



**TOKAT İLİ PATATES ÜRETİM ALANLARINDA  
PATATES KARABACAK VE YUMUŞAK ÇÜRÜKLÜK  
HASTALIĞI'NIN BULUNMA ORANININ BELİRLENMESİ  
VE ETMENİN TANILANMASI**

**MERVE ÇETİN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI**

**Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR**

**Ağustos - 2019**

**Her hakkı saklıdır.**

T.C.  
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOKAT İLİ PATATES ÜRETİM ALANLARINDA PATATES KARABACAK VE  
YUMUŞAK ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI'NIN BULUNMA ORANININ  
BELİRLENMESİ VE ETMENİN TANILANMASI

MERVE ÇETİN

TOKAT  
Ağustos - 2019

Her hakkı saklıdır.

**Bu tez çalışması;**

**Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından  
2018/47 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Merve ÇETİN tarafından hazırlanan “Tokat İli Patates Üretim Alanlarında Patates Karabacak ve Yumuşak Çürüklük Hastalığı'nın Bulunma Oranının Belirlenmesi ve Etmenin Tanılanması” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 06.08.2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği/Oy Çokluğu ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

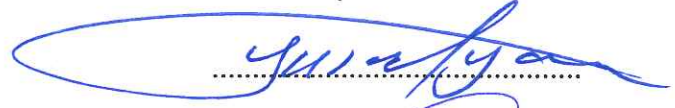
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR  
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

  
.....

Üye  
Prof. Dr. Yusuf YANAR  
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

  
.....

Üye  
Dr. Öğr. Üyesi Murat ÖZTÜRK  
Yozgat Bozok Üniversitesi

  
.....

ONAY

  
.....  
Prof. Dr. Çetin ÇEKİÇ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
16-08/2019

## **TEZ BEYANI**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**MERVE ÇETİN**

**6 Ağustos 2019**

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### TOKAT İLİ PATATES ÜRETİM ALANLARINDA PATATES KARABACAK

#### VE YUMUŞAK ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI'NIN BULUNMA ORANININ

#### BELİRLENMESİ VE ETMENİN TANILANMASI

MERVE ÇETİN

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ SABRİYE BELGÜZAR

Bu çalışma ile, Tokat ili patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranının belirlenmesi ve etmenin tanılanması 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 sürveyslerinde 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 izolatlara, patatesteki pektolitik aktivite, gram reaksiyon, katalaz, oksidaz, 37 °C ve 39 °C sıcaklıklarda gelişim, tuza tolerans, tütünde aşırı duyarlılık testleri uygulanmıştır. *Pectobacterium* spp.'ye spesifik Y1/Y2 primerleri ile 19 izolat 434 bp PCR ürünü oluşturmuştur. 3 izolat *Dickeya* spp.'ye spesifik ADE1/ADE2 primerleri ile 420 bp PCR ürünü oluşturmuştur. Y1/Y2 primerlerine pozitif sonuç veren izolatlar ile *Pectobacterium atrosepticum*'a spesifik ECA1/ECA2 primerleri ile yapılan PCR çalışmasında ise izolatlar PCR ürünü oluşturmamıştır. Buna göre 19 izolat *Pectobacterium carotovorum* (*Erwinia carotovora*) 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.

2019, 62 SAYFA

**Anahtar Kelimeler:** Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı, *Pectobacterium carotovorum*, *Dickeya* spp., Patates, Tokat

## ABSTRACT

### MASTER THESIS

#### DETERMINATION OF THE PREVALENCE OF POTATO SOFT ROT AND BLACKLEG DISEASE IN POTATO PRODUCTION AREAS OF TOKAT PROVİNCE AND IDENTIFICATION OF DISEASE CASUAL AGENT

MERVE ÇETİN

TOKAT GAZİOSMANPASA UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

SUPERVISOR: ASST. PROF. DR. SABRİYE BELGÜZAR

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 Başçiftlik 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 Başçiftlik 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 *Pectobacterium* spp., and 3 isolates were produced 420 bp product with ADE1/ADE2 primers specific to *Dickeya* spp.. The isolates resulted positive with Y1/Y2 primers weren't produced PCR product with ECA1/ECA2 primers specific to *Pectobacterium atrosepticum*. According to this, 19 isolates were identified as *Pectobacterium carotovorum* (*Erwinia carotovora*). 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 of the pathogens by using specific primers.

2019, 62 PAGE

**KEYWORDS:** Potato soft rot and blackleg disease, *Pectobacterium carotovorum*, *Dickeya* spp., Potato, Tokat

## ÖNSÖZ

Patates yetiştiriciliği ülkemizin her bölgesinde olduğu gibi, Tokat ilinde de üreticilerimizin en önemli gelir kaynaklarından birisidir. Patates üretiminde patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Arazi ve depo koşullarında problem olan hastalık ile mücadelede ilk olarak etmenin tanılanması gerekmektedir.

Yürütülen bu yüksek lisans çalışmasında, Tokat ili patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranı belirlenmiş ve hastalığa sebep olan etmenler biyokimyasal ve moleküler testler ile tanılanmıştır. İleriki çalışmalarda spesifik primerler ile tür/alttür düzeyinde etmenlerin belirlenmesi planlanmaktadır.

Yüksek lisans tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yoluma daima ışık tutan ve manevi desteklerini her zaman bana hissettiren kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezi jüri üyelerinden Bitki Koruma Bölümü başkanı sayın hocam Prof. Dr. Yusuf YANAR'a yönlendirici fikir ve görüşlerinden ötürü teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezi jüri üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Murat ÖZTÜRK (Yozgat Bozok Üniversitesi)'e çalışmam konusundaki bilgi ve deneyimlerini paylaştığı ve çalışmamda bölüm laboratuvarlarının alet ekipmanlarından yararlanmamı sağladığı için sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans PCR analiz çalışmaları döneminde benimle ilgilenen, yardımcı olan ve Yozgat'ta bana ev sahipliği yapan, laboratuvar deneyimlerini benimle paylaşan Arş. Gör. Zeliha EROĞLU'na teşekkürler.

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Kıymetli ailem ve sevdiklerime her girdiğim yolda benim yanımda oldukları için en kalbi duygularıyla teşekkür ederim...

**MERVE ÇETİN**

**6 Ağustos 2019**



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR ÖZETLERİ</b> .....	<b>7</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>23</b>
3.1. Materyal .....	23
3.1.1. Bitki materyali ve bakteri izolatları .....	23
3.1.2. Çalışmada kullanılan referans izolat .....	23
3.1.3. Çalışmada kullanılan patates çeşidi .....	23
3.1.4. Çalışmada kullanılan besi yerleri .....	23
3.2. Yöntem.....	24
3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması .....	24
3.2.2. Hastalıklı yumru örneklerinin toplanması .....	25
3.2.3. Hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden etmenlerin izolasyonu .....	25
3.2.4. Potasyum hidroksit ile gram reaksiyon testi .....	27
3.2.5. Katalaz testi .....	27
3.2.6. Oksidaz testi .....	28
3.2.7. Pektolitik aktivite testi .....	29
3.2.8. 37 °C ve 39 °C sıcaklıklarda gelişim testi .....	29
3.2.9. Tuza tolerans testi .....	30
3.2.10. Tütünde aşırı duyarlılık testi .....	30
3.2.11. Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalık etmenlerinin PCR tekniği ile tanınması .....	31
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....	<b>35</b>
4.1. Tokat ilinde patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranı .	35
4.2. Hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden etmenlerin izolasyonu.....	39
4.3. Potasyum hidroksit testi (KOH) ile gram reaksiyon testi .....	40

4.4. Katalaz testi.....	41
4.5. Oksidaz testi.....	42
4.6. Patates yumrularında pektolitik aktivite testi.....	42
4.7. 37 °C ve 39 °C sıcaklıklarda gelişim testi.....	43
4.8. Tuza tolerans testi .....	45
4.9. Tütünde aşırı duyarlılık testi .....	46
4.10. Patates karabacak ve yumuşak çürüklük izolatlarının PCR tekniği ile tanılması	48
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>52</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>54</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>62</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
°C	santigrat derece
CO <sub>2</sub>	karbondioksit
µl	Mikrolitre
O <sub>2</sub>	Oksijen
%	Yüzde
g	Gram
da	Dekar
dk	Dakika
ml	Mililitre
l	Litre
mg	Miligram
µm	mikrometre
bç	baz çifti
sn	Saniye
V	Volt

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
PCR	Polymerase Chain Reaction
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
subsp.	subspecies-alttür
spp.	Alttürler
sp.	Alttür
HR	Hipersensitif reaksiyon
KOH	Potasyum hidroksit
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	di-potasyum hidrojen fosfat

MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Magnezyum sülfat heptahidrat
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> [N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> .2HCl	Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride
Fe	Demir
NaCl	Sodyum klorür
CaSO <sub>4</sub>	Kalsiyum sülfat
M	Marker
MIS (FAME)	Fatty Acid Methyl Ester
RFLP	Restriksiyon Fragment Length Polymorphism
DAS-ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay Systems
IMS-PCR	Immunomagnetic Separation-Polymerase Chain Reaction
ERIC-PCR	Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction
RAPD-PCR	Random Amplification of Polymorphic DNA
REP-PCR	Repetitive extragenic palindromic- Polymerase Chain Reaction
ITS-PCR	Internal transcribed spacer- Polymerase Chain Reaction
TAE	Tris-acetate-EDTA
CVP	Kristal Violet Pektat

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil</b>		<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1.	Tarlada patates hasadından genel bir görüntü.....	1
Şekil 1.2.	Karabacak belirtisi gösteren patates bitkisi.....	4
Şekil 1.3.	Patates bitkisinde gövdede kahverengileşme belirtisi.....	4
Şekil 1.4.	Stolonların bağlandığı yerde siyah yumuşak çürüklük belirtileri.....	5
Şekil 1.5.	Patates yumrusunda meydana gelen yumuşak çürüklük belirtisi.....	5
Şekil 2.1.	Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının hayat döngüsü.	16
Şekil 3.1.	Sürvey yapılan alanlarda hastalıklı bitki ve yumru örneklerinin toplanması.....	25
Şekil 3.2.	Hastalıklı bitki ve yumru örneklerinde etmen izolasyonu.....	26
Şekil 3.3.	Örneğin porselen havanda ezilmesi ve besi yerine ekimi.....	26
Şekil 3.4.	İzolatların gram reaksiyon testinin yapılması.....	27
Şekil 3.5.	İzolatların katalaz testinin uygulanması.....	28
Şekil 3.6.	İzolatların oksidaz testinin uygulanması.....	28
Şekil 3.7.	Pektolitik aktivite testinin uygulanması .....	29
Şekil 3.8.	Tütünde aşırı duyarlılık testi uygulaması.....	30
Şekil 3.9.	PCR analizinde örnek yükleme aşamaları.....	33
Şekil 3.10.	Örneklerin %1.2'lik jelle yüklenmesi.....	33
Şekil 3.11.	Örneklerin %1.2'lik agaroz jelde elektroforez tankında yürütülmesi	34
Şekil 3.12.	PCR ürünlerinin oluşturduğu bantların görüntülenmesi.....	34
Şekil 4.1.	Sürvey yapılan patates üretim alanından genel bir görüntü.....	35
Şekil 4.2.	Patates üretim alanında görülen patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığından şüphelenilen hastalıklı patates bitkisi.....	39
Şekil 4.3.	King B besi yerinde gelişen bakteri kolonileri.....	40

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 4.4. Gram reaksiyon testinde sünmenin meydana gelmesi.....	41
Şekil 4.5. Katalaz testinde kabarcık şeklinde gaz çıkışının meydana gelmesi...	41
Şekil 4.6. Oksidaz testinde pozitif sonuç veren izolat.....	42
Şekil 4.7. Pektolitik aktivite testi sonucu kahverengileşme ve yumuşama.....	43
Şekil 4.8. 37 °C’de gelişim gösteren ve gelişim göstermeyen izolat örneği.....	44
Şekil 4.9. 39 °C’de gelişim gösteren ve gelişim göstermeyen izolat örneği.....	44
Şekil 4.10. %5’lik NaCl ilaveli Nutrient agar besi yerinde gelişim gösteren bakteri.....	45
Şekil 4.11. Tütünde aşırı duyarlılık testi sonucu ölü doku oluşumları.....	46
Şekil 4.12. Y1 ve Y2 Primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında bant oluşumlarının gözlemlenmesi.....	48
Şekil 4.13. ADE1 ve ADE2 Primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında bant oluşumlarının gözlemlenmesi.....	50
Şekil 4.14. ADE1 ve ADE2 Primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında pozitif bant oluşumu.....	50

## ÇİZELGE LİSTESİ

<b><u>Çizelge</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 1.1. 2018 yılı Tokat ili patates üretim alanları ve miktarlar.....	2
Çizelge 3.1. Tokat ilinde ilçelere ait patates üretim alan miktarı ve sürvey yapılan alan miktarı.....	24
Çizelge 3.2. Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalık etmenlerinin tanılanmasında kullanılan spesifik primer çiftleri.....	31
Çizelge 3.3. PCR çalışmasında kullanılan program.....	32
Çizelge 4.1. Arazi sürveyi yapılan patates üretim alanlarına ait bilgiler.....	36
Çizelge 4.2. Yumuşak çürüklük izolatlarının biyokimyasal testlere olan reaksiyonları.....	47
Çizelge 4.3. PCR testine pozitif sonuç veren izolatlar.....	49

## 1. GİRİŞ

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 ekmeğe ununa %3–5 oranında patates unu karıştırıldığında, ekmeğelerin 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).

Ülkemiz açısından temel gıda maddesi olan buğday ne kadar önemli ise Avrupa ve Amerika ülkelerinde çok fazla tüketilen patates o derece önemlidir. Patates bir çapa bitkisi olmakla beraber kendisinden sonra ekilecek bitkiye temiz ve havalanmış bir toprak bırakmaktadır. Kışları ılık geçen Akdeniz ikliminin etkisi altında kalan kıyı bölgelerinde patates kış mevsiminde turfanda olarak yetişebilmekte ve dekardan oldukça yüksek yumru verimi alınabilmektedir. Bu bölgelerde kışları boş bırakılan araziler değerlendirildiğinden, ülke ekonomisine büyük katkılar sağlamaktadır (Arioğlu, 1997; Çalışkan ve ark., 2010).



Şekil 1.1. Tarlada patates hasadından genel bir görüntü



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; Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. 2018 yılı Tokat ili patates üretim alanları ve miktarları (Anonim, 2018)

<b>İlçe Adı</b>	<b>Ekilen alan (da)</b>	<b>Üretim (ton)</b>	<b>Verim (kg/da)</b>
<b>Merkez</b>	4 500	10 904	2 423
<b>Almus</b>	450	1 090	2 422
<b>Artova</b>	750	2 035	2 713
<b>Başçiftlik</b>	2 700	4 396	1 628
<b>Erbaa</b>	4 200	12 212	2 908
<b>Niksar</b>	8 500	24 715	2 908
<b>Pazar</b>	100	388	3 880
<b>Reşadiye</b>	1 241	1 144	922
<b>Turhal</b>	400	930	2 325
<b>Yeşilyurt</b>	950	1 875	2 083
<b>Zile</b>	500	1 696	3 392
<b>Toplam</b>	<b>24 291</b>	<b>61 385</b>	<b>23 263</b>

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). Hastalık etmenlerinin varlığı Fransa'da (Darrasse ve ark., 1994a), Batı Avrupa ülkelerinde (Toth ve ark., 1999a; 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 ark., 2017) yapılan çeşitli çalışmalar ile rapor edilmiştir.

Ülkemizde ise hastalığın varlığı ilk kez Benlioğlu (1991) tarafından ortaya konulmuştur. Nevşehir, Niğde ve Bolu illerinde patates üretiminin yoğun olarak yapıldığı alanlarda yürütülen çalışmada, hastalığın Bolu ilinde %22.79 oranında, Nevşehir ilinde %43.3 oranında ve Niğde ilinde %38.3 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada patates bitkisinde *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* etmenlerine rastlanırken, *Erwinia chrysanthemi* patojenine rastlanılmamıştır. 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 Bölgesi'nde yapılan çalışmada Samsun, Amasya, Tokat, Ordu ve Çorum illerindeki patates üretim alanlarında %4-60 arasında değişen oranlarda patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalık belirlenmiştir.

Patates bitkisinde tohum, sap ve yumru çürümesi yapan hastalık özellikle solgunluk, cüce kalma, sararma gibi tipik belirtiler ile dikkat çekmektedir. Patates üretimi yapılan tarlalarda yer yer boşluklar oluşmasına sebep olmaktadır. Hastalıklı bitkiler kök boğazı kısmından kolaylıkla kopmaktadır (Benlioğlu, 2019). İletim demetlerinde kahverengileşme şeklinde görülen karabacak belirtisi hastalığın tipik belirtilerindendir (Şekil 1.2 ; Şekil 1.3).



Şekil 1.2. Karabacak belirtisi gösteren patates bitkisi (Anonim, 2019)



Şekil 1.3. Patates bitkisinde gövdede kahverengileşme belirtisi

Hastalık etmenleri ile bulaşık tohumlar en önemli inokulum kaynağıdır. Bulaşık tohumlardan oluşan bitkilerde gövde çürüklüğü görülür. Özellikle bitkide açılan bir yara var ise ve saprofit bakterilerin-fungusların varlığı ile çürüme de gerçekleşirse gövde çürüklüğü daha fazla ilerler. Hastalıklı bitkilerde özellikle yeni oluşan yumruların enfeksiyonu stolonlar ile olmaktadır (Şekil 1.4). Stolonların bağlandığı noktalarda oluşan enfeksiyon yumuşak çürüklüğe sebep olur. Yumuşak çürüklüğün tipik belirtisi yumrularda peynir gibi dağılma, kahverengileşme ve saprofit bakterilerden de kaynaklanan pis kokudur (Şekil 1.5) (Benlioğlu, 2019).



