تاثیر pH، ملاس چغندر قند، ویتامین‌های گروه B و مواد تنظیم‌کننده رشد بر رشد رویشی میسلیوم قارچ شیتاکه (Lentinula edodes) روی عصاره غلات

تـاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۴
تاریخ پذیرش:۱۳۹۴/۹/۲۵
از صفحه ۴۹ تا صفحه ۵۸

رقیه کریمی‌راد
دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل.

مهدی بهنامیان
استادیار گـروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل.
mbehnamian@uma.ac.ir

سارا دژستان
استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل.

چکیده

اولین گام در صنعت پرورش قارچ، تولید میسلیوم است. با توجه به اثر نوع محیط کشت بر رشد میسلیومی، اهمیت انتخاب محیط کشت مناسب برای تکثیر کشت‌های خالص جهت تولید اسپان، کمتر از انتخاب سویه برای تولید محصول نیست. بنابراین در این تحقیق چهار آزمایش مختلف جهت ارزیابی اثر pH، ملاس چغندر قند، ویتامین‌های گروه B و تنظیم‌کننده‌های رشد به منظور القای حداکثر رشد میسلیوم قارچ شیتاکه (Lentinula edodes) روی عصاره‌های غلات طراحی شد. نتایج اختلاف معناداری را بین تیمارها و اثرات متقابل آن‌ها نشان داد. در مجموع، قارچ مورد مطالعه بالاترین سرعت رشد میسلیومی (۱۰/۴ میلیمتر در روز) را در عصاره سورگوم با pH=4.5 به‌دست آورد. با وجود این، محیط کشت مالت اکسترکت آگار با pH=6 کمترین میزان رشد (۷/۶ میلی‌متر در روز) را القا کرد. علاوه بر این، غنی‌سازی محیط کشت با ملاس باعث کاهش میزان رشد رویشی شد. در این تحقیق، کمترین میزان رشد در عصاره ذرت غنی‌شده با ۳ گرم در لیتر ملاس (۵/۸ میلی‌متر در روز) اتفاق افتاد. از سوی دیگر، عصاره سورگوم غنی‌شده با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر تیامین (B_1) (۱۲/۹ میلی‌متر در روز) و عصاره گندم غنی شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک اسید (B_3) (۸/۳ میلی‌متر در روز) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان رشد را القا کردند. به علاوه، عصاره سورگوم غنی‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر2,4-D (۱۵/۱ میلی‌متر در روز) بیشترین رشد میسلیومی و عصاره گندم غنی‌شده با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IAA (۹/۱۵ میلی‌متر در روز)کمترین میزان رشد گشت.

