

اثر بیولوژیکی *Sebacina vermifera*، *Piriformospora indica* و *Trichoderma* spp. علیه بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس در شرایط گلخانه‌ای

حسین کاری دولت آبادی*

گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

ابراهیم محمدی گل تپه

گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس که توسط *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Vasd. & Gordon) Srin. ایجاد می‌گردد یکی از عوامل مهم کاهش محصول این گیاه در دنیا به شمار می‌رود. تأثیر چهار قارچ خاکزی *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma viride* روی پژمردگی فوزاریومی عدس در طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. بیمارگر در ۳ زمان مختلف نسبت به کاشت بذر عدس رقم محلی اردبیل (۱۰ روز قبل، همزمان و ۱۰ روز بعد از کاشت) به خاک گلدان‌ها اضافه گردید. ۱۷ تیمار که شامل دو شاهد (گیاه بدون بیمارگر و گیاه با بیمارگر) و ۱۵ ترکیب مختلف قارچ‌های آنتاگونیست فوق بود، همزمان با کاشت بذر به خاک گلدان‌ها اضافه گردید. ارزیابی شاخص‌های مختلف رشدی (ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه) و شدت بیماری در مرحله گلدهی انجام گرفت. نتایج نشان داد که موثرترین ترکیب آنتاگونیست‌ها در اکثر فاکتورهای رشدی و در کاهش شدت بیماری با در نظر گرفتن سه زمان مختلف مایه زنی، تیمار (*S. vermifera* + *T. harzianum*) است.

واژه‌های کلیدی: عدس، اثر بیولوژیک، پژمردگی فوزاریومی، *Sebacina*، *Trichoderma* spp.، *Piriformospora indica*، *vermifera*

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Hossein.kari@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۱/۱۷، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۶

مقدمه

عدس (*Lens esculenta* Medik.) یکی از گیاهان مهم از زیر مجموعه حبوبات (Fabaceae) و سرشار از پروتئین است (Mohammadi *et al.*, 2010). این گیاه مورد حمله بسیاری از آفات و بیماری‌ها قرار می‌گیرد. پژمردگی فوزاریومی عدس با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Vasd. & Srin.) Gordon دارد (Bayaa *et al.*, 1986; Hamdi & Hassanein, 1996; Stoilova & Chavdarov, 2006). علائم این بیماری هم در مراحل ابتدایی رشد گیاه و هم در مراحل مختلف بلوغ قابل رویت است. علائمی از قبیل کوتولگی، کوچک شدن برگ‌ها، آویختگی برگ و بالاخره مرگ گیاه را موجب می‌شود (Stoilova & Chavdarov, 2006). بیمارگر در خاک بصورت کلامیدوسپور چندین فصل بقاء می‌یابد و قادر است در بقایای گیاهی و ریشه سایر گیاهانی که در تناوب کاشته می‌شوند نیز بقاء یابد (Erskine & Bayaa, 1996). بیمارگر اصولاً از منطقه طویل شدن ریشه وارد شده و زخم کمک فراوانی به نفوذ آن می‌کند (Bhalla *et al.*, 1992). این بیماری در حال حاضر در کشورهایی مانند آمریکا، ایتالیا، هلند، مجارستان، ترکیه، سودان، هند، ژاپن و سوریه شیوع دارد (Beniwal *et al.*, 1993; Tosi & Cappelli, 2001; Taylor *et al.*, 2007). در ایران نیز این بیماری یکی از عوامل محدود کننده کشت عدس می‌باشد. این بیماری در مناطق مختلف استان اردبیل و سایر استان‌های عدس خیز کشور اعم از استان‌های آذربایجان شرقی، ایلام و خراسان شیوع دارد. بیله سوار مغان (اردبیل) که یکی از بزرگترین مناطق کشت عدس در ایران محسوب می‌شود، در سال‌های اخیر به شدت به بیماری پژمردگی فوزاریومی آلوده شده است و هم‌اکنون در ۵۰-۷۰ درصد مزارع عدس با شدت‌های ۷۰ تا ۱۰۰ درصد این بیماری وجود دارد و خسارت زیادی به تولید عدس وارد می‌کند (Mohammadi *et al.*, 2010).

قارچ‌های *Sebacina vermifera* (Warcup & Talbot, 1967) و *Piriformospora indica* (Verma *et al.*, 1998) از قارچ‌های اندوفیت با طیف میزبانی گسترده هستند که ناحیه اپیدرم و پوست ریشه را کلنیزه می‌کنند. بدنال جوانه زنی کلامیدوسپور قارچ به سلول‌های اپیدرم نفوذ می‌کند. قارچ پوست را بصورت درون سلولی و بین سلولی کلنیزه می‌کند و متعاقباً قارچ تکثیر می‌شود و سرانجام اسپور تشکیل می‌شود. این قارچ‌ها بر خلاف قارچ‌های AM که قابل کشت بدون میزبان زنده نیستند، قابل کشت در محیط‌های مصنوعی می‌باشند (Verma *et al.*, 1998). اعضای از خانواده Brassicaceae مثل *Arabidopsis thaliana* و همچنین اعضای خانواده Chenopodiaceae که میزبان قارچ‌های میکوریز نمی‌باشند با *P. indica* ارتباط همزیستی برقرار می‌کنند (Pham *et al.*, 2004; Peskan-berghofer *et al.*, 2004; Oelmüller *et al.*, 2010). این قارچ‌ها متعلق به

خانواده Sebacinaceae از راسته Sebaciniales می‌باشند (Weiss et al., 2004). قارچ‌های اندوفیت *P. indica* و *S. vermifera* موجب تحریک رشد گیاه و افزایش تولید محصول می‌شوند (Sahay & Varma, 1999; Varma et al., 1999; Rai et al., 2001; Barazani et al., 2005; Shahollari et al., 2007; Ghimire et al., 2009).

این قارچ‌های اندوفیت ریشه، باعث تحمل استرس‌های خشکی و شوری و محافظت در مقابل بیمارگرهای گیاهان می‌شوند (Waller et al., 2005; Deshmukh & Kogel, 2007; Serfling et al., 2007; Baltruschat et al., 2008; Sherameti et al., 2008; Stein et al., 2008).

