The University of Tehran Press

Biological Control of Pests and Plant Diseases

Online ISNN: 2322-2883

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

Pathogenicity of Fusarium species, the causative agent of Pokkah boeng sugarcane disease, and the antagonistic effect of *Trichoderma afroharzianum* on it

Samaneh Dashtipoor[1], Doustmorad Zafari[2]✉

1. Department of Plantprotection College of Agriculture University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran. E-mail: Samane.dashtipoor1988@gmail.com
2. Department of Plantprotection College of Agriculture University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran. E-mail: Zafari_d@basu.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 27 February 2024

Revised: 3 May 2024

Accepted: 14 May 2024

Published online: Spring 2023

Keywords:

Sugercane, Fusarium, Trichoderma.

ABSTRACT

Sugarcane is an important commercial product for sugar production in the world. A perennial plant from the cereal family, which is susceptible to various pests and diseases due to the long cultivation period, which affects its production. Pokkah boeng disease caused by Fusarium species is one of the important and developing diseases of sugarcane worldwide. In this research, the pathogenicity of Fusarium species related to this disease, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. sacchari*, *F. andiyazi*, *F. acutatum* in sugarcane, with two methods of pathogenicity test of cut stems under laboratory conditions and pathogenicity test in Greenhouse conditions were carried out. To calculate the severity of the disease in different species, the length of the wound area on the canes was measured. The results showed that the intensity of pathogenicity in three species *F. verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. sacchari* was higher than other species. In another part, the antagonistic property of the endophytic fungus *Trichoderma afroharzianum* isolated from healthy sugarcane plants was used for biological control of this disease in greenhouse conditions. The effectiveness of the biocontrol agent was determined by measuring the fusarium index, the length of the wound area and plant growth factors, which indirectly contribute to the reduction of disease damage. The results showed that all the treatments applied with endophytic fungi were successful in reducing the disease and increasing the growth factors of the treated plant compared to the control.

Cite this article: Dashtipoor, S. & Zafari, D. (2023). Pathogenicity of Fusarium species, the causative agent of Pokkah boeng sugarcane disease, and the antagonistic effect of *Trichoderma afroharzianum* on it. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 12 (1), 29-45. DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.373268.336

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.373268.336

Extended Abstract

Introduction

Sugarcane is a perennial plant from the cereal family, which is susceptible to various pests and diseases due to the long cultivation period. Biotic and non-biotic stresses affect sugarcane production. Among its important fungal diseases include red rot, smut, and Pokkah boeng caused by Fusarium species, which is one of the most important and developing diseases of sugarcane in the world. Fusarium fungus has a high adaptability to weather conditions and stress condition increases the severity of pathogenicity in different species of Fusarium agent. Pokkah boeng disease has been developing in different sugarcane cultivars in recent years. It is necessary to know the causative agent of the disease in order to carry out its management plans.

Materials and Methods

The severity of the pathogenicity of Fusarium species isolated from sugarcane plants affected by Pokkah boeng disease was measured using the pathogenicity test in cut plants in laboratory conditions and seedlings planted in pots. The antagonistic effect of the endophytic fungus *Trichoderma afroharzianum* on reducing disease index and increasing plant growth factors was carried out in a greenhouse experiment. To calculate the biocontrol effect of endophytic fungi on disease severity in Fusarium species with higher pathogenicity, the length of the wound area on the canes and the Fusarium disease index were measured.

Result and Discussion

The comparison of the species showed that the intensity of pathogenicity was higher in the three species *F. proliferatum*, *F. verticilliodes*, and *F. sacchari*. In the biological control test, we used the endophyte fungus isolated from healthy sugarcane plants to control this disease. Its effect was measured by measuring Fusarium index control and the effect of biocontrol agents on plant growth factors, which indirectly played a role in disease damage control. The results showed that the endophyte fungus reduced the disease index and wound area in all treatments, while the reduction of the disease index was significant only in the *F.verticilliodes* treatment, it also increased the growth factors. The root length and weight increased significantly. Native endophyte isolates have been confirmed in many researches as one of the effective ways to reduce disease in sugarcane. In many researches, two types of *F. sacchari.* and *F. verticillioides* have been introduced as the main factors in the initiation and spread of the disease.

Conclusion

The results of our research showed the pathogenicity of five species *F. verticillioides, F. proliferatum, F. sacchari, F. andiyazi, F. acutatum* with high abundance in sugarcane plants with Pokkah boeng disease symptoms and intensity of pathogenicity was higher in three species *F. proliferatum*, *F. verticilliodes*, and *F sacchari*. *T. afroharzianum* endophyte fungus was used to control the disease, which had a significant effect in reducing the disease and increasing plant growth factors. By identifying fungi and endophytic bacteria of sugarcane plants and identifying their metabolites and effective compounds, these factors can be used to produce biofungicide and biofertilizer commercially for the biological control of this disease and other destructive diseases of sugarcane.

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری های گیاهی، دوره ۱۲، شماره ۱

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۹۰

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

بیماری‌زایی گونه های فوزاریوم عامل بیماری پوکابونگ نیشکر و اثر آنتاگونیستی قارچ اندوفیت *Trichoderma afroharzianum* بر آن

سمانه دشتی‌پور[۱]، دوستمراد ظفری[۲]✉

۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان ، ایران. رایانامه: Samane.dashtipoor1988@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان ، ایران. رایانامه: Zafari_d@basu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۵

تاریخ انتشار: بهار ۱۴۰۲

کلیدواژه‌ها:

نیشکر، فوزاریوم، تریکودرما .

چکیده

نیشکر یک محصول مهم تجاری برای تولید شکر در جهان است. گیاهی چندساله از خانواده غلات که به دلیل طولانی بودن دوره کشت در معرض ابتلا به آفات و بیماری‌های مختلف است که بر تولید آن اثر می‌گذارد. بیماری پوکابونگ ناشی از گونه‌های قارچ فوزاریوم، یکی از بیماری‌های مهم و در حال توسعه نیشکر در سراسر جهان است. در این تحقیق بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم مرتبط با این بیماری *F. verticillioides* ،*F. proliferatum* ،*F. sacchari* ،*F. andiyazi* ، *F. acutatum* در نیشکر، با دو روش آزمون بیماری‌زایی ساقه‌های بریده در شرایط آزمایشگاهی و آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه انجام شد. برای محاسبه شدت بیماری در گونه‌های مختلف، طول ناحیه زخم روی ساقه اندازه گیری شد . نتایج نشان داد که شدت بیماری‌زایی در سه گونه *F.verticillioides* ،*F. proliferatum* و *F. sacchari*. بیشتر از سایر گونه‌ها بود. در بخش دیگر از خاصیت آنتاگونیستی قارچ اندوفیت *Trichoderma afroharzianum* جدا شده از گیاهان سالم نیشکر برای کنترل زیستی این بیماری در شرایط گلخانه استفاده شد. میزان اثر بخشی عامل بیوکنترل با سنجش شاخص فوزاریومی، طول ناحیه زخم و فاکتورهای رشدی گیاه بود که به طور غیرمستقیم در کاهش خسارت بیماری نقش دارند. نتایج نشان داد که تمام تیمارهای اعمال شده با قارچ اندوفیت نسبت به شاهد درکاهش بیماری و افزایش فاکتورهای رشدی گیاه موفقیت‌آمیز بوده است.

استناد: دشتی‌پور، سمانه و ظفری، دوستمراد (۱۴۰۲). بیماری‌زایی گونه های فوزاریوم عامل بیماری پوکابونگ نیشکر و اثر آنتاگونیستی قارچ اندوفیت *Trichoderma afroharzianum* بر آن. *نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی* ، ۱۲ (۱)، ۴۵-۲۹. DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.373268.336

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.373268.336

مقدمه

نیشکر گیاهی تک‌لپه از خانواده گندمیان از غلات مهم با ارزش اقتصادی بالا است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری سراسر جهان کاشته می‌شود و به‌عنوان یک گیاه تجاری برای تولید شکر و مصارف صنعتی مثل تولید الکل و صنایع تخمیری، سوخت زیستی و خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرد (Anderson, 2015; Tavakol Noorabadi *et al*. 2021). نیشکر عامل تأمین حدود ۷۰ درصد شکر جهان است (Vishwakarma *et al*,2018a).

این گیاه علاوه بر تنش‌های غیرزیستی مثل سیل و خشکسالی همواره در معرض خسارت آفات و بیماری‌هایی است که موجب کاهش تولید و کیفیت این محصول می‌شوند (Ovalle and García, 2008). از بیماری‌های مهم قارچی آن می‌توان پوسیدگی قرمز سیاهک و پوکابونگ را نام برد (Viswanathan *et al*. 2017; Wang *et al*.2018; Singh *et al*. 2006).

