

Yozgat ve Kırşehir İllerinde Tüketime Sunulmuş Patates Yumrularında Bakteriyel Yumuşak Çürüklük Hastalığı Etmeni *Pectobacterium* İzolatlarının İzolasyonu ve Tanılanması


Isolation and Identification of Bacterial Soft Rot Disease Agent *Pectobacterium* Isolates on Potato Tubers Delivered for Consumption in Yozgat and Kırşehir Provinces


Murat ÖZTÜRK^{1*}, Soner SOYLU²

Öz

Pectobacterium spp. geniş bir konukçu yelpazesine sahip, her ortamda bulunan bakteriyel bitki patojenlerinden biri olup, istila ettiği bitki dokusunda Bakteriyel Yumuşak Çürüklük olarak bilinen hastalığa neden olur. Bu çalışmada 2018-2019 yılları arasında Yozgat Merkez ve Kırşehir Kaman ilçesindeki yerel pazar, manav ve zincir marketlerde satışa sunulan patates yumrularında bakteriyel yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium* spp. izolasyonu, biyokimyasal, patojenisite ve moleküler yöntemlerle tanılanması amaçlanmıştır. Survey yapılan market ve manavlardan 168 yumru örneği toplanmıştır. Tipik yumuşak çürüklük belirtisi gösteren ve göstermeyen şüpheli yumrulara pektolitik izolatların varlığının araştırılması amacıyla nemli hücre testi yapılmıştır. Çürüme belirtileri gösteren 54 farklı yumru kesitlerinden pektolitik izolatların izolasyonu Kristal Violet Pektat (CVP) besiyeri üzerinde yapılmıştır. CVP besi yerinde çukur oluşturan pektolitik koloniler NA besi yerine saflaştırılması ile toplam 42 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. Elde edilenler bakteri izolatları arasında 27 farklı izolatın Nutrient Agar (NA) besi yerinde şeffaf, parlak, düzensiz, krater formda koloni oluşturduğu belirlenmiştir. İzolatların tamamı gram ve oksidaz negatif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob, floresen olmayan koloni morfolojisine sahip özelliklerde sergilemiş ve patates dilimi üzerinde yumuşak çürüklüğe neden olmuştur. Elde edilen izolatlar ile yapılan PCR çalışmasında, 54 simptomlu yumru örneğinin 19 adedinde *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (9 izolat), *P. atrosepticum* (6 izolat) ve *Pectobacterium* spp. (4 izolat) enfeksiyona neden olan etmenler olarak tanılanmıştır. Tipik hastalık belirtisi göstermeyen 114 yumru örneğinin 8 adedinde *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (5 izolat), *P. atrosepticum* (2 izolat) ve *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (1 izolat) etmenleri latent enfeksiyon sorumlusu olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile tüketime yönelik olarak satışa sunulmuş patates yumrularında *Pectobacterium* izolatlarının varlığı belirlenerek patojenin farklı bölgelere transfer edilebileceği belirlenmiştir. Tüketim için satışa sunulan patates yumrularının hastalıktan ari bölgelere *Pectobacterium* izolatlarının nakledilmesinde önemli bir inokulum kaynağı olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Pectobacterium* spp., Yumuşak çürüklük, Latent enfekteli yumru, Patates, PCR

^{1*}Sorumlu Yazar/Corresponding Author: ¹Murat ÖZTÜRK, Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yozgat, Türkiye. E-mail: muratzm66@gmail.com  OrcID: 0000-0002-9677-3651.

²Soner SOYLU, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi., Bitki Koruma Bölümü., Hatay, Türkiye. E-mail: soylu@mku.edu.tr  OrcID: 0000-0003-1002-8958.

Atıf/Citation: Öztürk M., Soyulu S., Yozgat ve Kırşehir İllerinde Tüketime Sunulmuş Patates Yumrularında Bakteriyel Yumuşak Çürüklük Etmeni *Pectobacterium* İzolatlarının İzolasyonu ve Tanılanması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (2), 332-342.

©Bu çalışma Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi tarafından Creative Commons Lisansı (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) kapsamında yayımlanmıştır. Tekirdağ 2022

Abstract

Pectobacterium spp. are ubiquitous bacterial plant pathogens with a wide host range which cause soft rot disease on the invaded plant tissue. This study aimed to isolate the bacterial soft rot disease agents belonging to *Pectobacterium* spp. on potato tubers delivered for consumption in the local bazaar, grocery and markets in the Center district of Yozgat province and Kaman district of Kırşehir province of Turkey between 2018 and 2019. Local bazaar, market and grocery stores were surveyed and 168 potato tubers were collected. The humidity cell test was performed to investigate the presence of pectinolytic bacteria in asymptomatic and soft rotted potato tubers. Bacterial isolation from 54 different soft rotted tuber slices was performed on Crystal Violet Pectate (CVP) medium. A total of 42 bacterial isolates, that formed pits on CVP medium, were obtained following isolation. Among these, 27 isolates were observed to have shiny, transparent, irregular, crater-shaped colony morphology on Nutrient Agar (NA) plates. All isolates were gram and oxidase negative, catalase-positive, facultative anaerobe, non-fluorescent morphological characteristics and caused soft rot on potato tuber slices. Following PCR analysis, 19 of 54 symptomatic tuber samples were determined as infected by *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (9 isolates), *P. atrosepticum* (6 isolates) and *Pectobacterium* spp. (4 isolates). In 8 of 114 asymptomatic tuber samples, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (5 isolates), *P. atrosepticum* (2 isolates) and *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (1 isolate) were determined as responsible agents of latent infections. The presence of *Pectobacterium* isolates in the stored potato tubers brought for consumption suggests the pathogen can be transferred to different regions. Potato tubers offered for sale for consumption are thought to be an important inoculum source for the transfer of *Pectobacterium* isolates to disease-free areas.

Keywords: *Pectobacterium* spp., Soft rot, Latently infected tuber, Potato, PCR

1. Giriş

Besleyici değeri oldukça yüksek olan patatesin (*Solanum tuberosum* L.), dünyanın neredeyse her yerinde tarımı yapılabilmektedir. Mısır, buğday ve çeltikten sonra en fazla üretime sahip olan patates bitkisinin Avrupa üzerinden Türkiye'nin batı bölgelerine, 150 yıl kadar önce Rusya ve Kafkaslar üzerinden doğu bölgelerimize girdiği tahmin edilmektedir (Arioğlu ve ark., 2010; Öner ve Aytaç., 2016). Özellikle Orta Anadolu'da yetişen önemli bir ürün olan patates, Türkiye'nin hemen her yerinde üretilebilmekte ve büyük bir kısmı ana ürün olarak yetiştirilmektedir (Samancı ve ark., 2003). 2018 yılında, Dünyada 17.6 milyon ha alanda 368 milyon ton patates üretilmiş olup ortalama verim 20.944 ton/ha'dır. En fazla ekim alanına sahip olan ülkeler Çin (4.8 milyon ha), Hindistan (2.1 milyon ha) ve ABD'dir (1.7 milyon ha). Türkiye ise 2018 yılında 135.937 ha alanda 4.5 milyon ton patates üretilmiştir (Anonim, 2020). Uygun olmayan depolama şartlarına bağlı olarak ülkemizde patates üretiminde yıllık yaklaşık %20 kayıp yaşanmaktadır. Üretilen patates yumruları hasat sonrası doğal depolarda saklanmaktadır. Yumrular ile vejetatif yolla çoğaltılan patates bitkisinde başta virüsler olmak üzere birçok hastalık etmeninin daha kolay taşınması söz konusudur.

