دانشکده کشاورزی

گروه گیاهپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

شناسایی وتعیین خصوصیات سودومونا‌س‌های ایجاد کننده لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی تکمه‌ای درمناطق مرکزی و شمال شرق ایران

مهدی اخلاقی

اسفند ۱۳۹۱

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد

شناسایی وتعیین خصوصیات سودوموناس‌های ایجاد کننده لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی تکمه‌ای درمناطق مرکزی و شمال شرق ایران

مهدی اخلاقی

استاد راهنما

دکتر سعید طریقی

استادان مشاور

دکتر محمد فارسی

دکتر پریسا طاهری

اسفند ۱۳۹۱

دانشکده کشاورزی، گروه گیاهپزشکی

این پایان نامه کارشناسی ارشد توسط مهدی اخلاقی دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی در تاریخ ۱۳۹۱/۱۲/۲۳

در حضور هیات داوران دفاع گردید. پس از بررسی های لازم، هیات داوران این پایان نامه را با نمره عدد

حروف و با درجه مورد تایید قرار داد / نداد.

عنوان پایان نامه: شناسایی و تعیین خصوصیات سودوموناس‌های ایجادکننده لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی تکمه‌ای در مناطق مرکزی و شمال شرق ایران

سمت در هیات داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	گروه	موسسه / دانشگاه	امضاء
استادان داور	دکتر بهروز جعفرپور	استاد	گیاهپزشکی	فردوسی مشهد	
	دکتر محسن مهرور	استادیار	گیاهپزشکی	فردوسی مشهد	
نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر لیدا فکرت	استادیار	گیاهپزشکی	فردوسی مشهد	
استاد راهنما	دکتر سعید طریقی	استادیار	گیاهپزشکی	فردوسی مشهد	
استادان مشاور	دکتر محمد فارسی	استاد	بیوتکنولوژی	فردوسی مشهد	
	دکتر پریسا طاهری	استادیار	گیاهپزشکی	فردوسی مشهد	

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: شناسایی و تعیین خصوصیات سودوموناس‌های ایجاد کننده لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی تکمه‌ای در مناطق مرکزی و شمال شرق ایران

اینجانب مهدی اخلاقی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی دکتر سعید طریقی متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد دیگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ : ۹۱/۱۲/۲۳

