

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

رياض زيدان⁽¹⁾ و جهان متوج⁽²⁾ و حجازي مندو⁽³⁾ و سماهر ابراهيم^{(1)*}

(1). قسم البساتين، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

(2). المؤسسة العامة لإكثار البذار، اللاذقية، سورية.

(3). الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية.

(* للمراسلة: م. سماهر ابراهيم، البريد الإلكتروني: smhribrahim@gmail.com).

تاريخ الاستلام: 2023/10/22

تاريخ القبول: 2024/02/13

الملخص

نفذ البحث في منشأة ستمرخو لإنتاج الفطر الزراعي *Agaricus bisporus*، وتضمن خمس معاملات: شاهد (بدون إضافة نترات الصوديوم)، إضافة نترات الصوديوم بتركيزات 2، 3، 4، 5 غ/ل¹ إلى وسط المالت خميرة آجار (MEYA)، بهدف دراسة تأثيرها في نمو مشيجة المزرعة الأم، واتبع في تنفيذ البحث تصميم القطاعات العشوائية الكاملة. أظهرت نتائج متوسط تكرار التجربة مرتين متتاليتين في العامين 2022-2023 تفوق كافة معاملات إضافة نترات الصوديوم على الشاهد بموعد بدء نمو المشيجة، وسرعة النمو، ومعامل النمو. تفوق قطر المستعمرة الفطرية في معاملة إضافة نترات الصوديوم تركيز 5 غ/ل وكان 57.2 مم مقارنة مع الشاهد 52.2 مم، كذلك تفوقت في المدة الزمنية اللازمة لاكتمال نمو المستعمرة الفطرية التي تطلبت 12.87 يوماً، مقابل 19.17 يوماً للشاهد.

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

المقدمة:

يتمتع الفطر الزراعي بأهمية اقتصادية عالية نظراً لقيمته الغذائية، وذلك لإحتوائه على معظم الأحماض الأمينية الضرورية لجسم الإنسان، وغناه بالمعادن والفيتامينات ومضادات الأكسدة الطبيعية، ومضادات البكتريا والفيروسات (Roys and Schisler, 1980; Stamets, 2005; Bilal et al., 2010)

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).

تنتشر زراعة الفطر في أكثر من 150 دولة في العالم، وتتركز بشكل أساسي في دول أوروبا، 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،

والبنذورة والخس إذ بلغت قيمة الإنتاج 841 مليون دولار عام 2008 (Economic Research Service USDA.2008). تحتاج الفطريات متطلبات غذائية خاصة لنمو الغزل الفطري بالشكل الطبيعي وتضم عوامل داخلية وخارجية منها درجة الحرارة والرطوبة و ال PH ومصادر الكربون والنيتروجين التي تعتبر عناصر ضرورية لاغنى عنها في تحسين نمو وانتاجية الفطريات (Lilliskov et al.,2002; Yassen et al,2013; Daza et al 2016). تقسم مصادر النيتروجين إلى مصادر غير عضوية وتضم نترات الأمونيوم وسيترات الأمونيوم , ومصادر عضوية تسمى مستخلصات طبيعية كالبيتون واليوربا (Lipavska and Konradova.2004, De paiva neto and Otoni 2003;) (Songulashvili et a.,l 2008)

