساق 1.86 مع وسط الخليط بغير استعمال اللقاح، في حين انخفضت النسبة معنوياً إلى 1.28 مع وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح بنسبة 44.82%.

كما بين التداخل بين نوع الوسط الزرعي والرش بمستخلص عرق السوس أن أفضل نسبة معنوية ($P> 0.05$) لقطر القبعة إلى طول الساق تحققت بمعدل 2.00 مع وسط الخليط عند الرش بالمستخلص، تلاه وسط القصب عند الرش بالمستخلص بمعدل 1.86 مقارنة مع وسط تبن الحنطة والرش بالماء إذ بلغت النسبة بمعدل 1.30 منخفضة معنوياً ($P> 0.05$) بنسبة بلغت 54.21%.

وأظهر التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص تأثيراً معنوياً ($P> 0.05$) على نسبة قطر القبعة إلى طول الساق إذ بلغت أعلى نسبة بمعدل 1.80 عند الرش بالمستخلص بغير استعمال اللقاح، تلاه 1.74 عند الرش بالمستخلص باستعمال اللقاح، في حين انخفضت النسبة إلى 1.50 عند الرش بالماء باستعمال اللقاح.

وتحقق أفضل معدل معنوي (P> 0.05) لنسبة قطر القبعة إلى طول الساق 2.04 مع وسط A3S1G1، تلتــه النــسب 1.96 و 1.87 و 1.85 مــع الأوســاط A3S0G1 و A2S0G1 و A2S1G1 مقارنـة بوسـط تـبن الحنطـة القياسـي (A1S0G0) إذ بلغـت النسبة 1.36، فـي حـين كانـــت أقـــل نـــسبة متحققـــة 1.23 مـــع وســـط A1S1G0 منخفـــضة معنويـــاً (P> 0.05) بنسبة 66.01%.



شكل (17) معدل نسبة قطر القبعة إلى طول الساق للأجسام الثمرية للفطر الغذائي

A. bisporus

قد يعود انخفاض قياسات طول الساق وقطر القبعة مع وسط تبن الحنطة مقارنة مع وسط القصب إلى توافر البيئة الملائمة لتكوين كتلة حيوية بشكل كبير مما سرع نمو الأجسام الثمرية وزاد عددها في حين قلت سرعة نمو الأجسام الثمرية مع وسط القصب مما أدى إلى زيادة قطرها بسبب قلـة عددها (حمد، 2005)، أو تعود الزيـادة لقطر القبعـة فـي وسـط القصب إلـى انخفـاض عدد الأجسام الثمريـة المتكونـة ممـا أعطـى فرصـة لزيـادة وزنهـا مقارنـة بوسـط تـبن الحنطـة القياسـي

(Singh and Rajarathnam, 1977)، وهذا ما أكدته علاقة الارتباط المعنوية الموجبة لقطر القبعة مع معدل وزن الجسم الثمري وعلاقة الارتباط السالبة مع عدد الأجسام الثمرية ملحق 22.

وإن سبب التأثير المعنوي لمستخلص عرق السوس في زيادة قطر القبعة لأثر المستخلص الذي يحتوي حامض الميفالونيك (Mevalonic Acid) بادئ البناء الحيوي للجبرلين ومحتواه العالي من الكاربوهيدرات (العبدلي، 2002)، وربما تشكل الكاربوهيدرات عاملاً مساعداً وإضافياً في عمليات انقسام واستطالة الخلايا (النعيمي، 1984)، أو نتيجة للسلوك المشابه للجبرلين وأثره في تحفيز زيادة انقسام واستطالة الخلايا (Taiz and Zeiger, 1998) في حين لم يؤثر الرش بالمستخلص في زيادة طول الساق.

وتنسجم النتائج مع ما توصل إليه السعداوي (2002) إذ كان قطر القبعة 40 ملم على وسط تبن الحنطة في حين وصل إلى 49 ملم على أوساط كوالح الذرة الصفراء، في حين وصل طول الساق إلى 25 ملم مع الوسط الأول وازداد طوله إلى 29-34 ملم مع أوساط كوالح الذرة الصفراء، كما أشار Stephens (2003) إلى استمرار جني الأجسام الثمرية الناضجة بقطر قبعة يتراوح بين 25-50 ملم لمدة 6-7 أسابيع بشكل يومي أو كل بضعة أيام اعتماداً على حجم المزرعة.

6-4: المحتوى البروتيني للأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

يبين الشكل 18 والملحق 20 أن وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) أعطى أفضل محتوى من البروتينات بمعدل 20.68%، في حين انخفض المحتوى معنوياً ($P> 0.05$) إلى 18.27% و 17.24% مع وسطي تبن الحنطة القياسي والقصب بنسبة 13.23% و 19.99% على التوالي.

وأظهر استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces* O3 بتركيز 10^6 خلية/غم أن أفضل معدل لمحتوى البروتينات 19.82% تفوق معنوياً ($P> 0.05$) مقارنة بعدم استعمال اللقاح البكتيري الذي أعطى 17.64%.

وبين الرش بمستخلص عرق السوس المائي أفضل تفوقٍ معنوي ($P> 0.05$) لمحتوى البروتينات قدره 19.35% مقارنة مع 18.11% عند الرش بالماء.

وأظهر التداخل بين نوع الوسط واستعمال اللقاح بأن أفضل محتوى للبروتينات تحقق بمعدل 21.86% مع وسط الخليط باستعمال اللقاح، تلاه وسطي الخليط من غير استعمال اللقاح ووسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح بمعدل 19.51% لكل منهما، في حين كان أقل محتوى معنوي ($P> 0.05$) للبروتينات 16.39% مع وسط القصب بغير استعمال اللقاح.

أما التداخل بين نوع الوسط والرش بالمستخلص فإن أفضل محتوى للبروتينات تحقق مع وسط الخليط عند الرش بالمستخلص بمعدل 21.09%، تلاه وسطي الخليط عند الرش بالماء وتبن الحنطة عند الرش بالمستخلص بمعدل 20.28% و 18.88% على التوالي، في حين كان أقل محتوى معنوي ($P> 0.05$) للبروتينات 16.39% مع وسط القصب عند الرش بالماء.

وكان للتداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص فعله المعنوي ($P> 0.05$) في التأثير على محتوى البروتينات إذ أعطى أفضل معدل 20.39%، تلاه استعمال

اللقاح عند الرش بالماء بمعدل 19.25%، في حين أعطت المعاملة التي لم يستعمل فيها اللقاح البكتيري وتم رشها بالماء 16.96%.

وتحقق أفضل معدل معنوي ($P > 0.05$) لمحتوى البروتينات 22.18% و 21.53% مع وسطي A3S1G1 و A3S1G0 على التوالي، في حين كان أقل محتوى للبروتينات بمعدل 15.62% مع وسط A2S0G0.

إن سبب انخفاض المحتوى البروتيني للأجسام الثمرية المنتجة في وسط القصب قد يعود لقلة الأحياء المجهرية النامية من جهة وزيادة اللكنين مقارنة بالسليلوز القليل الجاهز للامتصاص مقارنة مع مصادر الكاربون الأخرى وهي الخليط وتبن الحنطة، إذ يعد لكنين القصب أبطأ تحللاً من أنصاف السليلوز والسليلوز (Edit *et. al.*, 2006)، كما أظهر وسط الخليط محتوى بروتينياً عالياً للأجسام الثمرية وربما يرجع السبب في ذلك إلى تنوع وزيادة الأحياء المجهرية النامية من المسافات المتكونة بين جزيئات الوسط مما وافر غاز الأوكسجين بشكل كافٍ أكثر من بقية الأوساط مما جعله ملائماً لنمو وتكاثر الأحياء المجهرية (البهادلي والزهرون، 1991) إذ لوحظ ارتفاع درجة حرارة وسط الخليط عند التخمر أعلى من بقية الأوساط وهذا يدل على زيادة نمو الأحياء المجهرية معطياً كتلة حيوية أسهمت في تحسين نسبة C:N Ratio التي ربما كانت مفضلة لدى الفطر الغذائي جدول 6.

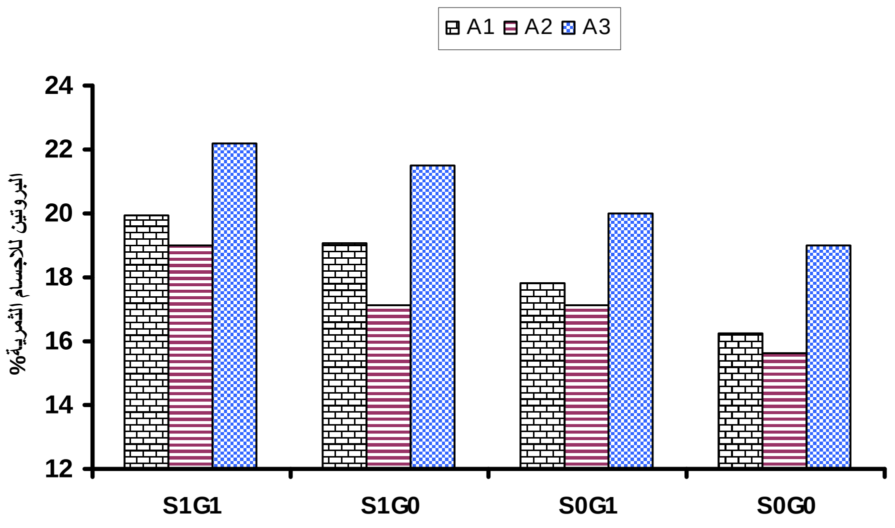
أو يكون سبب ارتفاع محتوى البروتينات في الأجسام الثمرية عند استعمال اللقاح البكتيري نتيجة للأنزيمات التي تفرزها البكتريا وخصوصاً بكتريا *Streptomyces*، كما وجد أن الأحياء المجهرية نفسها بما تحويها من أحماض امينية وأنزيمات تعد بروتينات تضاف إلى الوسط الزرعي وتعمل على زيادة المغذيات البروتينية وبالتالي ينعكس على محتوى الأجسام الثمرية من البروتينات (Benimelia *et. al.*, 2007)، لذلك فإن نمو الأحياء المجهرية على وسط الزراعة يركز مصدر

النتروجين والمعادن التي تتوافر على سطح الوسط الزرعي لدعم نمو *A. bisporus* (Savoie, 1998)، وبالتالي تستطيع الكتلة الحيوية الموجودة في وسط إنتاج الفطر منح أكثر من 10% من المغذيات التي يحتاجها الفطر *A. bisporus* في دورة الإنتاج (Fermor *et. al.*, 1991)، وإن هذه الكتلة الحيوية مؤلفة من البروتينات (Savoie, 1998).

