

Yozgat İli Beyaz Baş Lahana Üretim Alanlarında Bakteriyel Yumuşak Çürüklük Hastalığına Neden Olan *Pectobacterium* İzolatlarının Tanılanması

Murat ÖZTÜRK¹, Soner SOYLU²

¹Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü 66900 YOZGAT, ²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 31034 Antakya-HATAY

¹<https://orcid.org/0000-0002-9677-3651>, ²<https://orcid.org/0000-0003-1002-8958>

✉: muratzm66@gmail.com

ÖZET

Yozgat ili lahana üretim alanlarında 2018-2019 vejetasyon döneminde yumuşak çürüklük hastalık etmenlerinin tanılanmasına yönelik survey çalışmaları yapılmıştır. Yaprak, gövde ve kök kısımlarında sulu-ıslak lezyonlar ve çürüme belirtisi sergileyen dokulardan bakteriyel etmenin izolasyonu için Crystal Violet Pectate (CVP) besi yeri kullanılmıştır. Farklı tarlalardan toplanan 24 şüpheli bitki örneğinden CVP besi yerinde çukur oluşturan 16 adet pektolitik izolat elde edilmiştir. Şeffaf, konveks ve kenarları krater formda olduğu tespit edilen bakteriyel izolatların gram negatif, fakültative anaerob, oksidaz negatif, katalaz pozitif, UV-ışık altında King B besi yerindeki kolonilerinin floresans parlama göstermediği belirlenmiştir. Patates dilimlerinde ve lahana bitkilerinde yumuşak çürüklük belirtilerine neden olan izolatların 37 °C'de gelişebildiği, %5'lik NaCl içeren sıvı besi yerinde türbidite oluşturduğu ve tütün yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olduğu belirlenmiştir. Elde edilen 16 izolat ile yapılan PCR analizlerde, izolatların tamamı *Pectobacterium* spp. için spesifik Y1/Y2 primerleri ile 434 bp, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* için spesifik EXPCCF/EXCPCR primerleri ile ise 550 bp büyüklüğünde PCR ürünü oluşturmuştur. Yapılan biyokimyasal, fizyolojik, patojenite ve moleküler analizler sonucu test edilen 16 izolatın *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* olduğunu göstermiştir. Yapay inokulasyon yapılan lahana bitkilerinde patojenik izolatların sulu-ıslak lezyonlar şeklinde yumuşak çürüklük belirtilerine neden olduğu gözlemlenmiştir. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*'un Yozgat ili beyaz baş lahana üretim alanlarında yumuşak çürüklük hastalığının enfeksiyon kaynağı olduğu ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 27.05.2021

Kabul Tarihi : 08.07.2021

Anahtar Kelimeler

Bakteriyel hastalık
Yumuşak çürüklük
Pectobacterium
Beyaz baş lahana
Yozgat ili

Identification of *Pectobacterium* Isolates Causing Bacterial Soft Rot Disease in White Head Cabbage Production Areas of Yozgat Province

ABSTRACT

During the 2018-2019 vegetation period, survey was conducted to identify soft rot disease agent in the white head cabbage production areas of Yozgat. Crystal Violet Pectate (CVP) medium was used for the isolation of bacterial agent from tissues showing watery-wet lesions and rotting signs on leaves, stems and roots. A total of 16 pectolytic isolates that formed cavity in the CVP medium were obtained from 24 suspicious plant samples collected from different fields. The colonies of bacterial isolates detected as transparent, convex and crater with edges were gram negative, facultative anaerobe, oxidase negative, catalase positive, and did not show fluorescence on the King B-medium under UV-light. It has been determined that the isolates caused soft rot symptoms in potato slices and cabbage plants could grow at 37 °C, had turbidity in liquid medium containing 5% NaCl and cause hypersensitivity reaction in tobacco leaves. In PCR analyses with obtained 16 isolates revealed that all of the isolates generated 434 bp and 550 bp PCR product using

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 27.05.2021

Accepted : 08.07.2021

Keywords

Bacterial disease
Soft rot
Pectobacterium,
White head cabbage
Yozgat province

Y1/Y2 and EXPCCF/EXCPCR primers which were recommended for the identification of *Pectobacterium* spp, and *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, respectively. Based on biochemical, physiological, pathogenicity and molecular analysis, 16 isolates were identified as *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. It has been also observed that all pathogenic isolates caused signs of soft rot in the form of watery-wet lesions in artificially inoculated cabbage plants. It was determined for the first time with this study that *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* is the source of soft rot disease infection in the white head cabbage production areas of Yozgat province.

Atıf İçin : Öztürk M, Soylu S 2022. Yozgat İli Beyaz Baş Lahana Üretim Alanlarında Bakteriyel Yumuşak Çürüklük Hastalığına Neden Olan *Pectobacterium* İzolatlarının Tanılanması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (3): 495-503. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.943765.

To Cite : Öztürk M, Soylu S 2022. Identification of *Pectobacterium* Isolates Causing Bacterial Soft Rot Disease in White Head Cabbage Production Areas of Yozgat Province. KSU J. Agric Nat 25 (3): 495-503. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.943765.

