دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

جداسازی و بررسی آکتینومیست‌های گرمادوست موجود در کمپوست قارچ خوراکی دکمه‌ای و تعیین فعالیت سلولازی آنها

نفیسه تقی زاده

تیر ۱۳۹۰

دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد

جداسازی و بررسی آکتینومیست‌های گرمادوست موجود در کمپوست قارچ خوراکی دکمه‌ای و تعیین فعالیت سلولازی آنها

نفیسه تقی‌زاده

استاد راهنما:
دکتر محمد فارسی

استاد مشاور:
دکتر سعید طریقی

تیر ۱۳۹۰

صفحه تعهد نامه

صفحهٔ تعهد نامه به صورت زیر تهیه شده، به امضاء دانشجو می رسد:

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: جداسازی و بررسی آکتینومیست‌های گرمادوست موجود در کمپوست قارچ خوراکی دکمه‌ای و تعیین فعالیت سلولازی آنها

اینجانب نفیسه تقی‌زاده دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی آقای دکتر محمد فارسی متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.**

تصویب نامه

این پایان نامه با عنوان « جداسازی و بررسی آکتینومیست‌های گرمادوست موجود در کمپوست قارچ خوراکی دکمه‌ای و تعیین فعالیت سلولازی آنها» توسط «نفیسه تقی‌زاده» در تاریخ ۱۳۹۰/٤/۸ با نمره و درجه ارزشیابی در حضور هیات داوران با موفقیت دفاع شد.

تاریخ دفاع نمره و درجه ارزشیابی

هیات داوران:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	سمت در هیات	امضاء
۱	آقای دکتر فارسی	استاد	استاد راهنما	
۲	آقای دکتر طریقی	استادیار	استاد مشاور	
۳	آقای دکتر مرعشی	دانشیار	استاد داور	
٤	آقای دکتر میرشمسی	استادیار	استاد داور	
۵	خانم دکتر مشتاقی	استادیار	نماینده تحصیلات تکمیلی	

چکیده:

آکتینومیست‌ها، بویژه گونه‌های گرمادوست، بعنوان اصلی‌ترین اجزای میکروفلور کمپوست قارچ خوراکی دکمه‌ای شناخته‌شده‌اند. این گروه توانایی زیادی در تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده و آنتی‌بیوتیک‌ها دارا می‌باشند. آکتینومیست‌های گرمادوست از مراحل مختلف تهیه کمپوست با تکنیک رقیق سازی جداسازی و کشت خالص تهیه گردید. از نتایج تست‌های بیوشیمیایی و تجزیه و تحلیل الگوی برشی ژن *16SrRNA* برای شناسایی جدایه‌ها استفاده شد. توانایی تجزیه سلولز در هر کدام از جدایه‌ها با استفاده از دو روش ارزیابی با کاغذ صافی(Filter paper assay) و ارزیابی فعالیت تجزیه کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMCase assay) در دما، pHها و زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. دماهای مورد بررسی در روش FPU ، ٤٥°C، ٥٥°C و ٦٥°C. و برای روش CMC، ٤٥°C، ٥٠°C، ٥٥°C، ٦٠°C و ٦٥°C بود. pHهای مورد بررسی ٥/٧، ٦، ٦/٥، ٧، ٧/٥، ٨ و ٩ و زمانهای مورد بررسی ٣٠، ٦٠ و ٩٠ دقیقه بود. حداکثر فعالیت آنزیمی برای هرکدام از جدایه‌ها بر اساس میلی‌گرم گلوکز آزاد شده از یک میلی‌لیتر عصاره ناخالص در هر کدام از سوبستراها تعیین شد. . در هرکدام از روش‌های ارزیابی فعالیت آنزیمی جدایه‌های با فعالیت سلولازی بالا در دما و pHهای مختلف تعیین شدند بر اساس نتایج بدست‌آمده جدایه‌های مختلف دارای حداکثر فعالیت در دما و pH متفاوت بودند. و جدایه‌های ٢٣ و ١٥ در شرایط و دمای کمپوست بهترین فعالیت را نشان دادند.

