مجله علوم كشاورزي ايران
جلد ۳۸، شماره ۱، سال ۱۳۸٦ (۱۴۳-۱۳۵)

معرفي و مطالعه بيماريزايي دو گونه قارچ *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* درکرم ساقه‌خوار نواري برنج *Chilo suppressalis* Walker(Lep.,Pyralidae) در گيلان

فرزاد مجيدي شيلسر[1]، جعفر ارشاد[2]، فريدون پاداشت[3]
۱، استاديار پژوهش و عضو هيأت علمي مؤسسه تحقيقات برنج، رشت ۲، استاد پژوهش مؤسسه تحقيقات آفات و بيماريهاي گياهي، تهران ۳، استاديار پژوهش مؤسسه تحقيقات برنج، رشت
(تاريخ دريافت:۸۳/۶/۳ - تاريخ تصويب: ۸۴/۹/۹)

چكيده

در اين بررسي كه به منظور شناسايي و بيماريزايي عوامل قارچي كرم ساقه‌خوار نواري برنج[1] (SSB) انجام شد. نمونه‌هاي آلوده و مرده لارو ساقه‌خوار از شاليزارهاي مختلف استان گيلان جمع‌آوري شدند. براي جداسازي قارچهاي بيماريزا، ابتدا لاروهاي مرده و مشكوك به قارچ با الكل اتيليك ۹٦ درصد و كلراكس ۳ درصد به مدت ۱ دقيقه و با سه بار آبشويي، ضدعفوني سطحي گرديدند. لاروهاي ضدعفوني شده به جهت رشد ميسليوم و اسپوردهي در اطاقك رشد[2] نگهداري شدند. پس از توليد ميسليوم (دو روز تا سه روز)و اسپوردهي ۵ تا ۷ روز روي بدن لاروهاي مذكور، تك‌اسپور و خالص‌سازي قارچها در محيطهاي غذايي **PDA** و **SDAY** انجام شد. براساس مشخصات، ماكروسكوپي و ميكروسكوپي دو گونه ***Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.** و ***Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok,** شناسايي گرديدند. بر اساس اين بررسي اسپورهاي قارچ ***B.bassiana*** ، شفاف، كروي تا نيمه‌كروي و اندازة آنها (۳-۲×۳/۵-۲) ميكرومتر بودند. در قارچ **M.anisopliae** اسپورها بي‌رنگ تا كمي‌رنگي، سيلندري تا تخم‌مرغي در وسط كمي باريكتر و در دو انتها گرد و اندازه آنها (٤-۲×۹-۳/۵) ميكرومتر بود. بيماريزايي قارچهاي سوا شده از كرم ساقه‌خوار نواري برنج با غوطه‌ور كردن لاروهاي زنده سن پنجم در سوسپانسيوني با تراكم ۱×۱۰^{٦} كنيديوم در ميلي‌ليتر به مدت ۲۰-۱۵ ثانيه انجام گرديد و سپس به اطاقك رشد انتقال داده شدند. نتايج نشان داد كه مرگ و مير لاروها و اسپورزايي روي آفت مذكور بوسيله قارچ ***B.bassiana*** به ترتيب ۷۵/۵۵ و ۷۱/۱۱ درصد و با قارچ ***M.anisopliae*** ٦۷/٤٤ و ٦۲/۲۲ درصد بود.

واژه‌هاي كليدي: كرم ساقه‌خوار نواري برنج، قارچ‌هاي بيماريزا، رشد ميسليومي، اسپوردهي، آلودگي

مقدمه

كرم ساقه‌خوار نواري برنج از آفات مهم در شاليزارهاي شمال كشور مي‌باشد. كنترل اين آفت در سالهاي اوليه طغيان استفاده از روش شيميائي متمركز شده بود. امروزه دشمنان طبيعي مختلف از قبيل حشرات مفيد، عنكبوت‌ها و عوامل بيماريزا، ... از موقعيت خوبي در رابطه با كنترل اين آفت برخوردار مي‌باشند. از ميان دشمنان طبيعي كرم ساقه‌خوار نواري برنج ميتوان عوامل بيماريزاي قارچي را نام برد كه موجب مرگ و مير لاروهاي زمستان‌گذران در مزارع برنج مي‌شوند (۳). بنابراين، شناسايي اين عوامل روي آفت ساقه‌خوار برنج ضروري مي‌باشد. مجيدي و همكاران(۱۳۸۲) در بررسي اثر دما در جوانه‌زني، رشد شعاعي مسيليوم و