بیماری Pokkah Boeng (PBD)، ناشی از گونه‌های فوزاریوم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی نیشکر، مدت‌هاست بر تولید آن تأثیر گذاشته است و می‌تواند منجر به کاهش عملکرد و آلودگی به میزان ۴۰ تا ۹۰ درصد در ارقام حساس شود. بیماری در فصولی با باران‌های موسمی رایج‌تر است و در مناطقی که ارقام حساس به طور گسترده کاشته می‌شوند، بیماری موجب آسیب شدید می‌شود (Vishwakarma *et al*. 2018a; Lin *et al*. 2014).

گونه‌های جنس تریکودرما از پرکاربردترین میکروارگانیسم‌های سودمند خاکزی هستند که نقش مهمی در مهار زیستی قارچ‌های خاکزاد بیمارگر گیاهی ازجمله فوزاریوم دارند و موجب فعال نگه داشتن سیستم زیستی خاک در زمین‌های کشاورزی می‌شوند (Hermosa *et al*. 2012). گونه‌های تریکودرما با تولید هورمون‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه (John *et al*. 2010) و افزایش تحرک عناصر غذایی (Mastouri *et al*. 2010) ، اثرات سودمندی بر رشد گیاهان دارند و با ایجاد مقاومت سیستمیک در برابر قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها، سازوکار دفاعی گیاه را تقویت می‌کنند. این قارچ میکوپارازیت با تولید متابولیت‌های ثانویه و آنزیم‌های هضم‌کننده دیواره سلولی، رشد بیمارگر را محدود می‌کنند (Salas-Marina *et al*, 2015; Segarra *et al*, 2007).

شناسایی دقیق و سریع عامل بیماری‌زا موجب درک واضح‌تر از بیماری شده و در پیشگیری از اپیدمی و به حداقل رساندن زیان‌های آینده آن حائز اهمیت است. کاربرد کنترل زیستی با قارچ تریکودرما، به‌عنوان یک راهکار کاربردی در کاهش بیماری، می‌تواند در برنامه مدیریت این بیماری در حال توسعه لحاظ شود.

پیشینه پژوهش

در چین مشاهده شده که بیشتر انواع نیشکری که کشت می‌شوند به بیماری حساس هستند (Lin *et al*, 2014). پوکابونگ به صورت سیستمیک در تمام قسمت‌های نیشکر وجود دارد و در تمام مراحل رشدی گیاه دیده شده و به شرایط محیطی، کیفیت قلمه‌ها، شرایط نگه‌داری و تنش‌هایی مثل استرس آب، دما، PH تغذیه و آسیب‌های ساقه مثل شکستگی و تگرگ بستگی دارد (Vishwakarma *et al*, 2013b; McFarlane and Rutherford, 2005).

Viswanathan و همکاران2017، PBD را یک بیماری قارچی هوازاد ناشی از کمپلکس گونه‌های *Fusarium fujikuroi* (FFSC) دانستند و گونه *F. sacchari* را عامل کاهش شدید عملکرد در ارقام حساس نیشکر در سراسر جهان معرفی کردند. چندین گونه فوزاریوم به‌عنوان عوامل ایجادکننده Pokkah Boeng گزارش شده‌اند، ازجمله *F. sacchari*، *F. fujikuroi*، *F. verticillioides*، *F. andiyazi* و *F. proliferatum* (Lin *et al*, 2014; McFar lane and Rutherford, 2005; Singh *et al*. 2006; Vishwakarma *et al*, 2013).

اهمیت جنس فوزاریوم به دلیل قدرت سازگاری در شرایط اقلیمی متفاوت و دامنه میزبانی وسیع است (Agrios, 2005). ماهیت بیماری فوزاریومی این‌گونه است که بعد از تنش مشکل‌ساز می‌شود، و به صورت میسیلیوم فعال و غیرفعال در بقایای میزبان و مواد آلی وجود دارد. گونه‌های مختلف فوزاریوم علاوه بر بیماری‌زایی گیاهان، موجب آلودگی میکوتوکسین در انسان

و سایر حیوانات می‌شود (Mondes *et al*, 2005). طبقه‌بندی گونه‌های این جنس، به شکل کمپلکس گونه‌های فوزاریوم (FSC) براساس مفاهیم فیلوژنتیکی، بیولوژیکی، و مرفولوژیکی گونه‌ها است (Summerell *et al*, 2010; Kvas *et al*, 2009).

روش‌شناسی پژوهش

ایزوله‌های جداسازی شده از گیاهان دارای علایم پوکابونگ از مزارع کشت و صنعت‌های نیشکر استان خوزستان به‌دست آمد و گونه‌های شناسایی شده دارای بیشترین فراوانی شامل *Fusarium sacchari* strainSD37، *Fusarium proliferatum* strainSD22، *Fusarium F.andiyazi* strain SD29، *Fusarium verticilliodes* strain SD31، *Fusarium acutatum* strain SD15 برای سنجش بیماری‌زایی مورد بررسی قرار گرفتند و به‌ترتیب با کدهای دسترسی PP165813، PP165814، PP165812، PP024600، PP165811 و قارچ اندوفیت *Trichoderma afroharzianum* strain SD18 جدا شده از گیاهان سالم نیشکر استفاده شد و با کد دسترسی PP165808 (توالی‌ها مربوط به بخشی از ژن *tef-α* است) در بانک ژن ثبت شده‌اند. بررسی بیماری‌زایی گونه‌های مذکور با دو روش سنجش بیماری‌زایی روی قلمه‌های بریده در آزمایشگاه و بررسی بیماری‌زایی با میکروتزریق جدایه‌ها در نهال‌های کاشته شده در گلخانه انجام شد.

تست بیماری‌زایی در آزمایشگاه

اثبات بیماری‌زایی با تکنیک مایه‌زنی به روش ساقه‌های جداشده برای حداقل رساندن دوره کمون در آزمایشگاه براساس روش Savocchia و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. ساقه‌های به قطر ۱/۵ سانتی‌متر هم‌سن و فاقد هر تغییررنگ و علایم خسارت آفت و بیماری بریده و به قطعاتی به طول ۳۰ سانتی‌متر دارای دو جوانه و یک میانگره سالم تقسیم شدند بعد از شستن با استفاده از پنبه آغشته به الکل اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی سطحی شدند. برای جلوگیری از ورود عوامل بیماری‌زا دو طرف شاخه با پارافین پوشانده شد. با استفاده از چوب پنبه سوراخ‌کن سترون، یک برش به قطر ۶ میلی‌متر در آن ایجاد شد و یک پلاگ ۶ میلی‌متری از جدایه موردنظر، از حاشیه پرگنه در حال رشد برداشته و در محل چاهک ایجاد شده در سطح شاخه مایه‌زنی شد سپس محل مایه‌زنی با پارافیلم پوشانده شد در شاهد یک پلاگ ۶ میلی‌متری از محیط‌کشت استریل استفاده شد گیاهان تلقیح شده در یک محفظه رشدی در دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در ژرمیناتور (برای حفظ رطوبت) نگه‌داری شدند. اصول کخ برای حصول ارتباط زخم ایجاد شده با مایه‌زنی بیمارگر انجام شد. بعد از گذشت ۱۴ روز با برش طولی ساقه، طول ناحیه زخم ایجاد شده در سطح کامبیوم اندازه‌گیری شد (Savocchia *et al*, 2007). این آزمایش در سه تکرار و در قالب طرح کامل تصادفی، و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن انجام شد، آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

تست بیماری‌زایی نهال در شرایط گلخانه

تست بیماری‌زایی در روش دوم، با میکروتزریق سوسپانسیون اسپور در نهال‌های کاشته شده در گلدان انجام شد. نهال‌های نیشکر ۴ ماهه از رقم CP69-1062 (که رقم رایج کشت شده در منطقه بود) بدون علایم بیماری و آفت و زخم استفاده شدند. برای تهیه سوسپانسیون اسپور، از پرگنه کشت ۱۰ روزه گونه‌های فوزاریوم عامل بیماری روی محیط‌کشت (Potato Dextrose Agar) PDA استفاده شد. پس از خراشیدن سطح پتری، محتویات آن به فلاسک‌های حاوی آب مقطر استریل منتقل شد. شمارش اسپورها توسط لام هماسیتومتر انجام گرفت. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور جدایه‌های مورد آزمایش، با غلظت $۱۰^{۶}$cfu/ml با استفاده از سرنگ پنی‌سیلین در سومین گره بالای سطح خاک تزریق شد و محل آن با سلفون پوشانده شد. در

شاهد به‌جای سوسپانسیون اسپور، آب مقطر تزریق شد. گیاهان تلقیح شده در گلخانه در دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی بالا (۸۰ درصد) برای ایجاد علایم بیماری در گیاهان قرار داده شدند. علایم روی ساقه تلقیح شده بعد از ۱۴ روز مشاهده گردید سپس جداسازی و شناسایی مجدد قارچ عامل بیماری‌زا به‌منظور اثبات اصول کخ انجام شد (Viswanathan and Samiyappan, 2008; Hassan *et al*, 2011).

