تأثیر دو شاخص بستر کشت و رطوبت محیط در افزایش میزان تولید متابولیت ثانویه سیلوسایبین در دو رقم قارچ دارویی *Strophoria Cubensis*

سیدمحمد حسینی[۱]، نادعلی بابائیان*[۲]، حمید نجفی زرین[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی، مازندران، ایران

۲- استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی، مازندران، ایران

۳- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی، مازندران، ایران

* ایمیل نویسنده مسئول: mohamadhoseinibtc@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۳/۲۰- تاریخ پذیرش: ۱٤۰۳/٦/۳۱)

چکیده

قارچ‌ها به‌عنوان یکی از تجزیه‌کننده‌های اصلی مواد آلی در طبیعت شناخته می‌شوند که طیف گسترده‌ای از مواد طبیعی از جمله سلولز و لیگنین را می‌توانند به مواد آلی تجزیه کنند. قارچ‌ها قادر به تولید طیف گسترده‌ای از متابولیت‌ها از جمله اسیدهای آمینه، پپتیدهای کوچک، رنگدانه‌ها و سایر محصولات طبیعی و برخی مواد سمی قوی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و مایکونوکسین‌ها هستند. هدف از این پژوهش بررسی رابطه تولید سیلوسایبین (Psilocybin) با محتوای بستر کشت و میزان رطوبت در دو رقم قارچ **Stropharia cubensis** بود. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تیمارها شامل دو رقم متفاوت از خانواده P. cubensis، دو سطح رطوبت و ۳ نوع بستر کشت بود. بستر تأثیر معنی‌داری بر محتوای سیلوسایبین (Psilocybin) موجود در قارچ داشت. تنش رطوبت محتوای سیلوسایبین (Psilocybin) و تراکم رویش قارچ‌ها را به شدت تحت تأثیر قرار داد. رقم Albino A+ در رطوبت ایده‌آل با میانگین عددی ٦٦٪ نسبت به همین رقم در رطوبت مورد بررسی دارای بیشترین مقدار وزن تر کل در این گروه‌بندی بود نتایج حاکی از آن بود که در شرایط تنش رطوبتی، رقم اول (Golden Cap)، بهتر از رقم دوم (Albino A+) عمل کرده است. بیشترین میزان سیلوسایبین (Psilocybin) در رقم دوم و بستر حاوی پیت ماس و الیاف گیاهی دیده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که بستر کشت تأثیر معنی‌داری بر محتوای سیلوسایبین موجود در قارچ داشت. همچنین مشاهده شد که تنش رطوبت محتوای سیلوسایبین و تراکم رویش قارچ‌ها را به شدت تحت تأثیر قرار داد. در این پژوهش، بستر کشت و رطوبت ایده‌آل در هردو رقم باعث افزایش تراکم رشد قارچ‌ها شد. بهترین عملکرد نسبت به متغیرهای مورد آزمایش در بسترِ حاوی پیت ماس، رطوبت اشباع و رقم Albino A+ دیده شد.

کلمات کلیدی: قارچ دارویی، سیلوسایبین، بستر کشت، اثر رطوبت

مقدمه

قارچ‌ها گروهی از جانداران یوکاریوت هستند، شامل زیرگونه‌هایی مانند مخمرها، کپک‌ها و قارچ‌های چتری می‌باشند. قارچ‌ها در فرمانروایی جدایی از جانوران و گیاهان طبقه‌بندی می‌شوند. قارچ‌ها توانایی فتوسنتز ندارند. در فارسی نام آن سَماروغ بوده و به آن "کلاه دیوان" و "چترمار" می‌گویند. قارچ‌ها همگی هتروتروفاند (دگرپرورده) و برای رشد و تکثیر به ترکیبات آلی، کربن و دی‌اکسید، نیاز دارند. قارچ‌های خوراکی زیرمجموعه‌ی قارچ‌های بازیدومیستاند و به دو دسته‌ی کلی تجزیه‌کننده‌های اولیه که توانایی تجزیه‌ی سلولز و بقایای مرده‌ی گیاهی را دارند و تجزیه‌کننده‌های ثانویه که به محیطی احتیاج دارند که قبلاً توسط میکروب‌ها تجزیه شده باشد، تقسیم می‌شوند. قارچ‌های خوراکی زیرمجموعه‌ی قارچ‌های بازیدومیستاند و به دو دسته‌ی کلی تجزیه‌کننده‌های اولیه که توانایی تجزیه‌ی سلولز و بقایای مرده‌ی گیاهی را دارند و تجزیه‌کننده‌های ثانویه که به محیطی احتیاج دارند که قبلاً توسط میکروب‌ها تجزیه شده باشد، تقسیم می‌شوند. فرهنگ باستانی چین و اکثر کشورهای آسیایی معتقد هستند که قارچ‌های دارویی شفابخش‌اند و عمر را طولانی می‌کنند. در حال حاضر در کشورهای غربی پژوهش‌های بسیاری بر قارچ‌های دارویی و ترکیبات دارویی که از آن استخراج می‌شود، انجام می‌گیرد، هم‌زمان با این تحقیقات، پژوهشگران دیگری در تلاش‌اند تا با ارزیابی و تغییر بسترهای کشت استفاده شده برای قارچ‌ها، تراکم رشد بیشتر و همچنین متابولیت‌های دارویی بیشتری از آن‌ها به دست بیاید. این پژوهش‌ها از سال ۱۹۹۰ تا به امروز ادامه داشته است، اما در سال‌های اخیر تحقیقات در این موضوع شدت بیشتری گرفته است. گونه‌های بسیاری از قارچ‌ها به دلیل خواص دارویی‌شان شناخته شده‌اند. برخی از قارچ‌ها با تثبیت نیتروژن به گیاهان کمک می‌کنند و برخی دیگر با گیاهان به‌طور همزیست زندگی می‌کنند. (Heim & Hafman, 1958) اولین فردی بود که *سیلوسایبین* و *سایلوسین* را در آزمایشگاه جداسازی و شناسایی کرد، هافمن برای این کار از کاغذ کروماتوگرافی استفاده کرد، فرکشن‌های فعال را بر اساس خواص شیمیایی‌شان جداسازی کرد و آن را *سیلوسایبین* نام نهاد. او در سال ۱۹۵۸ برای اولین‌بار به‌صورت مصنوعی و آزمایشگاهی این ترکیب را با نام تجاری *"Indocybin"* ساخت. به دلیل خطرات مرتبط با توهم‌زا بودن این ماده، مطالعات محدودی در مورد *سیلوسایبین* صورت گرفته است. بااین‌حال، برخی محققان دوزهای مؤثری را برای بیماران، بی‌خطر تعیین کرده‌اند. با وجود محدودیت‌های بسیار از دهه ۹۰ میلادی اجازه تحقیقات و مطالعات علمی روی این قارچ‌ها صادر شد و مطالعات آزمایشگاهی و بالینی زیادی با هدف آگاهی از تأثیر این *هالوسینوژن‌ها* بر مغز برای بررسی جنبه‌های مختلف شخصیتی، روان‌پریشی، اضطراب و افزایش تمرکز انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این طرح به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. متغیرهای

