

تأثیر باکتری *Anguina tritici* بر تحرک و کارائی لارو سن دو نماتد *Rathayibacter tritici* در انتقال باکتری عامل خوشه صمغی گندم

نوازاله صاحبانی^۱، احمد خیری^۱، حشمت‌اله رحیمیان^۲ و عباس شریفی تهرانی^۱

چکیده

تأثیر باکتری (*Rathayibacter tritici*) بر تحرک و کارایی نماتد (*Anguina tritici*) در انتقال باکتری عامل خوشه صمغی گندم طی چندین آزمایش گلخانه‌ای و آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش‌ها مشخص شد قرار گرفتن لاروهای سن دو این نماتد در معرض غلظت‌های زیاد باکتری (بیش از 10^3 CFU) یا مدت زمان طولانی تماس نماتد - باکتری (بیش از یک ساعت) منجر به کاهش تحرک نماتد و کاهش کارایی آن به عنوان ناقل باکتری می‌گردد. میزان تحرک نماتد در غلظت‌های کمتر از 10^3 CFU و مدت زمان تماس کمتر از نیم ساعت با شاهد (نماتد تیمار شده با آب مقطر استریل) اختلاف معنی دار نداشت. در این ارزیابی همچنین نشان داده شد که حرکت نماتد به سمت کلنی باکتری کاملاً تصادفی بوده و هیچ‌گونه جهت گیری، جلب یا گریز نسبت به آن مشاهده نشد. با توجه به این که نماتد ناقل اخلاقی باکتری می‌باشد و وجود آن برای انتقال باکتری به خوشه (محل آلوودگی) ضروری است، این احتمال وجود دارد که باکتری بتواند نماتد را نیز پارازیته نماید. یا به عبارت دیگر نماتد خود از میزان‌های جانوری این باکتری باشد، که در مسیر تکاملی و ارتباط متقابل نماتد - باکتری و باکتری - گیاه و مناسب تر بودن میزان گیاهی، بیماری زایی آن روی گیاه تشید شده است.

واژه‌های کلیدی: بیماری خوشه صمغی گندم، نماتد گالزاری بذر گندم، تحرک نماتد، ناقل

مقدمه

پس از پیدا کردن و صعود نمودن از آن، خود را به خوشه (محل آلوودگی) برساند. در صورتی که نماتد در پاییز نتواند میزان خود را بیابد، قادر است تا کشت بهاره میزان، از اندوخته غذایی خود استفاده نماید. علاوه بر این، لارو سن دو نماتد، ناقل برخی پاتوژن‌های گیاهی از جمله باکتری‌های عامل خوشه

laro سن دو نماتد *Anguina tritici* (Steinbuch 1799) علاوه بر گذراندن شرایط سخت محیطی، Chitwood 1935 مرحله آلووده کنندگی (Infective stage) این نماتد نیز می‌باشد. در این مرحله نماتد قادر است میزان خود را جستجو نموده و

۱. به ترتیب دانشجوی سابق دکتری و استادان گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۲. استاد گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی ساری، دانشگاه مازندران

سطحی، و پس از شستشو با آب مقطر استریل، به مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر استریل قرار داده شدند. در این مدت درصد زیادی از لاروها خارج گردید ولی برای خارج شدن بقیه لاروها از گال، به وسیله پنس، گالها را متلاشی نموده و پس از ۲۴ ساعت با استفاده از روش قیف بیرمون لاروهای زنده و فعال جداسازی شدند.

برای تهیه لاروهای عاری از باکتری خوش صمغی، ابتدا لاروها به مدت ۲ ساعت در معرض غلظت ۲۰۰۰ واحد در میلی لیتر آنتی بیوتیک پنی سیلین قرار داده شد (۱)، سپس برای اطمینان از استریل شدن، تعدادی از لاروها روی محیط NBYA (حاوی ۲۳ گرم نوتریت آگار، ۵ گرم عصاره مخمر و ۲۰ گرم گلوكز در یک لیتر آب مقطر) قرار داده شد. با وجودیکه روی محیط کشت فوق هیچ گونه باکتری رشد نکرد، ولی برای اطمینان از عاری بودن نماتد از باکتری و عدم تأثیر سوء آنتی بیوتیک بر نماتد، جمعیت ۲۰۰۰۰ از این لاروهای استریل شده در زمان کاشت بذر در گلدانهای حاوی خاک استریل مایه کوبی گردید و گالهای به دست آمده از این گیاهان، برای آزمایش ها مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه مایه تلقیح باکتری

