کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دورهٔ ۷، شمارهٔ ۲،پاییز و زمستان ۱۳۹۷ (۶۴-۴۹)
DOI: 10.22059/jbioc.2018.258649.233

# کنترل بیولوژیک قارچ *Mycogone perniciosa* عامل بیماری حباب تر قارچ خوراکی با استفاده از چند گونه مخمر در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

**مریم آبیاری[۱] و صدیقه محمدی[۲*]**
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲. استادیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۰- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۱۰)

## چکیده

در پژوهش حاضر تاثیر گونه‌های مخمری ***Rhodotorula mucilaginosa***، ***Pichia jadinii***، ***Saccharomyces cerevisiae*** و ***Pichia fermentans*** در شرایط آزمایشگاهی بر روی قارچ ***Mycogone perniciosa*** و بیماری حباب تر بررسی گردید و بهترین مخمرها جهت کنترل بیماری معرفی شد. برای این منظور، مکانیسم‌های آنتاگونیستی در شرایط آزمایشگاهی با سه روش کشت متقابل، ترکیبات فرآر و غیر فرآر برای بیمارگر و میزبان به‌طور جداگانه انجام شد. در آزمون کشت متقابل هر چهار مخمر توانایی محدود کردن و رقابت با بیمارگر را داشتند ولی مخمرهای ***S. cervisiae***، ***P. jadini*** و ***P. fermentans*** که کمترین شاخص انتخابی را نسبت به شاهد داشتند، موثرترین مخمرها در کنترل بیماری حباب تر بودند. ترکیبات فرآر هر چهار مخمر باعث کنترل بیمارگر شد و تمام آنها کمترین شاخص انتخابی را نسبت به شاهد داشتند و در کنترل بیماری حباب تر موثر بودند. تأثیر ترکیبات غیر فرآر مخمرهای ***P. fermantans***، ***P. jadini*** و ***R. mucilaginosa*** جهت بازدارندگی از رشد بیمارگر در انتهای آزمایش بیشتر بود ولی با لحاظ تمام نوبت‌های آماربرداری هر چهار مخمر کمترین شاخص انتخابی را نسبت به شاهد داشتند. در شرایط گلخانه نیز تأثیر گونه‌های مخمر بر کنترل بیماری به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با بررسی وزن تر و تعداد کلاهک انجام شد. در شرایط گلخانه مشخص شد که بیشترین وزن تر و تعداد قارچ در برداشت اول و دوم مربوط به تیمارهای بدون بیمارگر بود. همچنین در تیمارهای آلوده تأثیر مخمرهای ***S. cervisiae*** و ***P. jadinii*** در حفظ وزن تر و تعداد قارچ برداشت اول و دوم بیشتر از بقیه بود. در مجموع استفاده از دو گونه مخمر ***S. cervisiae*** و ***P. jadinii*** برای مدیریت بیماری پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** مکانیسم‌های آنتاگونیستی، ترکیبات فرآر ، کشت متقابل، قارچ خوراکی.

# Biological control of *Mycogone perniciosa*, causal agent of wet bubble disease of mushroom (*Agaricus bisporus*), using several yeast species under laboratory and greenhouse conditions

**Maryam Abiari[1] and Sedighe Mohammadi[2*]**
1. MSc Student Department of Plant Protection, Shiraz Branch, Islamic Azad University
2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Shiraz Branch, Islamic Azad University Shiraz, Fars-Iran.
(Received: June 10, 2018- Accepted: October 2, 2018)

## ABSTRACT

*Agaricus bisporus* is one of the richest sources of nutrition and protein. In Iran, the high incidence of wet bobble desease has caused enormous damage to *Agaricus bisporus*. In recent years, the quantitative and qualitative damage of wet bobble disease has been controlled based on chemical methods that entail multiple environmental problems. Also, the host and disease are both fungi; hence, controlling this disease involves many difficulties. With this aim, the antagonistic mechanisms were carried out in laboratory conditions using three techniques of dual culture, volatile and non-volatile metabolites. The results of dual culture method showed that all of the four yeasts could restrict the impact of the disease and had the power to fight the pathogen. However, *S. cervisiae*, *P. jadini*, and *P. fermentans*, were the most effective yeasts to control the disease, and they did not have any negative effect on the host. The non-volatile metabolite of all yeasts could control the pathogen. Here too, the species had the greatest impact on controlling the disease, and they caused no negative effect on the host. The effects of non-volatile metabolites of *R. mucilaginosa*, *P. jadini*, and *P. fermentans* on prohibiting the growth of the pathogen was considerable. Nevertheless, in all of the experiments, the selective index of all yeasts was less than that of the control of disease, and they were observed to effectively control wet bubble with no negative influence on the host. The results demonstrated that in greenhouse conditions and in the first harvest, the highest fresh weight is related to the absence of pathogen treatments, also, in the case of infected treatments, the effect of *S. cervisiae* and *P. jadini* on preserving the fresh weight was more than others. In the first harvest, the highest number of host was related to the absence of pathogen treatments with *S. cervisiae* and *P. jadini.* As for the infected treatments, *S. cervisiae* and *P. jadini* were more frequent in the host and they could control the disease more effectively. In the second harvest, the highest fresh weight was observed in the absence of pathogen treatments with *S. cervisiae* and *P. jadini.* Also, regarding the infected treatments, *S. cervisiae* and *P. jadini* were more abundant in the fresh weight of the host and they could better control the disease. Furthermore, there was no significant difference between the various infected treatments. It is suggested that both S. *cervisiae* and *P. jadini* be employed with special chemicals and suitable cultural methods to manage wet bubble.

**Key Words:** Antagonistic mechanisms, dual culture, volatile metabolite, fungi.

* Corresponding author E-mail: : mohammadi.pp@gmail.com

## تازه‌های تحقیق

در پژوهش حاضر تاثیر گونه‌های مخمر *S. cervisiae*، *R. mucilaginosa*، *P. jadini* و *P. fermentans* در شرایط آزمایشگاهی بر روی قارچ مایکوگون و بیماری حباب تر توسط آزمون‌های کشت متقابل، متابولیت‌های فرآر و غیر فرآر بررسی گردید و بهترین مخمرها جهت کنترل بیماری معرفی شد. در روش کشت متقابل مخمرهای *S. cervisiae*، *P. jadini* و *P. fermentans* بیشترین تأثیر را بر کاهش رشد بیمارگر داشتند، در عین حال تأثیر منفی بر رشد قارچ دکمه ای نداشتند. این گونه‌ها با داشتن کمترین شاخص انتخابی موثرترین جدایه-ها در کنترل بیمارگر بودند. در بررسی ترکیبات فرآر مشخص شد تأثیر مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadini* در کنترل بیمارگر بیشتر از سایر گونه‌ها بود. این گونه‌ها تأثیر منفی بر رشد بیمارگر نداشتند. شاخص انتخابی تمام گونه‌ها تقریبا برابر بود و همگی در کنترل بیمارگر موفق بودند. در بررسی ترکیبات غیر فرآر مشخص شد مخمر *S. cervisiae* و پس از آن *P. jadini* بیشترین تأثیر را بر کاهش رشد بیمارگر داشتند. در بررسی شاخص انتخابی مشخص شد هر چهار مخمر کمترین شاخص را داشتند و در کنترل بیمارگر موفق بودند.