في حين يكون سبب الزيادة الحاصلة في المحتوى البروتيني نتيجة الرش بمستخلص عرق السوس إلى نسبة البروتين الموجودة أصلاً في عرق السوس إذ بلغت نسبته 5.20% من الوزن الجاف له (موسى وآخرون، 2003)، ويأتي السبب في التأثير المعنوي لمستخلص عرق السوس إلى أثر المستخلص نتيجة لسلوكه المشابه للجبرلين وأثره في تحفيز زيادة انقسام واستطالة الخلايا (Taiz and Zeiger, 1998).

وقد يرجع سبب قلة المحتوى البروتيني للأجسام الثمرية النامية على وسط القصب إلى زيادة طول الساق مقارنة بالقبعة وهذا ما أكدته علاقة الارتباط السالبة لمحتوى البروتينات مع طول الساق أو بسبب نسبة C:N Ratio جدول 6.

وتتوافق النسب التي تم الحصول عليها مع ما توصل إليه القيسي (2006) فقد وصل المحتوى البروتيني إلى 18.99% على وسط تبن الحنطة، في حين أشار Colak *et. al.* (2007) إلى أن النسبة المئوية لبروتين الأجسام الثمرية 20.37-21.44% على وسط تبن الحنطة و 21.52-23.94% على وسط مخلفات الشاي، أما Tsai *et. al.* (2007) فقد وجدوا أن محتوى الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus* من البروتين 21.3-27% من الوزن الجاف للفطر الغذائي.



شكل (18) النسبة المئوية للمحتوى البروتيني في الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

7-4: محتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*

إن أعلى معدل لمحتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية هو 9.75 غم/كغم في وسط القصب، تلاه محتوى الأجسام الثمرية المنتجة في وسط الخليط (50% تبن الحنطة و 50% قصب) بمعدل 8.94 غم/كغم، في حين انخفض محتوى الأجسام الثمرية من الفينول الثنائي إلى 8.76 غم/كغم في وسط تبن الحنطة القياسي بنسبة انخفاض بلغت 11.31% شكل 19 وملحق 21.

وأعطى استعمال اللقاح البكتيري تفوقاً معنوياً (P> 0.05) في محتوى الفينول 9.34 غم/كغم مقارنة بغير استعمال اللقاح 8.95 غم/كغم وبنسبة انخفاض 4.35%. كما بين الرش بمستخلص عرق السوس المائي أعلى محتوى للفينول بمعدل 9.23 غم/كغم، في حين انخفض إلى 9.06 غم/كغم عند الرش بالماء بنسبة 1.83%.

وأظهر التداخل بين نوع المصدر الكاربوني واستعمال اللقاح أن أعلى معدل معنوي (P> 0.05) لمحتوى الفينول تحقق 10.46 غم/كغم مع وسط القصب باستعمال اللقاح، تلاه وسط

القصب من غير استعمال اللقاح بمعدل 9.04 غم/كغم، في حين انخفض المحتوى معنوياً (P> 0.05) إلى 8.60 غم/كغم مع وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح بنسبة انخفاض قدرها 21.60%.

أما التداخل بين نوع الوسط والرش بالمستخلص فقد أظهر أن أعلى محتوى للفينول تحقق بمعدل 10.05 غم/كغم مع وسط القصب عند الرش بالمستخلص، تلاه وسطي القصب والخليط عند الرش بالماء بمعدل 9.44 و 9.03 غم/كغم على التوالي، في حين انخفض محتوى الفينول معنوياً (P> 0.05) إلى 8.72 غم/كغم مع وسط تبن الحنطة عند الرش بالماء بنسبة 15.24%.

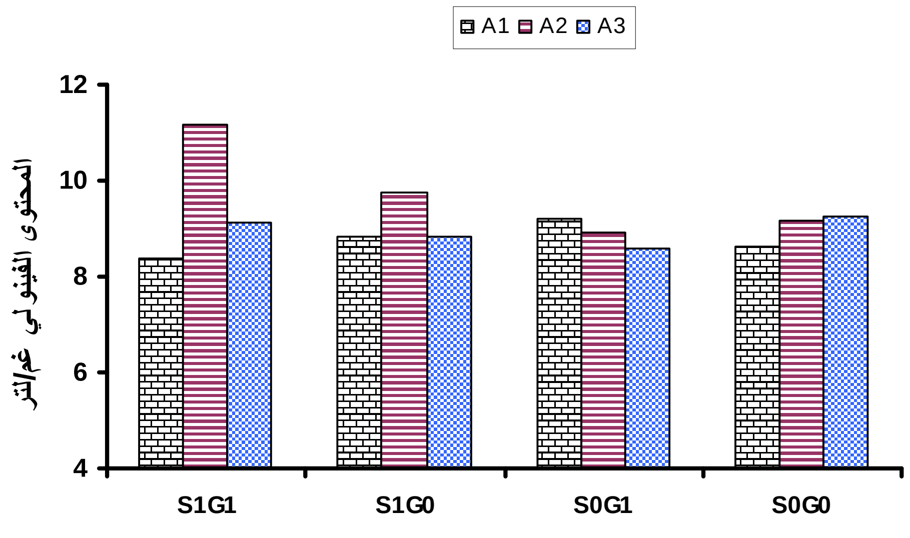
وأظهر التداخل بين استعمال اللقاح والرش بالمستخلص أن أعلى محتوى للفينول بلغ 9.56 غم/كغم، في حين انخفض إلى 9.12 و 9.01 و 8.90 غم/كغم عند الرش بالماء باستعمال اللقاح وعند الرش بالماء وبالمستخلص بغير استعمال اللقاح بنسب 4.82% و 6.16% و 7.45% على التوالي.

وتحقق أعلى معدل لمحتوى الفينول الثنائي 11.18 غم/كغم مع وسط A2S1G1، تلاه مع وسطي A2S1G0 و A3S0G0 بمعدل 9.73 و 9.23 غم/كغم على التوالي وبفرق معنوي (P> 0.05) بينهما، في حين كان أقل محتوى للفينول 8.38 غم/كغم مع وسط A1S1G1.

ويعد الفطر الغذائي *A. bisporus* مصدراً للأنزيمات منها أنزيم Laccase المهم في أكسدة المركبات الفينولية (Hou *et. al.*, 2004)، وربما يعود السبب لها في تقليل الفينول في بعض المعاملات، وللفطريات القابلية على تحليل السليلوز الملكنن لامتلاكها نظاماً أنزيمياً عالي الكفاءة إذ تمتلك الفطريات نوعين من الأنظمة الأنزيمية الخارج خلوية، أولها نظام التحلل المائي (Hydrolytic System) الذي ينتج أنزيم Hydrolase والذي يحلل السكريات المتعددة كما يعد

عاملاً مؤكسداً لانظير لـه، أما النظام الثاني فهو Ligninolytic System الذي يحلل اللكنين وحلقات الفينول (Sanchez, 2009).

وقد تعود زيادة محتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية على وسط القصب مقارنة بوسط تبن الحنطة القياسي نتيجة ازدياد قطر القبعة إذ إن مركز الفينولات التي تحدث عند انفتاح القبعة هي في منطقة الغلاصم، وهذا ما أكدته علاقة الارتباط الموجبة ملحق 22 بين محتوى الفينولات من جهة وقطر القبعة ومعدل وزن الجسم الثمري من جهة أخرى، أو من تثبيط أنزيم أكسدة المركبات الفينولية (Polyphenol Oxidase) بسبب محتوى اللكنين العالي في وسط القصب (Hou *et. al.*, 2004)، وعلى الرغم من ارتفاع المحتوى الفينولي في أنسجة الأجسام الثمرية لوسط القصب فهي مقاربة جداً إلى ما هو موجود على وسطي تبن الحنطة والخليط. إذ وصل أعلى محتوى للفينول الثنائي (Ortho Dihydric Phenols) في أنسجة الأجسام الثمرية إلى 9.35 غم/لتر مع وسط تبن الحنطة (القيسي، 2006).



