نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، ص. ۱۹۳-۱۸۶

Journal of Plant Protection
Vol. 25, No. 2, Summer 2011, P. 186-193

کنترل بیولوژیکی جمعیت زمستان گذران کرم ساقه خوارنواری برنج *Chilo suppressalis* پس از برداشت برنج بوسیله قارچ *Beauveria bassiana* در شرایط مزرعه

فرزاد مجیدی شیل‌سر [۱*]- فریدون پاداشت‌دهکایی [۲]- مجید نحوی [۳]

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۰
تاریخ پذیرش: ۹۰/۶/۲۲

چکیده

برای تعیین اثر قارچ بووریا باسیانا روی لاروهای زمستان‌گذران آفت ساقه‌خوار برنج آزمایش مزرعه‌ای در مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت طی سال‌های ۱۳۸۷و ۱۳۸۶ اجرا گردید. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل با سه فاکتور شامل a – غلظت ($۱۰^{۶}$ × ۱کنیدیوم در میلی‌لیتر و $۱۰^{۸}$ ×۱ کنیدیوم در میلی لیتر)، b- نوع فرمولاسیون (روش گرانول پاشی و محلول پاشی) و c- زمان نمونه برداری سه مرحله آبان، دی و اسفند ماه)در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در پلات‌هایی به ا بعاد ۷×۳ متر در چهار تکرار انجام شد. قارچ بووریا باسیانا پس از برداشت برنج در مزرعه استفاده شد. دو روز بعد از اسپورپاشی ۱۰۰ عدد لارو ساقه‌خوار داخل کرت‌های آزمایشی بطور مصنوعی رهاسازی گردید. بعداز رهاسازی لاروها، نمونه‌برداری جهت تعیین تعداد لاروهای مرده و زنده درطی سه مرحله انجام شد. زمان نمونه برداری به فاصله ۴۵ روز از همدیگر از تعداد ۱۰ بوته از هر کرت با حرکت در اقطار صورت گرفت. آخرین نمونه برداری قبل از شخم انجام گردید. تجزیه مرکب دوساله نشان داد که مناسترین غلظت، فرمولاسیون مورد استفاده و زمان نمونه برداری بترتیب مربوط به غلظت $۱۰^{۸}$ × ۱ کنیدیوم در میلی لیتر، گرانول پاشی و مرحله سوم نمونه برداری بود. ازلحاظ آماری بیشترین میانگین درصد مرگ و میر طی دو سال آزمایش با ۵۷/۶۶ با غلظت $۱۰^{۸}$ × ۱ کنیدیوم در میلی لیتر به روش گرانول پاشی درسومین مرحله نمونه برداری مشاهده گردید. کمترین مرگ و میر مربوط به تیمار شاهد (بدون آلودگی قارچ) در طی دوسال آزمایش بود.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیکی، جمعیت زمستان گذران، کرم ساقه‌خوار نواری برنج، قارچ *Beauveria bassiana*

مقدمه

برنج یکی از سه غذای اصلی در دنیا می‌باشد و بعد از گندم بیشترین سطح اراضی زیر کشت محصولات کشاورزی را به خود اختصاص داده است. در اکوسیستم زراعی برنج حشرات زیان‌آور تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرند که از مهمترین آنها می‌توان عوامل بیمارگر حشرات بویژه قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill. را نام برد. که امروزه به‌عنوان یک عامل کنترل و یک حشره‌کش میکروبی برای کنترل حشرات زیان‌آور زراعی و باغی مورد توجه و استفاده قرار می‌گیرد. فن‌آوری و دانش بشر در امر مبارزه با آفات در دهه اخیر بطور قابل توجهی تغییر یافته است. باتوجه به اینکه بالغ بر سی سال است که کرم ساقه‌خوارنواری برنج(*Chilo suppressalis* Walker.) به‌عنوان آفت خطرناک در مزارع برنج شمال کشور محسوب می‌گردد، و قسمت اعظم کنترل این آفت بوسیله سموم شیمیایی انجام می‌گیرد، آثار و عواقب نامطلوب و زیانباری برای سلامتی جامعه و محیط زیست به دنبال داشته است ازآن جمله می‌توان خطر سلامت انسان ،از بین رفتن دشمنان طبیعی، ایجاد مقاومت در حشره آفت، طغیان آفت ثانوی را نام برد. براساس گزارش وکیلی (۵) با احتساب ۲۰۰ هزار هکتار از مجموع ۶۰۰ هزار هکتار اراضی سطح زیر کشت برنج برای کنترل کرم ساقه خوارنواری برنج با حشره کش گرانول دیازینون مصرف شود بین ۴۰۰۰ تا ۸۰۰۰ تن این حشره کش وارد اکوسیستم زراعی برنج می گردد.لذا به منظور کاهش مخاطرات ناشی ازمصرف حشره‌کش‌های شیمیایی،امروزه متخصصان حشره شناسی کشاورزی عملیات کنترل آفات را طوری طراحی می‌کنند که عوامل طبیعی زنده دخالت بیشتری داشته باشند و باتوجه به ملاحظات زیست محیطی، اقتصادی واکولوژیکی آن در قالب کنترل بیولوژیکی (حشره‌کش‌های میکروبی) مورد بررسی و تاکید قرار می‌دهند. بنابراین لازم است که روش‌های جدید کنترل این آفت به خصوص استفاده از دشمنان طبیعی و مبارزه بیولوژیکی را عمیق‌تر مطالعه و بررسی نمود. قارچ *B. bassiana* اولین بار در موسسه تحقیقات برنج کشور روی لاروهای مرده ساقه خوار نواری برنج جدا و

۱، ۲ و ۳- به ترتیب استادیاران پژوهش و مربی پژوهش موسسه تحقیقات برنج کشور، رشت
(*- نویسنده مسئول: majidi14@yahoo.com Email:)

شناسایی گردید (۴). باتوجه به اینکه قارچ *B. bassiana* قادر است تمام مراحل زندگی آفت ساقه‌خوار شامل دستجات تخم، لارو، شفیره و حشره بالغ را در شرایط آزمایشگاهی مورد حمله قرار داده و آنها را بیمار می‌نماید (۳) نیاز بکارگیری این عامل بیولوژیکی در شالیزار ضروری بنظر می‌رسد.

