مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (3) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (3) 2012

دراسة النمو الإعاشي وتشكيل بداءات الأجسام الثمرية للفطر *Lentinus tigrinus* على أوساط مختلفة في الزجاج

الدكتورة ميساء يازجي*

(تاريخ الإيداع 26 / 1 / 2012. قبل للنشر في 28 / 5 / 2012)

□ ملخّص □

اختبرت قدرة الفطر الدعامي *Lentinus tigrinus* (Bull. ex Fr.) Fr. على النمو الإعاشي وتشكيل بداءات الأجسام الثمرية وتطورها، وذلك على أربعة أوساط مغذية مختلفة (M.E. A, P.D.A , Sabouarud ، Lima bean) في المختبر.

بينت النتائج قدرة الفطر المدروس على النمو إعاشياً على جميع الأوساط، وإعطاء مشائج قطنية بيضاء اللون وكثيفة جداً غطت كامل سطح طبق البتري 9cm بعد 7 أيام من الزراعة في الزجاج عند الدرجة 25 م°.

شكل الفطر كميات كبيرة من بداءات الأجسام الثمرية مع تطور بسيط للقبعات، دون الوصول إلى مرحلة النضج الكامل للجسم الثمري بعد 15 يوماً من الزراعة ، وذلك على الوسطين P.D.A و M. E. A فقط بينما كان النمو إعاشياً فقط على الوسطين Sabouraud و Lima bean.

أظهرت الدراسة النسيجية للبداءات الثمرية تشكل الوصلات الكلابية التي تعد الخلايا الأساسية لتكوين الثمار الفطرية والدعامات عند الفطريات الدعامية.

الكلمات المفتاحية: الفطر *Lentinus tigrinus* ، أوساط مغذية، نمو إعاشي، بداءات الأجسام الثمرية.

* أستاذ مساعد – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (3) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (3) 2012

Studying the Vegetative Growth and Formation of Primordia Fruiting Bodies of *Lentinus Tigrinus* on Different Media in Vitro

Dr. Maysa Yaziji*

(Received 26 / 1 / 2012. Accepted 28 / 5 /2012)

□ ABSTRACT □

The capacity of Fungus *Lentinus tigrinus* (Bull. ex Fr.) Fr. on the Vegetativ growth and formation of primordia fruiting bodies, and their development were tested on four different media in the labs. The results showed the capacity of *L. tigrinus* on the vegetative growth on all media and giving cottony thickly white colour mycelium and cover all the surface of all the plate 9 cm after 7 days of culturing at 25C°.

The fungi formed enormous quantity of primordia fruiting bodies with simply development of pileus, without reaching to complet ripe period after 15 days of cultured on two media P.D.A and M.E. A only. While the vegetative growth was only on the two media Sabouraud and Lima bean. The Tissue Study of primordia demonstrated the formation of clamp connections which are Consider essential cells for carpogenesis and Basidia at Basidiomycetes.

Keywords: *Lentinus tigrinus*, nutritive media, vegetative growth, primordia fruiting bodies.

*Associate Professor, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.

مقدمة:

تعد الفطريات من أكثر الكائنات الحية الدقيقة التي استفاد منها الإنسان عبر تاريخه الطويل، خاصة الفطريات الدعامية القبعية التي تشكل مكوناً هاماً جداً في النظام البيئي الحيوي، فضلاً عن استخداماتها العديدة منذ القدم سواءً في غذاء الإنسان، لما لها من فوائد غذائية قيمة، أو في الطب التقليدي في العديد من الدول لمعالجة الكثير من الأمراض الجلدية، والجروح ولوقف النزيف الدموي وتثبيط نمو بعض الأمراض السرطانية وغيرها (Poucheret *et al*.,2006 ; Mercan *et al*., 2006 ; Itonori et al., 2004)، مما لفت الأنظار للكشف عن المواد الاستقلابية العديدة التي تحويها هذه الفطريات، ودراسة فعالياتها البيولوجية والطبية (Daba and Ezeronye, 2003; Mizuno *et al*., 2001).

توجد المركبات الفعالة في المشائج والأجسام الثمرية الطبيعية منها أو المزروعة في الزجاج، وقد استخدمت هذه الأجسام من أجل الحصول على خلاصات بمحلات مختلفة، وتبين بأن لكثير منها فاعلية مضادة للعديد من الجراثيم والفطريات الممرضة للإنسان والنبات (Digh and Agate, 2000 ; Hirasawa *et al*., 1999 ; Jonathan and Fasidi, 2003 ; Fan *et al* ., 2006 ; يازجي وسعود، 2007 و2008)، كما تم عزل العديد من المركبات الكيميائية الطيارة وغير الطيارة والأنزيمات المختلفة ومضادات أكسدة متنوعة من هذه الفطريات ودرست فاعلية بعضها ضد العديد من الأحياء الدقيقة الممرضة (Gezer *et al*., 2006 ; OKamoto *et al*., 2002)، وقدرة بعضها الآخر على مقاومة بعض الأمراض السرطانية وزيادة مناعة الجسم، مما يعطي هذه الكائنات أهميتها الصيدلانية والطبية (Turkoglu *et al*., 2006 ; Lindequist *et al*., 2005 ; Wasser, 2002 ; Kim *et al* .,1999).

تعد زراعة الفطريات القبعية في الزجاج بهدف الحصول على المشائج أو الأجسام الثمرية ذات أهمية بيولوجية عالية، والدراسات المنجزة المتعلقة بزراعة الفطريات في الزجاج (in vitro) بهدف الحصول على الأجسام الثمرية على أوساط مغذية معقمة وتحديد الشروط البيئية الضرورية للإثمار قليلة (Hoshino *et al*., 2009 ; Croan and Highley, 1991 ; Couvy, 1973; Bjurman, 1988 ; Leatham and Stahmann, 1987) وبالمقابل نجد العديد من الأبحاث التي اهتمت بزراعة هذه الفطريات على أوساط صلبة أو ضمن أوساط سائلة ، وذلك بهدف الحصول على المشائج فقط لتجريب فاعليتها في تثبيط نمو بعض الأحياء الدقيقة الممرضة مثل الجراثيم والفطريات (Hassegawa *et al*., 2005 – Rosa *et al* ., 2003 – Pacumbaba *et al*., 1999 – Kope and Fortin, 1990) أو للحصول على بعض المركبات الهامة من المشائج (Okamoto *et al*., 2002).