Dünyanın en önemli 10 bitki bakteriyel hastalık etmenleri arasında bildirilen *Pectobacterium* (*Erwinia carotovora*) ve *Dickeya* spp. (*Erwinia chrysanthemi*) türleri patates üretiminde Bakteriyel Yumuşak Çürüklük ve Karabacak Hastalığına neden olmaktadır (Ma ve ark., 2007; Mansfield ve ark. 2012; Czajkowski ve ark., 2011; Nabhan ve ark., 2012a). *Pectobacteriaceae* familyasında yer alan bu patojenler dünyanın birçok yerinde başta patates olmak üzere geniş konukçu aralığında patojenik izolatlarla sahiptir (Gardan ve ark., 2003; Samson ve ark., 2005; De Haan ve ark., 2008, De Boer ve ark., 2012; Adeolu ve ark., 2016). Ana yumruda başlayan pektinolitik bakteriyel enfeksiyon ile çıkış yapan bitkilerin toprak seviyesindeki bitki gövdelerinde siyah, sulu-ıslak belirtiler karabacak olarak tanımlanır. Hastalığın en önemli bulaşma kaynağı simptom sergilemeyen latent enfekteli tohumluk yumrulardır. Özellikle latent enfekteli yumruların kullanıldığı üretim alanlarında zamanla enfeksiyonu gerçekleştirebilecek yeterli sayıda bakteriyel çoğunluk oluşarak bitkilerde solgunluk, bitkinin tamamen çökmesi ya da hiç çıkış yapmadan toprakta çürümesi şeklinde belirtiler gözlemlenmektedir. Karabacak enfeksiyonu gözlemlenen üretim alanlarından hasat edilen yumruların pazarlanabilir nitelikte olanlarında da hasat sonrası, nakliye ve depolama aşamalarında yumuşak çürüklük nedeniyle kayıplar devam etmektedir. Bir sonraki üretim sezonu için tohumluk olarak ayrılan latent enfeksiyon kaynağı yumrular hastalıktan arı alanlara etmenin taşınmasında en önemli primer inokulum kaynağıdır (Pérombelon, 2002; Potrykus ve ark., 2016). Uzun yıllar *P. atrosepticum* ve *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Dickeya* spp. etmenleri patates üretiminde en önemli yumuşak çürüklük ve karabacak patojenleri olarak bildirilmiştir (Waleron ve ark., 2002; Potrykus ve ark., 2014). İleri tanı tekniklerinin biyokimyasal ve fizyolojik testlere göre üstün ayırım kabiliyetlerinin olması ve son yıllarda DNA'ya dayalı tanılama çalışmalarının giderek yaygınlaşması atipik izolatların yeni tür/alt tür olarak sınıflandırılmasına neden olmuştur (Cigna ve ark., 2017; Nabhan ve ark., 2012b; Nabhan ve ark., 2013). Brezilya patates üretim alanlarında karabacak hastalığına neden olan oldukça virulent olduğu bildirilen atipikal izolatlar *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (Duarte ve ark., 2004; Nabhan ve ark., 2012a; De Boer ve ark., 2012; Panda ve ark., 2012), Yeni Zelanda patates üretiminde enfekteli yumrularından izole edilen bazı atipikal izolatlar ise *P. parmentieri* olarak sınıflandırılmıştır (Pitman ve ark., 2008; Pitman ve ark., 2010; Khayi ve ark., 2016; Zoledowska ve ark., 2018). Son yıllarda patates üretiminin yapıldığı ülkelerde sıklıkla rapor edilen majör Yumuşak Çürüklük ve Karabacak hastalık etmenleri *P. atrosepticum*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense*, *P. parmentieri* ve *Dickeya* spp. olarak belirlenmiştir (Dees ve ark., 2017; Charkowski ve ark., 2020; Motyka-Pomagruk ve ark., 2021).

Ülkemizde farklı *Pectobacterium* türlerinden kaynaklı enfeksiyonların varlığı ile ilgili raporlar mevcuttur. Etmenin patates bitki örneklerinde enfeksiyona neden olduğunu gösteren ilk çalışmalar 1988-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir ve Niğde illeri ekim alanları ve depolarında yürütülmüş ve enfeksiyonuna neden olan türlerin *P. atrosepticum* (*E. carotovora* pv. *atroseptica*) ve *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (*E. carotovora* subsp. *carotovora*) olduğu bildirilmiştir (Benlioğlu, 1991). Yozgat ili Sorgun ilçesinde patates karabacak hastalığına neden olan atipik *Pectobacterium* spp. izolatları ise *P. parmentieri* olarak tanımlanmıştır (Ozturk ve ark., 2016). Orta Karadeniz Bölgesinde yer alan Amasya, Çorum, Ordu, Samsun ve Tokat illeri patates üretim alanlarında 146 patates tarlasından toplanan 242 bitki örneğinden elde edilen 90 adet pektinolitik izolatın 38 adedi *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, 22 adedi *P. carotovorum* subsp. *brasiliense*, 21 adedi *P. parmentieri*, 6 adedi *P. atrosepticum*,

3 adedi ise *D. solani* olarak tanımlanmış olup, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* ve *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*'a ait oldukça virulent izolatların tespit edildiği ayrıca bildirilmiştir (Öztürk, 2017). Geniş konukçu aralığında enfeksiyon oluşturan *Pectobacterium* spp. türlerinden *P. carotovorum* (*E. carotovora* subsp. *carotovora*) etmeni *Dieffenbachia amoena* (Çetinkaya-Yıldız ve ark., 2004), domates (Aysan ve ark., 2004), lale (Boyras ve ark., 2006), *Primula* sp., *Kalanchoe* sp., *Diffenbachia* spp., *Cactus* sp., *Yucca aloifolia*, *Ficus elastica*, *Schefflera actinophylla*, *Senecio cruentus* (Kılıç ve ark., 2012), ayçiçeği (Baştas ve ark., 2009), enginar (Ustun ve Arslan, 2016), beyaz baş lahana (Aksoy ve ark., 2017a; Öztürk ve Soylu, 2022), havuç (Soylu ve ark., 2022) ve muz (Basım ve ark., 2019) bitkilerinde rapor edilmiştir. Son yıllarda yapılmış bir çalışmada ise *P. betavasculorum* etmeninin şeker pancarı bitkisinde, *P. polaris*'in ise patates bitkilerinde yumuşak çürüklük hastalığına neden olduğu rapor edilmiştir (Ozturk ve ark., 2019; Öztürk, 2022).

