مجله نخبگان علوم و مهندسی

Journal of Science and Engineering Elites

جلد ۴- شماره ۴- سال ۱۳۹۸

www.ElitesJournal.ir

تولید قارچ کش بیولوژیک تالارومین و فرآیند تجاری سازی آن در ایران

لاله نراقی

مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

* lale_naraghi@yahoo.com

ارسال: شهریور ماه ۹۸ پذیرش: مهر ماه ۹۸

چکیده

با توجه به نتایج تحقیقات خارج از کشور در خصوص کارآیی قارچ آنتاگونیست Talaromyces flavus در کنترل عوامل مهم بیماری زای گیاهی، در ایران نیز در سال ۱۳۷۹ اقدام به جداسازی جدایه ای از این قارچ از مزارع پنبه استان گلستان شد. پس از اثبات کارآیی این جدایه در کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی پنبه، جداسازی جدایه های مختلف قارچ مذکور از مزارع و گلخانه های برخی محصولات کشاورزی شامل سیب زمینی، چغندرقند، گوجه فرنگی و خیار گلخانه ای صورت پذیرفت و کارآیی آن ها نیز در کنترل برخی بیماری های مهم محصولات فوق ارزیابی شد. در مرحله بعد، با توجه به کسب نتایج مثبت و حصـول اطمینان از کارآیی جدایه های T. flavus در کنترل بیماری های گیاهی مورد مطالعه، جهت تولید قارچ کش بیولوژیک از این قارچ، نسبت به تکثیر آن بر روی بسترهای معدنی و آلی در قالب فرمولاسـیون های مختلف اقدام شد. در بررسی های مذکور، بستر سبوس برنج به عنوان مؤثرترین بستر برای تکثیر جدایه های مربوط به محصولات زراعی و بستر خاک پیت توأم با سبوس برنج برای محصولات گلخانه ای معرفی شد و فرمولاسیون های جدایه های مختلف T. flavus تهیه شد. جهت فرآیند تجاری سازی این فرمولاسیون های بیولوژیک، ابتدا معرفی این فرآورده به عنوان قارچ کش بیولوژیک برای کنترل بیماری های گیاهی به شرکت تولید کننده آفت کش های بیولوژیک (شرکت بهاران دشت ساحل) صورت پذیرفت و پس از انعقاد قرارداد میان این شرکت و مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، نسبت به فعالیت های مربوطه برای دریافت گواهی ثبت از سازمان حفظ نباتات اقدام گردید. لازم به ذکر است که از زمان دریافت گواهی ثبت از سازمان حفظ نباتات در تاریخ دهم اردیبهشت ماه ۹۷، شرکت بهاران دشت ساحل فعالیت خود را جهت تولید انبوه قارچ کش تالارومین اقدام نموده و معرفی این فرآورده با همکاری محقق مربوطه به مصرف کنندگان بخش کشاورزی در حال اجراست.

کلمات کلیدی: قارچ کش بیولوژیک، Talaromyces flavus، تجاری سازی.

۱– مقدمه

این قارچ گرمادوست بوده و بیشتر در خاک مناطقی با اقلیم گرم یافت می شود. در برخی موارد جداسازی آن از مواد غذایی نیز گزارش شده است (Pitt and Hocking, 2009). این قارچ به عنوان عامل قارچی آنتاگونیست برای بسیاری از عوامل بیماری زای قارچی خاکزاد (Verticillium dahliae، Rhizoctonia solani، Fusarium oxysporum، Sclerotium rolfsii، Sclerotinia sclerotiorum و ...) محسوب می شود (Marois et al. 1984). محل اصلی رقابت با با سایر میکروارگانیزم ها در اطراف ریشه (ریزوسفر) بوده و عامل مهم فعالیت آنتاگونیستی آن تراوشات ریشه ای گیاهان زراعی (پنبه، سیب زمینی، بادمجان، گوجه فرنگی و .....) و باغی (زیتون و پسته و .....) به ویژه تراوشات ریشه ای سرشار از ترکیبات قندی معرفی شده است (Marois et al. 1984).

مکانیزم های مشاهده شده در قارچ آنتاگونیست T. flavus عبارت بوده اند از: پارازیتیسم، آنتی بیوز، رقابت و مقاومت سیستمیک القایی. T. flavus توسط این مکانیزم ها موجب بازدارندگی رشد عوامل مختلف بیماریزا نظیر V. dahliae، V. albo-atrum، Rhizoctonia solani، Sclerotinia sclerotiorum و Sclerotium rolfsii گردیده است (Mc Laren et al., 1986; Madi et al., 1997 ; Tjamos et al. ,2000 ; Inglis and Kawchuk, 2002). قارچ T. flavus با تولید ترکیباتی مشابه با فیتوهورمون های رشد اکسین، سیتوکینین و جیبرلین توسط قارچ (Frisvad et al., 1990) و مداخله قارچ در سنتز فیتو هورمون ها توسط گیاه (Kumar, 2009) دارای خواص تقویت کنندگی رشد گیاه است.