جوه‌های کلنیزه شده با *P. indica* تحمل بیشتری به بیمارگرهای نکروتروف ریشه مثل *Fusarium culmorum*، *Cochliobolus sativus* (Waller et al., 2005) و *Fusarium graminearum* (Deshmukh & Kogel, 2007) دارند. (Serfling et al., 2007) در آزمایش‌های مزرعه‌ای نشان دادند که شدت بیماری با عامل *Pseudocercospora herpotrichoides* در گندم توسط *P. indica* بطور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند.

گونه‌های *Trichoderma viride* Pers و *Trichoderma harzianum* Rifai از جمله قارچ‌های خاکزی هستند که پراکنش جغرافیایی وسیعی داشته و در سراسر دنیا گزارش شده‌اند. این قارچ‌ها که به سرعت رشد می‌کنند در تراکم زیاد در خاک و بقایای گیاهی دیده می‌شود (Samuels, 1996) و به راحتی قابل کشت می‌باشد و تعداد زیادی کنیدیوم تولید می‌کنند (Mohamed & Haggag, 2006). (Dubey et al., 2006) گزارش کردند گونه‌های *T. viride*، *T. harzianum* و *T. virens* به خوبی بیماری پژمردگی فوزاریومی نخود با عامل *F. oxysporum f.sp. ciceris* را کنترل می‌کنند. (Sarhan et al., 1999) گزارش کردند تریکودرما روی تعداد زیادی از قارچ‌های بیماریزای گیاهی به ویژه *F. oxysporum* موثر است. این که گونه‌های تریکودرما بسیاری از بیمارگرهای خاکزاد را کنترل می‌کنند به خوبی اثبات شده است (Chet & Baker, 1980; Elad et al., 1980; Lifshitz et al., 1986; Mehta et al., 1995).

در این مطالعه، توانایی قارچ‌های اندوفیت *P. indica* و *S. vermifera* و همچنین قارچ‌های *T. harzianum* و *T. viride* در بیوکنترل عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس *F. oxysporum f.sp. lentis* مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این بررسی قارچ (*F. oxysporum f.sp. lentis* (FOL) از عدس آلوده به بیماری طی نمونه برداری در اوایل خرداد ماه ۱۳۸۸ از منطقه بیله سوار اردبیل جداسازی گردید. بدین

صورت که پس از انتقال به آزمایشگاه، برای جداسازی عامل بیماری ابتدا ریشه گیاه با آب شسته و قطعات کوچکی از قسمت های ریشه، طوقه، ساقه و انتهای شاخ و برگ تهیه شد سپس در محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۵-۲ دقیقه (بسته به زبری و لطافت بافت)، غوطه ور و بعد از آن سه بار با آب سترون آبکشی شدند و روی محیط PDA منتقل شدند. پس از جداسازی قارچ از گیاه و خالص سازی با تکنیک کشت تک اسپور، شناسایی با استفاده از کلیدهای Nelson *et al.* (1983) انجام شد. بدین صورت که برای بررسی فیالید، میکروکنیدی، ماکروکنیدی، کلامیدوسپور و تشکیل اسپوردوکیوم در محیط کشت داده شدند. بررسی کلامیدوسپورها در محیط ۴ هفته ای انجام شد. از ماکروکنیدی هایی که بر روی اسپوردوکیوم کشت های قدیمی تشکیل شدند، جهت شناسایی استفاده گردید. شکل ظاهری ماکروکنیدی، تعداد دیواره های عرضی، شکل سلول انتهایی و سلول پایه به دقت با استفاده از عدسی شیئی ۴۰x مورد بررسی قرار گرفت. آزمون بیماریزایی به روش (Mohammadi *et al.*, 2010) بر روی رقم محلی اردبیل به طریق درون شیشه ای انجام شد. بذور این رقم به مدت یک دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد ضد عفونی شده و در تشتک های حاوی مخلوط استریل پیت، پرلیت و خاک به نسبت های برابر به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاه رشد داده شدند. سپس تشتک ها به انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و طول دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انتقال و هر هفته بطور مرتب آبیاری گردیدند. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار و هر تکرار حاوی دو نشأ انجام شد. پس از ۱۵ روز گیاهچه ها را از تشتک خارج و پس از قطع نوک ریشه با تیغ ضد عفونی شده با غوطه ور سازی به مدت پنج دقیقه در سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^5 اسپور در میلی لیتر مایه زنی شدند. سپس در لوله آزمایشی محتوی ۸۰ میلی لیتر محیط کشت هوگلند انتقال داده شدند. تیمارهای شاهد نیز در آب مقطر استریل غوطه ور و سپس به محیط هوگلند وارد گردیدند. گیاهان درون لوله های آزمایش محیط هوگلند در شرایط دمایی ۲۰ درجه سلسیوس با طول دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. علائم بیماری از روز پنجم ظاهر شد و روند پیشرفت علائم به مدت چهار هفته هر دو روز یکبار یادداشت برداری شد. پس از آخرین یادداشت برداری، بیمارگر مجدد از گیاهان مایه کوبی شده جداسازی و شناسایی شد.

قارچ های آنتاگونیست (گونه های تریکودرما و قارچ های اندوفیت ریشه) از کلکسیون قارچ آقای دکتر محمدی گل تپه گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. گونه های *T. viride* و *T. harzianum* در محیط کشت PDA تکثیر و در دمای ۴ درجه سلسیوس برای مطالعه بیشتر نگهداری شدند. قارچ های اندوفیت ریشه *S. vermifera* و *P. indica* روی محیط جامد کیفر (Kafer medium) شامل 7.0 mM NaNO_3 , 7.0 mM KCl, 2.1 mM MgSO_4 , 9.2 mM KH_2PO_4 , 0.77 mM ZnSO_4 , 0.18 mM H_3BO_3 , 0.02 mM MnSO_4 , 0.007 mM CoCl_2 , 0.0065 mM CuSO_4 , 0.02 mM

FeSO₄, 0.02 mM EDTA, 0.001 mM ammonium molybdate, 0.003 mM thiamine, 0.005 mM glycine, 0.002 mM nicotinic acid, 0.0004 mM pyridoxine, 110 mM glucose, 2 g/l peptone, 1 g/l yeast extract, 1 g/l casein hydrolysate, 1% w/v agar, pH 6.5) کشت شدند (Kafer, 1977). تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته برای رشد نگهداری شدند.

