

ارزیابی تأثیر غنی‌سازی بستر کشت با مکمل‌های شیمیایی و زیستی بر برخی ویژگی‌های کیفی و عملکرد قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*)

داریوش رمضان^۱، فاطمه مرادی‌پور^{۲*} و محمد مهدی ضرابی^۳

۱. استادیار علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲. دانشجوی سابق دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳. استادیار، گروه مهندسی علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۵)

چکیده

ترکیب غذایی بستر کشت، یکی از مهمترین عوامل اصلی در رشد و نمو قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) می‌باشد. در این پژوهش اثرات ترکیبی مکمل‌های شیمیایی شامل سولفات مس (۱۰۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت)، نترات آمونیوم (۱۵۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت)، نترات منیزیم (۱۰۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت) و مکمل زیستی باکتری ریزوبیوم (۱۰۸ باکتری در هر میلی‌لیتر برای یک کیلوگرم اسپاون) و همچنین بسترهای کشت خاک اره، کلش گندم، باگاس نیشکر، کلش برنج و ضایعات صنایع روغن‌کشی زیتون و ترکیبی از آنها، جهت پرورش قارچ، مورد مطالعه قرار گرفتند. مقادیر نیتروژن اندام بارده قارچ در بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به ترتیب، ۸/۹۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک و ۲/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. همچنین مقدار ریبوفلاوین قارچ‌های حاصل از بستر کشت ترکیبی باگاس نیشکر و تفاله زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به ترتیب ۴/۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک و ۱/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک ثبت شد. همچنین مرحله پنجه‌دوانی میسلیم در بستر کشت ترکیبی کلش گندم با ضایعات زیتون در مدت زمان ۱۶/۲ روز انجام شد. نتایج نشان داد که عملکرد کل (مجموع سه چین) اندام میوه‌ای در بستر کشت ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون غنی‌شده با نترات آمونیوم و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره غنی‌شده با سولفات مس به ترتیب ۱۸۶۲/۳۵ و ۸۴۰/۹۰ گرم بود؛ بنابراین در این پژوهش بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون که با نترات آمونیوم غنی شده بود، بستر مناسبی جهت تولید قارچ صدفی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، اندام میوه‌ای، باکتری ریزوبیوم، ضایعات صنعتی و کشاورزی.

Evaluation effects of substrate enrichment by chemical and biological supplements on some qualitative characteristics and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*)

Dariush Ramezan¹, Fatemeh Moradipour^{2*} and Mohammad Mahdi Zarabi³

1. Assistant Professor of Horticulture Science, Department of Horticulture and landscaping, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran

2. Former Ph. D. Student, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Iran

3. Assistant Professor of Horticultural Sciences Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

(Received: Dec. 9, 2017 - Accepted: Feb. 14, 2018)

ABSTRACT

Substrate composition is one of the most important determinants of the growth and development of oyster mushroom. In this study, the combined effects of chemical supplements including copper sulfate (100 ug/g D.M of substrate), ammonium nitrate (150 ug/g D.M of substrate), magnesium nitrate (100 ug/g D.M of substrate) and biological supplementation of rhizobium bacteria (108 bacterium per ml for one kilogram of spawn) and also, substrates of sawdust, wheat straw, sugarcane bagasse, rice straw and olive-oil industry wastes and ratios from substrates, were studied for the cultivation of mushroom. Nitrogen of fruit body in combined substrate of wheat straw with olive pomace and the non-combined substrate of sawdust were 8.91 mg/100g D.W. and 2.6 mg/100g D.W. respectively. Also amount of riboflavin in combined substrate of sugarcane bagasse with olive pomace and the non-combined substrate of sawdust were 4.9 mg/100g D.W. and 1.4 mg/100g D.W. respectively. Also, spawn run-stage was completed in 16.2 days in combined substrate of wheat straw with olive-oil industry wastes. The results showed that total yield (total of three flush) of fruit body in combined substrate of wheat straw and olive-oil industry wastes that enriched with chemical supplementation of ammonium nitrate and the non-combined substrate of sawdust enriched with copper sulfate was 1862.35g and 840.90g respectively. Therefore, combined substrate of wheat straw and olive-oil industry wastes that enriched with ammonium nitrate, is a suitable substrate for the production of oyster mushrooms.

Keywords: Fruit body, industrial and agricultural wastes, nutritional value, rhizobium bacteria.

* Corresponding author E-mail: moradipour21@gmail.com

مقدمه

با افزایش جمعیت و کمبود غذا، استفاده از بقایای به ظاهر کم‌ارزش کشاورزی (کلش گندم، کلش برنج، باگاس نیشکر)، ضایعات صنایع چوب (خرده چوب) و صنعتی (ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون) جهت استفاده در تولید مواد خوراکی، بیش از پیش در جهان مرسوم می‌گردد. عدم استفاده مناسب و به‌موقع از این منابع عظیم، منجر به از بین رفتن آنها گشته و آلودگی محیط زیست را به همراه دارد (Mohammadi Goltapeh & Pourjam, 1994; Tajeddin, 1994; Azizi, 1997). کشت انواع قارچ روی ضایعات لیگنوسلولزی حاصل از صنایع تبدیلی و تکمیلی کشاورزی (استفاده ترکیبی از ضایعات)، یکی از مهم‌ترین فرآیندهای بازیافت مواد آلی و تبدیل آن به یک ماده غذایی با ارزش می‌باشد (Salman Naeem et al., 2014).

غنی‌سازی بستر پرورش قارچ صدفی با مکمل‌های غذایی منجر به افزایش تولید قارچ می‌گردد (Shashirekha et al., 2005; Jafarpour et al., 2009). نتایج سایر پژوهشگران نشان داد که زمان کامل‌شدن پنجه‌دوانی میسلیوم و برداشت محصول قارچ‌های اوستراتوس و ارینجی پرورش‌یافته روی بستر کشت خاکاره، سریع‌تر از بستر ضایعات مزارع پنبه و پسماندهای صنایع کاغذ بود (Salman Naeem et al., 2014). همچنین مشخص شد که رشد میسلیوم قارچ صدفی روی بستر ترکیبی باگاس نیشکر و خاکاره در مقایسه با بسترهای غیرترکیبی افزایش یافت (Vetayasuporn et al., 2006). در پژوهشی دیگر مشخص شد که مقادیر پروتیین، خاکستر، سدیم، پتاسیم، کلسیم، منگنز و روی اندام میوه‌ای قارچ صدفی پرورش‌یافته در بستر ترکیبی باگاس نیشکر و ساقه ذرت بیشتر از بستر غیرترکیبی خاکاره بود (Hoa et al., 2015). غنی‌سازی بستر کشت غیرترکیبی کلش برنج با ۰/۵ درصد نیتروژن، ۰/۳ درصد فسفر (P_2O_5) و ۰/۳ درصد پتاسیم (K_2O)، بازده بیولوژیکی قارچ صدفی را تا ۱۵۶/۳۲ درصد افزایش داد (Rahman et al., 2013). در پژوهشی با ارزیابی ضایعات مختلف محصولات کشاورزی مشخص شد که بیشترین (۲۷ روز) طول دوره رشد قارچ‌های

اوستراتوس فلوریدا به بستر کشت ترکیبی کلش جو با سبوس برنج اختصاص دارد (Jafarpour & Eghbalsaeed, 2012).

آنزیم‌های موجود در قارچ صدفی، دیواره سلولی مواد گیاهی را تجزیه می‌کنند و ترکیبات آن‌را به‌صورت محلول و قابل جذب توسط میسلیوم درمی‌آورند (Motaghi, 2006)؛ بنابراین شرایط محیطی مناسب (رطوبت، نیتروژن بستر کشت) جهت فعالیت این آنزیم‌ها سبب می‌گردد که مواد لیگنوسلولزی بستر کشت قارچ با سرعت بیشتری تجزیه گردیده و مواد غذایی آن در دسترس قرار گیرد. همچنین با توجه به نقش عناصر کم‌مصرف به‌عنوان کوفاکتور آنزیم‌های تجزیه‌کننده بقایای گیاهی (Curvetto et al., 2002; Weil et al., 2006)، به‌نظر می‌رسد که غنی‌سازی بسترهای کشت با ترکیباتی که حاوی عناصر کم‌مصرف (Stajic et al., 2006) می‌باشند نیز بتواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های موجود در قارچ‌های ساپروفیت، عملکرد قارچ را افزایش دهند. در یک تحقیق صورت‌گرفته نشان داده شد که ترکیب قارچ EM-I (نوعی مکمل زیستی) با بستر کشت کلش برنج، علاوه بر افزایش عملکرد قارچ فلوریدا، سبب کاهش لیگنین و همچنین افزایش مقادیر پروتیین، خاکستر و سلولز بستر کشت نیز گردید (Mapanao et al., 2016). در پژوهشی دیگر مشخص گردید که میکروارگانسیم EM (مکمل زیستی) میانگین وزن کل اندام میوه‌ای قارچ صدفی را ۲ تا ۴ برابر افزایش داد (Vetayasuporn, 2004)؛ بنابراین با توجه به ارزش غذایی پایین برخی از ترکیبات صنعتی و کشاورزی (بسترهای کشت رایج)، بررسی تأثیر غنی‌سازی بسترهای ترکیبی و غیرترکیبی با مکمل‌های شیمیایی و زیستی بر برخی از خواص کمی و کیفی قارچ صدفی اوستراتوس مورد تحقیق قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بستر کشت

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. آماده‌سازی بستر کشت، پرورش و تولید اندام بارده قارچ تحت شرایط

استریل بستر کشت به آن اضافه شد. بسترهای کشت به صورت یکنواخت به قطعات ۶-۵ سانتی متری تقسیم و به مدت ۴۵ دقیقه در آب جوش استریل شدند و همچنین رطوبت بستر بین ۷۰ تا ۷۵ درصد تنظیم گردید. پس از این مرحله، بستر جهت کشت آماده گردید. همچنین ترکیبات شیمیایی فوق الذکر همراه با اسپاون به بستر کشت اضافه گردید.

تلقیح بستر کشت، رشد رویشی و تشکیل اندام باردهی
اسپاون قارچ صدفی (میسلیوم رشد کرده روی بذور گندم) از شرکت قارچ آرین تهران تهیه گردید. تلقیح بستر کشت به نسبت ۲/۵ درصد (بر اساس وزن تر بستر کشت، وزن هر کیسه ۵ کیلوگرم) انجام شد. همچنین جهت رشد میسلیومها، دمای محیط کشت در محدوده ۲۴ درجه سانتی گراد و تحت شرایط تاریکی تنظیم گردید. بعد از کامل شدن مرحله پنجه‌دوانی (در محیط تاریک)، رطوبت محیط در محدوده ۸۵ تا ۹۰ درصد تنظیم گردید. همچنین جهت تشکیل اندام میوه‌ای از سه لامپ مهتابی با توان ۴۰ وات به فاصله ۱/۲ متر از هم و در ارتفاع ۱/۵ متر بالاتر از سطح کیسه‌های قارچ قرار داشت. به این صورت که ۱۲ ساعت روشنایی در روز و ۱۲ ساعت روشنایی در شب تأمین گردید.