مقداری صمغ از خوش گیاهان آلوده به باکتری خوش صمغی (تهیه شده از منطقه شهرضا) جدا و پس از حل کردن در آب مقطر استریل حدود یک دهم میلی لیتر آن روی محیط کشت NBYA کشت داده شد و به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. کلنی های زرد مایل به نارنجی باکتری پس از سه روز به صورت ته سنجاق (Pin point) ظاهر شد و پس از پنج روز به قطرحدود یک میلی متر رسید. شناسایی باکتری بر اساس آزمون های افتراقی بین گونه های جنس *Rathayibacter* (ایجاد کننده خوش صمغی گندم) (جدول ۱) انجام شد (۱۵). پس از تهیه سوسپانسیون باکتری در آب مقطر استریل، با استفاده از روش سریال رقت، تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی (Colony Forming Unit) (CFU)

صمغی گندم ۱۹۹۳ و *Rathayibacter tritici* Zgurskaya ۱۹۹۳ و *R. iranicus* Zgurskaya ۱۹۹۳ شدن خوش و برگ گندم و قارچ عامل پیچیدگی و سیاه *Dilophospora alopecuri* (Fr.) Fr. می باشد. مک کلور و اسپیگل (۷) طبیعت چسبیدن باکتری های عامل خوش صمغی و عامل بیماری Annual ryegrass toxicity (ARGT) را به کوتیکول نماتدهای *Anguina tritici* و *A. funsta* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نشان داده اند. آنها هم چنین نشان داده اند که باکتری بعد از اتصال به کوتیکول نماتد برای چسبیدن محکم تر، با ترشح آنزیم های خارج سلولی، خارجی ترین لایه پوست (Epicuticle) نماتد را لیز نموده و باکتری (کپسول باکتری) مقداری در این ناحیه فرو می رود. رایلی و مک کی (۱۱) نشان داده اند که باکتری عامل ARGT، تنها به لاروهای سن دو این نماتد می چسبد. آنها هم چنین به نقش لکتینی (Lectin) پوشش سطحی نماتد (Surface coat) در چسبیدن اولیه باکتری به نماتد اشاره کرده اند. نقش لکتینی پوشش سطحی در چسبیدن باکتری *Meloidogyne incognita* به نماتدهای *Pasteuria penetrans* و *Meloidogyne javanica* نیز مشخص شده است (۲ و ۵). محققین در تحقیقات خود در مورد گالهای نماتد گندم و بولاف آلوده به باکتری خوش صمغی، به این نکته اشاره کرده اند که همواره درصد قابل توجهی از لاروهایی که از این نوع گالها استخراج می شوند، ضعیف یا مرده هستند (۴، ۶، ۸، ۹، ۱۰، ۱۲ و ۱۴) ولی علت آن تاکنون بررسی نشده است. در این تحقیق سعی شده تأثیر باکتری *Rathayibacter tritici* بر تحرک نماتد *Anguina tritici* و کارایی آن در انتقال باکتری عامل خوش صمغی گندم بررسی شود.

مواد و روش ها

تهیه مایه تلقیح نماتد (J2)

برای تهیه مایه تلقیح نماتد *Anguina tritici* (لارو سن دو)، تعدادی گال با محلول ۱۰ درصد وايتکس تجاری (حاوی ۵ درصد هیپو كلریت سدیم فعال) به مدت دو دقیقه ضد عفونی

جدول ۱. برخی خصوصیات افتراقی دو گونه *Rathayibacter tririci* و *R. iranicus*

| <i>Rathayibacter tririci</i> | <i>Rathayibacter iranicus</i> | خصوصیات |
|------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| - | + | استفاده از : اینولین |
| - | + | سباسینات |
| - | + | تولید اسید از : گلوکز |
| - | + | فروکتوز |
| - | + | سوکروز |
| - | + | درصد تحمل نمک طعام ۵٪ |
| - | + | MR |