نام و امضاء دانشجو : مهدی اخلاقی

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.**

چکیده

بیماری لکه قهوه‌ای (Brown Blotch) قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) در سال‌های اخیر به عنوان یک بیماری شایع در سالن‌های پرورش قارچ کشور خسارت فراوانی را وارد نموده است. این بیماری مهمترین بیماری باکتریایی قارچ تکمه‌ای سفید در ایران و جهان می‌باشد. بیماری لکه قهوه‌ای به عنوان یکی از عوامل کاهش کیفیت و کمیت در قارچ خوراکی مطرح است. علایم بیماری به صورت، لکه‌های کوچک قهوه‌ای روشن تا تیره و کلاهک‌های پوسیده که حالت لزج و چسبناکی دارند مشاهده می‌شود. بیماری لکه قهوه‌ای ناشی از چندین گونه باکتری است که متعلق به جنس سودوموناس می‌باشند. باکتری *Pseudomonas tolaasii* به عنوان یکی از عوامل اصلی ایجاد لکه قهوه‌ای شناخته شده است. اما گونه‌های دیگری مثل *P. reactans* و *P. fluorescens* نیز به عنوان عوامل ایجاد کننده بیماری فوق در قارچ تکمه‌ای سفید معرفی شده‌اند. در سال ۱۳۹۰ از استان‌های خراسان رضوی، البرز، تهران، سمنان، قزوین و گلستان نمونه برداری صورت گرفت. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و خالص سازی بر روی محیط کشت King's B باکتری‌های متعلق به جنس *Pseudomonas* از سایر باکتری‌ها جدا شدند. آزمون اثبات بیماریزایی بر روی کلاهک‌های قارچ خوراکی مثبت بود. آزمونهای مختلف بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، تغذیه‌ای و تکثیر یک کیلو بازی از ناحیه ۱٦S rDNA با استفاده از آغازگرهای رفت و برگشت Ps مشخص نمود که استرین‌های جدا سازی شده متعلق به جنس سودوموناس هستند و گونه باکتری‌ها نیز مشخص شدند. بر اساس این آزمونها و همچنین تولید رسوب سفید (White line) گونه *P. tolaasii* و *P. reactans* بیشترین فراوانی را در بین جدایه‌ها داشتند. آزمایش کروماتوگرافی لایه نازک وجود سیگنال‌های PQS را در جدایه‌ها مشخص نمود اما هیچ گونه ارتباط مستقیمی بین تولید این سیگنال و فاکتورهای بیماریزایی از قبیل تولید بیوفیلم، مقاومت به H_2O_2، تحرک و تولید سیدروفور مشاهده نشد. تنوع زیادی در بین جدایه‌ها از لحاظ بیماریزایی مشاهده شد و بر این اساس استرین‌ها به پاتوتیپ‌های مختلفی تقسیم شدند. به منظور تعیین ارتباط ژنتیکی میان جدایه‌ها از روش Rep-PCR و پرایمرهای ERIC و BOX استفاده شد. آنالیز نقوش الکتروفورزی محصولات PCR بر اساس وجود قطعات همسان و غیر همسان در جدایه‌ها با استفاده از ضریب تشابه جاکارد صورت گرفت. نتایج نشان داد آزمون Rep-PCR در گروه بندی و تعیین تنوع سودوموناس‌های جداسازی شده از قارچ خوراکی دارای کارایی بوده و تنوع بالای درون گونه‌ای در بین جدایه‌های مربوط به مناطق مرکزی و شمال شرقی ایران مشاهده شد.

کلمات کلیدی : *Pseudomonas*، *Agaricus bisporus*، Rep–PCR

سپاسگزاری

اکنون که به فضل و عنایت خداوند متعال موفق به اتمام پایان نامه تحصیلی خود گردیده‌ام وظیفه خود می‌دانم که از فرد فرد کسانی که به هر نحو در این امر مرا یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی بنمایم. بر خود لازم می‌دانم از استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر سعید طریقی که در طول اجرای پایان نامه از راهنمایی های ارزنده و کمک‌های بی‌دریغ ایشان بهره‌مند بودم تشکر و قدردانی بنمایم. در طول این دوره از اساتید ارجمندی همچون دکتر پریسا طاهری و دکتر محمد فارسی، به بخاطر مشاوره‌های بجا و شایسته کمال تشکر و قدردانی را دارم. از اساتید دارو جناب آقای دکتر بهروز جعفرپور و جناب آقای دکتر محسن مهرور بخاطر داوری این پایان‌نامه بسیار سپاسگزارم و برای تمامی این عزیزان از خداوند متعال توفیق هرچه بیشتر مسئلت می‌نمایم. از نماینده تحصیلات تکمیلی سرکار خانم دکتر فکرت تشکر می‌نمایم. از کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های بیماری شناسی، آقایان سبک خیز و جهان بخش که در اجرای این پایان نامه بنده را همراهی نمودند، قدردانی می‌نمایم. هم چنین از کلیه دانشجویان دکتری و ارشد بیماری شناسی دانشگاه فردوسی مشهد که اینجانب را یاری نموده‌اند کمال تشکر را دارم. بر خود لازم می‌دانم از خانواده‌ام خصوصا از پدر و مادر خویش، آنانکه وجودم برایشان همه رنج بود و وجودشان برایم همه مهر و آنانکه راستی قامتم در شکستگی قامتشان تجلی یافت، نهایت سپاس و قدردانی را داشته باشم. در انتها امیدوارم همه ما انگیزه و توان تاثیر گذاری بر جامعه‌ای که در آن زندگی می‌کنیم را در خود بوجود آوریم.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

