

تحریک‌کننده‌های زیستی میکروبی و کشت کارآمد قارچ خوراکی: بررسی تأثیر باکتری‌های مفید بر عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای قارچ سفید دکمه‌ای (*Agaricus* *bisporus*)

Microbial Bio-stimulants and Efficient Edible Mushroom Cultivation: Investigating the Effects of Beneficial Bacteria on the Yield and Nutritional Quality of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*)

رضا صالحی ملک‌آبادی، فاطمه رؤف‌فرد*

بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Fraouffard@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۵/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۷

چکیده

در طی سالیان اخیر، میزان مصرف قارچ‌های خوراکی به عنوان یک منبع ارزشمند غذایی در سرتاسر جهان افزایش یافته‌است. در این بین، قارچ سفید دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) علاوه بر اینکه بیشترین میزان تولید و اندازه بازار اقتصادی را به خود اختصاص داده است، منبع غنی از ترکیبات زیست فعالی می‌باشد که در سلامت انسان نقشی کلیدی ایفا می‌کنند. مطالعات اخیر، نشان می‌دهد که کاربرد باکتری‌های مفید در صنعت پرورش قارچ، می‌تواند در افزایش راندمان تولید و کیفیت محصول مؤثر باشد. از این رو، پژوهشی با هدف ارزیابی اثر مایه‌زنی خاک پوششی قارچ سفید دکمه‌ای با شش تیمار باکتریایی (شامل: شاهد، *Pseudomonas chlororaphis*، *Bacillus velezensis*، *Bacillus pumilus*، *Azospirillum brasilense* و کاربرد هم‌زمان هر چهار باکتری) بر اجزای عملکرد و ارزش غذایی-دارویی قارچ سفید دکمه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت پذیرفت. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که بالاترین مقدار عملکرد قارچ سفید دکمه‌ای و کارایی زیستی کمپوست مربوط به تیمار مایه‌زنی هم‌زمان هر چهار باکتری مورد بررسی در این مطالعه است (۱۵/۶۴ درصد افزایش نسبت به شاهد آزمایش در هر دو شاخص). همچنین این تیمار بدون اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارهای باکتریایی، باعث افزایش محتوی ارگوسترول و پروتئین کل در قارچ سفید دکمه‌ای شد (به ترتیب: ۳/۸۹ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و ۳/۱۴ گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر). همه تیمارهای باکتریایی موجب افزایش معنی‌دار محتوی بتاگلوکان در مقایسه با شاهد شدند و بیشترین محتوی بتاگلوکان بدون داشتن اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارهای باکتریایی در تیمار مایه‌زنی با باکتری *B. velezensis* اندازه‌گیری شد (۹/۸۸ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک). به‌طور کلی، کاربرد باکتری‌های بهبود دهنده رشد در پرورش قارچ سفید دکمه‌ای، به طور معنی‌داری سبب افزایش اجزای عملکرد و همچنین موجب بهبود کیفیت و ارزش غذایی-دارویی این محصول می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ارگوسترول، بتاگلوکان، خاک پوششی، *Bacillus velezensis*، *Bacillus pumilus*، *Azospirillum brasilense*، *Pseudomonas chlororaphis*

مقدمه

قارچ‌های خوراکی به دلیل طعم لذیذ، عطر منحصر به فرد و خواص درمانی گوناگون خود، جایگاه ویژه‌ای را در صنعت کشاورزی به خود اختصاص داده‌اند (Young et al., 2024). قارچ‌ها یک منبع غنی از پلی‌ساکاریدهای ویژه‌ای هستند که با افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن انسان، دارای اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد التهابی قابل توجهی می‌باشند. علاوه بر این، محتوی پروتئین، استرول‌ها، اسیدهای چرب ضروری (بخصوص لینولنیک اسید)، فیبر خوراکی و ویتامین‌های خانواده B و D، در منابع قارچ‌های خوراکی در خور توجه می‌باشد (Salehi Molkabadi et al., 2021; Park et al., 2025). در این میان، قارچ سفید

دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)، با دارا بودن ۱۱ درصد از کل تولید جهانی قارچ‌های خوراکی مختلف، مهمترین قارچ از نظر مقدار تولید (۵/۳۱ میلیون تن در سال)، مصرف و اندازه بازار اقتصادی (۴/۵ میلیارد دلار سالانه در جهان) می‌باشد (Young et al., 2024). در سالیان اخیر، با افزایش جمعیت جهان، علاقه به پرورش و مصرف قارچ دکمه‌ای به عنوان یک منبع غذایی افزایش پیدا کرده است. از دهه ۹۰ میلادی تا به امروز، هم به دلیل اصلاح و معرفی ارقام جدید و هم به دلیل مکانیزه شدن صنعت پرورش قارچ دکمه‌ای، عملکرد این قارچ در واحدهای تولیدی با رشد چشمگیری روبرو شده است (Eren, 2022). همچنین افزایش دانش درخصوص فیزیولوژی رشد و عملکرد قارچ سفید دکمه‌ای، با بهینه‌سازی شرایط پرورش آن، نقش مهمی را در افزایش راندمان تولید این محصول در طی دهه‌های اخیر ایفا کرده است (Duran et al., 2024). در طی سالیان اخیر، پژوهش‌های گسترده‌ای به تاثیر کاربرد باکتری‌های فرازنده رشد بر تولید محصولات گوناگون کشاورزی پرداختند و نشان دادند که استفاده از باکتری‌های مفید می‌تواند یک راهکار کاربردی، پایدار و دوست‌دار محیط زیست در جهت بهبود عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی باشد (Salehi Molkabadi et al., 2023a; Prando et al., 2024; Salehi Molkabadi et al., 2025). مطالعات مختلفی، گزارش کردند که حضور و فعالیت برخی از باکتری‌های مفید در کمپوست قارچ سفید دکمه‌ای می‌تواند اثری بهبود بخشی بر عملکرد و کیفیت این محصول داشته باشد (Kertesz & Thai., 2018; Braat et al., 2022; Shamugam & Kertesz., 2023). نخستین بار، Rainey (۱۹۹۱) گزارش کرد که باکتری *Pseudomonas putida* می‌تواند به رشد میسلیوم *A. bisporus* کمک کند. سپس، Han (۱۹۹۹) گزارش کرد که کاربرد باکتری *Rhodopseudomonas palustris* در پرورش قارچ سفید دکمه‌ای، میتواند سبب افزایش عملکرد، وزن خشک و محتوی پروتئین این محصول شود. همچنین Young و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزایش جمعیت برخی باکتری‌های مفید جنس‌های *Microbacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Exiguobacterium* و *Pseudomonas* خاک پوششی می‌تواند سبب بهبود فیزیولوژی رشد و عملکرد قارچ سفید دکمه‌ای شود. همچنین نتایج پژوهش Kertesz و Thai (۲۰۱۸) نشان داد که افزایش جمعیت باکتری‌های مفید کمپوست قارچ سفید دکمه‌ای می‌تواند در افزایش عملکرد این قارچ مؤثر باشد. در پژوهشی دیگر، گزارش شد که مایه‌زنی خاک پوششی قارچ دکمه‌ای با باکتری‌های *Azospirillum lipoferum* و *Bacillus megaterium* قبل از زمان شوک سرمایی، می‌تواند سبب افزایش عملکرد این محصول گردد (Eren, 2022). همچنین، Shamugam و Kertesz (۲۰۲۳) گزارش کردند که *P. putida* از طریق تولید و آزاد سازی برخی تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط اطراف میسلیوم قارچ سفید دکمه‌ای، بر رشد و استقرار میسلیوم این قارچ در کمپوست، نقشی کلیدی ایفا می‌کند.

