نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۱ / ۱۴۰۲/ص۳۳-۴۶
dx.doi.org/10.22092/sbj.2023.360696.243

ارزیابی ترکیبات لیگنوسلولزی، ویژگی‌های کمپوست و خاک پوششی تلقیح شده با باکتری‌ها بر رشد و تولید قارچ خوراکی (*Agaricus bisporus*)

صاحب سودائی مشائی* و الناز میرزاخانی

استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. **soodaie@sku.ac.ir**

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. **Elnaz.mirzakhani2014@yahoo.com**

دریافت:۱۴۰۱/۹/۱ و پذیرش:۱۴۰۲/۴/۱۲

«مقاله پژوهشی»

چکیده

به منظور ارزیابی ویژگی‌های کمپوست و خاکی پوششی تلقیح شده با باکتری‌ها بر رشد و عملکرد قارچ خوراکی، آزمایشی بصورت بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۰ در شرکت قارچ نگین فصل شهرکرد اجرا شد. تیمارها باکتری‌های تلقیح شده به خاک پوششی شامل (ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس پوتیدا، آزوسپیریلوم لیپوفروم، باسیلوس سابتیلیس، انتروباکتر کلوآسه و سیانوباکترها) و شاهد بودند. خصوصیات شیمیایی و زیستی کمپوست در طی مراحل مختلف کمپوست‌سازی شامل تنفس میکروبی، جمعیت میکروبی، کربن آلی، کربن آلی محلول در آب سرد و داغ، خاکستر، میزان ترکیبات لیگنوسلولزی، اسیدیته و هدایت الکتریکی و شاخص‌های رشد قارچ شامل وزن قارچ، عملکرد، راندمان بیولوژیکی و نرخ تولید اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که خصوصیات شیمیایی و زیستی کمپوست طی فرآیند کمپوست‌سازی تغییر نموده که بیشترین فعالیت میکروبی یا تنفس میکروبی (پایه ۱۴۵/۹ و برانگیخته ۱۷۶/۹ میکروگرم CO_2 بر گرم کمپوست در ساعت) در نمونه‌های برداشت شده در شروع فاز II کمپوست‌سازی اتفاق افتاد که در این مرحله بیشترین جمعیت باکتریایی ($CFU.g^{-1}$ ۱۰^{۹} × ۱/۲۵) هم بدست آمده است. جمعیت باکتریایی در خاک پوششی کمتر از کمپوست بود. میزان همی‌سلولز دامنه‌ای بین ۲۲/۶ الی ۴۵/۱ درصد را نشان داد و مقدار سلولز دامنه‌ای از ۱۶/۷ الی ۴۲/۲ درصد داشته و مقدار لیگنین هم دامنه‌ای از ۱۷/۷ الی ۳۳/۷ درصد حاصل گردید. افزودن باکتری‌ها به خاک پوششی تاثیر مثبت خود را بر عملکرد (۱۵/۹ درصد) و میانگین وزن هر قارچ (۱۸/۰ درصد) نسبت به شاهد (تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد) نشان داد. در بین باکتری‌های استفاده شده، باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا تاثیر بیشتری نسبت به بقیه باکتری‌ها بر صفات عملکردی قارچ نشان دادند. بنابراین، تحقیقات بیشتر برای تعیین راهبردهایی برای افزایش عملکرد و کیفیت صفات زراعی در کشت تجاری قارچ خوراکی مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: جمعیت میکروبی، سودوموناس پوتیدا، عملکرد قارچ خوراکی، کربن آلی و لیگنین

* – آدرس ایمیل نویسنده مسئول:soodaie@sku.ac.ir

مقدمه

قارچ دکمه‌ای محبوب‌ترین قارچ خوراکی در جهان است. تولید و بهره‌وری قارچ دکمه‌ای توسط عوامل متعددی مانند کیفیت کمپوست، سویه قارچ، اسپان، بستر کشت، شرایط محیطی و آبیاری کنترل می‌شود. نوع بستر و مؤلفه‌های کیفی آن، مهمترین عامل تاثیرگذار بر بهره‌وری قارچ خوراکی است (ویجی و همکاران، ۲۰۱۲). کمپوست قارچ یک محیط بسیار ناهمگن است که در آن طیف وسیعی از گونه‌های میکروبی از جمله آرکئا، باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها زندگی می‌کنند و بررسی جوامع میکروبی در فرآیند کشت قارچ به طور کلی به باکتری‌ها و قارچ‌ها محدود شده است (مک‌گی، ۲۰۱۸). متابولیسم ریزجانداران در روند کمپوست‌سازی، یک عامل اساسی در ارزش غذایی آن است. کاه و کلش، بقایای آلی کشاورزی هستند که با نرخ جهانی $۲-۴\times۱۰^{۹}$ تن در سال تولید می‌شوند که ۱/۴ برابر عملکرد سالانه محصول است (اسمیل، ۱۹۹۹). پرورش قارچ یکی از کارآمدترین و اقتصادی‌ترین فرآیندهای بیوتکنولوژی برای تبدیل و بازچرخش مواد لیگنوسلولزی مانند کاه گندم و برنج به مواد غذایی با کیفیت بالا است (سونگ و همکاران، ۲۰۲۱). استفاده از بقایای کشاورزی در صنعت تولید قارچ خوراکی نه تنها از اتلاف منابع طبیعی و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از سوزاندن آنها رها می‌شود، بلکه دارای مزایای اقتصادی نیز می‌باشد (لیو و همکاران، ۲۰۱۸). تعداد زیادی از باکتری‌ها و قارچ‌ها نقش کلیدی در تولید کمپوست قارچ خوراکی دارند. آن‌ها با فرآیند گرمادوست در کمپوست‌سازی، کاه و کلش را به بستری با کیفیت بالا برای قارچ خوراکی تخمیر می‌کنند. این ریزجاندارن ترکیبات را تجزیه می‌کنند، آمونیاک آزاد می‌کنند و سپس سلولز و همی‌سلولز را به زیست توده میکروبی کمپوست هضم می‌کنند که منبع تغذیه میسلیوم قارچ دکمه-ای است (کرتیسز و تای، ۲۰۱۸).

قارچ خوراکی در مرحله رویشی به صورت میسلیوم درون کمپوست رشد می‌کند و اضافه کردن خاک پوششی روی بستر مقدمه‌ای برای عبور میسلیوم از مرحله رویشی به مرحله زایشی و تشکیل کلاهک قارچ می‌باشد. ازجمله دلایل دیگر استفاده از خاک پوششی می‌توان به مواردی نظیر جلوگیری از خشک شدن بستر، ایجاد یک لایه مرطوب در سطح بستر برای تشکیل گره‌های زایشی اولیه و تکامل آن‌ها، فراهم کردن ذخیره آبی برای اندام زایشی قارچ، ایجاد مصونیت قارچ‌ها در برابر حمله بیماری‌ها، حمایت از رشد و تکثیر ریزجانداران‌های موثر در میزان تولید قارچ اشاره کرد (شمسی و همکاران، ۲۰۱۰). جامعه باکتریایی کمپوست بسیار متنوع است و تغییرات دینامیکی را در پاسخ به کیفیت کمپوست نشان می‌دهد (مک‌گی و همکاران، ۲۰۱۷). مواد اولیه پس از اختلاط و خیس شدن در کمپوست فاز I خود گرم می‌شوند و از طریق فعالیت بالای میکروبی مشخص می‌شوند، در حالی که ریزجانداران هوازی به دلیل شرایط دمایی کنترل شده در کمپوست فاز II فرآیند تخمیر غالب می‌شود (استریتسمن و همکاران، ۱۹۹۵).

لوسی و همکاران (۲۰۲۲) دریافتند که پروتئوباکتری‌ها[1] و بعد فیرمیکیوت‌ها[2] و پلنکتومایست‌ها[3]، فراوان‌ترین شاخه‌های میکروبی در هر دو عصاره کمپوست قارچ خوراکی (در زمان یک و ۲۴ ساعت خیساندن) بودند. در مجموع ۲۷۵ گونه مختلف باکتریایی از نمونه‌های عصاره کمپوست یک ساعت خیس‌شده و ۱۶۶ گونه از عصاره کمپوست ۲۴ ساعت خیس‌شده طبقه‌بندی شدند که نشان‌دهنده کاهش تنوع باکتریایی با زمان خیساندن طولانی‌تر در طول آماده‌سازی عصاره کمپوست است. استفاده از عصاره کمپوست ۲۴ ساعت خیسانده شده باعث

[1] Proteobacteria
[2] Firmicutes
[3] Planctomycetes

افزایش ۲۵ درصدی کارایی بیولوژیکی، ۵۳ درصدی در تعداد قارچ و ۴۰ درصدی در وزن قارچ نسبت به شاهد شد. برای بهبود روش‌های کشت قارچ، نقش جوامع میکروبی در خاک پوششی باید درک شود. به‌طورکلی، گزارش‌های اخیر نشان می‌دهد که کشت قارچ‌های خوراکی با افزودن میکروب‌های مفید به بستر، عملی امکان‌پذیر است (سان و همکاران، ۲۰۲۰). این ریزجانداران موجود در کمپوست و خاک پوششی ممکن است به شدت بر رشد و بارور شدن قارچ‌های خوراکی تأثیر بگذارند و در برخی موارد برای آن‌ها لازم است (کاراسکو و پرستون، ۲۰۲۰)؛ بنابراین، روشن ساختن جوامع میکروبی در بسترهای قارچ یک گام کلیدی برای شناسایی سویه‌های محرک رشد مرتبط با عملکرد بالاتر و ویژگی‌های زراعی بهتر در قارچ و توسعه جوامع مصنوعی برای تولید قارچ موردبررسی قرار گیرد. استفاده از ریزجانداران محرک رشد قارچ می‌تواند شامل دو سطح کاربرد فناوری باشد: یکی با سرمایه‌گذاری بالا، شامل محیط کشت خاص (جامد یا مایع) و گونه‌های شناخته‌شده برای چنین کاربردهایی و دیگری با سرمایه‌گذاری کم، شامل یک فرآیند استخراج ساده، با انتخاب گونه‌های طبیعی که نشان‌دهنده تنوع بالایی از میکروارگانیسم‌ها هستند (سان و همکاران، ۲۰۲۰). هدف از اجرای این پژوهش، بررسی خصوصیات شیمیایی و زیستی کمپوست طی فرآیند تولید و مصرف، استفاده از باکتری‌ها در خاک پوششی برای بهینه-سازی فرآیند تولید و تاثیر آنها بر عملکرد قارچ خوراکی در سالن‌های پرورش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از آغاز فرآیند تولید کمپوست تا پایان تولید قارچ خوراکی که به طور مرسوم در شرکت کشت و صنعت قارچ نگین فصل شهرکرد در سال ۱۴۰۰ انجام شد. برای این منظور، پنج نمونه ساده از توده کمپوست در ۱۰ فاصله زمانی مشخص از مراحل تولید کمپوست شامل فاز I (چهارنمونه در روزهای یک، پنج، هفت و هشت روز از شروع فرآیند)، فاز II (روزهای ۱۵، ۲۲ و ۲۳) و فاز III (روزهای ۳۶، ۵۱ و ۷۵) برداشت و نمونه‌های منفرد به طور کامل مخلوط و در انتها یک نمونه مرکب (حدود سه کیلوگرم) تهیه شد. نمونه‌برداری در سه تکرار از کل توده کمپوست صورت گرفته و از این‌رو تعداد کل نمونه‌های مرکب ۳۰ نمونه بود. نمونه‌ها به آزمایشگاه دانشگاه منتقل و در یخچال دمای (چهاردرجه سلسیوس) تا زمان شروع تجزیه آزمایشگاهی نگهداری شدند. برخی از خصوصیات شیمیایی و زیستی نمونه‌ها شامل: pH (نسبت ۱:۵)، قابلیت هدایت الکتریکی (نسبت ۱:۵)، تنفس میکروبی، تنفس میکروبی ناشی از سوبسترا (اندرسون و همکاران، ۱۹۹۰)، جمعیت میکروبی کمپوست به روش لورچ و همکاران (۱۹۹۵)، کربن آلی روش والکلی‌بلاک (نلسون و سامرز، ۱۹۸۲)، کربن محلول در آب سرد و داغ (کوری و همکاران، ۱۹۹۹)، خاکستر و وزن خشک (شارما، ۱۹۹۵)، میزان سلولز، همی سلولز و لیگنین (لین و همکاران، ۲۰۱۰؛ اسلویتر و همکاران، ۲۰۰۸)، به‌عنوان شاخص‌های کیفی کمپوست اندازه‌گیری شدند. پس از تهیه کمپوست آماده و تلقیح شده با بذر یا اسپان قارچ دکمه‌ای، در سالن پرورش به میسلیوم قارچ اجازه داده شد تا به مدت ۱۵ روز بطور کامل کمپوست را پر کند. بعد از تلقیح باکتری و خاک‌دهی کمپوست، حدود ۱۸ روز بعد از خاک‌دهی، قارچ‌ها قبل از بلوغ کامل یا به عبارتی قبل از باز شدن، برداشت شدند (لطفی و همکاران، ۱۳۹۷) و پس از تمیز نمودن، برخی صفات مثل وزن قارچ دکمه‌ای، عملکرد، راندمان بیولوژیکی و نرخ تولید (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۹؛ مامیرو و همکاران، ۲۰۰۷) در سالن پرورش اندازه‌گیری و محاسبه شد. برای تعیین جمعیت میکروبی از روش سری رقت‌های متوالی تا رقت 10^{-8} استفاده گردید که برای تعیین جمعیت باکتری‌ها از محیط کشت نوترینت آگار (NA) (زارع‌نژاد و همکاران، ۲۰۱۲)، جمعیت قارچ‌ها از محیط کشت دکستروز آگار

(PDA) حاوی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر از هر یک از آنتی-بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها (داوری و همکاران، ۱۳۹۷) و برای جمعیت اکتینومیست‌ها محیط کشت زاپک دکس آگار حاوی قارچ‌کش نیستاتین (۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) به‌منظور جلوگیری از رشد قارچ‌ها، استفاده گردید (پاکدین، ۱۳۸۸).

به‌منظور ارزیابی باکتری‌های تلقیح شده در خاک پوششی بر تولید قارچ خوراکی، آزمایشی به‌صورت طرح بلوک کامل تصادفی و جداگانه در سالن پرورش قارچ شرکت انجام گردید. افزودن این باکتری‌های به‌عنوان مکمل زیستی در هفت تیمار شامل تیمار شاهد (بدون تلقیح)، افزودن باکتری ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس پوتیدا، آزوسپیریلوم لیپوفروم، باسیلوس سابتیلیس، انتروباکتر کلوآسه و سیانوباکترها (جنس آنابنا و نوستوک) در فاز III کمپوست‌سازی همراه با خاک پوششی (Casing run) در سالن پرورش انجام گردید. مایه تلقیح باکتریایی (با جمعیت حدود 10^8 سلول در میلی‌لیتر) با حجم مشخص (۵۰۰ میلی-لیتر) یکبار در سطح (۲/۸ مترمربع) کمپوست مرحله خاکدهی مه‌پاشی شد و در همان روز در هنگام دادن خاک پوششی، بار دیگر (۵۰۰ میلی‌لیتر دیگر) روی خاک پوششی مه‌پاشی شد (شکل ۱). باکتری‌ها از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند. جهت بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های پژوهش، ابتدا فرضیات تجزیه واریانس شامل همگن بودن واریانس و توزیع نرمال باقیمانده‌ها بررسی و تجزیه واریانس در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و سه تکرار انجام شد. نتایج حاصله توسط نرم‌افزار SAS (V. 9.2)تجزیه و تحلیل‌شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن با سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

شکل ۱: دو مرحله تلقیح باکتری‌ها در سالن کشت: مرحله اول (سمت راست) مه‌پاشی مایه تلقیح روی کمپوست و مرحله دوم (سمت چپ) مه‌پاشی مایه تلقیح روی خاک پوششی. هر دهانه سالن یک تیمار با سه بار تکرار در نظر گرفته شد

نتایج

ویژگی‌های مواد اولیه در تهیه کمپوست

مواد خام مورد استفاده در تهیه کمپوست قارچ خوراکی در شرکت کشت و صنعت قارچ نگین فصل شامل کاه گندم (۵۰- ۴۵ ٪)، کود مرغی (۳۵-۳۰ ٪)، باگاس نیشکر (۱۰-۸ ٪) و گچ (۱۰ ٪) می‌باشد. کاه گندم، کود مرغی و باگاس نیشکر به ترتیب دارای ۳۱/۸، ۴۱/۰ و ۵۰/۰ درصد کربن آلی؛ ۰/۴۳، ۳/۲۰ و ۰/۹۵ درصد نیتروژن کل؛ ۳۶، ۲۶ و ۳۵ درصد سلولز؛ ۲۰، ۱۸ و ۳۱ درصد همی-سلولز؛ ۱۷، ۱۸ و ۲۰ درصد لیگنین، دارای قابلیت هدایت الکتریکی ۲/۴، ۸/۵ و ۳/۱ دسی زیمنس بر متر و pH برابر ۶/۷۳، ۶/۸۵ و ۷/۶۱ بودند. نسبت کربن به نیتروژن (C/N) که شاخص مهمی در تجزیه‌پذیری زیستی ترکیبات آلی می-

باشد در کاه گندم حدود ۷۴، در کود مرغی حدود ۱۳ و در باگاس نیشکر حدود ۵۳ بود.

ویژگی‌های زیستی و شیمیایی کمپوست تهیه شده

زمان‌های نمونه‌برداری (روزهای ۱، ۵، ۷، ۸، ۱۵، ۲۲، ۲۳، ۳۶، ۵۱ و ۷۵ از آغاز فرآیند) از مراحل مختلف تولید کمپوست و تولید قارچ خوراکی به‌عنوان تیمار آزمایشی در نظر گرفته شد. نتایج تجزیه واریانس ویژگی-های زیستی و شیمیایی اندازه‌گیری شده در مراحل مختلف نمونه‌برداری از لحاظ آماری در سطح احتمال یک درصد با هم اختلاف معنی‌داری را برای همه ویژگی‌ها نشان دادند.

مقایسه میانگین بین تیمارها برای صفات اندازه-گیری شده در جدول یک نشان می‌دهد که میزان تنفس پایه نمونه‌های کمپوست در مراحل مختلف تولید قارچ خوراکی، در مرحله حمل (atfilling یا پر کردن تونل) که نمونه کمپوست خروجی بانکر ۳ است بیشترین میزان تنفس میکروبی پایه (۱۴۵/۹ میکروگرم CO_2 بر گرم در ساعت) و ناشی از سوبسترا (۱۷۶/۹ میکروگرم CO_2 بر گرم در ساعت) در آن اتفاق افتاد. در بونکر سه شدت گاز آمونیاک (۰/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کمتر خواهد بود رنگ تیره و براق به همراه بوی مطبوع و تند نشانه خوب کار کردن کمپوست در این مراحل است. نمونه کمپوست در بونکر یک از لحاظ تنفس میکروبی پایه و ناشی از سوبسترا در رتبه دوم قرار گرفت که دقیقا روز بعد از میکس کمپوست کلش به داخل بونکر منتقل می‌شود به دلیل احتمال بی‌هوازی شدن در بونکر یک، سعی می‌شود رطوبت کلش روز قبل تامین شود، بیشترین فعالیت میکروبی و بالاترین حجم گاز آمونیاک در این بونکر اتفاق می‌افتد و مدت‌زمانی که کمپوست در این بونکر می‌ماند تأثیر زیادی بر پوسیدگی نهایی کمپوست خواهد داشت. کربن آلی کل در مراحل مختلف کمپوست‌سازی روند کاهشی را نشان داد که از ۲۷ درصد در کلش اولیه به ۱۹/۳ درصد در مرحله خاکدهی در سالن کشت رسید که نشان از تلفات کربن آلی به شکل گاز CO_2 و مصرف توسط میکروارگانیسم‌ها دارد. بیشترین میزان کربن آلی محلول در آب سرد (۲/۹۶ درصد) و آب داغ (۶/۷۱ درصد) در نمونه کمپوست مرحله خاکدهی (در سالن کشت) که انتهای فاز III کمپوست‌سازی برای پرورش قارچ خوراکی است، اتفاق افتاد. روش عصاره‌گیری کربن با آب داغ به‌عنوان یک روش ساده برای برآورد قابلیت معدنی شدن کربن در توده در حال کمپوست شدن پیشنهاد می‌شود. اندازه pH توده کمپوست در مراحل مختلف نشان داد که در دامنه‌ای بین ۶/۵۱ در مرحله کمپوست خاکدهی (فاز III) تا ۷/۱۸ در خاک پوششی متغییر بود. اندازه قابلیت هدایت الکتریکی (EC) در دامنه‌ای بین ۱/۳۸ در خاک پوششی تا ۵/۹۰ دسی‌زیمنس بر متر در کمپوست نمونه کشت مشاهده گردید که نشان می‌دهد در پایان فاز II کمپوست‌سازی هدایت الکتریکی به حداکثر خود می‌رسد.

شمارش جمعیت میکروبی کمپوست و خاک پوششی

نتایج تجزیه واریانس جمعیت باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها در نمونه‌های کمپوست نشان داد که بین زمان‌های نمونه‌برداری از لحاظ این صفات اختلاف معنی-داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد که نشان از تنوع و تغییرات جمعیت میکروبی در طی مراحل مختلف کمپوست‌سازی و تولید قارچ خوراکی دارد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد (جدول ۲) بیشترین جمعیت باکتری‌ها ($۱۲/۵\times۱۰^{۸}$ $CFU.g^{-1}$) در مرحله حمل (atfilling یا پرکردن تونل) که نمونه کمپوست خروجی بانکر ۳ است، مشاهده گردید که با میزان تنفس پایه میکروبی و ناشی از سوبسترا مطابقت دارد. کمترین جمعیت باکتریایی ($۲/۳\times۱۰^{۷}$ $CFU.g^{-1}$) در مرحله اولیه کمپوست‌سازی در کلش شستشو (با آب goody water) حاصل گردید. جمعیت قارچ‌ها در بانکر ۱ ($۲۸/۳\times۱۰^{۴}$ $CFU.g^{-1}$) مشاهده شد، در بانکر ۱ بیشترین فعالیت قارچ‌ها و بالاترین حجم گاز

آمونیاک در این بونکر اتفاق می‌افتد و مدت زمانی که کمپوست در این بونکر می‌ماند تاثیر زیادی بر پوسیدگی نهایی کمپوست خواهد داشت.

جدول ۱- مقایسه میانگین نمونه‌های برداشته‌شده کمپوست برای ویژگی‌های اندازه‌گیری شده درطی تولید قارچ خوراکی

تیمارها یا نمونه‌برداری‌ها	تنفس میکروبی پایه ($\mu gCO2.g^{-1}.h^{-1}$)	تنفس ناشی از سوبسترا ($\mu gCO_2.g^{-1}.h^{-1}$)	رطوبت بر وزن خشک (٪)	خاکستر (٪)	کربن آلی کل (٪)	کربن آلی محلول درآب سرد (٪)	کربن آلی محلول‌درآب داغ (٪)	pH (1:10)	EC (dS/m)
کلش شستشو	۵/۸۶f	۲۷/۳e	۳۳۰a	۱۰/۴j	۲۷/۰a	۰/۹۹f	۲/۲۰e	۷/۰۶ab	۲/۷۴c
کلش قبل مخلوط	۱۰۳/۴c	۱۴۶/۶b	۲۰۶f	۱۲/۰i	۲۳/۰d	۱/۵۱de	۲/۳۷e	۷/۰۳b	۳/۲۵bc
روز اول بونکر۱	۱۲۱/۷b	۱۷۶/۰a	۲۸۶d	۱۶/۲h	۲۵/۰c	۱/۶۴de	۳/۳۲d	۶/۷۹cd	۴/۱۰b
روز دوم بونکر۱	۸۵/۸d	۱۲۰/۲c	۲۸۹c	۲۰/۴g	۲۶/۳b	۱/۷۱cd	۳/۳۰d	۶/۸۸c	۳/۷۹bc
نمونه حمل	۱۴۵/۹a	۱۷۶/۹a	۲۹۰b	۲۲/۶f	۲۰/۵e	۱/۸۴cd	۲/۳۷e	۶/۸۹c	۳/۶۰cb
نمونه کشت۱	۸۶/۰d	۸۸/۰d	۱۹۲g	۲۶/۰e	۱۶/۶g	۲/۱۳bc	۵/۰۱c	۶/۸۰cd	۵/۵۰a
نمونه کشت۲	۱۰۴/۹c	۱۱۴/۸c	۱۶۱h	۲۷/۳d	۱۹/۷f	۲/۳۰b	۶/۰۰b	۶/۷۱d	۵/۹۰a
کمپوست مرحله خاکدهی	۱۰۴/۲c	۹۲/۱d	۲۲۱e	۳۴/۷c	۱۹/۳f	۲/۹۶a	۶/۷۱a	۶/۵۱e	۵/۷۳a
خاک پوششی	۵۵/۱e	۱۰/۷f	۹۸j	۷۱/۴a	۱۲/۱i	۱/۲۷ef	۶/۱۱b	۷/۱۸a	۱/۳۸c
نمونه SMC[۴]	۸۸/۶dc	۸۱/۲d	۱۴۷i	۴۵/۴b	۱۵/۱h	۱/۷۱cd	۳/۵۱d	۶/۵۲e	۲/۶۳c

*در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

جدول ۲- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف (نمونه‌های برداشته شده) برای جمعیت میکروبی نمونه‌ها

تیمارها یا نمونه‌ها	جمعیت باکتری‌ها ($CFU.g^{-1}$)(×۱۰^{۸})	جمعیت قارچ‌ها ($CFU.g^{-1}$)(×۱۰^{۴})	جمعیت اکتینومیست‌ها ($CFU.g^{-1}$)(×۱۰^{۴})
کلش شستشو	۰/۲۳e	۱/۳۳e	۰/۰۰d
کلش قبل مخلوط	۵/۵۰c	۱۰/۰cd	۱۶/۶۶cd
روز اول بونکر ۱	۸/۳۳b	۲۸/۳۳a	۱۹/۳۳cd
روز دوم بونکر۱	۷/۶۶b	۱۳/۶۷c	۲۵/۶۶bc
نمونه حمل	۱۲/۵۰a	۰/۶۶e	۲۷/۶۶abc
نمونه کشت۱	۱/۷۳de	۲۱/۳۳b	۱۲/۶۶cd
نمونه کشت۲	۵/۱۶c	۶/۱۰d	۱۸/۳۳cd
کمپوست مرحله خاکدهی	۲/۱۶d	۰/۰۰e	۴۸/۰a
خاک پوششی	۱/۳۳e	۱/۳۳e	۰/۰۰d

[4] Spent Mushroom Compost (پسماند کمپوست مصرف شده برای تولید قارچ خوراکی)

نکته قابل توجه مربوط به جمعیت اکتینومیست‌ها، در نمونه کمپوست مرحله خاکدهی (در سالن کشت) که انتهای فاز III کمپوست‌سازی برای پرورش قارچ خوراکی است، بیشترین جمعیت آنها ($۴۸/۰\times۱۰^{۴}$ $CFU.g^{-1}$) اتفاق افتاد، که در این مرحله، بیشترین میزان کربن محلول در آب سرد و داغ نیز حاصل شد (جدول). بعد از این مرحله، نمونه حمل (atfilling یا پر کردن تونل) که نمونه کمپوست خروجی بانکر ۳ است بیشترین جمعیت اکتینومیست‌ها ($۲۷/۷\times۱۰^{۴}$ $CFU.g^{-1}$) را نشان داد که در این مرحله بیشترین میزان جمعیت باکتری‌ها و تنفس میکروبی نیز ثبت گردید.

تجزیه ترکیبات لیگنوسلولزی در زمان‌های مختلف نمونه-برداری در طی تولید

نتایج میزان ترکیبات لیگنوسلولزی در جدول ۳ نشان می‌دهد که مواد استخراجی لیگنوسلولزی (شامل چربی‌زدایی و ... مواد اولیه می‌باشد که در ابتدای فرآیند اندازه‌گیری توسط استن استخراج می‌شود) دامنه‌ای بین ۱۳/۱–۱۹/۶ درصد دارد و روند افزایشی کمی را در طول فرآیند کمپوست‌سازی نشان می‌دهد. میزان همی‌سلولز دامنه-ای بین ۲۴/۹ الی ۴۵/۱ درصد را نشان داد که مقادیر بیشتر آن در نمونه SMC (پسماند کمپوست قارچ) دیده شده است. مقدار سلولز دامنه‌ای از ۱۶/۷ الی ۳۲/۵ درصد را نشان داد که روند کلی کاهش از حدود ۳۲/۵ درصد در اوایل مرحله کمپوست‌سازی تا حدود ۲۰/۱ درصد را در مرحله کمپوست آماده خاکدهی نشان می‌دهد. مقدار لیگنین هم دامنه‌ای از ۱۷/۵ الی ۳۳/۷ درصد را نشان داده که روند تقریباً کاهشی را در مراحل کمپوست‌سازی نشان می‌دهد.

جدول ۳- مقادیر ترکیبات لیگنوسلولزی توده کمپوست نمونه‌برداری شده در زمان‌های مختلف

زمان‌های نمونه‌برداری از توده کمپوست	روز نمونه‌برداری از زمان شروع	مواد استخراجی لیگنوسلولزی (٪)	همی‌سلولز (٪)	سلولز (٪)	لیگنین (٪)
کلش شستشو	۱	۱۳/۷	۳۶/۸	۲۹/۸	۱۹/۶
کلش قبل مخلوط	۵	۱۴/۱	۳۴/۱	۳۲/۵	۱۹/۳
روز اول بونکر۱	۷	۱۳/۱	۴۱/۰	۲۸/۲	۱۷/۷
روز دوم بونکر۱	۸	۱۴/۱	۳۷/۷	۲۹/۹	۱۸/۳
نمونه حمل	۱۵	۱۹/۳	۳۲/۱	۲۸/۹	۱۷/۵
نمونه کشت	۲۳	۱۹/۶	۳۵/۰	۲۸/۶	۱۷/۸
کمپوست مرحله خاکدهی	۳۶	۱۹/۶	۳۶/۶	۲۶/۱	۱۷/۶
خاک پوششی	۵۱	۱۵/۷	۲۴/۹	۳۱/۵	۲۷/۸
نمونه SMC قبل کوکات[5]	۷۴	۱۴/۷	۴۵/۱	۱۶/۷	۲۳/۵
خاک پوششی قبل کوکات	۷۴	۱۶/۳	۳۱/۷	۱۸/۳	۳۳/۷

[5] Cook out

اثر تیمارهای زیستی بر عملکرد و تولید قارچ خوراکی

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن قارچ برداشت شده در فلش (برداشت) اول، دوم و سوم و وزن کل قارچ خوراکی برداشت شده، میانگین وزن هر قارچ، عملکرد، راندمان بیولوژیکی و نرخ تولید براساس وزن‌تر بین تیمارهای میکروبی اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده شده است. مقایسه میانگین بین تیمارهای برای صفات اندازه‌گیری شده در جدول ۴ آورده شد. در تیمار میکروبی که از باکتری‌های مختلف در فاز III کمپوست‌سازی در ابتدای مرحله اسپان-زنی و خاکدهی مورد استفاده قرار گرفت، وزن قارچ در فلش اول در تیمار باکتری ازتوباکتر (۱۱/۵۷ کیلوگرم بر مترمربع) و سودوموناس (۱۱/۲۶ کیلوگرم بر مترمربع) بیشترین بود که با تیمار شاهد (۸/۷۲ کیلوگرم بر مترمربع) از لحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری نشان داد. در فلش دوم و سوم میزان قارچ برداشت شده در تیمارها تغییر کرد. در فلش دوم باکتری آزوسپیریلوم (۵/۵۴ کیلوگرم در مترمربع) و ازتوباکتر (۵/۴۴ کیلوگرم در مترمربع) و در فلش سوم باکتری باسیلوس (۴/۳۲ کیلوگرم در مترمربع) و انتروباکتر (۳/۸۰ کیلوگرم در مترمربع) بیشترین مقادیر قارچ برداشت‌شده را نشان دادند (جدول ۴). بزرگ‌ترین اندازه و کیفیت قارچ برداشت‌شده در تیمار باکتری سودوموناس (۲۲/۰۸ گرم) و انتروباکتر (۲۲/۰۰ گرم) بود که نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد نشان داد. بیشترین مقدار عملکرد، راندمان بیولوژیکی و نرخ تولید در تیمار باکتری ازتوباکتر کروکوکوم (به ترتیب ۱۹/۴۰ کیلوگرم در متر مربع، ۲۲/۳۵ درصد و ۲/۰۳ کیلوگرم بر کیلوگرم در روز) حاصل گردید که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح احمال پنج درصد نشان داد. درواقع این نتایج نشان دادند که مصرف مایه تلقیح میکروبی ازجمله باکتری ازتوباکتر و سودوموناس و انتروباکتر در فاز III کمپوست‌سازی بر میزان تولید و کیفیت قارچ خوراکی تاثیرگذار هستند.

جدول ۴- مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف زیستی برای صفات عملکرد و تولید قارچ خوراکی در سالن پرورش

تیمارها	وزن فلش اول (Kg/m^2)	وزن فلش دوم (Kg/m^2)	وزن فلش سوم (Kg/m^2)	میانگین وزن هر قارچ (گرم)	عملکرد (Kg/m^2)	راندمان بیولوژیکی (٪) (BE)	نرخ تولید ($Kg.Kg^{-1}.day^{-1}$)	رطوبت قارچ بر وزن تر (٪)
ازتوباکتر	۱۱/۵۷a	۵/۴۴a	۲/۴۰c	۱۹/۵۳bc	۱۹/۴۰a	۲۲/۳۵a	۲/۰۳۳a	۸۹/۶۷a
سودوموناس	۱۱/۲۶ab	۴/۰۰c	۲/۵۱bc	۲۲/۰۸a	۱۷/۷۷ab	۲۰/۴۷ab	۱/۸۵۶ab	۹۰/۷۹a
آزوسپیریلوم	۸/۹۷c	۵/۵۴a	۳/۰۴bc	۲۰/۸۲ab	۱۷/۵۵ab	۲۰/۲۱ab	۱/۸۴۰ab	۸۹/۶۰a
باسیلوس	۸/۸۶c	۳/۹۳c	۴/۳۲۸a	۱۹/۰۱bc	۱۷/۱۰ab	۱۹/۶۹ab	۱/۷۹۰ab	۸۶/۹۲a
انتروباکتر	۸/۸۴c	۴/۳۹bc	۳/۸۱a	۲۲/۰۰a	۱۷/۰۵ab	۱۹/۶۴ab	۱/۷۸۳ab	۹۰/۲۷a
سیانوباکتری	۹/۷۷bc	۵/۱۳ab	۲/۶۷bc	۱۷/۸۴c	۱۷/۵۴ab	۲۰/۲۱ab	۱/۸۳۶ab	۹۱/۱۱a
شاهد	۸/۷۲c	۴/۵۱bc	۳/۰۸b	۱۸/۱۱c	۱۶/۳۲b	۱۸/۸۱b	۱/۷۱۰b	۸۹/۱۸a

بحث

با توجه به نتایج، نسبت کربن به نیتروژن بالای کاه گندم (۷۴) و باگاس نیشکر (۵۲)، درواقع کود مرغی به‌عنوان منبع تأمین‌کننده نیتروژن و ترکیبات آلی سهل‌الوصول برای میکروب‌های تجزیه‌کننده ترکیبات لیگنوسلولزی به توده کمپوست اضافه می‌شود و علاوه بر آن منابع کود شیمیایی نیتروژن (سولفات آمونیوم یا اوره) هم به توده اضافه می‌شوند. شاخص C/N از اساسی‌ترین و مهم-ترین شناسه‌های رسیدگی کمپوست در فرآیند تجزیه بقایای آلی است، زیرا نشان‌دهنده قابلیت دسترسی مواد کمپوست

است. اسپارلینگ و همکاران (۱۹۸۲) گزارش کردند که کاه گندم یک منبع کربن مهم برای کشت قارچ دکمه‌ای است و ریزجانداران نقش کلیدی در فرآیند تخریب و تجزیه دارند. تنفس میکروبی شاخصی از وضعیت و فعالیت میکروب‌های کمپوست است و بیانگر روند و چگونگی تجزیه مواد آلی، فعالیت آنزیمی و چرخه برخی از عناصر غذایی می‌باشد و به‌شدت تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی قرار می‌گیرد (ژان و همکاران، ۲۰۱۸). براساس نتایج، در مرحله حمل و شروع فاز II کمپوست‌سازی، تنفس میکروبی حدود ۲۵ برابر نسبت به شروع فرآیند (مرحله شستشوی کاه) افزایش‌یافته است و در پایان مرحله (تولید SMC) حدود ۳۹ درصد (۱/۷ برابر) نسبت به مرحله حمل کاهش‌یافته است (جدول ۱). سودائی و همکاران (۱۴۰۰) نشان دادند که میزان تنفس میکروبی پایه در طی فرآیند کمپوست‌سازی روند افزایشی دارد که در اواخر فاز ترموفیلیک (روز ۱۲ ام) به بیشترین میزان می‌رسد که نشان از کارکرد میکروارگانیسم‌ها در تجزیه کربن آلی توده کمپوست دارد. کربن آلی کل در مراحل مختلف کمپوست‌سازی از شروع در کلش اولیه تا مرحله خاکدهی حدود ۲۸/۵ درصد کاهش را نشان داد که تلفات کربن آلی به شکل گاز CO_2 و مصرف توسط میکروارگانیسم‌ها و ... را نشان می‌دهد. میزان کربن محلول در آب به‌عنوان یک روش ساده برای برآورد قابلیت معدنی شدن کربن در توده درحال کمپوست شدن پیشنهاد می‌شود. میزان کربن محلول در آب داغ نه‌تنها شامل کربن زیتوده میکروبی بلکه شامل کربوهیدرات‌های محلول و آمینواسیدها است و از آنجا که اکثر آنزیم‌ها در این دما ماهیت خود را از دست می‌دهند، شامل آن بخشی که با آنزیم‌ها در ارتباط است نیز می‌باشد؛ بنابراین، با توجه به این نتایج، کمپوست مرحله خاکدهی در سالن کشت بیشترین منابع کربنی در دسترس برای میکروارگانیسم‌ها و میسلیوم قارچ خوراکی را دارد. احتمالاً همین میزان بالای کربن آلی محلول در این مرحله به همراه مواد غذایی محلول بیشتر برای میسلیوم‌های قارچی باعث هدایت الکتریکی (EC) بیشتر این نمونه کمپوست شده است. شارما و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان دادند که EC در پایان فاز II کمپوست‌سازی به حدود ۳/۵ و در فاز III کمپوست‌سازی به حدود ۵/۰ دسی‌زیمنس بر متر می‌رسد. عوامل فیزیکی و شیمیایی، مانند دما، اکسیژن، رطوبت، مواد کمپوست و نسبت C/N، بر تغییرات جامعه میکروبی در سیستم‌های کشت و در رشد قارچ‌ها در بسترها تأثیر می‌گذارند و همچنین یک جامعه میکروبی پیچیده می‌تواند بر تغییرات ساختار کمپوست، ازجمله دما، pH، هوادهی، محتوای آب و مواد آلی تأثیر بگذارد (مارتینز و همکاران، ۲۰۱۳).

فناوری تولید قارچ با بهینه‌سازی عوامل زراعی مرتبط با جنبه‌های شیمیایی، فیزیکی-شیمیایی، میکروبیولوژیکی و محیطی پیشرفت کرده است (بلتینی و همکاران، ۲۰۱۹). مطالعات متعددی نقش ریزجانداران را در تولید قارچ نشان داده‌اند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۹) و تجزیه‌وتحلیل میکروبیوم در بازیدیوم‌ها نشان داد که به‌شدت تحت‌تاثیر تنوع باکتریایی خاک پوششی قرار دارد (کاراسکو و همکاران ۲۰۱۹). بدیهی است که از مرحله تلقیح تا میوه-دهی و برداشت قارچ، توالی میکروبی در کمپوست و خاک پوششی وجود دارد. درواقع، چندین گزارش در مورد تغییرات در دینامیک میکروبیوم در خاک پوششی و کمپوست در طول کشت قارچ وجود دارد (سان و همکاران، ۲۰۲۰). نتایج این پژوهش بیشترین جمعیت باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها را به ترتیب در مرحله حمل نمونه به درون تونل پاستوریزاسیون (یعنی شروع فاز II کمپوست-سازی که تنفس میکروبی هم بیشترین مقدار بود)، مرحله بونکر یک و در مرحله خاکدهی کمپوست (انتهای فاز III کمپوست‌سازی) نشان داد. الگوی کلونیزاسیون باکتریایی خاک پوششی و کمپوست قارچ خوراکی *A. bisporus*، پس از اسپان‌دهی، جمعیت باکتریایی بیشتری در لایه‌های بالایی کمپوست نسبت به اعماق پایین‌تر نشان داد و جمعیت

باکتری در کمپوست کمتر از خاک پوششی بود. افزودن کمپوست اسپان‌دهی شده به خاک پوششی منجر به افزایش قابل‌توجهی در جمعیت باکتریایی، تعداد بازیدیوکارپ‌های تشکیل‌شده میسلیوم قارچ و تعداد قارچ برداشت‌شده در مقایسه با خاک پوششی اصلاح‌نشده بدست آمد. شروع تشکیل بازیدیوکارپ زمانی که برخی از باکتری‌های فوق به خاک پوششی اضافه شدند به‌طور قابل‌توجهی بیشتر بود (ردی و پاتریک، ۱۹۹۰). در این پژوهش جمعیت میکروبی و به‌ویژه باکتریایی در خاک پوششی کمتر از کمپوست بوده که می‌تواند به دلیل پاستوریزه‌کردن خاک پوششی قبل از استفاده در سالن پرورش باشد. روش پاستوریزاسیون مورداستفاده در این فرآیند به دلیل تأثیر آن بر جوامع میکروبی در بستر باید با دقت اعمال شود (سوارز و همکاران، ۲۰۲۰). شهریاری و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که رشد قارچ‌ها با شدت و جمعیت بیشتر در کاه گندم در طی فرآیند کمپوست شدن، منجر به سطح قابل‌دسترسی بیشتر و تخریب ساختاری در کاه می‌شود.

به طور خلاصه، تولید صنعتی بستر قارچ خوراکی یا کمپوست شامل یک پیش‌تیمار گرمادوست کوتاه (PI)، یک‌فاز کمپوست میکروبی (PII)، یک مرحله رشد رویشی (PIII) قارچ *A. bisporus* و یک‌فاز تشکیل بدنه میوه (PIV) است. در طول مرحله PII یک جامعه میکروبی متنوع یک بستر لیگنوسلولزی مقاوم (کاه گندم) را تخریب می‌کنند و باعث تشکیل یک بستر خاص و انتخابی برای استفاده در کشت صنعتی قارچ خوراکی دکمه‌ای می‌شود (کرتیز و تای، ۲۰۱۸). کمپوست قارچ بر پایه کاه گندم است و از پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی و لیگنین تشکیل‌شده است که تا حدی در طی فاز دو (PII) تجزیه می‌شوند. این پلی‌ساکاریدها عمدتاً از سلولز و همی‌سلولز تشکیل شده‌اند. در این پژوهش مقادیر همی‌سلولز از سلولز در طول دوره تولید کمپوست‌سازی بیشتر بوده و گاهاً روند کاهشی را نشان دادند. لیگنین یک پلیمر پیچیده و هتروآروماتیک است که از واحدهای پی- هیدروکسی‌فنیل، سیرنگیل و گوایاسیل با پیوند β-O-4′ آریل اتر به‌عنوان فراوان‌ترین پیوند بین واحدی (حدود ۷۵ درصد) تشکیل‌شده است. تجزیه کربوهیدرات (زایلان و سلولز) در طول فاز II ناشی از آنزیم‌های دفع شده توسط میکروب‌ها در مرحله دوم کمپوست‌سازی (PII) است (Duran et al., 2022). تجزیه باگاس نیشکر و کاهش سلولز و لیگنین آن بعد از ۹۰ روز توسط قارچ *Polyporus giganteus* بدون وجود همبستگی بین مقدار آنزیم‌های لیگنولیتیک و ترکیب بقایای به‌جامانده گزارش‌شده است (برکسیا و همکاران، ۱۹۹۷). در این پژوهش روند تقریباً کاهشی در مقادیر لیگنین اندازه-گیری شده در طول فرآیند تولید قارچ خوراکی مشاهده شده است.

در این پژوهش تأثیر باکتری‌های تلقیح شده در خاک پوششی بر عملکرد، وزن و اندازه قارچ و راندمان بیولوژیکی قابل‌توجه بوده است به‌طوری که تیمار باکتری ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا بر عملکرد قارچ خوراکی به ترتیب ۱۸/۸ و ۸/۹ درصد بیشتر از شاهد بدون تلقیح باکتری بود و میانگین وزن هر قارچ در تیمار باکتری سودوموناس پوتیدا ۲۱/۵ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود. بارس و همکاران (۲۰۲۰) هم نشان دادند که سودوموناس پوتیدا، باردهی و تشکیل کلاهک قارچ را تحریک کرده و بر عملکرد قارچ تأثیر می‌گذارد. افزایش وزن و تعداد قارچ و درنتیجه افزایش عملکرد قارچ دکمه‌ای در اثر تیمار باکترهای محرک رشد، توسط لطفی و همکاران (۱۳۹۷)، زارع‌نژاد و همکاران (۲۰۱۲)، بارس و همکاران (۲۰۲۰) و کرتیسز و تای (۲۰۱۸) نیز گزارش شده است؛ بنابراین، افزودن مکمل-های زیستی مثل باکتری‌ها بر عملکرد و راندمان بیولوژیکی قارچ خوراکی تأثیر بسزایی داشته است.

نتیجه‌گیری

درک اجزای میکروبی بسترهای قارچ می‌تواند منجر به استفاده از آن‌ها به‌عنوان نشانگر برای بسترهای مناسب و زیست تلقیح گونه‌های خاص شود که نویدبخش رشد و عملکرد قارچ خوراکی هستند (کاراسکو و همکاران، ۲۰۱۸). نتایج این مطالعه نشان داد که خصوصیات شیمیایی و زیستی کمپوست طی فرآیند کمپوست‌سازی تغییر نموده که بیشترین فعالیت میکروبی یا تنفس میکروبی در نمونه‌های برداشت‌شده در مرحله حمل به تونل (شروع فاز II کمپوست‌سازی) اتفاق می‌افتد که در این مرحله بیشترین جمعیت باکتریایی هم بدست آمده است. جمعیت باکتریایی در خاک پوششی باید بیشتر از کمپوست باشد (ردی و پاتریک، ۱۹۹۰) درحالی‌که این پژوهش نشان داد که به دلیل پاستوریزاسیون خاک پوششی قبل از استفاده در سالن پرورش باعث کاهش چشمگیر باکتری‌ها نسبت به کمپوست می‌شود که با تلقیح باکتری‌ها به خاک پوششی می‌توان کمک شایانی به تولید قارچ خوراکی نمود. تغییرات میزان ترکیبات لیگنوسلولزی (همی‌سلولز، سلولز و لیگنین) در مراحل مختلف کمپوست‌سازی و تولید قارچ خوراکی نشان داد که روند خاصی را نمی‌توان در تغییر این ترکیبات با توجه به پیچیدگی فرآیندها و تغییرات شرایط تولید و پرورش قارچ نشان داد هرچند این روش اندازه‌گیری شیوه‌ای غیرآنزیمی و تقریبی بوده است. افزودن باکتری‌ها در خاک پوششی، تأثیر مثبت بر عملکرد و راندمان بیولوژیکی داشت که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال پنج درصد نشان داد. در بین باکتری‌های استفاده‌شده در تیمار زیستی باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس پوتیدا و انتروباکتر کلوآسه تأثیر بیشتری نسبت به بقیه باکتری‌ها بر صفات عملکردی قارچ خوراکی نشان دادند؛ بنابراین فرموله کردن این باکتری‌های مفید در خاک پوششی می‌تواند میزان تولید را در واحدهای صنعتی پرورش قارچ خوراکی افزایش دهد که صرف اقتصادی خوبی را می‌تواند به همراه داشته باشد. پیشنهاد می‌شود که سه گروه از جوامع میکروبی در طول چرخه کشت و تولید قارچ، شامل؛ جوامع میکروبی مرتبط با کیفیت و رسیدگی کمپوست به‌عنوان بستر، جوامع میکروبی مربوط به کلونیزاسیون میسلیوم در کمپوست رسیده و جوامع میکروبی مرتبط با میوه‌دهی قارچ، مورد مطالعه قرار گیرند.

سپاسگزاری

این پژوهش توسط شرکت کشت و صنعت قارچ نگین فصل شهرکرد و دانشگاه شهرکرد طی انعقاد قرارداد شماره ۴۹۰د/۱۰۰ به تاریخ ۱۴۰۰/۱۱/۰۶ تأمین مالی شده است. بدین وسیله از مدیرعامل محترم شرکت جناب آقای مهندس کاظمی برای مساعدت بی‌دریغ ایشان در انجام کارهای تحقیقاتی و فراهم نمودن بستر تحقیقاتی در شرکت، تشکر می‌شود.

فهرست منابع

۱. پاکدین، ع.، فارسی، م.، مرعشی، ح.، ملک‌زاده، خ. و جلال‌زاده، ب. ۱۳۸۸. شناسایی اکتینومیست‌های کمپوست قارچ خوراکی دکمه‌ای با استفاده از ژن 16s RNA. ششمین کنگره علوم باغبانی، ۲۲- ۲۵ تیرماه. دانشگاه گیلان.

۲. داوری، م.، شهریار، ا.، بهنامیان، م.، دژستان، س. و علی‌حسین زاده، ف. ۱۳۹۷. شناسایی قارچهای بیماری زای متداول در مراکز پرورش قارچ دکمه ای سفید استان اردبیل با روش های ریخت شناسی و مولکولی. پژوهش های کاربردی در گیاه پزشکی، ۷ (۱): ۱۲۲-۱۰۹.

۳. سودائی مشایی، ص. و بنی‌طالبی، گ. ۱۴۰۰. فناوری استفاده از کاه گندم در فرآیند کمپوست‌سازی برای تولید قارچ خوراکی (*Agaricus bisporus*)، هفدهمین کنگره ملی و سومین کنگره بین‌المللی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ۵–۷ بهمن ماه ۱۴۰۰.

۴. شمسی، ب.، محمدی، ح.ر. و صداقت، ا. ۱۳۹۲. پرورش علمی و عملی قارچ دکمه‌ای (چاپ دوم). انتشارات آییژ. تهران ایران، ص. ۱۶۵.

۵. لطفی، م.، فارسی، م.، میرشمسی کاخکی، ا. و جانپور، ج. ۱۳۹۷. بررسی تاثیر جدایه باکتری *Pseudomonas putida* بر عملکرد قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*). نشریه علوم باغبانی، ۳۲ (۲): ۲۷۳–۲۸۶.

6. Anderson, T.H. and Domsch, K.H. 1990. Application of eco-physiological quotient (qCO_2 and Dq) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. Soil Biology and Biochemistry, 22, 251–255.
7. Baars, J.J.P., Scholtmeijer, K., Sonnenberg, A.S.M. and Van Peer, A. 2020. Critical factors involved in primordia building in Agaricus bisporus: A review. Molecules, 25, 2984.
8. Bellettini, M.B.; Fiorda, F.A.; Maieves, H.A.; Teixeira, G.L.; Ávila, S.; Hornung, P.S. and Ribani, R.H. 2019. Factors affecting mushroom Pleurotus spp. Saudi Journal of Biological Sciences, 26, 633–646.
9. Bellettini, M.B., Fiorda, F.A., Maieves, H.A., Teixeira, G.L., Ávila, S., Hornung, P.S. and Ribani, R.H. 2019. Factors affecting mushroom Pleurotus spp. Saudi Journal of Biological Sciences, 26: 633–646.
10. Breccia, J.D., Bettucci, L., Piaggio, M., and Sireeizi, F. 1997. Degradation of sugar cane bagasse by several white-rot fungi. Acta Biotechnologica, 17(2): 177-184.
11. Carrasco, J., Zied, D.C., Pardo, J.E., Preston, G.M. and Pardo-Giménez, A. 2018. Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. AMB Express, 8, e146.
12. Carrasco, J. and Preston, G.M. 2020. Growing edible mushrooms: A conversation between bacteria and fungi. Environmental Microbiology, 22, 858–872.
13. Carrasco, J., Tello, M.L., Toro, M., Tkacz, A., Poole, P., Pérez-Clavijo, M. and Preston, G. 2019. Casing microbiome dynamics during button mushroom cultivation: Implications for dry and wet bubble diseases. Microbiology, 165, 611–624.
14. Corre, M.D., Schnabel, R.R. and Shaffer, J.A. 1999. Evaluation of soil organic carbon under forests, cool-season and warm-season grasses in the northeastern US. Soil Biology and Biochemistry, 31(11), 1531-1539.
15. Duran, K., den Dikkenberga, M., Erven, G., Baars, J.J.P., Comans, R.N.J., Kuyper, T.W. and Kabel, T.W. 2022. Microbial lignin degradation in an industrial composting environment. Bioresource Technology Reportsm, vol. 17. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100911.
16. Iossi, M.R., Palú, I.A., Soares, D.M., Vieira, W.G., Alves, L.S., Stevani, C.V., Caitano, C.E.C., Atum, S.V.F., Freire, R.S., Dias, E.S. and Zied, D.C. 2022. Metaprofiling of the Bacterial Community in Colonized Compost Extracts by Agaricus subrufescens. Journal of Fungi, 8, 995. https://doi.org/10.3390/jof8100995.
17. Kertesz, M.A. and Thai, M. 2018. Compost bacteria and fungi that influence growth and development of Agaricus bisporus and other commercial mushrooms. Applied Microbiology and Biotechnology. 102:1639-1650. DOI 10.1007/s00253-018-8777-z.

18. Lin, L., Yan, R., Liu, Y. and Jiang, W. 2010. In-depth investigation of enzymatic hydrolysis of biomass wastes based on three major components: cellulose, hemicellulose, and lignin. Bioresource Technology, 101(21): 8217-8223.
19. Lorch, H.J., Benckieser, G. and Ottow, J.C.G. 1995. Basic methods for counting microorganism in soil and water. In: Alef K. and Nannipieri P. (Eds). Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press. pp. 146–161.
20. Lu, W., Yu, S., Ma, Y. and Huang, H. 2018. Integrated economic and environmental analysis of agricultural straw reuse in edible fungi industry. PeerJ, 6: e4624 DOI 10.7717/peerj.4624.
21. Martins, L.F., Antunes, L.P., Pascon, R.C., de Oliveira, J.C.F., Digiampietri, L.A., Barbosa, D., Peixoto, B.M., Vallim, M.A., Viana-Niero, C. and Ostroski, E.H. 2013. Metagenomic analysis of a tropical composting operation at the Sao Paulo Zoo Park reveals diversity of biomass degradation functions and organisms. PLoS ONE, 8, e61928.
22. McGee, CF, Byrne, H, Irvine, A and Wilson, J. 2017. Diversity and dynamics of the DNA and cDNA-derived compost fungal communities throughout the commercial cultivation process for Agaricus bisporus. Mycologia. 109:475–484. DOI 10.1080/00275514.2017.1349498.
23. McGee, CF. 2018. Microbial ecology of the Agaricus bisporus mushroom cropping process. Appllied and Microbiology and Biotechnology 102(3):1075-1083.
24. Nelson, D.W. and Sommers, L.E. 1982. Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter. Methods of Soil Aanalysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 9, 539–577.
25. Reddy, M.S. and Patrick, Z.A. 1990. Effect of bacteria associated with mushroom compost and casing materials on basidiomata formation in Agaricus bisporus. Canadian Journal of plant pathology, 12:236-242.
26. Shahryari, Z., Fazaelipoor, M.H., Setoodeh, P., Nair, R.B., Taherzadeh, M.J. and Ghasemi, Y. 2018. Utilization of wheat straw for fungal phytase production. International Journal of Re-cycling of Organic Waste in Agriculture 7:345_355 DOI 10.1007/s40093-018-0220-z.
27. Sharma, H.S.S. 1995. Thermogravimetric analysis of mushroom (Agaricus bisporus) compost for fiber components. In Science and cultivation of edible fungi, Vol. 1. Edited by T. Elliott. Balkema, Rotterdam. pp. 267–273.
28. Sharma, H.S.S., Kilpatrick, M., Lyons, G., Murray, J., Moore, S., Cheung, L., Finnegan, K., Sturgeon, S. and Mellon, R. 2004. Changes in the quality of mushroom compost during the last decade. In P. Romaine, C. B. Keil, D. L. Rinker and D. J. Royse (Eds.), Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi, 229-239, Pennsylvania: Pennsylvania State University.
29. Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter J., and Templeton, D. 2008. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass: laboratory analytical procedure (LAP). Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory; April. NREL Report No.: TP-510-42618. Contract No.: DE-AC36-99-G010337. Sponsored by the U.S. Department of Energy.
30. Smil, V. 1999. Crop residues: agriculture’s largest harvest: crop residues incorporate more than half of the world’s agricultural phytomass. Bioscience 49:299–308. DOI 10.2307/1313613.
31. Song, T., Shen, Y., Jin, Q., Feng, W., Fan, L., Cao, G., and Cai, W. 2021. Bacterial community diversity, lignocellulose components, and histological changes in composting using agricultural straws for Agaricus bisporus production. PeerJ, 9, e10452. https://doi.org/10.7717/peerj.10452.

32. Sparling, G.P., Fermor, T.R. and Wood, D.A. 1982. Measurement of the microbial biomass in composted wheat straw, and the possible contribution of the biomass to the nutrition of Agaricus bisporus. Soil Biology & Biochemistry. 14:609-661. DOI 10.1016/0038-0717(82)90096-7.
33. Straatsma, G., Olijnsma, T.W., Gerrits, J.P.G. and VanGriensven, L.J.L.D. 1995. Inoculation of indoor phase I compost with thermophiles. In: Elliott TJ, ed. Mushroom Science; Science and cultivation of edible fungi. Rotterdam: A. A. Balkema, 283–288.
34. Suarez, C., Ratering, S., Weigel, V., Sacharow, J., Bienhaus, J., Ebert, J., Hirza, A., Rüh, M. and Schnell, S. 2020. Isolation of bacteria at different points of Pleurotus ostreatus cultivation and their influence in mycelial growth. Microbiological Research, 234, 126393.
35. Sun, S., Li, F., Xu, X., Liu, Y., Kong, X., Chen, J., Liu, T. and Chen, L. 2020. Study on the community structure and function of symbiotic bacteria from different growth and developmental stages of Hypsizygus marmoreus. BMC Microbiology. 20(1): 311. doi: 10.1186/s12866-020-01998-y.
36. Vijay, B., Nitika, S. Shwet, K. 2012. Cellulase production by Scytalidium thermophilum and its potential use in rapid composting for Agaricus bisporus. Mushroom Research, 21(1):83-86.
37. Zarenejad, F., Yakhchali, B. and Rasooli, I. 2012. Evaluation of indigenous potent mushroom growth promoting bacteria (MGPB) on Agaricus bisporus production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28(1): 99- 104.
38. Zhan, J., Li, T., Zhang, X., Yu, H. and Zhao, L. 2018. Rhizosphere characteristics of phytostabilizer Athyrium wardii (Hook.) involved in Cd and Pb accumulation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 148, 892-900.
39. Zhang, H.L., Wei, J.K., Wang, Q.H., Yang, R., Gao, X.J., Sang, Y.X., Cai, P.P., Zhang, G.Q. and Chen, Q.G. 2019. Lignocellulose utilization and bacterial communities of millet straw based mushroom (Agaricus bisporus) production. Scientific Reports, 9:1151-1162. https://doi.org/10.1038/s41598-018-37681-6.

Evaluation of lignocellulosic compounds, compost traits and casing soil inoculated with bacteria on the growth and production of edible mushrooms (*Agaricus bisporus*)

S.Soodaee Mashaee* and E.Mirzakhani

Assistant Professor, Shahrekord University.**soodaie@sku.ac.ir**
Former MSc. Student of Soil Science and engineering Department, Faculty of Agricultural, Shahrekord University. **Elnaz.mirzakhani2014@yahoo.com**

Received: November2022 and Accepted July 2023

Abstract

In order to evaluate the compost traits and casing soil inoculated with bacteria on the mushroom growth and yield, a study was conducted as randomized complete block experiment with three replications during 1400 year in Mushroom Company of Nagin Fasle Shahrekord. The treatments included bacteria inoculated into the casing soil (Azotobacter chroococcum, Pseudomonas putida, Azospirillum lipoferum, Bacillus subtilis, Enterobacter cloacae and cyanobacteria) and controls. Chemical and biological properties of compost during different stages of composting including microbial respiration, microbial population, organic carbon, dissolved organic carbon in cold and hot water, ash, amount of lignocellulose compounds, acidity and electrical conductivity and mushroom growth indicators were measured including mushroom weight, yield, biological efficiency and production rate. Results of this study indicated that the chemical and biological properties of compost changed during the composting process. The highest microbial activity was observed at beginning of phase II, and also the highest bacterial population (1.25 × 109 CFU.g-1) was found. Bacterial population in casing soil was lower than compost. The amount of hemicellulose ranged from 22.6 to 45.1 percent, and the amount of cellulose ranged from 16.7 to 42.2 percent, and the amount of lignin ranged from 17.7 to 33.7 percent. Bacteria inoculation to the casing soil showed a positive effect on the yield (15.9%) and the average weight of mushroom (18.0%) compared to the control ($p \leq 0.05$). Among the bacteria used, Azotobacter crococcum and Pseudomonas putida showed a better effect on the functional characteristics of the mushroom than the other bacteria. Therefore, more research is needed to determine strategies to increase the yield and quality of agricultural traits in the commercial cultivation of edible mushrooms.

Keywords: edible mushroom yield, lignin, microbial population, organic carbon and Pseudomonas putida

* - Corresponding author's email: soodaie@sku.ac.ir