Bu çalışma ile Yozgat (Merkez İlçesi) ve Kırşehir (Kaman ilçesi) illerindeki yerel pazar, manav ve zincir marketlerde satışa sunulan patates yumru örneklerinde bakteriyel yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium* spp.'e ait olabilecek izolatların izolasyonu ve biyokimyasal, fizyolojik, patojenite ve PCR'a dayalı moleküler tanılanması hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Patates yumru örneklerin toplanması

2018 ve 2019 yılları Ekim-Mart aylarında, Yozgat ili Merkez ve Kırşehir ili Kaman ilçesinde yerel pazar, manav ve zincir marketler haftalık ziyaret edilerek satışa sunulan yumuşak çürüklük belirtileri gösteren ve bu örneklerin hemen yanındaki belirti göstermeyen şüpheli patates yumru örnekleri tesadüfi örnekleme yöntemiyle toplanmıştır. Her hafta ayrı market ve manavlar ziyaret edilerek aynı tedarikçiden alınan ürün rastlantısının en aza indirilmesi hedeflenmiştir. Survey sonucunda 54 adedi çürüme belirtisine sahip 114 adedi ise yumuşak çürüklük belirtisiz olmak üzere toplam 168 adet patates yumru örnekleri kese kağıtlarına ayrı ayrı konulup etiketlendikten sonra laboratuvara getirilerek izolasyon çalışmaları boyunca +4 °C' de muhafaza edilmiştir.

2.2. İzolasyon çalışmaları

Patates yumruları musluk suyunda fırçalanarak yıkanmış ve daha sonra % 5'lik çamaşır suyunda (NaOCI) 3 dakika bekletilmiştir. 3 kez steril saf su ile duruladıktan sonra hastalık belirtisi taşıyan yumruların sağlıklı kısımlarında pektolitik bakterilerinin gelişmesi ve izolasyon petrilere daha az saprofit bakteri elde edilmesi amacıyla 2-4 cm büyüklüğünde parçalara ayrılmıştır. Her bir yumru için steril kurutma kağıtları bulunan petrilere 2-4 cm büyüklüğünde 4-5 yumru parçası konulduktan sonra nemli hücre şartlarının oluşması amacıyla steril su ile nemlendirilerek 27 °C'de 24-72 saat inkübe edilmiştir. Sağlıklı olduğu düşünülen semptomsuz yumrular için patates parçaları stolunun sonu ve kabuktan başlayan 1.5 cm derinlikteki dokulardan alınmıştır ve yukarıda belirtildiği gibi petrilere yerleştirilerek çürüme belirtileri yönünden kontrol edilmiştir (Czajkowski ve ark., 2011; Czajkowski ve ark., 2013). Pektolitik kolonilerin izolasyonu için steril öze ile yumuşama gözlemlenen patates yumru dokusuna dokundurulmuş ve CVP besi ortamına çizgi ekim yapılmıştır 26°C sıcaklıkta inkübasyona bırakılan petrilere gelişen bakteriyel kolonilerin etrafında çukur oluşumu 24-72 saat sonra kontrol edilmiştir (Öztürk, 2017).

2.3. Pektolitik aktivite testi

Sağlıklı patates yumruları yüzeysel dezenfeksiyon için önce deterjanlı suda fırçalanarak yıkanmış ve daha sonra % 1'lik NaOCI'da 3 dakika bekletilmiştir. NaOCI'yi uzaklaştırmak için 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Bu işlemden sonra steril bisturi ile patates yumrusu dilimlere ayrılmıştır. Steril filtre kâğıdı bulunan petrilere içine yumru dilimleri yerleştirildikten sonra bir öze dolusu bakteri kültürü patates dilimi üzerine bulaştırılmıştır ve petrilere steril su ile nemlendirilmiştir. 25 °C'de iki günlük inkübasyondan sonra değerlendirme yapılmıştır. İnokule edilen bölgedeki yumuşama (maserasyon) pozitif, yumuşamanın meydana gelmemesi negatif olduğunu göstermiştir (Lojkoswka ve Kelman, 1994; Bozkurt ve Soylu, 2019).

2.4. Yumuşak çürüklük izolatlarının muhafazası

CVP besi yerinde çukur oluşumu ve patates dilimlerinde maserasyona neden olan yumuşak çürüklük izolatları %40'luk gliserolde -20°C'de tanı çalışmaları için muhafaza edilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987; Benlioğlu ve ark., 1991; Potrykus ve ark., 2014).

2.5. İzolatların biyokimyasal tanısı

Bakteriyel izolatların tanısında KOH, oksidaz, katalaz, oksidatif/fermantatif, King B besi yerinde floreans parlama, %5 NaCl'e tolerans, 37 °C ve 39 °C'de gelişebilme testleri yapılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987; Schaad ve ark., 2001; Yüzbaşıoğlu ve Aysan, 2021).

2.6. Tütünde aşırı duyarlılık testi

NA besi yerinde 26 °C'de 24-48 saat süreyle geliştirilen izolatların bakteriyel süspansiyonları yaklaşık 10^6 - 10^8 hücre/ml'lik yoğunlukta hazırlanarak tütün (*Nicotiana tabacum* cv. *bentamiana*) bitkisi yaprağının alt yüzey damar aralarına enjektör yardımı ile inokule edilmiştir. İnokulasyondan 24-48 saat sonra tütün bitkisinde aşırı duyarlılık reaksiyonunun olup olmadığı kontrol edilmiştir (Klement, 1990; Soylu ve ark., 2020).

2.7. İzolatların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniği ile moleküler tanısı

İzolatların moleküler tanısında De Boer ve ark. (2012)'de belirtilen primerler kullanılmıştır (Tablo 1) 10 µl master mix (Bioline redmix, 2x), 1 µl forward primer, 1 µl reverse primer ve 8 µl steril su eklenerek toplam 20 µl hacimde PCR reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. PCR karışımına 24-48 saatlik kültürler ait kolonilerden pipet ucu yardımıyla eklenmiştir. PCR döngü programı, Aksoy ve ark. (2017)'de belirtildiği gibi kademeli sıcaklık düşürme yöntemine göre uygulanmıştır. PCR ürünlerinin elektroforez işlemleri %1'lik agaroz jelde 100 voltta 1 saat koşturularak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA bantları jel görüntüleme sistemi ile görüntülenerek incelenmiştir (Dees ve ark., 2017; Ozturk ve ark., 2018).

