بررسی اثر مکمل‌های غذایی و باکتری سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) جهت بهبود برخی صفات کمی و کیفی قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)

فرشته ماکنالی[۱]، عبدالکریم کاشی (نویسنده مسئول)[۲*]، رضا صالحی‌محمدی[۳] و احمد خلیقی[٤]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغی وزراعی، دانشکده کشاورزی و علوم صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، fereshteh.makenali@gmail.com

۲*- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، akkashi@ut.ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، salehir@ut.ac.ir

٤- استاد، گروه علوم باغی وزراعی، دانشکده کشاورزی و علوم صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، akhaligh@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: خرداد ۱٤۰۱ تاریخ پذیرش: مرداد ۱٤۰۱

Investigating the effect of dietary supplements and bacteria (*Pseudomonas putida*) To improve some quantitative and qualitative traits of button mushrooms (*Agaricus bisporus*)

Fereshteh Makenali[1], Abdolkarim kashi (Corresponding author)[2*], Reza Salehi Mohammadi[3] and Ahmad Khalighi[4]

1-Ph.D student, Department of Horticulture and Agronomy, Faculty of Agriculture and Food Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, fereshteh.makenali@gmail.com

2*- Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran, akkashi@ut.ac.ir

3- Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran, salehir@ut.ac.ir

4- Professor, Department of Horticulture and Agronomy, Faculty of Agriculture and Food Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, akhaligh@ut.ac.ir

Received: June 2022 Accepted: August 2022

چکیده

جهت بررسی افزایش عملکرد کمی و کیفی قارچ دکمه‌ای *Agaricus bisporus* با روش ارزیابی اثر پودر سویا (SF) و کلات آهن (Fe) تحت تلقیح با باکتری زیستی محرک رشد گیاه، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با سه تکرار در شرکت قارچ باران شهرستان دزفول در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت. کلات آهن در سه سطح صفر،۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر از منبع ٦ درصد کلات آهن، پودر سویا در سه سطح صفر، ۱/۵ و ۳ درصد وزن کمپوست خشک و تلقیح باکتریایی در دو سطح عدم تلقیح (B2) و تلقیح میسیلیوم با باکتری (B1) بود. نتایج نشان داد حداکثر عملکرد تازه (۲۰/۷۷ کیلوگرم در متر مربع) از تیمار (باکتری سودوموناس پوتیدا+ آرد سویا ۱/۵ درصد +کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) به‌دست آمد. بیشترین میزان اسیدهای آمینه متیونین (۲/۲۹mgkg^{-1}DW) و لیزین (٤/۹۷mg kg^{-1} DW) در تیمار (باکتری سودوموناس پوتیدا + آرد سویا ۳ درصد) مشاهده شد. بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار (آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) با٤/۱۹ میلی‌مول بر کیلوگرم در عدم تلقیح باکتری مشاهده شد. با توجه به نتایج، غنی‌سازی خاک پوششی با آهن تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر صفات کمی و کیفی قارچ نداشت اما کاربرد آرد سویا در سطح ۱/۵ درصد به‌ویژه همراه با *P.putida* نقش موثرتری داشت. بنابراین برای افزایش تولید و بهبود صفات کیفی قارچ استفاده از آرد سویا به اندازه ۱/۵درصد همراه با *P.putida* توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: اسیدهای آمینه، پودر سویا، پروتئین، کلات آهن، ظرفیت آنتی اکسیدانی

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

سال ۱٤۰۱، دوره ۱۷، شماره ۲، صص ۳۷-۲۳

Abstract

To evaluate the increase in quantitative and qualitative yield of *Agaricus bisporus* button fungus by evaluating the effect of soy flour (SF) and iron chelate (Fe) supplements inoculated with plant growth-promoting bacteria. A factorial experiment with four replications in Dezful Mushroom Company It was done in 1397. Iron at Three levels of zero, 250 and 500 mg / l from source of 6% iron chelate, soy flour at three levels of zero, 1.5 and 3% by weight of dry compost and bacterial inoculation at two levels (no inoculation and inoculation of mycelium with *P. putida*) was. The results showed that maximum fresh yield (20.77 kg / m2) was obtained from (*Pseudomonas Potida* + soybean powder + iron chelate) treatment. methionine (29.2 mg/ kg^{-1} DW) and lysine (4.97 mg/ kg^{-1} DW) were observed in (*Pseudomonas putida* + soy flour 3%) treatments. The highest antioxidant capacity was observed in (Soy flour 1.5% + iron chelate 500 mg / l) treatment with 4.19 mmol / kg in non-bacterial inoculation. According to the results, enrichment of cover soil with iron did not have a significant effect on the quantitative and qualitative traits of the fungus, but the application of soy flour at the level of 1.5%, especially with *P. putida*, had a more effective role. Therefore, to increase the production and improve the quality traits of the fungus, the use of soy flour in the amount of 1.5% with *P. putida* is recommended.

