**Journal of Vegetables Sciences, Spring & Summer 2021, Vol 9, No 5(1), Pages 17-33**

**doi: 10.22034/iuvs.2021.522337.1138 Article Type: Research Online ISSN: 2676-4822**

# Effect of Application of Different Levels of Fe and Soybean Flour on Yield and Quality of Edible Mushroom (*Agaricus bisporus*) Inoculated with *Pseudomonas putida*

**Fereshteh Makenali[1], Abdolkarim Kashi[2*], Reza Salehi Mohammadi[3] and Ahmad Khalighi[4]**

1- Ph.D. Student, Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Professor of Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran

3- Assistant Professor of Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran

4- Assistant Professor of Horticulture and Agronomy Department, Faculty of Agriculture and Food Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University,Tehran, Iran

[*]**Corresponding author:** akkashi@ut.ac.ir

(**Received:** 5 December 2020 **Revise:** 13 February 2021 **Accepted:** 17 March 2021)

## Extended Abstract

**1. Introduction:** Edible mushrooms are the largest and the most valuable natural resource for producing of protein foods from low-cost materials in a short time, which have placed at the special rank in the world. Mushrooms are produced on compost materials including straw, poultry manure, gypsum, and other additives which its preparation for mushroom production is costly. Therefore, producers are looking for ways to reduce production costs by increasing bio-efficiency and producing more crops than compost. On the other hand, induction of the phase change from the vegetative to the reproductive stage in *Agaricus bisporus* is done by reducing the temperature and concentration of carbon dioxide in the presence of some bacteria including Pseudomonas putida. The activity of these bacteria is increased by improving the quality of the culture media through enrichment with the organic matter with a high concentration of nitrogen and micronutrients, which can also affect the performance of button mushrooms. Therefore, the present study was performed to evaluate the effect of enrichment of cover soil with soy flour and Fe (Fe) supplements on the yield and quality of edible mushrooms inoculated with *P. putida*.

**2. Materials and Methods:** This study was conducted in a factorial randomized complete block design with four replications in the Baran company, Dezful, Khuzestan province in 2019. Experimental factors were including soy-flour at three levels (0, 1.5 and 3% fresh weight of compost), Fe at three levels (0, 250 and 500 mg $l^{-1}$ of Fe-EDDHA containing 6% Fe), strain R156 of *Pseudomonas putida* was at two levels (85 ml $kg^{-1}$ of compost and non- inoculation).

**3. Results and Discussion:** The results of analysis of variance showed that the interaction of B×F×S on pinhead formation, emergence time of primordia ،fruit emergency،, primordium formation, cap diameter, mushroom yield, yield, dry weight, Fe concentration and Fe uptake; F×S interaction on number of mushrooms, moisture, content, nitrogen concentration; B×S interaction on mushroom length and B× F interaction on carbohydrate content was significant. The results of mean comparison showed that the longest emergence time of primordia (4 days) was obtained under bacterial inoculation without Fe-chelate application and there was no significant difference among other treatments and bacterial inoculation without soil enrichment with supplements showed the longest time (10 days) for pinhead formation and the shortest time (6 days) to start pinhead formation belonged to bacterial inoculation+ 500 mg $l^{-1}$ Fe-chelate + 1.5% soy flour. While the longest time for fruit emergence with average 29 days and the shortest time with an average of 21 days were obtained in treatments of bacterial inoculation+ 500 mg $l^{-1}$ Fe chelate+ 3% soy flour and bacterial inoculation+ 1.5% soy flour without Fe-chelate. Bacterial inoculation increased the number of mushroom compared to the control, so that the highest number of fungi (1545) and maximum fresh mushroom yield (20.3 kg $m^{-2}$) were observed in treatment of inoculation+ 3% soy flour+ without Fe chelate. In addition, soil enrichment with Fe-chelate and soy flour along with bacterial inoculation increased the yield of the mushroom, so that the highest yield in bacterial inoculation treatments and concurrent application of 250 mg $l^{-1}$ Fe-chelate and 1.5% soy flour and bacterial inoculation+ 500 mg $l^{-1}$ of Fe-chelate+ 1.5% of soy flour were obtained with an average of 20.73 and 20.77 kg $m^{-2}$, respectively. The highest biological efficiency was in treatment of inoculation+ 250 mg $l^{-1}$ + Fe-chelate+ 1.5% soy flour with an average of 96.99%. The highest amount of total carbohydrates was obtained in the control with average 22.1% and the highest concentration of Fe (88.03 mg $kg^{-1}$) under inoculation + application of 3% soy flour+ 500 mg $l^{-1}$ of Fe-chelate and there was no significant difference with bacterial inoculation treatments and simultaneous application of 1.5% soy flour+ 250 and 500 mg/l Fe chelate with an average of 85.96 and 87.93 and 88.03 mg $kg^{-1}$, respectively.

**4. Conclusion:** The results of this study showed that the application of soy flour supplement at 1.5% compared to 3% had a more effective role in most of the measured mushroom traits, especially dry yield, wet yield, and biological efficiency. The positive effect of using 1.5% of soy flour increased by inoculation with *P. putida* so that their synergistic effect was clearly observed in most traits. However, the application of 500 mg $l^{-1}$ Fe-chelate in most traits did not significant difference except total carbohydrates with the same treatments without the use of Fe. The maximum number of mushrooms, fresh yield, N concentration, and biological efficiency were obtained by inoculation of *P. putida* and simultaneous application of 1.5% soy flour. Therefore, to increase production and improve the quality traits of mushrooms, the use of soy flour at 1.5% with *P. putida* is recommended.

**Keywords:** Biological efficiency, Casing Soil, Primordia emergence, Protein, Total carbohydrates.

**Citation:** Makenali, F., Kashi, A., Salehi Mohammadi, R. & Khalighi, A. (2021). Effect of application of different levels of Fe and Soybean flour on yield and quality of edible Mushroom (*Agaricus bisporus*) inoculated with *Pseudomonas putida*. *Journal of Vegetables Sciences*, 5(1), 17-33. doi: 10.22034/iuvs.2021.522337.1138

**Copyrights:**
Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/ by/4.0).

دوفصلنامه علمی علوم سبزی‌ها، سال ۵، دوره ۹، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۰، صفحات (۳۳-۱۷)

شاپا الکترونیکی: ۴۸۲۲-۲۶۷۶ نوع مقاله: پژوهشی doi: 10.22034/iuvs.2021.522337.1138

# اثر کاربرد سطوح مختلف آهن و آرد سویا بر عملکرد و کیفیت قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) تحت تلقیح با باکتری *Pseudomonas putida*

**فرشته ماکنالی[۱]، عبدالکریم کاشی[۲*]، رضا صالحی‌محمدی[۳] و احمد خلیقی[۴]**

۱- دانشجوی دکتری باغبانی گرایش سبزیکاری، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استاد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴- استادیار گروه باغی و زراعی، دانشکده کشاورزی و علوم صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

**[*]نویسنده مسئول:** akkashi@ut.ac.ir

(**تاریخ دریافت:** ۱۳۹۹/۰۹/۱۵ **تاریخ بازنگری:** ۱۳۹۹/۱۱/۲۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۱۲/۲۷)

**چکیده**

**القای تشکیل ساختار ته‌سنجاقی در قارچ دکمه‌ای *Agaricus bisporus*، با کاهش دما و غلظت دی‌اکسید کربن در حضور باکتری‌های موجود در خاک پوششی از جمله باکتری *Pseudomonas putida* انجام می‌شود. فعالیت این باکتری‌ها با بهبود کیفیت بستر از طریق غنی‌سازی با مواد آلی با غلظت نیتروژن بالا و عناصر ریزمغذی افزایش یافته که می‌تواند بر روی عملکرد قارچ دکمه‌ای نیز تأثیر بگذارند. بنابراین به‌منظور ارزیابی اثر غنی‌سازی خاک پوششی با مکمل‌های آرد سویا و آهن بر عملکرد و کیفیت قارچ خوراکی تحت تلقیح با *P. putida*، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با چهار تکرار در کارخانه تولید قارچ باران (دزفول) در سال ۱۳۹۸ انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل کاربرد آهن از منبع کلات آهن در سه سطح (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، آرد سویا در سه سطح (صفر، ۱/۵ و سه درصد وزن تر کمپوست) و تلقیح باکتریایی با *P. putida* در دو سطح (عدم تلقیح و تلقیح) بود. نتایج نشان داد حداکثر عملکرد تازه قارچ (۲۰/۳ کیلوگرم در مترمربع)، تعداد قارچ (۱۵۴۵ قارچ در مترمربع)، کارایی زیستی (۹۵ درصد)، و غلظت نیتروژن (۲۵/۵ درصد) تحت تأثیر تلقیح با باکتری *P. putida* توأم با کاربرد ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا به‌دست آمد. ضمن آن‌که بیشترین مقدار کربوهیدرات کل (۶/۴۸ درصد) با کاربرد توأم سه درصد آرد سویا و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن تولید شد. مطابق طبق نتایج به‌دست آمده غنی‌سازی خاک پوششی با آهن تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای روی صفات کمی و کیفی قارچ نداشت؛ اما کاربرد آرد سویا به‌میزان ۱/۵ درصد به‌ویژه همراه با *P. putida* نقش مؤثرتری داشت. بنابراین برای افزایش تولید و بهبود صفات کیفی قارچ استفاده از آرد سویا به اندازه ۱/۵ درصد همراه با *P. putida* توصیه می‌شود.**

**واژه‌های کلیدی:** پروتئین، خاک پوششی، ظهور سرآغازه، کارایی زیستی، کربوهیدرات کل.

**استناد:** ماکنالی، ف.، کاشی، ع.، صالحی‌محمدی، ر. و خلیقی، ا. (۱۴۰۰). اثر کاربرد سطوح مختلف آهن و آرد سویا بر عملکرد و کیفیت قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) تحت تلقیح با باکتری *Pseudomonas putida*. *علوم سبزی‌ها*، ۵(۱)، ۳۳-۱۷.

**حق چاپ:**

حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به‌صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل‌دسترس است.