GİRİŞ

Brassica oleracea grubu içerisinde 37 adet alt tür bulunmaktadır. Bunlar arasından beyaz baş lahana (var. *capitata* L. f. *alba*) bitkisi günümüzde en çok tüketilen lahana tipidir ve 90'dan fazla ülkede kültürü yapılan en önemli sebze türlerinden birisidir (Nieuwhof, 1969). Dünya lahana üretiminde Türkiye 778 bin ton lahana üretimi ile 15. sırada yer almaktadır (Anonymous, 2018). Türkiye genelinde lahana bitkisi üretilen kışlık sebze türleri arasında 10. sırada yer almaktadır (Balkaya ve ark., 2017). Türkiye'de 2020 yılında en fazla lahana üretimi 129.310 ton ile Niğde ilinde yapılmakta olup bu ili sırasıyla, 111.181 ton ile Samsun, 37.549 ton ile Bursa, 24.106 ton ile Mersin, 22.504 ton ile İzmir illeri takip etmektedir (Anonim, 2020). Lahana üretimini ve uzun dönem muhafazasını kısıtlayan birçok hastalık mevcuttur (Maskell ve ark. 1999). Lahana bitkilerinde hastalıklara neden olan başlıca bakteriyel hastalık etmenlerinin *Pectobacterium* sp., *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *P. marginalis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* olduğu bildirilmiştir (Rimmer ve ark., 2007).

Pectobacterium spp.'nin neden olduğu yumuşak çürüklük hastalığı lahana üretiminde verim ve kalite kayıplarına yol açan en önemli bakteriyel hastalıklar arasındadır (Hauben ark., 1998; Gardan ve ark., 2003; Popovic ve ark., 2019). Yumuşak çürüklük hastalığının küresel olarak sebze, meyve ve süs bitkilerinde toplamda % 30 ürün kaybına neden olduğu bildirilmektedir (Toth ve ark., 2011; Charkowski, 2015; Charkowski, 2018). *Pectobacterium* spp., oldukça geniş bir coğrafyada monokotiledon ve dikotiledon bitkilerde enfeksiyona neden olmaktadır. Dünyanın birçok yerinde başta patates olmak üzere farklı konukçu bitkilerde yaygın olarak rapor edilen patojenik izolatlarla sahiptir (Duarte ve ark., 2004; Ma ve ark., 2007; Marquez-Villavicencio ve ark., 2011; Mansfield ve ark., 2012;). *Pectobacterium* izolatlarının en önemli virülenslik faktörü, bitki hücre duvarı eriten pektolitik enzimlere sahip olmasıdır (Barras ve ark.,

1994). Bitki hücrelerinde hücre duvarı ve orta lamel bileşeni olan pektini parçalayarak substrat olarak kullanan bakteriler konukçu doku entegrasyonunun bozulması ve hücre içeriklerinin dışarı salınmasına neden olmaktadır. Sızıntı daha sonra birçok saprofitik mikroorganizmanın saldırısıyla ağır bir çürük koku oluşumuna davetiye çıkarmaktadır (Barras ve ark., 1994; Perombelon, 2002).

Çevresel faktörlerden sıcaklık, *Pectobacterium* türlerinin dağılımı ve epidemiyolojisinde en belirleyici faktördür (Perombelon ve Kelman, 1980; Perombelon, 2002). Avrupa kıtası gibi ılıman bölgelerde *P. atrosepticum* (Syn. *E. carotovora* subsp. *atroseptica*) patojeni 20-22 °C sıcaklık değerlerindeki daha fazla oranda enfeksiyon oluşturur ve konukçu olarak en fazla patates bitkisinde olmakla birlikte sınırlı sayıda da olsa biber (Stommel ve ark., 1996), ayçiçeği (Baştaş ve ark., 2009) ve kala (Popovic ve ark., 2017) bitkilerinde de hastalığa neden olduğu bildirilmektedir (Marquez-Villavicencio ve ark., 2011). Daha sıcak bölgelerde (ılıman-subtropik) ise *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Syn. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) enfeksiyonlarının fazla oranda olduğu bilinmektedir (Czajkowski ve ark., 2011; Czajkowski ve ark., 2015). *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* etmeni dünya genelinde en patojenik tür olarak gösterilmektedir. 25 °C civarındaki sıcaklıklarda ılıman ve yarı - tropik bölgelerde marul, sarımsak, tatlı biber, patlıcan, bamya, lahana, hindiba, kabak, şeker pancarı, domates, biber, şalgam, havuç, hıyar, kereviz, soğan, tütün ve dut gibi konukçularda ekonomik kayıplara neden olur (Peltzer ve Sivasithamparam, 1985; Waleron ve ark., 2002; Perombelon, 2002; Gardan ve ark., 2003; Fiori ve Schiaffino, 2004; Mahmoudi ve ark., 2007; Xia ve Mo, 2007; Golkhandan ve ark., 2013; Cariddi ve Sanzani, 2013; Dees ve ark., 2017; Zaczek-Moczydłowska ve ark., 2019). *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* etmeninin daha geniş coğrafi dağılıma ve konukçu aralığına sahip olması izolatlar arasında genetik çeşitliliğinin fazla olmasından dolayı tahmin

edilmektedir. (Toth ve ark., 2003).