با توجه به نقش فزاینده‌ی میکروارگانیسم‌های مفید در بهبود عملکرد و ارتقاء کیفیت محصولات کشاورزی، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مایه‌زنی خاک پوششی مورد استفاده در پرورش قارچ سفید دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) با باکتری‌های *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus* و *Azospirillum brasilense*، به‌صورت منفرد و تلفیق هر چهارباکتری، بر ویژگی‌های رشدی، عملکرد، و برخی شاخص‌های تغذیه‌ای و دارویی این قارچ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

محل انجام پژوهش

این پژوهش در سال ۱۴۰۱، مجموعه‌ی تجاری پرورش قارچ‌های خوراکی "صالحی"، واقع در روستای ملک‌آباد، شهرستان ساری، استان مازندران، اجرا گردید. این مجموعه یکی از مراکز فعال در زمینه‌ی تولید قارچ‌های خوراکی بوده و از امکانات مناسب برای اجرای پژوهش‌های کاربردی برخوردار است.

طرح آزمایشی و تیمارها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار مختلف و چهار تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل تیمار شاهد (بدون مایه‌زنی)، مایه‌زنی با *Pseudomonas chlororaphis* ATCC 13986، مایه‌زنی با *Bacillus velezensis* CCUG 50740، مایه‌زنی با *Bacillus pumilus* DSM 30004، مایه‌زنی با *Azospirillum brasilense* DSM 1690 و مایه‌زنی هم‌زمان با هر چهار باکتری نام برده بود. هر تکرار شامل دو زیرواحد آزمایشی بود که به صورت مجزا ارزیابی شدند. هر زیرواحد شامل یک بلوک

کمپوست با ابعاد ۶۰ در ۴۰ سانتی‌متر و وزن تقریبی ۷۵ کیلوگرم بود. در مجموع، ۴۸ بلوک کمپوست در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه کمپوست، خاک پوششی و شرایط رشد و برداشت قارچ سفید دکمه‌ای

در این مطالعه، از کمپوست آماده و خاک پوششی شرکت "قارچ ملارد" (شهرستان ملارد، استان تهران) استفاده شد. شرایط رشدی قارچ سفید دکمه‌ای، مطابق با دستورالعمل توضیح داده شده توسط Levia و همکاران (۲۰۱۵) مهیا شد. به طور خلاصه، ریشه‌دوانی در کمپوست به مدت ۱۴ روز در دمای 1 ± 24 درجه سلسیوس (در مرکز کمپوست)، انجام شد. در طول این مدت، رطوبت نسبی محیط روی 1 ± 90 درصد تنظیم شد و غلظت CO_2 در اتمسفر سالن، بین ۱۰۰۰۰ تا ۱۳۰۰۰ پی‌پی‌ام حفظ شد. پس از گذشت دو هفته و سفید شدن ۷۰ درصد از کمپوست، خاک پوششی به ضخامت ۵ سانتی‌متر بر روی کمپوست ریشه‌دوانی شده مستقر شد. پنج روز بعد از خاک دهی، خراش‌دهی با عمق تقریبی دو سانتی‌متر صورت گرفت. ریشه‌دوانی قارچ سفید دکمه‌ای در خاک پوششی، به مدت ۱۰ روز، تحت دمای 1 ± 23 درجه سلسیوس در مرکز کمپوست، رطوبت نسبی ۹۵ درصد اتمسفر سالن و غلظت CO_2 ۱۲۰۰۰ تا ۱۳۵۰۰ پی‌پی‌ام در اتمسفر سالن انجام شد. سپس، ۱۰ روز بعد از اعمال خاک پوششی، شوک سرمایی به مدت سه روز (روز اول: ۱۸ درجه سلسیوس، روز دوم: ۱۷ درجه سلسیوس و روز سوم ۱۶ درجه سلسیوس) اعمال شد. در طول شوک سرمایی، با هوادهی مرطوب، غلظت CO_2 در اتمسفر سالن به ۱۶۰۰ تا ۱۸۰۰ پی‌پی‌ام رسید و رطوبت نسبی در حدود 1 ± 95 درصد حفظ شد. پس از اتمام شوک سرمایی و تشکیل اندام‌های ته‌سنجاقی، دمای کمپوست روی 1 ± 19 درجه سلسیوس تنظیم شد و ضمن حفظ رطوبت در سطح 1 ± 95 درصد، غلظت CO_2 در اتمسفر سالن به ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام رسید. در هنگام رشد و نمو اندام‌های خوراکی قارچ سفید دکمه‌ای، دمای کمپوست روی 1 ± 19 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی محیط در سطح 1 ± 95 درصد، حفظ شد و غلظت CO_2 در اتمسفر سالن به ۷۰۰ تا ۸۰۰ پی‌پی‌ام رسید.

به‌منظور سنجش غلظت CO_2 ، از دستگاه هوشمند سنجش غلظت CO_2 ، مدل GC-2028، ساخت شرکت LUTRON (پنسیلوانیا، ایالات متحده آمریکا) استفاده شد. تنظیم دما و رطوبت با سامانه هوشمند HT705 ساخته شده توسط شرکت Hengko (شنژن، چین) صورت گرفت.

برداشت قارچ سفید دکمه‌ای در سه چین انجام شد. چین نخست، شش روز پس از اتمام شوک سرمایی آغاز و به مدت پنج روز به طول انجامید. سپس، چین دوم ۱۳ روز پس از شوک سرمایی آغاز و به مدت پنج روز به طول انجامید. نهایتاً، چین سوم ۲۱ روز بعد از شوک سرمایی آغاز شد و به مدت شش روز ادامه داشت. برداشت قارچ‌های دکمه‌ای در مرحله ۲۰ تا ۳۰ گرمی و پیش از پشت باز شدن، انجام شد.

پس از بررسی اولیه قارچ‌های برداشت شده، گروهی از قارچ‌ها برای ارزیابی محتوی ارگوسترول و بتاگلوکان، توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی ساخت شرکت MSE Supplies LLC (آریزونا، ایالات متحده آمریکا) خشک شدند و گروهی دیگر، برای اندازه‌گیری محتوی پروتئین کل قارچ، توسط ازت مایع منجمد و به فریز ۸۰- درجه سلسیوس منتقل شدند. برای سنجش ویژگی‌های بیوشیمیایی، از مخلوط قارچ‌های برداشت شده در چین اول، دوم و سوم (با نسبت ۱:۱:۱) استفاده شد.

