تجزیه باگاس نیشکر با استفاده از قارچ‌های تجزیه‌کننده ترکیب‌های لیگنوسلولزی

پردیس خاجی[۱]، نعیمه عنایتی ضمیر[۲*] و عبدالامیر معزی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
۲- استادیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
۳- دانشیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۴/۰۸/۰۴
پذیرش نهایی:۱۳۹۵/۰۲/۱۲

کلمات کلیدی:
باگاس،
سلولز،
کربن به نیتروژن،
لیگنین،
همی‌سلولز

* عهده دار مکاتبات
Email: n.enayatzamir@scu.ac.ir

چکیده

پیشرفت کشاورزی در دهه‌های گذشته مایه افزایش زباله‌های کشاورزی شده است. سالیانه مقدار فراوانی از زباله‌های آلی مانند باگاس نیشکر ساخته می‌شود. بیش‌ترین بخش این مانده‌های گیاهی را لیگنوسلولز تشکیل می‌دهدکه پایداری آن در برابر فروزینگی زیستی بالا است. این پژوهش برای بررسی توان قارچ‌های تجزیه-کننده ترکیب‌های لیگنوسلولزی در تجزیه باگاس نیشکر در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل قارچ در هشت سطح (T1:بدون مایه‌زنی ، T2: زادمایه *کوریولوس* ، T3: زادمایه *فانروکت کریزوسپوریوم*، T4: زادمایه *تریکودرما ویرنس*، T5: زادمایه *کوریولوس* + زادمایه *فانروکت کریزوسپوریوم*، T6: زادمایه *کوریولوس* + زادمایه *تریکودرما ویرنس*، T7: زادمایه *فانروکت کریزوسپوریوم*+ زادمایه *تریکودرما ویرنس*، T8: آمیخته سه قارچ) بود. رطوبت نمونه‌ها نزدیک ۶۰ درصد وزن باگاس حفظ و برای ۴۵ روز در دمای محیط نگهداری شدند. توده‌ها هر ۷-۵ روز یک بار برای دو هفته نخست و پس از آن هفته‌ای یک‌بار برای هواد-هی زیر و رو شدند. در پایان دوره نسبت کربن به نیتروژن، هدررفت ماده آلی، لیگنین، همی‌سلولز و سلولز نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که پیامد تیمارهای قارچ بر همه ویژگی‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار است. بیش‌ترین نسبت کربن به نیتروژن پس از نمونه شاهد در تیمار دارای *تریکودرما ویرنس* (۲۵/۸) و کم‌ترین اندازه آن در تیمار آمیخته سه قارچ (۱۴/۳۷) به‌دست آمد. بیش‌ترین اندازه هدرفت ماده آلی در تیمار آمیخته سه قارچ دیده شد. کم‌ترین اندازه لیگنین و سلولز در نمونه دارای آمیخته سه قارچ و نمونه دارای *کوریولوس* بدون ناهمانندی معنی‌دار اندازه‌گیری شد. بنا به این یافته‌ها می‌توان بهره‌گیری از قارچ *کوریولوس* را برای تجزیه باگاس نیشکر حتی به جای آمیخته سه قارچ پیشنهاد داد.

مقدمه

توان باروری خاک بستگی به ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی آن و برهم‌کنش آن‌ها دارد(۱۹). هماهنگی و پایداری این ویژگی‌ها، به همراه مدیریت شایسته بهره‌برداری از خاک، موجب تداوم باروری می‌شود. هرچند بهره‌گیری از کودهای کانی تندترین و کاراترین راه برای بهبود حاصل‌خیزی خاک و رشد گیاه به شمار می‌رود، لیکن هزینه‌های بالای خرید و کاربرد کود، آلودگی و ویرانی محیط زیست و خاک، نگرانی‌هایی را به دنبال خواهد داشت(۱۸)؛ بنابراین، بهره‌گیری از کودهای آلی و مانده‌های گیاهی و غذایی، به همراه کاربرد بهینه کودهای کانی، کارکرد ویژه‌ای در نگهداری باروری، ساختمان و زندگی ریزجانداران خاک دارد (۵). پیامدهای سودمند مواد آلی در بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک‌های کشاورزی و کارکرد آن‌ها در افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی از دیرباز مورد توجه بشر بوده است(۳۰). تخریب ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک در نبود کودهای آلی و انجام کشت و کار بیش از اندازه و نیز آلودگی‌های زیست محیطی وابسته به کاربرد بی‌رویه کودهای شیمیایی در کشاورزی، سبب شده که در سال‌های گذشته کاربرد کودهای آلی دوباره مورد توجه قرار گیرد؛ به گونه‌ای که مدیریت مطلوب ماده آلی در خاک، قلب کشاورزی پایدار نام گرفته است. ماده آلی منبع مواد معدنی و انرژی برای گیاهان و جانداران خاک است و با تشدید فعالیت زیستی در خاک به چرخش بهتر عناصر غذایی و قابلیت جذب آن‌ها کمک می‌کند(۱). خوشبختانه خواستگاه کودهای آلی در ایران، دارای گوناگونی فراوانی است و شامل کودهای جانوری، کمپوست به‌دست آمده از مانده های شاخه و برگ گیاهان، کمپوست به‌دست آمده از تخمیر سبوس برنج و کلش گندم؛ زباله‌های کشت و صنعت-های تولید قارچ خوراکی؛ زباله‌های کارخانه‌های دخانیات و چای خشک‌کنی، زباله های کارخانه‌های قند، کمپوست به‌دست آمده از تخمیر زباله‌های شهری، کمپوست به‌دست آمده از تخمیر لجن فاضلاب شهری، زباله های نیشکر، کود-های آلی و دیگر مواد مانند آن می‌باشد که افزون بر بهسازی نسبت کربن به نیتروژن، غلظت عناصر غذایی مورد بهره‌گیری گیاهان کشاورزی را افزایش می‌دهد، است. بیش‌ترین بخش مانده‌های گیاهی ترکیب‌های لیگنوسلولزی است که نزدیک به نیمی از مواد تولید فتوسنتزی را می‌سازند. باگاس مواد باقی‌مانده از خرد کردن ساقه نیشکر برای استخراج شیره نیشکر است. در باگاس اندازه ترکیب سلولز و همی سلولز ۷۰-۶۰ درصد و محتوای لیگنین بین ۲۵-۵ درصد متغیر است (۲۵). سلولز و همی‌سلولز درشت‌مولکول‌هایی از قندهای گوناگون هستند، در حالی که لیگنین یک پلیمر پیچیده شامل واحدهای فنیل پروپان است که با پیوندهای گوناگونی به هم پیوسته‌اند، به گونه‌ای که انواع پیوندهای شیمیایی بین یگانهای آن دیده می‌شود (۱۴) و به دلیل این پیچیدگی، پایداری آن در برابر تخریب زیستی با میکروب‌ها زیاد است. یکی از روش‌های تجزیهٔ باگاس در یک مدت زمان کوتاه بهره‌گیری از قارچ‌های تجزیه‌کننده لگنین می‌باشد. با تجزیه مواد با این قارچ‌ها، از آنها همانند منابع تجدید پذیر برای تولید محصولات کاغذی، سوخت، مواد شیمیایی و کودها بهره-گیری می‌شود(۴ و ۲۴). لیگنین پلیمری غیرخطی فنیل پروپانوئیدی است که به خاطر ساختار پیچیده آن مقاوم به تجزیه زیستی است. تنها گروه کمی از قارچ‌های رشته‌ای خصوصا قارچ‌های پوسیدگی سفید قادر به تجزیه لیگنین هستند. این قارچ‌ها به دلیل دارا بودن آنزیمهایی از جمله لیگنین‌پراکسیداز، منگنزپراکسیداز و لاکاز توانایی تجزیه لیگنین را دارند(۳۵). از جمله قارچ‌های پوسیدگی سفید می-توان به *فانروکت کریزوسپوریوم* و *ترامتس ورسیکالر* اشاره کرد. توانایی این قارچها در تجزیه ترکیبات لیگنینی و آروماتیک به اثبات رسیده است(۱۲و۱۳). در این راستا پژوهش‌های پرشماری انجام گرفته است که از آن‌ها می‌توان به بررسی‌های محمدی ترکاشوندی (۲۰۱۲) اشاره نمود که کاهش نسبت C/N باگاس نیشکر را در تیمار قارچ‌های *Trichoderma harzianum* و *T. koningii* گزارش کرده است (۲۱). همچنین مولا و همکاران در سال (۲۰۰۱) در پژوهشی کاهش معنی‌دار C/N را در باگاس نیشکر در

