



Determination of The Prevalence of Potato Soft Rot and Blackleg Disease in Potato Production Areas of Tokat Province and Identification of Disease Causal Agent

Merve Çetin^{1,a}, Sabriye Belgüzar^{1,b,*}

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tokat Gaziosmanpaşa University, 60250 Tokat, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 12/11/2019 Accepted : 05/12/2019</p> <p>Keywords: Potato Blackleg disease <i>Pectobacterium carotovorum</i> <i>Dickeya</i> spp. Tokat</p>	<p>This study was aimed at identification and prevalence of potato soft rot and black leg disease agent in the potato production areas of Tokat province. In March-August 2018, 67 field surveys were carried out in Central, Turhal, Zile, Pazar, Erbaa, Niksar, Artova and Basciftlik districts of Tokat. The disease incidences were 0.25%, 0.33%, 0.31%, 0.5%, 1%, and 8% in Central, Erbaa, Niksar, Pazar, Turhal, and Zile district, respectively. In Artova and Basciftlik districts, no disease was encountered. The following tests, pectolytic activity on potato, gram reaction, catalase, oxidase, growth at 37°C and 39°C, salt tolerance, hypersensitivity reaction were applied to isolates obtained from diseased plant and tuber samples. In the PCR assay, 19 isolates were produced 434 bp product with Y1/Y2 primers specific to <i>Pectobacterium</i> spp., and 3 isolates were produced 420 bp product with ADE1/ADE2 primers specific to <i>Dickeya</i> spp. The isolates resulted positive with Y1/Y2 primers weren't produced PCR product with ECA1/ECA2 primers specific to <i>Pectobacterium atrosepticum</i>. According to this, 19 isolates were identified as <i>Pectobacterium carotovorum</i>. With this study, the causal agent of potato blackleg and soft rot disease have been identified in the potato production areas of Tokat. Further studies will be conducted to determine the species and subspecies level of the pathogens using specific primers.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(2): 399-406, 2020

Tokat İli Patates Üretim Alanlarında Patates Karabacak ve Yumuşak Çürüklük Hastalığı'nın Bulunma Oranının Belirlenmesi ve Etmenin Tanınması[#]

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p>[#]Bu çalışma Merve Çetin'in yüksek lisans tezinden üretilmiştir.</p> <p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 12/11/2019 Kabul : 05/12/2019</p> <p>Anahtar Kelimeler: Patates Çürüklük hastalığı <i>Pectobacterium carotovorum</i> <i>Dickeya</i> spp. Tokat</p>	<p>Bu çalışma ile, Tokat ili patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranının belirlenmesi ve etmenin tanınması amaçlanmıştır. 2018 yılı Mart-Ağustos ayları arasında Tokat ili Merkez, Turhal, Zile, Pazar, Erbaa, Niksar, Artova ve Başçiftlik ilçelerinde patates üretiminin yoğun olarak yapıldığı alanlarda yapılan arazi surveylerinde 67 tarla incelenmiş olup, Tokat ilinde hastalığın Merkez'de %0,25, Erbaa ilçesinde %0,33, Niksar ilçesinde %0,31, Pazar ilçesinde %0,5, Turhal ilçesinde %1 ve Zile ilçesinde %8 oranında bulunduğu belirlenmiştir. Artova ve Başçiftlik ilçelerinde ise hastalığa rastlanılmamıştır. Toplanan hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden elde edilen izolatlar, patatesteki pektolitik aktivite, gram reaksiyon, katalaz, oksidaz, 37°C ve 39°C sıcaklıklarda gelişim, tuza tolerans, tütünde aşırı duyarlılık testleri uygulanmıştır. <i>Pectobacterium</i> spp.'ye spesifik Y1/Y2 primerleri ile 19 izolat 434 bp PCR ürünü oluşturmuştur. 3 izolat <i>Dickeya</i> spp.'ye spesifik ADE1/ADE2 primerleri ile 420 bp PCR ürünü oluşturmuştur. Y1/Y2 primerlerine pozitif sonuç veren izolatlar ile <i>Pectobacterium atrosepticum</i>'a spesifik ECA1/ECA2 primerleri ile yapılan PCR çalışmasında ise izolatlar PCR ürünü oluşturmamıştır. Buna göre 19 izolat <i>Pectobacterium carotovorum</i> olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan bu çalışma ile, Tokat ilinde patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığına sebep olan etmenler belirlenmiş olup, ileriki çalışmalarda spesifik primerler ile tür ve alttür düzeyinde etmenlerin belirlenmesi planlanmaktadır.</p>

^a merve.cetin5412@gmail.com

^b <https://orcid.org/0000-0002-6845-0652> | sabriye.yazici@gop.edu.tr

[#] <https://orcid.org/0000-0002-8892-0017>



Giriş

Tek yıllık bir kültür bitkisi olan patates, üretimi yapılan bölgelerde çiftçilerimizin önemli gelir kaynaklarından birisini oluşturmaktadır. Patates, insanlar tarafından doğrudan mutfaklarda tüketildiği gibi işlenerek değişik şekillerde de (cips, parmak patates vs.) tüketilmekte olup, zengin içeriği sayesinde de tüketimde oldukça çok kullanılmaktadır. Ayrıca ekmek ununa %3–5 oranında patates unu karıştırıldığında, ekmeklerin lezzetini artırmakta ve bayatlamayı geciktirmektedir. Yüksek oranda nişasta içeren bazı çeşitler endüstride nişasta, alkol vs. üretiminde ve bir kısmı da hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir. Patates nişastası, salam ve sosis yapımında da oldukça yaygın kullanılmaktadır (Arioğlu, 1997).