Şekil 1.4. Stolonların bağlandığı yerde siyah yumuşak çürüklük belirtileri



Şekil 1.5. Patates yumrusunda meydana gelen yumuşak çürüklük belirtisi (DeBoer ve Rubio, 2004)

Hastalık ile mücadelede etkili bir kimyasal olmadığı için zorluklar yaşanmaktadır. Özellikle de hem tarlada hem de depoda hastalığa karşı önlemler alınması gerekmektedir. Hastalık ile mücadelede en etkili yöntem temiz tohumluk yumru kullanımudur. İlk şart sertifikalı ve temiz tohumluk kullanılmalı ve tohumluk yumru kesilmemelidir. Dikim esnasında toprak ve yumru sıcaklığı aynı olmalıdır. Hastalıklı bitkiler kökleri ile beraber mutlaka tarladan uzaklaştırılmalıdır. Aşırı azotlu gübrelemeden kaçınılmalı, sulamaya dikkat edilmeli ve özellikle bitkilerde yara dokusu açmamaya özen gösterilmelidir. Hastalık görülen tarlalarda üç yıllık münavebe (rotasyon, ekim nöbeti) ertesi yıllarda hastalığın önlenmesi açısından önemlidir. Tarlada olduğu gibi, depoda alınabilecek önlemlerde hastalığın yayılmamasını önlemede son derece önemlidir. Yumru sıcaklığı 15°C'nin altında iken hasat yapılmalıdır. Yumrular depoya alınmadan önce dikkatli bir şekilde incelenmelidir. Depo sıcaklığı 2°C'yi geçmemeli ve depo havalandırması iyi bir şekilde yapılmalıdır. Hasat sırasında yara açılmamasına özen gösterilmelidir. Yumrular kesinlikle yıkanmamalıdır. Ayrıca depoda kullanılan tüm alet ekipmanların da temizliğine çok dikkat edilmelidir (Benlioğlu, 2019).

Karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı, çiftçilerimiz için önemli gelir kaynaklarından birisi olan patates bitkisinde ve pek çok kültür bitkisinde önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Perombelon ve Kelman, 1980). Tokat ilinde de patates üretimi yaygın bir şekilde yapılmakta ve her geçen gün üretim de artmaktadır. Bu yüksek lisans çalışması ile, Tokat ilinde patates üretim alanlarında karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranlarının belirlenmesi ve hastalık etmenlerinin tanınması amaçlanmıştır.

## 2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı patates başta olmak üzere domates, enginar, süs bitkileri, krizantem, ayçiçeği gibi kültür bitkilerinde de önemli ürün kayıplarına sebep olmaktadır. Daha önceden Enterobacteriaceae, yeni sınıflandırmada Pectobacteriaceae (Adeolu ve ark., 2016) familyasına ait *Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinin patatesteki karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığına neden olduğu bilinmektedir. Yapılan moleküler çalışmalar sonrasında hastalık etmenlerinin genetik özelliklerine göre, taksonomik sınıflandırılmada bitki patojenlerinin isimlendirmesinde değişiklik olmuştur. Hastalığa sebep olan türler; *Pectobacterium atrosepticum* [(van Hall) Gardan ve ark. 2003], *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* [(Jones, 1901) Gardan ve ark., 2003], *Pectobacterium wasabiae* [(Goto ve Matsumoto, 1987) Gardan ve ark., 2003], *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* (Duarte ve ark., 2004), *Pectobacterium parmentieri* (Khayri ve ark., 2016), *Pectobacterium polaris* (Dees ve ark., 2017), *Pectobacterium peruvienne* (Waleron ve ark., 2017), *Dickeya solani* (Van Der Wolf ve ark., 2014) ve *Pectobacterium dianthicola* (Samson ve ark., 2005) olarak bilinir. Daha önceki isimlendirmede ise mevcut *Pectobacterium* türleri *Erwinia* olarak, *Dickeya chrysanthemi* (*solani*) türü de *Erwinia chrysanthemi* olarak bilinmekteydi (Benlioğlu, 2008; 2019). İlk isimlendirmesi *Bacillus carotovorus* olan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) Jones (1901) tarafından tanılanmıştır ve 60'ın üzerinde sinonimi mevcuttur (Bradbury, 1977a). İlk defa van Hall (1902) tarafından *Bacillus atrosepticus* olarak belirlenen *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*)'un ise 10 tane sinonimi mevcuttur (Bradbury, 1977b).

*Pectobacterium* cinsi, gram negatif bakteri hücrelerine sahip, fakültatif anaerobdur. Bakteri hücre yapısı çubuk şeklindedir ve 0.5-0.8x1.3 µm boyutlarındadır. Aynı şekilde *Dickeya* cinsi de gram negatif bakteri grubundadır ve çubuk şeklindedirler. Boyutları 0.8-3.2 x 0.5-0.8 µm olup kamçılı bakterilerdir (Benlioğlu, 2008; 2019).

*Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Dickeya chrysanthemi* hastalık etmenleri bol miktarda pektolitik enzim üretirler. Pektolitik enzim, bitkiye giriş yapan bitki patojeni bakterilerin kullandıkları virülenslik

faktörlerinden birisidir. Enzim, toksin, büyüme hormonu, polisakkaritler gibi virülenslik faktörlerini kullanan bitki patojeni bakteriler bitkide hastalık belirtileri oluştururlar. Bu faktörlerden maserasyon enzimi de denilen bu proteinler hücre dışına salgılanır ve böylece konukçu bitkiye zarar verir. Enzim üreten çoğu bitki patojeni bakteri, özellikle yumuşak çürüklük belirtisine neden olur, ayrıca solgunluk ve yapraklarda da lekelenme meydana getirebilir. *Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinin salgıladığı pektolitik enzimler, konukçuda hücre duvarını zayıflatır, pektin maddelerini yıkar, bitki doku birlikteliğini bozar, hücrelerin birbirinden ayrılmasına neden olur ve iletim demetlerini tıkar (Saygılı ve ark., 2017).

Barras ve ark. (1994) tarafından belirtildiği üzere pektat liyaz, poligalakturanaz, pektin liyaz, pektin metil esteraz, proteaz enzimleri bitki patojeni bakteriler tarafından üretilen önemli pektolitik enzimlerdendir. Bu enzimler içerisinde pektatliyaz hem *Pectobacterium atrosepticum* hem *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* hem de *Dickeya chrysanthemi* hastalık etmenleri tarafından kullanılır. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* etmeni 3 farklı pektatliyaz enzimi (PelA, B, C) üretir. *Pectobacterium atrosepticum* 4 farklı (PelA, B, C, D) ve *Dickeya chrysanthemi* ise 5 farklı pektatliyaz enzimi (PelA, B, C, D, E) salgırlar. *Pectobacterium atrosepticum* aynı zamanda poligalakturanaz, pektin liyaz, pektin metil esteraz enzimlerini de üretir. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ise pektat liyaz, poligalakturanaz, pektin liyaz, pektin metil esteraz ve proteaz enzimlerinin tümünü üretir (Saygılı ve ark., 2017).

Konukçuya özelleşme açısından etkili olan bu enzimler çevre faktörlerinden etkilenebilmektedir. *Pectobacterium atrosepticum* 15 °C sıcaklıkta, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 22°C'nin üstündeki sıcaklıklarda ve *Dickeya chrysanthemi* ise 25-28 °C'de daha fazla pektolitik enzim üretir. Buna ilaveten *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* pektatliyaz enzimlerini hücre içinde, *Dickeya chrysanthemi* hücre dışında üretirler. Ayrıca patojenler tarafından üretilen farklı pektat liyaz enzimlerinin gen dizilimleri de birbirinden farklı olabilir. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*'da PelC ve D aynı gen diziliminde bulunurken, *Dickeya chrysanthemi*'de PelA, E ve D aynı dizilimdedir (Saygılı ve ark., 2017).

Hastalık etmenlerinin birbirinden ayrılması noktasında; *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 36–37 °C’de gelişebilirken, *Pectobacterium atrosepticum* gelişmemektedir. *Dickeya chrysanthemi* ise 39 °C’de çok iyi bir şekilde gelişebilmektedir (Perombelon ve Kelman, 1980). Buna ilaveten *Pectobacterium atrosepticum* maltoz ve  $\alpha$ -methylglucoside’den asit ve sakarozdan indirgenmiş maddeler üretirken, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* üretemez. *Dickeya chrysanthemi* ise indol ve fosfotaz üretir, laktaz ve trehaloz’dan asit oluşturmaz, %5 NaCl’de gelişemez ve erythromycin’e duyarlıdır (Bradburry, 1977a;b).

Tüm dünyada patates bitkisinde karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığına sebep olan *Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinde konukçu açısından farklılıklar olmaktadır. *Pectobacterium atrosepticum* hastalık etmeni patates başta olmak üzere domates ve biber bitkilerinde de yumuşak çürüklük meydana getirmektedir (Malathrakis ve Goumas, 1987; Stommel ve ark., 1996). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*’un ise konukçu dizisi çok geniştir. Özellikle dünyanın her bölgesine yayılmış olup, çoğu bitkide yumuşak çürüklük meydana getirmektedir (Bradburry, 1977a, Smith ve ark., 1988). *Dickeya chrysanthemi* ise daha sıcak, tropik ve subtropik bölgelerde patateslerde solgunluk ve gövde çürüklüğüne neden olmaktadır. Ayrıca domates, krizantem ve ayçiçeğinde de hastalık belirtileri görülmektedir (Perombelon ve Kelman, 1980).

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı tüm dünyada patates üretim alanlarında önemli bakteriyel hastalıklardan birisidir. Son zamanlarda yapılan moleküler çalışmalar ile *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum* ve *Dickeya chrysanthemi*’ye ilaveten yeni türler teşhis edilmiş olup, patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının önemi daha da artmıştır. Yeni türler içerisinde *Dickeya solani* Fransa, Finlandiya, Polonya, Hollanda, İsrail ve Türkiye’de rapor edilen yeni bir türdür (Tsrör ve ark., 2008; Slawiak ve ark., 2009; Toth ve ark., 2011; Degefu ve ark., 2013; Öztürk ve Aksoy, 2017). Aynı şekilde *Pectobacterium brasiliensis* etmeni de Brezilya (Duarte ve ark., 2004), Güney Afrika (Van der Merwe ve ark., 2010) ve Türkiye (Öztürk ve Aksoy, 2016)’de yeni belirlenen yumuşak çürüklük etmenidir. Karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığına sebep olan *Pectobacterium wasabiae* türü de Japonya (Gardan ve ark., 2003), USA, Kanada (Ma



ve ark., 2007; De Boer ve ark., 2012), Avrupa (Nabhan ve ark., 2012) ve Türkiye (Öztürk ve ark., 2016) 'de yapılan çalışmalar ile yeni rapor edilmiştir.

Hastalığın varlığına dair yapılan çalışmalara bakıldığında, Hollanda'da Van Beckhoven ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada toplanan örneklerde serolojik ve moleküler testlere göre, bitkilerin %20'sinde *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* türü tanılanırken, *Pectobacterium atrosepticum* ve *Dickeya* türlerine rastlanılmamıştır.

Washington Columbia havzasında 2008 yılında patates arazilerinde yapılan bir çalışmada, *Pectobacterium wasabiae* ilk kez tanılanmıştır (Dung ve ark., 2012). Yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen PW0405 bakteri kültürü çeşitli biyokimyasal, fizyolojik testler ile *Pectobacterium* olarak belirlenmiştir. Yapılan testleri destekleyici 16S rDNA analizi ile bakteri *Pectobacterium wasabiae* olarak belirlenmiştir.

Benzer şekilde, Sledz ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada, hastalıklı bitki ve yumrulardan yapılan izolasyonlarda 1500 adet bakteri kültürü elde edilmiştir. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* ve *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* türleri için yapılan biyokimyasal, immünolojik ve moleküler testler sonucu Polonya'da patates üretim alanlarının %57'sinin *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* ile bulaşık olduğu belirlenmiştir.

Norveç ve Polonya'da patates üretim alanlarında yapılan sürvey çalışmasında toplanan örneklerden 41 tane Norveç'e ait izolat, 42 tane Polonya'ya ait izolat elde edilmiştir. Kristal Violet Pektat (CVP) besi yerine yapılan izolasyonlar, patatesteki yumuşama testinde, moleküler ve filogenetik analizler sonucu Norveç'te *Pectobacterium atrosepticum* ve *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* türlerinin yaygın olduğu, Polonya'da ise *Pectobacterium wasabiae* etmeninin yaygın olduğu belirlenmiştir (Dees ve ark., 2017).

Ülkemizde patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının varlığına dair ilk çalışma Benlioğlu (1991) tarafından yapılmıştır. 1988, 1989 ve 1990 yıllarında Nevşehir, Niğde ve Bolu'da patates üretiminin yoğun olarak yapıldığı tarlalarda ve patates depolarında yapılan sürveyler sonucu hastalığın Bolu ilinde ortalama %0.62 oranında, Nevşehir'de %1.27 oranında ve Niğde ilinde ortalama %1.19 oranında bulunduğu rapor edilmiştir. Sürveylerde 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.

Öztürk ve ark. (2016), 2015 yılında Yozgat ili Sorgun ilçesinde Agria, Granola, Jelly, Elfe patates çeşitlerinin yetiştirildiği alanlarda yaptıkları sürvey çalışmasında bölgede hastalık oranını %5-20 arasında değişen oranlarda belirlemişlerdir. Çalışmada 17 adet hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden ilk önce Nutrient agar besi yerine izolasyon yapılmıştır. Daha sonra gelişen kolonilerden Kristal Violet Pektat (CVP) besi yerine saflaştırma yapılmıştır. CVP besi yerinde çukur oluşturan kültürler ile biyokimyasal testler ve moleküler çalışmalar yapılmıştır. Moleküler çalışmalarda *Pectobacterium* cinsine spesifik Y1/Y2, *Pectobacterium atrosepticum*'a spesifik Y45/46, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pectobacterium wasabiae* etmenlerinin her ikisine spesifik olan EXPCCF/R primerleri kullanılmıştır. EXPCCF/R primerleri ile pozitif sonuç veren iki izolat daha sonra PhF/R primerleri ile de testlenmiştir. Yapılan biyokimyasal testler ve moleküler analizler sonucu Jelly çeşidinden elde edilen iki izolat *Pectobacterium wasabiae* olarak tanılanmış olup, yapılan bu çalışma ile *Pectobacterium wasabiae*'nin varlığı Türkiye'de ilk kez ortaya konmuştur.

Öztürk ve Aksoy (2016) tarafından Amasya ilinde 2015 yılı yaz döneminde yapılan çalışmada ise, 10 patates üretim alanında sürvey çalışması yapılmıştır. Sürvey yapılan alanlarda ortalama hastalık yoğunluğu yaklaşık olarak %11 olarak belirlenmiştir. Bazı alanlarda %40'lara ulaşan bir yaygınlıkta saptanmıştır. Hastalıklı dokulardan nutrient agar besi yerinde izolasyon yapılmıştır. 28°C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra koloniler Luria Agar veya Kristal Violet Pektat (CVP) besi yerine saflaştırılmıştır. Toplam 9 adet izolatın CVP besi yerinde çukur oluşturduğu, gram negatif, katalaz pozitif ve fakültatif anaerobik olduğu belirlenmiştir. Elde edilen izolatlar *Pectobacterium* spp.'ye spesifik Y1/Y2 primerleri ile PCR analizine tabi tutulmuş ve hastalık etmeni oluşturduğu 434 bç büyüklüğündeki bant ile *Pectobacterium* spp. olarak

tanılanmıştır. Bu 9 izolattan bir tanesi (A4G1) Br1f/Lr1 spesifik primer ile analiz edilmiş ve oluşturduğu 322 bç büyüklüğündeki bant ile *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* olarak tanılanmıştır. Yapılan bu çalışma ile ülkemizde patates üretim alanlarında hastalık etmeni *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*'nin varlığı ilk defa belirlenmiştir.

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. Amasya ilinde enfekteli dokulardan elde edilen 3 izolat referans izolatlar ile benzer reaksiyon göstermiş olup, yapılan biyokimyasal testler, PCR çalışmaları ve 16S rDNA gen sekans sonuçlarına göre hastalığa sebep olan etmen *Dickeya solani* olarak tanılanmıştır. *Dickeya solani* etmeninin ülkemizde varlığı ilk kez yapılan bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Öztürk ve ark. (2018) ülkemizdeki karabacak ve yumuşak çürüklüğe sebep olan *Pectobacterium* izolatlarının genotipik ve fenotipik farklılıklarını ortaya koymuştur. 2015 yılında Samsun, Amasya, Çorum ve Yozgat illerinde patates üretim alanlarından toplanan 48 patates bitkisinden pektinolitik bakteri elde edilmiştir. Yapılan survey çalışmalarında fenotipik karakterizasyon ve türlere spesifik moleküler çalışmalar sonucu *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pectobacterium parmentieri* olarak belirlenen 26 izolat elde edilmiştir. 16 *Pectobacterium* izolatı 10 farklı-PCR bant çifti oluşturmuştur.

*Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinin farklı konukçularına yönelik yapılan çalışmalar incelendiğinde, Türkmenoğlu ve ark. (1975) tarafından İzmir ve çevresinde yapılan çalışmada, enginar çiçek tomurcuklarında siyah çürüklüğe neden olan hastalık etmeninin *Erwinia carotovora* olduğu belirlenmiş olup, enginarın *Erwinia carotovora*'nın konukçusu olduğu belirlenmiştir. Yapılan survey çalışmalarında, İnciraltı, Gümüşsu köyü, Kilizman enginar bahçeleri etmen ile bulaşık olarak belirlenmiştir. Siyah çürüklük hastalığının İnciraltı'nda %3.6, Gümüşsu köyünde %10 ve Kilizman'da %40 oranında yaygınlık gösterdiği belirlenmiştir.

*Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinin sebep olduğu yumuşak çürüklük hastalığı süs bitkilerinde de zarar yapmaktadır. Öden (1991)'e atfen Benlioğlu (2008)'in belirttiği üzere süs bitkilerinden kala ve difenbahyada, yine aynı şekilde Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, (2002) ve Çetinkaya- Yıldız ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmalarda difenbahya süs bitkisinde, Konya ilinde tohumluk lalelerde (Boyraz ve ark., 2006) *Pectobacterium carotovorum* etmeninin neden olduğu yumuşak çürüklük belirlenmiştir. Aysan ve ark. (2009) tarafından Hatay, Adana, Mersin, Antalya, Muğla, Manisa, İzmir, Bursa, Yalova, İstanbul ve Tekirdağ illerinde süs bitkileri üretim alanlarından yapılan çalışmada da, elde edilen izolatlar biyokimyasal testler ve moleküler analizlere tabi tutulmuş ve Çuha çiçeği (*Primula* sp.), Kalanşo çiçeği (*Kalanchoe* sp.), Difenbahya çiçeği (*Diffenbachia* spp.), Kaktüs (*Cactus* sp.), Antoryum çiçeği (*Anthrium* sp.), Avize yukka çiçeği (*Yucca aloifolia*), Kauçuk çiçeği (*Ficus elastica*), Japon gülü (*Hibiscus rosasinensis*), Şeflera bitkisi (*Schefflera actinophylla*) ve Sinerelya çiçeği (*Senecio cruentus*) gibi saksılı süs bitkilerinde *Erwinia* belirlenmiştir. Kılıç (2011) tarafından yapılan çalışmada da, süs bitkilerinde yumuşak çürüklük etmeni *Erwinia*'nın tür ve alt türleri moleküler olarak tanılanmıştır. Çuha, kalanşo, difenbahya, kaktüs, yukka, kauçuk, şeflera, sinerelya çiçeği süs bitkilerinden izole edilen ve *Erwinia* olarak tanılanan 14 adet yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Erwinia* izolatları, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *Erwinia chrysanthemi*'ye spesifik ADE1-ADE2, ERWFOR-CHRREV, ERWFOR-ATROREW, Y1-Y2, Y45-Y46 ve ECA1f-ECA2r primer çiftleri kullanılarak *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* olarak tanılanmıştır.

Domates bitkisinde öz nekrozuna sebep olan *Pseudomonas* türleri yanında *Pectobacterium* ve *Dickeya* türleri de gövde çürüklüğüne sebep olmaktadır. Domates bitkisinde solgunluk, gövdede su emmiş lekeler, iletim demetlerinde renk değişimi, özde boşalma şeklinde belirtiler gövde çürüklüğünün tipik simptomlarıdır. *Pectobacterium carotovorum* hastalık etmeninin konukçuları, patates, domates, biber, soğan, sarımsak, lahana, karnabahar, brokoli, hindiba, marul, çeltik, şekerpancarı ve karpuz, *Dickeya chrysanthemi* hastalık etmeninin konukçuları ise patates, domates, mısır, ananas, palmye ve süs bitkileridir. Ülkemizde Doğu Akdeniz bölgesinde domates seralarında Aysan ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada belirtildiği üzere, 1994 yılında *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *Erwinia chrysanthemi* etmenlerinin

neden olduğu gövde çürüklüğünün varlığı ilk kez saptanmıştır. 1999 yılından itibaren hastalık büyük epidemi yapmıştır. 2003 yılında Akdeniz ve Ege bölgelerinde hastalık %23 oranında yaygınlık göstermiştir. Yapılan morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal testler ve yağ asit profil analizlerine göre bitkilerden elde edilen izolatlar *Erwinia* olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, Saygılı ve ark. (2006b) tarafından 2004-2005 yıllarında yapılan çalışmada ise Hatay, Adana, Mersin, Antalya ve Muğla illerinde seralarda yapılan incelemelerde, seraların %58'inde *Erwinia* türlerinden kaynaklı gövde nekrozu görülmüştür. Yapılan çalışmada seralarda *Pseudomonas* ve *Erwinia* türlerinin neden olduğu hastalığın yaygınlığı ortalama %28 olarak belirlenmiştir.

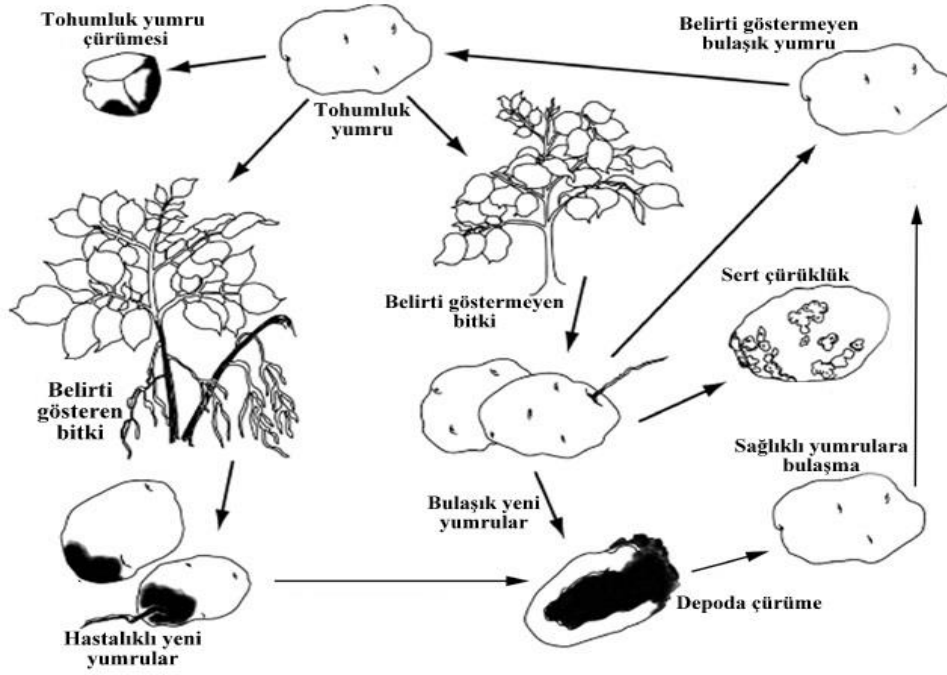
Ülkemizde ayçiçeğinde yumuşak çürüklük etmenlerinden *Pectobacterium atrosepticum* ilk kez Baştaş ve ark. (2009) tarafından belirlenmiştir. 2008 yılında Konya ilinde yapılan çalışmada hastalık şiddeti %30'ların üstünde belirlenmiştir. Yapılan incelemelerde ayçiçeği gövdesinde ve baş kısmında sulu nekrotik alanlar ve bu alanlar üzerinde akıntılar görülmüştür. 25 hektarlık TR3080 çeşidi ayçiçeği yetiştiriciliği yapılan bir araziden 24 izolat elde edilmiş olup, yapılan biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler testler ile *P. atrosepticum* olarak tanılanmıştır.

Dadaşoğlu ve Kotan (2017) tarafından yapılan çalışmada, Erzincan, Iğdır, İspir Pazaryolu ve Uzundere lokasyonlarında farklı meyve ve sebzelerden alınan örneklerde izolasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen izolatlara FAME, BIOLOG, tütünde aşırı duyarlılık, patojenite, pektolitik aktivite, fenotipik testler uygulanmıştır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, FAME (MIS) testinde testlenen 7 izolat *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* 5 izolat *Erwinia chrysanthemi* olarak tanılanmıştır. Yapılan BIOLOG testinde izolatlarda farklılıklar tespit edilmiştir. Elde edilen tüm izolatların hepsi hareketli, çubuk şeklinde ve gram negatiftir. HR ve patojenite testleri elde edilen sonuçları desteklemiştir. Kesin tanı için yapılan PCR çalışmasında da izolatların tamamı yaklaşık 1500 bp uzunluğunda bant oluşturmuştur. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* izolatları çilek, dut, maydanoz, lahana, patates, biber ve patlıcan bitkilerinde, *Dickeya chrysanthemi* izolatları ise; soğanda, biberde ve maydanozda yumuşak çürüklük hastalığına neden olmuştur. Yapılan bu çalışma ile ülkemizde bu izolatların bazı konukçularda yumuşak çürüklük etmeni olduğu ilk kez ortaya konmuştur.

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının birbiri ile ilişkili olan belirtileri mevcuttur. Tohum çürümesi, sap çürümesi ve yumru çürümesi tipik belirtilerdir. Özellikle sürekli patates üretiminin yapıldığı arazilerde ve hastalık etmenleri ile bulaşık yumrular kullanıldığında tarlalarda sıra üzerinde yer yer boşluklar meydana gelmektedir. Hastalık karabacak ismini kök boğazında meydana getirdiği belirtiden almaktadır. Bitkinin hemen toprak üstündeki kısmında kahverengileşme ve yumuşama şeklinde gözükten belirtilerden dolayı karabacak ifadesi kullanılır. Özellikle bulaşık yumruların kullanılması sonucu karabacak belirtileri daha fazla görülmektedir. Buna ilaveten bitkinin gövde kısmında açık kahverengi lezyonlar da gövde çürüklüğü olarak ifade edilir. Özellikle *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* türü gövde çürüklüğüne, *Dickeya chrysanthemi* ise solgunluğa neden olmaktadır (Benlioğlu, 2008).

Yeni oluşan yumruların enfeksiyonu açısından stolonlar çok önemlidir. Stolonların bağlandığı noktalarda kahverengileşme ve çürüme şeklinde lezyonlar meydana gelir. Yumrulardaki tipik belirti ise yumruların yumuşaması, kahverengileşmesi ve sulu bir görünüm almasıdır. Yumrunun yüzeyi ve iç kısmı peynir gibi dağılır ve saprofit bakterilerden de kaynaklanan ayrışmadan dolayı etrafa pis bir koku yayılır. Ana yumru çürür, yeni yumrular da belirti olmasa bile epifitik olarak bakteri yumruda bulunabilir. Belirti göstermeyen yumrular da bulaşıklık var ise etmen depoda uygun koşulları bulduğunda çürümeler başlar. Yumruda özellikle ayırt edilebilir belirti, koyu siyah bir şeritle çevrili çürümüş lezyonlardır. Bu aşamada temas yoluyla depolarda önemli ürün kayıpları meydana gelir (Benlioğlu, 2019).

Bazı durumlarda depolarda sert çürüklük olarak ifade edilen yumru yüzeyinde beliren kahverengimsi, siyah kuru lezyonlarda gözükabilir. Karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığına sebep olan türlerin enfeksiyonlarını ayırt etmek oldukça zordur. Toprak sıcaklığı etkili bir faktördür. Toprak sıcaklığı 18°C'nin altında iken, *Pectobacterium atrosepticum* enfeksiyonu daha yoğun olmaktadır. 25 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ise *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* enfeksiyonu daha fazla olmaktadır (Degefu, 2017) ( Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının hayat döngüsü (De Boer ve Rubio, 2004)

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığı için en önemli inokulum bulaşık tohumluk yumrulardır. Ayrıca bazen derin gömülen ana yumrulardan alınan ikincil yumrular ve kendiliğinden gelen patates bitkilerinden de bakteri elde edilebilmektedir. Özellikle *Pectobacterium atrosepticum* enfeksiyonu bulaşık tohumlarla olmaktadır. Bulaşık yumrularda ilaveten diğer önemli inokulum kaynakları bulaşık toprak ve bitki artıklarıdır. Özellikle *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* enfeksiyonu bulaşık topraklarla olmaktadır. Ayrıca hastalık tarla içerisinde sulama suyu, yağmur damlaları, kullanılan alet-ekipmanlarla ve böceklerle de sağlıklı bitkilere taşınabilmektedirler. *Pectobacterium atrosepticum* diğer türlere göre toprak, su ve bitki artıklarında canlılığını uzun süre sürdüremez (Benlioğlu, 2019).

Hasat sonrası depolama koşulları da hastalığın epidemiyolojisi açısından önemlidir. Özellikle belirti göstermeyen latent olarak enfekteli yumrulara bakteri ana yumruda kolonize olmakta ve vasküler sistem yoluyla yavru yumrulara taşınmaktadır. Bu şekilde de latent olarak yumrulara yaşamını sürdürebilmektedir (Czajkowski ve ark., 2011). Bu bulaşık yumrular depoya kaldırıldığında depo çürüklükleri başlamakta ve ertesi

yıllar için bu tohumluk yumrular yeni enfeksiyon kaynaklarını oluşturmaktadır (Benlioğlu, 2019).

Buna ilaveten *Dickeya* ve *Pectobacterium* türlerinin bazı yabancı otlar üzerinde de görülebildiği yapılan bazı çalışmalarda ifade edilmiştir. McCarter-Zorner ve ark. (1985) tarafından Colorado ve İskoçya'da yapılan bir çalışmada, bazı yabancı ot türleri ve kültür bitkilerinin rizosfer bölgelerinden örnekler alınmıştır. Colorado'da 24 bitki türünden, İskoçya'da 47 bitki türünden *Erwinia carotovora* izole edilmiştir. *Erwinia carotovora* ile bulaşık yabancı otlar patates dışındaki diğer bitkilerin bulunduğu arazilerde görülmüştür. Özellikle İskoçya'da bakir arazilerde *Erwinia carotovora* ile enfekteli yabancı otlar görülmüştür. Aynı zamanda yapılan çalışmada hastalık etmeni ile bulaşık yabancı ot sayısının ilkbahar ve erken yaz döneminde oldukça düşük olduğu da belirtilmiştir. Tsror ve ark. (2010) tarafından İsrail'de yapılan çalışmada da, 2009 ve 2010 yıllarında *Dickeya* spp. ile bulaşık patates tarlalarında hastalık etmeninin yabancı otlardaki yaygınlığına bakılmıştır. Çalışmada simptomsuz 12 lokal yabancı ot türü (*Cyperus rotundus*, *Orobancha aegyptiaca*, *Amaranthus spinosus*, *Polygonum equisetiforme*, *Chenopodium* sp., *Heliotropium* sp., *Centaurea iberica*, *Sorghum halepense*, *Malva nicaeensis*, *Cynadon dactylon*, *Amaranthus blitum* ve *Solanum elaeagnifoli*) toplanmış ve yabancı otların kök ve yumrularından besi yerine izolasyon yapılmıştır. Yapılan izolasyonlarda ve çeşitli testlemelerde yalnızca *Cyperus rotundus*'ta *Dickeya* spp. belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, *Dickeya* spp. hastalık etmeninin totalakta (*Cyperus rotundus*) 2009 yılında %6.7, 2010 yılında %14.3 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir.

Patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalık etmenlerinin izolasyonu için en uygun seçici besi yeri kristal violet pektat (CVP) besi yeridir. Özellikle CVP besi yerinde *Pectobacterium carotovorum* etmenleri çukur oluştururlar. Yumuşak çürüklük etmenlerinin tür ve alt türler bazında ayırımı yapmak için 37 °C'de gelişim, sukrozdan şeker azalması, fosfotaz aktivitesi, eritromisine duyarlılık, indol üretimi, karbonhidratlardan asit üretimi, keto-methyl-glucoside'nin kullanımı gibi fizyolojik ve biyokimyasal testler uygulanır. Hastalık etmenlerinin moleküler tanısı için spesifik primer setleri dizayn edilmiştir. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* için ERWFOR ve ATROREV (Smid ve ark., 1995), Y45 ve Y46 (Frechon ve ark., 1995), ECA1f ve



ECA2r (DeBoer ve Ward, 1995), *Erwinia chrysanthemi* için ADE1 ve ADE2 (Nassar ve ark., 1996), ERWFOR ve CHRREV (Smid ve ark., 1995) adlı primerler kullanılmaktadır. Moleküler tanıya ilaveten standart immunofluorescent (IF) ve antibody sandwich ELISA testleri, BIOLOG sistemi ile ve MicroSeq 16S rRNA kitiyle de izolatların tanısı yapılabilir (Saygılı ve ark., 2006a).

Hastalık etmenlerinin tanısına yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında, Darrasse ve ark. (1994a), *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'ya spesifik DNA problemleri geliştirmişlerdir. 87 adet *Erwinia carotovora* izolatının DNA'ları izole edilmiş, klonlanmış ve gen dizilimleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmada *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'ya spesifik olduğu belirlenen bir probun *Escherichia coli*'nin putP genleriyle homolog olduğu belirtilmiştir. Darrasse ve ark. (1994b) tarafından yapılan diğer bir çalışmada da, pel gen dizilimleri kullanılmıştır. PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) ile tür ayrımı yapılmış olup, Y1 ve Y2 primerleri kullanılarak *E. carotovora*'nın *atroseptica*, *carotovora*, *wasabiae* ve *odorifera* alt türleri tanımlanmıştır.

