Effect of adding Honey to the medium of Malt Agar on the growth of the mycelium of the mother culture of *Agaricus bisporus*.

Dr. Jihan Motawaj*
Dr. Riad zidan**
Dr. Hegazi mando***
Samaher Ibrahim****

(Received 20 / 1 / 2024. Accepted 23 / 4 /2024)

□ ABSTRACT □

The research was carried out in the Stemerkho facility for the production of agricultural mushrooms during 2022-2023 ,and included five treatments: control (without adding honey), adding honey at concentrations of 15, 20, 25, 30 ml/l to the malt agar (MEA) medium, with the aim of studying its effect on the growth of the mycelium of the mother culture, The research was carried out using a completely randomized design. The results of the average repetition of the experiment twice in a row in the years 2022-2023 showed that all honey addition treatments were superior to the control in terms of the start date of mycelium growth, the time required for its complete growth, growth speed, and growth coefficient.

In terms of the diameter of the fungal colony, the treatment of adding honey with a concentration of 20 ml/l was superior to the honey treatment with a concentration of 15 ml/l, and the diameter reached (74.9, 68.7) mm and in turn, it was superior to the two honey treatments with a concentration of 25 ml/l and 30 ml/l, and the diameter reached (63.9, 64) mm, respectively. All of them exceeded the witness, which had a diameter of 52.2 mm.[1]

Keywords: agricultural mushrooms, honey, supporting the mother farm, growth speed, growth coefficient.

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

*** Researcher - General Organization for Seed Multiplication , lattakia - Syria**
****Professor, Department of Horticulture, -faculty of Agricultural Engineering, Tishreen University Lattakia, Syria.**
*****Researcher- National Commission for Biotechnology (NCBT), Damascus, Syria.**
******Postgraduate student (PhD), Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Engineering, Tishreen University, Lattakia, Syria**

تأثير إضافة العسل إلى وسط المالت آجار في نمو مشيجة المزرعة الأم للفطر الزراعي (*Agaricus bisporus*)

د. جهان متوج*

د رياض زيدان**

د. حجازي مندو***

سماهر ابراهيم****

(تاريخ الإيداع 20 / 1 / 2024. قبل للنشر في 23 / 4 / 2024)

□ ملخّص □

نفذ البحث في منشأة ستمرخو لإنتاج الفطر الزراعي خلال عامي 2022-2023، وتضمن خمس معاملات : شاهد(بدون إضافة العسل)، إضافة العسل بتراكيز 15 ، 20، 25، 30 مل/ل إلى وسط المالت آجار (MEA)، بهدف دراسة تأثيرها في نمو مشيجة المزرعة الأم، واتبع في تنفيذ البحث التصميم العشوائي الكامل.

أظهرت نتائج متوسط تكرار التجربة مرتين متتاليتين في العامين2022-2023 تفوق كافة معاملات إضافة العسل على الشاهد بموعد بدء نمو المشيجة، والمدة اللازمة لاكتمال نموها، وسرعة النمو، ومعامل النمو .

أما من حيث قطر المستعمرة الفطرية فقد تفوقت معاملة إضافة العسل تركيز 20مل/ل على معاملة العسل تركيز 15 مل/ل وبلغ القطر (74.9، 68.7) مم وبدورها تفوقت على معاملتي العسل تركيز 25مل/ل و 30مل/ل وبلغ القطر (63.9، 64) مم على التوالي وجميعها تفوقت على الشاهد الذي بلغ القطر فيه 52.2 مم.

الكلمات المفتاحية: الفطر الزراعي، العسل ، تدعيم المزرعة الأم، سرعة النمو ، معامل النمو.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

*باحثة – المؤسسة العامة لإكثار البذار، اللاذقية ، سورية

**أستاذ، قسم البساتين، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

***باحث – الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية.

**** طالبة دكتوراة، قسم البساتين، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

مقدمة:

تنتشر زراعة الفطر في أكثر من 150 دولة في العالم، وتتركز بشكل أساسي في دول أوربا، وأمريكا الشمالية ودول شرق آسيا، وتشير إحصائيات المنظمة العالمية للأغذية والزراعة (FAO)أن الصين تحتل المركز الأول في العالم من حيث كمية إنتاجه يليها الولايات المتحدة الأمريكية، ويعتبر الفطر في أمريكا الشمالية المحصول الاقتصادي الرابع من محاصيل الخضار بعد البطاطا، والبندورة والخس إذ بلغت قيمة الإنتاج 841 مليون دولار عام 2008 (Economic Research Service USDA.2008). للفطر الزراعي أهمية كبيرة نظراً لمردوده الاقتصادي المرتفع ،وقيمته الغذائية العالية ، واستخداماته الطبية بالإضافة إلى دورة حياته السريعة، وإمكانية إنتاجه على مدار العام، ويعود ارتفاع قيمته الغذائية لاحتوائه على نسبة عالية من البروتين النباتي الذي يحتوي على معظم الأحماض الأمينية الضرورية لجسم الإنسان، كما أن بروتيناته تشابه بروتينات اللحم الحيواني من حيث النوعية، بينما تأتي بالمرتبة الثالثة بعد اللحم والبيض من حيث الكمية(موصلي، 2002) Royes and Schisler, 1980;. تحتوي كل 100 غرام من الفطر الزراعي الطازج على حوالي 90 غ ماء و 3–6 % بروتينات و 3–5 غ كربوهيدرات ، ويعتبر الفطر من الوجبات الغذائية سهلة الهضم ومنخفضة الطاقة حيث تعطي كل 100 غ وزن طازج منه طاقة تقدر بحوالي 27 كالوري (Bubnova and Shalachova, 1987). البيئة هي الوسط الغذائي الذي يستخدم في الإكثار الدقيق (زراعة الأنسجة) التي ينمو عليها أجزاء النبات المختلفة المزروعة بهدف الحصول منها على نموات جديدة ، ومن أهم مقومات البيئة احتوائها على الكربون كمصدر للطاقة، والأحماض الأمينية التي تعتبر مصدراً هاماً للآزوت في بيئة الإكثار الدقيق. (محمد وآخرون.2011). تحتاج الفطريات متطلبات غذائية خاصة لنمو الميسليوم بالشكل الطبيعي وتضم عوامل داخلية وخارجية منها درجة الحرارة والرطوبة و ال PH ومصادر الكربون والنتروجين التي تعتبر عناصر ضرورية لاغنى عنها في إكثار ميسليوم الفطر الزراعي ونموه، وتحسين انتاجه(Lilliskov *et al.*,2002; Yassen *et al*,2013; Daza *et al* 2016). يتكون العسل من الرحيق وحبوب الطلع والمواد السكرية التي تجمعها عاملات النحل، وتجرى عليه بعض التحورات قبل تخزينه وذلك بفعل الإنزيمات وتبخير نسبة كبيرة من الماء ليتحول معظم سكر السكروز إلى سكريات بسيطة هى الفركتوز والجلوكوز، وتتراوح نسبة الرطوبة فى العسل الناضج بين 14–18% من وزنه، ويحتوي العسل على حوالى 15 نوعاً من السكريات ويشكل سكر الجلوكوز النسبة الأكبر إضافة إلى سكريات الفركتوز والمنوز والجلاكتوز والريبوز والكريلوز والارابينوز مما يجعله مادة عذائية هامة جداً للتغلب على كثير من الأمراض التي تصيب الانسان، كما يحتوي العسل على البروتينات و بعض الأحماض الأمينية الهامة، والتى يكون مصدرها الرحيق وحبوب اللقاح وبعض الإنزيمات وقليلا من الغذاء الملكى ،وكلها من المواد الهامة جداً للجسم.(محمد وآخرون،2011)

يعد السكروز المضاف إلى الأوساط المغذية في زراعة الأنسجة مكون هام من مكونات تلك الأوساط كونه مصدر للتغذية الكربونية ومصدر للطاقة في الوسط الغذائي، كما يعمل على تنظيم امتصاص الماء بواسطة الخليةAhmed) . *al.*,1995.Zryd,1988)

أوضح (زكي والفقي 1996)، أن كفاءة استخدام السكروز والفركتوز بواسطة النسيج المزروع أعلى من استخدام الفركتوز فقط، وعند إضافة السكروز للوسط الغذائي فإنه سرعان ما يتحول إلى جلوكوز وفركتوز.

