

بررسی خصوصیات سیستمیکی قارچکش بنومیل در مبارزه با بیماری بلاست برنج

عبدالحسین جمالی زواره^۱ و عباس شریفی تهرانی^۲
۱، عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهر کرد
۲، استاد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران - کرج
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۱۰/۴

خلاصه

بیماری بلاست برنج از مهمترین بیماریهای خسارت‌آور این گیاه است و برای مبارزه با آن علاوه بر استفاده از ارقام مقاوم و روشهای زراعی، استفاده از قارچکشهای سیستمیک توصیه شده است. در این پژوهش قارچکش بنومیل بصورت سوسپانسیون در آب از طریق ریشه در اختیار گیاه قرار گرفت. سپس به فواصل زمانی مختلف نمونه‌هایی از بافت بوته‌ها گرفته و بنومیل در آنها به روش بیواسی بازیابی شد. همچنین در زمانهای مختلف پس از کاربرد قارچکش، بوته‌ها در خزانه بلاست در معرض آلودگی به بیماری قرار گرفتند و پس از یک هفته شدت بیماری ایجاد شده بررسی گردید. بنومیل ۱۲ ساعت پس از تیمار در بافت بازیابی شد، تا ۴۸ ساعت مقدار آن افزایش و سپس کاهش یافت و پس از حدود ۲۱ روز به صفر رسید. با آلوده سازی بوته های تیمار شده، یک روز پس از تیمار بیماری تا ۵۰٪ کاهش یافت و پس از دو روز بخوبی کنترل شد. کنترل کامل بیماری تا دو هفته پس از تیمار ادامه داشت و پس از آن اثرات کنترل‌کنندگی کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که بنومیل می‌تواند از طریق ریشه برنج سریعاً جذب شده و بیماری را روی اندامهای هوایی کنترل کند.

واژه‌های کلیدی: بلاست برنج، بنومیل، خصوصیات سیستمیکی، بازیابی.

مقدمه

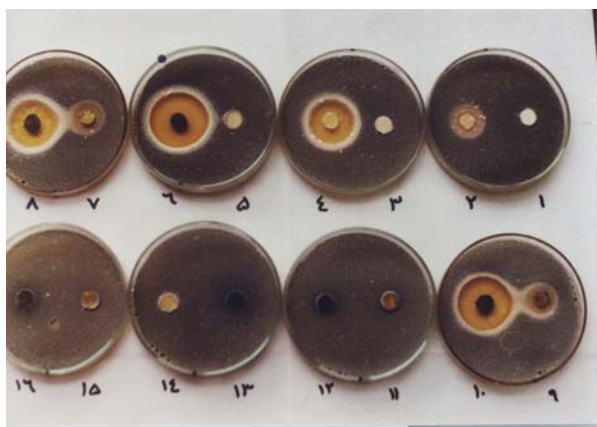
بیماری بلاست برنج که توسط قارچ *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc ایجاد می‌شود از مهمترین بیماریهای این محصول در بسیاری از کشورهای برنج‌خیز دنیا از جمله ایران است. این بیماری اگر در مرحله پنجه‌زنی شدید باشد تمام بوته‌ها را از بین می‌برد و اگر در مرحله خوشه شدید باشد بخش عمده‌ای از عملکرد محصول را کاهش می‌دهد و بدین ترتیب خسارت زیادی ایجاد می‌کند. برای مبارزه با این بیماری علاوه بر استفاده از ارقام مقاوم و روشهای مناسب زراعی، استفاده از ترکیبات شیمیایی از جمله قارچکش بنومیل توصیه شده است. کاربرد قارچکشهای سیستمیک در کنترل بیماریهای گیاهی مزایایی از جمله: توزیع قارچکش در تمام قسمتهای گیاه، دوام بیشتر اثر آن و درمان شیمیایی بیماری دارد. اکثر ترکیباتی که

بعنوان سیستمیک معرفی شده‌اند معمولاً در بافتهای گیاهی بطرف بالا حرکت می‌کنند و لذا خصوصیات سیستمیک آنها با کاربرد به صورت تیمار ریشه یا اختلاط در آب آبیاری بهتر بروز می‌کند (۸).