کلمات کلیدی: آکتینومیست‌های گرمادوست، فعالیت سلولازی، FPU assay، CMCase assay

فهرست

فصل اول ۱

۱- مقدمه ۱

فصل دوم ۵

۲- بررسی منابع ۵

۲-۱- اهمیت اقتصادی قارچهای خوراکی ۵

۲-۲- صرفه اقتصادی تولید قارچهای خوراکی ٦

۲-۳- اهمیت اقتصادی تولید قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید ٦

۲-٤- اهمیت کمپوست ۸

۲-٤-۱- ارزش کمپوست..... ۸

۲-٤-۲- مکانیسم کمپوست‌سازی ۹

۲-۵- آکتینومیست‌ها ۱۱

۲-۵-۱- مشخصات عمومی ۱۱

۲-۵-۲- کاربردهای آکتینومیست‌ها ۱۲

۲-۵-۲-۱- آنتی‌بیوتیک‌ها ۱۳

۲-۵-۲-۲- ضد سرطان‌ها ۱٤

۲-۵-۲-۳- ویتامین‌ها ۱۵

۲-۵-۲-٤-کنترل بیولوژیکی ۱۵

۲-۵-۲-۵- مهارکننده‌های آنزیمی ۱۸

۲-۵-۲-٦- آنزیم‌های خارج‌سلولی ۱۹

۲-۵-۲-۷- مواد شبه هورمونی ۲۱

۲-۵-۳- آکتینومیست‌های گرمادوست..... ۲۲

۲-۵-٤- شناسایی و جداسازی ۲۵

۲-۵-٤-۱- شناسایی ۲۵

۲-۵-۵- نقش آکتینومیست‌ها در تجزیه آنزیمی مواد ۲۹

۲-۵-۵-۱- اهمیت تجزیه و بازیافت مواد ۲۹

۲-۵-٦- هیدرولیز سلولز ۳۲
۲-۵-۷- کاربردهای سلولاز ۳٤
۲-۵-۸- اندازه‌گیری سلولاز ۳٦
فصل سوم ۳۹
۳- مواد و روشها ۳۹
۳-۱- جداسازی باکتری‌ها ۳۹
۳-۲- روشهای شناسایی باکتری‌های جداسازی شده ٤۰
۳-۲-۱- بررسی‌های میکروسکوپی ٤۰
۳-۲-۲- روشهای بیوشیمیایی ٤۱
۳-۲-۲-۱- رنگ‌آمیزی اسید فست جزئی ٤۱
۳-۲-۲-۲- تست هیدرلیز اوره ٤۱
۳-۲-۲-۳- تست احیای نیترات ٤۲
۳-۲-۲-٤- تست کاتالاز ٤٤
۳-۲-۲-۵- تست تولید رنگیزه ٤٤
۳-۲-۳- بررسی ظاهری کلنی باکتری ٤۵
۳-۲-۳-۱- ظاهر کلنی روی محیط کشت آب آگار ٤۵
۳-۲-٤- بررسی‌های مولکولی ٤۵
۳-۲-٤-۱- استخراج DNA باکتری ٤۵
۳-۲-٤-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ٤٦
۳-۲-٤-۳- هضم با آنزیم‌های برشی ٤۸
۳-۲-۵- اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی ٤۸
۳-۲-۵-۱- تهیه عصاره آنزیمی ٤۸
۳-۲-۵-۲- اندازه‌گیری پروتئین کل ٤۹
۳-۲-۵-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی به کمک کاغذ واتمن ۵۰
۳-۲-۵-٤- اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی با استفاده از کربوکسی متیل سلولز ۵۰
فصل چهارم ۵۳
٤- نتایج و بحث ۵۳

