علم او فن- علمي څېړنيزه مجله

تولید اسپان و تکثیر سمارق قره قوزنی در شرایط لابراتواري در افغانستان

سید قدیر دانشیار [۱*]، محمد مدثر توفیق [۱] ، فرید احمد شیرزی[۱]، شیرمحمد تیک تور[۱]، جاوید سعیدی[۱]، محمد حسین میرزایی[۱]
[۱] دیپارتمنت بایوتکنالوژی و تولید تخم های بذری، پوهنځی زراعت، پوهنتون کابل، کابل افغانستان

خلاصه

سمارق قره‌قوزنی (*Morchella* spp) یکی از باارزش‌ترین سمارق‌های خوراکی در جهان است که به دلیل ارزش غذایی، دارویی و اقتصادی بلند مورد توجه قرار دارد. با وجود این اهمیت، در افغانستان استفاده از این سمارق بیشتر به جمع‌آوری طبیعی محدود بوده و روش‌های علمی کشت آن کمتر توسعه یافته است. در این تحقیق، نمونه سمارق قره‌قوزنی از ولسوالی اندراب ولایت بغلان جمع‌آوری و در لابراتوار بایوتکنالوژی پوهنتون کابل مورد مطالعه قرار گرفت. کشت نسج در پنج پتریدیش به مدت هفت روز در ماشین انکیوبیتور تحت دیزاین CRD در محیط غذایی PDA انجام شد و سپس مایسلیم حاصل برای تولید اسپان بالای دانه‌های گندم انتقال داده شد. در مرحله بعد اسپان تولیدشده در کمپوست‌های مختلف کشت گردید. نتایج نشان داد که کشت نسج و تولید اسپان سمارق قره‌قوزنی در شرایط لابراتواری موفقانه انجام شد؛ اما کشت آن بالای کمپوست پس از دو ماه منجر به تشکیل اندام بارده (Fruiting bodies) نشد و هیچ نشانه‌ای از رشد سمارق مشاهده نگردید.

کلیدی کلیمات: سمارق قره‌قوزنی، کشت نسج، اسپان، شرایط لابراتواری، کمپوست

Spawn Production and Propagation of Qara Qozni Mushroom in Laboratory

Sayeed Qadir Danishiar [1*], Mohammad Modaser Tawfeeq [1], Farid Ahmad Sherzai[1], Shir Mohammad Tektor[1], Javid Saeedi[1], Mohammad Hussain Mirzayei[1]
[1]Department of Biotechnology and Seed Production, Agriculture Faculty, Kabul University, Kabul Afghanistan
[*]Corresponding Author Emial: sqadir2014@gmail.com

Abstract

The morel mushroom (Morchella spp.) is one of the most valuable edible mushrooms worldwide due to its high nutritional, medicinal, and economic value. Despite its importance, in Afghanistan the use of morels is mostly limited to wild collection, and scientific cultivation techniques remain poorly developed. In this study, a local variety of morel mushroom was collected from Andarab District of Baghlan Province and examined in the bio-technology laboratory of Kabul University. Tissue culture was carried out in five Petri dishes for seven days in an incubator under a Completely Randomized Design (CRD) using PDA (Potato Dextrose Agar) medium. The produced spawn was then inoculated onto different compost substrates. The results showed that tissue culture and spawn production were successfully achieved under laboratory conditions. However, inoculation of spawn on different compost substrates did not result in fruiting body formation after 60 days of incubation.

Keywords: Morel mushroom, tissue culture, spawn, laboratory conditions, compost

مقدمه

برای نخستین‌بار گیاه‌شناس آلمانی به نام Christian Hendrik Persoon ، در سال ۱۷۹۴ میلادی انواع از جنس های از سمارق قره‌قوزنی (Morchella spp.)را شناسایی و ثبت نمود (Du et al., 2021). در سال‌های بعد، سمارق‌شناس برجسته بنام Émile Boudierدر سال ۱۸۹۷ میلادی انواع مختلف از سمارق‌های قره‌قوزنی را شناسایی کرده و نتایج مطالعات خود را در قالب کتاب‌ها و مقالات علمی منتشر نمودند. همچنین، در کتاب منتشرشده توسط الیاس فرایز در سال ۱۸۲۲ میلادی به نوعی نامشخص از این سمارق اشاره شده است.