قارچکش سیستمیک بنومیل عموماً بعنوان یک قارچکش برگ‌گی معرفی و مصرف شده و در اغلب کارهای تحقیقاتی نیز بدین صورت استفاده شده است (۴، ۵) اما جذب و انتقال آن در گیاه پس از مصرف روی برگ بسیار ضعیف است و بیشتر بصورت یک ترکیب محافظت‌کننده عمل می‌کند. چنانکه نتایج تحقیقات امامی (۱۳۶۶) نشان داد که در خیار قارچکش بنومیل از طریق ریشه بهتر جذب شده و انتقال بهتری در گیاه داشت ولی پس از سمپاشی اندام هوایی، انتقال چندان در بافت برگ دیده نشد و صرفاً بصورت موضعی عمل کرد. انتقال در برگ از

۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ روز پس از کاربرد بنومیل، از ساقه و برگ بوته‌ها نمونه جداگانه گرفته شد. بوته‌ها از یک سانتیمتر بالاتر از سطح آب گلدان قطع و سپس تا محل اولین برگ بعنوان ساقه و بالاتر از آن بعنوان برگها منظور گردید. نمونه‌های گرفته شده در هر زمان به وزن ۲ گرم و در ۳ تکرار بود. از گلدانهای شاهد نیز همزمان با ۱، ۴، ۱۴، ۲۸ و ۴۲ روز پس از کاربرد بنومیل نمونه‌گیری شد.

بازیابی بنومیل در نمونه‌ها با تغییراتی در روشی که بلک و نیلی (۱۹۷۶) ذکر کرده‌اند، انجام شد. نمونه دو گرمی همراه با ۵ میلی‌لیتر کلروفرم در یک هاون دستی له و مواد گیاهی اضافی حذف گردید. سپس محلول حاصل تحت شرایط خلأ تا ۲۰٪ حجم تغلیظ شد و مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از آن بوسیله دوایر کاغذی به تشتکهای پتری انتقال یافت که در آنها محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) مخلوط با اسپور قارچ *Penicillium expansum* منعقد شده بود (۳ تکرار از هر عصاره). تشتکهای پتری در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد و پس از سه روز قطر ناحیه ممانعت از رشد قارچ در جوار دوایر کاغذی اندازه‌گیری گردید (شکل شماره ۱) و متوسط قطر ناحیه ممانعت از رشد برای عصاره هر نمونه گیاهی محاسبه شد.



شکل ۱- چند نمونه از اثر عصاره بافت بوته‌های برنج تحت تیمارهای مختلف بنومیل بر رشد رویشی قارچ *Penicillium expansum* در محیط کشت.

۴- محاسبه مقدار بنومیل در بافت: در هر مرحله که استخراج از بافتها برای بازیابی بنومیل انجام می‌شد، در کنار آن

قاعده بسوی نوک برگ بود. همچنین وارنر و ادینگتون (۱۹۸۰) گزارش کردند که پس از سمپاشی بنومیل روی برگهای سیب، مقدار باقیمانده در سطح برگ به مراتب بیش از مقدار انتقال یافته درون برگ بود. آنان نتیجه گرفتند که در کنترل بیماری مقدار بنومیل باقیمانده در سطح برگ مؤثرتر از مقداری است که به برگ وارد شده و انتقال می‌یابد. از طرف دیگر استفاده از بنومیل در کنار ریشه یا در آب آبیاری گرچه زیاد توصیه نشده و رایج نیست، اما حداقل در کارهای تحقیقاتی این روش بارها بکار رفته است (۲، ۶).

در این تحقیق در مورد جذب بنومیل از طریق ریشه برنج و انتقال آن داخل گیاه و نقش آن در کنترل بیماری بلاست بررسی شده است.

مواد و روشها

۱- بوته‌های برنج در گلخانه در گلدانهای پلاستیکی متوسط (به قطر ۲۱ سانتیمتر) پرورش یافتند. خاک مورد استفاده مرکب از دو قسمت رس و یک قسمت کود آلی بود و کود شیمیایی به میزان ۰/۴ گرم اوره و ۰/۲ گرم فسفات برای هر گلدان مصرف شد. پس از پر کردن گلدانها و مرطوب کردن خاک، بذر رقم حسن‌سرای که به بیماری بلاست حساس است و قبلاً به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شده بود، در آنها کشت گردید. پس از جوانه‌زنی هر روز آبیاری صورت گرفت تا بوته‌ها به مرحله چهار برگی رسیده و آماده تیمار شدند.

