مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۸ ، شماره ۴، سال ۱۳۹۱

تعیین فواصل ژنتیکی جدایه‌های هموکاریون به منظور بهره‌گیری در تولید نژادهای دورگ در قارچ خوراکی دکمه‌ای

Determination of Genetic Distances in Homokaryotic Isolates to Use in Production of Hybrid Strains of Button Mushroom

بنفشه جلال‌زاده مقدم‌شهری و خلیل ملک‌زاده

مربی- گروه زیست فناوری قارچ‌های صنعتی، جهاد دانشگاهی، واحد مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۱۱

چکیده

جلال‌زاده مقدم‌شهری، ب. و ملک‌زاده، خ. ۱۳۹۱. تعیین فواصل ژنتیکی جدایه‌های هموکاریون به منظور بهره‌گیری در تولید نژادهای دورگ در قارچ خوراکی دکمه‌ای. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۸:** ۶۴۲ - ۶۳۱.

عدم وجود تنوع در نژادهای تجاری قارچ دکمه‌ای سفید *Agaricus bisporus* اصلاح این قارچ را با مشکل رو به رو ساخته است. به منظور تولید یک جمعیت مادری در حال تفرق، ۳۷۷ جدایه تک اسپور از ده نژاد دو رگ تجاری تهیه و با استفاده از آزمون میوه دهی، ۲۲ جدایه هموکاریون و بقیه هتروکاریون تشخیص داده شدند. شباهت ژنتیکی ۲۲ جدایه هموکاریون با روش RAPD و با استفاده از نه آغازگر الیگونوکلئوتیدی تصادفی به کمک ضریب شباهت ژاکارد بررسی شد. نتایج تجزیه RAPD نشان داد که جدایه‌های هموکاریون تفاوت‌های آشکاری دارند. با توجه به داده‌های شباهت ژنتیکی، جدایه‌های هموکاریون در تلاقی‌های دو به دو شرکت داده شدند. از مجموع ۹۲ تلاقی انجام شد. در نهایت در هفت نژاد وقوع هتروکاریوسیس مورد تایید قرار گرفت. هفت نژاد دو رگ حاصل به عنوان جمعیت مادری با تفرق بالا معرفی شناسائی شدند.

واژه‌های کلیدی: *Agaricus bisporus*، بازیدیدومیست، دو رگ‌گیری، هتروکاریون، هموکاریون.