* نويسنده مسئول: فرزاد مجيدی شيلسر
تلفن: ۰۱۳۱-۶۶۹۰۰۵۲ E-mail: majidi14@yahoo.com

1. Striped stem borer
2. Growth chamber

بيماريزايي قارچ *B. bassiana* روي كرم ساقه‌خوار نواري برنج در شرايط آزمايشگاهي نشان دادند كه دما عامل مهمي در فعاليت بيماريزايي اين قارچ داشته بطوري‌كه از ١٠ تا ٣٠ درجه سانتي‌گراد(دماهاي تحت آزمايش) دماي بهينه براي فعاليت اين قارچ ٢٥ درجه سانتي‌گراد بوده است. با توجه به موقعيت قارچهاي بيماريزاي حشرات در ايران و جهان استفاده از تركيبات تجارتي مختلف از جايگاه ويژه‌اي در كنترل حشرات زيان‌آور برخوردار هستند. ان‌دويه(١٩٧٦) آلودگي مراحل مختلف زيستي كرم ساقه‌خوار نواري برنج به قارچ*B. Bassiana* را از فرانسه گزارش نمود. اتيو و همكاران (١٩٩٤) بيماريزايي قارچ *B. bassiana* را روي لاروهاي ساقه‌خوار نواري برنج در شرايط مزرعه‌اي بررسي و آلودگي مرحله لاروي را گزارش كرده‌اند.آشوك و همكاران (١٩٩٦) فعاليت قارچهاي*B.bassiana*، *Metarhizium anisopliae* و *Fusarium oxysporum* را از روي ١١ گونه آفات پروانه اي وغير پروانه اي مزارع نيشكر بخصوص ساقه‌خوارهايي از قبيل *Chilo auricilius* , *C. infuscatellus* و *Sesamia inferens* شناسايي و معرفي كرده‌اند.

گاردزي و محمود(١٩٩٨) آلودگي ساقه‌خوار ذرت (*C. partellus*) به ٩ گونه از قارچهاي فعال شامل *B.bassiana*، *M.anisopliae*، *M.brunncum* ، *Aspergillus flavus*، *A.fumigatus* ، *A.orgzae* ، *A. tamarii* و *A. bisporus* و *A. candidus* را در مزارع ذرت پاكستان معرفي نموده‌اند. لي(١٩٩٣) آلودگي ١١ گونه از قارچهاي بيماريزا را روي ساقه‌خوارهاي نيشكر در كشور چين مورد مطالعه قرارداده‌است.

مطالعات مانيانيا (١٩٩٣) نشان دادكه براي كنترل كرم ساقه‌خوار ذرت (*C. partellus*) گرانول‌پاشي قارچ *B. bassiana* در مقايسه با سم تريكلروفن بهترين اثر را داشته است.

كاداتال و گابريل (١٩٧٠) در بررسي تاثير نه حشره كش و سه قارچ كش در رشد و جوانه زني قارچهاي *B. bassiana, M. anisopliae* و *Entomophtora sp.* به اين نتيجه رسيدند كه اسپورهاي *M.anisopliae* در محيط غذايي فاقد حشره‌كش‌ها تا ٩٠ درصد لارو ساقه خوار نواري برنج(*Chilo suppressalis*) را از بين‌برده است، اما اسپورهاي‌اين قارچ درمحيط غذايي‌حاوي حشره‌كش‌ها مرگ و مير ٥٠تا٨٥ درصد را از روي لارو اين آفت گزارش كرده اند. نيكل (١٩٦٤) قارچ بيمارگر *Paecilomyces farinosus* را از كرم ساقه‌خوارنواري‌برنج از ژاپن گزارش نموده است.

رائو(١٩٧٥) آلودگي ساقه‌خوارهاي برنج به قارچ *B.bassiana* مورد مطالعه قرار داده است. رامباخ‌وهمكاران (١٩٩٤) قارچهاي‌بيمارگراز قبيل *M. flavoviride* ، *M. anisopliae*، *Hirsutella spp* و *B. bassiana* همچنين‌قارچهاي‌ساپروفيت *Penicillium sp.*، *spp. Aspergillus* و *Fusarium sp.* را در مزارع برنج مناطق گرمسيري آسيا ونيمه گرمسيري معرفي كرده‌اند.رضواني و شاه‌حسيني(١٣٥٥) فعاليت قارچ *B. bassiana* را از روي لارو وشفيره‌هاي ساقه‌خوارنواري برنج گزارش كرده‌اند.

جعفري‌خالجيري و همكاران(١٣٧٩) فعاليت قارچ *M. anisoplia* را ازروي كرم‌سبز برگخوار برنج بيان كرده است. امروزه از اين قارچها تركيبات تجارتي با نامهاي بوورين[1]، بوتانيگارد[2]، ناچراليس[3] ، مايكوترول[4] و متاكوينو[5] درنقاط مختلف جهان توليد گرديده و براي كنترل آفات گوناگون استفاده مي‌گردد. هدف از اين تحقيق شناسايي و مقايسه بيماريزايي قارچهاي بيماريزاي كرم ساقه‌خوار نواري برنج، امكان استفاده وبكارگيري اين عوامل براي كنترل حشرات زيان‌آور مهم مزارع برنج و همچنين كاهش آلودگيهاي زيست محيطي ناشي از اثرات سوء سموم شيميائي (حشره‌كش‌ها) درشاليزارها مي‌باشد.

مواد و روشها

الف- نمونه‌برداري

نمونه‌برداري طي سالهاي ٧٨-١٣٧٧ از شاليزارهاي مختلف استان گيلان انجام گرفت، بدين ترتيب كه با بازديد

1. Boverin
2. Botanigard
3. Naturalis
4. Mycotrol
5. Metaquino

از مزارع برنج آلوده لاروهاي مرده موجود در نمونه‌هاي كاه و كلش بطور تصادفي با تعداد ۲۰ كادر ۰/۵×۰/۵ متر در سطح يك هكتاراز داخل و حاشيه مزارع برنج جمع‌آوري شدند. بقاياي گياهي نمونه‌برداري شده داخل كيسه‌هاي پلاستكي قرار داده و درب آنها مسدود گرديد.تعدادي از لاروهاي مرده كه حين نمونه‌برداري جمع‌آوري شدند بطور مجزا داخل لوله‌هاي آزمايش قرار داده و پس ازثبت مشخصات لازم به آزمايشگاه منتقل گرديدند.در آزمايشگاه لاروهاي مرده وبيمارمربوط به هر منطقه تفكيك و دريخچال ٤°c نگهداري شده تا به موقع از آنها استفاده شوند.