Türkiye genelinde *Pectobacterium* türleri bir dizi konukçu kültür bitkisi üzerinde rapor edilmiştir. En erken tanı çalışmaları Benlioğlu (1991) tarafından patates örneklerinde *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *P. atrosepticum* patojenlerinin varlığının bildirilmesi ile başlamıştır (Benlioğlu ve ark., 1991). Çetinkaya-Yıldız ve ark. (2004) Doğu Akdeniz Bölgesi'nde *Dieffenbachia amoena* bitkilerinde *P. carotovorum* etmenini, Aysan ve ark. (2004) Mersin ve Hatay illeri domates seralarında *P. carotovorum* ve *Dickeya* spp. (*E. chrsanthemi*) izolatlarının yumuşak çürüklüğe neden olduğunu bildirmişlerdir. Boyraz ve ark. (2006) Konya ili lale üretim alanlarında *P. carotovorum*'u, Baştaş ve ark. (2009) Konya ili ayçiçeği üretim alanlarında *P. atrosepticum*'u, Ozturk (2016) Yozgat ili patates üretim alanlarında *P. parmentieri*'yi, Ozturk (2017) Orta Karadeniz bölgesi patates üretim alanlarında *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense*, *P. parmentieri* ve *P. atrosepticum*'u karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri olarak belirlemiştir. Dadaşoğlu ve Kotan (2017), *P. carotovorum* subsp. *atrosepticum*'un çilek, dut, maydonoz, lahanana, patates, biber ve patlıcanda, *D. chrysanthemi*'nin soğan, biber ve maydonozda yumuşak çürüklüğe neden olduğunu belirlemiştir. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* etmeni ayrıca Aydın ili enginar üretim alanlarında (Üstün ve Arslan, 2016), Samsun ili beyaz baş lahanana üretim alanlarında (Aksoy ve ark., 2017a), Mersin ili muz üretim alanlarında (Basım ve ark., 2019) hastalığa neden olan patojen olarak bildirilmiştir. Ozturk ve ark. (2019), Yozgat ili şeker pancarı üretim alanlarında *P. betavascularum*'un vasküler nekroz ve yumru çürüklük enfeksiyonlarına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Son yıllarda toplam 540 dekar alanda 1.280 ton beyaz baş lahanana üretiminin gerçekleştiği Yozgat ilinde (Anonim, 2020), artan ekim alanları ile birlikte lahanalarda bakteriyel ve fungal hastalıklarla ilişkili şikâyetlerde artışlar kayıt edilmeye başlanmıştır.

Yozgat iline ait ilçe ve köylerde yürütülen bu çalışmada, beyaz baş lahanana üretiminin gerçekleştiği tarlalarda yumuşak çürüklük belirtileri gösteren bitkilerden bakteriyel hastalık etmeninin izolasyonu, biyokimyasal, fizyolojik, patojenisite ve moleküler analizlerle tanılanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bitki Örnekleri ve Bakteriyel İzolasyon

2018-2019 yılları Eylül-Kasım aylarında Yozgat iline bağlı Sorgun, Sarıkaya ve Merkez ilçelerinde yapılan sörveylerde, yapraklarda kloroz, sulu-ıslak nekrotik leke, yaprak ana damar, gövde, kök dokularında kahverengileşerek ilerleyen zamanla sulu-ıslak hale gelen ve yumuşama belirtileri gösteren lahanana

bitkileri toplanmıştır. Simptomatik dokular % 1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) ile 2-3 dakika süreyle yüzeysel dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra izolasyon için bitki dokuları 1-3 cm büyüklüğünde kesitlere ayrılmış, %70 etil alkolde 1 dakika süreyle bekletilen örnekler üç kez steril suda durulandıktan sonra fizyolojik serum (% 0.85'lik NaCl çözeltisi) içeren steril ekstraksiyon torbalarına konulup süspansiyonlar elde edilmiştir (Kara ve ark., 2020). Elde edilen süspansiyonlardan steril öze yardımıyla alınan örnekler, Crystal Violet Pectate Medium (CVP) besi yerine ekimi yapılmıştır (Helias ve ark., 2012). *Pectobacterium* spp. ait izolatlar 24-72 saat 26 °C'de inkübasyon sonucunda besi yerinde çukur oluşumu şeklinde morfolojik görünümlü kolonilerinden Nutrient Agar (NA) besi yerine saflaştırmaları yapılmıştır.

Patateste Pektolitik Aktivite Testi

NA besi yerine saflaştırılan pektolitik aktiviteye sahip bakteriyel izolatların belirlenmesi amacıyla patates dilimlerinde (cv. Marabel) pektolitik aktivite testi uygulanmıştır. Sağlıklı patates yumruları % 5'lik sodyum hipokloritte 10 dakika bekletilerek yüzeyleri dezenfekte edilmiştir. Daha sonra kabukları soyularak dezenfekte edilen yumrular yaklaşık 20 mm dilimlenerek içerisinde steril nemli kağıtlar içeren steril petri kaplarına yerleştirilmiştir. Patates dilimlerinin yüzeylerine 24 saatlik bakteri kültürlerinden steril kürdan ile alınan bakteri hücreleri bulaştırılmış, petriler 26±2°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan 24-72 saat sonra inokulasyon noktalarında maserasyon şeklinde görülen yumuşak çürüklük oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bozkurt ve Soylu, 2019). Pozitif kontrol olarak referans kültür *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* A8G4, negatif kontrol olarak steril saf su kullanılmıştır. Patates dilimlerinde pektolitik aktivite gösteren şeffaf renkte ve kenarları krater koloni morfolojisine sahip 16 farklı izolat morfolojik, biyokimyasal, patojenisite ve moleküler analizler için % 40'lık steril glyserol içerisinde -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Lojkowska ve ark., 1995).

Lahana Bitkilerinde Patojenisite Testleri

NA besi yerinde geliştirilen 24-48 saatlik kültürlerin kolonileri steril kürdan yardımıyla alınarak 4 haftalık lahanana bitkilerinin gövdesine bulaştırılmıştır. İnokulasyon bölgesi parafilm ile kaplanmıştır. Bitkiler 16:8 saat (aydınlık:karanlık) fotoperiyoda sahip yetiştirme odasında sırasıyla 25°C (16 saat) ve 18°C (8 saat) inkübasyona bırakılmış, inokulasyon bölgesinde 5-7 gün sonra oluşan ıslak-sulu doku lezyonlarının oluşumu incelenmiştir (Caruso ve ark., 2016).