تهیه مایه باکتریایی و مایه‌زنی

برای تهیه مایه باکتریایی، از روش Salehi Molkabadi و همکاران (۲۰۲۳) استفاده شد. باکتری‌ها در محیط کشت Nutrient Broth (شامل: نوترینت براس ۱۴ گرم بر لیتر و ساکارز سه درصد) کشت داده شدند و پس از گذشت ۴۸ ساعت، به مدت پنج دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس و شرایط ۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس رسوب تشکیل شده، توسط سولفات منیزوم ($MgSO_4$) ۳۰ میلی‌مولار حل شد. نهایتاً چگالی نوری سوسپانسیون باکتریایی تقریباً بر روی عدد ۰/۸ در طول موج ۶۰۰ نانومتر تنظیم شد (تقریباً 1×10^8 سلول در هر میلی‌لیتر). به‌منظور مایه‌زنی باکتریایی، ۲۵۰ میلی‌لیتر از مایه باکتریایی با ۱۰ کیلوگرم از خاک پوششی مخلوط گردید. در تیمار مایه‌زنی هم‌زمان با هر چهار باکتری، ۶۲/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر یک از باکتری‌ها به ۱۰ کیلوگرم از خاک پوششی اضافه شد. براساس نتایج پیش‌آزمایشی که قبل از اجرای آزمایش اصلی صورت گرفت، عدم وجود رابطه آنتاگونیستی بین سویه‌های باکتریایی مورد بررسی در این پژوهش، چه در شرایط درون شیشه و چه در شرایط بیرون شیشه تایید شد.



شکل ۱- نمای کلی از شرایط کشت و مایه‌زنی باکتریایی مورد استفاده در آزمایش. a: سالن پرورش قارچ سفید دکمه‌ای. b: بستر کمپوست مورد استفاده برای رشد و پرورش قارچ سفید دکمه‌ای. c: کشت باکتری‌های استفاده شده در این آزمایش.

Fig. 1. Overview of white button mushroom cultivation conditions and bacterial inoculation used in the experiment. a: cultivation room of white button mushroom. b: compost substrate used for mushroom growth. c: beneficial bacterial cultures applied in the study.

اجزای عملکرد

تأثیر تیمارهای باکتریایی مورد استفاده بر اجزای عملکرد قارچ سفید دکمه‌ای با استفاده از دو شاخص عملکرد و بازده زیستی کمپوست ارزیابی شد.

الف) عملکرد (کیلوگرم از صد کیلوگرم کمپوست)

مجموع وزن تر برداشت شده در سه چین مختلف از ۱۰۰ کیلوگرم کمپوست به عنوان شاخص عملکرد اندازه‌گیری شد (Young et al., 2012).

ب) بازده زیستی کمپوست:

بازده زیستی کمپوست توسط رابطه زیر محاسبه شد (Colmenares-Cruz et al., 2017):

$$\text{بازده زیستی کمپوست (\%)} = \frac{\text{وزن تر قارچ برداشت شده (کیلوگرم)}}{\text{وزن خشک کمپوست مورد استفاده (کیلوگرم)}} \times 100$$

فرمول ۱

محتوی ارگوسترول

برای استخراج محتوی ارگوسترول قارچ‌ها، از روش Shao و همکاران (۲۰۱۰) استفاده شد. بافت خشک قارچ‌ها، به خوبی آسیاب و به پودر تبدیل شدند. ۰/۲ گرم از پودر قارچ با دو میلی‌لیتر متانول با استفاده از دستگاه ورتکس، به مدت دو دقیقه مخلوط شد. سپس دو میلی‌لیتر آن-هگزان به آن اضافه گردید و به مدت یک دقیقه توسط ورتکس هم زده شد. متعاقباً، یک میلی‌لیتر محلول سدیم کلرید اشباع به آن اضافه و توسط ورتکس به مدت یک دقیقه دیگر هم زده شد. نهایتاً مخلوط به‌دست آمده به مدت پنج دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و فاز شفاف بالایی به یک فالتون منتقل شد. دوباره از فاز زیرین باقی مانده، با استفاده از دو میلی‌لیتر آن-هگزان، استخراج مجدد صورت گرفت و به محلول استخراج شده قبلی اضافه شد. محلول نهایی، تحت شرایط جریان نیتروژن قرار گرفت و پس از حذف حلال، به هر فالتون دو میلی‌لیتر اتانول اضافه شد. سپس با قرائت عدد جذب هر نمونه در طول موج‌های ۲۸۲ و ۳۱۰ نانومتر، با استفاده از رابطه زیر، محتوی ارگوسترول اندازه‌گیری شد (Arthington-Skaggs و همکاران، ۱۹۹۹):

شیب منحنی استاندارد $\times (A_{282} - A_{310}) = \text{محتوی ارگوسترول (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)}$

عدد جذب در ۲۸۲ نانومتر: A_{282}

عدد جذب در ۳۱۰ نانومتر: A_{310}

$1/6 = \text{شیب منحنی استاندارد ارگوسترول}$

نهایتاً، محتوی ارگوسترول قارچ‌ها برحسب واحد میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، محاسبه و گزارش شد.

محتوی پروتئین

در ابتدا، بافر استخراج پروتئین شامل: تریس ۰/۱ مولار، کلرید منیزیم ۰/۱۰ مولار، ساکارز ۱۸ درصد (وزنی/ حجمی)، ۲-مرکاپتواتانول ۴۰ میلی‌مولار و PMSF^1 ۱ میلی‌مولار (به عنوان غیرفعال کننده پروتئاز)، آماده شد. سپس ۰/۵ گرم بافت قارچ تازه، با افزودن ازت مایع و در هاون چینی پودر شد و دو میلی‌لیتر بافر استخراج به آن افزوده شد تا یک محلول همگن به‌دست آید. پس از صاف کردن، محلول به‌دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس با قرائت عدد جذب محلول رویی در طول موج ۵۹۵ نانومتر و رسم منحنی استاندارد با استفاده از محلول استاندارد آلبومین سرم گاوی، غلظت پروتئین سنجیده شد و بر اساس گرم پروتئین بر ۱۰۰ گرم وزن تر قارچ، گزارش گردید (Bradford, 1976).

محتوی بتاگلوکان

به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری محتوی بتاگلوکان؛ از ۰/۱ گرم بافت خشک اندام خوراکی قارچ سفید دکمه‌ای و کیت استخراج بتاگلوکان شرکت Sigma-Aldrich (ماساچوست، ایالات متحده آمریکا)، طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. عدد جذب نمونه‌های استخراج شده، در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (Kou & Lin., 2004). توسط رسم منحنی استاندارد، مقدار بتاگلوکان، بر اساس واحد گرم بر صد گرم وزن خشک، گزارش شد.

واکاوی آماری داده‌ها

نرمال بودن داده‌ها، آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار OriginPro نسخه ۲۰۲۴ انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون دانکن استفاده شد. به‌منظور رسم نمودارها از نرم‌افزارهای GraphPad Prism نسخه ۱۰.۱.۰.۳۶۶ استفاده شد.