کرم ساقه خوار نواری برنج در شالیزارهای شمال ایران از آفات کلیدی بوده و در شرایط طغیانی قادر به کاهش محصول و عملکرد برنج می‌باشد. طبق گزارش خسروشاهی و همکاران (۱) این آفت می‌تواند تا ۷۲۷ کیلوگرم در هکتار به محصول برنج خسارت زده و باعث کاهش عملکرد گردد (تقریباً ۳۰ درصد محصول). از طرف دیگر برای مبارزه با این آفت در مزارع آلوده به‌ازای هر هکتار بطور متوسط ۱۵ کیلوگرم سم گرانول دیازینون ۱۰ درصد در نسل اول و ۳۰ کیلوگرم سم گرانول دیازینون پنج درصد در نسل‌های دوم یا سوم این آفت مصرف می‌گردد. توجه به‌اینکه در بیش از نصف شالیزارهای استان‌های گیلان و مازندران برای کنترل کرم ساقه‌خوار برنج از حشره‌کش‌های شیمیائی استفاده می‌گردد، معهذا به لحاظ قیمت و هزینه مصرف سموم شیمیائی و نیز به لحاظ آلودگی‌های زیست محیطی تبعات زیادی را دنبال دارد. در این راستا قارچ *B. bassiana* از پتانسیل بالایی برای کنترل آفات برخوردار بوده و قادر است تمام مراحل زندگی به ویژه مرحله لاروی بالپولکداران را آلوده و آنها را تلف نماید.

بررسی‌های دانکل و جارونسکی (۹) نشان داد که قارچ *B. bassiana* به لحاظ میزبانی از دامنه وسیع‌تری برخوردار بوده، بطوریکه بیش از ۲۰۰ گونه از بندپایان را آلوده می‌کند. در بعضی از کشورهای برنج‌خیز دنیا بویژه کشورهای جنوب و جنوب شرق آسیا باتوجه به اینکه کرم ساقه‌خوارنواری برنج در اکوسیستم‌های زراعی برنج زندگی می‌کند، اما همواره به‌عنوان یک آفت مهم تلقی نمی‌گردد. گونه‌های دیگری از کرم ساقه‌خوار از جمله کرم ساقه‌خوار زرد برنج درمزارع برنج این کشورها وجود دارد که دارای اهمیت اقتصادی می‌باشد. در این کشورها زنجرک‌ها به‌عنوان آفت کلیدی شناخته شده و باعث خسارت زیادی به محصول برنج می‌شوند. از طرفی برای کنترل این آفات، چندین بار حشره‌کش (تا هشت بار) مصرف می‌گردد، اما امروزه بابکارگیری قارچ‌هایی از قبیل *B. bassiana* و *Metarhiziumanisopliae* (Metsch.)Sorokin برای کنترل آفات مذکور استفاده از حشره کش ها تا سه بار کاهش یافته است (۱۶). همچنین در کشورهای توسعه یافته مثل آمریکا در زراعت برنج آفت سن برنج یکی از عوامل خسارت‌زای مهم می‌باشد، به‌طوریکه امروزه برای کنترل آن از قارچ *B. bassiana* استفاده می‌گردد (۱۲).

در کشور چین برای کنترل کرم ساقه‌خوار اروپایی ذرت (*Ostrinia nubilalis* (Hubn.)) از قارچ *B. bassiana* استفاده می‌شود، لذا امروزه این قارچ را در فرمانتورهای بزرگ در سطح وسیع تولید می‌کنند و بکار می برند (۱۱). در سال ۱۹۹۴ در کشور کوبا بیش از ۵۰۰ تن قارچ *B. bassiana* در سطحی معادل ۴۰۰۰۰۰ هکتاربرای کنترل سه‌گونه سرخرطومی استفاده گردید. در حال حاضر علاوه بر کنترل حشرات زیان‌آور محصولات زراعی و باغی که از قارچ *B. bassiana* استفاده می گردد، همچنین از آن برای کنترل. آفات انباری مهم از قبیل شپشه برنج (*Sitophilus oryzae* L.)، سوسک دانه غلات(*Rhizopertha dominica* F.)، شپشه‌آرد (*Tribolium castaneum* Hbst.) و سوسک لوبیا ((*Acanthosceledes obtectus*(Say استفاده می‌کنند (۱۵). مجیدی و همکاران (۲) اثر قارچ *B. bassiana* را در شرایط مزرعه‌ای در طی نسل‌های اول و دوم کرم ساقه خوار برنج مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که این قارچ قادر است تا ۶۰ درصد لاروهای این آفت را در داخل ساقه آلوده و بیمار (مرگ و میر) نماید. پژوهش حاضر به منظور دست یابی به مناسب ترین غلظت، فرمولاسیون و زمان نمونه برداری در استفاده از قارچ *B. bassiana* برای کاهش جمعیت لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در کرت‌هایی به ابعاد ۷×۳ متردرمزرعه تحقیقاتی مؤسسه برنج طی دو سال متوالی ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ اجرا گردید. اجرای این تحقیق با آماده‌سازی و تهیه زمین و ایجاد خزانه وپرورش نشاء انجام شد. بعد از اینکه نشاء برنج به مرحله سه تا چهاربرگی رسید، به کرت‌های آزمایشی منتقل گردید. همواره سعی شد از نشاءهای سالم و عاری از آلودگی به آفت ساقه‌خوار استفاده شود. عملیات مربوط به نشاءکاری بارعایت فاصله ۲۵×۲۵ سانتی‌متر با مارکر وبارقم برنج هیبرید انجام گردید. بعد از نشاکاری و به منظور جلوگیری از رشد علف‌های هرز عملیات مربوط به وجین اول و دوم نیز انجام شد. همچنین برای سالم نگه داشتن گیاه برنج داخل کرت‌های آزمایشی از وجود حشرات زیان‌آور بویژه آفت ساقه‌خوار برنج، حشره‌کش دیازینون درفصل زراعی مصرف گردید. همچنین به محض ظهوردیگر عوامل خسارت‌زا (بویژه کرم سبز برگخوار برنج) روش‌های کنترل آنها انجام گردید. این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل با سه فاکتور شامل a- غلظت (۱×۱۰^{۶}کنیدیوم در میلی‌لیتر و غلظت ۱×۱۰^{۸}کنیدیوم در میلی‌لیتر) b–نوع فرمولاسیون (محلول و گرانول) و c– زمان نمونه برداری (مراحل اول، دوم و سوم) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در پلات‌هایی به ابعاد ۷×۳ متر در چهار تکرار انجام شد.