نویسنده مسئول: b.jalalzadeh@jdm.ac.ir **تلفن: ۰۵۱۱۸۷۸۱۵۱۴**

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

قارچ دکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*)، معروف‌ترین قارچ خوراکی در دنیا است و بیشترین سطح زیر کشت را در ایران و جهان به خود اختصاص داده است. اولین نژادهای اصلاح شده این قارچ یعنی دو نژاد U_1 و U_3، در حدود ۳۰ سال پیش در هلند از طریق دو رگ گیری تولید و معرفی شدند. این نژادها منشاء اکثر نژادهایی هستند که امروزه به طور تجاری در دنیا کشت و کار می‌شوند. اصلاح نژاد در قارچ دکمه‌ای سفید نسبت به سایر محصولات زراعی و باغی پیشرفت چندانی نداشته است. دلیل اصلی این امر، نوع چرخه زندگی غیر معمول این قارچ است (Sonnenberg *et al.*, 2005). بیش از ۹۰٪ اسپورهای تولید شده در هر بازیدیوم (Basidium) قارچ دکمه‌ای ناجورهسته و معمولاً بسیار شبیه والد خود هستند. میسلیومی که از این اسپورها تندش می‌کند بارور است و قادر به امتزاج سلولی(Anastomosis) و تبادل هسته نیست؛ تعداد کمی از بازیدیوسپورها، بین ۵ الی ۱۰ درصد، تولید میسلیوم تک هسته‌ای (Monokaryon) عقیم می‌کنند که قادرند با انجام الحاق سلولی، میسلیوم دو هسته‌ای (Dikaryon) بارور تولید کنند (Raper, 1976؛ Raper *et al.*, 1978). هدف از دو رگ گیری در اصلاح قارچ دکمه‌ای دست یابی به نژادی است که با در اختیار داشتن همزمان ویژگی‌های مطلوب هر یک از والدین، نسبت به دو والد خود برتری داشته باشد. آن‌چه یک دورگ را نسبت به والدین خود برتر می‌سازد قدرت ناشی از دورگ‌گیری یا هتروزیس است (Farsi and Bagheri, 2004). اولین بار زو (Xu, 1995) وقوع ضعف ناشی از خویش آمیزی در جمعیت‌های قارچ *A. bisporus* را مورد مطالعه قرار داد. بر اساس نتایج تحقیقات وی، تلاقی میان جدایه‌های تک‌اسپوری که حاصل نژادهای خویشاوند هستند، هموزیگوسیتی را افزایش می‌دهد و این به نوبه خود منجر به ضعف دورگ حاصل می‌شود. در پژوهشی که توسط گردان و همکاران (Gordan *et al.*, 2007) انجام شد، هموکاریون‌های قارچ دکمه‌ای سفید به منظور تولید ژنوتیپ‌های دورگ با عملکرد بالا آمیزش داده شدند. در این بررسی با استفاده از تلاقی‌های درون گونه‌ای بین چند والد تجاری رایج، چندین نژاد دورگ به دست آمد. با وجود تعداد زیاد تلاقی‌ها، تنها سه نژاد از لحاظ عملکرد نسبت به شاهد برتری معنی‌داری نشان دادند. نژادهای دورگ تولید شده در این پژوهش در نظر دیگری به همراه پنج نژاد تجاری دیگر به کمک نشانگر AFLP مورد انگشت‌نگاری ژنتیکی قرار گرفت (Ghorbani *et al.*, 2009). نتایج شباهت ژنتیکی بالایی را میان نژادهای مورد مطالعه نشان داد. یکی از دلایل اصلی این شباهت این بود که جدایه‌های هموکاریون (Homokaryon) به کار رفته در تلاقی‌ها، از والدین محدودی انتخاب شده بودند که

Archive of SID

www.SID.ir

شباهت ژنتیکی زیادی به هم داشتند و دیگر این‌که انجام تلاقی‌ها بدون اطلاع از میزان قرابت جدایه‌های والدی و به صورت تصادفی انجام شده بود. در صورتی که بتوان با استفاده از نشانگرهای مولکولی، والدین درگیر در تلاقی را به طور آگاهانه انتخاب کرد، با صرف زمان و هزینه کمتر می‌توان کارایی یک جمعیت دورگ را، قبل از ایجاد آن، تا حدی پیش بینی کرد. 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 (Cullings, 1992). همچنین در طرح‌های تعیین همبستگی صفات با نشانگرهای مولکولی و گزینش مبتنی بر نشانگر (Marker Assisted Selection) در اختیار داشتن چنین والد هتروزیگوتی که در هنگام تقسیم حداکثر تفرق ممکن را ایجاد کند، ضروری است (Farsi and Zolala, 2009؛ Bruel *et al.*, 2006).

هدف اصلی از انجام این پژوهش تولید جمعیت‌های F1 با حداکثر هتروزیس در قارچ خوراکی دکمه‌ای بود. از این جمعیت علاوه بر استفاده مستقیم به عنوان بذر مادری، می توان به عنوان جمعیت مادری در حال تفکیک مورد نیاز برنامه‌های به‌نژادی از قبیل طرح‌های تعیین همبستگی صفات با نشانگرهای مولکولی و نقشه یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

انتخاب نژاد: در این تحقیق از ده نژاد قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید استفاده شد. این نژادها شامل سه نژاد تجاری رایج با اسامی 737، 512 و نژاد قهوه‌ای Swiss brown، پنج نژاد اصلاح شده تجاری داخلی با اسامی IM003، IM005، IM008، IM037 و IM-Ca10 (Gordan *et al.*, 2007) و دو نژاد تجاری نامشخص از کشورهای دانمارک و اسکاتلند بود. از مسیلیوم رشد یافته نژادها در محیط کشت جامد عصاره کمپوست-آگار، برای تهیه اسپاون قارچ استفاده شد. این اسپاون‌ها برای پرکردن کامل به مدت ۲۰ روز در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای مایه زنی از کمپوست پاستوریزه در کیسه‌های یک کیلوگرمی استفاده شد. مراحل تهیه کمپوست، مایه‌زنی و نگهداری از نمونه‌ها تا تولید اندام‌های باردهی، بر اساس روش فارسی و گردان (Farsi and Gordan, 2007) انجام شد. پس از تشکیل اندام‌های باردهی، از هر نژاد اسپور و سپس سوسپانسیونی از اسپورها تهیه شد. غلظت اسپور در سوسپانسیون به کمک لام گلبول شمار شمارش شد و رقت هر نمونه در حدود 10^5 اسپور بر میلی‌لیتر تنظیم شد. در هر تشتک پتری ۱۰ سانتی‌متری حدود بیست هزار اسپور کشت شد و بعد از جوانه‌زنی اسپورها، جدایه‌ها جداسازی شدند. برای تعیین کلاس رشدی جدایه‌ها، اندازه‌گیری

