

آفات و بیماری‌های گیاهی

جلد ۷۱، شماره ۱، شهریور ۱۳۸۲

اثر دما در جوانه‌زنی، رشد شعاعی میسلیم و بیماری‌زایی

جدایه‌های قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin

روی کرم ساقه‌خوار نواری برنج^۱ (Deut., Moniliaceae)

Chilo suppressalis Walker (Lep., Pyralidae)

Effect of temperature on germination, mycelial radial growth and virulence of

Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin (Deut., Moniliaceae) on

Chilo suppressalis Walker (Lep., Pyralidae) under laboratory condition

فرزاد مجیدی شیلسر^۱، کریم کمالی^۲، فرامرز علی‌نیا^۱، جعفر ارشاد^۳

۱- مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، ۲- دانشکده کشاورزی،

دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ۳- مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، تهران

(تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۱، تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۲)

چکیده

اثر طیف دمایی ۳۸۰۳ درجه سانتی‌گراد در جوانه‌زنی، رشد میسلیمی و فعالیت بیماری‌زایی شش جدایه قارچ *B. bassiana* که از لاروهای ساقه‌خوار نواری برنج در استان گیلان جدا شده بود در شرایط آزمایشگاهی مطالعه گردید. جوانه‌زنی، رشد شعاعی میسلیم و فعالیت بیماری‌زایی برای همه جدایه‌ها از ۲۰ تا ۳۰°C. از نظر صفات مذکور به جز در دمای بهینه (۲۵-۳۰°C) در سایر دماها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. جوانه‌زنی اسپورها در دمای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۵°C برای همه جدایه‌ها عموماً در سطح پائین بود در دمای ۳ و ۳۸°C هیچگونه جوانه‌زنی اسپورها برای جدایه‌های مختلف مشاهده شد. پائین‌ترین سرعت رشد

^۱ این مقاله براساس نتایج پایان‌نامه دوره دکتری نگارنده اول ارایه گردیده است.

میسلیومی در ۱۰، ۵ و ۳۵°C برای جدایه‌های قارچی صورت گرفت. میانگین میزان رشد رویشی بر حسب روز برای جدایه‌های Mcb18 و Mcb11، Mcb1 در ۲۰، ۲۵ و ۳۰°C بیشتر از سایر جدایه‌ها بود. مرگ و میر لاروها توسط جدایه‌های قارچی در دماهای مختلف اختلاف معنی‌دار داشت. مرگ و میر لاروهای ساقه‌خوار نواری برنج در اثر جدایه‌های قارچی از ۱۰ تا ۳۰°C اتفاق افتاد.

بیشترین مقدار LT50 در میان جدایه‌های قارچی مربوط به جدایه قارچ Mcb11 با میانگین ۱۵/۱۲ روز در دمای ۱۰°C و کمترین مقدار LT50 مربوط به جدایه قارچ Mcb18 با میانگین ۵/۳۵ روز در ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود.

جدایه‌های قارچی Mcb18 و Mcb1 از لحاظ فعالیت جوانه‌زنی، رشد میسلیومی و فعالیت بیماری‌زایی برتر از جدایه‌های دیگر بودند.

واژه‌های کلیدی: قارچ *Beauveria bassiana*، دما، زهرآگینی، جوانه‌زنی، رشد شعاعی میسلیومی، مرگ و میر، کرم ساقه‌خوار نواری برنج

مقدمه

از زمان ظهور کرم ساقه‌خوار نواری برنج در شالیزارهای مازندران و گیلان بالغ بر سی سال می‌گذرد. در سال‌های اولیه طغیان این آفت سموم شیمیایی تنها حربه برای کنترل کرم ساقه‌خوار نواری برنج محسوب می‌شدند. با گذشت زمان و بکارگیری روش‌های مختلف مدیریتی در قالب برنامه‌های IPM (روش‌های زراعی، آگروتکنیکی، بیولوژیکی و...)، حشره‌کش‌های مصرف شده برای مبارزه با کرم ساقه‌خوار نواری برنج در شالیزارهای استان گیلان در سال ۱۳۸۱ به ۲۲۰۰ تن رسید، در صورتیکه این مقدار سم مصرفی در ابتدای مبارزه با این آفت ۱۵۰۰۰ تا ۱۶۰۰۰ تن در سال بوده است. از میکروارگانسیم‌های فعال مزارع برنج می‌توان قارچ *B. bassiana* را نام برد که روی جمعیت لاروهای زمستان‌گذران ساقه‌خوار نواری برنج در شرایط طبیعی ایجاد آلودگی می‌کند. رضوانی و شاه‌حسینی (۱۳۵۵)، فعالیت این قارچ را روی لارو و شفیره‌های ساقه‌خوار نواری برنج موجود در مزارع برنج مازندران گزارش کرده‌اند.