برای اجرای این تحقیق ابتدا جدایه Mcb18 از قارچ *B. bassiana* (جدا شده از کرم ساقه‌خوار نواری در مؤسسه تحقیقات

برنج، رشت) روی محیط[1] (۴۰گرم دکستروز،۱۰ گرم پپتون،۱۵ گرم آگار، ۱۰ گرم عصاره مخمر، ۰/۳ گرم استرپتومایسین و ۱۰۰۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر) در شرایط آزمایشگاهی کشت و استفاده گردید. بعد از اسپوردهی کامل (۲۱ –۱۴ روز)، اسپورها از سطح محیط کشت بوسیله میله فلزی حلقه‌ای خراش داده شد و توسط آب و محلول توئین ۸۰ دو صدم درصد جدا و در داخل ارلن ریخته شد. بعد از این مرحله سوسپانسیون موجود به کمک پارچه ململ صاف گردید تا فقط اسپور قارچ تهیه گردد. تعداد اسپورهای موجود در محلول مادر[2] (غلظت 10^9 کنیدیوم در میلی لیتر) با استفاده از لام گلبول شمارش انجام گردید. از سوسپانسیون موجود غلظت 10^8 کنیدیوم درمیلی‌لیتر تهیه و سپس با استفاده از فاکتور رقیق‌سازی، غلظت 10^6کنیدیوم در میلی لیتر آماده شد. برای تهیه فرمولاسیون گرانول پاشی اسپور قارچ، از خاک اره استفاده گردید، بطوریکه در این روش ابتدا خاک اره در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و فشار یک اتمسفر مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی گردید و بعد از ضدعفونی در آب مقطر استریل به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد و بعد از این مدت خاک اره خیس شده روی سینی پلاستیکی به جهت حذف رطوبت (آب) اضافی پخش گردید. همچنین به خاک اره مرطوب به مقدار ۰/۱ درصد گلیسرین۰/۱ درصد، نوترینت آگار۰/۱ درصد، ملاس ۰/۵ درصد روش(۱۴) و توئین ۸۰ دو صدم درصد به جهت حفظ بقاء همچنین و به منظور یکنواختی در پراکندگی اسپورها اضافه گردید. عملیات مربوط به محلول پاشی و گرانول پاشی اسپور قارچ بوواریا بعد از آماده‌سازی در نیمه اول مهرماه در تیمارهای مورد نظرانجام گردید. دو روز بعد از استقرار اسپور قارچ در سطح تیمارهای آزمایشی (داخل مزرعه)، ۱۰۰ عدد لارو ساقه‌خوار برنج سالم (عاری از بیماری) در هر کرت رهاسازی شدند(در مجموع ۲۴۰۰ عدد لارو). برای این کار، ابتدا لاروهای فوق را ازمزرعه جمع‌آوری کرده وبه مدت یک هفته درآزمایشگاه نگهداری شدند تا لاروهای سالم از لاروهای بیمار انتخاب شدند، همه این لاروها از یک منطقه معین جمع آوری شدند تا همگنی نمونه ها رعایت گردد.

اولین زمان نمونه‌برداری ۴۵ روز بعد از رهاسازی لاروهای ساقه‌خوار در کرت‌های آزمایشی شروع گردید. دومین و سومین نمونه‌برداری به‌ترتیب به فاصله ۴۵ روز از همدیگر انجام گرفت. در نمونه‌برداری‌ها همواره تعداد ۱۰ کپه (هر کپه شامل چهار بوته) از هرکرت آزمایشی در سطح مزرعه با حرکت روی اقطار، کف بُر شده، سپس نمونه‌ها به داخل کیسه‌های پلاستیکی دربدار قرار داده وپس ازنصب و ثبت مشخصات به آزمایشگاه منتقل و در یخچال در دمای ۴°c نگهداری شدند. نمونه‌ها به تفکیک بوته‌های بریده شده از یخچال خارج و همه ساقه‌های برنج نمونه برداری شده از قسمت طولی شکاف داده و تعداد لاروهای زنده و مرده موجود داخل ساقه ثبت و یادداشت‌برداری شده و هرکدام از لاروها بطور مجزا به داخل لوله آزمایش منتقل شدند. به‌منظورصحت آزمایش از لاروهای مرده یا آلوده و مشکوک به قارچ بووریا مجدداً بدن لاروهای مرده باهیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه ضدعفونی سطحی شده و دو تا سه بار آب‌شوئی باآب مقطر استریل و حذف رطوبت اضافی با کاغذ صافی استریل درداخل تشتک پتری قرارگرفتند. سپس درانکوباتور دردمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد جهت ظهور مجددمیسلیوم وآلودگی به قارچ فوق به مدت یک هفته نگهداری گردیدند (اصول کخ). پس از این مدت درصد مرگ و میر لاروهای مرده (قارچ زده) با استفاده از فرمول اشنایدر و اورلی[3] اصلاح گردیدند. در پایان داده های بدست آمده به صورت تجزیه مرکب دوساله با آزمایش فاکتوریل درقالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار و باستفاده از نرم افزار SAS,9.1 تجزیه وتحلیل و میانگین ها نیز با استفاده آزمون چند دامنه دانکن مقایسه و گروه بندی شدند.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده ها تأثیر قارچ *B. bassiana* روی لاروهای زمستان گذران *C.suppressalis* در جدول ۱ ارایه شده است. براساس تجزیه واریانس مرکب اثر قارچ بر تعداد لاروهای زنده در تکرار در سطح یک درصد معنی دار شده است.

