

78780

T.C.
EGE UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

BOLU, NEVŞEHİR VE NİĞDE İLLERİNDEKİ PATATES ÜRETİM
ALANLARINDA *Erwinia* spp.'nin YAYGINLIK ORANLARI,
TANI LANMASI VE INOKULUM KAYNAKLARI ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

Hazırlayan: Kemal BENLİOĞLU

Danışman : Prof.Dr. Tayyar BORA

BORNOVA-İZMİR

1991

Ö N S Ö Z

Patates son yıllarda verim artışına paralel olarak üretim miktarı da artan önemli tarımsal ürünlerimizden biridir. Ne varki patates tarımında en önemli girdilerden biri olan tohumluk problemi ülkemizde halen çözüme kavuşturulamamış temel konulardandır. Türkiye'de patates tohumluk talebi ithalat yoluyla karşılanmaya çalışılmakta, bu da gereksinim duyulan miktarın çok altında kalmaktadır. Bu çalışma öncelikle ülkemizde tohumluk patates üretim merkezleri olan Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde, tarla ve depo devresinde patateslere zarar veren *Erwinia* cinsine bağlı bakterilerin tanımlanması, yaygınlık oranının saptanması amacıyla ele alınmıştır. Yumuşak çürüklük grubu olarak adlandırılan ve genelde *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *E. carotovora* subsp. *atroseptica* ve *E. chrysanthemi* türlerini içeren bu grup bakteriler, dünyada ticari ve özellikle tohumluk patates üretiminde üzerinde önemle durulan bakteriyel etmenlerdir. Bu nedenle adı geçen bakterilerin, Bolu, Nevşehir, Niğde illerinde olası inokulum kaynaklarını belirlemekte, çalışmanın ikinci ana hedefini oluşturmuştur.

Bu hedeflere ulaşabilmek amacıyla yürütülen çalışmalar sonunda elde edilen bulguların, patates üreticisine, yayımcı ve tohumluk kontrolü yapan tarım kuruluşlarına, karantina teşkilatına, tohumluk patates endüstrisine ve bu konuda çalışan araştırmacılara yararlı olacağı kanısındayım.

Bu çalışmanın ele alınmasında değerli katkılarıyla beni yönlendiren sayın hocam Doç.Dr. Hikmet SAYGILI'ya ve bu tezin sonuçlandırılmasında değerli bilgileriyle yardımlarını gördüğüm sayın hocam Prof.Dr. Tayyar BORA'ya teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca çalışmaların yürütül-

mesine olanak sağlayan Ankara Zirai M¼cadele Araştırma Enstit¼s¼ m¼d¼rllerinden sayın A.Ulvi KILIÇ ve Dr. Y.Emin ÖKTEM'e, bu çalışmanın gerçekteştirilmesinde maddi destek sağlıyan TÜBİTAK tarım Ormancılık Grubu yetkililerine, laboratuvar ve arazi çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Meriç ÖZAKMAN ve Mahmut ÖZT¼RK'e içtenlikle teřekk¼r ederim. Ayrıca bu çalışmayla elde etmek istediğim akademik kariyere ulaşmada bana manevi destek ve cesaret veren sevgili eşim Seher BENLİOğLU'na sonsuz teřekk¼r eder, bu tezi biricik oğlum Can'a ithaf ederim.

1991, BORNOVA

Kemal BENLİOğLU



İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

ÇİZELGE	
ŞEKİL LİSTESİ	
ABSTRAKT	
ABSTRACT	
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR	8
3. MATERYAL VE METOD	16
3.1. Materyal	16
3.2. Metod	16
3.2.1. Sürvey çalışmaları	16
3.2.1.1. Tarla sürveyleri	17
3.2.1.2. Depo sürveyleri	18
3.2.2. İnokulum kaynakları	20
3.2.2.1. İthal tohumluk patatesler	20
3.2.2.2. Yeni yumrular	20
3.2.2.3. Sulama suları	21
3.2.2.4. Toprak ve rizosfer	21
3.2.3. Bakterilerin izolasyonu	22
3.2.3.1. Saplardan izolasyon	23
3.2.3.2. Çürük yumrulardan izolasyon	24
3.2.3.3. Sulardan izolasyon	24
3.2.3.4. Toprak ve rizosferden izolasyon	25
3.2.4. Bakterilerin tanılanması	26
3.2.4.1. Patojenisite ve virulens	29
3.2.4.1.1. Patates dilimleri testi	29
3.2.4.1.2. Patates bitkilerinde patojenisite ve virulens	29
3.2.4.2. Biyokimyasal testler	30
3.2.4.2.1. Glikoz fermentasyonu	31
3.2.4.2.2. Karbonhidratlardan asit oluşumu	31

	<u>Sayfa No.</u>
3.2.4.2.3. Fosfataz	32
3.2.4.2.4. İndol	33
3.2.4.2.5. Sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu	33
4. BULGULAR	36
4.1. Sürvey Çalışmaları	36
4.1.1. Tarla sürveyleri	36
4.1.2. Depo sürveyleri	50
4.2. İnokulum Kaynakları	56
4.2.1. İthal tohumluk patatesler	56
4.2.2. Yeni yumrular	61
4.2.3. Sulama suları	64
4.2.4. Toprak ve rizosfer	66
4.3. Bakterilerin İzolasyonu	67
4.4. Bakterilerin Tanımlanması	68
4.4.1. Patojenisite ve virulens	71
4.4.1.1. Patates dilimleri testi	71
4.4.1.2. Patates bitkilerinde patojenisite ve virulens	71
4.4.2. Biyokimyasal testler	74
4.4.2.1. Glikoz fermantasyonu	74
4.4.2.2. Karbonhidratlardan asit oluşumu	74
4.4.2.3. Fosfataz	75
4.4.2.4. İndol	76
4.4.2.5. Sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu	77
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	88
ÖZET	118
SUMMARY	121
KAYNAKLAR	106

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa No.</u>
1 Türkiye'de 1981-1990 yılları arasında patates ekiliş alanı, üretimi ve verimi.	1
2 Türkiye'nin 1981-1990 yılları arasında ülkeler düzeyinde tohumluk patates ithalat miktarları (ton) ve değeri . . .	3
3 Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates üretimi ve incelenen tarla sayıları	17
4 Bolu ilinde 1989-1990 yıllarında patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan sürvey sonuçları	42
5 Nevşehir ilinde 1989-1990 yıllarında patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan sürvey sonuçları	44
6 Niğde ilinde 1989-1990 yıllarında yapılan patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan sürvey sonuçları..	48
7 1989-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir, Niğde patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan sürveylerin veri özeti	49
8 Bolu ilinde 1989-1990 yıllarında patates depolarında yapılan sürvey sonuçları . . .	52
9 Nevşehir ilinde 1989-1990 yıllarında patates depolarında yapılan sürvey sonuçları	53

ÇizelgeSayfa No.

10	Niğde ilinde 1989-1990 yıllarında patates depolarında yapılan sürvey sonuçları . . .	54
11	1989-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates depolarında yapılan sürveylerin veri özeti	55
12	1988-1990 yıllarında ithal edilen tohumluk patates yumrularının <i>Erwinia carotovora</i> ile bulaşma oranları	60
13	Nevşehir ilinde 4 farklı tarlada hastalıklı bitkilerden alınan yeni yumruların <i>E. carotovora</i> ile bulaşma oranı ve depoda çürüme oranları	63
14	1989 yılında Bolu ilinde Gölköy Barajı, Çepni deresi sularıyla Nevşehir ve Niğde illeri patates ekim alanlarındaki yeraltı su kaynaklarının <i>Erwinia carotovora</i> ile bulaşma durumu	65
15	1989 yılında Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates yetiştirilen tarlalardan alınan toprak örneklerinde <i>Erwinia carotovora</i> 'nın bulaşma durumu	66
16	<i>Erwinia carotovora</i> izolatlarının virulens değerlerinin dağılımı.	72
17	Çalışmalarda elde edilen <i>Erwinia carotovora</i> biyokimyasal test sonuçları	79
18	Çalışmalarda elde edilen <i>Ecc</i> ve <i>Eca</i> izolatlarının biyokimyasal test sonuçları veri özeti	86