در خارج از کشور، اولین جداسازی قارچ T. flavus در آمریکا در سال ۱۹۰۷ با نام Penicillium vermiculatum dangeard صورت گرفته، شناسایی شکل های غیرجنسی و جنسی قارچ در سال ۱۹۷۲ به ترتیب نام های Penicillium dangeardii Pitt و Talaromyces flavus (Klocker) Stolk & Samson صورت پذیرفته است (Kirk, 2015). در ایران، اولین جداسازی از خاک مزرعه پنبه واقع در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده استان گلستان توسط نراقی و همکاران در سال ۱۳۷۹ انجام شده است (نراقی و همکاران، ۱۳۸۲). در خارج از کشور، وضعیت تجاری سازی T. flavus در سال های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۹ اتفاق افتاد. در سال ۲۰۰۴، با نام تجاری Protus WG در کشور آلمان و در سال ۲۰۰۹ با نام شیمیایی Talaromyces flavus در کشور انگلستان در سطح انبوه تولید شد. در ایران، فعالیت های انجام گرفته جهت تولید انبوه T. flavus شامل تحقیقاتی و تجاری سازی از سال ۱۳۸۰ تا کنون در دست اجرا می می باشد.

۲– جداسازی T. flavus و تهیه قارچ کش تالارومین

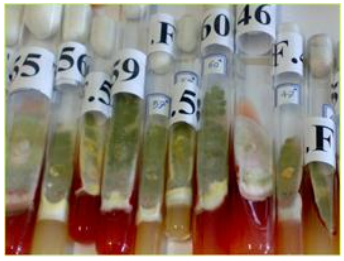
جداسازی جدایه های مختلف قارچ Talaromyces flavus از خاک مزارع جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران انجام گرفت. در این مرحله، ابتدا نمونه برداری خاک مزارع از مناطق مهم کشت چند محصول زراعی شامل پنبه، چغندرقند، سیب زمینی وگوجه فرنگی با توجه به سابقه آلودگی آن ها به برخی بیماری های قارچی مهم خاکزاد نظیر پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه پنبه، مرگ گیاهچه چغندرقند، پژمردگی ورتیسلیومی سیب زمینی، پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی انجام پذیرفت. روش نمونه برداری خاک به این ترتیب بود که با کنار زدن پنج تا هشت سانتی متر از سطح خاک تا عمق ۲۵ سانتی متر با لوله هایی به قطر ۲/۵ سانتی متر نمونه برداری انجام شد. سپس کلیه نمونه های خاک جمع آوری شده با یکدیگر مخلوط شده و به مدت چهار تا شش هفته در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سلسیوس خشک گردید (Butterfield and De Vay, 1977).
برای جداسازی جدایه های قارچ T. flavus از سوسپانسیون های خاک، مطابق روش مارویس و همکاران (Marois et al. 1984,) عمل شد. بدین ترتیب که برای تهیه سوسپانسیون خاک، یک گرم از هر نمونه خاک در ۱۰۰ میلی لیترآب مقطر سترون مخلوط گردید. سپس یک میلی لیتر از هر یک از سوسپانسیون های تهیه شده روی تشتک های پتری محتوی محیط

کشت انتخابی TF (TF medium) شامل یک لیتر آب مقطر، ۳۹ گرم PDA تجارتی، دو میلی لیتر از محلول ۵۰ در صد لاکتیک اسید، ۱۰۰ میلی گرم سولفات استرپتومایسین، ۵۰ میلی گرم کلرو تتراسیکلین، ۵۰ میلی گرم کلرامفنیکل، ۴۰ میلی گرم پیماریسین به صورت سوسپانسیون ۲/۵ درصد، ۳۰ میلی گرم نیستاتین و ۰/۵ گرم اکس گال پخش شد. سپس تشتک های پتری به انکوباتور ۳۰ درجه سلسیوس منتقل شد و پس از سه هفته پرگنه های رشد کرده روی سطح تشتک های پتری مشاهده گردید. در مرحله بعد کلیه پرگنه های پدیدار شده به صورت جداگانه در محیط کشتعمومی PDA به منظور خالص سازی کشت شد (شکل ۱).