پرورش و تکثیر انبوه این گونه فوزاریوم به عنوان زادمایه به روش Dubey et al. (2006) روی مخلوطی از ماسه، کاه و کلش گندم (به نسبت ۹۰ گرم ماسه به ۱۰ گرم کاه و کلش + ۲۰ میلی لیتر آب مقطر) که به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار یک اتمسفر سترون شده بود انجام گرفت. بدین منظور ۵ دیسک ۱۰ میلی متری از کشت ۴ روزه فوزاریوم به درون بطری‌های شیشه‌ای محتوی ۲۰۰ گرم مخلوط فوق اضافه شد. بطری‌های شیشه‌ای در دمای ۲۳ تا ۲۶ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند تا کاملاً قارچ بستر را کلنیزه کند (Dubey et al., 2006).

پرورش و تکثیر تریکودرماها روی دانه گندم (۱۰۰ گرم دانه گندم + ۴۰ میلی لیتر آب مقطر) که به مدت ۲ ساعت در حرارت ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر سترون شده بود انجام گرفت. بدین منظور ۵ دیسک ۱۰ میلی متری از کشت ۴ روزه گونه‌های تریکودرما به درون بطری‌های شیشه‌ای محتوی ۱۰۰ گرم دانه گندم اضافه شد. بطری‌های شیشه‌ای در دمای ۲۳ تا ۲۶ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شد تا کاملاً قارچ دانه‌های گندم را کلنیزه کند (Mohammadi et al., 2010).

پرورش و تکثیر انبوه قارچ‌های *S. vermifera* و *P. indica* روی محیط کشت مایع KM که در حرارت ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه سترون شده بود انجام گرفت. بدین منظور ۴ دیسک ۱۰ میلی متری از کشت جامد ۱۰ روزه قارچ به درون فلاسک‌های ۵۰۰ میلی لیتری که دارای ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت مایع KM بود اضافه شد. فلاسک‌ها به مدت ۱۵ روز روی شیکر (۱۲۰ rpm) در دمای اتاق 25 ± 1 درجه سلسیوس تکان داده شدند. پس از گذشت این مدت، قارچ برای نگهداری به دمای ۴ درجه سلسیوس منتقل شد (Kumari et al., 2003).

آزمایش‌های گلدانی در سال ۱۳۸۸ با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در ۳ زمان مایه زنی بیمارگر و ۱۷ تیمار در سه تکرار انجام شد. بذر‌های عدس رقم محلی اردبیل ابتدا با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه ضد عفونی شدند. سپس با آب مقطر سترون سه مرتبه شستشو داده شدند و به پرلیت سترون برای جوانه زنی منتقل شدند. بعد از ۳ تا ۴ روز که ریشه‌چه‌ها ظاهر شدند، ۳ بذر جوانه زده به درون گلدان‌های پلاستیکی که با مخلوطی از ماسه، پیت، پرلیت به نسبت ۲: ۱: ۱ که با محلول فرمالین ۷ درصد ضد عفونی شده بود انتقال داده شده و در گلخانه در دمای ۱۸/۲۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید. قارچ‌های

آنتاگونیست همزمان با کاشت بذر به خاک مایه زنی شدند، بدین صورت که ۱۰ گرم در کیلوگرم (10^6 CFU/g) زادمایه تریکودرما به خاک گلدان ها اضافه گردید. برای مایه زنی *P. indica* و *S. vermifera* از روش Kumari et al. (2003) استفاده شد و یک گرم میسلیوم خرد شده به ریشه چه بذر ها منتقل گردید. سعی بر این بود که ریشه چه ها در تماس مستقیم با قارچ های اندوفیت باشند. بیمارگر در ۳ زمان مختلف (۱۰ روز قبل از کاشت بذر، همزمان با کاشت بذر و ۱۰ روز بعد از کاشت بذر) مایه زنی شد. بدین صورت که در هر ۳ زمان سوسپانسیون بیمارگر با غلظت 10^5 اسپور تهیه شد (Omar et al., 1988) و خاک گلدان ها با ۲۵۰ میلی لیتر سوسپانسیون مایه زنی شد. در شاهد سالم قارچی مایه زنی نشد و در شاهد بیمار آنتاگونیستی مایه زنی نشد. بدین ترتیب ۱۷ تیمار زیر برای این آزمایش در نظر گرفته شدند:

- T1= control (without pathogen)
- T2= control (pathogen)
- T3= pathogen + *P. indica*
- T4= pathogen + *S. vermifera*
- T5= pathogen + *T. viride*
- T6= pathogen + *T. harzianum*
- T7= pathogen + *P. indica* + *S. vermifera*
- T8= pathogen + *P. indica* + *T. viride*
- T9= pathogen + *P. indica* + *T. harzianum*
- T10= pathogen + *S. vermifera* + *T. viride*
- T11= pathogen + *S. vermifera* + *T. harzianum*
- T12= pathogen + *T. viride* + *T. harzianum*
- T13= pathogen + *P. indica* + *S. vermifera* + *T. viride*
- T14= pathogen + *P. indica* + *S. vermifera* + *T. harzianum*
- T15= pathogen + *P. indica* + *T. viride* + *T. harzianum*
- T16= pathogen + *S. vermifera* + *T. viride* + *T. harzianum*
- T17= pathogen + *P. indica* + *S. vermifera* + *T. viride* + *T. harzianum*

علایم بیماری و خصوصیات مورفولوژی گیاهان ۶۰ روز بعد از کاشت در مرحله گلدهی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی کنترل بیماری، خصوصیات ارتفاع گیاه، طول ریشه و وزن خشک اندام هوایی و ریشه مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزش گذاری شدت بیماری از مقیاس ۰ تا ۸ Bayaa et al. (1995) استفاده شد:

صفر- سالم بودن کامل گیاه و نداشتن هیچگونه علائم بیماری ۰- فقط زرد شدن برگهای پایینی ۱- زرد شدن ۵۰٪ برگها ۲- زرد شدن کامل برگها، آویزان شدن برگهای بالا و خشک شدن بخشی از گیاه ۳- پژمرده شدن تمام گیاه یا یک انشعاب از گیاه. اعداد ۱، ۳، ۵ و ۷ برای مواردی است که علایم مشاهده شده حد واسط علایم گفته شده است. تجزیه واریانس با استفاده

از نرم افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

زمانی که بیمارگر ۱۰ روز قبل از کاشت بذر به گلدان‌ها اضافه شده بود (زمان اول)

از نظر تأثیر تیمارهای مختلف روی ارتفاع گیاه، تیمار (*S. vermifera* + *T. harzianum*) بیشترین اثر را نشان داد. تیمارهای (*P. indica* + *S. vermifera* + *T. viride*) و (*S. vermifera* + *T. viride* + *T. harzianum*) کمترین تأثیر را روی ارتفاع گیاه داشتند. تیمارهای (*S. vermifera*) و (*P. indica* + *S. vermifera*) بیشترین تأثیر را روی طول ریشه از خود نشان دادند (جدول ۱).

بیشترین وزن خشک هوایی و ریشه در گلدان‌هایی دیده شد که با تیمارهای (*S. vermifera* + *T. harzianum*) و (*S. vermifera*) مایه زنی شده بودند (جدول ۱). از نقطه نظر اثر تیمارها در شدت بیماری مشاهده شد که تیمارهای (*S. vermifera* + *T. harzianum*) و (*T. harzianum*) به ترتیب بهترین تأثیر را در کاهش شدت بیماری نشان دادند (جدول ۱).

جدول ۱- تأثیر تیمارهای آنتاگونیست روی ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن خشک هوایی و ریشه و شدت بیماری عدس در گلدانهای مایه زنی شده با *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در زمان اول (۱۰ روز قبل از کاشت بذر).

Table 1. Effect of antagonistic treatments on plant height, root length, shoot and root dry weight and disease severity of *Lens culinaris* in pots inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in time one (10 days before sowing).

Treatments	Plant height (cm)	Root length (cm)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)	Disease severity
control (without pathogen)	68.00a	14.67ab	1.68a	0.25a	0.00 i
control (pathogen)	22.67d	6.33ef	0.32f	0.14 cdef	7.32 a
P + <i>P. indica</i>	41.33bcd	10.33bcde	0.80bcde	0.18 bcde	4.16 efg
P + <i>S. vermifera</i>	54.33ab	16.67a	1.05bc	0.21 ab	3.55 fgh
P + <i>T. viride</i>	40.00bcd	8.00cdef	0.63def	0.16 bcdef	4.87 cdef
P + <i>T. harzianum</i>	55.33ab	13.33ab	0.81bcde	0.19 bcd	3.01 gh
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i>	39.33bcd	14.67ab	0.90bcd	0.14 cdef	3.36 fgh
P + <i>P. indica</i> + <i>T. viride</i>	37.67bcd	7.67def	0.54def	0.17 bcdef	5.52 bcde
P + <i>P. indica</i> + <i>T. harzianum</i>	37.33bcd	7.67def	0.43ef	0.11 f	6.41 ab
P + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i>	39.00bcd	5.00f	0.63def	0.11 f	6.15 abc
P + <i>S. vermifera</i> + <i>T. harzianum</i>	61.00a	12.67abc	1.17b	0.20 abc	2.64 h

ادامه جدول در صفحه بعد ...

... ادامه جدول ۱

Treatments	Plant height (cm)	Root length (cm)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)	Disease severity
P + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	40.33bcd	7.67def	0.60def	0.12 ef	5.78 bcd
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i>	26.67d	8.33cdef	0.35f	0.12 ef	5.68 bcd
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. harzianum</i>	41.00bcd	13.67ab	0.67cdef	0.18 bcde	4.18 efg
P + <i>P. indica</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	51.33ab	14.00ab	0.66cdef	0.19 bcd	4.14 efg
P + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	30.67cd	14.00ab	0.62def	0.13 def	7.02 ab
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	50.67abc	11.33bcd	0.59def	0.16 bcdef	4.44 defg

- اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی دار نمی باشد.
- Values followed by the same letter within column are not significantly different ($P = 0.05$) according to Duncan's multiple-range test.

P: Pathogen

زمانی که بیمارگر همزمان با کاشت بذر به گلدان ها اضافه شده بود (زمان دوم)

در بین تیمارهای مختلف، تیمارهای (*T. viride* + *T. harzianum*)، (*P. indica* + *S. vermifera* + *T. harzianum*) و (*S. vermifera* + *T. harzianum*) بیشترین اثر را روی ارتفاع گیاه نشان دادند. از نظر تأثیر تیمارهای آنتاگونیست بر طول ریشه، تیمارهای (*P. indica* + *S. vermifera*) و (*S. vermifera* + *T. harzianum*) بهتر از سایرین عمل کردند (جدول ۲).
بیشترین وزن خشک هوایی در گلدان هایی دیده شد که با (*S. vermifera* + *T. harzianum*) و (*T. viride* + *T. harzianum*) مایه زنی شده بودند. تیمارهای (*S. vermifera*)، (*P. indica* + *S. vermifera*) + *T. harzianum* و (*S. vermifera*) بیشترین اثر را روی وزن خشک ریشه نشان دادند (جدول ۲). از نظر تأثیر روی شدت بیماری، بیشترین کاهش در گلدان هایی دیده شد که با تیمارهای (*S. vermifera* + *T. harzianum*) و مایه زنی (*S. vermifera*) شده بودند (جدول ۲).