۲- تیمار گلدانها با بنومیل: برای تیمار گلدانها از بنلیت (پودر و تابل ۵۰٪) استفاده شد. براساس میزان ۴ کیلوگرم ماده تجارتي در هکتار برای هر گلدان ۱۳ میلی‌گرم بنلیت منظور گردید. برای دقت و یکنواختی توزیع قارچکش، سوسپانسیونی از پودر بنلیت در آب مقطر تهیه شد بطوریکه هر میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی یک میلی‌گرم از پودر قارچکش بود و سپس بوسیله پیپت مدرج، در هر گلدان مقدار لازم از سوسپانسیون توزیع گردید. برای گلدانهای شاهد از آب مقطر خالص استفاده شد.

۳- بازیابی بنومیل در بافت ساقه و برگ: تعدادی از گلدانهای تیمار شده و شاهد برای بازیابی قارچکش در بافت گیاه اختصاص یافت. در فواصل زمانی ۱۲ ساعت و ۱، ۲، ۴، ۷،

شب در خزانه بلاست مانده و سپس به گلخانه انتقال یافت. یک دستگاه مه‌پاش رطوبت نسبی نزدیک به اشباع را در فضای گلخانه فراهم می‌کرد تا شرایط مطلوب برای استقرار بیماری فراهم گردد. پس از یک هفته تعداد لکه‌های بیماری روی بوته‌ها شمارش شده، متوسط تعداد لکه روی یک بوته و میزان کنترل بیماری در بوته‌های تیمار شده نسبت به شاهد محاسبه گردید.

نتایج و بحث

بازیابی بنومیل در بافت:

در جدول شماره ۱ قطر ناحیه ممانعت از رشد قارچ در اثر عصاره نمونه‌های گیاهی در زمانهای مختلف پس از کاربرد بنومیل ذکر شده است. میزان ممانعت از رشد در روزهای اول روند افزایشی داشته و پس از آن بتدریج کاهش یافته است.

روند تغییرات غلظت بنومیل در بافت گیاه در زمانهای مختلف پس از کاربرد آن، که بر اساس رابطه بین غلظت بنومیل در محلول و قطر ناحیه ممانعت از رشد محاسبه شده، در شکل شماره ۳ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که در اینجا نیز غلظت بنومیل در بافت تا ۲ روز پس از کاربرد افزایش و سپس بتدریج کاهش یافته بطوریکه در روز ۲۱ در بافت ساقه و در روز ۲۸ در بافت برگ قابل بازیابی نبوده است.

جدول ۱- میانگین قطر ناحیه ممانعت از رشد قارچ

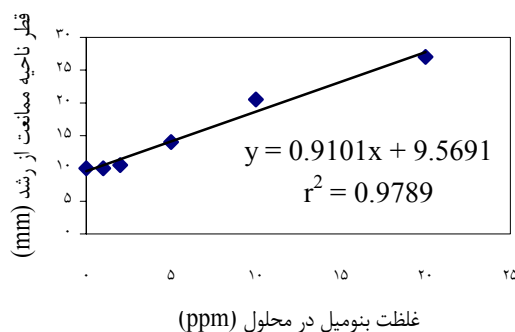
P. expansum (میلی‌متر) در اثر عصاره نمونه‌های گیاهی

گرفته شده در زمانهای مختلف پس از کاربرد بنومیل

فاصله زمانی پس از کاربرد	نمونه ساقه	نمونه برگ
۱۲ ساعت	۱۴/۳ *	۱۵ *
۱ روز	۲۵/۳	۱۹/۷
۲ روز	۲۵/۲	۳۰/۲
۴ روز	۲۰/۳	۲۲/۳
۷ روز	۱۶	۲۰/۰
۱۴ روز	۳۶/۷	۳۰/۳
۲۱ روز	۱۰	۱۰/۳
۲۸ روز	-	۱۰

* قطر دواير كاغذی ۱۰ میلی‌متر بوده است.

محلول بنومیل در کلروفورم با غلظتهای ۲۰، ۱۰، ۵، ۲، ۱، و صفر قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) تهیه شده و مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر غلظت توسط دواير كاغذی بر روی محیط کشت مخلوط با اسپور قارچ پنسیلیوم منتقل گردید. پس از سه روز نگهداری در ۲۵ درجه سانتیگراد، قطر ناحیه ممانعت از رشد قارچ برای هر غلظت اندازه‌گیری شد و بر اساس آن رابطه بین میزان بنومیل در محلول و قطر ناحیه ممانعت از رشد قارچ (بصورت خط رگرسیون) محاسبه گردید (شکل شماره ۲). با استفاده از این رابطه و نتایج بازیابی بنومیل در بافت، غلظت بنومیل در بافت گیاه در زمانهای مختلف محاسبه گردید. لازم به ذکر است که با توجه به اینکه محلول استخراجی از بافت در ابتدا تا ۵ برابر تغلیظ شده بود، غلظتهای محاسبه شده بر ۵ تقسیم شدند تا مقادیر واقعی بدست آید.