ÇizelgeSayfa No

19	Bolu, Nevşehir, Niğde illerinde hastalıklı bitki materyali ve çeşitli kaynaklardan izole edilen <i>Ecc</i> ve <i>Eca</i> izolatlarının biyokimyasal test sonuçlarının Graham (1972) ve Dickey (1979)'un bulgularıyla karşılaştırılması	100
----	--	-----

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa No.</u>
1 Besi yerinde çok sayıda izolatin testlenmesi için petri kabı altına çizilen şablon	27
2 Nevşehir ili Ürgüp ilçesinde tarlada <i>Erwinia carotovora</i> subsp <i>atroseptica</i> ile infekteli patates bitkilerinin görünümü	37
3 Ürgüp'te bir tarlada <i>Erwinia carotovora</i> subsp <i>atroseptica</i> ile infekteli bir patates bitkisinin kök boğazında oluşan belirtiler...	38
4 Nevşehir ili Derinkuyu ilçesinde Granola çeşidi bir patates bitkisinde Karabacak hastalığının belirtileri ve infekteli sapın yakından görünümü	39
5 Nevşehir ili merkez ilçede patates tarlalarında Granola çeşiti bir bitkide Karabacak hastalığının gövdedeki görünümü. . . .	41
6 Yumru inkubasyon metoduyla testlenmiş, <i>Erwinia carotovora</i> ile bulaşık patates yumruları.	58
7 Condor çeşiti bir patates yumrusunda yapışkan, sümüksü yumuşak çürüklük belirtileri.	59
8 Nevşehir ilinde tarlada Karabacak belirtileri görülen bir patates bitkisinde stolonlar kanalıyla infekte olmuş yeni yumrular.	62

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa No.</u>
9	Nevşehir ilinde tohumluk patates tarla- sında Karabacak belirtileri gösteren bir bitkide oluşan yeni yumrulardaki yumuşak çürüklük belirtileri	63
10	CVP besiyerinde tipik çukur oluşturan <i>Erwinia carotovora</i> kolonileri	68
11	<i>Eca</i> -1039 (1), <i>Ecc</i> -133 (2), <i>Echr</i> -4043 (3) ve 4 farklı <i>E. carotovora</i> izolatu (4,5,6 ve 7) ile inokule edilmiş besiyerlerinde gelişen bakteri kolonileri	70
12	<i>Eca</i> -209 no'lu depo izolatıyla inokule edilmiş Granola çeşiti bir patates bit- kisinin inokulasyondan 4 gün sonraki görünümü	73
13	Palatinoz'dan asit oluşumu.	75
14	Fosfataz testi	76
15	İndol testi	77
16	Katı besiyerinde sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu testi	78

ABSTRAKT

Bu alışma Bolu, Nevşehir, Niğde illeri patates üretim alanlarında yumuşak rklk grubu *Erwinia*'ların varlığını, yaygınlık oranını ve başlıca inokulum kaynaklarını araştırmak amacıyla ele alınmıştır. 1989-1990 yılları arasında bu illerde tarla ve depo sürveyleri yapılarak yumuşak rklk grubu *Erwinia*'ların yaygınlık oranı, depolanan patateslerde bu bakterilerle bulaşma ve çürüme oranları saptanmıştır. Yumuşak rklk grubu *Erwinia*'ların inokulum kaynaklarını belirlemek amacıyla: ithal edilen tohumluk patateslerde, hastalıklı ve sağlıklı patates bitkilerinde oluşan yeni yumrulara, patates yetiştirilen tarlalardaki topraklarda, patates bitkilerinin rizosferinde, patates sulamasında kullanılan yüzey ve yeraltı su kaynaklarında yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların varlığı araştırılmıştır. *Erwinia*'ların izolasyonu için zenginleştirme teknikleri ve seçici besiyeri (CVP) kullanılmıştır. Elde edilen btn *Erwinia* izolatlarının patojenisite testleri yapılmış ve virulens değerleri belirlenerek biyokimyasal farklılıkları ortaya konmuştur.

ABSTRACT

This study was undertaken to investigate the presence and prevalence of soft rot erwinias and their sources of primary inoculum in potato growing areas of Bolu, Nevşehir and Niğde provinces. Field and storage surveys in these provinces were carried out between 1989 and 1990. The prevalence of soft rot erwinias, decay rate and the level of infestation of potato tubers with these bacteria in storage were evaluated. To determine the sources of inoculum for soft rot erwinia: imported

seed potatoes, daughter tubers from infected and non-infected parent plants, soils of potato fields, rhizosphere of potato plants, surface and underground waters used to irrigate potatoes were tested for the presence of soft rot erwinias. Enrichment techniques and selective media (CVP) were used to isolate soft rot erwinias. Pathogenicity and virulence of all erwinia isolates were determined and, they were differentiated biochemically.



1. G İ R İ Ş

Patates (*Solanum tuberosum* L.) dünyada halkın beslenmesinde ağırlık kazanan temel ürünler itibariyle pirinç ve buğdaydan sonra 3. sırada gelmektedir. İnsan beslenmesindeki bu önemli yerinin yanısıra hayvan yemi olarak da kullanıldığı gibi bazı endüstri ürünleri için (nişasta, çocuk maması, pudra, glikoz, ispirto, tutkal, dekstrin gibi) vazgeçilmez bir hammadDEDİR.

Türkiye bulunduğu coğrafi kuşak ve sahip olduğu arazi yapısı nedeniyle patates yetiştirmeye çok uygun bir ülke olup, hemen hemen her yerde patates tarımı yapılabilir. Son yıllarda artan patates üretimi, Türk halkının beslenme diyeti içinde patatesin giderek daha çok önem kazandığını göstermektedir. 1981-1990 yılları arasında patates ekim alanlarında %7, verimde %34 ve üretimde %43 oranında bir artış görülmektedir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Türkiye'de 1981-1990 yılları arasında patates ekiliş alanı, üretimi ve verimi(1).

Yıllar	Ekiliş alanı 1000 ha	Üretim 1000 ton	Verim kg/ha
1981	180	3.000	16.667
1982	180	3.000	16.667
1983	185	3.050	16.486
1984	190	3.200	16.842
1985	207	4.100	19.807
1986	196	4.000	20.408
1987	194	4.300	22.165
1988	196	4.350	22.194
1989	190	3.900	20.526
1990	192	4.300	22.395

(1) Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Tarım İstatistikleri

1985 li yıllardan itibaren 4 milyon tonu bulan patates üretimimizdeki bu olumlu artışta en büyük etken,

Üretim alanının genişlemesi yanında birim alandan elde edilen üründeki artışlardır. Verimdeki bu yükselme sulama olanaklarının artışı, gübre kullanımı, tarımsal mekanizasyon vb. işlemlerin zamanında ve dozunda uygulanması ve de en önemlisi Resy, Granola, İlona, Marfona, Ausonia gibi yüksek verimli, ülkemiz koşullarına iyi adapte olan çeşitlerin üretimlerinin yaygınlaştırılmasından dolaydır. Ne varki, üretimin en önemli ve temel girdilerinden biri olan patates tohumluk problemi halen ülkemizde çözüme kavuşturulmamış temel sorunlardan biridir. Türkiye'de yaklaşık 200.000 hektarlık alanda patates tarımı yapıldığı, bir dekara 200 kg patates tohumluğu kullanıldığı ve de tohumun 3-4 yılda bir yenilenmesi esas alındığında ihtiyaç duyulan sertifikalı tohumluk miktarı 100.000 ton civarındadır. Patates reticisinin tohumluk talebi büyük ölçüde Tarım Kredi Kooperatifleri ve özel sektör tarafından ithal edilen tohumlukla karşılanmaya çalışılmaktadır. Çizelge 2 de 1981-1990 yılları arasında patates tohumluğu ithal edilen ülkelere ve ithal edilen miktarlar yıllara göre verilmiştir. Çizelge 2 de görüldüğü gibi önemli miktarda patates tohumluk ithalatı 1985 yılında başlamış olup, son beş yılda 4000-9000 ton arasında değişmektedir. İthalatın büyük bir çoğunluğu Avrupa ülkelerinden yapılmaktadır. Ancak ithal edilen ve sözleşmeli çiftçilere dağıtılarak elde edilen sertifikasyonu yapılmış tohumluk miktarı, ihtiyaın oldukça altında kalmaktadır. V.Beş Yıllık Kalkınma Planı'nda tohumluk konusunda yüksek verimli standart çeşitlerin yetiştirilmesine imkan veren bir tohumluk endüstrisinin oluşturulması hedef alınarak, bu alanda yurt dışında geliştirilen teknolojiler ile verimli ve iyi kalitede tohum çeşitlerinin süratle çiftçiye ulaştırılması öngörülmektedir (Anonymous, 1985).

