91-106/Journal of Soil Biology Vol. 13, No. 1, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology

https://sbj.areeo.ac.ir/

Research article

Edible, Poisonous, Medicinal, and Economically Valuable Agaric Fungi Symbiotic with Oriental Beech (*Fagus orientalis* Lipsky)

Hamed Aghajani[1*], Seyed Mohammad Hojjati[2], Mohammad Ali Tajick-Ghanbari[3], Mohammad Reza Pourmajidian[4] and Ali Borhani[5]

1-Assistant professor, Department of Forest Sciences and Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I. R. Iran. h.Aghajani@sanru.ac.ir & hamed_aghajani_85@yahoo.com
2- professor, Department of Forest Sciences and Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I. R. Iran& Visiting Scientist, Department of Silviculture and Forest Ecology of Temperatec Zones, Georg-August- Göttingen University, Göttingen- Germany. s_m_hojjati@yahoo.com
3- Associate professor, Department of Plant protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I. R. Iran. tajick@gmail.com
4- professor, Department of Forest Sciences and Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I. R. Iran. m_r_pourmajidian@yahoo.com
5- Faculty Member of Agriculture and Natural Resources Research Center of Mazandaran, Passand Forest and Rangeland Research Station, Behshar, I. R. Iran. borhani_ali@gmail.com

Article Info

Received: 2025-06-20
Accepted: 2025-08-17

Keywords: Soil biology, Ectomycorrhiza, Agaric mushroom, Ecology, Medicinal mushroom
Corresponding author's email: h.Aghajani@sanru.ac.ir &hamed_aghajani_85@yahoo.com

DOI: 10.22092/SBJ.2025.369850.281

Extended Abstract

Background and Objectives: The Hyrcanian forests of northern Iran, a UNESCO World Heritage site, represent a unique and ancient temperate ecosystem dominated by the climax species Oriental Beech (*Fagus orientalis*). The health and ecological succession of these forests are critically dependent on soil organisms, particularly ectomycorrhizal (ECM) fungi. These fungi form a vital symbiotic relationship with beech roots, where the fungal hyphae vastly increase the root system's surface area, enhancing nutrient cycling and protecting the host from pathogens and drought. While traditional mycological surveys based on mushroom collection are valuable, they often miss species that fruit infrequently or remain below ground. Therefore, modern molecular methods are essential for accurately inventorying the active symbiotic community. This study was therefore designed to address the knowledge gap regarding the ECM community associated with *F. orientalis*. The objectives were: (1) to molecularly identify the agaric ECM fungi associated with the roots of Oriental Beech trees in the Sangdeh forests; (2) to determine the edible, toxic, and medicinal potential of the identified species based on scientific literature; and (3) to provide a foundational dataset for future ecological and biotechnological research.

Materials and Methods: The study was conducted in the Sangdeh forests of Mazandaran, Iran, across an elevation range of 1200 to 2100 meters, an area characterized by high rainfall and a mix of beech, hornbeam, and maple trees. A total of 45 *F. orientalis* trees were sampled across this altitudinal gradient. Fine root samples were collected from the top 10 cm of soil, where ECM activity is highest. In the laboratory, individual ECM root tips were sorted based on morphology. DNA was extracted using the CTAB method, which is effective for fungal tissues. The Internal Transcribed Spacer (ITS) region, the official DNA barcode for fungi, was amplified via PCR using the primers ITS1F and ITS4/ITS4B. PCR products were purified and subjected to Sanger sequencing. The resulting DNA sequences were edited in BioEdit and identified by comparison to the NCBI GenBank database (≥98% similarity threshold). A phylogenetic tree was constructed using the Maximum Likelihood method, with the most appropriate nucleotide substitution model selected based on the Akaike Information

Criterion (AIC). The statistical confidence of the tree's branches was assessed with 1000 bootstrap replicates. *Saccharomyces cerevisiae* was used as the outgroup.

Results: The molecular analysis led to the identification of 15 distinct species of ectomycorrhizal agaric fungi, distributed across 5 genera: *Russula*, *Cortinarius*, *Inosperma*, *Lactarius*, and *Hebeloma*. The dominance of *Russula* and *Cortinarius* in both species richness and frequency is consistent with findings from other temperate beech forests globally, confirming their strong symbiotic affinity with this host. A comprehensive review of scientific literature allowed for the functional categorization of these 15 species. Six were identified as edible: *Russula chloroides*, *R. delica*, *R. brevipes*, *R. faginea*, *Cortinarius collinitus*, and *Lactarius subdulcis*. Among these, *Russula delica* and *Cortinarius collinitus* are particularly noteworthy, as they are also reported to possess valuable medicinal properties, with compounds showing antimicrobial and anti-tumor activities, respectively. An additional species, *Lactarius hepaticus*, was identified as having documented medicinal value due to its antioxidant compounds, bringing the total of medicinal fungi to three. In contrast, three species—*Inosperma adaequata*, *Cortinarius trivialis*, and *Lactarius chrysorrheus*—were identified as poisonous. The co-occurrence of these toxic fungi with valuable edible species highlights the significant risks of mycetism (mushroom poisoning) for local foraging communities and underscores the critical need for accurate identification.

A highly significant finding of this study was that the properties of four species (*Russula integriformis*, *Cortinarius rigens*, *C. alboaggregatus*, and *Hebeloma bulbiferum*) remain uncharacterized. These fungi represent a scientific frontier and warrant prioritization for future chemical screening, as novel bioactive compounds are frequently discovered in lesser-known fungal species. While broader national surveys like that of Ghobad-Nejhad et al. (2022) provide an essential overview of Iranian mycoflora, our study provides the first host-specific, root-level confirmation of several of these species with *Fagus orientalis*, strengthening the ecological understanding of these precise associations. It should be noted, however, that this study provides a snapshot of the ECM community during a single sampling period; fungal community composition can exhibit significant seasonal variations which were not captured. The phylogenetic analysis provided robust support for our taxonomic identifications, confirming that all major genera formed well-supported monophyletic clades, often with bootstrap values exceeding 95% at key nodes, thereby validating the species-level assignments.

Conclusion: This study provides a precise, molecular-based inventory of the ectomycorrhizal agaric community associated with *Fagus orientalis* in the studied region. The results reveal a rich and functionally diverse community, confirming the co-existence of valuable edible and medicinal fungi alongside dangerous poisonous species. This underscores the dual importance of this below-ground biodiversity: its essential ecological role in maintaining forest health and resilience, and its significant potential as a source of novel natural products. The conservation of these fungal communities is crucial. Further research, particularly the chemical analysis of the uncharacterized species and the validation of medicinal properties in local populations, is highly recommended and could pave the way for sustainable applications through knowledge-based enterprises.

Cite this article: Aghajani, H., Hojjati, S.M., Tajick Ghanbari, M.A., Pourmajidian, M.R., Borhani,A., 2025. Edible, Poisonous, Medicinal, and Economically Valuable Agaric Fungi Symbiotic with Oriental Beech (Fagus orientalis Lipsky). Journal of Soil Biology, 13 (1),91-106.