با توجه به نتایج مندرج در جدول۱ مشاهده می‌گردد که برای لاروهای زنده اثر غلظت در سطح احتمال یک درصد معنی دار می‌باشد. برای لاروهای مرده اثر سال، زمان نمونه برداری، غلظت، نوع فرمولاسیون، زمان در غلظت، غلظت در نوع فرمولاسیون، سال در غلظت درسطح احتمال ۱ درصد و نیز سال در نوع فرمولاسیون و سال در زمان در نوع فرمولاسیون در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده گردید. این جدول نشان می‌دهد که برای درصد لاروهای مرده اثر زمان، نوع فرمولاسیون و سال در غلظت و اثر غظت در بترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱درصد معنی دار می‌باشد. درصد مرگ و میر اصلاح شده برای اثر سال، زمان و غلظت در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بوده است.

مقایسه میانگین مرکب دوساله نشان داد که بیشترین مرگ و میر لارو ساقه خوارنواری برنج ناشی از تأثیر قارچ *B. bassiana* مربوط به سومین مرحله از زمان نمونه برداری می‌باشد که بیشترین میانگین لارو های مرده با ۴۹ /۵۸ درصد در گروه a قرار گرفت. مراحل اول و دوم نمونه برداری به لحاظ زمان اختلاف معنی دار بین آنها مشاهده شد مرحله دوم نمونه برداری به لحاظ آماری بیشتر از مرحله اول نمونه برداری و با مرگ و میر ۴۴/۷۵ و ۴۱/۹۰ درصد بترتیب در گروه های ab و b قرار گرفتند (شکل۱).

1- SDAY
2 -Stock
3- Schneider-Orelli

جدول ۱-تجزیه مرکب دوساله تأثیر قارچ *B. bassiana* روی لاروهای زمستان گذران *C. suppressalis*

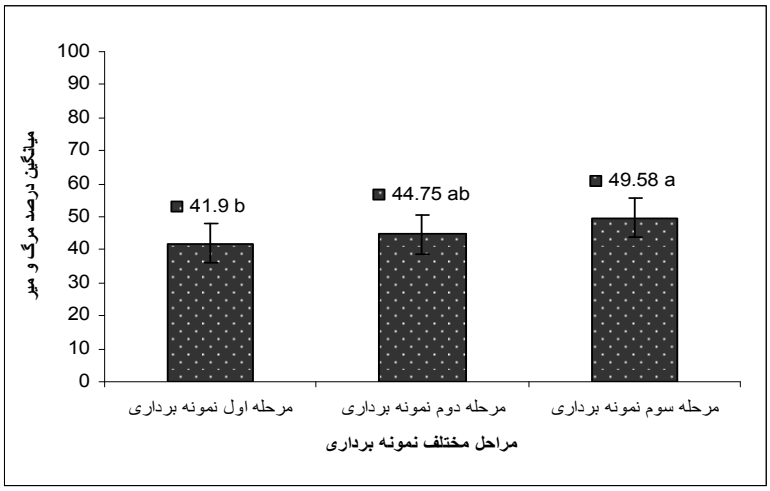
		میانگین مربعات			
منبع تغییرات	درجه آزادی	لارو های زنده	لاروهای مرده	درصدلاروهای مرده	درصد اصلاح شده
سال	۱	۱۰۴/۴۰۶ ns	۱۳۴/۴۰۸**	۶۳۴/۳۳۳ ns	۱۷۶۳/۹۲۸ **
تکرار	۶	۳۶/۷۰۵ **	۵/۲۱۵ ns	۲۵۹/۵۳۲ ns	۳۶۷/۸۲۲ ns
زمان	۲	۱۶/۱۰۵ ns	۶۴/۱۶۳**	۷۹۸/۹۶۲*	۵۳۰/۷۳۵**
غلظت	۲	۱۹۴/۶۰۱ **	۱۵۵۶/۲۴۵**	۶۴۹۸۰/۱۹۲**	۷۱۹۷۶/۸۶۹**
فرمولاسیون	۱	۰/۵۳۱ ns	۱۶۴/۲۶۴ **	۹۶۴/۰۴۵ *	۴۷۵/۳۰۷ ns
زمان×غلظت	۴	۱۰/۳۹۲ ns	۳۸/۹۱۷ **	۲۰۶/۷۷۸ ns	۲۶۷/۱۴۴ ns
زمان× فرمولاسیون	۲	۱/۲۸۸ ns	۷/۰۰۷ ns	۱۸۳/۷۸۴ ns	۸۲/۰۷۸ ns
غلظت× فرمولاسیون	۲	۵/۵۰۶ ns	۷۴/۰۳۳**	۱۱۰/۵۴۰ ns	۱۴۳/۵۹۶ ns
زمان×غلظت× فرمولاسیون	۴	۷/۸۴۲ ns	۳/۶۹۹ ns	۱۴۹/۱۵۲ ns	۱۲۸/۲۹۳ ns
سال×زمان	۲	۲۱/۰۳۰ ns	۶/۹۸۷ ns	۱۲۹/۵۱۶ ns	۱۸۹/۳۷۵ ns
سال×غلظت	۲	۱۴/۷۸۰ ns	۵۵/۹۶۱ **	۸۱۱/۲۹۰ *	۵۱۷/۳۳۵ ns
سال× فرمولاسیون	۱	۱/۱۸۸ ns	۲۲/۱۲۵*	۸۵/۶۴۵ ns	۸/۷۷۱ ns
سال×زمان×غلظت	۴	۱/۳۴۸ ns	۱۲/۳۴۵ *	۸۶/۵۵۳ ns	۱۵۲/۵۵۳ ns
سال×زمان× فرمولاسیون	۲	۱۰/۰۹۱ ns	۶/۱۰۲ ns	۸۶/۳۷۸ ns	۸۶/۱۱۲ ns
سال×غلظت× فرمولاسیون	۲	۲/۱۶۰ ns	۱۰/۰۹۰ ns	۶۶/۴۱۲ ns	۱۲۰/۹۶۱ ns
سال× زمان×غلظت× فرمولاسیون	۴	۵/۳۷۶ ns	۲/۸۲۶ ns	۹۸/۳۸۵ ns	۱۵۵/۵۷۹ ns
خطا	۱۰۲	۸/۸۰۸	۴/۳۲۹	۲۰۳/۶۹۸	۲۰۱/۱۶۷
ضریب تغییرات(CV)		۵۴/۷۲	۳۵/۷۹	۳۱/۴۲	۳۳/۰۵