شكل (19) محتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية للفطر الغذائي

A. bisporus

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات :

1. إن إضـافة مستخلص عرق السوس إلى الوسط PSA يقلل سرعة نمو الغزل الفطري *Agaricus bisporus* بنسبة 27.24% وإن إضـافة مستخلص عرق السوس بتركيز 0.05 غم/لتر إلى الوسط PS السائل يؤدي إلى زيادة الوزن الجاف للكتلة الحيوية وهو الذي بلغ 51.3 ملغم/50 مل، ويقلل المحتوى البروتيني للكتلة الحيوية المتكونة، وإن استعمال مستخلص عرق السوس بتركيز 1.00 غم/لتر في الأوسط الصلبة يؤدي إلى تثبيط النمو.
2. إن استعمال التدعيم الحيوي ببكتريا *Streptomyces* O3 مع وسط الخليط (50% تبن الحنطة مع 50% قصب) (A3S1)حقق أعلى تحلل ترافق مع ارتفاع درجة الحرارة إلى 32 درجة مئوية في اليوم السابع من بدء التخمر.
3. إن أفضل إنتاج للأجسام الثمرية تحقق 542.67 غم/ 5 كغم وسط زرعي مع وسط القصب باستعمال اللقاح البكتيري والرش بمستخلص عرق السوس (A2S1G1) وبكفاءة حيوية 32.1% بعد 21 يوماً من الجني، تلتها أعلى كفاءة حيوية بنسبة 34.2% مع وسط تبن الحنطة باستعمال اللقاح عند الرش بالماء (A1S1G0).
4. كان أعلى محتوى بروتيني مع وسط الخليط باستعمال اللقاح البكتيري (A3S1G1) الذي رش بالمستخلص بمعدل 22.18%، تلاه وسط الخليط باستعمال اللقاح البكتيري (A3S1G0) الذي رش بالماء بمعدل 21.53%، مما يعني أن وسط الخليط باستعمال اللقاح البكتيري ذو محتوى كبير من المواد المغذية التي تستمر في تجهيز وإمداد الكتلة الحيوية المتكونة بمتطلباتها التغذوية.
5. تحقق أفضل معدل لقطر القبعة مع وسطي الخليط (A3S0G1) والقصب (A2S0G1) من غير استعمال لقاح عند الرش بالمستخلص 59.33 ملم و 58.00 ملم على التوالي، في حين تحقق أفضل

معدل لوزن الجسم الثمري 50.94 غم و 49.44 غم مع نفس الوسطين A2S0G1 و A3S0G1 على التوالي .

6. بلغ المحتوى الفينولي 11.18 غم/كغم مع وسط القصب باستعمال اللقاح البكتيري والرش بمستخلص عرق السوس (A2S1G1) مقارنة مع وسط السيطرة (A1S0G0) الذي بلغ 8.63 غم/كغم .

7. إن أعلى C:N Ratio كانت 16.00:1 عند التدعيم الحيوي ببكتريا *Streptomyces* لوسط القصب (A2S1) مقارنة مع الوسط القياسي (A1S0) إذ بلغت 8.28:1 .

8. إن قيم الإيصالية الكهربائية والأملاح الكلية المذابة والرقم الهيدروجيني كانت متقاربة من بعضها البعض .

التوصيات :

1. إجراء دراسات التقصي أثر مستخلصات نباتية أخرى على سرعة نمو الغزل الفطري على الأوساط الصلبة أو تأثيرها على الوزن الجاف للكتلة الحيوية أو محتواها البروتيني واستعمال أنواع أخرى من الأحياء المجهرية في التدعيم الحيوي للأوساط الزرعية مثل بكتريا *Azotobacter* المثبتة للنتروجين أو في تحسين مواصفات الإنتاج.
2. الاستمرار في إجراء الدراسات التي يدخل فيها القصب بوصفه مادة رئيسة لإنتاج أنواع الفطريات الغذائية الأخرى مع مراعاة إجراء عمليات السحق والتجزئة لجعل هذه المخلفات بمواصفات أسهل تحللاً ويمكن أن توافر متطلبات الأوساط المثالية لإنتاج الفطريات الغذائية.
3. إجراء دراسات حول تغيير نسب مادة القصب وتبن الحنطة في وسط الخليط وإجراء دراسات في استعمال وسط الخليط في إنتاج الفطر المحاري *Pleurotus*.
4. دراسة أثر المدعمات النتروجينية الطبيعية والصناعية في تحسين أداء وسطي القصب والخليط لإنتاج الفطر الغذائي الأبيض.
5. دراسة مقارنة للمخلفات الناتجة من أوساط تبن الحنطة والقصب والخليط بعد استعمالها في تسميد الخضار أو أعلافاً للماشية أو إعادة استعمالها طبقة للتغطية.

المصـــادر

المصادر العربية:

البهادلي ، علي حسين والزهرون، هناء حمد (1991). أساسيات إنتاج الفطر (العرهون). دار الحكمة للطباعة والنشر. جامعة بغداد. العراق. 83 صفحة.

الجنابي ، عبد الباسط عباس علي (1984). تأثير مستخلصات نباتية مختلفة على فيروس موزائيك التبغ (TMV). رسالة ماجستير، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد. العراق.

حسين ، وفاء علي (2002). تأثير مستخلص الثوم وجذور عرق السوس واليوريا في صفات النمو الخضري والزهري والحاصل والصفات النوعية لنبات الخيار *Cucumis sativus* L. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد. العراق.

حمد ، حسن بردان أسود (2005). تأثير التقنية الحيوية البكتيرية وخلائط الأوساط في إنتاج الفطر المحاري Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة الانبار. العراق.

خلف الله ، عبد العزيز محمد خلف (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. دار مصر للطباعة. الخرطوم، السودان. 477 صفحة.

الدروش ، عامر خلف (1977). دراسة تأثير الموقع و موعد الجني على المكونات الرئيسية للمادة الخام والمستخلص الجاف لعرق السوس في العراق. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد. العراق.

ديكن ، جي دبليو (1983). مدخل إلى علم الفطريات الحديثة، ط 2. جامعة صلاح الدين. دار الحكمة للطباعة والنشر. أربيل، العراق. صفحة 130-314.

الربيعي ، نوال محمد علوان (2003). تأثير الرش بالمحلول المغذي النهري ومستخلص عرق السوس في النمو والأزهار والعمر الزهري في الفريزيا *Freesia hybrida* L. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد. العراق.

رضوان ، جمال الدين (2002). الفطر البستاني، مشروع تنمية المجتمع الريفي في جبل الحص.وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. مطبعة البراق. سوريا. 32 صفحة.

الزيدي ، حامد وعبد الكريم، الهام سعيد وإبراهيم، ظمياء محمود (1987). علم الأحياء

المجهرية العملي. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. الموصل، العراق. 304 صفحة.

السعداوي ، أحمد كريم عبد الرزاق (2002). استخدام كوالح الذرة الصفراء في إنتاج الفطر الزراعي الأبيض *Agaricus bisporus* . رسالة ماجستير. كلية الزراعة، جامعة بغداد. العراق.

السعدي ، حسين علي والمياح، عبد الرضا اكبر علوان (1983). النباتات المائية في العراق، منشورات مركز دراسات الخليج رقم 52. مطبعة جامعة البصرة. البصرة، العراق. صفحة141-145.

السهيلي ، إبراهيم عزيز خالد وصالح، قيصر نجيب وإسماعيل، عبد اللطيف سالم (1993). علم الفطريات. العراق. صفحة 242-251.

الشكري ، مهدي مجيد (1991). أساسيات الفطريات وأمراضها النباتية. دار الحكمة للطباعة والنشر. الموصل، العراق. صفحة 431.

صفوت ، محمد سعيد علي والخولي، محمد عبد الجليل (2006). الاتجاهات الحديثة، الواقع والمستقبل في إنتاج وتصنيع وتسويق النباتات الطبية والعطرية. الجمعية المصرية لمنتجي ومصنعي ومصدري النباتات الطبية والعطرية (إسماب).، الجيزة، مصر. 76 صفحة.

العبدلي ، هيثم محيي محمد شريف (2002). تأثير المغذيات، الجبرلين و مستخلص جذر السوس في إنتاج أزهار القرنفل *Dianthus caryophyllus* L. وظاهرة انفراج الكأس Calyx Splitting . أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد. العراق.

قاسم ، عبد الوهاب حمدي (1976). إنتاج الفطر في العراق، نشرة رقم 259. مديرية الإرشاد الزراعي العامة. العراق. 17 صفحة.

قطب ، فوزي (1977). النباتات الطبية، زراعتها، مكوناتها، فوائدها. شركة كيمفتكو للنشر. الجيزة، مصر. 358 صفحة.

القيسي ، مصطفى رشيد محجوب (2006). تقويم كفاءة المواد في إنتاجية الفطر الزراعي الأبيض *Agaricus bisporus* وتحسين قابليته الخزنية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد. العراق.

المرسومي ، حمود غربي خليفة (1999). تأثير بعض العوامل في صفات النمو الخضري والتزهير وحاصل البذور في ثلاث أصناف من البصل *Allium cepa* L. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد. العراق.

مطر ، ثامر يوسف (2008). اختبار الكفاءة التثبيطية لعزلتين محليتين من بكتريا

الستربتومايسس باستخدام نشارة الخشب كمصدر كربوني. مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة، 2(3):69-81 .

موسى ، طارق ناصر والحديثي، عبد الجبار وهيب وناصر، كلبوي عبد المجيد (2003). دراسة بعض مكونات مسحوق جذور عرق السوس المحلي (*Glycyrrhiza glabra*). مجلة العلوم الزراعية العراقية، 34(2):19-26.

النعيمي ، سعد الله نجم (1984). مبادئ تغذية النبات. مترجم للمؤلفين مينكل و كيربي. مطبعة دار الكتب. جامعة الموصل. العراق.

هوجز ، لوزنت (1989). التلوث البيئي، ترجمة محمد عمار الراوي وعبد الرحيم محمد عشير. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. الموصل، العراق. 656 صفحة.

ويبستر ، جون (1980). مدخل إلى الفطريات، ترجمة إبراهيم عزيز خالد السهيلي. مطبعة جامعة بغداد. بغداد، العراق. 590 صفحة.

المصادر الأجنبية:

ACVC, Advisory Committee on Vegetable Crops. (2005). Small Scale Mushroom Production *Agaricus bisporus*. Published by authority of the Atlantic Provinces Agariculture Services Co-ordinating Committee. Pp.4.

Alam, M. Z. ; Manchur, M. A. and Anwar, M. N. (2004). Isolation, Purification, Characterization of Cellulolytic Enzymes Produced by the Isolate *Streptomyces omiyaensis*. Pakistan. J of Bio. Sci., 7 (10): 1647-1653.

Alexander, M. (1982). Soil Microbiology, 2nd Ed. John Wiley and Sons, Inc., New York , USA. P. 90-212.

Ali, N. A. ; Bernal, M. P. and Ater, M. (2002). Tolerance and Bioacacumulation of Copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. Plant Soil, 239:103-111.