تستطيع معظم الفطريات استعمال أيون النترات (NO_3^-) كمصدر للنيتروجين، ويتم ذلك بعد اختزاله بإنزيم nitrate reductase إلى أيون النترت (NO_2^-) وبعدها إلى أمونيا (Albadr.2021). بين (Rai and Tewari.,2016) أن إضافة نترات الصوديوم كمصدر نتراتي للأزوت إلى وسط زراعة الغزل الفطري الفطر بمعدل 985 ملغ وإضافة العسل كمصدر كربوهيدراتي بتركيز 3% أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية وزيادة سرعة نمو الغزل الفطري للسلاسل المحلية المدروسة للفطر. أشار (Manu et al.,1994) أن استخدام مستخلص الخميرة والأحماض الأمينية ونترات الأمونيوم والصوديوم ساهمت في زيادة سرعة نمو الغزل الفطري مقارنة مع الشاهد دون إضافات، ووجد أن أعلى سرعة نمو للميسليوم كانت عند إضافة الخميرة. بين (Amiri et al.,2023) أن استخدام السكروز ونترات الصوديوم ونترات الأمونيوم على وسط نخالة القمح أو الأرز كان لها تأثير ملحوظاً في تسريع نمو ميسليوم الفطر الطبي *Ganoderma lucidum* بالمقارنة مع استخدام المنغيز. أشار (Kim et al.2009) أن استخدام نترات الصوديوم بتركيز 10 غ/ل كمصدر للنيتروجين والخميرة بتركيز 5 غ/ل حققت أعلى نمو للغزل الفطري الزراعي *Agaricus bisporus*.

2-أهمية البحث وهدفه:

تواجه زراعة الفطر *Agaricus bisporus* العديد من المعوقات أهمها عدم كفاية البذار المنتجة محلياً 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 إنتاج بذار الفطر بكافة مراحلها مع الحفاظ على النوعية الجيدة للبذار , ونظراً لقلة الدراسات السابقة عن تأثير إضافة نترات الصوديوم إلى وسط المالت في نمو وإنتاج مشيجة الفطر الزراعي , تم تنفيذ هذا البحث لدراسة تأثير إضافة نترات الصوديوم إلى وسط زراعة وإنتاج الميسليوم، وهدفت هذه الدراسة إلى:

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

مواد وطرائق البحث:

1-السلاسل المدروسة:

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



الشكل (1): الجسم الثمري للسلالة STM3

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.

معاملات البحث: شمل البحث المعاملات التالية:

- 1- الشاهد (وسط المالت خميرة آجار بدون إضافة نترات الصوديوم).
- 2- إضافة نترات الصوديوم إلى وسط النمو بتركيز 2 غ/ل.
- 3- إضافة نترات الصوديوم إلى وسط النمو بتركيز 3 غ/ل
- 4- إضافة نترات الصوديوم إلى وسط النمو بتركيز 4 غ/ل
- 5- إضافة نترات الصوديوم إلى وسط النمو بتركيز 5 غ/ل

القراءات المأخوذة:

تم أخذ القراءات التالية:

- 1- موعد بدء نمو المشيجة على الأوساط المغذية (يوم) ويحسب من موعد تلقيح الوسط حتى بداية الانتشار.
- 2- قطر المستعمرة النامية (مم) على الأوساط المغذية كل ثلاثة أيام بواسطة مسطرة مدرجة لمدة 3 أسابيع.
- 3- سرعة النمو (مم/يوم) ويتم قياسها وفق المعادلة التالية:
- سرعة النمو = قطر المستعمرة (مم) / عدد الأيام اعتباراً من بدء نمو المشيجة حتى اكتمال النمو.
- 4- معامل النمو: يحسب وفق (Elias, 2008) 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 المستتبت 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.

طريقة العمل:

استخدم في تنفيذ البحث نترات الصوديوم وهو مركب كيميائي صيغته الكيميائية $NaNO_3$ وهو ملح عديم الرائحة قد يكون على

شكل بلورات شفافة عديمة اللون، أو على شكل مسحوق بلوري أبيض اللون.

