

بررسی توانایی تجزیه زیستی کاه و کلش گندم (*Triticum aestivum* L.) توسط گونه‌های مختلف جنس تریکودرما (*Trichoderma* spp.)

علی رضا آستارایی^{۱*}، محمد فارسی^۲، علی پاکدین پاریزی^۳، مرجان قائمی^۴ و فرنوش فلاح‌پور^۵

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۲۲

چکیده

استفاده بهینه از ضایعات کشاورزی بعلت بازیافت و امکان تولید مواد با ارزش افزوده، مزایای اقتصادی و اکولوژیکی فراوانی را دارا می‌باشد. استفاده از روش بیولوژیکی به منظور تجزیه ضایعات کشاورزی روشی جدید برای بهبود قابلیت هضم این مواد و تسهیل تجزیه توسط سایر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. در این مطالعه قابلیت تجزیه زیستی چندین گونه و همچنین جدایه از جنس تریکودرما روی کاه و کلش گندم انجام شد. دو هفته پس از تلقیح حدایه‌ها به کاه و کلش، خشک کردن آنها در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها را وزن کرده و کاهش فیبرهای شوینده اسیدی (ADF) و فیبرهای شوینده خنثی (NDF) برای هر نمونه در اثر رشد قارچ در مقایسه با نمونه شاهد بررسی گردید. نتایج نشان داد که تجزیه زیستی ضایعات گیاهی به گونه قارچی و حتی جدایه آن بستگی دارد. NDF و ADF کاه و کلش گندم توسط گونه‌های تریکودرما ریشه‌ای، لانگی‌براجیاتوم بیشتر از سایر گونه‌ها کاهش یافت. بطور کلی کاهش NDF ضایعات کشاورزی توسط قارچ نسبت به ADF بیشتر بود. اگرچه تریکودرما ریشه‌ای مقدار ADF کاه و کلش گندم را کاهش بیشتری داد. بنابراین برای بهبود قابلیت هضم و همچنین کوتاه نمودن مدت زمان کمپوست‌سازی، تیمار کردن کاه و کلش و بقایای گندم با قارچ تریکودرما و بویژه گونه‌های ریشه‌ای و لانگی‌براجیاتوم می‌تواند از کارایی بهتری برخوردار باشد.

کلمات کلیدی: بقایای گندم، فیبرهای شوینده اسیدی، فیبرهای شوینده خنثی، قارچ

مقدمه

et al., 1998; Brown. مواد آلی عموماً در شکل اصلی خود ارزش غذایی اندکی دارند، اما در اثر تجزیه بیولوژیکی، بستر مناسبی برای سایر میکروارگانیسم‌ها و نشخوارکنندگان ایجاد می‌کنند. تجمع این مواد در هر محیطی به دلیل ماهیت دیرتجزیه‌ناپذیری آنها، سبب آلودگی‌های جبران‌ناپذیر زیست محیطی می‌شوند. استفاده از مواد کمپوست شده به عنوان بستر کشت قارچ‌های خوراکی، به صورت تبدیل به یک زیست توده خوراکی به عنوان یک جریان اقتصادی عملی و مقرون‌بصرفه در جهت کاهش ضایعات کشاورزی پیشنهاد شده است (Adams et al., 2007).

مزارع پرورش قارچ مقادیر زیادی ضایعات کشاورزی از قبیل انواع علف‌ها، هرز، کاه و کلش تولیدات کشاورزی، انواع کودهای اسبی، گاو و مرغی را به عنوان بسترهای مناسب رشد، فرآوری کرده و سپس در مقیاس گسترده مورد استفاده قرار می‌دهند. بنابراین فعالیت این مراکز منافع زیادی برای محیط زیست، بازیافت و کاهش ضایعات دارد. قارچ‌ها از میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که مصرف غذایی داشته و به عنوان منابع غنی انرژی و پروتئین استفاده می‌

افزایش تولید ضایعات در سطح جهان، بیشترین نگرانی‌ها را در سطوح مختلف جمعیتی ایجاد نموده است. پیشنهادات متفاوتی در جهت تقلیل این ضایعات بوسیله حذف، پالایش و یا بازیافت آنها ارائه شده است. راهکار جدید مدیریتی محیط براساس بازیافت این ضایعات می‌باشد. به نظر می‌رسد کمپوست‌سازی می‌تواند روش مناسبی در پاسخ به بعضی از ضایعات و احیای مواد غذایی موجود در آنها باشد (Ashraf et al., 2007). اکثر مواد زاید کشاورزی، صنعتی و خانگی سرشار از مواد آلی (عمدتاً سلولز، همی سلولز و لیگنین) هستند. مواد لیگنوسلولزی از فراوانترین ضایعات کشاورزی در جهان بوده و این مواد با فتوسنتز همواره در حال تجدید می‌باشند (Jalk et al., 1987).