پژوهش شامل سه ترکیب متفاوت برای بستر کشت قارچ، دو سطح متفاوت رطوبت و دو رقم از قارچ Psilocybe cubensis، رقم golden cap و Albino A+ باهم مقایسه شدند. برای آزمایش ۳ تکرار در نظر گرفته شد. ۳ ظرف بزرگ تهیه شد در هر ظرف ٦ بستر قرار داده شد. ۳ بستر حاوی رقم اول (golden cap) بوده‌اند شامل ۳ نوع بستر متفاوت. ۳ بستر حاوی رقم دوم (Albino A+) بود شامل ۳ ترکیب متفاوت بستر.

یافتن نژاد موردنظر برای تکثیر قارچ *P. cubensis* برای شناسایی نژاد موردنظر بر اساس صفات ظاهری بیان شده در جنگل‌های هیرکانی در منطقه‌ی کالیکلا لفور در کنار زمین‌های زراعی برنج و درجایی که بیشتر کود اسب و گاو وجود داشت، به جستجو پرداختیم. طی جستجو رقم گلدن تیچر با شاخصه‌های کپ (کلاهک) با قطر ۱/۵ تا ۳ سانتی‌متر، مخروطی و محدب قهوه‌ای کم‌رنگ، هرچه به سمت حاشیه کپ می‌رویم کم‌رنگ‌تر؛ را پیدا کنیم. رقم دیگر مورد بررسی (Albino A+) نیز ویژگی‌های مشابهی دارد با این تفاوت که این نژاد سفید رنگ (آلبینیسم) است. هر نقطه از بافت قارچ، کپ و ساقه فشار و ضربه متحمل شود، کبود شده و در اطراف آن نقطه را رنگی آبی فرا می‌گیرد. زیر کلاهک قارچ آبشش‌ها وجود دارند، باریک و پیوسته، خاکستری‌رنگ و تیره مایل به سیاه ارغوانی هستند. ساقه قارچ سفید رنگ و توخالی و غالباً ۵ تا ۱۲ سانتی‌متر است با قطر حدوداً ۰/٤ تا ۱/٤ سانتی‌متر. قارچ *P. cubensis* به‌عنوان طعم‌دهنده آبدار با طعم قلیایی یا فلزی توصیف شده و بوی خاصی ندارد. هاگ (اسپور) قارچ ۱۱/۵-۱۷/۳× ۸-۱۱/۵ میکرومتر است. بعد از جمع‌آوری نمونه‌های مشابه از جنگل آن‌ها را در ظرف فالکون ۵۰ قرار دادیم و در آزمایشگاه دانشگاه به بررسی سایر صفات کمی قارچ برای اطمینان از صحت نژاد موردنظر پرداختیم.

برای تکثیر قارچ جهت حفظ صفات والد از روش غیرجنسی با کمک تکنیک کشت بافت استفاده شد. به دلیل اینکه نمونه مورد بررسی از طبیعت برداشته شده بود، برای احتمال هرچه کمتر ابتلا به آلودگی، قارچ را با برش طولی از وسط به دو قسمت تقسیم نمودیم، وسط بافت ساقه توخالی است و مشابه آوندهای گیاهی است، این قسمت را با پنس جدا نمودیم و روی پلیت آگار قرار دادیم. پلیت آگار شامل: ۲٪ گلوکز؛ ۱٪ عصاره مخمر؛ ۱٪ عصاره مالت؛ ۲٪ آگار در حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب بود (استامنت.پ و شیلتون، ۱۹۸۳). تقریباً ۷ روز طول کشید تا در دمای اتاق (۲۵ درجه) و در تاریکی در انکوباتور پلیت تکثیر شد و میسیلیوم دوانی صورت گرفت. پس از سفید شدن کامل پلیت، برای تشکیل مرحله‌ی بعدی یعنی اسپاون‌دهی، در زیر هود با استفاده از پنس، پلیت آگار سفید شده به میزبان، اضافه شد. هر پلیت آگار بین ٤ اسپاون ذرت به‌طور مساوی تقسیم شد. در این مرحله میسیلیوم‌هایی که تابه‌حال روی گلوکز و مالت و آگار رشد کرده و تکثیر شده بودند، شروع به استفاده از منبع غذایی جدید کردند و در محیط تکثیر شدند. ۱۲-۱۵ روز زمان برد تا هر شیشه ۵۰۰ گرمی بذر اتوکلاو شده ذرت ۸۰٪ سفید شد. در این مدت شیشه‌ها با

