

## عزل وتشخيص بكتريا مرض الساق الاسود في البطاطا

نديم احمد رمضان      زهراء سالم المشهداني

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2002/10/12 ، تاريخ القبول 2003/1/9)

### الملخص

جمعت عينات من نباتات البطاطا المصابة بمرض الساق الاسود من حقول مختلفة في محافظة نينوى. تم عزل البكتريا المسببة لهذا المرض من درنات البطاطا وسيقان النباتات الهوائية والاوراق والتربة ومن ماء السقي وقد تبين أن الدرنات الام تعد المصدر الاهم لحدوث العدوى، كما تم الحصول على 52 عزلة من بكتريا *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* و 16 عزلة من *Erwinia carotovora* var. *carotovora* و 21 عزلة من *E. chrysanthemi* وهذه البكتريا هي التي تسبب مرض الساق الاسود في البطاطا. ودلت النتائج التي اجريت على أن المسبب الرئيسي لمرض الساق الاسود هي بكتريا *E. c.* var *atroseptica*. كذلك تم تحديد أفضل وسط لنمو هذه البكتريا عند تثبيت درجة الحرارة 27م وفترة التحضين 48 ساعة وكان وسط مستخلص البطاطا والاكستروز والاكار أفضل الاوساط المستخدمة أما أفضل وسط لنمو البكتريا في درجات حرارية مختلفة فقط كان وسط الاكار المغذي.

### Isolation and Identification The Bacteria of Potato Blackleg Disease

Nadeem A. Ramadan      Zahraa S. AL-Mashhadany

Department of Biology

College of Science

Mosul University

### ABSTRACT

Infected potato with blackleg disease were collected from different fields of Nenava province fifty two isolates of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, 16 isolates of *Erwinia carotovora* var. *carotovora*, 21 isolates of *Erwinia chrysanthemi* were identified. The results showed that the main cause of blackleg disease of potato in this province was

*Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. The bacteria that cause this disease were isolated from potato tubers, shoots, soil and water. The mother tubers were found to be the major source of inoculum for blackleg disease. The best growth medium for this bacteria at constant temperature (27°C) and incubation period for 48 hours, was potato dextrose agar media, while the best medium at varying temperatures was nutrient agar medium.

#### المقدمة

تعد البطاطا أحد أهم محاصيل الخضار في العديد من دول العالم خصوصاً أمريكا وأوروبا وهي تنتمي العائلة الباذنجانية *Solanaceae*. وهي تنتشر في انحاء العالم والاسم العلمي للبطاطا *Solanum tuberosum* L. أدخلت البطاطا الى العراق في نهاية القرن التاسع عشر وبداية القرن العشرين إلا أن زراعتها إنتشرت على نطاق تجاري عام 1960 وإن المساحة المزروعة وكمية الانتاج في هذه المساحة منخفضة وما زالت لاتمد احتياجات العراق وإن أحد الاسباب الرئيسية هو إنخفاض إنتاجية الدونم الواحد حيث بلغت 4.2 طن/دونم للعروة الربيعية لعامي 1990 و 1991 على التوالي (القرغولي، 1999). معظم إنتاج البطاطا يستخدم للاستهلاك الانساني ولا تتوفر في جميع الفصول بسبب مشاكل الخزن والامراض البكتيرية التي تتعرض لها والتي يجب مقاومتها اذا أريد الحفاظ على الانتاج والنوعية الجيدة وتمتلك العديد من أصناف البطاطا مقاومة لمرض واحد في الاقل ويمتلك القليل منها مقاومة لعدة أمراض (Hooker, 1981). تتعرض البطاطا بصورة عامة للعديد من الامراض وهناك قائمة بحوالي 90 مرضاً بكتيرياً وفطرياً و 30 مرضاً فايروسياً تصيب البطاطا وقد أضيفت 40 حالة غير اعتيادية تعود لاسباب غير معروفة (صالح وعبدول، 1988). تهدف الدراسة الحالية الى عزل البكتريا المسببة لهذا المرض وتحديد مصدر الاصابة وأفضل وسط غذائي لنمو البكتريا.

