عزل وتشخيص الأنواع المحلية للفطر *Trichoderma* في محافظة واسط وتقييم فعاليتها ضد نيماتود العقد الجذرية *Meloidogyne javanica*

حمزه عباس ياسر محمد جبير حناوي هادي مهدي عبود*

جامعة واسط - كلية العلوم - قسم علوم الحياة
*وزارة العلوم والتكنولوجيا – دائرة البحوث الزراعية قسم التقانات الاحيائية

Isolation and identification of native species of *Trichoderma* in Wasit Province and evaluate the affectivity of them against *Meloidogyne javanica*

Hamzah A. Yasir Mohammed J. Hanawi and Hadi M. Aboud*

University of Wasit – College of Science – Department of Biology
*Ministry of Science and Technology- Directorate of Agriculture Research – Department of Biotechnology

Abstract

The study had been conducted to detect of *Trichoderma* spp in different locations in Wasit province and evaluate the effect of them against *Meloidogyne javanica* in laboratory and green houses. Seven isolates belong to four species were isolated from Wasit province which were *T .harzianum* , *T.hamatum* , *Trichoderma* sp1 and *Trichoderma* sp2 .The results revealed that all tested isolates have high efficiency in parasitize eggs of nematode and the most effective was *T. harzianum* 3 in percent of parasitism 97% and with significant difference compared with the other isolates .

The result also showed that there is clear effect of fungal filtrate in three concentrations (100, 50, and 25%) in mortality of eggs and the more effective filtrate is the filtrate of *T. harzianum* 3 and the percentages of mortality were 96.7, 75.5, 56.3% at the concentrations 100, 50, 25% respectively. The isolate *T. harzianum* 3 exist high efficiency in controlling nematode and promote plant growth with increasing the length of shoot and roots which were 19.7, 21.3cm respectively compared with the control 16.1, 15.4cm respectively. This isolate was also the most effective one in increasing wet and dry weight of shoot and roots system with significant superiority of other treatments.

Key Words: ***Meloidogyne javanica* , *Trichoderma* spp, Biocontrol , Tomato.**

المستخلص

في مناطق مختلفة من محافظة واسط وتقييم فاعليتها *Trichoderma* نفذت هذه الدراسة للتحري عن تواجد أنواع الفطر في المختبر والبيوت المحمية . تم الحصول على سبعة عزلات *Meloidogyne javanica*ضد نيماتود العقد الجذرية *Trichoderma* ،*T.harzianum* ، *.hamatumT* تابعة لأربع أنواع مختلفة هي: *Trichoderma*محلية من الفطر في التطفل *Trichoderma* . أظهرت النتائج كفاءة عالية لجميع العزلات المختبرة للفطر*Trichoderma* sp2 و sp1 والمعزولة من منطقة شيخ سعد هي الاكثر فعالية مقارنة *T.harzianum* 3على بيوض النيماتود ، كانت العزلة وبفروقات معنوية مع جميع العزلات المختبرة . بينت نتائج هذه الدراسة 97%اذ بلغت نسبة تطفلها باالعزلات الاخرى (%) في هلاك البيوض ، حيث 25، 50 ، 100أيضاً وجود تاثير واضح لراشح العزلات المختبرة وبثلاثة تراكيز (*T. harzianum*3%) مرتفعة مقارنة بالتراكيز الاخرى ، وكان راشح العزلة 100كانت نسبة الهلاك عند التركيز (% عند التراكيز56.3 ،75.5 ، 96.7هو الاكثر فعالية مقارنة برواشح العزلات الأخرى حيث كانت نسبة الهلاك كفاءة عالية في السيطرة على النيماتود وتحفيز *T.harzianum*3%) على الترتيب. أظهرت العزلة 25 ، 50 ،100(سم مقارنة بمعاملة المقارنة 19.7نمو النبات وزيادة في طول الساق والجذر لنبات الطماطة أذ كان طول الساق سم) ، وكانت ايضاً هي الأكثر فاعلية في زيادة 15.4 سم) مقارنة بمعاملة المقارنة ((21.3سم) وكان طول الجذر 16.1(الوزن الطري والجاف لكل من المجموع الخضري والجذري وقد تفوقت معنوياً على كافة المعاملات الاخرى .

الكلمات المفتاحية :نيماتود تعقد الجذور ,ترايكوديرما ,السيطرة الاحيائية ,طماطة.

المقدمة

تعد نيماتود العقد الجذرية التابعة لجنس الـ *Meloidogyne* من بين أهم الأفات التي تهاجم المحاصيل الأقتصادية في العالم ، اذ تهاجم معظم المحاصيل المزروعة وتسبب خسائر أقتصادية تقدر بـ 5% من الأنتاج (1). وقد أشارت الدراسات الى أن الضرر الأقتصادي الذي تسببه نيماتود العقد الجذرية سنوياً يقدر بسبعة بلايين دولار في الولايات المتحدة الأمريكية وحوالي 78 بليون دولار في العالم ، كم أن أن الخسائر التي يسببها كل من النيماتود *M. javanica* و*M. incognita* على محاصيل الخضر يقدر بـ 20% على محصول الباذنجان و 33% على الخيار و 38% على الطماطة و25% على البطاطا(2).

تعد الديدان الثعبانية من الافات المهمة أيضاً في الدول العربية وتسبب خسائر أقتصادية لكثير من المحاصيل المزروعة ففي الاردن مثلاً لوحظ أن نيماتود العقد الجذرية من أكثر الأنواع شيوعاً في وادي الأردن وتسبب خسائر تقدر بـ 15% في محاصيل الخضر وبسبب ذلك فقد نالت أهتماماً كبيراً من قبل المزارعين والمختصين في هذا المجال (3) . وفي السعودية قد تم تسجيل العديد من النيماتود الممرضة للنبات وخاصة على محاصيل الخضر الأ أن النوع *M.javanica* هو الأكثر ضرراً وبشكل خاص على محاصيل الطماطة والخيار والباميا والباذنجان ، كما أن النوع *M. Incognita* أيضا من الأنواع السائدة والتي تسبب ضرراً على المحاصيل الا أن الضرر أقل أذا ما قورن بالنوع الأول (4).

وفي العراق فقد سجلت وشخصت خمسة أنواع تابعة للجنس *Meloidogyne* تصيب حوالي 120 عائل نباتي ، هذه الأنواع هي *Meloidogyne javanic* , *M. hapla*, *M.arenaria* , *M.incognita* , *M.thamesi* ولوحظ أيضاً أن النوع *M. javanica* هو من أكثرالأنواع انتشاراً وتعتبر الأفة الأكثر ضرراً في حقول الطماطة والخيار والباذنجان في الوسط والجنوب (5). واستخدمت في مكافحة هذه الأفة طرق مختلفة أهمها أستخدام المبيدات الكيمياوية لكونها طريقة عملية وسريعة التأثير الا أنها طريقة ذات تاثيرات جانبية كثيرة من أهمها أحداث تلوث في البيئة وبقاء الكثير منها في ناتج التسويق ناهيك عن التأثيرات المسرطنة للكثير من أنواعها (6 ,7) .تعد المكافحة الأحيائية بأستخدام بعض الكائنات الحية في مكافحة الممرضات النباتية في التربة وبضمنها النيماتود من الطرق الأمينة والتي من الممكن اعتمادها كطريقة بديلة عن المبيدات الكيميائية (8).يعتبر الفطر *Trichoderma* من أكثر