Patates ılıman ve serin iklim bölgelerinin bir bitkisi olmasına rağmen, farklı iklim bölgelerine de kolaylıkla adapte olabilmektedir. Ayrıca birim alandan elde edilen net getirisi, alternatif ürünlere göre daha yüksek olmaktadır. Bu nedenle, dünyanın hemen her ülkesinde az ya da çok patates üretimi yapılmaktadır. Türkiye patates üretiminde dünya ülkeleri arasında 19. sırada yer almaktadır. 2018 yılı istatistiklerine göre, ülkemizde patates üretimi 1.359.715 da alanda 4.550.493 ton olarak gerçekleşmiştir. 2018 yılında en fazla üretim yapan ilk 10 il sırasıyla; Niğde, Konya, Afyon, Kayseri, İzmir, Nevşehir, Adana, Aksaray, Sivas ve Bolu olmuştur. Tokat ilinde ise 2018 yılında 24 291 dekar alanda 61 385 ton patates üretimi gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2018).

Ülkemizde patates üretimini engelleyen en önemli hastalıklardan birisi *Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinin neden olduğu patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığıdır. Pek çok tarımsal üründe önemli ürün kayıplarına neden olan hastalık dünyada ilk on bakteriyel patojen içerisinde yer almaktadır (Benlioğlu, 2019). Hastalığa sebep olan türler; *P. atrosepticum* [(van Hall) Gardan ve ark. 2003], *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* [(Jones, 1901) Gardan ve ark., 2003], *P. wasabiae* [(Goto ve Matsumoto, 1987) Gardan ve ark., 2003], *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (Duarte ve ark., 2004), *P. parmentieri* (Khayı ve ark., 2016), *P. polaris* (Dees ve ark., 2017), *P. peruviana* (Waleron ve ark., 2017), *D. solani* (Van Der Wolf ve ark., 2014) ve *D. dianthicola* (Samson ve ark., 2005) olarak bilinmektedir.

Hastalık etmenlerinin varlığı Fransa'da (Darrasse ve ark., 1994a), Batı Avrupa ülkelerinde (Toth ve ark., 1999; Toth ve ark., 2011), Tayvan'da (Chen ve Lin, 2000), Hollanda'da (Van Beckhoven ve ark., 2001), Kore'de (Kang ve ark., 2003), İsrail'de (Tsor ve ark., 2008), Güney Afrika'da (Van der Merwe ve ark., 2010), Polonya'da (Sledz ve ark., 2000; Dees ve ark., 2017), Norveç'de (Dees ve ark., 2017) yapılan çeşitli çalışmalar ile rapor edilmiştir.

Ülkemizde ise hastalığın varlığı ilk kez Benlioğlu (1991) tarafından ortaya konulmuştur. 1988, 1989 ve 1990 yıllarında Nevşehir, Niğde ve Bolu'da patates üretiminin yoğun olarak yapıldığı tarlalarda ve patates depolarında yapılan surveyler sonucu hastalığın Bolu ilinde ortalama %0,62 oranında, Nevşehir'de %1,27 oranında ve Niğde ilinde ortalama %1,19 oranında bulunduğu rapor edilmiştir. Surveylerde elde edilen bakteriler ile yapılan testler sonucu Nevşehir, Niğde ve Bolu illerinde hastalığa sebep olan etmenlerin *Erwinia carotovora* subsp.

carotovora ve *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* olduğu belirlenmiştir. Depolarda yapılan yumru incelemelerinde, *Erwinia carotovora* tarafından oluşan çürük yumru Bolu ilinde %0,49 oranında, Nevşehir ilinde %1,25 oranında ve Niğde ilinde %0,77 oranında belirlenmiştir. Yumrulardaki bulaşma oranı ise Bolu ilinde %3,99, Nevşehir ilinde %8,97 ve Niğde ilinde %5,37 olarak belirlenmiştir. Daha sonraki yıllarda Öztürk ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada Yozgat ili Sorgun ilçesinde %5-20 oranında, Öztürk ve Aksoy (2016) tarafından yapılan çalışmada ise Amasya ilinde patates üretim alanlarında %11-40 arasında değişen oranlarda hastalık belirlenmiştir. Yine Öztürk ve Aksoy (2017) tarafından Karadeniz Bölgesinde Samsun, Amasya, Tokat, Ordu ve Çorum illeri patates üretim alanlarında yapılan çalışmada hastalığın %4–60 arasında değişen oranlarda yaygınlık gösterdiği belirlenmiştir.

Karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı, çiftçilerimiz için önemli gelir kaynaklarından birisi olan patates bitkisinde ve pek çok kültür bitkisinde önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Tokat ilinde de patates üretimi yaygın bir şekilde yapılmakta ve her geçen gün üretim de artmaktadır. Bu çalışma ile, Tokat ilinde patates üretim alanlarında karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranlarının belirlenmesi ve hastalık etmenlerinin tanılanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmanın ana materyalini 2018 yılında Tokat ilinde yapılan arazi surveyleri sonucu toplanan hastalıklı patates bitkileri, patates yumruları ve bu örneklerden elde edilen bakteri izolatları oluşturmuştur. Çalışmada referans izolatlar, Dr. Öğr. Üyesi Murat ÖZTÜRK (Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü) tarafından temin edilmiştir. Ayrıca çalışmada besi yeri olarak King B (King ve ark., 1954), Nutrient agar (NA) ve Nutrient broth (NB) kullanılmıştır.