Keywords: Amino acid, Antioxidant capacity, Fe chelate, Protein, Soy flour

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

سال ۱٤۰۱، دوره ۱۷، شماره ۲، صص ۳۷-۲۳

مقدمه و کلیات

قارچ‌های دکمه‌ای موجوداتی ساپروفیت (مواد آلی مورد نیاز خود را منحصرا از بقایای موجودات زنده دیگر تأمین می‌کند) هستند (رضایی و همکاران، ۱۳۸۹). قارچ دکمه ای حاوی مقادیر زیادی پروتئین، مواد معدنی، ویتامین و ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا است و مقدار چربی، سدیم و کلسترول آن کم است (Sayqa *et al.*, 2008). قارچ دکمه ای غنی از اسیدهای آمینه لیزین و لوسین است که معمولاً در بسیاری از غلات وجود ندارد.تریپتوفان و لیزین، قارچ را جایگزین بهتری برای پروتئین حیوانی می کند (Atila *et al.*, 2017). جمعیت میکروبی خاک پوششی به ویژه *P.putida* و*Alcaligenes faecalis* نقش مهمی در رشد میسلیوم (ریشه قارچ)، تکمیل زودهنگام مراحل کشت و عملکرد *A.bisporus* دارد (Choudhary *et al.*, 2009). باکتری‌های تولید کننده IAA موجب افزایش وزن تر، وزن خشک و میزان پروتئین *A.bisporus* در واحد سطح می‌شوند (Mohamad and Saba, 2013). مکمل‌های غذایی ممکن است منشاآلی یا ترکیبات مختلف شیمیایی مانند عناصرکم مصرف و پرمصرف باشند (Rahman *et al.*, 2013). مکملهای غذایی نه تنها موجب افزایش بازده محصول و کیفیت قارچ خوراکی میشوند، بلکه بر طول دوره رشد قارچهای خوراکی نیز تاثیر گذار هستند (Royse et *al.*, 1991). کودهای زیستی حاوی موجودات زنده یا گونه های کارآمد تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده ی فسفات هستند که برای بذر، خاک یا محلهای حاوی کمپوست با هدف افزایش تعداد این میکروارگانیسمها و سرعت بخشیدن به فرآیندهای میکروبی که دسترسی به مواد غذایی را برای آسیمیلا سیون مناسب در گیاهان مهیا میکنند، مورد استفاده قرار میگیرند (Venkatashwarlu, 2008). ضایعات گیاهان روغنی، لگوم و غلات به عنوان بستری مناسب (کمپوست) برای کشت قارچ دکمه ای و آرد یا پودر حاصل از آنها به عنوان مکمل غذایی استفاده می شوند. آرد سویا غنی از پروتئین (۴۸-۵۲) درصد یکی از مکملهای نیتروژنه آلی که موجب افزایش عملکرد و کیفیت قارچ های خوراکی می شود(Shashirekha *et al.*, 2002). مکمل های مختلف نیتروژنه جهت بهبود رشد، عملکرد و کیفیت قارچ استفاده می شوند (Khare *et al.*, 2010). آهن از فراوانترین ریز مغذی های ضروری برای گیاهان است. افزایش پروتئین و املاح معدنی با کاربرد آهن در قارچ های خوراکی گزارش شده است (Yokota *et al.*, 2016; Umeo *et al.*, 2020). لذا این مکانیسم‌های *P.putida* با میسلیوم قارچ خوراکی قابل مطالعه است و می‌تواند عامل افزایش عملکرد قارچ باشد. تاکنون گزارشی از طریق برهم‌کنش یک ریز-مغذی (کلات آهن) با مکمل آلی (آرد سویا) به همراه *P.putida*بر خواص کمی و کیفی *A.bisporus* ارائه نشده است، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر مکمل-های غذایی و *P.putida* جهت بهبود خواص کمی و کیفی قارچ دکمه ای انجام گرفته است.

فرآیند پژوهش

این تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. باکتری (*Pseudomonas putida* *strain* R156) از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات آب و خاک کرج تهیه شده است و دارای توانایی تولید سیدروفور، انحلال فسفات‌های آلی و معدنی، تولید

اکسین، توانایی تولید آنزیم deaminase-می باشد (پاشاپور، ۱۳۸۷). آنالیز فیزیکی و شیمیایی خاک پوششی و کمپوست (تهیه از شرکت قارچ جلگه دز دزفول) در جدول (۱) ارائه شده است. از سیستم کیسه ای‌بر روی قفسه‌های فلزی برای کشت قارچ استفاده شد. هر کیسه پلی اتیلنی کمپوست ۱۷ کیلوگرم وزن داشت و حاوی ۱۷۰ گرم اسپان (بذر) قارچ بود. تمامی مکملها و خاک پوششی درون اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۳٤/۱ اتمسفر) به‌مدت ۱۵ دقیقه استریلیزه می شوند. در سالن عملیات اضافه کردن خاک پوششی به قطر ۳ سانتی‌متر، افزودن باکتری (۸۵ میلی لیتر در هر کیلوگرم کمپوست) و مکملهای غذایی به خاک پوششی میسلیوم دار، عمل رافلینگ (خراش‌دهی) صورت می گیرد. وجود رافلینگ و کاهش دمای محیط به ۱٦ درجه سانتیگراد و رطوبت ۸۵ درصد به‌منزله یک شوک و ورود به فاز زایشی میباشد. وزن تر قارچ‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین و به عنوان عملکرد قارچ ثبت شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، قارچها به لایه‌های نازک بریده شد و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد درون آون قرارگرفت و پس از ۲٤ ساعت مجددا وزن شدند (حجازی و همکاران، ۱۳۸٦). مقدار ماده خشک از تقسیم وزن خشک بر وزن تر قارچ در عدد ۱۰۰ و درصد پروتئین از مقدار ازت در ضریب ٤/۳۸ به دست آمد (Shashirekha *et al.*, 2002). ظرفیت آنتی اکسیدانی از طریق خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Instruments Itd80 + UV/VIS PG) Miliauskas (*et al.*, 2004) و اندازه‌گیری آمینواسیدها با دستگاه HPLC (ساخت شرکت آمریکایی واترز) به روش کروماتوگرافی مایع انجام پذیرفت (Vázquez-Ortiz *et al.*, 1995). داده های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار آماری $SAS_{9.1}$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین و گروه‌بندی داده‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

جدول ۱- آنالیز خاک پوششی و کمپوست

Table 1- Analyses of cover soil and compost

نوع خاک	Zn	Mn	Fe	Cu	C/N	K	P	N	OM	S.P	pH	هدایت الکتریکی (EC) dS m^{-1}	رطوبت (٪)
	(mg kg^{-1})					(%)							
خاک پوششی	۲۵	۸۰	۳۸۰۰	۱۰	۱٤/۸	۰/۱۳	۰/۱۹	۱/۳۵	۲۰/۱	۱۰/۰	۵/۲۵	۲/۱	۲۵
کمپوست	۱۹۵	۳۳۰	۱۹۰	٤۸	۱۳/٤	۳/۳۵	۲/٦۵	۱/۹۵	۲٦/۳	٤٤/۱	۷/٦۳	۷/۷	۷۳/٦

نتایج و بحث

درصد ماده خشک: نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر متقابل باکتری، کلات آهن و آرد سویا بر درصد ماده خشک در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول۲). مقایسه میانگین داده‌ها مشخص کرد بیشترین درصد ماده خشک۵/۹۸ درصد از تیمار(تلقیح باکتری + آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن صفر) به‌دست آمد. کمترین مقدار آن به ترتیب

٤/٤١ و ٤/٤٧ درصددر تیمارهای عدم تلقیح باکتریایی(آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن ۲۵۰ میلی گرم در لیتر) و (آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) مشاهده شد(جدول ۳). تحریک رشد گونه‌های *Agaricus* و *Pleurotus* بیشتر توسط باکتری‌هایی از جنس باسیلوس، سودوموناس و برادیخیزبیوم می‌باشد. در طول دوره رشد قارچ، این میکروارگانیسم‌ها در روی خاک، بستر یا میزبان فعالیت میکنند و منجر به بهبود عملکرد و افزایش درصد ماده خشک می‌شوند (Kertesz and Thai, 2018). افزایش ماده خشک با کاربرد آرد سویا و *P* ناشی از افزایش جذب فسفات و قابلیت تنظیم نیتروژن گزارش شده است (Jadhov *et al*, 2017;Vos *et al*., 2017).