تیمار مایه زنی ریزجانداران در فرآیند کمپوست شدن گزارش نمودند(۲۳). کاهش ۱۶ درصدی لیگنین و ۳ درصدی سلولز باگاس تیمار شده با *C. subvermispora* گزارش شده است(۲۸). تجزیه باگاس نیشکر وکاهش سلولز و لیگنین آن بعد از ۹۰ روز توسط *Polyporus giganteus* (۲) و ۶۰ روز توسط *Gmodenna* MVHC 5347 *uppimuturn* و *Hyphodontia* sp. MVHC 5544 بدون وجود همبستگی بین مقدار آنزیم‌های لیگنولیتیک و ترکیب بقایای به جای مانده گزارش شده است (۸).

در بیش‌تر بررسی‌ها، زمان تجزیه باگاس دراز بوده است(۶۰ تا ۹۰روز) و همچنین نسبت کربن به نیتروژن به اندازه‌ای کاهش نیافته (نسبت بهینه کم‌تر از ۲۰ می‌باشد که در اکثر مطالعات این نسبت بالاتر از ۳۰ بوده است)که پدیده رقابت نیتروژن در خاک پیش نیاید. با توجه به حجم بالای تولید سالیانه باگاس در کشت و صنعت نیشکر دسترسی به روشی مناسب که در مدت زمان کوتاه حداکثر ۴۵ روز بتواند باگاس را به کمپوست تبدیل کند، ضروری به‌نظر می‌رسد.

این پژوهش با هدف بررسی تجزیه باگاس وکاهش نسبت C/N آن انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده سازی بستر

باگاس به‌کاررفته از شرکت کشت و صنعت نیشکر امیرکبیر اهواز تهیه شد. باگاس‌ها پس از هوا خشک شدن به تکه های ۶-۳ سانتی متری خرد شده و به منظور نرم شدن باگاس به طور کامل در یک ظرف آب داغ فرو برده و برای ۲۰ ساعت در آن نگهداری شدند (۵۰ لیتر آب برای هر یک کیلوگرم باگاس خشک بهره‌گیری شد) سپس آب آن کشیده شد و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ دقیقه سترون گردید. برای پایین آوردن نسبت کربن به نیتروژن به ازای هر تن باگاس ۱۰ کیلوگرم اوره به نمونه ها افزوده شد(۲۰). همچنین اندازه 100 g/kg کود گاوی سترون شده با باگاس آمیخته شد (۳۶).

آماده کردن ریزجانداران به‌کاررفته در آزمایش

قارچ *Phanerochaete chrysosporium* از دکتر دان کولن از آزمایشگاه محصولات کشاورزی مدیسون آمریکا، قارچ *Coriolus* sp از موسسه میکروبیولوژی کاربردی دانشگاه علوم کشاورزی وین اتریش و قارچ *Trichoderma virens* از گروه گیاه-پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند.

آماده‌سازی مایه مایه‌زنی و روش‌کار

برای فراوان سازی قارچ از کشت آن در پلیت دارای محیط کشت PDA بهره‌گیری شد. از سوسپانسیون اسپور هر قارچ به هر واحد آزمایشی به اندازه‌ای افزوده شد که 10^5 اسپور در هر گرم توده داشته باشیم. در تیمارهای دارای آمیخته سه قارچ به اندازه‌ای اسپور افزوده شد که مجموع نسبت قارچ‌ها 10^5 اسپور در هر گرم توده باشد(۳). برای پوشاندن سطح توده‌ها از ورقه‌های پلاستیکی سفید دارای درز بهره‌گیری شد. رطوبت توده‌ها به‌صورت وزنی نزدیک ۶۰ درصد وزن باگاس نگهداری شد (۳۶). توده‌ها هر ۷-۵ روز یک بار برای دو هفته نخست و پس از آن هفته‌ای یک بار برای هوادهی زیر و رو شدند (۳۷).

تیمارها و طرح آزمایشی

این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی در یک دوره ۴۵ روزه انجام شد. این آزمایش در مجموع ۲۴واحد آزمایشی داشت که به گونه زیر در ۳ تکرار به‌کار رفت:

T1: بدون مایه‌زنی ، T2: زادمایه *کوریولوس* ، T3: زادمایه *فانروکت کریزوسپوریوم*، T4: زادمایه *تریکودرما ویرنس*، T5: زادمایه *کوریولوس* + زادمایه *فانروکت کریزوسپوریوم*، T6: زادمایه *کوریولوس* + زادمایه *تریکودرما ویرنس*، T7: زادمایه *فانروکت کریزوسپوریوم*+ زادمایه *تریکودرما ویرنس*، T8: آمیخته سه قارچ.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵درصد انجام شد.

اندازه‌گیری ترکیب‌های لیگنوسلولزی

برای اندازه‌گیری ترکیب‌های لیگنوسلولزی نمونه‌های باگاس (تیمار شده و نشده با قارچ) خشک‌شده در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس وزن شدند و به هر کدام از نمونه-ها ۵۰ میلی لیتر استون برای چربی‌زدایی افزوده شد. نمونه‌ها برای ۳ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. سپس برای رسیدن به یک وزن ثابت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. اندازه ماده استخراجی لیگنوسلولزی با کم کردن وزن نمونه‌ها پیش و پس از تیمار برآورد شدند (۳۳ و ۱۷). برای اندازه‌گیری اندازه همی‌سلولز نمونه‌ها یک گرم از لیگنوسلولز خشک شده در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد، سپس به هر کدام از نمونه‌ها ۱۵۰ میلی لیتر سود ۰/۵ نرمال افزوده شد و برای ۳/۵ ساعت در گرمابه با دمای ۱۰۰درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از خنک شدن نمونه‌ها با پمپ خلاء فیلتر شدند و تا رسیدن به pH نزدیک ۷ با آب مقطر شسته شدند، سپس نمونه‌ها برای رسیدن به یک وزن ثابت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. اندازه همی-سلولز از تفاوت وزن نمونه ها پیش و پس از این تیمار برآورد شد(۳۳ و ۱۷). برای اندازه‌گیری اندازه لیگنین نمونه‌ها ۰/۳ گرم از ماده استخراجی خشک شده توزین و به هرکدام از نمونه ها ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد افزوده شد. برای انجام عمل هیدرولیز نمونه‌ها برای ۲ ساعت با سرعت ۱۳۰دور بر دقیقه تکان داده شدند و پس از آن برای تکمیل فرآیند هیدرولیز برای ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند؛ سپس به نمونه‌ها ۸۴ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد و برای یک ساعت با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اوتوکلاو شدند. پس از خنک شدن نمونه‌ها صاف گردیدند (۳۳). لیگنین نامحلول در اسید با خشک کردن نمونه‌ها در آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس تا زمان رسیدن به یک وزن ثابت، و برآورد خاکستر با سوزاندن نمونه‌های هیدرولیز شده در کوره با دمای ۵۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۴ساعت برآورد شد. لیگنین محلول در اسید با اندازه‌گیری اندازه جذب نمونه‌های هیدرولیز شده با اسید توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۲۰ نانومتر برآورد شد. در پایان لیگنین کل از مجموع لیگنین محلول و نامحلول اسیدی برآورد شد. با احتساب این‌که بخش عمده ترکیب‌های زیست توده گیاهی، لیگنین، سلولز و همی سلولز باشند؛ اندازه سلولز از تفاوت مجموع مواد اندازه گیری شده به‌دست آمد(۳۲). اندازه هدررفت مواد آلی از روش خاکسترگیری در دمای ۴۳۰ درجه سلسیوس و تفاوت وزن خاکستر در شروع فرایند تجزیه باگاس و مقدار خاکستر در انتهای فرایند، یعنی بعد از انکوباسیون ۴۵ روزه به دست آمد(۲۶). اندازه نیتروژن نمونه‌ها نیز به روش کجلدال تعیین شد(۳۴).