ب – جداسازي و خالص‌سازي عوامل بيماريزا

براي جداسازي قارچهاي بيماريزاي كرم ساقه‌خوار نواري برنج، لاروهاي آلوده و يا نمونه‌هاي مشكوك به قارچ كه جمع‌آوري شده بودند با الكل اتيليك ۹٦ درصد و كلراكس ۳% به مدت ۱ دقيقه ضدعفوني سطحي و با آب مقطر استريل سه بار آبشويي شدند. لاروهاي مرده ضدعفوني شده بطورجداگانه داخل تشتك‌هاي پتري ۵ سانتي‌متر، حاوي كاغذ صافي استريل و پنبه استريل مرطوب قرارداده شده، سپس در دماي ۲ ±۲۵ درجه سانتيگراد با رطوبت نسبي ۵ ±۸۵ درصد داخل اطاقك رشد و در شرايط تاريك انتقال داده شدند. پس از ٤۸ ساعت روي بدن لاروهاي آلوده، قارچها شروع به رشد ميسليومي كرده و ازپنج تا هفت روز بعد، اسپورزايي روي بدن لاروها انجام شد. بعد از اسپورزايي، خالص‌سازي قارچها از روش تك اسپور[1] كردن استفاده شد. براي اين كارابتدا مقداري ازاسپورهاي قارچ از سطح بدن لاروها برداشته ودر۱۰ ميلي‌ليتر آب مقطر استريل اضافه گرديد، تا به صورت سوسپانسيون تقريباً يكنواخت تبديل شود. سپس يك ميلي‌ليتر از اين سوسپانسيون در ۹ ميلي‌ليتر آب مقطر ديگر مخلوط گرديد تا نسبت ۱ به ۱۰ بدست آيد. از محلول اخير يك ميلي‌ليتر در ۹ ميلي ليتر آب مقطر ديگر ريخته شده تا رقيق تر گردد، اين كاهش رقت تا جايي ادامه يافت كه اسپورها در زمينه ميكروسكوپ به طور مجزا و قابل تشخيص بودند بطوريكه تعداد ۱ تا ۲ عدد اسپور با بزرگنمائي ٤۰x قابل مشاهده بود. از سوسپاسيون فوق حدود ۵/. ميلي‌ليتر در سطح محيط كشت آب‌آگار[2] ۱/۵ درصد ريخته و پخش گرديد. پس از گذشت ۲٤ ساعت مسيرهاي حاوي اسپور در زير ميكروسكوپ رديابي و در صورت برخورد با اسپور جوانه‌زده به محيط غذايي PDA[3] وSDAY[4] منتقل شدند. سپس تشتك‌هاي پتري مواد غذايي فوق در دماي ۲ ± ۲۵ درجه سانتيگراد و رطوبت نسبي ۵ ± ۸۵ درصد در شرايط تاريك قرار گرفتند تا پرگنه[5] قارچ تشكيل شود.

ج- شناسايي قارچها

بطور كلي جهت شناسايي قارچها، مشخصات ماكروسكوپي نظير رنگ كنيديوم و رشد پرگنه، مشخصات ميكروسكوپي شامل اندازه كنيديوم، شكل كنيديوم، كنيديوفورها و اندامهاي بارده موجود روي بدن ميزبان و در محيط كشت مورد مطالعه قرار گرفت.

د- بررسي بيماريزايي گونه‌هاي قارچي

به منظور اثبات بيماريزائي، سوسپانسيوني از قارچها تهيه وبيماريزايي آنها روي لاروهاي زنده سن پنجم ساقه‌خوار نواري برنج درشرايط آزمايشگاه مورد بررسي قرارگرفت.براي تهيه اسپورغالباً از محيط غذايي SDAY استفاده گرديد.گونه‌هاي قارچ پس ازكشت روي SDAY دردماي ۲ ± ۲۵ درجه سانتيگراد نگهداري شدند. پس از كشت ۱٤-۱۲ روز، اسپورها جدا و در آب مقطر استريل اضافه شدند.به كمك اسلايد گلبول شمار[6] تراكم اسپورها به ٦ ۱۰×۱ كنيديوم در ميلي‌ليتر رسانيده شد، از اين سوسپانسيون قارچي براي مايه‌زني لاروهاي زنده ساقه‌خوار نواري برنج و به روش غوطه‌ور كردن استفاده شد.

بيماريزايي قارچها با تعداد ٤۵ عدد لارو زنده سن پنجم ساقه‌خوار نواري برنج براي دو گونه قارچ بر اساس طرح كاملاً تصادفی(CRD) [7] با سه تيمار و سه تكرار مورد بررسي قرار گرفت. بطوريكه لاروهاي ساقه‌خوار در مخلوط

1. Single Spore

2. Water agar
3. Potato agar glugose
4. Sabouraud dextrose agar
5. Colony
6. Haemocytometer
7. Completely randomized design