کلید واژه:
تنظیم‌کننده رشد، عصاره غلات، قارچ شیتاکه، ملاس، ویتامین

مقدمه

در سال‌های اخیر تولید میسلیوم قارچ شیتاکه (Lentinula) Singer (Berk.) edodes در مقیاس وسیع در صنایع دارویی، شیمیایی و تولید تجاری آن جایگاه ویژه‌ای به دست آورده است (Kalmis and Kalyonca, 2006). از سویی دیگر با توجه به تأثیر نوع محیط کشت در رشد میسلیوم، اهمیت انتخاب محیط کشت مناسب برای تکثیر کشت‌های خالص جهت تولید اسپان، کمتر از انتخاب سویه برای تولید محصول نیست. در حقیقت، اگر محیط کشت نیازهای رشدی میسلیوم و عوامل تقویت‌کننده آن را فراهم کند میسلیوم قارچ سریع‌تر رشد کرده و بر آلودگی محیطی بستر غلبه خواهد شد. ترکیب شیمیایی دانه‌های غلات از مواد آلی مانند: کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، چربی‌ها و مواد معدنی تشکیل شده است. بنابراین، دانه‌های غلات با سرشار بودن از این مواد، منبع مناسبی برای رشد میسلیوم قارچ به‌شمار می‌آیند. ملاس نیز که یک منبع قندی برای رشد میسلیوم به شمار می‌آید به عنوان مکمل به محیط‌های کشت برای ترغیب رشد رویشی افزوده می‌شود(Petal et al., 2009). علاوه‌براین، ویتامین‌ها در غلظت پایین باعث واکنش رشدی سریعی می‌شوند و به‌طور معمول یک نقش کاتالیزوری در سلول مانند کوآنزیم‌ها را دارا هستند یا در ساختار کوآنزیم‌ها مشارکت دارند(Adenipekun and Gbolagade, 2006). تنظیم‌کننده‌های رشد نیز می‌توانند نقش مهمی در رشد میسلیوم قارچ داشته باشند. بسیاری از تنظیم‌کننده‌ها در غلظت‌های مختلف تأثیر متفاوتی بر رشد میسلیوم و در نهایت بر اندازه و عملکرد قارچ‌ها دارند(Maniruzzaman, 2004). از سوی دیگر، عوامل محیطی مانند: دما، رطوبت و pH نیز رشد میسلیوم قارچ را تحت تأثیر قرار می‌دهند(Nwanze et al., 2005). به‌طوری‌که بسیاری از قارچ‌ها در pH پایین (pH=4) از رشد بهینه برخوردار هستند(Kim et al., 2005). منبع نیتروژن و کربن، نسبت کربن به نیتروژن و یون‌های معدنی نیز می‌توانند سرعت رشد میسلیوم را تحت تأثیر قرار دهند(Bae et al., 2000 ؛Kim et al., 2002). کلسیم و منیزیم هر کدام به‌دلیل نقششان در فعالیت آنزیمی و متابولیسم ATP که انرژی لازم برای رشد را فراهم می‌کنند، برای رشد قارچ اهمیت دارند(Adejoye et al., 2006). عنصر آهن نیز برای فعالیت آنزیم‌های قارچ و همچنین به‌عنوان کاتالیزور برای واکنش‌های متابولیسمی مورد نیاز است(Adejoye and Fasidi., 2009). با توجه به این که رشد میسلیوم یک مرحله اجتناب‌ناپذیر در صنعت قارچ و همچنین یک عامل محدودکننده به‌شمار می‌آید، استفاده از محیط‌های کشتی که بیشترین رشد میسلیومی را القا کنند، یک عامل مهم در صنعت تولید قارچ شیتاکه است. بنابراین، در این تحقیق، ۴ آزمایش مختلف برای ارزیابی اثر pH، ملاس چغندر قند، ویتامین‌های گروهB و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه روی عصاره‌های غلات صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد آزمایش

برای انجام این آزمایش، از دانه‌های غلات سورگوم، گندم، جو، چاودار، ذرت و ارزن استفاده شد. سویه خالص قارچ شیتاکه (Lentinula) edodes از شرکت پژوهشگران قارچ آرین تهیه گردید.

اثر pH

در این آزمایش به‌منظور عصاره‌گیری ابتدا دانه‌های غلات شامل: سورگوم، گندم، جو، چاودار، ذرت و ارزن جهت حذف هر نوع ضایعات با آب تمیز شسته شدند. سپس مقدار ۳۲ گرم از هر کدام از دانه‌های غلات به‌مدت ۲۴ ساعت در ۱ لیتر آب مقطر برای جذب حداکثر رطوبت خیسانده شد. سپس به مدت ۲ ساعت جوشانده شدند و در نهایت، عصاره حاصل، به وسیله‌ی فیلتر صاف گردید. پس از آن، عصاره به‌دست آمده به حجم ۱ لیتر رسانده شد. پس از عصاره‌گیری، برای تنظیم pH محیط از HNO_3 و KOH (۰/۱ نرمال) استفاده شد و pH عصاره‌ها در سه سطح ۴/۵، ۵ و ۵/۵ تنظیم گردید. محیط کشت تجاری

مالت اکسترکت آگار (میکرو لب کانادا) نیز با pH=6 (ثابت) به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس ۱۵ گرم در لیتر آگار به هر یک از محیط‌ها اضافه و اندکی حرارت داده شد تا محلولی شفاف به‌دست آید. پس از آن محیط‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده و سپس در زیر هود لامینار در ظروف پتری ۱۲ سانتی‌متری توزیع شدند. روز بعد پس از اطمینان از عدم وجود آلودگی در محیط‌ها عمل مایه‌زنی آن‌ها در زیر هود لامینار با استفاده از کورک بورر ۵ میلیمتری صورت گرفت. سپس کشت‌ها در داخل انکوباتور، در شرایط تاریکی، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد نگه‌داری شدند تا میسلیوم مایه‌زنی شده تمامی سطح پتری را بپوشاند. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت.