مورفولوژی سطح و مقطع عرضی نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی بدون نیاز به آماده‌سازی، فقط با کمی خشک کردن در هوای آزاد بررسی شد. برای آگاهی از شکستن پیوندهای لیگنینی و تجزیه سلولز بهترین نمونه پس از اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی گزینش و طیف مادون قرمز آن پس از آماده‌سازی بر روی قرص بروماید پتاسیم گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس پیامد تیمارهای قارچی در جدول ۱ نشان داده شده است. پیامد تیمارها بر همه ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۰/۰۰۱ معنی‌دار شد. نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۱) نشان داد که پیامد کاربرد قارچ بر کاهش ماده آلی در سطح یک درصد معنی‌دار است. آزمون میانگین داده‌ها (شکل۱) نشان داد بیش‌ترین هدر رفت ماده آلی به ترتیب مربوط به نمونه به‌دست آمده از آمیخته سه قارچ (۷۲ درصد) و پس از آن نمونه به‌دست آمده از تجزیه با *کوریولوس* (۶۶درصد) بود. کم‌ترین اندازه هدر رفت ماده آلی پس از شاهد در نمونه دارای *تریکودرما ویرنس* (۴۴درصد) دیده شد. با توجه به این‌که کاهش ماده آلی نشانگر افزایش فعالیت ریزجانداران و تجزیه ماده آلی است، این کاهش در

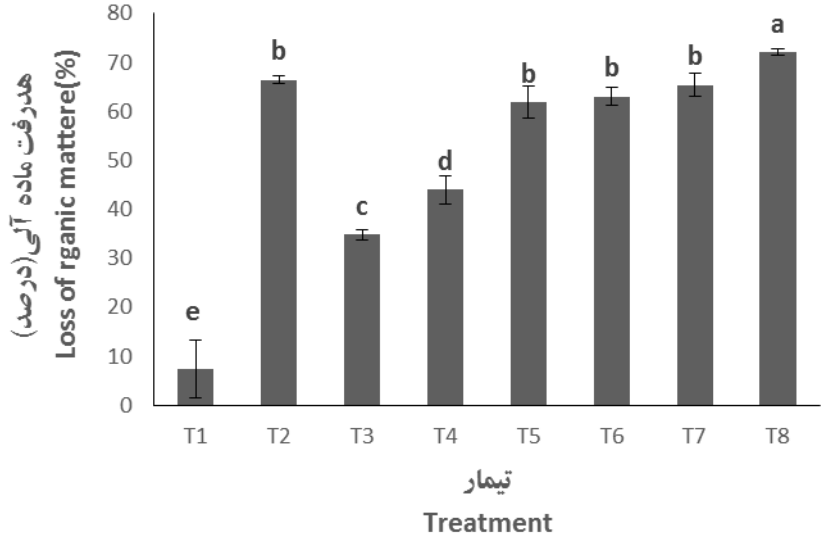
تیمارهای مایه زنی شده با ریزجانداران بیش‌تر بود که نشان‌دهنده توانایی ریزجانداران مورد استفاده در تجزیه باگاس است.

درواقع کاربرد آمیخته سه قارچ مایه افزایش شدت تنفس و کاهش ماده آلی شد که نشان‌دهنده موفق بودن این تیمار زیستی در ساخت سریع کمپوست است. بالاتر بودن اندازه تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی در نمونه‌های با هدر رفت بیش‌تر در ماده آلی و کم‌تر بودن اندازه این دو ویژگی در نمونه‌های با هدر رفت کم‌تر ماده آلی، نشان دهنده اندازه تأثیر تیمارها بر هدر رفت ماده آلی است (با مقدار تنفس ۱۳۰/۳۴ میلی‌گرم بر صدگرم در روز و کربن زیست‌توده ۱۰۴۶/۰۴ میلی‌گرم

جدول (۱) میانگین مربعات پیامد تیمارها بر ویژگی های اندازه‌گیری شده
Table (1) Mean square of treatments effect on measured parameters

سلولز Cellulose	همی‌سلولز Hemicellulose	لیگنین Lignin	هدر رفت ماده آلی Losses of organic matter	C/N	درجه آزادی DF	منبع تغییرات SOV
31.96***	80.28***	25.04***	13.02***	628.79***	7	تیمار Treatment
6.7	0.37	0.24	8.08	1.33	16	خطا Error
9.24	2.91	3.32	5.23	4.66	-	ضریب تغییرات CV

*** معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۰۱ *** Significant at p<0.001



شکل(۱) آزمون میانگین پیامد تیمارها بر هدررفت ماده آلی نمونه‌ها
Figure (1) Mean comparison of treatment effect on loss of organic carbon of samples

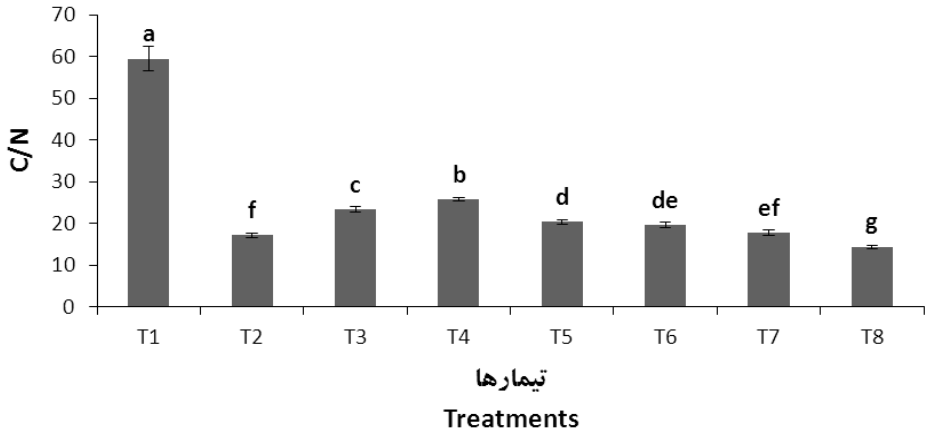
ستون‌های با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p<0.05$) نمی‌باشند
Numbers followed by the same letters are not significantly different ($p<0.05$)