مايه‌ي $۱۰^{٦}$ كنيديوم در ميلي‌ليتر وتوئين[1] ۸۰ ، دوصدم در صد (به منظورپخش يكنواخت اسپورها) براي مدت ۲۵ تا ۳۰ ثانيه غوطه‌ور گرديدند. سپس لاروها بطور همـــزمان بوسيله الك پلاستيكي از سوسپانسيون فوق خارج وبا تفكيك ۱۵ عدد لارو زنده آلوده به داخل هرتشتك پتري شيشه‌اي(قطر ۱۰ سانتيمتر)كه حاوي كاغذصافي استريل، پنبه مرطوب همچنين قطعاتي از ساقه‌هاي تازه گياه برنج(جهت تغذيه و مستقر شدن لاروها در آن) بودند، منتقل شدند. سپس همين عمل براي قارچ ديگر روي لاروهاي زنده سن پنجم ساقه‌خوار نواري برنج انجام گرديد. تيمارهاي‌شاهد در محلول توئين ۸۰ ، دوصدم درصد غوطه‌ورشدند. همه تيمارهادردماي ۲ ± ۲۵ درجه‌سانتي‌گراد در انكوباتور به مدت دو هفته نگهداري شدند. با توجه به آلودگي و بيمار شدن لاروها بوسيله قارچهاي فوق،ميانگين درصد مرگ و مير لاروها براساس فرمول ابوت[2] (۵) تصحيح و براساس آزمون چنددامنه دانكن در سطح احتمال ۵% > P گروه‌بندي گرديد. نظر به اينكه روي لاروهاي مرده ساقه‌خوار نواري برنج در تيمار شاهد هيچگونه اسپورزايي انجام نگرديد، مقايسه اسپورزايي بين دو تيمار متأثر از قارچهاي فوق براساس آزمون T-test صورت گرفت.

نتايج و بحث

الف- شناسايي گونه‌هاي قارچي

در اين بررسي رشد ميسليومي قارچها، ۲٤ تا ٤۸ ساعت بعد از مرگ لاروها آغاز گرديد. از نكات قابل توجه اين است كه رشد ميسليومي دو گونه قارچ در ابتدا پوشش سفيد رنگ داشته و از لحاظ ظاهري از همديگر متمايز نمي‌باشند، اما در مرحله اسپورزايي كاملاً متمايز بوده بطوريكه رنگ توده كنيديومهاي قارچ *B.bassiana* سفيد و مجموعه كنيديومهاي قارچ*M. anisopliae* سبز مي‌باشند. منابع موجود با توجه به مشخصات مورفولوژيكي و خصوصيات ميكروسكپي تعيين شده و نيز براساس كليد شناسايي سامسون(۱۹۸۱)، تالوچ(۱۹۷٦) و هوگ (۱۹۷۲)، دو گونه *B. bassiana* (Bals.) Vuill. و *M. anisopliae* (Metsch.)Sorok. شناسايي و توسط ارشاد تأئيد گرديد.اين تحقيق نشان داد قارچ *B. bassiana* درسطح محيط‌كشت SDAY پشم مانندوپودري سفيد رنگ به‌نظر مي‌رسد. رشته‌هاي ميسليومي اين قارچ استوانه‌اي، بي‌رنگ و داراي ديواره عرضي بوده، رنگ پرگنه ابتدا سفيد سپس به رنگ كرم تا نخودي تبديل مي‌شود(شكل ۱).

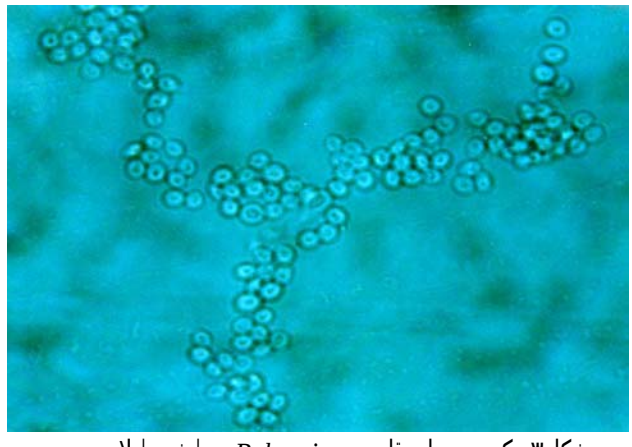
در قارچ *B. bassiana* سلولهاي توليد كننده كنيديوم، كوزه‌اي شكل، در قاعده متورم و در انتها داراي يك محور زيكزاگي شكل با ساختمان خوشه‌اي و مجتمع مي‌باشد. كنيديومهاي‌اين قارچ روي محور زيگزاكي قرارمي‌گيرند(شكل۲).

نتايج حاصل از اين تحقيق نشان داد كه كنيديومهاي قارچ *B.bassiana* بي‌رنگ با ديواره صاف، كروي تا نيمه كروي و اندازه آنها (۳-۲×۳/۵-۲) ميكرومتر مي‌باشد (شكل۳).

شكل۱- پرگنه قارچ *B. bassiana* در محيط كشت SDAY

شكل۲- قارچ *B. bassiana* در زير ميكروسكوپ
با بزرگنمايي تقريبي X٤۸۰

1. Tween 80
2. Abbott's formula



شكل۳- كنيديومهاي قارچ *B. bassiana* جدا شده ازلارو ساقه‌خواربرنج با بزرگنمائي تقريبي X۱۲۰۰