Tablo 1. PCR tanı çalışmalarında kullanılan primer oligonükleotidleri

Table 1. Oligonucleotide primers used in PCR identification studies

Etmen adı	Primer adı	Primer nükleotid dizisi
<i>Dickeya</i> spp.	ADE1	GATCAGAAAGCCCCGAGCCAGAT
	ADE2	CTGTGGCCGATCAGGATGGTTTCGTGC
<i>Pectobacterium</i> spp.	Y1	TTACCGGACGCCGAGCTGTGGCGT
	Y2	CAGGAAGATGTCGTTATCGCGAGT
<i>P. atrosepticum</i>	Y45	TCACCGGACGCCGAAGTGTGGCGT
	Y46	TCGCCAACGTTTCAGCAGAACAAGT
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	EXPCCF	GAAGTTCGCACCGCCCTTCTA
	EXPCCR	GCC GTA ATT GCC TAC CTG CTT AAG
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>basilense</i>	BR1F	GCGTGCCGGGTTTATGACCT
	L1R	CAAGGCATCCACCGT
<i>P. parmentieri</i>	PHF	GGTTCAGTGCAGTCAGGAGAG
	PHR	GCGGAGAGGAAGCGGTGAAG

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

3.1. Patates yumruları ve İzolasyon

2018-2019 yıllarında Yozgat İli ve Kırşehir Kaman İlçesinde survey sırasında hastalıklı yumru örnekleri toplanırken bakteriyel hastalık etmenlerinin oluşturduğu simptome benzer örneklerin toplanmasına dikkat edilmiştir. Yapılan surveylerde yumuşak çürüklük belirtisi gösteren yumruların varlığı kasalarda ve depolarda bulunan çuvalarda taranarak gözlenmiştir. Çürüme belirtisi gözlemlenmeyen çuval ve kasalardan latent enfeksiyonların belirlenmesi amacıyla çürüme belirtisi göstermeyen (simptomsuz) sağlıklı görülen yumrular toplanmıştır. Patates yumrularının tüketim öncesi depolandığı iller Tablo 2'de belirtilmiştir. Surveyler sonucunda 54 adedi çürüme belirtisine sahip, 114 adedi ise simptomsuz olmak üzere toplam 168 yumru steril bistürü

yardımıyla kesildikten sonra nemli hücre testi yapılarak bakteriyel yumuşak çürüklük belirtisi yönünden gözlemlenmiştir. İnkübasyon sonucunda, 54 çürüme belirtisi gösteren yumru arasında 19 örnekte, 114 simptomsuz yumru arasından ise 8 örnekte yumuşak çürüklük belirtileri gözlemlenmiştir. Yumruların yumuşama gösteren kısımlarından CVP besi yerine yapılan ekimler sonucu çukur oluşturan toplam 42 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlar arasından izole edildiği örneği temsil eden 27 pektolitik bakteri izolatu detaylı morfolojik ve moleküler tanılama çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir.



Figure 1. Disease symptoms in potato tubers from which bacterial isolations were made
Şekil 1. Bakteri izolasyonlarının yapıldığı patates yumrularındaki hastalık belirtileri

3.2. Bakteri izolatların tanınması

Örnekleme yapılan patates yumrularından maserasyona (yumuşamaya) neden olduğu belirlenen 27 adet koloni morfolojisi uyumlu pektolitik izolatu KOH, oksidaz, katalaz, %5'lik NaCl' içeren besi yerinde, 37°C ve 39°C'de gelişebilme ve tütünde aşırı duyarlılık testlerine gösterdiği sonuçlar *Tablo 2*'de verilmiştir. Elde edilen 27 izolat, KOH ve katalaz pozitif, oksidaz testi negatif olarak kaydedilmiştir. Fakültatif anaerobik 27 izolatu King B besi yerinde UV ışık altında floresan parlama yapmadığı gözlemlenmiştir. İzolatların, 37°C'de 19 adedi gelişmiş, 8 adedi ise gelişmemişken, 39°C'de ise 2 adedi gelişmiş 25 adedi gelişmemiştir. %5'lik NaCl ilave edilerek hazırlanan NA besi yerinde tüm izolatlar gelişme göstermiştir. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyona 25 adet izolat neden olurken 2 izolat negatif reaksiyon göstermiştir (*Tablo 2*).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak moleküler tanılanmış izolatların 27 adedi *Pectobacterium* spp.'ye spesifik Y1/Y2 primerleri ile beklenen 434 bp büyüklüğünde PCR ürünü oluşturmuştur (Darrasse ve ark., 1994). Elde edilen 27 izolat aynı zamanda *Dickeya* spp. izolatlarının tanısında kullanılan ADE1/ADE2 primer çifti ile test edilmiş fakat hiçbir izolat beklenen 420 bp PCR ürünü oluşturmamıştır. *Pectobacterium* spp.'de yer alan 27 izolatu 14 adedi (S4, S5, S6, S7, S8, S17, S18, S19, S20, S21, S22, S23, S24, S25) EXCPCCF/EXPCCR primer çifti ile 550 bp PCR ürünü oluşturmuştur (Kang ve ark., 2003). De Boer ve ark. (2012)'de bildirildiği gibi EXPCCF/EXPCCR primerleri ile 550 bp PCR ürünü oluşturan izolatlar arasında *P. parmentieri* izolatlarının ayırt edilmesinde kullanılan PHF/PHR primerleri kullanılmıştır. Hiçbir izolat 113 bp büyüklüğünde *P. parmentieri* için spesifik PCR ürünü oluşturmamıştır. *P. atrosepticum* izolatının tanısında kullanılan Y45/Y46 primerleri ile 8 izolat (S1, S2, S11, S12, S13, S14, S15, S16) 439 bp PCR ürünü oluşturarak *P. atrosepticum* olarak tanılanmıştır (Frechon ve ark., 1998). BR1f/L1r primerleri kullanılarak yapılan PCR analizinde 1 izolat (S3) 322 bp PCR ürünü oluşturarak *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* olarak tanılanmıştır (Duarte ve ark., 2004). 27 adet *Pectobacterium* izolatu arasından 4 adedinde (S9, S10, S26, S27) tür/alt tür primerlerinin hiçbiri ile beklenen PCR ürünü oluşmamıştır.