CC BY NC

DOI: 10.22092/SBJ.2025.369850.281
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصلنامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

https://sbj.areeo.ac.ir/

مقاله پژوهشی

قارچ‌های آگاریک خوراکی، سمی، دارویی و دارای ارزش اقتصادی همزیست با راش شرقی

حامد آقاجانی [۱*]، سید محمد حجتی [۲]، محمدعلی تاجیک قنبری [۳]، محمدرضا پورمجیدیان [۴] و علی برهانی [۵]

۱-استادیار گروه علوم و مهندسی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران, h.Aghajani@sanru.ac.ir

hamed_aghajani_85@yahoo.com

۲-استاد گروه علوم و مهندسی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران و محقق مهمان، انستیو جنگلشناسی و اکولوژی جنگل مناطق معتدله، دانشگاه جورج- آگوست گوتینگن، آلمان. s_m_hojjati@yahoo.com

۳-دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. tajick@gmail.com

۴- استاد گروه علوم و مهندسی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران m_r_pourmajidian@yahoo.com

۵-استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع پاسند، بهشهر، ایران. borhani_ali@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۴/۳/۳۱ پذیرش: ۱۴۰۴/۵/۲۶

چکیده

قارچ‌های اکتومیکوریز از لحاظ اقتصادی یکی از مهم‌ترین گروه قارچ‌های خاک به شمار می‌رود، علاوه بر پراکنش وسیع، بخش قابل توجهی از بیومس خاک را به خود اختصاص داده‌اند. نمونه‌برداری از ریز ریشه‌ها به عمق ۱۰ سانتی‌متر جهت شناسایی قارچ اکتومیکوریز انجام شد و در آزمایشگاه قارچ‌شناسی از طریق استخراج دی‌ان‌ای ناحیه ITS nrDNA با استفاده از زوج آغازگرهای ITS1F و ITS4B یا ITS4 تکثیر و توالی‌یابی شد و با نرم افزار Bio edit اصلاح و در NCBI مورد بررسی قرار گرفتند و قارچ‌های اکتومیکوریز به طریق مولکولی و استخراج DNA شناسایی شدند و خاصیت خوراکی، سمی، دارویی و دارای ارزش اقتصادی از طریق منابع معتبر انجام گرفت. کلادوگرام حاصل از مقایسه‌ی توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS جدایه‌های به دست آمده (جنس‌های *Russula*، *Cortinarius*، *Lactarius*) با دیگر گونه‌های همین جنس‌ها موجود در Genbank با روش بیشینه تشابه و اعداد موجود در محل انشعاب نشان دهنده‌ی درصد تایید خوشه بندی با ۱۰۰۰ بار تکرار نمونه‌گیری می‌باشد. *Saccharomyces cerevisiae* به عنوان خارج گروه به کار برده شده است. نتایج مولکولی این پژوهش نشان داد که ۱۵ گونه از قارچ‌های همزیست اکتومیکوریز شناسایی شدند که از ۵ جنس *Russula*، *Cortinarius*، *Inosperma*، *Lactarius* و *Hebeloma* می‌باشند که جنس‌های *Russula* و *Cortinarius* بیشترین فراوانی را داشته‌اند. همچنین از این ۱۵ گونه ۶ گونه *Russula chloroides*، *Russula delica*، *Russula brevipes*، *Russula faginea*، *Cortinarius collinitus* و *Lactarius subdulcis* خاصیت خوراکی داشته‌اند که از میان دو گونه *Russula delica* و *Cortinarius collinitus* علاوه بر ارزش خوراکی، دارای خواص دارویی و اقتصادی نیز می‌باشند. به‌علاوه قارچ *Lactarius hepaticus* دیگر گونه دارویی شناسایی شده بود که خاصیت دارویی آنتی‌اکسیدانی داشته است که در مجموع نتایج کلی نشان داد سه گونه *Russula delica*، *Cortinarius collinitus* و *Lactarius hepaticus* دارای خواص دارویی مستند می‌باشند که دو گونه اول علاوه بر آن، ارزش خوراکی نیز دارند. سه گونه *Inosperma adaequata*، *Cortinarius trivialis* و *Lactarius chrysorrheus* خاصیت سمی داشته‌اند و نکته جالب، خاصیت مابقی قارچ‌ها ناشناخته‌اند. نتایج این پژوهش نشان داد که جنگل‌های راش ایران میزبان تنوع قابل توجهی از قارچ‌های اکتومیکوریز با کارکردهای خوراکی، دارویی و سمی هستند. شناسایی این گونه‌ها علاوه بر غنای دانش بوم‌شناسی جنگل، می‌تواند مبنایی برای مطالعات بیشتر در زمینه پتانسیل دارویی و اقتصادی قارچ‌های بومی فراهم آورد. پیشنهاد می‌شود با توجه به پراکنش انواع قارچ‌های دارویی، استخراج انواع متابولیت‌ها از منابع بومی جنگل ایران با استفاده از شرکت‌های دانش‌بنیان مورد توجه قرار بگیرد.

کلیدواژه: زیست‌شناسی خاک، اکتومیکوریز، قارچ آگاریک، بوم شناسی، قارچ دارویی.

استناد: آقاجانی ، ح.، حجتی، م.، تاجیک قنبری، م.ع.، پورمجیدیان، م.ر.، برهانی، ع.، ۱۴۰۴. قارچ‌های آگاریک خوراکی، سمی، دارویی و دارای ارزش اقتصادی همزیست با راش شرقی. مقاله پژوهشی، نشریه زیست شناسی خاک ، (۱) ،۱۰۶-۹۱ .

