بررسی پراکندگی عوامل فوزاریومی بیماری چاقوبریدگی(knife-cut) نیشکر در خوزستان

حسین موذن رضامحله * رضا فرخی نژاد**

*** کارشناس ارشد و مسئول اداره بیماریها- موسسه تحقیقات و آموزش نیشکر**

caspian.2004@yahoo.com 09166200956

**** استاد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه شهید چمران اهواز**

چکیده:

در سالهای ۱۳۸۵-۱۳۸۴ از کشت و صنعت های مختلف نیشکر در استان خوزستان، قلمه های آلوده به بیماری چاقو بریدگی جمع آوری شد و در مجموع تعداد ۲۷۰ جدایه فوزاریوم از محل چاقو بریدگی جداسازی گردید که پس از بررسی و شناسایی در سه گونه *F. verticillioides (moniliforme)*، *F. proliferatum* و *F. subglutinans* با فراوانی ۵۷،۳۰ و ۱۳ درصد قرار گرفتند. پس از بررسی های صورت گرفته، مشخص شد که گونه غالب در کشت و صنعت های شمال خوزستان *F. subglutinans* و گونه غالب در کشت و صنعت های جنوب *F. verticillioides* می باشد. تمامی جدایه ها به دست آمده از بافت های آلوده نیشکر، از لحاظ بیماریزایی مورد بررسی قرار گرفتند. بیماریزایی جدایه های به دست آمده از نیشکر با روش ساقه های بریده شده بر روی ساقه های نیشکر بررسی شد که حکایت از بیماریزا بودن تمام جدایه ها بر روی قلمه های نیشکر داشت.

مقدمه و هدف:

اجرای طرح توسعه نیشکر و صنایع جانبی در جوار کشت و صنعت های قدیمی (کارون و هفت تپه)خوزستان با هدف تأمین کسری شکر مورد نیاز به میزان ۷۰۰ هزار تن در سال و با توجه به شرایط آب و هوایی و پیشینهٔ خوزستان به عنوان یکی از مراکز اصلی کشت نیشکر در جهان دیروز، مورد توجه قرار گرفت و برای تحقق این هدف ارزندهٔ اقتصادی است که با تلاش های انجام گرفته، امروز بالغ بر ۸۴ هزار هکتار از زمین های لم یزرع و شور خوزستان، آماده کشت نیشکر شده و با شیرین سازی وسعت قابل توجهی از آن نیز برای چندمین سال مورد بهره برداری قرار گرفته است. لذا با توجه به افزایش سطح زیر کشت و اهمیت اقتصادی نیشکر، شناخت و مبارزه با عوامل محدود کنندهٔ آن یک ضرورت می باشد. از فاکتورهای بسیار مؤثر در کاهش محصول نیشکر بیماری های آن بوده که شامل بیماریهای فیتو پلاسمایی، ویروسی، باکتریایی و بیماریهای قارچی می باشد(۷).

پیشینه تحقیق:

- بیماری چاقوبریدگی(knife-cut) نیشکر

بیماری چاقو بریدگی اولین بار توسط ویلبرینک در سال ۱۹۳۵ در چهارمین کنگرهٔ تکنولوژیست های نیشکر گزارش گردید. ورما و همکاران در سال ۱۹۸۴ این بیماری را از هندوستان گزارش کردند، ریکاد و همکاران در سال ۱۹۸۹ گسترش بیماری را در جهان مشخص نمودند. این بیماری در کشورهایی چون هاوایی، استرالیا، برزیل، هند، اندونزی، آفریقای جنوبی، فیلیپین و ایران مشاهده گردید(۷و۹).

علائم بیماری :

از بیرون مزرعه علائم خاصی مشاهده نمی گردد. بعداز جدا کردن غلاف به ویژه در میانگره های تحتانی ساقه، زخم هایی شبیه چاقو بریدگی در یک یا دو طرف ساقه مشاهده می گردد و گاهی در یک ساقه، چند زخم و حتی در یک میانگره یک تا

چند زخم دیده می شود(شکل ۱). بعضی اوقات در ساقه هایی که در اواسط فصل بهار آلـوده می شـوند، در درون زخـمهای ایـجاد شده، ریشه های نابجا ایجاد می گردد بطوریکه زخمها به سختی قابل دید می باشند.

زخم ایجاد شده در ساقه مانند آن است که با یک کارد تیز، بطور مورب از پوست ساقه به طرف مغز آن در دو نقطه برش داده بطوریکه محلهای برش در قسمت گوشتی و مغز ساقه در یک نقطه همدیگر را قطع می کنند و تشکیل زاویه می دهند. بعد از کهنه و مسن شدن زخم، حالت زاویه دار بودن آن کاهش یافته و شکل یک سوراخ بزرگ که در ساقه تعبیه شده باشد به خود می گیرد و لبه های آن تیره می شود.

