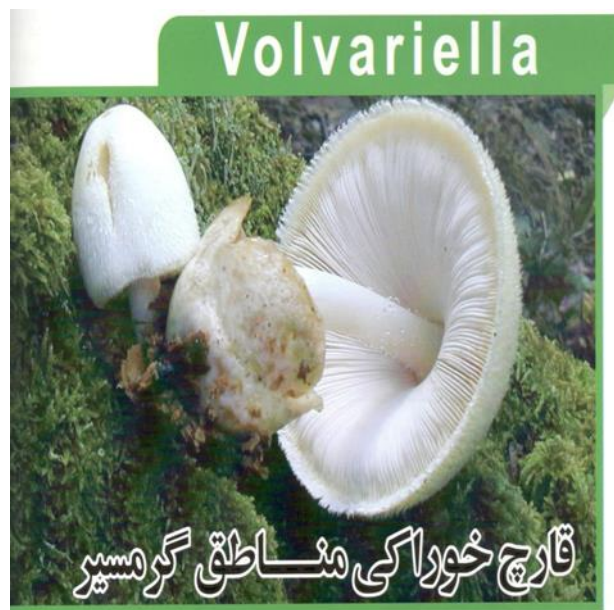


کوچکتر است. در یک بررسی بخش کوچکی از والوا و کلاهک در مرحله تخم مرغی شکافته شده و پایه در فواصل زمانی معینی به وسیله جوهر ضد آب علامتگذاری گردید.

سپس رشد به صورت دوره ای اندازه گیری شد. نتیجه نشان داد که طویل شدن عموماً از سمت بالای پایه صورت می گیرد. در طول اکثر بخش های پایه نقطه های علامتگذاری شده به صورت دایره ای باقی ماند اما دو نقطه ای که در قسمت بالای پایه نزدیک به کلاهک قرار داده شده بود به صورت خطوط عمودی کشیده شد. مطالعات آناتومیکی نشان داد که ناحیه مریستمی بخشی از پایه است که بلافاصله زیر کلاهک قرار دارد و این ناحیه ایست که بیشترین مقدار سافرانین را به خود جذب می کند که بیانگر وجود و فراوانی نوکلئیک اسیدهاست. بیکر (Baker, 1934) می گوید: وقتی سلولهای در حال تقسیم بوسیله ماده رنگی بازی رنگ آمیزی شود کروموزم های مرحله متافازی مقدار بیشتری از آن را در مقایسه با همان حجم سیتوپلاسم دریافت می کنند. علت این امر این است که نوکلئوپروتئین ها در مقایسه سیتوپلاسم بیشتر خاصیت اسیدی دارند، یعنی (basophilic) هستند از طرف دیگر مواد رنگی اسیدی (anionic) در مقایسه با سیتوپلاسم در عمق بیشتری از کروموزوم ها نفوذ می کنند احتمالاً دلیل اینکه قطعاتی که از این بخش برای کشت بافت و تهیه اسپان انتخاب می شود بهتر عمل می کنند نیز همین است. (Change, 1969) همچنین مشخص شده است که رشته های ناحیه طویل شدن زیر ناحیه مریستمی به موازات هم قرار داشته و ریشه های سایر نقاط پایه به صورت توده هایی از ریشه های درهم بافته هستند. هیفهای ناحیه موازی پایه بین $5-8 \mu\text{m}$ قطر دارند و ناحیه بین دوجدار عرضی مجاور بین $35-83 \mu\text{m}$ است. تیغه ها در زیر کلاهک آویزان بوده و تشکیل نوارهایی را می دهند که از حاشیه به سمت پایه امتداد می یابند. مراحل مختلف نمو بازیدیومها را می توان با میکروسکوپ مشاهده کرد. سلول انتهایی یک هیف در هایمنیوم به تدریج متورم شده و تشکیل یک سلول گریزی شکل را می دهد. در این مرحله یک هسته دیده می شود. همچنان یک سلول بزرگتر می شود هسته آن وارد تقسیم میوز می گردد و چهار هسته هاپلوئید به وجود می آورد. در این ضمن چهار استریگما از سر بازیدیوم خارج شده و نوک آنها متورم می شود و بازیدوسپورهای اولیه را تشکیل می دهند سپس چهار هسته به همراه سیتوپلاسم از طریق



