دانش بیماری‌شناسی گیاهی
سال ۱۳، جلد ۱، پاییز و زمستان ۱۴۰۲
Plant Pathology Science
Vol. 13(1), 2024
(eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Website: http://yujs.yu.ac.ir/pps/

Research Article

Two *Fusarium* species pathogenic to sugarcane in Khuzestan Province, Iran

Samaneh Dashtipoor, Doustmorad Zafari✉*
Department of Plant Protection, College of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
Received: 2023.12.26 Accepted: 2024.04.29

Dashtipoor, S., & Zafari, D. (2024). Two *Fusarium* species pathogenic to sugarcane in Khuzestan Province, Iran. *Plant Pathology Science, 13(1),* 14-26.

Abstract

Sugarcane is an important commercial product that is used for sugar production and many industrial uses. This research was conducted to identify Fusarium species causing sugarcane pokabong disease in plants with symptoms of vascular wilting and red veins in the leaves. This disease is one of the most important and spreading diseases of sugarcane in the world, which leads to a significant decrease in the sugarcane crop. The purpose of this research was to identify Fusarium species causing this disease in Khuzestan province of Iran. The sugarcane fields of this province were visited and samples were taken from the diseased tissues of the plants. The diseased tissues were cultured on potato dextrose agar medium after washing and surface disinfection. Morphological identification of the species was done using valid identification keys, and the combined analysis method of the data of tef 1α and rpb2 gene regions was used to confirm their identity. The pathogenicity test was performed and the results indicated that the identified species were pathogenic. *Fusarium culmorum* and *Fusarium oxysporum* species were identified as sugarcane pathogens. This is the first report of *F. culmorum* and *F. oxysporum* species as pathogens of sugarcane in Iran.

Key words: Pokabang disease, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*

✉ Corresponding author: Zafar_d@basu.ac.ir

∗ Credit authors statement: Samaneh Dashtipoor: PhD. Student, Investigation; Doustmorad Zafari: Supervisor

مقاله پژوهشی

معرفی دو گونه‌ی فوزاریوم بیماریزای نیشکر در استان خوزستان، ایران

سمانه دشتی‌پور، دوستمراد ظفری*✉

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۵ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۰

دشـــتی‌پور، س. ، ظفری، د. (۱۴۰۲). معرفی دو گونه‌ی فوزاریوم بیماریزای نیشـــکر در اســـتان خوزســـتان، ایران. *دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱۳ (۱)*، ۲۶-۱۴.

چکیده

نیشکر یک محصول مهم تجاری است که برای تولید شکر و مصارف صنعتی زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پژوهش به منظور شناسایی گونه‌های فوزاریوم عامل بیماری پوکابونگ نیشکر، در بوته‌های دارای علایم پژمردگی آوندی و رگه‌های قرمز در برگ انجام شد. این بیماری، از بیماری‌های مهم و در حال گسترش نیشکر در جهان است که منجر به کاهش قابل توجهی در محصول نیشکر می‌شود. هدف از این پژوهش شناسایی گونه‌های فوزاریوم عامل این بیماری در استان خوزستان ایران بود. مزرعه‌های نیشکر این استان بازدید شدند و از بافتهای بیمار بوته ها نمونه برداری شدند. بافت‌های بیمار پس از شستشو و ضدعفونی سطحی، روی محیط سیب زمینی/ دکستروز/آگار کشت شدند. شناسایی مرفولوژی گونه‌ها با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی انجام شد و از روش آنالیز ترکیبی از داده‌های نواحی ژن‌های *tef 1α* وrpb2 برای تایید هویت آنها استفاده شد. گونه‌های*Fusarium culmorum* و*Fusarium oxysporum* به عنوان عامل بیماریزای نیشکر شناسایی شدند. آزمون بیماری‌زایی انجام شد و نتایج آن حاکی از بیماری‌زا بودن گونه‌های شناسایی شده بود. این اولین گزارش از گونه‌های *F. culmorum* و *F. oxysporum* به عنوان بیمارگرهای نیشکر در ایران می‌باشد.

واژگان کلیدی: بیماری پوکابونگ، *Fusarium culmorum*، *Fusarium oxysporum*

مقدمه **Introduction**

نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) به‌طور وسیعی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری سراسر جهان کشت می‌شود و در ایران نیز یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی است که علاوه‌بر تولید شکر ماده اولیه بسیاری از صنایع ازجمله تولید آنتی‌بیوتیک و تخمیر مواد غذایی و تولید اتانول و اسید سیتریک است (Vishwakarma et al. 2013). این گیاه با تنش‌های زنده و غیرزنده ازجمله بیماری‌های نوظهوری مثل پوکابونگ مواجه است که تولید آن را کاهش می‌دهند (Dela Cuenva et al. 2019b). بیماری پوکابونگ

* نقش نویسندگان در پژوهش: سمانه دشتی‌پور: دانشجوی دکتری، پژوهشگر؛ دوستمراد ظفری: استاد راهنما

یکی از بیماری‌های مهم قارچی نیشکر در سراسر جهان است که سالهاست تولید این محصول را با مشکل مواجه کرده است. در ارقام حساس و شرایط اقلیمی مساعد بیماری، خسارت شدت می‌یابد (Huang et al. 2022). شناخت بیماری‌ها و اثر مخرب مستقیم و غیرمستقیم آن‌ها و هم‌چنین درک تعامل بیمارگر و میزبان منجر به توسعه استراتژی‌های مدیریتی صحیح در جهت کاهش بیماری شده و تولید محصول را افزایش می‌دهد (Huang et al. 2018). بیماری پوکابونگ ناشی از چند گونه فوزاریوم است و از بعضی مناطق کشت نیشکردر جهان گزارش شده است. تکثیر رویشی قلمه‌ها یکی از عوامل مؤثر در گسترش بیماری و انتقال آن به مناطق جدید بوده است (Viswanathan 2012). بررسی بیماری پوکابونگ در مناطق مختلف کشت نیشکر در چین گزارش شده، که اکثر گونه‌های نیشکر نسبت به بیماری حساس هستند و در سال های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۳روند افزایش بروز بیماری در ارقام تجاری دیده شده وکاهش عملکرد در اثر بیماری در نیشکر، حدود ۴۰ درصد بوده است(Lin et al. 2014). تکثیر رویشی قلمه‌ها یکی از عوامل مؤثر در گسترش بیماری و انتقال آن به مناطق جدید بوده است .(Viswanathan 2012) .