نتایج

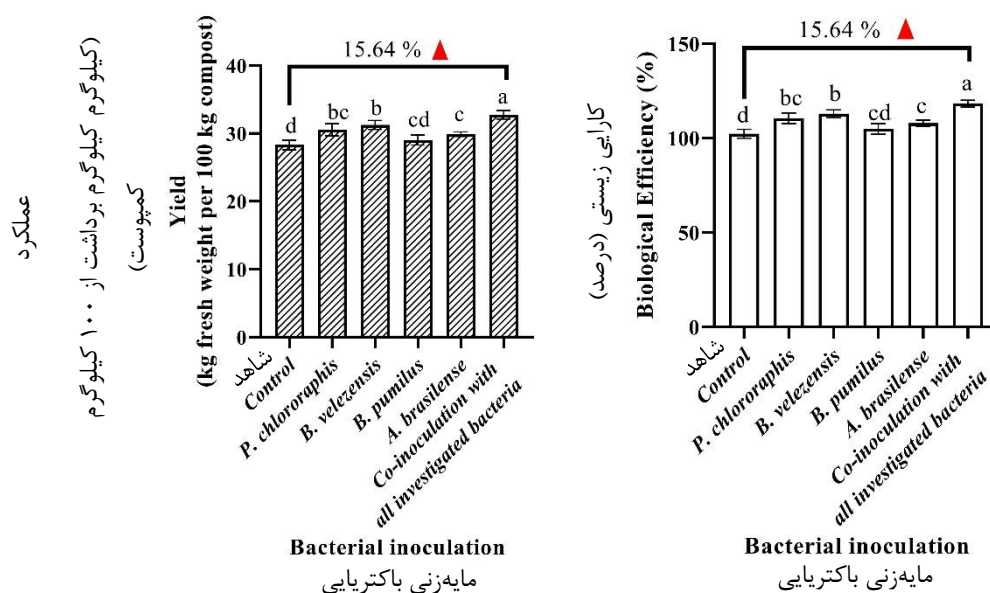
عملکرد و کارایی زیستی کمپوست

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که تیمار مایه‌زنی هم‌زمان *Bacillus velezensis*، *Pseudomonas chlororaphis* و *Bacillus pumilus* و *Azospirillum brasilense* منجر به تولید بالاترین سطح عملکرد و کارایی زیستی کمپوست شد (به ترتیب: ۳۲/۷۴ کیلوگرم برداشت از ۱۰۰ کیلوگرم کمپوست و ۱۱۸/۲۸ درصد). تیمار کاربرد هم‌زمان باکتری‌ها، سبب افزایش ۱۵/۶۴ درصدی هر دو شاخص نسبت به شاهد آزمایش شد (شکل ۲).

همچنین، به جز مایه‌زنی با باکتری *B. pumilus*، مایه‌زنی با هر یک از باکتری‌های دیگر، عملکرد و کارایی زیستی کمپوست را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۲).

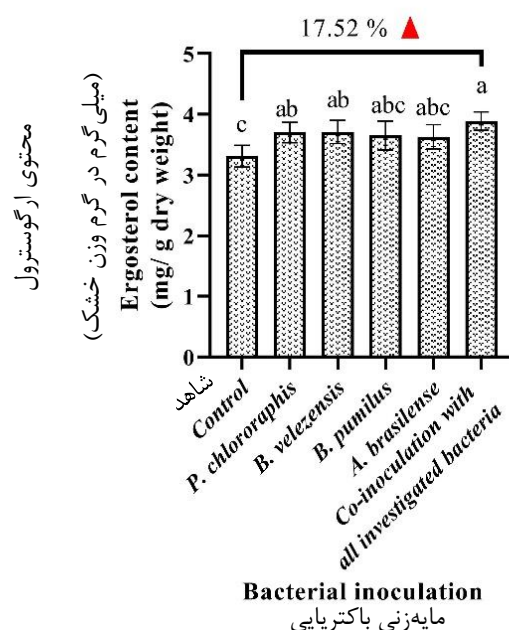
محتوی ارگوسترول

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین محتوی ارگوسترول قارچ سفید دکمه‌ای، با افزایش ۱۷/۵۲ درصدی نسبت به شاهد، در تیمار کاربرد هم‌زمان هر چهار باکتری مورد بررسی در این پژوهش مشاهده شد (۳/۸۹ میلی‌گرم در گرم وزن خشک). هر چند بین این تیمار و سایر تیمارهای باکتریایی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳).



شکل ۲- اثر مایه‌زنی با باکتری‌های *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus* و *Azospirillum brasilense* و مایه‌زنی همزمان چهار باکتری مورد بررسی در این پژوهش بر عملکرد و کارایی زیستی کمپوست قارچ سفید دکمه‌ای. معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد می‌باشد و بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Fig. 2. The effect of inoculation with *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus*, *Azospirillum brasilense*, and the co-inoculation of all four bacterial strains evaluated in this study on the yield and biological efficiency of *Agaricus bisporus* compost. Differences are significant at the 1% probability level. According to Duncan's test, means followed by the same letter are not significantly different.

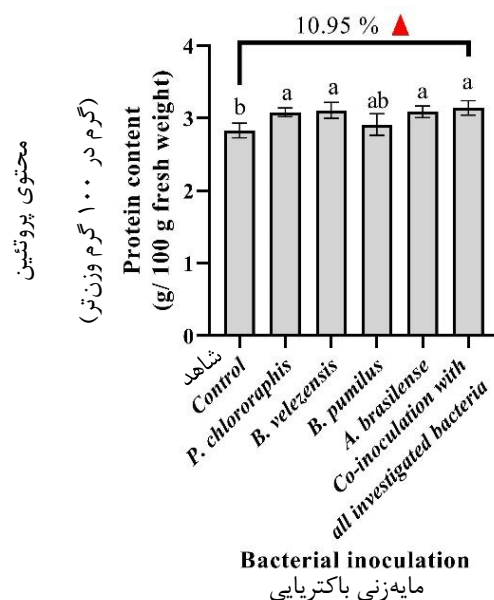


شکل ۳- اثر مایه‌زنی با باکتری‌های *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus* و *Azospirillum brasilense* و مایه‌زنی همزمان چهار باکتری مورد بررسی در این پژوهش بر محتوی ارگوسترول قارچ سفید دکمه‌ای. معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد. معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد می‌باشد و بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Fig. 3. The effect of inoculation with *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus*, *Azospirillum brasilense*, and the co-inoculation of all four bacterial strains evaluated in this study on the ergosterol content of *Agaricus bisporus*. Differences are significant at the 1% probability level. According to Duncan's test, means followed by the same letter are not significantly different.

محتوی پروتئین

بیشترین مقدار پروتئین قارچ سفید دکمه‌ای، در تیمار مایه‌زنی هم‌زمان تمام باکتری‌های مورد بررسی در این پژوهش اندازه‌گیری شد (۳/۱۴ گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر)، هرچند این تیمار از نظر آماری با سایر تیمارهای باکتریایی، اختلاف معنی‌داری نداشت. نتایج این پژوهش نشان داد که مایه‌زنی خاک پوششی قارچ سفید دکمه‌ای، به صورت هم‌زمان با هر چهار باکتری *P. chlororaphis*، *B. velezensis*، *B. pumilus* و *A. brasilense* سبب افزایش ۱۰/۹۵ درصدی محتوی پروتئین این قارچ نسبت به شاهد آزمایش می‌گردد (شکل ۴).