(قسمت دوم) دکتر نادر رکنی

دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول

دکتر رحیم اسلامی زاده

شرکت کشاورزی جلگه دز (قارچ دزفول)

همانطور که در بخش اول مقاله ذکر شد، *Volvariella* قارچ خوراکی متعلق به مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است و سابقه کشت آن به سال ۱۸۲۲ در چین برمیگردد. این قارچ را عموماً تحت عنوان "قارچ خوراکی کلشی"، "قارچ خوراکی کلش شالیزار" و یا "قارچ خوراکی چینی" می شناسند. الواریلا متعلق به خانواده *Plutaceae Kolt & Pouz* از رده بازیدیومیست ها است. در قسمت قبل در خصوص موقعیت جغرافیایی، پیشینه ژنتیکی، مشخصات بیولوژیکی، مورفولوژیکی و مرحله بلوغ الواریلا صحبت شد. در این قسمت درباره مراحل طویل شدن، دکمه ای و تخم مرغی، سوزنی، تندش و تشکیل ریشه های رویشی، کلامیدوسپورها، نیازمندی های رشد میسلیم و نیازمندی های تشکیل اندام باردهی قارچ الواریلا صحبت می شود که با هم می خوانیم.

مرحله طویل شدن

مرحله قبل از بلوغ مرحله طویل شدن است و مشابه مرحله بلوغ است به جز اینکه کلاهک باز نشده و اندازه آن



شکل ۶: مراحل تکمه ای و تخم مرغی را نشان میدهد.

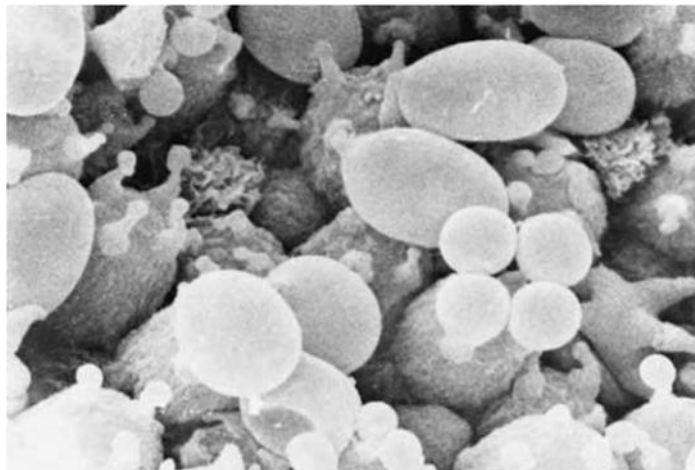
مرحله سوزنی (Pin head stage):

دو مرحله دیگر وجود دارد که در نتیجه درهم بافته شدن هیف ها تشکیل می گیرند. این دو مرحله شامل مرحله سوزنی و مرحله دکمه ای کوچک هستند. (Tiny button stage). پرده عمومی خیلی ضخیم تراست و اگر برداشته شود کلاهک را می توان دید که دارای یک مرکز خاکستری و حاشیه سفید رنگ است. در دکمه های کوچک جوان تر فقط بخش بالایی پرده عمومی قهوه ای است و مابقی آن سفید رنگ است. دکمه های کوچک از نظر ظاهری گرده هستند. اگر یک برش عمودی در یک دکمه کوچک خیلی جوان ایجاد شود تیغه ها می توانند به صورت نوارهای باریکی در قاعده یک کلاهک در مقایسه ضخیم می توان مشاهده کرد. مرحله سوزنی، همانطور که از نامش مشخص است به اندازه سریک سنجاق است. در این مرحله پرده عمومی بدون هیچ علامتی سفید رنگ است. در برش عمودی اثری از کلاهک و پایه دیده نمی شود و کل ساختار قارچ به صورت یک گره ی کوچک از سلولهای هیفی است.