تحقیقات علمی در زمینه کشت سمارق قره‌قوزنی بیش از یک قرن است که در سطح جهان مورد توجه قرار دارد. در سال‌های اخیر، کشت این سمارق در فضای باز به‌ویژه در کشور چین با موفقیت همراه بوده و در مقیاس وسیع توسعه یافته است.(Qizheng Liu et al., 2018)

در مطالعه‌ای که توسط (Dissanayake et al., 2021) انجام شد، سه نوع از قره‌قوزنی شامل(M. sextelata) ، M. rufobrunneaو M. americana)انتخاب و کیفیت دارویی آن‌ها با استفاده از آزمون‌های ضد التهابی (COX) و آنتی‌اکسیدانی (LPO) در شرایط لابراتواری مورد بررسی قرار گرفت. هدف این تحقیق بررسی تفاوت مزایای صحی مورچلا میان گونه‌ها و همچنین تأثیر شرایط رشد مختلف (علوفه‌گیری وحشی، کشت سرپوشیده و کشت در فضای باز) بود. نتایج نشان داد که پروفایل متابولیت‌های ثانویه میان گونه‌ها از نظر کمّی متفاوت بوده، اما از نظر کیفی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت؛ به‌انواع که همه نمونه‌ها دارای ترکیبات کیمیاوی مشابه، با تفاوت‌هایی در غلظت آن‌ها بودند (Dissanayake, 2021).

از دیدگاه آشپزی، قره‌قوزنی‌ها به دلیل طعم مطلوب، بافت منحصربه‌فرد و ارزش غذایی بالا از باارزش‌ترین سمارق‌های خوراکی محسوب می‌شوند. این سمارق‌ها دارای کلاهکی اسفنجی‌شکل شبیه لانه زنبور و ساقه‌ای توخالی هستند و به دلیل بافت اسفنجی، طعمی «گوشتی» دارند. قره‌قوزنی‌ها به‌صورت تازه یا فرآوری‌شده به‌عنوان طعم‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرند.

در منطقه شمال‌غرب امریکای شمالی، ارزش تجاری سالانه سمارق قره‌قوزنی (.Morchella spp) بین ۵ تا ۱۰ میلیون دالر امریکایی برآورد شده است که این سمارق را به یکی از باارزش‌ترین محصولات غیرچوبی جنگل تبدیل نموده است. بر اساس گزارش‌ها، در سال ۲۰۰۷ میلادی، کشورهای هند، پاکستان، ترکیه، نپال، بوتان، ایالات متحده امریکا، کانادا و چین از بزرگ‌ترین صادرکنندگان سمارق قره‌قوزنی خشک‌شده به‌شمار می‌رفتند، در حالی‌که اروپا بزرگ‌ترین بازار وارداتی این محصول را تشکیل می‌داد.(Dissanayake, 2021).

از دیدگاه تغذیوی، سمارق قره‌قوزنی دارای حدود ۲۰٪ پروتین، ۴,۸٪ چربی، ۸,۷٪ قند و ۶۴,۴٪ کربوهیدرات می‌باشد. این ترکیب غذایی نشان‌دهنده ارزش بالای انرژی‌زا و تغذیوی این سمارق است. افزون بر ارزش غذایی، قره‌قوزنی دارای مزایای قابل توجه صحی می‌باشد که شامل تقویت عملکرد سیستم ایمنی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، پیشگیری از بیماری‌های قلبی–عروقی و حمایت از سلامت دستگاه تنفسی است.

ترکیبات زیست‌فعال موجود در سمارق قره‌قوزنی شامل پلی‌ساکاریدها، ترکیبات فنولیک، توکوفرول‌ها و ارگوسترول‌ها می‌باشند که نقش مهمی در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، محافظت ایمنی، بهبود سلامت روده و خواص بالقوه ضدسرطانی ایفا می‌کنند .(Dissanayake, 2021)..

در افغانستان، علی‌رغم تنوع قابل توجه سمارق‌های خودرو به‌ویژه سمارق قره‌قوزنی(.Morchella spp) ، بهره‌برداری از این منبع ارزشمند عمدتاً به جمع‌آوری سنتی از طبیعت محدود بوده و تاکنون روش‌های علمی و پایدار برای کشت، تکثیر و تولید آن توسعه نیافته است. وابستگی به برداشت طبیعی، علاوه بر کاهش ذخایر طبیعی، باعث ناپایداری عرضه، کاهش کیفیت و از دست رفتن فرصت‌های اقتصادی برای دهقانان و بخش خصوصی می‌گردد. از سوی دیگر، نبود زیرساخت‌های تحقیقاتی، کمبود مطالعات لابراتواری و عدم شناخت شرایط بهینه رشد و تولید مایسلیم سمارق قره‌قوزنی، مانع اصلی در مسیر اهلی‌سازی و تجاری‌سازی این سمارق در کشور محسوب می‌شود. با توجه به ارزش غذایی و دارویی بالای قره‌قوزنی و تقاضای رو به افزایش آن در بازارهای داخلی و خارجی، انجام تحقیقات علمی در زمینه کشت نسج و تولید مایسلیم آن در شرایط افغانستان یک ضرورت اساسی به‌شمار می‌رود.

