# التحري عن نيماتودا الحمضيات Tylenchulus semipenetrans Cobb في بساتين الحمضيات في محافظة واسط ومكافحتها بالطرائق الإحيائية

إيناس حكيم عبد المهدي محمد جبير حناوي هادي مهدي عبود*

جامعة واسط - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

*وزارة العلوم والتكنولوجيا – دائرة البحوث الزراعية قسم التقانات الإحيائية

# Detection and Biocontrol of citrus nematode Tylenchulus semipenetrans in Wasit province

Enas H. Abdul mahdi Mohammed J. Hanawi 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

This study had been conducted to detecte the existence of citrus nematode Tylenchulus semipenetrans in Wasit province, and to evaluate the effect of three biocontrol agents (T.harzianum, T.hamatum, Paecilomyces lilacinus) on larvae and eggs of this nematode in laboratory. The results of the existence of nematode in the areas of study shown significant variation between the studied areas and the highest population of larvae and females were recorded in Al-ssaouira district, where the number of larvae was 8.5 larva/250 g soil and 54.6 Female / 1 g of roots and the lower population was recorded in the AL-Muwafaqiya district which were 2.47 larva/250 g soil and 33.6 female/1g roots. The results also revealed that all bioagentsare effective in parasitizing the eggs and the more effective one is T.hamatum where the percent of parasitism was 85.49%. Field Experiment revealed the capacity of all tested fungi in reducing the population of nematode larvae in treated soil compared with non treated soil and the highest percent of reduction recorded in the case of Trichoderma harzianum which was 76.9% compared with the control 28.2%.

**Key words**: Citrus nematode , Fungi , Biocontrol , Trichoderma sp .Paecilomyces sp

**المستخلص**

أجريت هذه الدراسة للكشف عن وجود نيماتودا الحمضيات Tylenchulus semipenetrans في محافظة واسط وتقويم تأثير ثلاثة فطريات ( Trichoderma harzianum, Trichoderma hamatum ,Paecilomyces lilacinus) في بيوض ويرقات هذه النيماتودا. أظهرت نتائج تقدير الكثافه السكانية لكل من الإناث واليرقات لخمسة أقضية في المحافظة شملت ( قضاء الصويرة وقضاء الحي وقضاء النعمانية قضاء مركز الكوت وقضاء الموفقية ) وجود تباين معنوي بين المناطق المدروسة من حيث الكثافة السكانية وقد سجل قضاء الصويرة أعلى معدل لعدد اليرقات والإناث و كان عدد اليرقات $8.5\times10^3$يرقة /250 غم تربة ومعدل عدد الإناث وصل إلى 54.6 أنثى/ 1 غم من الجذور أما اقل كثافة سكانية فقد سجلت في قضاء الموفقية حيث كان عدد اليرقات $2.47\times10^3$ يرقة/ 250 غم تربة والإناث 33.6 أنثى / 1غم جذور. أظهرت النتائج أيضا ان جميع الفطريات كانت فعالة في هلاك البيوض وكان أكثرها فعالية هو الفطر T.hamatum اذ كانت النسبة المئوية لهلاك البيوض 85.46% بلبه في ذلك الفطر T.harzianum بنسبة 83.23% واقل نسبة سجلت في حالة الفطر P.lilacinus وكانت 61% .أظهرت التجربة الحقلية كفاءة جميع الفطريات المختبرة في اختزال الكثافة العددية ليرقات النيماتود T.semipenetrans في التربة المعاملة مقارنة بمعاملة السيطرة وكان الفطر T. harzianum قد حقق أعلى نسبة اختزال في الطور اليرقي وكانت 76.9%مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغت نسبة الاختزال عندها 28.2%

## المقدمة

تعد الحمضيات من أشجار الفاكهة المهمة والمنتشرة زراعتها في جميع أنحاء العالم بما في ذلك العراق ونظرا لأهميتها وانتشارها فأنها تكون عرضة للإصابة بالعديد من الآفات الزراعية ومن بينها النيماتود Nematodes إذ تصاب هذه النباتات بأكثر من 200 نوع من النيماتود المتطفلة على النبات وان أكثر هذه الأنواع خطورة وانتشارا هي نيماتودا الحمضيات Tylenchulus semipenetrans [1] .تعد نيماتودا الحمضيات Tylenchulus semipenetrans Cobb من الآفات الضارة التي تصيب العديد من الأنواع النباتية وخاصة الحمضيات وتسبب لها المرض المعروف بالتدهور البطئ (Slow decline) وقد اشتق هذا الاسم من التطور البطئ لأعراض هذا المرض إضافة إلى الزيادة البطيئة لأعداد النيماتود في البساتين المزروعة حديثا [2] . تصيب أكثر من 50 نوع من الحمضيات التابعة لعائلة Rutaceae [3] . إن من أهم الأعراض التي تظهر على الأشجار المصابة هي قلة الاستجابة لتسميد البوتاسيوم (K-fertilization) وضمور واختزال حجم الأوراق والفاكهة وتراكم الايونات الملحية في الأوراق أكثر مما في الجذور بالإضافة إلى قلة الإنتاجية ورداءة النوعية وضعف القيمة الاقتصادية للمحصول [4] , [5] , [6] .وما زال من الصعب مكافحة هذه الآفة ذات الانتشار الواسع بسبب عدم وجود طريقة معينة تكون كافية للسيطرة عليها بشكل تام [7] . إذ استعملت في مكافحتها العديد من الطرائق ومنها المكافحة الكيميائية التي على الرغم من كفاءتها ونتائجها الجيدة إلا إن استخدامها قد اختزل كثيرا في الفترة الحديثة بسبب التأثيرات السلبية الكثيرة التي تسببها للإنسان والبيئة والقيمة السوقية للمنتوج [8] .

وقد اتجه الباحثون في مجال مكافحة الآفات إلى التفكير في إيجاد طرائق بديلة عن طريقة استخدام المبيدات الكيميائية ، وكان احد هذه الطرائق البديلة هي المكافحة الإحيائية والتي تشير إلى استعمال كائنات حية فعالة للحد

من انتشار هذه الآفة أو التقليل من أضرارها الاقتصادية وكان من أهم الكائنات الحية المستخدمة في هذا المجال هي الفطريات ، حيث أشارت إحدى الدراسات إلى فعالية الفطريات Penicillium digdatum ,Trichoderma viride , Trichoderma harzianum والفطر Aspergillus niger في اختزال الكثافة السكانية للنيماتودا Tylenchulus semipenetrans في التربة فضلاً عن اختزال عدد الإناث وكتل البيض في الجذور كما أشارت فعالية هذه الفطريات في زيادة معايير نمو أشجار الحمضيات وزيادة الإنتاج [9] . كما أشار [10] إلى كفاءة البكتريا Pseudomonas fluorescens, والفطر Pochonia chlamydosporia والفطر T. harzianum في السيطرة على نيماتودا الحمضيات T. semipenetrans والحد من إضرارها واختزال الكثافة السكانية بنسبة (70.49%) بالإضافة إلى زيادة الإنتاجية إلى خمسة أضعاف .ونظرا لأهمية هذه الآفة وانتشارها في المحافظة وما تسببه من أضرار لأشجار الحمضيات وفعالية عوامل المكافحة الإحيائية في السيطرة عليها فقد أجري هذا البحث .

## المواد وطرائق العمل :

### جمع العينات :

اختيرت بساتين من خمسة أقضية مختلفة في محافظة واسط وشملت (قضاء الصويرة وقضاء الحي وقضاء النعمانية وقضاء الموفقية ومركز قضاء الكوت ) حيث جمعت عينات تربة وجذور لأشجار الحمضيات وعلى بعد 1.5 م من الجذع وعمق 5-15 سم من السطح ونقلت العينات إلى المختبر وحفظت في الثلاجة بدرجة 4º م لحين الاستعمال .

### تحضير اللقاح الفطري :

تم تحضير اللقاح الفطري لغرض التجارب المختبرية من خلال تنمية الفطريات ( Trichoderma harzianum , Trichoderma hamatum , paecilomyces lilacinus) والتي تم عزلها من بساتين الأقضية المذكورة أعلاه على الوسط الغذائي اكر مستخلص البطاطا والدكستروز ( PDA ) المجهز في أطباق بتري بلاستيكية قطر 9 سم وحضنت بدرجة حرارة 25±2º م لمدة سبعة أيام وعند استكمال النمو حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4ºم لحين الاستعمال . وتم تحضير لقاح الفطريات لغرض التجربة الحقلية باستعمال وسط الحنطة والماء بنسبة (7:3) لتنميتها ( T. harzianum ,T. hamatum, P. lilacinus) حسب الطريقة المتبعة من قبل حافظ [11] حيث تم تنمية الفطريات في دوارق زجاجية سعة 250 مل حاوية على الوسط الزرعي وبمعدل (50 غم/دورق) وتم تعقيمها بالموصدة (Autoclave) على درجة 121º م وضغط 1 كغم /سم٢ ولمدة 30 دقيقة ثم تم تلقيح الدوارق بعزلات الفطريات المستخدمة بواقع قرصين قطر (5 ملم) لكل فطر على انفراد من مزرعة نامية على وسط PDA وبعمر سبعة أيام وحضنت القناني لمدة 10 أيام وبدرجة حرارة 25 ±2 مº مع التقليب كل يوم لضمان تجانس اللقاح ومن ثم استخدم بواقع (6غم/م2).

### عزل النيماتودا :

### تقدير كثافة اليرقات :

تم حساب كثافة اليرقات وذلك بإضافة 250 غم من التربة بعد الخلط والتنعيم إلى لتر من الماء وتركت لمدة 3- 4 دقائق ثم مرر العالق من خلال مناخل بأحجام مختلفة وجمعت اليرقات من المنخل الأخير حجم 25µ في بيكر معقم وبحجم 50 مل ثم نقل 1 مل من العالق إلى شريحة حساب النيماتودا وتم حساب عدد اليرقات في1مل من العالق اليرقي [12]

### تقدير كثافة الإناث :

نفذ هذا الاختبار لمعرفة كثافة الإناث في المناطق المدروسة حيث تم اخذ 5غم من الجذور وغسلت بالماء برفق لإزالة بقايا التربة ونقلت إلى الخلاط الكهربائي وتشغيل الخلاط على السرعة القصوى لمدة 4-3 دقائق

حسب الطرية الموصوفة من قبل [13] بعدها مرر العالق من خلال المناخل وجمعت الإناث من المنخل الأخير حجم 25µ في بيكر معقم وبحجم 50مل ثم نقل 1 مل من العالق إلى شريحة عد النيماتودا

**اختبار كفاءة الفطريات في التطفل على البيوض**

نفذت هذه التجربة لمعرفة تأثير الفطريات (T. harzianum ,T. hamatum, P. lilacinus) في التطفل على بيوض نيماتودا الحمضيات حسب الطريقة الموصوفة من قبل [14] حيث تم استخلاص البيوض بطريقة المناخل حسب الطريقة الموصوفة أعلاه من جذور أشجار الحمضيات وتم تحضير عالق البيوض وضبط التركيز إلى 100 بيضة / مل حضر وسط الاكار المائي Water agar (20غم أكار /لتر ماء مقطر) وصب في أطباق بتري قطر 9 مل بعدها تم نشر 1 مل من عالق البيوض في الأطباق مع تحريك الطبق حركة رحوية لضمان تجانس البيوض ، بعد ذلك تمت إضافة عوامل المكافحة الإحيائية كل على انفراد من خلال زراعة قرص بقطر 0.5 سم من مزارع نقية للفطر في الطبق وخصص لكل معاملة ثلاث مكررات وفق تصميم القطاعات التامة التعشية CRD, حضنت الأطباق بدرجة 25±2°م لمدة أسبوع بعدها تم حساب عدد البيوض المصابة في عشرة حقول مجهرية باستخدام الميكروسكوب على قوة (40X) وتم حساب النسبة المئوية للتطفل وفق المعادلة آلاتية :

$$\text{النسبة المئوية للتطفل \%} = \frac{\text{عدد البيوض المصابة}}{\text{عدد البيض الكلي}} \times 100$$

**تأثير الفطريات في النيماتود حقليا:**

نفذت هذه التجربة بعد إزالة التربة السطحية على بعد 1 م من الجذع الرئيسي وأضيف اللقاح الفطري لكل عامل من عوامل المكافحة بواقع 6 غم/م2 ، وتم إضافة 6 غم من الوسط بدون فطر كمقارنة ، خصص لكل معاملة من المعاملات ثلاث مكررات وعدت كل شجرة مكرر , وزعت المعاملات عشوائيا وفق تصميم القطاعات التامة التعشية لتقييم ، وقد تم حساب عدد اليرقات قبل المعاملة وبعد ثلاثه أشهر من المعاملة وتم حساب النسبة المئوية للاختزال وفق المعادلة التالية:

$$\text{\% للاختزال} = \frac{\text{عدداليرقات قبل المعاملةـ عدد اليرقات بعد المعاملة}}{\text{عدد اليرقات قبل المعاملة}} \times 100$$

**التحليل الإحصائي**

تم التحليل الإحصائي وفق برنامج SPSS20 ووفق التصميم RCBD و CRD لكل من التجارب المختبرية والتجربة الحقلية وتم الفصل بين المعاملات بواسطة اختبار دنكن متعدد الحدود واجري التحليل بعد التصحيح وفق معادلة Abbott 1925 وكذلك التحويل الزاوي للنسب المئوية للقتل

## النتائج والمناقشة

**تقدير الكثافة السكانية للنيماتود**

أظهرت نتائج تقدير الكثافة السكانية للنيماتود ولكل من الطور اليرقي الثاني والإناث (جدول 1 ) بأن المواقع المدروسة كانت جميعها ملوثة بالنيماتود Tylenchulus semipenetrans إلاإنها قد تباينت معنوياً فيما بينها من حيث الكثافة السكانية للنيماتود في الترب العائدة إليها وكان أعلى معدل للكثافة السكانية لكل من اليرقات والإناث كان قد سجل في قضاء الصويرة حيث كان معدل عدد اليرقات $8.5\times10^3$يرقة/250غم تربة والإناث 54.6أنثى/ غم من الجذور الشعرية وبفارق معنوي عن بقية المواقع المدروسة يليها في ذلك قضاء الحي حيث كان معدل عدد اليرقات 5.36×1000 يرقة/250غم تربة والإناث51.3أنثى / غم من الجذور في حين سجل قضاء الموفقية اقل معدل للكثافة السكانية أذ كان معدل عدد الإناث 33.6أنثى/غم من الجذور الشعرية واليرقات 2.47×1000يرقة/250غ

**جدول (1) الكثافة السكانية للنيماتودا T. semipenetrans في التربة والجذور للمواقع المدروسة**

| ت | الموقع | معدل اليرقات±الخطأ القياسي $10^3\times$ | معدل الإناث±الخطأ القياسي |
|---|---|---|---|
| 1 | قضاء الصويرة | a 0.35± 8.5 | a 0.88±54.6 |
| 2 | قضاء الحي | b 0.56±5.36 | b 0.88 ±51.3 |
| 3 | مركز المحافظة | b c 0.78 ±4.8 | c 0.88 ±47.3 |
| 4 | قضاء النعمانية | c d 0.50±3.46 | d 0.88 ±38.3 |
| 5 | قضاء الموفقية | d 0.37±2.47 | e 0.88±33.6 |

***الحروف المتشابهة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية**

## كفاءة الفطريات في التطفل على البيوض

أظهرت نتائج اختبار تأثير الفطريات في النسبة المئوية لفقس بيوض النيماتود T. Semipenetrans جدول (2) تفوقاً معنوياً لجميع العوامل المختبرة والتي شملت الفطريات P. T. harzianum T. hamatum lilacinus على معاملة المقارنة ( بدون فطر ) من حيث التأثير على البيوض

و سجل الفطر T.hamatum أعلى نسبة مئوية للتثبيط(عدم فقس البيوض) وكانت 85.46% يليه في ذلك الفطر T.harzianum بنسبة 83.23 % أما اقل نسبة مئوية للتثبيط فكانت قد سجلت في حالة الفطرP.lilacinus وكانت 61.0%.

**جدول (2) تأثير الفطريات في التطفل على بيوض النيماتود**

| | ر | بة المئوية للتثبيط |
|---|---|---|
| | T.hamat | 85.4 |
| | T.harzian | 83.2 |
| | P.lilaci | 61.0 |
| | cont | 0. 0 c |

*الحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فروق معنوية

## تأثير الفطريات في النيماتود حقليا

أظهرت نتائج التجربة الحقلية كفاءة جميع الفطريات المختبرة في اختزال الكثافة العددية ليرقات النيماتود في التربة المعاملةمقارنة بتلك الغير معاملة وكان الفطر .T harzianum قد حقق أعلى نسبة اختزال في الطور

اليرقي وكانت 76.9% وبدون فارق معنوي مع بقية الفطريات الا ان جميع الفطريات المختبرة قد تفوقت معنوياً في اختزال معدل عدد اليرقات في التربة على معاملة المقارنة التي بلغت نسبة الاختزال عندها 28.2%.كان معدل عدد اليرقات في التربة قبل المعاملة بالفطرT. harzianum $10^3\times7.8$ وأصبح بعد المعاملة بالفطر $10^3\times1.8$ يرقة / 250 غم تربة ، اقل نسبة اختزال سجلت في حالة المعاملة بالفطر P. lilacinus وكانت 51.3% إذ كانت معدل عدد اليرقات قبل إضافة الفطر $10^3\times7.2$ وبعد الإضافة $10^3\times3.5$ يرقة/250غم تربة.

**جدول (3-10) تأثير الفطريات في الطور اليرقي للنيماتود T. semipenetrans حقليا**

| المعاملة | معدل عدد اليرقات قبل الإضافة $10^3\times$ | معدل عدد اليرقات بعد الإضافة $10^3\times$ | %للاختزال |
|---|---|---|---|
| Trichoderma harzianum | a 7.8 | a 1.8 | 76.9 |
| Trichoderma hamatum | a 6.4 | a 2.4 | 62.5 |
| Paecilomyces lilacinus | a 7.2 | a 3.5 | 51.3 |
| معاملة السيطرة | a 8.5 | b 6.1 | 28.2 |

*الحروف المتشابهة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية

إن كثافة مجتمع النيماتود T. semipenetrans في التربة تتأثر بعدة عوامل ومن بينها طبيعة التربة من طينية إلى غرينية أو رملية إضافة إلى محتوى التربة من العناصر المعدنية كالبوتاسيوم والمغنيسيوم فضلاً عن دور النتروجين ومشتقاته وتأثيرها على الكثافة السكانية لهذه النيماتودا كما إن العوامل الإحيائية كالفطريات والبكتيريا والكائنات الأخرى قد تلعب دور كبير في زيادة أو نقصان الكثافة السكانية للنيماتودا وقد أجريت دراسات عديدة وفي بيئات مختلفة لتحديد العوامل التي تزيد أو تختزل الكثافة السكانية لهذه النيماتودا ، وقد بينت الدراسات بان الكثافة السكانية للنيماتود تكون اكبر في الربيع مقارنة بالفصول الأخرى وأنها أقل كثافة في الطبقات السطحية ( 10 سم ) مقارنة بالطبقات الأعمق وأن للبكتريا Pasteuria sp دور كبير في التأثير على الكثافة السكانية لهذه النيماتودا [15] . في دراسة لتقدير كثافة النيماتودا في عينات التربة والجذور إلى عدم وجود علاقة بين قيمة PH التربة وكثافة مجتمع النيماتودا في التربة ولكنه ذكر أن معدل الكثافة الموسمية الذي حققته النيماتود T. semipenetrans كان أعلى مستوى خلال فصل الخريف وأدنى مستوى في فصل الربيع [16] .في حين أشارArdakan [17] في دراسة لتحديد العلاقة بين خصائص التربة والكثافة السكانية للنيماتود Tylenchulus semipenetrans إلى أن اي زيادة أو نقصان للـ PH عن 7 تؤثر سلباً على النيماتود وأشار إلى زيادة الكثافة السكانية ( الطور اليرقي الثاني والإناث ) بزيادة المحتوى البوتاسي والفسفوري والكاربون العضوي في التربة إلا أنها تأثرت سلباً بزيادة الملوحة والمحتوى الكلسي .ويتضح من خلال هذه النتائج أن

الفطريات المختبرة أثرت على بيوض النيماتود وثبطت فقس البيوض في المختبر أما عن طريق التطفل بصورة مباشرة أو عن طريق غير مباشر من خلال النشاط الإنزيمي لهذه الفطريات والذي يعمل على تحطيم الجدار المحيط بالبيوض بالإضافة إلى ما تحتويه البيوض وبالتالي تثبيط عملية الفقسوقد تناولت هذا الموضوع دراسات عديدة إذ ذكر في أحدها أن الفطر T. harzianum ينتج المضاد الحيوي 6-Pentyl-α-pyrone إضافة إلى إنتاج إنزيمات الـ Protease والـ Chitinase [18] , [19] . أن أهمية الفطر Trichoderma كعامل مكافحة إحيائية تكمن في قدرته على استخدام عدة آليات لمهاجمة النيماتود منها أنتاج المضادات الحياتية Antibiosis أو التطفل المباشر Mycoparasitism أو أنتاج الأنزيمات Enzymatic hydrolysis كالأنزيمات Protease ، Chitinase والـ Glucanases أو التنافس على الغذاء Competition أو استحثاث المقاومة Induced Resistance وقد لوحظ أن الفطر T. harzianum يمتلك كافة هذه الآليات باستثناء التزاحم Competition[20] .ويعد الفطر Paecilomyces lilacinus من أكثر الفطريات شيوعا وفاعلية في التطفل على بيوض العديد من النيماتود ومن بينها نيماتودا الحمضيات وتتلخص آلية التطفل على البيوض باختراق غلاف البيض egg shell بواسطة عضو الالتصاق Appressoriaوعضو الامتصاص Haustoria واللذان يتطوران من الهايفا الجسمية ثم إفراز إنزيم الـ Protease والـ Chitinase وذكر بأن للحامض Acetic acid دوراً في هذه العملية [21] . وأشارت دراسة حديثة إلى ظهور سلال حديثة للفطر تنتج سم مضاد للنيماتودا وقد يكون له دور كبير في تعزيز التطفل الفطري لهذا الفطر [20] . و قد كانت النتائج متوافقة مع ما أشار إليه Khan وآخرون [22] واللذين اشارو إلى فاعلية هذا الفطر في اختزال عدد البيوض والإناث للنيماتودا ودور الأنزيمات Protease و Chitinase في عملية التطفل على قشرة البيض.ومن خلال نتائج التجربة الحقلية لوحظت كفاءت الفطر Trichoderma harzianumمقارنة ببقية الفطريات المختبرة وهذا قد يعزى الى كفاءة العزلة المستخدمة من حيث القدرة التنافسية في التربة والتطفل المباشر والنشاط الإنزيمي وكانت هذه النتائج متوافقة مع ما أشار إليه Deepa وآخرون [23] إذ ذكروا وفي تجربة حقلية لمعرفة تأثير بعض عوامل المكافحة الإحيائية على نيماتودا الحمضيات Tylenchulus semipenetrans أن الفطر Trichodermah arzianum كان هو الأكثر تأثير على مجتمع النيماتودا. جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما أشار إلية Stephan وآخرون [24 ] والذي بين في دراسة مجموعة من العوامل الإحيائية على نيماتود العقد الجذرية بأن الفطر Trichodermah arzianum كان أكثر الفطريات كفاءة في التأثير على بيوض ويرقات النيماتودMeloidogyne javanica وإناث النيماتود.Rotylenchulus reniformis ويليه في ذلك الفطر Trichoderma hamatum

## المصادر

**1-EI-Ashry, R.M. ;Abd EI-Aal , E.M. and Mervat , H.I. (2012) .** Evaluation of Natural and synthetic Materials Against certain Nematode species in citrus orchards at Sharkia Governorate , Egypt .Journal.Agronematol.,11(1) :144-158.

**2-Duncan,L.W.(2009)** .Managing nematodes in citrus orchards .In Veech .J .A. and D.W. Dickson (eds). Integrated management of fruit crops and forest nematodes Springer. Milton Keynes.UK.

**3-Garcia Teran,O. ;Duarte, E . and Jimenez, Y.E. (1987) .** Relation between the population density of Tylenchulus semipenetrans and the yield of Valencia oranges (Citrus sinensis) .Ciencia Tecnica en Ia Agricultura , proteccion deplantas ,10(1):63-71.

**4-Duncan, L.W.(2005) .**Nematode Parasites of Citrus .In: Luc ,M., Sikora, R.A. and J .Bridge (eds),plant parasitic Nematodes in subtropical and Tropical Agiculture. CABI, Wallingford

**5- Mashela, P.W.(1992)** . Interaction of Tylenchulus semipenetrans , citrus rootstocks and salinity. PHD. Thesis submitted to the University of Florida, Gainesville, Florida.

**6-Mashela, p.W. and Nthangeni, M.E .(2002)** .Osmolyte allocation in response to Tylenchulu ssemipenetrans infection, stem girdling and pruning in citrus . Journal of Nematology 34: 273-277.

**7-Verdejo- Lucas, S. and Mckenry M.V. (2004) .**Management of the citrus nematode Tylenchulus semipenetrans in citrus .Journal Nematol,( 36) : 424-432.

**8-UNEP. (2005)** .How Global Warming will Affect my World :A simplified Guide to the IPCCs Climate Change 2001.Impact, Adaptation and Vulnerability.

**9-Montasser,S. A. ;Abd EI-Wahab , A. E.; Abd-EIgawad, M.M.M.; Abd-EI-Khair,H. ;Faika, F.; Koura, H. and Hammam ,M.M.A. (2012) .** Effect of some fungi and bacteria as bio-control agents against citrus nematode Tylenchulus semipenetrans Cobb .Journal of applied Sciences Research, 8(11):5436-5444.

**10-Deepa, S.P. ; Subramanian , S. and Ramakrishnan , S. (2011)** .Biomanagement of citrus nematode Tylenchulus semipenetrans Cobb on lemon, Citrus limoniaL.. Journal of Biopesticides,4(2): 205-207.

**11- حافظ, حمدية زاير علي. (2001) .** التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي على السمسم المتسبب عن الفطر Macrophomin aphaseolina رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

**12-Fattah, F. A. (1988) .**Chitinolytic activity of fungi associated with females and egg of citrus nematode Tylenchulus semipenetrans J.Agric., water Reso Res., 7(1): 1-9.

**13-Mahmood Khan; MuhamadTahir ; Akhtar Munir; Ataullah and Noor Habib Khan. (2010) .**Incidence of Citrus Nematode in The Citrus growing areas of Nwfp ,Sarhad Journal . Agric. 2.

**14-Aboud, H. and Fattah, F. A. (1989) .**The effect of Trichoderma isolates plant growth parameters and Parasitism of

**20-Jamshidnejada,V. ; Sahebania, N. and Etebariana, H . (2013) .**Potential biocontrol activity of Arthrobotrys oligospora and Trichoderma harzianum BIagainst Meloidogyne javanica on tomato in the greenhouse and laboratory studies. Arch. Phytopath. Plant Prot,13: 1632-1640.

**21-Lopez-Llorca, L. V. and Robertson, W. M. (1992) .** Immuno -cytochemical localization of a 32-k Da protease from the nematophagous fungus Verticillium suchlasporium in infected nematode eggs. Experimental Mycology,16:7- 261.

**22-Sharma ,A. ; sharma, S. ; Mital, A. and Naik, S. N.** (2016) . Evidence for the involvement of nematocidal toxins of Purpureocillium lilacinum 6029 cultured on Karanjadeoiled cake liquid medium. World Journal of Microbiology and Biotechnology 32 : 82.

**23-Deepa,S.P. ; Subramanian , S. and Ramakrishnan , S. (2011)** .Biomanagement of citrus nematode Tylenchulus semipenetrans Cobb on lemon, Citrus limonia L.. Journal of Biopesticides,4(2): 205-207.

**24-Stephan, .Z.A.; El-Behadli, A.H.; Al-Zahroon, H.H.; Antoon, B.G, and Georgees, S. Sh. (1996) .** Control of root-knot –wilt disease complex on tomato plants. Dirasat Agric.Sci., 23:13-16.

nematode eggs. Intentional Symposium on Biological Control .Antalyla-Turkey, p:59-65

**15-Ciancio , A. ; Roccuzzo, G. and Longaron, C. O. (2016) .** Regulation of the citrus nematode Tylenchulus semipenetrans by a Pasteuria sp. endoparasite in a naturally infested soil.Biocontrol, 61 (3) : 337 – 347.

**16-Milad Rashidifard ; EbrahimShokoohi ; Akbar Hoseinipour and SalarJamali .( 2015) .** Distribution, Morphology, seasonal dynamics and molecular characterization of Tylenchulus semipenetrans from citrus orchardsin southern Iran .Biologia, (70/6): 771-781.

**17-Ardakan , A.S. ; Mafi , Z.T. ; Mokaran , A. ; Goltapeh , E.M. (2014) .** Relationship between soil properties and Abundance of Tylenchulus semipenetrans in citrus orchards , Kohgilouyehva Boyerahmad Province .Journal of Agricultural Science and Technology ,16 : 1699-1710.

**18-Elad , Y.(2000)** .Biological control of foliar pathogens by means of Trichoderma harzianum and potential modes of action. Crop Prot , 19: 709–714.

**19-Duffy, B. K. ; Simon, A. and Weller, D. M.(1996)**.Combination of Trichoderma koningii with fluorescent pseudomonas for control of take-all on wheat.Phytopathol,86: 188-194.