تندش و تشکیل ریشه:

تندش بازیدیوسپور با خارج شدن یک لوله تندشی از طریق روزنه تندشی اسپور که در مقایسه دیواره نازکتری داشته و در هیلوم واقع است انجام می گیرد. لوله تندشی به رشد خود ادامه داده و به هیف مبدل می شود. معمولاً قبل از اینکه شروع به انشعاب کند به طول معینی می رسد (شکل ۷). تعداد هسته ها در لوله تندش بدون جدار عرضی متغییر و بین ۱-۱۵ متفاوت است. در یک لوله تندشی اسپور تندش کرده در دمای ۴۰ درجه پس از ۴۸ ساعت که 244μ

مسیر استریگماها به داخل بخش وسیع تر وارد می شود بلافاصله یک دیواره حایل در قاعده محل متورم تشکیل می گردد. بدین ترتیب بازیدیوسپور تشکیل می شود و آنچه که باقی ماند یک بازیدیوم خالی است.



شکل ۵: تصویر میکروسکپ الکترونی لایه هایمنیومی اندام باردهی بالغ *V. volucae*. به مراحل مختلف نمو بازیدیوسپور توجه کنید.

مرحله دکمه ای و تخم مرغی (Button and Egg stage):

مراحل دکمه ای و تخم مرغی در بازار بیشترین قیمت را دارد. (شکل ۶). هر دو مرحله از نظر شکل ظاهری تخم مرغی هستند. در مرحله دکمه ای تمام ساختار قارچ بوسیله یک روکش پوشیده شده است که اصطلاحاً پرده عمومی گفته می شود. در داخل این پرده یک کلاهک بسته قرار دارد. پایه را فقط در برش طولی کل ساختمان قارچ می توان دید. در مرحله تخم مرغی کلاهک با فشار از داخل پرده عمومی خارج می شود و باقیمانده پرده عمومی ولوا را تشکیل می دهد. در این مرحله نیز پایه مخفی است. کلاهک در این دو مرحله مشابه در دو مرحله توضیح داده شده قبلی است با این تفاوت که کوچکتر است. تیغه ها در این مرحله هنوز وارد فاز تولید بازیدیوسپور نشده اند. اگرچه شکل گیری بازیدیوم و استریگما بر روی آن دیده شود. در مرحله دکمه ای فقط پارافیزها و سیستیدیا دیده می شوند.

طول داشت پیش از ۲۱ هسته شمارش گردید. طول لوله تندش بین ۲۸-۲۶۷ μm و عرض آن بین ۵-۲/۴ μm متفاوت است هسته ها به شکل یکسانی در سیتوپلاسم هر سلول هیفی پراکنده نبود و تجمع هسته ها در نوک لوله تندشی دیده نمی شود. در اثر اسپورهای تندش کرده، محتوای اسپور به داخل لوله تندش مهاجرت کرده و یک اسپور توخالی به جای می ماند. همچنان که لوله تندشی رشد می کند جدارهای عرضی ساده و لوله هایی که ۴۳ تا ۱۸۲ میکرومتر طول دارد و هر کدام حاوی ۱۲-۲ هسته هستند تشکیل می گیرند. (Change, 1969) در بازیدیوسپورهای در حال تندش ساختارهای غشایی جدا از سیتوپلاسم و با مرتبط با غشا پلاسمایی در سمت دیواره وجود دارد. غشا این ساختارها متشکل از دو لایه متراکم الکترونی است که به وسیله یک فضای نورانی بینابینی از هم منفک می گردند.