مکانیسم چاقوبریدگی بدین صورت است که اسپور قارچ به روش های مختلف خود را به ساقهٔ رشد نکرده می رساند و بعد از استقرار و نفوذ در ساقه، تدریجا به بافت اطراف نفوذ کرده و لکه های قهوه ای تیره در دستجات آوندی بوجود می آید. در اثر آلودگی، خاصیت کشسانی دیواره سلولها کاهش یافته و در نتیجهٔ عدم رشد، سلول آلوده رشد نکرده و طویل نمی شود، در حالیکه سلولهای سالم به رشد طولی خود ادامه می دهند. بنابراین سلولهای آلوده نمی توانند هماهنگ با سلولهای سالم بافت مجاورشان رشد کنند و در نهایت پاره شده و باعث بوجود آمدن زخم های چاقوبریدگی می شوند.

شکل ۱- علائم بیماری چاقو بریدگی بر روی ساقه گیاه نیشکر

در بیماری چاقو بریدگی ممکن است حالت کوتولگی در ساقه حادث شود و همچنین ممکن است قسمت فوقانی گیاه بخشکد و یا جوانه های جانبی بیش از حد طبیعی بوجود بیایند(۷و۱۰).

عامل بیماری:

سه گونه از جنس فوزاریوم می توانند این بیماری را ایجاد کنند که عبارتند از*F. verticillioides proliferatum* F. و *F. subglutinans* که هر سه جزو بخش Liseola می باشند(۳).

اهمیت بیماری :

در اثر این بیماری در مجاورت محل آلودگی، فواصل گره های آلوده بهم نزدیک شده و ساقه کوتاه می شود و با بوجود آمدن ساقه های جانبی، قند ساقه های مادری کاهش یافته و ساقه های آلوده قبل از برداشت در اثر وزش بادهای گرم تابستان، حرکت گرازها و سایر حیوانات وحشی و سنگین وزن، در محل زخم شکسته شده و در اثر افتادن بر روی زمین پوسیده می شوند. در برخی منابع کوتولگی ساقه و خشکیدگی فوقانی گیاه وتولید جوانه های جانبی بیش از حد و غیر طبیعی را ناشی از این بیماری دانسته اند(۳،۹،۱۰).

سابقهٔ بیماری در ایران

تاریخچه دقیق بیماری چاقوبریدگی در ایران مشخص نیست ولی طبق نظر کارشناسان کشت و صنعت کارون، این بیماری کم و بیش در مزارع نیشکر وجود داشته است ولی به جهت اینکه خسارت ناشی از آن ناچیز بوده بدان توجهی نشده است. از سال ۱۳۶۸ به بعد شدت این بیماری به گونه ایی رو به افزایش نهاد که آنرا گاهی با خسارت آفت مهم نیشکر *Sesamia* spp. اشتباه می گرفتند. بر اساس گزارش طاهرخانی، علیزاده در سال ۱۳۷۲ عارضه فوق را بیماری چاقوبریدگی معرفی نمود و دو گونه فوزاریوم از آن جدا نمود(۳). طاهرخانی درسال ۱۳۷۴ از محل چاقوبریدگی سه گونه فوزاریوم به نام های *F.moniliform,F. proliferatum, F. subglutinans* جدا کرده و قدرت بیماریزایی آنها را مورد مطالعه قرار داده است(۳). در یک بررسی که توسط نگارنده در سال ۱۳۸۳ در کشت و صنعت دعبل خزاعی صورت گرفت، مشخص گردید که این بیماری می تواند بیش از ده درصد از قلمه های نیشکر را آلوده کند. با عنایت به خاکزاد بودن عامل بیماری، پراکندگی و تنوع زیاد آن در منطقه، ممکن است در آینده از بیماریهای مهم نیشکر در ایران مبدل گردد، در نتیجه توجه بیشتر به این بیماری ضرورت دارد.

مواد و روش ها:

- جمع آوری نمونه ها

نمونه برداری از مهر ماه سال ۱۳۸۴ تا خرداد ۱۳۸۵ از کشت و صنعت های نیشکر واقع در جنوب و شمال خوزستان یعنی واحدهای دعبل خزاعی، سلمان فارسی، حکیم فارابی، میرزاکوچک خان، امیر کبیر، امام خمینی(ره)، کارون و هفت تپه صورت گرفت.

- نحوهٔ نمونه برداری از گیاهان بیمار

نمونه برداری از مزارع ۲۵ هکتاری به صورت ۵ نقطه از هر مزرعه، همزمان با نمونه برداری آفت سزامیا صورت گرفت. جهت بررسی میزان آلودگی قلمه ها به آفت سزامیا و به دلیل اینکه گیاه بیمار از نظر ظاهر قابل تشخیص نیست، ساقه های نیشکر پوشال گیری شد(حذف برگ ها از ساقه) تا علائم نمایان گردد. سپس، ساقه های آلوده که دارای علائم بیماری بودند بریده شده و در کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

- محیط کشت های مورداستفاده

الف- محیط کشت ها جهت جدا سازی عامل بیماری

۱- محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار

از این محیط کشت برای جداسازی، تعیین نرخ رشد جدایه، نحوهٔ رشد و تعیین رنگ پرگنه قارچ استفاده شد.

