

صلاة الاضحية



پایان نامه ی کارشناسی ارشد گرایش بیماری شناسی گیاهی

تاثیر لجن فاضلاب و پساب تصفیه شده ی شهری بر بیماری زایی نماتد
ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه فرنگی

استاد راهنما:

دکتر علی اکبر فدایی تهرانی

استادان مشاور:

دکتر مجید اولیا

دکتر حبیب الله بیگی هرچگانی

پژوهشگر:

اکرم عبداللهی ارجنکی

مهرماه ۱۳۹۱



پایان نامه خانم اکرم عبداللهی ارجنکی جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته گیاه پزشکی گرایش بیماری شناسی گیاهی با عنوان "تاثیر لجن فاضلاب و پساب تصفیه شده‌ی شهری بر بیماری زایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی" در تاریخ ۱۳۹۱/۷/۲۵ با حضور هیأت داوران زیر بررسی و با نمره ۱۹/۴۵ مورد تصویب نهایی قرار گرفت.

۱. استاد راهنمای پایان نامه

..... دکتر علی اکبر فدایی تهرانی (استادیار)

۲. استادان مشاور پایان نامه

..... دکتر مجید اولیا (استادیار)

..... دکتر حبیب الله بیگی هرچگانی (استادیار)

۳. استادان داور پایان نامه

..... دکتر عبدالحسین جمالی زواره (استادیار)

..... دکتر علیرضا حسین پور (استاد)

دکتر سید حسن طباطبائی
معاون پژوهشی و تحصیلات تکمیلی
دانشکده کشاورزی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات
و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

تقدیر و تشکر

الهی جانم تو دادی و زبانه تو دادی، جان در پروه غیرت تو آوردی، نان در طبق رحمت تو آوردی و زبان در کلام حیرت تو آوردی، از نمانده حاکم به سرای آب و خاک تو آوردی. الهی دانه عشق بر سر راه تو افکندی و دل را از نور عشق تو آگندی، گلشنهای را تو پیدا کردی، شوره با تو بر پا کردی. الهی، دست در دست توست و قلم در شست توست و سخن، مست توست، هر چه بر زبان آید گفته توست اینک که با استغانت از خدای متعال و در پر تو اطراف بی دریغ خداوندیش برگی دیگر می از دفتر زندگی ما تاهای خاطرات تلخ و شیرینش ورق خورد، به رسم ادب و سنت حسنه پاس لازم می دانم از تمام کسانی که مراد این مسیریاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایم. باین که می دانم فراتر از توان و بیان من است ولی امیدوارم که مراتب امتنان و احترام مرا پذیرا باشند.

بوسه بردستان زحمت کش پدر و چشمان دعاگوی مادر آنان که ناتوان شدند تا به توانایی برسیم... میوشان سپید شد تا رویم سفید شود... و عاشقانه سوختند تا کرم بخش وجودم و رو تشکر را بهم باشند. و حضور زیبای برادران عزیزم که شور جوانی و سرزندگی شان شادی بخش لحظات تنهاییم است.

از استاد دکتر انقدرم، جناب آقای دکتر فدائی تهرانی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از پنج گلی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و تدوین این پیمان نامه بدون حمایت و راهنمایی ایشان میسر نبود کمال تشکر و قدردانی را دارم، تشکر و قدردانی خود را در محضر ایشان را افتخار خود دانسته و سرفرازی و موفقیت روز افزونشان را از خداوند متعال خواستارم

ببخشید بر خود واجب می دانم از بذل علم و دانش اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر اولیا و جناب آقای دکتر کیلی تشکر نمایم

چنین از جناب آقای دکتر جمالی و جناب آقای دکتر حسین پور که قبول زحمت فرموده و داوری این پیمان نامه را بر عهده گرفتند، قدردانی می نمایم از نمانده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر کرباسیون کمال پاس را دارم. همچنین یاری و بهرایی مسئول محترم آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی، جناب آقای مهندس کبیری را ارج نهاده و مراتب تشکر و قدردانی خود را از این بزرگوار اعلام می نمایم از دیگر اساتید محترم گروه گیاه پزشکی جناب آقایان دکتر نعمتی، دکتر مستندی که توفیق شاکردی آنها در عرصه علم و زندگی نصیب شده بود نهایت پاسکزاری را دارم از پرسنل محترم تصفیه خانه فاضلاب و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی که نهایت بهکاری را با من داشتند کمال تشکر و امتنان را دارم

از دوستان بهرام خانم هاشم، واحدی، صحرانشین، هاشمی، ابن علی، دانشجوین بیماری شناسی ورودی ۸۸ و ۹۰ دانشجوین گروه خاک شناسی که در کنار آنها لحظات خوشی را سپری کردم صمیمانه پاسکزارم همچنین از بهکلهای مهربانم خانم هاشمی، پیرایش، رستی و جناب آقای هاشم لور که توفیق نشستن در کلاس درس در کنارشان برایم بسیار شیرین بود نهایت تشکر را داشته و موفقیت روز افزون تمامی آنها را از خداوند متعال خواستارم.

اکرم عبدالمسی

مهرماه ۱۳۹۱

تقدیم به پدر و مادر مهربانم:

که از نگاهشان صلابت

از رفتارشان محبت

و از صبرشان ایستادگی را آموختم

تقدیم به یگانه خواهرم عزیزم:

که وجودش شادی بخش و صفایش مایه آرامش من است.

تقدیم به برادرانم:

که تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات و وجودشان مایه دلگرمی من می باشد

چکیده

یکی از عوارض مهم زندگی شهرنشینی و صنعتی تولید فاضلاب و ضایعات مواد مصرفی است که باید به طریقی به چرخه مواد مورد نظر برگردند. در این میان پساب و لجن فاضلاب حاصل از تصفیه فاضلابها از اهمیت زیادی برخوردارند. یکی از راههای بازگشت محصولات اخیر به چرخه مواد استفاده آنها به منظور آبیاری و تغذیه گیاهان است. به همین علت به عنوان منابع آبی و کودی ارزان قیمت مورد توجه قرار گرفته‌اند. از طرف دیگر نمادهای انگل گیاهی خصوصاً نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* خسارت زیادی را به اغلب محصولات کشاورزی وارد می‌سازد. در این تحقیق تاثیر مصرف پساب و لجن فاضلاب بر جمعیت نماتد ریشه‌گرهی در گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تأثیر نسبت‌های مختلف پساب در آب آبیاری (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ پساب) و نسبت‌های مختلف وزنی لجن در خاک بستر (۰، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۵٪ لجن در خاک بستر) روی بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی و خسارت به گوجه‌فرنگی ارزیابی گردید. آزمایش‌های پساب و لجن به صورت طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار در شرایط گلخانه به صورت جداگانه انجام شد. ارزیابی نتایج ۹۰ روز پس از تلقیح گیاهان با نماتد و با استفاده از شاخص‌های رشدی گیاه، میزان عناصر غذایی، پارامترهای رشد و نموی نماتد و محاسبه فاکتور تولیدمثل ($Rf = Pf/Pi$) صورت گرفت. از تغییرات سلولی و بافتی ایجاد شده (اندازه و تعداد سلول غول‌آسا) نیز استفاده شد. نتایج به دست آمده موید تاثیر مثبت پساب در افزایش میزان رشد طولی گیاه بود ولی اثر کمتری روی پارامترهای رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی داشت کاربرد نسبت‌های مختلف لجن فاضلاب در خاک، علاوه بر تاثیر چشم‌گیر بر رشد گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد، اثر کاهنده روی شاخص‌های رشد و نموی نماتد داشت، به نحوی که با افزایش نسبت لجن فاضلاب تعداد گال، توده تخم و تخم در توده تخم کاهش قابل ملاحظه ای نشان داد. آبیاری با پساب و استفاده از لجن فاضلاب سبب افزایش میزان نیتروژن، فسفر، کلسیم و منیزیم در اندام هوایی گوجه‌فرنگی تلقیح شده با نماتد *Meloidogyne javanica* می‌گردد در حالی که تغییرات میزان پتاسیم بسیار اندک بود. نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر آن است که لجن فاضلاب و پساب با تأمین مواد غذایی سبب بهبود شاخص‌های رشد و نموی گیاه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی می‌شود. افزایش مذکور احتمالاً موجب بالا رفتن تحمل گیاه در برابر حمله نماتد و کاهش خسارت ناشی از آن می‌گردد. واژگان کلیدی: پساب، لجن فاضلاب، نماتد ریشه‌گرهی.

فهرست مطالب

شماره صفحه	عنوان
۶	فصل اول - مقدمه
۶	۱-۱ کلیات و اهداف تحقیق
۹	فصل دوم - بررسی منابع
۹	۱-۲ گوجه فرنگی
۱۰	۲-۲ نماتد ریشه‌گرهی (<i>Meloidogyne javanica</i>)
۱۰	۱-۲-۲ علایم خسارت نماتد ریشه‌گرهی روی گیاهان آلوده و اثرات آن
۱۰	۲-۲-۲ تاریخچه نماتد ریشه‌گرهی
۱۱	۱-۲-۲-۲ نماتد ریشه‌گرهی در ایران
۱۱	۳-۲-۲ عامل بیماری
۱۱	۱-۳-۲-۲ مشخصات افراد ماده
۱۲	۲-۳-۲-۲ مشخصات افراد نر
۱۳	۳-۳-۲-۲ مشخصات لارو
۱۳	۴-۲ زیست‌شناسی و چرخه زندگی نماتد ریشه‌گرهی
۱۴	۵-۲ مراحل ایجاد آلودگی توسط نماتد ریشه‌گرهی و چگونگی تشکیل سلول غول‌آسا
۱۴	۶-۲ کنترل نماتد ریشه‌گرهی
۱۴	۷-۲ پساب
۱۴	۱-۷-۲ تحقیقات انجام شده در مورد پساب در جهان و ایران
۱۵	۲-۷-۲ لزوم استفاده از پساب در کشاورزی
۱۶	۳-۷-۲ معایب استفاده از پساب
۱۶	۴-۷-۲ تاثیر آبیاری با پساب بر خاک
۱۸	۵-۷-۲ تاثیر آبیاری با پساب بر محصولات زراعی
۲۰	۸-۲ لجن تصفیه فاضلاب در کشاورزی
۲۱	۱-۸-۲ انواع لجن حاصل از تصفیه فاضلاب
۲۱	۲-۸-۲ اثر لجن فاضلاب بر عملکرد و رشد
۲۲	۳-۸-۲ اثر لجن فاضلاب بر خواص شیمیایی خاک
۲۵	۹-۲ اثرات پساب و لجن بر عوامل بیماری‌زایی گیاهی
۲۹	فصل سوم - مواد و روش‌ها
۲۹	۱-۳ تهیه مایه تلقیح نماتد
۲۹	۱-۱-۳ خالص سازی و تکثیر نماتد به روش تک توده تخم
۳۰	۲-۳ تعیین گونه نماتد ریشه‌گرهی
۳۰	۱-۲-۳ بررسی ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی
۳۰	۱-۱-۲-۳ بررسی شبکه کوتیکولی انتهای بدن و خصوصیات ریخت‌سنجی نماتد بالغ

۳۰	۲-۱-۲-۳ خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی لارو سن دوم
۳۰	۲-۲-۳ بررسی مولکولی
۳۰	۱-۲-۲-۳ استخراج DNA
۳۱	۲-۲-۲-۳ واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۳۲	۳-۳ استخراج نماتد از ریشه گوجه‌فرنگی جهت مایه تلقیح
۳۳	۴-۳ تهیه پساب و لجن فاضلاب
۳۳	۵-۳ آزمایش گلخانه‌ای
۳۳	۱-۵-۳ آزمایش تاثیر پساب بر نماتد ریشه‌گرهی
۳۳	۱-۱-۵-۳ آب و پساب
۳۳	۲-۱-۵-۳ خاک
۳۴	۲-۵-۳ انجام آزمایش
۳۵	۳-۵-۳ آزمایش تاثیر لجن بر نماتد ریشه‌گرهی گوجه‌فرنگی
۳۵	۶-۳ آزمایش انجام شده در شرایط آزمایشگاهی
۳۵	۱-۶-۳ آزمایش با پساب
۳۶	۲-۶-۳ آزمایش با لجن فاضلاب (عصاره لجن)
۳۷	فصل چهارم - نتایج و بحث
۳۷	۱-۴ شناسایی گونه نماتد ریشه‌گرهی
۳۷	۱-۱-۴ ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی
۳۸	۲-۱-۴ مولکولی
۳۹	۲-۴ نتایج آزمون های گلخانه‌ای
۳۹	۱-۲-۴ خصوصیات آب آبیاری و خاک
۴۰	۲-۲-۴ تاثیر پساب بر بیماری‌زایی و میزان خسارت نماتد
۴۰	۱-۲-۲-۴ ارزیابی خسارت به گوجه‌فرنگی
۴۲	۲-۲-۲-۴ ارزیابی بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی
۴۴	۳-۲-۴ آزمایش تاثیر لجن بر بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی و خسارت گوجه‌فرنگی
۴۴	۱-۳-۲-۴ ارزیابی خسارت
۴۶	۲-۳-۲-۴ ارزیابی بیماری‌زای
۴۷	۳-۳-۲-۴ ارزیابی تغییرات سلولی و بافتی
۴۹	۳-۴ نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی
۴۹	۱-۳-۴ تاثیر پساب بر جمعیت نماتد ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاهی
۵۱	۲-۳-۴ تاثیر عصاره لجن بر جمعیت نماتد ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاهی
۵۱	۴-۴ بررسی ریزجانداران موجود در عصاره لجن و پساب
۵۲	۵-۴ عناصر غذایی
۵۲	۱-۵-۴ تاثیر پساب بر عناصر غذایی
۵۵	۲-۵-۴ تاثیر لجن فاضلاب بر عناصر غذایی
۵۸	۶-۴ نتیجه گیری

شماره صفحه	عنوان
۵۹	۷-۴ پیشنهادات
۶۰	منابع

فهرست اشکال

شماره صفحه	عنوان
۱۱	شکل ۱-۲ نماتد ماده جنس <i>Meloidogyne</i> (پری و مونز، ۲۰۰۶)
۱۱	شکل ۲-۲ نماتد نر جنس <i>Meloidogyne</i> (پری و مونز، ۲۰۰۶)
۳۷	شکل ۱-۴ شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i>
۳۷	شکل ۲-۴ تکثیر قطعات اختصاصی DNA گونه در واکنش PCR
۴۰	شکل ۳-۴ مقایسه میزان رشد و نمو گوجه‌فرنگی آبیاری شده با نسبت‌های مختلف پساب
۴۲	شکل ۴-۴ میانگین تعداد تخم در توده تخم ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> آبیاری شده با نسبت‌های مختلف پساب
۴۴	شکل ۵-۴ مقایسه طول ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب
۴۴	شکل ۶-۴ میانگین تعداد توده تخم و گال در ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> در نسبت‌های مختلف لجن
۴۸	شکل ۷-۴ میانگین اندازه سلول‌های غول‌آسا در ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب
۵۲	شکل ۸-۴ ارتباط غلظت نیتروژن کل گیاه با نسبت‌های مختلف پساب
۵۲	شکل ۹-۴ ارتباط غلظت فسفر گیاه با نسبت‌های مختلف پساب
۵۵	شکل ۱۰-۴ تاثیر تیمارهای مختلف لجن بر غلظت نیتروژن کل خاک
۵۵	شکل ۱۱-۴ تاثیر تیمارهای مختلف لجن بر غلظت فسفر گیاه

فهرست جداول

شماره صفحه	عنوان
۳۱	جدول ۳-۱ برنامه دمایی PCR مربوط به جفت آغازگر اختصاصی Mjavf /Mjavr و OPARjav / OPAFjav
۳۸	جدول ۴-۱ برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پساب و آب چاه مورد استفاده
۳۹	جدول ۴-۲ برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اولیه و لجن قبل از اعمال تیمار
۳۹	جدول ۴-۳ تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی و آبیاری با درصدهای مختلف پساب
۴۰	جدول ۴-۴ مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی در تیمارهای مختلف پساب
۴۱	جدول ۴-۵ تجزیه واریانس شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> در تیمارهای مختلف پساب
۴۲	جدول ۴-۶ مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> روی گوجه‌فرنگی‌های آبیاری شده با نسبت‌های مختلف پساب
۴۳	جدول ۴-۷ تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> در سطوح مختلف لجن فاضلاب
۴۳	جدول ۴-۸ مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی تلقیح شده با نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب
۴۵	جدول ۴-۹ تجزیه واریانس شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب
۴۵	جدول ۴-۱۰ مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> گوجه‌فرنگی در نسبت‌های مختلف لجن فاضلاب
۴۷	جدول ۴-۱۱ تجزیه واریانس تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسای ریشه، ناشی از حمله نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب
۴۷	جدول ۴-۱۲ مقایسه میانگین تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسای ریشه، ناشی از حمله نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i> در تیمارهای مختلف لجن فاضلاب
۴۸	جدول ۴-۱۳ مقایسه میانگین تاثیر دوره‌های زمانی و غلظت‌های مختلف پساب بر درصد مرگ و میر تخم نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i>
۴۹	جدول ۴-۱۴ مقایسه میانگین اثرات غلظت‌های مختلف پساب جوشیده و پساب اسیدی شده بر میزان مرگ و میر تخم نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i>
۵۰	جدول ۴-۱۵ مقایسه میانگین تاثیر عصاره نسبت‌های مختلف لجن در دوره‌های زمانی متفاوت روی درصد مرگ و میر تخم نماتد ریشه‌گرهی <i>M. javanica</i>
۵۱	جدول ۴-۱۶ میانگین غلظت عناصر غذایی تیمارهای مختلف پساب در گیاه
۵۳	جدول ۴-۱۷ میانگین غلظت عناصر غذایی تیمارهای مختلف پساب در خاک
۵۴	جدول ۴-۱۸ میانگین غلظت عناصر غذایی تیمارهای مختلف لجن فاضلاب در گیاه
۵۶	جدول ۴-۱۹ میانگین غلظت عناصر غذایی تیمارهای مختلف لجن در خاک

فصل اول

مقدمه

۱- کلیات و اهداف تحقیق

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Lycopersicon esculentum* گیاهی یک‌ساله از خانواده‌ی بادمجانیان (Solanaceae) است که بومی آمریکای مرکزی و ساحل غربی آمریکای جنوبی می‌باشد. (هلفیر و باردن، ۱۹۷۹ و نصوحی و کوشکی، ۱۳۸۰). افزایش روزافزون تقاضای مصرف این محصول موجب گسترش سطح زیرکشت آن در شرایط مزرعه و گلخانه و جلب سرمایه‌گذاری وسیع در تولید آن شده است. تولیدگوجه‌فرنگی مانند بسیاری از محصولات کشاورزی دیگر با چالش‌های متعددی همچون عدم رعایت اصول صحیح کشاورزی در مراحل کاشت، داشت و برداشت و نیز مشکلات ناشی از خسارت آفات، بیماری‌ها، نماتدها و علف‌های هرز، روبرو می‌باشد که در این میان حمله بیماری‌های گیاهی و خسارت ناشی از آن‌ها از اهمیت اقتصادی و استراتژیک بالایی برخوردار می‌باشد. نماتدهای انگل گیاهی به‌ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne spp.*) از جمله عوامل بیماری‌زایی هستند که به اغلب محصولات زراعی حمله کرده و باعث خسارت اقتصادی زیادی می‌شوند. انتشار جهانی، دامنه‌ی میزبانی وسیع و تعامل با سایر انگل‌های گیاهی در ایجاد بیماری‌های مرکب، نماتدهای ریشه‌گرهی را در رده‌ی مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی قرار داده است که تأمین منابع غذایی جهان را تهدید می‌نمایند. خسارت ناشی از این نماتدها در جهان بیش از ۱۰٪ تخمین زده شده است (خویی، ۱۳۸۷).

خسارت این نماتدها در محصول گوجه‌فرنگی در مناطق گرمسیری تا ۳۸٪ برآورد شده است. خسارت بالای این نماتدها و اهمیت محصول، موجب شده است که تلاش زیادی برای مهار آن صورت گیرد. (ریچارد و امیلیو، ۲۰۰۵).

در ایران نیز تاکنون چندین گونه از این نماتد روی محصولات مختلف گزارش شده است که بیشترین شیوع را گونه *M. javanica* داشته است. (دامادزاده، ۱۳۸۶). روش‌های فیزیکی (مانند آفتاب‌دهی خاک و غرقاب کردن خاک)، روش‌های زراعی (تناوب زراعی، حذف علف‌های هرز و ...) و روش‌های شیمیایی (ضدعفونی خاک، محلول‌پاشی روی گیاه) از جمله روش‌های مدیریت این گروه از نماتدها به شمار می‌روند. (الهی‌نیا، ۱۳۸۴). با این حال به دلیل محدودیت‌هایی که هر یک از روش‌های فوق دارند، هیچ یک روش قاطع و مؤثری برای مبارزه محسوب نمی‌شوند. یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود معطوف کرده است استفاده از مواد آلی برای اصلاح خاک و کاهش تراکم جمعیت نماتدهای انگل گیاهی است. (لینفورد و همکاران، ۱۹۳۸).

استفاده از خاک‌های آلی اصلاح‌شده موجب کنترل قابل توجه عوامل بیماری‌زای گیاهی خصوصاً قارچ‌های خاکزی و نماتد ریشه‌گرهی می‌گردد. (کاستانگوسرینو و کرمارک ۱۹۹۱، هیپچت ۱۹۷۵، مانیون ۱۹۹۴) کاربرد پساب شهری به‌عنوان یک منبع آب آبیاری در سراسر جهان در سال‌های اخیر رایج گردیده است. منبع مذکور، علاوه بر آب به تأمین مواد غذایی مورد نیاز جهت تولید علوفه در چراگاه‌ها، تولید میوه و برخی محصولات خوراکی مانند سبزیجات، کمک کرده است. (وان‌دگراف و همکاران، ۲۰۰۲). علیرغم آنکه استفاده از پساب برای آبیاری می‌تواند تأثیراتی بر ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک داشته باشد، در نواحی خشک و نیمه‌خشک به علت فقدان منابع آب شیرین کافی، استفاده از پساب جهت آبیاری عملی رایج به شمار می‌رود. (جمالی و همکاران، ۲۰۰۸). از طرفی تأثیر مصرف پساب شهری بر تفریح تخم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی نشان دهنده جلوگیری از تفریح تخم در تمامی غلظت‌ها است و با افزایش میزان غلظت پساب نرخ سرکوب تفریح تخم‌ها افزایش می‌یابد. (ال-هازمی و همکاران، ۱۹۹۴)

لجن فاضلاب که محصول فرعی فرآیند تصفیه فاضلاب به شمار می‌رود و خصوصیات آن بستگی به کیفیت فاضلاب و نوع فرآیندهای اصلاحی دارد، یک ماده آلی محسوب می‌شود. لجن فاضلاب غنی از عناصر غذایی است، و هر چند امکان استفاده آن بعنوان یک جایگزین کود وجود دارد ولی وفور عناصر سنگین، اغلب استفاده آنها را محدود می‌کند (سینگه و اگروال، ۲۰۰۸). کاهش اسیدیته خاک، افزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی، حفاظت خاک از فرسایش، افزایش موجودات خاک‌زی مفید، کاهش مصرف کود و آفت‌کش‌ها، بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک و حذف ضایعات آلی از مزایای دیگر استفاده از لجن فاضلاب در زمین‌های کشاورزی ذکر شده است (یونگ جی و یانگ شنگ، ۲۰۰۵).

آبیاری با پساب فاضلاب اثرات متفاوتی روی ریزجانداران خاک که بخش مهمی از آنها را عوامل بیماری‌زای گیاهی تشکیل می‌دهند، داشته است. در موارد زیادی آبیاری با پساب موجب افزایش جمعیت بعضی از قارچ‌های بیماری‌زا در خاک شده است. در بررسی تأثیر لجن فاضلاب روی پاتوزن‌های خاکزاد مشاهده شده است که تأثیر لجن فاضلاب با توجه به نوع پاتوزن می‌تواند متفاوت باشد. (بریدگ و کابلر، ۱۹۵۷) کاهش جمعیت نماتد در نتیجه‌ی افزودن کمپوست لجن به خاک نیز اغلب با نتایج متناقض همراه بوده است. عوامل زیادی همچون گونه نماتد، ترکیب شیمیایی کمپوست، نسبت نیتروژن به کربن در کمپوست و فاصله‌ی بین کاربرد مواد آلی و ارزیابی جمعیت نماتد در نحوه تأثیر مواد آلی دخالت داشته است. با این حال بهبود تحمل گیاه نسبت به نماتد و در نتیجه کاهش جمعیت نماتدها از مواردی است که در تحقیقات زیادی به آن اشاره شده است. (گالاهر و مکسورلی، ۱۹۹۴)

هدف از این پژوهش بررسی اثرات پساب و لجن فاضلاب شهری شهرستان شهرکرد روی میزان حساسیت یا تحمل گوجه‌فرنگی به نماتد ریشه‌گرهی و شدت بیماری‌زایی نماتد مذکور روی این گیاه می‌باشد. لذا ابتدا اثرات استفاده از پساب بعنوان آب آبیاری روی بیماری‌زایی نماتد *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی مورد آزمون قرار می‌گیرد و سپس اثرات لجن فاضلاب روی تحمل گیاه به نماتد مذکور بررسی می‌شود.

فصل دوم

بررسی منابع

نماتدهای انگل گیاهی یکی از گروه‌های عوامل بیماری‌زایی هستند که در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی آنها انجام شده است، زیرا علاوه بر خسارت مستقیمی که به کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی وارد می‌سازند با انتقال عوامل بیماری‌زای دیگر و شرکت در بیماری‌های مرکب، به صورت غیرمستقیم نیز در کاهش راندمان تولیدات کشاورزی نقش دارند. بنابراین مدیریت این گروه از عوامل بیماری‌زا و به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی در فهرست اهداف اصلی متخصصین این رشته از علم قرار گرفته است. استفاده از روش‌های مختلف زراعی و شیمیایی هر چند در موارد زیادی توانسته است خسارت این نماتدها را کاهش دهد، ولی محدودیت‌ها و خطرات زیست محیطی هر یک از روش‌های فوق باعث ادامه تلاش جهت جستجوی روش‌های مؤثرتر و کم‌خطرتر برای مدیریت این گروه از عوامل بیماری‌زای مهم شده است.

۲-۱ گوجه‌فرنگی

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Lycopersicon esculentum L.* گیاهی یک‌ساله از خانواده‌ی بادمجانیان (Solanaceae) است. این گیاه بومی آمریکای مرکزی و ساحل غربی آمریکای جنوبی می‌باشد. (هلفیر و باردن، ۱۹۷۹ و نصوحی و کوشکی، ۱۳۸۰) سطح زیرکشت این محصول در جهان، ۴ میلیون هکتار و تولید سالانه‌ی آن ۱۲۵ میلیون تن است. در حال حاضر سهم ایران، سطح زیرکشتی معادل ۱۴۰ هزار هکتار با تولید ۵ میلیون و ۳۰۰ هزار تن می‌باشد. عدم رعایت اصول صحیح کشاورزی در مراحل کاشت، داشت و برداشت و نیز مشکلات ناشی از خسارت آفات، بیماری‌ها، نماتدها و علف‌های هرز، از جمله عواملی هستند که کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی در مناطق مختلف تحت کشت این محصول را به دنبال دارند. (ریچارد و امیلیو، ۲۰۰۵)

نماتدها به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne spp.*) سهم عمده‌ای را در این کاهش به عهده دارند (چن و رابرت، ۲۰۰۳). برآورد خسارت این نماتدها در محصول گوجه‌فرنگی در مناطق گرمسیری حدود ۳۸ درصد تخمین زده می‌شود. به دلیل بالا بودن میزان خسارت این نماتدها و اهمیت محصول، تلاش زیادی در جهت مهار این بیمارگرها صورت گرفته و یا در حال انجام می‌باشد (ریچارد و امیلیو، ۲۰۰۵).

۲-۲ نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne spp.*)

گونه‌های جنس *Meloidogyne* از مهم‌ترین گونه‌های نماتدهای انگل گیاهی در جهان به شمار می‌روند که به دلیل ایجاد رشد ناهنجار یا گال‌های مشخص روی ریشه گیاهان آلوده، به نماتد ریشه‌گرهی معروف می‌باشند (شکل ۱-۲). نماتدهای ریشه‌گرهی به اغلب محصولات زراعی حمله می‌نمایند و سبب آلودگی بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی می‌گردند (موسوی، ۲۰۱۰). وسعت دامنه‌ی میزبانی، پراکندگی جهانی و تعامل با سایر انگل‌های گیاهی در بیماری‌های مرکب، آن‌ها را در رده‌ی مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی قرار داده است که تأمین منابع غذایی جهان را تهدید می‌نمایند (هوسی و جنسن، ۲۰۰۲).

۲-۲-۱ علائم خسارت نماتد ریشه‌گرهی روی گیاهان آلوده و اثرات آن

هر چند زردی و پژمردگی، کوتولگی و کم‌رشدی، تغییر فیزیولوژی گیاه میزبان و کاهش عملکرد و کیفیت محصول از علائم معمول آلودگی نماتد ریشه‌گرهی روی قسمت‌های هوایی گیاهان می‌باشند ولی مهم‌ترین اثر آلودگی نماتد ریشه‌گرهی کاهش عمومی در روند رشد گیاه میزبان است. علائم آلودگی در اندام‌های هوایی گیاهان میزبان بصورت کاهش یا توقف رشد بخش‌های مختلف گیاه، پژمردگی، پیری زودرس، کاهش تولید میوه و محصول و یا علائم زردی شبیه به کمبود عناصر معدنی ظاهر می‌شود. علائم زردی معمولاً در اثر خسارت ریشه و اختلال در سنتز یا حرکت هورمون‌های رشد میزبان مانند سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها ایجاد شده و در نهایت منجر به کاهش فتوسنتز در گیاه می‌گردد. گره‌دار شدن ریشه از علائم بارز بیماری در اندام‌های زیرزمینی گیاهان آلوده می‌باشد که در نتیجه رشد و تکثیر غیرمعمول سلول‌ها در اثر تحریک نماتد حاصل می‌گردند. فعالیت نماتد روی گیاه در نهایت باعث مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی در سراسر گیاه شده و اثرات آن به صورت ممانعت از رشد، کاهش مواد ذخیره‌ای و نقصان محصول ظاهر می‌شود (دنيس و همکاران، ۲۰۰۴ و دامادزاده، ۱۳۸۶).

۲-۲-۲ تاریخچه نماتد ریشه‌گرهی

نماتد ریشه‌گرهی، دومین جنس از نماتدهای انگل گیاهی بود که توسط برکلی در سال ۱۸۵۵ میلادی در کشور انگلستان شناسایی شد و آن را *Vibrio* نامید. گلدی در سال ۱۸۷۷ گونه‌ای خاص از این نماتد را تحت نام *Meloidogyne exigua* از روی ریشه درخت قهوه گزارش کرد در سال ۱۸۷۹، کورنو این نماتد را تحت عنوان *Anguillia marion* تشریح نمود. سپس در سال ۱۸۸۹ میلادی آتکینسون با توضیح چرخه زندگی این نماتد، نام *Heterodera radicola* را انتخاب نمود که این نام چند دهه مورد استفاده قرار گرفت و سرانجام نام پیشنهادی *Meloidogyne spp.* که توسط گلدی در سال ۱۸۹۲ عنوان شد مقبولیت عمومی پیدا کرد. (پری و همکاران، ۲۰۱۰)

۲-۲-۱- نماتد ریشه‌گرهی در ایران

در ایران این نماتد در سال ۱۳۳۵، توسط قوام‌الدین شریف، روی ریشه گوجه‌فرنگی در باغ کشاورزی قصرشیرین مشاهده و به نام *Heterodera marioni* نام گذاری شد. سپس در سال ۱۹۶۸، امیدوار آن را از سایر مناطق کشاورزی ایران گزارش و پراکندگی سه گونه از نماتدهای ریشه‌گرهی *M. arenaria*، *M. hapla* و *incognita* را مشخص کرد. (باروتی، ۱۳۵۳)

در سال ۱۹۷۲، خیری *M. arenaria* را از گیلان گزارش نمود خیری، باروتی و ابیوردی، گونه *M. incognita* را از گیلان، اصفهان و فارس گزارش کردند. گونه *M. hapla* توسط ابیوردی و همکاران در سال ۱۹۷۹ از فارس گزارش شده است، بررسی‌های بیشتر نشان داده است که گونه *M. javanica* به طور وسیعی پراکندگی دارد و از گیلان، اصفهان و فارس گزارش شده است. (مجتهدی و باروتی، ۱۳۵۵) اخیانی و همکاران (۱۳۶۳) تحقیقاتی در مورد گونه‌ها و نژادهای نماتد ریشه‌گرهی در ایران انجام دادند، که طی این پژوهش مشخص شد که نماتد *M. javanica* رایج‌ترین گونه در سطح کشور و پس از آن به ترتیب گونه‌های *M. incognita*، *M. arenaria* و *M. hapla* غالب هستند.

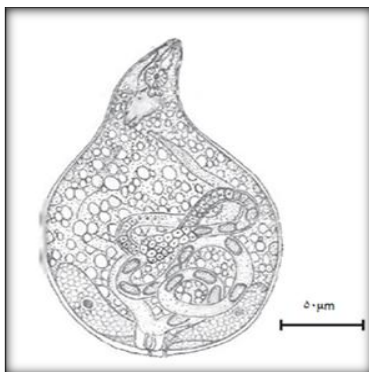
۲-۲-۳- عامل بیماری

نماتدهای عامل ریشه‌گرهی گونه‌های جنس *Meloidogyne* هستند که در زیرخانواده Meloidogyninae از خانواده Heteroderidae، فوق‌بالاخانواده Tylechomorpha از زیرراسته Tylenchina و راسته Rhabditida تحت زیررده Chromadoria از رده Chromadorea در شاخه Nematoda قرار دارند (دی‌لی و بلاکستر ۲۰۰۲ و ایزنیک و تریانتافیلو، ۱۹۹۱).

۲-۲-۳-۱- مشخصات افراد ماده

از نظر ظاهری ماده‌های بالغ این نماتدها فلاسکی شکل، با گردن کوتاه و فاقد دم و به طول حدود ۰/۵ و عرض ۰/۳ تا ۰/۴ میلی‌متر هستند که انگل داخلی ساکن ریشه به شمار می‌روند. سر کوچک و دارای سه شیار عرضی است. استایلت باریک و ظریف، طول آن ۱۲ تا ۱۵ میکرومتر، از طرف پشتی خمیده و دارای گره‌های مشخص می‌باشد. مری شامل یک حباب میانی کروی مشخص با ورقه‌های هلالی شکل بزرگ است. غده‌های انتهایی مری بزرگ، به هم فشرده و متراکم، نزدیک به حباب میانی مری و روی روده را می‌پوشاند. مجرای غده پشتی مری، دقیقاً پشت اتصال آن به مری دیده می‌شود. مجرای ترشچی در قسمت جلوی بدن، خیلی جلوتر از گره‌های استایلت و گاهی دقیقاً در پشت گره‌ها به بیرون باز می‌شود. روده فرمش را در ماده‌های بالغ از دست می‌دهد و به راست روده متصل نمی‌شود. دارای دو تخمدان گسترده و پیچیده که بیشتر فضای حفره بدن را اشغال می‌کند. شش غده تک سلولی مخرجی بزرگ در انتهای بدن وجود دارد که به راست روده متصل هستند و در زمان تخم‌ریزی مقدار زیادی ماده ژلاتینی تولید می‌کنند. ترشحات این غده‌ها تشکیل یک کیسه تخم را داده که تخم‌های زیادی در آن جای می‌گیرند. رحم‌های تخمدان‌ها در قسمت جلو فرج به همدیگر متصل می‌شوند. تخم‌ها در کیسه تخم بزرگی که به وسیله سلول‌های اطراف راست روده ترشح می‌شوند، گذاشته می‌شوند. ضخامت کوتیکول بدن ماده‌ها در بعضی گونه‌ها ممکن است به ۳۰ میکرومتر نیز برسد. طرح مشخصی از شیارهای اطراف فرج و مخرج برای شناسایی گونه‌ها به کار می‌رود.

(جعفرپور و مهدیخانی، ۱۳۷۵ و ایزنیک و تریانتافیلو، ۱۹۹۱). تخم‌های نماتد ریشه‌گرهی از نظر شکل و اندازه متنوع هستند اما معمولاً ۹۵ میکرومتر طول و ۴۵ میکرومتر قطر دارند. پوسته تخم دارای پوسته بیرونی، لایه میانی و لایه درونی است. خاصیت ضخیم و ستر بودن آن سبب مقاومت تخم‌ها به مواد شیمیایی و سموم نماتدکش می‌شود (پری و مونز، ۲۰۰۶).



شکل ۱-۲ نماتد ماده جنس *Meloidogyne* (پری و مونز، ۲۰۰۶)

۲-۳-۲-۲ مشخصات افراد نر

نماتدهای نر، کرمی شکل و فاقد بورسای می‌باشند. نرهای بالغ کشیده و بلند بوده و به آهستگی در خاک حرکت می‌کنند. طول بدن آن‌ها متغیر است و حداکثر طول بدن به ۲ میلی‌متر می‌رسد. سر هم‌تراز بدن و طول استایلت در نرها غالباً دو برابر استایلت ماده‌ها می‌باشد. دم نرها کوتاه و گرد و در قسمت عقبی بدن به اندازه ۱۸۰ درجه چرخیده و پیچ‌خورده می‌باشد. غده‌های انتهایی مری اغلب از طرف شکمی، ابتدای روده را می‌پوشاند. شبکه کوتیکولی سر دارای رشد متوسط می‌باشد. دستگاه تناسلی دارای یک بیضه و در شرایط نامساعد رشدی دارای دو بیضه می‌باشد. اسپیکول باریک، و طول آن ۲۵ تا ۳۳ میکرومتر و طول گوبرناکولوم ۷ تا ۱۱ میکرومتر است. فاسمیدها ته سنجاقی و نزدیک به منفذ دفعی تناسلی می‌باشند (جعفرپور و مهدیخانی، ۱۳۷۵ و پری و مونز، ۲۰۰۶).



شکل ۲-۲ نماتد نر جنس *Meloidogyne* (پری و مونز، ۲۰۰۶)