شکل ۷: تندش بازیدیوسپورها در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد پس از ۲۸ ساعت. توجه کنید که از هر اسپور فقط یک لوله تندشی غیر منشعب تشکیل میشود

هیف های رویشی :

در نتیجه رشد و ایجاد انشعاب در هیف های اولیه میسلیموم قارچ تشکیل می گردد. علاوه بر تندش بازیدیوسپورها و روش کشت بافت های داخلی (پسود و پارانشیمی) و اندام باردهی هم می توان استفاده کرد. در بازیدیومیستهایی که دارای جنسیت مشخص هستند، میسلیموم های هاپلوئید تک هسته ای که مستقیماً از بازیدیوسپورها شکل می گیرد را میسلیموم اولیه می گویند. میسلیموم دیکاریوتیک حاصل از تلاقی دو ریشه سازگار را میسلیموم ثانویه می گویند که معمولاً دارای قوس اتصال اما در *V. volvacea* میسلیموم

تشکیل شده از همان ابتدا چند هسته ای است. میسلیموم های این قارچ فاقد قوس اتصال هستند و هنوز مشخص نیست آیا میسلیموم ها هاپلوئید هستند.

بنابراین راهی برای تشخیص بین میسلیموم اولیه از ثانویه وجود ندارد. همچنان که هیف ها رشد می کنند در فواصل معینی جدارهای عرضی تشکیل می گردد و انشعاب ایجاد می شود. در مرکز جدار عرضی یک پوشش منفذ دیواره ای وجود دارد. که منفذ دیواره و بخش متورم دیواره عرضی را می پوشاند. پوشش منفذ دیواره ای از شبکه اندوپلاسمی تشکیل میگردد و در دو طرف جدار عرضی قرار می گیرد. از سال ۱۹۷۲ این جدار عرضی پیچیده توسط مور و مک آلیر، دولیپور نامیده شد (Moore and McAlear, 1961) در هر کشت میسلیمومی دو نوع هیف وجود دارد گروه اول هیف های راستی که تقریباً پهن و دارای عرض یک سانت بوده به موازات هم رشد کرده و تشکیل دسته جات هیفی را می دهند و به ندرت انشعاب می یابند. در نوع دوم هیف ها دارای عرض نامنظم و به فراوانی انشعاب می یابند و بیشتر به صورت خوشه ای (Cluster) هستند تا دستجات موازی بر اساس گزارشات انجام شده تعداد هسته های در هر سلول زیاد بوده و بین ۳ تا ۱۰۵ هسته در یک نمونه ۱۲۳ سلولی با متوسط $1/5 \pm 22/1$ هسته متغیر بوده است. موقعیت هسته در مرکز هیف نبوده بلکه به صورت تصادفی در سلول پراکنده است. اندازه هسته ها بین ۴/۲۲-۱/۶۸ μm متغیر است. نباید از نظر دور داشت که چنین اندازه گیری هایی کمتر دارای اهمیت کاربردی است چراکه به شدت وابسته به روش رنگ آمیزی به کار برده شده است. ساختمان نوک هیف این قارچ ها با میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفته است. (Tanaka, and Change, 1972). ناحیه رآسی یعنی ۵ میکرومتر نوک هیف مملو از وزیکول و تهی از هسته، میتوکندری و سایر اندامک هاست. هسته ها در ناحیه زیر رآسی قرار دارند که حدود ۴۰ μm از نوک هیف فاصله دارد. ساختمان این وزیکول ها شبیه به ساختارهای غشایی یافته شده در لوله تندش است. ساختارهای کریستالی با تراکم الکترونی بالا نیز در ناحیه نوک هیف دیده شده است. اندازه آنها بسیار متغیر و از ۱/۴ تا ۰/۲۴ μm متفاوت است. این کریستال ها لوزی شکل هستند و از وظیفه آنها تا کنون اطلاعی در دست نیست.