#### المواد وطرق العمل

##### عزل المسبب المرضي:

تم عزل مسبب مرض الساق الاسود في البطاطا من المصادر الاتية:

النبات: جمعت عينات من أجزاء مختلفة لنبات البطاطا من حقول محافظة نينوى لعام 1999 كالسيقان الهوائية والاوراق والدرنات المصابة ووضعت في أكياس نايلون ونقلت الى المختبر وحفظت في التلاجة لحين إجراء العزل. غسلت أجزاء النبات بماء الحنفية للتخلص من التربة العالقة بها وقطعت الى قطع صغيرة ووضعت في دورق زجاجي وعقمت سطحياً بإستخدام هايبيكلوريت الصوديوم 1% لمدة دقيقتين ثم بالماء المقطر المعقم لازالة آثار المادة المعقمة بعدها نقلت الى قنينة زجاجية صغيرة حاوية على وسط المرق المغذي وحضنت بدرجة 37م لمدة (18-24) ساعة بعدها نقلت قطرة من المرق المغذي الى وسط أكار الماكونكي (Maher et al., 1986).

التربة: تم جمع عينات التربة من حقول البطاطا المصابة بمرض الساق الاسود ووضعت في أكياس نايلون نقلت الى المختبر. ثم أضيف 10 غم من العينة الى ذورق حاوي على 90 مل ماء مقطر معقم. رج المحلول ثم نقل 1 مل من المعلق الى وسط الماكونكي الصلب وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة وثلاث مكررات ثم تكرر ذلك كل 10 أيام.

ماء السقي: نقلت عينات من ماء السقي من حقول البطاطا المصابة بقفاني الى المختبر وتم تلقيح 1 مل من ماء السقي على وسط آكار الماكونكي وتم تلقيح ثلاث مكررات لكل عينة وحضنت الأطباق بدرجة 37°م ولمدة 24 ساعة (Perombelon and Elphinston, 1986).

الايوساط المستخدمة في العزل والتشخيص: تم استخدام وسط المرق المغذي (NB) Nutrient Broth (Perombelon and Elphinston, 1986) ووسط آكار الماكونكي (MA) MacConkey Agar (Kloeppe, 1983) ووسط الأكار المغذي (NA) Nutrient Agar (Ward and DeBoer, 1995).

#### تشخيص البكتريا:

لغرض تشخيص البكتريا النامية على وسط آكار الماكونكي تم إختبار الصفات المظهرية للمستعمرات البكتيرية ثم أجريت الاختبارات التالية:

#### - الفحص المجهرى:

وذلك بتحضير أغشية رقيقة من المزارع البكتيرية الحديثة وصبغها بصبغة كرام لملاحظة الشكل والصبغة.

#### - الاختبارات الكيموحيوية :

تم إجراء العديد من الاختبارات الكيموحيوية والتي شملت إختبار الكاتاليز والاكسديز وإختبار الأندول والحركة وتكوين غاز كبريتيد الهيدروجين وإختبار إختزال النترات وتحلل الجيلاتين وفينايلى النين داي أميليز وتخمر الكاربوهيدرات وإختبار المثل الاحمر وفوكس بروس كور وإستهلاك أسترات وفعالية أنزيم تحلل اليوريا (Macfaddin, 1985).

#### - النمو على الاوساط الزرعية :

تم تحضير عدد من الاوساط الزرعية وذلك من أجل الحصول على أفضل وسط لعزل البكتريا وقد تم تحضير وسط (NA) الذي يعد من الاوساط المهمة لعزل البكتريا *E.c.a.* (Allefs et al., 1996) ووسط (MA) ووسط البطاطا والذكستروز والاکار (PDA) Potato Dextrose Agar ووسط عامل النمو (GFM) Growth Factor Medium (Starr et al., 1981).

**سلامة الدرنات المخزونة:**

تم الحصول على درنات لثمانية أصناف من مركز إباء للبحوث الزراعية الشمالية / نينوى وهي (تايمت ودايمونت وديزاري وعجبية ولولا ومارفونا ومرتال وميركال). غسلت الدرنات بالماء للاستخلص من التربة العالقة بها. أخذت ثلاث درنات من كل صنف ووضعت في أكياس نظيفة ووضع معها قطعة مبللة من القطن لمنع حدوث جفاف للدرنات بعد ذلك تم إغلاق الأكياس وحضنت لمدة 7 أيام بدرجة 28م بعدها تم أخذ جزء من النسيج الباقي للدرة وزرع على وسط المرق المغذني N.B. وحضن لمدة 18-24 ساعة بدرجة حرارة 7م بعد ذلك لوحظت العكارة في الوسط ونقل من الوسط بواسطة إسرة التلقيح الى وسط آكار الماكونكي بعدها تم تشخيص البكتريا كما ذكر سابقاً.

**النتائج والمناقشة****العزل :**

تم الحصول على 89 عزلة للبكتريا المسببة لمرض الساق الاسود من الدرنات والسيقان الهوائية التي ظهرت عليها الأعراض *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* (E.c.a.) و *Erwinia carotovora* var. *carotovora* (E.c.c.) و *Erwinia chrysanthemi* (E.ch.) (الجدول 1). ولتحديد فترة بقاء البكتريا في التربة أظهرت النتائج بقائها لمدة 20 يوم كما يدل على عدم قدرة هذه البكتريا على مقاومة الظروف البيئية خارج النبات حيث ذكر Hooker (1981) بقاء البكتريا في التربة لمدة 80-110 يوم بدرجة حرارة 2م لكنها تبقى لفترة قصيرة جداً بدرجة حرارة أعلى من ذلك وقد أوضح كل من Perombelon و Hyman (1995) أن درجات الحرارة تعد من الاسباب المهمة لاطالة فترة بقاء البكتريا في التربة، تم أيضاً عزل البكتريا المسببة لهذا المرض من ماء السقي ومعروف مدى تأثير تلوث ماء السقي على عملية العدوى وانتقال البكتريا الممرضة داخل الحقل وقد أشار Bartiz Kelman (1984) الى أخطار تلوث ماء السقي للبكتريا الامر الذي يؤدي الى انتقال البكتريا الى النباتات المصابة ومن ثم الى سيارات النقل والمخازن وحدث خسائر داخل المخازن.

**التشخيص :**

تم اختبار مستعمرات البكتريا على وسط آكار الماكونكي (MA) والتي ظهرت بشكل مستعمرات وريدية دائرية صغيرة ذات حواف ملساء والتي تم عزلها بشكل مزارع نقية على وسط الآكار المائل ثم إجراء الاختبارات الشكلية والكيموحيوية لها.

**صبغة كرام:**

أجري هذا الاختبار للتأكد من أشكال الخلايا البكتيرية حيث ظهرت جميع العزلات البكتيرية بشكل عصوي قصيرسالية لصبغة كرام تتواجد بشكل مفرد أو تجمعات وهذا ما أوضحه Gallois وآخرون (1992).

## الاختبارات الكيموحيوية:

لم تظهر جميع العزلات قدرة على إنتاج أنزيم سايتوكروم اوكسيداز بينما سجلت جميع العزلات قدرتها على إنتاج أنزيم الكاتاليز من تصاعد فقاعات الاوكسجين O2 الناتجة من تحلل مركب البيروكسيداز (H2O2) المضاف. أما مجموعة إختبارات IMVIC والتي تتضمن إختبارات الاندول والميثيل الاحمر وفوكس بروس كور والسترات فإن هذه الاختبارات تعتبر مهمة للتمييز بين أنواع البكتريا المسببة لمرض الساق الاسود على البطاطا حيث أن بكتريا *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* أعطت نتيجة سالبة لاختبارات الاندول I والميثيل الاحمر MR وفوكس بروس كور VP وهذا مايميزها عن كل من بكتريا *Erwinia chrysanthemi* و *Erwinia carotovora* var. *carotovora* اللتان أعطيا نتيجة موجبة لهذه الاختبارات كما أوضح ذلك Gallois وآخرون (1992) وذلك بتكون الحلقة الحمراء لاختبار الاندول واللون الاحمر واللون الوردي لإختبار فوكس بروس كور بعد إضافة الكواشف لها (الجدول 1). أما للتمييز بين *E.ch.* و *E.c.c.* فتم بواسطة اختبارات السترات كما أوضح ذلك DeBoer وآخرون (1987) حيث أن هذه الاخيرة تعطي نتيجة سالبة لهذا الاختبار ولا أهمية له في تشخيصها، بينما أظهرت جميع العزلات نتيجة موجبة لاختبار توليد غاز كبريتيد الهيدروجين بتكون راسب أسود من غاز كبريتيد الحديدوز وأظهرت العزلات نتيجة سالبة لاختبار الفيناييل ألنين وأظهرت جميع العزلات نتيجة موجبة لاختبار الحركة وذلك بانتشار النمو لمسافة أبعد من نقطة التلقيح. وأظهرت جميع العزلات قدرتها على تحليل الجيلاتين بعد مرور 48 ساعة فقط كما في الجدول (1) وأظهرت جميع العزلات نتيجة موجبة لاختبارات تخمر السكريات وهي (الارابينوز والتريهالوز والرامينوز والزايبوز واللاكتوز والمانوز والمانيتول). وذلك بتغير لون الوسط المستعمل من الاحمر الى الاصفر باستثناء بكتريا *E.ch.* التي أعطت نتيجة سالبة لتخمر سكري التريهالوز واللاكتوز فقط. بينما أعطت نتيجة موجبة لبقية أنواع السكريات وأعطت جميع العزلات نتيجة موجبة لاختبار إختزال النترات ونتيجة سالبة لاختبار تحلل اليوريا.

## تأثير الاوساط الزرعية ودرجات الحرارة على نمو البكتريا النمو على الاوساط الزرعية:

1. تم تنمية البكتريا المسببة لمرض الساق الاسود على عدة أوساط زرعية تم تحضيرها لغرض الحصول على أفضل وسط لنموها. تم تثبيت درجة الحرارة 27م وفترة التحضين 48 ساعة وتوضح نتائج الجدول (2) و (3) و (4) أن وسط (PDA) يعتبر أفضل وسط لعزل البكتريا عليه يليه وسط (N.A.) والذي اعتبره و Fraaije وآخرون (1997) وسطاً ملائماً لعزل هذه البكتريا بهذه الدرجة الحرارية. ثم وسط (MA) الذي إعتبره Kloepper (1983) أفضل وسط لنمو البكتريا عليه عند درجة 37م أفضل من الدرجات الحرارية الأخرى. أما وسط (G.F.M.) فإنه لم يعط أي نمو لجميع الدرجات الحرارية، وقد ذكر Dickey (1979) أن درجة 27م وفترة تحضين 24 ساعة تكون ملائمة لعزل هذه البكتريا.

## 2. تأثير درجات الحرارة والايوساط الزراعية:

يتبين من الجدول (2) أن وسط (NA) يعد أفضل وسط لعزل بكتريا *E.c.a.* عند درجة 27 و 29م أن هذا الوسط يعتبر وسط ملائم لعزل مسبب مرض الساق الاسود بكل الدرجات الحرارية . أما نتائج الجداول (3) و(4) فقد بينت أن أفضل الدرجات الحرارية لعزل كل من *E.c.c.* و *E.ch.* على وسط (NA) هي الدرجات (33 و 35 و 37)م ويعود سبب ذلك الى قدرة هذه البكتريا على تحمل درجات الحرارة العالية بعكس بكتريا *E.c.a.* ويتفق ذلك مع نتائج Bazer و Schuerger (1993). تبين نتائج الجداول (2) و (3) و (4) تشابه النمو البكتيري على وسط (MA) بمختلف الدرجات الحرارية وهذا ما أكدته Maher وآخرون (1986) كذلك تشير الجداول الى تشابه النمو على وسط (PDA) حيث يكون النمو البكتيري أفضل عند الدرجات الحرارية أقل من 30م ويبدأ النمو بالتناقص مع زيادة درجة الحرارة، وهذا ما ذكره Xu و Grows (1986) أما وسط عامل النمو (GFM) فقد بينت نتائج الجداول (2) و (3) و (4) عدم قدرة هذا الوسط على تنمية أي بكتريا عند الدرجات الحرارية المختلفة مما يؤكد عدم كفايته في العزل بينما اعتبره كل من Allefs وآخرون (1995) من الاوساط الاختيارية لعزل بكتريا *E.ch.*

الجدول 1: استجابة البكتريا المسببة لمرض الساق الاسود في البطاطا للاختبارات الكيموحيوية.

الاختبارات	<i>E.c.a.</i>	<i>E.c.c.</i>	<i>E.ch.</i>
صبغة كرام	-	-	-
الاوكتديز	-	-	-
الكاتاليز	+	+	+
إنتاج الأندول	-	+	+
المثيل الاحمر	-	+	+
فوكس بروس كور	-	+	+
إنتاج السترات	+	+	-
إنتاج كبريتيد الهيدروجين	+	+	+
فينايل النين	-	-	-
الحركة	+	+	+
تحلل الجيلاتين	+	+	+
سكر الارابينوز	+	+	+
سكر التريهالوز	+	+	-
سكر الرامينوز	+	+	+
سكر الزالبيوز	+	+	+
سكر اللاكتوز	+	+	-
سكر المانوز	+	+	+
سكر المانيتول	+	+	+
إختزال النترات	+	+	+
تحلل اليوريا	-	-	-
مجموع العزلات	52	16	21

*E.c.a.* = *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*

*E.c.c.* = *E. carotovora* var. *carotovora*

*E.ch.* = *E. chrysanthemi*

- سالبة للاختبار ، + موجبة للاختبار ، مجموع العزلات 89

## سلامة أصناف البطاطا المخزونة:

تم الحصول على درنات ثمانية أصناف من البطاطا المحفوظة في المخازن المبردة والتي سوف تستخدم كتقاي في الموسم القادم للزراعة وتوضح نتائج الجدول (5) عزل البكتريا المسببة لمرض الساق الأسود وكانت أكثر أنواع البكتريا تواجداً هي *E.c.c.* حيث عزلت من 7 أصناف ماعدا الصنف تايمست. عزلت البكتريا *E.c.a.* من خمسة أصناف بينما عزلت *E.ch.* من درنات الصنفين لولا ومترال كما لم يتم عزل البكتريا من درنات الصنف تايمست. إن تواجده هذه البكتريا على تقاوي البطاطا المخصصة للزراعة يجعلها مصدراً لإصابة الدرنات الحديثة والنباتات النامية بالإضافة الى تلوث التربة وماء السقي وقد أشار كل من Harrison (1975) و Cappaert وآخرون (1988) الى إنتقال البكتريا من الدرنات المصابة المزروعة الى التربة وماء السقي والتي تم عزلها منها كذلك أوضح Gudmested و Secor (1993) الى إمكانية إصابة الدرنات السليمة في المخزن عند تواجدها مع الدرنات المصابة بنفس المكان ويمكن أن يعود السبب الى عدم توفر الظروف الملائمة للمخزن او عدم السيطرة عليها طيلة فترة التخزين حيث أن زيادة الرطوبة توفر الظروف الملائمة لنمو البكتريا ونشاطها كما يعد بداية لإصابات ثانوية لمسببات مرضية أخرى وهذا ما أوضحه كل من Zink و Secor (1982).

الجدول 2: تأثير درجات الحرارة والأوساط على بكتريا *E.carotovora var. atroseptica*.

درجات الحرارة الأوساط الزراعية	27م	29م	31م	33م	35م	37م
G.F.M.	-	-	-	-	-	-
M.A.	+	+	+	++	++	+++
N.A.	+++	+++	+++	++	++	++
PDA	+++	+++	+++	++	+	+

- لا يوجد نمو ، + نمو ضعيف ، ++ نمو متوسط ، +++ نمو جيد

G.F.M= Growth Factor Medium, M.A= MacConkey Agar,  
N.A= Nutrient Agar, P.D.A =Potato Dextrose Agar

الجدول 3: تأثير درجات الحرارة والأوساط على بكتريا *E. carotovora var. carotovora*.

درجات الحرارة الأوساط الزراعية	27م	29م	31م	33م	35م	37م
G.F.M.	-	-	-	-	-	-
M.A.	+	+	+	++	++	+++
N.A.	++	++	++	+++	+++	+++
PDA	+++	+++	+++	++	+	+



الجدول 4 : تأثير درجات الحرارة والاوزاط المختلفة على بكتريا *E.chrysanthemi*.

درجات الحرارة / الاوزاط الزراعية	27م	31م	33م	35م	37م
G.F.M.	-	-	-	-	-
M.A.	+	+	+	++	+++
N.A.	++	++	++	+++	+++
PDA	+++	+++	++	+	+

- لا يوجد نمو ، + نمو ضعيف ، + نمو متوسط ، +++ نمو جيد

الجدول 5 : عزل البكتريا المسببة لمرض الساق الاسود من نقاوي البطاطا المحفوظة في المخازن المبردة

البنكترى المنف	<i>E.c.a.</i>	<i>E.c.c.</i>	<i>E.ch.</i>
تايمت	*-	-	-
دايمونت	-	+	-
دايزاري	+	+	-
عجبية	+	+	-
لولا	+	+	+
مارفونا	+	+	-
مترال	-	+	+
ميركال	+	+	-

\* - الدرنات خالية من البكتريا + الدرنات حاملة للبكتريا

#### المصادر العربية

صالح، مصلح محمد سعيد وكريم صالح عبدول، 1988. البطاطا - إنتاجها - خزنها وتصنيعها (الجزء الثاني). جامعة صلاح الدين، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، جمهورية العراق. 711 صفحة.

الفرغولي، جبار محسن جابر، 1999. تأثير البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والمعاملة بكتريكات الكالسيوم على مسببي مرض التعفن الطري *E. carotovora* var. *carotovora* ومرض الستعفن الجاف *Fusarium solani* على درنات البطاطا في الحقل وأثناء الخزن. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

## المصادر الاجنبية

- Allefs, J.J.H., Van Dooijweert, W., Degon, E.R., Prumrel, W. and Hoogendoorn, C., 1995. The Rolt of the Seed Tuber in Determining Partial Resistance Potato Blackleg causes by *Erwinia* spp. European J. of Plant Pathology Vol. 101, pp.189-199.
- Allefs, S.J.H.M., Dejong, E.R., Floracfk, D.E.A., Hoogendoorn, C. and Stiekema, W., 1996.a., *Erwinia* Soft Rot Resistance of Potato Cultivars Expressing. Antimicrobial Peptide TachyplesinI., Molecular Breeding, Vol. 2, pp.97-105.
- Bartiz and Kelman, A., 1984. Bacterial Soft Rot Potential in Washed Potato Tubers in Relation to Temperatures and Waters During Simulated Commercial Handling Practices. Amer. Potatp. J. Vol. 61, pp.485-493.
- Cappaert, M.R., Powelson, M.L., France, G.D. and Harrison, M.D., 1988. Irrigation Water a Sourer of Inoculum of Soft Rot *Erwinia* for Aerial Stem Rot of Potato. Phytopathology., Vol. 78, pp.1668-1672.
- DeBoer, S.H., Verdonck, L., Vrugink, H., Harju, P., Bang, H.O. and Deley, J., 1987. Serological and Biochemical Variation Among Potato Straus of *Erwinia carotovora* Subsp. *atroseptica* and their Taxonomic Relationship to other *E. carotovora* Strains. J. of Applied Bacteriology. Vol. 63, pp.487-495.
- DeBoer, S.H. and Ward, L.J., 1995. PCR Detection of *Erwinia carotovora* Subsp. *Atroseptica* Associated with Potato Tissue. Phytopathology. Vol. 85, pp.854-858.
- Dickey, R.S., 1979. *Erwinia chrysanthemi* A Comparative Study of Phenotypic Properties of Strains from Several Hosts and other *Erwinia* Species. Phytopathology Vol. 69, pp.324-329.
- Elphinston, J.G. and Perombelon, M.C., 1986. Contamination of Potato by *Erwinia carotovora* During Grading . Plant Pathology. Vol. 35, pp.25-33.
- Fraaige, B.A., Apples, M. and DeBoer, S.H., 1997. Detection Soft Rot *Erwinia* spp. On Seed Potatos Conductimetry in Comparison with Dilution Planting, PCR and Serologically Assays. European J. of Plant Pathology. Vol. 103, pp.183-193.
- Gallois, A., Samson, R., Ageron, E. and Grimont, P.A.D., 1992. *Erwinia carotovora* Subsp. *odorifer* Subsp. Nov., Associated with Odorous Soft Rot of Chicory (*Cichorium intybus*.) International J. of Systematic Bacteriology, Vol. 42, No. 4, pp.582-588.
- Graham, D.C. and Harrison, M.D., 1975. Potential Spread of *Erwinia* spp. In Aerosols. Colorado University Experiment Suspended as Scientific Seris Paper. No. 2031 Phytopathology, Vol. 65, pp.739-741.
- Gudmeestad, N.C. and Secor, G.A., 1993. Management of Soft Rot and Rink Rot. Potato Health Management. Am. Phytopathological Society. pp.135-136.
- Hooker, W.J., 1981. Compendium of Potato Diseases. American. Phytopathological Society. 28p.
- Kloeppe, J.W., 1983. Effect of Seed Pice Inoculation with Plant Growth Promoting Rhizobacteria of Populations of of *Erwinia carotovora* on Plant Root and in a Daughter Tubers. Phytopathology . Vol. 73, pp.217-219.
- Macfaddin, J.F., 1985. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria, 2nd. Waverly Press, Inc, Baltimore, London.
- Maher, E.A., DeBoer, H. and Kelman, A., 1986. Serogroups of *Erwinia carotovora* Involved in Systemic Infection of Potato Plants and Infestation of Progeny Tubers. Amer. Potato J. Vol. 63, pp.1-4.

- Perombelon, M.C.M. and Hyman, L.J., 1995. Serological Methods to Quantify Potato Seed Contamination *Erwinia carotovora* Subsp. *atroseptica*. OEPP/EPPO. Vol. 25, pp.195-202.
- Schuerger, A.C. and Bazer, J.C., 1993. Identification and Host Range an *Erwinia* Pathogen Causing Steam Rots on Hydroponically Grown Plants. Plant Disease. Vol. 77, pp.472-477.
- Starr, M.P., Truer, H.G., Stolp, H. and Balows, A., 1981. The Prokaryotes. A Hand Book on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria. Berlin, Springier. Verlag. 1261p.
- Xu, G.W. and Grows, D.C., 1986. Selection of Fluorescent *Pseudomonas* Antagonistic to *Erwinia carotovora* and Suppressive of Potato Seed Piece Decay. Amer. Phytopathological Society. pp.1-3.
- Zink, R.T. and Secor, G.G., 1982. Interaction of Fungal Wilt Pathogens and Potato Blackleg. Plant Dis. Vol. 66, pp.1053-1056.