## مقدمه

قارچ‌های خوراکی (Mushrooms) در واقع میوه و بخش تولید مثل کننده و هاگ‌ساز قارچ‌های حقیقی می‌باشند. امروزه مصرف انواع قارچ‌های خوراکی به دلیل طعم و مزه مطلوب، محتوای هفتاد تا نود درصد پروتئین، فیبر بالا و مواد معدنی با ارزش رو به افزونی است. همچنین حاوی مقادیر بالایی از آهن، سلنیوم، پتاسیم، کلسیم، فسفر و ویتامین‌های گروه D، C، B هستند. (Sharma *et al.* 2015, Chen *et al*, 2006). قارچ‌های دکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) در چرخه تولید در معرض بیماری‌های مختلف قرار دارند که باعث کاهش قابل توجه محصول می‌گردند. تعدادی از بیمارگرهای قارچی، باکتریایی و ویروسی به این قارچ‌ها حمله می‌کنند. از مهمترین قارچ‌های بیماری‌زا می‌توان به عامل بیماری حباب تر (*Mycogone perniciosa*) اشاره کرد که در سالن‌های پرورش قارچ خوراکی به وفور مشاهده می‌شود. عکس العمل متقابل قارچ دکمه‌ای سفید (میزبان) با قارچ مایکوگون (بیمارگر) منجر به تغییرات قابل مشاهده در میزبان می‌شود. اندام‌های باردهی قارچ دکمه‌ای سفید به صورت غیر عادی رشد کرده و نمود ماکروسکوپی پیدا می‌کند (Kouser and Shah 2013). از مؤثرترین راه‌ها برای کنترل بیماری حباب تر استفاده از قارچ‌کش است، اما به دلیل به مخاطره افتادن سلامت انسان از یک طرف و مقاومت قارچ‌ها به سموم از طرف دیگر ضرورت دستیابی به روش‌های جایگزین برای کنترل شیمیایی را طلب می‌کند (Yazgi *et al.* 2015). همچنین با توجه به کاهش تمایل به پرورش قارچ خوراکی به دلیل ایجاد بیماری‌ها در زمان پرورش، منسوخ شدن استفاده از بسیاری از قارچ‌کش‌ها در کنترل این بیماری‌ها بدلیل مشکلات زیست‌محیطی متعدد و ظهور بیمارگرهای مهاجم جدید، تعیین اولویت‌های مبارزه با این بیمارگر تهدید کننده قارچ خوراکی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. برای کنترل این بیماری، استفاده از میکروارگانیسم-های آنتاگونیست می‌تواند یک جایگزین نویدبخش و مؤثر برای روش شیمیایی باشد. مخمر آنتاگونیست در برنامه‌های مدیریت بیماری‌ها جایگاه ویژه‌ای دارند. این عوامل به دلیل داشتن فعالیت‌های آنتاگونیستی از جمله ایجاد رقابت بر سر فضا و مواد غذایی، پارازیته کردن عامل بیمارگر، ترشح ترکیبات ضدقارچی بر اثر القای مقاومت میزبان و سازوکارهای دفاعی آن، توانایی اتصال به ریسه (هیف)های قارچی بیمارگر و ترشح آنزیم‌های تجزیه کننده به‌عنوان عامل‌های کنترل زیستی بسیار مهم در کنترل بیماری به‌شمار می‌آیند (Liu *et al.* 2012). در تحقیقی در رابطه با کنترل *B. cinerea*، *Colletotrichum acutatum* و *Penicillium expansum* توسط قارچ مخمر مانند *Aureobasidium pullulans* نشان داده شد که

مخمر آنتاگونیست در آزمون کشت متقابل در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار توانایی بازدارندگی بالایی از رشد بیمارگر قارچی را دارد (Mari *et al.* 2012). محققان نشان دادند که *Metschnikowia pulcherrima* و *A. pullulans* علیه بیمارگرهای قارچی *B.cinerea*، *Monilinia laxa* و *P.expansum* توان تولید سیدروفور را داشته و با این روش موجب بازدارندگی از رشد قارچها شده‌اند (Spadaro *et al.* 2011). در بررسی دیگری نشان داده شد که شماری از گونه‌های جنس مخمر *Rhodotorula* توان تولید سیدروفور علیه بیمارگر قارچی *P.expansum* را داشته و موجب بازدارندگی از رشد قارچ شده‌اند (Sanz Ferramola *et al.* 2013). این پژوهش با هدف تعیین مکانیسم‌های آنتاگونیستی گونه‌های مخمر جهت کنترل بیمارگر و همچنین تعیین مؤثرترین مخمر جهت کنترل بیمارگر در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای (سالن پرورش قارچ) انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### تهیه سوسپانسیون قارچ عامل بیماری

در این پژوهش، قارچ مایکوگون (*Mycogone perniciosa*) به عنوان بیمارگر از کلکسیون موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور تهیه شد. سوسپانسیون قارچ عامل بیماری از کشت هفت تا ده روزه بر روی محیط کشت PDA تهیه شد. به این ترتیب که با یک لوپ مقداری از اسپور قارچ عامل بیماری از روی محیط کشت برداشته شد و سپس در ده میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ ٪ (حجم به حجم) توئین ۲۰ غوطه‌ور گردید. از سوسپانسیون حاصل جهت تهیه غلظت‌های مورد نیاز استفاده شد. غلظت مورد نیاز ($1\times10^5$کنیدی در هر میلی‌لیتر آب مقطر) با استفاده از لام هموسیتومتر و افزودن آب مقطر استریل به‌دست آمد (Batta 2004).

### تهیه سوسپانسیون آنتاگونیست

در این پژوهش از گونه‌های مخمری *Rhodotorula mucilaginosa*، *Pichia jadinii*، *Saccharomyces cerevisiae* و *Pichia fermentans* که از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شد، استفاده گردید. کد PTCC مخمرها عبارت بودند از: *Saccharomyces cerevisiae* [5269 (NCYC 694)]؛ *Pichia fermentans* [5296 (DSM 70090)]؛ *Pichia* jadinii [5294 (DSM 2361)]؛ *Rhodotorula mucilaginosa* [5257 (ATCC 2503)]. یک لوپ از سلول‌های مخمر در پنجاه میلی‌لیتر از محیط NYDA (Nutrient Yeast Dextrose Agar) ریخته و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر در اتوکلاو سترون شد. سپس ارلن مایرها روی شیکر با سرعت دویست دور در دقیقه و به مدت ۴۸ ساعت، در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس سلول‌های مخمر پس از ده دقیقه توسط سانتریفیوژ با دور سه هزار جی از محیط مایع جدا شده و دو بار با آب مقطر استریل شستشو داده شد (Gholam Nejad *et al.* 2013). پس از آن با استفاده از لام هماسیتومتر سوسپانسیون آنتاگونیست در غلظت مورد نظر $10^7$ سلول در میلی‌متر تهیه گردید.

### بررسی خصوصیات آنتاگنیستی

**آزمون کشت متقابل**- این آزمون بر اساس روش دنیس و وبستر یک بار برای بیمارگر و یک بار برای قارچ خوراکی انجام شد (Lillbro 2005). بدین منظور جدایه‌های مخمر در محیط NYDB کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با ۲۵۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس ۴۸ ساعت بعد از گذاشتن پلاک قارچ، به کمک لوپ سترون، نیمی دیگر از سطح محیط کشت به سوسپانسیون مخمر آغشته گردید. برای تیمار شاهد، به جای سوسپانسیون مخمر از آب مقطر استریل استفاده شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شدند. دو قطر عمود بر هم پرگنه در روزهای متوالی تا پر شدن پتری شاهد اندازه‌گیری و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار

گرفت و بهترین عوامل کنترل بیولوژیک که باعث محدود شدن رشد بیمارگر شدند و در عین حال تأثیر سوء بر قارچ خوراکی نداشتند، مشخص شدند.

**آزمون تولید مواد فرّار**- این آزمون مطابق روش لیلبرو برای قارچ بیمارگر و قارچ خوراکی به‌طور جداگانه اجرا شد (Gholam Nejad *et al.* 2013). بدین ترتیب که، دو لوپ از سوسپانسیون سلول‌های مخمر در محیط NYDB با کشت ۲۴ ساعته بر روی محیط MEA (Malt Extract Agar) کاملاً پخش گردید. سپس در تشتک پتری دیگر حاوی محیط PDA، پلاکی از قارچ (محیط کشت شش روزه) به قطر یک سانتیمتر در وسط این محیط کشت قرار داده شد. سپس در کنار شعله و در شرایط سترون، تشتک‌های حاوی قارچ عامل در زیر و تشتک‌های حاوی مخمر در قسمت بالا، روی هم قرار داده شدند و لبه‌های آنها به کمک پارافیلم کاملاً پوشانیده و بعد از ۲۵ روز، دو قطر عمود بر هم پرگنه در روزهای متوالی تا پرشدن پتری شاهد اندازه‌گیری و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و بهترین عوامل کنترل بیولوژیک که باعث محدود شدن رشد بیمارگر شدند و در عین حال تأثیر سوء بر قارچ خوراکی نداشتند، مشخص شدند.

**آزمون تولید مواد غیر فرّار**- این آزمون مطابق روش ولر برای بیمار و قارچ خوراکی به‌طور جداگانه انجام شد (Gholam Nejad *et al.*, 2013). ابتدا سوسپانسیون جدایه‌های مخمر آنتاگونیست که در محیط NYDB به روش گفته شده تهیه شده بودند، در روی محیط PDA به صورت یکنواخت کشت داده شدند. سپس پتری‌ها به مدت ۹۶ ساعت در انکوباتور با دمای۱±۲۵ درجه سلیسیوس قرار گرفتند. بعد از این مدت، در شرایط استریل زیر هود، پرگنه‌های مخمر با کمک پنبه استریل از سطح محیط پاک شدند. سپس پتری‌ها وارونه شد، یک پنبه آغشته به کلروفرم در درون پتری و روی درب آن قرار داده شد تا باقیمانده‌های مخمر نیز در معرض بخار کلروفرم قرار گرفته و کاملاً کشته شود. بعد از ۲۵ دقیقه درب پتری‌ها را به صورت نیمه باز کرده تا بخار کلروفرم کاملا خارج گردد. سپس یک پلاک از کشت ۴۸ ساعته قارچ عامل بیماری در وسط پتری‌ها قرار داده شد. این پلاک به منظور جلوگیری از پخش شدن اسپور از روی محیط WA برداشته شد. در پتری شاهد نیز به‌جای گونه مخمر از آب مقطر استریل استفاده گردید و همانند سایر تیمارها از کلروفرم هم استفاده شد.