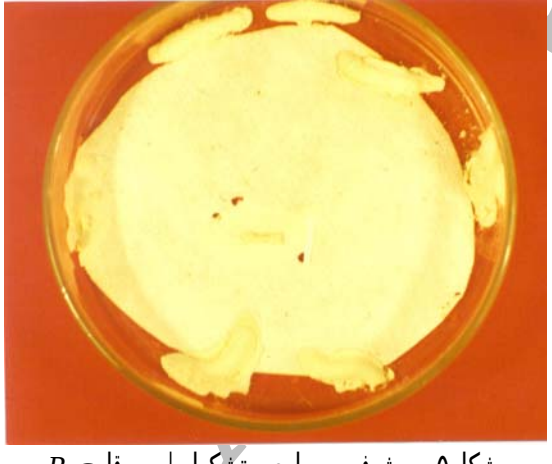
۱۰۰× C-T /C = درصد تأثير تلفات در تيمارها C= تعداد حشرات زنده درقطعات شاهد T= تعداد حشرات زنده در قطعات سمپاشي شده

مطالعات بن‌هام و ميرندا (۱۹۵۳) در معرفي قارچ *B. bassiana* نشان داد كه ميسليومهاي اين قارچ سفيد با ظاهري پودري تا پشمي، كنيديوفورها منفرد، درقاعده پهن و انتهاي آن با يك محور زيگزاگي بوده، اسپورها بي‌رنگ، شفاف، گرد تا تخم‌مرغي و تك‌سلولي مي‌باشند.

بررسيهاي مك لود(۱۹۵٤)نشان دادكه۵۷ درصد اسپورهاي *B.bassiana* كروي باقطر (٤-۱) ميكرومتروع۴۳ درصد اسپورها بيضوي واندازه آنها (۵/۵-۱/۵×۳-۱) ميكرومترمي باشند.مطالعات رامباخ و همكاران (۱۹۹٤) نشان داد اسپورهاي اين قارچ كروي تا بيضوي بوده واندازه آنها (۳/۵-۲/۵) ميكرومترميباشند. در اين صورتي است كه هوگ(۱۹۷۲) بيان مي كنداسپورهاي قارچ فوق كروي تا نيمه كروي و اندازه آنها (۲/۵-۲×۳-۲) ميكرومترمي باشند.لي (۱۹۸۷) گزارشي مبني براينكه اندازه اسپورهاي چهار نژاد A,B,C,D از *B.bassiana* كه در محيط غذايي PAG[1] كشت داده شده بودند،از ۳/۲-۲/۷ ميكرومترمتغير بوده را ارايه نموده است. نتايج اين بررسي نشان داد كه لاروهاي آلوده مورد آزمايش داخل انكوباتور بعد از ۲ تا ۳ روز تلف شدند. از علائم تيپيك بيماريزايي اين قارچ روي لاروهاي مرده، تغيير رنگ بدن لاروها به قرمز تند در مراحل اوليه بيماري و سپس مومياني شدن بدن آنها بوده است (شكل ٤).

شكل٤- تغيررنگ ومومياي شدن لارو ساقه‌خوار نواري برنج توسط قارچ*B. bassiana*

در مرحله پيشرفت بيماري ،لاروهاي آلوده به *B. bassiana* ابتـــدا با پوشش سفيد رنگي از ميسليوم قارچ كه اطراف آن را بطور كامل در برگرفته، مشاهده مي‌گردد.پنج تا هفت روز بعد، روي بدن لاروهاي مرده، اسپورهاي به رنگ سفيدتا كرم تشكيل مي گردد(شكل۵).

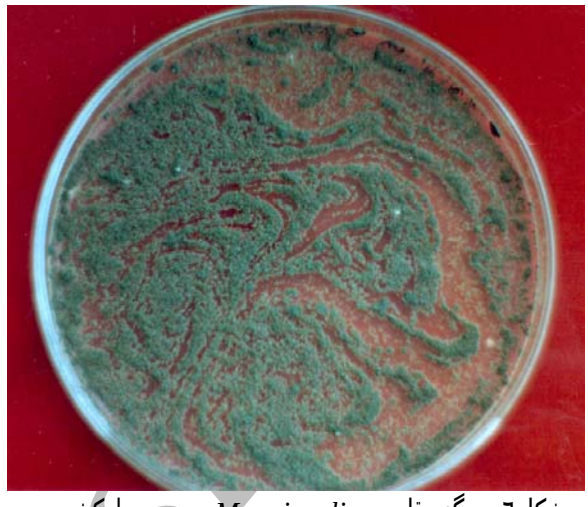


شكل۵- پيشرفت بيماري وتشكيل اسپورقارچ *B bassiana*. روي لاروهاي مرده ساقه‌خوارنواري برنج

گونه ديگر قارچ*M. anisopliae* مي‌باشـــد، اين قارچ در سطح محيط كشت SDAY ابتدا به شكل توده ميسليومي سفيد رنگ نمايان مي گردد، كه ازاين لحاظ كاملا" شبيه توده ميسليومي قارچ *B.bassiana*، مي باشد.اما اين قارچ بعد ازسه روز شروع به جوانه زدن نموده و

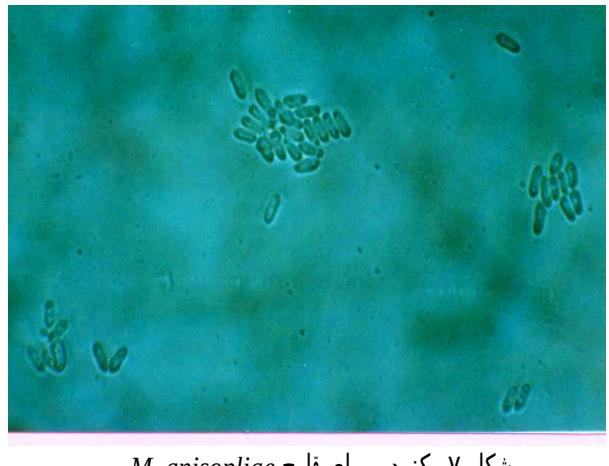
1 . Peptone agar glugose

٥تا٧ روز بعدبه توده‌هاي پودري سبز تيره تا سبز روشن كه تغييررنگ مي دهد، قابل مشاهده است(شكل ٦).



