PHYTOPATHOLOGICAL NOTE:

PRELIMINARY OBSERVATIONS ON THE BACTERIOLOGY AND PATHOLOGY OF *RALSTONIA SOLANACEARUM*

FARAG, NABIL S.[1], WEDAD E.EWEDA[2], M.I.MOSTAFA[2] AND NAGLAA M. BALABEL[3]

[1] *Plant Pathology Res. Inst. ARC, Giza, Egypt*

[2] *Dept. Agric. Microbiol., Fac.Agric., Ain Shams Univ.*

[3] *Potato Brown Rot Project (PBRP) Dokki, Egypt*

(Manuscript received November, 2004)

Bacterial wilt of solanaceous crops is an important disease in warm climates, though it has been reported in Europe and in the far northern hemisphere (Thurston, 1963; Lloyd, 1975; Harris, 1976; Wilker, 1992 and Stead *et al.,* 1996) The disease is caused by *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* . Based on the host range and biochemical tests, five races and five biovars have been identified for the bacterium (Buddenhagen *et al.,* 1962; Hayward, 1964;He *et al.,* 1983 and Pegg & Moffett, 1971).

The dominant strain in Egypt is race 3 (biovar II) being characterized by low virulence to tobacco and a lower optimal temperature than other biovars (Buddenhagen & Kelman, 1964 and Hayward, 1964).

From the pathological point of view, the bacterium is found in nature as virulent (vi) and avirulent (av) forms . Both forms may be recovered from diseased plant tissues, though the interrelations between them is not well understood (Kelman,1954) and many questions are still unanswered.

Differentiation between the (vi) and (av) forms can be easily made on media containing 2,3,5 triphenyltetrzolium chloride . Colonies of the avirulent mutants are uniformly round, butyrous and deep red in colour due to the formation of formozan on tetrazolium-containing medium, contrary to the virulent ones (Buddenhagen and Kelman, 1964). More recently, a Semi Selective Medium of South Africa (SMSA) has been developed for differentiation of virulent and avirulent forms (Elphinstone *et al.,* 1996& 1998).

The present note reveals the development of large proportion of atypical forms on SMSA medium, from virulent ones stored in water . These forms were phenotypically similar to the (av) but with strong pathogenic potential in stem inoculation of tomato seedlings . The virulent (vi) and the atypical (at) forms were identical in PCR pattern, BOX PCR, Taq-Man and pathogenicity.

Both forms, however, showed considerable differences in fatty acids (FA) profile. The (at) forms showed lower content of C12:0 as well as C15:0 ISO and higher content of C15:1 WC, C15:0 and C17:0 compared to the virulent ones.

The (vi) and the (at) (previously considered av) showed distinct differences in nitrate utilization as well. The (vi) produced acid in Hugh & Leifson medium containing nitrate, either under aerobic or anaerobic conditions. The (at) form, phenotypically avirulent, produced an alkaline reaction under the same conditions with gas evolution anaerobically.

The noticeable differences between the (vi) and (at) in (FA) profiles and nitrate metabolism may be in part attributed to the observed phenotypic differences, on SMSA medium. Such an observation may render colony morphology on SMSA medium, as a diagnostic tool for virulence, controversial.

With respect to the origin of *R.solanacearum* isolates, the most pathogenic isolates was recovered from potato tubers and weeds . Soil, water and potato stem isolates were moderate in this regard. *Rumex dentatus* and *Solanum nigrum* were found as alternative hosts for *R. solanacearum* race 3(biovar II) in Egypt.

Regarding the bacterial survival in the soil, which is of a paramount importance from the pathological and epidemiological viewpoint some unprecedented results have been accumulated. The pathogen has persisted for 6 months in either sandy and clay soil under moisture content maintained at 75% WHC and ambient temperature of 28.8 °C to 15.2 °C from July to December. Under the same temperature conditions and in dry soil, the pathogen survived in sandy soil for 6 months with very high densities in December. On the other hand, densities in dry clay soil were extremely low after 5 months (November). This observation (s) on the survival may have a great impact regarding the time of planting potato in Egypt, particularly in view of the failure to detect the pathogen in January & February either under bare fallowing or under controlled soil moisture. These findings may have a great epidemiological value, in considering the disease under Egyptian conditions.

REFERENCES

1- Buddenhagen, I.W. ; L. sequeira and A. Kelman 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum* .Phytopathology, 52, 726 .

2- Buddenhagen, I. and A. Kelman 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* . Ann . Rev. Phytopathol., 2:203-230 .

3- Elphinstone, J.G.;J. Hennessy ; J.K. Wilson and D.E. Stead 1996. Sensitivity of different methods for the detection of *Ralstonia solanacearum* in potato extracts . Bulletin OEEP/ EPPO Bulletin, 26 : 663- 678 .

4- Elphinstone, J.G.; H. Stanford and D.E. Stead 1998.Detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tubers, *Solanum dulcamara* and associated irrigated water. In : Prior P., C. Allen and J. Elphinstone , (eds) Bacterial wilt disease : Molecular and Ecological Aspects (pp 133-139) Springer Publishing, Berlin .

5- Hayward, A.C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum.* J. Appl. Bacteriol., 27:265-277 .

6- Harris, D.C. 1976. Bacterial wilt in Kenya with particular reference to potatoes, Proc. 1st. Int. Conf. on the Ecology and Control of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum,* North Carolina State Univ., Raleigh, USA, pp.84-88 .

7- He, L.Y.; L. Sequeira and A. Kelman 1983. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum* from China. Plant Dis., 67: 1357-1361.

8- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. Phytopathology, 44: 693- 695 .

9- Lloyed, A.B. 1975. Grower attitudes to bacterial wilt of potatoes. J. Aus. Inst. Agric. Sci., 41: 215-216.

10- Pegg K. and M. Moffet 1971. Host range of the ginger strain of *Pseudomonas solanacearum* in Queensland. Aust . J. Exp. Agric. 11: 696-698 .

11- Stead, Dg.; J. G. Elphinstone and A. W. Pemberton 1996 .Potato brown rot in Europe. Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases 1996. vol.3: 1145-1152.

12- Thurston, H.D. 1963. Bacterial wilt of potato in Colombia . Am. Potato J., 40:381-390 .

13- Wilker, D. 1992. Potato brown rot, *Pseudomonas solanacearum*. Plant Disease Notes, Central Science Laboratory, Engl., 73,5pp.

ملاحظات مبدئية عن الصفات البكتريولوجية والباثولوجية للبكتريا " رالستونيا سولانا سيرم "

نبيل صبحي فرج [١]، وداد التهامي عويضه [٢] ، مجدي إسماعيل مصطفي [٢] ، نجلاء موسي بـــلابـــل [٣]

١ معهد بحوث أمراض النباتات – مركز البحوث الزراعية – الجيزة
٢ قسم الميكروبيولوجيا الزراعية – كلية الزراعة – جامعة عين شمس
٣ مشروع حصر مرض العفن البني في البطاطس (PBRP)– الدقي.

يمكـــن تميـــيز طـــرازي بكتـــيريا الذبـــول (رالستونيا سولانا سيرم) على أساس الشكل الظاهري للمستعمرات البكتيرية النامية على بيئة تحتوي على ٢ ، ٣ ، ٥ تراي فينايل تترازوليوم كلوريد وحديثا أمكن استحداث بيئة نصف انتقائية تسمى بيئة جنوب أفريقيا (SMSA) لتمييز كلا الطرازين .

أوضح البحث الحالي تكون إعداد متزايدة من الطرز الشبيه بالطرازات الغير حادة مرضياً على بيئة (SMSA) الملقحة من معلق بكتيري فعال مرضياً ومخزون كمعلق مائي على درجة حرارة الغرفة لمدة طويلة . هذا الطراز الشبيه بالطراز الغير فعال مرضيا أظهر قدره عالية على أحداث ذبول في شتلات الطماطم الملقحة في السيقان وذلك بالرغم من مظهرها الغير فعال وكانت مشابهة تماماً للطراز الحاد مرضـــياً فـــي اختبارات Taq - Man, BOX -PCR , PCR ولكنها أظهرت اختلافات في محتواها من بعض الأحماض الدهنية الغير مشبعة وسلوكها على بيئة Hugh & Leifson المحتوية على النترات .

وعلـــيه فإنه يمكن الاستنتاج بأن الاختلافات الظاهرية على بيئة (SMSA) ليست بالضرورة دليلاً على القدرة المرضية .

كانت العزلات المأخوذة من درنات البطاطس والحشائش أشد في قدرتها المرضية على تلك المـــأخوذة مـــن المـــاء والـــتربة وسيقان البطاطس النامية فوق سطح التربة . كما اتضح أن حشيشة الحميض *Rumex dentatus* وعنب الديب *Solanum nigrum* هي من عوائل السلالة ٣ طراز II من البكتريا رالستونيا سولانا سيرم .

بقيـــت البكتريا حية في التربة الرملية والتربة الطينية على السواء لمدة ستة أشهر بعد التلقيح تحـــت ظـــروف تنظيم الرطوبة الأرضية عند ٧٥ % ودرجات حرارة التربة الطبيعية من يوليو حتى ديسمبر(٢٨,٨ °م و١٥,٢ °م). أما في التربة الجافة فقد استمرت البكتريا في التربة الرملية لمدة ستة أشـــهر وأظهرت كثافة عالية جداً في شهر ديسمبر أما الأرض الطينية الجافة فقد أظهرت كثافة قليلة لإعداد البكتريا في شهر نوفمبر أي إنها استمرت لمدة خمسة أشهر فقط .

وتشير هذه النتائج إلى أهمية موعد زراعة البطاطس في إظهار الإصابة من عدمه حيث لم يمكن الكشف عن وجود البكتريا المسببة للعفن البني في شهر يناير وفبراير .