Ülkemizde ithal tohumluk kullanımının başlamasıyla üretim miktarının izlediği artış eğilimine karşılık, patates ihracatımız üretimin ancak %0.3-0.6 sını teşkil eden sembolik miktarlarda kalmaktadır. Hazine Dış Ticaret Müsteşarlığı Elektronik Bilgi İşlem Merkezi kayıtlarına göre son 5 yılda

Çizelge 2. Türkiye'nin 1981-1990 yılları arasında ülkeler düzeyinde tohumluk patates ithalat miktarları (ton) ve değeri (1)

	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Almanya	0.3	0.4	-	-	3023	2568	1343	994	1864	3468
Avusturya	21.1	-	-	-	-	-	-	-	-	84
ABD	-	-	37.2	34.9	81	-	-	-	-	-
Bangladeş	-	-	-	-	-	-	-	-	-	188
Fransa	-	-	-	-	-	-	0.5	43	0.6	16
Hollanda	-	-	-	20	2220	4115	2515	2509	50	2826
İngiltere	-	-	-	-	794	1	1.5	-	-	10
İsviçre	-	-	-	-	-	-	-	21	144	-
İtalya	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-
Kanada	-	-	-	-	-	2406	2000	4550	1900	2792
Polonya	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-
TOPLAM (ton)	21.4	0.4	37.2	54.9	6118	9090	5900	8157	3958.6	9384
DEĞER (1000 Dolar)	12	0.1	18	37	2209	3221	2347	2945	1646	4638

(1) Hazine ve Dış Ticaret Müsteşarlığı Elektronik Bilgi İşlem Merkezi kayıtları.

yıllık 8408 ton ile 48130 ton arasında değişen miktarlarda ve çoğunlukla Ortadoğu ülkelerine ihracat yapılabilmektedir. Avrupa ülkelerine patates ihracatımız hemen hemen yok gibidir. Bunun da en önemli nedeni, ihracatta zorunlu standardın bulunmaması, depolamada görülen yetersizlikler ve ülkemizde bulunduğu ileri sürülen Patates Halka Çürüklüğü (*Corynebacterium sepedonicum*) (Karel ve Karahan,1962) hastalığıdır. Son yıllarda Avrupa topluluğunun önerdiği metodlarla yapılan araştırmalarla bu bakterinin Orta Anadolu Bölgesinde bulunmadığı saptanmıştır (Benlioğlu et al.1991).

Üretim miktarları dikkate alındığında en önemli patates üreticisi illerimizin başında Nevşehir, Niğde ve Bolu gelmektedir. Bu 3 il sahip olduğu ekolojik koşulları ve patates tarımına uygun toprak yapısı nedeniyle toplam patates üretimimizin %45 ini teşkil etmesinin yanı sıra hektara en yüksek verimle (Nevşehir 32228 kg, Niğde 36316 kg, Bolu 27498 kg)* dünyada önemli patates üreticisi ülkelere yaklaşan düzeyde (Almanya 35874 kg, Hollanda 41532 kg, İsviçre 36842 kg, İngiltere 35871 kg)** birim alandan ürün elde etmektedir. Ayrıca daha önemli olarak bu 3 ilimiz Türkiye'de patates tohumluğu üretim merkezleri olup, ithal edilen tohumluğun büyük bir çoğunluğu bu bölgede sertifikalı tohum üretmek amacıyla desteklenerek sözleşmeli çiftçilere dağıtılmaktadır.

İnsan beslenmesinde temel ürünler içinde yer alan Patatesin fungal, viral ve bakteriyel hastalık etmenleri üzerinde dünyada pek çok çalışma yapılmıştır. Patateste gerek depo gerekse vejetasyon devresinde hastalık yapan başlıca bakteriyel etmenler *Clavibacter michiganense* subsp *sepedonicum* (Spieck. and Kotth.) Davis et al., *Pseudomonas solanacearum* E.F.Sm. ve yumuşak çürüklük grubundan *Erwinia* spp.dir. Bunlardan dünyada en yaygın olanı patateste tohumluk yumru çürümesi, sap veya gövde çürüklüğü ve hasat sonrası

(*) Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü 1990 tarım istatistikleri

(**)FAO Production Yearbook (1989).

yumru çürümesi şeklinde birbiriyle ilişkili 3 farklı evrede belirti oluşturan, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Dye, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Van Hall) Dye'dır (Stanghellini, 1982). Yine aynı grup *Erwinia*'lardan *Erwinia chrysanthemi* (Burkh. et al.) nin son yıllarda patateslerde tohumluk yumru çürümesi, sap çürümesi ve solgunluğa neden olduğu bildirilmektedir (Lumb et al., 1986). Bu 3 bakterinin neden olduğu kayıplar ülkeden ülkeye, depo ve yetiştirme koşullarına ve iklime göre değişmektedir. Özellikle tohumluk patates yetiştiriciliğinde çok önemli olup, pek çok tarladaki tohumluğun *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* ve *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* nedeniyle sertifika alamadığı (Graham & Harper, 1967) ve tohumlukların üretim periyodu içinde bu bakterilerle bulaştığı ve ciddi kayıplara yol açtığı pek çok araştırmacı tarafından kaydedilmiştir (Graham et al., 1976; Perombelon et al., 1976; Sampson, 1977; Copeman and Schneider, 1978; De Boer et al., 1978; Perombelon and Kelman, 1980; Powelson and Apple, 1984, 1986). Her iki bakteri depo koşullarında da yumuşak çürüklüğe neden olmakta ve önemli zararlar meydana getirmektedir (Graham 1962, 1967; Perombelon and Kelman 1980; Bartz and Kelman 1984; Tzeng et al., 1986). Örneğin, ABD'nin kuzeyindeki çok büyük bir depoda 14.000 ton patatesin depoda uygun olmıyan nem koşulları nedeniyle *Erwinia carotovora* tarafından %50 oranında çürüyerek 350.000 dolarlık kayba yol açtığı ve 4 m. yükseklikte olan patates yığınının 2 metreye indiğine ilişkin kayıtlar bu grub bakterilerin ne denli önemli olduğunu gösteren örneklerdir (William, 1982).

Ülkemizde yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'lardan *Erwinia phytophthora* (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* nın sinonimi, Bradbury, 1977b) ilk kez Bremer et al. (1947) tarafından Adapazarı'nda patateslerde saptanmıştır. Karel ve Karahan (1962) aynı etmenin Orta Anadolu'da patateslerde mevcut olduğunu ve tarlada %20-30 oranında çıkış gösterdiğini bildirmiştir. Baykal ve Öktem (1978) de Bolu'da hastalıklı patates bitkilerinden *Erwinia atroseptica*'yı izole

ederek etmeni laboratuvarında teşhis etmişlerdir. Gündoğdu ve Karaca (1981) ise Ege bölgesinde hastalığın çok düşük oranlarda görüldüğünü bildirmişlerdir. 1981-1983 yıllarında Hollanda'lı bir araştırmacı tarafından yapılan Türkiye fungal ve bakteriyel patates hastalıkları surveyinde ise tarla devresinde hastalığa rastlanmadığını, ancak patates depolarında *Erwinia carotovora* var *carotovora*'nın neden olduğu yumuşak çürüklüğün görüldüğü belirtilmiştir (Turkeenstein, 1985).