## بررسی تاثیر مخمرها روی قارچ خوراکی و قارچ‌های بیمارگر در سالن پرورش قارچ خوراکی دکمه‌ای

به این منظور کمپوست مایه‌زده، در شرایط کنترل شده با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۵ درصد سالن پرورش به مدت دو هفته نگهداری شد. پس از آنکه میسلیوم قارچ خوراکی تمام سطح کمپوست را پوشاند و سطح کمپوست به رنگ سفید درآمد، سپس کمپوست به بلوک‌های سه کیلویی تقسیم‌بندی گردید و بعد از این عمل، سطح کمپوست هر کدام از بلوک‌ها توسط خاک پوششی به قطر سه سانتیمتر پوشیده شد. سپس سطح خاک پوششی آبیاری گردید.

## پاشیدن قارچ‌های بیماری‌زا روی سطح خاک پوششی

از کشت خالص ده روزه قارچ‌های *Mycogone perniciosa* توسط گلبول شمار سوسپانسیون هاگ به غلظت $۳\times۱۰^{۷}$ اسپور در لیتر تهیه گردید و دو روز پس از دادن خاک پوششی، روی خاک پوششی پاشیده شد.

## پاشیدن مخمر روی خاک پوششی

در این مرحله سوسپانسیون مخمر مطابق روش گفته شده تهیه و دو روز بعد از تلقیح بیمارگر پاشیده شد. پس از اینکه میسلیوم‌های قارچ خوراکی به‌طور کامل سطح خاک پوششی را فرا

گرفت، به منظور تنش برای قارچ خوراکی دکمه‌ای، اقدام به پایین آوردن دما به شانزده تا هجده درجه سلسیوس گردید.

این کار توسط هوادهی سالن صورت گرفت تا اولین نشانه‌های بیماری و قارچ سالم در بستر ظاهر گردند. پس از گذشت چهارده روز جهت ارزیابی وزن تر و تعداد قارچ‌ها کلیه قارچ‌ها از سطح هر بستر به طور مجزا جمع‌آوری و قارچ‌های سالم برای هر بستر به‌طور مجزا توزین و شمارش شدند.

### روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

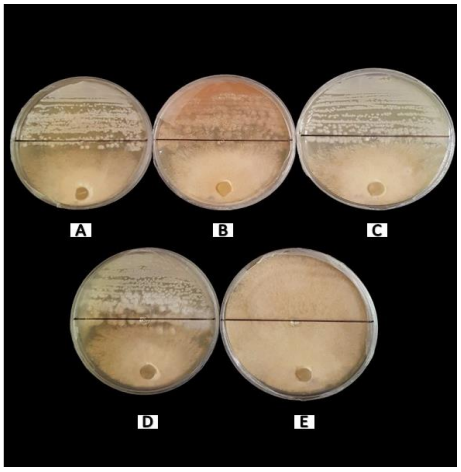
آزمون‌های کشت متقابل، ترکیبات فرآر و غیر فرآر برای قارچ بیمارگر مایکوگون و دکمه‌ای به‌طور جداگانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید.

فاکتور اول شامل انواع مخمرها با پنج سطح (شاهد و چهار گونه مخمر *R. mucilaginosa*، *S. cerevisiae*، *P. jadinii* و *P. fermentans*) و فاکتور دوم زمان آماربرداری با چهار سطح (روز ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶) بود. داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام و جهت رسم نمودارها از برنامه Excel بهره گرفته شد.

## نتایج

### تأثیر گونه‌های مخمر بر قارچ مایکوگون و قارچ دکمه‌ای در روش کشت متقابل

در بررسی نتایج حاصل از میزان رشد قارچ مایکوگون در آزمون کشت متقابل مشخص شد (شکل ۱)، در روز چهارم آزمایش، رشد قارچ بیمارگر کمترین مقدار را داشت و تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرها وجود نداشت. در روز هشتم آزمایش، مقدار رشد قارچ مایکوگون نسبت به روز چهارم بیشتر شده بود ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرها وجود نداشت. در روز دوازدهم آزمایش، رشد قارچ مایکوگون در مقایسه با روزهای قبل بیشتر شده بود ولی در تیمار شاهد بیشترین رشد مشاهده شد و در انواع مخمرها رشد قارچ مایکوگون در مقایسه با تیمار شاهد کمتر بود ولی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در روز دوازدهم بیشترین رشد (۷/۴۳ سانتی‌متر) متعلق به تیمار شاهد بود و در پتری‌دیش حاوی مخمرهای *R. mucilaginosa*، *S. cerevisiae*، *P. jadinii* و *P. Fermentans* رشد قارچ مایکوگون با روز دوازدهم اختلاف معنی‌داری نداشت و همچنین تفاوت معنی‌داری بین انواع مخمرها در روز شانزدهم مشاهده نگردید (جدول ۱).




شکل ۱- تأثیر گونه‌های مخمر بر قارچ مایکوگون در روش کشت متقابل؛ A) *S. cerevisiae*، B) *R. mucilaginosa*، C) *P. Jadinii*، D) *P. fermentans*، E) شاهد

Figure 1- The Effect of yeast species on on *Mycogone perniciosa* growth in dual culture method A) *S. cerevisiae*, B) *R. mucilaginosa*, C) *P. jadinii*, D) *P. fermentans*, E) Control.

جدول ۱- اثر انواع مخمر و زمان بر میزان رشد قارچ مایکوگون در روش کشت متقابل

Table 1- Effect of different yeast and time on *Mycogone perniciosa* growth in dual culture method

| Yeast / Day | *Mycogone perniciosa* growth in dual culture method | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| Fourth | $2.8^{h}$ | $2.5^{h}$ | $2.96^{h}$ | $2.86^{h}$ | $2.6^{h}$ | 2.74 D |
| Eighth | $5.0^{e-g}$ | $4.6^{g}$ | $5.23^{d-g}$ | $4.86^{g}$ | $4.93^{fg}$ | 4.92 C |
| Twelfth | $6.4^{bc}$ | $5.73^{c-e}$ | $6.26^{bc}$ | $5.7^{c-e}$ | $5.63^{c-f}$ | 5.94 B |
| Sixteenth | $7.43^{a}$ | $6.20^{bc}$ | $6.73^{b}$ | $6.2^{bc}$ | $5.96^{cd}$ | 6.5 A |
| Mean | 5.4 A | 4.75 B | 5.3 A | 4.9 B | 4.78 B | - |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant.

نتایج حاصل از بررسی میزان رشد قارچ دکمه‌ای در روش کشت متقابل نشان داد، در روز دوم آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرهای مورد بررسی وجود نداشت. در روز چهارم آزمایش، کاربرد مخمرهای *R. mucilaginosa* و *P. fermentans* باعث شدند رشد قارچ دکمه‌ای افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد در روز چهارم آزمایش داشتند. در روز چهارم، استفاده از مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadini* تأثیر سوئی بر رشد قارچ دکمه-ای نداشتند و تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. در روز ششم و هشتم آزمایش، میزان رشد قارچ دکمه-ای به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و تفاوت معنی-داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرها وجود نداشت (جدول ۲). به منظور تعیین شاخص انتخابی بودن تأثیر مخمرها در روش کشت متقابل، چون شاخص انتخابی بودن از تقسیم میانگین رشد بیمارگر به قارچ دکمه ای به‌دست می‌آید؛ بنابراین تیماری که کمترین شاخص انتخابی را نشان دهد بهترین تیمار برای کنترل بیماری حباب تر قارچ خوراکی خواهد بود چون بیشترین میزان کنترل بیمارگر را دارد و حداقل تأثیر سوء بر قارچ دکمه‌ای را خواهد داشت. بنابراین، مخمرهای *S. cervisiae*، *P. jadini* و *P. fermentans* که کمترین شاخص انتخابی را نسبت به شاهد داشتند، موثرترین مخمرها در کنترل بیماری حباب تر بودند و تأثیر سوء بر قارچ دکمه‌ای نداشتند (جدول ۳).

