

نشریه پژوهشی:

ارزیابی استفاده از پسماندهای صنایع کشاورزی غنی‌شده با مکمل‌های غذایی بر عملکرد، ارزش دارویی و غذایی قارچ یال شیر (*Hericium erinaceus* (Bull.) Persoon)

مهین شیبک^۱، داریوش رمضان^{۲*}، محمود توکلی^۳، علیرضا سامزاده کرمانی^۴، رضا باقری^۵ و بهناز یوسف شاهی^۶

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و مریبی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
 ۲. استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
 ۳. دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
 ۴. دانشیار، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
 ۵. دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
 ۶. دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۷)

چکیده

با توجه به اینکه بستر کشت معمول برای تولید قارچ‌های خوارکی- دارویی تراشه چوب درختان می‌باشد. اما جایگزینی سایر ترکیبات لیگنوسلولری مختلف همراه با غنی‌سازی با مکمل‌های شیمیایی از اهمیت زیادی در تولید اندام بارده قارچ برخوردار می‌باشد هدف این پژوهش بررسی بسترهای کشت ترکیبی و غیر ترکیبی و بررسی برخی از ویژگی‌های رویشی، رایشی، ارزش تغذیه‌ای و دارویی قارچ یال شیر جدایه ایرانی بود. تیمارها شامل باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر (به نسبت ۵۰ به ۵۰)، باگاس نیشکر با سبوس برنج (۷۰ به ۳۰)، تراشه چوب صنوبر با سبوس برنج (۶۰ به ۳۵)، تراشه چوب صنوبر، باگاس نیشکر، کلش گندم، باگاس نیشکر با ضایعات درخت خرما (۶۰ به ۴۰)، تراشه چوب صنوبر با ضایعات درخت خرما (۶۰ به ۳۵)، ضایعات درخت خرما و سبوس گندم با ضایعات درخت خرما (۴۰ به ۶۰) بودند که با مکمل‌های شیمیایی نیترات آمونیوم (۸۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت)، سولفات منگنز (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم ماده خشک بستر کشت) و نانو منگنز اکسید (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم ماده خشک بستر کشت) غنی شدند. نتایج نشان داد در بستر کشت ترکیبی برگ نخل خرما و سبوس گندم مرحله رشد رویشی قارچ در کمترین زمان کامل گردید. قارچ‌های تولید شده از بستر کشت ترکیبی باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر بیشترین مقدار پلی ساکارید کل اندام میوه‌ای را داشتند. همچنین بیشترین عملکرد کل اندام میوه‌ای قارچ (وزن تر) به بستر کشت ترکیبی باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر غنی‌شده با مکمل نانو منگنز اکسید اختصاص داشت. بیشترین مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی (۷۳/۴۵ درصد) به قارچ‌های تولید شده بر روی بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر و تراشه چوب صنوبر غنی‌شده با مکمل نانو منگنز اکسید اختصاص داشت. همچنین بیشترین مقدار کلیسیم اندام میوه‌ای قارچ (۲۳/۰۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک قارچ) به بستر کشت ترکیبی تراشه چوب صنوبر با سبوس برنج (به نسبت ۶۵ به ۳۵) غنی‌شده با نیترات آمونیوم اختصاص داشت.

واژه‌های کلیدی: توسعه میسیلیوم، ضایعات کشاورزی، قارچ یال شیر، مکمل غذایی.

Evaluation of the use of agricultural industry wastes enriched with nutritional supplements on yield, medicinal and nutritional value of Lion's mane mushroom (*Hericium erinaceus* (Bull.) Persoon)

Mahin Sheibak¹, Dariush Ramezan^{2*}, Mahmoud Tavakoli³, Alireza Samzadeh-Kermani⁴, Reza Bagheri⁵ and Behnaz Yousefshahi⁶

1, 2, 5. M. Sc. Student, Assistant Professor and Instructor, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

3. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

4. Associate Professor, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran

6. Ph. D. Candidate, Faculty of Agriculture Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: Dec. 23, 2020- Accepted: Jan. 16, 2021)

ABSTRACT

Due to the fact that the common substrate for production most of the edible-pharmaceutical mushrooms is the sawdust of trees. But the replacement of other lignocellulosic compounds with enrichment with chemical supplements is of great importance in the production of fruiting body of mushroom. In this study, which was conducted at Zabol University in 1997, the substrates were prepared based on various agricultural wastes. The aim of this study was to investigate composition and non-composition substrates, and to investigate some vegetative, reproductive, nutritional and medicinal properties of iranian isolate *Hericium erinaceus* (Lion's mane). Treatments included sugarcane bagasse + poplar sawdust (50 to 50), sugarcane bagasse + rice bran (70 to 30), poplar sawdust + rice bran (65 to 35), poplar sawdust, sugarcane bagasse, wheat straw, sugarcane bagasse + date palm sawdust (60 to 40), poplar sawdust + date palm sawdust (65 to 35), date palm sawdust and wheat bran + date palm sawdust (40 to 60) that enriched with chemical supplements of ammonium nitrate (80 ug. g d.m), manganese sulfate (20 ug.kg d.m) and nano-manganese oxide (20 ug.kg.dm). The results showed that in the composition substrate of date palm leaf and wheat bran, the vegetative growth of the mushroom was completed in the shortest time. Mushrooms produced from composition substrate sugarcane bagasse with poplar sawdust had the highest amount of total polysaccharides of fruit body as well as highest yield of fruit body of mushroom (fresh weight) belongs to composition substrate sugarcane bagasse with poplar sawdust enriched with nano-manganese oxide supplement. The highest values of antioxidant capacity (73.45%) were attributed to mushrooms produced on composition substrates sugarcane bagasse with poplar sawdust enriched with nano-manganese oxide supplement. Also, the highest amounts of calcium (23.07mg/100g dry matter of mushroom) in the fruit body belong to the composition substrates of poplar sawdust with rice bran enriched with ammonium nitrate (65 to 35).

Keywords: Agricultural wastes, lion's mane mushroom, mycelium colonization, nutritional supplement.

* Corresponding author E-mail: drhorticul@uoz.ac.ir

می‌گردد. غنی‌سازی محیط کشت علاوه بر افزایش عملکرد بر مقادیر ترکیبات دارویی قارچ نیز تأثیر گذار است. در پژوهشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های لیگنولیتیک، تجزیه بیشتر لیگنین و به تبع آن افزایش سرعت رشد میسلیوم در محیط‌های کشت غنی‌شده با عناصر پر مصرف و کم مصرف گزارش شده است (Kartu *et al.*, 2002). در پژوهشی بیشترین عملکرد اندام بارده بالغ قارچ یال شیر (۲۱۵/۹۲ گرم به ازای یک کیلوگرم بستر کشت بر اساس وزن تر) از بستر کشت ترکیبی تراشه چوب بلوط با تفاله پنبه دانه (۸:۲) بدست آمد (Atila *et al.*, 2017). کودهای نانو به دلیل اندازه‌های فوق العاده ریز به آسانی از راه میسلیوم وارد سیستم جذب قارچ می‌گردد (Solgi, 2015). سرعت رشد میسلیوم قارچ یال شیر با فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده سلولز، لیگنین، ناشاسته و پروتئین در ارتباط است (Kim *et al.*, 2000). آنزیم‌های موجود در قارچ‌ها دیواره سلولی مواد گیاهی را تجزیه می‌کنند و ترکیبات موجود را به صورت محلول و قابل جذب توسط میسلیوم در می‌آورند (Mottaghi, 2006). بنابراین شرایط محیطی مناسب 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 (Yang *et al.*, 2014; Azizi, 1997). همچنین با توجه به نقش عناصر کم مصرف به عنوان کوفاکتور آنزیم‌های تجزیه کننده بقایای گیاهی (Curvetto *et al.*, 2002; Weil *et al.*, 2006) به نظر می‌رسد که غنی‌سازی بسترها کشت با ترکیباتی که حاوی عناصر کم مصرف (Stajic *et al.*, 2006) می‌باشند نیز بتواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های موجود در قارچ‌ها عملکرد قارچ را افزایش دهنده. در پژوهشی سایر محققان منگنز را عنصری مؤثر در افزایش برخی از پارامترهای رویشی و زایشی قارچ یال شیر معرفی کرده‌اند (Figlas *et al.*, 2007). هدف از انجام این پژوهش بررسی بسترها کشت ترکیبی و غیر ترکیبی تولید شده از ضایعات کشاورزی و بررسی برخی از ویژگی‌های رویشی، زایشی، ارزش تغذیه‌ای و دارویی قارچ یال شیر جدایه ایرانی می‌باشد.

مقدمه

قارچ یال شیر به صورت توده‌ای از ریسه‌های سفید رنگ می‌باشد به گونه‌ای که ارتفاع آن بین ۵-۳۰ سانتی‌متر متفاوت است همچنین برجستگی‌های سوزن مانندی به اندازه ۳-۶ سانتی‌متر بر روی آن ظاهر می‌گردد که اسپورها بر روی این دندانه‌ها قرار می‌گیرند. اندام بارده در ابتدای تشکیل، سفید رنگ می‌باشد ولی با افزایش سن بازیدیوکارپ، به زردی Zied & Pardo-Giménez, 2017; تمایل پیدا می‌کند (Georges, 2002). تحقیقات انجام شده بر روی پلی‌ساقاریدها قارچ‌ها مشخص کرده است که دارای فعالیت بیولوژیکی هستند و همچنین ویژگی‌های ضدتوموری آن‌ها نیز بررسی و ثابت شده است (Mojadadi *et al.*, 2006). همچنین تقویت سیستم ایمنی (Sokół *et al.*, 2015)، ضد التهاب، ضد زخم های پوستی، جلوگیری از گسترش سلول‌های سلطانی (Li *et al.*, 2015)، بهبود بیماران آلزایمری، لوسومی و تقویت کننده لنفوسيتها و ماکروفازها (Sokół *et al.*, 2015;al., 2002 قارچ می‌باشد. قارچ یال شیر دارای پروتئین بالا، چربی (Eisenhut *et al.*, 1995) کم، و عناصر معدنی (Chang & Miles., 2004) می‌باشد. بسترهای مختلفی برای پرورش قارچ یال شیر پیشنهاد شده از جمله باگاس نیشکر، تراشه چوب، پوست تخم پنبه دانه، ساقه میوه ذرت، سبوس گندم و سبوس برنج و همچنین غنی‌سازی بستر کشت پایه با مکمل‌های مختلف آلی و شیمیایی گوناگون انجام Royse, 1996; Stamets, 2000; Figlas *et al.*, 2007; Chang & Miles., 2004 ترکیبات لیگنوسلولزی همچون ساقه میوه ذرت (Ueitele *et al.*, 2014)، انواع مختلفی از تراشه چوب (Erkel, 2009)، مکمل‌های گوناگونی همچون ضایعات چای (Peksen & Yakupoglu, 2009)، سبوس برنج، Gurung *et al.*, 2007، آرد ذرت، آرد نخود (Gurung *et al.*, 2012)، بذور چاودار، سویا پودر شده، بذر کلزا، کلش گندم (Royse & Sanchez, 2007)، ضایعات پوست میوه فندوق (Ozcelik & Peksen, 2007)، کلش جو و ضایعات ساقه‌های حاصل از هرس انگور (Gaitán-Hernández *et al.*, 2011) جهت تولید قارچ استفاده

آماده سازی اسپان قارچ

مراحل تولید اسپان قارچ از استوک به روش Kumari (2017) و Zied & Pardo-Giménez (2017) انجام شد.

آماده سازی سوبسترا، استریل و مایه‌زنی
 پس از مخلوطشدن مواد متشکله بستر کشت، مقادیر آب بستر در محدوده ۵۵ تا ۶۵ درصد تنظیم گردید (Royse & Sanchez, 2007). ۴۰۰۰ گرم از بستر کشت (بسترهای کشت ترکیبی و غیرترکیبی همراه با مکمل‌ها، به جز مکمل نانو که به اسپان اضافه شد)، در کیسه‌های پلی پروپیلنی ریخته شد و با استفاده از دستگاه انوکلاو به مدت ۳۳ دقیقه در دمای ۱۱۲ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر استریل گردید (Xie et al., 2017; Harith et al., 2014). تلقیح بستر کشت به نسبت ۳ درصد با بذور (میسلیوم رشد کرده روی بذر گندم) قارچ یال شیر (جایه ایرانی پس از سرد شدن بسترهای در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد در شرایط کاملاً استریل انجام شد).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشگاه زابل در سال ۹۸-۹۷ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل بسترهای کشت قارچ یال شیر شامل جدول ۱ و همچنین غنی سازی این بسترهای با مکمل‌های شیمیایی نیترات آمونیوم (۸۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک بستر کشت)، سولفات منگنز (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم ماده خشک بستر کشت) و نانو منگنز اکسید (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم ماده خشک بستر کشت) انجام گردید.

تهیه استوک قارچ

قارچ هریسیوم اریناسئوس جایه ایرانی (شکل ۱) از جنگل لوه در استان گلستان در پاییز ۱۳۹۷ جمع آوری شد و پس از کشت بافت از از اندام میوه‌ای قارچ در محیط کشت PDA (Kumari, 2017; Zied & Pardo-Giménez, 2017) توجه به روش Kumari (2017) انجام شد.

جدول ۱. ترکیب اجزای بسترهای کشت قارچ یال شیر.

Table 1. Composition of components Lion's mane mushroom substrates.

Percentage of each component (%)	Substrate components	Code
50 + 50	Sugarcane bagasse + poplar sawdust	S1
70 + 30	Sugarcane bagasse + rice bran	S2
65 + 35	Poplar sawdust + rice bran	S3
100	Poplar sawdust	S4
100	Sugarcane bagasse	S5
100	Wheat straw	S6
60 + 40	Sugarcane bagasse + date palm sawdust	S7
65 + 35	Poplar sawdust + date palm sawdust	S8
100	Date palm sawdust	S9
40 + 60	Wheat bran + date palm sawdust	S10



شکل ۱. قارچ هریسیوم اریناسئوس جایه ایرانی (نمونه برداری شده از جنگل لوه در استان گلستان، ایران)

Figure 1. Iranian isolate *Hericium erinaceus* (sampled from Loveh forest, Golestan, Iran)

(Gerhardt) و جهت اندازه‌گیری مقادیر پتابسیم از دستگاه فلیم فتوتمتر (مدل PFP7 ساخت کمپانی JENWAY انگلستان) استفاده گردید. مقادیر کلسیم توسط دستگاه طیف سنج جذب اتمی (مدل ۴۰۰ USA NovaAA از شرکت Analytik Jena) ساخت اندازه‌گیری شد (Emami, 1996). جهت تعیین وزن خشک و آب اندام میوه‌ای قارچ به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفت و سپس وزن خشک آن‌ها با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری گردید و نیز کربن اجزای تشکیل دهنده بستر (جدول A.O.A.C, ۲) قبل از کشت قارچ اندازه‌گیری گردید (Chang & Miles, 2004). برای تعیین غلظت پلی‌ساقاریدهای موجود از روش فتل- سولفوریک اسید استفاده شد. جذب نمونه‌ها در ۴۹۰ نانومتر قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز، غلظت نهایی (مقادیر پلی‌ساقارید کل) در گرم از پودر عصاره محاسبه گردید (Tatsuya et al., 2005). اندازه‌گیری میزان فتل کل با استفاده از روش فولین- سیکالچو (Folin-Ciocalteu) انجام گرفت و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Jenway ساخت کشور انگلستان) قرائت شد.

رشد رویشی هیف و تشکیل بازیدیوکارپ قارچ یال شیر جدایه ایرانی

رشد رویشی میسلیوم قارچ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (Imtiaj et al., 2008) در اتاق رشد تاریک با دی اکسید کربن بالا (غلظت بیشتر از ۱۵۰۰ ppm) انجام شد. پس از کامل شدن مرحله پنجه‌دونانی میسلیوم قارچ (سفید شدن کامل بسترها)، شرایط برای باردهی و تولید اندام گرهای شامل دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، دی اکسید کربن با غلظت تقریبی در محدوده ۱۵۰۰ ppm، روشنایی ۴۰۰-۲۰۰۰ لوکس (Sokól et al., 2015) و رطوبت نسبی ۹۰ درصد، تأمین گردید (Chang & Miles, 2004).

صفات اندازه‌گیری شده

به منظور اندازه‌گیری عناصر معدنی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و آسیاب شده و پس از تهیه خاکستر با روش هضم توسط اسید کلریدریک (به مدت پنج ساعت) عصاره آن‌ها تهیه شد (Emami, 1996). جهت اندازه‌گیری نیتروژن کل (اندام میوه‌ای و بستر کشت قبل از تلقیح) از دستگاه کجلدا (مدل V50 از شرکت



شکل ۲. قارچ یال شیر نژاد ایرانی تولیدشده در دانشگاه زابل.

Figure 2. Iranian isolate Lion's mane mushroom produced at Zabol University.

برای کامل شدن پنجه‌دوانی میسلیوم قارچ به ترتیب به بستر کشت غیر ترکیبی تراشه چوب صنوبر و به بستر کشت ترکیبی برگ نخل خرما و سبوس گندم (۶۰ به ۴۰) مربوط است (جدول ۳). با توجه به جدول ۲، به نظر می‌رسد که مقادیر بیشتر نیتروژن اجزای تشکیل دهنده بستر کشت ترکیبی (برگ نخل خرما و سبوس گندم ۶۰ به ۴۰) در مقایسه با بستر کشت غیر ترکیبی صنوبر عامل رشد رویشی بیشتر هیف قارچ باشد به طوری که کامل شدن مرحله رشد رویشی میسلیوم قارچ در کمترین زمان انجام شده است همچنین در بستر کشت ترکیبی تراشه چوب صنوبر و سبوس برنج (۶۵ به ۳۵) نیز این مرحله از رشد قارچ در زمان کمتری در مقایسه با سایر تیمارها انجام شد و تفاوت معنی داری با تیمار اشاره شده نداشت که این نتایج را می‌توان به مقادیر (۳۵ درصد) به نسبت بالای سبوس برنج (درصد نیتروژن: ۱/۴۵) استفاده شده در بستر کشت ترکیبی اشاره کرد که از مقادیر نیتروژن بالای برخوردار می‌باشد (جدول ۲). بیشترین (۳۰/۰۵) روز و کمترین (۲۸/۱۰) روز زمان برای کامل شدن پنجه‌دوانی میسلیوم قارچ به ترتیب به مکمل سولفات منگنز و نیترات آمونیوم مربوط است (جدول ۴). همچنین مقادیر بیشتر نیتروژن موجود در مکمل نیترات آمونیوم (۳۴ درصد) در مقایسه با سایر مکمل‌ها سبب گردید که زمان پنجه‌دوانی کوتاه‌تر گردد. همچنین تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد بین دو مکمل نیترات آمونیوم و نانو منگنز اکسید از نظر زمان کامل شدن پنجه‌دوانی وجود نداشت و هر دو در یک کلاس آماری قرار دارند. بنابراین می‌توان بیان کرد که مکمل غیر نانو نیترات آمونیوم سرعت رشد رویشی میسلیوم قارچ را در مقایسه با مکمل نانو افزایش داده است. مرحله رشد رویشی قارچ دارویی اورریکولاریا پلی تریکا در محیط کشت ترکیبی تراشه چوب (خاک اره) و ساقه‌های (ساقه‌های خرد شده) گیاه ناپیر (*Pennisetum purpureum*) (به نسبت ۷۰ به ۳۰) در بین تیمارهای مورد بررسی در کمترین زمان کامل شد (Chi-Hung *et al.*, 2019). مرحله رشد رویشی قارچ فلوریدا در بستر کشت ترکیبی ضایعات برگ موز و کلش گندم (۵۰ به ۵۰) در زمان طولانی تری در مقایسه با سایر محیط‌های کشت کامل گردید (Mondal *et al.*, 2010).

میزان فنل کل اندام میوه‌ای قارچ بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر قارچ بیان شد (McDonald *et al.*, 2001). برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی اندام میوه‌ای قارچ از ظرفیت خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید. سپس ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH محاسبه گردید (Miliauskas *et al.*, 2004).

جدول ۲. مقادیر کربن، نیتروژن و نسبت کربن به نیتروژن اجزای تشکیل دهنده بسترهای کشت (درصد وزن خشک).

Table 2. Carbon, nitrogen and carbon to nitrogen ratio of substrate components (dry weight percentage).

Substrates	Carbon (%)	Nitrogen (%)	Carbon to nitrogen ratio
Poplar Sawdust	59.67	0.39	153
Wheat straw	46.20	0.47	98.29
Sugarcane	58.61	0.74	79.20
Bagasse	49.03	0.87	56.35
Palm leaf	50.11	1.06	47.27
Wheat bran	53.72	1.45	37.04

صفات رویشی، زایشی و عملکرد اندام میوه‌ای مدت زمان لازم (روز) جهت توسعه میسلیوم قارچ در بستر کشت، محاسبه شد و بعد از به اتمام رسیدن رشد رویشی، زمان شروع تشکیل اندام گرهای و همچنین زمان برداشت اولین اندام میوه‌ای یا پیش رسی محاسبه گردید. همچنین وزن تر اندام بارده با استفاده از ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد (Zied & Pardo-Giménez, 2017).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های این پژوهش با استفاده از نرمافزار SAS نسخه ۹ تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن طبقه‌بندی شد.

نتایج و بحث

زمان کامل شدن پنجه‌دوانی میسلیوم بیشترین (۳۲/۷۸ روز) و کمترین (۱۱/۲۳ روز) زمان

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر بستر کشت بر ماده خشک کل، زمان پنجهدوانی، زمان شروع تشکیل اندام گرهای، پلی ساکارید کل، پتاسیم و نیتروژن قارچ یال شیر.

Table 3. Mean comparison effect of substrate on total dry matter, spawn running time, pinhead formation time, total polysaccharide, potassium and nitrogen of Lion's mane mushroom.

Substrates	Nitrogen (mg/100g dryweight)	Potassium (mg/100g dry weight)	Total polysaccharide (mg/g dry weight)	Pinhead formation time (day)	Spawn running Time (day)	Total dry matter (g)
S1	1.61 e	203.99 cd	11.70 a	43.00abc	30.55 ab	88.29 a
S2	3.05ab	283.25b	9.39b	39.30d	27.44c	79.70b
S3	3.30a	296.98b	9.08b	37.45e	25.00d	74.75bc
S4	2.20d	204.54cd	8.05c	45.00a	32.78a	68.70cd
S5	2.48cd	199.27c-e	7.40cd	43.33ab	31.00ab	62.31de
S6	1.74e	189.00d-f	6.45de	43.33ab	31.11ab	59.08ef
S7	1.26f	180.70f	5.40ef	41.00cd	29.00bc	58.04ef
S8	1.17fg	186.92ef	5.64ef	41.65bc	29.55bc	53.16fg
S9	0.89g	210.97c	5.70ef	42.00bc	29.78bc	49.72g
S10	2.79bc	314.44a	4.69f	35.66e	23.11d	40.44h

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند (S1: باگاس نیشکر+تراشه چوب صنوبر، S2: باگاس نیشکر+سبوس برنج، S3: تراشه چوب صنوبر+Sbusos برنج، S4: تراشه چوب صنوبر+S6: باگاس نیشکر، S5: کلش گندم، S7: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S8: تراشه چوب صنوبر+ضایعات برگ خرما، S9: سوس گندم+ضایعات برگ خرما، S10: سوس گندم+ضایعات برگ خرما).

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5% probability level (S1: Sugarcane bagasse + Poplar sawdust, S2: Sugarcane bagasse + rice bran, S3: Poplar sawdust + rice bran, S4: Poplar sawdust, S5: Sugarcane bagasse, S6: Wheat straw, S7: Sugarcane bagasse + Date palm sawdust, S8: Poplar sawdust + Date palm sawdust, S9: Date palm sawdust, S10: Wheat bran + Date palm sawdust).

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر مکمل بر ماده خشک کل، زمان کامل شدن پنجهدوانی، زمان شروع تشکیل اندام گره ای، پلی ساکارید کل و نیتروژن قارچ یال شیر.

Table 4. Mean comparison effect of supplemental on total dry matter, spawn running time, pinhead formation time, total polysaccharide, potassium and nitrogen of Lion's mane mushroom.

Supplements	Nitrogen (mg/100g dry weight)	Total polysaccharide (mg/g dry weight)	Pinhead formation time (day)	Spawn running time (day)	Total dry matter (g)
Ammonium nitrate	2.37a	6.65c	39.10c	28.10b	56.28c
Manganese sulfate	1.93b	7.35b	42.90a	30.05a	64.68b
Nano manganese oxide	1.86b	8.05a	41.53b	28.65b	69.28a

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند (S1: باگاس نیشکر+تراشه چوب صنوبر، S2: باگاس نیشکر+سبوس برنج، S3: تراشه چوب صنوبر+Sbusos برنج، S4: تراشه چوب صنوبر+S6: باگاس نیشکر، S5: کلش گندم، S7: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S8: تراشه چوب صنوبر+ضایعات برگ خرما، S9: سوس گندم+ضایعات برگ خرما، S10: سوس گندم+ضایعات برگ خرما).

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5% probability level (S1: Sugarcane bagasse + Poplar sawdust, S2: Sugarcane bagasse + rice bran, S3: Poplar sawdust + rice bran, S4: Poplar sawdust, S5: Sugarcane bagasse, S6: Wheat straw, S7: Sugarcane bagasse + Date palm sawdust, S8: Poplar sawdust + Date palm sawdust, S9: Date palm sawdust, S10: Wheat bran + Date palm sawdust).

(Atila, 2019) بنابراین نتایج بدست آمده از این پژوهش با نتایج Atila (2019) همخوانی دارد. گزارش شده است که بسترهای کشت غنی از نیتروژن سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده مواد لیگنوسلولزی شده است (Lin *et al.*, 2015). زمان پنجهدوانی میسیلیوم قارچ با توجه به نوع جدایه و بستر کشت، متفاوت است. رشد میسیلیوم قارچ به مقادیر نیتروژن و نیز محتوای عناصر پرمصرف و کم مصرف بستر کشت بستگی دارد (Adenipekun & Gbolagade, 2006). بررسی‌ها نشان داده است که اسیدهای آمینه و ترکیبات آمونیومدار به طور مؤثری رشد میسیلیوم را در قارچ انوکی تسريع می‌کند

بکارگیری عناصر پرمصرف و کم مصرف (غنى با مکمل) در محیط کشت قارچ سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های ترشح شده از میسیلیوم قارچ شده و تجزیه لیگنین با سرعت بیشتری انجام می‌شود و به تبع آن زمان رشد رویشی در میسیلیوم قارچ کاهش می‌یابد (Curvetto *et al.*, 2002). سرعت رشد میسیلیوم قارچ اوستراتوس در بستر کلش برنج غنی‌شده با نیتروژن (۰/۵٪ درصد)، فسفر (۰/۳٪ درصد)، و پتاسیم (۰/۳٪ درصد) بیشتر از سایر تیمارها ثبت گردید (Rahman *et al.*, 2013). گزارش شده است که در قارچ شی تاکه با افزایش مقادیر نیتروژن بستر کشت مرحله پنجهدوانی سریع‌تر کامل گردید

رسد که مقادیر نیتروژن بالای محیط کشت ذکر شده (سبوس برنج و نیترات آمونیوم) سبب تأخیر در برداشت و افزایش زمان پیش‌رسی شده است، به طوری که در بستر کشت غیر ترکیبی کلش گندم غنی‌شده با نانو منگنز اکسید در زمان کمتری انجام شد که با توجه به جدول ۲، کلش گندم از مقادیر کمتری نیتروژن برخوردار می‌باشد. بنابراین مقادیر نیتروژن بالای محیط کشت (ترکیب بستر کشت‌های ترکیبی و غیر ترکیبی و مکمل) سبب افزایش رشد گرهای شده است ولی سبب تأخیر در برداشت اولین محصول در قارچ یال شیر جدایه ایرانی شده است. نتایج آزمایشات انجام شده نشان داده است که برداشت قارچ فلوریدا در بستر ترکیبی ضایعات خرما و پودر سویا در کمترین زمان در مقایسه با سایر تیمارها انجام شد (Jafarpour *et al.*, 2009). کامل شدن مرحله رشد رویشی و زایشی (تشکیل اندام‌های گرهای و اندام میوه‌ای) قارچ‌های ارینجی و اوستراتوس پرورش یافته روی بستر کشت تراشه چوب (خاک اره)، سریع‌تر از بستر کشت حاصل از ضایعات ساقه پنبه (پسماندهای پس از برداشت محصول) و پسماندهای صنایع کاغذ بود (Salman و Naeem *et al.*, 2014) و نیز در تحقیق دیگری مشخص گردید که تولید اندام میوه‌ای قارچ فلوریدا در محیط کشت ترکیبی کلش جو و سبوس برنج در کمترین زمان انجام شد (Jafarpour *et al.*, 2011). همچنین در تحقیقی گزارش شده است که کاهش مقادیر نیتروژن بستر کشت تولید اندام بارده قارچ را تسريع می‌کند (Sakamoto, 2018) و نتایج این پژوهش با نتایج (Sakamoto 2018) همخوانی دارد.

ماده خشک کل

با توجه به جدول ۳، بیشترین (۸۸/۲۹ گرم) و کمترین (۴۰/۴۴ گرم) مقادیر ماده خشک کل اندام میوه‌ای قارچ یال شیر جدایه ایرانی به ترتیب به بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر و تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) و بستر ترکیبی برگ نخل خرما و سبوس گندم (۶۰ به ۴۰) اختصاص دارد. بنابراین با

(Sharma *et al.*, 2009). گزارش شده است که بسترهایی که از مقادیر به نسبت بالای از نیتروژن برخوردارند، رشد رویشی میسلیوم قارچ گونه‌های مختلف فلامولینا در مقایسه با بسترهایی با مقادیر کمتر نیتروژن، افزایش می‌یابد. در پژوهشی مشخص شده است که افزایش مقادیر منیزیم و فسفات می‌تواند رشد میسلیوم قارچ انوکی آسیایی را تحت کشت مایع بهبود بخشد (Osman *et al.*, 2014).

زمان شروع تشکیل اندام گرهای

با توجه به داده‌های جدول ۳، بیشترین (۴۵ روز) و کمترین (۳۵/۶۶ روز) زمان برای شروع تشکیل اندام گرهای به ترتیب به بستر کشت غیر ترکیبی تراشه چوب صنوبر و بستر کشت ترکیبی برگ نخل خرما و سبوس گندم (۶۰ به ۴۰) اختصاص دارد. با توجه به زمان کامل شدن رشد رویشی قارچ، زمان شروع تشکیل اندام گرهای و ورود به فاز زایشی نیز همانند مرحله قبل، در تیمارهای ذکر شده انجام گردید به طوری که تسريع در رشد رویشی در بسترهای ذکر شده سبب کوتاه‌تر شدن زمان تشکیل اندام گرهای نیز شده است. همچنین بین هر سه مکمل از لحاظ زمان شروع تشکیل اندام گرهای تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد و بیشترین (۴۲/۹۰ روز) و کمترین (۳۹/۱۰ روز) زمان برای شروع تشکیل اندام گرهای به ترتیب به مکمل سولفات منگنز و نیترات آمونیوم مربوط است (جدول ۴). گزارش شده است که کمترین زمان لازم جهت تشکیل اندام گرهای قارچ ارینجی به محیط کشت ترکیبی سبوس برنج با ضایعات تفاله چغندر قند مربوط بود (Kazemi Jeznabadi *et al.*, 2016).

زمان پیش‌رسی

بیشترین (۷۶ روز) و کمترین (۵۴ روز) زمان برای اولین برداشت یا پیش‌رسی اندام میوه ای قارچ به ترتیب به بستر کشت ترکیبی تراشه چوب صنوبر و سبوس برنج (۶۵ به ۳۵) غنی‌شده با نیترات آمونیوم و بستر کشت غیر ترکیبی کلش گندم غنی‌شده با نانو منگنز اکسید مربوط است (جدول ۴). به نظر می

احتمال پنج درصد از نظر مقادیر ظرفیت آنتی اکسیدانی اندام میوه‌ای قارچ بین تیمارهای (مکمل و بستر کشت) مکمل نانو منگنز اکسید با بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر و تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰)، باگاس نیشکر و سبوس برنج (۷۰ به ۳۰)، تراشه چوب صنوبر و سبوس برنج (۶۵ به ۳۵) بسترهای کشت غیر ترکیبی تراشه چوب صنوبر، باگاس نیشکر و همچنین مکمل سولفات منگنز با بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر و تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰)، باگاس نیشکر و سبوس برنج (۷۰ به ۳۰)، بسترهای کشت غیر ترکیبی تراشه چوب صنوبر، باگاس نیشکر و نیز مکمل نیترات آمونیوم با بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر و سبوس برنج (۷۰ به ۳۰) و بستر کشت غیر ترکیبی تراشه چوب صنوبر وجود نداشت و تمامی بسترهای کشت غنی‌شده با مکمل‌های اشاره شده در یک گروه آماری قرار دارند (جدول ۷).

پلی ساکارید کل

بیشترین (۱۱/۷۰ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) و کمترین (۴/۶۹ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) مقادیر پلی ساکارید کل اندام میوه‌ای قارچ به ترتیب به قارچ‌های تولید شده از بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) و بستر کشت ترکیبی برگ نخل خرما با سبوس گندم (۴۰ به ۶۰) اختصاص دارد (جدول ۳). به نظر می‌رسد که مقادیر بیشتر پلی ساکارید کل اندام میوه‌ای قارچ‌های تولید شده بر روی این بستر را بتوان به ماده خشک آن نسبت داد. مشخص شده است که بستر کشت به طور مستقیم بر کیفیت اندام میوه‌ای قارچ تأثیرگذار است (Bellettini *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2017) با توجه به داده‌های جدول ۴، بیشترین (۸/۰۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و کمترین (۶/۶۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) مقادیر پلی ساکارید کل اندام میوه‌ای قارچ به ترتیب به مکمل‌های نانو منگنز اکسید و نیترات آمونیوم مربوط است. همچنین در بین مکمل‌ها نیز می‌توان کاهش مقادیر پلی ساکارید کل اندام میوه‌ای را به ماده خشک آن ارتباط داد.

توجه به وجود مقادیر فراوان و ارزان باگاس نیشکر که در صنایع تولید شکر جزء ضایعات اجباری به حساب می‌آید، می‌توان به جای تراشه چوب صنوبر استفاده کرد و از قطع درختان جنگلی جهت تولید تراشه چوب صنوبر جلوگیری کرد و سبب تقویت کشاورزی پایدار شد و بدین طریق می‌توان ضایعات اجباری را بازیافت کرد همچنین با توجه به تقاضای جهانی بالا برای تراشه چوب درختان، جایگزینی سایر ترکیبات لیگنوسولولزی مختلف هر چند به طور جزئی (به صورت ترکیبی) از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد (Hwang *et al.*, 2015). بیشترین (۶۹/۲۸ گرم) و کمترین (۵۶/۲۸ گرم) مقادیر مربوط به ماده خشک کل اندام میوه‌ای قارچ به ترتیب به مکمل نانو منگنز اکسید و نیترات آمونیوم اختصاص دارد همچنین تفاوت معنی داری بین هر سه مکمل از نظر ماده خشک کل از لحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد (جدول ۴). همچنین با کاربرد مکمل‌های غنی از نیتروژن (نیترات آمونیوم) مقادیر ماده خشک اندام میوه‌ای قارچ نیز کاهش یافت. بیشترین مقادیر فنل کل اندام میوه‌ای به قارچ‌های برداشت شده از بستر کشت غیر ترکیبی باگاس نیشکر غنی‌شده با نیترات آمونیوم مربوط می‌باشد. همچنین از لحاظ مقادیر فنل بین بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر و تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) و غیر ترکیبی باگاس نیشکر که با نیترات آمونیوم غنی‌شده بود، تفاوت معنی داری از لحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت و هر دو در یک کلاس آماری قرار دارند.

ظرفیت آنتی اکسیدانی

با توجه به جدول ۷ بیشترین (۷۳/۴۵ درصد) و کمترین (۳۵/۲۴ درصد) مقادیر ظرفیت آنتی اکسیدانی اندام میوه‌ای قارچ به ترتیب به بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر و تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) غنی‌شده با مکمل نانو منگنز اکسید و نیز به بستر کشت ترکیبی برگ نخل خرما و سبوس گندم (۶۰ به ۴۰) غنی‌شده با سولفات منگنز اختصاص دارد. همچنین تفاوت معنی داری از لحاظ آماری در سطح

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل بستر کشت و مکمل بر عملکرد کل (گرم) اندام میوه ای قارچ یال شیر.

Table 5. Mean comparison interaction effect of substrate and supplement on the total yield (g) of Lion's mane mushroom fruit bodies.

Substrates	Ammonium nitrate	Manganese sulfate	Nano manganese oxide
S1	584.05 c	658.96 b	764.04 a
S2	569.75 c	594.63 c	704.60 b
S3	468.17 d-f	572.22 c	658.28 b
S4	469.89 d-f	489.45 de	571.70 c
S5	449.30 d-h	458.76 d-g	494.04 de
S6	383.12 h-j	494.74 de	446.28 d-h
S7	383.81 h-j	499.76 d	447.75d-h
S8	318.84 kl	423.96 f-h	427.77 e-h
S9	311.54 kl	397.18 g-i	399.72 g-i
S10	279.99 l	330.50 j-l	345.90 i-k

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند (S1: باگاس نیشکر+تراشه چوب صنوبر، S2: باگاس نیشکر+سبوس برنج، S3: تراشه چوب صنوبر+S4: سبوس برنج، S5: باگاس نیشکر، S6: کلش گندم، S7: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S8: تراشه چوب صنوبر+ضایعات برگ خرما، S9: ضایعات برگ خرما، S10: سبوس گندم+ضایعات برگ خرما).

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5% probability level (S1: Sugarcane bagasse + Poplar sawdust, S2: Sugarcane bagasse + rice bran, S3: Poplar sawdust + rice bran, S4: Poplar sawdust, S5: Sugarcane bagasse, S6: Wheat straw, S7: Sugarcane bagasse + Date palm sawdust, S8: Poplar sawdust + Date palm sawdust, S9: Date palm sawdust, S10: Wheat bran + Date palm sawdust).

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل بستر کشت و مکمل بر زمان پیش رسی (روز) اندام میوه ای قارچ یال شیر.

Table 6. Mean comparison interaction effect of substrate and supplement on precocity time (day) of Lion's mane mushroom fruit bodies.

Substrates	Ammonium nitrate	Manganese sulfate	Nano manganese oxide
S1	62.00 e-h	59.00 f-j	61.00 e-i
S2	70.00 bc	65.00 c-f	61.00 e-i
S3	76.00 a	69.00 b-d	65.00 c-f
S4	62.00 e-h	56.00 h-j	59.00 f-j
S5	63.00 d-g	57.00 g-j	58.00 g-j
S6	62.00 e-h	55.00 ij	54.00 j
S7	65.00 c-f	59.00 f-j	66.00 c-e
S8	69.00 b-d	60.00 e-j	60.33 e-j
S9	73.00 ab	60.00 e-j	61.00 e-i
S10	75.00 ab	62.00 e-h	66.00 c-e

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند (S1: باگاس نیشکر+تراشه چوب صنوبر، S2: باگاس نیشکر+سبوس برنج، S3: تراشه چوب صنوبر+S4: سبوس برنج، S5: باگاس نیشکر، S6: کلش گندم، S7: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S8: تراشه چوب صنوبر+ضایعات برگ خرما، S9: ضایعات برگ خرما، S10: سبوس گندم+ضایعات برگ خرما).

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5% probability level (S1: Sugarcane bagasse + Poplar sawdust, S2: Sugarcane bagasse + rice bran, S3: Poplar sawdust + rice bran, S4: Poplar sawdust, S5: Sugarcane bagasse, S6: Wheat straw, S7: Sugarcane bagasse + Date palm sawdust, S8: Poplar sawdust + Date palm sawdust, S9: Date palm sawdust, S10: Wheat bran + Date palm sawdust).

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل بستر کشت و مکمل بر ظرفیت آنتی اکسیدانی (درصد) اندام میوه ای قارچ یال شیر.

Table 7. Mean comparison interaction effect of substrate and supplement on antioxidant capacity (percent) of Lion's mane mushroom fruit bodies.

Substrates	Ammonium nitrate	Manganese sulfate	Nano manganese oxide
S1	52.83 f-j	60.60 a-g	73.45 a
S2	67.65 a-d	73.28 a	66.70 a-e
S3	49.62 g-k	54.66 d-h	73.12 ab
S4	63.58 a-f	64.23 a-f	70.88 a-c
S5	58.89 c-h	69.98 a-c	66.97 a-e
S6	53.21 e-j	59.70 b-h	40.40 j-l
S7	47.49 g-l	54.69 d-h	38.91 kl
S8	46.57 h-l	54.30 d-i	53.84 e-j
S9	52.68 f-i	56.40 d-h	56.11 d-h
S10	48.98 g-k	35.24 l	40.99 i-l

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند (S1: باگاس نیشکر+تراشه چوب صنوبر، S2: باگاس نیشکر+سبوس برنج، S3: تراشه چوب صنوبر+S4: سبوس برنج، S5: باگاس نیشکر، S6: کلش گندم، S7: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S8: تراشه چوب صنوبر+ضایعات برگ خرما، S9: ضایعات برگ خرما، S10: سبوس گندم+ضایعات برگ خرما).

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5% probability level (S1: Sugarcane bagasse + Poplar sawdust, S2: Sugarcane bagasse + rice bran, S3: Poplar sawdust + rice bran, S4: Poplar sawdust, S5: Sugarcane bagasse, S6: Wheat straw, S7: Sugarcane bagasse + Date palm sawdust, S8: Poplar sawdust + Date palm sawdust, S9: Date palm sawdust, S10: Wheat bran + Date palm sawdust).

پرورش یافته بر بستر کشت غنی‌شده با سبوس گندم، پروتئین بیشتری در مقایسه با قارچ تولید شده بر روی بسترها غنی‌شده با سبوس برنج و ذرت داشت (Wang *et al.*, 2001; Kimasi *et al.*, 2019). محیط کشت تأثیر عمدی‌ای روی خصوصیات شیمیایی قارچ‌های مختلف خوارکی و دارویی دارد (Oyetayo & Ariyo, 2013; Atila *et al.*, 2017) نامناسب، ارزش غذایی قارچ را کاهش می‌دهد (Khan *et al.*, 2008). ترکیب غذایی اندام میوه‌ای قارچ تحت تأثیر نوع بستر کشت قرار می‌گیرد (Badalyan, 2003). بررسی‌های انجام‌شده نشان داده است که بررسی رابطه بین خصوصیات اندام میوه‌ای قارچ‌ها و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ضایعات مختلف محصولات کشاورزی که به عنوان بستر کشت استفاده می‌شوند، سبب بهبود کیفیت محصول تولیدی خواهد شد (Ragunathan *et al.*, 1999; Ramezan *et al.*, 2019). مقادیر پروتئین قارچ‌ها رابطه مستقیمی با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و همچنین نسبت کربن به نیتروژن بستر کشت دارد. گزارش شده است که محتوای پروتئین قارچ‌ها شدیداً تحت تأثیر طبیعت بستر، مقادیر مواد غذایی بستر کشت، جدایه قارچ، مرحله نمو و عمر پس از برداشت آن قرار می‌گیرد (Gowthwal *et al.*, 2012). همچنین گزارش شده است که مقادیر پتابسیم موجود در اندام میوه‌ای قارچ ۱۸-۳ برابر بیشتر از پتابسیم بستر کشت است (Jo *et al.*, 2013). در بررسی انجام شده مشخص گردید که رابطه مستقیمی بین مقادیر عناصر پر مصرف و کم مصرف بستر کشت با محتوای عناصر موجود در اندام میوه‌ای قارچ یال شیر وجود ندارد (Atila *et al.*, 2018). برخی از سایر ترکیبات افزودنی از قبیل سبوس گندم، سبوس برنج، آرد ذرت، یولاف و ارزن جهت بهبود کمی و کیفی قارچ شی تاکه از ۲۰ تا ۶۰ درصد به بستر پایه (تراشه چوب) در فرمولاسیون‌های مختلف اضافه می‌گردد (Royse & Sanchez, 2007). در بررسی‌های انجام شده مشخص گردید که بیشترین کلسیم اندام میوه‌ای قارچ اوستراتوس به بستر کشت باگاس نیشکر اختصاص دارد (Hoa *et al.*, 2015).

نیتروژن

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود بیشترین مقدار نیتروژن اندام میوه‌ای قارچ یال شیر مربوط به قارچ تولید شده بر روی بستر کشت ترکیبی تراشه چوب صنوبر با سبوس برنج (۶۵ به ۳۵) به مقدار ۳/۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک قارچ و کمترین مقدار نیتروژن مربوط به قارچ‌های تولید شده بر روی بستر کشت غیر ترکیبی برگ نخل خرما مشاهده گردید. بیشترین و کمترین مقدار نیتروژن اندام میوه‌ای به ترتیب در تیمار مربوط به نیترات آمونیوم و نانو منگنز اکسید مشاهده شد. بین تیمار سولفات منگنز و نانو منگنز اکسید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

پتابسیم و کلسیم

با توجه به داده‌های جدول ۳، بیشترین ۳۱۴/۴۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و کمترین (۱۸۰/۷۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) مقادیر پتابسیم اندام میوه‌ای قارچ به ترتیب به قارچ‌های برداشت شده از بستر کشت ترکیبی برگ نخل خرما با سبوس گندم (۶۰ به ۴۰) و بستر کشت ترکیبی برگ نخل خرما و باگاس نیشکر (۴۰ به ۴۰) اختصاص دارد. همچنین بسترها کشت ترکیبی باگاس نیشکر و سبوس برنج (۷۰ به ۳۰) و تراشه چوب صنوبر و سبوس برنج (۶۵ به ۳۵) از نظر مقادیر پتابسیم اندام میوه‌ای هر دو در یک گروه آماری قرار دارند. بیشترین (۲۳/۰۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و کمترین (۱۲/۱۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) مقادیر کلسیم اندام میوه‌ای قارچ به ترتیب به تیمارهای بستر کشت ترکیبی تراشه چوب صنوبر با سبوس برنج (۶۵ به ۳۵) غنی‌شده با نیترات آمونیوم و بستر کشت غیر ترکیبی برگ نخل خرما غنی‌شده با نیترات آمونیوم اختصاص دارد (جدول ۸). با توجه به ترکیبات شیمیایی موجود در سبوس گندم و سبوس برنج به نظر می‌رسد که یکی از دلایل مقادیر بالای عناصر معدنی پتابسیم و کلسیم اندام میوه‌ای تولید شده بر روی بسترهایی که یکی از اجزای آن سبوس می‌باشند با این دلیل قابل توجیه است. بر طبق آزمایش‌های انجام شده اندام میوه‌ای قارچ اوستراتوس

جدول ۸ مقایسه میانگین اثر متقابل بسترهای کشت و مکمل بر کلسیم (میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) اندام میوه‌ای قارچ یال شیر.
Table 8. Mean comparison interaction effect of substrate and supplement calcium (mg/100g dry weight) of Lion's mane mushroom fruit bodies.

Substrates	Ammonium nitrate	Manganese sulfate	Nano manganese oxide
S1	18.30 e-i	17.38 g-k	19.05 d-i
S2	21.13 bc	19.92 c-f	20.10 c-e
S3	23.07 a	20.90 b-d	22.04 ab
S4	16.19 j-l	18.97 d-i	16.14 j-l
S5	17.14 h-k	16.12 j-l	19.01 d-i
S6	14.10 mn	16.02 kl	15.00 lm
S7	13.05 no	19.14 d-g	16.14 j-l
S8	18.13 e-i	17.08 i-k	18.87 e-i
S9	12.14 o	15.14 lm	14.03 mn
S10	19.12 d-h	19.92 c-f	18.00 f-j

در هر سوتون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند (S1: باگاس نیشکر+تراشه چوب صنوبر، S2: باگاس نیشکر+سبوس برنج، S3: تراشه چوب صنوبر+سبوس برنج، S4: تراشه چوب صنوبر، S5: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S6: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S7: کلش گندم، S8: باگاس نیشکر+ضایعات برگ خرما، S9: ضایعات برگ خرما، S10: سوس گندم+ضایعات برگ خرما).

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5% probability level (S1: Sugarcane bagasse + Poplar sawdust, S2: Sugarcane bagasse + rice bran, S3: Poplar sawdust + rice bran, S4: Poplar sawdust, S5: Sugarcane bagasse, S6: Wheat straw, S7: Sugarcane bagasse + Date palm sawdust, S8: Poplar sawdust + Date palm sawdust, S9: Date palm sawdust, S10: Wheat bran + Date palm sawdust).

Gurung *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2012). مقادیر بیشتر وزن تر یا عملکرد اندام میوه‌ای 2012) مقداری تولید شده بر روی بسترهای کشت ترکیبی باگاس قارچ‌های تولید شده با تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) غنی شده با نیشکر با تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) غنی شده با مکمل نانو منگنز اکسید را می‌توان به ساختار فیزیکی (اندازه اجزای تشکیل دهنده بسترهای کشت، نفوذ بهتر اکسیژن) و ترکیب شیمیایی بسترهای کشت ارتباط دارد، بهطوری که با توجه به جدول ۲، مقادیر به نسبت متعادلی از کربن و نیتروژن در اجزای تشکیل دهنده بسترهای کشت سبب بهبود عملکرد قارچ شده است همچنین وجود مکمل نانو منگنز اکسید سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های ترشح شده از میسلیوم قارچ شده و بنابراین تجزیه ترکیبات لیگنوسلولزی بسترهای کشت و انتقال مواد غذایی از محیط کشت به اندام میوه‌ای تسريع شده است بنابراین قارچ‌های تولیدی نیز وزن بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها دارند.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از بسترهای ترکیبی تولید شده با استفاده از ضایعات کشاورزی بهجای استفاده از تراشه چوب با ارزش درختان جنگلی و همچنین غنی سازی بسترهای کشت پایه با مکمل‌های مختلف آلی (سبوس گندم و سبوس برنج) و مکمل‌های شیمیایی گوناگون برای پرورش قارچ دارویی یال شیر پیشنهاد می‌شود. در بسترهای کشت ترکیبی برگ نخل خرما و سبوس گندم (۶۰ به ۴۰) مرحله رشد رویشی قارچ در کمترین زمان کامل گردید. قارچ‌های

عملکرد کل با توجه به داده‌های جدول ۵، بیشترین (۷۶۴/۰۴ گرم) و کمترین (۲۷۹/۹۹ گرم) عملکرد کل اندام میوه‌ای قارچ به ترتیب به بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) غنی شده با مکمل نانو منگنز اکسید و بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر با سبوس برنج (۳۰ به ۳۵) غنی شده با مکمل نانو منگنز اکسید و بسترهای کشت ترکیبی باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) غنی شده با مکمل سولفات منگنز وجود ندارد. بنابراین باگاس نیشکر می‌تواند جایگزین تراشه چوب صنوبر گردد. همچنین می‌توان از مکمل غیر نانو سولفات منگنز استفاده کرد. بسترهای کشت به طور مستقیم بر عملکرد قارچ تأثیر گذار است (Bellettini *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2017). در حالی که مقادیر کربن بسترهای کشت به طور عمده توسط ترکیبات مختلف لیگنوسلولزی تأمین می‌گردد، مقادیر نیتروژن بسترهای کشت به طور عمده توسط مکمل‌های مختلفی از قبیل سبوس گندم، باگاس نیشکر و سبوس برنج تأمین می‌گردد (Attaran Dowom *et al.*, 2019). یکی از تکنیک‌های مهم در بهبود عملکرد اندام میوه‌ای قارچ استفاده از مکمل‌های غذایی مختلف بر پایه نیتروژن، از قبیل دانه ارزن، نخود، چاودار و ذرت در بسترهای کشت قارچ‌های

سپاسگزاری

تحقیق حاضر، با حمایت مالی تحت پژوهانه به شماره UOZ-GR-9618-92 از دانشگاه زابل اجرا گردیده است. از دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی جهت انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تولید شده از بستر کشت ترکیبی باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) بیشترین مقدار پلی ساکارید کل اندام میوه‌ای را داشتند. بیشترین عملکرد کل اندام میوه‌ای قارچ به بستر کشت ترکیبی باگاس نیشکر با تراشه چوب صنوبر (۵۰ به ۵۰) غنی‌شده با مکمل نانو منگنز اکسید اختصاص داشت.

REFERENCES

- Adenipekun, C. O., & Gbolagade, J. S. (2006). Nutritional requirements of *Pleurotus florida* (Mont.) Singer, a Nigerian mushroom. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(6), 597-600.
- AOAC. (1995). *Association of official analytical communities. Official method of analysis.* (18th ed.). Washington DC, USA.
- Asef Shayan, M. R. (2016). *Iranian medicinal fungi*. Iranology Publication. 360 p. (In Farsi).
- Atila, F. (2018). Comparative study on the mycelial growthl and yield of *Ganoderma lucidum* (Curt: Fr.) Karst. on different lignocellulosic wastes. *Acta Ecologica Sinica*, 40(2), 153-157.
- Atila, F. (2019). Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. *Scientia Horticulturae*, 245, 263–268.
- Atila, F., Tüzel, Y., Faz Cano, A. & Fernandez, J.A. (2017). Effect of different lignocellulosic wastes on *Hericium americanum* yield and nutritional characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2), 606-612.
- Attaran Dowom, S., Rezaeian, S. & Pourianfar, H. R. (2019). Agronomic and environmental factors affecting cultivation of the winter mushroom or enokitake (*Flammulina velutipes*): achievements and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 6, 2469-2481.
- Azizi, A. (1997). *Utilization of agricultural wastes for production of oyster mushroom and livestock feed*. Agricultural Education Publishing, 48 p. (in Farsi).
- Badalyan, S. M. (2003). Edible and medicinal higher basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5,153–163.
- Chang, S. T. & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. CRC press, 477 pp.
- Chih-Hung, L., Chiu-The, W., Pei-Luen, L. & Yun-Chen, K. (2019). Biological efficiency and nutritional value of the culinary-medicinal mushroom *Auricularia polytricha* cultivated on a sawdust basal substrate supplement with different proportions of grass plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26 (2), 263-269.
- Cilerdzic, J., Stajic, M., Zivkovic, L., Vukojevic, J., Bajic, V. & Spremo-Potparevic, B. (2016). Genoprotective capacity of alternatively cultivated lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes), Basidiocarps. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 18(12), 1061-1069.
- Curvetto, N. R., Figlas, D., Devalis, R. & Delmastro, S. (2002). Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH⁺⁴ and/or Mn. *Bioresource Technology*, 84, 171-176.
- Eisenhut, R., Fritz, D. & Tiefel, P. (1995). Investigations on nutritionally valuable constituents (mineral substances, amino acids, aromatic substances) of *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. *European Journal of Horticultural Science*, 60(5), 212-218.
- Emami, A. (1996). *Plant decomposition methods*. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Soil and Water Research Institute. 342 p. (in Farsi).
- Erkel, E. I. (2009). The effect of different substrate mediums on yield of *Ganoderma lucidum* (Curt: Fr.) Karst. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 77 (3), 841-844.
- Figlas, D., Matute, R. G. & Curvetto, N. (2007). Cultivation of culinary-medicinal lion's mane mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllophoromycetidae) on substrate containing sunflower seed hulls. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 9(1), 67-73.
- Gaitán-Hernández, R., Esqueda, M., Gutierrez, A. & Beltran-Garcia, M. (2011). Quantitative changes in the biochemical composition of lignicellulosic residues during the vegetative growth of *Lentinula edodes*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42 (1), 30-40.
- Georges, M., Halpern, M. D. & Andrew, H. M. (2002). *Medicinal mushrooms. Ancient remedies for modern ailments*. M. Evans Company, 185 p.

20. Gurung, O. K., Budathoki, U. & Parajuli, G. (2012). Effect of different substrates on the production of *Ganoderma lucidum* (Curt: Fr.) Karst. *Our Nature*, 10 (1), 191-198.
21. Harith, N., Abdullah, N. & Sabaratnam, V. (2014). Cultivation of *Flammulina velutipes* mushroom using various agro-residues as a fruiting substrate. *Pesquisa Agropecuária Brasileira-PAB*, 49(2), 181-188.
22. Hoa, H. T., Wang, C. & Wang, C. H. (2015). The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, 43(4), 423-434.
23. Hwang, S. G., Li, Y. Y. & Lin, H. L. (2015). The use of sawdust mixed with ground branches pruned from wax apple or indian jujube as substrate for cultivation of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Hortscience*, 50(8), 1230-1233.
24. Imtiaz, A., Jayasinghe, C., Lee, G.W., Shim, M. J., Rho, H. S., Lee Hur, H., Lee, M. W., Lee, U. Y. & Lee, T. S. (2008). Vegetative growth of four strains of *Hericium erinaceus* collected from different habitats. *Mycobiology*, 36(2), 88-92.
25. Jafarpour, M., Jalalizand, A. & Eghbalsaled, S. (2011). High fiber media as the most efficient substrates for *Pleurotus florida* culture. *Archives of Biological Sciences*, 63 (3), 889-895.
26. 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.
27. Kazemi-Jeznabadi, E., Jafarpour, M., Eghbalsaeid, S. & Pessarakli, M. (2016). Effects of various substrates and supplements on king oyster (*Pleurotus eryngii*). *Compost Science & Utilization*, 11(4), 1-10.
28. Khan, M. D. A., Tania, M., Amin, S. M. R., Alam, N. & Uddin, M. N. (2008). An investigation on the nutritional composition of mushroom (*Pleurotus florida*) cultivated on different substrates. *Bangladesh Journal of Mushroom*, 2, 17-23.
29. Kim, Y. D., Ha, K. Y., Lee, J. K. & Kim, S. D. (2000). Variability of rice koji enzyme activities using Basidiomycete. *International Rice Research Notes*, 25(3), 10-15.
30. Kimasi, A., Ramezan, D., Aran, M., Bagheri, R., & Nasiri Dehsorkhi, A. (2019). Investigating the effects of substrate and nutritional supplements on some vegetative and reproductive characteristics of salmon oyster mushroom (*Pleurotus djamor*). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(3), 571-585. (in Farsi).
31. Kumari, R. (2017). *In-vitro* propagation of *Ganoderma lucidum*-A medicinal mushroom in different culture medium. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 2(4), 294-297.
32. Li, W., Zhou, W., Kim, E.J., Shim, S.H., Kang, H.K. & Kim, Y.H. (2015). Isolation and identification of aromatic compounds in lion's mane mushroom and their anticancer activities. *Food Chemistry*, 170, 336-342.
33. Lin, Q., Long, L., Wu, L., Zhang, F., Wu, S., Zhang, W. & Sun, X. (2017). Evaluation of different agricultural wastes for the production of fruiting bodies and bioactive compounds by medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 3476-3480.
34. Miliauskas, 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.
35. Mohammadi-Goltapeh, A. & Pourjam, A. (1994). *Principles of edible mushroom cultivation*. Tarbiat Modares University Press, 556 pp. (in Farsi).
36. Mojadadi, S.H., Ebtekar, M., & Mohammad-Hassan, Z. (2006). Immunomodulatory activity of *G. lucidum* polysaccharide extract delayed type hypersensitivity. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 8(1), 1-5.
37. Mondal, S. R., Rehana, M. J. Noman, M. S. & Adhikary, S. K. (2010). Comparative study on growth and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus florida*) on different substrates. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 8(2), 213-220.
38. Mottaghi, H. (2006). *Oyster mushroom and other edible mushroom, technology and producing*. Andisheh Farda Publications. 328 p. (in Farsi).
39. Oyetayo, V. O. & Ariyo, O. O. (2013). Micro and macronutrient properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) cultivated on different wood substrates. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 6(3), 223-226.
40. Ozcelik, E. & Peksen, A. (2007). Hazelnut husk as a substrate for the cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *Bioresource Technology*, 98(14), 2652-2658.
41. Park, Y.J., Know, O.C., Son, E.S., Yoon, D.E., Han, W., Yoo, Y.B. & Lee, C.S. (2012). Taxonomy of *Ganoderma lucidum* from Korea based on rDNA and partial β -tubulin gene sequence analysis. *Mycobiology*, 40, 71-75.

42. Peksen, A. & Yakupoglu, G. (2009). Tea waste as a supplement for the cultivation of *Ganoderma lucidum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 611-618.
43. Quds-Vali, A. (2010). *Planting and cultivating edible and medicinal fungi (Jun-Cao technology)*. Iranian Agricultural Science Publishing. 217 p. (in Farsi).
44. Ragunathan, R., Gurusamy, R., Palaniswamy, M. & Swaminathan, K. (1999). Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. *Food Chemistry*, 55, 139-144.
45. Rahman, M. H., Ahmed, K. U., Roy, T. S., Mandal, M. S. H. & AlamL, 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.
46. Ramezan, D., Moradipour, F & Zarabi, M.M. (2019). Evaluation effects of substrate enrichment by chemical and biological supplements on some qualitative characteristics and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50 (2), 295-310. (in Farsi).
47. Royse, D. & Sanchez, J. E. (2007). Ground wheat straw as a substitute for portions of oak wood chips used in shiitake (*Lentinula edodes*) substrate formulae. *Bioresource Technology*, 98(11), 2137- 2141.
48. Royse, D. J. (1996). Specialty mushrooms. Progress in new crops. In: Proceedings of the Third National Symposium; Oct 22–25; Indianapolis, Indiana, USA. Alexandria.
49. Sakamoto, Y. (2018). Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi. *Fungal Biology Reviews*, 32, 236-248.
50. 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. *Mycopathology*, 12(1), 9-15.
51. Smith, J., Rowan, N. & Sullivan, R. (2002). *Medicinal mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments*. Cancer Research, UK. 268 p.
52. Solgi, M. (2015). *Nanotechnology and its applications in horticultural sciences*. Arak University Press. 176 pp. (in Farsi).
53. Stamets, P. (2000). *Growing gourmet and medicinal mushroom 3rd edition*. Olimpia, WA: Ten Speed Press.
54. Tatsuya, M., Akio M., Norimasa, I., Tokifumi, M., Shin-Ichiro, N. & Yuan, C.L. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339 (1), 69-72.
55. Wang, J. C., Hu, S. H., Lee, W. L., Tsai, L. Y. (2001). Antimutagenicity of extracts of *Hericium erinaceus*. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 17(5), 230-238.
56. Weil, D. A., Beelman, R. B. & Beyer, D. M. (2006). Manganese and other micronutrient additions to improve yield of *Agaricus bisporus*. *Bioresource Technology*, 97, 1012-1017.
57. 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.
58. Zied, D. C., & Pardo-Giménez, A. (2011). Soybean the main nitrogen source cultivation substrates of edible and medicinal mushrooms. In: El-Shamy, H. (Ed.), *Soybean and Nutrition*, pp, 434-452.