+ : جواب مثبت - : جواب منفی

استریل قرار داده شده بودند. گلдан‌های مورد آزمایش از نوع پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتی متر و گنجایش حدود ۷۵۰ گرم خاک بود. در هر گلدان فقط یک گیاه کشت گردید. این گلدان‌ها در گلخانه تحقیقاتی گروه گیاهپژوهی دانشگاه تهران، با درجه حرارت حداقل 2 ± 2 و حداکثر 3 ± 22 درجه سانتی‌گراد و مرتبط با محیط باز قرار داده شد. بذر گندم مورد استفاده رقم قدس (Qods) بود که از مؤسسه تحقیقات و اصلاح بذر تهیه شده بود. تمامی بذرها قبل از کاشت به مدت ۳۰ روز در چهار درجه سانتی‌گراد ورنالیزه شدند. این آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تکرار انجام شد.

تأثیر باکتری خوشی صمغی بر تحرک نماد
در این آزمایش نیز ابتدا لاروهای عاری از باکتری در هفت ظرف با غلظت‌های 10^4 ، 10^5 و 10^7 CFU باکتری برای مدت زمان‌های نیم، یک، دو، چهار، شش و هشت ساعت به طور جداگانه به عنوان تیمارهای آزمایش تماس داده شدند. سپس بلافارسله پس از سپری شدن زمان تعیین شده، لاروهای هر کدام از تیمارها روی الک چندین بار با آب مقطر استریل کاملاً شستشو داده شد. سپس جمعیت 25000 میکرون (۴۰۰ مش) استریل، چندین بار با آب مقطر استریل کاملاً شستشو داده شد. سپس جمعیت 38 میکرون (۳۸ مش) از هر ظرف به ازای هر گیاه از هر کدام از ظروف (به عنوان تیمارهای آزمایش) به طور جداگانه در زمان کاشت بذر در نزدیک ترین فاصله از بذر به خاک استریل هر گلدان اضافه شد. شاهد در این آزمایش شامل لاروهایی بودند که در تماس با آب مقطر

آن متناسب با هر آزمایش تعیین گردیده و مورد استفاده قرار گرفت.

تأثیر باکتری *Rathayibacter tritici* بر کارایی انتقال و میزان بیماری نماد

آلوده سازی خاک با نماتدهای تیمار شده با باکتری عامل خوشی صمغی گندم: در این آزمایش ابتدا جمعیت‌هایی از لاروهای عاری از باکتری در هفت ظرف جداگانه در سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^9 CFU قرار داده شد. تیمارهای آزمایش بر حسب مدت زمان تماس نماد با باکتری تعیین گردید. به طوری که ظرف اول به مدت نیم ساعت، ظرف دوم به مدت یک ساعت و به ترتیب ظروف بعدی دو، سه، چهار، شش، هشت ساعت در تماس با باکتری بودند. بلافارسله پس از سپری شدن زمان تعیین شده، لاروهای هر کدام از تیمارها روی الک با روزن 38 میکرون (۳۸ مش) استریل، چندین بار با آب مقطر استریل کاملاً شستشو داده شد. سپس جمعیت 25000 لارو به ازای هر گیاه از هر کدام از ظروف (به عنوان تیمارهای آزمایش) به طور جداگانه در زمان کاشت بذر در نزدیک ترین فاصله از بذر به خاک استریل هر گلدان اضافه شد. شاهد در این آزمایش شامل لاروهایی بودند که در تماس با آب مقطر

تشخیص داده شد. نماتد گالزای بذر گندم نیز پس از استخراج از گالهای سبز تیره که حاوی نماتدهای بالغ بودند و بر اساس خصوصیات مرفلولوژیکی و مرفومتریکی، گونه *Anguina tritici* تشخیص داده شد(۱۳).

