مجلة العلوم البحتة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly ISSN 2521-9200
Received 12/05/2019 Revised 21/08/2019 Published online 25/11/2019

التدريب على إكثار الفطريات التجارية المأكولة – فطر الشيتاكي *Lentinula edodes* كنموذج

*صالح السلوقي و اروى اشتيوي و رتاج راشد
قسم علم النبات– كلية العلوم– جامعة طرابلس، ليبيا
*للمراسلة: sisslugi@uot.edu.ly

الملخص لغرض التدريب على إكثاره بالطريقة التجارية المتداولة في مزارع الفطر، تم أخذ خزعة من نسيج فطر الشيتاكي *Lentinula edodes*، تحديدا من أسفل القبعة وتم حقنها في الوسط المغذي (PDA Potato Dextrose Agar) في أطباق بتري، حضنت الاطباق على درجة حرارة 24±0.1 س. بعد 3 أيام من الحقن بدأ نمو ميسليوم الفطر ينتشر، وبعد 7 أيام تكونت هالة من الميسليوم حول خزعة النسيج، وبعد 20 يوم أكتمل نمو ميسليوم الفطر على الوسط المغذي في كامل الطبق. من المعروف ان الاكثار على اطباق بتري هو على المستوى المعملي، أما الإكثار التجاري للميسليوم المستعمل في مزارع الفطر فيكون على بذور محاصيل مجهزة لهذا الغرض. ولهذا تم تقسيم ميسليوم كل طبق الى 8 اقراص وحقنت الاقراص في بذور القمح المجهزة وحضنت على درجة حرارة 24±0.1 س. بدأت نموات ميسليوم الفطر في الظهور والانتشار على البذور بعد 7 أيام، وانتشرت بوضوح خلال 14 يوم وأكتمل استعمارها لبذور القمح التي اصبحت جاهزة لاستعمالها في تلقيح الكومبوست في مزارع الفطر بعد 21 يوم.

الكلمات المفتاحية: المشاريع الصغرى والمتوسطة، تأهيل الخريجين، زراعة فطر الشيتاكي، *Lentinula edodes* .

Training on commercial mushroom Propagation: Shitake mushroom *Lentinula edodes* as a model

*S. Isslugi , A. Eshtawe , R. Rashid
Department of Botany, Faculty of Science, University of Tripoli, Libya
*Corresponding author: sisslugi@uot.edu.ly

Abstract For the purpose of training on commercial propagation of mushroom mycelium, a biopsy of Shiitake mushroom *Lentinula edodes* was taken from the bottom of the cap and injected into PDA Potato Dextrose Agar in Petri dishes which were then incubated at 24±0.1C. After 3 days of injection, growth of the mushroom mycelium began to spread. After 7 days, a halo of mycelium was formed around the tissue biopsy. After 20 days, growth of the mushroom mycelium was completed on the whole of the dish. Due to the fact, commercial form of mycelium which is used in mushroom farms involves sterilized cereal seeds, Mycelium of every Petri dish was divided into 8 discs which were then mixed with sterilized wheat seeds in flasks and incubated at 24±0.1C. Shiitake mushroom mycelium began to emerge and spread after 7 days, spread clearly within 14 days and colonized the wheat seeds completely after 21 days. The seeds were then ready to be used for inoculation of compost in mushroom farms.

Keywords: Cultivation of Shiitake mushroom, *Lentinula edodes*, Small and medium incubators.

المقدمة

1-1 الوصف المورفولوجي للفطريات:-

هي كائنات حقيقية النواة، تنتشر في كل البيئات تقريبا، لا تحتوي على صبغة الكلوروفيل ولا تقوم بعملية البناء الضوئي ، تتغذى من خلال التطفل على كائنات حية أخرى أو التكافل معها أو الترمم بتحليل المادة العضوية الميتة. يتكون جسم الفطريات المأكولة من قبعة وشبه ساق ومشيجة، تحمل القبعة أبواغا صغيرة الحجم (Spores) لها وظيفة البذور في النباتات الراقية، اما شبه الساق في الفطر فيقابل الساق في النباتات الراقية، يحمل القبعة على قمته ويتصل بالمشيجة من اسفله، المشيجة هي الغزل الفطري وهي مجموع هيفات أو خيوط الفطر تنمو في التربة أو على او في جسم العائل وتقابل الجذور في النباتات الراقية.

