

## اصلاح و تولید نژادهای دورگ در قارچ خوراکی دکمه‌ای

محمد فارسی (۱)، بنفشه جلال زاده (۲)، خلیل ملک زاده (۲)

۱- عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- اعضای گروه پژوهشی زیست فناوری قارچ های صنعتی جهاد دانشگاهی مشهد

گسترش مراکز پرورش قارچ در کشور و تولید پایدار در این مراکز مستلزم خودکفایی در زمینه تولید اسپاون مادری می‌باشد. به منظور دستیابی به دانش فنی اصلاح قارچ خوراکی دکمه‌ای و تولید نژادهای دورگ تجاری در کشور گروه زیست فناوری قارچ های صنعتی مطالعات خود را بر این ضمیمه معطوف نموده است. با انجام طرح‌های متعدد در این گروه دانش کشت اسپور و شناسایی هموکاریون‌ها از طریق روش‌های مورفولوژیکی و مولکولی، تلاقی و دورگ‌گیری سازگار، شناخت اثرات ژن‌های درگیر در عملکرد و نقش دورگ‌گیری در بهبود نژادی قارچ دکمه‌ای بدست آمده است. حاصل این مطالعات ثبت سه نژاد هیبرید تجاری پرمحصول قارچ دکمه‌ای و تهیه شناسنامه مولکولی برای این نژادها می‌باشد.

واژه های کلیدی: دورگ‌گیری، آزمون میوه‌دهی، AFLP، RAPD، ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی

## مقدمه

پرورش قارچ خوراکی در ایران یک صنعت نوظهور اما روبه گسترش است. هم‌اکنون در حدود ۱۲۰ واحد تولیدی قارچ در کشور وجود دارند و سالانه در حدود ۳۰ هزار تن از این محصول در کشور تولید می‌شود. در این میان ۹۵٪ قارچ خوراکی تولیدی مربوط به قارچ دکمه‌ای سفید *Agaricus bisporus* می‌باشد. متوسط عملکرد تولید این قارچ در کشور  $15-17 \text{ kg/m}^2$  که حدود نصف متوسط عملکرد در دنیا ( $30-35 \text{ kg/m}^2$ ) می‌باشد. این امر عوامل متعددی دارد که می‌توان آنها را به گروه‌های اصلی زیر تقسیم کرد: ۱- عدم استفاده از نژادهای کم‌محصول و کم توجهی به اهمیت بهبود نژادی، ۲- عمل آوری نامناسب کمپوست و عدم استفاده از دانش روز در تهیه آن، ۳- عدم رعایت نکات فنی در زمان داشت (از زمان مایه‌زنی تا برداشت). از حدود ۱۰ سال پیش یک برنامه اصلاحی، در قالب چند طرح تحقیقاتی، و با هدف تولید نژادهای تجاری پرمحصول در گروه زیست فناوری قارچ‌های صنعتی جهاد دانشگاهی مشهد آغاز گردیده‌است.

در اولین گام از این برنامه بلند مدت (۱۳۷۹) چند نژاد تجاری این قارچ از منابع مختلف گردآوری شد و به منظور بررسی امکان انجام هیبریداسیون درون‌گونه ای مورد آزمون قرار گرفت. در این تحقیق تهیه کشت‌های تک‌اسپوری از طریق بهینه‌سازی جوانه‌زنی بازیدیوسپورهای این قارچ در محیط آزمایشگاهی امکان‌پذیر گشت. کشت‌های تک‌اسپوری هموکاریون از طریق آزمون میوه‌دهی شناسایی و سپس در تلاقی‌های دو به دو شرکت داده شدند. این بررسی تولید نژادهای دو رگ را از طریق کشت‌های تک‌اسپوری امکان‌پذیر ساخت. با اینحال تشخیص نهایی جدایه‌های هموکاریون با روش‌های وقت‌گیر آزمون میوه‌دهی صورت گرفت. تعداد تلاقی‌های سازگار که منجر به تولید هیبرید موفق شده بودند، اندک بود و تنها دو نژاد هیبرید بدست آمدند که بر اساس آزمون‌های عملکرد نسبت به والدین خود از رشد سریعتری برخوردار بودند. همچنین به دلیل عدم اطلاع از میزان دوری و نزدیکی جدایه‌ها، انجام تلاقی‌ها به صورت تصادفی و کورکورانه صورت گرفت. بنابراین در سال ۸۲ امکان استفاده از روش‌های مولکولی در تسریع روند اصلاحی در قارچ