** در سطح ۱٪ معنی دار می‌باشد. * در سطح ۵٪ معنی دار می‌باشد. ns اختلاف معنی دار نمی باشد

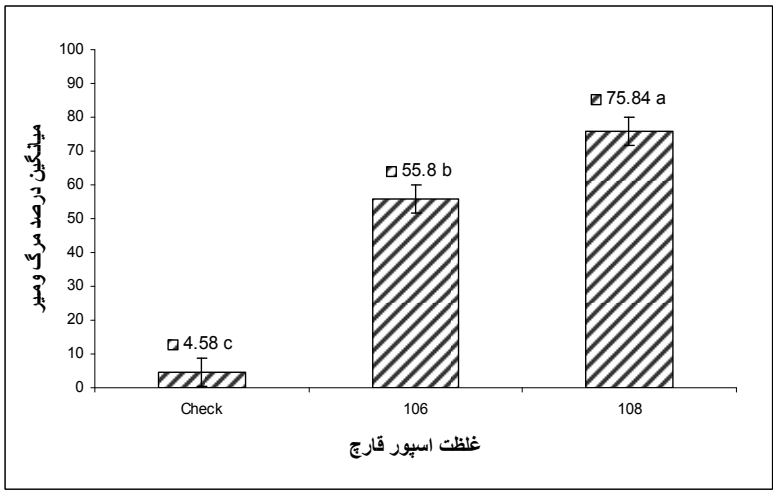
این شکل نشان می‌دهد که طی سه مرحله نمونه‌برداری از آبان تا اسفند طی دوسال، روند مرگ و میر به طرف سومین مرحله نمونه‌برداری افزایش داشته و این موضوع را می‌توان به‌دلیل فراهم بودن شرایط اکولوژیکی بخصوص درصد رطوبت نسبی (بالای ۷۰ درصد) و مناسب بودن دمای محیط (بالای ۱۵ درج سانتیگراد) ربط داد. همچنین این موضوع گواه این مطلب می‌باشد که سومین مرحله نمونه برداری که در اسفند انجام شده، شرایط محیطی مناسبی را برای فعالیت قارچ بووریا فراهم نموده است. مجیدی و همکاران (۲) گزارش کردند که در شرایط طبیعی قارچ مذکور قادر است لارو ساقه خوار برنج را در مزرعه تا ۱۱ درصد آلوده نماید، بطوریکه بیشترین آلودگی در اسفند ماه بوده است. در همین ارتباط را برت و کامپل (۱۷) دما را یکی از مهمترین عوامل محیطی در رشد و توسعه بیماری در حشرات مطرح می‌کنند. اکسی و همکاران (۱۰) نشان دادند که درشرایط آزمایشگاهی حداقل دمای لازم برای جوانه‌زنی و رشد رویشی قارچ‌های *Beauvera bassiana* و *Metarhizium anisopliae* دمای۱۵ درجه سانتی‌گراد بوده و دمای مناسب برای حداکثر رشد قارچ بین ۲۵ تا۳۰ درجه سانتیگراد می‌باشد. مقایسه میانگین دوساله، اثر غلظت اسپور قارچ روی لارو ساقه خوار برنج نشان داد که مناسب ترین غلظت، غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی لیتر با ۷۵/۸۴ درصد مرگ و میر و به لحاظ آماری در گروه a و غلظت 10^6 کنیدیوم با در میلی لیتر با ۵۵/۸۰ درصد مرگ و میر در گروه b براساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد قرار گرفتند (شکل۲).

لارو های مرده در تیمار شاهد که آب مقطر در سطح مزرعه مورد نظر پاشیده شده بودند، فاقد آلودگی قارچ بووریا بودند و کمترین درصد مرگ و میر طبیعی طی دوسال آزمایش مربوط به تیمار شاهد (فقط آبپاشی) بود (شکل ۲).

