شماره	کد مؤسسه	کد استان

(۱)

بسمه تعالی

وزارت کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

طرح تحقیقاتی

۱- عنوان طرح:(به فارسی و انگلیسی)

بررسی امکان کنترل بیولوژیکی بیماری بلایت فوزاریومی سنبله گندم با استفاده از باکتری‌های اپی‌فیت

Biological control of Fusarium head blight by wheat epipyte bacteria

الف: اجرای این طرح در جلسه مورخ **شورای تات استان** **مورد تأئید قرار گرفت.**

دبیر شورای تات استان

ب: اجرای این طرح در جلسه مورخ **شورای تحقیقات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کمیته فنی** **مورد تأئید قرار گرفت.**

رئیس شورای تحقیقات مؤسسه

ج: اجرای این طرح در جلسه مورخ **کمیسیون بررسی و هماهنگی طرح‌های تحقیقاتی مطرح و برای بار.... مورد تصویب قرار گرفت.**

رئیس کمیسیون بررسی و هماهنگی طرح‌های تحقیقاتی

کد طرح:

شماره	کد مؤسسه	کد استان

بسمه تعالیٰ

وزارت کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

طرح تحقیقاتی

۱- عنوان طرح:(به فارسی و انگلیسی)

بررسی امکان کنترل بیولوژیکی بیماری بلایت فوزاریومی سنبله گندم با استفاده از باکتری‌های اپی‌فیت

Biological control of Fusarium head blight by wheat epiphyte bacteria

۲- نوع تحقیق: کاربردی☒ توسعه‌ای ☐ بنیادی ☐

۳- پیش‌بینی کاربرد نتایج طرح: منطقه‌ای ☐× ملّی ☐ بین‌المللی ☐

۴- مشخصات مجری مسئول، مشاور، هماهنگ‌کننده و سایر مجریان:

نام‌و نام‌خانوادگی	سمت در طرح	آخرین درجه تحصیلی	رشته تحصیلی	سمت و مرتبه علمی	واحد متبوع	محل خدمت	امضاء
عزیزاله علیزاده	مجری مسئول	دکترا	بیماری‌شناسی و گیاهی	دانشیار	بخش غلات	کرج	
ناصر صفایی	سایر مجریان	کارشناسی ارشد	بیماری‌شناسی گیاهی	دانشجوی دکتری	دانشگاه تربیت مدرس	تهران	
حشمت‌اله رحیمیان	سایر مجریان	دکترا	بیماری‌شناسی گیاهی	استاد	دانشگاه مازندران	ساری	

در مورد طرح‌های مشترک و یا مشاور دانشگاهی و غیره امضاء مورد نیاز است.
برای طرح‌های مستقل نیاز به امضاء نیست

۵- تاریخ شروع و مدت اجرای طرح

تاریخ شروع طرح	مدت اجرای طرح	
	ماه	سال
۱۳۷۹	فروردین	۴ سال

۶- محل(های) اجرای طرح: کرج

۷- چکیده (خلاصه طرح):

در این طرح ضمن جمع‌آوری و جداسازی باکتری‌های اپی‌فیت گندم، این باکتریها از نظر مصرف فیتوتوکسین‌های عمدهٔ *F.graminearum* یعنی AcDON, DON در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی می‌گردند در مرحله بعد باکتری‌های مصرف کنندهٔ فیتوتوکسین‌ها قبل و همزمان با مایه‌زنی گندم در گلخانه بر روی گیاهان پاشیده می‌شوند. و پس از توسعه بیماری میزان آلودگی دانه‌ها به فیتوتوکسین‌ها و نیز شدت بیماری تعیین می‌گردد و نهایتاً استرین مطلوب از نظر اینکه دارای صفات یک عامل بیوکنترل باشد و نیز میزان آلودگی به توکسین‌ها را کاهش دهد، تعیین می‌گردد.