Hastalıklı Bitki ve Yumru Örneklerinin Toplanması

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranının belirlenmesi için Tokat İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'nden alınan veriler doğrultusunda Tokat ilinde patates üretiminin yoğun olarak yapıldığı Artova, Başçiftlik, Erbaa, Niksar, Merkez, Pazar ve Zile ilçelerinde arazi surveyleri yapılmıştır. Arazi surveyleri 2018 yılında Mart-Ağustos aylarında (patatesin %50 çiçeklenme evresinde) yapılmıştır. Arazi surveyleri sırasında arazide tesadüfi olarak seçilen 100 adet bitki incelenmiş, kök boğazı kısmında ve gövdede hastalığa ait karabacak belirtisi gösterip göstermediği kaydedilmiş ve elde edilen verilerle hastalığın tarladaki ve bölgedeki bulunma oranları belirlenmiştir.

Yumru örneklerinin toplanması, patates hasadı esnasında gerçekleştirilmiştir. Hasat sırasında çuvalara yerleştirilmekte olan patateslerde inceleme yapılarak, çürüme, kararma, kahverengileşme belirtilerini gösteren yumrular toplanmış, kese kağıdı içerisine konularak etiketlenmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler izolasyon işlemine kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Hastalıklı Bitki ve Yumru Örneklerinden Etmenlerin İzolasyonu

Surveylerde hastalıktan şüphelenilen bitkiler ve yumrular gazete kâğıdı arasına sarılarak naylon torba veya kese kâğıdı içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Bitkilerin kök boğazına yakın kısımlarından ve yumruların çürümüş doku kenarlarından, sağlıklı kısmı da içecek şekilde küçük bir doku parçası alınmış, steril porselen havanda ezilmiştir. Örneklerin üzerine %0,85'lik saline buffer (8,5 g NaCl/1000 ml saf su) eklenerek havanda 15 dakika bekletilerek 10^6 seyreltme serisi yapılmış olup, 10^5 ve 10^6 serilerinden King B besi yerine yayma ekim yapılmış ve 27°C 'de inkübasyona bırakılmıştır. King B besi yerinde gelişen bakteri kolonilerinden alınarak Nutrient agar besi yerinde saflaştırma yapılmıştır. Saflaştırılan izolatlardan Nutrient broth ve Gliserol içerisine stok yapılarak -20°C 'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Patates Karabacak ve Yumuşak Çürüklük Hastalığına Neden Olan Etmen/Etmenlerin Tanısı

Pektolitik aktivite testi: Doku yumuşama testi için ilk olarak yumrulara yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Yumrulara yüzey dezenfeksiyonu için %5,25'lik sodyum hipoklorit kullanılmıştır. Yumrular sodyum hipoklorit içerisine 10 dakika batırılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Tekrar alkole batırılarak yumrular bir kez de alevden geçirilmiştir. Yumrular soyulduktan sonra dilimlenmiş ve steril nemli filtre kâğıdı içeren petrilere yerleştirilmiştir. Nutrient agar besi yerinde 24 saat geliştirilen bakteri kültürlerinden hazırlanan süspansiyonlardan yaklaşık (10^6 hücre/ml) 0,1 ml'si alınarak patates dilimleri yüzeyine sürülmüştür. Petriler 27°C 'de 2 gün inkübe edildikten sonra inokulasyon noktası civarında meydana gelen doku yumuşaması bir iğne ile kontrol edilmiştir. Uygulama yapılan dilim üzerindeki yumuşama pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

Gram reaksiyon testi: Taze hazırlanmış %3'lük Potasyum Hidroksit (KOH) solüsyonu kullanılarak yapılan Gram reaksiyon testinde, lam üzerinde viskoz, yapışkanimsi bir uzama oluşturan izolatlar Gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Sands 1990).

Katalaz testi: Nutrient agar besi yerinde 48 saat geliştirilen bakteri kültürlerinden bir öze dolusu alınmış, lam üzerine konulmuş ve %3'lük hidrojen peroksitten (H_2O_2) bir damla damlatılmıştır. Uygulama yapılan yerde kabarcık şeklinde gaz çıkışı pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

Oksidaz testi: Nutrient agar besi yerinde 48 saat geliştirilen bakteri kültürlerinden bir öze dolusu bakteri alınarak steril filtre kâğıdı üzerine sürülmüş ve %1'lik tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ($\text{C}_6\text{H}_4[\text{N}(\text{CH}_3)_2]_2\cdot 2\text{HCl}$) solüsyonundan damlatılmıştır. On saniye içerisinde oluşan mor renk pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

Farklı sıcaklıklarda gelişim testi: Çalışmada, Nutrient agar besi yerine çizimi yapılan izolatlar 37°C ve 39°C 'de inkübe edilmiştir. 24 saat inkübasyon süresi sonunda 37°C 'de gelişen izolatlar *P. carotovorum*, 39°C 'de gelişen izolatlar *Dickeya* spp. olarak kaydedilmiştir.

Tuza tolerans testi: Çalışmada %5'lik sodyum klorür (NaCl) ilaveli Nutrient agar besi yeri kullanılmıştır. Besi yerine çizilen izolatlar 28°C sıcaklıkta inkübe edilmiş ve gelişimi gözlemlenmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda NaCl ilaveli besi yerinde gelişim gösteren izolatlar *P. atrosepticum* ve *P. carotovorum* olarak kaydedilmiştir.

Tütünde aşırı duyarlılık testi: Tütünde aşırı duyarlılık testinde, Nutrient agar besi yerinde geliştirilen bakteri izolatlarından 10^8 hücre/ml yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Elde edilen süspansiyonlardan steril bir enjektör ile alınmış ve tütünün yaprak damar arasından verilmiştir. Etiketlenen tütün bitkisi yaprakları 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonucunda ölü doku oluşturan izolatlar, Hipersensitif Reaksiyon (HR) pozitif (+), oluşturmayanlar ise HR negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. Kontrol bitkilerinde steril saf su kullanılmıştır (Dadaşoğlu, 2007).