يعتبر تحضير الوسط المغذي المناسب لنمو الغزل الفطري الخطوة الأولى في إنتاج بذار الفطر، ويتطلب وجود مادة كربوهيدراتية ومادة آزوتية بالإضافة إلى مادة جيلاتينية (Agar) لتصلب الوسط المغذي (Elias, 2008). وفي هذه التجربة تم تحضير الوسط المغذي مالت خميرة آجار (MEYA) بإضافة 20 غ مالت و 20 غ آجار و 2 غ خميرة لكل 1 ليتر، مع إضافة أربع تراكيز من نترات الصوديوم (2, 3, 4, 5) غ/ل كمصدر للنيتروجين. ومن أجل تثبيت نسبة C/N 1:20، تم إضافة السكر بمعدل (3, 4, 5, 6) غ لمعاملات نترات الصوديوم السابقة على التوالي كمصدر للكربون، وكمل الحجم بالماء المقطر حتى 1 ليتر لكل معاملة، و ضبطت حموضة الوسط عند الدرجة pH=7 بمعابرتها باستخدام محلول مائات 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 القبة 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 بالقبة (Oie, 2003)، ووضعت في منتصف الطبق (Stamets and Chilton, 1983) وأحكم إغلاق الأطباق للتقليل من فرص التلوث، وتسهيل التعامل معها لتفادي فتحها والتقليل من التبخر، ثم وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 24 ± م، وتم أخذ القراءات المطلوبة حسب ما ذكر انفاً الشكل (2).



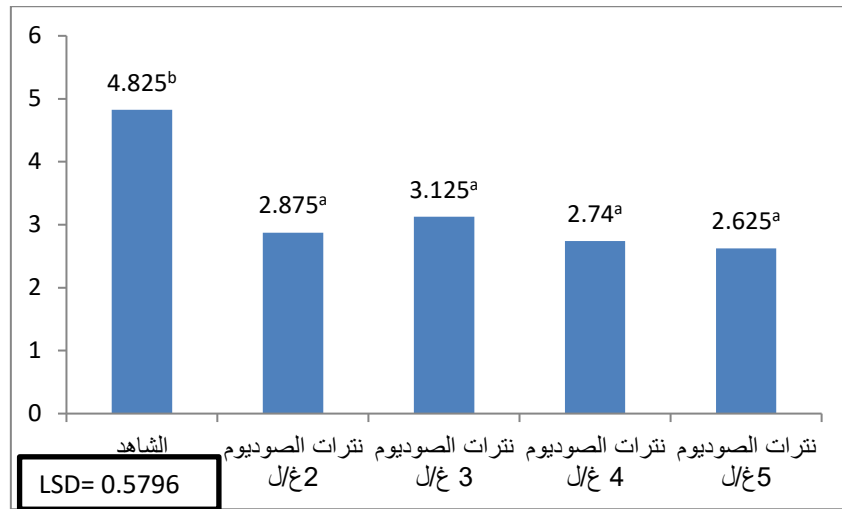
الشكل (2): طريقة ومكان أخذ الخزعة من الجسم الثمري.

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:

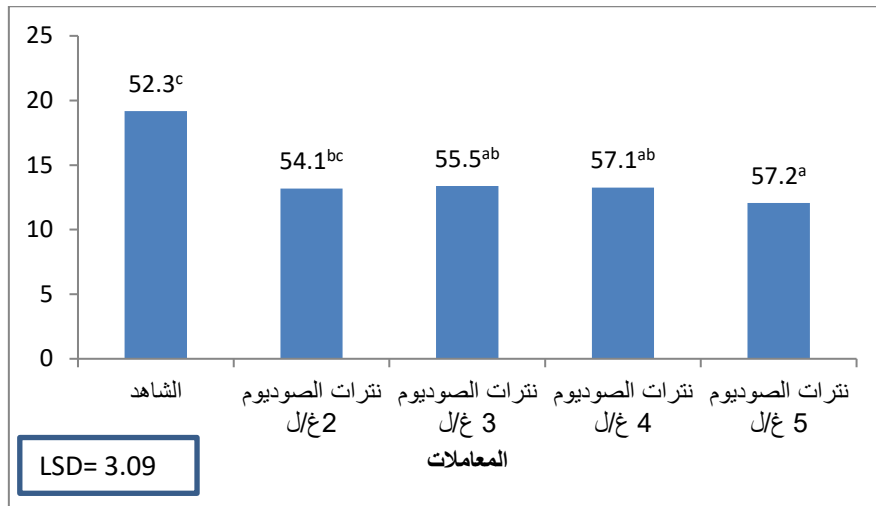
تأثير إضافة نترات الصوديوم في موعد بدء نمو الغزل الفطري في المزرعة الأم G0: أظهرت النتائج تفوق جميع معاملات نترات الصوديوم على معاملة الشاهد في متوسط موعد بدء نمو الغزل الفطري حيث بلغ 2.875, 3.125, 2.740, 2.625 يوم في معاملات نترات الصوديوم 2, 3, 4, 5 غ/ل على التوالي , ولم تكن الفروق معنوية فيما بينها في حين بلغت الفترة في معاملة الشاهد 4.825 يوماً شكلاً (3).