Archive of SID

www.SID.ir

سرعت رشد و نحوه رشد میسلیوم در محیط کشت جامد عصاره کمپوست غنی شده با محلول CYM انجام شد (Calvo-Bado *et al.*, 2000).

آزمون میوه دهی: در این مرحله، از کشت جامد میسلیوم جدایه‌های کند رشد اسپاون تهیه شد. برای هر جدایه دو تکرار در نظر گرفته شد. اسپاون‌ها به مدت دو هفته در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای آزمون میوه‌دهی از ظروف پلاستیکی حاوی ۵۰۰ گرم کمپوست پاستوریزه استفاده شد. در این مرحله برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. واحدهای میوه‌دهی تا زمان میوه‌دهی در شرایط دمایی و رطوبتی توصیه شده، در سالن پرورش نگهداری گردید (Farsi and Gordan, 2007).

تجزیه مولکولی: برای استخراج DNA، از کشت ۲۵-۲۰ روزه جدایه‌های تک اسپوری در محیط کشت مایع عصاره کمپوست غنی شده با محلول CYM استفاده شد. استخراج DNA با استفاده از روش CTAB با کمی تغییرات مطابق دستورالعمل آزمایشگاه سولتیس (Soltis) موسسه موزه تاریخ طبیعی فلوریدا (Anonymous, 2002) انجام شد

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با استفاده ازنه آغازگر الیگونوکلوتیدی تصادفی انجام شد.

مخلوط واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر با اجزای ۲/۵ میکرولیتر بافر آنزیم (۱۰X)، ۰/۲ میلی‌مول مخلوط نوکلئوتیدها، ۱/۵ میلی‌مول کلریدمنیزیم، ۰/۶ میلی‌مول آغازگر و ۲ واحد آنزیم *Taq* DNA polymerase تهیه شد. به منظور حذف اسمیر ناشی از تکثیر غیراختصاصی، از دای‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) به نسبت ۱۰ درصد استفاده شد (Kang *et al.*, 2005). چرخه‌های حرارتی شامل واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه تکثیر شامل واسرشت در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۳۱ درجه سانتی گراد (دمای اتصال برای دو آغازگر AO2 و OPA-01، ۳۳ درجه سانتی گراد در نظر گرفته شد) به مدت ۶۰ ثانیه، گسترش در ۷۲ درجه به مدت ۱:۴۵ دقیقه و واسرشت نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بودند. محصولات تکثیری با الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد.

تجزیه‌های آماری: الگوی نواری به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) و با استفاده از نرم افزار Total lab تعیین شد. ماتریس شباهت ژنتیکی با استفاده از ضریب تشابه ژاکارد محاسبه شد و دندروگرام مربوطه به کمک الگوریتم UPGMA با نرم افزار NTSYS.2 رسم شد.

نتایج و بحث

مشخصات آغازگرهای به کار برده شده در این تحقیق در جدول ۱ آورده شده است.

جداسازی اولیه جدایه‌های هموکاریون: از ده نژاد مورد مطالعه مجموعاً ۳۷۷ جدایه

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- آغازگرهای رپید استفاده شده برای تعیین تشابه ژنتیکی ۲۲ جدایه هموکاریون قارچ *Agaricus bisporus*

Table 1. RAPD primers use for detection of genetical similarity of 22 homokaryons of *Agaricus bisporus*

نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر 5`-3` Sequence 3`-5`	نام آغازگر Primer	توالی آغازگر 5`-3` Sequence 3`-5`
AO2	TGCCGAGCTG	OPA-07	GAAACGGGTG
AO4	AATCGGGCTG	OPA-10	GTGATCGCAG
OPA-01	CAGGCCCTTC	OPA-12	TCGGCGATAG
OPA-03	AGTCAGCCAC	OPA-15	TTCCGAACCC
OPA-05	AGGGGTCTTG		

تک اسپور، برای اندازه‌گیری سرعت رشد انتخاب شد. جدایه‌های تک اسپوری بر اساس سرعت رشد پرگنه در سه کلاس تند رشد، رشد میانه و کند رشد طبقه بندی شدند. از بین ۳۷۷ جدایه مورد بررسی ۱۱۴ جدایه در کلاس خیلی کند، کند رشد و رشد میانه و بقیه در کلاس رشدی سریع قرار گرفتند. همه ۳۷۷ جدایه مورد مطالعه از نظر تیپ رشدی پرگنه نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. فراوانی نسبی جدایه‌های خیلی کند رشد ۳/۱۸، فراوانی نسبی جدایه‌های کند رشد ۹/۵۴ و فراوانی نسبی جدایه‌های با رشد میانه و رشد سریع به ترتیب ۱۶/۷۱ و ۷۰/۵۵ درصد بود. جدایه‌های مربوط به کلاس رشدی سریع و جدایه‌های کلاس سرعت رشد میانه که تیپ رشدی رشته‌ای از خود نشان دادند حذف شدند. در نهایت، تعداد جدایه‌های مورد بررسی به ۷۹ عدد رسید.

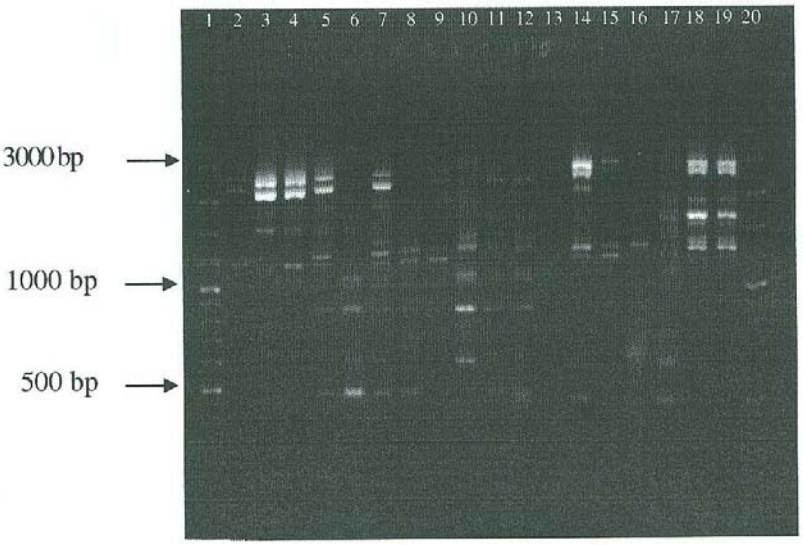
آزمون میوه دهی: ازمیسلیوم ۷۹ جدایه کند رشد به همراه ۷ والد هتروکاریون (شاهد میوه دهی مثبت) و هموکاریون تایید شده ۷-۱۳۰ (شاهد میوه دهی منفی) اسپاون تهیه شد و برای مایه‌زنی کمپوست استفاده شد. برای هر جدایه سه تکرار در نظر گرفته شد و در مجموع ۲۶۱ واحد میوه دهی ایجاد شد. اولین اندام‌های میوه دهی ۲۵ روز پس از مایه‌زنی و ۵ روز پس از اعمال شوک سرمایی رویت شدند. نمونه‌ها تا پایان فلاش دوم در سالن پرورش نگهداری شدند. در پایان تنها ۲۲ جدایه تولید پین نکردند و به عنوان هموکاریون‌های تایید شده در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی شباهت ژنتیکی جدایه‌های هموکاریون: با استفاده از نه آغازگر تصادفی در مجموع ۱۷۹ باند در ۲۲ جدایه هموکاریون قارچ دکمه‌ای سفید، با اندازه بین ۴۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز تکثیر شد. میانگین تعداد نوارهای تکثیر شده و تعداد نوارهای چند شکل به ازای هر آغازگر به‌ترتیب ۱۹/۹ و ۱۸/۹ بود. توانایی جفت آغازگرهای مختلف در آشکارسازی چندشکلی در بین نژادهای مختلف متغیر بود.