در ۱۰۰ گرم در تیمار آمیخته سه قارچ). تیکوئیا و همکاران (۲۰۰۰) نیز کاهش اندازه ماده آلی را در کمپوست به‌دست آمده از زباله های چوبی و کود مرغی گزارش دادند. پیامد تیمارها در سطح ۰/۰۰۱ بر نسبت کربن به نیتروژن نمونه‌ها معنی‌دار بود (جدول۱). نتایج به‌دست آمده از بررسی تغییرات نسبت کربن به نیتروژن، نشان داد که اندازه این شاخص در همه تیمارهای مورد آزمایش در برابر تیمار شاهد روند کاهشی داشته است (شکل۲). بیش‌ترین نسبت کربن به نیتروژن پس از نمونه شاهد در نمونه دارای *تریکودرما ویرنس* (۲۵/۸) دیده شد. کم‌ترین اندازه این نسبت وابسته به نمونه به‌دست آمده از آمیخته سه قارچ (۱۴/۳۷) بود. شاخص C/N از اساسی‌ترین و مهم‌ترین شناسه‌های رسیدگی کمپوست در فرآیند تجزیه باگاس است، زیرا نشان‌دهنده قابلیت دسترسی مواد کمپوست است(۲۹). معمولاً نزدیک ۶۵ درصد کربن در طی تجزیه به‌کاررفته و به‌گونه گاز دی‌اکسیدکربن آزاد می‌شود. مانده آن در ساخت ساختمان یاخته با ازت شرکت می‌کند. البته این فرآیند هنگامی رخ می‌دهد که اندازه C/N پسماند بسیار بالا باشد(۹). نسبت‌های بالای C/N موجب تصاعد نیتروژن می‌شود و بدین ترتیب اندازه ازت کاهش می‌یابد، درحالی‌که مقادیر پایین C/N می‌تواند اندازه زیادی از عناصر تجمع یافته در خاک را تحت تأثیر رشد گیاه، آزاد کند (۲۷). کاهش نسبت C/N بیان‌کننده افزایش درجه هومیفیکاسیون مواد آلی می‌باشد(۶). مولدس و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند، کمپوستی بالغ در نظر گرفته می‌شود که نسبت کربن به نیتروژن آن نزدیک ۱۷ یا کم‌تر باشد، مگر آن‌که مواد لیگنوسلولزی آن پس‌مانده باشند(۲۲). نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۱) نشان داد که پیامد تیمارها بر اندازه لیگنین نمونه‌ها در سطح احتمال۰/۰۰۱ معنی‌دار است. بیش‌ترین اندازه تجزیه لیگنین در باگاس مایه‌زنی شده با آمیخته سه قارچ دیده شد که در آن اندازه لیگنین از ۲۱/۲ درصد در نمونه اولیه باگاس به ۱۲/۰۶ درصد کاهش یافت (شکل۳). اندازه لیگنین در این تیمار با اندازه آن در باگاس تجزیه‌شده با *کوریولوس* (۱۲/۰۹درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت. بیش‌ترین اندازه لیگنین پس از شاهد (۲۰/۲۳ درصد) به ترتیب در نمونه به‌دست‌آمده از تجزیه با *تریکودرما ویرنس* (۱۷/۵۱درصد) و *فانروکت کریزوسپوریوم* (۱۶/۷۹درصد) و به‌دست آمد.

کاهش چشم‌گیر لیگنین در نمونه‌های تیمارشده در برابر نمونه شاهد، می‌تواند به دلیل شکستن حلقه‌های آروماتیک لیگنین با ریزجانداران مایه‌زنی شده و تبدیل این حلقه‌ها به پلی‌ساکاریدهای جدید و هوموس باشد (۷). بالاتر بودن مقادیر تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی در نمونه‌های با درصد بالاتر تجزیه لیگنین و کم‌تر بودن مقادیر این دو پارامتر در نمونه‌های با درصد پایین تجزیه لیگنین نشان‌دهنده اندازه تأثیر تیمارها بر تجزیه لیگنین است. همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های لاکاز و منگنز پراکسیداز (با فعالیت ۳۰/۶۵u/l لاکاز و فعالیت ۱۶/۹۸u/l منگنزپراکسیداز) نیز می‌تواند نشان‌دهنده اندازه تأثیر هر تیمار در اندازه تجزیه لیگنین باگاس باشد. آرورا و همکاران (۲۰۰۲) دیدند که قارچ‌های سپید پوساننده با مقادیر بالای لاکاز، لیگنین بیش‌تری را تجزیه نموده و ترکیب دیگر آنزیم‌های لیگنینولیتیک با آنزیم لاکاز مایه کاهش بیش‌تر لیگنین می‌شود (۳).

لاکاز متعلق به گروهی از آنزیم‌ها است که اکسیدازهای مس آبی نامیده می‌شوند. بسیاری از قارچ‌های پوسیدگی سفید از جمله *کوریولوس* لاکاز تولید می‌کند (۱۲)، اما برخی قارچ‌ها از جمله *فانروکت‌کریزوسپوریوم* به‌کار گرفته در پژوهش حاضر، لاکاز تولید نمی‌کند(۱۳). آنزیم لاکاز بر خلاف لیگنین و منگنز پراکسیداز به تنهایی قادر به شکستن پیوندها در ترکیبات آروماتیک و غیر آروماتیک است و نیاز به کوفاکتوری ندارد. بنابراین از مهم‌ترین دلایل توانایی بالای *کوریولوس* در تجزیه لیگنین توانایی بالای آن در تولید لاکاز است(۱۲).

کومار و همکاران (۲۰۱۰) در تیمار قارچ‌های تجزیه-کننده ترکیب‌های لیگنوسلولزی در تجزیه زباله‌های کارخانه نیشکر، کاهش چشم‌گیری به لحاظ اندازه لیگنین نمونه‌ها دیدند(۱۶). پندی و همکاران (۲۰۱۲) نیز کاهش چشم‌گیری در اندازه لیگنین باگاس تیمار شده با آب داغ به همراه قارچ

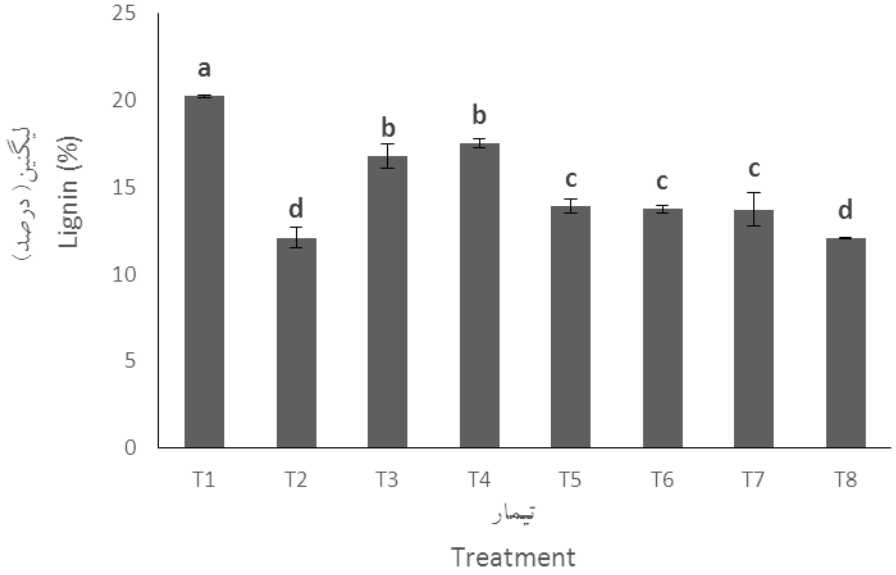


شکل(۲) آزمون میانگین پیامد تیمارها بر C/N نمونه‌ها

Figure (2) Mean comparison of treatment effect on C/N of samples

تونهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letters are not significantly different ($p<0.05$)