۱-۱ بیان اهداف تحقیق ۱

۱-۲ تاریخچه پرورش قارچ تکمه‌ای سفید ۲

۱-۳ رده بندی علمی و اندام شناسی قارچ تکمه‌ای سفید ۴

۱-۴ جایگاه قارچ خوراکی در دنیای امروز ۶

۱-۵ اهمیت تغذیه‌ای قارچ خوراکی ۷

۱-۵-۱- محتوای پروتئین ۷

۱-۵-۲- ویتامین‌ها ۸

۱-۵-۳- مواد معدنی ۸

۱-۵-۴- چربی‌ها ۹

۱-۵-۵- کربوهیدرات و فیبر ۹

۱-۵-۶- محتوای رطوبتی ۱۰

۱-۶- چرخه زندگی در قارچ تکمه‌ای سفید ۱۰

۱-۶-۱- الگوی چرخه زندگی در جمعیت‌های هموتال ثانویه قارچ تکمه‌ای ۱۰

۱-۷- عوامل کاهنده تولید و کیفیت در قارچ تکمه‌ای سفید ۱۳

۱-۷- ۱-بیمارهای قارچی ۱۵

۱-۷-۲- بیماری‌های باکتریایی ۱۹

۱-۷-۳- بیماری ویروسی ۲۱

۱-۷-۴- بیماری‌های نماتدی ۲۲

۱-۷-۵- بیماری‌های فیزیولوژیکی ۲۴

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- پیشگفتار ۲۶

۲-۲- تاریخچه بیماری لکه قهوه‌ای..... ۲۷

۲-۳- باکتریهای بیماریزا در *Agaricus bisporus*..... ۲۹

۲-۴- جنس سودوموناس..... ۳۱

۲-۵- ژنتیک سودوموناس‌ها ۳۳

۲- ۶- باکتری *Pseudomonas tolaasii*..... ۳۵

۲- ۶-۱- شناساسی *Pseudomonas tolaasii*..... ۳۸

۲- ۶-۲- فاز بیماریزا و ساپروفیت در *Pseudomonas tolaasii*..... ۴۰

۲- ۶-۳- تولید توکسین ۴۱

۲- ۷- مکانیسم بیماریزای در*Pseudomonas tolaasii*..... ۴۱

۲- ۸- سیدروفور تولیدی توسط سودوموناس‌ها..... ۴۲

۲- ۹- تولید بیوفیلم در سودوموناس‌ها ۴۴

۲-۱۰- سیستم درک حد نصاب و سیگنالهای PQS ۴۶

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱ نمونه برداری از سالن‌های پرورش قارچ خوراکی تکمه‌ای..... ۴۹

۳-۲ جدایه‌های باکتری و شرایط کشت و نگهداری باکتری‌ها..... ۵۰

۳-۳ آزمون‌های فنوتیپی..... ۵۱

۳-۴ آزمون بیماریزایی..... ۵۲

۳-۵ آزمون حساسیت به H_2O_2..... ۵۳

۳-۶ سنجش سیدروفور(پایووردین) تولیدی توسط جدایه‌ها..... ۵۳

۳-۷ توانایی تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌ها ۵۴
۳-۸ آزمون سنجش تحرک جدایه‌ها ۵۵
۳-۹ آزمون تولید رسوب سفید (White line) ۵۵
۳-۱۰ استخراج *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) و ردیابی آن در جدایه‌ها ۵۶
۳-۱۱ استخراج DNA ژنومی جدایه‌ها ۵۷
۳-۱۱-۱ واسرشت سازی DNA ، انجام الکتروفورز و تعیین توالی ۱۶S rRNA ۵۸
۳-۱۱-۲ Rep-PCR و تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌ها ۵۹

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱ شناسایی جدایه‌های باکتری بر اساس خصوصیات مرفولوژی، بیوشیمیایی و فیزیولوژی ۶۰
۴-۲ آزمون بیماریزایی ۶۳
۴-۳ آزمون حساسیت به H_2O_2 ..... ۶۴
۴-۴ سنجش سیدروفور(پایووردین) در جدایه‌های سودوموناس فلورسنت ۶۷
۴-۵ توانایی تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌ها ۶۹
۴-۶ آزمون سنجش تحرک جدایه‌ها ۷۱
۴-۷ آزمون تولید رسوب سفید (White line) ۷۲
۴-۸ استخراج سیگنال PQS و ردیابی آن ۷۴
۴-۹ ردیابی بخشی از ژن ۱۶S rDNA در جدایه‌های مورد بررسی ۷۶
۴-۱۰ نتایج انگشت نگاری حاصل از Rep-PCR ۷۷
۴-۱۱ تجزیه و تحلیل اطلاعات بدست آمده از نقوش Rep-PCR ۷۹

فصل پنجم: نتیجه گیری و پیشنهادات

نتیجه گیری و پیشنهادات..... ۸۶

منابع ۹۱

فهرست اسامی لاتین..... ۱۰۷

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱ چرخه زندگی یک قارچ کلاهکدار ماکروبازیدیومیست	۱۳
شکل ۱-۲ بیماری کمپوست سیاه با عامل شبه قارچی *Pythium oligandrum*	۱۶
شکل ۱-۳ کپک سبز زیتونی یا *Chaetomium* spp	۱۷
شکل ۱-۴ عامل حباب خشک (*Verticillium fungicola var. fungicola*)	۱۷
شکل ۱-۵ عامل حباب تَر (*Mycogone perniociosa*)	۱۸
شکل ۱-۶ بیماری ناشی از قارچ *Dactylium* spp.	۱۸
شکل ۱-۷ بیماری لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی ایجاد شده بوسیله *Pseudomonas tolaasii*	۱۹
شکل ۱-۸ بیماری لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی با عامل *Pseudomonas tolaasii*, دو عدد از نمونه‌های این تحقیق.	۲۰
شکل ۱-۹ بیماری مومی شدن قارچ خوراکی ناشی از باکتری *Pseudomonas* spp.	۲۰
شکل ۱-۱۰ علائم بیماری ویروسی X	۲۱
شکل ۱-۱۱ علائم دیگر بیماری ویروسی X	۲۲
شکل ۱-۱۲ تصویری از آلودگی نماتدی	۲۳
شکل ۱-۱۳ علائم کلی آلودگی نماتدی	۲۳
شکل ۱-۱۴ رشد اضافی کلاهک قارچ	۲۴
شکل ۱-۱۵ شکل نگرفتن پین‌ها	۲۵
شکل ۱-۱۶ ظهور زود هنگام اندام های بار دهی	۲۵
شکل ۲-۱ سودوموناس‌های بیماریزای قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید	۳۰
شکل ۲-۲ ویژگی ها و خصوصیات جنس سودوموناس	۳۲
شکل ۲-۳ مراحل تشکیل بیوفیلم	۴۶
شکل ۲-۴ مکانیسم Quorum sensing در باکتری‌های گرم منفی	۴۷
شکل ۴- ۱ علائم بیماریزایی پاتوتیپ‌های مختلف جداسازی شده از کلاهک قارچ خوراکی	۶۴
شکل ۴-۲ قطر هاله بازدارنده برای هر جدایه در آزمون حساسیت به H_2O_2	۶۶
شکل ۴-۳ میزان حساسیت به H_2O_2 برای هر جدایه	۶۶
شکل-۴-۴. مقدار سیدروفور(پایووردین) تولیدی در هر جدایه‌های	۶۸
شکل-۴-۵ توانایی جدایه‌ها در تشکیل بایوفیلم	۷۰
شکل-۴- ۶. تصویر میکروسکوپی با عدسی X ۴ از جدایه Gh۳ که نشان دهنده بیشترین تولید بیوفیلم می‌باشد	۷۰
شکل-۴-۷ کمترین بیوفیلم تولید شده توسط جدایه Te۱۷B مشاهده شده با میکروسکوپ نوری با عدسی X ۴	۷۰