بر این اساس، هدف اصلی این تحقیق کشت نسج سمارق قره‌قوزنی، ارزیابی تولید مایسلیم و تعیین شرایط بهینه و نارمل رشد و نمو آن در شرایط لابراتواری افغانستان می‌باشد. اهداف فرعی شامل کشت و پرورش سمارق قره‌قوزنی در محیط لابراتوار و معرفی، توسعه و زمینه‌سازی استفاده از این سمارق در صنعت غذایی کشور است. تحقق این اهداف می‌تواند زمینه را برای تولید پایدار، کاهش فشار بر منابع طبیعی، افزایش درآمد دهقانان، ایجاد فرصت‌های کاری جدید و گسترش صنعت سمارق در افغانستان فراهم سازد و در نهایت به بهبود امنیت غذایی و توسعه اقتصاد زراعتی کشور کمک نماید. هدف این تحقیق کشت نسج سمارق قره‌قوزنی (.Morchella spp) و بررسی رشد مایسلیم آن در شرایط لابراتواری می‌باشد. همچنان تولید اسپان سمارق بالای دانه‌های گندم و ارزیابی امکان کشت آن در بسترهای مختلف

کمپوست مورد مطالعه قرار گرفت. در نهایت این تحقیق با هدف شناسایی شرایط مناسب برای پرورش و توسعه کشت سمارق قره‌قوزنی در افغانستان انجام شد.

مواد و روش کار

سمارق قره قوزنی از ولایت بغلان ولسوالی)اندراب(از دامنه کوه شهشان و باغ های اطراف آن جمع آوری شده است که در محیط آنجا تحت درجه حرارت -۱۴ ۱۸ درجه سانتی گراد در ماه های حمل و ثور در قسمت های ذکر شده رشد و نمو میکند بغلان اقلیم معتدل داشته، در تابستان گرم و در خزان و زمستان سرد میباشد، درجه حرارت در زمستان به منفی ۲۲ الی ۳۲ میرسد و در تابستان حرارت مناطق کوه ها از مثبت ۱۸ سانتی گرید بالا نمیرود. سطح متوسط بارندگی سالانه آن نیز ۲۶۹ ملی متر میباشد. این تحقیق در سال ۱۴۰۳ هجری شمسی در لابراتوار دیپارتمنت بایوتکنالوژی و تولید تخمهای بذری پوهنځی زراعت پوهنتون کابل انجام شده است. کشت نسج در پنج پتریدیش به مدت هفت روز در ماشین انکیوبیتور تحت دیزاین CRD در محیط غذایی PDA انجام شد.

شکل۱: موقعیت جغرافیایی نمونه جمع آوری شده سمارق قره قوزنی از ولسوالی اندراب ولایت بغلان

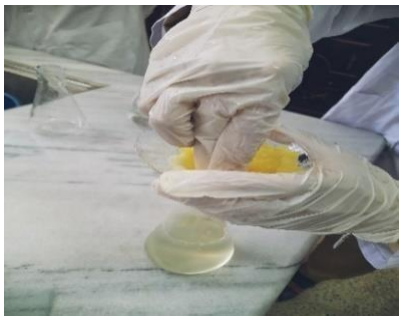
تولید میدیا (PDA)

در قدم نخست ، نمونه‌های سمارق قره‌قوزنی از ولایت بغلان جمع‌آوری شده و برای انجام کشت نسج در لابراتوار آماده شدند. کشت نمونه‌ها بر روی پتریدیش‌ها در داخل لامینار فلو و با استفاده از محیط کشت (PDA) Potato Dextrose Agarانجام شد. برای تهیه محیط PDA، سه ترکیب اصلی شامل آب مقطر، پودر آگار، نشاسته سیب‌زمینی و دکستروز به مقادیر مورد نیاز به‌کار گرفته شدند. برای تولید ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط PDA ، ۵۰ گرم سیب‌زمینی پوست‌کنده به قطعات کوچک تقسیم شده و به مدت ۳۰ دقیقه در آب جوش پخته شد تا نرم گردد. سپس محلول حاصل با استفاده از صافی تصفیه شد و آب آن جدا شد. به آب تصفیه‌شده، ۵ گرم پودر آگار، ۵ گرم دکستروز و مقدار کافی آب مقطر اضافه شد تا حجم نهایی به ۲۵۰ میلی‌لیتر برسد. محلول حاصل به مدت چند دقیقه حرارت داده شد تا کاملاً حل گردد، سپس در فلاسك ریخته و با کاغذ آلومینیومی پوشانده شد. در مرحله بعد، محیط PDA در اتوکلاو به مدت ۲۱ دقیقه در حرارتی ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل گردید و برای کشت نسج سمارق قره‌قوزنی آماده شد.