يضاف العسل كمكمل غذائي لأوساط الزراعة المختلفة لتحفيز نمو الفطريات وذلك لأنه يحوي الجلوكوز والفركتوز كمصدر للكربون اللازم لانقسام واستطالة الخلايا، والأحماض الأمينية كمصدر للآزوت العنصر الأساسي في النمو،

إضافة إلى الفيتامينات التي تلعب دوراً هاماً في كافة العمليات الفيزيولوجية داخل الخلايا النباتية. (Stanley *et al*., 2013). وفي هذا السياق وجد محمد وآخرون (2011) أن إضافة عسل قصب السكر (مولاس)، والسكريات بتراكيز مختلفة إلى وسط نشارة الخشب الرطبة وتأثير ذلك في نمو ميسليوم الفطر المحاري وانتاجه، وأظهرت النتائج أن إضافة عسل المولاس بمعدل 2 مل لكل كيلو غرام من نشارة الخشب الرطبة أعطت أعلى انتاجية وخلال فترة قياسية 2 أسبوع، ويعود ذلك لاحتواء مولاس القصب على الكربوهيدرات كمصدر للكربون إضافة إلى احتوائه على البروتينات والأحماض الأمينية التي أدت إلى تحسين نمو ميسليوم الفطر وزيادة كمية الإنتاج. وجد: (Stanley *et al*., 2013) أن إضافة العسل بمعدل 25 مل على وسط الزراعة أعطى أعلى نمو لميسليوم الفطر الزراعي وبلغ 12.14 مم/يوم وكان أقل نمو فطري 2.43 مم/يوم في الشاهد.

بين(Rai and Tewari., 2016) أن إضافة نترات الصوديوم كمصدر نتراتي للآزرت إلى وسط زراعة ميسليوم الفطر بمعدل 985 ملغ/ل وإضافة العسل كمصدر كربوهيدراتي بتركيز 3% أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية وزيادة سرعة نمو الميسليوم للسلالة المحلية المدروسة للفطر

أهمية البحث وأهدافه:

تواجه زراعة الفطر *Agaricus bisporus* العديد من المعوقات أهمها عدم كفاية البذار المنتجة محلياُ وطول المدة الزمنية اللازمة لإنتاجه حيث يتم تأمين جزء من كمية البذار محلياً ويتم استيراد الجزء الآخر بالعملة الصعبة وبأسعار مرتفعة جداً، إضافة إلى ضرورة نقله جواً وبظروف مبردة مما يؤدي إلى زيادة التكاليف وتعرضه أحياناً للتلف أثناء النقل والتخزين.

ورغبة في تطوير وتشجيع زراعة الفطر كان لابد من البحث عن طرق علمية تساهم في تسريع عملية انتاج بذار الفطر بكافة مراحلها مع الحفاظ على النوعية الجيدة للبذار ، ونظراً لقلة الدراسات السابقة عن تأثير إضافة العسل إلى وسط المالت في نمو وإنتاج مشيجة الفطر الزراعي ، تم تنفيذ هذا البحث لدراسة تأثير إضافة العسل إلى وسط زراعة وإنتاج الميسليوم، وهدفت هذه الدراسة إلى:

زيادة سرعة نمو مستعمرة مشيجة الفطر وتخفيض المدة اللازمة لاكتمال نموها تحت تأثير إضافة العسل إلى وسط المالت آجار في مرحلة المزرعة الأم .

طرائق البحث ومواده:

1-السلالة المدروسة:

استخدم في تنفيذ البحث بذار سلالة الفطر (STM3) إنتاج منشأة ستمرخو لإنتاج الفطر وهي سلالة ذات ثمار متوسطة الحجم، عالية الإنتاج ،القبعة ذات لون أبيض، وناعمة ومستديرة ، مرغوبة جداً للاستهلاك الطازج الشكل (1).

شكل (1) الجسم الثمري للسلالة STM3

2- مكان تنفيذ البحث:

نفذ البحث في مخابر منشأة ستمرخو لإنتاج الفطر الزراعي (قرية ستمرخو الواقعة بضواحي اللاذقية) خلال شهري أيار وحزيران في العامين 2022-2023.

