دانشکده‌ی علوم کشاورزی

گروه آموزشی علوم باغبانی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی مهندسی کشاورزی- علوم باغبانی

گرایش سبزیکاری

عنوان:

ارزیابی سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*) روی عصاره غلات

استاد راهنما:

دکتر مهدی بهنامیان

اساتید مشاور:

دکتر سارا دژستان

مهندس مرتضی تقوی

پژوهشگر:

رقیه کریمی‌راد

مهرماه ۱۳۹۲

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادّی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌هایِ ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

اینجانب **رقیه کریمی راد** دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی **کشاورزی- علوم باغبانی گرایش سبزیکاری** دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی **۹۰۳۳۲۱۳۱۱۱** که در تاریخ ۱۳۹۲/۰۷/۳۰ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان **ارزیابی سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه *(Lentinula edodes)* روی عصاره غلات** دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه-ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.

۲) مسئولیت صحّت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.

۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.

۴) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه و با رعایت اصل امانتداری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام.

۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.

۶) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.

۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

نام ونام خانوادگی دانشجو: رقیه کریمی راد

امضا

تاریخ

دانشکده‌ی علوم کشاورزی

گروه آموزشی علوم باغبانی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته مهندسی کشاورزی- علوم باغبانی گرایش سبزیکاری

عنوان:

ارزیابی سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه *(Lentinula edodes)* روی عصاره غلات

پژوهشگر: رقیه کریمی‌راد

ارزیابی و تصویب شده‌ی کمیته‌ی داوران پایان‌نامه با درجه‌ی .....

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	سمت	امضاء
دکتر مهدی بهنامیان	استادیار	استاد راهنما و رییس کمیته‌ی داوران	
دکتر سارا دژستان	استادیار	استاد مشاور	
مهندس مرتضی تقوی	کارشناسی ارشد باغبانی	استاد مشاور	
دکتر مهدی محب الدینی	استادیار	داور	

مهرماه ۱۳۹۲

تقدیم به پدر بزرگوار و مادر عزیزم

تقدیم به آن دو فرشته‌ای که از خواسته‌هایشان گذشتند

سختی‌ها را به جان خریدند و خود را سپر بلای مشکلات و ناملایمات کردند

تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده‌ام برسم.

تشکر و سپاسگزاری

سپاس و ستایش خدای را جل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درفشان.

آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ی ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

بدین منظور لازم می دانم از تمامی عزیزانی که مرا در این تحقیق یاری کردند، تشکر و قدردانی نمایم. از خانواده مهربانم پدر، مادر عزیزم که همواره پشتیبان و مشوق من بوده اند متواضعانه سپاسگذارم. از زیبایی حضور خواهران مهربانم، خواهرزاده های عزیزم، یگانه برادر عزیزم که خستگی های این راه را به امید و روشنی تبدیل کردند، کمال تشکر و قدردانی را دارم. از اساتید راهنمای گرامیم جناب آقای دکتر مهدی بهنامیان و سرکار خانم دکتر سارا دژستان که با نهایت بردباری مرا از راهنمایی های ارزنده خویش بهره مند فرمودند کمال تشکر را دارم. از اساتید گرانقدر گروه علوم باغبانی، جناب آقای دکتر اسماعیل چمنی و جناب آقای دکتر بهروز اسماعیل پور، که در تمام مدت تحصیل با راهنمودهای علمی مرا مورد لطف خویش قرار دادند، خیلی سپاسگزارم. از جناب آقای دکتر مهدی محب الدینی که زحمت باز خوانی و داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند سپاسگزارم. از تمامی همکلاسیهام و دوستان گرامی ام که همواره از لطفها و محبتهای بیدریغشان اینجانب را بهره مند نمودند بینهایت سپاسگذارم.

نام خانوادگی دانشجو: **کریمی راد** نام: **رقیه**

عنوان پایان‌نامه: **ارزیابی سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه *(Lentinula edodes)* روی عصاره غلات**

استاد راهنما: **دکتر مهدی بهنامیان** اساتید مشاور: **دکتر سارا دژستان، مهندس مرتضی تقوی**

مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد** رشته: **علوم باغبانی** گرایش: **سبزیکاری** دانشگاه: **محقق اردبیلی** دانشکده: **علوم کشاورزی**

تاریخ دفاع: **۹۲/۰۷/۳۰** تعداد صفحات: **۸۴**

چکیده:

به‌منظور بررسی سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه روی محیط‌های کشت عصاره دانه‌های غلات ۵ آزمایش مختلف انجام شد. آزمایش اول، به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار با سطوح مختلف pH (۴/۵، ۵ و ۵/۵) و محیط‌های کشت عصاره دانه‌های غلات (گندم، جو، چاودار، سورگوم، ذرت و ارزن) انجام گرفت. پس از مایه‌زنی، محیط‌های کشت در دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد در شرایط تاریکی قرار گرفتند و رشد رویشی آنها به‌صورت روزانه (میلیمتر در روز) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که قارچ مورد مطالعه در تیمار سورگوم با pH=۴/۵ از بالاترین میزان رشد میسلیومی (۱۰/۴ میلیمتر در روز) برخوردار بود. به‌منظور ارزیابی تأثیر ملاس چغندر قند در رشد رویشی از سطوح صفر، ۲،۱ و ۳ گرم در لیتر در محیط‌های کشت عصاره غلات آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش سطح ملاس در تمامی تیمارها سرعت رشد رویشی کاهش یافت. به‌منظور ارزیابی تأثیر ویتامین‌های گروه B بر سرعت رشد رویشی قارچ‌های مورد مطالعه روی محیط کشت عصاره سورگوم و گندم آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. در این آزمایش، ویتامین‌های بیوتین (B7)، تیامین (B1)، پیرودوکسین (B6) و نیکوتینیک اسید (B3) در غلظت‌های۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر به محیط‌های کشت اضافه شدند. عصاره سورگوم غنی‌شده با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر تیامین (B_1) بالاترین میزان رشد میانگین (۱۲/۹ میلیمتر در روز) را موجب شد. در آزمایش بعدی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر ویتامین‌ها به عصاره سورگوم و گندم آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره گندم غنی شده با ترکیب ویتامین‌ها پایین‌ترین میزان رشد را القا کرد (۱۰/۵۷ میلیمتر در روز). در نهایت به منظور ارزیابی تأثیر تنظیم کننده‌ها بر سرعت رشد رویشی شیتاکه آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. در این آزمایش تنظیم کننده‌های (IAA)، (NAA)، (GA_3) و 2-4-D در غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۱، و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به محیط‌های کشت اضافه شدند.در این مطالعه،بالاترین میزان رشد در عصاره سورگوم غنی شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D (۱۵/۱ میلیمتر در روز) مشاهده شد. از سویی دیگر، به‌منظور بررسی تاثیر نوع بسترکشت (نسبت‌های مختلف گندم، جو و ارزن) بر عملکرد، کارایی بیولوژیکی، وزن تر و خشک قارچ شیتاکه آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که کاه گندم (۱۰۰٪)، بیشترین عملکرد (۱۸/۴۶٪)، کارایی بیولوژیکی (۹۶/۳۷٪)، وزن تر (۱۸۲/۲۵ گرم) و وزن خشک (۱۶/۸ گرم) را القا نمود.

کلید واژه‌ها: تنظیم‌کننده‌ها ، ضایعات کشاورزی، عصاره دانه غلات، قارچ شیتاکه، ملاس چغندر قند، ویتامین‌ها

فهرست مطالب

عنوان.....صفحه

فصل اول- کلیات پژوهش.....۱

۱-۱- مقدمه.....۲

۱-۲- قارچ‌های خوراکی.....۴

۱-۳- اهمیت غذایی و جایگاه قارچ شیتاکه در دنیا.....۵

۱-۴- رده‌بندی و چرخه زندگی قارچ شیتاکه.....۷

۱-۵- ریخت‌شناسی قارچ شیتاکه.....۸

۱-۶- عوامل موثر در رشد شیتاکه.....۸

۱ -۶-۱- دما و pH ۸

۱-۶-۲- نور، دی‌اکسیدکربن، اکسیژن و رطوبت.....۹

۱-۶-۳- ترکیبات غذایی (نسبت C/N، کربوهیدرات، نیتروژن، ویتامین، فیتوهورمون، عناصر پرمصرف و کم مصرف).....۱۱

۱-۷- مروری بر تحقیقات گذشته.....۱۲

۱-۸- اهداف.....۲۱

فصل دوم- مواد و روش‌شناسی پژوهش.....۲۲

۲-۱- محل اجرای آزمایش.....۲۳

۲-۲- تهیه سویه.....۲۳

۲-۳- مواد آزمایش.....۲۳

۲-۴- تیمارها.....۲۳

۲-۵- تهیه محیط کشت مالت اکسترکت آگار و تکثیر میسلیوم قارچ شیتاکه.....۲۳

۲-۶- نحوه عصاره‌گیری.....۲۴

۲-۷- آزمایش اول: تنظیم pH برای محیط‌های کشت.....۲۴

۲-۸- آزمایش دوم: اضافه کردن ملاس چغندر قند.....۲۵

۲-۹- آزمایش سوم: تهیه محلول‌های پایه ویتامین‌ها و غلظت‌های مورد استفاده.....۲۵

۲-۱۰- آزمایش چهارم: تاثیر مقادیر بهینه شده ویتامین‌های مختلف بر رشد میسلیوم قارچ شیتاکه.....۲۶

۲-۱۱- آزمایش پنجم: تهیه محلول‌های پایه تنظیم کننده‌های رشد و غلظت‌های مورد استفاده.....۲۶