شکل ۱- جدایه های Talaromyces flavus به دست آمده از مناطق مختلف ایران (نراقی، ۱۳۸۹)

مراحل تهیه قارچ کش تالارومین در شکل ۲ به شرح ذیل نشان داده شده است:

۲-قرارگیری سبوس برنج در کیسه های سلوفان و انتقال به دستگاه اتوکلاو



۱-کشت ۱۰ روزه قارچ

٤- انتقال سوسپانسیون قارچ به کیسه های سلوفان محتوی سبوس برنج در اتاق کشت (لامینارفلو)

۳- تهیه سوسپانسیون قارچ *Talaromyces flavus*

٦- خارج سازی محتویات کیسه های سلوفان و خشک کردن و بسته بندی آن ها

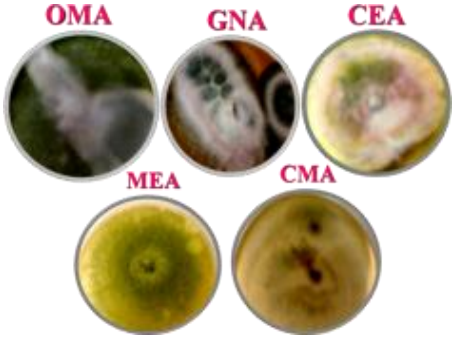
۵- انتقال کیسه های سلوفان کشت شده به انکوباتور ۳۰ درجه سلسیوس

شکل ۲- مراحل تهیه قارچ کش تالارومین

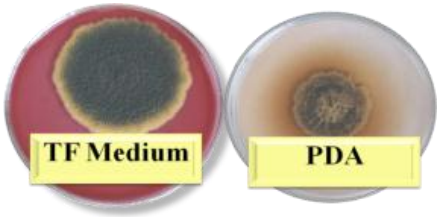
۳-شناسایی و تعیین میزان عامل فعال در قارچ کش تالارومین و حداقل میزان مجاز قابل قبول

برای شناسایی عامل فعال در فرآورده نهایی، ابتدا در داخل یک لوله آزمایش، یک گرم از فرآورده با آب مقطر سترون به حجم ده میلی لیتر رسانده شد و به خوبی با همزن مخصوص لوله آزمایش مخلوط گردید. بدین ترتیب سوسپانسیونی از اسپورهای عامل فعال به دست آمد. در مرحله بعد، یک میلی لیتر از این سوسپانسیون بر روی سطح تشتک های پتری محتوی محیط کشت عمومی (PDA) و یا اختصاصی (TF) گسترانده شد و جهت رویش اسپورهای عامل فعال، تشتک های پتری در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند (شکل ۲). پس از یک هفته، پرگنه های رویش یافته از اسپورها بر روی سطح تشتک های پتری ظاهر شد (نراقی و همکاران، ۱۳۸۵؛ نراقی، ۱۳۸۹). شناسایی پرگنه های مختلف T. flavus، با استفاده از کلید هیبت و همکاران(Hibbett et al. , 2007) انجام گرفت. در این خصوص ویژگی های ماکروسکوپی و میکروسکوپی پرگنه ها بررسی شده و آن هایی جهت شناسایی مورد مطالعه قرار گرفتند که رنگشان روی محیط کشت های Glycerol Nitrate Agar (GNM)، C'zapeck Extract Agar (CEA)، Oat Meal Agar (OMA)، Malt Extract Agar (MEA) و Corn Meal Agar (CMA)، به ترتیب به صورت سبز مایل به خاکستری، صورتی مایل به سفید، سبز تیره، سبز روشن و زرد مایل به سفید ظاهر شد (شکل ۳). سپس، پرگنه هایی که از لحاظ ماکروسکوپی روی دو محیط کشت اختصاصی و عمومی (TF) و (PDA)بعد از ده روز نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس دارای هاله زرد روشن در اطراف و نواحی سبز رنگ در مرکز (شکل ۴) و همچنین از لحاظ میکروسکوپی، دارای ریسه ها و شکل غیر جنسی (کنیدیوم و کنیدیوفور) مشابه با جنسPenicillium بودند (شکل ۵: الف)، انتخاب شدند. همچنین، به منظور به دست آوردن شکل جنسی، این پرگنه ها روی محیط کشت به مدت سه هفته در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شده و اندام تولید مثل جنسی شان شامل آسکوگونیوم ، آنتریدیوم، آسکوکارپ، آسک و آسکوسپور نیز مطالعه شد (شکل : ۵ ب و ج).