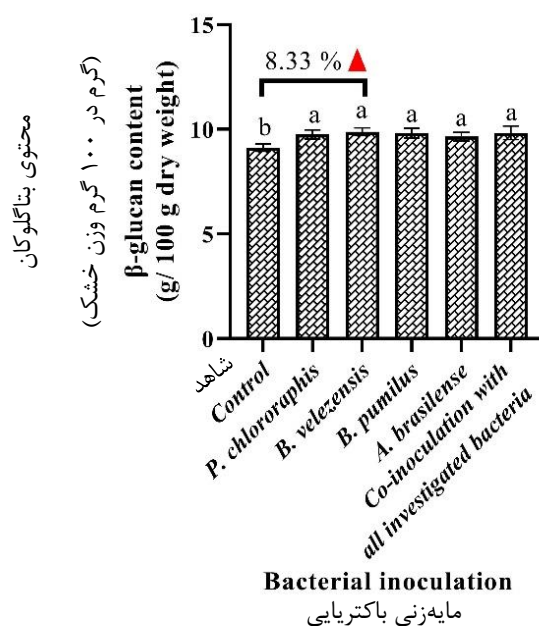


شکل ۴- اثر مایه‌زنی با باکتری‌های *Pseudomonas chlororaphis*، *Bacillus velezensis*، *Bacillus pumilus* و *Azospirillum brasilense* و مایه‌زنی هم‌زمان چهار باکتری مورد بررسی در این پژوهش بر محتوی پروتئین قارچ سفید دکمه‌ای. معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد می‌باشد و بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Fig. 4. The effect of inoculation with *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus*, *Azospirillum brasilense*, and the co-inoculation of all four bacterial strains evaluated in this study on the protein content of *Agaricus bisporus*. Differences are significant at the 1% probability level. According to Duncan's test, means followed by the same letter are not significantly different.

بتاگلوکان

براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، مایه‌زنی با باکتری *B. velezensis*، هرچند با سایر تیمارهای باکتریایی اختلاف معنی‌داری نداشت، منجر به رقم خوردن بیشترین محتوی بتاگلوکان در اندام خوراکی قارچ سفید دکمه‌ای شد (۹/۸۸ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک و افزایش ۸/۳۳ درصدی نسبت به شاهد). نتایج این آزمایش نشان داد که تمام تیمارهای باکتریایی مورد بررسی در این پژوهش، به طور معنی‌داری محتوی بتاگلوکان قارچ سفید دکمه‌ای را نسبت به شاهد آزمایش افزایش دادند (شکل ۵).



شکل ۵- اثر مایه‌زنی با باکتری‌های *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus* و *Azospirillum brasilense* و مایه‌زنی همزمان چهار باکتری مورد بررسی در این پژوهش بر محتوی بتاگلوکان قارچ سفید دکمه‌ای. معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد می‌باشد و بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Fig. 5. The effect of inoculation with *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus*, *Azospirillum brasilense*, and the co-inoculation of all four bacterial strains evaluated in this study on the β-glucan content of *Agaricus bisporus*. Differences are significant at the 1% probability level. According to Duncan's test, means followed by the same letter are not significantly different.

بحث

به‌طور کلی، باکتری‌های بهبود دهنده رشد، با سازوکارهای مختلفی نظیر سنتز هورمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد، کمک به تجزیه مواد آلی و جذب عناصر، تثبیت نیتروژن و افزایش سطح نیتروژن آلی در دسترس، تولید سیدروفور، رقابت با عوامل بیماری‌گر و ... سبب افزایش رشد زیست‌توده قارچ‌های خوراکی می‌شوند (Kertesz & Thai, 2018; Braat et al., 2022). در خصوص باکتری *P. chlororaphis* به صورت اختصاصی گزارش شده است که ترکیباتی نظیر ۲-هیدروکسی‌فنازین و ۲-هیدروکسی‌فنازین ۱- کربوکسیلیک اسید توسط این باکتری تولید و در محیط آزاد می‌شود که در کنترل عوامل بیماری‌زا و میکروارگانیسم‌های رقیب به قارچ‌های خوراکی کمک می‌کند. همچنین باکتری *P. chlororaphis* آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز را در محیط اطراف خود ترشح می‌کند که در تجزیه مواد آلی بستر به قارچ سفید دکمه‌ای کمک می‌کنند (Raio & Puopolo., 2021). برای نخستین بار Rainey (۱۹۹۱) گزارش کرد که کشت مشترک باکتری‌های مفید جنس *Pseudomonas* با *A. bisporus* در شرایط درون شیشه‌ای، رشد هیف این قارچ را افزایش می‌دهد. بنابر گزارش Shamugam و Kertesz (۲۰۲۳)، باکتری‌های مفید جنس *Pseudomonas* با ترشح آنزیم سلولاز در کمپوست قارچ سفید دکمه‌ای، در شکستن پلی‌مرهای کربوهیدراتی و جذب گلوکز به این قارچ کمک می‌کنند. همچنین این باکتری‌ها با سنتز و آزاد سازی 1-octen-3ol، در تحریک مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به تولید اندام زایشی قارچ دکمه‌ای، نقشی کلیدی ایفا می‌کنند. باکتری‌های مفید جنس *Bacillus* و *Azospirillum* نیز

علاوه بر سازوکارهای ذکر شده، با فعال کردن مسیر مقاومت سیستماتیک القائی^۱ در افزایش قدرت سیستم دفاعی قارچ‌های خوراکی در مقابل عوامل بیمارگر، نقشی کلیدی دارند (Jang et al., 2023; Pozdnyakova et al., 2022). هم چنین این باکتری‌ها با بهبود متابولیسم نیتروژن در قارچ‌های خوراکی، به رشد و نمو آن‌ها کمک می‌کنند. به صورت اختصاصی، باکتری *B. velezensis* ترکیبات فرار زیستی بخصوصی را تولید و آزاد می‌کند که در مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به رشد قارچ‌های خوراکی تاثیر گذارند (Jang et al., 2023; Di Francesco et al., 2024). در پژوهشی Li و همکاران (۲۰۲۴)، گزارش کردند که افزایش جمعیت *Pseudomonas putida* در کمپوست قارچ سفید دکمه‌ای با کمک به جذب فسفر و پتاسیم منجر به افزایش عملکرد قارچ سفید دکمه‌ای خواهد شد. همسو با نتایج پژوهش ما، Young و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزایش جمعیت میکروب‌های مفید کمپوست، می‌تواند بر بهبود کارایی زیستی کمپوست قارچ سفید دکمه‌ای تاثیر گذار باشد. همچنین، Park و همکاران (۲۰۲۵) نیز گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های بهبود دهنده رشد در کمپوست قارچ‌های خوراکی *A. bisporus* و *Pleurotus ostreatus*، منجر به افزایش عملکرد این قارچ‌ها خواهد شد. نتایج پژوهش حاضر، نشان داد که کاربرد همزمان باکتری‌های مفید مختلف، منجر به رقم خوردن بالاترین سطح کارایی زیستی کمپوست و عملکرد محصول شده است. مطالعات مختلفی نشان دادند که باکتری‌های فرازنده رشد مختلف، قابلیت‌های متفاوتی درخصوص تاثیرگذاری بر فیزیولوژی رشد و عملکرد قارچ‌های خوراکی دارند (Young et al., 2012; Eren, 2022). از این رو، مایه‌زنی همزمان باکتری‌های مفید مختلف، با تاثیرگذاری بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژی رشد و عملکرد قارچ سفید دکمه‌ای، بیش از کاربرد جداگانه هریک از باکتری‌ها سبب افزایش شاخصه‌های عملکردی این قارچ شده است.