عملکرد قارچ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل باکتری، کلات آهن و آرد سویا بر عملکرد قارچ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول۲). غنی‌سازی خاک با کلات آهن و آرد سویا تحت تلقیح باکتریایی موجب افزایش عملکرد قارچ شده است به‌طوری‌که بیشترین عملکرد به ترتیب ۲۰/۷۳ و ۲۰/۷۷ کیلوگرم بر متر مربع در تیمارهای (باکتری+ آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن ۲۵۰ میلی گرم در لیتر) و (باکتری+ آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) وکمترین مقدار عملکرد به ترتیب ١٦/٤٦ و ١٦/٣٥ کیلوگرم بر متر مربع در تیمارهای عدم تلقیح باکتریایی (آرد سویا صفر + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و (آرد سویا ۳ درصد + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) مشاهد شد (جدول۳). عدم تلقیح باکتریایی می‌تواند عملکرد را تا حد زیادی کاهش داده هر چند که خاک پوششی توسط مکمل‌های غذایی غنی شده باشد. کاربرد آهن در مقایسه با شاهد معنی دار شد ولی افزایش سطح آهن موجب افزایش عملکرد قابل توجهی در قارچ های صدفی و شیری نشد (Budzyn´ ska *et al.*, 2022). تأثیر منفی آهن بر عملکرد قارچ ناشی از کاهش فعالیت باکتری‌های بستر می‌باشد زیرا افزایش آهن از یک طرف تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها را کاهش داده و از طرف دیگر قابلیت همزیستی باکتری – میزبان را کاهش می‌دهد. بنابراین علت کاهش تأثیر آرد سویا در غیاب سودوموناس می‌تواند ناشی از کند شدن تجزیه آرد سویا باشد، ولی کاربرد سودوموناس به تجزیه آرد سویا کمک کرده و آن را به مرور در اختیار قارچ قرار می‌دهد (Carrasco *et al.*, 2019). محققان اتیلن را یکی از کاندیداهای مهار رشد *A.bisporus* دانسته و نشان دادند که سویه‌هایه سودوموناس پوتیدا به‌واسطه تولید آنزیم ACC-دآمیناز، با کاهش ACC و در نتیجه کاهش سطح اتیلن در *A.bisporus* باعث رشد هیف می‌شوند اما تیمار باکتری‌های موتانتی که ACC-دآمیناز را خیلی کم تولید می‌کردند، مهار رشد هیف را به‌دنبال داشت، بنابراین اتیلن مهار کننده رشد قارچ و باکتری با جذب و مصرف پیش‌ساز اتیلن باعث افزایش رشد میسلیوم قارچ و نیز از طریق تولید سیدروفور با کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و تسهیل جذب آهن موجب حفظ کیفیت محصول و افزایش عملکرد در میزبان می‌شود (Ali and Vidhale, 2013). تلقیح خاک پوششی با باکتریهای تثبیت کننده نیتروژن عملکرد قارچ دکمه ای، ۱۵ کیلوگرم در مترمربع و زمانی که خاک پوششی با زغال چوب تیمار شد ۹

کیلوگرم در متر مربع بود (Vigie and Gupta, 1992). کاربرد آرد سویا موجب افزایش عملکرد قارچ شده، اما افزایش غلظت آرد سویا باعث تولید نیتروژن زیاد و افزایش دمای بستر و در نتیجه کاهش عملکرد قارچ شد (Naraian *et al.*, 2009).

وزن خشک قارچ: نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد اثرمتقابل باکتری، کلات آهن و آرد سویا در سطح احتمال یک درصد بر وزن خشک قارچ معنی‌دار شد (جدول۲). مقایسه میانگین داده ها مشخص کرد بیشترین وزن خشک ۱۱۸۵ گرم در متر مربع از تیمار (باکتری+ آرد سویا ۱/۵درصد+ کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر)و کمترین مقدار آن ۷۱۹ گرم در متر مربع از (عدم تلقیح باکتری+ آرد سویا ۱/۵درصد+ کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) به دست آمده است (جدول ۳). افزایش وزن خشک قارچ دکمه ای (۷/۱ درصد) دربستر غنی شده با مکمل های آلی در حضور باکتری های باسیلوس و سودوموناس در مقایسه با شاهدبدون تلقیح (٤/٤٣ درصد) مشاهده شد (مولایی و بشارتی، ۱۳۹۰). باکتری های تولید کننده IIA باعث افزایش وزن خشک می شوند، در واقع سودوموناس پوتیدا به واسطه تولیدIIA، انحلال فسفات معدنی، کاهش سطح مواد ممانعت کننده رشد از جمله اتیلن و نیز ترشح سیدروفور برای مقابله با پاتوژن ها نقش مثبتی بر میزبان خود دارد (Ali and Vidhale, 2013). اثر افزودن آرد سویا بر وزن خشک قارچ دکمه ای (گلستانی و همکاران، ۱۳۹۳) و کاربرد آهن نیز (Yokota *et al.*, 2016) مثبت گزارش شده است.

جدول۲- تجزیه واریانس صفات در قارچ دکمه ای تحت تاثیر باکتری، آرد سویا و کلات آهن

Table 2- Analysis of variance of attributes in button fungus affected by bacteria, iron chelate and soybean flour

Source	DF	ماده خشک (درصد)	عملکرد (کیلوگرم در مترمربع)	وزن خشک (گرم در مترمربع)	غلظت متیونین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	عملکرد متیونین (میلی‌گرم در متر مربع)
R	۳	^{ns}۰/٦٨٠	^{ns}۰/۰۰۳٦	**۱۳۸٤۱۹	^{ns}۰/۰۱۷	^{ns}٥/۱۳
باکتری	۱	*۱/۷۰۳	**۱۳٤/٦	**۱۰۲۲٦۸	**۱/٤٤	**۹۲۱
کلات آهن	۲	**۳/۸٥	^{ns}۰/۰۰٥۳۸	**۸٤۲۰۹	^{ns}۰/۰۸۳	^{ns}۲۲/۰٦
آرد سویا	۲	**۲/۳٤۹	**۲۰/٤۸	**۱٥۱۹۲	^{ns} ۰/۰۹۹	**۹۱۰
باکتری* کلات آهن	۲	^{ns}۰/٤٤٦	^{ns}۰/۰۰٥٥	**٥۹٥٥۸	**۲/۸۰	^{ns}۳۰/۷
باکتری* آرد سویا	۲	^{ns}۰/٤۲۱	**۱/٤۱۸۸	**٥۹٤٦۲	*۰/۱٦٦	*۷۸/٤
کلات آهن* آرد سویا	٤	*۰/۹۳۷	^{ns}۰/۰۰٤۸	*۳۲۸۱۷	^{ns}۰/۰۳٤۹	^{ns}۲۹/۳
باکتری*آردسویا* کلات آهن	٤	**۱/٥٦۲	**٥/۱۱	**۱۹۰۲۸	^{ns}۰/۰۷۱	*۷٥/۰۸
Error	٦۸	۰/۳۱۲	۰/۰۲۸	۱۰۲٥۲	۰/۰٦٦	۲۲/٦٦
CV (%)		۱۱/۰۹	۰/۹۲۷	۱۱/۰٤	۱٥/٦	۱٥/۷٤

ns ، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری، آرد سویا، کلات آهن بر عملکرد قارچ، عملکرد متیونین، ماده خشک و وزن خشک قارچ