شکل (۳)آزمون میانگین پیامد تیمارها بر اندازه لیگنین نمونه‌ها

Figure (3) Mean comparison of treatment effect on lignin amount of samples

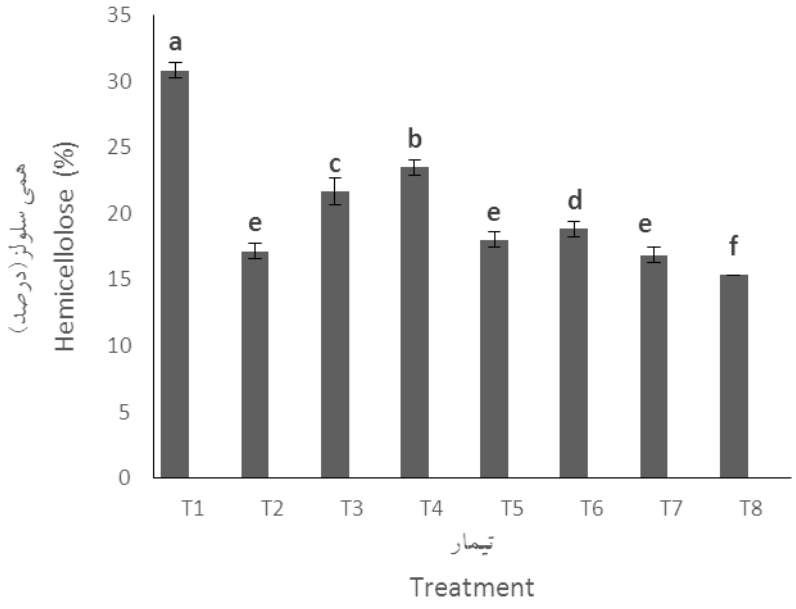
تونهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letters are not significantly different ($p<0.05$)

Pleurotus citrinopileatus را گزارش کردند. شارما (۲۰۱۰) گزارش کرد که *فانروکت کریزوسپوریوم* در مدت ۶۰ روز می‌تواند ۳۹/۴ درصد از لیگنین کاه برنج را تجزیه کند(۳۱)؛ همچنین سینگ و همکاران (۲۰۱۰) نیز در گزارش‌های خود نشان دادند که این قارچ می‌تواند در مدت ۲ هفته ۲۰/۷ درصد از لیگنین کاه گندم را تجزیه نماید (۳۲).

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۱) نشان داد که پیامد تیمارها در سطح احتمال۰/۰۰۱ بر اندازه همی‌سلولز نمونه‌ها معنی‌دار است. آزمون میانگین داده‌ها (شکل ۴) نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار نوع قارچ بر اندازه همی‌سلولز نمونه‌ها است. بیش‌ترین اندازه همی‌سلولز پس از نمونه شاهد در نمونه تیمار شده با *تریکودرما ویرنس* (۲۳/۵ درصد) و کم‌ترین اندازه همی‌سلولز در نمونه تیمار شده با آمیخته سه قارچ (۱۵/۳۳درصد) دیده شد. نتایج این پژوهش با نتایج کومار و همکاران (۲۰۱۰) که در تیمار قارچ‌های تجزیه‌کننده ترکیب های لیگنوسلولزی در تجزیه زباله‌های کارخانه نیشکر، کاهش چشم‌گیری در اندازه همی‌سلولز نمونه‌ها دیده نمودند، همخوانی دارد.

پندی و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهش‌های خود کاهش چشم‌گیری در اندازه همی‌سلولز باگاس تیمار شده با آب داغ به همراه قارچ *Pleurotus citrinopileatus* دیدند. دونگ و همکاران نیز (۲۰۱۳) کاهش اندازه همی‌سلولز در باگاس تیمار شده با قارچ‌های تجزیه‌کننده ترکیب های لیگنوسلولزی را گزارش کردند (۱۰). نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۱) نشان‌دهنده معنی‌داری پیامد تیمارها در سطح احتمال ۰/۰۰۱ بر اندازه سلولز نمونه‌ها است. آزمون میانگین پیامد بهره‌گیری از قارچ (شکل۵) نشان داد که کم‌ترین اندازه سلولز به نمونه به‌دست آمده از تجزیه با آمیخته سه قارچ (۲۳/۹۷ درصد) و پس از آن به نمونه تجزیه شده با *کوریولوس* (۲۴/۴ درصد) اختصاص دارد، که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

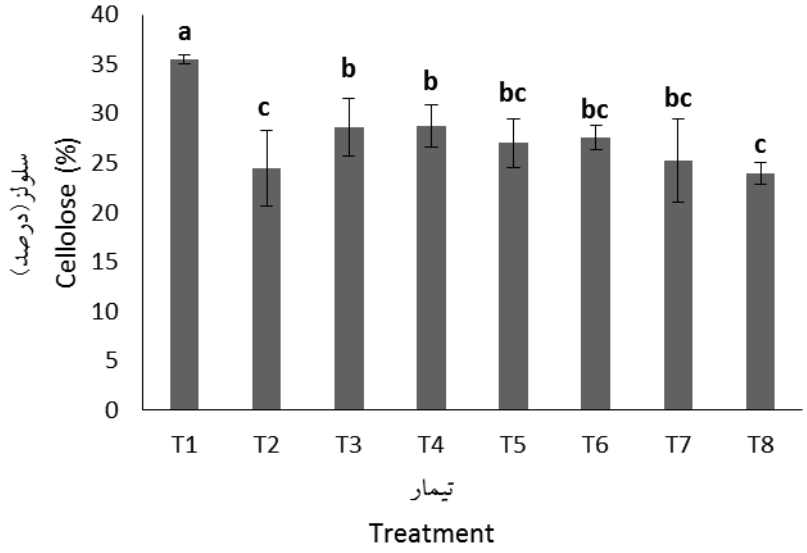


شکل(٤) آزمون میانگین پیامد تیمارها بر اندازه همی‌سلولز نمونه‌ها

Figure (4) Mean comparison of treatment effect on hemicellulose amount of samples

ستون‌های با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letters are not significantly different ($p<0.05$)



شکل(۵) آزمون میانگین پیامد تیمارها بر اندازه سلولز نمونه‌ها

Figure (5) Mean comparison of treatment effect on cellulose amount of samples

تونهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$)

بیش‌ترین اندازه سلولز پس از نمونه شاهد در نمونه تجزیه شده با *تریکودرما ویرنس* (۲۸/۶۹ درصد) دیده شد.

قارچ‌های سپید پوساننده با ساخت آنزیم‌های تجزیه‌کننده ترکیب‌های لیگنوسلولزی مانند لاکاز، منگنز پراکسیداز و لیگنین پراکسیداز بر تجزیه لیگنین، سلولز و همی سلولز تأثیر می‌گذارند. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج دونگ و همکاران[1] (۲۰۱۳) که کاهش اندازه سلولز را در باگاس نیشکر دیدند، همخوانی داشت (۱۰). کومار و همکاران[2] (۲۰۱۰) نیز با تجزیه زباله‌های کارخانه نیشکر با قارچ‌های تجزیه‌کننده ترکیب‌های لیگنوسلولزی، کاهش چشم‌گیری در اندازه سلولز نمونه-ها دیدند. پندی و همکاران[3] (۲۰۱۲) در پژوهش های خود کاهش چشم‌گیری در اندازه سلولز را در باگاس تیمار شده با آب داغ به همراه قارچ *Pleurotus citrinopileatus* گزارش کردند (۲۵).