کنترل شده در کارگاهی خصوصی در شهر خرم‌آباد و همچنین کارهای آزمایشگاهی در مجموعه تحقیقاتی وابسته به دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان در سال ۱۳۹۶ انجام شد. در این آزمایش، فاکتور اول بسترهای کشت شامل خاکاره یا تراشه چوب (تهیه شده از استان لرستان)، کلش گندم (مزارع استان لرستان)، باگاس نیشکر (شرکت نیشکر هفت‌تپه اهواز)، کلش برنج (مزارع استان لرستان)، ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون (تفاله زیتون، تهیه شده از صنایع روغن‌گیری شهرستان منجیل)، همچنین ترکیب دو به دو بسترهای فوق الذکر به نسبت مساوی به جز ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون (به میزان ۲۰ درصد) می‌باشند (جدول ۱). فاکتور دوم آزمایش مکمل‌های شیمیایی شامل سولفات مس پنج آبه (۱۰۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت)، نیترات آمونیوم (۱۵۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت)، نیترات منیزیم (۱۰۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت) و مکمل زیستی باکتری ریزوبیوم (*Rhizobium leguminosarum*) که یک میلی لیتر از مایه تلقیح سویه باکتری ریزوبیوم به ازای هر کیلوگرم اسپان (در واقع در یک میلی لیتر از مایه تلقیح سویه، ۱۰۸ باکتری موجود بوده است، بعد از

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بسترهای کشت (درصد وزن خشک)

Table 1. Physical and chemical properties of culture substrates (percent of dry weight)

| Characteristics | Substrates | ASH (%) | LI (%) | HC (%) | pH | EC (ds/m) | C (%) | N (%) | C/N |
|-----------------|------------|---------|--------|--------|------|-----------|-------|-------|-------|
| SD | | 9.12 | 31.00 | 18.17 | 5.50 | 1.98 | 40.00 | 0.55 | 72.72 |
| WS | | 10.00 | 18.00 | 27.00 | 6.90 | 1.45 | 39.00 | 0.61 | 63.93 |
| SB | | 5.50 | 19.13 | 16.12 | 6.10 | 1.66 | 39.00 | 0.59 | 66.10 |
| RS | | 13.00 | 13.00 | 25.82 | 5.90 | 1.78 | 46.00 | 0.96 | 47.91 |
| OW | | 4.00 | 15.12 | 18.23 | 5.82 | 1.93 | 38.00 | 0.87 | 43.67 |
| SD+WS | | 9.21 | 28.60 | 16.11 | 6.11 | 1.02 | 47.11 | 0.91 | 51.76 |
| SD+SB | | 9.67 | 29.20 | 15.29 | 5.81 | 1.21 | 45.51 | 0.88 | 51.71 |
| SD+RS | | 10.21 | 32.15 | 17.08 | 5.45 | 1.43 | 51.72 | 0.86 | 60.13 |
| SD+OW | | 9.78 | 27.21 | 14.77 | 6.77 | 1.80 | 40.22 | 0.77 | 52.23 |
| WS+SB | | 10.02 | 19.78 | 31.88 | 6.34 | 1.87 | 39.11 | 0.58 | 67.43 |
| WS+RS | | 9.12 | 18.11 | 29.77 | 5.88 | 1.23 | 42.52 | 0.66 | 64.42 |
| WS+OW | | 8.19 | 19.55 | 31.23 | 5.23 | 1.36 | 28.85 | 0.84 | 34.34 |
| SB+RS | | 8.66 | 21.88 | 24.23 | 6.24 | 1.16 | 30.51 | 0.78 | 39.11 |
| SB+OW | | 5.72 | 20.21 | 21.75 | 5.78 | 1.64 | 31.72 | 0.88 | 36.04 |
| RS+OW | | 6.43 | 19.66 | 20.33 | 6.76 | 2.02 | 29.45 | 1.10 | 26.77 |

SD: خاکاره، WS: کلش گندم، SB: باگاس نیشکر، WO: ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون، SD+WS: خاکاره با کلش گندم، SD+SB: خاکاره با باگاس نیشکر، SD+RS: خاکاره با کلش برنج، SD+WO: خاکاره با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون، WS+SB: کلش گندم با باگاس نیشکر، WS+RS: کلش گندم با کلش برنج، WS+WO: کلش گندم با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون، SB+RS: باگاس نیشکر با کلش برنج، SB+WO: باگاس نیشکر با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون، RS+WO: کلش برنج با ضایعات روغن‌گیری زیتون.

N: نیتروژن، C: کربن، EC: هدایت الکتریکی، S: سلولز، HC: همی سلولز، LI: لیگنین، D: خاکستر.

N: nitrogen, C: carbon, EC: electrical conductivity, pH, C: cellulose, HC: hemicellulose, LI: lignin, ASH: ash.
SD: Sawdust, WS: Wheat Straw, SB: Sugarcane Bagasse, WO: Olive-oil industry Wastes, SD+WS: Sawdust with Wheat Straw, SD+SB: Sawdust with Sugarcane Bagasse, SD+RS: Sawdust with Rice Straw, SD+WO: Sawdust with Olive-oil industry Wastes, WS+SB: Wheat straw with Sugarcane Bagasse, WS+RS: Wheat Straw with Rice Straw, WS+WO: Wheat Straw with Olive-oil industry Wastes, SB+RS: Sugarcane Bagasse with Rice Straw, SB+WO: Sugarcane Bagasse with Olive-oil industry Wastes, RS+WO: Rice Straw with Olive-oil industry Wastes.

میزان پروتیین از ضریب تبدیل ۴/۳۸ استفاده شد (Ralph & Kurzman, 1997; Shashirekha et al., 2002;) (Bonatti et al., 2004).

اسیدهای آمینه

جهت تعیین مقادیر اسیدهای آمینه لیزین، تریپتوفان و لوسین، ۳ میلی‌گرم از اندام میوه‌ای قارچ صدفی فریز شده با اسیدکلریدریک ۶ مولار در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت هیدرولیز شد. بعد از هیدرولیز، اسید موجود با استفاده از دستگاه تبخیرکننده روتاری حذف گردید. نمونه در ۲ میلی‌لیتر محلول بافر سدیم‌سیترات با pH ۲/۲، به صورت سوسپانسیون قرار داده شد. همچنین ۷/۵ میلی‌مولار فثال‌آلدید به نمونه درون محلول بافر اضافه گردید. با استفاده از دستگاه HPLC (ساخت شرکت آمریکایی واترز) و با توجه به منحنی استاندارد اسید آمینه و زمان بازداری نمونه مقادیر اسید آمینه‌ها تعیین شد. فاز متحرک دستگاه، سدیم‌استات ۰/۱ مولار با pH ۷/۲ و متانول بود (Vázquez-Ortiz et al., 1995).

قندهای محلول

به منظور اندازه‌گیری و جداسازی قند از دستگاه HPLC با ستون (250×46mm, DP=3um) CarbohydrateC₁₈ استفاده شد. به این منظور بعد از آماده‌سازی نمونه، محلول نمونه‌ها از صافی‌های نایلونی ۰/۴۵um عبور داده شد. آن‌گاه ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های صاف شده به دستگاه HPLC تزریق گردید. در این روش از حلال استونیتریل/آب (۲۵/۷۵) و سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده گردید. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر و عمل جداسازی در دمای اتاق و با استفاده از آشکارساز^۲ انجام شد. به این منظور استاندارد قندهای گلوکز، ساکارز و مانیتول با غلظت‌های مختلف تهیه شدند و سپس به دستگاه تزریق گردید و زمان بازداری هر کدام مشخص شد. سپس با توجه به سطح زیر اوج منحنی به دست آمده برای هر قند و غلظت‌های تزریق شده آن‌ها، منحنی

اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و بیوشیمیایی بسترهای کشت

جهت تعیین درصد خاکستر بستر کشت از روش (Hejazi et al., 2007) استفاده شد. همچنین هدایت الکتریکی با دستگاه EC متر و اندازه‌گیری pH با دستگاه pH متر (Kadriri et al., 2007) و همچنین مقادیر سلولز، همی‌سلولز و لیگنین با روش Van Soest et al., 1991; Van Soest, 1994) و نیز مقادیر کربن آلی و نیتروژن کل تعیین شد (Manzi et al., 1999; Hejazi et al., 2007).

صفات اندازه‌گیری شده

عناصر معدنی اندام بارده قارچ صدفی به منظور اندازه‌گیری عناصر معدنی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و آسیاب گردید پس از تهیه خاکستر با روش هضم توسط اسیدکلریدریک (به مدت پنج ساعت) عصاره تهیه شد (Emami, 1996). اندازه‌گیری نیتروژن کل با دستگاه کج‌دال دیجیتال و فسفر با اسپکتروفتومتر (Jenway ساخت کشور انگلستان) در طول موج ۴۷۰ نانومتر تعیین شد. همچنین جهت تعیین پتاسیم از دستگاه فلیم‌فتومتر (Jenway) استفاده شد. برای تعیین مقادیر کلسیم، منیزیم، روی و مس از دستگاه جذب اتمی (مدل GBC-Avantap ساخت کشور استرالیا) استفاده شد.

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

رطوبت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فیبر خام، چربی و پروتیین رطوبت اندام میوه‌ای با استفاده از آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تعیین شد (Mostofi & Najafi, 2005; Hejazi et al., 2007). مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، از طریق خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PG Instruments ItdT80 + UV/VIS) تعیین گردید (Miliauskas et al., 2004). همچنین فیبر خام اندام بارده‌ی با روش Lee et al. (1992) محاسبه شد. چربی خام نمونه‌ها با روش Twisselman و با استفاده از حلال دی‌اتیل‌تر اندازگی‌گیری شد (AOAC, 1980). برای تعیین

1. WATERS
2. RI (Refractive Index)

به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن طبقه‌بندی شدند.

درجه‌بندی مربوط به هر قند در نرم‌افزار اکسل رسم گردید (Augustin *et al.*, 1998).

ویتامین‌ها

برای تعیین مقادیر تیامین (B₁) و ریبوفلاوین (B₂) از روش هاج (Hagg, 1994) استفاده شد. در این روش مراحل استخراج و آماده‌کردن عصاره برای هر دو ویتامین یکسان بود؛ در صورتی که مراحل جداسازی در HPLC به صورت جداگانه صورت گرفت. بعد از مرحله هیدرولیز، تیامین به تیوکروم اکسید شد. تیوکروم و ریبوفلاوین به طور جداگانه توسط دستگاه آنالیز گردید. همچنین جهت بررسی مقادیر اسیدفولیک (B₉) از روش Phillips *et al.* (2005, 2006) استفاده شد. برای اندازه‌گیری مقادیر اورگسترول (D₂) از روش Mattila *et al.* (1992 و 1994) استفاده شد. به این منظور ۱۰ گرم از اندام میوه‌ای قارچ با نفت و دی‌اتیل‌اتر ترکیب و صابونی شد. بعد از عمل تبخیر، با ۲ میلی‌لیتر هگزان رقیق گردید. عصاره آماده‌شده جهت اندازه‌گیری مقادیر اورگسترول به دستگاه HPLC تزریق گردید.