تست کنترل زیستی در گلخانه

برای بررسی اثر بیوکنترلی قارچ اندوفیت تریکودرما بر جدایه‌های فوزاریوم عامل بیماری آزمایشی با شرایط ذیل، در شرایط گلخانه انجام شد. آزمایش براساس طرح فاکتوریل در ۸ تیمار و سه تکرار برای هر تیمار به صورت زیر طراحی شد:

(C) تیمار گیاه مایه زنی شده با آب مقطر سترون (شاهد سالم)، (F1، F2، F3 و F4) تیمار گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های قارچ بیمارگر فوزاریوم (شاهد آلوده) (F1) *F. sacchari*، (F2) *F. verticillioides*، (F3) *F. proliferatum*، (F4) *F. acutatum* و (F5)*F. andiyazi*، (T) گیاهان تلقیح شده با قارچ اندوفیت تریکودرما به‌عنوان عامل بیوکنترل و تیمارهای (T+F1، T+F2، T+F3 و T+F4) گیاه تلقیح شده با قارچ بیمارگر فوزاریوم و قارچ اندوفیت تریکودرما. قلمه‌های سالم نیشکر و عاری از هرگونه علایم تغییررنگ و آفت و بیماری نیشکر، رقم (CP69-1062) به قطعات ۵ تا ۷ سانتی‌متری دارای یک جوانه سالم بریده شد، و بستر جهت انجام تست بیوکنترل آماده گردید سپس با استفاده از خاک با ترکیب (رس: ماسه: کودبرگ) با نسبت (۱:۱:۲) پس از استریل کردن بذرها در گلدان ۱/۵ کیلویی در عمق ۳ سانتی‌متری از سطح خاک کشت شدند.

برای تهیه مایه تلقیح تریکودرما مطابق روش (Mohammadi, 2010) از دانه‌های گندم به‌عنوان بستر کشت استفاده شد. ۱۰۰ گرم دانه گندم و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر برای ایجاد رطوبت برای رشد در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و دوبار اتوکلاو شد. سپس پنج دیسک از کشت هفت‌روزه *T. afroharzianum* SD18 به ارلن اضافه شد و ارلن‌ها به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای تحریک اسپورزایی بیش‌تر، ارلن‌ها در داخل انکوباتور با نور ۲۴ ساعته نگهداری شدند. به‌منظور اجتناب از به هم چسبیدن سوبسترا و همین‌طور نفوذ قارچ به همه قسمت‌ها، پس از رشد و استقرار قارچ روی سوبسترا، محتویات ارلن‌ها به فاصله ۴-۳ روز یک بار به‌هم زده شدند (Akello *et al*, 2007; Posada *et al*, 2007). مایه‌زنی قارچ اندوفیت با تلقیح بذر قبل از کاشت به شکل غوطه‌ور کردن قلمه‌های تک جوانه آماده کاشت با سوسپانسیون 10^8 (cfu/m) تریکودرما به مدت ۳ ساعت بود.

مایه‌زنی مجدد اندوفیت در گیاهان نیشکر ۴ ماهه با روش خیساندن ریشه‌های گیاهچه‌ها در سوسپانسیون 10^8 تریکودرما بود و ۳۰ روز بعد از مایه‌زنی عکس‌برداری و کشت ریشه و ساقه روی PDA و مجدد اندوفیت شناسایی، و عکس‌برداری انجام شد. برای مایه‌زنی قارچ فوزاریوم از کشت ۷ روزه قارچ استفاده شد، خراش سطحی PDA و انتقال به فلاسک حاوی آب مقطر استریل تنظیم سوسپانسیون 10^6 با لام هماسیتومتر انجام شد و عامل بیماری با کمک سرنگ پنی‌سیلین به میزان ۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون 10^6 در میانگره سوم از سطح خاک تزریق شد.

گیاهان در شرایط گلخانه با نور طبیعی و دمای 3±25 درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. پس از گذشت یک ماه پارامترهای رویشی شامل ارتفاع بوته، ارتفاع ریشه، وزن‌تر و خشک ریشه، وزن‌تر و خشک بخش هوایی در هر یک از تیمارها نسبت به شاهد محاسبه شدند (Abawi and Barker, 1984). برای بررسی شدت بیماری (Disease severity (%DS براساس روش (Danielsen *et al*, ۱۹۹۸) طول ناحیه نکروز و تغییر رنگ بافت ساقه‌های آلـوده ۱۴ روز پس از تلقیح تیمار با یک خط‌کش اندازه‌گیری شد و ۳۰ روز بعد از تلقیح نیز بررسی شاخص پژمردگی فوزاریومی با شاخص مقیاس توصیفی انجام گرفت (Siti Nordahliwate *et al*, 2008). ارزیابی شدت بیماری در ساقه‌های مایه‌زنی شده آزمایشگاه، نیز همانند روش ذکر شده در آزمون گلخانه‌ای انجام شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شدت بیماری مورد تجزیه واریانس قرارگرفتند و میانگین اثر نوع تیمار بر شاخص فوزاریوم جدایه‌ها از نظر شدت بیماری به روش دانکن مقایسه شدند.

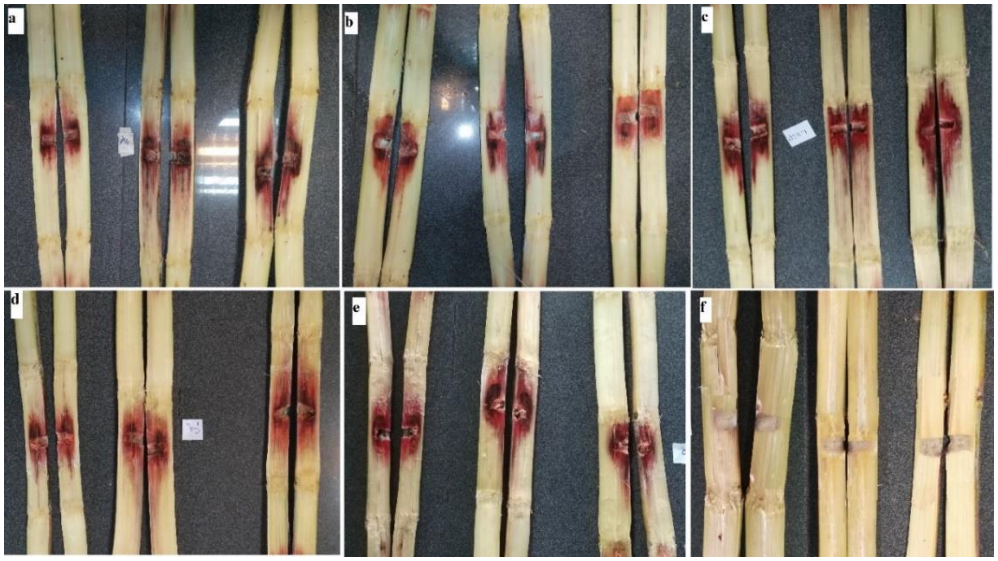
رنگ‌آمیزی ریشه برای مشاهده حضور قارچ تریکودرما

تلقیح ریشه با سوسپانسیون اسپور قارچ تریکودرما در دو نوبت: زمان کاشت، و یک ماه قبل از تزریق قارچ فوزاریوم به گیاه، انجام شد. نمونه‌برداری تصادفی از ریشه تعدادی از گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ تریکودرما دو هفته بعد از دومین مایه‌کوبی برای مشاهده حضور قارچ در گیاه و کلونیزاسیون ریشه انجام شد و ریشه‌ها به‌طور کامل با آب جاری شسته شدند ریشه‌های جانبی به قطعات به طول ۱ سانتی‌متر بریده شدند و به مدت ۱ ساعت با KOH ۱۰ درصد در دمای ۹۰ درجه سلسیوس تحت تیمار قرار گرفتند، سپس با آب مقطر استریل شسته شدند تا KOH حذف شود و پس از شست و شو با آب مقطر استریل، به مدت ۱۰ دقیقه با HCl ۱ درصد اسیدی شدند سپس نمونه‌های ریشه با آب مقطر آبکشی شده و برای مشاهده نفوذ قارچ به ریشه با لاکتوفنل کاتن‌بلو رنگ آمیزی شده و زیر میکروسکوپ مشاهده شدند (Phillips *et al*, 1970).