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آنتاگونیست روی ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن خشک هوایی و ریشه و شدت بیماری عدس در گلدانهای مایه زنی شده با *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در زمان دوم (همزمان با کاشت بذر).

Table 2. Effect of antagonistic treatments on plant height, root length, shoot and root dry weight and disease severity of *Lens culinaris* in pots inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in time two (concordant sowing).

Treatments	Plant height (cm)	Root length (cm)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)	Disease severity
control (without pathogen)	65.67a	14.00 abc	1.88a	0.30 a	0.00 g
control (pathogen)	44.33ef	9.67 cdef	0.47g	0.15 cd	7.02 a

ادامه جدول در صفحه بعد ...

... ادامه جدول ۲

Treatments	Plant height (cm)	Root length (cm)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)	Disease severity
P + <i>P. indica</i>	49.33cdef	10.00 cdef	1.10 bcde	0.17 bcd	3.58 cde
P + <i>S. vermifera</i>	57.33abcd	13.33 abcd	1.23 bcd	0.23 abc	1.84 f
P + <i>T. viride</i>	53.67bcdef	9.00 def	0.89 cdefg	0.15 cd	4.64 bc
P + <i>T. harzianum</i>	55.67abcde	12.67 abcde	1.24 bcd	0.18 bcd	1.91 f
P+ <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i>	54.00bcdef	16.00 a	1.06 bcdef	0.24 ab	2.30 ef
P+ <i>P. indica</i> + <i>T. viride</i>	45.33ef	10.67 bcdef	0.63 efg	0.16 bcd	4.61 bc
P+ <i>P. indica</i> + <i>T. harzianum</i>	51.00cdef	12.67 abcde	1.19 bcde	0.19 bcd	2.02 f
P+S. <i>vermifera</i> + <i>T. viride</i>	54.00bcdef	7.33 f	0.74 defg	0.15 cd	4.71 bc
P+ <i>S. vermifera</i> + <i>T. harzianum</i>	60.67abc	15.00 ab	1.37 abc	0.22 abcd	1.73 f
P+ <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	64.33ab	11.33 bcdef	1.56 ab	0.20 bcd	2.37 ef
P+ <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i>	43.67f	10.67 bcdef	0.64 efg	0.14 d	4.61 bc
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. harzianum</i>	61.00abc	13.67 abc	1.19 bcde	0.19 bcd	2.45 def
P+ <i>P. indica</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	53.33bcdef	12.00 abcde	0.84 cdefg	0.19 bcd	3.62 cde
P + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	46.00def	8.33 ef	0.51 fg	0.15 cd	5.78 ab
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	48.00def	13.67 abc	0.84 cdefg	0.18 bcd	4.16 c

- اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی دار نمی باشد.
 - Values followed by the same letter within column are not significantly different ($P = 0.05$) according to Duncan's multiple-range test.
 P: Pathogen

زمانی که بیمارگر ۱۰ روز بعد از کاشت بذر به گلدان‌ها اضافه شده بود (زمان سوم) از نظر تأثیر تیمارها روی ارتفاع گیاه، تیمارهای (*S. vermifera* + *T. harzianum*) و (*P. indica* + *T. viride* + *T. harzianum*) بیشترین اثر مثبت را نشان دادند. مقایسه میانگین روی طول ریشه نشان داد که تیمارهای (*P. indica* + *T. viride* + *T. harzianum*) و (*P. indica* + *S. vermifera*) بیشترین تأثیر را دارند (جدول ۳). بیشترین وزن خشک اندام هوایی در گلدان‌هایی مشاهده شد که با تیمارهای (*P. indica* + *T. harzianum*)، (*S. vermifera* + *T. harzianum*) و (*T. viride* + *T. harzianum*) مایه زنی شده بودند. بیشترین وزن خشک ریشه در گلدان‌هایی که با تیمارهای (*P. indica* + *S. vermifera*) و (*S. vermifera* + *T. harzianum*) مایه زنی شده بودند مشاهده گردید (جدول ۳). نتایج روی شدت بیماری نشان داد تیمارهای (*P. indica* + *T. harzianum*)، (*P. indica* + *T. harzianum*) + *S. vermifera* و (*T. viride* + *T. harzianum*) هیچ گونه علائمی از پژمردگی نشان ندادند (جدول ۳ و شکل ۱).

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آنتاگونیست روی ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن خشک هوایی و ریشه و شدت بیماری عدس در گلدانهای مایه زنی شده با *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در زمان سوم (۱۰ روز بعد از کاشت بذر).

Table 3. Effect of antagonistic treatments on plant height, root length, shoot and root dry weight and disease severity of *Lens culinaris* in pots inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in time three (10 days after sowing).

Treatments	Plant height (cm)	Root length (cm)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)	Disease severity
control (without pathogen)	66.67 ab	13.67 bcde	1.59 ab	0.28 ab	0.00 f
control (pathogen)	46.33 e	11.00 ef	0.72 c	0.16 b	6.39 a
P + <i>P. indica</i>	50.00 cde	14.33 bcde	1.26 abc	0.21 ab	2.38 bcd
P + <i>S. vermifera</i>	56.67 bcde	14.33bcde	1.56 ab	0.28 ab	1.28 def
P + <i>T. viride</i>	57.33 bcd	13.67bcde	0.98 bc	0.17 ab	2.99 bc
P + <i>T. harzianum</i>	61.67 ab	14.33 bcde	1.41 abc	0.20 ab	1.09 def
P+ <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i>	58.67 abc	18.00 ab	1.55 ab	0.29 a	1.75 cde
P+ <i>P. indica</i> + <i>T. viride</i>	59.67 abc	14.67 bcde	1.19 abc	0.20 ab	2.01 cde
P+ <i>P. indica</i> + <i>T. harzianum</i>	60.67 abc	11.67 def	1.83 a	0.27 ab	0.00 f
P+S. <i>vermifera</i> + <i>T. viride</i>	64.33 ab	16.00 bcd	1.65 ab	0.25 ab	0.85 ef
P+ <i>S. vermifera</i> + <i>T. harzianum</i>	69.33 a	16.33 abc	1.86 a	0.28 ab	0.00 f
P+ <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	63.67 ab	12.00 cdef	1.85 a	0.19 ab	0.00 f
P+ <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i>	47.33 de	8.33 f	1.01 bc	0.16 b	3.53 b
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. harzianum</i>	61.33 abc	14.33 bcde	1.30 abc	0.24 ab	1.64 de
P+ <i>P. indica</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	67.33 ab	20.33 a	1.48 ab	0.18 ab	1.10 def
P + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	61.33 abc	13.33 cde	1.48 ab	0.27 ab	1.21 def
P + <i>P. indica</i> + <i>S. vermifera</i> + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	59.67 abc	13.33 cde	1.15 abc	0.26 ab	1.82 cde

- اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دانگه ای دانکن در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی دار نمی باشد.
Values followed by the same letter within column are not significantly different ($P = 0.05$) according to Duncan's multiple-range test.
P: Pathogen



شکل ۱- تأثیر تیمار آنتاگونیست روی پژمردگی فوزاریومی عدس. الف) تیمار ۲ = شاهد (بیمارگر)،

ب) تیمار ۱) = Pathogen + *S. vermifera* + *T. harzianum*

Figure 1: Effect of antagonistic treatment on *Fusarium* wilt of *lens culinaris*. (a) Treatment 2= control (pathogen) and (b) Treatment 11= pathogen + *S. vermifera* + *T. harzianum*

بحث

کنترل شیمیایی این بیماری در سطوح وسیع به دلیل هزینه و مشکلات کاربرد سموم در طی فصل زراعی تقریباً غیر ممکن می باشد (Taylor et al., 2007)، ولی به دلیل اثرات مضر مصرف آفت کش ها مثل آلودگی محیط زیست و به خطر افتادن سلامتی انسان ها و مسئله مقاومت بیمارگر، کنترل بیولوژیک جایگزین مناسبی برای کنترل شیمیایی می باشد (Hajieghrari et al., 2008). به طوری که (El-Hassan & Gowen, 2006) گزارش کردند باکتری *Bacillus subtilis* به خوبی می تواند پژمردگی فوزاریومی عدس با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* را کنترل کند.

در این مطالعه از چهار قارچ خاکزی برای بیوکنترل پژمردگی فوزاریومی عدس استفاده گردید. قارچ‌های اندوفیت *P. indica* و *S. vermifera* با تأثیر مثبت روی جذب مواد غذایی موجب افزایش رشد و مقاومت گیاه می‌شوند و یک سیستم دفاعی مطلوب را برای گیاهان در مقابل بیمارگرها فراهم می نمایند (Waller et al., 2005; Deshmukh & Kogel, 2007; Serfling et al., 2007; Baltruschat et al., 2008; Sherameti et al., 2008; Stein et al., 2008). همچنین جنس تریکودرما یکی از قارچ های رایج در اکثر خاک‌ها می‌باشد و توانایی زیادی برای بیوکنترل بیمارگرهای خاکزاد دارد (Elad, 2000; Freeman et al., 2004; Poddar et al., 2004; Dubey et al., 2006). مکانیسم کنترلی قارچ‌های تریکودرما به صورت میکوپارازیتسم، رقابت، آنتی بیوز و القا مقاومت به گیاه می‌دهند که این مکانیسم‌ها در کارهای

تحقیق بسیاری از محققین مورد بررسی و تایید قرار گرفته است (Sivasithamparam & Ghisalberti, 1998; Howell, 2003; Kucuk & Kivanc, 2004).

در این مطالعه با در نظر گرفتن ۳ زمان مختلف مایه زنی بیمارگر ملاحظه گردید که تیمار (*S. vermifera* + *T. harzianum*) روی ارتفاع گیاه موثر می‌باشد. از لحاظ بلندترین طول ریشه ملاحظه گردید که تیمار (*P. indica* + *S. vermifera*) در هر ۳ زمان موثر بوده است. قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* با تولید هورمون‌های اکسین و سیتوکینین قادرند طول ریشه و ارتفاع گیاه را افزایش دهند (Vadassery et al., 2008) به طوری که (Rai et al., 2001) گزارش کردند که طول ریشه و ساقه *Spilanthes calva* و *Withania somnifera* در حضور *P. indica* افزایش یافت. همچنین (Dubey et al., 2006) گزارش کردند که ایزوله *T. viride* Rannchi و به دنبال آن *T. harzianum* بیشترین تأثیر را در رشد شاخه و ریشه نخود آلوده به *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* موجب می‌شوند.

از لحاظ تولید بیشترین وزن هوایی ملاحظه گردید تیمار (*S. vermifera* + *T. harzianum*) در هر ۳ زمان مایه زنی بیمارگر موثر می‌باشد. از لحاظ تولید بیشترین وزن ریشه ملاحظه گردید که تیمارهای (*S. vermifera*) و (*S. vermifera* + *T. harzianum*) در ۳ زمان موثر بودند. نتایج ما با نتایج (Ghimire et al., 2009) مطابقت دارد. آنها گزارش کردند *S. vermifera* موجب بهبود رشد و افزایش وزن هوایی و ریشه می‌شود.

ملاحظه گردید که در بین تیمارها، تیمار (*S. vermifera* + *T. harzianum*) در هر ۳ زمان کاهش بیماری را موجب شده است. تیمارهای (*P. indica* + *T. harzianum*) و (*T. viride* + *T. harzianum*) در زمان سوم نیز موثر واقع شدند. در مورد کاهش بیماری توسط گونه‌های تریکودرما گزارش‌های زیادی وجود دارد به طوری که (Dubey et al., 2006) گزارش کردند که گونه‌های تریکودرما، پژمردگی فوزاریومی نخود با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* را بطور معنی داری کاهش می‌دهند. نتایج ما با نتایج قهفرخی و گل تپه (Ghahfarokhi & Goltapeh, 2010) مطابقت دارد آنها گزارش کردند قارچ‌های *P. indica*، *S. vermifera* و گونه‌های تریکودرما قادر به کنترل بیماری پاخوره گندم با عامل *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* در شرایط درون شیشه‌ای هستند. (El-Hassan et al., 2003) گزارش کردند که *T. hamatum* موجب کاهش پژمردگی فوزاریومی عدس با عامل *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* می‌شود. نتایج ما در مورد کاهش بیماری توسط *P. indica* با نتایج (Serfling et al., 2007) مطابقت دارد که گزارش کردند مایه زنی *P. indica* شدت بیماری‌های حاصل از *F. culmorum*، *Pseudocercospora herpotrichoides* و *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* در گندم را در مقایسه با شاهد کاهش می‌دهد و وزن اندام‌های هوایی و ریشه به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین (Fakhro et al., 2010) گزارش کردند قارچ

اندوفیت *P. indica* موجب کاهش ۳۲ درصدی شدت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی با عامل *S. vermifera* + *T. harzianum* در گوجه‌فرنگی گردید. نتایج نشان داد که تیمار *S. vermifera* + *T. harzianum* موثرترین ترکیب آنتاگونیست‌ها در اکثر فاکتورهای رشدی و در کاهش شدت بیماری با در نظر گرفتن سه زمان مختلف مایه زنی است.

منابع

- Baltruschant, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K., Schafer, P. & Schwarczinger, I. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, 180: 501–510.
- Barazani, O., Benderoth, M., Groten, K., Kuhlemeier, C. & Baldwin, I.T. 2005. *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* increase growth performance at the expense of herbivore resistance in *Nicotiana attenuata*. *Oecologia*, 146: 234–243.
- Bayaa, B., Erskine, W. & Hamdi, A. 1995. Evaluation of a wild lentil collection for resistance to vascular wilt. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 42: 231–235.
- Bayaa, B., Erskine, W. & Houry, L. 1986. Survey of wilt damage on lentils in northwest Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 4: 118–119.
- Beniwal, S.P.S., Bayaa, B., Weigand, S., Makkouk, K. & Saxena, M.C. 1993. Field Guide to Lentil Diseases and insect Pests. International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo. Syria.
- Bhalla, M.K., Nozzolillo, C. & Schneider, E. 1992. Observation on the responses of lentil root cells to hypha of *Fusarium oxysporum*. *Journal of Phytopathology*, 135: 335–341.
- Chet, J. & Baker, R. 1980. Indication of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*, 70: 994–998.
- Deshmukh, S. & Kogel, K. 2007. *Piriformospora indica* protects barley from root rot disease caused by *Fusarium*. *Journal of Plant Disease Protection*, 114: 263–268.
- Dubey, S. C., Suresh, M. & Singh, B. 2006. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*, 40: 118–127.
- El-Hassan, S. & Gowen, S. 2006. Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Journal of Phytopathology*, 154: 148–155.
- El-Hassan, S., Gowen, S. & Bayaa, B. 2003. *In-vitro* studies on the potential for biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lentis* by *Trichoderma hamatum*. Eighth Arab Congress of Plant Protection, 12–16 October 2003, El-Beida, Libya
- Elad, Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection*, 19: 709–714.
- Elad, Y., Chet, J. & Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum* a biocontrol effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70: 119–121.

- Erskine, W. & Bayaa, B. 1996. Yield loss, incidence and inoculum density associated with vascular wilt of lentil. *Phytopathologia Mediterranea*, 36: 24-32.
- Fakhro, A., Andrade-Linares, D. R., Barga, S., Bandte, M., Buttner, C., Grosch, R., Schwarz, D. & Franlen, P. 2010. Impact of *Piriformospora indica* on tomato growth and on interaction with fungal and viral pathogens. *Mycorrhiza*, 20: 191-200.
- Freeman, S., Minz, D., Kolesnik, I., Barbul, O., Zreibil, A., Maymon, M., Nitzani, Y., Kirshner, B., Rav-david, D., Bilu, A., Dag, A., Shafir, S. & Elad, Y. 2004. *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea*, and survival in strawberry. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 361-370.
- Ghahfarokhi, R.M. & Goltapeh, M.E. 2010. Potential of the root endophytic fungus *Piriformospora indica*; *Sebacina vermifera* and *Trichoderma* species in biocontrol of take-all disease of wheat *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* *in vitro*. *Journal of Agricultural Technology*, 6 (1): 11-18.
- Ghimire, S.R., Charlton, N.D. & Craven, K.D. 2009. The Mycorrhizal Fungus, *Sebacina vermifera*, Enhances Seed Germination and Biomass Production in Switchgrass (*Panicum virgatum* L). *Bioenergy Research*, 2:51-58.
- Hajieghrari, B., Torabi-giglou, M., Mohammadi, M.R. & Davari, M. 2008. Biological potential of some Iranian *Trichoderma* isolate in the control of soil borne plant pathogenic fungi. *African Journal of Biotechnology*, 7 (8): 967-972.
- Hamdi, A. & Hassanein, A. M. 1996. Survey of fungal diseases of Lentil in North Egypt. *Lens Newsletter*, 1&2, : 52-53.
- Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87: 4-10.
- Kafer, E. 1977. Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. *Advances in Genetic*, 19: 33-131.
- Kucuk, C. & Kivanc, M. 2003. Isolation of *Trichoderma* spp. and their antifungal, biochemical and physiological features. *Turkish Journal of Biology*, 127: 247-253.
- Kumari, R., Yadav, H.K., Bhoon, Y.K. & Varma, A. 2003. Colonization of cruciferous plants by *Piriformospora indica*. *Current Science*. 85: 1672-1674.
- Lifshitz, R., Wittingham, M. T. & Baker, R. 1986. Mechanisms of biological control of pre-emergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76: 720-725.
- Mehta, R. D., Patel, K. A., Roy, K. K. & Mehta, M. H. 1995. Biological control of soilborne plant pathogens with *Trichoderma harzianum*. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, 25:126.
- Mohamed, H. & Haggag, W. 2006. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37: 181-191.
- Mohammadi, N. 2010. Studies on pathogenicity and genetic diversity of the some Iranian isolates *Fusarium oxysporum* f.sp *lentis* and determination of resistant lentil cultivars. M. SC. Thesis, University of Tarbiat Modares, Iran. 134P.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A. & Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park. 193 pp.