در آزمایش تأثیر باکتری بر بیماری زایی نماتد، که در آن نماتد در زمان‌های مختلف در تماس با باکتری قرار داده شده بود، علائم بیماری خوش‌شمگی گندم در تیمارهای نیم ساعت تا شش ساعت تماس، در گیاهان ظاهر گردید. میزان بیماری، با مدت زمان تماس نماتد با باکتری رابطه معکوس داشت. کاهش در میزان بیماری خوش‌شمگی از تیمار دو ساعت تماس به بعد به طور معنی دار ادامه داشت، به طوری که در تیمار هشت ساعت تماس نماتد با باکتری، هیچ گونه بیماری ظاهر نگردید. در گیاهان شاهد که با نماتدهای بدون تماس با باکتری مایه‌کوبی شده بود، علایم بیماری نماتدی به صورت تشکیل گال ظاهر گردید. میزان بیماری در تیمار نیم ساعت تماس با میزان بیماری نماتدی(تشکیل گال) در گیاهان شاهد تفاوت معنی دار نداشت. (جدول ۲، شکل ۱). میزان بیماری در تیمار نیم ساعت تماس، بدون اختلاف معنی دار نسبت به تیمار یک ساعت تماس (کلاس a) و با اختلاف معنی دار نسبت به تیمارهای بعد، دارای حداقل میزان بیماری خوش‌شمگی بود. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمایش چنین استنباط می‌شود که در صورتی که مدت زمان تماس نماتد و باکتری طولانی شود میزان فعالیت نماتد و راندمان انتقال آن کاهش می‌یابد. افزایش مدت زمان تماس نماتد و باکتری، منجر به چسبیدن جمعبت بالاتری از باکتری به پوشش سطحی نماتد شده که این امر منجر به کاهش فعالیت نماتد و انتقال باکتری می‌گردد بنابراین میزان بیماری کاهش می‌یابد (۷). رایلی و مک کی (۱۲) نیز نشان دادند که چسبیدن باکتری *Rathayibacter toxicus* عامل بیماری ARGT که یک باکتری تولید کننده سم (Toxigenic) می‌باشد به نماتد *Anguina funesta* موجب تضعیف راندمان انتقال آن می‌گردد. نتایج این آزمایش هم‌چنین نشان داد که باکتری عامل خوش‌شمگی گندم ظرف حداقل نیم ساعت در معرض بودن

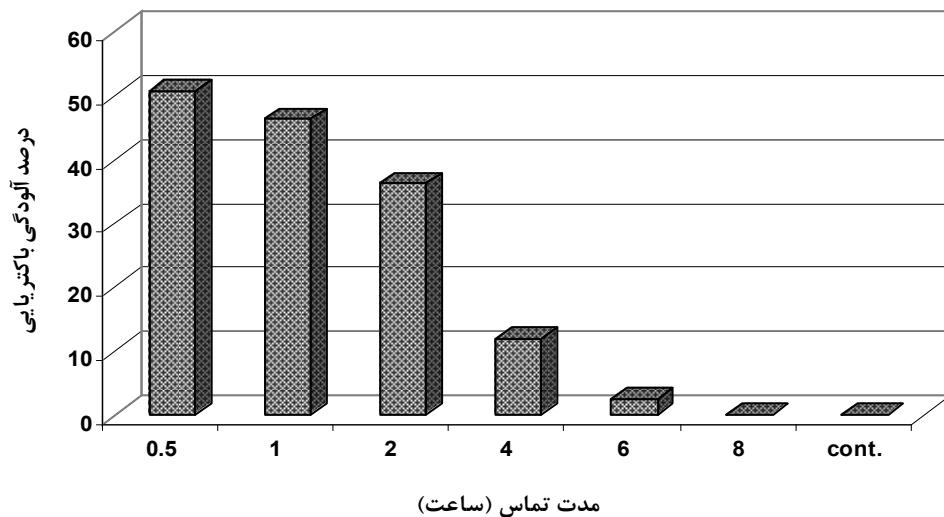
آگاروز یک درصد درون پتری پیرکس قرار داده شد. برای جلوگیری از خشک شدن پتری‌ها و نگه داری طولانی مدت آنها، پتری‌ها در کیسه‌های پلاستیکی که داخل آن پنبه مرتبط قرار داده شده بود نگهداری گردید. میزان حرکت لاروها در تیمارهای مختلف بعد از ۲۴ ساعت با یکدیگر مقایسه شد. شاهد در این آزمایش شامل لاروهایی بودند که با آب مقطر استریل تماس داده شده بودند. مسیر حرکت نماتد روی آگاروز یک درصد به صورت یک رد پا باقی می‌ماند که با استفاده از انعکاس نور با زاویه ۴۵ درجه از روی محیط، یا توسط میکروسکوپ نوری با کوچک‌ترین بزرگ نمایی (4x) مسیر حرکت آنها قابل مشاهده و رديابی بود(شکل ۲). اگرچه میزان حرکت لاروها روی محیط آگاروز یک درصد به علت اختلاف بسیار نامنظم آنها قابل اندازه‌گیری نبود ولی به علت احتلاف زیاد میزان حرکت نماتد بین تیمارهای مختلف، به صورت برآورد چشمی قابل مقایسه بودند. در این آزمایش به ازای هر تیمار ۵ تکرار در نظر گرفته شد.