**مقدمه**

قارچ‌های خوراکی در شمار بزرگ‌ترین و ارزشمندترین منابع طبیعی در تولید مواد غذایی پروتئینی، از مواد کم‌ارزش در زمان کوتاه، هستند که جایگاه ویژه‌ای در جهان یافته‌اند (Chang & Wasser, 2012). قارچ‌ها روی مواد کمپوستی شامل کاه و کلش، کود مرغی، گچ و سایر مواد افزودنی تولید می‌شوند؛ که آماده‌سازی آن برای تولید قارچ از نهاده‌های پرهزینه می‌باشد (Barros *et al*., 2016). بنابراین تولیدکنندگان به‌دنبال روش‌هایی برای کاهش هزینه از طریق افزایش زیست کارایی و تولید محصول بیشتر از کمپوست می‌باشند (Kim *et al*., 2016). برای دریافت عمکرد بیشتر، بستر نیازمند افزودن برخی از عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم، روی و آهن است، اگرچه در کود مرغی که برای تولید کمپوست به‌کار می‌رود، اغلب عناصر پرمصرف و کم‌مصرف موجود است ولی گاهی نیاز قارچ را به‌طور کامل تأمین نمی‌کند و افزودن خاک پوششی (Casing soil) توسط Siyoum و همکاران (۲۰۱۵)، مورد تأکید قرار گرفته است، زیرا آهن جزء اصلی آنزیم کاتالاز و سیتوکروم در *Agaricus bisporus* است و مقدار نیاز آن به آهن ۰/۱ تا ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بستر است (Pardo-Gimenez *et al*., 2018). تحقیقات انجام شده نشان داده عناصری مانند مس، بور و آهن که به بستر اضافه شده‌اند، تأثیر معنی‌داری بر عملکرد نداشته است (Weil *et al*., 2006)؛ البته تأثیر این عناصر غذایی بستگی به فرم مورد استفاده و مقدار مصرف آن‌ها دارد. صرف‌نظر از این موضوع، به‌نظر می‌رسد مکمل ریزمغذی فرصتی بالقوه برای پرورش‌دهندگان قارچ برای بهبود کارایی و کیفیت قارچ‌های تازه برداشت شده است (Anbarestani *et al*., 2020; Kumar *et al*., 2020). غنی‌سازی کمپوست به‌عنوان روشی مناسب برای افزایش عملکرد محصول مورد توجه قرار گرفته است. غنی‌سازی با مکمل‌های مختلف صورت می‌گیرد که ممکن است مکمل‌های غذایی مورد استفاده منشأ گیاهی داشته یا از ترکیباتی باشند که مواد موجود در آن‌ها به‌تدریج آزاد و مورد استفاده میسلیوم قارچ قرار می‌گیرد (Mamiro & Royes, 2008). آرد سویا (*Glycine max* merr.) که از آسیاب کردن دانه خشک سویا به‌دست می‌آید. یک مکمل پایه نیتروژن ایده‌آل است که حاوی غلظت بیشتری از کربن است (Zied *et al*., 2011). استفاده از آرد سویا به‌عنوان منبع اصلی نیتروژن آلی در بستر کشت گونه *Agaricus* موفقیت‌آمیز گزارش شده است (Eira, 2003). Carrasco و همکاران (۲۰۱۸) آرد سویا و کود مرغی گزینه مناسبی برای کاهش نسبت کربن به نیتروژن و افزایش فعالیت میکروبی بستر *A.bisporus* گزارش دادند که علاوه بر افزایش عملکرد، مقدار پروتئین قارچ را نیز افزایش می‌دهد. Pardo-Gimenez و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که آرد سویا حاوی پروتئین بالایی است که بین ۴۰ تا ۵۰ درصد متغیر است. Mascarin و همکاران (۲۰۱۸) با مطالعه غلظت نیتروژن ارقام مختلف سویا دریافتند که میزان کل نیتروژن موجود دانه سویا از ۷/۱ تا ۱۳/۴ درصد متغیر است که در مقایسه با دانه کتان (*Linum usitatissimum*) و آرد ذرت (*Zea mays* L.) بسیار بالاتر است. Nurudeen و همکاران (۲۰۱۴) با مقایسه مکمل‌های غذایی دریافتند که آرد سویا نسبت به آرد ذرت و آرد گندم (*Triticum aestivum* L.) از نظر کارایی زیستی، عملکرد تر و تعداد قارچ، برتری معنی‌دار دارد.

برای افزایش عملکرد قارچ خوراکی، در کنار تکنیک‌های پرورش و استفاده از مکمل‌ها، کودهای زیستی می‌تواند تأثیر زیادی بر سودآوری پرورش قارچ خوارکی داشته باشد (Pratiksha *et al*., 2017). مهمترین ریزجاندارانی که در تولید کودهای زیستی کاربرد دارند، باکتری‌های محرک رشد، از جمله سودوموناس‌ها (*Pseudomonas* sp.) می‌باشند (Prathap & Ranjitha Kumari, 2015). که در خاک پوششی مورد استفاده در پرورش قارچ *A.bisporus* وجود داشته و اثرات متقابلی با میسلیوم

این قارچ دارند (Siyoum *et al*., 2015). از بین گونه‌های مختلف سودوموناس، گونه *P. putida* نسبت به گونه‌های دیگر تأثیر بیشتری بر روی رشد میسلیوم قارچ دکمه‌ای سفید دارد (Chen *et al*., 2013). این باکتری در سایر مراحل رشد قارچ از جمله میوه‌دهی نقشی اساسی ایفا می‌کند و باعث افزایش عملکرد، وزن خشک و محتوای پروتئین در این قارچ می‌شود (Riahi *et al*., 2011; Zarnegad *et al*., 2012). *P. putida* به‌واسطه تولید هورمون ایندول استیک اسید (IAA)، انحلال فسفات معدنی، کاهش سطح مواد ممانعت کننده رشد از جمله هورمون اتیلن و همچنین ترشح سیدروفور برای مقابله با پاتوژن‌ها، نقش مؤثری بر رشد میزبان خود دارد (Roca e*t al*., 2013). این مکانیسم‌های *P. putida* با میسلیوم قارچ خوراکی قابل مطالعه است و می‌تواند عامل افزایش عملکرد قارچ باشد. پژوهش‌های انجام شده نشان داد که باکتری‌های تولید کننده ایندول استیک اسید مانند *P. putida* باعث افزایش وزن تر و خشک، میزان پروتئین و افزایش تعداد قارچ *A.bisporus* در واحد سطح و قطر کلاهک آن می‌شوند (Pecchia *et al*., 2014; Pratiksha *et al*., 2017).

از آنجا که تاکنون گزارشی از مطالعه اثر غنی‌سازی خاک پوششی از طریق برهم‌کنش یک ریزمغذی آهن با مکمل آلی (آرد سویا) به‌همراه *P. putida* بر خواص کمی و کیفی *A.bisporus* ارائه نشده است، مطالعه حاضر با هدف اثر غنی‌سازی خاک پوششی با مکمل‌های غذایی تحت تلقیح با *P. putida* جهت بهبود خواص کمی و کیفی قارچ *A.bisporus* انجام شد.

## مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در سالن کشت قارچ، کارخانه تولید قارچ باران، دزفول، استان خوزستان با مختصات جغرافیایی ۴۸ دقیقه و ۵۰ درجه طول شرقی و ۲۱ دقیقه و ۳۸ درجه عرض شمالی، در سال ۱۳۹۸ انجام شد.

این تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه فاکتور کود آهن، پودر سویا و باکتری سودوموناس با چهار تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل آرد سویا در سه سطح (صفر، ۱/۵ و سه درصد وزن تر کمپوست)، آهن در سه سطح (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر از منبع کلات آهن؛ Fe-EDDHA حاوی شش درصد آهن)، باکتری *Pseudomonas putida* سویه R156 در دو سطح (۸۵ میلی‌لیتر برای هر کیسه کمپوست و عدم تلقیح)، بود.

بذر قارچ، خاک پوششی و کمپوست نیز از شرکت قارچ جلگه دز تهیه شد و آنالیز فیزیکی و شیمیایی خاک پوششی و کمپوست در جدول ۱ ارائه شده است.

**جدول ۱- نتایج تجزیه خاک پوششی و کمپوست فاز ۲ مورد استفاده در آزمایش**

**Table 1- Results of casing soil and phase II composting used in the experiment**

| صفات | Traits | واحد Uint | خاک‌پوششی Casing Soil | کمپوست فاز ۲ Phase II composting |
|---|---|---|---|---|
| رطوبت | Moisture | (٪) | 25 | 73.6 |
| هدایت الکتریکی | EC | dS $m^{-1}$ | 2.10 | 7.7 |
| | pH | | 5.25 | 7.63 |
| درصد رطوبت اشباع | Sp | (٪) | 10 | 44.1 |
| ماده آلی | OM | (٪) | 20.1 | 26.3 |
| نیتروژن | N | (٪) | 1.35 | 1.95 |
| فسفر | P | (٪) | 0.19 | 2.65 |
| پتاسیم | K | (٪) | 0.13 | 3.35 |
| نسبت کربن به نیتروژن | C:N | | 14.8 | 13.4 |
| مس | Cu | (mg $kg^{-1}$) | 10 | 48 |
| آهن | Fe | (mg $kg^{-1}$) | 3800 | 190 |
| منگنز | Mn | (mg $kg^{-1}$) | 80 | 330 |
| روی | Zn | (mg $kg^{-1}$) | 25 | 195 |

*P. putida* از از برترین سویه‌های سودوموناس مجموعه میکروبی مؤسسه تحقیقات آب و خاک کرج تهیه شد و دارای توان حل‌کنندگی فسفات، تولید سیدروفور و آنزیم ACC دآمیناز است. برای تهیه مایه تلقیح *P. putida*، ابتدا مقادیر کافی محیط کشت نوترینت (محیط کشت نوترینت- آگار محیطی جامد، مغذی و رایج برای رشد طیف وسیعی از باکتری‌ها و قارچ‌ها به‌کار می‌رود)، حاوی سیکلوهگزیمید تهیه گردید. یک لوپ از باکتری‌های مذکور در شرایط استریل به ارلن‌های حاوی محیط کشت استریل شده تلقیح و در انکوباتور شیکردار (مدل KM65، شرکت فن آزما گستر)، در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، با ۱۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد. با توجه به شمارش باکتری‌ها به روش پلیت مشخص شد که جمعیت باکتری‌ها بعد از مدت چهار روز به $10^8$ سلول در هر میلی‌لیتر رسید. به هر بستر ۱۷ کیلوگرمی، ۸۵ میلی‌متر از سوسپانسیون باکتری تکثیر شده اضافه شد (Kim *et al.*, 2008).