Table 3- Comparison of mean bacterial Interactions, soy flour, iron chelate on fungal yield, methionine yield, dry matter and fungal dry weight

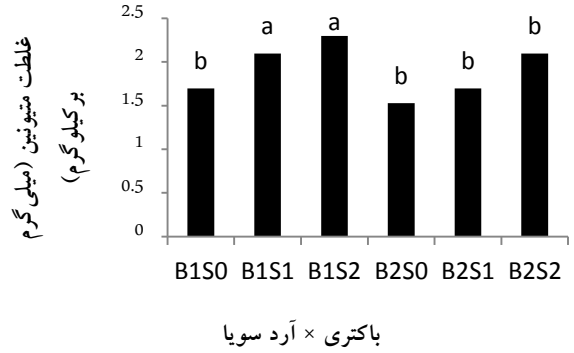
باکتری	کلات آهن (میلی لیتر)	آرد سویا (درصد)	عملکرد قارچ (کیلوگرم در متر مربع)	عملکرد متیونین (میلی گرم در متر مربع)	ماده خشک (درصد)	وزن خشک (درصد)
تلقیح باکترایی	۰	۰	۱۷/۸۸^{g}	۲۹/۸۹^{ef}	۵/۸۷^{ab}	۱۱۰٤^{ab}
		۱/۵	۱۸/۷۷ ^{b}	۳٤/۹۲^{ce}	۵/۹۸^{a}	۱۱۸۵^{a}
		۰/۳	۱۹/٤۲^{d}	٤۳/۷^{ab}	۵/۲۷^{c}	۹۹۰^{bc}
	۲۵۰	۰	۲۰/۳۷^{c}	۳٤/۷۵^{ce}	٤/۹۲^{dh}	۸۵۰^{cf}
		۱/۵	۲۰/٤۳^{a}	٤۳/۹^{ab}	۵/۱٤^{cg}	۹۳٦^{cd}
		۰/۳	۱۸/۲۲^{e}	۳۹/۰۸^{bc}	٤/۸۲^{fgh}	۷۷۳^{df}
	۵۰۰	۰	۱۷/٦۱^{g}	۳۰/۵۷^{df}	۵/٤۳^{bd}	۹۹۳^{bc}
		۱/۵	۲۱/۵۰^{a}	٤۹/۰^{a}	٤/۹۲^{dh}	۹٦۰^{bc}
		۰/۳	۱۹/٦۱^{c}	٤۹/٤^{a}	٤/۷٤^{gh}	۸۵۲^{cf}
عدم تلقیح باکترایی	۰	۰	۱۷/۷۸^{j}	۲٦/۷۷f	٤/۳۹^{be}	۹۲٤^{ce}
		۱/۵	۱۷/۱۲^{f}	۲۹/۸٤^{ef}	۵/٦۱^{ac}	۹۹۲^{bc}
		۰/۳	۱۷/۲۰^{gh}	۳۷/۷۹^{bd}	٤/۸۸^{eh}	۷۷٦^{df}
	۲۵۰	۰	۱٦/۸۳^{h}	۲٤/۸۹^{f}	۵/۱۳^{cg}	۹۰۰^{ce}
		۱/۵	۱۸/۳۹^{g}	۳۰/٦۹^{df}	٤/٤۱^{c}	۷۵۸^{bc}
		۰/۳	۱٦/۸۵^{c}	۳٤/٦۵^{ce}	۵/۵^{ac}	۱۰۰۱^{df}
	۵۰۰	۰	۱۵/۹۱^{i}	۲۵/۰۷^{f}	۵/۳۳^{bf}	۸۷۵^{cf}
		۱/۵	۱۸/۱۵^{k}	۲۹/۹۸^{ef}	٤/٤۷^{h}	۷۱۹^{f}
		۰/۳	۱۵/٦۰^{h}	۳۱/٤۷^{df}	۵/٦^{ac}	۹۱٦^{ce}

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≤0.05)

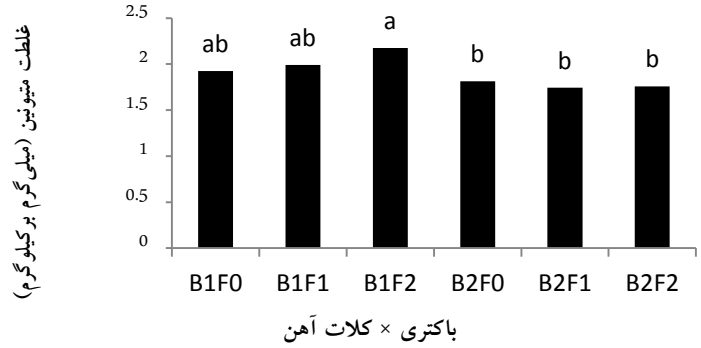
غلظت و عملکرد متیونین: نتایج تجزیه واریانس داده-ها نشان داد که اثر متقابل آرد سویا در کلات آهن و آرد سویا در باکتری در سطح احتمال پنج درصد بر متیونین معنی‌دار بود (جدول۲). کاربرد سودوموناس پوتیدا و خاک غنی شده با آرد سویا موجب افزایش غلظت متیونین به ترتیب (۲/۰۹ و ۲/۲۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمارهای (تلقیح باکتری + آرد سویا ۱/۵ درصد) و (تلقیح باکتری + آرد سویا ۳ درصد) شد. در سایر تیمارها از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین غلظت متیونین ۲/۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم در تیمار (تلقیح باکتری + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) بدست آمد. سایر تیمارها به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (نمودار۲). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل باکتری، کلات آهن و آرد سویا در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد متیونین معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان دادبیشترین عملکرد متیونین به ترتیب ٤۹ و ٤۹/٤ میلی گرم بر متر مربع از (تلقیح باکتری + آرد سویا ۱/۵درصد + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و (تلقیح باکتری + آرد سویا ۳ درصد + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و

کمترین عملکرد متیونین به ترتیب ۲۶/۷۷، ۲٤/۸۹ و ۲۵/۰۷ میلی گرم بر متر مربع از تیمارهای عدم تلقیح باکتری (آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن صفر)، (آرد سویا صفر + کلات آهن ۲۵۰ میلی گرم در لیتر) و (آرد سویا صفر + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) به دست آمد (جدول ۳). اثر سودوموناس بر افزایش محتوای پروتئین قارچ به افزایش کیفیت بستر از طریق کوتاهی فرآیند کمپوست، تسهیل تجزیه لیگنوسلولز و اثر هم افزایی بر رشد میسلیوم با آزادسازی مواد مغذی نسبت داده شده است (Vieira and Pecchia, 2018). وجود اسیدهای آمینه یا پروتئین هایی که به اندازه کافی برای میسلیوم قارچ در دسترس هستند می تواند منجر به افزایش عملکرد شود (Upadhyay *et al.*, 2002).



