نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، ص. ۱۰۹-۹۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 1, Spring 2017, P. 99-109
ISSN: 2008 - 4730

بررسی سرعت رشد میسلیوم و عملکرد جدایه‌های مختلف قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) در ایران

محمدجواد احمدی لاهیجانی[۱]- محمد فارسی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۱۰

چکیده

در بین قارچ‌های خوراکی، قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید، رایج‌ترین قارچی است که در سراسر جهان کشت می‌شود. به منظور بررسی سرعت رشد میسلیوم و عملکرد جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید در محیط کشت جامد، اسپاون و کمپوست، پژوهشی در پژوهشکده قارچ دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، در سال ۱۳۹۳ انجام شد. هجده جدایه قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید از لحاظ سرعت رشد میسلیوم روی محیط‌های کشت پوتیتو دکستروز آگار (PDA)، عصاره کمپوست (CYM) و کمپوست، کلاس رشدی و تیپ رشدی میسلیوم و عملکرد مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری بین جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای از نظر سرعت رشد میسلیوم در محیط‌های کشت و میزان عملکرد وجود دارد. در محیط کشت PDA، بیشترین سرعت رشد به میزان ۱/۹ میلی‌متر در روز و قطر نهایی پرگنه ۸/۱ سانتی‌متر، متعلق به جدایه ۲۲۰۰ بود. همچنین، این جدایه از لحاظ سرعت رشد میسلیوم در محیط CYM و پوشاندن سطح اسپاون و کمپوست نیز جزء جدایه‌های سریع بود و به همراه جدایه A15a از لحاظ عملکرد نیز از جمله جدایه‌های با عملکرد زیاد بودند (A15a و 2200 به ترتیب ۲۲/۱ و ۱۹/۴ کیلوگرم در متر مربع). همچنین، بر اساس نتایج به دست آمده، سرعت رشد میسلیوم با عملکرد همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت و جدایه‌های با سرعت رشد میسلیوم بیشتر عملکرد بیشتری تولید کردند. طبق نتایج به دست آمده، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین سرعت رشد میسلیوم در محیط کشت CYM و سرعت پوشاندن سطح کمپوست توسط میسلیوم مشاهده شد، که می‌تواند به عنوان محیط کشت مناسب برای مقایسه سرعت رشد میسلیوم در محیط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اسپاون، قطر پرگنه، تیپ رشدی میسلیوم، کلاس رشدی میسلیوم

مقدمه

جمعیت کره زمین پیوسته در حال افزایش است. پیش‌بینی می شود که در سال ۲۰۲۵ میلادی به ۸/۵ میلیارد نفر برسد (۶). با افزایش روزافزون جمعیت، یکی از بحرانی‌ترین مسائل کشور ما در آینده، مسئله تأمین پروتئین خواهد بود. امروزه با وجود استفاده از محصولات زراعی مهم از جمله گندم، برنج، ذرت و سیب‌زمینی برای تامین غذا، استفاده از محصولات غیر مرسوم در کشاورزی می‌تواند کمک زیادی به وضعیت اجتماعی و اقتصادی مردم کشور خصوصا کشاورزان بنماید (۹). محدودیت زمین‌های قابل کشت برای محصولات کشاورزی، نیازمند تولید هرچه بیشتر مواد غذایی از طریق منابع جایگزین مانند قارچ‌ها می‌باشد. تولید قارچ در سراسر دنیا در حال افزایش بوده و امروزه به مقادیر زیاد در تمامی طول سال برای استفاده در دسترس می‌باشد (۱۴). بر اساس گزارش فائو در سال ۲۰۱۲، تولید جهانی قارچ مجموعا ۷ میلیون و ۷۰۰ هزار تن بوده است که در این بین کشورهای چین، ایتالیا، آمریکا، هلند، لهستان، اسپانیا، فرانسه و ایران به ترتیب رتبه‌های اول تا هشتم را به خود اختصاص داده اند (۷).

قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*)، عمده‌ترین قارچی است که در سراسر دنیا کشت می‌شود و بعد از آن قارچ صدفی (*Pleurotus sp.*) و دیگر قارچ‌های خوراکی قرار دارند (۳۲). در جهت بهبود ژنتیکی درون نژادی، معمولا از تنوع تک اسپورها از نظر سرعت رشد، تیپ پرگنه[۳]، عملکرد و غیره استفاده می‌شود. در استفاده از تنوع تک اسپورها، فقط جدایه‌هایی که پرگنه آن‌ها به صورت رشته‌ای است

۱ و ۲- دانشجوی دکتری گروه زراعت و استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: mohfarsi@yahoo.com
DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.44274

3- *Colony*

و رشد سریعی دارند گزینش شده و برای تهیه اسپاون مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸). اسپاون، به رشد رویشی میسلیوم قارچ همراه با مواد غذایی زمینه‌ای آن، گفته می‌شود. هدف از رشد دادن میسیلیوم روی دانه غلات تشکیل سریع کلونی روی سوبسترای مورد نظر است. موفقیت در تولید قارچ عمدتا بستگی به کیفیت اسپاون دارد، که باید در شرایط استریل برای حذف آلودگی‌های سوبسترا آماده شود (۳۳).

در شرایط آزمایشگاهی، محیط‌های کشت جامد مناسب می‌باشد، زیرا در حالت وحشی قارچ‌ها معمولا از مواد جامد مثل چوب؛ پسماندهای بافت‌های گیاهی و حیوانی با خاک استفاده می‌کنند (۱۵). از آنجایی که سرعت رشد میسیلیوم در محیط‌های رشد جامد سریعتر می‌باشد، بنابراین، برای تولید اسپاون و محصول قارچ‌های خوراکی، محیط جامد به مایع برتری دارد. زمان کمتر مورد نیاز برای تکمیل چرخه زندگی و عملکرد بیشتر که منجر به تامین نیازهای بازار می شود از جمله مزایای آن به شمار می‌آید (۲۸). ترکیب سوبسترا، ژنوتیپ جدایه و طول دوره انکوباسیون به عنوان متغیرهای مهم در تولید سودمند و موثر قارچ روی محیط‌های کشت مصنوعی عنوان شده‌اند (۱۷). گردان و فارسی، (۱۲) در پژوهشی که به منظور اصلاح قارچ خوراکی دکمه‌ای از طریق گزینش جدایه‌های خالص انجام شد؛ دریافتند که شکل پرگنه و نوع رشد میسیلیوم اهمیت زیادی در گزینش جدایه‌ها از لحاظ سرعت رشد میسیلیوم و عملکرد دارد. آن‌ها ارتباط نزدیکی بین شکل رشته‌ای میسیلیوم و سرعت رشد آن روی محیط‌های کشت جامد و بستر کشت کمپوست مشاهده کردند و اظهار داشتند که جدایه‌های با سرعت رشد سریع‌تر، عملکرد بیشتری نیز تولید می‌کنند. رشد رشته‌ای قارچ‌ها بوسیله اندازه‌گیری رشد شعاعی هیف‌های آن‌ها با گذشت زمان روی محیط کشت‌های جامد تخمین زده می‌شود. از آنجایی که سرعت رشد میسیلیوم در محیط های رشد جامد سریعتر می‌باشد، بنابراین، برای تولید اسپاون و محصول قارچ‌های خوراکی، محیط جامد به مایع برتری دارد.