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب دانشیار گروه علوم خاک، استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، دانشجوی دکتری علوم خاک و دانشجوی دکتری بوم‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* - نویسنده مسئول: (Email: astaraei@ferdowsi.um.ac.ir)

را به مقدار زیاد تجزیه می‌کنند (Velazquez-Cedeno et al., 2008). عقیده بر این است که قارچ‌های گرمادوست به طور قابل ملاحظه‌ای در کیفیت کمپوست دخالت دارند. تاثیر این قارچ‌ها روی رشد میسیلیوم و تولید قارچ در سه سطح مجزا مشخص شده است که شامل: ۱) کاهش غلظت آمونیاک در کمپوست، در غیر این صورت رشد میسیلیوم قارچ متوقف می‌شود، ۲) تثبیت مواد غذایی به گونه ای که در دسترس میسیلیوم‌های قارچ قرار گیرند و ۳) تحریک رشد میسیلیوم‌های قارچ می‌باشد. اکتینومیسیت‌ها و سایر باکتری‌ها در کلونیزه شدن موفقیت آمیز *S. thermophilum* در طول کمپوست نقش دارند. توسعه سریع هیف‌های قارچ آگاریکوس روی کمپوست در حضور قارچ‌های گرمادوست ممکن است یک ویژگی اکولوژیکی باشد (Salar et al., 2007).

Trichoderma harzianum یک قارچ فعال کننده کمپوست^۱ (CFA) بوده که طول دوره فرآیند کمپوست سازی را کوتاهتر می‌کند، به صورتیکه این زمان را که بیش از چهار ماه است به سه تا پنج هفته کاهش می‌دهد (Cuevas, 2005). *Trichoderma spp.* به عنوان عوامل کنترل کننده بیولوژیکی برای جمعیت بیشماری از قارچ‌های پاتوژن گیاهی شناخته شده اند. گستره وسیعی از گونه‌های میکروارگانیسم‌ها به عنوان کنترل کننده‌های بیولوژیکی شناخته شده اند، این میکروارگانیسم‌ها شامل *Bacillus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Flavobacterium balustinum*, *Pseudomonas spp.*, *Streptomyces spp.*, *Penicillium spp.*, *Gliocladium virens*, اما *Trichoderma spp.* می‌باشند (Scheuerell, et al., 2002). وجود پیشرفت‌های شگرف در زمینه تکنولوژی و کاربرد تجهیزات سخت افزاری و نرم افزاری پیشرفته هنوز تولید ثابت کمپوست با عملکرد زیاد بسیار مشکل بوده و تولید با صرفه اقتصادی بیشتر و کیفیت بهتر تنها راه بقای پرورش دهندگان قارچ در این صنعت می‌باشد (Gonzalez et al., 2005).

پرورش قارچ‌ها می‌تواند به حل بسیاری از مشکلات مهم مانند کمبود پروتئین، بازیافت منابع و مدیریت محیط زیست کمک کند. قارچ‌های خوراکی حاوی مقادیر زیادی پروتئین (همه اسید آمینه‌های ضروری)، ویتامین‌های گروه B و سایر ترکیبات بیوشیمیایی می‌باشند. شرایط دینامیک میکروارگانیسم‌ها در کمپوست می‌تواند بسیاری از تفاوت‌های موجود در نتایج گزارشات کاربرد مکمل‌های کمپوست و آزمایشات عملکرد را توجیه نماید (Suman & Sharma, 2005). هیدرولیز آنزیمی سلولز بدلیل اینکه اولین قدم در تجزیه سلولز، فراوان‌ترین ماده آلی می‌باشد، یک واکنش مهم در طبیعت تلقی می‌گردد. تحقیقات در زمینه قابلیت میکروارگانیسم‌ها در تجزیه سلولز طبیعی نشان داده است که تعداد اندکی از قارچ‌ها توانایی تجزیه سلولز را دارا می‌باشند. درحالیکه اکثر میکروارگانیسم‌ها می‌توانند سلولز

شوند. قارچ‌های خوراکی حاوی مقادیر زیادی پروتئین (شامل اسید آمینه‌های ضروری)، ویتامین‌های گروه B و سایر ترکیبات بیوشیمیایی می‌باشند. قارچ‌ها غنی از آهن، مس، کلسیم، پتاسیم و ویتامین D نیز هستند (Moore et al., 2001). انواع مختلف قارچ‌ها برای رشد خود نیاز به بسترهای متفاوتی دارند. قارچ‌های پرورشی خوراکی بعلت حضور مواد غذایی متنوع و قابل دسترس در مواد خام کمپوست و مزیت رقابتی میکروارگانیسم‌های ساده تر در هضم این مواد قادر به رقابت با این ارگانیسم‌های پست (باکتریها و قارچ‌های ناقص) نبوده و به همین دلیل، مهیا کردن یک محیط رشد انتخابی با کیفیت بالا برای قارچ خوراکی لازم بوده تا بتواند با میکروارگانیسم‌های دیگر رقابت کرده و رشد و تولیدی مقرون به صرفه داشته باشند. از این رو فرآیند کمپوست سازی، محیطی غیراستریل، انتخابی و مطلوب را برای رشد قارچ‌های خوراکی و در عین حال محیطی نامطلوب برای میکروارگانیسم‌های رقیب فراهم می‌کند (Velazquez-Cedeno et al., 2008).