۸- طرح‌های اجرا شده و در دست اجرای مجری مسئول این طرح از ۵ سال پیش تاکنون:

ردیف	عنوان طرح تحقیقاتی	سمت در اجرای طرح	سال شروع	سال پایان	تاریخ ارائه گزارش نهایی
۱					
۲					
۳					
۴					
۵					

۹- مشخصات کاردان‌ها و تکنسین‌های همکار در طرح:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مدرک تحصیلی	واحد متبوع	محل خدمت	ملاحظات
۱	فریبا پورپناهی	دیپلم	پاتولوژی غلات	کرج	
۲	عاتکه بکائی	لیسانس	پاتولوژی غلات	کرج	

۱۰- هدف تحقیق:

کنترل بیماری و کاهش آلودگی محصول به فیتوتوکسین‌های قارچ عامل بیماری FHB به طور همزمان با استفاده از باکتری‌های اپی‌فیت گندم.

۱۱- ضرورت و اهمیت اجرای طرح

بیماری بلایت فوزاریومی سنبله گندم (Fusarium Head Blight) یکی از بیماری‌های مهم گندم در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب جهان می‌باشد (Parry *et al.*, 1995). بیماری بلایت فوزاریومی سنبله گندم از سال‌های پیش در ایران وجود داشته است (بامدادیان و ترابی ۱۳۶۲). و در مازندران، گرگان و گنبد یکی از بیماری‌های مهم بشمار می‌رود (گلزار ۱۳۶۸، فروتن و همکاران، ۱۳۷۲). اپیدمی شدیدی از این بیماری در سال زراعی ۷۵-۱۳۷۴ در استان‌های هرمزگان و فارس مشاهده گردید (علیزاده و ترابی اطلاعات منتشر نشده).

گونه‌های *Fusarium graminearum* به همراه *F.culmorum* گونه‌های غالب ایجاد کننده بیماری بلایت فوزاریومی سنبله می‌باشند (Parry *et al.*, 1995). این قارچ‌ها قادرند فیتوتوکسین‌هایی از مشتقات تریکوتسین‌ها تولید نمایند (Desjardins and Hohn, 1997; Wang and Miller, 1988). تریکوتسین‌ها (Trichothecences) به چهار گروه عمده تقسیم می‌شوند که مهم‌ترین آنها تیپ‌های A و B می‌باشند. سنتز این دو تیپ تریکوتسین ویژگی گونه‌های خاصی از *Fusarium* است. یک

۱۲- سابقه تحقیق در داخل و خارج از کشور با ذکر نتایج (REVIEW OF LITERATURE)

بلایت فوزاریومی سنبله گندم که یکی از بیماری‌های مهم گندم در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب است (Parry *et al.*, 1995) هنوز کنترل آن در سرتاسر دنیا یک مسئله حل شده است (Mestorhazy, 1997 و McMullen *et la.*, 1997). یکی از ویژگی‌های خاص عامل این دسته از بیماری‌ها و از جمله عامل بیماری بلایت فوزاریومی سنبله گندم (FHB) که گونه غالب آن *Fusarium graminearam* می‌باشد، تولید فیتوتوکسین (Phytotoxin) است که در قدرت بیماری‌زایی آن دخالت دارد (Proctor *et al.*, 1995، Desjardins *et al.*, 1996، Desjardins and Hohn, 1997 Proctor *et al.*, 1997). اگر چه فعال کننده نسخه‌برداری (transcriptional activator) بیوستز تریکوتسین‌ها (که یک ترکیب پروتئین - روی محصول ژن TR16) مشخص گردیده است (Hohn *et al.*, 1999) و نیز معلوم شده است که تولید این فیتوتوکسین‌ها اغلب در ارقام مقاوم کمتر از ارقام حساس می‌باشد (Mesterhazy, 1997b, Chen *et al.*, 1996) هنوز فاکتورهای گیاهی که تولید توکسین‌ها را در قارچ *F.graminearum* فعال می‌کند مشخص نشده است.