شکل ۲- رابطه بین غلظت بنومیل در محلول و قطر ناحیه

ممانعت از رشد قارچ *P. expansum*

۵- خزانه بلاست برای تهیه مایه تلقیح: برای تولید انبوه اسپور *P. grisea* بر اساس روش کپور و سینگ (۱۹۸۲) از خزانه بلاست استفاده شد. بدین صورت که در یک قطعه زمین مناسب، برنج رقم بی‌نام (حساس به بیماری بلاست) کشت شد و پس از رشد کافی، اسپور قارچ روی بوته‌ها تلقیح گردید. پس از اینکه بیماری روی بوته‌ها مستقر و اسپور قارچ روی لکه‌های بیماری تولید شد، خزانه بلاست آماده بود تا برای آلوده سازی گلدانها استفاده شود.

۶- آلوده سازی بوته‌های تیمار شده و شاهد همزمان با کاربرد قارچکش و نیز در فواصل زمانی ۱، ۲، ۴، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ روز پس از تیمار صورت گرفت. گلدانهای که برای آلوده سازی در هر زمان در نظر گرفته شده بود یک

این نتایج با گزارش بلک و نیلی (۱۹۷۶) هماهنگی دارد که ذکر کردند در نارونهای گلخانه‌ای (پس از مصرف ۳۶ گرم ماده مؤثره بنومیل در متر مربع خاک)، حداکثر تجمع در ریشه‌ها و ساقه‌ها ۳/۰ پی پی ام و حداکثر تجمع در برگها ۳۸/۵ پی پی ام بود. آنان همچنین ذکر کردند که مقدار بنومیل بازیابی شده در نمونه‌های برگ اغلب ۱۰ برابر بیش از مقدار آن در قسمت‌های چوبی گیاه بود.

ج: از نظر دوام ترکیب در بافت بررسی حاضر نشان داد که بنومیل در حالیکه ۱۴ روز پس از کاربرد در بافتهای گیاه وجود داشته، ۲۱ روز پس از کاربرد وجود آن در ساقه و برگ قابل بازیابی نبوده یا ناچیز بود یعنی بیش از دو هفته به میزان قابل بازیابی در بافت وجود داشته است.

در بررسیهای کول (۱۹۷۸) حداکثر غلظتهای کاربندازیم، پس از سمپاشی برگ توتون، در نمونه‌های چهار ساعته پیدا شد اما در ۱۲۰ ساعت، ۷۵٪ از این مقدار کاهش یافت. همچنین بلک و نیلی (۱۹۷۶) گزارش کردند که در نارونهای روئیده در مزرعه، غلظت بنومیل در طول سال کاربرد بیشترین مقدار و در سالهای بعدی کمتر بود. با استعمال مقدار کافی از قارچکش، ۴ سال پس از کاربرد، بنومیل در برگها و ریشه‌ها به میزانی یافت شد که از رشد عامل بیماری مرگ نارون جلوگیری می‌کرد. بررسیهای کول (۱۹۷۸) نشان داد که پیر شدن برگ اثری روی محتوای کاربندازیم برگ نداشته و بنظر می‌رسید که تجزیه و کاهش مواد فقط با گذشت زمان ارتباط داشته است.

آلوده سازی بوته‌ها به بیماری

متوسط تعداد لکه بیماری روی یک بوته برنج در زمانهای مختلف پس از کاربرد بنومیل در جدول شماره ۲ ذکر شده است. نتایج نشان می‌دهد که یک روز پس از کاربرد، شدت بیماری بیش از ۵۰٪ کاهش یافته و دو روز بعد به حد ناچیزی رسیده است. تا بیش از دو هفته شدت بیماری در بوته‌های تیمار شده بسیار کم بوده و از هفته سوم بتدریج افزایش یافته است.