بررسی امکان جلب نماتد به سمت کلنی باکتری خوش‌شمگی گندم

در این آزمایش، ابتدا مقداری از کلنی باکتری عامل خوش‌شمگی گندم به وسیله لوب در مرکز پتری حاوی آگاروز یک درصد آغشته گردید (قطر حدود یک سانتی متر) و در اطراف آن به فاصله دو سانتی متر، هشت لارو نماتد سالم و عاری از باکتری قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت مسیر حرکت لاروها و امکان جهت گیری آنها نسبت به کلنی باکتری همانند آزمایش قبل رديابی چشمی گردید. این آزمایش نیز با ۵ تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

باکتری عامل بیماری خوش‌شمگی گندم استفاده شده در این تحقیق، پس از انجام آزمون‌های افتراقی بین دو گونه‌های جنس *Rathayibacter tritici* (جدول ۱)، گونه *Rathayibacter*



شکل ۱. میزان بیماری خوشه صمغی بر حسب مدت زمان تماس نماد با باکتری، و تأثیر باکتری بر فعالیت نماد

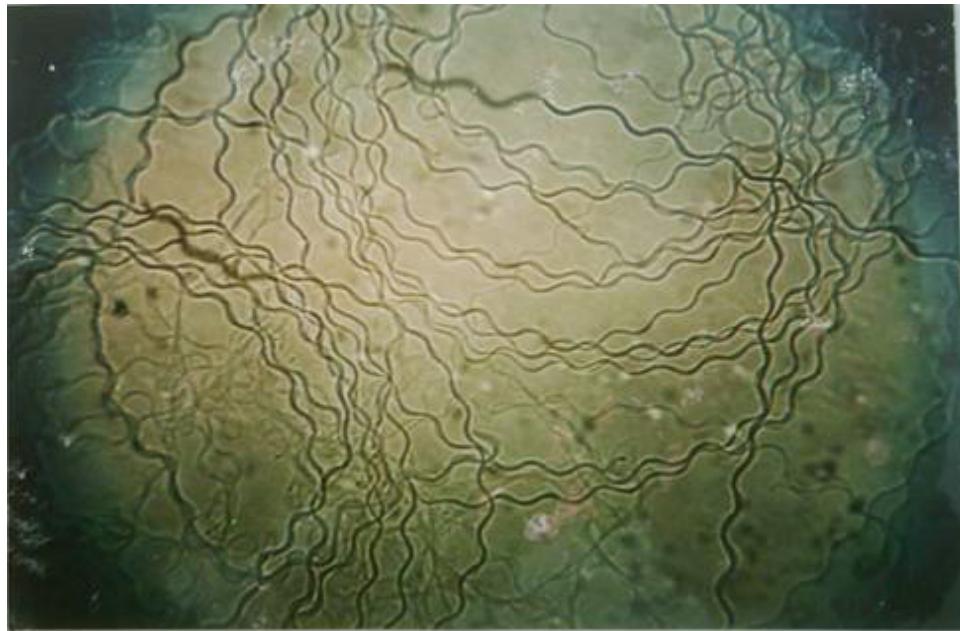
جدول ۲. بررسی میزان آسودگی باکتریابی بر حسب آسوده سازی خاک با نمادهایی که زمانهای مختلف در تماس با باکتری بوده‌اند.

| تیمار | میانگین درصد گیاهان آسوده |
|-----------|---------------------------|
| نیم ساعت | ۴۸/۸ ^a |
| یک ساعت | ۴۶/۶ ^a |
| دو ساعت | ۳۲/۸ ^b |
| چهار ساعت | ۱۳/۶ ^c |
| شش ساعت | ۲/۶ ^d |
| هشت ساعت | ۰ ^e |
| شاهد | ۰ ^e |

- اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده در سطح احتمال ۵٪ و بر اساس آزمون دانکن بدون اختلاف معنی دار بودند.
- هر عدد میانگین ۱۵ تکرار می‌باشد.