این موضوع را می‌توان بدین گونه تفسیر نمود که در تیمار شاهد به‌دلیل عدم آلودگی به قارچ مذکور، تعداد لاروهای بیشتری قدرت مهاجرت داشته و یا اینکه ممکن است در طی سه مرحله نمونه‌برداری تعداد محدودی از لاروهای زنده جمع‌آوری شده اند ناشی از حرکت و جابجایی لاروهای زنده مورد آزمایش، روی مرزها یا حتی حرکت لاروها به بقایای ساقه‌های برنج در کرت‌های آزمایشی برای زمستان‌گذرانی باقی مانده‌اند، باشد. در این آزمایش روش های بکار گرفته در تیمارهای حاوی اسپور قارچ نشان داد که از دو فرمولاسیون (روش) گرانول پاشی و محلول پاشی روش گرانول پاشی با ۴۸/۱۳ درصد مرگ و میر و روش محلول پاشی با ۴۲/۱۳ درصد آلودگی به ترتیب در گروه a و b قرار گرفتند(شکل ۳). آنچه این آزمایش نشان می‌دهد موثر بودن فاکتور غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی لیتر با دو فرمولاسیون گرانول و محلول‌پاشی اسپور قارچ می‌باشد.



شکل۱- میانگین درصد مرگ ومیر لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار ناشی از قارچ *B. bassiana* در زمان های مختلف نمونه برداری



شکل۲- میانگین درصد مرگ ومیر لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار ناشی از قارچ *B. bassiana* در غلظت های مختلف

عامل غلظت در تلفات لارو ساقه‌خوار نواری برنج تأثیرگذارتر می‌باشد. نتایج این بررسی نشان داد که برای کنترل لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار در فصل غیر زراعی، مناسب ترین زمان استفاده از قارچ *B. bassiana* آبان ماه یعنی زمانی که لاروهای این حشره از داخل مزرعه به طرف مرزها و حاشیه مزرعه مهاجرت می‌کنند، است.

شیمازو (۱۸) در بررسی تأثیر دمای مختلف در رشد مسیلیوم قارچ بووریا باسیانا نشان داد که فعالیت جدایه F- 263 از ۶تا ۳۳ درجه سانتی گراد می‌باشد. مجیدی و همکاران (۴) در مطالعات خود در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که قارچ بووریا باسیانا برای رشد رویشی و جوانه زدن دمای ۱۰ درجه سانتی گراد و دمای مناسب برای حداکثر رشد دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی گراد و دمای بالای۳۵ درجه سانتی گراد رشد قارچ بطی و در ۳۸ درجه کاملاً متوقف می‌گردد. این تحقیق نشان داد که درصد تلفات به روش گرانول‌پاشی همواره بیشتر از روش محلول‌پاشی با قارچ بووریا بود.

این تحقیق نشان داد که هیچگونه آلودگی به قارچ بووریا روی لاروهای مرده در تیمار شاهد ظاهر نگردید. مرگ و میر لاروها ناشی از دیگر عوامل بود، اما در تیمارهای که قارچ *B. bassiana* استفاده شده بودند از بدن همه لاروهای مرده که بعداز ضد عفونی سطحی با هیپوکلرید سدیم، مجدداً مسیلیوم و اسپور قارچ بووریا رشد نمود و پوشش سفید رنگی بدن لاروها را فرا گرفت به عبارتی قارچ دوباره باززایی[1] نمود.

1- Recovery

شکل۳- میانگین درصد مرگ ومیر لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار ناشی از قارچ *B. bassiana* در فرمولاسیون های مختلف

این آزمایش نشان داد که گرانول‌پاشی قارچ بووریا برای کشتن لاروهای زمستانگذران درمقایسه با محلول‌پاشی قارچ از مجموع میانگین دو سال از اهمیت بیشتری برخوردار بوده است. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که این قارچ قادر است لاروهای زمستان‌گذران درمناطقی که کانون آلودگی در مزرعه وجود دارد را اثر حرکت، جابجایی یا مهاجرت و درصورت تماس مسلیوم و یا اسپور با سطح بدن لارو آنها را آلوده کرده و سبب مرگ آنها گردد.

مطالعات مجیدی و همکاران (۳) نشان داد که این قارچ در تابستان در شرایط طبیعی (مرداد ماه) در شرایط گیلان فعالیت چندانی نداشته و قادر به آلوده کردن حشرات زیان‌آور شالیزار بویژه لارو ساقه‌خوار نواری برنج نمی‌باشند. نمونه‌برداری‌های که از شالیزارهای مختلف استان (استانه، بندر انزلی ،فومن، رشت، لاهیجان و تالش) انجام شد نشان داد، عوامل محیطی همچون دمای بالای ۳۰ درجه سانتی گراد، کاهش رطوبت نسبی و وجود اشعه ماورای بنفش خورشید[1] امکان فعالیت این قارچ را در اکوسیستم زراعی برنج به حداقل رسانده و در نتیجه کارایی لازم جهت بیمارگری روی این آفت را در فصل زراعی کاهش می‌دهد. مطالعات نشان داد که در شرایط گیلان. فعالیت این قارچ با شروع بارندگی‌های آخر تابستان (شهریورماه) افزایش می‌یابد.