العوامل الاحيائية التي تستخدم في مكافحة العديد من الممرضات النباتية ومنها الديدان الثعبانية (9) ، حيث يمثل الفطر 50% من المبيدات الفطرية الاحيائية المتواجدة في الاسواق (10). أستطاع Mahfouz و Kabeil (11) أثبات كفاءة ثلاث عزلات تعود للفطر *T.harzianum* في مكافحة ديدان تعقد الجذور نوع *M.incognita* في نبات الطماطة حيث أدى أضافة الفطر الى خفض الاصابة بالنيماتود وزيادة في معايير النمو. كما أشار Goswami وأخرون (12) أن معاملة النبات *Coleus forskohlii* بالفطر *T.viridi* أدت الى خفض العقد الجذرية بالاضافة الى كتل البيض والاناث واليرقات للنيماتود *M.incognita* في التربة وكذلك زيادة في معايير النمو والانتاج للنبات .ونظرا للأهمية الأقتصادية لهذه الديدان وفاعلية الفطر *Trichoderma* كعامل مكافحة أحيائية فقد نفذت هذه الدراسة للتحري عن تواجد أنواع الفطر *Trichoderma* في مناطق مختلفة من محافظة واسط وتقييم فاعليتها ضد نيماتود العقد الجذرية *Meloidogyne javanica* في المختبر والبيوت المحمية .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات Samples Collection

تم جمع 25عينة عشوائية من ترب ملوثة وجذورمصابة بنيماتودا تعقد الجذورمن حقول وبيوت بلاستيكية مزروعة بنباتات العائلة الباذنجانية والقرعية من ثمان مواقع زراعية في محافظة واسط (مركز الكوت ,الاحرار , الحي , النعمانية , بدره ، الكارضية , شيخ سعد , الدجيلي) للفترة من 2013/11/5 لغاية 2013/12/22 جدول (1), اذ تم ازالة 3-5سم من الطبقة العليا للتربة وجمع حوالي 1كغم من التربة و10 غم من الجذور وعلى عمق 20-30 سم (13) , حيث اخذت العينات بصورة عشوائية لكل موقع من المواقع المختارة ووضعت في اكياس بلاستيكية وعُلمت وتم حفظها في مختبر الفطريات في جامعة واسط/ كلية العلوم/ قسم علوم الحياة وتم نقل قسما منها الى مركز المكافحة المتكاملة/ دائرة البحوث الزراعية/ قسم المكافحة الاحيائية/ وزارة العلوم والتكنولوجيا في بغداد لعزل انواع الفطر *Trichoderma* spp.

جدول (1) : مواقع جمع العينات والأنوع المعزولة للفطر *Trichoderma*

رمز العزلة	نوع العزلة	المنطقة	تاريخ الجمع
T1	T.hamatum1	الكارضية	2013/11/5
T2	T.harzianum1	الحي	2013/11/8
T3	T.harzianum2	بدرة	2013/11/15
-	-	مركز الكوت	25/11/2013
T4	Trichoderma sp1	الاحرار	2013/12/1
-	-	النعمانية	2013/12/10
T5	Trichoderma sp2	الدجيلي	2013/12/17
T6 T7	T.harzianum3 T.hamatum2	شيخ سعد	2013/12/22

العزل والتشخيص

تم عزل الفطريات من التربة وفق طريقة التخافيف (Dilution Technique) وذلك بعمل سلسلة تخافيف تراوحت بين 10^{-1} 10^{-6} ، ثم اخذ 1 مل من التخافيف 10^{-3}- 10^{-6} ونشره على سطح طبق بتري يحتوي على وسط PDA مع التحريك الرحوي حتى يتم توزيع العالق على الوسط المغذي وأستعملت ثلاث مكررات لكل تخفيف ثم وضعت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة (25 ± 2) . جرت متابعة يومية لمتابعة ظهور العزلات الفطرية وبعد ظهورها تم تنقيتها على الوسط الزرعي PDA وكررت العملية للحصول على مزارع نقية من الفطر (14). تم التشخيص بداية بالطريقة التقليدية في وزارة العلوم والتكنولوجيا دائرة البحوث الزراعية استنادا الى الصفات المظهرية والمجهرية للمزارع الفطرية والمفاتيح التصنيفية المعتمدة (15).

اللقاح الفطري

تم تنشيط عزلات الفطر *Trichoderma* spp على الوسط الزرعي PDA في اطباق بتري بلاستيكية قطر9 سم وحضنت بدرجة حرارة (25 ± 2) لمدة 7 أيام ، تم تحضير لقاح الفطر *Trichoderma* من خلال استخدام حبوب الحنطة بعد تنقيعها بالماء لمدة 24ساعة وغسلها بالماء جيدا لأزالة الاتربة والشوائب ثم تركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لازالة الماء الزائد عنها ، وزعت في دوارق زجاجية سعة 500مل وبواقع 100غم ، عقمت بجهاز الموصدة Autoclave على درجة حرارة 121م° وضغط 1بار ولمدة 20دقيقة ، لقحت الدوارق بعد تبريدها بعزلات الفطر *Trichoderma* لغرض أختبار فعاليتها في التطفل على بيوض النيماتود وبواقع خمسة أقراص قطر (1سم) من الوسط الغذائي النامي عليه الفطر لكل دورق وحضنت الدوارق على درجة حرارة(25± 2) م° لمدة 14 يوم مع الأخذ بنظر الأعتبار رج الدوارق كل3-2 يوم لضمان توزيع الفطرعلى جميع البذور وتجنب تكتل الحبوب (16) ، تم استخدام اللقاح بواقع 2 غم لقاح /1 كغم تربة.

لقاح النيماتود

حضر لقاح النيماتود باستخدام جذور نباتات طماطة مصابة بالنيماتود . 200 غم من الجذور بعد الغسل والتنظيف ، وضعت في الخلاط مع 40 مل ماء مقطر أضافة الى 10 مل من هايبوكلورات الصوديوم NaoCl بتركيز 1% لمدة 5 دقائق على السرعة القصوى ثم مرر الخليط خلال سلسلة من المناخل الخاصة قياس (125 ، 75 ، 25) مايكرون ، تم غسل البيض وجمعه في دورق صغير سعة 50 مل (17) ثم حضر عالق يحتوي على البيوض بتركيز 1000 بيضة / مل بأستخدام شريحة العد Haemocytometer وتم حساب معدل عدد البيوض في 20 مربع وضرب الناتج بثابت الشريحة 125 لاستخراج معدل عدد البيوض في 1مل والذي تم تخفيفه واستعماله بتركيز 1000بيضة / مل.

