

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

فرزاد مجیدی شیل سر<sup>۱\*</sup> - فریدون پاداشت دهکایی<sup>۲</sup> - مجید نحوی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۰/۶/۲۲

### چکیده

برای تعیین اثر قارچ بووریا باسیانا روی لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار برنج آزمایش مزرعه‌ای در مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت طی سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۶ اجرا گردید. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل با سه فاکتور شامل a - غلظت ( $10^6 \times 1$  کنیدیوم در میلی‌لیتر و  $10^8 \times 1$  کنیدیوم در میلی‌لیتر)، 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 ابعاد  $3 \times 7$  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 ساقه خوار داخل کرت‌های آزمایشی بطور مصنوعی رهاسازی گردید. بعد از رهاسازی لاروها، نمونه برداری جهت تعیین تعداد لاروهای مرده و زنده در طی 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 مناسبترین غلظت، فرمولاسیون مورد استفاده و زمان نمونه برداری بترتیب مربوط به غلظت  $10^8 \times 1$  کنیدیوم در میلی‌لیتر، گرانول پاشی و مرحله سوم نمونه برداری بود. از لحاظ آماری بیشترین میانگین درصد مرگ و میر طی دو سال آزمایش با  $57/66$  با غلظت  $10^8 \times 1$  کنیدیوم در میلی‌لیتر به روش گرانول پاشی در سومین 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 ساقه خوار ناری برنج، قارچ *Beauveria bassiana*

### مقدمه

سموم شیمیایی انجام می‌گیرد، آثار و عواقب نامطلوب و زیانباری برای سلامتی جامعه و محیط زیست به دنبال داشته است از آن جمله می‌توان خطر سلامت انسان، از بین رفتن دشمنان طبیعی، ایجاد مقاومت در حشره آفت، طغیان آفت ثانوی را نام برد. براساس گزارش و کیلی (۵) با احتساب ۲۰۰ هزار هکتار از مجموع ۶۰۰ هزار هکتار اراضی سطح زیر کشت برنج برای کنترل کرم ساقه خوارناری برنج با حشره کش گرانول دیازینون مصرف شود بین ۴۰۰۰ تا ۸۰۰۰ تن این حشره کش وارد اکوسیستم زراعی برنج می‌گردد. لذا به منظور کاهش مخاطرات ناشی از مصرف حشره کش‌های شیمیایی، امروزه متخصصان حشره شناسی کشاورزی عملیات کنترل آفات را طوری طراحی می‌کنند که عوامل طبیعی زنده دخالت بیشتری داشته باشند و با توجه به ملاحظات زیست محیطی، اقتصادی و اکولوژیکی آن در قالب کنترل بیولوژیکی (حشره کش‌های 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 ناری برنج جدا و

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 زیان آور تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرند که از مهمترین آنها می‌توان عوامل بیماریگر حشرات بویژه قارچ *Beauveria (Bals.) Vuill.* را نام برد. که امروزه به عنوان یک عامل کنترل و یک حشره کش میکروبی برای کنترل حشرات زیان آور زراعی و باغی مورد توجه و استفاده قرار می‌گیرد. فن آوری و دانش بشر در امر مبارزه با آفات در دهه اخیر بطور قابل توجهی تغییر یافته است. با توجه به اینکه بالغ بر سی سال است که کرم ساقه خوارناری برنج (*Chilo suppressalis* Walker) به عنوان آفت خطرناک در مزارع برنج شمال کشور محسوب می‌گردد، و قسمت اعظم کنترل این آفت بوسیله

۱، ۲ و ۳ - به ترتیب استادیاران پژوهش و مربی پژوهش موسسه تحقیقات برنج کشور، رشت

(\* - نویسنده مسئول: Email: majidi14@yahoo.com)