Al-Rawi, A. (1964). Wild Plants of Iraq with their Distribution. Dept. Agr. Iraq. Tech. Bull., 14:1-232

Baysal, E. ; Yigitbasi, O. N. ; Colak, M. ; Toker, H. ; Simsek, H. and Yilmaz, F. (2007). Cultivation of *Agaricus bisporus* on Some Compost Formulas and Locally Available Casing Materials. Part 1: Wheat Straw Based Compost Formulas and Locally Available Casing Materials. Afr. J. Biotechnol., 6(1):2225-2230.

Beelman, R. B. ; Royse, D. and Chikthimmah, N. (2003). Bioactive Components in *Agaricus bisporus* (J. LAG) Imbach of Nutritional, Medicinal or Biological Importance. Int. J. Med. Mushrooms, 5:321-337.

Benimelia, C. S. ; Castroa, G. R. ; Chailec, A. P. and Amoroso, M. J. (2007). Lindane Uptake and Degradation by Aquatic *Streptomyces* sp. Strain M7. Int. Biodeterior Biodegrad, 59:148-155.

Bernas, E. ; Jaworska, G. and Kmiecik, W. (2006). Storage and Processing of Edible Mushrooms. Acta Sci. Pol. Technol. Aliment., 5(2):5-23.

Beyer, D. M. and Muthersbaugh, H. R. (1996). Nutritional Factors Affecting Later Break Yield of *Agaricus bisporus*. Can. J. of Plant Sci., 76:835-840.

Beyer, D. M. (2003,A). Basic Procedures for *Agaricus* Mushroom Growing. Penn State College of Agricultural Sciences Research, Extension, and Resident Education Programs, Pennsylvania, Chester. Pp. 16.

Beyer, D. M. (2003,B). Cultivation of Oyster Mushrooms. Penn State College of Agricultural Sciences Research, Extention and Resident Education Programs Department of Agriculture, Pennsylvania, Chester. Pp. 11.

Beyer, D. (2006). Spent Mushroom Substrate (SMS). Extract from ISMS Newsletter No. 103. SMS Research at Penn State University. USA. Pp.3.

Bonnen, A. M. ; Anton, L. H. and Orth, A. B. (1994). Lignin-Degrading

Enzymes of the Commercial Button Mushroom, *Agaricus bisporus*. Applied and Environmental Microbiology, 60(3):960-965.

Breene, W. M. (1990). Nutritional and Medicinal Value of Specialty Mushroom. J. Food Protect., 53:883-894.

Buscot, F. and Varma, A. (eds.) (2005). Micro-organisms in Soils: Roles in Genesis and Functions. Soil Biology, Volume 3. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. Pp.422.

Carroll, J. E. (1989). Growing Button Mushrooms. 4-H Member's Guide M-11-6. A Cornell Cooperative Extension Publication. Cornell University. USA. Pp.5.

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.

Chen, R. ; Chen, L. and Song, S. (2003). Identification of Two Thermotplerance-Related Genes in *Agaricus bisporus*. Food Technol. Biotechnol., 41(4):339-344.

Cheung, P. C. K. (2008). Mushroom as Functional Foods. John Wiley Sons, Inc., Publication. USA. Pp. 259.

Chigaleichik, A. G. ; Shkidcheneko, A. N. and Pirieva, D. A. (1978). Chitinolytic Activity of *Actinomyces kurssanovii* under Conditions of Periodic and Continuous Culturing, Prikl. Biokhim. Mikrobiol., 14:412-416.

Clevering, O. A. and Lissner, J. (1999). Taxonomy, Chromosome Numbers, Clonal Diversity and Population Dynamics of *Phragmites australis*. Aquatic Bot., 63:1-24.

Colak, M. (2004). Temperature Profiles of *Agaricus bisporus* in Composting Stages and Effects of Different Composts Formulas and Casing Materials on Yield. African Journal of Biotechnology, 3(9):456-462.

Colak, M. ; Baysal, E. ; Simsek, H. ; Toker, H. and Yilmaz, F. (2007). Cultivation of *Agaricus bisporus* on Wheat Straw and Waste Tea Leaves Based Composts and Locally Available Casing Materials Part 3: Dry Matter, Protein and Carbohydrate Contents of *Agaricus bisporus*. Afr. J. Biotechnol., 6(24):2855-2859.

Coles, S. P. ; Barber, W. ; Beyer, D. M. ; Fleischer, S. J. ; Keil, C. ; Rinker, D. L. ; Romaine, C. P. ; Whitney, S. P. and Wuest, P. (2002). Mushroom Integrated Pest Management Handbook. Pennsylvania State University and The Cooperation of the American Mushroom Institute. USA. Pp. 91.

Crawford, R. L. (1981). Lignin Biodegradation and Transformation. John Wiley and Sons, New York. Pp. 154.

David, P. and Sheare, C. M. (1998). Isolation of Actinomycetes for Biotechnological Application. Northern Regional Research Center. Agricultural Research Service, U.S., Department of Agriculture, Peoria,

Illinois, 61604. P. 1-29.
Dubost, N. J. ; Beelman, R. P. ; Peterson, D. and Royse, D. J. (2006). Identification and Quantification of Ergothioneine in Cultivated Mushroom by Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy. Int. J. Med. Mushr., 8(3):215-222.
Edit, A-S. ; Dinka, M. ; Nemedi, L. and Horvath, G. (2006). Decompostion of *Phragmites australis* rhizome in a Shallow Lake. Aquatic Botany, 85:309-316.
Fermor, T. R. ; Wood, D. A. ; Lincoln S. P. and Fenlon, J. S. (1991). Bacteriolysis by *Agaricus bisporus*. Journal of General Microbiology, 137:15-22.
Fermor, T. R. and Grant, W. D. (1985). Degradation of Fungal and Actinomycete Mycelia by *Agaricus bisporus*. J. Gen. Microbiol., 131:1729-1734.
Flegg, P. B. and Randle, P. E. (1980). A new Outlook on Mushroom Compost Preparation. The Mushroom Journal, 91:261-363.
Flores, C. ; Vidal, C. ; Trejo-Hernandez, M. R. ; Galindo, E. and Serrano-Carreon, L. (2009). Selection of *Trichoderma* Strains Capable of Increasing Laccase Production by *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus* in Dual Cultures. J. Appl. Microbiol., 106:249-257.
Futty, P. H. (2003). Status of Mushroom Production and Research in Mauritius. Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritius., 75-82.
Gartz, J. (1995). Magic Mushroom Around the World. LIS Publication. Los Angeles, California. Pp. 115.
Gillmann, L ; Lebeault, T. M. and Cochet, N. (1994). Influence of the Casing on the Microflora of Compost Colonized by *Agaricus bisporus*. Acta Biotechnol., 14(3):275-282.
Goodfellow, M. and Cross, T. (1984). Classification. In: (Goodfellow, M. ; Mordarski, M. and Williams, S. T. E.). Pp. 7-163. The Biology of the Actinomycetes. Academic Press, London.
Gordon, D. T. (2002). Intestinal Health Through Dietary Fiber, Prebiotics and Probiotics. Food Tech., 56:23.
Hall, I. R. ; Stephenson, S. L. ; Yun, W. and Cole, A. L. J. (2003). Edible and Poisonous, Mushrooms of the World. Timber Press. Portland, Cambridge. Pp. 371.
Halpern, G. M. (2006). Healing Mushrooms. Squareone Publishers. USA. Pp. 182.
Hansson, P-A. and Fredriksson, H. (2004). Use of Summer Harvested Common Reed (*Phragmites australis*) as Nutrient Source for Organic Crop Production in Sewden. Agriculture, Ecosystem and Environment, 102:365-375.
Hartung, H. A. (1979). Glycyrrhizin-free Fractions from Licorice Root and Process for Obtaining such Fractions. United States Patent, Patent No.

4,163,067 .USA. P.1.

Hayes, W. A. and Shandilya, T. R. (1977). Casing Soil and Compost Substrates Used in the Artificial Culture of *Agaricus bisporus*, the Cultivated Mushroom. Indian J. Mycol. Plant Pathol., 7:5-10.

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

Hopwood, D. A. and Chater, K. F. (1980). Fresh Approaches to Antibiotic Production. B., 290:313-328.

Hou, H. ; Zhou, J. ; Wang, J. ; Du, C. and Yan, B. (2004). Enhancement of Laccase Production by *Pleurotus ostreatus* and Its Use for the Decolorization of Antraquinone Dye. Proc. Biochem., 39:1415-1419.

Iiyama, K. ; Lam, T. B. T. ; Stone, B. A. ; Perrin, P. S. and Macauley, B. J. (1995). Compositional Changes in Compost during Composting and Mushroom Growth Comparison of Conventional and Enviromentally Controlled Composts from Commerical Farms. Compost Science and Utilization, 3:4-21.

Ishaque, M. and Kluepfel, D. (1980). Cellulase Complex of a Mesophilic *Streptomyces flavogriseus* Strain. Can. J. Microbiol., 26:183-189.

Jackson, M. ; Karwowski, J. P. ; Therianit, R. J. ; Hardy, D. J. and McAlpine, J. B. (1990). Altromycin, Novel Pluramycin Like Antibiotic. Taxonomy of the Producing Organism, Fermentation and Antibacterial Activity. J. Antibiotic, 43:223-227.

Kavanagh, K. (2005). Fungi, Biology and Applications. John Wiley and Sons Ltd. England. Pp. 267.

Kivaisi, A. K. (2007). Mushroom Cultivation in Tanzania. University of Dar es Salaam, Tanzania. Pp. 42.

Kuhad, R. C. ; Singh, A. and Eriksoon, K-E. L. (1997) Microorgansims and Enzymes Involved in the Degradation of Plant Fiber Cell Walls. In: Eriksson, K.-E .L.(ed.). Advances in Biochemical Engineering Biotechnology Springer-Verlag, Germany, P.46- 125.

