جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية الزراعة
قسم وقاية النبات

عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لزراعة الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* وإمكانية مكافحتها

رسالة مقدمة الى مجلس كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية / وقاية النبات

من قبل
حنين محي سلمان الزيادي

بإشراف
أ.د. ياسر ناصر حسين الحميري

1444 هـ

2022 م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَلِيَعْلَمَ الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِن رَّبِّكَ فَيُؤْمِنُوا بِهِ
فَتُخْبِتَ لَهُ قُلُوبُهُمْ وَإِنَّ اللَّهَ لَهَادِ الَّذِينَ آمَنُوا إِلَىٰ
صِرَاطٍ مُّسْتَقِيمٍ ﴿ 54 ﴾

صَدَقَ اللَّهُ العَلِيُّ العَظِيمِ

سورة الحج اية 54

الاهداء

إلى سراج الامة المنير وأفضل المخلوقين البشير النذير رسولنا محمد (ص) وأل بيته الطيبين الطاهرين

الى من نافسا الغيث في العطايا وسبقا الحياة في السجايا الى من ابصرت بهما طريق حياتي واستمديت من قوتهما قوتي واعتزازي بذاتي (والداي)

الى من تحمل معي مشاق المسير ومشوار البحث الطويل، رفيق الدرب والعمر (زوجي الغالي حيدر)

الى اللذين اشدد بهم أزري ، من ساندني في تجاوز الازمات والعقبات (أخوتي واخواتي)

الى ثمرة فؤادي وقرة عيني ، (ابني ذو الفقار)

الى هؤلاء جميعاً أهدي رسالتي المتواضعة لهم ولكل يد وقدم سار معي درب الإنجاز لأكون

حنين محي سلمان

الشكر والتقدير

أحمد الله واشكره وافر الشكر الذي وفقني وبفضله تمكنت من إتمام هذا الرسالة

وأتقدم بالشكر لعمادة كلية الزراعة جامعة كربلاء متمثلة بالسيد العميد الدكتور ثامر كريم خضير الجنابي وجميع منتسبيها ، كما لايسعني اليوم إلا أن أتقدم بالشكر الجزيل والعرفان بالجميل إلى من كانت كلماته مصدر الهامي وتشجيعي لأكمال مسيرتي وكان لي خير عون بعد الله الاستاذ الدكتور (ياسر ناصر حسين) المشرف على الرسالة الذي منحني كثيراً من وقته ، وكان لرحابة صدره وسمو خلقه واسلوبه المميز في متابعة الرسالة الاثر الكبير في اتمام هذا العمل ، راجية من الله ان يمن عليه بالصحة والعافية والعمر المديد .

واتقدم بالشكر الجزيل لدكتور عقيل نزال بربر رئيس لجنة المناقشة والدكتور عبد الزهرة جبار علي والدكتورة درين صفوت جميل اعضاء لجنة المناقشة لتفضلهم قبول ومناقشة رسالتي ...كما لايفوتني أن أتقدم بخالص الشكر والامتنان إلى أساتذتنا الكرام كافة في قسم وقاية النبات لتشجيعهم ودعمهم لي طيلة فترة دراستي الاولية وحتى هذه اللحظة ... واخص بالشكر الدكتور (علي عبد الحسين) رئيس قسم الوقاية والدكتور (مشتاق طالب القريشي) والدكتور (عدنان عبد الجليل لهوف) ، كما اشكر الدكتور (زيد خليل) والاستاذ (ياسين صباح) لما بذلاه من جهد لمساعدتي في اجراء التحاليل المختبرية للعناصر الغذائية ،واتقدم بالشكر الجزيل لشعبة الدراسات العليا واخص بالشكر الدكتور (محمود ناصر حسين) ، كما أتقدم بالشكر والعرفان لمدير وكادر شركة الودق لزراعة الفطر الابيض لمساعدتهم في تسهيل مهمة العمل وتوفير المواد المطلوبة للزراعة ، ويطيب لي ان اتقدم بالشكر لزملائي وزميلاتي في الدراسات العليا لمساعدتهم لي خلال فترة البحث متمنية لهم الخير والموفقية ...

ختاماً اتقدم بالعرفان والشكر الجزيل الى جميع افراد عائلتي على مساندتهم لي طيلة فترة دراستي والى كل من ساعدني ولو بكلمة طيبة والله ولي التوفيق.

حنين محي سلمان

اقرار المشرف

أشهد بأن الرسالة الموسومة (عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لزراعة الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* وإمكانية مكافحتها) التي قدمتها الطالبة (حنين محي سلمان الزيادي) قد تم اعدادها بإشرافي في كلية الزراعة/ جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في العلوم الزراعية / وقاية النبات.

التوقيع :

الاسم : أ. د. ياسر ناصر حسين الحميري

المرتبة العلمية : استاذ

العنوان : جامعة كربلاء / كلية الزراعة

التاريخ : / 12 / 2022

توصية رئيس القسم

بناءًا على توصية الاستاذ المشرف ، ارشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :

الاسم : أ.م.د. علي عبد الحسين كريم

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

التاريخ : / / 2022

اقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الرسالة والموسومة (عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لزراعة الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* وإمكانية مكافحتها) وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدنا أنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية (وقاية النبات).

رئيس اللجنة

أ.د عقيل نزال بربر

كلية الزراعة / جامعة كربلاء

2022 /12/ 22

عضواً

أ.م.د. عبد الزهرة جبار علي

كلية الزراعة / جامعة كربلاء

/ / 2022

عضواً

أ.م.د. درين صفوت جميل

كلية علوم الهندسة الزراعية / جامعة بغداد

/ / 2022

عضواً (المشرف)

أ.د. ياسر ناصر حسين الحميري

كلية الزراعة / جامعة كربلاء

/ / 2022

صدقت الرسالة من قبل مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

أ.د. ثامر كريم خضير الجنابي

العميد / وكالة

المستخلص (Abstract)

أُجريت هذه الدراسة في مختبرات وقاعات تنمية قسم وقاية النبات لكلية الزراعة - جامعة كربلاء في الموسم الزراعي 2021-2022 بهدف التحري عن أهم الممرضات والمنافسات الفطرية المرافقة لاستزراع الفطر الغذائي الابيض *Agaricus bisporus* في العراق وتشخيصها جزيئياً ودراسة تأثيراتها على الانتاج وإمكانية المكافحة باستخدام بعض المستخلصات النباتية (القرنفل والكونوكاربس والكركم والدارسين واليوكالبتوس والحبة السوداء) والمبيدات الزراعية (المبيد الاحيائي Verox والمبيد الكيميائي Benomyl والمبيد النباتي Tondixer والمستحضر الحيوي Seabloom) . وأظهرت نتائج العزل والتشخيص للفطريات المرافقة لحالات الاصابة في تربية الفطر الغذائي *A. bisporus* والتي جُمعت من محطات مختلفة لتربية الفطريات اللحمية من خمسة محافظات وهي بغداد ،الديوانية ، اربيل ، كركوك ، المثنى وجود أنواع مختلفة تعود إلى الأجناس الفطرية *Aspergillus* spp. و *Fusarium* spp. و *Mucor* spp. و *Penicillium* spp و *Verticillium* spp. و *Rhizopus* spp. و *Alternaria* spp. و *Trichoderma* spp. بينت نتائج اختبار مقدرتها التضادية ضد نمو الفطر *A. bisporus* مختبريا على وسط Compost agar medium (CAM) وجود بعض الفروق المعنوية بين مقدرة العزلات الفطرية المختبرة من حيث تأثيرها على النسبة المئوية لنمو الفطر الغذائي اذ سجل الفطر *Trichoderma harzianum* المعزول من محافظة اربيل اعلى نسبة مئوية للتثبيط بلغت 75% وسجل كلا من الفطرين *Aspergillus flavus* المعزول من محافظة بغداد والفطر *Mucor circinelloides* المعزول من محافظة اربيل نسبة تثبيط بلغت 66.66% وسجل الفطرين *Aspergillus ochraceus* المعزول من محافظة الديوانية والفطر *Penicillium citrinum* المعزول من محافظة بغداد نسبة تثبيط بلغت 58.33% بينما سجل الفطر *Aspergillus terreus* نسبة تثبيط بلغت 50% .

لقد شُخصت العزلات الفطرية المعزولة مظهريا استنادا للصفات المجهرية وتم التشخيص الجزيئي لستة عزلات فطرية اظهرت مقدرة تضادية كبيرة عن طريق تحليل تسلسل قواعد الحامض النووي للمنطقة الجينية ITS ومن خلال تسلسل القواعد النتروجينية لهذه العزلات وجد انها مختلفة وراثياً عن العزلات الاخرى المشخصة في المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوي (NCBI) ولذا تم تسجيلها تحت ارقام الادخال ON738705.1 وON738706.1 وON738707.1 وON738708.1 وON738710.1 و ON925001 للعزلات (*Aspergillus flavus* و *Aspergillus ochraceus* و *Aspergillus terreus* و *Mucor circinelloides*

وPenicillium citrinum و Trichoderma harzianum) على التوالي ومقارنة كل عزلة بالعزلات المشخصة عالميا في بنك الجينات . وبينت التجارب المختبرية ان جميع المستخلصات النباتية المختبرة عملت على تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة والفطر الغذائي بنسبة مختلفة ، حيث تميز مستخلصي القرنفل والكونوكاربس باعلى نسبة للتثبيط ، اذ سجل مستخلص القرنفل نسبة تثبيط وصلت الى 71.5% ، ومستخلص الكونوكارس وصل الى 68.4% .

بينما اظهرت كفاءة المبيدات الزراعية في تثبيط نمو العزلات الفطرية الاكثر ضراوة ، اذ سجل المبيد الاحيائي Verox اعلى معدل تثبيط للعزلات الفطرية الممرضة بنسبة 78.7% ، في حين بينت توليفة المبيد Verox مع مستخلصي القرنفل والكونوكاربس أعلى معدل تثبيط بنسبة 77.9% مقارنة بمعاملة المقارنة 0.00% ،وسجلت نسبة تثبيط نمو الفطر الغذائي الابيض 38.1% مقارنة بمعاملة المقارنة 0.00% مختبريا .

اظهرت التجربة في قاعة التربية للتحري عن مدى تأثير المسببات المرضية (A.flavus -B1 و A.ochraceus-D1 و A.terreus-K1 و P.citrinum-B1 و T.harzianum-E1 و M.circinelloides-E1) على بعض معايير النمو للفطرالغذائي A. bisporus ، اذ سببت جميع المسببات المرضية المختبرة خفضاً معنوياً بعدد الاجسام الثمرية المتكونة ومعدل اوزانها وقطر القبعة وطول الساق ، وانعكس كذلك تاثير المسببات على المحتوى الغذائي للأجسام الثمرية من العناصر (النيتروجين و الفسفور والبوتاسيوم والصوديوم) والبروتين الكلي .

أظهرت العوامل المستخدمة (مستخلص نبات القرنفل و مستخلص نبات الكونوكاربس والمبيد الاحيائي Verox) والتوليفة فيما بينها كفاءة فاعلة في تثبيط تأثير المسببات المرضية وزيادة بعض معايير النمو للفطر الغذائي A. bisporus ، إذ اظهرت النتائج تفوق معاملة التوليفة بين المبيد الاحيائي Verox مع مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الفطريات المرضية ، إذ سجلت أعلى معدل في عدد الاجسام الثمرية بلغ 505 و 515 و 540 و 435 و 500 و 405 جسماً / م^2 للفطريات (A.flavus-B1 و A.ochraceus-D1 و A.terreus-K1 و P.citrinum-B1 و T.harzianum-E1 و M.circinelloides-E1) قياساً بمعاملة المقارنة والتي اعطت (195 و 170 و 240 و 140 و 125 و 180) جسماً / م^2 على التوالي للفطريات الانفه الذكر، في حين كانت عدد الأجسام الثمرية في معاملة السيطرة 580 جسماً / م^2 و تلتها معاملة المستخلص النباتي للقرنفل بمعدل (350 و355 و410 و285 و330 و290) جسما / م^2 ، ثم معاملة المستخلص النباتي الكونوكارس بمعدل (385 و360 و350 و330 و235 و295)

جسماً/ م^2 واخيراً المعاملة بالمبيد الحيوي Verox بمعدل (310 و 315 و355 و340 و240 و255) جسماً ثمريا / م^2 على التوالي .

اثبت النتائج نفسها على كمية الحاصل ، فقد اظهرت النتائج تفوق معاملة التوليفة بين المبيد الاحيائي verox مع مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في زيادة كمية الحاصل النهائي ، إذ سجلت أعلى معدل (19.894 و 20.289 و21.603 و16.398 و19.118 و17.07) كغم/م^2 مقارنة بمعدل معاملة المسبب المرضي (*A.flavus-B1* ، *A.ochraceus-D1* ، *A.terreus-K1* ، *P.citrinum-B1* ، *T.harzianum-E1* ، *M.circinelloides-E1*) التي اعطت معدل(4.933 و4.364 و6.495 و3.343 و2.603 و4.741) كغم/م^2 في حين كانت كمية الحاصل النهائي في معاملة السيطرة 23.376 كغم/م^2، وتلتها معاملة المستخلص النباتي للقرنفل بمعدل (11.414 و11.395 و13.655 و9.194 و11.389و9.775) كغم/م^2 ، ثم معاملة المستخلص النباتي للكونوكارس بمعدل (13.951 و 12.546 و12.011 و 11.283 و 7.264 و 10.136) كغم /م^2 واخيراً المعاملة بالمبيد الحيوي Verox بمعدل (11.105 و 11.453 و12.264 و 11.606 و 8.029 و8.576) كغم/م^2 على التوالي.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
1	**المقدمة (Introduction)**	1
2 -	**مراجعة المصادر (Litreature Review)**	4
1-2	الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* تصنيفه وصفاته التصنيفية	4
2-2	دورة حياة الفطر *Agaricus bisporus*	6
3-2	الأهمية الاقتصادية للفطر الغذائي *Agaricus bisporus*	6
4-2	الأهمية الغذائية والطبية للفطر الغذائي	8
5-2	الأوساط الزرعية المستعملة في زراعة الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*	9
6-2	الظروف البيئية الملائمة لنمو وتكاثر الفطر الغذائي	10
1-6-2	درجة الحرارة	10
2-6-2	الاضاءة	11
3-6-2	التهوية	11
4-6-2	الرطوبة	12
5-6-2	درجة الاس الهيدروجيني (pH) للوسط الزراعي	12
6-6-2	الأمونيا	13
7-2	مراحل تجهيز وتحضير الوسط الزراعي وانتاج الفطر الغذائي الأبيض	13
1-7-2	تجهيز الوسط الزرعي (التخمير)	13
1-1-7-2	تحضير الوسط الزرعي (المرحلة الاولى)	14
2-1-7-2	بسترة الوسط الزرعي (المرحلة الثانية)	15
2-7-2	تحضير المزرعة الام	15
3-7-2	أنتاج اللقاح الفطري (البذار) Spawn	16
4-7-2	تلقيح الوسط الزرعي	17
5-7-2	التغطية Casing	18
8-2	الأمراض التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض	19
1-8-2	أهم الأمراض الفطرية التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض	19
1-1-8-2	مرض العفن الاخضر Green mould	19

1-1-1-8-2	الفطر *Trichoderma harzianum*	20
2-1-8-2	الاعفان التي تحدثها منافسات الفطر الغذائي الأبيض	21
1-2-1-8-2	الفطر *Aspergillus* spp.	22
2-2-1-8-2	الفطر *Penicilllium citirnium*	22
3-2-1-8-2	الفطر *Mucor circinelloides*	23
9-2	أهم مجالات وطرق مكافحة الأمراض التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض	24
1-9-2	المكافحة الكيميائية	24
2-9-2	المكافحة الاحيائية	25
1-2-9-2	المبيد الاحيائي Verox	26
3-9-2	المكافحة باستخدام المستخلصات النباتية	27
1-3-9-2	نبات القرنفل Clove	28
2-3-9-2	نبات الكونو كاربس	29
10-2	التشخيص المظهري والجزيئي لمسببات امراض الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus*	29
-3	**المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)**	31
1-3	الأجهزة والادوات والمواد المستخدمة في أجراء التجارب	31
2-3	تحضير الأوساط الزرعية المستخدمة في عزل وتشخيص وتنمية الفطريات	34
1-2-3	وسط البطاطا سكروز اجار Potato Sucrose Agar (P.S.A)	34
2-2-3	وسط البطاطا دكستروز آكار الجاهز Potato Dextrose Agar .P.D.A	34
3-2-3	وسط البطاطا سكروز السائل Potato Sucrose Broth (P.S.B.)	35
4-2-3	وسط الرز	35
5-2-3	وسط الكمبوست اكارCompost Agar Medium (CAM)	35
3-3	جمع العينات (جمع عينات الفطر الغذائي الأبيض المصابة)	36
4-3	العزل والتشخيص	37
1-4-3	عزل وتشخيص الفطريات الممرضة والمنافسة من تربة التغطية لوسط زراعة الفطر الغذائي	37
2-4-3	عزل وتشخيص الفطريات الممرضة والمنافسة المرافقة للاجسام الثمرية للفطر الغذائي المصاب	37
5-3	تنقية وتشخيص الفطريات المعزولة وحفظها	38
1-5-3	تنقية وتشخيص الفطريات المعزولة	38

2-5-3	حفظ العزلات الفطرية المعزولة	39
6-3	التشخيص الجزيئي Molecular identification	39
7-3	تحضير المستخلص النباتي المائي الحار لبعض النباتات	42
8-3	تحضير اللقاح الفطري لكل العزلات الفطرية المحددة على وسط الرز	43
9-3	اختبار المقدرة التضادية (الأمراضية) للعزلات الفطرية المعزولة ضد للفطر *Agaricus bisporus* على وسط (CAM)	43
10-3	تقييم كفاءة عدد من المستخلصات النباتية والمبيدات الكيميائية ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* والعزلات الفطرية الممرضة مختبريا	44
1-10-3	اختبار تأثير عدد من المستخلصات النباتية ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* والعزلات الفطرية الممرضة له	44
2-10-3	اختبار كفاءة بعض المبيدات ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض والعزلات الممرضة له	44
3-10-3	اختبار تأثير التداخل بين المستخلص النباتي القرنفل والكونو كاربس والمبيد الاحيائي VEROX ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض والعزلات الفطرية الممرضة له	45
11-3	تقييم كفاءة المبيد الاحيائيVEROX والمستخلص النباتي للقرنفل والكونو كاربس في تثبيط الفطريات الممرضة ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض في قاعات التنمية	46
1-11-3	تجهيز المزرعة الام للفطر الغذائي الأبيض	46
2-11-3	تحضير اللقاح الفطري (البذار Spawn) على حبوب الحنطة	46
3-11-3	تلقيح (الكمبوست) وسط تنمية الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus*	47
4-11-3	قياس كمية الحاصل وبعض الصفات الانتاجية	47
5-11-3	قياس محتوى الاجسام الثمرية للفطر *Agaricus bisporus* من النتروجين والفسفور والبوتاسيوم والبروتين	49
1-5-11-3	هضم العينات	49
2-5-11-3	قياس محتوى النتروجين والبروتين في الاجسام الثمرية الجافة	49
3-5-11-3	قياس محتوى الفسفور في الاجسام الثمرية الجافة	50
4-5-11-3	قياس محتوى البوتاسيوم والصوديوم في الاجسام الثمرية الجافة	51
12-3	التصاميم الإحصائية للتجارب المختبرية والحقلية	51
-4	**النتائج والمناقشة (Results and Discussion)**	52
1-4	عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لتربية الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*	52
2-4	الوصف المظهري لمستعمرات العزلات الفطرية المعزولة من مزارع	54

	انتاج الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus*	
3-4	اختبار المقدرة التضادية للعزلات الفطرية المعزولة ضد نمو الفطر *Agaricus bisporus*	56
4-4	تحليل التتابع النيوكليتيدي لعزلات الفطريات الممرضة للفطر الغذائي *Agaricus bisporus*	58
1-4-4	تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Aspergillus flavus* Y.N. 150 Haneen ومقارنة نسب التشابه تسلسلات القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر	59
2-4-4	تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Aspergillus ochraceus* Y.N. 151 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية العالمية لنفس الفطر	60
3-4-4	تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Aspergillus terreus* Y.N. 152 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر	62
4-4-4	تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Mucor circinelloides* Y.N. 154 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر	63
5-4-4	تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *pincillium citrinum* Y.N. 155 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر	65
6-4-4	تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Trichoderma harzianum* Y.N. 156 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر	66
5-4	تقييم كفاءة المستخلصات النباتية والمبيدات الاحيائية في تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*	68
1-5-4	تقييم كفاءة المستخلصات النباتية في العزلات الفطرية الممرضة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* مختبريا	68
2-5-4	تقييم كفاءة المبيدات في تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* مختبريا	71
3-5-4	تقييم كفاءة التوليفة بين المبيدات وبعض المستخلصات النباتية في تثبيط نموالفطريات الممرضة المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* مختبريا	73
6-4	دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير العزلات الفطرية الممرضة على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض*A. Bisporus*	76
1-6-4	دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير الفطر الممرض *T.harzianum-E1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض*A. bisporus*	76
1-1-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum-E1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر*A. bisporus*	76

2-1-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum-E1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*	77
3-1-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*	78
4-1-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*	79
5-1-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	80
2-6-4	دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير الفطر الممرض *A.flavus-B1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*	81
1-2-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *A.flavus-B1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*	81
2-2-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *A.flavus-B1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*	82
3-2-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.flavus-B1* في قطر القبعة وطول الساق *للفطر A. bisporus*	83
4-2-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.flavus-B1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*	84
5-2-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.flavus-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الزراعي *A. bisporus*	85
3-6-4	دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير الفطر الممرض *A.ochraceus-D1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*	86
1-3-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *A.ochraceus-D1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*	86
2-3-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *A. bisporus* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A.ochraceus-D1*	87
3-3-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*	88
4-3-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*	89
5-3-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	90
4-6-4	دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير الفطر الممرض *A.terreus-K1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الزراعي الأبيض *A. bisporus*	91
1-4-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *A.terreus-K1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*	91

2-4-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *A.terreus-K1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*	92
3-4-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*	93
4-4-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*	94
5-4-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	95
5-6-4	دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير الفطر الممرض *P.citrinum-B1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*	96
1-5-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *P.citrinum-B1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*	96
2-5-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *P.citrinum-B1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*	97
3-5-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*	98
4-5-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*	99
5-5-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	100
6-6-4	دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير الفطر الممرض *M.circinelloides-E1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*	101
1-6-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides-E1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*	101
2-6-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides-E1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*	102
3-6-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*	103
4-6-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*	104
5-6-6-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	105
7-4	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطريات الممرضة في النسبة المئوية الكفاءة الحيوية للفطر *A. bisporus*	106
-5	**الاستنتاجات والتوصيات**	110
1-5	الاستنتاجات	110

2-5	التوصيات	111
-6	المصادر	112
1-6	المصادر العربية	112
2-6	المصادر الاجنبية	115
-7	**الملاحق**	141

قائمة الجداول

رقم الجدول	الموضوع	رقم الصفحة
1	الأجهزة والادوات المستخدمة في أجراء التجارب الواردة في البحث	31
2	المواد الكيميائية المستعملة في إجراء التجارب الواردة في هذه الدراسة	32
3	الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة	33
4	رمز العينات ومكان وتأريخ جمعها وانواعها	36
5	البوادئ المستخدمة في تقنية (Polymerase chain reaction (PCR	41
6	يوضح العزلات الفطرية المرافقة لتربية الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*	53
7	المقدرة التضادية للعزلات الفطرية المعزولة ضد نمو الفطر *Agaricus bisporus*	57
8	التشخيص الجزيئي لعزلات الفطريات الممرضة للفطر الغذائي *Agaricus bisporus* باستخدام تحليل تسلسل القواعد النتروجينية و Accession Number لها	58
9	مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *A. flavus* Y.N. 150 Haneen المعزولة من محافظة بغداد وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI)	59
10	مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *A. ochraceus* Y.N. 151 Haneen المعزولة من محافظة الديوانية وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI)	61
11	مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *A. terreus* Y.N. 152 Haneen المعزولة من محافظة كركوك وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI)	62
12	مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *Mucor circinelloides* Y.N. 154 Haneen المعزولة من محافظة اربيل وبين العزلات الفطرية الاخرى لنفس الفطر المسجلة	64

	عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI)	
13	مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *Pencillium citrinum* Y.N. 155 Haneen المعزولة من محافظة بغداد وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI)	65
14	مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *T. harzianum* Y.N. 156 Haneen المعزولة من محافظة اربيل وبين العزلات الفطرية الاخرى لنفس الفطر المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI)	67
15	تقييم كفاءة المستخلصات النباتية في تثبيط نموالفطريات الممرضة% المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA)	69
16	تقييم كفاءة المبيدات في تثبيط نموالفطريات الممرضة % المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA)	72
17	تقييم كفاءة التوليفة بين المبيدات وبعض المستخلصات النباتية في تثبيط نموالفطريات الممرضة % المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus*	75
18	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum*-E1 في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م2)	77
19	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum*-E1 في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم/جسم ثمري)	78
20	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum*-E1 في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم)	79
21	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum*-E1 على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م2)	80
22	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	81
23	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.flavus-B1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A.bisporus* (جسم ثمري/م2)	82
24	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.flavus-B1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم / جسم ثمري)	83
25	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.flavus-B1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم)	84

26	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.flavus*-B1 على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2)	85
27	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.flavus-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A.bisporus*	86
28	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.ochraceus*-D1 في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2)	87
29	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.ochraceus*-D1 في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم / جسم ثمري)	88
30	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus*-D1 في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم)	89
31	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus*-D1 على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2)	90
32	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus*-D1 على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	91
33	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.terreus*-K1 في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2)	92
34	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.terreus*-K1 في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم / جسم ثمري)	93
35	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم)	94
36	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus*-K1 على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2)	95
37	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* على المحتوى الغذائي للفطر الزراعي *A. bisporus*	96
38	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *P.citrinum-B1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2)	97
39	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر	98

	P.citrinum-B1 في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم / جسم ثمري)	
40	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*(ملم)	99
41	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2)	100
42	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	101
43	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides-E1* في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2)	102
44	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides*-E1 في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم/جسم ثمري)	103
45	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم)	104
46	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides*-E1 على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2)	105
47	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides*-E1 على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*	106
48	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطريات الممرضة في النسبة المئوية للكفاءة الحيوية لانتاج الفطر *A. bisporus*	107

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	يوضح مكونات وتركيب الجسم الثمري للفطر الأبيض *A. bisporus*	5
2	تجهيز غرفة الاستزراع ومراحل تربية الفطر الغذائي	48
3	نماذج من الوصف المظهري لمستعمرات العزلات الفطرية المعزولة من مزارع انتاج الفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*	55

4	المقدرة التضادية للعزلات الفطرية المعزولة ضد نمو الفطر *A. bisporus*	57
5	شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *A. flavus* Y.N.150 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *A. flavus* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI).	60
6	شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *A. ochraceus* Y.N.151 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *A. ochraceus* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI)	61
7	شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *A. terreus* Y.N.152 Haneen(المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *A. terreus* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI)	63
8	شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *M. circinelloides* Y.N. 154 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *M. circinelloides* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI)	64
9	شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *P. citrinum* Y.N. 155 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *P. citrinum* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI)	66
10	شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *T.harzianum* Y.N. 156 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *T.harzianum* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI)	67
11	نماذج في تقييم كفاءة المستخلصات النباتية في تثبيط نموالفطريات الممرضة المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA)	70
12	تقييم كفاءة المبيد الاحيائي (VEROX) في تثبيط نموالفطريات الممرضة المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA)	73
13	كفاءة التوليفة بين المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط نموالفطريات الممرضة المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus*	76
14	جوانب مختلفة من تاثيرات الممرضات وعوامل المكافحة في تجربة قاعات التنمية	109

1: المقدمة (Introduction)

تعد الفطريات الصالحة للأكل من الفطريات اللحمية المرغوبة منذ اكثر من 2000 عام نظرا لقيمتها الغذائية العالية ومذاقها الجيد (Chechan،2020)، اذ تنمو على العديد من الاوساط الزراعية ، وتنتج كميات عالية من المواد الغذائية عالية الجودة حيث توفر نظاماً غذائياً عالي البروتين وقيمة منخفضة من السعرات الحرارية كما أنها تحتوي على جميع الاحماض الأمينية التي يحتاجها الجسم (Nongthombam واخرون ، 2021). يعد الفطر*Agaricus bisporus* من بين اكثر الفطريات الصالحة للاكل استهلاكاً في العالم بما يمتاز به من قيمة غذائية وطبية عاليتين (Thakur واخرون ،2020) ، من الناحية الطبية فأن هذا الفطر يعمل على تحفيز الجهاز المناعي ومضاد للأورام والسرطان ويعالج تأثيرات نقص السكر في الدم ونقص الكولسترول فضلاً عن كونه صديق للبيئة (Shi واخرون ،2020) ، ومن الناحية الغذائية فهو يحتوي على العديد من المواد الحيوية مثل البروتينات والدهون والكاربوهيدرات والألياف علاوة على ذلك فأنه غني بالفيتامينات كذلك يحتوي على العناصر المعدنية مثل الحديد والمنغنير والمغنيسيوم والكالسيوم بالإضافة الى النحاس والزنك والصوديوم (Nadir واخرون ، 2020). يستخدم السماد المستهلك (الكمبوست) بعد انتاج الفطر بشكل واسع في مكافحة الفطريات الممرضة للنبات حيث تلعب الكائنات الحية الدقيقة التي تعيش في هذا السماد دوراً حاسماً في تعزيز نمو النبات ونشاط المكافحة البيولوجي (Al-Mamari واخرون ، 2020).

تمت ممارسة أول زراعة تجارية للفطر الصالح للأكل في فرنسا في القرن الثامن عشر وفي الوقت الحاضر يُعد أكثرأنواع الفطريات المزروعة شيوعا ، إذ يتم انتاجها في أكثر من 70 دولة حول العالم (Aydoğdu و اخرون ، 2020) ، يُقدر الانتاج العالمي السنوي للفطر الصالح للأكل بحوالي 42 مليار دولار (Kosanovic واخرون ، 2020) .

في العراق قد بدأت اولى محاولات زراعة الفطر الابيض *A.bisporus* عام 1976 في محطة الزعفرانية وفي بداية الثمانينات انشأت مزرعة الحميدية في محافظة الانبار ثم تم انشاء مشروع ريادي للبحوث الزراعية في دائرة البحوث الزراعية عام 1995 انجز خلاله عدد من الابحاث التي تخص انواع من الفطريات الغذائية وفي عام 2007 تم انشاء مزرعة في كلية الزراعة جامعة تكريت انجزت عدد من البحوث ثم تم تطويرها في عام 2010 الى مشروع يعمل بأحدث التقانات العالمية لانتاج الفطر (حسن واخرون 2002 و حسن ، 2009 و حسن ، 2013) .

يتعرض الفطر الغذائي لعدد من الأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية والتي تؤثر على قيمته الغذائية والإنتاجية (Amin واخرون 2021). وتعد الامراض الفطرية من أخطر المشاكل التي تصيب محاصيل الفطر الغذائي حيث يمكن ان تؤدي الى خسائر فادحة في المحاصيل خاصة اذا كانت معايير النظافة اثناء الزراعة ليست عالية قد تنشا العدوى من التربة الملوثة (Lakkireddy و اخرون 2020). وتقسم الممرضات التي تصيب الفطر الغذائي الى ممرضات تهاجم وتتطفل على الابواغ والخيوط الفطرية للفطر الزراعي وممرضات منافسة للفطر الغذائي على الغذاء (Sharma و Chauhan ، 2002) .

سجل في العراق لأول مرة في عدة مزارع لزراعة الفطر اربعة امراض فطرية ثلاثة منها تهاجم الاجسام الثمرية وتسبب خسائر مباشر في الحاصل وهي مرض الفقاعة الرطبة المتسبب عن *Mycogone perniciosa* ومرض التبقع الفيرتسلي المتسبب عن *Verticillium fungicola* ومرض نسيج العنكبوت المتسبب عن *Dactylium dendroides* ، ورابع هذه الامراض هو التعفن الاخضر الذي يهاجم غزول الفطر الغذائي ويسبب خسائر غير مباشرة في حاصله (حسن ،2013). إذ يحدث المرض بواسطة عدد من المسببات المرضية أهمها أنواع مختلفة من الفطر *Trichoderma* (Chandhrapati وآخرون ، 2021) ، ومسببات مرضية تعتبر منافسات للفطر الغذائي وهي *Aspergillus* spp. و*pincillium* spp. و*Cladosporium* sp. حيث تسبب اعفان خضراء تعرف بالاعفان الدخانية (حسن ،2013)، تكون هذه المسببات قادرة على اصابة الفطر في مرحلة البذار فضلاً عن إصابة الوسط الزراعي (الكمبوست) وتربة التغطية ولوحظت على الخيوط الفطرية والاجسام الثمرية وبقايا السيقان بعد الحصاد (Jassim و Hasan 2016 و Aydoğdu0 وآخرون 2021) .

أجُريت عدة دراسات لمكافحة الامراض التي تصيب الفطر الغذائي وبوسائل شتى اذ استخدمت المبيدات الفطرية الكيميائية في المكافحة والذي أدى الاستخدام المتكرر للمبيد نفسه ولفترات طويلة إلى ظهور سلالات مقاومة للمادة الفعالة في المبيدات (Gea واخرون 2021).

وهناك اهتمام متزايد من قبل الباحثين في استعمال النباتات الطبية ومستخلصاتها والتعرف على النواتج الفعالة لهذه النباتات لمكافحة المسببات المرضية حلا للمشاكل الناجمة من الاستعمال المتكرر للمبيدات (Rai وcarpinella، 2006). وجد أن عدداً من المستخلصات النباتية هي بالواقع فعالة إحيائياً ضد عدد من الفطريات والبكتريا ولذلك استخدمت النواتج الطبيعية في النباتات

في أكثر من طريقة للسيطرة على ألامراض الفطرية التي تصيب الفطر الغذائي الابيض (Gea وآخرون، 2021). وتمنع بعض الزيوت إنبات العوامل الممرضة التي تصيب الفطر الغذائي حيث استخدمت مستخلصات القرفة والقرنفل والزعتر وأعطت نتائج وفعالية عالية في تثبيط والسيطرة على امراض الفطر الغذائي مثل مرض الفقاعات الجافة وغيره من الامراض (Jatav وآخرون ، 2014).

نتيجة لكثرة الأمراض التي يتعرض لها الفطر الغذائي وما لها من تأثير كبير على جودة الفطر وإنتاجيته وأيضاً التأثير الملحوظ جراء استخدام مبيدات الفطريات المختلفة وأنماط عملها هدفت الدراسة الى اجراء مسح ميداني عن أهم الممرضات الفطرية المرافقة لاستزراع الفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus* في العراق ، وتشخيصها جزيئيا ودراسة تأثيراتها على الانتاج وإمكانية مكافحتها بأستعمال بعض المستخلصات النباتية والمبيدات الزراعية الامنة .

محاور الدراسة

1- المسح الميداني لاهم الحالات المرضية الفطرية المرافقة لاستزراع الفطر الابيض *A. bisporus* وجمع العينات التي ظهرت عليها اعراض مرضية متميزة وعزل اهم العزلات الفطرية المسببة لهذه الحالات المرضية و تنقية هذه العزلات و اجراء التشخيص الاولي لهذه العزلات استنادا الى الصفات المظهرية .

2- اختبار المقدرة الامراضية لجميع هذه العزلات الفطرية ضد نمو الفطر *A. bisporus* وتحديد عدد من العزلات ذات التأثير الشديد في نمو واستزراع .

3- تنمية العزلات والتي اظهرت قدرة امراضية عالية ضد الفطر *A. bisporus* اختبار تأثير عدد من المستخلصات النباتية والمبيدات ضد نمو الفطرالغذائي الابيض والعزلات الفطرية الاخرى الممرضة له وتحديد المستخلصات النباتية المؤثرة على العزلات الفطرية فقط والتي لم تظهر تأثير واضح ضد نموالفطر *A. bisporus* .

4- التشخيص الجزئي لاهم العزلات الفطرية الممرضة للفطر *A. bisporus* بطريقة الكشف عن تتابع القواعد النتروجينية باستعمال برنامج . BLAST مع امكانية دراسة الشجرة الوراثية لها بأستخدام برنامج MAGA x .

2- مراجعة المصادر (Litreature Review)

2-1: الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* تصنيفه وصفاته التصنيفية

الأسم العلمي هو *A. bisporus* سجل أول ظهور للفطر في كتاب The book of rites حوالي 300 سنة (قبل الميلاد) والذي تضمن مجموعة فطريات من ضمنها الفطر *Agaricus* ، وكانت الصين أول دولة استخدمت الفطريات اللحمية كغذاء حيث سبقت الرومان بـ 4000 عام (Wang ، 1987 والحبيب ،1995) وكان يسمى قديما بالاسم *Agaricus brunnescens* الذي اطلق لاحقا على السلالات البنية اللون وتم تحديد اسمه العلمي الحالي (Stamets وChilton ،1983 وHalpern،2006) ويكون التدرج التصنيفي للفطر استنادا للمصادر الحديثة في المركز الدولي لبنك الفطريات (www.mycobank.org) .

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Subphylum: Agaricomycotina

Class: Agaricomycetes

Subclass: Agaricomycetidae

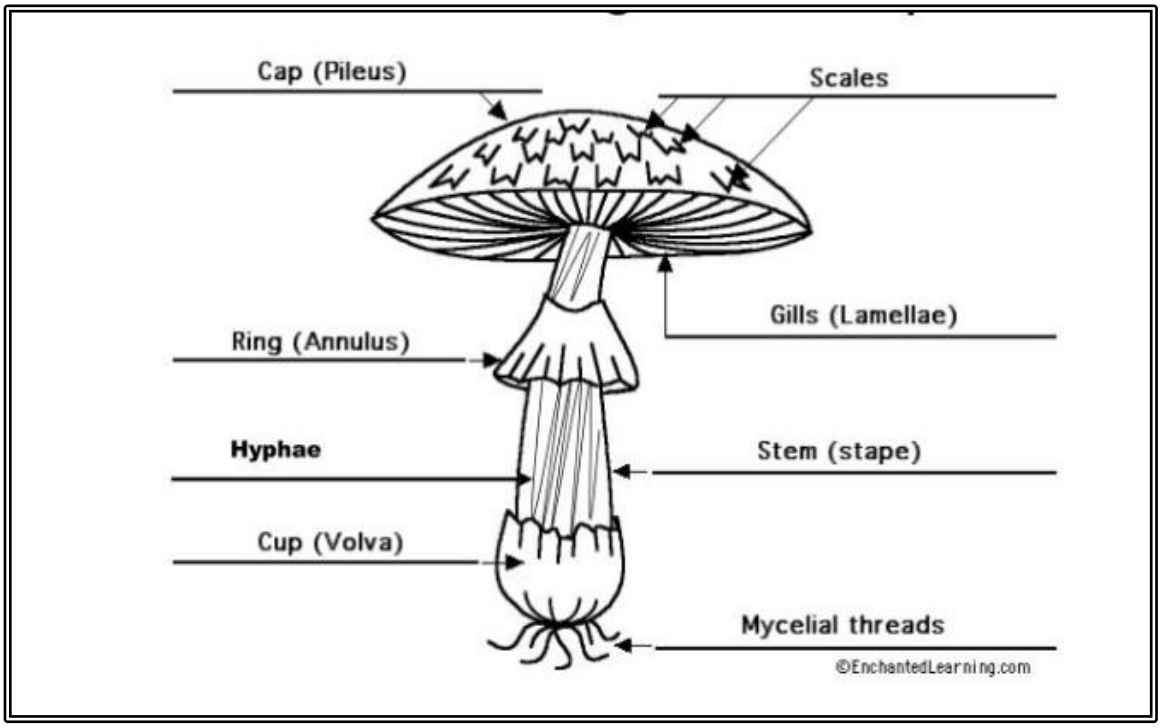
Order: Agaricales

Family: Agaricaceae

Genus:*Agaricus*

يضم الجنس *Agaricus* spp أكثر من 500 نوع حول العالم منها *A.bitorquis* و*A.bisporus* و *A.campestris* و *A.benesii* (Callac وChen ،2018 و He واخرون ، 2017 و He وآخرون ، 2018) ، فان الفطر *A.bisporus* ينتمي إلى مجموعة الفطريات الصالحة للاكل من الفطريات اللحمية (Chang و Miles ، 2004 و Cheung ،2008) يتميز بأنه يكون اجسام ثمرية شحمية طرية ذات قبعة بيضاء اللون وخياشم رقيقة مزدحمة تكون في البداية ذات لون وردي ثم بني محمر وأخيراً بني غامق (السهيلي وآخرون ، 1993) تحتوي عند النضج على ملايين من الأبواغ المحمولة على سطح الحامل البازيدي والتي تسمى بالأبواغ البازيدية (الزيدي وآخرون ،1987). تكون الأبواغ بيضوية الشكل قياسها حوالي 4.5*7.5 ميكرون بنفسجية

اللون عند تفتح القبعة (الشكري ،1991 و callac وآخرون ، 2000) . الفطر *A.bisporus* ثنائي الأبواغ لان الحامل البازيدي يحمل زوج من الأبواغ فقط على خلاف بقية الانواع التابعة لجنس *Agaricus* والتي تحمل زوجين من الأبواغ على حاملها البازيدي (Stamets و Chilton ،1983) ، ويعد من الفطريات البازيدية متماثلة الثالوس Homothalic حيث ان الغزل الفطري النامي من بوغ واحد قادر على انتاج اجسام ثمرية (Webster و Weber، 2007) يتكون الجسم الثمري في الفطريات الصالحة للأكل من ساق Stem ينتهي بقبعة Cap تحتوي على صفائح خيشومية Gills (الغلاصم) ومع وجود حلقة Ring على الساق بدون طوق مع وجود القاعدة (اللفافة) Volva (Chang وMiles ، 2004) كما في الشكل (1)



شكل 1: مكونات وتركيب الجسم الثمري للفطر الأبيض *A. bisporus*

2-2 : دورة حياة الفطر *Agaricus bisporus*

يمتلك هذا الفطر نوعين من دورة الحياة تسمى Amphithallic life cycle ، إذ يتميز عن الفطريات البازيدية الأخرى بأن دورة حياته الجنسية تنتهي بتكون أجسام ثمرية ناتجة من نوعين من الأبواغ : الأول أبواغ ثنائية النوى (Dikaryotic) والتي تمثل النسبة الاكبر حيث تبلغ اكثر من 95% وتكون خصبة ذاتيا ، وذلك لأنها متباينة النوى Heterokaryotics فهي تعطي مباشرة خيوط فطرية ثانوية Secoundary Mycelium بعد انباتها دون الحاجة إلى التزأوج مع خيط فطري آخر متوافق معها وراثياً ليكمل دورة الحياة وفي هذه الحالة تسمى دورة الحياة (Psedohomothalic). أما النوع الثاني فهي أبواغ احادية النوى (Monokaryons) والتي تمثل النسبة القليلة التي لاتتجأوز 5% والتي تكون محمولة على تراكيب تسمى Basidium وهذه الأبواغ تكون عقيمة ذاتياً غير خصبة عند أنباتها تكون خيوط فطرية أولية Primary Mycelium ، ولاكمال دورة الحياة يحتاج إلى خيط فطري اخر متوافق معه جنسيا واحادي النواه يتحد معه ليعطي خيط فطري ثانوي وتسمى دورة الحياة في هذه الحالة Heterothallic (Raper وآخرون 1972 و Sonnenberg و VanGriensven ،2000 و Couture وآخرون ،2004 و Gao واخرون ،2014)، وهناك سلالات تكون دورة حياتها من نوع Heterothallic بالرغم من ان أبواغها أحادية النواة Homokaryotic أي تكون أربعة أبواغ احادية النواة محمولة على الحامل البازيدي مثل السلالة *Agaricus bisporus var.burnettii* تتميز بأن أبواغها خصبة ذاتياً قادرة على أنتاج أجسام ثمرية دون الحاجة إلى التزأوج مع خيوط فطرية أخرى . اكتشفت هذه السلالة في الفطريات اللحمية البرية في أوربا (Callac وآخرون 1993و Kerrigan وآخرون 1994 وCallac وآخرون ، 2003 و Kamzolkin واخرون ، 2006 و القيسي،2015).

3-2 : الاهمية الاقتصادية للفطر الغذائي *Agaricus bisporus*

يتم زراعة الفطر الغذائي حالياً في أكثر من 150 دولة حول العالم خاصة في أوروبا وأمريكا الشمالية ودول جنوب شرق آسيا ، وتعد الصين أكبر منتج ومستهلك في العالم اذ بلغ الأنتاج الاجمالي العالمي لعام 1978 من الفطريات الصالحة للأكل 1.06

مليون طن ، في حين بلغ إنتاج الفطريات الصالحة للأكل في الصين حوالي 60 ألف طن لنفس العام ، بينما اصبح انتاجها حوالي 14 مليون طن في عام 2006 وهو ما يمثل أكثر من 70٪ من الإنتاج العالمي (FAO، 2016). وتقدر قيمة هذا الإنتاج العالمي للفطر الصالح للاكل بحوالي 42 مليار دولار سنوياً (Prescott وآخرون 2018). إنّ زراعة الفطر الأبيض عبارة عن عملية استخدام المخلفات الحيوانية والنباتية والصناعية بتحويلها إلى مواد ذات قيمة عالية إذ إنّ هذا النوع من الزراعة يخدم البيئة من خلال استهلاك كميات كبيرة والمخلفات من الأسطبلات وفضلات الدواجن والأراضي العشبية والقش مثل القمح والشعير والشوفان والأرز وبقايا السيقان وأوراق الذرة الصفراء وأوراق الموز وأوراق الاناناس وتفل قصب السكر وكثير من المواد الحيوية الزراعية الأخرى (Abrhaman وآخرون ، 2021). نظراً لقدرة الفطر الغذائي على تحويل المواد المتحللة جزئياً إلى طعام يتم تحليل مخلفات النبات واستخدامها لإنتاج فطريات صالحة للأكل حيث تم التوسط من خلال آلية تسمى التحلل الذاتي للمخلفات باستخدام الكائنات الحية الدقيقة وتعد الفطريات الصالحة للاكل مثل الفطر *A.bisporus* والفطر المحاري *Pleurotus ostreatus* القابلية للنمو على هذه الأوساط الغذائية (Horisawa وآخرون ، 2006 وOwaid وآخرون ، 2017). كذلك فإن الفطر الغذائي الأبيض يسهم في تنظيف البيئة من خلال امتصاص العناصر الثقيلة والعناصر المشعة الناتجة عن التفاعلات النووية أو نتيجة استخدام الاسلحة النووية مثل الكادميوم والزئبق (Kalač ، 2013) .

كما إنّ مخلفات زراعة الفطر تحتوي على مواد عضوية تصل إلى 71% ومجموعة متنوعة من العناصر الغذائية والأحياء الدقيقة التي تسرع عملية التحلل وتجهيز المغذيات ، فضلاً عن أن الرقم الهيدروجيني لهذه المخلفات يتراوح بين 6-8 وهو مناسب لنمو معظم النباتات (ابراهيم ،2016) . ويمكن اضافة هذه المخلفات إلى الترب الطينية لتقليل تآكل سطح التربة وتعزيز صرف الماء وزيادة النشاط الجرثومي وتوفير العناصر الغذائية (Rosmiza وآخرون ، 2019).

