



جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم علوم البستنة

دراسة التنوع البيئي والحيوي للفظر المحاري *Pleurotus spp.* في منطقة جنوب غرب حماه بهدف

انتخاب سلالات عالية الجودة واستزراعها

Study of Ecological and Biological Diversity of *Pleurotus*
spp. in South West Hama for Selection and Culture of
High Quality Strains

أطروحة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية
(قسم علوم البستنة)

إعداد المهندس

لونا محسن أحمد

المشرف المشارك

الدكتور موفق جبور

باحث - إدارة بحوث البستنة

الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية

المشرف الرئيسي

الدكتور رمزي مرشد

الأستاذ المساعد في قسم علوم البستنة

كلية الهندسة الزراعية - جامعة دمشق

دمشق 2020م

تصريح

أصرح بأن هذا البحث بعنوان "دراسة التنوع البيئي والحيوي للفطر المحاري *Pleurotus spp.* في منطقة جنوب غرب حماه بهدف انتخاب سلالات عالية الجودة واستزراعها" لم يسبق أن قبل لأي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة

لونا محسن أحمد

Declaration

I confirm that this study titled as "Study of Ecological and Biological Diversity of *Pleurotus spp.* in South West Hama for Selection and Culture of High Quality Strains" has not submitted previously to get a certificate and it is not submitted now to get any other certificate.

Candidate

Luna Mohsen Ahmad

شهادة

نشهد بأن هذا العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة لونا محسن أحمد بإشراف الدكتور رمزي مرشد الأستاذ المساعد في كلية الزراعة - جامعة دمشق والباحث الدكتور موفق جبور من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية GCSAR وأية مراجع أخرى بحثت في هذه الرسالة موثقة في نص الرسالة، كما نشهد بأن هذا البحث لم يسبق أن قبل للحصول على أية شهادة، وهو غير مقدم حالياً للحصول على أية شهادة أخرى.

المرشحة

م. لونا محسن أحمد

المشرفون

د. رمزي مرشد

د. موفق جبور

CERTIFICATE

It is hereby certified that the work described in this thesis is the result of author's own investigation under the supervision of Dr. Ramzi Murshed from the Horticulture Department, Faculty of Agriculture Damascus University, and Dr. Mouwafak Jbour, the General Commission for Scientific Agricultural Research GCSAR, and any reference to other researches work has been fully acknowledged in the text, this work has not already been accepted for any degree, nor has been submitted concurrently for any other degree.

Supervisors

Dr. Ramzi Murshed

Dr. Mouwafak Jbour

Candidate

Agronomist Luna Mohsen Ahmad

قدمت هذه الرسالة لاستكمال مستلزمات نيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية-
اختصاص علوم البستنة- كلية الزراعة- جامعة دمشق.

This thesis has been submitted in fulfillment of the requirements for
the degree of Ph. D. in Horticultural Science, Faculty of Agriculture,
Damascus University.

نوقشت هذه الرسالة بتاريخ 12 / 8 / 2020 وأجيزت.

لجنة الحكم مؤلفة من السادة:

الأستاذ الدكتور خليل المعري

رئيساً

الدكتور بسام أبو ترابي

عضواً

الدكتور رمزي مرشد

عضواً مشرفاً

الدكتورة رانيا سعود

عضواً

الدكتور فهد البيسكي

عضواً

شكر وتقدير

في نهاية هذا العمل، أحمد الله تعالى على ما وهبني من طاقة وصبر وعزيمة حتى وصلت إلى هذه المرحلة التي طالما حلمت بالوصول إليها والتي أتمنى أن تكون بداية لطريق جديد أرجو الله تعالى أن يوفقني للمضي فيه بالشكل الأمثل كي أحصل على مزيد من العلوم والمعرفة فتكون ذخيرتي في الأيام المقبلة أتمكن من خلالها وعلى قدر استطاعتي أن أكون فرداً فاعلاً في عائلتي ومجتمعي .

وأوجه بالشكر أولاً لرئاسة جامعة دمشق وعمادة كلية الزراعة وقسم علوم البستنة على ما قدموه من تسهيلات لإنجاح هذا العمل .

وأقدم بأسمى آيات الشكر والعرفان مع خالص تقديري واحترامي إلى أساتذتي الأفاضل الدكتور مرزقي مرشد من كلية الزراعة قسم علوم البستنة، والدكتور موفق جبور من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، اللذين تفضلاً بالإشراف على هذه الرسالة وما بخلاً أبداً بتقديم ما لديهم من علم ومعرفة وبكل محبة وصدق وأمانة، وكان لهما الدور الأكبر من خلال توجيهاتهما ومتابعتهما المباشرة والمستمرة ودعمهما المعنوي بنجاح هذا العمل . كما لا أنسى الفضل الكبير لأستاذي المرحوم الدكتور موفق يرق الذي فارقنا في بداية هذا العمل .

والشكر الجزيل للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية ممثلة بالسيدة المدير العام الدكتورة ماجدة مفلح ومدير إدارة بحوث البستنة الدكتور خلدون طيبة والمعاون الدكتور أسامة العبد الله على توفير كافة المستلزمات الفنية لإتمام هذا العمل .

وكل الشكر والتقدير للدكتور فهد البيسكي والدكتور حجازري مندو من الهيئة العامة للتقانات الحيوية على مساعدتهم لي ومساهماتهم الكبيرة في هذا العمل .

كما أتقدم بالشكر الجزيل للزملاء في إدارة بحوث الثروة الحيوانية ممثلة بالمدير الدكتور منصور أحمد والكيميائية هنا المفشي لتقديمهم التسهيلات اللازمة لإجراء التحاليل الكيميائية الخاصة بالبحث في مخابر الإدارة .

وأوجه بالشكر والتقدير لكافة الزملاء في إدارة بحوث البستنة، وأخص بالذكر الدكتور سهيل محول، والزملاء في محطة بحوث برشين م . يوسف ديب، د . إبراهيم خليفة، د . محمد إبراهيم، د . سعود صوان الذين قدموا لي الكثير من العون والمساعدة .

وأيضاً شكراً من القلب لكل ما ساعدني في إتمام هذا العمل حتى لو بكلمة أو موقف أو فكرة .

كلمة وإهداء

ترافقني ذكراك في كل تفاصيل حياتي، يا من غرست فينا قيماً ومبادئاً ما نرالت وستبقى دائماً تدلنا وترشدنا في دربنا ومستقبلنا، في كل يوم يمضي من عمري تزيد خسارتي بفقدانك وينزهد إدراكي وفهمي لعظيم الشخص الذي كنت ولعظمة القيم والمعاني التي حملت والنبل الذي اتسمت به والطيبة التي انفردت بها وجعلت منك تلك الأيقونة التي ما عرفها أحد إلا وتركت في قلبه لمسة حزن يرافقها ذكرى جميلة تحمله على الابتسام، في كل يوم وفي كل لحظة أحمده الله وأشكره أنك أنت من كنت أبي إلى مروحك الطاهرة

والدي الحبيب

المرية الفاضلة والإنسانة العظيمة والسيدة الراقية التي تدعو إلى المحبة في كل كلمة وجملته تنطق بها .
الأم الحنون والمرأة العظيمة التي كانت وما نزلت وبكل قوتها وإرادتها تدفعنا في دروب الحياة الصعبة وتبث فينا القوة والأمل لنكون ناجحين وقادريين على بناء مستقبل مشرق وصنع غد جميل واعد .
أنت لي دائماً العون والسند، لك كل المحبة والفضل والامتنان . . . أشكرك

امي الحبيبة

بصمت وحنان كنت إلى جانبي في كل الأوقات تزيدني عزماً وإصراراً للمضي قدماً وتحظي ما واجهت من عقبات، قدمت لي المحبة والعون عندما شعرت بالتعب والإرهاق، عززت ثقتي وقوتي وتصميمي على النجاح، وكنت اللحن العذب الذي تسكن إليه مروحي مرتاحة مطمئنة، أشكر الله على وجودك في حياتي . . . حبيبي دائماً وأبداً

زوجي

أمامي تكبرين، وبهدوء النسمة الرقيقة أصبحت أحلى صبية، تملئين صباحاتي أجمل الألحان الفيرونية،
وترنين أيامي وكل أوقاتي بكلماتك العفوية وضحكاتك البريئة الندية، تبعثين الأمل والسعادة في
نفسي، عصفورتي وفراشتي وفرحتي وبسمتي

..... ابنتي نور

أنرهارمي وبساتيني فصولي وأيامي فرحي وابتساماتي مراحتي وطمانيني أملتي ومستقبلي
أنتم المعنى لحياتي، بكم ولكم أكون

..... أولادي: هادي زين جاد

كبرنا معاً، ضحكنا وبكينا، فرحنا وحزننا، أمضينا أحلى الأوقات . أنتم عوني وسندي وشاطئ
أمانتي بكم تكتمل أيامي

..... إخوتي

ترافقني دائماً ذكرياتنا الجميلة، محفورة في وجداني، تشعرني بالحب والرضا والامتنان . أصدقاء
عمري

..... غادة هالة صفاء شادي رحاب

تسللت إلى أوقاتي مرققة عذبة، عفوية متمردة، هادئة صاخبة، فصرت لي الأخت والرفيقة والصديقة

..... بشري

لكم وحدكم دون الله أكرع وأنخي . . كل المحبة والشكر والامتنان لكم أنتم

.... شهداء وطني

فهرس المحتويات

المحتويات	رقم الصفحة
الملخص العربي	1
الفصل الأول	4
المقدمة والأهمية والمبررات والأهداف	5
1-1- المقدمة	5
1-2- مبررات البحث وأهدافه	8
الفصل الثاني	10
الدراسة المرجعية	10
1-2- التسمية والتصنيف العلمي	11
2-2- الموطن الأصلي والانتشار	12
3-2- تنوع الجنس <i>Pleurotus</i> والتوزيع الجغرافي	12
4-2- الأهمية الغذائية للفطر المحاري	17
5-2- الأهمية الطبية للفطر المحاري	18
6-2- الأهمية الاقتصادية	19
7-2- تطور زراعة الفطر المحاري	23
8-2- جمع واستزراع الفطور البرية	24
9-2- تأثير الأوساط المغذية في نمو الفطر المحاري	29
10-2- حفظ السلالات الفطرية	30
11-2- التقانات المستخدمة في تصنيف الفطور	32
الفصل الثالث	38
مواد وطرائق البحث	38
1-3- مكان وفترة تنفيذ البحث	39
2-3- جمع سلالات الفطر البرية	39
3-3- عزل وتنقية وحفظ السلالات الفطرية ودراسة نموها وتنوعها الوراثي	40
1-3-3- عزل وتنقية السلالات	40
2-3-3- تقييم التنوع الوراثي ودرجة القرابة الوراثية	42
3-3-3- تأثير الوسط المغذي في نمو المشيجة الفطرية	47
4-3-3- حفظ السلالات الفطرية	49
4-3-3- استزراع السلالات المدروسة	51
1-4-3- تحضير البذار	51
2-4-3- تحضير وسط الزراعة (الركيزة) والزراعة	53
3-4-3- المؤشرات المدروسة	56
5-3- التحليل الإحصائي	60

61	الفصل الرابع النتائج والمناقشة
62	4-1- جمع السلالات البرية وتوصيفها
62	4-1-1- جمع السلالات البرية
67	4-1-2- التوصيف الشكلي
80	4-1-3- التوصيف الجزيئي والتنوع الوراثي
88	4-2- النمو المشيجي للسلالات على الأوساط المغذية
88	4-2-1- معدل نمو المشيجة
95	4-2-2- مؤشرات ومعامل نمو المشيجة
105	4-3- مرحلة الاستزراع
105	4-3-1- الأطوار الفينولوجية
110	4-3-2- مؤشرات نمو الجسم الثمري
113	4-3-3- المؤشرات الإنتاجية
115	4-3-4- التركيب الكيميائي
119	4-4- انتخاب أفضل السلالات المدروسة
123	الاستنتاجات والمقترحات والتوصيات
124	1- الاستنتاجات
125	2- المقترحات والتوصيات
126	المراجع العلمية
127	1- المراجع العربية
130	2- المراجع الأجنبية
152	الملاحق
157	الملخص الإنكليزي

فهرس الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
14	مجموعات أنواع الجنس <i>Pleurotus</i> وتوزعها الجغرافي (Singer، 1986)	1
15	تقسيمات الجنس <i>Pleurotus</i> وتاريخ الاكتشاف (حسب Petersen و Mcclenaghan، 1995)	2
16	أهم أنواع الجنس <i>Pleurotus spp.</i> المعروفة خلال فترة عشر سنوات 2005-2015 وتوزعها الجغرافي (Corrêa وزملاؤه، 2015)	3
20	متوسط الإنتاج العالمي (2009-2018) من الفطور المأكولة Edible Mushroom حسب القارة (FAO، 2020)	4
21	الدول العشرة الأعلى إنتاجاً من الفطور المأكولة Edible Mushroom خلال الفترة من 2009 إلى 2018 (FAO، 2020)	5
21	النسبة المئوية لأهم أنواع الفطور المأكولة المزروعة على مستوى العالم (Fattahifar، 2017)	6
25	عدد أنواع الفطور المأكولة والطبية البرية (Boa، 2004)	7
45	تركيب محلول الاستخلاص (A)	6
45	محلول TBE (5X)	9
46	بادئات الـ ISSR المستخدمة في عملية تضخيم الـ DNA في تفاعل الـ PCR	10
63	المعطيات الجغرافية لأماكن جمع العينات البرية المدروسة وتاريخ الجمع	11
67	المعطيات المناخية لأماكن جمع العينات البرية المدروسة	12
68	سلالات الفطر المحاري البرية التي تم جمعها وتنقيتها ونوع العائل وطبيعة الإثمار	13
71	الخصائص الشكلية للسلالات الفطرية التي تم جمعها برياً	14
73	لون البصمة البوغية لعينات الأجسام الثمرية البرية للسلالات المدروسة	15
76	مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق (PDV) اعتماداً على معامل Euclidean distance	16
81	مجموع الحزم الناتجة (الكلية والمتباينة) ونسبة التعددية الشكلية (%) لبادئات الـ ISSR المستخدمة في البحث	17
83	مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard	18
91	متوسط معدل نمو مشيخة السلالات الفطرية المدروسة على أوساط النمو المختلفة (مم/يوم) حتى اليوم الثامن من التلقيح	19
96	متوسط كثافة المشيخة الفطرية للسلالات المدروسة على الأوساط المغذية	20
98	متوسط ارتفاع المشيخة الفطرية للسلالات المدروسة على الأوساط المغذية (مم)	21
99	متوسط قطر المشيخة الفطرية للسلالات المدروسة على الأوساط المغذية (مم)	22
102	متوسط معامل النمو للسلالات المدروسة على الأوساط المغذية	23
106	متوسط الأطوار الفينولوجية للشاهد والسلالات المدروسة (يوم)	24
111	متوسط قطر القبة وطول وقطر الحامل ووزن الجسم الثمري للسلالات المدروسة	25
114	متوسط المؤشرات الإنتاجية للسلالات المدروسة في مرحلة الاستزراع	26
116	التركيب الكيميائي للسلالات المدروسة والسلالة الشاهد	27
122	التفوق في أهم الصفات الإنتاجية والنوعية بين السلالات المدروسة والسلالة الشاهد	28

فهرس الأشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
20	الإنتاج العالمي من الفطور المأكولة Edible Mushroom خلال الفترة بين عامي 2009 و2018 (FAO، 2020)	1
34	صور توضيحية لأقسام الجسم الثمري والدعامة والأبواغ في الفطر المحاري	2
42	كيفية أخذ الخزعات الفطرية وزراعتها على البيئة المغذية	3
44	التحضير لاستخلاص الـ DNA	4
48	تلقيح الأطباق البترية بقرص من مشيعة الفطر (5 ملم) وقياس قطر وارتفاع المشيعة الفطرية	5
49	حفظ السلالات المدروسة في الأنابيب بالآغار المائل	6
50	حفظ السلالات المدروسة على الخشب	7
50	حفظ السلالات تحت الزيت المعدني	8
52	تحضير حبوب القمح لتلقيحها بالمشيعة	9
52	تلقيح حبوب القمح بمشيعة الفطر ووضعها في الحاضنة	10
55	تحضين أكياس الفطر	11
56	اكتمال نمو المشيعة وبدء ظهور البداءات الثمرية	12
59	الحصول على البصمة البوغية	13
62	صورة توضيحية لتوزيع أماكن الجمع المشمولة بالدراسة (Google Earth، 2020)	14
69	الأجسام الثمرية لسلالات الفطر المحاري البرية التي تم جمعها	15-أ
70	الأجسام الثمرية لسلالات الفطر المحاري البرية التي تم جمعها	15-ب
74	أشكال وأبعاد أبواغ سلالات الفطر المحاري البرية التي تم جمعها	16
79	مخطط شجرة القرابة الشكلية للسلالات المدروسة والسلالات المزروعة (P. ostreatus، S19: P. eryngii، S20: P. pulmonarius، S21: P. florida) من الفطر المحاري اعتماداً على التحليل العنقودي لبيانات التباين الشكلي	17
80	صورة لنواتج تضخيم الـ DNA للسلالات المدروسة باستخدام البادئ P2 وبوجود معلم جزيئي 1000 pb (M)	18
84	مخطط شجرة القرابة الوراثية للسلالات المدروسة اعتماداً على التحليل العنقودي لبيانات التباين الوراثي	19
89	الأجسام الثمرية للسلالة S10	20
92	تطور قطر المستعمرة للسلالات البرية المدروسة والشاهد وتأثير الأوساط المغذية عليها	21-أ
93	تطور قطر المستعمرة للسلالات البرية المدروسة والشاهد وتأثير الأوساط المغذية عليها	21-ب
94	تطور قطر المستعمرة للسلالات البرية المدروسة والسلالة الشاهد وتأثير الأوساط المغذية عليها	21-ج
110	أعراض التسمم على الأجسام الثمرية للسلالة S2	22-أ
110	أعراض التسمم على الأجسام الثمرية للسلالة S9	22-ب
120	مخطط شجرة القرابة للسلالات المدروسة والسلالة الشاهد P.O بحسب الصفات الإنتاجية اعتماداً على التحليل العنقودي	23
121	مخطط شجرة القرابة للسلالات المدروسة والسلالة الشاهد P.O بحسب الصفات النوعية اعتماداً على التحليل العنقودي	24

قائمة المختصرات

الاختصار	الاسم الإنكليزي	الاسم العربي
PDA	Potato Dextrose Agar	وسط آغار ديكتروز بطاطا
MEA	Malt Extract Agar	وسط آغار مستخلص الشعير
NA	Nutrient Agar	وسط آغار المغذي
PCR	Polymerase Chain Reaction	تقانة تفاعل التعدد الشكلي التسلسلي
RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA	تقنية التباينات الشكلية المضاعفة عشوائياً
RFLPs	Restriction Fragment Length Polymorphisms	تقنية تباين أطوال قطع الدنا المضخمة
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat	تقنية التكرارات المتتابعة البسيطة البينية
SSR	Simple Sequence Repeat	تقنية التكرارات المتتابعة البسيطة
PDV	Percent disagreement values	مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق
GR	Growth rate	معدل النمو
GC	Growth coefficient	معامل النمو

المُلخَص:

نُفذ البحث في الفترة ما بين 2016-2020 بهدف حصر وتوصيف المصادر الوراثية للفطر المحاري المتواجدة في منطقة جنوب غرب حماه، ودراسة تنوعها الوراثي وتحديد درجة قرابتها، واستزراع السلالات المتحصل عليها ودراسة إنتاجيتها بالمقارنة مع شاهد مزروع (سلالة تجارية مزروعة محلياً)، لانتخاب أفضلها. تم جمع واستزراع 17 سلالة برية من الفطر المحاري (S1، S2، S3، S4، S5، S6، S7، S8، S9، S10، S11، S12، S13، S14، S15، S16 و S17) النامية على عدد من الأنواع النباتية ومن مناطق ذات ارتفاعات تراوحت ما بين 419.71 و 964.69م فوق سطح البحر، ومتباينة في درجة الحرارة ومعدل الهطول المطري، مما يدل على الانتشار الواسع والتنوع البيئي الكبير. أوضحت النتائج وجود تباين كبير بين السلالات المدروسة في خصائصها الشكلية وخاصة في لون القبة وشكلها وقطرها، وطول الحامل وقطره، كما تفاوت لون اللب بين الأبيض والكريمي، وقوامه بين الطري الرقيق (النحيف) واللحمي السميك. أما الصفائح فكانت بلون بني وبني فاتح وكريمي. وتراوحت أبعاد الأبواغ بين (3.41 و 5.82) ميكرون عرضاً و(8.52 و 12.07) ميكرون طولاً، فيما لم تختلف السلالات من حيث طبيعة إثمارها الجانبية على جذع العائل والتفاف حافة القبة إلى الداخل، وقد انقسمت السلالات المدروسة إلى أربع مجموعات مختلفة بتطبيق مصفوفة عدم التوافق بالاعتماد على معامل Euclidean distance. بينت دراسة التباين الوراثي للسلالات باستخدام تقنية الـ ISSR إمكانية تضخيم قطع الـ DNA باستخدام جميع البادئات المختبرة (11 بادئاً) وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عنها 274 حزمة، بمتوسط 24.91 حزمة لكل بادئ، وأعطت جميع البادئات نسبة تعددية شكلية 100%. أظهر التحليل العنقودي اعتماداً على مصفوفة عدم التوافق وجود مستوى عالٍ للتنوع الوراثي للفطر المحاري في سورية إذ انقسمت السلالات إلى سبع مجموعات مختلفة.

تباين تأثير الأوساط المغذية المدروسة وهي Malt، (PDA) Potato Dextrose Agar و Extract Agar (MEA) Nutrient Agar (NA) في معايير نمو مشيجة السلالات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد وهو سلالة أجنبية مزروعة (P.o) strain M2175 من شركة Mycelia البلجيكية، فقد أظهرت النتائج وجود اختلاف ما بين السلالات في معدل نموها على هذه الأوساط، كما اختلف معدل نمو السلالة الواحدة ما بين الأوساط الثلاثة المدروسة. تفوقت السلالات S1، S3، S6،

S11، S12، S13، S15 و S16 بمعدل نمو مشيحتها (GR) على الوسط PDA تفوقاً معنوياً عنه على الوسطين MEA و NA. أما معدل نمو السلالات S2، S7، S10 و S17 فكان الأفضل على الوسط MEA. وتوزعت السلالات من حيث معامل نموها (GC) على وسط PDA إلى المجموعات التالية: سريعة النمو جداً: S14، S11، S17 و S16، سريعة النمو: S9، S7، S12، S8، S3، S15 و S6، متوسطة النمو: S1، S13، S2، S5 و S4، بطيئة النمو: S10. وعلى الوسط MEA، توزعت كما يلي: سريعة النمو جداً: S17، S14، S3، S7، S11، S6، S4، S13 و S15، سريعة النمو: S2 و S8، متوسطة النمو: S16، S5، S1 و S12، بطيئة النمو: S9 و S10. وسجلت أقل قيم لمعامل النمو على الوسط NA، وكانت جميع السلالات بطيئة النمو.

أشارت نتائج استزراع السلالات المدروسة على وسط التبن في أكياس من البولي إيثيلين الشفاف لوجود تباينات واضحة بين السلالات المدروسة في الأطوار الفينولوجية وتشكل الأجسام الثمرية، إذ تراوحت فترة اكتمال نمو المشيجة لجميع السلالات (عدا السلالة S10) ما بين 16.33 و 25 يوماً، واحتاجت السلالات (عدا السلالتين S5 و S10) إلى فترة ما بين 21 و 35.33 يوماً للوصول إلى مرحلة القطاف. وقد استغرقت السلالتان S5 و S10 وقتاً أطول من باقي السلالات بمراحل النمو المختلفة مما يعني خصوصية كل منهما (S10 سلالة فطر ملك المحاري) وضرورة زراعتهما بشروط مختلفة عن باقي السلالات المدروسة الأخرى. وجدت تباينات واضحة ومعنوية بين السلالات في مؤشرات نمو الأجسام الثمرية والإنتاجية، فتراوح متوسط قطر القبة بين 5.99-12.13 سم ومتوسط قطر الحامل بين 1.08-2.78 سم ومتوسط طول الحامل 1.35-5.11 سم ومتوسط وزن الجسم الثمري 20.19-55.95 جسماً ثمرياً، كما بلغ متوسط عدد الأجسام الثمرية للسلالات المدروسة في العنقود ما بين 5-28.2 جسماً ثمرياً، ومتوسط عدد العناقيد ما بين 3-4.67 عنقوداً، ومتوسط وزن العنقود الثمري ما بين 235.5-503 غ، ومتوسط الإنتاجية ما بين 191.10-326.73 غ/كغ، وتباينت قيمة الكفاءة الحيوية ما بين 65.17-110.43%. كما أبدت السلالتان S2 و S9 حساسية للتراكيز العالية من غاز CO₂، حيث ظهرت أعراض التسمم بهذا الغاز على الأجسام الثمرية من بداية ظهورها، وكانت الأعراض على الأجسام الثمرية للسلالة S2 أكثر وضوحاً.

أبرزت دراسة التركيب الكيميائي للسلالات المدروسة وجود تباينات معنوية، فتميزت السلالة S10 بأعلى محتوى للمادة الجافة والمواد الصلبة الذائبة الكلية في مجال السلالات البالغ 6.2 و 8.87%، و 0.43 و 3.14% من الوزن الرطب، على التوالي. ويعد محتوى السلالات من البروتين

البالغ 8.9-38.7% (على أساس المادة الجافة) جيداً بالمقارنة مع الدراسات المرجعية، مع أعلى محتوى في السلالتين S17 و S14. وتراوح محتوى السلالات من الرماد بين 6.32-12.44%، واحتوت السلالة S1 على أعلى نسبة من الكربوهيدرات الكلية (65.76% من المادة الجافة)، بينما وجد أقل محتوى من الدهن في السلالة S6 (1.67% من الوزن الجاف) مقارنة بأعلى محتوى في السلالة S10 (4.27%)، أما محتوى السلالات من الألياف فتراوح بين 22.17 (السلالة S5) و 9.2% من المادة الجافة (السلالة S10). وتوصلت الدراسة لانتخاب السلالات S3، S13 و S15 لتفوقها بالصفات النوعية والإنتاجية للفطر، والسلالة S10 كسلالة فطر ملك المحاري.

بالمحصلة فإن السلالات المدروسة تعكس غنى في التنوع الوراثي والشكلي للفطر المحاري وتنوع في البيئات السورية التي يتواجد فيها، وتشكل جزءاً من قاعدة وراثية لهذا الفطر يمكن أن تسهم في تحسين زراعته وإنتاجه، وفي تأمين رديف للسلالات التجارية المستوردة، وتساعد على نشر زراعته وثقافة استهلاكه في المجتمع السوري وخاصة المناطق الريفية للمساعدة في تنميتها وزيادة دخل الفرد فيها.

الكلمات المفتاحية: الفطر المحاري *Pleurotus spp.*، الجمع البري، التباين الوراثي، تقنية ISSR، معدل النمو، الإنتاجية، الكفاءة الحيوية.



الفصل الأول

المقدمة وأهمية البحث

ومبرراته وأهدافه

1.1. المقدمة

2.1. مبررات البحث وأهدافه



1-1- المقدمة Introduction:

بين السجل الأحفوري fossil record بأن الفطور Fungi تعود إلى الزمن البعيد في العصر السيلوري Silurian منذ ما قبل 408-438 مليون سنة، في الحقبة الباليوزوية. أي أن الفطر كان جزءاً من التنوع الحيوي لنحو 300 مليون سنة. وقد استخدم الناس الفطر البري منذ القدم كغذاء ولأغراض طبية. عرفت الحضارات القديمة لليونانيين والمصريين والرومان والصينيين والمكسيكيين قيمة الفطر كطعام وعلاج، وغالباً ما استخدم في الاحتفالات الدينية (Chang و Miles، 2004). كان الناس يجمعون الفطر من الطبيعة كدواء وكمادة غذائية طيبة المذاق في الخريف والربيع قرب الجداول والأنهار حيث تكون نسبة الرطوبة مرتفعة بعض الشيء، وقد ذكر لأول مرة من قبل أبقراط عندما كتب عن فوائده الطبية عام 400 قبل الميلاد (مدبولي والحسيني، 1996)، وسماه قدماء المصريين غذاء الآلهة (قبل حوالي 3000 سنة)، واعتبره اليونانيون غذاء النبلاء والقادة وكانوا يغذون الجنود به قبل المعارك والغزوات ليعطيهم الصلابة والقوة الجسدية، وكان الرومانيون يستخدمونه لأغراض مطبخية في المناسبات والأعياد حيث وظفوا متذوقين للتأكد من قابليته للاستهلاك، بينما في الشرق أطلق عليه حكماء الصين القدامى غذاء الصحة والجمال والحياة (إكسير الحياة). ونظراً لنموه في أوقات محددة في السنة وبأشكال وألوان جذابة سماه أهالي الحضارات القديمة بطبق المناسبات. وحديثاً أطلق عليه في أوروبا بالطبق الماسي حيث يعتبر وجبة هامة وغنية في غذائهم ويعرف باسم المشروم أو الغاريقون، أما أهل الشام فعرفوه باسم العرهون (أحمد، 1995؛ مدبولي والحسيني، 1996؛ Boa، 2004).

تمثل الفطور ثاني أكبر مجموعة كائنات حية بعد الحشرات في النظام الحيوي العالمي، ومن بين العدد المقدر لأنواع الفطور الموجودة في العالم والبالغ قرابة 1.5 مليون نوعاً (Hawksworth، 2001a) فإن أنواع الفطور المعروفة يشكل حوالي 5% فقط منها، نصفها موصف ومحدد عالمياً، ومنها 46124 نوعاً من الفطور الدعامية والزقية فقط (Chang، 2008؛ Shujiang وزملاؤه، 2012).

يطلق اسم Mushroom على الفطور التي تشكل أجساماً ثمرية يمكن رؤيتها بالعين المجردة وتسمى بالفطور الكبيرة Macrofungi والتي يمكن أن تكون إما Epigeous (فوق الأرض) أو Hypogeous (تحت الأرض) (Chang و Miles، 1992). تنتمي معظم فطور المشروم (14000-22000 نوعاً) إلى الفطور الدعامية Basidiomycota، والقليل منها ينتمي إلى الفطور

الزقية Ascomycetes (Thakkar، 2010)، وقد يكون الرقم الحقيقي أكثر بكثير من ذلك، وتدرج هذه الأنواع ضمن جماعات غير موصّفة وغير معرّقة متداخلة الخصائص الشكلية (Hawksworth، 2001a)، وليست كلها على درجة واحدة من الأهمية حيث قسمت إلى أربع مجموعات، فهناك الفطور الصالحة للأكل Edible mushrooms، والفطور الطبية Medicinal mushrooms، والفطور السامة Poisonous mushrooms والفطور الأخرى Other mushrooms وتشمل عدداً كبيراً من الفطور التي لا تزال خصائصها أقلّ تحديداً، ويطلق البعض على المجموعة الأخيرة الفطور غير المأكولة Non-Edible (Chang و Miles، 2004؛ Olumide، 2011). ومن فطور الـ Mushroom حوالي 5000 نوعاً تمتلك درجات متفاوتة من القابلية للأكل (Chang، 2008)، و3000 فطراً مأكولاً و700 فطر طبي (Omisore، 2010). أما عدد الأنواع السامة فهو قليل نوعاً ما (حوالي 1%) ولكن هناك تقديرات بأن 10% من أنواع فطور الـ Mushroom تمتلك خصائص متعلقة بالسمية ومنها 30 نوعاً تعدّ أنواع قاتلة (Chang و Miles، 1997).

وللفطور المأكولة أهمية كبيرة في مجالات كثيرة من حياتنا، فهي تنتج أجساماً ثمرية صالحة للتغذية البشرية تشكل مصدراً للبروتين خالي الدسم ذو قيمة غذائية عالية، وتحتوي على العديد من الفيتامينات والأملاح المعدنية (Bano و Rajararthnam، 1986). ويستخدم بعضها في الصناعات الدوائية -نظراً لقيمتها الطبية- لتحضير العديد من العقاقير والمضادات الحيوية، وغيرها من المواد الدوائية، والمواد المخدرة المستخدمة في العمليات الجراحية، حيث تستخلص من أنواع فطرية مأكولة أو غير مأكولة أو حتى سامة، وذلك لأن هذه الفطور تمتلك نظاماً مناعياً متميزة (Stamets، 2005). مع التقدم بالعلم، اعتبر إنتاج الـ Mushroom ثاني أهم أكبر التقانات الجرثومية التجارية -بعد صناعة الخمائر- في العالم (Paul و زملاؤه، 2017).

كما أنها تلعب دوراً مهماً وأساسياً في المحافظة على النظام البيئي العالمي وعلى حياة الغابات، حيث تقوم بتحليل البقايا الخشبية لأشجار الغابة لتعود وتدخل مجدداً في دورة العناصر، وبالتالي تحافظ على الغابات الأصلية والحراج وتحسن إعادة تجديد الأشجار وإعادة إحياء أجزاء الغابة المعرضة للحرائق، كما تعزز استمرار النظام البيئي، ولها أيضاً دوراً مهماً في حماية البيئة وتنظيفها من الملوثات السامة حيث تقوم بعملية المعالجة الحيوية Bioremediation فتفكك المركبات المعقدة إلى مركبات أبسط لا تشكل خطراً على البيئة، ومنها الفطر المحاري والفطر *Ganoderma* spp. (بيرق و زملاؤه، 2009؛ Stamets، 2005). وتستخدم بعض الفطور المأكولة في تفكيك

المبيدات والسموم (Chiu وزملاؤه، 1998)، حيث ثبت قدرة مشائج الفطر المحاري *Pleurotus ostreatus* على تفكيك المبيد Pentachlorophenol (PCP) في ثلاثة أيام فقط. وأوضح Eggen و Sasek (2002) قدرة مشائج هذا الفطر أيضاً على خفض مستويات مادة Anthracene (وهي مادة هيدروكربونية في قطران الفحم) من 87% إلى 50%، وخفض مستويات الفلور من 99% إلى 87% بعد 15 أسبوعاً من المعاملة. كما يمكن أن يستخدم فطر ملك المحاري *P. eryngii* في تحليل المواد النباتية الخام، والمعالجة الحيوية لتلوث التربة بالمعادن الثقيلة، وفي التحويل الحيوي للمركبات العضوية (Wang وزملاؤه، 2012).

يضم جنس المحاري *Pleurotus* (Jacq.: Fr) Kumm. مجموعة عالمية من فطور الـ Mushroom ذات القيمة الغذائية العالية، والخصائص العلاجية، والعديد من التطبيقات البيئية والتقانية (Cohen وزملاؤه، 2002)، وتعد هذه المجموعة من الفطور المأكولة متنوعة بشدة وتنتزع حول العالم وتعد معظم أنواعها تقريباً فطوراً مأكولة، واستخدمت في الثقافات المختلفة كمصدر للغذاء والدواء فهي غنية بالعناصر الغذائية الأساسية كالكاربوهيدرات، والبروتينات، والفيتامينات والأحماض الأمينية، والألياف والمركبات الفعالة المتطايرة وغيرها (Maftoun وزملاؤه، 2015).

وللفطور البرية بشكل عام أهمية كبيرة، إلا أن بعضها -وخاصة التابعة للجنس *Pleurotus*- يتعرض لخطر فقدان التنوع الوراثي نتيجة الانتخاب البشري، كما يحدث فقدان مهم للتنوع الوراثي في مجتمعات وعشائر الفطر المحاري *Pleurotus* نتيجة للتمدن، والاستزراع، وضياح العوائل (Urbanelli وزملاؤه، 2007).

1-2- مبررات البحث وأهدافه Research justifications and objectives:

اهتمت العديد من الدراسات بالتنوع الوراثي Genetic Diversity كأحد مكونات التنوع الحيوي Biodiversity سواء عالمياً أو محلياً، وبالرغم من ذلك تكاد تندر الدراسات المرجعية حول التنوع الوراثي للفطر وتوصيفه وراثياً وشكلياً. وتعد سورية من البلدان الغنية بالتنوع الحيوي وذلك لتمتعها بتنوع المناخ والطبوغرافيا، وتصل نسبة أنواع الفطور عموماً المسجلة في سورية إلى 1.4% من تلك المسجلة على مستوى العالم (الزعبي وزملاؤه، 2016). يواجه التنوع الحيوي الفطري في عصرنا الراهن بشكل عام، وفي سورية بشكل خاص، العديد من الإجهادات المتمثلة بالنشاطات البشرية، والأساليب التقنية الزراعية الحديثة، وترحيل التربة واقتطاع الأشجار والحرائق المدمرة للغطاء النباتي (الموطن الأساسي للفطور)، والاستغلال المفرط وغير المدروس للموارد الطبيعية ونشاطات الإنسان فيما يخص التلوث البيئي (Venturella و Zervakis، 2002؛ سعود، 2018). وبالرغم من تواجدها في كل البيئات البرية إلا أن الفطور تعد من الكائنات الهشة سريعة التدهور، مما يصعب القيام بمسح شامل ودقيق عنها، وهذا يوضح أهمية البحث عن أماكن وفترات تواجدها ونموها (Karim وزملاؤه، 2013)، لذا تسهم دراسة التنوع الوراثي والتوزيع الجغرافي للفطور في القطر في تعريف وتصنيف الفطور المنتشرة برياً ودراسة خصائص كل منها، من أجل ضرورة المحافظة عليها كونها تشكل موارد وراثية طبيعية هامة، وبهدف تحديد إمكانية استثمارها المستدام ولاسيما تلك المتأقلمة مع البيئات المحلية والتي لا يحتاج إنتاجها إلى متطلبات عالية، ويعزز هذه الضرورة العديد من العوامل كقلة الدراسات المحلية المتعلقة بالتنوع الحيوي والوراثي للفطر واقتصارها على مناطق محددة من سورية، والأهمية الغذائية والطبية الكبيرة التي تمتلكها الفطور المأكولة ومنها المحاري، بالإضافة لارتفاع ثمن الهجن والسلالات الأجنبية وأهمية البحث عن إمكانية استبدالها أو رفدها بسلالات فطرية محلية ذات صفات متفوقة ومرغوبة، لا سيما وأن إنتاجية الفطر المحاري تنخفض نتيجة الزراعات المتكررة لنفس السلالة. ومع ازدياد شعبيته بشكل كبير في العقد الأخير وانتشار زراعته في معظم دول العالم، وكذلك في سورية، وخاصة كمشاريع صغيرة ومنزلية منتشرة على كامل مساحة القطر، بالإضافة طبعاً لبعض المشاريع الكبيرة في بعض المناطق في ريف دمشق وجبله وحمص واللاذقية، يصبح من الضرورة تقصي التنوع الوراثي والبحث دائماً عن سلالات جديدة للفطر المحاري *Pleurotus spp.* في مختلف مناطق القطر بما يضمن الحصول على إنتاج أعلى يلبي

حاجات المستهلك المتزايدة، خصوصاً وأن هذا الفطر من أهم وأكثر الفطور البرية المنتشرة في سورية. لذا فقد تم تنفيذ هذا البحث بهدف:

1- حصر وتوصيف المصادر الوراثية للجنس *Pleurotus* spp. المتواجدة في منطقة جنوب غرب حماه.

2- دراسة التنوع الوراثي للسلاسل وتحديد درجة قرابتها الوراثية باستخدام تقانة التكرارات المتتابعة البسيطة البينية ISSR.

3- استزراع السلاسل المجموعة ودراسة إنتاجيتها ونوعيتها ومقارنتها مع سلالة تجارية مزروعة محلياً ليصار إلى انتخاب أفضل السلاسل المدروسة من حيث الإنتاجية والنوعية.



الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

- 1.2- التسمية والتصنيف العلمي
- 2.2- الموطن الأصلي والانتشار
- 3.2- تنوع الجنس *Pleurotus* والتوزيع الجغرافي
- 4.2- الأهمية الغذائية للفطر المحاري
- 5.2- الأهمية الطبية للفطر المحاري
- 6.2- الأهمية الاقتصادية
- 7.2- تطور زراعة الفطر المحاري
- 8.2- جمع واستزراع الفطور البرية
- 9.2- تأثير الأوساط المغذية في نمو الفطر المحاري
- 10.2- حفظ السلالات الفطرية
- 11.2- التقانات المستخدمة في تصنيف الفطور



2-1- التسمية والتصنيف العلمي Taxonomy and nomenclature:

تعد الفطور Fungi أحد أهم المكونات الأساسية للنظام البيئي Ecosystem والتوازن الحيوي، وتنتشر عالمياً في كل البيئات في الطبيعة دون وجود أي عائق لانتشارها، وتصنف الأنواع الفطرية حالياً في مملكة مستقلة سميت المملكة الفطرية Mycota، لها بعضاً من صفات كل من المملكة النباتية والمملكة الحيوانية، وتضم هذه المملكة صفوفاً ورتباً وفصائل عديدة تتوزع ضمنها الأنواع والأجناس الفطرية بحسب صفاتها الشكلية والتشريحية والفيزيولوجية (أحمد، 2005). يتبع الفطر المحاري Oyster mushroom إلى:

- المملكة الفطرية Mycota
 - شعبة الفطور الدعامية Basidiomycota من المملكة Eumycota
 - صف الفطور الدعامية (البازيدية) Basidiomycetes
 - تحت صف الفطور المتجانسة الدعامية (الدعامية الكاملة) Holobasidiomycetidae
 - مجموعة رتب الدعاميات طبقية الإخصاب Hymenomycetiidae
 - رتبة الغاريقونات Agaricales
 - فصيلة Pleurotaceae
 - قبيلة Lentineae Fayod
 - جنس *Pleurotus* (Quel.) Fr.
- وحالياً ومن الناحية الوراثية يوضع ضمن عرق Euagarics (أحمد، 2005؛ OECD، 2005؛ Oloke و Adebayo، 2015).

وينتمي لمجموعة فطور العفن الأبيض “white rot fungi” (Tsujiyama و Ueno، 2013) التي تنتج مشيجة بيضاء وغالباً ما تزرع على الأوساط اللغنوسيليلوزية غير المخمرة (Savoie وزملاؤه، 2007).

عادة ما يمثل النوع *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer الفطر المحاري بشكل عام لأنه النوع الأكثر زراعة وانتشاراً من أنواع الجنس *Pleurotus* (Olumide، 2011). وغالباً ما يشار إلى *Pleurotus* spp. في أوروبا باسم Oyster mushroom أو Pearl oyster mushroom نظراً لشكل القبعة التي تشبه المحارة (OECD، 2005).

2-2- الموطن الأصلي والانتشار :Natural habitat and spread

يعد الفطر المحاري *Pleurotus* spp. كائناً رميةً Saprophytic Organism محللاً للخشب الميت أو الحي، والبعض منها طفيلياً Parasite على بعض الأنواع الشجرية، مثل *P. eryngii* (Fr.) Quel., الذي يتطفل على جذور نباتات الفصيلة الخيمية (Garibova و Sidorova، 1997)، وهو عالمي الانتشار وخصوصاً في المناطق المعتدلة (Chang و Hayes، 1978).

ينتشر الفطر المحاري بشكل واسع في نصف الكرة الشمالي كأوروبا وشمال إفريقيا وآسيا وشمال أمريكا وبشكل خاص في كوريا والصين واليابان وأمريكا والمملكة المتحدة وسويسرا وهولندا وألمانيا وسيريلانكا والبرتغال وسلوفاكيا (Singer، 1986)، أي في المناطق المعتدلة كونه يشكل الأجسام الثمرية في درجات الحرارة المنخفضة نسبياً، ففي البيئة الطبيعية يبدأ الفطر المحاري بالإثمار في الخريف وفي أشهر الشتاء عندما تكون درجة الحرارة أعلى من 15°م، بينما تثمر السلالات الأقل تأثراً بالحرارة على درجة حرارة 15-20°م (Stanek و Rysava، 1971).

ينمو في الخريف والربيع على الأشجار ذات الخشب القاسي والعريضة الأوراق، وبشكل خاص خشب أشجار الحور القطني Cottonwoods، البلوط والسنديان *Qurecus*، جار الماء *Alnus*، القيقب *Acer*، الحور الرجراج *Populus tremula*، الزان *Fagus*، الإيليكس *Holly*، أشجار البتولا *Betula*، الدردار *Fraxinus*، الصفصاف *Salix* والحور *Populus*، وتعد أشجار الحور المكان الطبيعي الذي يتواجد فيه عادة (OECD، 2005). وكذلك خشب الشوح *Abies*، السنط *Acacia*، والجوز العادي *Juglans*، جوز الببكان *Carya*، الفستق الحلبي *Pistacia*، التتوب *Picea*، التفاح *Malus*، التوت *Morus*، الماغنوليا *Magnolia*، الغار *Laurus*، الكستناء *Castanea*، الميس *Celtis*، الكينا *Eucalyptus*، النغت *Alnus*، الشرد *Carpinus* والبوقيصيا *Ulmus*، (David وزملاؤه، 1989).

2-3- تنوع الجنس *Pleurotus* والتوزيع الجغرافي:

***Pleurotus* diversity and geographical distribution:**

نظراً للأهمية المتزايدة للفطر المحاري ركز العديد من باحثي الفطور الدعامية جهودهم على دراسة الجنس *Pleurotus* الذي تم تصنيفه وتسميته لأول مرة من قبل العالم الاسترالي Jacquin عام 1774، ثم أقرت التسمية عام 1821 بعد أن تبناها العالم Fries الذي صنفه كمجموعة ضمن

جنس *Agaricus*. ونقل العالم Paul Kummer عام 1871 التسمية من *Agaricus* إلى *Pleurotus* ثم اقترحه Quelet جنساً مستقلاً عام 1886 (OECD، 2005).

وقد قسم الباحث Singer (1975) الجنس *Pleurotus* إلى أربعة أقسام تضم 39 نوعاً، لكن هذا التقسيم أثار الكثير من الجدل واعتبر تقسيماً غير نهائي (Chang و Hayes، 1978)، فقام نفس الباحث (Singer، 1986) بإعادة التقسيم مرة أخرى ليضم الجنس *Pleurotus* سبعة مجموعات ووضع النوع *P. ostreatus* في مجموعة إضافية خاصة (الجدول 1). ثم قام Petersen و Mcclenegha (1995) بوضع تقسيم جديد بالاعتماد على الأنماط التزاوجية Mating type وظاهرة عدم التوافق التكاثري Reproductuional Incompatibility بين الأنواع المختلفة (الجدول 2).

وقد أيد Vilgalys وزملاؤه (1996) تقسيم Petersen وقاموا بإعطاء أعداداً محددة للمجموعات العقيمة تزاوجياً Intersterility Group ضمن الجنس *Pleurotus* حيث احتل النوع *P. ostreatus* مجموعة مستقلة في تقسيمات Petersen استناداً لما أشار إليه Bresinsky (1977) بوجود عدم توافق Incompatibility بين النوعين *P. ostreatus* و *P. pulmonarius*، وهذا ينسجم مع ما أشارت إليها أبحاث سابقة لـ Ohira (1977) بوجود مجموعة منفصلة من *Pleurotus spp.* نظراً لعدم توافق هذه المجموعة مع المجموعات الأخرى وأسمائها Ohira بمجموعة *P. ostreatus*، وعزز هذه الفكرة Hilber (1982) الذي أوضح حالة عدم التوافقية التي يتمتع بها النوع *P. ostreatus* بين كل أنواع الجنس *Pleurotus* المدروسة.

وقد قام كلاً من Petersen و Hugher (1977) بالمزاوجة بين أربع مجموعات من *P. ostreatus* مع 10 مجموعات من *P. pulmonarius* وأربع مجموعات من *P. djamor* واثنين من *P. cornucopia* وكانت نتائجه مؤيدة لفكرة عدم التوافق التكاثري التي يتمتع بها النوع *P. ostreatus*، وأخيراً تم إثبات وتأكيد انفصال هذه المجموعة بحد ذاتها (Petersen و Krisai و Crailhublere، 1996). وتؤيد الغالبية العظمى من علماء الفطور حالياً هذا التقسيم الذي يدخل الفطر *P. ostreatus* ضمن المجموعة *Pleurotus* بالاعتماد على غياب الغشاء الكلي أو الجزئي veil (OECD، 2005).