در مزرعه‌های نیشکر خوزستان نیز با وجود اقدامات پیشگیرانه در زمان کاشت مثل ضدعفونی و کشت بافت مریستم، به دلیل ماهیت عامل بیماریزا(خاکزاد بودن و سازگاری بالا به شرایط آب و هوایی مختلف)، بیماری دیده شده است و می‌تواند مثل سایر مناطق جهان در طی سالیان آینده گسترش بیشتری پیدا کند. در ایران، میزان خسارت بیماری تا کنون بررسی نشده است. اگرچه استفاده از قارچکش‌ها تا حدودی در کنترل بیماری پوکابونک موثر بوده است، اما گونه‌های فوزاریوم به در برابر این درمان ها مقاومت ایجاد می کند(Xu *et al*. 2019) . بیماری موجب پژمردگی و پوسیدگی ریشه و قلمه‌ها می‌شود انتقال عامل بیماری به‌صورت هوازاد است و موجب آلودگی ساقه و برگ شده و پس از آن به‌صورت سیستمیک در تمام قسمت‌های گیاه گسترش می‌یابد و موجب پژمردگی می‌شود بیماری پوکابونگ اغلب توسط *F. sacchar*i ایجاد می‌شود و پژمردگی می‌تواند از مرحله جوانه‌زنی قلمه‌ها تا بلوغ دیده شود (Viswanathan 2020). گیاه در مرحله ۳ تا ۷ ماهگی بیش‌تر مستعد ابتلا به بیماری است. این بیماری اغلب زمانی که واریته‌های مستعد در یک دوره فصل گرم و خشک و به دنبال آن فصل مرطوب کاشته شوند آسیب شدیدتری می‌بینند خشکسالی‌ها و باران‌های موسمی نیز تأثیر عمده‌ای بر اپیدمی سریع بیماری داشته است.(Lin et al. 2014) .

طبقه‌بندی جدید گونه‌های فوزاریوم بر اساس مفاهیم بیولوژیکی فیلوژنتیکی و مورفولوژی گونه‌ها به‌صورت کمپلکس گونه (FSC) است (Summerell et al. 2010؛ Kvas et al. 2009). دنیس و همکاران (2018) براساس آنالیز فیلوژنتیکی چند جایگاهی ۱۷ کمپلکس گونه را برای این جنس گزارش کرده‌اند. هدف از این پژوهش شناسایی گونه‌های فوزاریوم عامل این بیماری در استان خوزستان ایران بود.

مواد و روش‌ها Materials and Methods

جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی قارچها

مزرعه‌های نیشکر در استان خوزستان، طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ بازدید شدند و بوته‌های با علایم پژمردگی و پوسیدگی ریشه، قرمزی برگ و آوند نمونه‌برداری شدند و به‌طور جداگانه در کیسه‌های کاغذی مصرف نشده نگه‌داری و با ثبت مشخصات به آزمایشگاه منتقل شدند. جداسازی قارچهای عامل بیماری از بخش‌های مختلف بافتهای دارای علایم بیماری انجام شد (Refaei et al. 2011). خالص‌سازی قارچها با روش نوک ریسه و یا تک اسپور روی محیط آب آگار (WA) دو درصد انجام شد. شناسایی گونه‌ها براساس مطالعه ریختی پرگنه و هاگها شامل: مشخصات ماکروکنیدیوم، میکروکنیدیوم، اسپورودوکیوم، مونوفیالید یا پلی‌فیالید بودن کنیدیوم‌برها و کلامیدوسپورها، با استفاده از کلیدهای معتبر Leslie & Nelson, 1983 O'Donnell et al. 2004, Sammerell 2006 انجام شد.

پس از شناسایی اولیه و گروه‌بندی نمونه‌ها یک جدایه نماینده از هر گروه برای شناسایی مولکولی، ثبت مشخصات و آزمون بیماری‌زایی انتخاب شدند. برای تهیه توده میسلیومی، بلوک‌های کوچک حاوی نمونه قارچی از کشت ۷ روزه جدایه‌ها در فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت PDB منتقل شد. کشت‌ها روی دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ هفته نگه‌داری شدند میسلیوم‌ها با کمک گاز استریل بود و با مقطر استریل شسته شدند. میسلیوم‌های حاصل با استفاده از ازت مایع در هاون چینی پودر شدند و در میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتری ریخته شدند و برای استخراج مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج با روش (Moller *et al.*1992) با اندکی تغییر انجام شد. تعیین کیفیت و کمیت DNA با نانودراپ سنجیده شد. بخشی از نواحی ژن های *tef 1α* و*Rpb2* توسط PCR تکثیر شدند (Liu Whelen & Hall 1999, Geiser et al. 2004). محصول PCR با الکتروفورز در ژل آگارز یک درصد بررسی شد. تعیین توالی با کمک شرکت تکاپوزیست انجام شد. توالی‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آنلاین بلاست با توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI مقایسه شدند و جدایه‌های مرجع با بیش‌ترین مشابهت برای تعیین هویت و تأیید مولکولی گونه‌های خارجی مدنظر قرار گرفت. توالی‌های مرجع در مقالات معتبر، از بانک ژن دریافت شد. توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار BioEdit7.0.9.0 (برنامه Clusta IW) ویرایش و هم‌تراز شدند (Hall, 1999). درخت فیلوژنتیک با نرم‌افزار MEGA6 با مدل Neighbor-Joining و بوت استراپ ۱۰۰۰ ترسیم شد.

