

تقويم فاعلية رشاحات عزلات محلية من فطور *Trichoderma* في مكافحة بعض أطوار نيماتودا تعقد الجذور (*Meloidogyne incognita*) تحت الظروف المخبرية

ميساء يازجي¹، ندى ألوف² ورامي قسام²

(1) قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين،

اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: Ramikassam1982@yahoo.com

الملخص

يازجي، ميساء، ندى ألوف ورامي قسام. 2013. تقويم فاعلية رشاحات عزلات محلية من فطور *Trichoderma* في مكافحة بعض أطوار نيماتودا تعقد الجذور (*Meloidogyne incognita*) تحت الظروف المخبرية. مجلة وقاية النبات العربية، 31(3): 252-261.

تم تقويم فاعلية رشاحة سبعة عزلات محلية من أنواع *Trichoderma* تجاه نيماتودا تعقد الجذور (*Meloidogyne incognita* Goeldi) تحت الظروف المخبرية بالمقارنة مع فاعلية رشاحة المستحضر التجاري بيوكونت (*T. harzianum*) خلال الموسمين 2010 و 2011. تم عزل تلك الفطور من التربة ومن كتل البيض وإناث النيماتودا المستخلصة من جذور نباتات البندورة/الطماطم المصابة بتعقد الجذور تحت ظروف الزراعة المحمية في الساحل السوري، وبينت نتائج تصنيفها أنها تعود للأصناف الثلاثة التالية: *T. longibrachiatum* Rifai، *T. harzianum* Rifai و *T. viride* Pers. Ex. S. F. Gray. دلّت النتائج على تقارب تأثير رشاحة معظم العزلات المحلية من فطور التريكوثيرما في مكافحة النيماتودا مقارنة مع المستحضر التجاري وفقاً لمؤشري منع فقس البيض وتثبيط حركة يرقات النيماتودا. وتمايزت العزلة المحلية رقم 7 التابعة للنوع *T. harzianum* بأعلى قيمة لمنع فقس بيض النيماتودا عند التركيزين 100 و 75%، وبلغت 98.1 و 86.4%، على الترتيب، بينما كانت في المستحضر التجاري بالتركيزين المذكورين أعلاه 97.3 و 83.7%، على التوالي. تماثلت معظم رشاحات عزلات فطور التريكوثيرما في تأثيرها في تثبيط حركة يرقات النيماتودا مقارنة مع المستحضر التجاري بيوكونت، وامتازت رشاحة العزلة رقم 1 التابعة للنوع *T. viride* بأعلى قيمة تثبيط عند التركيز 100%، وبلغت 98%، بينما كانت 93.7% في المستحضر التجاري. وأحرزت العزلة رقم 3 التابعة للنوع *T. longibrachiatum* عند التركيز 75% المرتبة الأولى في تثبيط حركة يرقات النيماتودا (94.8%)، تلتها في الأهمية العزلة رقم 1 التابعة للنوع *T. viride* (92.3%)، ثم العزلة رقم 4 التابعة للنوع *T. longibrachiatum* (92.0%)، ثم المستحضر التجاري (81.1%).

كلمات مفتاحية: *Trichoderma*، *Meloidogyne*، مكافحة الأحيائية، الفطور المضادة للنيماتودا، الساحل السوري

المقدمة

أكثر من 2000 نوع نباتي (51). وتكون الخسائر التي تسببها هذه النيماتودا أكبر على محصول البندورة/الطماطم في المناطق الاستوائية والمعتدلة من العالم (29). وقد تم تسجيل خمسة أنواع عائدة للجنس *Meloidogyne* على محصول البندورة/الطماطم في البلدان العربية، هي: *M. arenaria* Neal، *M. ardenensis* Santos، *M. javanica* Treub و *M. hapla* Chitwood، Kofoid and White (2). وأشار Lamberti (32) في دراسته المنفذة في الساحل السوري إلى انتشار ثلاثة أنواع (*M. incognita*، *M. Javanica* و *M. arenaria*) شكلت أهمية اقتصادية على البندورة/الطماطم. بينما أكدت المسوحات اللاحقة الانتشار الكبير للأنواع الثلاثة السابقة على نباتات بعض أنواع العائلة الباذنجانية والقرعية (4)، ولا سيما على البندورة/الطماطم المزروعة في البيوت البلاستيكية في الساحل السوري إضافة إلى النوع *M. hapla* الذي سجل لأول مرة في بؤرة واحدة (8). استخدمت المبيدات النيماتودية عالمياً وبكثافة للسيطرة على هذه الآفة

تُعد البندورة/الطماطم *Lycopersicon esculentum* Mill. (عائلة Solanaceae، رتبة Solanales، صف Magnoliopsida) من محاصيل الخضر الأكثر أهمية اقتصادية وأوسعها انتشاراً على المستويين العالمي والمحلي لما تمتاز ثمارها من قيمة غذائية عالية (10، 30). ويصاب هذا المحصول بالعديد من العوامل الممرضة ومن بينها النيماتودا التي تسبب خسائر كبيرة في الإنتاج ونوعيته (8)، ويُعد مرض تعقد الجذور الذي تسببه النيماتودا التابعة للجنس *Meloidogyne* (عائلة Heteroderidae، رتبة Tylenchidae، صف Secernentea) من أكثرها انتشاراً على نباتات البندورة/الطماطم المزروعة في البيوت البلاستيكية في سورية (4)، ولا سيما في محافظة طرطوس (7). تنتشر نيماتودا العقد الجذرية في كافة أنحاء العالم وبخاصة في المناطق المعتدلة حرارياً حيث يتطفل هذا الجنس على

فقس البيض وحركة يرقات نيماتودا تعقد الجذور تحت الظروف المخبرية ومقارنتها مع المستحضر التجاري للفطر ذاته.

مواد البحث وطرائقه

تم إجراء البحث في مختبرات قسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم ومختبرات قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة تشرين في الفترة الواقعة بين 2010 و2011.

جمع العينات

تم جمع 50 عينة عشوائية من التربة وجذور نباتات البندورة/الطماطم المصابة بنيماتودا تعقد الجذور من 25 دفيئة بلاستيكية، مثلت 4 مناطق مختلفة من الساحل السوري (اللاذقية، جبلة، بانياس وطرطوس) كما هو موضح في الجدول 1. حفظت العينات في أكياس ورقية مرطبة في براد المختبر لحين استخدامها.

أوساط الاستنبات

تم استخدام مستنبت PDA (Potato Dextrose Agar) الصلب (محضر تجاري من إنتاج شركة HIMEDIA) لعزل أنواع فطور *Trichoderma* من العينات السابقة، ومستنبت PDB (Potato Dextrose Broth) السائل (بسلق 200 غ بطاطا مقشورة ومقطعة في 200 مل ماء، ثم تم أخذ الماء الناتج وإضافة 20 غ ديكستروز وإكمال الحجم إلى 1 لتر بالماء المقطر ووضع المزيج بالأوتوغلاف عند 121 °س لمدة 15 دقيقة) (33) لتحضير رشاحة الأنواع المعزولة من الفطر.

عزل نيماتودا تعقد الجذور وتحديد أنواعها وتحضير لقاح الإعداء

تم عزل 10 إناث من النيماتودا المستقرة في العقد الجذرية (*Meloidogyne* sp.) المأخوذة من جذر نبات بندورة/طماطم مصاب من قرية الحويص في جبلة (في أيلول/سبتمبر 2009)، وتم تحديد النوع بالكشف المباشر على النمط العجاني لجسم الأنثى (تحورات الكيوتيكال العرضية) باستخدام المجهر على التكبير 400× واعتماداً على مفتاح التشخيص المعمول به من قبل Barker (18). وبهدف الحصول على كمية لقاح كافية ونقية من بيض نيماتودا تعقد الجذور اللازمة لإنفاذ التجارب اللاحقة، تم زراعة نباتات البندورة/الطماطم (10 شتول) صنف صيف في تربة جرى معاملة مسبقاً ببروميد الميثايل بمعدل استخدام 453 غ/10م³ تحت ظروف الدفيئة البلاستيكية في كلية الزراعة بجامعة تشرين (متوفر بصعوبة ويمكن استخدامه للأغراض العلمية) ثم إعداءها اصطناعياً ببيض النوع الذي تم تعريفه سابقاً، بمعدل 5000 بيضة/نبات.

منذ خمسينيات القرن الماضي (16)، وقد تراجع هذا الاستخدام الخاطئ الذي يركز على استخدام المبيدات الكيماوية لاحقاً نتيجة لتأثيراتها الخطرة في البيئة والإنسان، واستبدلت بالإدارة المتكاملة للآفات النيماتودية (16)، وكان من أهم أساليبها استخدام الأعداء الحيوية كالفطور والبكتيريا على أن يكون الرش بالمبيدات الكيماوية فقط عند عدم تمكن الطرق الأخرى من مكافحة الآفة. وقد اهتمت الدراسات الحديثة بتطبيق أسلوب مكافحة الأحيائية ضد النيماتودا المتطفلة على أنواع نباتية مختلفة، كاستخدام الفطور المضادة (*Verticillium* spp، *Paecilomyces* spp، *Trichoderma* spp، *Fusarium* spp، *Dactylella* spp، *Arthrobotrys oligospora* Fresenius) (27)، (36). وتم مؤخراً التركيز على فطور *Trichoderma* (عائلة Hypocreaceae، رتبة Hypocreales، صف Sordariomycetes) كعوامل مكافحة أحيائية لكثير من الممرضات الفطرية (5، 6، 9) والنيماتودية (28، 30)، لما تنتجه من مضادات حيوية سامة للنيماتودا، وأنزيمات تساعد في التطفل، بالإضافة لدورها المهم في تحفيز نمو النبات (1، 45). وذكر Sharma (46) أن استخدام رشاحات الفطور *Verticillium chlamyosporium* Goddard و *Trichoderma* و *Paecilomyces lilacinus* Jones and Samson و *harzianum* Rifai قد سبب موتاً لنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* بنسب مختلفة تبعاً لنوع الفطر المختبر. وأحدثت رشاحة الفطر *Trichoderma virens* Miller عند تقويم فاعليتها مخبرياً في مكافحة نيماتودا تعقد الجذور *M. incognita* على البندورة/الطماطم شللاً في حركة اليرقات، ومنعت فقس البيض (35). وأثبتت رشاحة الفطر *T. harzianum* قدرتها على منع فقس بيض النيماتودا *M. javanica* في الباكستان، وازداد تأثيرها مع زيادة تركيز الرشاحة (29). وأسهم عمر جذور نباتات البندورة/الطماطم برشاحة الفطر *T. harzianum* في خفض عدد العقد النيماتودية (*M. javanica*)، وإحداث شلل لحركة اليرقات، وحسن من نمو النبات، وقد تناسب هذا التأثير طرداً مع طول فترة التعرض للرشاحة (31). ودلت نتائج التجارب التي أجريت في الهند حول مكافحة النيماتودا *M. graminicola* على الرز باستخدام رشاحة الفطرين *T. harzianum* و *T. virens* على أهمية هذين الفطرين في مكافحة الأحيائية لنيماتودا تعقد الجذور (40). كما أكدت نتائج تطبيق رشاحات الفطور *T. reesei*، *T. koningii*، *T. viride*، *T. harzianum* و *T. hamatum* على بيض ويرقات النيماتودا *M. Javanica* في ظروف المختبر بمصر فاعلية الأنواع المختبرة في منع فقس البيض وإحداث شلل لحركة اليرقات (3). هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير رشاحة بعض العزلات المحلية من فطور *Trichoderma* في معدل

جدول 1. توزع عينات التربة والجذور المصابة بنيماتودا تعقد الجذور وتكرار عزلات الفطر *Trichoderma* في العينات في مواقع الدراسة.

Table 1. Distribution of soil and root knot nematode infected root samples and repeated isolation of the fungus *Trichoderma* in samples of the studied sites.

عدد العينات الكلية No. of total samples	عدد العينات الحاوية على الفطر No. of samples which contained <i>Trichoderma</i>	عينات الجذور المصابة بالنيماتودا والحاوية على الفطر Infected root samples which contained <i>Trichoderma</i>	عينات التربة الحاوية على الفطر Soil samples which contained <i>Trichoderma</i>	عدد العينات الجذرية Root samples No.	عدد العينات الترابية Soil samples No.	المنطقة/القرية Region / Village
16	5	-	+	8	8	جبله Jableh الشراشير القلابع الحويز بساتين صالح سيانو القطلبية العيدية بسيسن
14	3	-	-	7	7	بانياس Banyas عرب الملك القلوع قرفيص حريصون الدروك دير بشر السن
10	4	+	-	5	5	اللاذقية Lattakia الهنادي البصة الصنوبر القتجرة قمين
10	2	-	-	5	5	طرطوس Tartous الروضة الخراب الحصين الديرون الحميدية
50	14	2	12	25	25	Total المجموع

+ = *Trichoderma* present, - = *Trichoderma* absent

+ = وجود الفطر، - = عدم وجود الفطر

وكتل بيض، كل على حدة) إلى أطباق بتري (9 سم) تحوي مستنبت PDA مضافاً له المضاد الحيوي Streptomycin بمعدل 200 ميكروغرام/ليتر (طبق للإناث وطبق لكتل البيض من كل جذر من جذور العينات) (17).

- كما عُرِلت الفطور المتطفلة داخلياً على النيماتودا بالطريقة ذاتها لكن قمنا بالمعاملة السطحية للإناث وكتل البيض بمحلول الكحول

عزل فطور *Trichoderma* من العينات وتحديد أنواعها

تم عزل أنواع فطور *Trichoderma* المستخدمة في البحث من عينات التربة المختلفة ومن إناث وكتل بيض النيماتودا المأخوذة من العقد الجذرية للجذور المصابة على النحو التالي:

- عُرِلت الفطور الموجودة خارجياً على سطح النيماتودا بأخذ 5 إناث و5 كتل بيض نيماتودا من كل جذر، ونُقلت بصورة فردية (إناث

- الإيتيلي المخفف (70%) باستخدام منخل خاص قياس فتحاته 20 ميكرون لمدة دقيقتين) قبل إضافتها إلى أطباق PDA (24).
- أما الأنواع الموجودة في التربة، فقد عُزلت من التربة بإتباع طريقة محاليل التربة المخففة على مستنبت PDA (وذلك بوزن 1 غ تربة جافة وناعمة من كل عينة ترابية وتوضع في أنابيب منفصلة ويضاف إلى كل منها 9 مل ماء مقطر ومعقم، تُرج الأنابيب جيداً وبالتالي نحصل على المحلول الأم بتركيز 10/1، والذي تُحضر منه التراكيز الأخرى، ثم يُؤخذ بعدها 0.2 مل من كل تركيز وتُنشر على سطح الطبق البتري الحاوي على مستنبت PDA تُترك لمدة 20 دقيقة ثم تُحضر الأطباق عند 25±2 س لمدة 7 أيام (37).
- حُضنت جميع الأطباق السابقة في حاضنة عند 25 س لمدة أسبوع، ثم بعدها تنقية عزلات فطور *Trichoderma* النامية وفصلها عن الفطور الأخرى، كل على حدة في أطباق بتري حاوية على مستنبت PDA، وتم تصنيفها اعتماداً على الصفات الشكلية والمجهريّة للمزارع الفطرية وتعضياتها (11، 19، 22، 42، 43، 44).

عزل النوع *T. harzianum* من المستحضر التجاري Biocont الأردني المصدر

تم نشر مسحوق المستحضر على سطح مستنبت PDA والتحصين عند 25 س لمدة أسبوع، ثم تم تنقية الفطر في طبق بتري على مستنبت PDA لاستخدامه لاحقاً في التجارب المخبرية مع أطباق عزلات الفطر المحلية.

تحضير الرشاحة الفطرية لكل عزلة من عزلات فطور *Trichoderma* المحلية والتجارية

تم تنمية عزلات فطور *Trichoderma* المحلية والتجارية، كل على حدة، على مستنبت PDA لمدة 10 أيام في الحاضنة عند 25 س، بمعدل طبق واحد لكل عزلة فطرية بعد أن تم تعريفها حتى مستوى النوع، وبعدها وُضعت 5 أقراص من حواف مزرعة كل فطر على حدة، بقطر 5 مم في دورق سعة 200 مل تحوي مستنبت PDB، دورق لكل عزلة، وحُضنت ضمن حمام مائي هزاز عند 25 س و50 هزة في الدقيقة لمدة أسبوعين، وبعدها رُشح الوسط لإزالة الخيوط الفطرية والأبواغ من خلال ورق ترشيح واتمان (Whatman No.1 0.2 ميكرومتر) مرتان على الأقل باستخدام جهاز التفريغ الهوائي. أُضيف 300 ميكروغرام/ليتر من المضاد الحيوي Streptomycin لضمان خلو المستنبت السائل من أي نمو بكتيري، وُعدت الرشاحة الناتجة هي الأساس (التركيز 100%) الذي تم تخفيفه إلى التراكيز (75 و50%)

باستخدام الماء المقطر المعقم. بالمقابل، تم إعداد معاملة الشاهد بإضافة 5 أقراص من مستنبت PDA الخالي من أي نمو فطري إلى دورق سعته 200 مل احتوى على مستنبت PDB، وحُضن بالطريقة ذاتها، ثم حُضرت منه التراكيز السابقة ذاتها أيضاً (21، 23، 38)، بمعدل 4 مكررات لكل تركيز و3 تراكيز لكل عزلة محلية وتجارية.

طرائق تقويم فاعلية رشاحات عزلات فطور *Trichoderma* إزاء نيماتودا تعقد الجذور

اختبار تأثير الرشاحات الفطرية في فقس بيض النيماتودا - تم استخلاص البيض من كتل بيض النيماتودا، التي تم تربيتها وتعريفها على مستوى النوع حسبما ورد أعلاه (3)، باستخدام هيبوكلووريت الصوديوم تركيزه 1% لمدة 2-3 دقائق، ثم غُسلت البيوض لمرات عديدة بالماء المقطر المعقم باستخدام منخل خاص قطر فتحاته 20 ميكرونًا للتخلص من بقايا هيبوكلووريت الصوديوم (25)، وُضعت 100 بيضة في كل طبق بتري (4.5 سم) يحوي 5 مل من رشاحة كل عزلة فطرية على حدة وبالتراكيز المختلفة، حيث استخدم لكل عزلة (محلية وتجارية) 3 تراكيز من الرشاحة (100، 75 و50%)، بمعدل 4 مكررات/أطباق بتري لكل معاملة/تركيز، ثم حُضنت الأطباق في الظلام في الحاضنة عند 25 س لمدة أسبوع. استخدمت رشاحة مستنبت PDB فقط الخالي من أي نمو فطري كشاهد مقارنة (تركيز الرشاحة الفطرية فيه 0%)، كما استخدمت معاملة البيض (100 بيضة) بالماء المقطر المعقم ضمن طبق بتري واحد كشاهد آخر للمقارنة. نُقل البيض في مكرر كل معاملة بعد أسبوع من التحصين إلى طبق بتري جديد قطره 4.5 سم، احتوى على الماء المقطر المعقم (بهدف معرفة تأثير الرشاحة في المنع الكامل أو الجزئي لفقس البيض)، ثم حُضنت الأطباق لمدة 48 ساعة في الظلام عند 25 س. ثم عدّ البيض غير الفاقس وحسبت نسبته المئوية في مكرر كل معاملة (21، 30)، ثم حسب متوسط المعاملة اعتماداً على العلاقة التالية:

$$\frac{\text{النسبة المئوية (عدد البيض غير الفاقس في الطبق)}}{\text{العدد الكلي للبيض المختبر في الطبق}} \times 100 = \text{النسبة المئوية لبيوض غير الفاقس}$$

اختبار تأثير الرشاحات الفطرية في حركة يرقات النيماتودا - تم استخلاص البيض من كتل بيض النيماتودا بإتباع الخطوات ذاتها الواردة في الفقرة السابقة، ووزعت في أطباق بتري (9 سم) احتوت الماء المقطر المعقم، ثم حُضنت الأطباق في الظلام عند 25 س لمدة 3 أيام بهدف الحصول على يرقات فاقسة حديثاً ونشطة في طور نموها الثاني (J2)، وُضعت 50 يرقة في كل طبق بتري (4.5 سم) احتوى على 5 مل من الرشاحة الفطرية، حيث استخدم لكل عزلة 3 تراكيز من

الرشاحة (100، 75 و 50%)، بمعدل 4 مكررات/أطباق لكل تركيز/معاملة، ثم حُضنت الأطباق في الحاضنة في الظلام عند 25 °س لمدة أسبوع، استخدمت رشاحة مستتبت PDB فقط الخالي من أي نمو فطري كشاهد مقارنة، كما استخدمت معاملة البيض (50 يرقعة) بالماء المقطر المعقم ضمن طبق بتري واحد كشاهد آخر للمقارنة. نُقلت يرقعات مكرر كل معاملة بعد أسبوع من التحضين إلى طبق بتري جديد احتوى الماء المقطر المعقم (بهدف معرفة تأثير الرشاحة في التثبيط الكامل أو الجزئي لحركة اليرقات)، ثم حُضنت الأطباق لمدة 48 ساعة في الظلام عند 25 °س، تم عد اليرقات غير المتحركة (تعدُّ اليرقة ميتة إذا تم وخزها بشعرة رقيقة ولم تتحرك) (49)، وحسبت نسبتها المئوية (%) اعتماداً على العلاقة التالية (21، 30):

$$\text{النسبة المئوية (\%)} = \frac{\text{عدد اليرقات غير المتحركة في الطبق}}{\text{العدد الكلي لليرقات المختبرة في الطبق}} \times 100$$

الدراسة الإحصائية

تمت الدراسة الإحصائية بطريقة تحليل التباين ANOVA، مع اعتماد اختبار دانكان لحساب الفروق المعنوية بين المعاملات (LSD)، وتقدير التباين بين متوسطات القراءات المختلفة عند مستوى احتمال 5% (14، 34).

النتائج والمناقشة

عزل نيماتودا تعقد الجذور وتحديد أنواعها

بينت نتائج تحديد نوع/أنواع نيماتودا العقد الجذرية المأخوذة من جذر نبات بندورة/طماطم مصاب من قرية الحويز في جبلة، أنها تتبع النوع *M. incognita* Goeldi، وتوافقت هذه النتيجة جزئياً مع نتائج دراسات محلية سابقة أكدت انتشار هذا النوع على جذور نباتات البندورة إضافة إلى أنواع أخرى منتشرة في المنطقة الساحلية من سورية (4، 8، 13).

عزل فطور *Trichoderma* وتحديد أنواعها

بينت نتائج عزل فطور *Trichoderma* من عينات التربة ومن عينات إناث وكتل بيض النيماتودا المأخوذة من العقد على جذور النباتات المصابة أن 14 عينة من أصل 50 عينة مختبرة (جدول 1)، قد عزلت منها فطور *Trichoderma*، أي بنسبة 28% من العينات الكلية المختبرة. تم الحصول بعد عملية التنقية على 7 عزلات محلية من أصل 14 لتقويم فاعليتها على أطوار النيماتودا المختلفة، صُنفت ضمن ثلاثة أنواع مختلفة، هي: *T. viride* Pers. ex S.F. Gray

T. longibrachiatum Rifai و *T. harzianum* Rifai. بينت النتائج المتحصل عليها في هذا البحث (جدول 2) تطابق أبعاد تعضيات فطور *Trichoderma* السبعة المعزولة من مناطق الدراسة مع قياسات أبعاد الفطور نفسها الواردة في الدراسات المرجعية (12، 42، 43، 44). وقد تميزت أغلب العزلات بمزارع ذات لون أخضر مزرق وحواف بيضاء قطنية، مع ظهور حلقات متحدة المركز على مستتبت PDA، وبينت محضرات مزارع العزلات السابقة على الشرائح الزجاجية التفرع الشجيري للحوامل الكونيدية التي انتهت بفياليدات مختلفة الشكل والحجم، وقد توصّعت عليها أبواغ كونيدية دائرية إلى متطاولة الشكل، خضراء اللون داكنة أو فاتحة، ملساء أو خشنة الجدار تبعاً للنوع.

تقويم فاعلية رشاحات عزلات فطور *Trichoderma* إزاء نيماتودا تعقد الجذور

تأثير الرشاحات الفطرية في فقس البيض: أظهرت النتائج المبينة في الجدول 3 تأثير رشاحات عزلات الفطر *Trichoderma* المحلية والتجارية بثلاثة تراكيز (50، 75 و 100%) في منع فقس بيض النيماتودا *M. incognita* مقارنةً مع الشاهد (0%)، حيث كانت نسبة منع الفقس عند تطبيق رشاحات العزلات المحلية في التركيز 100% مرتفعة أداها 80.8% للعزلة 4 وأعلىها 98.1% للعزلة 7 بفروق معنوية فيما بينها مقارنةً مع المستحضر التجاري والشاهد الحاوي على مستتبت PDB حيث بلغ معدل منع الفقس 97.3% و 41.4%، على التوالي، كما تراوحت نسبة منع الفقس عند التركيز 75% بين 70.8% للعزلة 5 و 86.4% للعزلة 7 بدون فروق معنوية فيما بينها، مقارنةً مع المستحضر التجاري والشاهد الحاوي على مستتبت PDB والتي بلغ معدل منع الفقس عندها 83.7% و 37.7%، على التوالي، أما عند تطبيق رشاحات العزلات المحلية بالتركيز 50%، فقد تراوحت نسبة منع الفقس بين 60.1% للعزلة 5 و 71.3% للعزلة 1 بدون فروق معنوية فيما بينها، مقارنةً مع المستحضر التجاري والشاهد الحاوي على مستتبت PDB والتي وصل معدل منع الفقس فيها 69.2% و 22.9% على التوالي، مع الإشارة إلى أن معدل منع فقس البيض في الشاهد الحاوي على ماء مقطر معقم فقط لم يتجاوز 10.2%.

توافقت النتائج المتحصل عليها في هذا البحث حول زيادة كفاءة رشاحة فطور *Trichoderma* مع ارتفاع درجة تركيزها مع نتائج دراسات مرجعية سابقة، حيث أكد Sharma و Saxena (47) أفضلية التركيز الأعلى لرشاحة الفطر *T. viride* في منع فقس بيض النيماتودا *M. incognita* وذلك بسبب إفرازه لأنزيمات محللة للبروتينات والدهون والسكريات المتعددة. وقد أسهمت هذه الأنزيمات بدور مهم في اختراق قشرة البيضة عند النيماتودا، مُسهلاً بذلك دخول السموم والمضادات

هذا البحث. كما بيّنت النتائج أيضاً اختلاف تأثير رشاحات عزلات فطور التريكوثيرما في نسبة فقس بيض النيماتودا، وهذا ما أكدته نتائج دراسات مرجعية سابقة (21). وعزي هذا الاختلاف في التأثير إلى تباين مقدرة عزلات فطور التريكوثيرما في إنتاج الأنزيمات والمركبات السامة للنيماتودا. كما اتفقت نتائج هذا البحث بخصوص تأثير رشاحة عزلة الفطر *T. harzianum* في نسبة فقس البيض عند التركيز الأعلى (97.3%) مع نتائج Stepen و Khattak (53) في الباكستان والتي بلغت 90%، بينما بلغت نسبة فقس البيض في معاملة الشاهد (رشاحة المستنبت الغذائي فقط) 9%، و5% في معاملة شاهد الماء المقطر فقط.

الحيوية التي أفرزتها فطور التريكوثيرما إلى داخل البيضة (48)، الأمر الذي أدى في كثير من المعاملات إلى تشوه النمو الجنيني ليرقة النيماتودا وفقاً لنتائج هذا البحث وعدم فقسها حتى ولو نُقلت إلى الماء المقطر. وتوافقت هذه النتيجة مع نتائج دراسات مرجعية (11، 15، 39)، أكدت دور قشرة البيضة في حماية اليرقة من الظروف الخارجية، ودور الأنزيمات (Chitinases، a-gluconase و Cellulase) التي تفرزها لفطور *Trichoderma* في المساعدة على تطفلها على بيوض النيماتودا *Meloidogyne*، ومنع خروج اليرقات منها. وكان Siddiqui وآخرون (50) قد أشاروا إلى تأثير المستنبت السائل في نسبة فقس البيض مقارنةً مع معاملة الشاهد بالماء فقط، وهذا ما توافق مع نتائج

جدول 2. أنواع الفطر *Trichoderma* المعزولة من مناطق الدراسة وأبعاد تعضيات هذه العزلات (تكبير 400×).

Table 2. Types of the fungi *Trichoderma* which were isolated from the studied sites and dimensions of isolates' structures (magnification 400 ×).

رقم العزلة	المنطقة/نوع العينة	نوع العزلة	قطر المحور الرئيسي	قطر الفروع الجانبية لحامل الأبواغ	أبعاد الزوائد القارورية (الفياليدات)	قطر الأبواغ الكونيدية	قطر البوغية الكلاميدية
No. of isolate	Region/type of sample	Fungal species	Diameter of central axis (µm)	Diameter of lateral branches (µm)	Dimensions of phialides (µm)	Conidia diameter (µ)	Chlamydo-spores diameter (µm)
1	جبلية/تربة Soil/Jableh	<i>T. viride</i>	3.6	1.2	2.5×8	3.6	10.2
2	طرطوس/تربة Soil/Tartous	<i>T. viride</i>	2.4	2.4	2.5×9.5	4.5	9.6
3	اللاذقية/إناث غير معقمة Unsterile female/ Lattakia	<i>T. longibrachiatum</i>	3.2	-	2.7×9	3.5	10.7
4	بانياس/كتل بيض معقمة Sterile egg mass/ Banyas	<i>T. longibrachiatum</i>	2.5	-	2.7×8	2.5	11.2
5	بانياس/تربة Soil/Banyas	<i>T. viride</i>	1.68	1.2	2.5×8.5	4.5	9.6
6	اللاذقية/تربة Soil/Lattakia	<i>T. viride</i>	1.76	1.2	2.5×9	4	9.6
7	جبلية/تربة Soil/Jableh	<i>T. harzianum</i>	2.16	1.2	3×4.5	2.5	6.3

جدول 3. تأثير التراكيز المختلفة لرشاحات العزلات المحلية والتجارية من فطور *Trichoderma* في منع فقس البيض النيماتودا *M. incognita* مقارنة بالشواهد بعد أسبوع من التحضين عند 25 °س.

Table 3. Effect of different concentrations of local *Trichoderma* isolates filtrates on *M. incognita* egg hatching inhibition in comparison with controls, one week after incubation at 25 °C.

النسبة المئوية (%) لمنع فقس البيض المُخَصَّن في رشاحة <i>Trichoderma</i> عند التراكيز				
Percentage (%) of eggs hatching incubated in <i>Trichoderma</i> filtrate at concentrations of:				
0% ماء المقطر (شاهد 2)	%50	%75	%100	العزلات الفطرية Fungal isolates
10.2	a 71.3	ab 82.9	a 97.6	العزلة 1 (<i>T. viride</i>) Isolate 1
10.2	a 70.9	ab 81.6	a 90.1	العزلة 2 (<i>T. viride</i>) Isolate 2
10.2	a 71.1	ab 82.7	a 97.5	العزلة 3 (<i>T. longibrachiatum</i>) Isolate 3
10.2	ab 64.5	abc 79.1	b 80.8	العزلة 4 (<i>T. longibrachiatum</i>) Isolate 4
10.2	b 60.1	c 70.8	b 81.6	العزلة 5 (<i>T. viride</i>) Isolate 5
10.2	ab 64.6	bc 76.4	ab 87.1	العزلة 6 (<i>T. viride</i>) Isolate 6
10.2	a 70.5	a 86.4	a 98.1	العزلة 7 (<i>T. harzianum</i>) Isolate 7
10.2	a 69.2	ab 83.7	a 97.3	المستحضر التجاري (<i>T. harzianum</i>) Biocont
10.2	c 22.9	d 37.7	c 41.4	0% رشاحة مستنبت PDB (شاهد 1) 0% Filtrate of PDA medium (control 1)

المعدلات المتبوعة بحروف متماثلة في العمود ذاته لا تختلف معنوياً اعتماداً على اختبار دانكان عند مستوى ثقة 95%.

Means followed by the same letters in the same column are not significantly different based on Duncan's test at P=0.05.

عليها في بحوث مرجعية سابقة (26، 55)، وعُزِّي ذلك التأثير إلى قدرة هذه الفطور على إفراز بعض الأنزيمات المحللة للبروتين والبروتين وللسموم النيماتودية إضافة إلى إفرازها لحمض الخل الذي أثر سلباً في حركة يرقات النيماتودا (20، 48، 52). وكان Khan وآخرون (27) قد عزوا تأثير رشاحة الفطور *Aspergillus*، *Penicillium* و *Trichoderma* في يرقات النيماتودا *M. incognita* إلى إفرازاتها من المضادات الحيوية (Penicillin، Viridin، Gliotoxin، Hadeidine) التي سببت تثبيطاً في حركة اليرقات فأصبحت غير قادرة على اختراق الجذور وتشكيل عقد نيماتودية (28، 54). وكان من أهم استنتاجات هذا البحث التأكيد على كفاءة رشاحات فطور التريكوثيرما في منع فقس بيض النيماتودا *M. incognita*، وتثبيط حركة يرقاتها تحت ظروف المختبر، واختلاف تأثير هذه الرشاحات الفطرية مع اختلاف تركيزها وعزلاتها. ويعد استخدام فطور التريكوثيرما ورشاحاتها في مجال التطبيق الحقلّي من أهم توصيات هذا البحث لمكافحة هذه الآفة الخطيرة لا سيما في البيوت المحمية، كما ننصح بالتعمق في دراسة الأعداء الحيوية وبخاصة فطور التريكوثيرما وامتلاك التقانات الضرورية لتصنيفها بصورة دقيقة دون لبس، وإكثارها ونشر تداولها بين المزارعين دعماً لمفهوم الحفاظ على البيئة من التلوث بالمبيدات الكيميائية ولا سيما بروميد الميثايل، والحفاظ على سلامة المنتج والمستهلك.

تأثير الرشاحات الفطرية في حركة يرقات النيماتودا - أظهرت رشاحات عزلات فطور *Trichoderma* المحلية والتجارية المختبرة بتراكيز مختلفة (50، 75، و100%) تأثيراً مثبطاً لحركة يرقات النيماتودا *M. incognita* في وسط الاختبار، وتراوحت نسب تثبيط الحركة عند تطبيق رشاحات العزلات المحلية في التركيز 100% بين 60.4% للعزلة 6 و98% للعزلة 1، وكان الفارق بينهما معنوياً، بينما بلغت نسبة تثبيط حركة اليرقات للمستحضر التجاري 93.7%، و28.8% في معاملة الشاهد الحاوي على مستنبت PDB فقط. وتراوحت نسب تثبيط حركة يرقات النيماتودا عند التركيز 75% بين 48.5% للعزلة 6 و94.8% للعزلة 3، وكان الفارق بينهما معنوياً، بينما بلغت نسبة تثبيط الحركة للمستحضر التجاري 81.1%، و21.5% للشاهد الحاوي على مستنبت PDB فقط. كما تراوحت نسب تثبيط حركة اليرقات عند تطبيق رشاحات العزلات المحلية بالتركيز 50% بين 44.4% للعزلة 6 و91% للعزلة 3، وكان الفارق بينهما معنوياً، بينما بلغت نسبة تثبيط حركة اليرقات للمستحضر التجاري 70.3%، و15.2% في معاملة الشاهد الحاوي على مستنبت PDB فقط. مع الإشارة إلى أن معدل تثبيط حركة يرقات النيماتودا في معاملة شاهد الماء المقطر لم يتجاوز 9.5% (جدول 4).

توافقت نتائج هذا البحث حول تأثير بعض رشاحات فطور التريكوثيرما المختبرة في حركة يرقات النيماتودا مع النتائج المتحصل

جدول 4. تأثير التراكيز المختلفة لرشاحات العزلات المحلية والتجارية من فطور *Trichoderma* في تثبيط حركة يرقات النيماتودا *M. incognita* مقارنة بالشواهد بعد أسبوع من التحضين عند درجة حرارة 25 °س.

Table 4. Effect of different concentrations of local *Trichoderma* isolates filtrates on movement inhibition of *M. incognita* larvae in comparison with controls, one week after incubation at 25 °C.

النسبة المئوية (%) لتثبيط حركة اليرقات المُحضنة في رشاحة <i>Trichoderma</i> عند التراكيز				العزلات الفطرية Fungal isolates
Percentage (%) of inhibition of the movement of nematode larvae incubated in <i>Trichoderma</i> filtrate at concentrations of				
0% ماء المقطر (شاهد 2)	%50	%75	%100	
9.5	a 88.7	a 92.3	a 98.0	العزلة 1 (<i>T. viride</i>) Isolate 1
9.5	a 84.4	ab 88.2	a 96.1	العزلة 2 (<i>T. viride</i>) Isolate 2
9.5	a 91.0	a 94.8	a 96.8	العزلة 3 (<i>T. longibrachiatum</i>) Isolate 3
9.5	a 86.5	a 92.0	a 95.3	العزلة 4 (<i>T. longibrachiatum</i>) Isolate 4
9.5	b 70.0	b 74.1	a 85.8	العزلة 5 (<i>T. viride</i>) Isolate 5
9.5	c 44.4	c 48.5	b 60.4	العزلة 6 (<i>T. viride</i>) Isolate 6
9.5	b 77.4	ab 83.1	a 91.9	العزلة 7 (<i>T. harzianum</i>) Isolate 7
9.5	b 70.3	ab 81.1	a 93.7	المستحضر التجاري (<i>T. harzianum</i>) Biocont
9.5	d 15.2	d 21.5	c 28.8	0% رشاحة مستنبت PDB (شاهد 1) 0% Filtrate of PDA medium (control 1)

المعدلات المتبوعة بحروف متماثلة في العمود نفسه لا تختلف معنوياً اعتماداً على اختبار دانكان عند مستوى ثقة 95%.

Means followed by the same letters in the same column are not significantly different based on Duncan's test at P=0.05.

Abstract

Yaziji, M., N. Allouf and R. Kassam. 2013. Effectiveness of filtrates of local isolates of *Trichoderma* fungi to control different stages of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) under laboratory conditions. *Arab Journal of Plant Protection*, 31(3): 252-261.

Effectiveness of filtrates of seven local isolates of the fungus *Trichoderma* against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Goeldi) was assessed under laboratory conditions compared with that of the commercial product filtrate Biocont (*T. harzianum*) during 2010-2011. These fungi were isolated from the soil and egg masses and nematode females were extracted from the tomato-infected roots under green house conditions along the Syrian coast. These fungi were identified as *T. longibrachiatum* Rifai, *T. harzianum* Rifai and *T. viride* Pers. ex S.F. Gray. Local Isolate No. 7 (*T. harzianum*) gave highest egg hatching inhibition at concentrations of 100 and 75%, which resulted in 98.1 and 86.4% inhibition, respectively, whereas the commercial product, using the same concentrations, gave 97.3 and 83.7% inhibition, respectively. Most filtrates of local *Trichoderma* isolates inhibited nematodes larvae movement more than the commercial product Biocont. Filtrate of isolate No. 1 (*T. viride*) gave highest larvae movement inhibition at 100% concentrations and reached 98% inhibition, compared with 93.7% inhibition for the commercial product. Filtrate of isolate No. 3 (*T. longibrachiatum*) gave the highest inhibition of nematode larvae movement (94.8%) at 75% concentrations followed by filtrate of isolate No. 1 (*T. viride*) which gave 92.3% inhibition, and filtrate of isolate No. 4 (*T. longibrachiatum*) which gave 92.0% inhibition, compared to the commercial product which gave 81.1% inhibition.

Keywords: *Trichoderma*, *Meloidogyne*, Biological control, Nematophagous fungi.

Corresponding author: Maysa Yaziji, Department of Plant Biology, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria, Email: Ramikassam1982@yahoo.com

References

- العربي التاسع لعلوم وقاية النبات. إعداد: صفاء قمري، خالد مكوك، صلاح الشعبي وأحمد الأحمد، قصر المؤتمرات، دمشق، سورية، 19-23 تشرين الثاني/نوفمبر، 2006. رقم الملخص BC32، صفحة A-198.
- البلخي، منهل ومحمد جمعة. 1989. دراسة حصر نيماتودا تعقد الجذور على العائلة الباذنجانية والقرعية في سوريا. وقائع أسبوع العلم 29. جامعة حلب، سورية، 13 صفحة.
- الشعبي، صلاح ولينا مطرود. 2002. أ. مكافحة مرض القشرة السوداء على البطاطا/البطاطس (*Rhizoctonia solani* Kühn)

المراجع

- أبو عرقوب، محمود. 2000. المقاومة الحيوية لأمراض النبات. جامعة قاريونس، طرابلس الغرب، ليبيا. 684 صفحة.
- أبوغربية، وليد، زهير اسطيفان، أحمد الحازمي وأحمد دوابة. 2010. نيماتودا النبات في البلدان العربية. إصدار الجمعية العربية لوقاية النبات. لبنان. 1242 صفحة.
- أمين، وفدي أمين وفردوس السيد معروف بخاري. 2006. مكافحة الأحيائية لكل من نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* والنيماتودا الكلوية *Rotylenchulus reniformis* باستخدام فطور التريكودرما. كتاب ملخصات أبحاث المؤتمر

- Carter and J.N. Sasser (eds.). North Carolina State University, Raleigh.
19. **Barnett, H.L. and B. Hunter.** 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3rd eds. Burgess Publishing Comp. Minnesota state. USA. 241 pp.
 20. **Blaxter, M.L. and W.M. Robertson.** 1998. The cuticle in free-living and plant parasitic nematodes. CAB Internal, Willingford, U.K. Pages 25-48.
 21. **Dababat, A.A. and R.A. Sikora.** 2007. Use *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 3: 297-309.
 22. **Domsch, K.H., W. Gams and Traute-Heidi Anderson.** 1980. Compendium of Soil Fungi volume 1. Academic Press. Germany. 859 pp.
 23. **El-Sherif, A.G. and Amona F.A. Ismail.** 2009. Integrated management of *Meloidogyne incognita* infecting soybean by certain organic amendments, *Bacillus thuringiensis*, *Trichoderma harzianum* and Oxamyl with reference to NPK and total chlorophyll status. Plant Pathology Journal, 8: 159-164.
 24. **Freire, F. and J. Bridge.** 1985. Parasitism of eggs, females and Juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*. Fitopatologia brasileira Brazil, 10: 577-596.
 25. **Goodey, J.B.** 1963. Laboratory Methods for work with Plant and Soil Nematodes. Technical Bulletin No. 2, Nematology Department, University of London. Pages 1-20.
 26. **Goswami, B.K. and S. Singh.** 2004. Fungal bioagents for management of root-knot nematode in tomato. Pesticide Research Journal, India, 16: 9-12.
 27. **Khan, H.U., R. Ahmad, W. Ahmed, S.M. Khan and A. Khan.** 2002. Evaluation of the combined effects of *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against root-knot disease of tomato. Biological Research, 3: 139-142.
 28. **Khan, H.U., W. Ahnad, R. Ahmad and M.A. Khan.** 2001. Evaluation of culture filtrates of different fungi on the larval mortality of *Meloidogyne incognita*. Pakistan Journal of Phytopathology, 12: 46-49.
 29. **Khattak, B.** 2001. Biological control of *Meloidogyne Javanica* (TREUB) chitwoodwith *Trichoderma harzianum* Rifai on tomato. Pakistan Agriculture Database, 2: 571-575.
 30. **Khattak, B.** 2008. Biological management of Root Knot Nematode *Meloidogyne incognita* with *Trichoderma harzianum* Rifai in tomato. Adapted from a thesis submitted for the degree of doctor of Philosophy at the Faculty of crop protection sciences, NWEP Agriculture University Peshawar, Pakistan, 157 pp.
 31. **Khattak, B., Saifullah and H. Khan.** 2002. Biological control of root-rot nematode with *Trichoderma harzianum* Rifai. on tomato. Scientific Khyber, 15: 85-94.
 32. **Lamberti, F.** 1984. Nematode problems of the Mediterranean coastal stripe in the Syrian Arab Republic. Nematologia Mediterranea, 12: 53-64.
- باستخدام بعض عزلات (*Trichoderma koningii* Oudem.) ومبيد تولكوفوس-ميثيل. مجلة وقاية النبات العربية، 20: 6-13 .6
- الشعبي، صلاح ولينا مطرود.** 2002 ب. دراسة مختبرية لتقويم فاعلية عزلات مختلفة من أنواع فطور الترايكوديرما تجاه بعض الفطور الممرضة المنقولة بالتربة. مجلة وقاية النبات العربية، 20: 77-83 .7
- الشعبي، صلاح، أسامة قطيفاني، محمد حسام صافية، صبحية العربي، لينا مطرود، وجورج أسمر.** 2010. أداء الأصول المقاومة في مكافحة بعض الفطور الممرضة المنقولة بالتربة ونيما تودا تعقد الجذور على البندورة/الطماطم في الدفيئات البلاستيكية. مجلة وقاية النبات العربية، 28: 48-61 .8
- الشعبي، صلاح، أسامة قطيفاني، محمد حسام صافية، صبحية العربي وجورج أسمر.** 2006. مكافحة نيما تودا تعقد الجذور والأمراض المنقولة بالتربة على الطماطم/البندورة باستخدام تقانة التطعيم على الأصول المقاومة أو المتحملة. كتاب ملخصات البحوث، المؤتمر العربي التاسع لعلوم وقاية النبات، 19-23 تشرين الثاني/نوفمبر 2006، إعداد: صفاء قمري، خالد مكوك، صلاح الشعبي وأحمد الأحمد، قصر المؤتمرات، دمشق، سورية، رقم الملخص N 21، رقم الصفحة A-119 .9
- الشعبي، صلاح، جورج ملوحي ولينا مطرود.** 2007. مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة/الطماطم (*Rhizoctonia solani* Kühn) باستخدام الفطر (*Trichoderma koningii* Oudem) والمبيدين فلوتولانيل وتولكوفوس ميثيل. مجلة وقاية النبات العربية، 25: 15-27 .10
- المجموعة الإحصائية.** 2008. الجمهورية العربية السورية، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، مديرية الإحصاء الزراعي.
- دعاج، خليفة حسن وصالح الهادي الشريف.** 2005. اختبار كفاءة المبيد الحيوي Biocont على بعض ممرضات النبات تحت ظروف البيوت المحمية والمختبر. المؤتمر الوطني الثالث للتقنيات الحيوية (ملخص). .11
- عقاد وداد صفوح.** 2009 ، دراسة استخدام بعض أنواع جنس *Trichoderma* كعوامل حيوية في مكافحة الفطر *Bipolaris sorokiniana*. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة حلب، 140 صفحة. .12
- معروف، فراس، ندى ألوف وصباح المغربي.** 2007. تأثير وتطور أعداد نيما تودا تعقد الجذور *Meloidogyne* sp. على نبات الباذنجان. دراسة أعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. 87 صفحة. .13
- يعقوب، غسان.** 2005. أساسيات تصميم التجارب - كتاب جامعي. جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. 327 صفحة. .14
- Abd, E.L., H. Moity, F.W. Riad and S. El-Eraki.** 1993. Effect of single and mixture of antagonistic fungi on the control of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Egyptian Journal Agriculture Research, 71: 91-100.
- Agrios, G.** 2005. Plant Pathology. 5th. Ed., Elsevier Academic press, University of Florida, USA. 948 pp.
- Al-Qasim, M., W. ABO-Gharbieh and K. Assas.** 2009. Nematophagal ability of Jordan isolates of *Paecilomyces variotii* on the Root-Knot Nematode *Meloidogyne javanica*. Nematologia Mediterranea, 37: 53-57.
- Barker, K.R.** 1985. Nematode extraction and bioassays. Pages 18-35. In: advanced treatise on *Meloidogyne*, Vol 2, Methodology. K.R. Barker, C.C.

45. **Saifullah and B.J. Thomas.** 1996. Studies on the paratism of *Globodera rostochiensis* by *Trichoderma harzianum* using low temperature scanning electron microscopy. *Afro-Asian Journal Nematology*, 6: 117-122.
46. **Sharma, D.D.** 1999. Effect of culture filtrates of biocontrol agents on larval mortality of *Meloidogyne incognita* in comparison with Rugby 10G. *India Journal Sericulture*, 2: 152-154.
47. **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.
48. **Sharon, E., E.M. Bar, I. Chet, E.A. Herrera, O. Kleifeld and Y. Spiegel.** 2001. Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 91: 687-693.
49. **Siddiqui, I.A. and S.S. Shaikat.** 2004. *Trichoderma harzianum* enhances the production of nematocidal compounds in vitro and improves biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas fluoresces* in tomato. *Letters in App. Microbiol.*, 38: 169-175.
50. **Siddiqui, I.A., A. Zareen, M.J. Zaki and S.S. Shaikat.** 2001. Use of *Trichoderma* species in the control of *Meloidogyne javanica* root knot nematode in okra and mungbean. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4: 846-848.
51. **Singh, R. and K. Sitaranaiah.** 1994. Plant pathogens of the plant parasitic Nematodes. Oxford and IBH Publishing, India. 435 pp.
52. **Spiegel, Y. and I. Chet.** 2004. Mechanisms and improved biocontrol of the root-knot nematodes by *Trichoderma* spp. *Springer Link-Integrated Pest Management*, 3: 169-175.
53. **Stepen, S.M. and B. Khattak.** 2007. Isolation of *Trichoderma harzianum* and in vitro screening for its effectiveness against root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.) from Swat, Pakistan. *Pakistan Journal of Nematology*, 25: 313-322.
54. **Sukumar, J., S.D. Padma and U.D. Bongale.** 2005. Biological control of mulberry root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Trichoderma harzianum*. *Internal Journal Entomology India*, 8: 175-179.
55. **Zareen, A., M.J. ZAKI and A. Ghaffar.** 1999. Effect of culture filtrate of fungi in the control of *Meloidogyne javanica*, root knot nematode on okra and broad bean. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2: 1441-1444.
33. **Mac Faddin, J.F.** 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, vol.1.
34. **Mahfouz, M.A. and S.A. Kabeil.** 2010. Management of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato in Egypt. *Journal of American Science* 6: 256-262.
35. **Meyer, S.L., D. Roberts, D. Chitwood, L.K. Carta, R.D. Lumsdden and W. Mao.** 2001. Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens* alone and in combination Against *Meloidogyne incognita* on Bell pepper. USA, *Nematropica*, 31: 75-86.
36. **Meyer, S.L., S.I. Massoud, D.J. Chitwood and D.P. Roberts.** 2000. Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, 2: 871-879.
37. **Monoson, H., T.D. Conway and R.E. Nelson.** 1975. Four endoparasitic nematode destroying fungi isolated from Sand Ridge State forest soil. *Mycopathologia Illinois*, 57: 59-62.
38. **Naserinasab, F., N. Sahebani and H. Reza Etebarian.** 2011. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* BI and salicylic acid on Tomato. *African Journal of Food Science*, 5: 276-280.
39. **Pathak, K.N. and B. Kumar.** 1995. Nematotoxic effects of *Trichoderma harzianum* culture filtrate on second juveniles of rice root knot nematode. *India Journal Nematology*, 2: 223-224.
40. **Pathak, K.N., R. Ranjan, and U.B. Kumar.** 2005. Bio-management of *Meloidogyne graminicola* by *Trichoderma harzianum* and *T. virens* in rice. *India, Annals of Plant Protection Sciences*, 13: 2.
41. **Perry, R.N., M. Moens and J.L. Starr.** 2009. Root-knot Nematodes. Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas University, USA. 488 pp.
42. **Person, C.H.** 1794. Fungal Database Nomenclature and Species Bank Online Taxonomic Novelties Submission, Administered by the International Mycological Association, Neues Magazin für die Botanik, Römer, 1- 92.
43. **Rifai, M.A.** 1964. A Revision of the Genus *Trichoderma*. Adapted from a thesis submitted for the degree of master of science at the Faculty of Pure science, University of Sheffield, England, 55 pp.
44. **Rifai, M.A.** 1969. Fungal database nomenclature and species bank online taxonomic novelties submission, administered by the International Mycological Association, *Mycological Papers* 42-116

Received: January 14, 2012; Accepted: June 24, 2012

تاريخ الاستلام: 2012/1/14؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2012/6/24