گیاهان شاهد بود. در آزمایش تأثیر باکتری خوشه صمغی بر تحرک نماد، تأثیر باکتری عامل خوشه صمغی بر تحرک و فعالیت نماد بر حسب غلظت‌های مختلف باکتری و زمان‌های مختلف تماس، ارزیابی شد. میزان تأثیر هر غلظت باکتری بر تحرک نماد (میزان حرکت آن روی محیط آگاروز یک درصد داخل پتری) به میزان قابل توجهی نسبت به غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر موجود اختلاف داشت، ولی به دلیل حرکت بسیار نامنظم نماد

نماد با باکتری، قادر به چسبیدن به پوشش سطحی نماد بوده به طوری که با شستشوهای متوالی با آب از بدن نماد جدا نگردید (در این آزمایش زمان‌های کمتر از نیم ساعت در نظر گرفته نشده بود). اگر چه ممکن است غلظت باکتری در خاک مزرعه به اندازه آزمایش‌های انجام شده نباشد، ولی نماد قادر است معادل جمعیتی که در تیمار نیم ساعت تماس به آن می‌چسبید را تحمل نماید به طوری که میزان بیماری ایجاد شده در این تیمار همانند میزان بیماری نمادی (گال) ایجاد شده در



1 mm

شکل ۲. مسیر حرکت لارو و سن دو نماد *Anguina tritici* روی آگاروز یک درصد در تیمار نیم ساعت تماس نماد - باکتری

غلظت باکتری و در نیم ساعت تماس با نماد بود. میزان تحرک نماد در این تیمار با شاهد که لاروها در تماس با آب مقطر استریل قرار گرفته بودند، اختلاف محسوسی نداشت. مدت زمان زنده بودن و تحرک این لاروها تا یک ماه بعد نیز بدون تغییر قابل توجه بود. میزان کاهش تحرک نماد در تیمارهای یک ساعت و دو ساعت تماس نیز در کلیه غلظت‌ها به صورت حرکات کم و بیش نامنظم و کاهش مدت زمان زنده ماندن نماد بعد از تماس (۸ الی ۱۲ روز) ظاهر گردید.

نتایج به دست آمده از این آزمایش و مقایسه آن با آزمایش قبل، نشان داد که سرعت چسبیدن باکتری عامل خوش‌صمغی به لاروهای سن دو نماد می‌تواند ظرف نیم ساعت (یا کمتر) تماس صورت گیرد (اگر چه زمان‌های کمتر از نیم ساعت در این آزمایش در نظر گرفته نشده بود). میزان تحرک نماد در این آزمایش و راندمان انتقال باکتری و بروز بیماری در آزمایش قبل در تیمار نیم ساعت تماس در مقایسه با شاهد (که نماد بدون تماس با باکتری بود) اختلاف معنی دار مشاهده نگردید، در حالی که زمان‌های بیش از نیم ساعت منجر به بروز ضعف و

و عدم امکان اندازه‌گیری کمی میزان حرکت نماد با امکانات و وسائل موجود، به برآورد چشمی مقایسه میزان تحرک نماد بین تیمارها اکتفا گردید. در کلیه غلظت‌های باکتری در مدت زمان‌های تماس بیش از ۴ ساعت، کلیه لاروها دچار ضعف شدید شدند به طوری که میزان تحرک آنها به صورت چند حرکت کوتاه و نامنظم محدود شده بود. این لاروها پس از ۲ الی ۵ روز بعد از تماس با باکتری مردند. میزان تأثیر باکتری بر نماد و کاهش تحرک آنها در غلظت‌های 10^6 و 10^7 CFU باکتری و زمان‌های ۶ و ۸ ساعت تماس به حدی بود که اولاً درصد قابل توجهی از آنها پس از سپری شدن زمان تماس مرده بودند، ثانیاً قرار دادن لاروهای زنده ولی بسیار ضعیف شده آنها نیز روی محیط آگاروز، نشان از تحرک بسیار اندک آنها داشت. این نمادها نیز ظرف کمتر از یک روز مردند. برد و همکاران (۳) نیز نشان دادند که چسبیدن جمعیت زیاد باکتری (*Anguina agrostis*) (Rathayibacter rathayi) به لارو نماد (*Rathayibacter rathayi*) سبب تضعیف نماد و کاهش میزان تحرک آنها می‌گردد. بیشترین میزان تحرک نماد در این تیمارها مربوط به کمترین