فویل آلومینیومی پوشانده و آن‌ها را در انکوباتور آزمایشگاه با دمای ٢٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

- مرحله‌ی اسپاون‌زنی

میسیلیوم‌های قارچ روی دانه‌ی ذرت اتکلاو شده برای مرحله اسپاون زنی کشت داده شد، بعد از تقریباً ۱۰ روز اولین نشانه‌های میسیلیوم دوانی، در ظرف (شیشه) رؤیت شد (میسیلیوم‌های قارچ‌ها سفید رنگ هستند)، میسیلیوم‌ها تقریباً کامل سراسر شیشه پخش شدند و از تمام منبع غذایی میزبان برای تکمیل فاز رویشی اولیه، تغذیه کردند. این مرحله در شرایط حداقل میزان اکسیژن و با ppm ۵۰۰۰-۱۰۰۰۰ کربن دی‌اکسید (CO_2) در تاریکی کامل رخ داد. در شرایط ایده‌آل تقریباً ۸۰٪ اسپاون سفید رنگ می‌شود که حاکی از عدم آلودگی در محیط است. سپس محتوای قارچی هر شیشه در سه بستر به‌طور مساوی تقسیم شد.

- نحوه‌ی ایجاد بستر:

برای محیط کشت (بستر) از گچ کشاورزی، کوکوپیت و ورمی‌کمپوست و... که از قبل به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه بخارآب اوتکلاو شده‌اند استفاده نمودیم.

بسترهای استفاده شده به شرح زیر است:

۱- بستر حاوی ۳۰٪ کوکوپیت، ۲۲٪ ورمی‌کمپوست، ۳٪ گچ کشاورزی، ۱۰٪ اسپاون قارچ، ۱۰٪ ورمی‌کولیت، ۲۰٪ الیاف گیاهی، کود اسب ۵٪. به‌عنوان تیمار شاهد ۲- بستر حاوی ٤۰٪ خاک اره، ۲۲٪ ورمی‌کمپوست، ۳٪ سبوس برنج، ۱۰٪ اسپاون، ۵٪ ورمی‌کولیت، ۱۸٪ خاک گلدان، ۲٪ کود اسب.

۳- بستر حاوی ۳۰٪ کوکوپیت، ۲۲٪ پیت ماس، ۳٪ گچ کشاورزی، ۱۰٪ اسپاون، ۱۵٪ ورمی‌کولیت، ۲۰٪ الیاف گیاهی. (که ازاینجا طبق تعریف؛ بستر۱، بستر۲، بستر۳، نام برده می‌شوند) در این مرحله دما ۲۳ تا ۲۵ درجه و رطوبت ۹۰٪، در تاریکی کامل برای میسیلیوم‌دوانی اعمال شد. میسیلیوم دوانی کامل در بسترهای نهایی مدت ۱۵-۱۸ روز زمان برد. روز هفتم نشانه‌های اولیه رشته‌های میسیلیوم پدیدار شد. بعد از ۱۵ روز رشته‌های میسیلیومی کامل در بسترها پخش شدند. زمانی که ۷۰٪ از حجم بستر سفید شد درب شیشه‌ها برداشته شد و در محیط استریل (ظرف پلاستیکی بزرگ) قرار گرفت. به دلیل عدم همزمانی در رشد میسیلیوم‌ها، هنگامی که ۷۰٪ از بستر سفید شود، آن‌ها را در محیط رشد قرار می‌دهیم تا برای فاز زایشی آماده شوند.

آماده‌سازی محیط استریل برای بسترها:

ظروف پلاستیکی بزرگ درب دار با حجم ۳۰ لیتر خریداری شد، درب و دیواره‌های ظروف برای دریافت اکسیژن کافی سوراخ شد. (در هر دیواره ۳ سوراخ بزرگ ایجاد شد) و با پنبه آغشته به الکل پوشانده شد، داخل ظروف کاملاً با الکل ضدعفونی شدند، کف ظرف با یک لایه پرلیت به ضخامت ۵ سانتی‌متر، جهت حفظ رطوبت محیط پوشانده شد پرلیت با آب جوشانده شده کاملاً خیس نموده و درب ظروف به مدت یک ساعت بسته شد تا پرلیت آب را جذب کند و رطوبت در پرلیت بماند. سپس بسترها روی پرلیت قرار داده شد و رطوبت محیط تا رسیدن به نقطه اشباع با دستگاه رطوبت ساز خنک تأمین شد، در هر ظرف