۲- محیط کشت اختصاصی Nash & Snyder

PPA یک محیط کشت پایه است که آنتی بیوتیک و قارچ کش به آن افزوده شده و به صورت انتخابی برای جداسازی گونه های مختلف فوزاریوم از خاک و بافت های آلوده مورد استفاده قرار می گیرد. این محیط از رشد قارچ ها و باکتری ها به شدت ممانعت کرده ولی فوزاریوم ها در این محیط رشد بطئی دارند. این محیط کشت به علت سمی بودن و ایجاد تغییرات در مرفولوژی کنیدی ها، برای تشخیص گونه ها مناسب نمی باشد(۲).

پس از اینکه محیط کشت در اتوکلاو سترون گردید و دمای آن به ۵۵ درجه رسید، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر سترون به همراه یک گرم سولفات اسپرپتومایسین و ۰/۱۲ گرم سولفات نئومایسین به آن اضافه گردید(۲،۶).

۳- محیط کشت آب-آگار

برای خالص سازی قارچ از محیط کشت آب-آگار(WA) به همراه PDA استفاده شد. گردید. از این محیط کشت برای جوانه زدن کنیدی ها، تک اسپور کردن و یا انتخاب نوک ریسه استفاده گردید.

ب- محیط کشت جهت شناسایی قارچ

۱- محیط کشت برگ میخک-آگار

یکی از مزایای این محیط کشت، تسریع در کنیدی زایی است و کنیدیوم های تیپیک (یکی از ویژگی های لازم برای تشخیص)اغلب، روی آن تشکیل می شود و شرایط طبیعی را برای رشد قارچ فراهم می سازد.

این محیط کشت از نظر میزان کربوهیدات ها فقیر است بنابراین قارچ روی آن به صورت پراکنده رشد می کند. در نتیجه، مشاهدهٔ برخی از ویژگی های تاکسونومیکی مانند زنجیرهٔ میکروکنیدیوم، سر های دروغی، منوفیالید و اسپورودوکیوم را امکان پذیر می سازد.

۲- محیط کشت کلرید پتاسیم - آگار

جهت مشاهدهٔ بهتر زنجیره های میکروکنیدی و شناسایی قارچ از محیط آب- آگار حاوی ۸-۴ گرم در لیتر KCl استفاده گردید. در روی این محیط جدایه های قارچ تولید زنجیرهٔ میکروکنیدی به میزان فراوان می نمایند و به علت وجود KCl در محیط کشت، زنجیرهٔ میکروکنیدی به صورت پایدارباقی می ماند و به راحتی می توان به وسیلهٔ میکروسکوپ وجود زنجیره را که یکی از معیارهای اصلی گروه Liseola در فوزاریوم ها می باشد مشاهده کرد زیرا رطوبت سطح آگار کاهش یافته و مقدار کمی قطرات آب در سطح هوایی ریسه های قارچ تشکیل خواهد شد.

- جداسازی عامل بیماری:

قارچ عامل بیماری از محل زخم های چاقو بریدگی موجود بر روی میانگره های نیشکر جداسازی گردید. برای این کار ابتدا محل های چاقو بریدگی با الکل اتیلیک ۷۵٪ ضد عفونی و بعد به سرعت از روی شعله عبور داده شد تا ضدعفونی سطحی صورت گیرد. پس از آن قطعات کوچکی از بافت های مرز بین ناحیهٔ سالم وآلوده با اسکالپل جدا و روی محیط کشت انتخابیNash & Snyder قرار داده شد. محیط کشتها در انکوباتور ۲۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند. فوزاریوم های رشد کرده به محیط PDA انتقال یافته و برای خالص سازی و شناسایی در یخچال نگهداری گردیدند.

- روش های خالص سازی قارچ:

برای خالص سازی جدایه ها از دو روش معمول، تک اسپور و نوک ریسه استفاده گردید. (۸-۴-۱)

- روش وادار ساختن قارچ به تولید زنجیره :

گونه های فوزاریوم عامل بیماری نایف کات قارچ در شرایط عادی مقدار زیادی اسپور تولید می نماید ولی به سرعت ارتباط این اسپورها در زنجیره از بین می رود و نمیتوان زنجیره را مشاهده کرد. برای مشاهده زنجیره از محیط کشت آب- آگار حاوی ۸-۴ گرم KCl استفاده شد. یک بلوک۵ میلیمتری از کشت تازهٔ قارچ روی محیط PDA به تشتک پتری حاوی محیط آب-آگار دارای KCL انتقال داده شد و پتری ها در شرایط نوری مناسب(۱۲ ساعت تاریکی،۱۲ ساعت روشنایی) و دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند پس از ۱۰-۸ روز وجود یا عدم وجود زنجیره در پرگنه قارچ، در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت.

- نحوۀ تشخیص گونه های فوزاریوم عامل بیماری

در این تحقیق شناسایی جدایه ها بر پایۀ ویژگیهای ظاهری آنها انجام شد. هر یک از این ویژگیهای ظاهری بعنوان یک معیار شناسایی، ارزشهای متفاوتی دارند. بعضی از آنها دارای اهمیت زیاد و برخی دیگر از درجات کمتر اهمیت برخوردار می باشند. ویژگیهای ظاهری مورد توجه شامل شکل ماکرو و میکروکنیدی، شکل سلول انتهایی و پایۀ ماکرو کنیدی، وجود یا عدم وجود کلامیدوسپور، نوع فیالید(مونوفیالید یا پلی فیالید) وجود یا عدم وجود زنجیرۀ میکروکنیدیوم و سرهای دروغین، رنگ پرگنه قارچ (بویژه از سطح زیرین)و نرخ رشد پرگنه می باشد.