Kurtzman, R. H. (2006). Mushroom Cultivation. Published by Ralph H. Kurtzman Jr. US. Pp. 86.

Lacey, J. (1973). Actinomycetes in Soils, Compost and Fodder's. In: Csykes, G. and Skinner, F. A. E.). Actinomycetales, Characteristicsl Practical Importance. Academic Press, London, New York. P. 231-251.

Mahadevan, A. and Sridhar, R. (1986). Methods in Physiological Plant Pathology. 3rd Ed. Sivakami Publications Indira Nagar, Madra.

Martin, G. W. ; Alexopoulos, C. J. and Farr, M. L. (1983). The Genera of Myxomycetes. University of Iowa Press, Iowa City. USA. Pp. 560.

Mattila, P. ; Salo-Vaananen, P. ; Konko, K. ; Aro, H. and Jalava, T. (2002).

Basic Composition and Amino Acid Contents of Mushrooms Cultivated in Finland. J. Agri. Food Chem., 50:6419-6422.
MC, Mushrooms Canada (2007). Health Sheet. Published by Data of Mushrooms Canada. Canada. Pp. 1-3.
McCarthy, A. J. and Williams, S. T. (1992). Actinomycetes as Agents of Biodegradation in the Enviroment, A Review. Gene., 115:189-192.
Mercer, D. K. ; Iqbal, M. ; Miller, P. G. G. and McCarthy, A. J. (1996). Screening Actinomycetes for Extracellular Peroxidase Activity. Applied and Enviromental Microbiology, 62: 2186-2190.
Moustafa, A. M. (1960). Nutrition and the Development of Mushroom Flavor in *Agaricus campestris* Mycelium. Appl. Environ. Microbiol., 8 (1): 63-67.
Nobel, R. and Gaze, R. H. (1996). Preparation of Mushroom (*Agaricus bisporus).* Compost in Controlled Environments: Factors Influencing Compost Bulk Density and Productivity. International Biodeterioration and Biodegradation. P.93-100.
Noble, R. (2006). Spent Mushroom Substrate – An Alternative Use. Extract from ISMS Newsletter No. 103. SMS Research at Penn State University. USA. Pp.4.
PAAF, Public Authority of Agriculture Affairs and Fish Resources. (2004). The Fungus *Agaricus bisporus* (Mushroom). 1st Ed.Published by PAAF. Kuwait. Pp. 19.
Page, A. L. (1982). Chemical and Microbiological Properties. 2nd Ed., Am. Soc. Of Agron. Inc. Madison, Wis.
Paul, E. A. (2007). Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry. 3rd Ed. Academic Press is an imprint of Elsevier. USA. Pp. 514.
Prassad, S. ; Singh, A. and Joshi, H. C. (2007). Ethanol as an Alternative Fuel from Agricultural, Industrial and Urban Residues. Resour Conserv Recycl, 50:1-39.
Rangana, S. (1977). Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products. Tata. Mc. Grow-Hill Publishing Company Limited. New Delhi. P. 16-18.
Ren, Z. ; Guo, Z. ; Meydani, S. and Wu, D. (2008). White Button Mushroom Enhances Maturation of Bone Marrow Derived Dendritic Cells and their Antigen Presenting Function in Mice. J. Nutr. 138:544-550.
Roberts, J. S. ; Teichert, A. and Mc Hugh, T. H. (2008). Vitamin D2 Formation from Post-Harvest UV-B Treatment of Mushrooms (*Agaricus bisporus*) and Retention during Storage. J. Agaric. Food Chem., 56:4541-4544.
Roy, G. (1982). Mushroom Growing for Everyone. Fakenham Press Ltd, Fakenham, Norfolk, Great Britain. Pp. 214.
Royse, D. J. (2008). Spawning to Casing in Commerical Mushroom Production. The Pennsylvania State University. University Park, PA 16802.

Royse, D. J. and Beelman, R. B. (2005). Six Steps to Mushroom Farming. 2nd Ed. The Pennsylvania State University, College of Agricultural Sciences, University Park, PA 16803.

Royse, D. J. and Romaine, C. P. (2002). Mushroom (*A. bisporus* X-25 LeLion), (Green Molds *Trichoderma harzianum* Th4). Department of Plant Pathology, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802. FandN Tests, Vol. 58.

Sakae, H. ; Yutaka, T. and Minoru, T. (2006). Mushroom Cultivation Using Compost Produced in the Garbage Automatic Decompose-Extinguisher (GADE). Eurasian J. For Res., 9(2):61-67.

Sanchez, C. (2009). Lignocellulosic Residues Biodegradation and Bioconversion by Fungi. Elsevier Inc. Biotechnology Advances, 27:185-194.

Sanchez, J. E. and Royse, D. J. (2008). *Scytalidium thermophilum* Colonized Grain, Corn Cobs and Chopped Wheat Straw Substrates for the Production of *A. bisporus*. Bioresource Technology. 100(4):1670-1674.

Sassine, Y. N. ; Ghora, Y. ; Kharrat, M. ; Bohme, M. and Abdel-Mawgoud, A. M. R. (2005). Waste Paper as an Alternative for Casing Soil in Mushroom (*Agaricus bisporus*) Production. J. App. Sci. Res., 1(3):277-284.

Sassine, Y. N. ; Abdel-Mawgoud, A. M. R. ; Kharrat, M. ; Bohme, M. and Ghorra, Y. (2006). Mixtures of Waste Paper and Organic Wastes as Casing Soil for Mushroom (*A. bisporus*) Production. EuroJournals Publishing, Inc., 13(2):275-280.

Sassine, Y. N. ; Abdel-Mawgoud, A. M. R. ; Ghora, Y. and Bohme, M. (2007). Effect of Different Mixtures with Waste Paper as Casing Soil on the Growth and Production of Mushroom (*Agaricus bisporus*). Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 1(2):96-104.

Savoie, J.-M. (1998). Changes in Enzyme Activities during Early Growth of the Edible Mushroom, *Agaricus bisporus*, in Compost. Mycol. Res., 102(9):1113-1118.

Sawhney, S. K. and Randhir, S. (2000). Introductory Practical Biochemistry. Norsa Publishing House. New Delhi, India. Pp. 470.

Schmidt, O. (2006). Wood and Tree Fungi, Biology, Damage, Protection and Use. Springer. Germany. Pp. 334.

Shandilya, T. R. (1986). Effect of Differently Pasteurized Composts on the Yield of *Agaricus bisporus*. Indian J. Plant Pathol., 4(1):89-90.

Sharma, S. R. ; Rai, R. D. ; Yadav, M. C. and Verma, S. (2007). NRCM-Perspective Plan Vision-2025. Published by Tewari, R. P., Indian Council of Agricultural Research, India. Pp. 38.

Shirling, E. B. and Gottlieb, D. (1966). Methods for Characterization of *Streptomyces* species. Int. J. Syst. Bacteriol., 16:313–340.

Simsek, H. ; Baysal, E. ; Colak, M. ; Toker, H. and Yilmaz, F. (2008). Yield

Response of Mushroom (*Agaricus bisporus*) on Wheat Straw and Waste Tea Leaves Based Composts Using Supplements of Some Locally Available Peats and their Mixture with Some Secondary Casing Materials. Afr. J. Biotechnol., 7(2):88-94.

Singh, N. S. and Rajarathnam, S. (1977). *Pleurotus eous* (Berk) Sacc. A New Cultivated Mushroom. Current. Sci., 46(17):617-618.

Smith, J. E. (2004). Biotechnology, 4th Ed. Cambridge University Press. Cambridge. England. Pp. 271.

Song, J. ; Weon, H-Y. ; Yoon, S-H. ; Park, D-S. ; Go, S-J. and Suh, J-W. (2001). Phylogenetic Diversity of Thermophilic Actinomycetes and *Thermoactinomyces* spp. Isolated from Mushroom Compost in Korea Based on 16S rRNA Gene Sequence Analysis. FEMS Microbiology Letters, 202:97-102.

Stamets, P. and Chilton, J. S. (1983). Mushroom Cultivator: A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home. Agarikon Press. Washington. Pp. 415.

Stephens, J. M. (2003). Mushroom - *Agaricus bisporus* (Lge.) Sing. Document is HS628, Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida, Gainesville FL 32611.

Stevens, R. E. (1974). Mycology Guidebook. University of Washington Press, Mycological Society of America. USA. Pp. 703.

Straatsma, G. ; Gerrits, J. P. G. ; Augustijn, M. P. A. M. ; op den Camp, H. J. M. ; Vogels, G. D. and van Griendsven, L. J. L. D. (1989). Population Dynamics of *Scytalidium thermophilum* in Mushroom Compost and Stimulatory Effects on Growth Rate and Yield of *Agaricus bisporus*. J. Gen. Microbiol., 135:751-759.

Suslow, T. V. and Cantwell, M. (2008). Mushroom, Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. PTRIC, Postharvest Technology Research Information Center. University of California. California. Pp.3.

Taiz, L. and Zeiger, E. (1998). Plant Physiology, 2nd Ed. ,Sunderland MA, U.S.A.

Tautorus, T. E. (1985). Mushroom Fermentation, Advances in Biotechnological Processes, Vol. 5. Alan R. Liss, Inc., New York.

Tawfiq, A. A. (2000). Isolation and Identification of Cellulolytic *Streptomyces* Species from the Local Soil. A Thesis Submitted to the College of Science of Saddam University.

Tawfiq, A. A. ; Mohammed, A. K. I. and Baha, A. M. (2002). A Study on Celluloltic Activities of *Streptomyces* Isolates. Iraqi. J. Biotech. 1 (1): 148-160.

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

Toker, H. ; Baysal, E. ; Yigitbasi, O. N. ; Colak, M. ; Peker, H. ; Simsek, H.

and Yilmaz, F. (2007). Cultivation of *Agaricus bisporus* on Wheat Straw and Waste Tea Leaves Based Composts Using Poplar Leaves as Activator Material. Afr. J. Biotechnol., 6(3):204-212.