تحضير راشح عزلات الفطر *Trichoderm spp*:

تم أستخدام الوسط الزرعي السائل Potato Sucrose Broth (PSB) (بطاطا سكروز السائل PSB) المحضرمختبرياً لتحضير راشح مزارع سبعة عزلات للفطر *Trichoderma* تم عزلها من محافظة واسط. تم وضع الوسط في دوارق زجاجية سعة 250مل وبواقع 100مل لكل دورق و ثلاث دوارق لكل عزلة ، عقمت الدوارق بجهاز الموصدةعلى درجة حرارة121م° وضغط 1بار ولمدة 20 دقيقة ، تركت لتبرد ثم لقحت بأقراص قطر5 سم تم أخذها من مزارع نقية عمر سبعة أيام لكل عزلة وبواقع 2 قرص لكل دورق . حضنت الدوارق في حاضنة هزازة على درجة حرارة 25±2 م° و50هزة بالدقيقة لمزج الخليط ولمدة 14يوم بعدها رُشح الوسط لإزالة الخيوط الفطرية والأبواغ من خلال ورق ترشيح Whatman No.1 واستخدمت وحدة الترشيح الدقيق Millipore filter unit بقطر (0.22µm) لغرض تعقيم الراشح (18) .

تم جمع الراشح في انابيب أختبار حجم 20مل وعُدت الرواشح الناتجة هي الأساس (التركيز 100%) الذي تم تخفيفه إلى التراكيز (50 ,25 %) باستخدام الماء المقطرالمعقم (19) ، بالمقابل تم إعداد معاملة مقارنة (1) بإضافة 2 قرص قطر5 سم من مستبت PDA الخالي من أي نمو فطري إلى دورق سعته 250 مل احتوى على100مل من مستخلص البطاطا سكروزالسائل PSB المعقم بالموصدة وحُضن بالطريقة ذاتها، ثم حُضرت منه التراكيز السابقة ذاتها أيضاً ، وتم أستخدام معاملة مقارنة (2) بأستخدام الماءالمقطر المعقم (SDW) . خصص ثلاث مكررات لكل معاملة وفق التصميم التام التعشية (CRD).

تقييم تأثير عزلات الفطر *Trichoderma* في بيوض النيماتود

أستخدمت الطريقة الموصوفة من قبل Aboud و Fattah (20) لتقييم قابلية عزلات الفطر *Trichoderma* في التطفل على بيوض النيماتود ، حضر عالق بيوض النيماتود *M.javanica* بتركيز (1000بيضة /مل) حيث

تم نشر 1 مل منه على سطح الاكار المائي Water agar(20 غم اكار /لتر ماء مقطر) وفي اطباق بتري قطر9 سم ، تم تحريك الأطباق تحريكاً رحويا لتوزيع العالق بشكل متجانس . لقح مركز كل طبق بتري بقرص قطر5 سم من عزلات الفطرspp *Trichoderma* قيد الدراسة وخصص لكل معاملة ثلاثة مكررات بما في ذلك معاملة المقارنة ، حضنت جميع الاطباق على درجة حرارة (25±2) م° وتم حساب عدد البيض المصاب (غير الفاقس) بعد مرور7 أيام من المعاملة وفي عشرة حقول مجهرية باستخدام المجهر التشريحي وعند قوة التكبير (40x) وحسبت النسبة المئوية للهلاك وفق المعادلة الاتية :

النسبة المئوية للهلاك = معدل عدد البيض المصاب في عشرة حقول مجهرية / معدل عدد البيض الكلي في عشرة حقول مجهرية x 100

تقييم تأثيرراشح عزلات الفطر *Trichoderma spp* في فقس البيض

تم تقييم تأثير راشح المزارع الفطرية في التطفل على بيوض النيماتود وذلك من خلال نشر1مل من عالق بيوض النيماتود*M.javanica* (1000 بيضة /مل) على وسط الاكار المائي Water agar (20غم آكر/لتر ماء مقطر) المجهز في أطباق بتري قطر9 سم ، تم استخدام 3 تراكيز (100، 25 , 50%) من الرواشح الفطرية ، نشر1مل من الرواشح الفطرية لكل عزلة من عزلات الفطر *Trichoderma* ومن كل تركيز من التراكيز الثلاثة على طبق الاكار المائي الحاوي على 1مل من عالق بيوض النيماتود ، نشر 1 مل من راشح المستنبت PDB الخالي من أي نمو فطري كعامل مقارنة (1) ونشر1مل ماء مقطر معقم كعامل مقارنة (2) ، خصص ثلاثة مكررات لكل معاملة وفق التصميم التام التعشية ، حضنت جميع الاطباق على درجة حرارة (25±2) م° وتم حساب عدد البيض المصاب (غيرالفاقس) بعد مرور7 أيام من المعاملة وفي عشرة حقول مجهرية باستخدام المجهر التشريحي وعند قوة التكبير (40x) (21) . تم حساب النسبة المئوية للهلاك وفق المعادلة الاتية :

النسبة المئوية للهلاك = معدل عدد البيض غير الفاقس في عشرة حقول مجهرية / معدل عدد البيض الكلي في عشرة حقول مجهرية x 100

تأثير لقاح فطر *Trichoderma* على نيماتود العقد الجذرية *M.javanica* ومعايير نمو نبات الطماطة في البيوت البلاستيكية :

تم تنفيذ هذه التجربة من خلال تجهيزتربة مزيجية مخلوطة مع بتموس بنسبة 1:1وعقمت بجهاز الموصدة بدرجة حرارة 121° م وضغط 1بار لمدة ساعة ، وزعت التربة في أصص بلاستيكية سعة (1) كغم تربة . أضيف اللقاح الفطري بواقع 2 غرام من بذور الحنطة الحاوية على الفطر *T. harzianum* (T6) لكل أصيص ، علما ان الغرام الواحد من اللقاح الفطري يحتوي على4.7×10^8بوغ (تم عد الابواغ بأخذ 1غم من اللقاح الفطري ووضعه في دورق معقم يحوي 100مل ماء مقطر وبأستخدام شريحة العد (Hemocytometer) ، وتمت أضافة لقاح الفطر قبل أسبوع من أضافة لقاح النيماتود لغرض اتاحة الفرصة للفطر للنمو وتكوين الهايفات ، إذ تم أضافة لقاح النيماتود وبواقع3مل من العالق المائي الحاوي على البيوض (1000 بيضة/ مل) وتم زرع الاصص ببادرات طماطة عمر أسبوعين وكانت المعاملات كما يلي :

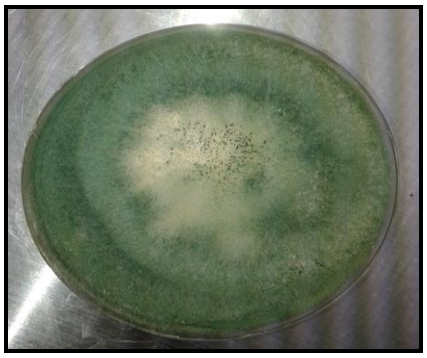
1- تربة معقمة (معاملة مقارنة).
2-تربة ملقحة بالفطر T.harziznum (T6) .
3- تربة ملقحة بالفطر *T. harzianum* (T6) + Nematode .
4- تربة ملوثة بـ Nematode فقط .

بعدها وزعت الاصص بالظلة حسب التصميم تام التعشية Complete – Randomized- Design (C.R.D) وتم عمل ثلاثة مكررات لكل معاملة وجرت متابعة دورية للتجربة وسقيت الاصص بالماء المقطر المعقم كلما دعت الحاجة وفي نهاية التجربة (شهرين) تم قلع النباتات وتم قياس معايير نمو نباتات الطماطة (طول الساق والجذر والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري) وعدد العقد الجذرية في 1غرام من المجموع الجذري .