در پژوهشی مونیتی و همکاران (۲۳) اثر متقابل بین نژادهای *Lentinula edodes* و محیط‌های کشت مختلف را با استفاده از بررسی چشمی دیجیتال به وسیله مشخص کردن حرکت و قدرت میسیلیوم در شرایط دقیق بررسی کردند و دریافتند که سرعت رشد میسیلیوم نژادهای شی‌تاکه در محیط‌های کشت غنی شده کمتر بوده در حالی که، قدرت رشد آن‌ها در این محیط بیشتر بوده است. در پژوهشی دیگری که برای تعیین سرعت رشد میسیلیوم قارچ شی‌تاکه روی محیط‌های کشت مختلف انجام شد، سرعت رشد میسیلیوم روی یکی از محیط‌های کشت دست ساز با سرعت ۸/۵۴ میلی‌متر در روز بیشتر از بقیه بود (۲۹). هاس‌گاوا و همکاران (۱۶) با بررسی اثر دما بر رشد قارچ شی‌تاکه به این نتیجه رسیدند که دماهای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد میسیلیوم را در محیط کشت مایع افزایش می‌دهد. در مطالعه‌ای که روی سرعت رشد میسیلیوم شش گونه قارچ *Morchella* در محیط‌های کشت مختلف صورت گرفت مشخص شد که محیط‌های کشت پوتیتو دکستروز آگار (PDA) و مالت آگار (MEA) برای رشد میسیلیوم‌ها مناسب‌ترند (۱۸). به‌هرحال، اطلاعات کمی در مورد تفاوت سرعت رشد میسیلیوم و عملکرد جدایه‌های مختلف قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید در محیط‌های کشت مختلف وجود دارد. بنابراین، با توجه به مسائل ذکر شده، این پژوهش به منظور مقایسه سرعت رشد میسیلیوم جدایه‌های مختلف قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید (*A bisporus*) و بررسی عملکرد و انتخاب بهترین محیط رشد برای رشد میسیلیوم و کوتاه کردن دوره رشد صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

محل انجام و جدایه‌ها

تعدادی جدایه قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید از کلکسیون پژوهشکده قارچ دانشکده کشاورزی انتخاب و طی یک آزمون اولیه بر اساس سرعت رشد میسلیوم بر محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار (PDA)، ۱۸ جدایه از جمله 512، 737، 2200، 2200D، A15، A15a، Ca14، Delta، F60، F60D، IM005، M7219، MagnumA، MagnumD، Soheil، U1 و U3 که همگی از نظر ترکیب بندی هسته هتروکاریون بودند، انتخاب شدند. به منظور حفظ تازگی، از نژادهای منتخب زیرکشت[1] در محیط کشت PDA تهیه شد. به منظور مقایسه سرعت رشد میسیلیوم و عملکرد جدایه‌ها، این آزمایش در سه مرحله و در محیط‌های کشت جامد PDA و CYM، دانه گندم (اسپاون) و کمپوست، در پژوهشکده قارچ دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. مرحله اول به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد که عامل اول ۱۸ جدایه قارچ و عامل دوم شامل دو محیط کشت PDA و CYM بود. مراحل دوم و سوم به صورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. به دلیل حساسیت بالای کار به آلودگی‌های محیطی، کلیه آزمایش‌ها در زیر هود انجام پذیرفت. تمامی ابزار و وسایل مورد نیاز از قبیل اسکالپل به مدت ۲ ساعت در آون با دمای ۱۵۰درجه سانتیگراد، سترون شد.

بررسی سرعت رشد میسیلیوم در محیط کشت جامد

تهیه محیط کشت عصاره کمپوست (CYM) به روش فارسی و همکاران (۱۰) انجام شد. برای تهیه محیط کشت PDA مقدار ۳۹ گرم از پودر تجاری آن (Potato Dextrose Agar, Merck) درون یک لیتر آب مقطر روی هیتر مگنت‌دار کاملا حل شده و سپس به

1- *Sub culture*

مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر اتوکلاو شد. پس از اینکه دمای محیط غذایی به ۶۰ درجه سانتی گرادرسی، مقدار ۲۰ سی‌سی از محلول اتوکلاو شده درون هر پتری دیش ریخته شد. قسمتی از میسلیوم خالص جدایه مورد نظر به اندازه ۱×۱ سانتی‌متر درون پتری دیش روی محیط کشت جامد و در وسط پتری‌دیش‌های با قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر قرار گرفت، سپس، درب پتری دیش با پارافیلم بسته شد و به مدت سه هفته در دمای ۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور نگهداری شدند. پس از گذشت دو روز و پس از ظهور اولین علائم رشد میسلیوم، اندازه‌گیری روزانه قطر میسلیوم به مدت سه هفته به صورت اندازه‌گیری دو قطر عمود بر هم انجام شد (۱۱). سرعت رشد شعاعی میسلیوم طی سه هفته مورد بررسی قرار گرفت و در انتهای زمان مورد نظر، جدایه‌ها بر اساس مدت زمان لازم برای پوشاندن سطح محیط کشت و همچنین، کلاس و تیپ رشدی (پنبه‌ای، کرکی، رشته‌ای و هوایی) دسته‌بندی شدند (۱۳).

مقایسه سرعت رشد میسلیوم جدایه‌ها روی محیط کشت اسپاون

تهیه اسپاون از جدایه‌ها به روش فارسی و گردان، (۸) صورت گرفت. مقدار ۲۵۰ گرم از گندم آماده شده را درون کیسه‌های پلاستیکی سلوفان قابل اتوکلاو ریخته و باقیمانده پلاستیک خالی گذاشته شد و درب پلاستیک با پنبه پوشانده شد. سپس پلاستیک‌ها جهت استریل شدن به اتوکلاو منتقل شد. اتوکلاو با درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۱/۵ ساعت، تنظیم شد و پس از استریل کردن گندم‌ها، پلاستیک‌ها در محیط دور از آلودگی، به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا سرد شوند. قسمتی از پرگنه جدایه مورد نظر به قطر تقریبی یک سانتی‌متر به داخل هر کیسه منتقل شد و درب کیسه‌ها با پنبه بسته شد و به مدت ۱۵ روز در محیط تاریک و دمای ۱±۲۳ نگهداری شدند. میزان رشد میسلیوم‌ها به صورت هفتگی بررسی و ثبت شد و پس از ۱۵ روز درصدی از دانه‌های گندم که توسط میسلیوم پوشانده شده بود، اندازه‌گیری شد (۳۰).