صفات مورفولوژیکی و عملکرد

پنجه‌دوانی (رشد رویشی)، تشکیل اندام گره‌ای، میوه‌ای و وزن اندام میوه‌ای

زمان لازم جهت کامل‌شدن مرحله پنجه‌دوانی هیف قارچ و تشکیل اندام گره‌ای و بارده قارچ محاسبه گردید. جهت بررسی رشد رویشی یا همان پنجه‌دوانی یا اسپان ران میسلیم قارچ از واحد روز استفاده شد. به این صورت که از شروع آزمایش تا کامل‌شدن رشد رویشی که به طور تقریبی سفیدشدن بالای ۷۰ درصد بستر کشت در نظر گرفته می‌شود، با تعداد روز از ابتدای آزمایش محاسبه و ثبت گردید. وزن اندام بارده در سه چین با استفاده از ترازوی دیجیتالی ثبت گردید. بازده بیولوژیکی بر اساس درصد وزن اندام بارده به‌زای وزن بسترکشت محاسبه گردید (Mohammadi Goltapeh & Pourjam, 1994).

تجزیه داده‌ها

داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS و

نتایج

محتوای عناصر معدنی اندام بارده قارچ صدفی

با توجه به جدول ۲، بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی اثرات معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر مقادیر عناصر معدنی اندام میوه‌ای قارچ صدفی داشتند. همان‌طوری که جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد (جدول ۳) میزان نیتروژن اندام بارده قارچ در بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به‌ترتیب ۸/۹۱ و ۲/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. همچنین نیتروژن اندام بارده قارچ تحت تأثیر مکمل‌های شیمیایی نترات‌آمونیم و سولفات‌مس به‌ترتیب ۸/۴ و ۴/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک، ثبت شد. مقادیر فسفر اندام بارده قارچ صدفی در بستر ترکیبی کلش گندم با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به‌ترتیب برابر با ۷۱۰/۶۰ و ۳۲۵/۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. همچنین تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد از نظر میزان فسفر اندام میوه‌ای بین مکمل‌های نترات‌آمونیم و باکتری ریزوبیوم وجود نداشت و هر دو به یک کلاس آماری تعلق داشتند. داده‌های حاصل از جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین بسترهای کشت ترکیبی کلش گندم با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و کلش برنج با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون از لحاظ پتاسیم وجود نداشت و هر دو در یک گروه آماری قرار داشتند. مقدار کلسیم اندام بارده قارچ صدفی در بستر کشت ترکیبی کلش برنج با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به‌ترتیب ۱۱۲/۵۰ و ۶۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. همچنین مقادیر منیزیم اندام بارده حاصل از تیمار مکمل شیمیایی نترات‌منیزیم ۱۹۵/۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. مقادیر مربوط به عنصر روی نشان داد که قارچ‌های حاصل از مکمل نترات‌آمونیم و سولفات‌مس به‌ترتیب ۵/۷۶ و ۲/۸۵ میلی‌گرم در ۱۰۰

غنی‌شده با سولفات مس مربوط بوده است (جدول ۱۰). نتایج مربوط به اسیدهای آمینه نشان داد که مقادیر ۱۱/۵۰ و ۷/۱۰ میلی‌گرم در گرم ماده خشک لیزین به ترتیب به بسترهای کشت ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون و بستر کشت غیرترکیبی باگاس نیشکر اختصاص داشت. همچنین مقادیر مربوط به اسید آمینه تریپتوفان نشان داد که ۴/۰۲ و ۹/۹۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک به ترتیب به قارچ‌های حاصل از بستر کشت ترکیبی خاکاره و باگاس نیشکر و بستر کشت ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون مربوط بود. همچنین مقادیر لوسین اندام بارده قارچ صدفی تحت تیمار نیترا-آمونیم و سولفات مس به ترتیب ۱۶/۳ و ۸/۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بود (جدول ۶). نتایج جدول ۷ نشان داد که مقدار گلوکز اندام باردهی مربوط به بستر کشت غیرترکیبی خاکاره ۹/۰۹ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بود. همچنین تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد بین بسترهای کشت ترکیبی کلش گندم با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و کلش برنج با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون از این نظر وجود نداشت. مقدار ساکارز قارچ حاصل از بستر ترکیبی کلش برنج با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به ترتیب ۱۱/۸ و ۰/۰۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ثبت گردید و همچنین در قارچ‌های حاصل از مکمل زیستی ریزوبیوم ۱۱/۴۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک و در قارچ‌های حاصل از سولفات مس ۶/۸ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بود (جدول ۷). از نظر میزان قند مانیتول، قارچ‌های حاصل از بستر کشت ترکیبی کلش برنج با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون، ۱۶/۲۰ میلی‌گرم در گرم ماده خشک مانیتول داشتند. همان‌طوری که داده‌های جدول ۷ نشان داد میزان تیامین قارچ‌های حاصل از مکمل نیترا-آمونیم، ۳/۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. همچنین مقدار ریوفلاوین اندام بارده قارچ صدفی در بستر کشت ترکیبی باگاس نیشکر با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به ترتیب ۴/۹ و ۱/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. نتایج مربوط به اسید فولیک نشان داد که قارچ‌های حاصل از بستر کشت ترکیبی کلش گندم با تفاله زیتون، ۶۷۵/۹۰

گرم وزن خشک را داشتند. همچنین تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد از این نظر بین نیترا-آمونیم و ریزوبیوم وجود نداشت.

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندام باردهی قارچ صدفی

داده‌های حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول‌های ۴ و ۵) نشان داد که رطوبت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فیبر، چربی، پروتئین، اسیدهای آمینه (لیزین، تریپتوفان، لوسین)، قندها (گلوکز، ساکارز، مانیتول) و ویتامین‌ها (تیامین، ریوفلاوین، فولیک‌اسید، اورگسترول) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر بسترهای کشت و مکمل‌های شیمیایی و زیستی قرار گرفتند. با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) میزان رطوبت قارچ‌های چین اول در بسترهای کشت ترکیبی کلش گندم با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و خاکاره با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون به ترتیب ۹۴/۵ و ۸۸/۵ درصد بود. همچنین مقادیر رطوبت قارچ‌های چین سوم در بستر ترکیبی کلش گندم با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون، ۹۰/۸ درصد و در بستر باگاس نیشکر و کلش گندم، ۸۵/۴ درصد ثبت گردید. مقادیر فیبر خام اندام باردهی قارچ نشان داد که ۴۲/۰۸ و ۳۲/۰۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک رتیب در بسترهای کشت ترکیبی کلش گندم با ضایعات روغن‌گیری زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره ثبت شد. همچنین با توجه به جدول ۶، میزان چربی خام اندام باردهی ۴/۵ و ۱/۸۵ گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک به ترتیب به مکمل‌های شیمیایی نیترا-آمونیم و سولفات مس اختصاص داشت و تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بین نیترا-آمونیم و ریزوبیوم از این نظر وجود نداشت.

نتایج مربوط به پروتئین کل نشان داد که مقادیر ۲۱/۰۲ و ۱۰/۰۷ درصد به ترتیب به مکمل‌های نیترا-آمونیم و سولفات مس اختصاص داشت هر چند تفاوت معنی‌داری بین ریزوبیوم و نیترا-آمونیم از این نظر وجود نداشت. همچنین مقادیر مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قارچ ۱۳/۸۵ و ۸/۰۹ درصد به ترتیب به بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون، غنی‌شده با نیترا-آمونیم و بستر کشت خاکاره

میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک اسیدفولیک داشتند بستر کشت ترکیبی کلش برنج با تفاله زیتون ۴۰۹/۵ (جدول ۷). همچنین مقدار اورگسترول قارچ‌های حاصل از (میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) گزارش گردید.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثرات بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر محتوای عناصر معدنی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) اندام باردهی قارچ صدفی

Table 3. Analysis of variance for the effects of substrates and nutritional supplements on content of mineral elements (mg/100g D.W) of ostreatus mushroom fruit body

| Sources of variation | df | Mean squares | | | | | | |
|--------------------------|-----|---------------------|---------------------|----------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | | N | P | K | Ca | Mg | Zn | Cu |
| Treatments | | 3.05 ^{ns} | 14.9 ^{ns} | 126.3* | 12.04** | 10.15** | 5.3* | 0.002 ^{ns} |
| Substrates | 14 | 5.95** | 325.11** | 654.52** | 856.32** | 135.2** | 14.58** | 1.21** |
| Supplements | 3 | 4.08** | 295.8** | 852.3** | 1123.01** | 165.30** | 42.32** | 2.01** |
| Substrates × Supplements | 52 | 20.11 ^{ns} | 368.5 ^{ns} | 356.32 ^{ns} | 523 ^{ns} | 1562 ^{ns} | 13.25 ^{ns} | 1.02 ^{ns} |
| Experimental error | 140 | 1.06 | 46.92 | 93.28 | 38.08 | 3.05 | 0.05 | 0.008 |
| CV (%) | | 16.72 | 1.08 | 1.02 | 6.51 | 1.02 | 22.34 | 5.02 |

ns, *, **: بدون تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *, **: non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های اثرات بستر کشت و مکمل غذایی بر محتوای عناصر معدنی اندام باردهی قارچ صدفی
Table 2. Means comparisons for the effects of substrates and nutritional supplements on content of mineral elements of ostreatus mushroom fruit body

| Characteristics | | Treatments | N | P | K | Ca | Mg | Zn | Cu |
|-----------------|-------------------|------------|-------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
| | SD | | 2.6e | 325.8g | 785.6e | 62e | 142.4d | 1.4e | 0.45ef |
| | WS | | 5.6c | 578.6e | 921.7c | 88d | 155.5cd | 2.52d | 1.85b |
| | SB | | 3.8de | 356.8g | 810.4de | 85d | 145.5d | 1.85e | 0.90e |
| | RS | | 5.31c | 670.3b | 800de | 87d | 158.3cd | 2.22de | 1.22c |
| | WO | | 6.6b | 625.5c | 910c | 95.6b | 154.5cd | 3.45c | 1.45c |
| | SD+WS | | 6.6b | 615.8cd | 980.7b | 90c | 165.6c | 2.75d | 2.02b |
| | SD+SB | | 5.8c | 608.8d | 995.4b | 92.2c | 154.6cd | 2.15de | 2.03b |
| | SD+RS | | 6.3b | 672.8b | 855.32d | 88.6d | 163.3c | 2.85d | 1.82b |
| Substrates | SD+WO | | 5.6c | 689.4b | 848.6d | 95.6b | 169.8c | 3.54c | 1.45c |
| | WS+SB | | 5.6c | 698.8b | 958.6b | 92.8c | 185.8b | 3.82c | 1.88b |
| | WS+RS | | 7.2a | 706.4a | 967.4b | 99.22b | 187.2b | 4.35b | 2.35a |
| | WS+WO | | 8.91a | 710.6a | 1100.7a | 110a | 191.6a | 5.82a | 1.05d |
| | SB+RS | | 6.5b | 625.2c | 925.6c | 88d | 163.5c | 3.58c | 2.85a |
| | SB+WO | | 6.6b | 678.5b | 965.8b | 95.68b | 179.8bc | 4.82b | 1.85b |
| | RS+WO | | 7.3a | 700.4a | 1098.2a | 112.5a | 160.5d | 5.2ab | 2.45a |
| Supplements | Copper sulphate | | 4.3d | 670.31b | 899.8c | 95.2bc | 188.9b | 2.85d | 2.82a |
| | Ammonium nitrate | | 8.4a | 705.2a | 1100.5a | 110.56a | 189.5ab | 5.76a | 1.08d |
| | Magnesium nitrate | | 6.4b | 623.5c | 967.8b | 96.68b | 195.8a | 4.9b | 1.90b |
| | Rhizobium | | 7.3a | 700.47a | 1035ab | 109.15a | 185.3b | 5.5a | 2.56a |

در هر ستون، میانگین‌هایی که حرف‌های مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بدون تفاوت معنی‌دار هستند. توضیحات مخفف‌ها مطابق جدول ۱.

Means in each column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% probability level. Abbreviations are according to table 1.

جدول ۴. تجزیه واریانس اثرات بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر رطوبت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فیبر، چربی و پروتئین اندام میوه‌ای قارچ صدفی

Table 4. Analysis of variance for the effects of substrates and nutritional supplements on moisture, antioxidant capacity, fiber, fat and protein of ostreatus mushroom fruit body

| Sources of variation | df | Mean squares | | | | | | |
|--------------------------|-----|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|
| | | Moisture | | | Antioxidant capacity | Total fiber | Total fat | Total protein |
| | | Flush 1 | Flush 2 | Flush 3 | | | | |
| Treatments | 2 | 32.5 ^{ns} | 25.8 ^{ns} | 53.5* | 87.9 ^{ns} | 581.2 ^{ns} | 213.50 ^{ns} | 152.2 ^{ns} |
| Substrates | 14 | 782.2** | 156.9** | 5638.3** | 286.3** | 124.2** | 65.30** | 102.93** |
| Supplements | 3 | 152.9** | 245.9** | 856.34** | 156.8** | 524.6** | 523.80** | 199.72** |
| Substrates × Supplements | 52 | 799.35 ^{ns} | 2031.5 ^{ns} | 4023.85 ^{ns} | 3427.9** | 5461.2 ^{ns} | 30245.70 ^{ns} | 17613.3 ^{ns} |
| Experimental error | 140 | 62.86 | 87.4 | 99.3 | 1.2 | 0.94 | 0.15 | 1.48 |
| CV (%) | | 8.7 | 10.46 | 11.38 | 10.37 | 2.63 | 13.54 | 7.71 |

ns, *, **: بدون تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *, **: non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۵. تجزیه واریانس اثرات بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر برخی از اسیدهای آمینه، قندها و ویتامین‌های اندام میوه‌ای قارچ صدفی

Table 5. Analysis of variance for the effects of substrates and nutritional supplements on some of amino acids, sugars and vitamins of *ostreatus* mushroom fruit body

| Sources of variation | df | Mean squares | | | | | | | | | |
|--------------------------|-----|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| | | Amino acids | | | Sugars | | | Vitamins | | | |
| | | Lysine | Tryptophan | Leucine | Glucose | Sucrose | Mannitol | Thiamine | Riboflavin | Folic acid | Orgstrol |
| Treatments | 2 | 104.20 ^{ns} | 152.1 ^{ns} | 63.5 ^{ns} | 512 ^{ns} | 104.5 ^{ns} | 481 ^{ns} | 32.2 ^{ns} | 15.8 ^{ns} | 42.8 ^{ns} | 258.20 ^{ns} |
| Substrates | 14 | 52.3 ^{**} | 62.3 ^{**} | 56.9 ^{**} | 65.3 ^{**} | 41.52 ^{**} | 415.23 ^{**} | 18.5 [*] | 42.5 [*] | 21.7 ^{**} | 134.70 ^{**} |
| Supplements | 3 | 85.6 ^{**} | 52.9 ^{**} | 47.3 ^{**} | 132.65 ^{**} | 74.5 ^{**} | 235.6 ^{**} | 36.2 [*] | 62.8 [*] | 42.9 ^{**} | 174.20 ^{**} |
| Substrates × Supplements | 52 | 4021.3 ^{ns} | 30.25 ^{ns} | 2031.6 ^{ns} | 6352.31 ^{ns} | 2852.5 ^{ns} | 8364.2 ^{ns} | 325.8 ^{ns} | 2451.8 ^{ns} | 8531.7 ^{ns} | 13421.90 ^{ns} |
| Experimental error | 140 | 0.52 | 0.64 | 1.23 | 0.6 | 0.54 | 1.02 | 0.61 | 0.07 | 0.08 | 8.6 |
| CV (%) | | 7.49 | 10.84 | 9.19 | 7.03 | 12.54 | 8.92 | 32.14 | 9.83 | 1.73 | 0.83 |

ns, *, **: بدون تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *, **: non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۶. مقایسه میانگین‌های اثرات بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر مقادیر رطوبت، فیبر، چربی، پروتئین و اسیدهای آمینه اندام باردهی قارچ صدفی

Table 6. Comparison of means for the effects of substrates and nutritional supplements on moisture, fiber, fat, Protein and amino acids of *ostreatus* mushroom fruit body

| Characteristics | Treatments | Moisture (%) | | | Total fiber (mg/100g D.M) | Total fat (g/100g D.M) | Total protein (%) | Lysine (mg/g D.M) | Tryptophan (mg/g D.M) | Leucine (mg/g D.M) |
|-----------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------------|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|
| | | Flush 1 | Flush 2 | Flush 3 | | | | | | |
| Substrates | SD | 89.5 ^c | 87.2 ^c | 86.03 ^{bc} | 32.05 ^d | 0.32 ^f | 10.95 ^c | 8.2 ^c | 4.45 ^d | 8.25 ^d |
| | WS | 93.3 ^a | 91.5 ^a | 89.5 ^{ab} | 35.50 ^c | 2.5 ^c | 18.83 ^a | 10.5 ^{ab} | 8.82 ^{ab} | 13.5 ^b |
| | SB | 90.2 ^b | 89.3 ^b | 87.5 ^b | 33.20 ^d | 0.8 ^e | 15.76 ^b | 7.1 ^d | 4.22 ^d | 6.2 ^e |
| | RS | 92.22 ^{ab} | 90.4 ^{ab} | 89.5 ^{ab} | 35.12 ^c | 2.61 ^c | 14.45 ^b | 9.8 ^b | 6.02 ^c | 12.22 ^{bc} |
| | WO | 90.15 ^b | 89.5 ^b | 87.5 ^b | 37.54 ^{bc} | 2.9 ^c | 14.02 ^b | 9.4 ^b | 7.23 ^b | 14.8 ^b |
| | SD+WS | 92.5 ^{ab} | 90.5 ^{ab} | 88.5 ^b | 35.05 ^c | 2.6 ^c | 15.76 ^b | 9.6 ^b | 8.52 ^{ab} | 12.22 ^{bc} |
| | SD+SB | 90.18 ^b | 88.5 ^{bc} | 86.6 ^{bc} | 33.85 ^d | 1.8 ^d | 16.64 ^b | 7.2 ^d | 4.02 ^d | 10.18 ^c |
| | SD+RS | 89.12 ^c | 86.03 ^c | 85.7 ^c | 32.45 ^d | 2.1 ^c | 10.07 ^c | 8.1 ^c | 4.82 ^d | 9.12 ^d |
| | SD+WO | 88.5 ^c | 86.2 ^c | 85.7 ^c | 35.21 ^c | 2.2 ^c | 14.89 ^b | 9.2 ^b | 6.4 ^c | 10.5 ^c |
| | WS+SB | 90.2 ^b | 89.5 ^b | 87.5 ^b | 36.5 ^{bc} | 2.2 ^c | 15.76 ^b | 10.1 ^{ab} | 8.88 ^{ab} | 11.82 ^{bc} |
| | WS+RS | 90.6 ^b | 89.3 ^b | 87.5 ^b | 38.9 ^b | 3.8 ^b | 18.39 ^a | 10.5 ^{ab} | 8.35 ^{ab} | 13.15 ^b |
| | WS+WO | 93.5 ^a | 92.2 ^{ab} | 90.5 ^a | 42.08 ^a | 4.5 ^a | 17.95 ^a | 11.5 ^a | 9.92 ^a | 16.5 ^a |
| | SB+RS | 90.2 ^b | 88.9 ^{bc} | 85.4 ^c | 37.14 ^{bc} | 3.6 ^b | 18.83 ^a | 9.4 ^b | 8.05 ^{ab} | 12.5 ^{bc} |
| | SB+WO | 90.1 ^b | 88.8 ^{bc} | 86.03 ^{bc} | 38.54 ^b | 3.9 ^b | 17.95 ^a | 10.5 ^{ab} | 8.82 ^{ab} | 13.8 ^b |
| RS+WO | 94.5 ^a | 91.8 ^{ab} | 90.8 ^a | 41.5 ^a | 4.2 ^a | 14.89 ^b | 11.2 ^a | 9.82 ^a | 15.89 ^a | |
| Supplements | Copper sulphate | 90.9 ^b | 86.3 ^c | 85.6 ^c | 33.03 ^d | 1.85 ^d | 10.07 ^c | 8.3 ^c | 6.08 ^c | 8.3 ^d |
| | Ammonium nitrate | 88.5 ^c | 87.3 ^c | 85.2 ^c | 42.57 ^a | 4.5 ^a | 21.02 ^a | 11.6 ^a | 9.82 ^a | 16.3 ^a |
| | Magnesium nitrate | 92.5 ^{ab} | 89.5 ^b | 87.5 ^b | 38.05 ^b | 3.94 ^b | 14.02 ^b | 9.5 ^b | 7.9 ^b | 10.5 ^c |
| | Rhizobium | 94.5 ^a | 95.2 ^a | 90.8 ^a | 42.15 ^a | 4.2 ^a | 19.27 ^a | 11.4 ^a | 8.22 ^{ab} | 13.5 ^b |

در هر ستون، میانگین‌هایی که حرف‌های مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بدون تفاوت معنی‌دار هستند. توضیح مخفف‌ها مطابق جدول ۱.

Means in each column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% probability level. Abbreviations are according to table 1.

جدول ۷. مقایسه میانگین‌های اثرات بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر مقادیر قندها و ویتامین‌های اندام باردهی قارچ صدفی

Table 7. Comparison of means for the effects of substrates and nutritional supplements on sugars and vitamins of *ostreatus* mushroom fruit body

| Characteristics | Treatments | Sugars (mg/g D.M) | | | Vitamins (mg/100g D.M) | | | |
|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| | | Glucose | Sucrose | Mannitol | Thiamine | Riboflavin | Folic acid | Orgstrol |
| Substrates | SD | 9.09 ^d | 0.02 ^f | 8.05 ^d | 0.6 ^e | 1.4 ^e | 425.8 ^f | 300.45 ^d |
| | WS | 10.5 ^c | 1.6 ^{de} | 9.53 ^{cd} | 2.2 ^c | 1.5 ^e | 435.95 ^{ef} | 328.5 ^c |
| | SB | 9.25 ^d | 0.9 ^e | 8.20 ^d | 0.99 ^e | 1.8 ^{de} | 443.05 ^{ef} | 309.90 ^d |
| | RS | 10.09 ^c | 1.08 ^{de} | 10.22 ^c | 2.1 ^c | 1.6 ^{de} | 468.18 ^{ef} | 317.33 ^{cd} |
| | WO | 11.2 ^{bc} | 2.9 ^d | 10.65 ^c | 2.2 ^c | 2.1 ^d | 498.95 ^e | 346.65 ^b |
| | SD+WS | 10.5 ^c | 2.8 ^d | 9.23 ^{cd} | 1.6 ^d | 2.6 ^{cd} | 498.05 ^e | 328.5 ^c |
| | SD+SB | 9.2 ^d | 1.2 ^{de} | 8.6 ^d | 1.6 ^d | 1.8 ^{de} | 438.35 ^{ef} | 317.35 ^{cd} |
| | SD+RS | 10.02 ^c | 2.6 ^d | 9.13 ^{cd} | 1.4 ^d | 2.1 ^d | 552.95 ^d | 324.82 ^c |
| | SD+WO | 11.8 ^{bc} | 5.3 ^c | 9.25 ^{cd} | 2.6 ^b | 2.2 ^d | 585.13 ^c | 342.25 ^b |
| | WS+SB | 10.2 ^c | 4.3 ^c | 10.52 ^c | 2.8 ^b | 2.3 ^d | 541.28 ^d | 359.55 ^b |
| | WS+RS | 12.5 ^b | 9.8 ^b | 14.13 ^b | 2.7 ^b | 2.8 ^{cd} | 610.9 ^b | 385.25 ^{ab} |
| | WS+WO | 13.28 ^a | 11.2 ^a | 16.15 ^a | 3.8 ^a | 3.1 ^c | 675.9 ^a | 400.2 ^a |
| | SB+RS | 10.5 ^c | 7.8 ^{bc} | 12.22 ^{bc} | 2.7 ^b | 2.6 ^{cd} | 580.98 ^c | 328.05 ^c |
| | SB+WO | 12.03 ^b | 9.2 ^b | 14.25 ^b | 3.3 ^a | 4.9 ^a | 620.45 ^b | 382.85 ^{ab} |
| RS+WO | 12.85 ^a | 11.8 ^a | 16.20 ^a | 3.4 ^a | 3.8 ^b | 660.85 ^a | 409.5 ^a | |
| Supplements | Copper sulphate | 9.23 ^d | 6.8 ^c | 8.13 ^d | 2.1 ^c | 1.8 ^{de} | 546.18 ^d | 316.05 ^{cd} |
| | Ammonium nitrate | 13.32 ^a | 11.6 ^a | 16.32 ^a | 3.8 ^a | 4.8 ^a | 669.75 ^a | 402.82 ^a |
| | Magnesium nitrate | 11.8 ^{bc} | 9.04 ^b | 10.18 ^c | 2.8 ^b | 3.8 ^b | 589.98 ^c | 365.25 ^b |
| | Rhizobium | 12.87 ^a | 11.47 ^a | 14.22 ^b | 3.6 ^a | 4.2 ^{ab} | 600.35 ^b | 400.22 ^a |

در هر ستون، میانگین‌هایی که حرف‌های مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بدون تفاوت معنی‌دار هستند. توضیح مخفف‌ها مطابق جدول ۱.

Means in each column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% probability level. Abbreviations are according to table 1.

صفات رشدی و عملکرد قارچ صدفی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸)، بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی اثرات معنی‌داری بر زمان کامل‌شدن پنجه‌دوانی، تشکیل اندام گره‌ای، تشکیل اندام بارده‌ای، عملکرد و بازده بیولوژیکی داشتند. زمان لازم جهت کامل‌شدن پنجه‌دوانی میسلیم قارچ صدفی در بسترهای کشت ترکیبی کلش گندم با ضایعات زیتون و بستر کشت غیرترکیبی باگاس نیشکر به ترتیب ۱۶/۲ و ۲۱/۶ روز طول کشید. همچنین زمان لازم جهت تشکیل اندام‌های گره‌ای (پین‌هدها) در بستر کشت غیرترکیبی خاکاره و بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون به ترتیب ۳۵/۹ و ۳۲/۵ روز بود و نیز با توجه به نوع مکمل، تشکیل اندام گره‌ای مربوط به تیمار سولفات‌مس و نترات‌آمونیم به ترتیب ۳۵/۵ و ۳۲/۵ روز طول کشید (جدول ۹).

پیش‌رستین قارچ‌های برداشت‌شده مربوط به بستر کشت ترکیبی کلش گندم با کلش برنج بود که ۳۵ روز طول کشید. همچنین دیررس‌ترین (۳۹/۸ روز) اندام بارده قارچ صدفی در روی بستر باگاس نیشکر ظاهر گردید. تشکیل اندام بارده‌ای قارچ تحت تأثیر مکمل زیستی ریزوبیوم و مکمل شیمیایی سولفات مس به ترتیب ۳۵ و ۳۹/۵ روز طول کشید (جدول ۱۰). همان‌طوری که جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد (جدول ۱۰) با اضافه‌کردن مکمل شیمیایی سولفات مس به بسترهای کشت، عملکرد چین اول بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره به ترتیب ۷۳۰/۴ و ۴۰۹/۵ گرم ثبت گردید. همچنین با اضافه‌کردن مکمل شیمیایی نترات‌آمونیم به بسترهای کشت، عملکرد چین اول بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون و بستر کشت غیرترکیبی باگاس نیشکر به ترتیب ۷۵۲/۹۵ و ۴۳۲/۸ گرم حاصل شد و همچنین با اضافه‌کردن مکمل شیمیایی نترات‌منیزیم به بسترهای کشت، عملکرد چین اول از بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون و بستر غیرترکیبی باگاس نیشکر به ترتیب ۷۰۸/۸۲ و ۴۱۲/۵ گرم حاصل گردید و نیز با اضافه‌کردن مکمل زیستی ریزوبیوم به بسترهای کشت قارچ صدفی، عملکرد

چین اول از بستر کشت ترکیبی کلش گندم با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و بستر کشت غیرترکیبی باگاس نیشکر به ترتیب ۷۱۸/۲۵ و ۴۱۲/۵ گرم قارچ حاصل شد. با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها، عملکرد کل (مجموع سه چین) اندام بارده‌ای قارچ صدفی بستر کشت ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون غنی‌شده با مکمل شیمیایی نترات‌آمونیم و بستر کشت خاکاره غنی‌شده با سولفات‌مس به ترتیب ۱۸۶۲/۳۵ و ۸۴۰/۹۰ گرم گزارش شد (جدول ۱۰). همچنین با توجه به جدول ۹، بازده بیولوژیکی مربوط به بستر کشت ترکیبی کلش گندم با تفاله زیتون ۳۵ درصد بود.

بحث

عناصر معدنی

بیشترین و کمترین میزان نیتروژن اندام بارده‌ای قارچ به ترتیب به بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون و بستر کشت غیرترکیبی خاکاره اختصاص داشت. با توجه به جدول ۱، به نظر می‌رسد که مقادیر به نسبت بالای نیتروژن بستر کشت ضایعات حاصل از صنایع روغن‌گیری زیتون، همچنین تجزیه‌پذیری بهتر بستر کشت کلش گندم (Azizi, 1997)، میسلیم قارچ مواد غذایی بیشتری از این دو بستر را به اندام بارده انتقال داده است. همچنین با عنایت به لیگنین (جدول ۱) بالای خاکاره، تجزیه‌پذیری آن در مقایسه با سایر بسترها دشوارتر است. بیشترین و کمترین نیتروژن اندام بارده قارچ به ترتیب به مکمل‌های شیمیایی نترات‌آمونیم و سولفات مس مربوط است. با توجه به درصد بالای نیتروژن (۳۴ درصد) در نترات‌آمونیم، غنی‌سازی بستر کشت قارچ با این مکمل شیمیایی، نسبت کربن به نیتروژن بستر را کاهش داده، لذا تجزیه‌پذیری آن را افزایش می‌دهد. در واقع به نظر می‌رسد که اضافه‌کردن مکمل‌های غذایی به بسترهای ترکیبی و غیرترکیبی، هوموسی‌شدن مواد آلی را تا حدودی افزایش می‌دهد، یا به عبارت دیگر فرآیند تجزیه‌پذیری و آزادشدن مواد غذایی موجود در بستر کشت، قابل دسترس‌تر برای میسلیم قارچ می‌شود (Motaghi, 2006). همچنین گزارش‌های مختلفی از

مقادیر متفاوت نیتروژن اندام بارده‌ای قارچ صدفی تحت بسترهای مختلف گزارش شده است، به طوری که *Ancona Mendez et al.* (2005) نشان دادند که مقادیر نیتروژن اندام میوه‌ای قارچ صدفی روی بستر کلش ذرت بیشتر از نیتروژن قارچ‌های پرورش‌یافته روی بستر کلش کدو تنبل بود. همچنین مقادیر بالای فسفر و پتاسیم قارچ‌های پرورش‌یافته روی بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون را می‌توان به ترکیب عناصر غذایی موجود در بستر کشت (جدول ۱) نسبت داد. مقادیر فسفر و پتاسیم قارچ‌های حاصل از تیمار نیترات‌آمونیم را می‌توان به درصد نیتروژن بالای این مکمل ارتباط داد. با افزایش نیتروژن بستر کشت، سرعت رشد رویشی میسلیم قارچ افزایش می‌یابد و هیف‌های موجود سطح بیشتری از بستر کشت را دربر می‌گیرند. گزارش شده است که گونه اوستراتوس به واسطه رشد سریع و قدرت کلنیزاسیون ساپروفیتیکی بالای میسلیم، از دیگر گونه‌های جنس پلوروتوس متمایز می‌باشد (Mottaghi, 2006). بنابراین پنجه‌دوانی بیشتر، جذب و انتقال عناصر معدنی از بستر کشت به اندام باردهی قارچ را افزایش می‌دهد. همچنین به نظر می‌رسد که افزایش دمای بستر کشت در اثر وجود مقادیر بالای نیتروژن، فعالیت میکروبی محیط کشت قارچ صدفی را افزایش داده که به دنبال آن تجزیه مواد لیگنوسلولزی با سرعت بیشتری انجام شده است؛ بنابراین با تجزیه بیشتر بستر کشت، راندمان جذب و انتقال عناصر کلسیم، منیزیم، روی و مس از محیط کشت به اندام بارده قارچ افزایش می‌یابد؛ لذا محتوای عناصر معدنی قارچ‌های حاصل از بستر کشت ترکیبی کلش گندم همراه با ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون و همچنین مکمل شیمیایی نیترات‌آمونیم در مقایسه با سایر تیمارهای مورد بررسی، بیشتر می‌باشد.

صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی

بیشترین و کمترین درصد رطوبت اندام بارده قارچ‌های چین اول به ترتیب به بستر کشت ترکیبی کلش برنج با تفاله زیتون و بستر کشت ترکیبی خاک اره با تفاله

زیتون مربوط است. کلش برنج و کلش گندم در مقایسه با خاک اره توانایی بالاتری در جذب و نگهداری آب از خود نشان می‌دهد؛ بنابراین تأمین رطوبت میسلیم در این نوع از بسترها آسان‌تر است. همچنین کلش گندم و کلش برنج با حفظ رطوبت بیشتر بستر کشت، توانایی بالاتری در مقایسه با خاکاره و باگاس نیشکر در تأمین آب مورد نیاز قارچ به‌ویژه در برداشت سوم دارند. با توجه به افزایش نیتروژن محیط بستر کشت غنی‌شده با نیترات‌آمونیم، بیشترین میزان پروتئین اندام بارده به مکمل شیمیایی نیترات‌آمونیم اختصاص داشت. نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های *Azizi* (1997) که نشان داد قارچ‌های پرورش‌یافته بر روی بستر کشت باگاس نیشکر پروتئین بیشتری در مقایسه با قارچ‌های پرورش‌یافته روی بستر کشت کلش گندم دارد، همخوانی ندارد. همچنین بیشترین و کمترین مقدار اسیدآمینه لیزین بستر ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون و بستر کشت غیرترکیبی باگاس نیشکر را می‌توان به مقادیر بالای نیتروژن بستر کشت تفاله زیتون در مقایسه با نیتروژن باگاس نیشکر توجیه کرد (جدول ۱). قارچ‌های ساپروفیت با ترشح آنزیم‌هایی (طیف وسیعی از آنزیم‌ها) دیواره سلولی مواد گیاهی را تجزیه می‌کنند. این آنزیم‌ها در خارج از سلول پلیمرهای اطراف را به مونومرها یا مولکول‌های کوچکتر و قابل جذب تبدیل می‌کنند. در واقع با هضم مواد آلی در محیط خارج سلول، ترکیبات موجود را به صورت محلول و قابل جذب توسط میسلیم قارچ در می‌آورند (Motaghi, 2006). بنابراین شرایط محیطی مناسب (رطوبت، نیتروژن بستر کشت) جهت فعالیت این آنزیم‌ها سبب می‌گردد که مواد لیگنوسلولزی بستر کشت قارچ با سرعت بیشتری تجزیه گردیده و مواد غذایی آن در دسترس میسلیم قارچ قرار گیرد. علاوه بر موارد فوق، در بین بسترهای مورد بررسی کلش گندم سریع‌تر از باگاس نیشکر تجزیه شده و مواد غذایی را در اختیار میسلیم قارچ قرار می‌دهد (Motaghi, 2006). بنابراین برتری برخی از پارامترهای بیوشیمیایی قارچ‌های پرورش‌یافته روی بستر ترکیبی کلش گندم با ضایعات زیتون و بستر ترکیبی کلش

در پژوهشی با غنی‌سازی ترکیبی سطوح مختلفی از نیتروژن (۰، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵ و ۰/۶ درصد)، فسفر (۰/۳ درصد) و پتاسیم (۰/۳ درصد) همراه با بستر کشت (کلش برنج) قارچ صدفی، مشخص گردید که بیشترین سرعت رشد میسلیموم (۰/۷۳ سانتی‌متر در روز)، بیشترین تعداد سرسنجاقی‌ها (۷۳/۶۷)، وزن تک‌میوه (۴/۵۶ گرم) و نیز بیشترین بازده بیولوژیکی (۱۵۶/۳۲ درصد) به بستر کلش برنج غنی‌شده با نیتروژن (۰/۵ درصد)، فسفر (۰/۳ درصد) و پتاسیم (۰/۳) درصد مربوط بود. همچنین کمترین (۳/۱۷ روز) فاصله زمانی بین شروع تشکیل اندام گره‌ای (سرسنجاقی‌ها) تا برداشت اندام میوه‌ای (اندام بارده قارچ)، به تیمار ۰/۴ درصد نیتروژن، ۰/۳ درصد فسفر و پتاسیم اختصاص داشت (Rahman *et al.*, 2013). با توجه به تسریع در زمان کامل‌شدن مرحله رشد رویشی در بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون (جدول ۹)، اندام گره‌ای یا ته سنجاقی‌های قارچ صدفی نیز در کمترین زمان در این تیمار ظاهر گردید. همچنین با توجه به نقش عناصر میکرو به‌عنوان کوفاکتور آنزیم‌های تجزیه‌کننده بقایای گیاهی (Curvetto *et al.*, 2002; Weil *et al.*, 2006)، به‌نظر می‌رسد که غنی‌سازی بسترهای کشت غیرترکیبی و ترکیبی با سولفات‌مس دلیل اصلی افزایش عملکرد محصول در این نوع از بسترها باشد؛ به‌طوری‌که گزارش‌هایی از افزایش فعالیت آنزیمی با اضافه‌کردن عناصر مختلفی از جمله آهن، روی و منگنز در محیط کشت قارچ‌های صدفی گزارش شده است (Stajic *et al.*, 2006). از این رو با اضافه‌کردن مکمل شیمیایی نیترات‌آمونیم به بسترهای کشت، بیشترین و کمترین عملکرد چین اول به‌ترتیب از بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات زیتون و بستر کشت غیرترکیبی باگاس نیشکر حاصل شد که این افزایش عملکرد اندام باردهی قارچ (چین اول) را می‌توان به مقادیر بالای نیتروژن اضافه‌شده به بستر کشت نسبت داد. همچنین در پژوهشی مشخص شد که غنی‌سازی بستر کلش برنج با نیتروژن (اوره)، ارزش تغذیه‌ای، دارویی (بتاگلوکان) و نیز تولید اندام میوه‌ای در قارچ صدفی را افزایش داد (Dias Nunes *et al.*, 2012).

برنج با ضایعات زیتون را می‌توان به ترکیب غذایی بستر کشت ارتباط داد.

صفات رشدی و عملکرد

با توجه به نسبت کربن به نیتروژن بستر کشت ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون و نیز بستر کشت غیرترکیبی باگاس نیشکر (جدول ۱) کامل‌شدن پنجه‌دوانی میسلیموم در بستر کشت ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون در کمترین زمان و در بستر کشت باگاس نیشکر در بیشترین زمان انجام شد. رشد اولیه میسلیموم، پایه و اساس تشکیل اندام‌های باردهی قارچ است (Mottaghi, 2006). تفاوت در رشد رویشی قارچ صدفی در بین تیمارهای مختلف، به ترکیب شیمیایی سوبسترا و مکمل غذایی افزوده‌شده، قابلیت استفاده از ترکیبات شیمیایی و سطح آزادسازی مواد غذایی سوبسترا و مکمل غذایی و همچنین خصوصیات فیزیکی سوبسترای مورد استفاده مرتبط است (Mandee *et al.*, 2005). همچنین قدرت ساپروفیتی بالای میسلیموم قارچ صدفی سبب تجزیه بهتر همی‌سلولز، سلولز و لیگنین بستر کشت می‌گردد (Motaghi, 2006). باگاس نیشکر دارای ساختمان لیگنوسولزی است که مقادیر عناصر غذایی (نیتروژن) در آن کم است (جدول ۱)، اما غنی از کربن آلی است و نسبت کربن به نیتروژن بالایی دارد و به همین دلیل باید مواد نیتروژن‌دار به باگاس نیشکر اضافه شود تا به یک نسبت کربن به نیتروژن بهینه برسد (Pilar Berna *et al.*, 1996). در واقع بالابودن نسبت کربن به نیتروژن باعث می‌گردد که نیتروژن کافی برای رشد و فعالیت میسلیموم قارچ در دسترس نباشد؛ لذا از گرمای بستر کشت کاسته شده و تجزیه با سرعت کمتری انجام می‌گردد. اضافه‌کردن منابع نیتروژن سبب افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها (فعالیت بیشتر هیف قارچ و سایر میکروارگانیسم‌های موجود) و در نتیجه افزایش دما (افزایش فعالیت‌های شیمیایی) و سرعت تجزیه بستر می‌گردد (Richard, 2002). همچنین بررسی‌ها نشان داده‌اند که رشد رویشی (سرعت پنجه‌دوانی) میسلیموم قارچ صدفی در بسترهای کلش گندم و کلش برنج بیشتر از ضایعات پوست دانه پنبه بوده است (Yang *et al.*, 2013).

جدول ۸. تجزیه واریانس اثرات بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر پنجه‌دوانی، تشکیل اندام‌های گره‌ای، میوه‌ای، عملکرد و کارایی بیولوژیکی قارچ صدفی

Table 8. Analysis of variance for the effects of substrates and nutritional supplements on spawnrun, pinhead formation, fruit body formation, yield and biological efficiency of *ostreatus mushroom* fruit body

| Sources of Variation | df | Mean squares | | | | | | | |
|--------------------------|-----|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| | | Spawnrun | Pinhead formation | Fruit body formation | Yield | | | Total yield | Biological efficiency |
| | | | | First-flush | Second-flush | Third-flush | | | |
| Treatment | 2 | 85.2 ^{ns} | 41.3 ^{ns} | 152.8 ^{ns} | 12.2 ^{ns} | 54.9 ^{ns} | 24.3 ^{ns} | 31.5 ^{ns} | 55.20 ^{ns} |
| Substrates | 14 | 23.5 ^{**} | 43.3 ^{**} | 245.25 [*] | 9321.3 ^{**} | 542.3 ^{**} | 856.9 ^{**} | 9542.2 ^{**} | 421.23 ^{**} |
| Supplements | 3 | 65.3 ^{**} | 56.8 ^{**} | 61.7 [*] | 962.5 ^{**} | 975.3 ^{**} | 562.2 ^{**} | 9854.7 ^{**} | 598.84 ^{**} |
| Substrates × Supplements | 52 | 123.8 ^{ns} | 123.5 ^{ns} | 2341.6 ^{ns} | 9652.2 ^{**} | 5321.9 ^{**} | 354721.2 ^{**} | 65231.7 ^{**} | 20158.32 ^{ns} |
| Experimental error | 140 | 0.25 | 1.25 | 2.06 | 985.03 | 897.8 | 825.18 | 65.05 | 389.7 |
| CV (%) | | 2.79 | 3.26 | 3.83 | 5.60 | 5.79 | 14.49 | 7.27 | 7.85 |

ns, *, **, بدون تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. ns, *, **: non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۹. مقایسه میانگین‌های اثرات بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر پنجه‌دوانی، تشکیل اندام‌های گره‌ای، میوه‌ای، عملکرد و کارایی بیولوژیکی قارچ صدفی

Table 9. Comparison of means for the effects of substrates and nutritional supplements on spawnrun, pinhead formation, fruit body formation, yield and biological efficiency of *ostreatus mushroom* fruit body

| Characteristics | Treatment | Spawnrun (day) | Pinhead formation (day) | Fruit body formation (day) | Biological efficiency (%) |
|-----------------|-------------------|----------------|-------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Substrates | SD | 19.5ab | 35.9a | 39.5a | 16.81f |
| | WS | 18.31b | 33.5c | 35.8c | 19.24de |
| | SB | 21.6a | 35.2a | 39.8a | 18.17def |
| | RS | 19.25ab | 34.8b | 36.5b | 18.9.0def |
| | WO | 17.25b | 35.4a | 39.5a | 19.57de |
| | SD+WS | 17.6b | 33.6c | 38a | 25.80bc |
| | SD+SB | 16.8c | 34.2b | 37a | 20.69d |
| | SD+RS | 17.31b | 34.2b | 36b | 21.61cd |
| | SD+WO | 16.4c | 35.2a | 39.5a | 24.43c |
| | WS+SB | 18.6b | 33.2c | 36.5b | 28.42b |
| | WS+RS | 18.2b | 33.5c | 35c | 32.24ab |
| | WS+WO | 16.2c | 32.5c | 36b | 35a |
| | SB+RS | 18.8b | 35.8a | 39.5a | 22.62c |
| | SB+WO | 16.6c | 35.6a | 39.5a | 28.26b |
| RS+WO | 16.4c | 33.2c | 35.8c | 33.18ab | |
| Supplements | Copper sulphate | 21.3a | 35.5a | 39.5a | 21.22cd |
| | Ammonium nitrate | 15.2c | 32.5c | 35.8c | 35.28a |
| | Magnesium nitrate | 18.8b | 33.8c | 37a | 26.08bc |
| | Rhizobium | 16.4c | 34b | 35c | 29.72b |

در هر ستون، میانگین‌هایی که حرف‌های مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بدون تفاوت معنی‌دار هستند. مخفف‌ها مطابق جدول ۱.