أجريت في سوريا بعض الأبحاث المتعلقة بعزل أرومات فطرية من أجسام ثمرية فطرية سامة، وأخرى صالحة للأكل، واختبار قدرتها على إنتاج الصادات الحيوية ضد جراثيم ممرضة فوق الأوساط الآغارية الصلبة (جهار، 2005)، كما زرع الفطر الزراعي الصالح للتغذية *Pleurotus ostreatus* على أوساط مغذية للحصول على المشيجة، ومن ثم نقلها إلى أوساط تتألف من مخلفات زراعة القمح ونواتج عصر الزيتون من أجل الحصول على الأجسام الثمرية (بواد قجي وأحمد، 2003)، لكن لم تتم حتى الآن أية دراسة لإنتاج بداءات الأجسام الثمرية وإمكانية تطورها إلى أجسام ناضجة سليمة وتحديد بعض الشروط البيئية لإنتاج هذه الثمار.

أهمية البحث وأهدافه:

تنتشر الفطريات القبعية بغزارة في مناطق كثيرة من الساحل السوري على مدار فصول العام بأكمله، والبعض منها يملك أهمية بيولوجية وصيدلانية تجاه عدد من أنواع الجراثيم والفطريات الممرضة (سعود، 2003 – 2008).

يعد الفطر *Lentinus tigrinus* من الأنواع الصالحة للاستهلاك الغذائي، ويستعمل في الطب التقليدي في عدد من دول العالم لمعالجة العديد من الأمراض(Hirasawa *et al.*, 1999., Lindequist *et al.*, 2005)، وهو ينتشر في بيئات مختلفة من الساحل، وينمو بشكل مجموعات، في الغابات الصنوبرية، الغابات متساقطة الأوراق، وفي المروج، وحتى الآن لم تتم في سورية أية دراسة تهدف إلى إنتاج بداءات الأجسام الثمرية عند هذا النوع وإمكانية تطورها إلى أجسام ناضجة سليمة وتحديد بعض الشروط البيئية الضرورية لإنتاج هذه الثمار، لذلك انحصر هدف البحث في:

1- دراسة مورفولوجية ومجهرية للنوع *L. Tigrinus*.

2- الزراعة المخبرية لكل من النسيج والأبواغ لهذا الفطر وذلك على أوساط مغذية مختلفة.

3- تحديد الأوساط الأكثر ملاءمة للنمو الإعاشي لهذا الفطر.

4- الحصول على بداءات الأجسام الثمرية وإمكانية تطورها.

طرائق البحث ومواده:

أولاً: جمع العينات الفطرية وتصنيفها:

جمعت عينات الفطر المدروس (*L. Tigrinus*) من غابة صنوبرية في منطقة القلوع جنوبي مدينة اللاذقية من الساحل السوري، وهي منطقة تقع على مستوى سطح البحر، وذلك في شهر تشرين الثاني من العام 2009.

أحضر الفطر إلى المختبر وتم تحديده بالاعتماد على معايير مورفولوجية ومجهرية للفطر، والتي تتعلق بصفات القبعة، الحامل، النسيج، الصفائح وألوانها بالإضافة إلى دراسة مجهرية للأبواغ من حيث شكلها وحجمها والبصمة البوغية، وذلك بالاعتماد على عدد من المفاتيح التصنيفية العالمية (Becker, ; Nonis, 1982 ; Loiseau, 1975 1986) .

تم إجراء البحث في مخابر قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم في الفترة الواقعة بين تشرين الثاني 2009– وأيلول 2010 .

ثانياً: أوساط الزراعة:

تم استخدام أربعة أوساط مغذية صلبة موضحة في الجدول التالي:

تركيب الوسط	الأوساط
خلاصة الشعير + آغار	M.E.A
خلاصة البطاطا + دكستروز + آغار	P.D.A
ببتون + غلوكوز + آغار	Sabouraud
خلاصة الفاصولياء + دكستروز + آغار	Limabean

حضرت الأوساط في 1 ليتر ماء مقطر، وضبطت درجة الـ pH على 5.5 وعقمت في جهاز التعقيم (أوتوغلاف) في الدرجة 121 م° لمدة 20 دقيقة ثم أضيف لها المضاد الحيوي كلورامفينيكول (Chloramphenicol) بنسبة 200 ملغ/ل لمنع نمو الجراثيم وتلوث الوسط وذلك ضمن غرفة العزل الجرثومي، وحفظت في الثلاجة لحين الاستخدام.

ثالثاً: طريقة الزراعة:

أذيبت الأوساط الصلبة (التي تم تحضيرها مسبقاً) في حمام مائي، ثم صبت في أطباق بتري بقطر 9 سم وفي حوجلات زجاجية (ارلنماير) سعة 250 مل، وتركت لتبرد وتتجمد، بعدها تمت زراعة الفطر بطريقتين:

1- زراعة الأبواغ: أخذت مسحة بوغية عن الصفائح بوساطة إبرة تلقيح معقمة على اللهب، ووضعت في منتصف كل طبق بتري حاوٍ على الأوساط الزرعية السابقة الذكر.

2- زراعة النسيج الفطري: قطع الجسم الثمري للفطر بوساطة مشرط معقم بشكل جيد على اللهب إلى قسمين، ثم أخذت خزعة صغيرة من النسيج الداخلي للقبعة بوساطة إبرة التلقيح المعقمة، ووضعت في منتصف كل طبق بتري حاوٍ على الأوساط الزرعية.