برای بالا بردن راندمان تولید و اشغال فضای کمتر، آزمایش با روش قفسه‌ای انجام شد (Colauto *et al.*, 2016). طبقه اول ۱۵ سانتی‌متر از زمین فاصله داشت و فاصله طبقه‌ها نسبت به هم ۶۵ سانتی‌متر و عرض طبقه‌ها ۱۴۰ سانتی‌متر بود، ضمن آن‌که برای کشت قارچ سیستم بلوک کیسه‌ای روی قفسه‌ها قرار داده شد (بلوک کیسه‌ای مکعب مستطیل به ابعاد ۶۰ ×۴۰ سانتی‌متر و از جنس پلی‌اتیلین، حاوی ۱۷ کیلوگرم کمپوست بود).

قبل از پاشیدن بذر، تمامی تیمارهای مکمل خاک پوششی درون اتوکلاو (کلاس B مدل Aquarius، شرکت Cominox)، دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه استریلیزه شد و برای هر کیسه کمپوست، ۱۷۰ گرم بذر در نظر گرفته شد. بعد از توزیع کمپوست در قفسه‌ها و خاک پوششی (ترکیب شده با تیمارهای کلات آهن و آرد سویا) به قطر چهار سانتی‌متر، به‌صورت یکنواخت افزوده شد و عملیات رافلینگ (خراش‌دهی) انجام گرفت. در زمان خاک‌دهی، کمپوست دارای دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با pH =۷/۵ و رطوبت ۷۰ درصد و خاک پوششی دارای pH =۷/۴ و رطوبت ۷۳ درصد، بود. پس از بذرپاشی تا مرحله ظهور اندام‌های سر سنجاقی، رطوبت نسبی اتاق کشت ۵±۹۰ درصد، در دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد، با غلظت دی‌اکسید کربن حدود ۶۰۰۰-۵۰۰۰ پی‌پی‌ام، تحت شرایط بدون نور، نگهداشته شد (Remezan & Siah Sar, 2010). پس از دو هفته زمانی که میسلیوم‌ها درون خاک‌پوششی رشد کردند عمل هوادهی (شوک‌دهی) با رطوبت ۵±۹۰ درصد، در دمای ۱±۱۷ درجه سانتی‌گراد، با غلظت دی‌اکسید کربن حدود ۱۰۰۰-۸۰۰ پی‌پی‌ام، انجام شد (Remezan & Siah Sar, 2010). وجود رافلینگ و کاهش دما به منزله یک شوک و ورود به فاز زایشی بود. بعد از اتمام دوره کشت، قارچ‌ها قبل از بلوغ کامل و به اصطلاح رایج قبل از پشت باز شدن، برداشت شد. پس از تمیز نمودن آن‌ها، اندازه‌گیری‌ها انجام شد. در زمان رسیدگی قارچ‌ها، از بخش مرکزی هر پلات یک مترمربع برداشت گردید و صفات زیر اندازه‌گیری شد:

قارچ‌های برداشت شده داخل پاکت کاغذی ریخته شد و وزن قارچ‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال (مدل BP210D، شرکت Sartorius) با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین شد و به‌عنوان عملکرد تر ثبت گردید. از میان قارچ‌های برداشت شده ۲۰ قارچ به‌طور تصادفی انتخاب و قطر کلاهک و ارتفاع قارچ با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد (Mamiro & Royse, 2008).

سپس جهت اندازه‌گیری وزن خشک، قارچ‌ها به لایه‌های نازک بریده شد و تحت دمای ۷۰ سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت درون آون (مدل KLF-2300، شرکت Memmert)، خشک شده و وزن شدند. محاسبه درصد ماده خشک و کارایی زیستی قارچ به‌ترتیب از روابط زیر استفاده شد (Kirbag & Akyuse, 2009).

رابطه (۱)

$$\text{درصد ماده خشک (٪)} = \frac{\text{وزن خشک قارچ (گرم)}}{\text{وزن تر قارچ (گرم)}} \times ۱۰۰$$

رابطه (۲)

$$\text{کارایی زیستی (٪)} = \frac{\text{وزن تر قارچ (گرم)}}{\text{وزن بستر شده استفاده (گرم)}} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری مقدار کربوهیدرات کل با روش Kochert (1978) انجام شد. در هر کدام از نمونه‌ها، کربوهیدرات با استفاده از اتانول ۹۵ درصد و بر اساس روش اسید سولفوریک استخراج شد. در این روش ۰/۲ گرم از از بافت تازه قارچ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به‌مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. به یک میلی‌لیتر از این نمونه، یک میلی‌لیتر فنول ۰/۵ درصد و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. میزان نور جذبی در ۴۸۳ نانومتر با اسپکتروفتومتر UV-1601PC مدل Shimadzu 1100u، قرائت شد.

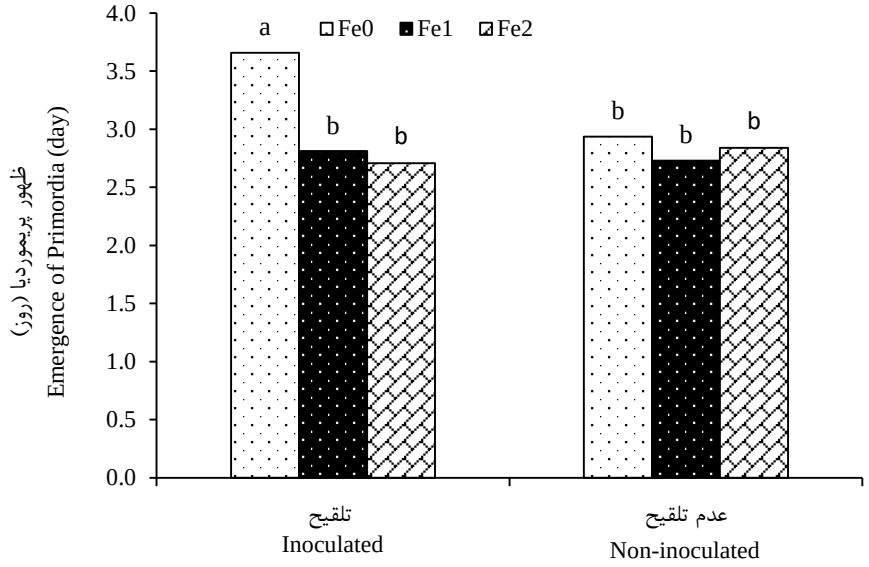
اندازه‌گیری غلظت نیتروژن نمونه‌های برداشت شده از هر تیمار (نمونه‌های قارچی شامل پایه و کلاهک بودند که پس از خشک کردن در آون، آسیاب شدند)، به روش کجلدال با تیتراسیون بعد از تقطیر به‌وسیله دستگاه کجلدال تک مدلKjeltec 1030 Autoanalyser، پس از هضم در بالن ژوژه با اسیدسولفوریک، اسیدسالیسیلیک و آب اکسیژنه، انجام شد. عمل هضم اندام‌های قارچ به روش سوزاندن خشک و ترکیب با دو کلریدریک اسید نرمال با عبور از کاغذ صافی انجام و عصاره لازم برای اندازه‌گیری آهن تهیه شد. اندازه‌گیری آهن توسط دستگاه جذب اتمی مدل PERKIN-ELMER (1100B) Atomic Absorption Spectronic Photometer صورت گرفت (Han, 1999).

پس از ثبت نتایج به‌دست آمده، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ تجزیه شد و مقایسه میانگین با روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD)، در سطح احتمال پنج درصد، انجام شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد.

## نتایج و بحث

### مراحل فنولوژیکی قارچ

طولانی‌ترین زمان ظهور سرآغازه (۴ روز) تحت شرایط تلقیح با باکتری بدون کاربرد کلات آهن به‌دست آمد و بین سایر تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (شکل ۱).




**شکل ۱- تأثیر تلقیح باکتریایی و کاربرد آهن بر زمان ظهور سرآغازه**

**Figure 1- Effect of inoculation bacteria and application Fe on the time of emergence of Primordia**

مقایسه میانگین شروع ظهور سرسنجاقی (Pinhead initiation)، نیز نشان داد تلقیح باکتریایی بدون غنی‌سازی خاک با مکمل‌های غذایی طولانی‌ترین زمان (۱۰ روز) برای شروع سر سنجاقی بود و کمترین

زمان (۶ روز) برای شروع سرسنجاقی متعلق به تیمار تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا بود. نتایج نشان داد که کاربرد مکمل‌های غذایی، نسبت به باکتری تأثیر کمتری در کاهش زمان شروع سرسنجاقی داشتند که این کاهش در تیمارهای تلقیحی کاملاً مشهود بود (جدول ۲).

در بسیاری از گزارش‌ها شروع سرسنجاقی با تیمار کردن بستر با ترکیبات حاوی پروتئین بالا یا آهن، با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نداشته است (Pratiksha *et al.*, 2017). Mamiro و Royse (۲۰۰۸) نیز دریـافتند کـه تیمار بستر با سولفات آهن منجر به تأخیر در شروع سرسنجاقی می‌شود.

مقایسه میانگین روز تا ظهور میوه نشان داد که طولانی‌ترین زمان برای ظهور میوه با میانگین ۲۹ روز متعلق به تیمار تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و سه درصد آرد سویا بود و کوتاه‌ترین زمان ۲۱ روز نیز در تیمار تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۱/۵ درصد آرد سویا بدون مصرف کلات آهن به‌دست آمد که با تیمار تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن بدون مصرف آرد سویا و تیمار تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن بدون مصرف آرد سویا تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).

**جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح باکتریایی، کاربرد آهن و آرد سویا بر مراحل فنولوژی روز تا میوه‌دهی و شروع سرسنجاقی قارچ**

**Table 2- Comparison of the average interaction of inoculation bacteria, application Fe and soybean meal on the phenological stages of the day to fruiting and mushrooms head pin being**

| آهن Fe ($mg\ L^{-1}$) | آرد سویا Soybean Meal (%) | روز تا میوه‌دهی Day to fruit | | شروع سرسنجاقی (روز) Pinhead initiation (day) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | تلقیح با *P. putida* Inoculation with *P. putida* | عدم تلقیح Non-inoculation | تلقیح با *P. putida* Inoculation with *P. putida* | عدم تلقیح Non-inoculation |
| 0 | 0 | $24.47^{c-f}$ | $26.67^{ab}$ | $10.30^{a}$ | $9.43^{b}$ |
| | 1.5 | $21.37^{h}$ | $25.90^{bc}$ | $4.64^{h}$ | $7.92^{ef}$ |
| | 3 | $23.90^{c-g}$ | $26.64^{ab}$ | $6.08^{hi}$ | $8.05^{d-f}$ |
| 250 | 0 | $21.70^{h}$ | $24.90^{c-b}$ | $7.31^{g}$ | $8.47^{cd}$ |
| | 1.5 | $22.70^{f-h}$ | $25.50^{b-d}$ | $5.94^{hi}$ | $7.64^{fg}$ |
| | 3 | $22.10^{gh}$ | $24.27^{c-f}$ | $7.18^{g}$ | $7.88^{ef}$ |
| 500 | 0 | $22.50^{h}$ | $25.20^{c-b}$ | $8.27^{c-e}$ | $9.73^{b}$ |
| | 1.5 | $24.63^{c-f}$ | $23.23^{h-g}$ | $5.73^{i}$ | $7.54^{fg}$ |
| | 3 | $28.60^{a}$ | $23.87^{d-g}$ | $7.52^{fg}$ | $8.72^{c}$ |

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to least significant difference (LSD) test ($p \leq 0.05$).

نتیجه به‌دست آمده نشان می‌دهد که تلقیح باکتریایی بدون کاربرد یکی از مکمل‌های غذایی، تعداد روز تا ظهور میوه را تا حد زیادی کاهش می‌دهد و منجر به تسریع ظهور میوه قارچ می‌شود (جدول ۲). Cho و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح بسترهای کشت قارچ*Pleurotus oestreatus* با سویه‌های *P. florescence* به‌طور معنی‌دار باعث توسعه میسلیوم و تشکیل پریموردیا در این قارچ شده و رشد سریع‌تر میوه‌های جوان را تحریک می‌کند. Nurudeen و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش کردند تلقیح باکتری‌های سودوموناس به خاک پوششی تشکیل پین‌هد (pinhead) را تحریک می‌کند، این محققان دریافتند که حضور باکتری سودوموناس در خاک پوششی اثر قابل‌توجهی بر رشد قارچ دکمه‌ای دارد. Kim و همکاران (۲۰۰۸) از باکتری *P. putida* سویه P7014 استفاده کردند و مشاهده نمودند که رشد میسلیوم‌های قارچ به

بیش از ۱/۶ برابر افزایش یافت، همچنین پریموردیا زودتر تشکیل شده و تعداد کل روزهای پرورش قارچ در مقایسه با شاهد تلقیح نشده کمتر است، به‌علاوه تلقیح این باکتری باعث افزایش وزن قارچ شده و ازدیاد، ساخت و تشکیل پریموردیا تسریع کرده است. علت تسریع ظهور سرآغازه در تیمار تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا می‌تواند ناشی از تأثیر کاربرد آرد سویا در کمک به باکتری *P. putida* برای افزایش فعالیت در بستر باشد، به گونه‌ایی‌که آرد سویا به‌عنوان ماده آلی حاوی نیتروژن بالا و آهن منجر به افزایش فعالیت و تکثیر میکروارگانیسم‌های بستر به‌ویژه باکتری سودوموناس شده (Pecchia et *al*., 2014) و با تسریع القای تشکیل ساختار ته‌سنجاقی، منجر به ظهور سریع‌تر سرآغازهها می‌شود (Carrasco *et al*., 2018).

**تعداد قارچ**

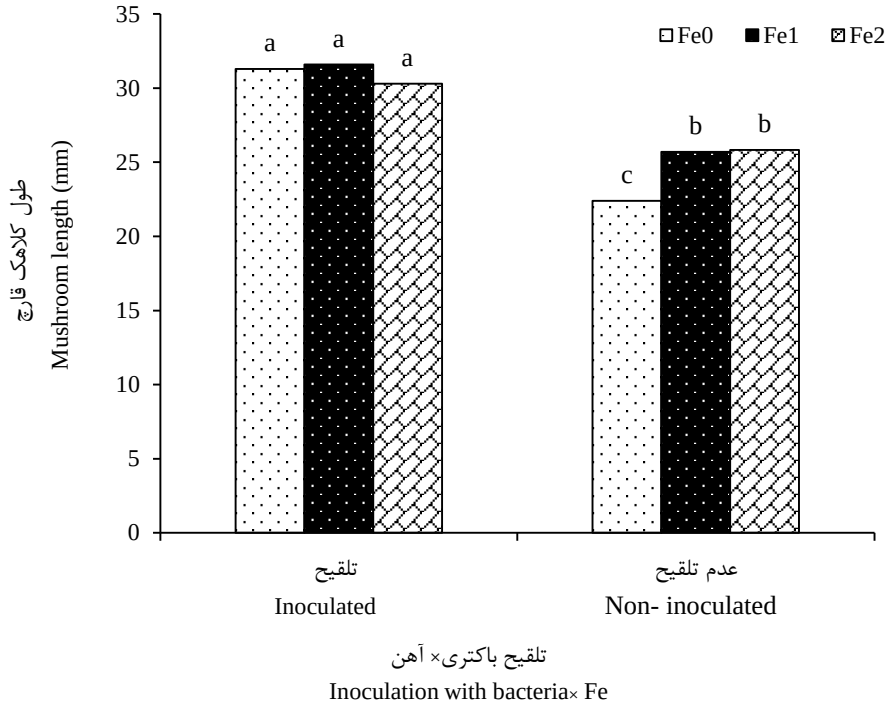
مقایسه میانگین نشان داد که تلقیح باکتریایی باعث افزایش تعداد قارچ نسبت به شاهد شد، به‌طوری‌که بیشترین تعداد قارچ (۱۵۴۵ و ۱۵۵۰ عدد قارچ) به‌ترتیب در تیمارهای تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان سه درصد آرد سویا بدون مصرف کلات آهن و تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵درصد آرد سویا مشاهده شد. کمترین تعداد قارچ نیز از تیمارهای بدون تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و عدم مصرف آرد سویا و بدون تلقیح با باکتری و کاربرد همزمان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و مصرف سه درصد آرد سویا به‌ترتیب با میانگین ۱۱۸۱ و ۱۱۶۹ عدد، به‌دست آمد. بین سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۳).

علت تفاوت در تیمارهای یاد شده را می‌توان بر تأثیر منفی آهن بر تعداد قارچ در غیاب *P. putida* دانست زیرا بدون در نظر گرفتن آرد سویا، حداکثر تعداد قارچ تحت تلقیح به همراه عدم مصرف یا مصرف حداقل آهن به‌دست آمد؛ اما کمترین تعداد قارچ از تیمارهای بدون تلقیح و کاربرد حداکثر آهن به‌دست آمد. در تأیید این نتایج Zied و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که مصرف پودر سویا بیش از نیاز قارچ منجر به کاهش عملکرد و افت شدید کیفیت قارچ می‌شود و حداکثر تعداد قارچ و عملکرد قارچ را تحت کاربرد آرد سویا در سطح ۰/۵ کیلوگرم در مترمربع گزارش کردند. Jiang و همکاران (۲۰۱۱) و Carrasco و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر مصرف بیش از حد پودر سویا بر کاهش عملکرد را ناشی از افزایش دما بلافاصله پس از مصرف مکمل پودر سویا به‌دلیل فعالیت متابولیکی و آنزیمی زیاد قارچ دانستند. Mohammad و Sabaa (۲۰۱۳) نیز دریافتند که کارایی مکمل‌ها را می‌توان با تأخیر در دسترسی به مواد مغذی نسبت به دسترسی فوری آن افزایش داد و آن‌ها نقش مثبت *P. putida* و *P. palustris* در تأخیر در دسترسی به مواد مغذی را اثبات نموده‌اند. Pecchia و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی با به‌کارگیری باکتری غیرگوگردی نشان دادند محلول‌پاشی پنج لیتر از سوسپانسیون حاوی ($۱۰^{۹}\times$ ۳/۳ سلول زنده در میلی‌لیتر)، بر روی هر بلوک به ابعاد ۵۰×۵۰ سانتی‌متر، عملکرد قارچ ۱۹/۵درصد افزایش می‌یابد ولی تفاوت معنی‌دار در ماده خشک و میزان پروتئین قارچ، در مقایسه با شاهد مشاهده نشد. بالاترین غلظت سوسپانسیون باکتری مذکور، بالاترین عملکرد قارچ (۱۴/۳۳ کیلوگرم در مترمربع) را نشان داد. Vijay و همکاران (۲۰۰۲) نیز با کاربرد سودوموناس پوتیدا در چهار سطح در زمان افزودن به خاک پوششی قارچ دکمه‌ای، عملکرد و کارایی زیستی بالایی در مقایسه با شاهد به‌دست آوردند. Ebadi و همکاران (۲۰۱۲) با استفاده از سویه‌های سودوموناس فلورسنس روی صفات اندازه‌گیری شده مانند مدت زمان برداشت، عملکرد، تعداد واحد قارچ در واحد و راندمان زیستی مشاهده نمودند که تولید قارچ تحت تأثیر قرار گرفته است.