اثبات بیماری‌زایی قارچهای شناسایی شده

تست بیماری‌زایی براساس روش (Savocchia et al. 2007) در شرایط آزمایشگاهی انجام شد تا زمان ظهور علایم به حداقل برسد. گیاهان سالم نیشکر، رقم CP69-1062 بدون زخم و علایم بیماری و آفت و

هم سن با ساقه‌های به قطر ۱/۵ سانتی مترانتخاب شدند ساقه‌ها به قطعاتی به طول ۳۰ سانتی‌متر دارای دو جوانه و یک میانگره سالم بریده شدند و سطح آن‌ها با الکل اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شد. با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن سترون یک برش به قطر ۶ میلی‌متر در آن ایجاد شد و یک پلاگ از جدایه موردنظر در محل چاهک ایجاد شده مایه‌زنی شد. سپس محل مایه‌زنی با پارافیلم پوشانده شد در شاهد یک پلاگ ۶ میلی‌متری از محیط‌کشت سترون استفاده شد گیاهان تلقیح شده پس از مایه‌زنی به‌منظور حفظ رطوبت در یک محفظه رشدی (ژرمیناتور) در دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. بعد از گذشت ۱۴ روز با برش طولی ساقه ، طول ناحیه زخم ایجاد شده در سطح کامبیوم اندازه‌گیری شد. تمام تیمارها سه بار تکرار شد. شاخص بیماری طبق روشSavocchia و همکاران 2007 براساس طول ناحیه زخم در مقایسه با شاهد بود. آنالیز آماری برای تست بیماری زایی در قالب طرح کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

Results یافته‌ها

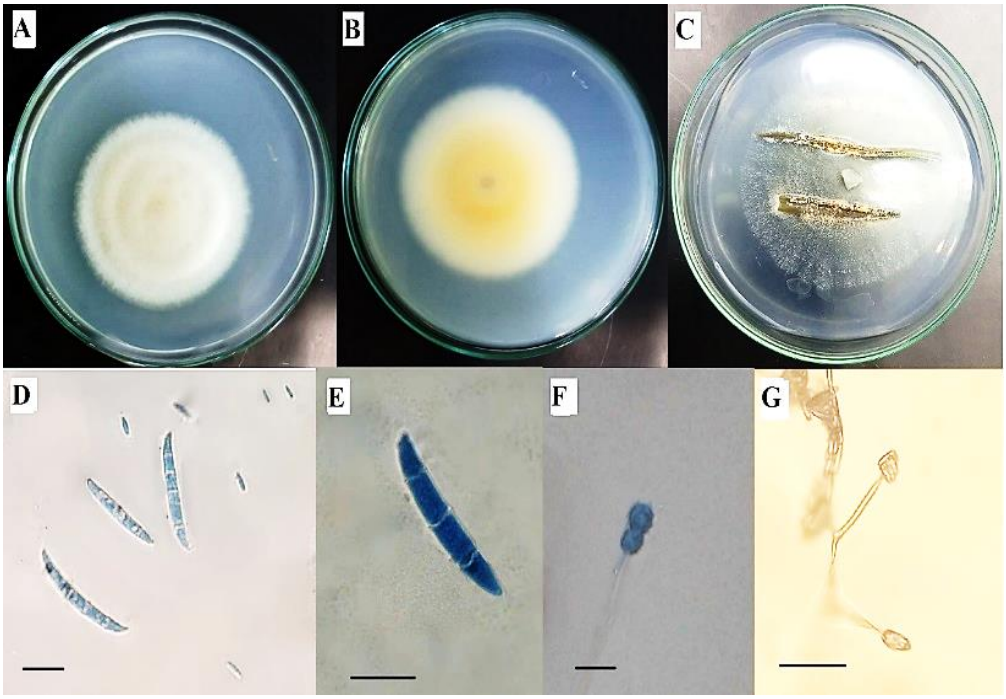
نشانه‌های بیماری و قارچ‌های شناسایی شده

نشانه‌های بیماری در بوته‌های نیشکرجمع‌آوری شده از مزرعه‌های خوزستان درشکل۱ نشان داده شده‌اند.

شکل ۱. علایم بیماری در ساقه و برگ بوته‌های نیشکر در استان خوزستان، ایران

Figure1. Disease symptoms in the stem and leaves of sugarcane plants in Khuzestan province, Iran

دو گونه فوزاریوم با مشخصات زیر از بافتهای بیمار جداسازی و شناسایی شدند.



شکل ۲. A و B: به ترتیب سطح رویی و زیرین پرگنه قارچ*F. oxysporum* روی محیط کشت PDA، C . اسپورودوکیوم تشکیل شده روی محیط CLA ، D. میکروکنیدیوم و ماکروکنیدیوم تشکیل شده روی محیط CLA ،E . ماکروکنیدیوم تشکیل شده روی محیط CLA، F کلامیدوسپور روی محیط SNA، G . مونوفیالید روی محیطCLA ، (خط مقیاس‌ها= ۱۰میکرومتر).