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalık etmenlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile tanınması

Yapılan arazi surveyleri sonucu hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden elde edilen ve klasik testler ile tanılanan bakteri izolatları Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniği ile tanılanmıştır. Örneklerde genomik DNA izolasyonu yapılmadan doğrudan bakteri kültürü ile PCR çalışması yapılmıştır. Tablo 1'de çalışmada kullanılan primer çiftleri, Tablo 2'de thermalcyclus cihazında (BIO-RAD T100) gerçekleştirilen PCR programı verilmiştir.

Yapılan PCR çalışması sonrasında, elde edilen PCR ürünleri %1,2'lik agarose jel hazırlanarak elektroforezde yürütülmüştür. *Pectobacterium* spp.'ye spesifik olan Y1: TTA CCG GAC GCC GAG CTG TGG CGT ve Y2: 5CAG GAA GAT GTC GTT ATC GCG AGT primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında %1,2'lik agaroz jel üzerinde Darrasse ve ark. (1994b)'nın bildirdiği gibi 434 bp büyüklüğünde bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. *P. atrosepticum*'a spesifik ECA1f: CGG CAT CAT AAA AAC ACG ve ECA2r: GCA CAC TTC ATC CAG CGA primer çifti kullanılarak yapılan PCR çalışmasında ise De Boer ve Ward (1995)'e göre 690 bp büyüklüğünde bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. *Dickeya* spp.'e spesifik olan ADE1: GATCAGAAAGCC-CGCAGCCAGAT ve ADE2: CTGTGGCCGATCAGGATGGTTTTGTCGTGC primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında ise %1,2'lik agaroz jel üzerinde Nassar ve ark. (1996)'nın bildirdiği üzere 420 bp büyüklüğünde bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Öztürk ve ark., 2018).

Tablo 1. Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalık etmenlerinin tanılanmasında kullanılan spesifik primerler
Table 1. Specific primers used to identification of potato blackleg and soft rot disease agents

Hastalık etmeni	Primer dizilimleri	PCR	R
<i>Pectobacterium</i> spp.	Y1: TTA CCG GAC GCC GAG CTG TGG CGT Y2: 5CAG GAA GAT GTC GTT ATC GCG AGT	434	1
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	ECA1f: CGG CAT CAT AAA AAC ACG ECA2r: GCA CAC TTC ATC CAG CGA	690	2
<i>Dickeya</i> spp.	ADE1: GATCAGAAAGCC-CGCAGCCAGAT ADE2: CTGTGGCCGATCAGGATGGTTTTGTCGTGC	420	3

PCR: PCR ürününün baz büyüklüğü (bp); R: Referanslar; 1: Darrasse ve ark. (1994b); 2: De Boer ve Ward (1995); 3: Nassar ve ark. (1996)

Tablo 2. PCR çalışmasında kullanılan program

Table 2. The program used in PCR analysis

Program adımları	REDTCHW		
	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	95	4 dak	1
Denatürasyon	95	30 s	
Primer Bağlanması	65	30 s	
Uzama	72	90 s	34×
	95	30 s	
	56	30 s	
	72	90 s	
Son Uzama	72	5 dak	1
Bekleme	4	∞	

Bulgular ve Tartışma

Patates Karabacak ve Yumuşak Çürüklük Hastalığının Bulunma Oranı

Tokat ili Merkez ve ilçelerinde patates üretim alanlarında, patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı'nın bölgede bulunma oranlarının belirlenmesi için 2018 yılı Mart-Ağustos aylarında survey çalışmaları yapılmıştır. Tokat İli Merkez ve ilçelerinde toplam 67 patates arazisinde survey yapılarak incelenen bitkilerde patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının varlığı/yokluğu kaydedilmiştir. Tokat ili Merkez'de toplam 155 dekarlık 12 tarlada, Erbaa ilçesinde toplam 311 dekarlık 15 tarlada; Niksar ilçesinde toplam 338 dekarlık 22 tarlada; Pazar ilçesinde toplam 30 dekarlık 4 tarlada, Turhal ilçesinde 350 dekarlık 1 tarlada; Zile ilçesinde 250 dekarlık 1 tarlada; Artova ilçesinde toplam 150 dekarlık 6 tarlada; Başçiftlik ilçesinde toplam 175 dekarlık 6 tarlada survey çalışmaları yürütülmüştür. Toplamda 1759 dekarlık 67 patates üretimi yapılan tarlada survey yapılmıştır.

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının Tokat ili Merkez ilçesinde tarlada bulunma oranı %0,42, bölgede bulunma oranı %0,25 olarak, Erbaa ilçesinde tarlada bulunma oranı %0,6, bölgede bulunma oranı %0,33 olarak, Niksar ilçesinde tarlada bulunma oranı %0,72, bölgede bulunma oranı %0,31 olarak, Pazar ilçesinde tarlada bulunma oranı %1, bölgede bulunma oranı %0,5 olarak tespit edilmiştir. Aynı şekilde Turhal ilçesinde hastalığın tarlada ve bölgede bulunma oranı %1 olarak, Zile ilçesinde de tarlada ve bölgede bulunma oranı %8 olarak tespit edilmiştir. Artova ve Başçiftlik ilçelerinde ise hastalıklı bitkiye rastlanılmamış olup, hastalığın tarlada ve bölgede bulunma oranları %0 olarak kaydedilmiştir.