نمودار ۱- اثر باکتری و آرد سویا بر غلظت متیونین

Fig 1- Effect of iron chelate and soy flour on metionin content



نمودار ۲- اثر باکتری و کلات آهن بر غلظت متیونین

Fig 2- Effect of bactria and iron chelate on metionin content

غلظت و عملکرد پروتئین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل آردسویا در کلات آهن بر مقدار پروتئین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول٤).مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد کلات آهن و آرد سویا در سطوح مختلف مقدار پروتئین را نسبت به شاهد (آرد سویا صفر+ کلات آهن صفر)افزایش می دهد.بیشترین مقدار پروتئین در تیمار (آرد سویا ۳ درصد+ کلات آهن ۲۵۰ میلی گرم در لیتر) و (آرد سویا ۳ درصد+ کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) به‌ترتیب ۳۳/۷۵ و ۳۳/۵۷ درصد و کمترین

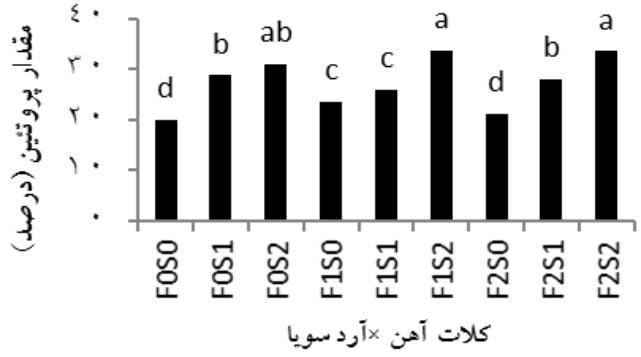
مقدار آن ۲۱/۱۳ درصد در تیمار شاهد (آرد سویا صفر+ کلات آهن صفر) و ۲۱/۱۷ درصد از تیمار (آرد سویا صفر+ کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) به‌دست آمد (نمودار۳). برهمکنش آردسویا در باکتری بر مقدار پروتئین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار پروتئین ۳٤/۹۳ درصداز تیمار (عدم تلقیح باکتری+آرد سویا ۳ درصد و کمترین مقدار آن ۱۹/۸۳ درصد در تیمار (عدم تلقیح باکتری+ آردسویا صفر) مشاهده شد (نمودار٤). نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش آرد سویا در کلات آهن و آردسویا در باکتری بر عملکرد پروتئین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول٤). مقایسه میانگین برهمکنش‌آرد سویا در کلات آهن نشان داد که در همه سطوح کلات آهن و کاربرد آرد سویا در هر دو سطح ۱/۵ و ۳ درصد نسبت به سطح صفر عملکرد پروتئین را افزایش داد. بیشترین عملکردپروتئین ۵/۹۸ کیلوگرم بر متر مربع از تیمار (آردسویا ۱/۵ درصد+ کلات آهن ۲۵۰ میلی گرم در لیتر) به دست آمد که البته با برخی از تیمارها به لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نداشت (نمودار۵). مقایسه میانگین برهمکنش‌آرد سویا در باکتری نشان داد بیشترین عملکرد پروتئین به ترتیب ٦/۳٤ و ٦/۲۸ کیلوگرم بر مترمربع در تیمارهای (تلقیح باکتری+ آرد سویا ۱/۵ درصد) و (تلقیح باکتری+ آردسویا ۳ درصد)و کمترین عملکرد پروتئین ۳/۳۹ کیلوگرم بر مترمربع در تیمار شاهد (عدم تلقیح باکتری+ آرد سویا صفر) مشاهده شد (نمودار٦). کاربرد باکتری سودوموناس فلورسنت باعث افزایش رشد میسلیومها و به تبع آن افزایش جذب عناصر غذایی ازجمله نیتروژن (جز اصلی ساختمان پروتئین) و از این طریق باعث افزایش میزان پروتئین در قارچ میگردد. قارچ های دکمه ای غنی شده با پودر ماهی دارای بالاترین مقدار پروتئین ۲۹/۲۵ درصد درحضور باکتری های سودوموناس و باسیلوس وکمترین مقدار ۱۷/۲۷ درصد از کود گاوی بدون تلقیح باکتریایی بودند (مولایی و بشارتی، ۱۳۹۰). خاک پوششی دارای خواص فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژیکی خاصی است که عملکرد کمی و کیفی آن را تعیین می کند (Cai *et al.*, 2009). از بین مکمل های نیتروژنه مختلف مانند اوره، سولفات آمونیوم، پودر پنبه دانه، آردنخود و آرد سویا بالاترین میزان پروتئین قارچ صدفی فلوریدا در پودر پنبه دانه و آردسویا گزارش شد (Naraian *et al.*, 2009). محتوای پروتئین قارچ به عوامل متعدد ازجمله ترکیب شیمیایی مکمل ها به ویژه نسبت C/N بستگی دارد (Mane *et al.*, 2007). افزایش پروتئین با کاربرد اهن در قارچ های خوراکی گزارش شده است (Yokota *et al.* ,2016).

جدول٤- تجزیه واریانس صفات در قارچ دکمه ای تحت تاثیر باکتری، آرد سویا و کلات آهن

Table 4-Analysis of variance of attributes in button fungus affected by bacteria, iron chelate and soybean flour