Figure 2. A and B. respectively, top surface and the understory of the *F.oxysporum* on PDA, C. Sporodocium formed on CLA, D. Microconidium and macroconidium formed on CLA , E. Macroconidium formed on CLA, F. Chlamydospore on SNA, G. Monophialide on CLA, (Scale bars= 10µm).

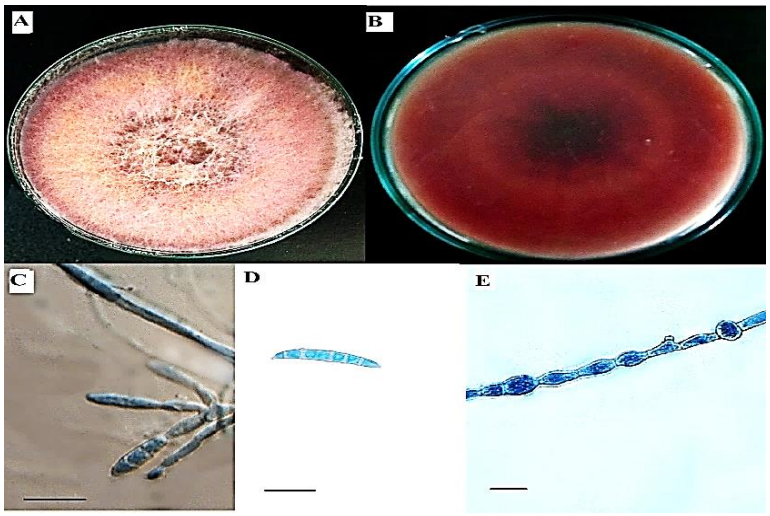
1. *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hansen

پرگنه قارچ به رنگ سفید تا صورتی با میسلیوم‌های هوایی متراکم، رنگ سطح پشتی پرگنه به‌رنگ صورتی کم‌رنگ. رشد پرگنه سریع بوده و متوسط قطر پرگنه روی محیط‌کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بعد از ۱۰ روز ۸/۵ تا ۱۰ سانتی‌متر بود. ماکروکنیدیوم فراوان، دارای ۳ تا ۴ دیواره عرضی داسی نسبتاً خمیده که به تدریج در دو انتها باریک می‌شود که در آن‌ها سلول پایه پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی نوک تیز و انحنادار است. ماکروکنیدیوم به فراوانی روی اسپورودوکیوم پرتقالی‌رنگ یا میسلیوم‌ها تولید

می‌شوند. ماکروکنیدیوم‌ها با اندازه (۳/۵ تا ۶) میانگین ۵/۵ ×(۳۵ تا ۵۱) میانگین 33.5 میکرومتر بود. میکروکنیدیوم‌ها فراوان روی میسلیوم هوایی بیضوی شکل، معمولاً یک سلولی با اندازه (۳-۲,۲) میانگین ۲/۵×(۱۳,۵-۵) میانگین ۸,۴ میکرومتر است. میکروکنیدیوم روی سرهای دروغین با منوفیالیدهای کوتاه با اندازه (۳-۲) میانگین ۲,۳×(۱۶-۷) میانگین۱۲,۸میکرومتر تشکیل می‌شوند. کلامیدوسپورها به‌صورت منفرد یا جفتی و چند تایی روی محیط SNA تشکیل شد. ویژگی‌ها مطابق کلید شناسایی Leslie and, Sammerell (2006) و سایر کلیدهای شناسایی و مقالات معتبر استفاده شده در این پژوهش بود (شکل ۲).

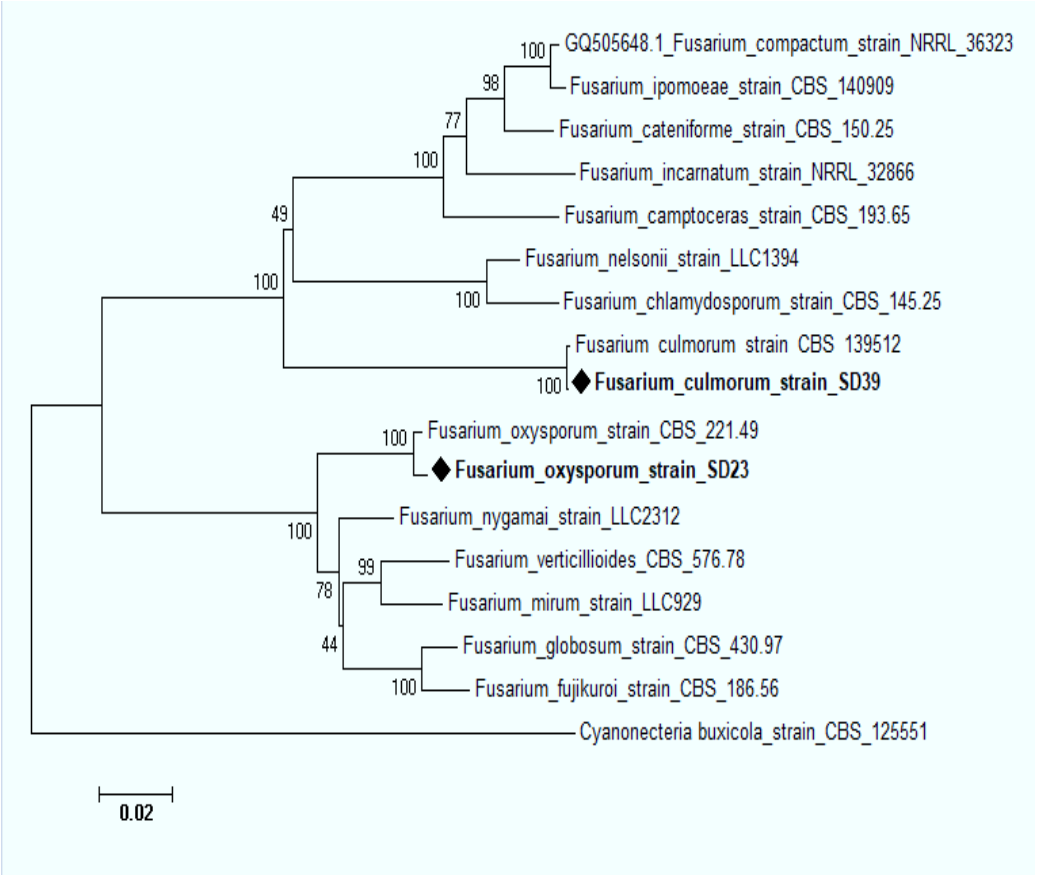
2. *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc.