ادامه بند ۱۳

برای کنترل این بیماری از روش‌های مختلف شامل کنترل زراعی، کنترل بیولوژیکی، سمپاشی و ارقام مقاوم استفاده شده است (Parry *et al.*, 1995). در بررسی‌های دای وزو (Dai and Zhou, 1995) تعدادی باکتری و مخمر بررسی شد. در آزمایشات انجام شده بر روی سنبله‌های جدا شده و در گلخانه، دو باکتری آنتاگوسیت و یک باکتری رقیب غذایی به ترتیب ۹۱/۸، ۷۵/۳ و ۹۸/۹ درصد کنترل در گلخانه نشان دادند همین استرینها در مزرعه به ترتیب ۶۷/۶، ۶۴/۹ و ۵۶/۸ درصد بیماری را کنترل کردند. همچنین در تحقیق دیگری ۲۷۸ میکروارگانیسم (باکتری و مخمر) از ریزوسفر، فیلوسفر و اسپرموسفر گندم جداسازی شد و به صورت *In vitro* برای عمل آنتاگونیستی آنها بر روی *F.graminearum* آزمایش شد که از میان آنها سه گونه *Bacillus subtilis* (دو استرین) *Bacillus* sp (یک استرین) و مخمر *Sporobolomyccs roseus* بهترین نتیجه را بدست دادند و علاوه بر کاهش شدت بیماری محصول گندم با ۱۶ تا ۳۱ درصد نسبت به شاهد تیمار نشده افزایش دادند (Perondi *et al.*, 1996). بر اساس اطلاعات موجود تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با بکارگیری میکروارگانیسم‌های دارای توانایی غیر سمی کردن تریکوتسین‌های *F.graminearum* به منظور کنترل این بیماری، انجام نگرفته است. انجام چنین مطالعاتی نه تنها منجر به شناسائی ژن‌های مقاومت در مقابل این دسته از فیتوتوکسین‌ها می‌گردد بلکه بکارگیری این میگروارگانیسم‌ها به عنوان عامل بیوکنترلی منجر به کنترل بیماری همزمان با کاهش آلودگی محصول به فیتوتوکسین‌های مذکور می‌شود.

ادامه بند ۱۱

ویژگی مشترک اکثر گونه‌های *Fusarium* توانائی سنتز Zearalenone می‌باشد. تریکوتسین‌های تیپ A شامل توکسین T-2، HT-2، diacetoxyscirpenol (DAS), neosolanio (NED) و تیپ B شامل deoxynivalenol (DON)، 3-acetyl DON، 15-acetyl DON، nivalenol و Fusarenon (FX) می‌باشند (D'Mello *et al.*, 1998). توکسین‌های عمدهٔ *F.graminearum* DON، NIV و 3ACDON (از دسته تریکوتسین‌ها) و توکسین استروژنیک Zearalenol و Zearalenone می‌باشند (Wang and Miller, 1998). تلاش‌هائی برای شناسایی ژن‌هایی که کنندهٔ تریکوتسین‌ها انجام شده است (Desjardins *et la.*, 1998); (Hohn *et al.*, 1999).

برای کنترل این بیماری از روش‌های مختلفی شامل کنترل زراعی، بیولوژیکی، سمپاشی و استفاده از ارقام مقاوم بهره گرفته شده است (Parry *et al.*, 1995). در این تحقیق یک روش کنترل بیولوژیکی نوین با استفاده از چند گونه باکتری بدست آمده از بخش‌های هوایی گندم از نظر صرف توکسین و یا تبدیل آن به مادهٔ بی ضرر دیگر بررسی بتوان میکروارگانیسمی که مشخصات یک عامل بیوکنترل را می‌شود. آورد

دارد و علاوه بر آن می‌تواند فیتوتوکسین های *F. graminearum* را نیز خنثی کند یا

آورد شاید یک راه حل منطقی برای کنترل بیماری همراه با سایر روشهای کنترلی فائل آییم.