اثر ملاس چغندر قند

برای انجام این آزمایش ملاس چغندر قند مورد نیاز از کارخانه قند پارس آباد مغان تهیه شد. پس از تهیه عصاره‌ها مقادیر ملاس چغندر قند در ۴ سطح صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ۳ گرم در لیتر توزین شده و در آب حل شدند و پس از حل کردن در آب به محیط‌های کشت اضافه شدند. سپس pH عصاره‌ها با توجه به نتایج حاصل از آزمایش اول در سطح ۵ برای گندم، جو، چاودار، ارزن و ذرت و ۴/۵ برای سورگوم تنظیم گردید. پس از تنظیمpH ، سایر مراحل، مشابه آزمایش قبلی صورت گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت.

اثر ویتامین‌های گروه B

برای انجام این آزمایش محلول پایه ویتامین‌های تیامین (B_1)، بیوتین(B_7)، نیکوتینیک‌اسید (B_3) و پیریدوکسین (B_6) تهیه و به‌وسیله فیلتر، استریل شده و در غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر به محیط‌های کشت اضافه گردیدند. در این آزمایش فقط از عصاره دانه‌های سورگوم و گندم استفاده شد که بیشترین رشد رویشی را در آزمایش‌های قبلی القا کرده بودند. سایر مراحل، مشابه آزمایش‌های قبلی صورت گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت.

اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی

در این آزمایش ابتدا محلول پایه ایندول‌استیک‌اسید (IAA)، نفتالین‌استیک‌اسید (NAA)، جیبرلین (GA_3) و 2-4-D تهیه گردید و پس از استریل کردن به‌وسیله فیلتر، در غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۱، و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به محیط‌های کشت اضافه شدند. در این آزمایش نیز فقط از عصاره دانه‌های سورگوم و گندم استفاده شد که بیشترین رشد رویشی را در آزمایش‌های قبلی القا کرده بودند. سایر مراحل، مشابه آزمایش‌های قبلی صورت گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت.

اندازه‌گیری رشد رویشی

در همه آزمایش‌های مذکور، به‌منظور بررسی سرعت رشد رویشی، اندازه‌گیری قطر کلونی در دو جهت عمود بر هم به‌طور روزانه در یک زمان معین انجام گرفت.(Aneja, 2001) سرعت رشد میسلیوم برحسب میلیمتر در روز با کولیس اندازه‌گیری گردید. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.19 تجزیه شد و مقایسه میانگین داده‌ها به‌روش SNK صورت پذیرفت.

تعیین ترکیب شیمیایی محیط‌های کشت و ملاس

برای اندازه‌گیری عناصر کلسیم، سدیم و پتاسیم در نمونه‌ها از دستگاه فلایم‌فتومتر استفاده شد و

مقادیر عناصر آهن و روی و منیزیم موجود در هر نمونه برحسب میلی‌گرم در لیتر به وسیله‌ی دستگاه جذب اتمی قرائت گردید(Jones, 2001). براي اندازه‌گيري ميزان فسفر نيز از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد(Jones, 2001) و برای محاسبه کربن آلی از روش واکلی- بلک(Ehyaei and Behbahani, 1993) و نیتروژن آلی از روش کجلدال استفاده گردید (Tbatabaei, 2010) همچنین از ضریب تبدیل ۴/۳۸ براي محاسبه ميزان پروتئين استفاده شد (Gu and Belury, 2005)(جداول ۱و ۲).