٤-١- نتایج تست‌های بیوشیمیایی ٥٣
٤-١-١- رنگ‌آمیزی گرم ٥٣
٤-١-٢- رنگ‌آمیزی اسید فست جزئی ٥٣
٤-١-٣- تست هیدرولیز اوره ٥٤
٤-١-٤- تست احیای نیترات ٥٤
٤-١-٥- تست کاتالاز ٥٥
٤-١-٦- تست تولید رنگیزه ٥٨
٤-٢- ظاهر کلنی روی محیط کشت آب آگار ٥٨
٤-٣- بررسی‌های مولکولی ٦٣
٤-٣-١- استخراج DNA ژنومی و تکثیر ژن*16SrRNA* ٦٤
٤-٣-٢- هضم ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی ٦٤
٤-٤- بررسی فعالیت آنزیمی ٦٩
٤-٤-١- کشت باکتری در محیط کشت CMC١٪ ٦٩
٤-٤-٢- اندازه‌گیری پروتئین کل ٧٠
٤-٤-٣- تعیین فعالیت آنزیمی ٧٢
٤-٤-٤- محاسبه واحد آنزیمی ٧٣
٤-٤-٥- بررسی میزان فعالیت آنزیمی ٧٣
٤-٤-٥-١- اثر pH ٧٣
٤-٤-٥-٢- اثر زمان واکنش ٧٥
٤-٤-٥-٣- اثر دمای واکنش ٧٥
٤-٤-٥-٤- بررسی فعالیت آنزیمی در جدایه‌های آکتینومیست‌ها ٧٧
فصل پنجم ٨٥
٥- نتیجه‌گیری کلی ٨٥
پیشنهادات ٨٦
فصل ششم ٨٧
٦- فهرست منابع ٨٧
فصل هفتم ٩٥

۷- پیوست‌ها ۹۵

فهرست جدول‌ها

جدول ۲-۱- مهم‌ترین جنس‌ها و گونه های آکتینومیست ۲۳

جدول ۳-۱- تفسیر نتایج تست احیای نیترات ٤۳

جدول ۳-۲- اجزا مخلوط واکنش PCR در حجم ۵۰ میکرولیتر ٤۷

جدول ۳-۳- برنامه چرخه‌ای واکنش PCR برای تکثیر ژن *16SrRNA* ٤۷

جدول ٤-۱- نتایج تست احیای نیترات در ۲٤ جدایه آکتینومیست ٥٦

جدول ٤-۲- نتایج تست‌های بیوشیمیایی رنگ‌آمیزی گرم، تست اسید فست ، کاتالاز و اوره‌آز ٥۷

جدول٤-۳- نتایج حاصل از رشد باکتری‌ها در محیط‌های SCA ، ISP_5 و ISP_7 ..... ٥۹

جدول ٤-٤- تقسیم‌بندی باکتری‌ها به سه گروه اصلی براساس الگوی برشی آنزیم *Mbo*I ٦٤

جدول٤-۵- میزان پروتئین جدایه‌ها در روش برادفورد ۷۱

جدول ٤-٦- اعداد مورد نیاز برای محاسبه واحد آنزیمی در دو روش FPU و CMC ۷۳

جدول ٤-۷- جدول تجزیه واریانس مربوط به بررسی فاکتورهای آزمایش در روشFPU ۷۷

جدول ٤-۸- جدول تجزیه واریانس مربوط به بررسی فاکتورهای آزمایش در روشCMC ۷۷

جدول٤-۹- اثر دماهای مختلف بر روی فعالیت آنزیمی در روش FPU ۷۹

جدول٤-۱۰- اثر دماهای مختلف بر روی فعالیت آنزیمی در روش CMC ۸۲

فهرست شکل‌ها

شکل ۲-۱- ساختمان لیگنین ۲۹

شکل ۲-۲- ساختمان سلولز وهمی‌سلولز ۳۱

شکل ٤-۱- نتایج تست هیدرولیز اوره ٥٤

شکل ٤-۲- نتایج تست احیای نیترات ٥٥

شکل ٤-۳- تصاویر رشد جدایه‌ها در محیط کشت‌هایSCA ، ISP_5 و ISP_7 ..... ٥٨

شکل ٤-٤- ظاهر کلنی‌های باکتری روی محیط کشت آب آگار ٦٣

شکل ٤-٥- بررسی اندازه صحیح قطعات حاصل از الکتروفورز روی ژل آگارز ٦٣

شکل٤-٦- الگوی برشی ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی *MboI* ٦٤