**طول و قطر کلاهک قارچ**

تلقیح باکتری باعث افزایش طول کلاهک قارچ شد. کاربرد مقادیر مختلف کلات آهن تحت شرایط تلقیح با باکتری تأثیری بر طول کلاهک قارچ نداشت؛ اما تحت شرایط عدم‌تلقیح باکتری باعث افزایش طول کلاهک قارچ گردید.

کمترین طول کلاهک قارچ (۲۲/۴ میلی‌متر) بدون کاربرد کلات آهن و عدم‌تلقیح باکتری، مشاهده شد (شکل ۲).




**شکل ۲- تأثیر تلقیح باکتریایی و کاربرد آهن بر طول قارچ**
**Figure 2- Effect of inoculation bacteria, application Fe on mushroom length**

همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین قطر کلاهک (۶/۰۸ سانتی‌متر) در تیمار تلقیح باکتریایی و خاک غنی‌شده با ۵۰۰ میلی‌گرم کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا مشاهده شد؛ اما خاک غنی شده با ۵۰۰ میلی‌گرم کلات آهن بدون کاربرد آرد سویا و عدم تلقیح باکتریایی کوچک‌ترین قطر کلاهک به اندازه ۴/۳۷ سانتی‌متر را داشت (جدول ۳).

Kim و همکاران، (۲۰۰۸) نشان دادند استفاده از باکتری محرک رشد سودوموناس در بستر کشت قارچ *P. eryngii* سبب افزایش رشد میسلیوم قارچ می‌گردد. طبق نتایج، این باکتری‌ها مولد IAA هستند و از آن‌جایی که IAA در رشد قارچ*A. bisporus* بسیار مؤثر می‌باشد. می‌توان گفت تولید IAA جزء مکانیسم‌های مؤثر در افزایش رشد قارچ توسط باکترهای محرک رشد می‌باشد (Pratiksha *et al*., 2017). تأثیر هورمون‌های محرک رشد به‌ویژه IAA بر تحریک رشد میسلیوم، سرعت جوانه‌زنی و رشد هیف قارچ دکمه‌ای قطر کلاهک و پروتئین نیز قارچ گزارش شده است. این محققین اظهار داشتند این هورمون از طریق تحریک طویل‌شدگی و تمایز سلولی باعث افزایش رشد قارچ می‌گردد (Torabi-Giglou *et al*., 2020; Guo *et al*., 2009).

## عملکرد قارچ

مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که غنی‌سازی خاک با کلات آهن و آرد سویا به همراه تلقیح باکتریایی باعث افزایش عملکرد قارچ شد، به‌طوری‌که بیشترین عملکرد در تیمارهای تلقیح باکتریایی و کاربرد همزمان ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا و تیمار تلقیح باکتریایی و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا به‌ترتیب با میانگین ۲۰/۷۳ و ۲۰/۷۷ کیلوگرم بر مترمربع، به‌دست آمد. کمترین مقدار عملکرد قارچ نیز در تیمارهای ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن توأم با سه درصد آرد سویا به‌ترتیب با میانگین

(۱۶/۴۶ و ۱۶/۳۵ کیلوگرم بر مترمربع) مشاهد شد (جدول ۳).

همچنین مقایسه میانگین عملکرد وزن خشک قارچ مشخص کرد که تلقیح باکتریایی به همراه کاربرد ۱/۵ درصد آرد سویا بدون استفاده از کلات آهن بیشترین وزن خشک را با میانگین ۱۱۸۵ گرم در متر به خود اختصاص داد و کمترین مقدار آن نیز از تیمار خاک غنی شده با ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا بدون تلقیح باکتریایی با میانگین ۷۱۹ گرم در متر به دست آمد (جدول ۳). بنابراین نتایج این آزمایش مشخص کرد که تلقیح با باکتری سودوموناس پوتیدا به همراه غنی‌سازی خاک با کلات آهن و آرد سویا می‌تواند باعث افزایش عملکرد در قارچ شود. عدم تلقیح باکتریایی نیز می‌تواند عملکرد را تا حد زیادی کاهش دهد هر چند که خاک پوششی توسط مکمل‌های غذایی غنی شده باشد (جدول ۳).

**جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح باکتریایی، کاربرد آهن و آرد سویا بر تعداد، قطر کلاهک، عملکرد تر و خشک قارچ**

**Table 3- Comparison of the average interaction of inoculation bacteria, application Fe and soybean meal on the number, pileus diameter, fresh and dry yield of mushrooms**

| تلقیح با باکتری Inoculation with bacteria | آهن Fe ($mg\ L^{-1}$) | آرد سویا Soybean meal (%) | تعداد قارچ Number of mushroom | قطر کلاهک Pileus diameter (mm) | عملکرد تر قارچ Mushroom fresh yield ($kg\ m^{-2}$) | عملکرد خشک قارچ Mushroom dry yield ($kg\ m^{-2}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تلقیح با *P. putida* Inoculation with *P. putida* | 0 | 0 | $1307^{d-f}$ | $5.48^{b-d}$ | $17.77^{g}$ | $1104^{ab}$ |
| | | 1.5 | $1536^{ab}$ | $5.42^{cd}$ | $19.58^{b}$ | $1185^{a}$ |
| | | 3 | $1545^{a-d}$ | $5.51^{b-d}$ | $18.30^{d}$ | $990^{bc}$ |
| | 250 | 0 | $1428^{a-d}$ | $5.98^{ab}$ | $18.72^{c}$ | $850^{c-f}$ |
| | | 1.5 | $1550^{a}$ | $5.80^{a-c}$ | $20.73^{a}$ | $936^{cd}$ |
| | | 3 | $1367^{c-e}$ | $5.70^{a-c}$ | $18.13^{e}$ | $773^{d-f}$ |
| | 500 | 0 | $1306^{d-f}$ | $4.88^{ef}$ | $17.81^{g}$ | $993^{bc}$ |
| | | 1.5 | $1536^{ab}$ | $6.08^{a}$ | $20.77^{a}$ | $960^{bc}$ |
| | | 3 | $1301^{d-f}$ | $5.72^{a-c}$ | $18.66^{c}$ | $852^{c-f}$ |
| عدم تلقیح Non-inoculation | 0 | 0 | $1264^{ef}$ | $4.67^{ef}$ | $16.94^{j}$ | $924^{c-e}$ |
| | | 1.5 | $1474^{a-c}$ | $4.74^{ef}$ | $18.00^{f}$ | $992^{bc}$ |
| | | 3 | $1428^{a-d}$ | $4.65^{ef}$ | $17.46^{h}$ | $776^{d-f}$ |
| | 250 | 0 | $1445^{a-d}$ | $4.65^{ef}$ | $17.88^{g}$ | $900^{c-e}$ |
| | | 1.5 | $1394^{b-e}$ | $4.68^{ef}$ | $18.62^{c}$ | $758^{ef}$ |
| | | 3 | $1315^{d-f}$ | $4.83^{ef}$ | $17.29^{i}$ | $1001^{bc}$ |
| | 500 | 0 | $1181^{f}$ | $4.37^{f}$ | $16.46^{k}$ | $875^{c-f}$ |
| | | 1.5 | $1335^{c-e}$ | $4.88^{ef}$ | $17.56^{h}$ | $719^{f}$ |
| | | 3 | $1169^{f}$ | $4.86^{ef}$ | $16.35^{k}$ | $916^{c-e}$ |

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to least significant difference (LSD) test ($p \leq 0.05$).

Desmmaux و همکاران (۲۰۰۰) آزمایشی در جهت بررسی تأثیر مواد معدنی میکروماکس با دو تیمار انجام دادند. نتایج نشان داد ۶۰ و ۱۲۰ گرم میکروماکس در مترمربع به‌ترتیب باعث افزایش عملکرد به‌میزان ۴/۷ و ۶/۶ درصد شد. Weil و همکاران (۲۰۰۶) نیز میکروماکس را به نسبت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد به خاک پوششی اضافه کردند و به‌ترتیب شاهد ۱، ۴/۹ و ۴/۵ درصد افزایش عملکرد بودند. همچنین در آزمایش دیگری نسبت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد میکروماکس با کمپوست در مرحله اسپانینگ آمیخته شد و نتایج نشان داد تیمار ۰/۷۵ درصد باعث افزایش ۱۴/۱ درصد عملکرد شد. Kumar و همکاران (۲۰۲۰) نیز دریافتند مدیریت‌های زراعی مانند کاربرد بعضی از عناصر غذایی عملکرد قارچ را تحت تأثیر قرار می‌دهند. برای نمونه اضافه کردن منگنز، عملکرد قارچ را در حدود ۱۰ درصد افزایش می‌دهد. همچنین منگنز نقش مهمی

در فعال کردن بسیاری از آنزیم‌ها دارد. آهن نیز جزء اصلی کاتالازها و سیتوکروم‌ها بوده و مقدار نیاز قارچی به این عنصر ۰/۱ تا ۰/۳ پی‌پی‌ام است (Mamiro & Royse, 2008). Ebadi و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی قابلیت استفاده از پسماندهای آلی مختلف به‌عنوان بستر کشت قارچ دکمه‌ای و باکتری‌های محرک رشد گیاه بر عملکرد و کیفیت قارچ خوراکی گزارش کردند که در بین باکتری‌های تلقیح شده، باکتری سودوموناس فلورسنس سبب بهبود عملکرد قارچ در تمامی بسترها شد و بیشترین درصد پروتئین در تیمار کمپوست زباله شهری به همراه باکتری سودوموناس فلورسنس به‌دست آمد.

**درصد رطوبت**

مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد تلقیح باکتریایی، کارایی مکمل‌های غذایی را کاهش داد. بنابراین غنی‌سازی خاک با کلات آهن و آرد سویا بدون تلقیح باکتریایی موجب افزایش درصد رطوبت قارچ شد. به‌طوری‌که بیشترین درصد رطوبت از تیمارهای مصرف ۱/۵ درصد آرد سویا توأم با ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و مصرف ۱/۵ درصد آرد سویا توأم با ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن به‌ترتیب با میانگین ۹۵/۵۸ و ۹۵/۵۲ درصد مشاهده شد. کمترین مقدار آن نیز از تیمار تلقیح با باکتری و مصرف ۱/۵ درصد آرد سویا بدون کاربرد کلات آهن با میانگین ۹۴/۰۱ درصد، به‌دست آمد (جدول ۴).