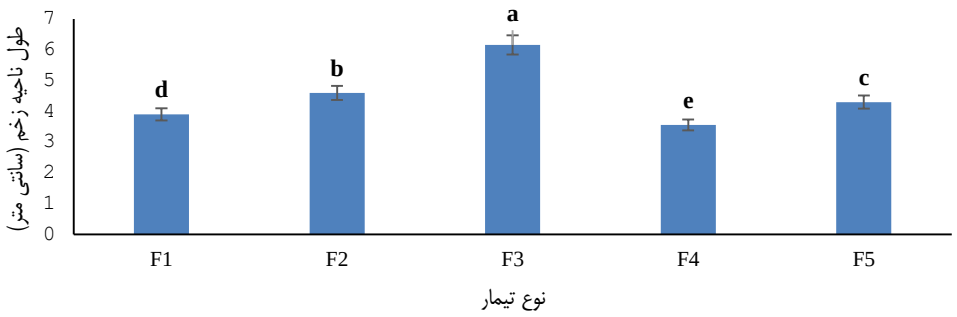
یافته‌های پژوهش

نتیجه تست بیماری‌زایی حاکی از ظهور نشانه‌های بیماری و جداسازی مجدد قارچ عامل بیماری در گیاهان نیشکر تلقیح شده بود. مطابق جدول ۱ مشاهده می‌شود تست بیماری‌زایی قارچ‌ها در آزمایشگاه و گلخانه در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار بوده است. با مقایسه میانگین بر اساس آزمون دانکن با حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد نیز هر ۵ نوع عامل بیماری زا در ۵ گروه متفاوت طبقه‌بندی شده است. اما در شرایط آزمایشگاهی تیمار *F. proliferatum* با اندازه ۶/۱۶ سانتی‌متر، دارای بیشترین طول ناحیه زخم بود درحالی‌که در نتایج تست گلخانه *F. sacchari* با ۷/۲۵ سانتی‌متر، بیشترین طول ناحیه زخم را داشت که به دلیل تأثیر فاکتورهای دیگر مرتبط با شرایط محیطی بر فعالیت قارچ، و نیز واکنش پاسخ‌های دفاعی گیاه در مقابل سازوکارهای مختلف بیمارگر در گیاه است (شکل ۱ تا ۴، جدول۱).

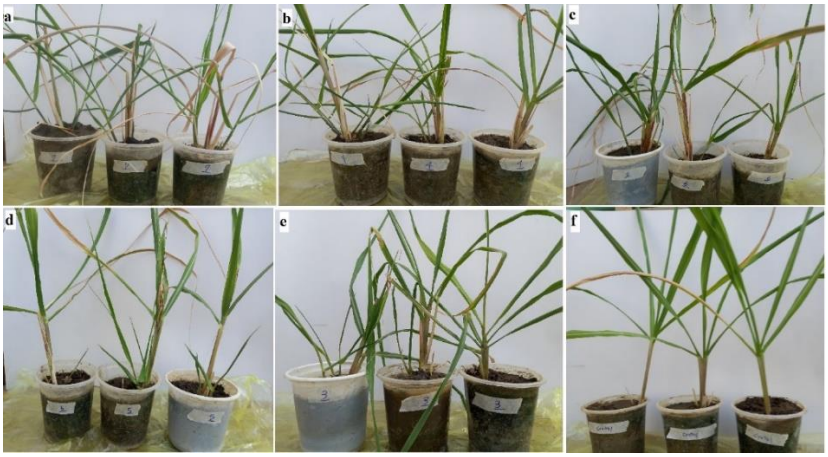
سه جدایه با بالاترین فراوانی و شدت بیماری‌زایی مربوط به گونه‌های *F. sacchari*، *F. proliferatum* و *F. verticilliodes* که به‌ترتیب با تیمارهای F1، F2 وF3 برای تست گلخانه استفاده شدند. رنگ‌آمیزی ریشه نیز تاییدکننده حضور قارچ اندوفیت در ریشه و نفوذ در بافت گیاه بود (شکل ۵ و ۶).



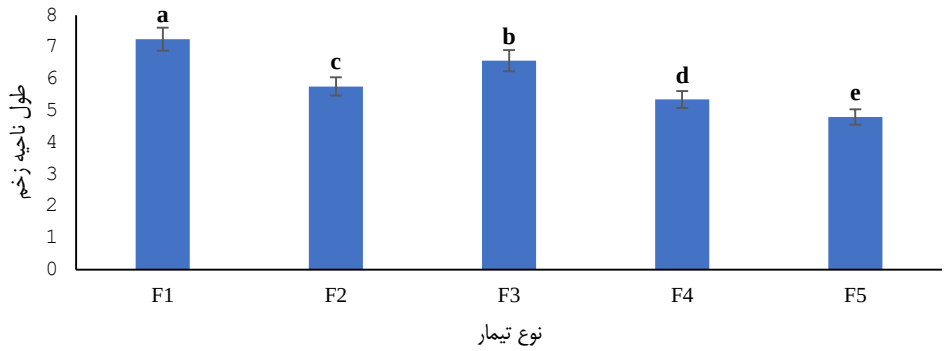
شکل۱. بررسی طول ناحیه زخم در تست بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاه،حروف a تا e به‌ترتیب تیمارگونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes* *F. proliferatum*، *F. acutatum* و *F. andiyazi* می‌باشند. f تیمار شاهد (مایه‌زنی با پلاگ محیط کشت بدون قارچ)



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر طول ناحیه زخم در تست بیماری‌زایی در آزمایشگاه. حروف غیرمشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون دانکن است. F1، F2، F3، F4 و F5 به‌ترتیب گونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes* ، *F. proliferatum*، *F. acutatum* و *F. andiyazi* می‌باشند.



شکل ۳. تست بیماری‌زایی قارچ فوزاریوم در نهال‌های نیشکر در گلخانه حروف، a تا e به‌ترتیب تیمارگونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes*، *F. proliferatum*، *F. acutatum* و *F. andiyazi* می‌باشند. f تیمار شاهد (مایه‌زنی با پلاگ محیط کشت بدون قارچ)

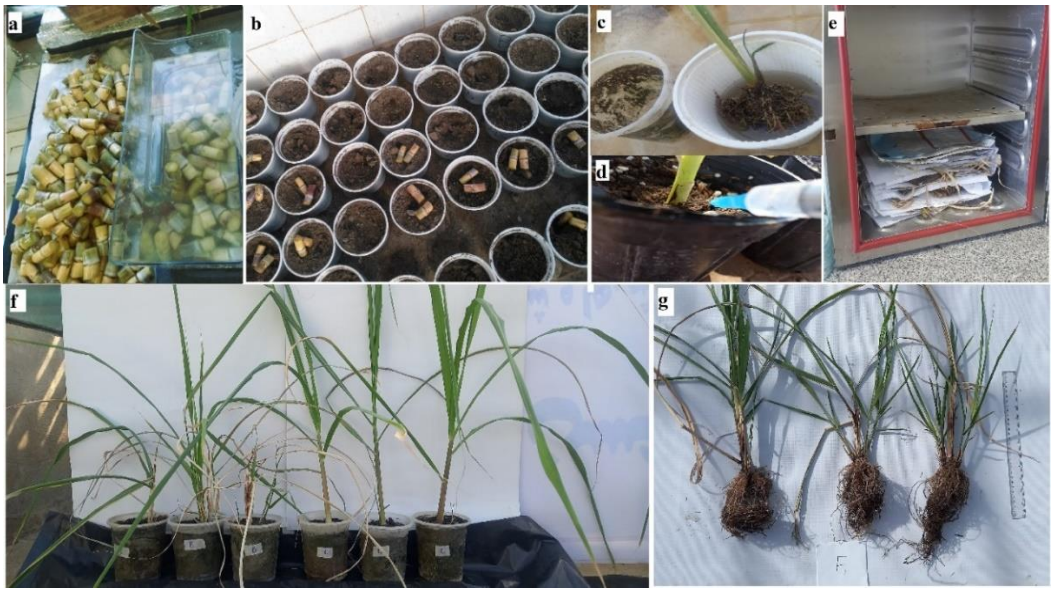


شکل ۴. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر طول ناحیه زخم در تست بیماری‌زایی در گلخانه. حروف غیرمشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون دانکن است. F1، F2، F3، F4 و F5 به‌ترتیب گونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes*، *F. proliferatum*، *F. acutatum* و *F. andiyazi* می‌باشند.