De Boer ve Ward (1995) tarafından yapılan çalışmada da, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* etmeninin belirlenmesi için spesifik ECA1f ve ECA2r isimli 690 bp büyüklüğünde bant oluşturan primer çifti dizayn edilmiştir. Yapılan çalışmada özellikle tohumluk patateslerde latent dönemde olan düşük popülasyondaki etmenin bile tanımlanabileceği belirtilmiştir.

Smid ve ark. (1995), patates yumrularından *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* ve *Erwinia chrysanthemi* türlerini belirlemek için türe spesifik primerler kullanmışlardır. *Erwinia* türlerini belirlemek için ERWFOR primerini, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* türü için ATROREW primerini (389 bp büyüklüğünde bant oluşumu), *Erwinia chrysanthemi* türü için de CHRREV spesifik primer dizilimlerini (450 bp büyüklüğünde bant oluşumu) dizayn etmişlerdir. Yapılan bu çalışma ile özellikle yumrulara latent halde olan etmenlerin teşhisi için, geleneksel testlere ve serolojik testlere ilaveten daha güvenilir ve hızlı olması bakımından PCR testinin önemi vurgulanmıştır.

Benzer şekilde, Helias ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada da, Amerika Birleşik Devletleri, Almanya, Arjantin, Cezayir, Fas, Fransa, Hollanda, İspanya, Japonya, Kongo, Meksika ve Tunus'tan temin edilen 140 adet *Erwinia* izolatu çeşitli biyokimyasal, DAS-ELISA, immunomagnetik ayırım, RFLP testlerine tabi tutulmuş olup, yapılan testlerde *Erwinia carotovora*'nın alt türlerinin karakterizasyonu yapılmıştır. PCR analizlerinde Y1 ve Y2 primerleri kullanmış, 434 bç büyüklüğünde bantlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmada *Erwinia carotovora* subsp. *betavascularum* kullanılan primerler ile tanılanamamıştır. Bu çalışma ile patates yumrusu, yeşil aksam, toprak ve sulama suyunda özellikle *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'nın varlığını belirlemek için DAS-ELISA, PCR ve IMS-PCR testlerinin kullanılabilceği vurgulanmıştır.

Frechon ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, patates yumrularında *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'nın saptanması için Probelia firması tarafından ticari hale getirilen tanı kitini kullanmışlardır. Yapılan PCR çalışmalarında Y45 ve Y46 primer çiftini kullanmışlardır.

Toth ve ark. (1999a) ise özellikle patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının epidemiyolojisinde faj testlerinin önemi üzerinde vurgu yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* izolatlarının belirlenmesi için, BIOLOG, PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism), ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus)-PCR, RAPD (random amplified polymorphic DNA)-PCR, ODD (ouchterlony double diffusion) ve faj tiplendirme testlerini kullanmışlardır. Özellikle faj tiplendirme testleri izolatlar arası farklılığı belirlemede oldukça başarılı olmuştur. Toth ve ark. (1999b) tarafından yapılan diğer bir çalışmada da, *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *E. carotovora* subsp. *atroseptica* ve *E. chrysanthemi*'nin tanısında SR3F ve SR1cR adlı primer dizilimini kullanarak 16S-PCR'a dayalı bir yöntem geliştirmişlerdir. 119 bç'lik bant oluşturan primer çifti ile yapılan PCR çalışmasında farklı yerlerden elde edilen 65 izolatu tanısı gerçekleştirilmiştir.

Benzer şekilde Hyman ve ark. (2000)'da patates yumrularında *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'nın tespiti için PCR'ın oldukça duyarlı bir yöntem olduğunu vurgulamışlardır. Kang ve ark. (2003), *Pectobacterium carotovorum* subsp.

*carotovorum*'un tanınması için EXPCCR ve EXPCCF adlı primeri dizayn etmişlerdir. Ss bitkilerinde ve fideliklerde yumuŖak rklk etmenleri *Erwinia* izolatlarının tanısında, Norman ve ark. (2003) BOX-PCR, ERIC-PCR (enterobacterial repetitive intragenic consensus) ve REP-PCR (repetitive extragenic palindromic)'ı kullanmışlardır. Yapılan alıŖmada, izole edilen bakterilerden 52 adeti *E. chrysanthemi* ve 137 adeti *E. carotovora* subsp. *carotovora* olarak tanılanmıştır.

Van der Wolf ve ark. (2003), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* izolatlarının karakterizasyonu için REP-PCR'ı kullanmışlardır. İki grupta sınıflandırılan izolatlardan 13 tanesi 500 bç'lik bant oluŖturmuŖ ve yapılan alıŖmada 1F/1R ve 3F/3R Ŗeklinde primer çiftleri dizayn edilmiştir. Yishay ve ark. (2008) tarafından yapılan alıŖmada da, farklı sebze ve süs bitkilerinden elde ettikleri *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* izolatlarının karakterizasyonunu belirlemede 16S rRNA dizilimini ve ITS-PCR (intergenic transcribed spacer-PCR) yöntemini kullanmışlardır.

Patates karabacak ve yumuŖak rklk hastalığının mücadelesinde hastalığın bulaŖmasını önlemek için yapılan kültürel önlemlere, gübreleme-beslemeye, dayanıklı eŖit geliŖtirmeye, fiziksel tohum-yumru uygulamaları, kimyasal tohum uygulamaları, biyolojik kontrole yönelik birçok alıŖma yapılmıştır (Czajkowski ve ark., 2011).

Parashar ve Sindhan (1988), arazi ve depo koŖullarında klorocin ve diğer kimyasalların yumuŖak rklk etmenlerine karŖı etkilerini incelemiŖlerdir. Toprak uygulaması Ŗeklinde klorocin (7 kg/ha) ve emisan (%0.2) uygulamaları, yumru çimlenmesini ve verimi önemli ölçüde artırmıştır. Streptocyclin (100 ppm.) ise kontrolle kıyaslandığında çimlenme ve verimi dŖrmŖtir. Arazi ve depo koŖullarında yapılan alıŖmada, tüm kimyasalların kontrol ile karŖılaŖtırıldığında yumuŖak rklk hastalığını (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) nemli ölçüde azalttığı ve özellikle klorocin uygulamasının en iyi sonucu verdiği vurgulanmıştır.

Bartz ve ark. (1992) kalsiyum gübrelemesinin yumuŖak rklk hastalığı üzerindeki etkisini incelemiŖlerdir. 1984, 1985 ve 1986 yıllarında Florida'da yapılan alıŖmada, patates bitkisinde iki farklı kalsiyum sülfat (CaSO<sub>4</sub>) gübrelemesi yapmışlardır. Sonuç

olarak yapılan kalsiyum uygulamasının hastalık çıkışını azalttığı ve özellikle de kullanılan çeşidin ve çevresel faktörlerin etkili olabileceği vurgulanmıştır.

Baz ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada *Streptomyces* cinsine ait bakterilerin *Pectobacterium carotovorum* ve *Pectobacterium atrosepticum* etmenlerine karşı olan etkilerine bakılmıştır. *In vitro* denemelerde *Pectobacterium carotovorum* (CFBP 5890) ve *Pectobacterium atrosepticum* (CFBP 5889) patojenlerine karşı antimikrobiyal etki gösteren antagonistik bakteriler ile yapılan *in vivo* denemelerde Bintje, Yukon Gold, Russet ve Norland patates çeşitleri kullanılmıştır. Patates dilimleri üzerinde yapılan denemede *Streptomyces* cinsi bakterilerin yumuşak çürüklük belirtilerini %65-94 arasında değişen oranlarda azalttığı belirlenmiştir.

Issazadeh ve ark. (2012) tarafından yürütülen bir çalışmada da, lahana, havuç ve turp alanlarından elde edilen 8 epifitik *Bacillus* türünün (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* ve *Bacillus pumilus*) *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ve *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* etmenlerine karşı olan antagonistik etkilerine bakılmıştır. *In vitro* koşullar altında yürütülen çalışmada agar difüzyon metodu kullanılmış olup, testlenen *Bacillus* türlerinin yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Krzyzanowska ve ark. (2012), *Dickeya dadanti* 3937 (Dda 3937), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 3193 (Pcc 3193) ve *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 (Pba 1043) türlerinin biyokontrolünde rizosfer bakterilerinin etkilerini araştırmışlardır. *In vitro* çalışmalarda 1165 bakteriden *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsi içerisinde yer alan 18 tanesi hastalık etmenleri üzerinde antagonistik etki göstermiştir. Patates dilimleri üzerinde yapılan *in vivo* testlerde de rizosfer bakterilerinin yumuşak çürüklük etmenlerinin oluşturduğu maserasyonu (yumuşama ve kahverengileşme) %50'nin üzerinde engellediği görülmüştür.

Lim ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada da, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*'a karşı PP1 bakteriyofajın etkisine bakılmıştır. Podoviridae familyasına ait olan faj hızlı bir gelişim göstermekte ve litik aktivitesi de oldukça yüksektir. 103 tane *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* izolatu ile *in vitro* ve *in vivo*

koşullar altında yürütülen denemelerde, bakteriyofajın *Pectobacterium* türlerinin kontrolünde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Azaiez ve ark. (2018) yürütmüş oldukları çalışmada, 450 adet bakteri izolatının, *Pectobacterium carotovorum*'a karşı antagonistik aktivitesini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada *Bacillus amyloliquefaciens* Ar10 izolatı, *Pectobacterium carotovorum* üzerinde %96'ya varan bir etki göstermiştir. Yapılan çalışmada hastalık etmeni üzerindeki bu etkinin özellikle Ar10 izolatı tarafından üretilen glikoprotein ile sağlandığı belirlenmiştir.

Li ve ark. (2018) zambaklarda yumuşak çürüklüğe neden olan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*'a karşı antagonistik bakterilerin etkilerine bakmışlardır. *Myxococcus* sp. olarak tanılanan antagonistik bakterilerin yapılan saksı çalışmalarında hastalık indeksini %62.5'dan %6.3'e, hastalık sıklığını da %75'den %19.8'e düşürdüğü belirtilmiştir.

Domateste farklı besleme programlarının *Pectobacterium carotovorum*'un sebep olduğu gövde çürüklüğüne etkilerinin incelendiği bir çalışmada da, hastalık etmeninin uygulandığı bitkilerde hastalık oranı %78 olarak, Makro Besin Elementleri, Makro Besin Elementleri+Mikro Besin Elementleri, Makro Besin Elementleri+Fosfor, Makro Besin Elementleri+Potasyum uygulamalarında ise hastalık oranı %48-67 arasında değişen oranlarda belirlenmiştir. Besleme programları içerisinde fosfor gübrelemesi en etkili uygulama olarak belirlenmiştir (Gaffaroğlu ve ark., 2019).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bitki materyali ve bakteri izolatları

Çalışmanın ana materyalini 2018 yılında Tokat ilinde yapılan arazi sürveyleri sonucu toplanan hastalıklı patates bitkileri, patates yumruları ve bu örneklerden elde edilen bakteri izolatları oluşturmuştur.

##### 3.1.2. Çalışmada kullanılan referans izolat

Çalışmada kullanılan referans izolatlar Dr. Öğr. Üyesi Murat ÖZTÜRK (Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü) tarafından temin edilmiştir.

##### 3.1.3. Çalışmada kullanılan patates çeşidi

Yumruda pektolitik aktivite testi için Tokat ilinde yaygın olarak kullanılan Marfona patates çeşidi kullanılmıştır.

##### 3.1.4. Çalışmada kullanılan besi yerleri

###### King B (KB) besi yeri (King ve ark., 1954)

Proteose peptone	20 g
Gliserin	10 ml
di-potassium hydrogen phosphate ( $K_2HPO_4$ )	1.5 g
Magnesium sulfate heptahydrate ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	1.5 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml

###### Nutrient agar (NA) besi yeri

Nutrient agar	23 g
Saf su	1000 ml

###### Nutrient broth (NB) besi yeri

Nutrient broth	13 g
Saf su	1000 ml

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Hastalıklı bitki 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 sürveyleri yapılmıştır (Çizelge 3.1). Arazi sürveyleri 2018 yılında Mart-Ağustos aylarında (patatesin %50 çiçeklenme evresinde) yapılmıştır. Arazi sürveyleri sırasında arazide tesadüfi olarak seçilen 100 adet bitki incelenmiş, hastalık belirtisi gösterip göstermediği kaydedilmiş ve elde edilen verilerle hastalığın bulunma oranı belirlenmiştir (Şekil 3.1).

Çizelge 3.1. Tokat ilinde ilçelere ait patates üretim alan miktarı ve sürvey yapılan alan miktarı

İl/İlçeler	Patates Üretim Alanı (da)	Sürvey alanı (da)
<b>Tokat-Merkez</b>	4 500	155
<b>Erbaa</b>	4 200	311
<b>Niksar</b>	8 500	338
<b>Pazar</b>	100	30
<b>Turhal</b>	400	350
<b>Zile</b>	500	250
<b>Artova</b>	750	150
<b>Başçiftlik</b>	2 700	175
<b>Toplam</b>	<b>21 650</b>	<b>1 759</b>



Şekil 3.1. Sürvey yapılan alanlarda hastalıklı bitki ve yumru örneklerinin toplanması

### 3.2.2. Hastalıklı yumru örneklerinin toplanması

Yumru örneklerinin toplanması, patates hasatı esnasında gerçekleştirilmiştir. Hasat sırasında çuvallara 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.

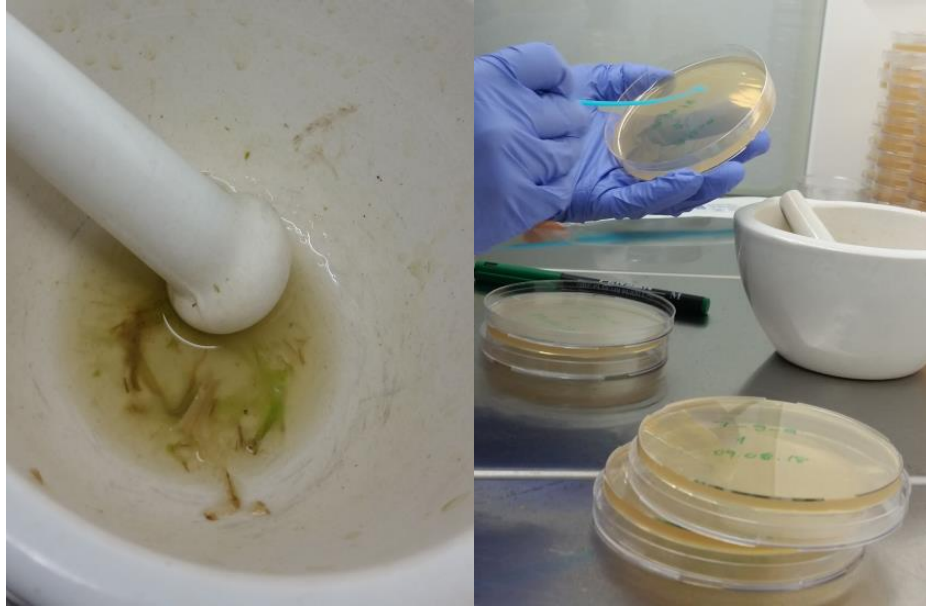
### 3.2.3. Hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden etmenlerin izolasyonu

Sürveylerde hastalıktan şüphelenilen bitkiler ve yumrular gazete kâğıdı arasına sarılarak naylon torba veya kese kağıdı içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Bitkilerin kök boğazına yakın kısımlarından ve yumruların çürümüş doku kenarlarından, sağlıklı kısmı da içerecek şekilde küçük bir doku parçası alınmış (Şekil 3.2), steril porselen havanda ezilmiştir. Örneklerin üzerine tuzlu su (saline buffer; 8.5 g NaCl/1000 ml saf su) eklenerek buffer ile karıştırılmıştır. Havanda 15 dakika bekletilerek  $10^6$  seyreltme serisi yapılmış olup  $10^5$  ve  $10^6$  serilerinden King B besi yerine yayma ekim yapılmıştır (Şekil 3.3). İzolasyon petripleri 27 °C’de inkübe edilmiştir. King B besi yerinde gelişen bakteri kolonilerinden alınarak Nutrient agar besi yerinde saflaştırma yapılmıştır. Saflaştırılan izolatlardan Nutrient broth ve Gliserol içerisine stok yapılarak +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.





Şekil 3.2. Hastalıklı bitki ve yumru örneklerinde etmen izolasyonu



Şekil 3.3. Örneğin porselen havanda ezilmesi ve besi yerine ekimi

### 3.2.4. Potasyum hidroksit ile gram reaksiyon testi

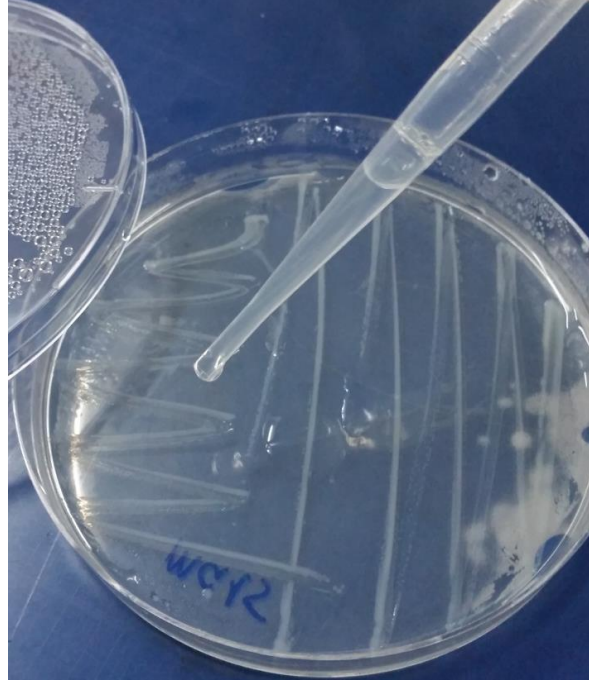
Çalışmada %3'lük potasyum hidroksit solüsyonu kullanılmıştır. İzolasyonlar sonucu elde edilen 48 saatlik bakteriyel izolatlar plastik bir öze ile alınmış ve lam üzerine damlatılan solüsyon içerisine dairesel hareketlerle karıştırılmıştır (Şekil 3.4). 15–20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında yapışkanimsi bir sünmenin oluşması ile sonuç gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990).