این نتایج نشان داد که کاربرد کلات آهن در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن به‌همراه ۱/۵ درصد آرد سویا بدون تلقیح باکتریایی بر درصد رطوبت قارچ تأثیرگذار بود و موجب افزایش آن گردید. Pratiksha و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی تعدادی از سویه‌های باکتریایی و قارچی نشان دادند که تحریک رشد قارچ گونه‌های *Agaricus* و *Pleurotus*، بیشتر توسط باکتری‌هایی از جنس *Bacillus*، *Pseudomonas* و *Bradyrhizobium* می‌باشد. در طول دوره رشد قارچ، این میکروارگانیسم‌ها در روی خاک، بستر، یا میزبان فعالیت می‌کنند و منجر به بهبود عملکرد، کاهش زمان تولید و افزایش درصد ماده خشک می‌شوند. افزایش ماده خشک با افزایش خاکستر همراه خواهد بود و بهبود شرایط رشد قارچ از طریق تسهیل قابلیت دسترسی به عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن، ماده خشک را افزایش می‌دهد (Vos *et al*., 2017). افزایش مقدار ماده خشک و خاکستر قارچ با کاربرد آرد سویا و *P. putida* توسط Siyoum و همکاران (۲۰۱۵) ناشی از افزایش جذب فسفات، قابلیت تنظیم نیتروژن و توانایی برای تحریک رشد میسلیوم گزارش شده است.

**راندمان زیستی**

مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که تلقیح باکتریایی به همراه غنی‌سازی خاک با کلات آهن و آرد سویا دارای بیشترین راندمان زیستی در تیمارهای تلقیح با باکتری و. کاربرد ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا و تلقیح با باکتری و کاربرد ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا به‌ترتیب با میانگین ۹۶/۷۸ و ۹۶/۹۹ درصد، بود. عدم تلقیح باکتریایی نیز موجب کاهش راندمان زیستی در قارچ شد به‌طوری‌که کمترین مقدار آن در تیمارهای ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و عدم تلقیح با باکتری و تیمار مصرف همزمان سه درصد آرد سویا همراه با ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن به‌ترتیب با میانگین ۷۶/۸۳ و ۷۷/۱۷ درصد، مشاهده شد (جدول ۴).

این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از مکمل‌های غذایی به همراه تلقیح باکتریایی نقش قابل‌توجهی در افزایش راندمان زیستی قارچ دارد. که بنا به گزارش Carrasco و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر منفی آهن ناشی کاهش فعالیت باکتری‌های بستر می‌باشد زیرا آن‌ها دریافتند که افزایش کاربرد آهن از یک‌طرف تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها را کاهش داده و از طرف‌دیگر قابلیت همزیستی باکتری میزبان را کاهش می‌دهد. بنابراین ممکن است علت کاهش تأثیر آرد سویا در غیاب سودوموناس می‌تواند ناشی از کند شدن تجزیه آرد سویا باشد ولی کاربرد سودوموناس با فعالیت‌هایی

که در ریزوسفر دارد به تجزیه آرد سویا کمک کرده و آن را به مرور در اختیار قارچ قرار می‌دهد (Kumar *et al.*, 2020).

**مقدار کربوهیدرات کل**

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار کربوهیدرات کل در تیمار شاهد (عدم مصرف کلات آهن و عدم تلقیح باکتریایی) با میانگین ۲۲/۱۰ درصد به‌دست آمد و کمترین مقدار کربوهیدرات کل نیز در تیمارهای تلقیح با باکتری و مصرف ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن به‌ترتیب با میانگین ۱۸/۲۱ و ۱۸/۸۵ درصد مشاهده شد (جدول ۴).

Chen و همکاران (۲۰۱۳)، Jurak و همکاران (۲۰۱۴) و Chang و Wasser (۲۰۱۷) رابطه معکوس بین مقدار پروتئین و کربوهیدرات کل قارچ گزارش کردند و نتیجه گرفتند که مکمل‌های غنی از پروتئین بر مقدار کربوهیدرات کل تأثیر ناچیز یا کاهش دهنده دارند. اما Zied و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که آرد سویا بر خلاف سبوس گندم و دانه کتان، مقدار کربوهیدرات کل و پروتئین قارچ را نسبت به کنترل و سایر مکمل‌ها به‌طور معنی‌دار افزایش می‌دهد.

**غلظت و جذب آهن**

مقایسه میانگین غلظت آهن نیز نشان داد که بیشترین غلظت آهن از تیمارهای کاربرد باکتری و خاک غنی شده با کلات آهن و آرد سویا مشاهده شد. بیشترین غلظت آهن (۸۸/۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحت شرایط تلقیح با باکتری و مصرف سه درصد آرد سویا با ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن به‌دست آمد که با تیمارهای تلقیح با باکتری و مصرف همزمان ۱/۵ درصد آرد سویا با ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن به‌ترتیب با میانگین ۸۷/۹۳، ۸۵/۹۶ و ۸۸/۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تفاوت معنی‌داری نداشتند. اما عدم غنی‌کردن خاک با کلات آهن و آرد سویا به همراه عدم تلقیح باکتریایی کمترین غلظت آهن با میانگین ۲۹/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم را داشت (جدول ۴).

مـقایسه میانگین اثر متقابل باکتری سودوموناس پوتیدا، کلات آهن و آرد سویا بر جذب آهن نیز نشان داد که تلقیح باکتریایی به همراه خاک غنی شده با ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن و ۱/۵ درصد آرد سویا در تیمار بیشترین جذب آهن با میانگین ۱۶۶۳ میلی‌گرم بر مترمربع، را داشت. اما خاک غنی شده با کلات آهن و آرد سویا بدون تلقیح باکتریایی، کمترین مقدار جذب آهن (۳۴۰ میلی‌گرم بر مترمربع) را به‌خود اختصاص داد (جدول ۴).

علت پایین‌تر بودن جذب آهن ممکن است برهمکنش منفی بین آهن و آرد سویا در مقادیر بالا بر جذب آهن توسط قارچ در غیاب باکتری سودوموناس باشد که می‌تواند باعث افزایش تکثیر و تولید باکتری‌های بستر کشت شده و آهن را باکتری‌ها صرف رشد و پیکره خود نموده و از دسترس قارچ خارج می‌کنند (Weil *et al.*, 2004)؛ اما در حضور باکتری سودوموناس آهن مورد نیاز قارچ در دسترس قارچ قرار گرفته و بر اساس گزارش Carrasco و همکاران (۲۰۱۸)، جذب عناصر ریزمغذی مثل آهن، منگنز و روی در تیمارهای تلقیحی به‌طور معنی‌دار بیشتر تیمارهای غیرتلقیحی بود. مطابق با نتایج مطالعه حاضر Pardo و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که افزودن عناصر روی، منگنز و آهن به بستر کشت باعث افزایش غلظت و جذب آهن و منگنز قارچ شد. بر طبق نظر Pardo-Gimenez و همکاران (۲۰۱۸) قارچ‌ها ممکن است دارای مقادیر زیاد مواد معدنی باشند که در بستر رشدشان وجود دارد. بنابراین اختلاف در مواد معدنی و غلظت عناصر کم‌مصرف بستگی زیادی به روش کاشت و میزان مواد معدنی موجود در کمپوست استفاده شده دارد. Pratiksha و همکاران (۲۰۱۷) نیز با به‌کارگیری باکتری سودوموناس و تیوباسیلوس نشان داد افزودن پنج لیتر از سوسپانسیون حاوی $۱۰^{۹}\times$ ۳/۳ سلول زنده در میلی‌لیتر، بر روی هر بلوک (۰/۵۴ مترمربع) جذب آهن قارچ را ۳۹/۵۳ درصد افزایش داد، ولی تفاوت معنی‌دار در ماده خشک و میزان پروتئین قارچ، در مقایسه با شاهد مشاهده نشد.

**جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح باکتریایی، کاربرد آهن و آرد سویا بر درصد رطوبت، راندمان زیستی، کربوهیدرات کل، غلظت آهن و جذب آهن قارچ**

**Table 4- Comparison of the average interaction of inoculation bacteria, application Fe and soybean meal on moisture content, biological efficiency, total carbohydrates, Fe concentration and Fe absorption of mushrooms**