۲-۱۲- اندازه‌گیری رشد میسلیوم.....۲۷

۲-۱۳- طرز تهیه اسپان.....۲۷

۲-۱۴- آماده‌سازی بسترهای کشت جهت ارزیابی قابلیت اندام‌زایی.....۲۸

۲-۱۵- صفات مورد اندازه‌گیری.....۳۰

۲-۱۵-۱- وزن تر و خشک قارچ.....۳۰

۲-۱۵-۲- قطر کلاهک، قطر و طول پایه.....۳۰

۲-۱۵-۳- عملکرد و کارایی بیولوژیکی ۳۰
۲-۱۶- تجزیه شیمیایی مواد مورد استفاده ۳۰
۲-۱۶-۱- خشک کردن نمونه ها ۳۰
۲-۱۶-۲- هضم نمونه‌ها برای اندازه‌گیری عناصر معدنی به غیر از نیتروژن ۳۰
۲-۱۶-۳- اندازه‌گیری فسفر ۳۱
۲-۱۶-۴- تعیین غلظت کلسیم، پتاسیم و سدیم نمونه‌ها ۳۲
۲-۱۶-۵- تعیین غلظت آهن، روی، منیزیم، منگنز نمونه‌ها ۳۲
۲-۱۷- اندازه‌گیری نیتروژن ۳۲
۲-۱۷-۱- هضم نمونه‌ها ۳۲
۲-۱۷-۲- تقطیر و تیتراسیون ۳۳
۲-۱۸- تعیین کربن آلی ۳۴
۲-۱۹- اندازه‌گیری محتوای رطوبتی ضایعات ۳۵
۲-۲۰- اندازه‌گیری pH ضایعات ۳۵
۲-۲۱- اندازه‌گیری مواد جامد محلول در ملاس چغندر قند ۳۵
۲-۲۲- اندازه‌گیری مقدار لیگنوسلولز، سلولز، همی‌سلولز، دیواره سلولی و لیگنین در بسترهای کشت ۳۶

فصل سوم- نتایج و یافته‌های پژوهش ۳۸
۳-۱- عناصر معدنی دانه‌های غلات و محیط‌های کشت تهیه شده ۳۹
۳-۲- محتوای رطوبتی، pH، مقادیر فیبر و ترکیبات شیمیایی بسترهای مورد استفاده ۴۰
۳-۳- مقادیر عناصر معدنی و مواد جامد محلول در ملاس چغندر قند ۴۲
۳-۴- تاثیر تیمارهای مختلف بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۲
۳-۵- تاثیر pH بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۳
۳-۶- تاثیر نوع محیط‌کشت بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۴
۳-۷- تاثیر pH محیط‌کشت بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۵
۳-۸- اثر متقابل محیط کشت و pH بر رشد رویشی قارچ ۴۵
۳-۹- تاثیر ملاس بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۶
۳-۱۰- تاثیر نوع محیط‌کشت بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۷
۳-۱۱- تاثیر غنی‌سازی محیط‌های کشت با ملاس بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۸
۳-۱۲- اثر متقابل محیط کشت و ملاس بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۸
۳-۱۳- تاثیر ویتامین‌های گروه B بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۴۹
۳-۱۴- اثرات متقابل محیط کشت، ویتامین و غلظت آنها بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۵۰
۳-۱۵- تجزیه واریانس تاثیر مقادیر بهینه شده ویتامین‌های گروه B بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۵۱
۳-۱۶- تاثیر نوع محیط کشت بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۵۲
۳-۱۷- اثر غنی‌سازی محیط کشت با سطوح بهینه شده ویتامین‌ها بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۵۲
۳-۱۸- اثرات متقابل محیط کشت و ویتامین‌ها بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۵۳
۳-۱۹- تاثیر مواد تنظیم‌کننده رشد بر رشد رویشی قارچ شیتاکه ۵۳
۳-۲۰- اثرات متقابل محیط‌کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و غلظت تنظیم‌کننده‌های بر رشد رویشی قارچ

شیتاکه.....۵۴
۳-۲۱- تاثیر نوع بستر بر وزن تر،کارایی بیولوژیکی و عملکرد قارچ شیتاکه.....۵۴
۳-۲۲- میانگین وزن تر و خشک قارچ شیتاکه.....۵۵
۳-۲۳- کارایی بیولوژیکی قارچ شیتاکه.....۵۵
۳-۲۴- عملکرد قارچ شیتاکه.....۵۵
۳-۲۵- صفات مورفولوژیکی قارچ شیتاکه.....۵۶

فصل چهارم- نتایج و بحث.....۵۸
نتایج کلی تحقیق.....۶۸
پیشنهادات.....۶۹
منابع.....۷۰

فهرست جداول

عنوان..... صفحه

جدول ۱-۱- مواد معدنی موجود در قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*) ۶

جدول ۳-۱- مقادیر عناصر معدنی، نسبت C/N و پروتئین موجود در بذر غلات.....۴۰

جدول۳-۲- مقادیر عناصر معدنی ، نسبت C/N و پروتئین موجود در عصاره غلات.....۴۰

جدول۳-۳- مقادیر محتوای رطوبتی و pH ضایعات کشاورزی مورد استفاده جهت اندام زایی.....۴۱

جدول۳-۴- مقادیر فیبر، لیگنوسلولز، لیگنین، سلولز و همی سلولز در ضایعات کشاورزی مورد استفاده جهت اندام زایی.....۴۱