Bu çalışma, Yozgat ili Merkez ilçesi ve Kırşehir İli Kaman İlçesinde tüketim için getirilen depolanmış patates yumrularında bakteriyel yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium* etmenlerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Toplam 168 yumru örneğinden 27 tanesinde yumuşak çürüklük patojeni tespit edilmiştir. 54 simptomsuz örneğin 19 adedinde, 114 simptomsuz (latent enfekteli) yumru örneğinin 8 adedinde yumuşak çürüklük izolatu elde edilmiştir. Latent enfekteli yumruların kaynaklı enfeksiyonların ticari tohumluk depolarında yaygın olduğunu, tohumluk ve tüketime yönelik patatesler için büyük bir kayıp nedeni olarak bildirilmektedir. Latent enfeksiyonlarda, bakteri yoğunluğunun dokularda 10⁶/hücre/gr'a erişinceye kadar yumuşak çürüklük simptomsuz oluşamayabileceği bildirilmiştir (Perombelon, 2002). Latent enfekteli yumrular enfeksiyon kaynağı olan 5 adet *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, 2 adet *P. atrosepticum* ve 1 adet *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* nemli hücre şartları oluşturularak izole edilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren 54 yumru örneğinden direk izolasyon

yapılmadan önce daha az saprofitik bakteri izolasyonu gerçekleştirmek amacıyla yumruların en sağlıklı kısımları kesilerek nemli hücre şartlarında yumuşak çürüklük oluşumu tekrarlanmıştır.

Tablo 2. Tanısı yapılan *Pectobacterium* izolatları
 Table 2. Bacterial strains of *Pectobacterium* identified

İzolat	Etmen*	Belirti Durumu	Toplandığı il/ilçe	Depolandığı il	KOH	Oksidaz	Katalaz	Tütün HR	%5' NaCl	37°C	39°C
S1	<i>Pba</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Niğde	+	-	+	+	+	-	-
S2	<i>Pba</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Niğde	+	-	+	+	+	-	-
S3	<i>Pcbr</i>	Latent	Kırşehir/Kaman	Niğde	+	-	+	+	+	+	-
S4	<i>Pcc</i>	Latent	Kırşehir/Kaman	Niğde	+	-	+	+	+	+	-
S5	<i>Pcc</i>	Latent	Kırşehir/Kaman	Tokat	+	-	+	+	+	+	-
S6	<i>Pcc</i>	Latent	Kırşehir/Kaman	Tokat	+	-	+	+	+	+	-
S7	<i>Pcc</i>	Simptom	Kırşehir/Kaman	Tokat	+	-	+	+	+	+	-
S8	<i>Pcc</i>	Simptom	Kırşehir/Kaman	Adana	+	-	+	+	+	+	-
S9	<i>Pec</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Adana	+	-	+	+	+	+	-
10	<i>Pec</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Tokat	+	-	+	+	+	+	-
S11	<i>Pba</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Tokat	+	-	+	+	+	-	-
S12	<i>Pba</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Tokat	+	-	+	+	+	-	-
S13	<i>Pba</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Tokat	+	-	+	+	+	-	-
S14	<i>Pba</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Tokat	+	-	+	+	+	-	-
S15	<i>Pba</i>	Latent	Yozgat/Merkez	Tokat	+	-	+	+	+	-	-
S16	<i>Pba</i>	Latent	Yozgat/Merkez	Tokat	+	-	+	+	+	-	-
S17	<i>Pcc</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S18	<i>Pcc</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S19	<i>Pcc</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S20	<i>Pcc</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S21	<i>Pcc</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S22	<i>Pcc</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S23	<i>Pcc</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S24	<i>Pcc</i>	Latent	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S25	<i>Pcc</i>	Latent	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	+	+	+	-
S26	<i>Pec</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	-	+	+	+
S27	<i>Pec</i>	Simptom	Yozgat/Merkez	Nevşehir	+	-	+	-	+	+	+

* **Pba:** *P. atrosepticum*; **Pcc:** *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*; **Pcbr:** *P. carotovorum* subsp. *brasiliense*; **Pec:** *Pectobacterium* spp.

Yumuşak çürüklük belirtileri gösteren 19 simptomlu yumru örneğinde 9 adet *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, 6 adet *P. atrosepticum* ve 4 adet *Pectobacterium* olarak sınıflandırılan izolat elde edilmiştir. Dees ve ark. (2017) Norveç yumuşak çürüklük izolatlarının sırasıyla en fazla *P. atrosepticum* ve *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*' a ait olduğu, Polonya izolatlarının ise *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *P. parmentieri* (= *P. wasabiae*)'ye ait olduğunu bildirmiştir. *P. atrosepticum* izolatları 37°C gelişme gösterirken %5 NaCl'yi tolere edememektedir (De Neergaard ve ark., 2020). Bu çalışmada elde edilen *P. atrosepticum* izolatları için de aynı sonuçlar elde edilmiştir ve Frenchon ve ark. (1998)'de belirtildiği gibi izolatlar Y45/Y46 primerleri ile 439 bp PCR ürünü oluşturmuşlardır. Ülkemiz patates üretiminde varlığı sınırlı sayıda da olsa bildirilen *Dickeya* izolatlarına elde edilen 27 izolat arasında ADE1/ADE2 primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışması neticesinde rastlanılmamıştır (Tsrör ve ark., 2009; Toth ve ark., 2011). Yumru yumuşak çürüklüğünde bakteriyel enfeksiyon, patojenin yerleştiği lentisel, stolonun sonu ve yaralardan başlayıp lezyonlar yumrunun tamamına ve beraber depolanan diğer komşu yumrulara bulaşmaktadır (Czajkowski ve ark., 2011). Simptom gösteren yumruların 19 adedinde *Pectobacterium* izolatı enfeksiyon kaynağı olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda yumuşak

çürüklüğe neden olan pektolitik özellikte *Bacillus* spp., *Enterobacter* spp., *Leliotta* spp., *Clostridium* spp., *Flavobacterium* spp. ve *Pseudomonas* spp. gibi fırsatçı sekonder bakterilerden kaynaklı yumuşak çürüklük enfeksiyonları bildirilmektedir (Perombelon, 2002). Çalışmamızda saprofitik karakterli bu bakterilerle enfekteli olma ihtimali olduğu düşünülen yumruların *Pectobacterium* izolatlarının baskılandığı ve *Pectobacterium* etmenine ait kolonilerin izole edilemediği düşünülmektedir. Yumuşak çürüklük etmenleri arasında geniş konukçu aralığında ve farklı coğrafyalarda *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* kaynaklı enfeksiyonlar tüm dünyada daha yaygındır (De Haan ve ark., 2008). 37°C’de ve %5 NaCl’de gelişebildiği bildirilen *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* izolatları için yapılan EXPCCF/EXPCCR primerleri ile beklenen 550 bp PCR ürünü 14 izolat için elde edilmiştir (Kang ve ark., 2003). Uzun yıllardır *P. atrosepticum* izolatları, Avrupa kıtası gibi daha ılıman bölgelerde yaygın enfeksiyon kaynaklarından biridir. Sıcaklık *Pectobacterium* izolatlarının enfeksiyon oluşturması ve tür/alt tür kompozisyonu ve dokulardaki hücre yoğunluğuna en fazla etki eden faktör olarak bildirilmektedir (Du Raan ve ark., 2016). Arazi koşullarında farklı türler ile yapay inokule edilen ana yumruların gelişen bitkilerin oluşturduğu yavru yumrulardaki türlerinin baskınlığı sıcaklık ve nem gibi iklim verilerine göre değişebilmektedir (Skelsey ve ark., 2018). Bu nedenle, iklim değişikliği nedeniyle patojen popülasyonunda farklılık oluştuğu ve enfeksiyon sorumlusu olarak *P. parmentieri* ve *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* etmenlerinin dünya genelinde ön plana çıktığı ve *P. atrosepticum* izolatlarının daha az izole edildiği bildirilmektedir (Van der Wolf ve ark., 2017).