سرعت رشد روی محیط PDA زیاد است و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در کمتر از یک هفته تمام پتری را پرمی‌کند .میسلیوم هوایی پرپشت، رنگ پرگنه قرمز گلی و رنگ سطح زیرین پرگنه قرمزجگری است تولید رنگدانه های قرمز داخل آگار می‌کند. میکروکنیدیوم مشاهده نشد. ماکروکنیدیوم به طرف پشتی و شکمی دارای انحنای زیاد . کنیدیوفور از نوع مونوفیالید به اندازه ۴-۶ میانگین ۵,۳ در (۴۵-۲۳) اغلب با میانگین ۴۱,۶ بودند. کلامیدوسپورها به‌صورت منفرد یا جفتی به شکل کروی روی محیط‌های قدیمی SNA و PDA تشکیل شد. ویژگی‌ها مطابق کلیدهای شناسایی و مقالات معتبر استفاده شده در این پژوهش بود. (شکل۳).



شکل۳. A و B . به ترتیب سطح رویی و زیرین پرگنه قارچ *Fusarium culmorum* روی محیط کشت PDA، C . تشکیل ماکروکنیدیوم روی CLA، D. ماکروکنیدیوم روی محیط CLA ، E. کلامیدوسپور، (خط مقیاس‌ها=۱۰ میکرومتر).

Figure 3. A and B. respectively, culture of *Fusarium culmorum* on PDA, C. Macroconidia formation CLA Scale bar 10µm, D. Macroconidium on CLA, E. Chlamydospore, (Scale bars 10µm).



شکل ۴. درخت فیلوژنتیکی استنباط شده براساس ترکیب نواحی *tef-1α* و *rpb2* برای سه آرایه قارچی با روش Neighbor-Joining . اعداد بالای هر شاخه درجه اعتبارسنجی از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می دهد. گونه *Cyannonecteria buxicola* به عنوان آرایه گروه خارجی انتخاب شده است.

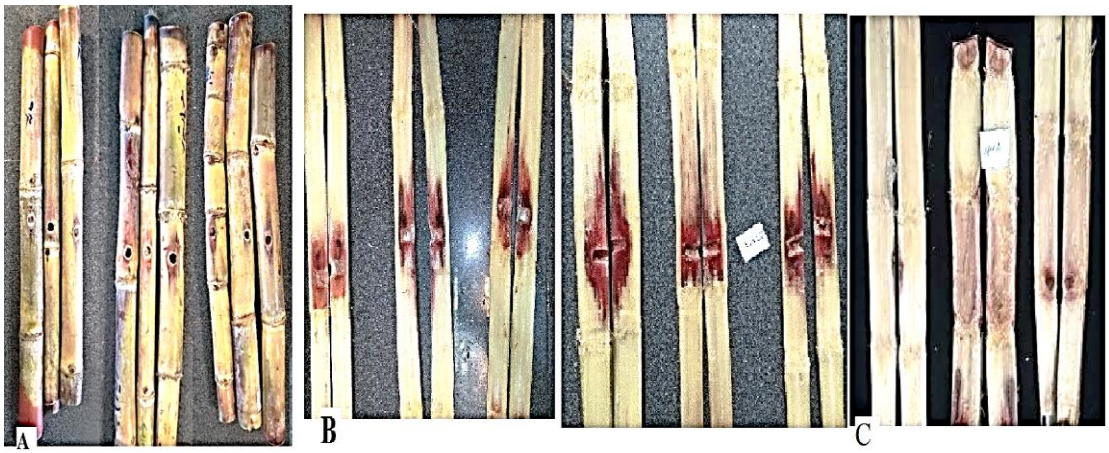
Figure4. Phylogenetic tree inferred based on the combination of *tef-1α* and *rpb2* regions for three fungal arrays with the method. Neighbor-Joining numbers above each branch show the degree of validation from 1000 replications. *Cyannonecteria buxicola* species is selected as the outgroup array

توالی‌ها با کد دسترسی PP165809 و PP165816 برای ناحیه ژنی tef1، PP165810 و PP165817 برای ناحیه ژنی RPB2 به ترتیب برای *Fusarium oxysporum* strainSD23 و *Fusarium culmorum* strainSD39 در بانک ژن NCBI ثبت شدند.

دو جدایه SD39 و SD23 براساس صفات ریخت‌شناسی و آنالیز مولکولی با ترکیب نواحی ژن‌های *tef-1α* و *rpb2* به ترتیب دارای شباهت ۱۰۰ درصد با گونه‌های *F. culmorum* و *F. oxysporum* بودند و در درخت فیلوژنی در کنار آنها قرار گرفتند (شکل۴).