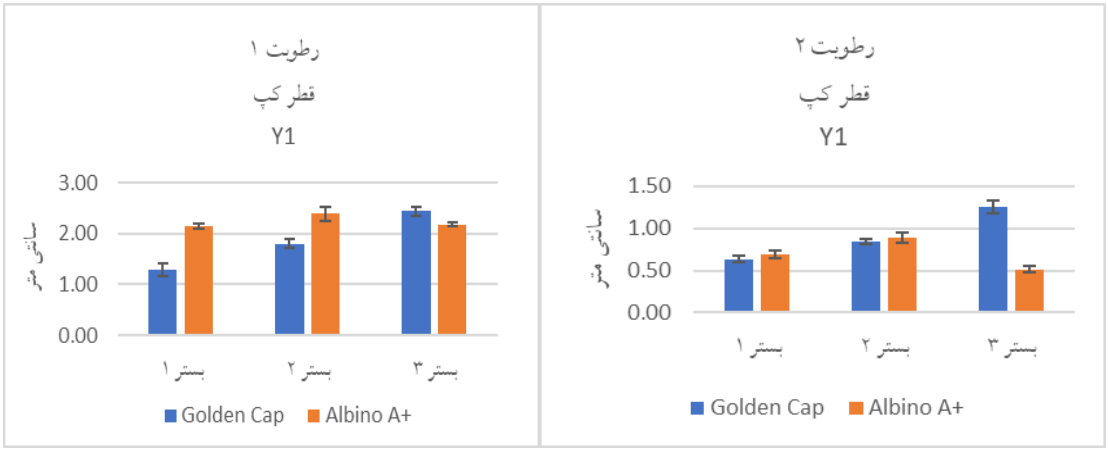
یک رطوبت‌سنج و یک دماسنج برای کنترل محیط قرار داده شد. با توجه به مسئله پژوهش و فاکتورهای دخیل در آزمایش، رطوبت یکی از ظروف پلاستیکی نصف دو ظرف دیگر بود، در ظروف پلاستیکی ۱ و۲ متغیرها انواع بستر، دو رقم از قارچ در یک خانواده بود. ظرف یک به‌عنوان شاهد با ۳ تکرار در نظر گرفته شد، ظرف دوم تکرار و ظرف پلاستیکی سوم همان متغیرها (بستر و دو نژاد) با اعمال رطوبت ۵۰٪ (به‌جای ۸۰٪) در محیط انجام گرفت. تمام ظروف پلاستیکی در شرایط یکسان دریافت اکسیژن و نور کافی برای تغییر از فاز رویشی به زایشی و ایجاد میوه قارچ قرار گرفت، بعد از ۵ روز رشته‌های میسیلیوم منشعب‌تر و متراکم‌تر گشتند و نشانه‌هایی از ظهور پریموردیا در بستر پدیدار شد. برای اطمینان از شرایط محیطی یکسان هر روز و در بازه‌های زمانی مشخص رطوبت و دمای محیط بررسی شد. مرحله پریموردیا، مرحله‌ی میانی فاز رویشی و زایشی قارچ است. در نقاطی که پریموردیا پدیدار می‌شود میوه قارچ (Fruiting body) ایجاد می‌شود. در این زمان رطوبت ۹۰-۹۵٪ در محیط بسترهای یک و دو اعمال شد. دما ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد، نوردهی بسترها ۱۲-۱۵ ساعت در روز نور غیرمستقیم اعمال شد. در روزهای ۳۱ تا ۳۳ میوه‌ی قارچ یعنی اسپوروکارپ پدیدار شد و فاز میانی پریموردیا از روز ۲۵ تا ۳۰ زمان برد (شکل ۸-۳). همراه با نوردهی توصیه شده توسط استامنت (۱۹۹۶) با رطوبت ۹۰٪ و دمای ۱۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد، رویش میوه قارچ یعنی پدیدار شدن ساقه و کپ از روز ۳۵ مشاهده شد، دو روز زمان برد تا کپ (کلاهک) قارچ بالغ شود و آماده‌ی اسپور پراکنی شود. دما در زمان برداشت همچنان ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. همانطور که اشاره شد بعد از ۳۵ روز اسپوروکارپ پدیدار شد، در روزهای ۳۶ تا ٤٠ اولین برداشت و نمونه‌گیری از میوه قارچ (Fruiting body) انجام گرفت. بهترین زمان برای برداشت میوه قارچ زمانی است که کپ قارچ محدب شده است و پرده زیرین آبشش‌ها (Gill) کاملاً کشیده شده باشد، درست قبل از زمان اسپورپراکنی؛ طبق پژوهش‌های ذکرشده در بالا، قارچ‌هایی که به مرحله اسپور پراکنی رسیده‌اند میزان سیلوسایبین کمتری در بافت خود دارند و درصدی از متابولیت صرف بقای نسل شده است. در این خانواده از قارچ‌ها حد آستانه میزان متابولیت ثانویه درست پیش از اسپور (هاگ) پراکنی است. نمونه‌هایی که موفق به برداشت پیش از اسپورپراکنی نشد، از آنالیز برای ماده مؤثره‌ی سیلوسایبین کنار گذاشته شدند. نمونه‌های برداشت شده با دستگاه خشک‌کن حرارتی با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد طی یک ساعت خشک شدند، تقریباً ۹۰٪ حجم میوه قارچ را آب تشکیل داده بود، نمونه‌ها برای عصاره‌گیری و آنالیز و هم‌چنین نگهداری مناسب و عدم احتمال ابتلا به آلودگی خشک شدند. بعد از ۱۰ روز از اولین برداشت (تقریباً بعد از ۵۰ روز از رشد)، دوباره اندام بارده جدید پدیدار شد که این مرحله در قارچ‌ها فلاش دوم رویش نام دارد. بعد از ۱۵ تا

۱۸ روز از اولین برداشت و نمونه‌گیری، نمونه‌های حاصل از فلاش دوم هم جمع‌آوری و بررسی شد.