Biyokimyasal ve Fizyolojik Testler

Potasyum hidroksit (KOH), oksidaz, katalaz,

oksidatif/fermantatif (O/F), arjinin dehidrolaz, floresan parlama, 37 °C de gelişebilme, % 5 NaCl içeren LB (Luria broth) besi yerinde türbidite oluşturma ve tütünde aşırı duyarlılık testleri açısından 16 farklı izolat değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987; Schaad ve ark., 2001).

Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

NA besi yerinde geliştirilen 24 s'lik kültürlerin konsantrasyonları 10⁸ CFU ml⁻¹'ye ayarlandıktan sonra elde edilen süspansiyonlardan enjektör yardımıyla tütün (*Nicotina tabacum* kv. *bentamiana*) yapraklarının damarları arasına enjekte edilmiştir. Aşırı duyarlılık oluşturan izolatlar HR pozitif (+), oluşturmayanlar ise HR negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. Kontrol bitkilerine Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Psp12, negatif kontrol olarak steril saf su uygulanmıştır (Soylu ve ark., 2020).

Pectobacterium İzolatlarının PCR Tekniği ile Moleküler Tanısı

NA besi ortamında 24-48 saatlik süreyle geliştirilen bakteriyel kolonilerin PCR ile tanısında Çizelge 1.'de belirtilen primer oligonükleotidleri kullanılmıştır. Bakteriyel koloniler LB (Luria broth) besi yerinde 26°C'de 48 saat orbital çalkalayıcıda geliştirilmiştir.

Genomik DNA izolasyonu Genomik DNA prufikasyon kiti (Katalog numarası: K0721, ThermoFisher firması GeneJET) kullanılarak yapılmıştır. Nanodrop cihazından elde edilen DNA miktar tayinine göre örneklerin DNA'ları 10 ng µl⁻¹ final konsantrasyon olacak şekilde hazırlanarak DNA örnekleri -20 °C'de saklanmıştır. PCR karışımı, 10 µl 2x master mix (Bioline my Taq, İngiltere), 1 µl forward primer (10 pmol), 1 µl reverse primer (10 pmol), 7 µl steril distile saf su ve 1 µl DNA olacak şekilde hazırlanmıştır. Thermocycler cihazı PCR döngü işlemleri, Touchdown (kademeli sıcaklık düşürme) programına göre yapılmıştır. Buna göre, 95 °C'de 4 (dak.), ilk 10 döngü; 94 °C'de 30 (s), 65-56 °C'de 30 (s) (her döngüde 1°C azalır), 72°C'de 1 (dak.), 72°C'de 5 (dak.) şeklinde ayarlanarak ilaveten 24 döngü sabit 56°C'de aynı parametreleri kullanarak uygulanmıştır (Aksoy ve ark., 2017b). PCR ürünleri agaroz jele (% 1) yüklenerek 100 voltluk elektrik akımında 30 dakika süreyle koşturulmuş ve UV ışın altında görüntülenerek çoğaltılan DNA fragmentlerinin boyutları referans markör (G-BIOSCIENCE DNAmark 100 bp ladder) boyutlarına göre belirlenmiştir (Sambrook ve ark., 1989). Referans kültür olarak *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* A8G4, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* VK22G8 ve *P. atrosepticum* ÇA2G8 izolatları kullanılmıştır (Ozturk ve ark., 2018).

Çizelge 1. Enfekteli lahana örneklerinden izole edilen *Pectobacterium* izolatların moleküler tanısında kullanılan primerler ve oligonükleotid dizinleri

Table 1. Primers and sequences of oligonucleotides used for molecular identifications of bacterial strains obtained from infected samples

Tür/Alt tür	Primer	Sekans 5'→3'	Ürün Boyutu (bp)	Kaynakça
<i>Pectobacterium</i> spp.	Y ₁	TTACCGGACGCCGAGCTGTGGCGT	434	Darrasse ve ark. (1994)
	Y ₂	CAGGAAGATGTCGTTATCGCGAGT		
<i>P. atrosepticum</i>	Y ₄₅	TCACCGGACGCCGAACTGTGGCGT	439	Frechon ve ark. (1998)
	Y ₄₆	TCGCCAACGTTTCAGCAGAACAAGT		
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	EXPCCF	GAACCTTCGCACCGCCGACCTTCTA	550	Kang ve ark. (2003)
	EXPCCR	GCCGTAATTGCCTACCTGCTTAAG		
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>brasiliense</i>	BR1f	GCGTGCCGGGTTTATGACCT	322	Duarte ve ark. (2004)
	L1r	CA(A/G)GGCATCCACCGT		

BULGULAR ve TARTIŞMA

Hastalık Etmelinin İzolasyonu, Biyokimyasal ve Fizyolojik Testler

Yozgat ilinin lahana yetiştiriciliğinin yapıldığı Sorgun'da 12, Sarıkaya'da 6 ve Merkez ilçesinde 8 olmak üzere toplam 26 farklı lahana tarlasındaki bitkiler güdümlü olarak hastalık açısından incelenmiş olup, Sorgun'da 10, Sarıkaya'da 6 ve Merkez ilçesinde 8 olmak üzere toplam 24 tarladan her tarlayı temsilen şüpheli örnekler alınmıştır. Hastalık belirtilerinin