جدول۱: مقدار مواد مورد نیاز برای ساختن 1 لیتر میدیا PDA)

شماره	نام دری مواد	نام انگلیسی مواد	مقدار مواد
1	نشایسته کچالو	Fresh Potato Extract	g/L50
2	دکستروز	Dextrose	g/L5
3	آگار	Agar	g/L5
4	آب مقطر	D. water	1 L
5	دستگاه اتوکلوَ	Autoclaved at	121 C, 15 minutes

الف



ب

ج

د

شکل۲ : الف) مقدار کچالو مورد نیاز در ترکیب میدیا که پوست شده است، ب) جریان عبور نشایسته کچالو از فلتر که بعد از جوش دادن کچالو انجام شد، ج) جریان ریختن پودر آگار در بین محلول نشایسته کچالو و دکستروز برای ساختن میدیا(PDA) ، د) جریان گرم کردن ترکیب آگار ، دکستروز و نشایسته کچالو برای اینکه خوب حل شود.

کشت اولیه نسج سمارق قره قوزنی

در کشت اولیه نسج، تمام تجهیزات مورد نیاز شامل پنس، چاقوی لابراتواری، پتریدیش، چراغ الکلی، پارافلم و محیط کشت PDA آماده شدند. تجهیزات و محیط کشت که نیاز به استریل داشتند، پیش از استفاده در اتوکلاو استریل گردیدند. پس از روشن کردن و پاک‌سازی دستگاه لامینار فلو و ضدعفونی آن با الکل، یک بخش کوچک از نمونه سمارق قره‌قوزنی با استفاده از چاقوی لابراتواری جدا شد. محیط PDAبه میزان لازم در پتریدیش ریخته شد تا سطح آن پوشانده شود، سپس نسج سمارق با پنس در شش پتریدیش قرار گرفت و به آرامی فشار داده شد. پتریدیش‌ها با درپوش و پارافلم محکم بسته شدند تا از ورود هوا و دیگر مایکروارگانیزم‌ها جلوگیری شود و نمونه‌ها در شرایط استریل رشد نمایند. پتریدیش‌ها در انکوباتور در حرارتی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا مایسلیم سمارق رشد کند. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل کشت، شرایط استریل و استانداردهای لازم به منظور جلوگیری از آلودگی محیط کشت رعایت شد.

تولید سپان سمارق قره قوزنی

برای تولید اسپان سمارق قره‌قوزنی، دانه‌های گندم به‌کار گرفته شدند. ابتدا یک کیلوگرم گندم پاک وزن شد و پس از شستشو، به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شد. سپس گندم به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گرید تعقیمگردید و پس از خنک شدن آماده استفاده شد. کشت نسج دوم سمارق قره‌قوزنی، پس از گذشت ۸ روز که مایسلیم رشد کرده بود، در سه کیسه انتقال قرار گرفت و با دانه‌های گندم مخلوط شد. در سر هر کیسه مقدار کمی پخته پاک جهت جریان هوا قرار داده شد و سپس کیسه‌ها بسته شدند. تمامی مراحل در داخل لامینار فلو و تحت شرایط استریل انجام شد. در ادامه، کیسه‌ها در دستگاه رشد (Germinator) در درجه حرارت ۲۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا مایسلیم سمارق سطح دانه‌های گندم را سفید کرده و اسپان سمارق قره‌قوزنی آماده گردد.

الف ب

شکل ۳ : الف) دانه گندم آماده شده برای تولید اسپان سمارق قره قوزنی ، ب) کشت انجام شده مایسلیم بعد از سب کلچر بالای دانه گندم برای تولید اسپان

کشت بالای کمپوست

پس از تولید اسپان سمارق قره‌قوزنی (Morel Mushroom) روی دانه‌های گندم و گذشت ۱۳ روز از دوره رشد، زمانی که کلونیزاسیون مایسلیم به سطح مطلوب رسید، مرحله انتقال اسپان به بسترهای کشت انجام شد. در این آزمایش، دو نوع بستر شامل کمپوست برگی و ورم کمپوست مورد استفاده قرار گرفت. همچنین تیمارهای ترکیبی شامل مخلوط کمپوست برگی و ورم کمپوست و مخلوط هر دو کمپوست همراه با خاک نیز بررسی شدند.