إنّ الفطر الغذائي له أثر حقيقي في تجزئة اللكنين الذي له اهمية تجارية على مستوى العالم والذي يستعمل كمواد اساسية في التخمر(، 2002) حيث يتم تحليل اللكنين بواسطة انزيمات البيروكسيدز التي تتنشط في مرحلة تكون الدبابيس وتقل في مرحلة النضج (Bonnen وآخرون ، 1994 وHofrichter ، 2002 و Lankinen واخرون

2005**).** وايضا يعتبر الفطر مصدر للانزيمات المسؤولة عن اكسدة المركبات الفينولية منها انزيم Laccase والذي ينتج بكميات قليلة يتم زيادتها بالطرق الصناعية (Flores وآخرون ، 2009 و Othman وآخرون 2018) وزراعة الفطر تعد من المشاريع الانتاجية الناجحة إذ يمكن انتاج 20-25 كغم من الفطر في المتر المربع الواحد وهذه الكمية من الانتاج توفر دخل مناسب للمزارعين والمستثمرين ومن ثم فأنه يعد احد مصادر الدخل القومي لبعض الدول (رضوان، 2002 و Savoie و Mata ،2016). ولزيادة طلب المستهلكين في محلات السوبر ماركت وإنشاء مراكز الدراسة والإرشاد لعلماء الفطريات وظهور مختبرات التلقيح وتبادل المعلومات والمواد مع الشركات المؤهلة في الخارج (سواء من حيث المساعدة الفنية أو فيما يتعلق بالاستيراد من السلالات) التي جعلت زراعة الفطر مجدية اقتصاديًا (Kabel وآخرون ،2017).

2- 4: الاهمية الغذائية والطبية للفطر الغذائي

يُعد الفطر الغذائي غذاء للإنسان يستهلك بصورته الطازجة و المعلبة وحتى المجففة و يتمثل الجزء الغذائي بالجسم الثمري في مرحلة النضج تم التعرف عليه كمادة غذائية وعلاجية في القرون القديمة(Bernaś وآخرون ، 2006 و Muszynska وآخرون ،2017). لقد كان الاعتقاد سائداً في الصين القديمة ان الفطر يعزز صحة الانسان ويحفظ شبابه لاطول فترة ممكنة (Safwat وAlkholi،2006 و Badalyan وآخرون ،2019). يُعد الفطر مصدراً للبروتينات التي تمنح فعالية حيوية كبيرة مما يجعلها اطعمة صحية وبدائل للبروتين الحيواني (Shbeeb وآخرون ،2019). وكذلك فإنه غني بالعناصر المعدنية والالياف والفيتامينات ، علأوة على ذلك يحتوي على نسبة منخفضة من الدهون المشبعة الضارة ونسبة عالية من الدهون غير المشبعة (Al وآخرون ،2020). اضافة لكونه مصدر للبروتين فأنه يحتوي على كميات جيدة من الفيتامينات حيث ذكر بعض المؤلفين ان الفيتامين الاكثر توفرا في الفطر الغذائي *Agaricus* هوالنياسين ويليه الريبوفلافين (Bernaś وJaworska،2016). بروتين الفطر يتوسط من ناحية القيمة الغذائية بين بروتين الخضروات وبروتين اللحوم ، لاحتوائه على كمية من الاحماض الامينية تتراوح بين 17-18 حامض اميني يحتاجه جسم الانسان (Aboubakr وآخرون ،2018). فقد وجد Ahlawat وآخرون (2016) ان محتوى الاجسام الثمرية للفطر *A.bisporus* من البروتينات تقدر بـ 29.14% والكاربوهيدرات

51.05% والـــــدهون 1.56% مقارنـــــة مـــــع *Pleurotus ostreaus* و *volvacea Volvariella* و *Lentinula edodes*. يمكـن ان يلبـي الفطـر حاجـة جسـم الانسـان اليوميـة مـن العناصـر المعدنيـة نظـراً لإحتوائـه علـى تـراكم ممتـاز مـن المعـادن حـوالي 20 عنصـرا معـدنيا بنسـب مختلفـة كالحديـد والازوت والبوتاسـيوم والفسـفور والصـوديوم والزنـك والنحـاس (Owaid وAbed ،2015). إذ إن تـوفر هـذا العـدد الكبيـر مـن العناصـر يسـاعد علـى تـوفر مرافقـات الانزيمـات والمسـاعدة علـى تحسـين عملهـا فـي تنظـيم وظـائف الحيويـة للجسم مثل الزنك والموليبيديوم والمنغنيز (Chang ،2008).

إن الفطـر الغـذائي لـه اهميـة فـي حمايـة الانسـان مـن مخـاطر بعـض الأمـراض حيـث أن هنـاك أهتمـام متزايـد لأسـتخراج المركبـات النشـطة بايلوجيـا مـن الفطـر *A.bisporus* لتطـوير الاطعمـة التـي تسـتخدم فـي العلاجـات التقليديـة (Dhamodharan و Mirunalini ،2010 و Roupas وآخـرون ،2012). يحتـوي الفطـر علـى مركبـات مضـادة للامـراض السـرطانية إذ انـه غنـي بالمركبـات الفينوليـة بمـا فـي ذلـك الاحمـاض الفينوليـة البسـيطة والفلافونويـد التـي تعمـل علـى منـع نمـو الأورام (Xu ،2012). ذكـر Novaes وآخـرون (2011) أن الأرجينـين (Arginine) الموجـود فـي أجسـام الفطـر *A.bisporus* يـؤخر نمـو الـورم والـورم الخبيـث ويجـب اسـتخدامه كمكمـلات غذائيـة للمرضـى المصـابين بالسـرطان ، ان تنـاول الفطـر الغـذائي يقلـل مسـتوى السـكر والكوليسـترول فـي الـدم أو الكبـد (Jeong وآخرون ،2010) .

2- 5: الأوسـاط الزرعيـة المسـتعملة فـي زراعـة الفطـر الغـذائي *Agaricus bisporus*

تمتـاز الفطريـات الغذائيـة بطبيعتهـا المعيشـية المترممـة علـى المـواد العضـوية الميتـة والمتحللـة لإنهـا تعـد مـن الأحيـاء غيـر ذاتيـة التغذيـة لعـدم قـدرتها علـى تحويـل ثـاني أوكسـيد الكـاربون الموجـود فـي الجـو إلـى مركبـات عضـوية (البهـادلي والزهـرون ، 1991 وChang و Miles ،2004). ويسـمى الوسـط الزراعـي الـذي ينمـو عليـه الفطـر الغـذائي كومبوسـت (Compost) الـذي يتكـون فـي اغلـب الاحيـان مـن فضـلات الخيـول أو الـدواجن مـع تـبن القمـح (القـش) والجـبس الصـناعي ومخصـبات تجاريـة كاليوريـا ونتـرات الامونيـوم (Kavanagh ،2005 و ACVC ،2005).

تعد مخلفات المحاصيل النباتية (التبن) والمخلفات الحيوانية من أكثر المواد شيوعا التي استعملت كأوساط زراعية قد تم استعمالها في انتاج الفطر الزراعي بعد أن كان يستعمل تبن القمح ومخلفات الخيول والدواجن في تحضير الوسط الزراعي اذ تعد من المواد الملائمة لنمو الفطر الأبيض لاحتوائها على متطلبات النمو الاساسية التي يحتاجها لفطر في نموه لاسيما نسبة الكاربون إلى النتروجين بالاضافة إلى خصائصها الفيزيأوية الجيدة حيث القابلية العالية على الأحتفاظ بالماء ومنع الظروف اللاهوائية نتيجة تكون فراغات هوائية وطبيعة القوام الاسفنجي فضلا على انها مصدر جيد للاحياء المجهرية (البهادلي والزهرون، 1991 و Chang و Miles ،2004 وPAAF ،2004)، بقى شائعا بين المزارعين المهتمين بزراعة الفطر بأنه يزرع ايضاً على مخلفات الخيول اذ تعد فرنسا أول من اعتمد ذلك (رضوان ،2002) .

كما تم زراعة الفطر الأبيض على أوساط متنوعة أخرى على أساس توفرها حيث تم استخدام تبن القمح (القش) في كل من الصين والهند والولايات المتحدة (Kavanagh ، 2005). أُجريت دراسة استخدمت أوساط زراعية مختلفة لزراعة الفطر كنخالة الطحين والدبس والسكروز توصلت إلى انه افضل وسط زرعي هو النخالة مقارنة مع المصادر الأخرى (الزبيدي، 2012). ويعتبر المعيار الاساس في توليف مكونات الخلطة هو توفر مصدر النتروجين والكاربون بشكل متوازن اذا يعمل الكاربون على توفر الطاقة التي يحتاجها الفطر أما النتروجين يستفاد منه الفطر في انتاج البروتين (Royse واخرون،2007 و Kertesz وThai ، 2018).تضاف كبريتات الكالسيوم (الجبس) إلى الوسط الزراعي لاجل منح الوسط قواما جيدا وبقائه مفككا من الداخل اضافة إلى معادلة الوسط الزراعي (البهادلي والزهرون 1991).

2-6: الظروف البيئية الملائمة لنمو وتكاثر الفطر الغذائي

2-6-1: درجة الحرارة

تنمو هايفات الفطر الزراعي في درجات حرارة تتراوح بين 18-26 مْ حيث اظهرت الدراسات أنّ درجة الحرارة بين 24-26 مْ تعطي أسرع نمو للغزل الفطري للفطر الغذائي (Royse واخرون ،2008). ان افضل درجة حرارة موصى بها في مرحلة النمو هي21-25 مْ (Largeteau وآخرون ،2011) ، أما في مرحلة الاثمار

تعتبر درجة الحرارة 16-19 مْ هي المثلى (Foulongne-Oriol وآخرون 2014). في حين أظهرت دراسات أخرى أن الفطر الغذائي تكيف مع درجات حرارة تصل إلى 25 مْ في مرحلة الاثمار(Largeteau وآخرون ،2011). في حين أوضح Wang وآخرون (2004) بأن ارتفاع درجات الحرارة في غرف الاستزراع إلى أعلى من 32 مْ يؤدي إلى انتاج اجسام ثمرية رديئة مستطيلة الساق وذات قبعة متفتحة ، في حين اوضحت دراسات بأن ارتفاع درجات الحرارة إلى 40 مْ يؤدي إلى موت الغزل الفطري (Acvc ،2005).

2-6-2: الاضاءة

تتباين الفطريات بشكل عام عن النباتات فهي لا تعتمد على ضوء الشمس في التغذية الكاربونية وذلك لخلو الفطريات من صبغة الكلوروفيل حيث إن معظم الفطريات تفضل النمو في الظلام (الشكري ،1991 و العروسي وسالم 2000 و رضوان 2002). اذ أن الفطر الغذائي الأبيض *A.bisporus* كبقية الفطريات غير ذاتية التغذية يعيش مترمم على المواد العضوية المتحللة (Sassine ،2021). على الرغم من نمو الفطر الغذائي في أي مكان بغياب الضوء إلا أن الظلام لايعد من احتياجات نموه على عكس غيره من الفطريات المأكولة كالفطر المحاري الذي يحتاج الضوء في مرحلة الانتاج والنمو وبغيره لاتتكون اجسام ثمرية (Beyer ، 2003). بالنسبة لمعظم أنواع الفطريات القاعدية التي تنمو في وسط قاعدي توفر المغذيات والضوء وانخفاض في درجة الحرارة هي عوامل حاسمة للانتاج اما الفطر *A. bisporus* ينحرف عن هذا النمط في بمعنى أنه لا يحتاج إلى ضوء من أجل الإثمار(Baars وآخرون 2020).

2-6-3: التهوية

ان التهوية ضرورية جدا في غرف الاستزراع حيث تساهم في خفض درجات الحرارة وامداد الفطر النامي بالأوكسجين ونقل ثاني أوكسيد الكاربون بعيدا (Paul و Chilton ،1983 و Kariaga وآخرون 2012). ولا توجد نتائج دقيقة على تأثر نمو البذار (Spawn) بالتهوية (Royse واخرون ،2008).

وان توفر أنظمة تهوية جيدة تساهم في نجاح زراعة الفطر الغذائي الأبيض خاصة في مرحلة تشكل الاجسام الثمرية (PAAF ،2004). وان تركيز ثاني أوكسيد الكاربون

الـذي يحفـز علـى زيـادة نمـو الغـزل الفطـري يتـرأوح بـين 1000-5000 جـزء بـالمليون تـوفر الرطوبة بمقدار95% (Royse واخرون ،2008).

2-6-4 : الرطوبة

تنمـو الخيـوط الفطريـة فـي البيئـة الرطبـة ، اذ ان الرطوبـة تسـاعد علـى المـاء نفـاذ المـواد الغذائيـة والانزيمـات وإنّ الفطريـات لا تعتمـد علـى المـاء بصـورته الحـرة فـي نموهـا ؛ وذلـك لطبيعـة الهايفـات علـى الامتـداد إلـى بيئـات جديـدة لـذلك يحتـاج الفطـر الغـذائي إلـى تـوفر رطوبـة بشـكل مسـتمر خـلال فتـرة نمـوه (Acvc ،2005)، والاجسـام الثمريـة للفطريـات الغذائيـة تحتـوي علـى معـدلات عاليـة مـن الرطوبـة تصـل إلـى 90% مـن وزنهـا (العروسـي وسـالم ،2000) لـذلك يجـب ان تبقـى الرطوبـة فـي غـرف الاسـتزراع اكثـر مـن 70% والا قـد تتعرض نموات الفطر والاجسام الثمرية إلى الجفاف (Stephens ،2003) .

2-6-5: درجة الاس الهيدروجيني (pH) للوسط الزراعي

تقـاس درجـة الاس الهيـدروجيني (pH) بـدرجات تتـراوح مـا بـين 1-14 كلمـا انخفضـت زادت الحموضـة والدرجـة المثلـى لـلاس الهيـدروجيني للتربـة هـي 7 (Paaf ، 2004). الفطـر كبـاقي الكائنـات يتـأثر بدرجـة الاس الهيـدروجيني للوسـط الـذي يعـيش فيـه (Bilgrami و Verma ،1981). حيـث ان درجـة الاس الهيـدروجيني لهـا تـأثير مهـم علـى معـدل نمـو وانتـاج الفطـر الأبـيض وان افضـل درجـة حموضـة تتـرأوح بـين 7.2-7.5 (البهـادلي والزهـرون ،1991). اشـارت بعـض الدراسـات إلـى ان درجـة الحموضـة التـي ينمـو فيهـا نسـيج الفطـر الأبـيض تتـرأوح بـين 5.4-8 والدرجـة المثلـى للنمـو سـجلت عنـد القيمـة 6-7(Singer وHarris ،1987 و Chang و Hayes ،2013). فـي حـين ذكـر Royse واخـرون (2008) بإمكانيـة تنميـة اللقـاح الفطـري (البـذار) فـي درجـة حموضـة 6.5-8.2 . يضـاف الجـبس بكميـات مناسـبة إلـى الوسـط الزرعـي ذلـك لتعـديل درجـة الاس الهيـدروجيني للوسـط لتصـبح بحـدود 7.5-8 (Shandilya ، 1986). كمـا تضـاف كاربونـات وكبريتـات الكالسـيوم إلـى الحنطـة التـي تعتبـر وسـط تحميـل لتنميـة لقـاح الفطـر الأبـيض لمعادلـة درجـة الحموضة ذلك لتأثر جودة ونمو النسيج الفطري (Wood ،1976).

2-6-6: الأمونيا

توجد علاقة بين نمو الخيوط الفطرية للفطر الأبيض ومحتوى الأمونيا ومعدل الأنتاج حيث ان تركيز الأمونيا اكثر من 0.05% يوقف نمو اللقاح الفطري (البذار) واذا ارتفع التركيز أكثر من 0.2 % سيؤدي إلى موت الخيوط الفطرية (Beyer ، 2003 و Royse واخرون،2008) ، لذا يجب أن ينخفض تركيز الأمونيا عند نمو اللقاح الفطري ويجب ان تختفي رائحة الأمونيا قبل القيام بالعمليات الزراعية حيث يمكن شم رائحة الأمونيا اذا كان التركيز اكثر من 0.1% (Royse وBeelman ،2007).

2-7:مراحل تجهيز وتحضير الوسط الزرعي وانتاج الفطر الغذائي الأبيض

يحتاج أنتاج الفطر الغذائي الأبيض إلى تجهيز وسط ملائم يسمى الكمبوست (Compost) لينمو الفطر عليه وهو يتكون من مواد عضوية (مخلفات نباتية و حيوانية) متحللة وهو يوفر غذاء كافيا لنمو وإنتاج الفطر ويتم تجهيزه بطريقة فنية (رضوان ، 2002). إن عملية تحضير الوسط تسمى Composting وهي عبارة عن عملية التحلل الطبيعي للسليلوز وتحلل للمخلفات العضوية التي تتم بواسطة الأحياء المجهرية (الفطريات والبكتريا) الموجودة في الطبيعة (kertesz وThai 2018). ان عملية تحضير الوسط تقع ضمن تخمرات المواد الصلبة ، حيث تستعمل أنظمة التخمرات الصلبة لتحضير وسط زرعي لإنتاج الفطر الغذائي أو عندما يراد الحصول على الأنزيمات والمضادات الحياتية (Kavanagh ، 2017). يتم تحضير الوسط الزراعي على أرض كونكريتية محمية بالمسقفات لحماية الوسط الزرعي من الأمطار ومفتوحة التهوية تكون خارج المزرعة ، وتعمل بشكل أكوام تقلب بواسطة معدات خاصة لهذا الغرض (البهادلي والزهرون، 1991) .

2-7-1: تجهيز الوسط الزرعي (التخمير)

توجد طريقتين لتخمير الوسط الزرعي وهما: الطريقة الطويلة والطريقة القصيرة (Rai ، 2004). الطريقة الطويلة هي الاقدم وما زالت تستعمل إلى الآن في بعض الدول لكونها قليلة الكلفة فضلا عن سهولة التعامل معها (Kulshreshtha و Ukaogo،2022). تتم هذه العملية عن طريق ترطيب المواد الأولية (المخلفات النباتية

والحيوانية) حتى تصل الرطوبة إلى 75-80 % ثم مزجها مع المغذيات النتروجينية والجبس وثم تجمع بشكل كومة ، بعد ذلك يتم الترطيب كل يومين أو ثلاثة ايام لغرض حصول تجانس للرطوبة والمواد الأولية ويفضل التقليب بين فترة وأخرى حيث يتكرر 4-5 مرات خلال مدة تحضير الوسط الزرعي والتي تصل تقريبا 35-45 يوم لغرض السماح للأوكسجين بالنفاذ داخل الكومة (Flegg و Randle ،1980 و AbouFayssal وآخرون 2021).

اما الطريقة القصيرة التي اقترحها Sinden و Hauser (1950). فتتضمن مرحلتين لتخمير الوسط الزرعي تعد الطريقة القصيرة مرغوبة من قبل مزارعي الفطر وذلك لقصر مدة تحضير الوسط وللقضاء على الكثير من العناكب والافات الحشرية والمسببات المرضية (Fermor وآخرون،1979).

2-7-1-1: تحضير الوسط الزرعي (المرحلة الأولى)

الغرض من عملية التحضير هو لتجهيز وسط متجانس فيزيائيا وكيميائيا لنمو الفطر، يتم في هذه المرحلة وضع المواد الأولية (المخلفات الحيوانية والنباتية) بشكل طبقات متكررة مع المغذيات الكيميأوية والجبس مع الترطيب والتقليب والخلط (Acvc ،2005) ، بعد ذلك تبدأ عملية التخمر الهوائي الناتجة عن نشاط الاحياء المجهرية الموجودة في مكونات الخلط حيث تقوم بتحليل المواد العضوية إلى مواد أبسط ويتم التحلل بشكل منتظم . ان احد اهداف المرحلة الأولى من تخمير الوسط الزرعي هو تجميع وحفظ المركبات الكربوهيدراتية وتحويل النيتروجن الموجود في الخلطة إلى غذاء مناسب للفطر الزراعي تستغرق هذه المرحلة حوالي 12-14 يوماً وقد تصل إلى 19 يوماً (Fermor ، 1981 و Schisler ، 1982و Fermor وGrant ،1985). بعد أنتهاء المرحلة الأولى يكون لون الوسط الزرعي مائل إلى اللون البني ذو قوام ناعم وله رائحة قوية من الأمونيا ودرجة الرطوبة تصل تقريبا إلى 74% (Royse و Beelman ، 2007) .

2-7-1-2: بسترة الوسط الزرعي (المرحلة الثانية)

تعمل البسترة على استكمال عملية التخمر وتجانس الوسط الزراعي بالكامل ليتحول إلى بيئة جيدة لنمو الفطر وتهدف ايضاً للقضاء على البكتريا الممرضة والديدان الثعبانية (النيماتودا) والفطريات الممرضة للفطر الغذائي كالأعفان والحشرات ، كما تساعد في التخلص من الأمونيا المتراكمة بالتسخين والتي نتجت خلال المرحلة الأولى من تحضير الوسط اضافة إلى تشجيع نمو الأحياء المجهرية المحبة للأمونيا مع إضافة مغذيات جديدة إلى الوسط الزرعي (رضوان، 2002 و Coles وآخرون 2002 و Beyer ، 2003 و Royse و Beelman ، 2007) .

هذه المرحلة تجري في انفاق بسترة خاصة حيث إن أنفاق البسترة تتم السيطرة فيها على درجة الحرارة والرطوبة والتهوية والتي يتعريض فيها الوسط الزراعي لدرجة حرارة 60 – 70مْ لمدة 6 – 8 ساعات والتي تساهم في القضاء على المسببات المرضية والحشرات والديدان الثعبانية (Fred ، 1979). إنّ رفع درجة الحرارة يمكن أن يحدث بشكلل طبيعي أثناء نمو الاحياء المجهرية أو عن طريق حقن البخار في النفق ، وبعد أتمام عملية البسترة تخفض درجة الحرارة بحدود 55-50 مْ لمدة ثلاثة أيام حيث يكون الوسط مهيأ لنمو الكائنات الحية المفيدة والمحبة للحرارة . دورهذه الكائنات اتمام عملية التخمر وتحويل غاز الأمونيا إلى مركبات عضوية يتغذى عليها الفطر كما يتم تزويد نفق البسترة خالل هذه االفترة بالأوكسجين لكي تجري عملية التخمر في ظروف هوائية ثم تخفض حرارة الوسط إلى 25 مْ ليتم تلقيح الوسط الزرعي باضافة اللقاح الفطري وفي نهاية هذه المرحلة يفضل ان يكون محتوى النيتروجين من الوسط 2.0-2.4 % ونسبة الرطوبة 72% (Schisler ، 1982 و البهادلي والزهرون ، 1991 و Beyer ، 2003 و Stephens ، 2003 و Biswas وآخرون ، 2011).

2-7-2: تحضير المزرعة الام

يتم تحضير المزرعة الام اما بطريقة زراعة جزء صغير من الجسم الثمري على الوسط الغذائي PDA حيث تتم باختيار افضل الاجسام الثمرية خلال عملية الانتاج مع الاخذ بنظر الاعتبار أن تكون خالية من الأمراض ، وذات صفات جيدة وغير متفتحة القبعة (الياس ، 2008 و Chang ، 2008). يعقم الجسم الثمري سطحيا بالكحول 75% ويجفف على ورقة ترشيح معقمة ثم تأخذ قطعة صغيرة من الجسم الثمري من منطقة

أتصال الساق بالقبعة وتوضع في اطباق بتري تحوي وسط Potato Dextrose Agar (PDA) وتحضن الاطباق في الحاضنة على درجة 25 مْ حتى تبدء المشيجة بالنمو وتغطي السطح خلال فترة 2-3 اسابيع وبذلك يتم الحصول على مايسمى بالمزرعة الام (Stamets ، 1993 و Oei ، 2003 و Stamets ، 2005). إن نوعية محصول الفطر وكمية انتاجه ترتبط أرتباطا وثيقا بالمزرعة الام للسلالة المزروعة (Flegg و Smith ، 1982). كما أن الصفات الوراثية للسلالة لها دورا كبيرا في أنتاج النسيج الفطري وتكوين الاجسام الثمرية (Salwin وآخرون ، 2001 و Lucia وآخرون 2001). وأن نجاح تقنية زراعة جزء صغير من الجسم الثمري يعتمد بشكل أساسي على عملية التعقيم وذلك لان من أهم المشاكل التي تواجهها الزراعة النسيجية هي مشكلة التلوث من قبل أحياء مجهرية تقتل أو تنافس الغزل الفطري (Cathal ، 1984 و Shallachova وMarteniko ، 1985). كما وان نجاح زراعة وانتاج الفطر يعتمد على السلالة ونوعية وكمية اللقاح الفطري (Shally ، 2002).

3-7-2: إنتاج اللقاح الفطري (البذار) Spawn

يعد إنتاج اللقاح الفطري (Spawn) خطوة مهمة في التطور المبكر لزراعة الفطر الغذائي ، حيث يتم انتاج اللقاح الفطري عالميا بطرق مختلفة منها نقل المستعمرات الفطرية النامية على الوسط الغذائي وتنميتها على بذور بعض المحاصيل النجيلية كالحنطة والذرة البيضاء والدخن وغيرها ذلك لاحتواء هذه البذور على المواد الغذائية الضرورية لنمو الخيوط الفطرية وكذلك سهولة أنتشار اللقاح الفطري في الوسط الزراعي (Kozokin و Pilipovich ، 1990 و Blinohvatov وآخرون ، 2004) .

تتلخص طريقة انتاج اللقاح الفطري بأخذ مقدار من حبوب الحنطة أو الشعير أو الشليم ووضعها في ماء ثم توضع على النار إلى حد الغليان مدة 15 دقيقة وبعد سلق البذور بالماء المغلي تخفض رطوبتها حيث يجب أن تكون البذور المستخدمة في أنتاج اللقاح الفطري محتفظة بمحتواها الرطوبي مابين 40 ــ 55 % لان أنخفاض الرطوبة اقل هذا المستوى يؤدي إلى توقف نمو النسيج الفطري ، أما ارتفاع الرطوبة فوق 55 % فقد يؤدي إلى نمو وأنتشار البكتريا ، ثم تخلط البذور مع الجبس لمنع التصاقها مع بعضها وتضاف كاربونات الكالسيوم لتنظيم الاس الهيدروجيني لما له من تأثير مهم في نمو وجودة النسيج الفطري ، بعد ذلك توضع في قناني زجاجية أو اكياس حرارية وتعقم

بواسطة جهاز الموصدة (Autoclave) بعد انتهاء عملية التعقيم تلقح هذه الحبوب بالغزل الفطري وتحضن على درجة حرارة 25 مْ ،حتى تكون جاهزة أي مكتملة النمو بعد 2-3 أسابيع (Maheshwari ، 2013). ان من المفضل معاملة البذور المستخدمة في أنتاج اللقاح الفطري للفطر الغذائي الأبيض *A.bisporus* بالمبيد الفطري Benlate لكي يقلل من خطر الاصابة بالاعفان مثل مرض العفن الاخضر المتسبب عن الفطر *Trichoderma harziaum* ، فقد اجريت دراسة لمعرفة تأثير المبيد في كمية الحاصل للفطر الغذائي الأبيض وتبين ان كمية الحاصل لعينة اللقاح الفطري المعامل بالمبيد تفوق كمية الحاصل للعينة غير المعاملة (Royse وRomaine ، 2002). يفضل عدم خزن اللقاح الفطري لمدة طويلة بعد أكتمال نمو النسيج على الحبوب لان ذلك يؤثر على حيويته ويؤدي إلى تناقصها ، ويجب عدم تكثير اللقاح الفطري بطريقة التجزئة لأكثر من ثلاث مرات كي لا تتدهور السلالة ويضعف انتاجها (Nicholas و Ogame ، 2006). يمكن تميز اللقاح الفطري الجيد من غير الجيد وذلك من خلال لونه الأبيض الناصع الخالي من أي ألوان غريبة عليها بالاضافة إلى أنفصال البذور عن بعضها (Stamets و Chilton ، 1983 و Oei ، 2003).

2-7-4: تلقيح الوسط الزرعي

هي عبارة عن عملية خلط اللقاح الفطري (Spawn) مع الوسط الزرعي المتخمر والمبستر وبعدها تبدأ مرحلة الحضانة ، إذ يبدأ الفطر بأستهلاك الغذاء الموجود في الوسط الزرعي ، وتحتاج زراعة الفطر الغذائي إلى إمكانيات خاصة وخبرة عملية. توجد هنالك ثلاث طرق لاضافة اللقاح الفطري إلى الوسط الزرعي وهي نثر البذار في الطبقة السطحية للوسط ومن ثم يخلط بشكل متجانس وهذه الطريقة سريعة من حيث التنفيذ ومريحة لكنها غير مرغوبة وذلك لجفاف اللقاح الفطري بسرعة مما يؤدي إلى بطء نمو النسيج الفطري (Stephens ، 2003 و Royse واخرون ، 2008). الطريقة الثانية هي مزج البذار (Spawn) بكل أجزاء الوسط الزرعي (Vedder ، 1978). أما الطريقة الثالثة فتكون بخلط مع الوسط الزرعي تستعمل بشكل كبير في أنظمة الإنتاج، حيث يمزج البذار مع الوسط داخل حأويات ثم تمرر ماكنة خاصة في الوسط للخلط، ولهذه الطريقة فوائد منها زيادة محصول الفطر الغذائي واختزال مدة نمو البذار (Vedder ، 1978و Royse واخرون ، 2008). النسبة الاقتصادية والافضل

لنمو الفطر هي بخلط 400 – 600 غم من اللقاح فطري لكل 80 كغم من الوسط الزرعي (الكمبوست) وهذه النسبة تتغير تبعا لسعر اللقاح الفطري وحيويته ، وأن زيادة نسبة اللقاح الفطري المستخدم بالتلقيح تؤدي إلى زيادة كمية الحاصل (Flegg ، 1985 و Beyer ، 2003). يخلط اللقاح الفطري مع الوسط بنسبة 5.0 % من وزنه الرطب إذ يلقح الوسط الزراعي ويحضن في درجة 23 ــ 25° م وهي درجة ملائمة لنمو الخيوط الفطرية ورطوبة 90 %من غير تهوية (Woodhall وآخرون ، 2009). تنمو الخيوط الفطرية على الوسط الزرعي بجميع الاتجاهات وبشكل شبكة من الخيوط الفطرية التي يكتمل نموها على الوسط الزرعي بعد 14-21 يوما من أجراء عملية الخلط وأن هذه المدة تعتمد على معدل نمو وأنتشار الغزل الفطري وكذلك على رطوبة وحرارة الوسط ونوعيته (Beyer ، 2003).

2-7-5: التغطية Casing

يبدأ ظهورالخيوط الفطرية على الوسط الزرعي بعد حوالي 14 ــ 21 يوماً من تلقيح الوسط وبعد وصول نمو الخيوط الفطرية نسبة 70 % أو أكثر من سطح الوسط الزرعي يتم اضافة طبقة التغطية على السطح العلوي للوسط الزرعي (Dawson ،1978 و Flegg وآخرون 1985 و Beyer ، 2003). إن الطريقة الوحيدة لأجبار الفطر على الانتقال من مرحلة النمو الخضري إلى مرحلة التكاثر الجنسي (الاجسام الثمرية) هي عن طريق وضع طبقة التغطية حيث انها توفر عوامل فيزيائية وكيميائية تساعده على تكوين الاجسام الثمرية ، كذلك فإن طبقة التغطية تعمل على توفير الرطوبة الكافية لنمو الفطرالغذائي بالاضافة إلى انها تقلل من فقدان الرطوبة بسبب التبخر أو التنفس من الوسط الزرعي (Beyer ، 2003). فضلاً عن انها تساعد على حماية الوسط الزرعي من الأمراض والافات (Flegg وآخرون ،1985 و VanGriensven ، 1987 و Noble وGaze ، 1996 و Dias وآخرون 2021).

تحضر طبقة التغطية من مواد مختلفة من البيتموس والرمل والكلس وبعض أنواع الترب والوسط الزرعي المستنفذ إذ تخلط هذه المكونات بنسب مختلفة ثم تعقم بالبسترة الحرارية وان لطبقة التغطية الجيدة مواصفات وشروط خاصة منها، أن تكون فقيرة بالعناصر الغذائية وخازنة أو حاملة للماء وذات نسجة ومسامية جيدة و الاس الهيدروجيني ما بين 6.5 – 8.5 وخالية من المسببات المرضية والحشرات. يفضل ان يكون سمك طبقة

التغطية المضافة مابين 1-5 سم كما ويجب ترطيب طبقة التغطية بأستمرار للمحافظة على قابلية النسيج الفطري على أختراق طبقة التغطية ، أما درجة الحرارة فتكون أثناء التغطية 25 م˚ ثم تخفض إلى 16 –18˚ م بعد 7-12 يوماً حسب السلالة ، إذ تعمل طبقة التغطية على توفير ظروف مناسبة لنمو النسيج الفطري و ينمو ا خيوط النسيج مكون طبقة سميكة بيضاء اللون تنتج عن تجمع هذه الخيوط تراكيب صغيرة كرؤوس الدبابيس في طبقة التغطية تدعى Pinheades (Bahl ، 1984 و Amin وآخرون 2007 و Maheshwari ، 2013). ان الاعتقاد السائد الذي يفسر تأثير تربة التغطية في تحفيز تكوين الاجسام الثمرية هو وجود الاحياء المجهرية من البكتريا مثل *Pseudomonas putida* في طبقة التغطية التي تحفز تكوين الاجسام الثمرية وزيادة الانتاج (Makenali وآخرون 2021). الاعتقاد الاخر هو ان تكوين الجسم الثمري يتطلب وجود إجهاد وان طبقة التغطية لا تحتوي على مغذيات لذلك توفر ظروف إجهاد تحفز على تكوين الأجسام الثمرية (Nobel وGaze ، 1996) .

2-8: الأمراض التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض

يصاب الفطر الغذائي الأبيض بعددٍ من الأمراض الفطرية والبكتيرية والفايروسية اضافة إلى اصابته بالافات الحشرية والحلم والنيماتودا خلال فترات التنمية والانتاج (Kaur و Sharma ، 2021). تعدُ الأمراض الفطرية من أخطر الاضطرابات التي تصيب الفطر ، إذ تلحق الضرر بالمحصول ونوعية الفطر المنتج (Largeteau وSavoie ، 2010). تقسم الممرضات التي تصيب الفطر الغذائي إلى ممرضات تهاجم وتتطفل على الأبواغ والخيوط الفطرية للفطر الغذائي وممرضات منافسة للفطر الغذائي على الغذاء (Sharma و Chauhan ، 2002) .

2-8-1: اهم الأمراض الفطرية التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض

2-8-1-1: مرض العفن الأخضر Green mould

هو مرض مدمر لمزارعي الفطر الغذائي مثل الفطر الأبيض والفطر المحاري أو شيتاكي وغيرها إذ يتسبب بأضرار بليغة احياناً تصل نسبة 100% في مختلف مراحل انتاج الفطر الغذائي فضلاً عن زيادة البروتينات في الفطر الغذئي نتيجة لتعرضه

لمسببات العفن الاخضر (Hatvani وآخرون ،2017 ، Kosanovic وآخرون ، 2020) ، يحدث المرض بواسطة عدة مسببات مرضية أهمها أنواع مختلفة من الفطر *Trichoderma* (Chandhrapati وآخرون ، 2021). تكون هذه المسببات قادرة على اصابة الفطر في مرحلة البذار بالاضافة إلى اصابة الوسط الزراعي (الكمبوست) وتربة التغطية وايضا تم ملاحظتها على الخيوط الفطرية والاجسام الثمرية وبقايا السيقان بعد الحصاد (Jassim و Hasan ، 2016 و Aydoğdu وآخرون 2021). أول ظهور لأعراض المرض هو نمو زغبي ابيض اللون سرعان ما يتحول إلى اللون الأخضروالذي يمثل لون الأبواغ للمسبب (حسن،2013). كما ذكر في دراسته ان اسرع انواع الاعفان نموا وانتشارا هو العفن الأخضر المتسبب عن الفطر *Trichoderma* من أهم مصادر التلوث بهذ المرض هم الأشخاص الذين يعملون في أماكن الانتاج ، أو الادوات المستخدمة (Coles وآخرون ، 2002).

1-1-1-8-2 : الفطر *Trichoderma harzianum*

صنف الفطر *Trichoderma* spp. لأول مرة من قبل العالم person في المانيا عام 1794(Siddiquee،2017). حيث وضع ضمن مجموعة الفطريات التابعة لتحت قسم الفطريات الناقصة (Deuteromycotina) والتي تضم العديد من الفطريات التي ليس لها تكاثر جنسي معروف و بعد 70 سنه اكتشف الفطر *Hypocrea* والذي يمثل الطور الجنسي للجنس *Trichoderma* بذلك صنف ضمن قسم الفطريات الكيسية (Ascomycotina) رتبة Hypocreales جنس *Hypocrea* spp. (Alexopoulos ، 1996و waghunde واخرون، 2016). يعد العالم Rifai(1969) أول من قام بتشخيص الفطر*T. harzianum* .

يعد الفطر *Trichoderma* من الفطريات واسعة الإنتشار في الترب وبقايا النبات ، وكذلك يتواجد في مزارع الفطر الغذائي ، إذ يمتاز بقدرته العالية على التأقلم في بيئات مختلفة مستغلا المواد الغذائية فيها مسببا له مرض العفن الاخضر إذ إن الأنواع من هذا الجنس تفضل بشكل عام درجة الاس الهيدروجيني الحامضية 5-4.5 ، فضلاً عن أنها تتطور في المناطق ذات المحتوى الرطوبي العالي وركود ثاني أكسيد الكربون في التربة (Rifai ، 1969و Romero-Arenasواخرون، 2009) ، كما يمتاز الفطر

Trichoderma بسرعة نمو مستعمراته على الأوساط الغذائية الصناعية والتي تكون ذات سطح ناعم ولون شفاف في بداية نموها وبعد التقدم في عمر المستعمرة تصبح خضراء اللون بالاضافة إلى انتاجه اعداد هائلة من الجراثيم الكونيدية صغيرة الحجم ذات لون اخضرمحمولة على حوامل كونيدية مقسمة ومتفرعة عدة تفرعات تكون بشكل تجمعات تعطي شكل كتل زغبية خضراء على الوسط الغذائي (Rifai ، 1969 و Allaga واخرون،2021) .

يسبب *T.harzianum* خسائر كبيرة في الإنتاج اذ يغزو الوسط الزرعي ويعيق نمو الخيوط الفطرية للفطر الغذائي الأبيض من خلال أنتاج السموم والمضادات الحيوية وقد يكون ضهوره نتيجة تلوث اللقاح الفطري للفطر *A.bisporus* أو تلوث وسط التنمية (الكمبوست) أو تربة التغطية نتيجة عدم تعقيها بطريقة صحيحة أو تنتشر كونيدات الفطر بواسطة التيارات الهوائية أو عن طريق الأدوات الملوثة والعاملين (Gea وNavarro ، 2017) .

2-8-1-2: الاعفان التي تحدثها منافسات الفطر الغذائي الأبيض

توجد عدة فطريات منافسة للفطر الغذائي الأبيض والتي تسبب له أمراض مهمة تؤثر على الانتاج نتيجة منافستها له على الغذاء ومن ثم تؤثر على نموه (حسن،2013) من هذه الفطريات *Aspergillus* spp و *Penicilium* spp و *Fusarum* spp و *Mucar* spp وغيرها والتي تتواجد في تربة التغطية أو وسط التنمية (Chandhrapati وآخرون 2021). كما سجلت هذه المسببات المرضية اصابتها اللقاح الفطري للفطر *A.bisporus* على حبوب الحنطة حيث أدت إلى أتلافها (حسن وآخرون 2002). تظهر الاعراض على شكل اعفان مختلفة الالون حسب نوع المسبب المرضي حيث يمكن ان تكون أعفان خضراء دخانية أو زرقاء مخضرة أو أعفان صفراء (sharma واخرون ، 2007). وتتواجد هذه المسببات نتيجة لملائمة الوسط الزرعي لنموها ومن مصادر التلوث بهذه المسببات هي الادوات المستخدمة أو الاشخاص العاملين في حين يمكن السيطرة عليها من خلال التعقيم واتباع الطرق الصحية في العمل (coles وآخرون 2002).

2-8-1-2-1: الفطر *Aspergillus* spp.

أُكتشف الفطر *Aspergillus* لأول مرة من قبل الراهب Florentin و عالم الاحياء الايطالي Micheli عام 1729 م وسمي بهذا الأسم بناءاً على تشابه شكل الحامل الكونيدي (Conidiophore) مع الاداة التي تستخدم لرش الماء في الطقوس الدينية للكنيسة والتي تعرف بأسم Aspergillum (Ainsworth،1976) .

يصنف ضمن شعبة الفطريات الكيسية (Ascomycota) وصف Euascomycetes رتبة Eurotiales عائلة Trichomyceae (Hibbett وآخرون 2007). يعد الفطر *Aspergillus* من الفطريات واسعة الانتشار في الطبيعية يتواجد في كل مكان تقريبا في الهواء والماء والحبوب المخزونة وفي المواد العضوية المتفسخة وايضا فضلات الحيوانات (العاني 1998و Bennet،2010). يتواجد ايضا في غرف زراعة الفطرالغذائي الأبيض حيث تم عزله من تربة التغطية ومن الكمبوست وكذلك يصيب اللقاح الفطري المحمل عليه الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus* (حسن ، 2013 و coles وآخرون 2002 و Murmu وآخرون 2020).

يوجد 250 نوع تقريباً للفطر *Aspergillus* وتنتشرفي المناطق الحارة أكثر من المناطق الباردة(Körtner وآخرون 2008). بعضها له القدرة على انتاج سموم فطرية خطيرة مثل الفطر *A.ochraceus* والفطر *A. flavus* وغيرها التي تسبب خسائر في القيمة الغذائية وتأثيرات بيئية (Mateo وآخرون 2011). وتنمو بسرعة على الأوساط الغذائية الصناعية تكون مستعمرات باشكال والوان مختلفة مميزة حسب النوع والتي على اساسها يسهل عملية تصنيفها الذي يعتمد به على الصفات المظهرية التي يمكن رؤيتها بالعين المجردة (Samsonو Varga، 2008). تمتاز انواع الفطر *Aspergillus* بقدرتها على النمو والتنافس على المواد الغذائية مع بقية الفطريات حيث انها تتنافس مع الفطر الغذائي الأبيض في الوسط الزرعي (الكمبوست) على المواد الغذائية وتأثر على نموه من خلال افرازها الانزيمات الحيوية والسموم التي تعيق نمو الفطر الغذائي الأبيض مسببا له اعفان اضافة إلى قلة في الانتاج (Sharma واخرون ، 2007)

2-8-1-2-2: الفطر *Penicilllium citirnium*

أُكتشف الفطر *Penicilllium* لأول مرة من قبل عالم النبات الالماني johann heinrich friedrich link عام 1809 م ، وسمي بهذا الأسم لتشابه الحوامل الكونيدية مع شكل فرشاة الرسام (Penicillatis) (Link، 1809 و Visagie وآخرون 2014). يضم الفطر *Penicilllium* أكثر

من 300 نوع ويعد من الفطريات واسعة الأنتشار في الطبيعية ، يفضل المناخ البارد والمعتدل ويعيش مترمم على المواد العضوية الميتة القابلة للتحلل وبعض الأنواع لها القدرة على انتاج سموم فطرية (Pitt وآخرون 2000 و kirk وآخرون 2008). أما النوع *P. citirnium* أكتشف من قبل العالم Thom عام 1910 يصنف الفطر ضمن شعبة الفطريات الكيسية (Ascomycota) وصف Eurotiomycetes رتبة Eurotiales عائلة Aspergillaceae (Thom ، 1910). ويعد أحد فطريات العفن يتواجد في التربة ويسبب امراض العفن الاخضر للنباتات (JO وآخرون 2007). كما إنه يتواجد في السماد (الكمبوست) للفطريات الصالحة للاكل حيث يسبب لها اضرار ويؤثر سلبا على الانتاج اذا وجد بكميات كبيرة (Wiafe-Kwagyan وآخرون 2015) .

ينمو على الأوساط الغذائية مكون مستعمرات خضراء رمادية أو خضراء رمادية مزرقة وتكون ضعيفة النمو (Houbraken وآخرون 2010). يصيب الفطر *Penicilllium* الفطر الغذائي الأبيض *s A. bisporus* ويعيق نموه مسببا له مرض العفن الاخضر(green mold) أو الأعفان الدخانية (Sharma وآخرون ،2011 و Houbraken وآخرون 2019). يمتاز بقدرته على التنافس مع الفطر الغذائي الأبيض على المواد الغذائية في الوسط الزرعي وافرازه الانزيمات الحيوية التي تؤثر على نمو الفطر الأبيض وانتاجه (sharma واخرون ، 2017) .

3-2-1-8-2: الفطر *Mucor circinelloides*

أُكتشف هذا الفطر من قبل عالم النبات الفرنسي Van Tieghem عام 1875 م ينتمي إلى شعبة Mucoromycota ورتبة Mucorales وعائلة Mucoraceae ويعد من الفطريات ثنائية الشكل (Van Tieghem , 1875 و Lübbehüsen وآخرون ، 2003) ، ينمو بسرعة على الأوساط الغذائية مكونا مستعمرات بلون رمادي شاحب أو صفراء (Pitt وHocking، 1999).

يتواجد الفطر في التربة وفضلات الحيوانات حيث يعد من الفطريات الرميّة التي تتغذى على المواد العضوية الميتة (Bridge وSpooner،2001). ويتميز بقدرته على أنتاج سموم فطرية (Hollmann وآخرون ، 2008). كما يتواجد الفطر *M. Circinelloides* داخل غرف زراعة الفطر الصالح للاكل في ترب التغطية والوسط الزرعي (الكمبوست) إذ تم عزله منها حيث يقوم بمنافستها على المواد الغذائية معيقا نموها ومسببا اضرار في الانتاج (Kim وآخرون 2013). كما انه يصيب الاجسام

الثمرية للفطر الغذائي بعد الحصاد حتى اثناء تخزينها في درجات حرارة منخفضة حيث يؤدي إلى تعفنها (Zhang وآخرون 2021) .

2-9: اهم مجالات وطرائق مكافحة الأمراض التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض

تشمل مكافحة الأمراض سلسلة من الإجراءات الوقائية في مزارع الفطر مثل النظافة الصارمة والعلاج بالمطهرات اثناء الزراعة وبعد انتهاء دورة المحصول (Luković وآخرون ، 2020). يزرع الفطر الغذائي في داخل غرف خاصة تحت ظروف بيئية خاضعة للرقابة تسهل تنفيذ برامج الإدارة المتكاملة للأمراض ، والجمع بين مبيدات الفطريات الكيميائية وبدائل المكافحة الحيوية والإدارة الزراعية الصحيحة لمنع تفشي واستفحال المرض (Fletcher وGaze ، 2007 و Preston واخرون ، 2018). يعد تعقيم الوسط الزرعي وتربة التغطية والحبوب المستخدمة في تحضير اللقاح الفطري من اهم الطرق المستخدمة في التخلص من المسببات المرضية الموجودة (khan وآخرون ، 2011 و Ghimire وآخرون 2021). وافضل طريقة هي التعقيم بالبخار حيث يعطي نتائج أفضل بكثير مقارنة بالمواد الكيميائية ويساعد في القضاء على الاحياء المجهرية الممرضة والمنافسة للفطر الغذائي (sharma واخرون ، 2007 و O'Neill وآخرون 2015 و Atila ، 2016). كما يجب فحص تأثير العوامل المختلفة ، مثل درجة الحرارة ودرجة الحموضة ومحتوى رطوبة الوسط الزرعي بشكل صحيح ، لذلك من المهم التحكم بطريقة فعالة بالظروف البيئية (Thapaوآخرون ، 2022).