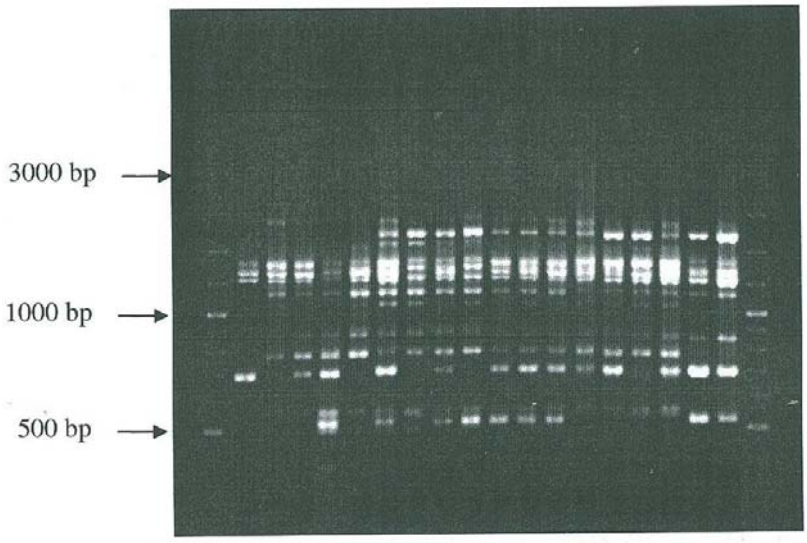
Archive of SID

www.SID.ir

آغازگر OPA-07 بیشترین تعداد باند چند شکل (۳۱ باند) و آغازگر OPA-03 کمترین تعداد باند چند شکل (۹ باند) را تولید کردند (شکل‌های ۱ و ۲).



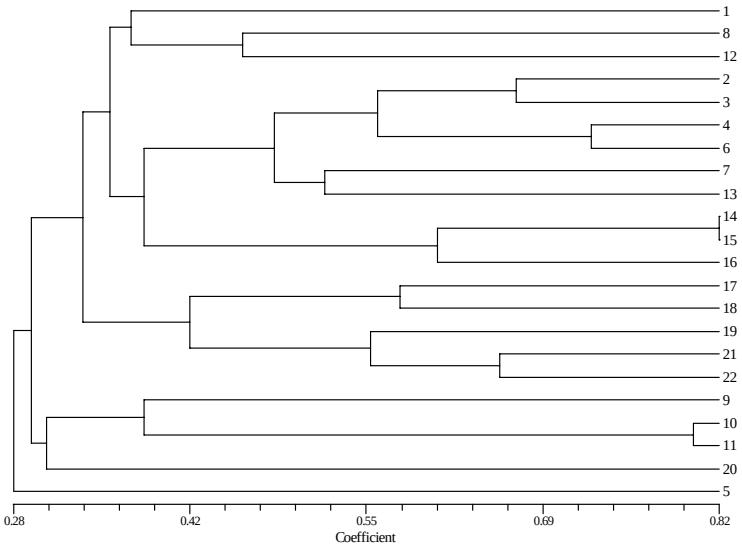
شکل ۱- الگوی تکثیر با آغازگر OPA-7: ۱ و ۲۰ سایز مارکر $^{+}$۱۰۰، لاین‌های ۲-۱۹ به ترتیب هموکاریون‌های شماره ۱ تا ۱۸



شکل ۲- الگوی تکثیر با آغازگر OPA-3: ۱ و ۲۰ سایز مارکر $^{+}$۱۰۰، لاین‌های ۲-۱۹ به ترتیب هموکاریون‌های شماره ۱ تا ۱۸

www.SID.ir

تجزیه و تحلیل داده‌ها: بر اساس داده‌های ماتریس شباهت، تشابه ژنتیکی جفت نمونه‌ها بین ۰/۱۵ تا ۰/۸۲ متغیر بود. در ماتریس شباهت، جفت هموکاریون شماره ۱۴ و ۱۵ بیشترین شباهت (۰/۸۲۳) و جفت هموکاریون ۵ و ۱۷ کمترین تشابه ژنتیکی (۰/۱۵۱) را نشان دادند. نتایج تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA با استفاده از ضرایب تشابه ژاکارد در شکل ۳ ارایه شده است.



شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای ۲۲ جدایه هموکاریون قارچ *Agaricus bisporus* با استفاده از نشانگرهای RAPD

Fig. 3. Cluster analysis of 22 homokaryons isolates of *Agaricus bisporus* using RAPD primers

عملیات دو رگ‌گیری: با توجه به فواصل ژنتیکی به دست آمده، جدایه‌هایی که شباهت آن‌ها کمتر از ۰/۳ بود برای انجام دورگ گیری مورد استفاده قرار گرفتند. از مجموع ۹۲ تلاقی که انجام شد، در ۳۱ تلاقی الحاق میسلیوم‌ها مشاهده شد. با این حال تنها هفت تلاقی در واکشت‌ها رشد منسجمی نشان دادند و بقیه پس از یک مرحله واکشت دو فاز رشدی متفاوت بروز دادند. هفت دورگ نهایی که الحاق پایدار نشان دادند شامل دو رگ‌های (۸×۲)، (۱۹×۲)، (۶×۳)، (۲۰×۶)، (۱۴×۴)، (۲۴×۴)، و (۱۵×۱۴)، برای آزمون پین دهی مورد استفاده قرار گرفتند. دو رگ ۶×۳ رشد رویشی بسیار مناسبی در مقایسه با والدین خود و سایر دو رگ‌ها نشان داد.

اولین بار خوش و همکاران (Khush *et al.*, 1992)، نشانگر رپید را برای تعیین تنوع ژنتیکی نژادهای دورگ حاصل از تلاقی مورد استفاده قرار دادند. نتایج آزمایش‌های آن‌ها نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی نژادهای قارچ دکمه‌ای پایین است و جدایه‌های وحشی این گونه تنوع بیشتری

Archive

www.SID.ir

نسبت به نژادهای تجاری دارند. برخی از محققان (Moore *et al.*, 2001؛ Williams *et al.*, 1990) در آزمایش‌های خود اثبات کردند که آغازگرهای تصادفی می‌توانند بین نژادهای شدیداً خویشاوند قارچ خوراکی تمایز قائل شده وارتباط ژنتیکی میان آن‌ها را تعیین کنند. در یک مطالعه با استفاده از نشانگر رپید برای تمایز نژادهای تجاری قارچ دکمه‌ای، نتایج نشان داد که از مجموع ۶۶ آغازگر تصادفی مورد استفاده، ۱۲ آغازگر قادر به تمایز نژادهای گونه *Agaricus bisporus* بودند در حالی که هر ۶۶ آغازگر جدایه‌های گونه *Agaricus bitorquis* را از یک‌دیگر تفکیک کردند (Pie-Sheng and Jia-Hui, 2005). در دورگ‌گیری معمول در قارچ‌ها، معمولاً تنها والدین هتروکاریوتیک انتخاب می‌شوند و از نظر صفات مختلف خصوصاً ویژگی‌های مورفولوژیکی مورد بررسی قرار می‌گیرند. این در حالی است که والدین مونو کاریوتیک هستند که مستقیماً در دورگ‌گیری استفاد می‌شوند و تفاوت میان والدین دی‌کاریوتیک نمی‌تواند به طور دقیق منعکس کننده تفاوت نتاج مونوکاریوتیک آن‌ها باشد، زیرا ممکن است در طی تقسیمات میوزی تغییرات ژنتیکی متعددی رخ دهد (Pie-Sheng and Jia-Hui, 2005). در بررسی حاضر شباهت ژنتیکی جدایه‌های هموکاریون مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از نه آغازگر مورد استفاده همگی قادر به تفکیک جدایه‌های تک اسپوری هموکاریون بودند. فاصله تک اسپورهایی با والدین متفاوت به طور آشکار بیشتر از جدایه‌های تک والدی بود. به طوری که اکثر جدایه‌هایی که والد مشترکی داشتند در کنار هم و در گروه‌های مشابه قرار گرفتند. دو نژاد ۱۴ و ۱۵ که بیشترین شباهت (۰/۸۲) را داشتند، جدایه‌های تک اسپوری نژاد قهوه‌ای Swiss brown بودند. همچنین دو نژاد با شباهت ۰/۸۰ از والد مشترک ۵۱۲ بودند. البته در برخی موارد دو جدایه مربوط به یک والد مشترک نیز شباهت بسیار کمی را نشان می‌دادند به عنوان مثال برای دو جدایه شماره ۵ و ۴ که هر دو از والد IMCa-10 جدا سازی شده بودند میزان شباهت تنها ۰/۳۶ بود. همچنین جدایه تک اسپوری شماره ۵ که از والد مادری IMCa-10 به دست آمده بود، تفاوت بسیار زیادی را با همه جدایه‌ها از جمله سایر هموکاریون‌های هم نسب خود نشان داد و در تجزیه خوشه‌ای، کاملاً مجزا از سایر جدایه‌ها قرار گرفت به طوری که نزدیک‌ترین جدایه به آن یعنی جدایه شماره ۷ تنها ۰/۳۵ شباهت با آن نشان می‌داد. شایان ذکر است که بررسی تنوع ژنتیکی والدین دورگ جدایه‌های مورد استفاده، در آزمایش دیگری و به کمک روش انگشت نگاری اِ.اف.ال.پی انجام شده بود (Ghorbani *et al.*, 2009). نتایج بررسی فوق چند شکلی پایینی را میان این نژادهای والدینی نشان داد. چندشکلی پایین در نژادهای تجاری قارچ دکمه‌ای به این نکته برمی‌گردد