شکل-۴-۸ مقدار تحرک در جدایه‌ها بر حسب سانتیمتر..... ۷۱
شکل-۴-۹ بررسی تحرک در جدایه‌ها (شکل A و B)..... ۷۲
شکل ۴-۱۰ تشکیل رسوب سفید در مجاورت جدایه‌های Te۱۷A و Te D۱۷B..... ۷۳
شکل۴-۱۱ ظهور باندهای حاوی PQS برروی صفحه سیلیکاژل در مجاورت نور UV..... ۷۵
شکل ۴-۱۲ تکثیر قطعه ۱۰۰۰ جفت بازی بخشی از ژن ۱۶S rDNA در ۲۲ جدایه..... ۷۷
شکل ۴-۱۳ نقوش الکتروفورز حاصل از Rep-PCR با آغازگر BOX در بین جدایه‌های سودوموناس..... ۷۸
شکل ۴-۱۴ نقوش الکتروفورز حاصل از Rep-PCR با آغازگر ERIC در بین جدایه‌های سودوموناس..... ۷۹
شکل ۴-۱۵ دندروگرام تشابه ۲۲ جدایه مختلف سودوموناس جداسازی شده (بر اساس آغازگرهایERIC وBOX) ۸۰
شکل ۴-۱۶ دندروگرام تشابه ۲۲ جدایه مختلف سودوموناس جداسازی شده (بر اساس آغازگر ERIC) ۸۲
شکل ۴-۱۷ دندروگرام تشابه ۲۲ جدایه مختلف سودوموناس جداسازی شده (بر اساس آغازگر BOX) ۸۳

عنوان جدول ها

عنوان جداول	صفحه
جدول ۲-۱. باکتری‌های بیماریزای در *Agaricus bisporus*	۳۰
جدول ۳-۱. مناطق نمونه برداری شده استان‌های مرکزی و شمال شرقی ایران	۵۰
جدول ۳-۲. مقیاس درجه بندی برای تست بیماریزایی	۵۳
جدول ۳-۳. توالی آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق	۵۷
جدول۴-۱. میزان تشابه سودوموناس‌های جداسازی شده در این تحقیق با گونه‌های غالب جداسازی شده از قارچ خوراکی در دنیا	۶۱
جدول۴-۱ . مقایسه خصوصیات فنوتیپی مهم و خصوصیات بیماریزایی سودوموناس‌های جدا سازی شده در این تحقیق	۸۵

فهرصت علامت ها و اختصار ها

علامت	معادل فارسی	معادل انگلیسی
µg/µl	microgram/microliter	میکروگرم بر میکرولیتر
µl	microliter	میکرولیتر
bp	Base pair	جفت باز
DNA	deoxyribo nucleic acid	اسید دزوکسی ریبونوکلئیک
dNTP	deoxyribo nucleotide tri phosphate	دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات
FAO	food and agriculture organization	سازمان خوار و بار جهانی
g	gram	گرم
g/l	liter/gram	گرم بر لیتر
ml	mililiter	میلی لیتر
mM	milimolar	میلی مولار
ng/ µl	nanogram/microliter	نانوگرم بر میکرولیتر
OD	optical density	چگالی نوری
ORF	open reading frame	قاب خواندنی
PCR	polymeras chain reaction	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
pmol	picomol	پیکومول