2-9-1 : المكافحة الكيميائية

تتم مكافحة المرض في الغالب عن طريق استخدام مبيد الفطريات ، ومن النادر إجراء دراسات حول فعالية مبيدات الفطريات على فطر المشروم المزروع بواسطة شركات الكيمأويات الزراعية ولم يوصي رسميًا إلا بالقليل من مبيدات الفطريات (Innocenti وآخرون ، 2019). اثبتت دراسات بأن المعالجة الكيميائية بمبيدات الفطريات تتحكم في المرض بشكل فعال للوقاية منه والسيطرة عليه (Hatvani وآخرون 2008). وفي أواخر ستينات القرن الماضي ظهرت مواد فعالة من مجموعة Methyl Benzimidazole carbamates مكنت من السيطرة على الأمراض الفطرية المختلفة التي تؤثر على الفطر الغذائي (Bollen وFuchs ، 1970 و Snel ، 1971). وفي

منتصف السبعينات استخدم مبيد البينوميل من مجموعة Benzimidazole في السيطرة على الأمراض الفطرية المرافقة لاستزراع الفطر لكونه سام ضد مجموعة من الفطريات في الوقت نفسه لم يظهر فعالية تثبيطية ضد نمو الفطر الأبيض (Snel ، 1971)، إنّ أكثر المبيدات الفطرية فعالية للسيطرة على الأمراض هو pro-chloraz ، والذي وجد أنه فعال أيضًا ضد مسببات الأمراض الفطرية الرئيسية (Grogan ، 2008) . بينما كانت سمية مبيد الميترافينون (Metrafenone) مرضية أيضًا ويمكن أن تعمل كحل محتمل للسيطرة على أمراض العفن الأخضر في مزارع الفطر حيث يستهدف في آلية عمله الهيكل الخلوي والبروتين الحركي والوظيفة ، إذ اعطى استخدامه في مكافحة االفطريات الممرضة في مزارع الفطر نتائج جيدة (Luković وآخرون ، 2020). ومع ذلك تطور مقاومة العوامل الممرضة لمبيدات الفطريات بعد الاستخدام المتكرر ، وحساسية المضيف لمبيدات الفطريات يمثلان مشاكل خطيرة .يوصى رسميًا باستخدام عدد قليل فقط من مبيدات الفطريات في إنتاج الفطر (Potočnik وآخرون ، 2015). قبل السماح باستخدام مبيدات فطرية جديدة يجب دراسة التأثير على سلالات العائل التجارية في المختبر وفي الجسم الحي قبل الموافقة على استخدامها (Diamantopoulou واخرون ، 2006). نظرًا لأن كلا من المسببات المرضية والمضيف من الفطريات فإن الانتقائية المثبتة هي الجانب الرئيسي لمبيدات الفطريات المناسبة ، والتي تقيد ظهور مواد كيميائية بديلة (Diamantopoulou واخرون ، 2006 ، Chrysayi-Tokousbalides وآخرون 2007) .

2-9-2: المكافحة الاحيائية

هناك دراسات تشير إلى استخدام عوامل المكافحة الحيوية للتعامل مع المسببات المرضية الفطرية التي تصيب الفطر الأبيض بالرغم من أنه لا يزال عددها محدود في الاسواق (Preston وآخرون ،2018 و Carrasco وPreston ، 2020). تأتي المكافحة البيولوجية في الصدارة مع ميزاتها المعينة مثل كونها محددًا لاستهداف الكائنات الحية الدقيقة ، وفعالة من حيث التكلفة ، وصديقة للبيئة (Stanojević وآخرون ،2016). من أهم عوامل المكافحة الحيوية المستعملة (QST713) *Bacillus velezensis* و(CH-131) *Bacillus subtilis* ، حيث استخدما في السيطرة على مسببات الأمراض التي تصيب الفطر الغذائي وخاصة الفطر *Trichoderma* spp مسبب مرض العفن

الأخضـر والتـي اعطـت نتـائج اكثـر كفـاءة مـن المبيـد الكيميـائي pro-chloraz (Pandin وآخـرون ، 2018). كـان عامـل المكافحـة الاحيـائي الـذي يـتم تسـويقه بأسـم Mycostop والـذي تـم الحصـول عليـه مـن بكتريـا *Streptomyces griseoviridis* أكثـر كفـاءة فـي السـيطرة علـى مـرض الفقاعـة الجافـة (Beyer وآخـرون ، 2016). فـي وقتنـا الحاضـر يـتم اسـتخدام السـلالات البكتيريـة مـن أجنـاس *Pseudomonads* و *Bacillus* كمكافحـة احيائيـة وسـلالات العصـيات مثـل *Bacillus licheniformis* ، *Bacillus.pumilus* يمكـن الـتحكم فـي مسـببات الأمـراض التـي تمنـع نمـو وتطـور الفطـر فـي مرحلـة المختبـر (Berendsen وآخـرون ، 2012 و Liu وآخـرون ، 2015 ، Stanojević وآخـرون ، 2016 و Milijašević-Marčić وآخرون ،2017).

2-9-2-1: المبيد الاحيائي Verox

يعد المبيد الاحيائي Verox خليط طبيعي من البكتريا الجذرية *Rhizobacteria* والاحماض الامينية النباتية يستخدم لزيادة قوة النبات ومقاومة المسببات المرضية التي تنتقل عن طريق التربة كالفطريات مثل *Fusarium* و *Rhizoctonia* وكذلك مقاومة النيماتودا (محمد ، 2021 و شيحان ،2022). اذ يشار إلى البكتريا الجذرية التي تم نصنيع المبيد منها على إنها البكتريا المعززة لنمو النبات وأستخدم هذا المصطلح لأول مرة من قبل Joseph W. Kloepper أواخر السبعينيات ، هذه البكتريا ترتبط بالجذور وتشكل علاقات تكافلية . تمثل البكتريا الجذرية مجموعة متنوعة من الأنواع تسكن في جذورالنبات وتحدث تغييرات في نمو النبات وتطويره وبالتالي تعزز من إنتاجية المحاصيل وتكسب مقاومة لمختلف المسببات المرضية (Saghafi واخرون ، 2019 و Fatima و Arora، 2019 و Kumari واخرون ، 2019) . أشار Reyes-Castillo واخرون (2019) إن البكتريا قادرة على تحويل النيتروجين والفسفور والبوتاسيوم وإمتصاصها بسهولة من قبل النبات وعليه تعزز من نمو النبات كما تبين ان البكتريا *Rhizobacteria* أما ان تحدث تأثيرات مباشرة من خلال الحصول على العناصر الغذائية مثل النتروجين والفسفور والحديد وهما العناصر الأهم في نمو النبات أو تعدل مستوى واحد أو أكثر من الهرمونات النباتية مثل الاكسينات Auxins ، السيتوكينيات Cytokinins ، الجبرلينات Gibberellins داخل النبات (Bhattacharyya واخرون ، 2015) .

2-9-3: المكافحة باستخدام المستخلصات النباتية

هناك اهتمام متزايد من قبل الباحثين في استعمال النباتات الطبية والتعرف على النواتج الفعالة لهذه النباتات لمكافحة المسببات المرضية حلا للمشاكل الناجمة من الاستعمال المتكرر للمبيدات الذي أدى إلى تلوث البيئة بشكل كبير والطلب المتزايد على إنتاج غذاءٍ صحيٍ نظيفٍ خالٍ من متبقيات المبيدات الكيميأوية فضلا عن ظهور سلالات مقأومة من المسببات المرضية لتلك المبيدات وحدوث حالات التسمم للعاملين بالمبيدات أثناء الأستعمال (Rai وcarpinella، 2006). بين أنّ هذه النباتات تحتوي في أجزائها النباتية على مركبات فعالة فسلجيا وكذلك بعضها فعالة أحيائياً ضد العديد من الفطريات والبكتريا ولذلك استخدمت النواتج الطبيعية في النباتات في أكثر من طريقة في تقويم كفاءتها في السيطرة على االمراض الفطرية التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض (Gea وآخرون ، 2021). وتمنع بعض الزيوت إنبات العوامل الممرضة على أسرة الفطرحيث استخدمت مستخلصات زيت القرفة والقرنفل والزعتر واعطت نتائج وفعالية عالية في تثبيط والسيطرة على مرض الفقاعات الجافة (Jatav وآخرون ، 2014). و ان استخدام المستخلصات بعد اصابة العامل الممرض اكثر فعالية من الاستخدام قبل إصابة العامل الممرض من أجل السيطرة على المرض (santos وآخرون 2017). تمكنت مستخلصات أوراق نبات النيم من منع الإصابة بمرض الفقاعة الجافة لفطر الغذائي الأبيض تحت الظروف المختبرية والحيوية ،كما يؤدي دمج هذه النباتات في السماد إلى تقليل حدوث المرض وتعزيزانتاجية المحصول (Kakraliya وآخرون ، 2022). في دراسة أخرى اظهرت ان النباتات الصحراوية *Atriplex tatarica* و *Haloxylon salicornicum* ومستخلصاتهما الكحولية دورا مهما في تثبيط مسبب مرض العفن الاخضر *T. harzianum* عند اصابته الفطرالأبيض فضلاً عن تعزيز نمو الفطر وزيادة إنتاجه وتحسين خصائص جودته (shafeeq واخرون ،2021). و أظهرت الزيوت الاساسية لمستخلص الزعتر أنها الأكثر فاعلية لأنها سجلت أعلى نشاط ضد الطفيليات الفطرية وأفضل مؤشر انتقائية بين العامل الممرض والمضيف (Mehrparvar وآخرون 2016). وهناك دراسة تشير إلى ان المستخلص الاسيتوني لأوراق الحناء وقشور الرمان يمكن استخدامه كمضاد فطري ضد الفطر *Aspergillus fumigatus* ذلك لاحتواءه على مركبات فعالة تستخلص بالاسيتون(Salih،2004) . ذكر stalish وآخرون (2007) أن مستخلص المائي ل52 نبات منها نبات *Acacia*

nilotica و *globulis* *Eucalyptus* ثبطت نمو واثرت على فعالية ثمانية أنواع من *Aspergillus* ومنها *A. flavus* و *A. terrus* و *A. ochraceus*

2-9-3-1: نبات القرنفل Clove

يعد نبات القرنفل *Eugenia caryophyllata* شجرة دائمية الأخضرار موطنها الأصلي جزر مولوكا في اندونيسيا وجنوبي الفلبين كما تنتشرزراعته في الهند وباكستان وسيريلانكا ، ذات شكل هرمي يصل طولها إلى 15 متر تقريبا ، لها رائحة عطرية قوية ، الجزء الفعال حيويا هي البراعم الزهرية والتي تكون ذات لون احمر ، اذا يتم جمع هذه البراعم وتجفف لتكتسب اللون البني الغامق والتي يتميز شكلها بأن لها قاعد اسطوانية تنتهي بجزء كروي الذي يمثل التويج غير متفتح ومحاط بكأس ذو اربعة اسنان (سعد ، 1977). تحتوي البراعم الزهرية على زيت القرنفل بنسبة 14-21% والذي بدوره يحتوي على الأوجينول (Eugenol) بنسبة 80-90% وكذلك يحتوي على فانيلين Vanilin وبنين Benine وقليل من التربين Terpene واستيل الأوجينول ومثيل ساليسيلات Methyl salicylate وصمغ وحامض التانيك Tannic acid (Wagner وآخرون ، 1984) .

ومن أهم استعمالات القرنفل في التوابل وفي تحضير بعضاً من المحاليل العطرية ، ومن استخداماته الطبية مسكناً للالم ومضاد للتشنجات اما زيته فهو مضاد قوي للجراثيم كما انه مخدر قوي مفيد في تسكين ألم الأسنان و يتميز القرنفل والفلفل االسود والزنجبيل عن غيرها من التوابل في تقليل تكوين الدواحر (Aflatoxin)، إذ قلل نسبة تكوين هذه السموم إلى 8 % ويعزى ذلك لاحتوائها على الزيوت الطيارة فهي تحتوي على بعض مركبات الكينون (Quinines) التي تثبط فاعلية بعض الانزيمات الفطرية (الدجوي ، 1996). اظهرت دراسات عديدة بأن المستخلص المائي للبراعم الزهرية المجففة لنبات القرنفل ذات تأثير تثبيطي فعال في نمو بعض أنواع البكتريا والفطريات فقد استخدم زيت القرنفل والدارسين في تثبيط فطري *Aspergillus* و*Fusarium* (Soliman وBadeaa ،2002). كما تبين أن القرنفل و الزعتر يثبط فعالية عدد من أنواع الفطر *Aspergillus* (Reddy وآخرون ،2007).

2-9-3-2: نبات الكونو كاربس

يعد نبات الكونوكاربس *Conocarpus lancifolius* من الاشجار دائمة الخضرة ، كثيرة التفرع صغيرة إلى متوسطة الحجم ، يصل ارتفاعها حوالي 12 م موطنها الاصلي الصومال واليمن وشرق افريقيا وجيبوتي (Venama ،2009). تكون اغصانها خضراء اللون أو حمراء وأوراقها قصيرة العنق ذات حواف مستوية وقمة حادة ورمحية الشكل و ازهارها طرفية ذات لون أبيض مخضر أو أخضر وثمارها مخروطية الشكل ذات لون اخضر تتحول إلى اللون البني عند النضج والجفاف (الشويلي ،2009). له القدرة على النمو بسرعة كبيرة لايوجد نبات اخر يماثله في سرعة النمو وله قابلية على تحمل ملوحة التربة والظروف البيئية القاسية حيث يمكن أن ينمو في المناطق الجافة ذات مستويات الملوحة العالية والامطار الشحيحة (Feller وآخرون 2010 والجلبي وآخرون 2011). الجزء الفعال حيويا في هذا النبات متمثل بالأوراق حيث اظهرت عدة دراسات احتواء الأوراق على الدهون والتربينات والألكانات بالإضافة إلى الشمع كما تحتوي على العديد من المركبات الفينولية (Redha وآخرون 2011).

بالاضافة إلى ذلك عزلت عدة حوامض من أوراق نبات الكاربس مثل behenic ، nondeconoic ، archidic وغيرها (Misra وآخرون 1987 وWalton ،1990) ، من اهم استخدامات الكاربس في المجال الطبي حيث اثبتت فعاليته في علاج نزلات البرد والسعال وفقر الدم والتهابات العين كما يثبط بعض الفايروسات المسببة لامراض ذات الرئة والتهابات الغدد اللمفأوية (Telesواخرون، 2011). كما ان المستخلص الكحولي لأوراق نبات الكاربس يحتوي على العديد من المركبات الفعالة التي تأثر على نشاط ونمو بعض الفطريات مثل الفطر *A. flavus* و *Penicillium* spp (Touqeer وآخرون 2014).

2-10: التشخيص المظهري والجزيئي لمسببات امراض الفطر الغذائي الأبيض *A.bisporus*

تعد عملية تشخيص مسببات الأمراض من العمليات المهمة التي يمكن من خلال تحديد الممرض وإيجاد طريقة لمكافحة المرض والسيطرة عليه حيث توجد عدة صفات يعتمد عليها الباحثون في التشخيص (Burgess وآخرون 2008) ، بدأ تصنيف الفطريات بالأعتماد على الخصائص والصفات المظهرية والتي تكون قابلة للتغير بناءا على الظروف البيئية و يؤدي هذا إلى تشخيص غير دقيق وخصوصا في الانواع قريبة التشابه ، ولغرض الحاجة إلى تشخيص الانواع بدقة كان

من الضروري التوجه لاستخدام انظمة متقدمة ودقيقة تعتمد بعملها على المادة الوراثية (Barley و Thomson 2016 و Calhim وآخرون ، 2018) ، حيث يمتاز التشخيص الجزيئي بكونه طريقة سهلة وسريعة تستخدم فيها الواسمات الجينية الموجودة ضمن جينوم الكائن الحي ومعروف بدقته وقدرته على أكتشاف أوجه التشابه والاختلاف بين الكائنات الحية (Chu وآخرون ، 2006 و Lücking وآخرون 2020) ، وتعد تقانة تفاعل البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR) احد التقانات المستخدمة في التشخيص الجزيئي حيث ان طبيعة عملها انتخاب وتضخيم منطقة محددة من جينوم الفطر و الكشف عن الاختلاف أو التشابه في تسلسلات نواتج الحامض النووي لتلك للمناطق الجينية المضاعفة من الفطريات المستخدمة في التشخيص الجزيئي ومقارنتها مع عينات سابقة أودعت تسلسلاتها في بيانات البنك الجين GenBank (schuller وآخرون ، 2010). وتمتاز هذه التقانة بسهولة استخدامها وسرعتها ودقتها في التوصل إلى النتائج حيث تستخدم تراكيز قليلة من ال DNA ومن خلال نتائجها يتم تأكيد التشخيص المظهري للفطريات المدروسة (shinohara وآخرون ،2021).

3: المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)

3-1: الأجهزة والادوات والمواد المستخدمة في أجراء التجارب

جدول 1: الأجهزة والادوات المستخدمة في أجراء التجارب الواردة في البحث .

ت	الجهاز	الشركة المصنعة	المنشا
1	الحاضنة (Incubator)	Memmert	Germany
2	المؤصدة (Autoclave)	LabTech	South Korea
3	ثلاجة (Refrigerator)	L.G	Korea
4	مجهر ضوئي مركب (Compound light Microscope)	Olympus	Japan
5	ميزان حساس (balance Analytical)	Sartorius	U.K.
6	مقياس حرارة زئبقي	---	Chine
7	أطباق بتري (Petri-Dishes)	---	Chine
8	دوارق زجاجية مختلفة الاحجام (Flasks)	Unisonic LTD	England
9	أوراق ترشيح (Filter Papers)	Whatman	England
10	شرائح زجاجية (Slides and cover slide)	Whatman 4	England
11	محقنة طبية (Medical Syringe)	---	England
12	غرفة العزل (Laminar Flow Hood)	LabTech	South Korea
13	جهاز تقطير(Distillation)	Gesellschaft fur Laborttechnik	Germany
14	جهاز هزاز (Vortex mixer)	Heidolph	Germany
15	أوراق المنيوم (Aluminum Foil)	Zhangjiagang	China
16	صواني المنيوم (Aluminum Container)	---	China
17	القطن (Cotton)	BDH	England
18	ورق ترشيح (Milepor)	Sartorius Stedim	Germany
20	مناخل (Sieves)	Ogawa seikico	Japan
21	سحاحة (Burette)	---	China
22	مطحنة كهربائية (Electric grinder)	Mammanlex	China
23	جهاز تبريد (سبلت) LG	---	Japan
24	جهاز قياس درجة الاس الهيدروجيني (pH-meter)	Ogawa seikico	Japan
25	ابرة التلقيح ذو العقدة (Loop)	---	---
26	ثاقب فليني (Cork Borer)	---	Germany

27	جهـاز الطـرد المركـزي Centrifuge Cooling	HettichEBA.20	Germany
28	Ultrasonic bath	---	China
29	مقيـاس حـرارة الكترونـي (Electronic thermometer)	---	China
30	جهاز قياس الرطوبة (Hygrometer)	---	China
31	رفوف المنيوم (Aluminum shelves)	---	China
32	جهاز المايكرو-كلدال(Micro kjeldahl)	---	Germany
33	جهاز المرطبة Humidifier	Anko	China
34	جهاز Flame Photometer	Elico	India
35	جهـاز تفاعـل البلمـرة المتسلسـل وملحقاتـه (Thremalcycler)	MWG Bioth	Germany

جدول 2: المواد الكيميائية المستعملة في إجراء التجارب الواردة في هذه الدراسة .

ت	المواد الكيميائية	الشركة المصنعة	المنشا
1	اكار(Agar)	Himedia	India
2	ماء مقطر (Distilled water)	---	---
3	كحول اثيلي (Ethanol)	الجود	Iraq
4	مضاد حيوي Amoxicillin	Samara	Iraq
5	مضاد حيوي Chloramphinicol	Samara	Iraq
6	كلوروفورمchloroform	HIMEDIA	INDIA
7	ميثانولmethanol	HIMEDIA	INDIA
8	كاربونات الكالسيوم CaCo3	---	Iraq
9	كبريتات الكالسيوم CaSo4	---	Iraq
10	هايبوكلورات الصوديوم	HIMEDIA	INDIA
11	حامض البوريك Boric acid		
12	صبغة المثيل الحمراء Red Methyl	HIMEDIA	INDIA
13	البروموكريسول الخضراء Broomocresol green	HIMEDIA	INDIA
14	حامض الكبريتيك المركز Concentrated sulfuric acid	BDH	England
15	حامض البيركلوريك المركز	BDH	England
16	هيدروكسيد الصوديوم NaOH	BDH	England
17	حامض الهيدروكلوريك Hcl	---	---

18	حامض الاسكوربيك $C_6H_8O_6$	---	China
19	مولبيدات الامونيوم$(NH4)_6Mo_7O_{24}$	---	China
20	فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KHPO4	---	China
21	فورمالين(Formalin)	Fluka	Switzerland
22	كبريتات البوتاسيوم K_2So_4	---	China
23	كلوريد الصوديوم NaCL	---	China

جدول 3: الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة .

ت	الوسط الزرعي	الشركة المصنعة	الغرض من استخدامه
1	وسط البطاطا دكستروز آكار Potato Dextrose Agar (P.D.A.)	India-Himedia	لعزل وتنمية وتشخيص الفطريات
2	وسط البطاطا سكروز السائل Potato Sucrose Broth (P.S.B.)	حُضر مختبريا	للحصول على العالق الفطري
3	وسط البطاطا سكروز الصلب Potato Sucrose Agar (P.S.A.)	حُضر مختبريا	لتنمية الفطريات
4	وسط الرز	حُضر مختبريا	لتنمية الفطريات
5	وسط الحنطة	حُضر مختبريا	لتنمية بذارالفطر (Spawn)
6	وسط الكمبوست آكار (CAM)	حُضر مختبريا	لتنمية الفطر الأبيض
7	الوسط الزرعي الكمبوست	شركة الودق	لزراعة الفطر الابيض

2-3: تحضيرالأوساط الزرعية المستخدمة في عزل وتشخيص وتنمية لفطريات .

1-2-3: وسط البطاطا سكروز اجار Potato Sucrose Agar (P.S.A)

حُضر الوسط الزرعي بأخذ وزن 200 غم من البطاطا المقشرة والمقطعة إلى قطع صغيرة بحجم ثلاثة مل وغليها بالماء المقطر بحجم 500 مل لمدة 20 دقيقة في دورق زجاجي . بعد انتهاء مدّة الغليان رشُح المستخلص في دورق زجاجي بطبقتين من القماش الشاش للحصول على الراشح ، أُضيف 10 غم من السكروز و17 غم من الاكار في 500 مل أخرى ثم أضيف إليها راشح البطاطا واكمل الحجم إلى واحد لتر، اضيف اليه المضاد الحيوي الكلورامفينيكول (Chloramphenicol) بمقدار 50 ملغم / لتر. بعدها وزع الوسط في دوارق زجاجية حسب الحاجة ثم اغلقت فوهاتها بسدادات من القطن ورقائق الالمنيوم وعقمت بجهاز المؤصدة (Autoclave) عند درجة حرارة 121 م° وضغط 15باوند / انج^2 و لمدة 20 دقيقة . بعد انتهاء مدّة التعقيم تركت الدوارق لحين وصول درجة الحرارة 45 م° صب الوسط في أطباق بتري وبذلك اصبح جاهزا للاستعمال حسب التجربة أو حفظ في الثلاجة لحين الاستعمال.

2-2-3:وسط البطاطا دكستروز آكار الجاهز P.D.A. Potato Dextrose Agar

حُضرالوسط الزرعي بإذابة 39 غم من الوسط في واحد لتر من الماء المقطر حسب تعليمات الشركة المصنعة ثم اضيف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol ، وعقم تحت الظروف نفسها الواردة في الفقرة السابقة وبعد انتهاء مدّة التعقيم تركت الدوارق لحين وصول درجة الحرارة 45 م°، ثم صب الوسط في أطباق بتري واصبح جاهزا للاستعمال حسب التجربة أو حفظ في الثلاجة لحين الاستعمال.

3-2-3: وسط البطاطا سكروز السائل Potato Sucrose Broth (P.S.B.)

حُضر هذا الوسط الزرعي بغلي 200 غم درنات البطاطا المقشرة والمقطعة في لتر ماء لمدة 30 دقيقة ثم اخذنا الراشح و اضفنا اليه 10غم سكروز وخلط جيدا وغلق باحكام وعقم بجهاز الموصدة تحت نفس الظروف في الفقرة 2-3-1 وبعد انتهاء مدّة التعقيم تركت الدوارق لحين وصول درجة الحرارة 45 م° وقبل التصلب ثم اضيف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol ثم صب الوسط في انابيب أختبار خاصة حسب التجربة المطلوبة و حفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

4-2-3: وسط الرز

حُضر الوسط بأستعمال الرز (*Oryza sativa*) ،بأخذ كمية 250 غم من الرز وغسله جيدا للتخلص من الاتربة والشوائب وتنقيعه لمدة ساعة واحدة بالماء. بعد التخلص من الماء الزائد منه بوضعه على قطعة من الشاش، وزعت بأوزان متسأوية في اكياس بلاستك حرارية ، وأغلقت بإحكام بعدها عقمت جميعها بواسطة المؤصدة في درجة حرارة 121 °م و ضغط 15 بأوند/ انج^2 و لمدة 20 دقيقة . بعد انتهاء مدة التعقيم تركت الدوارق لحين وصول درجة الحرارة 45 م° (Richard وDeBey ، 1995) .

5-2-3: وسط الكمبوست اكار Compost Agar Medium (CAM)

حُضر الوسط الزراعي الكمبوست اكار Agar باخذ 25 غم من الوسط الزرعي Compost بعد بسترته ووضع في دورق زجاجي سعة 1000مل يحوي على لتر واحد من الماء مقطر عند درجة الغليان وتُرك لمدة 15 دقيقة، بعدها رشح بطبقتين من قماش الشاش ووضع الراشح في دورق زجاجي سعة 1000مل واكمل الحجم إلى لتر باضافة الماء المقطر وسخن مرة أخرى حتى درجة الغليان واضيف اليه 15غم من مادة الاكار Agar-Agar N1 مزج جيدا ورفع من المصدر الحراري ليوزع في دوارق زجاجية سعة 250 مل وتم تعقيمه بجهاز الموصدة في درجة حرارة °121م وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 20 دقيقة . بعد ذلك تم اخراجها وصب الوسط في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم بواقع 15-20 سم وتركت لتبرد وسمي هذا الوسط Compost agar medium (CAM) (القيسي ، 2006).

3-3: جمع العينات (جمع عينات الفطر الغذائي الأبيض المصابة)

تم جمع عينات الأجسام الثمرية المصابة للفطر *A. bisporus* لعزل أنواع الفطريات الممرضة المختلفة المستخدمة للدراسة . اذ تم القيام بالعديد من الزيارات الحقلية الميدانية إلى محطات وشركات ومزارع الفطر الزراعي الأبيض في العراق وكما هي مثبتة في جدول 5. جمعت عينات من الأجسام الثمرية التي ظهرت عليها اعراض الاصابة بالامراض وتربة التغطية من غرف زراعة الفطر ووضعت في أكياس ورقية ونقلت إلى المختبر ثم حفظت في الثلاجة لحين إجراء عملية العزل .

جدول4 : رمز العينات ومكان وتأريخ جمعها وانواعها

ت	رمز العينة	المحافظة	مكان الجمع	تاريخ الجمع
1	B1	بغداد	شركة الودق (اهلية)	2021/11/17-11/1-10/14
2	E1	اربيل	مزرعة فطر هولير اربيل (اهلية)	2021/11/24
3	E2	اربيل	شركة وادي الفطر(اهلية)	2021/11/25
4	D1	الديوانية	مزرعة فطر الديوانية (اهلية)	2021/12/11
5	K1	كركوك	معمل فطر به هيز (اهلي)	2021/12/24
6	B1	بغداد	شركة الودق (اهلية)	2022/1/5
7	M1	المثنى	مشروع تحضير الاسمدة العضوية وزراعة الفطر (حكومي)	2022/1/25

3-4: العزل والتشخيص

3-4-1: عـزل وتشـخيص الفطريـات الممرضـة والمنافسـة مـن تربـة التغطيـة لوسط زراعة الفطر الغذائي الأبيض.

عُزلـت الفطريـات المرافقـة لزراعـة الفطـر الغـذ الأبـيض مـن تربـة التغطيـة لوسـط زراعـة الفطـر بطريقـة التخـافيف عـن طريـق تحضـير سلسـلة مـن التخـافيف لكـل عينـات التربـة بأخـذ واحـد غـم مـن التربـة بعـد خلطهـا جيـدا وضـعت فـي انابيـب أختبـار معقمـة متسلسـلة حأويـة علـى تسـعة مـل مـن المـاء المقطـر المعقـم . تـم رج المعلـق لمـدة 30 ثانيـة ثـم إجـراء سلسـلة مـن التخفيفـات ، واخـذ مـن التخفيـف الرابـع والخـامس مـن كـل عينـة واحـد مـل واضـيف إلـى أطبـاق بتـري تحـوي علـى الوسـط P.D.A وتـم تحريكهـا بحركـة خفيفـة لضـمان توزيعهـا بشـكل متجـانس ومتسـاوي علـى سـطح الوسـط . وضـعت الأطبـاق فـي الحاضـنة عنـد درجـة حـرارة 25±2 م˚ لمدة 2-3 أيام ومتابعتها باستمرار لتنقيتها وتشخيصها لاحقاً.

3-4-2: عزل وتشخيص الفطريات الممرضة والمنافسة المرافقة للاجسام الثمرية للفطر الغذائي المصاب

عُزلـت الفطريـات الممرضـة المرافقـة للفطـر الغـذائي الأبـيض ، بأخـذ عينـات عشـوائية مـن الأجسـام الثمريـة للفطـر الأبـيض التـي ظهـرت عليهـا اعـراض اصـابة فطريـة متمثلـة بالـذبول أو وجـود تشـوهات كـالحفر أو التصـبغات علـى قبعـة أو سـاق الجسـم الثمـري أو وجـود نمـو خيـوط فطريـة مختلفـة عـن الخيـوط الفطريـة للفطـر *A. bisporus* ، تـم أخـذ الأجسـام الثمريـة وغسـلها جيـداً ثـم تقطيعهـا بحجـم 0.5 سـم وتعقيمهـا سـطحياً بواسـطة محلـول هـايبوكلورات الصـوديوم بتركيـزه 2% لمـدة دقيقتـين . غسـلت بالمـاء المقطـر المعقم لأزالـة بقايـا المحلـول المعقـم بعـدها جفـف المـاء الزائـد باسـتعمال ورق ترشـيح معقـم . نقلـت بعـدها الاجـزاء المعقمـة بواسـطة ملقـط معقـم إلـى أطبـاق بتـري حأويـة علـى الوسـط الغـذائي P.D.A وبواقـع 4 أجـزاء لكـل طبـق وبواقـع اربعـة مكـررات ، حضـنت الأطبـاق فـي درجـة حـرارة 25±2 م˚ ، تـم بعـد اربعـة أيـام فحـص المسـتعمرات الفطريـة الناميـة وفحصـت تحـت المجهـر لغرض تشخيصها وحفظها.

3-5: تنقية وتشخيص الفطريات المعزولة وحفظها

3-5-1: تنقية وتشخيص الفطريات المعزولة

بعد عزل الفطريات من عينات تربة التغطية والأجسام الثمرية المصابة للفطر *A.bisporus* ، تم تنقيتها بطريقة البوغ المنفرد أو بطريقة طرف خيط الهايفة ، باستخدام طريقة التخطيط على عدد من الأطباق (Streak-plate method) ، للنموات الفطرية المغايرة لنموات الفطر الزراعي الأبيض بواسطة أبرة ذات حلقة دائرية (Loop) معقمة في أطباق بتري حأوية على الوسط الزرعي PDA المعقم . حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2°م لمدة يومين بعدها تم اخذ المستعمرة النامية ونقلت إلى أطباق جديدة حأوية على الوسط نفسه وحضنت لمدة خمسة أيام (Samson واخرون، 2008). فحصت المستعمرات الفطرية التي ظهرت باستخدام المجهر الضوئي المركب ثم شخصت مظهرياً اعتماداً على الصفات المظهرية والمجهرية وبأتباع المفاتيح التصنيفية التي ذكرها كل من Leslie و Summerell، (2006) و Pandian وآخرون (2016) و Dıaz-Najerag وآخرون (2021) وبمساعدة أ. د. ياسر ناصر حسين الحميري وبعدها تم حساب النسب المئوية للظهور للعزلات الفطرية و كذلك تم حساب النسبة المئوية لتردد عزلات الفطر الواحد بالعينات وفقا للمعادلات التالية :

$$\text{النسبة المئوية لظهور العزلات الفطرية} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها الفطر}}{\text{العدد الكلي للعينات}} \times 100$$

$$\text{النسبة المئوية لتردد عزلات الفطر} = \frac{\text{عدد عزلات الفطر الواحد (النوع أو الجنس)}}{\text{عدد العزلات الكلية في العينات}} \times 100$$

3-5-2: حفظ العزلات الفطرية المعزولة

حفظت عزلات الفطريات المعزولة *Aspergillus* spp. و*Pincillium* sp. و *Mucar* sp. و *Trichoderma* sp. على وسط البطاطا P.D.A. المائل والمصبوب في أنابيب أختبار زجاجية حجم 50 مل . حضر الوسط المائل بوضع 20 مل من الوسط في كل أنبوبة وتم تعقيمها في جهاز التعقيم البخاري بدرجة حرارة 121°م وضغط 15 بأوند/إنج^2 لمدة 20 دقيقة . بعد انتهاء التعقيم تركت الأنابيب لحين وصول درجة الحرارة الى 45 م° وقبل التصلب ثم اضيف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol. وضعت الانابيب بشكل مائل حتى التصلب ولقحت الأنابيب بقرص قطر 0.5 سم مأخوذ من العزلات الفطرية المعزولة سابقاً وحضنت الأنابيب في درجة حرارة 25°م لمدة اسبوع . حفظت جميع العزلات في الثلاجة بدرجة حرارة 4°م لحين الاستعمال مع تجديدها كلما دعت الحاجة لذلك (Booth واخرون،1988).

كما تم الاحتفاظ بالعزلات الفطرية الأكثر ضراوة بعد إجراء أختبارات المقدرة الأمراضية تم حفظها على وسط التربة في انابيب أختبار زجاجية بعد تعقيمها لمرتين خلال 24 ساعة في جهاز التعقيم البخاري بدرجة حرارة 121°م وضغط 15 بأوند/إنج^2 لمدة 60 دقيقة ، وحفظت لحين استخدامها .

3-6: التشخيص الجزيئي Molecular identification

تم اجراء فحص (PCR) لغرض تأكيد التشخيص المظهري للفطريات *Aspergillus* spp. و *Pincillium* sp. و *Mucor* sp. و*Trichoderma* sp. والمعزولة من الاجسام الثمرية المصابة وترب التغطية وتشخيصها جزيئياً وكما يأتي:

أولا: استخلاص و تنقية الـ DNA DNA extraction and purification

جرت عملية استخلاص وتنقية للـDNA من مستعمرات الفطر النقية باستخدام العدة التجارية DNeasy Plant Kits المجهزة من شركة QIAGEN الألمانية ومن خلال اتباع الخطوات التالية:

1) جمعت 100-200 ملغم من المستعمرة النقية للفطر الممرض بعمر 10 أيام ونقلت الى أنبوب اختبار (Eppendrof tube) معقم سعة 1.5 مل واضيف اليها 400 مايكروليتر من المحلول

الدارئ AP1 بعدها سحقت العينة باستخدام المدقة البلاستيكية الصغيرة (Micropestle) المعقمة مع رج العينة عدة مرات باستخدام جهاز الهزاز (Vortex) والتأكد من سحق العينة بصور جيدة. لقد كان الغرض من هذه الخطوة هو تحطيم الخلايا الفطرية.

2) حضنت الانبوبة الحاوية على الخليط في حمام مائي بدرجة حرارة 65 م° لمدة 10 دقائق مع الحرص على رج الانبوبة يدويا 2-3 مرات اثناء فترة التحضين وكانت هذه الخطوة لغرض تحليل الخلايا الفطرية.

3) إضيف 130 ميكرولتر من المحلول الدارئ P3 إلى الانبوبة الحاوية على الخليط ثم مزجت المحتويات بصورة جيدة باستخدام جهاز الهزاز وحضنت بعدها لمدة 5 دقائق على الثلج. ان هذه الخطوة تترسب فيها المنظفات الخاصة بالمحاليل الدارئ والبروتينات والسكريات المتعددة الخاصة بالفطر.

4) أجريت عملية طرد مركزي للأنبوبة بسرعة 14000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق ثم نقل المحلول الطافي الى انبوبة نوع QIAshredder Mini spin column ذات اللون الارجواني التي تحوي على مرشح خاص وأيضا أجريت لها عملية طرد مركزي بنفس السرعة أعلاه ولكن لمدة دقيتين. ويعمل مرشح هذه الانبوبة على إزالة معظم الرواسب وحطام الخلايا الفطرية.

5) نقل الراشح إلى أنبوب اختبار جديدة معقمة سعة 2 مل واضيف اليه 700 ميكرو لتر من المحلول الدارئ AW1 ومزجت المحتويات مباشرة بواسطة الماصة الصغيرة.

6) نقل بعدها 650 ميكرو لتر من الخليط بواسطة الماصة الصغيرة الى انبوبة نوع DNeasy Mini spin column ذات الون الأبيض والتي تحوي أيضا على مرشح خاص لغرض تنقية الـDNA وأجريت للأنبوبة عملية طرد مركزي بسرعة 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة، تم التخلص بعدها من الراشح ونقل المتبقي من الخليط الى نفس الانبوبة وأجريت عملية طرد مركزي بنفس السرعة والفترة الزمنية مع التخلص من الراشح أيضا.

7) أضيف 500 ميكرو لتر من المحلول الدارئ AW2 الى نفس الانبوبة أعلاه مع أجراء عملية طرد مركزي لها بسرعة 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة وتم التخلص من الراشح ثم اضيف مرة أخرى لنفس الانبوبة 500 ميكرو لتر من المحلول الدارئ AW2 وأجريت لها عملية طرد مركزي بسرعة 14000 دورة/دقيقة لمدة دقيقتين وأيضا تم التخلص من الراشح. أن الغرض من هذه الخطوة هو لتنقية الـDNA العالق بالمرشح.

8) وضعت الانبوبة DNeasy Mini spin column بداخل انبوبة اختبار معقمة سعة 2 مل واضيف الى غشاء مرشح الانبوبة مباشرة 100 ميكرو لتر من المحلول الدارئ TE وحضنت

بعدها الانبوبة لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة ثم أجريت عملية طرد مركزي بسرعة 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة للحصول على الراشح الذي يحوي على الـDNA الكلي. ان الغرض من هذه الخطوة هو إزالة الـ DNA العالق بغشاء مرشح الانبوبة ليكون مع الراشح.

9) حفظت الانبوبة الحاوية على الـDNA الكلي تحت درجة حرارة 20-م° لحين الاستخدام.

ثانياً: تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR)

استخدم الـDNA الكلي الذي تم استخلاصه من المسبب المرضي الذي عزل من بادرات الطماطة المصابة كقالب في تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) القياسي الخاص بالكشف عن الفطريات باستخدام العدة Ready-To-Go PCR Beads المجهز من شركة GE Healthcare /البريطانية. كان الحجم النهائي للتفاعل 25 مايكرو ليتر ويحتوي على المكونات الأساسية المتمثلة بـ 1 مايكرو ليتر من كل من البادئات ITS1 و ITS4 الموضحة أدناه (جدول 5) والتي تستهدف مضاعفة منطقة Internal transcribed spacer (ITS) التي تقع ضمن جينات الوحدة الصغيرة والوحدة الكبيرة المكونة للرايبوسومات في الكروموسومات الفطرية (White واخرون،1990) كما أضيف للتفاعل 2 مايكرو ليتر من الـ DNA الكلي المعزول من الفطريات أعلاه ومن كلى الطريقتين.

جدول (5) البوادئ المستخدمة في تقنية Polymerase chain reaction (PCR)

Primer	Sequence 5 ⟶ 3		PCR product size
ITS1	F	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	500-800 bp
ITS4	R	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	

لقد كان برنامج التضاعف الخاص بالـ PCR يبدأ بخطوة التفكك Denaturation ، لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 95 مْ ثم 35 دورة تتكون من ثلاثة مراحل: تبدأ بالتفكك لمدة 40 ثانيه وبدرجة حرارة 95مْ ثم الالتصاق Annealing لمدة 40 ثانيه بدرجة حرارة 55مْ بعدها التمدد Extension لمدة دقيقة بدرجة حرارة 72 مْ. بعدها تبدأ الخطوة الأخيرة للتفاعل المتمثلة بالتمدد النهائي Final extension لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 72 مْ. ناتج التفاعل رحل باستخدام الترحيل الكهربائي

على وسط Agrose تركيز 1.5% بعد إضافة 5مايكرو ليتر من صبغة بروميد الاثيديوم وبعدها استخدام جهاز الأشعة فوق البنفسجية لغرض فحص نتائج التفاعل.

ثالثاً: تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية

بعد اجراء عملية التضاعف الـPCR أرسلت النواتج إلى شركة Macrogen في كوريا الجنوبية لغرض تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية لكل عينة فطرية، تم تقييم وتحليل البيانات المستلمة من الشركة بالاستعانة ببرنامج Chromas، ولغرض معرفة التشابه بين الفطر المدروس والفطريات المسجلة عالميا تم الاستعانة ببرنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) التابع لموقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية نتائج البحث National Center for Biotechnology Information (NCBI) تم رسم شجرة التحليل الوراثي (Phylogenetic trees analysis) بأستخدام برنامج MEGA X (Kumar واخرون 2018).

7-3: تحضير المستخلص النباتي المائي الحار لبعض النباتات

حُضرت المستخلصات النباتية المائية لعدة نباتات وهي الكركم (*Curcuma zedoaria*) والدارسين(*Cinnamomum cassia*) واليوكالبتوس (*Eucalypyus obilqua*) والحبة السوداء(*Nigella sativa*) و القرنفل(*Eugenia caryophyllata*) والكانو كاربس (*Conocarpus lancifolius*) بوزن 20 غم من مسحوق النبات لكل نموذج نباتي مذكور كلا على حدة ومزج مع 400 مل من الماء المقطر بدرجة حرارة 60 مْ في دورق زجاجي حجم واحد لتر ، ترك العالق على مازج مغناطيسي لمدة 24 ساعة وعلى درجة حرارة 60 مْ . رشح العالق باستخدام ورق ترشيح ، ثم وضع في جهاز الطرد المركزي المبرد Cooling Centrifuge 5000 دورة /دقيقة للتخلص من بقية الشوائب ، ثم الترشيح من خلال ورق الترشيح (milipore filter 0.22µm) وحفظ السائل الرائق في أوعية معتمة محكمة الغلق ووضعت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ لحين الاستعمال (القريشي ،2011 و Shafeeq واخرون 2021).

3-8: تحضير اللقاح الفطري لكل من العزلات الفطرية المحددة على وسط الرز

لتحضير اللقاح الفطري الخاص بالعزلات الفطرية الممرضة *Fusarium* sp. و *Trichoderma* sp. و *Aspergillus* sp. و *Pencillium* sp. ، *Mucor* sp. تم تجهيز وسط الرز لتحميل لقاح العزلات الفطرية والذي تم تحضيره حسب الطريقة المذكورة في الفقرة 3_2_4 ، إذ لقحت الدوارق بالعزلات الفطرية كل على انفراد وبواقع خمسة أقراص قطر كل منها 0.5 سم لكل دورق أخذت من حافة مزرعة الفطر بعمر سبعة أيام باستخدام ثاقب فليني معقم . حضنت البذور المعاملة بالفطر لمدة خمسة عشر يوماً على درجة حرارة 25 ± 2 مْ اخذين بالحسبان تحريك البذور كل يومين إلى ثلاثة أيام لضمان توزيع الفطر على جميع البذور إلى أن أصبحت جميع البذور مغطاة بشكل كامل بنموات الفطر(Richard وDeBey ، 1995) .

3-9: أختبار المقدرة التضادية (الامراضية) للعزلات الفطرية المعزولة ضد نمو الغزل الفطري للفطر *Agaricus bisporus* على وسط (CAM)

تم أختبار المقدرة الامراضية لجميع العزلات الفطرية الممرضة للفطر *A. bisporus* في هذه الدراسة وبطريقة الزرع المزدوج إذ قسم طبق بتري قطره 9سم حاوي على الوسط كمبوست اكار (CAM) إلى قسمين متساويين . لقح مركز القسم الأول من مزرعة الفطر *A. bisporus* ،حيث أخذ قرص قطره 0.5 سم من مزرعة الفطر وبعمر ثلاثة اسابيع، بينما لقح مركز القسم الأخر من الطبق بقرص قطره 0.5 سم بلقاح الفطر الممرض من مستعمرة بعمر سبعة أيام . بعد ثلاثة أيام من زراعة القرص الأول، لأتاحة الفرصة للفطر الغذائي الأستقرار والأنطلاق بالنمو، لأنهُ يتميز بنموه البطيئ (القيسي ، 2006). وضعت الأطباق في حاضنة على درجة حرارة 25± 2°م لمدة أسبوع واحد وقد تم تقدير المقدرة التضادية وفقا إلى النسبة المئوية للتثبيط بقياس نصف قطر مستعمرة الفطر مقارنة بمعاملة السيطرة التي نمي فيها الفطر الزراعي الأبيض على مسافة واحد سم عن حافة الطبق وبشكل منفرد . وحسب معادلة Abbot (1925) التالية:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل نصف قطر المستعمرة بالسيطرة– معدل نصف قطر المستعمرة بالمعاملة}}{\text{معدل نصف قطر المستعمرة بالسيطرة}} \times 100$$

3-10 : تقييم كفاءة عدد من المستخلصات النباتية والمبيدات الكيميائية ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* والعزلات الفطرية الممرضة مختبريا.

3-10-1 : أختبار تأثير عدد من المستخلصات النباتية ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus* والعزلات الفطرية الممرضة له

تم أختبار تأثيرستة مستخلصات نباتية (الكركم واليوكالبتوس والدارسين والحبة السوداء والقرنفل والكونوكاربس) مختلفة ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض والعزلات الفطرية الممرضة له ، إذ تم مزج المستخلصات النباتية المحُضرة مسبقا في الفقرة 3-6 مع الوسط PDA المبرد إلى درجة حرارة 45 مْ بتركيز 10 مل / 250 مل وسط ، وبمعدل ثلاثة مكررات وبعد تصلب الوسط الغذائي تم وضع قرص 0.5 ملم من العزلات الفطرية المستخدمة في الدراسة باستخدام ثاقب فليني في الوسط الممزوج مع المستخلص النباتي مع عمل مقارنة في طبق يحتوي على وسط زرعي بدون اضافة أي مادة . حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25±2 مْ ولمدة أسبوع بالنسبة للعزلات الفطرية الممرضة وثلاثة أسابيع بالنسبة للفطر الزراعي الأبيض (عند اكتمال نمو المقارنة) وتم قياس معدل قطر المستعمرة النامية وسجلت النتائج وحسبت النسبة المئوية للتثبيط والتي على اساسها اختيرت المستخلصات النباتية الاكثر فعالية وتثبيط باستخدام المعادلة الواردة في الفقرة 3-8.