3- معاملات البحث: شمل البحث المعاملات التالية:

1- T1: (وسط المالت آجار بدون إضافة العسل)2- T2 : إضافة العسل إلى وسط النمو بتركيز 15 مل/ل

3 – T3 : إضافة العسل إلى وسط النمو بتركيز 20 مل/ل

4 –T4 : إضافة العسل إلى وسط النمو بتركيز 25 مل/ل

5- T5 :إضافة العسل إلى وسط النمو بتركيز 30 مل/ل

4- القراءات المأخوذة:

تم أخذ القراءات التالية:1- موعد بدء نمو المشيجة على الأوساط المغذية (يوم).

2- قطر المستعمرة النامية (مم). على الأوساط المغذية بواسطة مسطرة مدرجة خلال 21 يوم بدءاً من موعد التلقيح.

3- مدة اكتمال نمو المشيجة على الأوساط المغذية بدءاً من موعد بدء نمو المشيجة.

4- سرعة النمو (مم/يوم) ويتم قياسها وفق المعادلة التالية:

سرعة النمو= قطر المستعمرة(مم)/عدد الأيام اعتباراً من بدء نمو المشيجة حتى اكتمال النمو.

5- معامل النمو: يحسب باستخدام المعادلة التالية:

$$GC=d.g.h/t$$

d قطر المستعمرة الفطرية (مم).

g كثافة المستعمرة (1:قليلة الكثافة،2 :متوسطة الكثافة، 3:كثيفة)

h ارتفاع المستعمرة (مم)

t عمر المستنبت الفطري (يوم)

وتصنف الفطور اعتماداً على قيمة معامل النمو إلى:

فطور بطيئة النمو إذا تراوحت قيمة معامل النمو بين 20-40

فطور متوسطة النمو إذا تراوحت قيمة معامل النمو بين 45-70

فطور سريعة النمو إذا تراوحت قيمة معامل النمو بين 70-95.

5- مواد وطرائق العمل:

استخدم في تنفيذ البحث عسل الحمضيات الذي يحتوي على حوالي 80% سكريات أهمها سكر الفركتوز والجلوكوز اللذان يشكلان حوالي 95% من إجمالي كمية السكريات بالإضافة إلى السكروز والسكريات المعقدة والفيتامينات والأملاح المعدنية وأحماض أمينية وعضوية وخمائر وأنزيمات.

يعتبر تحضير الوسط المغذي المناسب لنمو المشيجة الفطرية الخطوة الأولى في انتاج بذار الفطر، بحيث يجب أن يحتوي هذا الوسط على مادة كربوهيدراتية، ومادة آزوتية بالإضافة إلى مادة جيلاتينية (Agar) لتصلب الوسط المغذي (الياس،2008). وفي هذه التجربة تم تحضير الوسط المغذي مالت آجار(MEA) بإضافة 20 غ مالت و 20 غ آجار و 2 غ خميرة لكل 1 ليتر، مع إضافة العسل (15، 20، 25، 30) مل/ل، وكمل الحجم بالماء المقطر حتى 1 ليتر لكل معاملة، و ضبطت حموضة الوسط عند الدرجة PH=7 بمعايرتها باستخدام محلول ماءات البوتاسيوم (KOH) (Stamets and Chilton, 1983) وعقمت الأوساط المغذية في الأوتوغلاف على درجة حرارة 121° م لمدة نصف ساعة وضغط جوي 1 بار، ثم وزعت في أطباق بيتري (قطر 9 سم) بمعدل 25 مل/طبق .

في مرحلة استنبات المزرعة الأم تم انتخاب أجسام ثمرية صغيرة من السلالة المستخدمة (STM3) بعمر 24 ساعة قبل تمزق الغشاء الفاصل بين القبعة والساق ثم طهرت سطحياً بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم تركيز 0.5 % لمدة 5 دقائق (Booth, 1971) ونقلت إلى الماء المقطر المعقم لمدة دقيقتين للتخلص من بقايا محلول التعقيم، وجففت على ورق نشاف، ثم قطعت طولياً ، وأخذت خزعتين صغيرتين من كل ثمرة(القطعة مكعبة الشكل طول ضلعها 5 مم) تقريباً من منطقة اتصال الساق بالقبعة (Oie, 2003) ، وزرعت في منتصف الطبق (Stamets and Chilton, 1983)

وأحكم إغلاق الأطباق للتقليل من فرص التلوث ، وتسهيل التعامل معها لتفادي فتحها ،والتقليل من التبخر، ووضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 24 ± مْ، وتم أخذ القراءات المطلوبة لمدة شهر كامل.