دکمه‌ای و همچنین بررسی عمل ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی در دستور کار گروه قرار گرفت. در سال ۱۳۸۲ از نشانگر مولکولی RAPD جهت شناسایی جدایه‌های هموکاریون قارچ دکمه‌ای استفاده گردید. در این بررسی نتایج حاصل از نشانگر با نتایج حاصل از خصوصیات مورفولوژیک و آزمون میوه‌دهی مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج آزمایشات نشان داد که نشانگرهای مورفولوژیک معمولی نمی‌توانند به طور کامل جدایه هموکاریون را از جدایه‌های هتروکاریون تفکیک کنند. اما استفاده از آنها تنها می‌تواند راندمان گزینش جدایه‌های هموکاریون را افزایش دهد. نتایج حاصل از نشانگر مولکولی همچنین نشان داد که بیش از ۹۰٪ تغییرات میوه‌دهی توسط نشانگر RAPD قابل توجیه‌اند. جدایه‌های هموکاریون در مقایسه با جدایه‌های هتروکاریون کاهش قابل توجهی در تعداد باندهای تکثیر شده نشان دادند و اختلاف میان تعداد باندها در این دو گروه بسیار معنی‌دار بود. از نتایج حاصله چنین استنباط گردید که نشانگر RAPD می‌تواند به تنهایی و به عنوان یک شاخص برای تفکیک جدایه‌های هموکاریون استفاده گردد.

در سال ۱۳۸۳ به منظور هدفمند نمودن دورگ‌گیری‌ها، ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی ۵۵ ترکیب حاصل از تلاقی ۱۱ جدایه هموکاریون را در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که اثرات افزایشی و غیر افزایشی در کنترل صفاتی همچون عملکرد، تعداد میوه و نسبت قطر کلاهک به طول پایه دخالت دارد. همچنین سهم اثرات افزایشی در کنترل این صفات بیشتر می‌باشد. در بروز صفت وزن تک میوه صرفاً اثرات غیر افزایشی نقش داشتند. در نهایت با توجه به اثرات ترکیب‌پذیری جدایه‌ها و نقش اثرات افزایشی در کنترل صفات، اهمیت دورگیری در اصلاح و بهبود نژاد در قارچ دکمه‌ای کاملاً مشخص گردید. در ادامه این طرح تولید نژادهای هیبرید با عملکرد بالا در دستور کار گروه قرار گرفت. این برنامه در قالب طرحی با عنوان آمیزش جنسی در بین هموکاریون‌های قارچ خوراکی صورت گرفت. برترین جدایه‌های معرفی شده در طرح قبلی به همراه تعدادی جدایه هموکاریون جدید در این طرح مورد استفاده قرار گرفتند. ۲۹ جدایه انتخابی در تلاقی‌های دای‌الل شرکت داده شدند. ۴۰۶ تلاقی صورت گرفت که از این میان ۱۴۵ دورگ سازگار بدست آمد. و در نهایت بعد از انجام آزمون عملکرد سه دورگ که بطور معنی‌داری نسبت به شاهد عملکرد بیشتری داشتند، انتخاب و ثبت نژاد شدند. برای حفظ حقوق معنوی از طریق نشانگر مولکولی AFLP برای نژادهای دورگ تولیدی شناسنامه مولکولی تهیه گردید تا بتوان از تکثیر غیر قانونی آن جلوگیری نمود.