مقدمه

جنگل‌های پهن‌برگ شمال ایران با قدمتی بیش از یک میلیون سال مربوط به دوران سوم زمین‌شناسی، یکی از غنی‌ترین و با ارزش‌ترین بوم‌سازگان‌های جنگلی جهان هستند که به صورت نواری با طول حدود ۸۰۰ کیلومتر و عرضی بین ۲۰ تا ۷۰ کیلومتر در نواحی جنوبی دریای کاسپین پراکنش دارند. مساحت این جنگل‌ها حدود ۱/۹ میلیون هکتار بوده و از ارتفاعات جلگه‌ای تا ارتفاعات بالای ۲۸۰۰ متر امتداد دارند (Marvie Mohajer, 2011). یکی از گونه‌های درختی غالب و مهم جنگل‌های هیرکانی راش شرقی (*Fagus orientalis* lipsky) گونه کلیماکس و نهایی جنگل است که از لحاظ توالی اکولوژیکی و پویایی بوم‌سازگان اهمیت دارد. یکی از موجودات زنده خاک که در این روند توالی بوم‌سازگان جنگل به راش کمک می‌کند قارچ‌های اکتومیکوریز هستند. قارچ‌های اکتومیکوریز که از لحاظ اقتصادی از مهم‌ترین گروه‌های قارچ‌های خاک به شمار می‌رود عناصری همچون فسفر، نیتروژن، سولفور و روی را از خاک دریافت کرده و آنها را به گیاه میزبان انتقال می‌دهند که این انتقال، تا حد زیادی تابع سیستم ریشه گیاه میزبان است (Siddiqui and Pichtel, 2008). قارچ‌های میکوریزی، کربن و سایر مواد آلی مورد نیاز خود را نیز از درخت دریافت نموده و در مقابل درخت را در جذب آب، نمک‌های معدنی و متابولیت‌ها (Alikhani and Ghorchiani, 2012) و انتقال فسفر (Nadian Ghomsheh, 2025) حمایت می‌کند. اکثر درختان جنگل از جمله درخت راش وابستگی شدیدی به همزیستی این ریزموجودات خاک‌زی دارند که از طریق روابط اکولوژیک همزیستی دو طرفه سودمند بینشان در بوم‌سازگان جنگل انجام می‌شود (Alikhani and Ghorchiani, 2012). در کنار قارچ‌های اکتومیکوریز، باکتری‌های محرک رشد نیز در بهبود رشد گیاهان نقش دارند (Khoshru et al., 2025). برخی از این ریز موجودات خاک‌زی، علاوه بر همزیستی و نقش اکولوژیک سودمند برای گیاهان، دارای ارزش مستقیم غذایی برای سلامت انسان‌ها هستند (Mishra and Shankar, 2025) که برخی از آنها جنبه خوراکی دارند و در اکوسیستم‌های مختلف از جمله جنگل یا مرتع در زنجیره غذایی روستانشینان جنگل مانند: *Cantharellus cibarius* (زرده کیجا)، *Boletus edulis* (قارچ بولت)، *Amanita caesarea* (قارچ سزار)، *Tuber aestivum* (ترافل) مورد استفاده قرار می‌گیرند (Aghajani et al., 2020). بنابراین علاوه بر خاصیت خوراکی می‌توانند سمی، دارویی یا دارای ارزش اقتصادی باشند. جمعیت و تنوع قارچ‌ها در شرایط اکولوژیک مناطق مختلف بسیار متغیر است. این موجودات منبع مواد فوق‌العاده با ارزشی مانند آنتی بیوتیک‌ها بوده و از دیر باز قارچ‌های کلاهک‌دار به عنوان دارو در طب سنتی استفاده شده اند. با توجه به مصارف مختلف قارچ‌ها در صنایع داروسازی، شناسایی آنها اولین گام در بهره برداری دارویی از این موجودات است (Smith et al., 2002). برخی از عصاره‌ها و ترکیباتی که اخیرا از قارچ‌های کلاهک‌دار دارویی به دست آمده‌اند، امید زیادی را به لحاظ داشتن خواص تعدیل کننده سیستم ایمنی، ضد سرطان، قلبی-عروقی، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد انگل و محافظت کننده در برابر هپاتیت و بیماری قند به وجود آورده‌اند (Aghajani et al., 2020). قارچ‌های خوراکی منبع خوبی از پروتئین‌های قابل هضم هستند و می‌توانند منبع بسیاری از مواد مغذی مختلف مانند بتا گلوکان‌ها، لکتین‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع، ترکیبات فنلی، توکوفرول‌ها، اسید اسکوربیک و کاروتنوئیدها باشند. بنابراین، مصرف قارچ‌های ماکروسکوپی خوراکی با بهره‌گیری از اثرات ترکیبی و هم افزایی تمامی ترکیبات زیست فعال موجود، سلامت را ارتقا می‌دهد (Varghese et al., 2019). در ایران Hosseini et al., (2010) در خرم آباد اقدام به شناسایی قارچ‌های دارویی و سمی پرداختند و نتایج آنها منجر به یافتن سه گونه قارچ دارویی و پنج گونه قارچ سمی بوده است. با وجود اهمیت این قارچ‌ها، دانش ما در مورد

تنوع گونه‌ای آن‌ها در سطح ریزوسفر ریشه و معرفی خاصیت‌های آن ناشناخته است.

توصیف تنوع زیستی قارچ‌های اکتومیکوریز در بوم‌سازگان‌های جنگلی یک پیش نیاز برای تجزیه و تحلیل ساختار و نقش عملکردی آنها است. شناسایی دقیق گونه‌های همزیست با راش شرقی با استفاده از روش‌های دقیق و نوین مولکولی، گامی ضروری برای درک کامل تنوع زیستی و بهره‌برداری پایدار از این منابع است. در سال‌های قبل شناسایی گونه‌های قارچ‌های اکتومیکوریز بر اساس ویژگی های اندام های بارده انجام می‌شد (Straatsma et al., 2001; Smith et al., 2002). ارزیابی اندام‌های باردهی بالای سطح خاک متداول‌ترین روش بود، زیرا اسپوروکارپ‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد تاکسونومیکی در سطح گونه شناسایی می‌شدند. با گذشت زمان معلوم شد که این ارزیابی‌ها دقیقا نمایانگر تنوع یا ترکیب گونه‌ای در جوامع قارچ های اکتومیکوریز داخل خاک نیستند (Gardes and Bruns 1996; Zhou et al., 2001). این ممکن است به این خاطر باشد که برخی از قارچ های اکتومیکوریز به‌خصوص Ascomycota, Corticiaceae و Thelephoraceae اندام‌های باردهی کوچک یا مخفی را تولید می‌کنند که در ارزیابی‌های اندام‌های باردهی از آن‌ها چشم پوشی می‌شود. دیگر قارچ های اکتومیکوریز ممکن است تولید اندام باردهی داخل خاک تولید کنند و یا مرحله جنسی شناخته شده‌ای (مانند *Cenococcum geophilum*) نداشته باشند. به علاوه، تولید اندام بارده بستگی به شرایط محیطی مثل رطوبت و دما دارد و بعضی از قارچ‌ها هر سال اندام باردهی تولید نمی‌کنند. بنابراین به هنگام توصیف جوامع قارچ‌های اکتومیکوریز، واضح است که باید خود قارچ‌های اکتومیکوریز مطالعه شوند تا قارچ‌هایی مشخص شوند که ارتباط فعالی با ریشه‌های گیاهان داشته‌اند (Sakakibara et al., 2002). امروزه تکثیر دی‌ان‌ای DNA برای حل برخی مشکلات سیستماتیکی مرتبط با شناسایی موجودات زنده بکار گرفته شده است. قارچ شناسان، ناحیه یا لوکوس ITS را به عنوان بارکد رسمی انتخاب کردند (Schoch et al., 2012). بنابراین استفاده از توالی‌یابی ناحیه ITS به عنوان یک بارکد ژنتیکی استاندارد، ابزاری قدرتمند برای شناسایی دقیق این قارچ‌هاست.

بنابراین این پژوهش با اهداف زیر انجام شد:

۱) شناسایی مولکولی قارچ‌های آگاریک اکتومیکوریز همزیست با ریشه درختان راش شرقی در جنگل‌های سنگده.

۲) تعیین پتانسیل خوراکی، سمی، دارویی و اقتصادی گونه‌های شناسایی‌شده بر اساس منابع معتبر علمی.

۳) فراهم آوردن داده‌های پایه برای مطالعات آتی در زمینه اکولوژی، حفاظت و کاربردهای بیوتکنولوژیک این قارچ‌ها.

مواد و روش‌ها

منطقهٔ پژوهش

این پژوهش در جنگل‌های سنگده مازندران، سری فلورد در قسمت جنوب‌شرقی شهر پل‌سفید مرکز شهرستان سوادکوه با مختصات طول جغرافیایی ´۴ °۵۳ تا ´۷ °۵۳ و عرض جغرافیایی ´۲ °۳۶ تا ´۵ °۳۶ انجام شده است. مساحت منطقه نزدیک به ۱۰۰۰ هکتار و ارتفاع از سطح دریا در منطقه مورد پژوهش بین 1200 تا ۲۱۰۰ متر، متوسط بارش سالیانه آن بیش از ۸۵۰ میلی‌متر می‌باشد (شکل ۱). عمده درختان منطقه راش که در برخی توده‌ها آمیخته با گونه‌های ممرز، پلت، بارانک، گیلاس وحشی، ون، انجیلی و غیره می‌باشد (Anonymous, 2010).