جدول۳-۵- ترکیبات شیمیایی ضایعات کشاورزی مورد استفاده برای اندام‌زایی.....۴۲

جدول۳-۶- مقادیر عناصر معدنی و مواد جامد محلول ملاس چغندر قند.....۴۲

جدول۳-۷- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف بر رشد رویشی قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*).....۴۳

جدول۳-۸- تجزیه واریانس تاثیر pH بر رشد رویشی قارچ شیتاکه(*Lentinula edodes*).....۴۴

جدول۳-۹- تجزیه واریانس تاثیر ملاس بر رشد رویشی قارچ شیتاکه(*Lentinula edodes*).....۴۶

جدول۳-۱۰- تجزیه واریانس تاثیر ویتامین‌های گروه B بر رشد رویشی قارچ شیتاکه(*Lentinula edodes*).....۴۹

جدول۳-۱۱- میانگین تاثیر ویتامین‌ها و غلظت‌های مختلف بر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه در عصاره‌های گندم و سورگوم (*Lentinula edodes*).....۵۰

جدول۳-۱۲- تجزیه واریانس تاثیر مقادیر بهینه شده ویتامین‌های گروه B بر رشد رویشی قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*).....۵۱

جدول۳-۱۳- تجزیه واریانس تاثیر مواد تنظیم‌کننده رشد مختلف بر رشد رویشی قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*) ۵۳

جدول۳-۱۴- میانگین تاثیر تنظیم‌کننده‌ها و غلظت‌های مختلف بر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه در عصاره‌های گندم و سورگوم (*Lentinula edodes*).....۵۴.

جدول۳-۱۵- تجزیه واریانس تاثیر بسترهای مختلف بر میانگین وزن تر، وزن خشک، کارایی بیولوژیکی و عملکرد قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*).....۵۵

جدول۳-۱۶- میانگین وزن تر، وزن خشک، کارایی بیولوژیکی و عملکرد قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*) روی بسترهای مختلف.....۵۶

جدول۳-۱۷- صفات مورفولوژیکی قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*).....۵۷

فهرست اشکال

عنوان..... صفحه

شکل۲-۱- تنظیم pH محیط‌های کشت..... ۲۵
شکل۲-۲- اندازه‌گیری رشد میسلیوم..... ۲۷
شکل۲-۳- طرز تهیه اسپان..... ۲۸
شکل۲-۴- مراحل تولید قارچ شیتاکه..... ۲۹
شکل۲-۵- دستگاه اسپکتروفتومتر..... ۳۲
شکل۲-۶ - دستگاه فلایم‌فتومتر..... ۳۲
شکل۲-۷ - هضم نمونه برای اندازه‌گیری نیتروژن..... ۳۳
شکل۲-۸- تقطیر و تیتراسیون نمونه‌های هضم شده..... ۳۴
شکل۲-۹- اندازه گیری کربن آلی نمونه‌ها..... ۳۵
شکل۲-۱۰- دستگاه اندازه‌گیری فیبر..... ۳۷
شکل۳-۱- مقایسه میانگین سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه روی عصاره غلات با PHهای مختلف..... ۴۳
شکل۳-۲- میانگین سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه روی محیط‌های کشت مختلف در pHهای متفاوت..... ۴۴
شکل۳-۳- مقایسه میانگین سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه روی عصاره‌های غلات..... ۴۵
شکل۳-۴- مقایسه میانگین تاثیر pH بر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه..... ۴۵
شکل۳-۵- میانگین سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه روی محیط‌های کشت مختلف در pHهای متفاوت..... ۴۶
شکل۳-۶- میانگین سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه روی محیط‌های کشت غنی‌شده با سطوح متفاوت ملاس..... ۴۷
شکل۳-۷- مقایسه میانگین سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه روی عصاره‌های غلات..... ۴۷
شکل۳-۸- مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های مختلف ملاس بر سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه..... ۴۸
شکل۳-۹- میانگین سرعت رشد میسلیوم قارچ شیتاکه روی محیط‌های کشت غنی‌شده با سطوح متفاوت ملاس..... ۴۹
شکل۳-۱۰- میانگین تاثیر سطوح بهینه شده ویتامین‌های مختلف بر رشد قارچ شیتاکه در عصاره‌های گندم و سورگوم..... ۵۱
شکل۳-۱۱- مقایسه میانگین سطوح بهینه شده ویتامین‌های گروه B بر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه..۵۲
شکل۳-۱۲- میانگین تاثیر سطوح بهینه شده ویتامین‌های مختلف بر رشد قارچ شیتاکه در عصاره‌های گندم و سورگوم..... ۵۳