شکل٤-۷- الگوی برشی ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی *Vsp*I ٦٥

شکل٤-۸- الگوی برشی ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی *Hin*dIII ٦٥

شکل٤-۹- الگوی برشی ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی *Kpn*I ٦٦

شکل٤-۱۰- الگوی برشی ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی *PstI* ٦٦

شکل٤-۱۱- الگوی برشی ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی *SalI* ٦٧

شکل٤-۱۲- الگوی برشی ژن *16SrRNA* با آنزیم برشی *PaeI* ٦٧

شکل ٤-۱۳- گروه‌بندی جدایه‌های آکتینومیست ٦٩

شکل٤-۱٤- رشد جدایه‌های آکتینومیست بعد از ۷۲ ساعت ۷۰

شکل٤-۱٥- تشکیل دو نوع اسپور در جدایه‌های آکتینومیست ۷۰

شکل٤-۱٦- نمودار استاندارد BSA مربوط به روش برادفورد ۷۲

شکل٤-۱۷- نمودار استانداردهای گلوکز در دو روش FPU وCMC ۷۲

شکل ٤-۱۸- تغییرات فعالیت سلولازی بر اساس تغییرات pH در دو روش FPU و CMC ۷٤

شکل٤-۱۹- تغییرات فعالیت سلولازی بر اساس زمان واکنش در دو روشFPU و CMC ۷٥

شکل٤-۲۰- تغییرات فعالیت سلولازی بر اساس تغییرات دما در دو روشFPU و CMC ۷٦

شکل٤-۲۱- سنجش فعالیت آنزیمی جدایه ها توسط روشFPU در سه دمای مورد آزمایش..... ۷۸

شکل٤-۲۲- سنجش فعالیت آنزیمی جدایه ها توسط روشCMC در در ٥ دمای مورد آزمایش ۸۱

فصل اول

مقدمه:

امروزه یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های بشر استفاده از منابع موجود در طبیعت به نحو بهینه است. این منابع به صورت خودبخودی در اختیار ما قرار دارند و برای آنها بر عکس سایر نهادهای کشاورزی هزینه‌ای نمی‌پردازیم. یکی منابع موجودات هستند که می‌توانند به عنوان عامل کنترل سیستم در جلوگیری از طغیان عمل کنند. این موجودات در جهت کنترل بیولوژیکی و تجزیه منابع تجزیه‌ناپذیر اهمیت ویژه‌ای دارند. چرا که منابع موجود در طبیعت رو به اتمام هستند، و به نظر می‌رسد بهترین راهکار برای مقابله با این بحران، حاصله استفاده از خود طبیعت در جهت بازیافت خود می‌باشد.

آکتینومیست‌ها، پروکاریوت‌هایی هستند که به صورت آزاد و به شکل هاگ در خاک یافت می‌شوند. وقتی که این باکتری‌ها برای نخستین بار مشاهده شدند، تصور می‌شد که قارچ هستند، چون رشته‌های طویل و میسیلیوم‌های هوایی ایجاد می‌کردند. اما با بررسی‌های دقیق‌تر معلوم شد که آکتینومیست‌ها فاقد غشای هسته هستند و در دیواره آن‌ها ترکیبات پپتید و گلیکان وجود دارد، لذا باکتری بودن آنها به اثبات رسید. این باکتری‌ها عموما شیمیو هترو ارگانوتروف هستند و بهترین رشد آنها در دمای ۲۵°C و در محدوده pH،

۹-۸ است . با توجه به این که این باکتری‌ها تجزیه‌کنندگان خوبی هستند، از نظر کشاورزی حائز اهمیت‌اند اما اهمیت ویژه این باکتری‌ها در تولید متابولیت‌هایی است که در طول چند دهه‌ی اخیر جان میلیون‌ها انسان را نجات داده‌اند، از مهم‌ترین این متابولیت‌ها آنتی‌بیوتیک هستند که در سرتاسر جهان صدها مرکز در زمینه‌ی جداسازی نژادهای جدید و قوی آکتینومیست‌ها انجام می‌شود که در زمینه استحصال مواد آنتی‌بیوتیکی از آن‌ها فعالیت می‌کنند و البته، غیر از آنتی‌بیوتیک، ده‌ها ماده‌ی مورد استفاده در صنایع غذایی و موثر علیه آفات گیاهی در صنعت از این باکتری‌ها به دست می‌آید (عبدی صوفیانی و همکاران ۱۳۸۸).