کمپوست سازی پروسه‌های مختلفی را در بر داشته که معمولاً در دو فاز ۱ و فاز ۲ است (Bueno et al., 2008, Straatsma et al., 1999). فاز اول تهیه کمپوست، مخلوط و خیس کردن مواد آلی خام و شروع فرآیند کمپوست سازی است که در طی آن میکروارگانیسم‌های مختلف موادآلی را تجزیه می‌کنند. درفاز دوم تهیه کمپوست که عموماً فاز پاستوریزاسیون یا قلّه گرمایی نامیده می‌شود، هدف از بین بردن حشرات و آفات و بسیاری از میکروارگانیسم‌های ناخواسته موجود در سوبسترای حاصل شده از مرحله اول کمپوست سازی و تخریب اسپورهای میکروارگانیسم‌های آلوده کننده و تعمیم دمای سوبسترا به یک مقدار ثابت حدود ۵۰ تا ۵۵ درجه سانتی گراد بوده و تجزیه سوبسترا توسط میکروارگانیسم‌های گرمادوست را تحریک کرده و این فعالیت‌ها سبب گرم شدن توده مواد آلی می‌گردد (Straatsma et al., 1999). در طی این فازها، جمعیت‌های میکروبی متفاوتی غالب می‌شوند، که هر یک با شرایط محیطی مختلفی سازگار شده اند. محیط فیزیکی- شیمیایی ایجادشده توسط تجزیه کنندگان اولیه، محیطی مناسب برای ارگانیسم‌های ثانویه است و فرآورده‌های تولید شده توسط یک گروه می‌تواند به مصرف گروه دیگر برسد. افزایش سریع اولیه دما انتقال سریعی در تغییر میکروفلور باکتری‌های مزوفیل به باکتری‌های گرمادوست ایجاد می‌کند (Ryckeboer et al., 2003).

قارچ‌های گرمادوستی چون *Rhizomucor spp.* و *fumigatus Aspergillus* با pH بهینه زیر ۷ و دمای مطلوب ۴۰ درجه سانتی-گراد نیز شناخته شده اند که در هنگام آغاز گرم شدن محیط کمپوست و تثبیت آمونیم، pH محیط تا ۹ افزایش یافته و این قارچ‌ها ناپدید می‌شوند و قارچ‌های *Scytalidium thermophilum* و *Chaetomium thermophilum* سریع جایگزین آنها شده که سلولز

مواد و روش‌ها

از گونه‌های موجود در جدول ۱ که متعلق به جنس تریکودرما می‌باشند در آزمایشات تلقیح کاه و کلش گندم استفاده شد. از گونه‌های *T. reesei* و *T. longibrachiatum* سه جدایه مختلف در آزمایشات بررسی شد. جدایه با کد Bi-2 متعلق به جنس تریکودرما می‌باشد که تا سطح گونه شناسایی نشده است. در کل ۱۰ تیمار آزمایشی باتوجه به گونه‌ها و تعداد جدایه‌ها و یک شاهد در این تحقیق در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و مرکز پژوهشی قارچ خوراکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد مورد بررسی قرار گرفتند که در جدول ۲ مشخص شده است.

جدول ۲- تیمارهای آزمایشی: گونه‌های تریکودرما و جدایه‌های آنها

Table 2- Experimental treatments: *Trichoderma* spp. and their isolates

تیمارها	جدایه
Treatments	Isolates
T ₁	<i>Trichoderma parceramosum</i>
T ₂	<i>T. longibrachiatum</i>
T ₃	<i>T. longibrachiatum</i>
T ₄	<i>T. virens</i>
T ₅	<i>T. saturnisporum</i>
T ₆	Bi-2
T ₇	<i>T. longibrachiatum</i>
T ₈	<i>T. reesei</i> CECT 24.3
T ₉	<i>T. reesei</i> CECT 24.4
T ₁₀	<i>T. reesei</i> CECT 24.6
T ₀	control

تهیه اسپور از محیط کشت مناسب رشد قارچ‌ها و تلقیح کاه و کلش گندم

از محیط کشت PDA برای کشت همه گونه‌ها استفاده شد. یک دیسک ۱۲ میلی‌متری از محیط کشت پایه هر قارچ در محیط کشت تازه PDA حاوی آنتی‌بیوتیک کانامایسین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار داده شده و سپس پتری‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای جمع‌آوری اسپورهای قارچ، در شرایط استریل یک میلی‌لیتر آب مقطر به سطح محیط کشت اضافه کرده و اسپورهای معلق در آب در فالكون‌های استریل جمع‌آوری شد. تعداد اسپورها با استفاده از هموسایتومتر شمارش شدند.