ارگوسترول یکی از متابولیت‌های ثانویه حیاتی در سلسه قارچ‌ها می‌باشد که علاوه بر قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالا و نقش در سیستم دفاعی قارچ‌ها، یکی از مهمترین اجزای غشاء سلول‌های قارچی است که در ساختار، پایداری و فعالیت پمپ $H^+-ATPase$ غشاء سلولی، نقشی کلیدی ایفا می‌کند. افزایش تولید و تجمع ارگوسترول، لازمه رشد و نمو ساختارهای قارچی می‌باشد (Zhang & Rao., 2010; Choy et al., 2023). در پژوهشی، Wang و همکاران (۲۰۲۴)، گزارش کردند که رشد هیف قارچ‌ها، ارتباط مستقیمی با مقدار بیوسنتز ارگوسترول در آن‌ها دارد. بنابر گزارش Jordá و همکاران (۲۰۲۲)، افزایش سطح بیان برخی از ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز ارگوسترول (*ERG1*, *ERG2*, *ERG3*, *ERG5*, *ERG7*, *ERG11* و *ERG25*) پیش از آغاز رشد سلول‌های قارچی صورت می‌گیرد. همچنین Song و همکاران (۲۰۲۵) گزارش کردند که فعالیت برخی آنزیم‌های کلیدی دخیل در بیوسنتز ارگوسترول (نظیر: *Erg11p/Cyp51A*, *Erg3p*, *Erg6p* و *Erg25p*) ارتباط مستقیمی با رشد و نمو ساختارهای قارچی دارد. از این رو گمان می‌رود که باکتری‌های فرازنده رشد، با کمک به افزایش رشد و عملکرد قارچ سفید دکمه‌ای، اثر بهبود بخشی بر مسیر بیوسنتز ارگوسترول در این قارچ داشته‌اند. از طرفی دیگر، افزایش جمعیت میکروب‌های مفید در بستر رشد قارچ سفید دکمه‌ای، مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به سیستم دفاعی این قارچ را تحریک می‌کند. لذا، با توجه به نقش کلیدی ارگوسترول در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی قارچ‌ها، افزایش محتوی این متابولیت ثانویه بر اثر مایه‌زنی با باکتری‌های مفید، در قارچ سفید دکمه‌ای توجیه پذیر است (Braat et al., 2022).

باکتری‌های فرازنده رشد مختلف، با سازوکارهای متفاوتی، مقدار نیتروژن آلی و معدنی در دسترس قارچ‌های خوراکی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. به عنوان مثال باکتری‌های جنس *Bacillus* و *Pseudomonas* با ترشح آنزیم‌های اندوپیتیداز و اگزوپیتیداز، قابلیت بالایی در تجزیه رشته‌های پلی‌پپتیدی و افزایش آمینواسید آزاد قابل جذب را دارند در حالی که *A. brasilense* از مهمترین باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن می‌باشد (Carrasco & Preston., 2020; Prando et al., 2024). بنابر گزارش Christiansen-Weniger و Van veen (۱۹۹۱)، آنزیم نیتروژناز که آنزیمی کلیدی در فرآیند تثبیت نیتروژن می‌باشد، در باکتری *A. brasilense* در شرایط نرمال، فعالیتی نزدیک به ۲۴۰۰ نانومول اتیلن (C_2H_2) در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین دارد، که میزان فعالیت نسبتاً بالایی برای این آنزیم تلقی می‌گردد. در پژوهشی Salehi Molkabadi و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که محتوی نیتروژن در دسترس، ارتباط مستقیمی با رشد هیف و مقدار پروتئین قارچ‌های خوراکی دارد. از این رو می‌توان اثر مایه‌زنی با باکتری‌های مفید بر افزایش محتوی پروتئین قارچ سفید دکمه‌ای را توجیه کرد. همسو با نتایج پژوهش ما، Wang و

همکاران (۲۰۲۴) گزارش کردند که در پرورش قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*)، افزایش جمعیت باکتری‌های مفید کمپوست، منجر به افزایش محتوی پروتئین در قارچ تولیدی خواهد شد.