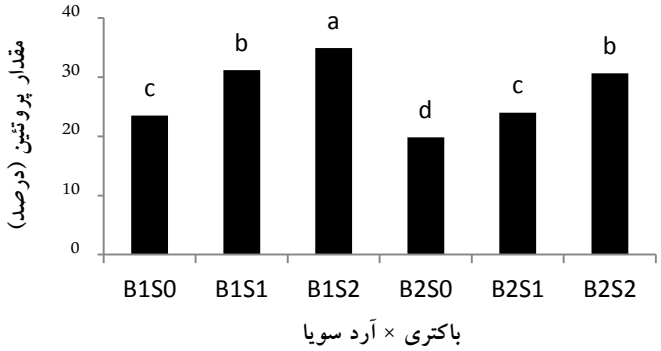
Source	DF	مقدار پروتئین (میلی گرم در کیلوگرم)	عملکرد پروتئین (کیلوگرم در متر مربع)	غلظت لیزین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	عملکرد لیزین (میلی‌گرم در متر مربع)	ظرفیت آنتی اکسیدانی (میلی مول بر کیلوگرم)
R	۳	۱٤/۹^{ns}	۰/٥٦۷^{ns}	/۲۳٦*	۳۱/٤^{ns}	۷/٥۸**
باکتری	۱	۳٤۳**	۲۲/٤۳**	۲/۸۹۸**	۲٦٦۰**	۲/٥٦**
کلات آهن	۲	٦/٥۱^{ns}	۰/٤٥٥^{ns}	/۲٦۹**	٥٦/۸^{ns}	۱/۱۸۸**
آرد سویا	۲	٥٥۷**	۱۸/۷**	۲/٦۳**	۱۱۹۲**	۰/۰۱۰^{ns}
کلات آهن* باکتری	۲	۰/۸۱۷^{ns}	۰/۰٤٦^{ns}	/۰۱۰٥**	۱۰/۰٦^{ns}	۱/٤۷۸^{ns}
آرد سویا* باکتری	۲	٦٥/٦*	۱/۳۹۹*	/۰۳۰۹^{ns}	۳۳/٤^{ns}	۰/۰۱۷^{ns}
آرد سویا*کلات آهن	٤	٤۹/٦*	۰/۷۰٤^{ns}	/۰۰۷۹^{ns}	۷۷/٤۱**	۰/۰۱۸٥**
* آردسویا*باکتری کلات آهن	٤	۹/۲۸٦^{ns}	۰/۰۳۲۱^{ns}	/۰٤٦^{ns}	۳/٥٤^{ns}	۰/۰۱٤٤^{ns}
Error	٦۸	۱۲/٤۹	/٤۲٥٥	۰/۰٤۸۷	۲۷/۰٦	۰/۲۲۳
CV (%)		۱۲/۹۲	۱۳/۰۸	٤/۷۹	۷/۰۹	۱۳/٦

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد



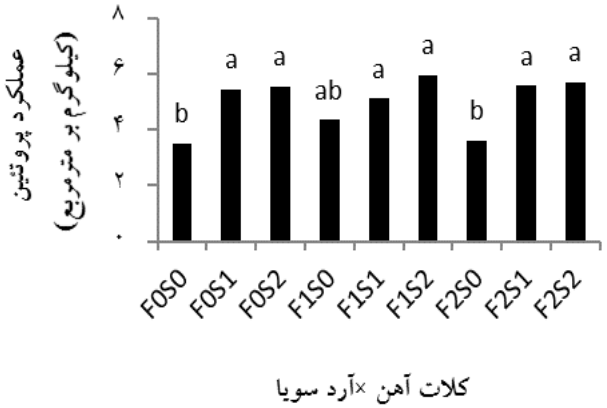
نمودار ۳- اثر کلات آهن و آرد سویا بر مقدار پروتئین

Fig 3- Effect of iron chelate and soy flour on protein content



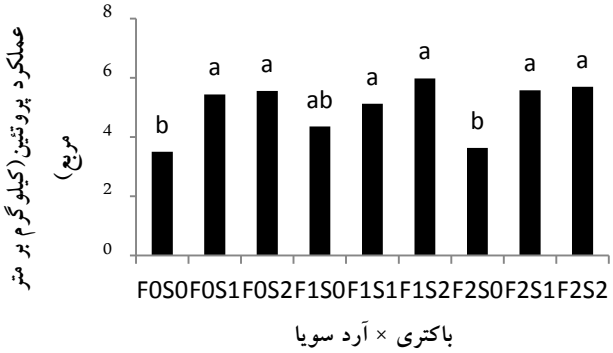
نمودار ٤- اثر باکتری و آرد سویا بر مقدار پروتئین

Fig 4- Effect of bactria and soy flour on protein content



نموداره- اثرکلات آهن و آرد سویا بر عملکرد پروتئین

Fig 5- Effect of iron chelate and soy flour on protein yield

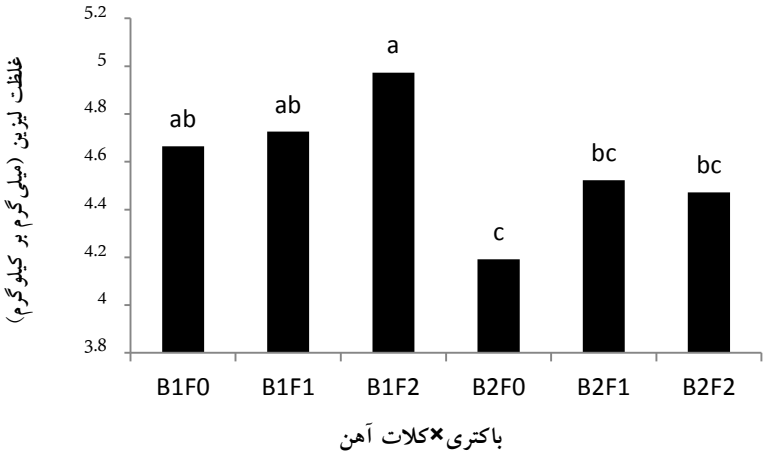


نمودار ٦- اثرباکتری و آرد سویا بر عملکرد پروتئین

Fig 6- Effect of bactria and soy flour on protein yield

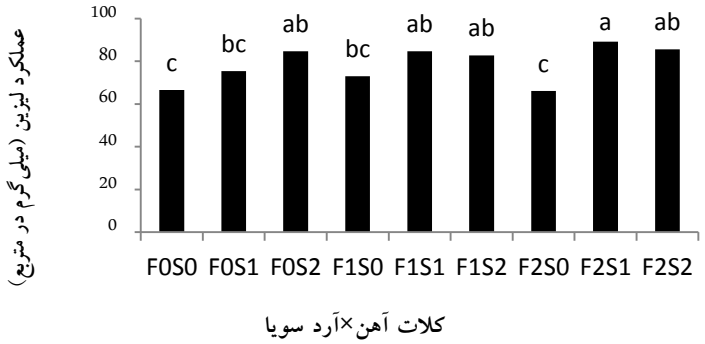
غلظت و عملکرد لیزین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل باکتری در کلات آهن بر غلظت لیزین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ٤). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار لیزین٤/٩٧ میلی گرم در کیلوگرم در تیمار (تلقیح باکتری + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و کمترین آن ٤/٦٦ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار (تلقیح باکتری + کلات آهن صفر) بود (نمودار ۷). نتایج

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل آرد سویا در کلات آهن بر عملکرد لیزین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود(جدول ٤). مقایسه میانگین اثر متقابل آرد سویا در کلات آهن بر عملکرد لیزین نشان داد بیشترین عملکرد لیزین ۸۹/۲۳ میلی‌گرم در متر مربع در تیمار (آرد سویا + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و کمترین عملکرد لیزین ٦٦/۵۱ میلی گرم بر متر مربع از تیمار شاهد (آرد سویا صفر + کلات آهن صفر) بود (نمودار۸). آهن برای القای اسید های آمینه مناسب است و موجب افزایش معنی دار اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضرروری قارچ صدفی استراتوس می شود (صفوی و همکاران، ۱۳۹۸). ترکیب غذایی قارچ تا حد زیادی به وضعیت منابع غذایی مانند ویتامین ها، فیتوهورمون ها، عناصر ماکرو و میکرو بستگی دارد (Patill *et al.*, 2008) که مشاهدات ما با نتایج سایر محققین مطابقت دارد.