مطالعات (1976) N'Doye نشان داد زنده‌مانی تخم‌های ساقه‌خوار نواری برنج (*Chilo suppressalis*) که به قارچ *Beauveria* آلوده شده بودند کاهش یافته و این قارچ موجب تلفات تخم حشره گردید، همچنین او اظهار می‌دارد که لاروهای کامل، شفیره‌ها و افراد بالغ که در شرایط آزمایشگاهی به این قارچ آلوده شده بودند ۵۳ تا ۸۷ درصد تلفات دادند.

Sivasankaran et al. (1990) بیماری‌زایی قارچ *B. bassiana* در لاروهای ساقه‌خوار نیشکر (*Chilo infuscatellus* Snellen) را در شرایط آزمایشگاهی مطالعه نمود. او نشان داد که حساسیت لاروهای سن دوم و سوم این آفت به غلظت 10^0 یا 10^6 کنیدی در میلی‌لیتر بیشتر از لاروهای سن بعدی بوده است، و از ۵۱/۴۷ تا ۶۵/۲ درصد آلودگی را داشته‌اند، همچنین او اظهار می‌دارد که مرگ و میر لاروها با افزایش سن لاروی و یا با کاهش غلظت اسپورهای قارچ کاهش می‌یابد. (Maniania 1991) نشان داد که دستجات تخم ساقه‌خوار ذرت، *Chilo partellus* (Swinhoe) با استفاده از جدایه (ICIPE4) از قارچ *B. bassiana* با غلظت 10^8 کنیدی در میلی‌لیتر تا صد در صد تلفات می‌دهند. مطالعات این محقق نشان داد که تخم‌های این آفت مرحله مناسب و حساس برای آلودگی بوسیله قارچ *B. bassiana* می‌باشد.

بیماری‌گری جدایه (ICIPE 4) قارچ *B. bassiana* با غلظت 10^6 کنیدی در میلی‌لیتر روی لارو سن دوم ساقه‌خوار ذرت (*C. partellus*) در شرایط آزمایشگاهی از ۳ تا ۱۰۰ درصد سبب مرگ و میر لاروها شده است (Maniania, 1992).

Maniania (1993) کارآیی قارچ *B. bassiana* در شرایط مزرعه‌ای روی ساقه‌خوار ذرت (*C. partellus*) با فرمولاسیون‌های مختلف (اسپورپاشی قارچ با غلظت 10^{13} کنیدی در میلی‌لیتر و گرانول قارچی 10^{13} کنیدی در هکتار در مقایسه با سم تری‌کلروفون (Trichlorfon)) بررسی نمود. او در بین فرمولاسیون‌های مختلف، فرمولاسیون گرانول قارچی را برای کنترل ساقه‌خوار ذرت توصیه نمود. وی اظهار داشت که تأثیر این قارچ روی این آفت بیشتر از تأثیر سم بوده است.

در ارزیابی قارچ *B. bassiana* برای کنترل نسل دوم ساقه‌خوار اروپایی ذرت، *Ostrinia nubilalis* (Hubner) در مزارع ذرت تک‌راس در قالب برنامه IPM آلودگی لاروهای این آفت تا ۲۷/۸ درصد گزارش شده است (Gagne and Jaronski, 1998).

استفاده طولانی از سموم شیمیایی برای کنترل کرم ساقه‌خوار نواری برنج ضرورت استفاده از روش‌های نوین مبارزه بخصوص مبارزه بیولوژیک در قالب مدیریت تلفیقی آفات مهم برنج (IPM) را ایجاب می‌کند. کاربرد عوامل کنترل بیولوژیک از قبیل قارچ *B. bassiana* به جای سموم شیمیایی به جهت جلوگیری از مشکلات زیست محیطی و تخریب زنجیره غذایی موجودات زنده اکوسیستم زراعی برنج و نهایتاً حفظ سلامتی استفاده کنندگان (انسان‌ها) بسیار با اهمیت می‌باشد.