1-2 نبذة تاريخية على زراعة الفطر:-

الصينيون هم أول من بدأ زراعة الفطر حوالي سنة 600م [3] واشتهروا بزراعة فطر الشيتاكي *Lentinula edodes*. منذ منتصف القرن الخامس عشر استطاع الأوروبيون استحداث طرق بدائية لزراعة بعض الأنواع الأخرى مثل *Agaricus bisporus*. تميزت مساهمات العلماء الفرنسيين في تطوير إنتاج الفطر حيث استعملوا طرق خاصة لإنتاج المشيجة مخبريا من خلال إنبات الأبواغ على أوساط مغذية، أعتبر ذلك سرا مقدسا لم يكشف عنه الا مع بداية القرن العشرين، أمكن التوصل فيما بعد إلى طريقة إنتاج وإكثار المشيجة خضريا من أنسجة الأجسام الثمرية. شهد القرن العشرون نجاح استئناس الكثير من الفطريات البرية الصالحة للأكل وزراعتها على نطاق تجاري، تحولت زراعة الفطريات إلى علم قائم بذاته وصناعة مستقلة تستوعب

رؤوس أموال ضخمة وتؤثر في الاقتصاد العالمي. اشار [2] إلى انه يعرف حاليا أكثر من 2000 نوع من الفطريات القابلة للأكل في العالم، ويستخدم منها حوالي 200 نوع في الغذاء، ويزرع منها 30 نوع على نطاق تجاري حول العالم، ويعتبر الفطر الزراعي *Agaricus* spp. و الشيتاكي*Lentinula edodes* ، والمحاري أو الصدفي .*Pleurotus* spp أكثرها أهمية وانتشارا حيث يمثل انتاجها ما نسبته 32% ، 25% ، 14% على التوالي من كمية الإنتاج العالمي.

1-3 اسباب الاهتمام بزراعة الفطر:

1-3-1 القيمة الغذائية: الفطر غنى بالبروتين وتصل نسبة البروتين في بعض أنواعه الى أكثر من 40% من وزنه الجاف، بالإضافة إلى وجود الأحماض الامينية والأملاح والفيتامينات، وفى الوقت نفسه فهو فقير جدا بالكولسترول والدهون. لمزيد من التفصيل انظر.[7]

1-3-2 القيمة الدوائية: فمثلا وجود مادة ''lentinan''والتي تنسب الى جنس الشيتاكي *Lentinula*، وهي مثبطة للنموات السرطانية الموجودة في المصابين ومانعة لتكونها لدى غيرهم، كما انه بسبب محتواه العالي من البروتين وانعدام الدهون به فيوصى به لمتبعي الحمية الغذائية ومرضى ضغط الدم والسكري. القيمة الغذائية والدوائية للفطريات مفصلة اكثر في[4] .

1-3-3 زراعة لا تستهلك ماء حيث يتم الري بالرذاذ وهذا يكسبها اهمية خاصة في المناطق شحيحة الماء .

1-3-4 زراعة لا تحتاج إلى مساحة كبيرة من الأرض حيث يزرع المحصول على أرفف في غرف مجهزة.

1-3-5 زراعة غير تقليدية ولا يستطيع المزارع التقليدي المنافسة فيها وتستوعب أعداد كبيرة من الخريجين.

1-3-6 زراعة صديقة للبيئة حيث يتم فيها استعمال نجارة الخشب وسبلة الخيل وزرق الدواجن وتبن القمح وهذه المواد بيئة مناسبة لنشوب الحرائق وتكاثر القوارض اذا لم تستثمر .