فصل اول

مقدمه

۱-۱- بیان اهداف تحقیق

قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) بیشترین سطح زیر کشت قارچ خوراکی در ایران را به خود اختصاص داده است. در بین بیماری‌های قارچ خوراکی، باکتری‌ها به علت شرایط مناسب سالن‌های پرورش قارچ (رطوبت ۸۰ درصد و دمای ۱۶°C تا ۲۵°C) برای تکثیر و گسترش از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند. بیماری لکه قهوه‌ای (Brown Blotch) در *A. bisporus* یکی از مهمترین آنهاست که نه تنها بازار پسندی محصول را کاهش می‌دهد بلکه از لحاظ ایجاد خسارت اقتصادی نیز مهم ارزیابی می‌شود. باکتری *Pseudomonas tolaasii* به عنوان عامل اصلی ایجاد لکه قهوه‌ای مطرح است اما در منابع همیشه بیش از یک میکروارگانیسم به عنوان عامل بیماری لکه قهوه‌ای در نظر گرفته می‌شود. سایر گونه‌های سودوموناس از جمله *P. reactans* و *P. fluorescens* نیز سبب تغییر رنگ کلاهک و در نهایت تخریب بافت می‌شوند. از آنجایی که *P. tolaasii* از گستردگی و توان بیماریزایی بیشتری برخوردار است به همین دلیل در دنیا نسبت به سایرسودوموناس‌های قارچ تکمه‌ای سفید بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است (سیوانسن، ۲۰۰۳).

بیماری لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی برای اولین بار در سال ۱۹۱۵ توسط تولاس توصیف گردید اما شناسایی و بررسی خصوصیات عامل آن در سال ۱۹۱۹ به وسیله یک بیماری شناس به نام پین انجام شد (سیوانسن، ۲۰۰۳). در سال ۱۹۷۹ عامل این بیماری توسط ونگ و پریس به صورت مشروح توصیف شد و یک باکتری فلورسنت (*P. tolaasii*) معرفی گردید (ونگ و همکاران، ۱۹۸۲). اولین گزارش از وجود این بیماری در ایران مربوط به قارچ کاری‌های استانهای تهران و همدان بوده که وجود عامل بیماری مورد تایید قرار گرفت (خبازجلفایی و رحیمیان، ۱۳۸۱). تاکنون بررسی دقیقی از لحاظ پراکندگی این بیماری در ایران انجام نشده و اطلاع دقیقی از تنوع ژنتیکی جدایه‌های مناطق مختلف در دست نیست. بررسی حاضر به منظور ارزیابی همسانی یا تنوع ژنتیکی جدایه‌های به دست آمده از سالن‌های پرورش قارچ در استان‌های خراسان رضوی، البرز، تهران، سمنان، قزوین و گلستان انجام شد.

۱-۲- تاریخچه پرورش قارچ دکمه‌ای سفید

انسان از بدو پیدایش در جستجوی غذا بوده است و احتمالا قارچ ها یکی از اولین محصولاتی بوده-اند که به عنوان غذا جلب توجه کرده‌اند. امروزه نیز با وجود محصولات زراعی مهم مثل گندم، برنج، ذرت و سیب زمینی، برای تأمین غذا استفاده از محصولات غیر مرسوم در سیستم کشاورزی می تواند کمک شایانی به وضعیت اقتصادی - اجتماعی مردم کشور به ویژه کشاورزان بنماید. قارچ‌ها که احتمالا اولین محصولات زراعی اهلی شده می‌باشند، می‌توانند یکی از بهترین انتخاب‌ها برای این منظور باشند. زیرا با استفاده از ضایعات کشاورزی مواد غذایی تولید می‌نمایند و بنابراین یکی از با صرفه ترین و اقتصادی ترین