مقایسه سرعت رشد میسلیوم‌ها در محیط کشت کمپوست

جهت انجام آزمون محصول‌دهی و عملکرد، ابتدا بستر کشت تهیه و در اتاق پاستوریزاسیون ضدعفونی شد (۹). زمانی که درجه حرارت کمپوست حدود ۲۵ درجه سانتیگراد بود، عمل مایه‌زنی با اسپاون جدایه‌های مختلف قارچ دکمه‌ای تهیه شده از مرحله قبل (مرحله تهیه اسپاون) به میزان یک درصد وزن تر کمپوست انجام شد. عمل کشت، درون کیسه‌های پلاستیکی شفاف انجام شد، طوری که در هر کیسه، ۵ کیلوگرم کمپوست ریخته شد. سپس، جهت سهولت در انجام تهویه، سوراخ‌هایی در ته و کناره‌های کیسه‌ها ایجاد شد و سر کیسه‌ها بسته شد تا رطوبت کمپوست هدر نرود. از هر جدایه ۳ کیسه ۵ کیلوگرمی تهیه شد و سپس، کیسه‌ها به اتاق پرورش، که قبلاً با بخار ضدعفونی شده بود، منتقل شدند و به مدت ۱۵ روز در دمای ثابت ۱±۲۳ درجه-سانتی‌گراد و رطوبت ۹۰ درصد و تاریک نگهداری شدند. پس از حدود ۱۵ روز از زمان مایه‌زنی کمپوست، زمانی که حدود ۷۰ درصد بستر کشت از میسلیوم‌های قارچ پوشیده شد، سطح بستر کشت را با خاک پیت، پوشش داده شد. خاک پوششی قبل از استفاده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت پاستوریزه شد و به ارتفاع ۵ سانتیمتر روی سطح بستر ریخته شد. به منظور تأمین رطوبت میسلیوم‌ها، نیاز بود که خاک پوششی کاملاً آبیاری شود. آبیاری به نحوی انجام گرفت که خاک از آب اشباع شود. سپس، کیسه‌ها مجددا به مدت ۷ روز در شرایط دمایی و رطوبتی قبل نگهداری شدند. سرعت رشد میسلیوم جدایه‌ها روی کمپوست و خاک پوششی با محاسبه درصد پوشاندن سطح بر حسب روز محاسبه شد.

برداشت قارچ و آزمون محصول‌دهی

پس از رشد میسلیوم‌ها در سطح خاک پوششی، با تهویه هوا و کاهش تدریجی دما، درجه حرارت به ۱۶ درجه سانتیگراد رسانده شد. این کاهش دما از عوامل محرک محیطی در تشکیل اندام باردهی است. پس از گذشت ۷ روز از زمان اعمال شوک سرمایی، اولین اندام های ته سنجاقی[1] در برخی از جدایه‌ها مشاهده شد. طی چند روز اولین اندام‌های محصول در برخی جدایه‌ها تشکیل شد و برداشت قارچ آغاز گردید. پس از آن به مدت ۳۵ روز، برداشت قارچ با دست به صورت روزانه انجام گرفت. زمان برداشت، قبل از پاره شدن غشاء زیر کلاهک بود. آبیاری به صورت یک روز در میان جهت حفظ رطوبت خاک پوششی انجام می گرفت. دما و رطوبت محیط طی این مرحله به ترتیب ۱±۱۸ درجه سانتی‌گراد و ۸۵ درصد حفظ شد. عملکرد هر یک از جدایه‌ها بصورت روزانه با قطع اندام هوایی و توزین توسط ترازوی دقیق دیجیتال ثبت شد و عملکرد کل پس از ۳۵ روز برداشت محاسبه شد. محاسبات آماری و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد توسط نرم افزار SAS v9.1 انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

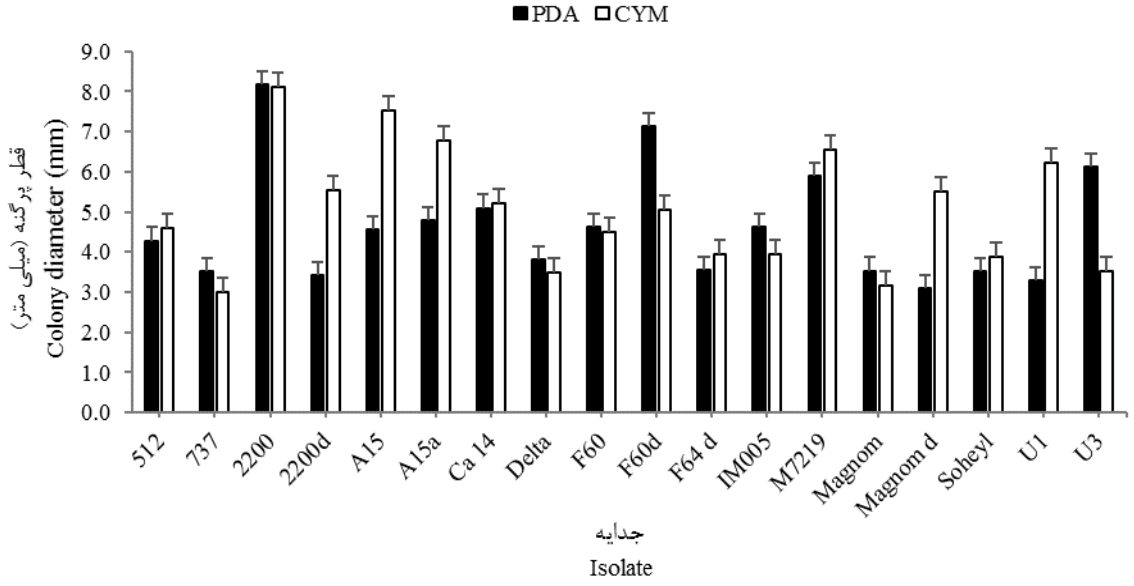
نتایج و بحث

سرعت رشد (قطر پرگنه) در محیط کشت PDA و CYM

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین جدایه‌های مختلف قارچ

1- *Pin head*

خوراکی دکمه‌ای تفاوت معنی‌داری ($P<0.01$) از نظر سرعت رشد میسلیوم روی محیط کشت جامد وجود داشت (جدول ۱). در بین جدایه‌های مورد بررسی، جدایه 2200 با سرعت رشد میسلیوم ۱/۹ میلی‌متر در روز، بیشترین سرعت رشد میسلیوم در محیط کشت PDA را به خود اختصاص داد، که تفاوت معنی‌داری با سایر جدایه‌ها داشت و به دنبال آن جدایه‌های F60D، U3، M7219، Ca14 و A15 قرار گرفتند (شکل ۱). جدایه MagnumD با سرعت رشد میسلیوم ۰/۷ میلی‌متر در روز و قطر نهایی پرگنه ۳/۱ سانتی‌متر پس از ۲۱ روز، کندترین سرعت رشد میسلیوم را به خود اختصاص داد. در بین جدایه‌های مورد بررسی در محیط کشت CYM، جدایه 2200 با قطر پرگنه ۸/۱ سانتی‌متر پس از دو هفته و میانگین سرعت رشد میسلیوم ۱/۹ میلی‌متر در روز، بیشترین سرعت رشد میسلیوم را به خود اختصاص داد که تفاوت معنی‌داری با سایر جدایه‌ها داشت و به دنبال آن جدایه‌های A15A، M7219 و F64D قرار گرفتند. در این بین، جدایه 737 با میانگین سرعت رشد ۰/۷میلی‌متر در روز و قطر نهایی پرگنه ۳ سانتی‌متر پس از ۲۱ روز، کندترین سرعت رشد میسلیوم را نشان داد (شکل ۲).