کاه و کلش گندم (مقدار نیتروژن ۰/۲۸ و نسبت کربن به نیتروژن ۱۵۶) را به قطعات کوچک یک سانتی‌متری بریده و هر گرم کاه و کلش با ۱۰^۷ اسپور از هر کدام از جدایه‌ها بصورت جداگانه تلقیح شد. کاه و کلش تلقیح شده با اسپور قارچ در ظروف پلاستیکی که از کف توسط پمپ هوا، هوادهی می‌شدند، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو هفته نگهداری شدند. رطوبت مناسب ظروف بصورت روزانه بررسی و در صورت نیاز آب مقطر استریل به آنها اضافه شد.

تغییر یافته را تجزیه کنند (Caritas & Humphrey, 2006). تغییر سلولز می‌تواند منجر به تولید بسیار سریعتر قندهای احیاکننده توسط آنزیم‌ها شود. بسیاری از محققان تاثیر پیش تیمار ضایعات کشاورزی با مواد قلیایی و بخار را بررسی کرده‌اند (Baig et al., 2004). روش‌های پیش تیمار فیزیکی، شیمیایی و میکروبی زیادی برای تقویت و ترغیب تبدیل زیستی مواد سلولزی گزارش شده است (Caritas & Humphrey, 2006). پیش تیمار سلولز ساختار آن را باز نموده و برهمکنش ثانویه میان زنجیره‌های گلوکز را از بین می‌برد (Tang et al., 1996).

جنس تریکودرما بدلیل قابلیت ترشح آنزیم‌های تجزیه‌کننده سلولز و همچنین توانایی آنها در کنترل زیستی بطور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (Zaldivar et al., 2001). قارچ رشته‌ای تریکودرما ریشه‌ای (*Trichoderma reesei*) موثرترین تولید کننده سلولاز می‌باشد و دارای تاریخچه طولانی در تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک بوده که بطور گسترده در صنایع پارچه، کاغذ و تغذیه حیوانات استفاده می‌شود (Wang et al., 2004). با تحریک رشد و فعالیت جمعیت‌های میکروبی مسئول تجزیه سلولز و همی سلولز مدت زمان کمپوست‌سازی را می‌توان کاهش داد (Savoie & Libmond, 1994). سلولز و همی سلولز توسط باکتری‌ها و قارچ‌ها مورد هجوم قرار گرفته، ترکیبات دیواره سلولی کاه و کلش تغییر یافته و سپس تحت شرایط مناسب به آسانی تجزیه می‌شوند (Chang & Miles, 2004; Sharma, 1996). امروزه از میکروارگانیسم‌ها در تسریع کمپوست‌سازی استفاده می‌شود. در این روش‌ها از تریکودرما هارزینوم (*Trichoderma harzianum*)، یک فعال کننده قارچی کمپوست که مدت زمان کمپوست‌سازی را از چهار ماه به تنها ۳ تا ۵ هفته کاهش می‌دهد، استفاده می‌شود (Espiritu & Mina, 1993). هدف از این تحقیق ارزیابی و مقایسه توانایی تجزیه زیستی تعدادی از جدایه‌های تریکودرما روی کاه و کلش گندم و استفاده از توانایی آنها در کوتاه نمودن مدت زمان تجزیه و کمپوست‌سازی و همچنین استفاده در تغذیه دام بود.

جدول ۱- گونه‌های تریکودرما استفاده شده در آزمایشات تلقیح کاه و کلش گندم

Table 1- *Trichoderma* spp. used in wheat straw inoculation tests

گونه‌های تریکودرما	تعداد جدایه‌ها
<i>Trichoderma</i> spp.	Number of isolates
<i>Trichoderma parceramosum</i>	-
<i>T. longibrachiatum</i>	3
<i>T. virens</i>	-
<i>T. saturnisporum</i>	-
Bi - 2	-
<i>T. reesei</i>	3

اندازه‌گیری‌های تجزیه زیستی

بعد از سپری شدن مدت زمان تلقیح، محتویات ظروف جمع‌آوری و در آن در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. هر کدام از نمونه‌ها وزن شده و کاهش فیبرهای شوینده اسیدی^۱ (ADF) و فیبرهای شوینده خنثی^۲ (NDF) برای هر نمونه در مقایسه با نمونه شاهد محاسبه شد. این روش‌ها قسمت غیرمحلول و اجزای آن را به تفکیک تعیین می‌کنند. NDF نشان‌دهنده اجزای هضم نشدنی و کند هضم در دیواره سلول‌های گیاهی (سلولز، همی‌سلولز، لیگنین و کوتین) می‌باشد. ADF شامل سلولز و لیگنین می‌باشد که همی‌سلولز در آن وجود ندارد. ADF و NDF بر اساس روش سنگر و همکاران (Senger et al., 2008) اندازه‌گیری شدند.