می‌شود، لذا امروزه این قارچ را در فرماتورهای بزرگ در سطح وسیع تولید می‌کنند و بکار می‌برند (۱۱). در سال ۱۹۹۴ در کشور کوبا بیش از ۵۰۰ تن قارچ *B. bassiana* در سطحی معادل ۴۰۰۰۰۰ هکتار برای کنترل سه‌گونه سرخرطومی استفاده گردید. در حال حاضر علاوه بر کنترل حشرات زیان‌آور محصولات زراعی و باغی که از قارچ *B. bassiana* استفاده می‌گردد، 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 ((*Acanthosceles 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 مناسب‌ترین 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 ۳×۷ متر در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه برنج طی دو سال متوالی ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ اجرا گردید. اجرای این تحقیق با آماده‌سازی و تهیه زمین و ایجاد خزانه و پرورش 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 با رعایت فاصله ۲۵×۲۵ سانتی‌متر با مارکر و بارقم برنج هیبرید انجام گردید. بعد از نشاءکاری 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، حشره کش دیازینون در فصل زراعی مصرف گردید. همچنین به محض ظهور دیگر 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<sup>۶</sup> کنیدیوم در میلی‌لیتر و غلظت ۱×۱۰<sup>۸</sup> 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 ۳×۷ 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

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 ۲۲۷ 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 به‌زای 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 به اینکه در بیش از نصف شالیزارهای استان‌های گیلان و مازندران برای کنترل کرم ساقه‌خوار برنج از حشره‌کش‌های شیمیائی استفاده می‌گردد، معهداً 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 ساقه‌خوار نواری 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 در مزارع برنج این کشورها وجود دارد که دارای اهمیت اقتصادی می‌باشد. در این کشورها زنجرف‌ها 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 کش‌ها 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

لوله آزمایش منتقل شدند. به منظور صحت آزمایش از لاروهای مرده یا آلوده و مشکوک به قارچ بووریا مجدداً بدن لاروهای مرده با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه ضد عفونی سطحی شده و دو تا سه بار آب شوئی با آب مقطر استریل و حذف رطوبت اضافی با کاغذ صافی استریل در داخل تشتک پتری قرار گرفتند. سپس در انکوباتور در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی گراد جهت ظهور مجدد میسلیم و آلودگی 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 اشنايدر و اورلی<sup>۳</sup> اصلاح گردیدند. در پایان داده های بدست آمده به صورت تجزیه مرکب دوساله با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار و با استفاده از نرم افزار SAS, 9.1 تجزیه و تحلیل و میانگین ها نیز با استفاده از 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. بر اساس 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 جدول ۱ مشاهده می گردد که برای لاروهای زنده اثر غلظت در سطح احتمال یک درصد معنی دار می باشد. برای لاروهای مرده اثر سال، زمان نمونه برداری، غلظت، نوع فرمولاسیون، زمان در غلظت، غلظت در نوع فرمولاسیون، سال در غلظت در سطح 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 می دهد که برای درصد لاروهای مرده اثر زمان، نوع فرمولاسیون و سال در غلظت و اثر غلظت در بترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی دار می باشد. 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 خوارنوری برنج ناشی از تأثیر قارچ *B. bassiana* مربوط به سومین مرحله از زمان نمونه برداری می باشد که بیشترین میانگین لاروهای مرده با  $49/58$  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  $44/75$  و  $41/90$  درصد بترتیب در گروه های ab و b قرار گرفتند (شکل ۱).