ابتدا ۳ کیلوگرم کمپوست برگی و ۳ کیلوگرم ورم کمپوست به‌طور جداگانه وزن شدند. سپس با افزودن آب، رطوبت بسترها تا حد مناسب تنظیم گردید؛ به‌گونه‌ای که مواد در اثر فشردن در مشت به شکل توده منسجم درآمده و با فشار ملایم دو انگشت به‌راحتی از هم جدا شوند.

بسترهای آماده‌شده در پنج ظرف پلاستیکی تقسیم شدند که شامل: (۱) کمپوست برگی، (۲) ورم کمپوست، (۳) مخلوط یکنواخت کمپوست برگی و ورم کمپوست، (٤) مخلوط لایه‌ای کمپوست برگی و ورم کمپوست، و (۵) مخلوط هر دو نوع کمپوست همراه با خاک بودند.

اسپان سمارق قره‌قوزنی به میزان یکسان در هر یک از تیمارها تلقیح شد. ظروف کشت در شرایط تاریکی کامل و حرارتی ثابت ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا رشد و گسترش مایسلیم در بسترهای مختلف مورد ارزیابی قرار گیرد. روند کلونیزاسیون مایسلیم در هر تیمار به‌صورت دوره‌ای مشاهده و ثبت شد و میزان رشد در بسترهای مختلف با یکدیگر مقایسه گردید.

نتایج

کشت اولیه مایسلیم سمارق قره قوزنی

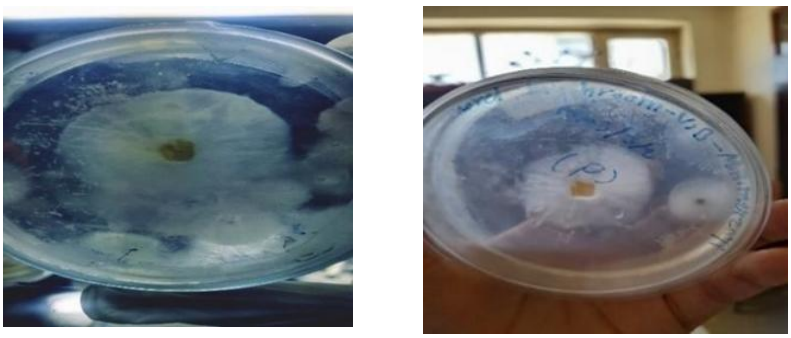
کشت اولیه نسج سمارق قره قوزنی در بالای محیط کشت پی دی ای (PDA) در داخل انکیوباتور در داخل لابراتوار بایو تکنالوژی در 20 درجه سانتی گراد بعد از مدت 10 روز نتیجه خوب داد که بعدا آنرا سب کلچر نمودیم تا بهتر رشد کند.

الف ب

شکل۴: الف) رشد ابتدایی مایسلیم سمارق قره قوزنی بالای میدیا بعد از گذشت 4 روز در درجه حرارت 20 درجه سانتی گراد ، ب) رشد مایسلیم سمارق قره قوزنی بعد از گذشت 10 روز بالای میدیا (PDA) در درجه حرارت 20 درجه سانتی گراد

کشت دوم نسج سمارق قره قوزنی

کشت مرحله دوم نسج سمارق قره قوزنی که بعد از 10 روز از رشد مایسلیم در محیط کشت اول که قبلَ کشت انجام شده بود در داخل انکیوباتور در درجه حرارت 20 درجه سانتی گراد بعد از گذشت 8 روز نتیجه خوب داد و مایسلیم قارچ قره قوزنی رشد بهتر داشت و برای کشت بالای دانه گندم به منظور تولید اسپان آماده شد.