شکل ۱- میانگین قطر پرگنه جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای در محیط کشت PDA و CYM پس از ۲۱ روز

Figure 1- Means of colony diameter of white button mushroom isolates on PDA and CYM media after 21 days

در پژوهشی که باستید و همکاران (۲) روی بیست جدایه از قارچ دکمه‌ای انجام دادند ملاحظه نمودند که جدایه‌ها هم از نظر سرعت رشد شعاعی و هم سرعت تجمع ماده خشک در سطح احتمال یک درصد متفاوت بودند. در پژوهش حاضر نیز تفاوت معنی‌داری بین جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای از نظر سرعت رشد میسلیوم در محیط‌های کشت مختلف مشاهده شد. با توجه به نتایج، محیط کشت CYM، با توجه به اینکه از عصاره کمپوست؛ که محیط اصلی کشت قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید است، تهیه می‌شود، محیط کشت مناسب‌تری برای تکثیر میسلیوم خالص می‌باشد. نتایج همبستگی نیز موید وجود رابطه مثبت و معنی‌دار بین سرعت رشد میسلیوم روی محیط کشت CYM و کمپوست می‌باشد ($r=0.61^{*}$). سیولسکی و همکاران (۳۵) در مقایسه نژادهای مختلف قارچ *Hericium erinaceus* مشاهده کردند که تفاوت معنی‌داری بین سرعت رشد جدایه‌ها وجود داشت. در این پژوهش مشاهده شد که جدایه D9 سریع‌ترین سرعت رشد میسلیوم را دارا بود، درحالی‌که، جدایه D5 کندترین و H1 سرعت رشد میسلیوم بینابین داشت. کالمیس و کالیونکو، (۱۸) محیط‌های کشت PDA و MEA را محیط‌های مناسبی برای رشد میسلیوم قارچ *Morchella spp* دانستند. رشد سریع میسلیوم در محیط کشت یک ویژگی مطلوب در کشت قارچ محسوب می‌شود، زیرا خطر رقابت و آلودگی سایر میکروارگانیسم‌های رقیب را کاهش می‌دهد (۲۴ و ۵).

تیپ رشدی پرگنه

طبق نتایج این پژوهش، تمامی جدایه‌های مورد بررسی دارای میسلیوم با الگوی رشد رشته‌ای بودند. پرگنه یا کلنی، تودهٔ میسلیومی رشد یافته است و می‌توان آن را در محیط کشت غذایی به اشکال

مختلف رشته‌ای، پنبه‌ای، نمدی و بدون میسلیوم هوایی مشاهده نمود که به جز رشته‌ای، بقیه به عنوان رشد ناهنجار در نظر گرفته می‌شوند (۲۱). در بین جدایه‌های مورد بررسی، همگی دارای رشد رشته‌ای میسلیوم و هنجار بودند و ناهنجاری رشدی مشاهده نشد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس قطر پرگنه جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای روی محیط کشت جامد
Table 1- Analysis of variance of colony diameter of white button mushroom isolates on solid media

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات قطر پرگنه Mean square of colony diameter
جدایه Isolate	17	10.64**
محیط کشت Medium	1	6.15**
جدایه× محیط کشت Media×Isolate	17	1.95**
خطا Error	72	2.02
ضریب تغییرات CV		3.17

**، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد
**, Significant at α = 0.01

میسلیوم‌ها ضمن رشد انتهایی، انشعابات متعدد نیز تولید می‌کنند، که مطلوب‌ترین شکل رشد میسلیوم‌ها به صورت رشته‌ای و دارای میسلیوم هوایی است، که این موضوع در عملکرد قارچ حائز اهمیت است (۲۲). رشد رشته‌ای قارچها بوسیله اندازه‌گیری رشد شعاعی هیف‌های آن‌ها با گذشت زمان روی محیط کشت‌های جامد تخمین زده می‌شود. سرعت رشد میسیلیوم در شرایط متفاوت محیطی، متفاوت است (۳). بنابراین، بررسی شرایط رشد مناسب برای رشد رشته‌ای قارچ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱).

کلاس رشدی پرگنه

جدایه‌ها از لحاظ کلاس رشدی در محیط کشت جامد در دو گروه دسته‌بندی شدند. جدایه‌های با سرعت رشد ۷/۱ میلی‌متر و بیشتر در هفته در گروه رشدی سریع و کمتر از ۷ میلی‌متر در هفته در گروه رشدی کند قرار گرفتند (جدول ۴-۳). از بین جدایه‌های مورد بررسی در محیط کشت PDA، ۷۸ درصد جدایه‌ها در کلاس رشدی کند و ۲۲ درصد در کلاس رشدی سریع قرار گرفتند. جدایه‌های 2200، F60d، U3 و M7219 از جمله جدایه‌های با کلاس رشدی سریع بودند که نتایج مقایسه سرعت رشد پرگنه نیز موید این مطلب است (جدول ۲). در محیط کشت CYM نیز تنوع زیادی در زمینه کلاس رشدی میسیلیوم‌ها مشاهده شد. از بین جدایه‌های مورد بررسی، ۷۲ درصد جدایه‌ها در کلاس رشدی کند و ۲۸ درصد در کلاس رشدی میانه سریع قرار گرفتند. جدایه‌های 2200، F60، A15A، M7219 و F64D از جمله جدایه‌های با کلاس رشدی سریع بودند (جدول ۲). در پژوهش گردان و همکاران، (۱۳) هیچیک از جدایه‌های هتروکارون در گروه رشدی کند و بسیار کند قرار نگرفتند، درحالی‌که، در پژوهش کریگان و همکاران، (۲۰) مشاهده شده است که برخی جدایه‌ها در گروه رشدی کند و حتی بسیار کند قرار گرفتند.