3-10-2:أختبار كفاءة بعض المبيدات ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض والعزلات الفطرية الممرضة له

أختُبرت مجموعة من المبيدات الزراعية (المبيد الكيميائي البينوميل Benomyl، المبيد الاحيائي VEROX (VE) ، المبيد ذو الاصل النباتي Tondexir والمستحضر الحيوي (Seabloom) ضد نمو الفطر الزراعي الأبيض والعزلات الفطرية الممرضة له. حُضر الوسط الزرعي PDA في دوارق زجاجية بحجم 250 مل وعقم بجهاز التعقيم البخاري بدرجة حرارة 121°م وضغط 15 باوند/ إنج^2 لمدة 20 دقيقة، بعد انتهاء التعقيم تركت الدوارق لحين وصول درجة الحرارة 45 مْ وقبل التصلب اضيف المبيد بالتركيز الموصى به من قبل الشركة المصنعة وهو 3غم / لتر ، 2 غم / لتر ، 2مل / لتر ، 6 مل

/ لتر على التوالي . رج الوسط جيداً وصب كل منهما في أطباق بتري . وبعد تصلب الوسط لقحت الأطباق بوضع قرص 0.5 ملم من العزلات الفطرية المستخدمة في الدراسة باستخدام ثاقب فليني في مركز الوسط الممزوج مع المبيد مع عمل مقارنة في طبق يحتوي على وسط زرعي بدون اضافة أي مبيد . حُضنت الأطباق جميعها بدرجة حرارة 25±2 مْ ولمدة اسبوع بالنسبة للعزلات الفطرية الممرضة وثلاثة أسابيع بالنسبة للفطر الغذائي الأبيض وتم قياس معدل قطر المستعمرة النامية وحسبت نسبة التثبيط والتي على اساسها تم اختيار التركيز الاكثر فعالية وتثبيط باستخراج النسبة المئوية للتثبيط كما ورد في الفقرة 3-8 (دخيل، 2021) .

3-10-3 : أختبار تأثير التداخل بين المستخلص المائي النباتي القرنفل والكونوكاربس والمبيد الاحيائي VEROX والمبيد الكيميائي البينوميل Benomyl ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض والعزلات الفطرية الممرضة له

بعد إجراء الأختبارين السابقين تم أنتخاب المبيدان الأفضل تاثيراً من بين المبيدات ، وهما المبيد الاحيائي VEROX (VE) والمبيد الكيميائي البينوميل Benomyl , واكفأ مستخلصين نباتيين وهما ، مستخلص نبات القرنفل (Cl) ونبات الكونوكارس (Co) . اختبر تأثير المستخلصين النباتين المستخدمة في الدراسة ممزوجة مع المبيد , ضد نمو العزلات الفطرية والفطر *A.bisporus* ، اذ حُضر الوسط الزرعي PDA في دوارق زجاجية بحجم 250 مل وعقم بجهاز التعقيم البخاري بدرجة حرارة 121°م وضغط 15 باوند/ إنج^2 لمدة 20 دقيقة، بعد أنتهاء التعقيم تركت الأنابيب لحين وصول درجة الحرارة 45 م˚ وقبل التصلب أضيف خمسة مل / من كل مستخلص لكل من المبيدات في 250 مل من الوسط الزرعي ثم رج المزيج جيداً وصب في أطباق بتري . بعد تصلب الوسط لقحت الأطباق بوضع قرص 0.5 ملم من العزلات الفطرية المستخدمة في الدراسة بأستخدام ثاقب فليني في مركز الوسط الممزوج مع المبيد مع عمل مقارنة في طبق يحتوي على وسط زرعي بدون اضافة اي مادة ، وحضنت الأطباق جميعها بدرجة حرارة 25±2 مْ ولمدة اسبوع بالنسبة للعزلات الفطرية الممرضة وثلاثة اسابيع بالنسبة للفطر الغذائي الأبيض وتم قياس معدل قطر المستعمرة النامية وسجلت النتائج وحسبت نسبة التثبيط والتي على اساسها اختيار التركيز الاكثر فعالية وتثبيطاً باستخراج النسبة المئوية للتثبيط باستخدام المعادلة الواردة في الفقرة 3-8.

11-3 : تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX والمستخلص النباتي للقرنفل والكونو كاربس في تثبيط الفطريات الممرضة ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض في قاعات التنمية

3-11-1: تجهيز المزرعة الام للفطر الغذائي الأبيض

تم الحصول على عزلة الفطر الزراعي الأبيض *A.bispous* سلالة X25 من شركة الودق لزراعة الفطر الأبيض – بغداد ، تم استيراد هذه السلالة من جامعة ميونخ في المانيا – كلية الزراعة . تم تكثير العزلة على الوسط الزرعي P.S.A. الذي تم تحضيره بالطريقة الواردة في الفقرة 3-2-1، ثم لقحت الأطباق بوضع قرص 0.5 ملم من عزلة الفطر *A.bisporus* بأستخدام ثاقب فليني في مركز الوسط وأحكم اغلاق الأطباق باستخدام شريط بارفلم (Parafilm) لمنع التلوث والحفاظ على الرطوبة داخل الأطباق . حضنت الأطباق جميعها بدرجة حرارة 25±2 مْ ولمدة ثلاثة أسابيع مع مراقبة نمو الغزل الفطري باستمرار والتخلص من الأطباق الملوثة (الزبيدي ،2012) .

3- 11-2: تحضير اللقاح الفطري (البذار Spawn) على حبوب الحنطة

حُضر اللقاح الفطري للفطر *A.bispous* باستعمال حبوب الحنطة ذات نوعية جيدة ونظيفة ، سلقت هذه الحبوب بالماء المغلي لمدة ربع ساعة وبعدها نشرت في مكان نظيف للتخلص من الماء الزائد ولتصل رطوبتها بحوالي 50 % ، أضيف إليها كاربونات الكالسيوم الكلس (CaCo3) وكبريتات الكالسيوم المائية بمقدار 15غم / كغم من الوزن الرطب لحبوب الحنطة ، خلطت الحبوب مع المواد المضافة بشكل متجانس ووزعت في قناني زجاجية بمقدار 250 غم في كل قنينة واغلقت فوهاتها بأحكام بسدادت من القطن ورقائق الالمنيوم ، وعقمت في جهاز المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 1.5 كغم / سم^2 لمدة ساعة . تركت القناني حتى تبردْ (Hassan واخرون 2022). بعدها لقحت بخمسة اقراص من الغزل الفطري أخذ من مزرعة نقية بعمر ثلاثة اسابيع حيث وضع داخل القنينة وغطي بحبوب الحنطة واغلقت بأحكام ووضعت في الحاضنه بدرجة حرارة 25±2 مْ مع المراقبة المستمرة كل 4 أيام ورج القناني لضمان انتشار الغزل الفطري على جميع بذور الحنطة واكتمال نمو الغزل الفطري بعد 30 يوماً من التلقيح و التحضين بعدها حفظت القناني في الثلاجة على درجة حرارة 4 مْ لحين استعمالها (القيسي ، 2006) .

3-11-3:تلقيح (الكمبوست) وسط تنمية الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bispous*

تم الحصول على الكمبوست بصورته الجاهزة والمحُضر مسبقا في شركة الودق / بغداد ، تم وضع الوسط الزرعي في صواني المنيوم بقياس 40*40 سم بواقع سبعة كغم/صينية ، اضيف اللقاح الفطري إلى الكمبوست بمايقارب 50 غم لكل صينية ثم خلط اللقاح مع الكمبوست بصورة جيدة بعمق 10 سم داخل الصينية وغطت الصواني بأكياس سوداء ثم وضعت في غرفة الزراعة ذات ابعاد 3*3*3 معقمة ومجهزة مسبقا برفوف و مكيف هواء سبلت (شكل2) .ذات حرارة 20 مْ ورطوبة نسبية 80-90 % والتي تم الحصول عليها بأستخدام جهاز المرطبة (Humidifier) وظلام تام . بعد اكتمال نمو الغزل الفطري على وسط التنمية لمدة 15-20 يوماً تقريباً ، اضيف اللقاح الفطري للعزلات الفطرية الممرضة وعمل مكررات مكافحة بالمستخلصات والمبيد الاحيائي ثم تمت عملية التغطية باستخدام طبقة تغطية محُضرة من بتموس + رمل + بقايا الكمبوست ومعقمة جيدا ومرطبة وضعت فوق وسط التنمية بعمق 3 سم لكل صينية مع خفض الحرارة إلى درجة 16 مْوتوفير تهوية بواسطة مفرغة هواء والمحافظة على الرطوبة ضمن نفس المدى مع المراقبة المستمرة (Sharma ، 2018).

3-11-4: قياس كمية الحاصل وبعض الصفات الانتاجية

بعد اكتمال نمو الأجسام الثمرية للفطر الأبيض في المعاملات المختلفة بعد حوالي 30 يوماً تم تسجيل عدد الأجسام الثمرية الناتجة في كل معاملة بعدها تم جني الأجسام الثمرية عن طريق مسك القبعة وتدوير الساق ثم قطع الساق من الأسفل (عبد الوهاب ، 1976) ، بعدها وضعت في أكياس لغرض قياس الصفات الأنتاجية وهي قياس معدل وزن الجسم الثمري في كل معاملة وطول الساق وقطر القبعة وتكررت هذه العملية أسبوعيا ولمدة اربعة اسابيع كما تم قياس الكفاءة الحيوية وفق المعادلة الاتية :

$$\text{الكفاءة الحيوية \%} = \frac{\text{وزن الاجسام الثمرية}}{\text{الوزن الجاف للوسط الزرعي (الكمبوست)}} \times 100$$

(Beyer وMuthersbaugh، 1996)

شكل 2: تجهيز غرفة الاستزراع ومراحل تربية الفطر الغذائي

3-11-5 : قياس محتوى الأجسام الثمرية للفطر *Agaricus bisporus* من النتروجين والبروتين والفسفور والصوديوم والبوتاسيوم

لغرض معرفة الاثر الناتج عن الفطريات الممرضة واستخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي في المحتوى الغذائي للفطر الزراعي الأبيض فقد انتخب عدد من المعاملات المستعملة في هذه الدراسة لتقدير محتوى أجسامها الثمرية من النتروجين والبروتين والفسفور والصوديوم والبوتاسيوم وتتلخص الطريقة بجمع ثلاثة أجسام ثمرية من الفطر *A.bisporus* لكل معاملة وبواقع ثلاث مكررات وبوجود الفطر الممرض فضلا عن المعاملات التي تداخل فيها المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي . جمعت الأجسام الثمرية في أكياس ورقية مثقبة وسجلت عليها الملاحظات اللازمة وجففت في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 70 مْ ولمدة يومين بعد ذلك طحنت الأجسام الثمرية ووضع المسحوق الخاص بكل مكرر في كيس ورقي وحفظ لحين اجراء التحليل .

3-11-5-1: هضم العينات

أجُري التحليل في مختبرات كلية الزراعة – قسم البستنة– جامعة كربلاء إذ تم وزن 0.2 غم من مسحوق الأجسام الثمرية وهضمت حسب الطريقة المقترحة من قبل Cresser وParsons (1979) . وضعت كل عينة في دورق الهضم و أضيف لها ثلاثة مل حامض الكبريتيك المركز (98 %) وتركت لمدة 24 ساعة. أضيف للعينة بحذر واحد مل خليط من حامض الكبريتيك و حامض البيركلوريك المركزين بنسبة 1:1 وسخنت على صفيحة ساخنة (Hot Plate) بدرجة حرارة 50 مْ واستمرت عملية التسخين لحين الحصول على سائل شفاف رائق. ترك السائل ليبرد ثم نقلت كل عينة إلى عبوة بلاستيكية حجم 100 مل و أكمل الحجم بالماء المقطر حتى 50 مل و خزنت العينات لحين تقدير العناصرالمعدنية. كما هو موصوف لاحقاً.

3-11-5-2: قياس محتوى النتروجين والبروتين في الأجسام الثمرية الجافة

تم قياس النسبة المئوية للنتروجين الكلي باستعمال جهاز المايكرو كلدال Micro-kjeldahl وكما ورد في AL-sahaf (1989)، وذلك بأخذ 10 مل من كل عينة وأضيف لها 10 مل من هيدروكسيد الصوديوم NaOH تركيز 40% ثم أجريت لها عملية التقطير وجمعت الأمونيا المتحررة في دورق زجاجي يحتوي على 20 مل حامض

البوريك (Boric acid) تركيز 2% مع خليط من دليلي المثيل الحمراء (Red Methyl) والبروموكريسول الخضراء (Bromocresol Green) سححت الأمونيا التي تم جمعها مع حامض الهيدروكلوريك بواسطة سحاحة الكترونية وبعد معرفة كمية حامض الهيدروكلوريك المسحح تم حساب النتروجين الكلي من المعادلة الآتية

$$\text{النسبة المئوية للنتروجين} = \frac{\text{حجم الحامض المستهلك في التسحيح} \times \text{عيارية الحامض} \times \text{الوزن الذري للنتروجين}(14) \times \text{حجم التخفيف}}{\text{حجم العينة المأخوذة عند التقطير} \times \text{وزن العينة المهضومة} \times 1000} \times 100$$

(Rangana،1977)

ثم بعد ذلك تم حساب البروتين الكلي بطريقة غير مباشرة وفق المعادلة الاتية

النسبة المئوية للبروتين = %N × 4.38 (Pardo واخرون .2010).

3-5-11-3 : قياس محتوى الفسفور في الأجسام الثمرية الجافة

تم قياس محتوى الأجسام الثمرية من الفسفور باستعمال طريقة مولبيدات الأمونيوم وحامض الأسكوريك وفق طريقة (AL-Sahaf، 1989) ، إذ أخذ 10 مل من العينة المهضومة ووضعت في دورق حجمي سعة 50 مل وأكُمل الحجم إلى العلامة بالماء المقطر. نقل10 مل من المحلول السابق ووضع في دورق مخروطي سعة 100 مل وأضيف له 0.1 غم من حامض الاسكوريك و 4 مل من مولبيدات الامونيوم (المحُضرة من اذابة 10 غم من موليبدات الأمونيوم في 400 مل ماء مقطر ثم أضيف 150 مل من حامض الكبريتيك المركز ثم نقل إلى دورق سعة واحد لتر) وأكمل الحجم بالماء المقطر ثم سخن الدورق على صفيحة ساخنة لمدة دقيقة واحدة لحين تغير لون المحلول إلى الأزرق . نقلت محتويات الدورق بصورة كمية إلى دورق معياري سعة 100 مل وأكمل الحجم بالماء المقطر ثم سجلت القراءة في جهاز المطياف الضوئي(UV-visible Spectrophotometer) على الطول الموجي 620 نانوميتر، وأخُذ ايضاً قراءات الامتصاص الضوئي لسلسلة تراكيز من محاليل قياسية للفسفور لعمل منحنى الفسفور القياسي وذلك بتجفيف 2.5 غم فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين ($KHPO_4$) في فرن التجفيف عند درجة حرارة 105 مْ لمدة ساعة واحدة ، وبعد أن بردت في الفرن أُخذ منها 0.439 غم وأذيب في واحد لتر ماء مقطر خال من الايونات (ليصبح محلولا قياسيا

100 ملغم فسفور لتر) ومنه حُضرت سلسلة من المحاليل القياسية بأخذ ، 0.5 و 1 و1.5و 2 و2.5 مل بعدها اخذت قراءات الامتصاص الضوئي لهذه المحاليل وتم قياس كمية الفسفور بالمعادلة الاتية:

الفسفور (ppm) = 0.0733 X + 0.0057

اذ ان X= قراءات جهاز المطياف الضوئي

3-11-5-4: قياس محتوى البوتاسيوم والصوديوم في الأجسام الثمرية الجافة

قدر محتوى الأجسام الثمرية من البوتاسيوم والصوديوم في العينة المهضومة كما ورد في (Horneckو Hansons، 2019) وذلك باستعمال جهاز الـ Flame Photometer اذ تم وضع 50 مل من العينة المهضومة سابقا في دورق حجمي سعة 100 مل لتسجيل قراءات الصوديوم والبوتاسيوم وحسب المعادلة الاتية :

البوتاسيوم ، الصوديوم (ppm) = 0.12 × قراءة الجهاز

3-12 : التصاميم الإحصائية للتجارب المختبرية والحقلية .

استعمل التصميم تام التعشية Complete randomized design (CRD) لجميع التجارب المختبرية وتجارب قاعات التنمية . حللت البيانات ببرنامج Statistical Analysis System (SAS) كم تم مقارنة المتوسطات الحسابية بين باستخدام أختبارأقل فرق معنوي Least Signification Difference(L.S.D) تحت مستوى معنوية 0.05 (الراوي وخلف ، 1980).

4- النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

4-1: عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لتربية الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*

أظهرت نتائج العزل والتشخيص (جدول 6) للفطريات المرافقة لحالات الاصابة في تربية الفطر الغذائي *A. bisporus* والتي جمعت من محطات مختلفة لتربية الفطريات اللحمية الصالحة للأكل من خمسة محافظات وهي بغداد ، الديوانية ، اربيل ، كركوك ، المثنى وجود أنواع متباينة تعود إلى الأجناس الفطرية التالية *Aspergillus* spp. و *Fusarium* spp. و *Mucor* spp. و *Penicillium* spp. و *Verticillium* spp. و *Rhizopus* spp. و *Alternaria* spp. و *Trichoderma* spp. .

سجل انواع الجنس *Aspergillus* spp مجتمعةُ أعلى نسبة للظهور بلغت 83.33 % ، وبنسبة تردد بلغت 11.11 % ، وان ظهور هذا الفطر بأعلى تكرار يتفق مع دراسات سابقة ، إذ أشار حسن (2013) بأن الفطر *Aspergillus* spp. من الفطريات واسعة الأنتشار والتواجد والمنافسة للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus* وينتشر بشكل واسع والذي يسبب له مرض العفن الأخضر حيث ينتقل عن طريق الترب الملوثة ، وكما يصيب الحبوب المحملة للقاح الفطري ومسؤول عن خسارة في انتاج الفطريات الصالحة للاكل كماً و نوعاً.

أظهر النوع *A. flavus* أعلى نسبة ظهور بين انواع الفطر *Aspergillus* spp بلغت 83.33% وبنسبة تردد بلغت 11.11% ، وهذا يتوافق مع العديد من الدراسات التي وجد فيها تلوث عالي في الترب الخاصة بزراعة الفطر حيث تؤثر على نمو الخيوط الفطرية للفطر وتكوين اعفان خضراء وقد يفسر تواجدها بنسبة عالية كمؤشر لسوء جودة السماد العضوي المستخدم في الزراعة وعدم اتباع الطرق الصحيحة في التعقيم (Flegg واخرون ، 1985 و Beyer ، 2002). كذلك سجل الفطر *P.citrinum* نسبة ظهور 83.33% ونسبة تردد بلغت 11.11% ، وهذه النتائج اتفقت مع دراسات سابقة حول وجود وسيادة هذين الفطرين حيث يمنع تواجدها نمو الفطرالغذائي الأبيض بسبب منافستها له على امتصاص العناصر الغذائية في التربة ويعزى منافسة هذه الفطريات إلى ملائمة الظروف لنموها أو بفعل مركبات انزيمية تفرز من قبل الفطر الغذائيتحفز ابواغ هذه الفطريات على الانبات وبذلك يؤدي إلى خسارة كبيرة في الانتاج . كما يمكن أن تحدث الأصابة بهذه الفطريات بواسطة اللقاح الفطري للفطر الغذائي الأبيض والذي يكون ملوث بها (sharma واخرون ، 2007 و Chandhrapati وآخرون ،2021).

أمـا بالنسـبة للفطـر *T. harzianum* فقـد سـجل نسـبة ظهـور 66.66% ونسـبة تـردد بلغـت 8.88% حيـث يعـد احـد مسـببات أمـراض الفطـر الغـذائي المهمـة فـي العـالم حيـث بأمكانـه إحـداث الأصـابة فـي مراحـل مختلفـة مـن مراحلـة زراعـة الفطـر وقـادر علـى مهاجمـة الأجسـام الثمريـة فـي مرحلـة النضـوج ومرحلـة تفـتح القبعـة نتيجـة فقـدان الفطـر الغـذائي بعـض ميكانيكيـات المقاومـة حيـث يـؤدي إلـى حـدوث تأكـل فـي القبعـة وغيرهـا مـن التـاثيرات (Shafeeq واخرون ، 2021).

جدول 6 : يوضح العزلات الفطرية المرافقة لتربية الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*

ت	اسم الفطر	رمز العينات التي ظهر عليها الفطر	النسبة المئوية للظهور%	النسبة المئوية للتردد%
1	*A. flavus*	B1+E1+E2+D1+ M1	83.33	11.11
2	*A. ochraceus*	B1+ E2+D1	50.00	6.66
3	*A. terreus*	B1+D1+K1+ M1	66.66	8.88
4	*Aspergillus* spp.	B1+E1+E2+D1+ M1	83.33	11.11
5	*P. citrinum*	B1+E1+D1+K1+ M1	83.33	11.11
6	*Penicillium* spp.	B1+E1+E2+D1	66.66	8.88
7	*Fusarium solani*	D1	16.66	2.22
8	*Rhizopus* spp.	E2+D1+K1+ M1	66.66	8.88
9	*T. harzianum*	B1+E1+E2+D1	66.66	8.88
10	*Tricoderma* spp.	B1+ E2+D1	50.00	6.66
11	*M. circinelloides*	B1+E1+ D1+K1	66.66	8.88
12	*Alternaria* spp.	D1+ M1	33.33	4.44
13	*Verticillium* spp.	E1	16.66	2.22

وهناك مجموعة من الدراسات الأخرى تبين تلوث مزارع انتاج الفطر الغذائي بعدد كبير من الفطريـات المرضـية والمنافسـة للفطـر الغـذائي والمسببة لأمـراض الـتعفن الاخضـر الـذي قـد يسـبب اضراراً بليغة احياناً تصل نسبة 100% في مختلف مراحل انتاج الفطر الغذائي (Kosanovic وآخرون ، 2020). عزلت عدة أنواع من الفطريات من مزارع أنتاج الفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus* ، أثبـت أنهـا مسـببات مرضـية أهمهـا أنـواع مختلفـة مـن الفطـر *Trichoderma* (Chandhrapati وآخرون ،2021) ، ومسببات مرضية تعد منافسات للفطر الغذائي وهي

Aspergillus spp و *pincillium* spp و *Cladosporium* sp حيث تسبب اعفان خضراء تعرف بالاعفان الدخانية (حسن ،2013).

2-4: الوصف المظهري لمستعمرات العزلات الفطرية المعزولة من مزارع انتاج الفطر الغذائي الأبيض *Agaricus bisporus*

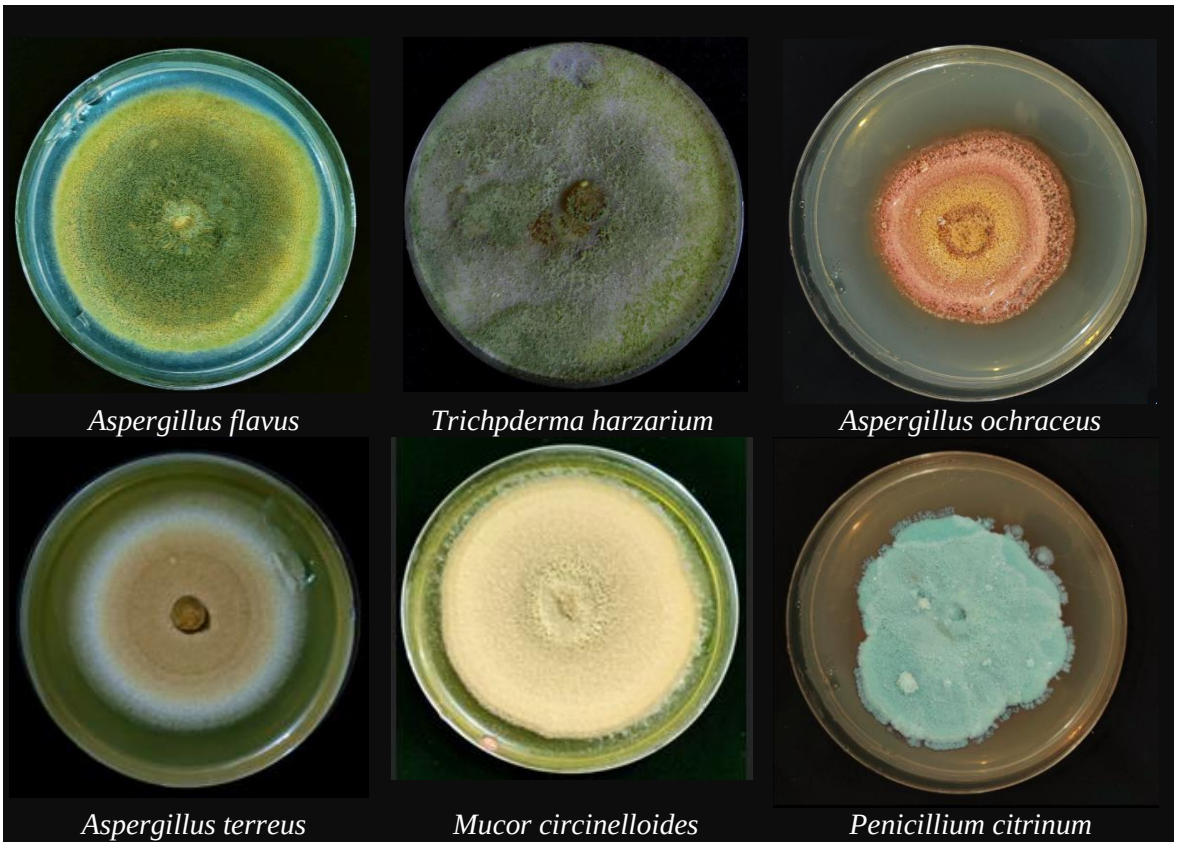
أظهرت العزلات إلى وجود عدة فطريات مرافقة لاستزراع الفطر الغذائي الأبيض والتي شخصت بالاعتماد على الصفات المظهرية (شكل 3) ، حيث شخصت عدة انواع تابعة للفطر *Aspergillus* spp والتي تمتلك صفات مظهرية مميزة ومتباينة بطبيعة نمو المستعمرات الفطرية ولون المستعمرة وكثافة الخيوط الفطرية النامية في الوسط الزرعي PDA بدرجة حرارة 25±2 مْ وبدون إضافة المضادات الاحيائية ، إذ أظهرت النتائج بأن الغزل الفطري لمجموعة من عزلات الفطر *A. flavus* كان سريع النمو بلون اخضر والذي يمثل كونيدات الفطر وحافة صفراء مخضرة تكون مسطحة اما في وسط المستعمرة يكون مرتفعا وبمرور الوقت تصبح المستعمرة داكنة (Klich وPitt 1988 و Amaike وKeller ،2011) . فيما أظهرت مجموعة عزلات الفطر *A. terreus* غزلاً فطرياً سريع النمو نسبياً ابيض في بداية النمو ثم يصبح اصفر بني بلون القرفة وبتقدم العمر يصبح بني إلى اسود أو ظلال خضراء يتكون في الغالب من شعر كثيف يمثل الحوامل الكونيدية (Vassileva واخرون ، 2020 و Lass-Florl واخرون ،2021). في حين كان الغزل الفطري لعزلات الفطر *A. ochraceus* سريع النمو غالباً ما تبدو مستعمرة الفطر بلون اصفر ليموني إلى برتقالي واحيانا بلون وردي شاحب أو بنفسجي (Visagie واخرون ، 2014).

اما عزلة الفطر *M. circinelloides* أظهرت مستعمرة ذات غزل فطري سريع النمو والتي غالباً مايكون نموه منخفضاً ومتفرقاً ويظهر بلون رمادي شاحب واحيانا بلون اصفر (Wagner واخرون ، 2020) .

و عزلة الفطر *T. harzianum* فقد أظهرت مستعمرة ذات غزل فطري سريع النمو بلون ابيض شفاف وسطح ناعم في بداية النمو وبتقدم عمر المستعمرة أصبح بلون أخضر مصفر مع وجود كتل زغبية متناثرة ذات لون اخضر والتي تمثل بالجراثيم الكونيدية للفطر (Pani واخرون 2021).

في حين أظهرت مستعمرات الفطر *P. citrinum* غزلاً فطرياً سريع إلى متوسط النمو نسبيا ذو لون ابيض في بداية النمو وبتقدم النمو يصبح بلون أخضر مزرق إلى باهت (Yoshikawa واخرون 2006 و Houbraken واخرون ، 2010) .

وهذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات السابقة ، إذ اشار mateo وآخرون (2011) بأن انواعاً من فطر *Aspergillus* تنتشر وتنمو مستعمراتها بشكل سريع في المناطق الحارة اكثر من المناطق الباردة مثل الفطر *A. ochraceus* والفطر *A. flavus* وغيرها التي وتنمو بسرعة على الأوساط الغذائية الصناعية وتكون مستعمرات باشكال والوان مختلفة مميزة حسب النوع والتي على اساسها يسهل عملية تصنيفها الذي يعتمد به على الصفات المظهرية التي يمكن رؤيتها بالعين المجردة (samson وvarga، 2008) ، أما النوع *P.citirnium* فإنه ينمو على الأوساط الغذائية مكون مستعمرات تكون ضعيفة النمو (Houbraken وآخرون 2010) ، وعندما يصيب الفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus* يسبب له مرض العفن الأخضر أو الأعفان الدخانية نتيجة لتكوينه إلى الابواغ الكونيدية ذات الألوان الخضراء المزرقة أو الدخانية (Sharma وآخرون ،2011 و Houbraken وآخرون ، 2019) .



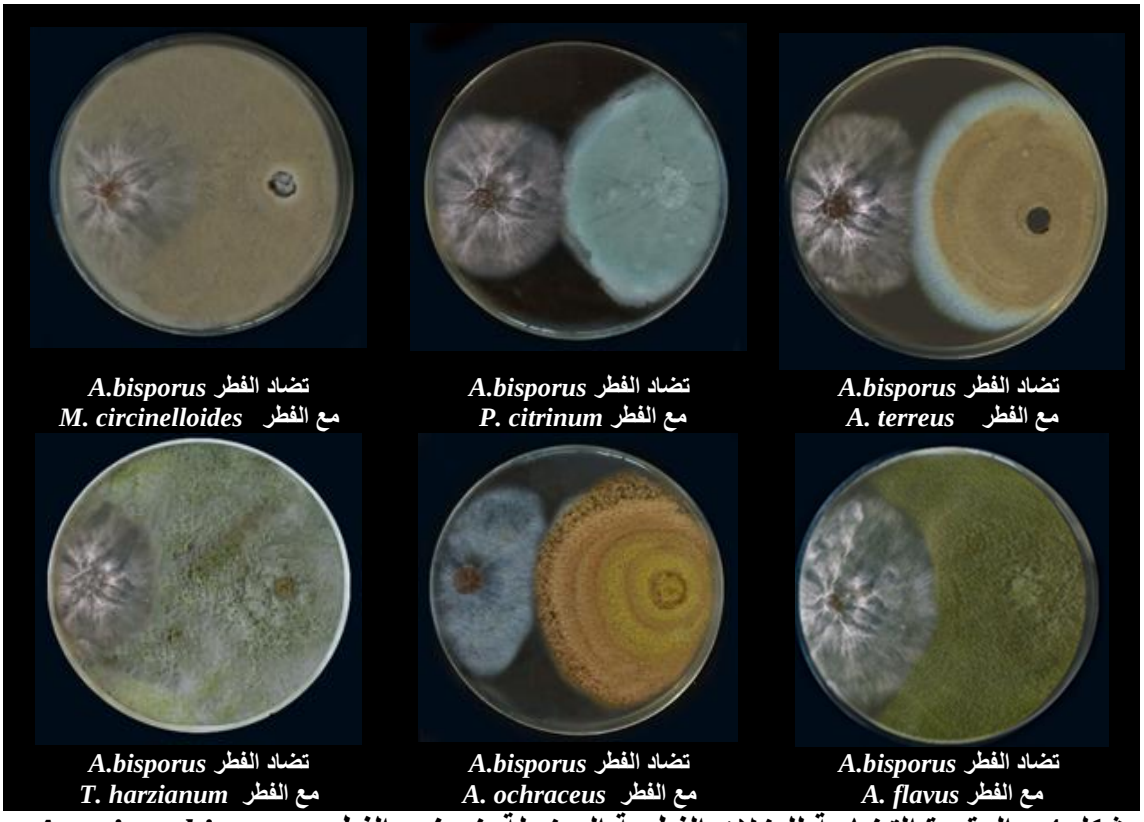
شكل3 : نماذج من الوصف المظهري لمستعمرات العزلات الفطرية المعزولة من مزارع انتاج الفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*

3-4 : أختبار المقدرة التضادية للعزلات الفطرية المعزولة ضد نمو الفطر *Agaricus bisporus*

تم أختبار القدرة التضادية لـ 33 عزلة فطرية لانواع مختلفة من الفطريات والتابعة لثمانية أجناس فطرية *Aspergillus* spp. و *Fusarium* spp. و *Mucor* spp. و *Penicillium* spp. و *Verticillium* spp. و *Rhizopus* spp. و *Alternaria* spp. و *Trichoderma* spp. والمعزولة ضمن هذه الدراسة ضد نمو الفطر الغذائي *A. bisporus* (جدول 7 والشكل 4) فقد لوحظ وجود بعض الفروق المعنوية بين المقدرة التضادية للعزلات الفطرية المختبرة من حيث تأثيرها على النسبة المئوية لنمو الفطر *A. bisporus* مختبريا على وسط CAM . اذ سجل الفطر *T. harzianum* المعزول من محافظة اربيل اعلى نسبة مئوية للتثبيط بلغت 75% وسجل كلا من الفطرين *A. flavus* المعزول من محافظة بغداد والفطر *Mucor circinelloides* المعزول من محافظة اربيل نسبة تثبيط بلغت 66.66% وسجل الفطرين *A.ochraceus* المعزول من محافظة الديوانية والفطر *P. citrinum* المعزول من محافظة بغداد نسبة تثبيط بلغت 58.33% بينما سجل الفطر *A. terreus* نسبة تثبيط بلغت 50% واتفقت بذلك مع دراسات سابقة بينت أن أنواع الجنس *Trichoderma* spp ذات قدرة تضادية عالية وكفاءة تثبيطية لنمو الفطر الغذائي نتيجة افرازها للمستقلبات الثانوية النشطة بايولوجياً والانزيمات المضادة التي تعيق نمو الخيوط الفطرية للفطر الأبيض في الوسط الغذائي (Williams واخرون ، 2003 و Marik واخرون، 2017). وإن للفطريات *Mucor* spp. و *Penicillium* spp. و *Aspergillus* المقدرة الكبيرة على التنافس مع الفطر الأبيض في الوسط الغذائي واستنفإذ المواد الغذائية وجعل الوسط فقير وينعكس على الأنتاج (sharma ، 2007).

جدول 7 : المقدرة التضادية للعزلات الفطرية المعزولة ضد نمو الفطر *Agaricus bisporus* .

ت	اسم الفطر	النسبة المئوية للتثبيط	ت	اسم الفطر	النسبة المئوية للتثبيط
1	*A. flavus-B1*	66.66	18	*F. solani-D1*	25
2	*A. flavus-E1*	25	19	*Rhizopus sp-E2*	8.33
3	*A. flavus-E2*	41.66	20	*Rhizopus sp-D1*	8.33
4	*A. flavus-D1*	25	21	*Rhizopus sp-K*1	16.66
5	*A. flavus-M1*	33.33	22	*Rhizopus sp-M1*	11.11
6	*A. ochraceus-B1*	50	23	*T. harzianum-B1*	66.66
7	*A. ochraceus-E2*	33.33	24	*T. harzianum-E1*	75
8	*A. ochraceus-D1*	58.33	25	*T. harzianum-E2*	58.33
9	*A. terreus-B1*	16.6	26	*T. harzianum-D1*	41.66
10	*A. terreus-D1*	33.33	27	*M. circinelloides-B1*	58.33
11	*A. terreus-K1*	50	28	*M. circinelloides-E1*	66.66
12	*A. terreus-M1*	41.66	29	*M. circinelloides-D1*	58.33
13	*P. citrinum-B1*	58.33	30	*M. circinelloides-K1*	41.66
14	*P. citrinum-E1*	25	31	*Alternaria* sp-D1	11.11
15	*P. citrinum-D1*	%16.66	32	*Alternaria* sp-M1	%16.6
16	*P. citrinum-K1*	%16.66	33	*Verticillium sp-E1*	%8.33
17	*P. citrinum-M1*	%8.33			



شكل 4 : المقدرة التضادية للعزلات الفطرية المعزولة ضد نمو الفطر *Agaricus bisporus*

4-4 : تحليل التتابع النيوكليتيدي لعزلات الفطريات الممرضة للفطر الغذائي *Agaricus bisporus*

اكدت نتائج تحليل تسلسل القواعد النتروجينية لستة عزلات من الفطريات الممرضة للفطر الغذائي *A. bisporus* التي تم عزلها من ضمن هذه الدراسة وتشخيصها تحت عدة انواع متباينة تعود لاجناس محددة ، تم تحديدها بالتشخيص المظهري ، فقد أظهرت نتائج تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلات وباستخدام برنامج BLAST بأنها تعود للفطريات *A. flavus* و *A. ochraceus* و *A. terreus* و *P. citrinum* و *M. circinelloides* و *T. harzianum* كما في (جدول 8) .

فقد تم تسجيل جميع العزلات في المركز الوطني للمعلومات التقنية الاحيائي (NCBI) وتحت الرموز الخاصة المبينة ازاء كل منها في الجدول المذكور، إذ حققت تسلسلات القواعد النتروجينية الجزيئية أعلى نسبة تطابق تراوحت مابين 99.45 – 100 % مع المنطقة الجينية ITS عند مقارنتها مع تسلسلات القواعد النتروجينية المكافئة المسترجعة من بنك الجينات في المركز الوطني للمعلومات التقنية الاحيائية (NCBI) بأستخدام برنامج BLAST ولكل عزلة فطرية بشكل منفرد .

أُجرىّ تحليل تسلسل القواعد النتروجينية باستعمال برنامج MEGA لتحليل العزلات ورسم شجرة القرابة بين كل من هذه العزلات والعزلات المشابهة لها المسجلة بمركز(NCBI) حيث تم بناؤها من تسلسل القواعد النتروجينية للمنطقة الجينية ITS لكل من العزلات .

جدول 8: التشخيص الجزيئي لعزلات الفطريات الممرضة للفطر الغذائي *Agaricus bisporus* باستخدام تحليل تسلسل القواعد النتروجينية و Accession Number لها .

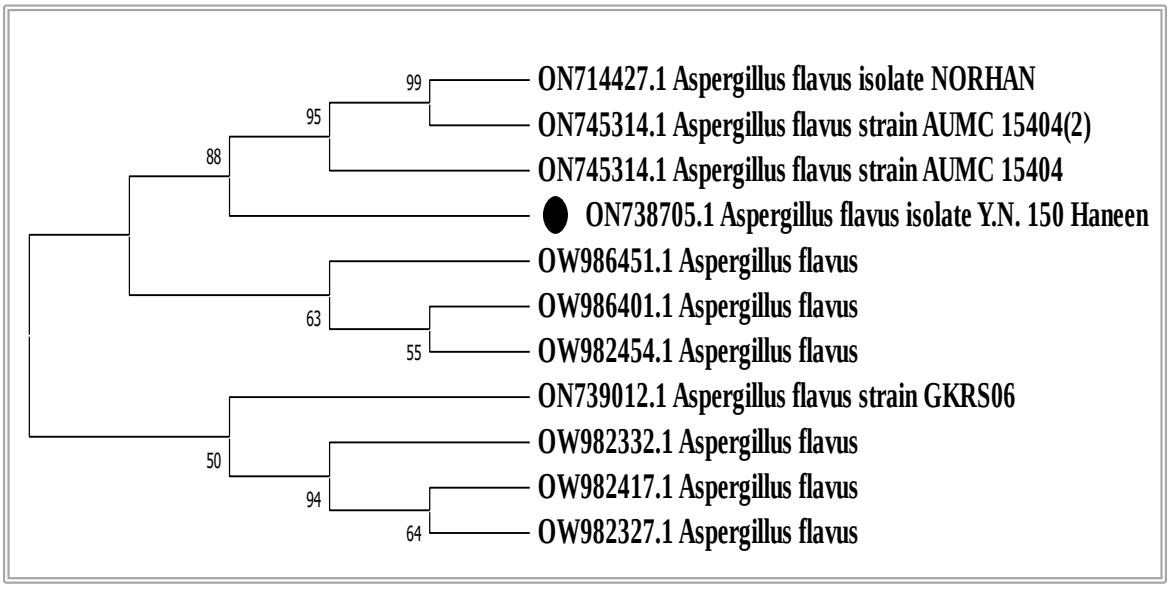
ت	اسم الفطر Fungal name	رمز العزلة Isolate name	Accession Number	الرمز الجديد للعزلات
1	*A. flavus*	Y.N. 150 Haneen	ON738705.1	Af-B1
2	*A. ochraceus*	Y.N. 151 Haneen	ON738706.1	Ao-D1
3	*A. terreus*	Y.N. 152 Haneen	ON738707.1	At-K1
4	*M. circinelloides*	Y.N. 153 Haneen	ON738708.1	Mc-E1
5	*P. citrinum*	Y.N. 155 Haneen	ON738710.1	Pc-B1
6	*T. harzianum*	Y.N.156 Haneen	ON925001	Th-E1

1-4-4 : تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Aspergillus flavus* Y.N. 150 Haneen ومقارنة نسب التشابه تسلسلات القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر

لوحظ من خلال مقارنة تسلسل القواعد النتروجينية لحزمة الحامض النووي للفطر *A.flavus* Y.N. 150 Haneen المعزول من غرف زراعة الفطر مع البيانات المتوفرة في المركز لمعلومات التقنية الاحيائية (NCBI) أن نسبة التشابة الوراثي بلغت (100%) مع جميع عزلات الفطر *A. flavus* (جدول 9) . في حين أظهر (الشكل 5) المتمثل بالشجرة الوراثية بان هذة العزلة ظهرت في التفرع نفسه (Clade) الذي ظهرت فيه العزلتين المصرية (ON745314.1 و ON714427.1) وبتفرعات منفصلة (Clades) عن العزلتين الفرنسية (OW982417.1) و البلجيكية (OW982327.1) بسبب التباعد الوراثي الكبير بينهم

جدول 9 : مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *A. flavus* Y.N. 150 Haneen المعزولة من محافظة بغداد وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI) .

Sequence similarity %	GenBank Accession Number	مكان العزلة Origin	رمز العزلة Isolate strain name	ت
100	ON738705.1	Iraq	Y.N.150Haneen	1
100	OW986451.1	Mauritius	———	2
100	OW986401.1	Cuba	———	3
100	OW982454.1	Belgium	———	4
100	OW982417.1	France	———	5
100	OW982332.1	Belgium	———	6
100	OW982327.1	Belgium	———	7
100	ON745314.1	Egypt	strain AUMC 15404	8
100	ON739012.1	India	strain GKRS06	9
100	ON714427.1	Egypt	NORHAN	10



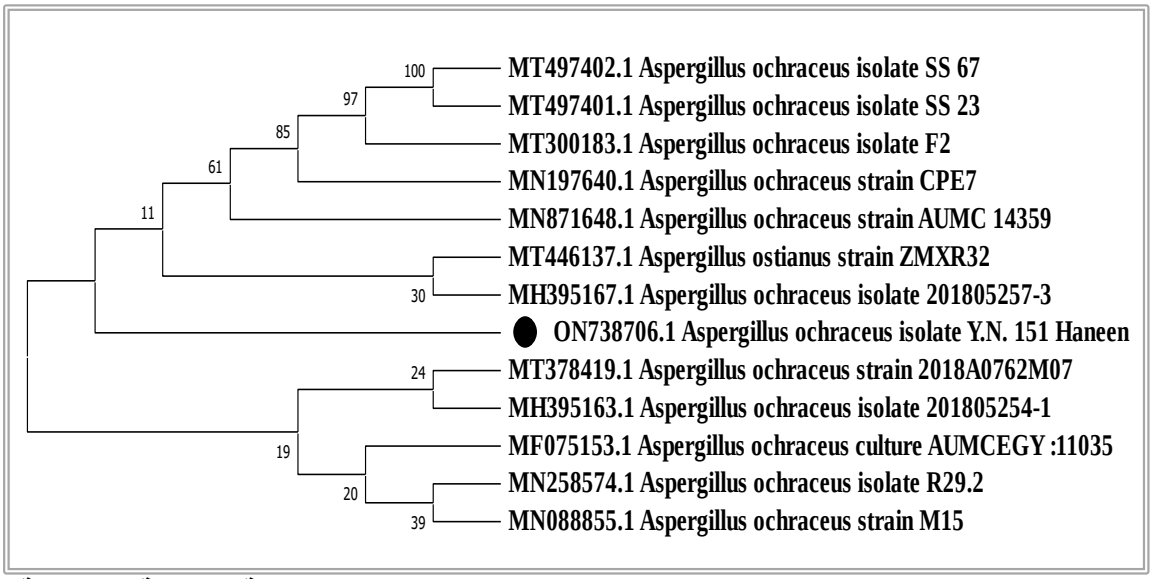
شكل 5 : شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *A. flavus Y.N.150 Haneen* (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *A. flavus* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI).

2-4-4 : تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Aspergillus ochraceus* Y.N. 151 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية العالمية لنفس الفطر

لوحظ من خلال مقارنة تسلسل القواعد النتروجينية لحزمة الحامض النووي للفـطر *A. ochraceus* Y.N. 151 Haneen المعزول من غرف تربية زراعة الفطر الأبيض مع البيانات المتوفرة في المركز لمعلومات التقنية الاحيائية (NCBI) أن نسبة التشابة الوراثي بلغت (100%) مع جميع عزلات الفطر *A.ochraceus* (جدول10). في حين أظهر الشكل (6) المتمثل بالشجرة الوراثية بان هذة العزلة ظهرت في التفرع نفسه (Clade) الذي ظهرت فيه العزلتين الاردنية (MN258574) والايرانية (MN088855.1) وبتفرعات منفصلة (Clades) عن العزلتين الهندية (MT497402.1 و MT497401.1) بسبب التباعد الوراثي الكبير بينهم

جدول 10 : مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *A. ochraceus* Y.N. 151 Haneen المعزولة من محافظة الديوانية وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI) .