الف ب

شکل۵ : الف) رشد ابتدایی مایسلیم سمارق قره قوزنی بعد از گذشت 5 روز در کشت نسج دوم بالای میدیا(PDA)، ب) رشد بهتر مایسلیم سمارق قره قوزنی بعد از گذشت 8 روز از سب کلچر آن در درجه حرارت 20 درجه سانتی گراد

تولید اسپان سمارق قره قوزنی

کشت مایسلیم سمارق قره قوزنی بعد از گذشت 8 روز از سب کلچر بالای دانه های گندم به منظور تولید اسپان انجام شده بود و بعد از گذشت 13 روز در داخل ماشین جرمنیتور (Germanitor) در درجه حرارت 23 درجه سانتی گراد نتیجه خوب داد و تقریبا تمام دانه های گندم از مایسلیم سمارق قره قوزنی سفید شده بود و برای کشت در محیط خارج از لابراتوار یعنی کشت در بالای کمپوست کاملَ آماده شد.

الف

ب

شکل ٦: الف) رشد مایسلیم سمارق قره قوزنی بالای دانه گندم بعد از گذشت 7 روز در درجه حرارت 23 درجه سانتی گراد، ب) رشد مایسلیم سمارق قره قوزنی بالای دانه گندم بعد از گذشت 13 روز در درجه حرارت 23 درجه سانتی گراد.

جدول ۲ نشان میدهد که بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، مایسلیم سمارق قره‌قوزنی (Morel Mushroom) رشد نسبتاً سریعی را در شرایط لابراتواری نشان داد. نخستین نشانه‌های ظهور مایسلیم در محیط کشت PDA در روز چهارم پس از کشت مشاهده شد که بیانگر سازگاری مناسب و شروع رشد فعال قارچ در محیط غذایی است. رشد مایسلیم به‌تدریج ادامه یافت و در روز دهم سطح محیط کشت PDA به‌طور کامل توسط مایسلیم پوشانده شد. پس از انتقال به دانه‌های گندم، کلونیزاسیون مایسلیم با سرعت مناسبی ادامه پیدا کرد، به‌گونه‌ای که در روز سیزدهم تمامی دانه‌های گندم به‌طور کامل توسط مایسلیم اشغال شدند. این نتایج نشان می‌دهد که مایسلیم سمارق قره‌قوزنی از توانایی رشد مطلوب بر روی محیط PDA و بستر دانه گندم برخوردار بوده و این بسترها برای تولید اسپان این قارچ مناسب هستند.

جدول ۲: رشد مایسلیم قارچ قره قوزنی در شرایط لابراتوار

روز	رشد مایسلیم
4	زمان ظهور اولیه مایسلیم
10	پوشش کامل PDA
13	پوشش کامل گندم

کشت اسپان بالای کمپوست

مرحله بعدی در تولید سمارق قره‌قوزنی، کشت اسپان بالای کمپوست بود. پس از گذشت ۱۳ روز از تولید اسپان روی دانه‌های گندم، که در آن مایسلیم به‌طور قابل قبول رشد کرده بود، اسپان بر روی دو نوع کمپوست شامل کمپوست برگی و ورم کمپوست، و همچنین مخلوط هر دو کمپوست با خاک، کشت شد. در ابتدا، ۳ کیلوگرم ورم کمپوست و ۳ کیلوگرم کمپوست برگی وزن و سپس با میزان مناسبی از آب مرطوب شدند، به گونه‌ای که هنگام فشردن در مشت به شکل کلوله درآیند و با فشار دو انگشت به راحتی از هم باز شوند. مخلوط‌های کمپوست در پنج ظرف پلاستیکی تقسیم شد: یک ظرف کمپوست برگی، یک ظرف ورم کمپوست، دو ظرف مخلوط کمپوست برگی و ورم کمپوست (یکی به صورت مخلوط و دیگری به صورت لایه‌ای) و یک ظرف مخلوط هر دو کمپوست با خاک. اسپان سمارق قره‌قوزنی در این محیط‌ها قرار داده شد و در شرایط تاریک و حرارتی ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا رشد مایسلیم در کمپوست‌ها صورت گیرد.

الف ب

شکل ۷: الف) ترکیب های کمپوست برگی ، ورم کمپوست و خاک که اسپان سمارق قره قوزنی بالای این ترکیبات فوق کشت شد، ب) محیط های آماده شده برای کشت اسپان سمارق قره قوزنی که در پنج ترکیب مختلف می باشد.