جدول ۲- اثر انواع مخمر و زمان بر میزان رشد قارچ دکمه‌ای در روش کشت متقابل

Table 2- Effect of different yeast and time on *Agaricus bisporus* growth in dual culture method

| Yeast / Day | *Agaricus bisporus* growth in dual culture method | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| Second | $3.8^{d}$ | $3.76^{d}$ | $4.0^{d}$ | $3.83^{d}$ | $4.03^{d}$ | 3.88 D |
| Fourth | $5.63^{c}$ | $6.13^{bc}$ | $6.26^{b}$ | $5.96^{bc}$ | $6.33^{b}$ | 6.06 C |
| Sixth | $7.56^{a}$ | $7.80^{a}$ | $8.0^{a}$ | $7.60^{a}$ | $8.0^{a}$ | 7.79 B |
| Eighth | $8.0^{a}$ | $8.0^{a}$ | $8.0^{a}$ | $8.0^{a}$ | $8.0^{a}$ | 8.0 A |
| Mean | 6.25 B | 6.43 AB | 6.56 A | 6.35 B | 6.59 A | |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant.

جدول ۳- شاخص انتخابی حاصل از تأثیر مخمرها در روش کشت متقابل

Table 3- Selective index of the effect of yeast in dual culture method

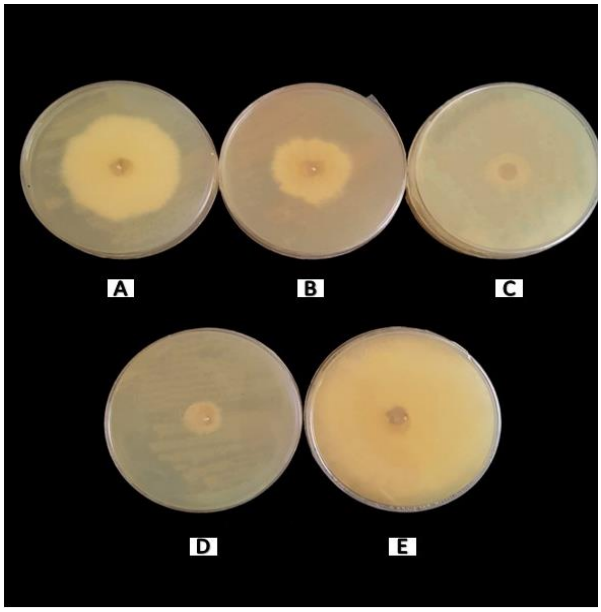
| Yeast | Selection Index |
|---|---|
| Control | $0.929^{a}$ |
| *S. cerevisiae* | $0.775^{b}$ |
| *R. mucilaginosa* | $0.842^{ab}$ |
| *P. jadini* | $0.775^{b}$ |
| *P. fermentans* | $0.746^{b}$ |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant.

**تأثیر ترکیبات فرآر چند گونه مخمر بر قارچ مایکوگون و قارچ دکمه‌ای**

در بررسی نتایج به‌دست‌آمده از میزان رشد قارچ مایکوگون در روش ترکیبات فرآر مشخص شد (شکل ۲)، مخمرهای *S. cervisiae*، *P. jadini* و *P. fermentans* باعث بازدارندگی از رشد قارچ بیماری‌زای مایکوگون در روز چهارم آزمایش شدند و مخمر *R. mucilaginosa* در مقایسه با تیمار شاهد باعث محدود شدن رشد قارچ مایکوگون در روز چهارم آزمایش شد. همچنین در روز ششم آزمایش، تأثیر انواع مخمرها باعث شد رشد قارچ مایکوگون به‌طور قابل توجهی محدود شود و نسبت به تیمار شاهد رشد کمتری داشتند. در روز هشتم و دهم آزمایش که رشد بیمارگر در تیمار شاهد به حداکثر خود رسیده بود، باز هم ترکیبات فرآر مخمرها تأثیر بازدارندگی قوی بر رشد بیمارگر نشان دادند. تأثیر ترکیبات فرآر مخمرهای *S. cervisiae*، *P. jadini* و *P. fermentans* جهت بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر مایکوگون بیشتر از مخمر *R. mucilaginosa* بود (جدول ۴).




شکل ۲- تأثیر گونه‌های مخمر بر قارچ مایکوگون در روش ترکیبات فرآر ؛ A) *S. cerevisiae*، B) *R. mucilaginosa*، C) *P. fermentans*، D) *P. jadinii*، E) شاهد

Figure 2- The Effect of yeast species on on *Mycogone perniciosa* growth in volatile metabolites method A) *S. cerevisiae*, B) *R. mucilaginosa*, C) *P. fermentans*, D) *P. jadinii*, E) Control.

جدول ۴- اثر انواع مخمر و زمان بر میزان رشد قارچ مایکوگون در روش ترکیبات فرآر

Table 4- Effect of different yeast and time on *Mycogone perniciosa* growth in volatile metabolites method

| Yeast | *Mycogone perniciosa* growth in volatile metabolites method | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Day | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| Fourth | $2.96^{b-f}$ | 0.0 | $2.16^{e-h}$ | $0.0^{i}$ | $0.0^{i}$ | 1.02 D |
| Sixth | $4.76^{b}$ | $0.96^{g-i}$ | $2.83^{b-g}$ | $1.30^{g-i}$ | $0.60^{hi}$ | 2.09 C |
| Eighth | $6.63^{a}$ | $3.13^{b-f}$ | $3.5^{b-e}$ | $2.20^{d-h}$ | $2.0^{e-h}$ | 3.50 B |
| Tenth | $7.93^{a}$ | $4.53^{bc}$ | $4.13^{b-d}$ | $2.93^{b-f}$ | $2.8^{c-g}$ | 4.46 A |
| Mean | 5.57 A | 2.15 C | 3.15 B | 1.6 C | 1.36 C | - |

میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant

نتایج به‌دست‌آمده از میزان رشد قارچ دکمه‌ای در روش ترکیبات فرآر نشان داد (شکل ۳)، میزان رشد قارچ دکمه‌ای در روز دوم آزمایش کمترین مقدار را نشان داد و اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرها وجود نداشت. از روز چهارم آزمایش، رشد قارچ دکمه‌ای افزایش نشان داد ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرها مشاهده نشد. در روزهای ششم و هشتم آزمایش نیز رشد قارچ دکمه‌ای به حداکثر مقدار رسید ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرها مشاهده نشد. بنابراین، با گذشت زمان تفاوتی بین مخمرها مشاهده نشد و هیچکدام تأثیر سوء بر میزبان نداشتند (جدول ۵).

جدول ۵- اثر انواع مخمر و زمان بر میزان رشد قارچ دکمه‌ای در آزمون ترکیبات فرآر

Table 5- Effect of different types of yeast and time on *Agaricus bisporus* growth in volatile metabolites assay

| Yeast | *Agaricus bisporus* growth in volatile metabolites assay | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Day | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| Second | 4.06$^{c-e}$ | 3.36$^{de}$ | 3.86$^{c-e}$ | 3.43$^{de}$ | 303$^{e}$ | 3.55 C |
| Fourth | 6.0$^{a-c}$ | 5.96$^{a-c}$ | 5.66$^{a-d}$ | 5.53$^{a-d}$ | 4.96$^{b-e}$ | 5.62 B |
| Sixth | 7.50$^{a}$ | 7.53$^{a}$ | 6.96$^{ab}$ | 6.90$^{ab}$ | 5.63$^{a-h}$ | 6.9 A |
| Eighth | 8.0$^{a}$ | 8.0$^{a}$ | 8.0$^{a}$ | 7.56$^{a}$ | 6.66$^{ab}$ | 7.64 A |
| Mean | 6.39 A | 6.21 A | 6.12 AB | 5.85 AB | 5.07 B | - |

میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant.

جهت تعیین شاخص انتخابی بودن ترکیبات فرآر مخمرها، تیماری که کمترین شاخص انتخابی را نشان داد، بهترین تیمار برای کنترل بیماری حباب تر قارچ خوراکی بود. نتایج جدول (۶) نشان می‌دهد، هر چهار مخمر شاخص انتخابی کمتری در مقایسه با تیمار شاهد داشتند و ضمن اینکه در کنترل بیماری حباب تر مؤثر بودند، تأثیر سوء بر قارچ دکمه‌ای نیز نداشتند (جدول ۶).

## تأثیر ترکیبات غیر فرآر چند گونه مخمر بر قارچ مایکوگون و قارچ دکمه‌ای

نتایج به‌دست‌آمده از میزان رشد قارچ مایکوگون در روش ترکیبات غیر فرآر نشان داد (شکل ۴)، در روز چهارم آزمایش، ترکیبات غیر فرآر تمام مخمرها تأثیر بازدارندگی بر رشد قارچ بیمارگر داشتند و میزان رشد قارچ بیمارگر در این تیمارها کمتر از شاهد بود. در روز چهارم آزمایش، تأثیر مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadini* در کنترل بیمارگر بیشتر از سایر مخمرها بود و قارچ بیمارگر مایکوگون رشد نداشت. در روز ششم و هشتم آزمایش، قارچ بیمارگر رشد کرد ولی در تیمار شاهد بیشترین رشد را داشت و ترکیبات غیر فرآر مخمرها باعث محدود شدن رشد قارچ بیمارگر شد که در بین مخمرها، استفاده از مخمر *S. cervisiae* بیشتر از سایر مخمرها باعث محدود شدن رشد قارچ بیمارگر شد. در روز دهم آزمایش، بیشترین رشد قارچ بیمارگر (۷/۷۶ سانتی‌متر) متعلق به تیمار شاهد بود و استفاده از مخمرها باعث شد به‌طور قابل توجهی رشد قارچ بیمارگر محدود شود و مخمر *S. cervisiae* بیشترین کنترل‌کنندگی از رشد قارچ بیمارگر را نشان داد (جدول ۷).