النتائج والمناقشة

عزل الفطر *Trichoderma* من التربة وتشخيص انواعه

بينت نتائج عزل الفطر *Trichoderma* من عينات الترب المأخوذة من حقول وبيوت بلاستيكية لنباتات العائلة الباذنجانية والقرعية للمواقع الزراعية في محافظة واسط على أن 15عينة من أصل 25عينة تحتوي على الفطر *Trichoderma*وبالتنقية حصلنا على 7عزلات محلية من الفطر *Trichoderma* تابعة لأربع أنواع مختلفة هي: *T.harzianum* ، *T.hamatum*،*Trichoderma*sp1 و *Trichoderma* sp2حيث أمتازت بعض هذه العزلات بمستعمرات لونها أخضر مزرق أو أخضر مبيض شكل (1) .



A

B

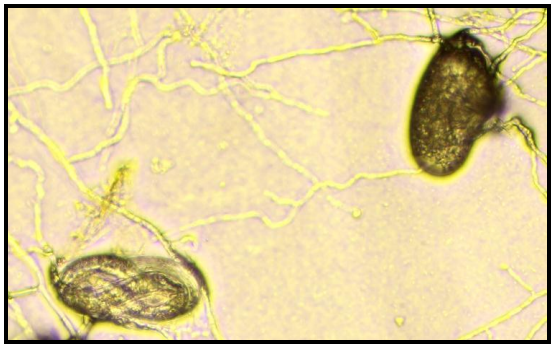
شكل(1): الاطباق الزرعية لأنواع الفطر *Trichoderma*

A - عزلة الفطر *T.hamatum*1

B - عزلة الفطر *T.harzianum*3

تأثيرعزلات الفطر *Trichoderma* في النسبة المئوية لفقس البيض

أظهرت النتائج كفاءة عالية لجميع العزلات المختبرة في التطفل على بيوض النيماتود *Trichoderma* للفطر للبيوض المصابة (غير ، أذ أرتفعت النسبة المئوية الفاقسة) شكل (2) لأغلب هذه العزلات ، حيث كانت والمعزولة من منطقة (T6) 3 *T.harzianum*العزلة اذ شيخ سعد هي الاكثر فعالية مقارنة بالعزلات الاخرى وبفروق معنوية مع جميع 97%تطفلها بلغت نسبة) ، يليها في ذلك العزلات 2العزلات (جدول *T.hamatum*1،*T.harzianum*2، *T.hamatum*2 92.2%أيضاً وكانت حققت نسبة تطفل عالية والتي على الترتيب وبدون فروق 90.4% ،90.8%، تطفل سجلت في حالة معنوية بينهما ، أقل نسبة أذ كانت نسبة تطفل sp1 *Trichoderma*العزلة 77.5 . %العزلة



شكل (2): تطفل العزلة *T.harzianum* 3 على بيوض النيماتود*M.javanica*

جدول (2) : تأثير عزلات الفطر *Trichoderma*في فقس بيض النيماتود . *M javanica*

العزلات الفطرية	النسبة المئوية لهلاك البيض	متوسط البيض الكلي	متوسط البيض الفاقس	متوسط البيض المصاب
*T.hamatum*1 (T1)	92.2	69.4	5.4	64
*T.harzianum*1 (T2)	80.4	31.7	6.2	25.5
*T.harzianum*2 (T3)	90.8	82	7.5	74.5
Trichoderma sp1 (T4)	77.5	34.3	7.7	26.6
Trichoderma sp2 (T5)	84.6	11.1	1.7	9.4
*T.harzianum*3 (T6)	97	51.6	1.5	50.1
*T.hamatum*2 (T7)	90.4	22	2.1	19.9
معاملة مقارنة	10.3	34.8	31.2	3.6
L.S.D (0.05)	4.48	11.56	9.47	4.72

* كل رقم يمثل معدل عشرة حقول مجهرية.

إن التفوق المعنوي الذي حققته العزلات مقارنة بمعاملة المقارنة يؤكد الكفاءة التطفلية العالية لأغلب العزلات ونشاطها الأنزيمي أذ أن معظم أنواع الفطر *Trichoderma* تنتج العديد من الأنزيمات الفعالة وخاصة أنزيم الـ Chitinase الذي يحلل قشرة بيوض النيماتود وبالتالي يسهل عملية دخول الخيوط الفطرية الى داخل البيوض ثم التغذي على محتوياتها (22).

أشار Jamshidnejad وأخرون (23) الى أن الفطر *T.harzianum* أختزل نسبة فقس البيوض النيماتود العقد الجذرية *M.javanica* الى 52% وحقق نسبة هلاك مقدارها 53 و 63% في يرقات الطور الثاني (J2) بعد يومين وأربعة أيام على الترتيب .

أشارت دراسة مشابهة الى قابلية الفطر *T.harzianum* في التطفل على بيوض نيماتود العقد الجذرية *M.incognita* من خلال أخراق هايفات فطر لبيوض النيماتود وأنتاج مواد أيضية سامة تمكن الفطر من التغذي على محتوياتها (24) .كما أشار Suarez واخرون (25) الى أن النسبة المئوية لفقس بيوض النيماتود *M. incognita* قد أختزل بشكل كبير بواسطة الفطر *T.harzianum* وأن هذا الفطر قادر على أنتاج أنزيمات تشبه التربسين يطلق عليها Trypsin – like protease .

تـــأثير راشـــح عـــزلات الفطـــر *Trichoderma* فـــي النســـبة المئويـــة لفقس بيوض النيماتود

أظهرت نتائج هذه الدراسة (جدول 3) وجود تاثير واضح لراشح عزلات الفطر *Trichoderma* المختبرة وبثلاثة تراكيز (100 ، 50 ، 25 %) في نسبة فقس بيوض النيماتود (هلاكها) مقارنة مع معاملة المقارنة، حيث كانت نسبة الهلاك عند التركيز (100%) مرتفعة مقارنة بالتراكيز الاخرى ، وكان راشح العزلة *T. harzianum*3 هو الاكثر فعالية مقارنة برواشح العزلات الأخرى حيث كانت نسبة الهلاك 96.7 ، 75.5، 56.3 % عند التراكيز (100 ، 50 ، 25%) على التوالي وكانت العزلة *Trichoderma* sp2 هي العزلة الأقل تأثيراً مقارنة بالعزلات الأخرى أذ كانت نسبة التطفل 76.4 ، 59.7 ، 38.6% عند التراكيز (100%، 50%، 25%) على الترتيب.