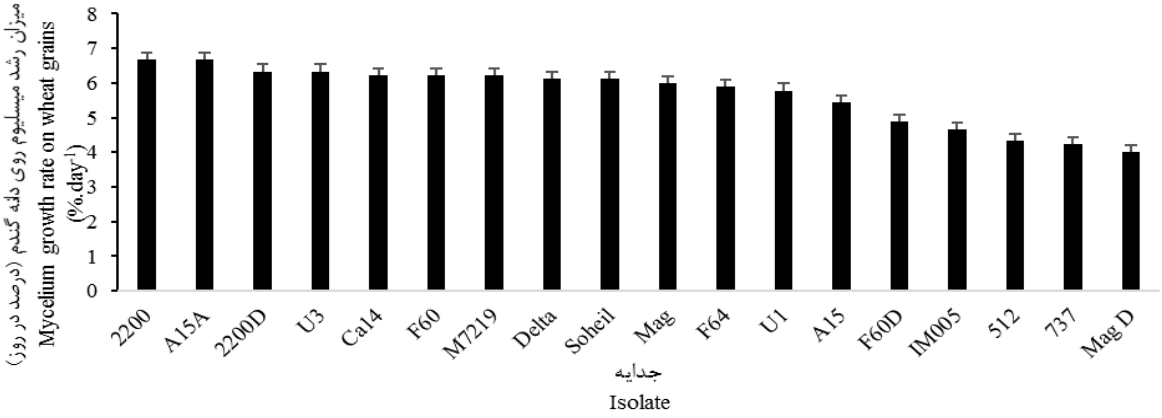
سرعت رشد میسلیوم روی دانه گندم (اسپاون)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین جدایه‌های مختلف قارچ دکمه‌ای از نظر سرعت رشد میسیلیوم روی محیط کشت دانه گندم یا اسپاون تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴)، به طوری که، جدایه 2200 با سرعت رشد میسیلیوم ۶/۶ درصد در روز و پوشاندن ۱۰۰ درصد سطح اسپاون پس از گذشت ۱۵ روز از زمان تلقیح، بیشترین سرعت رشد میسیلیوم را نشان داد و به دنبال آن جدایه‌های A15A و U3 قرار گرفتند (شکل ۳). بسیاری از جدایه‌ها پس از ۱۵ روز سطح دانه‌های گندم را کاملا پوشاندند، درحالی‌که، برخی از جدایه‌ها پس از گذشت ۲۰ روز نیز موفق به پر کردن کامل سطح محیط کشت نشدند (جدول ۳).

جدول ۲- دسته‌بندی جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای بر اساس کلاس رشد و سرعت رشد میسیلیوم در محیط کشت PDA و CYM

Table 2- Classification of white button mushroom isolates based on mycelium growth rate and class of growth on PDA and CYM media

محیط کشت CYM			محیط کشت PDA		
محدوده گروه رشدی Rate of growth (mm/week)	کلاس رشدی Growth class	تعداد جدایه‌ها و درصد از کل Number of Isolates and percentage	محدوده گروه رشدی Rate of growth (mm/week)	کلاس رشدی Growth class	تعداد جدایه‌ها و درصد از کل Number of Isolates and percentage
کمتر از ۷ میلی‌متر Less tan 7 mm	کند Slow	72.13	کمتر از ۷ میلی‌متر Less tan 7 mm	کند Slow	78.4
بیشتر از ۷میلی‌متر More tan 7 mm	سریع Fast	28.5	بیشتر از ۷میلی‌متر More tan 7 mm	سریع Fast	22.4



شکل ۳ - میانگین درصد روزانه سرعت رشد میسیلیوم جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای در اسپاون

Figure 3- Means of daily percentage mycelium growth rate of white button mushroom isolates in spawn

در پژوهشی که توسط فارسی و گردان (۸) به منظور تهیه و بررسی تنوع بازیدیوسپورها در محیط کشت جامد، اسپاون و آزمون محصول‌دهی صورت گرفت، مشخص شد که تنوع قابل ملاحظه‌ای از نظر شکل پرگنه و سرعت رشد نژادهای مختلف قارچ دکمه‌ای وجود دارد و تعدادی از جدایه‌های تک اسپوری دارای هیف‌هایی به شکل رشته‌ای و از سرعت رشد بالاتری نسبت به بقیه برخوردار بودند. در این پژوهش، آن دسته از جدایه‌هایی که در محیط کشت جامد رشد سریعی داشتند در محیط اسپاون گندم نیز از رشد سریعی برخوردار بودند، زودتر از بقیه که دارای رشد کند، پنبه‌ای یا کرکی بودند، محیط اسپاون را پر کردند. در پژوهش حاضر نیز جدایه‌هایی که رشد سریع تری در محیط کشت جامد داشتند، در محیط اسپاون نیز رشد سریع تری داشتند و با سرعت بیشتری سطح دانه‌های گندم را پوشاندند. نتایج همبستگی بین سرعت رشد میسیلیوم در محیط کشت جامد و اسپاون نیز موید این مطلب می‌باشد (جدول ۶).

سرعت رشد میسلیوم روی کمپوست و خاک پوششی

میزان رشد میسیلیوم هر یک از جدایه‌های مورد بررسی، بعد از گذشت ۱۵ روز، در محیط کشت کمپوست و نگهداری در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد (جدول ۵). بین جدایه‌های مختلف قارچ خوراکی دکمه‌ای تفاوت معنی‌داری از نظر سرعت رشد میسلیوم روی محیط کشت کمپوست مشاهده شد (جدول ۴). جدایه A15 با پوشاندن ۵۰ درصد سطح کمپوست طی ۵ روز اول و ۹۰ درصد طی ۱۵ روز، بیشترین سرعت رشد میسیلیوم را به خود اختصاص داد و به دنبال آن جدایه‌های F64D، 2200 و A15A قرار گرفتند که تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۵). یکی از روش‌های بررسی کیفیت کمپوست، سرعت رشد میسیلیوم در آن است. سرعت رشد نرمال

میسیلیوم در کمپوست ۸-۶ میلی‌متر در روز است، که گاهی سرعت ۱۲-۱۰ میلی‌متر در روز نیز مشاهده می‌شود (۹).

