# تأثیر مصرف لجن فاضلاب بر بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی

اکرم عبدالهی ارجنکی و علی اکبر فدایی تهرانی[1*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۳۱)

## چکیده

**نماتدهای انگل گیاهی، خصوصاً نماتدهای ریشه‌گرهی خسارت زیادی را به اغلب محصولات کشاورزی وارد می‌سازند و تلاش‌های زیادی برای کنترل آنها صورت می‌گیرد. در سال‌های اخیر مصرف پسماند یا لجن فاضلاب‌های شهری و صنعتی به‌عنوان کود آلی در کشاورزی رواج یافته است. به‌منظور بررسی تأثیر مصرف لجن فاضلاب بر جمعیت و خسارت نماتد ریشه‌گرهی روی گوجه‌فرنگی، درصدهای مختلف وزنی لجن (۰، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۵٪ لجن در خاک) به خاک بستر گیاه در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار اضافه شد. ارزیابی نتایج ۹۰ روز پس از تلقیح با نماتد و با استفاده از شاخص‌های رشدی گیاه، میزان عناصر غذایی در گیاه، پارامترهای رشد و نموی نماتد و تغییرات سلولی و بافتی ایجاد شده، انجام شد. تجزیه واریانس نتایج حاصل، نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار لجن فضلاب بر شاخص‌های رشدی گیاهان مورد آزمایش بود. به‌نحوی که با بالارفتن درصد لجن مورد استفاده، رشد طولی، وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه گیاه افزایش یافت. استفاده از لجن فاضلاب همچنین سبب افزایش میزان نیتروژن، فسفر، کلسیم و منیزیم در اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی گردید، درحالی‌که تغییرات میزان پتاسیم بسیار اندک بود. استفاده از لجن بر پارامترهای رشد و نموی نماتد نیز تأثیر قابل توجهی داشت، به‌طوری‌که با افزایش میزان لجن مورد استفاده، از تعداد گال، توده تخم و تخم‌های یک توده تخم ایجاد شده توسط نماتد کاسته شد.**

**واژه‌های کلیدی: کنترل، نماتد ریشه‌گرهی، پسماند، گوجه‌فرنگی**

۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ma_fadaei@yahoo.com

## مقدمه

گوجه‌فرنگی با سطح زیرکشتی معادل چهار میلیون هکتار و تولید سالانه‌ی ۱۲۵ میلیون تن در جهان یکی از محصولات مهم کشاورزی به‌شمار می‌رود (۲۲). براساس آمار سازمان خوار و بار جهانی (FAO) در سال ۲۰۰۸، ایران با تولید پنج میلیون تن تولید گوجه‌فرنگی پس از کشورهای چین، آمریکا، ترکیه، هند، ایتالیا، مصر، هفتمین تولیدکننده‌ی این محصول بوده است. عملیات زراعی نامناسب و خسارات ناشی از حمله آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز، از جمله عوامل مهم مؤثر در کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی در مناطق مختلف می‌باشند. نماتدها، به‌ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) که با طیف وسیع میزبانی از عوامل محدود کننده‌ی رشد و تولید محصولات کشاورزی بالاخص سبزی و صیفی به‌شمار می‌روند هر ساله خسارت جبران‌ناپذیری را به محصولات مذکور در جهان وارد می‌سازند. روش‌های مختلفی در مدیریت نماتدهای ریشه‌گرهی استفاده می‌شود ولی هیچ‌یک روش قاطع و مؤثری برای مبارزه محسوب نمی‌شوند (۲۸). در بین روش‌های پیشنهادی برای کنترل این دسته از نماتدها، گزارشات معدودی از تأثیر مثبت مصرف مواد آلی در کاهش نماتدهای ریشه‌گرهی مشاهده می‌شود (۱۵ و ۲۷) که از نظر اجرایی با شرایط کشور ما هماهنگی بیشتری نشان می‌دهند. لجن فاضلاب یکی از موادی است که تحقیقات متعدد در کشورهای مختلف ارزش کودی آن را مشخص کرده است، به‌همین علت تقاضا برای مصرف آن در حال افزایش است (۲، ۳). مواد آلی موجود در لجن فاضلاب باعث بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و حاصلخیزی خاک می‌گردد (۷). اضافه کردن لجن فاضلاب به خاک می‌تواند در افزایش رشد و عملکرد گیاه نیز نقش داشته باشد. برای بررسی نقش مواد اصلاح کننده خاک در کنترل جمعیت نماتدها، مواد مختلفی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (۱۹ و ۱۶).

لجن فاضلاب دارای مقادیر قابل توجهی از مواد غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشد که عموماً برای اصلاح خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد. مواد مذکور علاوه‌بر نقشی که در افزایش رشد ایفا می‌کنند (۱۷، ۱۸ و ۵)، باعث توسعه میکروارگانیسم‌های مختلف و تحریک آنها به تولید متابولیت‌های سمی در محیط می‌شوند. متابولیت‌های مورد اشاره می‌توانند برای عوامل بیماری‌زای مختلف و از جمله تخم و لارو نماتدهای ریشه‌گرهی سمی باشند (۱۴، ۱۸ و ۱۰). مواد غذایی موجود در پسماند می‌توانند باکتری‌های موجود در فاریشه را صدها برابر افزایش دهند. گونه‌های متعلق به جنس‌های *Bacillus*، *Klebsiella*، *Paenibacillus*، *Aureobacterium*، *Agrobacterium*، *Pseudomonas* از فراوان‌ترین باکتری‌های یافت شده در خاک‌های با مواد آلی می‌باشند. یکی از مکانیسم‌های کنترل نماتدها به‌وسیله باکتری‌های فاریشه، کنترل از طریق تولید توکسین، آنزیم و یا سایر متابولیت‌های ثانوی می‌باشد. برای مثال ثابت شده است که پروتئازهای باکتریایی در کنترل نماتد ریشه‌گرهی توسط *P. fluorescens* دخالت دارند، درحالی‌که نقش کنترل کنندگی *P. chitinolytica* به‌واسطه فعالیت کیتینولیتیک این باکتری در خاک بوده است (۲۶).

تولید فاضلاب و پسماند به‌عنوان یکی از مشکلات مهم زندگی شهرنشینی و تولیدات صنعتی در دهه‌های اخیر، همواره مدیران شهری و صنعتی را به خود مشغول داشته است. یکی از راهکارهایی که مورد تأیید فعالان محیط زیست نیز بوده است برگرداندن مواد مذکور به شکل بی‌خطر به چرخه طبیعی است. در این میان استفاده از فاضلاب‌ها و پسماندهای شهری به‌عنوان آب آبیاری و کود در کشاورزی در سال‌های اخیر گسترش زیادی پیدا کرده است. از طرف دیگر نقش بعضی از کودهای آلی در کاهش خسارت بیماری‌های گیاهی در تحقیقات انجام شده توسط بیماری‌شناسان به اثبات رسیده است. هدف از این پژوهش بررسی اثر لجن فاضلاب شهری شهرکرد روی میزان حساسیت یا تحمل گوجه‌فرنگی به نماتد ریشه‌گرهی و شدت بیماری‌زایی نماتد مذکور روی این گیاه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### تکثیر و تعیین گونه نماتد

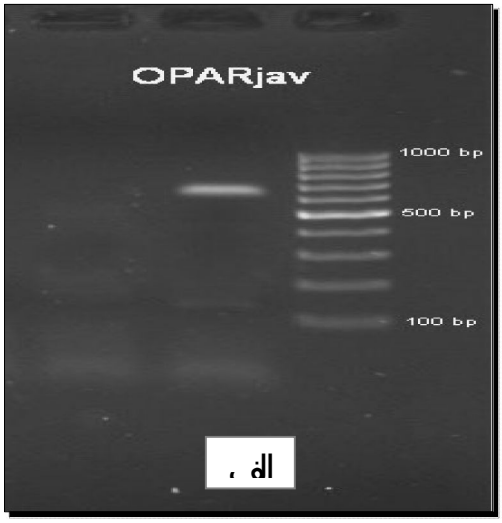
به‌منظور تهیه مایه تلقیح نماتد، تعدادی نمونه خاک و ریشه از مزارع آلوده گوجه‌فرنگی جمع‌آوری و به آزمایشگاه نماتدشناسی منتقل شد. جهت تکثیر و تهیه جمعیت خالص نماتد، در زیر میکروسکوپ تشریح تک توده تخم‌هایی از ریشه جدا و هر یک در مجاورت ریشه یک گیاه گوجه‌فرنگی حساس رقم روتگر (یک هفته بعد از نشاء) قرار داده شد. گیاهان مذکور در شرایط گلخانه (دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۴ ساعت روشنایی) با آبیاری مناسب نگهداری شدند. پس از دو ماه ریشه‌های آلوده از خاک خارج و ضمن شستشوی آنها، در زیر میکروسکوپ تشریح تعدادی از ماده‌های بالغ جهت شناسایی گونه نماتد از بافت خارج، و پس از تثبیت و تهیه اسلایدهای دائمی، خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی آنها بررسی و اندازه‌گیری شد. همچنین جهت بررسی الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها، از ناحیه مذکور تعدادی برش عرضی (در اسید لاکتیک ۴۵٪) تهیه گردید. برای شناسایی مولکولی نماتد، ضمن استخراج DNA به روش سیلوا و همکاران (۲۵) از تکثیر توالی‌های اختصاصی با دو جفت آغازگر اختصاصی OPARjav / OPAFjav و Mjavf / Mjavr معرفی شده توسط زیلسترا و همکاران (۳۰) در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده شد. جهت تکثیر و تأمین جمعیت خالص نماتد برای انجام آزمایشات، بوته‌های گوجه‌فرنگی ۲۰ روزه رقم روتگر مایه‌زنی و ۹۰ روز در شرایط مناسب گلخانه نگهداری شدند.

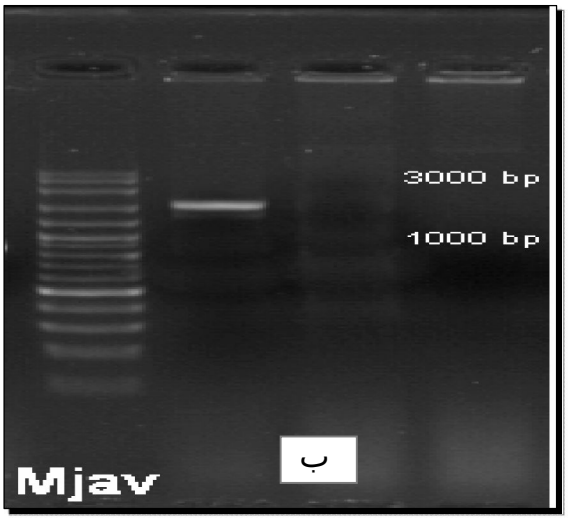
### بررسی تأثیر لجن فاضلاب بر نماتد ریشه‌گرهی در شرایط گلخانه

برای مطالعه تأثیر لجن فاضلاب بر بیماری‌زایی و خسارت ناشی از نماتد ریشه‌گرهی در گوجه‌فرنگی از نسبت‌های مختلف ماده مذکور در خاک بستر گیاه استفاده شد بدین ترتیب که ابتدا از لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شهرکرد که تحت هضم بی‌هوازی قرار گرفته بود، نمونه‌برداری و در مجاورت هوا خشک گردید. پس از خرد کردن نمونه‌ها و عبور از الک یک میلی‌متری جهت اعمال تیمارهای مختلف به‌نسبت‌های ۰، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۵ درصد وزنی با خاک زراعی مخلوط و به گلدان‌های آزمایشی (به قطر ۱۵ سانتی‌متر) منتقل شدند. جهت یکنواخت شدن بستر تهیه شده، گلدان‌ها به‌مدت یک ماه بدون گیاه آبیاری، و سپس نشاءهای ۱۵ سانتی‌متری گوجه‌فرنگی به آنها منتقل گردیدند. پس از استقرار نشاءها (یک هفته) هر گلدان با ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد (۲۰۰۰ عدد به ازای هر کیلوگرم خاک) مایه‌زنی گردید و مدت ۹۰ روز در شرایط گلخانه نگهداری شدند آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار انجام شد. برای ارزیابی نتایج از شاخص‌های رشدی گیاه (ارتفاع اندام‌های هوایی، طول ریشه، وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه)، عناصر غذایی در گیاه (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم و کلسیم)، شاخص‌های رشد و نموی نماتد (تعداد گال، تعداد لارو سن دوم، تعداد توده تخم در ریشه گیاه و تعداد تخم در هر توده تخم) و تغییرات هیستوپاتولوژیکی استفاده شد.

تعیین میزان نیتروژن کل گیاه به روش کلدال (۶)، فسفر با رنگ‌سنجی به روش اولسن (۲۰)، پتاسیم به روش شعله‌سنجی و مقدار کلسیم و منیزیم به روش تیتراسیون با ورسین ۰/۰۱ نرمال بعد از عصاره‌گیری با محلول استات آمونیوم(۱۱) انجام شد.

برای مطالعه تغییرات هیستوپاتولوژیکی بخش‌هایی از ریشه‌های گال‌دار پس از شستشوی کامل با آب، به‌مدت دو شبانه‌روز در گلوترآلدهید (Glutaraldehyde) ۲٪ در بافر کاکودیلیت سدیم (Sodium cacodylate buffer) ۰/۱ مولار (با pH= ۷) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تثبیت و در پارافین قالب‌گیری شدند. سپس با استفاده از میکروتوم مکانیکی برش‌هایی با ضخامت حدود پنج میکرون تهیه و با محلول آنیلین‌بلو در لاکتوفنل ۲٪ رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند (۲۱). تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسا در تیمارهای مختلف با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل گردید و مقایسه میانگین داده‌های مذکور به




**الف – قطعه ۶۷۰ جفت بازی با جفت آغازگر**

OPAFjav / OPARjav

**ب- قطعه ۱۶۰۰ جفت بازی با جفت آغازگر**

Mjavf / Mjavr

**شکل۱. تکثیر قطعاتی از ژنوم نماتد با آغازگرهای اختصاصی در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز**

روش LSD مورد آزمون قرار گرفتند.

### بررسی آزمایشگاهی

به‌دلیل عدم امکان استفاده مستقیم لجن فاضلاب در شرایط آزمایشگاهی از عصاره آن استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا به همان روش آزمایش گلخانه‌ای خاک بستر تیمارهای مختلف تهیه گردید. سپس ۲۰۰ گرم مخلوط خاک بستر هر تیمار به‌طور جداگانه در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب حل و با عبور از الک ۲۰ مش ذرات درشت آن گرفته شد و روی دو لایه دستمال کاغذی پهن شده روی الک‌های ۲۰ مش مستقر در بشقاب (زیرگلدانی) منتقل و ۲۴ ساعت ثابت باقی ماند. از مایع شفاف موجود در بشقاب زیر الک به‌عنوان عصاره هر تیمار استفاده شد. آزمایش با عصاره نسبت‌های مختلف لجن فاضلاب (۰، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۵٪) و زمان‌های مختلف مواجهه تخم با عصاره (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. ۲۰۰ عدد تخم نماتد و ۵ میلی‌لیتر عصاره در ظرف پتری (قطر شش سانتی‌متری) واحدهای آزمایش را تشکیل می‌دادند. ارزیابی بر مبنای شمارش تخم و لاروهای زنده در هر مرحله زمانی و محاسبه میزان مرگ و میر تخم در آن مرحله صورت گرفت و داده‌های حاصل با نرم‌افزار آماری SAS و میانگین‌ها نیز با آزمون LSD در سطح ۵٪ تجزیه و تحلیل گردید.

## نتایج و بحث

الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده و خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی ماده‌ها و لاروهای سن دوم نمونه‌های مورد بررسی با شرح اصلی گونه *M. javanica* تطابق نشان داد. استفاده از جفت آغازگر OPARjav / OPAFjav یک قطعه ۶۷۰ جفت بازی (۳۰) و جفت آغازگر اختصاصی Mjavf /Mjavr قطعه ۱۶۰۰ بازی (۹) را در نمونه‌ها در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر کرد (شکل۱) که مؤید تعلق نماتد مورد بررسی به گونه *M. javanica* می‌باشد.

### اثر لجن فاضلاب بر بیماری‌زایی و خسارت نماتد ریشه‌گرهی

#### خسارت

**شاخص‌های رشدی:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی گیاهان در تیمارهای مختلف نشان‌دهنده اثر معنی‌دار استفاده از لجن فاضلاب بر خصوصیات مذکور بود.

**جدول۱. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب**

| تیمار | طول ساقه (cm) | وزن ساقه (g) | | طول ریشه (cm) | وزن ریشه (g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | خشک | تازه | | خشک | تازه |
| لجن ۰٪ | ۳۹/۷$^{c}$ | ۵/۶$^{d}$ | ۳۷/۷$^{c}$ | ۳۶/۲$^{b}$ | ۳/۶$^{c}$ | ۲۵/۶$^{c}$ |
| لجن ۴٪ | ۴۸/۰$^{b}$ | ۱۹/۹$^{c}$ | ۱۱۵/۲$^{b}$ | ۳۸/۶$^{ab}$ | ۱۶/۹$^{b}$ | ۳۷/۵$^{b}$ |
| لجن ۸٪ | ۵۱/۶$^{b}$ | ۳۴/۸$^{b}$ | ۱۱۳/۷$^{b}$ | ۴۰/۹$^{a}$ | ۱۶/۹$^{b}$ | ۴۲/۷$^{a}$ |
| لجن ۱۵٪ | ۶۵/۲$^{a}$ | ۴۳/۷$^{a}$ | ۱۳۷/۱$^{a}$ | ۴۲/۴$^{a}$ | ۱۸/۴$^{b}$ | ۴۶/۳$^{a}$ |
| لجن ۲۵٪ | ۶۸/۴$^{a}$ | ۴۳/۴$^{a}$ | ۱۳۲/۶$^{a}$ | ۴۲/۷$^{a}$ | ۲۳/۸$^{a}$ | ۳۵/۳$^{b}$ |

اعداد، میانگین شش تکرار می‌باشند.

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵٪ براساس آزمون LSD تفاوت معنی‌دار ندارند.

**جدول ۲. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اولیه و لجن قبل از اعمال تیمارها**

| ویژگی | | خاک | لجن |
|---|---|---|---|
| | اسیدیته | ۷/۲ | ۷ |
| غلظت عناصر mg/kg | فسفر | ۵۱/۵ | ۵۸۱ |
| | نیتروژن | ۱۲۷۰ | ۴۷۶۰ |
| | پتاسیم | ۵۹۰ | ۱۲۰۰ |
| | کلسیم | ۱۴۴۰ | – |
| | منیزیم | ۲۲۵/۶ | – |

مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف نیز در بیشتر موارد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مورد بررسی بود (جدول ۱) ،بدین ترتیب که ارتفاع گیاه با افزایش نسبت لجن فاضلاب در خاک افزایش یافت (بیشترین ارتفاع در نسبت ۲۵٪ لجن فاضلاب و کمترین آن در نسبت صفردرصد). رشد ریشه نیز تحت تأثیر نسبت لجن فاضلاب قرار گرفت ولی طول ریشه تغییرات کمتری نشان داد به‌نحوی‌که تنها میانگین تیمارهای ۸٪ لجن و بالاتر با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند (جدول۱).

استفاده از لجن، وزن تازه و خشک اندام هوایی و ریشه گوجه‌فرنگی را نیز تحت تأثیر قرار داد. بدین ترتیب که با افزایش نسبت لجن وزن تازه و خشک اندام‌های هوایی و ریشه افزایش یافت ولی در نسبت‌های بالاتر اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. به‌عبارت دیگر افزایش نسبت لجن، تنها تا حد معینی باعث افزایش رشد در گیاه گردید و استفاده از نسبت‌های بالاتر به همان میزان رشد را افزایش نداد که شوری خاک و سمیت عناصر از دلایل احتمالی این موضوع بودند (۲۸). نتایج حاصل از این بررسی با یافته‌های سابی و همکاران (۲۵) در مورد تأثیر لجن فاضلاب روی درمنه و آتریپلکس، باربوسا و همکاران (۴) روی عملکرد گوجه‌فرنگی و نتایج هورنیک (۱۳) روی ذرت و لوبیا مطابقت دارد.

**جدول۳. میانگین غلظت عناصر غذایی در گیاه در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب**

| تیمار | N | P | K | Ca | Mg |
|---|---|---|---|---|---|
| | درصد | | | | |
| لجن ۰٪ | ۲/۷ | ۳۴۰ | ۳ | ۳ | ۱/۱ |
| لجن ۴٪ | ۲/۸ | ۰/۳۹ | ۲/۵ | ۳/۳ | ۱/۸ |
| لجن ۸٪ | ۳/۸ | ۰/۴۶ | ۲/۴ | ۳/۶ | ۱/۸ |
| لجن ۱۵٪ | ۴/۵ | ۰/۵۷ | ۲/۳ | ۴/۶ | ۱/۹ |
| لجن ۲۵٪ | ۴/۸ | ۰/۶۵ | ۲/۱ | ۵ | ۲/۲ |

**عناصر غذایی**

مقایسه میزان عناصر غذایی گیاهان در تیمارهای مختلف مصرف لجن فاضلاب نشان‌دهنده افزایش عناصر مذکور به موازات افزایش نسبت لجن بود با این‌حال میزان افزایش عناصر مختلف متفاوت بود (جدول ۳). بدین‌صورت که میزان افزایش نیتروژن کل و فسفر بیشتر و در نسبت‌های بالای لجن با شاهد تفاوت زیادی نشان داد درحالی‌که این افزایش در کلسیم و منیزیم کمتر بود و در پتاسیم افزایش چندانی مشاهده نشد. بدیهی است که نیاز گیاه به کلسیم و منیزیم کمتر از نیتروژن و فسفر است ولی رقابت بین کلسیم و منیزیم با پتاسیم در جذب توسط گیاه و پایین بودن غلظت پتاسیم در لجن (۱۱) می‌تواند دلایل پایین بودن عنصر مذکور در گیاه باشد. در مجموع بالاتر بودن عناصر غذایی در گیاهان تیمارهای با نسبت بالای لجن می‌تواند یکی از دلایل افزایش شاخص‌های رشد گیاهان در آن تیمارها باشد. به‌عبارت دیگر میزان بالای عناصر غذایی توانسته است کاهش رشد ناشی از وجود نماتد را جبران نماید و تحمل گیاه نسبت به آن را افزایش دهد. قبلاً به اثر مثبت استفاده از کودهای تأمین کننده نیتروژن، فسفر و پتاسیم (۲۳) در کاهش جمعیت نماتد ریشه‌گرهی اشاره شده است. هرچند اثر کنترلی استفاده از کمپوست‌های اصلاح کننده خاک به اثبات رسیده است (۱۳). ولی اثر مذکور در مورد نماتدهای انگل گیاهی متغیر بوده است (۱).

**بیماری‌زایی**

**شاخص‌های رشد و نموی نماتد**

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین پارامترهای رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی در تیمارهای مختلف استفاده از لجن نشان‌دهنده اثر معنی‌دار کاربرد این ماده بر بیماری‌زایی نماتد بود (جدول ۴). میانگین تعداد گال در یک گرم ریشه از ۴۵/۵ عدد در تیمار بدون لجن به ۱۸/۵ گال در تیمار ۲۵٪ پسماند کاهش یافت. بیشترین توده تخم نیز در تیمار بدون لجن و کمترین آن در تیمار ۲۵٪ مشاهده گردید. سایر شاخص‌ها (تعداد تخم در توده تخم، تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک و فاکتور تولیدمثل) نیز اثرات مشابهی نشان دادند (جدول۴). به‌عبارت دیگر استفاده از نسبت‌های مختلف لجن فاضلاب روی تمام مراحل رشد و نموی نماتد مؤثر بود. در این میان تعداد توده تخم و تعداد تخم در توده تخم کاهش بیشتری نشان دادند. مواد موجود در پسماند فاضلاب می‌تواند میکروارگانیسم‌های فراریشه، به‌ویژه باکتری‌ها را افزایش دهد. باکتری‌های کینولیتیک (مانند *P. chinolytica*) از جمله باکتری‌هایی هستند که در خاک‌های با مواد آلی بالا به وفور یافت می‌شوند. فعالیت این باکتری‌ها می‌تواند باعث تخریب لایه کیتینی موجود در تخم نماتد و نهایتاً از بین رفتن آنها شود. افزایش باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد (PGPR ها) در فراریشه نیز می‌تواند علاوه بر افزایش رشد باعث تحریک مقاومت سیستمیک (ISR) در گیاه و ممانعت از بلوغ نماتدهای حمله کننده به آن شوند (۲۶). این

**جدول۴. مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی در مقادیر مختلف لجن فاضلاب**

| تیمار | تعداد گال در یک گرم ریشه | تعداد توده تخم ریشه | تعداد تخم در توده تخم | تعداد لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک | شاخص تولیدمثل |
|---|---|---|---|---|---|
| لجن ۰٪ | ۴۵/۵$^{a}$ | ۲۹/۳$^{a}$ | ۱۹۹$^{a}$ | ۱۳۲$^{a}$ | ۲۲/۸$^{a}$ |
| لجن ۴٪ | ۳۹/۸$^{a}$ | ۲۷/۱$^{a}$ | ۱۲۴$^{b}$ | ۱۲۰$^{a}$ | ۱۷/۶$^{b}$ |
| لجن ۸٪ | ۲۶/۵$^{b}$ | ۲۰/۵$^{b}$ | ۹۶$^{c}$ | ۹۱/۵$^{b}$ | ۸/۸$^{c}$ |
| لجن۱۵٪ | ۲۲/۶$^{bc}$ | ۱۵/۱$^{c}$ | ۷۴$^{d}$ | ۶۶/۶$^{c}$ | ۵$^{cd}$ |
| لجن ۲۵٪ | ۱۸/۵$^{c}$ | ۱۲/۶$^{c}$ | ۵۰/۱$^{e}$ | ۳۴/۸$^{d}$ | ۱/۹$^{d}$ |

اعداد، میانگین شش تکرار می‌باشند.

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵٪ براساس آزمون LSD تفاوت معنی‌دار ندارند.

**جدول۵. مقایسه میانگین تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسای ریشه، ناشی از حمله نماتد ریشه‌گرهی در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب**

| تیمار | تعداد سلول غول‌آسا | اندازه سلول غول‌آسا (µm) |
|---|---|---|
| لجن ۰٪ | ۳/۲$^{a}$ | ۲۶۳۰$^{a}$ |
| لجن ۴٪ | ۲/۵$^{a}$ | ۲۶۷۵$^{a}$ |
| لجن ۸٪ | ۳$^{a}$ | ۲۰۷۲/۵$^{ab}$ |
| لجن ۱۵٪ | ۲/۷$^{a}$ | ۱۶۰۵$^{b}$ |
| لجن ۲۵٪ | ۲/۷$^{a}$ | ۱۸۸۰$^{b}$ |

نتایج با یافته‌های حاصل از تحقیقات پیشین در مورد تأثیر مواد آلی و پسماند فاضلاب روی نماتد ریشه گرهی مطابقت دارد (۸ و ۱۰).

**تغییرات سلولی و بافتی**

بررسی تغییرات سلولی و بافتی ریشه در اثر حمله نماتد در گیاهان کشت شده در بسترهای با نسبت‌های مختلف لجن فاضلاب نشان دهنده تأثیر اندک این مواد روی تغییرات ایجاد شده توسط نماتد بود (جدول ۵). به‌طوری‌که تعداد سلول‌های غول‌آسای ایجاد شده در ریشه‌ها اختلاف معنی‌دار نداشتند. با این‌حال بین میانگین اندازه سلول‌های مذکور در تیمارهای ۱۵٪ و ۲۵٪ با شاهد و تیمارهای ۴٪ و ۸٪ تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. به‌عبارت دیگر افزایش نسبت لجن از رشد سلول‌های غول‌آسا ممانعت کرده بود. دلیل احتمالی این ممانعت از رشد نیز، تحریک واکنش‌های دفاعی گیاه در اثر باکتری افزایش‌دهنده رشد در فراریشه می‌باشد.

**اثر عصاره لجن بر مرگ و میر تخم نماتد ریشه‌گرهی**

نتایج حاصل از تجزیه واریانس درصد مرگ و میر تخم نماتد ریشه‌گرهی ناشی از کاربرد نسبت‌های مختلف عصاره لجن نشان‌دهنده اثر معنی‌دار آن بر این شاخص بود. مقایسه میانگین درصد مرگ و میر تخم نماتد در دوره‌های زمانی متفاوت نیز بیانگر اختلاف معنی‌دار بین آنها بود به‌نحوی که غلظت ۲۵ درصد در مدت زمان ۷۲ ساعت بیشترین تأثیر را روی مرگ و میر تخم نماتد داشت. نسبت‌های ۴٪، ۸٪ و ۱۵٪ لجن نیز در

**جدول۶. مقایسه میانگین اثر زمان‌ها و نسبت‌های مختلف عصاره پسماند بر میزان مرگ و میر تخم نماتد ریشه‌گرهی (*M .javanica*)**

| غلظت پساب | زمان (حضور تخم در عصاره پسماند) ساعت | | |
|---|---|---|---|
| | ۲۴ | ۴۸ | ۷۲ |
| ٪۰ | ۱۲/۲$^{e}$ | ۲۷/۶$^{cd}$ | ۵۰/۱$^{b}$ |
| ٪۴ | ۱۲$^{e}$ | ۳۵/۲$^{c}$ | ۵۷/۸$^{ab}$ |
| ٪۸ | ۱۳/۳$^{de}$ | ۲۴/۸$^{cde}$ | ۵۳/۳$^{b}$ |
| ٪۱۵ | ۲۳/۳$^{cd}$ | ۳۳/۲$^{c}$ | ۵۹/۷$^{ab}$ |
| ٪۲۵ | ۲۹/۷$^{c}$ | ۳۴/۱$^{c}$ | ۷۱/۸$^{a}$ |

اعداد میانگین چهار تکرار است.

مدت ۷۲ ساعت مرگ و میر بالایی ایجاد کردند. (جدول ۶) عصاره نسبت‌های بالای پسماند در ۲۴ و ۴۸ ساعت باعث مرگ و میر قابل توجهی شدند ولی با همین نسبت‌ها در مدت ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌دار داشتند. در مجموع نتایج حاصل نشان‌دهنده تأثیر هم جهت غلظت و مدت زمان تماس تخم با آن در افزایش مرگ و میر تخم نماتد بود. هبیچت (۱۰) با بررسی اثرات پسماند فاضلاب روی نماتد ریشه‌گرهی به این نتیجه رسیدند که اثرات پسماند فاضلاب تنها محدود به افزایش رشد در گیاه نمی‌شود و باعث افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های خاک نیز می‌شوند. میکروارگانیسم‌های مذکور احتمالاً متابولیت‌های آزاد می‌کنند که می‌تواند برای لارو و تخم نماتد ریشه‌گرهی سمی باشد.

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون در سطح ٪۵ براساس آزمون LSD تفاوت معنی‌دار ندارند.

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از آزمایشات گلخانه‌ای مؤید تأثیر مشهود لجن فاضلاب در افزایش و بهبود رشد گیاهان و همچنین کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتد ریشه‌گرهی بود. در مطالعات هیستوپاتولوژیکی نیز کاهش اندازه‌ی سلول‌های غول‌آسا و نیز اندازه گال به‌واسطه استفاده از لجن فاضلاب مشاهده گردید. نتایج حاصل از بررسی‌های آزمایشگاهی نیز نشان‌دهنده تأثیر مثبت عصاره لجن فاضلاب بر درصد مرگ و میر تخم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* بود. با توجه به نتایج این بررسی و تحقیقات قبلی، به نظر می‌رسد استفاده از فرآورده مذکور می‌تواند در کاهش خسارت ایجاد شده توسط نماتد ریشه‌گرهی مؤثر مفید واقع گردد. لذا منظور کردن این فرآورده در برنامه‌های کنترلی و تحقیقات مربوطه می‌تواند چشم‌انداز روشنی به‌دنبال داشته باشد.

## منابع مورد استفاده


1. Akhtar, M. and M. M. Alam. 1993. Utilization of waste materials in nematode control: a review, Biores. Technol. 45: 1-7.
2. Angers, D. A. and G. R. Mehuys. 1989. Effects of cropping on carbohydrate content and water stable aggregation of a clay soil. Can. J. Soil Sci. 69(2): 373-380.
3. Baker, E. G. and P. G. Mathews. 1983. Metals in sewage sludge and their potential effects in agriculture Water. Sci. Res. 15(1): 209-225.
4. Barbosa, G., J. Filho and I. Fonseca. 2004. Effect of sewage sludge on soil physical properties in a Clayey Oxisol. Semina-ciencias Agrarias 28(1): 65-69.

5. Bettiol, W. Carvalho, P. C. T. and B. J. D. Franco. 1983. Utilização do lodo de esgoto como fertilizante. O Solo. 75(1): 44-45.
6. Bremner, J. M. and C. S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-total. In: Page, A. L.(Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Madison WI.
7. Brallier, S. Smith S. R. Henry C. L. and R. B. Harrison. 1992.Seventeen Years of Muncipal Sludge Application in Forests: I. Changes in Soil Chemistry. Agronmy, Abstracts 84: 33.
8. Castagnon Sereno, P. and A. Kermarrec .1991. Invasion of tomato roots and reproduction of *Meloidogyne incognita* as affected by raw sewage sludge. Supp. J. of Nematol. 23(4s): 724-728.
9. Dong, K. Dean R. A. Fortnum B. A. and S. A. Lewis. 2001. Development of PCR primer to identify species of root knot nematode: Meloidogyne arenaria, M. hapla, M. incognita and M. javanica. Nematropica 31: 273-282.
10. Habicht, W. A. J. 1975. The nematicidal effect of varied rates of raw and composted sewage sludge as soil organic amendments on a root-knot nematode plant dis. rep. 59: 631-634.
11. Elliott L. F. and Stevenson F. J. 1977. Soil for management of organic waste and wastewater. American Society of Agronomy. Madison WI.
12. Helmke, P. A. and D. L. Sparks. 1996. Lithium, sodium, potassium, rubidium and cesium. PP. 551-574. *In*: Sparks, D.L. (Ed.), Method of Soil Analysis, Part 3. American Society of Agronomy Madison, WI.
13. Hornick, S. B. 1988. Use of organic amendments to increase the productivity of sand and gravel spoils: Effect on yield and composition of sweet corn. Am. J. of Alternative Agr. e3(4):156-162.
14. Hoitink, H. A. J and P. C. Fahy.1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts, Annu. Rev. Phytopathol 24: 93-114.
15. Jonhson, L. F. and N.S Shamiyeh. 1975. Effect of soil amendments on hatching of *Meloidogyne incognita* eggs. Phytopathol 65: 1178-1181.
16. Linford, M. B. F., J. M. Yap. 1938. Reduction of soil population of root-knot nematodes during decomposition of organic matter.Soil Sci. 45: 127-140.
17. Mannion, C. M. Schaffer B. B. Ozoreshampton M. Bryan H. H and R. Mcsorley. 1994. Nematode population dynamics in municipal solid waste-amended soil during tomato and squash cultivation. Nematropica 24: 17-24.
18. Mcsorley, R. and R. N. Gallaher. 1996. Effect of yard waste compost on nematode densities and maize yield. J. of Nematol. 28: 655-660.
19. Mian, I. H. and R. Rodriguez-kabana. 1982. Survey of the nematicidal properties of some organic materials available in Alabama as amendments to soil for control of *Meloidogyne arenaria*. Nematropica 12: 235-246.
20. Muller, R. and P. S. Gooch. 1982. Organic amendments in nematode control. An examination of the literature. Nematropica 12: 319-327.
21. Olsen, S. R. and L. E. Sommers. 1982. Phosphorus. *In*: A. L. Page R. H. Miller and D. R. Keeney (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2. American Society of Agronrmy and Soil Science Society of America, Madison, WI.
22. Proite, K. Carneiro, R. Falcao, R. Gomes, A. Leal-bertioli, S. Guimaraes, P. and D. Bertioli. 2008. Post-infection development and histopathology of *Meloidogyne arenaria* 1 on *Arachis* spp. Plant Pathol. 57: 974-980.
23. Richard, A. and C. Emilio. 2005. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture . CABI.
24. Rodriguez–kabana, R. Morgan-jones, G. and I. Chet. 1987. Biological control of nematodes: soil amendments and microbial antagonists, Plant and Soil. 100: 237-247.
25. Sabye, B. R. Rendelton, R. L. and. R. L. Webb. 1990. Effect of municipal sewage sludge application on two reclamation shrub species in copper mine spoils. J. Environ. Qual. 19: 580-586.
26. Siddiqui, I. A., Haas, D. and Heeb, S. 2005. Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Appl. and Enviro. Microb. 71, 5646-5649.
27. Silva, A. T. Penna, J. C. V. Goulart, L. R. Santos, M. A. and N. E. Arantes. 2000. Genetic variability among and within races of *Heterodera glycines* ichinohe assessed by RAPD markers. Genet. Mol. Biol. 23: 323-329.
28. Stiring, G. R**.** 1991. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes. Wallingford, UK, CAB International. 282 p.
29. Trudgill, D. L. and V. C. Block. 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: dxceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. Annu. Rev. of Phytopathol 39: 53-77.
30. Valders, J. M. GAL, M. Mingelgrin, U. and A. L. Page. 1983. Some heavy metals in soil treated with sewage sludge, their effect on yield and their uptake by plants. J. Environ .Qual. 12: 49-57.
31. Zijlstra, C. Donkers-venne, D. T. H. M. and M. Fargette. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita, M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified region (SCAR) based PCR assays. Nematol 2: 847-853.