Sequence similarity %	GenBank Accession Number	مكان العزلة Origin	رمز العزلة Isolate strain name	ت
100	ON738706.1	Iraq	Y.N.151 Haneen	1
100	MT497402.1	India	SS_67	2
100	MT497401.1	India	SS_23	3
100	MT446137.1	China	strain ZMXR32	4
100	MT300183.1	Egypt	F2	5
100	MN871648.1	Egypt	strain AUMC 14359	6
100	MF075153.1	Egypt	AUMC<EGY>:11035	7
100	MN258574.1	Jordan	R29.2	8
100	MN197640.1	Egypt	strain CPE7	9
100	MN088855.1	Iran	M15	10



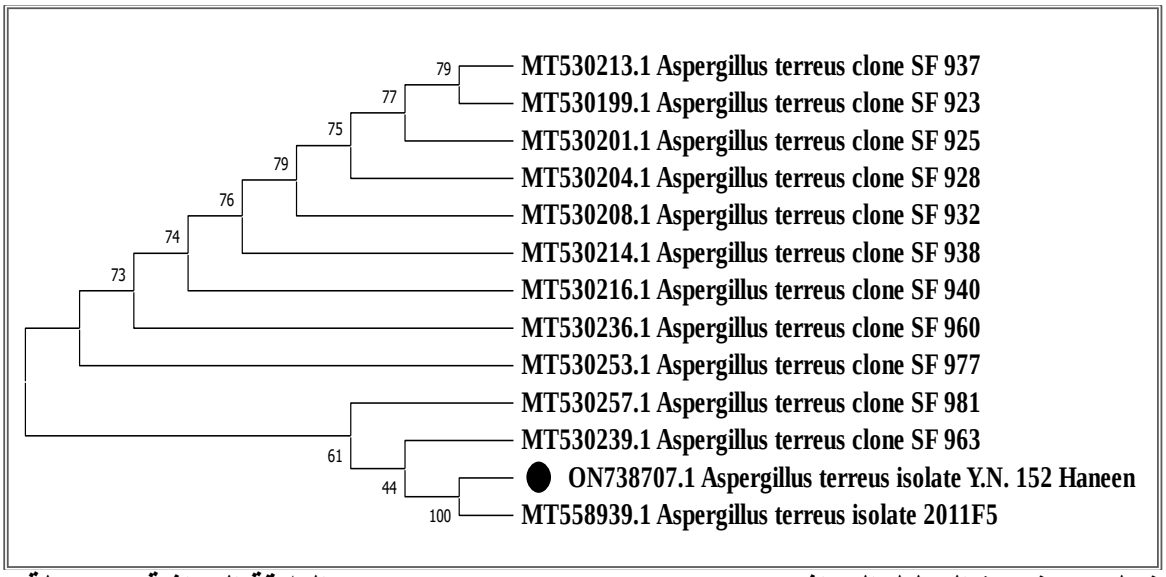
شكل 6 : شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *A. ochraceus* Y.N.151 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *A. ochraceus* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI).

3-4-4: تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Aspergillus terreus* Y.N. 152 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر

لوحظ من خلال مقارنة تسلسل القواعد النتروجينية لحزمة الحامض النووي للفطر *A. terreus* Y.N. 152 Haneen المعزول من غرف زراعة الفطر مع البيانات المتوفرة في المركز لمعلومات التقنية الاحيائية (NCBI) أن نسبة التشابة الوراثي بلغت (100%) مع جميع عزلات الفطر *A.terreus* (جدول11) . في حين أظهر (الشكل 7) المتمثل بالشجرة الوراثية بان هذة العزلة ظهرت في التفرع نفسه (clade) الذي ظهرت فيه العزلة الصينية (MT558939.1) وبتفرعات منفصلة (clades) عن العزلتين الصينية (MT530213.1 وMT530199.1) بسبب التباعد الوراثي الكبير بينهم

جدول 11: مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *A. terreus* Y.N. 152 Haneen) المعزولة من محافظة كركوك وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI) .

Sequence similarity %	GenBank Accession Number	مكان العزلة Origin	رمز العزلة Isolate name	ت
100	ON738707.1	Iraq	Y.N.152 Haneen	1
100	MT558939.1	China	2011F5	2
100	MT530257.1	China	SF_981	3
100	MT530253.1	China	SF_977	4
100	MT530239.1	China	SF_963	5
100	MT530213.1	China	SF_937	6
100	MT530199.1	China	SF_923	7
100	MT530236.1	China	SF_960	8
100	MT530216.1	China	SF_940	9
100	MT530214.1	China	SF_938	10



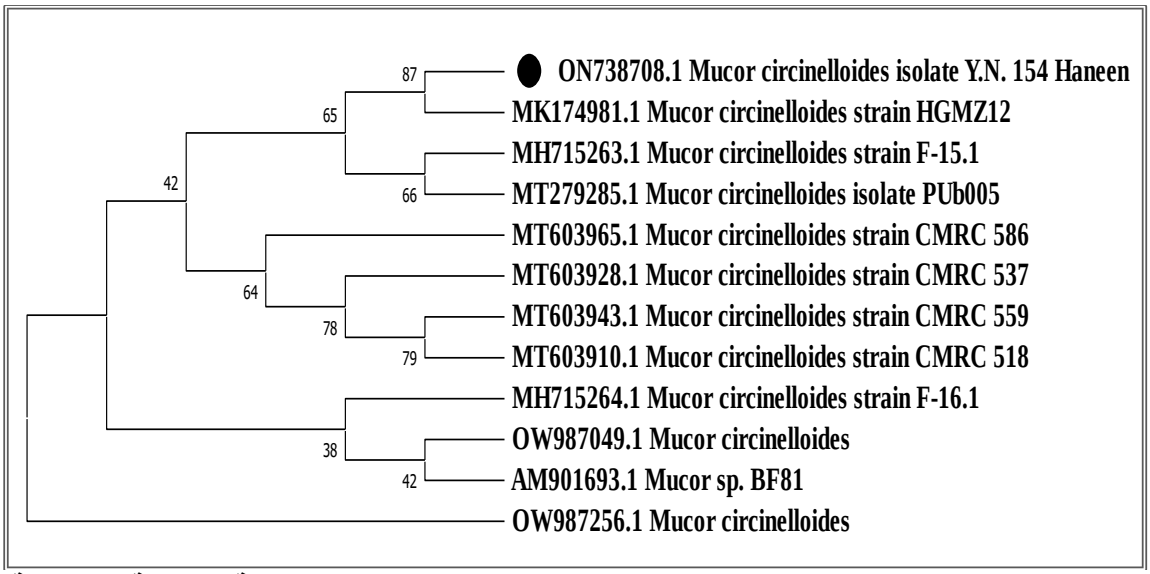
شكل 7 : شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *A. terreus* Y.N.152 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *A. terreus* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI).

4-4-4: تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Mucor circinelloides* Y.N. 154 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر

لوحظ من خلال مقارنة تسلسل القواعد النتروجينية لحزمة الحامض النووي للفطر *M. circinelloides* Y.N. 154 Haneen المعزول من غرف زراعة الفطر مع البيانات المتوفرة في المركز لمعلومات التقنية الاحيائية (NCBI) أن نسبة التشابة الوراثي بلغت (100%) مع العزلتين التركية (MH715264.1 وMH715263.1) والعزلة البلجيكية (OW987049.1) *circinelloides* وبلغت (99.83%) مع بقية العزلات جدول (12). في حين أظهر الشكل (8) المتمثل بالشجرة الوراثية بان هذة العزلة ظهرت في التفرع نفسه (Clade) الذي ظهرت فيه العزلة المكسيكية (MK174981.1) وبتفرعات منفصلة (Clades) عن العزلة البلجيكية (OW987256.1) بسبب التباعد الوراثي الكبير بينهم .

جدول 12 : مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *Mucor circinelloides* Y.N. 154 Haneen المعزولة من محافظة اربيل وبين العزلات الفطرية الاخرى لنفس الفطر المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI) .

Sequence similarity %	GenBank Accession Number	مكان العزلة Origin	رمز العزلة Isolate name	ت
100	ON738707.1	Iraq	Y.N.154 Haneen	1
100	MH715264.1	Turkey	F-16.1	2
100	MH715263.1	Turkey	F-15.1	3
100	OW987049.1	Belgium	———	4
99.82	OW987256.1	Belgium	———	5
99.82	AM901693.1	FINLAN	BF81	6
99.82	MT603965.1	Iran	CMRC 586	7
99.82	MT603943.1	Iran	CMRC 559	8
99.82	MT603928.1	Iran	CMRC 537	9
99.82	MK174981.1	Mexico	HGMZ12	10



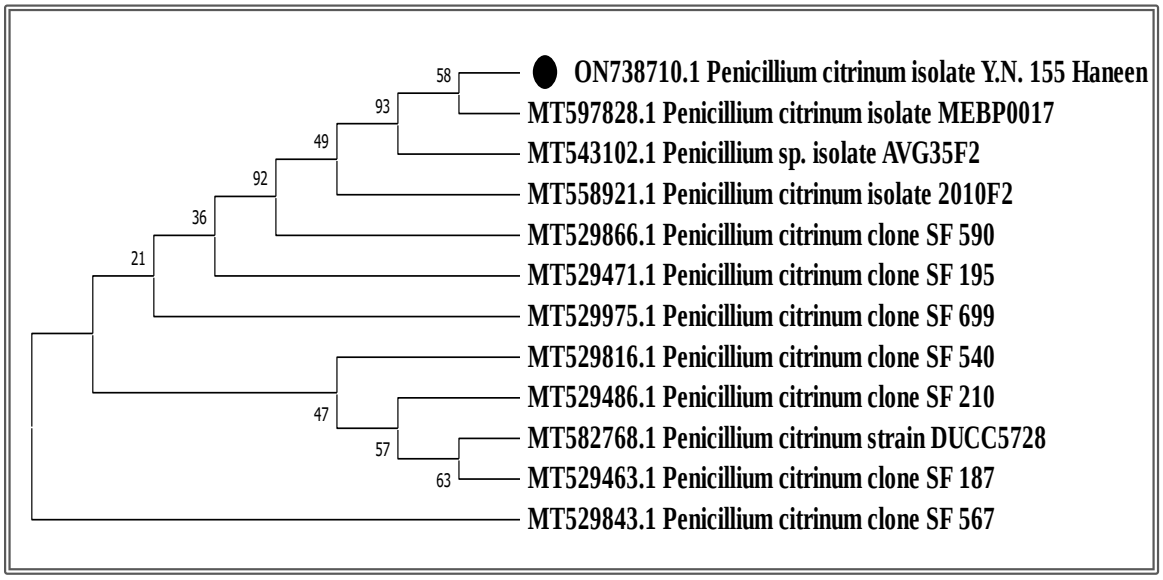
شكل 8 : شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *M. circinelloides* Y.N. 154 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *M. circinelloides* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI).

5-4-4: تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *pincillium citrinum* Y.N. 155 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر

إن مقارنة تسلسل القواعد النتروجينية لحزمة الحامض النووي للفطرY.N. 154 Haneen *P.citrinum* المعزول من زراعة الفطر مع البيانات المتوفرة في مركز (NCBI) يظهر أن نسبة التشابة الوراثي بلغت (100%) مع جميع عزلات الفطر *P. citrinum* جدول (15) ، في حين أظهر الشكل (9) المتمثل بالشجرة الوراثية بان هذة العزلة ظهرت في نفس التفرع (Clade) الذي ظهرت فيه العزلة الفلبينية (MT597828.1) وبتفرعات منفصلة عن العزلة الصينية (MT529843.1) بسبب التباعد الوراثي.

جدول 13: مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *Pencillium citrinum* Y.N. 155 Haneen المعزولة من محافظة بغداد وبين العزلات الفطرية الاخرى المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI) .

Sequence similarity %	GenBank Accession Number	مكان العزلة Origin	رمز العزلة Isolate name	ت
100	ON738710.1	Iraq	Y.N.155 Haneen	**1**
100	MT597828.1	Philippines	MEBP0017	**2**
100	MT582768.1	South Korea	DUCC5728	**3**
100	MT558921.1	China	2010F2	**4**
100	MT543102.1	Canada	AVG35F2	**5**
100	MT529975.1	China	SF_699	**6**
100	MT529866.1	China	SF_590	**7**
100	MT529843.1	China	SF_567	**8**
100	MT529816.1	China	SF_540	**9**
100	MT529486.1	China	SF_210	**10**



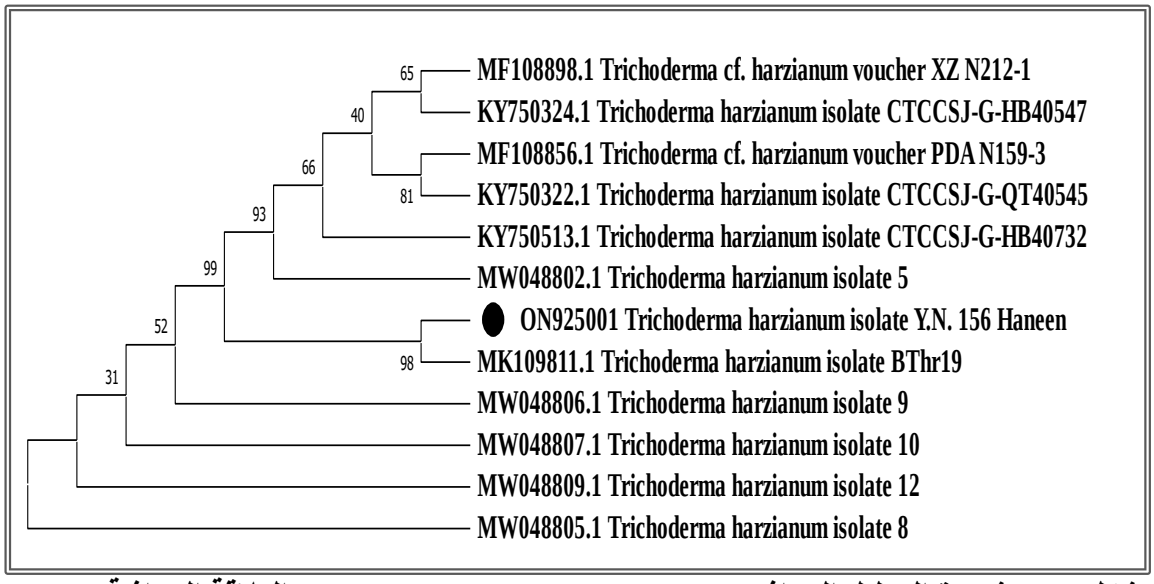
شكل 9 : شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *P. citrinum* Y.N. 155 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *P. citrinum* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI).

6-4-4: تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة *Trichoderma harzianum* Y.N. 156 Haneen ومقارنة نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS مع العزلات الفطرية االعالمية لنفس الفطر

لوحظ من خلال مقارنة تسلسل القواعد النتروجينية لحزمة الحامض النووي للفطر *T.harzianum* Y.N. 156 Haneen المعزول من غرف زراعة الفطر مع البيانات المتوفرة في المركز لمعلومات التقنية الاحيائية (NCBI) أن نسبة التشابة الوراثي بلغت (100%) مع العزلة الهندية (MW048802.1) وبلغت (99.78%) مع بقية عزلات الفطر *T. harzianum* جدول (14) في حين أظهر الشكل (10) المتمثل بالشجرة الوراثية بان هذة العزلة ظهرت في نفس التفرع (Clade)الذي ظهرت فيه العزلة الهندية (MK109811.1) وبتفرعات منفصلة (Clades) عن العزلتين الصينية (MF108898.1 و KY750324.1) بسبب التباعد الوراثي الكبير بينهم

جدول 14: مقارنة بين نسب تشابه تسلسل القواعد النتروجينية لمنطقة الجين ITS لعزلة الفطر *T. harzianum* Y.N. 156 Haneen المعزولة من محافظة اربيل وبين العزلات الفطرية الاخرى لنفس الفطر المسجلة عالميا في المركز الوطني للمعلومات التقنية والاحيائية (NCBI) .

Sequence similarity %	GenBank Accession Number	مكان العزلة Origin	رمز العزلة Isolate name	ت
100	ON925001	Iraq	Y.N.156Haneen	1
100	MW048802.1	India	5	2
99.78	MF108898.1	China	XZ N212-1	3
99.78	MF108856.1	China	PDA N159-3	4
99.78	KY750513.1	China	CTCCSJ-G-HB40732	5
99.78	KY750324.1	China	CTCCSJ-G-HB40547	6
99.78	KY750322.1	China	CTCCSJ-G-QT40545	7
99.78	MW048809.1	India	12	8
99.78	MW048807.1	India	10	9
99.78	MK109811.1	India	BThr19	10



شكل 10 : شجرة التحليل الوراثي (Nieighbor-joining tree) تبين العلاقة الوراثية بين عزلة الفطر *T.harzianum* Y.N. 156 Haneen (المشار اليها بدائرة ذات لون اسود) المعزولة في هذه الدراسة مع عزلات الفطر *T.harzianum* المسجلة سابقاً في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية (NCBI).

4-5: تقييم كفاءة المستخلصات النباتية والمبيدات الاحيائية في تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus*

4-5-1: تقييم كفاءة المستخلصات النباتية في العزلات الفطرية الممرضة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* مختبريا

بعد الحصول على ستة عزلات فطرية كانت الاكثر قدرة تضادية ضد نمو الفطر الغذائي الأبيض *A.bisporus* في التجربة السابقة (4-3) ، تم تقييم كفاءة المستخلصات النباتية في تثبيط نمو هذه العزلات الفطرية وتأثيرها على نمو الفطر الغذائي الأبيض وأوضحت النتائج في (جدول 15 و شكل 11) ان جميع المستخلصات النباتية عملت على تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة والفطر الغذائي بنسبة مختلفة حيث أظهر في بعض المستخلصات مقأومة معنوية عالية .

وصلت النسبة المئوية للتثبيط إلى أدنى حد لها في مستخلص مسحوق الحبة السوداء مقارنةً مع بقية المستخلصات الاخرى ، إذ وصل معدل تثبيط هذا المستخلص على العزلات الفطرية الممرضة والفطر الغذائي الأبيض إلى 31.8% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00 % ، في حين تبين أن مستخلص القرنفل (Cl) سجل أعلى نسبة مئوية للتثبيط وصلت إلى 71.5% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00% واختلف بذلك معنويا على بقية المستخلصات.

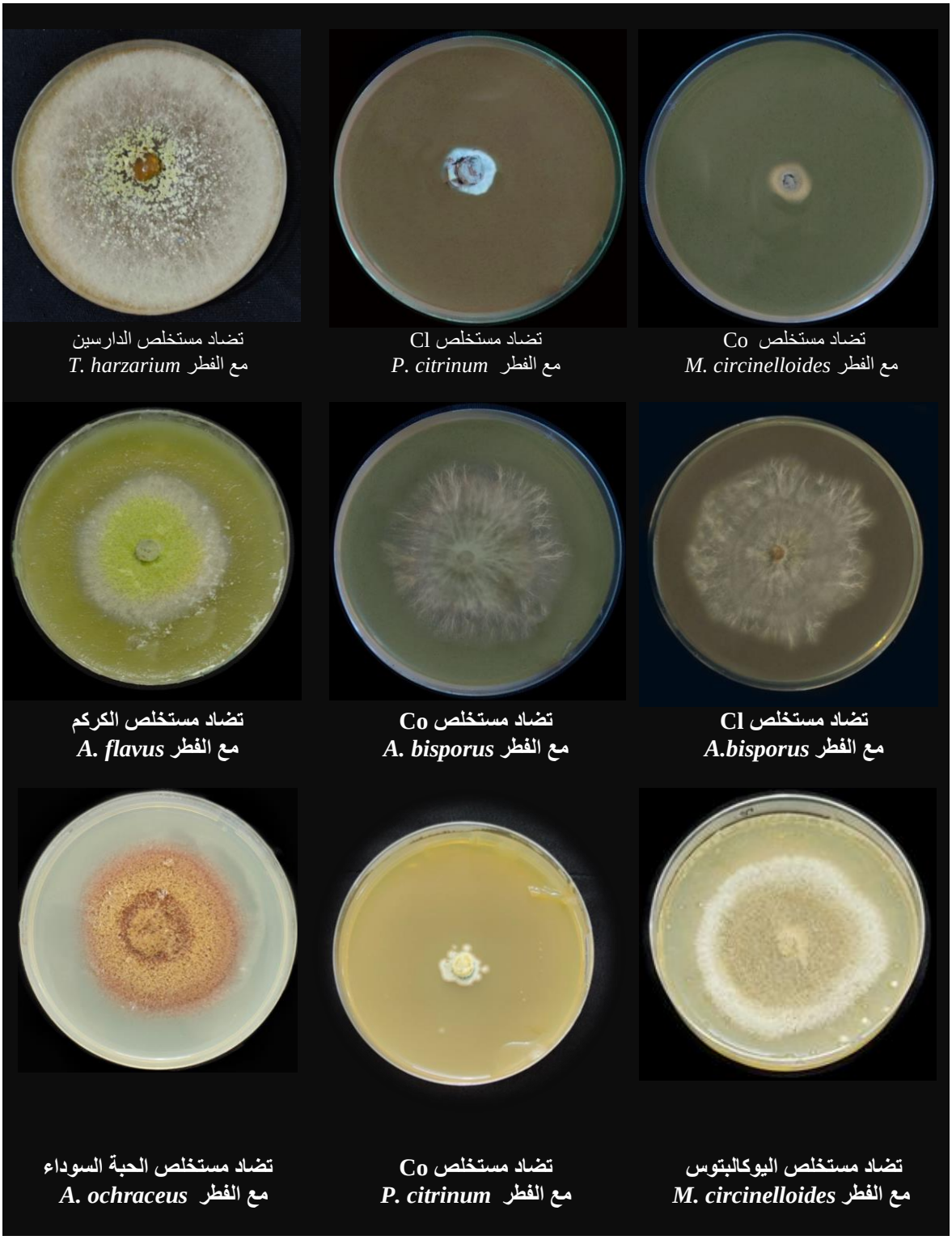
ويبدو ان هذا المستخلص كان من أفضل المستخلصات النباتية في تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة بالمقابل قلة تأثيرها على الفطر الغذائي الأبيض ، في حين يتراوح معدل تأثير المستخلصات المختلفة على بقية العزلات الفطرية الاخرى 36.1 % - 68.4 % ولذلك تم اختيار المستخلصات التي أعطت أعلى نسبة تثبيط لنمو العزلات الفطرية الممرضة بالمقابل سجلت أدنى تأثير على نمو الفطر الغذائي الأبيض لاستخدامها بالتجارب البحثية اللاحقة .

جدول 15: تقييم كفاءة المستخلصات النباتية في تثبيط نموالفطريات الممرضة % المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA) .

ت	المعاملات	النسبة المئوية % لتثبيط نمو العزلات الفطرية بفعل بعض المستخلصات النباتية							
		A. bisporus	*A. flavus-B1*	*A. ochraceus-D1*	*A. terreus-K1*	*P. citrinum-B1*	*T.harzianum-E1*	*M. circinelloides-E1*	المعدل النهائي
1	المقارنة (بوحود الفطر)	75	100	100	100	90	100	100	95
2	المقارنة (بغياب الفطر)	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0
3	الممرض + مستخلص القرنفل	20	82.5	80.2	77.1	82	77.7	81.2	71.5
4	الممرض + مستخلص مسحوق الدارسين	60	57.5	57	35.7	44	12.1	43.7	44.2
5	الممرض + مستخلص مسحوق الكركم	66.6	50	25.9	42.8	20.1	10	37.5	36.1
6	الممرض + مستخلص نبات اليوكالبتوس	75.1	49.3	45	52.1	65	15.2	26	46.8
7	الممرض+ مستخلص الكونوكاربس	21.2	81.2	70.3	72.8	70	78.8	85	68.4
8	الممرض + مستخلص مسحوق الحبة السوداء	85.4	20.5	17.8	11.9	33.1	11.5	43	31.8
	L.S.D 0.05	6.09	6.84	6.61	5.21	5.88	6.61	5.69	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

وهذه النتائج تتفق مع مإذكرته دراسات سابقة من أن مسّتخلص نبات القرنفل فعال في تثبيط نمو بعض الفطريات الممرضة مثل *Penicillium* و *Aspergillus* نتيجة احتواءه على مواد فعالة نشطة بايولوجيا مثل الاحماض الفينولية والتي تعمل كمواد مضادة للاحياء المجهرية (Reddy ،2007). في حين اشار Tauqer واخرون(2014) بأن مستخلصات نبات الكونوكاربس أمتلكت كفاءة تضادية كبيرة في تثبيط نمو عدد من الفطريات المرضية لامتلكه على بعض المواد الفعالة والمضادات الاحيائية التي تعمل على توقف نمو الفطريات .



شـكل 11: نمـإذج فـي تقيـيم كفـاءة المستخلصـات النباتيـة فـي تثبـيط نموالفطريـات الممرضـة المعزولـة وتأثيرها على الفطر الغذائي*A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA).

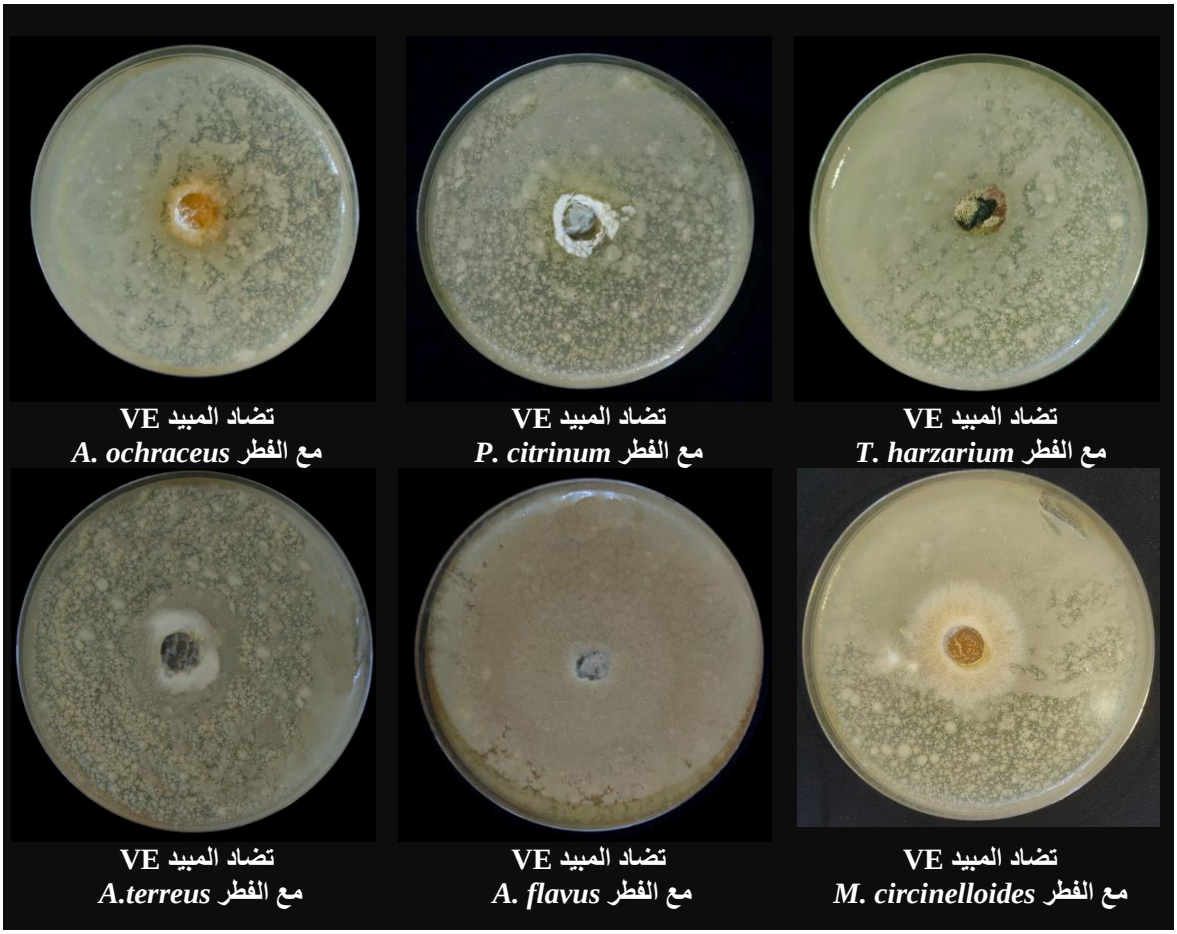
4-5-2: تقييم كفاءة المبيدات في تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* مختبريا

أظهرت النتائج المثبتة في جدول 16 والشكل 12 ان المبيد الكيميائي Benomyl اعطى أعلى معدل تثبيط للعزلات الفطرية الممرضة بنسبة 78.7 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00% وأعلى تأثير على نمو الفطر *A.ochraceus-D1* بنسبة تثبيط 91.1% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00%. كما اعطى نسبة تثبيط عالية للفطر الغذائي الأبيض بمقدار 73.2% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00% تحت ظروف المختبر قد يكون السبب نتيجة التأثير المباشر للمبيد الكيميائي على الفطر الغذائي أو ان السلالة المستخدمة حساسة للمبيد (Benomyl) ، في حين سجل المبيد الاحيائي Verox (VE) معدل تثبيط 70.7% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00% واعطى أعلى نسبة تثبيط على الفطر *A.ochraceus*-D1 والفطر *T.harzianum*-E1 بنسبة 90% مقارنة مع معاملة المقارنة 0.00% وأدنى نسبة تثبيط للفطر الغذائي الأبيض بمقدار 28% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00% واختلف بذلك معنويا عن بقية المبيدات ، بينما تراوح معدل تأثير المبيدات الاخرى على العزلات الفطرية الممرضة والفطر الغذائي الأبيض 31%-34.9% ، إذ اثبتت دراسات سابقة بأن المعالجة الكيميائية بمبيدات الفطريات بالامكان ان تتحكم بالمرض بشكل فعال للوقاية منه والسيطرة عليه (Hatvani وآخرون 2008). استخدمت مواد فعالة من مجموعة Methyl Carbamates Benzimidazole مكن من السيطرة على الامراض الفطرية المختلفة التي تؤثر على الفطر الغذائي (Bollen وFuchs ، 1970 و Snel ، 1971) ، وكذلك استخدم مبيد البينوميل من مجموعة benzimidazole في السيطرة على الامراض الفطرية المرافقة لاستزراع الفطر؛ نظراً لسميته ضد مجموعة من الفطريات في الوقت نفسه لم يظهر فعالية تثبيطية عالية ضد نمو الفطر الأبيض (Snel ، 1971)، أكثر مبيدات الفطريات فعالية للسيطرة على الامراض هو pro-chloraz ، والذي وجد أنه فعال أيضًا ضد مسببات الأمراض الفطرية الرئيسية (Grogan ، 2008) .

جـــدول 16: تقيـــيم كفـــاءة المبيـــدات فـــي تثبـــيط نموالفطريـــات الممرضـــة % المعزولـــة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA).

ت	المعاملات	النسبة المئوية لتثبيط نمو العزلات الفطرية بفعل بعض المبيدات							
		A. bisporus	*A. flavus-B1*	*A. ochraceus-D1*	*A. terreus-K1*	*P. citrinum-B1*	*T.harzianum-E1*	*M. circinelloides-E1*	المعدل النهائي
1	المقارنة (بوجود الفطر)	75	100	100	100	90	100	100	95
2	المقارنة (بغياب الفطر)	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
3	المسبب المرضي + المبيد Verox	28.00	80.20	90.00	75.00	66.10	90.00	85.00	70.70
4	المسبب المرضي + المبيدbenomyl	73.20	85.30	91.10	67.30	75.00	82.40	76.50	78.60
5	المسبب المرضي + المبيد tondexir	50.00	15.00	18.70	30.70	21.60	36.00	45.00	31.00
6	المسبب المرضي + المستحضر sea boloom	95.00	25.00	34.20	22.50	36.20	20.80	11.00	34.90
	L.S.D 0.05	3.39	3.45	2.46	1.67	1.68	2.32	4.38	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**



شكل 12: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX(VE) في تثبيط نموالفطريات الممرضة المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* (مختبريا على وسط PDA).

4-5-3: تقييم كفاءة التوليفة بين المبيدات وبعض المستخلصات النباتية في تثبيط نموالفطريات الممرضة المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* مختبريا

بعد تحديد تقييم المستخلصات النباتية الاكثر كفاءة في التجربة السابقة 4-5-1 واختيار (مستخلصي القرنفل والكونوكاربس) واختيار المبيدات الزراعية الأفضل في التجربة السابقة 4-5-2 (المبيد الاحيائي Verox والمبيد الكيميائي Benomyl)، تم أختبار كفاءه التداخل والتوليفة بين المبيدين والمستخلصات النباتية على العزلات الفطرية الممرضة والفطر الغذائي الأبيض. أوضحت النتائج جدول 17 والشكل 13 ان هناك فروق معنوية بين المستخلصات والمبيدين المختبرة في تأثيرها على العزلات الفطرية الممرضة والفطر الغذائي الأبيض . اعطت توليفة المبيد Benomyl مع مستخلصي القرنفل والكونوكاربس أعلى معدل تثبيط بنسبة 77.9% مقارنة بمعاملة الفطر

الممرض 0.00% وسجلت نسبة تثبيط نمو الفطر الغذائي الأبيض 38.1% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00% في حين سجلت توليفة مبيد الاحيائي ومستخلصي القرنفل والكونوكاربس معدل تثبيط 73.9% مقارنة بمعاملة مقارنة 0.00% وأعطت أدنى نسبة تثبيط لنمو الفطر الغذائي الأبيض 22.5% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00% ، ويعد بذلك أفضل توليفة من ناحية تأثيرها على نمو العزلات الفطر الممرضة وعلى نمو الفطر الغذائي الأبيض، كما أعطت بقية التوليفات معدلات تثبيط تتراوحت بين 71.5%-75.1% وبنسب تثبيط لنمو الفطر الغذائي الأبيض بين 25%-48.2% . يبدو ان المبيد Verox من أفضل المبيدات في تأثيره على العزلات الفطرية الممرضة وانخفاض تأثيره على الفطر الغذائي الأبيض حتى في حالة التداخل مع المستخلصات النباتية ، وبذلك تم اختيار المبيد الاحيائي Verox وتوليفاته لاستخدامه في التجارب البحثية اللاحقة .

في دراسات سابقة استخدمت المبيدات الكيمائية كحل للسيطرة على أمراض العفن الأخضر في مزارع الفطر ، وأعطى استخدامها في مكافحة الفطريات الممرضة في مزارع الفطر نتائج جيدة (Lukovic وآخرون ، 2020) ، مع هذا تطورت مقاومة العوامل الممرضة لمبيدات الفطريات بعد الاستخدام المتكرر. أن حساسية المضيف لمبيدات الفطريات يمثلان مشاكل خطيرة يوصى رسميًا باستخدام عدد قليل فقط من مبيدات الفطريات في إنتاج الفطر (Potocnik وآخرون ، 2015) ، قبل السماح باستخدام مبيدات فطرية جديدة يجب دراسة التأثير على سلالات العائل التجارية في المختبر وفي الجسم الحي قبل الموافقة على استخدامها ، أوالتوجهة إلى استتخدام المبيدات ذات الأصل النباتي قليلة التاثير على سلالة الفطر الغذائي وعلى المستهلك (Diamantopoulou وآخرون ، 2006).

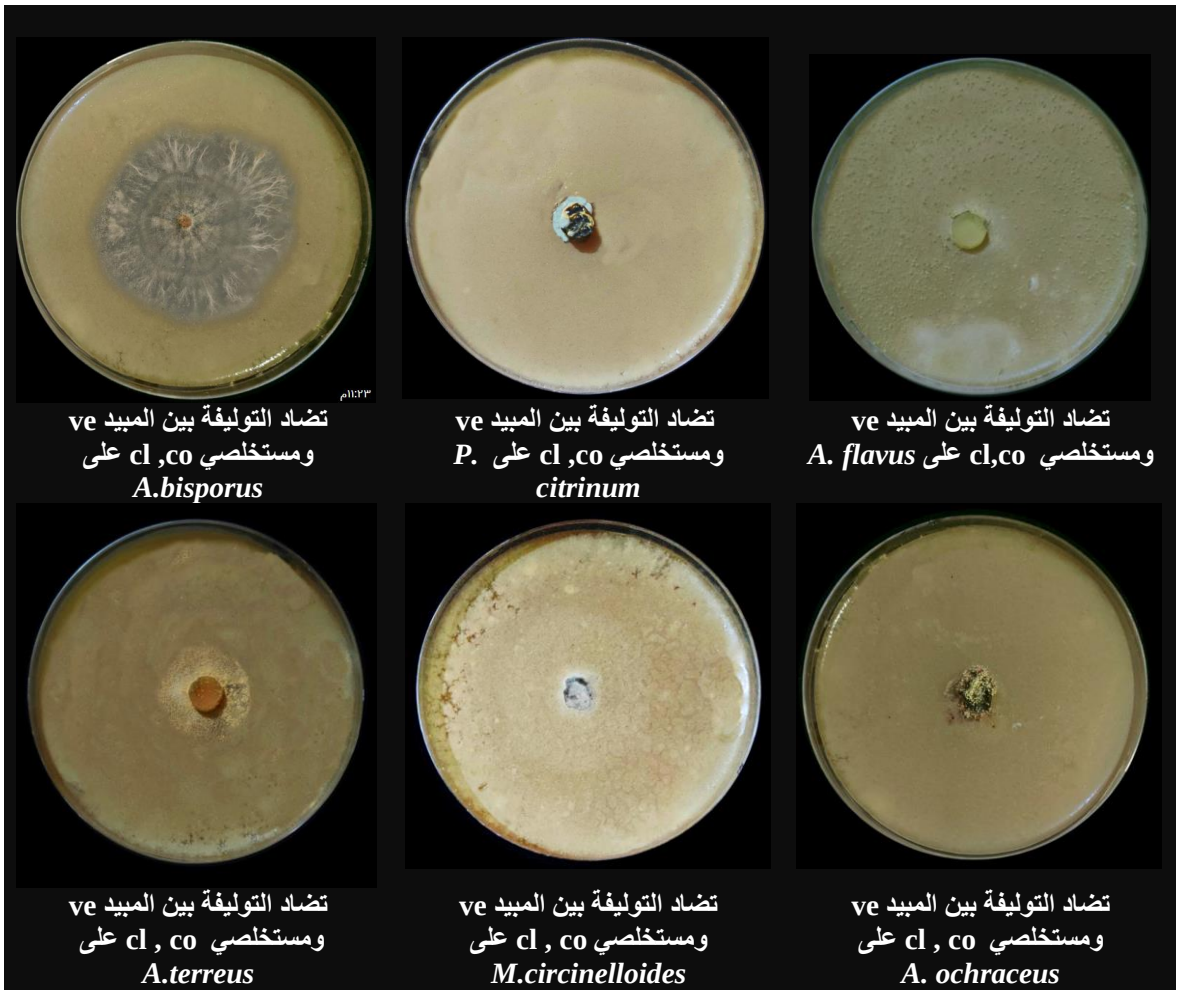
وهناك اهتمام كبير من قبل المتخصصيين في استعمال المستخلصات النباتية لمكافحة المسببات المرضية حلا للمشاكل الناجمة من استعمال المبيدات والطلب المتزايد على انتاج غذاء صحي نظيف خالٍ من متبقيات المبيدات الكيمياوية أو الاستخدام المشترك بين هذه المستخلصات والمبيدات الكيميائية كبرامج متكاملة لمكافحة الامراض والافات الاخرى (Rai وCarpinella، 2006) ، فبعض المركبات فعالة فسلجيا وكذلك بعضها فعالة إحيائياً ضد العديد من الفطريات والبكتريا التي تصيب الفطر الغذائي الأبيض (Gea وآخرون ، 2021). لقد استخدمت مستخلصات القرفة والقرنفل والزعتر واعطت نتائج وفعالية عالية في تثبيط والسيطرة على بعض امراض الفطر الغذائي (Jatav وآخرون ، 2014).

جـدول 17: تقيـيم كفـاءة التوليفـة بـين المبيـدات وبعـض المستخلصـات النباتيـة فـي تثبـيط نموالفطريات الممرضة % المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus* .

ت	المعاملات	النسبة المئوية لتثبيط نمو العزلات الفطرية بفعل التوليفة بين المبيدات وبعض المستخلصات النباتية							
		A. bisporus	*A. flavus-B1*	*A. ochraceus-D1*	*A. terreus-K1*	*P. citrinum-B1*	*T.harzianum-E1*	*M. circinelloides-E1*	المعدل النهائي
1	المقارنة ا(بوجود الفطر)	75	100	100	100	90	100	100	95
2	المقارنة (بغياب الفطر)	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
3	الفطر +VE + Cl	25	80	85.1	75	73.3	82.5	83.9	72.1
4	الفطر + VE + Co	27	82.5	77.9	73.6	70	86.4	83.3	71.5
5	الفطر+ VE +Co+ Cl	22.5	85.7	89.3	75	74.8	86.4	84.1	73.9
6	الفطر + (المبيد Benomyl) + Cl	47.1	83.5	85.5	70	79.3	80	78.5	74.8
7	الفطر + (المبيد Benomyl) + Co	48.2	84.6	80.5	77.3	72.5	80.4	82.5	75.1
8	الفطر+ (المبيد Benomyl) + Cl Co+	38.1	86.1	87.6	80.4	83.1	85	85.3	77.9
	L.S.D 0.05	2.41	1.38	0.43	3.11	3.11	2.74	2.74	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

****Clمستخلص القر فل ، Co مستخلص الكونو كاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**



شكل 13: كفاءة التوليفة بين المبيد الاحيائي VEROX(VE) و مستخلصي القرنفل (Cl) والكونوكاربس (Co) في تثبيط نموالفطريات الممرضة المعزولة وتأثيرها على الفطر الغذائي *A. bisporus*

6-4: دراسة كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تأثير العزلات الفطرية الممرضة على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus* .

1-6-4: كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الفطر الممرض *T.harzianum-E1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*

1-1-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum-E1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A.bisporus*

تشير نتائج جدول (18) إلى وجود فروق معنوية واضحة بين المعاملات في عدد الأجسام الثمرية ، اذ أدى إضافة المبيد الاحيائي VE و مستخلصي القرنفل

والكونوكاربس إلى تقليل تاثير الفطر الممرض وزيادة في اعداد الأجسام الثمرية إذ سجل إضافة مستخلص القرنفل أعلى عددا للاجسام الثمرية في الاسبوع الثاني 95 جسم ثمريا لكل م ^{2} مقارنة مع معاملة المقارنة 45 جسما ثمريا في حين سجل إضافة مستخلص الكونوكاربس في الاسبوع الأول أعلى عدد حيث وصل 70 جسم ثمري لكل م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 60 ، واعطى إضافة المبيد الاحيائي Verox أعلى عددا في الاسبوع الأول 75 جسما ثمريا لكل م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 60 ،اما إضافة التوليفة سجلت أعلى عددا للاجسام الثمرية حيث اعطت في الاسبوع الثاني 175 جسم ثمري لكل م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 45 جسم ثمري لكل م^2 وبذلك تكون معاملة التوليفة أفضل معاملة من حيث التأثير على الفطر الممرض

جدول 18: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum-E1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2).

ت	المعاملات	اعداد الأجسام الثمرية (مقدراً العدد/ م^2)				عدد الأجسام الثمرية الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	150	190	140	100	580
2	إضافة الفطر الممرض فقط *T.harzianum-E1*	60	45	20	0	125
3	الممرض + مستخلص القرنفل (Cl)	80	95	90	65	330
4	الممرض+ مستخلص الكونوكاربس(Co)	70	60	60	45	235
5	الممرض + Verox(VE)	75	60	55	50	240
6	(الممرض + Cl+Co+ VE)	135	175	100	90	500
	L.S.D 0.05	4.92	5.57	5.71	5.53	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

2-1-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum-E1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*

أظهرت النتائج في جدول 19 تأثير الفطر الممرض على معدل وزن الجسم الثمري و وجود تباين في المعدل بين المعاملات المختلفة ، إذ سجلت زيادة في معدل وزن الأجسام الثمرية عند إضافة المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي ، فقد سُجل في الاسبوع الأول أعلى وزن للجسم الثمري في معاملة التوليفة الممرض + المبيد الاحيائي + المستخلصات النباتي إذا بلغ 40.1 غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 20.5 غم وأدنى معدل سجل في معاملة مستخلص القرنفل في الاسبوع الرابع إذا بلغ 24.8 غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00 غم ، في حين سجلت

معاملة التوليفة الممرض + المبيد الاحيائي + المستخلصات النباتية في الاسبوع الرابع معدل 30.5 غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00 غم وبذلك تعد معاملة التوليفة من أفضل المعاملات

جدول 19: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *T.harzianum-E1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم / جسم ثمري).

ت	المعاملات	معدل وزن الجسم الثمري				معدل وزن الجسم الثمري الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	43.8	40.6	32.5	39.42
2	إضافة الفطر الممرض فقط *T.harzianum-E1*	20.5	22.2	18.7	0	15.35
3	الممرض + مستخلص القرنفل (Cl)	39.2	39.5	32.1	24.8	33.9
4	الممرض+ مستخلص الكونوكاربس(Co)	31.35	33.5	30.9	26.8	30.63
5	الممرض+Verox(VE)	35.9	36.1	31.2	29.1	33.07
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.1	40.8	38.2	30.5	37.4
	L.S.D 0.05	4.11	5.38	4.92	4.41	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

4-6-1-3: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*

أظهرت نتائج جدول 20 فروق معنوية واضحة بين المعاملات المختلفة على الصفات المظهرية للفطر الغذائي الأبيض حيث سجل أعلى معدل لقطر القبعة في المعاملة السادسة 42.4 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 21.5 ملم/ جسم ثمري وسجل في المعاملة الرابعة عند استخدام مستخلص الكونوكاربس أدنى معدل 38.1 ملم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 21.5 ملم/ جسم ثمري ، في حين سجل أعلى معدل لطول الساق في الاسبوع الثالث للمعاملة السادسة بمقدار 39.8 ملم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 20.1 ملم/ جسم ثمري وأدنى معدل في المعاملة الرابعة الاسبوع الرابع بمقدار 30 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00 ملم/ جسم ثمري

جـدول 20: تقيـيم كفـاءة المبيـد الاحيـائي والمستخلصـات النباتيـة فـي تثبـيط تـاثيرات الفطـر *T.harzianum-E1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم).

ت	المعاملات	الاسبوع الأول		الاسبوع الثاني		الاسبوع الثالث		الاسبوع الرابع		معدل قطر القبعة
		قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	40.1	53.3	45.4	41.9	40.2	38.4	33.5	43.6
2	إضافة الممرض فقط *T.harzianum-E1*	30.9	26.9	29.7	22.5	25.4	20.1	0.0	0.0	21.5
3	الممرض + القرنفل Cl	39.6	35.5	49.1	33.9	40.8	37.4	35.2	31.5	41.1
4	الممرض + الكونوكاربس Co	37.3	34.9	45.2	30.7	39.6	30.2	30.5	30.0	38.1
5	الممرض + (VE)Verox	37.9	35	46.1	33.7	39.9	36.1	32.4	31.4	39.07
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.2	39.7	51.3	38.6	40.3	39.8	37.9	33.1	42.4
	L.S.D 0.05	6.24	4.11	3.005	3.347	5.718	3.342	4.41	3.63	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

4-1-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*

تبين نتائج جدول 21 ان استخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي في مكافحة الفطر الممرض احدث زيادة في كمية الحاصل مقارنة بتأثير الفطر الممرض الذي عمل على خفض الانتاج اما بعد إضافة المستخلصات النباتية لاحظت تباين في كمية الحاصل نتيجة تثبيط الفطر الممرض إذ سجلت معاملة مستخلص القرنفل أعلى كمية حاصل في الاسبوع الثاني 3.752 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.999 كغم/م^2 ، وبلغت كمية الحاصل النهائي 11.389 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 2.603 كغم/م^2 ، في حين كانت أفضل معاملة هي إضافة توليفة المبيد الاحيائي مع المستخلصات النباتية والتي سجلت فروق معنوية مع بقية المعاملات إذ أعلى كمية حاصل في الاسبوع الثاني 7.140 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.999 كغم/م^2 وبلغت كمية الحاصل الكلي 19.118 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة المقارنة 2.603 كغم/م^2 اما بقية المعاملات كانت كمية الحاصل الكلية تتراوح بين 7.264-11.389 كغم /م^2 وان كمية الحاصل تتناسب طرديا مع عدد الأجسام الثمرية ووزنها.