برنج، رشت) روی محیط<sup>۱</sup> (۴۰ گرم دکستروز، ۱۰ گرم پپتون، ۱۵ گرم آگار، ۱۰ گرم عصاره مخمر،  $0/3$  گرم استرپتومایسین و ۱۰۰۰ سانتی متر 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 حلقه ای 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 ملامل صاف گردید تا فقط اسپور قارچ تهیه گردد. تعداد اسپورهای موجود در محلول مادر<sup>۲</sup> (غلظت  $10^9$  کنیدیوم در میلی لیتر) با استفاده از لام گلبول شمارش انجام گردید. از سوسپانسیون موجود غلظت  $10^8$  کنیدیوم در میلی لیتر تهیه و سپس با استفاده از فاکتور رقیق سازی، غلظت  $10^6$  کنیدیوم 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  $120$  درجه سانتی گراد و فشار یک اتمسفر مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی گردید و بعد از ضد عفونی 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  $0/1$  درصد گلیسرین  $0/1$  درصد، نوترینت آگار  $0/1$  درصد، ملاس  $0/5$  درصد روش (۱۴) و توئین  $80$  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 بووریا بعد از آماده سازی در نیمه اول مهرماه در تیمارهای مورد نظر انجام گردید. دو روز بعد از استقرار اسپور قارچ در سطح تیمارهای آزمایشی (داخل مزرعه)،  $100$  عدد لارو ساقه خوار برنج سالم (عاری از بیماری) در هر کرت رهاسازی شدند (در مجموع  $2400$  عدد لارو). برای این کار، ابتدا لاروهای فوق را از مزرعه جمع آوری کرده و به مدت یک هفته در آزمایشگاه 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 نمونه برداری ۴۵ روز بعد از رهاسازی لاروهای ساقه خوار در کرت های آزمایشی شروع گردید. دومین و سومین نمونه برداری به ترتیب به فاصله ۴۵ روز از همدیگر انجام گرفت. در نمونه برداری ها همواره تعداد ۱۰ کپه (هر کپه شامل چهار بوته) از هر کرت آزمایشی در سطح مزرعه با حرکت روی اقطار، کف بُر شده، سپس نمونه ها به داخل کیسه های پلاستیکی درب دار قرار داده و پس از نصب و ثبت مشخصات به آزمایشگاه منتقل و در یخچال در دمای  $4^{\circ}C$  نگهداری شدند. نمونه ها به تفکیک بوته های بریده شده از یخچال خارج و همه ساقه های برنج نمونه برداری شده از قسمت طولی شکاف داده و تعداد لاروهای زنده و مرده موجود داخل ساقه ثبت و یادداشت برداری شده و هر کدام از لاروها بطور مجزا به داخل

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	لاروهای زنده	لاروهای مرده	درصد لاروهای مرده	درصد اصلاح شده
سال	۱	۱۰۴/۴۰۶ <sup>ns</sup>	۱۳۴/۴۰۸ <sup>**</sup>	۶۳۴/۳۳۳ <sup>ns</sup>	۱۷۶۳/۹۲۸ <sup>**</sup>
تکرار	۶	۳۶/۷۰۵ <sup>**</sup>	۵/۲۱۵ <sup>ns</sup>	۲۵۹/۵۳۲ <sup>ns</sup>	۳۶۷/۸۲۲ <sup>ns</sup>
زمان	۲	۱۶/۱۰۵ <sup>ns</sup>	۶۴/۱۶۳ <sup>**</sup>	۷۹۸/۹۶۲ <sup>*</sup>	۵۳۰/۷۳۵ <sup>**</sup>
غلظت	۲	۱۹۴/۶۰۱ <sup>**</sup>	۱۵۵۶/۲۴۵ <sup>**</sup>	۶۴۹۸۰/۱۹۲ <sup>**</sup>	۷۱۹۷۶/۸۶۹ <sup>**</sup>
فرمولاسیون	۱	۰/۵۳۱ <sup>ns</sup>	۱۶۴/۲۶۴ <sup>**</sup>	۹۶۴/۰۴۵ <sup>*</sup>	۴۷۵/۳۰۷ <sup>ns</sup>
زمان × غلظت	۴	۱۰/۳۹۲ <sup>ns</sup>	۲۸/۹۱۷ <sup>**</sup>	۲۰۶/۷۷۸ <sup>ns</sup>	۲۶۷/۱۴۴ <sup>ns</sup>
زمان × فرمولاسیون	۲	۱/۲۸۸ <sup>ns</sup>	۷/۰۰۷ <sup>ns</sup>	۱۸۳/۷۸۴ <sup>ns</sup>	۸۲/۰۷۸ <sup>ns</sup>
غلظت × فرمولاسیون	۲	۵/۵۰۶ <sup>ns</sup>	۷۴/۰۳۳ <sup>**</sup>	۱۱۰/۵۴۰ <sup>ns</sup>	۱۴۳/۵۹۶ <sup>ns</sup>
زمان × غلظت × فرمولاسیون	۴	۷/۸۴۲ <sup>ns</sup>	۳/۶۹۹ <sup>ns</sup>	۱۴۹/۱۵۲ <sup>ns</sup>	۱۲۸/۲۹۲ <sup>ns</sup>
سال × زمان	۲	۲۱/۰۳۰ <sup>ns</sup>	۶/۹۸۷ <sup>ns</sup>	۱۲۹/۵۱۶ <sup>ns</sup>	۱۸۹/۳۷۵ <sup>ns</sup>
سال × غلظت	۲	۱۴/۷۸۰ <sup>ns</sup>	۵۵/۹۶۱ <sup>**</sup>	۸۱۱/۲۹۰ <sup>*</sup>	۵۱۷/۳۳۵ <sup>ns</sup>
سال × فرمولاسیون	۱	۱/۱۸۸ <sup>ns</sup>	۲۲/۱۲۵ <sup>*</sup>	۸۵/۶۴۵ <sup>ns</sup>	۸/۷۷۱ <sup>ns</sup>
سال × زمان × غلظت	۴	۱/۳۴۸ <sup>ns</sup>	۱۲/۳۴۵ <sup>*</sup>	۸۶/۵۵۳ <sup>ns</sup>	۱۵۲/۵۵۳ <sup>ns</sup>
سال × زمان × فرمولاسیون	۲	۱۰/۰۹۱ <sup>ns</sup>	۶/۱۰۲ <sup>ns</sup>	۸۶/۳۷۸ <sup>ns</sup>	۸۶/۱۱۲ <sup>ns</sup>
سال × غلظت × فرمولاسیون	۲	۲/۱۶۰ <sup>ns</sup>	۱۰/۰۹۰ <sup>ns</sup>	۶۶/۴۱۲ <sup>ns</sup>	۱۲۰/۹۶۱ <sup>ns</sup>
سال × زمان × غلظت × فرمولاسیون	۴	۵/۳۷۶ <sup>ns</sup>	۲/۸۲۶ <sup>ns</sup>	۹۸/۳۸۵ <sup>ns</sup>	۱۵۵/۵۷۹ <sup>ns</sup>
خطا	۱۰۲	۸/۸۰۸	۴/۳۲۹	۲۰۳/۶۹۸	۲۰۱/۱۶۷
ضریب تغییرات (CV)		۵۴/۷۲	۳۵/۷۹	۳۱/۴۲	۳۳/۰۵