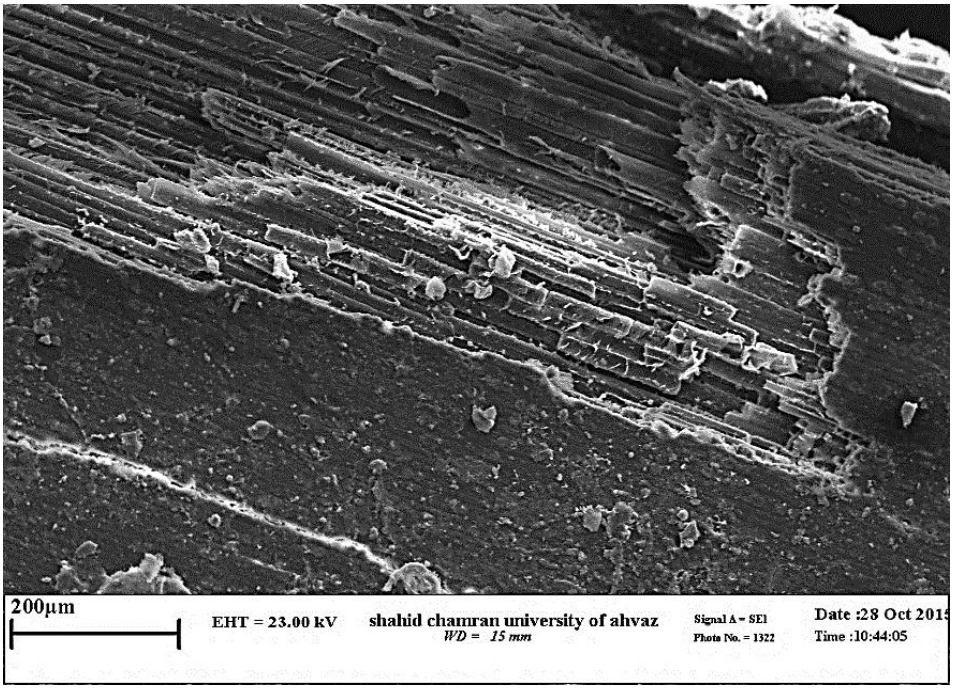
تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی وابسته به نمونه شاهد (بدون مایه زنی میکروبی) و نمونه به‌دست آمده از تجزیه با آمیخته سه قارچ پس از ۴۵ روز انکوباسیون در اشکال ۶و۷ ارائه شده است. با مقایسه اشکال به راحتی می‌توان به تأثیر مایه‌زنی میکروبی بر تخریب و تجزیه باگاس پی برد. در شکل ۶ که وابسته به نمونه شاهد است، فیبرهای تخریب نشده باگاس دیدنی است؛ در برابر آن در شکل ۷ وابسته به نمونه به‌دست آمده از آمیخته سه قارچ‌ها افزون بر حضور میسیلیوم‌های قارچ در رویه باگاس، تخریب باگاس به روشنی دیده می‌شود.

طیف مادون قرمز نمونه تیمار نشده با قارچ و نمونه تیمار شده با آمیختهٔ سه قارچ نشان دهنده تاثیر قارچ بر تجزیه باگاس است. پیک‌های دیده شده در نمونه‌ها در بازه ۲۹۱۵-۲۹۳۱ وابسته به پیوندهای زنجیره C-H آلیفاتیک می‌باشد. پیوندهای قوی دیده شده در بازه ۱۶۴۸-۱۶۷۰ برای C1 و C2 وابسته به ارتعاشات C=C آروماتیک، کوئینین‌ها و آمیخته کربوکسیل‌ها و کتون‌ها و C=O غیر مزدوج گروه‌های کربونیک لیگنین و

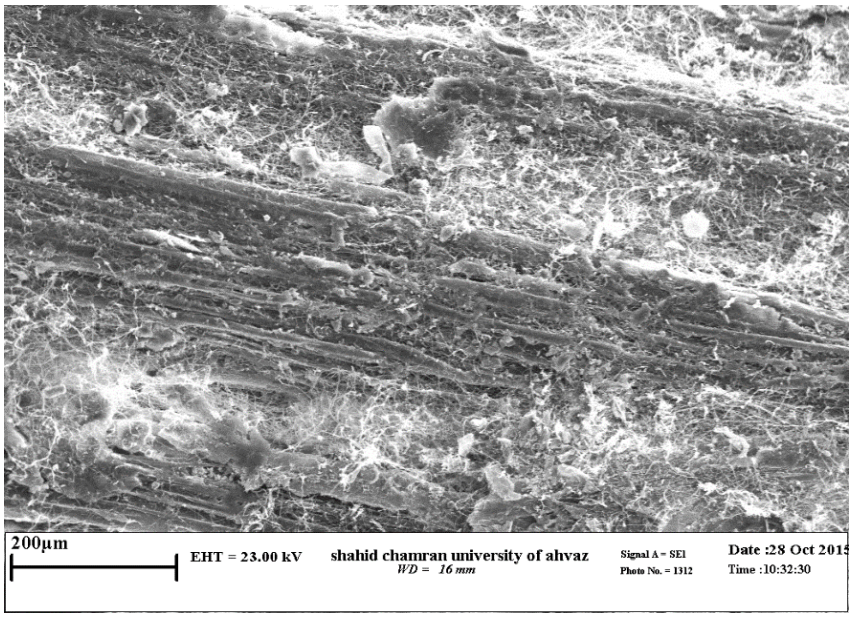
1- Dong *et al.*
2- Kumar *et al.*
3- Pandey *et al.*

همی‌سلولز می‌باشد. پیک‌های مشخص شده در بازه ۱۰۷۰-۱۰۳۰ وابسته به کربوهیدرات‌ها، ترکیب های آروماتیک و پلی ساکاریدها است (۱۱). مقایسه پیک‌ها در اشکال (۸ و ۹) نشان دهنده کاهش شدت جذب در بازه ۲۹۳۱-۲۹۱۵ بود که این کاهش در شدت جذب ممکن است به دلیل تجزیه زیستی لیپیدها و کربوکسیلات‌ها باشد. افزایش شدت جذب در محدوده-های ۱۶۷۰-۱۶۴۸ و ۱۰۷۰-۱۰۳۰ وابسته به C=C و C=O در گروه‌های آروماتیک و پلی ساکاریدها بوده باشد که نشان‌دهنده شکستگی لیگنین، همی‌سلولز و سلولز است. کاهش شدت جذب در بازه ۱۴۵۶-۱۴۵۳ وابسته به تغییر شکل C-H در لیگنین است که نشان دهنده تخریب لیگنین است (۱۱).

افزایش نسبت C آروماتیک به C آلیفاتیک شاخصی از افزایش درجه تجزیه ترکیب‌های آلی در نظر گرفته می‌شود. در فرآیند ساخت کمپوست، افزایش مشابه در این بازه مرتبط با ثبات و بلوغ کمپوست است (۱۵).