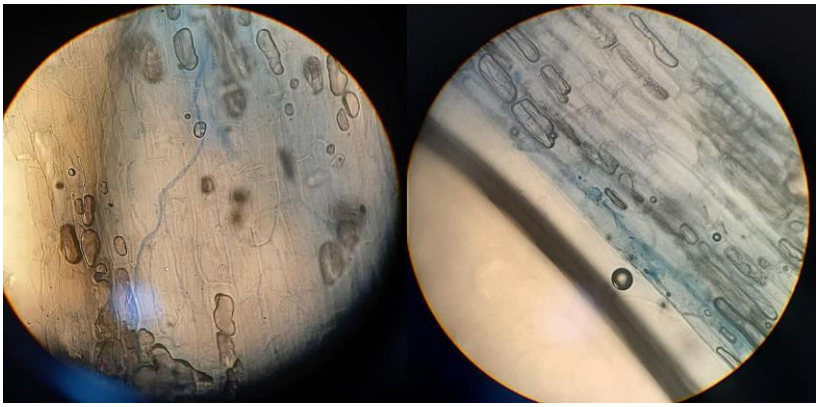
جدول ۱. تجزیه واریانس اثر نوع تیمار بر تست بیماری‌زایی گونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes*، *F. proliferatum*، *F. acutatum* و *F. andiyazi* درشرایط آزمایشگاه و گلخانه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		طول ناحیه زخم (آزمایشگاه)	طول ناحیه زخم (گلخانه)
تیمار	۴	۲/۰۲**	۱/۸۹**
خطا	۵	۰/۰۰	۰/۰۰
ضریب تغییرات		۰/۰۰	۰/۰۰

علامت ** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۱، * معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵، ns غیرمعنی‌دار بودن داده‌هاست.



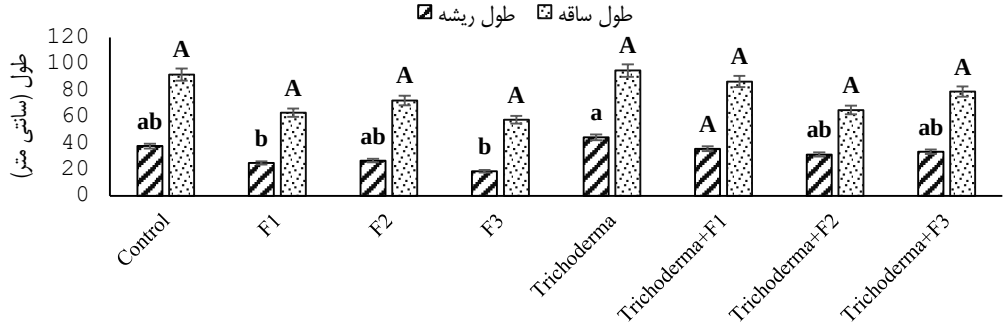
شکل ۵. بررسی اثر کنترل زیستی قارچ اندوفیت *T. afroharzianum* بر گونه‌های فوزاریوم بیماری‌زای نیشکر



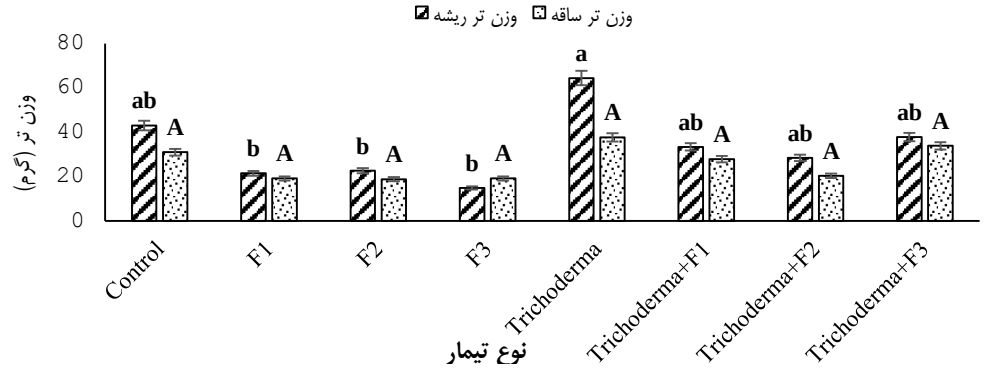
شکل ۶. رنگ‌آمیزی ریشه نیشکر برای مشاهده کلونیزه شدن آن توسط قارچ اندوفیت تریکودرما در گیاهان تیمار شده در شرایط گلخانه

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه نشان داد نوع تیمار بر طول ریشه در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی‌دار بود و بر وزن‌تر ریشه در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار بود و نتایج مقایسه میانگین طول ریشه

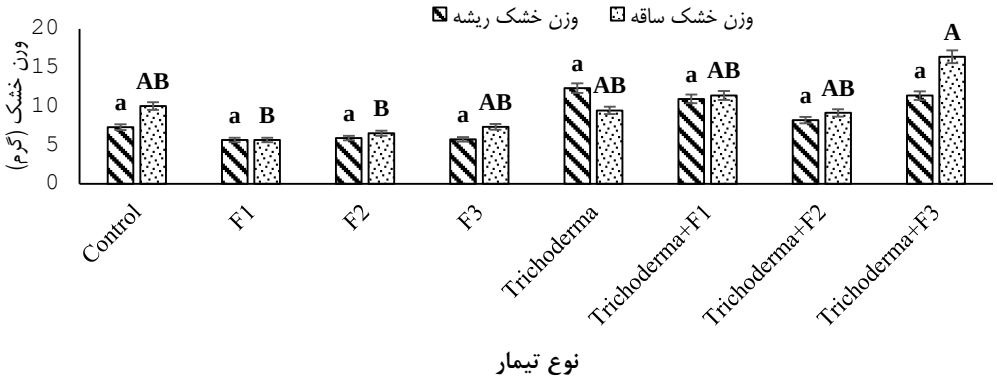
نشان داد که کاربرد قارچ تریکودرما موجب افزایش معنی‌دار وزن‌تر ریشه نسبت به شاهد شد. تیمارهای فوزاریوم موجب کاهش وزن ریشه شدندکه در تیماری که تریکودرما همراه با فوزاریوم اعمال شده این اثر تعدیل شده است. در طول ساقه و وزن‌تر ساقه، صرف‌نظر از شاهد، بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد با وجود تفاوت در میان داده‌ها از نظر آماری خصوصیات ساقه کمتر تحت تأثیر آلودگی قارچ و یا تریکودرما قرار گرفته و با شاهد تفاوت چندانی ندارند اثرات نوع تیمار بر مقدار وزن خشک ریشه و ساقه معنی‌دار نبود و با وجود تفاوت نتایج، این پارامترها در یک گروه قرار می‌گیرند. اما به‌طورکلی می‌توان تفاوت تیمار شاهد را با تیمارهای آلوده به قارچ و تیمارهای حاوی تریکودرما مشاهده کرد (جدول۲، شکل ۷ تا ۹).



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر طول ساقه و ریشه (سانتی‌متر). حروف غیرمشابه در ستون‌ها (ساقه: حروف بزرگ، ریشه: حروف کوچک) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون دانکن است. F1، F2، F3 به‌ترتیب گونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes*، *F. proliferatum* می‌باشند.



شکل۸. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر وزن‌تر ساقه و ریشه (گرم). حروف غیرمشابه در ستون‌ها (ساقه: حروف بزرگ، ریشه: حروف کوچک) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون دانکن است. F1، F2، F3 به‌ترتیب گونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes* ، *F. proliferatum* می‌باشند.