محصولات هستند. افزایش روز افزون جمعیت در کشور تولید غذای بیشتری را طلب می‌نماید. در این بین تولید پروتئین بیش از هر چیز دیگری اهمیت دارد. قارچ ها دارای درصد پروتئین زیاد و ضریب هضم بالایی می‌باشند که مورد نیاز مُبرم کشورهای در حال توسعه است. بنابراین فناوری پرورش قارچ خوراکی می‌تواند در تامین تقاضای روز افزون غذا در کشور کمک بسزایی بنماید. قارچ‌ها نه تنها از نظر آمینواسیدها غنی هستند بلکه برای کسانی که به بیماری‌های قلبی دیابت و یا فشار خون مبتلا می‌باشند بسیار مناسب هستند. میانگین مصرف سرانه قارچ در حال حاضر در ایران حدود ۰/۵ کیلوگرم است در حالی که در دنیا حدود ۲/۵ کیلوگرم و در کشورهای اروپایی حدود ۵ کیلوگرم است. بعضی از کشورهای از جمله پاکستان، هندوستان، تایوان، تایلند و چین این محصولات را به کشورهای دیگر صادر می‌کنند و صادرات قارچ ارزآوری بالایی برای این کشورها دارد. قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید رایج‌ترین قارچی است که در سراسر دنیا کشت می‌شود. این قارچ در حدود سال ۱۶۵۰ میلادی در حومه پاریس کشت می‌شده است. به تدریج در قرن ۱۸ کشت این قارچ در تمام اروپا گسترش یافت. گسترش تولید قارچ تکمه‌ای سفید در اواخر قرن ۱۹، به آمریکا رسید و از سال ۱۹۱۰ کشت و تولید آن در خانه و محیط‌های کنترل شده رواج پیدا کرد. از دهه ۱۹۶۰، توسعه صنعت تولید و پرورش قارچ‌های خوراکی و به ویژه قارچ دکمه‌ای سفید به شیوه مدرن آغاز شد و با تاسیس آزمایشگاه‌های تحقیقاتی در اروپا و آمریکا، فناوری تولید و پرورش قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید پا به عرصه جدیدی گذاشت. اکنون در بسیاری از کشورهای پیشرفته، پرورش این نوع قارچ به عنوان یک صنعت سودآور شناخته می‌شود (فارسی و پوریان فر، ۱۳۹۰).

۱-۳- رده‌بندی علمی و اندام شناسی قارچ تکمه‌ای

در گذشته‌ی دور، قارچ‌ها به علت داشتن دیواره سلولی و اسپور[1] جز سلسله گیاهان طبقه بندی می‌شدند، اما بعدها مشخص شد از آنجایی که قارچ‌ها فاقد کلروفیل بوده و متکی به وجود مواد آلی هستند، به سلسله جداگانه‌ای به نام Fungi تعلق دارند. قارچ تکمه‌ای یک قارچ حقیقی متعلق به این سلسله می‌باشد، لذا رده بندی این قارچ بر اساس آخرین طبقه‌بندی به شرح زیر می‌باشد (هیبت و همکاران، ۲۰۰۷) :

فوق سلسله : Eukaryota

سلسله : Fungi

زیر سلسله : Dikarya

شاخه : Basidiomycota

زیر شاخه : Agaricomycotina

رده : Agaricomycetes

زیر رده : Agaricomycetidae

راسته : Agaricales

خانواده : Agaricaceae

جنس : *Agaricus*

گونه : *A. bisporus*

1 - Spore

در جنس Agaricus بازیدیوکارپ‌های چتری شاخص تشکیل می‌شود. کلاهک سفید تا قهوه‌ای است و تیغه‌ها آزاد و پایه دارای حلقه است ولی ولوا تشکیل نمی‌شود، در این جنس بازیدیوسپورها بر روی بازیدیوم‌های تک سلولی تشکیل می‌گردند و با فشار آزاد می‌شوند (خداپرست، ۱۳۸۹). گروهی از قارچ‌ها مواد آلی مورد نیاز خود را از بقایای مرده موجودات زنده دیگر تأمین می‌کنند و لذا گندرو[1] (ساپروفیت) نامیده می‌شوند. گروهی دیگر به صورت انگلی زندگی می‌کنند و مواد غذایی خود را به طور مستقیم از موجودات زنده دیگر به دست می‌آورند. قارچ تکمه‌ای مواد آلی مورد نیازش را منحصرا از بقایای مرده موجودات زنده تأمین می‌کند و بنابراین یک قارچ گندرو (ساپروفیت) می‌باشد (پاکدین، ۱۳۸٦).

قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید در منابع مختلف و در طی تاریخچه خود به نام‌های متعدد نامیده شده است. در اولین کتابی که در مورد پرورش این قارچ منتشر شده است، از این قارچ به نام *Psalliota campestis* یاد شده است. البته این نام به علت نداشتن اساس تاکسونومیکی مورد پذیرش قرار نگرفت. در سالهای بعد این قارچ را بر اساس وجود دو اسپور بر روی هر بازیدیوم به نام *Psalliota hortensis Lev* نامگذاری شد. در سال ۱۹۵٤، در کنگره بین‌المللی گیاه شناسی پاریس، برای قارچ خوراکی تکمه‌ای، نام علمی *Agaricus bisporus* lange (Imbach) پذیرفته شد (سینگر و هاریس، ۱۹۸۷). در هر صورت، اکنون بکارگیری نام *A. bisporus* تقریبا در تمامی منابع علمی متداول شده است. نام انگلیسی این قارچ نیز The (White) Button Mushroom است که معادل فارسی آن قارچ خوراکی تکمه‌ای (سفید) می‌باشد (گردان، ۱۳۸۵).

1 - Saprophyte

در قارچ تکمه‌ای، اندام هوایی در هنگام بلوغ از دو قسمت عمده و اصلی تشکیل شده است. قسمت اصلی اندام باردهی به صورت یک کلاهک[1] پهن و قسمت نگهدارنده آن به صورت یک پایه[2] مشخص می‌شود. هنگامی‌که قارچ هنوز جوان بوده و به بلوغ نرسیده، کلاهک به وسیله یک غشاء یا پرده[3] که در حد واسط کلاهک و پایه تشکیل می‌شود، کاملا پوشیده شده است. به تدریج که قارچ به بلوغ می‌رسد، این غشاء پاره شده، تا جایی که در مرحله بلوغ کامل فقط قسمتی از این غشاء اطراف پایه را فرا می‌گیرد. در این حالت این قسمت باقیمانده به نام حلقه[4] معروف است. درون کلاهک، اندام‌هایی به نام تیغه[5] قرار دارند که جایگاه تشکیل بازیدیوسپورهای[6] قارچ می‌باشند (فارسی و پوریان فر، ۱۳۹۰) .

۱-٤- جایگاه قارچ‌های خوراکی در دنیای امروز

امروزه در جهان، بنابر آمار سازمان خوار و بار جهانی،[7] نزدیک به ۸٤۰ میلیون نفر از گرسنگی مُزمن رنج می‌برند که ۸۰۰ میلیون نفر از این تعداد (یعنی بیش از ۹۵ درصد)، در کشورهای فقیر و یا در حال توسعه زندگی می‌کنند. بنابراین مساله‌ی تأمین غذا به یکی از مهمترین برنامه‌های دولتی و غیر دولتی در این کشورها تبدیل شده است. شاید در گذشته‌ی نه چندان دور، منابع پروتئینی جانوری پاسخگوی نسبی نیاز کشورهای فقیر و یا در حال توسعه بوده است، اما امروزه عواملی همچون جمعیت فراوان با نرخ رشد بالا، کمیاب و پر هزینه بودن منابع پروتئینی جانوری، لزوم ایجاد تنوع غذایی با تأکید بر حفظ سلامت فردی و

1 - Cap or pileus
2 - Stipe or Stalk
3 - Veil membrane
4 - Annulus
5 - Gills
6 - Basidiospore
7 - FAO