Ülkemizde patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının varlığına dair yapılan önceki çalışmalarla, bu çalışmada elde edilen sonuçlar benzerlik göstermektedir. Benlioğlu (1991) tarafından Nevşehir, Niğde ve Bolu illerinde patates tarlalarında ve depolarda yürütülen çalışmada, hastalık Bolu ilinde %0,62 oranında, Nevşehir'de %1,27 oranında ve Niğde ilinde %1,19 oranında bulunmuştur. Benzer şekilde, 2015 yılında Yozgat ili Sorgun ilçesinde hastalık %5-20 arasında değişen oranlarda (Öztürk ve ark., 2016), Amasya ilinde ise %11 oranında (Öztürk ve Aksoy, 2016) belirlenmiştir. Tokat ilinin de içinde yer aldığı diğer bir çalışmada da Öztürk (2017) 2015 yılında yaptığı arazi surveylerinde, Çorum ilinde hastalık yaygınlığını ve

hastalık şiddetini %9,76 ve %7,06 oranında, Amasya ilinde %9,43 ve %5,14 oranında ve Samsun ilinde %4,62 ve %2,83 oranında belirlemiştir. 2016 yılında yapılan arazi surveylerinde ise Samsun ilinde hastalık yaygınlığı ve hastalık şiddeti %19,29 ve %8,64 oranında, Amasya ilinde ise %10,41 ve %5,77 oranında belirlenmiştir. Tokat ilinde ise Niksar ve Erbaa ilçelerinde yapılan arazi surveylerinde 331 da'lık 25 tarlada incelemeler yapılmıştır. Tokat ilinde hastalık yaygınlığı %11,9, hastalık şiddeti ise %6,97 oranında belirlenmiştir. Aynı çalışmada hastalık ile bulaşıklılık oranı da Tokat ilinde yüksek (%48) çıkmıştır.

2018 yılında Tokat ili ve ilçelerinde yapılan survey çalışmalarında, patates üretim alanlarında patates bitkilerinde kök boğazından başlayarak gövde kısmında kahverengileşme, kararma, yumuşama şeklinde belirgin bir şekilde belirtiler görülmüştür. Hasat esnasında arazilerden toplanan yumrular da yumuşama şeklinde belirtiler gözlemlenmiştir. Yapılan arazi surveylerinde 67 patates üretim alanından hastalıktan şüphelenilen 88 adet hastalıklı bitki ve yumru örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerden toplam 120 adet bakteri izolatu elde edilmiştir.

Klasik Test Sonuçları

Elde edilen bakteri izolatlarına ilk olarak patates dilimlerinde pektolitik aktivite testi yapılmıştır. Pektolitik aktivite testinde 120 adet bakteri izolatından 22 tanesi patates dilimleri üzerinde yumuşama meydana getirmiş ve pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Tablo 3). Patates yumuşak çürüklük hastalığı için patateste yumuşama oluşumu oldukça önemli olup, özellikle tanılamada yapılması gereken testler içerisinde yer almaktadır. Yapılan testte *Pectobacterium carotovorum* türleri daha erken ve daha yoğun yumuşama meydana getirmiştir. Benzer şekilde Dees ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada da, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Dickeya* spp. türlerinin, *P. atrosepticum* ve *P. wasabiae* türlerine göre yumuşama üretme yeteneklerinin daha yüksek olduğu vurgulanmıştır.

Yapılan gram reaksiyon testinde potasyum hidroksit ile muamele gören 22 izolatta yapışkanimsi bir sünme meydana gelmiş ve bakteri izolatları gram negatif olarak kaydedilmiştir (Tablo 3).

Nutrient agar besi yerinde geliştirilen 22 adet izolata hidrojen peroksit ile katalaz testi uygulanmış ve uygulama yapılan 22 izolatin 21'inde kabarcık şeklinde gaz çıkışı gözlemlenmiş ve 21 izolat katalaz pozitif olarak kaydedilmiştir.

Nutrient agar besi yerinde 48 saat geliştirilen bakteri kültürlerine %1'lik tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (C₆H₄[N(CH₃)₂]₂.2HCl) solüsyonu ile oksidaz testi uygulanmıştır. 22 izolattan 22'si oksidaz negatif olarak kaydedilmiştir (Tablo 3).

Nutrient agar besi yerine çizilen 22 adet bakteri izolatından 37°C'de daha iyi gelişim gösteren 21 izolat, 39°C'de de daha iyi gelişim gösteren 8 izolat pozitif olarak kaydedilmiştir (Tablo 3). Benzer şekilde, Öztürk ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada da *Pectobacterium carotovorum* 37°C'de gelişirken, *P. atrosepticum* gelişmemiştir. 39°C'de ise *Pectobacterium* türlerinin hiçbiri gelişmemiştir. Tuza tolerans testinde NaCl ilaveli besi yerinde gelişim gösteren 22 izolatın tamamı pozitif reaksiyon göstererek tüplerde türbidite oluşturmuştur. Benzer olarak %5'lik NaCl içeren besi yerinde Dadaşoğlu ve Kotan (2017) tarafından yapılan çalışmada da, testlenen 12 adet *Pectobacterium* türleri ve *Erwinia chrysanthemi* izolatlarının hepsi NaCl ilaveli besi yerinde gelişim göstermiştir. Bunun aksine Ngadze ve ark. (2012) bazı yumuşak çürüklük etmenlerinin sodyum klorürlü besi yerinde gelişemediğini de ifade etmişlerdir. Tütün bitkisinde yapılan aşırı duyarlılık testinde 22 adet izolattan 12 tanesi HR pozitif (+), 10 adeti ise HR negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. *Pectobacterium* türlerinde tütünde aşırı duyarlılık testi hem pozitif hem de negatif sonuç verebildiği yapılan bazı çalışmalarda da ifade edilmiştir. HR testine ilaveten tür bazında ayırım için diğer biyokimyasal testlerin yapılması gerektiği vurgulanmıştır (Pitman ve ark., 2010; Mikicinski ve ark., 2010).