الشكل (3): تأثير إضافة نترات الصوديوم في موعد بدء نمو الغزل الفطري للمزرعة الأم G0 (متوسط تجربتين مخبريتين).

تأثير إضافة نترات الصوديوم في قطر المستعمرة الفطرية مم :

أظهرت نتائج الشكل رقم (4) تفوق قطر المستعمرة الفطرية في معاملات إضافة نترات الصوديوم معنوياً على الشاهد عدا المعاملة 2 غ/ل. وتفوقت معاملة إضافة نترات الصوديوم 5 غ/ل على معاملة نترات الصوديوم 2 غ/ل ولم تكن الفروق معنوية بين معاملات نترات الصوديوم (3,4,5) غ/ل حيث بلغ قطر المستعمرة 52.3, 54.1, 55.5, 57.1, 57.2 للمعاملات شاهد, 2, 3, 4, 5 غ/ل على التوالي الشكل رقم (4)

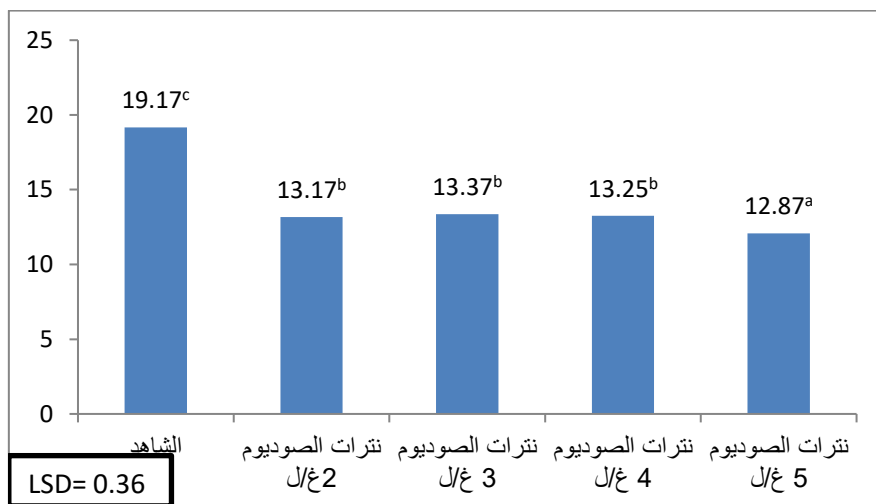


الشكل (4): تأثير إضافة نترات الصوديوم في قطر المستعمرة الفطرية مم (متوسط تجربتين مخبريتين)



الشكل (5): قطر المستعمرة الفطرية للمعاملات المدروسة

تأثير إضافة نترات الصوديوم في المدة اللازمة لاكمال نمو الغزل الفطري بدءاً من موعد بدء نمو الغزل الفطري : نلاحظ من الشكل (6) أن معاملة نترات الصوديوم تركيز 5 غ/ل استغرقت أقل مدة لاكمال قطر المستعمرة الفطرية إذ بلغت 12.87 يوماً وتفوقت على بقية المعاملات ، حيث بلغت المدة 13.17, 13.37, 13.25 و 13.37 يوم على التوالي للمعاملات (شاهد, 2, 3, 4) ، في حين لم تكن الفروق معنوية بين معاملات نترات الصوديوم الباقية 2, 3, 4 غ/ل ولكنها تفوقت معنوياً على الشاهد .