Ülkemizde 21.8.1963 tarihli ve 308 sayılı tohumlukların Tescil, Kontrol ve Sertifikasyonu hakkındaki kanuna göre; hazırlanan patates tohumluğu sertifikasyon şartlarında, *Erwinia* çürüklükleri adı altında tarla ve depo standartları belirlenmiştir. Buna göre toleranslar tarla devresinde anaç kademede %0, sertifikalı kademede %1, Kontrollü kademede %2, depoda ise sırasıyla %1, %2 ve %3 tür. Orta Anadolu Bölgesinde Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde sertifikasyon amacıyla yapılan resmi kontrollerde pek çok tohumluğun *Erwinia* çürüklükleri nedeniyle tohumluk olma özelliğini yitirdiği, ya da bir kademe aşağı düşürüldüğü Tarım Orman Köy İşleri Bakanlığı resmi kayıtlarında mevcuttur.

Türkiye'de yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'lar üzerinde yapılan çalışmalar dikkate alındığında, sadece *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'nın tarla devresinde hastalığa neden olduğu hatta son yıllarda yapılan survey sonuçları dikkate alınırse böyle bir hastalığın Türkiye'de bulunmadığı şeklinde şüpheli bulgular mevcuttur. Dünya da son yıllara değin sadece *E. carotovora* subsp. *atroseptica*'nın tarla devresinde Karabacak hastalığına, depoda ise her iki alt türün (*E. carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. carotovora* subsp. *carotovora*) yumru çürümelerine neden olduğu görüşü kabul edilmekteydi. Ancak Stanghellini and Meneley (1975) ve Molina and Harrison (1977) her iki alt türünde Karabacak hastalığı ve yumru çürümelerine sebep olduğunu kesin olarak saptadılar.

Ülkemiz patates üretiminin yaklaşık %45'ini oluşturan ve çok önemli tohumluk üretim merkezleri sayılan Bolu, Nevşehir, Niğde illerinde yürütülmüş olan bu çalışma ile:

- Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların patates ekim alanları ve patates depolarındaki yaygınlık oranı, hangi etmenlerin bulunduğu, ne tip belirtilere yol açtığı ve zarar şekli,

- İthal edilen patates tohumluklarının *Erwinia* spp. ile bulaşıklık oranları,

- Hastalıklı ve sağlıklı patates bitkilerinden oluşan yeni yumrularda, bu bakterilerin ne oranda bulunduğu ve depolandığı takdirde çürüme oranları,

- Bu bakterilerin ülkemiz koşullarında toprakta ve sulama sularında bulunup bulunmadığı, konularının aydınlatılması amaçlanmıştır.

2. L İ T E R A T Ü R B İ L D İ R İ Ş L E R İ

Yumuşak çürüklük grubu bakteriler geliştirmekte olan bitkilere veya depolama ya da taşıma sırasında ürüne, parankimatik dokuları enzimleri ile parçalayarak zarar verirler. Bu bakterilerle ilgili ekonomik kayıplar, ürün değerine ve hastalık şiddetine bağlı olarak dünyada yıllık yaklaşık 50-100 milyon doları bulmaktadır. Bu grup bakteriler içinde de en geniş konukçu dizisine sahip ve en önemli olanları yumuşak çürüklük yapan *Erwinia*'lardır (Perombelon and Kelman, 1980).

Erwinia cinsi içinde "carotovora" grubuna (Lelliott, 1974) ait türler içinde yer alan yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* türlerinden en önemli ve en geniş konukçu dizisine sahip olanlar ve de taksonomik yönden en ayrıntılı olarak incelenenler; *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Dye. (Ecc)*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) Dye (Eca)*, *Erwinia chrysanthemi* (Burkholder et al.) (Echr)* dir. Ecc ilk kez 1901 yılında Jones tarafından tanımlanmış ve *Bacillus carotovorus* adı verilmiştir. Literatürde 60'ın üzerinde sinonimi mevcut olup (Bradbury, 1977 a) 1980 yılında basılan ve uluslararası kabul edilen bakteri isimlerinin yer aldığı listede *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* olarak adlandırılmıştır (Skerman et al. 1980). Eca ise ilk kez 1902 de van Hall tarafından *Bacillus atrosepticus* olarak isimlendirilmiş olup literatürde yaklaşık 10 kadar sinonimi bulunmakta (Bradbury, 1977 b) ve uluslararası kabul edilen listede ismi *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'dır.

Erwinia carotovora (Ec)* gram negatif, spor oluşturmeyen çubuklar olup, genelde çiftler halinde, arasıra birkaç hücreden meydana gelen zincir şeklinde görülen, 0.5-0.8 x 1.3 μ boyutlarda, gevresel kamçılarıyla hareketli, kapsülü bulunmayan fakültatif anaerob bakterilerdir (Bradbury, 1977 a,b).

(*) *Erwinia* türlerinin adları bundan böyle ve genellikle kısaltılarak kullanılacaktır.

Bol miktarda pektolitik enzim üretebilme yeteneğine sahip olan *Ecc*, *Eca* ve *Echr* biyokimyasal testlerle taksonomik olarak birbirlerinden ayrılmaktadır (Graham, 1964; Dye, 1969; Graham, 1972; Dickey, 1979). *Ecc*, 37°C'de gelişebilme, maltoz ve α -methylglucoside'den asit ve sakkorozdan indirgermiş maddeler oluşturma yeteneğinden yoksun olma özellikleriyle *Eca*'dan ayrılmaktadır. *Echr* ise *Eca* ve *Ecc*'den, indol ve fosfataz üretebilme yeteneği, laktoz ve trehaloz'dan asit oluşturmama, %5 NaCl'de gelişmeme ve erythromycin'e duyarlı olma özellikleriyle diğerlerinden ayrılmaktadır (Bradbury, 1977 a,b). *Eca*, *Ecc* ve *Echr* birbirinden farklı minumum ve maksimum sıcaklıklarda gelişebilme özelliğine sahip bakterilerdir. Örneğin; *Eca* 36-37°C'da gelişemezken *Ecc* bu sıcaklıkta rahatlıkla gelişebilmektedir. Bunun yanı sıra pek çok *Ecc* izolatu 39°C'de gelişemezken *Echr* oldukça iyi gelişme göstermektedir (Perombelon and Kelman, 1980). Bu 3 bakterinin *in vitro*'da belirli kritik sıcaklıklarda gelişebilme özellikleri ve erythromycin'e olan duyarlılık durumları dikkate alınarak bu bakterilerin hastalıklı patates bitkisi ve yumrularından izolasyonunda süratle tanımına yönelik metodlar geliştirilmiştir (Perombelon and Hyman 1986; Perombelon et al., 1987).

Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* türlerinin hastalıklı patates bitkilerinden, yumrulardan ve topraktan seçici ya da yarı seçici besiyerlerine izolasyonu için pek çok çalışma yapılmıştır. Bu besiyerlerinin hemen hepsinin temeli, bu bakterilerin pektolitik enzim oluşturma yeteneklerine dayanmakta olup, kullanılan besiyerlerinde en önemli madde pektin ve türevleri olan sodyum polypectate ve polygalacturonik asittir. Noble and Graham (1956) bitki dokusundan yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların izolasyonunda salicin kullanmışlardır. Stewart (1962) *Enterobacteriaceae*'nin pektolitik olanlarının izolasyonunda Na-polypectate, Paton (1959) pektin, Beraha (1968) Na-polypectate, Burr and Scotch (1977) ise polygalacturonic asit'i temel madde olarak kullanmışlardır. Cuppels and Kelman (1974)'ın Na-polypectate

kullanarak geliştirdikleri CVP (crystal violet pectate) besiyeri seçiciliği en yüksek besiyeri olup, carotovora grubu *Erwinia*'ların topraktan, sulama sularından ve hastalıklı bitkilerden izolasyonunda en çok kullanılan besiyeri olmuştur.

Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların patates bitki ve yumrularından, cansız materyalden tesbitinde ve etmenin teşhisinde serolojik yöntemlerden de geniş çapta yararlanılmaktadır. Yapılan serolojik çalışmalar *Eca* ve *Ecc* arasında serolojik yönden büyük bir benzerlik olduğunu göstermiştir (De Boer et al., 1979b). *Erwinia carotovora*'nın patatesten elde edilen izolatlarında 18 serotip belirlenmiş bunlardan *Eca* I. grup serotipi oluşturmıştır. *Ec* nin bu serolojik grupları içinde bazı grubların Kamçı antijenleri yönünden, bazılarının da somatik antijenler yönünden farklılaştığı ortaya konmuştur (De Boer, 1980). Son yıllarda yapılan çalışmalar ise, *Ec*'nin 36'dan fazla serotipi olduğunu göstermiştir (De Boer and Sasser, 1986). Tıp ve veterinerlik dalında en çok kullanılan immunolojik test yöntemlerinden biri olan Immunofluorescent (IF) boyama yöntemi de *Eca* ve *Ecc*'nin topraktan, böceklerden, yumrulardan ve belirti göstermeyen patates bitkilerinden tesbitinde geniş olarak kullanılmaktadır (Allan and Kelman, 1977; De Boer et al., 1979a; Phillips and Kelman, 1982; De Boer, 1984). Son yıllarda hibridoma tekniğiyle üretilmiş monoklonal antikolarlar kullanılarak IF ve ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) teknikleri ile *Eca*, çok daha hassas ve güvenilir bir şekilde tanımlanabilmektedir (De Boer and Mc Naughton, 1987).

Bütün dünyada yayılmış olan *Ecc*, *Eca* ve *Echr* konukçu açısından da farklılık göstermektedir. *Eca* sadece bir soğuk iklim bitkisi olan patatesten hastalık oluşturmaktadır. *Echr* ise tropik ve subtropik bitkilerde geniş bir konukçu dizisine sahiptir (Perombelon and Kelman, 1980). Ayrıca *Echr* sıcak bölgelerde yetiştirilen bitkilerde, serada yetiştirilen süs bitkilerinde (Karanfil, difenbahya, philodendron gibi)

(Dickey, 1979), mısırdaki (Hoppe and Kelman, 1969) hastalık oluşturmaktadır. Ilıman iklime sahip bölgelerde yetiştirilen patateslerde gerek vegetasyon devresinde, gerekse depoda yumrulara önemli bir patojen olabilmektedir (de lino et al., 1978; Lumb et al., 1986). *Ecc* ise dünyanın hemen her tarafında yaygın olan ve *Echr*'den çok daha geniş konukçu dizisine sahip önemli bir türdür (Bradbury, 1977a).

Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'lardan *Ecc*, *Eca* ve *Echr*'nin patateslerde meydana getirdiği hastalık genelde 3 farklı görünümde fakat birbirleriyle ilişkili belirtiler şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bunlar; tohum çürümesi, sapta yumuşama ve siyahlaşma şeklinde beliren sap çürümesi ve hasat sonrası yumru çürümesidir (Perombelon and Kelman, 1980). 1970'li yıllara değin bu belirtilere *Eca*'nın neden olduğu bilinmekteydi. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar hem *Eca* hemde *Ecc*'nin tohum çürümesine ve hasat sonrası yumrulara yumuşak çürüklüğe neden olduğunu ortaya koydu (Perombelon, 1972, 1973). Bununla birlikte "Blackleg" (Karabacak) olarak adlandırılan sap çürümesine sadece *Eca*'nın neden olduğu, Avrupa'da Graham and Hardie (1971); Perombelon (1972, 1973) ve Amerika'da Molina et al. (1974), De Boer et al. (1978) tarafından kabul edilmekteydi. Stanghellini and Meneley (1975) Arizona'da ılık çöl ikliminde patateslerde Karabacak hastalığına neden olan etmenin *Ecc* olduğunu kesin olarak saptadı. Daha sonra yapılan çalışmalar *Ecc* ve *Eca*'nın patates bitkilerinde Karabacak hastalığı oluşturmada en önemli etkenin vegetasyon devresindeki çevre koşulları olduğunu gösterdi. Soğuk bir bölge olan Iskoçya'da Karabacak hastalığına *Eca*'nın neden olduğu (Perombelon, 1973), Colorado'da ise sap çürümesinde önemli olan etmenin *Eca* olduğu, bununla birlikte ülkede ılıman iklimin hüküm sürdüğü bölgelerinde *Ecc*'nin sap çürüklüğüne sebep olduğu belirlendi (Molina and Harrison, 1977). Powelson (1980) ise ABD'de Oregon'da yapmış olduğu çalışmalarda sap çürümesine her iki bakteri türünün de neden olabildiğini, sıcaklıkların nispeten düşük olduğu vegetasyon devresinin

başlarında yaygın olan etmenin *Eca* olduğunu, sıcaklıkların arttığı hasat devresine doğru *Ecc*'nin hakim tür durumuna geldiğini ve tarladâ belirtiler açısından bu iki türü ayırmanın imkansız olduğunu gösterdi. Halen tarlada hangi alt türün hangi çevre koşullarında Karabacak hastalığına neden olabileceği tam bilinmemekle birlikte, toprak sıcaklığının 18°C'nin altında olduğu durumlarda infekteli patates bitkisinde *Eca*'nın çoğunlukta olduğu, 25°C nin üzerindeki sıcaklıklarda ise *Ecc* nin yoğunluk kazandığı bildirilmektedir (Molina and Harrison, 1980).

Özellikle tohumluk patates yetiştiriciliğinde çok önemli yeri olan *Eca* ve *Ecc*'nin başlıca inokulum kaynaklarının ne olduğu da araştırmacılar arasında uzun yıllar tartışma konusu olmuştur. 1900 başlarında araştırmacılar ilk bulaşma kaynağının infekteli tohum olduğuna inanmışlardır (Stanghellini, 1982). 1930-1950 li yıllar arasında bulaşık toprağın ana inokulum kaynağı olduğu dikkate alındı (Leach, 1930). Bu ise, patates yumrusu yem olarak kullanılarak *Erwinia carotovora*'nın topraktan izole edilebilmesi çalışmalarına dayanmaktaydı. Bu bulgular izolasyonda kullanılan patatesin içten ya da dıştan *Ecc* ile bulaşabileceği görüşü nedeniyle kesinlik kazanmadı. Nitekim bu görüşte olan Graham and Hardie (1971) Iskoçya'da *Ecc* ve *Eca*'nın primer inokulum kaynağının tohum olduğunu rapor etmesi ile tohumun bulaşmada en önemli kaynak olduğunu hipotezi geçerlik kazandı. Bu bulgular; Logan (1968); Perombelon (1972, 1973, 1974); Molina et al. (1974); De Boer and Kelman (1975); Burr and Scrotch (1977)'nin araştırmaları ile de desteklendi. Ayrıca 1 gram toprakta 10^3 hücre/ml üzerindeki *Ec* papulasyonunu doğru olarak tesbit edebilecek kadar hassas olan seçici besiyeri (CVP)'nin kullanılması durumunda bile topraktan izole edilemedi (Cuppels and Kelman, 1974; De Boer et al., 1978). Bu bulgulara göre ne *Ecc* ne de *Eca*'nın toprak orijinli olmadığı sonucuna varıldı. Bu görüşler ışığında Avrupa, Avustralya, Kanada ve ABD'de tohumluk patates üretimi patojenden ari bitki elde edilmesi esasında dayandırıldı. Bununla birlikte daha sonra yeni

yumruların *Ecc* veya *Eca* ile tekrar bulaştığı pek çok çalışmada saptandı (Graham et al., 1976; Perombelon et al., 1976; Sampson, 1977; Copeman and Schneider, 1978; De Boer et al., 1978). İskoçya'da tohumluk üretim peryodunun 3. yılında yumruların %100'ünün bulaştığı görüldü (Perombelon et al., 1976). Bu bulgular araştırmacıları farklı bulaşma yolları olabileceği görüşü üzerinde yoğunlaştırdı. Böceklerin (Molina et al., 1974; Harrison et al., 1977; De Boer et al., 1978; Perombelon, 1978) ve aerosollerin (Graham and Harrison, 1975; Perombelon 1978; Perombelon et al., 1979; Quinn et al., 1980) inokulum kaynakları olduğu ve yumruların bulaşmasında rol oynadığı belirlendi. Ancak toprak üzerinde durulmadı. 1975 yılında Meneley and Stanghellini Arizona'da nadasa bırakılmış tarlalarda patates dikiminden 1 gün önce hem *Ecc*, hemde *Eca*'yı zenginleştirme teknikleri kullanarak topraktan izole etmeyi başardı. Bu bulgulardan sonra yarı kurak mutedil iklim hüküm süren bölgelerden, soğuk ve nemli bölgelerdeki nadasa bırakılan tarla topraklarından *Ecc* ve *Eca* izole edildi. De Boer (1979) hem *Ecc*'nin hemde *Eca*'nın Wisconsin'de toprakta kışlayabildiğini, 1980 de Coplin, Ohio'da toprakta kışı geçirdiğini belirttiler.