آنالیزهای آماری

این آزمایش با تعداد ۱۰ تیمار در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. داده‌های آزمایش از نظر آماری آنالیز شدند. میانگین‌ها محاسبه شده و آزمون LSD برای مقایسه تجزیه زیستی کاه و کلش گندم توسط جدایه‌های قارچ استفاده شد. برای مقایسه نتایج NDF و ADF در رابطه با تیمارهای آزمایشی، همبستگی چند متغیره انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده در خصوص تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فیبرهای شوینده اسیدی (ADF) کاه و کلش گندم (جدول ۳) نشان داد که تیمارهای T₁، T₂ و T₇ نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشته، اما بترتیب در مقایسه با تیمارهای شاهد، T₆، T₉، T₃، T₅، T₄، T₈ و T₁₀ دارای اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵ درصد بودند. تیمارهای T₁₀، T₄ و T₅ تفاوت معنی‌داری با هم نداشته، اما بترتیب در مقایسه با تیمارهای شاهد، T₆، T₉، T₃، T₂، T₇، T₁ و T₈ اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵ درصد داشتند.

تیمارهای T₃، T₉ و T₆ نسبت به هم و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته، اما همگی آنها بترتیب در مقایسه با تیمارهای T₅، T₄، T₁₀، T₂، T₇ و T₁ دارای اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵ درصد بودند. در حالیکه تیمار T₈ (T. reesei CECT 24.3) با کلیه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را در سطح اطمینان ۵ درصد (جدول ۳) نشان داد. صفری سینگانی و همکاران (Safari-Sinegani et al., 2005) نتیجه‌گیری کردند که *Aspergillus terreus* و *Trichoderma reesei* قابلیت بالایی در تجزیه بقایای گیاهی دارند.

نتایج بدست آمده در خصوص تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فیبرهای شوینده خنثی (NDF) کاه و کلش گندم (جدول ۳) نشان داد که دو

تیمار T₅ و T₇ نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشته، اما بترتیب در مقایسه با تیمارهای شاهد، T₆، T₁₀، T₃، T₉، T₂، T₄، T₁ و T₈ دارای اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵ درصد بودند (جدول ۳). دو تیمار T₁ و T₈ با هم تفاوت معنی‌داری نداشته، اما بترتیب با تیمارهای شاهد، T₆، T₁₀، T₃، T₉، T₂، T₄، T₇ و T₅ اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵ درصد نشان دادند (جدول ۳). تیمار T₄ تفاوت معنی‌داری بترتیب با تیمارهای شاهد، T₆، T₁، T₈، T₅ و T₇ نشان داد. تیمار T₂ بترتیب با تیمارهای شاهد، T₁، T₈، T₅ و T₇ تفاوت معنی‌داری داشت. در حالیکه تیمار T₉ بترتیب با تیمارهای شاهد، T₁، T₈، T₅ و T₇ دارای تفاوت معنی‌داری بود (جدول ۳). دو تیمار T₃ و T₁₀ با هم تفاوت معنی‌داری نداشته، اما با تیمارهای T₄، T₁، T₈، T₅ و T₇ اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵ درصد داشتند (جدول ۳). تیمار T₆ با تیمارهای T₂، T₄، T₁، T₈، T₅ و T₇ دارای تفاوت معنی‌داری بود. این در حالی است که تیمار شاهد تنها با تیمارهای T₉، T₄، T₁، T₈، T₅ و T₇ دارای اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵ درصد بود (جدول ۳).

تجزیه زیستی کاه گندم توسط قارچ به گونه قارچ بستگی دارد (Safari Sinegani et al., 2005; Blackshaw & Lindwall, 1996). مولر و همکاران (Muller et al., 1988) و سامرل و بورگس (Summerell & Burgess, 1989) نشان دادند که درصد لیگنین، نسبت کربن به نیتروژن و مقدار نیتروژن بقایای گیاهی در مقدار شدت تجزیه نقش بسزایی دارند. علاوه بر این جدایه‌های مختلف یک گونه نیز توانایی متفاوتی در تجزیه کاه گندم از خود نشان دادند. گونه‌ها و جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما توانایی متفاوتی در کاهش NDF و ADF از خود نشان دادند (جدول ۳ و ۴ و ۵).

تیمارهای تریکودرما لانگی براچیاتوم، ساتورنیسپوروم و ریسه‌ای (T₇، T₅ و T₈) بترتیب باعث بیشترین کاهش در مقدار NDF این آزمایش شدند (جدول ۴). صفری سینگانی و همکاران (Safari Sinegani et al., 2005) در مقایسه قارچ‌های مختلف روی تجزیه بقایای گندم وجو نتیجه‌گیری کردند که *T. reesei* بیشترین درصد کاهش وزن بقایا را نشان داد. اگرچه در همین آزمایش جدایه‌های دیگر این گونه‌ها کمترین مقدار کاهش NDF را به خود اختصاص دادند. تریکودرما لانگی براچیاتوم یکی از تولیدکنندگان شناخته شده آنزیم‌های سلولولیتیک و زایلانولیتیک می‌باشد. از این گونه در تغذیه دام برای بهبود خصوصیات تغذیه‌ای علوفه و حتی برای بهبود آرد گندم و بالا بردن کیفیت محصولات پخته شده استفاده می‌شود. تریکودرما ساتورنیسپوروم آنزیم زیادی تولید می‌کند و به سرعت می‌تواند روی کاه و کلش رشد و تکثیر کند. در آزمایشاتی که با استفاده از این گونه بر روی تجزیه کاه و کلش انجام گرفته، تسریع تجزیه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بعد از تلقیح تایید شده است (Wiedow et al., 2007).

