مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

تقييم بعض عناصر المكافحة الطبيعية والحيوية لنيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans*(*Secernentea, Tylenchida, Tylenchulidae*) على غراس الحمضيات صنف زفير في الساحل السوري

الدكتورة مريم العبد القادر*
الدكتور خالد العسس**
أحمد اسكندر***

(تاريخ الإيداع 6 / 9 / 2011. قبل للنشر في 25 / 1 / 2012)

□ ملخّص □

أجريت هذه الدراسة في المشتل بهدف تقييم فعالية بعض العناصر الطبيعية كاستخدام مساحيق الأوراق الجافة لكل من نباتات الأزدرخت *Melia azadirachta*، والدفلة *Nerium oleander*، والداتورة *Datura stramonium*، وأم كلثوم *Lantana camara*، وعوامل حيوية كالفطر *Paecilomyces lilacinus* والفطر *Trichoderma harzianum* في مكافحة نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* ومقارنتها بفعالية المبيد النيماتودي Ethoprop. تم إضافة عوامل المكافحة السابقة وبرقات الطور الثاني لنيماتودا الحمضيات إلى تربة أصص التجربة في نفس الوقت، قيّمت النتائج شهرياً وعلى مدى ثلاثة أشهر. أظهرت النتائج أن معاملتي المبيد، والأزدرخت كانتا فعالتين في تخفيض عدد اليرقات/100سم^3 تربة وكذلك عدد الإناث/1غ جذر حيث كانت النتائج في نهاية التجربة (95.5 ، 50) و(166.5، 80) على التوالي، وقد خفض الفطر *P.lilacinus* عدد اليرقات والإناث بزيادة زمن التجربة (198.75، 99) وجميع المعاملات تفوقت إحصائياً على معاملة الشاهد (507.5، 245) مع وجود فروق معنوية. وكانت أعلى نسبة للزيادة في نمو الغراس في معاملات *P.lilacinus*، *L.camara*، *M.azadirachta*: 17.18%، 12.44%، 1.97% على التوالي مقارنة بالشاهد.

الكلمات المفتاحية: نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans*، الأزدرخت *Melia azadirachta*، الداتورة *Datura stramonium*، الدفلة *Nerium oleander*، أم كلثوم *Lantana camara*، *Paecilomyces lilacinus*، *Trichoderma harzianum*، المبيد النيماتودي Ethoprop.

* مدرس– قسم وقاية النبات– كلية الزراعة – جامعة دمشق– دمشق– سورية.
** أستاذ مساعد– قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة دمشق– دمشق– سورية.
*** طالب دراسات عليا (ماجستير)– قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة دمشق– دمشق– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

Evalution of Some Natural and biological Agents for the Control of Citrus Nematode *Tylenchulus semipenetrans* (*Secernentea, Tylenchida, Tylenchulidae*) on Citrus seedling(Zofeer-strain) in the Syrian Coast

Dr. Mariam Al-abed Al-kader*
Dr. Khaled Al-Assas**
Ahmad Eskander***

(Received 6 / 9 / 2011. Accepted 25 / 1 /2012)

□ ABSTRACT □

This study was conducted in the nursery to evaluate the efficacy of some natural agents using crushed dry leaves of *Melia azadirachta*, *Datura stramonium*, *Lantana camara*, *Nerium oleander* and biological agents as the fungi *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* to control citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* comparing with the efficacy of the nematicide Ethoprop, by adding these agents to the soil of trial pots along with the second stage of *T.semipenetrans*. The results were evaluated in three monthes at interval one month. The results showed that the highest reducing of the number of larvae\100cm^3 soil, females\1g root achieved by Ethoprop and *M.azadirachta* (95.5, 50) and (166.5, 80) respectively, *P.lilacinus* was reducing the number of larva and female along with increasing the time (198.75, 99), all treatments differ significantly with control (507.5, 245). The maximum growth of plant was achieved by *P.lilacinus*, *L.camara*, *M.azadirachta*: 17.18%, 12.44% and 1.97% respectively comparing with control.

Key words: Citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, *Melia azadirachta*, *Datura stramonium*, *Nerium oleander*, *Lantana camara*, *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum*, Ethoprop

*Associate professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.
**Assistant professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.
***Postgraduate Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.

مقدّمة:

يعد إنتاج الحمضيات أحد أكبر القطاعات الزراعية في العالم، وتأتي التجارة العالمية للحمضيات في المرتبة الثانية بعد الموز وأكثر من ضعف التجارة العالمية للتفاح [25]. تطورت زراعة الحمضيات في الجمهورية العربية السورية على صعيدي المساحة والإنتاج حيث بلغت المساحة المزروعة بالحمضيات 38500 هكتاراً وعدد الأشجار 12837 ألف شجرة وبلغ الإنتاج حوالي 1,092 مليون طن [3]. تحتل سوريا حالياً المرتبة الثالثة من حيث الإنتاج على مستوى الوطن العربي والسابعة في حوض المتوسط والعشرين في العالم وتعطي حوالي 1% تقريباً من الإنتاج العالمي [1]. تصاب الحمضيات بالعديد من الأمراض والآفات التي تخفض الإنتاج كمّاً ونوعاً، ومنها النيماتودا حيث يوجد العديد من أنواع النيماتودا المتطفلة على النبات المترافقة مع جذور الحمضيات ولكن تعتبر نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* النيماتودا المتطفلة الأكثر أهمية وانتشاراً على الحمضيات في العالم، مسببة لمرض التدهور البطيء[2،23]، وكان أول إخبار عنها عام 1913 عن طريق Thomas [33]. اكتشفت نيماتودا الحمضيات لأول مرة على جذور الحمضيات في كاليفورنيا عام 1912 وسميت ووصفت في سنوات لاحقة [10،11]، وذكر أنها تترافق مع أشجار الحمضيات في العديد من بلدان العالم مثل فنزويلا والصين والعراق [12،24،35،37]. وقد أخبر Lamberti عام (1984) عن انتشار نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* في معظم العينات التي أخذت من حقول الحمضيات المتضررة في سوريا ولوحظ ارتفاع عدد الإناث (1500/غ تربة) على الجذور في بساتين البرتقال في محافظتي اللاذقية وطرطوس وفي بساتين الزيتون وعلى العنب [21].

تكمن خطورة الأضرار التي تسببها هذه الآفة على أشجار الحمضيات في مجتمعاتها الكبيرة التي قد تبلغ في الأشجار المعمرة حوالي 4000 يرقة/1 غ جذور [4]، وتتلخص الأعراض بنمو بطيء، تدهور تدريجي في النمو أكثر وضوحاً خلال فترات الإجهاد البيئي، اصفرار الأوراق وتساقطها باكراً، جفاف النموات الطرفية للأغصان وموتها، مجموع ورقي مختزل، صغر الثمار وانخفاض نسبة العقد والنوعية وأخيراً الذبول، تظهر الأعراض على الجذور عند اشتداد الضرر بشكل تقرحات ذات لون بني داكن [2،15]، كذلك تكون الجذور المغذية المصابة بشدة بنيماتودا الحمضيات أثخن قليلاً من الجذور السليمة ولها مظهر ملوث بسبب التصاق جزيئات التربة إلى المادة الهلامية الموضوعة من قبل أنثى النيماتودا على سطح الجذر [35]. ولأن الأعراض قد لا تكون ظاهرة أو مرئية على الجذور المصابة، قد تمر أصول المشتل المصابة بسهولة دون أن تكتشف [35]. كما ثبت أن نسبة الانخفاض في كثافة كتلة الجذور الليفية ومجموع الأوراق وغلة الثمار بلغت 33-8-23% على التوالي [14].

منذ اكتشاف النيماتودا تم إتباع عدة وسائل لإدارتها كاستخدام الأصول المقاومة، ودورة زراعية، وإجراءات قبل وبعد الزراعة ومنها المبيدات التي فشلت في القضاء أو تخفيض مجتمع الآفة لمدة طويلة لعدة أسباب منها عدم قدرة المبيد على الوصول إليها لتواجدها بعيداً عن سطح التربة لمسافات تصل لـ 4 أمتار، وامتلاكها لكيوتيكل غير نفوذ للعديد من المركبات الكيميائية ونشاط ميكروبات التربة في استقلاب العديد من المبيدات وخصوصاً التدخينية، بالإضافة لتزايد الخطر البيئي والتكلفة العالية الناجمة عن استخدام المبيدات، وبما أن معظم المبيدات النيماتودية تميل لأن تكون متطايرة أو أكثر سمية مع تخصص ضعيف للنيماتودا المستهدفة وأقل أماناً للبيئة والإنسان، إذ إنها تلوث المياه الجوفية وتسبب استنزاف الأوزون الجوي [9]، فقد تم العمل جدياً لاستبدال هذه المبيدات حيث أجريت بعض الأبحاث لاستخدام المستخلصات النباتية في المكافحة، فمن المعروف أن النباتات الراقية تنتج طيفاً واسعاً من المركبات الكيميائية الفعالة

تدخل في علاقة نبات– نيماتودا تتضمن مركبات طاردة، جاذبة، مانعة للفقس أو محفزة للفقس وسامة للنيماتودا من هذه المركبات:

Polythienyls, Isothiocyanates, Glucosinolates, Cyanogenic glycosides, Polyacetylenes, Alkaloids, Lipids, Terpenoids, Sesquiterpenoids, Diterpenoids, Quassinoids, Steroids, Triterpenoids, Simple and Complex Phenolics, [9].

هذه المركبات يمكن أن تطور للاستخدام كمبيدات نيماتودية أو يمكن أن تستعمل كمركبات أساسية لتطوير مشتقات كيميائية صناعية وزيادة فعاليتها ولتكون صديقة للبيئة.

وتم مؤخراً التوجه لاستخدام المكافحة الحيوية للسيطرة على النيماتودا باستخدام كائنات تعيش في نفس الوسط الذي تعيش فيه وهو التربة للإقلال من الإصابة وشدة خطر النيماتودا، من هذه الكائنات يعد الفطر *Paecilomyces lilacinus* (*Ascomycetes*, *Eurotiales*, *Trichocomaceae*) متطفلاً درس جيداً على عدد من النيماتودا المتطفلة بما فيها *T.semipenetrans*، حيث ينتج العديد من الإنزيمات منها Protease، Chitinases التي تغير في بنية قشرة بيوض النيماتودا مما يساعد في اختراق الفطر للبيوض [19]. ينتشر هذا الفطر في المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية وقادر على البقاء حياً في منطقة الجذور كما أنه سهل الإكثار [36]. ومن جهة أخرى فقد أظهرت دراسة حديثة أن الفطر *Trichoderma harzianum* (*Hyphomycetes*, *Moniliales*, *Moniliaceae*) قادر على إصابة بيوض ويرقات النيماتودا حيث اخترق كتلة البيض وخفض بشكل ملحوظ نسب فقس البيض ويعزى التطفل المباشر هذا لنشاط أنزيم Chitinase [27].

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من الأهمية الاقتصادية والغذائية لشجرة الحمضيات في سوريا، ونظراً لخطورة نيماتودا الحمضيات كآفة تدميرية وعدم إمكانية زراعة الحمضيات في الأراضي المصابة وندرة الدراسات حولها في سورية، والحرص على زراعة وإنتاج الحمضيات بدون استخدام مواد كيميائية المسببة للأضرار المتزايدة على البيئة والإنسان، فإن هذا البحث يهدف لإيجاد بدائل طبيعية آمنة ومتوفرة في البيئة المحلية السورية عن المبيدات النيماتودية لإدارة نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* التي تسبب مرض التدهور البطيء لأشجار الحمضيات من خلال تقييم فعالية مسحوق الأوراق الجافة لنباتات: الأزدرخت *Melia azadirachta* (*Sapindales*, *Meliaceae*)، الداتورة *Datura stramonium* (*Solanales*, *Solanaceae*)، الدفلة *Nerium oleander* (*Gentianales*, *Apocynaceae*)، وأم كلثوم *Lantana camara* (*Lamiales*, *Verbenaceae*)، الفطر *Paecilomyces lilacinus* والفطر *Trichoderma harzianum* ومقارنتها بفعالية المبيد النيماتودي ايثوبروب Ethoprop في مكافحة نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* . وتأثير هذه المعاملات على نمو الغراس.

طرائق البحث ومواده:

تم تنفيذ البحث في محافظة طرطوس، من شهر أيلول عام 2010 حتى شهر أيار عام 2011، في مشتل لإنتاج غراس الحمضيات، وقد تم استخدام الصنف زفير.

1- جمعت عينات التربة من أشجار مصابة بنيماتودا الحمضيات على عمق30–40 سم وعلى مسافة 120–150 سم من ساق الشجرة بطريقة النجمة. وضعت العينات المجموعة في أكياس نايلون بولي اتيلين. وضعت مع البيانات اللازمة وأرسلت في حافظات مبردة إلى المخبر مباشرة [35].

2- تم استخلاص النيماتودا باستخدام أطباق بيرمن حيث تؤمن هذه الطريقة كمية أكبر من الأوكسجين من خلال اتساع السطح المائي مقارنة بغيرها من الطرق، وبالتالي التقليل من احتمال موت اليرقات بالاختناق، وذلك بوضع 100غ تربة في منديل ورقي ثم يغمر بالماء، سكب الماء بعد 72 ساعة في منخل قطر فتحاته 38 ميكرون (400 مش)، غسل المنخل جيداً برشاش ماء ثم سكب المعلق في بيشر. فحصت المعلقات باستخدام المجهر الضوئي لفصل واستخلاص يرقات نيماتودا الحمضيات، وجمعت في كأس بيشر لاستخدامها في إكثار النيماتودا. [31]

3- تم إحداث عدوى لغراس الحمضيات المزروعة في عشرين أصيص (الحاوي على تربة معقمة وبادرات صنف فالنسيا الحساس بعمر شهر) بيرقات نيماتودا الحمضيات المستخلصة من عينات التربة من أجل تكاثر النيماتودا لاستخدامها في التجارب اللاحقة. الشكل (1).

b **a**

الشكل 1. نيماتودا الحمضيات: a إناث على سطح الجذر، b: يرقة

4- جمع وسحق أوراق نباتات التجربة: الأزدرخت، الداتورة، الدفلة وأم كلثوم المتواجدة بشكل شائع في الطبيعة السورية من حدائق مدينة طرطوس، في شهر أيلول من عام 2010، وذلك بقص الأفرع ثم انتزاع الأوراق، ووضعت في أكياس نايلون ونقلت للمخبر حيث جففت في الظل لمدة شهر ثم سحقت باستخدام الخلاط الكهربائي، وضع المسحوق في أكياس نايلون وحفظ بدرجة حرارة الغرفة 22–25° م لحين استخدامه.

5- تم إكثار الفطور المستخدمة في التجربة الفطر: *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson 14052DSMZ مصدره د. مريم العبدالقادر من كلية الزراعة في جامعة دمشق، والفطر *Trichoderma harzianum* مصدره مخبر تربية وإكثار فطر التريكوديرما التابع لمديرية زراعة طرطوس، مخبرياً على الشعير المجروش حيث عقم الشعير المجروش المرطب بالماء المقطر بوضعه في دوارق سعة 500 مل وتغطيتها بورق الألمنيوم ثم وضعت في الأوتوغلاف عند درجة حرارة 121°م لمدة 10 دقائق، تم إضافة قطع من مستعمرات الفطور المنماة مسبقاً على بيئة دكستروز آغار البطاطا PDA وخلطها جيداً بالشعير المعقم تحت غرفة العزل ثم حضنت

الدوارق على درجة حرارة 25°م و لمدة 2-3 أسابيع مع الخلط كل فترة برج وقلب محتويات الدوارق. يوضح الشكل (2) ألوان ونموات المزارع الفطرية للفطور المستخدمة.

نامي على بيئة PDA **نامي على الشعير المجروش**

فطر *P.lilacinus*

نامي على بيئة PDA **نامي على الشعير المجروش.**

فطر *T.harzianum*

الشكل 2: مستعمرات الفطر *Paecilomyces lilacinus* والفطر *Trichoderma harzianum*

6- تم زراعة بذور أصل الحمضيات زفير(*Citrus aurantium*) المستخدم في المشاتل ضمن مراقد بذار تحتوي تورب معقم مع الترطيب حسب الحاجة وتركت حتى أصبحت بعمر أربعة أشهر. نقلت الغراس النابتة إفرادياً إلى أصص التجربة التي تحتوي خلطة معقمة مكونة من تراب+ رمل+ سماد متخمر بنسبة 1:1:1.

7- تمت عدوى الأصص الحاوية على غراس الزفير وعددها /32/ أصيص بمعدل /4/ أصص لكل معاملة تعتبر بمثابة مكررات، بمعلق نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* بمعدل 50 مل يحتوي حوالي/5000/ يرقة نيماتودا الحمضيات مستخلصة من تربة أصص الإكثار بتوزيعها بالتساوي في ستة حفر حول كل ساق غرسة لتحقيق التجانس بين المكررات .

8- تقييم فاعلية مساحيق الأوراق الجافة لنباتات التجربة، والمبيد النيماتودي موكاب (Ethoprop) المادة الفعالة (S,S- dipropyl-O-ethyl-dithiophosphate)، المستحضر حبيبي، حيث يقتل النيماتودا بالملامسة، والفطرين *P.lilacinus* و*T.harzianum* في مكافحة نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* وذلك بخلط تربة أصص التجربة الحاوية على غراس زفير بمسحوق الأوراق الجافة لنباتات التجربة بمعدل 10غ/أصيص (كل مسحوق

على حدا)، 1غ مبيد/أصيص و20غ من الشعير المجروش الحامل للفطر/أصيص بنفس الوقت الذي تمت فيه العدوى بالنيماتودا. وذلك بواقع ثمانية معاملات بما في ذلك معاملة الشاهد وكل معاملة أربعة أصص.

9- تقييم تأثير مساحيق الأوراق الجافة لنباتات التجربة، والمبيد النيماتودي والفطرين *P.lilacinus* و*T.harzianum* في زيادة نمو النباتات وذلك بخلط تربة أصص التجربة الحاوية على غراس زفير بمسحوق الأوراق الجافة لنباتات التجربة بمعدل 10غ/أصيص (كل مسحوق على حدا)، 1غ مبيد/أصيص و20غ من الشعير المجروش الحامل للفطر/أصيص بدون العدوى بالنيماتودا. أيضاً بواقع ثمانية معاملات بما في ذلك معاملة الشاهد وكل معاملة أربعة أصص.

10- معاملة الشاهد:

أ- شاهد أول (لتقييم المكافحة): أصص التجربة الحاوية على غراس زفير مزروعة إفرادياً تم إحداث العدوى بالنيماتودا دون المعاملة بمسحوق الأوراق الجافة لنباتات التجربة، أو المبيد أو الفطر.

ب- شاهد ثاني (لتقييم التأثير على النمو): أصص التجربة الحاوية على غراس زفير مزروعة إفرادياً بدون إحداث العدوى بالنيماتودا ودون المعاملة بمساحيق الأوراق الجافة لنباتات التجربة، أو المبيد أو الفطر.

صممت التجربة بتصميم عشوائي كامل وتم تكرار كل معاملة أربعة مرات.

تم ري الغراس حسب الحاجة.

11- تم أخذ النتائج بعد شهر من تطبيق المعاملة وعلى مدى ثلاثة أشهر وبفارق شهر واحد بين كل قراءة على أساس عدد اليرقات/100غ تربة، وعدد الإناث/غ جذور، وقياس الزيادة في نمو النباتات من خلال أخذ أطوال الغراس باستخدام متر قياس واعتبار الطول الأولي هو الطول صفر، وثم تحليل النتائج إحصائياً بمقارنة المتوسطات للنسبة المئوية للموت اليرقي والإناث على مستوى 5% وفق اختبار دونكان وباستخدام البرنامج الإحصائي SPSS(v.19).

النتائج والمناقشة:

- تأثير المعاملات على تخفيض عدد اليرقات /100سم^3 تبعاً لزمن التعريض:

بينت التجربة أن معاملة المبيد متفوقة إحصائياً ($P\leq0.05$) على باقي المعاملات حيث خفضت عدد اليرقات بصورة أكبر من باقي المعاملات فقد كان عدد اليرقات المستخلصة بعد شهر، شهرين وثلاثة أشهر 60، 80.5 و95.5 يرقة/ 100 سم^3 تربة على التوالي يليها كل من معاملة الأزدرخت حيث استخلص فقط 109، 120 و166.5 يرقة/100سم^3 تربة على التوالي. ومعاملة الداتورة حيث كان عدد اليرقات المستخلصة 120.25، 160 و193 يرقة/100سم^3 تربة على التوالي حيث لم يوجد فروق معنوية بين هذه المعاملات في الشهر الأول كما لم يلاحظ فرق معنوي بين معاملتي المبيد والأزدرخت في قراءات الشهر الثاني مع وجود فرق معنوي بين المعاملتين السابقتين ومعاملة الداتورة أما في الشهر الثالث فقد لوحظ فرق معنوي بين معاملة المبيد ومعاملتي الأزدرخت والداتورة اللتان لم تعطيان فرق معنوي بينهما، يلي هذه المعاملات معاملة أم كلثوم حيث استخلص 150، 260.5 و326 يرقة/100سم^3 تربة ومعاملة الدفلة 161.5، 231.5 و301 يرقة/100سم^3 تربة على التوالي حيث لايوجد في الشهر الأول فروق معنوية فيما بينها ولا مع معاملتي الأزدرخت والداتورة أما في الشهر الثاني والثالث فقد وجد فروق معنوية بين معاملتي أم كلثوم والدفلة ومعاملتي الأزدرخت والداتورة. يلي هذه المعاملات معاملتا الفطرين *P.lilacinus* و*T.harzianum* بحيث

كانت عدد اليرقات كالتالي 195، 229.5، 198.75 يرقة/ 100سم^3 تربة و210، 218.5، 240 يرقة/ 100سم^3 تربة على التوالي مع عدم وجود فرق معنوي بين المعاملتين فيما بينهما، وكذلك مع معاملتي الدفلة وأم كلثوم في الشهرين الأول والثاني ولكن في الشهر الثالث فقد تفوقت معاملة الفطر *P.lilacinus* إحصائياً على معاملتي الدفلة وأم كلثوم مع وجود فرق معنوي معهما وكذلك مع معاملة المبيد ولم يلاحظ وجود فروق معنوية مع معاملات الأزدرخت، الفطر *T.harzianum* والدفلة. أما معاملة الفطر *T.harzianum* فقد تفوقت إحصائياً في الشهر الثالث على معاملتي الدفلة وأم كلثوم مع وجود فرق معنوي مع معاملات أم كلثوم، المبيد والأزدرخت ولم توجد فروق معنوية مع معاملة الفطر *P. lilacinus* والدفلة والداتورة.

- مقارنة متوسط عدد اليرقات/100سم^3 تربة في نهاية التجربة:

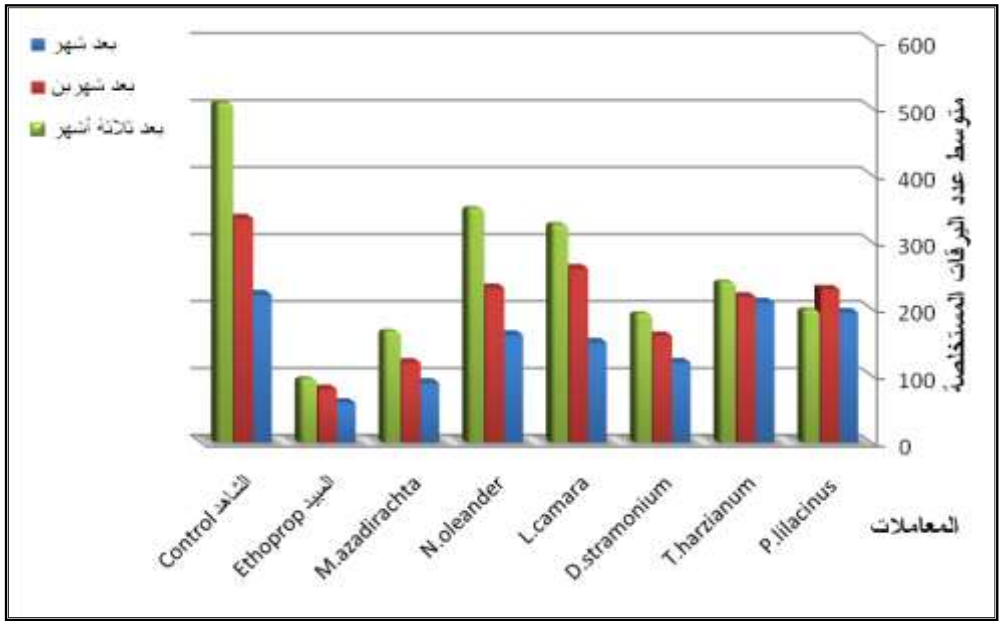
بينت التجربة تفوق معاملة المبيد إحصائياً ($P\leq0.05$) على جميع المعاملات حيث استخلصت 95.5 يرقة/100سم^3 تربة مع وجود فرق معنوي مقارنة مع المعاملات الأخرى إلا معاملة الأزدرخت التي تلت معاملة المبيد بعدد اليرقات 166.5 يرقة/100سم^3، تلتها معاملة الداتورة 193 يرقة/ 100سم^3 تربة بدون فرق معنوي مع معاملة الأزدرخت. ثم كل من معاملات الفطر *P.lilacinus*، والفطر *T.harzianum*، والدفلة وأم كلثوم حيث كان متوسط عدد اليرقات 198.75، 240، 301 و326 يرقة/ 100سم^3 تربة على التوالي بدون فروق معنوية فيما بينها ومع وجود فرق معنوي مع المعاملات السابقة. وقد تفوقت إحصائياً ومع فروقات معنوية جميع المعاملات على معاملة الشاهد التي أعطت 507.5 يرقة/100سم^3 تربة. يبين الشكل (3) ترتيب فاعلية المعاملات في خفض عدد يرقات النيماتودا وهي كالتالي: المبيد، الأزدرخت، الداتورة، الفطر *P.lilacinus*، الفطر *T.harzianum*، الدفلة، أم كلثوم، الشاهد. كما نلاحظ أن أعداد اليرقات استمرت بالزيادة خلال فترة التجربة بينما تناقصت في الشهر الثالث فقط في معاملة الفطر *P.lilacinus* واستقرت تقريباً في معاملة الفطر *T.harzianum*.

وتتفق هذه النتائج مع نتائج العالمين Maafi و Damadzadeh في تجربة البيت الزجاجي حيث تم مكافحة *T.semipenetrans* على غراس الليمون الحامض بمبيدين نيماتوديين حبيبيين Fenamiphos، Cadusafos والتي كان لهما التأثير الأكبر عندما طبقت في وقت واحد مع العدوى بالنيماتودا [22]، وتعزى قدرة مساحيق الأوراق الجافة لنباتات التجربة على قتل اليرقات إلى المواد الكيميائية التي تحويها حيث تحتوي أوراق الأزدرخت على مجموعة من المركبات منها: Azadirachtin, Nimbin, Nimbidin, Nimbinin, Nimbinate, Salanin, Gedunin, Queceretin, التي تسبب اضطرابات هرمونية وتمنع التغذية والتكاثر والنمو، وهذه المركبات فعالة في قتل نيماتودا تعقد الجذور [28،29] بينما تحتوي أوراق الداتورة على مركبات هي: Alkaloids (scopolamine, hyoscyamine, meteloidine, apoatropine)، Terpenoids، Flavonoids وهي مركبات سامة ومانعات تغذية [5] أما أوراق نبات أم كلثوم تحتوي على مركبات منها: caryophyllene, 1-α-phellandrene, lantadene A, lantadene B, lancamarone quinine, lantanine [34] وتحتوي أوراق الدفلة على مجموعة من المركبات منها cardenolides [30] وهذه المركبات تتميز بسميتها على النيماتودا. ومن المحتمل أن المركبات الكيميائية الموجودة في النباتات المضافة إلى التربة تحتل مساماتها حيث تتواجد مجتمعات النيماتودا الضارة، وعند السقاية تتسرب أكثر بين المسامات بحيث تقتل اليرقات وهكذا تبقى مجتمعات النيماتودا تحت العتبة الاقتصادية للضرر [16] وقد نشرت نتائج مشابهة تحققت في تجربة تأثير المستخلصات المائية للأزدرخت *Azadirachta indica*، الداتورة *Datura stramonium* والعشار *Calotropis procera* على يرقات نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans*

وكانت النتائج هامة جداً حيث أعطى الأزدرخت نسبة موت أعظمية ثم العشار ثم الداتورة [6]، كما سببت مستخلصات الأوراق والساق والأبصال للداتورة *Datura stramonium* نسبة موت 50-100% ليرقات الطور الثاني لنيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* بعد 48 ساعة من المعاملة [20]. ومن المعروف أن الفطر *P.lilacinus* قادر على غزو بيوض عدة أجناس من النيماتودا منها:*Tylenchulus*, *Globodera*, *Meloidogyne*, *Nacobbus* ويعزى الفعل السمي له إلى إنتاج إنزيمات محللة للبروتين والكيتين مما يسبب تغير في تركيب قشرة البيضة ونفاذيتها أو ثقب في الكيوتيكل وهذا بدوره يسمح بارتشاح مركبات سامة من محيط البيوض إلى داخلها مما يؤدي لاضطرابات فيزيولوجية وتخريب للجنين، والنسبة المئوية للبيوض المخترقة لها علاقة مباشرة بفترة التعريض للفطر[17]. كما أن رشاحة وسط الزراعة للفطر*P.lilacinus* تحتوي سموماً كحمض الأسيتيك الذي له تأثير يشل حركة يرقات الطور الثاني المصابة J_2 [13]، وتلعب الإنزيمات مثل serine protease المستخلص من البيئة المائية للفطر *P.lilacinus* دوراً هاماً في منع فقس البيوض لفعاليتها في اختراق الفطر لقشرة بيوض النيماتودا [8]. أشارت تجارب مماثلة لقدرة الفطر *T.harzianum* على تخفيض مجتمع نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* ويعزى السبب للتطفل المباشر للفطر أو لإنتاجه إنزيمات Chitinase, Proteinase [32]. حيث أن جميع سلالات الفطر *T.harzianum* قادرة على اختراق الكتل الجيلاتينية للبيوض واستعمارها ويرقات الطور الثاني لنيماتودا تعقد الجذور *M.javanica* [27]. وأثبتت دراسة أخرى تأثير الفطرين *P.lilacinus*، *T.harzianum* في تخفيض عدد يرقات والعقد على الجذور لنيماتودا *M.incognita* وزيادة طول النبات [18].

وقد كانت جميع المعاملات متفوقة إحصائياً على معاملة الشاهد مع فروق معنوية إلا في الشهر الأول لم يوجد فرق مع معاملات الفطر *P.lilacinus*، الفطر *T.harzianum* والدفلة.

لقد تم إثبات قدرة مساحيق الأوراق الجافة للنباتات *M.azadirachta*، *N.oleander*، *D.stramonium*، *L.camara*، والفطور المختبرة *P.lilacinus*، *T.harzianum* في تخفيض كثافة يرقات نيماتودا الحمضيات، كما أثبتت القدرة التكاثرية للفطور مع زيادة الزمن وذلك مقارنة بالشاهد غير المعامل بعوامل المكافحة سابقة الذكر، وقد كان لكل من المبيد ومسحوق الأزدرخت وثم مسحوق الداتورة الفعالية الأكبر في تخفيض عدد يرقات نيماتودا الحمضيات في التربة، وكان تأثير الفطرين أقل ما يمكن في بداية التطبيق ولكن زادت عدد اليرقات الميتة بصورة مضطردة بعد شهرين وثلاثة أشهر من المعاملة وربما يعزى السبب إلى أن الفطور احتاجت زمناً حتى تأسست في التربة ووصلت هيفاتها الفطرية وأعضائها التكاثرية إلى النيماتودا ومن جهة أخرى فإنها لا تعتمد على القتل المباشر وإنما يعزى عمل الفطر *T.harzianum* للتطفل المباشر أو لإنتاجه إنزيمات Chitinase، Proteinase، Lytic [32]. ويعزى الفعل السمي للفطر *P.lilacinus* إلى إنتاج إنزيمات محللة للبروتين والكيتين مما يسبب تغير في تركيب قشرة البيضة ونفاذيتها أو ثقب في الكيوتيكل [17]، فهو طفيلي بيوض أي يعمل في المراحل التالية من تطور اليرقات إلى إناث ثم وضع البيض الذي يتطفل عليه الفطر.



الشكل (3) تقييم فعالية المعاملات المختلفة في تخفيض كثافة يرقات نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* بعد شهر، شهرين، ثلاثة أشهر من المعاملة.

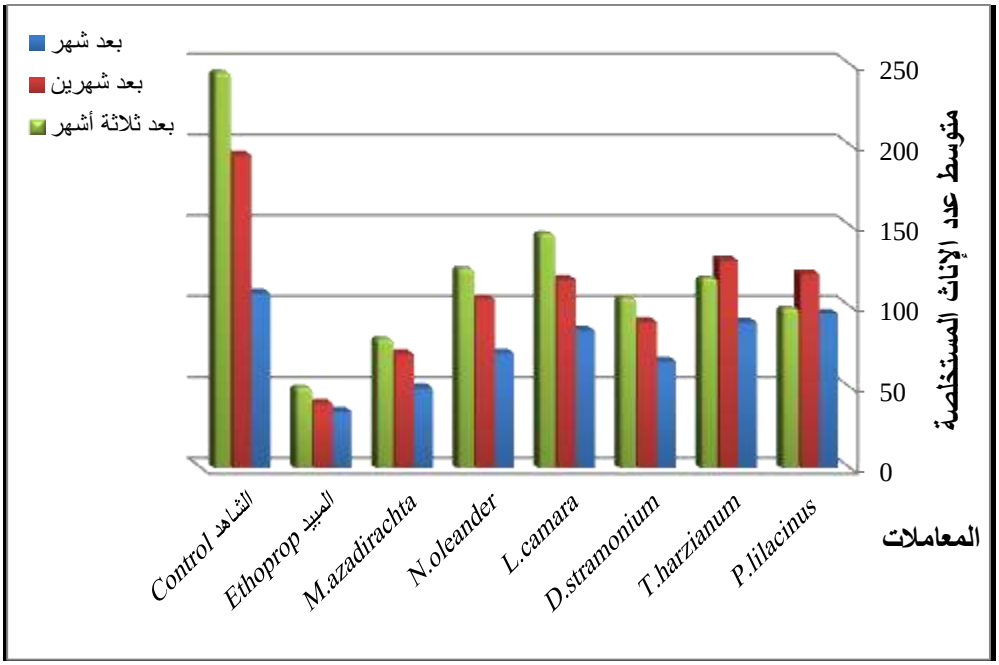
تأثير المعاملات على عدد الإناث/1غ جذور:

- القراءة بعد شهر: بينت التجارب أن معاملة المبيد تفوقت إحصائياً ($P\leq0.05$) على جميع المعاملات حيث كان عدد الإناث 35 أنثى/1غ جذر مع ملاحظة فرق معنوي مع جميع المعاملات ماعدا معاملة الأزدرخت 49.5 أنثى/ 1غ جذر، بينما كانت عدد الإناث في معاملات الداتورة، الدفلة، أم كلثوم والفطر *T.harzianum*: 66، 71، 85 و90 أنثى/1غ جذر على التوالي بدون وجود فروق معنوية فيما بينها أما في معاملة الفطر *P.lilacinus* فقد كان عدد الإناث 95.5 أنثى/1غ جذر مع وجود فرق معنوي مع معاملات المبيد، الأزدرخت والداتورة وكانت جميع المعاملات متفوقة إحصائياً على معاملة الشاهد حيث كانت كثافة الإناث108 أنثى/1غ جذر.
- أظهرت القراءات بعد شهرين أن معاملة المبيد أيضاً متفوقة إحصائياً على جميع المعاملات حيث إن عدد الإناث40 أنثى/1غ جذر مع فروق معنوية مع باقي المعاملات ماعدا معاملة الأزدرخت 70.5 أنثى/1غ جذر التي لا يوجد فرق معنوي بينها وبين المعاملات ماعدا معاملة الفطر *T.harzianum* حيث كان عدد الإناث/1غ جذور في معاملات الداتورة، الدفلة، أم كلثوم والفطر *P.lilacinus* 90.5، 104.5، 116.5 و 120 أنثى/1غ جذر بدون فروق معنوية فيما بينها كذلك مع معاملة الفطر *T.harzianum* التي كانت عدد الإناث128.5 أنثى /1غ جذر، وكانت جميع المعاملات متفوقة إحصائياً مع فروق معنوية مع الشاهد 193.5 أنثى/ 1غ جذر.

وعند أخذ القراءات بعد ثلاثة أشهر بينت التجارب أن معاملة المبيد متفوقة إحصائياً ($P\leq0.05$) على جميع المعاملات حيث عدد الإناث50 أنثى/1غ جذر مع فروق معنوية مع باقي المعاملات ماعدا معاملة الأزدرخت 80 /1 غ جذر التي لم يوجد فرق معنوي بينها وبين معاملات الداتورة، الفطر *P.lilacinus* والفطر *T.harzianum* حيث كانت كثافة الإناث105.25، 99 و117.5 أنثى/1غ على التوالي وبدون فروق معنوية فيما بينها كذلك مع معاملة الدفلة 123.5 أنثى/1 غ جذر بينما كان عدد الإناث145 أنثى/1غ جذر في معاملة أم كلثوم بدون فوق معنوية مع معاملة الدفلة، وكانت جميع المعاملات متفوقة إحصائياً مع فروق معنوية على الشاهد 245 أنثى/ 1غ جذر. (شكل 4). حيث

يشير إلى أن عدد الإناث ازداد باستمرار خلال فترة التجربة ماعدا معاملتي الفطرين *P.lilacinus*، *T.harzianum* حيث انخفض عدد الإناث في الشهر الثالث من التجربة. وقد وجد الفطر *P.lilacinus* في إناث نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* والإناث الكاملة لـ *Nacobbus aberrans* كما له قدرة على اختراق إناث نيماتودا تعقد الجذور *M.incognita* من خلال فتحي التناسل والإخراج [17]. وربما يعزى الموت اليرقي للنيماتودا إلى المواد الكيميائية الموجودة في المساحيق، هذه المواد ربما تخترق مباشرة وتوقف الأستيل كولين أستيراز وأستيرازات أخرى مثل أنزيم كولين أستيراز، وإن إماهة الأستيل كولين بأستيل كولين أستيراز جزء أساسي من النقل العصبي في الجهاز العصبي، كما تتضمن التأثيرات الأخرى منع أو تخفيض حركة اليرقات في تربة منطقة الرايزوسفير وتأخير عملية الانسلاخ وهذه التغيرات السلوكية ربما ترتبط بتثبيط إنزيمات أستيراز عديدة [6]، وبالتالي انخفاض عدد اليرقات سيؤدي لانخفاض عدد الإناث البالغة والمستقرة في الجذور. كما أنجزت العديد من التجارب في الوطن العربي التي أثبتت فعالية مستخلصات العديد من النباتات والفطرين *P.lilacinus*، *T.harzianum* في مكافحة عدد كبير من أجناس النيماتودا ومنها نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* وأشارت إلى نتائج مشجعة[2].

تشابهت فعالية مساحيق النباتات المختبرة في تخفيض عدد إناث نيماتودا الحمضيات بفعاليتها على اليرقات إلى حد كبير، حيث كان مسحوق الأزدرخت هو الأكثر فعالية ضد تطور اليرقات إلى إناث واختراقها للجذور مقارنة بمساحيق النباتات الأخرى. وربما يعود ذلك إلى قدرة هذه النباتات أصلاً على تخفيض عدد الإناث في التربة وبالتالي تخفيض عدد الإناث المتطورة من هذه اليرقات وينطبق على باقي المعاملات.

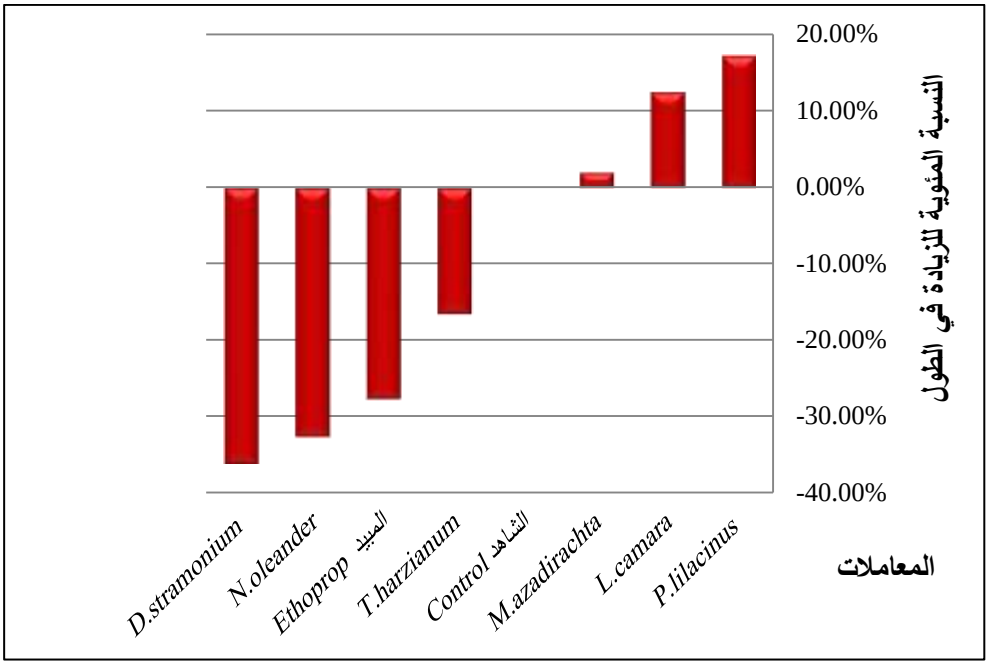


الشكل (4) تقييم فعالية المعاملات المختلفة في تخفيض عدد إناث نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* بعد شهر، شهرين، ثلاثة أشهر من المعاملة.

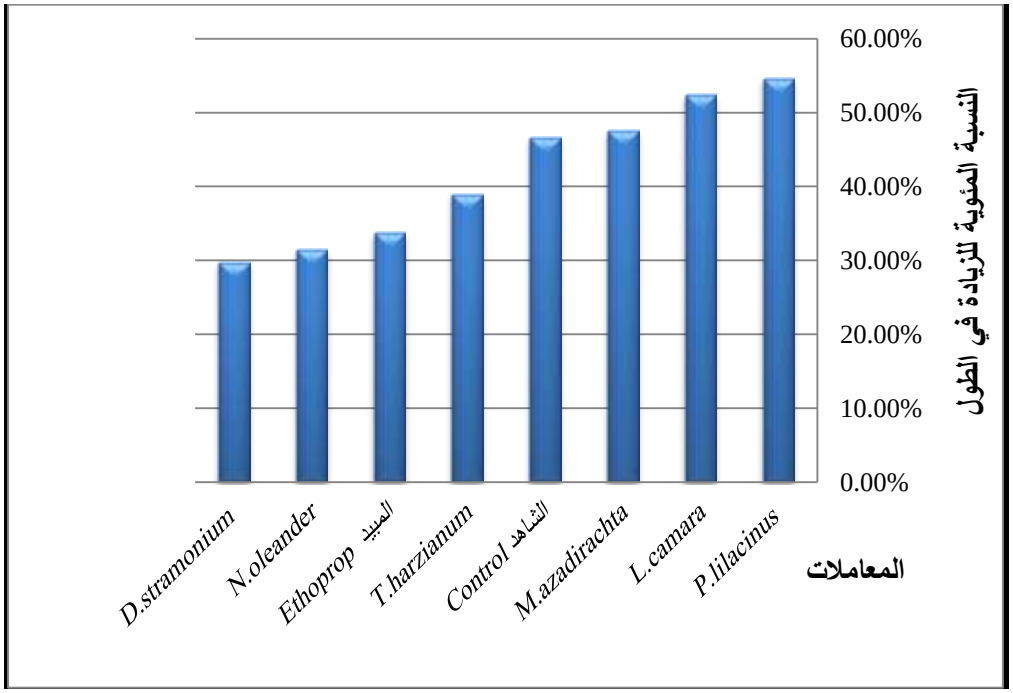
تأثير المعاملات على نمو الغراس:

في تجربة تقييم تأثير مسحوق الأوراق الجافة لنباتات التجربة (الأزدرخت *M.azadirachta*، والدفلة *N.oleander*، وأم كلثوم *L.camara*، والداتورة *D.stramonium*)، والفطر *P.lilacinus*، والفطر *T.harzianum* والمبيد موكاب Ethoprop ومقارنتها مع الشاهد على نمو غراس الزفير بينت النتائج أن كلاً من معاملات الفطر *P.lilacinus*، أم كلثوم *L.camara* والأزدرخت *M.azadirachta* زادت من نمو غراس الزفير مقارنة بالشاهد، وكانت النسبة المئوية للزيادة في نمو الغراس في المعاملات الثلاثة السابقة نسبة للشاهد هي: 17.18%، 12.44% و1.97% على التوالي. بينما سببت كل من معاملات الفطر *T.harzianum*، المبيد موكاب Ethoprop، الدفلة *N.oleander* والداتورة *D.stramonium* نقص في نمو الغراس وكانت النسبة المئوية للنقص في نمو الغراس في المعاملات الأربعة السابقة نسبة للشاهد هي:-16.49%، -27.65%، -32.58% و-36.17% على التوالي مقارنة بالشاهد(شكل 5). وقد حققت مستخلصات أوراق الأزدرخت زيادة في طول النبات في عدة تجارب سابقة حيث زاد الطول لغراس الحمضيات بنسبة 96.15% مقارنة بالشاهد حيث يعزى السبب لوجود مواد كيميائية ومحفزات نمو في أوراق هذه النباتات، كما أن الجذور النامية جيداً والتي بدورها تعطي نمواً أفضل للنبات تعود لاختراق ضعيف وإعاقة لنشاطات مختلفة ليرقات الطور الثاني مثل التغذية والتكاثر [7،6] كما للفطر *P.lilacinus* تأثير إيجابي في زيادة طول نبات البندورة بنسبة 11.77% مقارنة بالشاهد [18]، وقد أعطى خليط *Azdirachta* (neem)*P.lilacinus+indica* طولاً ووزناً أعظمياً للغصن وتخفيضاً أعظمياً لمجتمع النيماتودا في التربة، أما خليط (*Ricinus communis*) Castor+ *P.lilacinus* فقد أعطى طولاً ووزناً أعظمياً للجذر وأقل مجتمعاً نيماتودي في الجذور [26].

وقد كان ترتيب تأثير المعاملات على نمو الغراس تنازلياً: الفطر *Paecilomyces lilacinus*، أم كلثوم *Lantana camara*، الأزدرخت *Melia azadirachta*، الشاهد، الفطر *Trichoderma harzianum*، المبيد موكاب Ethoprop، الدفلة *Nerium oleander*، الداتورة *Datura stramonium*. حيث كانت النسبة المئوية للزيادة في النمو نسبة للطول الأولي هي: 54.71%، 52.5%، 47.61%، 46.69%، 38.99%، 33.78%، 31.48% و29.8% على التوالي. الشكل(6).



الشكل (5) تقييم تأثير المعاملات المختلفة على نمو غراس الزفير نسبة للشاهد.



الشكل (6) تقييم تأثير المعاملات المختلفة على نمو غراس الزفير نسبة للطول الأولي لكل نبات.

الاستنتاجات والتوصيات:

مما سبق يتضح وبشكل جلي أن كل من المبيد ومسحوق الأوراق الجافة للنباتات المدروسة تسبب تخفيضاً لمجتمع النيماتودا عند بداية التجربة ويخف بعدها التأثير وبالتالي يصبح الانخفاض في المجتمع تدريجياً أو يستقر مع مرور الزمن، بينما في معاملتي الفطر *P. lilacinus* والفطر *T. harzianum* يزداد التأثير السلبي على النيماتودا

كلما ازداد الزمن، أي كلما ازداد تأسيس الفطر في التربة وتمكن من إنتاج وحدات عدوى وتكاثر ازداد فعاليته وهذا الأمر هام في عملية المكافحة المتكاملة (Integrated Pest Management) للسيطرة على الآفة حيث تتم عملية إدخال الفطر إلى التربة (منطقة الجذور) بطريقة الغمر أو التطعيم ومن ثم يتثبت في التربة لإعطاء الوحدات التكاثرية ووحدات العدوى التي تسيطر تدريجياً على مجتمع الآفة مع إمكانية تحفيزه من فترة لأخرى بإدخاله بكميات قليلة إلى التربة[17]. وهذه الميزة تعتبر من أهم الإيجابيات للفطرين وهي القدرة على الاستمرارية في التربة وبالتالي السيطرة الكاملة على مجتمع نيماتودا الحمضيات بعد فترة زمنية وضبطه تحت مستوى الضرر الاقتصادي، والأهم هو أن إضافة هذين الفطرين إلى تربة غراس الحمضيات في المشتل سيؤدي لنقل الفطرين مع الغراس إلى الأرض الدائمة في الحقل وبالتالي استمرار السيطرة على مجتمع النيماتودا مما يقود لنمو وإنتاجية أفضل. ويدعم هذا الأمر سهولة التعامل مع الفطر من حيث الإكثار المخبري والإلقاح الحقلي وكذلك قلة التكاليف والاستمرارية. تشير النتائج إلى أن نباتات التجربة الأزدرخت *M.azadirachta*، الدفلة *N.oleander*، أم كلثوم *L.camara*، الداتورة *D.stramonium* والفطر *P.lilacinus* والفطر *T.harzianum* فعالة في مكافحة نيماتودا الحمضيات، كما أن توفر هذه العوامل في البيئة المحلية، سهولة التحضير والتطبيق، التكلفة القليلة وانعدام خطرها البيئي يشجع على اعتمادها في مكافحة نيماتودا الحمضيات أو لتشكيل أساس لتطوير مبيدات نيماتودية طبيعية محلية.

المراجع:

1- إحصائيات الحمضيات في العالم، FAO. روما. 2007.

2- أبوغربية، وليد. *نيماتودا النبات في البلدان العربية*. الجمعية العربية لوقاية النبات.2010، 1242.

3- *المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام* 2010– المكتب المركزي للإحصاء– رئاسة مجلس الوزراء– دمشق، 101–103.

4- حسين، علي حسن. *أمراض النبات النيماتودية*. كلية الزراعة . جامعة القاهرة. مصر. 2001، 751.

5- ABBASIPOUR, H; M. MAHMOUDVAND; F. RASTEGAR; M.H. HOSSEINPOUR. *Bioactivities of jimsonweed extract, Datura stramonium L. (Solanaceae) against Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae)*. Turk. J. Agric For. 35, 2011, 874.

6- AHMAD, M.S; T. MUKHTAR; R. AHMAD. *Some Studies on the Control of Citrus Nematode (Tylenchulus semipenetrans) by Leaf Extracts of Three Plant and Their Effects on Plant Growth Variables*. Asian Journal of Plant Sciences, 2004, 3(5): 544-548.

7- AWAN, M. N; N. JAVED; R. AHMAD; M. INAM-UL-HAQ. *Effect of leaf extracts of plant species on larval mortality of citrus nematode (Tylenchulus semipenetrans Cobb) and citrus plant growth*. Pak, Jour. Phytopathol, 1992, 4(1-2): 41-45.

8- BONANTS, P. J. M; P.F.L. FITTERS; H. THIJS; E. BELDER; C. WAALWIJK; J.W.D.M. HENFLING. *A basic serine protease from Paecilomyces lilacinus with biological activity against Meloidogyne hapla eggs. Microbiology*. 1995, 141: 775-784.

9- CHITWOOD, D.L. *Phytochemical based strategies for nematode control*. Annual Review of Phytopathology, 2002, 40: 221-249.

10- COBB, N.A. *Notes on Mononchus and Tylenchulus*. Jour. Washington Acad. Sci, 1913, 3: 287-288.

11- COBB, N.A. *Citrus root nematode*. Jour. Agric. Res, 1914, 2(1): 217-230.

12- CROZZOLI, P.R; C.C. FUNES. *Presence of nematode Tylenchulus semipenetrans in the principal Citrus production zones of Aragua State, Venezuela. Fitopatologia-Venezolana*, 1992, 5(1): 17-20.
13- DJIAN,C; L. PIJAROWSKI; M. PONCHET; N. ARPIN; J. FAVER-BONVIN. *Acetic Acid: a Selective Nematicidal Metabolite From Culture Filtrates of Paecilomyces Lilacinus (Thom) Samson and Trichoderma Longibrachiatum Rifai.* Nematologica, 1991, V 37. 101-112(12).
14- DUNCAN, L.W; P. MASHELA; J. FERGUSON; J. GRAHAM; M.M. ABOU-SETTA; M.M. EL-MORSHEDY. *Estimating crop loss in orchards with patches of mature citrus trees infected by Tylenchulus Semipenetrans*. Nematropica, 1995, 25(1):43-51.
15- DUNCAN, L.W; J.W. NOLING; R.N. INSERRA. *Florida Citrus Pest Management Guide: Nematodes*, University of Florida IFAS Extention, 2010, ENY-606.
16- IQBAL, M. A. *Ecology, Biology and Integrated Control of Citrus Nematode (Tylenchulus semipenetrans COBB) The Cause of Slow Decline in the PUNJAB, PAKISTAN*. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Plant Pathology, 2003, 205.
17- JATALA, P. *Biological control of Plant-Parasitic nematodes*. Ann. Rev. Phytopathol, 1986, 24: 453-489.
18- KHAN, H; R. AHMAD; W. AHMAD; S.M. KHAN; A. KHAN. *Evaluation of the Combined Fffects of Paecilomyces lilacinus and Trichoderma harzianum Against Root-knot Disease of Tomato*. Pakistan, Online Journal of Biological, 2001, 1 (3): 139-142.
19- KHAN, A; K.L. WILLIAMS; H.K.M. NEVALAINEN. *Effects of Paecilomyces lilacinus protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of Meloidogyne javanica juveniles*. Biological Control, 2004, 31: 346–352.
20- KUMARI, R; K.K. VERMA; K.S. DHINDSA; D.S. BHATTI. *Datura, Ipomoea, Tagetes and Lawsonia as Control of Tylenchulus semipenetrans and Anguina tritici*. Indian Journal of Nematology, 1986, 16(2) 236-340.
21- LAMBERTI, F. *Nematode problems of the Mediterranean coastal stripe in the Syria Arab Republic*. Nematol. Medit, 1984, 12: 53-64.
22- MAAFI. Z. T; M. DAMADZADEH. *Incidence and control of the citrus nematode, Tylenchulus semipenetrans Cobb, in the north of Iran*.Nematology, 2008, 13- 122.
23- MURGUÍA. C; P. ABAD; C. JORDÁ; A. BELLO. *Short Communication. Identification of the Poncirus Biotype of Tylenchulus semipenetrans in Valencia, Spain.* Spanish Journal of Agricultural Research, 2005, 3(1), 130-133.
24- MOR, M; Y. SPIEGEL. *Tylenchulus.semipenetrans, the Citrus nematode, and Xiphinema brevicolle are present in the new Citrus plantations in the Northern Negev*. Alon-Hanoted, 1998, 52(6): 264-269.
25- PARVEZ, I; T. MUKHTAR; M. FIAZ. *Occurrence of citrus nematode (tylenchus semipenetrans) in Sargodha District*. Journal of Research, Pakistan, 2003, Vol.14, No.1, P: 91-95. ISSN 1021-1012.
26- REDDY, P.P; R.M. KHAN; M.S. RAO. *Integrated management of the Citrus nematode T.semipenetrans using oil cakes and p.lilacinus*. Afro. Asian jour. Nematol, 1991, 1:2, 221-222.

27- SAHEBANI, N; N. HADAVI. *Biological control of the root-knot nematode Meloidogyne javanica by Trichoderma harzianum*. Department of Plant Pathology, University College of Abureihan, University of Tehran, Enghelab, Tehran, 2008, 324:354.

28- SIDDIQUI, M.A; M.M. ALAM. *Control of root knot and reniform nematode by bare root dip in leaf extracts of margosa and Persian lilae*. Ziet schrift Fur Pfanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 1988, 95: 138-142.

29- SIDDIQUI, M.A; M.M. ALAM. *Control of root knot, reniform and stunt nematodes bynimbin seed dressing*. Nematol, Medite, 1990, 18(1): 19-22.

30- SIDDIQUI, B.S; R. SULTANA; S. BEGUM; A. ZIA; A. SURIA. *Cardenolides from the methanolic extract of Nerium oleander leaves possessing central nervous system depressant activity in mice. H.E.J. Research Institute of Chemistry*. University of Karachi, Pakistan, 1997, 60(6):540-4.

31- SOUTHEY, J. F. *Physical methods of control*. *In: Plant Nematology*. (Southey, J. F., eds.). 3rd edn, 2nd imp. Reference Book 407, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Her Majesty's Office, London. 1982, 302-312.

32- SPIEGEL, Y; E. SHARON; I. CHET. *Mechanisms and Improved Biocontrol of the Root-Knot Nematodes by Trichoderma spp*. International Symposium on Chemical and non-Chemical Soil and Substrate Disinfestation, Ishs Acta Horticulturae, 2004, 698: VI.

33- THOMAS, E.E. *Apreliminary report of a nematode observed on citrus roots and its possible relation with the mottled appearance of citrus trees* .Calif, Agric. Exo, sta.Circ, 1913, 85.

34- VENKATACHALAM, T; V.K. KUMAR; P.K. SELVI; A.O. MASKE; N.KUMAR. *Physicochemical and Preliminary Phytochemical Studies on the Lantana camara*(L.) Fruits. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. ISSN, 2011, 0975-1491 Vol 3, Issue 1.

35- VERDEJO-LUCAS, S; M.V. McKENRY. *Management of the Citrus Nematode, Tylenchulus semipenetrans,* Journal of Nematology, 2004, 36(4):424–432.

36- VIAENE, N; D.L.COYNE; B.R. KERRY. *Biological and Cultural Management*, 2006, 347-369.

37- ZHU, W.S; H. CHEN; Y.Y. LAN; K.M. QIAN. *"Study on citrus nematode disease"*, Acta Phytopathologica Sinica, 1992, 22, 29-33.