شکل ۱- منطقه مورد پژوهش در جنگل‌های سنگده مازندران
Figure 1. The studied area in Sangedeh forests, Mazandaran

شیوهٔ اجرای پژوهش

در جنگل‌های مورد پژوهش، تعداد ۴۵ پلات و در هر پلات یک درخت بطور تصادفی انتخاب شد و نمونه-برداری از ریز ریشه‌ها به عمق ۱۰ سانتی‌متر، با توجه به اینکه بیشترین غالبیت و همزیستی اکتومیکوریزها در این عمق می‌باشد، و با فاصله ۶۰ سانتی‌متر از تنه درخت انجام گرفت (Cui and Mu, 2016). خاک از سطح ریشه‌ها شسته شده و از هر سیستم ریشه‌ای تعداد ۱ تا ۸ نوک‌ریشه (Huang et al., 2014) بر اساس نوع رنگ سطحی، شکل و خصوصیات مورفولوژیکی شامل ساده (بدون شاخه و انشعاب)، باریک ریخت، هرمی دوشاخه، برگچه‌ای نامنظم، مرجانی و گره‌دار و... جدا شدند (Ishida et al., 2007; Agere, 1991; Peterson et al., 2004).

استخراج دی‌ان‌ای (DNA)

برای استخراج دی‌ان‌ای از ریز ریشه‌های درختان جنگل از روش (Zamani, 2014; Aghajani et al., 2019) توسط ساییدن بافت نوک ریشه درون میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری با نیتروژن مایع و روش سی‌تب (CTAB[1]) صورت گرفت.

[1] Cetyltrimethylammonium bromide

آزمایش واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR)

تکثیر DNA در حجمی معادل ۲۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش PCR (PCR master mix)، شامل ۱۸ میکرولیتر آب دیونیزه، ۲ میکرولیتر بافر PCR ۱۰ غلظتی، ۰/۶ میکرولیتر محلول حاوی ۵۰ میلی مول $MgCl_2$، ۰/۴ میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی مول dNTPs حاوی ۲/۵ میلی مول از هر یک از dNTP، ۰/۵ میکرولیتر محلول حاوی پنج واحد آنزیم Smart Taq DNA polymerase، ۱ میکرولیتر از محلول حاوی ۱۰ پیکو مول از آغازگر ITS1F، ۱ میکرولیتر از محلول حاوی ۱۰ پیکومول از آغازگر ITS4B یا ITS4 و ۱/۵ میکرولیتر محلول حاوی DNA قالب صورت گرفت (White et al., 1990; Gardes and Bruns, 1993). کلیه مواد به کار رفته در مخلوط PCR از شرکت سیناژن تهیه شدند.

برنامه حرارتی برای واکنش PCR به صورت مرحله واسرشتگی مقدماتی[۲] به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس (یک چرخه)؛ مرحله واسرشتگی[۳] به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، مرحله اتصال[۴] به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۵ درجه سلسیوس، مرحله گسترش[۵] به مدت یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس (۳۵ چرخه) و مرحله گسترش نهایی[۶] به مدت ده دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود (Gardes and Bruns, 1993). پس از انجام واکنش، برای مشاهده محصول تکثیر شده PCR الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد انجام گرفت. محصولات تکثیر شده PCR برای تعیین توالی به شرکت تکاپوزیست ارسال شدند. توالی‌های بدست آمده بررسی شده و با نرم افزار Bio Edit نسخه (v7.1.9) (http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.htm) اصلاح شدند. سپس با استفاده از برنامه جستجوی بلاست با توالی‌های دخیره شده در بانک داده‌های ژنی مقایسه شدند. آن‌هایی که بیشترین شباهت را داشتند مشخص گردیدند. اسامی گونه‌ای به جدایه‌هایی داده شد که شباهت توالی بیشتر یا مساوی ۹۸ درصد داشتند (Horton et al., 2013).

درخت فیلوژنی

کلادوگرام حاصل از مقایسه‌ی توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS جدایه‌های به دست آمده (جنس-های *Russula*، *Cortinarius*، *Lactarius*) با دیگر گونه‌های همین جنس‌ها موجود در بانک‌ژن[۷] با روش بیشینه تشابه[۸] و اعداد موجود در محل انشعاب نشان دهنده‌ی درصد تایید خوشه بندی با ۱۰۰۰ بار تکرار نمونه‌گیری[۹] می‌باشد. *Saccharomyces cerevisiae* به عنوان خارج گروه[۱۰] به کار برده شده است.

نتایج

نتایج شناسایی مولکولی این پژوهش نشان داد که ۱۵ گونه از قارچ‌های آگاریک همزیست اکتومیکوریز شناسایی شدند که از ۵ جنس *Russula*، *Cortinarius*، *Inosperma*، *Lactarius* و *Hebeloma* می‌باشند که جنس‌های *Russula* و *Cortinarius* بیشترین فراوانی را داشته‌اند. همچنین از این ۱۵ گونه ۶ گونه *Russula chloroides*، *Russula delica*، *Russula brevipes*، *Russula faginea*، *Cortinarius collinitus* و *Lactarius subdulcis* خاصیت خوراکی داشته‌اند که از میان دو گونه *Russula delica* و *Cortinarius collinitus* علاوه بر ارزش خوراکی، دارای خواص دارویی و ارزش اقتصادی نیز می‌باشند. به‌علاوه قارچ *Lactarius hepaticus* دیگر گونه دارویی شناسایی شده

[2] Initial denaturation
[3] Denaturation
[4] Annealing
[5] Extension
[6] Final extension

[7] Genbank
[8] Maximum Likelihood
[9] Bootstrap
[10] Outgroup

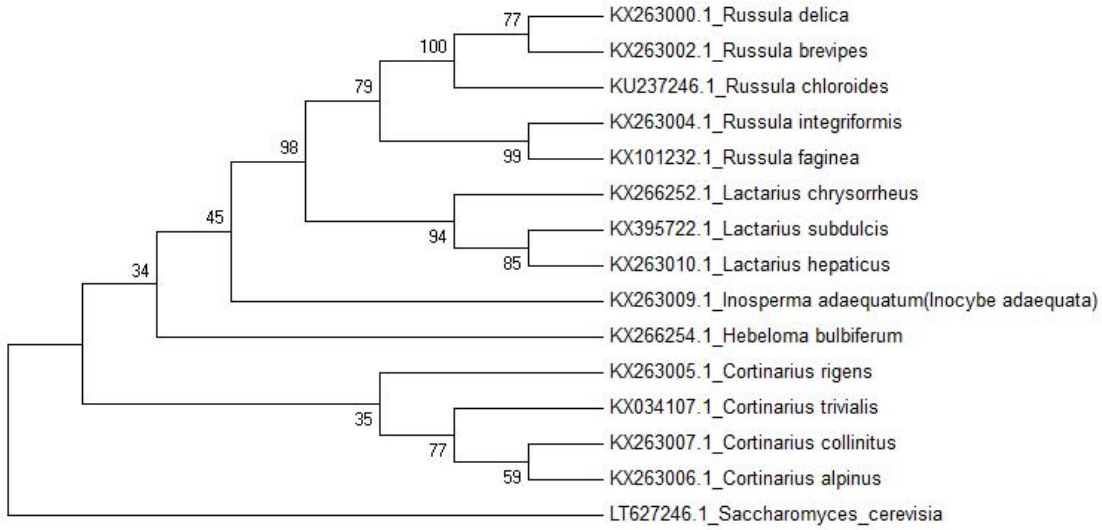
بود که خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته است که در مجموع نتایج کلی نشان داد سه گونه *Russula delica*، *Cortinarius collinitus* و *Lactarius hepaticus* دارای خواص دارویی مستند می‌باشند که دو گونه اول علاوه بر آن، ارزش خوراکی نیز دارند. همچنین سه گونه *Inosperma adaequata*، *Cortinarius trivialis* و *Lactarius chrysorrheus* خاصیت سمی داشته‌اند و نکته جالب، خاصیت مابقی قارچ‌ها ناشناخته‌اند. (جدول ۱).

