چکیده

سیستم‌های نمادن استخراج کردنی. محتوای تخم و لارو سیست‌ها را می‌توان در شرایط لاغری به‌طور مکرر کشت کرده‌اند. آن‌ها به‌طور دومه‌ای به‌طور قابل قرار آماده‌اند. جهت بررسی مشخصات میکروسکوپی شکسته به‌طور تهیه‌ای است. کشت قارچ‌کار و میکروب‌های مورد استفاده در این مطالعه، رنگ‌اش در ابتدای سفید و سپس به‌صورت گرایید و پس از اسفنج‌زایی در هوا، صورتی‌پر رنگ شد جدار های پسی صاف. نشا. کنیدی برینک شاخه‌های با نسبت مشتاق ب‌زیر ۶۲ در رأس بود. کنیدی‌ها استواناها ناهم‌شکل و ابعاد آن‌ها ۱۹/۸۸ x ۲/۴۱ میکروم تعبیه شد. این قارچ با توجه به مشخصات ارائه شده در

1- PDA
مقدمه
نماد سیست چغندرنقرن به H. schachtii Schmidt محصول چغندرنقرن در اغلب مناطق چغندرکاری دنیا گردید (13 و 15). در ایران به ویژه در منطقه خراسان این نماد در سطح و سبک پراکنده بوده و یکی از عوامل عمدی کاهش محصول چغندرنقرن به شمار می‌رود (4). یک روش به تنهایی جهت کنترل این نماد مؤثر نمی‌باشد و تلفیقی از تناوب، روش‌های زراعی، واریته‌های مقاوم و کنترل بیولوژیکی باستی مورد بررسی قرار گرفته تا راه حلی مؤثر، اقتصادی و به خطر جهت مدیریت این نماد حاصل گردد.

قارچهای بسیاری به سیست نمادها حمله می‌نمایند. کاهش طبیعی جمعیت در مناطقی از آلمان، کالیفرنیا و هلند که به طور دائم زیرکشت چغندرنقرن مستند، مشاهده گردیده و در این رابطه، قارچهایی مانند Verticillium chlamydosporium Goddard, Catenaria auxiliaris (Kuhn) Tribe Cylindrocarpon destructans (Zms.) و Acremonium strictum Gams, Fusarium

شناختی شده‌اند (11, 13, 16 و 17). در ایران تحقیقات بر روی وضعیت قارچهای پارازیت نماد سیست چغندرنقرن در سال‌های اخیر رو به افزایش نهاده است و در این ارتباط قارچهای مختلف نیز گزارش گردیده است (1 و 9).

به منظور بررسی قارچهای کنترل کننده نماد سیست چغندرنقرن، در قالب یک طرح ملی که برای اولین بار در کشور به مرحله اجرای زمینه‌ی آن گذاشته شده ضمن نمونه برداری از Paecilomyces مزرعه چغندرنقرن و جداسازی قارچهای آنتانوپست نماد مزبور، قارچ جدا کرده و نسبت به شناسایی آن تلاش شد.

در این مقاله مراحل مختلف جداسازی و شناسایی این قارچ گزارش می‌گردید.

مواد و روش‌ها

1- جداسازی قارچ

۱۰۰۰ گرم خاک مرطوب و ۵۰۰ میلی لیتر آب رادر یک گیرنده‌ی چند بار سریع به هم زده
و آب روبی از آلودگی ۸۵ و ۲۵۰ میکرون عبور داده شد. پس از شستشوی فراوانی محتویات الکل ۲۵۰ میکرون به یک بشر منتقل گردید. سپس یا توسط پنس دانه دانه از H. schachtii محلول آب و خاک جدا شدند. توسط استریو میکروشک سیستم های Heterodera سایر گونه‌های چند نموهده و برای تشخیص دقیق گونه آن اقدام به تعیین کن تاپ ۱۰۰ عدد سیستم گردید و با استفاده از کلیدهای معتبر (۱۰۰) شناسایی نمادن گرفت.

پس از خرد نمودن سیستم‌ها در شرایط استریل با کمک قیف‌های بوخنز شیشه‌ای ۲۵۰ و ۱۰۰ میکرون و به‌پای خلاء محتویات تخم و لارو از پوست سیستم جدا گردید و پس از آب مقطور استریل شسته شدند.

در یک سرپرستی با قطر ۹ سانتی‌متر مقدار ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت پ. دآ (پوپیتودکستروز آگار) ریخته شد. سری دیگر حاوی ۱۵ میلی‌لیتر آب آگار ۲۰۰۸ و ۱۰۰ یپیپام استریتوپاسیس سولفات، کل آمینوفیکل و تنرایسبایکلین آماده گردید. محیط کشت‌ها ابتدا در اتوکلاور به ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد حرارت و فشار ۸ بر اس‌آی به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند و پس از کاهش درجه حرارت ازاله حاوی آب آگار به ۷۵ درجه سانتی‌گراد آنتی‌پوپیتیک‌ها را اضافه نموده و محیط کشت، بلافاصله در پتري دوشی ریخته شد.

با استفاده از پیپت استریل ۵ میلی‌لیتر از محلول تخم و لارو به پتري‌های آلوده آب آگار منتقل و توسط میله شیشه‌ای در سطح پتري کامل پخت گردید و پتري‌ها در تاریکی در ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۴۸-۷۲ ساعت در شرایط استریل تخم‌ها و لاروهای آلوده به قارچ، به محیط‌پ. دآ ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطور استریل اضافه گردید به همین نتیجه‌گیری شد.