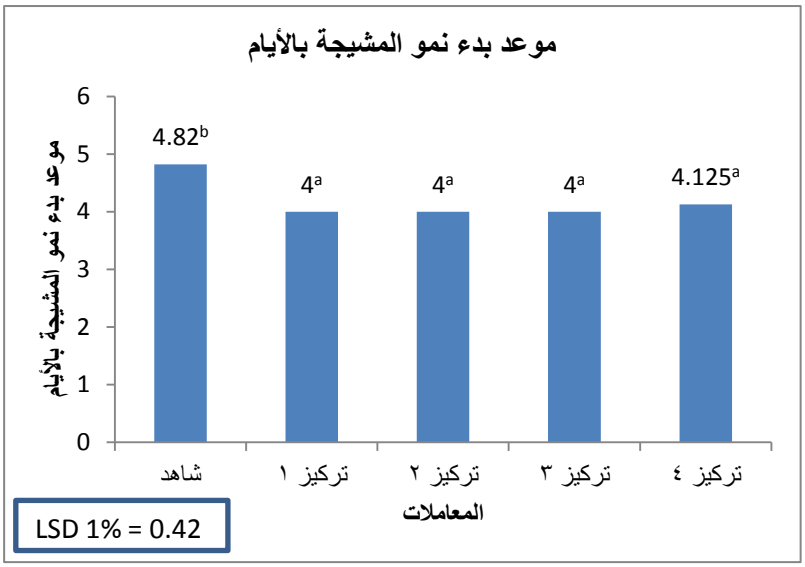
تصميم البحث والتحليل الإحصائي:

نفذت التجربة وفق تصميم الكامل العشوائية وضمت كل تجربة 5 معاملات وبأربعة مكررات لكل معاملة ولكل مكرر عشرة أطباق بيتري ، وحللت النتائج احصائياً باستخدام برنامج GENSTAT 12 ، وجدول تحليل التباين ANOVA، وحساب قيمة LSD عند مستوى معنوية 1% .

النتائج والمناقشة:

1-تأثير إضافة العسل في متوسط موعد بدء نمو مشيجة المزرعة الأم G0:

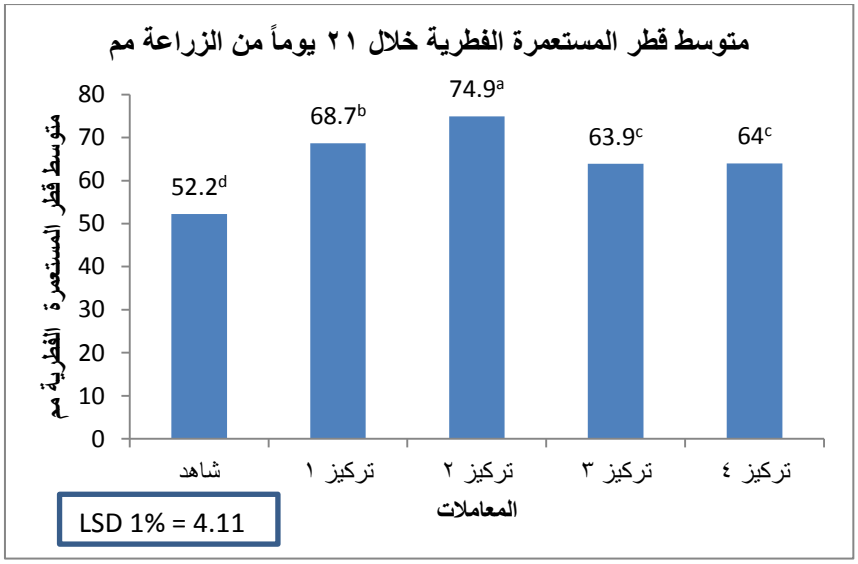
2- أظهرت النتائج أن موعد بدء نمو المشيجة في معاملات العسل كان أبكر من الشاهد حيث بلغ المتوسط 4، 4، 4، 4.125 يوم في معاملات العسل 15، 20، 25، 30 مل/ليتر على التوالي، ولم تكن الفروق معنوية بين هذه المعاملات في حين بلغ الموعد في الشاهد 4.82 يوم شكل (2).