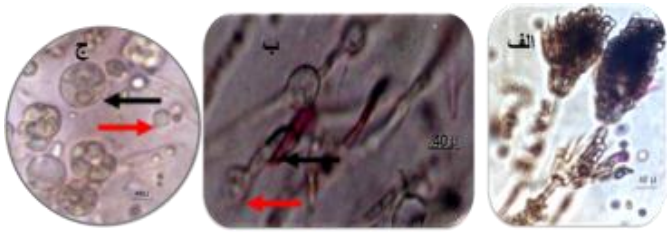
شکل ۳- مشاهده پرگنه های Talaromyces flavus پس از کشت سوسپانسیون فرآورده نهایی روی محیط کشت اختصاصی TF



شکل ۴- رنگ پرگنه Talaromyces flavusروی محیط کشت های مختلف: ردیف بالا از راست به چپ) صورتی مایل به سفید روی CEA، سبز مایل به خاکستری روی GNA، سبز تیره روی OMA، ردیف پایین از راست به چپ) زرد مایل به سفید روی CMA، سبز روشن روی MEA



شکل ۵- پرگنه Talaromyces flavus روی محیط کشت های عمومی (PDF) و اختصاصی (TF)



شکل ۵- الف) شکل غیر جنسی (Penicillium dangeardii) ، ب و ج): شکل جنسی (Talaromyces flavus): ب) آسکوگونیوم (جهت نمای قرمز) و آنتریدیوم (جهت نمای مشکی)، ج) آسک (جهت نمای مشکی) و آسکوسپور (جهت نمای قرمز

برای تعیین میزان عامل فعال در فرآورده نهایی و میزان مجاز قابل قبول (۱۰۷ تا ۱۰۱۰ واحد پرگنه ســاز در هر گرم فرآورده نهایی) مطابق روش نراقی و همکاران (۱۳۸۵) عمل شد. بدین منظور جدایه T. flavus در کیسه های سلوفانی حاوی ۲۵۰ گرم از سبوس برنج که قبلا در اتوکلاو سترون شده، تلقیح گردید. جهت تلقیح سوسپانسیونی از کشت ده روزه T. flavus استفاده شد. بدین ترتیب که شش قطعه شش سانتی متری از کشت T. flavus با ۴۰ میلی لیتر آب مقطر سترون به خوبی مخلوط شده و به ۲۵۰ گرم از بستر سبوس برنج مایه زنی شد. کیسه ها به مدت ۹ ماه در دمای آزمایشگاه ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. از هفته سوم پس از کشت (زمان تهیه فرآورده نهایی) تا نه ماه پس از آن، تعداد اسپورهای تولید شده به صورت ماهانه شمارش شدند. بدین ترتیب که یک گرم از فرمولاسیون موجود در کیسه های سلوفان، به حجم ده میلی لیتر رسانده شد و شمارش تعداد اسپورها در هر میلی لیتر از سوسپانسیون تهیه شده به وسیله لام هموسایتومتر صورت پذیرفت.

۴-اطلاعات مربوط به کارآیی قارچ کش بیولوژیک تالارومین

در ایران، تحقیقات انجام گرفته در زمینه کارآیی فرآورده نهایی T. flavus در کنترل بیولوژیک برخی بیماری های قارچی مهم خاکزاد در محصولات پنبه، چغندرقند، سیب زمینی و گوجه فرنگی در دو سطح گلخانه و مزرعه انجام شده است (Naraghi et al., 2010a, b and c; Naraghi et al., 2012a and b; Atfannejad Dezfooli et al., 2014; Naraghi et al., 2014a and b; Farhang Niya et al., 2015). بنابراین، اطلاعات مربوط به کارآیی فرآورده نهایی T. flavus در مزرعه، برای هر یک از بیماری های مورد مطالعه محصولات فوق به صورت جداگانه به شرح ذیل ارائه شده است.

۵- کارآیی فرآورده T. flavus در کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه پنبه

نتایج پروژه تحقیقی- ترویجی در قالب مقایسه دو تیمار شاهد و دربردارنده فرآورده بیولوژیک نشان داد که تیمار بیولوژیک در مقایسه با شرایط زارع موجب ۵۰٪ کاهش شدت بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، ۳۷٪کاهش درصد مرگ گیاهچه و ۴۷٪ افزایش عملکرد کل پنبه گردید. (جدول ۱، شکل ۶)

جدول ۱- شدت و شاخص بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، درصد مرگ گیاهچه، عملکرد چین اول، عملکرد چین دوم،درصد زودرسی و عملکرد کل در تیمارهای مختلف در مزرعه پنبه منطقه اصلاندوز در مغان در سال زراعی ۱۳۸۷