دارا بودن منو یا پلی فیالید ویژگی مهمی است و ارزش فیلوژنتیکی زیادی دارد.صفاتی مثل رنگ و نحوۀ رشد پرگنه در مراحل بعدی مورد توجه قرار می گیرند و معیار کم اهمیت تری هستند چون ممکن است با تغییرات کوچکی در محیط، دستخوش تغییر گردند، با این وجود در بعضی از موارد کمک خوبی برای شناسایی گونه ها می باشد.

بعد از جمع آوری تمام اطلاعات لازم و با استفاده از منابع معتبر شناسایی، از جمله کلیدهای شناسایی فوزاریوم نلسون و همکاران (۸)، بوس (۵)، برحبس و همکاران (۶) استفاده شد .

- آزمایش اثبات بیماریزایی بر روی قلمه های نیشکر:

تکنیک مایه زنی به روش ساقه های (قلمه های) جدا شده برای به حداقل رساندن دورۀ کمون در آزمایشگاه استفاده شد. برای این منظور ساقه های گیاهان هم سن، هم ارتفاع، هم قطر و فاقد هر گونه آلودگی و تغییر رنگ از رقم CP57-614 را بریده و توسط کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردید. برای هر جدایه تعداد پنج قلمه (به قطر ۲-۱/۵ و به طول ۳۰ سانتی متر)استفاده شد و قلمه های استفاده شده حداقل دارای یک میانگره کامل بودند. ابتدا قلمه ها با الکل اتیلیک ۷۰ درصد ضدعفونی سطحی شدند. دو طرف قلمه ها را با پارافین و یا پارافیلم پوشانده تا از ورود قارچهای ساپروفیت از دو انتهای قلمه جلوگیری به عمل آید، سپس در وسط هر قلمه محل مناسبی برای تلقیح در نظر گرفته شد و با چوب پنبه سوراخ کن حلقه ای از بافت به عمق **۵/.** سانتی متر برداشته، بطوریکه سوراخ ایجاد شده تا مغز ساقه وارد رشد. از حاشیۀ کلنی قارچ چهار روزه حلقه ای از میسلیوم قارچ برداشته و در موضع تلقیح قرار گرفت. برای جلوگیری از جابجایی و خشک شدن حلقه های قارچ و ورود عوامل دیگر، محل تلقیح با یک لایه پارافیلم و چسب نواری کاغذی پوشانده شد. بعد با نوک انگشت حلقه ها را به آرامی فشار داده تا با محل تلقیح تماس کامل برقرار شود. در تیمار شاهد (۵ تکرار) به جای محیط کشت حاوی میسلیوم، فقط از محیط کشت PDA استفاده شد(۳).

بعد از تلقیح، قلمه ها در ژرمیناتور با رطوبت ۹۰-۸۰ ٪ به مـدت ۱۴ روز در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. میزان گسترش بیماری در بافت های داخلی و خارجی قلمه ها و همچنین جداکردن مجدد عامل بیماری از منطقۀ آلوده معیار سنجش قرار گرفت(بعد از ۱۴ روز).