تم إجراء 5 مكررات من الأطباق لكل وسط زرعي على حدة، وذلك لكل من زراعة الأبواغ وزراعة النسيج الفطري،ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 25 م°، وتركت فترة شهرين لمراقبة النمو الإعاشي للمشيجة ومن ثم تكوين بداءات الأجسام الثمرية وتطورها.

النتائج والمناقشة:

تم تحديد الفطر *L. Tigrinus*(Bull. ex Fr.) Fr تبعاً للمراجع التصنيفية المذكورة أعلاه. وقد لوحظ استمرار ظهوره في الفترة الممتدة من تشرين الثاني حتى آذار، أي من نهاية الخريف حتى بداية الربيع، وهي على ما يبدو الفترة الملائمة لنمو هذا الفطر في الساحل السوري؛ حيث تتوفر الأوساط الغذائية المناسبة (أوراق، أغصان وجذوع الأشجار المتساقطة) بالإضافة إلى الرطوبة العالية التي يتطلبها من أجل نموه (يازجي وزملاؤها، 2003)، على الرغم من أن هذا الفطر هو من الأنواع التي يعرف أنها تنتشر في الربيع والصيف في بعض الدول الأوروبية في مناطق الغابات المتساقطة الأوراق الرطبة خاصة على جذوع الصفصاف والحور، وأحياناً في الأماكن المشبعة بالماء أو على الخشب المغمور بالماء (Romagnesi, 1962).

لوحظ نمو الفطر المدروس بشكل رمي على جذوع الأشجار وعلى التربة المجاورة لها والتربة البعيدة قليلاً والغنية بالبقايا النباتية، وهذا يتوافق مع Neville and Chevassut (2000) الذي وجد أن *L. Tigrinus* هو فطر رمي شائع، ينمو بشكل مفرد أو بشكل مجموعات (باقات) في الأماكن الرطبة، على جذوع أشجار الصنوبر الميتة، أو بجانب قواعد هذه الأشجار، أو حتى على الترب الكلسية الحمراء، وهو من الفطريات الصالحة للاستهلاك الغذائي بشكل جيد، فقط عندما يكون فتياً، لكن بعد ذلك يصبح جلدياً قاسياً لا يمكن استهلاكه.

1- دراسة الصفات المورفولوجية والمجهرية للفطر *L. Tigrinus*:

القبعة: تراوح قطرها في العينات المدروسة بين 2 – 13 سم وهي دائرية، محدبة في البداية، تصبح مسطحة، ثم مقعرة بشكل القمع عند النضج، حوافها منثنية عندما يكون الفطر فتياً، ثم تلتف نحو الداخل بشكل كبير، وتتشقق أطرافها عند بعض العينات وذلك عندما يصبح الفطر ناضجاً. يغطي القبعة في الأفراد الفتية جداً، ألياف كثيفة مخملية

بنية داكنة، وبعد النضج تصبح القبعة بيضاء أو شاحبة، لماعة، تغطيها حراشف ليفية بنية أو سوداء تصبح هذه الأخيرة في النهاية ناعمة مبعثرة على سطح القبعة (صورة رقم 1).

الصورة رقم (1) الفطر *Lentinus Tigrinus*

الحامل: طوله من 4 – 5 سم ثخانته من 3– 4 مم، مركزي أو جانبي التوضع، مصمت، قاسٍ جداً، مع وجود بعض النقاط التي لا يمكن قطعها بسهولة، متموج قليلاً، أبيض اللون خاصةً من الناحية العلوية، يغطيه من الناحية السفلية حراشف صغيرة حبيبية بنية داكنة تصبح مبعثرة عند نهاية النضج.

النسيج: أبيض اللون، رقيق، لحمي في البداية، ثم يصبح قاسياً متماسكاً في الأفراد الناضجة جداً، وهذا ما يبرر عدم قابليته للاستهلاك الغذائي بعد مرحلة النضج، حيث يصبح غير مستساغ بسبب القساوة التي يتمتع بها (Romagnesi, 1962).

الصفائح: بيضاء اللون، أو باهتة مصفرة، كثيفة جداً، منحدرة على الحامل بشكل كبير، تصبح حوافها مسننة قليلاً في الأفراد الناضجة.

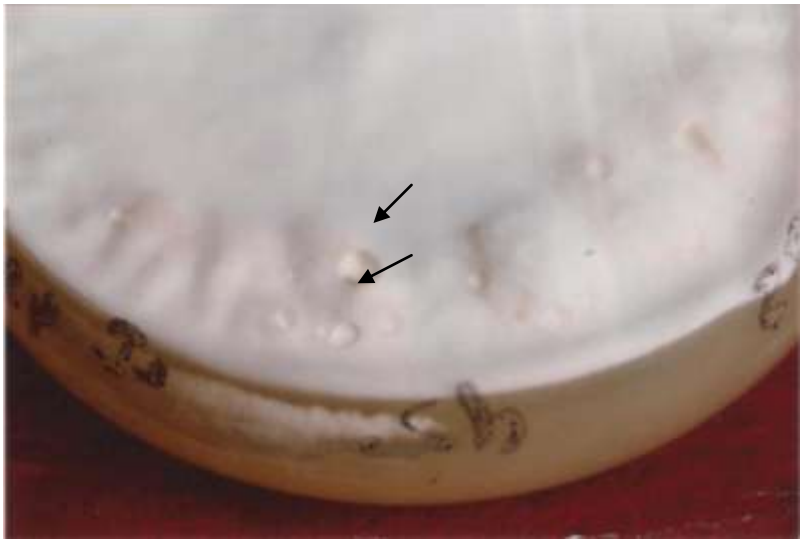
الأبواغ: بيضاء اللون، أو شاحبة قليلاً، بيضوية ملساء، أبعادها من 2.4 – 3.6 ×4.8 – 10 ميكرون

البصمة البوغية: بيضاء.