جدول 21: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2).

ت	المعاملات	كمية الحاصل الاسبوع الأول	كمية الحاصل الاسبوع الثاني	كمية الحاصل الاسبوع الثالث	كمية الحاصل الاسبوع الرابع	كمية الحاصل الكلي
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	6.120	8.322	5.684	3.250	23.376
2	إضافة الفطر الممرض فقط *T.harzianum-E1*	1.230	0.999	0.374	0.00	2.603
3	الممرض + القرنفل (Cl)	3.136	3.752	2.889	1.612	11.389
4	الممرض+الكونوكارس (Co)	2.194	2.010	1.854	1.206	7.264
5	الممرض+Verox(VE)	2.692	2.166	1.716	1.455	8.029
6	الممرض+Co+Cl+VE	5.413	7.140	3.820	2.745	19.118
	L.S.D 0.05	4.25	3.32	2.99	2.61	

4-6-1-5: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*

أظهرت النتائج جدول (22) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة وتأثيرها في كمية النتروجين بالرغم من ذلك أدى التعرض للفطر الممرض أدى إلى زيادة في كمية النتروجين في الفطر الغذائي الأبيض ومن ثم أدى لزيادة في كمية البروتين ، إذ سجلت معاملة الفطر الممرض أعلى نسبة للنتروجين 7.5% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 7.1% وأعلى نسبة للبروتين 32.85% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 32.85 % وقد اتفق بذلك مع دراسات تشير إلى أنّ التعرض لأنواع الفطر *Trichoderma* تؤدي لزيادة كمية البروتين داخل الأجسام الثمرية (Kosanovic واخرون 2020)، في حين سجل أدنى نسبة للنتروجين في المعاملة الثالثة عند إضافة مستخلص القرنفل 5.4% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 7.5 % ونسبة البروتين في نفس المعاملة 24.09 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 32.85 % وقد يعود ذلك لتأثير القرنفل على بعض الخصائص الغذائية وتقليل كميتها ، اما بقية المعاملات فكان كمية النتروجين تتراوح بين 6.5-6.8 ملغ/غم اما بالنسبة لعنصر الصوديوم كانت أعلى كمية في معاملة الممرض + مستخلص القرنفل إذ سجلت 157.3ملغ/غم بينما أدنى كمية سجلت في معاملة الممرض + مستخلص الكونوكاربس 120.9 ملغ/غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 105.2 ملغ/غم وسجل عنصر البوتاسيوم أعلى كمية في معاملة الممرض + خليط المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية 149.5

ملغ /غم وأدنى كمية في معاملة الممرض + مستخلص القرنفل 127.8 ملغ /غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 102.4 ملغ /غم ، اما الفسفور كانت أعلى كمية 0.022 ملغ /غم في معاملة الممرض + الكونوكاربس مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.017 ملغ / غم اما أدنى معدل سجل في معاملة مستخلص القرنفل 0.018 ملغ / غم .

جدول 22: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *T.harzianum-E1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus* .

ت	المعاملات	كمية النتروجين %	كمية البروتين %	كمية الصوديوم ملغ/غم	كمية البوتاسيوم ملغ/غم	كمية الفسفور ملغ/غم
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	7.1	31.098	164.5	160.1	0.028
2	إضافة الفطر الممرض فقط *T.harzianum-E1*	7.5	32.85	105.2	102.4	0.017
3	الممرض + القرنفل (Cl)	5.4	24.09	157.3	127.8	0.018
4	الممرض +الكونوكارس(Co)	6.7	29.346	120.9	144.1	0.022
5	الممرض + Verox(VE)	6.5	28.47	145.5	142.2	0.019
6	الممرض + Co+Cl+VE	6.8	29.784	144.4	109.5	0.020
	L.S.D 0.05	4.04	6.24	5.53	6.11	0.0022

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

4-6-2: كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الفطر الممرض *A.flavus-B1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*

4-6-2-1: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.flavus-B1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*

توضح النتائج جدول (23) إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات في عدد الأجسام الثمرية ، فقد أدى إضافة لقاح الفطر الممرض *A.flavus-B1* إلى تقليل عدد الأجسام الثمرية التي سجلت اقل عدد للاجسام الثمرية في الاسبوع الرابع 30 جسما ثمري / م^2 وبلغ عدد الأجسام الثمرية الكلي 195 جسما ثمري / م^2 وهذا يفسر تأثير الفطر الممرض على انتاج الفطر الغذائي نتيجة منافسته واستنزاف المواد الغذائية الموجودة في الوسط الزرعي واتفق بذلك مع دراسات تشير إلى وجود منافسات للفطر الغذائي في الوسط الزرعي والتي تأثر على نمو الفطر وتسبب خفض الانتاج، في حين أدى إضافة المستخلصات النباتية والمبيدات الاحيائية إلى تقليل تاثير الفطر الممرض وزيادة

في اعداد الأجسام الثمرية حيث سجل أعلى عددا للاجسام الثمرية في المعاملة السادسة 505 جسم ثمري / م ^{2} مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 195 جسما ثمري / م^2 ، وسجل أدنى عددا للاجسام الثمرية في المعاملة الخامسة بواقع 310 جسما ثمري / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 195 جسم ثمري/ م^2 وبذلك تكون معاملة التوليفة أفضل معاملة من حيث التأثير على الفطر الممرض ويمكن تفسير زيادة اعداد الأجسام الثمرية هو نتيجة تأثير المواد الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية وكذلك تأثير البكتيريا الاحيائية الموجودة في المبيد على الفطر الممرض .

جدول 23: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.flavus-B1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A.bisporus* (جسم ثمري/م^2).

ت	المعاملات	عدد الأجسام الثمرية				عدد الأجسام الثمرية الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	150	190	140	100	580
2	إضافة الفطر الممرض فقط *A.flavus-B1*	65	60	40	30	195
3	الممرض + القرنفل (Cl)	85	110	95	60	350
4	الممرض +الكونوكاربس (Co)	90	130	100	65	385
5	الممرض +Verox (VE)	85	90	80	55	310
6	الممرض + Co+Cl+VE	130	180	110	85	505
	L.S.D 0.05	5.71	5.94	4.81	4.92	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

4-6-2-2: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A. flavus-B1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*

يتضح من النتائج في جدول (24) وجود تباين بين المعدلات في المعاملات المختلفة وتأثير الفطر الممرض على معدل وزن الجسم الثمري ، فقد أدى إضافة اللقاح الفطري للفطر الممرض في التأثير على وزن الأجسام الثمرية إذ خفض معدل وزن الأجسام الثمرية ، في حين ازداد معدل وزن الأجسام الثمرية عند إضافة المستخلصات النباتية ؛ إذ سجل أعلى وزن للجسم الثمري في المعاملة السادسة معاملة التوليفة الاسبوع الثاني إذا بلغ 42.3 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 25.1 غم / جسم ثمري وبلغ المعدل الكلي 38.7 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.4 غم / جسم ثمري و أدنى معدل سجل في معاملة مستخلص القرنفل في الاسبوع الرابع إذا بلغ 23.9 غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 20.5 غم / جسم ثمري وبلغ المعدل الكلي للمعاملة 31.6 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.4 غم / جسم ثمري، أما بقية المعاملات فكان المعدل الكلي لوزن الجسم الثمري يترأوح بين 35.07-35.2 غم /

جسم ثمري . بذلك تعد معاملة التوليفة من أفضل المعاملات ويفسر التباين في معدل وزن الأجسام الثمرية إلى الزيادة والنقصان في كمية الحاصل ففي حالة الزيادة يكون بتأثير المادة الفعالة للمستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي على الفطر الممرض والتنافس على الوسط الغذائي كبير ويؤدي الانخفاض إلى تقليل التنافس ممايعمل على الزيادة والنقصان في معدل وزن الجسم الثمري .

جدول 24: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.flavus-B1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم / جسم ثمري).

ت	المعاملات	معدل وزن الجسم الثمري				معدل وزن الجسم الثمري الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	43.8	40.6	32.5	39.42
2	إضافة الفطر الممرض فقط ***A.flavus-B1***	29.3	25.1	22.7	20.5	24.4
3	الممرض + القرنفل Cl	35.2	37.1	30.6	23.9	31.6
4	الممرض + الكونوكاربس Co	37.6	40.2	35.4	27.1	35.07
5	الممرض +VE Verox	37.9	39.2	34.1	29.6	35.2
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.5	42.3	40.1	31.9	38.7
	L.S.D 0.05	2.91	2.53	3.00	3.70	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

4-6-2-3: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A. flavus-B1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*

يشير جدول (25) إلى وجود فروق معنوية واضحة بين المعاملات المختلفة في تأثير الفطر الممرض على الصفات ألمظهرية للفطرالغذائي الأبيض ، حيث أدى إضافة لقاح الفطر الممرض في التأثيرعلى قطر قبعة الجسم الثمري وطول الساق وعند إضافة المعاملات المختلفة من المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي سجل فروق معنوية عالية حيث سجل أعلى معدل لقطر القبعة في المعاملة السادسة الأسبوع الثاني 52.9 ملم مقارنة بمعاملة 30.3 ملم وسجل في المعاملة الثالثة عند استخدام مستخلص القرنفل أدنى معدل في الاسبوع الثالث 30.5 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 27.9 ، في حين سجل أعلى معدل لطول الساق في الاسبوع الثاني للمعاملة السادسة بمقدار 43.9 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 22.7 ملم وأدنى معدل في المعاملة الثالثة للأسبوع الرابع بمقدار 30.2 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 20.4 ملم .

جدول 25: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A. flavus-B1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم).

ت	المعاملات	الاسبوع الأول		الاسبوع الثاني		الاسبوع الثالث		الاسبوع الرابع		معدل قطر القبعة
		قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	40.1	53.3	45.4	41.9	40.2	38.4	33.5	43.6
2	الممرض فقط ***A.flavus-B1***	33.4	29.1	30.3	22.7	27.9	22.1	22.6	20.4	28.5
3	الممرض + Cl	37.5	35.7	45.3	31.4	30.5	33.2	31.2	30.2	36.1
4	الممرض + Co	39.9	37.2	47.1	40.2	35.9	36.4	34.9	33.1	39.4
5	الممرض + VE	38.1	33.9	46.6	33.4	33.7	35.8	33.5	32.2	37.9
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.5	39.9	52.9	43.9	41.2	39.5	38.1	33.3	43.1
	L.S.D 0.05	3.33	4.18	2.52	2.52	3.00	2.92	3.01	3.72	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-2-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A. flavus-B1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*

توضح نتائج جدول (26) ان استخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي في مكافحة الفطر الممرض أحدث زيادة معنوية في كمية الحاصل مقارنة بتأثير الفطر الممرض الذي عمل على خفض الانتاج إذا أدى استخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي تباين في كمية الحاصل نتيجة تثبيط الفطر الممرض حيث سجل أعلى كمية للحاصل في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 7.614 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 1.506 كغم / م^2 وبلغت كمية الحاصل الكلي 19.894 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 4.933 كغم / م^2 وأدنى كمية للحاصل سجلت في المعاملة الثالثة للأسبوع الرابع 1.434 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.615 والتي سجلت كمية حاصل كلية 11.414 كغم /م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 4.933 كغم / م^2 اما بقية المعاملات كانت كمية الحاصل الكلية تتراوح بين 11.105-13.951 كغم /م^2 .

جـدول 26: تقيـيم كفـاءة المبيـد الاحيـائي والمستخلصـات النباتيـة فـي تثبـيط تـاثيرات الفطـر *A.flavus-B1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2).

ت	المعاملات	كمية الحاصل				كمية الحاصل الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	6.120	8.322	5.684	3.250	23.376
2	الفطر الممرض فقط ***A.flavus-B1***	1.904	1.506	0.908	0.615	4.933
3	الممرض + Cl	2.992	4.081	2.907	1.434	11.414
4	الممرض + Co	3.384	5.226	3.540	1.761	13.951
5	الممرض + VE	3.221	3.528	2.728	1.628	11.105
6	الممرض+Co+Cl+VE	5.265	7.614	4.411	2.711	19.894
	L.S.D 0.05	2.51	2.99	2.51	1.45	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-2-5: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A. flavus-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*

تشـير النتـائج فـي جـدول (27) أن التعـرض للفطـر الممـرض أدى إلـى التـأثير علـى المحتـوى الغذائي في الفطر الغذائي من خلال خفض كميتي النتروجين والبروتين للفطر الغذائي إذ سجلت نسبة النتروجين في معاملة الفطر الممرض 8.9 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1 % وبلغت نسبة البروتين 38.98 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % وقد اتفق بذلك مع دراسات تشير إلى ان التعرض لانواع الفطر *Aspergillus* تعمل على خفض كمية البروتين داخل الأجسام الثمرية ،في حين سجل أدنى نسبة للنتروجين في المعاملة الثالثة عند إضافة مستخلص القرنفل 7.3% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1 % ونسبة البروتين في نفس المعاملة 31.974 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % ،اما عنصر الصوديوم سجل أعلى كمية 160.2 ملغ/ غم في معاملة الممرض + خليط المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية وأدنى كمية سجلت في معاملة الممرض + مستخلص القرنفل 150.2 ملغ / غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 122.5 ملغ/غم بينما سجل عنصر البوتاسيوم أعلى كمية في معاملة الممرض + مستخلص القرنفل 144.5 وأدنى كمية في معاملة الممرض + مستخلص الكونوكاربس 139.5 ملغ /غم مقارنة بمعاملة الممرض 137.1 ملغ /غم اما عنصر الفسفور سجل أعلى كمية 0.025 ملغ /غم في معاملة

الممرض + المبيد الاحيائي (verox) اما أدنى كمية سجلت 0.021 ملغ / غم في معاملة الممرض + مستخلص الكونوكاربس

جدول 27: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.flavus-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A.bisporus*

ت	المعاملات	كمية النتروجين %	كمية البروتين %	كمية الصوديوم ملغ/غم	كمية البوتاسيوم ملغ/غم	كمية الفسفور ملغ/غم
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	7.1	31.098	164.5	160.1	0.028
2	إضافة الفطر الممرض فقط ***A.flavus-B1***	4.9	20.148	122.5	137.1	0.018
3	الممرض + Cl	5.3	23.214	150.2	144.5	0.022
4	الممرض + Co	6.3	27.594	155.3	139.5	0.021
5	الممرض + VE	5.9	25.842	154.1	140.1	0.025
6	الممرض + Co+Cl+VE	6.4	28.032	160.2	140.5	0.024
	L.S.D 0.05	4.41	2.51	5.38	3.97	0.0022

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-3: كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الفطر الممرض *A.ochraceus-D1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*

4-6-3-1: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.ochraceus-D1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*

توضح نتائج جدول (28) وجود تباين واضح بين المعاملات في عدد الأجسام الثمرية ، إذ أدى إضافة لقاح الفطر الممرض *A. ochraceus-D1* إلى تقليل عدد الأجسام الثمرية فقد سجلت اقل عدداً للاجسام الثمرية وهو ما يفسر تأثير الفطر الممرض على انتاج الفطر الغذائي نتيجة منافسته واستنزاف المواد الغذائية الموجودة في الوسط الزرعي واتفق بذلك مع دراسات تشير إلى وجود منافسات للفطر الغذائي في الوسط الزرعي والتي تأثر على نمو الفطر وتسبب خفض الأنتاج ، في حين أدى إضافة المستخلصات النباتية والمبيدات الاحيائية إلى تقليل تاثير الفطر الممرض وزيادة في اعداد الأجسام الثمرية حيث سجل أعلى عددا للاجسام الثمرية في المعاملة السادسة 515 جسم ثمريا/ م ^{2} مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 170 جسما ثمريا / م^2 ، وسجل أدنى عددا للاجسام

الثمرية في المعاملة الخامسة بواقع 315 جسما ثمريا / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 170 جسم ثمري / م^2 وبذلك تكون معاملة التوليفة أفضل معاملة من حيث التأثير على الفطر الممرض ويمكن تفسير زيادة اعداد الأجسام الثمرية هو نتيجة تأثير المواد الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية وكذلك تأثير البكتيريا الاحيائية الموجودة في المبيد على الفطر الممرض .

جدول 28: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.ochraceus-D1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (مقدراً العدد/ م^2)

ت	المعاملات	عددالأجسام الثمرية				عدد الأجسام الثمرية الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	150	190	140	100	580
2	إضافة الفطرالممرض فقط *A.ochraceus-D1*	60	55	35	20	170
3	الممرض + Cl	80	125	90	60	355
4	الممرض + Co	85	115	95	65	360
5	الممرض + VE	85	100	70	60	315
6	الممرض + Co+Cl+VE	130	175	120	90	515
	L.S.D 0.05	3.91	6.33	4.23	5.13	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

2-3-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.ochraceus-D1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*

تبين نتائج جدول (29) وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة وتأثير الفطر الممرض على معدل وزن الجسم الثمري ، ، وازداد معدل وزن الأجسام الثمرية عند إضافة المستخلصات النباتية ، إذ سجل أعلى وزن للجسم الثمري في المعاملة السادسة للاسبوع الثاني إذ بلغ 41.5 غم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 25.7 غم / جسم ثمري وبلغ المعدل الكلي 38.67 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.65 غم / جسم ثمري، وأدنى معدل سجل في معاملة مستخلص القرنفل في الاسبوع الرابع إذا بلغ 23.7 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 20.5 غم / جسم ثمري وبلغ المعدل الكلي للمعاملة 33.3 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.65 غم / جسم ثمري ، اما بقية المعاملات فكان المعدل الكلي لوزن الجسم الثمري يترأوح بين 33.9-35.6 غم / جسم ثمري وبذلك تعد معاملة التوليفة من أفضل المعاملات ويفسر التباين في معدل وزن الأجسام الثمرية إلى الزيادة والنقصان في كمية الحاصل ففي حالة الزيادة يكون بتأثير المادة الفعالة للمستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي على الفطر الممرض والتنافس على

الوسط الغذائي كبير ويؤدي الانخفاض إلى تقليل التنافس ممايعمل على الزيادة والنقصان في معدل وزن الجسم الثمري .

جدول 29: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.ochraceus-D1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم/ جسم ثمري).

ت	المعاملات	معدل وزن الجسم الثمري				معدل وزن الجسم الثمري الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	40.8	43.8	40.6	32.5	39.42
2	إضافة الفطر الممرض فقط *A.ochraceus-D1*	28.3	25.7	24.1	20.5	24.65
3	الممرض + Cl	33.9	36.2	30.4	23.7	33.3
4	الممرض + Co	35.1	39.1	35.9	25.5	33.9
5	الممرض + VE	38.1	40.5	33.7	30.1	35.6
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.6	41.5	40.5	32.1	38.67
	L.S.D 0.05	3.42	3.71	3.01	3.57	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-3-3: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*

يوضح جدول (30) تأثير الفطر الممرض ***A.ochraceus*** على الصفات المظهرية للفطر الغذائي الأبيض في حين أدى إضافة المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي سجل فروق معنوية واضحة حيث سجل أعلى معدل لقطر القبعة في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 50.3 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض53.3 ملم وسجل في المعاملة الثالثة عند استخدام مستخلص القرنفل أدنى معدل في الاسبوع الرابع 33.2 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 38.4 ملم ، في حين سجل أعلى معدل لطول الساق في الاسبوع الثاني للمعاملة السادسة بمقدار 43.7 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 45.4 ملم وأدنى معدل في المعاملة الثالثة الاسبوع الرابع بمقدار 25.4 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 33.5 ملم .

جدول 30: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم).

ت	المعاملات	الاسبوع الأول		الاسبوع الثاني		الاسبوع الثالث		الاسبوع الرابع		معدل قطر القبعة
		قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	40.1	53.3	45.4	41.9	40.2	38.4	33.5	43.6
2	إضافة الممرض *A.ochraceus*	31.2	25.9	30.5	23.8	27.6	22.1	21.3	20.6	27.6
3	الممرض + Cl	36.4	33.9	45.5	40.5	35.9	23.7	33.2	25.4	37.7
4	الممرض + Co	39.5	35.2	45.1	39.5	36.1	25.4	35.4	25.9	39.02
5	الممرض VE	39.2	34.5	46.8	25.1	33.1	34.9	33.2	32.0	38.07
6	الممرض + Co+Cl+VE	39.6	39.5	50.3	43.7	41.6	39.2	37.9	32.8	42.3
	L.S.D 0.05	2.53	3.42	2.54	4.04	3.01	2.09	3.33	2.64	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-3-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* على كمية الحاصل للفطر *A.bisporus*

تبين نتائج جدول (31) وجود فروق معنوية بين تأثيرالمعاملات المختلفة على كمية الحاصل مقارنة بتأثير الفطر الممرض الذي عمل على خفض الانتاج إذا سجل تأثير الفطر الممرض أعلى كمية للحاصل في الاسبوع الأول 1.698 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 6.120 كغم / م^2 في حين بلغ كمية الحاصل النهائي لمعاملة الفطر الممرض 4.364 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 23.367 كغم / م^2 وبعد استخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي في مكافحة الفطر الممرض احدث زيادة حيث لاحظت تباين في كمية الحاصل نتيجة تثبيط الفطر الممرض إذ سجل أعلى كمية للحاصل في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 7.262 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 8.322 كغم / م^2 وبلغت كمية الحاصل الكلي 20.289 كغم / م^2 مقارنة بمغاملة المقارنة 4.364 كغم / م^2 وأدنى كمية للحاصل سجلت في المعاملة الثالثة الاسبوع الرابع 1.422 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 3.250 كغم/م^2 والتي سجلت كمية حاصل كلية 11.395 كغم /م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 4.364 كغم / م^2 اما بقية المعاملات كانت كمية الحاصل الكلية تترأوح بين 11.453-12.546 كغم /م^2 .

جدول 31: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2) .

ت	المعاملات	كمية الحاصل				كمية الحاصل الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	6.120	8.322	5.684	3.250	23.376
2	إضافة الفطر الممرض *A.ochraceus-D1*	1.698	1.413	0.843	0.410	4.364
3	الممرض + Cl	2.712	4.525	2.736	1.422	11.395
4	الممرض + Co	2.983	4.496	3.410	1.657	12.546
5	الممرض + VE	3.238	4.050	2.359	1.806	11.453
6	الممرض+Co+Cl+VE	5.278	7.262	4.860	2.889	20.289
	L.S.D 0.05	3.84	3.40	3.32	2.61	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

5-3-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A.bisporus*

أظهرت نتائج جدول (32) وجود فروق معنوية بين المعاملات حيث ان إضافة لقاح الفطر الممرض أدى إلى التأثير على المحتوى الغذائي في الفطر الغذائي إذ عمل على تقليل كمية النتروجين في الفطر الغذائي وكذلك كمية البروتين إذ سجلت نسبة النتروجين في معاملة الفطر الممرض 9.8 ملغ /غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1 % وبلغت نسبة البروتين 42.92 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % وقد اتفق بذلك مع دراسات تشير إلى ان التعرض لانواع الفطر *Aspergillus* تعمل على خفض كمية البروتين داخل الأجسام الثمرية ، في حين سجل أدنى نسبة للنتروجين في المعاملة الخامسة عند إضافة المبيد الاحيائي 10.17 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1 % ونسبة البروتين في نفس المعاملة 44.56 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % ويعود ذلك لتأثير بعض الخصائص الغذائية بالبكتريا الموجودة في المبيد الاحيائي ،اما أعلى نسبة للنتروجين سجلت في المعاملة التوليفة 12.86 % ونسبة البروتين 56.32 % اما عنصر الصوديوم سجل في معاملة الممرض + مستخلص القرنفل أعلى كمية 154.8 ملغ/غم بينما أدنى كمية للعنصر سجلت في معاملة الممرض + المبيد الاحيائي (VEROX) 129.5 ملغ /غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 150.5 ملغ/غم اما عنصر البوتاسيوم أظهرت النتائج أعلى كمية في معاملة الممرض + مستخلص الكونوكاربس 159.2 ملغ/غم وأدنى كمية للعنصر سجلت في معاملة

الممرض + مستخلص القرنفل 121.9 ملغ/غم مقارنة بمعاملة الممرض 117.7 ملغ /غم ، اما عنصر الفسفور فسجلت معاملة الممرض + خليط المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية 0.022 ملغ/غم وأدنى كمية سجلت في معاملتي الممرض + الكونوكاربس و الممرض + المبيد الاحيائي (VEROX) 0.020 ملغ / غم مقارنة بمعاملة الممرض 0.018 ملغ / غم .

جدول 32: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.ochraceus-D1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus* .

ت	المعاملات	كمية النتروجين %	كمية البروتين %	كمية الصوديوم ملغ/غم	كمية البوتاسيوم ملغ/غم	كمية الفسفور ملغ/غم
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	7.1	31.098	164.5	160.1	0.028
2	إضافة الفطر الممرض ***A.ochraceus-D1***	4.8	21.02	150.5	117.7	0.018
3	الممرض + Cl	5.1	22.338	154.8	121.9	0.021
4	الممرض + Co	6.1	26.718	139.9	159.2	0.020
5	الممرض + VE	6.5	28.47	129.5	150.3	0.020
6	الممرض + Co+Cl+VE	6.8	29.784	150.1	143.5	0.022
	L.S.D 0.05	2.91	2.17	3.91	3.97	0.0018

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-4: كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الممرض *A.tereus-K1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي *A. bisporus*

4-6-4-1: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A. terreus-K1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر*A .bisporus*

تبين نتائج جدول (33) وجود فروق معنوية في تأثير المعاملات على عدد الأجسام الثمرية ،عند إضافة لقاح الفطر الممرض *A.terreus-K1*. عمل على تقليل عدد الأجسام الثمرية حيث سجل اقل عدد للاجسام الثمرية ، اما في حالة إضافة المستخلصات النباتية والمبيدات الاحيائية أدى إلى تقليل تاثير الفطر الممرض وزيادة في اعداد الأجسام الثمرية حيث سجل أعلى عددا للاجسام الثمرية في المعاملة السادسة 540 جسم ثمريا /م ^{2} مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 240 جسما ثمريا / م^2 ، وسجل أدنى عددا للاجسام الثمرية في المعاملة الرابعة بواقع 350 جسما ثمريا / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 240 جسم ثمري/ م^2 وبذلك تكون معاملة التوليفة أفضل معاملة من حيث التأثير على

الفطـر الممـرض ويمكـن تفسـير زيـادة اعـداد الأجسـام الثمريـة هـو نتيجـة تـأثير المـواد الفعالـة الموجـودة فـي المستخلصـات النباتيـة وكـذلك تـأثير البكتيريـا الاحيائيـة الموجـودة فـي المبيـد على الفطر الممرض .

جـدول 33: تقيـيم كفـاءة المبيـد الاحيـائي VEROX و مستخلصـي القرنفـل والكونوكـاربس فـي تثبـيط تـاثير الفطـر *A.terreus-K1* فـي عـدد الأجسـام الثمريـة للفطـر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2).

ت	المعاملات	عددالأجسام الثمرية				عدد الأجسام الثمرية الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	150	190	140	100	580
2	الفطرالممرض فقط *A.terreus-K1*	75	70	50	45	240
3	الممرض + Cl	100	130	100	80	410
4	الممرض + Co	95	100	85	70	350
5	الممرض + VE	90	100	80	65	355
6	الممرض + Co+Cl+VE	140	180	125	95	540
	L.S.D 0.05	5.71	7.58	6.11	5.38	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-4-2: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.terreus-K1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A.bisporus*

تبين نتائج جدول (34) تأثير الفطر الممرض على وزن الأجسام الثمرية بعد إضافة اللقاح كما سجلت فروق معنوية بين المعاملات المختلفة ، حيث ان إضافة اللقاح الفطري للفطر الممرض كان ذا تأثير واضح على وزن الأجسام الثمرية ومعدل نموها، وبعد استخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي ازداد معدل وزن الأجسام الثمرية إذا سجل أعلى وزن للجسم الثمري في المعاملة السادسة معاملة التوليفة الاسبوع الثاني إذا بلغ 42.9 غم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 28.5 غم وبلغ المعدل الكلي 38.92 غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 26.4 غم / جسم ثمري ،اما أدنى معدل سجل في معاملة مستخلص الكونو كاربس في الاسبوع الرابع إذا بلغ 26.7 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 21.4 غم / جسم ثمري اما أدنى معدل كلي سجل في المعاملة الثالثة 32.8 غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 26.4 غم/جسم ثمري ، اما بقية المعاملات فكان المعدل الكلي لوزن الجسم الثمري يترأوح بين 33.7-36.05 غم/ جسم ثمري وبذلك تعد معاملة التوليفة من أفضل المعاملات ويفسر التباين في معدل وزن الأجسام الثمرية إلى الزيادة والنقصان في كمية الحاصل ففي حالة الزيادة يكون بتأثير المادة الفعالة للمستخلصات النباتية

والمبيد الاحيائي على الفطر الممرض والتنافس على الوسط الغذائي كبير ويؤدي الانخفاض إلى تقليل التنافس ممايعمل على الزيادة والنقصان في معدل وزن الجسم الثمري .

جدول 34: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *A.terreus-K1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A.bisporus* (غم / جسم ثمري).

ت	المعاملات	معدل وزن الجسم الثمري				معدل وزن الجسم الثمري الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	43.8	40.6	32.5	39.42
2	الفطرالممرض *A.terreus-K1*	30.1	28.5	25.6	21.4	26.4
3	الممرض + Cl	34.5	36.1	33.2	27.4	32.8
4	الممرض + Co	35.9	38.6	33.9	26.7	33.7
5	الممرض + VE	38.4	40.1	35.2	30.5	36.05
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.7	42.9	40.3	31.8	38.92
	L.S.D 0.05	3.00	4.42	2.10	4.18	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

3-4-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A.bisporus*

توضح نتائج جدول (35) تأثير الفطر الممرض على الصفات المظهرية للفطر الغذائي الأبيض ، أدى إضافة لقاح الفطر الممرض في التأثيرعلى قطر قبعة الجسم الثمري وطول الساق وعند إضافة المعاملات المختلفة من المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي سجل فروق معنوية واضحة حيث سجل أعلى معدل لقطر القبعة في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 53.1 ملم مقارنة بمعاملة 31.2 ملم وسجل في المعاملة الثالثة عند استخدام مستخلص القرنفل أدنى معدل في الاسبوع الرابع 33.5 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 25.8 ملم ، في حين سجل أعلى معدل لطول الساق في الاسبوع الثاني للمعاملة السادسة بمقدار 44.3 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.6 ملم وأدنى معدل في المعاملة الثالثة الاسبوع الرابع بمقدار 32.2 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 20.9 ملم اما المعدل الكلي للمعاملات يترأوح بين 39-43.3 ملم .

جدول 35: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر*A.bisporus* (ملم).

ت	المعاملات	الاسبوع الأول		الاسبوع الثاني		الاسبوع الثالث		الاسبوع الرابع		معدل قطر القبعة
		قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	40.1	53.3	45.4	41.9	40.2	38.4	33.5	43.6
2	الممرض-*A.terreus K1*	34.1	25.9	31.2	24.6	30.5	23.9	25.8	20.9	30.25
3	الممرض + Cl	39.2	38.2	48.1	33.2	38.4	35.6	33.5	32.2	39.8
4	الممرض + Co	38.4	35.6	41.6	36.4	36.7	36.5	35.2	33.1	37.9
5	الممرض + VE	38.6	34.5	48.2	35.7	35.2	35.8	34	33.1	39
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.7	39.5	53.1	44.3	41.5	40	38.2	33.4	43.3
	L.S.D 0.05	3.34	3.80	3.64	3.10	3.34	3.33	4.06	3.57	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-4-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*

تشير نتائج جدول (36) تأثيرالمعاملات المختلفة على كمية الحاصل وسجلت فروق معنوية بين المعاملات مقارنة بتأثير الفطر الممرض الذي عمل على خفض الانتاج وعند إضافة المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي في مكافحة الفطر الممرض احدث زيادة حيث لاحظت تباين في كمية الحاصل نتيجة تثبيط الفطر الممرض إذ سجل أعلى كمية للحاصل في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 7.722 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 1.955 كغم / م^2 وبلغت كمية الحاصل الكلي 21.603 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 6.495 كغم / م^2 وأدنى كمية للحاصل سجلت في المعاملة الرابعة الاسبوع الرابع 1.869 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.963 كغم/م^2 والتي سجلت كمية حاصل كلية 12.011 كغم /م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 6.495 كغم / م^2 اما بقية المعاملات كانت كمية الحاصل الكلية تتراوح بين 12.238-13.655 كغم /م^2 .

جدول 36: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* على كمية الحاصل للفطر *A.bisporus* (كغم/م^2).

ت	المعاملات	كمية الحاصل				كمية الحاصل الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	6.120	8.322	5.684	3.250	23.376
2	لفطر الممرض *A.terreus-K1*	2.257	1.995	1.280	0.963	6.495
3	الممرض + Cl	3.450	4.693	3.320	2.192	13.655
4	الممرض + Co	3.410	3.860	2.881	1.869	12.011
5	الممرض + VE	3.456	4.010	2.816	1.982	12.264
6	الممرض+Co+Cl+VE	5.698	7.722	5.162	3.021	21.603
	L.S.D 0.05	2.90	4.29	3.63	2.99	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-4-5: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A.terreus-K1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*

تبين نتائج جدول (37) وجود فروق معنوية بين المعاملات حيث ان إضافة لقاح الفطر الممرض أدى إلى التأثير على المحتوى الغذائي في الفطر الغذائيإذ عمل على تقليل كمية النتروجين في الفطر الغذائي وكذلك كمية البروتين إذ سجلت نسبة النتروجين في معاملة الفطر الممرض 7.5% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1% وبلغت نسبة البروتين 32.85 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % وقد اتفق بذلك مع دراسات تشير إلى ان التعرض لانواع الفطر *Aspergillus* تعمل على خفض كمية البروتين داخل الأجسام الثمرية ،في حين سجل أدنى نسبة للنتروجين في المعاملة الثالثة عند إضافة مستخلص القرنفل 10.6 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1 % ونسبة البروتين في نفس المعاملة 46.42 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % ، وأعلى نسبة للنتروجين سجلت في المعاملة الرابعة 13.2 % ونسبة البروتين 57.81 % اما بقية المعاملات كانت نسبة النتروجين تتراوح بين 10.9-12.3% ونسبة البروتين تتراوح بين 47.74-53.87 % اما عنصر الصوديوم سجل في معاملة الممرض + مستخلص نبات الكونوكاربس أعلى كمية 360.9 ملغ/غم بينما أدنى كمية للعنصر سجلت في معاملة الممرض + القرنفل 154.8ملغ/غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 160.1 ملغ/غم اما عنصر البوتاسيوم أظهرت النتائج أعلى كمية في معاملة الممرض + مستخلص الكونوكاربس 474.5 ملغ/غم وأدنى

كمية للعنصر سجلت في معاملة الممرض + خليط المبيد الحوي والمستخلصات النباتية 138.5 ملغ/غم مقارنة بمعاملة الممرض 144.1 ملغ /غم ، اما عنصر الفسفور فسجلت معاملة الممرض + الكونوكاربس أعلى كمية 0.025 ملغ/غم وأدنى كمية سجلت في المعاملة السادسة 0.018 ملغ/غم مقارنة بمعاملة الممرض 0.021 ملغ/غم .

جدول 37: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *A. terreus-K1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus* .

ت	المعاملات	كمية النتروجين %	كمية البروتين %	كمية الصوديوم ملغ/غم	كمية البوتاسيوم ملغ/غم	كمية الفسفور ملغ/غم
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	7.1	31.098	164.5	160.1	0.028
2	الفطر الممرض فقط *A.terreus-K1*	3.5	15.33	160.1	144.1	0.021
3	الممرض + Cl	5.6	24.528	233.3	304.7	0.022
4	الممرض + Co	6.2	27.156	360.9	474.5	0.025
5	الممرض + VE	6.3	27.594	164.4	143.3	0.020
6	الممرض + Co+Cl+VE	5.9	25.842	161.6	138.5	0.018
	L.S.D 0.05	2.64	2.17	5.38	3.79	0.0018

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-5: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الفطر الممرض *P.citrinum-B1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*

4-5-5-1: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *P.citrinum-B1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A.bisporus*

توضح نتائج جدول (38) وجود فروق معنوية في تأثير المعاملات على عدد الأجسام الثمرية ،عند إضافة لقاح الفطر الممرض ***P.citrinum-B1*** عمل على تقليل عدد الأجسام الثمرية اما في حالة إضافة المستخلصات النباتية والمبيدات الاحيائية أدى إلى تقليل تاثير الفطر الممرض وزيادة في اعداد الأجسام الثمرية حيث سجل أعلى عددا للاجسام الثمرية في المعاملة السادسة 435 جسم ثمريا / م ^{2} مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 140 جسما ثمريا / م^2 ، وسجل أدنى عددا للاجسام الثمرية في المعاملة الثالثة

بواقع 285 جسما ثمريا / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 140 جسم ثمري / م^2 وبذلك تكون معاملة التوليفة أفضل معاملة من حيث التأثير على الفطر الممرض ويمكن تفسير زيادة اعداد الأجسام الثمرية هو نتيجة تأثير المواد الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية وكذلك البكتيريا الاحيائية الموجودة في المبيد على الفطر الممرض.

جدول 38: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *P.citrinum-B1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2).

ت	المعاملات	عددالأجسام الثمرية				عدد الأجسام الثمرية الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	150	190	140	100	580
2	الفطرالممرض فقط*P.citrinum-B1*	60	50	30	0	140
3	الممرض + Cl	100	85	60	40	285
4	الممرض + Co	115	90	75	50	330
5	الممرض + VE	120	95	70	55	340
6	الممرض + Co+Cl+VE	140	130	90	75	435
	L.S.D 0.05	7.04	7.07	5.94	4.92	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

2-5-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *P.citrinum-B1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*

تبين نتائج جدول (39) تأثير الفطر الممرض على وزن الأجسام الثمرية بعد إضافة اللقاح كما سجلت فروق معنوية بين المعاملات المختلفة ، حيث ان إضافة اللقاح الفطري للفطر الممرض كان ذا تأثير واضح على وزن الأجسام الثمرية ، وبعد استخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي ازداد معدل وزن الأجسام الثمرية إذا سجل أعلى وزن للجسم الثمري في المعاملة السادسة معاملة التوليفة الاسبوع الثاني إذا بلغ 40.1 غم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 23.9 غم / جسم ثمري وبلغ المعدل الكلي 36.8 غم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 17.47 غم/ جسم ثمري ،اما أدنى معدل سجل في معاملة الثالثة الاسبوع الرابع إذا بلغ 22.1 غم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00 غم/ جسم ثمري وسجلت أدنى معدل كلي 30.5 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 17.47 غم/ جسم ثمري ، اما بقية المعاملات فكان المعدل الكلي لوزن الجسم الثمري يترأوح بين 33.07-33.1 غم/ جسم ثمري وبذلك تعد معاملة

التوليفة من أفضل المعاملات ويفسر التباين في معدل وزن الأجسام الثمرية إلى الزيادة والنقصان في كمية الحاصل ففي حالة الزيادة يكون بتأثير المادة الفعالة للمستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي على الفطر الممرض والتنافس على الوسط الغذائي كبير ويؤدي الانخفاض إلى تقليل التنافس ممايعمل على الزيادة والنقصان في معدل وزن الجسم الثمري .

جدول 39: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *P.citrinum-B1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم / جسم ثمري).

ت	المعاملات	معدل وزن الجسم الثمري				معدل وزن الجسم الثمري الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	40.8	43.8	40.6	32.5	39.42
2	إضافة الفطر الممرض فقط *P.citrinum-B1*	25.6	23.9	20.4	0	17.47
3	الممرض + Cl	36.6	34.1	29.2	22.1	30.5
4	الممرض + Co	38.2	35.7	30.1	28.4	33.1
5	الممرض + VE	37.6	36.1	29.5	29.1	33.07
6	الممرض + Co+Cl+VE	39.9	40.1	37.3	29.9	36.8
	L.S.D 0.05	4.48	4.92	4.71	4.41	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

3-5-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*

يشير جدول (40) تأثير الفطر الممرض على الصفات المظهرية للفطر الغذائي الأبيض حيث أدى إضافة لقاح الفطر الممرض في التأثيرعلى قطر قبعة الجسم الثمري وطول وعند إضافة المعاملات المختلفة من المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي سجل فروق معنوية واضحة حيث سجل أعلى معدل لقطر القبعة في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 47.6 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 26.7 ملم وسجل في المعاملة الثالثة عند استخدام مستخلص القرنفل أدنى معدل في الاسبوع الرابع 25.8 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.00 ، في حين سجل أعلى معدل لطول الساق في الاسبوع الثاني للمعاملة السادسة بمقدار 42.1 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 22.1 ملم وأدنى معدل في المعاملة الثالثة الاسبوع الرابع بمقدار 20.2 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 00.0 ملم .

جـدول 40: تقيـيم كفـاءة المبيـد الاحيـائي والمستخلصـات النباتيـة فـي تثبـيط تـاثيرات الفطـر *P.citrinum-B1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم).

ت	المعاملات	الاسبوع الأول		الاسبوع الثاني		الاسبوع الثالث		الاسبوع الرابع		معدل قطر القبعة
		قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	40.1	53.3	45.4	41.9	40.2	38.4	33.5	43.6
2	إضافة الممرض *P.citrinum-B1*	33.1	28.6	26.7	22.1	21.5	22.5	0.00	0.00	20.32
3	الممرض + Cl	38.6	35.9	35.1	30.1	29.9	25.3	25.8	20.2	32.35
4	الممرض +Co	39.1	38.1	36.4	34.6	33.1	29.7	30.5	25.1	34.77
5	الممرض +VE	40.1	39.2	38.5	31.1	35.7	32.5	31.4	26.9	36.42
6	الممرض + Co+Cl+VE	40.7	39.9	47.6	42.1	38.4	35.2	35.7	32.1	40.6
	L.S.D 0.05	6.24	5.55	4.92	4.92	4.65	4.70	3.33	5.34	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-5-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*

تشير نتائج جدول (41) تأثيرالمعاملات المختلفة على كمية الحاصل وسجلت فروق معنوية بين المعاملات مقارنة بتأثير الفطر الممرض الذي عمل على خفض الانتاج وعند إضافة المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي في مكافحة الفطر الممرض احدث زيادة حيث لاحظت تباين في كمية الحاصل نتيجة تثبيط الفطر الممرض إذ سجل أعلى كمية للحاصل في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 5.213 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 1.195 كغم / م^2 وبلغت كمية الحاصل الكلي 16.398 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 3.343 كغم / م^2 وأدنى كمية للحاصل سجلت في المعاملة الثالثة الاسبوع الرابع 0.884 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 00.0 كغم/م^2 والتي سجلت كمية حاصل كلية 9.194 كغم /م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 3.343 كغم/م^2 اما بقية المعاملات كانت كمية الحاصل تتراوح بين 11.056-11.283 كغم/م^2 .

جدول 41: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2) .

ت	المعاملات	كمية الحاصل				كمية الحاصل الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	6.120	8.322	5.684	3.250	23.376
2	الفطر الممرض فقط *P.citrinum-B1*	1.536	1.195	0.612	0	3.343
3	الممرض + Cl	3.660	2.898	1.752	0.884	9.194
4	الممرض + Co	4.393	3.213	2.257	1.420	11.283
5	الممرض + VE	4.512	3.429	2.065	1.600	11.606
6	الممرض+Co+Cl+VE	5.586	5.213	3.357	2.242	16.398
	L.S.D 0.05	4.41	4.70	2.05	2.61	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-5-5: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*

تبين نتائج جدول (42) وجود فروق معنوية بين المعاملات حيث ان إضافة لقاح الفطر الممرض أدى إلى التأثير على المحتوى الغذائي في الفطر الغذائي اذ عمل على تقليل كمية النتروجين في الفطر الغذائي وكذلك كمية البروتين إذ سجلت نسبة النتروجين في معاملة الفطر الممرض 6.8 ملغ /غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1% وبلغت نسبة البروتين 92.78 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % وقد اتفق بذلك مع دراسات تشير إلى ان التعرض للفطر تعمل على خفض كمية البروتين داخل الأجسام الثمرية ،في حين سجل أدنى نسبة للنتروجين في المعاملة الخامسة 10.6 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1% ونسبة البروتين في نفس المعاملة 46.42 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % ، وأعلى نسبة للنتروجين سجلت في المعاملة السادسة 12.3 % ونسبة البروتين 53.87 % اما بقية المعاملات كانت نسبة النتروجين تتراوح بين 10.9-12.3% ونسبة البروتين تتراوح بين 49.49-50.80% ، اما عنصر الصوديوم سجلت معاملة الممرض + مستخلص نبات الكونوكاربس أعلى كمية 372.1 ملغ/غم بينما أدنى كمية للعنصر سجلت في معاملة الممرض + خليط المبيد الاحيائي +المستخلصات النباتية 150.3 ملغ/غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 153.8 ملغ/غم اما عنصر البوتاسيوم أظهرت النتائج أعلى كمية في معاملة الممرض + مستخلص الكونوكاربس 482.2 ملغ/غم وأدنى كمية للعنصر سجلت

في معاملة الممرض + خليط المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية 146.6 ملغ/غم مقارنة بمعاملة الممرض 120.7 ملغ /غم ، اما عنصر الفسفور فسجلت معاملة الممرض + المبيد الاحيائي (VEROX) أعلى كمية 0.022 ملغ/غم وأدنى كمية سجلت في معاملة الممرض + مستخلص القرنفل 0.018 ملغ / غم مقارنة بمعاملة الممرض 0.019 ملغ / غم.

جدول 42: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *P.citrinum-B1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus* .

ت	المعاملات	كمية النتروجين %	كمية البروتين %	كمية الصوديوم ملغ/غم	كمية البوتاسيوم ملغ/غم	كمية الفسفور ملغ/غم
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	7.1	31.098	164.5	160.1	0.028
2	إضافة الفطر الممرض فقط *P.citrinum-B1*	4.1	17.958	153.8	120.7	0.018
3	الممرض + Cl	6.6	28.908	150.2	147.2	0.019
4	الممرض + Co	6.3	27.594	372.1	482.2	0.020
5	الممرض + VE	5.6	24.528	178.5	215.4	0.022
6	الممرض + Co+Cl+VE	6.9	29.784	150.3	146.6	0.019
	L.S.D 0.05	2.74	2.17	5.38	3.97	0.0022

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-6: كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الفطر الممرض *M.circinelloides-E1* على الصفات النوعية والمظهرية للفطر الغذائي الأبيض *A. bisporus*

4-6-6-1: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides-E1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus*

سجلت نتائج جدول (43) فروق معنوية في تأثير المعاملات على عدد الأجسام الثمرية ،عند إضافة لقاح الفطر الممرض ***M.circinelloides-E1*** عمل على تقليل عدد الأجسام الثمرية حيث سجل اقل عدد للاجسام الثمرية نتيجة منافسته الفطر الغذائي واستنزاف المواد الغذائية الموجودة في الوسط الزرعي واتفق بذلك مع دراسات تشير إلى وجود منافسات للفطر الغذائي في الوسط الزرعي والتي تأثر على نمو الفطر وتسبب خفض الانتاج ، اما في حالة إضافة المستخلصات النباتية والمبيدات الاحيائية أدى إلى تقليل تاثير الفطر الممرض وزيادة في اعداد الأجسام الثمرية حيث سجل أعلى عدداً

للاجسام الثمرية في المعاملة السادسة 405 جسم ثمريا / م ^{2} مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 180 جسما ثمريا / م^2 ، وسجل أدنى عددا للأجسام الثمرية في المعاملة الخامسة بواقع 255 جسما ثمريا / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 180 جسم ثمري / م^2 وبذلك تكون معاملة التوليفة أفضل معاملة من حيث التأثير على الفطر الممرض ويمكن تفسير زيادة اعداد الأجسام الثمرية هو نتيجة تأثير المواد الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية وكذلك تأثير البكتيريا الاحيائية الموجودة في المبيد على الفطر الممرض

جدول 43: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides-E1* في عدد الأجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* (جسم ثمري/ م^2).