1-3-7 يمكن استعمال مخلفات زراعة أنواع معينة منه كعلف حيواني غنى بالبروتين بعد تعقيمها.

1-4 تصنيف فطر الشيتاكي*Lentinula edodes* :

Kingdom: Mycota
Phylum: Basidiomycota
Class: Agaricomycetes
Order: Agaricales
Family: Marasmiaceae
Genus*: Lentinula*
Species*: Lentinula edodes*

1-5 :الهدف من البحث

تدريب الخريجين على القيام بأعمال شركة انتاج تقاوي او ميسيليوم الفطر، انتاج هذه الشركة يمثل الخطوة الاولى في سلسلة من المراحل تتضمنها زراعة الفطر ويفترض ان تقوم بكل مرحلة منها شركة او عدة شركات، منها على سبيل الذكر: الزراعة والتغليف والتعليب والبحوث. ينبغي ان يكتسب الخريجون المهارات اللازمة للقيام بأعمال المراحل (الشركات) المختلفة. يأتي ذلك في ظل ما تفتضيه الحاجة من تأهيل للخريجين لمواكبة متطلبات سوق العمل ومن توثيق للصلة بين المجتمع والجامعة.

2-المواد وطرق العمل

2-1 :الأدوات والأجهزة المستخدمة

، اطباق بتري Autoclave ,معدة تعقيم ،دورق قياسي سيلفر المونيوم، حمام مائي، ميزان حساس، حضانة، حجرة عزل Agar, Dextrose. ,بطاطا، ماء مقطر، لفة قطن ,

2-الوسط المغذي Culture media: 2

يتكون من Potato Dextrose Agar (PDA):الوسط المغذي

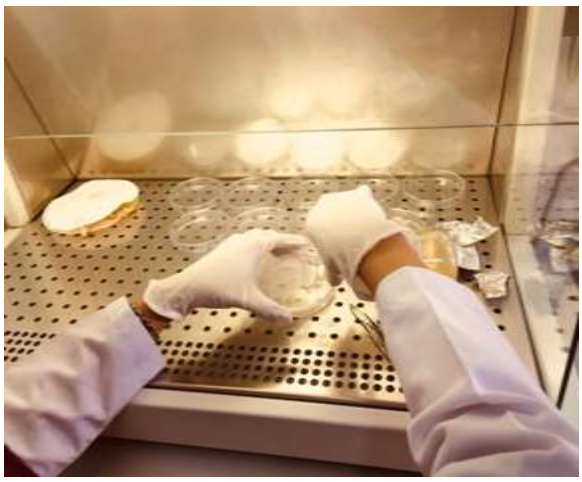
50g Potato
5g Dextrose
5g Agar
ماء مقطر .

هذه الكمية تكفي لتحضير 10 أطباق بتري بقطر cm9 .

تحضير الوسط المغذي:- قطعت البطاطا وغليت في 250 مل من الماء المقطر لمده 15 دقيقة، بعدها تم ترشيح المحلول خلال قطعة شاش شكل (1-2)، استقبل الراشح في دورق سعته 250 مل.