PCR Test Sonuçları

Tokat ili ve ilçelerinden toplanan hastalıklı patates bitkisi ve yumrularından izole edilen ve biyokimyasal testler ile tanılanan 22 adet bakteri izolatı ile *Pectobacterium* spp.'ye spesifik olan Y1: TTA CCG GAC

GCC GAG CTG TGG CGT ve Y2: 5CAG GAA GAT GTC GTT ATC GCG AGT primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında %1,2'lik agaroz jel üzerinde 19 adet izolat Darrasse ve ark. (1994b)'nın bildirdiği üzere 434 bp büyüklüğünde bant oluşturmuş olup, testlenen 19 izolat *Pectobacterium* spp. olarak tanılanmıştır. Aynı şekilde, hastalıklı patates örneklerinden elde edilen ve biyokimyasal testler ile tanılanan 22 izolat ile *Dickeya* spp. etmenine spesifik olan ADE1: GATCAGAAAGCC-CGCAGCCAGAT ve ADE2: CTGTGGCCGATCAGGA TGGTTTTGTCGTGC primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında, 22 adet izolattan 3 tanesi Nassar ve ark. (1996)'nın bildirdiği üzere 420 bp büyüklüğünde bant oluşturmuş olup, pozitif olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4).

Pectobacterium spp. olarak tanılanan 19 izolat ile *Pectobacterium atrosepticum*'a spesifik ECA1f: CGG CAT CAT AAA AAC ACG ve ECA2r: GCA CAC TTC ATC CAG CGA primer çifti kullanılarak yapılan PCR çalışmasında ise De Boer ve Ward (1995)'na göre 690 bp büyüklüğünde bant oluşumu gözlenmemiş olup, testlenen izolatların *Pectobacterium atrosepticum* olmadığı belirlenmiştir. Bu durumda *Pectobacterium* spp. olarak tanılanan 19 izolat *Pectobacterium carotovorum* olarak kaydedilmiştir.

Yapılan PCR çalışmasında *Pectobacterium* spp.'ye spesifik Y1/Y2, *Pectobacterium atrosepticum*'a spesifik ECA1f/ ECA2r ve *Dickeya* spp.'ye spesifik ADE1:/ADE2 primer çiftleri kullanılmıştır. Kullanılan primerler *Pectobacterium* ve *Dickeya* için cins düzeyinde tanılamada yeterli olsa da, tür ve alt türlerin belirlenmesi için farklı primerler ile tanılanın yapılması gerekmektedir. Benzer şekilde Öztürk ve Aksoy (2016), Amasya ilinde hastalıklı patates bitki örneklerinden elde edilen izolatları ilk olarak *Pectobacterium* spp.'ye spesifik Y1/Y2 primerlerini kullanarak tanılamışlardır.

Tablo 3. Yumuşak çürüklük izolatlarının biyokimyasal testlere olan reaksiyonları

Table 3. Results of biochemical analysis of soft rot isolates

İzolat Kodu	KOH	Oksidaz	Katalaz	PA	37°C	39°C	TT	ADT
MÇ14	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ15	-	-	+	+	+	-	+(Z)	-
MÇ32	-	-	+	+	+	+	+(Z)	+
MÇ39	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ41	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ42	-	-	-	+	+	+	+(Z)	+
MÇ45	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ46	-	-	+	+	-	-	+(Z)	-
MÇ48	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ57	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ71	-	-	+	+	+	+	+(Z)	-
MÇ81	-	-	+	+	+(Z)	+	+	-
MÇ82	-	-	+	+	+(Z)	+	+	-
MÇ83	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ88	-	-	+	+	+	+	+(Z)	-
MÇ91	-	-	+	+	+	-	+(Z)	-
MÇ93	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ97	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ104	-	-	+	+	+(Z)	-	+(Z)	-
MÇ113	-	-	+	+	+	-	+(Z)	+
MÇ115	-	-	+	+	+	+	+(Z)	-
MÇ116	-	-	+	+	+	+	+(Z)	-

PA: Pektolitik Aktive; TT: Tuza Tolerans, ADT: Aşırı Duyarlılık Testi; Z: Zayıf

Tablo 4. PCR testinde pozitif sonuç veren izolatlar
Table 4. The isolates resulted positive in PCR analysis

İzolat Kodu	Y1/Y2	ADE	ECA
MÇ14	+	-	-
MÇ15	+	-	-
MÇ32	+	-	-
MÇ39	+	-	-
MÇ41	+	-	-
MÇ42	+	-	-
MÇ45	+	-	-
MÇ46	+	-	-
MÇ48	+	-	-
MÇ57	+	-	-
MÇ71	+	-	-
MÇ81	-	+	-
MÇ82	-	+	-
MÇ83	+	-	-
MÇ88	+	-	-
MÇ91	+	-	-
MÇ97	+	-	-
MÇ93	+	-	-
MÇ104	-	+	-
MÇ113	+	-	-
MÇ115	+	-	-
MÇ116	+	-	-