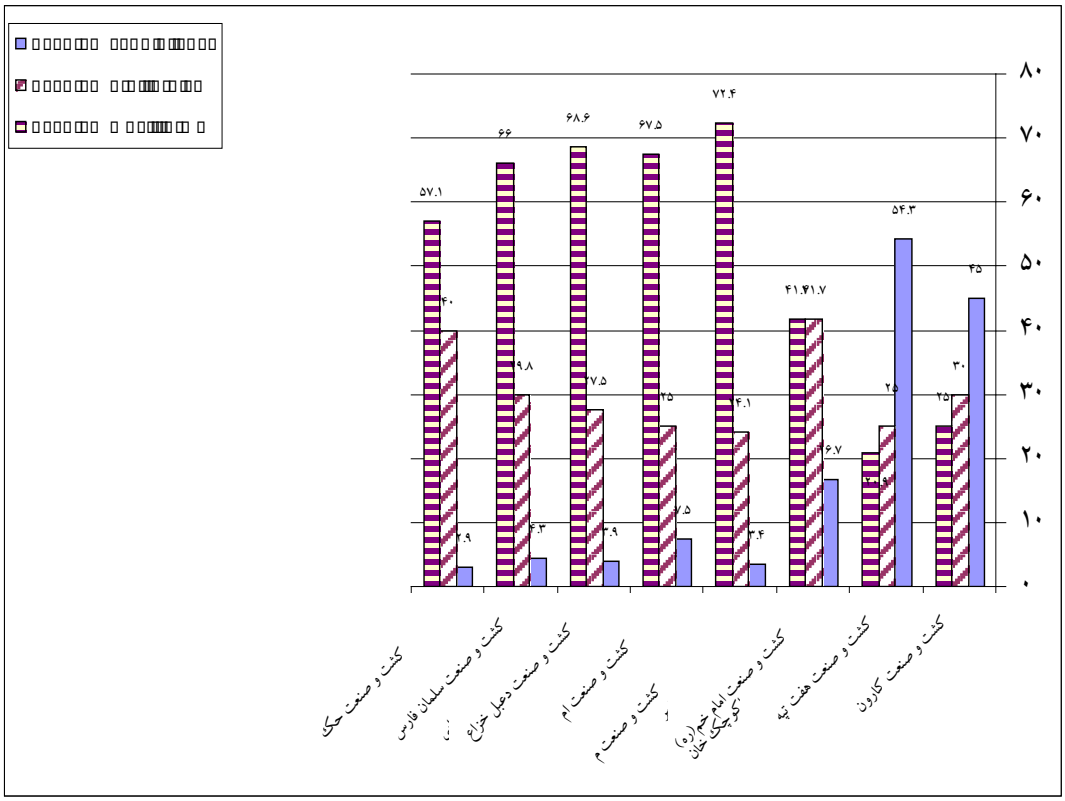
- محاسبات آماری

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد و تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات به روش دانکن ($p \leq .01$) و با استفاده از نرم افزار spss ver 11.5 انجام گرفت.

نتایج و بحث:

- جداسازی جدایه های فوزاریوم

در این تحقیق مجموعا ۲۷۰ جدایه فوزاریوم از ساقه نیشکر (محل knife cut) از کشت و صنعت های مختلف استان خوزستان جداسازی شد. جدایه ها پس از بررسی و شناسایی دقیق در سه گونه قرار گرفتند. این گونه ها عبـارت بودند از *F. subglutinans* , *F. verticillioides* , *F. proliferatum* که به ترتیب شامل ۱۵۴، ۸۱، ۳۵ جدایه بودند و درصد انتشار آنها ۵۷٪ ، ۳۰٪ و ۱۳٪ می باشد. گونـه غالب درکشت و صنعت های شمال خوزستان (کارون و هفـت تپه) *F. subglutinans* و در سایر کشت وصنعت های استان *F. verticillioides* مشاهده گردید. تمام جدایه ها از لحاظ بیماریزایی مورد بررسی قرار گرفتند.راندمان جداسازی سه گونه فوزاریوم از هر کشت وصنعت در جدول(۱) و (نمودار ۱) نشان داده شده است.