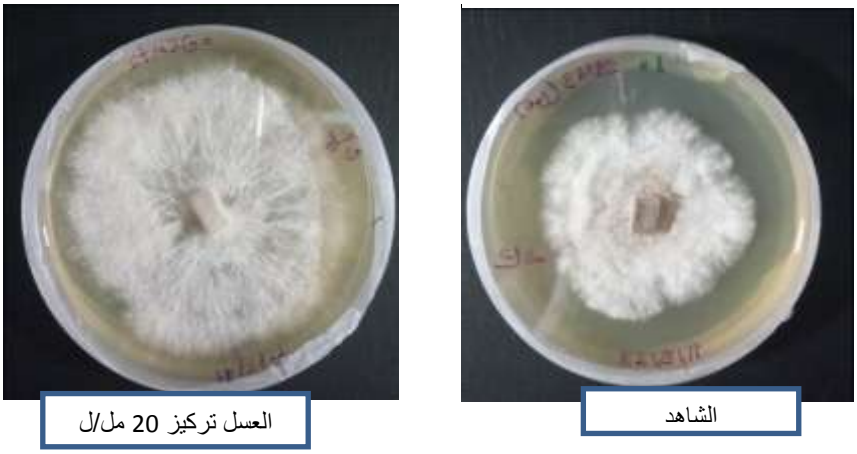
الشكل (2) تأثير إضافة العسل في موعد بدء نمو مشيجة المزرعة الأم G0 (متوسط تجربتين مخبريتين).

2-تأثير إضافة العسل في متوسط قطر المستعمرة الفطرية خلال 21 يوم من الزراعة مم :

أظهرت نتائج الشكل رقم (3) تفوق معاملة إضافة العسل تركيز20 مل/ل معنوياً على بقية المعاملات في متوسط قطر المستعمرة الفطرية حيث بلغ 74.9 مم. أي بزيادة عن الشاهد بلغت 22.7 مم. في حين لم تكن الفروق معنوية بين معاملتي العسل تركيز25، 30 مل/ل حيث بلغ قطر المستعمرة 63.9، 64 مم. على التوالي وفي الشاهد بلغ القطر 52.2 مم. الشكل رقم(3).



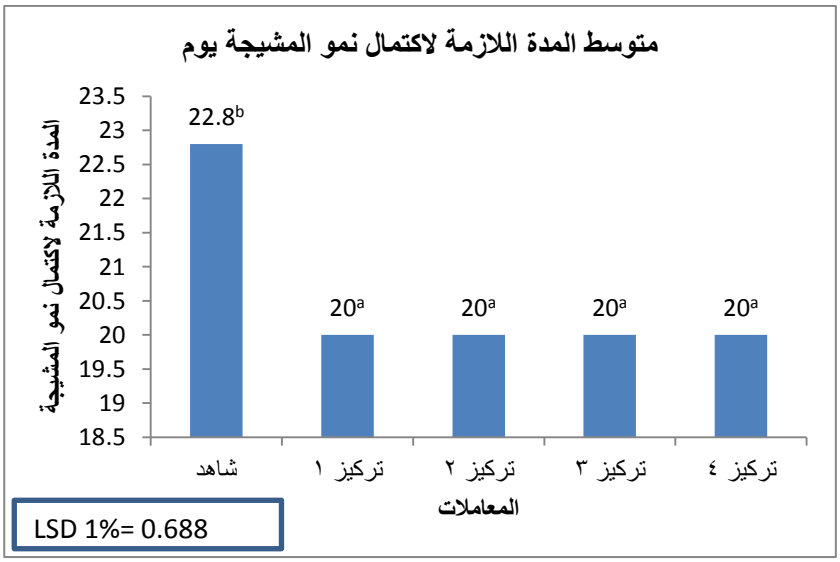
الشكل (3) تأثير إضافة العسل في قطر المستعمرة الفطرية مم (متوسط تجربتين مخبريتين).