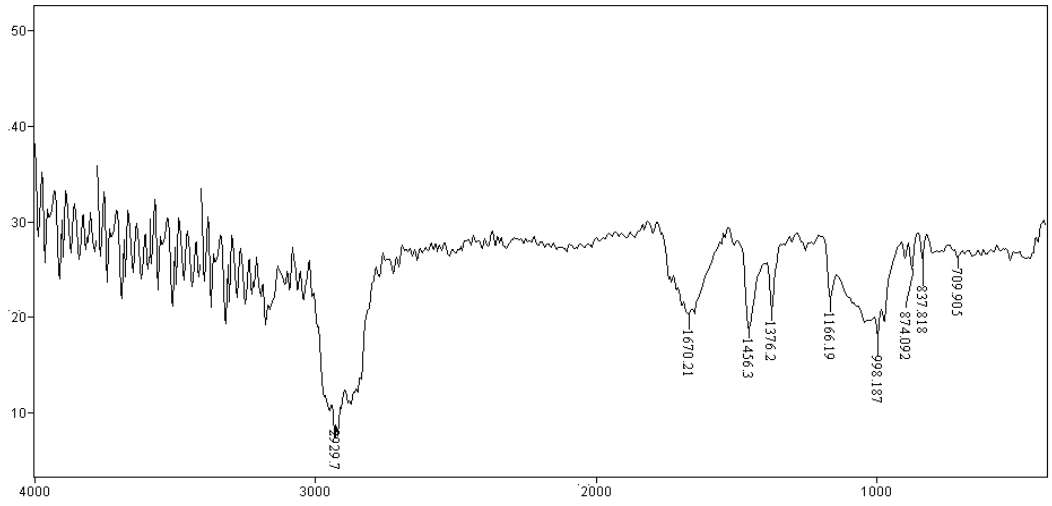


شکل (٦) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی باگاس بدون مایه زنی میکروبی (شاهد)
Figure (6) SEM micrograph of bagasse without inoculation with magnification of 200µm



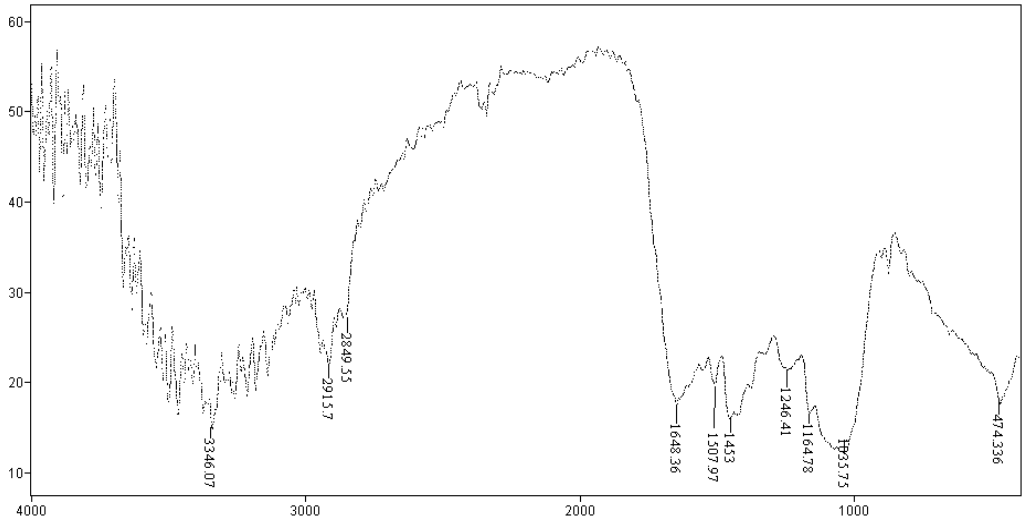
شکل (۷) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی باگاس تجزیه شده با آمیخته سه قارچ

Figure (7) SEM micrograph of decomposed bagasse with fungus consortium with magnification of 200µm



شکل (۸) طیف مادون قرمز باگاس بدون مایه زنی میکروبی (شاهد)

Figure (8) FTIR of bagasse without inoculation



شکل(۹) طیف مادون قرمز باگاس تجزیه شده با آمیخته سه قارچ
Figure (9) FTIR of decomposed bagasse with fungus consortium

نتیجه‌گیری

قارچ‌های پوسیدگی سفید با تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده ترکیبات لیگنوسلولزی مانند لاکاز، منگنز پراکسیداز و لیگنین پراکسیداز بر تجزیه لیگنین، سلولز و همی سلولز تأثیر می‌گذارند. کاهش قابل ملاحظه لیگنین در نمونه‌های کمپوست نسبت به نمونه شاهد، می‌تواند به دلیل شکستن حلقه‌های آروماتیک لیگنین توسط ریزجانداران مایه‌زنی شده و تبدیل این حلقه‌ها به پلی‌ساکاریدهای جدید و هوموس باشد.

با توجه نتایج این تحقیق، بهترین کمپوست تولید شده از نظر پایین بودن نسبت کربن به نیتروژن در تیمار آمیخته سه قارچ و پس از آن در تیمار قارچ *کوریولوس* به‌دست آمد. مقایسه طیف مادون قرمز نمونه حاصل از تجزیه با آمیخته سه قارچ و شاهد، تجزیه و شکستن ساختار لیگنین باگاس را تائید می‌کند.

کاهش بالای ترکیبات لیگنینی در تیمار حاوی *کوریولوس* به دلیل توانایی این قارچ در تولید آنزیم لاکاز می‌باشد.

آنزیم‌های لیگنین پراکسیداز و منگنز پراکسیداز تولید شده توسط *فانروکت کریزوسپوریوم* نیز قادر به تجزیه ترکیبات سخت‌تجزیه‌پذیر هستند؛ اما از محدودیت‌های این آنزیم‌ها عدم پایداری آن‌ها در برابر H_2O_2 است و بعلاوه این آنزیم‌ها برای عملکرد خود نیازمند Mn برای منگنز پراکسیداز و وراتریل الکل برای لیگنین پراکسیداز هستند، در حالی‌که لاکاز به تنهایی قادر به شکستن پیوندها در ترکیبات آروماتیک و غیر آروماتیک است و نیاز به کوفاکتوری ندارد.

بنابراین یافته‌ها می‌توان بهره‌گیری از قارچ *کوریولوس* را برای ساخت کمپوست شایسته دانست و حتی به جای آمیخته سه قارچ پیشنهاد داد.

منابع:

1. Adediran, J.A., Taiwa, L.B., Akande, M.O., Sobulo, R.A., and Idown, O.J. 2004. Application of organic and inorganic fertilizer for sustainable maize and coupea yield in Nigeria. Journal of Plant Nutrition, 27: 1163-1181.

2. Adejoye, O.D., and Fasidi, I. 2009. Biodegradation of agro-waste by some nigerian white rot fungi. Bioresource. 4(2): 816-824.

3. Arora, D.S., Chander, M., and Gill, P.K. 2002. Involvement of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase in degradation and selective ligninolysis of wheat straw. International Biodeterioration and Biodegradation, 50:115-120.

4. Barakah, F.N., Radwan, S.M.A., and Abdel-Aziz, R.A. 2013. Using biotechnology in recycling agricultural waste for sustainable agriculture and environmental protection. International Journal of Current Microbiology and Applied Science, *2*(12): 446-459.

5. Baybordi, A., and Malakouti, M.J. 2003. Effect of iron, manganese, zinc andcopper on wheat yield and quality under saline condition. Iranian Journal of Soil and Water Science, 17(2): 140-150. (In Persian with English abstract).

6. Bernal, M.P., Paredes C., Sanchez- Monedero M.A., and Cegarra J. 1998. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. Bioresource Technology, 63: 91-99.