Şekil 3.4. İzolatlara gram reaksiyon testinin yapılması

### 3.2.5. Katalaz testi

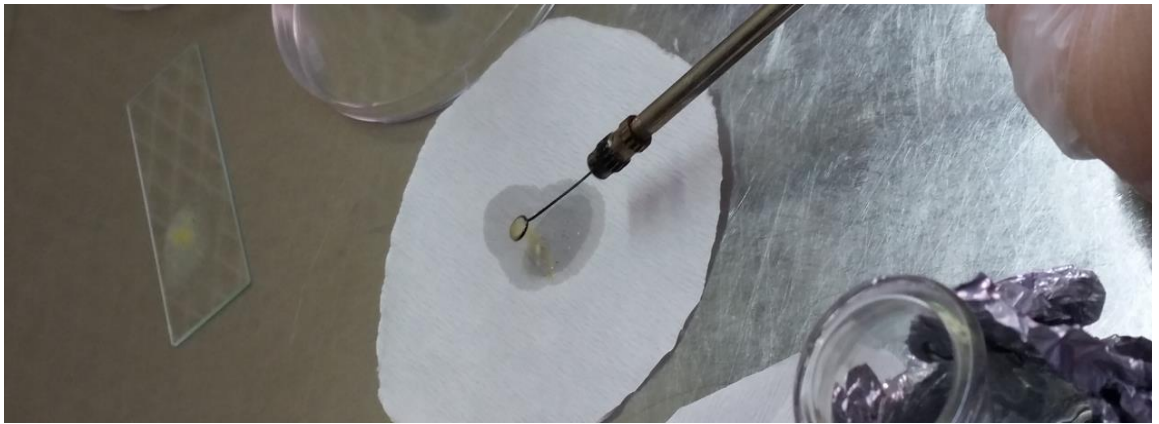
Nutrient agar besi yerinde 48 saat geliştirilen bakteri kültürlerinden bir öze dolusu alınmış, lam üzerine konulmuş ve %3'lük hidrojen peroksitten ( $H_2O_2$ ) bir damla damlatılmıştır (Şekil 3.5). Uygulama yapılan yerde kabarcık şeklinde gaz çıkışı pozitif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı ve ark., 2006a).



Şekil 3.5. İzolatlara katalaz testinin uygulanması

### 3.2.6. Oksidaz testi

Nutrient agar besi yerinde 48 saat geliştirilen bakteri kültürlerinden bir öze dolusu bakteri alınarak steril filtre kağıdı üzerine sürülmüş ve %1'lik tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ( $C_6H_4[N(CH_3)_2]_2 \cdot 2HCl$ ) solüsyonundan damlatılmıştır (Şekil 3.6). On saniye içerisinde oluşan mor renk pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Saygılı ve ark., 2006a).



Şekil 3.6. İzolatlara oksidaz testinin uygulanması

### 3.2.7. 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 içerisinde 10 dakika batırılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Tekrar alkole batırılarak yumrular bir kez de alevden geçirilmiştir. Yumrular soyulduktan sonra dilimlenmiş ve steril nemli filtre kağıdı 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 (Şekil 3.7). 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 (Saygılı ve ark., 2006a).



Şekil 3.7. Pektolitik aktivite testinin uygulanması

### 3.2.8. 37 °C ve 39 °C 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 *Pectobacterium carotovorum* (*Erwinia carotovora*) ve *Dickeya* spp. olarak, 39 °C'de gelişen izolatlar *Dickeya* spp. olarak kaydedilmiştir.

### 3.2.9. 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 *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia atroseptica*) ve *Pectobacterium carotovorum* (*Erwinia carotovora*) olarak kaydedilmiştir.

### 3.2.10. 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 (Şekil 3.10). İnkübasyon süresi sonucunda ölü doku oluşturan izolatlar HR pozitif (+), oluşturmayanlar ise HR negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. Kontrol bitkilerinde steril saf su kullanılmıştır (Dadaşoğlu, 2007).



Şekil 3.8. Tütünde aşırı duyarlılık testi uygulaması

### 3.2.11. Patates karabacak ve yumuşak ürüklük hastalık etmenlerinin PCR tekniği ile tanılması

Yapılan arazi sürveyleri sonucu hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden elde edilen ve klasik testler ile tanılanan 90 adet bakteri izolatu PCR tekniği ile tanılanmıştır. Örneklerde genomik DNA izolasyonu yapılmadan doğrudan bakteri kültürü ile PCR alışması yapılmıştır. Steril ependorf tüp içerisine 10 µl master mix (Bioline, BIO-25044) konulmuş, üzerine 8 µl steril saf su ve 1'er µl primerlerden eklenmiştir. Nutrient agar besi yerinde geliştirilen 48 saatlik bakteri izolatlarından bir küçük koloni alınarak aynı ependorf tüp içerisine konulmuş ve birkaç saniye santrifüj edilmiştir. Daha sonra thermalcyler cihazına yerleştirilen örneklerde PCR analizi gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.2'de çalışmada kullanılan primer çiftleri, izelge 3.3'de de thermalcyler cihazında (BIO-RAD T100) gerçekleştirilen PCR programı verilmiştir.

Çizelge 3.2. Patates karabacak ve yumuşak ürüklük hastalık etmenlerinin tanılanmasında kullanılan spesifik primer çiftleri

Hastalık etmeni	Primer dizilimleri	PCR ürününün baz büyüklüğü (b)	Literatür
<i>Pectobacterium</i> spp. ( <i>Erwinia</i> spp.)	Y1: TTA CCG GAC GCC GAG CTG TGG CGT Y2: 5CAG GAA GAT GTC GTT ATC GCG AGT	434	Darrasse ve ark., 1994b
<i>Pectobacterium atrosepticum</i> ( <i>Erwinia atroseptica</i> )	ECA1f: CGG CAT CAT AAA AAC ACG ECA2r: GCA CAC TTC ATC CAG CGA	690	De Boer ve Ward, 1995
<i>Dickeya</i> spp.	ADE1: GATCAGAAAGCC- CGCAGCCAGAT ADE2: CTGTGGCCGATCAGGATG GTTTTGTCGTGC	420	Nassar ve ark., 1996

Çizelge 3.3.PCR çalışmasında kullanılan program

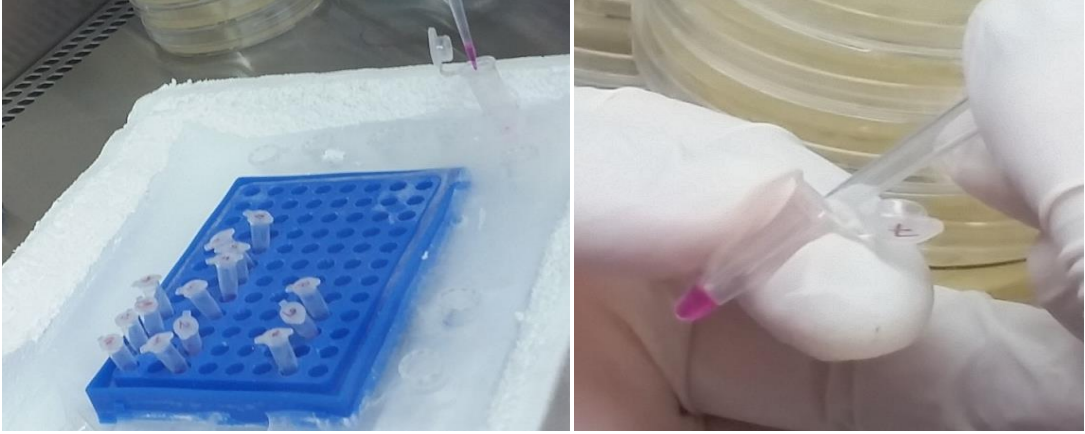
Program adımları	REDTCHW		
	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	95	4 dk	1
Denatürasyon	95	30 sn	
Primer Bağlanması	65	30 sn	
Uzama	72	90 sn	
	95	30 sn	34
	56	30 sn	
	72	90 sn	
Son Uzama	72	5 dk	1
Bekleme	4	Süresiz	

Yapılan PCR çalışması sonrasında, elde edilen PCR ürünleri %1.2'lik agarose jel hazırlanarak elektroforezde yürütülmüştür. %1.2'lik agarose jel hazırlamak için, bir erlenmayere 100 ml 1XTAE çözeltisi içerisine 1.2 g agarose eklenmiş ve mikro dalgada eritilmiştir. Yaklaşık 50 °C'ye kadar soğutulan çözeltiliye 5 µl ethidium bromür konulmuş, tarakların olduğu tepsiye yavaşça dökülmüştür. Jel donduktan sonra (yaklaşık 45 dk) taraklar çıkartılmıştır. Hazırlanan agaroz jel kuyucuklarına bir mikropipet ile PCR ürünleri (10 µl) verilmiştir (Şekil 3. 9; Şekil 3.10). Elektroforez tankında agaroz jeldeki PCR ürünleri 100 V elektrik akımında yaklaşık 1 saat yürütülmüştür (Şekil 3.11, Şekil 3.12). Daha sonra bantların görüntülenmesi için, ethidium bromür ile (10 mg/ml) 10 dakika boyama yapılmış ve bunu takiben 15 dakikada saf su ile yıkanarak transliminatörde jelde oluşan bantlar incelenmiştir.

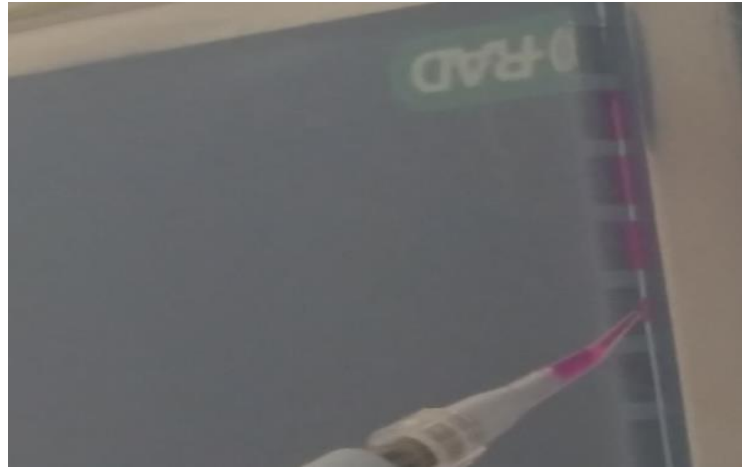
*Pectobacterium* spp.'ye spesifik olan Y1: TTA CCG GAC GCC GAG CTG TGG CGT ve Y2: 5CAG GAA GAT GTC GTT ATC GCG AGT primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında %1.2'lik agaroz jel üzerinde Darrasse ve ark. (1994b)'nin bildirdiği gibi 434 bp büyüklüğünde bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

*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)'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.

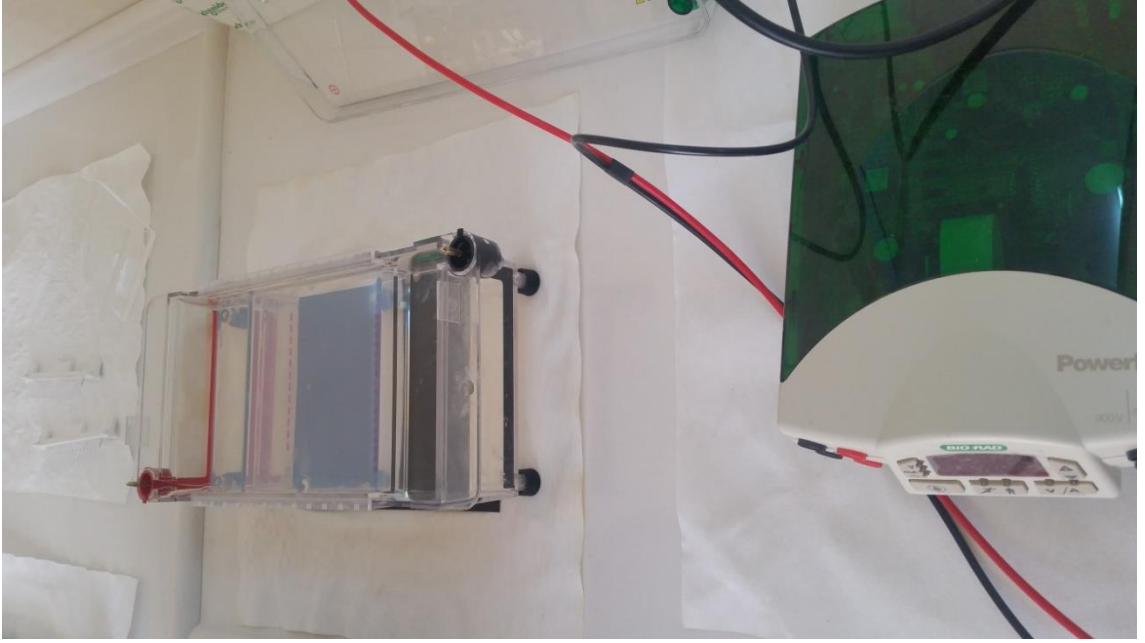


Şekil 3.9. PCR analizinde örnek yükleme aşamaları

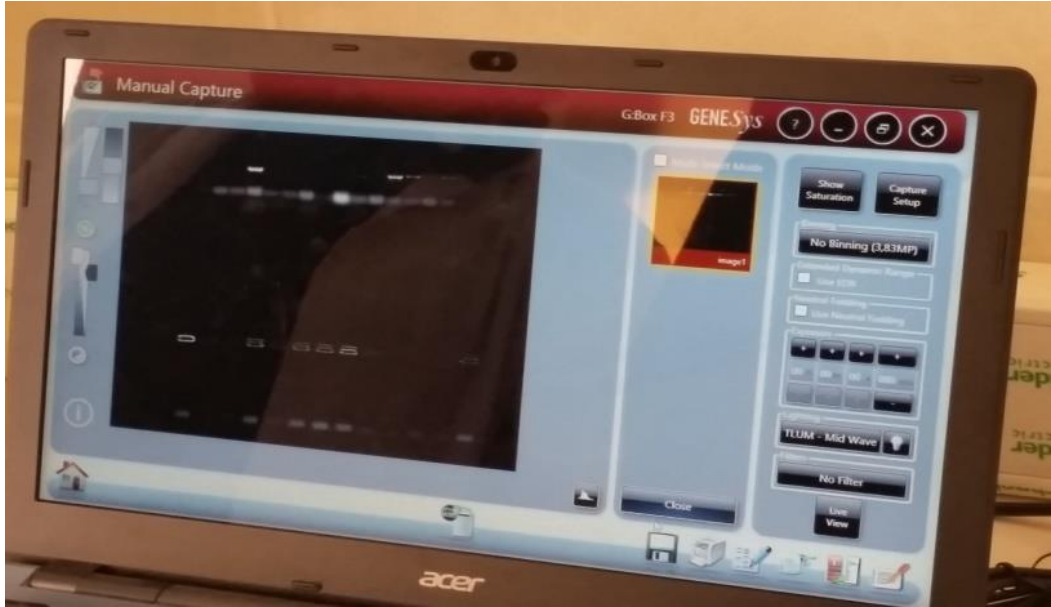


Şekil 3.10. Örneklerin %1.2'lik jele yüklenmesi





Şekil 3.11. Örneklerin %1.2'lik agaroz jelde elektroforez tankında yürütülmesi



Şekil 3.12. PCR ürünlerinin oluşturduğu bantların görüntülenmesi

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Tokat ilinde 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 sürvey çalışmaları yapılmıştır. Tokat İli Merkez ve ilçelerinde toplam 67 patates arazisinde sürvey yapılarak incelenen bitkilerde patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının varlığı/yokluğu kaydedilmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Sürvey yapılan patates üretim alanından genel bir görüntü (Kızılköy/TOKAT)

Tokat ili Merkez'de Karakaya, Kızılköy, Cincife, Akbelen ve Kızılöz köyü olmak üzere toplam 155 dekarlık 12 tarla, Erbaa ilçesinde Tosunlar, Kızılcubuk, Çevresu, Çalkara, Kale, Değirmenli köyü ve Karayaka kasabasında toplam 311 dekarlık 15 tarlada; Niksar ilçesinde Mahmudiye, Yolkonak, Şahinli, Haydarbey, Güdüklü ve Gürçeşme köyünden toplam 338 dekarlık 22 tarlada; Pazar ilçesinde Mentеше, Tatar, Taşlık köyü ve Üzümlören kasabasından toplam 30 dekarlık 4 tarlada, Turhal ilçesinde Bahçebaşı köyünde 350 dekarlık 1 tarlada; Zile ilçesinde Korucuk köyünde 250 dekarlık 1 tarlada; Artova ilçesinde Merkez, Taşpınar, Altıntaş, Boyunpınar ve Akın köyünden toplam 150 dekarlık 6 tarlada; Başçiftlik ilçesinde Merkez, Karacaören, Yeşilçam, Asar ve Hatipli

köyünden toplam 175 dekarlık 6 tarlada survey çalışmaları yürütülmüştür. Toplamda 1759 dekarlık 67 patates üretimi yapılan tarlada survey yapılmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Arazi sürveyi yapılan patates üretim alanlarındaki hastalıklı bitki oranı.