رشد سمارق قره قوزنی بالای کمپوست

بعد از گذشت 13 روز از تولید اسپان سمارق قره قوزنی که در نتیجه آن اسپان سمارق قره قوزنی به طور قناعت بخش تولید و آماده کشت در بالای کمپوست شده بود آنرا در بالای دو نوع کمپوست ، ورم کمپوست ، کمپوست برگی (به صورت لایه یی و مخلوط از هردو کمپوست) و مخلوط هردو کمپوست با خاک در داخل ظرف های پلسَتیکی کشت صورت گرفت. بعد از گذشت دو ماه (60 روز) در درجه حرارت(22- 24) درجه سانتی گراد و رطوبت(99-70) فیصد کدام نشانه از رشد سمارق در آن دیده نشد و اسپان سمارق قره قوزنی در محیط های فوق جوانه نزد و پس از ٦٠ روز انکوبیشن در حرارت ۲۲ – ۲۴ درجه سانتی گرید ورطوبت نسبتی ۷۰ -۹۰ فیصد هیچگونه تشکیل اندام میوه ای مشاهده نشد .بنابراین نتیجه کشت بالای کمپوست منفی ارزیابی گردید.

الف ب

شکل ۸: جریان بازدید از کشت سمارق قره قوزنی بالای کمپوست بعد از گذشت 30 روز در درجه حرارت (24-22) درجه سانتی گراد و رطوبت نسبتی (90-70) فیصد انجام شد که هنوز سمارق جوانه نزده بود، الف) بعد گذشت 60 روز از کشت سمارق قره قوزنی بالای کمپوست محیط کشت بررسی شد نتیجه جوانه زنی منفی بود، ب) داخل محیط کمپوست به دقت بعد از گذشت 60 روز بررسی شد و نشانه از جوانه زدن سمارق مشاهده نشد

مناقشه و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سمارق قره‌قوزنی به‌عنوان گونه‌ای با ارزش غذایی، دارویی و اقتصادی بالا، در محیط کشت کنترل‌شده PDAو پس از تولید اسپان روی دانه گندم رشد موفقی داشت، اما کشت آن روی کمپوست با ترکیب ورم‌کمپوست و کمپوست برگی موفقیت‌آمیز نبود. این تفاوت نشان‌دهنده نقش حیاتی شرایط محیطی و بیولوژیکی در رشد این قارچ است. سمارق قره‌قوزنی به دلیل حساسیت بالا نسبت به حرارت، رطوبت، نور و ترکیب میکروبی، نیازمند شرایط بهینه برای جوانه‌زنی و توسعه مایسلیم می‌باشد.

یکی از عوامل اصلی عدم موفقیت، کنترل ناکافی شرایط محیطی بود. حرارت و رطوبت کمپوست به‌صورت دقیق تنظیم نشده بود و این نوسانات می‌تواند فعالیت آنزیم‌ها و متابولیت‌های ضروری برای رشد مایسلیم را مختل کند. این یافته با مطالعات قبلی همخوانی دارد که نشان داده‌اند عدم ثبات حرارتیی و رطوبتی منجر به توقف رشد اسپان می‌شود (Liu et al., 2022; Zhao et al., 2016) .

عامل مهم دیگر، فقدان شرایط طبیعی خاک جنگلی و محرک‌های بیولوژیکی مرتبط با رشد سمارق بود. در محیط طبیعی، این قارچ در خاک‌های مرطوب، سایه‌دار و غنی از بقایای نباتی رشد می‌کند. نبود این ویژگی‌ها در کمپوست تحقیقاتی و همچنین فقدان جامعه میکروبی طبیعی، احتمالاً باعث کاهش محرک‌های لازم برای رشد شده است. این موضوع با نتایج مطالعات Xu et al. (2024) و Zhang et al. (2023)مطابقت دارد که به نقش تغییرات میکروبی خاک و تجمع مواد سمارق متذکره بنام(Allelochemical) اشاره کرده‌اند.

نتایج این تحقیق نشان داد که کشت نسج سمارق قره‌قوزنی با موفقیت انجام شد. مایسلیم در محیط کشت PDA به‌خوبی رشد نمود، به‌طوری‌که نخستین علائم رشد در روز چهارم مشاهده شد و تا روز دهم تمام سطح محیط کشت را پوشش داد. این نتایج بیانگر مناسب بودن روش کشت نسج و قابلیت رشد مایسلیم در شرایط لاتراتواری است.

انتقال مایسلیم به دانه‌های گندم نیز موفقیت‌آمیز بود و مایسلیم توانست در مدت ۱۳ روز تمام بستر گندم را کلونیزه نماید. این موضوع نشان می‌دهد که دانه گندم بستر مناسب برای تولید اسپان سمارق قره‌قوزنی بوده و اسپان تولیدشده از رشد و فعالیت مطلوب برخوردار است.

