جامعة كربلاء

كليّة الزراعة

قسم وقاية النبات

التشخيص المظهري و الجزيئي لمسبب مرض التدهور البطيء *Tylenchulus semipenetrans* و مكافحتها كيميائيا واحيائيا

رسالة مقدمة إلى مجلس جامعة كربلاء/ كليّة الزراعة وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في العلوم الزراعية / وقاية النبات

رسالة تقدمت بها الطالبة

ورود جبار عبد الهادي

بإشراف

أ.م.د.استبرق محمد عبد الرضا

1444 هـ 2022 م

بسم الله الرحمن الرحيم

(وَآيَةٌ لَهُمُ الْأَرْضُ الْمَيْتَةُ أَحْيَيْنَاهَا وَأَخْرَجْنَا مِنْهَا حَبًّا

فَمِنْهُ يَأْكُلُونَ* وَجَعَلْنَا فِيهَا جَنَّاتٍ مِنْ نَخِيلٍ

وَأَعْنَابٍ وَفَجَّرْنَا فِيهَا مِنَ الْعُيُونِ* لِيَأْكُلُوا مِنْ

ثَمَرِهِ وَمَا عَمِلَتْهُ أَيْدِيهِمْ أَفَلَا يَشْكُرُونَ)

يس: ٣٣-٣٤

إقرار المشرف

أقر ان أعداد الرسالة (التشخيص المظهري والجزيئي لمسبب مرض التدهور البطيء المتسبب عن النيماتودا *Tylenchulus semipenetrans* ومكافحتها كيميائيا واحيائيا) جرى تحت اشرافي في جامعة كربلاء / كلية الزراعة –قسم وقاية النبات وهي جزء من نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية .

المشرف

أ.م.د

استبرق محمد عبد الرضا

بناء على الشروط والتوصيات المتوفرة ارشح هذه الرسالة للمناقشة.

ا.م.د. علي عبد الحسين كريم

رئيس قسم وقاية النبات

إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة المناقشة ، اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدنا انها جديرة بدرجة الماجستير في العلوم الزراعية \ وقاية النبات.

رئيس اللجنة

أ.د عقيل نزال بربر

كلية الزراعة –جامعة كربلاء

عضو اللجنة

م.د باسل حسن كندوح

كلية الزراعة – جامعة الكوفة

عضو اللجنة

أ.م.د عبد الزهرة جبارعلي

كلية الزراعة _جامعة كربلاء

عضوا ومشرفا

أ.م.د استبرق محمد عبد الرضا

كلية الزراعة – جامعة كربلاء

صدقت الرسالة من قبل مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

أ.د ثامر كريم خضير الجنابي

العميد وكالة

الاهداء

الى صاحب الفضل الهادي سواء السبيل...الله عَزّوجل

الى من قاد قلوب البشرية وعقولهم الى مرفأ الأمان...معلم البشرية الأول محمد صلى الله عليه واله وسلم

الى منقذنا والذي كانت دراستي تمهيدا لدولته.. بقية الله المهدي المنتظر عج

الى الداعم الأول والسند...والدي ووالدتي

الى مصدر فخري واعتزازي...اخوتي وزوجي واخواتي

الى من ارتوت ارض وطني بدمائهم الطاهرة، شهدائنا الابرار

الى كل يد وقلب سار معي درب الإنجاز لأكون..

أهديكم ثمرة جهدي

الباحثة

الشكر والتقدير

إلهي لا يطيب الليل إلاّ بشكرك ... ولا يطيب النهار إلاّ بطاعتك ... ولاّ تطيب اللحظات إلاّ بذكرك ولا تطيب الآخرة إلاّ بعفوك ... ولا تطيب الجنة إلاّ برؤيتك

فالحمدُ لله ربّ العالمين ، والصلا ةُ والسلا مُ على أشر فِ المُرسَلين ، نبينا وحبيبنا محمد الصادق الأمين وعلى آلة وصحبه ومن سار على نهجه إلى يوم الدين

« لا يَشْكُرُ اللَّهَ مَنْ لا يَشْكُرُ النَّاسَ »

يُشرفني أن أتقدم بجزيل الشكر إلى رئاسة جامعة كربلاء وإلى عمادة كلية الزراعة وقسم وقاية النبات لما قدموه من تسهيلات إدارية طوال مدة البحث .

وأتقدم بخالص الشكر والاحترام لصاحبة الهمة العالية والعلم الوافر مشرفتي وأستاذتي الفاضلة الدكتورة إستبرق محمد عبد الرضا كنعان .

يملي عليّ واجب الوفاء أن أتقدم بجزيل الشكر لأساتذتي أعضاء الهيئة التدريسية في قسم وقاية النبات الذين بذلوا ولم يبخلوا علينا من جهد ومعرفة وعلم وأخص بالذكر الدكتورمشتاق طالب محمد علي القريشي .

يسعدني أن أتقدم بوافر الشكر إلى أعضاء لجنة المناقشة على ما تكبدوه من عناء في قراءة رسالتي المتواضعة وإغنائها بمقترحاتهم القيمة .

كل الشكر إخوتي وأخواتي زملائي من طلبة الدراسات العليا وكلّ مَنْ أسهم في إنجاز هذه الرسالة وبذل جهدهُ لإتمام هذا العمل أرجو من الله عز وجل أن يكون في ميزان حسناتهم .

الخلاصة:

اجريت دراسة ميدانية لمدينة كربلاء المقدسة في العام 2021 -2022 للتحرري عن جنس النيماتود المسببة لتدهور الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* في المحافظة والوقوف على أهم الأسباب المؤدية لهذا التدهور شملت هذه الدراسة بساتين ومناطق محافظة كربلاء وعدد من المشاتل بواقع خمس/ ست عينات لكل منطقة, اعتمدت في هذه الدراسة على اعراض الاصابة بنيماتودا تدهور الحمضيات إذ تباينت نسبة الاصابة وفق البساتين المدروسة وعدد العينات الحاملة لمظاهر الاصابة سواء أكان على المجموع الخضري ام مجموع جذر تبعا للعينات الحاملة للاصابة.

بلغت اعلى نسبة مئوية للاصابة في الحدائق المنزلية لكل من حي العامل وبساتين قضاء الهندية بنسبة 83.3 % تليها منطقة عون بنسبة 66.6 % ومنطقة الحسينية بنسبة 60% ومنطقة البوبيات بنسبة 51.5% ومنطقة الحيدريات بنسبة 40% اما أقل نسبة الاصابة بلغت 10% في منطقة الحر الصغير بينما بلغت اعلى شدة اصابة في بساتين قضاء الهندية وحي العامل بنسبة 83.3% تليها منطقة عون بشدة اصابة بلغت 53.3% وتباينت شدة الاصابة إلى أن بلغت اقل شدة في منطقة الحر الصغيراذ بلغت 1,2%. أثبت التشخيص المورفولوجي والجزيئي بتقانة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR اصابة اشجار الحمضيات بالجنس *Tylenchulus semipenetrans* وُيعدّ هذا التشخيص الجزيئي ألاول لهذا الجنس على مستوى القطر.

أظهرت نتائج التجارب الحقلية أن سماد الفيرموكومبوست زيادة محتوى النبات من الكلوروفيل الكلي للأشجار اذ بلغت 44.20 SPAD تليهاعامله المبيد الاحيائي Verox بنسبة 39.23 وحدة SPAD- يليها المبيد العضوي Tondexir بنسبة 25.13 وحدة SPAD اما المبيد العضوي الاخر Palizin بنسبة 22.55 وحدة SPAD اما المعاملة المجتمعة كانت بنسبة 23.16 وحدة SPAD مقارنة بمعاملة السيطرة 28.36. SPAD. دلت نتائج التجارب المختبرية في النسبة المئوية لفقس البيض لنيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات على تفوق المبيد الكيميائي Tendroبنسبة 4.21% تليها معاملة المبيدات التكاملية المجتمعة بنسبة 4.80% فيما اعطى المبيد الاحيائي Verox نسبة 16.13% تليها معاملة المبيدات العضوية Tendaxer و Pazilin بنسبة 48.53 % و36.70% على التوالي التي اختلفت معنويا عن معاملة السيطرة البالغة 100%

بينت نتائج المكافحة الحقلية انخفاضا معنويا في اعداد Egg mases (اكياس بيض) النيماتودا *Tylenchulus semipenetrans* الى ان وصلت الى ادنى مستوى عند المعاملة التكاملية المجتمعه إذ اثر استعمال المبيدات الحيوية والعضوية في خفض اعداد الاناث مقارنة بمعاملة الملوثة (السيطرة) في واحد سم من الجذر وبتركيز أقل من الموصى به اذ ابدى المبيدات بالتراكيز المؤثرة مختبريا كفاءة عالية في خفض اعداد الاناث في في التربة والجذر اذ بلغت امعاملة المبيد الكيمياوي 3.50 انثى لكل واحد سم من جذر تليها المعاملة التكاملية بنسبة 5.33 انثى لكل واحد سم/جذر وبنسبة 6.50 انثى لكل واحد سم من

الجذر للمبيد الاحيائي والكيميائي بمعدل معاملة 3.50 والسماد العضوي Vermocompost بمعدل معاملة 7.50 اما المبيد العضوي Tondxir بمعدل معاملة 10والمبيد Pazilin بمعدل معاملة 9.66 بينما اظهرت معاملة خلط المبيدات بمعدل 5.33 كفاءة عالية في تقليل المجتمع السكاني للنيماتوداوهذا مؤشر لامكانية ادخلها في برامج المكافحة المتكاملة لهذه الآفة.

بينت نتائج المكافحة الحقلية لتأثير المادة الكيميائية لمبيد Tendro والاحيائية لمبيد Verox والعضوية لمبيدين Tondxir وPazilin على خفض اعداد الاناث في واحد سم من الجذور واعداد كيس البيض في التربة ادى الى انخفاضا معنويا في اعداد اكياس بيض والاناث في واحد سم من الجذر اذ تفوق الصنف الثلاثي الاوراق على الصنف المحلي اذ بلغت اقل نسبة في اعداد كيس البيض في معاملة المجتمعة المتكاملة لصنف ثلاثي الاوراق بنسبة 2.66 في حين الصنف المحلي 5.33.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
اولاً	**المقدمة**	**1**
ثانياً	**مراجعة المصادر**	**12-1**
1-2	الحمضيات Citrus	2
2-2	النيماتودا Nematoides	3
1-2-2	نيماتودا التدهور البطيء وانتشارها واهميتها الاقتصادية	4
2-2-2	اعراض الاصابة نيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات	5
3-2-2	المدى العائلي لنيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات واضرارها	7
3-2	طرائق تشخيص التدهور البطيء	8
1-3-2	التشخيص المظهري لنيماتودا التدهور البطيء	8
2-3-2	التشخيص الجزيئي نيماتودا التدهور البطيء	8
3-3-2	تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reactions	8
4-2	طرائق مكافحة نيماتودا الممرضة للنبات	9
4-2	المكافحة الكيميائية	9
1-4-2	تأثير المبيد الكيميائي (Tendro) 24% Oxamylعلى حيوية النبات	11
2-4-2	المكافحة الاحيائية	11
3-4-2	تأثير المبيدات الاحيائية على النباتات	11
4-4-2	تأثير الاسمدة العضوية على حيوية النبات	12
ثالثا	**المواد وطرائق العمل Materials and Methodes**	**14**
1-3	الدراسة الحقلية	17
2-1-3	جمع العينات	17
3-1-3	فحص العينات المصابة وتصبيغها	18
2-3	تهيئة التربة المستخدمة في التجارب	20
3-3	تهيئة مزرعة نقية نيماتودا تدهور البطيء Pure Culture	20
4-3	التشخيص المظهري نيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات	20
5-3	التشخيص الجزيئي نيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات	20

1-5-3	عزل الحامض النووي المنقوص الاوكسجين DNA نيماتودا التدهور البطيء	20
2-5-3	تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reactions	21
3-5-3	تحديد بيانات تتابعات القواعد النتروجينية لجينوم نيماتودا التدهور البطيء	22
6-3	تهيئة مزرعة نقية	22
7-3	تهيئة زراعة بذور لصنفي الحمضيات المستعملين في التجارب الحقلية	22
8-3	تحضير لقاح نيماتودا التدهور البطيء *Tylenchulus semipentrans* المستخدم في التجارب	23
1-8-3	حساب اعداد الاناث والبيوض لنيماتودا التدهور البطيء في جذور اصناف البرتقال	23
9-3	تأثير المبيد العضوي Palizin و Tondxier و المبيد الاحيائي Verox والسماد الفيرمو كومبوست على النسبة المئوية لأنبات البذور	24
10-3	تأثير المبيد العضوي Palizin و Tondxier و المبيد الاحيائي Verox والسماد الفيرمو كومبوست على المحتوى الكلوروفيل الكلي	25
11-3	تقدير المادة العضوية لسماد Vermo compost	25
12-3	اختبار التضاد بين المبيد الاحيائي Verox والمبيد الكيميائي Tendro مختبريا	26
13-3	اختبار كفاءة المبيد العضوي Palizin و Tondxierو المبيد الاحيائي Veroxوالسماد Vermo compost والمبيد الكيميائي Tendro على نسبة الفقس البيض نيماتودا الحمضيات مختبريا	27
14-3	اختبار كفاءة المبيد العضوي Palizin و Tondxier والمبيد الاحيائي Verox والسماد Vermo compost والمبيد الكيميائي Tendro على نسبة الفقس البيض نيماتودا الحمضيات الحمضيات حقليا	27
15-3	اختبار حساسية صنفي البرتقال المستعمل في التجارب	28
16-3	اختبار بقاء المبيد الاحيائي Verox في التربة المعاملة	29
17-3	التحليل الاحصائي	29
رابعاً	**النتائج والمناقشة**	**30**

1-4	نتائج المسح الحقلي	30
2-4	التشخيص الجزيئي نيماتودا التدهور البطيء *Tylenchulus* spp بالاعتماد على التقانات الجزيئية	33
1-2-4	تحليل نتائج تسلسل النيكلوتيدات للحامض النووي المنقوص الاوكسجين لجينوم نيماتودا التدهور البطيء	33
3-4	محتوى الكلوروفيل الكلي لشتلات الحمضيات للصنفين المستخدمين	35
4-4	اختبار عوامل حيوية وعضوية على نسبة المئوية للانبات	37
5-4	قياس نسبة المادة العضوية للسماد Vermocompost	38
6-4	اختبار التضاد بين المبيد الاحيائي Verox والمبيد الكيميائي Tendro مختبريا	39
7-4	كفاءة استخدام بعض المبيدات العضوية والاحيائية والكيميائية على نسبة الفقس البيض نيماتودا الحمضيات مختبريا	39
8-4	نتائج مكافحة نيماتودا التدهور البطيء على اصناف الحمضيات حقليا	41
9-4	اختبار حساسية صنفين الحمضيات من الاصابة لنيماتودا التدهور البطيء	43
10-4	اختبار متبقيات المبيد الإحيائي Verox في التربة المعاملة	43
خامساً	**الإستنتاجات والتوصيات**	**44**
1-5	**الإستنتاجات**	**44**
2-5	**التوصيات**	**45**
سادساً	**المصادر**	**46**
1-6	المصادر العربية	46
2-6	المصادر الأجنبية	48
سابعاً	**الملاحق**	**56**
1-7	ملحق 1	56

التسلسل	عنوان الجدول	الصفحة
1	الأجهزة والأدوات المستخدمة في البحث	14
2	المواد المستخدمة في البحث	15
3	مناطق المسح الحقلي في محافظة كربلاء المقدسة مع المعلومات الخاصة بجمع العينات	18
4	التسلسل القواعد النتروجينية للبادئات المستعملة بعملية التشخيص الجزيئي لنيماتودا التدهور البطيء	21
5	الظروف المثلى لتفاعل البلمرة المتسلسل للبادئات المستخدمة في تشخيص نيماتودا التدهور البطيء	21
6	النسبة المئوية للأصابة وشدتهاعلى الحمضيات في المناطق التي اجري فيها المسح	30
7	يبين النسبة المئوية لأنبات البذور	36
8	تأثير استعمال المبيدات الاحيائية Verox والعضوية Palizin و Tondixier في محتوى اوراق الصنف المحلي من الكلوروفيل الكلي	37
9	تأثير استعمال المبيدات الاحيائية Verox والعضوية Palizin و Tondixier في محتوى اوراق الصنف ثلاثي الاوراق من الكلوروفيل الكلي	38
10	تأثير تراكيز مختلفة للمبيدات العضوية Palizin وTondixier والاحيائية Verox والكيميائية Tendro على نسبة فقس البيض مختبريا	40
11	تأثير المبيدات الكيميائي Tendro والاحيائية Verox والعضوية Palizin و Tondixier على خفض اعداد كيس البيض في واحد سم من الجذور	42
12	تأثير المبيدات الكيميائية Tendro والاحيائية Verox والعضوية Palizin و Tondixier على خفض اعداد اعداد الاناث البيض في واحد سم من الجذر	43

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1	يوضح كتل بيض نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans*	32
2	يوضح الاناث نيماتودا الحمضيات *Tylenchulussemipenetrans* بعد تصبيغها	32
3	يوضح شكل الكامل للنيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* على الجذور الشعيرية	32
4	يوضح حجم حزمة الحامض النووي	33
5	استبدال Transvertion لقاعدةA في العزلةالعراقية الى قاعدة C في العزلة الصينية واستبدال Transitionالقاعدة A الى القاعدة G. وتنطبق هذه التغايرات الموضحة بالشكل على باقي العزلات العالمية المطابقة مع العزلة العراقية	34
6	الشجرة التطورية التي تبين صلة القرابة بين تتابعات العزلة العراقية والعزلات العالمية اعتمادا على تتابعات النيوكلوتيدات المسجلة في البنك العالمي NCBI وفق برنامج Mega6	34

أولا :المقدمة Introduction

تعد الحمضيات من أشجار الفاكهة الدائمة الخضرة وتنتمي إلى العائلة السذبية **(Rutaceae)** تتميز أشجار الحمضيات بوجود الغدد الزيتية في أنسجتها التي تكسبها الرائحة العطرية المميزة وثمارها لها أهمية غذائية عالية فهي تحتوي على فيتامين C اذ تبلغ نسبته في الثمار بين 40-70 مليغرام/100غم عصير فضلاً على الفيتامينات الأخرى مثل A وB_1 وB_2 كما تحتوي على حامض الستريك (Citric acid) بنسبة تتراوح بين 1-6 ٪ وتختلف هذه النسب باختلاف الأصناف ومناطق الزراعة فضلا عن احتوائها على مجموعة من الأحماض الأمينية هيArgenine وAspartic و Proline وSieren (العلاف ,2020)

بلغ انتاج العراق في2020م من البرتقال 142717 طن بمتوسط إنتاجية للشجرة الواحدة 22.4 كغم للموسم الشتوي, احتلت صلاح الدين المركز الأول في إنتاج البرتقال تلتها محافظة بغداد في حين احتلت محافظة ديالى المركز الثالث من حيث كمية الإنتاج، (الجهاز المركزي للإحصاء،2020).

تصاب أشجار الحمضيات بأمراض عديدة فيروسية وفطرية وبكتيرية ونيماتودية ومن ضمنها مرض التدهور البطيء على الحمضيات والمتسبب عن نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* **(1913,cobb)** وسجل هذا المرض في العراق عام 1965م مسببا تدهور الحمضيات وتنتشر هذه النيماتودا في بساتين ومشاتل العراق بنسبة عالية جداً تصل إلى أكثر من 95% ,لا يوجد لحد الآن أي من الحمضيات له مقاومة لهذا النوع من النيماتودا ولكن تختلف قدرة هذه العوائل من عائل شديد القابلية للإصابة إلى قليل القابلية للإصابة (الحازمي,2017).

تصيب هذه النيماتودا 19 نوعاً و21 هجيناً من الحمضيات والزيتون والعنب والليلك ويمكن أن تصل أعداد النيماتودا إلى 250000يافعة / كغم تربة وتخفض حجم الجذور إلى 20% من حجم جذور الأشجار السليمةج (شريف،2012، الحكيم ,2013). اتجه العالم في السنوات الاخيرة نحو وضع استراتيجية الادارة المتكاملة Integrated Pest Management (IPM) للأمراض عن طريق ادخال كائنات صديقة للبيئة وعوامل اخرى التي تعمل على تقليل الكثافة العددية للمجتمع السكاني للنيماتودا والتي تعرف بالعوامل المكافحة الاحيائية control agents Biological التي اظهرت نجاحا في التقليل من ضرر هذه الافة وقدرتها على استعمار التربة المحيطة بالجذور وقدرتها العالية على النمو والانتشار(Abd-Elgawad , 2016) نتيجة لتدهور اشجار الحمضيات في محافظة كربلاء المقدسة جراء المسبب لتدهور البطيءعلى الحمضيات, فقد هدف البحث الحالي الى اختبار كفاءة بعض العوامل الاحيائية و العضوية والكيميائية في تقليل الضرر الناتج عن النيماتودا المسببة لمرض تدهور الحمضيات.

ثانيا: مراجعة المصادر

2-1- الحمضيات

اشجار الحمضيات (*Citrus*) من اشجارالفاكهة الدائمة الخضرة تكون متميزة ، لأنها تحتوي غدد زيتية في معظم أجزاء النبات تكسبها الرائحة العطرية (العلاف) ويعتقد أن الموطن الأصلي الصين وجزر الملايو ومن هذه المناطق انتشرت الحمضيات إلى مناطق أخرى في العالم عبر منطقة تمتد بين خطي عرض 40 شمال وجنوب خط الاستواء (جمال والسوسو، 2008).تعد المنطقة الاستوائية في جنوب شرق آسيا والصين والملايو الموطن الاصلي لها ثم انتشرت علي نطاق واسع في أنحاء المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية وأجزاء من المنطقة المعتدلة حينما توفرت البيئة الملائمة لنموها وإثمارها علي نطاق تجاري .وقد عرفت الحمضيات في مصر كأشجار وثمار منذ عهد الفراعنة وقد أدخل الفرس والرومان والعرب كثيرا من أنواع وأصناف الحمضيات في مصر وغيرها من أقطار حوض البحر المتوسط وجنوب أوروبا.وتعتبر الحمضيات من أهم انواع الفاكهة إنتاجا واستهلاكا علي مستوي العالم ويحتل البرتقال مكان الصدارة بين أنواع الموالح حيث يمثل حوالي ثلث الإنتاج العالمي من الحمضيات ويليه اليوسفي فالليمون الأضاليا ثم الليمون المالح (خليل,2012)
تنتمي اجناس وانواع الحمضيات إلى العائلة السذبية من أهم الاجناس لأشجار الحمضيات (ابو غربية,2010) يعد *الجنس Poncirus* من اهم انواع البرتقال الثلاثي الاوراق وهي المتساقطة الاوراق ,ثماره لا تؤكل وهي مغطاة بزغب دقيق. وخلايا الزيت كثيرة في القشرة واللب قليل وخشن,يستعمل البرتقال الثلاثي الاوراق كأصل جذري للإكثار علية لإيجاد اصناف يمكنها تحمل البرد وانتاج ثمار جيدة(ابو غربية,2010). ففي عام 1784, قام العالم كارل بيتر وصنفه في كتابه في الاصل *Kumquats* يعرف جنس Fortunella *بأسم* الكمكوات.*Kumquats* ويتبع هذا الجنس نوعين مهمين هما *:النوع Fortunella margarita* وثماره مستطيلة الشكل,والنوع الاخر *F.japonic*a وثماره مستديرة الشكل .والاسم العام للنوعين هو كمكوات وهي شجيرة دائمة الخضرة والثمار المستطيلة او مستديرة ويمكن اكلها والجنس *Citrus* ومنه اشجار وشجيرات ,وعادة ماتحتوي الاشجار على اشواك تكون على الجانب البرعم الورقي .واحيانا لاتكون هناك اشواك مطلقا.والانواع التابعة للجنس *Citrus* النوع *Citrus medica* ويسمى الترنج *citron* والنوع *Citrus aurantifolia* وليمون Limon والنوع *Citrus maxima* والشادوك والنوع *Citrus paradise* جريب فروت والنوع *Citrus aurantium* النارنج *Sour orang والنوع Citrus sinensis* البرتقال والنوع *Citrus nobilis* والبرتقال الملوكي *King orang* ويتبعه الصنف *C.nobilis* ويعرف بأسم البرتقال اليوسفي *Mandarin orang و* tangerine *والنوع* Citrus mitis كالاموندين *Calamondin* الثمار

صغيرة مستديرة تقريبا ,لونها احمر برتقالي ,والفصوص سهلة الانفصال من القشرة .واللب الحامضي وطعمه جيد ,ويمكن استعمال الثمار مثل الليمون المالح ,كما ان الشجرة تعد من اشجار الزينة, والنوع *Citrus jambhiri*ليمون مخرفش والنوع *Citrus bergamia* برجموت والنوع *Citrus reticulate* يوسفي البحر المتوسط.

تصاب أشجار الموالح سواء كانت المغروسة حديثا" أو مثمرة ببعض الآفات النيماتودية الضارة بالنبات مثل نيماتود الحمضيات (نيماتودا التدهور البطيء) وتعقد الجذور والتقرح والخنجرية ولكن اشدهم خطورة هي نيماتودا الحمضيات مما يؤثر ذلك على النمو الجذري والخضري الذى يؤدي ذلك بدورة إلى خفض كمية المحصول المنتجة كما" ونوعا" (الخليل,2016).

تنتشر النيماتودا في معظم الأراضي الزراعية وخاصة بمنطقة الجذور الثانوية للنبات (الريزوسفير) في المنطقة من 15-35 سم من سطح التربة مرتبطة بالمجموع الجذري للنبات متغذية على المحاصيل المختلفة مسببة لها أضراراً مختلفة (الحكيم ,2009) وتنتشر النيماتودا في المسافات البينية لحبيبات التربة ولذلك فإن الأراضي المسامية الخفيفة التي تستطيع الاحتفاظ بنسبة رطوبة كافية وهي من أنسب الأراضي لانتشارها وتكاثرها. في العراق فأول من سجل هذا المرض هو Natour وآخرون (1976) وخلال السنوات 1966-1969 قام قسم أمراض النبات في أبي غريب – العراق بإجراء مسح عام لهذه النيماتودا على الحمضيات فتبين أن هذه النيماتودا منتشرة في كل مناطق العراق (الحكيم ,2009).

2-2-النيماتودا

كلمة نيماتودا مشتقة بالأصل من كلمتين اغريقيتين هما : nema تعني الشبيه,وكلمة eidos تعني الخيط سميت بالديدان الخيطية والان تعرف بالديدان النيماتودية واحيانا تسمى الديدان الثعبانية ,الا ان التسمية الاخيرة ليست صحيحة لأنه ليس جميع انواع النيماتودا حركة ثعبانية ,تنتمي هذه الديدان إلى المملكة الحيوانية شعبة النيماتودا ثاني اكبر مجموعة بعد الحشرات من حيث العدد والتنوع (الحكيم ,2009) توجد النيماتودا في كل بيئة تتوفر فيها اسباب الحياة وتفتقر إلى الجهاز التنفسي والدوران ويغطي جسمها غشاء مائي رقيق وتقسم إلى ثلاث مجاميع رئيسة وهي نيماتودا الانسان والحيوان ونيماتودا البحار والمحيطات ونيماتودا الترب والمياه المعدنية وتكون الاخيرة على قسمين هما :النيماتودا الحرة والنيماتودا المتطفلة على النباتات تختلف النيماتودا الحرة عن المتطفلة في انها متباينة التغذية فمنها مايتغذى على الفطريات أو البكتريا أو نواتج تحلل البكتيري أو الطحالب أو قد تكون مفترسة , اما المتطفلة على النباتات فتعد جميعها اجبارية التطفل سواء اكان على المجموع الجذري او الخضري وتضم اكثر 4100 نوع (الحازمي ,2009).

2-2-1الاهمية الاقتصادية لنيماتودا التدهور البطيء وانتشارها

تُعدّ نيماتودا الحمضيات (*Tylenchulus semipenetrans)* من الأنواع الضارة والهامة اقتصاديا لأشجار الحمضيات وهي من الآفات الخطيرة والمدمرة للمحاصيل الزراعية التي تُسْهِمْ بشكل كبير في خفض الإنتاج (الحكيم ,2009) تسبب خسائر اقتصادية عالية وتنتمي نيماتودا الحمضيات إلى عائلة *Tylenchulidae* وفوق عائلة *Criconematoidea* والرتبة *Tylenchulidae* (الزرري ،1981) . نيماتودا الحمضيات تصيب اكثر من 50% من مناطق انتاج الحمضيات وتصل الخسائر العالمية لنيماتودا الحمضيات إلى 10% من انتاج العالم بأسره ومن أهم أنواع النيماتودا المعروفة بمهاجمتها لأشجار الحمضيات هي *Tylenchulus semipenetrans* و*Belonolalimes longicauelatus* و *Partylenchus coffeacarel* و *Partylenchus brachyurus* (Duncanet وآخرون ,1995).

يعد العالم Thomes في (1913) اكتشف لأول مرة نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* تصيب أشجار الحمضيات في ولاية كليفورنيا وتسبب لها مرض التدهور البطيء تسبب هذه النيماتودا مرض التدهور البطيء على أشجار الحمضيات Slow decline disease , ويعد أول من اطلق التسمية الحالية لمرض التدهور البطيء وأول تشخيص لنيماتودا الحمضيات كان من قبل Cobb عام 1913 في الولايات المتحدة الامريكية وكما لوحظ وجودها في معظم انحاء العالم إذ توجد بساتين الحمضيات كما في أسبانيا وفرنسا وإيطاليا والجزائر والمغرب ولبنان وتركيا وايران وغيرها من دول العالم , كما يعد Neal عام 1889 أول من أشار إلى مصاحبة النيماتودا للحمضيات تم العثور على أعداد كبيرة من النيماتودا في البساتين التي زرعت بترب ناعمة او في ترب رملية تحتوي على مستوى عالي من المادة العضوية تفضل هذه النيماتودا التكاثر في ترب فقيرة الملوحة في حين تعيق الترب الرملية فقيرة المادة العضوية زيادة أعداد النيماتودا (Timmer و آخرون ,2003) ويعد من اخطر امراض الحمضيات وأشدها تاثيرا سواء في المناطق العربية أو حيثما تزرع أشجار الحمضيات في انحاء العالم إلا ان الأهمية الاقتصادية لمرض التدهور البطيء على الحمضيات لم يعرف بصورة واضحة الا بعد الاكتشاف الأول للمسبب بنحو أربعين سنة (الحازمي , 2008).

أشار أبوغربية (2010) إلى ان نيماتودا الحمضيات تم تسجيلها لأول مرة في بساتين الحمضيات في مصر عام 1953 وهي ذات إنتشار واسع في معظم بساتين الحمضيات في الدول العربية ووجدت هذه النيماتودا متطفلة على أشجار الحمضيات في جميع مناطق العالم وتعد من الأنواع الأكثر انتشارا والتي تسبب أمراضا"

أشجار الحمضيات (Pathah و Tyoti , 2011). في العراق فقد سجلت نيماتودا الحمضيات *T. semipenetrans* سنة1965 مسببة مرض التدهور البطيء على الحمضيات وأجرى اسطيفان وآخرون (2010) دراسة في العراق حول التغيرات الشهرية في أعداد نيماتودا الحمضيات في ثلاثة بساتين للحمضيات وعلى أصلين لكل بستان في محافظات كربلاء وبغداد وديالى لمدة سنة كاملة فوجدوا أعداداً كبيرة من النيماتودا خلال الفترة من آذار إلى تموز ومن أيلول إلى تشرين الثاني و لاحظوا أن الإصابات الجديدة بالنيماتودا تظهر على درجة حرارة 12 ْم ثم تزداد شدة الإصابة بارتفاع درجات الحرارة ما بين 20-35مº، وجدت الحكيم (2009) في دراسة قامت بها في محافظة نينوى أن أفضل عمق مناسب لنمو الأطوار المختلفة لنيماتودا الحمضيات وتوزيعها 16- 30 سم وبتفوق معنوي على العمقين الآخرين صفر-15 و 31-45 سم أما أكبر عدد للبيض فكان خلال شهري كانون الأول وكانون الثاني وباختلاف معنوي عن بقية الأشهر تلاهما شهر شباط ، كما وصل عدد اليافعات بأطوارها الثاني والثالث والرابع ذروته خلال شهر نيسان واختلف معنويا عن بقية أشهر السنة تلاه شهر أيلول أما بالنسبة لأعداد الإناث بالجذور فإن أعلاها قد سجل في شهر أيار وبتفوق معنوي على بقية الأشهر تلاه شهر نيسان في حين بلغت أعداد اليافعات والذكور في التربة ذروتها خلال شهر كانون الأول وبتفوق معنوي عن بقية أشهر السنة.

2-2-2: أعراض الإصابة نيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات

يعود سبب تسمية هذا المرض بمرض التدهور البطيء على الحمضيات على التطور البطيءلأعراض المرض وكذلك بطئ تطور وتكاثر نيماتودا الحمضيات المسببة لهُ إن الأعراض المميزة التي تظهر على الأشجار المصابة بنيماتودا الحمضيات هو التلون البني للجذور المصابة بشدة وسقوط للأوراق الطرفية بشدة فضلا عن تقصف في نمو النبات واصفرار وموت الأوراق والأغصان في القمة باتجاه القاعدة Die-bag وانخفاض في حجم الثمار وإن أعراض نقص النحاس والزنك هي الأكثر وضوحا عند إصابة الأشجار (الزرري , 1981).

ذكر Duncan (2005) ان الأعراض الأكثر بروزا في بساتين الحمضيات المصابة والمعرضة للاجهاد نتيجة ظروف الجفاف والانحلال الناتج من الاصابة بهذا الجنس من النيماتودا *Tylenchulus semipenetrans* هو سقوط الاوراق وصغر حجم الثمار وتقزم الجذور.

ان التغيرات النسيجية الناجمة عن الإصابة بنيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* على الحمضيات وخاصة البرتقال والنارنج والعنب فوجدوا أن يافعات الطور الثاني تخترق خلايا البشرة وتتغذى

على خلايا البشرة وعلى الصفوف الأولى من خلايا القشرة وأن الخلايا كانت مليئة بالبروتوبلاست مع زيادة في حجم النواة والنوية كما ذكر Cohn عام (1964 و1965) أن رأس النيماتودا*T.semipenetrans*كانت محاطة بواحدة إلى ثلاثة خلايا مغذية عند تطفلها على جذور النارنج ولاحظ حدوث تكسر تدريجي للجدر الخلوية للخلايا المتضخمة من خلايا البشرة وعلى الصفوف الاولى من خلايا القشرة المتجاورة مما أدى إلى تكوين حلقة من الخلايا المتضخمة غير المنتظمة حول الاسطوانة الوعائية وقد نتج عن ذلك تكوين مدمج خلوي Syncytium فضلاً عن خلو تلك الخلايا من محتوياتها . أشارAhmed (1974) إلى أن رأس الإناث البالغة في منطقة القشرة لجذور النارنج كان محاطاً بـ 2-6 خلايا ذات سايتوبلازم كثيف ونواة كبيرة . وجد كل من Taha و Sultan (1979) أن خلية واحدة فقط من خلايا البشرة في جذور العنب وهي الواقعة أمام رأس النيماتودا قد تضخمت فضلاً عن خلايا القشرة . بينما بين Himme وآخرون (1979) إن خلايا القشرة لجذور النارنج المصابة بالنيماتودا *T. Semipenetrans* كانت ذات محتوى سايتوبلازمي كثيف واختلفت اختلافاً واضحاً عن بقية الخلايا فضلاً عن عدم ملاحظة ظاهرتي تضخم الخلايا (Hypertrophy) والانقسام السريع للخلايا (Hyperplasia) مصاحبة لهذه النيماتودا، في حين لاحظ طه وسفيان (1983) أن نيماتودا الحمضيات تتغذى على أنسجة مختلفة من الجذر خارج الاسطوانة الوعائية امتدت من طبقة البشرة حتى البشرة المحيطة ونتج عن الإصابة بنيماتودا الحمضيات حدوث تقرحات وموت بعض خلايا البشرة وتحت البشرة وتكوين الخلايا المغذية لها في منطقة القشرة والاندودرمس والبريسايكل فضلاً عن تضخم خلايا البشرة والبشرة المحيطة ونضوحها من محتوياتها وتكسر الجدر الخلوية بينها وتكوين حلقة من الخلايا المتضخمة حول الاسطوانة الوعائية فضلاً عن تكوين المدمج الخلوي .

بين الحازمي (2009) إنه لا تبدو على الجذور في بداية الإصابة بنيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* أي أعراض واضحة ماعدا التصاق حبيبات التربة بكتل البيض الجيلاتينية حتى بعد غسلها بتيار خفيف من الماء , أما عند الإصابة الشديدة فتظهر الجذور متقرحة ذات لون بني داكن يزداد مع تقدم الإصابة وقد تنفصل منطقة القشرة بسهوله عن منطقة الأسطوانة الوعائية ومن الأعراض التشريحية للأصابة بالمرض في الجذور وجود بضع خلايا مغذية في منطقة القشرة حول رأس النيماتودا .

تتشابه أعراض المرض في معظم البلدان العربية لكن هناك بعض الفروق البسيطة بين كل دولة وأخرى بل حتى داخل البلد الواحد وترجع أسباب هذه الظروف إلى اختلاف تأثير أنواع الحمضيات وأصنافها بهذه النيماتودا , أضف إلى ذلك اختلاف المجتمعات النيماتودية فيما بينها وتباين الظروف البيئية , وكذلك فأعراض الإصابة بهذا المرض لا تظهر بوضوح في بساتين الحمضيات في السنوات الأولى من الإصابة وفي هذا تأكيد

لأسم المرض أي مرض التدهور البطيء (أبو غربية,2010). إن تطور الأعراض وشدتها يتناسب مع كثافة النيماتودا إذ تقدر الخسائر بإنتاج الشجرة بنسبة 5% لكل 1000 نيماتودا/ غرام من التربة , كما إن أعراض الإصابة بمرض التدهور البطيء تتعاظم مع ارتفاع الماء الأرضي وزيادة الملوحة والمادة العضوية في التربة (شريف ، 2012) .

3-2-2 المدى العائلي لنيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات

تمتازنيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* بقدرتها على التطفل على الحمضيات وقد امكن التعرف على 29 نوعا التي تعد من العوائل الجيدة لهذه النيماتودا وعليه فلا يوجد حتى الآن أي نوع تابع لجنس الحمضيات لهُ مناعة ضدها (الحكيم ,2009) أشار Inserr وآخرون (1994) إن نيماتودا الحمضيات (*T.semipenetrans*) لها القدرة على إصابة عدد قليل من العوائل إذ وجدت متطفلة على أشجار الحمضيات والبرتقال ثلاثي الأوراق والعنب و التين الشوكي و الزنبق والزيتون ، ولكن تختلف القدرة على الإصابة من عائل إلى آخر وبالإضافة إلى جنس الحمضيات فإن لهذه النيماتودا القدرة على التطفل على الزيتون والعنب والليلك (االحكيم ،2013) وبين Mokbel وآخرون (2006) إن نيماتودا الحمضيات هي الأكثر تواجدا على أشجار الحمضيات بنسبة 82.1-87.5% من 20 جنس نيماتودي تم حصرها اثناء الدراسة

اوضح الحازمي (2009) إن نيماتودا الحمضيات اسم يطلق على نوع واحد هو(*T. semipenetrans*) ولكن يبدو إن هذا النوع قد طور سلالات تستطيع التكاثر على عوائل أخرى غير الحمضيات كالزيتون والعنب والكمثرى وذكر أنه بإمكان هذا النوع من النيماتودا إصابة أكثر من 80 نوعا وصنفا من الحمضيات في جميع انحاء العالم حيث أن نيماتودا الحمضيات التي تسبب مرض التدهور البطيء على الحمضيات تعد مشكلة عالمية في مناطق إنتاج الحمضيات الرئيسية في الولايات المتحدة الامريكية , إذ تصيب النيماتودا 50-60% من بساتين الحمضيات في ولاية كليفورنيا وفلوريدا لتصل إلى 90% في ولاية تكساس وهناك إحصائيات مماثلة ذكرت في جميع انحاء العالم .

3-2-طرائق تشخيص نيماتودا التدهور البطيء

1-3-2 التشخيص المظهري لنيماتودا التدهور البطيء *Tylenchulus semipenetrans*

يعتمد في التشخيص المورفولوجي على شكل النيماتودا تحت المجهر الضوئي أو الإلكتروني مثل طول الجسم و شكل الذيل وشكل الرأس و اليافعات والذكورو الفتحة الاخراجية و تخطيط النمط العجاني في مؤخرة جسم الاناث الناضجة و وجود أو عدم وجود الأعضاء الفازميدية Phasmids وكذلك مشاهدة الأطوار داخل أنسجة الجذور كالطور اليافعي الثاني (j2) وطور البالغات وتعد هذه الطريقة في التشخيص غير مكلفة كما إنها توضح صيغة العلاقة الوظيفية والتشريحية بين النيماتودا والنسيج النباتي فضلاً عن النتائج واعتمادها بالمسوحات الخاصة بالكثافة العددية للنيماتودا المتطفلة على النبات لكنها تحتاج إلى مهارة وخبرة وتستغرق وقتا طويلا(2004,Karajeh)

2-3-2التشخيص الجزيئي لنيماتودا التدهور البطيء *T. semi penetrans*

إن صعوبة التشخيص المورفولوجي للنيماتودا دفع الباحثين بالتوجه إلى التشخيص الجزيئي لتحديد العديد من الأجناس النيماتودية المتطفلة على النبات (Oliveira واخرون ، 2011) , إذ وفرت هذه التقانة تشخيصاً دقيقاً للأنواع وبالتالي إتخاذ الخطوات الناجحة في عمليات المكافحة فضلاً عن كونها خالية من الأخطاء التي تحدث في التشخيص المورفولوجي (Michalakis واخرون ، 2017). تعد طريقة التشخيص الجزيئي من أحدث طرق التشخيص المستخدمة مقارنة بالطرق المظهرية والبيوكيميائية ولاسيمّا في الآونة الأخيرة إذ أصبحت أكثر شيوعاً حتى في البلدان النائية ومن المتوقع أن يتم تطوير هذه التقنية كل عام مع توسع التقانات الجزيئية وتطويرها (محمد,2021) تم تحسين التشخيص الجزيئي للنيماتودا في العقد الماضي بتطوير تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) (Carneiro, واخرون ,2016, أشارت الدراسة التي قام بها Rusinque واخرون (2021) إمكانية تشخيص ديدان تعقد الجذور باستخدام تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل اذا تم استخلاص DNA من البيض ويافعات الطور الثاني J2 والاناث البالغة لديدان تعقد الجذور نوع *Meloidygyne luci* ضمن المناطق الجينية 1800 زوج من الحامض النووي للميتوكوندريا بين جينات S16 rRNAوجينات cytochrome oxidase subunit II.

3-3-2 تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR)

تفاعل البلمرة المتسلسل PCR من أكثر الطرق شيوعاً بسبب الدقة والخصوصية والحساسية العالية للكشف عن الحامض النووي DNA في علم الأحياء الجزيئي الحديث ، ولا يمكن الإستغناء عنه ، وصفت هذه التقنية من العالم الأمريكي الحاصل على جائزة نوبل Kary Mullis سنة 1984 وطورت سنة 1993 م من قبل Gobind Khorana بإستخدام أثنين من البادئات لتكرارالحامض النووي DNA، وبواسطة هذه التقانة يمكن فصل قالب الدنا DNA المزدوج الشريط وتتم العملية في المختبر وبدرجات حرارة متفاوتة وخارج الجسم الحي وبوجود بادئات (Primers) مكملة للقالب (Template DNA) وتتكرر العملية حتى يتكون عدد كبير من الحامض النووي DNA يصل إلى ملايين النسخ من حامض الدنا ، وبواسطة أنزيم Taq Polymerase والمعزول من بكتريا محبة للحرارة *Thermus aquaticus* يمكن فصل الشريط المزدوج للحامض النووي DNA وبدرجات حرارة عالية تصل الى 95 م° ، ويتطلب عمل هذه التقنية ، النيوكلوتيدات منقوصة الاوكسجين الثلاثية الفسفور Deoxynucleosid Triphosphate والمحلول الدارئ PCRbyffer وقالب DNA وجهاز الدورات الحرارية Thermocycler وأنزيم PolymeraseTaq (Benson واخرون ، 2003 وBartlett وStirling ، 2003) .

تطوير تضخيم الحامض النووي DNA بواسطة تفاعل PCR أنتجت فوائد هائلة في تحليل الجينات وكذلك تشخيص العديد من الأمراض الوراثية والكشف عن مسببات الأمراض الفطرية والفايروسية والبكتيرية.

2-4 طرائق مكافحة نيماتودا الممرضة للنبات

2-4_1-المكافحة الكيميائية

ان استعمال المبيدات الكيميائية لمكافحة نيماتودا الحمضيات هو الإستراتيجية الأكثر شيوعاً وإستعمالاً وتسمى المبيدات النيماتودية Nematicides، تقسم المبيدات النيماتودية إلى المبيدات المدخنة (Fumigants Nematicides) والمبيدات الغير مدخنة Non-Fumigants Nematicides ، المبيدات غير المدخنة وتعرف بالمبيدات غير المتطايرة تضاف إلى التربة ليسهل امتصاصها من النيماتودا مثل مبيدات Oximecarbamate و Organophosphate (أبو غربية 2010 و Hajihassani واخرون ، 2019) .

المبيدات المدخنة تصنع على شكل سوائل وتتطاير بشكل غاز خلال فراغات الهواء منها بروميد المثيل Bromid methyl و Chloropicrin و 1,3 Dichloropene وتعد المبيدات المدخنة هي الأكثر استعمالا للسيطرة على النيماتودا (Noling ،2010). بالرغم من كفاءة استعمال المبيدات ونتائجها الفعالة لكن في

العقود الأخيرة بسبب تأثيرها على الإنسان والبيئة وسميتها للكائنات غيرالمستهدفة ، والعامل الأكثر تأثيرا لتقييد استعمال المبيدات في البلدان النامية يكون بسبب أسعارها الباهظة الثمن ونقص معرفة التقنية عند استعمالها (Kim واخرون ، 2018 و Xiang واخرون ، 2018) . من أهم مميزات مبيد Tendro (Oxamyl 24%) أنه يعمل على تطهيرالبذور ومهدها المحيط بها ويحميها من أعفان الجذور وفطريات التربة بصفة عامة ، وهو سهل الاستخدام والتطبيق في معاملة التقاوي في محطات إنتاج التقاوي الكبرى لأنه في صورة مركز انسيابي ولايترك أي ترسبات في الآلات أثناء الإنتاج.

يوصي باستخدامه لمقاومة موت البادرات وأعفان الجذورفي الذرة الشامية بمعدل 3.5 سم^3 لكل كغم تقاوي ، وأيضًا مقاومة التفحم السائب في القمح والشعير بمعدل 5 سم^3 لكل كجم تقاوي (حسن،2020) يتواجد المركب في صورة مركز انسيابي لمعاملة التقاوي فيعطيها الحماية ومقاومة الأمراض وتنشيط النمو ويحتوي على مادتين فعالتين تعملان بنظاما لوقاية والعلاج ممايعطي قدرة حماية فائقة من مهاجمة فطريات التربة للتقاوي وعدم تكوين مقاومة للمركب ،وهما:

مادة كاربوكسين 20% وهي مادة التي لها تأثير وقائي وعلاجي (جهازية) حيث تعمل على وقف إنتاج الطاقة في الميتوكوندريا المتواجدة في خلايا الفطر وبالتالي وقف العمليات الحيوية وفي النهاية موت الفطريات المسببة لأمراض التربة بالإضافة لعملها على الوقاية والعلاج من فطريات التربة كما ان لها فعل آخر وهو تحفيز النمو سواء في مرحلة الإنبات أو نمو الشتلات وتحسين نمو الجذور والمجموع الخضري للشتلات مما ينعكس ذلك على زيادة إنتاجية المحاصيل وتنظم قدرة النبات على زيادة كفاءته في الحصول على النتروجين كعنصرغذائي في التربة الفقيرة ويحتوي على مادة ثيرام 20% وهي مادة ذات تأثير وقائي وتعمل بالملامسة على المراحل المختلفة للفطريات وتطورها بداية من الجراثيم وتطورها إلى ماسيليوم الفطر المتسبب في أمراض التربة (Thiram 20% + Carboxin 20%) مضاف إليه صبغة حمراء لتمييز التقاوي الحمراء المعاملة به عن غيرالمعاملة به ولايمكن إزالته أثناء التداول ولاتؤثر على إنتاج التقاويكما يحتوي على المواد اللاصقة التي تثبت المطهرعلى التقاوي وآمن على البيئة (حسن،2020) .

2-4-2 المكافحة الاحيائية

اتَّجَه العالم في الوقت الحاضر إلى وضع إستراتيجيات مختلفة وبرامج إدارة كاملة للسيطرة على ممرضات النبات عن طريق إدخال كائنات صديقة للبيئة تعمل على خفض الكثافة العددية لمجتمع النيماتودا المكافحة البيولوجية وتعني إستخدام العوامل الإحيائية كالفطريات والبكتريا وغيرها ، أو نواتجها الثانوية مثل الأحماض العضوية والأمينية، أو استخدام المواد الطبيعية ، السماد الأخضر(Veronico واخرون ، 2017) واظهرت المكافحة الاحيائية نجاحاً في مكافحة النيماتودا الممرضة للنبات من خلال قدرتها على استعمار المنطقة المحيطة بالجذور فضلاً عن قدرتها العالية على التكاثر والإنتشار إذ خفضت هذه الأحياء من مستوى الضرر الذي تحدثه النيماتودا إلى دون الحد الاقتصادي الحرج (Abd-Elgawad ، 2016) . تتطلب المعاملة بالمكافحة البيولوجية معاملة التربة بالمركبات الحيوية للسيطرة على ديدان تعقد الجذور (Pendse واخرون، 2013) واستخدمت عناصر المكافحة الاحيائية في مكافحة نيماتودا الحمضيات. (اسكندر وآخرون ,2013) .لاحظ Wang وآخرون (2007) إن أكثر عوامل المكافحة البيولوجية شيوعاً وإستعمالاً هي الفطريات والبكتريا .

2-4-3 تأثير المبيدات الاحيائية على النباتات

يعد الإستعمال العالمي للمنشطات الاحيائية النباتية وغير الاحيائية وسيلة إيجابية لا يمكن الإستغناء عنها و لا تؤثر سلباً على الإنسان والبيئة وبدون مخلفات سامة مثال لكل المبيدات الكائنات الحية الدقيقة الميكروبية ومنها ، المايكورايزا الشجيرية البكتريا الجذرية أو تكون غير حية مثل مستخلصات الطحالب البحرية وغيرها ، إذ تستخدم هذه المركبات لتنظيم العمليات الفسيولوجية وتحسن نمو وإنتاجية المحاصيل ، فضلا عن تحملها مقاومة مجموعة واسعة من الضغوط اللإحيائية مثل الملوحة والجفاف ، كما إنها تلعب دور مهم في تقليل التلوث في المياه والبيئة وهذا ينعكس تماماً على المردود الاقتصادي كما إنها تحسن من إنبات البذور (Al-Hadede واخرون ، 2020 وCarillo واخرون ،2020 وHofmann واخرون ، 2020) عمل هذه الاحياء ضد النيماتودا تكون اما بأفراز مواد طاردة تقلل من انجذاب يافعات الطور الثاني نحو جذور العائل النباتي او قد يحصل ضعف وتأخر في نمو الاناث الناضجة وبعض الفطريات مثل *Trichoderma* و*Paecilomyces* تؤثر على النيماتود في التربة او الجذور وعلى مراحل مختلفة من دورة حياة النيماتودا (بيض,يافعات,أطوار ناضجة) او تنافسها على المواد مثل السكريات او قد تحفز وتعزز من نمو النباتات بأنتاج هرمونات مثل السايتوكاينين والجبريلينات (Sikder وVestegard,2020) .تحفز البكتريا الجذرية المقاومة الجهازية عن طريق زيادة منشاط الجين الدفاعي مماتؤدي إلى انخفاض مستوى الاصابة بالنيماتودا (Vigilaواخرون ,2019).

4-4-2 تأثير الاسمدة العضوية في مكافحة النيماتودا الممرضة للنبات

يعدّ السماد العضوي إحدى الوسائل المستخدمة لزيادة المحصول للمزارع المهتمة بالزراعة العضوية والمستدامة.اذ بدا الاهتمام في الوقت الحاضر هناك اهتمام خاص باستخدام Vermocompost للمساعدة على تثبيط الممرضات النباتية وهذا الاستعمال المفيد للسماد ساعد على تقليل استخدام المبيدات الكيميائية وإعادة تدويرالمخلفات وتقليل التكلفة الاسمدة العضوية هي عبارة عن مخلفات نباتية وحيوانية مع إضافة بعض المواد الأخرى التي تساعد على تثبيط الكائنات الدقيقة تطبيقات استخدام الاسمدة العضوية في مكافحة الأمراض النباتية مكافحة أمراض اعفان الجذور والذبول على بعض نباتات الخضر والفاكهة و مكافحة أمراض عفن الساق والجذور على بعض نباتات الزينة وإنتاج شتلات سليمة لبعض النباتات وتضاف الأسمدة العضوية مثل سماد الماشية والحمام والدجاج بغرض تحسين خواص التربة وزيادة معدلات نمو النبات علاوة على إنها تؤدى إلى إعاقة النمو الطبيعي للنيماتوداوعندإضافة الأسمدة العضوية للتربة تجعل الوسط المحيط بالجذور يميل الى القلوية ذات الوسط غير المناسب لنمو النيماتودا و تشجع على زيادة بعض الكائنات الحية الدقيقة مثل الفطريات والبكتريا والحشرات التي تطفل على الآفات النيماتودية(الطائي، 2020). يمكن للسماد العضوي ان يسيطر على *Meloidogyne javanica* من اكثر النيماتودا المتطفلة على النبات ضررا في زراعة الباذنجان في ايران من خلال دراسة تأثير السماد العضوي ومستخلصات اخرى على بقاء النيماتودا (الابراهيمي واخرون, 2021) . سماد الفيرمي كومبوست هو خليط من مخلفات ديدان الأرض مختلطة مع مواد طبيعية تحللت بفعل عوامل اخرى بشكل مبسط هو مزيج من كومبوست الناتج من تحلل المادة العضوية بفعل الحرارة والرطوبة مع مواد تحللت بفعل تناول الديدان للطعام وإخراج المخلفات ويعد من أفضل أنواع الاسمدة العضوية التي يمكنها استعماله لتغذية نباتات الزينة والنباتات الثمرية المختلفة والاشجار ويتميز سماد Vermocompost عن باقي الاسمدة العضوية بأنه يكون متحلل بشكل كامل في صورة ميسرة للنباتات المختلفة ويكون خالي من المسببات المرضية ولا يحتوي على اي بقايا ضارة للتربة، يحتفظ بالماء بشكل جيد جدا كما يُسْهِمْ في بناء التربة بشكل خصب وصحي مع الوقت ويكون ايضا غني بالكائنات النافعة المجهرية التي تساهم في شكل كبير في خصوبة التربة وحيويتها واضافته للتربة والنبات يكون بأي وقت صيفاً شتاء.(المحاسنة ,2020) واجريت اختبارات حيوية في المختبر باستخدام مستخلصات المواد العضوية والسماد العضوي الفيرمو كومبوست ادى الى انخفاض يافعات الطور الثاني للنيماتودا

والى زيادة معدل موت النيماتودا في جذور الباذنجان ويعزى هذا التأثير على *M.javanica* للسماد العضوي الفيرموكومبوست حيث ادى الى اطلاق مركبات سامة مثل الامونيوم وحسن من مغذيات التربة ونمو النبات

مما يؤدي الى نباتات اكثر تحملا للاصابة بالنيماتودا الخيطية (الابراهيمي واخرون, *2020*) يجب الانتباه جيدا الى ان مقدار احتواء سماد الفيرمي كومبوست على مغذيات يعتمد بشكل أساسي على نوعية الطعام الذي نقدمه للديدان بقايا خضروات وفواكه،تختلف عن جودة السماد الناتج من مخلفات الأرانب، وتختلف عن السماد الناتج عن إطعام الديدان أوراق الشجر الجافة يستعمل سماد الفيرمي كومبوست مع التربة بعد خلطه قبل الزراعة بنسبة ثلث سماد وثلثين تربة حتى يحدث تجانس بينهم،كما يمكن نقعه في الماء لأستخلاص المواد الغذائية المفيدة منه لنعمل خليط الفيرمي كومبوست ونروي منه النباتات بعدها يتم إضافة كيلو غرام من السماد إلى ثمانية لترات ماء لمدة ثلاث أيام مع التقليب المستمر(سماحة ,2019).

ثالثا: المواد وطرائق العمل

جدول 1: الاجهزة والادوات المستخدمة في البحث

ت	إسم الجهاز	الشركة المصنعة	البلد المنشأ
1	جهاز التعقيم البخاري(Autoclave)	Tom	Japan
2	الحاضنة (Incubator)	Memmert	Germany
3	مجهر ضوئي مركب (Microscope)	Olympus	Japan
4	فرن كهربائي (Microwave Oven)	Memmert	Germany
5	ثلاجة (Refrigerator)	L.G	Korea
6	أطباق بتري(Petri Dishes)	Afco	Jordan
7	جهاز الاشعة فوق البنفسجية (U. V. Light)	Cleaver	England
8	ميزان حساس (Sensitive Balance)	Sartorius	Germany
9	الرجاج (Vortex)	Heidolph	Germany
10	جهاز الطرد المركزي (CoolingCentrifuge)	HettichEBA.20	Germany
11	خلاط كهربائي (Blender)	National	Japan
12	أوراق ترشيح (Filter paper)	Whatman	England
13	دوارق زجاجية (Flasks)	Volac	England
14	جهاز التقطير (distillation)	G.F.L	Germany
15	أصص بلاستيكية (Plastic pots)	*	China
16	جهاز التسخين (Hot plate)	Photox	England
17	مناخل (Sieves)	Ogawa seikico	Japan
18	حمام مائي (Water bath)	Grant	England
19	مقياس الدالة الحامضية (pH-meter)	Hanna	Italy
20	جهاز قياس الملوحة (EC-meter)	Hanna	Italy
21	جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل (Thermocycler)	Labnet	Korea

22	جهاز الترحيل الكهربائي (ElectrophoresisGel)	Labnt	Korea
23	جهاز (Chlorophyll Content meter)	*	Germany
24	شرائح زجاجية واغطيتها (Slides and Cover Slides)	Mheco	China
25	ماصات دقيقة (Micropipetes)	Human	Germany
26	شريحة العد (counting slide)	*	England
27	أنابيب اختبار (Test tubes)	Sigma	England
28	أقماع بيرمان(Baermann Funnul)	*	Germany
29	ملاقط ومقصات	*	Iraq

*غيرمعروف المنشأ او الشركة المصنعة

الجدول2: المواد المستخدمة في البحث

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة	البلد المنشأ
1	الكليسيرول (Glycerol)	BDH	England
2	اللاكتوفينول (Lacto phenol)	*	India
3	كندا بلسم (Canada balsam)	*	India
4	فورمالين (formalin)	Fluka	Switzerland
5	محلول تحطيم الخلايا (Buffer lysis)	GeNet Bio	Korea
6	محلول كرومات البوتاسيوم (K2Cr2O7)	BDH	England
7	كبريتات الحديدوزالنشادرية	BDH	England
8	هلام الاكاروز (agarose gel)	Kaba	USA
9	هايبوكلورات الصوديوم (Sodium hypochlorite)	تجاري	Iraq
10	حامض الخليك الثلجي (Glacial acetic acid)	Sigma	USA
11	حامض الكبريتيك		England
12	صبغة الفوكسين الحامضية (Fuchsin Acid)	BDH	England
13	ماء مقطر(Distilled water)	*	Iraq

14	وسط البطاطا دكستروزاكارالجاهز (PDA)	Himedia	India
15	Nutrient Agar	Himedia	India
16	المبيد الاحيائي Verox	Marvel	USA
17	المبيد الكيميائي TENDRO	BAYER	Germany
18	المبيد العضوي Tendaxier	Kimia sabz avar	Iran
19	سماد الفيرمي كومبوست	Uruk	Iraq
20	المبيد العضوي Palizin	Kimia sabz avar	Iran

*غيرمعروف المنشأ او الشركة المصنعة

3-1الدراسة الحقلية

3-1-1: مناطق الدراسة

اجريت الدراسة الحقلية من شهر اب 2021 ولغاية شهر نيسان 2022 اذا شمل المسح بعض بساتين ومناطق محافظة كربلاء المقدسة وعدد من المشاتل بواقع خمس عينات لكل منطقة وعلى الاشجار التي تظهرعليها علامات الاصابة من الاصفرار وموت الافرع وعلى جهة واحدة من الشجرة وتشوه الثمار (2018,Kim) وانها شملت : منطقة الامام عون وحديقة منزل في حي العامل وبساتين منطقة الحيدريات ومشاتل الحر الصغير و بساتين البوبيات ومنطقة الحسينية وبساتين قضاء الهندية
والجدول رقم(3) يبين المعلومات الخاصة بجمع العينات.

3-1-2: جمع العينات

جمعت العينات من مساقط أغصان ألاشجار المصابة والتي يظهر عليها اعراض موت الاطراف وصغر حجم الثمار وتيبس الافرع وموتها اما الجزء الاخر من الغصن او الفرع اخضرو بدون فاصل بين جزأين الغصن المصاب ووضعت العينات في اكياس بولي اثيلين مثبته عليها جميع المعلومات عن كل العينة من تاريخ جمع العينة واسم المنطقة والصنف المزروع الذي اخذت منه العينة وغيرها من المعلومات وجلبت الى المختبر امراض النبات-كلية الزراعة/جامعة كربلاء ,حفظت العينات في الثلاجة عند درجة حرارة 5م° بمدة لا تزيد عن ثلاثة ايام احين اجراء الفحوصات اللازمة عليه .(Kim ,2018 و الحيالي ,2021)

الجدول 3:مناطق الدراسة الحقلية وتشمل خمس اشجار اخذت منها العينات في محافظة كربلاء المقدسة مع المعلومات الخاصة بجمع العينات

*شملت الدراسة البساتين المدرجة من خلاله تم التعرف على الاصناف المزروعة وايضا عمل استبيان لمعرفة طرق المكافحة والري

رقم العينة \المنطقة	الصنف المزروع	نوع التسميد	نوع الري	وجود اصابة	طريقة الري	مستوى الانتاجية	اجراء مكافحة ام لا؟	عدد الاشجار الكلية للمناطق	نوع الموقع
1-منطقة عون 8\20	برتقال ليمون لا لنكي نارنج	20\8 حيواني	ماء نهر	لا يعلم	سيحي	منخفض	نعم	15	بستان
2-حي العامل	نارنج	22\8 مختلط	ماء حنفية	لا يعلم	سقي	متوسط	لا	6	حدائق منزلية
3-حيدريات	برتقال مركب برتقال عادي نارنج	28\8 مختلط	ماء بزل	لا يعلم	سيحي	جيد جدا	نعم	250	بستان
4-الحر الصغير	برتقال مركب برتقال نارنج لالنكي	9\5 حيواني	ماء سقي	لا يعلم	سقي	جيد	لا	50	مشتل
5-البوبيات	برتقال مركب اقلام نارنج	20\10 مختلط	ماء بئر	نعم	سقي	منخفض	نعم	37	بستان
6-الحسينية	نارنج برتقال عادي	20\1 حيواني	ماء نهر	لا يعلم	سيحي	متوسط	لا	10	بستان
7-الهندية	نارنج برتقال	4\5 حيواني	ماء نهر	لا يعلم	رش	متوسط	نعم	6	بستان

ومعرفة التسميد وغيرها من الامور المهمة للوقوف الى اهم اسباب التدهور الحمضيات

3-1- 3 فحص العينات المصابة وتصبيغها

غسلت الجذور المصابة بتيار خفيف من الماء الحنفية لأزاله الأتربة العالقة وفحصها مبدئيا تحت المجهر اخذ واحد غرام / مكرر قطعت الجذور إلى قطع صغيرة بحدود واحد سم ثم وضعت في إناء زجاجي يحتوي على كمية من محلول اللاكتوفينول المغلي والمضاف إليه خمسة مل من صبغة الفو كسين الحامضي

وبعدها تركت الجذور في المحلول المغلي لمدة ثلاثة دقائق ثم بردت وغسلت بالماء الجاري لإزالة محلول الصبغة بعدها غمرت الجذور في محلول اللاكتو فينول النقي لإزالة الصبغة من أنسجة الجذور وحسب طريقة التصبيغ واحتفاظ أطوار النيماتودا بالصبغة وبالتالي سهولة حساب أعدادها فحصت الجذور بالاستعانة بالمجهر الضوئي المجسم كما في الشكل (3,2,1) وحسبت أعداد الإناث تقريبا ±70 انثى و10 كيس بيض(كتل البيض) وكل كيس بيض يحوي تقريبا ± 500 بيضة الموجودة في واحد غرام من الجذور / نبات , كما تم حساب نسبة الإصابة ب الاستعانة بالمعادلة التالية :

$$\text{نسبة الإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة}} * 100$$

كذلك قدرت شدة الإصابة حسب المعادلة التالية والدليل المرضي :-

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{مجموع (عدد النباتات المصابه} \times \text{درجة إصابتها)}}{\text{العدد لكلي ا للنباتات} \times \text{أعلى درجة}} * 100$$

(Mckinney ، 1923)

الدليل المرضي

0= النبات السليم

1 = تلون الجذور الرئيسية بلون بني

2 = تلون الجذور والشعيرات الجذرية بالون البني

3 = تلون الجذور والشعيرات والساق بالون البني

4 = موت النبات

3-2- تهيئة التربة المستخدمة في التجارب

نخلت التربة المأخوذة من كلية الزراعة بالمناخل لأزالة الكتل والاحجار الكبيرة بعدها تم تعقيم تربة انبات بذور البرتقال الصنف المحلي بجهاز المؤصدة الكبيرة بدرجة حرارة 121 ºم وضغط 15 بار ولمدة 60 دقيقة واعيد تعقيمها مرة اخرى بعد 24 ساعة , بعدها تم اضافة السماد العضوي بتموس بنسبة 2:1 تربة/ سماد , وعبئت في سنادين سعة 1.5 كغم/اصيص لحين الاستخدام.

3-3- التشخيص المظهري لنيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات

اعتمد التشخيص المظهري لجنس النيماتودا التدهور البطيء على الصفات الجسمية للبالغات، إذ فحصت النيماتودا المعزولة سواء من التربة أو الاجزاء النباتية بالتقاطها بوساطة ابرة دقيقة ونقلها إلى شريحة زجاجية نظيفة تحتوي على قطرة من الكليسيرين بعد وضع غطاء الشريحة تم قفل الشريحة بوساطة مادة كندا بلسم وفحصت تحت المجهر الضوئي على قوة تكبير 400 و 1000 مرة. وتم تشخيص الأجناس على وفق المفتاح التصنيفي الذي وضعه (الحيالي ,2021).

3-4-التشخيص الجزيئي نيماتودا التدهور البطيء على الحمضيات

بعد مرور 60 يوماً على تهيئة المزرعة النقية وعند إكمال دورة حياة نيماتودا التدهور البطيء أُخذت عينات من المزرعة النقية التي اضيف اللقاح النيماتودا الى شتلات الحمضيات وخضعت للتشخيص الجزيئي لتأكيد أو دعم التشخيص المظهري وأجري التشخيص في مختبر التقدم العلمي / بغداد ، وفق خطوات العمل الْآتِية :-

3-5- عزل الحامض النووي المنقوص الاوكسجين (DNA) نيماتودا التدهور البطيء

تم استخلاص الحامض النووي العائدة لنيماتودا والمعزولة من نباتات الحمضيات الملوثة بالنيماتودا بعد تهيئتها من المزرعة النقية من كتلة بيض المستخرجة من انثى ناضجة وبإستعمال عدة استخلاصDNA Genomic Plant) Extraction Mini kit)المجهزة من قبل شركة Genet Bio الكورية الجنوبية .

3-5-1-تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction

أجري تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) بخليط التفاعل المكون من اثنان مايكروليتر من الحامض النووي المستخلص DNA مع واحد مايكروليتر لكل من البادئ الأمامي والخلفي وخمسة مايكروليتر من Pri mix إضافة إلى 16 مايكروليتر من الماء الخالي من الأنزيمات المحللة للإحماض النووية و بحجم كلي 25 مايكروليتر وبإستعمال أنبوبة التفاعل ، ثم التضخيم بإستعمال جهازالتسخين الحراري Thermocycler نوع MultiGene - Mini من إنتاج شركة Labnet .

الجدول 4:التسلسل القواعد النتروجينية للبادئات المستعملة بعملية التشخيص الجزيئي نيماتود التدهور البطيء.

Primer	Sequence	Primer sequence	Tm (°C)	GC%	Size of Product (bp)
ITS	F1	**5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3′**	60.3	50 %	**550-600**
ITS	R1	**5′ TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′**	57.8	41 %	

الجدول 5:الظروف المثلى لتفاعل البلمرة المتسلسل للبادئات المستخدمة في تشخيص نيماتودا التدهور البطيء.

البادئ	مرحلة المسخ الأولية دورة واحدة	مرحلة المسخ النهائية 35 دورة	مرحلة التحام البادئ 35 دورة	مرحلة الاستطالة الأولية 35 دورة	مرحلة الاستطالة النهائية دورة واحدة	مرحلةإنتهاء التفاعل
***Tylenchulus* spp.**	95م° لمدة 5 دقائق	95م° لمدة 45 ثانية	57.8م°لمدة دقيقة واحدة	72م° لمدة نصف دقيقة	72م° لمدة دقيقة واحدة	5 دقائق

.

3-5-2- تحديد تتابعات القواعد النتروجينية

حددت تتابعات القواعد النتروجينية لنتائج تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للجين لنيماتودا التدهور البطيء بإستخدام البادئات ، إذ أرسل البادئ الأمامي **5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3** فقط الى شركة Macrogene الكورية لغرض تحديد تسلسل التتابعات الخاصة بالحامض النووي المنقوص الاوكسجين .

3-5-3- تحليل بيانات تتابعات القواعد النتروجينية لجينوم نيماتودا التدهور البطيء

حللت تسلسل قواعد النتروجينية التي تم الحصول عليها من الشركة الكورية الجنوبية Macrogene من المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI) National Center Biotechnology Information ورسمت شجرة التطور وفق برنامج Mega6 اعتمادا على تسلسل قواعد النتروجينية للعزلات العالمية المسجلة في بنك الجينات Gene-Bank.

3-6-تهيئة مزرعة نقية لنيماتودا تدهور البطيء

زرعت شتلات البرتقال كل من الصنف المحلي وثلاثي الاوراق في أصص بلاستيكية (سنادين) سعة 1.5 كغم مملؤة بمزيج من التربة والبتموس نسبة 1:2 المعقم بجهاز المؤصدة Autoclave جمعت كتل البيض (Egg Mases) من انثى نيماتودا التدهور البطيء من نباتات الحمضياتالمصابة (سبق وتم تشخيصها مظهرياً ضمن مناطق الدراسة المشمولة بالمسح الحقلي) ، وبعد فحصها بالمجهر الضوئي وضعت في إناء الجمع الزجاجي وأُضيف لها 100 مل من الماء المقطر (المعقم سابقاً بجهاز المؤصدة Autoclave على درجة حرارة º121 م وضغط 15 بار لمدة 20 دقيقة) ووضعت في الحاضنة على درجة حرارة 30 °م ولمدة ثلاثة أيام لإتمام الفقس (Bird وWallace ، 1965ومحمد ,2021) . لوثت الشتلات وبعمر 2-3 أوراق حقيقية بعمل حفر حول شتلة البرتقال واضيف اللقاح مع مراعاة السقي والتسميد بسماد NPK(20:20:20) عند الحاجة لمدة شهرين.

3-7- تهيئة زراعة بذور وشتلات صنفي الحمضيات المستتخدمة في التجارب الحقلية

جلبت بذور من البرتقال العادي (المحلي) غير معروف التراكيب الوراثية أضف إلى ذلك شتلات صنف برتقال ثلاثي الاوراق، نقعت البذور بالماء المقطر لمدة أربع ساعات ثم وضعت على مناديل ورقية في أطباق بتري حتى تجف بعدها زرعت في أصص بلاستيكية (سنادين) مملؤة بمزيج من التربة والبتموس نسبة 1:2 المعقم بجهاز المؤصدة Autoclave وسقيت يومياً لحين إستخدام الشتلات بالتجارب الحقلية .

3-8:تحضيرلقاح نيماتودا التدهور البطيء *T.semipenetruns* المستعمل في التجارب

اتَّبعْت طريقة Hussey و Bakker (1973) في استخلاص لقاح نيماتودا التدهور البطيء, جلبت شعيرات الجذور مصابة بنيماتودا الحمضيات من أحد البساتين التابعة لناحية الحسينية / كربلاء بعد ملاحظة أعراض الإصابة على المجموع الخضري بموت الاطراف وتيبسها. نقلت العينات إلى المختبر وغسلت الجذور المصابة بتيار مائي خفيف لإزالة الأتربة العالقة بها وقطعت بواسطة مقص معقم إلى قطع صغيره 2-3 سم ووضعت في دورق زجاجي سعة 1000 مل من محلول هايبوكلورات الصوديوم Naocl تركيز 1% وبعد رج الدورق بصورة جيده لمدة ثلاث دقائق لتجانس المحلول وضعت في الخلاط الكهربائي لمدة 30 ثانية ثم مرر المحلول عبر سلسلة من المناخل تتدرج اقطارها (100 و150 و 250 و 400 مش) غسلت محتويات المناخل عدة مرات بتيار مائي خفيف للتخلص مِنْ آثارِ هايبوكلورات الصوديوم إذ إن الأول والثاني لعزل الجذور والشوائب والمنخل الأخير لجمع بيوض ويافعات الطور الثاني وبعد جمع اللقاح في دورق اخذ واحد مل من العالق بواسطة ماصة معقمة الى شريحة العد وحسبت كتل البيض باستعمال المجهر الضوئي المركب تحت قوة تكبير40x واتبعت الطريقة نفسها عند تحضير كل لقاح في التجارب الحقلية.

3-8-1 حساب أعداد الاناث والبيوض لنيماتودا التدهور البطيء في الجذور

حسبت أعداد الْإِنَاث واليافعات والبيوض لجذور صنفي البرتقال الملقحة المحلي والثلاثي الاوراق عينات بعد مرور شهرين من إضافة لقاح النيماتودا بمعدل ، وذلك بتصبيغها وفق طريقة Byrd واخرون (1983) وتم التصبيغ بإتباع الخطوات الآتية :-

1 - غسلت الجذور جيداً بتيار مائي خفيف لإزالة الأتربة العالقة بها .

2 - وضعت الجذور في دورق زجاجي سعة 1000 مل من محلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 1% وتركت لمدة دقيقتين.

3 - غسلت الجذور بالماء للتخلص من محلول هايبوكلورات الصوديوم .

4 - غمرت الجذور في محلول حامض الخليك الثلجي تركيز 1% لثبات الصبغة .

5 - سكب المحلول الحامضي وأضيف لها واحد مل من الصبغة الحامضية و 30 مل ماء مقطر وسخن المحلول لمدة 30 ثانية وترك نصف ساعة في درجة حرارة المختبر ليبرد .

6 - غسلت الجذور جيداً للتخلص مِنْ آثار الصبغة ثم وضعت في 20 مل من محلول الكليسيرول الحامضي وسخن لمدة 30 ثانيه وترك ليبرد ليحافظ على الشكل النيماتودا.

7 - حملت الجذور على شرائح زجاجية وفحصت بالمجهر المركب تحت قوة تكبير ×40 .

حضر المحلول الخاص لصبغة الفوكسين الحامضية من المواد الآتية :-

1 - 35 غم مسحوق الصبغة .

2 - 250 مل حامض الخليك الثلجي .

3 - 750 مل ماء مقطر .

أما محلول الكليسيرول الحامضي فحضر كآلاتي:-

1- 700 مل كليسيرول .

2 - 300 مل ماء مقطر .

23-مل حامض الخليك الثلجي.

9-3 تأثير المبيد الاحيائي Verox والعضوية Palizin وTondexir لمعرفة النسبة المئوية لأنبات البذور

نفذت هذه التجربة بتاريخ 2021/9/24 ، إذ عقمت بذور البرتقال المحلي بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 2% لمدة دقيقتين ثم غسلت جيداً بماء مقطر للتخلص من تأثير المحلول ووضعت في أطباق بتري على ورق ترشيح معقم وغطيت بورق ترشيح معقم آخَر حتى تجف ، بعدها زرعت البذور في أصص بلاستيكية (سنادين) سعة 1.5 كغم مملؤة بمزيج من التربة والبتموس نسبة 1:2 المعقم بجهاز المؤصدة Autoclave ، وبمعدل 4 بذور/ أصيص لمقارنتها مع نسبة انبات البذور الغير معاملة ، مع السقي وتوفير الحرارة والرطوبة المناسبة لهما داخل الظلة.

بعدها أُخذت الْقِراءات لمعرفة نسب الإنبات وفق المعادلة الآتية:-

$$\text{نسبة الانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة} \times \text{المعاملة}}{\text{العدد الكلي للبذور النابتة في المقارنة}} * 100$$

(بامؤمن ، 1994)

10-3 تأثير المبيد الاحيائي verox والعضوية Palizin , Tondexir في المحتوى الكلي للكلوروفيل لصنفين المستخدمين المحلي وبرتقال ثلاثي الاوراق

تم قياس محتوى الكلوروفيل لشتلات البرتقال ، وبعد وصول الشتلات عمر 5-6 أوراق حقيقية، أُستخدم جهاز Content MeterChlorophyll نوع SPAD-502 لقياس نسبة الكلوروفيل لكلا الصنفين المحلي والثلاثي الاوراق إذ أُخذت القِراءات للأوراق أسفل القمة بواقع 4 أوراق / أصيص ، ثم أُخذ متوسط عام كل معاملة (Minotti واخرون ، 1994) وباستخدام الصنف برتقال ثلاثي الاوراق وقيست بالوحدات SPAD-unit استنادا إلى (Williamson ، 2009) .

11-3 تقدير المادة العضوية لسماد Vermo compost

قدرت النسبة المئوية للمادة العضوية بعد تقدير نسبة الكاربون العضوي بطريقة الاكسدة بأستخدام حامض الكبريتيك المركزH2SO4 ودايكرومات البوتاسيوم K2CrO4والمعايرة مع كبريتات الحديدوز FeSO4(وحسبت نسبة المادة العضوية في التربة كالآتي:

النسبة المئوية للمادة العضوية في التربة وفقا للمعادلة الآتية :

$$O.M\%=10(1-T\backslash S)\times 1.34$$

وحسب الخطوات الآتية:

حسبت المادة العضوية وذلك بأكسدة نموذج من السماد فيرمي كومبوست بواسطة داي كرومات البوتاسيوم واحدعياري وحامض الكبريتيك المركز و التسحيح مع كبريتات الحديدوز الامونياكي واحد عياري.ثم ضربت النسبة المئوية للكاربون العضوي بالمعامل 2.676للحصول على النسبة المئوية للمادة العضوية وحسب الخطوات الاتية:

1- ضع 0.5 غم من عينة التربة المنخولة (0.2 ملم) في فلاسك (دورق سعة 500 مل)

2- ضف 10 مل من 1 عياري دايكروماتالبوتاسيومk2Cr2O7

3- رج بهدوء ثم يضاف 20 مل من حامض(H2SO4) حامض الكبريتيك المركز ويرج لمدة دقيقة واحدة ثم يترك لمدة نصف ساعة

4- خفف المحلول بإضافة 160 مل من الماء المقطر

5- ضف 10 مل من حامض الفسفوريك H3PO4 تركيزه 85%

6- ضف 0.2 غم من فلوريدالصوديومNaF

7- عند اضافه 30 قطرة من كاشف دليل (داي فنيل امين) فيتغير اللون المحلول الى أزرقا مخضراً

8- عمل بلانك Blank وذلك باتباع الخطوات الانفة جميعها عدا إضافة نموذج التربة

9- سحح المحلول لعينة التربة وكذلك Blankمع كبريتات الحديدوزالامونياكي , Fe 2(NH4) 6(H2O) (SO4)2الوزن الجزئي لها = 392.14 ويستمربالتسحيح لحين تحول اللون من الأزرق المخضرالى الأخضرالفاتح . وقدرت قيمة النسبة المئوية للمادة العضوية في التربة وفقا للمعادلة الآتية :

O.M%=10(1-T\S)×1.34

O.M%=النسبة المئوية للمادة العضوية

T=الحجم المستهلك من كبريتات الحديدوز في العينة التربة

S=الحجم المستهلك من كبريتات الحديدوز في البلانك

10=حجم الداي كرومات

1.34=الثابت المتغير

12-3 اختبار التضاد بين المبيد الاحيائي verox والمبيد الكيميائي Tendro مختبريا

حضر الوسط الزرعي Nutrent Agar باذابة 9.75غم في 250 مل ماء مقطرفي دورق زجاجي حجم 250مل وعقم بجهاز المؤصدة Autoclaveعلى درجة حرارة º121م وضغط 15 بار لمدة 20 دقيقة ,بعد انتهاء التعقيم وانخفاض درجة الحرارة الى مرحلة قبل التصلب اضيف المبيد الكيميائي Tendro بتركيز ppm300 \لتر (أقل من الجرعة الموصى بها) في الدورق الزجاجي نفسة ومزج جيدا مع الوسط الغذائي في اطباق بتري وبعد التصلب أضيف المبيد الاحيائي Verox بتركيز 2غم مبيد الاحيائي \تربة نفذت المعاملة مقارنة باضافة المبيد الاحيائي فقط إلى الوسط الزرعيNutrent Agar وحضنت الاطباق بدرجة حرارة ±25ºم لمدة 72 ساعة لأخذ النتائج.

13-3- اختبار كفاءة استخدام المبيد الاحيائي verox والعضوية Palizin , Tondexir والكيميائي Tendro على نسبة فقس بيض نيماتودا الحمضيات *T.semipenetruns* مختبريا

بعد تهيئة الاطباق بتري اضيف لها خمسة مل لكل من المواد المستخدمة بالتجربة وبتركيز اقل من الموصى به ppm 2000 و2500و1000للمبيد الاحيائي Verox وتركيز 300 و400 و450 ppm من المبيد الكيميائي Tendro وتركيز1500 و2000 و2500 لكل من المركب الطبيعي Tendaxier و الزيتي وكمل الحجم الى 7 مل بإضافة 3 كيس بيضطبق (± 500 بيضة/كيس بيض) نفذت التجربة وبثلاث مكررات لكل تركيز مع عمل مقارنة بأستخدام ماء مقطر معقم ومعاملة مجتمعة شملت كل المواد والمبيدات المستخدمة بالتجربة ووضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة ±25 م ثم عد البيض الفاقس تحت عدسة المجهر بقوة تكبير40x

وعلى ثلاثة ازمنة (يوم , يومان, خمسة ايام) وفق المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للفقس} = \frac{\text{عدد البيض الفاقس}}{\text{عدد البيض الكلي في الطبق}} \times 100$$

ومنها تم حساب النسبة المئوية المصححة للبيض المثبط باستعمال معادلة Abbott (1925)

$$\text{النسبة الفقس المصححة} = \frac{\text{عدد البيض الفاقس في المعاملة}}{\text{عددالبيض الفاقس في المقارنة}} \times 100$$

3-14- مكافحة نيماتودا التدهور البطيء نيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* على شتلات الحمضيات في ظروف البيت البلاستيكي حقلياً

واعتمدت صنفين من الحمضيات في التجربة الاولى وهو الصنف برتقال ثلاثي الاوراق و الصنف الاخر المهجنة كمقارنة استنادا إلى اختبار حساسيتها للإصابة بنيماتودا وقياس محتوى الكلوروفيل ، نقلت شتلات الحمضيات بعمر خمس - ستة أوراق حقيقية إلى أُصص بلاستيكية سعة 1.5 كغم مملؤة بمزيج من التربة والبتموس نسبة 1:2 المعقم بجهاز المؤصدة Autoclave وبمعدل ثنين شتلات /أصيص بثلاث مكررات وتركت لمدة أسبوع لإستقرار وضع النباتات ثم لقحت بنيماتودا التدهور البطيء بواقع 1500± 50 بيضة وانثى بالغة / أصيص، تم إضافة لقاح النيماتودا باستعمال أنبوبة ماصة مدرجة ومعقمة لسحب اللقاح وأضافته للتربة بعمل شق طولي يبعد عن ساق النبات ثنين سم وبعمق ثلاث سم (ياس ، 2015) وغطيت بتربة خفيفة وسقيت النباتات عند الحاجة مع تسميدها بسماد NPK (20:20:20) وبمعدل مره واحده كل 14 يوم بحجم واحد غم / لتر .

وشملت التجربة على المعاملات الآتِيَة:-

1- معاملة المكافحة الاحيائية **Verox** وهومبيد وقائي علاجي من انتاج شركة Marvel الأمريكية مادته الفعالة مجموعة من البكتريا الصديقة للبيئة *Rhizobacteria* وتم استخدامه بتركيز 2000 جزء بالمليون وعلى ثلاث مراحل بين كل مرحلة وأخرى 15 يوماً .

2- معاملة المكافحة الكيميائية / **(Tendro)** وهو عباره عن مبيد كيميائي يحتوي على المادة الفعالة Oxamyl 24% من إنتاج شركة BAYER الألمانية وتم استخدامه بحجم 2.5مل/لتر حسب توصية الشركة المنتجة وعلى مرحلتين بين كل مرحلة وأخرى 20 يوم .

3- معاملة المكافحة المبيد عضوي \ Palizin استخدم بحجم (100مل\ لتر) اقل من الجرعة الموصى بها وعلى مرحلتين بعد خمسة يوم من الاضافة الاولى

4- معاملة المبيد العضوي 80% / (Tondexir) **(** أُستخدم بحجم (100 مل) أقل من الجرعة الموصى بها وعلى مرحلتين بين كل مرحلة وأخرى خمسة يوم .

5- المعاملة التكاملية/ وتضمنت تراكيز الاقل من الموصى به إستعمال المبيد الكيميائي **Tendro**(1500جزء بالمليون) + المبيد الاحيائي **Verox (**300جزء بالمليون) +مبيد (1500)Palizin + مبيد Tondexir (1500جزء بالمليون)

6- معاملة المقارنة الملوثة / أُستعمال اللقاح بدون إضافة أي مبيد أو مادة عضوية .

7- معاملة المقارنة غير الملوثة.

3-15-اختبار حساسية صنفين من الحمضيات في الاصابة بنيماتودا التدهور البطيء

تم اضافة اللقاح الذي يحتوي على نيماتودا التدهور البطيء الى ثلاث مكررات لكل اصيص للصنفين المستخدمين في التجارب المحلي وثلاثي الاوراق الذي بعدها تم اضافة المبيدات العضوية والاحيائية والكيميائية ولمدة شهرين بعدها تم فحصها بأخذ الجذور الرفيعة وايضا عينات من التربة ولثلاث مكررات لكل اصيص \صنف بعدها تم حساب عدد البيض والاناث في التجربة .

3-16- اختبار بقاء المبيد الإحيائي Verox في التربة المعاملة

تركت الأصص المزروعة لشتلات الحمضيات والمعاملة بالمبيد الإحيائي Verox مدة أربعة أشهر لاختبار بقاءها في التربة المعاملة ، حيث أُخذت عينات من التربة خمسة غم/ أصيص ، وأضيف 95 مل ماء مقطر للحصول على التخفيف الأول وعمل منها سلسلة من التخافيف ثم أُخذ جزء من التخفيف 10^{-3} بواسطة إبرة تلقيح بحجم واحد مل ولقحت الأطباق الحاوية على وسط Nutrient Agar (المحضر من إذابة 9.75 غم من مسحوق الوسط في 250 مل ماء مقطر) ووضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2 م° لمدة 72 ساعة للكشف عن تواجد البكتريا .

3-17- التحليل الاحصائي

تحليل نتائج البيانات على أساس التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) لجميع التجارب المختبرية والحقلية . وحللت البيانات باستخدام برنامج Statistical Analysis System (SAS) (2012) للتحليل الاحصائي وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختباراقل فرق معنوي L.S.D تحت مستوى معنوية 0.05 .

رابعا: النتائج والمناقشة

1-4 الدراسة الحقلية

أظهرت النتائج الدراسة الميدانية لينماتودا تدهور الحمضيات اصابة جميع المناطق المشمولة بالمسح بنسبة اصابة متفاوتة كما اذ تختلف الاعراض الاصابة بموت الاطراف وصغر حجم الثمار وتيبس الافرع (الصقر,2018).عند حساب نسبة الاصابة على اشجار الحمضيات في مناطق الدراسة الجدول (6) توضح اعلى نسبة اصابة سجلت في الحدائق المنزلية لحي العامل وبساتين قضاء الهندية اذ وصلت نسبة الاصابة الى 83.3% في حين كانت نسبة الاصابة في منطقة عون 66.6% اما في منطقة الحسينية 60% ومنطقة البوبيات 51.5% ومنطقة الحيدريات 40% اما المنطقة الاخيرة وهي الحر الصغير حيث بلغت أقل نسبة الاصابة وهي 10% ,يرجع السبب في تباين نسب الإصابة من موقع لأخر إلى عوامل عديدة أهما التباين في عمر النباتات ففي المنازل كانت أعمار الأشجار كبيرة مقارنة بما هو موجود في منطقة عون وحي العامل والمشاتل الحي الصغير والتي لم يتجاوز فيها عمر الشتلات السنة وربما أقل أو أكثر من سنة وان هذا الفرق أدى إلى تمكن النيماتودا من إنتاج أجيال تفوقت أعدادها عما هي عليه في الأعمار الصغيرة ويرجع هذا إلى توفر الجذور المغذية التي تتغذى عليها النيماتودا بغزارة أكثر مما هي عليه في الشتلات الصغيرة العمر (الحكيم ،2009). أشاركل من Al-Azzeh وAbu-Gharbieh (2004) أن أعداد النيماتودا تتباين صعودا ونزولا وهي على علاقة جوهرية موجبة بكثافة الجذور المغذية ومحتواها من النشا فالأشجار الكبيرة الحجم تمتلك جذور مغذية ومحتوى من النشا أعلى مما هي عليه في الشتلات الصغيرة .

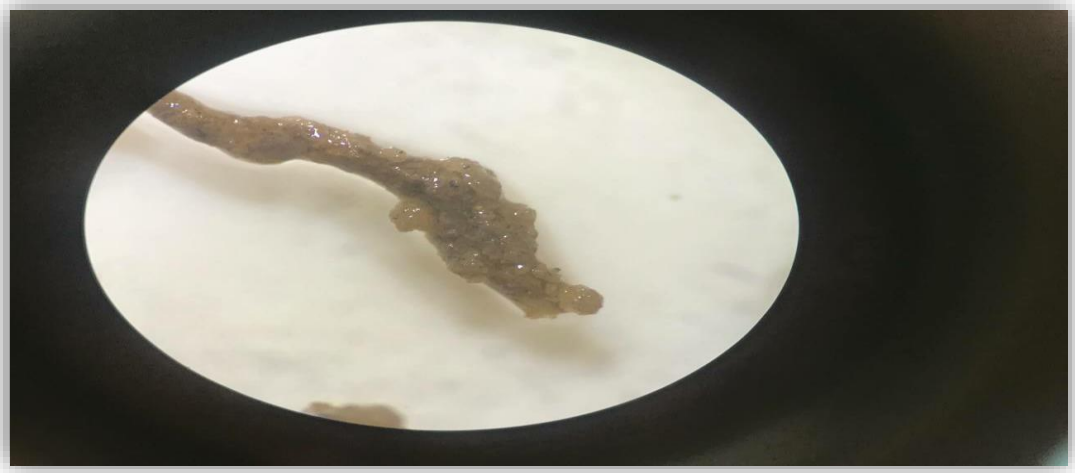
الجدول 6:النسبة المئوية للإصابة وشدتها على الحمضيات في المناطق التي شملتها الدراسة

مواقع الدراسة	عددالاشجارالكلي	عددالاشجارالمصابة	نسبة الاصابة%	شدة الاصابة%
حي العامل	6	5	83.3	83.3
قضاء الهندية	6	5	83.3	83.3
عون	15	10	66.6	53.3
الحسينية	10	6	60.0	43.2
منطقة البوبيات	37	17	51.5	28.4
الحيدريات	250	100	40.0	19.2
الحر الصغير	50	5	10.0	1.20

*حللت احصائيا بتجربة عاملية C.R.D

وعند التحري من العاملين في مشاتل منطقة الحر الصغير تبين ان العاملين يتركون التربة على شكل اكوام تحت أشعة الشمس ثم تعبأ في أكياس وتزرع بها النباتات وان ترك التربة معرضة لأشعة الشمس تعد احدى العمليات التي تقلل من أعداد النيماتودا في التربة فضلا عن استخدامهم للمبيدات كرشات وقائية وعلاجية ومن

ضمن المبيدات التي تستخدم في مشاتل الحر الصغير هي مبيدات حشرية وفطرية ونيماتودية ومبيدات الادغال وهذا سبب ثاني لانخفاض او انعدام النيماتودا في هذا الموقع (الحازمي ,2017) اذ هذا النوع من مكافحة المسببات غير نيماتودية كالفطريات والبكتريا المترممة التي تزيد من تعفنات التربة من خلال مهاجمتها للأجزاء المصابة بالنيماتودا العقد والتقرحات وغيرها (الامين,2015) .فضلا عن ان طريقة الري المعتمدة هي الري بالتنقيط وباستخدام المرشاة وليس كما هو متعارف عليه بالمنازل الري سيحي بالإضافة الى التسميد الجيد المستخدم الخلطي الحيواني والكيمياوي وقد أشارباقر وآخرون (2002) ان نسبة الاصابة بالنيماتودا كانت أقل تحت معاملة الري بالتنقيط وان التحكم والادارة الجيدة للري والتسميد يمكن ان تعطي نتائج ايجابية في السيطرة على الاضرار الناتجة من الاصابة وهذا ايضا دليل يبرهن على انخفاض نسبة الاصابة في المنطقتين حي العامل وقضاء الهندية و الحيدريات ارتفاع نسبة الرطوبة الارض بسبب الري سيحي وعدم معالجتهم الحالات المرضية النباتات مما زاد تفاقم الافة وقد ذكر شريف (2012) ان الترب الجافة تقيد من حركة النيماتودا كما ذكر أيضا أن الأعراض المرضية تتفاقم مع ارتفاع الماء الأرضي وزيادة الملوحة والمادة العضوية وقد اشار ان العاملين الاول والثاني (ارتفاع الماء الارضي وزيادة الرطوبة) لا يبدو مشجعين لتكاثر النيماتودا بل يؤثران سلبا في نمو النبات وبالتالي يسهمان في ضعف مقاومتها للنيماتودا وان النيماتودا تتأثر سلبا بزيادة الرطوبة وان المدى العائلي يقتصر على النباتات المعمرة ذات الجذور القليلة العمق وقد أشار أبو غربية واخرون (2010) تؤثر اضافة المادة العضوية إلى التربة على كثافة النيماتودا اما عن طريق مباشر, وذلك بفعل نواتج خللها الوسطية السامة للنيماتودا,وخاصة الغازات الناتجة والاحماض الدهنية كحامض البيوتيريك او عن طريق غير مباشر وذلك بتشجيعها لنمو وتكاثر الاعداء الطبيعية للنيماتودا, خاصة الفطريات ,او عن طريق زيادة نمو النبات مما يزيد من قوة تحمله للأصابة وغير انها تعمل على احداث تغيرات طبيعية وكيميائية في التربة وتغير من الفسلجة العائل فتجعله أكثر مقاومة للنيماتودا كما انها توفر العناصر الغذائية للنبات وتزيد من نموه مما يقلل من التأثيرات السلبي للنيماتودا (الحازمي, 2017).



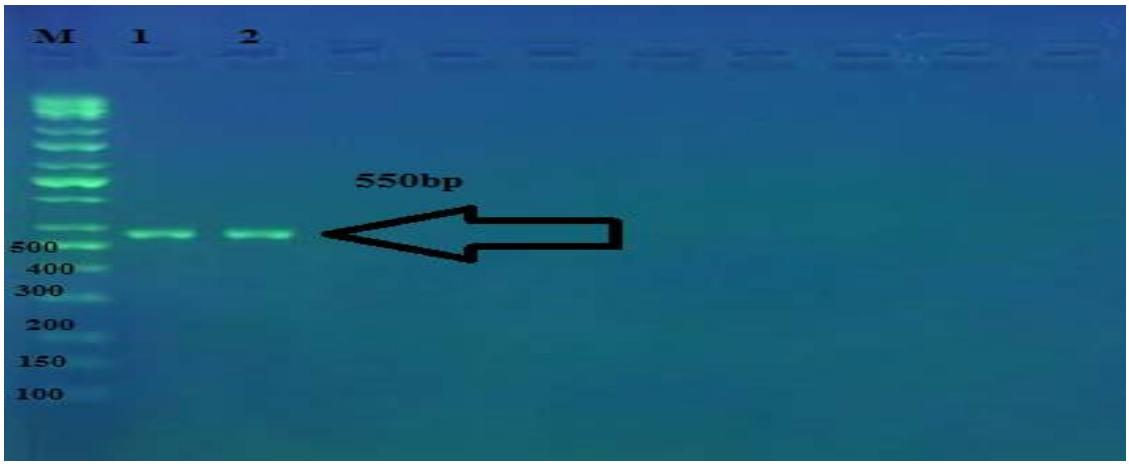
شكل 1: كتل بيض نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans*

الشكل 2: الاناث نيماتودا الحمضيات *Tylenchulussemipenetrans* بعد تصبيغها

الشكل 3: شكل الكامل للنيماتودا الحمضيات*Tylenchulus semipenetrans* على الجذور الشعيرية

4-2- التشخيص الجزيئي لنيماتودا التدهور البطيء *T. semipenetrans*

بينت نتائج اختبارالتشخيص الجزيئي بإستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) والترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز بظهور حزمة الحامض النووي DNA بحجم 550 bp بين الجينات 5.8 s_ 26 s للنوع *T.semipenetrans* باستعمال وهذه النتائج تتفق مع نتائج الدراسة التي قام بها Rashidifard,Shokoohi,Hoseinipour,Jamali (2015) الذي أشار إلى كفاءة البادئ D2A\D3Bفي تشخيص نيماتودا التدهور البطيء لمستوى النوع. وتظهر النتائج ظهور حزمة بحجم (550 bp) قاعدة نتروجينيه.كما في شكل (4)



شكل 4: حجم حزمة الحامض النووي

4-2-1- تحليل نتائج تسلسل القواعد النتروجينية للحماض النووي المنقوص الاوكسجين DNA لجينوم نيماتودا التدهور البطيء

بينت نتائج تسلسل القواعد النتروجينية من شركة Macrogen الكورية الجنوبية بتطابقها مع تتابعات العزلات العالمية لنيماتودا تدهور البطي *Tylenchulus spp*.المسجلة في قاعدة بيانات المركز الوطني للتقانات الحيوية National Center Biotechnology Information (NCBI) واشارت النتائج وجود النوع *T.semipentrans* وظهر بنسبة تطابق 99 % مع تتابعات العزلة العراقية ON140588.1 والعزلة التركية بوجود بعض التغايرات في تسلسل القواعد النتروجينية للعزلة الصينية KX461936.1 مع تسلسلات القواعد النتروجينية للعزلة الصينية وكما مبين بالشكل (5) استبدال Transvertion لقاعدةA في العزلة العراقية الى قاعدة C في العزلة الصينية واستبدال القاعدة A الى القاعدة .G وتنطبق هذه التغايرات الموضحة بالشكل على باقي العزلات العالمية المطابقة مع العزلة العراقية.

Tylenchulus semipenetrans isolate HNYZ1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: KX461936.1 **Length:** 804 **Number of Matches:** 1

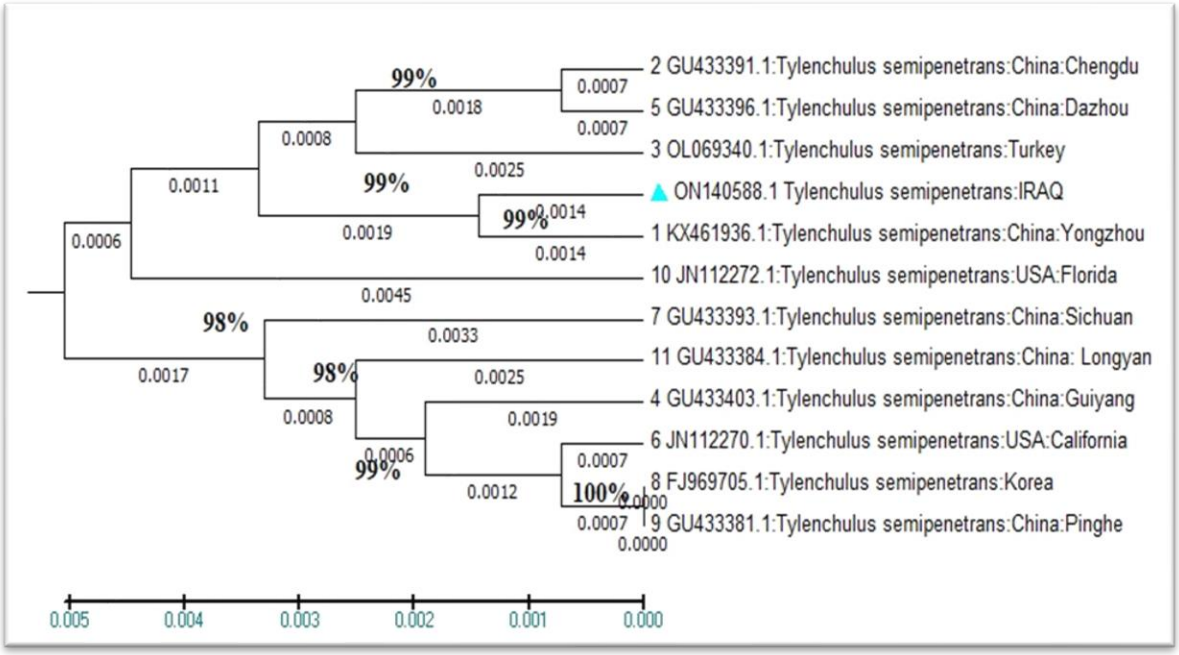
Range 1: 71 to 770 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1254 bits(1390)	0.0	698/700(99%)	0/700(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    AAGCTTCTACCAGGTTGAGCAGAGTCCTTGACTGCCGGCACATCGGGTGGAGAGGACAAG  60
Sbjct  71   ............................................................  130

Query  61   CCAGTTTGTTGGGAGCTGTCGCTGCTTCTGGCATCTGGCGAGTCTGTGGTCATACTTCCT  120
Sbjct  131  ............................................................  190

Query  121  CTGCCGCTGAGGAAGGGATACTGAGCTTTTGTCCTTCTCGGCTCTTACCTGGCCTCGACT  180
Sbjct  191  ............................................................  250

Query  181  ACAGGCGAAACCGGCTGTTGCTGGATCCTATGTAACGCTGAGCGACTGTTGAATAAAGTC  240
Sbjct  251  ..........A.................................................  310

Query  241  CGTGGTCTGCAATGAGGTGTTACGATAGCCTTCTCCACATGTCGCTGTGGAGGGGTAGGA  300
Sbjct  311  ............................................................  370

Query  301  TTAATGAGTTCCAGATTCGGTGCCGCCAGCAGATCCTTTCTTTTTCACttttttttttCTG  360
Sbjct  371  ............................A...............................  430

Query  361  AAAACAAAAAATATCTAGTCTTGCCGGTGGATCACTTGGCTCGTAGGTCGATAAAGATCG  420
Sbjct  431  ............................................................  490

Query  421  CAGCCAAACGCGATAGTTGGTGCGAACTGCAGATATTCTGAGCACTAAAGTATCGAATGC  480
Sbjct  491  ............................................................  550

Query  481  ACATTGCGCCTCGGGAGTCACATCCCTTGGCACGTCTGGTTCAGGGTCGTTTTCACAAAA  540
Sbjct  551  ............................................................  610

Query  541  GCCGAAGACAATCGGTTTTGAGCACTTGATCATAGGTCCCTGCCGCTGGAGACCGGGTGA  600
```

شكل5:تسلسل القواعد النيتروجينية للعزلة العراقية**KX461936.1 مع العزلة الصينية ON140588.1 في بنك الجينات العالمي**

بأستخدام برنامج Mega6 رسمت الشجرة التطورية لتوضيح صلة القرابة بينها وبين العزلات العالمية في البنك العالمي للتقانة الحيوية NCBI للنوع *T.semipenetrans* و والمتواجدة في جميع أنواع النيماتودا التابعة لجنس *T. semipentrans* ماعدا اختلافات بسيطة في تسلسل القواعد النتروجينية والمتواجدة في جميع انواع 18s rRNA اعتمادا على المنطقة الجينية ويبين الشكل (6) مخطط الشجرة الوراثية بين العزلة العراقية والعزلات العالمية وهذه النتائج تتفق مع نتائج الدراسة التي قام بها Rashidifard,Shokoohi,Hoseinipour,Jamali (2015) والذي أشار الى كفاءة البادئ D2A\D3B في تشخيص نيماتودا التدهور البطيء لمستوى النوع.



الشكل6:الشجرة التطورية التي تبين صلة القرابة بين تتابعات العزلة العراقية والعزلات العالمية اعتمادا على تسلسل القواعد النتروجينية المسجلة في البنك العالمي NCBI وفق برنامج Mega6.

4-3-محتوى الكلوروفيل الكلي لشتلات الحمضيات للصنفين المستخدمين

أظهرت النتائج بالنسبة للجدول7 قياس الكلوروفيل للصنفين المحلي والثلاثي الاوراق توجد فروق معنوية بين المعاملات المستخدمة و فروق معنوية للإضافة وكذلك في الجدول 8 وجد فروق معنوية بين المعاملات والاضافة والتداخل للصنف ثلاثي الاوراق في قياس نسبة الكلوروفيل فقد تفوقت معاملة الفيرموكومبوست (السمادالعضوي) بلغت 44.20 SPAD يليها المبيدالاحيائي (Verox) حيث بلغ 39.23 SPAD عن بقية المعاملات حيث كانت اقل نسبة معاملة المبيدالعضوي Palizin 22.55 SPAD. قد يكون السبب الذي يشيرالى خفض نسبة الكلوروفيل إلى تكون انزيمChllorofaseالمسؤول عن تحطيم الكلوروفيل اوتغييرات

في تركيب بروتين البلاستيدات الخضراء (Tunaواخرون,2008). يرجع تفوق معاملة Vermocompost على بقية المعاملات اذ تعمل الموادالعضوية،على وزيادة معايير نموالنبات وتعويض عنصري النيتروجين والفسفوربنسبة 25% ،فضلاًعن زيادة الحاصل الى أكثرمن 40 % وكذلك تزيد من المغذيات ومركبات الطاقة وتحافظ على خصوبة التربة كما تعمل على توفيرالحماية للنبات من المسببات المرضية (Bhardwaj وآخرون، 2014 وGarcia-Fraile وآخرون، 2015).

جدول 7 :- تاثير استعمال المبيد الاحيائي Verox والمبيدات العضوية Palizin و Tondexier في محتوى اوراق للصنف االثلاثي الاوراق من الكلوروفيل الكلي

الاضافة / المعاملات	قبل الوحدة SPAD	بعد الوحدةSPAD	معدل المعاملات
Vermocompost	15.90	48.46	32.18
Verox	14.33	45.70	30.01
Tondexir	23.90	43.26	33.58
Palizin	22.00	30.73	26.36
المجتمعه	24.00	44.06	34.03
المقارنة	23.90	30.26	27.08
معدل الاضافة	20.67	40.41	
L.S.D	**للمعاملات**	**للاضافة**	**للتداخل**
	3.2155	2.0552	5.5722
مستوى المعنوية	**للمعاملات**	**للاضافة**	**للتداخل**
	n.s	0.0001	0.0001

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات

جدول 8:- تاثير استعمال المبيد الاحيائي Verox والمبيدات العضوية Palizin و Tondexier في محتوى اوراق الصنف المحلي من الكلوروفيل الكلي.

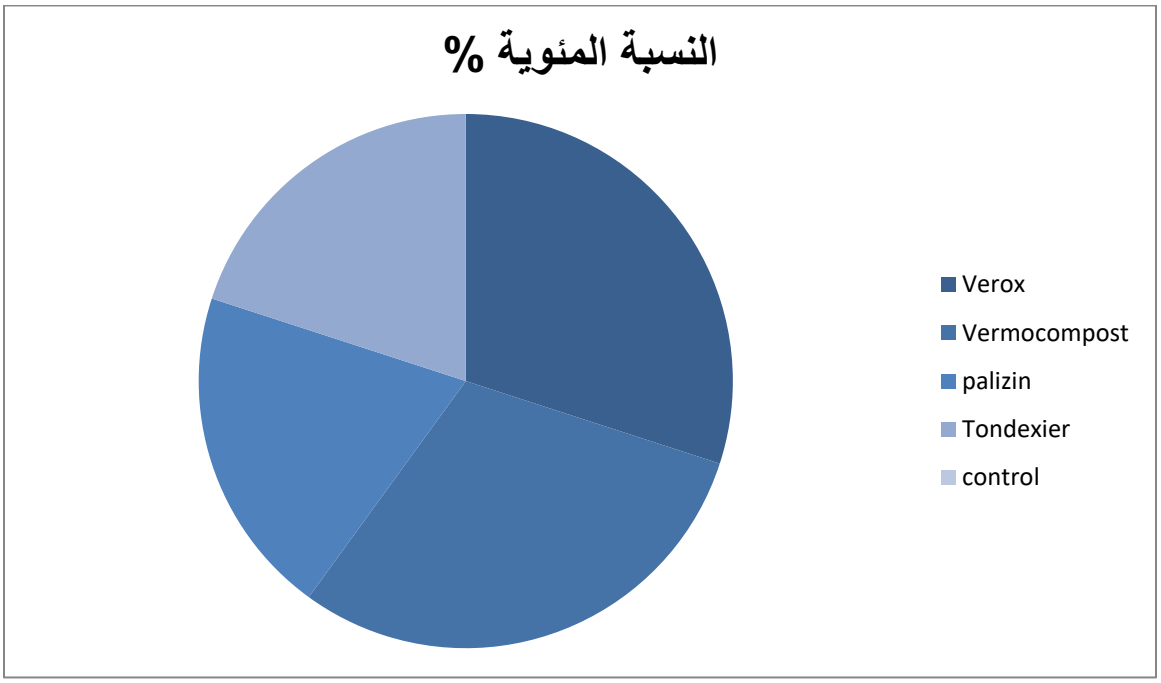
الاضافة / المعاملات	قبل الوحدةSPAD	بعد الوحدةSPAD	معدل المعاملات
Vermocompost	37.33	51.06	44.20
Verox	33.50	44.96	39.23
Tondexir	11.90	38.36	25.13
Palizin	15.90	29.20	22.55
المجتمعة	13.43	32.90	23.16
المقارنة	31.86	24.86	28.36
معدل الاضافة	23.98	36.89	
L.S.D	**للمعاملات**	**للاضافة**	**للتداخل**
	1.6588	2.2959	4.8891
مستوى المعنوية	**للمعاملات**	**للاضافة**	**للتداخل**
	0.0001	0.0001	0.0001

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات

4-4- اختبار المبيد الاحيائي verox والعضوية Palizin , Tondexir لمعرفة النسبة المئوية لأنبات البذور

بينت في جدول 9 نتائج اختبار تأثير المبيد الاحيائي والعضوي على نسبة المئوية لأنبات البذور حيث كانت اعلى نسبة مئوية للانبات بذور البرتقال المعاملة هي معاملة السماد العضوي Vermocompost بنسبة 75% ويليها بنسبة مماثلة المبيد الاحيائي Verox وبعدها المبيدين العضويين المستخدمين كل من Palizin و Tondexir بنسبة 50% مقارنة مع معاملة السيطرة التي كانت بنسبة 25% بالظروف المتوفرة في البيت البلاستيكي نفسه.

جدول 9: يبين تأثير المبيدات العضوية والمبيد الاحيائي والسماد Vermocompost على النسبة المئوية لأنبات البذور



*النسبة المئوية لكل معاملة التي زرعت في كل اصيص 4 بذور

للسماد العضوي والاحيائي الذي كانا اعلى نسبة في انبات البذور إذ يعملان على زيادة نمو وحيوية النبات من خلال بناء التربة بشكل خصب وصحي بالاضافة الى يكون غني بالكائنات الحية النافعة المجهرية والتي تساهم في شكل كبير في خصوبة التربة وحيويتها ,وعند اضافة العوامل التي تكون غنية بالمواد العضوية للتربة تجعل وسط المحيط بالجذور يميل إلى القلوية ذات وسط غير ملائم لنمو بعض الاحياء الضارة بها ومنها النيماتودا مما ينتج عن ذلك تشجع الأحياء المفيدة التي تتطفل على الافات من خلال تحلل هذه المواد وانتاج مركبات سامة مثل الاحماض الامينية والفينولات والغازات السامة مثل الامونيا (عمي والسبع,2012, الطائي,2020).

4-5- قياس نسبة المادة العضوية للسماد Vermocompost

حسبت المادة العضوية وذلك بأكسدة نموذج من السماد الفيرمي كومبوست وقدرت قيمة النسبة المئوية للمادة العضوية في التربة وفقا للمعادلة الآتية :

$$O.M\%=10(1-T\backslash S)\times 1.34$$

$$=13.19\%$$

حيث قدرت نسبة المئوية للمادة العضوية 13.19% وهذه النسبة الكبيرة في السماد العضوي المستخدم في التجربة وهذا ما يميز سماد الفيرمي كومبوست عن باقي الاسمدة العضوية التي تكون النسبة اقل بكثير حيث

تصل نسبة العناصر في الاسمدة العضوية الاخرى بشكل عام الى 0.6% من الازوت و 0.4% من الفسفور ونسبة 1% من البوتاس (حمود,2010) بأنه يكون متحلل بشكل كامل في صورة جاهزة للنباتات المختلفة ويكون خالي من المسببات المرضية ولا يحتوي على اي بقايا ضارة للتربة،يحتفظ بالماء بشكل جيد كما يساهم في بناء التربة بشكل خصب وصحي مع الوقت ويكون ايضا غني بالكائنات النافعة المجهرية والتي تساهم في شكل كبير في خصوبة التربة وحيويتها واضافته للتربة والنبات يكون بأي وقت صيفاً شتاء ومن تطبيقات استخدام الاسمدة العضوية في مكافحة الأمراض النباتية هي مكافحة أمراض اعفان الجذور والذبول على بعض نباتات الخضر والفاكهة و مكافحة أمراض عفن الساق والجذور على بعض نباتات الزينة وايضا يؤدي الى إنتاج شتلات سليمة لبعض النباتات و تضاف الأسمدة العضوية مثل سماد الماشية والأرانب والحمام والدجاج بغرض تحسين خواص التربة وزيادة معدلات نمو النبات علاوة على إنها تؤدى إلى إعاقة النمو الطبيعي للنيماتودا و عند إضافة الأسمدة العضوية للتربة تجعل الوسط المحيط بالجذور يميل الى القلوية ذات الوسط غير المناسب لنمو النيماتودا ومن ثم تشجع على زيادة بعض الكائنات الحية الدقيقة مثل الفطريات والبكتريا والحشرات والتي تطفل على الآفات النيماتودية فضلا عن تحلل هذه المواد وانتاج مركبات سامة مثل الاحماض العضوية والفينولات والاحماض الامينية والالديهيدات والغازات السامة كالامونيا وحامض البيوترك اسد الذي له تاثير سام على الديدان.(الطائي، 2020).

4-6- اختبار التضاد بين المبيد الاحيائي Verox والمبيد الكيميائي Tendro مختبريا

بينت نتائج اختبار التضاد بين المبيد الكيميائي والمبيد الاحيائي هناك تضاد بدرجه 2 وهذا يفسر تقارب نتيجة تاثير المبيد الكيمياوي للمعاملة بنسبة 3.50جميع العوامل اي لم يكن هناك تباين معنوي في مقدار تاثير وبلغت معاملة المبيد الاحيائي Verox بلغت 6.50 انثى لكل 1سم / جذر وهذه النتائج اثبتت عدم وجود تأثير لأحد المبيدين على الاخر وهذه يستنتج امكانية استخدام المبيد الكيميائي والاحيائي بشكل منفرد او متداخل مع بعضهما واعطاء نتائج فعالة في برنامج مكافحة وهذا ماورده Wang واخرون (2007).

4-7-: كفاءة استخدام بعض المركبات العضوية و المبيد الاحيائي والكيميائي على نسبة الفقس البيض نيماتودا الحمضيات مختبريا

أظهرت النتائج الموضحة بالجدول 10 ان عدد البيوض الفاقسة انخفضت عند تعرضها لتراكيز مختلفة وهي 300 و400 و450 ppm من المبيد النيماتودي Tendro والمبيد الاحيائي 1000 و 2000 و 2500 ppm مقارنة مع معاملة المقارنة تحتوي على ماء مقطر معقم فقط وكان لجميع التراكيز كفاءة في تثبيط فقس البيوض وبنسب مختلفة فقد انخفض معدل عدد البيض الفاقس بشكل عام , وكان المبيد الكيميائي النيماتودي بمعدل لفقس البيض وهو الاعلى ما بين المواد المستخدمة في التجربة وعلى فترات زمنية محددة على التوالي وهي (يوم و 3 يوم و5 ايام) ويليه المعاملةالمجتمعه التي شملت استخدام جميع المواد الاحيائية وغير الاحيائية وحسب التراكيز الموضحة ادناه وكانت بنسبة (5.32) وباختلاف معنوي مع باقي المعاملات وسجلت المادة العضوية Palizin اعلى نسبة فقس بعد معاملة المقارنة.

جدول 10:تأثير تراكيز معاملات المبيدات الكيميائية والاحيائية والعضوية على نسبة المئوية الفقس

المعاملة	التركيز (ppm)	الفترة الزمنية			نسبة الفقس %	نسبة التثبيط %
		يوم	3 ايام	5 ايام		
Verox	2000	83.33	118.33	165.00	24.83	75.5
	2500	60.00	91.67	86.67	16.13	83.8
	1000	93.33	143.33	250.00	32.00	68.0
Pazilin	2000	176.67	236.67	303.33	62.21	37.7
	2500	126.67	200.00	216.67	48.53	51.4
	1000	316.67	316.67	343.33	59.14	40.8
Tendro	400	22.00	26.33	31.67	5.41	94.5
	450	16.33	22.67	24.33	4.28	95.7
	300	27.33	30.00	37.00	6.83	93.1
المجتمعة	1000	21.67	30.33	23.33	5.10	94.9
	400	15.00	17.67	38.33	4.80	95.2
	300	27.67	23.67	27.33	5.32	94.3
Tondaxier	2000	272.00	263.33	383.33	48.50	51.5
	2500	303.33	266.67	146.67	36.70	63.3
	1500	228.67	286.67	358.00	66.00	34.0
المقارنة		408.00	498.67	570.00	100.00	000
LSD		9.2210	5.6621	8.3523	------	

*لكل معاملة ثلاث تراكيز ولكل تركيز ثلاث مكررات

كما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان التداخل بين المواد الاحيائية والعضوية كان معنويا في تأثيره على عدد البيوض الفاقسة إذ كانت المعاملات للمواد الكيميائية والحيوية والعضوية لها تأثير معنويا ويعزى التأثير الذي ابدته المبيدات النيماتودية الى المواد الفعالة التي تحتويها كل منها اذ يعود تأثيره إلى انتاج مجموعة من المضادات الحيوية ومركبات Indole Acetic Acid (IAA) التي لها التأثير السام على النيماتودا وتؤدي أيضا إلى تثبيط فقس البيوض (Siddikqui وآخرون, 2005 وعلي,2018), أما تأثير المبيد الإحيائي Veroxوالتي تبين الدور الفعال لأنشطة الانزيمات البروتينية وخاصة انزيم Chitinase و Chitin وتحللهما لمادة الكايتين في قشرة البيوض أو يعزى السبب إلى إنتاج البكتريا للسموم ومادة سيانيد الهيدروجين ومركب 2,4-DiAcetylPhloroGlucinol(2,4-DAPG) مما تؤثر على خفض فقس البيوض (محمد , 2021)

. أما المبيدات العضوية النباتية إما تأتي من النباتات نفسها او المعادن الموجودة بشكل طبيعي أي انها اما تنتج سما او مركبات تؤدي الى تثبيط فقس البيوض (علي, 2018) تستعمل هذه المركبات لتنظيم العمليات الفسيولوجية وتحسن من تعزيز نمو وإنتاجية المحاصيل ، وتحمل مقاومة مجموعة واسعة من الضغوط اللاإحيائية مثل الملوحة والجفاف ، كما إنها تلعب دور مهم في تقليل التلوث في المياه والبيئة وهذا ينعكس تماماً على المردود الاقتصادي كما إنها تحسن من إنبات البذور (Al-Hadede وأخرون ، 2020 وCarillo واخرون ،2020 وHofmann واخرون ، 2020)

واستعملت المكافحة البايلوجية ضد نيماتودا وتعني استخدام عوامل الاحيائية كالفطريات والبكتريا وغيرها او نواتجثها الثانوية مثل الاحماض العضوية والامينية ,او استخدام المواد الطبيعية ,السماد الاخضر (Veronioc واخرون ,2017)يحصل ضعف وتأخر نمو بعض الفطريات مثل *Trichoderma* و*Paecilomyces* تؤثر على النيماتود في التربة او الجذور وعلى مراحل مختلفة من دورة حياة النيماتودا (بيض و يافعات وأطوار ناضجة) او تنافسها على المواد مثل السكريات او قد تحفز وتعزز من نمو النباتات بأنتاج هرمونات مثل السيتوكينين والجبرلينات (Le واخرون, 2016 وSikder وVestegard,2020) .

4-8- نتائج مكافحة نيماتودا التدهور البطيء على الصنفين من الحمضيات تحت ظروف البيت البلاستيكي حقليا

يبين جدول 11 من عينات الجذور ان لكل المعاملات المستخدمة في التجربة البيت البلاستيكي لها تأثير معنوي على اعداد كيس البيض حيث بلغت اعلى معدل معاملة مقارنة مع اضافة اللقاح كانت 16.50 هي معاملة المبيد معاملة المبيد العضوي Tondexir بلغت 10.0 ويليها المبيد العضوي Pazilin بمعدل 9.66 ومن ثم السماد العضوي Vermocompost بمعدل 7.50 بالنسبة لعدد كيس البيض واقل معاملة مقارنة مع عدم اضافة اللقاح كانت 0 وهو المبيد الكيميائي Tendroعدد اكياس البيض من عينات الجذور ويليها المعاملة المجتمعة بلغت بمعدل 5.33 ومن ثم معاملة المبيد الاحيائي Verox بمعدل 6.5.

جدول 11:تأثير المواد الكيميائية والحيوية والعضوية على خفض اعداد الاناث في واحد سم من الجذور

الاصناف / المعاملات	عدد الاناث في 1سم من الجذر		
	صنف محلي	صنف ثلاثي الاوراق	معدل المعاملات
Vermo	7.33	7.66	7.50
Pazilin	8.33	11.00	9.66
Tondexir	9.00	11.00	10.00
Verox	4.66	8.33	6.50
Tendro	3.33	3.66	3.50
المجتمعة	4.66	6.00	5.33
مقارنة مع اللقاح	16.66	16.33	16.50
مقارنة بدون اللقاح	0.00	0.00	0.00
معدل الاصناف	6.75	7.66	
LSD	المعاملات	الاصناف	التداخل
	2.7318	1.0265	3.8633

*حللت البيانات باستخدام برنامج SAS وقورنت النتائج باستخدام قيمة اقل فرق معنوي (LSD)على مستوى احتمالية 0.05

يبين جدول 12 ان لجميع المعاملات المستخدمة في التجربة البيت البلاستيكي تأثيرا معنويا على عدد اكياس البيض اذ بلغت اعلى نسبة من عدد اكياس البيض مقارنة مع معاملة المقارنة الملقحة كانت 16.16مع معاملة المبيد العضوي Pazilin بنسبة 11.33 ويليها المبيد العضوي Tondexir بنسبة 10.00 وتليها معاملة السماد العضوي الفيرموكومبوست بنسبة7.00 اما بلغت اقل نسبة لعدد الاناث وعدد اكياس البيض مقارنة مع معاملة مقارنة بدون لقاح التي كانت 0.00 مع معاملة المبيد الكيميائي Tendro بنسبة 1.66 وتليها معاملة المجتمعة بمعدل اربعة ومن ثم معاملة المبيد الاحيائي Verox بنسبة 6.33. إذ تستعمل هذه المركبات لتنظيم العمليات الفسيولوجية وتحسين نمو وإنتاجية المحاصيل ، وتحمل مقاومة مجموعة واسعة من الضغوط اللإحيائية مثل الملوحة والجفاف ، كما إنها تؤدي دوراً مهماً في تقليل التلوث في المياه والبيئة وهذا ينعكس تماماً على المردود الاقتصادي كما إنها تحسن من إنبات البذور (Al-Hadede واخرون ، 2020 وCarillo واخرون ،2020 وHofmann واخرون ، 2020) .

جدول 12: تأثير المبيد الكيميائي Tendro والمبيد الاحيائي Verox والعضوية Palizin و Tondexirو Vermocompost في خفض اعداد كيس البيض في من التربة

الاصناف / المعاملات	عدد اكياس البيض في 5 غم من التربة		
	صنف محلي	صنف ثلاثي الاوراق	معدل المعاملات
Vermo	7.66	6.33	7.00
Pazilin	11.00	11.66	11.33
Tondexir	13.00	7.00	10.00
Verox	6.66	6.00	6.33
Tendro	1.66	1.66	1.66
All	5.33	2.66	4.00
cont.+	20.00	12.33	16.16
cont.-	0.00	0.00	0.00
معدل الاصناف	8.16	5.95	
LSD	المعاملات	الاصناف	التداخل
	2.6461	1.323	3.7421
مستوى المعنوية	0.05	0.05	0.05

*حللت البيانات باستخدام برنامج SAS وقورنت النتائج باستخدام قيمة اقل فرق معنوي (LSD)على مستوى احتمالية 0.05

4-9- اختبار حساسية صنفين من الحمضيات في الاصابة نيماتودا التدهور البطيء

بينت النتائج من خلال اختبار حساسية الاصناف الحمضيات من الاصابة بنيماتودا الحمضيات *T.semipenetrans* التي بينها الجدول (11) مع جدول (10) عينات الجذور ان للاصناف المحلي والثلاثي الاوراق تأثير معنوي حيث تفوق الصنف ثلاثي الاوراق على الصنف المحلي من حيث عدد الاناث وعدد اكياس البيض يعد البرتقال الثلاثي الاوراق يتميز بأنه متساقط الاوراق ,ثماره لا تؤكل وهي مغطاة بزغب دقيق. وخلايا الزيت كثيرة في القشرة واللب قليل وخشن,يستعمل البرتقال الثلاثي الاوراق كأصل جذري للإكثار علية لإيجاد اصناف يمكنها تحمل البرد وانتاج ثمار جيدة وهذا مايميزه عن الاصناف البرتقال المحلية في مقاومته والصفات التي يحملها (ابو غربية,2006)

4-10- اختباربقاء المبيد الاحيائي Verox في التربة المعاملة

بينت نتائج العزل من تربة الأصص المزروعة بنباتات الحمضيات والمعاملة بالمبيد الإحيائي Veroxمن خلال تنميتها على وسط الزرعي Nutrient Agar بعد مرور ستة اشهر بظهور مستعمرات بيضاء متفرعة على الوسط الزرعي (MacFaddin ، 2000, محمد ,2021). تعتبر البكتريا المحفزة Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) صديقة للبيئة وتكون غير مضرة وقادرة على

تحسين التربة من خلال أَليات مُخْتلِفةٌ منها واذابة الفوسفات وتثبيت النتروجين وعزل المعادن الثقيلة وقمع مسببات الأمراض النباتية و تحلل مخلفات المحاصيل وإنتاج هرمونات نباتية (حامض الاندول والجبرلين والسيتوكينين) مما يجعلها مفيدة بالترب وخاصة التي تعاني من نقص المغذيات (Prasad,Shameer،2018,ومحمد,2021). البكتريا المحفزة تضم *Agrobacteriu* و *Arthrobacter* و *Bacillus* و *Burkholderia* و *Enterobacter* و *Pseudomonas* و*Rahnella* و *Paenibacillus* و*Pedobacter* و*Serratia* كمنتجات للمركبات المتطايرة ومضادللميكروبات وبهذا تمنع من نمو المسببات المرضية الفطرية التي تسبب بنقلها الى التربة مؤدية إلى تربة صحية وخصبة (Chenniappan واخرون،2019ومحمد ,2021) .

اما بالنسبة للتأثير المبيد الاحيائي Verox وكفائته في هلاك يافعات الطور الثاني فيتفق مع ماوجده Xiang واخرون (2017) من تأثير البكتريا في معدل وهلاك يافعات الطور الثاني لنيماتودا التعقد الجذور مختبريا وتسببت 212 سلالة من بين 662 سلالة بكتريا في نسبة هلاك عالية جدا ,واعطى جنس thurigenses *Bacillus* اعلى نسبة هلاك مقارنة بالاجناس الاخرى وقد تعزى كفاءة المبيد الاحيائي ودوره الفعال بأنتاج سيانيد الهيدروجين وتم الكشف ايضا عن العديد من الانزيمات والهرمونات منها Chitinase Siderphores وProtease وIndole Acetic Acid . (محمد, 2021).

خامسا: الاستنتاجات والتوصيات

5-1- الاستنتاجات

1) تعاني محافظة كربلاء المقدسة من تدهور الحمضيات في العديد من المشاتل الاهلية والبساتين والحدائق المنزلية من الاصابة بنيماتودا التدهور الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* ويتم اكثارها وزراعتها دون معرفة الاصابة للحد من انتشار هذه الافة.
2) جنس *Tylenchulus semipenetrans*هو المسبب الذي ادى الى تدهور اشجار الحمضيات في المحافظة
3) يعد التشخيص الجزيئي لهذه الافة وتسجيلها في بنك الجينات التشخيص الاول على مستوى القطر .اذ لم تشخص وتسجل هذه النيماتودا جزيئيا من قبل.
4) مازالت المبيدات الكيميائية هي الاكثر تأثيرا في مكافحة اطوار هذه الافة مقارنة بالمبيدات الاحيائية والعضوية .
5) وجد ان المبيدات الاحيائية كانت ذات كفاءة عالية نسبيا في خفض الاصابة بالتدهور البطيء وتحسين نمو النبات
6) امكانية تحسين نمو النبات بأستعمال Vermocompost كما أظهر تأثيرا مضادا لنيماتودا التدهور البطيء
7) ان الادارة المتكاملة لها دور كبير في تقليل مستوى التدهور وتقليل ضرر هذه النيماتودا .

5-2-التوصيات

1) اجراء مسح واسع لمشاتل المحافظة (الاهلية والحكومية) للتحري عن هذه الافة ومعرفة العوائل الاخرى التي تصيبها.
2) عمل ندوات تثقيفية وارشادية لمزارعي حقول الحمضيات في محافظة كربلاء المقدسة .
3) استعمال المبيدات الاحيائية ومحاولة دمجها مع مبيدات اخرى , واجراء برنامج متكامل للتقليل من ضرر هذه الافة.

سادسا:المصادر

6-1- المصادر العربية

ابو غربية ، وليد إبراهيم .(2010) .ديدان النبات في البلدان العربية .الجامعة الأردنية. دار وائل للنشر. 1242 صفحة.

اسطيفان , زهير عزيز,وليد ابراهيم ابو غربية .2010.نيماتودا التعقد الجذور . دار وائل للنشر .عمان – الاردن ,ص 285-328.

اسكندر ,أجمد و عبد القادر ,مريم و العسس ,خالد ,2013,بحوث مكافحة حيوية النيماتودا ,مجلة وقاية النبات ,مجلد 31), عدد 2.

الابراهيمي,محسن ,امير الموسوي,محمد كاظم سوري,نافاز الله صاحباني.2021. تاثير السماد العضوي ومستخلص الفستق الحلبي ومستخلص التمر على نيماتودا *Meloidogyne javanica* لنبات الباذنجان.كلية العلوم الزراعية والغذائية-جامعة طهران, ايران.

الامين,محمد.2015.كتاب اساسيات امراض النبات, جامعة بغداد\العراق

الجهاز المركزي للإحصاء . (2020) . مديرية الإحصاء الزراعي، وزارة التخطيط . العراق .**/http://www.cosit.gov.iq/ar**

الحازمي ,احمد بن سعد,2009. مقدمة في نيماتولوجيا النبات \ الطبعة الثانية ,مطابع جامعة الملك سعود , الرياض , المملكة العربية السعودية , ص 440.

الحازمي ,احمد بن سعد,2017,مقدمة في نيماتولوجيا النبات,209-254.

الحكيم ، أسماء منصور عبد الرسول .(2009) . دراسة حياتية ونسيجية لنيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* Cobb,1913 وبعض طرائق مكافحتها ، أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل ، العراق .

الحكيم,اسماء منصور عبد الرسول .2013.دراسة حياتية ونسيجية لنيماتودا الحمضيات *Tylenchulussemipenetrans* Cobb ,1913وبعض طرائق مكافحتها ,اطروحة دكتوراه ,كلية الزراعة والغابات \جامعة الموصل ,العراق.

الحيالي ، ريان سالم محمود .(2021) . التحري عن أهم أجناس النيماتودا المصاحبة لنباتات الزينة (العائلة الوردية و العائلة الدفلية و العائلة الباذنجانية) في مدينة الموصل ومكافحتها . رسالة ماجستير- كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل .

الخليل, اشرف السعيد .2010. مركز البحوث الزراعية –معهد بحوث امراض النبات.

الزري ,عبد الجواد ,عبد الحميد طرابية.1981. الديدان الثعبانية (نيماتودا النبات) طبع بمطابع مديرية دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل 238 ص .

الصقر ,فهد العبدالله,2018.كتاب علم النيماتودا , صفحة **47-**49.

الطائي, علاءهاشم,2020. انواع الاسمدة العضوية ,منصة اريد - بريطانيا \لندن.

العلاف ,اياد هاني,2020.الحمضيات ومواطنها الاصلي. قسم البستنة وهندسة الحدائق \كلية الزراعة . جامعة الموصل –العراق.

المحاسنة.حسين,2020.تأثير معاملات التسميد العضوي والمعدني في نمو وانتاجية محاصيل الذرة الصفراء والذرة البيضاء وزهرة الشمس. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية 36(2).

باموٴمن، عوض مبارك .(1994) .إنتاج وفحص التقاوي، الطبعة الأولى ، عدن-اليمن، مطبوعات جامعة عدن.

جسام,يوسف عبد الكاظم,2018. تأثير المستخلص الكحولي ومسحوق نباتي الميرمية والزعتر في حماية النباتات الطماطة من الاصابة بديدان تعقد الجذور .رسالة ماجستير.كلية العلوم الهندسة الزراعية وقاية النبات/امراض النبات .جامعة بغداد.

جمال,محمد حسني , مواهب السوسو.2008. كتاب الفاكهة مستديمة الخضرة .ص 120-121.

حسن , جميلة.2020.مبيد الكيمياوي Tendro, مجلة الشورى ,القاهرة \مصر

حمود, حسين.2010. الاسمدة العضوية اساس الزراعة والغذاء الصحي الامن, كلية الزراعة\جامعة لبنان

سماحة ,أمل ,حسان عبيد, أكرم البلخي,2019.انتاج سماد عضوي صناعي (كومبوست) من مخلفات تقليم اشجار الدراق والتفاح. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية 35(1).

شريف ,فياض محمد,(2012).امراض النبات النيماتودية والحيوانات الابتدائية .العراق-بغداد, الذاكرة للطباعة والنشر 245 صفحة.

طه ، عبد المسيح حازم يوسف ,سفيان عبد الرحمن سلطان (1983). التغيرات النسيجية لجذور العنب المصابة بإصابات فردية ومشتركة من نيماتودا تعقد الجذور actria *Meloidogyne incognita* ونيماتودا الموالح (الحمضيات) *Tylenchulussemipenetrans* مجلة وقاية النبات العربية 1 (2): 85-89 ص.

علي, سلام فاروق ,2018 .كفاءة بعض الطرائق الكيمياوية والحيوية في مكافحة مرض تعقد جذور الخيار المتسبب عن نيماتودا .*Meloidogyne spp*تحت ظروف البيوت البلاستيكية, رسالة ماجستير- كلية الزراعة\جامعة تكريت,العراق.

عمي ،سليمان نايف و رياض فالح السبع.(2012)المقاومة المتكاملة لنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica*على نبات الطماطةفي تربة معقمة وغير معقمة مجلة تكريت للعلوم الزراعية ،4،الصفحات 123-131.

محمد, لقاء حسين,2021. تشخيص ديدان تعقد الجذور Meloidogyne spp على الطماطة في بعض مناطق محافظة كربلاء وتقييم بعض عوامل المكافحة الاحيائية وغير الاحيائية ,رسالة ماجستير –كلية الزراعة/جامعة كربلاء.

المصادر الأجنبية

Abbot,W.S.(1925). Amethod of computing the effectiveness of an insecticides .J. Econ . Entomol.18,65-67.

Abd-Elgawad, M. M. (2016). Use of Taylor's power law parameters in nematode sampling. Int J Pharm Tech Res, 9(12): 999-1004.

Abo-Elyousr K.A. Khan, El-morsi Award M.and Abedd-Moneim M.F. (2010). Plant pathology Departmat faculty of Agriculture assiut Egypt. Plant pathology Reseach Center Giza, Egypt Nematropica 40,2,2010.

Abu-Gharbieh,W.I.and M.R Karajeh.(2006).Response of recently introduced cultivars of vegetable crops to the root-Knot nematodes (*Meloidogyne* species and races)in Jordan .Dirasat (Agricultural Sciences),33(3):165-171.

Abu-Gharbieh,W.I.and Talib Al-Izza.2004.Nematodes a32ssociated with plants in Arab countries. Arab journal of plant protection, 22:1-22.

Ahmed, S.S. (1974). Ecological and biological studies on the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* ; M. Sc. Thesis, Fac. Agric. Cairo University, Egypt.

Al-Hadede, L. T., Khaleel, S. A., & Hasan, S. K. (2020). Some applications of nanotechnology in agriculture. Biochemical and Cellular Archives, 20(1): 1447-1454.

Bakker, E. G., Toomajian, C., Kreitman, M., & Bergelson, J. (2006). A genome-wide survey of R gene polymorphisms in Arabidopsis. The Apte Plant Cell, 18(8): 1803-1818.

Bartlett, J. M., & Stirling, D. (2003). A short history of the polymerase chain reaction. In PCR protocols (pp. 3-6). Humana Press.

Bell,D.K.:Well,H.D.and Markham,G.R.(1982).In vitro antagonism of *Trichoderma spp.* Against six fungia plant pathogens. Phytopathology. 72:379-382.

Benson, L. M., Null, A. P., & Muddiman, D. C. (2003). Advantages of Thermococcus kodakaraenis (KOD) DNA polymerase for PCR-mass spectrometry 601-:based analyses. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 14(6) 604.

Bhardwaj, D. Bhardwaj; M. W. Ansari; R. K. Sahoo and N. Tuteja. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microbial Cell Factories, 13:66.

Bird, A. F., & Wallace, H. R. (1965). The influenceof temperature on*Meloidogyne hapla and M. javanica*. Nematological, 11(4):581-589.

Blok, V. C., & Powers, T. O. (2009). Biochemical and molecular identification. Root-knot nematodes, 98-118.

Brown EA,Britton KO.1986.Botryosphaeria diseases of apple and peach in the southeastern United States .plant Dis70:480-484.s

Byrd DP, Kirkpatrick T, Jr, Barker KR.(1983). An improved technique for clearing and staining plant tissues for detecting of nematodes. Journal of Nematology15:142–143.bb

Carillo, P., Woo, S. L., Comite, E., El-Nakhel, C., Rouphael, Y., Fusco, G. M., ... & Vinale, F. (2020). Application of *Trichoderma harzianum*, 6-pentyl-α-pyrone and plant biopolymer formulations modulate plant metabolism and fruit quality of plum tomatoes. Plants, 9(6): 771.

Carneiro, R. M. D. G., Monteiro, J. M. S., Silva, U. C., & Gomes, G. (2016). Gênero *Meloidogyne:* diagnose at raves de electrophorese de isoenzimas e marcadores SCAR. Diagnose de fitonematoides, 47-72.

Chenniappan, C., Narayanasamy, M., Daniel, G. M., Ramaraj, G. B., Ponnusamy, P., Sekar, J., & Ramalingam, P. V. (2019). Bio control efficiency of native plant growth promoting rhizobacteria against rhizome rot disease of turmeric. Biological Control, 129: 55-64.

Cobb,N.A.(1913).New Nematode genera found inhabiting fresh water and nonbrackish soils .Journal of the Washington Academy of Sciences.3:432-444.

Cohn, E. (1964). Penetration of citrus nematode in relation to root development. Nematologica 10: 594-603.

Cohn, E. (1965). On the feeding and histopathology of citrus nematode. Nematologica, 11: 47-54.

Coolen,W.A.(1979). Methods for the extraction of *Meloidogyne spp.*and other nematodes form roots and soil . IN:Root –knot nematodes(*Meloidogyne species)* systematics , biology and control (F.Lamberti, Taylor, eds.), pp.317-329.Academic press, London &New York.

Dubey VK. (2018). Proteomics and Genomics. Lecture 37: Polymerase Chain Reaction. Available from: http://nptel.ac.in/courses/102103017/ module37/lec37_slide1. htm -Accessed .

Duncan LW. 2005. Nematode parasites of citrus. pp. 437-466. In Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture (Luc M, Sikora RA, Bridge J, eds). CAB International, Wallingford, UK.

El-Sherif, A. G., Gad, S. B., Megahed, A. A., & Sergany, M. I. (2019). Induction of tomato plants resistance to *Meloidogyne incognita* infection by mineral and nano-fertilizer. Journal of Entomology and Nematology, 11(2): 21-26.

Franzener G, Martinez-Franzener As, stangailin JR, Furalnetto C, and Schwan-Estroda KRF.(2007). Protection of tomato plant by tagetes patula agueous extract against *Meloidogyne incognita*. Nematologia Brasileiva .:31:27-36.

García-Fraile, P.; E. Menéndez and R. Rivas. (2015). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. J. Microbial biotechnology .2(3): 86 94.

Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica, 2012.

Hajihassani, A., Davis, R. F., & Timper, P. (2019). Evaluation of selected nonfumigant nematicides on increasing inoculation densities of *Meloidogyne incognita* on cucumber. Plant Disease, 103(12): 3161-3165.

Himme, I.S.; E. Cohn; M. Mordechal and B.M. Zuckerman(1979). Changes in fine structure of citrus root cells induced by *Tylenchulus semipenetrans* . Nematologica 25: 333-335.

Hofmann, T., Lowry, G. V., Ghoshal, S., Tufenkji, N., Brambilla, D., Dutcher, J. R., ... & Wilkinson, K. J. (2020). Technology readiness and overcoming barriers to sustainably implement Al

Hunt, D. J., & Handoo, Z. A. (2009). Taxonomy, identification and principal species. Root-knot nematodes, 1: 55-88.

Hussey, R.S. and K.R. Barker. (1973). A comparison of methods of collecting inoculum of *Meloidogyne* spp., including a new technique Plant Disease. 57: 1025_8.

Inserra RN,Duncan LW, O'Bannon JH,Fuller SA.1994.Citrus nematode biotypes and resistant citrus root stocks in Florida . Nematology circular No. 205. Florida Department of Agriculture and consumer Services. Division of plant Industry.

Janssen, T., Karssen, G., Verhaeven, M., Coyne, D., & Bert, W. (2016). Mitochondrial coding genome analysis of tropical root-knot nematodes (*Meloidogyne*) supports haplotype based diagnostics and reveals evidence of recent reticulate evolution. Scientific reports, 6(1): 1-13.

Jun, Y., Zhenfeng, M., & Guihua, L. (2010). Potassium Nutrition Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence on in Nai-plum Leaves [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin: 20.

Karajeh, M.R.(2004). ıdentifiction, Distribution, and Genetic Variability of the root-knot nematode on Jordan.ph.D.Thesis,Unversity of Jordan.Pl.Dis.,89(2),206.

Khalil,MSH.Allam,AFG.and Barakat AST.2012. Nematicidal activity of some bio pesticide agents and microorganism against root-knot nematode on tomato plants under greenhouse conditions. Journal of plant protection Research 52:47-52.

Kim, T. Y., Jang, J. Y., Yu, N. H., Chi, W. J., Bae, C. H., Yeo, J. H., ... & Kim, J. C. (2018). Nematicidal activity of grammicin produced by *Xylaria*

grammica KCTC 13121BP against *Meloidogyneincognita*. Pest management science, 74(2): 384-391.

Le, H. T. T., Padgham, J. L., Hagemann, M. H., Sikora, R. A., & Schouten, A. (2016). Developmental and behavioural effects of the endophytic *Fusarium moniliforme* Fe14 towards *Meloidogyne graminicola* in rice. Annals of Applied Biology, 169(1): 134-143.

MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, Williams and Wilkins. Philadelphia, PA, 113.

Maniatis T, Frisch and, Sambrook J .(1982). Molecular Cloning. Cold Spring Harbor, NY, 545 pp.

Mckinney,H.H.1923.Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by Helminthosporum sativum . J.Agric . Research 26:195-217.

Mengel, K. (2007). Potassium Pp. 91–120 in Barker AV, editor; and Pilbeam DJ, editor., eds. Handbook of plant nutrition. CRC.

Michalakis, S., Schön, C., Becirovic, E., & Biel, M. (2017). Gene therapy for achromatopsia. The journal of gene medicine, 19(3), e2944.

Minotti, P. L., Halseth, D. E., & Sieczka, J. B. (1994). Field chlorophyll measurements to assess the nitrogen status of potato varieties. HortScience, 29(12): 1497-1500.

Mokbel,A.A.:Ibrahim,I.K.A.:Shehata,M.R.A. and EL-saedy, M.A.M.2007. Interaction between certain root-rot fungi and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on sunflower plants.Egypt.j. phytopatho.35:1-11.

nanotechnology-enabled plant agriculture. Nature Food, 1(7): 416-425.

Natour,R.M.;J.M.Allow and Z.A.Katcho.(1976). The effects of DBCP on citrus root-nematode and citrus growth and yield in Iraq .Journal of Nematology, 7:270-274.

Neal,J.C.(1889). The root-knot disease of the peach,orange,and other plants in Florida due to the work of Anguillula. U.S.Dept. Agr.,Div.Ent.Bull.20.

Newton, C.A. and Graham, G.A. (1997). PCR. 2nd edn. Springer-Verlag, New York, pp. 192.

Noling, J.W. (2010). Nematode management in tomatoes, peppers, and eggplant. U.S. Department of Agriculture, UF/IFAS ExtensionService,UniversityofFlorida.www.http://edis.ifas.ufl.edu /ng032 (Accessed 13th April, 2015).

Oliveira, C. M. G. D., Monteiro, A. R., & Blok, V. C. (2011). Morphological and molecular diagnostics for plant-parasitic nematodes: working together to get the identification done. Tropical Plant Pathology, 36(2): 65-73.

Pendse, M. A., Karwande, P. P., & Limaye, M. N. (2013). Past, present and future of nematophagous fungi as bioagent to control plant parasitic nematodes. The Journal of Plant Protection Sciences, 5(1): 1-9.

Rajalakshmi, S. (2017). Different types of pcr techniques and its APPLICATIONS. International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences, 7(3): 285-292.

Rusinque, L., Nóbrega, F., Cordeiro, L., Serra, C., & Inácio, M. L. (2021). First Detection of Meloidogyne luci (Nematoda: Meloidogynidae) Parasitizing Potato in the Azores, Portugal. *Plants*, *10*(1), 99.

Saad, A. S. A., Radwan, M. A., Mesbah, H. A., Ibrahim, H. S., & Khalil, M. S. (2017). Evaluation of some non-fumigant nematicides and the biocide avermactin for managing *Meloidogyne incognita* in tomatoes. Pakistan Journal of Nematology, 35(1): 85-92.

SAS 2012. Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Institute Incorporated Cary. N.C. USA.

Shaheen Shahzad, M. A., Sikandar, S., & Afzal, I. (2020). Polymerase Chain Reaction. Genetic Engineering: A Glimpse of Techniques and Applications: 13.

Shameer, S., & Prasad, T. N. V. K. V. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. Plant Growth Regulation, 84(3): 603-615**.**

Siddiqui, Z A .; Iqbal, A. and Mahmoud, I . 2005 . Effect of Peudomonasflourscesn and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato .J . Applied soil Ecology 16: 179-185.

Sikder, M. M., & Vestergård, M. (2020). Impacts of root metabolites on soil nematodes. Frontiers in plant science, 10, 1792.

Stephan, Z.A.(1997). Plant nematode problems and their control in the Near East region. FAO Plant Production and Protection Papers . 9978 : 1020 - 0339 .

Strajnar, P., and Sirca, S. (2011). The effect of some insecticides, natural compounds and tomato cv. Venezia with Mi gene on the nematode *Meloidogyne ethiopica* (Nematoda) reproduction. Acta Agriculturae Slovenica, 97(1): 5.

Taha, A.H.Y. and S.A. Sultan (1979). Cellular response of grape seedlings to *Rotylenchulus reniformis* and *Tylenchulus semipenetrans* infections. Nematology Mediterranean 7: 45-50.

Taylor, A.L. and J.N. Sasser (1978). Biology, Identification and control of rootknot nematodes (*Meloidogyne* species). Dep. Of plant pathol N.C. State. Univ. Raleight, NC. 27650, USA.111 pp .

Thomes,E.E.1913.A Preliminary report of a nematode observed on citrus roots and its possible relation with the mottled appearance of citrus trees. Unversity of California , Collge of Agriculture , Agriculture Experiment Station in Berkeley , Calif. 85:14.

Timmer LW, Garnsey SM, Broadbent P. 2003. Diseases of citrus. pp. 163-196. In Diseases of Tropical Fruit Crops. CAB International, Wallingford, UK.

Tuna, A., C. Kaya, M. Diklitas and D. Higgs. (2008). The combined effects of gibbere-llic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parame-ters and nutritional status in maize plants. Environ-mental and Experimental Botany.62:1–9.

Van Bezooijen, J. (2006). Methods and techniques for nematology (p. 20). Wageningen: Wageningen University.

Veronico,p. , Paciolla, C., Sasanelli, N.,De Leonardis, S., &Melillo, M.T.(2017), Ozonated water reduces susceptibility in tomato plants to Meloidogyne incognita by the modulation of the antioxidant system .Molecular plant pathology,18(4):529-539.

Vierstraete, A. (1999). Principle of the PCR. University of Ghent, Belgium.

Vigila, V., Subramanian, S., & Devrajan, K. (2019). PGPR induced systemic resistance in tomato plants against root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. J Pharmacogn Phytochem, 8(2S): 749-752.

Wang, K. H., Hooks, C., & Ploeg, A. (2007). Protecting crops from nematode pests: using marigold as an alternative to chemical nematicides.Cooperrative Extension Service , 35 .

Williamson, V. M., Roberts, P. A., & Perry, R. (2009). 13. Mechanisms and genetics of resistance. Root-knot nematodes, 301.

Xiang, N., Lawrence, K. S., Kloepper, J. W., Donald, P. A., McInroy, J. A., & Lawrence, G. W. (2017). Biological control of *Meloidogyne incognita* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria on cotton. Plant Disease, 101(5): 774-784.

Yazdani, M.; M. K. Bahman; H. Pirdashti and M.A. Esmaile. (2009). Effect of phosphate solubilization microorganism (PSM) and plant growth promotion rhizobacteria (PGPR) on yield componenets of corn (*Zea mays* L.): World Academy of Science,Engineering and Technology . 37: 90-92

1-7: الملاحقAppendix

ملحق 1 : بيانات تسجيل عزلة النيماتودا *T. semipenetrans* isolate HNYZ1 في المركز الدولي لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI)ضمن بيانات Gen Bank

An official website of the United States government Here's how you know

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in

Nucleotide

Nucleotide Search

Advanced Help

GenBank Send to:

Tylenchulus semipenetrans clone WuEs-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: ON140588.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON140588                  700 bp    DNA     linear   INV 08-APR-2022
DEFINITION  Tylenchulus semipenetrans clone WuEs-1 internal transcribed spacer
            1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence;
            and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON140588
VERSION     ON140588.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Tylenchulus semipenetrans
  ORGANISM  Tylenchulus semipenetrans
            Eukaryota; Metazoa; Ecdysozoa; Nematoda; Chromadorea; Rhabditida;
            Tylenchina; Tylenchomorpha; Criconematoidea; Tylenchulidae;
            Tylenchulinae; Tylenchulus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 700)
  AUTHORS   Wurood,J.A. and Estabraq,M.A.
  TITLE     Tylenchulus semipenetrans,18S ribosomal RNA gene, partial sequence
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 700)
  AUTHORS   Wurood,J.A. and Estabraq,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) University of Karbala Agriculture College,
            University of Karbala Agriculture College, iraq, Karbala 00964,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..700
                     /organism="Tylenchulus semipenetrans"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="WuEs-1"
                     /isolation_source="From root"
                     /db_xref="taxon:313693"
                     /clone="WuEs-1"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Wurood jabbar Abdulalhady, Estabraq
                     Mohammed abed alreda"
     misc_RNA        <1..>700
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 aagcttctac caggttgagc agagtccttg actgccggca catcgggtgg agaggacaag
       61 ccagtttgtt gggagctgtc gctgctttctg gcatctggcg agtctgtggt catacttcct
      121 ctgccgctga ggaagggata ctgagctttt gtccttctcg gctcttacct ggcctcgact
      181 acaggcgaaa ccggctgttg ctggatccta tgtaacgctg agcgactgtt gaataaagtc
      241 cgtggtctgc aatgaggtgt tacgatagcc ttctccacat gtcgctgtgg aggggtagga
      301 ttaatgagtt ccagattcgg tgccgccagc agatcctttc tttttcactt ttttttttctg
      361 aaaacaaaaa atatctagtc ttgccggtgg atcacttggc tcgtaggtcg ataaagatcg
      421 cagccaaacg cgatagttgg tgcgaactgc agatattctg agcactaaag tatcgaatgc
      481 acattgcgcc tcgggagtca catcccttgg cacgtctggt tcagggtcgt tttcacaaaa
      541 gccgaagaca atcggttttg agcacttgat cataggtccc tgccgctgga gaccgggtga
      601 tcaagcgagc attgctcttc tttgagcgtc tggttcgccg aagggcaagg tcggtgttga
      661 acagagcatc cagccaaacc tgtcagcctg ggcgttccag
//
```

Analyze this sequence
Run BLAST
Pick Primers
Highlight Sequence Features
Find in this Sequence

Related information
Taxonomy

Recent activity
Turn Off Clear
Tylenchulus semipenetrans clone WuEs-1 internal transcribed Nucleotide
Meloidogyne javanica isolate Pak.P.R.3 18S ribosomal RI Nucleotide
Meloidogyne incognita isolate RK3 small subunit ribosomal RN Nucleotide
Asmaa M.A. (0) Nucleotide
Aphelenchus avenae clone AMA-3 internal transcribed spacer Nucleotide
See more...

Abstract:

A field study was conducted in the holy city of Karbala in the year 2021-2022 to find out about the genus Tylenchulus semipenetrans that causes citrus deterioration in the governorate and to find out the most important causes leading to this deterioration. This study included orchards and areas of Karbala governorate and a

number of nurseries with five/six samples per area. The study focused on the symptoms of infection with citrus deterioration nematode, as the percentage of infection varied according to the studied orchards and the number of samples bearing the manifestations of infection, whether on the shoot or root, depending on the samples bearing the infection. The highest percentage of infection in home gardens was for each of Al-Amel neighborhood and orchards in Al-Hindiya district with a rate of 83.3%, followed by Aoun area with a rate of 66.6%, Al-Husayniyyah area with a rate of 60%, Al-Boubiyat area with a rate of 51.5%, and Al-Haydariyat area with a rate of 40%. While the highest severity of the infection was in the orchards of Al-Hindiya district and Al-Amil district with a rate of 83.3%, followed by the Aoun region with an infection severity of 53.3% The severity of the injury varied until it reached the lowest severity in the Al-Hur Al-Saghirad region, which amounted to 1.2%.

The morphological and molecular diagnosis using the polymerase chain reaction (PCR) technique confirmed the infection of citrus trees with the genus Tylenchulus semipenetrans. This is the first molecular diagnosis of this genus at the national level

The results of the field experiments showed that the vermocompost fertilizer increased the plant content of the total chlorophyll of trees, reaching SPAD44.20, followed by the biological pesticide Verox by 39.23 SPAD units, followed by the organic pesticide Tondexir by 25.13 SPAD units, and the other organic pesticide Palizin by 22.55 SPAD units. 23.16 SPAD units compared to the SPAD control treatment. 28.36

The results of laboratory experiments in the percentage of hatching eggs of slow deterioration nematodes on citrus indicated the superiority of the chemical pesticide Tendro by 4.21%, followed by the combined complementary pesticide treatment by 4.80%, while the biological pesticide Verox gave a percentage of 16.13%, followed by the treatment of organic pesticides Tondaxer and Pazilin B, 48.53%, 36.70% over which were significantly different from the 100% control treatment.

The results of field control showed a significant decrease in the number of egg mases (egg sacs) of the nematode Tylenchulus semipenetrans until it reached the lowest level in the combined integrated treatment, as the effect of the use of biological and organic pesticides in reducing the numbers of females compared to the contaminated treatment (control) in one cm of the root and at a lower concentration It is recommended that the pesticides with effective concentrations in the laboratory showed high efficiency in reducing the number of females in the soil and root, as the chemical pesticide treatment reached 3.50 females per one cm of root, followed by the complementary treatment with a ratio of 5.33 females per one cm/root and a ratio of 6.50 females per one cm of root. For biological and chemical pesticides with a treatment rate of 3.50 and organic fertilizer The organic fertilizer Vermocompost with a treatment rate of 7.50, the organic pesticide Tondxir with a treatment rate of 10, and the pesticide Pazilin with a treatment rate of 9.66, while the pesticide mixing treatment with a rate of 5.33 showed high efficiency in reducing the population of nematodes, and this is an indication of the possibility of including it in the integrated control programs for this pest.

The field control results showed the effect of the chemical substance of Tendro, the biological of Verox, and the organic pesticides of Tondxir and Pazilin, on reducing the numbers of females in one cm of roots and the number of egg sacs in the soil, which led to a significant decrease in the number of egg sacs and females in one cm of root, as the three-leaved cultivar outperformed The local variety, as the lowest percentage in egg sac numbers in the integrated combined treatment of the three-leaved cultivar was 2.66, while the local variety was 5.33.

Karbala University

College of Agriculture

Plant Protection Department

Morphological and molecular diagnosis of the causative agent of slow decline disease caused by *Tylenchulus semipenetrans* and its chemical and biological control

A thesis submitted by

Wurood Jabbar Abd alhadi

To the Council of the College of Agriculture - University of KerbalaIt is part of the requirements for obtaining a Master of Science degree in Agriculture

- Plant Protection

Supervised by

Assist. Dr. Estabraq Mohammed AbedalReda

2022 A.D. **1443 A. H**