ارزیابی دورگ‌هایی که در طی چندین نسل در این گروه پژوهشی تولید شده اند بر اساس نتایج آزمون‌های عملکرد بوده است که اگر چه نتایج سودمندی را در برداشته اند اما به دلیل زمان بر بودن و از سوی دیگر نیاز مداوم گروه به تولید نژادهای جدید نمی‌توان از آنها بعنوان یک روش معمول در آزمایشگاه استفاده نمود. در نتیجه گروه بر آن شد که از طریق انتخاب آگاهانه والدین به کمک نشانگرهای مولکولی تلاقی‌ها را هدفمند نماید، به طوریکه با صرف زمان و هزینه کمتر، قبل از ایجاد یک جمعیت دو رگ بتوان کارایی آن را تا حدی پیش بینی و این روش را به روشی کاربردی و آسان در آزمایشگاه تبدیل نماید. به منظور دستیابی به جمعیتی از دورگ‌ها که از کیفیت بهتری نسبت به والدین خود برخوردار باشند و حداکثر هتروزیس ممکن را نشان دهند هموکاریون‌هایی می‌بایست انتخاب و تلاقی داده شوند که دارای بیشترین فاصله ژنتیکی باشند. به این منظور طرحی از حدود شش ماه پیش در گروه تصویب و در حال اجرا می‌باشد. در این بررسی ابتدا از نشانگر RAPD جهت شناسایی جدایه‌های هموکاریون قارچ دکمه‌ای استفاده می‌شود و سپس نسبت به انتخاب هموکاریون‌های مناسب جهت تلاقی و ایجاد جمعیت‌های هیبرید اقدام خواهد شد. جمعیت‌های F<sub>1</sub> هتروزیگوس متفاوت به عنوان جمعیت مادری در حال تفکیک مورد نیاز طرح‌های پیشرفته اصلاحی از قبل طرح‌های آنالیز همبستگی و نقشه یابی ژن‌های کمی (QTL- Mapping) مورد استفاده قرار خواهند گرفت. همچنین می‌توان

نژادهای هیبرید حاصل را به منظور تعیین خصوصیات زراعی مورد آزمون‌های عملکرد قرار داد و نژادهای با عملکرد مناسب را به عنوان نژاد تجاری جدید معرفی نمود.

#### منابع:

- فارسی، م. و گردان، ح. ر. ۱۳۸۱. تولید اسپاون هیبرید در قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید، *Agaricus bisporus* به منظور افزایش عملکرد. مجله علوم و صنایع کشاورزی، جلد ۱۶، شماره ۱، ص. ۱۳۳-۱۲۵.
- گردان، ح. ر. و فارسی، م. ۱۳۸۳. اصلاح عملکرد قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید با استفاده از گزینش جدایه‌های خالص و کشتهای چند اسپوری. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۱۱، شماره ۲، ص ۶۵-۷۷.
- کاوسی، ح. ر.، فارسی، م.، شهریاری، ف. و فلاحتی رستگار، م. ۱۳۸۴. استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD به منظور جداسازی جدایه‌های هموکاریون در قارچ تکمه‌ای سفید *Agaricus bisporus* مجله علوم و صنایع کشاورزی، جلد ۱۶، شماره ۲، ص ۳۵-۴۶.
- گردان، ح. ر.، خاتمی‌راد، م.، ذوالعلی، ج. و فارسی، م. ۱۳۸۶. - معرفی و ثبت سه نژاد اصلاح شده از قارچ خوراکی دکمه‌ای *Agaricus bisporus* مجله دانش کشاورزی، جلد ۱۷، شماره ۲، ص ۱۷۱-۱۸۸.
- گردان، ح. ر.، محمودنیا میمند، م.، ذوالعلی، ج. خاتمی‌راد، م. و فارسی، م. ۱۳۸۷. بررسی قابلیت نشانگر مولکولی AFLP در تعیین انگشت‌نگاری ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی قارچ خوراکی دکمه‌ای *Agaricus bisporus* مجله علوم و صنایع کشاورزی، جلد ۲۲، شماره ۱، ص. ۲۷-۳۶.
- خاتمی‌راد، م.، فارسی، م. و پوریان‌فر، ح. ر. ۱۳۸۷. بررسی ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی ده جدایه هموکاریون در قارچ خوراکی دکمه‌ای *Agaricus bisporus*. مجله دانش کشاورزی، جلد ۱۸ شماره ۲، ص ۱۹۳-۱۸۱.

#### Abstract

The development of mushroom industry in the country depends on a constant and reliable source of maternal spawn. Since 1379, The Industrial fungi biotechnology group has been focusing on optimization of breeding and hybrid production in button mushroom *Agaricus bisporus*. Having performed several research projects in this concern, the group has succeeded to achieve the technical knowledge of spore culture, homokaryon identification, compatible hybridization and identification of genes responsible for commercially important traits, needed for strain improvement of this mushroom. These findings have been resulted in production and registration of three high productive hybrid strains. These strains have been also characterized through a molecular certification method using AFLP fingerprinting.