جدول۱

مقادیر عناصر معدنی، نسبت C/N و پروتئین موجود در محیط‌های کشت

	Ca (%)	K (%)	Na (%)	P (%)	Mg mg.l-1))	Zn (mg.l-1)	Fe (mg.l-1)	C (%)	N (%)	C/N	Protein (%)
گندم	۰/۲۸	۰/۵۳	۰/۸۵	۴/۲۵	۲۰	۰/۰۷	۰/۳۲	۱۰	۰/۶	۱۶/۶۶	۲/۶۲
جو	۰/۲۸	۰/۵۲	۱/۰۵۲	۴/۰۵	۲۰	۰/۰۳	۰/۵۲	۹/۲	۰/۵۸	۱۵/۸	۲/۵۴
چاودار	۰/۲۵	۰/۴۱	۱/۱۲	۳/۵۵	۱۲/۵	۰/۰۳	۰/۰۸	۸/۸	۰/۵۶	۱۵/۷	۲/۴۵
سورگوم	۰/۳	۰/۵۴	۰/۷۹	۴/۴	۲۰	۰/۰۶	۰/۵۸	۱۰/۸	۰/۴۵	۲۴	۱/۹۷
ارزن	۰/۱۵	۰/۳۲	۱/۱۲	۳/۲	۱۲/۵	۰/۰۴	۰/۳۲	۸/۴	۰/۵۴	۱۵/۵	۲/۳۶
ذرت	۰/۱۴	۰/۳۱	۱/۲۲	۴/۵۳	۱۷/۵	۰/۱	۰/۰۹	۷/۴	۰/۴۸	۱۵/۴	۲/۱

جدول۲

مقادیر عناصر معدنی در ملاس چغندر قند

Ca(%)	K(%)	Na(%)
۱/۲۴	۱/۹۶	۲/۸۲

نتایج و بحث

اثر محیط کشت و pHبر رشد رویشی قارچ شیتاکه

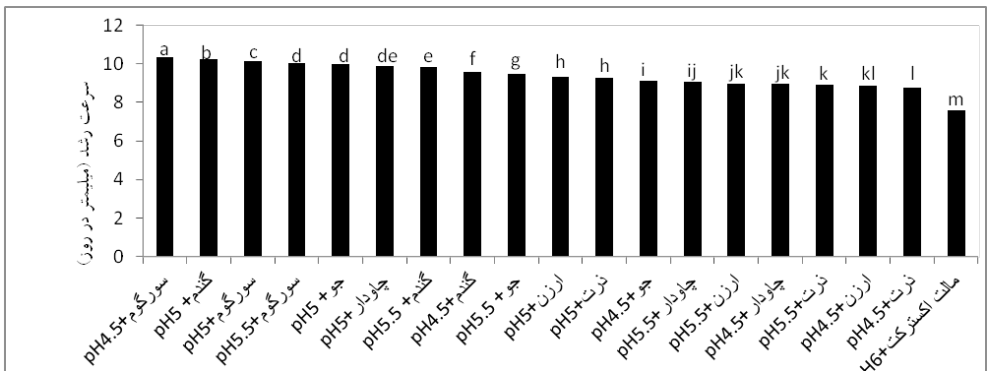
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معناداری در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای مختلف وجود داشت(جدول ۳). براساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین سرعت رشد رویشی در محیط کشت سورگوم با pH=4.5 (۱۰/۴ میلی‌متر در روز) مشاهده شد. باوجوداین، قارچ مورد مطالعه در محیط‌های کشت گندم و سورگوم با pH=5 نیز به‌ترتیب با رشد میسلیومی ۱۰/۲۶ و ۱۰/۱۳ میلی‌متر در روز از سرعت رشد مطلوبی برخوردار بود. کمترین میزان رشد رویشی نیز در محیط کشت تجاری مالت اکسترکت آگار(۷/۶ میلی‌متر در روز) اتفاق افتاد(شکل۱). مطالعات نشان داده است که با افزایش pH از ۳ به ۵، میزان آنزیم لاکاز نیز افزایش می‌یابد، ولی با بالاتر رفتن pH از ۵، تولید این آنزیم کاهش می‌یابد. این نوسان در تولید آنزیم لاکاز به تغییر در ساختار سه بعدی آنزیم‌ها در واکنش به تغییرات pH نسبت داده شده است(Petal et al., 2009). از سوی دیگر، افزایش رشد رویشی قارچ شیتاکه در pH پایین، به‌ویژه در محیط کشت سورگوم، می‌تواند به‌دلیل افزایش دسترسی به یون‌هایی مانند آهن باشد (Khan et al., 1991 ؛ Hassegawa et al., 2005).