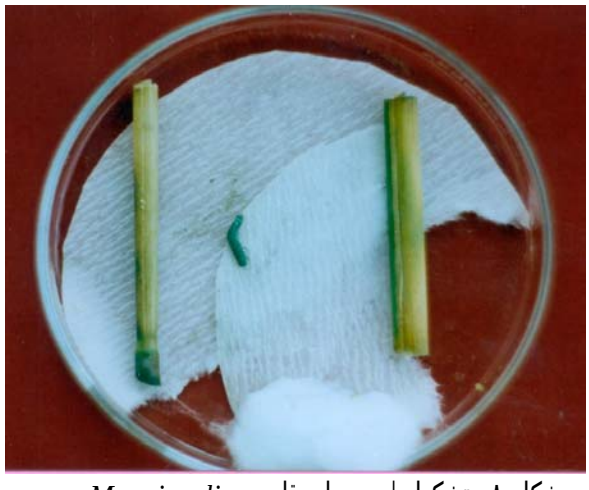
شكل٦- پرگنه قارچ *M. anisopliae* در محيط كشت SDAY

اين بررسي نشان داد قارچ داراي فياليدهاي[1] استوانه‌اي شكل با كنيديوفورهاي زمخت مي‌باشد.كنيديومها استوانه‌اي تا بيضوي شكل ودر دو انتهاگرد مي‌باشند.اندازه اسپورها (٤-٢×٩-٣/٥) ميكرومتر مي‌باشد(شكل ٧). تالوچ(١٩٧٦)در بررسيهاي خود نشان داد كه اسپورهاي قارچ*M. anisoplie* به شكل بيضي در دو انتها گرد و طول اسپورها(٩ -٣/٥) ميكرومترمي باشند.



شكل ٧- كنيديومهاي قارچ *M. anisopliae* با بزرگنمايي تقريبي X١٢٠٠

لاروهاي آلوده به *M.anisopliae* ابتدا با پوشش سفيد رنگي از ميسليوم قارچ قابل مشاهده بوده ،اما پس از اسپورزايي، و توده‌هاي از اسپور به رنگ سبز زيتوني كه پوشش بيروني بدن لارو آلوده و مرده را فرا مي‌گيرد،قابل توجه مي باشد (شكل٨).



شكل ٨- تشكيل اسپورهاي قارچ *M. anisopliae* روي لارو مرده ساقه‌خوار نواري برنج

تالوچ (١٩٧٦) در بررسيهاي خود نشان دادكه كنيديومهاي گونه *M. anisopliae* به شكل بيضي در دو انتها گرد و مدور بوده وطول كنيديومهاي ٩-٣/٥ ميكرومتر مي‌باشد. در صورتيكه مطالعات رامباخ و همكاران (١٩٩٤) نشان مي‌دهد كه كنيديومهاي قارچ *M. anisopliae* سيلندري تا بيضوي پهن و در دوانتها گرد و اندازه آنها (٤-٥ /٢×٨/٥-٤/٥) ميكرومتر مي‌رسد. بررسيهاي پچ (١٩٣٠) در شرح قارچهاي بيماريزاي حشرات اظهار مي‌دارد كه در قـــارچ *M. anisopliae*، كنيديوفورها بصورت لايه‌لايه بوده، فيالدها منفرد، كنيديومها روي زنجيزه‌هاي قاعده‌اي تشكيل شده و بصورت ستونهاي درهم رفته، بيضي شكل تا سيلندري، تك سلولي به رنگ سبز زيتوني مشاهده مي‌گردند.

ب – بيماريزايي قارچهاي شناسايي شده روي‌لاروهاي ساقه‌خوار نواري برنج

نتايج حاصل از تجزيه واريانس تأثير بيماريزايي قارچهاي

B . bassiana و *M. anisopliae* روي لاروهاي ساقه‌خوار نواري برنج نشان داد كه اختلاف معني‌داري در بين تيمارها

1 . Phialide سلول تخصص يافته توليد كننده اسپور

جدول ١- ميزان مرگ و مير واسپورزايي لاروهاي سن پنجم ساقه‌خوار نواري برنج بوسيله قارچهاي جدا شده

تيمار	تعداد كل لارو	ميزان مرگ ومير	درصد مرگ و مير	درصد مرگ ومير اصلاح شده	درصد اسپورزايي روي لاروهاي مرده
B . bassiana	٤٥	٣٤	٧٥/٥٥a	٧٤/٤١	٧١/١١
M . anisopliae	٤٥	٣١	٦٨/٨٨a	٦٧/٤٤	٦٢/٢٢
Control	٤٥	٢	٤/٤٤b	٠	٠

ميانگين‌هاي داراي حروف مشابه بيانگر عدم اختلاف معني‌دار در سطح احتمال 5% >P براساس آزمون چند دامنه دانكن مي‌باشد.

از لحاظ مرگ و مير لاروها در سطح احتمال ١% > P وجود دارد. جدول ١ ميزان مرگ و ميرو اسپورزايي لاروهاي سن پنجم ساقه‌خوار نواري برنج را نشان مي‌دهد.