تیمار	شدت پژمردگی ورتیسلیومی	شاخص پژمردگی ورتیسلیومی	درصد مرگ گیاهچه	عملکرد چین اول (kg/ha)	عملکرد چین دوم (kg/ha)	عملکرد کل	زودرسی
شاهد (شرایط زارع)	۱/۴	۱۲	۱۶	۱۷۷	۸۸	۲۶۵	۶۶/۸
فرآورده بیولوژیک	۰/۶۴	۱/۳۶	۱۰	۳۸۱	۱۸۵	۵۶۶	۶۷/۳

شکل ۶- مزرعه پنبه با کاربرد فرآورده بیولوژیک T. flavus (راست) در مقایسه با شرایط زارع (چپ)

۶- کارآیی فرآورده T. flavus در کنترل بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند

تیمار دربردارنده در مقایسه با شرایط زارع موجب ۵۸٪ افزایش تعداد گیاهچه های سالم و ۴۷٪ افزایش عملکرد کل چغندرقند گردید (جدول ۲، شکل ۷).

جدول ۲- گروه بندی تیمارهای دربردارنده فرآورده بیولوژیک از جدایه های Talaromyces flavus (T.F.K.1 و T.F.K.3) و Trichoderma harzianum (T.H.K.1 و T.H.K.2) در مزرعه چغندرقند مشکین آباد کرج در دو سال زراعی ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ از لحاظ میانگین تعداد گیاهچه های سالم در زمان های مختلف پس از کاشت و عملکرد کل توسط تجزیه مرکب

ردیف	تیمار	میانگین تعداد گیاهچه های سالم								میانگین عملکرد کل (kg/ha)	
		۲۰ روز پس از کاشت		۳۰ روز پس از کاشت		۴۰ روز پس از کاشت		۶۰ روز پس از کاشت			
۱	T.F.K.1	۲۱۳/۸۸	**bc	۲۲۲/۸۸	c	۱۲۸/۳۸	b	۱۲۷/۱۳	b	۵۱۰۹۳/۵۰	c
۲	T.F.K.3	۲۷۴/۰۰	a	۲۸۲/۶۳	a	۱۵۴/۰۰	a	۱۵۵/۳۸	a	۵۳۹۵۸/۵۰	b
۳	T.H.K.1	۲۴۸/۸۸	ab	۲۸۰/۷۵	a	۱۳۰/۵۰۰	b	۱۳۳/۶۳	b	۵۶۷۷۱/۰۰	a
۴	T.H.K.2	۲۲۸/۷۵	b	۲۵۸/۱۳	b	۹۸/۷۵	c	۹۹/۷۵	c	۴۲۰۳۱/۰۰	d
۵	کربوکسین تیرام (شرایط زارع)	۱۷۹/۲۵	c	۱۸۰/۱۳	d	۸۱/۲۵	d	۷۹/۷۵	d	۳۴۷۴۰/۰۰	e
۶	شاهد	۱۳۷/۳۸	d	۱۲۸/۷۵	e	۶۷/۷۵	e	۶۶/۳۸	e	۲۸۸۵۴/۰۰	F

** میان تیمارهای با حروف آماری مشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود ندارد.

شکل ۷- مزرعه چغندرقند با کاربرد فرآورده بیولوژیک دربردارنده T. flavus (راست) در مقایسه با شرایط زارع (چپ)

۷- کارآیی فرآورده بیولوژیک T. flavus در کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی سیب زمینی

تیمار دربردارنده فرآورده بیولوژیک T. flavus از جدایه TF-Po-V-52 با تیمار قارچ کش کاربندازیم (شرایط زارع) از لحاظ درصد و شدت بیماری و عملکرد اختلاف آماری معنی داری نشان نداد؛ در حالیکه هر دو تیمار فوق در مقایسه با شاهد (تیمار عاری از هرگونه قارچ کش شیمیایی و یا بیولوژیک) موجب ۴۰٪ کاهش درصد و شدت بیماری و ۱۷ درصد افزایش عملکرد سیب زمینی شدند. بنابراین، با توجه به معنی دار نبودن تیمار قارچ کش بیولوژیک T. flavus با تیمار قارچ کش

کاربندازیم از لحاظ صفات مورد بررسی، تیمار قارچ کش بیولوژیک T. flavus جایگزین مناسبی برای قارچ کش شیمیایی کاربندازیم محسوب می شود (جدول ۳، شکل ۸).