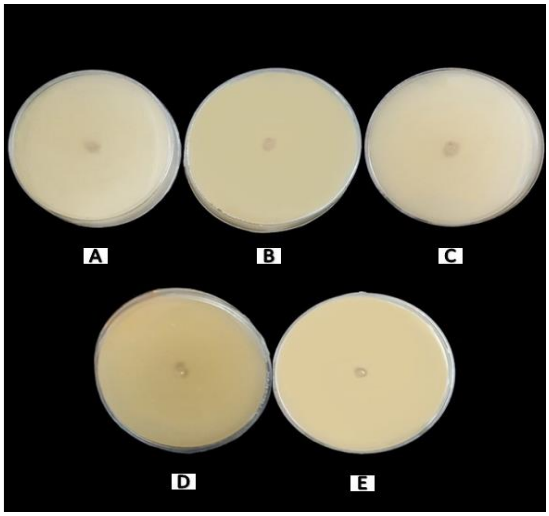
جدول ۶- شاخص انتخابی حاصل از تأثیر مخمرها در آزمون ترکیبات فرآر

Table 6- Selective index of the effect of yeast in volatile metabolites assay

| Yeast | Selection Index |
|---|---|
| Control | 0.992$^{a}$ |
| *S. cerevisiae* | 0.567$^{b}$ |
| *R. mucilaginosa* | 0.517$^{b}$ |
| *P. jadini* | 0.467$^{b}$ |
| *P. fermentans* | 0.39$^{b}$ |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant.




شکل ۳- تأثیر گونه‌های مخمر بر قارچ دکمه‌ای در آزمون ترکیبات فرآر ؛ A) *S. cerevisiae*، B) *R. mucilaginosa*، C) *P. fermentans*، D) *P. jadinii*، E) شاهد

Figure 3- The Effect of Yeast Species on on *Agaricus bisporus* growth in **volatile metabolites assay** A) *S. cerevisiae*, B) *R. mucilaginosa*, C) *P. fermentans*, D) *P. jadinii*, E) Control.

جدول ۷- اثر انواع مخمر و زمان بر میزان رشد قارچ مایکوگون در آزمون ترکیبات غیر فرآر

Table 7- Effect of different yeast and time on *Mycogone perniciosa* growth in non-volatile metabolites assay

| Yeast | *Mycogone perniciosa* growth in non- volatile metabolites assay | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Day | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| Fourth | $3.56^{ef}$ | $0.0^{i}$ | $2.33^{gh}$ | $0.0^{i}$ | $2.30^{gh}$ | 1.64 D |
| Sixth | $5.20^{c}$ | $1.36^{h}$ | $3.50^{f}$ | $2.46^{g}$ | $3.46^{f}$ | 3.20 C |
| Eighth | $6.66^{b}$ | $2.76^{fg}$ | $4.53^{c-e}$ | $3.63^{d-f}$ | $4.73^{c}$ | 4.46 B |
| Tenth | $7.76^{a}$ | $3.63^{d-f}$ | $5.03^{c}$ | $4.60^{cd}$ | $5.03^{c}$ | 5.21 A |
| Mean | 5.8 A | 1.94 D | 3.85 B | 2.67 C | 3.88 B | - |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant

شکل ۴- تأثیر گونه‌های مخمر بر قارچ مایکوگون در آزمون ترکیبات غیر فرآر ؛ A) *S. cerevisiae*، B) *R. mucilaginosa*، C) *P. fermentans*، D) *P. jadinii*، E) شاهد

Figure 4- The Effect of Yeast Species on *Mycogone perniciosa* growth in non- volatile metabolites assay A) *S. cerevisiae*, B) *R. mucilaginosa*, C) *P. fermentans*, D) *P. jadinii*, E) Control.

نتایج حاصل از بررسی میزان رشد قارچ دکمه‌ای در روش ترکیبات غیر فرآر نشان داد (شکل ۵)، در

روز دوم آزمایش، تأثیر تمام مخمرها باعث شد حداقل رشد قارچ دکمه‌ای ثبت گردد و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. میزان رشد قارچ دکمه‌ای از روز چهارم به بعد افزایش یافت. به‌طوری که بیشترین رشد قارچ دکمه‌ای متعلق به تیمار شاهد و مخمر *R. mucilaginosa* بود. همچنین روز ششم و هشتم آزمایش، حداکثر رشد قارچ دکمه‌ای ثبت گردید و تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و انواع مخمرها وجود نداشت. بنابراین، مخمرها هیچ تأثیر منفی بر رشد قارچ دکمه‌ای نداشتند (جدول ۸).

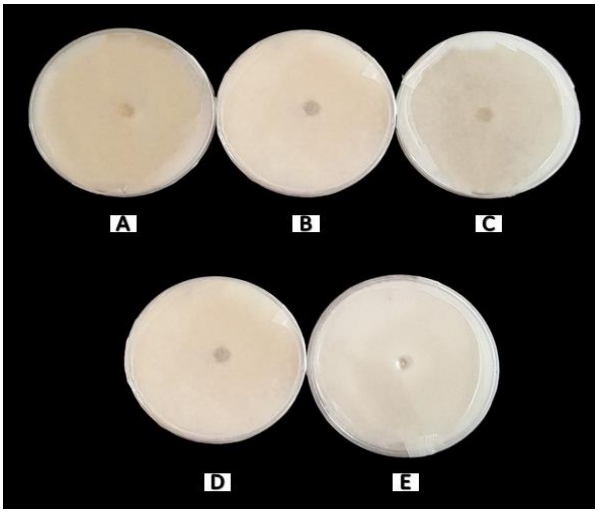
جدول ۸- اثر انواع مخمر و زمان بر میزان رشد قارچ دکمه‌ای در آزمون ترکیبات غیر فرآر

Table 8- Effect of different yeast and time on *Agaricus bisporus* growth **in** non- volatile metabolites assay

| Yeast / Day | *Agaricus bisporus* growth in non- volatile metabolites assay | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| Second | $4.73^{c-e}$ | $1.43^{h}$ | $3.20^{e-g}$ | $2.0^{gh}$ | $2.70^{g-f}$ | 2.81 C |
| Fourth | $6.60^{ab}$ | $3.43^{d-g}$ | $6.30^{a-c}$ | $4.16^{d-f}$ | $5.06^{b-d}$ | 5.11 B |
| Sixth | $7.63^{a}$ | $6.13^{a-c}$ | $7.66^{a}$ | $6.46^{a-c}$ | $7.06^{a}$ | 6.99 A |
| Eighth | $8.0^{a}$ | $7.06^{a}$ | $8.0^{a}$ | $7.46^{a}$ | $8.0^{a}$ | 7.7 A |
| Mean | 6.74 A | 4.51 D | 6.29 AB | 5.02 CD | 5.70 BC | - |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant




شکل ۵- تأثیر گونه‌های مخمر بر قارچ دکمه‌ای در آزمون ترکیبات غیر فرآر ؛ A) *S. cerevisiae*، B) *R. mucilaginosa*، C) *P. fermentans*، D) *P. jadinii*، E) شاهد

Figure 5- The Effect of Yeast Species on on *Agaricus bisporus* growth in non- volatile metabolites assay A) *S. cerevisiae*, B) *R. mucilaginosa*, C) *P. fermentans*, D) *P. jadinii*, E) Control.

نتایج تعیین شاخص انتخابی بون ترکیبات غیر فرآر مخمرها نشان داد، هر چهار مخمر در مقایسه با تیمار شاهد شاخص انتخابی کمتری داشتند و ضمن اینکه در کنترل بیماری حباب تر مؤثر بودند، تأثیر سوء بر قارچ دکمه‌ای نیز نداشتند (جدول ۹).