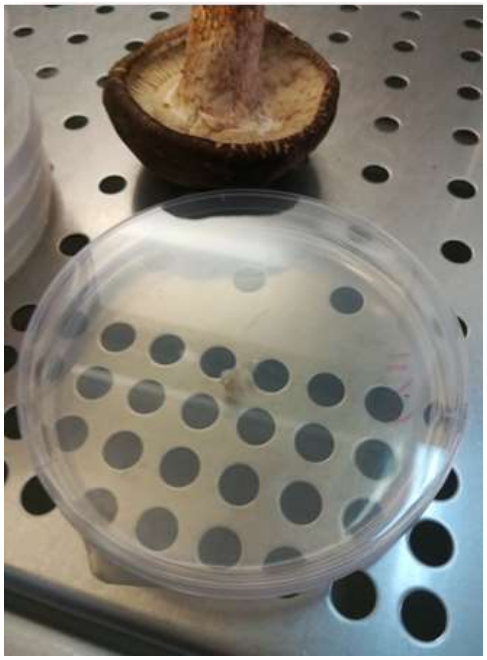
وأضيف إليه 5 جرام Agar و5 جرام Dextrose تدريجيا مع التحريك، كمل الحجم الي ربع لتر بإضافة الماء المقطر ووضع الدورق في حمام مائي درجة حرارته 80 سْ لإذابة مكونات المحلول، ثم غلقت فوهة الدورق بالقطن ووضع بعدها في Autoclave حيث تم تعقيم محتوياته عند درجة حرارة 121 سْ وضغط 15 بار لمدة 20 دقيقة. في غرفة العزل تم بعدها سكب الوسط المغذيPDA داخل اطباق قطرها cm9 شكل (2-2).

شكل(2-1) يوضح طريقة تصفية الوسط المغذيPDA بقطعة شاش.



شكل(2-2) يوضح سكب الوسط المغذي PDA في أطباق بتري داخل غرفة العزل.

2-3 حقن فطر الشيتاكي في الوسط المغذي: تم اختيار أجسام ثمرية من فطر الشيتاكي ذات صفات جيدة ولون طبيعي وسليمة وغير متفتحة ومسحت من الخارج بواسطة كحول 75% في غرفة العزل، جففت على ورقة ترشيح تم أخذ مكعبات صغيرة بحجم 3-4 ملم مكعب من الجزء السفلي لقبعة الفطر الذي يمثل نقطة اتصال القبعة بشبه الساق، نقلت القطع المأخوذة الى أطباق بتري تحتوي على الوسط المغذي PDAداخل غرفة العزل [3] (شكل2-3).

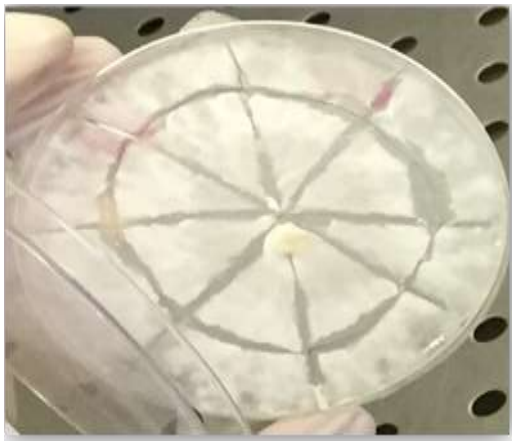


شكل(2-3) يوضح طريقة وضع مكعبات الفطر على PDA.

بعدها أغلقت الأطباق بإحكام بواسطة شمع البرافين، ثم وضعت الأطباق في حضانة عند درجة حرارة 0.1 ± 24 سْ وظلام دائم. بعد اكتمال نمو ميسيليوم الفطر على الوسط المغذي بالأطباق اعتبرت الاطباق بمثابة المزرعة الأم Mother culture.

2-4 طريقة تحضير الشريحة: بواسطة ملقط معقم بالحرارة اخذ جزء من ميسيليوم الفطر من طبق بتري ووضع على شريحة زجاجية ووضع عليه قطرة من صبغة Lacto phenol وفحصت تحت المجهر.

2-5 قسمت مشيجة المزرعة: حقن الميسيليوم في بذور القمح الام Mother culture بكل طبق الى ثمانية اقراص واستعملت لتلقيح البيئة الحبيبية المتمثلة في بذور قمح مجهزة بطريقة محددة.



شكل(2-4) يوضح طريقة تقسيم المزرعة الأم الى ثمانية اقراص لاستعمالها في حقن حبوب القمح المجهزة.