نتایج و بحث

قطر کلاهک

تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن بود، صفت قطر کلاهک در اثرات اصلی، رطوبت و رقم معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل رطوبت و رقم، رطوبت و بستر کشت و اثر متقابل بستر و رقم توانست تأثیر معنی‌داری بر قطر کلاهک داشته باشد (شکل ۱). درواقع در اثر متقابل رطوبت با رقم، قطر کلاهک توانست در رطوبت ایده‌آل در رقم دوم (Albino A+) با میانگین ٦۹٪ بیشترین مقدار عددی را به خود اختصاص دهد، در همین راستا در رطوبت دوم همین رقم کمترین میزان عددی را با میانگین ۳۱٪ نشان دهد که حاکی از آن است این رقم می‌تواند بهترین عملکرد خود را در شرایط ایده‌آل رطوبتی داشته باشد. در اثر متقابل رطوبت و بستر، قطر کپ در رطوبت اول تحت تأثیر اثر بستر سوم قرار گرفت و بیشترین مقدار عددی را در شرایط ایده‌آل رطوبتی در بستر سوم داشت. همچنین، بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، در رطوبت مورد بررسی نیز بستر سوم با مقدار میانگین ۲/٤۱ نسبت به بستر اول و دوم بهتر عمل کرد و ازآنجاکه بستر سوم به‌طور ویژه حاوی الیاف گیاهی و پیت ماس بود، توانسته است علاوه بر اینکه منبع غنی از مواد آلی برای قارچ باشد، با جذب رطوبت توسط الیاف گیاهی و لاشه خزه موجود در پیت ماس رطوبت را به مدت بیشتری در دسترس میسیلیوم قرار دهد تا منجر به تشکیل قطر کلاهک بیشتری شود. ونکورت و همکاران (۲۰۲۲) با مطالعه قارچ‌های حاوی سیلوسایبین (Psilocybin) عنوان کردند که در ٤ خانواده از قارچ‌ها در مناطقی که سطح رطوبت بالاتری وجود داشته است، غالباً تراکم رشد قارچ و همین‌طور بزرگی میوه قارچ خصوصاً کلاهک قارچ بیشتر رؤیت شده است.

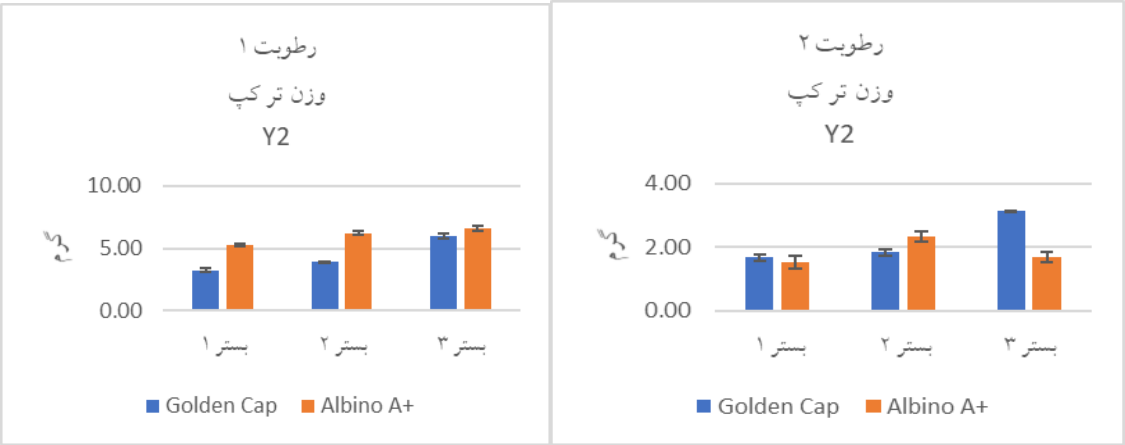


شکل ۱- مقایسه تأثیر تیمارهای آزمایش بر قطر کپ

وزن تر کلاهک

صفت وزن تر کلاهک در اثرات اصلی، معنی‌دار شد (جدول ۱-۱)، وزن تر کلاهک تحت تأثیر اثرات متقابل تیمارها قرار گرفت. داده‌های آماری نشان داد رقم دوم تحت تأثیر رطوبت ایده‌آل توانسته است عملکرد بهتری داشته باشد و موجب