(Obodai & Johnson, 2002). قارچ‌ها از ترکیبات حاوی نیتروژن آلی و معدنی به آسانی استفاده می‌کنند و رشد رویشی میسلیوم قارچ تحت چنین شرایطی افزایش می‌یابد. تسریع در رشد رویشی قارچ صدفی سبب تسریع در ورود به فاز زایشی شده و لذا اندام باردهی سریع‌تر تشکیل می‌گردد. از طرفی غنی‌بودن بستر کشت (جدول ۱) سبب افزایش جذب مواد غذایی و انتقال آن به اندام بارده قارچ شده است. بنابراین قارچ‌های تولیدی روی این بسترها و مکمل‌های غذایی، سنگین‌تر از سایر تیمارها می‌باشند. Elhami *et al.* (2008) نشان دادند که مقادیر ۷۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر گرم (بر اساس وزن خشک بستر کشت) نیتروژن و منگنز اثرات معنی‌داری بر عملکرد قارچ فلوریدا داشت. علاوه بر موارد فوق، با توجه به کاهش عناصر غذایی بستر کشت به‌ویژه در چین‌های

بیشترین عملکرد کل (مجموع سه چین) اندام بارده قارچ صدفی به بستر کشت ترکیبی کلش گندم و تفاله زیتون غنی‌شده با مکمل شیمیایی نیترات آمونیوم اختصاص دارد که با نتایج سایر محققان (Shashirekha *et al.*, 2005) که بیان نمودند که غنی‌سازی بستر کشت قارچ صدفی با مکمل‌های غذایی به‌طور گسترده‌ای تولید قارچ را تحت تأثیر قرار می‌دهد، همخوانی دارد. در واقع افزایش عملکرد کل قارچ صدفی روی بستر ترکیبی (کلش گندم با ضایعات زیتون) غنی‌شده با نیترات آمونیوم را می‌توان به درصد بالای نیتروژن موجود در این مکمل شیمیایی و همچنین در بستر کشت (جدول ۱) نسبت داد. نیتروژن عنصری مهم و حیاتی برای رشد قارچ به‌شمار می‌رود. میزان نیتروژن مورد نیاز برای رشد میسلیوم قارچ‌های صدفی بین ۳ تا ۶ درصد گزارش شده است

در پایان با توجه به عملکرد بالای بستر کشت ترکیبی کلش گندم با تفاله زیتون، این بستر ضمن مطالعات تکمیلی می‌تواند به‌عنوان یک بستر مناسب برای قارچ صدفی معرفی شود، که البته یافته‌های این تحقیق با بررسی‌های محققان دیگر (Girmay *et al.*, 2016) نیز همخوانی داشت.

دوم و مخصوصاً سوم، غنی‌سازی بستر کشت همراه با مکمل‌های غذایی نقش عمده‌ای در تأمین رشد میسلیوم و تولید اندام بارده‌ای قارچ در انتهای دوره رشد دارد؛ بنابراین مقادیر عملکرد چین سوم قارچ در بسترهای غنی‌شده با نیترات‌آمونیم کاهش کمتری در مقایسه با بسترهای غنی‌نشده دارد (جدول ۱۰).

جدول ۱۰. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل بسترهای کشت و مکمل‌های غذایی بر مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد قارچ صدفی
Table 10. Comparison of means for the effects of substrates and nutritional supplements on antioxidant capacity and yield of *ostreatus* mushroom fruit body

| Characteristics | Treatments | Antioxidant capacity (%) | Yield(g) | | | Total Yield (g) |
|-------------------|--------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | | First-flush | Second-flush | Third-flush | |
| Copper sulphate | SD | 8.09 ^d | 409.5 ^g | 365.6 ^f | 65.8 ^g | 840.9 ^g |
| | WS | 9.35 ^d | 426.3 ^{fg} | 415.5 ^{ef} | 120.5 ^{def} | 962.38 ^t |
| | SB | 8.25 ^d | 410.5 ^g | 400.02 ^{ef} | 98.24 ^e | 908.76 ^t |
| | RS | 9.25 ^d | 424.3 ^{fg} | 410.5 ^{ef} | 110.35 ^{ef} | 945.1 ^t |
| | WO | 10.13 ^c | 435.6 ^{fg} | 428.25 ^e | 115.13 ^{ef} | 978.9 ^{ef} |
| | SD+WS | 9.52 ^d | 565.53 ^c | 539.5 ^c | 185.25 ^d | 1290.28 ^d |
| | SD+SB | 9.02 ^d | 475.22 ^e | 438.7 ^{de} | 120.6 ^{de} | 1034.52 ^e |
| | SD+RS | 9.35 ^d | 522.12 ^{de} | 452.05 ^d | 106.52 ^e | 1080.69 ^e |
| | SD+WO | 11.07 ^b | 538.25 ^d | 485.2 ^d | 198.35 ^d | 1221.8 ^d |
| | WS+SB | 10.1 ^c | 615.22 ^b | 584.8 ^c | 220.30 ^{cd} | 1420.30 ^c |
| | WS+RS | 11.56 ^b | 700.15 ^b | 620.21 ^{bc} | 292.15 ^c | 1612.5 ^b |
| | WS+WO | 13.24 ^a | 730.4 ^a | 690.45 ^b | 332.98 ^b | 1753.83 ^{ab} |
| | SB+RS | 10.02 ^c | 516.15 ^{de} | 480.9 ^d | 135.54 ^{def} | 1132.59 ^e |
| | SB+WO | 11.85 ^b | 589.18 ^c | 565.75 ^c | 258.24 ^{cd} | 1413.17 ^c |
| RS+WO | 12.98 ^a | 709.9 ^b | 638.98 ^{bc} | 310.29 ^b | 1659.17 ^b | |
| Ammonium nitrate | SD | 8.35 ^d | 436.6 ^{fg} | 405.8 ^{ef} | 69.98 ^g | 912.42 ^{fg} |
| | WS | 10.1 ^c | 445.3 ^{fg} | 438.5 ^d | 80.6 ^f | 964.4 ^t |
| | SB | 8.32 ^d | 432.8 ^g | 413.02 ^{ef} | 85.30 ^f | 930.15 ^t |
| | RS | 9.58 ^d | 442.13 ^{fg} | 400.5 ^{ef} | 84.87 ^f | 927.63 ^t |
| | WO | 11.03 ^b | 489.5 ^c | 458.35 ^d | 87.58 ^f | 1035.50 ^{ef} |
| | SD+WS | 10.12 ^c | 585.12 ^c | 541.5 ^c | 158.25 ^{de} | 1284.92 ^c |
| | SD+SB | 9.23 ^d | 492.28 ^e | 438.3 ^d | 92.6 ^{ef} | 1023.18 ^{de} |
| | SD+RS | 9.57 ^d | 532.12 ^{cd} | 522.85 ^{cd} | 123.42 ^{def} | 1178.5 ^{cd} |
| | SD+WO | 11.22 ^b | 552.12 ^{cd} | 532.2 ^c | 168.42 ^{de} | 1252.74 ^b |
| | WS+SB | 10.8 ^c | 632.31 ^{bc} | 556.3 ^c | 158.63 ^{de} | 1347.15 ^c |
| | WS+RS | 12.16 ^{ab} | 692.15 ^b | 635.21 ^{bc} | 358.59 ^{ab} | 1686.59 ^b |
| | WS+WO | 13.85 ^a | 752.95 ^a | 733.45 ^a | 375.98 ^a | 1862.35 ^a |
| | SB+RS | 10.64 ^c | 532.10 ^d | 520.9 ^{cd} | 120.54 ^{def} | 1173.54 ^d |
| | SB+WO | 12.35 ^{ab} | 602.18 ^{bc} | 585.35 ^c | 165.24 ^d | 1354.24 ^b |
| RS+WO | 13.28 ^a | 725.33 ^{ab} | 628.98 ^{bc} | 198.98 ^d | 1570.98 ^b | |
| Magnesium nitrate | SD | 8.15 ^d | 422.3 ^g | 388.9 ^f | 72.14 ^g | 883.23 ^g |
| | WS | 9.42 ^d | 436.6 ^{fg} | 412.8 ^{ef} | 85.39 ^f | 934.75 ^t |
| | SB | 8.32 ^d | 412.5 ^g | 393.02 ^f | 89.48 ^f | 894.36 ^t |
| | RS | 9.34 ^d | 448.3 ^{fg} | 420.5 ^e | 88.22 ^f | 956.15 ^t |
| | WO | 10.42 ^c | 448.6 ^{fg} | 428.25 ^e | 92.25 ^{ef} | 968.12 ^{de} |
| | SD+WS | 9.84 ^d | 602.25 ^b | 582.9 ^c | 169.32 ^d | 1354.47 ^b |
| | SD+SB | 9.22 ^d | 472.14 ^e | 438.7 ^d | 99.4 ^e | 1010.35 ^{de} |
| | SD+RS | 9.63 ^d | 532.18 ^{cd} | 512.05 ^{cd} | 149.69 ^c | 1194.42 ^c |
| | SD+WO | 11.37 ^b | 560.42 ^{cd} | 528.2 ^{cd} | 175.66 ^d | 1264.32 ^c |
| | WS+SB | 10.31 ^c | 625.31 ^{bc} | 598.8 ^c | 168.82 ^c | 1393.85 ^{bc} |
| | WS+RS | 11.82 ^b | 697.12 ^b | 642.21 ^{bc} | 188.67 ^d | 1528.56 ^{bc} |
| | WS+WO | 13.14 ^a | 708.82 ^b | 675.95 ^b | 217.19 ^{cd} | 1601.84 ^b |
| | SB+RS | 10.22 ^c | 528.15 ^d | 480.9 ^{cd} | 131.24 ^{de} | 1140.95 ^d |
| | SB+WO | 12.25 ^{ab} | 609.98 ^{bc} | 582.75 ^c | 172.32 ^d | 1365.71 ^b |
| RS+WO | 13.05 ^a | 632.33 ^{bc} | 598.98 ^c | 198.98 ^d | 1430.55 ^b | |
| Rhizobium | SD | 8.12 ^d | 420.5 ^g | 408.5 ^{ef} | 75.28 ^g | 903.47 ^g |
| | WS | 9.52 ^d | 444.3 ^{fg} | 425.5 ^e | 85.35 ^f | 955.15 ^t |
| | SB | 8.32 ^d | 462.5 ^f | 433.02 ^e | 89.47 ^f | 984.25 ^t |
| | RS | 9.38 ^d | 436.87 ^{fg} | 400.9 ^{ef} | 72.36 ^g | 910.22 ^g |
| | WO | 10.35 ^c | 462.8 ^f | 428.25 ^e | 93.25 ^{ef} | 985.85 ^{ef} |
| | SD+WS | 9.85 ^d | 572.53 ^c | 518.5 ^{cd} | 172.87 ^d | 1263.32 ^c |
| | SD+SB | 9.15 ^d | 497.34 ^e | 439.6 ^d | 102.5 ^e | 1039.52 ^{de} |
| | SD+RS | 9.45 ^d | 528.22 ^{cd} | 492.35 ^d | 148.86 ^{de} | 1169.41 ^{cd} |
| | SD+WO | 11.21 ^b | 588.25 ^c | 485.2 ^d | 192.87 ^{cd} | 1266.38 ^c |
| | WS+SB | 10.9 ^c | 625.22 ^{bc} | 548.9 ^c | 188.12 ^d | 1363.84 ^{bc} |
| | WS+RS | 11.64 ^b | 695.55 ^b | 630.21 ^{bc} | 245.96 ^c | 1571.82 ^b |
| | WS+WO | 13.36 ^a | 718.25 ^b | 699.45 ^b | 369.89 ^a | 1787.38 ^{ab} |
| | SB+RS | 10.15 ^c | 514.15 ^d | 489.3 ^d | 129.72 ^e | 1133.95 ^d |
| | SB+WO | 12.32 ^{ab} | 589.18 ^c | 525.95 ^{cd} | 178.19 ^d | 1293.37 ^c |
| RS+WO | 13.18 ^a | 612.63 ^{bc} | 598.98 ^c | 208.22 ^{cd} | 1420.87 ^{bc} | |

در هر ستون، میانگین‌هایی که حرف‌های مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بدون تفاوت معنی‌دار هستند. مخفف‌ها مطابق جدول ۱.
Means in each column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% probability level. Abbreviations are according to table 1.

نتیجه‌گیری کلی

و زیستی مورد بررسی، نیترات‌آمونیم مؤثرتر از بقیه بوده است. بنابراین غنی‌سازی بستر کشت ترکیبی کلش گندم و ضایعات صنایع روغن‌گیری زیتون با نیترات‌آمونیم (۱۵۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت)، به عنوان محیط کشت مناسب جهت تولید قارچ صدفی اوستراتوس توصیه می‌گردد.

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، ترکیب کلش گندم با ضایعات حاصل از صنایع روغن‌گیری زیتون در مقایسه با سایر بسترهای کشت مورد استفاده در این پژوهش، اثرات معنی‌داری بر رشد و نمو قارچ صدفی اوستراتوس داشت؛ همچنین از بین مکمل‌های شیمیایی

REFERENCES

1. Ancona Mendez, L., Sandoval Castro, C. A., Casso, R. B. & Capetillo Leal, C. A. (2005). Effect of substrate and harvest on the amino acid profile of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 447-450.
2. Augustin, M. A., Osman, A., Azudin, M. O. & Mohamed, S. A. (1998). Physico-Chemical Changes in Muskmelons (*Cucum ismelo*, L.) during storage. *Pertanika*, 11(2), 203-209.
3. Azizi, U. (1997). *Utilization of Agricultural Wastes for Production of Oyster Mushroom and Livestock Feed*. Agricultural Education Publishing. Karaj. 48 pages. (in Farsi).
4. Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. M. & Furlan, S. A. (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotussajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Journal Food Chemistry*, 88, 425-428.
5. Curvetto, N. R., Figlas, D., Devalis, R. & Delmastro, S. (2002). Growth and productivity of different *Pleurotustostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH⁴⁺ and/or Mn. *Bioresource Technology*, 84, 171-176.
6. Dias Nunes, M., Rodrigues da Luz, J. M., Albino Paes, S., Oliveira Ribeiro, J. J., de Cássia Soares da Silva, M. & Megumi Kasuya, M. C. (2012). Nitrogen supplementation on the productivity and the chemical composition of oyster mushroom. *Journal of Food Research*, 1(2), 113-119.
7. Elhami, B., Alemzadeh Ansari, N. & Sedighie Dehcordie, F. (2008). Effect of substrate type, different levels of nitrogen and manganese on growth and development of oyster mushroom (*Pleurotus florida*). *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*, 2 (1), 34-37.
8. Emami, A. (1996). *Plant Decomposition Methods*. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Soil and Water Research Institute. (in Farsi).
9. Girmay, Z., Gorems, W., Birhanu, G. & Zewdie, S. (2016). Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. *Applied Microbiology and Biotechnology Express*, 6(1), 87.
10. Hagg, M. (1994). Effect of various commercially available enzymes in the liquid chromatographic determination with external standardization of thiamin and riboflavin in foods. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 77, 681-686.
11. Hejazi, A., Shahrudi, M. & Ardforush, M. (2007). *Index Method of Plant Analyses*. (7th ed.). (pp.197-234). (in Farsi)
12. Hoa, H., Wang, C. L. & Wang, C. H. (2015). The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oystermushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, 43(4), 423-434.
13. Jafarpour, M., Poursaeid, N., Jalali Zand, A., Golparvar, A. R. & Behdad, M. (2009). Effect of some of the wastes of agricultural conversion industries and food supplements on some of the specifications of the edible mushroom (*Pleurotus florida*). *Journal of Research in Agricultural Science*, 4(2), 188-203.
14. Jafarpour, M. & Eghbalsaeed, S. (2012). High protein complementation with high fiber substrates for oyster mushroom cultures. *African Journal of Biotechnology*, 11(14), 3284-3289.
15. Kadiri, M., Kehinde, I. A. & Adegboye, O. T. H. (2007). Responses of *Lentinula subnudus* Berk to varying pH and photoperiods. *Advances in Science and Technology*, 2, 150-154.
16. Lee, S. C., Prosky, L. & DeVries, J. W. (1992). Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods; enzymatic gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75, 395-416.
17. Mandeel, Q., Al-Laith, A. & Mohamed, S. A. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus spp.*) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 601-607.
18. Mapanao, K. M., Abella, E. A., Aquino, D. L. & KalawSofronio, P. (2016). Use of effective microorganisms on enhancing the mycelial growth of *Pleurotus florida* on unsterilized rice straw. *Journal of Biological Engineering Research and Review*, 3(1), 30-36.

19. Mattila, P., Piironen, V., Backman, C., Uusi-Rauva, E. & Koivistoinen, P. (1992). Determination of vitamin D₃ in egg yolk by high-performance liquid chromatography (HPLC) with diode array detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5, 281-290.
20. Mattila, P., Piironen, V., Uusi-Rauva, E. & Koivistoinen, P. (1994). Vitamin D contents in edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2449-2453.
21. Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V. & Pizzoferrato, L. (1999). Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study. *Food Chemistry*, 65, 477-482.
22. Miliuskas, G., Venskutonis, P. R. & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231-237.
23. Mohammadi Goltapeh, A. & Pourjam, A. (1994). *Principles of Edible Mushroom Cultivation*. Tarbiat Modares University Press. Tehran. 556 pages (in Farsi).
24. Mostofi, Y. & Najafi, F. (2005). *Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture* (Translation). Tehran University Press. 85p. (in Farsi).
25. Mottaghi, H. (2006). *Oyster Mushroom and other Edible Mushrooms*. Technology and Producing. Andisheh Farda Publications. 328p. (in Farsi).
26. Obodai, M. & Johnson, T. (2002). The effect of nutrient supplements on the yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom grown on composted sawdust of triplochiton scleroxylon. *Tropical Science*, 42, 78-82.
27. Official Methods of Analysis. (1980). *Association of official analytical chemists*. (13th ed.). Washington, DC.
28. Pilar Bernal, M., Navarro, A. F., Roig, A., Cegarra, J. & García, D. (1996). Carbon and nitrogen transformation during composting of sweet sorghum bagasse. *Journal of Biology and Fertility of Soils*, 22, 141-148.
29. Phillips, K. M., Wunderlich, K. M., Exler, J., Holden, J. M., Gebhardt, S. E. & Haytowitz, D. B. (2005). Stability of 5-methyltetrahydrofolate in fresh frozen fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 94, 587-595.
30. Phillips, K. M., Ruggio, D. M., Ashraf-Khorassani, M. & Haytowitz, D. B. (2006). Difference in folate content of green and red sweet peppers (*Capsicum annuum*) determined by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9998-10002.
31. Rahman, M. H., Ahmed, K. U., Roy, T. S., Mandal, M. S. H. & Alam L. M. R. (2013). Effect of chemical fertilizer supplements with rice straw on the growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *International Journal of Sustainable Agricultural Technology*, 9(2), 47-51.
32. Ralph, H. & Kurzman, Jr. (1997). Nutrition from mushrooms, understanding and reconciling available data. *Mycoscience*, 38, 247-253.
33. Richard, T. (2002). The science and engineering of composting. <http://www.cfe.cornell>.
34. Salman Naeem, M., Asif Ali, M., Sajid, A., Sardar, H., Liaqat, R. & Shafiq, M. (2014). Growth and yield performance of oyster mushroom on different substrates. *Mycopath*, 12(1), 9-15.
35. Shashirekha, M. N., Rajarathnam, S. & Bano, Z. (2002). Enhancement of bioconversion efficiency and chemistry of the mushroom, *Pleurotus sajor-caju* (Berk and Br.) Sacc. produced on spent rice straw substrate, supplemented with oil seed cakes. *Food Chemistry*, 76, 27-31.
36. Shashirekha, M. N., Rajarathnam, S. & Bano, Z. (2005). Effects of supplementing rice straw growth substrate with cotton seeds on the analytical characteristics of the mushroom, *Pleurotus florida* (Block and Tsao). *Journal Food Chemistry*, 92, 255-259.
37. Shen, Q., Liu, P., Wang, X. & Royse, D. J. (2008). Effects of substrate moisture content, log weight and filter porosity on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. *Bioresource Technology*, 99(17), 8212-8216.
38. Stajić, M., Persky, L., Hadar, Y., Friesem, D., Duletić-Laušević, S., Wasser, P. & Nevo, E. (2006). Effect of copper and manganese ions on activities of laccase and peroxidases in three *Pleurotus* species grown on agricultural wastes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 128, 87-96.
39. Tajeddin, B. (1994). *The effect of enrichment substrate of Pleurotus sajor-caju and determination of quantitative and qualitative properties*. Master's Degree in Food Industries, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University. Tehran. 107 pages. (in Farsi).
40. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Sciences*, 74, 3583-3597.
41. Van Soest, P.J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2th Ed. Cornell University Press, Ithac. 488 p.
42. Vázquez-Ortiz, F. A., Caire, G., Higuera-Ciajara, I. & Hernandez, G. (1995) High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *Journal of Liquid Chromatography*, 18, 2059-2068.

43. Vetayasupom, S. (2004). Effective microorganisms for enhancing *pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer production. *Journal of Biological Sciences*, 4(6), 706-710.
44. Vetayasuporn, S., Chutichudet, P. & Cho-Ruk, K. (2006). Bagasse as a possible substrate for *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer cultivation for the local mushroom farms in the northeast of Thailand. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(13), 2512-2515.
45. Weil, D. A., Beelman, R. B. & Beyer, D. M. (2006). Manganese and other micronutrient additions to improve yield of *Agaricus bisporus*. *BioresourceTechnology*, 97, 1012-1017.
46. Yang, W., Guo, F. & Wan, Z. (2013). Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20, 333-338.