جدول ۳- مقایسه سرعت رشد میسلیوم نژادهای قارچ دکمه‌ای مورد مطالعه روی دانه گندم (اسپاون)

Table 3- Mycelium growth rate of white button mushroom isolates on spawn

جدایه Isolate	روز پس از تلقیح Day after inoculation		
	20	15	10
	%		
2200	100	95	10
A15A	100	70	20
U3	95	85	25
2200D	95	55	10
Ca14	95	95	50
F60	95	85	25
M7219	95	70	15
Soheil	90	75	10
Delta	90	55	5
Magnum	90	45	15
F64D	90	80	30
U1	85	70	5
A15	80	55	10
F60D	75	60	5
IM005	70	55	5
512	65	25	5
737	65	45	20
MagnumD	65	30	5
LSD (5%)	12.75	12.13	5.19

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس سرعت رشد میسلیوم جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای روی محیط کشت کمپوست، خاک پوششی و اسپاون

Table 4- Anova of mycelium growth rate of white button mushroom isolates on compost, casing soil and spawn

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square								
		روز پس از تلقیح Day after inoculation								
		اسپاون Spawn			خاک پوششی Casing soil			کمپوست Compost		
		20	15	10	7	5	3	15	10	5
جدایه Isolate		** 503.40	** 1201.22	** 348.09	** 1116.66	** 568.11	** 80.85	135.29	204.05	** 382.57
خطا Error		64.35	56.01	13.77	26.38	13.42	8.79	6.30	35.64	75.92
ضریب تغییرات CV		9.42	11.66	23.66	10.38	19.88	27.06	7.99	10.72	26.73

**، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

**, Significant at P<0.01

بررسی رابطه همبستگی بین سرعت رشد میسلیوم روی محیط های کشت مختلف نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین سرعت رشد میسلیوم روی محیط کشت عصاره کمپوست (CYM) و کمپوست وجود دارد (جدول ۶). بنابراین، بررسی سرعت رشد جدایه های مختلف قارچ خوراکی دکمه‌ای روی محیط کشت عصاره کمپوست بصورت درون آزمایشگاهی[1] می‌تواند شاخص خوبی از سرعت رشد میسلیوم روی محیط اصلی کشت؛ یعنی کمپوست، باشد. گردان و فارسی، (۱۲) در پژوهشی که به منظور گزینش جدایه‌های

1- *In vitro*

خالص قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید انجام دادند مشاهده کردند که جدایه‌هایی که در محیط کشت جامد و بذر، رشد سریعی داشتند، از گسترش سریعی در سطح کمپوست نیز برخوردار بودند. رشد میسیلیوم‌ها شدیدا تحت تاثیر شرایط آزمایشگاهی از جمله دما، pH و غیره قرار می‌گیرد (۱۹).

جدول ۵- مقایسه میانگین سرعت رشد میسیلیوم جدایه‌های مختلف قارچ دکمه‌ای در محیط کشت کمپوست و خاک پوششی

Table 5- Mean comparison of mycelium growth rate of white button mushroom isolates on compost and casing soil

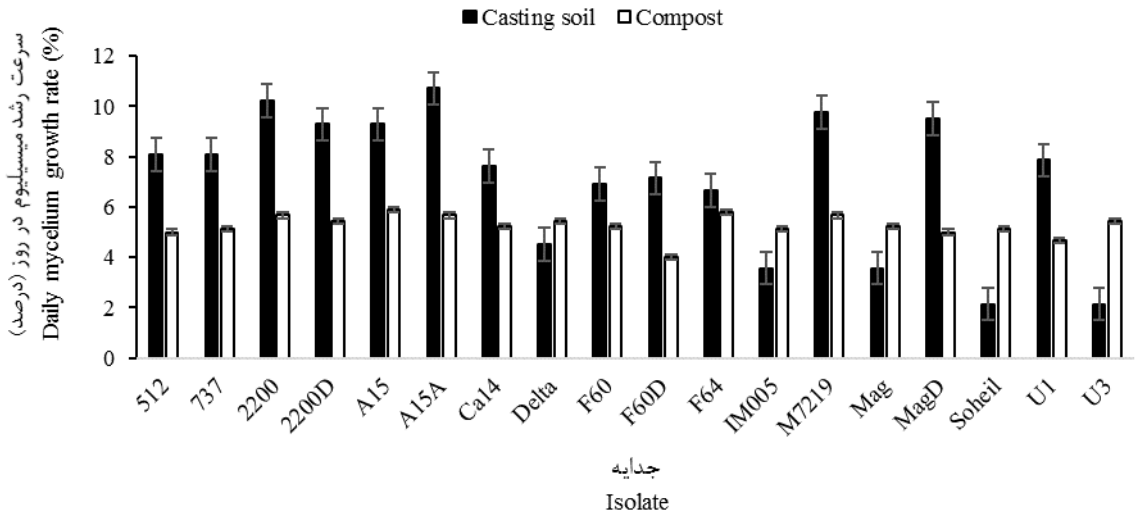
جدایه Isolate	خاک پوششی Casing soil			کمپوست Compost		
	روز پس از تلقیح Day after inoculation					
	7	5	3	15	10	5
	%			%		
A15	65	20	5	90	60	50
F64	65	25	10	85	55	25
2200	70	15	5	85	75	50
A15A	75	50	20	85	50	25
M7219	70	35	10	80	40	25
2200D	55	30	10	80	50	25
Delta	30	5	0	80	50	25
U3	50	15	5	80	55	25
Ca14	55	5	0	80	65	30
F60	65	15	5	80	50	25
Magnum	55	45	15	80	50	25
737	55	10	5	75	50	25
IM005	25	10	5	75	60	50
Soheil	55	10	5	75	60	25
512	15	5	0	75	70	50
MagnumD	50	10	5	75	45	25
U1	25	10	5	70	60	50
F60D	45	15	5	60	50	30
LSD (5%)	8.56	5.46	4.04	7.39	6.08	4.31

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین جدایه های مختلف قارچ دکمه‌ای از نظر سرعت رشد روی خاک پوششی و پوشاندن سطح خاک وجود دارد (جدول ۵)، به طوری‌که، جدایه A15a با میزان رشد ۱۰/۷ درصد در روز و پوشاندن ۵۰ درصد سطح خاک پس از ۵ روز و ۷۵ درصد پس از ۷ روز بیشترین سرعت رشد را به خود اختصاص داد که تفاوت معنی داری با سایر جدایه‌ها داشت، درحالی‌که، جدایه U1 با سرعت رشد ۲/۶ درصد در روز کندترین سرعت رشد را داشت (جدول ۵). رشد میسیلیوم اولین مرحله‌ای است که شرایط مناسب برای تولید عملکرد و محصول‌دهی را فراهم می-کند. بنابراین، رشد سریع و قابل ملاحظه میسیلیوم‌ها یک فاکتور ضروری در تولید قارچ محسوب می‌شود (۲۷).