فصل اول

کلیات پژوهش

۱-۱- مقدمه

با افزایش روزافزون جمعیت جهان، درخواست برای غذا نیز رو به افزایش می‌باشد. افزایش روزافزون جمعیت دنیا و مشکل تأمین مواد غذایی و خوراکی در آینده‌ای نه چندان دور به مشکلی جدی مبدل خواهد شد که کشور ما نیز از این قاعده مستثنی نخواهد بود. از دیدگاه کارشناسان، افزایش تولید محصولات کشاورزی و غذا تنها راه حل مشکل گرسنگی است و به ویژه در کشورهای در حال توسعه لازم است تا سرمایه‌گذاری بیشتری در این امر صورت گیرد (Fao, 1992). کمبود غذا و سوء تغذیه از جمله مسائلی هستند که جامعه جهانی از این رهگذر با آن روبروست و فقر و گرسنگی در بسیاری از مناطق و کشورها خطرناک و جدی است (Timoti *et al*., 2000). در این بین کمبود مواد پروتئینی برای میلیون‌ها انسان مسئله بحرانی محسوب می‌شود و می‌توان گفت کمبود پروتئین در جیره غذایی بزرگ‌ترین آسیب را از لحاظ جسمی و ذهنی به انسان وارد می‌سازد، به خصوص وقتی بدانیم خطرات ناشی از تغذیه ناقص از نظر پروتئین بیشتر مواقع از نظر مخفی می‌ماند (کوچکی، ۱۳۶۴). دانشمندان تغذیه در جستجوی بهبود تولید از منابع موجود و در حال تلاش به توسعه منابع پروتئین جدید می‌باشد. با توجه به این، قارچ خوراکی می‌تواند نقش مهمی را در تامین بخشی از پروتئین موردنیاز جوامع داشته باشد. قارچ‌ها همانند دیگر میکروارگانیسم‌ها توانایی تولید مقدار زیادی پروتئین دارند (Donald *etal*., 1976). این درحالی است که امروزه قارچ خوراکی تنها سه درصد از کل پروتئین مورد استفاده جهان را تامین می‌کند (محمدی‌گل-تپه و پورجم، ۱۳۸۳). علاوه بر ارزش غذایی، قارچ‌ها دارای خواص دارویی فراوانی بوده و جهت پیشگیری و مداوای بسیاری از بیماری‌های قلبی و سرطان می‌توان از آنها استفاده کرد (صفرپور، ۱۳۸۸). قارچ‌های خوراکی و دارویی مستقیما" از ضایعات لیگنوسلولزی بخش کشاورزی (شامل کاه و کلش غلات، ضایعات

حاصل از هرس درختان، خاک‌اره، دانه قهوه، پوست پنبه‌دانه و غیره) و دامپروری (کود مرغی، کود گاوی، کود اسبی و غیره) استفاده می‌نمایند، بنابراین یکی از با صرفه‌ترین و اقتصادی ترین محصولات به‌شمار می‌آیند. اگرچه سابقه تحقیق علمی درمورد قارچ‌های کلاهک‌دار به ابتدای قرن بیستم می‌رسد، اما استفاده از قارچ‌های خوراکی برای مصارف غذایی، دارویی و اهداف مذهبی، قدمتی به اندازه تاریخ دارد. قارچ شیتاکه از نظر تولید رتبه دوم را در میان قارچ‌های خوراکی مهم دنیا به خود اختصاص داده است. تولید قارچ شیتاکه به خاطر ارزش غذایی بالا و خصوصیات دارویی در حال افزایش است و کشورهای شرقی مخصوصا" چین و ژاپن عمده‌ترین تولیدکننده آن هستند (Chang, 1999). در سال‌های اخیر تولید میسلیوم این قارچ در مقیاس وسیع در صنایع دارویی، شیمیایی و تولید تجاری آن از جایگاه ویژه‌ای برخوردار شده است (Kalmis & Kalyoncu, 2006). بررسی شرایط رشد مناسب برای رشد میسلیوم قارچ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Aneja, 2001). یکی از ملاک‌های مهم برای تولید تجاری این محصول استفاده از محیط‌های کشتی است که توانایی بالایی برای القای رشد بهینه‌ی این نوع قارچ را دارند. برای رشد اولیه میسلیوم جهت تولید اسپان این قارچ اغلب از محیط‌های کشت آماده از جمله محیط کشت عصاره مالت و دکستروز آگار استفاده می‌شود. باوجوداین، جستجو برای محیط‌های کشت جدید که حداکثر رشد میسلیومی را القا کنند می‌تواند در کوتاه‌سازی فرآیند تولید سودمند باشد. طیف گسترده‌ای از محیط‌های کشت برای قارچ‌ها استفاده می‌شوند. اغلب متخصصین اولویت را برای انتخاب محیط کشت براساس تجربه و ویژگی‌های گونه قارچ قرار می‌دهند (Royse & Sunchez-Vazguez, 2000). در شرایط آزمایشگاهی، استفاده از محیط‌های کشت جامد مناسب می‌باشد، چون در حالت وحشی، قارچ‌ها معمولاً از مواد جامد مثل چوب، پس مانده‌های بافت‌های گیاهی و حیوانی یا خاک استفاده می‌کنند (Griffin, 1994). مواد غذایی مورد نظر برای رشد میسلیوم قارچ که پایه و اساس وارد شدن به مرحله جنسی است از منابع و ترکیبات کربن‌دار به‌دست می‌آید که ناشی از تخمیر و تجزیه مواد سلولزی است و وجود نیتروژن، ویتامین‌ها و پروتئین‌ها در کمیت و کیفیت قارچ نقش دارند (محمدی گل‌تپه و پورجم، ۱۳۸۳). ترکیبات شیمیایی دانه غلات از مواد آلی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، چربی‌ها و

مواد معدنی تشکیل شده است (Cordain, 1999).