بیماری‌زایی قارچهای شناسایی شده

نشانه‌های بیماری بعد از ۱۵ روز در بوته‌های مایه‌زنی شده مشاهده شدند (شکل ۵) و قارچهای مایه‌زنی شده مجدداً از بافت‌های آلوده جداسازی شد، درحالی‌که در تیمار شاهد هیچ نشانه‌ای از بیماری بروز نکرد.



شکل ۵. تست بیماریزایی روی ساقه‌های بریده نیشکر A سطح بیرونی ناحیه مایه زنی شده B و سطح داخلی ناحیه آلوده در تیمارها C سطح داخلی ساقه در شاهد

Figure 5. Pathogenicity test on cut sugarcane stalksDetach test : A. the outer surface of the inoculated area, B.The inner surface of the infected area in the treatments, C. The inner surface of the stalk in the control.

تجزیه واریانس دادههای آزمایش نشان داد که بین آنها اختلاف معنیداری در سطح ۱ درصد وجود دارد. مقایسه میانگین داهها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که بین این دو قارچ از نظر قدرت بیماریزایی تفاوت معنیداری وجود ندارد (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر شاخص شدت بیماری (طول ناحیه زخم برحسب سانتی‌متر)

Table 1. Average comparison The effect of the type of treatment on the disease severity index.

Treatment	length of the wound (Cm)
F. oxysporum strain SD23	5.91 a
F. culmorum strain SD39	4.85 a
Healthy check	0.0 b

حرفهای غیرمشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد با آزمون دانکن است.

بحث

گونه‌های مختلف فوزاریوم به عنوان عامل ایجاد این بیماری در سراسر جهان معرفی شده‌اند، شامل: *F. verticillioides* , *F. proliferatum*, *F. oxysporum, F. sacchari, F. andiyazi*, *F. subglutinans*, *F. incarnatum* ،*F. commune*, *F. miscanthi*, *F. nisikadoi* (Meng et al 2020, Mohammadi et al. 2012, Lin et al. 2014, Wang et al. 2018 , Bao et al 2016 , Samaco & delaCueva 2019).

در برزیل *F. andyaz* ،*F. sacchari* نقش مهمی در توسعه پوکابونگ ایفا می‌کنند (Yao *et al.* 2020). *F. subglutinans* که اکنون به‌عنوان *F. sacchari* شناخته می‌شود که در سراسر جهان به‌عنوان عامل اصلی پوکابونگ معرفی شده است (Costa *et al.* 2019). در آسیا چندین گونه به‌عنوان عامل پوکابونگ شناسایی شدند ازجمله *F. proliferatum* و *F. sacchari*، که در کمپلکس گونه (FFSC) *F. fujicori* قرار دارند (Siti Nordahliawate et al. 2008, Lin et al. 2014) و در آفریقای جنوبی *F. andiazi F. proliferatum* و *F. sacchari* (Govender *et al.* 2010) و در چین *F. verticilliodes* ،*F. proliferatum* و *F. fujicori* به‌عنوان عامل بیماری گزارش شده است (Lin *et al.* 2014) .

گونه‌های *F. sacchari* ،*F. andiyazi* ،*F. verticillioides* ،*F. proliferatum* ،*F. equiseti* ،*F. incarnatum F. semitectum* ،*F. solani* نیز به‌عنوان فوزاریوم‌های بیماری‌زای نیشکر در ایران معرفی شده‌اند (Taherkhani *et al.* 1998؛ Tavakol Noorabadi *et al.* 2021). *F. verticillioides* شایع‌ترین گونه قارچی است که نیشکر را آلوده می‌کند و تولید اسید فوزاریک می‌کند. بیش‌ترین فراوانی را بین جدایه‌ها دارد.کنیدیوم هوازاد آن در تمام مناطق کشت نیشکر برگ و ساقه را آلوده می‌کند (Tavakol Noorabadi et al. 2021). گونه‌های غالب فوزاریوم ریزوسفر نیشکر *F. verticilliodes*، *F. proliferatum* ،*F. miscanti* بودند و *F. culmorum* نیزاز ریزوسفر نیشکر در ایران گزارش شده است (Hasani et al. 2017). همچنین *F. verticilliodes* ،*F. proliferatum* ،*F. semitectum* در پژوهشی دیگر به‌عنوان عامل بیماری در ایران معرفی شده‌اند (Taherkhani *et al.* 1998). در مطالعه ما نیز گونه‌های *F. oxysporum* و *F. culmorum* به عنوان عامل بیماری پوکابونگ جداسازی و شناسایی شدند.

F. oxysporum به وسیله Bao و همکاران (2016) از گیاهان دارای علائم پوکابونگ در چین جداساز و معرفی شد.اما تا کنون ازگیاه نیشکر ایران گزارش نشده است. Haji-Hasani و همکاران (2017) گونه *F.culmorum* را همراه با *F. proliferatum* ،*F. miscanthi* ،*F. subglutinans*،*F. verticillioides* از ریزوسفر نیشکر نیز جدا وگزارش کرده‌اند.