ت	المعاملات	عدد الأجسام الثمرية				عدد الأجسام الثمرية الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	150	190	140	100	580
2	الفطر الممرض فقط *M.circinelloides-E1*	70	55	40	15	180
3	الممرض + Cl	90	90	60	50	290
4	الممرض + Co	95	100	55	45	295
5	الممرض + VE	90	85	50	30	255
6	الممرض+Co+Cl+VE	100	120	95	90	405
	L.S.D 0.05	5.94	6.41	5.94	6.89	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-6-2: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides-E1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus*

أظهرت نتائج جدول (44) تأثير الفطر الممرض على وزن الأجسام الثمرية بعد إضافة اللقاح كما سجلت فروق معنوية بين المعاملات المختلفة ، ان إضافة اللقاح الفطري للفطر الممرض كان ذا تأثير واضح على وزن الأجسام الثمرية ، وبعد استخدام المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي ازداد معدل وزن الأجسام الثمرية ؛ إذ سجل أعلى وزن للجسم الثمري في المعاملة السادسة معاملة التوليفة الاسبوع الثاني إذا بلغ 41.5 غم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.8 غم/ جسم ثمري وبلغ المعدل الكلي 37.92 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.32 غم/ جسم ثمري ، و في معاملة المبيد الاحيائي الاسبوع الرابع سجلت أدنى معدل

لوزن الأجسام الثمرية إذا بلغ 22.7 غم / جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 18.7 غم / جسم ثمري كما سجل أدنى معدل نهائي 32.47 غم/ جسم ثمري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 24.23 غم/ جسم ثمري ، اما بقية المعاملات فكان المعدل الكلي لوزن الجسم الثمري يترأوح بين 32.17-30.95 غم/ جسم ثمري وبذلك تعد معاملة التوليفة من أفضل المعاملات ويفسر التباين في معدل وزن الأجسام الثمرية إلى الزيادة والنقصان في كمية الحاصل ففي حالة الزيادة يكون بتأثير المادة الفعالة للمستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي على الفطر الممرض والتنافس على الوسط الغذائي كبير ويؤدي الانخفاض إلى تقليل التنافس ممايعمل على الزيادة والنقصان في معدل وزن الجسم الثمري .

جدول(44) تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطر *M.circinelloides-E1* في معدل وزن الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* (غم/ جسم ثمري).

ت	المعاملات	معدل وزن الجسم الثمري				معدل وزن الجسم الثمري الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	40.8	43.8	40.6	32.5	39.42
2	إضافة الفطر الممرض فقط *M.circinelloides-E1*	31.5	24.8	22.3	18.7	24.32
3	الممرض + Cl	37.5	37.1	29.6	25.7	32.47
4	الممرض + Co	38.2	39.2	27.9	23.4	32.17
5	الممرض +VE	38.1	37.6	25.4	22.7	30.95
6	الممرض + Co+Cl+VE	39.6	41.5	38.5	32.1	37.92
	L.S.D 0.05	5.76	6.45	5.94	4.92	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-6-3: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides s-D1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus*

يوضح جدول (45) تأثر الصفات المظهرية للفطر الغذائي بالفطر الممرض على حيث أدى إضافة لقاح الفطر الممرض في التأثيرعلى قطر قبعة الجسم الثمري وطول الساق وعند إضافة المعاملات المختلفة من المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي سجل فروق معنوية واضحة حيث سجل أعلى معدل لقطر القبعة في المعاملة السادسة الاسبوع الثاني 47.9 ملم مقارنة بمعاملة 25.4

ملم وسجل في المعاملة الخامسة عند استخدام المبيد الاحيائي أدنى معدل في الاسبوع الرابع 21.5 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 17.6 ملم ، في حين سجل أعلى معدل لطول الساق في الاسبوع الثاني للمعاملة السادسة بمقدار 44.1 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 20.9 ملم وأدنى معدل في المعاملة الخامسة الاسبوع الرابع بمقدار 19.1 ملم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 15.5 ملم

جدول(45) تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* في قطر القبعة وطول الساق للفطر *A. bisporus* (ملم)

ت	المعاملات	الاسبوع الأول		الاسبوع الثاني		الاسبوع الثالث		الاسبوع الرابع		معدل قطر القبعة
		قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	قطر القبعة	طول الساق	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	40.8	40.1	53.3	45.4	41.9	40.2	38.4	33.5	43.6
2	الممرض *M.circinelloide*	31.6	33.2	25.4	20.9	22.8	18.7	17.6	15.5	24.35
3	الممرض + Cl	35.8	35.6	35.7	32.4	31.4	25.6	27.3	22.8	32.5
4	الممرض + Co	37.4	35.4	39.5	37.6	30.6	25.1	25.9	20.5	33.3
5	الممرض + VE	36.1	33.5	35.2	31.2	30.1	23.8	21.5	19.1	30.7
6	الممرض + Co+Cl+VE	39.9	38.4	47.9	44.1	39.5	35.3	37.2	30.9	41.1
	L.S.D 0.05	4.92	5.19	5.71	5.08	5.38	5.76	6.57	5.53	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-6-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus*

تبين نتائج جدول (46) تأثير المعاملات المختلفة على كمية الحاصل في الاسبوع الأول لم تسجل فروق معنوية بين المعاملات اما الاسبوع الثاني سجلت فروق معنوية بين المعاملات مقارنة بتأثير الفطر الممرض الذي عمل على خفض الانتاج وعند إضافة المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي في مكافحة الفطر الممرض احدث زيادة حيث لاحظت تباين في كمية الحاصل نتيجة تثبيط الفطر الممرض إذ سجل أعلى كمية للحاصل الاسبوع الثاني في المعاملة السادسة 4.980 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 1.364 كغم / م^2 وبلغت أعلى كمية للحاصل الكلي 17.07 كغم / م^2 مقارنة بمعاملة المقارنة 4.741 كغم / م^2 ، وأدنى كمية للحاصل سجلت في المعاملة الخامسة

الاسبوع الرابع 0.681 كغم/م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 0.280 كغم/م^2 والتي سجلت كمية حاصل كلية 8.574 كغم /م^2 مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 7.741 كغم / م^2 ، اما بقية المعاملات كانت كمية الحاصل الكلية تتراوح بين 10.136-9.775 كغم /م^2

جدول(46) تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* على كمية الحاصل للفطر *A. bisporus* (كغم/م^2).

ت	المعاملات	كمية الحاصل				كمية الحاصل الكلي
		الاسبوع الأول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع الرابع	
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	6.120	8.322	5.684	3.250	23.376
2	إضافة الفطر الممرض فقط *M.circinelloides-E1*	2.205	1.364	0.892	0.280	4.741
3	الممرض + Cl	3.375	3.339	1.776	1.285	9.775
4	الممرض + Co	3.629	3.920	1.534	1.053	10.136
5	الممرض + VE	3.429	3.196	1.270	0.681	8.576
6	الممرض+Co+Cl+VE	5.544	4.980	3.657	2.889	17.07
	L.S.D 0.05	3.63	4.98	2.62	2.62	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

4-6-6-5: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus*

توضح نتائج جدول (47) وجود بعض الفروق المعنوية بين المعاملات حيث ان معاملة الفطر الغذائي بالفطر الممرض الممرض إلى التأثير على المحتوى الغذائي في الفطر الغذائي . إذ عمل على تقليل كمية النتروجين في الفطر الغذائي وكذلك كمية البروتين ؛ إذ سجلت نسبة النتروجين في معاملة الفطر الممرض 9.07% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1% وبلغت نسبة البروتين 39.7 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % ، في حين سجل أدنى نسبة للنتروجين في المعاملة الرابعة عند إضافة مستخلص الكونوكاربس 9.4 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 14.1% ونسبة البروتين في نفس المعاملة 41.17 % مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 61.75 % ، وأعلى نسبة للنتروجين سجلت في المعاملة الثالثة 12.3 % ونسبة البروتين 56.06 % اما بقية المعاملات كانت نسبة النتروجين تتراوح بين 9.8-11.3%ونسبة البروتين تتراوح بين

42.92-49.49 % ، امـا عنصـر الصـوديوم سـجلت معاملـة الممـرض أعلـى كميـة 377.6 ملـغ/غم بينمـا أدنـى كميـة للعنصـر سـجلت فـي معاملـة الممـرض +خلـيط المبيـد الاحيـائي +المستخلصـات النباتيـة 139.6 ملـغ/غم ، عنصـر البوتاسـيوم أظهـرت النتـائج أعلـى كميـة فـي معاملـة الممـرض فقـط 492.2 ملـغ/غم وأدنـى كميـة للعنصـر سـجلت فـي معاملـة الممـرض + المبيـد الاحيـائي(VEROX) 131.4 ملـغ/غم مقارنـة ، امـا عنصـر الفسـفور فسـجلت معاملـة الممـرض + مسـتخلص القرنفـل أعلـى كميـة 0.050 ملـغ/غم وأدنـى كميـة سـجلت فـي معاملـة الممـرض + المبيـد الاحيـائي(VEROX) 0.017 ملـغ / غـم مقارنـة بمعاملـة الممـرض 0.0.18 ملغ / غم.

جدول 47: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثيرات الفطر *M.circinelloides-E1* على المحتوى الغذائي للفطر الغذائي *A. bisporus* .

ت	المعاملات	كمية النتروجين %	كمية البروتين %	كمية الصوديوم ملغ/غم	كمية البوتاسيوم ملغ/غم	كمية الفسفور ملغ/غم
1	المقارنة (بدون اي إضافة)	7.1	31.098	164.5	160.1	0.028
2	إضافة الفطر الممرض فقط *M.circinelloides-E1*	5.07	22.206	377.6	492.2	0.018
3	الممرض + Cl	7.8	34.164	137.6	148.5	0.050
4	الممرض + Co	5.4	23.652	167.4	149.7	0.021
5	الممرض + VE	5.8	25.404	159.1	131.4	0.017
6	الممرض + Co+Cl+VE	6.3	27.594	139.6	145.3	0.029
	L.S.D 0.05	4.73	2.17	6.17	3.77	0.0018

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

7-4: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي VEROX و مستخلصي القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تاثير الفطريات الممرضة في النسبة المئوية للكفاءة الاحيائية للفطر لانتاج الفطر *A. bisporus*

تشير نتائج جدول (50) إلى وجود فروق معنوية في النسبة المئوية للكفاءة الاحيائية بين كل من معاملات الفطريات الممرضة ومعاملات المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي إذ يتضح ان لمعاملة الممرض + خليط المبيد الاحيائي +المستخلصات تاثير معنوي في زيادة نسبة الكفاءة الاحيائية ؛ حيث سجلت معدل 25.39% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 12.01% وأدنى معدل للكفاءة الاحيائية سجل في معاملة الممرض + مستخلص القرنفل 21.46% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 12.01% اما معاملتي الممرض + مستخلص الكونوكاربس و الممرض +المبيد الاحيائي كان معدل الكفاءة الاحيائية 22.16% - 22.79% على التوالي ، في حين سجلت

المعاملة السادسة أعلى نسبة كفاءة حيوية على الفطر الممرض *A. terreus-K1* 37.9% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 15.04% وأدنى نسبة مئوية سجلتها على الفطر الممرض *T.harzianum-E1* 23.08% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض 8.2% .

جدول 48: تقييم كفاءة المبيد الاحيائي والمستخلصات النباتية في تثبيط تاثير الفطريات الممرضة في النسبة المئوية للكفاءة الاحيائية لانتاج الفطر *A. bisporus*

ت	المعاملات	النسبة المئوية الكفاءة الحيوية						
		A. flavus-B1	*A. ochraceus-D1*	*A. terreus-K1*	*P. citrinum-B1*	*T.harzianum-E1*	*M. circinelloides-E1*	المعدل النهائي
1	المقارنة Control (بدون اي إضافة)	40.8	40.8	40.8	40.8	40.8	40.8	40.80
2	الفطرالممرض فقط	12.6	11.3	15.04	10.2	8.2	14.7	12.01
3	الممرض + Cl	19.9	18.08	23	24.4	20.9	22.5	21.46
4	الممرض+ CO	22.56	19.8	22.7	29.2	14.6	24.1	22.16
5	الممرض + VE	21.4	21.5	23.04	30.08	17.9	22.8	22.79
6	الممرض + Co+Cl+VE	35.1	35.1	37.9	37.2	36.08	26.4	25.39
المعدل النهائي لمعاملات		25.39	24.43	27.08	28.65	23.08	25.22	
L.S.D 0.05		5.94	5.62	6.92	5.71	5.34	5.24	

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

**** Cl مستخلص القرنفل ، Co مستخلص الكونوكاربس ، VE المبيد الاحيائي Verox**

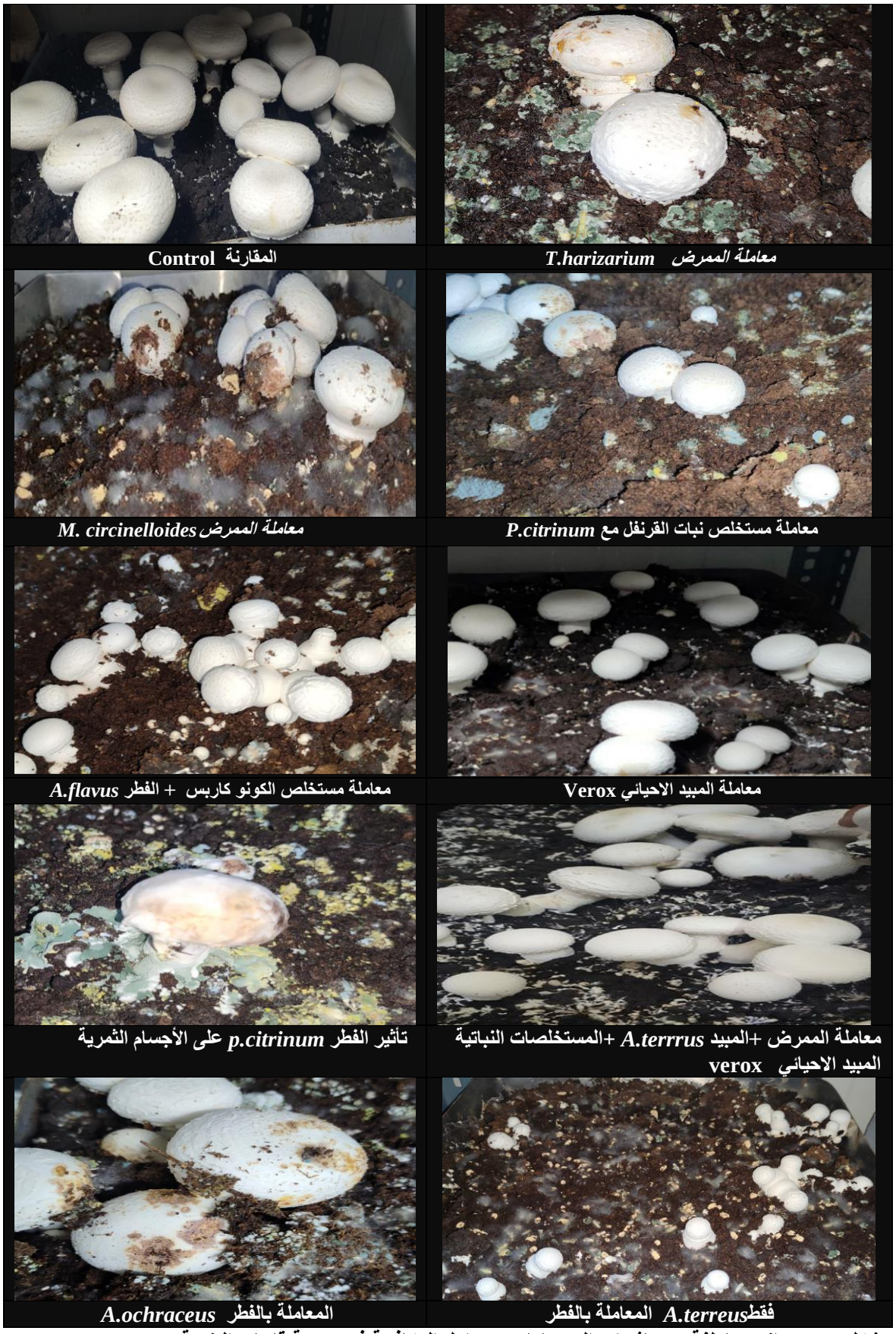
ويمكن تفسير زيادة اعداد الأجسام الثمرية عند إضافة المستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي قد يكون نتيجة تأثير المواد الفعالة التي تنتجها النباتات كنواتج ايض ثانوية مثل المركبات الفينولية والتربينات الموجودة في المستخلصات النباتية والتي لها دور في تثبيط الفطريات الممرضة وتحفيزالفطر الغذائي الأبيض (Shafeeq واخرون 2021) وكذلك تأثير البكتيريا *Rhizobacteria* الموجودة في المبيد التجاري verox على نشاط الفطر الممرض وتثبيط نموه وبذلك تتفق مع جوانب من هذه الدراسة .

اما التباين في معدل وزن الأجسام الثمرية إلى الزيادة والنقصان في أوزان الأجسام الثمرية تتناسب طرديا مع عددها ، ففي حالة الزيادة يكون بتأثير المادة الفعالة للمستخلصات النباتية والمبيد الاحيائي على الفطر الممرض والتنافس على الوسط الغذائي كبير ويؤدي الانخفاض إلى تقليل التنافس ممايعمل على الزيادة والنقصان في معدل وزن الجسم الثمري واتفق بذلك مع (Hassan واخرون 2022) .

واتفق بذلك مع دراسات سابقة حول تأثير الفطر الممرض *T.harzianum* على الأجسام الثمرية للفطر *A.bisporus* إذ يؤدي إلى حدوث تعفنات وتشوهات على الأجسام الثمرية وبالتالي تؤدي إلى خفض في المعدلات الطبيعة للصفات المظهرية والانتاجية والكفاءة الاحيائية نتيجة لاستغلال المواد الغذائية في الوسط الزرعي الكمبوست واعاقة نمو الخيوط الفطرية للفطر الغذائي الابيض بالاضافة إلى افراز العديد من الانزيمات المحلله التي تعمل على تحلل الاجسام الثمرية وظهور اعراض التعفن (Aydoğdu واخرون 2020 و Hassan واخرون 2022).

وقد يعزى السبب في زيادة في كمية الانتاج بالمعاملات المضاف لها مستخلصي القرنفل والكونوكاربس والمبيد الاحيائي إلى محتوى المستخلصات النباتية من المغذيات التي عملت على تحفيز نمو الفطر الغذائي الأبيض بالإضافة المواد الفعالة التي تؤثر على الفطر الممرض وتثبط نموه (Narendra واخرون 2014و Hassan و Ibrahim،2022) ، كما ان المبيد الاحيائي verox المتمثل بالبكتريا *Rhizobacteria* والاحماض الامينية يمكن ان تعزز النمو وتطوره من خلال افراز مواد كيميائية أو عن طريق المساعدة في الحصول المواد الغذائية والعناصر المعدنية التي يحتاجها الفطر الغذائي للنمو أو من خلال التأثيرات المثبطة للعديد من المسببات المرضية (Ahemad وKibret ،2014 و شيحان ، 2022) .

وقد يكون السبب في زيادة العناصر الغذائية قابلية البكتريا على تزويد الفطر الغذائي بالعناصر التي يحتاجها وبالتالي تعمل على زيادة تركيزها داخل الأجسام الثمرية واتفقت بذلك مع دراسات تشير إلى ان البكتريا الجذرية *Rhizobacteria* تعمل على زيادة توافر العناصر الغذائية كالنتروجين والفسفور في التربة (Oleńska واخرون 2020 و Khatoon واخرون 2020) .



شكل 14: جوانب مختلفة من تاثيرات الممرضات وعوامل المكافحة في تجربة قاعات التنمية

5- الاستنتاجات والتوصيات

5-1: الاستنتاجات

1. وجود انواع متباينة من الفطريات المرافقة لحالات الاصابة في تربية الفطر الغذائي *A. bisporus* والتي جمعت من محطات مختلفة لتربية الفطريات اللحمية الصالحة للأكل من خمسة محافظات وهي (بغداد والديوانية و اربيل و كركوك والمثنى) تعود إلى الأجناس الفطرية التالية (*Aspergillus* spp. و *Fusarium* spp. و *Mucor* spp. و *Penicillium* spp. و *Verticillium* spp. و *Rhizopus* spp. و *Alternaria* spp. و *Trichoderma* spp.).
2. وجود بعض الفروق المعنوية بين مقدرة العزلات الفطرية المختبرة من حيث تأثيرها على النسبة المئوية لنمو الفطر *A. bisporus* مختبريا على وسط CAM وكان اكثرها تأثيراً الفطر *T.harzianum* اذ بلغت نسبة التثبيط 75%.
3. جميع المستخلصات النباتية المختبرة عملت على تثبيط نمو العزلات الفطرية الممرضة والفطر الزراعي بنسبة مختلفة . حيث تميز مستخلصي القرنفل والكونوكاربس باعلى نسبة للتثبيط . اذ سجل مستخلص القرنفل نسبة تثبيط وصلت الى 71.5% , ومستخلص الكونوكارس وصل الى 68.4%
4. كفاءة المبيدات الزراعية في تثبيط نمو العزلات الفطرية الاكثر ضراوة . اذ سجل المبيد الاحيائي Verox اعلى معدل تثبيط للعزلات الفطرية الممرضة بنسبة 78.7 % . بينت توليفة المبيد Verox مع مستخلصي القرنفل والكونوكاربس اعلى معدل تثبيط بنسبة 77.9 مقارنة بمعاملة المقارنة 0.00% وسجلت نسبة تثبيط نمو الفطر الغذائي الابيض 38.1% مقارنة بمعاملة المقارنة 0.00% مختبريا .
5. اثبتت معاملة التوليفة بين المبيد الاحيائي Verox مع مستخلصي القرنفل والكونوكاربس كفاءة معنوية في تثبيط تاثير الفطريات الممرضة حقليا , في عدد الاجسام الثمرية للفطر *A. bisporus* واحجامها ومعدل اوزانها وبفروق معنوية بين المعاملات الاخرى، حيث ادى اضافة المستخلصات النباتية والمبيد الى تقليل تاثير الفطريات الممرضة *A.flavus-B1* و *A.ochraceus-D1* و *A.terreus-K1* و *P.citrinum-B1* و *T.harzianum-E1* و *M.circinelloides-E1* .

2-5: التوصيات

1. استخدام التوليفة بين المبيد الاحيائي Verox ومستخلصي نبات القرنفل والكونوكاربس في تثبيط تأثير الفطريات الممرضة والمنافسة في قاعات التنمية لزيادة عدد الاجسام الثمرية للفطر *A.bisporus* واحجامها ومعدل اوزانها وتقليل تأثير الفطريات الممرضة مثل *A.flavus* و *A.ochraceus* و*A.terreus* و*P.citrinum* و *T.harzianum* و *M.circinelloides* .

2. العمل على إنتاج مستحضر حيوي تجاري من مجموعة المستخلصات النباتية , واختبار فاعليتها ضد الفطريات الممرضة وخاصة مسببات امراض الفطر الغذائي *A.bisporus* للإسهام في تقليل استخدام المبيدات الكيميائية للحد من التلوث السمي لها على صحة الانسان .

3. الكشف عن قابلية مسببات امراض الفطر الغذائي *A. bisporus* .على انتاج السموم الفطرية وخاصة الانواع التابعة للفطر *Aspergillus* spp. والفطر *Penicillium* spp. وتلوثها للاجسام الثمرية للفطر الزرعي .

4. البحث في إمكانية إيجاد طرائق فيزيائية وإحيائية أخرى للسيطرة على مسببات امراض الفطر الغذائي *A. bisporus* , تكون اكثر اماناً من الكيمياويات السامة .

5. الاعتماد على الطرق الجزيئية في تشخيص الفطريات , لعدم تمكن الطرق التقليدية (التشخيص المظهري) من تشخيص والتمييز بين الأنواع المتقاربة وراثيا .

6: المصادر

6-1: المصادر العربية

ابراهيم ، محمد عدنان .(2016). استخدام كمبوست الفطر الزراعي في الزراعة العضوية لانتاج البطاطا . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة تشرين اللاذقية . سوريا.

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

الجلبي ، عبد العزيز عثمان والعيداني ; طه ياسين ، الشويلي ، محمد شينور رسن .(2011) . تأثير العقل والاوكسين I B A في تجذير نبات الدماس *Conocarpus lancifolius* . مجلة البصرة للعلوم الزراعية .المجلد (24) ، العدد (1) .

الحبيب ، مثنى نوري محي .(1995) . دراسات بيئية وفسلجية على الفطر الغذائي الابيض *Agaricus bisporus* (Lange) رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد . العراق .

حسن ، عبدالله عبد الكريم ، نذير ، عادل محسن ، محمود ، عبير رؤوف وعلي ، علي عبيد. (2002). دراسة امكانية استخدام مخلفات السوس في انتاج بعض الفطريات الغذائية . المؤتمر الفطري الثاني لعلوم الحياة – بغداد الجامعة المستنصرية 25-26 كانون الاول ص 37 .

حسن ، عبدالله عبدالكريم. (2013). تسجيل لاول مرة امراض وافات الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* في العراق . الاصابات الفطرية . *مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية* ، 13(4).

الدجوي ، علي . (1996) . موسوعة النباتات الطبية والعطرية . مكتبة مدبولي _ القاهرة.

دخيل ، فيد عباس . (2021) . التكامل بين العوامل الاحيائية والمبيدات الكيميائية في السيطرة على مسببات امراض جذور نباتات الزينة في مشاتل محافظتي كربلاء وبابل . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة كربلاء .العراق.

الراوي ، خاشع محمود و عبد العزيز خلف الله .(1980) . تصميم و تحليل التجارب الزراعية . دار الكتاب للطباعة والنشر. العراق.

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

الزبيدي ، شيماء محمد جبر.(2012) . تاثير مصدر التدعيم ونوع طبقة التغطية في الانتاج والقابلية الخزنية لفطر الازرار البيضاء *Agaricus bisporus* .رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد . العراق.

الزيدي، حامد وعبد الكريم،الهام سعيد وابراهيم، ضمياء محمود (1987).علم الأحياء 108 المجهرية العملي. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. الموصل، العراق. 304 صفحة.

سعد ، شكري ابراهيم .(1977). نباتات العقاقير مكوناتها وفوائدها - دار الفكر - جامعة الموصل - العراق .

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

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

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

الشويلي ، محمد شينور رسن .(2009) . تأثير العقل والاوكسين I B A والتجريح في تجذير عقل الدماس (*Conocarpus lancifolius* (Engl . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة البصرة . ص : 85.

شيحان ، صفا جميل .(2022) . فاعلية المكافحة المتكاملة في السيطرة على بعض مسببات مرض تعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة كربلاء . العراق .

العاني ، فائز (1998). الاحياء الدقيقة في الاغذية والتقنيات الحديثة في الكشف عنها. قسم علوم الحياة - كلية العلوم - جامعة اهل البيت - الطبعة الاولى .

عبد الوهاب ، قاسم حمدي . (1976) . انتاج الفطر في العراق . الجمهورية العراقية . وزارة الزراعة والأصلاح الزراعي . مديرية البستنة العامة . قسم الخضر. شعبة بحوث الخضر.ع. ص 1.

العروسي ، حسين وسالم، محمود احمد .(2000) . المشروم انواعه زراعته اقتصادياته . مكتبة المعارف الحديثة .الاسكندرية . مصر.

القريشي ، منار كريم فاضل .(2011) . تقييم فاعلية بعض المستخلصات النباتية في نمو بعض الفطرالممرضة .رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة كربلاء . العراق.

القيسي ، مصطفى رشيد مجيد .(2006). تقويم كفاءة بعض المواد في انتاجية الفطر الزراعي الابيض *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach وقابليته الخزنية . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد . العراق .

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

الياس ، أنعام .(2008) .تأثير أوساط التغذية في أنتاج بذار الفطر الزراعي .*Agaricus bisporus*. رسالة ماجستير . قسم البساتين . كلية الهندسة الزراعية . جامعة تشرين .ع ص . 86.

محمد ، لقاء حسين .(2021). تشخيص ديدان تعقد الجذور *Meloidogyne* spp على الطماطة في بعض مناطق محافظة كربلاء وتقييم بعض عوامل المكافحة الاحيائية وغير الاحيائية. رسالة ماجستير . وقاية النبات . كلية الزراعة . جامعة كربلاء.

6-2 : المصادر الاجنبية (References)

Ab Rhaman, S. M. S.; Naher, L.; and Siddiquee, S. (2021). Mushroom quality related with various substrates' bioaccumulation and translocation of heavy metals. Journal of Fungi, 8(1), 42.

Abou Fayssal, S.; Hammoud, M.; El Sebaaly, Z.; and Sassine, Y. N. (2021). Improvement of compost quality. Mushrooms *Agaricus bisporus*; Sassine, YN, Ed.; CABI: Oxfordshire, UK, 136-175.

Aboubakr, A.; Zeitoun, A.; and Abdalla, A. E. (2018). Chemical Composition and Bioactive Compounds of Wild Edible Mushroom (*Agaricus bisporus*) from Al-Jabal Alakhdar in Libya. Journal of the Advances in Agricultural Researches, 23(3), 444-465.

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

Ahemad, M., and Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. Journal of King saud University-science, 26(1), 1-20.

Ahlawat, O. P.; Manikandan, K.; and Singh, M. (2016). Proximate composition of different mushroom varieties and effect of UV light exposure on vitamin D content in *Agaricus bisporus* and *Volvariella volivacea*. Mushroom Res, 25(1), 1-8.

Ainsworth, G.C. (1976). Introduction to the History of Mycology (Cambridge: Cambridge University Press.

Al, A. A. F.; Al, A. M. A.; Nadir, H. A.; and Ibrahim, K. J. (2020). Nutritional Value of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Which is Most Widely Consumed in Kurdistan Region-Iraq.

Alananbeh, K. M., Bouqellah, N. A., and Al Kaff, N. S. (2014). Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. Saudi journal of biological sciences, 21(6), 616-625.

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., and Blackwell, M. (1996). Introductory mycology (No. Ed. 4). John Wiley and Sons.

Allaga, H., Zhumakayev, A., Büchner, R., Kocsubé, S., Szűcs, A., Vágvölgyi, C., and Hatvani, L. (2021). Members of the *Trichoderma harzianum* species complex with mushroom pathogenic potential. *Agronomy*, 11(12), 2434.

Al-Mamari, S. N. H., Al-Sadi, A. M., Babu, S. P. S., Al-Mahmooli, I. H., and Velazhahan, R. (2020). In vitro antagonistic potential, plant growth-promoting activity and indole-3-acetic acid producing trait of bacterial isolates from spent mushroom substrate of *Agaricus bisporus*. *Journal of Agricultural and Marine Sciences*, 25(2), 22-29.

Al-Sahaf, F. H. (1989). Applied plant nutrition. University of Baghdad-Ministry of Higher Education and Scientific Research, 260.

Amaike, S., and Keller, N. P. (2011). *Aspergillus flavus*. Annual review of phytopathology, 49(1), 107-133.

Amin, S.M.; N. C. Sarker, M. Munmun and F. Rahman .(2007). Comparative study of different casing materials on growth and yield of button mushroom. Bangladesh Mushroom .1(1) : 9-13.

Amin, Z., Wani, F. F., Gulzar, H., Dar, W. A., and Sheikh, P. A. (2021). Diseases of White Button mushroom (*Agaricus bisporus*)-A potential threat to mushroom industry. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 10(02), 2076-2085.

Atila, F. (2016). Effect of different substrate disinfection methods on the production of Pleurotus ostreatus. Journal of Agricultural Studies, 4(4), 2016.

Atlas, R.M. and Parks, L. C. (1997). Handbook of microbiological media, 2nd ed. Boca Raton. CRC press

Aydoğdu, M., Kurbetli, İ., Kitapçı, A., and Sülü, G. (2020). Aggressiveness of green mould on cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) in Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection, 127(5), 695-708.

Aydoğdu, M.; Sülü, S. M.; Kurbetli, İ.; and Sülü, G. (2021). In vitro and in vivo biological control of the green mold using different bacteria in button mushroom cultivation. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 31(1), 1-11.

Baars, J. J.; Scholtmeijer, K.; Sonnenberg, A. S.; and van Peer, A. (2020). Critical factors involved in primordia building in *Agaricus bisporus*: a review. Molecules, 25(13), 2984.

Badalyan, S. M.; Barkhudaryan, A.; and Rapior, S. (2019). Recent progress in research on the pharmacological potential of mushrooms and prospects for their clinical application. Medicinal mushrooms, 1-70.

Bahl, N.(1984). Handbook On Mushrooms. Oxford and IBH Publishing Co.New Delhi, India. P. 123.

Barley, A. J.; and Thomson, R. C. (2016). Assessing the performance of DNA barcoding using posterior predictive simulations. Mol. Ecol. 25, 1944-1957.

Bennet, J.W. (2010). An Overview of the Genus *Aspergillus*. In: *Aspergillus* Molecular Biology and Genomics, Masayuki Machida and Katsuya Gomi, ed. (Portland, USA, caister company) pp 1-17.

Berendsen, R. L.; Kalkhove, S. I.; Lugones, L. G.; Baars, J. J.; Wösten, H. A.; and Bakker, P. A. (2012). Effects of fluorescent *Pseudomonas* spp. isolated from mushroom cultures on *Lecanicillium fungicola*. Biological Control, 63(2), 210-221.

Bernaś, E.; and Jaworska, G. (2016). Vitamins profile as an indicator of the quality of frozen *Agaricus bisporus* mushrooms. Journal of Food Composition and Analysis, 49, 1-8.

Bernaś, E.; Jaworska, G.; and Lisiewska, Z. (2006). Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 5(1), 5-20.

Beyer, D. M. (2003). Basic procedures for *Agaricus* mushroom growing. Pennsylvania State University, College of Agricultural Sciences, Cooperative Extension.

Beyer, D. M., and Muthersbaugh, H. (1996). Nutrient supplements that influence later break yield of *Agaricus bisporus*. Canadian journal of plant science, 76(4), 835-840.

Beyer, D. M.; Pecchia, J. A.; and Paley, K. (2016). Evaluation of bio-fungicides for the control of fungal diseases on *Agaricus bisporus*. In Proceedings of the 19th international society for mushroom science (ISMS) conference .pp. 86-90.

Bhattacharyya, D., Garladinne, M., and Lee, Y. H. (2015). Volatile indole produced by rhizobacterium Proteus vulgaris JBLS202 stimulates growth of Arabidopsis thaliana through auxin, cytokinin, and brassinosteroid pathways. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(1): 158-168.

Bilgrami, K. S.; and Verma, R. N. (1981). Physiology of fungi. 2, nd eds.

Biswas, S.; Datta, M.; and Ngachan, S. V. (2011). Mushrooms: A Manual for cultivation. PHI Learning Pvt. Ltd..

Blinohvatov, A. F.; Ivanov, A. E. and Statsenko, A. (2004). Method of mushroom's spawn quick growing. Potato and vegetables. J. 6:26-27.

Bollen, G. J.; and Fuchs, A. (1970). On the specificity of the in vitro and in vivo antifungal activity of benomyl. Netherlands journal of plant pathology, 76(6), 299-312.

Bonnen, A. M.; Anton, L. H.; and Orth, A. B. (1994). Lignin-degrading enzymes of the commercial button mushroom, *Agaricus bisporus*. Applied and Environmental Microbiology, 60(3), 960-965.

Booth, N. A., Simpson, A. J., Croll, A., Bennett, B., and MacGregor, I. R. (1988). Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. British journal of haematology, 70(3), 327-333

Bridge, P., and Spooner, B. (2001). Soil fungi: diversity and detection. Plant and soil, 232(1), 147-154.

Burgess, L. W.; Phan, H. T.; Knight, T. E.; and Tesoriero, L. (2008). Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam.

Calhim, S.; Halme, P.; Petersen, J.H. et al. (2018). Fungal spore diversity reflects substrate-specific deposition challenges. Sci Rep 8, 5356

Callac, P., and Chen, J. (2018). Tropical species of *Agaricus*. Updates on tropical mushrooms. Basic and applied research. San Cristobal de

Callac, P., Imbernon, M., Guinberteau, J., Pirobe, L., Granit, S., Olivier, J. M., and Theochari, I. (2000). Discovery of a wild Mediterranean population of *Agaricus bisporus*, and its usefulness for breeding work. In Science and cultivation of edible fungi. Proceedings of the 15th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Maastricht, Netherlands, 15-19 May, 2000. (pp. 245-252). AA Balkema.

Callac, P.; Billette, C.; Imbernon, M.; and Kerrigan, R. W. (1993). Morphological, genetic, and interfertility analyses reveal a novel, tetrasporic variety of *Agaricus bisporus* from the Sonoran Desert of California. Mycologia, 85(5), 835-851.

Callac, P.; Jacobé de Haut, I.; Imbernon, M.; Guinberteau, J.; Desmerger, C.; and Theochari, I. (2003). A novel homothallic variety of *Agaricus bisporus* comprises rare tetrasporic isolates from Europe. Mycologia, 95(2), 222-231.

Carrasco, J.; and Preston, G. M. (2020). Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi. Environmental microbiology, 22(3), 858-872.

Carrasco, J.; Lozano, M. J. N.; and Alegría, F. J. G. (2017). Cobweb, a serious pathology in mushroom crops: A review. Spanish journal of agricultural Research, 15(2), 19.

Carrasco, J.; Navarro, M. J.; Santos, M.; Diánez, F.; and Gea, F. J. (2016). Incidence, identification and pathogenicity of *Cladobotryum mycophilum*, causal agent of cobweb disease on *Agaricus bisporus* mushroom crops in Spain. Annals of Applied Biology, 168(2), 214-224.

Cathal , M .C.(1984) . Commercial mushroom production. Printed and Published By An Foras Taluntais, Sandymount Avernua.

Chandhrapati, A.; Singh, S.; Kumar, V.; and Andrews, A. (2021). Biological management of competitor moulds and diseases of mushrooms.

Chang, S. T. (2008). Overview of mushroom cultivation and utilization as functional foods. Mushrooms as functional foods, 260.

Chang, S. T.; and Hayes, W. A. (Eds.). (2013). The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic press.

Chang, S. T.; and Miles, P. G. (2004). Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC press.

Chechan, R. A.(2020). Optimal Conditions for Production of the Mother Culture for Cultivated Mushrooms (White Iraqi Strain) *Agaricus bisporus*.

Cheung, P. C. (Ed.). (2008). Mushrooms as functional foods. John Wiley and Sons.

Chrysayi-Tokousbalides, M.; Kastanias, M. A.; Philippoussis, A.; and Diamantopoulou, P. (2007). Selective fungitoxicity of famoxadone, tebuconazole and trifloxystrobin between *Verticillium fungicola* and *Agaricus bisporus*. Crop Protection, 26(4), 469-475.

Chu; K. H.; Li; C. P.; and Qi; J. (2006). Ribosomal RNA as molecular barcodes: a simple correlation analysis without sequence alignment. Bioinformatics, 22(14), 1690-1701.

Coles, S. P.; W. Barber, D. M. Beyer, S. J. Fleischer, C. Keil, D. L. Rinker,C. P. Romaine, S. P. Whitney, and P. Wuest . (2002). Mushroom integrated pest management handbook. Pennsylvania State University and The Cooperation of the American Mushroom

Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmino, B. P.; and Simons, A. (1996). Mackin and McCartney Practical Medical Microbiology. The Churchill Livingstone. Inc. USA.

Couture, C., Michel, A., Imbernon, M., and Callac, P. (2004). Inheritance of the haploid fruiting ability in *Agaricus bisporus*. Mushroom Sci, 16, 45-52.

Cresser, M. S., and Parsons, J. W. (1979). Sulphuric—Perchloric acid digestion of plant material for the determination of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium. Analytica Chimica Acta, 109(2), 431-436.

Dawson, W.M.(1978). Mushroom casing techniques. The Mushroom Journal.70:335-337

Demirci, E., Dane, E., and Eken, C. (2011). In vitro antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. Turkish Journal of Biology, 35(4), 457-462.

Dhamodharan, G.; and Mirunalini, S. (2010). A novel Medicinal Characterization of *Agaricus bisporus* (white button mushroom). Pharmacol Online, 2, 456-463.

Diamantopoulou, P.; Philippoussis, A.; Kastanias, M.; Flouri, F.; and Chrysayi-Tokousbalides, M. (2006). Effect of famoxadone, tebuconazole and trifloxystrobin on *Agaricus bisporus* productivity and quality. Scientia horticulturae, 109(2), 190-195.

Dias, E. S., Zied, D. C., and Pardo-Gimenez, A. (2021). Revisiting the casing layer: Casing materials and management in *Agaricus* mushroom cultivation. Ciência e Agrotecnologia, 45.

Diaz-Najera, J. F.; Serna, S. A.; Bahena, A. M.; Cruz, E.B.; Hernandez, M.V.; Gomez, O.G.;and Aragón, D.F. (2021). First Report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3+4) Causing Wilt Disease of *Phaseolus vulgaris* in Mexico. Plant Dis.105:710.

FAO.Food and Agriculture Organization .(2016).FAOSTAT Database, FAO.www.fao.org

Fatima, T., and Arora, N. K. (2019). Plant Growth-Promoting Rhizospheric Microbes for Remediation of Saline Soils. In Phyto and Rhizo Remediation (pp. 121-146). Springer, Singapore.

Feller, I. C.; Lovelock, C. E.; Berger, U.; McKee, K. L.; Joye, S. B.; and Ball, M. C. (2010). Biocomplexity in mangrove ecosystems. Annual review of marine science, 2, 395-417.

Fermor, T. R. (1981). Life and death in mushroom compost. The Mushroom Journal, 104: 277-279.

Fermor, T. R. and W. D. Grant .(1985). Degradation of fungal and actinomycete mycelia by *Agaricus bisporus*. Journal of General Microbiology 131: 1729-1734

Fermor, T. R.; Smith, J. F.; and Spencer, D. M. (1979). The microflora of experimental mushroom composts. Journal of Horticultural Science, 54(2), 137-147.

Flegg , P. B. , D. M. Spencer and D. A.Wood.(1985). The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom. John Wiley and Sons.UK :141-177.

Flegg, P. B. (1985). Crop Productivity. In The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom, John Wiley and Sons Hoboken, N.J. 179-193.

Flegg, P. B.; and P. E. Randle.(1980). A new outlook on mushroom compost preparation . The Mushroom Journal, 91: 261-363.

Flegg, P.B.; and J. Smith. (1982). Effect of spawn strain and available sub strate on the relative yield of mushroom. Scientia Horticulturae.17:217-222.

Fletcher, J. T.; and Gaze, R. H. (2007). Mushroom pest and disease control: a color handbook. Elsevier.

Flores, C.; Vidal, C.; Trejo-Hernández, M. R.; Galindo, E.; and Serrano-Carreón, L. (2009). Selection of *Trichoderma* strains capable of increasing laccase production by *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus* in dual cultures. Journal of applied microbiology, 106(1), 249-257.

Foulongne-Oriol, M.; Navarro, P.; Spataro, C.; Ferrer, N.; and Savoie, J. M. (2014). Deciphering the ability of *Agaricus bisporus* var. burnettii to produce mushrooms at high temperature (25 C). Fungal Genetics and Biology, 73, 1-11.

Fred, C. A.(1979). Composting in drums and tunnels. The Mushroom Journal, 74: 41-47.

Gao, W.; Hendrickx, P.; Baars, J. J.; Tellgerd, N. S.; Lavrijssen, B.; Visser, R. G.; and Sonnenberg, A. S.(2014). Meiotic Recombination in

the Life Cycle of *Agaricus bisporus* var. *bisporus*. Breeding for quality of button mushrooms: genetically dissecting bruising sensitivity and quality--related traits of *Agaricus bisporus*, 55.

Gea, F. J.; and Navarro, M. J. (2017). Mushroom diseases and control. Edible and medicinal mushrooms: technology and applications, 239-259.

Gea, F. J.; Navarro, M. J.; Santos, M.; Diánez, F.; and Carrasco, J. (2021). Control of fungal diseases in mushroom crops while dealing with fungicide resistance: A review. Microorganisms, 9(3), 585.

Ghimire, A., Pandey, K. R., Joshi, Y. R., and Subedi, S. (2021). Major Fungal Contaminants of Mushrooms and Their Management. International Journal of Applied Sciences and Biotechnology, 9(2), 80-93.

Grogan, H. M. (2008, September). Challenges facing mushroom disease control in the 21st century. In Proceeding of the Sixth international conference on mushroom biology and mushroom products (pp. 120-127). Bonn, Germany: WSMBMP.

Halpern, G. M. (2006). Healing Mushrooms. Squareone Publishers. USA.Pp.182.

Hassan, A. A., and Ibrahim, M. T. (2022, July). Isolation, Morphological and Molecular Identification of the Pathogenic and Competitors Fungi Associated with the Edible Mushroom *Pleurotus* sp. and Control Them. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1060, No. 1, p. 012118). IOP Publishing.

Hassan, A. A.; Abed, I. A.; and Shafeeq, A. F.(2022). Isolation and Molecular Characterization of The Pathogens *Trichoderma harzianum* and Pseudomonas tolaasii on the edible mushroom *Agaricus bisporus* and Evaluation of some desert plant extracts for control them. *Tikrit Journal of Agricultural Sciences*, 22(1), 134-148.

Hatvani, L., Kocsubé, S., Manczinger, L., Antal, Z., Szekeres, A., Druzhinina, I. S., and Kredics, L. (2008, May). The green mould disease global threat to the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*): a review. In Science and cultivation of edible and medicinal fungi:

Mushroom Science XVII, Proceeding of the 17th Congress of the International Society for Mushroom Science pp. 485-495.

Hatvani, L.; Kredics, L.; Allaga, H.; Manczinger, L.; Vágvölgyi, C.; Kuti, K.; and Geösel, A. (2017). First report of *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum* green mold on *Agaricus bisporus* in Europe. Plant Disease, 101(6), 1052.

He, M. Q., Chen, J., Zhou, J. L., Ratchadawan, C., Hyde, K. D., & Zhao, R. L. (2017). Tropic origins, a dispersal model for saprotrophic mushrooms in *Agaricus* section Minores with descriptions of sixteen new species. Scientific reports, 7(1), 1-31.

He, M. Q., Hyde, K. D., Wei, S. L., Xi, Y. L., Cheewangkoon, R., and Zhao, R. L. (2018). Three new species of *Agaricus* section Minores from China. Mycosphere, 9(2), 189-201.

Hibbett, D.S.; Binder, M.; Bischoff, J.F.; Blackwell, M.; Cannon, P.F.;Eriksson, O.E.; Huhndorf, S.; James, T.; Kirk, P.M.; Lücking, R.and Lumbsch, H.T. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. Mycological research, 111(5) : 509-547.