بنابراین، دانه‌های غلات با سرشار بودن از این مواد، منبع مناسبی برای رشد میسلیوم قارچ به‌شمار می‌آیند. علاوه‌براین، کشت قارچ نه تنها تاثیر زیست محیطی ضایعات کشاورزی مورد استفاده به عنوان سوبسترا را کاهش می‌دهد بلکه جایگزین قابل قبولی را به لحاظ اقتصادی برای تولید غذا با طعم وکیفیت بالا و تولید متابولیت‌های با ارزش از قبیل آنزیم یا پلی‌ساکارید تامین می‌کند. بعلاوه قارچ‌ها مخصوصا شیتاکه منبع گسترده‌ای از فرآورده‌های غنی دارویی جدید (ترکیبات بیواکتیو) هستند (Royse & Sanchez-Vazquez, 2006). دسترسی به سوبستراهای ارزان و یکنواخت برای تولید شیتاکه یک عامل مهم برای موفقیت در تولید است. تولید شیتاکه روی سوبستراهای مصنوعی غنی و استریل شده طی چند سال گذشته افزایش یافته است (Rossi *et al.*, 2002). تمایل به سمت استفاده بیشتر از بلوک-های مصنوعی در مقایسه با کنده‌های طبیعی برای تولید شیتاکه به پتانسیل عملکرد بیشتر و کاهش زمان مورد نیاز برای تولید محصول روی بلوک‌های مصنوعی نسبت داده می‌شود (Royse, 1996). از سوی دیگر، بهبود عملکرد محصول به عواملی مانند کیفیت سوبسترای مصرفی، مقدار اسپان مصرفی، شرایط محیطی رشد قارچ خوراکی، نحوه‌ی آماده‌سازی بستر کشت و استفاده از مکمل‌های غذایی ارتباط دارد (Straatsma *et al.*, 2000). با توجه به این که رشد میسلیوم یک مرحله اجتناب‌ناپذیر در صنعت قارچ و همچنین یک عامل محدودکننده به‌شمار می‌آید، بنابراین این تحقیق در راستای ارایه یک محیط کشت مناسب برای حصول حداکثر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه در کوتاه‌ترین زمان ممکن و همچنین بهترین بستر برای تولید محصولی با عملکرد بالا طراحی شد.

۱-۲- قارچ‌های خوراکی

قارچ‌ها موجوداتی هتروتروف بوده، فاقد ریشه، ساقه و برگ هستند و در یکی از پنج سلسله موجودات زنده قرار داده شده‌اند. این موجودات به علت فقدان کلروفیل قادر به سنتز مواد آلی نیستند و در نتیجه ناگزیر هستند به صورت ساپروفیت روی مواد آلی مرده گیاهی و جانوری و یا به صورت انگل زیست

کننـد. بیشـتر قـارچهـای خـوراکی متعلـق بـه تیـرهی بازیدیومیسـتهـا و آسکومیسـتهـا هسـتند (Patak *et al.*, 2003). قـارچهـای چتـری متعلـق بـه راسـته Agaricales و Aphyllophorales از رده بازیدیومستها هستند و گروه خوراکی آنها، Mushroom و قارچهـای سـمی Toadstool نامیـده مـی شـود (محمدی گلتپه و پورجم، ۱۳۸۳). رایجتـرین قـارچهـای کشـت شـده شـامل تکمـهای (*Agaricus* spp.)، شیتاکه (*Lentinula edodes*)، صدفی(*Pleurotus* spp) است (Marshall & Nair, 2009). شیتاکه دومـین قارچ خوراکی محبوب در سرتاسر جهان بوده و به لحـاظ اهمیـت خـوراکی و دارویـی قـرنهـای زیـادی در بسیاری از کشورها مانند چین، ژاپن، کره و دیگر کشورهای آسیایی کشت شده است و از لحاظ میزان تولید پس از قارچ تکمهای در رتبه دوم قرار دارد (Gaitan-Hernandez, 2011). شیتاکه یک بازیدیومایست هوازی بوده (Andra *et al.*, 2008) و به نامهای متفاوتی در بسیاری از کشورهای جهان معروف است. بـرای مثـال، در ایالات متحده (قارچ سیاه جنگلی)، فرانسه (لنتین)، ژاپن (شیتاکه) و در چین شکلهای متفاوت شـیتاکه با نام های متفاوت*xiang-gu*(معطر و خوشبو)، hua-gu (قارچ رنگی) و *dong*-gu (قارچ زمسـتانی) مشـهور است (Chen, 2001). نام شیتاکه از دو واژه ژاپنی Shi به معنای بلوط و Take به معنای قارچ منشـا گرفتـه است که آن به اهمیت درخت بلوط به عنوان میزبان اصلی برای رشد قارچ برمیگردد (Royse, 2001). قارچ شیتاکه از جمله فرآوردههایی است که در دنیا از مصرف بالایی برخوردار است. این قارچ میتواند در تمـامی فصـول سـال در شـرایط کنتـرلشـده روی انـواع مختلفـی از چـوبهـای سـخت مـرده رشـد کنـد (Ashrafuzzaman *et al.*, 2009).