كان معدل النسبة المئوية لهلاك البيض عند العزلة *T. harzianum*3 هو 74.62% وقد تفوقت به معنوياً على كافة العزلات عدا العزلة *T.hamatum*1 والعزلة *T.harzianum*2 ، وكان معدل النسبة المئوية لهلاك البيض عند التركيز 100% هو 82.72% وقد تفوق به معنوياً على كافة التراكيز ، لوحظ بأن التأثير يزداد بزيادة التركيز في كافة العزلات الفطرية المختبرة . اما معاملة المقارنة (ماء مقطرمعقم) فكانت نسبة منع فقس البيض (12.4%)، وكانت معاملة المقارنة (رشاحة المستنبت PDB مختلف التركيز) فقد بلغت (43.3%) ،(35.9%) ، (24.6%) عتد التراكيز (100% ،50% ،25%) على الترتيب . توافقت النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة حول أرتفاع كفاءة راشح عزلات الفطر*Trichoderma* مع أرتفاع درجة تركيز راشح الفطر مع نتائج دراسات أخرى حيث أكدت أفضلية التركيز الاعلى لراشح الفطر *T.viridi* في منع فقس بيض النيماتود *M.incognita* وذلك نتيجة أفرازعزلات الفطر أنزيمات محللة للبروتينات (Proteases) وأنزيمات محللة للدهون (Lipases) وأنزيمات محللة للسكريات المتعددة (Polysccharide) ، حيث أثرت هذه الانزيمات تأثيرا

كبيرا في أختراق قشرة بيوض النيماتود وهذا ما سهل دخول السموم والمضادات الحيوية التي أفرزتها عزلات الفطر*Trichoderma*الى داخل البيض مما أدى الى تشوه النمو الجنيني ليرقات النيماتود وعدم فقسها (27,26).

جدول (3) : تأثير تراكيز مختلفة لراشح عزلات الفطر*Trichoderma* في فقس بيض النيماتود *M. javanica*

المعاملات	النسبة المئوية لهلاك البيض			المعدل
	التراكيز %			
	100	50	25	
*T.hamatum*1 (T1)	91.3	70	50.7	70.29
*T.harzianum*1 (T2)	88.9	68.8	48.4	66.2
*T.harzianum*2(T3)	90.4	70.5	51.4	70.26
Trichoderma spp1(T4)	84.8	66.9	47.7	65.33
Trichoderma spp2(T5)	76.4	59.7	38.6	58.63
*T.harzianum*3(T6)	96.7	75.5	56.3	74.62
*T.hamatum*2 (T7)	91,2	71.3	53.6	69.8
مستنبت PDB بدون راشح الفطر	43.3	35.9	24.6	34.34
معاملة مقارنة (ماء مقطر)	12.4			
المعدل	82.72	63.37	44.76	-
	العزلات	التراكيز	xالعزلات التراكيز	
L.S.D(0.05)	4.532	2.776	7.85	

* كل رقم يمثل معدل لعشرة حقول مجهرية

وأتفقت النتائج أيضاً مع ما جاء به Abd وأخرون (28) ودعباج والشريف (29) الذين أكدوا دور قشرة بيوض النيماتود في حماية اليرقة من الظروف الخارجية ،كما أشاروا الى دور الانزيمات (Cellulase و-a gluconase و Chitinases) التي تفرزها الفطر*Trichoderma* والتي تساعدها في النفاذ خلال بيوض النيماتود ومنع خروج اليرقات منها.

أما Siddiqui وأخرون (30) فقد أشاروا الى تأثير رشاحة الفطر*Trichoderma* في منع فقس بيض النيماتود مقارنة بالبيوض المعاملة بالماء المقطر فقط وهذا مايتوافق مع النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة. كما بينت نتائج هذه الدراسة تأثير راشح العزلات المختلفة للفطر *Trichoderma*في نسبة فقس بيض النيماتود وهذا ماتوافق مع نتائج دراسات أخرى حيث جاء Dababat و Sikora (31) بالنتائج نفسها، ويعزى هذا الاختلاف في التأثير لراشح عزلات الفطر على فقس البيوض الى تباين قدرة عزلات الفطر *Trichoderma* في أنتاج الانزيمات والمركبات السامة للنيماتود.

كما أتفقت النتائج أيضاً بخصوص النسبة الاعلى للتطفل على بيوض النيماتود لراشح عزلة الفطر *T.harzianum*وعند التركيز(100%) مع نتائج Stepen و Khattak (32) في باكستان حيث بلغت (90%) بينما بلغت نسبة فقس البيض في معاملة المقارنة (رشاحة المستنبت فقط) (9%), أما معاملة المقارنة الثانية الماء المقطر فقد بلغت (5%) .ذكر Murslain وأخرون (33) أن فقس بيوض النيماتود *M. javanica* قد أختزل معنوياً بعد المعاملة براشح الفطر *T.harzianum* وأن هذا الأختزال يزداد بزيادة تركيز الراشح المستعمل.

تأثير لقاح الفطر *T.harzianum*3 في نيماتود العقد الجذرية *M.javanica* ومعايير نمو نبات الطماطة في البيوت البلاستيكية

- طول الساق

أظهرت النتائج فاعلية العزلة *T.harzianum*3(T6) في تحفيز نمو النبات وزيادة طول الساق لنبات الطماطة ، أذ لوحظ أعلى متوسط لطول النبات في معاملة الفطر *T.harzianum*3(T6) وكان 19.7سم والتي تفوقت معنويا على كافة المعاملات الاخرى جدول (4) ، يليها في ذلك معاملة المقارنة (16.1سم) ثم معاملة لقاح الفطر مع النيماتود (14.4سم) الذي تفوق بدوره على معاملة النيماتود فقط (9.6سم).

جدول (4) : تأثير العزلة المنتخبة للفطر *T. harzianum*3 والنيماتود في معدل طول الساق والجذر لنبات الطماطة

المعاملات	معدل الطول (سم)	
	الساق	الجذر
تربة معقمة (معاملة مقارنة)	16.1	15.4
تربة ملقحة بالفطر *T. harzianum* 3(T6)	19.7	21.3
تربة ملقحة بالفطر *T. harzianum* (T6) + Nematode فقط	14.4	11.1
تربة ملوثة بـ Nematode فقط	9.6	6.2
LSD(0.05)	0.46	1.73

* كل رقم يمثل معدل ثلاثة مكررات

إن التفوق المعنوي الذي حققته معاملة الفطر *T.harzianum*3(T6) في معدل طول ساق بادرة الطماطة قد يعزى الى فاعلية الفطر في التطفل على الأطوار المختلفة لنيماتود العقد الجذرية أضافة الى النشاط الأنزيمي الذي يتميز به الفطر والذي يلعب دور كبير في أختزال النسبة المئوية لفقس البيوض وبالتالي أختزال الكثافة السكانية للطور اليرقي الذي يهاجم الجذور ، اذ أشارت العديد من الدراسات الى كفاءة هذا الفطرفي أنتاج العديد من الأنزيمات الفعالة في هذا المجال ومنها الـ Chitinase و Proteases والتي تعمل على تحطيم الكايتين الموجود في جدار جسم الأفة وبالتالي سهول أختراقه والتطفل عليه ، أذ أشار Younis و Ahmed (34) الى قدرة الفطر *T.harzianum* على انتاج انزيم Chitinase بعد تنميته على وسط البطاطا دكستروز السائل ، واشارت دراسات مشابهة الى ان الفطر *Trichoderma* له القابلية على مهاجمة الممرضات النباتية وذلك بأفراز بعض الأنزيمات المحللة مثل الـ Chitinase والـ Proteasesوالتي تحلل الجدار الخارجي للخيوط الفطرية كونه يحتوي على كايتين وبروتينات (35) و (36) .