**تأثیر مخمرها بر وزن تر قارچ خوراکی در سالن پرورش قارچ – برداشت اول**

بررسی مقایسه میانگین وزن تر قارچ خوراکی نشان داد اختلافی از نظر آماری بین گونه‌های مختلف مخمر مشاهده نشد. نتایج نشان داد، وزن تر قارچ

خوراکی در تیمارهای دارای بیمارگر در مقایسه با قارچ‌های سالم (بدون بیمارگر) کمتر بود. مقایسه میانگین تأثیر متقابل تیمار (مخمر) × وجود و عدم وجود بیمارگر نشان داد بیشترین وزن تر مربوط به تیمارهای بدون بیمارگر بود. در تیمارهای آلوده تأثیر مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* در حفظ وزن تر بیشتر بود (جدول ۱۰).

جدول ۹- شاخص انتخابی حاصل از تأثیر مخمرها در آزمون ترکیبات غیر فرآر

Table 9- Selective index of the effect of yeast in non- volatile metabolites assay

| Yeast | Selection Index |
|---|---|
| Control | 0.971[a] |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 0.515[b] |
| *R. mucilaginosa* | 0.629[b] |
| *P. jadini* | 0.616[b] |
| *P. fermentans* | 0.629[b] |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant.

جدول ۱۰- اثر انواع مخمر و بیمارگر بر وزن تر قارچ دکمه‌ای در سالن پرورش قارچ – برداشت اول

Table 10- The effect of different yeast and pathogens on the fresh weight of mushroom buttons in the fungus breeding room

| Yeast pathogens | Fresh Weight Mushroom (g) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| No pathogen | 4.23[a] | 3.9[a] | 3.93[a] | 4.13[a] | 3.66[a] | 3.97 A |
| pathogen | 1.23[bc] | 1.8[b] | 1.13[c] | 1.83[b] | 1.46[bc] | 1.49 B |
| Mean | 2.73 A | 2.85 A | 2.56 A | 2.98 A | 2.53 A | - |

میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant

**تأثیر مخمرها بر تعداد قارچ خوراکی در سالن پرورش قارچ- برداشت اول**

تأثیر مخمرها بر تعداد قارچ خوراکی مشخص کرد در تیمارهای دارای مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* تعداد قارچ‌های خوراکی بیشتر از سایر تیمارها بود. تأثیر مخمرها بر تعداد قارچ خوراکی در تیمارهای دارای بیمارگر و بدون بیمارگرنشان داد از نظر آماری تعداد قارچ خوراکی در تیمارهای دارای بیمارگر کمتر بود. مقایسه میانگین اثر متقابل انواع مخمرها × وجود و عدم وجود بیمارگر نشان داد بیشترین تعداد قارچ خوراکی مربوط به تیمارهای بدون بیمارگر و همراه با مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* بود که با شاهد سالم در یک گروه آماری قرار گرفتند. در تیمارهای آلوده نیز تأثیر مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* در افزایش تعداد قارچ خوراکی بیشتر بود به‌طوری‌که با قرار گرفتن در گروه آماری بالاتر از شاهد بیمار نشان دادند که توانایی کنترل بیماری حباب تر را داشتند (جدول ۱۱).

**تأثیر مخمرها بر وزن تر قارچ خوراکی در سالن پرورش قارچ – برداشت دوم**

مقایسه میانگین تأثیر مخمرها بر وزن تر قارچ خوراکی در برداشت دوم مشخص کرد سه مخمر *S. cervisiae*، *P. jadinii* و *P. fermentans* از نظر آماری بیشترین تأثیر را بر وزن تر قارچ خوراکی داشتند و با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین تأثیر مخمرها بر وزن تر قارچ خوراکی در تیمارهای دارای بیمارگر و بدون بیمارگر نشان داد از نظر آماری وزن تر قارچ خوراکی در تیمارهای دارای بیمارگر کمتر بود. مقایسه میانگین اثر متقابل مخمرها × وجود و عدم وجود بیمارگر

نشان داد که بیشترین وزن تر مربوط به تیمارهای بدون بیمارگر همراه با مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* بود که با شاهد سالم در یک گروه آماری قرار گرفتند. در تیمارهای آلوده تأثیر مخمر *P. jadinii* در حفظ وزن تر بیشتر بود؛ به‌طوری که در گروه آماری بالاتر نسبت به شاهد بیمار قرار گرفت (جدول ۱۲).

جدول ۱۱- اثر انواع مخمر و بیمارگر بر تعداد قارچ دکمه‌ای در سالن پرورش قارچ- برداشت اول

Table 11- The effect of different yeast and pathogen on the number of mushroom buttons in the fungus breeding room

| Yeast pathogens | The Number of Mushroom (g) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| No pathogen | 47.66[a] | 46.0[a] | 34.33[b] | 47.33[a] | 37.33[b] | 42.53 A |
| pathogen | 7.33[d] | 14.66[c] | 8.33[d] | 14.66[c] | 11.0[d] | 11.2 B |
| Mean | 27.5 B | 30.33 AB | 21.33 C | 31.0 A | 24.16 C | - |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant

جدول ۱۲- اثر انواع مخمر و بیمارگر بر وزن تر قارچ دکمه‌ای در سالن پرورش قارچ – برداشت دوم

Table 12- The effect of different yeast and pathogens on the fresh weight of mushroom buttons in the fungus breeding room

| Yeast pathogens | Fresh Weight Mushroom (g) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| No pathogen | 3.53[a] | 3.3[ab] | 3.03[b] | 3.26[ab] | 2.96[b] | 3.22 A |
| pathogen | 0.96[d] | 1.33[cd] | 0.93[d] | 1.46[c] | 1.16[cd] | 1.17 B |
| Mean | 2.25 AB | 2.31 AB | 1.98 B | 2.36 A | 2.06 AB | - |

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant

**تأثیر مخمرها بر تعداد قارچ خوراکی در سالن پرورش قارچ- برداشت دوم**

مقایسه میانگین تأثیر مخمرها بر تعداد قارچ خوراکی مشخص کرد در تیمارهای دارای مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* تعداد قارچ‌های خوراکی بیشتر از سایر تیمارها بود و با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین تأثیر مخمرها بر تعداد قارچ خوراکی در تیمارهای دارای بیمارگر و بدون بیمارگر نشان داد از نظر آماری تعداد قارچ خوراکی در تیمارهای دارای بیمارگر کمتر بود. مقایسه میانگین تأثیر متقابل مخمر × وجود و عدم وجود بیمارگر نشان داد بیشترین تعداد قارچ خوراکی مربوط به تیمارهای شاهد سالم و سپس تیمارهای بدون بیمارگر و همراه با مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* بود. در تیمارهای آلوده نیز اختلافی از نظر آماری مشاهده نشد (جدول ۱۳).

جدول ۱۳- اثر انواع مخمر و بیمارگر بر تعداد قارچ دکمه‌ای در سالن پرورش قارچ- برداشت دوم

Table 13- The effect of different yeast and pathogens on the number of mushroom buttons in the fungus breeding room

| Yeast pathogens | The Number of Mushroom (g) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *S. cervisiae* | *R. mucilaginosa* | *P. jadini* | *P. fermentans* | Mean |
| absence of the pathogen | 35[a] | 26.66[bc] | 21.66[c] | 29[b] | 23.33[c] | 27 A |
| presence of the pathogen | 4[d] | 8[d] | 4.33[d] | 7.33[d] | 6[d] | 5.93 B |
| Mean | 19.5 A | 17.33 AB | 13.0 C | 18.16 AB | 14.66 BC | - |

میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف آماری مشترک باشند، اختلافی از نظر آماری ندارند.

The averages that have at least one common alphabet are not statistically significant