یکی از مهم‌ترین استفاده‌های این باکتریها در تهیه کمپوست قارچ است و که بستری مناسب برای پرورش قارچ محسوب می‌شوند. قارچ خوراکی برای رشد خود قادر نیست از نور خورشید استفاده نماید. علت این امر این است که قارچ‌ها کلروفیل ندارند. قارچ‌ها مواد مورد نیازشان از جمله پروتئین وکربوهیدرات را از مواد آلی در حال تجزیه دریافت می‌کنند. این مواد آلی در کمپوست برای قارچ‌ها فراهم می‌شوند. برای تجزیه این مواد نیاز به میکروفلور خاصی می‌باشد که این میکروفلور بستر را برای پرورش قارچ مناسب می‌نمایند. از جمله مهم‌ترین اجزاء این میکروفلور آکتینومیست‌های ترموفیل هستند که با تولید سلولاز ما را در این هدف یاری می‌کنند (روبیلدو وهمکاران ۲۰۰۸).

سلولز بیوپلیمری خطی متشکل از هزار تا یک میلیون واحد گلوکز با پیوندهای گلیکوزیدیβ-٤و۱ می‌باشد. میزان پلیمریزاسیون در هر زنجیره سلولز بین ۵۰۰ تا ١٤ هزار می‌باشد. هر گلوکز نسبت به گلوکز مجاور ۱۸۰ درجه می‌چرخد به نحوی که واحد تکراری اصلی سلولز، سلوبیوز بدون آب است و در نتیجه به نظر می‌رسد که آنزیم‌های سلولازی زیرواحدهای سلوبیوزی مولکول سلولز را تشخیص می‌دهند (زهری و همکاران ١٣٨٤).

تجزیه کامل سلولز یک فرآیند پیچیده است. ابتدا باید ساختار کریستالی آن بهم خورده و سپس مولکول‌های خطی حاصل به الیگوساکاریدهای کوچکتر و در نهایت به واحد ساختمانی خود یعنی D–گلوکز تبدیل شود. هیدورلیز آنزیمی نسبت به هیدرولیز اسیدی هزینه کمتری در بر دارد. سلولازها آنزیم‌هایی هستند که به صورت کمپلکسی آنزیمی از سه گروه آنزیمی تشکیل شده‌اند و به طور سینرژیستی با یکدیگر عمل می‌کنند و عبارتند از: اندوگلوکونازها، اگزوگلوکونازها و بتاگلوکوزیدازها می‌باشند. بتاگلوکوزیدازها، سلوبیوزو سلوالیگوساکاریدهای با زنجیر کوتاه را به گلوکز هیدرولیز می‌کنند و مهار اندوگلوکوناز و اگزوگلوکوناز توسط سلوبیوز را رفع می‌نماید (زهری و همکاران ۱۳۸٤).

گزارشات موجود نشان می‌دهد که ژن آنزیم گلوکوزیداز در قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Humicola grisea* و برخی از گونه‌های *Trichoderma spp.* تکثیر و مورد مطالعه قرار گرفته است. این مطالعات نشان داده است که طول این ژن حدود ۱/٤kb بوده و دارای یک اینترون کوتاه است (قجقی و همکاران ۱۳۸۷).

باکتریها و قارچها می توانند آنزیمهای سلولازی برای هیدرولیز مواد لیگنوسلولزی تولید کنند .این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند از نوع هوازی یا بی هوازی، مزوفیل یا ترموفیل باشند. قارچ‌هایی که برای تولید آنزیمهای سلولازی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، عمدتا شامل جنس‌های *Aspergillus* sp.، *Sclerotinium* sp.، *Penicillium* sp. *Trichoderma* sp. و *Schizophyllum* sp می‌باشند (زهری و همکاران ۱۳۸٤).