روش بررسی

الف: پرورش حشره

حشرات کامل (نر و ماده) ساقه‌خوار نواری برنج بوسیله تور حشره‌گیری و تله‌های نوری دارای لامپ فلورسنت جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیولوژیک مؤسسه تحقیقات برنج انتقال داده شدند. حشرات نر و ماده به تعداد ۱۰ جفت در داخل ارلن‌مایر شیشه‌ای یک لیتری به منظور تخم‌ریزی روی برگ‌های تازه گیاه برنج و یا روی علف هرز *Paspalum dilatatum* L. منتقل شدند. حشرات ماده بعد از مستقر شدن روی گیاهان فوق تخم‌ریزی نمودند. بعد از تخم‌گذاری دستجات تخم از روی برگ‌ها جدا و بعد از ضدعفونی سطحی شدن با الکل اتیلیک ۷۵ درصد به مدت ۱۵ تا ۳۰ ثانیه و کلراکس ۵٪ به مدت ۵ دقیقه و سه بار آب‌شوئی با آب مقطر استریل به منظور گرفتن آب اضافی روی کاغذ صافی استریل قرار گرفتند و بطور جداگانه در داخل لوله‌های به طول ۱۰ سانتی‌متر و قطر ۱ سانتی‌متر قرار داده شدند. در ارلن‌ها و لوله‌ها با پنبه آغشته به آب مقطر استریل جهت زنده ماندن برگ برنج و تخم‌ها مسدود گردید. لوله‌های حاوی دسته‌های تخم ساقه‌خوار نواری برنج جهت تفریخ در اطاقک رشد (Growth chamber) در دمای 25 ± 1 °C قرار داده شدند. در دمای فوق بعد از ۵ تا ۶ روز تخم‌ها به مرحله سرسیاه (Black head) رسیدند. در این زمان با مرطوب کردن دسته‌های تخم، تخم‌ها تفریخ شده و لاروهای نئونات خارج شدند. در این مرحله رطوبت یکی از فاکتورهای مهم برای تفریخ تخم‌های ساقه‌خوار نواری برنج می‌باشد. لاروهای نئونات بعد از خروج به داخل ظروف پلاستیکی استوانه‌ای شفاف به ابعاد $15 \times 15 \times 25$ سانتی‌متر حاوی برگ‌های تازه و ساقه‌های نرم و لطیف برنج انتقال داده شدند. برای رسیدن به سنین لاروی مورد نظر

برای انجام آزمایشات، پرورش در داخل این ظرفها انجام گردید. پرورش لاروها در درجه حرارت 24 ± 1 °C و رطوبت 70 ± 5 درصد در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در اتاقک رشد صورت گرفت. در این بررسی مشخص شد ساقه‌خوار نواری برنج دارای ۶ سن لاروی است که این عمل با اندازه‌گیری عرض کپسول سر امکان پذیر گردید. اثر جدایه‌های مختلف قارچ *B. bassiana* در دماهای مختلف روی لارو سن پنجم ساقه‌خوار نواری برنج انجام شد.

ب- کشت جدایه‌های قارچ

جدایه‌های قارچ *B. bassiana* که برای آزمایشات استفاده شدند حاصل نتایج واریسی ۲۴۰۰ عدد لارو مرده ساقه‌خوار نواری برنج در زمان‌های نمونه‌برداری از مناطق مختلف استان گیلان بوده است (۷۸-۱۳۷۷). بعد از جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی قارچ *B. bassiana* انجام شد. در نتیجه شش جدایه به شرح جدول ۱ در این بررسی بکار برده شده کدهای نسبت داده شده به هر جدایه مربوط به اولین حرف از کلمه‌های Beauveria, Chilo, Majidi و می‌باشد.

جدول ۱، مشخصات جدایه‌های مورد بررسی

Table 1. The isolates' specifications

محل نمونه برداری	تاریخ جداسازی	جدایه
Sampling site	Date of isolation	Isolate
Anzali	1998-99	Mcb1*
Fooman	1998-99	Mcb6
Hashtpar	1998-99	Mcb8
Astaneh	1998-99	Mcb11
Lahijan	1998-99	Mcb12
Rasht	1998-99	Mcb18

*= M=Majidi, c=Chilo, b=Beauveria

l= the first of letter of Anzali name

پس از خالص‌سازی و تک‌اسپور کردن جدایه‌های مختلف برای تهیه مایه تلقیح، تمام جدایه‌های قارچی مورد نظر در محیط‌های غذایی PDA یا SDAY کشت گردیدند. بعد از اسپورزایی کامل (کشت ۱۴-۱۲ روزه) سطح محیط کشت SDAY (Sabouraud Dextrose Agar Yeast Extract) بوسیله سوزن انتقال خراش داده شد و در