- 1- Acid detergent fiber
- 2- Neutral detergent fiber

جدول ۳- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فیبرهای شوینده اسیدی (ADF) و فیبرهای شوینده خنثی (NDF) کاه و کلش گندم

Table 3- Effect of different treatments on ADF and NDF of wheat straw

تیمارها Treatments	جدایه Isolate	فیبرهای شوینده اسیدی ADF	فیبرهای شوینده خنثی NDF
T ₁	<i>(Trichoderma parceramosum)</i>	50.48c*	80.03e
T ₂	<i>(T. longibrachiatum)</i>	51.53c	83.87abcd
T ₃	<i>(T. longibrachiatum)</i>	55.53a	85.11abc
T ₄	<i>(T. virens)</i>	52.85b	83.66bcd
T ₅	<i>(T. saturnisporum)</i>	53.28b	77.53f
T ₆	(Bi-2)	56.09a	85.53ab
T ₇	<i>(T. longibrachiatum)</i>	50.79c	76.96f
T ₈	<i>(T. reesei</i> CECT 24.3)	44.75d	79.39e
T ₉	<i>(T. reesei</i> CECT 24.4)	55.87a	84.33abcd
T ₁₀	<i>(T. reesei</i> CECT 24.6)	52.80b	85.17abc
T ₀	(Control)	56.40 a	86.04a
ارزش (p)		P= 0.0001	P= 0.0001

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

* Means within a column followed by the same letters are not significantly different at $\alpha=0.05$.

جدول ۴- درصد کاهش فیبرهای شوینده خنثی (NDF) کاه و کلش گندم تیمار شده با جدایه‌های مختلف جنس تریکودرما

Table 4- Percent reduction in NDF of wheat straw treated with different *Trichoderma* spp.

تیمارها Treatments	جدایه Isolates	درصد کاهش فیبرهای شوینده خنثی NDF reduction (%)
T ₇	<i>(Trichoderma longibrachiatum)</i>	9.083a*
T ₅	<i>(T. saturnisporum)</i>	8.513a
T ₈	<i>(T. reesei</i> CECT 24.3)	6.650b
T ₁	<i>(T. parceramosum)</i>	6.013b
T ₄	<i>(T. virens)</i>	2.383c
T ₂	<i>(T. longibrachiatum)</i>	2.173c
T ₉	<i>(T. reesei</i> CECT 24.4)	1.71cd
T ₃	<i>(T. longibrachiatum)</i>	0.933cd
T ₁₀	<i>(T. reesei</i> CECT 24.6)	0.873cd
T ₆	(Bi-2)	0.51d
سطح معنی‌دار (p)		P= 0.0001

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

* Means within a column followed by the same letters are not significantly different at $\alpha=0.05$.

شوینده اسیدی پایین‌ترین درصد کاهش را دارا بودند (جدول ۵). همبستگی چند متغیره انجام شده بین فیبرهای شوینده اسیدی و فیبرهای شوینده خنثی ($R^2 = 0.57$)، بیانگر تفاوت‌های خیلی معنی‌دار آنها ($p = 0.0010$) در رابطه با جگونگی تاثیر گونه‌ها و جدایه‌های آزمایشی بر شدت تجزیه کاه و کلش گندم می‌باشد. تریکودرما ریشه‌ای یک قارچ رشته‌ای مهم صنعتی سلولولیتیک است. این قارچ توانایی ترشح مقادیر زیاد سلولاز و همی‌سلولاز را دارا می‌باشد. در تحقیق انجام شده بیشترین مقدار کاهش ADF و NDF به این قارچ اختصاص داشته است. اما بطور جالبی جدایه‌های مختلف این قارچ توانایی متفاوتی در کاهش ADF و NDF از خود نشان دادند (جدول ۳ و ۴ و ۵).

روش فیبر خام^۱ (CF) برای اندازه‌گیری کاهش فیبر شامل اکثر سلولز، اما تنها قسمتی از لیگنین است و هیچ خاکستری را شامل نمی‌شود. بنابراین فیبر واقعی را به مقدار کمتری نسبت به ADF تخمین می‌زند (داده‌ها نشان داده نشده است). تریکودرما ریشه‌ای (T₈) سبب بیشترین کاهش فیبرهای شوینده اسیدی شد (جدول ۵). تیمارهای T₁، T₇ و T₂ در رتبه دوم تا چهارم کاهش ADF بودند که نسبت به یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بودند، اما نسبت به گونه‌ها و جدایه‌های T₁، T₄ و T₅ از نظر کاهش ADF برتری معنی‌داری نشان دادند. گونه‌ها و جدایه‌های T₃، T₉ و T₆ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته و در رابطه با کاهش فیبرهای

جدول ۵- درصد کاهش فیبرهای شوینده اسیدی (ADF) کاه و کلش گندم تیمار شده با جدایه‌های مختلف جنس تریکودرما

Table 5- Percent reduction in ADF of wheat straw treated with different *Trichoderma* spp.