با وجود موفقیت در مراحل کشت نسج و تولید اسپان، انتقال اسپان به بسترهای کمپوست منجر به رشد مطلوب مایسلیم و تولید بار نگردید. عدم موفقیت در این مرحله نشان می‌دهد که شرایط فراهم‌شده در کمپوست‌ها نتوانسته است نیازهای بیولوژیکی و اکولوژیکی این قارچ را به‌طور کامل تأمین نماید. این یافته بیانگر حساسیت بالای سمارق قره‌قوزنی به شرایط محیطی و پیچیدگی کشت مصنوعی آن است.

نتایج مطالعه نشان می‌دهد که موفقیت در کشت سمارق قره‌قوزنی به شبیه‌سازی دقیق شرایط طبیعی زیستگاه آن وابسته است. عواملی مانند حرارت، رطوبت، نور، تهویه، ترکیب میکروبی خاک و ویژگی‌های فیزیکی بستر نقش اساسی در رشد مایسلیم و تشکیل میوه‌گاه دارند. بنابراین، پیشنهاد می‌شود در تحقیق‌های آینده تأثیر سطوح مختلف حرارت، رطوبت، نور و تهویه به‌صورت آزمایشی و با استفاده از شاخص‌های کمی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین ارزیابی انواع مختلف کمپوست، خاک جنگلی و میکروفلورای مفید خاک می‌تواند در شناسایی مناسب‌ترین بستر کشت و روشن شدن نقش میکروارگانیسم‌های همزیست در موفقیت کشت این قارچ مؤثر باشد.

از آن‌جا که در این تحقیق داده‌های کمی کافی مانند سرعت رشد مایسلیم، وزن بیوماس یا درصد موفقیت تیمارها جمع‌آوری نشد و نتایج صرفاً بر اساس مشاهده رشد یا عدم رشد ثبت گردید، انجام تحلیل‌های احصایوی امکان‌پذیر نبود و یافته‌ها ماهیت توصیفی داشتند.

منابع

Dissanayake, A. A., Mills, G. L., Bonito, G., Rennick, B., & Nair, M. G. (2021). Chemical composition and anti inflammatory and antioxidant activities of extracts from cultivated morel mushrooms, species of genus Morchella (Ascomycota). International Journal of Medicinal Mushrooms, 23(9), 73–83. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021039297

Du, X.-H., Zhao, Q., & Yang, Z.-L. (2015). A review on research advances, issues, and perspectives of morels. Mycology, 6(2), 78–85. https://doi.org/10.1080/21501203.2015.1016561

Du, X.-H., Zhao, Q., O'Donnell, K., Rooney, A. P., & Yang, Z.-L. (2021). Mating systems in true morels (Morchella). Microbiology Spectrum, 9(2), e00267 21. https://doi.org/10.1128/Spectrum.00267 21

Lagrange, E., & Vincent, J.-P. (2020). Warning on false or true morels and button mushrooms with potential toxicity linked to hydrazinic toxins. Toxins, 12(8), Article 482. https://doi.org/10.3390/toxins12080482

Larson, A. J., Smith, H., & Thompson, R. (2016). Post fire morel (Morchella) mushroom abundance, spatial structure, and harvest sustainability. Forest Ecology and Management, 377, 16–25. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.06.038

Li, Y., Chen, H., & Zhang, X. (2023). Cultivation, nutritional value, bioactive compounds of morels, and their health benefits: A systematic review. Frontiers in Nutrition, 10, Article 1159029. https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1159029

Liu, Q., Ma, H., & Zhang, J. (2018). Artificial cultivation of true morel. Critical Reviews in Biotechnology, 38(2), 259–271. https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1333082

Liu, W.-Y., Guo, H.-B., Bi, K.-X., Alekseevna, S. L., Qi, X.-J., & Yu, X.-D. (2022). Determining why continuous cropping reduces the production of the morel Morchella sextelata. Frontiers in Microbiology, 13, 903983. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.903983

Yin, Q., Zhang, W., Shi, H., He, P., Zhang, F., Zhang, J., Li, B., Shi, X., Liu, W., & Yu, F. (2024). Identification of allelo-chemicals under continuous cropping of Morchella mushrooms. Scientific Reports, 14, 31207. https://doi.org/10.1038/s41598 024 82542 0

Xu, L., Zhang, Y., Li, H., Li, J., & Xu, J. (2024). Challenges and strategies for continuous cropping of Morchella spp.: A review. Horticulturae, 10(12), 1288. https://doi.org/10.3390/horticulturae10121288

Zhang, Y., Li, H., Xu, J., & Wang, Q. (2023). Decline in morel production upon continuous cropping is related to changes in soil mycobiome. Journal of Fungi, 9(4), 492. https://doi.org/10.3390/jof9040492