İl/İlçe	Köy	Tarla No	Sürvey alanı (da)	Hastalıklı bitki oranı (%)
Tokat / Merkez	Karakaya	Tarla 1	25	% 1
		Tarla 2	10	%0
		Tarla 3	8	%0
		Tarla 4	30	%3
	Kızılköy	Tarla 5	10	%0
		Tarla 6	5	%0
		Tarla 7	14	%0
		Tarla 8	5	%0
	Cincife	Tarla 9	18	%0
		Tarla 10	10	% 1
	Akbelen	Tarla 11	10	%0
	Kızılöz	Tarla 12	10	%0*
Tokat / Erbaa	Tosunlar	Tarla 13	17	%0
		Tarla 14	6	%0
	Kızılcubuk	Tarla 15	20	% 1
		Tarla 16	80	%3
		Tarla 17	20	%0
		Tarla 18	10	%0
	Çevresu	Tarla 19	20	%2
		Tarla 20	15	%0
		Tarla 21	25	%0
	Çalkara	Tarla 22	22	%0
		Tarla 23	13	%2
	Karayaka	Tarla24	25	%0
		Tarla 25	10	% 1
	Değirmenli	Tarla 26	15	%0
	Kaleköy	Tarla 27	13	%0
	Tokat / Niksar	Mahmudiye	Tarla 28	16
Tarla 29			9	%0
Tarla 30			15	%3
Tarla 31			21	%0
Tarla 32			4	% 1
Tarla 33			22	%0
Tarla 34			7	%0*
Yolkonak		Tarla 35	25	%3
		Tarla 36	25	%0
		Tarla 37	15	%0
		Tarla 38	10	% 1

Çizelge 4.1. (devam) Arazi sürveyi yapılan patates üretim alanlarına ait bilgiler

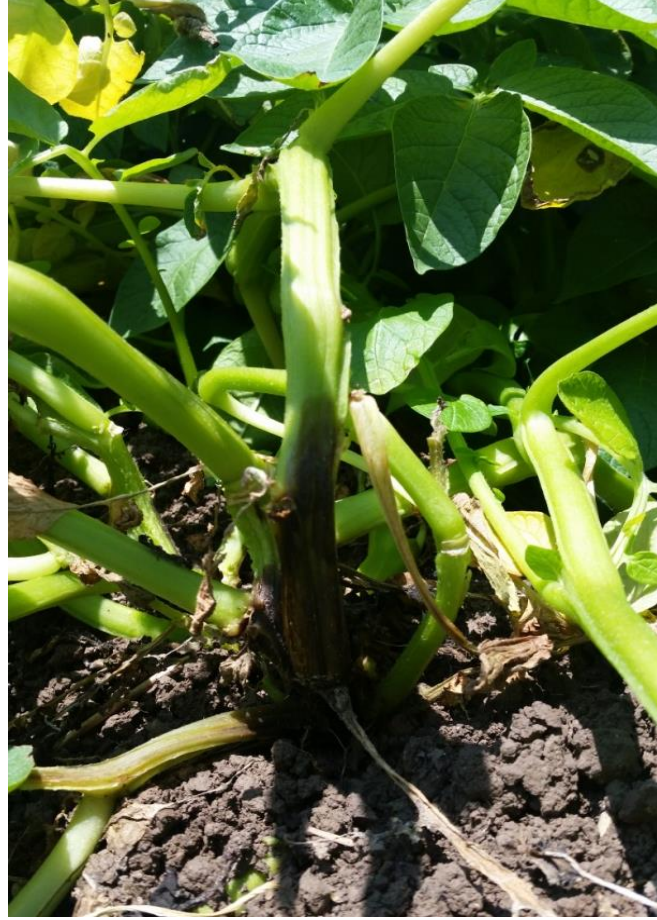
Tokat / Niksar	Yolkonak	Tarla 39	10	%0*
	Şahinli	Tarla 40	12	%3
		Tarla 41	7	%0
		Tarla 42	15	%0
	Haydarbey	Tarla 43	15	%0
		Tarla 44	10	%0
		Tarla 45	12	%3
		Tarla 46	20	%2*
	Güdüklü	Tarla 47	30	%0
		Tarla 48	10	%0
Gürçeşme	Tarla 49	28	%0	
Tokat / Pazar	Menteşe	Tarla 50	12	%0*
	Tatarköy	Tarla 51	8	%3
	Taşlık	Tarla 52	4	%0
	Üzümlören	Tarla 53	6	%0
Tokat / Turhal	Bahçebaşı	Tarla 54	350	%1*
Tokat / Zile	Korucuk	Tarla 55	250	%8
Artova	Merkez	Tarla 56	26	%0
	Taşpınar	Tarla 57	36	%0
	Altıntaş	Tarla 58	18	%0
	Boyunpınar	Tarla 59	32	%0
	Akın	Tarla 60	28	%0
Tarla 61		10	%0	
Başçiftlik	Merkez	Tarla 62	43	%0
		Tarla 63	30	%0
	Karacaören	Tarla 64	35	%0
	Yeşilçam	Tarla 65	27	%0
	Asar	Tarla 66	15	%0
Hatıpli	Tarla 67	25	%0	

\*Bitkilerde mildiyö hastalığı yüksek oranda görülmüştür.

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 (Çizelge 4.1).

Ülkemizde patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının varlığına dair birkaç çalışma bulunmakta olup, elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. İlk çalışma Benlioğlu (1991) tarafından Nevşehir, Niğde ve Bolu illerinde patates tarlalarında ve depolarda yürütülmüş olup, 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 (2016) 2015 yılında yaptığı arazi sürveylerinde, 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 sürveylerinde 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 sürveylerinde 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 sürvey çalışmalarında, patates üretim alanlarında patates bitkilerinde kök boğazından başlayarak gövde kısmında kahverengileşme, kararma, yumuşama şeklinde belirgin bir şekilde belirtiler görülmüştür (Şekil 4.2). Hasat esnasında arazilerden toplanan yumrular da yumuşama şeklinde belirtiler gözlemlenmiştir. Ayrıca bazı arazilerde mildiyö hastalığına ve bazı viral hastalık etmenlerine de rastlanılmıştır (Çizelge 4.1).



Şekil 4.2. Patates üretim alanında görülen patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığından şüphelenilen hastalıklı patates bitkisi

#### **4.2. Hastalıklı bitki ve yumru örneklerinden etmenlerin izolasyonu**

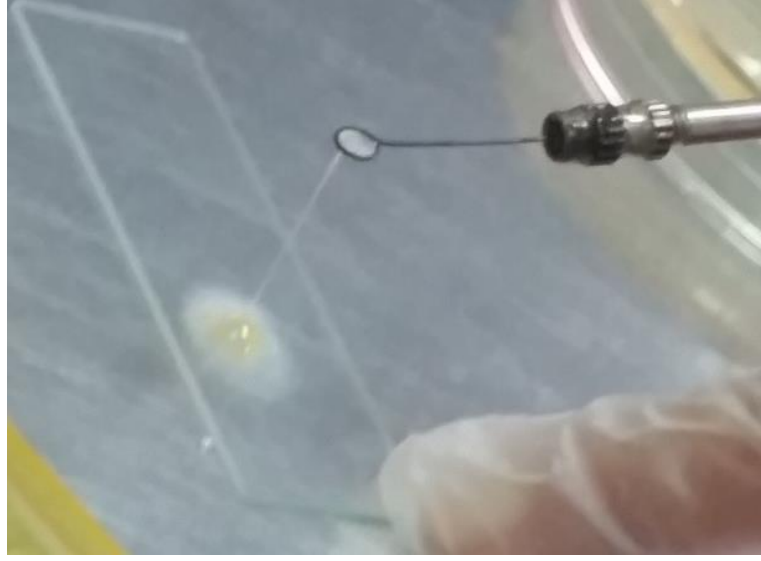
Yapılan arazi sürveyslerinde 67 patates üretim alanından hastalıktan şüphelenilen 88 adet hastalıklı bitki ve yumru örneği toplanmıştır. Bitkilerin kök boğazına yakın kısımlarından ve yumruların çürümüş doku kenarlarından sağlıklı kısmı da içerecek şekilde küçük bir doku parçası alınmış ve izolasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda King B besi yerinde gelişen bakterilerden Nutrient agar besi yerine saflaştırma yapılmış (Şekil 4.3) ve getirilen örneklerden toplam 120 adet bakteri izolatu elde edilmiştir.



Şekil 4.3. King B besi yerinde gelişen bakteri kolonileri

#### **4.3. Potasyum hidroksit testi (KOH) ile gram reaksiyon testi**

Nutrient agar besi yerinde geliştirilen 120 adet izolata %3'lük potasyum hidroksit solüsyonu ile gram reaksiyon testi uygulanmıştır. Potasyum hidroksit ile muamele gören 116 izolatta yapışkanimsi bir sünme meydana gelmiş (Şekil 4.4) ve sonuç gram negatif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2). Benzer şekilde, Dadaşoğlu ve Kotan (2017) tarafından yapılan çalışmada da çeşitli sebze ve meyvelerde yumuşak çürüklüğe neden olan 12 adet izolat KOH ile gram testine tabi tutulmuş olup, testlenen bütün izolatların gram negatif olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Gram reaksiyon testinde sünmenin meydana gelmesi

#### 4.4. Katalaz testi

Nutrient agar besi yerinde geliştirilen 120 adet izolata hidrojen peroksit ile katalaz testi uygulanmıştır. Uygulama yapılan 120 izolattan 117 tanesinde kabarcık şeklinde gaz çıkışı gözlenmiş (Şekil 4.5) ve 117 izolatta kabarcık oluşumu gözlenmiş olup katalaz pozitif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2). 3 izolatta ise herhangi bir kabarcık oluşumu gözlenmemiştir.



Şekil 4.5. Katalaz testinde kabarcık şeklinde gaz çıkışının meydana gelmesi



#### 4.5. Oksidaz testi

Nutrient agar besi yerinde 48 saat geliştirilen bakteri kültürlerine %1'lik tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ( $C_6H_4[N(CH_3)_2]_2 \cdot 2HCl$ ) solüsyonu ile oksidaz testi uygulanmıştır. 120 izolattan 52 izolat (Şekil 4.6) ve oksidaz negatif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2).

Yumuşak çürüklüğe neden olan izolatlara uygulanan gram testi, katalaz ve oksidaz test sonuçları Öztürk ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir. Amasya, Samsun, Çorum ve Yozgat illerinden elde edilen 26 adet bakteri izolatu yapılan biyokimyasal testlere göre gram negatif, oksidaz negatif ve katalaz negatif olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Oksidaz testinde pozitif sonuç veren izolat

#### 4.6. Patates yumrularında pektolitik aktivite testi

Pektolitik aktivite testinde 120 adet bakteri izolatu patates dilimleri üzerine inokule edilmiş ve 2 günlük inkübasyon sonrasında patates dilimleri üzerindeki yumuşama pozitif olarak değerlendirilmiştir. Yayma ekim sonrası seçilen 120 adet kültürden pektolitik aktivite testinde 22 adet izolat pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2; Şekil 4.7).

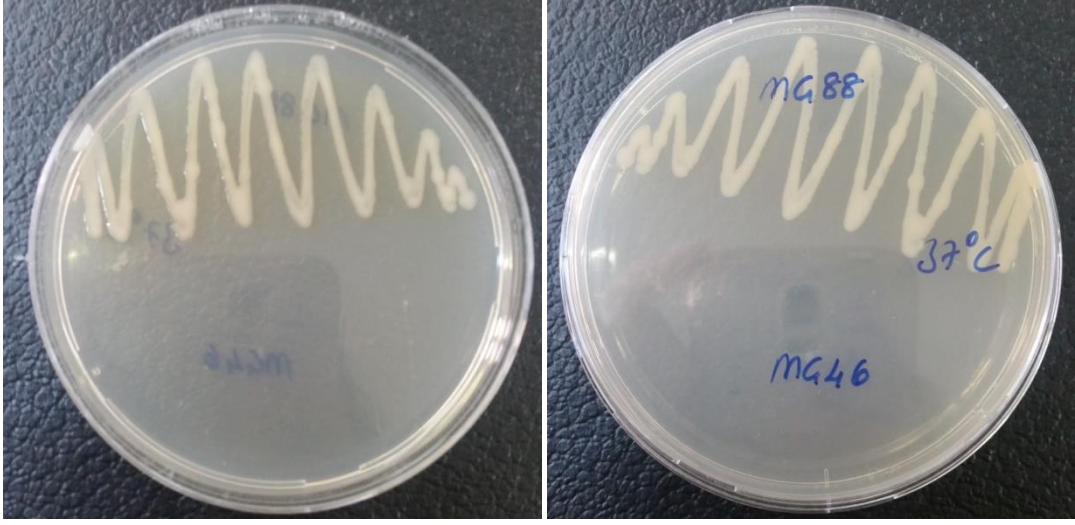


Şekil 4.7. Pektolitik aktivite testi sonucu kahverengileşme ve yumuşama

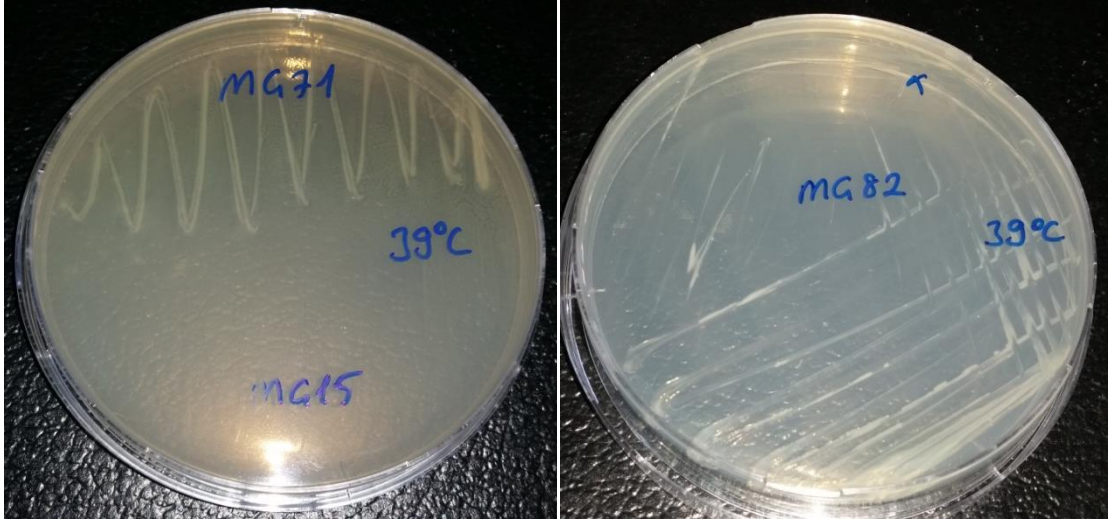
Yaptığımız çalışmada birkaç kez tekrarlanan patates yumuşama testinde bakteri izolatları patates dilimleri üzerinde 24 saat içerisinde yumuşama ve kahverengileşme meydana getirmiştir. Patates yumuşak çürüklük hastalığı için patatesteki maserasyon oluşumu oldukça önemli olup, özellikle tanılamada yapılması 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, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Dickeya* spp. türlerinin, *Pectobacterium atrosepticum* ve *Pectobacterium wasabiae* türlerine göre maserasyon üretme yeteneklerinin daha yüksek olduğu vurgulanmıştır.

#### 4.7. 37 °C ve 39 °C sıcaklıklarda gelişim testi

Nutrient agar besiyeri yerine çizilen 22 adet bakteri izolatı 37 °C ve 39 °C’de inkübe edilmiştir. 37 °C’de daha iyi gelişim gösteren 21 izolat, 39 °C’de de daha iyi gelişim gösteren 8 izolat pozitif olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Çizelge 4.2).



Şekil 4.8. 37 °C’de gelişim gösteren ve gelişim göstermeyen izolat örneği

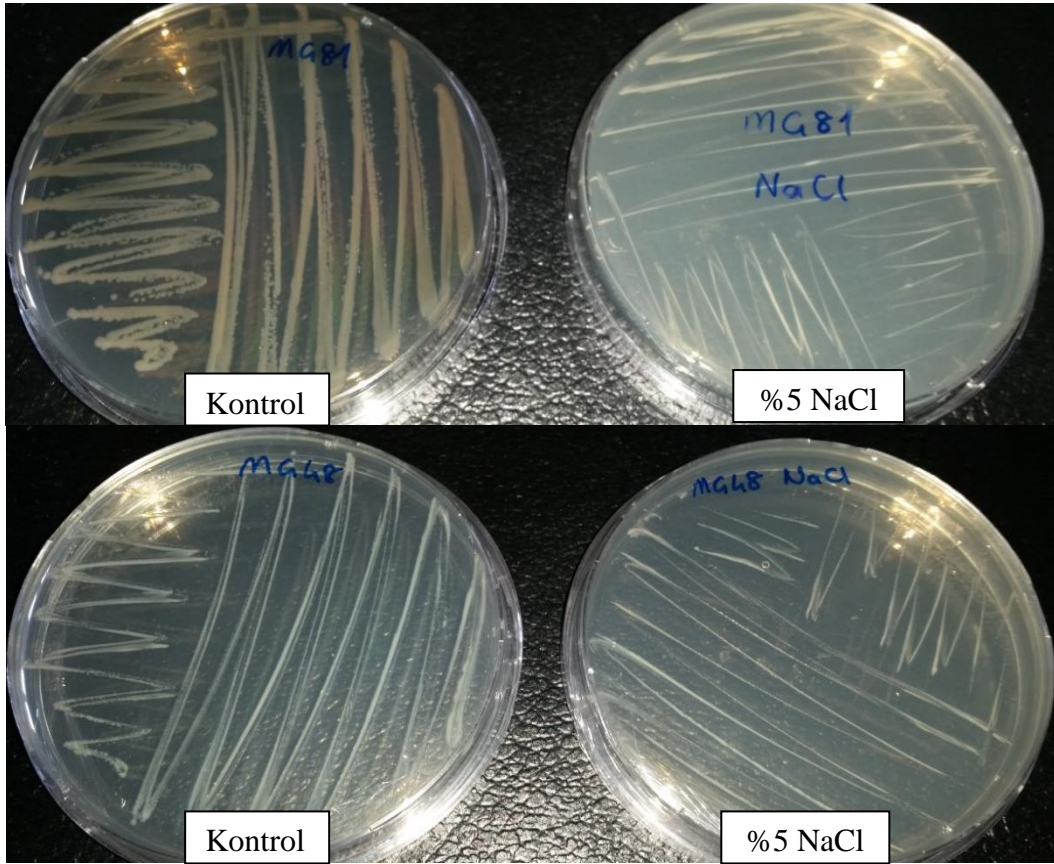


Şekil 4.9. 39 °C’de gelişim gösteren ve gelişim göstermeyen izolat örneği

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.