نمودار ۷- اثر باکتری و کلات آهن بر غلظت لیزین

Fig 7- Effect of bactria and soy flour on layzin content

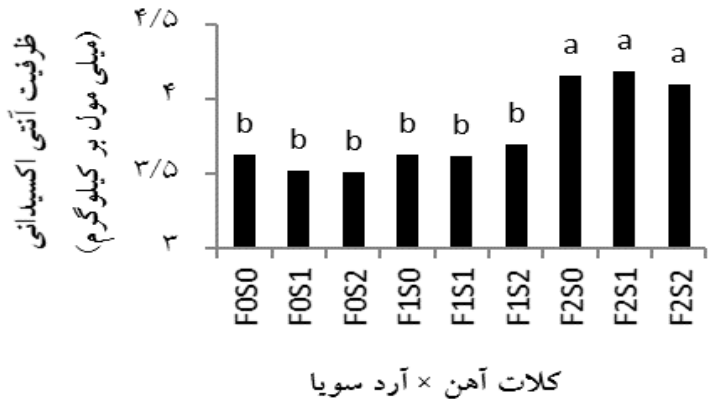


نمودار ۸- اثر کلات آهن و آرد سویا بر عملکرد لیزین

Fig 8- Effect of iron chelate and soy flour on layzin yield

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد برهمکنش آرد سویا در کلات آهن بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قارچ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول٤). مقایسه میانگین داده‌ها

مشخص کرد بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب ٤/١٦، ٤/١٩ و ٤/١٠ میلی‌مول بر کیلوگرم در تیمارهای (آرد سویا صفر +کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم)، (آرد سویا ۱/۵ درصد + کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم) و آرد سویا ۳ درصد+ کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم مشاهده شد (نمودار۹). بین سایر تیمارها از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. قارچ های صدفی غنی شده با آهن و روی به عنوان منبع غنی از آنتی اکسیدان ها و عناصر ماکرو و میکرو که می توانند برای از بین بردن بیماری های مرتبط با کمبود مواد معدنی مورد استفاده قرار گیرند، بکار برده می شوند (Umeo *et al.*, 2020). میکروارگانیسم‌های محرک رشد در بهبود جذب مواد مغذی از بستر و مکمل، مهار رشد قارچ‌های میزبان و جلوگیری از آلودگی پاتوژن نقش مهمی ایفا می‌کنند (Frey-Klett *et al.*, 2007). مکمل های مختلف نیتروژنه جهت بهبود رشد، عملکرد و کیفیت قارچ استفاده می شوند (Khare *et al.*, 2010). این تفاوت در نتایج در مورد تلقیح باکتری‌های محرک رشد به گیاهان عمدتا ناشی از تنوع در نوع و ارقام گیاهی، ترکیبات خاک، حضور ریزجانداران بومی، مقدار رطوبت خاک و درک ناکافی ساز و کارهایی است که باکتری محرک رشد به‌واسطه آن‌ها بر رشد گیاه مؤثر واقع می‌شود.



نمودار۹-اثر کلات آهن و آردسویا بر ظرفیت آنتی اکسیدانی

Fig 9- Effect of bacttia and soy flour on Antioxidant capacity

نتیجه‌گیری کلی

آرد سویا در سطح ۱/۵ درصددر مقایسه با ۳ درصد در صفات وزن خشک، عملکرد، ماده خشک و پروتئین نقش مؤثرتری داشته و تأثیر مثبت ۱/۵ درصد آرد سویا در حضور *P.putida* بیشتر شده است به‌طوری که رابطه سینرژیستیک آن‌ها در اغلب صفات به وضوح مشاهده می شود اما کاربرد کلات آهن ۵۰۰ میلی گرم در لیتر در بیشتر صفات به‌جز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت قابل ملاحظه‌ایی با تیمارهای مشابه بدون کاربرد آهن نداشته است. بنابراین برای افزایش تولید و بهبود صفات کیفی استفاده از آرد سویا۱/۵ درصد همراه با باکتری *P.putida* توصیه می‌شود.

منابع

۱) پاشاپور، ش.، رضازاده، م و. ح، بشارتی. ۱۳۸۷. ارزیابی توان تحریک رشد گیاه(PGPR) برخی از باکتری های ریزوسفری با بررسی شاخص های رشد و عملکرد در ذرت و سویا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه زنجان. دانشکده کشاورزی.

۲) حجازی، ا.، شاهرودی، م. و. م، آرد فروش. ۱۳۸٦. روشهای شاخص در تجزیه گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۳۷-۱۹۷.

۳) صفوی، ک.، کاوسی، غ.، نیازی، ع و. م، صفوی. ۱۳۹۸. بررسی پروفایل اسیدهای آمینه واسیدهای چرب موجود در قارچ خوراکی *Pleurotus ostreatus* در واکنش به عناصر روی و آهن. ۱٦(۸۷): ۱۹٦-۱۸۵.

٤) رضایی، ش.، فارسی، م و. ا، لکزیان. ۱۳۸۹. امکان جایگزینی خاک پوششی پیت با کمپوست مصرف شده در تولید قارچ خوراکی دکمه ای سفید. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد. دانشکده کشاورزی.

۵) گلستانی، ط.، الفتی، ج و. ی، حمیداوغلی. ۱۳۹۳. اثر تکه تکه کردن کمپوست و افزودن پودر سویا به بستر و خاک پوششی بر راندمان بیولوژیکی (*Agaricu sbisporus*) پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه گیلان. دانشکده کشاورزی.

٦) مولایی، ف و. ح، بشارتی. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر باکتریهای محرک رشد گیاه (PGPR) برخواص کیفی وکمی قارچ دکمه ای (*Agaricus bisporus*) در بسترهای مختلف حاصل از ضایعات صنعتی و کشاورزی. مجله پژوهش های خاک. ۲۵(٤): ۳۸٤-۳۷٤.

7) Ali, SS. and NN, Vidhale. 2013. Bacterial siderophore and their application: a review. International Journal of Current Microbiology and Applied Science, 2(12): 303-312.