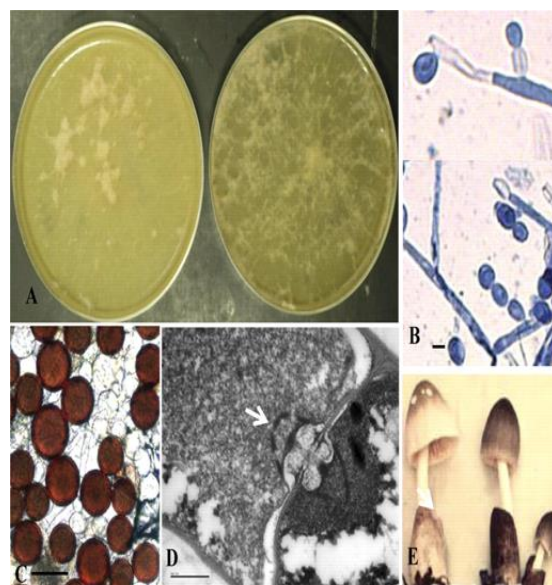
کلامیدوسپورها:

حاوی عصاره مخمر(چپ) و عصاره جو (راست) در ۳۷ درجه سانتیگراد. (B) : هیفهای قارچ پس از یک هفته در دمای ۳۷ درجه در محیط کشت عصاره مالت. قوس اتصال دیده نمی‌شود. تشکیل کلامیدوسپورها به صورت انفرادی یا زنجیری در بین هیفها مشهود است. رنگ آمیزی بوسیله متیلن بلو انجام شده است. (C): کلامیدوسپورهای دیواره ضخیم بالغ به رنگ مسی تا قهوه ای در کشت چهار هفته ای قارچ. (D): میکروگراف الکترونی از جدار عرضی دولیبور به همراه پوشش منفذ دیواره ای (پیکان سفید). (E): شکل ظاهری قارچ *V. volvacea* در طبیعت.

نیازمندی های رشد میسلیوم:

به طور سنتی قارچ *V. volvacea* را در کلش برنج رشد داده اند و به همین دلیل قارچ کلش برنجی (Paddy straw mushroom) نامیده شده است. (change, 1965). اکثر بسترهایی که حاوی ضایعات کشاورزی بوده اند محیط های کشت مناسبی برای این قارچ شناخته نشده اند. تنها استثنا در این مورد ضایعات مواد پنبه ای است (change, 1974). ما می دانیم که پنبه سلولز خالص است با این حال ضایعات پنبه شامل بذره های پنبه، برگ های پنبه، مقداری روغن حاصل از عملیات تمیز کردن است که بیانگر وجود مواد معدنی، کربوهیدراتهای با وزن مولوکولی پایین، نیتروژن و حتی بعضی از روغن هاست. بر این اساس *V. volvacea* سلولز خالص را بر سایر مواد باقی مانده در طبیعت ترجیح می دهد. بنابراین مواد علفی که در آنها در کنار سلولز همی سلولز وجود دارد، چیزی که در چوب و خاک اراه یافت نمی شود، بیشتر مورد ترجیح این قارچ هستند. در تست های آزمایشگاهی چندرا و پورکایاشتا دریافتند که اکثر کربوهیدراتها به رشد این قارچ کمک می کنند. (Change and Purkayastha, 1977). با این حال کربوهیدراتهایی همچون سوربوز، لاکتوز و سوکروز کمترین اثر و کربوهیدراتهایی مثل گلوکز و پلی مرهای گلوکزی بیشترین اثر را در رشد قارچ داشتند. چانگهو و اوی متوجه شدند که *V. volvacea* تمایل قابل توجهی به نیتروژن اسپاراژینی دارد و با تامین بهینه نیتروژن (نیترات) مورد نیاز تجزیه سلولز در نسبت C به N؛ ۲۴ تا ۳۶ با کارایی بالایی انجام گرفت. (Chang - Ho, and Yee, 1977). با این حال تزنگ دریافت که وقتی ۵/۰ درصد عصاره مخمر اضافه شود نسبت ۶۰ به ۱، برای C به N مناسب بوده و حداکثر

در بعضی از کشت های میسلیومی، کلامیدوسپورهای دیواره ضخیم مشاهده شده است به شکل ماکروسکپی این کلامیدوسپورها را می توان به صورت بالشتک های قرمز متمایل به قهوه ای در بین هیف های بی رنگ مشاهده کرد. بررسی ها نشان داده که کلامیدوسپورها به صورت انفرادی یا گروهی تشکیل شده و محل شکل گیری آنها به صورت بینابینی و یا در نوک هیف هاست. این اسپورها را بیشتر می توان بر روی انشعابات جانبی هیف ها و به ندرت در انشعابات موازی و عریض مشاهده کرد. از نظر شکل ظاهری و حجم کروی و دارای سطح صاف و بین ۴۰-۶۰ میکرومتر قطر دارند. به نظر می رسد سلول های متورمی که در امتداد انشعابات هیفی وجود دارند مبدل به کلامیدوسپور می گردد (Li, 1982). تشکیل کلامیدوسپورها در زمانی صورت می گیرد که شرایط محیطی نامساعد باشد با این حال بعضی از آنها در کشتهای سه روزه قارچ در کلش نیز دیده شده اند. در شرایط محیطی مطلوب تندش کلامیدوسپورها به سادگی صورت می گیرد از هر کلامیدوسپور یک تا چندین لوله تندشی از نقاط مختلف دیواره ضخیم اسپور خارج می گردد که رشد این هیف ها نهایتا منجر به تشکیل میسلیوم قارچ می شود. (change, 1969). (شکل 8, B, C)



شکل ۸: مورفولوژی *V. volvacea* در آزمایشگاه و طبیعت. (A): کلنی قارچ پس از چهار هفته رویش در محیط کشت

رشد را در PH، نزدیک به هفت و دمای بین ۳۵-۳۰ درجه سانتی گراد انجام می دهد. (Tzeng, 1974) (شکل A, B - ۸)

نیازمندی های تشکیل اندام باردهی:

گذر از مرحله رشد رویشی و تولید اندام باردهی بستگی به عوامل زیادی از جمله ژنتیک و شرایط محیطی دارد. پس از اضافه شدن اسپان به کمپوست، تغییر ژنتیکی ایجاد نمی شود و مرفولوژی و سیتولوژی فقط می تواند تغییرات رخ داده را توضیح دهد. فاکتورهای محیطی ابزارمناسبی برای کنترل و بهبود محصول، زمان محصول دهی و سایر مشخصاتی است که این قارچ به واسطه پتانسیل های ژنتیکی خود از آنها برخوردار است. درجه حرارت مناسب برای محصول دهی قارچ ۲۸-۳۰ درجه سانتی گراد است، که قدری پایین تر از درجه حرارت لازم برای رشد رویشی است (۳۶۰ c - ۳۴) برای وارد شدن به فاز باردهی وجود نور ضرورت دارد. تهویه مناسب می تواند اکسیژن بیشتری فراهم کرده و CO₂ را دفع نماید. این عوامل همچنین در وارد شدن از فاز رویشی به زایشی موثر هستند. بر اساس این اطلاعات کشت قارچ کلشی می تواند با پایش دقیقی انجام شود ولی جنبه های ژنتیکی چرخه زندگی این قارچ کماکان ناشناخته است. براساس مکانیزم جنسیت در بازیدیومیستها این احتمال وجود دارد که این قارچ هموتالیک باشد چرا که ۷۶ درصد افراد تک اسپوری آن بارور هستند. (Chang- Ho and Yee, ۱۹۷۷).

گراهام گزارش داد که کشت تک بازیدیوسپورهای قارچ *V. volvacea* می تواند باعث رشد قارچ، پایداری کشت و جوان نگه داشتن محیط کشت گردد ولی ادامه تهیه کشت از آن میسلیم در محیط های کشت مصنوعی (sudculture) باعث از دست رفتن باروری قارچ می گردد. (Graham, ۱۹۷۴) باروری را می توان با حذف هسته های «غیر موثر» و یا انتخاب ترکیبی از هسته های «موثر» بدست آورد. گرچه انتخاب تک بازیدیوسپور در بعضی از نژادهای *V. volvacea* می تواند در بهبود محصول و پایداری عملکرد اسپان موثر باشد، ولی این در مورد همه نژادهای این قارچ صدق نمی کند. پذیرش فرضیه هموتالیک بودن *V. volvacea* توضیح در مورد چگونگی تفاوت در مرفولوژی کلنی های میسلیمی، نرخ رشد و خودباروری تک اسپورهای جدا شده یک اندام بار دهی را مشکل می کند. (Li ۱۹۷۹). در گونه های هتروتالیک که در

آنها تفرق هسته ها با یک تقسیم میوز نرمال انجام می گیرد فقط آن اسپورهایی که هسته میوزی دریافت می کنند می توانند بارور شوند. در مطالعات سیتولوژی انجام شده توسط چانگ و لینگ تعداد هسته های ۲۱۲۳ بازیدیوسپور را شمارش کردند. از این میان ۱۴۲ بازیدیوسپور دو هسته ای بودند. (Change .S.T and Ling, ۱۹۷۰)

با فرض اینکه دو هسته ای شدن این اسپورها در نتیجه فرآیند مهاجرت هسته ها و نه میتوز بعد از میوز صورت گرفته باشد و اینکه یک سیستم ناسازگاری موجود باشد فقط ۶ تا ۷ درصد همه اسپورها می توانند بارور باشد. چانگ و یائو توضیحی را بر این فرض که سیستم ناسازگاری در این قارچ وجود داشته باشد و باروری با دوز ژن های آن مرتبط باشد، ارائه دادند (Change and Yau, ۱۹۷۱). رپیر معتقد است که این قارچ ممکن است سیستم خاص خود را داشته باشد و از فزیزه هموتالیک بودن این قارچ حمایت کرده و غیر باروری در بعضی از ایزوله ها را در نتیجه بعضی مشخصات ژنتیکی ثانوی می داند. (Raper ۱۹۷۸). در *Arimillaria, mellea*، اولریچ و اندرسون نشان دادند که دیپلوئیدی وضعیت نرمال میسلیم های بارور است. (۱۹۷۸) Ullrichand Anderson، البوت چالن یک مدل جدید از هموتالیک ثانوی با سیکل هسته ای دیپلوئید/تتراپلوئید را در *V. bombycina* و *V. volvacea* توضیح دادند. (۱۹۸۵) Elliott and Challen. چپو و چانگ وقوع کاریوگامی و میوز را در بازیدیومهای قارچ *V. bombycina* گزارش کردند. (Chiu and Chang ۱۹۷۸). اکثر بازیدیوسپورها تک هسته ای بودند. با اینحال یک میتوز بعد از میوز ممکن بود اتفاق بیفتد لوله های تندشی تک اسپوری تشکیل ریشه های شفاف، چند هسته ای بدون قوس اتصال دادند. تک اسپورهای هم نیا کلنی هایی متفاوتی از لحاظ شکل ظاهری، باروری و سرعت رشد نشان دادند اینحال تفرق در ژنهای matingtype اگر صورت گرفته باشد هم معلوم نشد. کلامیدوسپورهای چند هسته ای امکان امکان تکثیر غیر جنسی قارچ را فراهم می کنند. در شرایط مناسب اکثر ایزوله ها بدون هیچگونه آمیزشی اندام باردهی خود را تولید نموده و چرخه زندگی را کامل می کنند. چرخه زندگی *V. bombycina* مشابه *V. volvacea* است. با استفاده از پرتوافکنی گاما کایه گزارش کرد که بازیدیوسپورهای *V. volvacea* در دو گروه قرار می گیرند. گروه حساس به پرتو و گروه دوم غیر حساس به پرتو، سپس پیشنهاد داد که

SCAR بر روی کروموزوم هایی است که تفرق مستقل از یکدیگر دارند و همچنین بیانگر امتزاج هسته ای موید انجام تقسیم میوز در *V.volvacea* است که منجر به تولید مواد ژنتیکی از والدین هیبرید در نتیجه ترکیب مجدد و تبادل آنها در ایزوله های تک اسپوری می گردد. بنابراین در *V.volvacea* میوز پایه و ریشه تنوع بسیار زیادی است که در ایزوله های تک اسپوری دیده می شود.

بازیدیوسپورهاهاپلوئید هستند (Quaye, 1987). علاوه بر این رویز و همکاران بر اساس اطلاعات مربوط به تفرق انفرادی و مشترک لوکوسهای بیوشیمیایی این قارچ ، بازیدیوسپورهای *V.volvacea* هاپلوئید هستند (Roys et al, 1987). این اطلاعات سیتولوژیک و بررسی انجام شده بر کشت قارچ که توسط چانگ و همکاران انجام شده و *V.volvacea* را قارچی هموتالیک می داند را مورد تایید قرار می دهد. (Change 1964, Change and Ling 1970, Chang and Yao 1971). مدت های مدیدی است که وقتی بحث جنسیت در ولواریلا مطرح می شود این قارچ را به عنوان یک گونه هموتال معرفی می کنند. ولی این مدل نمی تواند بسیاری از مکانیزم های ژنتیکی چرخه زندگی *V.volvacea* را توضیح دهد. این موضوع مشکلات زیادی را در اصلاح ژنتیکی این قارچ فراهم آورده و به طور جدی توسعه صنعتی این قارچ را با مشکل مواجه نموده است. اخیرا با استفاده از تکنولوژی پروتوپلاست و مارکرهای مولکولی به همراه استفاده از روش های سنتی مرفولوژیکی و سیتولوژیکی تلاش شده تا چرخه زندگی و طبیعت ژنتیکی *V.volvacea* روشن شود. نتایج این تحقیق نشان داد که: ۱- بررسی ها نشان داد مه برخلاف تصور سنتی وجود چهار اسپور تک هسته ای بر روی بازیدیوم *V.volvacea* در این گونه نیز همانند *Agricus bisporus* دارای انواع دو ، سه و چهار اسپوری می باشند که به ترتیب شامل ۹/۰۶ ، ۲۱/۰۱ و ۶۹/۰۳ درصد کل تعداد اسپورهاست. ۲- در همه بررسی های مستقل از هم بر اساس رنگ آمیزی هسته ای ، مشاهده میکروسکپ الکترونی ، بررسی نسل F1 با استفاده از مارکرهای هم بارز نرخ بازیدیوسپورهای هتروکاریوت برابر بود و بنابراین نرخ تئوری مورد انتظار بازیدیوسپورهای هتروکاریوتیک ۵/۱۱ درصد و ۹۴/۸۹ برای بازیدیوسپورهای هموکاریوتیک است. باتوجه به اینکه هموتالیسم اولیه نمی تواند تنوع در ایزوله های تک اسپوری *V.volvacea* در طبیعت را توضیح دهد تلاش شده تا وقوع میوز در این قارچ به اثبات برسد. در این مطالعه از ۱۱۲ ایزوله تک اسپوری نژادهای هیبرید برای آنالیز ژنتیکی به وسیله دو مارکر SCAR که از باندهای دی آن والدین هیبرید به دست آمد استفاده شد. آزمایش نشان داد که تفرق ژنتیکی دو مارکر SCAR با نسبت های (AB:Ab:aB:ab) = ۱:۱:۱:۱) بود که با اصول مندل در ترکیبهای آزاد همخوانی دارد. این موضوع بیانگر قرار داشتن مارکرهای