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

نوازاله صاحبانی[۱]، احمد خیری[۱]، حشمت اله 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 10^4CFU) 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 10^2CFU و مدت زمان تماس کمتر از نیم ساعت با شاهد (نماتد تیمار شده با آب مقطر استریل) اختلاف معنی‌دار نداشت. در این ارزیابی هم‌چنین نشان داده شد که حرکت نماتد به سمت کلنی باکتری کاملا تصادفی بوده و هیچ‌گونه جهت گیری، جلب یا گریز نسبت به آن مشاهده نشد. با توجه به این که نماتد ناقل اختصاصی باکتری می‌باشد و وجود آن برای انتقال باکتری به خوشه (محل آلودگی) ضروری است، این احتمال وجود دارد که باکتری بتواند نماتد را نیز پارازیته نماید. یا به عبارت دیگر نماتد خود از میزبان‌های جانوری این باکتری باشد، که در مسیر تکاملی و ارتباط متقابل نماتد - باکتری و باکتری - گیاه و مناسب تر بودن میزبان گیاهی، بیماری‌زایی آن روی گیاه تشدید شده است.

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

مقدمه

لارو سن دو نماتد *Anguina tritici* (Steinbuch 1799) Chitwood 1935 علاوه بر گذراندن شرایط سخت محیطی، مرحله آلوده کنندگی (Infective stage) این نماتد نیز می‌باشد. در این مرحله نماتد قادر است میزبان خود را جستجو نموده و پس از پیدا کردن و صعود نمودن از آن، خود را به خوشه (محل آلودگی) برساند. در صورتی که نماتد در پائیز نتواند میزبان خود را بیابد، قادر است تا کشت بهاره میزبان، از اندوخته غذایی خود استفاده نماید. علاوه بر این، لارو سن دو نماتد، ناقل برخی پاتوژن‌های گیاهی از جمله باکتری‌های عامل خوشه

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

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

صمغی گندم *Rathayibacter tritici* Zgurskaya 1993 و *R. iranicus* Zgurskaya 1993 و قارچ عامل پیچیدگی و سیاه شدن خوشه و برگ گندم *Dilophospora alopecuri* (Fr.) Fr. می‌باشد. مک کلور و اسپیگل (۷) طبیعت چسبیدن باکتری‌های عامل خوشه صمغی و عامل بیماری Annual ryegrass toxicity (ARGT) را به کوتیکول نماتدهای *Anguina tritici* و *A. funsta* با استفاده ازمیکروسکوپ الکترونی نشان داده اند. آنها هم‌چنین نشان داده‌اند که باکتری بعد از اتصال به کوتیکول نماتد برای چسبیدن محکم تر، با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی، خارجی ترین لایه پوست (Epicuticle) نماتد را لیز نموده و باکتری (کپسول باکتری) مقداری در این ناحیه فرو می‌رود. رایلی و مک کی(۱۱) نشان دادند که باکتری عامل ARGT ،تنها به لاروهای سن دو این نماتد می‌چسبد. آنها هم‌چنین به نقش لکتینی (Lectin) پوشش سطحی نماتد (Surface coat) در چسبیدن اولیه باکتری به نماتد اشاره کرده‌اند. نقش لکتینی پوشش سطحی در چسبیدن باکتری *Pasteuria penetrans* به نماتدهای *Meloidogyne incognita* و *Meloidogyne javanica* نیز مشخص شده است (۲ و ۵). محققین در تحقیقات خود در مورد گال‌های نماتد گندم و یولاف آلوده به باکتری خوشه صمغی، به این نکته اشاره کرده‌اند که همواره درصد قابل توجهی از لاروهایی که از این نوع گال‌ها استخراج می‌شوند، 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 خوشه صمغی گندم بررسی شود.

مواد و روش‌ها

تهیه مایه تلقیح نماتد (J2)

برای تهیه مایه تلقیح نماتد *Anguina tritici* (لارو سن دو)، تعدادی گال با محلول ۱۰ درصد وایتکس تجاری (حاوی ۵ درصد هیپو کلریت سدیم فعال) به مدت دو دقیقه ضد عفونی سطحی، و پس از شستشو با آب مقطر استریل، به مدت ۴۸ ساعت درآب 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 بیرمن لاروهای زنده و فعال جداسازی شدند.

برای تهیه لاروهای عاری از باکتری خوشه 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 نوترینت آگار، ۵ گرم عصاره مخمر و ۲۰ گرم گلوکز 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 درگلدان‌های حاوی خاک استریل مایه‌کوبی گردید و گال‌های به دست آمده از این گیاهان، برای آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه مایه تلقیح باکتری

مقداری صمغ از خوشه گیاهان آلوده به باکتری خوشه 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 سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. کلنی‌های زرد مایل به نارنجی باکتری پس از سه روز به‌صورت ته سنجاق (Pin point) ظاهر شد و پس از پنج روز به قطرحدود یک میلی متر رسید. شناسایی باکتری بر اساس آزمون‌های افتراقی بین گونه‌های جنس *Rathayibacter* (ایجاد کننده خوشه 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)

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

خصوصیات	*Rathayibacter iranicus*	*Rathayibacter tririci*
استفاده از :		
اینولین	+	−
سباسینات	+	−
تولید اسید از :		
گلوکز	+	−
فروکتوز	+	−
سوکروز	+	−
درصد تحمل نمک طعام ۵ ٪	+	−
MR	+	−

+ : جواب مثبت − : جواب منفی

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

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

آلوده سازی خاک با نماتدهای تیمار شده با باکتری عامل خوشه صمغی گندم: در این آزمایش ابتدا جمعیت‌هایی از لاروهای عاری از باکتری در هفت ظرف جداگانه در سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^6 CFU قرار داده شد. تیمارهای آزمایش بر حسب مدت زمان تماس نماتد با باکتری تعیین گردید. به طوری‌که 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. بلافاصله پس از سپری شدن زمان تعیین شده، لاروهای هر کدام از تیمارها روی الک با روزنه ۳۸ میکرون (۴۰۰ مش) استریل، چندین بار با آب مقطر استریل کاملاً شستشو داده شد. سپس جمعیت ۲۵۰۰۰ لارو به ازای هر گیاه از هر کدام از ظروف (به عنوان تیمارهای آزمایش) به طور جداگانه درزمان 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 استریل قرار داده شده بودند. گلدان‌های 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 گیاهپزشکی دانشگاه تهران، با درجه حرارت حداکثر ۳ ± ۲۲ و حداقل ۲ ± ۱۰ 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 خوشه صمغی بر تحرک نماتد

در این آزمایش نیز ابتدا لاروهای عاری از باکتری در هفت ظرف با غلظت‌های 10^4، 10^5، 10^6و 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 بلافاصله پس از سپری شدن زمان تعیین شده، لاروهای هر کدام از تیمارها روی الک با قطر روزنه ۳۸ میکرون چندین بار با آب مقطر استریل کاملاً شستشو داده شد. سپس از هر کدام از تیمارها، به طور جداگانه، چهار لارو روی محیط شفاف

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 مرطوب قرار داده شده بود نگه‌داری گردید. میزان تحرک 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 ردیابی بود(شکل ۲). اگرچه میزان حرکت لاروها روی محیط آگاروز یک درصد به علت حرکات بسیار نامنظم آنها قابل اندازه‌گیری نبود ولی به علت اختلاف 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.

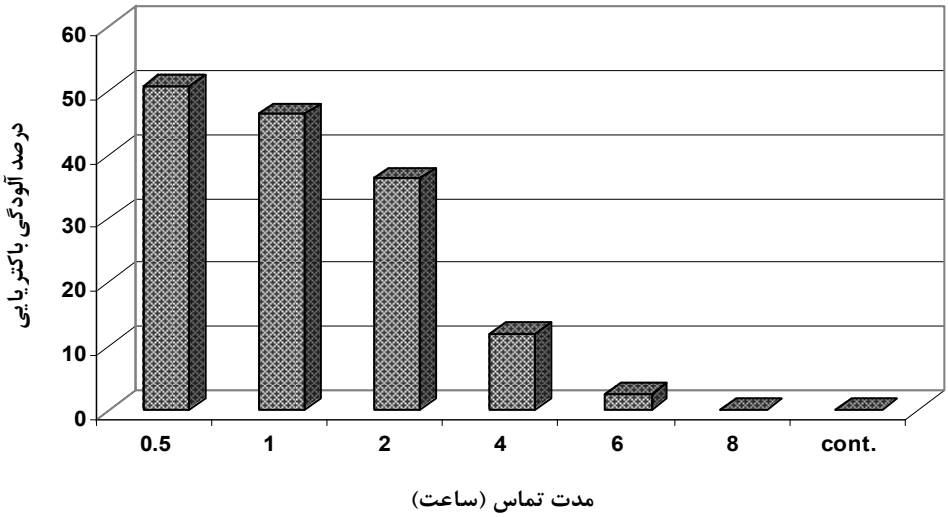
بررسی امکان جلب نماتد به سمت کلنی باکتری خوشه صمغی گندم

در این آزمایش، ابتدا مقداری از کلنی باکتری عامل خوشه صمغی گندم به وسیله لوپ 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 ردیابی چشمی گردید. این آزمایش نیز با ۵ تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

باکتری عامل بیماری خوشه صمغی گندم استفاده شده در این تحقیق، پس از انجام آزمون‌های افتراقی بین دوگونه‌های جنس *Rathayibacter* (جدول ۱)، گونه *Rathayibacter tritici* تشخیص داده شد. نماتد گالزای بذر گندم نیز پس از استخراج از گال‌های سبز تیره که حاوی نماتدهای بالغ بودند و بر اساس خصوصیات مرفولوژیکی و مرفومتریکی، گونه *Anguina tritici* تشخیص داده شد(۱۳).

در آزمایش تأثیر باکتری بر بیماری‌زایی نماتد، که در آن نماتد در زمان‌های مختلف در تماس با باکتری قرار داده شده بود، علائم بیماری خوشه صمغی 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 خوشه صمغی از تیمار دو ساعت تماس به بعد به طور معنی دار ادامه داشت، به طوری‌که 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 حداکثر میزان بیماری خوشه صمغی 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 جمعیت 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 خوشه صمغی گندم ظرف حداقل نیم ساعت در معرض بودن



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

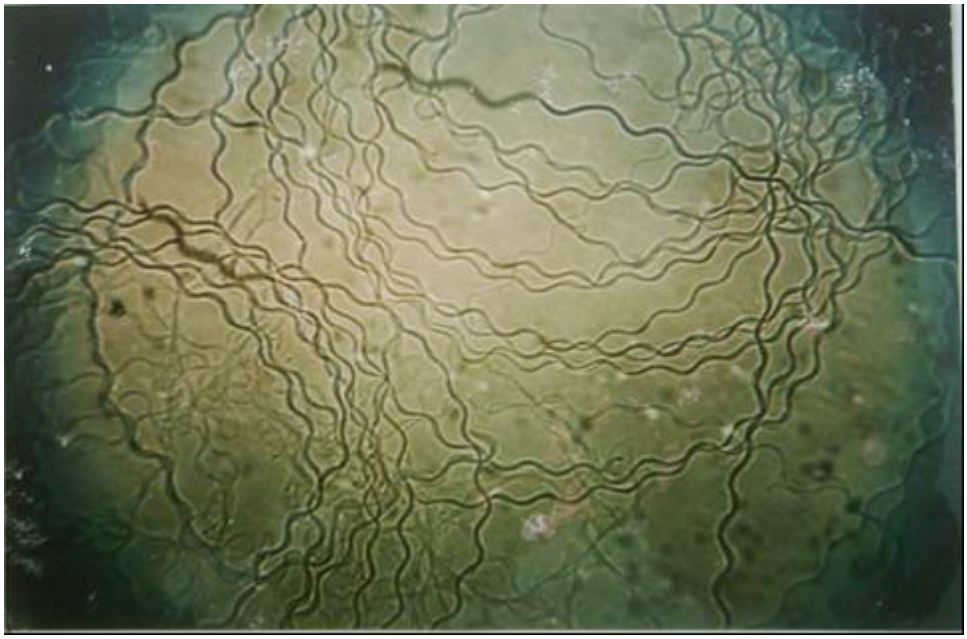
جدول ۲. بررسی میزان آلودگی باکتریایی بر حسب آلوده سازی خاک با نماتدهایی که زمان‌های مختلف در تماس با باکتری بوده‌اند.

تیمار	میانگین درصد گیاهان آلوده
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.

نماتد با باکتری، قادر به چسبیدن به پوشش سطحی نماتد بوده به طوری‌که با شستشوهای متوالی با آب از بدن نماتد 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 نماتد قادر است معادل جمعیتی که در تیمار نیم ساعت تماس به آن می‌چسبد را تحمل نماید به طوری که میزان بیماری ایجاد شده در این تیمار همانند میزان بیماری نماتدی (گال) ایجاد شده در گیاهان شاهد بود.

در آزمایش تأثیر باکتری خوشه صمغی بر تحرک نماتد، تأثیر باکتری عامل خوشه صمغی بر تحرک و فعالیت نماتد بر حسب غلظت‌های مختلف باکتری و زمان‌های مختلف تماس، ارزیابی شد. میزان تأثیر هر غلظت باکتری بر تحرک نماتد (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 نماتد



شکل۲. مسیر حرکت لارو و سن دو نماتد *Anguina tritici* روی آگاروز یک درصد در تیمار نیم ساعت تماس نماتد – باکتری

و عدم امکان اندازه‌گیری کمّی میزان حرکت نماتد با امکانات و وسایل موجود، به برآورد چشمی مقایسه میزان تحرک نماتد بین تیمارها اکتفا گردید. در کلیه غلظت‌های باکتری در مدت زمان‌های تماس بیش از ۴ ساعت، کلیه لاروها دچار ضعف شدید شدند به طوری‌که 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 نماتد و کاهش تحرک آنها در غلظت‌های $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ 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 نماتدها نیز ظرف کمتر از یک روز مردند. برد و همکاران (۳) نیز نشان دادند که چسبیدن جمعیت زیاد باکتری (*Rathayibacter rathayi*) به لارو نماتد (*Anguina agrostis*) سبب تضعیف نماتد و کاهش میزان تحرک آنها می‌گردد. بیشترین میزان تحرک نماتد در این تیمارها مربوط به کمترین غلظت باکتری و در نیم ساعت تماس با نماتد بود. میزان تحرک نماتد 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 نماتد 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 نماتد بعد از تماس (۸ الی ۱۲روز) ظاهر گردید.

نتایج به دست آمده از این آزمایش و مقایسه آن با آزمایش قبل، نشان داد که سرعت چسبیدن باکتری عامل خوشه صمغی به لاروهای سن دو نماتد 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 نماتد در این آزمایش و راندمان انتقال باکتری و بروز بیماری در آزمایش قبل در تیمار نیم ساعت تماس در مقایسه با شاهد (که نماتد بدون تماس با باکتری بود) اختلاف معنی دار مشاهده نگردید، در حالی‌که زمان‌های بیش از نیم ساعت منجر به بروز ضعف و

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 خوشه صمغی نداشته و نزدیک شدن نماتد به باکتری و چسبیدن آن به بدن نماتد کاملاً تصادفی می‌باشد. مک کلور 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 طوری‌که 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 فعال بیولوژیکی نماتد می‌گردد. به طوری‌که احتمالاً فعالیت‌های این ناحیه که برای نماتد بسیار حیاتی می‌باشد دچار اختلال می‌شود. بنابراین چسبیدن جمعیت زیادی از باکتری به بدن نماتد قسمت قابل توجهی از کوتیکول را دچار تخریب می‌نماید، که منجربه 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 خوشه صمغی گندم در بذر ضروری است به طوری که حتی مایه‌زنی باکتری به بذر بدون حضور نماتد نیز منجر به به‌وجود آمدن بیماری نشد در حالی که مایه‌زنی هم‌زمان باکتری و نماتد به بذر موجب بروز بیماری گردید. با توجه به این‌که باکتری قادر به تضعیف و کشتن نماتد می‌باشد و از طرف دیگر، اغلب درون بذر آلوده به باکتری عامل خوشه صمغی 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 مجهول 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 میزبان‌های این باکتری بوده که در مسیر تکامل و تعامل بین باکتری – گیاه و نماتد– باکتری، شدت بیماری‌زایی آن روی گیاه تشدید شده است، و یا این‌که بیماری‌زایی آن روی گیاه از بیماری‌زایی روی نماتد چشمگیرتر است. بنابراین اثبات این پیشنهاد احتیاج به آزمایش‌های تکمیلی دارد.

منابع مورد استفاده

۱. صاحبانی، ن.۱۳۷۳. بررسی رابطه متقابل بین نماتد گالزای بذر گندم (*Anguina tritici*) و باکتری عامل خوشه صمغی گندم (*Rathayibacter* tritici). پایان نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران،۷۶ صفحه.

2. 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.
3. Bird, A.F. and D. Riddle. 1984. Effect of attachement of *Corynebacterium rathayi* on movement of *Anguina agrostis* larvae. Int. J. Parasitol. 14: 503-511.
4. Bird, A.F., B.A. Stynes, W. William and W. Thamson. 1980. A comparison of nematode and bacteria-colonized

galls induced by *Anguina agrostis* in *Lolium rigidium.* 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-cocle 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 regidium* 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 ARGT. Nematologica 37:439-446.
13. Soutery, J.F. 1972. Discription 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. Kalakoutskii. 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.