شود تا میانگین عددی وزن تر کلاهک به‌عنوان اندام جنسی در این رقم بیشترین میزان را به خود اختصاص دهد، از طرفی رقم اول نیز در رطوبت ایده‌آل توانسته است عملکرد نسبتاً مشابهی داشته باشد؛ اما عملکرد هردو رقم در رطوبت مورد بررسی (رطوبت دوم) کاهش چشمگیری داشته است، وزن تر کلاهک در هردو رقم تنها با مقدار میانگین ۱۵٪ باهم اختلاف داشته‌اند، این نشان می‌دهد عامل رطوبت نه‌تنها در این دو رقم بلکه در ارقام دیگر و گونه‌های دیگر قارچ نیز می‌تواند در وزن تر کلاهک تأثیرگذار باشد. اثر متقابل رطوبت با بستر توانسته است تأثیر معنی‌داری بر وزن تر کلاهک داشته باشد. در رطوبت ایده‌آل (سطح رطوبتی اول) بیشترین وزن تر کلاهک مربوط به بستر کشت سوم و کمترین مربوط به بستر کشت اول بوده است. در رطوبت دوم نیز بسترهای کشت عملکردی مشابه با رطوبت اول داشته‌اند اما با بازدهی به‌مراتب کمتر. بستر کشت سوم برای این دو رقم مورد آزمایش در مجموع بهره‌وری بیشتری داشته است و نتایج بهتری از ترکیبات این بستر به دست آمد. بسیاری از قارچ‌های این خانواده به تنها چیزی که بیشتر از همه علاقه دارند کود است. عمدتاً در مناطقی با رطوبت بالا و غالباً در مکان‌هایی که سرگین اسب و گاو وجود داشته باشد بیشتر یافت می‌شود. عملکرد بهتر بستر سوم به نظر می‌رسد به دلیل محتوای پیت ماس و الیاف گیاهی موجود در آن باشد.

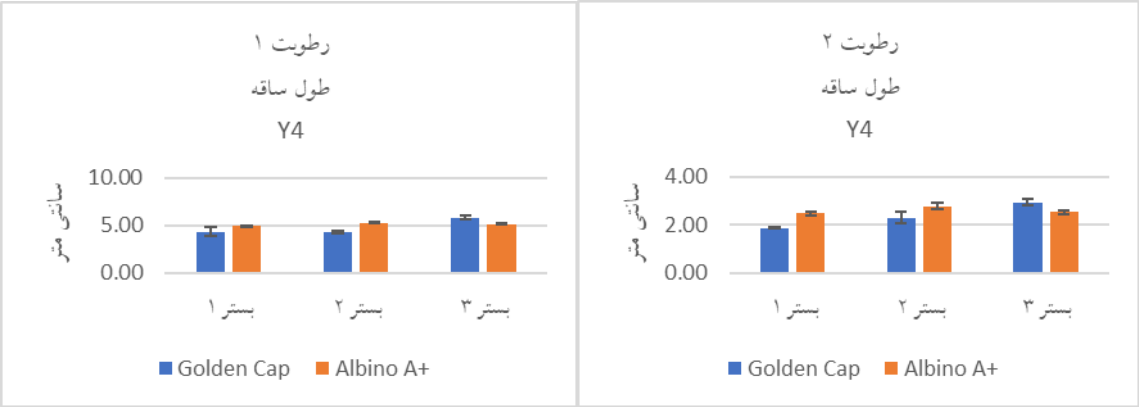


شکل ۲- مقایسه تأثیر تیمارهای آزمایش بر وزن تر کپ

طول ساقه

طول ساقه تحت اثر تمامی تیمارها قرار گرفت (جدول ۱) در سطوح تیمار اندازه‌ی طول ساقه در رطوبت اول در رتبه‌بندی بالاتری نسبت به رطوبت دوم قرار گرفت؛ اما در مورد اثر متقابل تنها اثر متقابل بستر با رقم توانست تأثیر معنی‌داری بر طول ساقه داشته باشد. بیشترین مقدار طول ساقه در بستر سوم در رقم یک (Golden Cap) مشاهده شده است درصورتی‌که همین رقم در دو بستر دیگر در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند. می‌توان گفت رقم اول در بستر یک و دو کمترین میزان میانگین عددی را داشته است، همین‌طور رقم دوم در بستر دوم توانسته است طول ساقه نسبتاً مشابه با رقم اول بستر سوم داشته

باشد و ازلحاظ آماری دارای حرف مشترک هستند. در شرایطی که نور کافی برای فاز زایشی رشد و تولید بدنه‌ی میوه (اندام بارده قارچ) وجود نداشت، برای دست‌یابی به منبع نور اصولاً قارچ‌های بازیدومیست تولید ساقه‌ی بلندتری می‌کنند (لنز و همکاران؛ ۲۰۲۰). دکتر رفعتی و همکاران (۲۰۰۸) طی پژوهشی بیان کرده بودند که نور کم سبب تولید سیلوسایبین بیشتری شده است؛ اما در منابع بررسی شده نشانی از رابطه‌ی تولید ساقه‌ی بلندتر با محتوای بستر و یا رطوبت بیان نشده بود. با توجه به منابع مرور شده انتظار می‌رود صفت طول ساقه تنها تحت اثر نور دچار تغییر معنی‌دار شود. البته به دلیل تعداد اندک داده‌ی خام مواد آزمایشی نمی‌توان در این صفت با قطعیت بیان کرد که آیا رطوبت و بستر در افزایش طول ساقه در بستر سوم، رقم اول مؤثر بوده است یا خیر.