tespit edildiği arazilerde bulunan lahana bitkilerinde; yaprak ve yaprak saplarında sulu lezyonlar, lezyonların daha fazla ilerlediği dokularda sulu-ıslak lezyonların bulunduğu dokuların kahverengi-siyah renk alarak yumuşama gösterdiği, doku entegrasyonunun zayıfladığı bitkilerde ağır çürük koku oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 1A,B). Popovic ve ark. (2019)'da belirtildiği gibi, farklı tarlalardan toplanan yumuşak çürüklük belirtisi gösteren 24 şüpheli lahana (Şekil 1C) dokularından CVP besi

yerine yapılan izolasyonlarda çok sayıda bakterinin geliştiği gözlemlenmiştir. Daha önceden bildirildiği gibi (Helias ve ark., 2012) lahanada dokularında izole edilen pektolitik koloniler CVP besi yerinde pektat kaynağını parçalayarak buldukları bölgelerde çukur oluşumuna neden olmuş, sonuçta pektolitik izolatların diğer bakteriyel kolonilere göre CVP besi yerinde daha dominant olduğu (Popovic ve ark., 2019) gözlemlenmiştir (Şekil 1D). Tüm izolatların patates

dilimlerinde 24 saat sonra yapılan gözlemlerde pektolitik aktivite gösterdiği ve dokularda yumuşamalara (maserasyona) neden olduğu belirlenmiştir (Aksoy ve ark., 2017a). Oskiera ve ark. (2017)'de bildirildiği üzere, pektolitik aktivite gösteren 24 izolat arasında 16 pektolitik izolatın NA besi yerinde gelişen kolonilerinin şeffaf, konveks ve kenarları krater formda olduğu belirlenmiştir (Şekil 1E.) (Benlioğlu, 1991; Ozturk ve ark., 2018).



Şekil 1. **A.** Gözlemlerin yapıldığı alanlardaki lahanada bitkilerinde tespit edilen yumuşak çürüklük (ok) belirtileri, **B.** Enfekteli bitkide kök bölgesine kadar ilerlemiş şiddetli yumuşak çürüklük (ok). **C.** *Pectobacterium* spp. kaynaklı enfekteli kök dokusu (ok), **D.** Pektat besin kaynağını kullanan pektolitik izolatlarının CVP besi yerinde çukur oluşturması (ok), **E.** NA besi yerinde *Pectobacterium* izolatının 5 günlük kolonileri

Figure 1. (A) Typical soft rot symptoms (arrow) observed on cabbage plants in inspected fields. (B) Severe soft rot that has advanced to the root area of the infected plant (arrow). (C) Pectobacterium spp. originated infected root tissue (arrow). (D) Cavity formation (arrow) formed by pectolytic bacterial isolates using pectate nutrient source on CVP nutrient media. (E) Growth of Pectobacterium isolates on NA medium after 5 days.

CVP besi yerinde ve patates dilimlerinde pektolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenen izolatların, potasyum hidroksit (KOH) testine göre gram negatif olduğu belirlenmiştir. Oksidaz ve arjinin dehidrolaz testlerinde negatif, katalaz testinde pozitif reaksiyon gösteren fakültatif anaerob karakterdeki izolatların King B besi yerindeki kültürlerinin UV ışık altında floresan parlama göstermediği belirlenmiştir. İzolatların 37 °C de gelişebildiği, % 5 NaCl içeren LB

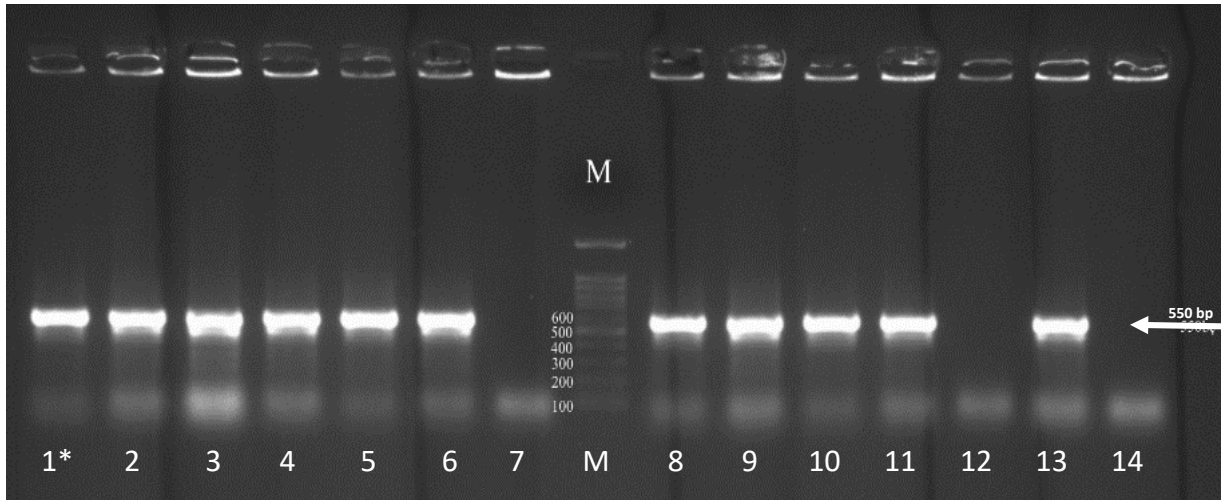
(Luria broth) besi yerinde türbidite oluşturduğu ve tütün yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olduğu belirlenmiştir (Lelliot ve Stead, 1987; Schaad ve ark., 2001). Lee ve ark. (2019) belirtildiği üzere, yumuşak çürüklüğe neden olan bakteriyel etmenler *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pectobacterium* ve *Xanthomonas* spp. olarak bildirilmektedir (Aksoy ve ark., 2017a; Charkowski, 2018; Lee ve ark., 2019). *Pectobacterium* izolatlarının patates yumru dilimlerinde daha başarılı maserasyona neden olduğu

ve pektolitik aktiviteye neden olan enzimlerin daha fazla oranda üretildiği bildirilmektedir (Marín-Rodríguez ve ark., 2002).