۱۳- روش کامل اجرای تحقیق Materials and Methods (برای هر هدف روش تحقیق مربوط با ذکر متغیرهای ارائه شود):

۱- جداسازی باکتری‌ها از اندام‌های هوایی گندم و شناسائی آنها

۲- آزمایشات *in vitro* باکتری‌های جدا شده بر روی محیط کشت حاوی توکسین‌های خالص DON و 3ACDON کشت داده شده و توانائی مصرف این توکسین‌ها ارزیابی می‌شود.

۳- آزمایشات گلخانه‌ای بعد از آزمایشات مقدماتی، آزمایش‌ها با استرین‌هایی که به خوبی بر روی این فیتوتوکسین‌ها رشد کرده‌اند در محیط مایع حاوی فیتوتوکسین‌ها ادامه یافته واسترین‌های انتخاب شده با روش‌های کلاسیک کنترل بیولوژیکی در گلخانه آزمایش می‌شوند. دراین آزمایشات ابتدا استرین‌های باکتری بر روی گیاه استقرار داده می‌شوند و سپس مایه‌زنی انجام می‌شود. سپس شدت بیماری و میزان تولید فیتوتوکسین و آلودگی تنهایی دانه‌ها به فیتوتوکسین‌ها ارزیابی می‌شود. فیتوتوکسین‌ها با گاز کروماتوگرافی (GC) اندازه‌گیری می‌شوند.

(لطفاً برای درج بقیه مطالب این بند از پشت صفحه استفاده شو

۱۴- شرح وظایف مجریان (مذکور در بند ۴) به تفکیک:

نام و نام‌خانوادگی	سمت در طرح	وظایف محوله
عزیزاله علیزاده	مجری مسئول	بررسی‌های *in vitro* فیتوتوکسین‌ها
حشمت اله رحیمیان	سایر مجریان	تشخیص باکتری‌ها
ناصر صفائی	سایر مجریان	اجرای آزمایش در گلخانه

۱۵- زمان‌بندی فعالیت‌های عمده طرح و زمان ارائه گزارش نهایی:

۱- جمع‌آوری و تشخیص باکتری‌ها یک سال (۱۳۷۹)

۲- آزمایشات *in vitro* یک سال (۱۳۸۰)

۳- آزمایشات گلخانه‌ای یک سال (۱۳۸۱)

۴- تکرار آزمایشات گلخانه‌ای یک سال (۱۳۸۲)

گزارش نهائی شش ماه پس از اتمام طرح

سال	جمع آوری و تشخیص باکتری‌ها	آزمایشات in vitro	آزمایشات گلخانه‌ای (۱)	آزمایشات گلخانه‌ای (۲)
۱۳۷۹	+	+	—	—
۱۳۸۰	—	+	—	—
۱۳۸۱	—	—	+	—
۱۳۸۲	—	—	—	+

۱۶- اعلام نظر مجری مسئول طرح در مورد لزوم (با ذکر زمان) همکاری کارشناس (آن) ترویج به منظور آشنایی با طرح و ترویج نتایج حاصل از اجرای آن:

نیازی نیست

۱۷- پیش‌بینی چگونگی انتقال نتایج حاصل از اجرای طرح به مراکز و مؤسسات آموزش کشاورزی کشور:

از طریق نشریات ترویجی و تهیه سوش کارآمد با کاربر مناسب برای استفاده گسترده‌تر در مزارع

۱۸- منابع و مأخذ مورد استفاده:

۱- بامدادیان، ع، ترابی، م، آفات و بیماریهای گیاهی، تهران، ۶۷ صفحه. (۱۳۶۲). بیمایهای مهم گندم و جو و نحوه یاداشت برداری از آنها، انتشارات مؤسسه تحقیقات