جدول ۳-گروه‌بندی تیمارهای در بردارنده فرآورده بیولوژیک از سه جدایه مختلف قارچ آنتاگونیست *Talaromyces flavus* در مزرعه‌ی سیب‌زمینی همدان طی سال‌های زراعی ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ از لحاظ میانگین درصد و شدت بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و عملکرد کل با استفاده از تجزیه‌ی مرکب

تیمار	میانگین درصد بیماری		میانگین شدت بیماری		میانگین عملکرد	(تن در هکتار)
TF-Po-V-49	ab*	۹/۰۳	b*	۱/۲۸	bc**	۲۳/۶۰
TF-Po-V-50	b	۶/۹۷	b	۱/۰۲	b	۲۳/۹۲
TF-Po-V-52	b	۶/۹۴	b	۱/۰۸	ab	۲۶/۷۴
قارچ کش کاربندازیم (شرایط زارع)	b	۶/۲۴	b	۱/۰۲	a	۲۸/۷۴
شاهد	a	۱۱/۶۳	a	۲/۱۲	c	۲۲/۷۶

* میان حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود ندارد. **: میان حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود ندارد.

شکل ۸- مزرعه سیب‌زمینی با کاربرد فرآورده بیولوژیک T. flavus (راست) در مقایسه با شرایط زارع (چپ)

۸- کارآیی فرآورده T. flavus در کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی

تیمار دربردارنده فرآورده بیولوژیک T. flavus از جدایه TF-To-U-38 با روش افزایش به خاک در مقایسه با شرایط زارع موجب ۲۲٪ کاهش درصد شدت بیماری و ۲۶٪ افزایش عملکرد کل گوجه‌فرنگی گردید (جدول ۴، شکل ۹).

جدول ۴- گروه‌بندی تیمارهای دربردارنده Talaromyces flavus (جدایه TF-To-V-29 با روش افزودن به خاک؛ جدایه TF-To-V-29 با روش افزودن به خاک و آغشته‌سازی بذر؛ جدایه TF-To-U-38 با روش افزودن به خاک؛ جدایه TF-To-U-38 با روش افزودن به خاک و آغشته‌سازی بذر) مورد استفاده در مزرعه‌ی گوجه‌فرنگی ایستگاه تحقیقاتی شاهرود طی سال‌های زراعی ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ از لحاظ میانگین درصد شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی و عملکرد کل با استفاده از تجزیه مرکب

تیمار	میانگین درصد شدت بیماری	میانگین عملکرد کل (کیلوگرم در هکتار)
جدایه‌ی TF-To-V-29 با روش افزایش به خاک	۳۴/۰۸b*	۴۰۹۳۰/۰۰b**
جدایه‌ی TF-To-V-29 با روش افزایش به خاک و آغشته‌سازی بذر	۳۴/۶۸b	۶۵۸۷۰/۰۰a
جدایه‌ی TF-To-U-38 با روش افزایش به خاک	۳۵/۰۰b	۵۵۷۸۰/۰۰ab
جدایه‌ی TF-To-U-38 با روش افزایش به خاک و آغشته‌سازی بذر	۳۳/۲۵c	۵۴۲۸۰/۰۰ab
شاهد (شرایط زارع)	۴۵/۷۵a	۴۳۹۵۰/۰۰b

* میان حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود ندارد.

** میان حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود ندارد.

توضیح: TF-To-V-29 و TF-To-U-38، به ترتیب جدایه‌های T. flavus به دست آمده از خاک مزارع گوجه‌فرنگی ورامین و ارومیه هستند.

شکل ۹- مزرعه گوجه‌فرنگی با کاربرد فرآورده بیولوژیک *T. flavus* (بالا) در مقایسه با شرایط زارع (پایین)

۹- روش، میزان و دفعات کاربرد

- روش کاربرد به دو صورت آغشته سازی بذر و افزودن به خاک می با شد. در روش آغشته سازی بذر، بذور به صورت مستقیم با فرآورده نهایی آغشته می شوند و هم زمان با کاشت در شیارهای کاشت واقع می گردند. در روش افزودن به خاک، هم زمان با کاشت تا عمق کاشت و ترجیحا در شیارهای کاشت به صورت یکنواخت توزیع می شود.

- میزان مصرف در روش افزودن به خاک، ۲/۵ کیلوگرم برای ۱۰۰۰ متر مربع و در روش آغشته سازی بذر برای هر یک از محصولات تیمار شونده به شرح ذیل است:

- ۱۰۰ گرم برای بذر مصرفی پنبه در ۱۰۰۰ متر مربع
- ده گرم برای بذر مصرفی چغندر قند و گوجه فرنگی در ۱۰۰۰ متر مربع
- شش کیلوگرم برای غده های بذری مصرفی سیب زمینی در ۱۰۰۰ متر مربع

- دفعات کاربرد، یک دفعه و هم زمان با کاشت می باشد

(Naraghi et al., 2010a, b and c; Naraghi et al., 2012a and b; Atfannejad Dezfooli et al., 2014; Naraghi et al., 2014a and b; Farhang Niya et al., 2015).