تیمارها Treatments	جدایه Isolates	درصد کاهش فیبرهای شوینده اسیدی ADF reduction (%)
T ₇	(<i>Trichoderma reesei</i> CECT 24.3)	11.65 a
T ₅	(<i>T. parceramosum</i>)	5.92 b
T ₈	(<i>T. longibrachiatum</i>)	5.61 b
T ₁	(<i>T. longibrachiatum</i>)	4.87 b
T ₄	(<i>T. reesei</i> CECT 24.6)	3.60 c
T ₂	(<i>T. virens</i>)	3.55 c
T ₉	(<i>T. saturnisporum</i>)	3.12 c
T ₃	(<i>T. longibrachiatum</i>)	0.87 d
T ₁₀	(<i>T. reesei</i> CECT 24.4)	0.53 d
T ₆	(Bi-2)	0.31 d
سطح معنی دار (p)		P= 0.0001

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

* Means within a column followed by the same letters are not significantly different at $\alpha=0.05$.

بوده و فیبرهای شوینده اسیدی (ADF) را به مقدار بیشتری کاهش داده است. با توجه به توانایی گونه‌های تریکودرما ریشه‌ای، لانگی براچیاتوم و ساتورنیسپوروم در کاهش NDF و ADF، استفاده از این قارچ‌ها برای تجزیه زیستی کاه و کلش گندم را می‌توان پیشنهاد نمود. این قارچ‌ها سلولز طبیعی را به شکل تغییر یافته تبدیل کرده که توسط سایر ارگانسیم‌ها به سهولت می‌تواند تجزیه شوند. بنابراین قارچ‌های تریکودرما خصوصاً تریکودرما ریشه‌ای دارای نقش مهمی در تسریع تجزیه مواد خام اولیه و بقایای گیاهی گندم، کاهش مدت زمان کمپوست سازی در نتیجه فعالیت سریع‌تر میکروبی و ایجاد یک محیط رشد مناسب و کمپوست مطلوب می‌باشد.

بنابراین در طراحی آزمایشات مربوط به تجزیه زیستی باید به این توانایی‌های مختلف جدایه‌ها توجه بیشتری نمود. صفری سینگانی و همکاران (Safari Sinangani et al., 2005) نتیجه گیری کردند که بطور کلی درصد کاهش NDF نسبت به ADF در بقایای گیاهی گندم و برنج در طول تجزیه قارچی بیشتر بود.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این تحقیق، فیبرهای شوینده خنثی (NDF) کاه و کلش گندم در تریکودرما لانگی براچیاتوم (T₇) و ساتورنیسپوروم (T₇) نسبت به فیبرهای شوینده اسیدی (ADF) کاهش بیشتری نشان دادند. در حالیکه این نسبت برای تریکودرما ریشه‌ای (T₈) برعکس

منابع

- Adams, J.D.W., and Frostick, L.E. 2007. Investigation microbial activities in compost using mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation as an experimental system. University of Hull. Journal of Bioresource Technology 99: 1097-1102.
- Ashraf, B., Shahid, F., and Adam, T. 2007. Association of fungi, bacterial and actinomycetes with different composts. University of Karachi, Pakistan. Department of Microbiology. Journal of Botany 39(6):2141-2151.
- Baig, M.M.V., Baig, M.L.B., Baig, M.I.A., and Yasmeen, M. 2004. Saccharification of banana agro-waste by cellulolytic enzymes. African Journal of Biotechnology 3(9): 447-450
- Blackshaw, R.E., and Lindwall, C.W. 1996. Species, herbicide and tillage effects on surface crop residue cover during fallow. Canadian Journal of Soil Science 75: 559-565.
- Brown, J.A., Collin, S.A., and Wood, T.M. 1987. Enhanced enzyme production by the Cellulolytic Fungus *Penicillium pinophilum*, Mutant Strain NTC 111/6. Enzyme and Microbial Technology 9: 176-180.
- Bueno, P., Tapias, R., Lopez, F., and Diaz, M.J. 2008. Optimizing composting parameters for nitrogen conservation in composting. Journal of Bioresource Technology 99: 5069-5077.
- Caritas, U.O., and Humphrey, C.N. 2006. Effect of acid hydrolysis of *Garcinia kola* (bitter kola) pulp waste on the production of CM-cellulase and β -glucosidase using *Aspergillus niger*. African Journal of Biotechnology 5(10): 819-822.
- Chang, S.T., and Miles, P.G. 2004. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Mmedicinal Effect, and