تحضير البيئة الحبيبية Mushroom Spawn:

والهدف منها تجهيز حبوب القمح لتصبح محملة بميسيليوم الفطر وجاهزة لتلقيح الكومبوست في مزارع الفطر(بداية اعمال الشركة الثانية). غسلت حبوب القمح بماء الحنفية جيدا ثم استبعد ماء الغسيل ثم وضعت في دورق يحتوي على ماء مقطر للنقع، بعد النقع لمدة يوم ازيلت جميع الحبوب الطافية على السطح وغسلت الحبوب المتبقية مرة ثانية ثم وضعت في ماء مقطر وغليت لمدة 10-15 دقيقة حتى انتفخت الحبوب دون أن تتهرس. تم تقدير كمية المحتوى المائي في الحبوب بواسطة المعادلة الآتية:

المحتوى المائي للحبوب=(الوزن الرطب-الوزن الجاف) × 100
الوزن الرطب

ملاحظة: الوزن الجاف يمثل وزن البذور قبل نقعها بالماء ودون تعريضها لحرارة الفرن.

بعدها صفيت الحبوب ونشرت في مكان نظيف تم تعقيمه بالكحول للتخلص من الماء الزائد، واضيف اليها كربونات الكالسيوم وكبريتات الكالسيوم المائية بمعدل 1% لكل منهما على اساس الوزن الرطب وخلطتا جيدا مع الحبوب (شكل2-5).

شكل(2–5) يوضح هيئة حبوب القمح قبل التعقيم.

بعدها وضعت الحبوب في أوعية زجاجية مع مراعاة ملئ الاوعية الى النصف أو الثلثين فقط(شكل 2–6) لتسهيل رجها فيما بعد لخلط بذور القمح بالميسيليوم، أغلقت الاوعية بالقطن الطبي وتم تعقيمها بالأوتوكلاف على درجة حرارة 121 سْ وضغط 15 بار لمدة 20 دقيقة وتركت حتى تبرد، وضعت أقراص المزرعة الأم التي تحتوي على ميسيليوم الفطر على الحبوب داخل الوعاء (شكل 2–7) بواقع قرص لكل وعاء وحضنت عند درجة حرارة 01±24 سْ في الظلام، وهز كل وعاء مرة اسبوعيا حتى اكتمال استعمار الميسيليوم للبذور.

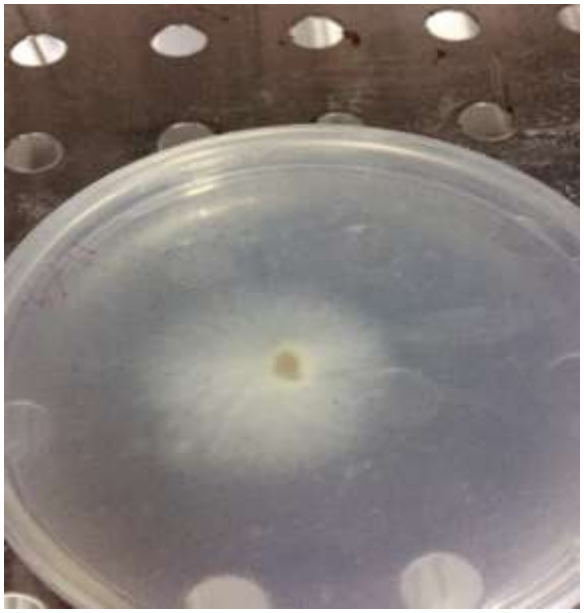
شكل(2–6) يوضح مدى تعبئة الاوعية ببذور القمح المجهزة للحقن

شكل(2–7) يوضح حقن الاوعية الزجاجية المحتوية على بذور القمح المجهزة بأقراص ميسيليوم الفطر من المزرعة الام.