2– دراسة الزراعات الفطرية وتشكل بداءات الأجسام الثمرية وتطورها:

بينت النتائج قدرة الفطر *L. Tigrinus* المدروس، على النمو الإعاشي على جميع الأوساط المستخدمة، عند الدرجة 25 م°. ويكون النمو على هذه الأوساط متماثلاً تقريباً في البداية، حيث يبدأ اعتباراً من اليوم الثالث للزراعة، ويكون سريعاً جداً وذلك بالنسبة للزراعات من الأبواغ أو من نسيج القبعة، وتغطي المشيجة كامل سطح الطبق (قطره 9سم) بعد أسبوع من الزراعة، وتكون بيضاء اللون ولا تعطي صباغاً في الوسط، ثم تصبح ذات مظهر قطني أو لبادي ناعمة، كثيفة وغزيرة جداً، ثم تتطور الزراعات في الأسبوع الثاني بأشكال مختلفة، وذلك باختلاف الأوساط.

2- 1- الزراعة على وسط P.D.A: يبدأ تشكل بداءات الأجسام الثمرية بعد 9 أيام من الزراعة (سواءً في زراعات الأبواغ أو نسيج القبعة) وتبدو الخيوط الفطرية في هذه المرحلة مجتمعة على بعضها بشكل كبير، وتعطي كتلاً واضحة في مناطق تشكل البداءات الثمرية على أطراف المستعمرات بشكل أساسي، مع بدء إفراز مادة هلامية لزجة بشكل قطيرات (صورة 2).



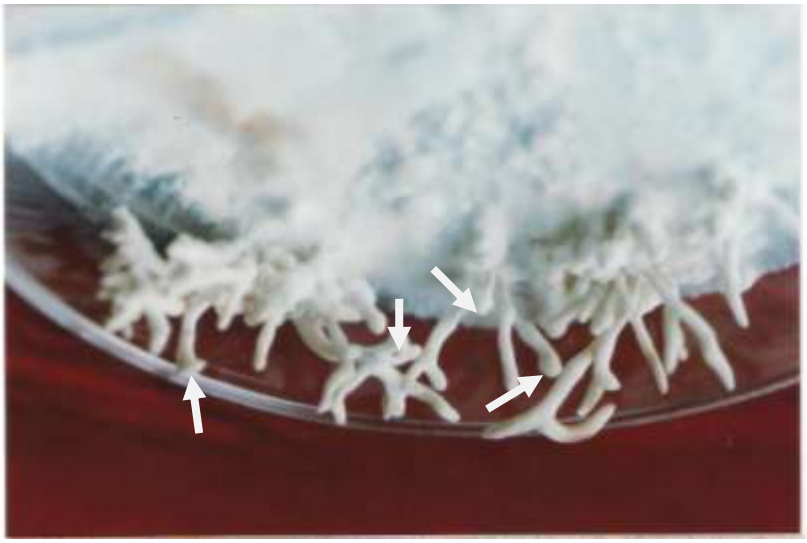
صورة رقم (2) إفراز القطيرات الهلامية

تكون البداءات بشكل كتل زغبية بيضاء اللون، سطحها وبري ناعم، وتأخذ أحجاماً مختلفة، ثم تنمو نحو الأعلى، ويعطي بعضها نهايات علوية عريضة أو متضخمة (صورة 3)، والبعض الآخر تستمر في الأستطالة بشكل أفرع أو سويقات، يصل بعضها إلى حوالي 2 سم في الارتفاع (صورة 4).

صورة رقم (3) النهايات المتضخمة لبداءات الأجسام الثمرية.

صورة (4) نمو البداءات الثمرية بشكل أفرع متطاولة نحو الأعلى.

تتشكل قبعات صغيرة على بعض الأفرع وذلك بعد 15 يوماً من الزراعة ، في حين تبقى بعض الأفرع الأخرى بشكل سويقات متطاولة ذات نهايات مستدقة (صورة 5)، وفي جميع الحالات تبقى هذه الأجسام الثمرية فتية، ولا تتطور إلى مرحلة أكثر من ذلك، ولم تعط أجساماً كاملة النضج.



صورة رقم (5) بدء تشكل قبعات صغيرة على بعض البداءات الثمرية بعد 15 يوماً من النمو.

والجدير بالذكر أنه عند إعادة زراعة المشائج النامية أو البداءات الناتجة عنها، على الوسط ذاته، في أرلنماير، فإنها لا تعطي سوى البداءات فقط (صورة 6)، وقد يكون ذلك بسبب عدم وجود بعض المواد الغذائية الضرورية أو عدم ملاءمة الوسط المغذي لإتمام مرحلة النضج بالكامل، أو قد تكون هذه البداءات بحاجة إلى بعض المتممات الغذائية التي لا بد من إضافتها إلى الوسط من أجل الوصول إلى نهاية مرحلة التطور، هذا وقد بين Couvy (1973) أن محتوى الوسط من السكريات يمكن أن يغير من الفترة اللازمة لبدء تشكل البداءات الثمرية عند الفطر *Agaricus sylvicola* بحيث تزداد هذه المدة بازدياد محتوى الوسط من السكريات، وهذه الأخيرة تحرض على النمو الإعاشي بكثافة وتؤخر ظهور البداءات الثمرية، ولكن عندما يحدث الإثمار بشكل مبكر على وسط يحوي نسبة قليلة من السكر

فإن البداءات المتشكلة تتوقف عن النمو قبل إتمام نضجها، وقد توافقت دراستنا هذه مع نتائج Couvy حيث لاحظنا أن البداءات الثمرية بدأت بالتشكل بشكل مبكر (بعد 9 أيام) وذلك بعد نمو سريع وكثيف للمشيجة.