Araştırmacılar daha sonra izolatları 16S rDNA sekans analizlerini yaparak Brf/Lr primerleri ile *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* olarak tanılamışlardır. Yozgat ili Sorgun ilçesinden elde edilen bakteri izolatları da ilk olarak Y1/Y2, Y45/Y46 ve EXPCCF/R primerleri ile analize tabi tutulmuş daha sonra PhF/R primerleri ile *P. wasabiae* olarak tanılanmıştır (Öztürk ve ark., 2016). Amasya ilinde Marabel çeşidi patateslerden elde edilen izolatlar ilk olarak ADE1/ADE2 primer çifti ile 420 bp'lik bir bant oluşumu ile *Dickeya* spp. olarak belirlenmiştir. Tür bazında A27G3 ve A37G9 *Dickeya* izolatlarının belirlenmesinde, 16S rDNA genine dayalı sekans analizi yapılarak izolatların *D. solani*'ye ait olduğu belirlenmiştir (Öztürk ve Aksoy, 2017). Dadaşoğlu ve Kotan (2017)'da yaptıkları çalışmada bakteriyel izolatların 16S rDNA bölgesinin PCR ile amplifikasyonu için fd1 ve rp2 universal primerlerini kullanmışlar ve elde ettikleri izolatları *Pectobacter* sp. olarak belirlemişlerdir. Yapılan FAME ve BIOLOG testleri ile tür düzeyinde ayrımları yapılmıştır.

Sonuç

Tokat ili patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranının belirlenmesi ve etmenin tanılanması üzerine yapılan bu çalışmada; Tokat ilinde hastalığın Merkez'de %0,25, Erbaa ilçesinde %0,33, Niksar ilçesinde %0,31, Pazar ilçesinde %0,5, Turhal ilçesinde %1 ve Zile ilçesinde %8 oranında bulunduğu belirlenmiştir. Artova ve Başçiftlik ilçelerinde ise hastalığa rastlanılmamıştır. Arazi surveyleri sonucu toplanan örneklerden elde edilen bakteri izolatları ile yapılan biyokimyasal, patojenite ve PCR analizlerine göre, Tokat ilinde Erbaa ve Niksar ilçelerinde *Dickeya* spp., Pazar, Zile, Erbaa ve Niksar ilçelerinde *Pectobacterium carotovorum* olarak belirlenmiştir. Yürütülen bu çalışmada, Tokat ilinde *P. atrosepticum*

türüne rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, *Pectobacterium* spp., *P. atrosepticum* ve *Dickeya* spp.'ye spesifik 3 adet primer kullanılmıştır. Daha ileriki çalışmalarda diğer türlere de ait olan primerler kullanılarak pozitif sonuç veren izolatların tür/alt tür düzeyinde tanılanması planlanmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından 2018/47 nolu lisansüstü tez projesi ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Arıoğlu HH. 1997. Nişasta ve Şeker Bitkileri. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 188. Ders Kitapları No:57. 3-230s. Adana.
- Anonim 2018. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu. http://www.tuik.gov.tr/MetaVeri.do?alt_id=1001 (15.05.2019)
- Benlioğlu K. 1991. Bolu, Nevşehir, Niğde İllerindeki Patates Üretim Alanlarında *Erwinia* spp.'nin Yaygınlık Oranları, Tanılanması ve İnokulum Kaynakları Üzerinde Araştırmalar. (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Benlioğlu K. 2008. Patates Karabacak ve Yumuşak Çürüklük Hastalığı. (Saygılı H, Şahin F, Aysan Y) Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı. Meta Basım İzmir, 75-79.
- Benlioğlu K. 2019. Patates Karabacak ve Yumuşak Çürüklük Hastalığı. (Saygılı H, Aysan Y, Şahin F, Soylu S, Mirik M). Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı. Toprak Ofset Matbaacılık. Tekirdağ. 291-298,
- Bradbury JF. 1977a. *Erwinia carotovora* var. *carotovora*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. NO:552. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- Bradbury JF. 1977b. *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. NO:551. Kew: Commonwealth Mycological Institute.