7. Beyer, L., Schulten, H.R., Fruend, R., and Irmler, U. 2005. Formation and properties of organic matter in a forest soil, as revealed by its biological activity, wet chemical analysis, CPMAS 13C-NMR spectroscopy and pyrolysis-field ionization mass spectroscopy. Soil Biology and Biochemistry, 25: 587–596.

8. Breccia, J.D., Bettucci, L., Piaggio, M., and Sireeizi, F. 1997. Degradation of sugar cane bagasse by several white-rot fungi. Acta Biotechnol. 17(2): 177-184

9. Chang, J.I., and Hsu, T.E., 2008. Effects of compositions on food waste composting. Bioresource Technology, 99: 8068–8074.

10. Dong, D., Yang, S., Zhu, N., En Tao Wang, T., and Yuan, H. 2013. Sugarcane bagasse degradation and characterization of three white-rot fungi. Bioresource Technology, 131: 443–451.

11. Droussi, Z., D'orazio, V., Provenzano, M.R., Hafidi, M., and Ouatmane, A. 2009. Study of the biodegradation and transformation of olive-mill residues during composting using FTIR spectroscopy and differential scanning calorimetry. Journal of Hazardous Material. 30: 164(2-3):1281-5.

12. Enayatzamir, K., Alikhani, A., and Rodriguez-Couto, S. 2009. Simultaneous production of laccase and decolouration of the diazo dye Reactive Black 5 in a fixed-bed bioreactor. Journal of Hazardous Materials, 164: 296–300.

13. Enayatizamir, N., Tabandeh, F., Rodriguez-Couto, S., Bagher Yakhchali, B., Alikhani, A., and Mohammadi, L. 2011. Biodegradation pathway and detoxification of the diazo dye Reactive Black 5 by Phanerochaete chrysosporium. Bioresource Technology 102: 10359–10362.

14. Hatakka, A. 2001. Biodegradation of Lignin. Biopolymers.Lignin.Humic Substances and Coal. A multivolume handbook.Wiley.Vol 1 (Steinbűchel A., ed) Chapter 5.

15. Huang, G.F., Wu, Q.T., Wong, J.W., and Nagar, B.B. 2006. Transformation of organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. Bioresour ce Technology, 97(15): 1834-1842.

16. Kumar, R., Verma, D., Singh, B.L., Kumar, U., and Shweta, 2010. Composting of sugarcane waste by-products through treatment with microorganisms and subsequent vermi composting. Bioresource Technology, 101: 6707-671.

17. Lin, L., Yan, R., Liu, Y., and Jiang, W. 2010. In-depth investigation of enzymatic hydrolysis of biomass wastes based on three major components: cellulose, hemicellulose, and lignin. Bioresource Technology, 101(21): 8217-8223.

18. Mando, A., Ouattara, B., Sedago, M., Stroosnijder, L., Ouattara, K., Brussaard, L., and Vanlauwe, B. 2005. Long-term effects of tillage and manure application on soil organic fractions and crop performance under Sudano-sahelian conditions. Soil and Tillage Research, 80: 95-101.

19. Mele, P.M., and Crowley, D.E. 2008.Application of self-organising maps for assessing soil biologicalquality. Agriculture, Ecosystems and Environment, 126: 139-152.

20. Mirzashahi, K., and Saadat, S. 2012. Effect of different organic matter on rapeeed yield and some soil properties in north of Khuzestan. Iranian Journal of Soil and Water Science, 24: 21-29. (In Persian).

21. Mohammadi Torkashvand, A., Radmehr, S., and Nadian, H. 2012. The use of *Trichoderma* fungi with nitrogen and pH treatments in the compost Production of cane organic wastes. The st 1 International and The 4 th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture, Isfahan, Iran.

22. Moldes, A., Cendon, Y., and Barral, M.T. 2007. Evaluation of municipal solid waste compost as a plant growing media component, by applying mixture design. Bioresource Technology, 98: 3069- 3075.

23. Molla, A.H., Fakhrul-Razi , A., Abd-Aziz, S., Hanafi, M.M., and Alam, M.Z. 2001. In vitro compatibility evaluation of fungal mixed culture for bioconversion of domestic waste water sludge. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 17:849-856.

24. Naik, V.N., Sharma, D.D., Kumar, P.M.P., and Yadav, R.D. 2012. Efficacy of ligno-cellulolytic fungi on recycling sericultural wastes. Research Article, Acta Biologica Indica. 1(1): 47-50.

25. Pandey, V.K., Singh, M.P., Srivastava, A.K., Vishwakarma, S.K., and Takshak, S. 2012. Biodegradation of sugarcane bagasse by *pleurotus citrinopileatus*. Cellular and Molecular Biology. 58 (1): 8-14.

26. Paredes, C., Bernal, M.P., Cegarra, J., Roig, A., Novarro, A.F. 1996. Nitrogen transformation during the composting of different organic wastes. Progress in Nitrogen Cycling Studies, 68: 121-125.

27. Raut, M.P., Prince William, S.P.M., Bhattacharyya, J.K., Chakrabarti, T., and Devotta, S. 2008. Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste - a compost maturity analysis perspective. Bioresource Technology, 99 (14): 6512-6519.

28. Samsuri, M., Gozan, M., Hermansyah, H., Prasetya, B., Nasikin, M., and Watanabe, T. 2008. Ethanol production from bagasse with combination of cellulase- cellubiase in simultaneous saccharification and fermentation using white rot fungi pretreatment. Journal of Chemical and Natural Resources Engineering, 3: 20-32.

29. Sarkamarian1, F., Salehi Jouzani, G., and Moradi, F. 2015. Fast production of enriched biocompost from sugarcane baggase using biotechnological process. Iranian Journal of Crop Biotechnology, 9: 49-64. (In Persian with English abstract).

30. Scotti, R., Bonanomi, G., Scelza, R., Zoina, A., and Rao, M.A. 2015. Organic amendments as sustainable tool to recovery fertility in intensive agricultural systems. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 15: 333-352.

31. Sharma, R.K., and Arora, D.S. 2010. Changes in biochemical constituents of paddy straw during degradation by white rot fungi and its impact on in vitro digestibility. Journal of Appllied Microbiology, 109: 679–686.

32. Singh, D., Zeng, J.J., Laskar, D.D., Deobald, L., Hiscox, W.C., and Chen, S.L. 2010. Investigation of wheat straw biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*. Biomass Bioenergy, 35: 1030-1040.

33. Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter J., and Templeton, D. 2008. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass: laboratory analytical procedure (LAP). Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory; April. NREL Report No.: TP-510-42618. Contract No.: DE-AC36-99-G010337. Sponsored by the U.S. Department of Energy.

34. Tiquia, S.M., and Tam, N.F.Y. 1998. Composting of spent pig litter in turned and forced-aerated piles. Environmental Pollution 99: 329-337.

35. Wong, D.W.S. 2009. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. Applied Biochemistry and Biotechnology. 157: 174-209.

36. Zayed, G., and Heba, A.M. 2005. Bio-production of compost with low pH and high soluble phosphorus from sugar cane bagasse enriched with rock phosphate. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21: 747–752.

37. Zeng, G.M., Huang, H.L., and Huang, D.L. 2009. Effect of inoculating white-rot fungus during different phases on the compost maturity of agricultural wastes. Process Biochemistry, 44: 396–400.

38. Zibiliske, L.M. 1998. Composting of organic wastes. Lewis publishers, Boca Raton, Florida.pp:402.