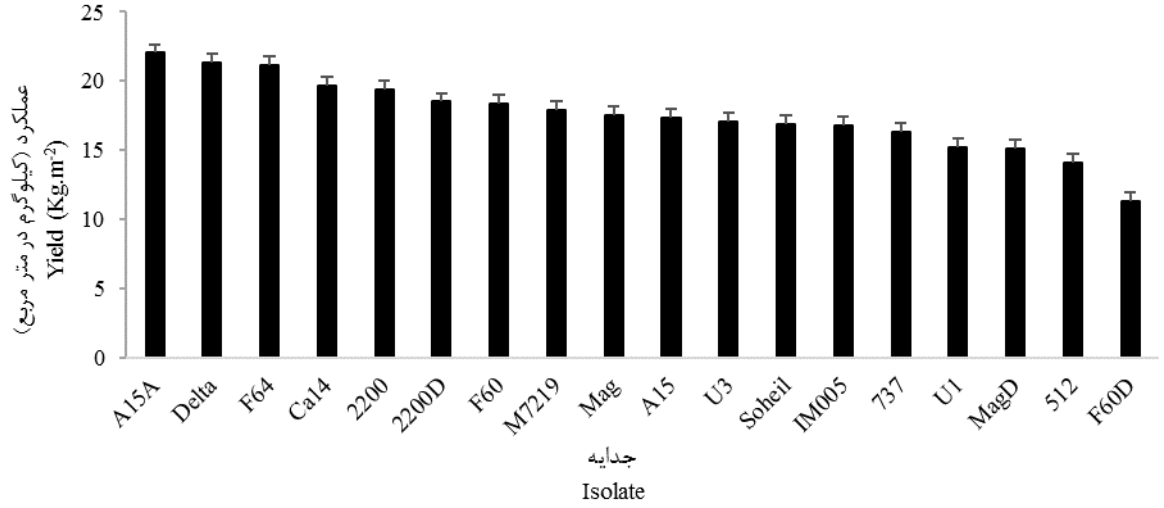
عملکرد

میانگین عملکرد کل در شکل ۵ نشان داده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای از نظر عملکرد تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P<0.01$). میزان تولید اندام باردهی در برخی کیسه‌ها زیاد و حدود ۱۵۰۰ گرم در برخی کم و در حدود ۸۰۰ گرم بود. جدایه A15a با عملکرد ۲۲/۱ کیلوگرم در متر مربع بیشترین عملکرد را در مجموع ۳۵ روز برداشت از خود نشان داد، درحالی‌که، جدایه F60D با مجموع عملکرد معادل ۱۱/۳ کیلوگرم در مترمربع، کمترین عملکرد را به خود اختصاص داد (شکل ۵). بر اساس نتایج همبستگی بین عملکرد و اجزای عملکرد، همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری بین عملکرد و تعداد قارچ در متر مربع ($r=۰/۹۴^{**}$) مشاهده شد. همچنین، بر اساس کلاس‌بندی صورت گرفته، بیشترین

تعداد قارچ‌ها در محدوده کلاس ۴۰-۲۰ گرم و قطر کلاهک ۴-۲ سانتی‌متر دسته‌بندی شدند.



شکل ٤- میزان رشد میسلیوم بر حسب روز جدایه‌های قارچ دکمه‌ای مورد مطالعه روی کمپوست و خاک پوششی
Figure 4- Daily mycelium growth rate of white button mushroom isolates on compost and casing soil



شکل ٥ - میانگین عملکرد کل جدایه‌های مختلف قارچ خوراکی دکمه‌ای
Table 5- Total yield of white button mushroom isolates

سایر پژوهشگران نیز وجود تفاوت معنی‌دار در بین جدایه‌ها از نظر رشد میسلیوم، زودرسی، کیفیت محصول و عملکرد روی بسترهای کشت متفاوت را گزارش کرده‌اند (۴ و ۳۱). در پژوهش حاضر، تمامی جدایه‌ها دارای میسلیوم با رشد رشته‌ای بودند و همبستگی مثبتی بین سرعت رشد میسلیوم روی محیط کشت CYM و عملکرد مشاهده شد (r=۰/۶۷). در پژوهش گردان و فارسی (۸) نیز رابطه مثبت و معنی‌داری بین شکل رشته‌ای پرگنه و عملکرد وجود داشت. بدین صورت که جدایه‌هایی که شکل پرگنه رشته‌ای داشتند و در محیط کشت جامد رشد سریعی داشتند، عملکرد بیشتری نیز تولید کردند. کمپوست حاصلخیز، اسپاون مرغوب و کنترل خوب شرایط محیطی

سه عامل مهم دخیل در میزان عملکرد قارچ دکمه‌ای سفید می‌باشند. بهینه‌سازی هر یک از این عوامل می‌تواند میزان عملکرد را افزایش دهد. در امر پرورش و تولید قارچ های خوراکی موضوع قابل توجهی که مد نظر اکثر پرورش دهنده های قارچ های خوراکی است، بهبود عملکرد محصول و رشد قارچ های خوراکی است. بهبود عملکرد محصول و رشد قارچ های خوراکی به عوامل مختلفی از جمله کیفیت سوبسترای مصرفی ، مقدار اسپاون مصرفی، شرایط محیطی رشد قارچ خوراکی، گونه و جدایه قارچ خوراکی کشت شده، نحوه آماده سازی بستر کشت و استفاده از مکمل های غذایی ارتباط دارد (۳۴).

جدول ٦- رابطه همبستگی بین سرعت رشد میسیلیوم قارچ خوراکی دکمه ای روی محیط کشت‌های PDA، CYM، اسپاون و کمپوست و خاک پوششی

Table 6- Correlation coefficient relationship of white button mushroom mycelium growth rate on PDA, CYM, spawn, compost and casing soil media

Casing soil	PDA	CYM	Spawn	compost	Casing soil
CYM	0.45				
Spawn	0.28	0.75**			
Compost	0.27	0.61**	0.49*		
Casing soil	0.34	0.75**	0.68**	0.52*	
Yield	0.085	0.67**	0.67**	0.80**	0.48*

* و**، به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and ** significant at 5 and 1 percent, respectively.

جمع‌بندی

در مجموع، با توجه به نتایج این پژوهش مشخص شد تفاوت بسیار معنی‌داری بین جدایه‌های قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید از نظر سرعت رشد میسیلیوم روی محیط کشت جامد و عملکرد وجود دارد. جدایه‌های که سرعت رشد میسیلیوم بیشتری روی محیط کشت جامد دارند، از عملکرد بیشتری نیز برخوردارند که نتایج همبستگی نیز نشان دهنده این مطلب می‌باشد. همچنین، همبستگی مثبت و معنی‌دار بین سرعت رشد میسیلیوم در محیط کشت عصاره کمپوست (CYM) و کمپوست نشان‌دهنده کارایی این محیط کشت در تشخیص جدایه های با سرعت رشد زیاد در محیط کمپوست و عملکرد بالا در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. با توجه به این موضوع، شناخت این تفاوت‌ها با هدف تولید هرچه بیشتر و سریع‌تر و کوتاه کردن فرایند تولید قارچ خوراکی دکمه‌ای با توجه به اینکه سهم عمده بازار فروش را به خود اختصاص داده است، می‌تواند سودمند باشد.

سپاس‌گزاری

از شرکت شبکه رشد فناوری (شرف) به دلیل حمایت‌های صورت گرفته و دانشگاه فردوسی مشهد به علت فراهم آوردن امکان انجام این پژوهش کمال تشکر را دارد.