۱۰- نام و نوع فرمولاسیون قارچ کش بیولوژیک مورد تقاضا برای ثبت در سازمان حفظ نباتات

نام: قارچ کش بیولوژیک Talaromyces flavus (Klocker) Stolk and Samson

نام تجاری پیشنهادی: تالارومین

نوع فرمولاسیون: ذرات جامد قابل انتشار در آب (نراقی وهمکاران، ۱۳۸۲ و ۱۳۸۵؛ نراقی، ۱۳۸۹).

۱۱- مراحل تجاری سازی قارچ کش بیولوژیک تالارومین

- ارائه دانش فنی "ساخت قارچ کش بیولوژیکی از قارچ Talaromyces flavus برای کنترل بیماری های گیاهی" به گروه تحقیقات توسعه ای و اقتصادی مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور

- دریافت گواهی نامه ثبت اختراع برای دانش فنی فوق از اداره کل ثبت شرکت ها و مالکیت صنعتی
- دریافت اعتبار پژوهش و نوآوری از بنیاد ملی نخبگان
- شرکت در جشنواره شکوفایی و نوآوری و نمایشگاه فن بازار- اطلاع رسانی برای شرکت ها
- مکاتبات با دفتر تجاری سازی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی جهت اعلام اعتبار فن آوری
- تشکیل جلسات از سوی گروه تحقیقات توسعه ای و اقتصادی موسسه با شرکت های مربوطه جهت عقد قرارداد
- انعقاد قرارداد میان مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور و شرکت تولید کننده فرآورده های بیولوژیک با نام بهاران دشت ساحل
- ارائه اطلاعات به سازمان حفظ نباتات برای درخواست ثبت قارچ کش بیولوژیکی از قارچ Talaromyces flavus (تالارومین) بر اساس دستورالعمل ثبت آفت کش های میکربی سازمان حفظ نباتات
- دریافت گواهی تصویب قارچ کش تالارومین از سازمان حفظ نباتات
- تولید انبوه قارچ کش تالارومین توسط شرکت بهاران دشت ساحل.

۱۲- مراجع

۱. نراقی، ل.؛ حیدری، ا. و ارشاد، ج. ۱۳۸۵. هاگزایی و پایداری Talaromyces flavus روی بقایای گیاهی مختلف به منظور مبارزه بیولوژیک علیه بیماری پژمردگی ¬پنبه ناشی از Verticillium dahliae . مجله بیماری¬های گیاهی، جلد ۳، شماره ۴۲، صفحات ۳۹۸-۳۸۱.

۲. نراقی، ل.؛ حیدری، ا.؛ کریمی روزبهانی، ع. و ارشاد، ج. ۱۳۸۲. جداسازی Talaromyces flavus از مزارع پنبه گرگان و اثرات آنتاگونیستی آن روی Verticillium dahliae عامل پژمردگی پنبه. مجله بیماری های گیاهی، جلد ۳۹، شماره¬های ۳ و ۴، صفحات ۱۲۲-۱۰۹.

3. Atfannejad Dezfooli, R., Naraghi, L., and Niazmand, A. 2014. A comparative study on different antagonistic mechanisms of Talaromyces flavus and Trichoderma harzianum in terms of growth inhibition on Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, causal agent of tomato wilt disease in laboratory conditions. International Journal of Agricultural Research and Review, 2: 115-127 .

4. Butterfield, E. J., and De Vay, J. E. 1977. Assessment of soil assays for Verticillium dahliae. Phytopathology, 67:1073-1078.

5. Farhang Niya, S., Naraghi, L., Ommati, F., and Pirnia, M. 2015. Evaluation of the efficacy of the biological compound affected by Talaromyces flavus in controlling tomato Fusarium wilt disease in the field conditions. International Journal of Agricultural Science and Research, 5: 2: 153-164 .

6. Frisvad, J. C., Filtenborg, O., Samson, R. A., and Stolk, A. C. 1990. Chemotaxonomy of the genus Talaromyces. Antonie Van Leeuwenhoek, 57: 179-189.