#### 4.8. Tuza tolerans testi

Tuza tolerans testinde %5'lik sodyum klorür (NaCl) ilaveli Nutrient agar besi yeri kullanılmıştır. Besi yerine çizilen izolatlar 28 °C sıcaklıkta inkübe edilmiş ve gelişimi gözlemlenmiştir (Şekil 4.10). İnkübasyon periyodu sonunda NaCl ilaveli besi yerinde gelişim gösteren 22 izolatın tamamı pozitif reaksiyon göstererek tüplerde türbidite oluşturmuştur. (Çizelge 4.2). Yürütülen tuza tolerans testine benzer olarak 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.



Şekil 4.10. %5'lik NaCl ilaveli Nutrient agar besi yerinde gelişim gösteren bakteri

#### 4.9. Tütünde aşırı duyarlılık testi

Tütün bitkisinde yapılan aşırı duyarlılık testinde 22 adet izolattan 12 tanesi yaprak damar arasında çökme, kahverengileşme meydana getirmiş olup HR pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.11). Ölü doku oluşturmayan 10 adet izolat ise HR negatif (-) olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.11. Tütünde aşırı duyarlılık testi sonucu ölü doku oluşumları

*Pectobacterium* ve *Dickeya* 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; Dadaşoğlu ve Kotan, 2017)

Çizelge 4.2. Yumuşak çürüklük izolatlarının biyokimyasal testlere olan reaksiyonları

İzolat Kodu	KOH	Oksidaz	Katalaz	Pektolitik Aktive	37°C	39°C	Tuza Tolerans	Aşırı Duyarluluk Testi
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)	-

Z: Zayıf

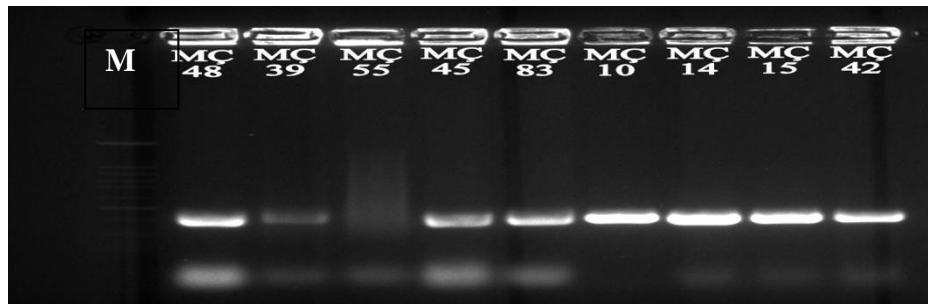
Elde edilen izolatların 37 °C ve 39 °C’de gelişim testi sonuçları diğer yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir. Dadaşoğlu ve Kotan (2017) tarafından yapılan çalışmada *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* ve *Erwinia chrysanthemi* olarak tanılanan 12 izolatın tamamı 37 °C’de gelişme göstermiştir. *Pectobacterium* türlerinde optimum gelişme sıcaklığı 25-30 °C, maksimum gelişme sıcaklığı 40 °C (Brenner ve ark., 2007) olduğu için testlediğimiz bütün izolatlar pozitif sonuç vermiştir.

#### 4.10. Patates karabacak ve yumuşak çürüklük izolatlarının PCR tekniği ile tanılması

Tokat ili ve ilçelerinden toplanan hastalıklı patates bitkisi ve yumrularından izole edilen ve biyokimyasal testler ile tanılanan 22 adet bakteri izolatu 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 bç büyüklüğünde bant oluşturmuş olup, testlenen 19 izolat *Pectobacterium* spp. olarak tanılanmıştır (şekil 4.12; Çizelge 4.3).

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: CTGTGGCCGATCAGGATGGTTTTGTCTGC primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında, 22 adet izolattan 3 tanesi Nassar ve ark. (1996)'nın bildirdiği üzere 420 bç büyüklüğünde bant oluşturmuş olup, pozitif olarak değerlendirilmiştir (şekil 4.13; Çizelge 4.3).

*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 bç büyüklüğünde bant oluşumu gözlenmemiş olup, testlenen izolatların *Pectobacterium atrosepticum* olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu durumda *Pectobacterium* spp. olarak tanılanan 19 izolat *Pectobacterium carotovorum* olarak kaydedilmiştir.

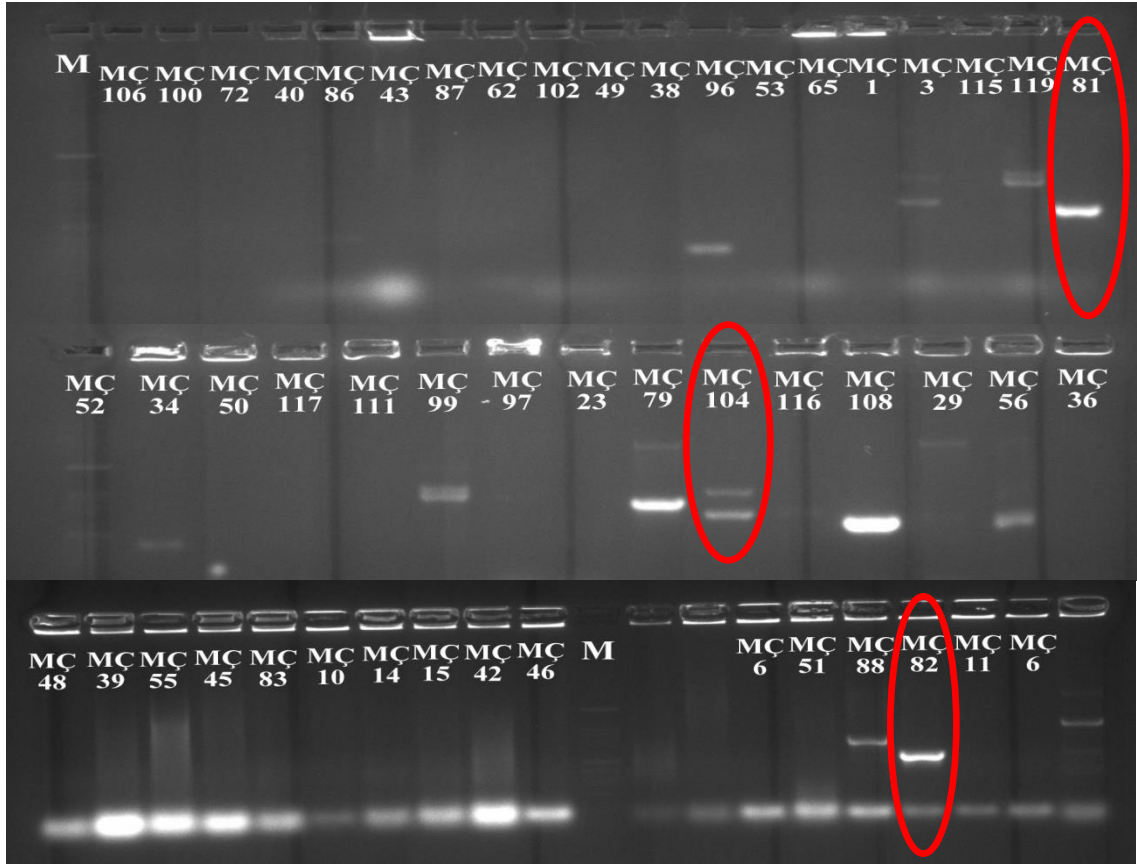


şekil 4.12. Y1 ve Y2 primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında bant oluşumlarının gözlemlenmesi

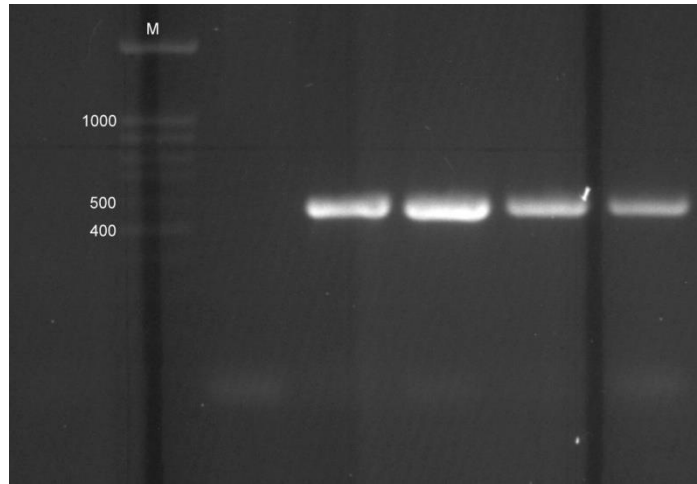
Çizelge 4.3. PCR testinde pozitif sonuç veren izolatlar

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





Şekil 4.13. ADE1 ve ADE2 Primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında bant oluşumlarının gözlemlenmesi



Şekil 4.14. ADE1 ve ADE2 Primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında pozitif bant oluşumu

Yapılan PCR çalışmasında *Pectobacterium carotovorum*'a 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 tanılamamanın 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. Araştırmacılar daha sonra izolatlara 16S rDNA sekans analizlerini yaparak Br1f/Lr primerleri ile *Pectobacterium 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., 2017).

Aynı şekilde, Amasya ilinde Marabel çeşidi patateslerden elde edilen izolatlar ilk olarak ADE1/ADE2 primer çifti ile 420 bç'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.

## 5. SONUÇ

Tokat ili patates üretim alanlarında patates karabacak ve yumuşak çürüklük hastalığının bulunma oranının belirlenmesi ve etmenin tanınması üzerine yapılan bu yüksek lisans çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Tokat ili Merkez, Turhal, Zile, Pazar, Erbaa, Niksar, Artova ve Başçiftlik ilçelerinde 2018 yılı Mart-Ağustos ayları arasında patates üretiminin yoğun olarak yapıldığı alanlarda arazi sürveyleri yapılmıştır. Yapılan sürvey sonucu, 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.

Alınan 88 adet örnekten yapılan izolasyonlar sonucu 120 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. 120 adet izolata yapılan patatesteki yumuşama testine göre 22 adet bakteri pozitif sonuç vermiş olup, izolatların biyokimyasal testlerden gram reaksiyon, katalaz, ve oksidaz testleri yapılmıştır.

Patates dilimleri üzerinde yumuşama testinden ve floresan pigment oluşturma özelliğine göre seçilen 22 adet izolat ile yapılan PCR çalışmasında 19 izolat *Pectobacterium* spp. olarak tanınmıştır. Buna ilaveten 22 adet izolat ile yapılan PCR çalışmasında ise 3 adet izolat *Dickeya* spp. olarak belirlenmiştir.

PCR sonucu pozitif sonuç veren patates pektolitik aktivite testinde yumuşama gösteren 22 izolata tütünde aşırı duyarlılık testi, 37 °C ve 39 °C sıcaklıklarda gelişim ve tuza tolerans testleri de uygulanmıştır. 22 izolattan 12 tanesi tütünde HR pozitif sonuç vermiştir. 22 izolattan 21 tanesi 37 °C'de, 8 tanesi 39 °C sıcaklıklarda gelişim göstermiştir. 22 izolattın tamamı %5 NaCl ilave edilmiş besi yerinde gelişim göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlar yapılan PCR testini destekleyici niteliğindedir.

Sonuç olarak, yapılan arazi sürveyleri ve biyokimyasal, moleküler testler sonucu Tokat ilinde Erbaa ve Niksar ilçelerinde *Dickeya* spp., Pazar, Zile, Erbaa ve Niksar ilçelerinde *Pectobacterium carotovorum* olarak belirlenmiştir. Yürütülen bu çalışmada, Tokat ilinde *Pectobacterium atrosepticum* türüne rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, *Pectobacterium* spp., *Pectobacterium atrosepticum* ve *Dickeya* spp.'ye spesifik 3 adet

primer kullanılmıştır. Daha ileriki çalışmalarda diğer turlere de ait olan primerler kullanarak pozitif sonuç veren izolatların tır/alt tır düzeyinde tanılanması planlanmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S. ve Gupta, R. S., 2016. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': Proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary*, 66(12), 5575-5599. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27620848> (10.07.2019)
- Anonim, 2018. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu. [http://www.tuik.gov.tr/MetaVeri.do?alt\\_id=1001](http://www.tuik.gov.tr/MetaVeri.do?alt_id=1001) (15.05.2019)
- Anonim, 2019. Black leg (*Erwinia carotovora*) on Potato (*Solanum tuberosum*). <https://www.ipmimages.org/collections/viewcollection.cfm?&coll=72335> (07.07.2019)
- Arioğlu, H.H., 1997. Nişasta ve Şeker Bitkileri. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 188, Ders Kitapları No:57, 3- 230s, Adana.
- Aysan, Y., Saygılı, H., Şahin, F. ve Çetinkaya R., 2005. Present Status of Bacterial Stem Rot on Tomato in Turkey. *Acta Horticulturae*, 695, 97-100. [https://www.actahort.org/books/695/695\\_10.htm](https://www.actahort.org/books/695/695_10.htm) (01.07.2019)
- Aysan, Y., Mirik, M. ve Çetinkaya-Yıldız, R., 2009. Süs Bitkilerinde Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanısı, Fenotipik, Genotipik Karakterizasyonu ve Önemli Bakteriyel Etmenlerin Hızlı Tanı Yöntemlerinin Geliştirilmesi, Tübitak Tovag-106O333 nolu proje raporu, 129s.
- Azaiez, S., Slimene, I., B., Karkouch, I., Essid, R., Jallouli, S., Djebali, N., Elkahoui, S., Limam, F. ve Tabbene, O., 2018. Biological control of the soft rot bacterium *Pectobacterium carotovorum* by *Bacillus amyloliquefaciens* strain Ar10 producing glycolipid-like compounds. *Microbiological Research*. 23-33. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.08.013> (01.07.2019)
- Barras, F., Van Gijsegem, F. ve Chattarjee, A. K., 1994. Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia*. *Annual Review of Phytopathology*, 32, 201-234.
- Bartz, J. A., Locascio, S. J. ve Weingartner, D. P., 1992. Calcium and potassium fertilization of potatoes grown in North Florida. *American Potato Journal*, 69, 39-50s. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02853409> (10.07.2019)
- Baştaş, K. K., Hekimhan, H., Maden, S. ve Tör, M., 2009. First Report of Bacterial Stalk and Head Rot Disease Caused by *Pectobacterium atrosepticum* on Sunflower in Turkey. *Plant Disease*. 93(12), 1352s. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30759529> (10.07.2019)
- Baz, M., Lahbabi, D., Samri, S., Val, F., Hamelin, G., Madore, I., Bouarab, K., Beaulieu, C., Ennaji, M. M. ve Barakate, M., 2012. Control of potato soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* and *Pectobacterium atrosepticum* by Moroccan actinobacteria isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 303-311. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-011-0820-5> (01.07.2019)
- 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. <http://ulusaltezmerkezi.com/bolu-nevsehir-ve-nigde-illerindeki-patates-uretim-alanlarinda-erwinia-spp-nin-yayginlik-oranlari-tanilanmasi-ve-inokulum-kaynaklari-uzerinde-arastirmalar/> (12.09.2017)
- Benlioğlu, K., 2008. Patates Karabacak ve Yumuşak Çürüklük Hastalığı, Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı, Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y. Meta Basım, İzmir, 75-79.
- Benlioğlu, K., 2019. Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı, Saygılı, H. Aysan, Y., Şahin, F., Soylu, S., Mirik, M. Toprak Ofset Matbaacılık, 291-298, Tekirdağ.
- Boyraz, N., Bastas, K. K., Maden, S. ve Yasar, A., 2006. Bacterial leaf and peduncle soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum*, on tulips, in Konya, Turkey. *Phytopathology*, 34(3):272-280.
- Bradbury, J.F., 1977a. *Erwinia carotovora* var. *carotovora*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No:552. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- Bradbury, J.F., 1977b. *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No:551. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- Brenner, J. D., Kieg, N. R. ve Garrity, M.G., 2007. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed p, 721-733. [https://www.academia.edu/26970818/Bergeys\\_Manual\\_of\\_Systematic\\_Bacteriology](https://www.academia.edu/26970818/Bergeys_Manual_of_Systematic_Bacteriology) (01.07.2019)
- Chen, C. W. ve Lin, C. Y., 2000. Control of *Erwinia* soft rot disease of calla lily. *Plant Pathology*, 9(3), 107-114. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20013010123> (15.06.2019).
- Czajkowski, R., Pe'rombelond, M. C. M., van Veenbc, J. A. ve Van Der Wolfa, J. M., 2011. Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review, *Plant Pathology*, 60, 999-1013. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3059.2011.02470.x> (15.06.2019)
- Çalışkan, M.E., Onaran, H. ve Arıoğlu, H., 2010. Overview of the turkish potato sector: Challenges, achievements and expectations. *Potato Research*, 53: 255-266.
- Çetinkaya-Yıldız, R. ve Aysan, Y., 2002. Süs bitkilerinde önemli bakteriyel hastalıklar. II. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi. Antalya, 310-315.
- Çetinkaya-Yıldız, R., Mirik, M., Aysan, Y., Küsek, M. ve Şahin, 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, 310s.
- 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. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=TR2011000948> (20.06.2019)
- Dadaşoğlu, F. ve 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. <http://www.igdir.edu.tr/Addons/Resmi/announc/4787/155-161.pdf> (12.09.2017)
- Darrasse, A., Priou, S., Kotoujansky, A. ve Bertheau, Y., 1994a. Isolation by genomic subtraction of DNA probes specific for *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*.