Son yıllarda yapılan çalışmalar *Eca* ve *Ecc*'nin daha önce yetiştirilen ürüne bakmaksızın ekili ve ekili olmıyan tarlalardan alınan toprak örneklerinde mevcut olduğunu gösterdi (Perombelon and Hyman, 1989). Zenginleştirme tekniklerinin kullanımı (Meneley and Stanghellini; 1976; Burr and Scrotch, 1977; Butler and Stanghellini, 1980) toprağın yanısıra sulama sularının da *Erwinia carotovora* ile bulaşabileceğini ve suların da inokulum kaynağı olabileceği düşüncesini kanıtladı. Nitekim, Mc Carter-Zoner et al.(1984) güney İskoçya'da, Colorado da, ABD'de dağlardaki yüksek yaylalardaki, ekili alanlardaki; göl, ırmak, dere ve çay sularında *Ecc*'nin yıl boyunca mevcut olduğunu, *Eca*'nın ise çok daha az sıklıkla izole edilebildiğini, yeraltı

sularında ise yaşamadığını ortaya koydular. Ayrıca bu araştırmacılar *Ec*'nin İskoçya'da yağmur sularında, Colorado'daki dağlardaki karlarda, İskoçya ve Oregon kıyılarında deniz suyunda mevcut olduğunu saptadılar. Jorge and Harrison (1986) Amerika'da Colorado'da South Platte ve Big Thompson ırmaklarındaki sularda, Perombelon and Hyman (1987) İskoçya'da Alyth Burn ırmağında, Maddox and Harrison (1987) Colorado'da Rio Grande ırmağı ve kollarındaki yüzey sularında ve yeraltı sularında *Ec*'nin mevcut olduğunu belirttiler.

Zenginleştirme teknikleri ve seçici besiyerinin kullanımı, *Erwinia carotovora*'ların yukarıda sözü edilen inokulum kaynaklarının yanı sıra belirti göstermeyen patates bitkilerinin ve tarımsal veya tarımsal olmayan alanlardaki pekçok kültür bitkisinin rizosferinde yaşayabildiğini de gösterdi (Meneley and Stanghellini, 1976; Perombelon, 1976; Burr and Scotch, 1977; De Boer et al., 1978; de Mendonca and Stanghellini, 1979; Coplin, 1980). Mc Carter-Zorner et al. (1985) ticari amaçlı patates tarlalarındaki pekçok yabancı ot türü ve münavebe bitkileri rizosferinden, Colorado'da 24, İskoçya'da 47 bitki türünden *E. carotovora* izole ettiler. Bu çalışmada periyodik olarak toplanıp incelenen yabancı ot rizosferlerinin %44'ünün *Ecc* veya *Eca* ile bulaşık olduğu saptandı. Ayrıca hangi alt türün hakim olduğunun örneklerin alınma zamanına bağlı olarak değiştiği de belirlendi. Perombelon and Hyman (1989) İskoçya'da *Ec*'nin rizosferde canlı kalabilmesi ile ilgili çalışmalarında *Brassica* cinsi bitkilerde yaşam şansının çok yüksek, çim ve hububatta orta derecede, patates ve diğer yabancı otlarda düşük olduğunu kanıtladı. De Boer (1983) *Ec*'nin topraktaki popülasyonunun patates ekili tarlalarda gelişme sezonunda oldukça düşük olduğunu, yeşil aksamın öldürülmesinden sonra artmaya başladığını, patates hasatından sonra artmaya devam ettiğini ve kış aylarında azaldığını belirledi. Powelson and Apple (1984) tohumluk yumrularda mevcut aynı *Ec* serogrublarının, belirti göstermeyen patates bitkilerinde de bulunduğunu, belirti gösteren patates saplarından izole edilen

Ec izolatlarının %11-15'inin karakteristik toprak izolatları ile aynı serogrubtan olduğunu, %4-14'ünün tohum orijinli *Ec*'lar olduğunu, ancak geride kalanların ise toprak ve tohumda bulunan serotiplerden farklı serotipler tarafından infekte edildiğini saptadılar.



3. M A T E R Y A L V E M E T O T

3.1. Materyal

Yapılan bütün denemelerde Bolu, Nevşehir ve Niğde illeri patates ekim alanları ve depolardan toplanan hastalıklı patates bitkileri ve yumrular, yurt dışından ithal edilen tohumluk patatesler çalışmalarda kullanılan bitkisel materyali oluşturdu. Ayrıca bu 3 ildeki patates üretim alanlarından alınan toprak örnekleri, yüzey ve yeraltı su kaynaklarından alınan su örnekleri çalışmalarda kullanılan cansız materyaldi.

Denemelerde elde edilen yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp izolatlarının kesin tanılamalarını yapmak amacıyla Scottish Crop Research Institute.(SCRI) Edinburgh-İskoçya'dan temin edilen aşağıdaki *Erwinia* kültürleri pozitif kontrol olarak kullanıldı:

<i>Erwinia</i>	<i>carotovora</i>	subsp. <i>carotovora</i>	-	SCRI-133	patates izolatı
<i>Erwinia</i>	<i>carotovora</i>	subsp. <i>atroseptica</i>	-	SCRI-1039	" "
<i>Erwinia</i>	<i>chrysanthemi</i>			SCRI-4043	" "

Patojenisite denemelerinde ise anaç kademedeki Granola çeşidi tohumluk patates yumru ve bitkileri kullanıldı.

3.2. Metot

3.2.1. Sürvey çalışmaları

Sürvey çalışmaları patatesin vegetasyon devresinde tarlada, hasat sonrası ve kışın depolarda olmak üzere hem patates bitkilerinde hem de yumrularda yapıldı.

3.2.1.1. Tarla sürveyleri

Bu sürveyler Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates ekim alanlarında vegetasyon devresinde Haziran-Eylül aylarını kapsayan 4 aylık periyot içinde yapıldı. Her ilde incelenecek tarla sayısı, ekiliş alanı ve örnek alma, alınan örneklerden laboratuvarında bakterilerin izolasyonu çalışmaları dikkate alınarak Basit Örneklem Yöntemi'ne (Bora ve Karaca 1970) göre belirlendi. Bu 3 ilde ilçeler düzeyinde patates ekiliş alanları, üretim ve incelenecek tarla sayıları Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates üretimi ve incelenen tarla sayıları

İLLER	Ekiliş Alanı (*) (ha)	Üretim (*) (ton)	İncelenen tarla sayısı
BOLU			
Merkez	8.651	268.620	49
Gerede	702	13.601	8
Diğer 9 ilçe	<u>1.991</u>	<u>29.718</u>	-
TOPLAM	11.344	311.939	57
NEVŞEHİR			
Merkez	12.065	461.461	44
Derinkuyu	6.147	223.445	20
Ürgüp	3.704	53.918	17
Avanos	2.303	30.699	5
Acıgöl	1.832	71.114	8
Diğer 3 ilçe	<u>226</u>	<u>6.207</u>	-
TOPLAM	26.277	846.844	94
NİĞDE			
Merkez	19.600	747.733	70
Çamardı	1.000	14.572	3
Diğer 2 ilçe	<u>970</u>	<u>21.033</u>	-
TOPLAM	21.570	783.338	73
GENEL TOPLAM	59.191	1.942.121	224

(*) Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Bilgi İşlem kayıtlarından alınmıştır (Yayınlanmamış).