8) Atila, F. 2017. Evaluation of suitability of various agro-wastes for productivity of *Pleurotus djamor*, *Pleurotus citrinopileatus*and *Pleurotus eryngii* mushrooms. J Exp Agric Int, 17(5):1–11.

9) Budzy´ nska, S., Siwulski, M GA., Secka, M., Magdziak, Z., Kalac, P., Niedzielski, P. and M, Mleczek. 2022**.** Biofortification of Three Cultivated Mushroom Species with Three Iron Salts—Potential for a New Iron-Rich Superfood. Molecules, 27(7): 23-28.

10) Carrasco, J., Zied, D., Pardo, JE., Preston, GM. and A, Pardo-Giménez. 2018. Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. AMB Expr, 8:146.

11) Cai, WM., Yao, HY., Feng, WL.,Jin, QL., Liu, YY., Li, NY. and Z, Zheng.2009. Microbial Community Structure of Casing Soil During Mushroom Growth. Pedosphere, 19(1): 446–452.

12) Choudhary, DK, Agrawal, PK. and BN, Johri. 2009. Characterization of functional activity in composted casing amendments used in cultivation of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. Ind J Biotech, 8(1): 97-109.

13) Frey-Klett, P., Garbaye, J. and M, Tarkka. 2007. The mycorrhiza helper bacteria revisited. NewPhytol, 176 (1): 22–36.

14) Jadhav, A. C., Shinde, DB., Nadre, SB. and DS, Deore. 2014. Quality improvement of casing material and yield in milky mushroom (Calocybeindica) by using biofertilizers and different substrates. In Proceedings of 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8), Solan, India: ICAR-Directorate of Mushroom Research, 359–364.

15) Kertesz, M A. and M, Thai. 2018. Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. Appl

Microbiol Biotechnol, 102(4): 1639–1650.

16) Khare, KB., Mutuku, JM., Achwania, OS. and DO, Otaye. 2010. Production of two oyster mushrooms, *Pleurotus sajor-caju*and *P. florida*on supplemented and un-supplemented substrates. International Journal Agricultural Applied Sciences, 6(1): 4–11.
17) Kumar, P., Kumar, V., Goala, M., Singh, J. and P, Kumar.2021. Integrated use of treated dairy wastewater and agro-residue for *Agaricus bisporus* mushroom cultivation: Experimental and kinetics studies. Biocatal. Agric. Biotechnol, 32(4): 101940.
18) Mohammad AO. and AE, Sabaa. 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.
19) Miliauskas, G., Venskutonis, PR. and TA, Van Beek. 2004. Screening of radical scavengingactivity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry, 85: 231-237.
20) Mane, VJ., Patil Syed, SS. and MM, Baig. 2007. Bioconversion of low quality lignocellulosic agricultural wastes into edible protein *Pleurotus sajor-caju* (Fr) Singer. Journal Zhejiang University Sciences, 8(10): 745-751.
21) Naraian R., Sahu RK., Kumar S., Garg SA., Singh CS. And RS, Kanaujia. 2009. Influence of different nitrogen rich supplements during cultivation of *Pleurotus florida* on corn cob substrate. Environmentalist, 29(1):1-7.
22) Ogidi, OC., Dias Nunes, M., Oyetayo, VO., Akinyele, BJ. and M.M, Kasuya. 2016. Mycelial Growth, Biomass Production and Iron Uptake by Mushrooms of *Pleurotus Species* Cultivated on Urochloa Decumbens (Stapf) R. D. Webster. J. Food Res, 5(3): 13-19.
23) Patill SS., Kadam RM., Shinde SL. and SA, Deshmukh. 2008. Effect of different substrate on productivity and proximate composition of *P. florida*. International Journal of Plant Sciences, 3(1): 151-153.
24) Rahman, MH., Ahmed, KU., Roy, TS.,Mandal, MSH. and MR, Alaml. 2013. Effect of chemical fertilizer supplements with rice straw on the growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). IJAT, 9 (2): 47-51.
25) Royse, DJ., Fales,SL. and K,Karunanandaa.1991.Influence of formaldehyde-treated soybean and commercial nutrient supplementation on mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) yield and in-vitro dry matter digestibility of spent substrate. Applied Microbiology and Biotechnology, 36(2): 425–429.
26) Saiqa, S., Nawaz, B.H. and HM, Asif. 2008. Studies on chemical composition and nutritive evaluation of wild edible mushrooms. IranJChemEng, 27(3):151–154.
27) Shashirekha, MN., Rajarathnam S. andZ,Bano. 2002. Enhancement of bioconversion efficiency and chemistry of the mushroom, Pleurotus sajor-caju (Brek and Br.) Sacc, produced on spent rice straw substrate, supplemented with oil seed cakes. Food Chemistry, 76: 27-31.
28) Upadhyay, RC., Verma, RN., Singh,S K. and M C,Yadav. 2002. Effect of organic nitrogen supplementation in *Pleurotus* species. The 4th ICMBMP National Research Centre for Mushroom, Chambaghat, Solan - 173213, HP – India,1-11.
29) Umeo, S h.Faria, MGI., Dragunski, Dc., Valle, JS., Colauto, NB.and GA, Linde. 2020. Iron or Zinc Bioaccumulated in Mycelial Biomass of Edible Basidiomycetes. An Acad Bras Cienc, 92(2):2-10.

30) Vázquez-Ortiz, FA., Caire, G., Higuera-Ciapara, I. and G, Hernandez. 1995. High performance liquichromatographic determination of free amino acids in shrimp. Journalof Liquid Chromatography, 18(10): 2059-2068.
31) Venkatashwarlu, B. 2008. Role of bio-fertilizers in organic farming: Organic farming in rain fed agriculture: Central institute for dry land agriculture, Hyderabad, 85-95.
32) Vieira, F R. and J A, Pecchia. 2018. An exploration into the bacterial community under different pasteurization conditions during substrate preparation (composting–phase II) for *Agaricus bisporus* cultivation. Journal of Microb. Ecol, 75(2): 318–330
33) Vijay, B. and Y, Gupta. 1992. Studies on manipulation of casing micro flora on the yieldof *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Mushroom Research, 1: 61-63.
34) Vos, AM., Heijboer, A., Boschker, HTS., Bonnet, B., Lugones, LG. and HAB, Wösten. 2017. Microbial biomass in compost during colonization of *Agaricus bisporus*. AMB Express, 7: (1)12.
35) Yokota, M E., Frison, P S., Marcante, R C., Joege, L F., Valle, J S., Dragunski, D C., Colauto, N B.and G A, Linde. 2016. Iron translocation in *Pleurotus ostreatus* basidiocarps: production, bioavailabilityand antioxidant activity. Genet Mol Res, 15(1):1-10.