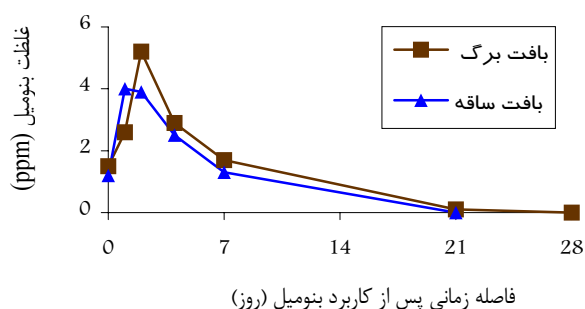
شکل شماره ۴ نیز تغییرات شدت بیماری پس از کاربرد بنومیل را در هر زمان نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که در طول دوره ۲ تا ۱۴ روز پس از کاربرد بنومیل، بیماری بطور کامل کنترل شده و سپس شدت بیماری افزایش یافته که

با توجه به نتایج بدست آمده از بازیابی قارچکش در بافت گیاه می‌توان برخی از خواص سیستمیکی قارچکش بنومیل در بوته برنج را مشخص کرد:

الف: سرعت جذب: بنومیل پس از کاربرد در آب آبیاری، سریعاً به درون گیاه جذب شد بطوریکه ۱۲ ساعت بعد در بافت ساقه و برگ قابل بازیابی بود و حداکثر میزان جذب ظرف ۴۸ ساعت اول صورت گرفت.

سرعت جذب بنومیل به داخل بافت در بررسیهای دیگران نیز نشان داده شده است. چنانکه جانکیرا و همکاران (۱۹۸۴) گزارش کردند که بنومیل وقتی در خاک پای ریشه سویا بکار رفت، ۶ - ۱۲ ساعت بعد در برگها بازیابی شد. همچنین در تحقیقات کول (۱۹۷۸) بنومیل و کاربندازیم پس از استعمال روی اندام هوایی، بسیار سریع به برگهای توتون نفوذ کردند (ظرف ۵ دقیقه)، کاربندازیم ناشی از هیدرولیز بنومیل ۱۵ دقیقه پس از تیمار در برگهای سمپاشی شده یافت شد و در طی ۴۸ ساعت اول افزایش یافت.

ب: میزان بنومیل جذب شده به داخل بافت گیاه در طول زمان تغییر کرده است. در برگ پس از ۱۲ ساعت حدود ۱/۵ پی پی ام بازیابی شد و پس از ۴۸ ساعت این مقدار به ۵/۲ پی پی ام رسید که حداکثر مقدار بازیابی شده است. در ساقه نیز پس از ۱۲ ساعت مقدار ۱/۲ پی پی ام بازیابی شد و تا ۴۸ ساعت این مقدار به حدود ۴/۰ پی پی ام رسید که حداکثر مقدار بازیابی شده در ساقه است. تجمع ترکیب عمدتاً در برگها صورت گرفت و تجمع در ساقه کمتر بود.



شکل ۳ - روند تغییرات غلظت بنومیل در بافت بوته برنج پس از کاربرد ترکیب در آب آبیاری

جدول ۲- میانگین تعداد لکه بلاست روی یک بوته پس از تلقیح بیماری در زمانهای مختلف پس از کاربرد بنومیل

تیمار	فاصله زمانی تلقیح بیماری پس از کاربرد بنومیل (روز)										
	۰	۱	۲	۴	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲	۴۹
بنومیل	۱۸/۲	۸/۹	۰/۳	۰	۰/۳	۰/۱	۳/۸	۶/۱	۱۰/۷	۴/۱	۴/۸
شاهد	۱۶/۵	۱۷/۸	۱۲/۶	۱۵/۵	۱۷/۷	۱۴/۱	۱۷/۸	۱۳/۸	۱۰/۶	۷/۱	۴/۹

وجود بنومیل در بافتها و تأثیر آن در کنترل بیماری نشان می‌دهد که این ترکیب می‌تواند از راه ریشه جذب شده و به نحو سیستمیک در بوته برنج انتقال یابد و بر بیماری روی اندام هوایی تأثیر بگذارد. مقایسه اشکال ۳ و ۴ نشان می‌دهد که روند تغییرات غلظت بنومیل در بافت انطباق نسبی بر روند کنترل بیماری دارد. دو روز پس از کاربرد بنومیل در آب آبیاری، همزمان با افزایش غلظت آن در بافت گیاه، بیماری بخوبی کنترل شده است و در طول دو هفته غلظت این ترکیب در بافت گیاه در حدی می‌ماند که بیماری را بخوبی کنترل می‌کند. پس از ۱۴ روز غلظت بنومیل در بافت به حدی کاهش می‌یابد که قادر به کنترل کافی بیماری نیست. به عبارت دیگر دوام مؤثر بنومیل در بافت گیاه دو هفته است.