صورة رقم (6) تشكل بداءات الأجسام الثمرية اعتباراً من زراعة مشيجة الفطر

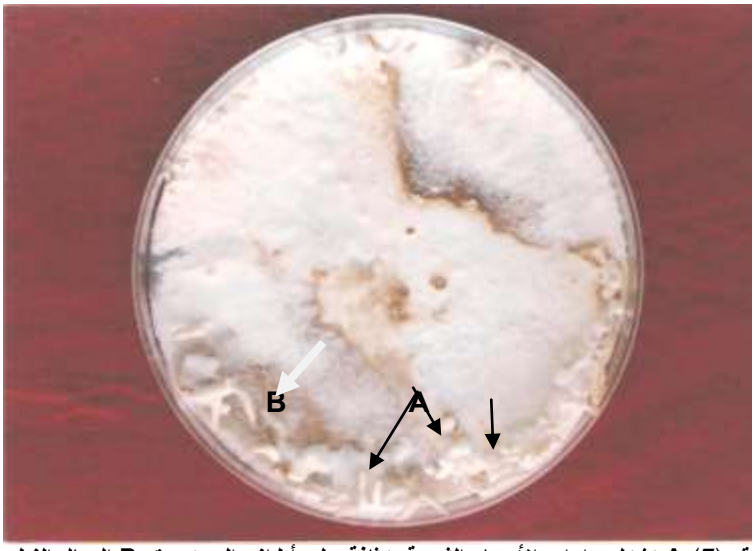
إن شروطاً بيئية أخرى مثل إضافة بعض المتممات الغذائية الأخرى أو وجود الضوء يمكن أن يكون لها دورٌ هام في عملية الإثمار والنضج أيضاً، وهذا ما بينه Croan و Ho-kim (1997) حيث لاحظا أن الضوء كان ضرورياً من أجل تشكيل الأجسام الثمرية لدى كل من *Flammulina velutipes* و*Schizophyllum commune* و*Trametes versicolor* المزروعة على وسط P. D. A والنمو يكون إعاشياً فقط في الظلام.

كما بينا أن النوع *T. versicolor* يشكل بداءات الأجسام الثمرية فقط التي تظهر بشكل كتل زغبية من المشيجة في حين يشكل النوع *S.commune* أجساماً ثمرية غير طبيعية مختلفة الأحجام على الوسط P. D. A بعد 8 أسابيع من الزراعات التي نقلت بشكل متأخر إلى الظلام، في حين لم يبد أي من النوعين السابقين أي تشكيل لأجسام ثمرية عند إضافة تراكيز عالية من الغلوكوز أو طرطرات الأمونيوم إلى الوسط الزرعي، وقد أكد الباحثان أن تشكل الأجسام الثمرية يتعلق بتركيز الكربون والنتروجين في الوسط ويبدأ تشكلها بعد استنفاذ هذه المركبات منه، أما النوع *F. velutipes* فقد أعطى أجسامه الثمرية على وسط P. D. A أو على الوسط المعدني المضاف له السيللوز بنسبة 2%.

كما أنه وفي أغلب الحالات فإن الآزوت المعدني وأملاح الأمونيوم لا تساعد على تطور الأجسام الثمرية، ولكنها يمكن أن تنشط تشكل البداءات، لكن الأحماض الأمينية ضرورية لإنتاج الثمار الناضجة (Moore *et al.*, 2008).

2- 2- الزراعة على وسط M.E.A:

كانت المستعمرات النامية على هذا الوسط، سواءً من الأبواغ أو من النسيج، مشابهة للمستعمرات النامية على وسط P. D. A خاصة في المراحل الأولى، ويبدأ تشكل بداءات الأجسام الثمرية على أطراف المستعمرات بشكل كثيف جداً حيث تكون المشيجة أقل كثافة مما هي عليه في منتصف المستعمرة(صورة 7)، ويمكن تفسير ذلك بأن أطراف المستعمرات تشتمل على خيوطٍ فطرية فتية نشيطة، على عكس مراكز المستعمرات التي تضم خيوطاً كهلة غير قادرة على الإثمار، وقد توافق هذا مع Moore-landecker (1996) الذي بين أن المنطقة المحيطية الفتية من المستعمرات تكون نشطة جداً وتعد مركزاً لنمو وتشكل أعداداً كبيرة من الثمار الفطرية .



صورة رقم (7) A تشكل بداءات الأجسام الثمرية بكثافة على أطراف المستعمرة، B الحبال الفطرية.

هذا وقد بينت بعض الأبحاث اقتصار ظهور بداءات الأجسام الثمرية وتطورها إلى أجسام ناضجة فقط على أطراف المستعمرات النامية بشكل سريع(Croan and Ho-kim, 1997; Couvy, 1973). وقد عزى Couvy (1973) عدم زيادة حجم البداءات الثمرية النامية على الوسط الصنعي إلى زيادة عدد هذه البداءات في الطبق الواحد، حيث بين أنه عندما تكون البداءات قليلة العدد فإنها قادرة على النمو والتطور وإعطاء القبعات، وهذا ما يؤكد النتائج التي توصلنا إليها وهي عدم وصول البداءات الثمرية للفطر *L. tigrinus* إلى نهاية تطورها كأجسام ناضجة بقبعات طبيعية، حيث لاحظنا تشكلها بأعداد كبيرة جداً وبشكل تجمعات كثيفة فوق بعضها على أطراف الأطباق (صورة 7).

بالإضافة إلى ذلك لا بد من الإشارة إلى أن الأجسام الثمرية للفطريات الدعامية تتشكل على الحبال الفطرية الناتجة من تجمع الخيوط الفطرية مع بعضها مشكلة حبالاً تشبه جذور النباتات الراقية، وهذا ما تم ملاحظته في بعض الأطباق الحاوية على وسط خلاصة المالت والمزروعة بأبواغ الفطر *L. tigrinus* (صورة 7). ولقد بين Jacques-Felix (1968) أن الحبال الفطرية تنمو بسرعة وغزارة على أوساط صنعية تحوي بعض المركبات الطبيعية مثل خلاصة الشعير أو البطاطا، خلاصة الخميرة وغيرها من المواد الطبيعية .

وبمقارنة النمو الإعاشي للفطر *L. tigrinus* المزروع على وسط M.E.A مع النمو الإعاشي لفطريات أخرى زرعت على الوسط ذاته، نستطيع القول أن هذا الفطر ينمو بشكل سريع على هذا الوسط، حيث غَطى سطح طبق بتري قطره 9سم خلال أسبوع فقط بعد بدء الزراعة في حين وجد جهار (2005) أن أنواعاً أخرى من الفطريات القبعية مثل *Russula eccentrica* و*P. Ostreatus* زرعت على الوسط M.E.A ذاته تتطلب 14 يوماً ليكتمل نموها وتعطي مشائج تغطي الطبق كاملاً.