Tarla sürveylerde sayım yapılacak her tarladaki kontrol edilecek bitki sayısı, 308 sayılı yasaya bağlı olarak hazırlanmış olan Tohumluk Kontrol ve Sertifikasyonu Hakkında Talimat (Anonymous, 1976) da belirtilen metoda göre saptandı. Tesadüfen seçilen 50 m. (yaklaşık 100 bitki) uzunluğundaki sıralarda tüm tarla alanını temsil edecek şekilde sayımlar yapıldı:

Tarla alanı	0-5 dekar	ise	5	sıra	(500 bitki)
"	"	5-10	"	10	" (1000 ")
"	"	>10	"	15	" (1500 ")

Her tarlada hastalık çıkış oranları üzerinde yapılan sayımlarda, yapraklarında prsme, sararma ve kuruma, saplarda ve gövdede tipik siyahlaşma ve yumuşama şeklinde belirti gösteren patates bitkileri hasta olarak kabul edildi. Sayım sonuçları hasta sağlam şeklinde değerlendirilerek her tarladaki yüzde hastalık çıkış oranları belirlendi. Hastalık görülen her tarlada 3-5 adet hastalıklı bitkiden sap ve gövde örnekleri alınarak yeni polyethylen torbalara kondu, laboratuvara getirilerek seçici besiyerine (CVP) izolasyonlar yapıldı ve elde edilen izolatlar tanılandı.

Sürvey yapılan her ilçedeki hastalık çıkış oranı, sayımlar sonunda o ilçede incelenen tarla alanları ve her tarladaki yüzde çıkış oranları dikkate alınarak tartılı ortalama metoduna göre (Bora ve Karaca, 1970) hesaplandı. Karabacak hastalığının yaygınlık oranı ise sürvey yapılan her ilçedeki hastalıklı tarla sayısının incelenen toplam tarla sayısı içindeki yüzde oranı şeklinde hesaplandı. Tartılı ortalama metoduna göre de her ildeki hastalığın yaygınlık oranı belirlendi.

3.2.1.2. Depo sürveyleri

Bu alışmalar hasat sonrasında ve kışın Aralık-Şubat aylarında Bolu ve Niğde illerinde üretici depoları

ve Nevşehir ilinde tabii yeraltı depolarındaki patates yumruları üzerinde yapıldı. Bunun için Tohumluk Kontrol ve Sertifikasyonu Hakkında Talimat'da (Anonymous, 1976) belirtilen örnek alma metoduna göre: ambardaki bölmelerin kapasitesi 10 tona kadar olanlardan tesadüfe göre 100 yumru, 20 tona kadar olanlardan 200 yumru incelendi. Depoda veya bölmelerdeki patates miktarları üretici veya depo sahibine sorularak tahmini olarak belirlendi. Yapılan incelemelerde tipik, yumuşamış sulu cıvık bir hal almış yumrular hasta olarak kabul edildi ve bu çürük yumrulardan CVP besiyerine izolasyonlar yapılarak *Erwinia* spp.'lerin varlığı araştırıldı.

Depolarda yapılan çürük yumru sayımlarına ilaveten, depolama süresince patateslerin sık sık elden geçirilerek ayıklanması nedeniyle ve latent infeksiyonlardan dolayı (Hayward, 1974) yumrulardaki gerçek bulaşmayı belirleyebilmek için sayım yapılan bölmelerin bazılarında da tesadüfe göre 30-40 adet yumru örneği alındı. Alınan örneklerde, laboratuvarda yumru inkubasyon metoduyla (Permobelon, 1979) yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp.'larla bulaşma durumu araştırıldı. Bu amaçla her örneğe ait 30-40 patates yumrusunun her birinde 10 lentisel steril bir kürdan yardımıyla yaklaşık 2-3 mm. derinlikte olacak şekilde delindi. Delinen yumrular ince kağıt havluyla sarılarak steril su ile ıslatıldı. Nemliliği sürekli sağlamak için her bir yumru polyvinilidin filmle sıkıca sarıldı. Bir kap içine tek sıralı olarak yerleştirilen yumrular 22°C de 3-4 gün boyunca inkube edildiler. Inkubasyondan sonra ince polyvinilidin film ve kağıt havlular çıkarılarak yumrular tek tek incelendi. Delinen lentisel civarında tipik yumuşak çürüklük belirtisi gösteren yumrular yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp. ile bulaşık olarak değerlendirildi. Çürüklük belirtisi gösteren yumrulardan CVP seçici besiyerinde izolasyon yapılarak, izole edilen bakteriler tanımlandı. Daha sonra inkubasyona tabi tutulan toplam yumru ve bulaşık yumrular sayısı dikkate alınarak *Erwinia* spp ile bulaşık yumrular yüzdesi hesaplandı.

Her ile ait yüzde çürüme ve *Erwinia* spp. ile bulaşma oranları, depolanan patates miktarları dikkate alınarak tartılı ortalama metoduna göre hesaplandı.

3.2.2. İnokulum kaynakları

Olası inokulum kaynaklarını araştırmak gayesiyle (a) ithal edilen tohumluk patatesler, (b) tohumluk üretimi amacıyla yetiştirilen patates tarlalarındaki hastalıklı ve sağlıklı bitkilerden oluşan yeni yumrular (c) patates sulamasında kullanılan yüzey ve yeraltı suları (d) bitki rizosferi ve toprak, yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp. açısından incelendi.

3.2.2.1. İthal tohumluk patatesler

Tohumluk patates ihtiyacını karşılamak amacıyla yurt dışından ithal edilen tohumluk patates çeşitlerinin herbirinden toplam olarak 35-50 yumru örnek olarak alındı. Alınan yumru örnekleri laboratuvar da yumru inkubasyon metoduyla incelendi. Her örnekte çürüklük belirtisi gösteren yumrulardan bakterilerin izolasyonu ve tanılamaları yapılarak yüzde bulaşma oranları saptandı.

3.2.2.2. Yeni yumrular

Tohumluk amaçlı patates yetiştirilen tarlalalarda hasata yakın devrede hastalık belirtisi gösteren ve sağlıklı görünen bitkilerin oluşturduğu yeni yumru örnekleri alındı. Bunun için hastalığın görüldüğü her tarladaki hastalıklı ve sağlıklı bitkilerden 100 er yumru olmak üzere her tarladan toplam 200 yumru örnek olarak alındı. Bu işlem 4 ayrı tar-

lada yapılarak toplam 800 yumru elde edildi. Her tarlaya ait hastalıklı bitkilerin saplarından örnek alınarak laboratuvarda bakterilerin izolasyonu ve tanılamaları yapıldı. Her tarlada hastalıklı ve sağlıklı bitkilerden alınan 100'er yumrunun 50 şer tanesi laboratuvarda yumru inkubasyon metoduyla incelendi ve çürüklük belirtisi gösteren yumrulardan izolasyon, tanılama çalışmaları yapıldı. Her tarlaya ait kalan, hastalıklı ve sağlıklı 50 şer yumru (toplam 400 yumru) ise kış boyunca depoda kağıt torbalarda saklandı. Nisan-Mayıs aylarında bu yumrularda yumuşak çürüklük belirtileri yönünden gözlem yapıldı ve yüzde çürüme oranları belirlendi.

3.2.2.3. Sulama suları

Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates sulamasında kullanılan yüzey ve yeraltı sularının yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* 'larla bulaşma durumu araştırıldı. Bunun için Bolu ilinde patates sulamasında kullanılan Gököy barajı ve Çepni deresinin sularından 1 yıl boyunca farklı zamanlarda su örnekleri alındı. Ayrıca Nevşehir ve Niğde illeri patates üretim alanlarında çoğunlukla yeraltı sularının kullanıldığı derin su kaynaklarından örnekler alındı. Her örnek alındığında su sıcaklığı kaydedildi. Her kaynaktan 250 ml'lik steril cam şişelere konan su örnekleri, laboratuvara getirilerek pH değerleri ölçüldü ve 24-48 saat içinde seçici besiyeri CVP kullanılarak izolasyon işlemine tâbî tutuldu.