3– النتائج والمناقشة

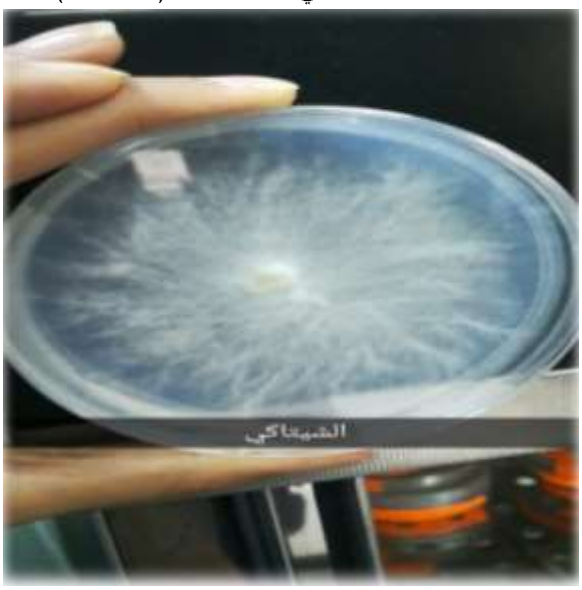
3–1 نمو ميسيليوم فطر الشيتاكي *Lentinula edodes* على PDA:

أظهرت النتائج أن الغزل الفطري لونه ابيض ويصبح خيطيا و قطنيا مع الوقت ونموه على الأجار كثيف. اوضحت التجربة انه بعد عملية الحقن بأسبوع أصبح نمو ميسيليوم فطر الشيتاكي على(PDA) في الاطباق على شكل هالة من الميسليوم حول القطعة الصغيرة من النسيج البادي كما هو واضح في (شكل 3–8).



شكل (3–8) يوضح نمو ميسيليوم فطر الشيتاكي على PDA بعد اسبوع من الحقن.

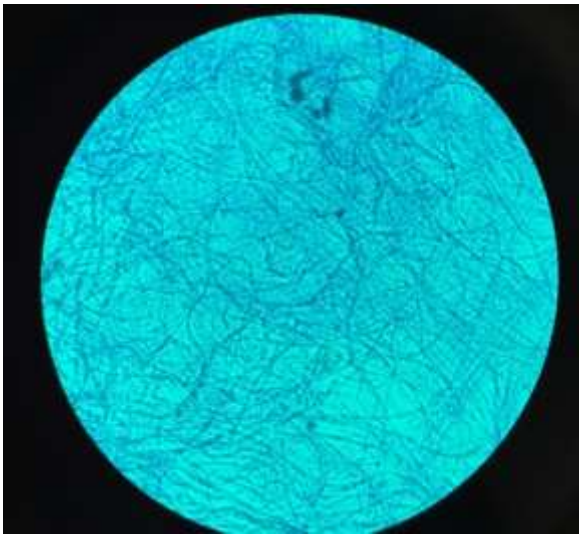
وبعد مرور حوالي ثلاثة اسابيع أكتمل نمو ميسيليوم الفطر على PDA وكان نموه كثيف وخالي من الملوثات (شكل3–9).



شكل(3–9) يوضح اكتمال نمو ميسيليوم فطر الشيتاكي على PDA بعد 3 أسابيع من الحقن.

3-2الغزل الفطري تحت المجهر:

تحت المجهر ظهر ميسليوم الفطر كخيوط فطرية مقسمة وهذا يتفق مع كون فطر الشيتاكي *Lentinula edodes* يتبع الفطريات البازيدية، انظر الشكل (3–10). لمزيد من التفصيل حول الربط بين هيئة الفطر وزيادة فرص تكيفه مع البيئة المجاورة انظر [5].



شكل (3–10) يوضح هيئة ميسليوم فطر الشيتاكي تحت المجهر.

