Mesopotamia J. of Agric. ISSN: 2224-9796 (Online) مجـلة زراعـة الرافديـن
Vol. (42) No. (1) 2014 ISSN: 1815-316 X (Print) المجلد(42) العدد(1)2014

التغيرات الكيميائية و الحساسية في أصناف الطماطة المصابة بمرض تعقد الجذور

أسماء منصور عبد الرسول
قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

الخلاصة

أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع فعالية إنزيمي البيروكسيديز والبولي فينول اوكسيديز ومحتوى الفينولات الكلي بعد تلويث أصناف الطماطة بنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* ، سجل الصنف ربيعة تفوقا معنويا عن بقية الأصناف المستخدمة في الدراسة في فعالية أنزيم البيروكسيديز (0.74 وحدة / غم وزن رطب) ومحتوى الفينولات الكلي (6.69 ملغم / غم وزن رطب) في ما لم يختلف معنويا عن الصنف وردة في فعالية انزيم البولي فينول اوكسيديز إذ بلغا 0.85 و0.81 وحدة/ غم وزن رطب على التوالي ، وانعكس هذا على عدد العقد / نبات وعلى عدد الإناث غم / جذر وكتل البيض /غم جذر حيث لوحظ قلة أعدادها مع ارتفاع فعالية أنزيمي البيروكسيديز والبولي فينول اوكسيديز ومحتوى الفينولات الكلي ولوحظ أن الصنف ربيعة أعطى أقل القيم إذ بلغت 15.3 و 18.6 و 5.0 على التوالي.

كلمات دالة : نيماتودا تعقد الجذور ، الطماطة، إنزيم البيروكسيديز ، أنزيم البولي فينول اوكسيديز،محتوى الفينولات الكلي.

تاريخ تسلم البحث 2012/5/7 وقبوله 10/ 9 / 2012

المقدمة

تعد الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill. من أكثر محاصيل الخضر شيوعا في العالم وتصاب بالعديد من الآفات الزراعية ويعد مرض تعقد الجذور المتسبب عن النيماتودا *Meloidogyne* spp واحدا من الأمراض المهمة التي يتعرض لها محصول الطماطة في العراق (الكمر وآخرون ، 1992) وتمثل مشكلة معقدة على محاصيل الخضر في الزراعات المحمية بصفة خاصة حيث تتوفر لها الأجواء والبيئة المناسبة وعلى محاصيل الخضر في الزراعات المكشوفة بسبب انتشارها الواسع في الحقول ومداها العائلي الواسع وإمكانية تكاثرها على الكثير من النباتات والأعشاب عند غياب المحاصيل الاقتصادية مما يساعدها على الاحتفاظ بمجتمعات ذات كثافة عددية عالية (أبو غربية وآخرون ، 2010) . إن الكائنات الممرضة عند مهاجمتها للنبات تحثها على إحداث تبديل في بناء وتكوين الإنزيمات في النبات وهذا يؤدي إلى ظهور درجات متفاوتة من المقاومة حول أماكن حدوث الإصابة وان الإنزيمات التي عادة ما يتعرض لنشاط أو يبني منه كميات كبيرة في الأنسجة المريضة هو إنزيم Phenylalanine ammonialayase (PAL) إن هذا الإنزيم هو الإنزيم الأساسي والمفتاح في إنتاج الجزيئات الأساسية المستعملة للبناء الحيوي لمعظم الفينولات وكذلك الفايتوالكسنات واللكنين Lignin ، ويعد الفينول واحد من المركبات الهامة التي تدخل في مقاومة الأمراض ويوجد بكميات كبيرة في النباتات المريضة فضلا عن وجوده في النباتات السليمة ولكن بناءه أو تراكمه يحدث بسرعة بعد الإصابة وقد لوحظ أن المركبات الفينولية تكون سامة للكائنات الممرضة وتتجمع بمعدل سريع بعد الإصابة في الأصناف المقاومة أكثر مما هي في الأصناف الحساسة فضلا عن انه تم ملاحظة نشاط كثير من الإنزيمات المؤكسدة للفينولات يكون بشكل عام أعلى في الأنسجة المصابة للأصناف المقاومة أكثر منه في الأصناف القابلة للإصابة أو النباتات السليمة ، وان أهمية فعالية إنزيم البولي فينول اوكسيديز في مقاومة المرض ربما تنشأ من خاصيته في أكسدة المركبات الفينولية إلى كينونات Quinones والتي تكون غالبا أكثر سمية للكائنات الحية الدقيقة من الفينول الأصلي وان زيادة فعالية البولي فينول اوكسيديز سوف يؤدي إلى تركيز أعلى من نواتج الأكسدة السامة وبالتالي ينتج عنه درجات عالية من المقاومة للإصابة وهناك إنزيم أخر مؤكسد للفينولات فقط ولكنه يزيد بلمرة مثل هذه المركبات إلى مواد لكنينية والتي تترسب في جدر الخلية وتظهر على شكل نتوءات وتتدخل في زيادة نمو وتكشف الكائن الممرض (Agrios ، 2005). أجريت العديد من الدراسات حول تقدير فعالية إنزيم البيروكسيديز و البولي فينول اوكسيديز والفينول في الأصناف المقاومة والحساسة وقد وجدو أن تراكيزها أعلى في الأصناف المقاومة مقارنة بالأصناف الحساس

(Zacheo وآخرون ، 1993 ؛ Sahebani وآخرون ، 2008 ؛ Indu Rani وآخرون ، 2008 ؛ Kalaiarasan ، 2009 ؛ Sankari Meena وآخرون ،2011) .

تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم كفاءة أربعة أصناف من الطماطة وهي ربيعة وزمرد وجنان ووردة واختبار حساسيتها لنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* و تقدير فعالية الفينول وإنزيم البيروكسيديز والبولي فينول أوكسيديز في الأصناف الأربعة بعد مرور 7 أيام من تلويث التربة ومعرفة العلاقة بين فعالية الأنزيمين ومحتوى المواد الفينولية وبين قدرة النيماتودا على التكاثر في الأصناف المزروعة في التربة الملوثة وغير الملوثة ومدى قدرة النيماتودا على استحثاثها .

مواد البحث وطرائقه

1- تهيئة اللقاح (مصدر التلويث): جمعت جذور نباتات الطماطة المصابة بنيماتودا تعقد الجذور من حقل للطماطة في كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل وتم تشخيص نوع نيماتودا تعقد الجذور بالاستناد إلى الصفات التي يتميز بها النمط العجاني Perineal pattern وحسب طريقة Taylor و Netscheir (1974) وبعد ذلك أخذت كتلة بيض واحدة من أنثى تابعة للجنس *Meloidogyne javanica* ولوثت بها جذور نباتات طماطة سليمة مزروعة في ترب معقمة بالفورمالين لتصبح مزرعة نقية (Pure culture) للنوع المذكور و استخدمت بعد ذلك كلقاح للتجربة.

2 - تجربة الظلة البلاستيكية: زرعت بذور أربعة أصناف من الطماطة وهي ربيعة Raba'a و زمرد Zumoured و جنان Ginan و وردة Warda في تربة معقمة بالفورمالين تركيز 2% داخل أصص بلاستيكية سعة 4 كغم تربة وبواقع نبات واحد / أصيص وبمعدل تسعة مكررات /صنف ، نفذت التجربة في الظلة البلاستيكية التابعة لقسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات وبعد مرور خمسة أسابيع من عمر النبات لوثت كل سندانة بـ 4000 يافعة طور ثاني حديثة الفقس لبيوض استخلصت من الجذور المصابة من مصدر التلويث (Southy ، 1970) حيث لوثت ستة مكررات /صنف وتركت المكررات الثلاثة الأخرى / صنف بدون تلويث لاستخدامها كمعاملة المقارنة(الشاهد) وبعد مرور7 أيام من التلويث أخذت ثلاثة مكررات من الأصناف الملوثة و ثلاثة مكررات من الأصناف غير الملوثة وتم قياس أو حساب فعالية إنزيم البيروكسيديز Peroxidase بإجراء اختبار كوايكول Guaiacol حسب طريقة Howell وأخرون (2000) وإنزيم البولي فينول أوكسيديز Polyphenoloxidase حسب طريقة Shi وأخرون (2002) في التقدير وذلك بمتابعة الزيادة الحاصلة في الامتصاص الضوئي Absorbance وعند الطول الموجي420 نانوميتر باستخدام المطياف الضوئي spectrophotometer والناتج من أكسدة مادة الكاتيكول Catechole كركيزة للإنزيم وتم تقدير المحتوى الكلي للفينولات في جذور نباتات الطماطة الملوثة وغير الملوثة تبعا للطريقة التي اتبعها Gailite وأخرون (2005) وذلك بسحق 1غم من جذور الطماطة مع 10 مل من الميثانول تركيز 80% ثم سخن المستخلص لمدة 30 دقيقة في حمام مائي عند درجة 70مْ وبعد ذلك رشح بورق ترشيح Whatman No.1 وأخذ 1مل من المستخلص وأضيف إليه 5 مل من الماء المقطر و 250 مايكروليتر من كاشف فولن 1 عياري وترك المزيج لحين تطور اللون الأزرق ومن ثم تمت القراءة باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 725 نانوميتر واستخدم الكاتيكول لتحضير المنحنى القياسي لتقدير محتوى الفينولات الكلي ملغم / غم وزن رطب ، في حين تركت المكررات الأخرى أي الأصناف الملوثة لمدة شهرين من التلويث بعدها تم حساب أعداد العقد الجذرية /نبات والدليل المرضي للعقد حسب ماذكره Taylor وSasser (1978) ومنها حددت درجة الإصابة وعلى النحو التالي صفر= صنف منيع ، 1= صنف مقاوم ، 2= صنف متوسط المقاومة ، 3= صنف متوسط الحساسية ، 4= صنف حساس ، 5 فأكثر= صنف شديد الحساسية كما تم حساب عدد الإناث وكتل البيض / غم جذر . صممت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل CRD وحللت النتائج وفق نظام SAS واختبرت المتوسطات باستخدام اختبار دنكن المتعدد المدى وعند مستوى احتمال 0.05

النتائج والمناقشة

تشير نتائج الجدول (1) إلى أن نشاط أنزيم البيروكسيديز والبولي فينول اوكسيديز ومحتوى الفينولات الكلي في النباتات قد ارتفع معنويا في الأصناف الأربعة المستخدمة في الدراسة و الملوثة بنيماتودا تعقد الجذور مقارنة بالأصناف غير الملوثة (الشاهد) وبلغ أعلى مقدار لإنزيم البيروكسيديز ومحتوى الفينولات الكلي في الصنف ربيعة 0.74 وحدة /غم وزن رطب و 6.69 ملغم / غم وزن رطب على التوالي واختلف معنويا عن بقية الأصناف ، في حين لم يختلف أنزيم البولي فينول

اوكسيديز معنويا في الصنفين ربيعة ووردة إذ بلغ 0.85 و 0.81 وحدة / غم وزن رطب على التوالي وقد سجلا بذلك أعلى قيمة مقارنة ببقية الأصناف في حين لوحظ أقل قيمة للانزيمين ومحتوى الفينولات الكلي في المعاملات الملوثة على الصنف جنان واختلف معنويا عن بقية الأصناف إذ بلغا 0.40 و 0.57 وحدة / غم وزن رطب و 3.98 ملغم/غم وزن رطب على التوالي يعزى ذلك إلى وجود علاقة مابين مستويات فعالية أنزيمي البيروكسيديز والبولي فينول اوكسيديز ومحتوى المواد الفينولية وبين مستويات المقاومة في النبات حيث أن زيادة هذين الأنزيمين والفينولات هي استجابة أولية لغزو النيماتودا للنبات حيث تعمل النيماتودا على استحثاث المقاومة في النبات من خلال أكسدة الفينولات حيث يعمل إنزيم البيروكسيديز على أكسدة الفينول وO-dihydroxyphenol ويعمل أنزيم البولي فينول اوكسيديز Polyphenoloxidase على أكسدة الكاتيكول فضلا عن دوره بالمشاركة في تخليق اللكنين والسوبرين بعد تكثيفه للمركبات الفينولية في موقع الإصابة ويعمل أنزيم البيروكسيديز مع بيروكسيد الهيدروجين في تكسير الأنزيمات التي ينتجها المسبب المرضي وتعمل نواتج تحطم الأنزيمات كإشارات استحثاثية في النبات استجابة للإجهاد الحيوي المتمثل بوجود المسببات المرضية وإطلاق آليات الاستحثاث التتابعي للوسائل الدفاعية الكيميائية ومنها بناء المركبات الدفاعية المستحثة الفايتوالكسينات Phytoalexines من خلال أكسدة الفينولات وتحولها إلى مركبات أكثر سمية للمسببات المرضية فضلا عن الدفاعات التركيبية إذ يتفاعل الأنزيم مع بعض بروتينات الجدار الخلوي لتكوين روابط عرضية ومركبات متعددة مما يزيد من صلابة الجدار الخلوي (عبد الرسول وإبراهيم ، 2011) ، فضلا عن إن زيادة أنزيم البيروكسيديز يؤدي إلى إفراز جزيئات الأوكسجين الحرة التي تؤثر سلبا على النيماتودا هذا وان العديد من الفينولات تتجمع داخل الأنسجة النباتية بعد الإصابة وبصورة عامة تظهر الفينولات بصورة طبيعية كجليكوسيدز Glucosides وهي غير سامة ويمكن أن تتحلل الى فينولات حرة بواسطة تأثير Glycosidase والموجودة بكثرة في النبات أو عن طريق إفرازات النيماتودا ويمكن للفينولات أن تتحلل إلى Glycones أو تتأكسد بواسطة البولي فينول أوكسيديز والبيروكسيديز ولوحظ أن زيادة نسبة الفينولات في الأصناف المقاومة أعلى من الأصناف القابلة للإصابة (عثمان ، 2008) وهذا يدل على أن نسبة الفينولات تتحكم في درجات المقاومة للنبات وتتفق هذه النتائج مع كل من Huang واخرون (1971 a&b) و Ahuja و Ahuja (1980) و Bajaj وأخرون (1983) و Ganguly و Dasgupta (1984).

الجدول (1) : فعالية أنزيمي البيروكسيديز والبولي فينول أوكسيديز ومحتوى الفينولات الكلي لأربعة أصناف من الطماطة السليمة والمصابة بنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica*

Table(1): Activity of Peroxidase, Polyphenol oxidase enzymes and total Phenol of four tomato cultivares healthy and infected with Root knot nematode.

محتوى الفينولات الكلي ملغم / غم وزن رطب Total Phenol mg/g fresh weight		فعالية إنزيم البولي فينول اوكسيديز وحدة /وزن رطب Activity of Polyphenoloxides enzyme Unit /fresh weight		فعالية إنزيم البيروكسيديز وحدة /وزن رطب Activity of Peroxides enzyme Unit /fresh weight		أصناف الطماطة Tomato cultivars
سليمة healthy	مصابة infected	سليمة healthy	مصابة infected	سليمة healthy	مصابة infected	
0.11 e	6.69 a	0.018 d	0.85 a	0.024 e	0.74 a	ربيعةRaba'a
0.10 e	4.71 c	0.018 d	0.75 b	0.027 e	0.59 c	زمردZumurd
0.02 e	3.98 d	0.018 d	0.57 c	0.024 e	0.40 d	جنانGinan
0.09 e	5.24 b	0.030 d	0.81 a	0.023 e	0.63 b	وردةWarda

* المتوسطات التي تحمل نفس الحرف ضمن العمود الواحد لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05 .

تبين نتائج الجدول (2) تفوق الصنف جنان معنويا على بقية الأصناف في عدد العقد/نبات وعدد الإناث/غم جذر وعدد كتل البيض/غم جذر حيث سجل أعلى القيم لتبلغ 26.2 و 32.3 و 10.6 على التوالي في حين سجل الصنف ربيعة اقل عدد للعقد/ نبات 15.3 واختلف بذلك معنويا عن بقية الأصناف وأظهر أيضا اقل عدد للإناث/غم جذر وعدد كتل البيض/غم جذر ولكنه لم يختلف معنويا عن الصنف وردة حيث بلغت القيم على التوالي 18.6 و 5.0 ويرجع هذا التباين في أعداد العقد وأعداد

الإناث وعدد كتل البيض الى اختلاف الاصناف في مدى استحثاث مستويات انزيمي البيروكسيديز والبولي فينول اوكسيديز ومقدرة النبات على تجمع أو تراكم الفينولات في الأنسجة النباتية والتي تعد إحدى الوسائل الدفاعية التي تطلقها أو تكونها النباتات ضد المسببات المرضية واختلاف قيمها في الأصناف المستخدمة في الدراسة ، حيث يلاحظ من الجدولين 1 و 2 انه كلما ارتفعت فعالية إنزيمي البيروكسيديز والبولي فينول اوكسيديز ومحتوى الفينولات في النبات انعكس ذلك على عدد العقد وعدد الإناث وكتل البيض بالنبات وهذا ما أظهره الصنف ربيعة في حين أن فعالية هذين الإنزيمين والفينولات يدل على ضعف مقاومة النبات لغزو النيماتودا وهذا ما أكده ارتفاع عدد العقد وعدد الإناث وكتل البيض في الصنف جنان،في حين انه عند حساب الدليل المرضي للعقد لم يلاحظ اي اختلاف معنوي بين الاصناف المختبرة حيث بلغت قيمها ولجميع الاصناف 3 وكانت جميع الاصناف متوسطة الحساسية للإصابة بنيماتودا تعقد الجذور

الجدول (2): متوسط عدد العقد الجذرية وعدد الإناث وعدد كتل البيض في أصناف الطماطة المصابة بنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* .

Table (2): Mean number of root galls , Females and Egg masses in tomato cultivars infected with Root-knot nematode *Meloidogyne javanica*.

حساسية الأصناف Susceptible cultivars	الدليل المرضي للعقد Root-knot index	عدد كتل البيض/غم جذر Number of egg mass / g. root	عدد الإناث/غم جذر Number of female /g.root	عدد العقد/نبات Number of gall/ plant	أصناف الطماطة Tomato cultivars
متوسط الحساسية Medium	3 a	5.0 c	18.6 c	15.3 d	ربيعة Raba'a
متوسط الحساسية Medium	3 a	8.0 b	28.0 b	23.0 b	زمرد Zumoured
متوسط الحساسية Medium	3 a	10.6 a	32.3 a	26.2 a	جنان Ginan
متوسط الحساسية Medium	3 a	6.6 bc	20.3 bc	19.0 c	وردة Warda

* المتوسطات التي تحمل نفس الحرف ضمن العمود الواحد لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05

CHEMICAL ALTERATION AND SUSCEPTIBILITY TEST OF SOME TOMATO CULTIVARS INFECTED WITH ROOT-KNOT DISEASE

Abdul Rasool , A.M.
Plant Protection Dept. College of Agric. & Forestry ,Mosul University/Iraq

ABSTRACT

The results showed increase in activity of the enzymes peroxidase , polyphenol oxidase and the total content of phenol in tomato cultivars infected with *Meloidogyne javanica* Raba'a cv. recorded significant superiority on the activity of peroxidase enzyme reached 0.74 Unit/g.fresh weight and total phenol content reached 6.69 mg/g. fresh weight compared with other cultivars. While it didn't differ significantly from Ward acv. In polyphenol oxidase activity reached 0.85 and 0.81 Unit/g. fresh weight in both cvs. respectively,

This was reflected on number of gall/plant ,number of female/gram root and egg mass / gram root . It was noted that their values decreased with increasing of activity of peroxidase , polyphenoloxidase enzymes and total phenol content as observed in Raba'a cultivars which gave the lowest values reaching 15.3 , 18.6 and 5 for the same characters respectively.
Key words : Root knot nematode , Tomato , Peroxidase , Polyphenoloxidase ,Total phenol.

Received : 7 / 5 / 2012 Accepted 10 / 9 / 2012

المصادر

أبو غربية ، وليد إبراهيم ، أحمد سعد الحازمي ، زهير عزيز اسطيفان و أحمد عبد السميع دوابة (2010). نيماتودا النبات في البلدان العربية (الجزء الثاني) ، دار وائل للنشر والتوزيع ، 8242 ص.

الكمر ، ماجد خليف ، وعد الله حساوي وحسن يونس محمد . (1992). اختبار حساسية أصناف الطماطة المزروعة والبرية وهجنها لنيماتودا تعقد الجذور . *مجلة زراعة الرافدين 24 (2):17-21.*

عبد الرسول،أسماء منصور وبسام يحي إبراهيم (2011) تأثير المقاوم الحيوي*Trichoderma* spp في مستوى فاعلية انزيمات بيروكسيديز وبولي فينول اوكسيديز وكايتينيز في نباتات اللوبيا *Vigna unguiculata* المصابة بتعقد الجذور*Meloidogyne javanica*. *مجلة زراعة الرافدين 39 (4):257-266.*

عثمان ، أحمد أحمد (2008) . عالم النيماتودا المشكلة – الحل ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، القاهرة ، جمهورية مصر العربية ، 600 ص .

Ahuja , S. and S. P. Ahuja (1980).Effects of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infection on the peroxidase and polyphenoloxidase activities in the roots of selected vegetables crops . *Nematology Mediterranean 8:207-210.*

Agrios , G. N. (2005). Plant Pathology (Fifth Edition).Elesevir Academic Press Publications ,New York , 922pp.

Bajaj , K. L. ; Y.K. Arora and R. Mahajan (1983). Biochemical differences in tomato cultivars resistant and susceptible to *Meloidogyne incognita*. *Revue Ne'matology 6(1):143-145.*

Bird , A. F. and H. R. Wallace (1965). The influence of temperature on *Meloidogyne hapla* and *M.javanica .Nematologica , 11:581-589.*

Huang , C . S . ; L. H. Lin and S. P. Huang (1971a).Changes in peroxidase isoenzymes in tomato galls induced by *Meloidogyne incognita*. *Reprinted from Nematologica,17:52-60.*

Huang , C. S. ; L. H. Lin and S. P. Huang (1971b). Alterations in peroxidase activities induced by root knot nematode on tomato. *Botanical Bulletin of Academia Sinca,12:74-83*

Howell,C. R. , L. E. Hanson , R. D. Stipanovic and L. S. Puckhaber (2000). Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* seed treatment with *Trichoderma virens* . *Phyto-Pathology , 90 : 248-252.*

Ganguly , S. and D. R. Dasgupta (1984). Sequential development of polyphenol oxidase (E.C.1.14.18.1) in resistant and susceptible

tomatoes inoculate with the root-knot nematode,*Meloidogyne incognita*. *Nematology Mediterranean (12):15-22.*

Gailite, A. I. Steinite and G. Ievinsh (2005). Ethylene is involved in *Trichoderema* induced resistance of bean plants against *Pseudomonas syringae*. *Biology , 691:59-70.*

Indu Rani , C. ; D. Veeraragavathatham and S. Sanjutha (2008). Analysis on biochemical basis of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Research Journal Of Agriculture and Biological Sciences , 4(6):866-870.*

Kalaiarasan , P. (2009). Biochemical markers for identification of root -knot nematode(*Meloidogyne incognita*) resistance in tomato .*Karnataka Journal Agriculture Sciences* , 22(3-Spl.Issue) : *471-475.*

Sahebani , N. ; J. Zad ; A. Sharifi-Tehrani and A.Kheiri (2008).A study of changes in polyphenol oxidase activity in interaction between root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) and tomato Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) .*Journal Science and Technology Agriculture Natural Resource ,12 (43) : 181 (Abstract).*

Sankari Meena , K. ; E. I. Jonathan and P. G. Kavitha (2011). Systemic resistance in tomato against *Meloidogyne incognita* induced by plant growth promoting Rhizobacterium, *Pseudomonas fluorescens .Madras Agriculture Journal, (7-9): 255-257.*

Shi, C.; Y.Dai ;X. Xu ; Y.Xie and Q. Liu (2002). The purification of polyphenol oxidase from tobacco. *Protein Experiment and Purification , 24:51-55.*

Southey, J. F. (1970). Laboratory Methods For Work With Plants and Soil Nematodes. Ministry of Agric. Lture. Fisheries and Food .Tech. Bull.2: 148pp.

Taylor, A. L. and J. N. Sasser (1978). Biology, Identification and Control Of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species). Dep. Of Plant pathol .N.C. State .Univ. Raleight NC .27650, USA. 111pp.

Taylor , D. P. and C. Netscheir (1974).An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica ,20:268-269.*

Zacheo , G. ; C. Orlando and T. Bleve-Zacheo (1993). Characterization of anionic peroxidases in tomato isolines infected by *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology, 25(2) : 249-256.*