7. Hibbett, D. S., M. Binder, J. F. Bischoff, M. Blackwell, P. F. Cannon, O. E. Eriksson, S. Huhndorf, T. James, P. M. Kirk, R. Lücking, T. Lumbsch, F. Lutzoni, P. B. Matheny, D. J. Mclaughlin, M. J. Powell, S. Redhead, C. L. Schoch, J. W. Spatafora, J. A. Stalpers, R. Vilgalys, M. C. Aime, A. Aptroot, R. Bauer, D. Begerow, G. L. Benny, L. A. Castlebury, P. W. Crous, Y.-C. Dai, W. Gams, D. M. Geiser, G. W. Griffith, C. Gueidan, D. L. Hawksworth, G. Hestmark, K. Hosaka, R. A. Humber, K. Hyde, J. E. Ironside, U. Kõljalg, C. P. Kurtzman, K.-H. Larsson, R. Lichtwardt, J. Longcore, J. Miądlikowska, A. Miller, J.-M. Moncalvo, S. Mozley-Standridge, F. Oberwinkler, E. Parmasto, V. Reeb, J. D. Rogers, C. Roux, L. Ryvarden, J. P. Sampaio, A. Schubler, J. Sugiyama, R. G. Thorn, L. Tibell, W. A. Untereiner, C. Walker, Z. Wang, A. Weir, M. Weiß, M. M. White, K. Winka, Y.-J. Yao, and N. Zhang. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. Mycological Research 111: 509-547.

8. Inglis, G. D., and Kawchuk, L. M. 2002. Comparative degradation of Oomycete, ascomycete, and basidiomycete cell walls by mycoparasitic and biocontrol fungi. Canadian Journal of Microbiology, 48: 1: 60-70 .

9. Kirk, P. M. 2015. Species Fungorum (version Feb 2014). In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 26th August 2015 (Roskov, Y., Abucay, L., Orrell, T., Nicolson, D., Kunze, T., Flann, C., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoin, T., DeWalt, R. E., Decock, W., and De Wever, A., eds). Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.

10. Kumar, A., Saini, S., Prakash, A., Johri, B. N. 2009. Influence of cultivation practices on phenotypic and genotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from soybean (Glycine max L.). In: Abstracts, 1st Asian PGPR Congress for Sustainable Agriculture, Hyderabad. pp.118.

11. Madi, L., Katan, T., Katan, J., and Henis, Y. 1997. Biological control of Sclerotium rolfsii and Verticillium dahliae by Talaromyces flavus is mediated by different mechanisms. Phytopathology, 87: 1054-1060 .

12. Marois, J. J., Fravel, D. R., and Papavizas, G. 1984. Ability of Talaromyces flavus to occupy the rhizosphere and interaction with Verticillium dahliae. Soil and Biochemistry, 16: 387-390.

13. MC Laren, D.L., Huang . H.C. and Rimmer,S.R.1982. Hyphal intraction occurring between Sclerotinia sclerotiorum and Penicillium vermiculatum. Canadian Journal of Plant Pathology,4:308(Abstract

14. Tjamos, E. C., Rowe, R. C., Heale, J. B., and Fravel, D. R. 2000. Advances in Verticillium research and disease management. APS Press. St. Paul, MN., 376 pages.

15. Naraghi, L., Arjmandian, A., Heydari, A., Sharifi, K., and Afshari Azad, H. 2014a. A comparison between carbendazim fungicide and Talaromyces flavus in controlling Verticillium wilt of potato under field conditions. International Journal of Agricultural Science and Research, 4: 1: 89-100.

16. Naraghi, L., Heydari, A., Hesan, A., and Sharifi, K. 2014b. Evaluation of Talaromyces flavus and Trichoderma harzianum in biological control of sugar beet damping-off disease in the greenhouse and field conditions. International Journal of Agricultural Science and Research, 4: 1: 65-74.

17. Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., and Razavi, M. 2012a. Biocontrol agent Talaromyces flavus stimulates the growth of cotton and potato. Journal of Plant Growth Regulation, 31: 471-477.

18. Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., and Afshari-Azad, H. 2010a. Biological control of greenhouse cucumber Verticillium wilt disease by Talaromyces flavus. Phytopathologia Mediterranea, 49: 321-329.

19. Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., and Afshari-Azad, H. 2012b. Promtion of growth charasteristics in greenhouse cucumber and tomato by Talaromyces flavus. International Journal of Agricultural Science and Research, 2: 3: 129-141.

20. Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., and Jahanifar, H. 2010b. Study on antagonistic effects of Talaromyces flavus on Verticillium albo-atrum, the causal agent of potato wilt disease. Crop Protection, 29: 7: 658-662

21. Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., Jahanifar, H., and Mahmoodi Khaledi, E. 2010c. Biological control of tomato Verticillium wilt disease by Talaromyces flavus. Journal of Plant Protection Research, 50: 3: 360-365.