Archive of SID

www.SID.ir

که در کشت این قارچ منحصراً از تعداد محدودی نژادهای مادری استفاده می‌شود. به مرور زمان نژادهای تجاری مختلفی از این نژادهای مادری منشاء گرفته‌اند که اگر چه با نام‌های مختلف در بازار ارایه می‌شوند عملاً تفاوت چندانی با یک‌دیگر ندارند. بدیهی است تولید نژادهای دورگ با استفاده از چنین والدینی، نوترکیبی قابل توجهی را در مکان‌های ژنی ایجاد نمی‌کند. در این آزمایش جدایه‌های هموکاریون با بیشترین فاصله ژنتیکی، در قالب ۹۲ تلاقی با یک‌دیگر آمیزش داده شدند که در نهایت هفت تلاقی منجر به تولید نژاد دورگ گردید. تیپ آمیزشی در قارچ‌های بازیدیومیست معمولاً از یک سیستم تک ژنی یا دو ژنی تبعیت می‌کند (Kerrigan *et al*, 1993؛ Kothe, 2001). با توجه به این‌که در *Agaricus bisporus* تیپ آمیزشی توسط یک مکان ژنی کنترل می‌شود از نظر تئوری می‌بایست نیمی از تلاقی‌ها سازگار باشند. در صورتی که نتایج آزمون میوه دهی در این مطالعه ایجاد هفت دو رگ را تایید کرد. یکی از دلالیل این امر می‌تواند این باشد که بر خلاف گونه‌های دیگر این جنس مثل *A. bitorquis* و *A. arvensis* ایجاد دورگ همیشه با افزایش بیشتر رشد میسلیوم هوایی همراه نیست و این مسئله تشخیص وقوع دو رگ‌گیری را با مشکل رو به رو می‌سازد. محققین دیگری نیز در بررسی‌های خود به مشاهدات مشابهی اشاره کرده‌اند (Xu *et al*., 1993).

در این پژوهش، بررسی جدایه‌های تک اسپوری هموکاریون به کمک آغازگرهای تصادفی رپید نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل توجهی میان جدایه‌های هموکاریون قارچ خوراکی دکمه‌ای وجود دارد. بنابراین در صورت انتخاب هدفمند جدایه‌های درگیر در تلاقی، دورگ‌گیری بین هموکاریون‌های با منشاء نژادهای تجاری موجود نیز می‌تواند برای دست یابی به تفرق ژنتیکی مورد نیاز طرح‌های تجزیه همبستگی مفید باشد. همچنین در صورتی که نژادهای تولید شده هتروزیس مناسبی نسبت به والدین خود نشان دهند، می‌توانند به عنوان نژادهای جدید به بازار مصرف عرضه شوند.

سپاسگزاری

این پژوهش با پشتیبانی مالی گروه کشاورزی و منابع طبیعی جهاد دانشگاهی انجام شده است.