Tsai, S-Y. ; Wu, T-P. ; Huang, S-J. and Mau, J-L. (2007). Nonvolatile Taste Components of *Agaricus bisporus* Harvested at Different Stages of Maturity. Food Chemistry, 103:1457-1464.

Tseng, Y.-H. and Mau, J.-L. (1999). Contents of Sugars, Free Amino Acids and Free 5'-Nucleotides in Mushrooms, *Agaricus bisporus*, during Post-Harvest Storage. J. Sci. Food Agric., 79(11):1519-1523.

Tuomela, M. ; Vikman, M. ; Hatakka, A. and Itavaara, M. (2000). Biodegradation of Lignin in a Compost Enviroment: a Review. Bioresource Technology, 72:169-183.

USDA, United States Department of Agriculture (2006). Nutrient Database. The Nutrient Data Laboratory (NDL) has the responsibility to develop USDA's National Nutrient Database for Standard Reference. P.1.

USDA, United States Department of Agriculture (2007). Mushrooms: U.S. import-eligible countries; world production and exports. P.1.

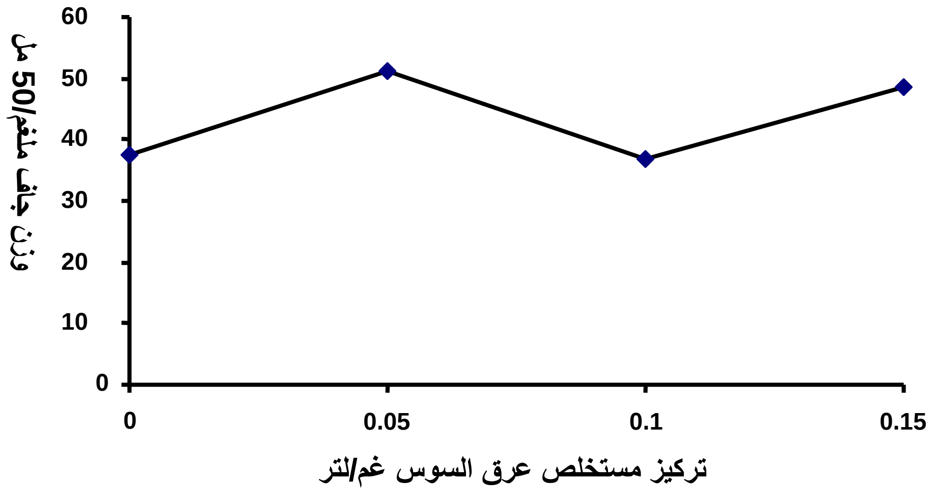
Uzun, I. (2004). Use of Spent Mushroom Compost in Sustainable Fruit Production. Journal of Fruit and Omamental Plant Research. Special Edition, 12:157-165.

Vedder, P. I. G. (1978). Modern Mushroom Growing. Director of Mushroom Grower's Training Centre in Horst, The Netherlands. Pp. 416.

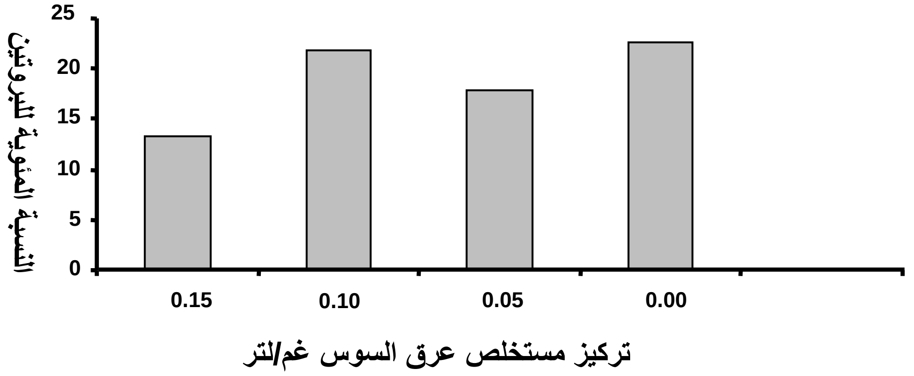
Vetter, J. and Lelley, J. (2004). Selenium Level of the Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus*. Acta Alimentaria., 33(3):297-301.

Wood, D. (1976). Primordium Formation in Axenic Cultures of *A. bisporus* (Lang). Sing. J. Gen. Microbiol., 95:313-323.

ملحق (1) الوزن الجاف للكتلة الحيوية للفطر الغذائي *A. bisporus* المتكونة في الأوساط السائلة المعاملة بتركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس



ملحق (2) النسبة المئوية للمحتوى البروتيني في الكتلة الحيوية للفطر الغذائي *A. bisporus* المتكونة في الأوساط السائلة المعاملة بتركيزات مختلفة من مستخلص عرق السوس

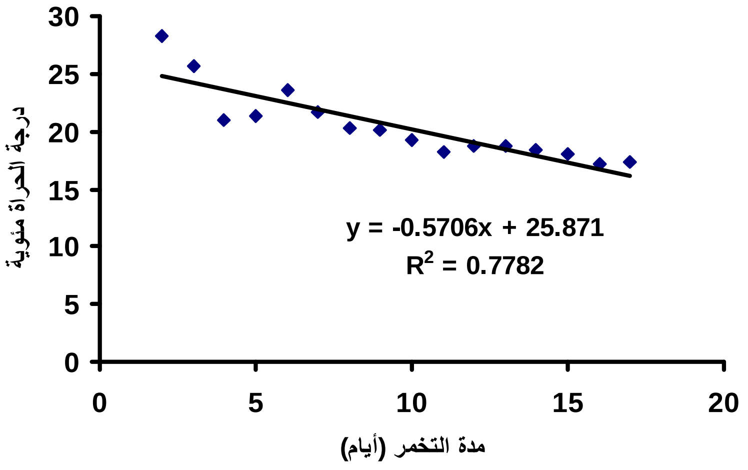


ملحق (3) درجات الحرارة المئوية للأوساط الزرعية عند عملية التخمر يومياً

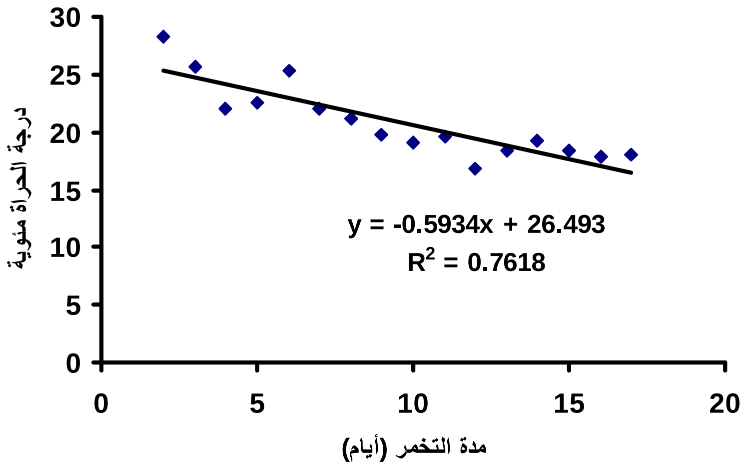
الأيام	A1S0	A1S1	A2S0	A2S1	A3S0	A3S1
1	-	-	-	-	-	-
2	28.2	28.2	26.3	26.3	29.0	29.0
3	25.6	25.6	24.9	24.9	25.8	25.8
4	21.0	22.0	26.9	21.1	22.2	26.3
5	21.3	22.6	23.5	21.5	26.9	29.0
6	23.5	25.3	22.2	23.2	24.7	29.0
7	21.6	22.0	20.6	19.3	21.6	32.0
8	20.3	21.1	21.8	20.0	21.8	24.5
9	20.1	19.7	20.1	19.2	21.7	25.7
10	19.2	19.0	20.0	16.8	20.5	23.3
11	18.2	19.6	19.8	18.6	19.6	25.7
12	18.7	16.8	20.3	19.5	19.2	22.7
13	18.7	18.3	20.1	19.5	19.8	25.3
14	18.3	19.3	20.2	19.3	19.0	25.3
15	18.0	18.3	19.0	18.2	18.8	24.0
16	17.2	17.8	17.2	16.7	18.7	22.1
17	17.3	18.1	18.0	18.0	18.1	20.5

الأيام	معدل A1	معدل A2	معدل A3	الأيام	معدل S0	معدل S1
1	-	-	-	**1**	-	-
2	28.2	26.3	29.0	**2**	27.8	27.8
3	25.6	24.9	25.8	**3**	25.4	25.4
4	21.5	24.0	24.3	**4**	23.4	23.1
5	22.0	22.5	28.0	**5**	23.9	24.4
6	24.4	22.7	26.9	**6**	23.5	25.8
7	21.8	20.0	26.8	**7**	21.3	24.4
8	20.7	20.9	23.2	**8**	21.3	21.9
9	19.9	19.7	23.7	**9**	20.6	21.5
10	19.1	18.4	21.9	**10**	19.9	19.7
11	18.9	19.2	22.7	**11**	19.2	21.3
12	17.8	19.9	21.0	**12**	19.4	19.7
13	18.5	19.8	22.6	**13**	19.5	21.0
14	18.8	19.8	22.2	**14**	19.2	21.3
15	18.2	18.6	21.4	**15**	18.6	20.2
16	17.5	17.0	20.4	**16**	17.7	18.9
17	17.7	18.0	19.3	**17**	17.8	18.9