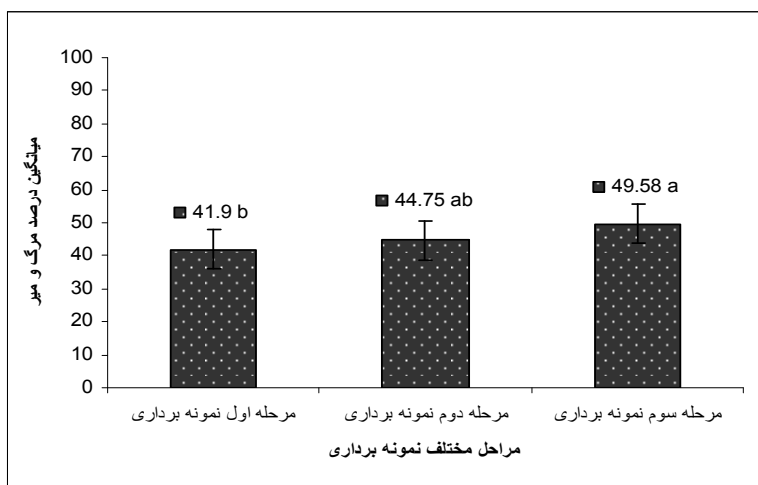
\*\* در سطح ۱٪ معنی دار می باشد. \* در سطح ۵٪ معنی دار می باشد. ns اختلاف معنی دار نمی باشد