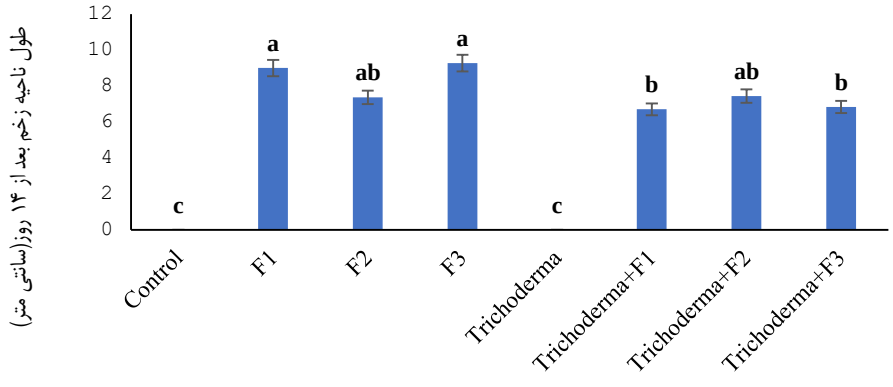
شکل ۹. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر وزن خشک ساقه و ریشه (گرم). حروف غیرمشابه در ستون‌ها (ساقه: حروف بزرگ، ریشه: حروف کوچک) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون دانکن است. F1، F2، F3 به‌ترتیب گونه‌های *F. sacchari*، *F. verticilliodes* ، *F. proliferatum* می‌باشند.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر نوع تیمار بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه

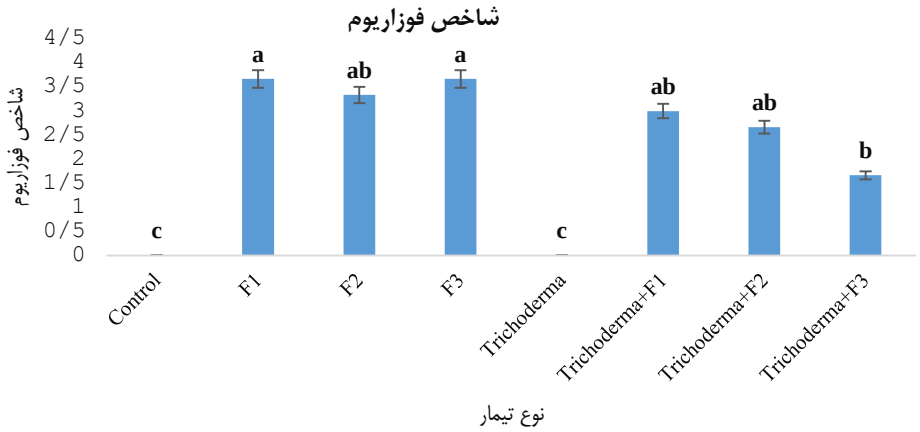
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		طول ریشه	طول ساقه	وزن تر ریشه	وزن‌تر ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه
تیمار	۷	۱۹۵/۲۶۲*	۵۹۶/۸۱ ns	۷۴۶/۸۸**	۱۵۸/۱۲ ns	۲۵/۹۳ ns	۳۹/۹۹ ns
خطا	۱۵	۴۷/۹۵	۳۱۴/۶۶	۱۷۹/۵۹	۵۹/۱۲	۱۳/۱۸	۱۸/۳۳
ضریب تغییرات		۲۱/۹۴	۲۳/۱۹	۳۹/۹۸	۳۰/۱۸	۴۲/۶۵	۴۵/۷۱

علامت ** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۱، * معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵، ns غیرمعنی‌دار بودن داده‌هاست.

مقایسات میانگین تفاوت تیمارها بر طول ناحیه زخم و شاخص فوزاریوم نشان داد که در تمام تیمارها طول زخم و شاخص فوزاریوم کاهش یافته و در تیمار تریکودرما و F3 کاهش شاخص فوزاریوم در سطح ۵ درصد معنی‌دار بوده است. قارچ اندوفیت استفاده شده در این آزمایش، در کاهش بیماری و افزایش فاکتورهای رشدی گیاه مؤثر بوده است (شکل ۱۰ و ۱۱، جدول۳).



شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر طول ناحیه زخم بعد از ۱۴ روز (سانتی‌متر). حروف غیرمشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون دانکن است. F1، F2، F3 به‌ترتیب گونه‌های F. sacchari، F. verticilliodes، F. proliferatum **می‌باشند.**



شکل ۱۱. مقایسه میانگین اثر نوع تیمار بر شاخص فوزاریوم. حروف غیرمشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون دانکن است. F1، F2، F3 به‌ترتیب گونه‌های F. sacchari، F. verticilliodes، F. proliferatum می‌باشند.

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر نوع تیمار بر طول ناحیه زخم و شاخص فوزاریوم

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		طول ناحیه زخم بعد از ۱۴ روز	شاخص فوزاریوم
تیمار	۷	۳۹/۸۵ **	۶/۸۸ **
خطا	۱۵	۱/۵۲	۰/۳۱
ضریب تغییرات		۲۲/۰۶	۲۴/۲۰

علامت ** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۱، * معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵، ns غیر معنی درا بودن داده‌هاست.

بحث

در اکثر مطالعات انجام شده در جهان، گونه‌های *F.sacchari*، *F.proliferatum* و *F.andyazi* که اعضای کمپلکس *Fusarium* fujikuroi species complex (*FFSC*) به عنوان عامل ایجاد بیماری پوکابونگ معرفی شده‌اند که با علائمی مثل پوسیدگی ساقه و تغییر رنگ قسمت‌های هوایی گیاه مشخص می‌شود(Costa *et al*. 2019; Viswanathan *et al*.2017; Viswanathan,2020) درچین، گونه‌های *F.proliferatum* ، *F.sacchari* و *F.verticilliodes* به عنوان عوامل ایجاد بیماری شناخته شده‌اند. *F.verticilliodes* که شایع ترین عامل پوکابونگ نیشکر است، تولید فوزاریک اسید می‌کند و در چین حدود ۹۰ درصد جدایه‌ها از این گونه بودند (Lin *et al*..2014). در برزیل *F.andyazi* *F.sacchari* نقش مهمی در گسترش پوکابونگ دارند (Costa *et al*. 2019). در ایران مطالعات طاهرخانی و همکاران، (1998) *F.proliferatum* *F.verticilliodes*، *F.verticilliodes* را رایج‌ترین عوامل پوکابونگ معرفی کردند. در مطالعه ما سه گونه و *F.sacchari* دارای بیشترین فراوانی و شدت بیماریزایی بودند. در تحقیقی دیگر روی تاکسونومی گونه‌های فوزاریوم های بیماریزای نیشکر *F.verticilliodes*, *Fincarnatum*, *F. semitectum*, *F.proliferatum*, *F.solani*, *F.equiseti* و *F.sachari* را از گیاهان دارای علایم بیماری جدا کردند و *F.sacchari* به عنوان مهمترین عامل در توسعه بیماری در ایران معرفی شد و سنجش آزمون بیماریزایی را برای این گونه انجام دادند (Tavakol Noorabadi *et al*. 2021). در ایران علیزاده بیان کرد که بیشترین فراوانی گونه‌های فوزاریوم عامل پوکابونگ متعلق به گونه‌های *F. proliferatum* و *F. verticillioides* است (Alizadeh *et al*. 2017). در مطالعه روی فوزاریوم‌های ریزوسفر نیشکر، بیشترین فراوانی مربوط

به گونه *F.verticilliodes* بود. علاوه بر آن دوگونه *F.miscanti*، *F.proliferatum* از گونه‌های غالب ریزوسفر نیشکر بودند (Haji Hasani *et al*. 2017).

F.sacchari توسط باد و باران و کرم ساقه خوار (*Sesamia* spp.) پخش می‌شود و روی مواد پوسیده گیاهی هم دیده می‌شود و در سراسر جهان به عنوان عامل اصلی مرتبط با PBD و پژمردگی نیشکر در واریته‌های حساس نیشکر شناخته شده است(Viswanathan *et al*.2017) که عامل پوسیدگی در میزبان‌های گیاهی دیگر مثل موز (Abd Murad *et al*. 2017) است و در ذرت برنج و سرگوم به عنوان عامل پوسیدگی ریشه گزارش شده است (Husan *et al*, 2011). گونه*F. F.andiyaz* موجب سوختگی خوشه گندم(Wang *et al*.2015) ، پوسیدگی ذرت (Bandara *et al*. 2017a) و پوسیدگی ساقه سورگوم (Zhang *et al*. 2014)می شود.