2- 3- الزراعة على وسطي Sabouraud و Lima bean :

يكون النمو في البداية، على كلا الوسطين، سريعاً نوعاً ما، وتتشكل مستعمرة وبرية بيضاء اللون، وبعد أسبوع إلى 10 أيام من الزراعة تصبح المستعمرة قطنية أو لبادية ناعمة كثيفة وغزيرة جداً وتغطي كامل سطح الطبق (9سم)، وهي بيضاء اللون ولا تعطي صباغاً في الوسط. بعد ذلك وعلى وسط Sabouraud تشكل المشيجة طبقة متماسكة مع بعضها بحيث يمكن فصلها بالكامل عن سطح الوسط.

إن جميع هذه المستعمرات ، وعلى كلا الوسطين، لا تشكل بداءات الأجسام الثمرية، وبعد 5 أسابيع من الزراعة تجف وتموت.

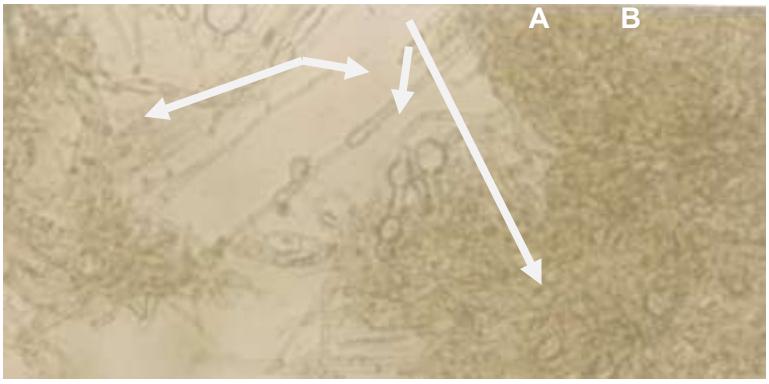
لقد بينت بعض الدراسات أن الوسط Sabouraud مناسب بشكل جيد للنمو المشيجي لبعض الفطريات القبعية التي تنمو على الأخشاب والجذوع حيث بين جهار (2005) أن الفطر *P. ostreatus* وهو من الفطريات المفككة للأخشاب التي تنمو على جذوع العديد من الأشجار المتساقطة الأوراق ينمو بشكل سريع على وسط سابورود ويغطي كامل سطح الطبق (9 سم) بعد أسبوعين من الزراعة.

3- البنية النسيجية لبداءات الأجسام الثمرية:

تم دراسة بنية البداءات الثمرية للفطر *L. tigrinus* عن طريق إجراء مقاطع عرضية في مستويات مختلفة من هذه البداءات، ودراستها بالمجهر الفوتوني.

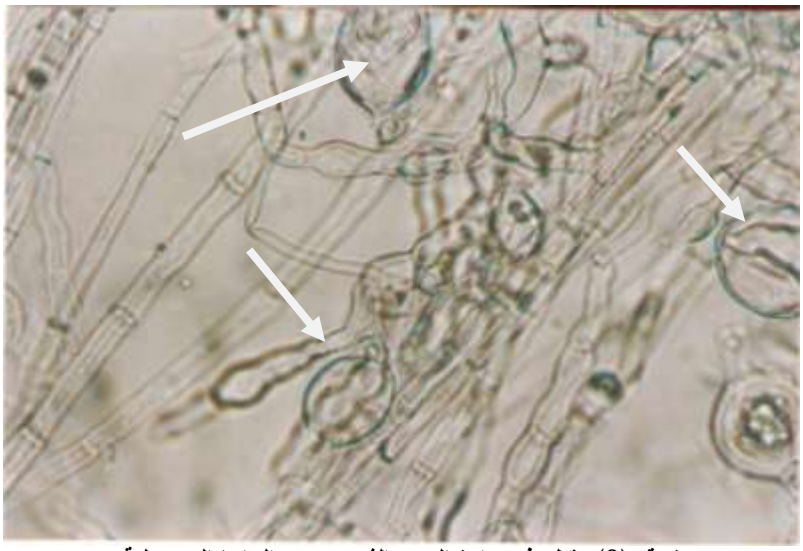
لوحظ وجود أنماط مختلفة من الخيوط الفطرية والخلايا، وذلك تبعاً للمستوى من البداءات الثمرية الذي تم فيه المقطع.

بينت بعض المقاطع وجود خيوط فطرية رفيعة نوعاً ما، متشابكة، وذلك في منتصف المقطع، بالإضافة إلى ظهور بعض الخلايا المتضخمة، وتتميز هذه الخيوط الرفيعة بوجود الوصلات الكلابية (صورة 8) المميزة للمشيجة الديكاريونية عند الفطريات الدعامية، والتي تعد الخلايا الأساسية لتكوين الثمار الفطرية وإعطاء الدعامات.



صورة رقم (8) مقطع في بداءة جسم ثمري Aخيوط فطرية ، B الوصلات الكلابية

كما تبين وجود خيوط فطرية ثخينة من الناحية الخارجية للبداءة الثمرية (محيط المقطع العرضي)، ويظهر على هذه الخيوط خلايا منتفخة ومتضخمة بشكل كبير (صورة 9)، وهي عبارة عن الخلايا الحويصلية التي توجد بكثرة في الغلاف الخارجي العام أو الحراشف المتبقية منه على السطح الخارجي للقبعة أو في الحلقات المحيطة بأعلى الحامل للعديد من ثمار الفطريات الدعامية، وهذه الخلايا الحويصلية التي لاحظناها هنا عند بداءات الفطر *L. tigrinus* تشبه كثيراً الخلايا الحويصلية الموجودة في الحراشف والغلاف العام للفطر *Amanita muscaria* والتي وجدها كلٌ من Neville و Poumart في بحثهما عام 2001 والمتعلق بدراسة مفصلة لهذا النوع والمعايير الدقيقة لتصنيفه والتي تقوم على أساس الصفات المورفولوجية والبيئية.