طوری که احتمالاً فعالیت‌های این ناحیه که برای نماتد بسیار حیاتی می‌باشد چهار اختلال می‌شود. بنابراین چسبیدن جمعیت زیادی از باکتری به بدن نماتد قسمت قابل توجهی از کوتیکول را چهار تخریب می‌نماید، که منجر به ضعف و تلفات در نماتد می‌گردد. احتمال دیگر این که آنزیم‌های مترشحه باکتری (۷) سبب اختلال یا مسمومیت در بافت‌ها و اندام‌های داخلی بدن نماتد می‌شود.

صاحبانی و همکاران (۱) نشان دادند که وجود نماتد برای تکثیر باکتری عامل خوش‌صمغی گندم در بذر ضروری است به طوری که حتی مایه‌زنی باکتری به بذر بدون حضور نماتد نیز منجر به بوجود آمدن بیماری نشد در حالی که مایه‌زنی هم‌زمان باکتری و نماتد به بذر موجب بروز بیماری گردید. با توجه به این که باکتری قادر به تضعیف و کشنن نماتد می‌باشد و از طرف دیگر، اغلب درون بذر آلووده به باکتری عامل خوش‌صمغی نیز هیچ گونه آثاری از نماتد ناقل دیده نمی‌شود، نقش نماتد در داخل بذر برای تکثیر باکتری و ایجاد بیماری از جمله مسائلی است که همچنان مجھول می‌باشد ولی می‌توان پیشنهاد نمود که نقش نماتد احتمالاً تأمین نیازهای ویژه غذایی باکتری باشد، یا این که تکثیر اولیه باکتری در ابتدا روی بدن نماتد انجام گیرد و در نهایت این که ممکن است نماتد نیز، خود از میزان‌های این باکتری بوده که در مسیر تکامل و تعامل بین باکتری - گیاه و نماتد- باکتری، شدت بیماری زایی آن روی گیاه تشدید شده است، و یا این که بیماری زایی آن روی گیاه از بیماری زایی روی نماتد چشمگیرتر است. بنابراین اثبات این پیشنهاد احتیاج به آزمایش‌های تکمیلی دارد.

تلفات در نماتد و کاهش راندمان انتقال آنها شده بود، این نتایج نشان دهنده این است که نماتد قادر است میزانی از باکتری که ظرف نیم ساعت تماس به آن می‌چسبد را بدون هیچ‌گونه تأثیر سوء تحمل نماید. در آزمایش سوم که امکان جلب یا گریز نماتد نسبت به کلنی باکتری بررسی شده بود، مشخص گردید که حرکت نماتدها نسبت به کلنی باکتری کاملاً تصادفی بوده و هیچ گونه جهت گیری، جلب یا گریز از کلنی باکتری در نماتدها مشاهده نشد. از بین لاروهای موجود در پتری، تعدادی از آنها که تصادفاً با کلنی باکتری برخورد کرده بودند، بعد از کمی حرکت، تحت تأثیر باکتری فراوانی که به بدن آنها چسبیده بود مرده بودند. این آزمایش نیز نشان دهنده این نکته است که نماتد هیچ گونه جهت گیری، جلب یا گریز نسبت به باکتری عامل خوش‌صمغی نداشته و نزدیک شدن نماتد به باکتری و چسبیدن آن به بدن نماتد کاملاً تصادفی می‌باشد. مک‌کلور و اسپیگل (۷) نیز نشان دادند که وجود نیروی الکتراستاتیک بین پوشش سطحی بدن لارو سن دو نماتد و لایه پلی ساکاریدی سطح پیکره باکتری، سبب اتصال اولیه باکتری به نماتد می‌شود، و به دنبال آن با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی، خارجی ترین لایه پوست (Epicuticle) نماتد را لیز نموده به طوری که باکتری مقداری در پوست نماتد نیز فرو می‌رود.