۲- فرونن، ع، ارشاد، ج، دلیلی، ع، بامدادیان، ع و گرامی، ق، مقالات یازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. (۱۳۷۱). شیوع بلایت خوشه گندم در مازندران، خلاصه

۳- گلزار، ح، بیماریهای گیاهی ۲۵: ۱۷-۲۲. (۱۳۶۸). بیماریهای بلایت خوشه گندم، بررسی در مورد عامل بیماری، نحوه آلودگی و انتقال بر سیله بذر،

4- **Dai, F.M. and Zhou, S.M.** (1995). Screening and utilization of microorganisms for controlling wheat scab. Acta Phytopathologica Sinica **22:** 112-116.

5- **Desjardins, A.E. and Hohn, T.M.**(1997). Mycotoxins in plant pathogenesis. Molecular Plant - Microbe Interactioin **10:** 147-152.

6- **Desjardins, A.E., Proctor, R.H., Bai, G., McCormick, S.P., Shaner, G., Buechley, G. and Hohn, T.M.** (1996). Reduced virulence of trichothecene - nonproduing mutant of *Gibberella zeae* in wheat field tests. Molecular Plant - Microbe Interaction **9:** 775-81.

7- **D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C., Postel, D., Dijksma, T.P., Dujardin, A. and Placinta, C.M.** (1998). Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus* phytopathogens. European Journal of Plant Pathology **104:** 741-51.

8- **Hohn, T.M., Krishna, P. and Proctor, R.H.** (1999). Characterization of a transcriptional activator controlling trichothecene toxin biosynthesis. Fungal Genetics and Biology **26:** 224-235.

9- **McMullen, M., Jones, R. and Gallenberg, D.** (1997). Scab of wheat and barley: A re-emerging disease of devastating impact. Plant Disease **81:** 1340-48.

10- **Mesterhazy, A.** (1997 a). Fungicide control of Fusarium scab and impact on toxin contamination. In: See 22.

11- **Mesterhazy, A.** (1997 b). Breeding for resistance to *Fusarium* head bight of wheat. In: See 22.

12- **Parry, D.W., Jenkinson, P. and McLeod, L.** (1995). *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals - a review. Plant Pathology **44:** 207-38.

13- **Perondi, N.L., Luz, W.C., Thomas, R. and Da- Luz, W.C.** (1996). Microbiological control of *Gibberella* in wheat. Fitopatologia - Brasileira **21:** 243-44. (CAB Abstr.).

14- **Proctor, R.H., Hohn, T.M. and McCormick, S.P.** (1995). Reduced virulence of *Gibberella zeae* cause by disruption of trichothecene toxin biosynthetic gene. Molecular Plant - Microbe Interaction **8:** 593-601.

15- **Proctor, R.H., Hohn, T.M. and McCormick, S.P.** (1997). Restoration of wild-type virulence to *Tri 5* disruption mutants of *Gibberella zeae* via gene reversion and mutant complementation. Microbiology **143:** 2583-91.

16- **Wang, Y.Z. and Miller, J.D.** (1988). Effects of *Fusarium graminearum* metabolites on wheat tissue in relation to *Fusarium* headblight resistance. Journal of Phytopathology **122:** 118-25.

جدول پیش بینی هزینه ها (طرح کنترل بیولوژیکی)

نوع هزینه	ریالی
جمع هزینه های پژوهشگران	۱۰,۰۰۰,۰۰۰
جمع هزینه های دستگاه ها و تجهیزات	۱۰,۰۰۰,۰۰۰
جمع هزینه های مواد مصرفی	٤۰,۰۰۰,۰۰۰
جمع هزینه های خدمات آزمایشگاهی	۲۰,۰۰۰,۰۰۰
جمع هزینه های متفرقه	۵,۰۰۰,۰۰۰
جمع کل	۸۵,۰۰۰,۰۰۰