Bakteri İzolatlarının PCR Tekniği ile Moleküler Tanılaması

İzolatların moleküler tanısında *Pectobacterium* spp. izolatlarının cins düzeyinde tanınmasını sağlayan Y1/Y2 primer çifti kullanılarak 434 bp büyüklüğünde PCR amplikonu çoğaltılmıştır (Darrasse ve ark., 1994). Brassicaceae bitkileri üzerinde *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* patojeninin, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* ve *P. carotovorum* subsp. *oderiferum* patojenlerinden daha yaygın enfeksiyon kaynağı olarak rapor edildiği bilinmektedir (Arsenuevic ve Obradovic, 1996; Bhat ve ark., 2010; Nazerian ve ark., 2011; Waleron ve ark., 2015). *Pectobacterium* izolatlarının tür/alt tür tanısı için kullanılan primer

oligonüklotidleri ile yapılan PCR analizlerinde (De Boer ve ark., 2012) referans *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* A8G4 izolatı ile 16 lahana *Pectobacterium* izolatının EXPCCF/EXPCCR primerleri (Kang ve ark., 2003) ile 550 bp büyüklüğünde PCR ürünü oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 2). Diğer yandan, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* VK22G8 ve *P. atrosepticum* ÇA2G8 izolatlarının aynı primerle yapılan PCR çalışmalarında söz konusu PCR ürünü oluşturmadığı tespit edilmiştir (Şekil 2). Türkiye genelinde yetiştiriciliği yapılan başta patates olmak üzere birçok yumrulu ve yaprağı tüketilen (etli yapraklı) sebzelerde yumuşak çürüklük hastalığına neden olan bakteri izolatları arasında en yaygın bakteriyel türün *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* olduğu bildirilmiştir (Benlioğlu, 1991; Öztürk, 2017).



Şekil 2. Lahana yumuşak çürüklük izolatlarının EXPCCF/EXPCCR primerleri ile 550 bp PCR ürünü (ok) oluşturması (*1=*Pcc* A8G4, 2=BRY1, 3=BRY2, 4=BRY3, 5=BRY4, 6=BRY5, 7=*Pba* ÇA2G8, M=Moleküler DNA marker, 8=BRY6, 9=BRY7, 10=BRY8, 11= BRY9, 12=*Pcbr* VK22G8, 13= BRY9, 14=Kontrol, su)

Figure 2. Typical 550 bp PCR product (arrow) generated by cabbage soft rot bacterial isolates using EXPCCF/EXPCCR primer pairs. (*1=*Pcc* A8G4, 2=BRY1, 3=BRY2, 4=BRY3, 5=BRY4, 6=BRY5, 7=*Pba* ÇA2G8, M=Molecular DNA marker, 8=BRY6, 9=BRY7, 10=BRY8, 11= BRY9, 12=*Pcbr* VK22G8, 13= BRY9, 14=Control, water)

P. carotovorum subsp. *brasiliense* VK22G8 ve *P. atrosepticum* ÇA2G8 izolatlarının *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* izolatlarına spesifik Br1f/L1r (Duarte ve ark., 2004) ve *P. atrosepticum* izolatlarına spesifik Y45/Y46 primerleri ile beklenen PCR ürünlerini (322 ve 439 bp, sırasıyla) oluşturduğu, EXPCCF/EXPCCR primerlerine göre pozitif olduğu belirlenen lahana izolatlarının ise Br1f/L1r ve Y45/Y46 primerleriyle negatif reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir (Dees ve ark., 2017; Öztürk, 2017; Öztürk ve ark., 2018).

Lahana Bitkilerinde Patojenisite Testi

Moleküler tanısı yapılan izolatların konukçu bitki üzerinde yapılan patojenisite testinden 5-7 gün sonra gövdede sulu ıslak dokuların olduğu ayrıca inokulasyon bölgesine en yakın noktada yer alan

yaprakların kenarlarında haşlanma ile başlayıp daha sonrasında kurumaların meydana geldiği Alvarado ve ark. (2011)'de belirtildiği gibi gözlemlenmiştir. Lahana bitkilerinde patojenitesi yapılan izolatlar inokulasyon noktalarından tekrar izole edilmiş ve yapılan biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler testlerde re-izolatların orijinal izolatları ile aynı reaksiyonları verdiği tespit edilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, Yozgat ili lahana üretim alanlarında *Pectobacterium* spp.'de yer alan pektolitik izolatlardan kaynaklı yumuşak çürüklük hastalığı tespit edilmiştir. Hastalıklı dokulardan elde edilen *Pectobacterium* izolatları ile yapılan biyokimyasal, fizyolojik, patojenisite ve PCR ile moleküler tanı çalışmaları sonucunda 16 izolatın *P. carotovorum* subsp.

carotovorum olduğu belirlenmiştir. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* izolatlarının tamamı cins ve tür düzeyinde tanımlanmalarına olanak sağlayan Y1/Y2 ve EXPCCF/R primeri ile sırasıyla 434 ve 550 bp PCR ürünü oluşturmuştur. Elde edilen izolatların lahanada bitkilerinde patojenik olduğu konukçu bitkiler üzerinde yapılan patojenite testleri ve inokulasyon noktalarından tekrar yapılan geri izolasyonları neticesinde anlaşılmıştır. Hastalığın mücadelesinde etkin bir kimyasal bulunmamaktadır. Etmen geniş konukçu aralığında enfeksiyona neden olduğu için patojenin izole edildiği alanlarda konukçusu olmayan bitkiler ile üretiminin yapılması önem arz etmektedir. Hastalıktan arı, sertifikalı üretim materyali kullanımı ve patojen ile enfekteli bitkilerde etmenin erken dönemlerde bitki dokusunda daha fazla çoğalmasımı önlemek amacıyla patojenin erken teşhis edilerek baskılanmasına yönelik uygulamaların yapılması sayesinde hastalık şiddetinin daha fazla görülmemesine önem verilmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje Numarası: 6602c-ZF/18-237).