۱-۳- اهمیت غذایی و جایگاه قارچ شیتاکه در دنیا

قارچها دارای طعم و مزه عالی و ارزش غذایی بالا در سرتاسر جهان میباشد. ارزش غذایی قارچ از سال ۱۹۴۰ به بعد، همزمان با کمبود مواد غذایی ناشی از جنگ جهانی دوم مورد توجه قرار گرفت. کمبود جهانی پروتئین در کشورهای توسعه نیافته از سال ۱۹۶۰ به بعد، انگیزه بیشتری را در زمینهی استفاده از قارچهای خوراکی به عنوان غذا فراهم ساخت (Khan & Tania, 2012). میزان تولید قارچ

خوراکی در دنیا سالانه ۲ میلیون و ۹۶۱ هزار و ۵۰۰ تن است. کشورهای عمده تولیدکننده قارچ دنیا به‌ترتیب چین، آمریکا، هلند، اسپانیا، فرانسه و لهستان هستند و رتبه ایران نیز از نظر سطح زیر کشت و تولید قارچ خوراکی در دنیا به‌ترتیب هشتم و هجدهم است. در این میان، چین نه تنها بزرگ‌ترین تولیدکننده قارچ به‌شمار می‌رود بلکه ۷۰ درصد تجارت قارچ آسیا در اختیار این کشور می‌باشد (Gyorfi & Hajdo , 2007). تولید قارچ شیتاکه در یک دوره ۱۴ ساله از سال ۱۹۸۳ تا ۱۹۹۷ به میزان هفت برابر رشد داشته است، به‌طوری‌که در این دوره از ۲۰۷۰۰۰ تن به ۱۵۷۳۰۰۰ تن رسیده است. بخش عمده این افزایش در کشور چین صورت گرفته است، و در سال ۱۹۹۷ تقریبا ۸۸ درصد تولید این قارچ را به خود اختصاص داده است. در آمریکا تولید شیتاکه نسبتا جدید بوده و به اواخر دهه ۱۹۷۰ بر می‌گردد (Chang, 1997). میوه قارچ شیتاکه حاوی ۸۸ تا ۹۲ درصد آب، پروتئین، لیپید، کربوهیدرات و ویتامین (تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، ویتامینD) است. همچنین این قارچ حاوی اسید چرب (۳/۳۸٪) و اسید آمینه‌های فراوان می‌باشد. علاوه بر این، قارچ شیتاکه سرشار از مواد معدنی (کلسیم، فسفر، پتاسیم، منیزیم، منگنز، روی و آهن) است (Longavah & Doshtale, 1998) (جدول ۱-۱). مقدار پروتئین قارچ‌های شیتاکه بین۱۳ تا ۱۸ درصد، فیبر آن ۶ تا ۱۵ درصد و چربی آن بین ۲ تا ۵ درصد است (محمدی گل‌تپه و پور جم، ۱۳۸۳). علاوه‌براین، قارچ‌های شیتاکه تقریبا" سرشار از تمامی اسید آمینه‌های ضروری با لیزین و آرژنین بالا (Liu & Bau, 1980) و متیونین و فنیل‌آلانین پایین می‌باشد (Lasota & Sylwesterzak, 1989).

جدول ۱-۱- مواد معدنی موجود در قارچ شیتاکه (*Lentinula edodes*)

عناصر غذایی	خاکستر*	پروتئین*	چربی*	کلسیم**	منیزیم**	فسفر**	آهن**	منگنز**	روی**
مقدار	۶	۲۲/۸	۲/۱	۱۲۷	۲۰۰	۴۳۹	۲۰/۱	۵/۱	۴/۳

*برحسب گرم در ۱۰۰گرم وزن خشک **بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک

علاوه‌بر ارزش غذایی، بسیاری از قارچ‌ها به خاطر اهداف دارویی کشت می‌شوند. تقریبا حدود ۲۷۰ گونه قارچی با خاصیت دارویی متفاوت شناخته شده است (Ying *etal*., 1987). عصاره قارچ‌های خوراکی

دارویی مهم برای جلوگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها برای هزاران سال خصوصا" در نواحی شرقی شناخته شده است (Kidd, 2000; Israilides & Philippoussis, 2003). خواص درمانی قارچ شیتاکه شامل تقویت سیستم ایمنی بدن در مقابل امراض، کاهش میزان کلسترول خون و اثرات ضدویروسی مانند ویروس ایدز و ضدسرطانی است (Hatvani, 2001). محققان آمریکایی و ژاپنی دریافتند که این قارچ حاوی تعداد زیادی از ترکیبات فعال بیولوژیکی هستند که از تخریب سلول‌ها ممانعت می‌کند. این قارچ دارای پلی‌ساکارید لنتینان[1] است که دارای اثرات ضدویروسی، ضدباکتریایی، ضدقارچی می باشد (Ooi & Liu, 1999 ; Hobbs, 2003).