این شکل نشان می دهد که طی سه مرحله نمونه برداری از آبان تا اسفند طی دوسال، روند مرگ و میر به طرف سومین مرحله نمونه برداری افزایش داشته و این موضوع را می توان به دلیل 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 می باشد 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 کامیل (۱۷) دما را یکی از مهمترین عوامل محیطی در رشد و توسعه بیماری در حشرات مطرح می کنند. اکسی و همکاران (۱۰) نشان دادند که در شرایط آزمایشگاهی حداقل دمای لازم برای جوانه زنی و رشد رویشی قارچ های *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* ۱۵ درجه سانتیگراد بوده و دمای مناسب برای حداکثر رشد قارچ بین ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد می باشد. مقایسه میانگین دوساله، اثر غلظت اسپور قارچ روی لارو ساقه خوار برنج نشان داد که مناسب ترین غلظت، غلظت ۱۰<sup>۸</sup> کنیدیوم در میلی لیتر با ۷۵/۸۴ درصد مرگ و میر و به لحاظ آماری در گروه a و غلظت ۱۰<sup>۶</sup>

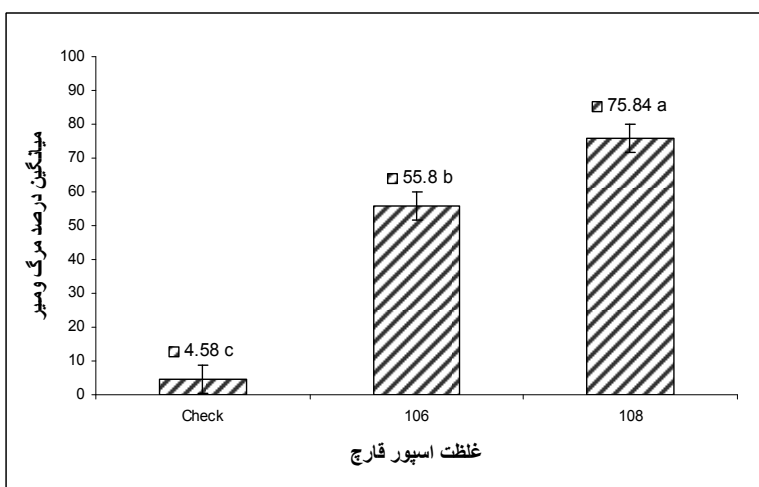
کنیدیوم با در میلی لیتر یا ۵۵/۸۰ درصد مرگ و میر در گروه b براساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد قرار گرفتند (شکل ۲).

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 ۳).

این موضوع را می توان بدین گونه تفسیر نمود که در تیمار شاهد به دلیل عدم آلودگی به قارچ مذکور، تعداد لاروهای بیشتری قدرت مهاجرت داشته و یا اینکه ممکن است در طی سه مرحله نمونه برداری تعداد محدودی از لاروهای زنده جمع آوری شده اند ناشی از حرکت و جابجایی لاروهای زنده مورد آزمایش، روی مرزها یا حتی حرکت لاروها به بقایای ساقه های برنج در کرت های آزمایشی برای زمستان گذرانی باقی مانده اند، 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 می دهد موثر بودن فاکتور غلظت ۱۰<sup>۸</sup> کنیدیوم در میلی لیتر با دو فرمولاسیون گرانول و محلول پاشی اسپور قارچ می باشد.



شکل ۱- میانگین درصد مرگ و میمر لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار ناشی از قارچ *B. bassiana* در زمان های مختلف نمونه برداری

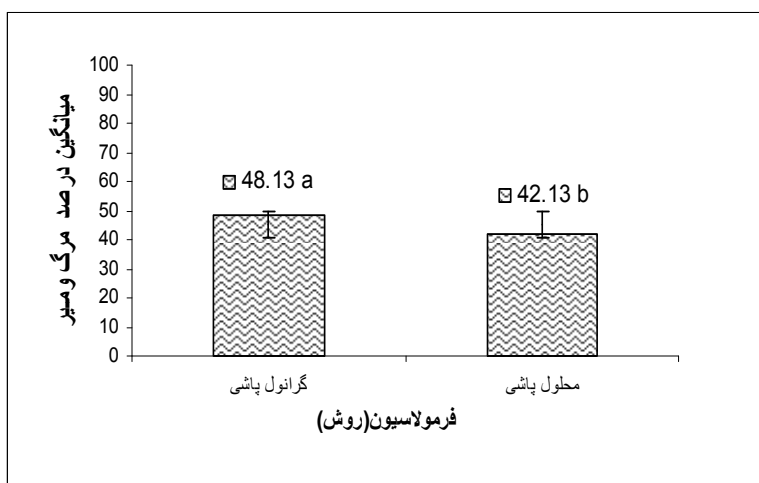


شکل ۲- میانگین درصد مرگ و میمر لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار ناشی از قارچ *B. bassiana* در غلظت های مختلف