- Oelmuller, R., Sherameti, I., Tripathi, S. & Varma, A. 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*, 49: 1–17.
- Omar, S.A.M., Salem, D.E. & Rizk, M.A. 1988. Sources of resistance to root-rot wilt disease complex of lentil. *Lens Newsletter*, 15:37.
- Peskan-Berghofer, T., Shahollari, B., Giang, PH., Hehl, S., Markert, C., Blanke, V., Kost, G., Varma, A. & Oelmuller, R. 2004. Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmatic reticulum and at the plasma membrane. *Plant Physiology*, 122: 465–77.
- Pham, G.H., Singh, A., Kumari, R., Malla, R., Prasad, R., Sachdev, M., Rexer, K.-H., Kost, G., Luis, P., Kaldorf, M., Buscot, F., Herrmann, S., Peskan, T., Oelmüller, R., Saxena, A.K., Declerck, S., Mittag, M., Stabentheiner, E., Hehl, S. & Varma, A. 2004. Interactive of *Piriformospora indica* with diverse microorganisms in plants. In: Varma A., Abbott L., Werner D and Hampp R. (eds). *Plant Surface Microbiology*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 237–265.
- Poddar, R.K., Singh, D.V. & Dubey, S.C. 2004. Integrated application of *Trichoderma harzianum* mutants and carbendazim to manage chickpea wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*). *Indian Journal of Agricultural Science*, 74: 346-348.
- Rai, M., Acharya, D., Singh, A. & Varma, A. 2001. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza*, 11: 123-128.
- Sahay, N.S. & Varma, A. 1999. *Piriformospora indica*: a new biological hardening tool for micropropagated plants. *FEMS Microbiological Letters*, 181: 297–302.
- Samuels, G.J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological Research*, 100: 923-935.
- Sarhan, M.M., Ezzat, S.M. & Al-Tohamy, M.R. 1999. Application of *Trichoderma hamatum* as a biocontroller against tomato wilts disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Egyptian Journal of Microbiology*, 34: 347-376.
- Serfling, A., Wirsal, S.G.R., Lind, V. & Deising, H. 2007. Performance of the biocontrol fungus *Piriformospora indica* on wheat under greenhouse and field condition. *Phytopathology*, 97: 523-531.
- Shahollari, B., Vadassery, J., Varma, A. & Oelmuller, R. 2007. A leucine-rich repeat protein is required for growth promotion and enhanced seed production mediated by the endophytic fungus *Piriformospora indica* in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, 50: 1–13.
- Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A. & Oelmüller, R. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and *Arabidopsis* roots through a homeodomain transcription factor which binds to a conserved motif in their promoters. *The Journal of Biological Chemistry*, 280: 2641-2647.
- Sivasithamparam, K. & Ghisalberti, E.L. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 1. Taylor and Francis Ltd., London, pp. 139–191.

- Stein, E., Molitor, A., Kogel, K.H. & Waller, F. 2008. Systemic resistance in *Arabidopsis* conferred by the mycorrhizal fungus *Piriformospora indica* requires jasmonic acid signaling and the cytoplasmic function of NPR1. *Plant Cell Physiology*, 49: 1747–1751.
- Stoilova, S. & Chavdarov, P. 2006. Evaluation of lentil germplasm for disease resistance to *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*). *Journal of Central European Agriculture*, 7: 121-126.
- Taylor, P., Lindbeck, K., Chen, W. & Ford, R. 2007. Lentil diseases. S.S. Yadav *et al.* (eds.), *Lentil: An Ancient Crop fir Modern Tunes*, pp. 291-313.
- Tosi, L. & Cappelli, C. 2001. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* of lentil in Italy. *Plant Disease*, 85: 562.
- Vadassery, J., Ritter, C., Venus, Y., Camehl, I., Varma, A., Shahollari, B., Novák, O., Strnad, M., Ludwig-Müller, J. & Oelmüller, R. 2008. The Role of Auxins and Cytokinins in the Mutualistic Interaction Between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(10): 1371–1383.
- Varma, A., Verma, S., Sahay, N.S., Butehorn, B. & Franken, P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant growth promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 2741–2744.
- Verma, S., Varma, A., Rexer, K., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Butehorn, B. & Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*, 95: 896–903.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D., Franken, P. & Kogel, K.H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceeding of the National Academy of Science*, 102: 13386-13391.
- Warcup, J.H. & Talbot, P.H.B. 1967. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids. *New Phytologist*, 66: 631-641.
- Weiss, M., Selosse, M.A., Rexer, K., Urban, A. & Oberwinkler, F. 2004. Sebaciales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. *Mycological Research*, 108: 1003-1010.

**In vivo biological activity of *Piriformospora indica*,
Sebacina vermifera and *Trichoderma* spp. against
Fusarium wilt of lentil**

Hossein KARI DOLATABADI^{*}, Ebrahim MOHAMMADI GOLTAPEH

Department of plant pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
(Corresponding author, Email: Hossein.kari@gmail.com)

Abstract

Lentil *Fusarium* wilts, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (Vasd. and Srin.) Gordon is one of the most important factors of reducing lentil yield in the world. Effect of four soil borne fungi *Piriformospora indica*, *Sebacina vermifera*, *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* on *Fusarium* wilt of lentil were evaluated in a completely randomized design under greenhouse condition. Pathogen was inoculated to soil pots three times (10 days before sowing, while sowing and 10 days after sowing). Seventeen treatments including two controls (plant without pathogen and plant with pathogen) and fifteen combinations of above antagonistic fungi were inoculated while sowing. Different growth factors namely: plant heights, root length, dry weight of shoot and root and disease severity were assessed in flowering stage. Results revealed that the most effect of combination of antagonistic fungi was observed in pots inoculated with treatment (*S. vermifera* + *T. harzianum*).

Key Words: Biological activity, *Fusarium* wilt, Lentil, *Piriformospora indica*, *Sebacina vermifera*, *Trichoderma* spp.