جدول ۱- منابع قارچ‌های خوراکی، سمی و دارویی اکتومیکوریز

Table 1. Sources of edible, poisonous and medicinal ectomycorrhizal fungi

آرایه قارچ اکتومیکوریز ECM Taxon	کد دسترسی ژن بانک GenBank accession No	خوراکی Edible	دارویی با عملکرد Medicinal with functional	سمی Poisonous
Russula chloroides (Krombh.) Bres (1900)	KU237246.1	خوراکی (Hall et al., 2003; Boa et al., 2004; Wu et al., 2019)	-	-
Cortinarius trivialis J.E. Lange (1940)	KX034107	-	-	سمی (Bau et al., 2014)
Russula delica Fr., (1838)	KX263000	خوراکی (Wu et al., 2019; Dai YuCheng et al., 2010; Boa et al., 2004)	ضد تومور (Dai et al. 2009; Zhao et al. 2010)، ضد میکروبی، آنتی اکسیدان و کنترل کننده ایدز (Yaltirak et al. 2009; Zhao et al. 2010; Giri et al. 2012)	-
Russula brevipes Peck (1890)	KX263002	خوراکی (Boa et al., 2004)	-	-
Russula faginea Romagn (1967)	KX101232	خوراکی (Dai YuCheng et al., 2010; Wu et al., 2019)	-	-
Russula integriformis Sarnari (1994)	KX263004	unknown	unknown	unknown
Cortinarius rigens (Pers.) Fr. (1838)	KX263005	unknown	unknown	unknown
Cortinarius alpinus Boud (1895)	KX263006	unknown	unknown	unknown
Cortinarius collinitus (Sowerby) Fr. (1838)	KX263007	خوراکی (Wu et al., 2019)	ضد تومور (Dai et al. 2009; Huang YaTing et al. 2018)	
Inosperma adaequata (Britzelm.) Sacc (1887)	KX263009	-	-	سمی (Farooq et al., 2013)
Lactarius hepaticus Plowr (1905)	KX263010	-	آنتی‌اکسیدان (Reis et al., 2011)	-
Lactarius chrysorrheus Fr. (1838)	KX266252	-	-	سمی (Bau et al., 2014; Wu et al., 2019)
Lactarius subdulcis (Pers.) Gray (1821)	KX395722	خوراکی (Wu et al., 2019; Gobad-nejhad et al., 2020)	-	-
Cortinarius alboaggregatus Soop (2005)	KX266253	unknown	unknown	unknown
Hebeloma bulbiferum Maire (1937)	KX266254	unknown	unknown	unknown

کلادوگرام حاصل از مقایسه‌ی توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS جدای به دست آمده (جنس‌های *Russula*، *Cortinarius*، *Lactarius*) با دیگر گونه‌های همین جنس‌ها موجود در بانک‌ژن با روش بیشینه تشابه و اعداد موجود در محل انشعاب نشان دهنده‌ی درصد تایید خوشه بندی با ۱۰۰۰ بار تکرار نمونه‌گیری می‌باشد. *Saccharomyces cerevisiae* به عنوان خارج گروه به کار برده شده است. نتایج نشان داد توالی ناحیه‌ی ITS5 تمامی جدایه پس از تکثیر جهت مقایسه فیلوژنتیکی با توالی دیگر جدایه‌های جنس‌های *Russula*، *Cortinarius*، *Lactarius* به کار رفت. بر اساس درخت فیلوژنتیکی، جدایه‌های جنس *Russula* با درصد تایید خوشه‌بندی بالا در هر سه مدل بیشینه صرفه‌جویی، بیشینه تشابه و اتصال همسایه در کنار هم قرار گرفت که گونه *Russula brevipes* با *Russula delica* در کنار هم بیشترین تشابه و این دو گونه با گونه *Russula chloroides* بیشترین تشابه درخت فیلوژنی را تشکیل داده‌اند در ارتباط با گونه *Cortinarius rigens* با *Cortinarius trivialis* و *Cortinarius collinitus* بیشترین تشابه وجود داشته است (شکل ۲).



شکل ۲- درخت فیلوژنی آرایه‌های اکتومیکوریز بر اساس ناحیه ژنی ITS
Figure 2. Phylogeny tree of ectomycorrhizal Taxon based on ITS gene region

بحث

در دنیا نزدیک به ۵۷۰۰۰ قارچ شناسایی شده است (He et al., 2022) که ۳۵۰ گونه قارچ خوراکی (Willis, 2018) و تقریبا ۱۰۰۰ گونه قارچ سمی (Mao, 2006) شناخته شده‌اند. در ایران نزدیک به ۸۰۰ گونه قارچ ماکروسکوپی وجود دارد که بیشتر آنها مربوط به قارچ‌های پلی‌پور و آگاریک است (Aghajani et al., 2020). در جدیدترین تحقیقات ایران، Ghobad-Nejhad et al., (2022) به مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۵۵۸ گونه از قارچ‌های آگاریک ایران پرداختند تا تنوع اکولوژیکی و نقش کاربردی آنها را مشخص کنند. نتایج این پژوهش نشان می دهد که آگاریک‌های ایران شامل ۱۸۹ گونه خوراکی، ۱۲۸ گونه سمی، ۲۵۴ گونه ساپروتروف خاک، ۱۷۲ گونه اکتومیکوریز، ۱۴۶ گونه چوب‌زی، ۱۸ گونه تجزیه کننده لاشبرگ، ۹ گونه انگلی و ۱۹ گونه قارچ‌های درخشان بوده است. ۲۰ درصد از گونه‌های آگاریک ایران دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند که از نظر فیلوژنتیکی در چهار راسته و ۲۱ خانواده آگاریک توزیع شده‌اند. حدود ۵ درصد از گونه‌های آنتی‌اکسیدان را می‌توان آنتی‌اکسیدان‌های قوی در نظر گرفت که بسیاری از آنها خوراکی هستند و می‌توان از

آنها برای تولید غذاهای کاربردی استفاده کرد. شناسایی انواع قارچ‌ها و معرفی آنها به مردم و در نتیجه کاهش مشکلات حاصل از مسمومیت ناشی از خوردن قارچ‌های سمی می‌تواند اولین قدم جهت تشخیص مسمومیت یا خوراکی بودن قارچ‌ها می‌باشد. با توجه به نیاز بشر و استفاده از مواد طبیعی در درمان بیماری‌ها، قارچ‌ها در بوم-سازگان طبیعی می‌توانند منبعی مناسب دارویی برای سلامت انسان‌ها کاربرد فراوانی داشته باشند و تحقیق در زمینه قارچ‌های دارویی در ایران پیشرفت چشمگیری داشته است (Alvandi et al., 2021; Tabibzadeh et al., 2024).

