

**INFLUENCE OF CERTAIN FACTORS
AFFECTING THE EFFICIENCY OF SOME
BIOLOGICAL AGENTS IN COMBATING PLANT
PARASITIC NEMATODES**

By

ESRAA OTHMAN ABD-ELRA'OUF IBRAHIM
B.Sc. Agric. Sci. (International Agriculture), Fac. Agric., Cairo Univ.,
Egypt, 2003

THESIS

**Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of**

MASTER OF SCIENCE

In

**Zoology and Agricultural Nematology
(Nematology)**

**Department of Zoology and Agricultural Nematology
Faculty of Agriculture
Cairo University
EGYPT**

2010

APPROVAL SHEET

**INFLUENCE OF CERTAIN FACTORS
AFFECTING THE EFFICIENCY OF SOME
BIOLOGICAL AGENTS IN COMBATING PLANT
PARASITIC NEMATODES**

**M.Sc. Thesis
In
Agric. Sci. (Agricultural Nematology)**

By

ESRAA OTHMAN ABD EL-RA'OUF IBRAHIM
B.Sc. Agric. Sci. (International Agriculture), Fac. Agric., Cairo Univ.,
Egypt, 2003

Approval Committee

Dr. MAHMOUD HASSAN EL-HAMAWI
Head of Research of Plant Pathology, Agric. Research Center

Dr. AHMED ABD EL-SALAM FARAHAT
Professor of Nematology, Fac. Agric., Cairo University

Dr. AHMED AHMED OSMAN FADL
Professor of Nematology, Fac. Agric., Cairo University

Date: 29 /7 /2010

SUPERVISION SHEET

**INFLUENCE OF CERTAIN FACTORS
AFFECTING THE EFFICIENCY OF SOME
BIOLOGICAL AGENTS IN COMBATING PLANT
PARASITIC NEMATODES**

**M.Sc. Thesis
In
Agric. Sci. (Agricultural Nematology)**

By

**ESRAA OTHMAN ABD EL-RA'OUF IBRAHIM
B.Sc. Agric. Sci. (International Agriculture), Fac. Agric.,
Cairo Univ., 2003**

SUPERVISION COMMITTEE

**Dr. AHMED AHMED OSMAN FADL
Professor of Nematology, Fac. Agric., Cairo University**

**Dr. ALI HASSAN HUSSEIN
Professor of Nematology, Fac. Agric., Cairo University**

Name of Candidate: Esraa Othman Abd El-ra'ouf Ibrahim **Degree:** M.Sc.
Title of Thesis: Influence of Certain Factors Affecting The Efficiency of Some Biological Agents in Combating Plant Parasitic Nematodes
Supervisors: Dr. Ahmed Ahmed Osman
Dr. Ali Hassan Hussien
Department: Zoology and Agricultural Nematology
Branch: Agricultural Nematology **Approval:** 29 / 7 /2010

ABSTRACT

Bacillus thuringiensis, *B. megaterium*, *Glomus spp.*, *Serratia marcescens* and *Trichoderma album* were evaluated for potency to control *M. incognita* at different application times regarding the time of nematode inoculation and host (eggplant) transplantation. The timings of bioagent application two weeks prior to nematode inoculation and host transplantation, bioagent application with nematodes two weeks prior to host transplantation and double bioagent application times first one with nematode inoculation and the second one at transplantation time decreased the number of galls, females and egg masses/plant, however the same application times didn't succeed in reducing the number of eggs/egg mass. Conversely, the timings of bioagent application two weeks after nematode inoculation and host transplantation, double bioagent application times first with nematode inoculation and transplantation and a second time two weeks later and bioagent application simultaneously with nematode inoculation and host transplantation reduced only the number of eggs/egg mass without any decrease in the number of galls, females or egg masses.

B. thuringiensis, *B. megaterium* and *T. album* were evaluated as single and combined bioagent treatments for their potential in reducing root-knot nematode, *M. incognita* on tomato plant. Most of the single and combined treatments succeeded in reducing the number of galls, females and egg masses, but the best among all the tested single or combined treatments was the treatment *B. thuringiensis*+*T. album*, where it significantly decreased all the counted nematode parameters and improved plant growth.

In another study, *B. thuringiensis*, *B. megaterium* and *T. album* were tested at three application rates (0.5, 1 and 2 g/plant) for their efficacy in reducing nematodes on eggplant, the number of eggs/egg mass was the most affected parameter with the applied treatments. The most successful treatment was 2g/plant of *T. album*, where it significantly decreased all the counted nematode parameters. Shoot length was the only criterion that responded to the applied treatments.

When *B. thuringiensis*, *B. megaterium* and *T. album* were applied at the rates 1, 2 and 4g/plant simultaneously with nematodes one week prior to transplantation, it was prevalent that high reduction in nematode counts was associated with applied high rate of the bioagents. *B. thuringiensis* and *T. album* applied at 4g/plant achieved significant reduction in all the counted nematode parameters, and also improved plant health at all of its measured parameters.

Root soaking method for 20 hours in different bioagent rates was evaluated against low (1000j2) and high (3000j2) nematode densities. *T. album* at 1g with the low nematode density was the most successful treatment in reducing nematode density. It was also clear that at treatments against the low nematode density, more than 50% of the treatments affected the number of eggs/egg mass, while with the high nematode density little but significant reduction occurred in the number of eggs/egg mass resulted from less than 50% of the treatments.

Key words: *M. incognita*, *Bacillus*, *T. album*, application time, combinations, application rate, soaking.

DEDICATION

To the one who made my life full of joy, the one who put me on the first stair, the one who taught me the difference between excellence and fairness, the one whom I am always proud of, the one absent from life present in my heart; to my father may ALLAH rest his soul.

ACKNOWLEDGEMENT

*Abundant thanks go to **ALLAH** almighty whom every praise is due.*

*I wish to express my sincere thanks, indeffable gratitude and appreciation to my worthy supervisor **Dr. Ahmed Ahmed Osman** Professor of Nematology, Faculty of Agriculture, Cairo University, for his ever inspiring guidance, constructive suggestions, continued assistance, keen interest, scholarly comments, munificence, his fatherly behaviour and indescribable patience throughout the course of my study and revision of the manuscript of this thesis.*

*Sincere thanks to **Dr. Aly Hassan Hussein** Professor of Nematology, Faculty of Agriculture, Cairo University, for sharing in supervision, continual encouragement, endurance and sincere assistance.*

Grateful appreciation is also extended to all staff members of Zoology and Agricultural Nematology Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, for the sincere encouragement.

*Sincere thanks to **Dr. Hassan Amin**, Researcher of Agronomy, Cotton Research Institute, Agricultural Research Center, Giza for his help in the statistical analysis of the results.*

Infinite thanks to my mother whom without I would not have been able to execute this work, my late father, my brothers, my step-father for their considerate help. Also I feel deeply grateful to my husband for his appreciation, everlasting love and understanding. I am grateful to my sons AbdAllah and Ali for their support. Special thanks to every member of my family.

Also special thanks to Dr. Ahmed Osman's family for their love, support and encouragement along the way since the work started.

*Effort offered by **Mr. Abd El -Hameed A. Abd El-Hameed** during the experimental work is greatly acknowledged.*

Honey baby palace nursery staff is also well acknowledged.

دراسة تأثير بعض العوامل على كفاءة بعض العناصر البيولوجية
المستخدمة في مكافحة النيماتودا المتطفلة نباتياً

رسالة مقدمة من

إسراء عثمان عبد الرؤوف إبراهيم
بكالوريوس في العلوم الزراعية (زراعة دولية) - كلية الزراعة - جامعة القاهرة، ٢٠٠٣

للحصول على درجة

الماجستير

في

العلوم الزراعية
(نيماتولوجيا زراعية)

قسم الحيوان و النيماتولوجيا الزراعية
كلية الزراعة
جامعة القاهرة
مصر

٢٠١٠

دراسة تأثير بعض العوامل على كفاءة بعض العناصر البيولوجية
المستخدمة في مكافحة النيماتودا المتطفلة نباتياً

رسالة ماجستير
فى العلوم الزراعية
(نيماتولوجيا زراعية)

مقدمة من

إسراء عثمان عبد الرؤوف إبراهيم
بكالوريوس فى العلوم الزراعية (زراعة دولية)- كلية الزراعة - جامعة القاهرة ، ٢٠٠٣

لجنة الحكم

دكتور/ محمود حسن الحموى
رئيس بحوث - معهد بحوث أمراض النبات - مركز البحوث الزراعية

دكتور/ أحمد عبد السلام فرحات
أستاذ النيماتولوجيا - كلية الزراعة- جامعة القاهرة

دكتور/ أحمد أحمد عثمان فضل
أستاذ النيماتولوجيا- كلية الزراعة- جامعة القاهرة

التاريخ ٢٩ / ٧ / ٢٠١٠

دراسة تأثير بعض العوامل على كفاءة بعض العناصر البيولوجية المستخدمة في مكافحة النيماتودا المتطفلة نباتياً

رسالة ماجستير
في العلوم الزراعية
(نيماتولوجيا زراعية)

مقدمة من

إسراء عثمان عبد الرؤوف إبراهيم
بكالوريوس في العلوم الزراعية (زراعة دولية)- كلية الزراعة - جامعة القاهرة ، ٢٠٠٣

لجنة الإشراف

دكتور/ أحمد أحمد عثمان فضل
أستاذ النيماتولوجيا- كلية الزراعة-جامعة القاهرة

دكتور/ على حسن حسين
أستاذ النيماتولوجيا- كلية الزراعة-جامعة القاهرة

اسم الطالب: إسراء عثمان عبد الرؤف إبراهيم
 عنوان الرسالة: دراسة تأثير بعض العوامل على كفاءة بعض العناصر البيولوجية المستخدمة في مكافحة النيماتودا المتطفلة نباتياً.
 المشرفون: دكتور: أحمد أحمد عثمان فضل
 دكتور: على حسن حسين
 القسم: الحيوان و النيماتولوجيا الزراعية الفرع: النيماتودا تاريخ منح الدرجة: ٢٩ / ٧ / ٢٠١٠

المستخلص العربي

تم تقييم قدرة كل من *Bacillus thuringiensis*, *B. megaterium*, *Glomus spp.*, *Serratia marcescens* و *Trichoderma album* على مكافحة نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* تحت مواعيد اضافة مختلفة نسبة الى موعد العدوى بالنيماتودا و زراعة العائل. مواعيد اضافة المستحضر الحيوى قبل العدوى بالنيماتودا قبل زراعة العائل بأسبوعين، مع النيماتودا فى نفس الوقت قبل زراعة العائل بأسبوعين و الاضافة الثانية مرة عند العدوى بالنيماتودا و مرة اخرى بعد اسبوعين فى وقت زراعة العائل جميعهم أدوا الى خفض فى عدد العقد الجذرية، عدد الاناث و عدد أكياس البيض بينما لم تتجح هذه المعاملات فى احدث خفض فى عدد البيض/كيس بيض. بعكس ذلك، أدت مواعيد الاضافة بعد أسبوعين من العدوى بالنيماتودا و زراعة العائل، الاضافة الثانية فى وقت العدوى بالنيماتودا و زراعة العائل ثم مرة اخرى بعد اسبوعين و أخيرا الاضافة فى نفس وقت العدوى بالنيماتودا و زراعة العائل الى خفض فى عدد البيض/كيس بيض بينما لم تحدث خفض فى عدد العقد الجذرية، عدد الاناث او عدد اكياس البيض.

تم اختبار كفاءة كل من *B. thuringiensis*, *B. megaterium* و *T. album* كمعاملات فردية و مركبة فى تخفيض تعداد *M. incognita* على نبات الطماطم. أغلب المعاملات سواء الفردية او المركبة أدت الى خفض فى عدد العقد الجذرية، عدد الاناث و عدد اكياس البيض و لكن المعاملة *B. thuringiensis*+*T. album* كانت الانجح حيث ادت الى خفض فى تعداد النيماتودا و أيضاً الى تحسن الصفات الخضرية.

فى دراسة أخرى تم اختبار قدرة ثلاث معدلات اضافة (٥٠، ١٠٠ و ٢٠٠ جم/نبات) من المستحضرات الحيوية *B. thuringiensis*, *megaterium* و *T. album* على تقليل كثافة النيماتودا على البانجان. كان عدد البيض/كيس بيض هو المعيار الأكثر تأثراً بالمعاملات و كان معدل الاضافة ٢ جم من *T. album* هو الاكفأ حيث انه الوحيد الذى احدث خفض فى جميع مقاييس تطور النيماتودا على النبات. طول الساق كان هو الصفة الخضرية الوحيدة التى استجابت للمعاملات.

عندما اضيفت المستحضرات الحيوية *B. thuringiensis*, *B. megaterium* و *T. album* بالمعدلات ٢، ٤ و ١٠ جم/نبات فى نفس وقت العدوى بالنيماتودا قبل اسبوع من زراعة العائل، كان واضحاً أن الانخفاض فى كثافة النيماتودا مرتبط باضافة المعدل الاعلى من المستحضر الحيوى. *B. thuringiensis* و *T. album* بمعدل ٤ جم/نبات حقق كل منهما انخفاض معنوى فى معايير النيماتودا المقاسة بالاضافة الى تحسين نمو النبات.

قدرت طريقة نقع جذور الشتلات لمدة ٢٠ ساعة قبل زراعتها فى معدلات مختلفة من المستحضرات الحيوية لمكافحة التعداد العالى و المنخفض من النيماتودا. نجح *T. album* بمعدل ١ جم فى احدث انخفاض فى تعداد النيماتودا عند استخدامة للكثافة المنخفضة. كان واضحاً أيضاً أن فى حالة المعاملة ضد الكثافة المنخفضة من النيماتودا أثرت أكثر من ٥٠% من المعاملات على عدد البيض/كيس بيض، بينما فى حالة الكثافة العالية من النيماتودا اظهرت اقل من ٥٠% من المعاملات تأثير طفيف و لكنه معنوى فى عدد البيض/كيس بيض. أدت القليل من المعاملات الى تحسن طفيف فى نمو النبات.

الكلمات الدالة: نيماتودا تعقد الجذور، ميعاد الاضافة، مستحضرات حيوية، معدل اضافة، نقع الجذور، ميعاد الزراعة

CONTENTS

	page
INTRODUCTION.....	1
REVIEW OF LITERATURE.....	4
1. Microbial organisms as nematode control agents	4
2. Time of microbial agent application	11
3. Combinations of microbial agents	14
4. Microbial agent rate of application	17
5. Method of microbial agent application	20
6. More than one factor	24
MATERIALS AND METHODS.....	31
RESULTS.....	44
1. Performance of biological control agents at different application times on eggplant infected with the root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> under greenhouse conditions.....	44
2. Control efficiency enhancement using biocontrol agents <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. megaterium</i> and <i>T. album</i> , as single and combined treatments against <i>Meloidogyne incognita</i> of tomato	62
3. Potentiality evaluation of the microbial agents, <i>Bacillus thuringiensis</i> (Agerin®), <i>B. megaterium</i> (BioArc®) and <i>Trichoderma album</i> (BioZied®) mixed into soil concomitantly with nematode inoculation for the control of root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i>	70
4. Effect of three application rates of <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>B. megaterium</i> and <i>Trichoderma album</i> on tomato infected with root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i>	76
5. Effect of root soaking of eggplant seedlings in microbial concentrations of <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>B. megaterium</i> and <i>Trichoderma album</i> as a prophylactic treatment against low and high population densities of the root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i>	88

DISCUSSION.....	98
CONCLUSION.....	130
SUMMARY.....	131
REFERENCES.....	138
ARABIC SUMMARY.....	

LIST OF TABLES

No.	Title	Page
1.	Effect of single application of microbial agents to soil two weeks prior to nematode inoculation and host transplantation on developmental stages of <i>Meloidogyne incognita</i>	45
2.	Effect of concomitant application of microbial agents with nematode inoculation two weeks prior to host transplantation on developmental stages of <i>Meloidogyne incognita</i>	48
3.	Effect of dual applications of microbial agents, simultaneously with nematode inoculation and a second one at host transplantation 15 days later on developmental stages of <i>Meloidogyne incognita</i>	50
4.	Effect of microbial agent application two weeks after nematode inoculation & host transplantation on developmental stages of <i>Meloidogyne incognita</i>	52
5.	Effect of dual microbial agent applications one with nematode inoculation & host transplantation and another time two weeks later on developmental stages of <i>Meloidogyne incognita</i>	55
6.	Effect of concurrent host transplantation, nematode, inoculation and microbial agent application on developmental stages of <i>Meloidogyne incognita</i>	57
7.	Effect of single application of microbial agents to soil two weeks prior to nematode inoculation and host transplantation on some plant growth parameters influenced by <i>Meloidogyne incognita</i> infection.....	59

8. Effect of concomitant application of microbial agents with nematode inoculation two weeks prior to host transplantation on some plant growth parameters influenced by <i>Meloidogyne incognita</i> infection.....	60
9. Effect of double applications of microbial agents, one simultaneously with nematode inoculation and at host transplantation 15 days later on some plant growth parameters influenced by <i>Meloidogyne incognita</i> infection.....	61
10. Effect of microbial agent application two weeks after nematode inoculation and host transplantation on some plant growth parameters influenced by <i>Meloidogyne incognita</i> infection.....	61
11. Effect of double microbial agent applications one with nematode inoculation and host transplantation and two weeks later on plant growth parameters influenced by <i>Meloidogyne incognita</i> infection.....	61
12. Effect of concurrent host transplantation, nematode inoculation, and microbial agent application on some plant growth parameters influenced by <i>Meloidogyne incognita</i> infection.....	62
13. Impact of single and combined treatments of <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> and <i>Trichoderma album</i> on the development of root-knot nematode, <i>M. incognita</i> infecting tomato plants.....	64
14. Impact of single and combined treatments of <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , & <i>Trichoderma album</i> on plant growth of tomato plants infected with	

root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i>	69
15. Effect of direct application of microbial agents at three application rates (in grams) on the developmental stages of the root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i>	72
16. Effect of direct application of microbial agents, at three application rates (in grams) for controlling the root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> on vegetative parameters.....	75
17. The effect of applying <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> & <i>Trichoderma album</i> , in 3 application rates, 7 days prior to transplantation on the developmental stages of the root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i>	77
18. Effect of applying biocontrol agents in 3 application rates with nematodes 7 days prior to transplantation on plant growth parameters.....	87
19. Effect of soaking eggplant roots in microbial concentrations for 20 hours before transplantation on developmental stages of root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> at low (1000 j ₂ /pot) population density.....	89
20. Effect of soaking eggplant roots in microbial concentrations for 20 hours before transplantation on developmental stages of root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> at high (3000 j ₂ /pot) population density.....	91
21. Effect of soaking eggplant roots in microbial concentrations for 20 hours before transplantation and inoculation with root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> at low (1000 j ₂ /pot) population density on	