## بحث

در پژوهش حاضر تأثیر قدرت رقابت تغذیه‌ای چهار گونه مخمر *S. cervisiae*، *R. mucilaginosa*، *P. jadini* و *P. fermentans* بر قارچ مایکوگون به عنوان عامل بیماری‌زا و قارچ دکمه‌ای به عنوان میزبان در روش کشت متقابل بررسی شد. نتایج نشان داد که مخمرهای *S. cervisiae*، *P. jadini* و *P. fermentans* درحالی‌که باعث محدود کردن رشد بیمارگر شدند و رقابت بالایی بر سر کسب غذا و فضای محیط کشت با آن داشتند بر میزبان تأثیر سوء نداشتند؛ حتی *P. fermentans* باعث تحریک رشد قارچ دکمه‌ای نسبت به شاهد نیز شد. احتمال دارد با بررسی‌های دقیق‌تر خاصیت پروبیوتیکی توسط این گونه تأیید گردد. همانگونه که انتظار می‌رفت با گذشت زمان رشد بیمارگر و میزبان سیر صعودی داشت. در کشت متقابل مخمر و بیمارگر در نوبت اول و دوم آماربرداری تفاوتی بین تیمارها نبود. علت این امر این بود که مخمر و قارچ هنوز به هم نزدیک نشده بودند و فضا و غذای کافی در محیط کشت برای هر دوی آنها وجود داشت و آنها نیاز به رقابت با یکدیگر نداشتند. هر چه به روزهای آخر آزمایش نزدیکتر شد، رقابت بین مخمر و بیمارگر افزایش یافت. با گذشت زمان، اختلاف در توانایی رقابت مخمرها نیز مشخص‌تر شد به‌طوری که قدرت رقابتی *R. mucilaginosa* کمتر از سایرین بود. چه بسا اگر از پتری دیش بزرگتر استفاده می‌شد که مدت زمان آماربرداری افزایش یابد، اختلاف در توانایی رقابت سه مخمر دیگر نیز مشهودتر می‌گردید. رقابت بر سر فضا و مواد مغذی یکی از سازوکارهای کنترل زیستی درعوامل آنتاگونیست علیه بیمارگرهاست (Di-Francesco *et al.*, 2016). مخمرها برای تنفس تخمیری خود از قند به‌عنوان یک عامل مهم رشدی استفاده می‌کنند و به‌همین دلیل در محیطی با کمبود مواد قندی توانایی رقابتی بالایی برای جذب آن نشان می‌دهند (Mukhtar *et al.* 2010). در این آزمون با توجه به میزان بازدارندگی از رشد بیمارگرها، این احتمال وجود دارد که مخمرهای *S. cervisiae*، *P. jadini* و *P. fermentans* در فضای رقابتی مشترک، با وارد شدن به مرحله میسلیومی، از راه اشغال فضای محیط کشت میزان بیشتری از مواد غذایی را جذب و از گسترش قارچ بیمارگر مایکوگون جلوگیری کردند. بر خلاف تحقیق حاضر، در مواردی مشخص شده است که این مخمر توانایی ضد میکروبی بالایی دارد. مختاری و همکاران نشان دادند این مخمر توانایی بالایی در کنترل کپک آبی سیب دارد (Mokhtari *et al*, 2011). نکته مهم این پژوهش این بود که تقریباً در روزهای مختلف آماربرداری، اختلافی بین میانگین رشد قارچ دکمه‌ای و شاهد در تیمارهای مختلف و تحت تأثیر مخمرها نبود که می‌توان نتیجه گرفت مخمرهای استفاده شده، به‌درستی انتخاب شده بودند. در مجموع بر اساس نتیجه پژوهش حاضر هر سه مخمر فوق حداقل شاخص انتخابی در کنترل بیمارگر را نشان دادند و موثرترین مخمرها در کنترل بیولوژیک مایکوگون بودند. مطابق با تحقیق حاضر، رنجبر چهار برج و همکاران نشان دادند مخمر *P. membranaefaciens* توانایی رقابتی بالایی علیه بیمارگرها در محیط کشت PDA اصلاحی با میزان پایین قند دکستروز دارند (Ranjbar Chaharborj *et al.* 2016). این جدایه‌ها افزون بر بازدارندگی از رشد بیمارگرها در آزمون کشت متقابل با دو میزان متفاوت قند دکستروز، توانایی تولید سیدروفور و زهرابه را هم دارا هستند. نتایج مربوط به بررسی برهم‌کنش‌های بین بیمارگرهای قارچی و مخمرهای آنتاگونیست، نشان داده است که یاخته‌های مخمر در اتصال به میسلیوم‌های بیمارگرها توانایی بالایی دارد. تحقیق حاضر نیز نشان داد قدرت رقابت تغذیه‌ای این گونه در محیط کشت بالا بود. تحقیقات نشان داده است که اسپورزایی و قدرت تهاجم جدایه‌های آنتاگونیست در آزمون کشت متقابل به نوع قارچ عامل بیماری و ترکیب محیط کشت بستگی دارد. این مسئله در مورد مخمرها که نیازهای غذایی خاص دارند، بیشتر اهمیت پیدا می کند ( Benítez

*et al*, 2004).

در پژوهش حاضر تأثیر ترکیبات فرآر چهار گونه مخمر *S. cervisiae*، *R. mucilaginosa*، *P. jadini* و *P. fermentans* بر قارچ مایکوگون به عنوان عامل بیماری‌زا و قارچ دکمه‌ای به عنوان میزبان بررسی شد. پژوهش حاضر نشان داد بیمارگر و میزبان با گذشت زمان رشد صعودی داشتند که انتظار نیز می‌رفت. همچنین این پژوهش نشان داد ترکیبات فرآر تمام مخمرها قادر به کنترل بیمارگر بودند (اگرچه تأثیر ترکیبات فرآر مخمرهای *S. cervisiae*، *P. jadini* و *P. fermentans* در کنترل بیمارگر مشهودتر بود) اما خوشبختانه این ترکیبات بر رشد میزبان تقریباً بی‌اثر بودند. تأثیر بازدارندگی ترکیبات فرآر مخمرها بر بیمارگر از همان روز اول آماربرداری مشهود بود. علت این مسئله این بود که ترکیبات فرآر از همان ابتدای شروع رشد مخمر در محیط بسته بسته پتری ایجاد شد اما با گذشت زمان این ترکیبات انباشته شد و باعث گردید اختلاف رشد بیمارگر در تیمارهای تحت تأثیر مخمر نسبت به شاهد به‌طور مرتب تا روز آخر آماربرداری بیشتر شود. بیشترین میزان کنترل بیمارگر توسط مخمرها نسبت به شاهد در روز آخر آماربرداری مشاهده شد. همچنین مشخص شد با وجود ایجاد ترکیبات فرآر مخمرها در پتری دیش، از روز اول تا آخر آماربرداری تفاوت آماری در میانگین رشد قارچ دکمه‌ای با شاهد مشاهد نشد. بررسی شاخص انتخابی نشان داد هر چهار مخمر از نظر آماری کمترین میزان شاخص را در مقایسه با شاهد داشتند بنابراین تأثیر آنها بر کنترل بیمارگر مشابه بود ضمن اینکه تأثیر سوء بر رشد میزبان نداشتند. این مسئله نوید بخش کاربرد اجزای تشکیل دهنده ترکیبات فرآر این گونه‌های مخمر در کنترل بیمارگر خواهد بود. چون میزبان این بیمارگر هم نوعی قارچ است یافتن عامل کنترل بیولوژیک که بصورت انتخابی توانایی کنترل موفق مایکوگون را داشته باشد اما بر قارچ میزبان تأثیر سوء نداشته باشد، اهمیت یافته‌های پژوهش حاضر را بارزتر می‌کند.

زپا و همکاران متابولیت‌های فرآر متعددی شامل لاکتون، الکل‌ها، مشتقات ترپن و مشتقات آلفا پیرون را در شرایط کشت متفاوت قارچ‌ها آنتاگونیست به‌دست آورده است. آنها نشان دادند جدایه‌های مختلف و همچنین مواد و روش کشت در کمّیت و کیفیت تولید متابولیت‌های فرآر موثر است (Zeppa *et al*. 1990).

در پژوهش حاضر تأثیر ترکیبات غیر فرآر چهار گونه مخمر *S. cervisiae*، *R. mucilaginosa*، *P. jadinii* و *P. fermentans* بر قارچ مایکوگون به‌عنوان عامل بیماری‌زا و قارچ دکمه‌ای به عنوان میزبان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با گذشت زمان رشد بیمارگر و میزبان سیر صعودی داشت که انتظار نیز می‌رفت. همچنین مشخص شد که تمام مخمرهای مورد استفاده ترکیبات غیر فرآر موثری بر کنترل بیمارگر نسبت به شاهد داشتند اما تأثیر ترکیبات غیر فرآر دو گونه *S. cervisiae* و *P. jadinii* در کنترل بیمارگر بیشتر از سایرین بود. نتایج نشان داد با گذشت زمان همچنان تأثیر بازدارندگی ترکیبات غیر فرآر مخمرها بر بیمارگر وجود داشت و باعث اختلاف میانگین رشد بیمارگر تحت تأثیر ترکیبات غیر فرآر مخمرها با شاهد شد. در تمام روزهای آماربرداری این اختلاف رشد مشهود بود. حفظ خاصیت بازدارندگی این ترکیبات غیر فرآر در محیط کشت پس از گذشت ده روز از شروع آزمایش نکته‌ای در خور توجه بود. این در حالی بود که این ترکیبات غیر فرآر باعث محدود شدن رشد قارچ دکمه‌ای نشدند بخصوص هر چه به روزهای آخر آماربرداری نزدیک شد تأثیر ترکیبات غیر فرآر مخمرها بر قارچ دکمه‌ای کمتر و کمتر شد به‌طوری که در روزهای ششم و هشتم اختلاف آماری بین شاهد و تیمارها وجود نداشت. بررسی شاخص انتخابی نیز نشان داد هر چهار مخمر با داشتن کمترین شاخص انتخابی بیشترین تأثیر را در کنترل بیمارگر نسبت به شاهد داشتند. پس می‌توان نتیجه گرفت ترکیبات غیر فرآر مخمرها همچون ترکیبات فرآرشان به‌صورت انتخابی تأثیر