نتایج مولکولی این پژوهش نشان داد که ۱۵ گونه از قارچ‌های آگاریک همزیست اکتومیکوریز شناسایی شدند که از ۵ جنس *Russula*، *Cortinarius*، *Inosperma*، *Lactarius* و *Hebeloma* می‌باشند که جنس‌های *Russula* و *Cortinarius* بیشترین فراوانی را داشته‌اند. همچنین از این ۱۵ گونه ۶ گونه خاصیت خوراکی داشته‌اند و ۲ گونه علاوه بر خاصیت خوراکی بودن، خاصیت دارویی نیز دارند و خاصیت مابقی قارچ‌ها ناشناخته‌اند. Ghobad-Nejhad et al., (2022) به معرفی ۴۳ گونه از جنس *Russula* پرداختند که ۲۸ گونه خاصیت خوراکی و ۱۳ گونه خاصیت غیرخوراکی و ۲ گونه سمی داشته است. در پژوهش Ghobad-Nejhad و همکاران (۲۰۲۲) در ارتباط با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این ریزجانداران خاک‌زی ایران و در سطح وسیعی انجام شده است، ولی پژوهش حاضر مربوط به ریزجانداران خاک ریشه درختان راش در راشستان‌های هیرکانی سنگده مازندران است که در محدوده کوچک‌تری انجام شده است که برخی قارچ‌های شناسایی شده آن مشابه و برخی متفاوت است که با توجه به تفاوت در هر جنس مورد بحث قرار گرفته است.

از پنج گونه قارچ Cortinarius سه گونه ناشناخته، یک گونه سمی شناسایی شده‌اند که در پژوهش Ghobad-Nejhad و همکاران (۲۰۲۲) نیز به معرفی ۲۶ گونه از جنس *Cortinarius* پرداختند که اکثرا ناشناخته و غیرخوراکی بوده است که تاکید بر نتایج این پژوهش دارد. همچنین در این پژوهش از پنج قارچ *Cortinarius* یک گونه قارچ *Cortinarius collinitus* شناسایی شد که علاوه بر خاصیت خوراکی (Wu et al., 2019) خاصیت دارویی (Dai et al., 2009; Huang YaTing et al., 2018) داشته که در تحقیق Huang YaTing et al., (2018) استخراج و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی پلی-ساکاریدها از اندام بارده همین قارچ مورد بررسی قرار گرفته است. Niu و همکاران (۲۰۲۳) پلی‌ساکارید جدیدی از قارچ اکتومیکوریز *Cortinarius purpurascens* شناسایی کردند که نشان‌دهنده اثر دارویی ضد فیبروزی در درمان‌های فیبروبلاست‌های قلبی می‌باشد. قارچ‌های دارویی، قرن‌ها به منظور پیشگیری و درمان انواع بیماری‌ها از جمله هپاتیت، اختلالات ایمونولوژیک، ایدز، سرطان و دیابت در جهان مورد استفاده قرار گرفته است. امروزه انواع متابولیت‌های دارویی از انواع قارچ‌های دارویی استخراج و به مرحله تولید تجاری رسیده است. در واقع این نوع قارچ-ها شامل منبع عظیمی از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و متابولیت‌های ثانویه با خواص ضد تومور و تنظیم کنندگی سیستم ایمنی می‌باشند (Heydarian and Hatamian-Zarami, 2016).

در این پژوهش پنج گونه از قارچ *Russula* شناسایی شده‌اند که چهار گونه شامل *Russula chloroides*، *Russula delica*، *Russula brevipes* خاصیت خوراکی داشته و گونه *Russula delica* علاوه بر خاصیت خوراکی، ارزش دارویی داشته و یک گونه ناشناخته است و نیاز به بررسی‌های شیمی دارو دارد. در تحقیقات مختلف تاکید بر خوراکی بودن هر چهار گونه Wu et al. (2019) و دارویی بودن قارچ *Russula delica* (Yaltirak et al. et al., 2009; Zhao et al., 2010; Giri et al., 2012) دارد. در پژوهش دیگری Ouzouni et al., (2009) به مطالعه ارزش غذایی قارچ-های خوراکی یونان و مقدونیه پرداختند و نتایج آنها نشان داد که قارچ‌های مورد بررسی مانند *Cantharellus*

Russula delica var *chloroides* ،*cibarius* منبع خوبی از پروتئین‌ها (۲۷,۵۲ درصد)، کربوهیدرات‌ها (۶۱,۴۵ درصد) و مواد معدنی کاربردی هستند. آنها دارای محتوای چربی کم هستند و آنها را به اجزای ایده آل در چندین رژیم غذایی تبدیل می کند. بنابراین همه این گونه‌های قارچ خوراکی جمع‌آوری‌شده را می‌توان در رژیم‌های غذایی متعادل استفاده کرد و همچنین می‌توان بدون هیچ گونه خطری برای سلامتی مصرف کرد. Kumar et al., (2019) به مطالعه قارچ خوراکی اکتومیکوریز *Russula rosea* پرداختند و نتایج تحقیق نشان داد که این قارچ به‌طور سنتی در طب عامیانه و مردم محلی استفاده می‌شود. Wu et al. (2019) به بررسی قارچ‌های ماکروسکوپی خوراکی، سمی و دارویی پرداختند و نتایج پژوهش نشان داد که ۱۰۲۰ گونه قارچ خوراکی، ۶۹۲ گونه قارچ دارویی و ۴۸۰ گونه قارچ سمی شناسایی شده اند و اثرات و کاربردهای آنها نیز معرفی شد. همچنین Kostić et al., (2020)به مطالعه استخراج آنتی‌اکسیدان و بررسی خواص بیولوژیکی سه گونه از جنس اکتومیکوریز *Russula* (*R. integra*، *R. rosea*، *R. nigricans*) از صربستان پرداخت و ویژگی‌های ترکیبی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، آنتی بیوفیلم و سایتوتوکسیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که گونه‌های قارچ مورد مطالعه به‌عنوان منابع غنی کربوهیدرات‌ها و ارزش کالری پایین شناسایی شدند. مانیتول فراوان‌ترین قند آزاد و اسیدهای کوئینیک و مالیک عمده‌ترین اسیدهای آلی شناسایی شده بود. بیشترین فعالیت به عصاره اتانولی *R. nigricans* نسبت داده شد. این اولین گزارش در مورد پتانسیل ضد باکتریایی و آنتی بیوفیلمی گونه‌های مورد مطالعه می‌باشد که امیدوارکننده ترین فعالیت آن در مورد گونه‌های باکتری استرپتوکوکوس مشاهده شده است. امیدوارکننده‌ترین اثر سایتوتوکسیک توسط عصاره متانولی *R. integra* بر روی سلول‌های سرطانی ریه (NCI-H460) ایجاد شد. بنابراین، با توجه به خواص زیست فعالی در شرایط آزمایشگاهی مشاهده شده، قارچ‌های مورد مطالعه به عنوان منبعی از ترکیبات کاربردی با پتانسیل استفاده در فرمولاسیون‌های غذایی و دارویی جدید به وجود می‌آیند که می‌تواند در درمان بیماری‌های مختلف و شرایط سلامت مورد استفاده قرار گیرد. در علم پزشکی، دانش بیشتر در مورد سموم قارچ‌های سمی می‌تواند به تولید داروهای جدید برای مشکلات جدی سلامت کمک کند (He et al., 2022). همچنین در این پژوهش سه گونه از جنس *Lactarius* شناسایی شده‌اند که شامل قارچ‌های خوراکی *Lactarius subdulcis*، قارچ دارویی *Lactarius hepaticus* و قارچ سمی *Lactarius chrysorrheus* که در منابع مختلف نتایج قارچ‌های خوراکی *Lactarius subdulcis* (Wu et al., 2019; Gobad-nejhad et al., 2020)، قارچ دارویی *Lactarius hepaticus* (Reis et al., 2011) و قارچ سمی *Lactarius chrysorrheus* (Bau et al., 2014; Wu et al., 2019) تاکید داشته اند. از جنس *Inosperma* یک گونه سمی *Inosperma adaequata* یافت شده که در پژوهش (Farooq et al., 2013) به سمی بودن آن اشاره دارد. با توجه به اینکه نقش این قارچ‌ها در همزیستی دوجانبه به اثبات رسیده، جهت حفظ جوامع، جنگل‌های طبیعی تحت حفاظت بشتری قرار بگیرند (Mirzaei et al., 2023).