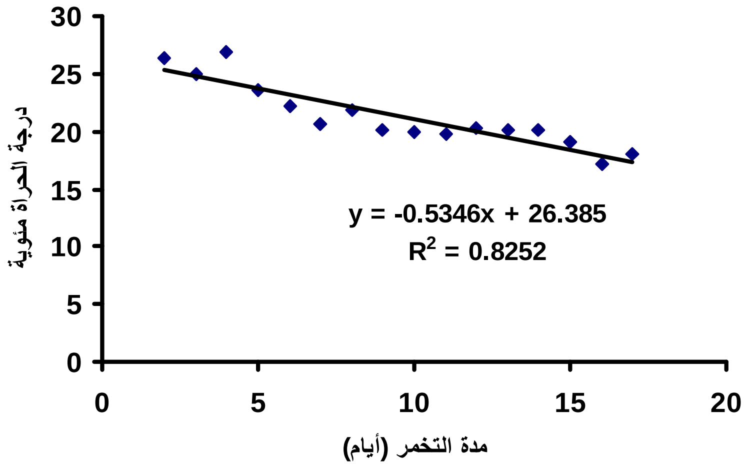
ملحق (4) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط تبن الحنطة بغير استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*



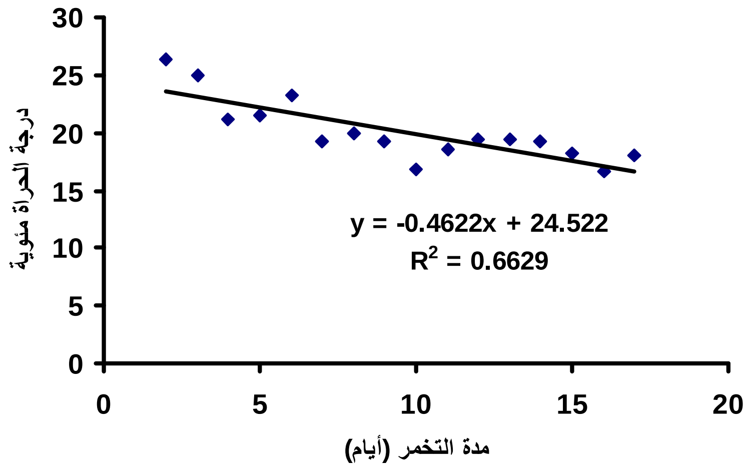
ملحق (5) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط تبن الحنطة باستعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*



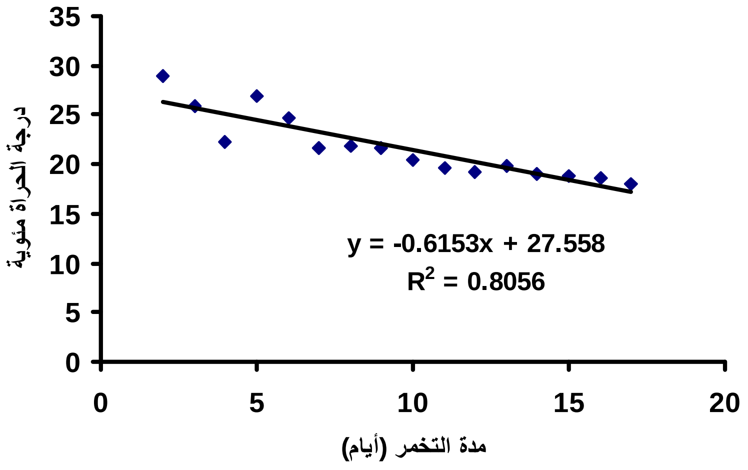
ملحق (6) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط القصب بغير استعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*



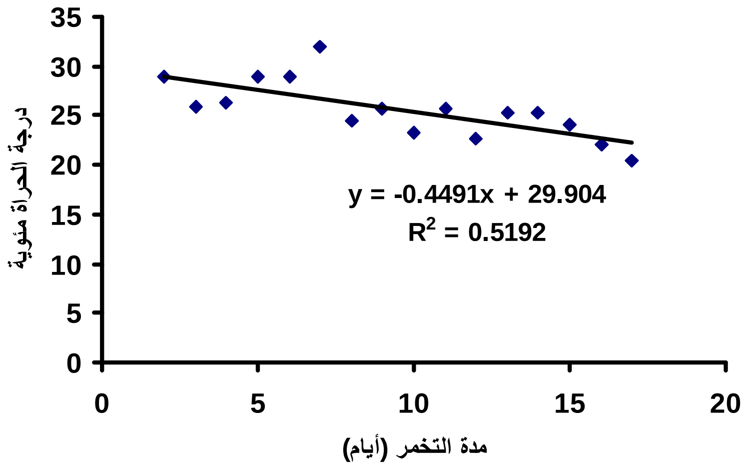
ملحق (7) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط القصب باستعمال لقاح بكتريا *Streptomyces*



ملحق (8) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط الخليط (50% تبن الحنطة + 50% قصب) بغير استعمال لقاح بكتريا ***Streptomyces***



ملحق (9) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التخمر في وسط الخليط (50% تبن الحنطة + 50% قصب) باستعمال لقاح بكتريا ***Streptomyces***



ملحق (10) قيم الإيصالية الكهربائية للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة

معدل S	A3	A2	A1	المعاملات
17.900	20.400	12.000	21.300	S0
18.070	19.780	14.700	19.730	S1
-	20.090	13.350	20.515	معدل A

LSD P> 0.05 A=0.04140 , S=0.03381 , A*S=0.05855

ملحق (11) قيم الأملاح الكلية المذابة في الأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة

معدل S	A3	A2	A1	المعاملات
9.0756	10.0867	6.3800	10.7600	S0
9.0356	9.9067	7.3200	9.8800	S1
-	9.9967	6.8500	10.3200	معدلA

LSD P> 0.05 A=0.01828 , S=0.01492 , A*S=0.02585

ملحق (12) قيم الرقم الهيدروجيني للأوساط الزرعية بعد جاهزية الوسط للزراعة

معدل S	A3	A2	A1	المعاملات
7.918	7.797	8.140	7.817	S0
7.938	7.937	8.057	7.820	S1
-	7.867	8.098	7.818	معدلA

LSD P> 0.05 A=0.0559 , S=0.0456 , A*S=0.7478

ملحق (13) الإنتاجية للفطر الغذائي *A. bisporus* لكل 5 كغم وسط زرعي طري ولمدة 21 يوم

المعدل S*G	A3	A2	A1	المعاملات	
376.78	453.33	325.33	351.67	G0	S0
377.11	348.00	445.33	338.00	G1	
المعدل S0	400.67	385.33	344.83	المعدل A*S0	
376.94					
454.00	441.00	450.00	471.00	G0	S1
406.00	351.33	542.67	324.00	G1	
المعدل S1	396.17	496.33	397.50	المعدل A*S1	
430.00					
المعدل G	398.42	440.83	371.17	المعدل A	
415.39	447.17	387.67	411.33	المعدلA*G0	
391.56	349.67	494.00	331.00	المعدلA*G1	

LSD P> 0.05 A=4.156, S=3.394 , G=3.394, AS=5.878, AG=5.878, SG= 4.799, ASG=8.313

ملحق (14) النسبة المئوية للكفاءة الحيوية في إنتاج الفطر الغذائي *A. bisporus*

المعدل S*G	A3	A2	A1	المعاملات	
23.7	**28.0**	**19.9**	**23.2**	G0	S0
23.9	**22.1**	**27.3**	**22.3**	G1	
المعدل S0	**25.1**	**23.6**	**22.7**	المعدل A*S0	
23.8					
29.1	**26.5**	**26.6**	**34.2**	G0	S1
23.6	**15.1**	**32.1**	**23.5**	G1	
المعدلS1	**20.8**	**29.3**	**28.8**	المعدل A*S1	
26.3					
المعدل G	**22.9**	**26.5**	**25.8**	المعدل A	
26.4	**27.3**	**23.3**	**28.7**	المعدلA*G0	
23.7	**18.6**	**29.7**	**22.9**	المعدلA*G1	

LSD P> 0.05 A=7.65, S=6.24, G=6.24, AS =10.82 , AG=10.82, SG= 8.83 , ASG=15.30

ملحق (15) معدل وزن الجسم الثمري للفطر الغذائي *A. bisporus*

المعاملات		A1	A2	A3	المعدل S*G
S0	G0	19.23	42.50	39.76	33.83
	G1	29.28	50.94	49.44	43.22
المعدل A*S0		24.26	46.72	44.60	المعدل S0 38.53
S1	G0	23.60	47.21	36.14	35.65
	G1	28.57	43.84	43.17	38.52
المعدل A*S1		26.09	45.52	39.66	المعدلS1 37.09
المعدل A		25.17	46.12	42.13	المعدل G
المعدلA*G0		21.42	44.86	37.95	34.74
المعدلA*G1		28.93	47.39	46.30	40.87

LSD P> 0.05 A=1.623 , S=1.325, G=1.325 , AS=2.295 , AG=2.295, SG=1.874, ASG=3.246

ملحق (16) عدد الأجسام الثمرية لكل صندوق للفطر الغذائي
A. bisporus

المعاملات		A1	A2	A3	المعدل S*G
S0	G0	19.33	6.67	11.00	12.33
	G1	13.67	7.67	6.67	9.33
المعدل A*S0		16.50	7.17	8.83	المعدل S0 10.83
S1	G0	24.00	6.33	13.00	14.44
	G1	12.67	9.00	7.00	9.56
المعدل A*S1		18.33	7.67	10.00	المعدلS1 12.00
المعدل A		17.42	7.42	9.42	المعدل G
المعدلA*G0		21.67	6.50	12.00	13.39
المعدلA*G1		13.17	8.33	6.83	9.44

LSD P> 0.05 A=0.659 , S=0.538, G=0.538, AS =0.932, AG=0.932, SG=0.761, ASG=1.317

ملحق (17) معدل قطر القبعة للأجسام الثمرية (ملم)

المعدل S*G	A3	A2	A1	المعاملات	
48.56	51.67	53.67	40.33	G0	S0
53.89	59.33	58.00	44.33	G1	
المعدل S0	55.50	55.83	42.33	المعدل A*S0	
51.22					
48.00	47.00	55.33	41.67	G0	S1
51.78	54.33	55.00	46.00	G1	
المعدلS1	50.67	55.17	43.83	المعدل A*S1	
49.89					
المعدل G	53.08	55.50	43.08	المعدل A	
48.28	49.33	54.50	41.00	المعدلA*G0	
52.83	56.83	56.50	45.17	المعدلA*G1	