هدف این پایان‌نامه این است که به بررسی آکتینومیست‌های گرمادوست کمپوست قارچ خوراکی پرداخته، و با تعیین جدایه‌هایی با بالاترین فعالیت سلولازی به بهینه‌سازی کمپوست قارچ خوراکی دکمه‌ای کمک کند.

فصل دوم

بررسی منابع:

۲-۱: اهمیت اقتصادی قارچ‌های خوراکی:

برای هزاران سال، قارچ‌ها دارای ارزش دارویی و خوراکی برای بشر بوده‌اند. با عمومیت یافتن کشت و پرورش قارچ تولید جهانی آن افزایش یافته است. تخمین زده می‌شود که بیش از ۱۰ میلیون تن قارچ خوراکی و دارویی در سال ۲۰۰٤ در کشورهای مختلف تولید شده است. تولید قارچ می‌تواند مقادیر عظیمی از مواد زائد لیگنوسلولزی را به طیف گسترده‌ای از محصولات (غذاهای دارویی یا خوراکی و یا کود) تبدیل کند و همچنین از محیط زیست محافظت کند. علاوه بر این، تولید قارچ می‌تواند باعث رشد اقتصادی در سطح منطقه‌ای و ملی گردد. انتظار می‌رود افزایش این محصول در آینده ادامه داشته و گسترش یابد، زیرا بیش از ۷۰٪ مواد کشاورزی و جنگلی بی‌حاصل بوده و در حین تولید محصول تلف می‌شوند. بدلیل اینکه دانش تولید قارچ یک علم کاربردی نسبتاً جدید بوده و صنعت قارچ هنوز در مقایسه با سایر گیاهان زراعی کوچک است، بنابراین سرمایه‌گذاری در این زمینه نیز محدود می‌باشد. از طرفی اولویت مطالعات علمی روی گیاهان و حیوانات بر تحقیقات قارچ، باعث بررسی کمتر این گروه از موجودات گردیده است (پاکدین ۱۳۸٦).

۲-۲: اهمیت تولید قارچ‌های خوراکی:

قارچ‌های خوراکی نه تنها هیچ ضایعاتی ندارند. بلکه خود یکی از بزرگترین تولید کننده های پروتئین در واحد سطح و زمان روی بقایای محصولات کشاورزی هستند. قارچ‌های خوراکی باعث تجزیه بقایای محصولات کشاورزی نظیر کاه و کلش گندم، خاک اره، پنبه دانه، برگ‌های موز و... می شوند. پساب‌های صنعتی بویژه صنایع غذایی نیز اغلب بستر خوبی برای تولید و پرورش آنها محسوب می شوند. بستر کشت قارچ‌های خوراکی (کمپوست) به عنوان عامل حاصلخیز کننده اراضی کشاورزی بکار می روند. قارچ‌های خوراکی هیچ رقابتی با گیاهان دیگر نداشته و وابسته به نور نیستند ضمن آنکه به اراضی بارور هم احتیاجی ندارند (فارسی و پوریان‌فر ۱۳۹۰).

۲-۳: اهمیت اقتصادی تولید قارچ خوراکی دکمه ای سفید:

قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید با سایر قارچ‌های خوراکی مورد کشت، از نظر تغذیه‌ای و درمانی تفاوت چندانی ندارد، اما آنچه که این قارچ را کاملا متمایز از سایر قارچ‌ها ساخته است، گسترش جهانی و تولید این قارچ است، بطوریکه این قارچ در تمامی سوپرمارکت‌های جهان فروش زیادی دارد (فارسی و پوریان‌فر ۱۳۹۰).