الشكل (4) قطر المستعمرة الفطرية للشاهد والعسل تركيز 20 مل/ل

3-تأثير إضافة العسل في المدة اللازمة لاكتمال نمو المشيجة بدءاً من موعد بدء نمو المشيجة :

نلاحظ من الشكل (5) تفوق جميع معاملات إضافة العسل على الشاهد في متوسط المدة اللازمة لاكتمال نمو المشيجة إذ بلغت 20 يوماً ، أي انخفضت المدة اللازمة لاكتمال النمو 2.8 يوم عن الشاهد الذي استغرق مدة 22.8 يوماً حتى اكتمال النمو.



الشكل (5)تأثير إضافة العسل في متوسط المدة اللازمة لاكتمال نمو المشيجة (متوسط تجربتين مخبريتين)

4- تأثير إضافة العسل في سرعة ومعامل نمو المستعمرة الفطرية :

أظهرت النتائج تفوق جميع معاملات العسل معنوياً على الشاهد في سرعة نمو المستعمرة الفطرية ، في حين لم تكن الفروق معنوية بين معاملات العسل الأربعة.

من حيث معامل النمو أيضاً تفوقت جميع معاملات العسل على الشاهد، وحسب الدليل المستخدم لمعامل النمو باستخدام المعادلة التالية:

$$GC=d.g.h/t$$

d قطر المستعمرة الفطرية (مم).

g كثافة المستعمرة (1:قليلة الكثافة،2 :متوسطة الكثافة، 3:كثيفة)

h ارتفاع المستعمرة (مم)

t عمر المستنبت الفطري (يوم)

وتصنف الفطور اعتماداً على قيمة معامل النمو إلى:

فطور بطيئة النمو إذا تراوحت قيمة معامل النمو بين 20-40

فطور متوسطة النمو إذا تراوحت قيمة معامل النمو بين 45-70

فطور سريعة النمو إذا تراوحت قيمة معامل النمو بين 70-95.

تبين أن كافة معاملات إضافة العسل للوسط صنفت من الفطور بطيئة النمو الجدول رقم (1):

جدول (1) تأثير إضافة العسل في متوسط سرعة النمو بدءاً من موعد بدء نمو المشيجة ومعامل النمو:

الصفة / المعاملة	سرعة النمو (مم/يوم)	معامل النمو (مم^2/يوم)
الشاهد	2.35^b	16.47^b
العسل تركيز 15مل/ل	3.44^a	24.05^a
العسل تركيز 20مل/ل	3.75^a	26.22^a
العسل تركيز 25مل/ل	3.20^a	22.37^a
العسل تركيز 30مل/ل	3.2^a	22.4^a
LSD 1%	0.80	5.34

يمكن تفسير النتائج السابقة إلى أن العسل يضاف كمكمل غذائي لأوساط الزراعة المختلفة لتحفيز نمو الفطريات وذلك لأنه يحوي الجلوكوز والفركتوز كمصدر للكربون اللازم لانقسام واستطالة الخلايا ومصدر للطاقة في الوسط الغذائي، والأحماض الأمينية كمصدر للآزرت الذي يساهم بدوره في زيادة سرعة انقسام الخلايا وزيادة حجمها مما يساهم في تحسين نمو ميسليوم الفطر وزيادة سرعة نموه، إضافة إلى الفيتامينات التي تلعب دوراً هاماً في كافة العمليات الفيزيولوجية داخل الخلايا النباتية وهذا يتفق مع ماذكره (Rai and Tewari., 2016، Stanley et al., 2013، Stanley,2013، محمد وآخرون.2011).

الاستنتاجات والتوصيات :

الاستنتاجات:

1- أدت إضافة العسل إلى وسط النمو إلى الإسراع في نمو مشيجة الفطر وخفض المدة الزمنية لاكتمال نموها.

2- أدت إضافة العسل 20مل/ل إلى زيادة قطر للمستعمرة الفطرية ، و سرعة نموها، و معامل النمو.

التوصيات

إضافة العسل تركيز 20 مل/ل إلى وسط المالت آجار في مرحلة المزرعة الأم.

References:

1- الياس، إنعام. (2008). *تأثير أوساط التغذية في إنتاج بذار الفطر الزراعي Agaricus bispours محلياً* (رسالة ماجستير)، كلية الزراعة، جامعة تشرين، قسم البساتين. 70 صفحة.