Hofrichter, M. (2002). lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). Enzyme and Microbial technology, 30(4), 454-466.

Hollmann, M., Razzazi-Fazeli, E., Grajewski, J., Twaruzek, M., Sulyok, M., and Böhm, J. (2008). Detection of 3-nitropropionic acid and cytotoxicity *in Mucor circinelloides*. Mycotoxin research, 24(3), 140-150.

HORISAWA, S., TAMAI, Y., and TERAZAWA, M. (2006). Mushroom Cultivation Using Compost Produced in the Garbage AutomaticDecompose-extinguisher (GADE). Eurasian Journal of Forest Research, 9(2), 61-67.

Horneck, D. A., and Hanson, D. (2019). Determination of potassium and sodium by flame emission spectrophotometry. In Handbook of reference methods for plant analysis (pp. 153-155). CRC press.

Houbraken, J. A., Frisvad, J. C., and Samson, R. A. (2010). Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. Fungal Diversity, 44(1), 117-133.

Houbraken, J., Seifert, K. A., and Samson, R. A. (2019). *Penicillium hermansii*, a new species causing smoky mould in white button mushroom production. Mycological Progress, 18(1), 229-236.

Innocenti, G.; Montanari, M.; Righini, H.; and Roberti, R. (2019). *Trichoderma* species associated with green mould disease of *Pleurotus ostreatus* and their sensitivity to prochloraz. Plant Pathology, 68(2), 392-398.

Jassim, M. S., and Hasan, A. A. (2016). Isolation of *Trichoderma* sp and Study of Their Effect on *Agaricus bisporus* Yield. Tikrit Journal for Agricultural Sciences, 16(2).

Jatav, N. K.; Rana, R. S.; Verma, J. R.; Bairwa, S. K.; and Tiwari, G. C. (2014). Evaluation of plant extract in control of dry bubble disease of white button mushroom caused by *Verticillium fungicola* f. sp. *fungicola* Preuss (Hassebr). African Journal of Microbiology Research, 8(37), 3405-3408.

Jeong, S. C.; Jeong, Y. T.; Yang, B. K.; Islam, R.; Koyyalamudi, S. R.; Pang, G.; and Song, C. H. (2010). White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. Nutrition research, 30(1), 49-56.

Jo, W. S., Rew, Y. H., Choi, S. K., and Uhm, J. Y. (2007). Occurrence and prevention of green mold on *Phellinus baumii* caused by *Penicillium citrinum*. *Journal of the Korean Mushroom Society*, 5(4), 156-156.

Kabel, M. A.; Jurak, E.; Mäkelä, M. R.; and De Vries, R. P. (2017). Occurrence and function of enzymes for lignocellulose degradation in commercial *Agaricus bisporus* cultivation. Applied Microbiology and Biotechnology, 101(11), 4363-4369.

Kakraliya, S. S.; Gupta, S.; Choudhary, S.; Diskit, S.; Paswal, S.; Pandit, D.; and Khushboo, S. S. (2022). Evaluation of some botanical extract in controlling dry bubble (*Verticillium fungicola*) disease of button mushroom (*Agaricus bisporus*) under the conditions of sub tropics of Jammu.

kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(2), 209-218 .

Kamzolkina, O. V.; Volkova, V. N.; Kozlova, M. V.; Pancheva, E. V.; Dyakov, Y. T.; and Callac, P. (2006). Karyological evidence for meiosis in the three different types of life cycles existing in *Agaricus bisporus*. Mycologia, 98(5), 763-770.

Kariaga, M. G.; Nyongesa, H. W.; Keya, N. C. O.; and Tsingalia, H. M. (2012). Compost physico-chemical factors that impact on yield in button mushrooms, *Agaricus bisporus* (Lge) and *Agaricus bitorquis* (Quel) Saccardo. Journal of Agricultural Sciences, 3(1), 49-54.

Kaur, G.; and Sharma, S. (2021).Fungal Diseases Associated with Mushroom Cultivation.

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

Kavanagh, K. (Ed.). (2017). Fungi: biology and applications. John Wiley and Sons.

Kerrigan, R. W., Imbernon, M., Callac, P., Billette, C., and Olivier, J. M. (1994). The heterothallic life cycle of *Agaricus bisporus* var. burnettii and the inheritance of its tetrasporic trait. Experimental mycology, 18(3), 193-210.

Kertesz, M. A.; and Thai, M. (2018). Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. Applied microbiology and biotechnology, 102(4), 1639-1650..

Khan, N. A., Abbas, M., Rehman, A., ul Haq, I., and Hanan, A. (2011). Impact of various sterlization methods using different substrates for yield improvement of *Pleurotus* spp. Pak. J. Phytopathol, 23(1), 20-23.

Khatoon, Z., Huang, S., Rafique, M., Fakhar, A., Kamran, M. A., and Santoyo, G. (2020). Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. Journal of environmental management, 273, 111118.

Kim, S. W., Kim, S., Lee, H. J., Park, J. W., and Ro, H. S. (2013). Isolation of fungal pathogens to an edible mushroom, *Pleurotus eryngii*, and development of specific ITS primers. Mycobiology, 41(4), 252-255.

Kirk, P. M.; Cannon, P. F.; Minter, D. W.; and Stalpers, J. A. (2008). Dictionary of the Fungi Wallingford. UK: CABI, 335.

Klich, M. A., and Pitt, J. I. (1988). Differentiation of *Aspergillus flavus* from A. parasiticus and other closely related species. Transactions of the British Mycological Society, 91(1), 99-108.

Körtner, G.; Pavey, C.R. and Geiser, F. (2008). Thermal biology, torpor, and activity in free-living mulgaras in arid zone Australia during the winter reproductive season. Physiological and Biochemical Zoology, 81(4),pp.442-451.

Kosanovic, D., Grogan, H., and Kavanagh, K. (2020). Exposure of *Agaricus bisporus* to *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* leads to growth inhibition and induction of an oxidative stress response. Fungal Biology, 124(9), 814-820..

Kozokin, U. I. and A. I. Pilipovich.(1990). The growing of mushroom's spawn. Potatoes and Vegetables. 2: 28-29.

Kulshreshtha, S., and Ukaogo, P. O. (2022). Recent Advances in Mushroom Cultivation Technology and Its Application.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular biology and evolution, 35(6), 1547.

Kumari, B., Mallick, M. A., Solanki, M. K., Solanki, A. C., Hora, A., and Guo, W. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): modern prospects for sustainable agriculture. In Plant health under biotic stress (pp. 109-127). Springer, Singapore.

Lakkireddy, K., Khonsuntia, W., and Kües, U. (2020). Mycoparasite Hypomyces odoratus infests *Agaricus xanthodermus* fruiting bodies in nature. AMB Express, 10(1), 1-22.

Lankinen, P.; Hildén, K.; Aro, N.; Salkinoja-Salonen, M.; and Hatakka, A. (2005). Manganese peroxidase of *Agaricus bisporus*: grain bran-promoted production and gene characterization. Applied microbiology and biotechnology, 66(4), 401-407.

Largeteau, M. L.; and Savoie, J. M. (2010). Microbially induced diseases of *Agaricus bisporus*: biochemical mechanisms and impact on commercial mushroom production. Applied Microbiology and Biotechnology, 86(1), 63-73.

Largeteau, M. L.; Callac, P.; Navarro-Rodriguez, A. M.; and Savoie, J. M. (2011). Diversity in the ability of *Agaricus bisporus* wild isolates to fruit at high temperature (25 C). Fungal Biology, 115(11), 1186-1195.

Lass-Flörl, C., Dietl, A. M., Kontoyiannis, D. P., and Brock, M. (2021). *Aspergillus terreus* species complex. Clinical Microbiology Reviews, 34(4), e00311-20.

Leslie, J. F., and Summerell, B. A. (2006). *Fusarium* laboratory workshops—a recent history. Mycotoxin Research, 22(2), 73-74.

Link, H. F. (1809). Observationes in ordines plantarum naturales. Dissertatio I. Mag Ges Naturf Freunde Berlin, 3, 3-42.

Liu, C.; Sheng, J.; Chen, L.; Zheng, Y.; Lee, D. Y. W.; Yang, Y.; and Shen, L. (2015). Biocontrol activity of *Bacillus subtilis* isolated from *Agaricus bisporus* mushroom compost against pathogenic fungi. Journal of agricultural and food chemistry, 63(26), 6009-6018.

Lübbehüsen, T. L., Nielsen, J., and Mcintyre, M. (2003). Characterization of the Mucor circinelloides life cycle by on-line image analysis. Journal of applied microbiology, 95(5), 1152-1160.

Lucia, R.; M. Victor , A. Mikel , G. Alberto and G. Antonio. (2001). Use of molecular marks to differentiate between commercial strains of the button mushroom *Agaricus bisporus*. Microbiology. 198: 8 - 41.

Lücking, R., Aime, M.C., Robbertse, B. et al. (2020). Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? IMA Fungus 11, 14

Luković, J.; Milijašević-Marčić, S.; Hatvani, L.; Kredics, L.; Szűcs, A.; Vágvölgyi, C.;and Potočnik, I. (2020). Sensitivity of *Trichoderma* strains from edible mushrooms to the fungicides prochloraz and metrafenone. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 56(1), 54-63.

Maheshwari, S.(2013). A Guide for White Button Mushroom(*Agaricus bisporus*) Production. Mahe'S Biotech Pvt.Ltd.; India.

Makenali, F.; Kashi, A.; Salehi Mohammadi, R.; and Khalighi, A. (2021). Effect of application of different levels of Fe and Soybean flour on yield and quality of edible Mushroom (*Agaricus bisporus*) inoculated with Pseudomonas putida. Journal of Vegetables Sciences, 5(1), 17-33.

Marik, T., Urbán, P., Tyagi, C., Szekeres, A., Leitgeb, B., Vágvölgyi, M., and Kredics, L. (2017). Diversity profile and dynamics of peptaibols produced by green mould *Trichoderma* species in interactions with their hosts *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. Chemistry and Biodiversity, 14(6), e1700033.

Mateo, EM .; Gill-serna , J.; Patino, B. and jinenez , M. (2011). Adlatoxinand ochratoxins Ain stored barley grian in spain and impact of pre –based strategies to assess the occurrence of aflatoxigenic andochratoxigenic *Aspergillus* spp.International Journalof food 26./microbiology .149(2):118.

Mehrparvar, M.; Goltapeh, E. M.; Safaie, N.; Ashkani, S.; and Hedesh, R. M. (2016). Antifungal activity of essential oils against mycelial growth of *Lecanicillium fungicola* var. *fungicola* and *Agaricus bisporus*. Industrial Crops and Products, 84, 391-398.

Milijašević-Marčić, S.; Stepanović, M.; Todorović, B.; Duduk, B.; Stepanović, J.; Rekanović, E.; and Potočnik, I. (2017). Biological control of green mould on *Agaricus bisporus* by a native *Bacillus subtilis* strain from mushroom compost. European Journal of Plant Pathology, 148(3), 509-519.

Misra, S.; Datta, A. K.; Choudhury, S. C. A.; and Ghosh, A. (1987). Hydrocarbons and wax esters from seven species of mangrove leaves. Phytochemistry, 26(12), 3265-3268.

Murmu, R., Maurya, A. K., and John, V. (2020). Mycoflora of certain casing materials used in the production of white button mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach). International Journal of Chemical Studies, 8(2), 2863-2868.

Muszynska, B.; Kala, K.; Rojowski, J.; Grzywacz, A.; and Opoka, W. (2017). Composition and biological properties of *Agaricus bisporus* fruiting bodies-a review. Polish journal of food and nutrition sciences, 67(3).

Nadir, H. A., Al-Zubaidy, A. M. A., Al-Rawi, A. A. F., and Ibrahim, K. J. (2020). Nutritional Value of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Which is Most Widely Consumed in Kurdistan Region-Iraq. Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Science, 33(2), 1-10.

Narendra, K. J., Jeeva, R. V., and Shri, K. B. (2014). Evaluation of plant extract in control of dry bubble disease of white button mushroom caused by *Verticillium fungicola* f. sp. *fungicola* Preuss (Hassebr). African Journal of Microbiology Research, 8(37), 3405-3408.

Nicholas , L.G. and K. Ogame .(2006). psilocybin Mushroom Handbook Canada. PP.209

Nobel, R. and Gaze, R. H. (1996). Preparation of Mushroom (*Agaricus bisporus*). Compost in Controlled Environments: Factors Influencing Compost Bulk Density and Productivity. International Biodeterioration and Biodegradation. P.93-100.

Nongthombam, J., Kumar, A., Ladli, B., Madhushekhar, M., and Patidar, S. (2021). A review on study of growth and cultivation of oyster mushroom. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology, 55-65.

Novaes, M. R. C. G.; Valadares, F.; Reis, M. C.; Gonçalves, D. R.; and Menezes, M. D. C. (2011). The effects of dietary supplementation with Agaricales mushrooms and other medicinal fungi on breast cancer: evidence-based medicine. Clinics, 66, 2133-2139.

Oei , P. (2003). Mushroom cultivation, appropriate technology for mushroom growers. Netherlands . 10-84.

Oleńska, E., Małek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., and Vangronsveld, J. (2020). Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. Science of the Total Environment, 743, 140682.

O'Neill, T., Lole, M., Drakes, D., Irving, R., Baars, J. K., and Grogan, H. (2015). Use of chemical disinfectants in mushroom production. Agriculture and Horticulture Department Board.

Othman, A. M.; Elsayed, M. A.; Elshafei, A. M.; and Hassan, M. M. (2018). Application of central composite design as a strategy to maximize the productivity of *Agaricus bisporus* CU13 laccase and its application in dye decolorization. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 14, 72-79.

Owaid, M. N.; and Abed, I. A. (2015). Mineral analysis of phosphate rock as Iraqi raw fertilizer. International Journal of Environment, 4(2), 413-415.

Owaid, M. N.; Barish, A.; and Shariati, M. A. (2017). Cultivation of *Agaricus bisporus* (button mushroom) and its usages in the biosynthesis of nanoparticles. Open Agriculture, 2(1), 537-543.

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

Pandian,R.T.: Kumar,R.J.A.A. and SH,P.(2016). Morphological and molecular characterization of *Trichoderma asperellum* strain Ta13. Indian Phytopath. 69 (3) : 298-303.

Pandin, C.; Le Coq, D.; Deschamps, J.; Védie, R.; Rousseau, T.; Aymerich, S.; and Briandet, R. (2018). Complete genome sequence of *Bacillus velezensis* QST713: A biocontrol agent that protects *Agaricus bisporus* crops against the green mould disease. Journal of Biotechnology, 278, 10-19.

Pani, S., Kumar, A., and Sharma, A. (2021). *Trichoderma harzianum*: An overview. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Science, 10(6), 32-39.

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

Paul, S.; and Chilton, J. S. (1983). The mushroom cultivator.

Pitt, J. I., and Hocking, A. D. (1999). Fungi and Food Spoilage, 2nd edn, Gaithersburg, MD.

Pitt, J. I., Basilico, J. C., Abarca, M. L., and Lopez, C. (2000). Mycotoxins and toxigenic fungi. Medical mycology, 38(sup1), 41-46.

Potočnik, I. S.; Stepanović, M.; Rekanović, E.; Todorović, B.; and Milijašević-Marčić, S. (2015). Disease control by chemical and biological fungicides in cultivated mushrooms: button mushroom, oyster mushroom and shiitake. Pesticides and Phytomedicine/Pesticidi i fitomedicina, 30(4.(

Prescott, T., Wong, J., Panaretou, B., Boa, E., Bond, A., Chowdhury, S., and Østergaard, L. (2018). Useful fungi. State of the World's Fungi, 24-31.

Preston, G. M.; Carrasco, J.; Gea, F. J.; and Navarro, M. J. (2018). Biological control of microbial pathogens in edible mushrooms. In Biology of Macrofungi (pp. 305-317). Springer, Cham.

Rai, M., and Carpinella, M. C. (2006). Naturally occurring bioactive compounds. Elsevier.

Rai, R. D. (2004). Production of edible fungi. Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications, 21, 233-246.

Rangana, S. (1977). Ascorbic acid. Manual Analysis of Fruit and Vegetable Products, 94-101.

Raper, C. A.; Raper, J. R.; and Miller, R. E. (1972). Genetic analysis of the life cycle of *Agaricus bisporus*. Mycologia, 64(5), 1088-1117.

Reddy, C. S.; Reddy, K. R. N.; Prameela, M.; Mangala, U. N.; and Muralidharan, K. (2007). Identification of antifungal component in clove

that inhibits *Aspergillus* spp. colonizing rice grains. Journal of Mycology and Plant Pathology, 37(1), 87-94.

Redha ,Amina . ; Al- Mansour , Naem .; Suleman , Patrice , Afzal .;Mohamad . and Al- Hassan , Redha .(2011). leaf traits and histochemistry of trichomes of *Conocarpus lancifolius* acombretaceae in semi Arid coditions . American Journal of plant Sciences.Vol.(2).No.(2).Pp: 165-174.

Reyes-Castillo, A., Gerding, M., Oyarzúa, P., Zagal, E., Gerding, J., & Fischer, S. (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria able to improve NPK availability: selection, identification and effects on tomato growth. Chilean journal of agricultural research, 79(3): 473-485.

Richard, J. L.; and DeBey, M. C.(1995). Production of gliotoxin during the pathogenic state in turkey poults by *Aspergillus fumigatus* Fresenius. Mycopathologia,129(2), 111-115.

Rifai. M. A.(1969). A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers, 116: 1156.

Romero-Arenas, O.; Huerta Lara, M.; Damián Huato, M. A.; Domínguez Hernández, F.; and Arellano Victoria, D. A. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. Revista colombiana de Biotecnología, 11(2), 143-151.

Rosmiza, M. Z.; Hussin, J. M.; and Ghazali, M. H. (2019). Pengetahuan agropreneur terhadap potensi sisa substrat cendawan dan kaedah pengurusan lepas tuai tanaman cendawan (Agriprenuer's knowledge on the potential of spent mushroom substrate and post-harvest management methods of mushroom cultivation). Geografia, 15(3).

Roupas, P.; Keogh, J.; Noakes, M.; Margetts, C.; and Taylor, P. (2012). The role of edible mushrooms in health: Evaluation of the evidence. Journal of functional foods, 4(4), 687-709.

Royse, D. J. and C.P. Romaine.(2002). Mushroom (A. *bisporus* X-25LeLion), (Green Molds *Trichoderma harzianum* Th4). Department of

Plant Pathology, The Pennsylvania State University, University Park , PA 16802.

Royse, D. J., Sanchez, J. E., Beelman, R. B., & Davidson, J. (2008). Re-supplementing and re-casing mushroom (*Agaricus bisporus*) compost for a second crop. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(3), 319-325.

Royse, D. J.; and Beelman, R. B. (2007). Six steps to mushroom farming. Received from http://mushroomspawn. cas. psu. edu/SixSteps. shtml.

Safwat, M.S.A.; Al Kholi, M.A.J. (2006). Recent trends, reality and future in the production, manufacture and marketing of medicinal and aromatic plants. The Egyptian Association for producers, manufacturers and exporters of medicinal and aromatic plants (Asmap.), Giza, Egypt. 76 pages

Saghafi, D., Ghorbanpour, M., Ajirloo, H. S., & Lajayer, B. A. (2019). Enhancement of growth and salt tolerance in Brassica napus L. seedlings by halotolerant Rhizobium strains containing ACC-deaminase activity. Plant Physiology Reports, 24(2): 225-235.

Salih , Y. A.(2004) . In-Vitro antifungal activity of water and acetone extract of Lawsonia inermis L. and Punica granatum L. and calcium carbonate against *Aspergillus fumigatus* Fres. Journal of Missan Researches, 1 : 30 – 49.

Salwin , M.; R. Sobieralski and R. Pawlak .(2001). Comparison of mycelium growth and pinhead setting of *Agaricus bispours*. crosscultures.Vegetable Crops Research Bull. 54 (2) : 87- 91.

Samson, R.A., and Varga, J. (2008). *Aspergillus* systematics in the genomic era (Utrecht: CBS Fungal Biodiversity Centre(

Santos, T. L. D.; Belan, L. L.; Zied, D. C.; Dias, E. S.; and Alves, E. (2017). Essential oils in the control of dry bubble disease in white button mushroom. Ciência Rural, 47.

Sassine, Y. N. (Ed.). (2021). Mushrooms: *Agaricus Bisporus* (Vol. 37). CABI.

Savoie, J. M.; and Mata, G. (2016). Growing *Agaricus bisporus* as a contribution to sustainable agricultural development. In Mushroom Biotechnology (pp. 69-91). Academic Press.

Schisler,L.C.(1982). Biochemical and mycological aspects of mushroom composting. In: Wuest,P.J.; G.D.Bengtson.(Eds),Penn State Handbook for Commercial Mushroom Growers.Special Publication,College of Agricultural Science,The Pennsylvania State University, 129,pp.3-10.

Schuller, M.; Sloots, T. p. ; James, G.S. ; Halliday, C. L. and carter ,I.W.J. (2010) .PCR for clinical Microbiology . springer . Australia Pp.466.

Seaby, D. A. (1996). Investigation of the epidemiology of green mould of mushroom (*Agaricus bisporus*) compost caused by *Trichoderma harzianum*. Plant Pathology, 45(5), 913-923.

Shafeeq, A. F.; Abed, I. A. ;and Hassan, A. A.(2021). Evaluation of the efficiency of some desert plant extracts in the growth of *Agaricus bisporus* and the inhibition of some of its pathogens. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Accepted for publication.

Shallachova , N. B. and Marteniko, L. E. (1985). The practices questions about mushroom spawn production. Mushroom Production

Shally , A.A.K.(2002).Studies on white buttons mushroom, *Agaricuis bisporus* (lange) sing and *Agaricuis compestris* (fries) .M.Sc.Thesis ,College of Science , Univ. of Sulaimani . pp: 118.

Shandilya, T. R. (1986). Effect of differently pasteurized composts on the yield of *Agaricus bisporus*. Indian J. Plant Pathol, 4(1), 89-90.

Sharma, A.; and Chauhan, R. (2002). Major diseases of white button mushroom and their management. Annals of Biology (India).

Sharma, K. (2018). Mushroom: Cultivation and processing. Int. J. of Food Processing Technology, 5(2), 9-12.

Sharma, S. R.; Kumar, S.; and Sharma, V. P. (2007). PRESENT STATUS OF WET BUBBLE DISEASE OF MUSHROOM IN INDIA. Mushroom Biology and Biotechnology, 213, 245 .

Sharma, V. P., Satish, K., Shwet, K., and Singh, S. K. (2011). Etiology and molecular characterization of wet bubble disease causing fungus (*Hypomyces perniciosus*) in *Agaricus bisporus*. Mushroom Research, 20(1), 21-25.

Sharma, V.P., Annepu, S.K., Gautam, Y., Singh, M. and Kamal, S. (2017). Status of mushroom production in India. Mu. Re., 26 (2): 111-120.

Shbeeb, D. A.; Farahat, M. F.; and Ismail, H. M. (2019). Macronutrients analysis of fresh and canned *Agaricus bisporus* and Pleurotus ostreatus mushroom species sold in Alexandria markets. Egypt. Prog. Nutr, 21, 203-209.

Shi, N., Ruan, H., Jie, Y., Chen, F., and Du, Y. (2020). Sensitivity and efficacy of fungicides against wet bubble disease of *Agaricus bisporus* caused by *Mycogone perniciosa*. European Journal of Plant Pathology, 157(4), 873-885.

Shinohara, N., Woo, C., Yamamoto, N. et al. (2021). Comparison of DNA sequencing and morphological identification techniques to characterize environmental fungal communities. Sci Rep 11, 2633.

Siddiquee, S. (2017). Practical handbook of the biology and molecular diversity of *Trichoderma* species from tropical regions (Vol. 431). Cham: Springer International Publishing.

Sinden, J. W.; and Hauser, E. (1950). The short method of composting. Mushroom Science, 1, 52-9.

Singer, R.; and Harris, B. (1987). Mushrooms and truffles (No. Ed. 2). Koeltz Scientific Books.

Snel, M. (1971). Benomyl and thiabendazole for the control of mushroom diseases. Plant Dis. Rep.; 55, 120-121.

Soliman, K. M.; and Badeaa, R. I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and chemical toxicology, 40(11), 1669-1675.

Sonnenberg, A. S. M.; and van Griensven, L. J. L. D. (2000). Genetics and breeding of *Agaricus bisporus*. Mushroom Sci, 15(1), 25-39.

Stalish ,S .; Mohana , D.C.; Raghavendra , M. P. and Ravesha , K.A.(2007). Antifugal activity of some plant extract against important seed bore pathogens of *Aspergillus* . Journal of agriculture technology.3(1), 109-119.

Stamets , P. (2005). Mycelium Running, How Mushrooms Can Help Save the World. Ten Speed Press, Berkeley, Toronto, Canada. pp .339.

Stamets , P.(1993) .Growing gourmet and medicinal mushroom Berkeley ,Califonia . pp.554.

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

Stanojević, O.; Milijašević-Marčić, S.; Potočnik, I.; Stepanović, M.; Dimkić, I.; Stanković, S.; and Berić, T. (2016). Isolation and identification of *Bacillus* spp. from compost material, compost and mushroom casing soil active against *Trichoderma* spp. Archives of Biological Sciences, 68(4), 845-852.

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

Teles, C. B.; Moreira, L. S.; Silva, A. D. A.; Facundo, V. A.; Zuliani, J. P.; Stábeli, R. G.; and Silva-Jardim, I. (2011). Activity of the Lupane isolated from Combretum leprosum against Leishmania amazonensis promastigotes. Journal of the Brazilian Chemical Society, 22, 936-942.

Thakur, M. P. (2020). Advances in mushroom production: key to food, nutritional and employment security: A review. Indian Phytopathology, 73(3), 377-395.

Thapa, R., Lamsal, A., Bhusal, K. K., Magar, S. K., and Sapkota, K. (2022). IASR Journal of Agriculture and Life Sciences.

Thom, C. (1910). Cultural studies of species of *Penicillium* (Vol. 118). US Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry.

Touqeer, S.; Saeed, M. A.; Ansari, F.; Zahra, N.; Masood, Z.; Fareed, M.; and Javed, A. (2014). Antibacterial and antifungal activity of *Conocarpus lancifolius* ENGL.(Combretaceae). Journal of Applied Pharmacy, 6, 153-155.

Van Griensven, L. J. L. D.(1987.) The cultivation of mushrooms: Its presentstatus and future developments. Outlook on Agriculture 16: 131-135.

Van Tieghem, P. É. L. (1875). Nouvelles recherches sur les Mucorinées. G. Masson.

Vassileva, M., Malusá, E., Eichler-Löbermann, B., and Vassilev, N. (2020). *Aspegillus terreus*: from soil to industry and back. Microorganisms, 8(11), 1655.

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

Venama , J. H.(2009). Land resources of Somalia , project report No.L12. Report of Somalia water and land Information management.

Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., and Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. STUDIES IN MYCOLOGY, 78, 343-371.

Visagie, C. M., Varga, J., Houbraken, J., Meijer, M., KocsubÚ, S., Yilmaz, N., and Samson, R. A. (2014). Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergilli (*Aspergillus* section Circumdati). Studies in mycology, 78, 1-61.

Waghunde, R. R.; Shelake, R. M.; and Sabalpara, A. N. (2016). *Trichoderma*: a significant fungus for agriculture and environment. Afr J Agric Res 11 (22): 1952–1965.

Wagner , H. ; S. Bladt and E.M. Zgainski . (1984) . Plant drug Analysis cottony-leak of cucurbit fruit due to Pythiu aphanidermatum . Indian Phytopathology .29: 437-439.

Wagner, L., Stielow, J. B., de Hoog, G. S., Bensch, K., Schwartze, V. U., Voigt, K., and Walther, G. (2020). A new species concept for the clinically relevant *Mucor circinelloides* complex. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 44(1), 67-97.

Walton, T. J. (1990). Waxes, cutin and suberin. In 'Methods in plant biochemistry. Vol. 4: lipids, membranes and aspects of photobiology'.(Eds PM Dey, JB Harbone) pp. 105–108.

Wang, Y. C. (1987). Mycology in ancient China. Mycologist, 1(2), 59-61.

Wang, Z. S.; Chen, L. F.; Chen, M. Y.; Liao, J. H.; Dong, J. F.; and Song, S. Y. (2004). Thermotolerance-related genes in *Agaricus bisporus*. Mushroom Science, 16, 133-137.

Webster, J.; and Weber, R. (2007). Introduction to fungi. Cambridge university press.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), 315-322.

Wiafe-Kwagyan, M., Odamtten, G. T., and Obodai, M. (2015). Possible antibiosis effect of the metabolites of three fungal species resident in rice straw and husk compost on the in vitro radial and vegetative growth by Pleurotus ostreatus strain EM-1and P. eous strain P-31.

Williams, J., Clarkson, J. M., Mills, P. R., and Cooper, R. M. (2003). Saprotrophic and mycoparasitic components of aggressiveness of *Trichoderma harzianum* groups toward the commercial mushroom *Agaricus bisporus*. Applied and Environmental Microbiology, 69(7), 4192-4199.

Wood, D. A. (1976). Primordium formation in axenic cultures of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Microbiology, 95(2), 313-323.

Woodhall, J.W. , J.E. Smith, P.R Mills and C.E. Sansford .(2009). A UK commodity Pest Risk Analysis for the Cultivated Mushroom,*Agaricus bisporus*. Commodity PRA for Mushrooms. pp59.

Xu, T. (2012). Anti-cancer effects of phenolic-rich extracts of button mushrooms (*Agaricus bisporus)*.

Yoshikawa, S., Tsushima, K., Koizumi, T., Kubo, K., Kumagai, T., and Yamazaki, Y. (2006). Hypersensitivity pneumonitis induced by spores of *Penicillium citrinum* in a worker cultivating Enoki mushroom. Internal Medicine, 45(8), 537-541.

Zhang, R., Cui, Y., Cheng, M., Guo, Y., Wang, X., and Wang, J. (2021). Antifungal activity and mechanism of cinnamon essential oil loaded into mesoporous silica nanoparticles. Industrial Crops and Products, 171, 113846.

ملحق (1): بيانات تسجيل العزلة الفطرية *Aspergillus flavus isolate Y.N. 150 Haneen* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI) ضمن بيانات GenBank

NCBI Resources How To

Aspergillus flavus isolate Y.N. 150 Haneen internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: ON738705.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON738705                518 bp    DNA     linear   PLN 16-JUN-2022
DEFINITION  Aspergillus flavus isolate Y.N. 150 Haneen internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON738705
VERSION     ON738705.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus flavus
  ORGANISM  Aspergillus flavus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   1  (bases 1 to 518)
  AUTHORS   Salman,H.M., Husain,Y.N. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (11-JUN-2022) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..518
                     /organism="Aspergillus flavus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="Y.N. 150 Haneen"
                     /db_xref="taxon:5059"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021"
     misc_RNA        <1..>518
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 ttaccgagtg tagggttcct agcgagccca acctcccacc cgtgtttact gtaccttagt
       61 tgcttcggcg ggcccgccat tcatggccgc cgggggctct cagccccggg cccgcgcccg
      121 ccggagacac cacgaactct gtctgatcta gtgaagtctg agttgattgt atcgcaatca
      181 gttaaaactt tcaacaatgg atctcttggt tccggcatcg atgaagaacg cagcgaaatg
      241 cgataactag tgtgaattgc agaattccgt gaatcatcga gtctttgaac gcacattgcg
      301 ccccctggta ttccgggggg catgcctgtc cgagcgtcat tgctgcccat caagcacggc
      361 ttgtgtgttg ggtcgtcgtc ccctctccgg gggggacggg ccccaaaggc agcggcggca
      421 ccgcgtccga tcctcgagcg tatggggctt tgtcacccgc tctgtaggcc cggccggcgc
      481 ttgccgaacg caaatcaatc tttttccagg ttgacctc
```

ملحق (2): بيانات تسجيل العزلة الفطرية *Aspergillus ochraceus isolate Y.N. 151 Haneen* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI) ضمن بيانات GenBank

NCBI Resources How To

Aspergillus ochraceus isolate Y.N. 151 Haneen internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: ON738706.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON738706                509 bp    DNA     linear   PLN 16-JUN-2022
DEFINITION  Aspergillus ochraceus isolate Y.N. 151 Haneen internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON738706
VERSION     ON738706.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus ochraceus
  ORGANISM  Aspergillus ochraceus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   1  (bases 1 to 509)
  AUTHORS   Salman,H.M., Husain,Y.N. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (11-JUN-2022) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..509
                     /organism="Aspergillus ochraceus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="Y.N. 151 Haneen"
                     /db_xref="taxon:40380"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021"
     misc_RNA        <1..>509
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 actgagtgag ggtccctcgg ggcccaacct cccacccgtg tataccgtac cttgttgctt
       61 cggcgagccc gccccctttt tcttttaggg ggcacagcgc tcgccggaga caccaacgtg
      121 aacactgtct gaagttttgt cgtctgagtc gattgtatcg caatcagtta aaactttcaa
      181 caatggatct cttggttccg gcatcgatga agaacgcagc gaaatgcgat aattaatgtg
      241 aattgcagaa ttcagtgaat catcgagtct ttgaacgcac attgcacccc ctggtattcc
      301 ggggggtatg cctgtccgag cgtcattgct gccctcaagc acggcttgtg tgttgggtcg
      361 tcgtcccccc ccaggggggac gggcccgaaa ggcagcggcg gcaccgcgtc cggtcctcga
      421 gcgtatgggg ctttgtcacc cgctcttgta ggcccggccg gctgctggcc gacgctgaaa
      481 agcaaccaac tatttttcca ggttgacct
```

ملحق (3): بيانات تسجيل العزلة الفطرية *Aspergillus terreus isolate Y.N. 152 Haneen* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI) ضمن بيانات GenBank

NCBI Resources How To

Aspergillus terreus isolate Y.N. 152 Haneen internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: ON738707.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON738707                538 bp    DNA     linear   PLN 16-JUN-2022
DEFINITION  Aspergillus terreus isolate Y.N. 152 Haneen internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON738707
VERSION     ON738707.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus terreus
  ORGANISM  Aspergillus terreus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   1  (bases 1 to 538)
  AUTHORS   Salman,H.M., Husain,Y.N. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (11-JUN-2022) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..538
                     /organism="Aspergillus terreus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="Y.N. 152 Haneen"
                     /db_xref="taxon:33178"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021"
     misc_RNA        <1..>538
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 ttaccgagtg cgggtcttta tggcccaacc tcccacccgt gactattgta ccttgttgct
       61 tcggcgggcc cgccagcgtt gctggccgcc ggggggcgac tcgccccggg gcccgtgccc
      121 gccggagacc ccaacatgaa ccctgttctg aaagcttgca gtctgagtgt gattctttgc
      181 aatcagttaa aactttcaac aatggatctc ttggttccgg catcgatgaa gaacgcagcg
      241 aaatgcgata actaatgtga attgcagaat tcagtgaatc atcgagtctt tgaacgcaca
      301 ttgcgccccc tggtattccg gggggcatgc ctgtccgagc gtcattgctg ccctcaagcc
      361 cggcttgtgt gttgggccct cgtcccccgg ctcccggggg acgggcccga aaggcagcgg
      421 cggcaccgcg tccggtcctc gagcgtatgg ggcttcgtct tccgctccgt aggcccggcc
      481 ggcgcccgcc gacgcattta tttgcaactt gtttttttcc aggttgacct cggatcag
```

ملحق (4): بيانات تسجيل العزلة الفطرية *Mucor circinelloides isolate Y.N. 154 Haneen* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI) ضمن بيانات GenBank

NCBI Resources How To

Mucor circinelloides isolate Y.N. 154 Haneen internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: ON738708.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON738708                566 bp    DNA     linear   PLN 16-JUN-2022
DEFINITION  Mucor circinelloides isolate Y.N. 154 Haneen internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON738708
VERSION     ON738708.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Mucor circinelloides
  ORGANISM  Mucor circinelloides
            Eukaryota; Fungi; Fungi incertae sedis; Mucoromycota;
            Mucoromycotina; Mucoromycetes; Mucorales; Mucorineae; Mucoraceae;
            Mucor.
REFERENCE   1  (bases 1 to 566)
  AUTHORS   Salman,H.M., Husain,Y.N. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (11-JUN-2022) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..566
                     /organism="Mucor circinelloides"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="Y.N. 154 Haneen"
                     /db_xref="taxon:36080"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021"
     misc_RNA        <1..>566
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 cattaaataa tcaataattt tggcttgtcc attattatct atttactgtg aactgtatta
       61 ttacttgacg cttgagggat gctccactgc tataaggata ggcggtgggg atgttaaccg
      121 agtcatagtc aagcttaggc ttggtatcct attattattt accaaaagaa ttcagaatta
      181 atattgtaac atagacctaa aaaatctata aaacaacttt taacaacgga tctcttggtt
      241 ctcgcatcga tgaagaacgt agcaaagtgc gataactagt gtgaattgca tattcagtga
      301 atcatcgagt ctttgaacgc aacttgcgct cattggtatt ccaatgagca cgcctgtttc
      361 agtatcaaaa caaaccctct atccagcatt ttgttgaata ggaatactga gagtctcttg
      421 atctattctg atctcgaacc tcttgaaatg tacaaaggcc tgatcttgtt taaatgcctg
      481 aacttttttt taatataaag agaagctctt gcggtaaact gtgctggggc ctcccaaata
      541 atactctttt taaatttgat ctgaaa
```

ملحق (5): بيانات تسجيل العزلة الفطرية *Penicillium citrinum isolate Y.N. 155 Haneen* في
المركز الدولي لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI) ضمن بيانات GenBank

NCBI Resources How To

Penicillium citrinum isolate Y.N. 155 Haneen internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: ON738710.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON738710                471 bp    DNA     linear   PLN 16-JUN-2022
DEFINITION  Penicillium citrinum isolate Y.N. 155 Haneen internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON738710
VERSION     ON738710.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Penicillium citrinum
  ORGANISM  Penicillium citrinum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Penicillium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 471)
  AUTHORS   Salman,H.M., Husain,Y.N. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (11-JUN-2022) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..471
                     /organism="Penicillium citrinum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="Y.N. 155 Haneen"
                     /db_xref="taxon:5077"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021"
     misc_RNA        <1..>471
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 accgagtgcg ggcccctcgg ggcccaacct cccacccgtg ttgcccgaac ctatgttgcc
       61 tcggcgggcc ccgcgcccgc cgacggcccc cctgaacgct gtctgaagtt gcagtctgag
      121 acctataacg aaattagtta aaactttcaa caacggatct cttggttccg gcatcgatga
      181 agaacgcagc gaaatgcgat aactaatgtg aattgcagaa ttcagtgaat catcgagtct
      241 ttgaacgcac attgcgcccc ctggtattcc ggagggcatg cctgtccgag cgtcattgct
      301 gccctcaagc ccggcttgtg tgttgggccc cgtccccccc gccgggggga cgggcccgaa
      361 aggcagcggc ggcaccgcgt ccggtcctcg agcgtatggg gcttcgtcac ccgctctagt
      421 aggcccggcc ggcgccagcc gacccccaac ctttaattat ctcaggttga c
```

ملحق (6): بيانات تسجيل العزلة الفطرية *Trichoderma harzianum isolate Y.N. 156 Haneen* في
المركز الدولي لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI) ضمن بيانات GenBank

NCBI Resources How To

Trichoderma harzianum isolate Y.N. 156 Haneen internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: ON925001.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON925001                450 bp    DNA     linear   PLN 11-JUL-2022
DEFINITION  Trichoderma harzianum isolate Y.N. 156 Haneen internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON925001
VERSION     ON925001.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Trichoderma harzianum
  ORGANISM  Trichoderma harzianum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Hypocreaceae;
            Trichoderma.
REFERENCE   1  (bases 1 to 450)
  AUTHORS   Salman,H.M., Husain,Y.N. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-JUL-2022) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..450
                     /organism="Trichoderma harzianum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="Y.N. 156 Haneen"
                     /db_xref="taxon:5544"
                     /country="Iraq: Karbala"
                     /collection_date="2021"
     misc_RNA        <1..>450
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 ggagggacat taccgagttt acaactccca aacccaatgt gaacgttacc aaactgttgc
       61 ctcggcggga tctctgcccc gggtgcgtcg cagccccgga ccaaggcgcc cgccggagga
      121 ccaacctgaa actcttattg tatacccccc cgcgggtttt ttttataatc tgagccttct
      181 cggcgcctct cgtaggcgtt tcgaaaatga atcaaaactt tcaacaacgg atctcttggt
      241 tctggcatcg atgaagaacg cagcgaaatg cgataagtaa tgtgaattgc agaattcagt
      301 gaatcatcga atctttgaac gcacattgcg cccgccagta ttctggcggg catgcctgtc
      361 cgagcgtcat ttcaaccctc gaacccctcc gggggggtcgg cgttggggat cggccctccc
      421 ttagcgggtg gccgtctccg aaatacagtg
```

superior in increasing the amount of the final yield, as it recorded the highest rate (19.894, 20.289, 21.603, 16.398, 19.118, and 17.07) kg/m^2 Compared to the rate of treating the pathogen (*A.flavus*-B1, *A.ochraceus*-D1, *A.terreus*-K1, *P.citrinum*-B1, *T.harzianum*-E1, *M.circinelloides*-E1), which gave a rate of (4.933, 4.364, and 6). .495, 3.343, 2.603, and 4.741) kg/m2, while the amount of final yield in the control treatment was 23.376 kg/m2, followed by the treatment of cloves plant extract with a rate of (11.414, 11.395, 13.655, 9.194, 11.389,9). 775) kg/m2, then the treatment of the plant extract of Conocaris at a rate of (13.951, 12.546, 12.011, 11.283, 7.264, and 10.136) kg/m2, and finally the treatment with Verox at a rate of (11.105, 11.453, 12.264, 11.606, 8.029, and 8.576). kg/m2, respectively.

Trichoderma harzianum) respectively and comparison of each isolate with globally identified isolates in the genebank. Laboratory experiments showed that all tested plant extracts inhibited the growth of pathogenic fungal isolates and white edible mushrooms at a different percentage. The clove and Conocarpus extracts were distinguished by the highest percentage of inhibition. The clove extract recorded an inhibition rate of 71.5%, and Conocars extract reached 68.4%. While it showed the efficiency of agricultural pesticides in inhibiting the growth of the most virulent fungal isolates. The biocide Verox recorded the highest rate of inhibition of pathogenic fungal isolates by 78.7%. While the combination of Verox with extracts of cloves and Conocarpus showed the highest rate of inhibition by 77.9% compared to the control treatment 0.00%, and the percentage of growth inhibition of the white fungus was 38.1% compared to the control treatment 0.00% laboratory. The experiment was conducted in the cultivation room to investigate the effect of pathogens (*A.flavus*-B1, *A.ochraceus*-D1, *A.terreus*-K1, *P.citrinum*-B1, *T.harzianum*-E1, *M.circinelloides*-E1) on Some growth parameters of the edible white mushroom *A. bisporus*, All tested pathogens caused a significant reduction in the number of formed fruit bodies, their average weight, cap diameter and stem length, as well as the effect of the causes was reflected on the nutritional content of the fruit bodies of elements (nitrogen and phosphorous, potassium, sodium) and total protein. While the agents used (Clove extract, Conocarpus extract, and Verox biocidal) and their combination showed effective efficiency in inhibiting the effect of pathogens and increasing some growth parameters of *Agaricus bisporus*. The results showed the superiority of the treatment of the combination of the biocide verox with extracts of cloves and Conocarpus in inhibiting the effect of pathogenic fungi, as it recorded the highest rate in the number of fruiting bodies which reached 505, 515, 540, 435, 500 and 405 bodies / m^2 for fungi (*A.flavus*-B1, *A.ochraceus*-D1, *A.terreus*-K1, *P.citrinum*-B1, *T.harzianum*-E1 and *M.circinelloides*-E1) compared to the comparison treatment, which gave (195, 170, 240, 140, 125, and 180) bodies/ m^2 respectively, for the aforementioned fungi While the number of fruiting bodies in the control treatment was 580 bodies / m^2 respectively. This was followed by the treatment of the plant extract of cloves at a rate of (350, 355, 410, 285, 330, and 290) bodies/ m^2, then the treatment of the plant extract of Conocaris at a rate of (385, 360, 350, 330, 235, and 295) bodies/ m^2, and finally the treatment with Verox at a rate of (310, 315, 355, 340, 240, and 255). fruiting body / m^2 respectively The results proved the same on the amount of yield, as the results showed that the combination treatment between the biocide verox with extracts of cloves and conocarpus was

Abstract

This study was conducted in the laboratories and cultivation rooms of the Plant Protection Department of the College of Agriculture - University of Karbala in the agricultural season 2021-2022 with the aim of identifying the most important fungal pathogens and fungal competitions accompanying the cultivation of the edible food mushroom *Agaricus bisporus* in Iraq, Molecular diagnosis and study of its effects on production and the possibility of control using some plant extracts (cloves, conocarpus, turmeric, dracaena, eucalyptus and black seed) and agricultural pesticides (The biopesticide Verox, the chemical pesticide Benomyl, the botanical pesticide Tondixer, and the biological product Seaboolm). The results Showed of isolation and identification of fungi associated with cases of infection in the breeding of the edible white fungus *Agaricus bisporus*, which were collected from different breeding stations of edible fungi from five governorates namely Baghdad, Diwaniyah, Erbil, Kirkuk and Muthanna showed the presence of different species belonging to the following fungal genera *Aspergillus* spp. , *Fusarium* spp. , *Mucor* spp, *Penicillium* spp., *Verticillium* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp. and *Trichoderma* spp. The results of testing its pathogenicity against the growth of the edible white mushroom *A. bisporus* in the vitro on Compost agar medium (CAM) showed that there were some significant differences between the ability of the tested fungal isolates in terms of their effect on the growth percentage of edible mushrooms, as the fungus *Trichoderma harzianum* isolated from Erbil governorate was recorded the highest percentage of inhibition was 75%. Both *Aspergillus flavus* isolated from Baghdad governorate and *Mucor circinelloides* isolated from Erbil governorate recorded an inhibition rate of 66.66% , The two fungi *Aspergillus ochraceus* isolated from Diwaniyah province and the fungus *Penicillium citrinum* isolated from Baghdad province recorded an inhibition rate of 58.33%, while the fungus *Aspergillus terreus* recorded an inhibition rate of 50%. The phenotypically isolated fungal isolates were diagnosed based on their microscopic characteristics, and the molecular diagnosis of six fungal isolates that showed great antagonism was done by analyzing the DNA base sequences of the ITS. And by sequencing the nitrogenous bases of these isolates, it was found that they are genetically different from other isolates diagnosed in the National Center for Biotechnology Information (NCBI), and therefore they were registered under the accession numbers ON738705.1, ON738706.1, ON738707.1, ON738708.1,ON738710.1and ON925001 for isolates (*Aspergillus flavus, Aspergillus ochraceus, Aspergillus terreus, Mucor circinelloides, Penicillium citrinum and*

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
Karbala University
College of Agriculture
Plant Protection

Isolation and identification of fungi associated with the cultivation of the white edible mushroom *Agaricus bisporus* and the possibility to controlling them

A Thesis submitted to the Council of the Faculty of Agriculture / Karbala University in Partial Fulfilment of the Requirements for the Master Degree in Plant Protiction

By
Haneen muhi Salman alzyadi

Supervised by
Prof.Dr. Yasir Naser Alhamiri

1444 A.H **2022 A.D**