

عزل وتحديد البكتيريا المسببة لمرض العفن الطري الأسود في البطاطس/البطاطا ومقارنتها مع *Erwinia carotovora* spp. *carotovora*

شوقي ناشر سيف العريقي

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة صنعاء، ص.ب. 13035، صنعاء، اليمن، البريد الإلكتروني: ariqi@maktoob.com

المخلص

العريقي، شوقي ناشر سيف. 2006. عزل وتحديد البكتيريا المسببة لمرض العفن الطري الأسود في البطاطس/البطاطا ومقارنتها مع *Erwinia carotovora* spp. *carotovora*. مجلة وقاية النبات العربية، 24: 1-6.

عزلت بكتيريا صفراء اللون من درنات بطاطس/بطاطا (صنف كارا) مصابة بعفن طري أسود اللون على مستنبت الجلسرول المغذي المتصلبة (GNA). وكانت البكتيريا سالبة لجرام، عصوية، متحركة، تعيش تحت الظروف اللاهوائية. وتشابهت خصائصها الفسيولوجية مع *Erwinia carotovora* spp. *carotovora*، إلا أنها اختلفت من الناحية الإراضية وذلك من حيث لون العفن الأسود، ونوعية الأحماض الدهنية بينهما وكميتها. وحددت تلك البكتيريا الممرضة على أنها *Pantoea ananatis* وذلك اعتماداً على نتائج القدرة الإراضية والخصائص المظهرية والفسيولوجية والحيوية وتحليل الأحماض الدهنية الخلوية. أوضحت نتائج التحليل الكيميائي لدرنات البطاطس/البطاطا أن درنات الشاهد صنف "ليستا" احتوى على نسبة كالسيوم، حديد ومغنزيوم تفوق مثيلاتها في درنات الشاهد صنف "كارا" وذلك بعد 1، 3 و 5 أيام من العدوى، في حين كان هناك تماثل لعنصر البوتاسيوم عند الصنفين. انخفضت عناصر الكالسيوم والمغنزيوم والبوتاسيوم في الأنسجة المتعفة لصنفي البطاطس/البطاطا المعدة بنوعي البكتيريا أنفي الذكر، مع زيادة مساحة العفن الطري عند الصنف "كارا" وبخاصة بالبكتيريا *E. carotovora* spp. *carotovora*.

كلمات مفتاحية: العفن الطري الأسود، بطاطس/بطاطا، *Erwinia carotovora*، *Pantoea ananatis*.

المقدمة

تحتوي على الكالسيوم بدرجة عالية مقارنة مع الجدر الخلوية لأصناف البطاطس/البطاطا ذات الإصابة الشديدة (15، 16، 21). وأفاد Bartz وآخرون (2) أن معاملة نباتات البطاطس/البطاطا الموجودة في الحقل بالكالسيوم بصورة $CaSO_4$ كان محدود التأثير في مقاومة بكتيريا العفن الطري *E. c. carotovora*. وعلى العكس فإن معاملة النبات بعنصر الحديد قد خفض من نمو البكتيريا *E. c. carotovora* في درنات البطاطس/البطاطا (19). هدفت الدراسة الحالية إلى عزل وتحديد البكتيريا المسببة للعفن الطري الأسود في البطاطس/البطاطا ومقارنتها من حيث الخصائص الظاهرية والفسيولوجية والكيموحيوية والأحماض الدهنية الخلوية ونسب بعض العناصر في أنسجة البطاطس/البطاطا المتحللة نتيجة لإصابتها ببكتيريا العفن الطري *E. c. carotovora*.

مواد البحث وطرائقه

نفذت الدراسة في مصر واليمن وتضمنت:

عزل البكتيريا وتعريفها

عزلت البكتيريا من درنات بطاطس/بطاطا صنف "كارا" مصابة بعفن طري أسود جمعت من أحد أسواق مدينة الإسكندرية بمصر. غسلت الدرنات المصابة بماء الصنبور ثم نزع عنها قشرتها الخارجية وأخذت قطعة من الأنسجة المتعفة بحدود 2 مم ووضعها على طبق بتري معقم يحتوي على 3 مم ماء مقطر ومعقم. أخذ غشاء واحد Loopful من هذا المعلق وتم تخطيطه على مستنبت الجلسرول المغذي المتصلبة (GNA) (1). حضنت الأطباق عند 28°س لمدة يومين، ثم

تعد البكتيريا *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* (4) الممرض الرئيس للعفن الطري في درنات البطاطس/البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) في الحقل أو المخزن ولعوائل نباتية أخرى عديدة (11، 14). تشير الدراسات إلى تعريف 190 سلالة بكتيرية تقع في 6 أجناس (*Bacillus*، *Clostridium*، *Cytophaga*، *Erwinia*، *Pseudomonas* و *Xanthomonas*) لها علاقة بأمراض ما بعد حصاد الفواكه والخضار وفقاً لمحتوياتها من الأحماض الدهنية (24). يوجد تماثل في نوعية الأحماض الدهنية بين الأنواع البكتيرية المختلفة كالموجود بين النوعين *E. c. carotovora* و *E. carotovora* spp. *atroseptica* (7، 25)، وبين البكتيريا الصفراء المعزولة من الشمام وكذلك البكتيريا *E. ananas* (5). كما يوجد تباين هام في كمية الأحماض الدهنية ونوعيتها كالاختلافات بين البكتيريا *E. carotovora* والأنواع البكتيرية الأخرى مثل *E. cypripedii*، *E. chrysanthemi* و *E. rhapontici* (13، 23)، وكذلك بين البكتيريا *E. c. carotovora* والبكتيريا *E. c. atroseptica* (8)، وغياب الأحماض الدهنية من النوع Cylopropanoic في البكتيريا المسببة للعفن الطري التابعة للجنس *Erwinia* (26).

وأشارت الدراسات إلى أن الجدر الخلوية لدرنات البطاطس/البطاطا عند الأصناف ذات الإصابة الضعيفة بالبكتيريا *E. c. atroseptica* و *E. c. carotovora*، وكذلك الإنزيمات المقاومة لتحليل البكتات pectolytic المستخلص من البكتيريا *E. c. atroseptica*

أجريت تنقية مستعمرات صفراء منفردة، ونقلت على أجار مائل من مستنبت GNA. تم الحصول على بكتيريا الشاهد *E. c. carotovora* من مختبر البكتيريا بكلية الزراعة جامعة الإسكندرية بمصر. اختبرت القدرة الأمراضية للبكتيريا المعزولة وبكتيريا الشاهد على درنات صنف "كارا" و "ليستا". غسلت الدرنات بماء الصنبور جيداً ثم غمرت في محلول هيبوكلوريت الصوديوم 1% لمدة 5 دقائق، ثم غسلت بماء مقطر ومعقم وتركت لتجف تحت ظروف المختبر. وضعت الدرنات في علب بلاستيك قياس 10×15×5 سم ووضع بجوار الدرنات قطعة قطن مشبعة بماء مقطر ومعقم لتأمين الرطوبة الملائمة. لقحت الدرنات بمعلق كثيف من البكتيريا الصفراء المعزولة وبكتيريا الشاهد إذ وضعت نقطة واحدة من كل بكتيريا كل على حده في كل درنة مثقوبة بعمق 0.8 سم، وتم عدوى درنات أخرى بماء مقطر ومعقم للمقارنة. استخدمت 3 مكررات لكل بكتيريا ولكل صنف، وحضنت عند درجة 28°س مدة 5 أيام. أعيد عزل البكتيريا الصفراء بنفس الخطوات المذكورة سابقاً وتم تعريفها تبعاً لخصائصها الظاهرية والفيولوجية والكيموحيوية (3، 10، 12، 17).

تحليل الأحماض الدهنية

حللت الأحماض الدهنية للبكتيريا الصفراء المسببة للعفن الطري الأسود والبكتيريا الشاهد بجهاز الكروموتوجرافي الغازي (Shimadzu model Gc-UCM) يعمل كاشفه بنظام التوهج الأيوني Flame-ionization. نفذ هذا العمل في مختبر الأبحاث التابع لكلية الزراعة بجامعة الإسكندرية، من أجل التعرف على الفروقات بين العزلتين من حيث الأحماض الدهنية الخلوية. نميت البكتيريا على مستنبت GNA لمدة 24 ساعة عند 28°س ثم استخلصت الأحماض الدهنية من خلاياها (7). أخذ 0.05 غ من النمو البكتيري ثم أضيف له 1 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH الكحولي (1.2 عياري) داخل أنبوبة اختبار مغلق بغطاء محكم. وضعت الأنبوبة داخل حمام مائي 100°س لمدة 30 دقيقة (مرحلة التصبن) وتركت العينة تبرد ثم أضيف لها 0.5 مل حمض الهيدروكلوريك (6 عياري) درجة حموضته 2. أضيف للعينة بعد ذلك 1 مل من كلوريد الباربيوم الميثيولي 12% (مرحلة الميثيوليتيد)، ثم نقلت إلى حمام مائي درجة حرارته 85°س لمدة 5 دقائق. بردت العينة ثم استخلصت الأحماض الدهنية بإضافة 1 مل من مزيج الهكسان والأثير داي أثيل (1:1) ومزجت العينة لمدة 3 دقائق. تم التخلص من الطبقة السفلى للعينة ثم غسلت بـ 3 مل من NaOH عياريته 0.3 موللر ثم أخذ الجزء الأعلى من العينة لتحليله بالجهاز.

تقدير العناصر

قدرت عناصر البوتاسيوم، المغنيزيوم، الحديد، والكالسيوم في أنسجة الدرنات المتعفنة بفعل البكتيريا الصفراء المعزولة وبكتيريا

الشاهد للصنفين "كارا" و "ليستا". أخذت العينات المتعفنة بعد 1، 3 و 5 أيام من العدوى في ورق الأمونيوم، كل على حده، وكذلك أخذ من أنسجة الدرنات المعاملة بالماء المقطر والمعقم فقط، ثم وضعت كل العينات في فرن تراوحت درجة حرارته ما بين 65-70°س حتى ثبات الوزن. سحققت كل عينة على حده ثم هضمت داخل دورق زجاجي بإضافة حمض الكبريتيك وفوق أكسيد الهيدروجين (9). بعد إتمام الهضم أخذت العينات إلى مختبر الجامعة الأمريكية بالقاهرة لتقدير العناصر السالفة الذكر فيها. تم تقدير البوتاسيوم بطريقة الفوتوميتر اللهب وتم تقدير الكالسيوم والمغنيزيوم والحديد باستخدام جهاز الامتصاص الذري. حللت النتائج وقدر التباين على أساس أقل فرق معنوي (LSD) بثلاث مكررات مستخدمة لكل حالة.

النتائج والمناقشة

عزل البكتيريا وتعريفها

عزلت بكتيريا صفراء اللون من درنات بطاطس/بطاطا صنف "كارا" مصابة بعفن طري أسود اللون على مستنبت GNA. وأوضحت دراسة القدرة الأمراضية والخصائص الظاهرية والفيولوجية والكيموحيوية وتحليل الأحماض الدهنية الخلوية للبكتيريا المعزولة أنها تتبع النوع (*Pantoea ananatis*) (Serrano, 1928) [*Erwinia ananatis*] وتعتبر هذه النتيجة هي التسجيل الأول للنوع *P. ananatis* كمسبب لمرض العفن الطري الأسود على البطاطس/البطاطا. ويعرف لهذه البكتيريا أمراض أخرى مثل لفحة أوراق البصل والتعفن المركزي للبصلة (22). كما سجل تأثيره في صحة الإنسان (6) وكذلك دوره الإيجابي في مكافحة الحيوية لأمراض التخزين عند ثمار الفاكهة (20). فاختبار إنتاج الحامض من الجالاكتوز كان موجبا عند البكتيريا *P. ananatis* وسالبا عند البكتيريا الشاهد، كما كان لون المستعمرات صفراء عند الأولى وكريمية عند الثانية. ومن ناحية أخرى فان باقي الخصائص الظاهرية والفيولوجية والكيموحيوية كانت متماثلة عند النوعين السابقين (جدول 1). وقد اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه آخرون (3، 10، 12، 17).

تحليل الأحماض الدهنية

تعد سلاسل الأحماض الدهنية المشبعة ذات النوع even carbon أهم أنواع الأحماض الدهنية في كل من النوع *P. ananatis* والنوع *E. c. carotovora* حيث تتراوح نسبتها 41 و 75% لكلا النوعين، على التوالي، في حين كانت نسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة 50% عند النوع الأول مقارنة مع 14% عند النوع الثاني. وتبلغ نسبة الأحماض الدهنية من النوع Cyclopropane 1% في النوع الأول ولا توجد في النوع الثاني (جدول 2). وتتفق تلك النتيجة مع Zherebilo وآخرون (26).

جدول 1. خصائص البكتيريا الشاهد *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* والبكتيريا *Pantoea ananatis* المعزولة من درنات البطاطس/البطاطا.

Table 1. Characteristics of the bacterium of *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* (reference) and *Pantoea ananatis* isolated from potato tubers.

الممرض Pathogen		Characteristics	الخصائص الشكلية
<i>E. c. carotovora</i>	<i>P. ananatis</i>		
+	+	Cell shape: (Rods, single)	شكل الخلية: (عصوي، مفرد)
+	+	Motility	الحركة
Entire, domed قبة كاملة	Entire, domed قبة كاملة	Colony characteristics	شكل المستعمرة
Cream كريمي	Yellow صفراء	Pigmentation	الصبغة
+	W	Growth at 36°C	النمو عند 36° س
+	+	Mucoid growth	النمو العكر
+	+	Anaerobic growth	النمو في ظروف غير هوائية
+	+	Soft rot development	تكوين عفن طري للبطاطس
+	+	Gelatin liquification	تحليل الجيلاتين
+	+	Nitrate reduction	اختزال النترات
+	+	H ₂ S production	إنتاج غاز H ₂ S
+	+	Catalase reaction	تفاعل الكاتاليز
+	+	Acid production from Cellobiose	إنتاج حامض من السلوبيوز
-	+	Galactose	الجالاكتوز
+	+	Glycerol	الجليسرول
+	W	Maltose	المالتوز
W	+	Arabinose	الأرابينوز
+	W	Fructose	الفركتوز
+	+	Glucose	الجلوكوز
+	+	Lactose	اللاكتوز

+ = Positive reaction, - = Negative reaction, W= Weak reaction

+ = تفاعل موجب، - = تفاعل سالب، W = تفاعل ضعيف

تحليل العناصر

تشير النتائج (جدول 3) أن نسبة الكالسيوم Ca كانت أعلى في درنات البطاطس/البطاطا صنف ليستا مقارنة مع الصنف كارا. وكانت النسبة الأعلى بعد يوم واحد من العدوى بالبكتيريا حيث يوجد فروق معنوية بينها وبين 3 و 5 أيام من العدوى، اللذين لا يوجد فروق معنوية بينهما عند الصنف ليستا. أما عند الصنف كارا فلا يوجد فروق معنوية بين يوم، 3 و 5 أيام وهو الأكثر قابلية للإصابة وخصوصا بالبكتيريا *E. c. carotovora*. وقد حدث عفن طري في جميع المكررات عند الصنفين من خلال العدوى بنوعي البكتيريا، ولكن كانت نسبة الاستزاف أعلى بالبكتيريا *E. c. carotovora* من البكتيريا

ويلاحظ من جدول 2 أيضاً تباين في نوعية بعض الأحماض الدهنية، إذ غابت الأحماض الدهنية التالية: 0:10، 0:11، 0:19، 1:16 و 0:19-D في النوع *E. c. carotovora* وتتواجد في النوع *P. ananatis*. كما يوجد تباين في كمية الأحماض الدهنية المشتركة بين النوعين. وتتوافق نتائج هذا التحليل مع دراسات سابقة (13، 23) من أن هناك اختلافات مهمة في الأحماض الدهنية بين *Erwinia carotovora* وأنواع *Erwinia* الأخرى، وبين *E. c. carotovora* والبكتيريا *E. c. atroseptica* (8)، إلا أنها تتعارض مع (5، 7، 25) من حيث عدم وجود هذه الاختلافات.

P. ananatis وبخاصة عند الصنف كارا وذلك بعد يوم واحد، 3 و 5 أيام من العدوى.

وكانت نسبة الكالسيوم في الأنسجة المتحللة للصنفين خلال الفترات السابقة منخفضة مقارنة بدرنات الشاهد مع عدم وجود فرق معنوي بين جميع العينات المتحللة إلا مع العينة المتعفنة بعد 5 أيام بالبكتيريا *P. ananatis* من الصنف ليستا. وتتعارض هذه النتيجة مع تلك التي تقول بأن أنسجة البطاطس/البطاطا المقاومة لعدوى بكتيريا العفن الطري تحتوي على نسبة كالسيوم مرتفعة (15، 16، 21)، إلا أنها تتوافق مع Bartz وآخرون (2) إذ أن الكالسيوم كان أثره محدوداً في مقاومة بكتيريا العفن الطري. كما أن نسبة الحديد كانت مرتفعة عند الصنف ليستا مقارنة مع الصنف كارا في درنات الشاهد. وظهر فرق معنوي بين الصنفين بعد يوم، 3 و 5 أيام من العدوى، أما في الأنسجة المصابة إذ لا يوجد فرق معنوي في نسبة الحديد عند الصنف ليستا في الدرنات المصابة بالعدوى وكذلك خلال الفترات الثلاثة. أما عند الصنف كارا فلم يظهر فرق معنوي في نسبة الحديد للأنسجة المصابة بالبكتيريا *P. ananatis* خلال ذات الفترة. أما تلك الأنسجة المصابة بالبكتيريا *E. c. carotovora* فكان هناك فرق معنوي في نسبة الحديد بعد يوم (نسبة مرتفعة) مقارنة مع 3 و 5 أيام من العدوى (نسبة منخفضة)، مع ملاحظة زيادة المساحة المصابة بهذه البكتيريا عند الصنف كارا. ويتعارض هذا مع Schaad (17) إذ وجد انخفاض نمو البكتيريا *E. c. carotovora* في درنات البطاطس/البطاطا المعاملة بالحديد ولكن تتفق مع نتائج Schaad (17) عند الدرنات المعدية بالبكتيريا *P. ananatis* حيث كانت مساحة الأنسجة المتحللة أقل من مساحة الأنسجة المتحللة بالبكتيريا *E. c. carotovora*.

ويلاحظ من جدول 3 أيضاً أن نسبة المغنيزيوم مرتفعة عند الصنف ليستا مقارنة مع الصنف كارا في درنات الشاهد. أما في الأنسجة المتعفنة فيلاحظ أن هذا العنصر مرتفعة بعد يوم واحد من العدوى بالبكتيريا *P. ananatis* في الصنفين، ثم انخفض تدريجياً بعد 3 ثم 5 أيام من العدوى بذات البكتيريا. وعلى العكس من ذلك انخفضت عند هذا العنصر في الأنسجة المتعفنة بفعل البكتيريا *E. c. carotovora* بعد يوم من العدوى في الصنفين، ثم ارتفع بعد 3 و 5 أيام. ولم يفهم سبب تدرج انخفاض المغنيزيوم في الأنسجة المتحللة بالبكتيريا *P. ananatis* أو تدرج ارتفاعه في الأنسجة المتحللة بالبكتيريا *E. c. carotovora*. ربما يرجع ذلك إلى زيادة الأنسجة المتحللة بالبكتيريا *c. carotovora* وخصوصاً الصنف كارا جعلت من عنصر المغنيزيوم أكثر تركيزاً في هذه الأنسجة المتحللة مقارنة بالأنسجة الأقل تحللاً بالبكتيريا *P. ananatis*. أو ربما يرجع إلى كون البكتيريا *P. ananatis* أكثر تمثيلاً للمغنيزيوم من البكتيريا *E. c. carotovora*.

وأخيراً فإن نسبة البوتاسيوم تكاد تكون مرتفعة ومقاربة في درنات الشاهد للصنفين ولا يوجد فرق معنوي بينهما بعد يوم، 3 و 5 أيام من العدوى. وكانت نسبة التعفن منخفضة عند الصنف كارا المعدية

بالبكتيريا *P. ananatis* بعد يوم واحد من الإصابة. كما يلاحظ انخفاض نسبة البوتاسيوم في باقي المكررات المتعفنة نتيجة العدوى بنوعي البكتيريا عند الصنفين مع ملاحظة زيادة مساحة التعفن في الصنف كارا وعدم وجود فروقات معنوية بين هذه المكررات المتعفنة. وقد يعود ذلك إلى قدرة نوعي البكتيريا في الإستفادة من عنصر البوتاسيوم في التمثيل الغذائي. وبناءً على ما تقدم، أوضحت نتائج الدراسة إضافة مرض جديد للبكتيريا *P. ananatis* على درنات البطاطس/البطاطا بجانب إمرضها لعوائل أخرى مثل البصل (22).

جدول 2. تحليل الأحماض الدهنية بواسطة بكتيريا الشاهد *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* والبكتيريا *Pantoea ananatis* المعزولة من درنات البطاطس/البطاطا.

Table 2. Fatty acid analysis of the bacterium *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* (reference) and *Pantoea ananatis* isolated from potato tubers.

% للأحماض الدهنية % of total fatty acids				
<i>E. c. carotovora</i>		<i>P. ananatis</i>		أنواع الأحماض الدهنية Fatty acid class
المساحة Peak area %	المساحة Peak area %	المساحة Peak area %	المساحة Peak area %	
سلاسل أحماض دهنية مشبعة بأعداد كربون مزدوجة Saturated straight chains with even carbon numbers				
0.00	0.00	1.28	0.78	0 : 10
5.83	0.33	7.70	4.70	0 : 12
49.47	2.80	0.44	0.27	0 : 14
2.30	0.13	1.02	0.62	0 : 16
12.37	0.70	23.99	14.64	0 : 18
4.95	0.28	7.00	4.27	0 : 20
سلاسل أحماض دهنية مشبعة بأعداد كربون مفردة Saturated straight chains with odd carbon numbers				
0.00	0.00	1.05	0.64	0 : 11
2.65	0.15	0.79	0.48	0 : 15
0.00	0.00	1.41	0.86	0 : 19
أحماض دهنية غير مشبعة Unsaturated acids				
0.00	0.00	14.55	8.88	1 : 16
11.13	0.63	29.35	17.91	1 : 18
2.47	0.14	6.03	3.68	1 : 20
حمض سيكلوبروبان Cyclopropane acids				
0.00	0.00	1.41	0.86	0 : 19 D
8.83	0.50	3.98	2.43	أحماض دهنية غير معرفة
Unknown fatty acids				

جدول 3. متوسط المحتوى من الكالسيوم، الحديد، المغنيزيوم والبيوتاسيوم (مغ/كغ) للمادة الجافة من الأنسجة المتعفنة عند صنفى كارا وليستا المعداة بالتعفن الطري *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* و *Pantoea ananatis*، مقارنة مع الشاهد غير المعدى.

Table 3. Average content of Ca, Fe, Mg and K (mg/kg) in the soft rot dry matter of potato tubers cv. "Cara and Lesta" infected with the soft rot bacterium (*Erwinia carotovora* spp. *carotovora* and *Pantoea ananatis*) compared to non infected tubers (check).

الشاهد بدون عدوى Check non infected	الممرض Pathogen		الزمن (يوم) Time (Day)	الصنف Cultivar	المعدن Mineral
	<i>E. c. carotovora</i>	<i>P. ananatis</i>			
2.01 bc	1.23 bc	1.69 bc	1	Cara	كالسيوم Ca
2.12 bc	1.27 bc	1.94 bc	3		
2.96 b	1.79 bc	1.41 bc	5		
9.53 a	1.24 bc	1.50 bc	1	Lesta	ليستا
3.18 b	1.36 bc	1.69 bc	3		
3.35 b	1.65 bc	1.07 c	5		
5.64 cde	8.71 abc	6.88 abcde	1	Cara	حديد Fe
5.46 de	5.10 e	8.44 abcd	3		
4.61 e	4.72 e	9.16 ab	5		
8.78 abc	7.52 abcde	6.39 abcde	1	Lesta	ليستا
9.43 a	6.02 bcde	6.31 abcde	3		
9.12 ab	5.05 e	6.07 bcde	5		
4.08 bcd	2.99 bcde	3.62 bcde	1	Cara	مغنيزيوم Mg
2.49 de	4.31 bc	3.41 bcde	3		
2.03 e	4.72 b	2.30 de	5		
8.74 a	2.40 de	4.06 Bcd	1	Lesta	ليستا
3.73 bcde	2.61 cde	3.63 bcde	3		
3.50 bcde	3.35 bcde	2.27 de	5		
75.42 ab	51.40 cde	80.87 a	1	Cara	بيوتاسيوم K
3.07 abcd	51.32 cde	43.23 de	3		
2.02 abcd	44.95 de	39.37 e	5		
79.62 a	49.95 cde	53.98 bcde	1	Lesta	ليستا
69.57 abc	49.72 cde	52.37 Cde	3		
1.87 Abcd	45.90 de	43.57 de	5		

الأرقام التي تحتوي على ذات الحرف لا توجد فروق معنوية بينهما تبعاً لاختبار أقل فرق معنوي وعند مستوى احتمال 0.05.

Numbers with the same letter in the same column are not significantly different, using the least significant difference test (LSD) at P= 0.05.

Abstract

El-Ariqi, S.N.S. 2006. Isolation and Identification of Bacteria Causing Black Soft Rot Disease in Potato Tubers and its Comparison with *Erwinia carotovora* spp. *carotovora*. Arab J. Pl. Prot. 24: 1-6.

A yellow bacterium was isolated from infected tubers (Cara cultivar) with black soft rot disease on glycerol nutrient agar (GNA). The bacterium was found gram-negative, rod shaped, motile, and capable of anaerobic growth. The physiological attributes of the bacterium fit the description of *Erwinia carotovora* spp. *carotovora*, but its pathogenicity differed from black soft rot. Cellular fatty acid of yellow bacterium from potato tubers were significantly different qualitatively and quantitatively from those of the *E. c. carotovora*. Results of pathogenicity test, morphological, physiological, and biochemical characteristics and cellular fatty acid profiles revealed that this isolate belongs to *Pantoea ananatis*. The Ca, Fe, and Mg minerals content in Lesta cultivar tubers was higher than that of Cara cultivars 1, 3 and 5 days after inoculation. However, there was no significant difference in K contents between the two cultivars. There was a decrease in Ca, Mg, K content in the rotted tissues of Lesta and Cara cultivars, with more rotted area in Cara cultivar, especially when infected with *E. c. carotovora*.

Key words: Black soft rot, *Erwinia carotovora*, fatty acid, *Pantoea ananatis*, potato.

Corresponding author: S.N.S. El-Ariqi, Sanaa University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, P.O. Box 13035, Sanaa, Yemen, Email: ariqi@maktoob.com

References

1. Abo-El-Dahab, M.K. and M.A. El-Goorani. 1969. Antagonism among strains of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 59: 1005-1007.
2. Bartz, J.A., S.J. Locascio and D.P. Weingarten. 1992. Calcium and potassium fertilization of potatoes grown in North Florida: II. Effect on the bacterial soft rot potential in the tubers. *American Potato Journal*, 69(1): 39-50.
3. Bergey, D.H. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (9th ed). Pages 141-198, 469-476. Noel R.