3-3 :نمو فطر الشيتاكي على بذور القمح

بعد حوالي اسبوع من حقن الحبوب بأقراص ميسيليوم الفطر بداء نمو ميسيليوم الفطر يتضح على بذور القمح، بعد أسبوعين أصبح النمو واضحا أكثر(الشكل 3–11)، بعد ثلاثة أسابيع أكتمل نمو الفطر على الحبوب كما هو موضح في الشكل.(3-12)

مع نهاية هذه المرحلة تنتهي اعمال الخطوة (الشركة) الاولى التي تستهدف توفير ميسيليوم الفطر ويكون تلقيح بذور القمح بميسيليوم الفطر قد اكتمل بالكامل واصبحت بذور القمح جاهزة لاستعمالها في مزارع الفطر لتلقيح الخلطة او الكومبوست الذي يخلط بهذه البذور الملقحة لإنتاج الفطر(بداية اعمال الشركة الثانية).

من مهام الجامعات والمراكز البحثية تفعيل العلوم التطبيقية وتطويعها لخدمة المجتمع. الاهتمام بزراعة الفطر مثال للبؤر التي يمكن لمؤسسات التعليم التركيز عليها. وجود مراجع قيمة تناولت الجوانب المختلفة من زراعة الفطر بدرجة كافية من التفصيل مثل [1] و [6] يساعد على تبني واستحداث زراعة الفطر في ليبيا ويمكن من خلال نشر هذه الزراعة الاستفادة من المزايا الاقتصادية والاجتماعية والبيئية والغذائية والدوائية الناتجة عن زراعته.

يمكن الاشارة الى نموذج وهو شركة Sylvan وهي واحدة من الشركات المنتجة لميسيليوم الفطر في اوربا حيث استطاعت توفير اكثر من 400 فرصة عمل لمحيطها (تواصل شخصي).

شكل (3–11) يوضح مدى انتشار ميسيليوم فطر الشيتاكي على بذور القمح بعد اسبوعين من الحقن.

[2]- Chang, S.T. (1999). World Production of Cultivated Edible and Medicinal Mushrooms in 1997 with Emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) International Journal of Medicinal Mushrooms Volume 1, 1999 Issue 4. Sing, in China.

[3]- Chang, S.T. (2008). Training Manual on Mushroom Cultivation Technology. Asian and Pacific Centre for Agricultural Engineering and Machinery (APCAEM) A-7/F, China International Science and Technology Convention Centre no. 12, Yumin Road, Chaoyang District, Beijing 100029, P.R. China. 65 pp.

[4]- Gargano, M. L., Leo J. L. D. van Griensven, Omoanghe S. Isikhuemhen, Ulrike Lindequist, Giuseppe Venturella, Solomon P. Wasser & Georgios I. Zervakis (2017) Medicinal mushrooms: Valuable biological resources of high exploitation potential, Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 151:3, 548-565, Retrieved on13/06/2019, DOI: 10.1080/11263504.2017.1301590

[5]- Künzler, M. (2018) How fungi defend themselves against microbial competitors and animal predators September 2018 PLoS Pathogens 14(9):e1007184 Retrieved on 03/06/2019. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007184

[6]- Stamets, P. and Chilton,J.S. (1983) The mushroom cultivator :A practical guide to growing mushrooms at home. Agrikon Press, Olympia, Washngton.415 pages

[7]- Tarun, K. and Meenaksh, S. (2016) Nutritional profile and some health benefits of mushroom Marumegh: Volume 1(2): 2016 ISSN: 2456-290424 Retrieved on 01/05/2019 Available online at www.marumegh.com

شكل(3-12) يوضح اكتمال نمو ميسيليوم فطر الشيتاكي على بذور القمح وجاهزيتها للاستعمال بعد 21 يوم من الحقن.

شكر وتقدير

لابد من تقديم جزيل الشكر للدكتور طاهر ابورقيبة استاذ الفطريات بالكلية لما بذله من مجهودات وما قدم من مشورة علمية ساهمت في اخراج هذا العمل بصورة افضل.

المراجع

[1]-محمد يبرق، سليم خوجة، عمر عتيق و وجيه دواليبي (2009) الدليل العملي لزراعة الفطور في سورية مطبوعات الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية سوريا 161 صفحة.