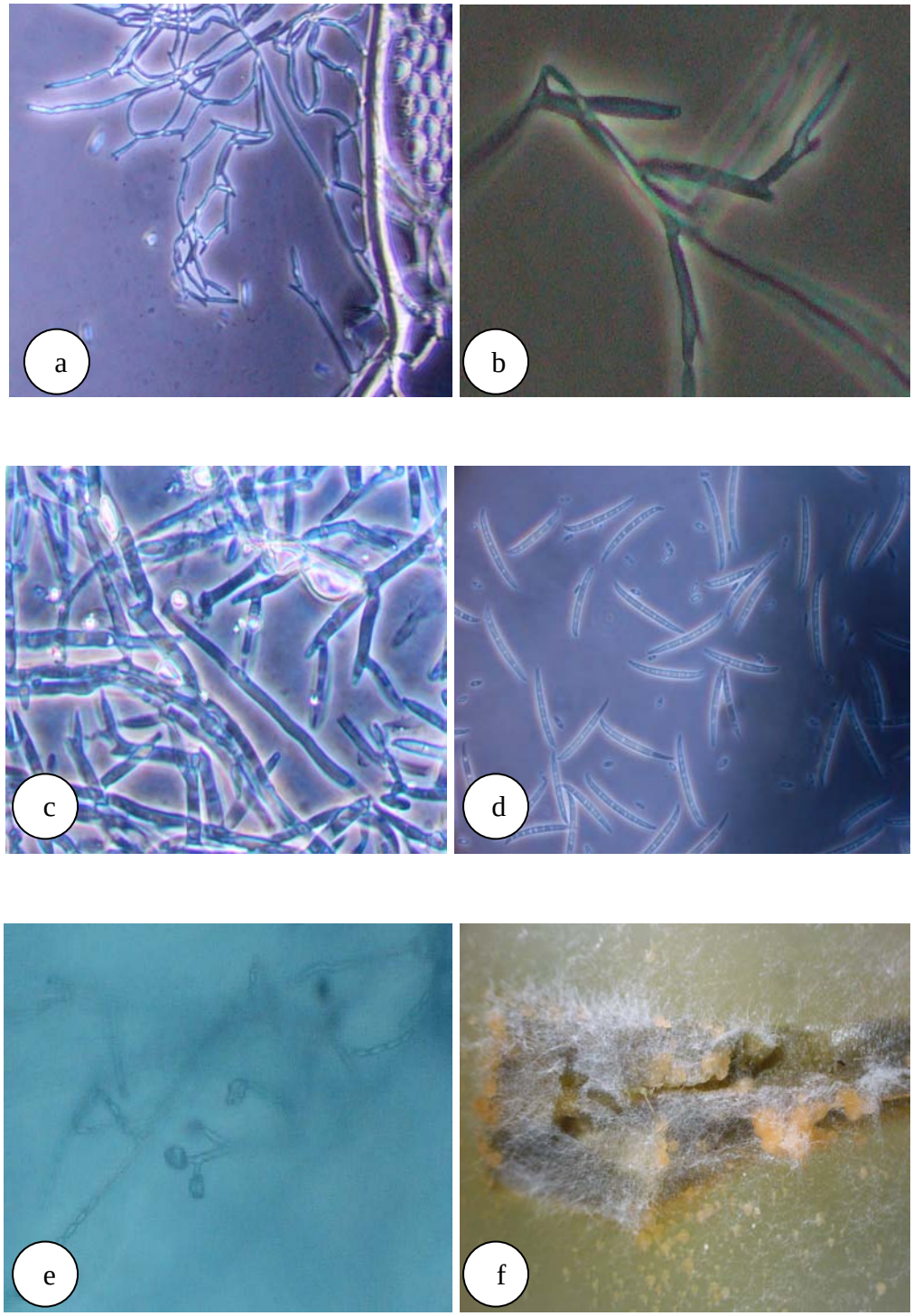


نمودار ۱ درصد فراوانی گونه های فوزاریوم عامل بیماری چاقوبریدگی نیشکر در کشت و صنعت های استان خوزستان

گونه های فوزاریوم محل جمع آوری گونه	*Fusarum verticillioides*	*Fusarum proliferatum*	*Fusarum subglotinans*
کشت و صنعت کارون	۵(٪۲۵)	۶(٪۳۰)	۹(٪۴۵)
کشت و صنعت هفت تپه	۵(٪۲۰/۸)	۶(٪۲۵)	۱۳(٪۵۴/۲)
کشت و صنعت امام خمینی(ره)	۱۰(٪۴۱/۷)	۱۰(٪۴۱/۷)	۴(٪۱۶/۷)
کشت و صنعت میرزاکوچک خان	۲۱(٪۷۲/۴)	۷(٪۲۴/۱)	۱(٪۳/۴)
کشت و صنعت امیرکبیر	۲۷(٪۶۷/۵)	۱۰(٪۲۵)	۳(٪۷/۵)
کشت و صنعت دعبل خزاعی	۳۵(٪۶۸/۶)	۱۴(٪۲۷/۵)	۲(٪۳/۹)
کشت و صنعت سلمان فارسی	۳۱(٪۶۶)	۱۴(٪۲۹/۸)	۲(٪۴/۳)
کشت و صنعت حکیم فارابی	۲۰(٪۵۷/۱)	۱۴(٪۴۰)	۱(٪۲/۹)

جدول ۱- راندمان جداسازی گونه های فوزاریوم عامل بیماری چاقو بریدگی نیشکر در کشت و صنعت های استان خوزستان

در مجموع سه گونه از ساقهٔ نیشکر با استفاده از محیط کشت Nash & Snyder جداسازی گردید. برای تعیین ویژگی های پرگنه از محیط کشت PDA و برای مشاهدهٔ نوع فیالید و زنجیرهٔ کنیدی از محیط کشت های KCL، CLA استفاده گردید. این سه گونه متعلق به گروه Liseola می باشد. از ویژگی های این گروه می توان فراوانی میکروکنیدی ها ، ماکروکنیدیهای نسبتا راست که دارای دیوارهٔ نازک می باشند و فقدان کلامیدوسپور را نام برد. میکروکنیدی ها روی منو یا پلی فیالید به صورت زنجیری یا در سرهای کاذب و یا به هر دو صورت تشکیل می شوند و رنگ سطح زیرین پرگنه متعلق به این گروه، اغلب به صورت بنفش می باشد. بر اساس کلید نلسون و همکاران سه گونه *F. verticillioides, F. proliferatum,* *F. subglotinans* در این گروه قرار داده شده است.



شکل a،b، c - منووپلی فیالید(۲۰X، ۴۰ X،۱۰۰X)، d ماکروکنیدیوم

e- زنجیره میکرو کنیدیوم،پلی فیالید و سرهای دروغین (Fals head)

f- اسپرودوشیوم

آزمون بیماریزایی جدایه ها در قلمه های نیشکر

میزان تغییر رنگ در قلمه های تلقیح شده پس از ۱۴-۱۰ روز بررسی گردید. در تمام جدایه های حاصله از نیشکر مشاهده شد که در محل تلقیح به طرف گره ها حالت نکروز ایجاد گردیده است. این نشان می دهد که تمام جدایه ها بر اساس این آزمایش قادر به بیماریزایی روی نیشکر می باشند. جهت رعایت اصول کخ و اطمینان از اینکه علائم ایجاد شده ناشی از حمله قارچ تلقیح شده می باشد، از قسمتهای آلوده دور از محل تلقیح(بخش انتهای قسمت نکروزه شده)، قطعاتی روی محیط کشت انتخابی Nash & Snyder کشت داده شد و قارچ تلقیح شده جداسازی گردید. در اطراف محل تلقیح قلمه هایی که به عنوان شاهد آلوده شده بودند، هیچگونه نکروزی مشاهده نگردید.