LSD P> 0.05 A=1.815, S=1.482, G=1.482, AS =2.566, AG=2.566, SG=2.096, ASG=3.630

ملحق (18) معدل طول الساق للأجسام الثمرية (ملم)

المعدل S*G	A3	A2	A1	المعاملات	
31.22	29.33	34.67	29.67	G0	S0
29.89	30.33	31.00	28.33	G1	
المعدل S0	29.83	32.83	29.00	المعدل A*S0	
30.56					
32.22	31.00	31.67	34.00	G0	S1
30.33	26.67	30.00	34.33	G1	
المعدلS1	28.83	30.83	34.17	المعدل A*S1	
31.28					
المعدل G	29.33	31.83	31.58	المعدل A	
31.72	30.17	33.17	31.83	المعدلA*G0	
30.11	28.50	30.50	31.33	المعدلA*G1	

LSD P> 0.05 A=1.208, S=0.986, G=0.986, AS=1.708, AG=1.708, SG=1.395, ASG=2.416

ملحق (19) نسبة قطر القبعة إلى طول الساق للأجسام الثمرية

المعاملات		A1	A2	A3	المعدل S*G
S0	G0	1.363	1.550	1.760	1.558
	G1	1.570	1.873	1.957	1.800
المعدل A*S0		1.467	1.712	1.858	المعدل S0
					1.679
S1	G0	1.227	1.750	1.513	1.497
	G1	1.340	1.850	2.037	1.742
المعدل A*S1		1.283	1.800	1.775	المعدلS1
					1.619
المعدل A		1.375	1.756	1.817	المعدل G
المعدلA*G0		1.295	1.650	1.637	1.527
المعدلA*G1		1.455	1.862	1.997	1.771

LSD P> 0.05 A=0.0838, S=0.0684, G=0.0684, AS =0.1185, AG=0.1185, SG=0.0968, ASG=0.1676

ملحق (20) النسبة المئوية للمحتوى البروتيني في الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

المعاملات		A1	A2	A3	المعدل S*G
S0	G0	16.230	15.620	19.030	16.960
	G1	17.810	17.150	19.990	18.317
المعدل A*S0		17.020	16.385	19.510	المعدل S0
					17.638
S1	G0	19.070	17.150	21.530	19.250
	G1	19.950	19.030	22.180	20.387
المعدل A*S1		19.510	18.090	21.855	المعدلS1
					19.818
المعدل A		18.265	17.237	20.682	المعدل G
المعدلA*G0		17.650	16.385	20.280	18.105
المعدلA*G1		18.880	18.090	21.085	19.352

LSD P> 0.05 A=0.3185, S=0.2601, G=0.2601, AS =0.4505, AG=0.4505, SG= 0.3678, ASG=0.6371

ملحق (21) محتوى الفينول الثنائي في أنسجة الأجسام الثمرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

المعاملات		A1	A2	A3	المعدل S*G
S0	G0	8.633	9.153	9.230	9.006
	G1	9.197	8.923	8.573	8.898
المعدل A*S0		8.915	9.038	8.902	المعدل S0 8.952
S1	G0	8.813	9.730	8.820	9.121
	G1	8.383	11.180	9.120	9.561
المعدل A*S1		8.598	10.455	8.970	المعدلS1 9.341
المعدل A		8.757	9.747	8.936	المعدل G
المعدلA*G0		8.723	9.442	9.025	9.063
المعدلA*G1		8.790	10.052	8.847	9.229

LSD P> 0.05 A=0.2975, S=0.2429, G=0.2429, AS =0.4207, AG=0.4207, SG=0.3435, ASG=0.5950

ملحق (22) علاقة الارتباط بين الصفات المدروسة في إنتاج الفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*

الصفات المترابطة	الإنتاجية لكل 5 كغم وسط زرعي	% للكفاءة الحيوية	معدل وزن الجسم الثمري غم	عدد الأجسام الثمرية / صندوق	قطر القبعة ملم	طول الساق ملم	نسبة قطر القبعة إلى طول الساق	% للبروتينات في الأجسام الثمرية
% للكفاءة الحيوية	0.483							
معدل وزن الجسم الثمري غم	0.221	-0.056						
عدد الأجسام الثمرية / صندوق	0.084	0.267	-0.883					
قطر القبعة ملم	0.153	-0.155	0.955	-0.865				
طول الساق ملم	-0.012	0.151	-0.144	0.176	-0.116			
نسبة قطر القبعة إلى طول الساق	0.127	-0.202	0.826	-0.770	0.848	-0.618		
% للبروتينات في الأجسام الثمرية	0.079	-0.061	0.092	-0.037	0.058	-0.305	0.244	
محتوى الفينول الثنائي غم/كغم	-0.616	0.026	0.310	-0.283	0.298	-0.168	0.326	-0.080

Summary :

This study was conducted on 22/10/2008 in the laboratory of microbiology in the Department of Life Sciences in the College of Science - University of Al-Anbar and agriculture in the room was prepared for this purpose in the city of Heet. The white button mushroom Agaricus bisporus is an edible heterotrophic fleshy fungus. It utilizes cellulatic materials for growth and fruiting bodies formation, Thus it associate in the biodegradation of agriculture wastes specialy wheat straw which used over world as a essential substrate to preperation the compost.

It has been found that the nutritional value of the compost is significantly influenced the fungus growth and its productivities.

Laboratory and field experiments were conducted to evaluate the influence of study of the effect of Liquorice extract on the mycelia growth rate, mat dry weight and its protein content, the possibility to use the common reed plant wastes in the preparation of compost for Agaricus bisporus rather than wheat straw, which was adopted as a basic substrate in the preparation the compost in this world, study the influence of bacteria Streptomyces O3 to improve specifications of the compost and increase productivity of the fruting bodies and study of the effect of Liquorice extract spraying water to increase the productivity and quality of the fruting bodies.

1- The results revealed that not effect in mycelial growth rate of the Agaricus bisporus on culture medium while in mat dry weight was obtaind the best result with 0.05 g/L licorice extract 51.3 mg/50 ml compared with 37.5 mg/50.

2- The time required to prepare a suitable compost in need more time when used the common reed waste with the biofertilization a 41 days compared to the control compost of wheat straw, which took 30 days, the

same period had disappeared by the smell of ammonia. When examining the thermal behavior among the highest recorded temperature of 32.0 degrees Celsius in the day 7 of the start of the fermentation with the compost of the mixture with the biofertilization recorded 23.2 degrees Celsius. When comparing the values of electrical conductivity (EC) found it 13.35, 20.09 and 20. 51 ms/cm with common reed waste, the mixture compost and wheat straw, respectively. While the content of total dissolved salts (TDS) 10.32, 10.00 and 6.85 g/L in the compost of wheat straw, the mixture and common reed waste compost, respectively. While the pH values showed that values 8.10, 7.87 and 7.82 with the compost of the common reed waste, followed by the mixture and wheat straw compost, respectively, and using the bacteria led to increase the pH and low values of total dissolved salts.

3- The chemical analysis of the compost that the highest content (P> 0.05) of the carbon rate of 22.35% with the compost of the common reed waste, followed by an average of the mixture and wheat straw compost at a 21.36% and 20.05%. For the nitrogen content of the best content of (P> 0.05) nitrogen rate of 2.40% with the wheat straw. The lower proportion of carbon to nitrogen (C: N Ratio) was 8.51:1 with the compost of wheat straw.

4- The best production of fruiting bodies achieved 440.83 g/5 kg with the compost of common reed waste after 21 days of harvest, compared with 371.17 g/5 kg from wheat straw, while use of the bacteria led to increased bacterial production rate of 430.00 g/5 kg (P> 0.05) compared to the vaccine without the use of 376.94 g/5 kg, while using the vaccine led to increased production rate of 430.00 g/5 kg (P> 0.05) compared without use the vaccine 376.94 g/5 kg, and that the best biological efficiency of 26.5% achieved with the common reed waste compost, followed by an average of

wheat straw the best rate of fruiting bodies weight 46.12 g with the compost of the common reed waste, compared with 25.17 g on control of wheat straw compost, while for a number of fruiting bodies achieved the greatest number of 17.42 fruiting bodies / box with the wheat straw compost, compared with 7.42 fruiting bodies / box from the common reed waste compost, while use of the vaccine gave 12.00 fruiting bodies / box (P> 0.05) compared with 13.39 fruiting bodies / box (P> 0.05) of non-use when spraying by water.

5- For the quality of fruiting bodies that the highest cap dimater and a longer stipe 55.5 mm and 31.83 mm was obtaind from common reed waste compost compared with 43.08 mm and 31.58 mm from wheat straw, while use of the vaccine led to an increase in leg length was 31.28 mm and low diameter cap to 49.89 mm, while the diameter to 52.83 mm when spraying Liquorice extract.

6- The best protein content of 20.68% with fruit bodies from the compost of the mixture, compared with 18.27% on fruit bodies from wheat straw, while the use of the vaccine led to increase this content 19.82% compared with 17.64% without the use of the vaccine. The the highest content of phenols 9.75 g/kg with the compost of the common reed waste, compared with wheat straw 8.76 g/kg.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
Al-Anbar University
College of Science

Biotechnology for Local Compost Preparation Used to Produce Mushroom *Agaricus bisporus*.

A Thesis submitted to College of Science - University of Al-Anbar in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Biology

By

Mustafa Nadhim Owaid Hamad Alheeti

B. Sc. Biology – 2003

Supervised By
Prof. Dr. Idham Ali Abed Al-Assaffii
College of Agriculture

Supervised By
Ass. Prof. Dr. Mowafaq Mizban Muslat
College of Agriculture

September 2009 **Ramadan 1430**

Email: Mustafa@alheeti.com