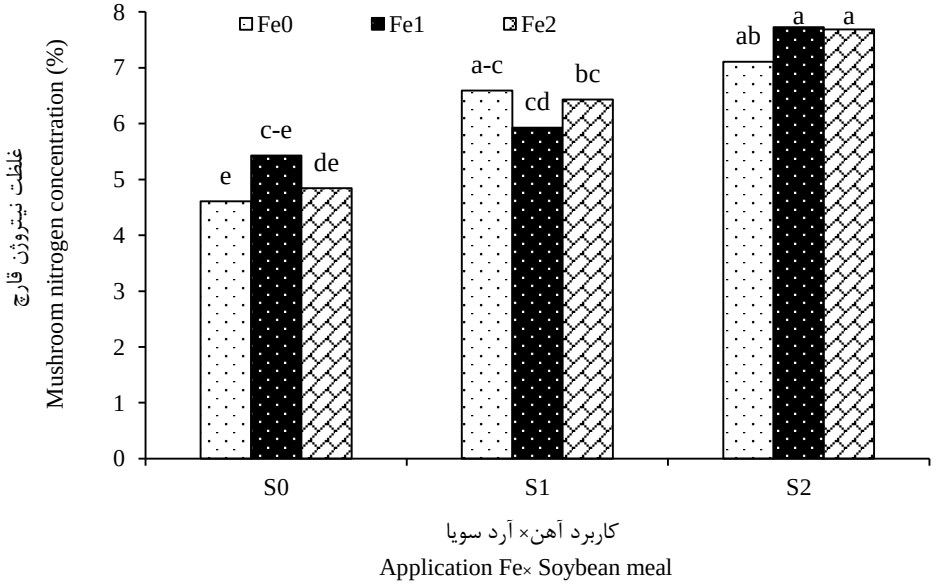
| تلقیح با باکتری Inoculation with bacteria | آهن Fe ($mg\ L^{-1}$) | آرد سویا Soybean Meal (%) | درصد رطوبت Moisture content (%) | راندمان زیستی Biological efficiency (%) | کربوهیدارات Total Carbohydrates (%) | غلظت آهن Fe Concentration ($mg\ kg^{-1}$) | جذب آهن Fe Absorption ($mg\ m^{-2}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تلقیح با *P. putida* Inoculation with *P. putida* | 0 | 0 | 94.11$^{gh}$ | 82.9$^{h}$ | 22.0$^{a}$ | 54.7$^{f}$ | 1113$^{e}$ |
| | | 1.5 | 94.01$^{h}$ | 91.4$^{b}$ | 19.5$^{b}$ | 81.3$^{ab}$ | 1373$^{c}$ |
| | | 3 | 94.73$^{c-e}$ | 85.4$^{e}$ | 18.8$^{b}$ | 62.2$^{d-f}$ | 1596$^{b}$ |
| | 250 | 0 | 95.08$^{a-e}$ | 84.6$^{f}$ | 21$^{ab}$ | 57.0$^{f}$ | 902i |
| | | 1.5 | 94.85$^{c-e}$ | 96.7$^{a}$ | 20.3$^{ab}$ | 87.9$^{a}$ | 1603$^{b}$ |
| | | 3 | 95.17$^{a-c}$ | 87.4$^{c}$ | 18$^{c}$ | 81.3$^{ab}$ | 1263d |
| | 500 | 0 | 94.57$^{efg}$ | 82.0$^{i}$ | 21.7$^{a}$ | 75.1$^{bc}$ | 986$^{g}$ |
| | | 1.5 | 95.06$^{a-e}$ | 97.0$^{a}$ | 19.7$^{ab}$ | 85.9$^{a}$ | 1663$^{a}$ |
| | | 3 | 95.24$^{ab}$ | 83.1$^{h}$ | 18.1$^{c}$ | 88.0$^{a}$ | 813$^{j}$ |
| عدم تلقیح Non-inoculation | 0 | 0 | 94.60$^{d-g}$ | 79.0$^{l}$ | 19.08$^{b}$ | 29.8$^{h}$ | 485$^{l}$ |
| | | 1.5 | 94.37$^{fgh}$ | 84.0$^{g}$ | 24.74$^{ab}$ | 39.0$^{g}$ | 922$^{h}$ |
| | | 3 | 95.12$^{a-d}$ | 81.5$^{j}$ | 25.37$^{a}$ | 36.4$^{gh}$ | 778$^{k}$ |
| | 250 | 0 | 94.86$^{b-f}$ | 82.8$^{h}$ | 25.57$^{a}$ | 59.8$^{ef}$ | 471$^{m}$ |
| | | 1.5 | 95.58$^{a}$ | 86.9$^{d}$ | 18.84$^{b}$ | 55.7$^{f}$ | 435$^{n}$ |
| | | 3 | 94.50$^{f-h}$ | 80.7$^{k}$ | 21.24$^{ab}$ | 34.5$^{gh}$ | 1093$^{f}$ |
| | 500 | 0 | 94.65$^{c-g}$ | 76.8$^{m}$ | 24.71$^{ab}$ | 56.7$^{f}$ | 784$^{k}$ |
| | | 1.5 | 95.52$^{a}$ | 87.1$^{c}$ | 23.66$^{ab}$ | 64.8$^{de}$ | 992$^{g}$ |
| | | 3 | 94.39$^{f-h}$ | 77.1$^{m}$ | 21.95$^{ab}$ | 69.1$^{cd}$ | 340$^{o}$ |

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to least significant difference (LSD) test ($p \leq 0.05$).

## غلظت نیتروژن قارچ

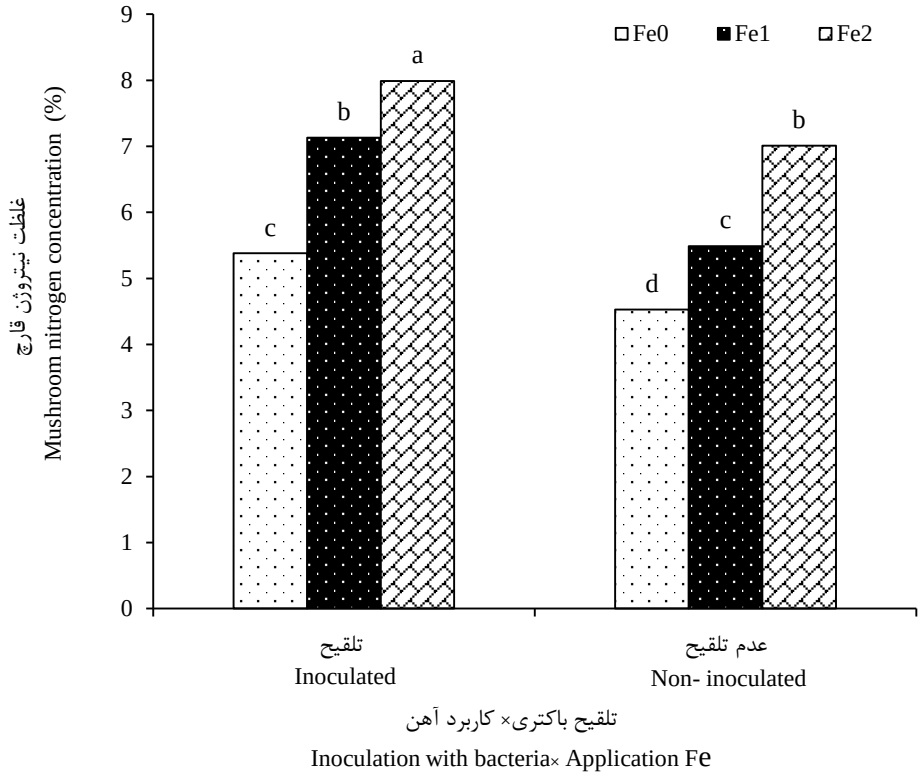
کاربرد مقادیر مختلف کلات‌آهن و آرد سویا مقدار نیتروژن قارچ را نسبت به عدم‌مصرف آن‌ها افزایش داد. بیشترین مقدار نیتروژن با کاربرد ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلات‌آهن توأم با سه درصد آرد سویا و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن توأم با سه درصد آرد سویا، به‌ترتیب با مقادیر ۷/۷۳ و ۷/۹۶ درصد و کمترین مقدار آن (۴/۶۱ درصد) در تیمار بدون کلات آهن و آرد سویا به‌دست آمد (شکل ۳).




**شکل ۳- تأثیر آرد سویا و کاربرد آهن بر غلظت نیتروژن قارچ**

**Figure 3- Effect of application Fe on mushroom nitrogen concentration**

مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح باکتریایی با کاربرد آهن نیز نشان داد که تلقیح باکتریایی و کاربرد همزمان کلات آهن مقدار نیتروژن قارچ را نسبت به شاهد افزایش داد. بیشترین مقدار نیتروژن قارچ (۷/۹۹ درصد) تحت شرایط تلقیح با باکتری و کاربرد ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن مشاهده گردید. عدم تلقیح با باکتری و عدم مصرف کلات آهن کمترین مقدار نیتروژن قارچ (۴/۵۳ درصد) را به خود اختصاص داد (شکل ۴).




**شکل ۴- تأثیر تلقیح باکتریایی و کاربرد آهن بر غلظت نیتروژن قارچ**

**Figure 4- Effect of inoculation bacterial and of application Fe on mushroom nitrogen concentration**

Jurak و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر غنی‌سازی بستر کشت به‌وسیله تفاله زیتون (*Olea europaea* L.)، تفاله خشک چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) و تفاله سویا را بر قارچ خوراکی صدفی دینگری (*Pleutros sajor-cajo*) را بررسی نمودند و دریافتند که در بسیاری از موارد میزان تولید قارچ حاصل از کاه غنی شده نسبت به شاهد بالاتر است. بنا به نظر Cho و همکاران (۲۰۰۲) و Kim و همکاران (۲۰۰۸)، استفاده از باکتری‌های سودوموناس فلورسنت باعث افزایش رشد میسلیوم‌ها و به تبع آن افزایش جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن که از اجزاء اصلی در ساختمان پروتئین است می‌شود و از این طریق باعث افزایش میزان پروتئین در قارچ‌های تیمار شده با باکتری می‌گردد. در آزمایش دیگری Pecchia و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده نمودند که استفاده از ضایعات چای (*Camellia sinensis* L.) در خاک پوششی باعث افزایش یون کلسیم و پتاسیم در خاک پوششی گردید که افزایش میزان این عناصر باعث تداخل در جذب فسفر توسط قارچ شد و در نتیجه باعث کاهش میزان فسفر در قارچ و کاهش عملکرد قارچ گردید. Zied و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از مکمل‌های پودر سویا و آرد ذرت بالاترین عملکرد، درصد نیتروژن، پروتئین و ترکیبات فنولی را از پودر سویا و سپس آرد ذرت در مقایسه با شاهد به‌دست آوردند. Mohammad و Sabaa (۲۰۱۳) نیز دریافتند

که کارایی مکمل‌ها را می‌توان با تأخیر در دسترسی به مواد مغذی نسبت به دسترسی فوری آن افزایش داد و آن‌ها نقش مثبت *P. putida* و *Rhodopseudomonas palustris* در تأخیر در دسترسی به مواد مغذی را اثبات نموده‌اند. باکتری‌های دیگری نیز مانند ازتوباکتر و آزسپیریلوم، نیتروژن اتمسفری را به‌صورت غیرهمزیست در اختیار گیاهان قرار می‌دهند. باکتری‌های محرک رشد علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن، با تولید مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای هورمون محرک رشد به‌ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین، رشد و نمو و عملکرد گیاه زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Zahir *et al*., 2004).