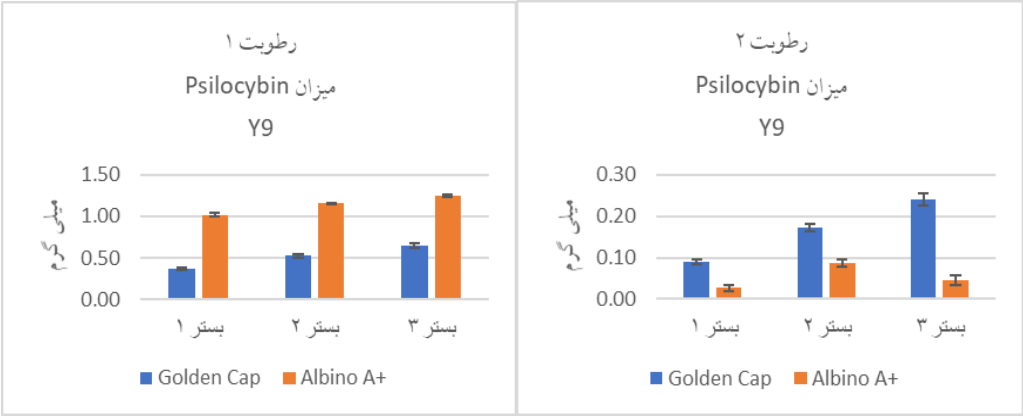


شکل ۳- مقایسه تأثیر تیمارهای آزمایش بر صفت طول ساقه

صفت فیزیولوژیک

سیلوسایبین Psilocybin

از میان تمام تیمارهای مورد بررسی تنها تیمار بستر کشت توانست تأثیر معنی‌داری بر میزان سیلوسایبین داشته باشد (جدول ۲)، به‌طوری‌که بستر سوم دارای بیشترین مقدار میانگین عددی در گروه‌بندی مقایسه میانگین بود. درحالی‌که بستر سوم تنها با اختلاف یک درصد بهتر از بستر دوم عمل کرد. صفت سیلوسایبین تحت تأثیر اثر متقابل رطوبت و رقم قرار گرفت، در رطوبت ایده‌آل همانطور که انتظار می‌رفت، هر دو رقم عملکرد بهتری نسبت به رطوبت دوم داشته‌اند. رقم دوم در رطوبت دوم کمترین مقدار میانگین عددی را به خود اختصاص داد. همچنین با بررسی گروه‌بندی مقایسه میانگین رقم اول توانسته به‌طور چشمگیری در شرایط تنش رطوبتی سطح سیلوسایبین خود را نسبت به رقم دوم بالاتر نگه دارد به‌طورکلی هر دو رقم در این صفت در شرایط ایده‌آل رطوبتی نسبت به رطوبت مورد بررسی مقدار سیلوسایبین بیشتری داشته‌اند، این نشان می‌دهد میزان سیلوسایبین با میزان رطوبت رابطه مستقیم دارد.



شکل ۵- مقایسه تأثیر تیمارهای آزمایش بر سیلوسایبین

یکی از حوزه‌های سخت و چالش‌برانگیز تحقیقاتی در حوزه کشاورزی، کاهش تلفات موادغذایی و ایجاد رویکرد تجدیدپذیری زیستی است. ضایعات لیگنوسلولزی تولید شده از تولید موادغذایی میزان قابل‌توجهی از آلودگی محیط‌زیست را تشکیل می‌دهند. بقایای گیاهی را می‌توان به‌عنوان مواد اولیه برای تهیه کمپوست‌های ارگانیک جهت پرورش قارچ خوراکی و دارویی استفاده کرد، این روش منابع خوبی از ترکیبات فعال بیولوژیکی از طریق تجزیه این بسترها توسط قارچ‌ها را دوباره در اختیار طبیعت قرار می‌دهد. برای کشت *P. cubensis*، از بقایای گیاهی، کمپوست، پیت ماس، کوکوپیت، چوب و سبوس گندم استفاده شد، این مواد توسط این قارچ کاملاً هضم شد و باقی‌مانده به آسانی دوباره در طبیعت تجزیه می‌شود و مواد آلی موردنیاز گیاه و درختان را تأمین می‌کند. قارچ صدفی آنزیم‌هایی تولید می‌کند که با تجزیه لیگنین، سلولز را قابل مصرف می‌کنند و می‌توان از آن بستر به‌عنوان خوراک حیوانات دام (نشخوارکنندگان) استفاده کرد. علاوه بر این از این فرآیند؛ لاکاز، پراکسید منیزیم و پراکسیداز تولید می‌شود که مورد توجه صنایع خمیر و کاغذ است. گونه‌های دیگر قارچ‌ها نیز به دلیل قابلیت اکسیداسیون و رنگ‌زدایی سایر آلاینده‌های آلی مقاوم، کاندیدای بسیار خوبی برای کاربردهای زیست پالایی مانند رفع آلودگی خاک و تخریب آلاینده‌های صنعتی هستند. در این پژوهش نتایج حاکی از آن بود، در سطح تیمار رطوبت ایده‌آل و در بستر سوم که حاوی ترکیباتی بود که توانایی جذب و نگهداری رطوبت بیشتر دارند قطر کپ قارچ، وزن کپ و ساقه‌ی قارچ و تراکم رشد اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت.

نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی صورت گرفته بیشترین تراکم رشد در بستر حاوی پیت ماس و الیاف گیاهی، در رطوبت اشباع و رقم دوم دیده شد. این نشان از تأثیر معنی‌دار محتوای بستر دارد؛ اما این تنها فاکتور لازم برای بهبود رشد نبوده است، در شرایط مشابه در رطوبت مورد بررسی عملکرد به شدت کاهش یافت. پس رطوبت تأثیر معنی‌داری در رشد قارچ‌ها دارد و طبق آنالیزها تأثیر رطوبت

بسیار بیشتر از سایر متغیرها بوده است. رطوبت توانسته است در قطر کپ، تراکم رشد و وزن تر قارچ‌ها تأثیر معنی‌داری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله مراتب سپاس خود را از تلاش و زحمات ارزشمند و صادقانه استادان در زمینهٔ پیشبرد اهداف در این مقاله تقدیم می‌دارم. از درگاه ایزد منان دوام عزت و سلامت، تداوم حضور و تأثیر آن بزرگواران را در مجموعه مسئلت دارم.

REFERENCES

Abdollahzadeh,J., E.Mohammadi Goltapeh, A.Javadi, M.Shams-bakhsh, R.Zare, and A.J.L.Phillips. (2009). Barriopsis iraniana and Phaeobotryon cupressi: two new species of the Botryosphaeriaceae from trees in Iran. Persoonia – Volume 23.

Beug MW, Bigwood J. (1982). Psilocybin and psilocin levels in the twenty species from seven genera of wild mushrooms in the Pacific Northwest, U.S.A. J Ethnopharmacol 5:271–285.

Elkhateeb, W.A. What medicinal mushroom can do. Chem. Res. J. 2020, 5, 106–118.

Tsujikawa, K. T. Kanamori, Y. Iwata, Y. Ohmae, R. Sugita, H. Inoue, T. Kishi, (2003). Morphological and chemical analysis of magic mushrooms in Japan, Forensic Sci. Intl. 138 85-90.

El-Mekkawy S, Meselhy MR, Nakamura N, Tezuka Y, Hattori M, Kakiuchi N. (1998). Anti HIV 1 and anti HIV 1 protease substances from ganoderma lucidum. *Phytochemistry* 49: 1651- 1657.

Hoffmeister D, Keller N (2007). Natural products of filamentous fungi: enzymes, genes, and their regulation. Nat Prod Rep 24: 393–416.

Heim R, Hofmann A (1958). La psilocybine et la psilocine chez les Psilocybe et Strophaires hallucinogenes du Mexico, vol 6. Editions du Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, pp 258–262.

Kaul TN. Introduction to mushroom science. Enfield, New Hampshire: *Science Publishers, Inc*., 1997.

McKnight KH., Mc Knight VB. (1987). A field guide to mushrooms. Boston: Houghton Mifflin Company.

Smith J, Rowan N, and Sullivan R. (2002). Medicinal mushrooms Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer research UK, The University of Strathclyde in Glasgow. 2002, 256 p.

Wainwright M. (1988). Metabolic diversity of fungi in relation to growth and mineral cycling in soil - a review. Trans Br Mycol Soc 90: 159–170.

Wasser, S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immonomudulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60, 258e274.

Stijve T, Kuyper TW (1985). Occurrence of psilocybin in various higher fungi from several European countries. *Planta Med* 51:385–387.

Yen GC, Wu JY. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from ganoderma tsugae. *Food Chem* 1999; 65: 375-379.

Sustainable Agricultural Science Research /Vol. 4/No.2/Summer 2024/P: 101-111

https://www.sarj.iauk.ac.ir

The Effect of Two Indicators of Culture Medium and Environmental Humidity in Increasing the Production Rate of Secondary Metabolite Psilocybin in Two Cultivars of the Medicinal Mushroom *Strophoria Cubensis*

Seyed Mohammad Hosseini[1], Nad Ali Babaian[2*] and Hamid Najafi Zarin[3]

[1]Master's student, Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Mazandaran, Iran

[2*]Professor, Department of Agricultural Biotechnology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Mazandaran, Iran

[3]Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Mazandaran, Iran

Corresponding Author's Email: mohamadhoseinibtc@gmail.com

(Received: June. 9, 2024– Accepted: September. 21, 2024)

ABSTRACT

Fungi are known as one of the main decomposers of organic materials in nature, which can decompose a wide range of natural materials, including cellulose and lignin, into organic materials. Fungi are capable of producing a wide variety of metabolites, including amino acids, small peptides, pigments and other natural products, and some potent toxic substances such as antibiotics and mycotoxins. The purpose of this study was to investigate the relationship between psilocybin production and the content of the culture medium and the moisture level in two Stropharia cubensis mushroom varieties. The experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design. The treatments included two different cultivars from the P. cubensis family, two humidity levels and three types of culture media. The substrate had a significant effect on the psilocybin content in the mushroom. Moisture stress strongly affected the content of psilocybin (Psilocybin) and the growth density of mushrooms. The cultivar Albino A+ in the ideal humidity with a numerical average of 66% compared to the same cultivar in the investigated humidity had the highest amount of total fresh weight in this grouping. The results indicated that in the conditions of moisture stress, the first cultivar (Golden Cap) is better than the second digit (Albino A+) has worked. The highest amount of psilocybin was seen in the second variety and the substrate containing peat moss and plant fibers. The results of this research showed that the culture medium had a significant effect on the content of psilocybin in the mushroom. It was also observed that moisture stress strongly affected the content of psilocybin and the growth density of mushrooms. In this research, the cultivation substrate and ideal humidity in both cultivars increased the growth density of mushrooms. The best performance compared to the tested variables was seen in the substrate containing peat moss, saturated moisture and Albino A+ variety.

Key words: Medicinal mushroom, Psilocybin, Culture medium, Humidity effect