۲- خلاصه سازی قارچ

در شرایط استریل مقداری از محیط پ. دآ حاوی کشت ۱۰ روزه قارچ توسط سوزن استریل به یک ظرف حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطور استریل اضافه گردید به همین

1- Cone top  2- PDA (Potato Dextrose Agar)
۲- آماده‌سازی قارچ جهت شناسایی

الف- بررسی مکرکسکی - لوله آزمایش ۲۰۰ سانتی‌متری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر مهیج پد.آ پس از مسدود نمودن گل‌های با پنجه و فویل آلومینیوم در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۵ سانتی‌گراد مدت ۱۲ دقیقه انجام می‌گیرد. در شرایط استریل ایزوله قارچ مهیج کشت نامبرده شود. سپس در ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشخصات ظاهری کلینیکال تولیدگرای سطحی، رشدهایی، میزان رشد، رنگ سطح و زیر کلی ناپدید گردد.

ب- پرورش میکرکسکی - به منظور تهیه اسلاید از کشت قارچ یک قطعه نی نوشابه به طول ۱۰ سانتی‌متر با مدت ۱۵ دقیقه در واگنکس تجاری (۵٪) ضد عفونی و ۵ برای با آب مقطر استریل شده شود. سپس آن را به صورت عدد ۷ خم نموده در داخل پتری ۹ سانتی‌متری به ارتفاع ۲ سانتی‌متر حاوی ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل قرار داده شد. یک تکه مکعب پد.آ به ابعاد ۱۲×۱۲×۱۲ سانتی‌متر (طول × عرض × ارتفاع) در وسط یک‌لام استریل قرار داده، چهار رول بارای مکعب را توسط قارچ آلوده نموده و پس از قراردادن یک لام استریل (۲۰×۲۰ سانتی‌متر) بر روی مکعب، یک لام روی گنگ این مکعب شد. در پتری دیش را بهینه نموده و پس از گسترش ۳ و ۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط استریل، لام را از پتری خارج نموده، لام را به آرامی از سطح مکعب برداشته و مکعب پد.آ نیز خارج شد. یک لام استریل بر روی محل رشد قارچ ریوی قرار داده و لام پوشانده سطح مکعب نیز بر روی یک لام دیگر قرار گرفت. به این ترتیب در اسلاید تهیه می‌گردد. اسلایدها توسط یک قطره لاک توپول حاوی ۵٪ آب پنجه رنگ آمیزی شد و سپس اطلاعات آنها با لاک مسجدود گردید. این روش بررسی میکروسکوپی، دوربین‌بزنگ، میکروسکوپ‌های اندازه‌گیری قارچ را در حالت رشد تطبیقی

۶۶
نتایج و بحث

مشخصات گونه

کلئی آن در محیط مال آگار رشد نسبتاً سریعی داشته و در مدت 14 روز در 25 درجه سانتی‌گراد به قطر تقیقاً 4 سانتی‌متر می‌رسد. رشد زیرین آن نمی‌باشد. پوست گونه یک سطحی کرکی و رشد تازه آن سطحی پودری دارد. در بعضی از موارد جدا شده آن سنبه (سینماتا) بسیار کوچک می‌باشد. رنگ آن در ابتدا سفید، سپس به صورتی گراییده و پس از اسپورزایی فراوان صورتی یا رنگ می‌شود. به آن کلئی بدون رنگ یا یا زرد رنگ و کلئی فاقد بر است. جدار هاپسی رویی صاف، شفاف و به پهنای 0/5-0/7 میکرون می‌باشد. اکثر ساختارهای کنیدی‌زایی آن ساده نیست و مشتمل بر یک کنیدی بر قائم بوده که از هایپوسی خوابیده یا هوایی جای‌داده می‌گردد. کنیدی بر تک شاخه‌ای یا سنبله‌ای شکل تا 100 میکرون طول و 0/5-0/7 میکرون پهنان داشته و جدار صاف و شاخه‌زایی چندی دارای چندبه‌ای از 6-7 فیالید در راس خود می‌باشد. انداده فیالید 5-0/7 میکرون با یک قسمت کروی که بین گردن دراز به پهنای 5-0 میکرون ختم می‌گردد. کنیدی‌های آن استوانه‌ای تا هلالی شکل، جدار صاف شفاف یا کمی صورتی به ابعاد 2-0/7 میکرون فاقد کلاسیدی‌سور می‌باشد (12). ایزوله منطقه قهاران دارای اسپورزایی به ابعاد 0/261-0/18 میکرون بوده، قطر کلی بر روی پدآ 10 روز در 0/15 درجه سانتی‌گراد 0/18-0/26 میکرون می‌باشد، در 20 درجه سانتی‌گراد 0/4-0/6 و در 30 درجه سانتی‌گراد 0/12 و 0/25 درجه سانتی‌گراد 0/4-0/8 سانتی‌متر انداده‌گیری گردیده. گونه این قارچ توسط استینیو

بین المللی قارچ شناسی انگلستان (1) تأیید گردید (شکل (1)).

H. schachtii از نمادها و نمادهای P. fumosoroseus ظاهر آن اولین گزارش‌های پیش‌بینی در زمینه‌ها و بهبود پیام‌های کنترل بیولوژیکی حشرات نیز مورد استفاده قرار گرفته است. تولید تکسین

1- Synnemata 2- CMI (IMI)
شکل شماره ۱
۶۸
منابع مورد استفاده


8- Fatemy, S. 1995. Parasitism of Heterodera schachtii by Paecilomyces

1- Beauvericin