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		سرعت رشد خطی(میلی‌متر در روز)
تیمار	۱۸	۱/۳۸۱ **
خطا	۳۸	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات (٪) = ۰/۷		

**نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

جدول۲

تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف بر رشد میسلیوم قارچ شیتاکه Lentinula edodes.



شکل۱

مقایسه میانگین سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه (Lentinula edodes) روی عصاره غلات با pHهای مختلف

اثر متقابل محیط کشت و ملاس بر رشد رویشی قارچ شیتاکه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل محیط کشت و ملاس تأثیر معناداری در سطح احتمال یک درصد بر رشد رویشی قارچ شیتاکه دارد(جدول ۴). براساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان رشد رویشی در محیط‌های کشت سورگوم و گندم شاهد (فاقد ملاس)(به‌ترتیب ۱۰/۳ و ۱۰/۲ میلی‌متر در روز) مشاهده شد. کمترین میزان رشد نیز در محیط کشت ذرت غنی‌شده با ۳ گرم در لیتر ملاس (۵/۸ میلی‌متر در روز) اتفاق افتاد. در مجموع، در کلیه محیط‌های کشت مورد مطالعه، با افزایش سطح ملاس، سرعت رشد رویشی کاهش یافت(شکل ۲).

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		سرعت رشد خطی (میلی‌متر در روز)
تکرار	۲	۱/۴۴ **
محیط کشت	۵	۶/۶۱ **
ملاس	۳	۳۱/۲۳ **
محیط کشت × ملاس	۱۵	۰/۲ **
خطا	۴۶	۰/۰۲
ضریب تغییرات (٪) = ۱/۷		

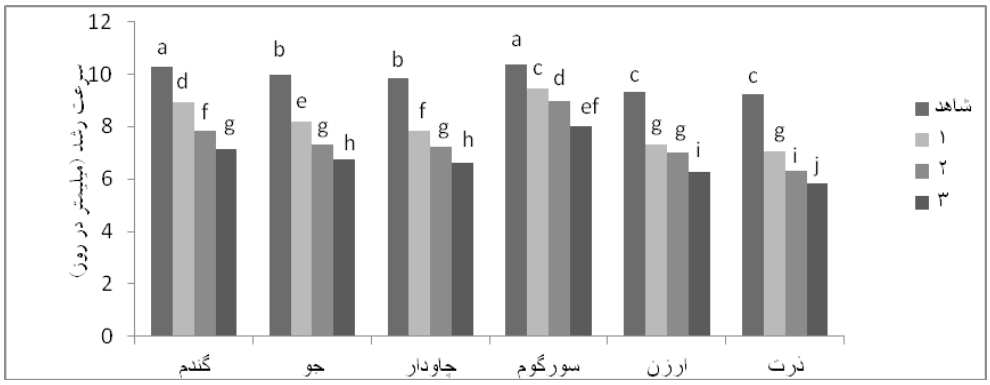
**نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

جدول۴

تجزیه واریانس تاثیر ملاس بر رشد رویشی قارچ شیتاکه (Lentinula edodes)

بررسی‌ها نشان داده است که کلسیم، منیزیم و پتاسیم از عناصر پرمصرف و آهن، مس، منگنز و روی از عناصر کم‌مصرف می‌توانند رشد میسلیوم قارچ را تحت تأثیر قرار دهند. از سوی دیگر، یکی از عوامل پایین بودن میزان رشد میسلیوم قارچ به دلیل بالا بودن میزان سدیم است که مانع بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی از جمله تنفس می‌شود و با ایجاد سمیت در محیط کشت باعث کاهش رشد می‌گردد(Adejoye and Fasidi, 2009).