صورة رقم (9) مقطع في بداءة الجسم الثمري يبين الخلايا الحويصلية

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1- ينمو الفطر *L. Tigrinus* إعاشياً على أوساط عدة مختلفة التركيب(Sabouarud , M.E. A,P.D.A ،Lima bean) ويشكل مشائج كثيفة خلال فترات زمنية قصيرة.

2- يعد الوسطان Sabouraud و Lima bean جيدين فقط من أجل النمو الإعاشي للفطر المدروس.

3- تمكن الفطر المدروس من تشكيل بداءات الأجسام الثمرية ومن ثم ظهور قبعات صغيرة فقط على وسطي P.D.A و M.A .

4- يحتاج الفطر *L. Tigrinus* بعض المواد الطبيعية مثل خلاصة البطاطا أو خلاصة الشعير لتشكيل أجسامه الثمرية.

التوصيات:

1- تجريب عوامل فزيولوجية وأوساط أخرى، أو إضافة متممات غذائية إلى الأوساط الزرعية للحصول على أجسام ثمرية كاملة النضج.

2- دراسة فاعلية خلاصات المشائج أو الأجسام الثمرية الناتجة في الزجاج للفطر *L. tigrinus* ضد بعض الأحياء الدقيقة الممرضة.

3-اختبار قدرة أنواع أخرى من الفطريات القبعية ذات الأهمية الطبية على النمو في الزجاج والحصول على المشائج والأجسام الثمرية.

المراجع:

1- بوادقجي، عبد الحكيم؛ عبد المنعم، أحمد، 2003 – إنتاج الفطر الزراعي الصالح للتغذية *Pleurotus ostreatus* باستخدام مخلفات زراعة القمح ونواتج عصر الزيتون (دراسة نمو مشيجة الفطر وإنتاج الأجسام الثمرية)، مجلة جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية ، العدد 45.

2- جهار، عبد الله ،– عزل أرومات فطرية من أجسام ثمرية فطرية سامة وأخرى صالحة للأكل واختبار قدرتها على إنتاج الصادات الحيوية ضد جراثيم ممرضة فوق الأوساط الأغارية الجامدة، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة حلب، 2005 ، 175.

3- سعود، راميا،– دراسة بيئية تصنيفية للفطريات الكبيرة Macromycetes في بعض مناطق الساحل السوري،رسالة ماجستير في البيئة والتصنيف النباتي، كلية العلوم – جامعة تشرين، 2003 ، 264.

4- سعود، راميا،– مساهمة في دراسة تأثير خلاصات بعض الفطريات القبعية Macromycetes على نمو بعض الأحياء الدقيقة (جراثيم، فطريات) – رسالة دكتوراه في البيئة والتصنيف النباتي، كلية العلوم، جامعة تشرين، 2008 ، 203.

5- يازجي، ميساء؛ المغربي، صباح؛ سعود، راميا. – مساهمة في دراسة التوزع التصنيفي والبيئي للفطريات الدعامية القبعية في بعض مناطق الساحل السوري، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم الأساسية، المجلد (25)، العدد (14)، 2003، 209 – 233.

6- يازجي، ميساء؛ سعود، راميا.– دراسة الفعالية الصادية لثلاثة فطريات دعامية (Basidiomycetes) ضد بعض الأحياء الدقيقة في الزجاج (in vitro). مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (5)، 2007 ، 95 – 110.

7- يازجي، ميساء؛ سعود، راميا،– دراسة الفعالية المضادة للفطريات لخلاصات مختلفة للفطر *Lactarius* sp. تجاه بعض الفطريات الممرضة. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية. المجلد (30) العدد (2)، 2008 ، 91- 104.

8- BECKER, G.,– Champignons, GRUND, Paris, 5^{e} tirage, 1986.223.

9- BJURMAN, J.,– Fruit body formation and basidiosporogensis by the white – rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*. Internat. Res. Group on wood pres., Doc. NO. irg/wp/ 1988 1348.

10- COUVY, J.,– La croissance du mycélium végétative et la Fructi fication chez *Agaricus Silvicola Fries*. Influence de la teneur en Sucre du milieu. C. R. Acad. SC. Paris, t. 277, Série D, 1973,917 – 920.

11- CROAN, S. C., and HIGHLEY, T.L.,– Conditions for carpogenesis and basidiosporogenesis by the brown-rot basidiomycete *Gloeophyllum trabeum*. Material u. Organismen , Vol. 27(1), 1991,1-9.