بتاگلوکان، یکی از پلی‌ساکاریدهای اصلی در سلسله قارچ‌ها می‌باشد که علاوه بر اهمیت دارویی و نقشی که در افزایش قدرت سیستم دفاعی بدن انسان دارد، در فیزیولوژی رشد و عملکرد قارچ نیز نقش‌های متعددی ایفا می‌کند. این پلی‌ساکارید که ۳۰ تا ۸۰ درصد از وزن خشک دیواره سلولی قارچ‌ها را شامل می‌شود، به استحکام مکانیکی دیواره، مقاومت در برابر فشار اسمزی و حفظ شکل سلول کمک می‌کند. علاوه بر این، بتاگلوکان در رشد و نمو ساختارهای قارچی و سیستم دفاعی قارچ‌ها در مقابل عوامل تنش‌زای زنده و غیرزنده، نقشی کلیدی ایفا می‌کند (Gow & Lenardon., 2023; Yao et al., 2025). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، مایه‌زنی با باکتری‌های فرازنده رشد منجر به افزایش محتوی بتاگلوکان قارچ سفید دکمه‌ای شد. از طرفی، برخی باکتری‌های فرازنده رشد (بخصوص باکتری‌های جنس: *Bacillus* و *Pseudomonas*) آنزیم‌های سلولاز را تولید و در بستر ترشح می‌کنند. در نتیجه، فعالیت این باکتری‌ها به افزایش سطح گلوکز در دسترس قارچ سفید دکمه‌ای منجر می‌شود. با توجه به اینکه گلوکز پیش‌ماده اصلی در مسیر سنتز بتاگلوکان می‌باشد، اثر باکتری‌های فرازنده رشد بر محتوی بتاگلوکان قارچ سفید دکمه‌ای قابل توضیح است (Ruiz-Herrera & Ortiz-Castellanos, 2019; Zhou et al., 2025). همچنین این باکتری‌ها به‌عنوان تسهیل‌کننده حلالیت و جذب عناصر غذایی بستر عمل می‌کنند که موجب افزایش دسترسی قارچ‌ها به مواد غذایی به ویژه فسفر می‌شوند (Salehi Molkabadi et al., 2023). در ابتدای مسیر سنتز بتاگلوکان؛ دی-گلوکز به آلفا دی-گلوکز ۶-فسفات تبدیل و در طول مسیر بیوسنتز بتاگلوکان نیز؛ قندهای فسفات‌ه‌ حدواسط مختلفی به‌وجود می‌آیند. از این رو، افزایش سطح فسفر در دسترس، ارتباط مستقیمی با پتانسیل ساخت بتاگلوکان در سلول‌های قارچی دارد و باکتری‌های فرازنده رشد با کمک به جذب فسفر، بر تولید و تجمع بتاگلوکان در قارچ سفید دکمه‌ای تأثیر گذارند (Ruiz-Herrera & Ortiz-Castellanos, 2019). همچنین، این باکتری‌ها تنظیم‌کننده‌های رشد مختلفی را تولید و در بستر رشد قارچ‌ها ترشح می‌کنند. این تنظیم‌کننده‌های رشد، متابولیسم و مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های قارچی را تحریک کرده و به‌طور بالقوه سنتز پلی‌ساکاریدها را افزایش می‌دهند (Braat et al., 2022). علاوه بر این، تعامل با باکتری‌ها می‌تواند مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به افزایش سطح سیستم دفاعی قارچ‌ها را تحریک ساخته و از این طریق نیز بر تولید و تجمع بتاگلوکان (به‌عنوان یکی از متابولیت‌های مهم سیستم دفاعی قارچ‌ها) اثر گذار باشد (Zheng et al., 2017; Braat et al., 2022). همسو با نتایج پژوهش ما، Young و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که مایه‌زنی خاک پوششی قارچ سفید دکمه‌ای با باکتری‌های مفید، می‌تواند منجر به افزایش محتوی پلی‌ساکاریدهای این قارچ شود. همچنین، Zheng و همکاران (۲۰۱۷)، گزارش کردند که سنتز و تجمع پلی‌ساکاریدها در سلول‌های قارچی، تحت تأثیر جمعیت باکتریایی بستر رشدشان قرار می‌گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد باکتری‌های فرازنده رشد می‌تواند یک راهکار کاربردی در جهت کشت کارآمد و بهبود عملکرد و کیفیت قارچ سفید دکمه‌ای باشد. براساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، مایه‌زنی هم‌زمان با باکتری‌های *Pseudomonas chlororaphis*، *Bacillus velezensis*، *Bacillus pumilus* و *Azospirillum brasilense* بیشترین تأثیر را بر بهبود عملکرد و کارایی زیستی کمپوست داشته و نسبت به سایر تیمارها، برتری نشان داد. هرچند مایه زنی منفرد با هر کدام از باکتری‌ها (به استثنای *Bacillus pumilus*) عملکرد و کارایی زیستی بالاتری را نسبت به شاهد تولید کرد ولی اثر آن‌ها محدودتر از تیمار ترکیبی بود. تیمار ترکیبی با چهار باکتری منتخب و همچنین مایه‌زنی منفرد با هر یک از باکتری‌های *P. chlororaphis* و *B. velezensis* باعث بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در مقایسه با دیگر تیمارها شد. این یافته‌ها بیانگر پتانسیل بالای استفاده از مایه‌زنی با باکتری‌های فرازنده رشد در بهبود عملکرد و افزایش ارزش تغذیه‌ای و دارویی قارچ سفید دکمه‌ای است و بر اهمیت انتخاب دقیق سویه‌های باکتریایی و نیز بهره‌گیری از ترکیب‌های چندگانه برای تقویت زیستی تولید قارچ‌های دکمه‌ای تأکید دارند. همچنین ضرورت توجه بیشتر به بهره‌گیری از میکروبیوم‌های مفید در کشت‌های تجاری را برجسته می‌سازد و می‌تواند مبنایی را برای توسعه روش‌های پایدار و زیست‌سازگار در صنعت تولید قارچ سفید دکمه‌ای فراهم کنند.

References

منابع

- Arthington-Skaggs, B. A., Jradi, H., Desai, T., & Morrison, C. J. (1999). Quantitation of ergosterol content: novel method for determination of fluconazole susceptibility of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(10), 3332-3337. doi: 10.1128/jcm.37.10.3332-3337.1999
- Braat, N., Koster, M. C., & Wösten, H. A. (2022). Beneficial interactions between bacteria and edible mushrooms. *Fungal Biology Reviews*, 39, 60-72. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.12.001>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Carrasco, J., & Preston, G. M. (2020). Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi. *Environmental Microbiology*, 22(3), 858-872. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14765>
- Choy, H. L., Gaylord, E. A., & Doering, T. L. (2023). Ergosterol distribution controls surface structure formation and fungal pathogenicity. *MBio*, 14(4), e01353-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.01353-23>
- Christiansen-Weniger, C., & Van Veen, J. A. (1991). Nitrogen fixation by *Azospirillum brasilense* in soil and the rhizosphere under controlled environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 12(2), 100-106. <https://doi.org/10.1007/BF00341483>
- Colmenares-Cruz, S., Sánchez, J. E., & Valle-Mora, J. (2017). *Agaricus bisporus* production on substrates pasteurized by self-heating. *Amb Express*, 7(1), 135. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0438-6>
- Di Francesco, A., Moret, E., Cignola, R., Garagozzo, L., Torelli, E., & Di Foggia, M. (2024). Yeasts volatile organic compounds (VOCs) as potential growth enhancers and molds biocontrol agents of mushrooms mycelia. *Fungal Biology*, 128(4), 1859-1867. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.05.007>
- Duran, K., Kohlstedt, M., van Erven, G., Klostermann, C. E., America, A. H., Bakx, E., ... & Kabel, M. A. (2024). From ¹³C-lignin to ¹³C-mycelium: *Agaricus bisporus* uses polymeric lignin as a carbon source. *Science Advances*, 10(16), ead13419. [126/sciadv.adl3419](https://doi.org/10.1126/sciadv.adl3419)
- Eren, E. (2022). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) on yield and some quality parameters during shelf life in white button mushroom (*Agaricus bisporus* L.). *Journal of Fungi*, 8(10), 1016. <https://doi.org/10.3390/jof8101016>
- Gow, N. A., & Lenardon, M. D. (2023). Architecture of the dynamic fungal cell wall. *Nature Reviews Microbiology*, 21(4), 248-259. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00796-9>
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(99\)00043-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00043-6)
- Jang, S., Choi, S. K., Zhang, H., Zhang, S., Ryu, C. M., & Kloepper, J. W. (2023). History of a model plant growth-promoting rhizobacterium, *Bacillus velezensis* GB03: from isolation to commercialization. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1279896. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1279896>
- Jordá, T., Barba-Aliaga, M., Rozès, N., Alepuz, P., Martínez-Pastor, M. T., & Puig, S. (2022). Transcriptional regulation of ergosterol biosynthesis genes in response to iron deficiency. *Environmental Microbiology*, 24(11), 5248-5260. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16157>
- Kertesz, M. A., & Thai, M. (2018). Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(4), 1639-1650. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8777-z>
- Ko, Y. T., & Lin, Y. L. (2004). 1, 3-β-Glucan quantification by a fluorescence microassay and analysis of its distribution in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3313-3318. <https://doi.org/10.1021/jf0354085>
- Leiva, F. J., Saenz-Díez, J. C., Martínez, E., Jiménez, E., & Blanco, J. (2015). Environmental impact of *Agaricus bisporus* cultivation process. *European Journal of Agronomy*, 71, 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.013>
- Park, Y. B., Park, Y. J., & Jang, M. J. (2025). Growth Characteristics of *Pseudomonas putida* and *Pleurotus ostreatus* After Co-Cultivation. *Mycobiology*, 53(1), 72-78. <https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2436774>
- Pozdnyakova, N., Muratova, A., & Turkovskaya, O. (2022). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by co-culture of *Pleurotus ostreatus* Florida and *Azospirillum brasilense*. *Applied Microbiology*, 2(4), 735-748. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2040056>
- Prando, A. M., Barbosa, J. Z., de Oliveira, A. B., Nogueira, M. A., Possamai, E. J., & Hungria, M. (2024). Benefits of soybean co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: Large-scale validation with farmers in Brazil. *European Journal of Agronomy*, 155, 127112. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2024.127112>
- Rainey, P. B. (1991). Effect of *Pseudomonas putida* on hyphal growth of *Agaricus bisporus*. *Mycological Research*, 95(6), 699-704. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80817-4](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80817-4)