پوکابونگ یک بیماری سیستمیک است و خسارت آن به شرایط محیطی کیفیت قلمه‌ها و شرایط کشت بستگی دارد. تغییرات آب و هوایی گسترش بیماری را تسهیل کرده و کنترل آن را دشوار می‌کند. در چین طی سال های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۳ روند افزایش بروز بیماری در ارقام تجاری دیده شده است. کاهش عملکرد در اثر بیماری در نیشکر، تا حدود ۴۰ درصد نیز گزارش شده است. (Lin *et al*..2014). در ایران درصد خسارت این بیماری در ارقام مختلف نیشکر مشخص نیست و با وجود اقدامات پیشگیرانه در زمان کاشت مثل ضدعفونی و کشت بافت از مریستم، هنوز بیماری در سطح مزارع به ضوح دیده می‌شود که به دلیل خاکزاد بودن گونه‌های فوزاریوم و به سازگاری بالای آنها به شرایط آب و هوایی مختلف است. که می‌تواند مثل سایر مناطق جهان در طی سالیان آینده گسترش بیشتری پیدا کند. اگرچه استفاده از قارچ کش‌ها تا حدودی در کنترل PBD موثر بوده است، FFSC به راحتی در برابر این درمان ها مقاومت ایجاد می کند(Xu *et al*. 2019) . گونه‌های تریکودرما قارچ‌هایی با سرعت رشد بالا،تولید کنیدیوم‌ها، قابلیت رشد در طیف وسیعی از بسترها هستند (Hjeljord *et al*.,2000). همچنین گونه‌های تریکودرما به علت مقاوت به بسیاری از ترکیبات سمی شامل علف‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها و ترکیبات فنلی می‌توانند در رقابت با سایر میکرو ارگانیزم‌ها پیروز شوند (Benitez et al., ۲۰۰۴) ثابت‌شده است پارامترهای محیطی غیرزنده مانند نوع خاک، دمای خاک، پتانسیل آب و پارامترهای محیطی زنده مانند گونه‌های گیاهی، تنوع و فعالیت میکروبی خاک نیز علاوه بر فاکتورهای دیگر مانند روش و زمان استفاده ممکن است روی کارایی کنترل بیولوژیک جدایه‌های قارچی آنتاگونیست تأثیر بگذارند (Akrami *et al*. 2011). در مطالعه ما قارچ اندوفیت جدا شده از گیاه نیشکر به دلیل دارا بودن سازگاری مناسب و قابلیت بقا در داخل گیاه به عنوان یک اندوفیت مناسب و سازگار انتخاب شد و کاربرد آن در کاهش علایم بیماری موثر بود. در مطالعه دیگری نیز از گونه‌های *T. viridae* و *T. harzianum* برای کنترل بیولوژیک بیماری پوسیدگی قرمز نیشکر در شرایط گلخانه استفاده شد (Srinivasan and Bhat, 1961). به کارگیری قارچ *Trichoderma* به صورت مخلوط با خاک بستر بهترین آنتاگونیست در مهار رشد وکاهش پوسیدگی ریشه و پژمردگی ناشی از*Fusarium moniliform* و *Pythium gramenicola* در نهالستان نیشکر بود (Deshmukh *et al*. 2016). قارچ اندوفیت تریکودرما علاوه بر کاهش علایم بیماری، موجب افزایش فاکتورهای رشدی گیاه نیشکر شد که می‌تواند در مزارع به عنوان کود زیستی برای افزایش عملکرد و افزایش مقاومت گیاه نیشکر به کار رود. گزارش شده که *T. harzianum* موجب بهبود صفات زراعی بذور جو نسبت به شاهد آلوده به *Pyrenophora graminea* شده است (Trivedi and Singh,2016).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج نشان داد که شدت بیماری‌زایی و طول ناحیه زخم ساقه در گونه‌های فوزاریوم مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری داشت و شدت بیماری‌زایی در سه گونه *F. proliferatum*، *F. verticilliodes* و *F. sacchari* بیشتر بود. نتایج کار ما با پژوهش های انجام شده روی این بیماری در جهان مطابقت داشت و این سه گونه، با فراوانی و شدت بیماری‌زایی بیشتر، عوامل اصلی ایجادکننده پوکابونگ نیشکر در سراسر جهان‌اند. کنترل زیستی با اندوفیت های سودمند می‌تواند تا حدودی بیماری را مهار

کرده و شرایط رشدی گیاه را بهبود ببخشد. در پژوهش ما نیز، قارچ اندوفیت *Trichoderma afraharziannum* جدا شده از گیاه نیشکر، به‌خوبی توانست سه گونه اصلی فوزاریوم بیماریزای نیشکر را کنترل کند. میزان اثربخشی عامل بیوکنترل، با اندازه‌گیری شاخص فوزاریومی بود و فاکتورهای رشدی گیاه، که نشان‌دهنده اثر غیرمستقیم آن در کاهش خسارت بیماری بود. پیشنهاد می‌شود از سایر اندوفیت‌های جدا شده از گیاه نیشکر برای کنترل این بیماری استفاده شود. برای پیش‌بینی اپیدمی بیماری، می‌توان سنجش شدت بیماری‌زایی گونه‌های مختلف و فعالیت بیوکنترلی قارچ‌های اندوفیت را در شرایط طبیعی مثل مزرعه انجام داد و تأثیر شرایط آب‌وهوایی مختلف را با اعمال تنش‌هایی مثل خشکی و افزایش دما سنجید. همچنین پیشنهاد می‌شود برای بررسی مکانیسم قارچ اندوفیت در کنترل بیمارگر، از روش‌های مختلف ازجمله سنجش آنزیم‌های دفاعی qPCR استفاده شود.

سپاس‌گزاری

از موسسه تحقیقات نیشکر امیرکبیر و پرسنل آن به‌ویژه جناب آقای دکتر طاهرخانی وجناب آقای دکتر موذن که ما را در راستای انجام این پژوهش یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم. این پژوهش بخشی از یک رساله دکتری می‌باشد.

منابع

حاجی حسنی سهی، پریسا؛ عسگری، بیتا و زارع، رسول (۱۳۹۶). گونه‌های فوزاریوم مرتبط با ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان، ایران، سومین کنگره قارچ‌شناسی ایران، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، ص۳۲.

طاهرخانی، کورش؛ علیزاده، علیرضا ؛ فرخی نژاد، رضا و شریفی تهرانی، عباس (۱۳۷۷): شناسایی عوامل ایجادکننده بیماری‌های فوزاریوم نیشکر در استان خوزستان. مجموعه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، کرج، ایران.

محمددوست چمن‌آباد، حمیدرضا؛ نوری‌قنبلانی، قدیر؛ اصغری، علی و نوری قنبلانی، علیرضا (۱۳۸۹). گندم از تولید تا مصرف. چاپ اول. تهران: سازمان جهاددانشگاهی. ۳۲۲ صفحه.

Abawi, G. S., & Barker, K. R. (1984). Effect of cultivar, soil temperature and population levels of *Meloidogyne incognita* on root necrosis and Fusarium wilt of tomatoes. *Phytopathology,74*, 433-438.

Abd Murad, N. B., Mohamed Noor, N. M. I., Shohaimi, S., & MohdZainudin, N. A. I. (2017). Genetic diversity and pathogenicity of Fusarium species associated with fruit rot disease in banana across Peninsular Malaysia. *Journal of applied microbiology, 123*, 1533-1546. doi: 10.1111/jam.13582.

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology, 5th edition. *Academic Press*, 948 Pp.

Akello, J., Dubois, T., Gold, C. S., Coyne, D., Nakavuma, J., & Paparu, P. (2007) *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as an endophyte in tissue culture banana (*Musa* spp.). *Journal of invertebrate pathology*, *96*,34–42. https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.02.004

Akrami, M., Golzary, H. & Ahmadzadeh, M. (2011). Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil. *African Journal of Biotechnology*, *10*(14), 2653-2658.

Alizadeh, A., Javan-Nikkhah, M., Salehi Jozani, G. R., Fotouhifar, K. B., Roodbar Shojaei, T., Rahjoo, V., & Taherkhani, K. (2017). AFLP, pathogenicity and mating type analysis of Iranian *Fusarium proliferatum* isolates recovered from maize, rice, sugarcane and onion. *Mycologia iranica*, *4*, 13-28. https://doi.org/10.22043/ MI.2017.115180.

Anderson, G.R., Tirado-Corbala, R., Wang, D., & Ayars, J.E. (2015). Long-rotation sugarcane in Hawaii sustains higher carbon accumulation and radiation use efficiency in 2nd year of growth. *Agriculture Ecosystems & Environment*, *199*,216–224. https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.09.012

Bandara, Y. M. A. Y., Weerasooriya, D. K., Tesso, T. T., & Little, C. R. (2017a). Stalk rot diseases impact sweet sorghum biofuel traits. *Bioenergy research*, *10*, 26-35.

Benitez, T., Rincon, A. M., Limon., M. C., & Codon, A. C. (2004). Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. International *Microbiology*, *7*, 249-260.

Booth, C. (1971). The genus Fusaruim. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237 pp.

Burgess, L.W., Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Forbes, G. A. (1988). Distribution of Fusarium species in section Roseum, Arthrosporiella, Gibbosum and Discolor recovered from grassland, pasture and pine nursery soils of Eastern Australia. *Mycologia*, *80*(6),815–824.

Burgess, L. W., Summerell, B. A., Bullock, S., Gott, K. P. and Backhouse, D. (1994) Laboratory anual for Fusarium Research. Third edition, Sydney, Australia.

Costa, M. M., Melo, M. P., Guimar~aes, E. A., Veiga, C. M. O., Carmo Sandin, F., Moreira, G. M., Costa, S. S., & Pfenning, L. H. (2019) Identification and pathogenicity of Fusarium species associated with pokkah boeng of sugarcane in Brazil. *Plant pathology*, *68*, 1350-1360. Doi: 10.1111/ppa.13053.