درجه سانتی گراد رشد قارچ بطی و در ۳۸ درجه کاملاً متوقف می گردد. این تحقیق نشان داد که درصد تلفات به روش گرانول پاشی همواره بیشتر از روش محلول پاشی با قارچ بووریا بود. این تحقیق نشان داد که هیچگونه آلودگی به قارچ بووریا روی لاروهای مرده در تیمار شاهد ظاهر نگردید. مرگ و میمر لاروها ناشی از دیگر عوامل بود، اما در تیمارهای که قارچ *B. bassiana* استفاده شده بودند از بدن همه لاروهای مرده که بعد از 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 نمود.

عامل غلظت در تلفات لارو ساقه خوار نواری برنج تأثیر گذارتر می باشد. 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 می کنند، است.

شیمازو (۱۸) در بررسی تأثیر دمای مختلف در رشد مسیلیوم قارچ بووریا باسیانا نشان داد که فعالیت جدایه F- 263 از ۳۳ تا ۳۶ درجه سانتی گراد می باشد. 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 بالای ۳۵



شکل ۳- میانگین درصد مرگ و میر لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار ناشی ناشی از قارچ *B. bassiana* در فرمولاسیون های مختلف

معمولاً به عنوان آفات مهم و درجه یک تلقی می گردند. مانینا (۱۴) کارایی قارچ *B. bassiana* را در شرایط مزرعه ای روی ساقه خوار ذرت (*Chilo partellus* (Swinhoe)) با فرمولاسیون های مختلف از قبیل محلول پاشی اسپور قارچ با غلظت  $10^{13}$  کنیدیوم در میلی لیتر و گرانول پاشی قارچ با غلظت  $10^{13}$  کنیدیوم در هکتار در مقایسه با سم تری کلروفن<sup>۲</sup> بررسی نموده و از میان فرمولاسیون های مختلف، گرانول پاشی اسپور قارچ را برای کنترل ساقه خوار ذرت توصیه نمود. همچنین نامبرده تأثیر این قارچ روی آفت مذکور را بیشتر از سم تری کلروفن بیان می کند. مطالعات ما در تأثیر قارچ بووریا باسیانا در شرایط مزرعه ای و پس از برداشت در مؤسسه تحقیقات برنج نشان داد که گرانول پاشی قارچ بووریا باسیانا با بکارگیری قارچ بووریا در کنترل ساقه خوار ذرت مطابقت دارد. بینگ و لوئیس (۷) نشان دادند که قارچ *B. bassiana* رابطه آندوفیتیکی با گیاه ذرت برای کنترل لارو ساقه خوار ذرت (*Ostrinia nubilalis*) دارد، بطوریکه حرکت قارچ بووریا به داخل گیاه ذرت این امکان را می دهد که لاروهای ساقه خوار 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 و با جوانه زدن ایجاد لوله طویلی به نام هیف<sup>۳</sup> می کند. با این اندام به کوتیکول برگ ذرت نفوذ می کند. در این موقع هیف این قارچ نیز قادر است از داخل 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 قادر به حرکت داخل گیاه می باشد (۱۹). مطالعات آکلو و همکاران (۶) نشان

این آزمایش نشان داد که گرانول پاشی قارچ بووریا برای کشتن لاروهای زمستان گذران در مقایسه با محلول پاشی 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 زمستان گذران در مناطقی که کانون آلودگی در مزرعه وجود دارد را اثر حرکت، جابجایی یا مهاجرت و در صورت 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 زیان آور شالیزار بویژه لارو ساقه خوار نواری برنج نمی باشند. نمونه برداری های 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<sup>۱</sup> امکان فعالیت این قارچ را در اکوسیستم زراعی برنج به حداقل رسانده و در نتیجه کارایی لازم جهت بیماری زایی روی این آفت را در فصل زراعی کاهش می دهد. مطالعات نشان داد که در شرایط گیلان، فعالیت این قارچ با شروع بارندگی های آخر تابستان (شهریور ماه) افزایش می یابد.