References

Anonymous. 2002. Soltis Lab CTAB DNA Extraction Protocol. The Soltis Lab, Florida Museum of Natural History, on line at: http://www.flmnh.ufl.edu/soltislab.

Archive of SID

www.SID.ir

Bruel, D. C., Carpentieri- Pipolo, V., Gerage, A. C., and Nelson da Silva, F. J. 2006. Genetic distance estimated by RAPD markers and its relationship with hybrid performance in maize. Pesquisa Agropecuária Brasileir 41(10): 1491- 1498.

Calvo-Bado, L., Noble, R., Challen, M., Dobrovin-Pennington, A., and Elliott, T. 2000. Sexuality and genetic identity in the Agaricus section Arvenses. Applied and Environmental Microbiology 66: 728-734.

Cullings, K. W. 1992. Design and testing of a plant-specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. Molecular Ecology 1: 233-240.

Farsi, M., and Bagheri, A. 2004. Principles of Plant Breeding. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad Publications. Mashhad, Iran. 376 pp. (in Persian).

Farsi, M., and Gordan, H. R. 2007. Edible Mushroom Breeding with Emphasis on the White Button Mushroom. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad Publications. Mashhad, Iran. 148 pp. (in Persian).

Farsi, M., and Zolala, J. 2009. Introduction to Plant Biotechnology. Ferdowsi University of Mashhad Publications. Mashhad, Iran. 512 pp. (in Persian).

Ghorbani, F. P., Farsi, M., Pourianfar, H. R., Mahmoodnia, M. H. R., and Zolala, J. 2009. Preparation of AFLP mediated molecular certificate for 12 bred strains of the button mushroom, *Agaricus bisporus*. Journal of Plant Protection 23(1): 58-67 (in Persian).

Gordan, H. R., Khatami, R. M., Zolala, J., and Farsi, M. 2007. Introducing and registering three bred strains of the button mushroom, *Agaricus bisporus*. Journal of Agricultural Science 17(2): 171-188 (in Persian).

Kang, J., Lee, M. S., and Gorenstein, D. G. 2005. The enhancement of PCR amplification of a random sequence DNA library by DMSO and betaine. Journal of Biochemical and Biophysical Methods 64(2): 147–151.

Archive of SID

www.SID.ir

Kerrigan, R. W., Royse, J. C., Baller, L. M., Kohli, Y., and Horgen, P. A. 1993. Meiotic behavior and linkage relationships in the secondarily homothallic fungus *Agaricus bisporus*. Genetics 133: 225-236.

Khush, R. S., Becker, E., and Wach, M. 1992. DNA amplification polymorphism of cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Applied and Environmental Microbiology 58(9): 2971- 2977.

Kothe, E. 2001. Mating-type genes for Basidiomycete strain improvement in mushroom farming. Applied Microbiology and Biotechnology 56: 602-612.

Moore, A. J., Challen, M. P., Warner, P. J., and Elliott, T. 2001. RAPD discrimination of *Agaricus bisporus* mushroom cultivars. Applied Microbiology and Biotechnology 55: 742- 749.

Pie-Sheng, Y., and Jia-Hui, J. 2005. Preliminary research of the RAPD molecular marker-assisted breeding of the edible basidiomycete *Stropharia rugoso-annulata*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 21: 559-563.

Raper, C. A. 1976. Sexuality and life-cycle of the edible, wild *Agaricus bitorquis*. Journal of General Microbiology 95: 54-66.

Raper, C. A., Raper, J. R., and Miller, R. E. 1978. Sexual and other relationships in the genous Agaricus. Journal of General Microbiology 105: 135-151.

Sonnenberg, A. S. M., Baars, J. J. P., Hendricks, P. M., and Kerrigan, R. W. 2005. Breeding mushrooms: state of the art. Proceedings of the Fifth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, April, Shanghi, China.

Williams, J. G. K., Kubelic, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, J. A. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Research 18: 6531-6535.

Archive of SID

www.SID.ir

Xu, J. 1995. Analysis of inbreeding depression in *Agaricus bisporus*. Genetics 141: 137-145.

Xu, J., Kerrigan, R. W., Horgen, P. A., and Anderson, J. B. 1993. Localization of the mating type gene in *Agaricus bisporus.* Applied and Environmental Microbiology 59(9): 3044-3049.

Archive of SID

www.SID.ir