جدول بعد نشان مي‌دهدكه ميانگين مرگ و مير لاروها بوسيله قارچ *B.bassiana* و*M. anisopliae* با تيمار شاهد از لحاظ آماري تفاوت معني‌داري داشته وبه ترتيب با ٧٥/٥٥ و ٦٨/٨٨ درصد در گروه a اما تيمار شاهد با ٤/٤٤ درصد در گروه b قرار گرفتند. نتايج حاصل از اين بررسي نشان داد كه هيچگونه اسپورزايي روي لاروهاي مرده در تيمار شاهد انجام نگرفته، اما اسپورزايي روي لاروهاي مرده در تيمارهايي كه بوسيله دو گونه قارچ *B . bassiana* و *M . anisopliae* آلوده شده بودند به ترتيب ٧١/١١ و ٦٢/٢٢ درصد بود. باتوجه به اينكه قارچ‌هاي *B.bassiana* و *M . anisopliae* ميزبانهاي متعددي دارند، بيماريزايي آنها نيز روي اين ميزبانها متفاوت مي‌باشد.

بررسيهاي ان‌دايه (١٩٧٦) نشان داد كه قارچ *B . bassiana* در شرايط آزمايشگاهي روي لاروهاي بالغ، شفيره‌ها و حشرات كامل ساقه‌خوار نواري برنج (*C. suppressalis*) در تراكم 3×10^{7} كنديوم در ميلي‌ليتر آلوده شده بودند تلفات آنها از ٨٧-٥٣ درصد متغير بوده است. ان دايه (١٩٧٧) در بررسي بيماريزايي اين قارچ روي كرم ساقه خوار نواري برنج نشان دادكه تلفات مراحل لاروي وشفيره‌گي اين‌آفت به‌ترتيب ٧٥-٣٠ و٨٦/٧-٤٣/٣ درصد بوده است. در صورتيكه نتايج اين بررسي نشان داد كه مرگ و مير لاروهاي سن پنجم ساقه‌خوار نواري برنج درتراكم 10^{6} كنديوم در ميلي‌ليترازقارچ *B . bassiana* تا ٧٥/٥٥ درصد موجب تلفات گرديد. نتايج مطالعات لي (١٩٨٧) درچين نشان داد كه قارچ *B. bassiana* داراي چهار نژاد A,B,C,D مي باشد. اين نژادهااز دوگونه زنجرك سبز وكرم ساقه خوار نواري كه از حشرات زيان آور مزارع برنج محسوب مي شوند، جدا گرديده اند.او در بررسي تاثير بيماريزايي نژادهاي فوق روي كرم ساقه خوار نواري برنج به اين نتيجه رسيد كه در صد تلفات نژادهاي B, A وE به ترتيب ٧٥/٦، ٥٦/٣ و ٤٨/٥ بوده است.همچنين او گزارش مي كند كه تاثير نژاد F از سه نژاد ديگر بيشتر بوده و مرگ و مير ناشي از اين نژاد بيش از ٨١/٥ درصد روي اين آفت مي باشد.

نظر به اينكه كرم ساقه‌خوار ذرت (*Chilo partellus*) به لحاظ رده‌بندي و تاكسنومي هم خانواده كرم ساقه‌خوار نواري برنج بوده و متعلق به خانواده *Pyralidae* مي‌باشد و نيز به لحاظ رفتار تغذيه‌اي شبيه به اين آفت مي‌باشد، در اين ارتباط مانيانيا و همكاران (١٩٩٤) در آزمايشهاي مزرعه‌اي خود نشان دادند كه دو گونه قارچ *B . bassiana* و *M . anisopliae* در تراكم 1×10^{11}-٢ كنديوم در هكتار تا ٣٠ درصد تلفات دستجات تخم اين آفت را موجب گرديد.

بررسيهاي مانيانيا (١٩٩٢) نشان داد بيماريزايي قارچ *B. bassiana* در لاروهاي سن دوم ساقه‌خوار ذرت (*C. partellus*) و همچنين در سن پنجم و ششم لاروهاي ساقه‌خوار *Busseola fusca* از ٣ تا ١٠٠ درصد و همچنين تأثير بيماريزايي بوسيله قارچ *M. anisopliae* در دو حشره مذكوراز ٦٥ تا ١٠٠ درصدتلفات‌را باعث شدند. نتايج بررسي‌اثر دوگونه‌قارچ *B. bassiana* و *M. anisopliae* روي لاروهاي سن پنجم ساقه‌خوار نواري برنج در مؤسسه تحقيقات برنج (رشت) نشان داد كه اين دو قارچ از لحاظ قدرت بيماريزايي اختلافي ندارند. بررسيهاي اين

تحقيق نشان داد كه دو گونه قارچ *B . bassiana* و *M . anisopliae* مي‌تواند از پتانسيل بالايي براي كنترل آفات مهم برنج داشته و از جايگاه و موقعيت مناسبي در مديريت تلفيقي آفات برخوردار باشند.

سپاسگزاري

بدينوسيله نگارندگان ازرياست محترم مؤسسه تحقيقات برنج و مديريت محترم پروژه IPM برنج كه امكانات اجرايي اين تحقيق را فراهم نموده‌اند قدرداني مي نمايند.

منابع مورد استفاده REFERENCES

۱. جعفري، ع، ي.، شايسته، ن.، صحراگرد، ا. و م. ح.، صفرعليزاده، ۱۳۷۹. بررسي زيست‌شناسي كرم سبز برنج *Naranga aenescens* Moor (Lep.: Noctuidae) . چهاردهمين كنگره گياهپزشكي ايران. صفحه ۲۱.