- Chen CW, Lin CY. 2000. Control of *Erwinia* soft rot disease of calla lily. *Plant Pathology*, 9(3): 107-114.
- Dadaşoğlu F. 2007. Isolation and identification of bacterial strains with insecticidal activities against greenhouse and field pest. (Master Thesis). Atatürk University, Graduate School of Natural and Applied Science Institute, Department of Plant Protection. 93 s.
- Dadaşoğlu F, Kotan R. 2017. Bazı Sebze ve Meyvelerde Yumuşak Çürüklük Oluşturan Pektolitik Bakterilerin Tanı ve Karakterizasyonu. *Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 7(1): 155-161.
- Darrasse A, Priou S, Kotoujansky A, Bertheau Y. 1994a. Isolation by genomic subtraction of DNA probes specific for *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 298-306.
- Darrasse A, Priou S, Kotoujansky A, Bertheau Y. 1994b. PCR and restriction length polymorphism of a *pel* gene as a tool to identify *Erwinia carotovora* in relation to potato diseases. *Applied and Environmental Microbiology*. 60: 1437-1443.
- De Boer SH, Ward LJ. 1995. PCR Detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* associated with potato tissue. *Phytopathology*. 85: 854-858.
- Dees MW, Lebecka R, Perminow JIS, Czajkowski R, Grupa A, Motyka A, Zoledowska S, Sliwka J, Lojkowska E, Brurberg MB. 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*. DOI: 10.1007/s10658-016-1140-2.
- Duarte V, De Boer SH, Ward LJ, De Oliveira AM. 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology*. 96: 535-45.
- Gardan L, Gouy C, Christen R, Samson R. 2003. Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 53: 381-91.
- Goto M, Matsumoto K. 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* nov. Isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi* Maxim). *International Journal of Systematic Bacteriology*. 37: 130-135.
- Jones LR. 1901. *Bacillus carotovorus* n.sp., die Ursache einer weichen Faulnis der Möhre. *Zentralblatt für Bacteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene Abt II*. 7: 12-21.
- Kang HW, Kwon SW, Go SJ. 2003. PCR-based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. *Plant Pathology*. 52: 127-133.
- Khayî S, Cigna J, Chong TM, Quêtu-Laurent A, Chan KG., Hélias V, Faure D. 2016. Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to *Pectobacterium zarmentieri* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66 (12): 5379–5383.
- King EO, Ward MK, Raney DE. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 44:301-307.
- Lelliott RA, Stead DE. 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial disease of plants*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Mikicinski A, Sobiczewski P, Sulikowska M, Pulawska J, Treder J. 2010. Pectolytic bacteria associated with soft rot of calla lily (*Zantedeschia* spp.) tubers. *Journal of Phytopathology*. 158: 201-209.
- Nassar A, Darrasse A, Lemattre M, Kotoujansky A, Dervin C, Veled R, Bertheau Y. 1996. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* by pectinolytic isozyme polymorphism and restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments of *pel* genes. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 2228-2235.
- Ngadze E, Brady CL, Coutinho TA, Van Der Walls JE. 2012. Pectinolytic bacteria associated with potato soft rot and blackleg in South Africa and Zimbabwe. *European Journal of Plant Pathology*. 134: 533-549.
- Öztürk M. 2017. Orta Karadeniz Bölgesinde Patateste Sorun Olan *Pectobacterium* ve *Dickeya* spp. Bakteriyel Etmenleri Üzerine Araştırmalar (Doktora Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun.
- Öztürk M, Aksoy HM. 2016. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing blackleg and soft rot in Turkey. *Journal of Plant Pathology*. 98 (3): 677-697.
- Öztürk M, Aksoy HM, Öztürk S, Potrykus M, Lojkowska E. 2016. First report of blackleg and soft rot caused by *Pectobacterium wasabiae* in Turkey. *New Disease Reports*. 34: 17.
- Öztürk M, Aksoy HM. 2017. First report of *Dickeya solani* associated with potato blackleg and soft rot in Turkey. *Journal of Plant Pathology*. 99 (1): 287-304.
- Öztürk M, Aksoy HM, Potrykus M, Lojkowska E. 2018. Genotypic and phenotypic variability of *Pectobacterium* strains causing blackleg and soft rot on potato in Turkey. *Eur J Plant Pathol*. 152: 143-155.
- Pitman AR, Harrow SA, Visnovsky SB. 2010. Genetic characterisation of *Pectobacterium wasabiae* causing soft rot disease of potato in New Zealand. *Eur J Plant Pathol*. 126: 423-435.
- Samson R, Legendre JB, Christen R, Achouak W, Gardan L. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Brenner et al. 1973) Hauben et al. 1998 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *D. chrysanthemi* comb. nov. and *D. paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species: *D. dadantii* sp. nov., *D. dianthicola* sp. nov., *D. dieffenbachiae* sp. nov. and *D. zeeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54: 1415-1427.
- Sands DC. 1990. Criteria-Determinative Tests. In *Methods in Phytopathology*. (Z. Klements, K. Rudolph and D. C. Sands).
- Saygılı H, Aysan Y, Şahin F. 2006. *Erwinia* Soft Rot Grup. *Fitobakteriyoloji*. 233-244.
- Sledz W, Jafra S, Waleron M, Lojkowska E. 2000. Genetic diversity of *Erwinia carotovora* strains isolated from infected plants grown in Poland. *Bulletin OPPE/EPPO*. 30: 403-407.
- Toth K, Bertheau Y, Hyman LJ, Laplaze L, Lopez MM, Mcnicol, J, Niepold F, Persson P, Salmond GPC, Sletten A, Van Der Wolf JM, Perombelon MCM. 1999. Evaluation of phenotypic and molecular typing techniques for determining diversity in *Erwinia carotovora* subspp. *atroseptica*. *Journal of Applied Microbiology*. 87: 770–781.
- Toth K, Van Der Wolf JM, Saddler G, Lojkowska E, Helias V, Pirhonen M, Tsrör L, Elphinstone JG. 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*. 60: 385-399.
- Tsrör LL, Erlich O, Lebiush S, Hazanovsky M, Zig U, Slawiak M, Grabe G, Van Der Wolf JM, Van Der Haar JJ. 2008. 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.
- Van Beckhoven JRCM, De Haan EG, Van Hoof R, De Raaij-Wieringa G, Bonants P, Van de Wolf JM. 2001. Survey naar serogroepen van *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* en *Erwinia chrysanthemi* in Nederland. Internal report. *Plant Research International*. 21.
- Van Der Merwe J, Coutinho T, Korsten L, Van Der Waals J. 2010. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology*. 126: 175-185.

- Van der Wolf JM, Nijhuis EH, Kowalewska MJ, Saddler GS, Parkinson N, Elphinstone JG, Pritchard L, Toth IK, Lojkowska E, Potrykus M, Waleron M, de Vos P, Cleenwerck I, Pirhonen M, Garland L, Helias V, Pothier JF, Pfluger V, Duffy B, Tsror L, Manulis S. 2014. *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 64 (3): 768–774.
- Van Hall CJJ. 1902. Bijdragen tot de kennis der Bakterieele Plantenzeikten. Coöperatieve Drukkerij-vereeniging “Plantijn”, Inaugural dissertation. Amsterdam, The Netherlands.
- Waleron M, Misztak A, Waleron M, Franczuk M, Wielgomas B, Waleron K. 2017. Transfer of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* strains isolated from potatoes grown at high altitudes to *Pectobacterium peruviane* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology. 41 (2): 85-93.