قارچ *Fusarium culmorum* از گونه‌های فوزاریومی رایج در خاک، انگل اختیاری و یکی از بیمارگرهای مهم غلات در طیف وسیعی از گیاهان از جمله ذرت است Scherm et al. 2013 , Oldenburg et al. 2015)، همچنین عامل پوسیدگی طوقه و ریشه و همچنین سوختگی سنبله (Fusarium Head Blight)

در گندم و جو است (Scherm et al. 2013, Crozza et al. 2002, Fakhfakh et al. 2011) که در طول مراحل رشد گل و پر شدن دانه رخ می‌دهد و تا زمان برداشت نیزبه عنوان بیمارگر پس از برداشت نیز شناخته می شود، به ویژه در دانه های تازه برداشت شده که خشک نشده یا به درستی ذخیره نشده باشند (Lowe et al. 2012, Scherm et al. 2013). جدایه‌های مناطق جغرافیایی مختلف این قارچ تنوع زیادی از نظر قدرت تهاجمی نوع و مقدار میکوتوکسینها مثل تریکوتسین و زرالنون دارند (Desjardins 2006, Marin et al. 2013, Akinsami et al. 2006). آن در شرایط خشکسالی خسارت بیشتری وارد می‌کند(Smiley 2010). این پژوهش نشان داد که *F. culmorum* می‌تواند عامل بیماری پوکابونگ باشد، زیرا از بوته‌های نیشکر دارای علایم این بیماری جدا شد ولی در بررسی بیماریزایی تفاوت معنیداری با *F. oxysporum* نداشت . اما هر دو قارچ در مقایسه با شاهد به طور معنیداری بیماریزا بودند.

نتیجه‌گیری Conclusion

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهند که قارچ‌های خاکزی *F. oxysporum* و *F. culmorum* در بافتهای دارای علایم بیماری پوکابونگ نیشکر در استان خوزستان حضور دارند و برای اولین بار به عنوان عوامل بیماری‌زای نیشکر در ایران معرفی می‌شوند.

سپاسگزاری

نویسندگان از موسسه تحقیقات نیشکر امیرکبیر و پرسنل آن به ویژه جناب آقای دکتر طاهرخانی وجناب آقای دکتر موذن که ما را در راستای انجام این پژوهش یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع References

1. Bao, Y.X., Sun, H.J., Li, Y.F., Duan, Z.Z., McCord, P.H., Cui, Y.P. et al. (2016) First report of *Fusarium oxysporum* isolate GX3 causing sugarcane pokkah boeng in Guangxi of China. *Plant Disease*, *100,* 1785.
2. Costa, M.M., Melo, M.P., Guimarães, E.A., Veiga, C.M.O., Sandin, F.C., Moreira, G.M. et al. (2019) Identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with pokkah boeng of sugarcane in Brazil. *Plant Pathology*, 68, 1350–1360.
3. Dela Cueva, F.M., R.L. De Torres, J.S. Mendoza, N.R. Laurel, A.M., De Castro, M.J.C., Mendoza, R.L., Tiongco, M.S., Pinili., & Balendres, M.A.O. (2019). Distribution of sugarcane diseases in the Philippines. 66th PHILSUTECH *Annual National Convention*. Waterfront Hotel, Lahug, Cebu City, Philippines, pp. 12–16.
4. Desjardins, A.E. (2006). Fusarium Mycotoxins Chemistry. Genetics and Biology; *American Phytopathological Society Press*: St. Paul. MN, USA.
5. FakhFakh, M. M., Yahyaoui, A., Rezgui, S., Elias, E. M. & Daaloul, A. (2011). Identification and Pathogenicity assessment of *Fusarium* spp. Sampled from durum wheat fields in Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, *10(34),* 6529-6539.

6. Geiser, D.M., del Mar Jiménez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A., & O'Donnell, K. (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: a DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *Eur J Plant Pathol, 110*, 473–479.
7. Govender, P., McFarlane, S.A., & Rutherford, R.S. (2010). *Fusarium* species causing pokkah boeng and their effect on *Eldana saccharina* walker (*Lepidoptera pyralidae*). *Proc. S. Afr. Sug. Technol*. *Ass., 83*, 267-270.
8. Haji-Hasani Sohi, P., Asgari, B., & Zare, R. (2017).Fusarium species associated with sugarcane rhizosphere in Khuzestan province, *Iran3rd Iranian Mycological Congress*, 26-28 August 2017, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.
9. Hall, T.A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.
10. Hasani, Haji, Sohi, P., Asgari, B., B., & Zare, R. (2017). *Fusarium* Species Associated Withwith Sugarcane Rhizosphere in Khuzestan Province, Iran. 3rd Iranian Mycological Congress, 26-28 August 2017. University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.
11. Huang, T., Yang, R., Huang, W., Huang, Y., & Qiao, X. (2018). Detecting sugarcane borer diseases using support vector machine. *Inform. Process. Agric*. 5, 74–82. https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.11.001.
12. Huang, Z., Li, H.X., Zhou, Y.M., Bao, Y.X., Zhang, M.Q., & Yao, W. (2022). Identification and functional analysis of Nep1-like proteins of Fusarium sacchari, the pathogen of sugarcane pokkah boeng disease. Acta Phytopathol. Sin., 52, 156–164.
13. Khani, K.T., Alizadeh, A., Nejad, R.F., & Tehrani, A.S. (2013). Pathogenicity of Fusarium proliferatum, a new causal agent of pokkah boeng in sugarcane. Proc. Intern. Soc. *Sugar Cane Technol*. 28: 1–5.
14. Kvas, M., Marasas, W.FOF. O., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J., & Steenkamp, E.T. (2009). Diversity and evolution of *Fusarium* species in the *Gibberella fujikuroi* complex. *Fungal Diversity*. 2009; 34:1-21.
15. Leslie, J. F. & Sammerell, B. A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell publishing, Iowa, USA. 388 pp.
16. Lin, Z.Y., Que, Y.X., Liu, P.W., Huang, Y.Z., Zhang, M.Q. (2014). Research progress of plant pathogenic *Fusarium*. *Sugar Crops of China*. 2014; 1:58–64+78. doi: 10.13570/j.cnki.scc.2014.01.004.
17. Liu, Y.L, Whelen, S., & Hall, B.D. (1999). Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16: 1799-1808.
18. Lowe, R., Jubault, M., Canning, G., Urban, M. & Hammond-Kosack, K.E. (2012) The induction of mycotoxins by trichothecene producing *Fusarium* species. *Methods Mol. Biol.* 835, 439–455.
19. Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G., & Sanchis, V. (2013) Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. Food Chem. Toxicol.; 60:218–237. doi: 10.1016/j.fct.2013.07.047
20. Martin, J.P., Abbott, E.V., & Hughes, C.G. (1961) Sugarcane diseases of the world. Vol. 1. D Van Nostrand Company Ltd, London: Amsterdam: 247–257p.
21. Meng, J.R., Huang, H.J., Li, Y.X., Li, Y.J., Li, J.Q. & Chen, B.S. (2020). First report of *Fusarium sacchari* causing sugarcane pokkah boeng in China. *Plant Disease*, *104,* 1553.
22. Mohammadi, A., Nejad, R.F., & Mofrad, N.N. (2012). *Fusarium verticillioides* from sugarcane, vegetative compatibility groups and pathogenicity. *Plant Protection Science, 48 (2)*, 80–84.
23. Moller, E. M., Bahnweg, G., Sandermann, H. & Geiger, H. H. (1992) A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. *Nucleic Acids Research, 20*, 6115–6116.
24. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., & Marasas, W.F.O. (1983). *Fusarium* species: An il- lustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA.