الجدول (1): مجموعات أنواع الجنس *Pleurotus* وتوزيعها الجغرافي (Singer، 1986)

القسم (المجموعة) Division	النوع Species	التوزيع الجغرافي Geographical Distribution
Lepiotarii	<i>P. dryinus</i> (pers: Fr.) Kummer	اليابان، الولايات المتحدة، سويسرا، ألمانيا، البرتغال
	<i>P. dryinus</i> (pers: Fr.) Kummer var. <i>tephrotrichus</i> (Fr: Secr.) Gill.	سيرلانكا
	<i>P. rickii</i> Bres.	
	<i>P. lindquistii</i> Sing.	
Calyptri	<i>P. calypttratus</i> (Lindb.) Sacc.	الصين
<i>Pleurotus</i>	<i>P. ostreatus</i> (Jacqu: Fr.) Kummer	كوريا، الصين، اليابان، الولايات المتحدة، المملكة المتحدة، سويسرا، هولندا، ألمانيا، سيرلانكا، البرتغال، سلوفاكيا
<i>Pleurotus columbines</i> Quel.	<i>P. ostreatus</i> (Jacqu: Fr.) Kummer var. <i>columbines</i> (Quel. Apud Bres.) Quel.	اليابان، سلوفاكيا، ألمانيا، الولايات المتحدة
	<i>P. pulmonarius</i> (Fr.) Quel.: Fr.	نيوزيلندا، كوريا، اليابان، الصين، ألمانيا، البرتغال
	<i>P. citrinopileatus</i> Sing	كوريا، الصين، اليابان
	<i>P. ostreatoroseus</i> Sing	
	<i>P. opuntiae</i> (Dur. & Lev.) Sacc.	
	<i>P. macropus</i> Bagl.	
	<i>P. laciniatocrenatus</i> (Speg.) Speg.	
	<i>P. euosmus</i> (Berk.) Sacc.	
	<i>P. phellodendri</i> (Sing.) Sing.	
	<i>P. araucariicola</i> Sing.	
	<i>P. pantoleucus</i> (Fr.) Sacc.	
	<i>P. Prometheus</i> (Berk. & Curt.) Sacc.	
	<i>P. yuccae</i> Maire	
	<i>P. convivarum</i> Dunal & Delile	
	<i>P. parthenopejus</i> (Comes) Sacc.	
	<i>P. salignus</i> (Schrad.) Quel.	
	<i>P. importatus</i> Henn.	
	<i>P. gemmellari</i> (Inz.) Sacc.	
	<i>Pleurotus cystidiosus</i> O. K. Miller	
	<i>P. abalones</i> Han, Chen & Cheng	
Coremiopleurotus	<i>Panus concavus</i> Berk. <i>Pleurotus concanvus</i> (Berk.) Sing.	الصين واليابان
Lentodiellum	<i>P. levis</i> (Berk. & Curt.) Sing.	
	<i>P. strigosus</i> (Berk. & Curt.) Sing.	
	<i>P. fockei</i> (Miquel) Sing.	
	<i>P. calyx</i> (Speg.) Sing.	المملكة المتحدة
	<i>P. sajor-caju</i> (Fr.) Sing.	أستراليا، الولايات المتحدة، الصين، سيرلانكا
	<i>P. squarrulosus</i> (Mont.) Sing. Ex Pegler	الولايات المتحدة الأمريكية، سيرلانكا
	<i>P. floridanus</i> Sing.	المملكة المتحدة
	<i>P. subtilis</i> (Berk.) Sing.	
Tuberregium	<i>P. tuber-regium</i> (Rumph. Fr.) Sing.	الصين، سيرلانكا، أستراليا

الجدول (2): تقسيمات الجنس *Pleurotus* وتاريخ الاكتشاف (حسب Petersen وMcclenaghan، 1995)

المجموعة No.	القسم (المجموعة) Division	عام الاكتشاف Year
I	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacquin: Fries) P. Kummer	1779
II	<i>Pleurotus pulmonarius</i> (Fries) Quelet	1872
III	<i>Pleurotus populinus</i> O. and O.K. Miller in Vilgalys <i>et al.</i>	1993
IV	<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paulet ex Persoon) Rolland	1910
V	<i>Pleurotus djamor</i> (Rumphius: Fries) Boedijn	1959
VI	<i>Pleurotus eryngii</i> (De Candolle: Fries) Quelet	1872
VII	<i>Pleurotus cystidiosus</i> O. K. Miller	1969
VIII	<i>Pleurotus levis</i> (Berkeley and Curtis) Singer	1951
IX	<i>Pleurotus dryinus</i> (Persoon) Kummer	1882
X	<i>Pleurotus tuber-regium</i> (Fries) Singer	1951
XI	<i>Pleurotus opuntiae</i> (Durrieu and Leveille) Saccardo	1996
XII	<i>Pleurotus abieticola</i> Petersen and Hughes	1997
XIII	<i>Pleurotus albidus</i> (Berk.) Pegler	–
XIV	<i>Pleurotus australis</i> Cooke and Masee in Cooke	1886
XV	<i>Pleurotus purpureo-olivaceus</i> (Stevenson) Segedin <i>et al</i>	1995
XVI	<i>Pleurotus calyptratus</i> (Lindb. Apud Fries) Saccardo	1887

يصعب تمييز الأنواع ضمن الجنس *Pleurotus* بسبب التشابه في الصفات الشكلية وتعدد تشابك هذه الصفات وسهولة تأثير العوامل الخارجية عليها (OECD، 2005؛ Chang و Hayes، 1978). وعلى سبيل المثال في أمريكا الشمالية يصف بعض باحثي الفطور الفطر *P.ostreatus* بإعطائه لبصمة بوغية Spore Print ليليكية رمادية على ورق أبيض، أما الفطر *P.sapidus* فيعطي بصمة كريمية اللون وهي الصفة الوحيدة التي تميزه عن النوع *P.ostreatus* (Anderson وزملاؤه، 1973؛ Groves، 1979). وقد وجد Kaur و Sodhi (2018) بأن البصمة البوغية للفطر *P. florida* كريمية إلى بيضاء، وبيضاء لأنواع الفطور *Pleurotus sajor-caju*. وقد ذكر Kong (2004) و OECD (2005) تسجيل حوالي 70 نوعاً من جنس *Pleurotus* كلها مأكولة، وبيّن Corrêa وزملاؤه (2015) أهم الأنواع المزروعة تجارياً (الجدول 3)، وما زال هناك تسجيل مستمر لأنواع أخرى تابعة لهذا الجنس رغم أن بعضها مطابق لأنواع أخرى مسجلة سابقاً. وآخر تسجيل لأنواع هذا الجنس هو 202 نوعاً بحسب (Kirk، 2015).

الجدول (3): أهم أنواع الجنس *Pleurotus spp.* المعروفة خلال فترة عشر سنوات 2005-2015 وتوزعها الجغرافي (Corrêa وزملاؤه، 2015)

الجنس	التوزيع الجغرافي	المراجع
<i>P. calypttratus</i>	أوروبا الوسطى والشرقية وآسيا	Maftoun وزملاؤه، 2015؛ Zervakis وزملاؤه، 2012؛ Eichlerová وزملاؤه، 2006
<i>P. cornucopiae</i>	أوروبا وآسيا	Zhang وزملاؤه، 2014؛ Wang وزملاؤه، 2013؛ Jang وزملاؤه، 2011؛ Hagiwara وزملاؤه، 2005
<i>P. cystidiosus</i> (abalone oyster)	أوروبا وآسيا وشمال أمريكا وجنوب أمريكا	Maftoun وزملاؤه، 2015؛ Usami وزملاؤه، 2009؛ Menikpurage وزملاؤه، 2009
<i>P. dryinus</i>	أوروبا وآسيا وشمال أمريكا وشمال إفريقيا	Maftoun وزملاؤه، 2015؛ Yoon وزملاؤه، 2014؛ Elisashvili وزملاؤه، 2008
<i>P. eryngii</i> (king oyster or Cardoncello)	أوروبا وآسيا وإفريقيا	Ryu وزملاؤه، 2015؛ Li وشاه، 2015؛ Shah وميشرا، 2014؛ Mishra وزملاؤه، 2013
<i>P. opuntiae</i>	Mediterranean Europe وأمريكا وإفريقيا وآسيا	Maftoun وزملاؤه، 2015؛ Fuentes، 2014؛ Mora و Martínez-Carrera، 2007
<i>P. ostreatus</i> (oyster mushroom)	منتشر في جميع أنحاء العالم	Maftoun وزملاؤه، 2015؛ El-Batal وزملاؤه، 2014؛ Purnomo و Facchini، 2015 وزملاؤه، 2013
<i>P. djamor</i> (pink oyster mushroom)	إندونيسيا وماليزيا واليابان والمكسيك	Raman وزملاؤه، 2015؛ Velioglu و Urek، 2010؛ Wu وزملاؤه، 2010
<i>P. pulmonarius</i> (phenix mushroom)	منتشر في جميع أنحاء العالم	Inácio وزملاؤه، 2015؛ Silveira وزملاؤه، 2015؛ Juárez وزملاؤه، 2011؛ Smiderle وزملاؤه، 2008
<i>P. nebrodensis</i>	الصين وجنوب أوروبا وآسيا الوسطى	Yan وزملاؤه، 2015؛ Cui وزملاؤه، 2015؛ Lv وزملاؤه، 2009؛ Xiong وزملاؤه، 2009
<i>P. citrinopileatus</i> (golden oyster mushroom)	آسيا وجنوب الولايات المتحدة الأمريكية والمكسيك	Huang وزملاؤه، 2015؛ Kulshreshtha، 2013؛ Liu وزملاؤه، 2012؛ Lee وزملاؤه، 2007
<i>P. sajor -caju</i> (indian oyster)	—	Pérez-Martínez وزملاؤه، 2015؛ Knop وزملاؤه، 2014؛ Zhang وزملاؤه، 2015
<i>P. florida</i>	—	Pérez-Martínez وزملاؤه، 2015؛ Knop وزملاؤه، 2014؛ Zhang وزملاؤه، 2015

2-4- الأهمية الغذائية للفطر المحاري

Nutritional value of *Pleurotus* spp.:

يتميز الفطر المحاري بطعمه اللذيذ والمميز وسهولة مضغه في الفم وغناه بالعناصر الغذائية الهامة والضرورية لجسم الإنسان.

إن محتوى البروتين في الفطر المحاري *Pleurotus* spp. مساو تقريباً للبروتين الحيواني (Natures، 2010)، ويتميز بغناه بالأحماض الأمينية الأساسية والضرورية لنمو الجسم (Croan، 2004)، ويبيّن Kalberer و Künsch (1974) أن إجمالي محتوى الفطر المحاري من الأحماض الأمينية الأساسية والأحماض الأمينية الكلية بلغت (2059-2415، و 5169-5747 مغ/غ نتروجين البروتين الخام، على التوالي)، معظم هذه الأحماض لا تتوافر في البروتينات النباتية وهذا سبب تسميته بلحم الفقير أو اللحم النباتي حيث يعد بديلاً عن البروتين الحيواني في التغذية. يتراوح محتوى البروتين في الفطر المحاري بين 10-30% وحتى 40% من الوزن الجاف، وتتفاوت هذه النسبة إلى حد كبير بين الأنواع وضمن النوع الواحد، كما أنه يحتوي على جميع الأحماض الأمينية الأساسية، والتي تشكل 40% من إجمالي محتوى الأحماض الأمينية. ويبلغ محتواه من الدهون حوالي 3-5% من الوزن الجاف، ومن الألياف 3-32% من الوزن الجاف، أما محتواه من الكربوهيدرات فيبلغ في الفطر الطازج بين 3-28%، وتصل إلى 57% في الفطر *P. ostreatus* من وزنه الجاف (Chang و Miles، 2004).

وتبلغ كمية الفيتامين C 31.4 غ/100 غ من الوزن الجاف في *P. ostreatus* (Wang و زملاؤه، 2001). فهو مصدر جيد للسكريات والألياف والبروتين والمعادن والفيتامينات، كما أنه غني بفيتامينات B وفيتامين C (Randive، 2012).

كما يحتوي الفطر المحاري على معظم الأملاح المعدنية التي يحتاجها جسم الإنسان، حيث يحتوي ضعف كمية الكالسيوم والفوسفور والحديد المتوفرة في لحم البقر ولحم الخنزير ولحوم الدجاج (Jaziya، 2011). وتتنوع حسب Çağlarirmak (2007) كالتالي (مغ/كغ على أساس الوزن الرطب): الكالسيوم (23.66-81.16)، الصوديوم (750.77-773.67)، البوتاسيوم (2225.00-2687.00)، الفوسفور (716.31-998.47)، الحديد (7.94-14.80)، الزنك (9.31-11.18).

ولمعظم أنواع الجنس *Pleurotus* القدرة على امتصاص العناصر الصغرى من الأوساط الزراعية المختلفة وبالتالي يعتبر هذا الفطر غذاء صحياً ممتازاً للحمية الغذائية (Stajic وزملاؤه، 2002)، كما ينتج كمية كبيرة من فيتامين D عند تعرضه للأشعة فوق البنفسجية (Koyyalamudi وزملاؤه، 2009؛ Lee وزملاؤه، 2009). والفطور المأكولة بشكل عام هي المصدر النباتي الوحيد لفيتامين د بالشكل الصالح للأكل (Nita، 2009).

وتختلف كمية ونوعية التركيب الكيميائي للفطر المحاري بحسب السلالة المزروعة والمنشأ وعمليات الاستخلاص وظروف الإنتاج (Wang وزملاؤه، 2001). كما يختلف المحتوى من الفيتامينات والمعادن بحسب أوساط الزراعة المستخدمة ووقت الحصاد (Jaziya، 2011).

2-5- الأهمية الطبية للفطر المحاري. *Medicinal value of Pleurotus spp.*

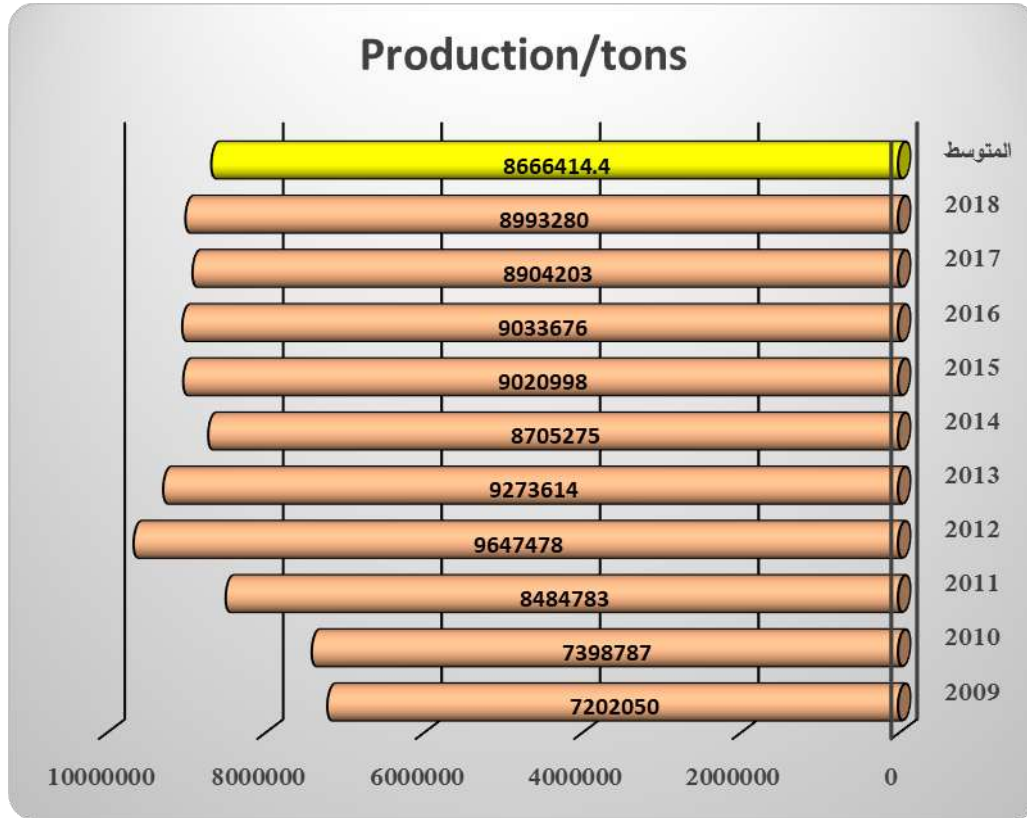
بالإضافة إلى المحتوى الغني بالعناصر الغذائية الهامة فإن الفطر المحاري معروف بفوائده الطبية المتنوعة والمتعددة والتي تم اكتشافها في مناطق عديدة من العالم. إن تناول هذا الفطر يناسب الأشخاص الذين يعانون من ارتفاع ضغط الدم والسمنة ومرض السكري بسبب انخفاض نسبة الصوديوم/البوتاسيوم والنشاء والدهون والسعرات الحرارية (Flatt، 2010). لا تحتوي أنواع *Pleurotus* المختلفة على كمية كبيرة من السكريات والبروتينات والفيتامينات فحسب، بل تحتوي أيضاً على الفينولات والفلافونويدات والمنشطات والجليكوسيدات والتانينات، الأحماض الدسمة، والتيربينويدات والقلويدات والغلوكان وغيرها من مضادات الأكسدة، وإن وجود هذه العناصر الغذائية يكسبها خواص علاجية مختلفة كمضادات للأورام والالتهابات وكمضاد فيروسي وفطري وجراثومي وللميكروبات وللفيروسات، وتعزيز المناعة، وخفض كوليسترول الدم والضغط وغيرها (Paul وزملاؤه، 2017).

يعد الفطر المحاري مادة غذائية طبيعية قادرة على تخفيض الكوليسترول حيث يحتوي على ميفينولين ومركبات متصلة مثبتة ومنافس قوي للخميرة الرئيسية في اصطناع الكوليسترول HMG CoA reductase (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductuctase)، كما تنتج أنواعه مركب Lovastatin الذي دخل كعامل أساسي في الصناعات الدوائية لخفض الكوليسترول (Gunde-Cimerman، 1999)، حيث صُنعت مستخلصات من الأجسام الثمرية استخدمت في إعداد مستحضرات غذائية يوصى بها من أجل منع ارتفاع الكوليسترول.

ووصف هذا الفطر باحتوائه على مركبات كيميائية مضادة للأورام والسرطانات (Cocran، 1978؛ Gunde-Cimerman، 1999؛ Kawamura وزملاؤه، 2000؛ Zhang وزملاؤه، 1994)، إذ يحتوي على كمية كبيرة من مادة الـ Retene التي يمكن أن يكون لها تأثير مُضاد لبعض الأشكال من الأورام والخراجات، وقد أظهرت الأبحاث أن الحقن بمستخلصات مائية أو سائلة من النوع *P. ostreatus* وأنواع أخرى من الفطر الزراعي لها بعض التأثيرات المثبطة لنمو الأورام بمعدل 43-92% حسب (العودة، 1997). وأفاد Randhawa و Ranote (2004) أن المشتقات الكينويدية من الفطر *P. ostreatus* والفطر *A. bisporus* قد تمارس نشاطاً مضاداً للورم، ويمكن أن يقلل من نمو سرطان الثدي البشري وخلايا سرطان القولون (Sliva و Jedinak، 2008). كما يمكن تجفيف الأجسام الثمرية لفطر المحار وطحنها فيسمى مسحوقها عندئذ Tendon-easing powder ويستخدم لمعالجة آلام المفاصل القطنية وآلام الساقين وتتميل الأطراف وتوتر الأوتار والعضلات وتقوية الأوردة والأوعية الدموية، ويؤدي انتظام تناول هذا الفطر إلى تثبيط نمو الخلايا السرطانية Sarcoma 180 حسب (أحمد، 1998). وفي الصين يستطب به من أجل إرخاء العضلات والمفاصل (Jong و Yang، 1989). وهو معروف جيداً بفوائده القلبية الوعائية، بالإضافة إلى أنه يمتلك العديد من التطبيقات الصيدلانية، وساعدت خصائصه المتعددة هذه في إفساح المجال واسعاً للقيام بالكثير من الأبحاث المتعلقة بالكيمياء الحيوية والبيولوجيا (Bobek وزملاؤه، 1991؛ Bobek و Ozdin، 1994؛ Sarker وزملاؤه، 1997؛ Shen وزملاؤه، 1997).

2-6- الأهمية الاقتصادية :Economic importance

انتشرت زراعة الفطور المأكولة في أكثر من 150 دولة في العالم (Miles و Chang، 1989)، وقد ازداد الإنتاج العالمي من الفطور المأكولة Edible Mushroom من 5.2 مليون طن عام 2004 (Fattahifar، 2017) ليصل إلى حوالي 9 مليون طن بالمتوسط خلال الفترة من عام 2009-2018 (الشكل 1)، وتحتل آسيا مركز الصدارة بين القارات في كمية الإنتاج بنسبة حوالي 75% (الجدول 4) (FAO، 2020). كما انتشرت زراعته في البلدان العربية بشكل واسع وخاصة في جمهورية مصر العربية في المشاريع الصغيرة ومشاريع الشباب والخريجين الجدد (الشالط، 2008).



الشكل (1): الإنتاج العالمي من الفطور المأكولة Edible Mushroom خلال الفترة بين عامي 2009 و2018 (FAO، 2020)

الجدول (4): متوسط الإنتاج العالمي (2009-2018) من الفطور المأكولة Edible Mushroom حسب القارة (FAO، 2020)

القارة	آسيا	أوروبا	أمريكا	إفريقيا	أوقيانوسيا	المجموع
الإنتاج (طن)	6532372	1528621	531111.6	22757.5	51552.5	8717967
النسبة %	74.93	17.53	6.09	0.26	0.59	100

وتأتي الصين كأكبر منتج على مستوى العالم (أكثر من 70%)، بينما تحتل الولايات المتحدة المرتبة الثانية تليها عدد من الدول الأوروبية وغيرها (الجدول 5)، ومن الجدير بالذكر أن هذا الإنتاج يسهم في تلبية حاجة الأسواق المحلية بينما يتم تصدير حوالي 6.5% منه وبقيمة تتجاوز 1616 مليون دولار (FAO، 2020).

الجدول (5): الدول العشرة الأعلى إنتاجاً من الفطور المأكولة Edible Mushroom خلال الفترة من 2009 إلى 2018 (FAO، 2020)

المرتبة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
الدولة	الصين	الولايات المتحدة	إيطاليا	هولندا	هولندا	اسبانيا	كندا	فرنسا	إنكلترا	إيران
الإنتاج (طن)	6192284	405141	350046	295000	252006	154919	125970	104908	86952	85234

وتبين البيانات في الجدول (6) وجود خمسة أنواع أساسية مأكولة تشكل 85% من الإنتاج العالمي المزروع ويأتي الفطر المحاري بالمرتبة الثانية بين هذه الأنواع (Fattahifar، 2017).

الجدول (6): النسبة المئوية لأهم أنواع الفطور المأكولة المزروعة على مستوى العالم (Fattahifar، 2017)

النوع	الفطر الزراعي Button mushroom	الفطر المحاري Oyster mushroom	فطر الشيتاكي Shitake mushroom	فطر الشتاء Flammulina mushroom	فطر آذان الشجر Auricularia mushroom	الفطور المأكولة الأخرى Other mushroom
النسبة المئوية لإنتاجه (%)	30%	27%	17%	5%	6%	15%

يعود السبب الرئيسي لانتشار زراعة الفطر المحاري *Pleurotus spp.* وزيادة إنتاجه إلى ما يتمتع به هذا الفطر من خصائص أهمها:

1. يمكن لمعظم أنواعه الاستفادة من أنواع المخلفات الزراعية الجافة والتي يمكن استعمالها دون تخمير كأوساط لزراعة وتنمية الفطر عليها، حيث يمتاز الفطر المحاري بسرعة وقوة نمو المشيعة (الميسيليوم) مع احتوائه على نظام أنزيمي قادر على تحليل السيليلوز والمواد اللغنيينية وقلة الإصابة بالأمراض الحشرية والفطرية وهذا ما يعطيه قدرة كبيرة على التطور ويجعله يتكيف بشكل جيد مع العديد من أوساط الزراعة وكل أنواع المخلفات المتاحة تقريباً (Stamets، 2000؛ Cohen، وزملاؤه، 2002)، والتي تقدر بحوالي 90 نوعاً منها: قش الحبوب ونشارة الخشب وجذوع الأشجار ما يعطي المنتج مجالاً واسعاً في اختيار وسط الزراعة من المواد المتوفرة لديه في البيئة المحيطة (Pope، 2004).
2. يبقى محتفظاً بنكهته الطبيعية حتى عندما يتم إنتاجه صناعياً.

3. يتميز الفطر من الناحية البيولوجية بأن متطلباته الحرارية مرنة نسبياً وتتراوح بين 15-30°م (Zhanxi، 2006).
4. يعد الفطر المحاري من الأنواع عالية المحصول، مع أفضل معدل استفادة من وسط الزراعة حيث تتراوح كفاءة التحول الحيوي بين 80-150% (Zhanxi، 2006).
5. دورة إنتاجه قصيرة تستغرق 5-6 أسابيع من مرحلة العدوى (تلقح الوسط بالبذار) حتى بدء الحصاد (Zhanxi، 2006).
6. يتمتع بقدرة كبيرة على تحسين المخلفات الزراعية التي ينمو عليها وتحويلها إلى مواد علفية ذات قيمة غذائية عالية، حيث يؤدي نمو الفطر إلى هضمها هضماً جزئياً بإفرازه لأنزيمات محللة للمركبات السيليلوزية المعقدة واللغنين وتحويلها إلى مركبات أسهل هضماً ويضيف إليها نسبة عالية من البروتين نتيجة نمو مشائج الفطر داخلها مما يجعلها علفاً جيداً للحيوانات المجترة مثل الأبقار والأغنام والماعز، وغذاءً للمزارع السمكية وللأرانب والدواجن، وفي بعض الحالات ينصح باستخدامها كسماد عضوي للأراضي الخفيفة وحديثة الاستصلاح كما يمكن أن تستخدم في إنتاج الغاز الطبيعي الذي يستخدم في الإنارة والتدفئة والطهي (أحمد، 1995).
7. لإنتاجه تأثير إيجابي كبير على البيئة بشكل عام نتيجة التخلص من المخلفات الزراعية الملوثة للبيئة (OECD، 2005) وعلى صحة الإنسان بشكل خاص نظراً لقيمته الغذائية الكبيرة ومزاياه الطبية العالية.
8. للفطر أهمية اقتصادية كبيرة إذ تعتبر زراعته قليلة التكلفة حيث تتكون الخلطة الزراعية فقط من مادة تحتوي على السيليلوز كتبن القمح أو الشعير أو الحمص أو أية مخلفات نباتية رخيصة كأوراق الشجر ومخلفات الخضار، كما أنه لا يحتاج إلى تجهيزات معقدة ومكلفة ويصلح للمزارعين الصغار والهواة وذوي الإمكانيات المحدودة، ويمكن زراعته في العديد من الأماكن التي لا تستثمر في مجالات أخرى (أحمد، 2010). ويستخدم تبن القمح عموماً كوسط للزراعة نظراً لتوفره وإمكانية تأمينه على مدار العام، وهو أبسط وسط مغذ ينمو عليه الفطر المحاري، حيث يكفي إجراء عملية بسترة للتبن عند إعداده كوسط للزراعة ونادراً ما يتم تخميره (Delmas، 1989).

9. يمكن إنتاجه صناعياً بكميات كبيرة وبتقنيات بسيطة وسهلة التطبيق، وتشجع قدرته الكامنة على التطور في انتشار زراعته مقارنة مع أنواع الفطور الأخرى (Zhanxi، 2006؛ Pawlik وزملاؤه، 2012).

2-7- تطور زراعة الفطر المحاري

Development of oyster mushroom cultivation:

بين العودة (1997) بأن أول زراعة للفطر المحاري *P. ostreatus* سُجلت عام 1900م، بينما يعود أقدم تسجيل له كفطر إلى عام 917م، كما ذكر بأن الباحث Etter أنتج أجساماً ثمرية من النوع *P.ostreatus* عام 1892م بطريقة عدلها بعده العالم Kaufert عام 1935م أثناء دراسته لدورة حياة الفطر، ثم مرت حوالي عشرة سنوات أو أكثر قبل أن يتأسس وبشكل راسخ الإنتاج الصناعي لهذا الفطر في الولايات المتحدة الأمريكية وأوروبا حيث بدأ لفت الانتباه إليه كفطر زراعي مأكول في الفيليبين رغم محدودية الإقبال عليه، وهذا ما حدث في تايلاند أيضاً رغم أن التايلانديين عرفوه كفطر مأكول قبل الفيليبينيين.

زرع الفطر المحاري *Pleurotus spp.* في البداية على القش من قبل عدد من الباحثين وحصلوا على إنتاج جيد، وقد تم تطوير الإنتاج التجاري للفطر المحاري وكذلك الأوساط الزراعية المناسبة لنموه تطوراً سريعاً في الفترة ما بين 1971م و1974م من قبل عدد كبير من الباحثين (Chang و Hayes، 1978).

شهد القرن العشرين نجاح الكثير من عمليات استئناس الفطور البرية الصالحة للأكل وزراعتها تجارياً لتتحول بعدها زراعة الفطر إلى علم قائم بحد ذاته، وإلى صناعة مستقلة تتداول رؤوس أموال بشكل كبير في عالم الاقتصاد، كما طورت الجامعات ومراكز الأبحاث والشركات سلالات جديدة عالية الإنتاج وجيدة التحمل للظروف البيئية والإصابات الطفيلية المختلفة (أحمد، 1995؛ مدبولي والحسيني، 1996؛ بيرق وزملاؤه، 2009).

وقد اعتاد المستهلك على تناول الفطر المعروض في الأسواق التجارية طازجاً أو معلباً، حيث يتواجد نوعين من الفطر هما الفطر الزراعي العادي (الفطر الأبيض) بالدرجة الأولى والفطر المحاري بالدرجة الثانية بالإضافة إلى فطر الشيتاكي (الشالط، 2008)، أما الأنواع الأخرى مثل الفلامبولينا *Flammulina* والـ *Hericium* وباقي الأنواع الأخرى من الفطور المأكولة فما تزال

غير معروفة في مجتمعنا الذي لم يدخل الفطر ضمن عاداته الغذائية بشكل واسع حتى هذا الوقت، ويقتصر منتج الفطر على إنتاج الفطر الأبيض والفطر المحاري فقط (أحمد، 2010).

وفي سورية أطلق فريق من باحثي الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية في مركز بحوث حلب «المشروع الوطني لنشر زراعة الفطر المحاري وتطوير السلالات المحلية في سورية» بعد أن قاموا بتوطين ثقافة الإنتاج الكمي والتجاري لبذار الفطر الزراعي في سورية ونقلها إلى المؤسسة العامة لإكثار البذار، وعملوا على نشر زراعة الفطور بين المزارعين في عدة محافظات، كما لاحظوا من خلال العديد من الجولات التي قاموا بها انتشار الكثير من أنواع وسلالات الفطور المحارية في البيئات السورية المختلفة، وجمعوا بعض هذه السلالات بغرض تجريب زراعتها محلياً. كما بدأ فريق البحث العمل على نشر زراعة الأنواع التالية من الفطر المحاري: الفطر المحاري الشتوي *P. ostreatus* والفطر ملك المحاري *P. eryngii* والفطر المحاري الصيفي *P. pulmonarius* والفطر المحاري الوردي *P. djamor* وفطر محاري الدردار *Hypsizygus ulmarius* (Elm oyster mushroom) (بيرق وزملاؤه، 2009). ونجحوا في جمع وإنتاج بذار السلالة المحلية للفطر المحاري الصيفي *P. pulmonarius* بكميات كافية وتوزيعها مجاناً على المزارعين في محافظة القنيطرة عام 2009، حيث أعطت هذه السلالة نتائج جيدة من حيث الإنتاجية والإثمار عند درجة حرارة 32°م، وقد أطلقوا عليها اسم «حلب 1» (بيرق وزملاؤه، 2009).

بالرغم من أن جهود الفريق السابق أثمرت بزيادة انتشار زراعة الفطر لدى بعض المستثمرين والهواة وصغار المنتجين، إلا أن زراعته ظلت محدودة بسبب قلة الفنيين المختصين بالزراعة، وضعف الخبرة لدى القائمين عليها، بالإضافة إلى وجود صعوبة في تصريفه طازجاً (ضمن زمن وظروف محددة)، لذلك فشل الكثير ممن بدؤوا بزراعة الفطر ولم يستمروا بسبب قلة الخبرة والمتابعة (أحمد، 2010).

2-8- جمع واستزراع الفطور البرية

Collection and farming the wild mushrooms:

تجمع الفطور البرية المأكولة في أكثر من 80 دولة بهدف تأمين مصدر للغذاء وكسب العيش، وقد بيّنت منظمة الأغذية والزراعة (FAO) بالاعتماد على البيانات من 110 دول وجود عدد كبير من أنواع الفطور البرية المفيدة (الجدول 7)، ومجموعة صغيرة منها ذات أهمية اقتصادية من الناحية

التصديرية، والمجموعة الأكبر من هذه الفطور البرية المأكولة تجمع بهدف البقاء (الغذاء) في الدول النامية، حيث تساهم بشكل واضح في النظام الغذائي في جنوب ووسط أفريقيا - وخاصة لدى القرويين - خلال الأشهر من السنة التي تقل فيها مصادر الغذاء بشكل كبير (Boa، 2004).

الجدول (7): عدد أنواع الفطور المأكولة والطبية البرية (Boa، 2004)

الفئة	عدد الأنواع	النسبة من الإجمالي %
1. مأكولة فقط	1009	43
2. مأكولة وطبية	88	4
3. غذاء فقط	820	35
4. غذاء وطبية	249	11
5. طبية فقط	133	6
6. استخدامات أخرى (غير المذكورة أعلاه)	29	1
إجمالي الأنواع البرية المفيدة	2328	-
كل المأكولة فقط (1+2)	1097	-
كل الغذائية (3+4)	1069	-
كل الطبية (2+4+5)	470	-

ملاحظة: تم الجمع والتصنيف بالاعتماد على أكثر من 200 مصدر من 110 دول، ولكن تم استثناء المراجعة التفصيلية للأنواع من الدول المتقدمة. الأصناف وتحت الأنواع تم عدها منفصلة. إن الفئات "غذاء" و "مأكولة" استثنائية بشكل متبادل. من أجل التمييز بين استخدام وخصائص الأنواع فإن عدد مهماً من الأنواع المأكولة ينقصها الاستخدام المؤكد كغذاء.

وتلقى الأنواع البرية قبولاً من الناس أكثر من الأنواع الأجنبية المزروعة، وخاصة من هم على دراية تامة بالفطر البري، وبعد استزراع بعض أنواع الفطور البرية الصالحة للأكل أحد الوسائل التي تساعد في تعميم زراعة الفطر في البلاد، إذ يضمن استمرار توافر هذه الأنواع وعدم تدهورها بسبب الجمع الجائر لها والتدهور المستمر للغابات، بالإضافة إلى توفيرها بشكلها الطازج طوال العام بدلاً من كونها موسمية كما هو حالياً (Ohga و Gamage، 2018؛ Chang و Wasser، 2017)، وأهم المؤشرات النوعية والكمية للسلالات الجيدة من الفطر هي المؤشرات الإنتاجية العالية والمحتوى الجيد من البروتين والأحماض الدهنية والسكريات (Wang و زملاؤه، 2001). ويتواجد في الأسواق التجارية بالإضافة إلى الفطر المزروع أنواع أخرى من الفطور البرية التي تباع في مواسم محددة من السنة ويتم جمعها من قبل أشخاص معينين (على الأغلب من السكان المحليين) من بعض المناطق التي

اعتادوا ارتيادها وجمع الفطر منها كل عام. وتباع هذه الفطور بكميات كبيرة وبأسعار منخفضة نسبياً لذلك يرغب المستهلك بشرائها رغم تكرار حوادث التسمم التي تؤدي في معظم الأحيان إلى الوفاة بسبب عدم الخبرة الكافية لدى جامعي هذه الفطور في التمييز بين الأنواع السامة وغير السامة والتي تتشابه في الشكل وفي اللون أحياناً (الشالط، 2008). وعلى الرغم من خبرة الفلاحين في جمع واستهلاك الفطر البري إلا أنه يوجد نقص في وثائق فطور الـ Mushroom، من أجل ذلك من المهم جداً تعريف وتحديد النوعية للفطر البري (Weldekiros وزملاؤه، 2017).

فقد درس Ao وزملاؤه (2016) التنوع الحيوي لـ 87 نوعاً برياً من الفطور في الولايات الشمالية الشرقية للهند ووجدوا أن هذه الأنواع قد توزعت إلى 37 نوعاً صالحة للأكل، و21 نوعاً طيباً، وخمسة أنواع سامة، و37 نوعاً غير مأكولة لم يتم تصنيفها. كما تمكن Amanpreet وSodhi (2018) من دراسة التنوع الحيوي للفطور المأكولة في المنطقة تحت الجبلية في البنجاب وقاموا بالتوصيف الشكلي والبيوكيميائي لخمسة أنواع من الفطور الدعامية، منها (*Pleurotus florida*، *Pleurotus sajor-caju*، *Macrolepiota procera*) من رتبة Agaricales ونوعين آخرين (*Sparassi crispa*، و*Trametes elegans*) من رتبة Polyporales. واستطاع Almomany (2013) عند دراسته لعدد من الفطور البرية المأكولة في الأردن من تعريف فطر ملك المحاري *P. eryngii* الذي تميز بمحتوى عالٍ من البروتين 30.6% على أساس الوزن الجاف. وقد وجد Hasan وزملاؤه (2018) لدى دراسة 19 عزلة فطر محاري مأخوذة من موقعين في الأردن بأنها مشابهة وبنسبة 98% لفطر ملك المحاري *P. eryngii*. وفي العراق أجريت دراسة لجمع وتعريف أنواع الفطور البرية التي نمت بشكل طبيعي في حقول وبساتين مختلفة في منطقة هيت التابعة للأنبار، وأمكن جمع 15 نوعاً وتم تعريف اثنين منها على مستوى النوع وهما *Armillaria mellea* و*Coprinus disseminates* والبقية عرفت على مستوى الجنس وهي: *Pleurotus spp.*، و*Agaricus spp.*، و*Calvatia sp.*، و*Telephora sp.*، و*Fomes sp.*، و*Lepiota sp.*، و*Morchella sp.* (Mustafa وزملاؤه، 2014).

ومع التقدم بالتقانات الحيوية وزيادة المعرفة بزراعة الفطر، توجب العمل على استزراع الفطور البرية المرغوبة من خلال التركيز على الأنواع التي تتكيف مع الظروف المناخية المحلية وعلى أوساط الزراعة الموجودة في كل منطقة (Natures، 2010)، وقد تم في بوروندي في تانزانيا استئناس وإنتاج الأجسام الثمرية بنجاح في أربعة أنواع من أصل 9 أنواع من الفطور المأكولة تم

جمعها من أربع مناطق محمية وتوصيفها وتعريفها، ومنها *P. citrinopileatus*، و *Lentinus squarrosulus*، و *Hypholoma fasciculare*، و *Trametes polyzona*، وتباينت الإنتاجية والكفاءة الحيوية لهذه الأنواع بين 15.3%، و30.6%، و41.2%، و81%، على التوالي (Nteziryayo وزملاؤه، 2019). وتختلف الكفاءة الحيوية والإنتاجية بالدرجة الأولى باختلاف التركيب الكيميائي والفيزيائي للوسط (مثل السيليلوز والهيميسيليلوز واللغنين) ومحتواه من العناصر المعدنية ونسبة C/N ودرجة الحموضة، حيث أن احتواء الوسط على نسبة عالية من السيليلوز أو السكر يفسح المجال بسهولة من قبل الفطر وبالتالي يمدد بالطاقة وهذا ما أكدته Wang (2001) عندما ذكر وجود علاقة إيجابية بين الكفاءة وتفكك السيليلوز والهيميسيليلوز. وقد ركزت الكثير من الدراسات على تطوير طرق الزراعة باستخدام مواد وشروط مختلفة (Zacharia و Doshi، 2004). وتقدر قيمة التجارة العالمية للفطور المزروعة بحوالي 23 مليار دولار أمريكي كل سنة، وتشكل مصدراً متزايداً للدخل للمشاريع الصغيرة في الدول النامية. ويوجد تأكيد قوي على وجوب استخدام الفطور البرية المأكولة لأهميتها في التصدير كمصدر للخبرات العلمية وخاصة في دراسة الفطور (Boa، 2004).

بقي الاهتمام بالفلورا الفطرية Mycoflora في سورية قليلاً، وخاصة الفطور الكبيرة منها Macromycetes إذا ما قورن بالدراسات الفطرية في بلدان العالم، وبالرغم من أن العديد من الأنواع الدعامية المصنفة سابقاً في بعض المناطق الساحلية والداخلية، ذات قيمة غذائية وطبية عالية إلا أنه لا توجد سوى دراسات قليلة ومتفرقة عن التنوع الحيوي للفطور البرية في سورية (بغدادى وزملاؤه: 2001؛ سعود، 2003)، منها بعض المساهمات المنهجية في تصنيف بعض أنواع الفطور الرمية والطفيلية في مناطق مختلفة من القطر والتي أكدت أن الفلورا السورية غنية بالفطور البرية (علبي وأحمد، 1996؛ أحمد وبواديقي، 1997؛ أحمد وآخرون، 2003؛ بواديقي وآخرون، 2006)، ومن أهم الدراسات التي وصفت الأنواع البرية نذكر الآتي:

- في محافظة ريف دمشق سجل 13 نوعاً ثمرياً من الفطور تم عزلها من التربة وجذوع الأشجار، و17 نوعاً آخر تم عزلها من الغابات والبساتين (بغدادى، 1972).

- في محافظة حلب تم توصيف العديد من الأنواع الفطرية في مناطق زراعة أشجار الحور في منشأة الأسد في مسكنة، خلال فترة منتصف ونهاية الخريف وحتى نهاية الربيع من كل عام (أحمد وبوادي، 1997؛ قشلان وعلي، 1996؛ علي وأحمد، 1996) وهذه الفطور هي:

Psathyrella، *Coprinus icaceus*، *Volvariella speciosa*، *Agaricus campestris*، *Iocybe*، *Helvella lacunose*، *Pleurotus ostreatus*، *Dicotyolus retriugus*، *prona*، *Fibuloporia cremea*، *Suillus granulatus*، *Hebeloma crustuliniforme*، *fastigiata*، *Inocybe fibrosa* و *Marasminus rotula*.

- وفي الغرب من مدينة حلب في غابات الصنوبر البروتي *Pinus brutia* سجلت 6 أنواع ثمرية من الفطور الدعامية هي:

، *Lycoperdon perlatum*، *Coprinus comatus*، *Lepista nuda*، *Tricholoma terreum*، *Strolillurus esculentus*، *Mycena renatii* (أحمد وبوادي، 1997).

- في المنطقة الساحلية لوحظ ترافق العديد من الأنواع الفطرية مع الأمطار الخريفية الأولى واستمرارها حتى الشتاء والربيع أغلبها يتبع الأجناس والأنواع التالية:

Panaeolus، *Coprinus*، *Cortinaius*، *Amanita*، *Lactarius*، *Russula*، *Boletus* و *Agaricus*، كما لوحظ وجود 154 نوعاً منها 4 أنواع فقط من الفطور الزقية و150 نوعاً من الفطريات الدعامية ممثلة بـ 64 جنساً أهمها الفطر المحاري النامي على التفاح *P. dryinus* و *P. ostreatus* النامي على جذوع السنديان والتين والتوت (سعود، 2003).

- في المنطقة الجنوبية قام بغدادي وزملاؤه (2001) بمساهمات عديدة لدراسة التنوع الحيوي للفطور وفي عدة مناطق من حوض بردى بين عامي 1996 و1999، وتوصلوا إلى الآتي:

- وجود فطور زقية تنتمي لـ ١٠ فصائل، تضم ١٦ جنساً و٢٦ نوعاً، بعضها فطور صالحة للتغذية مثل الفطرين: *Helvella crispa* (Scopoli) Rhem. و *Helvella esculenta* (L.) Rhem. التابعين لفصيلة *Helvellaceae*، والفطر *Morchella esculenta* (L.) Rhem. وهو ذو قيمة غذائية عالية ويتبع للفصيلة *Morchellaceae*.
- وجود فطور دعامية تنتمي لـ ١٣ فصيلة، تضم ٨ جنساً و٢٧ نوعاً، وتحتوي العديد من الفطور الصالحة للأكل التابعة للفصائل: *Paxillaceae* و *Tricholomataceae* و *Agaricaceae* و *Coprinaceae* و *Pleurotaceae*.

- في غابة الأرز والسرو في ظهر القصير في حمص حددت هوية الفطور الدعامية لموسمين متتاليين من قبل (سعود، 2018) وتم حصر 32 نوعاً تابعاً لـ 20 جنساً من 10 فصائل أغلبها يتبع الفصيلتين Russulaceae و Tricholomataceae، 50% من هذه الأنواع ينمو رميةً على التربة وجذوع الأشجار و16% ميكوريزي و3% طفيلي، وتم تسجيل 10 أنواع جديدة لم تسجل سابقاً.

وفيما يخص النوع *P. ostreatus*، قام (عز، 2007) بدراسة التوزيع البيئي الجغرافي والتنوع الوراثي للفطر المحاري لمناطق في حلب وإدلب ودرعا وبارمايا في طرطوس ودمسرخو في اللاذقية، وأجرى الدراسة الجزيئية لـ 36 سلالة برية ذات أصل سوري وواحدة مستزرعة بالإضافة إلى سلالات إيطالية وهنغارية وإسبانية وأمريكية، ونتيجة الدراسة انقسمت السلالات المدروسة إلى 7 مجموعات رئيسية. وأثبت هذا البحث وجود مستوى جيداً من التنوع الوراثي للفطر المحاري في سورية مما يساهم بشكل رئيسي وفعال في تكوين قاعدة وراثية من أجل الحصول على بذار لهذا الفطر تستخدم في الإنتاج التجاري، كما بين أن السلالات البرية السورية المنشأ تمتلك معامل نمو المشيجة الفطرية مطابق إلى حد كبير للصفات المرغوبة للإنتاج التجاري مما يعزز العمل على دراسة أنواع الفطر المنتشرة في المناطق التي يتواجد فيها الفطر برياً. وبالتالي يمكن استخدامها في إنشاء قاعدة وراثية واسعة تكون الأساس في الحصول على بذار للفطر المحاري.

2-9- تأثير الأوساط المغذية في نمو الفطر المحاري

Effect of nutrient media on oyster mushroom growth:

تعتبر سرعة نمو المشيجة على الأوساط المغذية من أهم المؤشرات لتحمل المشيجة للإجهادات السلبية والوصول إلى مرحلة الإثمار، وهناك علاقة إيجابية بين معدل نمو المشيجة والإنتاجية النهائية للفطر (Salmones وزملاؤه، 1997)، كما تتوقف كفاءة التحول الحيوي على تطور المشيجة في المرحلة الأولى من الزراعة، ويلعب نمو المشيجة السليم والنشيط دوراً أساسياً في حمايتها من العديد من العوامل المجهدة (Herderio وزملاؤه، 2006). وهنا تكمن أهمية الأوساط المغذية التي تزود المشيجة بالعناصر الأساسية للنمو، وتسمح بتسريع نمو المشيجة وتضمن نوعية جيدة لها وبالتالي دورة إنتاج على مدار العام (Chang، 2001). تتأثر خصائص المستعمرة الفطرية ولونها لكل نوع فطري بالأوساط المغذية المستخدمة، كما يختلف النمو باختلاف هذه الأوساط، لذلك كانت هناك دراسات عديدة حول تأثير الأوساط المغذية في نمو مشيجة الفطر التي تؤثر بدورها على باقي مراحل

نمو الفطر وإنتاجيته. فقد درس Gibriel وزملاؤه (1996) تأثير خمسة أوساط مغذية هي: Potato، (GYEA) Glucose Yeast Extract Agar، Czapeck's Agar، (PDA) Dextrose Agar، (NA) Nutrient Agar و (MEA) Malt Extract Agar على النمو الطولي لمشيجة ثلاث سلالات من الفطر المحاري [*P. ostreatus* (strain 222)، *P. columbines* (strain 250) و *P. sajor-caju* (strain 290)]، ووجدوا أن وسط PDA كان الأفضل بمعدل النمو Growth rate (GR) بين الأوساط المدروسة للسلالات المختبرة. كما درس Nasim وزملاؤه (2001) تأثير ثلاثة أوساط مغذية (MEA، Murashige and Skoog's MS و PDA) في نمو الميسيليوم للنوعين (*P. sajor-caju* و *P. Citydeosus*)، وبينت النتائج أن نمو الميسيليوم لكلا النوعين كان الأعلى على وسط MEA، بينما كان الأقل على وسط PDA. وقد اختبر Badalyan وزملاؤه (2008) معايير النمو (معدل النمو GR ومعامل النمو GC) لثلاث سلالات محلية من الفطر المحاري *P. ostreatus* من أرمينيا على وسطي PDA و MEA، ووجدوا أن معدل النمو ومعامل النمو لكل السلالات كان أعلى على الوسط MEA منه على الوسط PDA. كذلك وجد Ahmad وزملاؤه (2015) عند دراسة نمو ميسيليوم الفطر *pink oyster (Pleurotus djamour)* على أربعة أوساط مغذية مختلفة هي: PDA، MEA، (PYDA) Potato Yeast Dextrose Agar و (YEA) Yeast Extract Agar، أن أعلى معدل لنمو الميسيليوم كان على وسط PDA بينما أدنى معدل نمو كان على وسط YEA، وكانت كثافة الميسيليوم أعلى على وسط PDA منها على باقي الأوساط. كما وجد الباحثون أن سلالات النوع الواحد تختلف بنموها على الأوساط المغذية فقد توصلت إحدى الدراسات إلى أن معدل النمو والكتلة الحيوية لأربعة سلالات معزولة خضرياً من الفطر البري المأكول *Lyophyllum* قد تأثر بكل من وسط الزراعة المستخدم (PDA و ME-malt extract-peptone and yeast agar) وتأثر بكل من وسط الزراعة المستخدم (PDA و ME-malt extract-peptone and yeast agar) والسلالة Arana-Gabriela وزملاؤه (2018).