بنابراین، به‌نظر می‌رسد دلیل بالا بودن میزان رشد در محیط کشت سورگوم، مقادیر بالای عناصر کلسیم، منیزیم و آهن و همچنین میزان سدیم کمتر باشد. تجزیه شیمیایی محیط‌های کشت استفاده‌شده نشان داد که محیط کشت سورگوم با نسبت C:N= 24:1 شرایط مناسبی برای رشد رویشی قارچ شیتاکه فراهم کرده است. برعکس، محیط کشت ذرت با دارا بودن نسبت C:N= 15:1 کمتر رشد کمتری را نیز القا کرد. تجزیه شیمیایی ملاس چغندر قند نیز نشان داد که میزان عنصر سدیم در مقایسه با عناصر کلسیم و پتاسیم بالاتر بوده و در نتیجه با افزودن ملاس چغندر قند حالت سمیت بیشتری به‌وجود می‌آید و در نتیجه فرآیندهای شیمیایی از جمله تنفس مختل می‌شود.



شکل ۲

میانگین سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه (Lentinula edodes) روی محیط‌های کشت غنی‌شده با سطوح مختلف ملاس

اثر غنی‌سازی با ویتامین‌های گروه B بر رشد رویشی قارچ شیتاکه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معناداری در سطح احتمال یک درصد بین محیط‌های کشت، ویتامین‌ها و سطوح مورد استفاده آن‌ها و همچنین اثر متقابل آن‌ها وجود داشت(جدول۵).

براساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین رشد رویشی در عصاره سورگوم غنی‌شده با ۰/۲۵ میلی‌گرم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات سرعت رشد خطی (میلی‌متر در روز)
محیط کشت	۱	۰/۳۵**
ویتامین و سطح ویتامین	۱۶	۷/۱۴ **
محیط کشت × ویتامین و سطح ویتامین	۱۶	۰/۰۰۷ **
خطا	۶۸	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات(٪) = ۰/۸		

جدول۵

تجزیه واریانس تاثیر ویتامین‌های گروه B بر رشد رویشی قارچ شیتاکه (Lentinula edodes)

**نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

در لیتر تیامین(۱۲/۹ میلی‌متر در روز) و کمترین آن در عصاره گندم غنی‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک اسید(۸/۳ میلی‌متر در روز) مشاهده شد(جدول ۶). در مجموع، تیامین، پیریدوکسین، بیوتین و نیکوتنیک اسید به ترتیب در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین میزان رشد را القا کرد و با افزایش سطح ویتامین، میزان رشد کاهش یافت. ویتامین‌ها در غلظت پایین باعث واکنش رشدی سریعی می‌شوند و به‌طور معمول یک نقش کاتالیزوری در سلول مانند کوآنزیم‌ها را دارا هستند یا در ساختار کوآنزیم‌ها مشارکت دارند (Adenipekun and Gbolagade, 2006). در بررسی دیگر روی گونه‌ای دیگر از قارچ شیتاکه (Lentinus tuberregium)، نیز تیامین بیشترین تأثیر را بر رشد میسلیوم قارچ داشت (Manjunthan and Kaviyarasam , 2010).

	سورگوم	گندم
تیامین+۰/۲۵	۱۲/۹ a	۱۲/۷۵ b
تیامین+۰/۵	۱۰/۷ f	۱۰/۶ g
تیامین+۰/۷۵	۹/۵۶ m	۹/۴۳ n
تیامین +۱	۹/۲۴ q	۹/۱۱ r
بیوتین+ ۰/۲۵	۱۰/d۹۴	۱۰/۸۸ d
بیوتین+ ۰/۵	۱۰/۴۷ hi	۱۰/i۴۳
بیوتین+ ۰/۷۵	۹/۴۱ no	۹/۳۵ op
بیوتین +۱	۸/۸ t	۸/۵۶ u
نیکوتینیک اسید+ ۰/۲۵	۱۰/۸۸ d	۱۰/۸ e
نیکوتنیک اسید+ ۰/۵	۱۰/۱۱ k	۹/۹۳ l
نیکوتینیک اسید+ ۰/۷۵	۹/۳۵ op	۹/۳۲ p
نیکوتینیک اسید +۱	۸/۵۶ u	۸/۳ v
پیریدوکسین+۰/۲۵	۱۱/۱۸ c	۱۱/c۱۲
پیریدوکسین+۰/۵	۱۰/۶۸ f	۱۰/۵ h
پیریدوکسین+۰/۷۵	۹/۴۶ n	۹/۴۰ no
پیریدوکسین+۱	۹/۱۲ r	۹/۰۳ s
شاهد	۱۰/۲۷ j	۱۰/j۲۷

میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول۶

میانگین تاثیر ویتامین‌ها و غلظت‌های مختلف بر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه در عصاره‌های گندم و سورگوم (Lentinula edodes)

اثر غنی‌سازی با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر رشد رویشی قارچ شیتاکه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف معناداری در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها و اثر متقابل آن‌ها وجود دارد(جدول۷). در این آزمایش، بیشترین رشد رویشی در محیط کشت سورگوم حاوی یک میلی‌گرم در لیتر 2,4-D (۱۵/۱ میلی‌متر در روز) و کمترین آن در محیط کشت گندم غنی‌شده با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید(۹/۱۵ میلی متر در روز) مشاهده شد(جدول ۸).

در این تحقیق بیشترین رشد در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده 2,4-D مشاهده شد و با افزایش غلظت تنظیم‌کننده رشد میزان رشد کاهش یافت.2,4-D در طویل شدن سلول و تمایزیابی قارچ‌ها همچون گیاهان عالی نقش دارند. به‌طوری‌که تنظیم‌کننده رشد2,4-D با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر رشد رویشی قارچ Psathyerella atroumbonata را افزایش دادند و جیبرلین نیز با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش رشد گردید و با افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌ها میزان رشد کاهش یافت (Jonathan and Fasidi, 2003)

		میانگین مربعات
	درجه آزادی	سرعت رشد رویشی (میلی‌متر در روز)
تکرار	۲	۰/ ۰۱۷ **
محیط کشت	۱	۱/۶۴**
سطوح مواد تنظیم‌کننده رشد	۱۲	۱۱/۸ **
محیط کشت × سطوح مواد تنظیم‌کننده رشد	۱۲	۰/۰۵۳**
خطا	۵۰	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (٪) = ۰/۴۳		

**نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول۷

تجزیه واریانس تاثیر مواد تنظیم‌کننده رشد مختلف بر رشد رویشی قارچ شیتاکه (Lentinula edodes)

	سورگوم	گندم
0.1+2.4-D	۱۱/۶۸ f	۱۱/۲۸ i
1+2.4-D	۱۵/a۱۲	۱۴/b۴۱
10+2.4-D	۱۱/۷۷ e	۱۱/gh۴۱
جیبرلین+۰/۱	۱۰/۸۷ l	۱۰/۶۲ n
جیبرلین+۱	۱۲/۲۶ c	۱۲/۰۱ d
جیبرلین+۱۰	۱۰/۹۴ k	۱۰/۸۳ lm
نفتالین استیک اسید +۰/۱	۱۰/۶۳ n	۱۰/۴۱ o
نفتالین استیک اسید+ ۱	۱۱/۳۷ h	۱۱/۱۱ j
نفتالین استیک اسید+۱۰	۹/۳۰ r	۹/۲۵ r
ایندول استیک اسید+۰/۱	۱۰/۷۶ m	۱۰/۵۹ n
ایندول استیک اسید+۱	۱۱/f۶۵	۱۱/۴۶ g
ایندول استیک اسید+۱۰	۱۰/۳۸ q	۹/۱۵ s
شاهد	۱۰/۱۷ p	۱۰/۱۶ p

میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند

جدول۸

میانگین تأثیر تنظیم‌کننده‌ها و غلظت‌های مختلف بر سرعت رشد رویشی قارچ شیتاکه در عصاره‌های گندم و سورگوم (Lentinula edodes)

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این آزمایش تمامی محیط‌های کشت تهیه شده با استفاده از عصاره‌های غلات رشد میسلیومی سریع‌تری در مقایسه با محیط کشت تجاری القا کردند. از طرفی عصاره سورگوم به دلیل عناصر کلسیم، منیزیم، پتاسیم و آهن بالاتر و همچنین میزان C/N مطلوب‌تر در همه آزمایش‌ها رشد میسلیومی سریع‌تری را القا نمود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که محیط‌های کشت تهیه شده با عصاره‌های غلات با وجود ساده و ارزان بودن می‌توانند بیشترین رشد میسلیومی را القا کنند، به‌طوری‌که با غلظت‌های پایین تنظیم‌کننده‌های رشد در عصاره سورگوم رشد میسلیومی به ۱۵/۱ میلی‌متر در روز افزایش یافت که در مقایسه با محیط کشت تجاری (۷/۶ میلی‌متر در روز) افزایش ۲ برابری رشد القا گردید.