- Raio, A., & Puopolo, G. (2021). *Pseudomonas chlororaphis* metabolites as biocontrol promoters of plant health and improved crop yield. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(6), 99. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03063-w>
- Ruiz-Herrera, J., & Ortiz-Castellanos, L. (2019). Cell wall glucans of fungi. A review. *The Cell Surface*, 5, 100022. <https://doi.org/10.1016/j.tcs.2019.100022>
- Salehi Molkabadi, R., Alian, M., Bonito, G., Ghasemi, K., Mirtalebi, M., Raouf-Fard, F., & Ramezani, A. (2023a). Ameliorative effects of plant growth-promoting rhizobacteria on salinity tolerance of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Zemdirbyste-Agriculture*, 110(4). DOI 10.13080/z-a.2023.110.039
- Salehi Molkabadi, R., Bonito, G., Ghasemi, K., Ghanbary, M. A. T., & Raouf, F. F. (2023b). Optimising in vitro culture conditions for the truffle *Tuber brumale*. *Botanica Serbica*, 47(2), 259-269. <https://doi.org/10.2298/BOTSERB2302259S>
- Salehi Molkabadi, R., Ghasemi, K., Tajick Ghanbary, M. A., & Moradi, H. (2021). Evaluation of nutritional value and dietary chemicals of winter truffles (*Tuber brumale*) from north of Iran. *Mycologia Iranica*, 8(1), 43-57. <https://doi.org/10.22092/MI.2022.356149.1200>
- Salehi Molkabadi, R., Raouf Fard, F., & Rigi Karvandari, Z. (2025). Evaluation of the Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Ameliorating the Yield and Phytochemical Compounds of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana*). *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 26(1), 17-34.
- Shamugam, S., & Kertesz, M. A. (2023). Bacterial interactions with the mycelium of the cultivated edible mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Applied Microbiology*, 134(1), 1xac018. <https://doi.org/10.1093/jambio/1xac018>
- Shao, S., Hernandez, M., Kramer, J. K., Rinker, D. L., & Tsao, R. (2010). Ergosterol profiles, fatty acid composition, and antioxidant activities of button mushrooms as affected by tissue part and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(22), 11616-11625. <https://doi.org/10.1021/jf102285b>
- Song, L., Wang, S., Zou, H., Yi, X., Jia, S., Li, R., & Song, J. (2025). Regulation of Ergosterol Biosynthesis in Pathogenic Fungi: Opportunities for Therapeutic Development. *Microorganisms*, 13(4), 862. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13040862>
- Wang, J., Shen, J., Chen, D., Liao, B., Chen, X., Zong, Y., ... & Ren, B. (2024). Secretory IgA reduced the ergosterol contents of *Candida albicans* to repress its hyphal growth and virulence. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 244. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13063-z>
- Wang, Q., Zhao, M., Wang, Y., Xie, Z., Zhao, S., You, S., ... & Zhang, G. (2024). Microbial Inoculation during the Short-Term Composting Process Enhances the Nutritional and Functional Properties of Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). *Life*, 14(2), 201. <https://doi.org/10.3390/life14020201>
- Yao, R. A., Berrin, J. G., McKee, L. S., & Bissaro, B. (2025). Fungal cell walls: the rising importance of carbohydrate-active enzymes. *Trends in Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2025.05.001>
- Young, G., Grogan, H., Walsh, L., Noble, R., Tracy, S., & Schmidt, O. (2024). Peat alternative casing materials for the cultivation of *Agaricus bisporus* mushrooms—A systematic review. *Cleaner and Circular Bioeconomy*, 9, 100100. <https://doi.org/10.1016/j.clcb.2024.100100>
- Young, L. S., Chu, J. N., & Young, C. C. (2012). Beneficial bacterial strains on *Agaricus blazei* cultivation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47, 815-821. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000600012>
- Zhang, Y., & Rao, R. (2010). Beyond ergosterol: linking pH to antifungal mechanisms. *Virulence*, 1(6), 551-554. <https://doi.org/10.4161/viru.1.6.13802>
- Zheng, M. L., Niu, D. Z., Jiang, D., Zuo, S. S., & Xu, C. C. (2017). Dynamics of microbial community during ensiling direct-cut alfalfa with and without LAB inoculant and sugar. *Journal of Applied Microbiology*, 122(6), 1456-1470. <https://doi.org/10.1111/jam.13456>
- Zhou, X., Yan, Y., Li, Y., Liu, L., Zhou, J., Dai, C., ... & Huang, X. (2025). Application of cellulose-rich organic resource improves soil quality and plant growth by recruiting beneficial microorganisms. *Applied Soil Ecology*, 207, 105909. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.105909>

Microbial Bio-stimulants and Efficient Edible Mushroom Cultivation: Investigating the Effects of Beneficial Bacteria on the Yield and Nutritional Quality of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*)

Reza Salehi Molkabadi, Fatemeh Raouf Fard*

Shiraz University, School of Agriculture, Department of Horticultural Science, Shiraz, Iran

*Corresponding author, Email: (Fraouffard@yahoo.com)

Abstract

In recent years, global consumption of edible mushrooms has increased significantly owing to their nutritional value. Among them, the white button mushroom (*Agaricus bisporus*) stands out not only for its dominant production volume and economic market share but also because it's a rich source of bioactive compounds essential to human health. Recent studies have suggested that beneficial bacteria can enhance both the yield and the quality of cultivated mushrooms. This study aimed to evaluate the effects of inoculation with six bacterial treatments (control, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Azotobacter chroococcum*, and a combined application of all four strains) on the yield components and nutritional and medicinal properties of *A. bisporus* under a completely randomized design. The highest yield of *A. bisporus* and compost biological efficiency were observed in the combined bacterial treatment, showing a 15.64% increase over the control in both metrics. Although not significantly different from the other bacterial treatments, this treatment led to the highest ergosterol and total protein content in *A. bisporus* (3.89 mg/g dry weight and 3.14 g/100 g fresh weight, respectively). All bacterial treatments significantly increased the β -glucan content compared to the control, with the highest β -glucan level recorded in the *B. velezensis* inoculation treatment (9.88 g/100 g dry weight), although this increase was not statistically different from the other bacterial treatments. Overall, the application of plant growth-promoting bacteria significantly enhanced the yield performance and improved the nutritional and medicinal quality of *A. bisporus*.

Keywords: Ergosterol, β -glucan, casing soil, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus velezensis*, *Pseudomonas chlororaphis*.