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Aksoy HM, Ozturk M, Aktas A 2017a. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot on white head cabbage in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 99(3): 810.

Aksoy HM, Kaya Y, Ozturk M, Secgin Z, Onder H, Okumus A 2017b. *Pseudomonas putida*-Induced response in phenolic profile of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) infected by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Biological Control* 105: 6-12.

Alvarado ICM, Michereff SJ, Mariano RLR, Souza EB, Quezado-Duval AM, Resende LV, Cardosa E, Mizubuti ESG 2011. Characterization and variability of soft rot-causing bacteria in Chinese cabbage in North Eastern Brazil. *Journal of Plant Pathology* 93: 173-181.

Anonim 2020. TÜİK Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim Tarihi: 21.04.2021)

Anonymous 2018. FAOSTAT, World Production Quantities of Crops <http://www.fao.org> (Erişim

tarihi: 21.04.2021).

Arsenuović M, Obradović A 1996. Occurrence of bacterial wilt and soft rot of seed cabbage plants (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) in Yugoslavia. *Journal of phytopathology* 144(6): 315-319.

Aysan Y, Mirik M, Saygili H, Sahin F 2004. New symptoms of tomato soft rot diseases in Turkey. In *International Symposium on Tomato Diseases 695* (pp. 291-294).

Balkaya A, Sarıbaş Ş, Özgen T 2017. Türkiye’de kışlık sebze türlerinin tarımsal üretimdeki yeri ve önemi. *Türktob Dergisi* 20: 8-12.

Bhat KA, Bhat NA, Masoodi SD, Mir SA, Zargar MY, Sheikh PA 2010. Studies on status and host range of soft rot disease of cabbage (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) Kashmir Valley. *Journal of Phytology* 2(10):55-59.

Barras F, van Gijsegem F, Chatterjee AK 1994. Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia*. *Annual Review of Phytopathology* 32(1): 201-234.

Basım H, Basım E, Baki 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 KK, 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 YE, Özakman M 1991. Bacterial diseases of potatoes in the major potato-growing areas in Turkey. *EPPO Bulletin* 21(1): 67-72.

Boyras N, Bastas KK, 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 İA, Soylu S 2019. Elma kök uru hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*’e karşı epifit ve endofit bakterisi izolatlarının antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 16: 348-361.

Cariddi C, Sanzani SM 2013. A severe outbreak of bacterial lettuce soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Apulia (Italy). *Journal of Plant Pathology* 95:441-446.

Caruso A, Licciardello G, La Rosa R, Catara V, Bella P 2016. Mixed infection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis* in tomato stem rot

- in Italy. *Journal of Plant Pathology* 98(3): 661-665.
- 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.
- Charkowski AO 2015. Biology and control of *Pectobacterium* in potato. *American Journal of Potato Research* 92(2): 223-229.
- Charkowski AO 2018. The changing face of bacterial soft-rot diseases. *Annual Review of Phytopathology* 56: 269-288.
- Czajkowski R, Perombelon MC, van Veen JA, van der Wolf JM 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, Pérombelon MCM, Jafra S, Lojkowska E, Potrykus M, Van Der Wolf, JM, 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 SH, Li X, Ward LJ 2012. *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. *Phytopathology* 102(10): 937-947.
- Dees MW, Lebecka R, Perminow JIS, Czajkowski R, Motyka A, Zoledowska S, Sliwka E, 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* 148(4): 839-851.
- Duarte V, De Boer SH, Ward LJ, De Oliveira AMR 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology* 96(3): 535-545.
- 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.
- Fiori M, Schiaffino A 2004. Bacterial stem rot in greenhouse pepper (*Capsicum annuum* L.) in Sardinia (Italy): Occurrence of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Journal of Phytopathology* 152(1): 28-33.
- Frechon D, Exbrayat P, Helias V, Hyman LJ, Jouan B, Llop P, Lopez MM, Payet N, Perombelon MCM, Toth IK, van Beckhoven JRCM, 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.
- Golkhandan E, Kamaruzaman S, Sariah M, Abidin MZ, Nasehi A, Nazerian E 2013. First report of soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* on pepper fruits (*Capsicum annuum*) in Malaysia. *Plant Disease* 97(8): 1109-1109.
- Hauben L, Moore ER, Vauterin L, Steenackers M, Mergaert J, Verdonck L, Swings J 1998. Phylogenetic position of phytopathogens within the Enterobacteriaceae. *Systematic and Applied Microbiology* 21(3): 384-397.
- Hélias V, Hamon P, Huchet E, Wolf JVD, Andrivon D 2012. Two new effective semi selective crystal violet pectate media for isolation of *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Plant Pathology* 61(2): 339-345.
- Kang HW, Kwon SW, Go SJ 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.
- Kara M, Soylu S, Kurt Ş, Soylu EM, Uysal A 2020. Determination of antagonistic traits of bacterial isolates obtained from apricot against green fruit rot disease agent *Sclerotinia sclerotiorum*. *Acta Horticulturae* 1290:135-142
- Lee YE, Jeong JJ, Volynchikova E, Kim KD 2019. Isolation and identification of a bacterial agent causing soft rot in Chinese cabbage. *Life Science and Natural Resources Research* 27: 41-45.
- Lelliott RA, Stead DE 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell Scientific Publications.
- Lojkowska E, Masclaux C, Boccara M, Robert-Baudouy J, Hugouvieux-Cotte-Pattat N 1995. Characterization of the *pelL* gene encoding a novel pectate lyase of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Molecular Microbiology* 16(6): 1183-1195.
- Marquez-Villavicencio MDP, Groves RL, Charkowski AO 2011. Soft rot disease severity is affected by potato physiology and *Pectobacterium* taxa. *Plant Disease* 95(3): 232-241.
- Marín-Rodríguez MC, Orchard J, Seymour GB 2002. Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening. *Journal of Experimental Botany* 53(377): 2115-2119.
- Maskell LC, Raybould AF, Cooper JI, Edwards ML, Gray AJ (1999). Effects of turnip mosaic virus and turnip yellow mosaic virus on the survival, growth and reproduction of wild cabbage (*Brassica oleracea*). *Annals of Applied Biology* 135(1): 401-