1-Elias, Inam. (2008). The effect of nutritional media on the production of seeds of the agricultural fungus Agaricus bispours locally (Master's thesis), College of Agriculture, Tishreen University, Department of Horticulture. 70 pages.

2-محمد فؤاد محمد، أشرف جلال هريدي، محمد حسام أبو النصر، مروى محمد سليمان.2011. *تأثير إضافة الردة والمولاس في تحسين انتاجية عيش الغراب (المشروم)* . مجلة أسيوط للعلوم الزراعية. 42(5) . ص:66-68.

2-Muhammad Fouad Muhammad, Ashraf Jalal Haridi, Muhammad Hossam Abu Al-Nasr, Marwa Muhammad Suleiman. 2011. The effect of adding rosemary and molasses on improving mushroom productivity. Assiut Journal of Agricultural Sciences. 42(5). pp. 66-68.

3- موصللي، علي حسين. (2002). *الفطر الزراعي والكمأة إنتاجها طرق حفظها طرق إعدادها للمائدة*. دار علاء الدين. الجمهورية العربية السورية. 185 صفحة.

3- Mosulli, Ali Hussein. (2002). Agricultural mushrooms and truffles, their production, methods of preserving them, and methods of preparing them for the table. Aladdin House. Syrian Arab Republic. 185 pages.

4-زكي، ماجد وفوزي الفقي. .(1996). تقنيات زراعة الأنسجة النباتية التقنية الحيوية في النبات (الطبعة الأولى)، المطبعة التجارية الحديثة، القاهرة، جمهورية مصر العربية.

4-Zaki, Majed and Fawzi Al-Faqi. (1996). Plant tissue culture techniques Biotechnology in plants (first edition), Modern Commercial Press, Cairo, Arab Republic of Egypt.

5- AHMED. A., S. M.M. ALAM and V. S.MASHADO. (1995). *Potato Minituber production from nodal cuttings compared to whole in vitro plantlets using low volume media in greenhouse.* Journal potato research, vol, 38, NI pp69-76. Springer Netherlands.

6- BOOTH, C. 1971. *Methods in microbiology*. Mycological society.London. 4:795. Romandes. CH 1015 lausanne, Suisse.69-87.

7- BUBNOVA, O. N. and N. B. SHALASHOVA. (1987). *The Muchrooms .ed. 'Rosselhoz' . Moscow*. Russia. P 28. (in Russian).

8-ECONOMIC RESEARCH SERVICE. (2002). *Vegetable and melons yearbook, United states department of agariculture*. Publication ERS-VGS-2002.

9- LILLESKOV E, HOBBIE EA, FAHEY TJ. 2002.*Ectomycorrhizal fungal taxa differing in response to nitrogen deposition also differ in pure culture organic nitrogen use and natural abundance of nitrogen isotopes*. New Phytol.159:219-231.

10- LIPAVSKA H KONRADOVA H. 2004. *Somatic embryogenesis in conifers; the role of carbohydrate metabolism*. In vitro cell Dev Biol Plant. 40:23-30.

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

12- RAI and A. K.TEWARI. 2016. *Evalution of different carbon and nitrogen sources for better growth and sporulation of T.harzianum (Th14)*. Journal of agricultural Biotechnology and sustainable Development.vol.8(8), pp.67-70.

13- ROYES, D. And C. SCHISLER. (1980). *Mushroom cultivation and marketing. Interdisciplinary science reviews.* V.5,No.4.p:324-331.

14- STAMETS, P.and J. CHILTON.(1983). *A practical Guide To Growing Mushroom at Home*. Agarikn Press. Olympia, Washington, US.415pp.

15- STANLEY, H.O, ODU N.N. and ONWUKA J.U. (2013*). The Effect of Honey on The Mycelial Growth of Pleurotus sajor caju (Oyster mushroom)*. Department of microbiology, university of Port Harcourt, P.M.B 5323 Choba .Nigeria.
16- YASSEN M AHMED T, SABLOK G, STANDARDI A, HAFIZ IA. 2013. *Review: role of carbon sources for in vitro plant growth and development.* Mol Biol Rep. 40(4):2837-2849.
17- ZRYD, J.P.(1998*). Culture de cellules, tissues et orgaes vegetaux, foundements theoriques st utilizations pratiques et A spect physiologique de porganogenese in vitro*. Presses polytec.