- Applied and Environmental Microbiology, 60, 298-306.  
<https://aem.asm.org/content/60/1/298.short> (28.06.2019)
- Darrasse, A., Priou, S., Kotoujansky, A. ve 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. <https://aem.asm.org/content/60/5/1437.short> (28.06.2019)
- De Boer, S. H. ve Ward, L. J., 1995. PCR Detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* associated with potato tissue. Phytopathology, 85, 854-858. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1995Articles/Phyto85n08\\_854.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1995Articles/Phyto85n08_854.pdf) (01.07.2019)
- De Boer, S. H. ve Rubio, I., 2004. Blackleg of potato. *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-I-2004-0712-01. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/prokaryote/pdlessons/Pages/Blacklegpotato.aspx> (15.06.2019)
- De Boer, S. H., Li, X. ve Ward, L. J., 2012. *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. Phytopathology 102, 937-947. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-04-12-0083-R> (23.04.2019)
- Dees, M., W., Lebecka, R., Perminow, J. I. S., Czajkowski, R., Grupa, A., Motyka, A., Zoledowska, S., Sliwka, J., Lojkowska, E. ve 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. DOI: 10.1007/s10658-016-1140-2.
- Degefu, Y., Potrykus, M., Golanowska, M., Virtanen, E. ve Lojkowska, E., 2013. A new clade of *Dickeya* spp. plays a major role in potato blackleg outbreaks in North Finland. Annals of Applied Biology 162, 231-241. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/aab.12020> (11.01.2019)
- Degefu, Y., 2017. *Dickeya* and *Pectobacterium* species: consistent threats to potato production in Europe. [https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/kasper/pelto/peruna/Potatonow/tutkimus/Yeshitila\\_PotatoNow\\_Article.pdf](https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/kasper/pelto/peruna/Potatonow/tutkimus/Yeshitila_PotatoNow_Article.pdf) (18.09.2018)
- Duarte, V., De Boer S. H., Ward, L. J. ve De Oliveira, A. M., 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. Journal of Applied Microbiology 96, 535-45. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2004.02173.x> (18.09.2018)
- Dung, J. K. S., Johnson, D. A. ve Schroeder, B. K., 2012 First Report of *Pectobacterium wasabiae* Causing Aerial Stem Rot of Potato in Washington State. The American Phytopathological Society (APS) <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-12-0444-PDN> (11.06.2019)
- Frechon, D., Exbrayat, P., Gallet, O., Guillot, E., Le Clerc, V., Payet, N. ve Bertheau, Y., 1995. Secuencias nucleotídicas para la detección de *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. Institut National de la Recherche Agronomique, Institut National Agronomique Paris-Grignon, Sanofi Diagnostics Pasteur. Brevet, 95, 12-803.
- Frechon, D., Exbrayat, P., Helias, V., Hyman, L.J., Jouan, B., Llop, P., Lopez, M. M., Payet, P., Perombelon, M. C. M., Toth, I. K., Beckhoven, J. R. C. M. V., Van Der Wolf J. M. ve Bertheau, Y., 1998. Evaluation of a PCR kit for the detection

- of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers. *Potato Research*, 41, 163-173. <https://link.springer.com/article/10.1007%2F02358439> (27.04.2019)
- Gaffaroğlu, S., Horuz, S. ve Aysan, H., 2019. Farklı Bitki Besleme Programlarının Domates Gövde Çürüklüğü (*Pectobacterium carotovorum*) Hastalığına Etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(2). 263-270.
- Gardan, L., Gouy, C., Christen, R. ve 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. <https://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.02423-0> (15.04.2018)
- Goto, M. ve 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.
- Hélias, V., Le Roux, A. C., Bertheau, Y., Andrivon, D., Gauthier, J. P. ve Jouan, B., 1998. Characterization of *Erwinia carotovora* subspecies and detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in potato plants, soil and water extracts with PCR-based methods. *European Journal of Plant Pathology*, 104, 685-699. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1008666801839> (15.04.2019)
- Hyman, L. J., Birch, P. R. J., Dellagi, A., Avrova, A., O. ve Toth, I. K., 2000. A competitive PCR-based method for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers. *Letters in Applied Microbiology*, 30, 330-335. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1472-765x.2000.00736.x> (18.03.2018)
- Issazadeh, K., Rad, S. K., Zarrabi, S. ve Rahimibashar, M. R., 2012. Antagonism of *Bacillus* species against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(7), 1615-1620.
- Jones, L. R., 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, H. W., Kwon, S. W. ve Go, S. J., 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. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-3059.2003.00822.x> (19.07.2018)
- Khayri, S., Cigna, J., Chong, T. M., Quêtu-Laurent, A., Chan, K. G., Hélias, V. ve 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.
- Krzyzanowska, D. M., Potrykus, M., Golanowska, M., Polonis, K., Gwizdek-Wisniewska, A., Lojkowska, E. ve Jafra, S., 2012. Rhizosphere Bacteria As Potential Biocontrol Agents Against Soft Rot Caused By Various *Pectobacterium* And *Dickeya* Spp. *Strains. Journal of Plant Pathology*, 94 (2), 367-378.



- Kılıç, M., 2011. Süs Bitkilerinde Yumuşak Çürüklük Etmeni *Erwinia* Türleri ve Alttürlerinin Moleküler Tanısı. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- King, E. O., Ward, M. K. ve Raney, D. E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44, 301-307.
- Li, Z., Wang, T., Luo, X., Li, X., Xia, C., Zhao, Y., Ye, X., Huang, Y., Gu, X., Cao, H., Cui, Z. ve Fan, J., 2018. Biocontrol potential of *Myxococcus* sp. strain BS against bacterial soft rot of calla lily caused by *Pectobacterium carotovorum*. *Biological Control*. 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol>.
- Lim, A. L., Jee, S., Lee, D. H., Roh, E., Jung, K., Oh, C. ve Heu, S., 2013. Biocontrol of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Using Bacteriophage PP1. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23 (8), 1147-1153.
- Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H. S., Reedy, R. M., Yedidia, I., Breuer, J., Breuer, J., Glasner, J. D., Perna, N. T., Kelman, A., ve Charkowski, A. O., 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology* 97, 1150-1163. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-97-9-1150> (15.06.2018)
- Malathrakis, N. E. ve Goumas, D. E., 1987. Bacterial soft rot of tomato in plastic greenhouse in Crete, *Annals of Applied Biology*, 111, 115-123.
- McCarter-Zorner, J., Harrison, M. D., Franc G. D., Quinn, C. E., Ann Selles, I. ve Grham, D. C., 1985. Soft rot *Erwinia* bacteria in the rhizosphere of weeds and crop plants in Colorado, United States and Scotland, *Journal of Applied Bacteriology*, 59, 357-368. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2672.1985.tb03331.x> (01.07.2019)
- Mikicinski, A., Sobiczewski, P., Sulikowska, M., Pulawska, J. ve Treder, J., 2010. Pectolytic bacteria associated with soft rot of calla lily (*Zantedeschia* spp.) tubers. *Journal of Phytopathology* 158, 201-209. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0434.2009.01597.x> (01.07.2019)
- Nabhana, S. Wydrab, K. Lindec, M., ve Debener, T., 2012. 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, 498-508. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3059.2011.02546.x> (11.12.2018)
- Nassar, A., Darrase, A., Lemattre, M., Kotoujansky, A., Dervin, C., Veled, R., ve 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. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC168003/> (12.12.2018)
- Ngadze, E., Brady, C. L., Coutinho, T. A. ve Van Der Walls J. E., 2012. Pectinolytic bacteria associated with potato soft rot and blackleg in South Africa and Zimbabwe. *European Journal of Plant Pathology*, 134, 533-549.
- Norman, D. J., Yuen, J. M. F., Resendiz, R. ve Boswell, J., 2003. Characterization of *Erwinia* populations from nursery retention ponds and lakes infected ornamental

- plants in Florida, *Plant Disease*, 87(2), 193-196.  
<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS.2003.87.2.193> (15.12.2019)
- Öztürk, M., 2016. Orta Karadeniz bölgesinde patatestede sorun olan *Pectobacterium* ve *Dickeya* spp. bakteriyel etmenleri üzerine araştırmalar (Doktora Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun.
- Öztürk, M. ve Aksoy, H. M., 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, H. M., Öztürk, S., Potrykus, M. ve Lojkowska, E., 2016. First report of blackleg and soft rot caused by *Pectobacterium wasabiae* in Turkey. *New Disease Reports*, 34, 17s.  
[https://www.researchgate.net/profile/Hasan\\_Aksoy4/publication/309028328\\_First\\_report\\_of\\_potato\\_blackleg\\_and\\_soft\\_rot\\_caused\\_by\\_Pectobacterium\\_wasabiae\\_in\\_Turkey/links/5800b85c08aec0ee86b89db2.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Hasan_Aksoy4/publication/309028328_First_report_of_potato_blackleg_and_soft_rot_caused_by_Pectobacterium_wasabiae_in_Turkey/links/5800b85c08aec0ee86b89db2.pdf) (22.06.2019)
- Öztürk, M. ve Aksoy, H. M., 2017. First report of *Dickeya solani* associated with potato blackleg and soft rot in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 99 (1), 287-304.  
<http://www.sipav.org/main/jpp/index.php/jpp/article/view/3807/2449> (22.06.2019)
- Öztürk, M., Aksoy, H., M., Potykus, M. ve Lojkowska, E., 2018. Genotypic and phenotypic variability of *Pectobacterium* strains causing blackleg and soft rot on potato in Turkey. *Eur J Planth Pathol.* 152, 143-155.
- Parashar, R. D. ve Sindhan, G. S., 1988. Efficacy of klorocin and other chemicals in controlling soft rot of potato in field and storage. *Indian J Mycol Pl Pathol*, 18, 39-42.
- Perombelon, M. C. M ve Kelman, A., 1980. Ecology of the soft rot erwinias. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18, 361-387.  
<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.py.18.090180.002045?journalCode=phyto> (22.06.2019)
- Pitman, A. R., Harrow, S. A. ve Visnovsky, S. B., 2010. Genetic characterisation of *Pectobacterium wasabiae* causing soft rot disease of potato in New Zealand. *Eur J Plant Pathol.* 126, 423-435. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10658-009-9551-y> (01.07.2019)
- Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R., Achouak, W. ve 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. zaeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 1415-1427.
- Sands, D. C., 1990. Criteria-Determinative Tests. In *Methods in Phytobacteriology*. (Z. Klements, K. Rudolp and D. C. Sands).
- Saygılı, H. Aysan, Y. ve Şahin, F., 2006a. Erwinia Soft Rot Grup. *Fitobakteriyoloji*. 233-244.
- Saygılı, H., Yokaş, İ., Şahin, F., Tosun, N., Aysan, Y., Türküsay, H., Üstün, N., Altunlu, H., Mirik, M. ve Çetinkaya-Yıldız, R., 2006b. Domateste Öz Nekrozu Hastalığı. *Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri*. İzmir. 10 s.

- Saygılı, H., Aysan, Y., Şahin, F., Soylu, S., Mirik, M. ve Kotan, R., 2017. Fitobakteriyoloji 1. T.C. Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Baskı Yayın, Genel yayın no:19, 97-101, Tekirdağ.
- Slawiak, M., Van Backhoven, J. R. C. M., Speksnijder, A. G. C. L., Czajkowski, R., Grabe, G. ve Van Der Wolf, J. M., 2009. Biochemical and genetical analysis reveal a new clade of biovar 3 *Dickeya* spp. strains isolated from potato in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 125, 245–261. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10658-009-9479-2> (15.04.2019)
- Sledz, W., Jafra, S., Waleron, M., ve Lojkowska, E., 2000. Genetic diversity of *Erwinia carotovora* strains isolated from infected plants grown in Poland. *Bulletin OPPE/EPPO*, 30, 403-407..
- Smid, E. J., Jansen, A. H. J., Gorrís, L. G. M., 1995. Detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *Erwinia chrysanthemi* in potato tubers using polymerase chain reaction. *Plant Pathology*, 44, 1058–1069. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02665.x> (01.01.2018)
- Smith, I. M., Dunez, J., Philips, D. H., Archer, A. L. ve Lelliott, R. A., 1988. *European Handbook of Plant Diseases*, Blackwell Publishing, 583 p.
- Stommel, J. R., Goth, R. W., Haynes, K. G. ve Seong, H. K., 1996. Pepper (*Capsicum annuum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Plant Disease*, 80, 1109-1112.
- Türkmenoğlu, Z., Gündoğdu, M. ve Kaya, S., 1975. Enginar Çiçek Tomurcuklarında Zarar Yapan Siyah Çürüklük (*Erwinia carotovora* Holland L. R. Jones) Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*. 15(1), 41-55. <http://www.bitkikorumbulteni.gov.tr/index.php/bitki/article/viewFile/925/906> (15.05.2019)
- Toth, K., Bertheau, Y., Hyman, L. J., Laplaze, L., Lopez, M. M., Menicol, J., Niepold, F., Persson, P., Salmond, G. P. C., Sletten, A., Van Der Wolf, J. M. ve Perombelon, M. C. M., 1999a. Evaluation of phenotypic and molecular typing techniques for determining diversity in *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 770–781. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2672.1999.00929.x> (26.06.2019)
- Toth, K., Hyman, L.J. ve Wood, J.R., 1999b. A one step PCR-based method for the detection of economically important soft rot *Erwinia* species on micropropagated potato plants. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 158-166s.
- Toth, K., Van Der Wolf, J. M., Saddler, G., Lojkowska, E., Helias, V., Pirhonen, M., Tsrör, L. ve Elphinstone, J. G., 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*, 60, 385-99. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x> (22.06.2019)
- Tsrör L. L., Erlich O., Lebiush S., Hazanovsky M., Zig U., Slawiak M., Grabe G., Van Der Wolf J. M. ve Van Der Haar J. J., 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. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10658-008-9368-0> (21.06.2019)
- Tsrör L. L., Lebiush, S. Erlich, O., Ben-Daniel, B. ve Van Der Wolf, J., 2010. First report of latent infection of *Cyperus rotundus* caused by a biovar 3 *Dickeya* sp.(Syn.

- Erwinia chrysanthemi*) in Israel. New Disease Reports, 22, 14s. <https://www.ndrs.org.uk/article.php?id=022014> (15.06.2019)
- Van Beckhoven, J. R. C. M., De Haan, E. G., Van Hoof, R., De Raaij-Wieringa, G., Bonants, P. ve Van de Wolf, J. M., 2001. Survey naar serogroepen van *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* en *Erwinia chrysanthemi* in Nederland. Internal report, Plant Research International, 21 s.
- Van Der Merwe, J., Coutinho, T., Korsten, L. ve Van Der Waals, J., 2010. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. European Journal of Plant Pathology, 126, 175-85. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10658-009-9531-2> (15.03.2019)
- Van der Wolf, J. M., Van der Zouwen, P. S., Van Beckhoven, J. R. C. M., Speksnijder, A. G. C. L., De Haan, E. G. ve Boons, C. C. A., 2003. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* als primaire veroorzaker van zwartbenigheid in de aardappel. Plant Research International. Internal report. 38 p.
- Van der Wolf, J. M., Nijhuis, E. H., Kowalewska, M. J., Saddler, G. S., Parkinson, N., Elphinstone, J. G., Pritchard, L., Toth, I. K., Lojkowska, E., Potrykus, M., Waleron, M., de Vos, P., Cleenwerck, I., Pirhonen, M., Garlant, L., Helias, V., Pothier, J. F., Pfluger, V., Duffy, B., Tsrer, L. ve 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, C. J. J., 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., ve Waleron, K., 2017. Transfer of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* strains isolated from potatoes grown at high altitudes to *Pectobacterium peruvienne* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology. 41 (2), 85-93.
- Yishay, M., Burdman, S., Valverde, A., Luzzatto, T., Ophir, R. ve Yedidia, I., 2008. Differential pathogenicity and genetic diversity among *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* isolates from monocot and dicot hosts support early genomic divergence within this taxon. Environmental Microbiology, 10(10), 2746–2759. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1462-2920.2008.01694.x> (28.06.2019)

## **7. ÖZGEÇMİŞ**

1994 tarihinde Tokat'ta doğdu. 2012 yılında başladığı Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nden 2016 yılında mezun oldu ve aynı yıl Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı.