

## بهینه‌سازی بستر کشت قارچ خوراکی شاه صدف با استفاده از ضایعات ارزان قیمت لیگنوسلولزی

جواد جانپور<sup>۱</sup> - محمد فارسی<sup>۲\*</sup> - فاطمه قلی زاده<sup>۳</sup> - حمیدرضا پوریانفر<sup>۴</sup> - شراره رضائیان<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۱۰

### چکیده

قارچ خوراکی - دارویی شاه صدف (*Pleurotus eryngii*) یکی از مهمترین گونه‌های قارچ‌های صدفی است. با توجه به اهمیت اقتصادی این قارچ، تأثیر نوع بستر کشت بر خصوصیات آن بررسی گردید. هدف اصلی در این تحقیق بررسی اثر مقادیر مختلف مکمل‌های غذایی و نوع بستر کشت بر شاخص‌های عملکرد و بهره‌وری بیولوژیکی قارچ شاه‌صدف بود. از بسترکشت خاک اره با مکمل‌های سبوس گندم، کنجاله‌سویا، سبوس برنج و تفاله چای و خاک اره به تنهایی برای این منظور استفاده شد. آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار جهت بررسی میزان بهره‌وری بیولوژیکی، میانگین تعداد و وزن قارچ انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین بهره‌وری بیولوژیکی قارچ شاه صدف (۷۲٪) در ترکیب بستر کشت خاک اره با مکمل‌های سبوس گندم و کمترین بهره‌وری بیولوژیکی (۳۰٪) در بستر کشت خاک اره به تنهایی بدست آمد. همچنین بهترین بستر کشت برای داشتن بیشترین تعداد قارچ بسترکشت خاک اره با مکمل‌های سبوس گندم و بهترین ترکیب سوبسترا برای داشتن بیشترین وزن قارچ ترکیب بسترکشت خاک اره با مکمل تفاله چای توصیه می‌گردد. نتایج نشان داد ترکیب بستر کشت خاک اره با مکمل‌های سبوس گندم و pH=۷ بیشترین سرعت رشد میسلیم را در عصاره محیط کشت‌ها در پتری‌دیش و همچنین در بستر کشت در داخل لوله‌های فالكون داشت.

واژه‌های کلیدی: بستر کشت، بهره‌وری بیولوژیکی، ضایعات گیاهی لیگنوسلولزی، قارچ شاه صدف

### مقدمه

دارای مواد مؤثره دارویی و یا خواص دارویی با ارزش باشند. تولید میوه و اسپاون<sup>۶</sup> (بذر قارچ) قارچ‌های دارویی در ایران دارای اهمیت بسیار زیادی می‌باشد (۲). بدلیل دارا بودن خواص دارویی، قارچ شاه صدف نیز یکی از قارچ‌های خوراکی - دارویی محسوب می‌شود (۱). در تحقیقات ثابت شده است که خاک اره، پوسته پنبه دانه، کلش ذرت، کلش گندم، باگاس نیشکر، همراه با مقادیر مختلف کنجاله سویا، کنجاله بادام زمینی، سبوس گندم و غیره، بسترهای بسیار مناسبی برای تولید تجاری قارچ شاه صدف می‌باشند (۱۵). همچنین کاه برنج به دلیل محتوای پروتئینی بالا به عنوان یکی از بهترین ترکیبات برای کشت گونه‌های قارچ صدفی استفاده می‌شود (۱۸). یکی از مزایای استفاده از خانواده قارچ‌های صدفی توانایی بالای آن‌ها برای رشد در بسترهای لیگنوسلولوزی بدون نیاز به کمپوست فرآوری شده و خاک پوششی است. تکنیک‌های تولید برای این بازیدیومیستها به خوبی توسعه یافته است و در مقایسه با بسترهایی که برای قارچ دکمه‌ای سفید استفاده می‌شوند، نسبتاً ساده هستند (۱۴). خاک اره و پودر بامبو از جمله ترکیباتی هستند که به عنوان

قارچ خوراکی شاه صدف (*Pleurotus eryngii*) یکی از اعضای خانواده قارچ‌های صدفی و از نظر طبقه‌بندی علمی متعلق به شاخه Basidiomycota، رده Agaricomycetes و خاندان Pleurotaceae بوده و عموماً بطور طبیعی بر روی گیاهان تیره چتریان (Apiaceae) رشد می‌نماید. قارچ شاه صدف با داشتن ویژگی‌های شاخصی چون بافت منسجم، شکل منحصر به فرد و طعمی مناسب، نام شاه صدف را در بین خانواده قارچ‌های صدفی به خود اختصاص داده است. قارچ خوراکی - دارویی به دسته‌ای از قارچ‌های خوراکی گفته می‌شوند که در مقیاس صنعتی تولید شده و

۱، ۴ و ۵ - اعضای هیأت علمی گروه زیست‌فناوری قارچ‌های صنعتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی

۲ - استاد گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(\*) نویسنده مسئول: (Email: mohfarsi@yahoo.com)

۳ - کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد

DOI: 10.22067/jhorts4.v31i4.61538

اره بالاترین عملکرد بیولوژیکی و بهره‌وری (۷۳/۵ درصد) نسبت به سایر نژادها را دارد. پنگ و همکاران (۱۲) نیز تأثیر مکمل سبوس برنج بر روی دو نژاد قارچ شاه صدف برای تعیین بهترین و اقتصادی‌ترین مقدار سبوس برنج را برای رشد گونه‌های قارچ پلوروتوس در تایوان بررسی کردند. نژاد Holland 150 با اضافه کردن سبوس برنج بالاترین میزان راندمان بیولوژیکی را داشت. آنتون و همکاران (۱) غلظت‌های متفاوت نیتروژن (۲/۰، ۱/۴، ۰/۸٪) را برای تعیین مقدار مطلوب نیتروژن بستر ارزیابی کردند. نتایج این بررسی حاکی از آن بود که بهترین میزان غلظت نیتروژن بستر ۱/۴٪ است که در تمامی نژادها وضعیت بهتری را نشان می‌داد.

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی نقش تعدادی از ضایعات لیگنوسلولزی کشاورزی در بهینه‌سازی بستر کشت قارچ خوراکی شاه صدف و تأثیر آن‌ها بر روی توان بیولوژیکی تولید محصول در این قارچ بود. در این راستا بهترین pH برای رشد رویشی قارچ شاه صدف نیز بررسی گردید.

## مواد و روش‌ها

**نژاد قارچ:** در این پژوهش در تمام تیمارها از یک نژاد تجاری قارچ خوراکی شاه صدف (*P. eryngii*) استفاده گردید. نژاد استفاده شده با کد شناسایی KS004 از آزمایشگاه تحقیقات قارچ‌های خوراکی دانشگاه ملی Gyeongsang کره جنوبی دریافت گردید. این نژاد هم‌اکنون در سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی نگهداری می‌شود.

**تیمارهای آزمایشی:** برای بررسی تأثیر ترکیبات مختلف بستر کشت بر پایه استفاده از خاک اره، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ ترکیب مختلف بستر کشت و ۴ تکرار انجام گرفت. در این تحقیق تأثیر ترکیبات استفاده شده بعنوان بستر کشت بر روی رشد قارچ شاه صدف به همراه مکمل‌ها (جدول ۱) بررسی شد.

**آماده‌سازی بسترهای کشت:** خاک اره بعنوان ماده اصلی در ترکیب‌های جدول ۱ به مدت ۲۴ ساعت در آب غوطه‌ور گردید. خاک اره از ترکیب چوب درخت راش و صنوبر به نسبت ۵۰٪ بود. سپس خاک اره‌ها آبکش شده و طبق تیمارهای آزمایشی با مکمل‌های عنوان شده مخلوط گردید. سولفات کلسیم و کربنات کلسیم به صورت خشک به ترکیب‌های مربوطه افزوده شد. بسترهای آماده شده داخل کیسه‌های پلی اتیلنی ۲۰×۴۰ سانتی‌متر به وزن ۸۰۰ گرم ریخته شد. پس از بستن درب آنها با درپوش پنبه‌ای، کیسه‌ها داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲ ساعت استریل گردید. پس از سرد شدن کیسه‌ها مایه‌زنی بسترهای کشت با استفاده از اسپاون قارچ شاه صدف نژاد KS004 انجام شد.

بسترهای قوی برای کشت قارچ شاه صدف استفاده می‌شوند (۱۱). با این حال تحقیقات کمی در مورد مناسب بودن انواع ضایعات مختلف لیگنوسلولزی برای کشت قارچ شاه صدف انجام شده است، در تحقیقات قبلی گندم، پنبه‌دانه و پوسته بادام‌زمینی استفاده شده بودند (۱۰ و ۱۳). در تحقیقات دیگر خاک اره درخت راش، خاک اره و مخلوطی از سبوس برنج (۵)، چوب بلال ذرت و سبوس گندم (۹) برای کشت قارچ شاه صدف استفاده شده است. بسترهای مورد استفاده در هر منطقه به ضایعات کشاورزی موجود در آن منطقه بستگی دارد (۳ و ۴). در اروپا بیشترین بستری که استفاده می‌شود کلش گندم است، در حالی که در کشورهای جنوب شرق آسیا خاک اره شایع‌تر است و اغلب این بسترهای کشت در صنایع دام و طیور مورد استفاده قرار می‌گیرند.

صیادی و همکاران (۱۸) سرعت رشد میسلیم قارچ شاه صدف (*P. eryngii*) را بر روی برگ خرمای غنی شده با پودر سویا و خاک اره بررسی کردند. بیشترین سرعت رشد میسلیم در بستر برگ خرمای غنی شده با ۱۰ درصد پودر سویا و کمترین در بستر برگ خرمای غنی شده با ۳۰ درصد خاک اره بود. مرکز تحقیقات کشاورزی شانگهای چین در سال ۲۰۱۱ گزارش نمود که قارچ شاه صدف روی بستری با ترکیب خاک اره، پوسته پنبه دانه، کاه ذرت و باگاس رشد می‌کند ولی بهترین نتیجه برداشت زمانی حاصل می‌شود که سبوس برنج، آرد ذرت، پوسته پنبه دانه یا کنجاله سویا به بستر اصلی اضافه شود. با توجه به وجود مقادیر بالای نیتروژن در پودر کنجاله سویا و سبوس غلات به نظر می‌رسد افزودن این مکمل‌ها در نسبت‌های پایین موجب ترغیب رشد رویشی قارچ خوراکی شود ولی در نسبت‌های بالا به دلیل اضافه شدن مقادیر بالای نیتروژن به بستر و کاهش نسبت C/N موجب کاهش رشد رویشی می‌گردد. همچنین نسبت C/N بهینه برای مرحله رشد رویشی قارچ تقریباً ۱۷:۱ می‌باشد (۶ و ۷).

کننی و کبدی (۵) گونه‌های متفاوت قارچ صدفی را با نسبت‌های مختلف ضایعات کاغذ و پنبه دانه کشت کردند و عملکرد و کارایی بیولوژیکی آن را بررسی نمودند. در این بررسی نسبت‌های مختلف ضایعات کاغذ و پنبه دانه با سبوس گندم و سنگ آهک بر اساس وزن خشک مورد استفاده قرار گرفت و نتایج به دست آمده نشان داد که امکان تولید تجاری با کیفیت خوب این قارچ در بستر تهیه شده از نسبت‌های مختلف ضایعات کاغذ و پنبه دانه فراهم می‌شود.

تاج‌الدین (۱۹) تأثیر غنی‌سازی بستر تفاله کشت بوسیله تفاله زیتون، تفاله خشک چغندر قند و سویا را بر قارچ خوراکی صدفی دینگری (*P. sajor-cajo*) بررسی نموده و دریافت که در بسیاری از موارد میزان تولید قارچ حاصل از کاه غنی شده نسبت به شاهد بالاتر است.

مونمون و همکاران (۸) نژادهای مختلف قارچ شاه صدف را بر روی خاک اره و کاه برنج کشت کرده و پارامترهای رشد و عملکرد آن‌ها را بررسی کردند. نتایج نشان داد که نژاد کشت شده روی خاک

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی و نسبت ترکیبات مواد لیگنوسلولزی در هر تیمار  
Table 1- Treatments and combinations of lignocellulosic materials in each treatment

تیمارهای آزمایشی Treatments	نسبت در مخلوط Ratio in the mix (%)	ترکیبات Compounds
1	47:47:3:3	خاک اره، سبوس گندم، سنگ گچ و آهک saw dust, wheat bran, gypsum and lime
2	85:9:3:3	خاک اره، کنجاله سویا، سنگ گچ و آهک saw dust, soybean meal, gypsum and lime
3	47:47:3:3	خاک اره، سبوس برنج، سنگ گچ و آهک saw dust, rice bran, gypsum and lime
4	85:9:3:3	خاک اره، تفاله چای، سنگ گچ و آهک saw dust, tea waste, gypsum and lime
5 شاهد Control	94:3:3	خاک اره، سنگ گچ و آهک saw dust, gypsum and lime

برای رشد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگهداری شد. پس از این مدت دانه‌های گندم احاطه شده با میسلیم قارچ شاه صدف (اسپاون) برای مایه‌زنی بسترهای کشت مورد استفاده قرار گرفت.

**مایه‌زنی بسترهای کشت:** بسترهای کشت آماده شده مطابق ترکیب هر تیمار بصورت جداگانه با اسپاون قارچ شاه صدف در زیر هود لامینار ایرفلو، مخلوط شد. برای هر کیسه ۸۰۰ گرمی حدود ۴۰ گرم اسپاون استفاده گردید. پس از مایه‌زنی کیسه‌ها بخوبی مخلوط شده و درپوش پنبه‌ای برای محافظت از آلودگی بر روی درب کیسه‌ها قرار گرفت.

**شرایط نگهداری بسترهای کشت:** بعد از عمل مایه‌زنی به منظور رشد رویشی، بسترهای کشت به اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. پس از ۱۰ تا ۱۶ روز میسلیم قارچ شاه صدف تمام بسترهای کشت را فرا گرفت. بسترهای پر شده از میسلیم قارچ شاه صدف برای تحریک رشد زایشی در دمای ۱۸-۱۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت ۱۷ تا ۲۲ روز از مایه‌زنی، قارچ‌های اولیه تشکیل گردید و اولین فلاش میوه‌دهی در ۲۱ تا ۲۶ روز پس از مایه‌زنی گرفته شد. میوه‌ها هر ۴ روز برداشت شده و تعدادشان در هر کیسه کشت شمرده و وزن شد.

**شاخص‌های رشد مورد اندازه‌گیری:** مقدار رشد رویشی میسلیم (AMG<sup>۱</sup>) در بسترهای کشت، تعداد اندام میوه‌دهی (NFB<sup>۲</sup>)، وزن قارچ تازه برداشت شده و بهره‌وری بیولوژیکی (BE<sup>۳</sup>) در هر تیمار اندازه‌گیری شدند. سرعت رشد میسلیم در بستر

جدول ۴- خصوصیات بسترهای کشت

Table 4- Properties of substrates

تیمارهای آزمایشی Treatments	C/N	N (%)
1	58.9	1.838
2	74.3	1.210
3	88.4	1.156
4	95.3	0.857
5	146.8	0.396

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))، ۲- (خاک اره (۸۵٪)، کنجاله سویا (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))، ۳- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))، ۴- (خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)).

Treatment: 1-(saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2-(saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3-(saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4-(saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control-(saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%)).

**تهیه اسپاون (بذر قارچ):** یک کیلوگرم بذر گندم دیم را در ۱۸۰۰ میلی‌لیتر آب به‌مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد و سپس دانه‌ها در آب جوشیده به‌مدت ۱۰ دقیقه باقی ماندند. پس از اتمام مراحل جوشاندن و خیساندن، دانه‌های مورد نظر سرد شده و آب اضافی آنها تبخیر شد. بعد از این عمل، کربنات کلسیم (آهک) و سولفات کلسیم هیدراته (گچ) به دانه‌ها اضافه گردید. بعد از اتمام مراحل قبلی، دانه‌های گندم درون پلاستیک‌های مقاوم به حرارت ریخته شده و برای ضدعفونی کردن درون اتوکلاو با شرایط فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲ ساعت در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

**مایه‌زنی یا تلقیح اسپاون:** دانه‌های گندم آماده شده با قطعه کوچکی از محیط کشت حاوی میسلیم قارچ شاه صدف تلقیح شده و

1- Amount of Mycelium Growth  
2- Number of Fruiting Body  
3- Biological Efficiency

گردید.

### نتایج و بحث

تأثیر pH و نوع بستر کشت در سرعت رشد میسلیوم: اندازه‌گیری سرعت رشد میسلیوم در عصاره بسترهای کشت با سه pH مختلف (۵/۵، ۷ و ۸/۵) و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت (۱). اندازه‌گیری میانگین شعاع رشد میسلیوم پس از گذشت ۷ روز در عصاره تیمارهای آزمایشی، نشان داد که بهترین pH برای رشد میسلیوم برای تمام تیمارها pH=۷ بود (شکل ۱). از این pH در مرحله بعد برای بررسی رشد میسلیوم در بسترهای کشت استفاده شد.

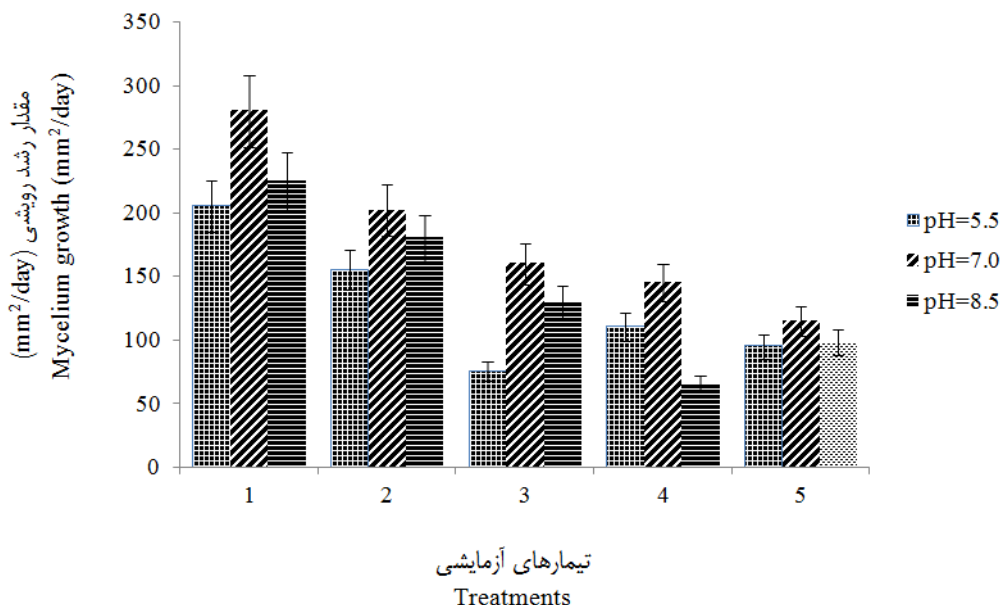
کشت در داخل لوله فالكون و همچنین در عصاره محیط کشت‌ها با سه pH متفاوت (۵/۵، ۷ و ۸/۵) در پتری‌دیش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

تعداد روز/  $\times 3/14$  (میانگین شعاع میسلیوم قارچ) = (AMG)  
مقدار رشد رویشی میسلیوم

$\times 100$  (وزن خشک بستر/ وزن قارچ تازه برداشت شده) = (BE)

بهره‌وری بیولوژیکی

**تجزیه داده‌ها:** آزمایش در قالب طرح تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار انجام شد و اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری JAMP 4.0 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و رسم نمودارها با نرم‌افزار Microsoft Exell 2007 و SygmaPlot 12.0 انجام



شکل ۱- نرخ رشد میسلیوم قارچ شاه صدف در عصاره محیط کشت تیمارهای آزمایشی در pHهای مختلف

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۲- (خاک اره (۸۵٪)، کنجاله سویا (۹٪)، گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۳- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۴- (خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))

Figure 1- Growth rate of king oyster mushroom mycelium in extract of media culture treatments in different PH

Treatment: 1- (saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2- (saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3- (saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4- (saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control- (saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%))

بقیه تیمارها رشد حداکثری دیده نمی‌شود.

**تعداد قارچ تازه:** مقایسه میانگین تعداد قارچ در تیمارهای آزمایشی در شکل ۲ آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود، میانگین بیشترین تعداد قارچ در ترکیب بستر کشت ۱ و کمترین تعداد قارچ در بستر کشت ۵ به دست آمد. بین ترکیب‌های بستر کشت ۱ و ۳ و ترکیب‌های بستر کشت ۲، ۴ و ۵ از نظر تعداد میوه قارچ اختلاف معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) وجود نداشت. در جدول ۳ کیفیت میوه‌ها در

اندازه‌گیری مقدار رشد میسلیوم قارچ شاه صدف در بستر کشت تیمارهای آزمایشی، نشان داد که بین ۵ ترکیب بستر کشت، بیشترین مقدار رشد میسلیوم مربوط به بستر کشت شماره ۱ و کمترین مقدار رشد مربوط به بستر کشت شماره ۵ بود (جدول ۲). همانطور که در تصویر ۲ مشاهده می‌شود، مقدار رشد میسلیوم در ترکیب شماره ۱ از بقیه بسترها بیشتر بود بطوری‌که پس از ۱۶ روز از تلقیح بستر کشت با میسلیوم، میسلیوم دوانی تقریباً کامل شده است. در صورتی که در

مهمی در تحریک رشد رویشی میسلیوم قارچ شاه صدف دارد بنابر نتایج بدست آمده در خصوص مقدار رشد رویشی و تعداد و کیفیت میوه، ارتباط افزایش این صفات با استفاده از سبوس گندم در ترکیب بستر کشت مشهود می‌باشد. رویشی و همکاران (۱۶) نیز نشان دادند که مقدار کربن و نیتروژن بستر کشت بر روی زود میوه‌دهی و افزایش تولید تأثیر فراوانی دارد. فیلیپوسیس و همکاران (۱۳) نیز به این نکته اشاره کردند که درصد رشد و توسعه میسلیوم قارچ بستگی به دسترسی به نیتروژن بستر کشت دارد.

تیمارهای آزمایشی از نظر ضخامت ساقه، قطر کلاهک و رنگ کلاهک بررسی شده و بر اساس خصوصیات ظاهری امتیازبندی گردید. از این رو و با توجه به تعداد و کیفیت میوه، بهترین ترکیب بستر کشت ترکیب شماره ۱ توصیه می‌گردد. این ترکیب نقش مهمی در کاهش هزینه تولید و استفاده از ضایعات کشاورزی مورد بررسی را خواهد داشت. از سبوس گندم با مقدار نیتروژن ۰۶٪ و با نسبت ۴۷٪ در ترکیب بستر کشت شماره ۱ استفاده شده است. ازت نقش بسیار

جدول ۲- مقدار رشد میسلیوم (mm<sup>2</sup>/day) قارچ شاه صدف در تیمارهای آزمایشی (pH=7)  
Table 2- The mycelium growth amount of *P. eryngii* (mm<sup>2</sup>/day) in different treatments (pH= 7)

تیمارهای آزمایشی Treatments				
5	4	3	2	1
4.04 <sup>d</sup>	bc4.73	4.87 <sup>b</sup>	bc4.56	<sup>a</sup> 5.6

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۲- (خاک اره (۸۵٪)، کنجاله سویا (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۳- (خاک اره (۳۳٪)، سبوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۴- (خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))

Treatments: 1- (saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2- (saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3- (saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4- (saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control- (saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%))

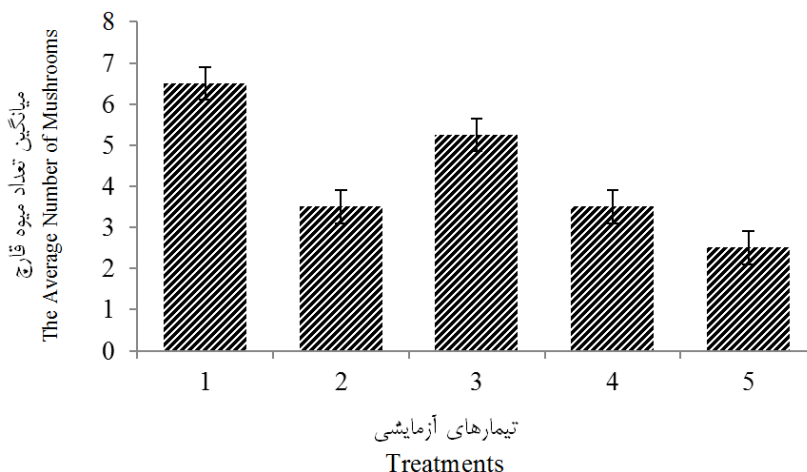


شکل ۲- راست) رشد شعاعی میسلیوم قارچ شاه صدف در تیمارهای آزمایشی پس از ۱۶ روز چپ) بسترهای کشت قارچ شاه صدف در شرایط میوه گیری

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۲- (خاک اره (۸۵٪)، کنجاله سویا (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۳- (خاک اره (۳۳٪)، سبوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۴- (خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))

Figure 2- Right) *Pleurotus eryngii* mycelium radial growth in treatments after 16 days Left) Oyster mushroom cultivation substrates in fruiting phase

Treatments: 1- (saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2- (saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3- (saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4- (saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control- (saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%))



شکل ۳- میانگین تعداد قارچ در ترکیب‌های مختلف بستر کشت قارچ شاه صدف

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، کنجاله سویا (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۳- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۴- (خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))

Figure 3-The average number of mushroom in various substrates formula in *Pleurotus eryngii*

Treatments: 1- (saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2- (saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3- (saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4- (saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control- (saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%))

جدول ۳- کیفیت میوه تولید شده در تیمارهای مختلف بستر کشت (ضخامت ساقه، قطر کلاهک و رنگ کلاهک)

Table 3- Produced fruiting body quality in different treatments (stem thickness, diameter and color cap)

تیمارهای آزمایشی Treatments	درجه بندی کیفی Quality grading				
	5	4	3	2	1
	+	++	+++	++	++++

(درجه بندی کیفیت به ترتیب از عالی (+++++)، خیلی خوب (++++)، خوب (++++)، متوسط (++) و بد (+))

Quality grading, respectively High (++++), very good (++++), Good (+++), Average (++) and Bad (+)

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، کنجاله سویا (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۳- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۴- (خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))

Treatment: 1- (saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2- (saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3- (saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4- (saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control- (saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%))

### بهره‌وری بیولوژیکی: میانگین درصد بهره‌وری بیولوژیکی در

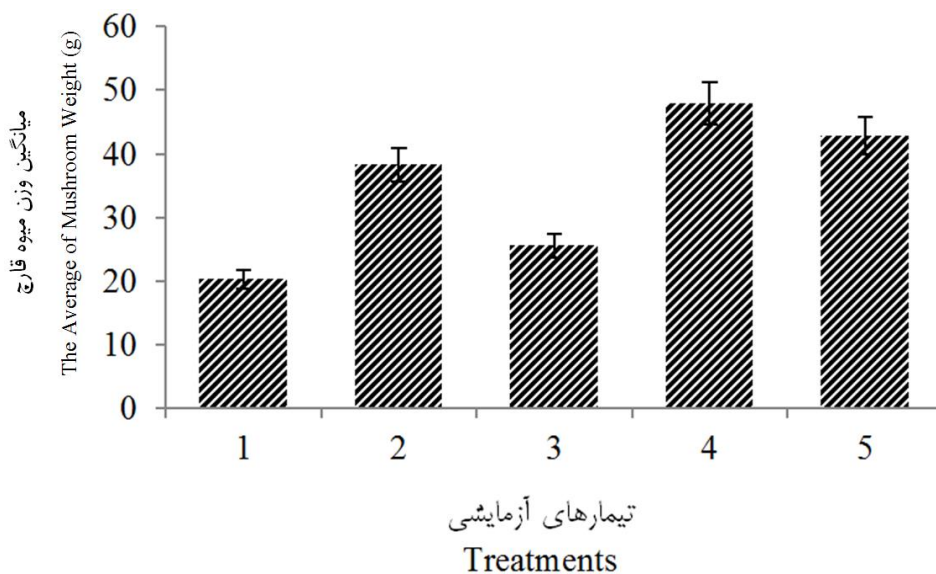
تیمارهای آزمایشی ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب عبارتند از ۶۴/۸۱، ۴۹/۷۴، ۵۹/۲۲، ۲۸/۷۲ و ۱۹/۸۰. نتایج بدست آمده در شکل ۴ نشان می‌دهد که تیمار آزمایشی شماره ۱ بیشترین راندمان بیولوژیکی (۶۴/۸۱٪) را داشته و تیمار شماره ۵ دارای کمترین راندمان بیولوژیکی (۱۹/۸۱٪) بوده است. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد که تیمارهای ۱ و ۳ همچنین ۴ و ۵ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) را ندارد. رویز و همکاران (۱۷) مشاهده کردند که نسبت‌های سبوس برنج که منجر به افزایش میانگین تعداد

### میانگین وزن قارچ: بررسی تجزیه واریانس نشان از معنی‌دار

بودن ( $p \leq 0.05$ ) نوع ترکیب بستر کشت بر روی میانگین وزن قارچ داشت. مطابق شکل ۳، بیشترین وزن هر قارچ در بستر کشت ۲ و کمترین وزن قارچ در بسترهای کشت ۴ و ۵ بوده است. نتایج نشان داد که برای شاخص وزن قارچ، تیمار شماره ۲ بهترین نتیجه را داشته است. در ترکیب بستر کشت ۲، کنجاله سویا با مقدار ازت ۱/۱٪ باعث تأمین ازت مورد این ترکیب می‌شود. با توجه به اینکه کنجاله سویا حاوی ترکیبات دیگری از جمله روغن می‌باشد که باعث افزایش وزن میوه‌های قارچ شده است.

که قارچ‌های بزرگتر و سنگین‌تر وقتی که بهره‌وری بیولوژیکی پایین‌تر است حاصل می‌شوند.

قارچ و افزایش بهره‌وری بیولوژیکی می‌شوند سبب کاهش در میانگین وزن قارچ می‌گردند. رویز و سانچز (۱۶) نیز اظهار کردند



شکل ۴- میانگین وزن قارچ در ترکیب‌های مختلف بستر کشت قارچ شاه صدف

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سبوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، کنجاله سویا (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، خاک اره (۳٪)، سبوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))

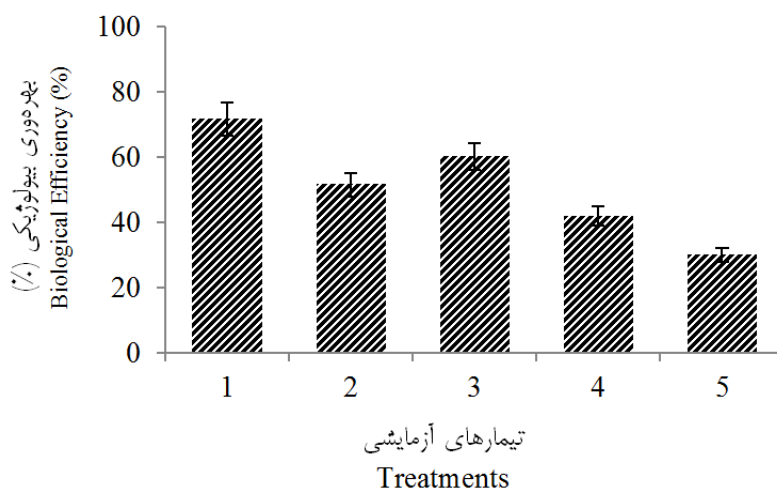
Figure 4- The average of mushroom weight in different compositions of mushroom substrate

Treatment: 1- (saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2- (saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3- (saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4- (saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control- (saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%)).

حدود ۱۰ گونه از قارچ‌های خوراکی و خوراکی- دارویی در سراسر دنیا کشت و تولید می‌گردند. به عنوان یکی از قارچ خوراکی- دارویی شناخته شده در سراسر جهان، قارچ شاه صدف (*P. eryngii*) می‌تواند در کنار قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) و با هزینه تولید بسیار پایین‌تر، در ایران تولید شود. ضایعات بخش کشاورزی جزو اقتصادی‌ترین ترکیباتی است که با ارزش افزوده بسیار بالا توانایی تولید محصول با ارزشی چون قارچ خوراکی را ایجاد می‌کنند. از این رو درک تأثیر ترکیب بستر کشت بر روی تولید و کیفیت قارچ‌های خوراکی از جمله قارچ شاه صدف (*P. eryngii*) به منظور یافتن یک ترکیب مناسب و اقتصادی که بتواند بطور مؤثری ضایعات کشاورزی را بصورت بیولوژیکی به مواد غذایی و دارویی تبدیل کند در تحقیقات ارزشمند خواهد بود.

در پژوهش حاضر بیشترین میزان نیتروژن (۱/۸٪) مربوط به تیمار آزمایشی ۱ و کمترین میزان نیتروژن (۰/۴٪) مربوط به تیمار آزمایشی ۵ بود (جدول ۳). در نتایج بدست آمده، بهترین تیمار از لحاظ تعداد میوه و بهره‌وری بیولوژیکی (ویژگی‌های مطلوب کشت صنعتی) تیمار شماره ۱ بود که نسبت C/N آن ۵۹:۱ بدست آمد. نتایج این آزمایش با نتایج آنتن و همکاران (۱) که در آزمایشی بهترین میزان غلظت نیتروژن را بررسی کرده و مقدار ۱/۷٪ نیتروژن را بهترین غلظت نیتروژن در بستر کشت معرفی نمودند، تأیید می‌کند. همچنین آن‌ها عنوان کردند که کشت در ظروف کوچک (یک کیلوگرمی) و استریل کردن بستر، میزان تولید را به طور قابل ملاحظه‌ای بهبود می‌بخشد.

قدمت و سابقه کشت و پرورش قارچ خوراکی در ایران به بیش از ۵۰ سال بر می‌گردد. اما در طی این سال‌ها یک یا نهایتاً دو گونه از قارچ‌های خوراکی بصورت صنعتی تولید شده‌اند. این در حالی است که



شکل ۵- تأثیر ترکیب‌های مختلف سوبسترا بر درصد بهره‌وری بیولوژیکی قارچ شاه صدف

تیمارهای آزمایشی: ۱- (خاک اره (۴۷٪)، سیوس گندم (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، کنجاله سویا (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۳- (خاک اره (۴۷٪)، سیوس برنج (۴۷٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۴- (خاک اره (۸۵٪)، تفاله چای (۹٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪)، ۵ یا شاهد (خاک اره (۹۴٪)، سنگ گچ (۳٪)، آهک (۳٪))

Figure 5- The effect of different substrate on biological efficiency of king Oyster mushroom

Treatment: 1-(saw dust (47%), wheat bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 2-(saw dust (85%), soybean meal (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 3-(saw dust (47%), rice bran (47%), gypsum (3%), lime (3%)), 4-(saw dust (85%), tea waste (9%), gypsum (3%), lime (3%)), 5 or Control-(saw dust (94%), gypsum (3%), lime (3%))

این پژوهش که در قالب طرح پژوهشی به شماره ۱۱-۲۲۶۹ بوده است، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## سپاسگزاری

احتراما از پروه پژوهشی زیست‌فناوری قارچ‌های صنعتی در جهاد دانشگاهی خراسان رضوی برای حمایت‌های مالی و معنوی در انجام

## منابع

- 1- Anton S.M., Sonnenberg Patrick M., Hendrickx and Sumiati E. 2006. Evaluation of *Pleurotus eryngii* strains. *Applid Plant Resaarch. Mushroom Research Unit*, 30:140-149.
- 2- Azizi A. 1997. Application of agricultural waste to produce mushroom and animal food. Ministry of agriculture, research organizations, promotion of agricultural education, 13: 33-42. (in Persian)
- 3- Bao D., Kinugasa S., and Kitamoto Y. 2004. The biological species of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) from Asia based on mating compatibility tests. *Journal of Wood Sciences*, 50:162-168.
- 4- Cohen R., Persky L., and Hadar Y. 2002. Biotechnological applications and potential of wood degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58:582-594.
- 5- Keneni A., and Kebede G. 2014. Cultivation of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on substratum composed of waste paper and cotton seed wastes. *Advanced Journal of Agricultural Research*. 2(008): 114-122.
- 6- Martinez-carrera D., Aguilar A., and Martinez W. 2000. Commercial production and marketing of edible mushrooms cultivated on coffee pulp in Mexico. *Coffee Biotechnology and Quality*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 45: 471-488.
- 7- Miles P.G., and Chang S.T. 2009. Mushroom cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact. Second edition. 458 pp.
- 8- Moonmoon M., Uddin M.N., Ahmed S., Shelly N.J., and Khan M.A. 2010. Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh. *European Journal of Biological Sciences*. 2 (1): 13-18.
- 9- Obatake Y., Murakami S., Matsumoto T., and Nakai YF. 2003. Isolation and characterization of a sporeless mutant in *P. eryngii*. *Official English Journal of the Mycological Society of Japan* 44: 33-40.
- 10- Obodai M., Cleland-Okine J., and Vowotor K.A. 2003. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. *Journal of Industrial of Microbiology and Biotechnology*. 30: 146-149.



- 11- Ohga S. 1999. Suitability of bamboo powder for the sawdustbased cultivation of edible mushrooms. *Mushroom Sci. Journal of Biotechnology*, 7: 19-22.
- 12- Peng J.T., Lee C.M., and Tsai Y.F. 2000. Effect of rice bran on the production of different king oyster mushroom strains during bottle cultivation. *Journal of agricultural research (J Agr Res)*. China. 49 (3): 60-67.
- 13- Philippoussis A, Zervakis G., and Diamantopoulou P. 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *A. aegerita*, *V. volvacea* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17: 191- 200.
- 14- Quimio T.H., Chang S.T., and Royse D.J. 1990. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. *F.A.O. Plant Production and Protection*, 106: 62–70.
- 15- Rodriguez Estrada A.E., and Royse D.J. 2007. Yield, size and bacterial blotch resistance of *Pleurotus eryngii* grown on cotton seed hulls/oak sawdust supplemented with manganese, copper and whole ground soybean. 98 (10): 1898–1906.
- 16- Royse D.J., and Sanchez-vazquez J.E. 2001. Influence of substrate wood chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. *Bioresource Technology*, 76: 229-233.
- 17- Royse D.J., Bahler B.D., and Bahler C.C. 1990. Enhanced yield of shiitake by saccharide amendment of the synthetic substrate. *Appl. Environ. Microbiol*, 56: 479-482.
- 18- Thomas G.V., Prabhu S.R., Reeny M.Z., and Bopaiah B.M. 1998. Evaluation of lignocellulosic biomass from coconut palm as substrate for cultivation of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14: 879–882.
- 19- Sayyadi B., Behnamiaan M., Dajestan S., and Haji-ramezani M.R. 2013. King Oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) mycelium linear growth rate estimates on palm leaf waste. The first national conference on strategies to achieve sustainable development. 20 Mar. 2013. Tehran. Iran
- 20- Tajoddin B. 1994. The effect of medium enrichment of the mushroom *P. sajor-caju* and determine some of the properties of quantitative and qualitative. M.Sc. Thesis, Tarbiat Modares University, Tehran. 108 pp.
- 21- Verma R. N., Upadhyay R. C., Sing S. K., and Yadav M. C. 2002. Effect of organic nitrogen supplementation in *Pleurotus* species, *Mushroom Biology and Mushroom Products*, pp. 878-968.
- 22- Wood D.A, and Smith J.F. 1987. The cultivation of mushrooms. *Essays in agricultural and food microbiology*. In: Norris J.R, Pettipher GL (eds) Wiley, New York, pp. 309-343.
- 23- Yildiz A., Karakaplan M., and Aydin F. 1998. Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ExFr) Kum.Var.salignus (Pres.ExFr) Konr.Etmaub 1: cultivation, proximate composition, organic and mineral composition of carpophores, *Food Chemistry*, pp. 127-130.
- 24- Zadrazil F., and Kurtzman J.R. 1982. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. In *Tropical Mushrooms, Biology, Nature and Cultivation Methods*, ed. Chang, S.T. & Quimio, T.H. Hong Kong. Pp, 277–298.