25. Oldenburg, E.& Ellner, F. (2015). Distribution of disease symptoms and mycotoxins in maize ears infected by *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum*. *Mycotoxin* Res., 31, 117–126.
26. Refaei, J., Jones, E.B.G, Sakayaroj, J., & Santhanam, J. (2011) Endophytic fungi from *Rafflesia cantleyi*: species diversity and antimicrobial activity. *Mycosphere*, *2(4)*, 429–447.
27. Samaco, M.A., & delaCueva, F.M. (2019). Molecular characterization of *Fusarium* spp. associated with sugarcane Pokkah boeng from the Philippines using partial Translation Elongation Factor-1a(TEF-1a) gene sequences. *Sugar Tech 21 (4)*, 619–630.
28. Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. Food Chem. Toxicol., 60, 218–237.
29. Savocchia, S., Steel, C. C., Stodart, B. J., & Somers, A. (2007). Pathogenicity of *Botryosphaeria* species isolated from declining grapevines in subtropical regions of Eastern Australia. *Vitis - Journal of Grapevine Research*, 46(1), 27-32.
30. Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2013)**.** *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Mol. Plant Pathol*. *14,* 323–341.
31. Siti Nordahliawate, MS., Nur Ain Izzati, M.Z., Azmi, A.R., & Salleh, B. (2008) Distribution, morphological characterization and pathogenicity of *Fusarium sacchari* associated with pokkah boeng disease of sugarcane in Peninsular Malaysia. *Pertanika J. Trop. Agric*. *Sci., 31*, 279-286.
32. Smiley, R.W. (2010) Fusarium root, crown and foot rots and associated seedling diseases. Pp. 37-39. In: WW Bockus, RL Bowden, RM Hunger, WL Morrill, TD Murray, RW Smilley (eds.). Compendium of Wheat Diseases and Pests. APS Press, USA.
33. Summerell, B.A., Laurence, M.H., Liew, E.C.Y., & Leslie, J.F. (2010). Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: A review. *Fungal Diversity*, *43,* 3-13.
34. Taherkhani, K., Alizadeh, A., Farokhinejad, R., & Sharifitehrani, A. (1998): Identification of causal agents of sugarcane *Fusarium* diseases in Khuzestan Province. In: *Proceedings 13th Iranian Plant Protection Congress*, Karaj, Iran.
35. Tavakol Noorabadi, M., Masiello, M., Taherkhani, K., Zare, R., Torbati, M., Haidukowski, M., Somma, S., Francesco Logrieco, A., Moretti, A., & Antonia Susca, B. (2021). Phylogeny and mycotoxin profile of Fusarium species isolated from sugarcane in Southern Iran, *Microbiological Research* -252-126855.
36. Vishwakarma, S., Kumar, P., Nigam, A., Singh, A., Kumar, A. (2013) Pokkah boeng: An emerging disease of sugarcane. *J Plant Pathol Microbiol, 4*, 2.
37. Viswanathan, R. (2012). Need for a paradigm shift in sugarcane disease management in: *Perspectives in Sugarcane Agriculture*, (Eds N.V. Nair, D. Puthira Pratap, R. Viswanathan, J. Srikanth, A. Bhaskaran, Bakshi Ram), Society for Sugarcane Research and Development, Coimbatore 171-206.
38. Viswanathan, R. (2020). Fusarium diseases affecting sugarcane production in India. *Indian Phytopathology* 73:415-424. https://doi.org/10.1007/s42360-020-00241-y.
39. Wang, J.H., Chai, Z., Bao, Y.X., Li, Y.S., Wang, H.X., Rao, G.P., & Zhang, M.Q. (2018) First report of Fusarium commune causing root rot disease of sugarcane (var. Badila) in China. Plant Dis 102:1660–1664.
40. Xu, S., Wang, J., Wang, H., Bao, Y., Li, Y., Govindaraju, M., et al. (2019). Molecular characterization of carbendazim resistance of *Fusarium* species complex that causes sugarcane pokkah boeng disease. *BMC Genom., 20,*115. doi: 10.1186/s12864-019-5479-6.
41. Yao, Z., Zou. C., Peng, N., Zhu, Y., Bao, Y., Zhou, Q., Wu, Q., Chen, B., Zhang, M. (2020) Virome Identification and Characterization of *Fusarium sacchari* and *F. andiyazi*: Causative Agents of Pokkah Boeng Disease in Sugarcane. *Front Microbiol, 11*, 240.