استفاده از قارچ بووریا علیه کرم ساقه خوار 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 ساقه خوار نواری برنج به عنوان یک آفت کلیدی در این کشورها مطرح نمی باشد و سایر ساقه خوارها از قبیل ساقه خوارهای زرد و سرسفید،

2- Trichlorfon  
3- Germ tube

1- Ultra Violet Radiance

محلول پاشی اسپور قادر است جمعیت لاروهای زمستان گذران آفت ساقه خوار 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 محلول پاشی، مرگ و میر لاروهای ساقه خوار حداکثر تا ۵۵/۸۳ درصد بود و بعد از گرانول پاشی با غلظت مذکور قابل توصیه می‌باشد. باتوجه به اینکه لاروهای ساقه خوار 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 زمستان گذرانی 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 گرانول پاشی و با غلظت  $10^8$  کنیدیوم در میلی لیتر و قبل از مهاجرت لاروهای ساقه خوار (درماه های مهر و آبان) استفاده نمود. از طرف دیگر بدلیل فارغ بودن کشاورزان شالی کار در این مقطع زمانی و بیکار بودن آنها و نیز استفاده آسان آن و با حمایت از طبیعت، بتوان آلودگی قارچ بووریا در محیط و در 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.

داد اگر ریشه گیاه موز را در غلظت  $10^7 \times 1/5$  کنیدیوم در میلی لیتر سوسپانسیون قارچ *Beauveria bassiana* به مدت دو ساعت غوطه ور نمایند، در بافت‌های 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. آنها در آزمایش گلخانه‌ای نشان دادند که تلفات لاروهای این آفت از ۲۳/۵ تا ۸۸/۹ درصد بعد از 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 آندوفیتیکی 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 زمستان گذران آفت ساقه خوار می‌باشد. بررسی نتایج آزمایش قبل، صحت‌ای بر این تحقیق می‌باشد. به دلیل دوام، استقرار و کلنیزاسیون قارچ در شرایط مزرعه و داخل ساقه برنج در فصل غیر زراعی باعث بیمار شدن آفت ساقه خوار می‌گردد، همچنین نتایج نشان داد که جمعیت انتقالی کرم ساقه خوار 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 خاکری بوده<sup>۱</sup> و در فصل‌های پائیز و زمستان علاوه بر اینکه روی لاروهای ساقه خوار برنج فعالیت و زندگی می‌کند، قادر است در ۲ تا عمق ۵۰ سانتی متری 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  $10^8$  کنیدیوم در میلی متر از قارچ *B. bassiana* به روش گرانول پاشی نسبت به

### منابع

- ۱- خسروشاهی م. نیکخو ف. دزفولیان ع. و بنی‌هاشمیان ا. ۱۳۵۸. ارزیابی خسارت ساقه خوار برنج و مبارزه با آن. شریه آفات و بیماری‌ها. ۱۰۷-۴۷:۱۱۹.
- ۲- مجیدی شیلرس ف. علی نیا ف. و ارشاد ج. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر قارچ *B. bassiana* روی کرم ساقه خوار نواری برنج در شرایط مزرعه. دانشگاه همدان. هیجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۳۱
- ۳- مجیدی شیلرس ف. کمالی ک. علی نیا ف. و ارشاد ج. ۱۳۸۱. بررسی موقعیت اکولوژیکی و بیماری‌زایی قارچ *Beauveria bassiana* روی کرم ساقه خوار نواری 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 شیلرس ف. کمالی ک. علی نیا ف. و ارشاد ج. ۱۳۸۲. اثر دما در جوانه زنی، رشد مسلیوم و بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Beauveria bassiana* (Deut., Moniliales) Vuillemin (Balsamo) Walker روی کرم ساقه خوار نواری برنج *Chilo suppressalis* walker (Lep., Pyralidae). آفات و بیماری‌های گیاهی جلد ۷۱، شماره ۱، ۱۳۹-۱۲۳.

- ۵- وکیلی ا. ۱۳۷۷. ضمیمه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشده 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 subchronic 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 insects. 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.