REFERENCES

- Adejoye, O. D., Adebayo-Tayoz, B. C., Ogunjobi, A. A., Olaoye, O. A. & Fadahunsi, F.I. (2006). Effect of carbon, nitrogen and mineral sources on growth of Pleurotus florida, a Nigeria edible mushroom. African Journal of Biotechnology, 5, 1355-1359.
- Adejoye, O. D. & Fasidi, I. O. (2009). Effect of cultural condition on biomass and laccase production in submerged medium by Schizophyllum commum (FR), a Nigerian edible mushroom. Electroice Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry, 8, 1186-1193.
- Aneja, K. R. (2001). Experiment in microbiology plant pathology tissue culture and mushroom productiontechnology.
- Adenipekun, C. O. N. & Gbolagade, J. S. (2006). Nutritional requirements of Pleurotus florida (Mont.) Singer, a Nigerian mushroom. Pakistan Journal of Nutrition, 5, 597-600.
- Bae, J. T., Jayanta, S., Jong-pile, P. & Jong-Won, Y. (2000). Optimization of submerged culture condition for exo-biopolymer production by Paecilomyces japonica. Microbiology Biotechnology, 10, 482-487.
- Ehyaei, A. & Behbahani, A. (1993). Methods of soil analysis. Soil and Water Research Institute, Tehran. (In Farsi)
- Gu, Y. H. & Belury, M. A. (2005). Selective including of apoptosis in murine skin: Carcinoma cells (CH72) by an ethanol extract of Lentinula edodes. Cancers Letters, 220 21-28.
- Hassegawa, R. H., Kasuya, M. C. M. & Vanetti, M. C. D. (2005). Growth of Lentinula edodes in Journal of Biotechnology Electronic liquid media supplemented with agricultural wastes, 212-217.
- Jones, J. B. (2001). Labratory guide conductioning soiltest plant and plantanalysis. CRC press. LLL.
- Jonathan, S. G. & Fasidi, I. O. (2003). Studies on Psathyerella atroumbonatai (Pegler), a Nigerian edible fungus. Food Chemistry, 81, 481-484.
- Kalmis, E. & Kalyonca, F. (2006). Variation in the isolate obtained from Basidiospores of commercial mushroom Lentinula edodes. International Journal of Science and Technology, 1-7.
- Khan, S. M., Mirza, J. H. & Khan, M. A. (1991). Studies on shiitake mushrooms (Lentinula edodes) (Berk) Pegler. Internationa Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, 503-508.
- Kim, H. O., Lim, J. M., Joo, J. H., Kim, S. W., Hwang, H. J., Choi, J. W. & Yun, J. W. (2005). Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by Agrocybe cylindracea. Bioresource Technology, 96, 1175-1182.
- Kim, S. W., Hwang, H. J., Xu, C. P., Na, Y. S. Songand, S. K. & Yun, J. W. (2002). Infuence of nutritional conditions on the mycelia growth and exopolysacharide production in Paecilomyces sinclairii. Applied Microbiology, 34, 389-398.
- Manjunthan, J. & Kaviyarasam, V. (2010). The growh of requirement of Lentinula tuberregium. Middle-East Journal of Science Research, 5, 81-85.
- Maniruzzaman, M. (2004). Influence of media composition and growth regulators on mycelial growth and spawn production of three mushroom species. Department of Biotechnology, BAU, Mymensingh.
- Nwanze, P. I., Khan, A. U., Ameh, J. B. & Umoh, V. J. (2005). The effect of spawn grains, culture media, oil types and rates on carpophore production of Lentinus squarrosulus (Mont.) Singer. African Journal of Biotechnology, 4, 472-477.
- Petal, H., Akshava, G. & Shilpa, G. (2009). Laccase from Pleurotus ostreatus HP-1. Bioresources, 4, 268-284.
- Tbatabaei, S. J. (2010). Mineral nutrition of plants. Tabriz Press. (In Farsi)