Danielsen, S., Meyer, U. M. & Funck Jensen, D. (1998). Genetic characteristics of *Fusarium verticillioides* isolates from maize in Costa Rica. *Plant Pathology* 47: 615-622.

Dela Cueva, F. M., De Torres, R. L., Mendoza, J. S., Laurel, N. R., De Castro, A. M., Mendoza, M. J. C., Tiongco, R. L., Pinili, M. S. &. Balendres, M. A. O. (2019b). Distribution of sugarcane diseases in the Philippines. 66th PHILSUTECH Annual *National Convention. Waterfront Hotel, Lahug, Cebu City, Philippines*, pp. 12-16.

Deshmukh, N. J., Deokar, C. D. & Musmade, N. A. (2016). Management of wilt and root rot disease of sugarcane in nursery, *International journal of plant protection*, *9*(2) 489-493.

Haji Hasani Sohi, P., Asgari, B., & Zare, R. (2017). *Fusarium* species associated with sugarcane rhizosphere in Khuzestan province, Iran,3rd Iranian Mycological Congress. University of Kurdistan, Sanandaj, Iran, p. 32(In Persion)

Hassan, M. N., Afghan, S., & Hafeez, F. Y. (2011). Biological control of red rot in sugarcane by native pyoluteorin producing Pseudomonas putida strain NH-50 under field conditions and its potential mode of actions. *Pest Management Science*, *67*, 1147-1154.

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficialeffects ofTrichodermaand of its genes. *Microbiology*158, 17-25. doi:10.1099/mic.0.052274-0.

Hjeljord, L. G., Stensvand, A., & Tronsmo, A. (2000). Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries. *Biological Control*, 19: 149-160.

Hsuan, H. M., Salleh, B., & Zakaria, L. (2011). Molecular identification of Fusarium species in Gibberella fujikuroi species complex from rice, sugarcane and maize from *Peninsular Malaysia. International journal of molecular sciences*, 12, 6722-6732.

John, P. R., Tyagi, R. D., Prévost, D., Brar, S. K., Pouleur, S., & Surampalli, R. Y. (2010). Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection*, *29*, 1452-1459.

Kvas, M., Marasas, W. F. O., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J., & Steenkamp, E. T. (2009). Diversity and evolution of Fusarium species in the *Gibberella fujikuroi* complex. *Fungal Diversity*, 34, 1-21

Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing. 386p.

Li, S., Hartman, G. L., & Chen, Y. (2009). Evaluation of aggressiveness of *Fusarium virguliforme* isolates that cause soybean sudden death syndrome. *Journal of Plant Pathology*, *91*, 77- 86.

Lin, Z., Xu, S., Que, Y., Wang, J., Comstock, J. C., et al... (2014). Species-Specific Detection and Identification of Fusarium Species Complex, the Causal Agent of Sugarcane Pokkah Boeng in China. *PLoS ONE*, 9(8), e104195. doi: 10.1371/journal.pone.0104195.

Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2010). Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology*, *100*, 1213-1221.

McFarlane S, Rutherford R (2005) Fusarium species isolated from sugarcane in KwaZulu-Natal and their effect on Eldana saccharina (Lepidoptera: Pyralidae) development in vitro. *South African Sugar Technologists' Association*, *120*–124.

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.

Mohammad Doust Chamanabad, H., Nouri Ghanbalani, G., Asghari, A., & Nouri Ghanbalani, A. (2010). *Wheat from production to consumption*. Tehran: Jihad-e-daneshgahi. (In Persian)

Monds, R. D. Cromey, M. G., Lauren, D. R., Menna, M. D. & Marshall, J. (2005). *Fusarium graminearun*, *F. cortaderiae* and *F. pseudograminearum* in New Zealand. Molecular phylogenetic analysis, mycotoxin chemotypes and co-existence of species. *Mycological research*, *109*, 410-420.

Naik, D. M., & Burden, O. J. (1981) Chemical control of basal rot of onion in Zambia. *Tropical Pest Management*, 27, 455-460.

Naik, G. R. (2001). Sugarcane Biotechnology. Oxford & IBH Publishing Co, New Delhi & Science Publishers, Inc, Enfield, New Hampshire, pp: 15.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983) Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, USA.

Ovalle, W., & García, S. (2008). Efecto de la enfermedad del Raquitismo de las socas (*Leifsonia xyli* subs. *xyli*) en el rendimiento de caña de nueve variedades en cinco cortes. 2004-2008. In: Memoria. Presentación de resultados de investigación. Zafra 2007-2008. Guatemala, CENGICAÑA. pp. 89-93.

Phillips, J. M., Hayman, D. S. (1970). Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. *Transactions of the British Mycological Society*, *55*, 158-161

Posada, F., Aime, M. C., Peterson, S. W., Rehner, S. A., & Vega, F. E. (2007). Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (*Ascomycota*: *Hypocreales*). *Mycological Research*, *111*(6), 748-757. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.006.

Salas-Marina, M. A., Isordia-Jasso, M., Islas-Osuna, M. A., Delgado-Sánchez, P., Jiménez-Bremont, J. F., Rodríguez-Kessler, M., Rosales-Saavedra, M. T., Herrera-Estrella, A., & Casas-Flores, S. (2015). The Epl1 and Sm1 proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science*, *23*, 77.

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.

Segarra, G., Casanova, E., Bellido, D., Odena, M. A., Oliveira, E., & Trillas, I. (2007). Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes incucumber plantsinoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34. *Proteomics*, *7*, 3943-3952. doi: 10.1002/pmic.200700173.

Sharma, M., & Pande, S. (2011). New sources of resistance to *Fusarium* wilt, sterility mosaic disease and phytophthora blight in vegetable pigeonpea germplasm. *Indian Journal of Plant Protection*, *39*, 288-293.

Singh, O., & Waitaitch, K. S. (1981). Effect of wilt and red rot induced disease stress on quality deterioration of sugarcane. Sugarcane *Pathology News*, *27*, 29-39.

Siti Nordahliawate, M. S., 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 sugar cane in Peninsular Malaysia. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, *31*(2), 279-286.

Solanki, K. V., Vala, D. G., Mehta, B. P., & Patel, J. G. (2001). Inovative method for multiplication of bioinoculant for the control of wilt and red rot of sugarcane, *Indian journal of mycology and plant pathology*, *31*(2), 268.

Srinivasan, K.V., & Bhat, N.R. (1961). Red rot of sugarcane criteria for resistance. *indian journal of biotechnology society*, *40*, 566–77.

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.

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.

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.

Trivedi, M., & Singh, A. (2016). Co-friendly management of stripe disease of barley (*Hordeum vulgare* L.) by plant extracts and antagonistic fungi, *International Journal of Development Research*, *6*(12), 10765-10774.

Vishwanathan, R., & Samiyappan, R. (2008). Bio-formulation of fluorescent *Pseudomonas* spp. induces systemic resistance against red rot disease and enhances commercial sugar yield in sugarcane. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *41*(5), 377-388.

Viswanathan, R. (2020). Fusarium diseases affecting sugarcane production in India. *Indian Phytopathology 73*:415-424. https://doi.org/10.1007/s42360-020-00241-y.

Viswanathan, R., Balaji, C. G., Selvakumar, R., Malathi, P., Sundar, A. R., Prasanth, C. N., Chhabra, M. L., & Parameswari, B. (2017). Epidemiology of Fusarium diseases in sugarcane: A new discovery of same *Fusarium sacchari* causing two distinct diseases, wilt and pokkah boeng. *Sugar Tech*, *19*, 638-646.

Viswanathan, R., Ganesh Kumar, V., Karuppaiah, R., Scindiya, M., & Chinnaraja, C. (2013b). Development of Duplex-Immunocapture (Duplex-IC) RT-PCR for the detection of Sugarcane streak mosaic virus and Sugarcane mosaic virus in sugarcane. *Sugar Tech, 15*, 399-405.

Wang, J. H., Peng, X. D., Lin, S. H., Wu, A. B., & Huang, S. L. (2015). First report of fusarium head blight of wheat caused by *Fusarium sacchari* in China. *Plant Disease*, *99*, 160. doi: 10.1094/PDIS-08-14-0829-PDN.

Wang, J., Chai, Z., Bao, Y., Wang, H., Li, Y., Rao, G. P. et al. (2018). First report of *Fusarium commune* causing root rot disease of sugarcane (var. Badila) in China. *Plant Disease*, *102*, 1660.

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.

Zhang, H., Luo, W., Pan, Y., Xu, J., Xu, J. S., Chen, W. Q., et al. (2014). First report of Fusarium ear rot of maize caused by *Fusarium andiyaz* in *China. Plant Disease*, *98*, 1428. doi: 10.1094/PDIS-01-14-0038-PDN.