از طرفی قارچ یک منبع ارزشمند است که تولید گسترده آن می‌تواند به عنوان یک منبع درآمد جایگزین محسوب شود که سایر محصولات یا پرورش دام آن را نمی‌توانند تامین کنند. علاوه بر این راهی برای نجات از ضایعات کشاورزی است. تولید انبوه محصولات کشاورزی سبب تولید ضایعات زیادی می‌شود که از آنها

می‌توان برای تولید قارچ بهره برد چرا که قارچ خوراکی تقریبا در تمام این بسترها قابلیت رشد دارد (سلیک و پکر ۲۰۰۹).

در آمریکای شمالی (ایالات متحده و کانادا) در سال ۱۹۸۹، ارزش نقدی حاصل از فروش سالیانه قارچ خوراکی دکمه ای سفید، نزدیک به ٦۰۰ میلیون دلار بوده است که ۷۵ ٪ این تولید به صورت قارچ تازه فروخته شده بود. در همین سال تولید جهانی این قارچ، تقریبا یک و نیم میلیون تن و ارزش سالیانه آن ۳/۵ میلیارد دلار بوده است. در سال ۱۹۹۱ تولید این قارچ ۳۷ ٪ کل تولید قارچ‌های خوراکی را در سطح جهانی به خود اختصاص داد. در این سال، ایالات متحده، فرانسه، چین، هلند و انگلستان بترتیب رتبه های اول تا چهارم تولید جهانی قارچ آگاریکوس بایسپروس[1] را داشتند و از نظر تولید کل قارچ‌های خوراکی کشورهای ایالات متحده، چین، ژاپن، فرانسه و هلند رتبه های اول تا پنجم را دارا بودند. در سال ۱۹۹۵، تولید جهانی قارچ خوراکی تکمه ای سفید به ۱/۹۵ تن رسید. در سال ۹٦-۱۹۹۵ ارزش فروش سالیانه حاصل از قارچ خوراکی تکمه ای سفید بصورت تازه در آمریکا، بیش از ۷۵۷ میلیون دلار بوده است. در سال ۱۹۹۸، ارزش فروش سالیانه جهانی قارچ خوراکی تکمه ای سفید، تقریبا ۷ میلیارد دلار تخمین زده شده است. در سال ۲۰۰۰، در آمریکا ارزش فروش سالیانه این قارچ بالغ بر ۸۰۰ میلیون دلار بوده است (فارسی و پوریان‌فر ۱۳۹۰). در سال ۲۰۰۰ تولید جهانی قارچ ۲٦ میلیون تن بوده است که در سال ۲۰۰۷ این میزان به ۳۳/٤ میلیون تن افزایش یافته است (سلیک و پکر ۲۰۰۹).

این قارچ بویژه در آمریکای شمالی از اهمیت خاصی برخوردار است، بطوریکه در میان سبزیجات، کاهو و گوجه فرنگی در آمریکا و سیب زمینی در کانادا تنها گیاهانی هستند که ارزش نقدی بالاتری نسبت به قارچ

[1] *Agarigus bisporus*

خوراکی تکمه ای سفید دارند. در حال حاضر در ایالات متحده، بیش از ۹۰٪ کل تولید قارچ‌های خوراکی را قارچ خوراکی دکمه ای سفید به خود اختصاص داده و ۵۰٪ کل تولید این قارچ در ایالت پنسیلوانیا تولید می شود. در آغاز هزاره جدید میلادی، قارچ خوراکی تکمه ای سفید همچنان موقعیت ممتاز خود را در میان سایر قارچهای خوراکی حفظ کرده است، بطوریکه فروش جهانی آن از مرز ۱۰ میلیارد دلار گذشته و تولید آن تقریبا ٤٠ ٪ از کل تولید جهانی قارچ‌های خوراکی را به خود اختصاص داده است. این قارچ از نظر عملکرد تولید نیز در طی سال‌های اخیر روند مثبتی داشته است. در سال ۱۹٦۹ متوسط عملکرد این قارچ در آمریکا ۱۰/۹ کیلوگرم بر متر مربع بوده که این رقم در سال ۱۹۸٤ به ۱۹/۱۸ و در سال ۱۹۹٤ به ۲۷ کیلوگرم بر متر مربع رسیده است. در حال حاضر متوسط عملکرد جهانی این قارچ در حدود ۲۵ کیلوگرم بر متر مربع و سرانه مصرف آن در حدود ۲/۵ کیلوگرم می باشد. در ایران متوسط عملکرد در حدود ۲۰ کیلوگرم بر متر مربع و سرانه مصرف در حدود ۵۰۰ گرم می باشد (فارسی و پوریان‌فر ۱۳۹۰).