شکل - آزمون بیماریزایی بر روی قلمه های نیشکر

بر اساس نتایج تجزیه آماری داده ها با آزمون دانکن در آزمایش مقایسه توانایی بیماریزایی و شدت آن در ۸۰ جدایه *F. proliferatum* حاصله از نیشکر نشان داد که بین جدایه ها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار وجود دارد و جدایه ها به ۱۵ گروه دسته بندی شدند.

جدایه های S64,S68,S71,D38,F59,B4 از مناطق کشت و صنعت سلمان فارسی، دعبل خزاعی، حکیم فارابی و جدایه K25 از کارون، به عنوان ضعیف ترین جدایه بر روی نیشکر در مقایسه با شاهد مشخص شد.

جدول - تجزیه واریانس در آزمایش مقایسه توانایی بیماریزایی ۸۶ جدایه مختلف *F. proliferatum* در نیشکر

منبع تغییر sourse of variation	درجات آزادی (**df**)	مجموع مربعات (**SS**)	میانگین مربعات (**MS**)	F_s	سطح معنی دار (**sig**)
Intercept	۱	۸۳۶۰۹۸/۹۴۵	۸۳۶۰۹۸/۹۴۵	۱۱۳۴۵/۳۳۴	۰/۰۰۰
جدایه(Isolate)	۸۶	۴۵۳۶۰/۰۵۵	۵۲۷/۴۴۳	۷/۱۵۷	۰/۰۰۰
اشتباه(Error)	۳۴۸	۲۵۶۴۶/۰۰۰	۷۳/۶۹۵		
کل(Total)	۴۳۵	۹۰۷۱۰۵/۰۰۰			

شکل تنوع در اندازه نکروزه شدن قلمه های نیشکر آلوده با *Fusarium proliferatum*
بدست آمده از کشت و صنعت های شمال و جنوب خوزستان
A,E,I : شمال(هفت تپه) B,C : جنوب(سلمان فارسی) F,k : شمال(کارون)
G,J : جنوب(دعبل خزاعی).

عامل بیماری چاقو بریدگی نیشکر بر اساس تحقیقات انجام شده، گونه های مختلف قارچ فوزاریوم می باشد و کلیه جدایه های قارچ فوزاریم جدا شده از بیماری چاقو بریدگی، پس از تک اسپور کردن ، نـوک ریسه کردن و کشت در محیـط های KCL , CLA تحت سه گونـه *F. verticillioides* , *F. proliferatum* , *F. subglotinans* *تشخیص* داده شد که درصد فراوانی آنها به ترتیب ۱۳،۳۰،۵۷ درصد بود. خصوصیات گونه های جدا شده با شرح نلسون و همکاران در سال ۱۹۸۳مطابقت می نماید(۸).

از نتایج این تحقیق، روشن شدن غالب بودن گونه *F. subglotinans* در کشت و صنعت های کارون و هفت تپه وگونه *F. verticillioides* در کشـت و صنعت های دیگر اسـتان بـود(جدول۱) و (نمودار۱). توضیح اینکه کشت و صنعت های کارون و هفت تپه در شمالی ترین نقطه نیشکر کاری استان قرار دارند و سایر کشت وصنعت ها در مناطق جنوبی استان واقع شده اند و قارچ *F. subglotinans* در مقایسه با گونه *F. verticillioides* دمای پایینتری را ترجیح می دهد(۲)، بنابراین ا حتمال داده می شود که درجه حرارت در پراکندگی گونه موثر باشد. ولی جهت استنتاج علمی و منطقی دراین مورد، نیاز به مطالعات عمیق و گسترده می باشد که امید است در آینده انجام گیرد.

در آزمایش اثبات بیماریزایی گونه های قارچ فوزاریوم در اثر تلقیح مصنوعی، تغییر رنگی در سطح پوست و بافت درونی ساقه دیده شد و رنگ بافت از حالت طبیعی به بنفش متمایل به قرمز تغییر کرده بود. با اندازه گیری طول بافت نکروزه شده قلمه های بریده شده نیشکر در تست بیماریزایی، مشاهده گردید که جدایه های حاصل از کشت و صنعت های کارون و هفت تپه در مقایسه با کشت و صنعت های دیگر استان از شدت بیماریزای کمتری برخوردارند، از طرفی هنگام جدا سازی قارچ ازساقه های کشت وصنعت های هفت تپه و کارون خصوصا از زخمهای نزدیک به سطح زمین تعداد زیادی جدایه های قارچ تریکودرما جداسازی گردید که معمولا از زخم های قدیمی که گسترش آنها متوقف شده بود، جدا سازی شدند ولی از زخمهایی که جدید بودند و در میانگره های بالاتر از سطح زمین قرار داشتند، جدا سازی صورت نگرفت و زخمهای انتهایی و میانی، توسعه و گسترش بیشتری در مقایسه با زخمهای قدیمی که در نزدیک سطح زمین قرار داشتند، دارا می باشند. شاید علت اصلی عدم گسترش زخمهای قدیمی وجود جدایه های تریکودرما باشد که در خاکهای مزارع قدیمی وجود داشته و به سهولت می توانند روی زخمهای پایین ساقه آمده و از گسترش زخمها جلوگیری کنند. بر اساس مطالعات صورت گرفته گسترش آلودگی پس از مدتی متوقف می گردد(۴). ولی نتایج به دست آمده از آلودگی های مزارع کشت و صنعت های دعبل خزایی، سلمان فارسی، حکیم فارابی، میرزا کوچک خان، امیرکبیر و امام خمینی(ره) نشان دهنده این است که به احتمال زیاد عامل اصلی متوقف شدن آلودگی همان گونه های تریکودرما باشد، زیرا در مقایسه با کشت و صنعت های هفت تپه و کارون در مزارع یاد شده درصد آلودگی بالاتری مشاهده گردید و زخمها عمیق تر و از گسترش بیشتری برخوردار بودند. تصور می شود که بدلیل قدمت کمتر کشت در مناطق جنوب در مقایسه با کشت و صنعت های کارون و هفت تپه، هنوز گونه های مفید قارچ تریکودرما در این مناطق مستقر نگردیده باشند. بنابر این می توان با جداسازی و تشخیص و تکثیر گونه مناسب تریکودرما، به طور طبیعی درصد آلودگی را در مزارع پایین آورد (۳).