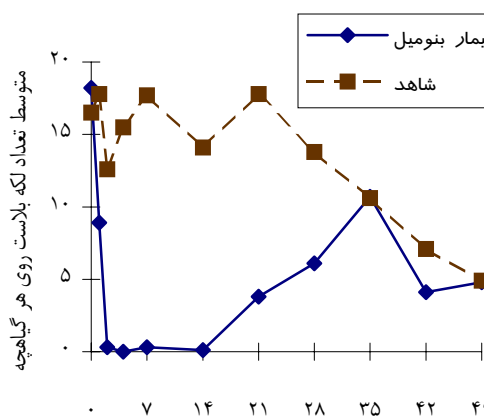
سپاسگزاری

از کارکنان آزمایشگاه گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و کارشناسان و تکنسینهای آزمایشگاه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی بندر انزلی بخاطر همکاری در انجام این تحقیق تشکر می‌شود.

REFERENCES

- امامی، ک.، ۱۳۶۶. بررسی اثر سیستمیکی چند سم قارچکش و تأثیر آنها روی سفیدک سطحی خیار. پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج. ۸۰ صفحه.
- Black, W.M. & D. Neely. 1976. Root uptake of soil-injected benomyl and its detection within *Ulmus americana*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 24(5): 1016-1018.
- Cole, D.L. 1978. Uptake from foliar sprays of carbendazim and benomyl into tobacco leaves. Rhodesian Journal of Agricultural Research, 16(2):165-173.
- Enyinnia, T. 1996. Effect of two systemic fungicides on rice blast control in a rainforest zone of Nigeria. International Journal of Pest Management, 42(2): 77-80.
- Groth, D.E., M.C. Rush, G.G. Giesler & C.A. Hollier. 1993. Foliar fungicides for use in the management of rice diseases. Bulletin Louisiana Agricultural Experiment Station, No.840, 43pp.
- Junqueira, N.T.V., L. Zambolim & G.M. Chaves. 1984. Detection of benomyl and triadimefon in soybean tissue and its effect on the infection by *Phakopsora pachyrhizi*. Fitopatologia Brasileira, 9(1): 119-127.

نشان دهنده کاهش تأثیر بنومیل است. با گذشت ۳۵ روز از تیمار مجدداً شدت بیماری روند کاهشی یافته که علت آن احتمالاً افزایش مقاومت طبیعی گیاه است. این نکته با تحقیقات پرابو و فیلیپی (۱۹۹۵) هماهنگی دارد که گزارش کردند با افزایش سن گیاه، بلاست برگ بصورت معنی‌دار کاهش یافته است.



شکل ۴- روند تغییرات شدت بیماری بلاست برنج پس از کاربرد بنومیل در آب آبیاری

7. Kapoor, A.S. & B.M. Singh. 1982. Evaluation of some fungicides for the control of rice blast. *Indian Phytopathology*, 35(4): 558-561.
8. Marsh, R. W. (Editor), R. J. W. Byrde and D. Woodcock. 1977. *Systemic fungicides* (second edit.). Longman Group Limited, London. 400 pp.
9. Prabhu, A.S. & M.C. Filippi. 1995. Age-mediated resistance and fungicide application for leaf blast control in upland rice. *International Journal of Pest Management*, 41(1): 8-13.
10. Warner, J.T. & L.V. Edgington. 1980. Effect of foliar disease on uptake and translocation of fungicides in leaves. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2(4): 194-200.

An Investigation of Benomyl Systemic Effect in Control of Rice Blast Disease

A.H. JAMALI ZAVAREH¹ AND. A SHARIFI TEHRANI²

1, Scientific Member, Faculty of Agriculture, University of Shahre-Kord

2, Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran

Accepted Dec., 25, 2002

SUMMARY

Systemic properties of benomyl fungicide in control of rice blast disease, caused by *Pyricularia grisea*, were investigated. Rice plants were treated by fungicide running in irrigation water. Leaves and stem tissues were collected at different time intervals after treatment, and benomyl was detected from tissues by bioassay method using *Penicillium expansum*. In greenhouse, treated rice plants were exposed to disease, in a blast nursery, at different times. Benomyl was detected in stem and leaf tissues 12 hours after the treatment, reaching maximum after 48 hrs., it then was reduced to nondetectable levels at 21 days after treatment (DAT). In greenhouse, number of blast spots was reduced to 50% at 1 DAT and disease was completely controlled during a 2-14 DAT period. Results indicate that benomyl could be uptaken and systemically translocated in rice plant after being applied in irrigation water and be effective in controlling blast disease on foliage.

Key words: Rice blast, Benomyl, Systemic properties, Detection.