- Environmental Impact. (2nd Ed.): CRC Press. pP. 447- 451.
- 9- Cuevas, V.C. 2005. Training Course on Preparation of Trichoderma Compost Activator in Rapid Composting Technology. IBS, CAS, UPLB:1-11.
 - 10- Espiritu, B.M., and Mina, J.T. 1993. Mass Production of Bio-Organic Fertilizers. National Institute of Molecular Biology and Biotechnology (BIOTECH-UPLB). 45-48.
 - 11- Gonzalez, R., and Rinker, D.L. 2005. Compatibility of ammonia suppressants used in poultry litter with mushroom compost preparation and production. Journal of Bioresource Technology 97:1679-1689.
 - 12- Jalk, D., Nerud, R., and Siroka, P. 1998. The effectiveness of biological treatment of wheat straw by white rot fungi. Folia Microbiologica Journal 43: 687-689.
 - 13- Moore, D., Chiu, S.W. 2001. Fungal Products as Food. Fungal Diversity Press, Hong Kong. Chapter 10 in Bio-Exploitation of Filamentous Fungi. 223-251.
 - 14- Muller, M.M., Sundman, V.O., Soininvaara, V., and Merilainen, A. 1988. Effect of chemical composition on release of nitrogen from agricultural plant materials decomposing in soil under field conditions. Biology and Fertility of Soil Journal 6: 78-83.
 - 15- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K. Klammer, S., Clercq, D., Coosemnas, D.J., Insam, H., and Swings, J. 2003. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. Journal of Annals of Microbiology 53(4): 349-410.
 - 16- Safari Sinegani, A.A., Emtiazi, G., Hajrasuliha, S., and Shariatmadari, H. 2005. Biodegradation of some agricultural residues by fungi in agitated submerged cultures. African Journal of Biotechnology 4(10): 1058-1061.
 - 17- Salar, R.K., and Aneja, K.R. 2007. Significance of thermophilic fungi in mushroom compost preparation: effect on growth and yield of *Agaricus bisporus* (Lange) sing. Journal of Agricultural Technology 3(2): 241-253.
 - 18- Savoie, J.M., and Libmond, S. 1994. Stimulation of environmentally controlled mushroom composting by polysaccharidases. World Journal of Microbiology and Biotechnology 10: 313-319.
 - 19- Scheuerell, S., and Mahafee, W. 2002. Assessing aerated and non-aerated watery fermented compost tea and *Trichoderma harzianum* T-22 for control of powdery mildew (*Sphaerotheca pannos* var. *rosae*) of rose in the Willamette valley, Oregon. Phytopathology 90: 67-69.
 - 20- Senger, C.C.D., Kozloski, G.V., Bonnacarrère Sanchez, L.M., Mesquita, F.R., Alves, T.P., and Castagnino, G.S. 2008. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. Animal Feed Science and Technology Journal 146: 169-174.
 - 21- Sharma, H.S.S. 1996. Compositional analysis of neutral detergent, acid detergent, lignin and humus fractions of mushroom compost. Thermochimica Acta. 285(2): 211-220.
 - 22- Straatsma, G., Gerrits, J., Thissen, J., and Amsing, J. 1999. Adjustment of the composting process for mushroom cultivation based on initial substrate composition. Mushroom Experimental Station, The Netherlands Journal of Bioresource Technology 72:67-74.
 - 23- Suman, B.C., and Sharma, V.P., 2005. Mushroom Cultivation, Processing and Uses. Agrobios, (India): 347- 349.
 - 24- Summerell, B.A., and Burgess, L. W. 1989. Decomposition and chemical composition of cereal straw. Soil Biology and Biochemistry 21: 551-559.
 - 25- Tang, L.G., Hon, D.N.S., Pan, S.H., Zhu, Y.Q., Wang, Z., and Wang, Z.Z. 1996. Evaluation of microcrystalline cellulose changes in ultra structural characteristics during preliminary acid hydrolysis. Journal of Applied Polymer Science 59(3): 483 - 488.
 - 26- Velazquez-Cedeno, M., Farnet, A.M., Mata, G., and Savoie, J.M. 2008. Role of *Bacillus spp.* In antagonism between *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma harzianum* in heat-treated wheat-straw substrates. Journal of Bioresource Technology 99(15):6966-73.
 - 27- Wang, T.H., Wang, T.L., Zhi-Hong, W.U., Shi-Li, L.I.U., Yi, L.U., and Yin-Bo, Q.U. 2004. Novel cellulase profile of *Trichoderma reesei* strains constructed by *cbh1* gene replacement with *EG₃* gene expression cassette. Acta Biochimica et Biophysica Sinica 36(10): 667-672 .
 - 28- Wiedow, D., Baum, C., and Leinweber, A. 2007. Inoculation with *Trichoderma saturnisporum* accelerates wheat straw decomposition on soil. Archives of Agronomy and Soil Science 53: 1-12.
 - 29- Zaldívar, M., Velasquez, J.C., Contreras, I., and Perez, L.M. 2001. *Trichoderma aureoviride* 7-121, a mutant with enhanced production of lytic enzymes: its potential use in waste cellulose degradation and/or biocontrol. Electronic Journal of Biotechnology 6(2): 8-17.