الشكل (6): تأثير إضافة نترات الصوديوم في المدة اللازمة لاكمال نمو الغزل الفطري

تأثير إضافة نترات الصوديوم في سرعة ومعامل نمو المستعمرة الفطرية : أظهرت النتائج تفوق جميع معاملات نترات الصوديوم معنوياً على الشاهد في سرعة نمو المستعمرة الفطرية ، في حين لم تكن الفروق معنوية بين معاملات نترات الصوديوم الأربعة. ومن حيث معامل النمو أيضاً تفوقت جميع معاملات نترات الصوديوم على الشاهد .

الشاهد وحسب الدليل المستخدم لمعامل النمو تبين أن كافة معاملات إضافة نترات الصوديوم للوسط صنفت من الفطور بطيئة النمو الجدول رقم (1).

الجدول (1): تأثير إضافة نترات الصوديوم في سرعة ومعامل نمو المستعمرة الفطرية:

المعاملة	الصفة	سرعة النمو (مم/يوم)	معامل النمو (مم ² /يوم)
الشاهد		27.2 ^b	15.9 ^b
نترات الصوديوم تركيز 2 غ/لتر		41.0 ^a	23.6 ^a
نترات الصوديوم تركيز 3 غ/لتر		41.5 ^a	24.2 ^a
نترات الصوديوم تركيز 4 غ/لتر		43.0 ^a	24.9 ^a
نترات الصوديوم تركيز 5 غ/لتر		44.4 ^a	25.0 ^a
LSD 1%		10.38	1.34

يمكن تفسير النتائج المذكورة في الجدول والأشكال السابقة أن إضافة نترات الصوديوم كمصدر نترات للزيت لوسط زراعة الغزل الفطري أدى إلى زيادة سرعة نمو السلالة المحلية المدروسة للفطر وهذا يتفق مع نتائج (Rai and Tewari., 2016) , ومع نتائج (Manu et al.,1994) الذي أشار أن استخدام نترات الصوديوم ساهمت في زيادة سرعة نمو الغزل الفطري مقارنة مع الشاهد دون إضافات , كذلك توافقت نتائج البحث أيضاً مع نتائج (Amiri et al.,2023) التي أظهرت أن إضافة نترات الصوديوم لوسط نخالة القمح أو الأرز كان لها تأثير في تسريع نمو ميسليوم بشكل ملحوظ للفطر الطبي *Ganoderma lucidum* , ومع نتائج (Kim et al.2009) الذي بين أن معاملة إضافة نترات الصوديوم حقق أعلى نمو للغزل الفطري للفطر الزراعي *Agaricus bisporus*.

الاستنتاجات :

- 1- أدى إضافة نترات الصوديوم إلى وسط النمو إلى الإسراع في نمو مشيجة الفطر وخفض المدة الزمنية لاكتمال نمو المشيجة.
- 1- أدت إضافة نترات الصوديوم 5 غ/ل , إلى زيادة قطر للمستعمرة الفطرية , و سرعة نموها, و معامل النمو.

المقترحات:

إضافة نترات الصوديوم تركيز 5 غ/ل إلى وسط المالت آجار في مرحلة المزرعة الأم.

المراجع:

- Albadr, S. M,2021. Fundamental of fungal physiology, Zamar university, Applicative science faculty, Yemen.p150-152.
- Amiri A. S; Afsharnia, S. B; Habib R. A.(2023) . Effects of manganese, sodium nitrate, and ammonium nitrate on the growth rate of *Ganoderma lucidum* mycelium. Egyptian Journal of Agricultural Research. 101(2).
- Bilal. A. W, R. H; Bodha and A. H. Wani. (2010). Nutritional and medicinal importance of mushrooms. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(24), pp. 2598-2604.
- Booth, C. 1971. Methods in microbiology. Mycological society.London. 4:795.
- Bubnova, O. N. and N. B. Shalashova. (1987). The Mushrooms .ed. 'Rosselhoz' . Moscow. Russia. P 28. (in Russian).
- Daza A; Manjon JL; Camacho M; Romero De La Osa L, Aguilar A; Santamaria C.(2016). Effect of carbon and nitrogen sources, PH and temperature on in viticulture of several isolates of *Amantiza caesarea* (Scop.: Fr) Pers. Mycorrhiza.16(2):133-136.