10-2 - حفظ السلالات الفطرية :Preservation of fungal strains

تعد عملية حفظ السلالات الفطرية عاملاً أساسياً في دراسات التنوع والتصنيف الحيوي وذلك من أجل استكمال دراسة نموها وتطورها على مختلف الأوساط وتحديد إمكانية استزراعها، وتتطلب الفطور كغيرها من المتعضيات المختلفة، عدة طرائق لزراعة وحفظ وضمان سلامة الخصائص الشكلية والفيزيائية والوراثية والقابلية لإعادة النمو للمزرعة الفطرية عبر الزمن. وعند اختيار إحدى طرائق الحفظ يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار كلفة الطريقة ومناسبتها لنوع الفطر وتوفر المواد اللازمة

(Nakasone وزملاؤه، 2004). تحدثت المراجع عن العديد من الطرائق المستخدمة لحفظ السلالات الفطرية ومنها:

أ- **النقل المتسلسل Serial Transfer**: وهي طريقة بسيطة وغير مكلفة ومستخدم بشكل واسع لأنها مناسبة لمعظم الفطور، لكنها تحتاج إلى وقت وجهد أكبر مقارنة مع باقي الطرائق، إلا أنها خيار جيد للمجموعات الصغيرة من الفطور. ويكون الحفظ على أوساط مغذية متصلة مناسبة إما في أطباق بتري أو بشكل مائل في أنابيب اختبار على درجة حرارة 4°م لمدة قصيرة عدة أسابيع أو عدة أشهر (أقل من سنة) بين النقلات ويستمر الحفظ لعدة سنوات (Nakasone وزملاؤه، 2004؛ Humber، 1997).

ب- **الحفظ تحت الزيت المعدني Oil overlay**: وهي طريقة قليلة التكلفة تستخدم لحفظ المشيجة النامية على الآغار المائل، ويمكن حفظ العزلات الفطرية بهذه الطريقة عدة سنوات، وفي ظروف خاصة لأكثر من 32 سنة (Nakasone وزملاؤه، 2004)، وتتاسب هذه الطريقة المشيجة غير المتحملة للتجميد. ومن فوائدها أنها تقلل من التدهور في خصائص المشيجة. يمكن أن تحفظ بهذه الطريقة العديد من الفطور الدعامية، حيث ينخفض معدل نمو المستعمرة الفطرية مع زيادة فترة الحفظ (Dorworth و Burdsall، 1994).

ج- **الغمر بالماء المقطر Immersion in distilled water**: وهي طريقة بسيطة وغير مكلفة وتتاسب معظم أنواع الفطور. يمكن بهذه الطريقة حفظ معظم الفطور الدعامية لسنتين على الأقل على درجة حرارة 5°م، إذ يعمل الماء على وقف التغير في الصفات الشكلية (Nakasone وزملاؤه، 2004).

د- **الحفظ على رقائق الخشب Wood chips**: وهي إحدى طرق الحفظ على المواد العضوية كالقش وحبوب القمح وورق الترشيح. وتستخدم لحفظ الفطور الدعامية والزقية النامية على الخشب، ويجب أن يشكل الفطر مستعمرة قوية على الخشب لنجاح عملية الحفظ وإلا فإن الطريقة ستفشل، ويمكن الحفظ بهذه الطريقة حتى 10 سنوات (Nakasone وزملاؤه، 2004).

هـ- **الحفظ بالآزوت السائل Liquid nitrogen**: يمكن استخدام هذه الطريقة لكافة أنواع الفطور ولعدة سنوات إلا أنها تحتاج لخبرة فنية عالية وتجهيزات وبنى تحتية خاصة وهي تتاسب الجامعات ومراكز الأبحاث والشركات الكبرى (Smith، 1982؛ Sanantonio، 1979)، وقد أجريت أبحاثاً أثبتت إمكانية حفظ المشيجة بالتجميد العميق بهذه الطريقة عند درجة حرارة -80°م مدة 23 سنة (Smith، 1993).

2-11- التقانات المستخدمة في تصنيف الفطور

:Common techniques used in fungi classification

عموماً تعتمد دراسة الوضع التصنيفي للفطور الكبيرة إما على الصفات المظهرية الخارجية، وخصائص النمو والتطور، بالإضافة إلى الصفات الفيزيولوجية والبيوكيميائية والمجهريّة الدقيقة؛ أو على الدراسات الوراثية والمحتويات البروتينية لدى الفطور كما هو الحال بالدراسات الحديثة، التي احتلت مكانة هامة ضمن مجموعة الدراسات الأخرى كما عند بقية الكائنات الحية الأخرى (Bridge وزملاؤه، 1998؛ Ahmed، 1998).

أ- التوصيف الشكلي للفطر المحاري *Pleurotus spp.*

اعتمدت الكثير من الدراسات - كدراسة Elnaiem وزملاؤه (2017) في السودان ودراسة Farooq وزملاؤه (2017) في كشمير- في تعريف الفطور البرية وتوصيفها على مجموعة من الصفات الشكلية للفطر ومن أهمها حجم الجسم الثمري، وصفات القبة (اللون، الشكل، الحجم، السطح والبنية) والحامل (الأبعاد، اللون، وجود الحلقة.... إلخ) وغيرها؛ وفي بحث استهدف ساحل كينيا، نجح Gateri وزملاؤه (2014) في توصيف عينات الفطر التي جُمعت بالاعتماد على الصفات الشكلية (الحجم، والشكل، والرائحة، والبنية، واللون.... إلخ) إلى أجناس مأكولة (*Ganoderma spp.*، *Auricularia*، *Russula spp.*، *Pleurotus spp.*، *Agaricus spp.*، *Cantharellus spp.*، *Termitomyces spp.*، وأخرى سامة (*Amanita spp.*، *Lactarius spp.*، *stinkhorn* spp.).

ذكر كلاً من Chang و Hayes (1978) و Chang و Miles (2004) و OECD (2005) و Woller (2007) أن الجسم الثمري للفطر المحاري يتميز بوجود القبة *Pileus* والحامل *Stipe* ولا توجد أبعاد محددة لهذه الأجزاء إنما تتغير تبعاً لبيئة النمو والانتشار (الشكل 2) حيث:

- **القبة (*Pileus (Cap)*):** تتوضع جانبياً *Lateral* على الحامل وهي ذات شكل محاري أو لساني أو كلوية الشكل، وهذا سبب تسميته بالفطر المحاري، تتقعر نحو الأعلى لاحقاً، ناعمة، ذات لون أزرق داكن، أو كريمي إلى بني، أو أصفر، أو وردي، أو رمادي، أو بني رمادي، أو رمادي ضارب إلى الأرجواني مسود عند النضج، وعموماً هنالك اختلاف كبير في اللون بين السلالات حيث تتغير كثافة اللون بحسب التغيرات في العوامل البيئية كالضوء والحرارة حيث يصبح اللون أغمق في ظروف الإضاءة الشديدة وانخفاض الحرارة بينما يصبح بدرجة أخف (أفتح) عند التعرض إلى ضوء ضعيف

وطقس دافئ. تكون صغيرة الحجم عندما ينمو الفطر على الخشب وأكبر حجماً عندما ينمو على الأوساط الزراعية (الركائز)، وتنمو القبعات متراكبة فوق بعضها بشكل مجاميع (عناقيد أو باقات ثمرية Clusters)، وتذبل مع التقدم في العمر وتتخشب في فصل الشتاء، وهي غير متماثلة، منخفضة عند اتصالها بالحامل، ملساء لامعة، منحنية للأسفل في اتجاه الحامل، وتوجه القبعة إلى الأعلى عند النضج، وتتميز بـ:

❖ **الحافة Margin:** ملساء ملتفة نحو الأسفل ثم تصبح متموجة إلى حد ما ومحززة ومشققة مع التقدم في العمر.

❖ **اللب (النسيج) Context:** أبيض إلى أبيض رمادي، نحيف إلى سميك، في البداية يكون ليناً طرياً ثم يصبح جامداً قليلاً، النسيج شعاعي، الرائحة معتدلة لطيفة فطرية نموذجية، طيب المذاق، يصبح طعمه غير مستحب في المراحل المتأخرة من النمو.

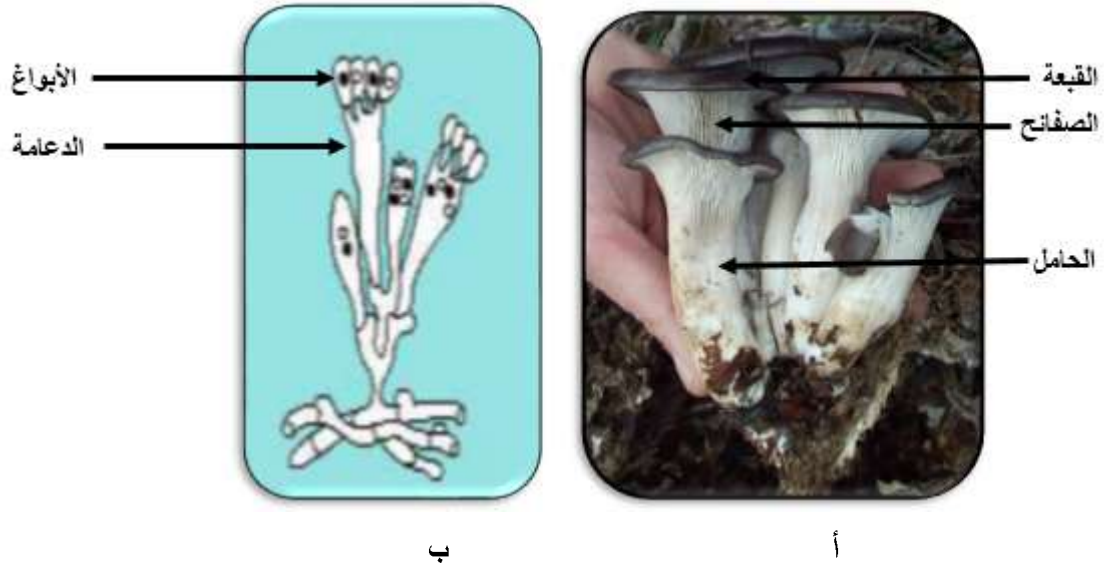
❖ **الصفائح Lamellae أو الخياشيم Gills:** ضيقة، بيضاء إلى كريمية أو رمادية باهتة، تتوضع بشكل صفائح وشفائح قصيرة قد يصل عددها إلى ثلاثة. ملتصقة خارجية طويلة حرة وكثيفة وذات قاعدة ممتدة إلى الأسفل على الحامل، تشكل انتفاخاً يدعى Lanastomosing بالقرب من نقطة اتصالها مع الحامل حيث تتصل معه بشكل منحدر (Decurrent).

❖ **الأبواغ Spores:** بقياس (8-12) × (3-4) ميكرون، ناعمة ملساء غير مبرقشة، اسطوانية أو بيضاوية اسطوانية، ذات حليلة بسيطة، شفافة، الأبواغ المترسبة (disposed) ذات لون أبيض إلى رمادي أو أرجواني فاتح، تتلون بالأصفر الخفيف في محلول ميلزر Meltzer's solution. وقد تسبب أبواغ بعض الأنواع حساسية للإنسان، حيث عرفت أمراض الحساسية التي تحدث بسبب أبواغ فطور النوعين *P. Florida* و *P. ostreatus*.

❖ **الدعامات Basidia:** تحمل كل دعامة أربعة أبواغ دعامية، تتراوح أبعاد الدعامة بين (5-8) × (27-62) ميكرون، وهي شفافة مع محلول KOH، ذات شكل صولجاني يصطف بعضها إلى جوار بعض لتشكل الطبقة المخصبة Hymenium والتي تكون بدورها خالية من الخلايا الحويصلية Cystidia.

- **الحامل (Stem) Stipe:** قصيرة، تتراوح أبعادها ما بين (0.5-6 سم) × (0.5-3 سم) وغالباً ما تكون أولية ابتدائية غير متطورة (غائبة)، بيضاء ناعمة مصمتة، تتوضع بشكل جانبي أو لا مركزي،

وتكون قريبة من مركز القبة قبل تشكل الأبواغ، السطح محرز طولياً مكسو بزغب أبيض كثيف عند القاعدة.



أ: أقسام الجسم الثمري في المجموعة الثمرية (صورة حقلية للسلالة S15)

ب: الدعامة والأبواغ (Martinez-Carrera, 1999)

الشكل (2): صور توضيحية لأقسام الجسم الثمري والدعامة والأبواغ في الفطر المحاري

ب- التوصيف الجزيئي للفطر المحاري *Pleurotus spp.*:

إن التصنيف بالاعتماد على التوصيف الشكلي غير دقيق، إذ يوجد اختلافات في تصنيف أنواع الجنس *Pleurotus* ويعود ذلك إلى أسباب مختلفة أهمها عدم ثبات الصفات الشكلية عند تغير الظروف البيئية، وعدم وجود صفات فيزيولوجية محددة ومميزة تساعد في التصنيف، والنقص في الدراسات الخاصة بالتوافقات التزاوجية بين الأنواع (Balis و Zervakiz، 1996)، لذلك ومن أجل بيان الحالة التصنيفية للأنواع ضمن هذا الجنس، بدأت العديد من الدراسات بالتصنيف بحسب المعايير الوراثية (Bao، 2004).

يحقق تعريف وتوصيف الفطر المحاري ودراسة خصائصه الوراثية إغناء المعرفة حول التنوع الوراثي لهذا الفطر باستخدام تقانة المؤشرات الجزيئية، ومعرفة تأثير البيئة الطبيعية على الخصائص الشكلية لهذا النوع، والتأسيس لمادة وراثية Germplasm خاصة بهذا النوع تكون أداة فعالة للقيام بالكثير من الأبحاث المتعلقة بهذا المجال، بالإضافة إلى تقييم التنوع الوراثي لهذا النوع من

خلال المقارنة بين السلالات المحلية المجموعة وبعض السلالات العالمية وبالتالي معرفة الموقع التقسيمي لهذا الفطر Taxonomic Position (عز، 2007).

يمكن أن تحدد النوعية الخاصة للبروتينات لكل كائن درجة القرابة مع الكائنات الأخرى، لذلك تم التركيز على استخدام الطرائق الكيميائية لدراسة البروتينات فاستخدمت طريقة الرحلان الكهربائي Electrophoresis على نطاق واسع في فصل البروتينات والأنزيمات والحموض النيوكليوتيدية وغيرها من المواد، وقد ساهمت أبحاث Ahmed (1991) في دراسة بنية جماعات الفطر الدعامية *Lepista nuda* حيث توصل إلى نتائج بناءة في تحديد القرابات العرقية لهذه الجماعات الفطرية. ثم تطورت التقانات الحيوية المستخدمة في هذا المجال حتى وصلت إلى دراسة الحموض النووية عند الفطور مثل التحاليل الإيزوأنزيمية، وتقانة DNA Hybridization، وتقانة تنميط النواة بالرحلان Electrophoretic Karyotyping، وسلسلة الـ DNA وتقانة الـ RFLP (Bridge وزملاؤه، 1998).

وفي منتصف عام 1980 تم تطوير تقانة التفاعل التسلسلي المتعدد Polymerase Chain Reaction (PCR) الذي يعتبر فعالاً جداً على صعيد الدراسات الوراثية الجزيئية (Saiki وزملاؤه، 1985؛ Mullis وزملاؤه، 1986) وأدى إلى تبسيط الإجراءات الجزيئية وزاد من إمكانية إجراء الدراسات العرقية والدراسات المتعلقة ببنية الجماعات لعدد كبير من الفطور. ويمكن استخدام هذا التحليل لدراسة وتقييم العلاقات الوراثية بين عدة سلالات فطرية تنتمي لنفس النوع بغض النظر عن منشئها سواء كانت برية أو مستزرعة (Kwan وزملاؤه، 1992). بعد ذلك طورت العديد من التقانات الحيوية في هذا المجال من أجل تنفيذ دراسات جزيئية على درجة عالية من التخصص. ومن أهم التقانات المستعملة في دراسة التباين الوراثي للتطور تقانة التباينات الشكلية المضاعفة عشوائياً Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) الفعالة في دراسة الصفات الشكلية السائدة غير المتتحية فقط، والتي تعتبر ضعيفة التأثير بالظروف البيئية مما قد يعطي نتائج بعيدة عن الواقع، وتقانة تباين أطوال قطع الدنا المضخمة Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) التي تُمكن من دراسة الصفات الشكلية السائدة والمتتحية بشكل فعال في الجماعات المدروسة (Larraya وزملاؤه، 2000)، وتقانة التكرارات التتابعية البسيطة Simple Sequence Repeat التي تعكس نسبة مرتفعة من التعددية الشكلية ولكنها بحاجة إلى بادئات ذات تسلسل نيوكليوتيدي محدد، وتقانة التكرارات التتابعية البسيطة البينية Inter Simple Sequence

Repeat (ISSR) وهي إحدى أهم تقانات الوسم الجزيئي، والتي تم توصيفها من قبل Zietkiewicz وزملاؤه (1994) و Kantety وزملاؤه (1995).

تستخدم تقانة الـ ISSR بادئات خاصة لمضاعفة مناطق التكرارات البسيطة، الموجودة بكثرة ضمن الـ DNA، دون الحاجة لمعرفة مسبقة بالتسلسل النيكلوتيدي الكامل، ويمكن بواسطتها الكشف عن التباينات الشكلية بسهولة لأنها تستهدف مناطق متباينة من الـ DNA، وهي أسرع وأقل كلفة من التقنيات الأخرى (Fisher وزملاؤه، 1996)، كما أنها أكثر دقة وثباتية من تقانة التباينات الشكلية المضاعفة عشوائياً RAPD وتنتج عدداً أكبر من الحزم المتباينة شكلياً من كل بادئ (Patzak، 2001؛ Behera وزملاؤه، 2008). وتعد هذه التقانة طريقة قابلة للتطبيق بصورة كبيرة نظراً لإمكانية القيام بها بسرعة مع أتمتة العمل، فتكون التكاليف منخفضة بالإضافة إلى أنها لا تتطلب استخدام النظائر المشعة ولا معرفة مسبقة بسلاسل الـ DNA المستهدفة ويمكن تنفيذها بكميات قليلة من الـ DNA الهدف وبمستوى متوسط من التدريب (Karp وزملاؤه، 1997؛ Esselman وزملاؤه، 1999). ومن أهم خصائص هذه التقانة أنه ينجم عنها العديد من حزم الـ DNA بالمقارنة مع تقانة الـ RAPD مما يفيد في كشف الاختلافات بين الأفراد المتشابهة شكلياً بشكل كبير ضمن الجماعة الواحدة (Chowdhury وزملاؤه، 2002)، إضافة إلى أن هذه التقانة أكثر قابلية للتكرار من تقانة الـ RAPD (Oliveira و Goulao، 2001).

بناءً على ما سبق تعد تقانة الـ ISSR فعالة في كشف الاختلافات الوراثية بين أنواع الكائنات الحية النباتية (Zietkiewicz وزملاؤه، 1994)، كما ويمكن استخدامه مع تقانة الـ RAPD في التعريف وتحديد درجة القرابة الوراثية على مستوى تحت النوع والأصناف على حد سواء (Martins وزملاؤه، 2003؛ Raina وزملاؤه، 2001؛ Joshi وزملاؤه، 2000). كما يمكن أن تتنوع واسمات الـ ISSR بشكل كبير ضمن النوع ولها مزايا أكثر من الـ RAPDs (Tsumura وزملاؤه، 1996؛ Camacho و Liston، 2001). أثبتت دراسة Malekzadeh وزملاؤه (2011) أن تقانة الـ ISSR فعالة بشكل كبير للكشف عن تعدد الأشكال ضمن الطرز الجينية القريبة من بعضها وراثياً للفطر *Agaricus bisporus*، كما استخدمها Sonnenberg وزملاؤه (2005) في أبحاثهم عند دراستهم الأثر البيئي على سلالات الفطر المحاري *Pleurotus ostreatus* من وجهة نظر وراثية. وأثبتت تقانة الـ ISSR فعاليتها في دراسة التباين الوراثي في العديد من الأنواع الفطرية Fungi وسلالات وأنواع الفطور المأكولة الـ mushrooms في ماليزيا (Abdul Rashid

وزملاؤه، 2013؛ Abou-Elftouh وزملاؤه، 2016)، وقد طبقت في عدة أبحاث في هذا المجال على سلالات برية ومستزرعة من الفطر المحاري، النوع *P. ostreatus* (عز، 2007؛ Shen وزملاؤه، 2011)، والنوع *P. tuoliensis* (Zhao وزملاؤه، 2013)، كما درس Abdul Rashid وزملاؤه (2013) النوع *P. sajor caju* حيث اختبر 100 بادئ ISSR عند دراسته للتنوع الوراثي لهذا الفطر ووجد أن 51 بادئاً فقط كانت مناسبة. كما درس Popa وزملاؤه (2017) التباين الوراثي لـ 6 سلالات من النوع *P. ostreatus* وسلالتين من الفطر *P. ostreatus* var. Florida باستخدام 6 بادئات ISSR أنتجت جميعها عدداً كبيراً من الحزم المتباينة. وقد استخدم عز (2007) عند دراسته للتنوع الوراثي للفطر المحاري *P. ostreatus* في سورية البادئات العامة التالية: RAR1 و Bio2 و PN5 من أجل الحصول على حزم Bands بتعددية شكلية Polymorphisms، وفي نهاية الدراسة اعتمد البادئ RAR1 لأن استخدامه كان عدد حزم الحمض النووي جراء تفاعل التضخيم كبير (11 حزمة).



الفصل الثالث

مواد البحث وطرائقه

- 1.3- مكان وفترة تنفيذ البحث
- 2.3- جمع سلالات الفطر البرية
- 3.3- عزل وتنقية وحفظ السلالات الفطرية ودراسة نموها وتنوعها الوراثي
 - 1.3.3- عزل وتنقية السلالات
 - 2.3.3- تقييم التنوع الوراثي ودرجة القرابة الوراثية
 - 3.3.3- تأثير الوسط المغذي في نمو المشيعة الفطرية
 - 4.3.3- حفظ السلالات الفطرية
- 4.3- استزراع السلالات المدروسة
 - 1.4.3- تحضير البذار
 - 2.4.3- تحضير وسط الزراعة (الركيزة) والزراعة
 - 3.4.3- المؤشرات المدروسة
- 5.3- التحليل الإحصائي



3-1- مكان وفترة تنفيذ البحث Research conducting place and period:

نفذ البحث في الفترة ما بين 2016-2018م وتم جمع السلالات البرية من الفطر المحاري جنس *Pleurotus* من منطقة جنوب غرب مدينة حماه في سورية، ونفذ الجزء المخبري في مخبر الفطر الزراعي في قسم علوم البستنة في كلية الزراعة بجامعة دمشق، وفي مخابر الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية ومخابر الهيئة العامة للتقانات الحيوية بدمشق.

3-2- جمع سلالات الفطر البرية Collection of wild mushroom strains:

تم جمع السلالات البرية من الفطر المحاري جنس *Pleurotus* في الفترة من بداية خريف عام 2016 وحتى نهاية خريف عام 2018، واعتمد الجمع على القيام بجولات حقلية أسبوعية في الصباح الباكر في الأماكن الملائمة لانتشار الفطر كالأماكن الرطبة، أو الأماكن التي توجد فيها الأنواع النباتية (جذوع مقطوعة، أشجار حية أو ميتة) التي تعتبر البيئة المناسبة لنمو الفطر المحاري، وكذلك في الأماكن التي عرف فيها وجود الفطر من خلال سؤال المزارعين وسكان المنطقة وجامعي الفطر البري فيها. عند جمع الفطر من أجل التعريف من الضروري أن تكون العينات طازجة، ويجب تسجيل بعض الملاحظات والخصائص مباشرة لأن للفطر خصائص تتغير بعد الجمع بفترة مثل لون القبة ورطوبتها، بالإضافة إلى الخصائص الخاصة للفطر مثل: القبة، الحامل والصفائح (الحجم، الشكل، اللون والأبعاد) (Khaing، 2015).

لذا اتبعت القواعد الواردة في سلسلة الدليل الحقلي لـ Peterson (34) ومن أجل الحفاظ على العينات بكافة خصائصها، والتي ذكرها McKnight و McKnight (1987) و Groves (1979) والتي تضمنت القيام بالخطوات الآتية في مكان الجمع:

أ- نزع كامل الجسم الثمري بعناية شديدة (مع قاعدة الحامل)، مع الاضطرار أحياناً للحفر بأداة متينة في الخشب حيث ينمو الفطر.

ب- تحديد الصفات الشكلية للجسم الثمري مباشرة في مكان الجمع وهي:

❖ القبة: شكلها، حجمها، لونها، رائحتها، رطوبتها (ميتة أم طازجة) والقشيرة.

❖ الحامل: وجود أو عدم وجود حامل، شكله، لونه، حجمه، قوامه وغياب أو وجود الحلقة.

❖ الصفائح: لونها وامتدادها أو التصاقها على الحامل.

ج- استخدام ورق شمعي أو ورق ألومنيوم والذي يساعد على احتفاظ الفطر بالكمية المناسبة من الرطوبة حتى يبقى طازجاً ومحتفظاً بقوامه وخصائصه أطول فترة ممكنة، وعدم استخدام الأكياس

أو الأغشية البلاستيكية لأنها لا تسمح بنفاذ الرطوبة من الفطر وبالتالي تسرع عملية التعفن ويصبح قوامه مخاطياً. لذلك وضع الفطر الذي تم جمعه بورق الألمنيوم وتم لفه بشكل أسطواني مع ثني الأطراف لسدها وعدم الخلط بين الفطور المجموعة، ووضع عينات الفطر التي يتم جمعها في حاوية مناسبة (سلة) مسطحة وبشكل قائم (القبة للأعلى).

د- توثيق العينات مباشرة (رقم العينة، تاريخ الجمع، مكان الجمع وتم تحديده بواسطة الـ Global Positioning System (GPS)).

وقد تم توثيق وتحديد الهوية والتوصيف الشكلي للعينات الفطرية المجموعة وفقاً للمفاتيح التصنيفية الواردة في بعض المراجع (McKnight، 1981؛ McKnight و McKnight، 1987؛ Trudell و Ammirati، 2009)، وتم التقاط صور توثيقية للعينات، وعُرضت العينات ذاتها على السكان المحليين عند جمعها وتم سؤالهم عنها إن كانت من الفطور البرية المأكولة لديهم أم لا. وقد ترافق ذلك بالقيام بتوثيق أهم العوامل المناخية من معدل الهطول المطري ودرجات الحرارة والارتفاع عن سطح البحر وخطوط الطول والعرض خلال فترة الجمع.

3-3- عزل وتنقية وحفظ السلالات الفطرية ودراسة نموها وتنوعها الوراثي

Isolation, purification, preservation and studying growth and genetic diversity of fungal strains

3-3-1- عزل وتنقية السلالات Strains isolation and purification

تم القيام بعملية العزل الفطري مباشرة بعد عملية الجمع الحقلية من أجل الحصول على عزلات فطرية نقية خالية من التلوث للسلالات المدروسة واستخدامها لاحقاً في عملية الاستزراع وقياس سرعة نمو المشيجة الفطرية وحفظ السلالات بعد الانتهاء من الدراسة. وتضمنت العملية التالي:

أ. تحضير الوسط المغذي:

تم تحضير وسط مغذٍ مناسب لنمو مشيجة الفطر، وهو الوسط Potato Dextrose Agar (PDA) [200غ مستخلص البطاطا، 20غ ديكتروز، 15-20غ آغار] حسب Ishaq وزملاؤه (2017)، حيث تم وزن 39غ من الوسط ووضع في دورق سعة 1000مل يحتوي على 900 مل ماء مقطر، وبعد إذابته بشكل كامل تم الحجم إلى 1000مل، ثم وضع في الأوتوغلاف على درجة حرارة 121°م و1 ضغط جوي مدة 20 دقيقة، وبعد أن برد وأصبح بدرجة حرارة 45°م تقريباً تم

إضافة مضاد حيوي (جنتاميسين) ليساعد في الإنتقائية تجاه الفطور بدلاً من البكتريا وفي التقليل من نمو الكائنات الدقيقة غير المرغوب فيها قدر الإمكان (Snelling وزملاؤه، 1996؛ Lodge وزملاؤه، 2004). ثم تم صب الوسط في أطباق بتري بلاستيكية معقمة (9 x 1.5) سم وترك حتى يتصلب.

ب. زراعة السلالات:

نظفت الأجسام الثمرية للسلالات الفطرية المجموعة من الشوائب العالقة بها تحت جهاز العزل الجرثومي وعقمت بالكحول الإيثيلي 95% لعدة ثواني، ثم أخذت خزعة صغيرة من الجسم الثمري للفطر بحجم (3-5) مم من الجزء الداخلي لمنطقة اتصال القبة مع الحامل في الجسم الثمري، حيث تكون الأنسجة الفطرية بمرحلة مناسبة للنمو على المستبتات في الأطباق البترية (Ahmed، 1991؛ Asghar وزملاؤه، 2007). زرعت الخزعة الفطرية في مركز الوسط المغذي على طبق البتري (بمعدل 5 أطباق لكل سلالة)، وأحكم إغلاق الطبق بالبارافيلم للتقليل من احتمال حدوث تلوث والتقليل من فقد الرطوبة (التبخّر) (Oei، 2003)، ثم وضعت جميع الأطباق في حاضنة بدرجة حرارة 24°م في الظلام مدة كافية (5-10 أيام حسب قوة نمو السلالة) حتى يتغطى كامل سطح الطبق بالمشيجة الفطرية، إذ يتميز الفطر المحاري بسرعة عالية لنمو المشيجة مما يقلل من حساسيته للملوثات (Stamets، 2000)، مع المراقبة اليومية لاحتمال ظهور أي تلوث واستبعاد الأطباق البترية الملوثة مباشرة (الشكل 3).

ومن أجل التأكد من النقاوة التامة لل عزلات الفطرية المتحصل عليها، تم نقل قطعة صغيرة من المشيجة الفطرية النامية في الأطباق السليمة إلى أطباق أخرى تحتوي على وسط محضر سابقاً حيث وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25°م مدة 24 ساعة في الظلام من أجل اختبار نجاح عملية التعقيم (Guadarrama-Mendoza وزملاؤه، 2014)، وتم استبعاد الأطباق الملوثة في حال وجودها واستخدام الأطباق غير الملوثة في زراعة السلالات الفطرية، مع المراقبة اليومية أيضاً واستبعاد العزلات الملوثة. كررت هذه العملية عدة مرات حتى التأكد من خلو العزلات تماماً من التلوث.



أ. تحديد مكان أخذ الخزعات



ج. تحضير الأطباق



ب. زراعة الخزعات



د. سلالات نقية

الشكل (3): كيفية أخذ الخزعات الفطرية وزراعتها على البيئة المغذية

3-3-2- تقييم التنوع الوراثي ودرجة القرابة الوراثية

Evaluating genetic diversity and genetic similarity:

تمت دراسة التنوع الوراثي للسلالات البرية من الفطر المحاري *Pleurotus* spp. التي تم جمعها باستخدام تقانة ISSR (Karp وزملاؤه، 1997)، حيث تتضمن سلسلة من الخطوات المترابطة

والتي تهدف إلى الوصول إلى شجرة القرابة الوراثية للسلاسل البرية المدروسة، ومقارنتها مع سلالات مدخلة مزروعة من كل من أنواع الفطر المحاري التالية: *P. ostreatus* (S18) و *P. eryngii* (S19) و *P. Pulmonarius* (S20) و *P. Florida* (S21) ومصدرها شركة Mycelia البلجيكية، وهذه الخطوات هي:

أ. استخلاص الـ DNA بطريقة الـ CTAB:

تم استخدام مشيجة فطرية (Asghar وزملاؤه، 2007) مأخوذة من طبق بتري واحد من كل سلالة بطريقة الكشط حيث تم تجميدها وطحنها في الآزوت السائل. وتم استخلاص الـ DNA بطريقة الـ Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) المعدلة (Murray وThompson، 1980) كالتالي:

تم وضع 200 ملغ من كل عينة فطرية مجمدة ومطحونة في الآزوت السائل في أنبوب 2 مل. ثم أضيف 750 µL من محلول الاستخلاص (A) (الجدول 8) المسخن مسبقاً على درجة حرارة 60°م، حرك المزيج جيداً. ثم وضعت الأنابيب في حمام مائي على درجة حرارة 60°م لمدة ساعة مع التحريك بالتقليب كل 15 دقيقة، بعد ذلك بردت الأنابيب على درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق، ثم أضيف 750 µL من Chloroform:Isoamyl alcohol (24:1)، وتم التحريك جيداً بالتقليب حتى تشكل الرغوة، بعد ذلك ثقلت الأنابيب على سرعة 12000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق على درجة حرارة 4°م. نتيجة التثقيب ينفصل المزيج إلى ثلاث طبقات: الطبقة العليا (الطور المائي) ويحوي الـ DNA، والطبقة الوسطى وتحوي البروتينات، والطبقة السفلى وتحوي الكلوروفورم (الشكل 4). نقل الطور المائي بحذر إلى أنابيب جديدة سعة 1.5 مل وأضيف إليه ما يعادل ثلثي حجمه من isopropanol المبرد على درجة حرارة -20°م مع التحريك بلطف، وتركت العينات بعدها على درجة حرارة -20°م لمدة ساعة واحدة من أجل ترسيب الـ DNA، ثم ثقلت بسرعة 10000 دورة/الدقيقة لمدة 5 دقائق على درجة حرارة 4°م، ثم تم التخلص من الرشاحة وغسل الراسب بإضافة 1 ml من الإيثانول 70% المبرد مسبقاً. ثقلت الأنابيب بعد ذلك بسرعة 10000 دورة/الدقيقة لمدة 5 دقائق على درجة حرارة 4°م، ثم استبعد الإيثانول وجفف الـ DNA في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، ثم أذيب في 100 µl من الماء المقطر المعقم وحفظ بدرجة حرارة -20°م.



الشكل (4): التحضير لاستخلاص الـ DNA

تم قياس تركيز الـ DNA باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer UV)، حيث تم أخذ كمية (5) ميكروليتر من مستخلص الـ DNA ثم أكمل الحجم إلى 1 مل بالماء المقطر المعقم ثم أخذت القراءات الخاصة بتركيز الـ DNA على طول موجة 260 نانومتر والقراءات الخاصة بالشوائب الأخرى كالكسريات المتعددة وغيرها على طول موجة 280 نانومتر لكل العينات المدروسة والسلالة الشاهد، حيث كل وحدة امتصاص على طول موجة 260 تعادل تركيز DNA ضمن العينة 50 نانوغرام/ميكروليتر (Ng/mL)، وتقاس نقاوة الـ DNA من خلال حساب نسبة الامتصاص على 260 على الامتصاص على 280 بحيث يجب أن تكون هذه النسبة قريبة من 1.8 حيث تكون العينة جيدة وغير مشوبة (Sambrook وزملاؤه، 1989)، ثم تم توحيد تراكيز الـ DNA في جميع العينات إلى 50 µg/ng. ثم تم توحيد تراكيز الـ DNA في جميع العينات إلى 50 µg/ng.

تم التأكد من جودة الاستخلاص باستخدام طريقة الرحلان الكهربائي في هلامة Agarose بتركيز 1% ضمن محلول TBE (1X) (الجدول 9) حيث تم مزج 5 µL من المستخلص مع 2.5 µL من Loading buffer، ثم أخذ 6 µL من المزيج ووضعت في آبار الجيل ورحلت على 100 فولت لمدة ساعة.

• محلول الاستخلاص (A):

لتحضير المحلول يضاف CTAB + NaCl + EDTA + Tris إلى 80 مل ماء مقطر معقم. يعادل الـ pH على 8 باستخدام NaOH (1 نظامي) ثم يكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

المعقم. ويخزن على درجة حرارة الغرفة. بالنسبة إلى mercaptoethanol فيضاف مباشرة قبل الاستخدام.

الجدول (8): تركيب محلول الاستخلاص (A)

المادة	التركيز النهائي	100 ml
Tris	100 mM	1.2114 g
NaCl	1.4 M	8.1816 g
EDTA, pH 8.0	20 mM	0.5845 g
CTAB	2 % (w:v)	2 g
Mercaptoethanol	0.2 % (v:v)	200 µl
Distilled H2O		Up to 100 ml

الجدول (9): محلول TBE (5X)

المادة	1L
Tris	54 g
Boric acid	27.5 g
EDTA 0.5 M, pH 8.0	20 ml
Distilled H2O	Up to 1000 ml

• المحلول الأم EDTA 0.5 M, pH 8.0:

تم تحضيره بإذابة 14.612 غرام من EDTA في 100 مل ماء مقطر معقم مع ضبط الـ pH على 8 باستخدام NaOH (1 نظامي).

• هلام الـ 1% Agarose:

تم إضافة 1 غرام Agarose إلى 100 مل TBE (1×) [20 مل TBE (5×) + 80 مل ماء مقطر معقم] ثم توضع في المايكروويف حتى الذوبان بعد ذلك تترك حتى تصل درجة الحرارة إلى 50 درجة تقريباً، ثم يضاف 2 µl من صبغة الـ Red Gel، تحرك بلطف ثم تصب في حوض الجيل وتترك حتى التصلب.

ب. تضخيم الـ DNA باستخدام تقانة الـ ISSR:

تم تضخيم الـ DNA باستخدام 11 بادئ لل تكرارات التتابع البسيطة البينية ISSR التي تم تصميمها اعتماداً على التسلسل النيوكليتيدي للفطر المحاري الموجود في قاعدة بيانات البنك الوراثي (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) (الجدول 10).

الجدول (10): بادئات الـ ISSR المستخدمة في عملية تضخيم الـ DNA في تفاعل الـ PCR

اسم البادئ	التسلسل النكليوتيدي	عدد النيكليوتيدات
PISSR1	(CA) 8A	17
PISSR2	(GT) 8C	17
PISSR3	TGC (AC)6	15
PISSR4	GTG (AC)6	15
PISSR5	(GA) 8C	17
PISSR6	(AC)8CT	18
PISSR7	CAC(GA)7	17
PISSR8	(AC)8C	17
PISSR9	(TG)8G	17
PISSR10	(CTC)6	18
PISSR11	(AG)8C	17
المجموع		185

تم إجراء التفاعل التسلسلي البوليميرازي PCR في حجم نهائي قدره 25 ميكروليتر باستخدام KAPA2G Fast ReadyMix PCR Kit من شركة KAPA الأمريكية، حيث يستخدم 50 نانوغرام من الحمض النووي و 12.5 ميكروليتر من PCR Master Mix (والحاوي على المكونات التالية: PCR buffer، Taq-Polymeras، dNTPs، $MgCl_2$) و 20 بيكومول من البادئ. وتم استخدام جهاز المدور الحراري PCR وفق البرنامج الحراري التالي:

- ❖ المرحلة الأولى (مرحلة الفصل الأولي): وتتم لمرة واحدة على درجة حرارة 95°م لمدة 3 دقائق.
- ❖ المرحلة الثانية: وتكرر 40 مرة وتضم الخطوات التالية:

☒ مرحلة الفصل Denaturation، وهي مرحلة انفصال شريطي DNA عن بعضهما بعد تعريضه لدرجة حرارة 95°م لمدة 15 ثانية، تؤدي إلى وقف التفاعلات الأنزيمية وفصل سلسلتي DNA عن بعضهما لتصبحا سلسلتين مفردتين.

☒ مرحلة الالتحام Annealing: وهي مرحلة التحام البادئ على القطعة الأصلية من DNA عن طريق تخفيض درجة الحرارة إلى 60°م لمدة 15 ثانية.

☒ مرحلة الاستطالة Extension: وهي مرحلة تركيب السلسلة الجديدة المكملّة للقطعة الأصلية من DNA، وبمساعدة أنزيم البوليميراز، من خلال رفع درجة الحرارة إلى 72°م لمدة 1 دقيقة.

- ❖ المرحلة الثالثة (مرحلة الاستطالة النهائية): وتتم لمرة واحدة على درجة حرارة 72°م لمدة 5 دقائق.

❖ بعد انتهاء هذا التفاعل يتم حفظ العينات في درجة حرارة -20°م لتفصل الحزم بعدها بالرحلان الكهربائي على هلامه أغاروز.

ج. فصل نواتج الـ PCR:

تم فصل نواتج تفاعلات الـ PCR بترجيلها على هلامه من الأغاروز ذات تركيز 2% في محلول TBE (1X) (Sambrook وزملاؤه، 1989)، بوجود مؤشر جزيئي 1000pb، استمر الترحيل لمدة ساعتين على 100 فولت، وصبغت الهلامة بصبغة الـ Red Gel، وتم تصوير الهلامة بوجود الأشعة فوق البنفسجية وذلك للكشف عن التعددية الشكلية polymorphism.

3-3-3- تأثير الوسط المغذي في نمو المشيعة الفطرية

Effect of nutrient medium on mycelial growth:

أ. تحضير الأوساط المغذية المدروسة وتلقيحها بالمشيعة الفطرية:

تم تحضير الأوساط المغذية المدروسة MEA، PDA [20 غ مستخلص الشعير، 15 غ آغار] و NA [6 غ بيتون، 1 غ مستخلص الخميرة Yeast extract، 2 غ مستخلص اللحم Beef extract، 5 غ كلوريد الصوديوم، 17 غ آغار] حسب (Ishaq وزملاؤه، 2017)، وتم الحصول على هذه الأوساط من شركة Himedia، وبعد اختبار نجاح عملية التعقيم، لقحت الأطباق بأخذ قرص قطره 5مم من طرف مشيعة الفطر بعمر أسبوع للسلاسل المدروسة والسلاسل الشاهد (Inyod وزملاؤه، 2017) النامية على الوسط PDA كما في الفقرة (3-3-1-أ) بواسطة ثاقب الفلين (Cork Borer) ووضعه في مركز الطبق وبمعدل 3 مكررات لكل سلاسل (الشكل 5)، ثم لفت الأطباق بالبارافيلم ووضعت في الحاضنة على درجة حرارة 24°م في الظلام، ورطوبة نسبية 70-80±5%.

ب. معايير نمو المشيعة الفطرية على الأوساط المدروسة:

درست معايير نمو المشيعة الفطرية يومياً بدءاً من اليوم التالي للتلقيح وحتى وصول مشيعة معظم السلاسل إلى حافة طبق البتري (بعد 8 أيام من التلقيح) (Guadarrama-Mendoza وزملاؤه، 2014؛ Gibriel وزملاءه، 1996؛ Nasim وزملاؤه، 2001)، وقد تضمنت المعايير الآتي:

• ارتفاع المشيعة (H) ونصف قطرها (R) وقطرها (D) (الشكل 5) وذلك بواسطة برنامج .ImageJ 1.51K¹

• كثافة المشيعة (G) بحسب Stalpers (1978)، وفق الآتي:

قليلة الكثافة (1)، أو متوسطة الكثافة (2)، أو كثيفة (3)

• معدل النمو (GR) Growth Rate ومعامل نمو (GC) Growth Coefficient المشيعة الفطرية للسلاسل المدروسة بحسب المعادلتين التاليتين (Buchalo، 1988؛ Semerdzieva وCeip، 1966):

$$GC=(H*G*\Delta D)/\Delta T \text{ و } GR=\Delta R/\Delta T$$

حيث: R - نصف قطر المستعمرة (مم) D - قطر المستعمرة الفطرية (مم)

H - ارتفاع المستعمرة (مم) ΔT - الزيادة في عمر المستعمرة الفطرية (يوم)

T - زمن نمو المستعمرة (يوم) ΔD - الزيادة في قطر المستعمرة في الفترة ΔT (مم)

G - كثافة المستعمرة (المشيعة) ΔR - الزيادة في نصف قطر المستعمرة في الفترة ΔT (مم)



ج: قياس ارتفاع المشيعة الفطرية

ب: قياس قطر المشيعة الفطرية

أ: تلقيح الأطباق البترية بقرص من مشيعة الفطر (5 ملم)

الشكل (5): تلقيح الأطباق البترية بقرص من مشيعة الفطر (5ملم) وقياس قطر وارتفاع المشيعة الفطرية

وتصنف الفطور بحسب قيمة معامل النمو (عز، 2007) إلى:

- بطيئة النمو جداً: قيمة معامل النمو أقل من 20.

- بطيئة النمو: قيمة معامل النمو بين 20-45.

- متوسطة النمو: قيمة معامل النمو بين 45-70.

- سريعة النمو: قيمة معامل النمو بين 70-95.

- سريعة النمو جداً: قيمة معامل النمو أكثر من 95.

¹<http://imagej.nih.gov/ij>, Wayne Rasband, National Institute of Health, USA.

3-4-3- حفظ السلالات الفطرية :Preservation of fungal strains

استخدمت عدة طرق من الطرق الموصوفة مرجعياً لحفظ السلالات التي تم جمعها مخبرياً بهدف إعادة تنميتها ومتابعة دراستها وهي:

أ- الحفظ بالنقل المتسلسل:

❖ **الحفظ في أطباق بتري:** تم حفظ السلالات المدروسة على وسط PDA في أطباق بتري بعد اكتمال نموها في البراد على درجة حرارة 4°م، حيث يتم نقل المشيجة على وسط جديد كل ستة أشهر.

❖ **الحفظ في أنابيب بالآغار المائل:** تم حفظ السلالات المدروسة بطريقة الآغار المائل (Slant agar) بتحضير وسط PDA وصب 25 مل في أنابيب اختبار محكمة الإغلاق بقطن طبي (الشكل 6)، ثم تعقيم الأنابيب بالأوتوغلاف على درجة حرارة 121°م وضغط 1-08 جو (Mpa) مدة 20 دقيقة، وبعد إخراجها من الأوتوغلاف وضعت وهي ساخنة بشكل مائل وتركنت حتى يبرد ويتصلب الوسط بالوضع المائل، ثم لقت الأنابيب بقطعة بمقدار 1×1 سم تقريباً من مشيجة الفطر لكل سلالة من السلالات المدروسة ووضعت في الحاضنة على درجة حرارة 24°م ورطوبة نسبية 70-80±5% وفي الظلام لحين اكتمال النمو على سطح الوسط ثم نقلت الأنابيب إلى البراد وحفظت على درجة حرارة 4°م (بيرق وزملاؤه، 2009).



الشكل (6): حفظ السلالات المدروسة في الأنابيب بالآغار المائل

ب- الحفظ على الخشب:

تم تحضير وسط PDA في الأنابيب بطريقة الآغار المائل المذكورة سابقاً، ثم لقت الأنابيب بقطعة بمقدار 1×1 سم تقريباً من مشيجة الفطر لكل سلالة من السلالات المدروسة ووضعت قطعة معقمة من الخشب في وسط الأنبوب، ثم وضعت الأنابيب في الحاضنة على درجة حرارة 24°م

ورطوبة نسبية 70-80%±5% وفي الظلام لحين اكتمال النمو على سطح الوسط وقطعة الخشب، نقلت بعدها الأنابيب إلى البراد لحفظها على درجة حرارة 4°م (الشكل 7).