## نتیجه‌گیری کلی

نـــتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که کاربرد مکمل آرد سویا به‌میزان ۱/۵ درصد در مقایسه با سه درصد در اغلب صفات اندازه‌گیری شده قارچ به‌ویژه عملکرد خشک، عملکرد تر و کارایی زیستی نقش مؤثرتری داشت و تأثیر مثبت توأم کاربرد ۱/۵ درصد آرد سویا با تلقیح با باکتری *P. putida* بیشتر شد به‌طوری‌که رابطه سینرژیستیی آن‌ها در اغلب صفات به‌وضوح مشاهده شد. اما کاربرد ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن در بیشتر صفات به‌جزء مقدار کربوهیدرات کل تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای با تیمارهای مشابه بدون کاربرد آهن نداشت. حداکثر تعداد قارچ، عملکرد تازه قارچ، غلظت نیتروژن و کارایی زیستی با تلقیح با باکتری *P. putida* و کاربرد همزمان ۱/۵ درصد آرد سویا به‌دست آمد. بنابراین برای افزایش تولید و بهبود صفات کیفی قارچ استفاده از آرد سویا به اندازه ۱/۵ درصد همـراه با *P. putida* *توصیه* می‌شود.

## References


- Anbarestani, L., Asoodar, M. & Heidari, M. (2020). Effects of wheat straw, leaf of date palm, bagasse and organic supplements on yield and quality of oyster mushroom. *Journal of Vegetables Sciences*, 3(2), 79-92. (In Persian)
- Barros, L., Falcao, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M. & Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chemistry*, 111(1), 61-66.
- Carrasco, J., Zied, D. C., Pardo, J. E., Preston, G. M. & Pardo-Gimenez, A. (2018). Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. *AMB Express*, 8(1), 1-9.
- Chang, S. T. & Wasser, S. P. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(2), 95-134.
- Chang, S. T. & Wasser, S. P. (2017). *The cultivation and environmental impact of mushrooms*. In Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science.
- Chen, S., Qiu, C., Huang, T., Zhou, W., Qi, Y., Gao, Y. & Qiu, L. (2013). Effect of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase producing bacteria on the hyphal growth and primordium initiation of *Agaricus bisporus*. *Fungal Ecology*, 6(1), 110-118.
- Cho, Y. S., Kim, J. S., Crowley, D. E. & Cho, B. G. (2003). Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by *fluorescent pseudomonads*. *FEMS Microbiology Letters*, 218(2), 271-276.
- Colauto, N. B., Fermor, T. R., Eira, A. F. & Linde, G. A. (2016). *Pseudomonas putida* stimulates primordia on *Agaricus bitorquis*. *Current Microbiology*, 72(4), 482-488.
- Desrumaux, B., Calus, A. & Sedeyn, P. (2000). Minerals and microelements in the mushroom substrate: a production limiting factor. *Science and Cultivation of Edible Fungi*, 15(1), 327-334.
- Ebadi, A., Alikhani, H. A. & Rashtbari, M. (2012). Effect of plant growth promoting bacteria (PGPR) on the morpho-physiological properties of button mushroom *Agaricus bisporus* in

two different culturing beds. *International Research Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 203-212.
- Eira, A. D. (2003). Cultivo do cogumelo medicinal *Agaricus blazei* (Murrill) SS Heinemann ou *Agaricus brasiliensis* (Wasser et al.). *Vicosa, Aprenda Facil*, 398p.
- Guo, X., Zou, X. & Sun, M. (2009). Effects of phytohormones on mycelial growth and exopolysaccharide biosynthesis of medicinal mushroom *Pellinus linteus*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32(5), 701-707.
- Han, J. (1999). The influence of photosynthetic bacteria treatments on the crop yield, dry matter content, and protein content of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Scientia Horticulturae*, *82*(1-2), 171-178.
- Jiang, T., Zheng, X., Li, J., Jing, G., Cai, L. & Ying, T. (2011). Integrated application of nitric oxide and modified atmosphere packaging to improve quality retention of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Chemistry*, 126(4), 1693-1699.
- Jurak, E., Kabel, M. A. & Gruppen, H. (2014). Carbohydrate composition of compost during composting and mycelium growth of *Agaricus bisporus*. *Carbohydrate Polymers*, 101, 281-288.
- Kim, M. K., Math, R. K., Cho, K. M., Shin, K. J., Kim, J. O., San Ryu, J. & Yun, H. D. (2008). Effect of *Pseudomonas sp*. P7014 on the growth of edible mushroom *Pleurotus eryngii* in bottle culture for commercial production. *Bioresource Technology*, 99(8), 3306-3308.
- Kim, H. S., Kim, K. R., Yang, J. E., Ok, Y. S., Owens, G., Nehls, T. & Kim, K. H. (2016). Effect of biochar on reclaimed tidal land soil properties and maize response. *Chemosphere*, 142, 153-159.
- Kirbag, S. & Akyuz, M. (2008). Evaluation of agricultural wastes for the cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel. var. ferulae Lanzi. *African Journal of Biotechnology*, 7(20), 3660-3664.
- Kochert, G. (1978). *Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods*. London: Cambridge University Press.
- Kumar, V., Goala, M., Kumar, P., Singh, J., Kumar, P. & Kumari, S. (2020). Integration of treated agro-based wastewaters (TAWs) management with mushroom cultivation. *Environmental Degradation: Causes and Remediation Strategies*, 1, 63-75.
- Mamiro, D. P. & Royse, D. J. (2008). The influence of spawn type and strain on yield, size and mushroom solids content of *Agaricus bisporus* produced on non-composted and spent mushroom compost. *Bioresource Technology*, 99(8), 3205-3212.
- Mascarin, G. M., Kobori, N. N., Jackson, M. A., Dunlap, C. A. & Delalibera Jr, I. (2018). Nitrogen sources affect productivity, desiccation tolerance and storage stability of Beauveria bassiana blastospores. *Journal of Applied Microbiology*, 124(3), 810-820.
- Mohammad, A. O., & Sabaa, A. E. (2013). Impact of some *Pseudomonas* spp. isolated from casing soil on the hyphal growth of *Agaricus bisporus*. *Canadian Journal on Computing in Mathematics, Natural Sciences, Engineering and Medicine*, 4(1), 45-48.
- Nurudeen, T. A., Ekpo, E. N., Olasupo, O. O., Okunrotifa, A. O. & Haastrup, N. O. (2014). Effect of supplements on the yield and nutritional composition of Oyster Mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) cultivated on sawdust forestry. *Journal of Environmental Science*, (3), 1242-1251.
- Pardo, A., Perona, M. A. & Pardo, J. (2007). Indoor composting of vine by-products to produce substrates for mushroom cultivation. *Spanish Journal of Agricultural Research*, (3), 417-424.
- Pardo-Gimenez, A., Carrasco, J., Roncero, J. M., Alvarez-Orti, M., Zied, D. C. & Pardo-Gonzalez, J. E. (2018). Recycling of the biomass waste defatted

almond meal as a novel nutritional supplementation for cultivated edible mushrooms. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 40, 1-9.
- Pecchia, J. O. H. N., Cortese, R. A. C. H. E. L. & Albert, I. S. T. V. A. N. (2014). Investigation into the microbial community changes that occur in the casing layer during cropping of the white button mushroom, Agaricus bisporus. In *Proceedings of 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8), New Delhi, India, 19-22 November 2014. Volume I & II* (pp. 309-313). ICAR-Directorate of Mushroom Research.
- Prathap, M. & Kumari, B. R. (2015). A critical review on plant growth promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 6(4), 1-4.
- Pratiksha, K., Narute, T. K., Surabhi, S., Ganesh, A. & Sujoy, S. (2017). Effect of liquid biofertilizers on the yield of button mushroom. *Journal of Mycopathological Research*, 55(2), 135-141.
- Remezan, D. & Siah Sar, A. B. (2010). Assessing the impact of casing soil on some quantitative and qualitative characteristics of button mushroom (*Agaricus bisporus* L.). *Iranian Journal of Hortcultural Science*, 41(3), 393-393. (In Persian)
- Riahi, H. O. S. S. E. I. N., Eskash, A. & Shariatmadari, Z. (2011). Effect of bacterial and cyanobacterial culture on growth, quality and yield of Agaricus bisporus. In *Mushroom biology and mushroom products. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Arcachon, France, 4-7 October, 2011. Volume 1. Oral presentations* (pp. 406-411). Institut National de la Recherche Agronomique.
- Roca, A., Pizarro-Tobias, P., Udaondo, Z., Fernandez, M., Matilla, M. A., Molina-Henares, M. A. & Ramos, J. L. (2013). Analysis of the plant growth-promoting properties encoded by the genome of the rhizobacterium *Pseudomonas putida*. *Environmental Microbiology*, 15(3), 780-794.
- Siyoum, N. A., Surridge, K., Van der Linde, E. J. & Korsten, L. (2016). Microbial succession in white button mushroom production systems from compost and casing to a marketable packed product. *Annals of Microbiology*, 66(1), 151-164.
- Torabi-Giglou, M., Noroozi, H., Maleki Lajayer, H. & Dehdar, B. (2020). Effects of organic and biological fertilizers on Growth and Nutrient Content of Spinach (*Spinacea oleracea* L.). *Journal of Vegetables Sciences*, 3(2), 109-121. (In Persian)
- Vijay, B., Sharma, S. & Lakhanpal, T. (2002). Effect of post-composting with different concentrations of formaldehyde on the yield of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Biology and Mushroom Products*, 239-242.
- Vos, A. M., Heijboer, A., Boschker, H. T., Bonnet, B., Lugones, L. G. & Wosten, H. A. (2017). Microbial biomass in compost during colonization of *Agaricus bisporus*. *AMB Express*, 7(1), 1-7.
- Weil, D. A., Beelman, R. B. & Beyer, D. M. (2006). Manganese and other micronutrient additions to improve yield of *Agaricus bisporus*. *Bioresource Technology*, 97(8), 1012-1017.
- Zahir, Z. A. & Arshad, M. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 97-168.
- Zarenejad, F., Yakhchali, B. & Rasooli, I. (2012). Evaluation of indigenous potent mushroom growth promoting bacteria on *Agaricus bisporus* production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 99-104.
- Zied, D. C., Savoie, J. M. & Pardo-Gimenez, A. (2011). Soybean the main nitrogen source in cultivation substrates of edible and medicinal mushrooms. *Soybean and Nutrition*, 22, 433-452.