بازدارندگی قوی بر رشد بیمارگر دارد ضمن اینکه هیچگونه تأثیر سوء بر رشد قارچ دکمه‌ای نداشت. بنابراین ترکیبات تولیدشده این مخمرها را می‌توان به‌عنوان یک سم بیولوژیک در کنترل مایکوگون معرفی نمود. رنجبر چهار برج و همکاران نشان دادند علت خاصیت ضد میکروبی مخمرها در شرایط طبیعی توانایی تولید ترکیبات غیر فرآر و آنزیم‌های تجزیه‌کننده توسط آنهاست (Ranjbar Chaharborj *et al.* 2016) که در تحقیق حاضر نیز مشخص شد. برخی جدایه‌ها توانایی پارازیتیسم دارند و با تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک از قبیل کیتیناز و گلوکاناز در طی مراحل پارازیتیسم خاصیت آنتاگونیستی خود را نشان می‌دهند. این قضیه در مورد مخمرها نیز اهمیت دارد (Benítez *et al.* 2004). در برداشت اول و دوم وزن تر کلاهک ها در تیمارهای سالم بیشتر از بیمار بود که انتظار نیز می‌رفت. در برداشت اول تقریبا وزن‌تر کلاهک‌ها تحت تأثیر مخمرها تفاوتی با شاهد نداشت ولی در برداشت دوم در تیمارهای بدون بیمارگر مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* باعث افزایش وزن تر شدند و در تیمارهای آلوده مخمر *P. jadinii* باعث افزایش وزن تر نسبت به شاهد شد و این نشان دهنده کنترل بیماری حباب تر توسط این جدایه بود. به دلیل وجود هم مخمر و هم بیمارگر در بستر کشت قارچ دکمه‌ای باعث ایجاد رقابت جهت استفاده از منابع غذایی موجود بین آنتاگونیست و بیمارگر شده است. به نظر می‌آید *P. jadinii* با بهره‌گیری از مکانیسم‌های مختلف چون رقابت غذایی، حمله مستقیم و آنتی بیوز باعث محدود شدن رشد بیمارگر و کنترل بیماری شده است. مطابق با تحقیق حاضر در بسیاری از تحقیقات بر توانایی ضد میکروبی مخمرها تأکید شده است. مخمرها با مکانیسم‌های متنوعی در کاهش بیماری مؤثر هستند که مهم‌ترین آنها، رقابت بر سر مکان (Mercier and Wilson 1995) و غذا (Arras and Arru 1999)، برقراری رابطه انگلی با بیمارگر (Liu *et al.* 2013) و القای مقاومت در گیاه (El-Ghaouth *et al.* 1998) می باشد که در تحقیق حاضر نیز به اثبات رسید. در مورد تعداد کلاهک در هر دو برداشت مشخص شد تعداد آنها در تیمارهای سالم بیشتر از بیمار بود که انتظار نیز می‌رفت. همچنین مشخص شد در تیمارهای دارای مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* تعداد قارچ-های خوراکی بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج حاصل از برداشت اول مشخص کرد در تیمارهای بدون بیمارگر مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* باعث حفظ تعداد قارچ شد به‌طوری که با شاهد سالم در یک گروه آماری قرار گرفتند. در تیمارهای آلوده نیز مخمرهای *S. cervisiae* و *P. jadinii* باعث افزایش تعداد کلاهک نسبت به شاهد بیمار شد بنابراین، این جدایه‌ها توانایی کنترل بیماری حباب تر را داشتند. به نظر می‌آید این دو گونه در تیمارهای آلوده ضمن رقابت با عامل بیماری و محدود کردن آن با متابولیت‌های فرآر و غیر فرآر، باعث افزایش رشد و ایجاد کلاهک قارچ دکمه‌ای شده است. به عبارت دیگر باعث تحریک رشد میزبان در شرایط وجود آلودگی شده است.

## REFERENCES


**Arras G, Arru S (1999)** Integrated control of postharvest citrus decay and induction of phytoalexins by Debaryomyces hansenii. Advances in Horticultural Science 76-81.

**Batta YA (2004)** Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold. International Journal of Food Microbiology 96(3):281-8.

**Benítez T, Rincón AM, Limón MC, Codon AC (2004)** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology 7(4):249-260.

**Chen S, Oh SR, Phung S, Hur G, Ye JJ, Kwok SL, Shrode GE, Belury M, Adams LS, Williams D(2006)** Anti-aromatase activity of phytochemicals in white button mushrooms (Agaricus bisporus).
Cancer Research 66: 12026-12034.

**Dennis C, Webster J (1971)** Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma: I. Production of non-volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society 57(1): 25-IN3.

**Di-Francesco A, Martini C, Mari M (2016)** Biological control of postharvest diseases by microbial antagonists: how many mechanisms of action? European Journal of Plant Pathology 10: 1-7.

**El-Ghaouth A, Wilson CL, Wisniewski M (1998)** Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. Phytopathology 88 (4): 282-291.

**Gholam Nejad J, Etebarian HR, Naserinasab F (2013)** Induction of defense responses and biological control of blue mold of apple fruit (*Penicillium expansum*) with *Rhodotorula mucilaginosa* A1. Journal of Plant Disease Research 1 (4): 47-60. (In Persian).

**Kouser S, Shah S (2013)** Isolation and identification of *Mycogone perniciosa*, causing wet bubble disease in *Agaricus bisporus* cultivation in Kashmir. African Journal of Agricultural Research 8(38): 4804-4809.

**Lillbro M (2005)** Biocontrol of *Penicillium Roqueforti* on grain: A comparison of mode of action of several yeast species [MSc]. [Uppsala, Sweden]: Swedish University of Agricultural Sciences.

**Liu J, Wisniewski M, Droby S, Norelli J, Hershkovitz V, Tian S, Farrell R (2012)** Increase in antioxidant gene transcripts, stress tolerance and biocontrol efficacy of Candida oleophila following sublethal oxidative stress exposure. FEMS Microbiology Ecology 80: 578-590.

**Liu J, Sui Y, Wisniewski M, Droby S, Liu Y (2013)** Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. International Journal of Food Microbiology 167(2): 153-160.

**Mari M, Martini C, Spadoni A, Rouissi W, Bertolini P (2012)** Biocontrol of apple postharvest decay by Aureobasidium pullulans. Postharvest Biology and Technology 73: 56-62.

**Mercier J, Wilson CL (1995)** Effect of wound moisture on the biocontrol by *Candida oleophila* of gray mold rot (*Botrytis cinerea*) of apple. Postharvest Biology and Technology 6(1-2): 9-15.

**Mokhtari M, Etebarian HR, Razavai M, Mirhendi SH (2011)** Identification of *Rhodotorula* Species isolated from apple, using molecular techniques. Iranian Journal of Plant Protrction Science 42 (1): 33-41. **(In Persian).**

**Mukhtar K, Asgher M, Afghan S, Hussain K, Zia-ul-Hussnain S (2010)** Comparative study on two commercial strains of Saccharomyces cerevisiae for optimum ethanol production on industrial scale. Biomedicine and Biotechnology 2: 1-5.

**Ranjbar Chahrborj S, Shirzad A, Arzanlou M (2016)** Evaluation of the biocontrol ability of *Pichia membranaefaciens* yeast against *Aspergillus tubingensis* and *Penicillium crustosum* causing bunch rot disease in grapes. Biological Control of Pests and Plant Diseases 5 (1): 97-110. **(**In Persian).

**Sanz Ferramola MI, Benuzzi D, Calvente V, Calvo1 J, Sansone G, Cerutti S, Raba J (2013)** The use of siderophores for improving the control of postharvest diseases in stored fruits and vegetables. Science, Technology and Education 13: 1385-1395.

**Sharma MV, Sagar A, Joshi M (2015)** Study on antibacterial activity of Agaricus bisporus (Lang.) Imbach. International Journal of Current Microbiology and Applied Science 4: 553-558.

**Spadaro D, Zhang D, Garibaldi A, Gullino ML (2011)** Role of competition for iron and cell wall degrading enzymes in mechanism of action of postharvest biocontrol agents. International Society for Horticultural Science 905: 87-102.

**Weller DM (1988)** Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Annual Review of Phytopathology 26(1): 379-407.

**Yazgi M, Awad D, Jreikous B (2015)** Screening of the antifungal activity of plant Mentha longifolia crude extracts against two fungi Alternaria citri and Fusarium moniliforme. Journal of Entomology and Zoology Studies 3: 359-364.

**Zeppa G, Allegrone G, Barbeni M, Guarda PA (1990)** Variability in the production of volatile metabolites by *Trichoderma viride*. Annali di Microbiologia ed Enzimologia 90(2):171-176.