با وجودی که لازمه انتقال باکتری توسط نماتد، چسبیدن آن به سطح کوتیکول نماتد است، ولی به لحاظ واکنش‌های آنزیمی در محل تماس باکتری به بدن نماتد و نفوذ باکتری حتی تا ناحیه cortical به داخل کوتیکول، سبب تخریب در کوتیکول نماتد به عنوان یک ناحیه فعل بیولوژیکی نماتد می‌گردد. به

منابع مورد استفاده

- صاحبانی، ن. ۱۳۷۳. بررسی رابطه متقابل بین نماتد گالزای بذر گندم (*Anguina tritici*) و باکتری عامل خوش‌صمغی گندم میزانی کارشناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۷۶ صفحه.
- Afolabi, P., K.G. Davies and P.S. O. Shen. 1995. The electrostatic nature of the spore of *Pasteuria penetrans*, the bacterial parasite of root-knot nematodes. J. Appl. Bacteriol. 79: 244-249.
- Bird, A.F. and D. Riddle. 1984. Effect of attachment of *Corynebacterium rathayi* on movement of *Anguina agrostis* larvae. Int. J. Parasitol. 14: 503-511.
- Bird, A.F., B.A. Stynes, W. William and W. Thomson. 1980. A comparison of nematode and bacteria-colonized

- galls induced by *Anguina agrostis* in *Lolium rigidum*. *Phytopathol.* 70: 1104-1109.
5. Davies, K.G. and C. Danks. 1992. Interspecific differences in the nematode surface coat between *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria* related to the adhesion of the bacterium *Pasteuria penetrans*. *Parasitol.* 105:475-480.
 6. Gupta, P. and G. Swarup. 1972. Ear-cockle and yellow ear-rot diseases of wheat: 2, Nematode bacterial association. *Nematologica* 18:320-324.
 7. Mc Clure, I.A. and Y. Spiegel. 1991. Role of nematode surface coat in the adhesion of *Clavibacter* sp. to *Anguina tritici* and *A. funesta*. *Phytopathol.* 46:285-286
 8. McKay, A.C. 1993. Toxigenic *Clavibacter*/*Anguina* associations infecting grass seed heads. *Ann. Rev. Phytopathol.* 31:153-169.
 9. McKay, A.C., J.M. Fisher and S.R. Eckert. 1986. The effect of initial gall and plant density on gall production by *Anguina funesta*, the vector in annual ryegrass toxicity. *Nematologica* 32:322-338.
 10. Pathak, K.N. and G. Swarup. 1984. Incidence of *Corynebacterium michiganense* pv. *tritici* in the ear-cockle nematode (*Anguina tritici*) galls and pathogenicity. *Indian phytopathol.* 37:267-270.
 11. Riley, I.T. and A.C. McKay. 1991. Inoculation of *Lolium rigidum* with *Clavibacter* sp., the toxigenic bacteria associated with annual ryegrass toxicity. *J. Appl. Bacteriol.* 71:302-306.
 12. Riley, I.T. and A.C. McKay. 1991. Susceptibility of *Anguina funesta* population to adhesion by the toxigenic *Clavibacter* of responsible for ARG T. *Nematologica* 37:439-446.
 13. Soutery, J.F. 1972. Description of plant-parasitic nematodes (*Anguina tritici*). Set 1, No.13, C.I.H.
 14. Stynes, B.A. and A.F. Bird. 1980. *Anguina agrostis*, the vector of annual ryegrass toxicity in Australia. *Nematologica* 26:475-490.
 15. Zgurskaaya, H.I., L.I. Evtushenko, V.N. Akimov and L.V. Kalakoutskei. 1993. Rathayibacter gen. nov., Including the species *Rathayibacter rathayi* comb.nov., *Rathayibacter tritici* comb.nov., *Rathayibacter iranicus* comb. nov. and six strains from annual grasses. *Int. J. Sys. Bacteriol.* 43:143-149.