۱-۴- رده‌بندی و چرخه زندگی قارچ شیتاکه

قارچ شیتاکه متعلق به سلسله Fungi، شاخه Basidiomycota، رده Basidiomycetes، راسته Agaricales، تیره Agaricaceae، جنس *Lentinula* و گونه *edodes* می‌باشد (Boer *et al*., 2004). زیستگاه طبیعی این قارچ درختان جنگلی پهن‌برگ به خصوص گونه‌های *Quercus*، *Pasania* و *Fagus* می‌باشد. اگرچه ممکن است قارچ روی درختان زنده نیز پیدا شود، اما این امر دلیل بر انگل بودن آن نیست، بلکه این قارچ یک ساپروفیت واقعی است که فقط از بافت‌های مرده و قهوه‌ای تغذیه می‌کند (محمدی گل‌تپه و پورجم، ۱۳۸۴). چرخه زندگی شیتاکه معرف راسته آگاریکاله است. بازیدیوسپورهای یک هسته‌ای هاپلویید آن در محیط کشت جوانه‌زنی کرده و میسلیوم یک هسته‌ای هاپلویید طویل، مونوکاریون[2] تولید می‌نماید. مونوکاریون که از کشت تک اسپور حاصل شده، از چهار قطب مختلف تشکیل شده، ولی به لحاظ مورفولوژیکی شباهتی بین آنها وجود ندارد (متقی، ۱۳۸۴). فاز جنسی در اثر آمیزش دو نژاد سازگار به منظور تشکیل دیکاریون[3] به وقوع می‌پیوندد. تداوم رشد میسلیوم در محیط کشت منتج به تشکیل پریموردیوم ظریفی به شکل و ساختمان چتر مانند ظاهر و به هیمنیوم[4] ختم می-گردد. لایه هیمنیوم، تیغه‌ها را تولید می‌نماید که به طور مداوم در زیر کلاهک قارچ تشکیل می‌گردد.

1. Lentinan
2. Monokarion
3. Dikarion
4. Hymenium

هیمنیوم سلول‌های انتهای ویژه‌ای به نام بازیدیا[1] به‌وجود می‌آورد. بازیدیوم که اساسا" دو هسته‌ای است، محل آمیزش هسته و میوز است. به طور نرمال ۴ بازیدیواسپور از استریگما واقع در سطح بیرونی بازیدیو خارج می‌گردد. در نهایت، بازیدیوسپورهای رسیده از استریگماتا رها می‌گردد (متقی، ۱۳۸۴).

۱-۵- ریخت‌شناسی قارچ شیتاکه

کلاهک قارچ شیتاکه پهن و به قطر ۵ تا ۲۵ سانتیمتر است (محمدی گل‌تپه و پورجم، ۱۳۸۴) و به رنگ زرد تا قهوه‌ای متمایل به قرمز تیره و محدب ظاهر می‌شود که با افزایش سن، تحدب و برآمدگی آن به حالت هموار و برابر تغییرشکل پیدا می‌کند. حاشیه کلاهک ساده تا نامنظم بوده و لبه‌ها به سمت داخل پیچ خورده و پس از بلوغ گسترده و پهن می‌شود. گوشت قارچ پایدار بوده و به راحتی قابل خشک کردن می‌باشد (متقی، ۱۳۸۴). تیغه‌ها در ابتدا سفید بوده و با افزایش سن مضرس و نامنظم می‌شوند. در صورت صدمه، تیغه‌ها رنگ قهوه‌ای کبود پیدا می‌کنند. پایه فیبری بوده و به صورت مرکزی یا غیرمرکزی به کلاهک متصل شده است. اسپورها نیز سفید با ابعاد ۶/۵- ۵ × ۳/۵-۳ میکرون، تخم‌مرغی‌شکل یا بیضی کشیده می‌باشند. بازید چهار اسپوره و هیف‌های رویشی دارای قوس اتصال است (محمدی گل‌تپه و پورجم، ۱۳۸۴).

۱-۶- عوامل موثر در رشد شیتاکه

۱-۶-۱- دما و pH

دما موثرترین عامل بر رشد، زمان باردهی، عملکرد و شکل قارچ تولید شده است (Przybylowicz & Donoghue, 1988). سه ناحیه دمایی مهم برای کشت قارچ وجود دارد: دمای بیرون اتاق رشد، دمای داخل اتاق رشد و دمای بستر کشت. دمای داخل بستر کشت مهم‌ترین پارامتر تاثیرگذار بر رشد و باردهی است (Oei, 1996). دمای بهینه برای رشد میسلیوم قارچ شیتاکه وجود دارد. این ممکن است به خاطر اثر دما بر فعالیت آنزیمی و در نتیجه تغییراتی در میزان فرآیندهای شیمیایی باشد

1. Bazidia