۲-٤: اهمیت کمپوست

۲-٤-۱: ارزش کمپوست:

کمپوست خوب ترکیبی از مواد تجزیه شده گیاهی و جانوری است که دارای استفاده های متعددی است و از آن می‌توان به عنوان بستری برای تهیه قارچ و کود آلی بهره برد. تهیه کمپوست فرآیندی است که در آن مواد آلی زائد توسط میکروارگانیسم ها تجزیه می‌شود و یک روش زیست محیطی برای کاهش آلودگی ناشی از مواد آلی زائد می‌باشد (روبیولدو و همکاران ۲۰۰۸).

برای پژوهشگرانی که راجع به کمپوست تحقیق می‌کنند تعیین تنوع و ساختار جمعیت میکروبی درگیر در فرآیند کمپوست‌سازی از مقایسه شباهت فلور میکروبی توده های کمپوست های مختلف مهمتر است.

جمعیت های میکروبی موجود در کمپوست در فازهای مختلف آن متفاوتند که هر کدام از این جمعیت ها در شرایط محیطی متفاوتی در کمپوست حضور دارند (روبیولدو و همکاران ۲۰۰۸).

به طور کلی موفقیت کمپوست‌سازی به فاکتورهای متعددی بستگی دارد که بطور مستقیم یا غیر مستقیم روی فعالیت میکروارگانیسم‌ها اثر می‌گذارد. این فاکتورها عبارتند از مواد پایه تخمیر شونده، میزان تجزیه‌پذیری آن‌ها، رطوبت، دما، pH، و میزان تهویه کمپوست. در کمپوست‌سازی سنتی این عوامل در نظر گرفته نمی‌شد بنابراین کمپوست نهایی از لحاظ کیفی مناسب نبود که این امر سبب شد که تکنیک های مناسب برای بهبود کیفیت کمپوست ابداع شوند تا در نهایت کیفیت کمپوست در آن افزایش یابد و دوره کمپوست سازی کوتاه شده و میکروارگانیسم‌های درگیر در آن مشخص شود (تاوینو و ازو ۲۰۰٤).

۲-٤-۲: مکانسیم کمپوست سازی :

اصولا برای آنکه ترکیبات مورد نظر در طی کمپوست‌سازی ساخته شوند، بایستی یکسری اتفاقات به وقوع بپیوندد. تمام آنچه که در طی فرآیند کمپوست‌سازی اتفاق می افتد، برگرفته از اصل تخمیر میکروبی هوازی است. یعنی آنکه با عمل برخی میکروارگانیسم های هوازی، نوعی تخمیر میکروبی انجام می‌شود و حاصل این تخمیر ،تبدیل مواد خام اولیه به مواد قابل استفاده برای میسلیوم‌های قارچ خوراکی و همچنین انباشت برخی از ترکیبات مفید از جمله پروتئین‌ها، اسیدهای چرب و ویتامین‌ها در سلول‌های باکتریایی است که اجساد آنها بعدا مورد استفاده میسلیوم قارچ دکمه‌ای قرار می‌گیرند. لذا شناخت مکانسیم‌کمپوست‌سازی به ما کمک خواهد کرد تا شرایط را به نحوه‌ی مناسب کنترل کرده تا فرآیندهای دلخواه انجام شود. به طور کلی مکانیسم کمپوست سازی در طی دو مرحله عمده قابل بررسی است . در مرحله اول مواد بستر کمپوست تخمیر یافته و در مرحله دوم پاستوریزاسیون و آمونیاک زدایی صورت می‌گیرد (فارسی و پوریان‌فر ۱۳۹۰).