وجد أسطيفان وأخرون (37) ان أضافة الفطريات *T.harzianu*m، *T.koningii* ، *T.virens* الى تربة ملوثة طبيعيا بنيماتود تعقد الجذورفي أحد البيوت الزجاجية وقبل أسبوع من زراعة نبات الخيار أدى الى أنخفاض الاصابة بنسبة 78.79% ، 62.89% ، 54.2% على الترتيب . كانت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع نتائج الحديثي (38) الذي أشار الى ان معاملة بادرات الطماطة بالفطر *T.harzianum* أدت الى حدوث زيادة في أرتفاع نبات الطماطة وفي معدل الانتاج . كما أتفقت النتائج مع نتائج الشيباني (39) إذ وجد ان معاملة بادرات الطماطة بالفطر *T.harzianum* قبل نقلها للحقل أدت الى زيادة في معايير النمو لنبات الطماطة وكانت نسبة الزيادة في أرتفاع النبات 3.3%.كما أتفقت هذه النتائج مع نتائج بعض الدراسات حيث تمكن كلا من Mahfouz و Kabeil (11) أثبات كفاءة ثلاث عزلات للفطر *T.harzianum* في مكافحة ديدان تعقد الجذور نوع *M.incognita* في نبات الطماطة حيث أدى أضافة الفطر الى خفض الاصابة بالنيماتود وزيادة في معايير النمو.

طول الجذر

أظهرت النتائج جدول (4) تفوقا معنويا لمعاملة الفطر *T.harzianum*3(T6) في متوسط طول الجذر حيث تفوقت معاملة الفطر في زيادة متوسط طول الجذر قياسا مع باقي المعاملات ، أذ سجلت معاملة الفطر أعلى متوسط لطول الجذر (21.3 سم) وتفوقت معنوياً على جميع المعاملات بينما سجلت معاملة المقارنة (15.4 سم) في حين سجلت معاملة الفطر مع النيماتود ومعاملة النيماتود فقط (11.1سم) ، (6.2 سم) على التوالي ، ويتضح من نتائج جدول (4) ان معاملة الفطر + النيماتود قد تفوقت على معاملة النيماتود فقط . ويعود ذلك الى دور عزلات الفطر *T.harzianum* في استعمار منطقة الجذور وماتسببه من تحويرات ولاسيما عند أضافتها الى التربة قبل أسبوع من أضافة لقاح الديدان ، أذ تؤثر عزلات الفطر في أفرازات الجذور وبالتالي تكون طاردة او سامة للديدان (40).

القابلية على *T.harzianum* كما ان لعزلة الفطر أختراق الجذور ومنافسة الديدان على مناطق اختراقها واستيطانها في الجذر ، بالاضافة الى قدرتها على انتاج مجموعة من المضادات الحياتية السامة للديدان فضلا عن قابليتها على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات (41) .

) في 42 (AL-Ameiriكما تنسجم هذه النتائج مع نتائج دراسة تم أجراؤها بالاردن حيث وجد ان معاملة *T.harzianum* شتلات الطماطة بعزلات الفطر أدت الى زيادة في معايير النمو للنبات كما جاءت النتائج متطابقة مع النتائج التي تم الحصول عليها من) والتي أشارت الى أن 43 وآخرون (Kumarقبل دورا فعالا في زيادة طول *T.hazianum*للفطر الجذر.

الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري

(T6)3الفطر) تفوق معاملة 5أظهرت النتائج جدول (الوزن الطري في زيادة معدل *T.harzianum* للمجموع الخضري على جميع المعاملات إذ بلغ غم) ثم (7.84غم) يليه في ذلك معاملة المقارنة (10.42 غم) والتي تفوقت 5.32معاملة الفطر مع النيماتود (ايضاً معنوياً على معاملة النيماتود فقط والتي سجل فيها غم) ، (1.76اقل وزن طري للمجموع الخضري وكان كما بينت النتائج تفوق كافة المعاملات معنوياً على معاملة النيماتود فقط من حيث الوزن الجاف للمجموع) حيث أظهرت النتائج تفوقاً 5الخضري جدول (في *T.harzianum* (T6)3معنوياً لمعاملة الفطر متوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري مقارنة مع غم) ، تليها معاملة (1.594باقي المعاملات ، أذ سجلت غم)، ثم معاملة الفطر مع (0.889المقارنة غم) ، في حين سجل أقل وزن جاف (0.531النيماتود

للمجموع الخضري في معاملة النيماتود فقط وكان غم 1غم) . وفيما يخص عدد العقد الجذرية في (0.187 .*T*من الجذور المصابة أظهرت النتائج فعالية الفطر *harzianum* في خفض معدل عدد العقد الجذرية معنويا مقارنة بمعاملة النيماتود فقط ,في حين لم يلاحظ اي فرق معنوي في معاملة المقارنة ومعاملة الفطر *T.harzianum*. فقط

إن التفوق المعنوي في متوسط الوزن الطري والجاف للمعاملات كافة على معاملة النيماتود فقط يؤكد فاعلية الفطر في التاثير على النيماتود وتحفيز نمو النبات من خلال خفض مجتمع الديدان في التربة والجذر مع الحفاظ على الجذر سليم قدر الامكان للقيام بالوظائف الفسلجية من أمتصاص الماء والاملاح والعناصر المغذية أضافة الى أستحثاث المقاومة وزيادة جاهزية العناصر الغذائية وتصنيع منظمات النمو المسؤولة عن أستطالة وأنقسام الخلايا وأتاحة نقلها الى المجموع الخضري لتساهم في زيادة نموالمجموع الخضري ،) الى أن 44حيث أشار في هذا المجال السامرائي (القدرة على *Trichoderma*لبعض عزلات الفطر زيادة جاهزية بعض العناصر المغذية للنبات وإنتاج هرمونات الأثيلين المحفزة لنمو النبات . تنسجم النتائج التي تم الحصول عليها مع نتائج دراسة أخرى أثبتت في زيادة *Trichoderma* فاعلية عزلات الفطر متوسط الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري وأخرون Arian). كما أشار45للفواكهه والخضر (وخلاصة *T. harzianum*) الى فاعلية الفطر 46(

في أختزال .*Azadirachta indica* L نبات الـ) وتحفيز نمو نبات *M. javanica*الأصابة بالنيماتود (الطماطة وزيادة في طول الجذر والساق بالأضافة الى زيادة الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري . أما أنخفاض الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري في معاملة النيماتود فقط سببه وجود أعداد كبيرة من الديدان أصابت الجذر وأن تفاقم هذه الاصابة مع مرور الوقت أدى الى فشل الجذر في القيام بوظائفه الفسلجية بالتالي أنعكس سلبا على تطور المجموع الخضري ، بالاضافة الى دور الديدان في سلب ماتحتاجه من عناصر ومواد من النبات ليساهم في تطوير الديدان ، حيث تعمل الديدان على زيادة حجم وأنقسام الخلايا الجذرية وزيادة عدد وحجم الانوية فيها لتصنيع البروتينات التي تحتاجها الديدان في النمو والتكاثر، أذ ان تصنيع الخلايا العملاقة يستنزف قدراكبيرا من طاقة ومغذيات النبات ومن ثم تدهور النبات وأنخفاض في معدلات الوزنان الطري والجاف للمجموع الخضري للنبات المصاب بالنيماتود . كما أن أصابة جذور النبات بديدان العقد الجذرية تعرقل عمليتي التنفس والبناء الضوئي وتصنيع الكلوروفيل ومايتبعه من تأثيرات سلبية على النبات وأنخفاض الوزن الطري والوزن) . 47الخضري (الجاف للمجموع

جدول(5) : تأثير العزلة المنتخبة للفطر *T.harzianum* في النيماتود و معدل الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري لنبات الطماطة

المعاملات	معدل عدد العقد الجذرية	معدل الوزن الطري (غم)		معدل الوزن الجاف (غم)	
		المجموع الخضري	المجموع الجذري	المجموع الخضري	المجموع الجذري
تربة معقمة (معاملة مقارنة)	0	7.84	0.54	0.889	0.232
تربة ملقحة بالفطر *T. harzianum* (T6)	0	10.42	0.75	1.594	0.362
تربة ملقحة بالفطر Nematode + *T. harzianum* (T6)	2.3	5.32	0.48	0.531	0.261
تربة ملوثة بـ Nematode فقط	9.4	1.76	0.21	0.187	0.081
LSD (0.05)	1.2	1.16	0.10	0.34	0.02

الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري

تشير النتائج الى وجود تبايناً معنوياً بين جميع المعاملات في مؤشرات الوزن الطري والجاف ، وقد حققت معاملة)5للمجموع الجذري جدول (أعلى قيمة للوزن الطري *T.harzianum* 3الفطر والجاف للمجموع الجذري وتفوقت معنويا على جميع المعاملات ، أذ سجلت وزناً طرياً للمجموع الجذري غم) 54.0غم) ، تليها معاملة المقارنة (0.75مقداره (غم) ، 0.(48 ، ثم معاملة الفطرمع النيماتود وزن طري وكان وسجلت معاملة النيماتود فقط أقل ، كما أظهرت النتائج وجود تباين معنوي) غم0.21(بين جميع المعاملات في مؤشرات الوزن الجاف للمجموع الجذري ، أذ لوحظ تفوق معنوي لمعاملة

على جميع *T.harzianum* الفطر غم)، يليه في ذلك(0.362المعاملات ، أذ سجلت ، ثم معاملة)غم 0.261معاملة الفطر مع النيماتود (غم) في حين سجلت معاملة 0.232o(المقارنة غم). 0.081النيماتود فقط (أن التفوق المعنوي لمعاملة الفطر على معاملة النيماتود الجذري قد يعزى في الوزن الطري والجاف للمجموع الى أفراز مواد من قبل الفطر تعمل على تحفيز النمو وأن وجود الفطر يؤدي الى زيادة المساحة السطحية وبالتالي زيادة أمتصاص الماء والاملاح والعناصر زيادة جاهزية بعض المغذيات المغذية ، ويعمل على المعدنية في محيط الجذور بالاضافة الى كبح أصابة)48الجذور بالمسببات المرضية (

المصادر

1-Sasser,J. and Freckman, D. (1987). A world perpective on nematology: The role of the society. 7–14 In: Vetch, J. and Dickson (Eds.). Society of Nematologists, Hyattsville, Maryland. 509.

2-Kathy, M. (2000). Root parasitic nematode host range and damage level on Oregon vegetative crops: a literature survey . Nematode Testing Service. Extension Plant Pathology, Oregon.

3-Abu-Gharbieh, W. I. (1982). Distribution of Meloidogyne javanica andMeloidogyne inconita in jordan.Nematologica,28:34-38.

4-Al-Hazmi, A. S. (1985). Susceptibility of some cucurbit cultivars, grown in Saudi Arabia to root-knot nematodes. J. Coil. Agric., King Saud Univ., 7:439-445.

5-Stephan, Z. A. ; Awan, A. H. and Antoon, B. G. (1988). Effect of planting date on development of root-knot nematode (*Meloidogyne* javanica), plant production and percentage of infection of tomato, eggplant and cucumber. Zanco, 6: 59–68.

6-Thomason, I. J., (1987). Challenges facing nematology: Environmental risks with nematicides and the need for new approaches. In: Vistas on Nematology. Ed. Veech, J. A. and Dickson, D. W., Hyattsville, MD: Society of Nematologists. . 469–476.

7- Zukerman, B. M. and Esnard, J. (1994). Biological control plant nematodes current status and hypothesis. Japanese J. Nematol., 24: 1–13.

8-Stirling G. R. (1991). Biological Control of Plant Parasitic Nematodes, CAB International, Wallington, UK, 282.

9-Shoresh, M. , Gray, E.H. and Mastouri. F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. phytopathol. Annual reviews. org. 25.

10- Verma ,M. , Brar , S. K. Tyagi , R.D. , Surampalli, R.Y. and Val´ero, J.R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma spp*. : Panoply of biological control. J. Biochemical Engineering , 37:1–20.

11-Mahfouz , M. M. A. and Kabeil, S. A. S. (2010). Management of the Root-Knot nematode, *Meloidogyne incognita* on Tomato in Egypt. J. of American Science , 6(8): 256–262.

12-Goswami, B. K. ; Bhattcharya , C. ; Paul , A. R. and Khan, T.A. (2012). Performance of pesticide and biopesicide on grouth, yield and

forskolin content in *coleus forskohlii* infected with *Meloidogyne incognita* . Pak. J. Nematol., 30 (1): 49-56.

13- Santhosh, J. E. ; Beena, B. and Ramana, K. V. (2005). Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. J. Invert. Pathol., 88(3): 218 –225.

14) . 2007 .- دغمان ، أ .م ، الطويل .م .ع . التعرف على الفلورا الفطرية القاطنة في تربة الزجاجية بمنطقة طمينة بمدينة الصويات مصراته . ليبيا . المؤتمر العلمي الرابع عشر من 15 – 19 / أبريل 2007/ كلية المعلمين السويس . جامعة قناة السويس بمصر.

15- Domsch, K. H. ; Gams, W. and Anderson, T. H (1980). Comependium of soil fungi. (1). Academic Press, London, U.K. 859.

16- Dewan, M. M. (1989). Identity and frequency of occurrence of fungi in roots of Wheat and rye grass and their affection take-all and host growth. Ph. D. Htesic , Univ. Wes. Australia . 210.

17- Hussy, R. and K. Barker. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne spp*. including a new technique. *Plant Disease Reporter*. 57: 1025–1028.

18- Meyer, S. ; Robin, N. ; Xing, N., Richard, A. ; Jean, J. and James, K. (2004). Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile mortality. Nematology, 6 (1): 23–32.

19-Zareen, A.; Zaki, M. J. and Ghaffar, A. (1999). Effect of culture filtrate of fungi in the control of *Meloidogyne javanica*, root knot nematode on okra and broad bean. Pak. J. Biol. Sci. 2: 1441–1444.

20-Aboud, H. and Fattah, F. A. (1989). The effect of *Trichoderma* isolates plant growth parameters and parasitism of nematode eggs. Intentional Symposium on Biological control .Antalyla-Turkey.:59-65.

21-Khattak, B. Saifullah, F. and Stephen, M. (2008). Effect of some indigenous isolates of *Trichoderma harzianum* on root knot nematode, *Meloidogyne javanica* (TREUB) chitwood. Sarhad. J. Agric., 24: 285288.

22-Windham, G. L.; G. A. Pederson. (1993). Interaction of *Trichoderm harzianum*, *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne arenaria* on Trifoliun Repens. Nematropica USA, 23(1), , 99-103.

23-Jamshidnejad, V. ; Sahebani, N. and Etebarian, H. (2013) . Potential biocontrol activity of *Arthrobotrys oligospora* and *Trichoderma harzianum* B1 against *Meloidogyne javanica* on tomato in the greenhouse and laboratory studies. Archives of phytopathology and plant protection 46(13): 1632 – 1640.

24- Dos Santos, M. A.; Ferraz, S. and Muchovej, J. J. (1992) Evaluation of 20 species of fungi from Brazil for biocontrol of *meloidogyne incognita* race-3. Nematropica, 22:183-192.

25-Suarez, B.; Rey, M. and Casstillo, P.(2004). Isolation and characterization of PRA1, a trypsin –like protease from the biocontrol agent T. *harzianum* CECT 2413 displaying nemeticidal

activity.Applied Microbial Biotechnology 65:46 – 55.

26- Sharon, E.; Bar-Eyal, M. ; Chet, I. ; Herrara-Estrella, A. ; Kleifeld, O. and Spiegle, Y. (2001). Biological control of the Root-knot Nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*, Phytopathology, 91(7): 687– 693.

27-Sharma, M. and S.K. Saxena.(1992). Effect of culture filtrates of the *Rhizoctonia Solani* and *Trichoderma* viride on hatching of larvae of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). Current Nematology ,3: 61– 63 .

28-Abd, E. L. ; Moity, H. ; Riad, F.W. and EL-Eraki. S. (1993). Effect of single and mixture of antagonistic fungi on the control of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Egyption Journal Agriculture Research,71:91-100.

29 ـدعباج. خليفة. حسن . وصالح الهادي) . أختبار كفاءة المبيد الحيوي **(2005الشريف .** Biocont على بعض ممرضات النبات تحت ظروف البيوت المحمية والمختبر . المؤتمر الوطني الثالث للتقنيات الحيوية (ملخص) .

30-Siddiqui , I..A. ; Zareen, A. ; Zaki, M. J. and ShahedShaukat, S. (2001). Use of *Trichoderma* species in the control of *Meloidogyn Javanica* Root Knote Nematode in Okra and Mungbean.Pakistan Journal of Biological SciencesPakstan, 4(7):846-848.

31-Dababat, A. and Sikora, A. (2007).Use *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Jordan Journal of Agriculture Sciences 3 (3):297-309.

32- Stepen, S. M. and B. Khattak. (2007). Isolation of *Trichoderma harzianum* and in vitro screening for its effectiveness against rootknot nematodes (*Meloidogyne* sp.) from Swat,Pakistan. Pakistan Journal of Nematology, 25:313-322.

33-Murslain , M. ; Javed , N. ; Khan , S. A. ; Khan , H. U. ; Abbas, H. and Kamran , M. (2014). Combined efficacy of *Moringa oleifera* leaves and a fungus,*Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne javanica* on eggplant. pakistan J. Zool., 46(3) : 827-832.

34-Younis, N.A. and Ahmed, A.S.(2004). Factors affecting secretion of the antifungal chitinase by *Trichoderma harzianum* and *T.longibrachiatum*. Buu. fac. Agric., Cairo Unv.,.55:121–144.

35-Haran, S.; Schickler, H. and Chet, I.(1996). Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. Microbiology. 142:2321–2331.

36-DelaCruz, J. ; Rey , M .; Lora , J.M. ; Hidalgo-Gallego, A. ; Dominguez , F. ; pintor – Toro , J. A. ; Liobell ,A.and Benitez, T. (1992) .Carbon Source control on chitinase , B-glocanase and Chitobiase from *T.harzianum* .Archives in Microbiology .159:316-322.

37 ـ اسطيفان، زهير عزيز وكامل سلمان جبر وباسمة جورج انطون وهديل بدري داود. المكافحة الحيوية لنيماتودا تعقد الجذور **(2002)** والفطر رايزوكتونيا في *Meloidogyne* spp نباتات الباذنجان و الخيار. مجلة الزراعة العراقية، 7) 5 :(1–8 .

38) 2002- الحديثي ، بهاء عبد الجبار. تاثير النشاطالأنزيمي للفطر *Trichoderma harzianum* في التربة ونمو حاصل نبات الطماطة . أطروحة دكتوراه– كلية الزراعة– جامعة بغداد.

39. (2005)- الشيباني ،جواد عبد الكاظم كمال . تأثير التسميد الكيمياوي والعضوي الاحيائي (الفطري والبكتيري) في نمو وحاصل نبات الطماطة. اطروحة دكتوراه . قسم علوم التربة والمياه-كلية الزراعة . جامعة بغداد.

40-Selim,M. E. M. (2010). Biological, chemical and molecular studies on the systemic induced resistance in tomato against *Meloidogyne incognita* caused by the endophytic *Fusarium oxysporum*, Fo162. PhD thesis, University of Bonn.pp.110.

41-Martinuz,P.A.(2011). Interrelationships between mutualistic endophytic microorganisms , the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*and the sap-sucking insect *Aphis gossypii* on tomato, squash and Arabidopsis. PhDthesis, Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät, Rheinischen Friedrich, Wilhelms, Universität , Jerman..116.

42-Al-Ameiri, N. S. (2009). Efficiency of Jordanian *Trichoderma harzianum* (Rifani) isolates against *Meloidogyne javanica* (Treub) on tomato (*Lycopersicon esculentum*Mill.) Jordan Journal of Agricultural Sciences,5 (4): 146-156.

43-Kumar, G. B; P. R. Kumar , and R. K. Singh. (2006). Integrated application of some compatible biocontrol agents along with mustard oil seed cake and furadan on *Meloidogyne incognita* infecting tomato plants. J. Zhejiang Univ. Science B, 7(11): 873-875.

44- السامرائي، فالح حسن سعيد. (2002). تاثير عزلات من الفطر *Trichoderms spp.* في إنبات بذور وشتلات النارنج Sour orange (*Citrus aurantium*.) كلية رسالة ماجستير . جامعة بغداد. الزراعة .

45-Al-Rajhy, A. M. H. (2013). Impact of biofertilizer *Trichoderma harzianum* Rifai and the biomarker changes in *Eruca Sativa* L. Plant Grown in Metal-Polluted Soils. World Appl. Sci. J., 22 (2): 171-180.

46-Arain, R. R. ; Syed , R. N. ; Rajput, A. Q. ; Khanzada1,M. A. ; Rajput, N. A. and Lodhi1, A. M. (2015). Comparative efficacy of *Trichoderma harzianum*, neem extract and furadan on *Meloidogyne incognita* infecting tomato plant growth. Pakistan Journal of Nematology, 33(1): 105-112.

47-Melakeberhan, H. (2004). Physiological interactions between nematodes and their host plants. In: Z.X. Chen, S.Y. Chen, D.W. Dickson, (edrs.) Nematode Management and Utilization II, CABI Publishing,.786.

48-Bourguignon, E. (2008). Ecology and diversity of indigenous *Trichoderma* species in vegetable cropping systems, this thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy, Lincoln University.