منابع

1- Aneja K.R. 2001. Experiment in microbiology plant pathology tissue culture and mushroom production technology. New Age International Limited.
2- Bastide P., Anton Y., Sonnenberg S.M., Van Griensven L., James J.L., Anderson D. Andpaul B. and Horgen A. 1997. Mitochondrial Haplotype Influences Mycelial Growth of *Agaricus bisporus* Heterokaryons. Applied and Environmental Micronіology. 63:3426-3431.
3- Chang S.T. and Miles P.G. 1989. Edible mushrooms and their cultivation, CRC Press Inc, Boca Raton.
4- Diehle D.A. and Royse D.J. 1986. Shiitake cultivation on sawdust: evaluation of selected genotypes for biological efficiency and mushroom size. Mycologia. 78:929-933.
5- Eisenhut R. Fritz D. Medizinisch nutzbare W. and Inhaltsstoffe von S. 1991. Gartenbauwissenschaft, 56:266-270. (in German).
6- Emam Y. 2011. Cereal Production. 2th ed. Shiraz University Press.
7- FAO. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nation Quaterly bulletion of Statistucs, Rome, Italy.
8- Farsi M. and Gordan H.R. 2002. Hybrid spawn production in white button mushroom (*Agaricus bisporous*) in order to increasing yield. Agricultural Sciences and Technology Journal. 16:125-132. (in Persian).
9- Farsi M. and Poorianfar H. 2011. Cultivation and Breeding of the White Button Mushroom. 2th ed. Jahad Daneshgahi Mashhad Perss.
10- Farsi M., Taheri P., and Kordiani A. 2008. Evaluation of thermophile fungi in compost of white button mushroom.

Journal of Horticultural Science, 24:265-275. (In Persian).
11- Gea F.J., Santos M., Dianez F., Tello J.C., and Navarro M.J. 2012. Effect of spent mushroom compost tea on mycelial growth and yield of button mushroom (*Agaricus bisporus*). World Journal of Microbiology and Biotechnology. 28:2765–2769.
12- Gordan H.R., and Farsi M. 2004. Selection of pure isolates and multi spore cultures for breeding the white button mushroom. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 11:65-77. (in Persian).
13- Gordan H.R., Khatami Raad M., Zolala J. and Farsi M. 2007. Introduction and registration of three modified button mushroom (*Agaricus bisporous*). Journal of Agricultural Science. 17:171-188. (in Persian).
14- Goyal R., Grewal R.B. and Goyal R.K. 2006. Nutritional attributes of *Agaricus bisporus* and *Pleutorus sajor caju* mushrooms. Nutrition and health. 18:179-184.
15- Griffin D.H. 1994. Growth, In: Fungal Physiology. 2ed. Wiley - Liss, New York.
16- Hassegawa R.H. Kasuya M.C.M. and vanetti M.C.D. 2005. Growth and antibacterial activity of *lentinula edodes* in liquid media supplemented with agricultural wastes. Electronic journal of biotechnology. 8:212-217.
17- Kalberer P.P. 1995. An investigation of the incubation phase of a shiitake (*Lentinus edodes*) culture. Mushroom Science. 14:375-383.
18- Kalmis E. and Kalyoncu F. 2008. Mycelial Growth Rate of Some Morels (*Morchella* spp.) In Four Different Microbiological Media. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science. 3:861-864.
19- Kalmis E., and Kalyoncu F. 2008. The effects of some environmental parameters on mycelial growth of two ectomycorrhizal fungi, *Tricholoma caligatum* and *Morchella angusticeps*. Mycologia Balcanica. 5:115-118.
20- Kerrigan R.W., Royer J.C., Bailer L.M., Horgen P.A., and Anderson J.B. 1992. Stretegies for the efficient recovery of *Agaricus bisporus* homoharions. Mycologia. 84:575-579.
21- Khush R.V., Wach M.P., and Horgen P.A. 1995. Molecular strategies for *Agaricus* breeding. In: Kuck U. ed. The mycota. Vol. 3. Genetics and biotechnology. 2:321-337.
22- Lambert. J., Sapek A., and Sapek B. 1983. Lithium content in the grassland vegetation p. 32–38. In: Anke M., Baumann W. and Braunlich H. Eds. Lithium. 4th Spurenelement symposium. Jena. Friedrich Schiller Universitat, Germany. (http://eurekamag.com/research/001/219/001219146.php 2016).
23- Montini R.M.C., Passos J.R.S. and Eira A.F. 2006. Digital Monitoring of mycelium growth kinetics and vigor of shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler on agar medium. Brazilian Journal of Microbiology. 37:90-95.
24- Oei P. 2003. Mushroom cultivation, appropriate technology for mushroom growers. Leiden, Netherlands.
25- Pathak V.N., Yada N., and Maneesha G. 1998. Mushroom Production and Processing Technology. Agro Botanica, India.
26- Pawlak R., Siwulski M., and Salwin M. 2003. Effect of substrate type on the mycelium growth of four *Hericium erinaceus* (Bull. ex Fr.) Pers. Strains, Folia Horticulturae. 15:43-48.
27- Pokhrel C.P., Yadav. R.K.P. and Ohga S. 2009. Effects of physical factors and synthetic media on mycelia growth of *Lyophyllum decastes*. Journal of Ecobiotechnology. 1:46-50.
28- Przybylowicz P. and Donoghue J. 1990. Shiitake Growers Handbook, the art and science of mushroom cultivation. Kendall/Hunt Publishing Company, USA.
29- Razeghi Yadak L., Azizi M., Farsi M., and Shahtahmasebi Sh. 2009. Evaluation effect of media formulation, pH and temperature on "shiitake" mycelium growth analysis on solid and liquid culture conditions. Journal of Horticultural Sciences, 23:18-26. (In Persian with English abstract).
30- Royse D. 2007. ICT Web Development. Available at http://www.ppath.cas.psu.edu/ FACULTY/royse.html.
31- Royse D.J., and Bahler C.C. 1986. Effects of genotype, spawn run time and substrate formulation on biological efficiency of shiitake. Applied Environment and Microbiology. 52:1425-1427.
32- Rühl M., Fischer Ch., and Kües U. 2008. Ligninolytic enzyme activities alternate with mushrooms production during industrial cultivation of *Pleurotus ostreatuson* wheat-straw-based substrate. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy. 4:478–492.
33- Sánchez C. 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. Applied Microbiology and Biotechnology. 85:1321–1337.
34- Sánchez C. 2004. Modern aspects of mushrooms culture technology. Applied Microbiology and Biotechnology. 64:756–762.
35- Siwulski M., Krzysztof S., and Malgorzata W. 2009. Comparison of mycelium growth and yielding of selected strains of *Hericium erinaceus* (Bull. Fr.) Pers. on sawdust substrates with the glucose addition. Kerla polonica. 55:266-272.