استفاده از قارچ بووریا علیه کرم ساقه‌خوار نواری برنج در شرایط مزرعه و پس از برداشت تاکنون در هیچ یک از کشورهای برنج خیز دنیا صورت نگرفته است. شاید دلیل این موضوع این است که کرم ساقه‌خوار نواری برنج به‌عنوان یک آفت کلیدی در این کشورها مطرح نمی‌باشد وسایر ساقه خوارها از قبیل ساقه‌خوارهای زرد و سرسفید، معمولاً به‌عنوان آفات مهم و درجه یک تلقی می‌گردند. مانیانیا (۱۴) کارآیی قارچ *B. bassiana* را در شرایط مزرعه‌ای روی ساقه‌خوار ذرت(*Chilo partellus* (Swinhoe) با فرمولاسیون‌های مختلف از قبیل محلول پاشی اسپور قارچ با غلظت ۱۰[۱۳] کنیدیوم در میلی‌لیتر و گرانول‌پاشی قارچ با غلظت ۱۰[۱۳] کنیدیوم در هکتار در مقایسه با سم تری‌کلروفن[2] بررسی نموده و از میان فرمولاسیون‌های مختلف، گرانول‌پاشی اسپور قارچ را برای کنترل ساقه‌خوار ذرت توصیه نمود. همچنین نامبرده تأثیر این قارچ روی آفت مذکور را بیشتر از سم تری‌کلروفن بیان می‌کند. مطالعات ما در تأثیر قارچ بووریاباسیانا در شرایط مزرعه‌ای و پس از برداشت در مؤسسه تحقیقات برنج نشان داد که گرانول‌پاشی قارچ بووریاباسیانا با بکارگیری قارچ بووریا در کنترل ساقه‌خوار ذرت مطابقت دارد. بینگ و لوئیس (۷) نشان دادند که قارچ *B. bassiana* رابطه آندوفتیکی با گیاه ذرت برای کنترل لارو ساقه‌خوار ذرت(*Ostrinia nubilalis*) دارد، بطوریکه حرکت قارچ بووریا به داخل گیاه ذرت این امکان را می‌دهد که لاروهای ساقه‌خواری که از طریق ساقه وارد گیاه ذرت می شوند را در اثر تماس با آنها آلوده نماید. زمانی که اسپور یا اسپورهای قارچ بووریا باسیانا روی سطح برگ ذرت قرار گرفته و تندش نموده وبا جوانه زدن ایجاد لوله طویلی به نام هیف[3] می‌کند. با این اندام به کوتیکول برگ ذرت نفوذ می‌کند. دراین موقع هیف این قارچ نیز قادر است ازداخل گیاه ذرت به کوتیکول بدن حشره نفوذ نماید. ضمناً هیف این قارچ در برگ گیاه ذرت رشد نموده و از طریق آوندهای چوبی و آبکش قادربه حرکت داخل گیاه می‌باشد (۱۹). مطالعات آکلو و همکاران (۶) نشان

1- Ultra Violet Radiance

2 -Trichlorfon

3- Germ tube

داد اگر ریشه گیاه موز را در غلظت $۱/۵\times۱۰^{۷}$ کنیدیوم در میلی لیتر سوسپانسیون قارچ *Beauveria bassiana* به مدت دو ساعت غوطه ور نمایند، دربافت‌های داخلی گیاه موز کلونی قارچ ایجاد می‌شود بطوریکه این کلونی حداقل تا چهار ماه باقی می‌ماند. آنها بیان می‌کنند که کلونیزاسیون قارچ هیچ ارتباطی با نوع و رقم گیاه موز ندارد. همچنین نامبرده‌گان در بررسی‌های خود نشان دادند که اسپور این قارچ هیچگونه اثر منفی در رشد گیاه ندارد. انها در آزمایش گلخانه‌ای نشان دادند که تلفات لاروهای این آفت از ۲۳/۵ تا ۸۸/۹ درصد بعداز دو هفته استفاده از قارچ بووریا می‌باشد و براساس این آزمایش وجود این قارچ و رشد آندوفیتیکی آن داخل گیاه موز بیش از ۵۰ درصد تلفات روی لاروهای این آفت داشته است. بررسی‌های آنها نشان داد که خاصیت آندوفیتکی قارچ *B.bassiana* برای حشراتی که داخل گیاه زندگی مخفی دارند و به گیاه خسارت می‌زنند می‌تواند به‌عنوان یک آلترناتیو کنترل محسوب گردد. اما آنچه این تحقیق نشان داد تأثیر قارچ *B. bassiana* در شرایط مزرعه‌ای و پس از برداشت برنج روی لاروهای زمستان‌گذران آفت ساقه‌خوار می‌باشد. بررسی نتایج آزمایش قبل، صحه‌ای بر این تحقیق می‌باشد. به دلیل دوام، اسقرار و کلنیزاسیون قارچ در شرایط مزرعه و داخل ساقه برنج در فصل غیر زراعی باعث بیمار شدن آفت ساقه‌خوار می‌گردد، همچنین نتایج نشان داد که جمعیت انتقالی کرم ساقه‌خوار در فصل زراعی سال بعد نسبت به تیمار شاهد بدون مصرف این قارچ کاهش یافت (درکرت های آزمایشی). از طرفی دیگر باتوجه به اینکه این قارچ خاکزی بوده[۱] و در فصل‌های پائیز و زمستان علاوه براینکه روی لاروهای ساقه‌خوار برنج فعالیت و زندگی می‌کند، قادر است در ۲ تا عمق ۵۰ سانتی‌متری خاک حرکت نماید (۸).

در صورت قرار گرفتن اسپور قارچ مذکور در سطح خاک و گیاه به‌وسیله باران، آب و باد حرکت کند و لاروهای بیشتری را آلوده نماید. نتایج حاصل این بررسی نشان داد که غلظت $۱۰^{۸}$ کنیدیوم در میلی‌متر از قارچ *B. bassiana* به روش گرانول‌پاشی نسبت به محلول پاشی اسپور قادر است جمعیت لاروهای زمستان‌گذران آفت ساقه‌خوار را در شرایط مزرعه‌ای تا ۵۷/۶۶ درصد کاهش دهد و باعث تلفات آن گردد. این غلظت از قارچ در مقایسه با سایر تیمارها از تأثیر بیشتری برخوردار بوده است. در همین غلظت از اسپور قارچ به روش محلول‌پاشی، مرگ و میر لاروهای ساقه‌خوار حداکثر تا ۵۵/۸۳ درصد بود و بعد از گرانول پاشی با غلظت مذکور قابل توصیه می‌باشد. باتوجه به اینکه لاروهای ساقه‌خوار برنج در شرایط مزرعه‌ای و پس از برداشت معمولاً جابجا شده، از یک ساقه به ساقه دیگر یا از داخل مزرعه به روی مرزها یا اطراف مزرعه برای زمستان‌گذرانی حرکت و مهاجرت می‌کنند، در این فاصله در صورت وجود قارچ بووریا در مزرعه موجب آلودگی و بیمار شدن لاروهای زمستان گذران می‌شوند. همچنین برای کاهش جمعیت لاروهای انتقالی برای سال بعد لازم است، قارچ *B. bassiana* را به روش گرانول‌پاشی و با غلظت $۱۰^{۸}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر و قبل از مهاجرت لاروهای ساقه‌خوار (درماه های مهروآبان) استفاده نمود. از طرف دیگر بدلیل فارغ بودن کشاورزان شالی کار در این مقطع زمانی وبیکار بودن آنها و نیز استفاده آسان آن و با حمایت از طبیعت، بتوان آلودگی قارچ بووریا درمحیط ودر سطح مزرعه نیز افزایش داد. این کار مزید بر علت شده و موجب تشدید تأثیر این قارچ روی لاروهای آفت ساقه خوار در فصل غیر زراعی و نهایتاً در فصل زراعی سال بعد خواهد شد می‌گردد.