Ülkemizdeki yumuşak çürüklük hastalığı bildirimlerinde en fazla oranda *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* etmeni ile *P. atrosepticum* kaynaklı enfeksiyonların olduğu bildirilmiştir (Benlioğlu, 1991). Ayrıca, son yıllarda *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* ve *P. parmentieri* izolatlarının neden olduğu şiddetli karabacak enfeksiyonları dünyada olduğu gibi ülkemiz patates üretim alanlarında da dikkat çekmektedir (Öztürk, 2017). Dünya genelinde major enfeksiyon kaynağı olarak *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. atrosepticum*, *P. parmentieri* ve *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* etmenleri bildirilmektedir (Potrykus ve ark., 2014). Bu çalışmada en fazla *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (14 adet), *P. atrosepticum* (8 adet) ve *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (1 adet) izolatı elde edilmiştir. *P. parmentieri* izolatlarının 37°C ve %5 NaCl’de gelişemediği bildirilmektedir (Pitman ve ark., 2008; 2010). Bu çalışmada 37°C ve %5 NaCl’de gelişememe gösteren hiçbir izolat elde edilememiştir. *P. parmentieri* izolatlarını tanıyabilen PHF/PHR primerleri ile yapılan PCR çalışmasında beklenen PCR ürünü oluşmamış ve ülkemizde varlığı bildirilen *P. parmentieri* izolatlarına bu çalışmada rastlanılmamıştır (Pitman ve ark., 2008; De Boer ve ark., 2012; Waleron ve ark., 2013; Ozturk ve ark., 2016; Öztürk, 2017). Heterojen olduğu bildirilen *Pectobacterium* spp.’de atipik izolatların varlığı karşılaşılabılır bir durumdur (Duarte ve ark., 2004; Pitman ve ark., 2008). Çalışmada elde edilen S9, S10, S26 ve S27 izolatları sadece Y1/Y2 primerleri ile sonuç vererek *Pectobacterium* spp. olarak tanılanmıştır. Diğer tanı primerleri ile sonuç elde edilemeyen bu izolatlardan S26 ve S27 izolatları 39°C gelişme gösterirken tütünde aşırı duyarlık oluşturamamışlardır. Atipik izolatların daha sonraki çalışmalarda korunmuş gen bölgelerine dayalı sekans analizleri yapılarak tür tanımlarının yapılması planlanmaktadır (Cigna ve ark., 2017; Nabhan ve ark., 2012b; Pasanen ve ark., 2013).

4. Sonuç

Bu çalışma ile farklı illerde depolandıktan sonra tüketime sunulmak amacıyla Yozgat Merkez ilçesi ve Kırşehir Kaman ilçesine getirilen patates yumrularında *Pectobacterium* izolatlarının varlığı belirlenmiştir. *Pectobacterium* izolatlarının toprak, sulama suyu, akarsu, gölet ve deniz suyu gibi çevresel örnekler ile böcek larva ve pupalarında yaşamını sürdürebildiği bildirilmektedir. Yumrulardaki enfeksiyon kaynağı olan bakteriyel etmenlerin çevresel bulaşmalara neden olduğu anlaşılmaktadır (Perombelon, 1992; Agrios, 2005; Czajkowski ve ark., 2015; Rossmann ve ark., 2018). Yumuşak çürüklük belirtileri gösteren yumruların kontrolsüz bir şekilde uzaklaştırıldığı, latent enfekteli yumruların bir süre sonra çürüme belirtilerini göstermesi nedeniyle market değerini yitirerek diskalifiye edildiği gözlemlenmiştir. *P. carotovorum* izolatları farklı konukçularda hastalığa neden olabilmektedir. Özellikle *P. carotovorum* etmeni ile enfekteli latent yumruların patates üretimi yapılmayan hastalıktan ari bölgelere nakledilmesi nedeniyle farklı konukçu bitkilerin üretiminde verim ve kalite kayıpları yaşanabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 6602c-ZF/18-237).

Kaynakça

- Adeolu, M., Alnajjar, S., Naushad, S., Gupta, R. S. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacteriales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganeliaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12): 5575-5599.
- Agrios, GN. (2005). Plant diseases caused by prokaryotes. Bacteria and Mollicutes. *Plant Pathology*. 5th ed.
- Aksoy, H.M., Kaya, Y., Ozturk, M., Secgin, Z., Onder, H., Okumus, A. (2017). *Pseudomonas putida*-Induced response in phenolic profile of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) infected by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Biological Control*, 105: 6-12.
- Anonim, (2020). Tarımsal ekonomi ve politika geliştirme enstitüsü (TEPGE), ürün raporu, patates, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20%20C3%9Cr%20C3%BCn%20Raporlar%20C4%B1/2020%20C3%9Cr%20C3%BCn%20Raporlar%20C4%B1/Patates%20%20C3%9Cr%20C3%BCn%20Raporu%202020-326%20TEPGE.pdf>. (Erişim tarihi: 20.04.2021)
- Arioğlu, H., Çalışkan, M.E., Onaran H. (2010). Türkiye'de Patates Üretimi, Sorunları ve Çözüm Önerileri. IV. Ulusal Patates Kongresi, Niğde. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-030-28683-5.pdf>
- Aysan, Y., Mirik, M., Saygili, H., Sahin, F. (2004). New symptoms of tomato soft rot diseases in Turkey. In: *I International Symposium on Tomato Diseases 695* (pp. 291-294).
- Basım, H., Basım, E., Bakı, D., Turgut, A. (2019). Wet rot disease of banana (*Musa* sp.) caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Turkey. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 41(2): 174-187.
- Baştaş, K.K., Hekimhan, H., Maden, S., Tör, M. (2009). First report of bacterial stalk and head rot disease caused by *Pectobacterium atrosepticum* on sunflower in Turkey. *Plant Disease* 93(12): 1352-1352.
- Benlioğlu, K. (1991). Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates üretim alanlarında *Erwinia* spp.'nin yaygınlık oranları, tanımlanması ve inokulum kaynakları üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, İzmir
- Benlioğlu, K., Öktem Y.E., Özakman M (1991). Bacterial diseases of potatoes in the major potato-growing areas in Turkey. *EPPO Bulletin* 21(1): 67-72.
- Boyras, N., Bastas K.K., Maden S., Yasar A. (2006). Bacterial leaf and peduncle soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* on tulips in Konya, Turkey. *Phytoparasitica* 34(3): 272-280.
- Bozkurt, İ.A., Soylu, S. (2019). Elma kök uru hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*'e karşı epifit ve endofit bakteri izolatlarının antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16:348-361.
- Cetinkaya-Yildiz R, Mirik M, Aysan Y, Kusek M, Sahin F. (2004). An outbreak of bacterial stem rot of *Dieffenbachia amoena* caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Plant Disease* 88(3): 310-310.
- Cigna, J., Dewaegeneire, P., Beury, A., Gobert, V., Faure, D. (2017). A *gapA* PCR-sequencing assay for identifying the *Dickeya* and *Pectobacterium* potato pathogens. *Plant disease*, 101(7): 1278-1282.
- Charkowski, A., Sharma, K., Parker, M. L., Secor, G. A., Elphinstone, J. (2020). Bacterial diseases of potato. *The Potato Crop*, 351-388.
- Czajkowski, R., Perombelon, M. C., van Veen, J. A., van der Wolf, J. M. (2011). Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant pathology*, 60(6): 999-1013.
- Czajkowski, R., De Boer, W. J., Van der Zouwen, P. S., Kastelein, P., Jafra, S., De Haan, E. G., Van der Wolf, J. M. (2013). Virulence of *Dickeya solani* and *Dickeya dianthicola* biovar-1 and -7 strains on potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Pathology*, 62(3): 597-610.
- Czajkowski, R., Pérombelon, M. C. M., Jafra, S., Lojkowska, E., Potrykus, M., Van Der Wolf, J. M., Sledz, W. (2015). Detection, identification and differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* species causing potato blackleg and tuber soft rot: a review. *Annals of Applied Biology*, 166(1): 18-38.
- Darrasse A, Priou S, Kotoujansky A, Bertheau Y (1994). PCR and restriction fragment length polymorphism of a pel gene as a tool to identify *Erwinia carotovora* in relation to potato diseases. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(5): 1437-1443.
- De Boer, S.H., Li, X., Ward, L.J. (2012). *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. *Phytopathology*, 102(10): 937-947.
- De Haan, E.G., Dekker-Nooren, T.C., van den Bovenkamp, G.W., Speksnijder, A.G., van der Zouwen, P.S., van der Wolf, J.M. (2008). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* can cause potato blackleg in temperate climates. *European Journal of Plant Pathology*, 122(4): 561-569.
- Dees, M.W., Lebecka, R., Perminow, J. I. S., Czajkowski, R., Motyka, A., Zoledowska, S., Brurberg, M. B. (2017). Characterization of *Dickeya* and *Pectobacterium* strains obtained from diseased potato plants in different climatic conditions of Norway and Poland. *European Journal of Plant Pathology*, 148(4): 839-851.
- Duarte, V., De Boer, S. H., Ward, L. J., De Oliveira, A. M. R. (2004). Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of applied microbiology*, 96(3): 535-545.

- Du Raan, S., Coutinho, T. A., Van der Waals, J. E. (2016). Cardinal temperature differences, determined in vitro, between closely related species and subspecies of pectinolytic bacteria responsible for blackleg and soft rot on potatoes. *European Journal of Plant Pathology*, 144(2): 361-369.
- Frechon, D., Exbrayat, P., Helias, V., Hyman, L.J., Jouan B, Llop, P., Lopez, M.M., Payet N., Perombelon, M.C.M., Toth, I.K., van Beckhoven, J.R.C.M., van der Wolf JM, Bertheau Y. (1998). Evaluation of a PCR kit for the detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers. *Potato Research*, 41(2): 163-173.
- Gardan, L., Gouy, C., Christen, R., Samson, R. (2003). Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(2): 381-391.
- Kang, H.W., Kwon, S.W., Go, S.J. (2003). PCR-based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. *Plant pathology*, 52(2): 127-133.
- Khayri, S., Cigna, J., Chong, T.M., Quêtu-Laurent, A., Chan, K.G., Hélias, V., Faure, D. (2016). Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12): 5379-5383.
- Kılıç M., Mirik, M., Aysan Y. (2012). Süs bitkilerinde yumuşak çürüklük etmeni *Erwinia* türleri ve alttürlerinin moleküler tanısı. *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 27:77-91.
- Klement, Z. (1990). Tobacco (HR) test for the quick demonstration of pathogenicity. *Methods in Phytobacteriology*. Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, DC, eds. *Akadémiai Kiadó, Budapest*, 101-102.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E. (1987). *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK. pp.216.
- Łojkowska, E., Kelman, A. (1994). Comparison of the effectiveness of different methods of screening for bacterial soft rot resistance of potato tubers. *American Potato Journal*, 71(2): 99-113.
- Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H. S., Reedy, R. M., Yedidia, I., Breuer, J., Charkowski, A. O. (2007). Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology*, 97(9): 1150-1163.
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Foster, G.D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(6): 614-629.
- Motyka-Pomagruk, A., Zoledowska, S., Sledz, W., Lojkowska, E. (2021). The occurrence of bacteria from different species of *Pectobacteriaceae* on seed potato plantations in Poland. *European Journal of Plant Pathology*, 159(2): 309-325.
- Nabhan, S., De Boer, S. H., Maiss, E., Wydra, K. (2012a). Taxonomic relatedness between *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* subsp. nov. *Journal of Applied Microbiology*, 113(4): 904-913.
- Nabhan, S., Wydra, K., Linde, M., Debener, T. (2012b). The use of two complementary DNA assays, AFLP and MLSA, for epidemic and phylogenetic studies of pectolytic enterobacterial strains with focus on the heterogeneous species *Pectobacterium carotovorum*. *Plant Pathology*, 61(3): 498-508.
- Nabhan, S., De Boer, S. H., Maiss, E., Wydra, K. (2013). *Pectobacterium aroidearum* sp. nov., a soft rot pathogen with preference for monocotyledonous plants. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(7): 2520-2525.
- Öner, E. K., Aytaç, S. (2016). Bafra koşullarında turfanda patates (*Solanum tuberosum* L.)'te Dikim zamanları ve yumru ön uygulamalarının verim ve verim kriterlerine etkisi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(2): 184-194.
- Ozturk, M., Aksoy, H.M., Ozturk, S., Potrykus, M., Lojkowska, E. (2016). First report of potato blackleg and soft rot caused by *Pectobacterium wasabiae* in Turkey. *New Disease Reports* 34(17): 2044-0588.
- Öztürk, M. (2017). Orta Karadeniz bölgesinde patatesten sorun olan *Pectobacterium* ve *Dickeya* spp. bakteriyel etmenleri üzerine araştırmalar. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Samsun.
- Ozturk, M., Aksoy, H. M., Potrykus, M., Lojkowska, E. (2018). Genotypic and phenotypic variability of *Pectobacterium* strains causing blackleg and soft rot on potato in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 152(1): 143-155.
- Oztürk, M., Eroğlu, Z., Soylu S. (2019). First report of *Pectobacterium betavascularum* associated with bacterial vascular necrosis and root rot disease of sugar beet in Turkey. *New Disease Report*, 39: 20
- Öztürk, M., Soylu, S. (2022). Yozgat ili beyaz baş lahana üretim alanlarında bakteriyel yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium* izolatlarının tanımlanması. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 25 (3):495-503.
- Öztürk, M. (2022). First report of *Pectobacterium polaris* causing blackleg disease on potato plants in Turkey. *Journal of Plant Pathology* : (in press) <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01111-4>
- Panda, P., Fiers, M. A. W. J., Armstrong, K., Pitman, A. R. (2012). First report of blackleg and soft rot of potato caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in New Zealand. *New Disease Report*, 26(15): 2044-0588.

- Pasanen, M., Laurila, J., Brader, G., Palva, E. T., Ahola, V., Van Der Wolf, J., Pirhonen, M. (2013). Characterisation of *Pectobacterium wasabiae* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* isolates from diseased potato plants in Finland. *Annals of Applied Biology*, 163(3): 403-419.
- Pérombelon, M.C.M. (1992). Potato blackleg: epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98(2): 135-146.
- Pérombelon, M.C.M. (2002). Potato diseases caused by soft rot Erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant pathology*, 51(1): 1-12.
- Pitman, A. R., Wright, P. J., Galbraith, M. D., Harrow, S. A. (2008). Biochemical and genetic diversity of pectolytic enterobacteria causing soft rot disease of potatoes in New Zealand. *Australasian Plant Pathology*, 37(6): 559-568.
- Pitman, A. R., Harrow, S. A., Visnovsky, S. B. (2010). Genetic characterisation of *Pectobacterium wasabiae* causing soft rot disease of potato in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology*, 126(3): 423-435.
- Potrykus, M., Sledz, W., Golanowska, M., Slawiak, M., Binek, A., Motyka, A., Lojkowska, E. (2014). Simultaneous detection of major blackleg and soft rot bacterial pathogens in potato by multiplex polymerase chain reaction. *Annals of Applied Biology*, 165(3): 474-487.
- Potrykus, M., Golanowska, M., Sledz, W., Zoledowska, S., Motyka, A., Kolodziejska, A., Lojkowska, E. (2016). Biodiversity of *Dickeya* spp. isolated from potato plants and water sources in temperate climate. *Plant Disease*, 100(2): 408-417.
- Rossmann, S., Dees, M. W., Perminow, J., Meadow, R., Brurberg, M. B. (2018). Soft rot Enterobacteriaceae are carried by a large range of insect species in potato fields. *Applied and environmental microbiology*, 84(12): e00281-18.
- Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R. Fischer-Le Saux, M., Achouak W., Gardan L. (2005). Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al., 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 1415-1427.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W. (2001). *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria* (No. Ed. 3). American Phytopathological Society (APS Press).
- Skelsey, P., Humphris, S.N., Campbell, E.J., Toth, I.K. (2018). Threat of establishment of non-indigenous potato blackleg and tuber soft rot pathogens in Great Britain under climate change. *PLoS one*, 13(10): e0205711.
- Soylu, E.M., Soylu, S., Kara, M., Kurt, Ş. (2020). Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı verimkomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi*, 23: 7-18.
- Soylu, S., Kara, M., Uysal, A., Kurt, Ş. Soylu, E.M., Üremiş, İ., Sertkaya, E., Bozkurt, İ.A., Öztürk, M. (2022). Amik ovası havuç ekim alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerin belirlenmesi. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi*, 25: (baskıda) <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1015936>.
- Samancı, B., Özkaynak, E., Çetin, M. D. (2003). Antalya koşullarında turfanda patates (*Solanum tuberosum* L.) yetiştiriciliğinde bazı çeşitlerin verim ve verim ile ilgili özelliklerinin belirlenmesi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1): 27-33.
- Toth, I. K., Van Der Wolf, J. M., Saddler, G., LOjkowska, E., Hélias, V., Pirhonen, M., Elphinstone, J.G. (2011). *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant pathology*, 60(3): 385-399.
- Tsrer L., Erlich O., Lebiush S., Hazanovsky M., Zig U., Slawiak M., Grabe G., Van Der Wolf J. M., Van De Haar J. J. (2009). Assessment of recent outbreaks of *Dickeya* sp.(syn. *Erwinia chrysanthemi*) slow wilt in potato crops in Israel. *European Journal of Plant Pathology* 123: 311-320.
- Ustun, N., Arslan, N. (2016). Bacterial stem rot of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 98: 91.
- Van der Wolf, J.M., De Haan, E.G., Kastelein, P., Krijger, M., De Haas, B. H., Velvis, H., Van Der Zouwen, P. S. (2017). Virulence of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* on potato compared with that of other *Pectobacterium* and *Dickeya* species under climatic conditions prevailing in the Netherlands. *Plant Pathology*, 66(4): 571-583.
- Waleron M., Waleron K., Podhajska A.J., Lojkowska E. (2002) Genotyping of bacteria belonging to the former *Erwinia* genus by PCR-RFLP analysis of a recA gene treatment. *Microbiology*, 148: 583-595.
- Waleron, M., Waleron, K., Lojkowska, E. (2013). Occurrence of *Pectobacterium wasabiae* in potato field samples. *European Journal of Plant Pathology*, 137: 149-158.
- Yüzbaşıoğlu, E.G., Aysan, Y. (2021). Farklı konukçu bitkilerden izole edilen *Agrobacterium tumefaciens* izolatlarının fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (2): 247-259.
- Zoledowska, S., Motyka, A., Zukowska, D., Sledz, W., Lojkowska, E. (2018). Population structure and biodiversity of *Pectobacterium parmentieri* isolated from potato fields in temperate climate. *Plant disease*, 102(1): 154-164.