## Optimization of King Oyster Mushroom (*Pleurotus eryngii*) Substrate Using Lignocellulosic Affordable Wastes

J. Janpoor<sup>1</sup> - M. Farsi<sup>2\*</sup> - F. Gholizadeh<sup>3</sup> - H. R. Pourianfar<sup>4</sup> - Sh. Rezaian<sup>5</sup>

Received: 29-01-2017

Accepted: 02-10-2017

**Introduction:** King oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) belongs to Basidiomycota division, Agaricomycetes class and Pleurotaceae family. This mushroom generally grows on wood wastes of Apiaceae family. The *Pleurotus eryngii* is found in pastures, meadows, gardens and seldom in grassy forest clearings and hilly areas. The *Pleurotus* of the Umbellifers occupy an area in the Northern hemisphere between the 30 and 50° N. These species are mainly found in the subtropical regions of the Mediterranean, Central Europe, Russia, Ukraine, Central Asia and Iran. The *P. eryngii sensulato* is the only taxon within the genus, which grows in association with plants. *P. eryngii* has distinguishable characteristics such as coherent texture, unique form, favorable taste and high durability. Mushroom cultivation represents the only current economically viable biotechnology process for the conversion of waste plant residues from forests and agriculture. The species of these genera show much diversity in their adaptation the varying agro-climatic condition which makes more cultivated species than other mushrooms. Special ability of *Pleurotus* family is growing in lignocellulosic plant or agricultural wastes without needing to prepared compost and casing soil. *Pleurotus* is an efficient lignin-degrading mushroom and can grow and yield well on different types of lignocellulosic materials. Type of substrates for mushroom growing depends on available plant or agricultural wastes. In Europe, wheat straw is used for mushroom growing; whereas in Asian South-East countries sawdust is more popular. Different materials for cultivating of *P. eryngii* have been suggested in different regions of the world; but a few studies have been done on suitability of various lignocellulosic affordable wastes for *P. eryngii* production in Iran. Therefore, the current study aims to evaluate effects of various locally available agro wastes on the growth characteristics of King oyster mushroom (*P. eryngii*).

**Materials and Methods:** Sawdust was utilized as the main substrate obtained from beech and populus trees (1:1). After being rinsed off in water and supplemented with calcium sulfate (3%) and calcium carbonate (3%), the substrate was filled in 20 × 40 cm polyethylene bags weighted to 800 grams. Sterilization was performed at 121 °C under pressure of 1.5 bars for two hours. A cultivated *P. eryngii* strain was then inoculated in the cooled material at a rate of 3% of dry/fresh substrate. The experiments were conducted based on a completely randomized design with five treatments and four replications, measuring mycelial growth (MG), number of fruiting bodies (NFB), mushroom weight, and biological efficiency (BE). AMG was measured in both test tubes and in petri plates in different pH levels (5.5, 7, and 8.5). Data were analyzed by JAMP 4.0, while graphs were drawn by Microsoft Excel 2007 and SigmaPlot 12.0 software.

**Results and Discussion:** The pH of 7 was found to be the best for obtaining maximal MG under all treatments after seven days. The highest amount of MG was obtained with substrate No. 1, while the least was observed in the culture of substrate No. 5. The substrates No. 1 and No. 5 generated the highest and lowest NFBs ( $p \leq 0.05$ ). However, there was no significant difference ( $p \geq 0.05$ ) in NFB between substrates No. 1 and 3 or between substrates No. 2, 4 and 5. The BE percentages obtained from experimental treatments No. 1, 2, 3, 4, and 5 were 64.81, 49.74, 59.22, 28.72, and 19.8, respectively. The comparison of means of different growth characteristics revealed that there was no significant difference between substrates No. 1 and 3 or between substrates No. 4 and 5 ( $p \geq 0.05$ ).

**Conclusion:** In this time, only two species (*Agaricus bisporus* and *P. ostreatus*) are producing in Iran, whereas at least 10 species of edible mushrooms are cultivating in the world. King oyster mushroom has low cost of production and distinguishable characteristics. Therefore, this mushroom can be use as alternative for

1, 4 and 5- Members of Academic Staff, Department of Industrial Fungi Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR)-Khorasan Razavi Province Branch, Mashhad, Iran, Respectively

2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(\*- Corresponding Author Email: Javadjanpoor@gmail.com)

3- Graduated of Agricultural Biotechnology, Azad University of Mashhad

button mushroom (*A. bisporus*). Many kind of agricultural wastes are in use for mushroom cultivation. Understanding the effects of substrate materials on mushroom production will be very valuable. The average number of fruits and biological efficiency of treatment No.1 showed significant difference with other treatments. Hence, the treatment No. 1 could be used for commercial production of King oyster mushrooms in Iran. Growth rate of *P. eryngii* was very diverse, in respect to the determinate values of the environmental factors. On the basis of the average growth rate of the strains, we could conclude what are the optimum ecological values of the species, though these conclusions did not always coincide with the optimum values of the certain strains. However, more research needs to be done to obtain regular and homogeneous supply of this mushroom.

**Keywords:** Biological efficiency, King oyster mushroom, Lignocellulose plant waste, Substrate optimization