نتیجه‌گیری کلی

جنگل‌های هیرکانی شمال ایران یکی از غنی‌ترین بوم‌سازگان‌های جنگلی جهان است که یکی از گونه‌های ارزشمند درختی آن راش شرقی است. همزیستی سودمند دوطرفه بین درختان راش و این ریزموجودات خاک‌زی برقرار است که اندام بارده برخی از این قارچ‌ها ارزش مستقیم غذایی و خوراکی برای انسان دارند. بنابراین بسیاری از قارچ‌های جنگلی می‌توانند پتانسیل استفاده داشته باشند که از آن جمله می‌توان به موارد قارچ‌های آگاریک اکتومیکوریز خوراکی و دارویی در سطح جنگل‌های

هیرکانی نیز اشاره نمود. هدف از معرفی و شناسایی قارچ-های دارویی نیز جهت استفاده از پتانسیل موجود در شرکت-های داروسازی و کاربرد آن در سلامت انسان است. پیشنهاد می‌شود با توجه به پراکنش انواع قارچ‌های دارویی، استخراج انواع متابولیت‌ها از منابع بومی جنگل ایران با استفاده از شرکت‌های دانش‌بنیان مورد توجه قرار بگیرد.

Refrences

1. Agerer, R., 1991. Characterization of ectomycorrhiza. In: Isaac, S. (ed.) *Methods in Microbiology, Vol. 23*. Academic Press, pp. 25-73.
2. Aghajani, H., Farashiani, M.E., Tajick Ghanbary, M.A. and Mosazadeh, S.A., 2020. Diversity of medicinal, edible, and poisonous fungi located on the deadwood of beech and their uses. *Iranian Journal of Forest and Range Protection Research*, 18(1), pp. 79-92. (In Persian). DOI: 10.22092/ijfrpr.2020.127576.1393.
3. Aghajani, H., Hojjati, S.M., Tajick-Ghanbari, M.A., Puormajidian, M.R. and Borhani, A., 2019. Molecular identification of ectomycorrhizal fungal communities associated with oriental beech trees (Fagus orientalis Lipsky) in Hyrcanian forest of Iran. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 43(1), pp. 25-32. DOI: 10.1007/s40995-017-0435-2.
4. Alikhani, H. and Ghorchiani, M., 2012. *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Jahad-e Daneshgahi Press. (In Persian).
5. Alvandi, H., Hatamian-Zarmi, A., Hosseinzadeh, B.E., Mokhtari-Hosseini, Z.B., Langer, E. and Aghajani, H., 2021. Improving the biological properties of Fomes fomentarius MG835861 exopolysaccharide by bioincorporating selenium into its structure. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, p. 100159. DOI: 10.1016/j.carpta.2021.100159.
6. Anonymous, 2010. *Management Plan of District Felord*. Forest, Range and Watershed Management Organization. (In Persian).
7. Bau, T., Bao, H.Y. and Li, Y., 2014. A revised checklist of poisonous mushrooms in China. *Mycosystema*, 33(3), pp. 517-548. (In Chinese).
8. Boa, E.R., 2004. *Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people*. Food and Agriculture Organization (FAO) Press.
9. Cui, L. and Mu, L.Q., 2016. Ectomycorrhizal communities associated with Tilia amurensis trees in natural versus urban forests of Heilongjiang in northeast China. *Journal of Forestry Research*, 27(2), pp. 401-406. DOI: 10.1007/s11676-015-0158-1.
10. Dai, Y.C. and Yang, Z.L., 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. *Mycosystema*, 27(6), pp. 801-824. (In Chinese).
11. Dai, Y.C., Zhou, L.W., Yang, Z.L., Wen, H.A., Bau, T. and Li, T.H., 2010. A revised checklist of edible fungi in China. *Mycosystema*, 29(1), pp. 1-21. (In Chinese).
12. Farooq, M., Akram, A., Afzal, R. and Nazir, K.S., 2013. Ethno-morphological studies of mushrooms collected from Soon valley. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 8(5), pp. 5-11.
13. Gardes, M. and Bruns, T.D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2(2), pp. 113-118. DOI: 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x.
14. Gardes, M. and Bruns, T.D., 1996. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a Pinus muricata forest: above-and below-ground views. *Canadian Journal of Botany*, 74(10), pp. 1572-1583. DOI: 10.1139/b96-190.
15. Giri, S., Biswas, G., Pradhan, P., Mandal, S.C. and Acharya, K., 2012. Antimicrobial activities of basidiocarps of wild edible mushrooms of West Bengal, India. *International Journal of PharmTech Research*, 4(4), pp. 1554-1560.
16. He, M.Q., Wang, M.Q., Chen, Z.H., Deng, W.Q., Li, T.H., Vizzini, A., Jeewon, R., Hyde, K.D. and Zhao, R.L., 2022. Potential benefits and harms: A review of poisonous mushrooms in the world. *Fungal Biology Reviews*, 42, pp. 56-68. DOI: 10.1016/j.fbr.2022.06.002.
17. Heydarian, M. and Hatamian-Zarmi, A., 2016. Molecular identification of Ganoderma lucidum from Iran. *Rostaniha*, 17(2), pp. 188-192. (In

Persian). DOI: 10.22092/botany.2017.109434.