۲. رضواني، ن. و ج. شاه‌حسيني، ۱۳۵۵. بيواكولوژي آفت ساقه‌خوار برنج در مازندران شرقي. مجله آفات و بيماريهاي گياهي . شماره(٤۳): ۳۸-۱ .

۳. مجيدي، ش ،ف. ، ارشاد، ج.، علي‌نيا، ف.، كمالي،ك و ف. پاداشت۱۳۸۱.معرفي قارچهاي بيماريزاي كرم ساقه‌خوار نواري برنج (*Chilo suppressalis* Walker) درگيلان. پانزدهمين كنگره گياهپزشكي ايران دانشگاه رازي كرمانشاه. صفحه۳۵تا۳٦.

٤. مجيدي، ش ،ف. ،كمالي،ك .،علي نيا، ف و ج. ارشاد.۱۳۸۲. اثر دما در جوانه‌زني، رشد شعاعي ميسيليوم و بيماريزايي جدايه‌هاي قارچ *Beauveria bassiana* روي كرم ساقه‌خوار نواري برنج (*Chilo suppressalis* Walker)در شرايط آزمايشگاهي. آفات و بيماريهاي‌گياهي شماره۱۳۹- ۱۲۳ (۱) ۷۱.

5. Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of a insecticide. J.Econ. Entomol. 18: 265-267.

6. Ashok,V. & B.K. Tanada. 1996. Pathogenicity of three entomogenous fungi against insect pests of sugarcane.J. Bilogic. Contr. 10: 1-2 .

7. Benham, R. W. & J. L. Miranda.1953. the genus *Beauveria* morphological and taxonomical studies of sevral species and two strans isolated from whraf-piliny borers. Mycologia 45: 727-746.

8.Cadatal,T.D & B. P.Gabriel.1970.Effect of chemical pesticides on the development of fungi pathogenic to some rice insect. Philippine Entomol. 1(5):379-395.

9.Gardezi, S. R.A. & K. Mahmood. 1998. Some entomogenous fungi, infectious to maiz stem borer. J. Agric. Sarhad. 14(3): 249-252.

10. Hoog, G.H. 1972. The genera *Beauveria*, *Isaria* , *Tritirachium*, and *Acrodontium* gen. nov. Stud. Mycol. 1: 1-41.

11.Itoh, K., K. Ichikawa & T. Nakagome. 1994. Microbial control of insect pests on paddy fields by entomopathogenic fungi, pathogenicity of *Beauveria bassiana* to larvae of the rice stem borer (*Chilo supperssalis*Walker). Res. Bulle. Aichi- Ken Agric. Res. Cent. 26: 79-82.

12.Li,H.K.1987.Comparative trials on pathogenicity of four strians of *Beauveria bassiana*.Natural Enemies of Insect.9(2):78-81.

13.Li, H.K. 1993. Studies on the entomopathogenic fungi infecting rice stem borers. J. Biologic. Contr. Chinese. , 9(4)-188.

14.Macleod, D. M. 1954. Investgation in the genera *Beauveria* vuill and T*ritirachium* Limber. Can. J. Bot. 32: 818-890.

15. Maniania, N. K. 1992. Pathogenicity of entomogenous fungi (Hyphomycetes) to larvae of the stem borers, *Chilo partellus* Swinhoe and *Busseola fusca* Fuller. Insect Scien. Applic. 13 (5): 691-696.

16.Maniania, N.K. 1993. Effectiveness of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. for control of the stem borer *Chilo partellus* (Swinboe) in maize in Kenya. Crop Protec. 12 (8): 601 – 604.

17. Maniania, N. K., R. O. Okello, R. O. Oluoch & T. A. Odero. 1994. Potential of entomopathogenic Hyphomgcetes (Deuteromycotina) fungi for the control of the stem borers *Chilo partellus* (Lep.: Pyralidae). J. African Zool. 108 (6):529- 536.

18.N'Doye, M. 1976. Influence d'une infection *a Beauveria bassiana* sur les survivants *et la* descendance de *Chilo suppressalis* (Lep., pyralidae). Entomophaga 21: 371-376.
19.N'Doye, M. 1977. The susceptibility of larvae and pupae *Chilo suppressalis* Walker to various entomopathogenous fungi (Fungi Imperfecti) and the factors that determine susptibility to the mycosis caused by fungi. Bull. Institt. Fond. Agrique Noire.39(2):303-317.
20. Nickel, J. L. 1964. Biological control of rice stem borers, a feasibility study. Int. Rice Res. Inst. Tech. Bull. 2. Los Banos, Philippines.
21. Petch, T. 1930. Notes on entomogenus fungi. Trans Brit. Mycol. Soc. 16: 55-75.
22.Rao, P.S. 1975. Wide spread occurrence of *Beauveria bassiana* on rice pests. Sci. 44: 441-442.
23.Rombach, M. C., D. W. Roberts & R.M. Aguda. 1994. Pathogens of rice insects. In "Biology and Management of Rice Insects". : Heinrichs,E.A.(ed.). Wiley Eastern limited, Intl. Rice Res. Inst. P, 612-655.
24.Samson, R.A. 1981. Identification, entomopathogenic deuteromycetes. In, "Microbial Control of Pests and Plant Diseases". Burges H.D. (ed.). Academic Press, New York, pp. 94-106.
25. Tulloch, M. 1976. The genus *Metarhizium*. Trans. Brt. Mycol. Soc. 66: 407-411.