12- CROAN, S.,and HO KIM, Y., 1997 – Carpogenesis and basidiosporo genesis by *Flammulina velutipes*, *Schizophyllum commune*, and *Trametes versicolor* in vitro.Mater.Org.1997,1-16.
13- DABA, A. S., and EZERONYE, O. U., 2003 – Anti – cancer effect of polysaccharides isolated from higher mushrooms. African. J. biotech. Vol. 12, p. 672 – 678.
14- DIGH, S., and AGATE, A. D.,– Antibacterial activity of Some Indian mushrooms. Int. J. Medi. Mush. Vol. 2, 2000, 141 – 150.
15- FAN, L., PAN, H., SOCCOL, A. T., PANDY, A., and SOCCOL, C. R.,– Advances in mushroom research in The last decade, Biotechnology, vol. 44 (3), 2006,303 – 311.
16- GEZER, K., DURU, M., KIVRAK, ., TURKOGLU, A., MERCAN, N., TURKOGLU, H., and GULCAN, S.,– Free – radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey. AFr. J. Biotech . Vol. 5 (20), 2006, 1924 – 1928.
17- HASSEGAWA, R. H., KASUYA, M. C. M., and VANETTI, M. C.,– Growth and antibacterial activity of *Lentinula edodes* in liquid media Supplemented with agricultural wastes. Microbial Biotechnology, Vol. 8 (2), 2005.
18- HIRASAWA, M., SHOUJI, N., NETA, T., FUKUSHIMA, K., TAKADA, K.,– Three Kinds of antibacterial substances from *lentinus edodes* (berk) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). Int. J. Antim. Age. Vol. 11, 1999, 151 – 157.
19- HOSHINO,T., MATSUMOTO, N., TERAMI,F., TKACHENKO, O. B., and TOJO, M.,– Mycelial growth of snow molds under Freezing conditions. Cryobiology, Vol. 59, issue 3, 2009, 388
20- ITONORI, S., AOKI, K.., and SUGITA, M.,– Glycosphingolipids in edible Fungi and Their biological Activities, Foods ingredients, J.Jph., vol . 209 (3), 1, 2004.
21- JACQUES – FELIX, M.,– Recherches Sur la morphologie et la morphogenèse des rhizomorphes et des télépodes de quelques champignons Supérieurs Bull. Soc. Myc. Fr. vol. 84(2), 1968,161 – 307.
22- JONATHAN, S. G., and FASIDI, I. O ., 2003 – Antimicrobial activities of two Nigerian edible macro Fungi – *lycoperdon pusilum* (Bat. Ex) and *lycoperdon giganteum* (pers). Afri. J. Biomed. Res. Vol.6 , , 85 – 90.
23- JONATHAN, S. G., and FASIDI, I . O.,– Antimicrobial activities of some Selected Nigerian mushroome. Afri. J. Biomed. Res. Vol. 8(2), 2005, 83 – 87.
24- KIM, S. W., PARK, S.S., MIN, T. J., and YU, K. H.,– Antioxidant activity of ergosterol peroxide (5,8 – Epidioxy – 5α , 8α – ergosta – 6,22 E – dien – 3β – ol)in *Armillariella mellea*. Bull. Korean chem.. Soc. Vol. 20 (7), 1999 , 819 – 823.
25- KOPE, H. H., and FORTIN, J. A.– Antifungal activity in culture filtrates of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* Can. J. Bot. Vol. 68. , 1990, 1254 – 1259.
26- LEATHAM, G. F., and STAHMANN, M.A.,– Effect of light and aeration on fruiting of *lentinula edodes*. Trans. Brit. Mycol. Soc. Vol. 88(1), 1987, 9 – 20.
27- LINDEQUIST, U., NIEDERMEYER, T. H. J., and JULICH, W. D.,– The pharmacological potential of Mushrooms. e CAM, Vol. 2(3), 2005, 285 – 299.
28- LOISEAU, J.,– Chercheur de champignons vol I. Les champignons Supérieurs à Lames: agaricales et astérosporales, vigot freres, Paris 6^{e}., 1975,1-309.
29- MERCAN, N., DURU, M. E., TURKOGLU, A., GEZER, K., KIVRAK, I., TURKOGLU, H.,– Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extract from *lepista nuda* (BULL.) cooke annals of microbiology, vol . 56 (4), 2006, 339 – 344.

30- MIZUNO, M., KAWAKAM, S., HASHIMOTO, T., ASHIDA, H., and MINATO, K. I.,– Antitumor Polysaccharides from edible and medicinal Mushrooms and immunomodulating action against Marine macrophages . I . J. Medicinal mushrooms, vol. 3, 2001, 355 – 360.

31- MOORE – LANDECKER, E.– Fondamentals of the Fungi. Prentice – Hall, Inc . New Jersey, 4 th ed., 1996,1-574.

32- MOORE, D., GANGE, A. C., GANGE, E. G., and BODDY, L.,– Fruit bodies: their production and development in relation to environment. 2008

In: BODDY, L., FRANKLAND, J. C., and VAN WEST, P., - Ecology of saprotrophic Basidiomycetes. The British Mycological Society, Elsevier, Academic Press, 79 – 103.

33- NEVILLE, P., CHEVASSUT, G., - comestibilité et toxicité des champignons. Annales de la F. A. M. M., N 5, 2000, 1- 106.

34- NEVILLE,P., et POUMART, S.,– Etude Sur les variation Européennes du complexe D *'Amanita muscaria'* Bull. Soc. Mycol. Fr., vol. 117(4), 2001,27 – 381.

35- NONIS, U.,– Mushrooms & toadstools, a colour Field guide. David and Charles, London. 1982

36- OKAMOTO, K., CHIMORI, M., IWANAGA, F., HATTORI, T., and YANASE, H., - Production of y-lactones by the Brown-Rot basidiomycete *Piptoporus soloniensis* . J. bioscience and bioengineering, vol. 94(2), 2002, 182 – 185.

37- PACUMBABA, R. P., BEYL, C. A., and PACUMBABA, R. O., - Shiitake Mycelial Leachate Suppresses growth of Some Bacterial species and symatoms of Bacterial Wilt of tomato and Lima Bean in vitro. Plant Disease, vol. 83 (1), 1999, 20 – 23.

38- POUCHERET, P., FONS, F., and RAPIOP, S.,– Biological and pharmacological activity of higher Fungi: 20 – year retrospective analysis. Mycologie, vol. 27 (4), 2006, 311- 333.

39- ROMAGNESI, H.,– petite atlas des champignons Tome I – II. Bordas, France, Paris. 1962

40- ROSA, L. H., MACADO, K. M. G., JACOB, C. C., CAPELARI, M., ROSA, C. A., and ZANI, C. L.,– Screening of Brazilian Basidiomycetes for antimicrobial activity. Mem. Inst. Oswaldo cruz, rio de janeiro, vol. 98(7), 2003, 967 – 974.

41- TURKOGLU, A., KIVRAK, I., MERCAN, N., DURU, M., GEZER, K., and TURKOGLU, H.,– Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* pers Afri. J. Biotechn, Vol. 5(11), 2006, 1146 – 1150.

42- WASSER, S.P.,– Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol 60 , 2002, 258 – 274.