- De paiva neto V.B; Otoni, W.C . (2003). carbon sources and there osmotic potential in plant tissue culture, does it matter? *Sci horticulturae*. 97:193-202.
- Economic Research Service. (2008). Vegetable and melons yearbook, United states department of agriculture. Publication ERS-VGS-2002.
- Elias, E.(2008). effect of the nutrient media on mushroom spawn at local production of (*Agaricus bisporus*). Master degree. Tishreen university, Syria,. p 67.
- kim Y. D; Kim Y.H. (2009). Method of culturing *Agaricus bisporus* mycelium and medium for culturing the same. Patent Application Publication. United States. pp1-5.
- 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.
- Lipavska H; Konradova H. (2004). Somatic embryogenesis in conifers; the role of carbohydrate metabolism. *In vitro cell Dev Biol Plant*. 40:23-30.
- Manu-Tawiah W; Martin, A.M. (1994). Nitrogen sources and the growth response of *Pleurotus ostreatus* mushroom mycelium. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 21, 194–199. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(88\)70776-2](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(88)70776-2).
- Oei, P. (2003). Mushroom cultivation, appropriate technology for mushroom growers. Netherlands. P.10-84.
- Rai and A. K; Tewari.(2016).Evaluation 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.
- Royes, D. And C. Schisler. (1980). Mushroom cultivation and marketing. *Interdisciplinary science reviews*. V.5,No.4.p:324-331.
- Songulashvii G.G; Elisashvili V; Wasser S.P; Hadar Y; Nevo E. (2008). Effect of the carbon source and inoculum preparation method on laccase and manganese peroxidase production in submerged cultivation by the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) P. Karst.(Aphyllophoromycetidae). *Int J Med Mushrooms*. 10(1):79-86.
- Stamets P. (2005). *Mycelium Running, How Mushrooms Can Help Save the World*. Ten Speed Press, Berkeley, Toronto. ISBN-13: 978-1-58008-579-3. 339 p.
- Stamets, P.and J. Chilton.(1983). *A practical Guide To Growing Mushroom at Home*. Agarikn Press. Olympia, Washington, US.415pp.
- 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.

The effect of adding sodium nitrate to the medium of Malt yeast Agar on the growth of the mycelium of the mother culture of *Agaricus bisporus*

Riad zidan⁽¹⁾, Jihan motawaj⁽²⁾, Hegazi mando⁽³⁾, Samaher Ibrahim^{(1)*}

(1). Department of Horticulture, Tishreen University, College of Agriculture, Lattakia, Syria.

(2). General Organization for Seed Multiplication

(3). National Commission for Biotechnology (NCBT), Damascus, Syria.

(*Corresponding author: Samaher Ibrahim. E-mail: smhribrahim@gmail.com).

Received: 22/10/2023

Accepted: 13/02/2024

Abstract:

The research was carried out at the Stemarkho facility for producing cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus*, by repeating two experiments in the years 2022-2023. It included five treatments: control (without sodium nitrate), sodium nitrate at concentrations of 2, 3, 4, and 5 g/liter to the malt agar medium, with the aim of studying its effect on the growth of mycelium the mother culture's. The research was carried out with a completely randomized block design. The results of the average repetition of the experiment twice in a row in the years 2022-2023 showed that all sodium nitrate addition treatments were superior to the control in terms of the start date of mycelium growth, growth speed, and growth coefficient. As for the diameter of the fungal colony, the treatment with the addition of sodium nitrate concentration of 5 g/L was superior, reaching 57.2 mm compared to the control, 52.2 mm. It was also superior in the time period required for the complete growth of the fungal colony, reaching 12.87 days, compared to 19.17 days for the control.

Keywords: agricultural mushrooms, sodium nitrate, supporting the mother culture, growth speed, growth coefficient.