- Krieg and John G. Holt (Editors). Baltimore Williams and Wilkins /London.
4. **Bergey, D.H., F.C. Harrison, R.S. Breed, B.W. Hammer and F.M. Huntoon.** 1923. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1st edition). Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA.
 5. **Bruton, B.D., J.M. Wells, G.E. Lester and C.L. Patterson.** 1991. Pathogenicity and characterization of *Erwinia ananas* causing a post-harvest disease of cantaloup fruit. *Plant Disease*, 75: 180-183.
 6. **De Baere, T., R. Verhelst, C. Labit, G. Verschraegen, G. wauters, G. Claeys and M. Vaneechoutte.** 2004. Bacteremic infection with *Pantoea ananatis*. *JCM*. 42(9): 4393-4395.
 7. **De Boer, S.H. and M. Sasser.** 1986. Differentiation of *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* and *Erwinia carotovora* spp. *atroseptica* on the basis of cellular fatty acid composition. *Canadian Journal of Microbiology*, 32: 796-800.
 8. **El-Ariqi, S.N.S.** 1996. Studies on some bacterial diseases of certain solanaceous vegetable crops. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Alexandria, University, Egypt, 84 pp.
 9. **Evanhuis, B. and P.W. De Waard.** 1980. Principles and practices in plant analysis. Royal Tropical Inst., Amsterdam Paper, 15: 152-163.
 10. **Fahy, P.C. and G.J. Persley.** 1983. Plant Bacterial Diseases, a Diagnostic Guide. Pages 107-373. Academic Press, Sydney, New York, London.
 11. **Karwasra, S.S. and R.D. Parashar.** 1990. Host nutrition in relation to soft rot incidence in potato. *Plant Disease Research*, 5(2): 170-174.
 12. **Klement, Z., K. Rudolph and D.C. Sands.** 1990. Methods in Phytobacteriology. Akademiai Kiado, Budapest, 133 pp.
 13. **Kori, Y., N. Furuya, K. Tsuno and N. Matsuyama.** 1992. Differentiation of *Erwinia chrysanthemi* and *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* by the cellular fatty acid analysis. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu-University*, 37(2): 173-178.
 14. **Lelliott, R.A.** 1974. II. *Erwinia winslow*, Broadhurst. Buchanan, Krumwiede Rogers and Smith 1920. Pages 332-339. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th edition). R.E. Buchanan and N.E. Gibbons (Editors). Baltimore Williams and Wilkins.
 15. **McGuire, R.G. and A. Kelman.** 1986. Calcium in potato tuber cell walls in relation to tissue maceration by *Erwinia carotovora* spp. *atroseptica*. *Phytopathology*, 76(4): 401-406.
 16. **Pagel, W. and R. Heitefuss.** 1989. Calcium content and cell wall polygalacturonans in potato tubers of cultivars with different susceptibilities to *Erwinia carotovora* spp. *atroseptica*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 35(1): 11-21.
 17. **Schaad, N.W.** 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. (2nd ed.). Bacteriology Committee of American Phytopathological Society, Minnesota, 71 pp.
 18. **Serrano, F.B.** 1928. Bacterial fruitlet brownrot on pineapple in the Philippines. *Philippine Journal Science*, 36: 271-305.
 19. **Shashirekha, M.N. and P. Narasimham.** 1990. Effects of treating seed potatoes with trace elements on sprouting and microbial spoilage during storage under tropical conditions. *Annals of Applied Biology*, 117(3): 645-652.
 20. **Torres, R., N. Teixedo, J. Usall, M. Abadias and I. Vinas.** 2005. Post-harvest control of *Penicillium expansum* on pome fruits by the bacterium *Pantoea ananatis*. *CPA-3 The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80(1): 75-81.
 21. **Tzeng, K.C.** 1987. Calcium nutrition of potato plants in relation to bacterial soft rot susceptibility and internal brown spot of potato tubers. *Dissertation Abstracts International, -B-Sciences and Engineering*, 47: 9,3608B; 168 pp. (Abstract).
 22. **Walcott, R.R., R.D. Gitaitis, A.C. Castro, F.H. Sanders Jr and J.C. Diaz-Perez.** 2002. Natural infestation of onion seed by *Pantoea ananatis*, causal agent of center rot. *Plant Disease*, 86: 106-111.
 23. **Wells, J.M. and H.E. Moline.** 1991. Differentiation of the soft rotting *Erwinia* (the *carotovora* group) by fatty acid composition. *Journal of Phytopathology*, 131(1): 22-32.
 24. **Wells, J.M., J.E. Butterfield and L.G. Reveal.** 1993. Identification of bacteria associated with postharvest diseases of fruits and vegetables by cellular fatty acid composition. *Phytopathology*, 83(4): 445-455.
 25. **Zherebilo, O.E. and N.M. Vyshtalyuk.** 1991. Fatty acid composition of cellular lipids of *Erwinia carotovora* spp. *atroseptica*. *Mikrobiologicheskii-zhurnal*, 53(4): 33-39.
 26. **Zherebilo, O.E., N.M. Vyshtalyuk and N.M. Tarnavskay.** 1992. Fatty acid composition of cell lipids of virulent and avirulent strains of *Erwinia carotovora* spp. *carotovora*. *Mikrobiologicheskii-zhurnal*, 54(1): 33-39.

Received: January 28, 2005; Accepted: April 18, 2006

تاريخ الاستلام: 2005/1/28؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2006/4/18