18. Horton, B.M., Glen, M., Davidson, N.J., Ratkowsky, D., Close, D.C., Wardlaw, T.J. and Mohammed, C., 2013. Temperate eucalypt forest decline is linked to altered ectomycorrhizal communities mediated by soil chemistry. *Forest Ecology and Management*, 302, pp. 329-337. DOI: 10.1016/j.foreco.2013.04.006.
19. Hosseini, S.Z., Ismaeili, A., Bazgir, E., Darvishnia, M. and Mahmoodi, G.A., 2010. Identification of medicinal and poisonous mushroom from Khorramabad, Iran. *Yafte*, 11(5), pp. 75-83. (In Persian).
20. Huang, J., Nara, K., Zong, K., Wang, J., Xue, S., Peng, K., Shen, Z. and Lian, C., 2014. Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (Pinus massoniana) and white oak (Quercus fabri) in a manganese mining region in Hunan Province, China. *Fungal Ecology*, 9, pp. 1-10. DOI: 10.1016/j.funeco.2014.01.001.
21. Huang, Y.T., Zou, F., Sun, Q., Ye, D.W., Wang, K. and Liu, C.L., 2018. Extraction and antioxidant activities of polysaccharides from Cortinarius collinitus fruiting bodies. *Acta Edulis Fungi*, 25(2), pp. 72-78. DOI: 10.16488/j.cnki.1005-9873.2018.02.010.
22. Ishida, T.A., Nara, K. and Hogetsu, T., 2007. Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer–broadleaf forests. *New Phytologist*, 174(2), pp. 430-440. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02016.x.
23. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A., Khosravi, H., Asgharzadeh, A. and Faridian, L., 2025. Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions. *Journal of Soil Biology*, 12(2), pp. 279-313. DOI: 10.22092/sbj.2025.368425.277.
24. Kostić, M., Ivanov, M., Fernandes, Â., Pinela, J., Calhelha, R.C., Glamočlija, J., Barros, L., Ferreira, I.C., Soković, M. and Ćirić, A., 2020. Antioxidant extracts of three Russula genus species express diverse biological activity. *Molecules*, 25(18), p. 4336. DOI: 10.330/molecules25184336.
25. Kumar, V., Kerketta, A. and Rajhansa, K.C., 2019. Diversity of wild edible mushrooms in Korea district of Chhattisgarh. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(6), pp. 2389-2392.
26. Mao, X.L., 2006. Poisonous mushrooms and their toxins in China. *Mycosystema*, 25(3), pp. 345-363.
27. Mirzaei, J., Jaafarian, N., Jafari, M. and Hoseinzadeh, J., 2023. Biodiversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Natural and Agricultural Land and their relationship with soil properties in Zagros Forest. *Journal of Soil Biology*, 11(1), pp. 47-62. DOI: 10.22092/sbj.2023.361383.246.
28. Mishra, A. and Shankar, S., 2025. Edible mushrooms for improved human health, food security and environmental sustainability: A critical review. *Science of The Total Environment*, 995, p. 180093. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2025.180093.
29. Nadian Ghomsheh, H., 2025. Phosphorus uptake and transport mechanism in symbiotic plants with arbuscular mycorrhizal fungi (Knowns and unknowns). *Journal of Soil Biology*, 12(2), pp. 155-190. DOI: 10.22092/sbj.2024.366288.267.
30. Niu, P., Tan, X., Zhou, X., Xu, X., Zhang, G., Peng, L. and Bai, M., 2023. Novel polysaccharide identified from Cortinarius purpurascens demonstrated anti-fibrosis effects in cardiac fibroblasts. *Food Bioscience*, 56, p. 103157. DOI: 10.1016/j.fbio.2023.103157.
31. Ouzouni, P.K., Petridis, D., Koller, W.D. and Riganakos, K.A., 2009. Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece. *Food Chemistry*, 115(4), pp. 1575-1580. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.02.014.
32. Peterson, R.L., Massicotte, H.B. and Melville, L.H., 2004. *Mycorrhizas:*

Anatomy and Cell Biology. NRC Research Press.

33. Reis, F.S., Pereira, E., Barros, L., Sousa, M.J., Martins, A. and Ferreira, I.C., 2011. Biomolecule profiles in inedible wild mushrooms with antioxidant value. *Molecules*, 16(6), pp. 4328-4338. DOI: 10.3390/molecules16064328.
34. Sakakibara, S.M., Jones, M.D., Gillespie, M., Hagerman, S.M., Forrest, M.E., Simard, S.W. and Durall, D.M., 2002. A comparison of ectomycorrhiza identification based on morphotyping and PCR-RFLP analysis. *Mycological Research*, 106(8), pp. 868-878. DOI: 10.1017/S0953756202006263.
35. Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W. and Fungal Barcoding Consortium, 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16), pp. 6241-6246. DOI: 10.1073/pnas.1117018109.
36. Siddiqui, Z.A. and Pichtel, J., 2008. Mycorrhizae: an overview. In: Siddiqui, Z.A. and Pichtel, J. (eds.) *Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry*. Springer, pp. 1-35. DOI: 10.1007/978-1-4020-8770-7_1.
37. Smith, J., Rowan, N. and Sullivan, R., 2002. *Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments*. Cancer Research UK.
38. Smith, J.E., Molina, R., Huso, M.M., Luoma, D.L., McKay, D., Castellano, M.A., Lebel, T. and Valachovic, Y., 2002. Species richness, abundance, and composition of hypogeous and epigeous ectomycorrhizal fungal sporocarps in young, rotation-age, and old-growth stands of Douglas-fir (Pseudotsuga menziesii) in the Cascade Range of Oregon, USA. *Canadian Journal of Botany*, 80(2), pp. 186-204. DOI: 10.1139/b02-003.
39. Straatsma, G., François, A. and Simon, E., 2001. Species richness, abundance, and phenology of fungal fruit bodies over 21 years in a Swiss forest plot. *Mycological Research*, 105(5), pp. 515-523. DOI: 10.1017/S0953756201004154.
40. Tabibzadeh, F., Alvandi, H., Hatamian-Zarmi, A., Kalitukha, L., Aghajani, H. and Ebrahimi-Hosseinzadeh, B., 2024. Antioxidant activity and cytotoxicity of exopolysaccharide from mushroom Hericium coralloides in submerged fermentation. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(21), pp. 26953-26963. DOI: 10.1007/s13399-022-03386-0.
41. Varghese, R., Dalvi, Y.B., Lamrood, P.Y., Shinde, B.P. and Nair, C.K.K., 2019. Historical and current perspectives on therapeutic potential of higher basidiomycetes: an overview. *3 Biotech*, 9(10), p. 362. DOI: 10.1007/s13205-019-1886-2.
42. White, T.J., 1990. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White, T.J. (eds.) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, pp. 315-322.
43. Willis, K.J. (ed.), 2018. *State of the World's Fungi 2018*. Royal Botanic Gardens, Kew.
44. Wu, F., Zhou, L.W., Yang, Z.L., Bau, T., Li, T.H. and Dai, Y.C., 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98(1), pp. 1-76. DOI: 10.1007/s13225-019-00432-7.
45. Yaltirak, T., Aslim, B., Ozturk, S. and Alli, H., 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of Russula delica Fr. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), pp. 2052-2056. DOI: 10.1016/j.fct.2009.05.029.
46. Zamani, S.M., 2014. *Identification of ectomycorrhizal fungi associated with Oak trees in some forests of Iran and investigation of metabolic and transcriptional profiles in Quercus castaneifolia ectmycorrhizal roots*. PhD Thesis. Tarbiat Modares University. (In Persian).
47. Zhao, S., Zhao, Y., Li, S., Zhao, J., Zhang, G., Wang, H. and Ng, T.B., 2010. A novel lectin with highly potent antiproliferative and HIV-1 reverse

transcriptase inhibitory activities from the edible wild mushroom Russula delica. *Glycoconjugate Journal*, 27(2), pp. 259-265. DOI: 10.1007/s10719-009-9274-5.

48. Zhou, Z., Miwa, M., Matsuda, Y. and Hogetsu, T., 2001. Spatial distribution of the subterranean mycelia and ectomycorrhizae of Suillus grevillei genets. *Journal of Plant Research*, 114(2), pp. 179-185. DOI: 10.1007/PL00013981 .