نتایج حاصل از تست بیماری زایی نشان داد که تمام جدایه های به دست آمده از نیشکر بیماریزا می باشند. البته این تست نمی تواند بیان کننده نوع علائمی باشد که در آلودگی های طبیعی توسط قارچ در گیاه نیشکر بوجود می آید بلکه فقط می توان نتیجه گرفت که جدایه های به دست آمده روی گیاه نیشکر می توانند بیماریزا باشند. در مطالعاتی که طاهرخانی در سال ۱۳۷۴ در این مورد داشته، نتایج حاصل از تست ساقه های بریده شده با نتایج حاصل از تست های انجام شده روی گیاه در حال رشد، از نظر بیماریزا بودن قارچ عامل بیماری، یکسان می باشد(۳). بنابراین به خاطر سرعت عمل و صرفه جویی در زمان و اینکه برای دیدن علائم در گیاهان تلقیح شده در شرایط مزرعه باید مدت مدیدی صبر کرد، در این تحقیق از این روش استفاده شده است. جداسازی دوباره عامل بیماری از انتهای ناحیه نکروزه شده حاکی از وجود قارچ در این ناحیه بوده که خود بیانگرایجاد علائم توسط قارچ عامل بیماری می باشد. در قلمه های تلقیح شده با PDA به عنوان شاهد، هیچ گونه نکروز و تغییر رنگ در محل تلقیح مشاهده نگردید.

Abstract:
During years 1384-1385 , several knife-cut disease infected seed cane were collected from several agro-industries and about 270 isolates of fusrium were isolated from the knife-cut trauma location which were studied and identified and then classified as three species: *F. verticillioides(moniliforme), F. proliferatum* and *F. subglutinans* consisted 57 , 30 and 13 percent of the total population, respectively. After analyzing, it became clear that the dominate species in agro-industries located in north of Khuzestan is *F. subglutinans* and the one in south of Khuzestan is *F. verticillioides.* Pathogenesity of all isolated from infected tissues of sugarcane were studied. And conducted through detached stem technique which proved the pathogenesity of all isolated specimen.

منابع:

۱- راه خدایی، ا. ۱۳۷۹. تعیین گروه های سازگار رویشی در جمعیت های Fusarium solaniو Fusarium oxysporum و بیماریزایی آنها روی سیب زمینی در استان های فارس و خوزستان.۱۲۴ص.

۲- صارمی، ح.۱۳۷۷. اکولوژی و تاکسونومی گونه های فوزاریوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۱۳۲ص.

۳- طاهرخانی، ک.۱۳۷۴. بررسی بیماریهای فوزاریومی نیشکر در استان خوزستان. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده تربیت مدرس.۱۶۳ص.

۴- محمدی،ع. ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی در جدایه های F.moniliforme جداسازی شده از نیشکربا استفاده از گروه های سازگار رویشی و تعیین ارتباط آن با جدایه های ذرت. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته **بیماری** شناسی گیاهی.دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز،ایران، ۸۵ص.

5- Booth, C.1971. The Genus Fusarium.CMI.Kew, survey, uk.237p.

6- Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock,S., Gott, K.P ., and Backhous,D.1994. Laboratory Manual for Fusarium Research. Fusarium Reserch Laboratory, Department of Crop Scince, University of Sydny and Royal Botanic Gardens, 133p.

7- Martin, J.P., Handojo, H., and Wismer, C.A. 1989. Pokkah boeng. Pages 157- 168 in : Disease of Sugarcane: Major Disease. C. Ricaud, B.T. Egan, A, G. Gillaspie, JR., and C.G. Hughes, eds. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.

8- Nelson, P.E.1991. History of Fusarium Systematics.Phytopathology81 : 1045-1048.

9- Ricaud, C., Egan, B. T., Gillasspiej., A.G, and Hughes, C.G.1989. Disease of sugarcane, major disease. Elsievire Amesterdam. Oxford. Newyork. Tokyo.400pp.

10- Verma, K.P., Singh, M.P., and Upadaya, U.C.1984. Knife cut: the first report of incidence of this disease in India council sugarcane Res. Shahjahnpur, Utar Pradesh. No 1, 7-8.