سپاسگزاری

اعتبارات مالی این پژوهش از سوی مدیریت محترم پروژه IPM و مؤسسه تحقیقات برنج کشور تامین شده است که بدینوسیله سپاسگزاری می‌شود. همچنین از کلیه عزیزانی که به هر نحو در فراهم نمودن امکانات و اجرای این تحقیق همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

منابع

۱- خسروشاهی م. نیکخو ف. دزفولیان ع. و بنی‌هاشمیان ا. ۱۳۵۸. ارزیابی خسارت ساقه‌خوار برنج و مبارزه با آن. شریه آفات و بیماری‌ها. ۱۰۷-۴۷:۱۱۹.

۲- مجیدی شیلسر ف. علی‌نیا ف . وارشاد ج . ۱۳۸۷. ارزیابی اثر قارچ *B.bassiana* روی کرم ساقه خوارنواری برنج در شرایط مزرعه. دانشگاه همدان.هیجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۳۱

۳- مجیدی شیلسر ف. کمالی ک. علی‌نیا ف. و ارشاد ج. ۱۳۸۱. بررسی موقعیت اکولوژیکی و بیماری‌زایی قارچ *Beauveria bassiana* روی کرم ساقه‌خوارنواری برنج(*Chilo suppressalis*) و شرایط پرورش آزمایشگاهی آن پایان نامه دکتری حشره شناسی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۶۵ صفحه.

۴- مجیدی شیلسر ف. کمالی ک. علی‌نیا ف. و ارشاد ج. ۱۳۸۲ . اثر دما در جوانه زنی، رشد مسلیوم و بیماری زایی جدایه‌های قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin(Deut., Moniliaceae روی کرم ساقه خوار نواری برنج *Chilo suppressalis* walker (Lep., Pyralidae). آفات و بیماری های گیاهی جلد ۷۱، شماره ۱، ۱۳۹- ۱۲۳.

۵- وکیلی ا. ۱۳۷۷. .ضمیمه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی کرج. کرج. سازمان حفظ نباتات ایران. صفحه ۳۱.

6- Akello J., Dubois T., Gold C. S., Coyne D., Nakavuma J., and Paparu P. 2007. *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as an endophyte in tissue culture banana (*Musa* spp.). J. Invertebr Pathol., 96:34–42.

7- Bing L., and Lewis LC. 1991. Suppression of *Ostrinia nubilalis*(Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana*(Balsamo) Vuillemin. Environ. Entomol 20,1207-1211.

8- Bruck D. J., and Lewis L. C. 2000. Rainfall and crop residue effects on soil dispersion and *Beauveria bassiana* spread to corn. Applied Soil Biology. 20, 183-190.

9- Dunkel F. V., and Jaronski S.T. 2003. Development of a bioassay system for the predator, Xylocoris flavipes (Heteroptera: Anthocoridae) and its use in subchornic toxicity/pathogenicity studies of *Beauveria bassiana* strain GHA. Biological and Microbial Control . 96(4), 1045-1052.

10- Ekesi S., Maniania N. K., and Ampong Nyarko K. 1999. Effect of Temperature on germination radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Megalurothrips sjostedti.* Biocontrol Science and Technology 9:177-185.

11- Hussey N. W., and Tinsley T. W. 1981. Impression of insect pathology in the People Republic of China In: "Microbial control of pest and plant diseases". Burges, H.D. (ed). Academic Press. London. pp, 785-795.

12- Khetan S.K. 2001. Evaluation of *Beauveria bassiana* and host plant resistance for the management of rice Stink bugs in rice agroecosystem. University of Louisiana. 156 p.

13- Maniania N.K. 1993. Evaluation of three formulation of *Beauveria bassiana* (Bals.) vuill.for control of the stemborer *chilo partellus*(swinhoe) (Lep., Pyralidae). J. Appl. Entomol. 5(3), 266-272.

14- Padin S.,D. Dal Bello G., and Fabrizio M. 2002.Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtecus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. J.of Stored Products Res. 38, 69-74.

15- Heinrich E. A. 1994. Biology and management of rice inects. p.613-655. In Rambach M. C., Roberts D.W., and Aguda M ".(ed).Pathogens of rice insects. Part 8. Inter. Rice. Res. Institu.Los Banos Philippines.

16- Roberts D. W., and Campbell A. S. 1977 . Stability of entomopathogenic fungi. Miscellaneous Publication of the Entomol. Soc. Amer.,10:1-18.

17- Shimazu M. 2004. Effects of temperature on growth of *Beauveria bassiana* F-263, a strain highly virulent to the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, especially tolerance to high temperatures. Applied Entomology and Zoology. 39(3)469-475.

18- Wagner B.L., and Lewis L.C. 2000. Colonization of corn, *Zea mays* by the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. Appl. Environ. Microbilo. 66, 3468- 3473.