الشكل (7): حفظ السلالات المدروسة على الخشب

ج- الحفظ تحت الزيت المعدني:

بعد تنمية المشيعة على الآغار المائل في الأنابيب، أضيف إليها الزيت المعدني المعقم بالأوتوغلاف عند الدرجة 121°م ولمدة ساعة، حتى ارتفاع 1سم فوق المشيعة (الشكل 8)، ثم حفظت الأنابيب في البراد عند درجة الحرارة 4°م. مع ضرورة الكشف على مستوى الزيت في الأنابيب وإضافته عند الحاجة (Mueller وزملاؤه، 2004؛ بيرق وزملاؤه، 2009).



الشكل (8): حفظ السلالات تحت الزيت المعدني

3-4- استزراع السلالات المدروسة Farming the studies strains:

أجريت عملية الاستزراع والحصول على أجسام ثمرية للسلالات الفطرية التي تم جمعها وفق الخطوات التالي:

3-4-1- تحضير البذار Spawn preparation:

من أجل الحصول على بذار للسلالات التي تم جمعها، استخدمت طريقة تحميل المشيجة على حبوب المحاصيل الحقلية، وهي الطريقة الأكثر شيوعاً في العالم، إذ تشكل الحبوب حافظة للمواد الغذائية الضرورية للنمو (بروتينات وكربوهيدرات وأملاح وفيتامينات) بالإضافة إلى سهولة خلطها مع وسط الزراعة، واستخدمت في هذا البحث حبوب القمح القاسي، حيث تم غسل الحبوب جيداً واستبعد ماء الغسل ثم نقعت بالماء حتى اليوم التالي، وأزيلت جميع القشور والحبوب الطافية والشوائب على السطح، ثم غسلت مرة ثانية وسلقت لمدة 10-15 دقيقة على الأقل حتى تنتفخ دون أن تهرس وتكون عندها نسبة الرطوبة في الحبوب ما بين 48 و55%، مع الانتباه إلى عدم زيادة فترة السلق لأن ذلك يؤدي إلى تحطيم الحبوب وتخریب الغلاف الخارجي للحبة وبالتالي فقد جزء كبير من النشاء والمواد الغذائية من داخل الحبة. ثم تم تصفية الحبوب واستبعد ماء السلق، ونُشرت الحبوب على سطح نظيف للتخلص من الماء الحر الزائد، وأضيف لها كربونات الكالسيوم (السبيداج) وكبريتات الكالسيوم المائية (الجبس) بمعدل 1% لكل منهما على أساس الوزن الرطب للحبوب، من أجل تنظيم درجة الحموضة (كربونات الكالسيوم) ومنع التصاق الحبوب مع بعضها البعض (الجبس)، ثم خلطت جيداً مع الحبوب وعبأت في مرطبات زجاجية سعة 1.25 لتر بحيث يتم ملء ثلثي المرطبان فقط، ثم غطيت المرطبات بالقطن الطبي المغلف بورق الألمنيوم المتقّب مع إحكام الشد، وعقمت بالأوتوغلّاف على درجة حرارة 121°م وضغط 0.8-1 جو (Mpa) مدة ساعتين. وهزت المرطبات بعد التعقيم من أجل تجانس الرطوبة ومنع تلاصق الحبوب مع بعضها البعض، ثم تركت حتى تبرّد لليوم التالي (الشكل 9).

بعدها لقحت حبوب القمح بأقراص من مشيجة الفطر النقية (Mother culture) من الأطباق البترية (بمعدل طبق بتري لكل 5 مرطبات) في جهاز العزل الجرثومي مع مراعاة أن تكون المرطبات بوضعية أفقية في أثناء عملية التلقيح من أجل التقليل من فرص التلوث، وبعد الرج الجيد وضعت المرطبات في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1°م ورطوبة نسبية 70-80% ± 5% وفي

الظلام، وبعد أسبوع أو عند نمو المشيجة على ثلثي حجم الحبوب في المرطبان تم رج المرطبات جيداً من أجل ضمان توزيع نمو المشيجة على الحبوب، ثم تم إعادتها إلى الحاضنة لحين اكتمال نمو المشيجة على كامل الحبوب (12-20 يوماً حسب السلالة)، مع مراقبة حدوث أي تلوث واستبعاد المرطبات الملوثة (إلياس، 2008؛ Agarawal وTopwal، 2018) (الشكل 10).



الشكل (9): تحضير حبوب القمح لتلقيحها بالمشيجة



أ: تلقيح المرطبات بمشيجة الفطر
ب: وضع المرطبات الملقحة في الحاضنة
ج: بدء نمو المشيجة
د: اكتمال نمو المشيجة على حبوب القمح

الشكل (10): تلقيح حبوب القمح بمشيجة الفطر ووضعها في الحاضنة

وعند التأكد من جودة البذار من حيث تغطية المشيخة لجميع سطوح الحبوب المحملة عليها، ورائحة المشيخة الزكية (رائحة الفطر)، واللون الأبيض الناصع، والخلو من أية ألوان غريبة (Stamets و Chlilton، 1983؛ Oie، 2003)، حفظت المرطبات في البراد بدرجة حرارة 2-4°م مدة 14 يوماً لتنشيط المشيخة قبل استخدامها في الزراعة (إلياس، 2008؛ Nicholas و Ogame، 2006)، مع مراعاة استخدام البذار بأسرع وقت ممكن حتى لا تتراص الحبوب ويصبح نمو المشيخة أصعب (Agarawal و Topwal، 2018).

3-4-2- تحضير وسط الزراعة (الركيزة) والزراعة

Preparation of substrate and spawning :

أ- **متطلبات الاستزراع:** تتطلب عملية الاستزراع توفر بعض العناصر الأساسية التي يمكن إيجازها بالآتي:

❖ **المكان:** لا بد من تأمين مكان نظيف مجهز بباب واحد، وشفاف هواء من أجل التهوية وتجديد الهواء والمحافظة على تركيز مناسب من الأكسجين وثنائي أكسيد الكربون، وحوامل معدنية عليها رفوف لوضع الأكياس المزروعة عليها، بالإضافة إلى مصدر إضاءة وجهاز ترطيب ومكيف للتحكم بدرجة الحرارة.

❖ **الوسط المستخدم:** هناك العديد من الأوساط التي يمكن استخدامها كوسط للاستزراع، وقد استخدم في هذا البحث تبين القمح نظراً لتوفره وإمكانية تأمينه على مدار العام، وذلك بعد التأكد من أن التبن المستخدم كان جافاً ونظيفاً وخالياً من المواد السامة والعناصر الثقيلة والمبيدات الفطرية والحشرية التي تضر بنمو مشائج الفطر وله لون ورائحة جيدين.

❖ **الأدوات:** لا بد من توفر الأدوات البسيطة التالية لإتمام عملية الاستزراع:

☒ برميل سعة 220 ليتر، معزول من الخارج بصوف زجاجي، ومزود بسخان كهربائي وسلّة معدنية مصنوعة من شبك قياس ثقوبه 1×1سم، مرفوع عن الأرض بحامل معدني ارتفاعه 30سم، في أسفله فتحة لتصريف الماء.

☒ طاولة بقياس 80 × 120سم، وخرطوم لملء البرميل بالماء وتنظيف غرفة الزراعة.

☒ مشرط، قطن، كحول، كفوف طبية، ميزان، خيطان تربيط، محارم أو مناشف.

☒ أكياس نايلون شفافة قياس 35×50سم سماكة 60مكرون (يجب ألا يتجاوز قطر الكيس 35سم عند الزراعة).

ب-مراحل الاستزراع: يمكن تقسيم استزراع الفطر المحاري إلى أربع مراحل أساسية هي: بسترية وسط الزراعة، التلقيح (زراعة البذار)، التحضين، الإثمار والقطاف.

❖ **بسترة الوسط:** تم تحديد كمية التبن اللازمة للزراعة بمعدل 1كغ تبين جاف لكل كيس زراعة. وتمت عملية البسترة بوضع التبن في السلة المعدنية التي وضعت بدورها داخل البرميل، وأضيف الماء بحيث يعلو التبن بحوالي 15سم، ثم سخن البرميل حتى الغليان. وبعد 30 دقيقة من بدء الغليان تم إيقاف عملية التسخين وتصريف الماء من البرميل وترك التبن إلى اليوم التالي حتى يبرد ويصفى من الماء الزائد.

وفي اليوم التالي أخرجت السلة المعدنية من البرميل واختبرت جاهزية التبن للزراعة، من حيث اللون والرائحة اللذين يعبران عن الخلو من الأعفان والملوثات الفطرية. كذلك اختبرت جاهزية التبن للزراعة من حيث الرطوبة ودرجة الحرارة. حيث اختبرت رطوبة الوسط بطريقة "اختبار قبضة اليد Palm Test Method" وذلك بأخذ حفنة من التبن باليد وعصرها بقوة، حيث يجب أن تكون قبضة اليد رطبة مع سقوط بضع قطرات ماء عند قاعدة الأصابع مما يدل على أن رطوبة الوسط مناسبة للزراعة، أما إذا سال الماء من بين الأصابع، فتكون رطوبته زائدة ويجب التخلص منها، وما يتوجب الانتباه إليه هو ضبط رطوبة الوسط بالشكل المناسب لأن الرطوبة الزائدة (أكثر من 78%) تعيق التهوية في الوسط، كما تمنع الرطوبة المنخفضة نمو الميسيليوم (Kim و Kwon، 2004). كما جرى التأكد من درجة حرارة التبن بميزان حرارة زئبقي وضع في قلب كومة التبن، إذ يجب أن تتراوح الحرارة ما بين 22-25°م والرطوبة 65% (Kong، 2004)، أما إذا كانت درجة الحرارة أعلى من 30°م تسببت بموت البذار عند خلطه مع التبن (يبرق وزملاؤه، 2009).

❖ **تلقيح وسط الزراعة:** قبل البدء بعملية التلقيح يراعى أن يتم غسيل اليدين بالماء والصابون وتجفيفهما وتعقيمهما بالكحول الإيثيلي 70% لتلافي تلوث الكيس خلال عملية التلقيح، ويتم مسح طاولة الزراعة بالكحول الإيثيلي 70%، كما ويمنع فتح وإغلاق باب غرفة الزراعة خلال عملية التلقيح حتى لا يدخل تيار هوائي يحمل معه الجراثيم وأبواغ الفطور الملوثة. وضع التبن على الطاولة وجهاز البذار المخصص للزراعة بهزه من أجل فصل الحبوب الملتصقة بمشيجة الفطر عن بعضها البعض، وتمت الزراعة بإضافة بذار الفطر بمعدل 3% من الوزن الرطب للتبن (Patel وزملاؤه، 2019)، وخلطت كمية التبن والبذار المخصصة لكل سلالة خلطاً جيداً مع التقليب عدة مرات من أجل تجانس توزيع البذار في التبن، ثم تم تعبئة التبن الملقح بالبذار في

أكياس من البولي إيثيلين الشفاف قياس 35×50سم وسماكة 60ميكرومتر (5 أكياس لكل سلالة)، مع الضغط بحيث يحتوي كل كيس على ما يعادل 1كغ تبين جاف، ثم ربط الكيس بخيط الترابط بشكل جيد وقصت نهايتا زاويتي الكيس من الأسفل لصرف الماء الزائد في حال تواجده، فتحت 4 ثقب في كل كيس موزعة على محيطه، على ألا يتجاوز قطر الثقب الواحد 1سم، وسدت هذه الثقوب بالقطن الطبي، وكتب على الكيس تاريخ الزراعة واسم السلالة ورقم الكيس، ثم نقلت الأكياس المزروعة إلى غرفة التحضين ووزعت عشوائياً على الحوامل المعدنية (الشكل 11).



الشكل (11): تحضير أكياس الفطر

❖ **التحضين:** تتألف دورة حياة الفطور المأكولة من طورين، طور النمو الخضري وطور الإثمار. في مرحلة التحضين يبدأ طور النمو الخضري للفطر. تم إغلاق المكان من أجل زيادة تركيز غاز CO_2 وخفض تركيز غاز O_2 الأمر الذي يشجع النمو الخضري للمشيجة. حضنت الأكياس على درجة حرارة 24-25°م وهي الحرارة المثلى للتحضين من أجل نمو مشيجة الفطر المحاري على وسط الزراعة. في هذا الطور يحتاج الفطر إلى تأمين المجال الحراري المناسب للنمو، ولا حاجة إلى التهوية أو الإضاءة أو الترطيب، وينتهي هذا الطور باكتمال نمو المشيجة على وسط الزراعة وتحوله إلى اللون الأبيض وانتشار رائحة الفطر في الغرفة، وهذا يستغرق من 15 حتى 30 يوماً حسب درجة الحرارة وسرعة نمو السلالة المزروعة.

❖ **الإثمار:** للتحريض على تشكل البدئات الثمرية والانتقال إلى طور الإثمار، تم تأمين إضاءة مناسبة (800-1500 لوكس) مدة 12 ساعة/يوم، وتهوية جيدة من أجل خفض تركيز غاز CO_2 وزيادة تركيز غاز O_2 (تركيز CO_2 أقل من 1000 ppm)، وتأمين صدمة برد بخفض درجة الحرارة إلى 17-18°م. ويستغرق التحريض على الإثمار حوالي 7 أيام بحسب السلالة المزروعة، مع المراقبة اليومية للنمو والتطور تفادياً لانتشار أي تلوث في الأكياس (بيرق وزملاؤه، 2009؛ أحمد، 2010). في هذه المرحلة يبدأ تشكل بدئات الإثمار على شكل بقع كثيفة

للمشيجة، لذا تم إزالة القطن من الثقوب (2 ثقب) وتوسيع الثقب للسماح بنمو وخروج الأجسام الثمرية، وتأمين رطوبة نسبية ما بين 80-95%، وتهوية جيدة وإضاءة مناسبة (الشكل 12).



أ: اكتمال نمو المشيجة ب: إزالة القطن وتوسيع الثقب ج: اندفاع البدئات الثمرية

الشكل (12): اكتمال نمو المشيجة وبدء ظهور البدئات الثمرية

تبدأ بداءات الإثمار بالنمو وتشكيل رؤوس الدبابيس والتطاول لتعطي أجساماً ثمرية صغيرة على شكل عناقيد تنمو بسرعة كبيرة (خلال 3-5 أيام) وتصل إلى الحجم التسويقي عندما تكون الصفائح أسفل الأجسام الثمرية واضحة والحواف رقيقة.

تم قطف الأجسام الثمرية (العنقود الثمري) بمسكها من الحامل ثم سحبها مع الفتل وعدم قطعها بالسكين ومراعاة عدم ترك الجزء القاعدي في وسط الزراعة لأن ذلك يؤدي إلى تعفنه وإمكانية حدوث التلوث. ولا تترك أية أجسام ثمرية مهما كان حجمها ومرحلة نموها مع كشط كتلة التبن المتماسك بمشرط معقم لإزالة طبقة رقيقة منها لتحفيز النموات اللاحقة. بعد قطف العناقيد الثمرية تنمو عناقيد جديدة على كل كيس من ثقوب الإثمار (قطفات جديدة)، بفواصل زمني يختلف حسب السلالات المزروعة.

3-4-3- المؤشرات المدروسة Studied parameters:

أ- الأطوار الفينولوجية:

- ❖ **المدة حتى اكتمال نمو المشيجة في الكيس (مدة التحضين):** وهي الفترة بالأيام من التلقيح وبدء التحضين حتى اكتمال نمو المشيجة على وسط الزراعة وتحوله إلى اللون الأبيض وانتشار رائحة الفطر.
- ❖ **المدة حتى بدء تشكل البدئات الثمرية (مدة تحريض الإثمار):** وهي الفترة بالأيام من انتهاء اكتمال نمو المشيجة وحتى بدء تمايز رؤوس الدبابيس (الأجسام الثمرية).

❖ المدة حتى اكتمال نمو الأجسام الثمرية (مدة الإثمار): وهي عدد الأيام من بدء تشكل البداءات الثمرية وحتى اكتمال نمو الأجسام الثمرية.

❖ عدد الأيام حتى القطفة الأولى والثانية والثالثة: وتحسب من بداية فترة التحضين وحتى الوصول لكل قطفة.

❖ متوسط المدة بين القطفات =

متوسط المدة الفاصلة بين القطفة الأولى والأخيرة (يوم) ÷ (عدد القطفات-1)

ب- نمو الأجسام الثمرية وإنتاجيتها: تم قياس مؤشرات نمو الجسم الثمري والإنتاجية (Patel وزملاؤه، 2019) بعد القطاف مباشرة، من القطفات الثلاث الأولى كما يلي:

❖ نمو الجسم الثمري: بتحديد متوسط كل من وزن الجسم الثمري (غ)، وقطر القبة (مم)، وقطر الحامل وطوله (مم) بواسطة جهاز البياكوليس وذلك للأجسام الثمرية الناتجة من القطفة الأولى.

❖ مؤشرات الإنتاجية: وتتضمن تقدير متوسط كل من عدد العناقيد، وعدد الأجسام الثمرية في العنقود، ووزن العنقود الثمري (غ)، والإنتاجية لكل سلالة من خلال تحديد نسبة الإنتاج من الفطر الطازج (غ) إلى 1 كغ من الوزن الرطب للوسط (Ahmed وزملاؤه، 2016):

الإنتاجية = الوزن الطازج للفطر (غ)/الوزن الرطب للوسط (كغ)

والكفاءة الحيوية وفقاً لطريقة Mandeel وزملاؤه (2005):

الكفاءة الحيوية = [الوزن الطازج للفطر (غ)/الوزن الجاف للوسط (غ)] × 100

ج- المحتوى الكيميائي للأجسام الثمرية:

أجريت تحاليل المحتوى الكيميائي للأجسام الثمرية الكاملة للفطر والناتجة من القطفة الأولى في مخابر الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وشملت هذه التحاليل:

النسبة المئوية لكل من الألياف والرماد والكربوهيدرات الكلية والدهون والبروتين بالنسبة إلى المادة الجافة، والنسبة المئوية لكل من الرطوبة والمواد الصلبة الذائبة بالنسبة للوزن الرطب، وذلك وفق الطرائق المعتمدة للتقديرات الأساسية في تحليل الأغذية والأعلاف (AOAC، 2010 المعدلة) كما يلي:

- النسبة المئوية للمادة الجافة: تم العمل على مرحلتين، حيث تم أخذ 100 غ من الأجسام الثمرية الكاملة والطازجة لكل سلالة وتنظيفها وتقطيعها ووضعها متباعدة في فرن حراري (Khan وزملاؤه، 2016؛ Jayathunge و Illeperuma، 2001)، مع التقليب في درجة حرارة 45°م (Aishah و WanRosli، 2013) حيث يجب أن تكون درجة الحرارة المستخدمة في بداية

التجفيف منخفضة من أجل المحافظة على النوعية والقيمة الغذائية للفطر مع الخواص الفيزيائية كالرائحة واللون، ثم طحنت العينات وجففت في فرن حراري على درجة حرارة 105°م حتى ثبات الوزن ثم وزنت العينة وحسبت النسبة المئوية للمادة الجافة كما يلي:

$$\text{النسبة المئوية للمادة الجافة} = (\text{وزن العينة الجافة} / \text{وزن العينة الرطبة}) \times 100$$

- النسبة المئوية للرطوبة وفق المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للرطوبة} = 100 - \text{نسبة المادة الجافة}$$

- النسبة المئوية للألياف: حسبت بأخذ 1 غ من العينة الجافة والمطحونة في بوتقة خاصة معروفة الوزن، في جهاز تحليل الألياف، ثم وضعت البوتقات في الفرن على درجة حرارة 130°م مدة ساعتين، ثم أخذ الوزن، وحسبت النسبة المئوية.

- النسبة المئوية للرماد: قدرت بوضع 2 غ من العينة الجافة والمطحونة في جفنة بورسلانية معروفة الوزن ووضعها في المرمدة في درجة حرارة 600°م حتى تمام الترميد (2.5 ساعة)، ثم وزن الرماد الناتج وحسبت نسبته المئوية كما يلي:

$$(\text{وزن الجفنة مع العينة بعد الترميد} - \text{وزن الجفنة فارغة} / \text{وزن العينة}) \times 100$$

- النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة الكلية: قدرت من الفطر الطازج مباشرة بواسطة جهاز الرفراكتومتر.

- النسبة المئوية للدهن: قدرت بوزن 2 غ من المادة الجافة ووضعها في خرطوشة سيليلوزية في دورق فارغ معروف الوزن، أضيف لها 150 مل بتروليتر وأدخلت إلى جهاز استخلاص الدهن (سكسوليت)، وبعد انتهاء الاستخلاص جففت العينات على درجة حرارة 105°م مدة 2 ساعة، ثم حسبت نسبة الدهن كما يلي:

$$(\text{وزن الدورق مع الدهن} - \text{وزن الدورق فارغ} / \text{وزن العينة}) \times 100$$

- النسبة المئوية للبروتين: قدرت بحسب طريقة كلاهل Keldahl method عن طريق حساب نسبة الآزوت كما يلي:

$$\text{النسبة المئوية للبروتين} = \%N \times 6.25$$

- النسبة المئوية للكربوهيدرات الكلية: قدرت بحسب Manzi وزملاؤه (2004) وفق المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للكربوهيدرات} = 100 - (\text{البروتين} \% + \text{الدهن} \% + \text{الرماد} \% + \text{الألياف} \%)$$

د- البصمة البوغية وأبعاد الأبواغ:

من أجل الحصول على بصمة الأبواغ للسلاسل المدروسة تم اختيار جسم ثمري ناضج (الصفائح متفتحة وذات لون داكن وغير متضررة) وفصل الحامل عن القبة بعد أقرب نقطة من الصفائح بواسطة مشرط معقم، ثم وضعت القبة على طبق بتري معقم بحيث تكون جهة الصفائح من الأسفل، تم تغطية الطبق البتري بغطاء زجاجي معقم أيضاً للمحافظة على الرطوبة عالية حتى تبقى القبة بحيويتها وتنتج الأبواغ وكذلك لمنع وصول العوامل الملوثة والتيار الهوائي إلى الأبواغ حتى نحصل على بصمة بوغية واضحة، وترك حتى اليوم التالي لتتشكل بصمة بوغية ذات شكل متوافق مع شكل توضع الصفائح على القبة. تم رفع الغطاء الزجاجي بحذر وأزيلت قبة الجسم الثمري (الشكل 13) ثم التقطت صورة للبصمة البوغية مباشرة، ووضع طبق بتري معقم فوق الطبق الآخر (السفلي) ثم لف شريط لاصق حول هاتين الشريحتين ووضعاً في الثلاجة للحفاظ على حيوية الأبواغ لحين الاستخدام، حيث تبقى الأبواغ بحالة جيدة مدة 18 شهراً إذا حفظت في مكان بارد وجاف ومظلم (Hall وزملاؤه، 2003؛ Anonymous، 2015).

ومن أجل تحديد صفات الأبواغ الفطرية (الشكل واللون والأبعاد) فقد تم استخدام كمية قليلة جداً من الماء المقطر ليصبح لدينا مزيج مكون من الماء المقطر وأبواغ الفطر، ثم وضعت نقطة من هذا المزيج على شريحة زجاجية مدرجة وأخذت لها صورة بواسطة كاميرا موصولة بمجهر وحاسب، ثم حسبت أبعاد الأبواغ بواسطة برنامج Image J 1.51K²، حيث أخذ متوسط أبعاد 10 أبواغ من كل سلالة.

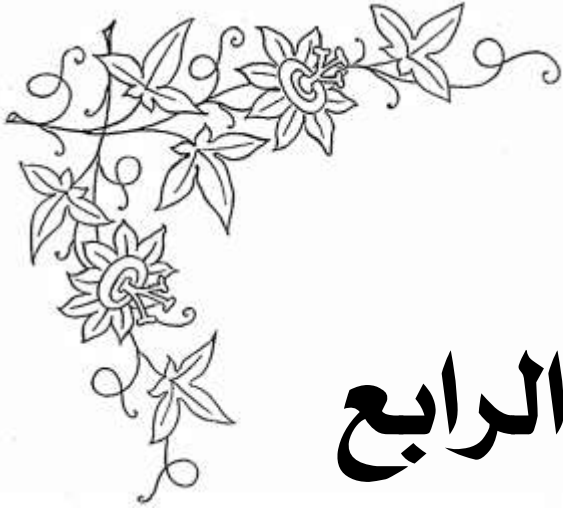


الشكل (13): الحصول على البصمة البوغية

²<http://imagej.nih.gov/ij>, Wayne Rasband, National Institute of Health, USA.

3-5- التحليل الإحصائي Statistical Analysis:

استخدم في تنفيذ البحث تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، واستخدم البرنامج الإحصائي XLSTAT لإجراء تحليل التباين ANOVA واختبار Fisher، وتمت المقارنة بين المتوسطات بحساب قيمة أقل فرق معنوي LSD عند مستوى ثقة 95%. كما أجري التحليل العنقودي للسلاسل المدروسة مقارنة مع السلاسل المدخلة المزروعة المشار إليها سابقاً [P. *ostreatus* (S18) و P. *eryngii* (S19) و P. *Pulmonarius* (S20) و P. *Florida* (S21)] اعتماداً على الصفات الشكلية، وبحساب مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق Percent disagreement values (PDV) اعتماداً على معامل Euclidean distance ثم أجري التحليل العنقودي بطريقة Ward ورسمت شجرة القرابة الشكلية باستعمال برنامج Power Marker. بينما تم تحديد طول حزم الـ DNA الناتجة عن التضخيم باستخدام برنامج TotalLab وتحويل المعطيات إلى النظام الثنائي (1 للحزمة الموجودة و 0 للحزمة الغائبة). ثم حساب مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard، ثم استخدمت هذه المصفوفة لإجراء التحليل العنقودي بطريقة (UPGMA) Unweighted Pair Group Method of Arithmetic Means ورسم شجرة القرابة الوراثية باستعمال برنامج Power Marker.



الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

1.4- جمع السلالات البرية وتوصيفها

1.1.4- جمع السلالات البرية

2.1.4- التوصيف الشكلي

3.1.4- التوصيف الجزيئي والتنوع الوراثي

2.4- النمو المشيجي للسلالات على أوساط الزراعة

1.2.4- معدل نمو المشيجة

2.2.4- مؤشرات ومعامل نمو المشيجة

3.4- مرحلة الاستزراع

1.3.4- الأطوار الفينولوجية

2.3.4- مؤشرات نمو الجسم الثمري

3.3.4- مؤشرات الإنتاج

4.3.4- التركيب الكيميائي

4.4- انتخاب أفضل السلالات المدروسة



الجدول (11): المعطيات الجغرافية لأماكن جمع العينات البرية المدروسة وتاريخ الجمع

تاريخ الجمع	المعطيات الجغرافية				السلالة المدروسة
	الارتفاع عن سطح البحر (متر) Elevation (m)	خط الطول شرق غرينيتش Longitude (E)	خط العرض شمال خط الاستواء Latitude (N)	مكان الجمع Site	
2017-2-5	964.69	36°20'37.56"	34°52'16.87"	قرية برشين	S1
2017-1-15	865.63	36°20'27.56"	34°53'53.77"	قرية تين السبيل	S2
2016-12-28	425.81	36°26'35.83"	34°59'10.53"	قرية قصير دير حويت	S3
2017-1-19	430.68	36°26'33.73"	34°59'44.33"	قرية قصير دير حويت	S4
2017-2-16	812.29	36°18'34.56"	34°55'21.47"	قرية حزور	S5
2017-2-12	423.98	36°26'28.61"	34°59'43.40"	قرية قصير دير حويت	S6
2016-11-27	808.63	36°21'44.46"	34°53'19.07"	قرية تموزة	S7
2017-2-3	836.37	36°20'48.56"	34°53'25.17"	قرية برشين	S8
2016-11-12	553.52	36°20'03.43"	33.073503	مدينة مصياف	S9
2017-1-20	472.44	36°26'48.78"	35°01'41.20"	قرية سيغاتا	S10
2016-11-28	419.71	36°21'37.80"	35°06'01.37"	قرية طير جملة	S11
2017-2-5	486.46	36°19'36.20"	34°58'07.73"	قرية المشرفة	S12
2016-12-6	625.45	36°18'50.89"	34°57'21.09"	قرية كاف الحبش	S13
2016-12-14	638.86	36°18'50.07"	34°57'20.95"	قرية كاف الحبش	S14
2016-12-14	629.41	36°18'50.33"	34°57'21.04"	قرية كاف الحبش	S15
2017-2-10	811.78	36°19'59.61"	34°65'51.30"	قرية عين حلاقيم	S16
2016-12-14	586.44	36°18'42.72"	34°57'33.92"	قرية كاف الحبش	S17

الجدول (12): المعطيات المناخية لأماكن جمع العينات البرية المدروسة

الشهر	القيمة	المحطات المناخية				
		وادي العيون	مصياف	عين حلاقيم	برشين	تيزين
كانون الثاني	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	4.97	5.75	-	1.54	1.1
	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	11.58	10.93	-	10.71	11.10
	أكبر كمية رطوبة %	90.81	-	-	-	95.82
	أقل كمية رطوبة %	60.15	-	-	-	53.4
	معدل الهطول الشهري (مم)	275.17	337.4	328.8	242.5	48.20
شباط	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	6.93	6.19	-	4.2	2.92
	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	11.58	13.44	-	12.8	15.03
	أكبر كمية رطوبة %	84.12	-	-	-	95.53
	أقل كمية رطوبة %	60.15	-	-	-	53.16
	معدل الهطول الشهري (مم)	149.17	193.43	171.33		40.80
آذار	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	8.78	8.20	-	6.75	6.76
	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	16.08	16.19	-	14.01	21.54
	أكبر كمية رطوبة %	90.90	-	-	-	91.69
	أقل كمية رطوبة %	50.11	-	-	-	40.94
	معدل الهطول الشهري (مم)	161	213.67	25.67		16.20
نيسان	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	11.48	11.37	-	7.84	9.09

22.10	24.78	20.26	–	20.98	23.45	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
73.63	89.12	65.33	–	–	82.32	أكبر كمية رطوبة %	
39.24	42.03	72.23	–	–	41.69	أقل كمية رطوبة %	
18.50	1.50	108	91.33	97.17	112.67	معدل الهطول الشهري (مم)	
14.51	12.22	11.49	–	17.21	14.03	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	أيار
30.58	29.95	20.11	–	28.02	25	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
64.13	79.21	72.23	–	–	91.40	أكبر كمية رطوبة %	
32.42	31.24	45.43	–	–	49	أقل كمية رطوبة %	
12.3	17.60	84	71.6	66	72.2	معدل الهطول الشهري (مم)	
17.03	17.66	17.06	–	20.44	17.34	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	حزيران
33.35	36.09	25.27	–	30.85	29.87	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
66.83	59.67	66.93	–	–	91.90	أكبر كمية رطوبة %	
28.64	24.93	39.03	–	–	47.27	أقل كمية رطوبة %	
0	0	3.6	10	18.5	37	معدل الهطول الشهري (مم)	
20.75	21.80	17.2	–	22.29	20.10	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	تموز
36.69	36.91	27.6	–	31.24	32.57	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
82.35	56.50	–	–	–	89.15	أكبر كمية رطوبة %	
32.23	28.84	–	–	–	45.53	أقل كمية رطوبة %	
0	0	0	0	0	0	معدل الهطول الشهري (مم)	

20.14	23.00	17.58	–	22.72	21.11	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	آب
36.48	38.14	28.61	–	32.94	31.95	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
81.90	63.10	–	–	–	96.48	أكبر كمية رطوبة %	
29.10	30.06	–	–	–	51.81	أقل كمية رطوبة %	
0	0	0	0	0	0	معدل الهطول الشهري (مم)	
17.57	18.00	16.57	–	20.51	18.87	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	أيلول
34.23	33.61	25.87	–	31.28	30.48	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
82.79	76.80	–	–	–	93.60	أكبر كمية رطوبة %	
40.58	35.40	–	–	–	47.75	أقل كمية رطوبة %	
0	16.90	101.7	13.4	14.8	17.2	معدل الهطول الشهري (مم)	
14.07	13.29	14.28	–	16.11	15.04	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	تشرين الأول
29.53	29.94	20.78	–	25.99	27.63	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
79.63	79.35	–	–	–	87.60	أكبر كمية رطوبة %	
38.00	39.24	–	–	–	42.27	أقل كمية رطوبة %	
16.17	39.30	105.8	83.43	99.14	97.43	معدل الهطول الشهري (مم)	
7.53	7.62	7.32	–	8.91	11.18	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	تشرين الثاني
17.56	20.61	17.1	–	16.43	19.30	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	

89.41	92.20	–	–	–	77	أكبر كمية رطوبة %	
48.14	49.53	–	–	–	43.57	أقل كمية رطوبة %	
40.50	34.30	128	107.57	133.14	15.86	معدل الهطول الشهري (مم)	
5.23	4.48	2.1–	–	4.96	6.89	متوسط درجة الحرارة الصغرى (م°)	كانون الأول
11.74	14.45	8.76	–	10.68	14.23	متوسط درجة الحرارة العظمى (م°)	
89.22	96.61	–	–	–	84.82	أكبر كمية رطوبة %	
55.67	60.16	–	–	–	55.36	أقل كمية رطوبة %	
36.00	45.80	166.7	289.89	302.86	273.74	معدل الهطول الشهري (مم)	

4-1-2- التوصيف الشكلي Morphological characterization:

تم توصيف السلالات المدروسة مباشرة بعد عملية الجمع، وبعد أخذ صورة للأجسام الثمرية لكل سلالة على العائل الذي وجدت عليه (الشكل 15)، وتم تسجيل نوع العائل الذي نمت عليه السلالة ومكان وتاريخ الجمع وطبيعة الإثمار (الجدول 13)، فقد نمت هذه السلالات على سبعة أنواع نباتية مختلفة (التفاح، التين، السنديان العادي والعذري، الحور، الدردار، ونبات الكلخ) بعضها كأشجار قائمة وأخرى كجذوع مقطوعة.

الجدول (13): سلالات الفطر المحاري البرية التي تم جمعها وتفتيتها ونوع العائل وطبيعة الإثمار

رقم السلالة	نوع العائل	طبيعة الإثمار
S1	تفاح (ساق شجرة قائمة)	جانبى على الساق
S2	تفاح (ساق شجرة قائمة)	جانبى على الساق
S3	سنديان (جذع شجرة قائمة)	جانبى على طرف الجذع
S4	تين (جذع مقطوع)	جانبى أسفل الجذع
S5	سنديان عذري (ساق شجرة قائمة)	جانبى على طول الساق
S6	سنديان (جذع شجرة قائمة)	جاف جانبى على طرف أحد الأفرع
S7	تين (جذع مقطوع)	جاف-جانبى على طرف الجذع
S8	تفاح (جذع مقطوع)	جانبى على طرف الجذع
S9	حور (جذع مقطوع)	جانبى على طرف الجذع
S10	نبات الكلخ <i>Ferula spp.</i>	جانبى على سوق النبات
S11	تين (ساق شجرة قائمة)	جانبى على الساق
S12	تين (جذع شجرة)	جانبى على طرف الجذع
S13	دردار (جذع مقطوع)	جانبى على طرف الجذع
S14	تين (ساق شجرة قائمة)	جانبى على الساق
S15	حور (جذع مقطوع)	جانبى على طرف الجذع وفي قلبه
S16	حور (شجرة قائمة)	جاف-جانبى على طرف الجذع
S17	دردار (شجرة قائمة)	جانبى على الجذع



S2



S1



S4



S3



S6



S5



S8



S7

الشكل (15-أ): الأجسام الثمرية لسلالات الفطر المحاري البرية التي تم جمعها.



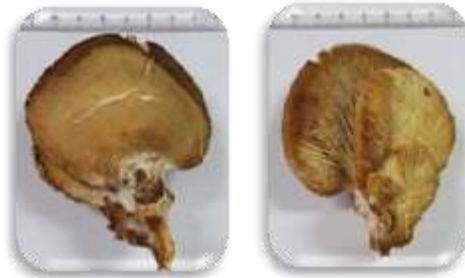
S10



S9



S12



S11



S15



S14



S13



S17



S16

الشكل (15-ب): الأجسام الثمرية لسلاسل الفطر المحاري البرية التي تم جمعها.

أظهرت السلالات المدروسة اختلافات واضحة في خصائصها الشكلية المسجلة بعد الجمع مباشرة، فتراوح عدد الأجسام الثمرية من 1-7 أجسام، واختلف وزن الجسم الثمري 5 إلى حوالي 50 غراماً، وسجلت أشكال مختلفة للقبعة (بيضوية، كلوية، مروحية، كفية، قمعية، غير منتظمة) وتباين لونها من البني الضارب للسود إلى الكريمي والكريمي المصفر، ولون حافتها الأسود، أو المخطط باللون الكريمي والبني، وتراوح أقطارها ما بين 3 و20 سم، أما الحامل فكان إما غائباً ملتصقاً تماماً بالعائل في العديد من الحالات أو موجوداً لكنه قصير وذو توضع جانبي أو لا مركزي بالنسبة إلى القبعة واستثناء S9 والتي كان الحامل واضحاً فيها، وتراوح قطره ما بين 0.4-2.25 سم و-0.5-5.5 سم، كما تفاوت لون اللب بين الأبيض والكريمي، وقوامه بين الطري الرقيق (النحيف) واللحمي السميك. أما الصفائح فكانت بلون بيج وبيج فاتح وكريمي، فيما لم تختلف السلالات من حيث طبيعة إثمارها الجانبية على جذع العائل والتفاف حافة القبعة إلى الداخل (الجدول 14).

الجدول (14): الخصائص الشكلية للسلالات الفطرية التي تم جمعها برياً

رقم السلالة	عدد الأجسام الثمرية	متوسط وزن الجسم الثمري/غ	لون القبعة	شكل ومتوسط قطر القبعة /سم/	وجود وتوضع وأبعاد الحامل (قطر/طول)سم	لون وشكل الصفائح	لون وقوام اللب
S1	5	13.6	بني غامق إلى أسود	بيضوية، رائحتها فطرية معتدلة، حافتها لمساء ملتفة إلى الداخل (3-3.4)	جانبية (0.5/0.5)	كريمية، منحدر عميقة	كريمي طري رقيق
S2	2	29.5	بني ضارب إلى الأسود	غير منتظمة، رائحتها فطرية معتدلة، حافتها ملتفة إلى الداخل (3.75-4.25)	غائبة	كريمية فاتحة، منحدر عميقة	كريمي لحمي سميك
S3	2	38.2	رمادي غامق	بيضوية، رائحتها فطرية قوية، لامعة، حافتها لمساء ملتفة إلى الداخل (10-12.5)	غائبة إلى قصيرة جداً (0.5/0.7)	كريمية، منحدر عميقة	أبيض لحمي سميك
S4	2	6.12	كريمي إلى بني فاتح	غير منتظمة، رائحتها فطرية معتدلة، حافتها ملتفة إلى الداخل (3.75-5.5)	جانبية (0.8/1.25)	كريمية، منحدر عميقة	أبيض طري رقيق
S5	5	9.32	بني فاتح	كلوية، رائحتها فطرية قوية، حافتها لمساء ملتفة إلى الداخل (5-15)	غائبة إلى قصيرة جداً (0.5/0.7)	كريمية، منحدر عميقة	أبيض طري رقيق
S6	3	42.4	رمادي غامق	بيضوية، لامعة، رائحتها فطرية قوية، حافتها لمساء ملتفة إلى الداخل (4-5.77)	جانبية (0.4/1)	كريمية، منحدر عميقة	أبيض طري رقيق

رقم السلالة	عدد الأجسام الثمرية	متوسط وزن الجسم الثمري/غ	لون القبة	شكل ومتوسط قطر القبة /سم/	وجود وتوضع وأبعاد الحامل (قطر/طول)سم	لون وشكل الصفائح	لون وقوام اللب
S7	4	45.2	بني	مروحية، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (7-7)	غائبة إلى قصيرة جداً (0.7/0.5)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض لحمي سميك
S8	3	6.55	بني	بيضوية غير منتظمة، لامعة، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (4-5.77)	جانبية (0.7/0.4)	كريمة، منحدر عميقة	كريمي لحمي رقيق
S9	7	جاف 5	كريمي	غير منتظمة، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (9-10)	غير مركزية (5.5/2.2)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض لحمي رقيق
S10	2	38.08	كريمي مصفر وحافتها مشققة	بيضوية مستوية، غير منحدر باتجاه الحامل، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (8.5-9.85)	غير مركزية (1.65/2.25)	كريمة مصفرة، منحدر ضحلة	أبيض لحمي سميك
S11	3	18	كريمي	بيضوية، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (5.97-9.57)	غائبة إلى قصيرة جداً (0.7/0.5)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض لحمي سميك
S12	1	27.8	كريمي	كفية، رائحتها فطرية قوية، لامعة، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (9-10.5)	جانبية (0.8/1.5)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض لحمي سميك
S13	2	9.2	بني	غير منتظمة، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (10.5-12.25)	جانبية (1.1/0.5)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض لحمي سميك
S14	3	45.02	بني مع حواف سوداء	قمعية، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (10-12)	جانبية (3.5/1.53)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض طري رقيق
S15	5	37.67	رمادي غامق	بيضوية، رائحتها فطرية قوية، لامعة، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (7-7.13)	جانبية (2.2/1.88)	بيضاء، منحدر عميقة	أبيض لحمي سميك
S16	2	17.23	كريمي	غير منتظمة، رائحتها فطرية معتدلة، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (7-10)	غائبة إلى قصيرة (0.6/0.4)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض طري رقيق
S17	3	18.52	كريمي	بيضوية، رائحتها فطرية قوية، حافتها ملساء ملتفة إلى الداخل (7.75-10.75)	غائبة إلى قصيرة (0.7/0.5)	كريمة، منحدر عميقة	أبيض لحمي سميك

كما دُرست البصمة البوغية لكل سلالة وتدرجت ألوانها بين الأبيض والرمادي والبنفسجي الغامق وما بينها (الجدول 15)، وجرى تحديد أبعاد الأبواغ تحت المجهر (مستوى التكبير 60×0.8)، وقد تراوح متوسط العرض (3.41-5.82 ميكرون) ومتوسط الطول (8.52-12.07 ميكرون) (الشكل 16). تتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه Hasan وزملاؤه (2018) بتتوع أحجام الأبواغ.

الجدول (15): لون البصمة البوغية لعينات الأجسام الثمرية البرية للسلالات المدروسة

لون البصمة البوغية	رقم السلالة	لون البصمة البوغية	رقم السلالة
أبيض	S10	بنفسجي غامق	S1
أبيض مائل إلى رمادي	S11	بنفسجي	S2
أبيض	S12	أبيض	S3
أبيض	S13	بنفسجي	S4
أبيض مائل إلى بنفسجي	S14	أبيض	S5
أبيض مائل إلى البنفسجي	S15	أبيض	S6
أبيض إلى بنفسجي	S16	رمادي	S7
بنفسجي	S17	أبيض مائل إلى البنفسجي	S8
أبيض مائل إلى البنفسجي	P.O	أبيض مائل إلى البنفسجي	S9



الشكل (16): أشكال وأبعاد أبواغ سلالات الفطر المحاري البرية التي تم جمعها

تتطابق هذه النتائج مع المفاتيح التصنيفية الواردة في المراجع (Phillips، 1981؛ 1987؛ Trudell و Ammirati، 2009)، ومع دراسة عز (2007) التي أجريت على 36 سلالة برية من مواقع مختلفة في سورية، وبينت وجود اختلافات شكلية واضحة بين السلالات المدروسة التي تميزت

جميعها بإثمارها الجانبي، وتباينت في شكل القبة بين المفطح والبيضاوي والكلوي والتموج وغير المنتظم والكفي، وتدرج لونها بين البني الفاتح إلى الرمادي الفاتح، وتباينت أقطارها بين 1-20سم، والتفت حافتها إلى الداخل أو إلى الخارج. وكان الحامل كريمي اللون بطول يتراوح بين 2-9سم وعرض بين 1-6سم، إما جانبياً أو غائباً أو شبه غائب أو غير مركزي أو متصل مباشرة بالقاعدة. واختلفت الصفائح بين منحدرية عميقة أو غير عميقة أو ضحلة أو عميقة ملتصقة بالقدم.

وكذلك توافقت مع دراسة Hasan وزملاؤه (2018) في الأردن لـ 19 سلالة برية من مناطق مختلفة، التي أظهرت فيها اختلاف واضح على المستوى الشكلي، فرغم أن القبة كانت ذات شكل قمعي أو غير منتظم في جميع السلالات إلا أنها اختلفت من حيث لون وقطر القبة (3-9سم) ضمن نفس السلالات المجموعة من موقعين مختلفين وحتى ضمن السلالات من الموقع نفسه، وكذلك اختلف طول الحامل وتراوح بين (1-4سم) وشكله، حيث كان بين السميك الاسطواني والسميك اللامركزي. أما لون الصفائح فقد اختلف أيضاً من العسلي الضارب إلى البياض (المبيض) وبين الرمادي إلى الأبيض.

ولدراسة درجة القرابة الشكلية بين السلالات المدروسة (والسلالات المدخلة المزروعة) بحسب صفات القبة والحامل ولون البصمة البوغية تم تطبيق مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق (PDV) Percent disagreement values بالاعتماد على معامل Euclidean distance.

كانت السلالات الأبعد بخصائصها الشكلية من بين السلالات المدروسة السلالتين S15 و S10 بمسافة تباين شكلي قدرها 12.215، بينما كانت السلالات الأقرب السلالتين S12 و S17، والسلالتين S11 و S9 بمسافة تباين شكلي قدرها 1.0363 و 1.0397، على التوالي (الجدول 16).

الجدول (16): مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق (PDV) اعتماداً على معامل Euclidean distance

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21
S1	0																				
S2	5.2000	0																			
S3	3.4278	4.7455	0																		
S4	1.9967	5.1942	1.8150	0																	
S5	1.5307	5.2179	2.4714	1.5296	0																
S6	6.3349	1.5413	5.3763	6.2014	6.1686	0															
S7	1.6219	4.2512	3.1157	1.8883	2.2788	5.5449	0														
S8	3.6455	3.6391	4.2250	3.8983	3.7990	4.6946	3.3265	0													
S9	3.9359	3.6551	3.6584	3.6314	3.8473	4.5921	3.4288	1.0805	0												
S10	4.6092	7.2040	2.8874	3.0266	3.5133	7.9172	4.6133	6.3297	5.8530	0											
S11	3.9599	3.7556	3.6521	3.8071	3.6729	4.4840	3.7884	1.2783	1.0397	5.8817	0										
S12	2.1581	4.1363	2.0900	1.8740	1.5876	5.0092	2.3143	2.5747	2.4667	4.2086	2.2363	0									
S13	4.6922	2.1537	3.1345	4.1419	4.2798	2.3744	3.9246	4.1338	3.8030	5.6655	3.7316	3.3060	0								
S14	4.5557	2.9310	2.8768	3.7943	4.0211	3.3755	3.9392	2.7210	2.0106	5.4391	1.9243	2.5926	2.2702	0							
S15	8.2620	9.9072	11.2588	10.1365	9.0863	10.8633	8.9078	8.8735	9.9183	12.2152	9.6953	9.4326	10.8614	10.9440	0						
S16	3.8231	2.4633	3.6996	3.9441	3.6357	3.2731	3.4642	1.7496	1.9339	6.1109	1.5288	2.3108	2.7152	1.8696	9.1375	0					
S17	1.9894	4.0399	2.2600	1.5881	1.9958	5.0994	1.6305	2.4341	2.2593	4.3548	2.4674	1.0363	3.4258	2.7449	9.5321	2.5741	0				
S18	3.1586	5.3923	3.9477	3.1733	3.2499	6.4211	3.3447	2.0725	2.0891	5.4503	2.2619	2.4706	5.2504	3.6893	9.3832	3.3414	2.2754	0			
S19	3.7382	7.4503	4.7420	3.9437	3.4091	8.3236	4.3744	6.9491	7.0580	3.9705	6.9435	4.8242	6.3364	6.9383	9.6074	6.5729	5.0150	6.4177	0		
S20	2.6387	4.2630	2.9602	2.6860	2.4052	5.1220	2.8796	1.8328	1.8571	5.0286	1.4806	1.0823	3.8263	2.5973	9.2294	2.0642	1.4766	1.7377	5.7063	0	
S21	3.7810	3.7879	3.9167	4.0583	3.6578	4.3988	3.4790	5.1992	5.3307	5.5922	5.1797	3.7191	2.9151	4.5635	9.2629	4.0136	3.9017	5.9569	4.3545	4.5374	0

ثم أجري التحليل العنقودي للسلاسل المدروسة اعتماداً على مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق (PDV)، ويسمح هذا التحليل بتقسيم السلاسل المدروسة إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الشكلية فيما بينها، حيث انقسمت السلاسل وفق هذا التحليل إلى سبع مجموعات مختلفة (الشكل 17)، كما يلي:

- **المجموعة الأولى:** وضمت 7 سلاسل هي: S1، S3، S4، S5، S7، S12 و S17 مع السلالة المزروعة من الفطر المحاري *P. Pulmonarius* (S20) وانفصلت عن المجموعات الأخرى بمسافة تباين شكلي قدرها 3.164، وتوزعت السلاسل ضمنها على تحت مجموعتين بمسافة تباين شكلي بينهما قدرها 2.591، انفردت السلالة S3 في تحت مجموعة مستقلة، بينما انقسمت السلاسل الأخرى في تحت المجموعة الثانية إلى تحت تحت مجموعتين بمسافة تباين شكلي بينهما قدرها 2.146، توزعت السلاسل ضمنها كما يلي:

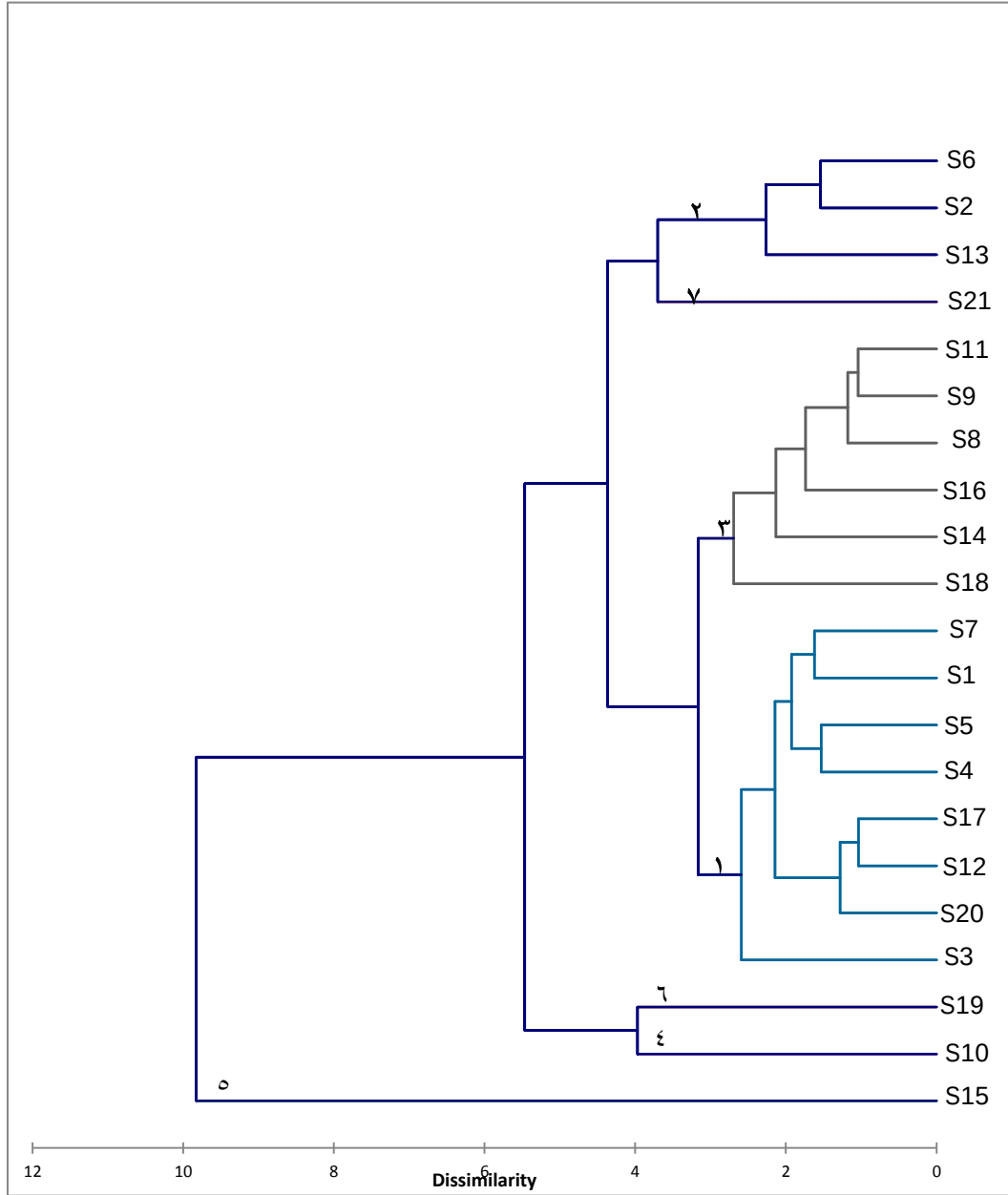
- تحت تحت المجموعة الأولى: توزعت فيها السلاسل في تحت تحت مجموعتين، انفردت السلالة المزروعة S20 في إحداها بمسافة تباين شكلي عن الأخرى قدرها 1.279، والسلاسلتين S12 و S17 في الأخرى بمسافة تباين شكلي بينهما قدرها 1.036.

- تحت تحت المجموعة الثانية: وتوزعت ضمنها السلاسل أيضاً في تحت تحت مجموعتين بمسافة تباين شكلي قدرها 1.924، ضمت الأولى السلاسلتين S4 و S5 بمسافة تباين شكلي قدرها 1.530، وضمت الثانية السلاسلتين S7 و S1 بمسافة تباين شكلي بينهما قدرها 1.622.

- **المجموعة الثانية:** وضمت 3 سلاسل هي: S2، S6 و S13 بمسافة تباين شكلي قدرها 3.7 عن باقي المجموعات، وانقسمت إلى تحت مجموعتين انفردت السلالة S13 في إحداها بمسافة تباين شكلي قدرها 2.264 عن تحت المجموعة الأخرى والتي ضمت السلاسلتين S2 و S6 بمسافة تباين شكلي بينهما قدرها 1.541.

- **المجموعة الثالثة:** وضمت 5 سلاسل هي: S8، S9، S11، S14 و S16 مع السلالة المزروعة من الفطر المحاري *P. ostreatus* (S18) بمسافة تباين شكلي قدرها 3.164 عن باقي المجموعات، وتوزعت السلاسل ضمنها على تحت مجموعتين بمسافة تباين بينهما قدرها 2.691، انفردت السلالة S18 في تحت مجموعة مستقلة، بينما انقسمت السلاسل الأخرى في تحت المجموعة الثانية في تحت تحت مجموعتين بمسافة تباين شكلي قدرها 2.131 كما يلي:

- تحت تحت مجموعة أولى: انفردت فيها السلالة S14.
 - تحت تحت مجموعة ثانية: توزعت فيها السلالات إلى تحت تحت تحت مجموعةتين بمسافة تباين شكلي بينهما قدرها 1.737، ضمت الأولى السلالة S16 وضمت الثانية السلالات S8، S9 و S11، وتوزعت هذه السلالات ضمنها في تحت تحت تحت مجموعةتين بمسافة تباين شكلي قدرها 1.179، انفردت السلالة S8 في إحداها، والسلالتين S9 و S11 في الأخرى بمسافة تباين شكلي بينهما قدرها 1.04.
 - المجموعة الرابعة: وضمت السلالة S10 بمسافة قدرها 3.971 عن السلالة S19، و 5.47 عن باقي المجموعات.
 - المجموعة الخامسة: وضمت السلالة S15 بمسافة تباين شكلي قدرها 9.826 عن باقي المجموعات.
 - المجموعة السادسة: وضمت سلالة مزروعة من الفطر ملك المحاري *P. eryngii* (S19) بمسافة تباين شكلي قدرها 3.971 عن باقي المجموعات.
 - المجموعة السابعة: وضمت سلالة مزروعة من الفطر المحاري فلوريدا *P. florida* (S21) بمسافة قدرها 3.97 عن باقي المجموعات.
- وبالتالي نجد أن السلالات المدروسة انقسمت في 5 مجموعات فقط، اجتمعت 7 سلالات منها في مجموعة مع سلالة الفطر المحاري *P. Pulmonarius* (S20) أي أنها أقرب في صفاتها الشكلية إلى صفات هذا النوع من الفطر المحاري، و 5 سلالات في مجموعة مع سلالة الفطر المحاري *P. ostreatus* (S18)، و 3 سلالات في مجموعة منفردة، بينما انفردت كل من السلالتين S10 و S15 في مجموعة مستقلة، وبقيت كذلك كل من السلالتين المزروعتين من الفطر ملك المحاري (S19) والفطر المحاري فلوريدا (S21) في مجموعة مستقلة لكل منهما.



الشكل (17): مخطط شجرة القرابة الشكلية للسلاسل المدروسة والسلاسل المزروعة (S18: P.

ostreatus :S19، *P. eryngii* :S20، *P. pulmonarius* :S21، *P. florida* :S21) من الفطر المحاري اعتماداً

على التحليل العنقودي لبيانات التباين الشكلي

ذكر Rabbani وزملاؤه (2010) أن الخصائص الشكلية لا تعطي صورة حقيقية عن التصنيف التطوري. وقد لوحظت بالفعل مشاكل كبيرة في تصنيف الجنس *Pleurotus* على أساس الصفات الشكلية (Fonseca وزملاؤه، 2008). وقد تبين عند دراسة التباين بين سلالات من الفطر المحاري من حيث القدرة الإنتاجية وحجم الأجسام الثمرية وغيرها من الصفات، أن الاختلافات الناتجة في الفطور لا يتم التعبير عنها دائماً باختلاف الخصائص الشكلية، لذلك فإن الأنواع ذات

الصلة الوثيقة تفتقر إلى الاختلافات الشكلية المفيدة من الناحية التصنيفية، أما تسلسل الحمض النووي الأساسي فهو غير حساس للتغير البيئي على المدى القصير، وبالتالي ينبغي أن يوفر بديلاً أكثر ثباتاً للتمييز بين السلالات (Khan وزملاؤه، 2017).

تدل التقسيمات الشكلية للسلالات المدروسة إلى أنها تشكل قاعدة أساسية لأنواع الفطر المحاري المنتشرة في سورية يمكن أن تساعد إلى حد كبير في الحصول على سلالات برية ذات صفات جيدة ممكن استخدامها لأغراض علمية بحثية أو تجارية.

4-1-3- التوصيف الجزيئي والتنوع الوراثي

Molecular characterization and genetic diversity:

عند دراسة التنوع الوراثي للسلالات المدروسة باستخدام تقنية ISSR باستخدام 11 بادئ، أعطت جميع البادئات المستخدمة نتائج تضخيم لقطع الـ DNA في جميع السلالات المدروسة، وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عن جميع البادئات المستخدمة 274 حزمة، بمتوسط 24.91 حزمة لكل بادئ من البادئات التي أعطت نتائج تضخيم (الجدول 17). وقد أعطت البادئات P10 و P2 أعلى عدد من الحزم الكلية (38 و 36 حزمة، على التوالي) (الشكل 18)، بينما أعطى البادئ P7 أقل عدد من الحزم الكلية (4 حزم). وكانت جميع الحزم الناتجة عن جميع البادئات المستخدمة متباينة، وبالتالي بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية للبادئات المستخدمة 100% (الجدول 17). وهذا يدل على وجود تنوع وراثي كبير بين جميع السلالات المدروسة.



الشكل (18): صورة لنواتج تضخيم الـ DNA للسلالات المدروسة باستخدام البادئ P2

وبوجود معلم جزيئي 1000 pb (M)

الجدول (17): مجموع الحزم الناتجة (الكلية والمتباينة) ونسبة التعددية الشكلية (%)

ليادئات الـ ISSR المستخدمة في البحث

رمز البادئ	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة	نسبة التعددية الشكلية
P1	29	29	100.00
P2	36	36	100.00
P3	31	31	100.00
P4	32	32	100.00
P5	9	9	100.00
P6	26	26	100.00
P7	4	4	100.00
P8	31	31	100.00
P9	38	38	100.00
P10	15	15	100.00
P11	23	23	100.00
المجموع	274	274	—
المتوسط	24.91	24.91	100.00

تمت دراسة العلاقة الوراثية بين السلالات المدروسة (والسلالات المدخلة المزروعة) بتطبيق مصفوفة نسبة عدم التوافق الوراثي (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard لتحديد درجة التباين الوراثي فيما بينها، وكانت السلالات الأقرب وراثياً من بين السلالات المدروسة السلالتين S9 و S7 بتباين وراثي قدره 0.8، ثم السلالتين S3 و S4 بتباين وراثي قدره 0.8049، ولم يكن هنالك أي توافق بين جميع السلالات المدروسة والسلالة المزروعة من فطر ملك المحاري *P. eryngii* حيث كان التباين الوراثي بينها وبين جميع السلالات 100% (الجدول 18).

بينت نتائج التحليل العنقودي Cluster analysis للسلالات المدروسة اعتماداً على مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق تقسيم السلالات إلى سبع مجموعات مختلفة تعكس درجة القرابة الوراثية فيما بينها، ويمكن أن تتجمع السلالات ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها أو على أصلها (الشكل 19)، وكانت المجموعات كما يلي:

– المجموعة الأولى: ضمت السلالات S1، S3، S4 و S5 مع السلالة المزروعة من الفطر المحاري *P. Pulmonarius* (S20) وانفصلت عن المجموعات الأخرى بمسافة وراثية قدرها 0.9594، وتوزعت السلالات ضمنها في تحت مجموعتين المسافة الوراثية بينهما 0.9319، انفردت السلالة S20 في تحت مجموعة مستقلة بينما انقسمت السلالات الأخرى في تحت تحت

مجموعتين بمسافة وراثية بينهما 0.8789، وضمت تحت تحت المجموعة الأولى السلالتين S3 وS4 بمسافة وراثية 0.8049، وضمت تحت تحت المجموعة الثانية السلالتين S5 وS1 بمسافة وراثية بينهما قدرها 0.8667.

- المجموعة الثانية: ضمت فقط السلالة S2، وانفصلت عن المجموعات الأخرى بمسافة وراثية قدرها 0.9917.

- المجموعة الثالثة: ضمت السلالات S6، S7، S8، S9، S11، S12، S14، S15، S16 وS17 مع السلالة المزروعة من الفطر المحاري *P. ostreatus* (S18) وانفصلت عن المجموعات الأخرى بمسافة وراثية قدرها 0.9519، وتوزعت السلالات ضمنها في تحت مجموعتين بمسافة وراثية بينهما قدرها 0.9396، حيث ضمت تحت المجموعة الأولى السلالة S18 في تحت تحت مجموعة مستقلة تبعد بمسافة وراثية قدرها 0.8918 عن السلالتين S15 وS17 اللتين تبعدان عن بعضهما بمسافة وراثية 0.8182 واجتمعتا في تحت تحت مجموعة أخرى، وانقسمت تحت المجموعة الثانية إلى تحت تحت مجموعتين بمسافة وراثية بينهما قدرها 0.9272، توزعت السلالات في كل منها كما يلي:

- تحت تحت مجموعة أولى توزعت السلالات فيها إلى تحت تحت تحت مجموعتين بمسافة وراثية قدرها 0.8646، ضمت الأولى السلالة S8 والثانية السلالتين S7 وS9 بمسافة وراثية بينهما قدرها 0.8.

- تحت تحت مجموعة ثانية توزعت السلالات فيها إلى تحت تحت تحت مجموعتين بمسافة وراثية قدرها 0.9158، انفردت السلالة S12 في إحداها، بينما انقسمت الأخرى إلى تحت تحت تحت مجموعتين بمسافة وراثية 0.9140 ضمت إحداها السلالتين S6 وS11 بمسافة وراثية 0.8167، وضمت الأخرى السلالتين S14 وS16 بمسافة وراثية 0.8305.

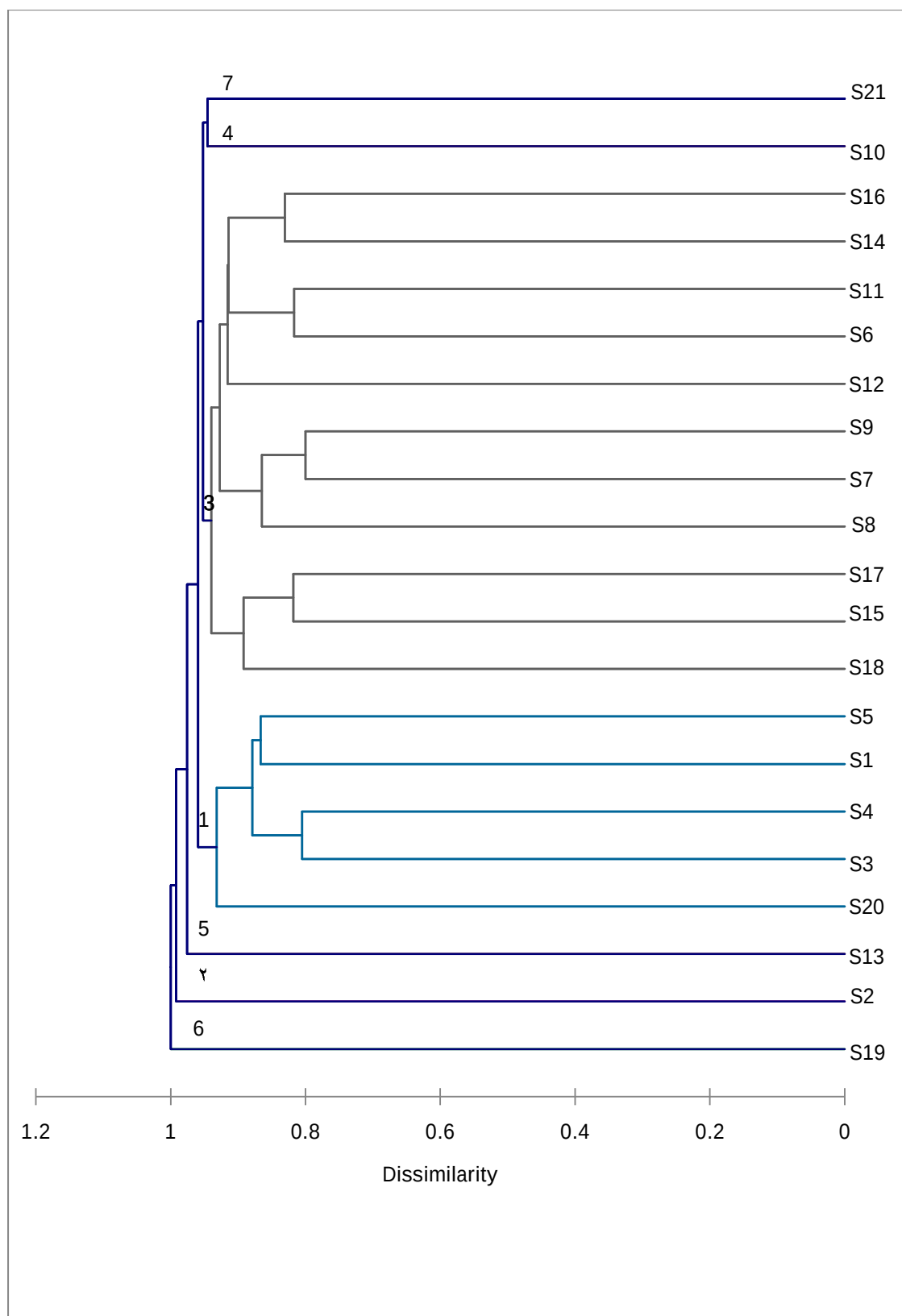
- المجموعة الرابعة: ضمت فقط السلالة S10 بمسافة وراثية عن باقي المجموعات قدرها 0.9455.

- المجموعة الخامسة: ضمت السلالة S13 فقط، وانفصلت عن المجموعات الأخرى بمسافة وراثية قدرها 0.9758.

- المجموعة السادسة: ضمت السلالة المزروعة من الفطر ملك المحاري *P. eryngii* (S19) فقط وانفصلت عن المجموعات الأخرى بمسافة وراثية قدرها 1.

الجدول (18): مصفوفة قيم نسبة عدم التوافق (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21
S1	0																				
S2	0.9706	0																			
S3	0.9074	1.0000	0																		
S4	0.8750	1.0000	0.8049	0																	
S5	0.8667	1.0000	0.9048	0.8286	0																
S6	0.9194	0.9730	0.9492	0.9038	0.9200	0															
S7	0.9681	1.0000	0.9425	0.9125	0.9500	0.9011	0														
S8	0.9385	1.0000	0.9677	0.9464	1.0000	0.9412	0.8791	0													
S9	0.9125	1.0000	0.9620	0.9000	0.9275	0.9535	0.8000	0.8500	0												
S10	0.9846	0.9722	0.9661	0.9630	1.0000	0.9545	0.9239	0.9559	0.9651	0											
S11	0.9851	1.0000	0.9138	0.9455	1.0000	0.8167	0.8391	0.9420	0.9419	0.9706	0										
S12	0.9206	1.0000	0.9672	0.9455	1.0000	0.9077	0.9140	0.9571	0.9889	0.9231	0.9254	0									
S13	0.9444	1.0000	1.0000	0.9630	1.0000	0.9487	0.9559	1.0000	0.9833	0.9744	0.9756	0.9500	0								
S14	0.9516	1.0000	0.9286	0.9216	0.9388	0.9032	0.9231	0.9394	0.9136	0.9531	0.8871	0.9048	0.9459	0							
S15	1.0000	1.0000	1.0000	0.9643	1.0000	0.9756	0.9565	0.9524	0.9667	0.9750	0.8974	1.0000	1.0000	0.9474	0						
S16	0.9697	0.9737	0.9500	0.9643	0.9216	0.9403	0.9140	0.9104	0.9294	0.9231	0.9254	0.9254	1.0000	0.8305	0.9512	0					
S17	0.9375	0.9524	1.0000	0.9211	0.9730	0.8980	0.9367	0.9630	0.9429	0.9808	0.9216	0.9216	0.9583	0.9600	0.8182	0.8776	0				
S18	0.9815	1.0000	1.0000	0.9535	0.9756	0.9643	0.9268	0.9091	0.9459	1.0000	0.8654	1.0000	1.0000	0.9434	0.8889	0.9273	0.8947	0			
S19	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0		
S20	0.9773	1.0000	0.9474	0.9063	0.8966	0.9787	1.0000	0.9796	1.0000	0.9783	0.9574	0.9792	1.0000	0.9545	1.0000	0.9348	1.0000	0.9412	1.0000	0	
S21	0.9630	1.0000	0.9800	0.9048	0.9762	0.9074	0.9405	0.9483	0.9178	0.9455	0.9655	0.9286	0.9655	0.9636	1.0000	0.9655	0.9250	0.9556	1.0000	0.9722	0



الشكل (19): مخطط شجرة القرابة الوراثية للسلاسل المدروسة اعتماداً على التحليل العنقودي لبيانات التباين الوراثي

- المجموعة السابعة: ضمت السلالة المزروعة من الفطر المحاري فلوريدا *P. florida* (S21) بمسافة وراثية عن باقي المجموعات قدرها 0.9455.

وكانت أقرب السلالات لبعضها السلالتين S7 و S9 بمسافة وراثية بينهما قدرها 0.8. ويدل انفراد السلالات S2 و S10 و S13 في مجموعات مستقلة على التباعد الوراثي بين كل منها وبين باقي السلالات المدروسة.

تنتج بادئات الـ ISSR عدداً مختلفاً من حزم الـ DNA بحسب تسلسل التكرارات البسيطة التي تحويها، وقد أعطت جميع البادئات المستخدمة نسبة تعددية شكلية 100% (الجدول 17)، مما يدل على إمكانية استعمال هذه البادئات بشكل فعال في التوصيف الجزيئي لسلالات الفطر المحاري، وهذا يؤيد ما توصل إليه كل من Abou-Elftouh وزملاؤه (2016)، وعز (2007)، Shen وزملاؤه (2011)، Popa وزملاؤه (2017)، و Zhao وزملاؤه (2013)، و Abdul Rashid وزملاؤه (2013)، من فعالية هذه التقنية في دراسة التباين الوراثي للفطر المحاري البري والمستزرع. وتدل التباينات الوراثية ما بين السلالات المدروسة على وجود تنوع وراثي كبير للفطر المحاري في سورية.

إن مقارنة شجري القرابة الشكلية والوراثية للسلالات المدروسة الموضحتين في الشكل (17) والشكل (19)، تبيّن وجود بعض التوافقات والاختلافات في التقسيمات الناتجة للسلالات المدروسة، فقد اختلفت كل من السلالات S2، S13 و S15 في توصيفها الوراثي عن التوصيف الشكلي، حيث بينت نتائج التوصيف الشكلي أن السلالة S15 متباعدة بخصائصها الشكلية عن باقي السلالات وانعزلت وحدها في مجموعة مستقلة فيما كانت وراثياً أقرب للنوع *P. ostreatus*، على عكس السلالتين S2 و S13 اللتين كانتا متقاربتين بخصائصهما الشكلية وأقرب للسلالة S6، بينما وراثياً انفردت كل منهما في مجموعة مستقلة وكانت السلالة S6 أقرب وراثياً إلى النوع *P. ostreatus*. وكذلك اختلفت السلالات S7، S12 و S17 وراثياً وشكلياً أيضاً، إذ كانت أقرب من حيث الخصائص الشكلية إلى النوع *P. Pulmonarius* وأقرب وراثياً إلى النوع *P. ostreatus*. تعكس هذه الاختلافات دور الظروف البيئية المحيطة أثناء نمو وتطور الأجسام الثمرية للفطر، وهذا يتوافق مع ما ذكره Bridge وزملاؤه (1998) من أن درجة القرابة الشكلية والوراثية يمكن أن تختلف بشكل كبير، ومع ما توصل إليه عز

(2007) عند دراسته للعديد من سلالات الفطر المحاري في سورية، حيث أظهرت التوصيفات الشكلية لهذه السلالات اختلافاً تاماً في خصائصها النوعية والكمية رغم القرب الوراثي الكبير بينها، وهذا ما أكد عدم ارتباط الصفات الشكلية والجزيئية لسلالات الفطر المحاري. ولهذا وكما ذكر Vilgalys و Lutzoni (1995) يجب دراسة القرابة الوراثية الناتجة عن التحاليل الجزيئية بشكل منفصل عن التشابه الشكلي.

وتوافقت السلالات S1، S3، S4 و S5 في خصائصها الشكلية والوراثية حيث صنفت في نفس المجموعة مع الفطر المحاري *P. pulmonarius*، وكذلك توافقت السلالات S8، S9، S11 و S14 و S16 في خصائصها الشكلية والوراثية وكانت أقرب للنوع *P. ostreatus*.

وانفردت السلالة S10 في مجموعة مستقلة من الناحية الشكلية والوراثية ولم تتوافق مع أي من الأنواع التجارية المزروعة من الفطر المحاري *P. ostreatus* و *P. Pulmonarius* و *P. Florida* و *P. eryngii*. وتتوافق هذه النتيجة مع ما أشار إليه كل من Anderson و Stasovski (1992) و Chiu (1996) من دور الدراسة الجزيئية للفطور المأكولة Mushroom في دراسة خصائص السلالات في الأنواع المختلفة وذلك عند دراسة السلالتين (T1,873) و (T2,874) اللتين تطابقتا في العديد من الصفات وخاصة بالنمو غير المعتاد على جذوع نبات السرو - الذي تحتوي أنسجته الخشبية على مستخلصات الراتنج - بسبب وجود عوامل وراثية تؤمن قدرة المشيعة على التغلغل في أوساط سليلوزية محتوية على الراتنج، وهذا ما يؤيد فرضية بوادقجي وزملاؤه (2006) التي ذكروا فيها أن قدرة بعض سلالات الفطر المحاري على النمو على جذوع نبات السرو تعود لأسباب بيئية أو وراثية. وقد توضح هذه النتيجة حالة السلالة S10 التي انفردت في مجموعة مستقلة مورفولوجياً ووراثياً، وتم الحصول عليها عن نبات الكلخ *Ferula spp.*، حيث ذكر سكان المنطقة أنهم ينتظرون ظهور الفطر على النبات ليستخدمونه في غذائهم ويفضلونه على باقي سلالات الفطر المحاري في المناطق المجاورة، وهذه السلالة بحاجة إلى دراسة وتعمق وتحديد تركيب النبات لمعرفة مدى احتوائه على مواد تميزه عن باقي الأنواع النباتية بالنسبة لهذا الفطر. وذكر Zervakis وزملاؤه (2001) أن مجموعة الفطر ملك المحاري *P. eryngii* هي بعض الفطور التابعة لهذا الجنس التي تنمو بالترافق مع جذور نباتات الفصيلة الخيمية Apiaceae والأجناس *Eryngium*

Ferula، *Ferulago*، *Cachrys*، *Laserpitium*، *Diplotaenia* و *Elaeoselinum* التي غالباً ما تظهر في الفترة من الخريف وحتى أواخر الربيع. ويبدو أن جميع الفطور التابعة للجنس *Pleurotus* في منطقة البحر الأبيض المتوسط التي تنمو على نباتات الفصيلة الخيمية قد تفرعت وتشعبت من خلال عملية إنتواع³ sympatric speciation في الموقع نفسه والنتيجة بشكل أساسي عن موانع داخلية مرتبطة بالتكاثر وعوامل خارجية بيئية وجغرافية. وهذا يدل على أن السلالة S10 (الشكل 20) هي من مجموعة الفطور التابعة للنوع *P. eryngii* وهذا ما تؤكد أيضاً الخصائص الشكلية لهذه السلالة.



الشكل (20): الأجسام الثمرية للسلالة S10

وكانت تقسيمات التحليل العنقودي للتباين الوراثي للسلالات S13، S14، S15 و S17 التي جمعت من نفس القرية مختلفة تماماً عن تقسيمات التباين الشكلي لها، حيث توضع هذه السلالات بحسب هذا التحليل في مجموعتين فقط، انفردت السلالة S13 في مجموعة والسلالات الثلاثة الأخرى في المجموعة الثانية، وهذا يؤكد ما ذكره Fonseca وزملاؤه (2008) من وجود مشاكل كبيرة في تصنيف الجنس *Pleurotus* على أساس الصفات الشكلية، لذلك من المفضل الاعتماد على تسلسل الحمض النووي الأساسي الأكثر ثباتاً وغير الحساس للتغير البيئي على المدى القصير للتمييز بين السلالات (Khan وزملاؤه، 2017).

²الانتواع (Speciation) هي عملية تطور النوع إلى أنواع أخرى
³Sympatric speciation تعني تطور النوع إلى أنواع أخرى جديدة في الموطن نفسه
 Allopatric speciation تعني تطور النوع إلى أنواع أخرى جديدة بتباين الموطن

ولم تعكس لنا تفرعات شجرتي القرابة الشكلية والوراثية أي دور للعائل في نمو السلالات، حيث اختلفت الأنواع النباتية التي نمت عليها السلالات التي صنفت في نفس المجموعة، ففي السلالات S1، S3، S4 و S5 التي توافقت في خصائصها الشكلية والوراثية كانت الأنواع النباتية التي نمت عليها مختلفة كالتفاح (S1) والسنديان (S3 و S5) والتين (S4)، وكذلك في السلالات S7، S12 و S17 التي اختلفت وراثياً وشكلياً حيث نمت على التين (S7 و S12) والدردار (S17)، أما السلالات التي انفردت في مجموعات مستقلة S2 و S11 فقد نمت على التفاح والدردار. ولكن هذا لا ينطبق على السلالة S10 التي تنمو متطفلة على سوق وجذور نبات الكلخ.

تدل الاختلافات في التوافقات والتباينات التي ظهرت في الصفات الشكلية والوراثية للسلالات المدروسة، على وجود تنوع وراثي كبير للفطر المحاري في سورية، مما يساعد في إمكانية إدخال هذه السلالات كمادة وراثية أولية في عمليات التربية والتجهين للفطر المحاري، لاسيما وأن من أهم متطلبات برامج التربية للحصول على سلالات تجارية ذات صفات جيدة هو توفر مجال واسع من الاختلافات في الصفات ضمن السلالات المنتقاة (Chang وزملاؤه، 1995؛ Khan وزملاؤه، 2017). وبالتالي لابد من الاستمرار في دراسة هذه السلالات وأمثلة شروط زراعتها وتحديد نوعها وتسجيلها ضمن الموارد الوراثية للفطر المحاري في سورية.

4-2- النمو المشيجي للسلالات على الأوساط المغذية

Strains' mycelial growth on nutrient media

4-2-1- معدل نمو المشيجة Mycelium growth rate

اختلفت السلالات فيما بينها بمعدل نمو مشائجها على كل من الأوساط المغذية المدروسة. فعلى وسط PDA، تفوقت السلالة S15 بأعلى معدل نمو (6.60 مم/يوم) وذلك على السلالة الشاهد (P.O) ومعظم السلالات المدروسة وبفروق معنوية، بينما لم تكن الفروق معنوية بينها وبين السلالات S12، S13 و S14 (6.54، 6.40 و 6.32 مم/يوم، على التوالي)، كما تفوقت هذه السلالات بدورها على السلالات الأخرى بفروق معنوية عدا السلالة S3 (6.28 مم/يوم) التي تفوقت أيضاً على السلالتين S2 و S9 (3.83 و 3.76 مم/يوم، على التوالي).

تفوقاً معنوياً ولم يلحظ أية فروق معنوية بينهما. وتفوقت جميع السلالات والسلالة الشاهد على السلالة S10 (1.80م/يوم) تفوقاً معنوياً إذ كان معدل نموها على هذا الوسط هو الأقل بين جميع السلالات المدروسة (الجدول 19).

أما بالنسبة للوسط MEA، فقد تفوقت السلالتان S15 و S14 (6.32 و 6.31م/يوم، على التوالي) معنوياً على السلالة الشاهد وباقي السلالات المدروسة عدا السلالتين S13 و S8 (6.19 و 6.11م/يوم، على التوالي) إذ لم تكن الفروق في معدل النمو بينهما وبين هاتين السلالتين معنوية، ولم تكن الفروق بين هاتين السلالتين وباقي السلالات والسلالة الشاهد فروقاً معنوية عدا السلالة S5 (6.08م/يوم) التي بدورها لم تظهر أية فروق معنوية في معدل نموها مع السلالة S11 (5.94م/يوم). وسجلت السلالات S1، S9 و S10 (4.41 و 3.44 و 2.07م/يوم، على التوالي) أقل معدل نمو على هذا الوسط ليكون الفرق بينها وبين باقي السلالات فرقاً معنوياً كما هو الفرق بين كل منها والأخرى.

وعلى وسط NA، تفوقت السلالة S4 معنوياً بمعدل نمو مشيجتها (4.75م/يوم) على السلالة الشاهد وجميع السلالات المدروسة عدا السلالة S5 (4.43م/يوم)، ولم تكن الفروق بين السلالة S5 وبين باقي السلالات معنوية عدا السلالة S8 (4.21م/يوم)، إذ لم يلحظ فرقاً معنوياً بينهما. وكان معدل النمو الأقل على هذا الوسط للسلالتين S10 و S13 (0.93 و 0.62م/يوم، على التوالي) وكان الفرق بينهما وبين معدل نمو باقي السلالات والسلالة الشاهد معنوياً، بينما لم يلحظ بينهما أية فروق معنوية.

كما اختلف معدل نمو مشيجة السلالة الواحدة ما بين الأوساط الثلاثة المدروسة، حيث تفوقت السلالات S1، S3، S6، S11، S12، S13، S15 و S16 بمعدل نمو مشيجتها على الوسط PDA تفوقاً معنوياً عنه على الوسطين MEA و NA حيث سجلت المشيجة أعلى معدل نمو على هذا الوسط ثم على الوسط MEA لتتفوق بذلك بمعدل نموها على الوسط NA معنوياً أيضاً. تتوافق هذه النتائج مع نتائج Gibriel وزملاؤه (1996) و Ahmad وزملاؤه (2015) الذين وجدوا أن وسط PDA كان الأفضل من حيث معدل النمو عندما درسوا نمو ثلاث سلالات من الفطر المحاري على عدة أوساط نمو مختلفة. أما معدل نمو السلالات S2، S7، S10 و S17 فكان الأفضل على الوسط MEA وتفوقت بذلك معنوياً على تلك المسجلة على

الوسطين PDA و NA، وكانت قيم معدل النمو على الوسط PDA بدوره أعلى من مقابلاتها على الوسط NA وبفروق معنوية أيضاً، وهذا يتوافق مع نتائج Nasim وزملاؤه (2001) الذين درسوا نمو المشيعة لسالتين من الفطر المحاري (*P. Citydeosus* و *P. sajar-caju*) على ثلاثة أوساط هي MEA و MS و PDA ووجدوا أن معدل النمو على الوسط MEA هو الأفضل (الجدول 19).

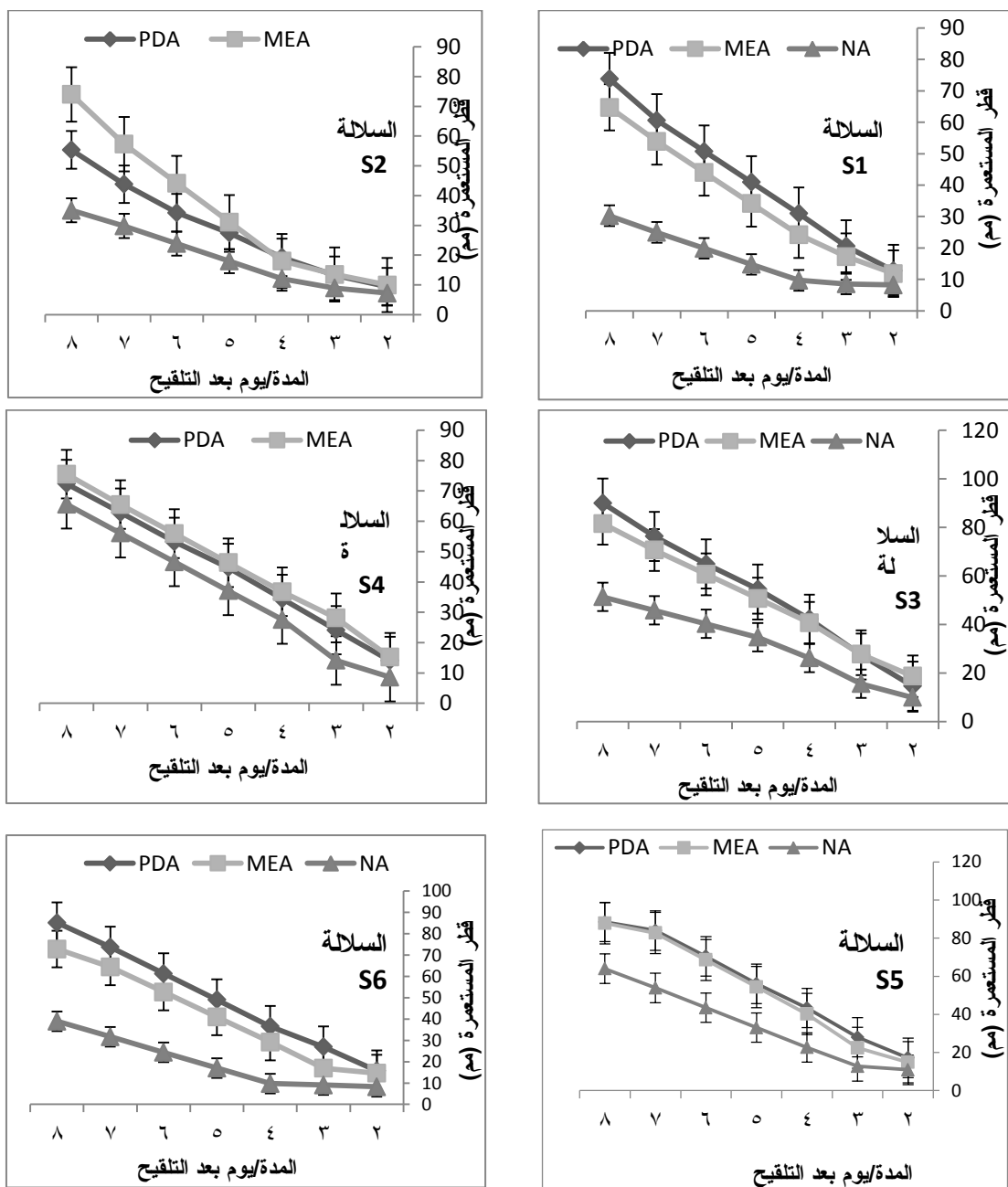
ولوحظ كذلك عدم وجود فروق معنوية في معدل نمو المشيعة الفطرية للسلاطات S5، S8، S9 و S14 والسلاطة الشاهد على الوسطين PDA و MEA، في حين كانت الفروق معنوية مع الوسط NA. واختلف معدل نمو المشيعة الفطرية للسلاطة S4 عن معدل نمو باقي السلاطات المدروسة حيث كان الفرق معنوياً بين الوسطين MEA و NA، بينما لم تكن الفروق معنوية بين وسط الـ PDA والوسطين الآخرين (MEA و NA).

بالرغم من أن النتائج بينت أن معدل نمو مشيعة الفطر للسلاطات المدروسة على أوساط النمو الثلاثة كان متزايداً مع زيادة عدد أيام التحضين (الشكل 21: أ و ب و ج) لكن الفروقات اختلفت بين السلاطات، مما يعكس سرعة نمو متباينة بينها، وهذا يؤكد ضرورة اختبار عدة أوساط مغذية عند عزل وتنمية الفطور لأن لكل منها طبيعة نمو خاصة تتأثر بمكونات الوسط المغذي النامية عليه.

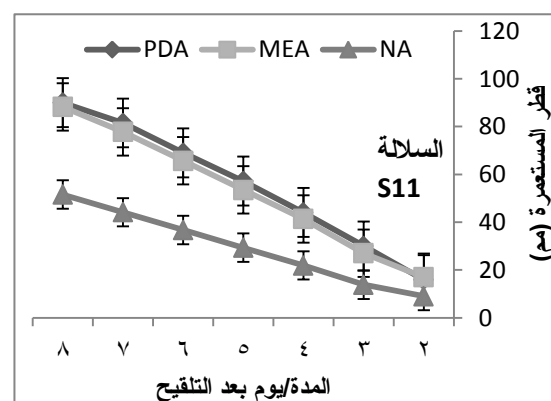
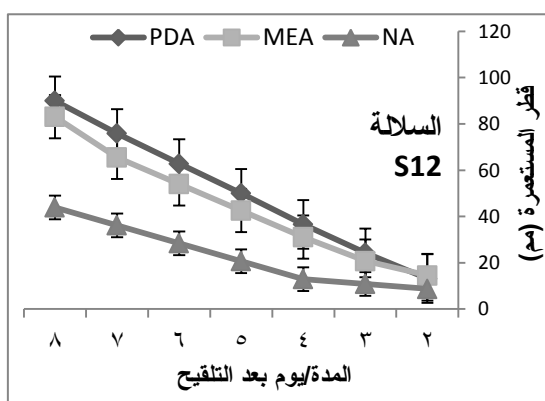
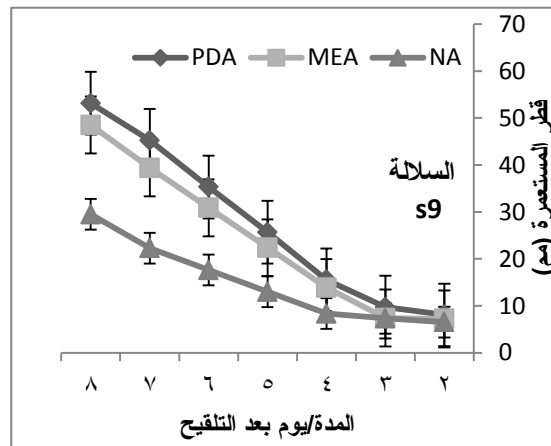
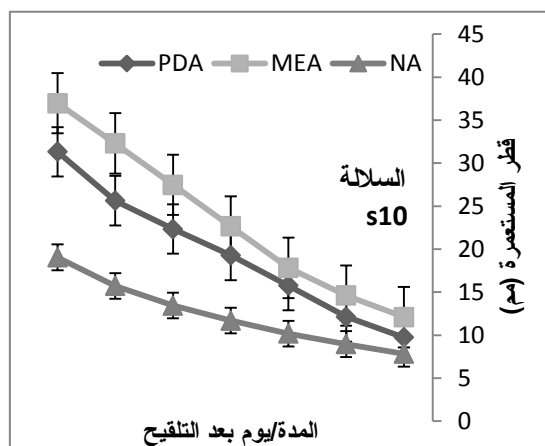
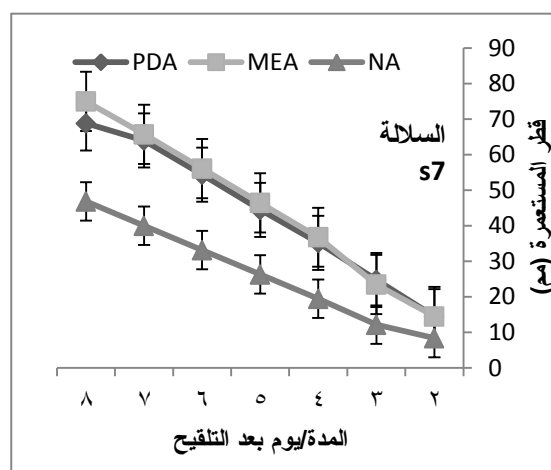
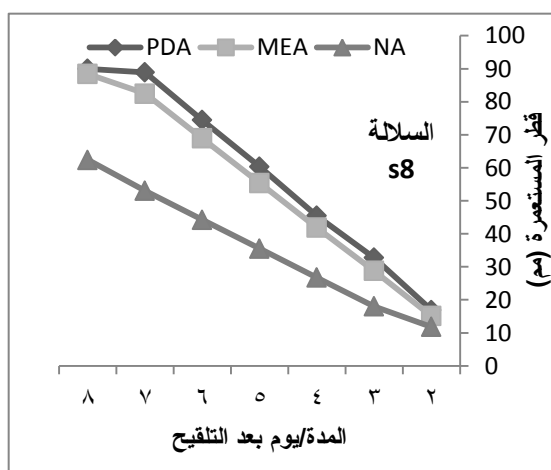
الجدول (19): متوسط معدل نمو مشيخة السلالات الفطرية المدروسة على أوساط النمو المختلفة (مم/يوم) حتى اليوم الثامن من التلقيح.

LSD 0.05	الوسط المغذي			السلالة المدروسة
	NA	MEA	PDA	
0.49	1.83 Ch	4.41 Bi	5.09 Ag	S1
0.17	2.32 Cg	5.34 Af	3.83 Bi	S2
0.29	3.45 Cde	5.24 Bfg	6.28 Abcd	S3
0.27	4.75 Ba	5.03 Agh	4.86 ABg	S4
0.22	4.43 Bab	6.08 Abc	5.94 Aef	S5
0.22	2.56 Cg	4.85 Bh	5.79 Af	S6
0.39	3.20 Cef	5.04 Agh	4.53 Bh	S7
0.42	4.21 Bb	6.11 Aabc	6.09 Ade	S8
0.42	1.91 Bh	3.44 Aj	3.76 Ai	S9
0.06	0.93 Ci	2.07 Ak	1.80 Bj	S10
0.17	3.54 Ccd	5.94 Bcd	6.17 Acde	S11
0.27	2.94 Cf	5.71 Bde	6.40 Aabc	S12
0.17	0.62 Ci	6.19 Bab	6.54 Aab	S13
0.49	3.64 Bcd	6.31 Aa	6.32 Aabcd	S14
0.18	2.92 Cf	6.32 Ba	6.60 Aa	S15
0.33	2.33 Cg	5.06 Bgh	5.92 Aef	S16
0.42	3.84 Cc	5.82 Ade	5.09 Bg	S17
0.64	3.47 Bde	5.63 Ae	6.09 Ade	السلالة الشاهد P.O
	0.33	0.22	0.29	LSD_{0.05}

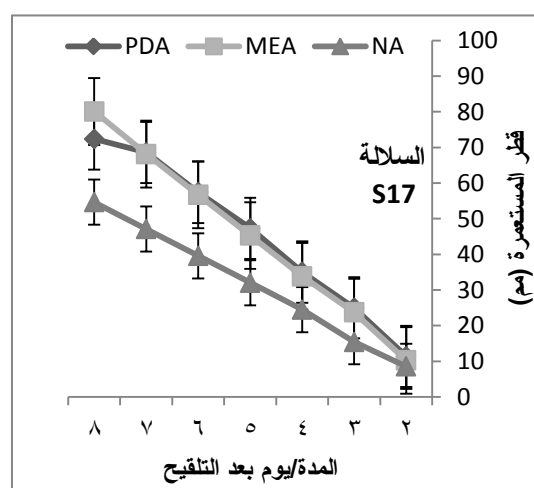
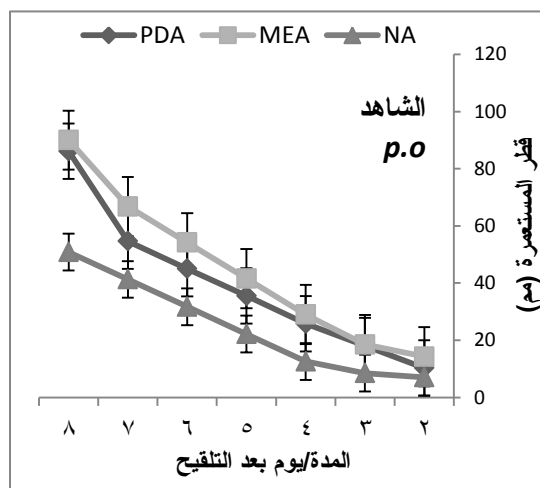
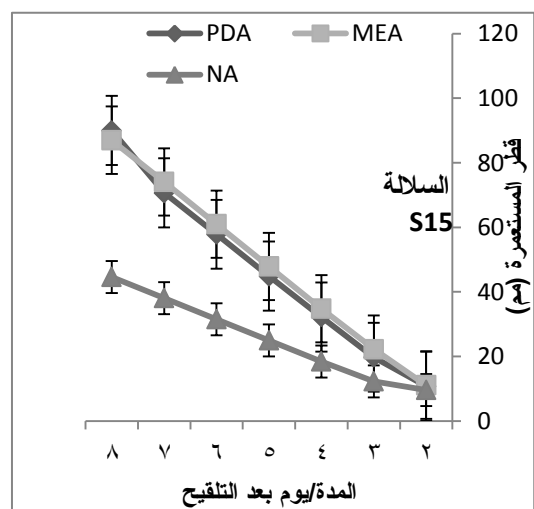
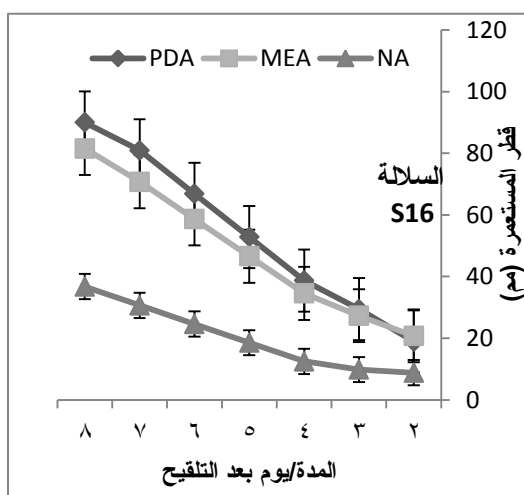
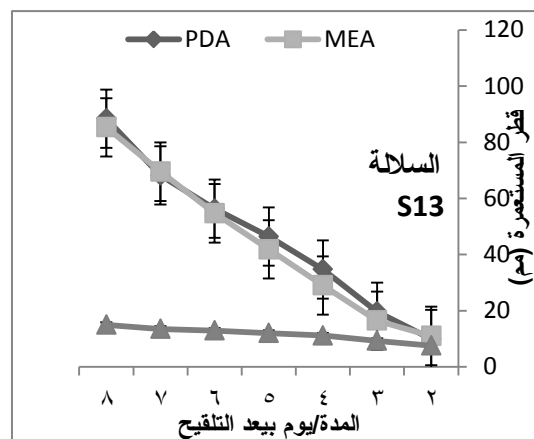
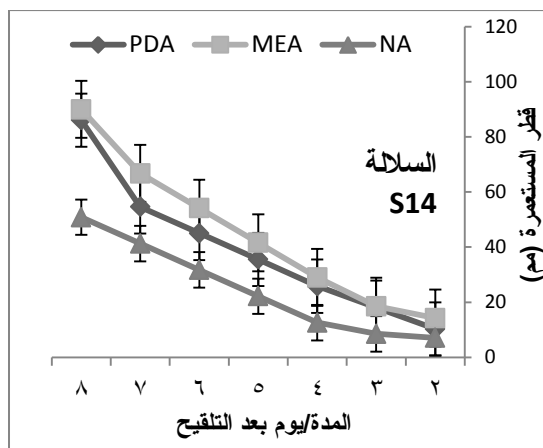
ملاحظة: الأحرف اللاتينية الكبيرة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين الأوساط ضمن السلالة الواحدة عند مستوى ثقة 95%، والأحرف اللاتينية الصغيرة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلالات على الوسط الواحد عند مستوى ثقة 95%.



الشكل (21-أ): تطور قطر المستعمرة للسلالات البرية المدروسة والشاهد وتأثير الأوساط المغذية عليها



الشكل (21-ب): تطور قطر المستعمرة للسلالات البرية المدروسة والشاهد وتأثير الأوساط المغذية عليها



الشكل (21-ج): تطور قطر المستعمرة للسلالات البرية المدروسة والشاهد وتأثير الأوساط المغذية عليها

Mycelial growth parameters and growth coefficient:

أ. **كثافة المشيعة (G):** تباين نمو السلالات على الأوساط الثلاثة المدروسة، وكانت الفروقات واضحة، إذ تفوقت السلالات S1، S9، S10، S11، S12، S14، S15، S16 و S17 بمشيعة كثيفة على الوسط PDA على باقي السلالات المدروسة والسلالة الشاهد ذو المشيعة متوسطة الكثافة. في حين كانت مشيعة السلالات S1، S3، S4، S6، S10، S11، S14، S15، S16 و S17 كثيفة على الوسط MEA وتفوقت بذلك معنوياً على باقي السلالات والسلالة الشاهد. كما كان هناك اختلافاً كبيراً في الكثافة على الوسط NA، حيث لم تبد السلالات جميعها والسلالة الشاهد أي فرق في كثافة مشيجتها الفطرية (1) على هذا الوسط عدا السلالة S10 (2) التي تفوقت معنوياً على باقي السلالات بهذه القيمة (الجدول 20).

وكذلك تباينت كثافة المشيعة للسلالة الواحدة ما بين الأوساط الثلاثة المدروسة، حيث لوحظ وجود فروقات معنوية بين كثافة المشيعة على الوسطين PDA و MEA وكثافتها على الوسط NA في كل السلالات، ولم يكن هناك أي فرق معنوي بين الكثافة على كل من الوسطين PDA و MEA. بينما كان الفرق معنوياً بين الكثافة على هذين الوسطين (3) وعلى الوسط NA (1) وذلك في كل من السلالات S1، S2، S5، S8، S10، S11، S13، S14، S15، S16 و S17 والسلالة الشاهد. أما كثافة المشيعة في السلالتين S9 و S12 فكانت الأعلى على الوسط PDA (3) لتتفوق بذلك معنوياً على كثافتها على الوسطين الآخرين، وكذلك تفوقت على الوسط MEA معنوياً عنها على الوسط NA (الجدول 20).

وهذا يتوافق مع نتائج Ahmad وزملاؤه (2015) الذين درسوا نمو المشيعة الفطرية للفطر Pink Oyster على أربعة أوساط مغذية، فكانت الكثافة على وسط PDA هي الأعلى، بينما لا تتفق النتائج المتحصل عليها لكثافة المشيعة في السلالات S3، S4، S6 و S7 والتي كانت الأعلى وبفروق معنوية على وسط MEA (3) مع نتيجة Ahmad وزملاؤه (2015) المشار إليها، وربما يعزى ذلك بالاختلاف بين السلالات ومتطلبات نموها (اختلاف النوع والوسط المغذي وشروط النمو).

الجدول (20): متوسط كثافة المشيجة الفطرية للسلاسل المدروسة على الأوساط المغذية

LSD _{0.05}	الوسط المغذي			السلسلة المدروسة
	NA	MEA	PDA	
1	1 Bb	3 Aa	3 Aa	S1
1	1 Bb	2 Ab	2 Ab	S2
1	1 Cb	3 Aa	2 Bb	S3
1	1 Cb	3 Aa	2 Bb	S4
1	1 Bb	2 Ab	2 Ab	S5
1	1 Cb	3 Aa	2 Bb	S6
1	1 Cb	3 Aa	2 Bb	S7
1	1 Bb	2 Ab	2 Ab	S8
1	1 Cb	2 Bb	3 Aa	S9
1	2 Ba	3 Aa	3 Aa	S10
1	1 Bb	3 Aa	3 Aa	S11
1	1 Cb	2 Bb	3 Aa	S12
1	1 Bb	2 Ab	2 Ab	S13
1	1 Bb	3 Aa	3 Aa	S14
1	1 Bb	3 Aa	3 Aa	S15
1	1 Bb	3 Aa	3 Aa	S16
1	1 Bb	3 Aa	3 Aa	S17
1	1 Bb	2 Ab	2 Ab	السلسلة الشاهد P.O
	0.83	0.83	0.83	LSD _{0.05}

ملاحظة: الأحرف اللاتينية الكبيرة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين الأوساط ضمن السلسلة الواحدة عند مستوى ثقة 95%.

- الأحرف اللاتينية الصغيرة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلاسل على الوسط الواحد عند مستوى ثقة 95%.
- كثافة المستعمرة 1: قليلة الكثافة، 2: متوسطة الكثافة، 3: كثيفة.

ب. ارتفاع المشيخة: اختلف ارتفاع المشيخة للسلاسل المدروسة على كل وسط مغذي (الجدول 21)، فعلى وسط PDA كانت القيمة الأعلى لارتفاع المشيخة في السلالة S7 (4.31 مم) وتفاوتت بهذه القيمة معنوياً على السلالة الشاهد والسلاسل الأخرى عدا S6، S17 و S4 (4)، 3.67 و 3.59 مم، على التوالي)، التي تفاوتت بدورها على السلاسل الأخرى والسلالة الشاهد معنوياً عدا السلاسل S2، S3، S8، S14، و S9. أما السلالة الشاهد فقد تفاوتت معنوياً بارتفاع مشيختها على السلاسل S5، S15، S12، S13 و S1، وكانت أقل قيمة لارتفاع المشيخة على هذا الوسط للسلاسل S1 و S13.

وعلى وسط MEA، سجلت السلاسل S7، S6، S3، S17، S4 و S2 أعلى قيمة لارتفاع المشيخة (3.93، 3.89، 3.86، 3.83، 3.62 و 3.48 مم، على التوالي) لتتفوق بذلك معنوياً على السلالة الشاهد والسلاسل المدروسة عدا S14، S11، S13، S8 و S10 (3.34، 3.27، 3.10، 2.97 و 2.92 مم، على التوالي).

أما على الوسط NA فتفاوتت السلالة S2 بارتفاع مشيختها (1.6 مم) معنوياً على جميع السلاسل والسلالة الشاهد عدا السلالة S12 (1.34 مم) إذ لم يكن الفرق بينهما معنوياً، وتفاوتت هذه السلالة بدورها على السلاسل الأخرى معنوياً عدا السلالة الشاهد (1.013 مم) والسلاسل S9 و S5. وسجلت السلالة S15 أقل ارتفاعاً للمشيخة على هذا الوسط (0.33 مم) لتتفوق عليها معنوياً كل من السلالة الشاهد والسلاسل S2، S12، S9، S5، S17 و S1 (1.60، 1.34، 1.07، 1.03، 0.83 و 0.82 مم، على التوالي).

واختلف ارتفاع المشيخة للسلالة الواحدة ما بين الأوساط الثلاثة المدروسة، حيث لم تلحظ أية فروقات في ارتفاع المشيخة على الوسطين PDA و MEA لكل من السلاسل S2، S3، S4، S5، S6، S8، S10، S11، S14، S15، S16 و S17، بينما كان الفرق معنوياً في ارتفاع المشيخة على هذين الوسطين عنه على الوسط NA (الجدول 21).

وكان ارتفاع مشيخة السلالة الشاهد والسلاسل S9 و S7 على الوسط PDA أعلى معنوياً منه على الوسط MEA والذي كانت القيم عليه أعلى بدورها من مقابلاتها على NA وبفروق معنوية. وعلى العكس من ذلك، سجلت السلالة S13 أعلى ارتفاعاً لمشيختها على

الوسط MEA وبفرق معنوي عنه على الوسطين PDA و NA، وكذلك كان الفرق بارتفاع هذه السلالة على هذين الوسطين معنوياً.

الجدول (21): متوسط ارتفاع المشيجة الفطرية للسلالات المدروسة على الأوساط المغذية (مم).

LSD _{0.05}	الوسط المغذي			السلالة المدروسة
	NA	MEA	PDA	
0.70	0.82 Bcdef	1.96 Ad	1.51 ABh	S1
0.81	1.60 Ba	3.48 Aa	3.42 Abcde	S2
1.73	0.60 Bfg	3.86 Aa	3.44 Abcde	S3
1.07	0.62 Befg	3.62 Aa	3.59 Aabcd	S4
0.64	1.03 Bbcde	2.13 Acd	2.23 Afgh	S5
1.51	0.48 Bfg	3.89 Aa	4.00 Aab	S6
0.28	0.64 Cdefg	3.93 Ba	4.31 Aa	S7
1.29	0.71 Bcdefg	2.97 Aabcd	3.40 Abcde	S8
0.95	1.07 Cbcd	2.09 Bd	3.26 Abcde	S9
0.26	0.75 Bcdefg	2.92 Aabcd	10.00 Acde	S10
0.96	0.50 Bfg	3.27 Aabc	3.11 Acde	S11
0.80	1.34 Aab	2.00 Ad	2.10 Agh	S12
0.50	0.50 Cfg	3.10 Aabcd	1.79 Bh	S13
0.89	0.60 Bfg	3.34 Aab	3.38 Abcde	S14
1.30	0.33 Bg	2.00 Ad	2.20 Afgh	S15
0.74	0.60 Befg	2.17 Abcd	2.7 Aefg	S16
1.63	0.83 Bcdef	3.83 Aa	3.67 Aabc	S17
1.63	1.13 Bbc	2.04 Ad	3.04 Acde	السلالة الشاهد P.O
	0.43	1.18	0.75	LSD_{0.05}

ملاحظة: الأحرف اللاتينية الكبيرة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين الأوساط ضمن السلالة الواحدة عند مستوى ثقة 95%، والأحرف اللاتينية الصغيرة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلالات على الوسط الواحد عند مستوى ثقة 95%.

ج. **قطر المشيجة:** يبين الجدول (22) الفروقات في قطر المشيجة الفطرية للسلاطات المدروسة على الأوساط المغذية، حيث تفوقت السلالة S15 النامية على الوسط PDA معنوياً على السلالة الشاهد وبقية السلاطات المدروسة (79.21م) عدا السلاطات S13، S12 و S14 (78.51 و 76.81 و 75.79م، على التوالي) إذ لم يكن الفرق بينها وبينهم معنوياً. أما السلالة الشاهد فقد تفوقت على السلاطات S6، S1، S17، S4، S7، S2، S9 و S10 وكانت الفروق معنوية، بينما لم تسجل فروق معنوية بينها وبين السلاطات S14، S3، S11، S8، S5 و S16 (75.79، 75.42، 74.04، 73.11، 71.23 و 71.06م، على التوالي)، وتفوقت جميع السلاطات على السلالة S10 بفروق معنوية والتي سجلت أقل قيمة لقطر المشيجة على هذا الوسط.

الجدول (22): متوسط قطر المشيجة الفطرية للسلاطات المدروسة على الأوساط المغذية (مم)

LSD _{0.05}	الوسط المغذي			السلالة المدروسة
	NA	MEA	PDA	
5.85	22.00 Ci	52.87 Bi	61.08 Ag	S1
2.06	27.81 Cg	64.03 Af	45.98 Bi	S2
3.45	41.42 Cde	62.85 Bfg	75.42 Abcd	S3
3.19	57.00 Ba	60.33 Agh	58.34 ABg	S4
2.63	53.10 Bab	72.94 Abc	71.32 Aef	S5
2.65	30.74 Cg	58.17 Bh	69.45 Af	S6
4.73	38.47 Cef	60.47 Agh	54.34 Bh	S7
5.07	50.56 Bb	73.32 Aabc	73.11 Ade	S8
4.98	22.94 Bh	41.25 Aj	45.06 Ai	S9
0.68	11.21 Ci	24.88 Ak	21.58 Bj	S10
2.07	42.51 Ccd	71.22 Bcd	74.04 Acde	S11
3.29	35.25 Cf	68.55 Bde	76.81Aabc	S12
2.06	7.39 Ci	74.29 Bab	78.51 Aab	S13
5.89	43.78 Bcd	75.75 Aa	75.79 Aabcd	S14
2.21	35.00 Cf	75.87 Ba	79.21 Aa	S15
3.93	27.92 Cg	60.75 Bgh	71.06 Aef	S16
5.06	46.10 Cc	69.85 Ade	61.03 Bg	S17
7.68	41.67 Bde	67.57Ae	73.07 Ade	السلالة الشاهد P.O
	3.95	2.70	3.50	LSD_{0.05}

ملاحظة: الأحرف اللاتينية الكبيرة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين الأوساط ضمن السلالة الواحدة عند مستوى ثقة 95%، والأحرف اللاتينية الصغيرة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلاطات على الوسط الواحد عند مستوى ثقة 95%.

وكما على الوسط السابق، سجلت السلالتين S15 و S14 أكبر قطر للمشيجة (75.87 و 75.75 مم) على الوسط MEA وتفوقتاً بذلك معنوياً على السلالات المدروسة الأخرى عدا السلالتين S13 و S8 (74.29 و 73.32 مم، على التوالي)، اللتان تفوقتاً بدورهما معنوياً على معظم السلالات المتبقية باستثناء السلالة S5 (72.94 مم). وقد تفوقت جميع السلالات المذكورة سابقاً S15، S14، S13، S8، S5 و S11 على السلالة الشاهد (67.57 مم) تفوقاً معنوياً. وسجلت السلالة S10 أقل قيمة لقطر المشيجة (24.88 مم) على هذا الوسط أيضاً وتفوقت عليها معنوياً جميع السلالات المدروسة والسلالة الشاهد.

أما على الوسط NA، فقد تفوقت السلالة S4 معنوياً بقطر مشيجتها النامية على هذا الوسط (57.00 مم) على جميع السلالات والسلالة الشاهد (41.67 مم) عدا السلالة S5 (53.10 مم)، وتفوقت الأخيرة بدورها على باقي السلالات والسلالة الشاهد عدا السلالة S8 (50.56 مم)، وهذه تفوقت على السلالات الأخرى والسلالة الشاهد معنوياً أيضاً. أما السلالة الشاهد فقد تفوقت على باقي السلالات عدا S14، S11، S3 و S7. وكانت القيمة الأقل لقطر المشيجة على هذا الوسط للسلالتين S10 و S13 (11.21 و 7.39 مم، على التوالي)، وتفوقت عليهما بذلك جميع السلالات معنوياً.

وقد اختلف قطر المشيجة لكل سلالة على كل وسط مدروس، حيث لم يكن هناك فرقاً معنوياً في قطر المشيجة لكل من السلالات S5، S8، S9 و S14 والسلالة الشاهد على الوسطين PDA و MEA، في حين كان الفرق معنوياً في قيمة قطر المشيجة على هذين الوسطين عن الوسط NA. أما في السلالات S1، S3، S6، S11، S12، S13، S15 و S16 فقد كان قطر المشيجة الأعلى على الوسط PDA بفروق معنوية عن الوسط MEA، وهذا ينسجم مع نتيجة Gibriel وزملاؤه (1996) الذين درسوا نمو ثلاثة سلالات من الفطر المحاري على خمسة أوساط مغذية مختلفة وكان النمو الأفضل على الوسط PDA. وعلى العكس من ذلك كان قطر مشيجة السلالات S2، S7، S10 و S17 أكبر على الوسط MEA مقارنة مع الوسط PDA ليكون الفرق معنوياً بين هذه القيم على هذين الوسطين. وكانت القيم الأقل لقطر المشيجة لهذه السلالات كلها على الوسط NA بفروق معنوية عن الوسطين PDA و MEA. وأبدت السلالة S4 نمواً مختلفاً عن باقي السلالات حيث لم يكن هناك فرقاً في قطر

مشيجتها على الوسطين PDA و MEA ولا على الوسطين MEA و NA، بينما كان الفرق في النمو على الوسطين PDA و NA معنوياً.

وقد ذكر Kim وزملاؤه (2002) و Lee وزملاؤه (2008) و Mshandete و Mgonia (2009) أن خصائص المستعمرة الفطرية تعتمد على تركيب وسط النمو وخاصة الكربوهيدرات وهي المكون الرئيسي للوسط والتي تلعب الدور الأهم في نمو مشيجة الفطر على الوسط المغذي، وهذا ما يفسر النمو البطيء لمشيجة جميع السلالات المدروسة على الوسط NA المكون من بيبتون و Yeast extract وكلوريد الصوديوم و آغار. أما الفروقات الأخرى على الوسطين PDA و MEA فيمكن أن تعزى إلى السلالة ذاتها.

د. معامل النمو: اختلفت السلالات فيما بينها بمعامل نموها على الوسط المغذي الواحد (الجدول 23). حيث سُجل أعلى معامل نمو على الوسط PDA للسلالة S14 بقيمة بلغت 128.93 فتفوقت معنوياً على باقي السلالات المدروسة عدا السلالتين S11 و S17 (115.06 و 112.26، على التوالي)، ولم تكن الفروق معنوية فيما بين هاتين السلالتين وبين السلالتين S16 و S6. أما السلالة الشاهد التي بلغت قيمة معامل نموها 74.21 فقد تفوقت بدورها بمعامل نموها معنوياً على السلالات S1، S13 و S10 (46.77، 46.26 و 31.31، على التوالي)، ولم تكن الفروق معنوية بينها وبين السلالات المتبقية. وسُجلت القيمة الأدنى لمعامل النمو في كل من السلالات S1، S13 و S10 لتتفوق عليها معنوياً جميع السلالات المدروسة عدا السلالتين S5 و S2. وتوزعت السلالات من حيث معامل نموها على هذا الوسط إلى المجموعات التالية:

1- سريعة النمو جداً: S14، S11، S17 و S16.

2- سريعة النمو: السلالة الشاهد والسلالات S9، S7، S12، S8، S3، S15 و S6.

3- متوسطة النمو: S1، S13، S2، S5 و S4.

4- بطيئة النمو: S10.

الجدول (23): متوسط معامل النمو للسلاسل المدروسة على الأوساط المغذية

LSD _{0.05}	الوسط المغذي			السلالة المدروسة
	NA	MEA	PDA	
18.89	2.95 Bef	51.81 Adef	46.26 Af	S1
13.20	7.43 Cab	74.33 Acd	52.30 Bef	S2
46.99	4.12 Bcde	120.78 Aa	86.17 Acd	S3
30.33	5.84 Cbcd	108.99 Aabc	69.74 Bde	S4
16.41	9.09 Ba	51.84 Adef	53.15 Aef	S5
42.85	2.44 Bef	113.34 Aab	92.36 Abcd	S6
8.76	4.13 Ccde	118.75 Aa	78.07 Bcd	S7
30.97	5.93 Bbcd	72.87 Acde	82.65 Acd	S8
10.00	3.95 Ccde	28.68 Bf	72.80 Ade	S9
2.75	2.81 Cef	36.36 Aef	31.31 Bf	S10
35.76	3.49 Bde	116.54 Aa	115.06 Aab	S11
20.70	7.87 Cab	45.99 Bdef	80.68 Acd	S12
10.61	0.63 Cf	76.86 Abcd	46.77 Bf	S13
40.41	4.13 Bcde	126.45 Aa	128.93 Aa	S14
49.19	1.92 Bef	75.73 Acd	86.99 Acd	S15
22.69	2.81 Cef	65.84 Bde	95.85 Abc	S16
53.69	6.45 Bbc	133.78 Aa	112.26 Aab	S17
16.67	7.65 Cab	45.94 Bdef	74.21 Acd	السلالة الشاهد P.O
	2.57	36.87	22.74	LSD_{0.05}

ملاحظة: الأحرف اللاتينية الكبيرة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين الأوساط ضمن السلالة الواحدة عند مستوى ثقة 95%، والأحرف اللاتينية الصغيرة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلالات على الوسط الواحد عند مستوى ثقة 95%.

أما على الوسط MEA، فلم تكن الفروق في قيم معامل النمو معنوية بين السلالة الشاهد والسلالات المدروسة عدا السلالات S17، S14، S3، S7 و S11 التي سجلت أعلى قيم لمعامل النمو، وتفوقت معنوياً على السلالة الشاهد وجميع السلالات المدروسة الأخرى عدا السلالتين S6 و S4 (113.34 و 109، على التوالي)، وتفوقت السلالة S6 بقيمة معامل نموها على السلالة الشاهد والسلالات الأخرى بفروق معنوية، أما السلالة S4 فتفوقت أيضاً بهذه القيمة على السلالة الشاهد والسلالات الأخرى عدا السلالات S13، S15، S2 و S8، وكانت السلالة S9 ذات معامل النمو الأدنى على هذا الوسط إذ تفوقت عليها جميع السلالات المدروسة والسلالة الشاهد.

وصنفت السلالات على هذا الوسط بحسب قيم معامل النمو كما يلي:

1- سريعة النمو جداً: S17، S14، S3، S7، S11، S6، S4.

2- سريعة النمو: S2 و S8 و S13 و S15.

3- متوسطة النمو: السلالة الشاهد والسلالات S16، S5، S1 و S12.

4- بطيئة النمو: S9 و S10.

وكانت التباينات في قيمة معامل النمو مختلفة بين السلالات على الوسط NA، فقد سجلت السلالة S5 أعلى قيمة وتفوقت بذلك معنوياً على جميع السلالات المدروسة عدا السلالة الشاهد (7.65) والسلالتين S12 و S2 (7.87 و 7.43، على التوالي)، وتفوقت بدورها السلالة الشاهد وهاتين السلالتين على باقي السلالات معنوياً عدا ثلاث سلالات هي: S17، S8 و S4. فيما سجلت السلالة S13 أقل معامل نمو (0.63) على هذا الوسط وتفوقت عليها جميع السلالات المدروسة والسلالة الشاهد معنوياً عدا السلالات S1، S10، S16، S6 و S15 (2.95، 2.81، 2.81 و 2.44 و 1.92، على التوالي) (الجدول 23).

كانت قيم معامل النمو هي الأقل لجميع السلالات المدروسة والسلالة الشاهد وبفروق معنوية عنه على الوسطين الآخرين (الجدول 23). وبالتالي صنفت جميع السلالات على هذا الوسط كسلالات بطيئة النمو.

وتبين النتائج الواردة في الجدول السابق أن أداء السلالات قد تباين على الأوساط المغذية الثلاثة، فقد تفوقت السلالات S9، S12 و S16 وسلالة الشاهد معنوياً مُسجلة أعلى معامل نمو على الوسط PDA مقارنة مع الوسطين الآخرين، وهذا يتوافق مع نتائج Ahmad وزملاؤه (2015)، حيث وجدوا أن الوسط PDA هو الأفضل لنمو الفطر *P. djamour* من بين الأوساط PDA و MEA و PYDA و YEA، على عكس السلالات S2، S4، S7، S10 و S13 التي سجلت أعلى معدل نمو على الوسط MEA وتفوقت معنوياً على تلك المحققة على الوسطين الآخرين، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Badalyan وزملاؤه (2008)، الذين وجدوا أن معدل ومعامل النمو للفطر *P. ostreatus* كان الأفضل على الوسط MEA. وبالنسبة للسلالات المتبقية لم تكن هنالك فروقاً معنوية في قيم معامل النمو على الوسطين PDA و MEA. ويمكن تفسير ذلك بالتباينات بين السلالات، فقد توصلت إحدى الدراسات إلى أن معدل النمو والكتلة الحيوية لأربعة سلالات معزولة خضرياً من الفطر البري المأكول *Lyophyllum* قد تأثر بكل من وسط الزراعة المستخدم وكذلك السلالة (Arana-Gabriela وزملاؤه، 2018).

تؤكد نتائج دراسة معدل النمو ومؤشرات ومعامل النمو للسلالات المدروسة ما توصل إليه كاسوحة وزملاؤه (2009) عند دراسة تأثير الأوساط المغذية المختلفة في نمو مشيجة الفطر المحاري *P. ostreatus*، من أن هناك علاقة ارتباط إيجابية وقوية جداً بين معامل النمو وكثافة الميسليوم وارتفاع المستعمرة، وبين معامل النمو، وبين سرعة النمو وقطر المستعمرة.

بينت النتائج بأن السلالة S10 كانت بطيئة النمو على الوسطين PDA و MEA، وكذلك كان نمو السلالتين S5 و S1 متوسطاً على هذين الوسطين مما يستدعي البحث عن أوساط أخرى أكثر ملاءمة لتنمية هذه السلالات. وهذا يؤكد ما أوصى به Nasim وزملاؤه (2001) أنه عند تنمية السلالات بطريقة زراعة الأنسجة على الأوساط المغذية يجب أخذ طبيعة الوسط بعين الاعتبار.

بالمحصلة، أوضحت النتائج تباين السلالات المدروسة في مؤشرات نموها بحسب الوسط المغذي المستخدم في زراعتها، وتظهر قيم معامل النمو على كل من الوسطين PDA و MEA بأن السلالات S17، S14 و S11 كانت سريعة النمو جداً، والسلالات S7، S6 و S3

سلالات سريعة النمو إلى سريعة جداً وأن السلالة S8 سريعة النمو، مما يعزز أهمية استزراع هذه السلالات واستكمال دراستها من حيث الخصائص الفينولوجية والإنتاجية لإمكانية اعتمادها كسلالات محلية لزراعة الفطر المحاري واستخدامها كبديل عن السلالات التجارية المستوردة. كما تشير النتائج إلى عدم جدوى استخدام الوسط NA في عزل وتنمية سلالات الفطر المحاري لأن جميع السلالات المدروسة كانت بطيئة جداً في نموها على هذا الوسط. وهذا يؤكد ضرورة اختبار العديد من الأوساط المغذية عند عزل وتنمية السلالات الفطرية بسبب نموها المختلف على كل وسط نظراً لتأثر نمو المشيجة بمحتوى الوسط من العناصر المغذية وذلك من أجل معرفة أفضل وسط نمو لكل سلالة.

4-3- مرحلة الاستزراع Farming phase:

4-3-1- الأطوار الفينولوجية Phenological phases:

أ. اكتمال نمو المشيجة: بعد زراعة السلالات المدروسة على وسط التين في أكياس الزراعة وتحسينها على درجة حرارة 24-25°م، تم حساب عدد الأيام حتى اكتمال نمو المشيجة على كامل الوسط، وقد اختلفت السلالات في طول الفترة اللازمة للوصول إلى هذه المرحلة، حيث تراوحت ما بين 16.33-48.33 يوماً إلا أن معظم السلالات اكتمل نمو مشيجتها ضمن فترة بلغت 25 يوماً أو أقل. فقد كانت السلالة S15 الأسرع من بين جميع السلالات المدروسة والسلالة الشاهد بالوصول إلى مرحلة اكتمال نمو المشيجة وذلك بعد 16.33 يوماً من التلقيح، حيث كانت الفروق بينها وبين جميع السلالات معنوية. وتفوقت السلالتين S12 و S13 (17.67 يوماً لكلا السلالتين) معنوياً على الشاهد وباقي السلالات الأخرى عدا السلالات S14، S3، S11 و S8 والتي تفوقت بدورها بهذه المدة على بقية السلالات عدا السلالة الشاهد (19 يوماً). كانت السلالة S10 هي السلالة الأبطأ في نمو مشيجتها على الوسط حيث استغرقت 48.33 يوماً لتغطي كامل الوسط ولتكون الفروق معنوية بينها وبين الشاهد وجميع السلالات المدروسة. وكذلك كان نمو مشيجة السلالة S2 بطيئاً (25 يوماً) وتفوقت عليها جميع السلالات الأخرى والسلالة الشاهد تفوقاً معنوياً عدا السلالات S17، S9، S7 و S4 (24، 24.67، 24.67 و 24.67 يوماً، على التوالي) حيث لم تكن الفروق بينهم فروقاً معنوية (الجدول 24).

الجدول (24): متوسط الأطوار الفينولوجية للشاهد والسلالات المدروسة (يوم)

السلالة المدروسة	اكتمال نمو المشيجة (يوم)	بدء تشكل البداءات الثمرية (يوم)	اكتمال نمو الأجسام الثمرية (يوم)	عدد الأيام حتى القطعة الأولى (يوم)	عدد الأيام حتى القطعة الثانية (يوم)	عدد الأيام حتى القطعة الثالثة (يوم)	متوسط المدة بين القطعات (يوم)
S1	23.67 fg	3.33 ab	5 a	32 d	42.67 c	57.33 cde	12.67 abc
S2	25.00 h	3 a	5 a	33 de	42.67 c	59 de	13 bc
S3	18 bc	3.67 abc	5 a	26.67 b	35.67 a	54 bc	13.67 c
S4	24.67 gh	3.67 abc	5 a	33.33 de	43 cd	57.33 cde	12 ab
S5	21 d	28.67 e	6 d	55.67 g	76 g	105.67 f	25 f
S6	22.33 e	4.33 bc	6 d	32.67 d	43.33 cde	56.33 cd	11.83 ab
S7	24.67 gh	4 abc	6 d	34.67 ef	46 f	60.67 e	13 bc
S8	18.33 bc	4.67 c	6 d	29 c	41.67 c	60 de	15.5 d
S9	24.67 gh	4.67 c	6 d	35.33 f	44 cdef	60.67 e	12.67 abc
S10	48.33 i	11.33 d	5.33 b	65 h	85.67 h	110.67 g	22.83 e
S11	18.33 bc	3.33 ab	5 a	26.67 b	39 b	52.33 ab	12.83 abc
S12	17.67 b	3 a	5 a	25.67 ab	37 ab	50.67 ab	12.5 abc
S13	17.67 b	3 a	5 a	25.67 ab	38 ab	51 ab	12.67 abc
S14	18 bc	3.33 ab	5 a	26.33 b	39 b	52 ab	12.83 abc
S15	16.33 a	3 a	5 a	24.33 a	36.33 a	50 a	12.83 abc
S16	23 ef	3.67 abc	5.67 c	32.33 d	45.67 ef	60 de	13.83 c
S17	24 fgh	3.67 abc	6 d	33.67 def	45.33 def	58.67 de	12.5 abc
الشاهد P.O	19 c	3a	5 a	27 b	38 ab	50 a	11.5 a
LSD _{0.05}	1.27	1.03	0.32	1.76	2.44	3.69	1.46

ملاحظة: الأحرف اللاتينية المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية بين السلالات عند مستوى ثقة 95%.

ب. بدء تشكل البداءات الثمرية (تمايز رؤوس الدبابيس): بعد الانتهاء من فترة التحضين واكمال نمو المشيجة، نقلت أكياس الزراعة إلى حجرة الإثمار مع تأمين الإضاءة المناسبة والتهوية الجيدة، وخفض درجة الحرارة إلى 17-18°م من أجل التحريض على الإثمار، حيث حسبت المدة حتى بدء ظهور البداءات الثمرية. وتبين النتائج الواردة في الجدول (24) عدم وجود اختلافات كبيرة بين السلالات المدروسة في المدة ما بين اكتمال نمو المشيجة على الوسط وبدء تمايز رؤوس الدبابيس، حيث استغرق ذلك 3 أيام عند السلالات S2، S15، S12، S13 والسلالة الشاهد وتفاوتت معنوياً على السلالات S5، S6، S8، S9 وS10. كما لوحظ بأن تشكل رؤوس الدبابيس عند السلالة S10 قد استغرق (11.33) يوماً بفروق معنوية مع جميع

السلالات المدروسة والسلالة الشاهد، وكذلك الأمر بالنسبة للسلالة S5 التي استغرقت 28.67 يوماً للوصول إلى هذه المرحلة.

ج. اكتمال نمو الأجسام الثمرية: حسبت المدة اللازمة من بدء ظهور البداءات الثمرية حتى اكتمال تشكل الأجسام الثمرية ووصولها إلى مرحلة القطاف عندما تكون الصفائح أسفل الأجسام الثمرية واضحة والقبة مستوية وذات حواف رقيقة وقبل أن تلتف نحو الأعلى.

ظهرت فروقات مختلفة بين السلالات المدروسة عن المرحلتين السابقتين وبالرغم من وجود فروق معنوية في بعض الحالات إلا أن المجال كان قصيراً وتراوح بين 5-6 أيام. إذ استغرقت رؤوس الدبابيس لكل من السلالات S1، S2، S3، S4، S11، S12، S13، S14، S15 والسلالة الشاهد 5 أيام ليكتمل نموها وتصبح جاهزة للقطاف وكانت بذلك أسرع من باقي السلالات وبفروق معنوية. في حين كانت السلالات S5، S6، S7، S8، S9 و S17 الأبطأ في الوصول لهذه المرحلة حيث استغرقت 6 أيام ليكتمل نمو أجسامها الثمرية. أما السلالتين S10 و S16 فكان الفرق بينهما معنوياً في هذه المرحلة، حيث استغرقت السلالة S10 (5.33) يوماً ليكتمل نمو أجسامها الثمرية، أما السلالة S16 فقد تطلبت لذلك 5.67 يوماً (الجدول 24).

د. عدد الأيام حتى القطفة الأولى والثانية والثالثة: بانتهاء المراحل السابقة، تم الحصول على القطفة الأولى من الأجسام الثمرية، وبالمحصلة تباينت السلالات في المدة اللازمة للوصول للقطفة الأولى من 24.33 إلى 65 يوماً من الزراعة، وكانت السلالة S15 هي السلالة الأسرع بين السلالات المدروسة حيث جمعت أجسامها الثمرية بعد 24.33 يوماً من التلقيح وبدء التحضين لتتفوق بذلك معنوياً على جميع السلالات المدروسة والسلالة الشاهد عدا السلالتين S12 و S13 (25.76 يوماً لكل منهما)، وتفوقت هاتان السلالتان بدورهما على معظم السلالات معنوياً عدا السلالات S14، S3، S11 والسلالة الشاهد (26.33، 26.67، 26.67 و 27 يوماً، على التوالي). بينما تفوقت السلالة الشاهد على باقي السلالات تفوقاً معنوياً. وقد انعكس طول المدة اللازمة لتمايز الدبابيس في السلالتين S5 و S10 وطول المدة لاكتمال نمو المشيجة بحالة السلالة S10 على المدة اللازمة للوصول إلى مرحلة القطاف (55.67 و 65 يوماً، على التوالي)، وتفوقت عليهما جميع السلالات المدروسة والسلالة الشاهد، وكان الفرق بينهما معنوياً. وتبين النتائج المتحصل عليها (الجدول 24) بأن سلوكية السلالات في القطفتين الثانية والثالثة

ماثل سلوكها في القطفة الأولى إلى حد بعيد. فقد بقيت السلالة S15 الأسرع بوصول أجسامها الثمرية إلى القطفة الثانية (36,33 يوماً) بعد السلالة S3 (35.67 يوماً) وتفوقت هاتان السلالتان بذلك معنوياً على باقي السلالات المدروسة عدا السلالتين S12 و S13 والسلالة الشاهد وتفوقت السلالات الأخيرة معنوياً على باقي السلالات عدا السلالتين S14 و S11 (38)، 39 و 39 يوماً على التوالي)، وتفوقت جميع السلالات معنوياً على السلالتين S5 و S10 اللتين استغرقتا أطول فترة للوصول إلى القطفة الثانية (76 و 85.67 يوماً، على التوالي) وبفارق كبير عن باقي السلالات.

وانتهت فترة الإنتاج بالحصول على القطفة الثالثة لتكون السلالة S15 هي السلالة الأسرع مع السلالة الشاهد (50 يوماً من التلقيح والتحصين) بفارق غير معنوي عن السلالات S12، S13، S14 و S11 (50.67، 51، 52 و 52.33 يوماً، على التوالي). وكانت الفروق بين هذه السلالات والسلالة S3 (54 يوماً) غير معنوية. ولم يكن الفرق في هذه المرحلة معنوياً بين السلالتين S5 (105.67 يوماً) و S10 (110.67 يوماً).

هـ. متوسط المدة بين القطفات: تراوح متوسط المدة بين القطفات من 11.5 إلى 25 يوماً حسب السلالات، وقد سُجلت أقصر مدة بحالة السلالة الشاهد ولم تكن الفروق معنوية بينها وبين معظم السلالات (S1، S4، S6، S9، S11، S12، S13، S14، S15، S17) (12.67، 12، 11.83، 12.67، 12.83، 12.5، 12.67، 12.83، 12.83 و 12.5 يوماً، على التوالي) بينما كانت الفروق بين الشاهد وبقية السلالات معنوية. وانفردت السلالات S8، S10 و S5 (15.5، 22.83 و 25 يوماً، على التوالي) بأطول مدة بين القطفات وبفروق معنوية فيما بينها من جهة وبينها وبين بقية السلالات (الجدول 24).

تتوافق النتائج السابقة مع العديد من الدراسات السابقة التي زرع فيها الفطر المحاري على ركيزة التبن، فقد وجد Shah وزملاؤه (2004) من أن اكتمال نمو الميسيليوم في الفطر المحاري يتطلب 16-25 يوماً من التلقيح. كما درس Khan وزملاؤه (2011) نمو الفطر المحاري *P. ostreatus* على ركيزة تبن القمح وبيّنوا أن الفطر استغرق 24-25 يوماً ليكتمل نمو مشيجته، كما توصل Tan (1981) أن الفطر المحاري يحتاج إلى 3 أسابيع للوصول إلى مرحلة اكتمال نمو المشيجة على الوسط وبعد 2-3 أيام تظهر بداءات الإثمار. في حين

ذكر Girmay وزملاؤه (2016) أن السلالة M2153 من الفطر من المحاري *P. ostreatus* استغرقت 15.67 يوماً للوصول إلى مرحلة اكتمال نمو المشيجة، و32.66 يوماً لبدء تمايز رؤوس الدبابيس، و40.67 يوماً للوصول إلى مرحلة اكتمال نمو الجسم الثمري. وأوضح Getachew وزملاؤه (2019) عند زراعة الفطر المحاري *P. ostreatus* أنه وصل إلى مرحلة اكتمال نمو المشيجة على ركيزة التبن بعد 28 يوماً من الزراعة وإلى مرحلة بدء تمايز الأجسام الثمرية بعد 3 أيام ومرحلة اكتمال نمو الجسم الثمري بعد 4.75 يوماً. وخلص Hossain (2017) عند دراسة الفطر *P. sajor-caju* إلى أنه يتطلب 22 يوماً لاكمال نمو الميسيليوم و25 يوماً لبدء تشكل البداءات الثمرية، و28.5 يوماً للوصول لمرحلة تشكل الأجسام الثمرية، كما وجد Patel وزملاؤه (2019) عند مقارنة نمو وإنتاجية 5 أنواع من الفطر المحاري *P. ostreatus* و *P. eryngii*، *P. flabellatus*، *P. florida*، *P. sajor-caju* على ركيزة تبن القمح أن فطر *P. florida* هو الأسرع بالوصول إلى مرحلة اكتمال نمو الميسيليوم (16 يوماً)، ومرحلة بدء ظهور البداءات الثمرية (20.33 يوماً)، وبالوصول إلى مرحلة القطاف (27.33 يوماً)، بينما استغرق الفطر *P. eryngii* أطول فترة لاكمال نمو الميسيليوم بين الأنواع المدروسة وتتوافق النتائج المتحصل عليها ولاسيما المتعلقة بالسلالة S10 مع المذكورة هنا.

وبالمقارنة مع القراءات المذكورة في هذه الدراسات نجد أن السلالات المدروسة والموصوفة في هذا البحث تعد من السلالات الجيدة وتستحق أن تدرس بعناية وتفصيل أكثر لأمتلة شروط نموها وتحقيق أفضل النتائج إذ أن فترة نمو المشيجة وتشكل الأجسام الثمرية واكمال نموها يختلف بحسب النوع والسلالة، وبمقارنة السلالات المدروسة مع السلالة الشاهد يتضح أنه لا فرق معنوي في فترة دورة الإنتاج للسلالات S13، S15، S12، S14، S11 و S3 والسلالة الشاهد *P.O*.

أما السلالتان S5 و S10 فاستغرقتا وقتاً أكثر من باقي السلالات بمراحل النمو المختلفة (S10 سلالة فطر ملك المحاري) وبالتالي يجب زراعتها بشروط مختلفة عن شروط باقي السلالات المدروسة الأخرى.

وأثناء الدراسة تم ملاحظة أن السلالتين S2 و S9 حساستان للتراكيز العالية من غاز CO₂، حيث ظهرت أعراض التسمم بهذا الغاز على الأجسام الثمرية من بداية ظهورها (الشكل 22: أ وب) وتمثلت باستطالة الحامل والتثييط الجزئي لنمو القبة فيقل قطرها (Chang و Miles، 2004)، وكانت الأعراض أكثر وضوحاً على الأجسام الثمرية للسلالة S2 منها على السلالة S9.



الشكل (22-أ): أعراض التسمم على الأجسام الثمرية للسلالة S2



الشكل (22-ب): أعراض التسمم على الأجسام الثمرية للسلالة S9

4-3-2- مؤشرات نمو الجسم الثمري :Growth parameters of fruit body

أ- قطر القبة: تباينت السلالات المدروسة فيما بينها من حيث مؤشرات نمو الجسم الثمري. فقد تفوقت السلالة S12 بقيمة متوسط قطر قبة الجسم الثمري (12.13سم) معنوياً على السلالة الشاهد (5.99سم) وجميع السلالات المدروسة عدا السلالات S6 و S8، S7، S16 (10.9، 10.74، 10.40 و 9.95سم، على التوالي). أما السلالة الشاهد فقد سجلت أقل قيمة لمتوسط قطر القبة (5.99سم) ولم يسجل فروق معنوية بينها وبين السلالات S1، S13، S3، S15، S10، S9 و S2 (8.02، 7.74، 7.73، 7.57، 7.2، 6.96 و 6.34سم، على التوالي) (الجدول 25).

الجدول (25): متوسط قطر القبة وطول وقطر الحامل ووزن الجسم الثمري للسلالات المدروسة

السلالات المدروسة	مؤشرات نمو الجسم الثمري			
	قطر القبة/سم	طول الحامل/سم	قطر الحامل/سم	وزن الجسم الثمري/غ
S1	7.74 defg	1.35 f	1.97 bcde	30.05 cdefg
S2	6.34 g	5.11 a	2.20 bcd	20.19 fg
S3	7.73 defg	1.61 f	1.08 fg	29.64 defg
S4	8.95 bcdef	3.07 cd	2.40 ab	38.05 abcdef
S5	9.04 bcdef	2.50 de	1.72 de	27.60 defg
S6	9.95 abc	4.35 b	2.78 a	52.78 ab
S7	10.74 ab	1.70 f	1.87 cde	54.36 ab
S8	10.40 ab	4.45 ab	2.37 abc	43.60 abcde
S9	7.00 fg	2.5 de	1.50 ef	23.76 efg
S10	7.20 efg	3.51 c	2.41 ab	46.31 abcd
S11	9.32 bcde	3.40 c	1.45 ef	37.22 abcdef
S12	12.13 a	3.00 cd	2.39 abc	55.95 a
S13	8.02 cdefg	3.35 c	2.40 ab	27.34 defg
S14	9.37 bcde	4.70 ab	1.87 cde	33.20 bcdef
S15	7.57 efg	2.50 de	1.71 de	20.20 fg
S16	10.90 ab	2.99 cd	1.69 de	51.59 abc
S17	9.79 bcd	2.08 ef	1.90 bcde	37.52 abcdef
السلالة الشاهد P.O	5.99 g	4.80 ab	0.81 g	11.08 g
LSD_{0.05}	2.19	0.73	0.53	21.54

ملاحظة: الأحرف اللاتينية المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلالات على مستوى ثقة 95%.

ب- **طول الحامل:** بلغت أطول قيمة لطول حامل الجسم الثمري في السلالة S2 (5.11سم) مع وجود فروق معنوية مع السلالات المدروسة الأخرى عدا السلالة الشاهد (4.8سم) والسلالات S14 و S8 (4.7 و 4.45سم، على التوالي). بينما بلغت أقل قيمة لطول الحامل

في السلالات S17 (2.08سم) وS7، S3 وS1 (1.7، 1.61 و1.35سم، على التوالي) ولم تلحظ فروق معنوية بين هذه السلالات (الجدول 25).

ج- قطر الحامل: تُبين النتائج المذكورة في الجدول (25) أن أقل قيمة لقطر الحامل سجلتها السلالة الشاهد (0.81سم)، وتفوقت عليها جميع السلالات المدروسة معنوياً عدا السلالة S3 (1.08سم) التي تفوقت عليها باقي السلالات معنوياً ما عدا السلالتين S9 (1.50سم) وS11 (1.45سم) حيث لم تكن الفروق معنوية بينهم. وسجلت السلالة S6 أعلى قيمة بقطر الحامل (2.78سم) وتفوقت معنوياً على باقي السلالات المدروسة عدا السلالات S10، S13، S4، S12 وS8.

د. وزن الجسم الثمري: أيضاً سجلت السلالة الشاهد أقل قيمة بوزن الجسم الثمري (11.08غ) وتلتها السلالات S1، S3، S5، S13، S9، S15 وS2 (27.34، 27.6، 29.64، 30.05، 23.76، 20.20 و20.19غ، على التوالي) التي لم تسجل فروقاً معنوية مع الشاهد. وسجلت السلالة S12 أعلى وزن للجسم الثمري (55.95غ) وتفوقت معنوياً على باقي السلالات عدا السلالات S7، S6، S16، S10، S8، S4، S17 وS11 (46.31، 51.59، 52.78، 54.36، 43.60، 38.05، 37.52 و37.22غ، على التوالي) (الجدول 25).

تباين أداء السلالات المدروسة من حيث نمو وأبعاد الأجسام الثمرية، وهذه الفروقات بين السلالات المدروسة تتوافق مع نتائج الدراسة التي أجراها Hasan وزملاؤه (2018) في الأردن لسلالات برية مجموعة من مناطق مختلفة ظهر فيها اختلاف واضح في قطر القبة (30-90مم) ضمن السلالات المجموعة من موقعين مختلفين وحتى فيما بين سلالات نفس الموقع، وكذلك اختلف طول الحامل (10-40مم)، في الأجسام الثمرية للسلالات. ومع نتائج Patel وزملاؤه (2019) لدى مقارنة نمو وإنتاجية 5 أنواع من الفطر المحاري *P. sajor*، *P. florida*، *P. flabellatus*، *P. eryngii* و*P. ostreatus* على وسط تبن القمح ووجدوا أن الفطر *P. florida* أعطى أعلى وزن للجسم الثمري (25غ)، وكان أقل وزن للجسم الثمري في الفطر *P. ostreatus* (4.53غ)، وفي الفطر *P. eryngii* كان متوسط طول وقطر الحامل الأعلى (6.43سم و2.40سم، على التوالي).

4-3-3- المؤشرات الإنتاجية Production parameters:

أ. متوسط عدد الأجسام الثمرية بالعنقود: تفوقت السلالة الشاهد معنوياً على جميع السلالات المدروسة بعدد الأجسام الثمرية في العنقود (40.8 جسم ثمري/عنقود) تلاها السلالتين S5 و S15 (28.20 و 19.00 جسم ثمري/عنقود، على التوالي) ولم يكن الفرق بين هاتين السلالتين معنوياً، وتفوقت السلالة S5 معنوياً على جميع السلالات الأخرى، أما السلالة S15 فتفوقت فقط على السلالات S7، S14، S16 و S10 (9.4، 9.2، 8.4 و 5 جسم ثمري/عنقود، على التوالي)، وكان أقل عدد للأجسام الثمرية في العنقود تم الحصول عليه من السلالة S10 (5 جسم ثمري/عنقود) وتفوقت عليها بهذا العدد السلالات S5، S15، S2 و S13 معنوياً (الجدول 26).

ب. متوسط عدد العناقيد: تم الحصول على عدد العناقيد الثمرية الأكبر من السلالة S7 (4.67 عنقود) وتفوقت بهذا العدد على السلالتين الأقل بعدد العناقيد S17 و S10 (3.33 و 3 جسم ثمري/عنقود، على التوالي) فقط، وتلا السلالة S7 السلالتين S2 و S11 اللتين سجلتا نفس العدد من العناقيد الثمرية (4.33 جسم ثمري/عنقود) وتفوقتا معنوياً فقط على السلالة S10، ولم تكن الفروقات معنوية بين باقي السلالات، وبالمقارنة مع الشاهد لم تسجل أي من السلالات المدروسة فروقاً معنوياً. وهذا يتفق مع ما ذكره Girmay وزملاؤه (2016) أن السلالة M2153 من الفطر المحاري *P. ostreatus* أعطت 18.30 جسماً ثمرياً بقطر قبعة 7.07 سم وطول حامل 2.81 سم، ومع نتائج Getachew وزملاؤه (2019) عند زراعة الفطر المحاري *P. ostreatus* على وسط التبن حيث تم الحصول على أجسام ثمرية ذات قطر قبعة بقطر 9.37 سم وحامل بقطر 3.18 سم.

ج. متوسط وزن العنقود الثمري: سجلت السلالتين S13 و S5 أعلى متوسط وزن للعنقود الثمري (503.8 و 503 غ، على التوالي) وتفوقتا معنوياً فقط على السلالة الأقل S2 (235.5 غ)، ولم تكن الفروق بين السلالة الشاهد وباقي السلالات معنوية (الجدول 26).

د. الإنتاجية والكفاءة الحيوية: حققت السلالة S13 الإنتاجية الأعلى (326.73 غ/كغ) وتفوقت بهذا معنوياً على السلالة الشاهد وباقي السلالات المدروسة عدا السلالتين S15 و S5 (295.43 و 292.96 غ/كغ). وتفوقت السلالة الشاهد معنوياً على السلالات S1، S2، S8، S10، S11

وS12 في حين لم تكن الفروق بينها وبين بقية السلالات معنوية. وسجلت السلالة S2 أقل إنتاجية (191.10 غ/كغ) بين السلالات المدروسة فتفوقت عليها السلالة الشاهد وجميع السلالات المدروسة تفوقاً معنوياً.

الجدول (26): متوسط المؤشرات الإنتاجية للسلالات المدروسة في مرحلة الاستزراع

السلالات المدروسة	مؤشرات الإنتاجية				
	عدد الأجسام الثمرية/العنقود	عدد العناقيد	وزن العنقود (غ)	الإنتاجية (غ/كغ)	الكفاءة الحيوية (%)
S1	13 cde	4 abc	378.8 bcde	245.60 ef	83.75 de
S2	16.80 cd	4.33 ab	235.5 f	191.10 g	65.17 f
S3	11.80 cde	3.67 abc	374.2 bcde	269.7 bcde	91.97 bcde
S4	10.80 cde	4 abc	367.2 bcde	265.49 bcdef	90.53 bcde
S5	28.20 b	3.67 abc	503 a	292.96 abc	99.90 ab
S6	10 cde	4 abc	371.1 bcde	252.93def	86.25 cde
S7	9.40 de	4.67 a	336 cde	262.76 bcdef	89.6 bcde
S8	12 cde	3.67 abc	377.6 bcde	245.80 ef	83.82 de
S9	11.80 cde	4 abc	306.8 ef	250.20 def	84.57 de
S10	5.00 e	3 c	344.2 cde	238.31 ef	80.55 e
S11	10.4 cde	4.33 ab	361.2 bcde	232.25 f	87.11 cde
S12	10.4 cde	3.67 abc	331.5 de	241.32 ef	80.12 e
S13	14.6 cd	4 abc	503.8 a	326.73 a	110.43 a
S14	9.2 de	4 abc	318.5 def	249.46 def	84.32 de
S15	19 bc	3.67 abc	438.8 ab	295.43 ab	98.08 bc
S16	8.40 de	3.67 abc	371.6 bcde	282.45 bcd	94.73 bcd
S17	10.20 cde	3.33 bc	398.4 bcd	259.78 cdef	93 bcd
الشاهد P.O	40.8 a	4 abc	424.1 abc	282.45 bcd	94.73 bcd
LSD _{0.05}	9.38	1.06	90.38	33.86	12.05

ملاحظة: الأحرف اللاتينية المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلالات على مستوى ثقة 95%.

وكما في الإنتاجية، كانت الكفاءة الحيوية الأعلى في السلالة S13 (110.43%) وتفوقت بهذه القيمة معنوياً على السلالة الشاهد وجميع السلالات المدروسة الأخرى عدا السلالة S5 (99.90%)، والتي مع السلالة S15 أعطت كفاءة أفضل من الشاهد لكن بدون فروق معنوية. وقد تفوقت السلالة الشاهد معنوياً على السلالات S2، S10 وS12، وسجلت السلالة S2 أقل كفاءة حيوية (65.17%) بفروق معنوية عن السلالة الشاهد وجميع السلالات المدروسة

الأخرى (الجدول 26)، وهذا غالباً ما يعود إلى حساسية هذه السلالة إلى غاز CO₂ وبالتالي لا يمكن تقييم هذه السلالة وكذلك السلالة S9 في نفس الظروف البيئية المستخدمة.

وتدل الكفاءة الحيوية على قدرة الفطر على استهلاك المادة العضوية المستخدمة في الزراعة لإنتاج الأجسام الثمرية، وتختلف قيمتها من نوع فطر لآخر (عند الزراعة على نفس الوسط) لاختلاف قدرته الحيوية، فهي تتراوح ما بين 80-120% في الفطر *P. ostreatus* و 90-150% وفي الفطر *P. sajor-coju* (أحمد، 1995).

تنوعت السلالات المدروسة من حيث المؤشرات الإنتاجية السابقة، فتباين متوسط عدد الأجسام الثمرية في العنقود من 5 إلى 28.2 جسماً ثمرياً، ومتوسط عدد العناقيد بدرجة أقل 3-4.67 عنقوداً، ومتوسط وزن العنقود الثمري 235.5-503 غ، ومتوسط الإنتاجية 191.10-326.73 غ/كغ وبعض السلالات قد تفوقت على الشاهد بالنسبة لبعض القراءات والعكس صحيح.

وتراوحت قيم الكفاءة الحيوية للسلالات المدروسة بين 65.17-110.43% وهذا يتوافق مع ما وجدته Holkar و Ram (2016) من أن الكفاءة الحيوية للفطر *P. ostreatus* النامي على وسط تين القمح تتراوح بين 63.4-74%. ومع ما وجدته Hossain (2017) عند دراسة الفطر *P. sajor-caju* حيث أعطى إنتاجاً قدره 601 غ/كغ وسط جاف بكفاءة حيوية قدرها 60.1%، وذكر أن وسط الزراعة (الركيزة) يلعب دوراً مهماً في إنتاج الفطر. لذلك لابد من دراسة هذه السلالات على أوساط مختلفة لتحديد الوسط الأكثر ملائمة لكل منها.

4-3-4- التركيب الكيميائي Chemical composition:

أظهرت نتائج التحاليل الكيميائية للأجسام الثمرية للسلالة الشاهد والسلالات المدروسة وجود فروقات في محتوى الفطر الكيميائي بين السلالات والسلالة الشاهد، وبين السلالات فيما بينها (الجدول 27).

احتوت السلالة S10 على النسبة الأعلى من المادة الجافة (8.87%) وتفوقت معنوياً على السلالة الشاهد وباقي السلالات المدروسة. تلاها السلالة S2 (7.9%) وتفوقت على باقي السلالات معنوياً عدا السلالات S1، S17، S8 و S13 وسُجل المحتوى الأقل من المادة الجافة في السلالة الشاهد والسلالتين S5 و S15 (6.2، 6.2 و 6.21%)، على التوالي).

الجدول (27): التركيب الكيميائي للسلاسل المدروسة والسلاسل الشاهد

السلاسل	الرطوبة	المادة الجافة	المواد الصلبة الذائبة	البروتين	الرماد	الكربوهيدرات الكلية	الدهن	الألياف
% من الوزن الرطب				% من الوزن الجاف				
S1	92.4 fg	7.6 bc	2.53 a	14.79 j	5.71 h	65.76 a	3.98 ab	9.76 h
S2	92.1 g	7.9 b	1.76 b	24.42 ef	6.32 gh	49.34 cd	2.66 fghi	17.26 bc
S3	92.79 def	7.21 cde	0.92 cdef	25.49 de	6.69 fgh	53.88 bc	3.29 cdef	10.65 gh
S4	93.4 abc	6.6 fgh	2.78 a	29.84 bc	8.13 de	46.75 de	1.83 jk	13.45 def
S5	93.8 a	6.2 h	0.43 f	19.51 hi	12.44 a	42.35 ef	3.53 bcd	22.17 a
S6	93.5 abc	6.5 gh	0.98 cdef	24.91 ef	7.46 ef	54.39 bc	1.67 k	11.57 fgh
S7	93.6 ab	6.4gh	1.77 b	22.66 efg	8.66 cd	49.57 cd	3.76 abc	15.35 cd
S8	92.4 fg	7.6 bc	1.38 bcd	20.90 ghi	8.87 bcd	55.14 bc	2.5 ghi	12.59 efg
S9	92.78 def	7.22 cde	1.43 bc	22.10 fgh	7.5 ef	54.51 bc	2.23 hijk	13.66 def
S10	91.13 h	8.87 a	3.14 a	25.48 de	12.14 a	48.91 cde	4.27 a	9.2 h
S11	93.12 bcde	6.89 defg	1.18 bcdef	21.22 ghi	8.09 de	54.29 bc	2.04 ijk	14.35 de
S12	93.28 abcd	6.72 efgh	1.25 bcde	22.76 efg	8.91 bcd	53.89 bc	2.73 fgh	11.71 fgh
S13	92.61 efg	7.39 bcd	1.3 bcde	28.18 cd	5.85 h	49.09 cd	2.32 hij	14.57 de
S14	92.97 cde	7.03 def	2.87 a	32.64 ab	9.08 bcd	39.32 fg	2.98 defg	16 cd
S15	93.79a	6.21 h	2.64 a	19.12 i	7.07 efg	56.74 b	2.60 ghi	14.47 de
S16	93.24 bcd	6.76 efg	2.86 a	15.07 j	9.79 b	58.69 b	2.85 efgh	13.6 def
S17	92.3 fg	7.7 bc	0.63 def	33.36 a	9.64 bc	33.75 g	3.74 abc	19.51 b
الشاهد P.O	93.8 a	6.2 h	0.56 ef	21.13 ghi	7.3 efg	52.80 bcd	3.40 bcde	15.37 cd
LSD _{0.05}	0.54	0.54	0.76	2.87	1.10	6.59	0.64	2.6

ملاحظة: الأحرف اللاتينية المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية ما بين السلاسل

على مستوى ثقة 95%.

احتوت السلالات S10، S14، S16، S4، S15 و S1 على أعلى نسبة من المواد الصلبة الذائبة الكلية (3.14، 2.87، 2.86، 2.78، 2.64 و 2.53% من الوزن الطازج للفطر، على التوالي) وتفوقت معنوياً على باقي السلالات، وكان المحتوى الأقل من المواد الصلبة الذائبة في السلالة S5 (0.43%) وتفوقت عليها جميع السلالات المدروسة معنوياً عدا السلالة الشاهد (0.56%) والسلالات S11، S6، S3 و S17 (الجدول 27).

ومن حيث المحتوى من البروتين، فقد تباينت السلالات بمحتواها من 33.36% في السلالة S17 إلى 14.79% في السلالة S1، وقد تفوقت السلالة S17 على السلالة الشاهد وباقي السلالات المدروسة معنوياً عدا السلالة S14 (32.64% من الوزن الجاف) التي بدورها تفوقت بمحتواها على السلالات الأخرى معنوياً عدا السلالة S4 (29.84% من الوزن الجاف). لم تكن الفروق معنوية بين محتوى السلالات S12، S7، S9، S11، S8، S5 و S15 والسلالة الشاهد (21.13%)، والتي تفوقت معنوياً على السلالتين S1 و S16 (15.07 و 14.79%، على التوالي). وبذلك تكون السلالات S17 و S14 من السلالات المميزة من الفطر المحاري، باعتبار أن الفطر المحاري يعتبر من الفطور الغنية بالبروتين (Nicholas و Ogame، 2006)، وكذلك يعتبر محتوى جميع السلالات من البروتين كنسبة مئوية من المادة الجافة محتوياً جيداً وضمن المجال الذي ذكره Bano و Rajarathnam (1982) والذي يتراوح بين 8.9-38.7%، وإذا قارنا بالمحتوى الذي ذكره Khan وزملاؤه (2016) بين 17-42% من الوزن الجاف نجد أن محتوى السلالتين S16 و S1 أقل من المجال المذكور. وذكر Mandeel وزملاؤه (2005) أن محتوى الفطر *P. ostreatus* من البروتين يتراوح بين 17.80 و 23.30%، وفي الفطر *P. sajor-caju* (30%) .

سُجلت أعلى قيمة لمحتوى الرماد في السلالتين S5 و S10 (12.44 و 12.14%، على التوالي) وتفوقتا معنوياً على السلالة الشاهد وباقي السلالات المدروسة. تلاهما السلالة S16 (9.79%) وتفوقت بذلك على باقي السلالات معنوياً عدا السلالات S17، S14، S12 و S8، وكان المحتوى الأقل في السلالتين S13 و S1 (5.85 و 5.71%، على التوالي) وبفروق معنوية مع السلالة الشاهد (7.3%).

أما نسبة الكربوهيدرات فقد كان المحتوى الأعلى في السلالة S1 (65.76%) وتفوقت بهذا المحتوى معنوياً على السلالة الشاهد وباقي السلالات المدروسة. ولم تكن الفروق معنوية بين محتوى السلالة الشاهد من الكربوهيدرات وباقي السلالات المدروسة عدا السلالات S5، S14 و S17 (42.35، 39.32 و 33.75%) التي تفوقت عليها معنوياً. كما تفوقت جميع السلالات معنوياً على السلالة S17 ذات المحتوى الأدنى من الكربوهيدرات (33.75%) عدا السلالة S14 (39.32%) (الجدول 27).

وقد ذكر Khan وزملاؤه (2016) أن محتوى الكربوهيدرات في الفطر المحاري يتراوح بين 37-48%، وهذا يتوافق مع محتوى السلالات S14، S5 و S4، أما السلالات الأخرى فيتراوح محتواها من الكربوهيدرات الكلية بين 48.91 و 65.76%، وهذا مطابق لما ذكره Filipa وزملاؤه (2019) أن محتوى الفطر المحاري من الكربوهيدرات الكلية 65% من الوزن الجاف، أي أن محتوى السلالات المدروسة يقع بين القيم الواردة في هذه الدراسات. ومن حيث المحتوى من الدهن، فقد تفوقت السلالة S10 (4.27%) معنوياً على السلالة الشاهد والسلالات المدروسة عدا السلالات S1، S7 و S17. واحتوت السلالة S6 على أقل محتوى من الدهن (1.67% من الوزن الجاف) وتفوقت عليها السلالة الشاهد وباقي السلالات المدروسة عدا السلالات S9، S11 و S4. وتراوح محتوى السلالات بين 1.67-4.27% وهذا ضمن المجال الذي ذكره Randive (2012) وهو بين 1-8% من الوزن الجاف (الجدول 27).

وبالنسبة للمحتوى من الألياف، تفوقت السلالة S5 معنوياً بمحتواها الأعلى من الألياف (22.17%) على السلالة الشاهد وجميع السلالات المدروسة الأخرى، تلاها السلالة S17 (19.51%) التي تفوقت معنوياً على باقي السلالات الأخرى، عدا السلالة S2 (17.26%) من الوزن الجاف) والتي لم يلاحظ وجود فروق معنوية بينها وبين السلالة الشاهد والسلالتين S14 و S7 (15.37، 15.98 و 15.35% من الوزن الجاف، على التوالي). وسُجل المحتوى الأقل من الألياف في السلالتين S1 و S10 (9.76 و 9.2%، على التوالي). وتتوافق هذه النتائج مع ما بينه Wang وزملاؤه (2001) بأن نسبة الألياف في الفطر المحاري *Pleurotus spp.* بين 7.5-

27.6% على أساس الوزن الجاف، وبالتالي كان محتوى السلالات المدروسة من الألياف (9.20-22.17%) ضمن المجال المذكور.

وقد ورد في دراسة سابقة لـ Beluhan و Ranogajec (2011) عند دراسة عينات من الفطر المحاري في Croatia أن محتواها من البروتين والدهن والرماد والطاقة كان أقل من محتوى الفطر البري منه، بينما كان محتوى الكربوهيدرات أعلى، كما توصل Çağlarirmak (2007) إلى نفس النتيجة عند الدراسة التي أجراها على الفطر المحاري وفطر الشيتاكي في البرازيل. وفي تركيا وجد Chang و Wasser (2017) نتيجة مماثلة عند دراسته للسلالات البرية من حيث المحتوى من الرماد مع مستوى أعلى من الرطوبة والبروتين.

تؤكد جميع هذه النتائج ما ذكره Zacharia و Doshi (2004) أنه يوجد اختلافات نوعية وكمية في التركيب الكيميائي للفطر *P. ostreatus* تعتمد على كل من السلالة والموطن وعمليات الاستخلاص وشروط الزراعة.

4-4- انتخاب أفضل السلالات المدروسة:

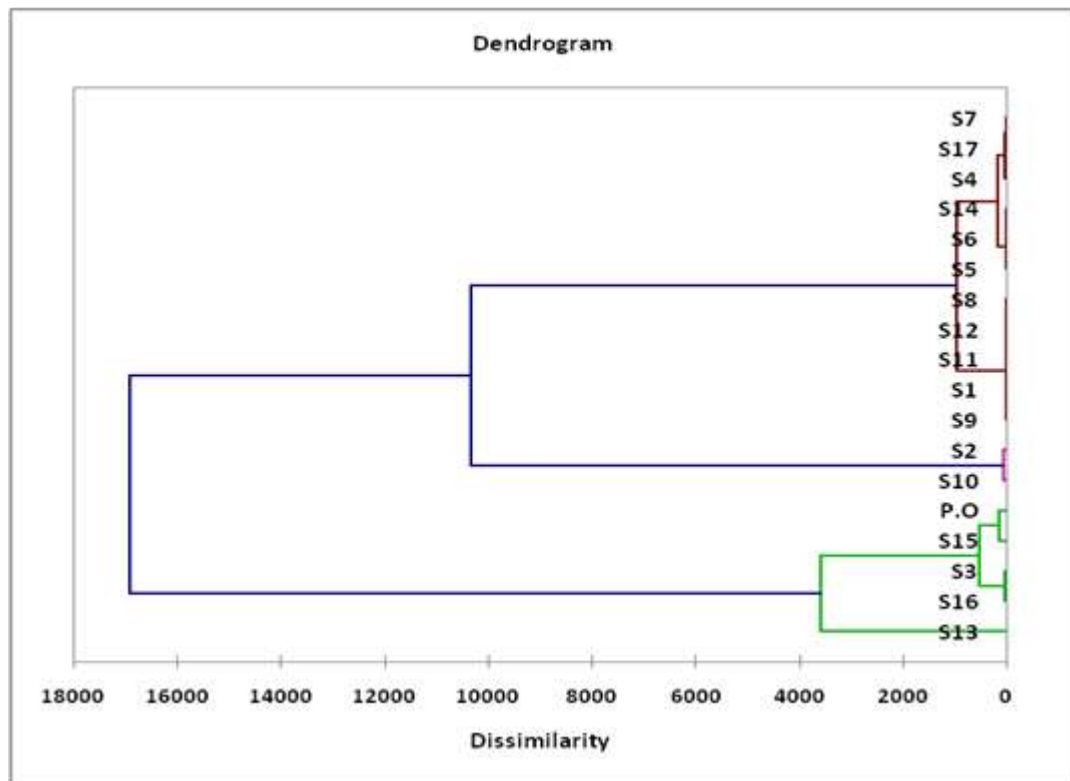
Selection of the best studies strains:

من أجل انتخاب السلالات الأفضل بين السلالات المدروسة مقارنة مع السلالة الشاهد، تم إجراء التحليل العنقودي للسلالات اعتماداً على مجموع قيم أهم الصفات الإنتاجية (الإنتاجية، الكفاءة الحيوية، دورة الإنتاج) للفطر المحاري وأهم الصفات النوعية (النسبة المئوية لكل من البروتين والمادة الجافة ومتوسط وزن الجسم الثمري ومتوسط قطر القبة) وتبين مايلي:

أولاً: من حيث الصفات الإنتاجية، ومن خلال شجرة القرابة الناتجة (الشكل 23)، انقسمت السلالات المدروسة إلى ثلاث مجموعات:

- المجموعة الأولى وضمت السلالة الشاهد مع 4 سلالات هي: S13، S15، S16 و S3. وهي المجموعة الأفضل من حيث الإنتاجية، حيث كانت السلالة S15 و S13 أفضل من الشاهد والسلالتين S3 و S16 مماثلتين تقريباً للشاهد من حيث المؤشرات الإنتاجية المعتمدة.
- المجموعة الثانية وضمت 11 سلالة هي: S4، S7، S5، S6، S14، S9، S1، S12، S8 و S11، حيث كانت إنتاجيتها متوسطة.

- المجموعة الثالثة وضمت السلالتين S2 و S10، وبما أن السلالة S10 هي سلالة فطر ملك المحاري محلية وبالمقارنة مع سلالة ملك محاري تجارية مزروعة في شروط مماثلة للشروط المطبقة في هذا البحث وذات إنتاجية (125.64 غ/كغ وسط رطب)، وكفاءة حيوية 56.29% (هولا، 2019) فإنها تعتبر سلالة ممتازة بمواصفاتها الإنتاجية. أما السلالة S2 التي تبين أنها سلالة حساسة للتركيز العالي من غاز CO_2 فيجب تحسين إنتاجيتها بتأمين الظروف المناسبة لنموها.



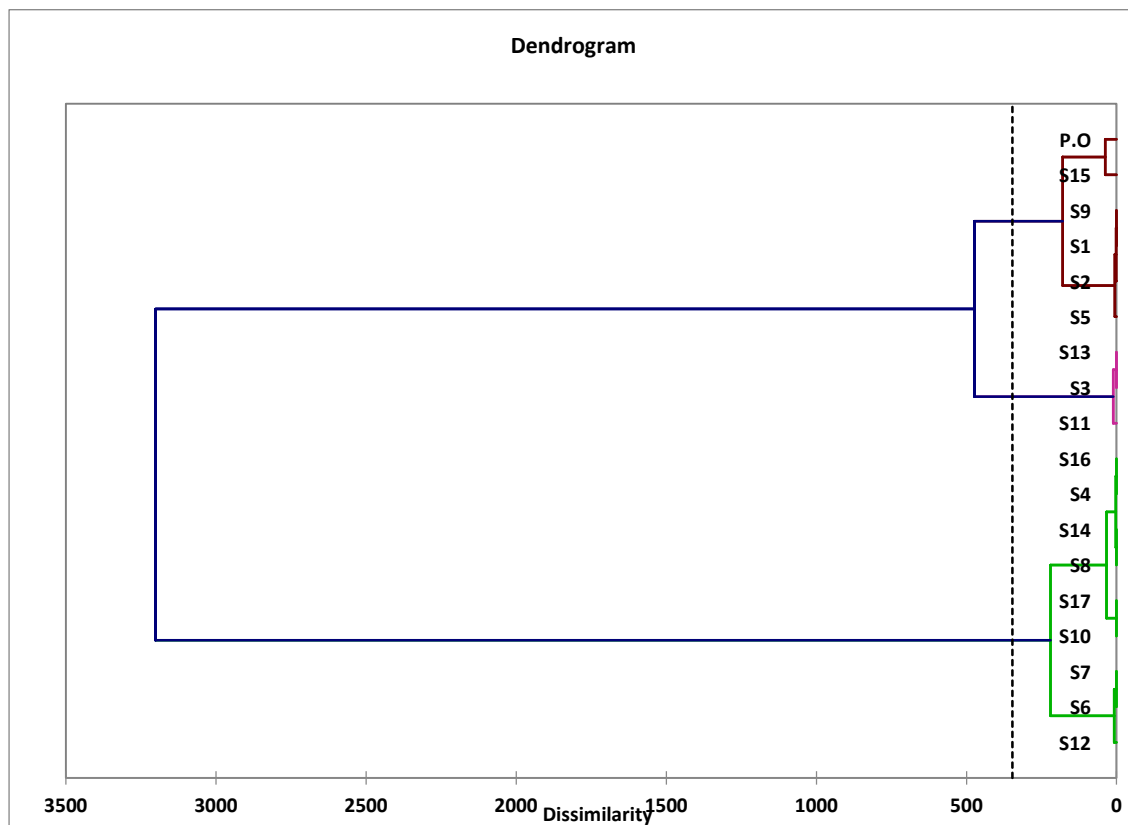
الشكل (23): مخطط شجرة القرابة للسلالات المدروسة والسلالة الشاهد $p.o$ بحسب الصفات الإنتاجية اعتماداً على التحليل العنقودي

ثانياً: من حيث الصفات النوعية، ومن خلال شجرة القرابة الناتجة (الشكل 24) انقسمت السلالات المدروسة إلى ثلاث مجموعات:

- المجموعة الأولى وضمت 9 سلالات هي: S12، S7، S6، S17، S10، S16، S4، S8 و S14.

- المجموعة الثانية وضمت 3 سلالات هي: S11، S13 و S3.

- المجموعة الثالثة وضمت السلالة الشاهد مع 5 سلالات S2، S9، S1، S5 و S15. كانت جميع السلالات أفضل من السلالة الشاهد وبالتالي يمكن انتخابها جميعها من حيث النوعية.



الشكل (24): مخطط شجرة القرابة للسلالات المدروسة والسلالة الشاهد *p.o* بحسب الصفات النوعية اعتماداً على التحليل العنقودي

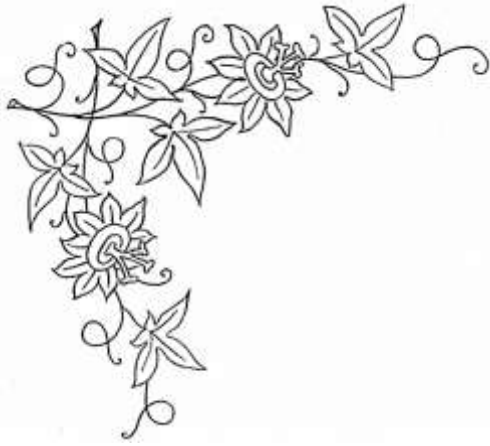
ومن خلال الجدول رقم (28) الذي يوضح التفوق في أهم الصفات الإنتاجية والنوعية بين السلالات المدروسة والسلالة الشاهد، نجد أن السلالات S3، S13، S14 و S15 متفوقة في جميع الصفات المذكورة.

الجدول (28): التفوق في أهم الصفات الإنتاجية والنوعية بين السلالات المدروسة والسلالة الشاهد

الصفة المدروسة							السلالات المدروسة
البروتين (%)	المادة الجافة (%)	متوسط وزن الجسم الثمري (غ)	متوسط قطر القبعة (مم)	دورة الإنتاج (يوم)	الكفاءة الحيوية (%)	الإنتاجية (غ/كغ)	
-	+	=	=	-	=	-	S1
+	+	=	=	-	-	-	S2
+	+	=	=	=	=	=	S3
+	=	+	+	-	=	=	S4
=	=	=	+	-	=	=	S5
+	=	+	+	-	=	=	S6
=	=	+	+	-	=	=	S7
=	+	+	+	-	=	-	S8
=	+	=	=	-	=	=	S9
+	+	+	=	-	-	-	S10
=	+	+	+	=	=	-	S11
=	=	+	+	=	-	-	S12
+	+	=	=	=	+	+	S13
+	+	+	+	=	=	=	S14
=	=	=	=	=	=	=	S15
-	+	+	+	-	=	=	S16
+	+	+	+	-	=	=	S17

ملاحظة: (+) تدل على تفوق معنوي على الشاهد. (-) تدل على تفوق الشاهد معنوياً على السلالة، (=) تدل على عدم وجود فرق مع الشاهد.

وهكذا نجد من خلال الشكلين (21) و(22) والجدول (28) أن السلالات S14، S13، S15 قد تميزت بمواصفاتها الإنتاجية والنوعية وبالتالي يمكن انتخابها كأفضل السلالات المدروسة مع السلالة S10 كسلالة فطر ملك المحاري، في حين كانت باقي السلالات المدروسة أيضاً ذات مواصفات جيدة ضمن ظروف الدراسة مقارنة مع السلالة الشاهد.



الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS

&

RECOMMENDATION

1- الاستنتاجات

2- المقترحات والتوصيات



1- الاستنتاجات Deductions:

1. هناك تنوع وراثي وشكلي كبير للفطر المحاري في سورية، وتميزت بعض السلالات البرية المدروسة بمواصفات جيدة ضمن ظروف الدراسة مقارنة مع السلالات التجارية المدخلة وبالتالي يمكن استخدامها في الإنتاج التجاري كسلالات محلية للفطر المحاري والسلالة S10 كسلالة فطر ملك المحاري بدلاً من السلالات المدخلة.
2. أعطت بادئات ISSR المستخدمة نسبة تعددية شكلية 100% مما يدل على إمكانية استعمال هذه البادئات بشكل فعال في التوصيف الجزيئي لسلالات الفطر المحاري، وعلى فعالية هذه التقنية في دراسة التباين الوراثي للفطر المحاري البري والمستزرع.
3. أظهرت السلالتين S2 و S9 أعراض التسمم بزيادة تركيز غاز CO_2 وهذا يستدعي ضرورة العمل على أمثلة الشروط المناسبة لنمو وإنتاج كل سلالة على حده من أجل الحصول على أفضل إنتاج من حيث النوعية والكمية.
4. اختلف سلوك مشيجة السلالات المدروسة في نموها على الأوساط المغذية وفي مراحل نموها المختلفة على وسط الزراعة، فبينما كان نمو مشيجة بعض السلالات أسرع على أوساط النمو، كان نموها على وسط الزراعة ليس الأسرع، وقد يعود السبب في ذلك إلى استخدام نفس وسط الزراعة (تبن القمح) لجميع السلالات وبذلك كان مناسباً لبعض السلالات وليس لجميعها وهذا يتطلب دراسة الوسط الأنسب لكل سلالة على حده.
5. انتخاب السلالات S3، S13، S14 و S15 لتفوقها بالصفات النوعية والإنتاجية للفطر، والسلالة S10 كسلالة فطر ملك المحاري.

2-المقترحات والتوصيات Suggestions and Recommendation:

1. العمل على حفظ السلالات المدروسة لأنها تمثل مصادر وراثية هامة للفطر المحاري في القطر.
2. استخدام السلالات S3، S13، S14 و S15 لتفوقها بالصفات النوعية والإنتاجية للفطر، والسلالة S10 كسلالة فطر ملك المحاري كبديل أو رديف للسلالات التجارية المدخلة في إنتاج الفطر المحاري.
3. اعتماد البادئات المستخدمة في هذا البحث في التوصيف الجزيئي لسلالات الفطر المحاري.
4. العمل على دراسة التنوع الحيوي للفطور البرية في سورية وتأسيس بنك وراثي خاص بها.
5. متابعة دراسة أفضل الشروط البيئية وأنسب أوساط الزراعة لكل سلالة من السلالات المدروسة للوصول إلى أفضل إنتاجية ونوعية.



المراجع العلمية

REFERENCES

1- المراجع العربية

2- المراجع الأجنبية



1- المراجع العربية Arabic References:

- أحمد، عبد المنعم. 2005. الفطريات، الجزء العملي-مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية- منشورات جامعة حلب.
- أحمد، عبد المنعم وعبد الحكيم بوادقجي. 1997. تصنيف بعض الأنواع الفطرية المنتشرة في غابات الصنوبر البروتي في محافظة حلب. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الأساسية، العدد 26: 79-105.
- أحمد، عبد المنعم، و خليل العلي، وعبد الله جهار. 2003. دراسة التنوع الحيوي للفطريات في بعض مواقع التشجير الحراجي في شمال سورية. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الأساسية. 3.
- أحمد، لونا. 2010. دراسة تأثير وسط الزراعة في نمو وإنتاجية فطر المحار Oyster Mushroom. رسالة ماجستير، جامعة تشرين، سورية، 96 صفحة.
- أحمد، محمد علي. 1995. موسوعة عيش الغراب العلمية (2) - زراعة عيش الغراب. الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، مصر، 247 صفحة.
- أحمد، محمد علي. 1998. عيش الغراب وعالمه الساحر. دار المعارف، القاهرة، مصر، 281 صفحة.
- إلياس، إنعام. 2008. تأثير أوساط التغذية في إنتاج بذار الفطر الزراعي *Agaricus bisporus* محلياً. رسالة ماجستير. جامعة تشرين، سورية، 67 صفحة.
- بغدادى، وفاء. 1972. دراسات حول فلورا الفطريات والإشنيات والشيبات في سورية. أسبوع العلم 13، الكتاب الثاني، دراسات وبحوث العلوم الأساسية، 27-79. منشورات المجلس الأعلى للعلوم، سورية.
- بغدادى، وفاء، وعدنان نظام، وحنان شحادة آغا. 2001. مساهمة في دراسة التنوع الحيوي للفطريات الزقية والدعامية في حوض بردى. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، المجلد 17، العدد 2، صفحة: 79-98.
- بوادقجي، عبد الحكيم، وستيفانو بادولوسي، وعبد المنعم أحمد، وتوماتي أمبيرتو، ومحمد مروان علي، وأحمد عز. 2006. دراسة التوزيع الجغرافي للفطر المحاري *Pleurotus*

- ostreatus* في سورية. مساهمة منهجية في حفظ مصادره الوراثية. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الأساسية، 138 صفحة.
- الزعبي، حسين، وموفق جبور، ويوسف وجهاني. 2016. التقرير القطري عن حالة التنوع الحيوي للغذاء والزراعة في سورية - حالة التنوع الحيوي. ص 27-28.
- سعود، راميا، 2018. التنوع الحيوي للفطريات الدعامية Basidiomycota في غابة الأرز والسرو (ضهر القصير). جامعة البعث. المجلد 40، العدد 14، صفحة: 39-46.
- سعود، راميا، 2003. دراسة بيئية تصنيفية للفطريات الكبيرة في بعض مناطق الساحل السوري. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة تشرين، 264 صفحة.
- الشالط، عمر. 2008. الدليل الجديد لفطر عيش الغراب أنواعه - زراعته - استعماله. منشورات غرفة زراعة دمشق، سورية، 456 صفحة.
- عز، أحمد نور الدين. 2007. دراسة التوزيع البيئي الجغرافي والتنوع الوراثي للفطر المحاري *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex: Fr.) Kummer في سورية، رسالة ماجستير، جامعة حلب، كلية الزراعة، 138 صفحة.
- علبي، مروان، وعبد المنعم أحمد. 1996. مساهمة في دراسة وتصنيف الفطور ذات القبعة في منطقة مسكنة من محافظة حلب، مجلة بحوث جامعة حلب. سلسلة العلوم الزراعية، العدد 25: 105-125.
- العودة، أيمن الشحادة. 1997. الأساليب الفنية لزراعة وإنتاج الفطر الزراعي. دار المعرفة FAO، دمشق، سورية، 157 صفحة.
- قشلاق، عدنان ومحمد مروان علبي. 1996. مساهمة في تصنيف الفطريات ذات القبعة التي تنمو في الفترة الربيعية في منطقة مسكنة حلب. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الأساسية، العدد 25: 127-147.
- كاسوكة، لونا، ومحمد مروان علبي، وعبد الرحمن كلحوت، ومحمد موفق يبرق، وعبد المنعم أحمد. 2009. تأثير بيئات غذائية مختلفة في نمو ميسيليوم الفطر المحاري. مؤتمر التقنيات الحديثة في الزراعة الرابع، 616-623 صفحة.
- مدبولي، فوزي حنفي ومحمد أحمد الحسيني، 1996. عيش الغراب غذاء - دواء - استثمار، مكتبة ابن سينا، مصر، 159 صفحة.

هولا، بشرى. 2019. تأثير عدة أوساط زراعية في إنتاجية فطر ملك المحاري (*Pleurotus eryngii*) ونوعيته، رسالة ماجستير، سورية، جامعة دمشق، 79 صفحة.

يبرق، محمد موفق، وسليم خوجه، وعمر عتيق، ووجيه دواليبي، وإنعام إلياس، وحجازي مندو، وعمار بياعة. 2009. الدليل العملي لزراعة الفطور في سورية. الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية GCSAR، سورية، 161 صفحة.

2- المراجع الأجنبية:

- Abdul Rashid, R., A. Mohamad, M. R. Awang, H. H. Mutaat, S. A. Mohamad, A. Abu Hasan, M. M. Maskom and S. K. Nahar. 2013. Isolation and optimization of Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) technique for *Pleurotus sajor caju* towards environmental study in support of the country's nuclear power program. Journal Sains Nuklear Malaysia, 25 (1): 1-8.
- Abou-Elftouh, M. A., O. Eman, M. M. M. Hassan Bekhit, and A. M. Hassan. 2016. Morphological and Molecular Characterization of Milky Mushroom *Calocybe indica* Mutants. Middle East Journal of Agriculture Research, 5 (4): 739-751.
- Agarawal, S and M. Topwal. 2018. Cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus florida*) on wheat straw. International Journal of Chemical Studies, 6 (6): 1274-1276.
- Ahmad, I., I. Fuad and Z. K. Khan. 2015. Mycelia growth of pink oyster (*Pleurotus djmour*) mushroom in different culture media and environmental factors. Agriculture and Food Sciences Research, 2 (1): 6-11.
- Ahmed, A. 1991. Population structure of *Lepista nuda* (Bull.: Fr.) Cke., PhD. Thesis in Mycology. Moscow state University. Moscow, 123p.
- Ahmed, M., N. Abdullah and M. M. Nuruddin. 2016. Yield and nutritional composition of oyster mushroom: an alternative nutritional source for rural people. Sains Malaysiana, 45 (11): 1609-1615.
- Ahmed, S. 1998. Performance of different substrates on the growth and yield of oyster mushroom *Pleurotus sajorcaju* (Fr.) Sing. MSc thesis, Department of Horticulture. Institute of postgraduate studies in Agriculture, Salna, Gazipur, Banglades.
- Aishah, M. S. and W. I. M. WanRosli. 2013. Effect of different drying techniques on the nutritional values of oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*). Sains Malaysiana, 42 (7): 937-941.
- Almomany, A. M. 2013. Nutritional Aspects of Two Widely Consumed Wild Edible Mushrooms in Jordan. Journal of Life Sciences, 7 (6): 655-659.
- Anderson, J. B. and E. Stasovski. 1992. Molecular phylogeny of northern hemisphere species of *Armillaria*. Mycologia, 84: 505-516.

- Anderson, N. A., S. S. Wang and J. W. Schwandt. 1973. The *Pleurotus ostreatus-sapidus* species complex. *Mycologia*, 65: 28-35.
- Anonymous. 2015. The Magic Mushroom Growers Guide Version 3. 2 (3.22 by Erowid) Widely acclaimed as the best and most comprehensive growing guide for the first time cultivator anywhere on original source: https://www.erowid.org/plants/mushrooms/mushrooms_mmegg.shtml. [access 10-3-2020].
- Ao, T., J. Seb, T. Ajungla, C. R. Deb. 2016. Diversity of Wild Mushrooms in Nagaland, India. *Open Journal of Forestry*, 6:404-419.
- AOAC. 2010. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition Arlington, Virginia.
- Arana-Gabriela, Y., C. Burrola-Aguilar, R. Garibay-Orijelb, N. Matías-Ferrerb, S. Franco-Maassc, and G. Matad. 2018. Genetic characterization, evaluation of growth and production of biomass of strains from wild edible mushrooms of *Lyophyllum* of Central Mexico. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49: 632–640.
- Asghar, R., M. Tariq and T. Rehman. 2007. Propagation of *Pleurotus sajor-caju* (oyster mushroom) through tissue culture. *Pakistan journal of Botany*, 39 (4): 1383-1386.
- Badalyan, S. M., N. G. Gharibyan and M. O. Grigoryan. 2008. Current situation and further development of the mushroom-growing industry in Armenia. Conference paper in 20-24 May: Science and cultivation of edible and medicinal fungi, 769-773p.
- Bano Z. and S. Rajarathnam. 1986. Vitamins values of *pleurotus* mushrooms. *Qual. Plant Food for Human Nutrition*, 36 (1): 11-15.
- Bano, Z. and S. Rajarathnam. 1982. *Pleurotus* mushroom as a nutritious food. *Tropical mushroom–Biological nature and cultivation methods*. Chinese university press, Hong kong, 363-380.
- Behera, T. K., A. B. Gaikward, A. K. Singh, and J. E. Staub. 2008. Relative efficiency of DNA markers (RAPD, ISSR and AFLP) in detecting genetic diversity of bitter gourd (*Momordica charantia* L.). *J. Sci. Food Agric.*, 88: 733–737.
- Beluhan, S. and A. Ranogajec. 2011. Chemical composition and non-volatile components of Croatian wild edible mushrooms. *Food Chem*, 124: 1076-1082.

- Boa, E. 2004. Non-wood forest products 17 -Wild edible fungi, A global overview of their use and importance to people. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 147p.
- Bobek, P., E. Ginter, M. Jurcovicova and L. Kuniak. 1991. Cholesterol-lowering effects of the mushroom *Pleurotus ostreatus* in hereditary hypercholesterolemic rats. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 35 (4): 191–195.
- Bobek, P. and L. Ozdin. 1994. The mushroom *Pleurotus ostreatus* plasma very –low-density lipoprotein clearance in hypercholesterolemic rat. *Physiol. Res*, 43: 205-206.
- Bresinsky, A., O. Hilber and H. P. Molitoris. 1977. The genus *Pleurotus* as an aid for understanding the concept of species in Basidiomycetes. In Clemencon, H., Ed. *The species concept in Hymenomycetes*. *Biblioth. Mycol.* 61. 229-258.
- Bridge, P. D., D. K. Arora, C. A. Reddy and P. R. Elander. 1998. *Application of PCR in Mycology*. CAP International, University press Cambridge, UK, 357p.
- Buchalo, A. S. 1988. Higher edible Basidiomycetes in pure culture. Naoka Dumka, Kiev, CCCP, 144p.
- Burdsall, H. and E. Dorworth. 1994. Preserving cultures of wood-decaying Basidiomycotina using sterile distilled water in cryovials. *Mycologia*, 86 (2): 275-280.
- Çağlarirmak, N. 2007. The nutrients of exotic mushrooms (*Lentinula edodes* and *Pleurotus* species) and an estimated approach to the volatile compounds. *Food Chem*, 105: 1188-1194.
- Camacho F. J. and A. Liston. 2001. Population structure and genetic diversity of *Botrychium pumicola* (Ophioglossaceae) based on inter-simple sequence repeats (ISSR). *Am J Bot*, 88: 1065–1070.
- Chang, S. T. 2001. A 40 - years journey through bioconversion of lignocellulosic wastes to mushrooms and dietary supplements. *Int. J. Med. Mushrooms*, 3: 299-310.
- Chang, S. T. 2008. *Training Manual on Mushroom Cultivation Technology*. Asian and Pacific Centre for Agricultural Engineering and Machinery (APCAEM) A-7/F, China International Science and Technology Convention Centre no. 12, Beijing 100029, P. R. China, 65p.

- Chang, S. T. and P. G. Miles. 1989. Edible mushroom and their cultivation. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 345p.
- Chang, S. T. and P. G. Miles. 2004. Mushrooms Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. The 2nd edition. Printed in the United States of America, 477p.
- Chang, S. T. and S. P. Wasser. 2017. The Cultivation and Environmental Impact of Mushrooms, Agriculture and the Environment, oxford research encyclopedia. Environmental Science, oxford university press USA, 38p.
- Chang, S. T. and W. A. Hayes. 1978. The Biology and Cultivation of Edible Mushroom. Academic Press, INC, New York, 819p.
- Chang, S. T., H. S. Kwan and Y. N. Kang. 1995. Collection, characterization and utilization of germ plasm of *Lentinula edodes*. Canadian Journal of Botany 73 (suppl. 1) section E-H: 955-961.
- Chang, S. T. and K. E. Mshigeni. 2001. Mushrooms and Human Health, University of Namibia, Windhoek, Namibia, 1–7.
- Chang, S. T. and P. G. Miles. 1992. Mushroom biology: a new discipline, Mycologist, 6: 64–65 .
- Chiu, S. W. 1996. Nuclear changes during fungal development, In S. W. Chiu and D. Moore (Eds), patterns in fungal development. Cambridge university press, United Kingdom, 105-125.
- Chiu, S. W., M. L. Ching, K. L. Fong and D. Moore. 1998. Spent oyster mushroom substrate performs better than many mushroom mycelia in removing the biocide pentachlorophenol. Mycological Research, 102 (12): 1553-1562.
- Chowdhury, M. A., B. Vandenberg and T. Warkentin. 2002. Cultivar identification and genetic relationship among selected breeding lines and cultivar in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Euphytica, 127: 317-325.
- Cocran, K. W. 1978. Medical Effect, Edible Mushrooms. Academic press, Inc., New York, 169-187p.
- Cohen, R., L. Persky, and Y. Hadar. 2002. Biotechnological applications on potential of wood degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. Appl. Microbiol. Biotechnol, 58: 582-594.
- Corrêa R. C. G., A. H. de Souza, R. C. Calhelha, L. Barros, J. Glamoclija, M. Sokovic, R. M. Peralta, A. Bracht and I. C. F. R. Ferreira. 2015.

- Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus ostreatus* Singer. *Food and Function*, 6: 2155-2164.
- Croan, S. 2004. Conversion of conifer wastes into edible and medicinal mushrooms. *Forest Products Journal*, 54: 68-76.
- Cui, H-Y., C-L. Wang, Y-R. Wang, Z-J Li and Y-N. Zhang. 2015. The polysaccharide isolated from *Pleurotus nebrodensis* (PN-S) shows immune-stimulating activity in RAW264.7 macrophages. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 13: 355-360.
- David, F. F., F. B. Gerald, P. C. Georg and Y. R. Amy. 1989. *Fungi on plant products in the United States (Contributions from the U.s National Fungus Collections, No. 5)*, Tapa dura –31 dic. APS Press. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, USA.
- Delmas, j. 1989. *Les Champignons et leur culture*. Paris: La Maison Rustique. Flammarion Paris, 970p.
- Eggen, T. and V. Sasek. 2002. Use of Edible and Medicinal Oyster Mushroom [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm.] Spent Compost in Remediation of Chemically Polluted Soil. *International Journal of Medicinal Mushroom*, 4 (3): 255-261.
- Eichlerová, I., L. Homolka and F. Nerud. 2006. Ability of industrial dyes decolorization and ligninolytic enzymes production by different *Pleurotus* species with special attention on *Pleurotus calypttratus*, strain CCBAS 461. *Process Biochemistry*, 41: 941-946.
- El-Batal, A. I., N. M. ElKenawy, A. S.Yassin and M. A. Amin. 2015. Laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its application in synthesis of gold nanoparticles. *Biotechnology Reports*, 5: 31-39.
- Elisashvili, V., M. Penninckx, E. Kachlishvili, N. Tsiklauri , E. Metreveli, T. Kharziani and G. Kvesitadze. 2008. *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition, *Bioresource Technology*, 99 (1): 457-462.
- Elnaiem, M. H. E., A. A. Mahdi, G.H. Badawi, and I.H. Attitalla. 2017. Morphological and molecular characterization of wild mushrooms in Khartoum north, Sudan. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.*, 8 (Suppl. 3): 187-194.
- Esselman E. J., L. Jianqiang, D. J. Crawford, J. L. Windus and A. D. Wolfe. 1999. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porter* ssp.

- Inesperata (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Ecology*, 8: 443-451.
- Facchini, J. M., E. P. Alves, C. Aguilera, R. M. M. Gern, M. L. L. Silveira, E. Wisbeck and S. A. Furlan. 2014. Antitumor activity of *Pleurotus ostreatus* polysaccharide fractions on Ehrlich tumor and Sarcoma 180. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68: 72-77.
- FAO. 2020. FAO statistical Database. [Available online: <http://www.fao.org/faostat/en>, accessed 26.3.2020]
- FAO. 1972. Food Composition Table for Use in East Asia. Food Policy and Nutr. Div., Food Agric. Organ. U. N., Rome.
- Farooq, R., M. A. Shah, and Z. A. Reshi. 2017. Morphological and molecular characterization of some mushrooms in Kashmir Himalayan Forests. *International Journal of Advanced Research in Science and Engineering*, 6 (6) special issue No. (01): 404-411.
- Fattahifar, E. 2017. Edible Mushroom Report. Quarterly Journal of Mushroom, Special Issue, Status and capabilities of mushroom industry in Iran, 11:10-24.
- Filipa, S. R., B. Lillian, M. Anabela and C. F. R. F. Isabel. 2019. Cimo-Esa, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado, Bragança Portugal, 1172, 5301-855.
- Fisher, P. J., R. C. Gardner and T. E. Richardson. 1996. Single locus microsatellite isolated using 50 anchored PCR. *Nucl Acids Res* 24 (21): 4369-4371.
- Flatt, K. 2010. Oyster mushroom facts. Nutrition / herbs / species / supplement.
- Fonseca, G. G., E. A. Gandra, L. F. Sclowitz, A. P. A. Correa, J. A. V. Costa and J. A. Levy. 2008. Oyster mushrooms species differentiation through molecular markers RAPD. *Int. J. Plant Breed Genet*, 2 (1): 13-18.
- Fuentes, A. M. 2014. Un recurso alimentario de los grupos originarios y mestizos de México: los hongos silvestres. *Anales de Antropología*, 48: 241-272.
- Gamage, S. and S. Ohga. 2018. A Comparative Study of Technological Impact on Mushroom Industry in Sri Lanka: A review. *Microbiology*, 8: 665-686.

- Garibova, L. V. and I. I. Sidorova. 1997. Fungi. Encyclopedia of Nature of Russia. ABF Publishing, Moscow, 159-214. (In Russian)
- Gateri, M. W., U. B. Ndung, A.W. Muriuki, V. Rauwl, and S. Kabacia. 2014. Collection, identification and morphological characterization of indigenous mushrooms in coastal Kenya. Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8), 17-23p.
- Getachew, A., A. Keneni and M. C. Aga. 2019. Production of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Substrate Composed from Wheat Straw, Waste Paper and Cotton Seed Waste. International journal of microbiology and biotechnology, 4 (2): 38-44.
- Gibriel, A. Y., M. Ahmed, N. Rasmy, I. Rizk and N. S. Abdel - Rehem. 1996. Cultivation of Oyster Mushrooms (*Pleurotus* spp.): Evaluations of Different Media and Organic Substrates. Mushroom Biology and Mushroom Products. Penn State Univ., 415-421p.
- Girmay, Z., W. Gorems, G. Birhanu and S. Zewdie. 2016. Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. National Institutes of Health, AMB Express, 6: 87.
- Goulao, L. and C. M. Oliveira. 2001. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. Euphytica, 122: 81-89.
- Groves, J. W. 1979. Edible and poisonous Mushrooms of Canada. Agriculture Canada. Research Branch Agriculture Canada Publication 1112, 326p.
- Guadarrama-Mendoza, P. C., G. Valencia del Toro, R. Ramirez-Carrillo, F. Robles-Martinez, J. Yanez - Fernandez, M. E. Garin - Aguilar, C. G. Hernandez and G. Bravo-Villa. 2014. Morphology and mycelial growth rate of *Pleurotus* spp. Strains from the Mexican mixtec region. Braz. J. Microbiol, 45 (3): 861-872.
- Gunde-Cimerman, N. 1999. Medicinal value of the genus *Pleurotus*. International Journal of Oriental Medicine, 1: 69-80.
- Hagiwara, S. Y., M. Takahashi, Y. Shen, S. Kaihou, T. Tomiyama, M. Yazawa, Y. Tamai, S. Yoosu, A. Kazusaka and M. Terazawa. 2005. A phytochemical in the edible tamogi-take mushroom (*Pleurotus cornucopiae*), D-mannitol, inhibits ACE activity and lowers the

- blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 69 (8): 1603-1605.
- Hall, I. R., S. L. Stephenson, P. K. Buchanan, W. Yun and A. L. J. Cole. 2003. *Edible and Poisonous Mushrooms of The World*. New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited. Timber Press Portland, Cambridge, 371p
- Hasan, H. A., A. M. Almomany, S. Hasan, A. M. Al-Abdallat. 2018. Assessment of Genetic Diversity among *Pleurotus* spp. Isolates from Jordan. *Journal of fungi*, 4: 52-62.
- Hawksworth, D. L. 2001a. Mushrooms: the extent of the unexplored potential, *Int. J. Med. Mushrooms*, 3: 333–337.
- Hawksworth, D. L. 2001b. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited, *Mycol. Res.*, 105: 1422–1432.
- Herderio, R. S., M. D. Pereira, A. D. Panek, and E. C. Eleutherio. 2006. Trehalose protects *saccharomyces cerevisiae* from lipid peroxidation during oxidative stress. *Biochemical Biophysical. Acta*, 1763 (3): 340-346.
- Hilber, O. 1982. Die Gattung *Pleurotus* (Fr.) Kummer unter besonderer Berücksichtigung des *Pleurotus eryngii* –Formenkomplexes. *Bibliotheca Mycologica*, 87. Vaduz: J. Cramer. Lehre, 464 S.
- Holkar K. S., and C. Ram. 2016. Comparative evaluation of five *Pleurotus* species for their growth behaviour and yield performance using wheat straw as substrates. *Journal of Environmental biology*, 37 (1): 7-12.
- Hossain, M. 2017. Effect of Different Substrates on Growth and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus sajorcaju*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6 (12): 760-764.
- Huang, S-J., C-P. Lin and S-Y. Tsai. 2015. Vitamin D2 content and antioxidant properties of fruit body and mycelia of edible mushrooms by UV-B irradiation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 42: 38-45.
- Humber, R. A. 1997. *Manual of Techniques in Insect Pathology*, chapter V-5, Fungi: Preservation of cultures. Academic press, 269-279.
- Inácio, F. D., R. O. Ferreira, C. A. V. Araujo, R. M. Peralta and de C. G. M. Souza. 2015b. Production of Enzymes and Biotransformation of

- Orange Waste by Oyster Mushroom, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. *Advances in Microbiology*, 5: 1-8.
- Inyod, T., S. Sassanarakit, A. Payapanon and S. Keawsompong. 2017. Morphological characteristics and molecular identification of a wild Thai isolate of the tropical mushroom Hed Taen Rad (*Macrocybe crassa*). *Bio Diversit AS*, 18 (1): 221-228.
- Ishaq, M., M. Fiaz, S. Sh. Ulla and M. B. Khan. 2017. Evaluation of mycelia growth of oyster mushroom (*Pleurotus floridanus* Singer) on different media and cereal grains. *Journal of Biodiversity and Environment Sciences (JBES)*, 11 (3): 67-72.
- Jang, J-H., S-C. Jeong, J-H. Kim, Y-H. Lee, Y-C. Ju and J-S. Lee. 2011. Characterisation of a new antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *Pleurotus cornucopiae*. *Food Chemistry*, 127: 412-418.
- Jayathunge, K. G. L. R. and C. K. Illeperuma. 2001. Dehydration of oyster mushroom and studies on acceptability and storability of the product. *Tropical Agricultural Research*, 13: 69-77.
- Jaziya, S. 2011. Evaluation of nutritional quality and health benefits of oyster mushroom. Master of Science in Home Science (Food Science and Nutrition). Faculty of Agriculture Kerala Agricultural University, Thrissur. Department of Home Science. College of agriculture, 166p.
- Jedinak, A. and D. Sliva. 2008. *Pleurotus ostreatus* inhibits proliferation of human breast and colon cancer cells through p53-dependent as well as p53-independent pathway. *International Journal of Oncology* 33: 1307-1313.
- Joshi, S. P., V. S. Gupta, R. K. Aggarwal and P. K. Ranjekar. 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 1311-1320.
- Juárez, R. A. C., L. L. G. Dorry, R. Bello - Mendoza, and J. E. Sánchez. 2011. Use of spent substrate after *Pleurotus pulmonarius* cultivation for the treatment of chlorothalonil containing wastewater. *Journal of Environmental Management*, 92: 948-952.
- Kalbere, P. and U. Künsch. 1974. Amino acid composition of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Lebensm, wiss. Technol*, 7: 242-244.

- Kantety, R. V., X. Zeng, J. L. Bennetzen and B. E. Zehr. 1995. Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays*) inbred lines using inter simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Molecular Breeding* 1: 365-373.
- Karim, M., M. Kavosi, G. Hajizadeh. 2013. Macrofungal communities in forest, north of Iran: relationships with season and forest types. *Ecologia baikanica*, 5: 87-96.
- Karp, A., S. Kresovich, K. V. Bahat, W. G. Ayad and T. Hodgkin. 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation a guide to the technologies. International Plant genetic resources institute, IPGRI technical bulletin. No. 2: 137p.
- Kaufert, F. 1936. The biology of *Pleurotus corticatus* Fries. *Bull. Univ. Minnesota Expt. Stat.*, 114: 1–35.
- Kaur, A. and Dr. H.S. Sodhi. 2018. Morphological and biochemical characterization of wild mushrooms from sub mountainous region of Punjab state. *Journal of Agricultural Engineering and Food Technology*, 5 (3): 118-121.
- Kawamura, Y., M. Manabe and K. Kitta. 2000. Antitumor protein (AP) from a mushroom induced apoptosis to transformed human keralinocyte by controlling the status of prb, c-MYC, cyclin E-cdk2 and p21WAF1 in the G1/S transition. *Biofactors*, 21 (1-4): 157-160.
- Khaing, M. M. 2015. A Study on Morphological Characters of Wild Mushrooms in the Vicinity of Hinthada University Campus. *Hinthada University Research Journal*, 6 (1): 48-55.
- Khan, N. A., M. Abbas, A. Rehman, I. ul Haq and A. Hanan. 2011. Impact of various sterilization methods using different substrates for yield improvement of *Pleurotus* spp. *Pak. J. Phytopathol*, 23 (1): 20-23.
- Khan, N. A., R. Binyamin, F. S. Awan, A. I. Khan and M. Waseem. 2017. Genetic diversity of edible mushroom *Pleurotus* spp. revealed by randomly amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Pak. J. Bot*, 49 (4): 1517-1521.
- Khan, S. H., R. Sumayya, S. Abdul Sattar, J. Sadaf, H. Muhammad and A. Sohail. 2016. Quality evaluation of oven dried and fresh oyster mushroom store at room temperature. *Academy of agriculture journal*, (1) 1: 18-22.
- Kim, S. W., H. J. Hwang, J. P. park, YJ Cho and C. H. Yun Song. 2002. Mycelia growth and exo-biopolymer production by submerged

- culture of various edible mushrooms under different media. *Letters in applied microbiology*, 34: 56-61.
- Kirk, P. M. 2015. Species Fungorum (version Feb 2014). In: Species 2000 and ITIS Catalogue of Life, 30th July 2015 (Roskov, Y., L. Abucay, T. Orrell, D. Nicolson, T. Kunze, C. Flann, N. Bailly, P. Kirk, T. Bourgoin, R. E. DeWalt, W. Decock, A. De Wever, eds). Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. <http://www.catalogueoflife.org/col/search/all> (accessed 11 March 2017).
- Knop, D., O. Yarden and Y. Hadar. 2015. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 1025–1038.
- Kong, W. S. 2004. Description of commercially important *Pleurotus* species, Oyster mushroom cultivation. Chapter 4. Spawn. In *Mushroom Growers, Handbook 1*, Rural Development Administration, Korea, Seoul: MushWorld, 54-61p.
- Koyyalamudi, S. R., S. C. Jeong, C. H. Song, K.Y. Cho and G. Pang. 2009. Vitamin D2 formation and bioavailability from agaricus bisporus button mushrooms treated with ultraviolet irradiation. *J. Agric. Food Chem*, 57 (8): 3351-5.
- Kulshreshtha, S., N. Mathur, P. Bhatnagar and S. Kulshreshtha. 2013. Cultivation of *Pleurotus citrinopileatus* on handmade paper and cardboard industrial wastes. *Industrial Crops and Products*, 41: 340-346.
- Kurashige, S., Y. Akuzawa and F. Endo, 1997. Effects of *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa* and *Pleurotus ostreatus* administration on cancer outbreak and activities of macrophages and lymphocytes in mice treated with a carcinogen, N-butyl-N-butanolnitrosoamine. *Immunopharmacol. Immunotoxicol*, 19: 175-183.
- Kwan, H., S. W. Chiu, K. M. Pang and S. C. Cheng. 1992. Strain typing in *Lentinula edodes* by polymerase chain reaction. *Experimental Mycology*, 16: 163-166.
- Kwon, H. and S. B. Kim. 2004. Oyster mushroom cultivation, *Mushroom Growers, Handbook*, 139-152p. Accessed on 13/7/2019 from <http://www.alohamedicinals.com/book1/chapter-7-1.pdf>

- Larraya, L. M., E. Idareta, D. Arana, E. Ritter, A. G. Pisabarro and L. Ramirez. 2000. Quantitative Trait Loci controlling vegetative growth rate in the edible Basidiomycetes *Pleurotus ostreatus*. *Apple. Environ. Microbial*, 68: 1109-1114.
- Lee, G. S., H. S. Byun and K. H. Yoon. 2009. Dietary calcium and vitamin D2 supplementation with enhanced *Lentinula edodes* improves osteoporosis-like symptoms and induces duodenal and renal active calcium transport gene expression in mice. *Eur J Nutr.*, 48 (2): 75-83.
- Lee, S., H. Bae, N. Kim and S. Hwang. 2008. Optimization of growth conditions of *lentinus edodes* mycelium on corn processing waste using response surface analysis. *Journal Bioscience and Bioengineering*, 105 (2): 161-163.
- Lee, Y-L, G-W. Huang, Z-C. Liang and J- L. Mau. 2007. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *LWT - Food Science and Technology*, 40: 823-833.
- Li, S. and N. P. Shah. 2014. Antioxidant and antibacterial activities of sulphated polysaccharides from *Pleurotus eryngii* and *Streptococcus thermophiles*. *Food Chemistry*, 165: 262-270.
- Li, S. and N. P. Shah. 2015. Effects of *Pleurotus eryngii* polysaccharides on bacterial growth, texture, properties, proteolytic capacity, and angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory activities of fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 98: 2949–2961.
- Liu, J., Y. Sun, H. Yu, C. Zhang, L. Yue, X. Yang, L. Wang and J. Liu. 2012. Purification and identification of one glucan from golden oyster mushroom (*Pleurotus citrinopileatus* (Fr.) Singer), *Carbohydrate Polymers*, 87 (1): 348-352.
- Lodge D. J., J. F. Ammirati, T. E. O'Dell and G. M. Mueller. 2004. Collecting and describing macrofungi. In: Mueller GM, Bills GF, Foster MS (eds) *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*. Elsevier, Burlington, 128–158p.
- Lutzoni, F. and R. Vilgalys. 1995. Integration of morphological and molecular data sets in estimating fungal phylogenies. *Canadian journal of Botany*, 73 (suppl. 1), 649-659.
- Lv, H., Y. Kong, Q. Yao, B. Zhang, F. W. Leng, H. J. Bian, J. Balzarini, E. Van Damme and J. K. Bao. 2009. Nebrodeolysin, a novel hemolytic

- protein from mushroom *Pleurotus nebrodensis* with apoptosis-inducing and anti-HIV-1 effects. *Phytomedicine*, 16: 198-205.
- Maftoun, P., H. Johari, M. Soltani, R. Malik, N.Z. Othman and H.A. El Enshasy. 2015. The Edible Mushroom *Pleurotus* spp.: I. Biodiversity and Nutritional Values. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 4 (2): 67-83.
- Malekzadeh, K. H., B. J. Shahri and E. Mohsenifafd. 2011. Use of ISSR markers for strain identification in the button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Proceeding of the 7th international conference on mushroom biology and mushroom products (ICMBMP7)*, 30-34p.
- Mandeel, Q. A, A. A. Al-Laith and S. A. Mohamed. 2005. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World journal of microbiology and biotechnology*, Kingdom of Bahrain, 21: 601-607.
- Manzi, P., S. Marconi, A. Guzzi and L. Pizzoferrato. 2004. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chem*, 84, 201-206.
- Martins, M., R. Tenreiro and M. M. Oliveira. 2003. Genetic relatedness of Portuguese almond cultivars assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Reports*, 22: 71-78.
- Martinez-Carrera, D. 1999. Oyster mushrooms. *McGraw-Hill Yearbook of science and technology*, In M. D. Licker (Eds), McGraw-Hill, Inc., New York, 242-245.
- Mcknight, K. H. and V. B. Mcknight. 1987. *A Field Guide to Mushrooms of north America*. The Peterson Field guide series. Houghton Mifflin company. 215 Park Avenue south, New York, 407p.
- Menikpurage, I. P., D. T. Abeytunga, N. E. Jacobsen and R. L. Wijesundara. 2009. An oxidized ergosterol from *Pleurotus cystidiosus* active against anthracnose causing *Colletotrichum gloeosporioides*. *Mycopathologia*, 167 (3): 155-162.
- Miles, P.G. and S.T. Chang. 1997. *Mushroom Biology — Concise Basics and Current Developments*, World Scientific, Singapore, 194p.
- Mishra, K. K., R. S. Pal, R. ArunKumar, C. Chandrashekara, S. K. Jain, and J. C. Bhatt. 2013. Antioxidant properties of different edible mushroom species and increased bioconversion efficiency of

- Pleurotus eryngii* using locally available casing materials. Food Chemistry, 138: 1557-1563.
- Mora, V. M. and D. Martínez-Carrera. 2007. Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurotus*) en México. Capítulo 1.1, 7-26 p. In: El Cultivo de Setas *Pleurotus* spp. In: México. J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata and H. Leal (Eds.). ECOSUR, México, 17p.
- Mshandete, A. M. and J. R. Mgonia. 2009. Submerged liquid fermentation of some Tanzanian Basidiomycetes for the production of mycelia biomass, exopolysaccharides and mycelium protein using waste peel media. ARPN Journal of agricultural and biological science, 4 (6): 1-13.
- Mueller G. M., J. P. Schmitt, P. R. Leacock, B. Buyck, J. Cifuentes, D. E. Desjardin, R. E. Halling, K. Hjortstam, T. Iturriaga, K. H. Larsson, D. J. Lodge, T. W. May, D. Minter, M. Rajchenberg, S. A. Redhead, L. Ryvarden, J. M. Trappe, R. Watling and Q. X. Wu. 2004. Global diversity and distribution of macrofungi. Biodiversity and conservation, 16 (1): 37-48.
- Mullis, K., F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn and H. Erlich. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 51: 263-273.
- Murray, H. G., W. F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Res. 8:4321-4325.
- Mustafa, N.O., M. M. Muslat, and W. C. Tan. 2014. First collection and identification of wild mushrooms in Western Iraq. Journal of Advanced Laboratory Research in Biology, 5 (2): 29-34.
- Nakasone, K. K., S. W. Peterson and S. Jong. 2004. Preservation and distribution of fungal cultures. In: G. M., Mueller, G. F. Bills and M. S. Foster (Eds). Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 37-47p.
- Nasim, G., S. H. Malik, R. Bajwa, M. Afzal and S. W. Mian. 2001. Effect of three Different culture media on mycelial growth of oyster and Chinese mushrooms. Journal of biological sciences, 1 (12): 1130-1133.
- Natures, J. 2010. Oyster mushrooms. <http://wordpress.com>. Mushroom application.

- Nicholas, L. G. and K. Ogame. 2006. Psilocybin Mushroom Handbook. Canada, 209p.
- Nita, M. 2009. Composition and health benefits of mushroom: A rich source of nutrient Source with medicinal properties. [http://www.suile.101.com/content/composition and health benefits of mushroom](http://www.suile.101.com/content/composition%20and%20health%20benefits%20of%20mushroom).
- Nteziryayo, V., D. D. Tibuhwa, P. Kiyuku, R. Muvunyi, and T. Masharabu. 2019. Characterization and Domestication of Wild Edible Mushrooms from Selected Indigenous Forests in Burundi. Tanzania Journal of Science, 45 (3): 417-430.
- OECD (Organization for economic cooperation and development). 2005. Consensus document on the biology of *Pleurotus* spp. (L.) (Oyster mushroom). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 34, 30p.
- Oei, P. 2003. Mushroom cultivation. Appropriate technology for mushroom growers. 3rd edition. Backhuys pub., Leiden. Netherlands, 426p.
- Ohira, I. 1977. *Pleurotus ostreatus* and its related species. Rep. Tottori Mycol. Inst. 15: 29-37.
- Oloke, J. K. and E. A. Adebayo. 2015. Effectiveness of Immunotherapies from Oyster Mushroom (*Pleurotus* species) in the Management of Immunocompromised Patients. International Journal of Immunology. Special Issue: Immunotherapy. 3 (2-1): 8-20.
- Olumide, O. J. 2011. Effects of different substrates on the yield and protein content of mushrooms and sclerotia of *Pleurotus tuberregium* (Fr.) sing. Scientific research prepared for master degree (MSc) in science (plant pathology), in the department of botany, faculty of biological sciences, university of Nigeria, 80p.
- Omisore, S. 2010. Benefits of mushrooms in checking cancer, hypertension. Nigereian compass. www.lifeplusvitamins.com/mushrooms
- Patel, S. K., R. Chandra and P. K. Dhakad. 2019. Comparative study on growth parameters and yield potential of five species of oyster mushroom. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8 (4): 152-156
- Patzak, J. 2001. Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.). Euphytica, 121: 9–18.

- Paul, C., T. Roy and N. Das. 2017. Potentiality of Oyster Mushroom (*Pleurotus* spp.) in Medicine -A Review. *Ann Food Process Preserv*, 2 (2): 1014-1021.
- Pawlik, A., G. Janusz, J. Koszerny, W. Małek and J. Rogalski. 2012. Genetic Diversity of the Edible Mushroom *Pleurotus* spp. by Amplified Fragment Length Polymorphism. *Curr Microbiol*. 65 (4): 438–445.
- Pérez-Martínez, A. S., S. A. Acevedo-Padilla, M. Bibbins-Martínez, J. Galván-Alonso and S. Rosales-Mendoza. 2015. A perspective on the use of *Pleurotus* for the development of convenient fungi-made oral subunit vaccines. *Vaccine*, 33 (1): 25-33.
- Petersen, R. H. and S. C. Mcclenaghan. 1995. Mating systems of antipodal agarics: an unreported taxon and range extensions. *New Zealand J. Bot*, 33 (1): 93-98.
- Petersen. R. H. and I. Krisai-Craillhublere. 1996. An epitype specimen for *Pleurotus ostreatus*. *Mycol. Res*, 100: 229-235.
- Petersen. R. H. and K. W. Hughes. 1977. Mating systems in *Omphalotus* (Paxillaceae, Agaricales). *P1 Syst Evol*, 211: 217-229.
- Phillips, R. 1981. Mushrooms and other fungi of Great Britain and Europe. Pan Books Ltd, Cavaye Place, London, 288p.
- Popa, G., C. Matilda, P. C. Cornea, B. Nicolcioiu and R. Toma. 2017. Evaluation of the genetic diversity of *pleurotus ostreatus* strains using combinatorial tubulin based polymorphism (cTBP) and ISSR markers. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, 21: 11-16.
- Poppe, J. 2004. Agricultural wastes as substrates for oyster mushroom. Chapter 5. Substrate. In: *Mushroom Growers' Handbook 1*. Seoul: MushWorld, 75–86.
- Purmono, A. S., T. Mori, S. R. Putra and R. Kondo. 2013. Biotransformation of heptachlor and heptachlor epoxide by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 82: 40-44.
- Rabbani M. A., M. S. Masood, Z. K. Shinwari and K.Y. Shinozaki. 2010. Genetic analysis of basmati and non-basmati Pakistani rice (*Oryza sativa* L.) cultivars using microsatellite markers. *Pak. J. Bot.*, 42 (4): 2551-2564.
- Raina, S. N., V. Rani, T. Kojima, Y. Ogihara, K. P. Singh and R. M. Devarumath. 2001. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic

- markers for analysis of genetic diversity, varietal identification and phylogenetic relationship in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. *Genome*, 44: 1-10.
- Raman, J., G. R. Reddy, H. Lakshmanan, V. Selvaraj, B. Gajendran, R. Nanjian, A. Chinnasamy and V. Sabaratnam. 2015. Mycosynthesis and characterization of silver nanoparticles from *Pleurotus djamor* var. *roseus* and their in vitro cytotoxicity effect on PC3 cells. *Process Biochemistry*, 50: 140-147.
- Randhawa, G. K. and P. S. Ranote. 2004. Storage stability of processed Oyster Mushroom (*Pleurotus hspp.*) into soup Powder. *J. Food Sci. Technol*, 41 (5): 525-529.
- Randive, S. D. 2012. Cultivation and study of growth of oyster mushroom on different agricultural waste substrate and its nutrient analysis. *Advance and Applied Science Resources*, 3: 1938-1949.
- Rubina, H., F.M. Aminuzzaman, M.S.M. Chowdhury, and K. Das. 2017. Morphological characterization of macro fungi associated with forest tree of national botanical garden, Dhaka. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 11 (4): 1-18.
- Ryu, J-S., M. K. Kim, C. H. Im and P.G. Shin 2015. Development of cultivation media for extending the shelf-life and improving yield of king oyster mushrooms (*Pleurotus eryngii*). *Scientia Horticulturae*, 193: 121-126.
- Saiki, R. K. S. Scharf, F. Faloona, K. B. Fmullis, G. T. Horn, H. A. Erlich and N. Arnhiem. 1985. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of stickle cell anemia. *Sciences* 230: 1350-1354.
- Salmones, D., R. Gaitan-Hernandez, R. Perez and G. Guzman. 1997. Studies on genus *Pleurotus*. VIII. Interaction between mycelial growth and yield. *Rev. Iberoam, Micol*, 14: 173-176.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. University of Texas South Western Medical Center, Cold Spring Harbor, N.Y. Cold Spring Harbor Laboratory, USA, 2nd ed., 1546p.
- Sanantonio, J. 1979. Stability of spawn stock of the cultivated mushroom stored for nine years in liquid nitrogen. *Mushroom Science*. 1: 103-114. (in French).

- Sarker, S., A. T. Martinez and M. J. Martinez. 1997. Biochemical and molecular characterization of a manganese peroxidase isoenzyme from *Pleurotus ostreatus*. Biochim. Biophys. Acta, 1339: 23-30.
- Savoie, J. M., D. Salmones and G. Mata. 2007. Hydrogen peroxide concentration measured in cultivation substrates during growth and fruiting of the mushrooms. *Agaricus bisporus* and *Pleurotus* spp., J. Sci. Food Agric, 87, 1337–1344.
- Semerdzieva, M. and K. Ceip 1966. Investigation of mycelial growth in some gill fungi under laboratory conditions. Folia Microbial, 11 (2): 146-154.
- Shah, Z. A., M. Ashraf and M. C. Ishtiaq. 2004. Comparative study and cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates (wheat straw, leaves, sawdust), Pakistan Journal of Nutrition, 3 (3): 158 – 160.
- Shen, J. W., X. Zhao, Y. Li, Y. Y. Guan, Z. Wang, Y. C. Qi and J. X. Zhang. 2011. Evaluation of germplasm resources with cultivated *Pleurotus* spp. strains in Henan Province. J Henan Agric Univ., 5: 297–301.
- Shen, K. S., I. K. Oh and C. J. Kim. 1997. Production and purification of remazol brilliant blue R decoloring peroxidase from the culture filtrate of *Pleurotus ostreatus*. Appl. Environ. Microbiol, 63: 1744-1748.
- Shujiang, L., Z. Tianhui, L. Guanghai and Z. Hanmingyue. 2012. Diversity of macrofungal communities in bifeng gorge: the core giant panda habitat in china. Africans journal of biotechnology, 11 (8): 1970-1976.
- Silveira, M. L. L., F. R. Smiderle, F. Agostini, E. M. Pereira, M. Bonatti-Chaves, E. Wisbeck, A. C. Ruthes, G. L. Sassaki, T. R. Cipriani, S. A. Furlan and M. Iacomini. 2015. Exopolysaccharide produced by *Pleurotus sajor-caju*: Its chemical structure and anti-inflammatory activity. International Journal of Biological Macromolecules, 75: 90-96.
- Singer, R. 1975. The agaricales in modern taxonomy, 3rd ed. J. Cramer. Uaduz. 912p.
- Singer, R. 1986. The Agaricales in modern taxonomy. 4th ed, Koeltz Scientific Books, Germany, 174-179.

- Smiderle, F. R., L. M. Olsen, E. R. Carbonero, C. H. Baggio, C. S. Freitas, R. Marcon, A. R. S. Santos, P. A. J. Gorin and M. Iacomini. 2008. Anti-inflammatory and analgesic properties in a rodent model of a (1→3), (1→6)-linked β -glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius*, European Journal of Pharmacology, 597: 86-91.
- Smith, D. 1982. Liquid nitrogen storage of fungi. Transactions of the British mycological society. UK. 79: 415-421.
- Smith, D. 1993. Culture collection. In genetics and breeding of edible mushrooms, 15-35.
- Snelling, S., N. Bougher, S. Bolsenbroek, J. Catchpole, T. Burgess, I. Tommerup, T. Shiraishi. 1996. Pure culture isolation of fungi and the production of inoculum. In: M. Bundrett, N. Bougher, B. Dell, T. Grove and N. Malajczuk (eds) Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, 217–254p.
- Sonnenberg, A., J. Baars, P. Hendrickx and K. Kerrigan. 2005. Breeding mushrooms: state of the art. Proceedings of the 5th international conference on mushroom biology and mushroom products. Acta Edulis Fungi 12 sup: 163–173.
- Stajic, M., I. Milenkovic, I. Brcksi, J. Vukojevic and S. D. Lausevic. 2002. Mycelial growth of edible and medicinal oyster mushroom [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.Fr. Kumm) on selenium enriched media. Int. J. Med. Mushrooms, 4: 241-244.
- Stalpers, J. A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. Studies in Mycology, 16, 248p.
- Stamets, P. 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley, Toronto, 574p.
- Stamets, P. 2005. Mycelium running: how mushrooms can help save the world. Ten speed press. Berkeley, Toronto, Canada. 343p.
- Stamets, P. and J. S. Chilton. 1983. The mushroom cultivator a practical guide to growing mushrooms at home, ISBN: 0-9610798-0-0 Agarikon Press, Olympia, Washington, USA. 415p.
- Stanek, M. and J. Rysava. 1971. Application of theriophilic microorganism in the fermentation of the nutrient substrate for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex: Fr.) Kummer. Mykol. Sb, 8: 59-60.
- Tan, K. K. 1981. Cotton waste is a good substrate for the cultivation of *P. ostreatus* the oyster mushroom. Mush. Sci, 11: 705-710.

- Thakkar, N. 2010. Cultivation of oyster mushroom and performance of its protein analysis, from <http://www.researchgate.net>
- Trudell, S. and J. Ammirati. 2009. Mushrooms of the pacific northwest. Timber pr inc; Illustrated Edition, 349p.
- Tsujiyama, S. and H. Ueno. 2013. Performance of wood-rotting fungibased enzymes on enzymic saccharification of rice straw. J. Sci. Food Agric., 93: 2841–2848.
- Tsumura, Y., K. Ohba and S. H. Strauss. 1996. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in douglas- fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). Theor. Appl. Genet, 92: 40–45.
- Turner, L. 1993. Nutritive value and biological efficiency of *Pleurotus* species. Biological Abstract, 90 (1): 135.
- Urbanelli S., V. Della Rosa, F. Punelli, D. Porreta, M. Reverberi, A. A. Fabbri, and C. Fanelli. 2007. DNA-fingerprinting (AFLP and RFLP) for genotypic identification in species of the *Pleurotus eryngii* complex. Appl Microbiol Biotechnol., 74 (3): 592-600 .
- Usami, A., R. Motooka, H. Nakahashi, Y. Okuno and M. Miyazawa. 2009. Characteristic odorants from bailingu oyster mushroom (*Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*) and summer oyster mushroom (*Pleurotus cystidiosus*). Journal of Oleo Science, 63: 731-739.
- Velioglu, Z. and R. O. Urek. 2015. Optimization of cultural conditions for biosurfactant production by *Pleurotus djamor* in solid state fermentation. Journal of Bioscience and Bioengineering, 120: 526-531.
- Vilgalys, R. m J. C. Montcalvo, S-R. Liou and M. Volovsek. 1996. Recent advances in molecular systematic of the genus *Pleurotus* In: Royse, D, Ed., Mushroom Biology and Mushroom production. Pennsylvania State Univ. Press, 91-101.
- Wang, D., A. Sakoda and M. Suzuki. 2001. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. Biores, Technol, 78: 293-300.
- Wang, S., L. Bao, F. Zhao, Q. Wang, S. Li, J. Ren, L. Li, H. Wen, L. Guo and H. Liu. 2013. Isolation, identification, and bioactivity of monoterpenoids and sesquiterpenoids from the mycelia of edible mushroom *Pleurotus cornucopiae*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61: 5122–5129.

- Wang, S., Y. Yin, and Y. Liu. 2012. Evaluation of Genetic diversity among Chinese *Pleurotus eryngii* cultivars by combined RAPD/ISSR marker. *Curr. Microbiol.*, 65: 424–431.
- Weldekiros, M., E. Birhane, W. Zeweld and S. Teweldebirhan. 2017. Characterization, Nutritional Value and Consumption Habit of Wild Mushroom in Tigray, Northern Ethiopia. *ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27 (2): 97-115.
- Woller, R. 2007. The Pearl Oyster Mushroom, http://bioweb.uwlax.edu/bio203/2011/woller_ryan/nutrition.htm
- Wu, X., S. Zheng, L. Cui, H. Wang and T. B. Ng. 2010. Isolation and characterization of a novel ribonuclease from the pink oyster mushroom *Pleurotus djamor*. *Journal of General and Applied Microbiology*, 56: 231-239.
- Xiong, Q-L., Z-T. Xing, Z. Feng, Q. Tan and Y-B. Bian. 2009. Effect of 60 Co γ -irradiation on postharvest quality and selected enzyme activities of *Pleurotus nebrodensis*. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 157-161.
- Yan, B., L. Jing and J. Wang. 2015. A polysaccharide (PNPA) from *Pleurotus nebrodensis* offers cardiac protection against ischemia–reperfusion injury in rats. *Carbohydrate Polymers*, 133: 1-7.
- Yang, Q. Y. and S. C. Jong. 1989. Medicinal mushroom in China. *Mushroom Science*. XII. (Part I): 631-643.
- Yoon, L. W., T. N. Ang, G. C. Ngoh and A. S. M. Chua. 2014. Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. *Biomass and Bioenergy*, 67: 319-338.
- Zacharia, S. and A. Doshi. 2004. Artificial indoor cultivation of *Tricholoma crassa* (Berk.) Sacc. an ectomycorrhizal mushroom using some local substrates. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 34: 125–126.
- Zervakis, G. I. and G. Venturella. 2002. Mushroom breeding and cultivation enhances *ex situ* conservation of Mediterranean *Pleurotus* taxa. *IPGRI. Managing Plant Genetic Diversity*, 351-358p.
- Zervakis, G. I., G. Bekiari, P. A. Tarantilis and C. S. Pappas. 2012. Rapid strain classification and taxa delimitation within the edible mushroom genus *Pleurotus* through the use of diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) spectroscopy. *Fungal Biology*, 116 (6): 715-728.

- Zervakis, G. I., G. Venturella and K. Papadopoulou. 2001. Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species complex as determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological Characters. *Microbiology*, 147: 3183–3194.
- Zervakiz, G. and C. Balis. 1996. A pluralistic approach in the study of *Pleurotus* species with emphasis on compatibility and physiology of the European morphotaxa. *Mycological Research*, 100 (6): 717-731.
- Zhang, J., G. Wang, H. Li, C. Zhuang, T. Minuro, H. Ito, C. Suzuki, H. Okamoto and J. Li. 1994. Antitumor polysaccharides from a Chinese mushroom. *Yuhuangmo, The fruiting body of Pleurotus citrinopileatus*, *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 58: 1195-1201.
- Zhang, J., M. Zhao, L. Zheng, G. Zhai, L. Wang, M. Jia and L. Jia. 2014. Purification and antioxidant activities of intracellular zinc polysaccharides from *Pleurotus cornucopiae* SS-03. *Carbohydrate Polymers*, 111: 947-954.
- Zhang, X., Wang, L., F. Ma, J. Yang and M. Su. 2016. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on carbon and nitrogen distribution and grain yield and nutritional quality in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Sci. Food Agric*, 97 (9): 2919-2925.
- Zhanxi, L. 2006. JUNCAO Technology. Institute of JUNCAO, Fujian Agriculture and Forestry University, The Peoples Republic of China, 294p.
- Zhao, M., C. Huang, Q. Chen, X. Wu, J. Qu, and J. Zhang. 2013. Genetic variability and population structure of the mushroom *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*. *PLoS ONE*, 8 (12): 1-8. e83253.
- Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20: 176-183.



الملاحق



الملحق (1): مواصفات السلالات المدخلة المزروعة المسجلة بعد استزراعها

<i>P. florida</i> (S21)	<i>P. pulmonarius</i> (S20)	<i>P. eryngii</i> (S19)	<i>P. ostreatus</i> (S18)	السلالة المزروعة	
				المواصفات	
22.1	23.2	34.7	11.08	متوسط الوزن (غ)	الجسم الثمري
7	7	5	40.8	العدد جسم ثمري/عنقود	
كريمي مصفر	رمادي	رمادي غامق	رمادي فاتح	اللون	القبة
6.26×6.88	7.89×10.22	5.73×5.73	5.9×6.07	القطر (سم)	
جانبي	جانبي	مركزي	جانبي	توضع الحامل	الحامل
1.5	1.6	1.8	0.81	قطر (سم)	
3	3.6	4.5	4.80	طول (سم)	
أبيض	أبيض	أبيض	أبيض مائل إلى البنفسجي	لون البصمة البوغية	
8.98×3.89	9.64×3.50	8.78×4.85	9.63×3.64	أبعاد الأبواغ	

الملحق (2): شكل العناقيد الثمرية والأجسام الثمرية للسلاطات المدروسة بعد الاستزراع

				S1
				
				S3
				
				S5
				

				S7
				S8
				S9
				S10
				S11
				S12

				S13
				S14
				S15
				S16
				S17

Abstract:

This research was carried out during the period between 2016-2020. The objects were to survey and characterize genetic resources of the oyster mushrooms present in south west Hama, study their genetic diversity, determine the degree of their kinship, cultivate collected strains to study their productivity in comparison with a control (a locally cultivated commercial strain), and select the best of them. Seventeen wild strains of oyster mushroom (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16 and S17) were collected and cultivated. They grew on a number of plant species and from locations with altitude that ranged between 419.71 and 964.69 m above sea surface, and had varied temperature and rate of rainfall, which reveals the wide spread of oyster mushroom and great ecological diversity.

The results demonstrated great variation between studied strains related to morphological characteristics, especially in color, shape and diameter of the cap, and stem length and diameter. The context had a color that varied from white and cream, and its texture ranged from soft (thin) to thick fleshy. The gills were brown, light brown, or creamy. Spores measurements ranged between (3.41 and 5.82) microns across and (8.52 and 12.07) in length. The strains did not differ in terms of the nature of their lateral fruiting on the host's trunk and the brim of the cap wrapped inward. Studied strains split into 4 distinct groups by applying the matrix of Percent Disagreement Values (PDV) based on the Euclidean distance coefficient. Studying genetic diversity of strains using ISSR technique showed the possibility to amplify DNA segments by all tested primers (11 primers), where the total number of bands reached 274 bands, with an average of 24.91 band/primer. All primers gave a 100% polymorphism. Cluster analysis based on PDV matrix revealed a high level of genetic diversity of oyster mushrooms in Syria, where strains split into 7 distinct groups.

The effect of the studied nutrient media, Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA), and Nutrient Agar (NA), on mycelium growth parameters of the studied strains compared to the control, commercial strain (*P.O*) strain M2175 of Mycelia company of Belgium, was found to vary. Strains showed different growth rate (GR) between themselves on one medium and within the strain itself on the three media. S1, S3, S6, S11, S12, S13, S15 and S16 strains had significantly superior

GR on PDA in comparison with it on MEA and NA media. As for the growth rate of the strains S2, S7, S10 and S17, it was the best on the MEA medium. According to their growth coefficient (GC), strains on the PDA medium were distributed into the following groups: very fast growing: S14, S11, S17 and S16, fast growing: S9, S7, S12, S8, S3, S15 and S6, medium growing: S1, S13, S2, S5 S4, slow-growing: S10. On the MEA medium, they were distributed as follows: very fast growing: S17, S14, S3, S7, S11, S6, S4, S13 and S15, fast growing: S2 and S8, medium growing: S16, S5, S1 and S12, slow growing: S9 and S10. The lowest GC values were recorded on NA medium, where all strains were slow-growing strains.

The results of spawning studied strains on wheat hay filled in polyethylene bags demonstrated clear differences in phenological phases and fruitbody formation among strains. The period of completion of mycelium growth on the hay substrate for all strains (except for S10) ranged between 16.33 and 25 days. The strains (except strains S5 and S10) required a period of 21 to 35.33 days to reach the harvesting stage. S5 and S10 strains took longer time than the rest of the strains during the different growth stages which means that they have special characteristics (S10 the oyster mushroom strain) and therefore should be cultivated on different conditions than the other studied strains. Clear and significant differences, related to growth of fruitbodies and yield, were found between strains. The average diameter of the cap ranged between 5.99-12.13cm, average stem diameter ranged between 1.08-2.78cm, average stem length 1.35-5.11cm and the average weight of the fruitbody ranged between 20.19-55.95. Moreover, the average number of fruit bodies per cluster ranged from 5 to 28.2 fruit bodies, the average number of clusters ranged from 3 to 4.67 clusters, the average weight of the cluster 235.5 to 503g, and the average productivity from 191.10 to 326.73g/kg. The value of biological efficiency varied from 65.17 to 110.43%. S2 and S9 strains showed sensitiveness towards high concentrations of CO₂ gas, where poisoning symptoms appeared on fruit bodies from the beginning. The symptoms were more prominent on S2 fruit bodies.

Analysis of chemical content found significant differences among studied strains. S10 had the highest content of dry matter and total soluble solids within the strains range which was 6.2-8.87% and 0.43-3.14% of fresh weight, respectively. Protein content, ranged between 8.9-38.7% on the base of dry matter, is considered good compared to studies in literature

review. The highest content was in S17 and S14. Strains content of ash ranged between 6.32 and 12.44%, while S1 contained the highest total carbohydrate content (65.76% of the dry matter). The lowest value of fat content was found in S6 (1.67% of the dry weight), compared to the highest value in S10 (4.27% of the dry weight). The content of fiber ranged between 22.17 (in S5) and 9.2% of the dry matter (in S10). S3, S13 and S15 were selected for their superiority in qualitative and productivity characteristics, and S10 as a king oyster mushroom strain.

In conclusion, the studied strains depicted rich genetic and morphological diversity of oyster mushroom, and diversity Syrian ecologies where it is found. They represent part of the genetic assets of this mushroom that might contribute to improving its cultivation and production, and in finding an alternative strains to imported commercial strains, and thus helps in spreading its cultivation and consumption culture in the Syrian society, especially rural areas where help is needed for their development and increase the per capita income.

Key words: oyster mushroom, *Pleurotus* spp., wild collected, genetic diversity, ISSR technique, growth rate, productivity, biological efficiency.

Damascus University

Faculty of Agriculture

Department of Horticulture



**Study of Ecological and Biological Diversity of *Pleurotus* spp.
in South West Hama for Selection and Culture of High
Quality Strains**

**Thesis submitted in Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of Ph. D. in Agricultural
Engineering (Horticulture Department)**

**By
Agricultural Engineer
Luna Mohsen Ahmad**

Supervision

Dr. Ramzi Murshed

**Assistant Prof. of Horticulture Department
Faculty of Agriculture
Damascus University**

Dr. Mouwafak Jbour

**Researcher, Administration of
Horticulture Research,
GCSAR**

1441/2020