- 407.
- Ma B, Hibbing ME, Kim HS, Reedy RM, Yedidia I, Breuer J, Glasner JD, Perna NT, Kelman A, Charkowski AO 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology* 97(9): 1150-1163.
- Mahmoudi E, Soleimani MJ, Taghavi M 2007. Detection of bacterial soft-rot of crown imperial caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* using specific PCR primers. *Phytopathologia Mediterranea* 46(2):168-176.
- Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, Dow M, Verdier V, Beer SV, Machado MA, Toth I, Salmond G, Foster GD 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13(6): 614-629.
- Marquez-Villavicencio MDP, Groves RL, Charkowski AO 2011. Soft rot disease severity is affected by potato physiology and *Pectobacterium* taxa. *Plant Disease* 95(3): 232-241.
- Nazerian E, Sijam K, Mior Ahmad ZA, Vadamalai G 2011. First report of cabbage soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Malaysia. *Plant Disease* 95(4): 491-491.
- Nieuwhof M, Garretsen F, Kraai A 1974. Grey speck disease, a non-parasitic post-harvest disorder of storage white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* LF Alba DC). *Euphytica* 23(1): 1-10.
- Ozturk M, Aksoy HM, 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 patatete sorun olan *Pectobacterium* ve *Dickeya* spp. bakteriyel etmenleri üzerine araştırmalar. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Samsun.
- Ozturk M, Aksoy HM, 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.
- Ozturk M, Eroglu Z, Soyulu S 2019. First report of *Pectobacterium betavascularum* associated with bacterial vascular necrosis and root rot disease of sugar beet in Turkey. *New Disease Reports* 39(1): 20-20.
- Pérombelon MCM 2002. Potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51(1): 1-12.
- Popović T, Jelušić A, Milovanović P, Janjatović S, Budnar M, Dimkić I, Stanković S 2017. First report of *Pectobacterium atrosepticum*, causing bacterial soft rot on calla lily in Serbia. *Plant Disease* 101(12): 2145.
- Perombelon MC, Kelman A 1980. Ecology of the soft rot *erwinias*. *Annual Review of Phytopathology* 18(1): 361-387.
- Peltzer S, Sivasithamparam K 1985. Soft-rot *erwinias* and stem rots in potatoes. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 25(3): 693-696.
- Sambrook JE, Fritsch F, Maniatis T 1989. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual Appendixes*, 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, p.6.4-6.20 USA.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W 2001. *Laboratory Guide For The Identification of Plant Pathogenic Bacteria* (No. Ed. 3). American Phytopathological Society (APS Press).
- Soyulu EM, Soyulu S, Kara M, Kurt Ş 2020. Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi* 23: 7-18.
- Rimmer SR, Shattuck VI, Buchwaldt L 2007. *Compendium of Brassica Diseases*. American Phytopathological Society (APS Press).
- Toth IK, Bell KS, Holeva MC, Birch PR 2003. Soft rot *Erwinias*: from genes to genomes. *Molecular Plant Pathology* 4(1): 17-30.
- Toth IK, Van Der Wolf JM, Saddler G, Lojkowska E, Hélias V, Pirhonen M, Tsrör (Lahkim) L, Elphinstone JG 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* 60(3): 385-399.
- Stommel JR, Goth RW, Haynes KG, Kim SH 1996. Pepper (*Capsicum annuum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. [Erratum: Mar 1997, v. 81 (3), p. 305].
- 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.
- Waleron M, Waleron K, Podhajska AJ, Łojkowska E 2002. Genotyping of bacteria belonging to the former *Erwinia* genus by PCR-RFLP analysis of a *recA* gene fragment. *Microbiology* 148(2): 583-595.
- Waleron M, Waleron K, Lojkowska E 2015. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing soft rot on potato and other vegetables in Poland. *Plant Disease* 99(9): 1271-1271.
- Xia ZY, Mo XH 2007. Occurrence of blackleg disease of tobacco caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in China. *Plant Pathology* 56:348.
- Zaczek-Moczydlowska M 2019. Soft rot *Enterobacteriaceae*-molecular detection and biocontrol under *in vitro* and *in vivo* conditions. Doctoral Dissertation, Queen's University Belfast.