3.2.2.4. Toprak ve rizosfer

Erwinia spp. nin toprakta bulunma durumunu saptayabilmek amacıyla Bolu ve Nevşehir illerinde patates üretimi yapılan tarlalardan 1 yıl boyunca muhtelif zamanlarda

(dikim öncesi, vegetasyon devresi, hasat sonrası ve kışın) toprak örnekleri alındı. Toprak örnekleri De Boer et al. (1979) ve De Boer (1983) te belirtilen metoda göre 2.5 cm. çapındaki toprak sonda aletiyle, tüm tarlayı temsil edecek şekilde 20-24 yerden olmak üzere 5-25 cm. derinlikteki toprak zonundan alındı. Her tarladan alınan örnekler paçal yapılarak yeni polyethylen torbalara kondu ve işlem göre-ne kadar 5°C da saklandı. Alınan her örnek 24-48 saat içinde izolasyon işlemlerine tabii tutuldu. Ayrıca örnek alınan her tarlada örnek alınan derinlikteki toprak sıcaklığı bir toprak termometresi ile ölçülerek kaydedildi.

Toprak örnekleri yanı sıra Nevşehir ilinde hasata yakın devrede hastalık belirtisi göstermiyen sağlıklı patates bitkileri söküldü. Sap kısımları kesilerek topraklı kök kısımları temiz polyethylen torbalara kondu ve 24-48 saat içinde laboratuvarında izolasyon işlemine tabii tutuldu (De Boer et al., 1978).

3.2.3. Bakterilerin izolasyonu

Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp'lerin hastalıklı bitkilerden, çürük yumrulardan, topraktan, sulardan ve rizosfer'den izolasyon çalışmalarında, bu grup bakterilerin kuvvetli pektolitik enzim meydana getirebilme özelliklerinden yararlanılarak bulunmuş olan; CVP (Crystal Violet Pectate) seçici besiyeri kullanıldı (Cuppels and Kelman, 1974). CVP seçici besiyerinin içeriği ve hazırlanış şekli aşağıda verilmiştir.

CVP (Crystal Violet Pectate) Besiyeri (Arthur Kelman kişisel görüşme)

%0.075 W/V Crystal violet sulu çözeltisi	1.0	ml
1 N Na OH	4.5	ml
%10 CaCl ₂ 2H ₂ O	6	ml

Agar (Difco No:1)	2	g
Na NO ₃	1	g
Trisodium citrate dehydrate	2.5	g
%10 Sodium Lauryl sulfate	0.5	ml
%2 Cycloheximide	2.5	ml
Damıtık su	1	lt

Yukardaki maddeler, içinde 1 lt kaynar damıtık su bulunan ve düşük hızda çalıştırılan karıştırıcıya (Waring Blendor) kondu. Daha sonra karıştırıcı yüksek devirde çalıştırılarak 9 g Na polypectate (Burger Enterprises, 2225 Eton Ridge Madison, Wisconsin 53705-USA) azar azar ilave edildi. Karıştırıcı 15 sn yüksek hızda çalıştırıldıktan sonra durduruldu ve besiyeri 2 lt lik bir erlene döküldü. Ağız aliminyum folye ile kapatılarak 120°C da 1,5 atmosfer basınç altında 25 dakika sterilize edildi. Daha sonra hazırlanan besiyeri 9 cm çaplı cam petri kaplarına her petriye yaklaşık 13-15 ml olacak şekilde döküldü. Besiyerleri katılaştıktan sonra 24-48 saat yüzeylerinin tamamen kuruması için beklendi. Besiyerleri hemen kullanılacaksa katılaştıktan sonra steril hava üflemleri bir kabin (Laminar flow cabinet) içinde petri kaplarının kapakları yarı açık olarak 2-4 saat besiyeri yüzeyinin tamamen kuruması sağlandı.

Bu şekilde hazırlanan CVP besiyerine, alınan örneklerin steril destile su içinde hazırlanmış süspansiyonlarından 0.1 er ml alınarak cam bâgetle ekim yapıldı. İnokule edilen besiyerleri 27°C da inkube edildiler. 2-3 gün inkubasyondan sonra CVP besiyerinde tipik krater şeklinde koloni oluşturan bakteriler yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp. olarak değerlendirildi.

3.2.3.1. Saplardan izolasyon

Hastalıklı patates bitkilerin saplarından %70'lik ethyl alkole bandırılmış ve alevden geçirilmiş steril bir bistüri yardımıyla, sağlıklı doku ile siyahlaşmış, yumuşamış

infekteli dokuyu kapsayan kısımdan 2-3 cm.lik parçalar kesildi. Daha sonra bu parçalar %1 lik Na ClO çözeltisinde 3 dakika yüzeysel dezenfeksiyona tabii tutuldu. Steril suda 1 kaç kez durulandıktan sonra steril kurutma kağıtlarında kurutuldu ve steril bir havanda 1-2 ml steril su içinde ezilerek süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan bu süspansiyondan 10^{-1} 'den 10^{-5} 'e sulandırma serileri hazırlandı. Her seriden mikropipet yardımıyla 0.1 ml alınarak CVP besiyerine cam bağıtle ekim yapıldı.

3.2.3.2. Çürük yumrulardan izolasyon

Hastalıklı yumru örneklerinden sağlıklı doku ile çürüyen kısmın kenarından yaklaşık 0.5 g'lık doku parçaları alevden geçirilmiş steril bir bistüri yardımıyla içinde 9ml steril su bulunan tüplere alındı. Daha sonra tüp karıştırıcıda iyice karıştırıldı ve bu süspansiyondan yine 10^{-5} e kadar sulandırma serileri hazırlandı. Her seriden yukarıda belirtildiği şekilde CVP besiyerine ekim yapıldı.

3.2.3.3. Sulardan izolasyon

Laboratuvara getirilen su örneklerinden her örnekten yaklaşık 50 ml su, 100 ml lik ağzı vidalı kapaklı steril şişelere kondu. Şişelerin üzerine aşağıda bileşimi ve hazırlanış şekli anlatılan Pektate Zenginleştirme besiyeri karıştırılarak ilave edildi. Şişe ağzına kadar dolduruldu ve kapağı, içeride hava kabarcığı kalmamasına özen gösterilerek dikkatlice sıkı bir şekilde kapatıldı. Şişeler 24°C de 48 saat boyunca inkube edildiler (Meneley and Stanghellini, 1976).

PEM (Pektate Zenginleştirme Ortamı) Meneley and Stanghellini (1976).

Na polypectate (Burger Enterprises)	0.625 g
%10 $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	2.5 ml
%10 K_2HPO_4	2.5 ml
%5 $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.5 ml
Damıtık su	225 ml.

Na- polypectate kullanılmadan önce Meneley and Stanghellini (1976) da belirtilen metoda göre çözünebilir şekerlerden arındırıldı. Bunun için 100 gr Na- polypectate 500 ml %60'lık ethyl alkol ilave edilerek 15-20 dakika otoklavda sterilize edildi. Daha sonra pektate her seferinde 250 ml lik %60'lık ethyl alkol (%5 HCl ile asitleştirilmiş) ile 3 kez yıkandı. 3 kez de 150 ml lik %95 lik ethyl alkol'le yıkanıp durulandıktan sonra 60°C de 12 saat boyunca kurutuldu. Bu şekilde hazırlanan Na-polypectate'den 0.625 g alındı, yukarda belirtilen miktarlarda, sterilize edilmiş tuz çözeltileri 225 ml steril su ile karıştırıldı.

PEM'da inkubasyondan sonra şişelerin kapakları açılarak her örnekten daha önce saplardan izolasyon kısmında belirtildiği gibi sulandırma serileri hazırlanarak (10^{-1} - 10^{-5}) CVP besiyerine cam bağıtle ekim yapıldı.

3.2.3.4. Toprakten ve rizosferden izolasyon

Tarladan alınan ve paçal yapılan toprak örneklerinden yaklaşık 25 g. toprak örneği 250 ml'lik steril ağzı vidalı kapaklı şişelere kondu. Şişeler daha önce sulardan izolasyon kısmında anlatıldığı şekilde hazırlandı, PEM besiyeriyle ağzına kadar karıştırılarak dolduruldu. Daha sonra kapaklar yine içerde hava kalmamasına özen gösterilerek dik-katlice ve sıkıca kapatıldı. Kapaklar parafilmle sarılarak 24°C de 48 saat boyunca inkube edildiler. (Meneley and

Stanghellini, 1976). Inkubasyondan sonra yine sulandırma serileri hazırlanarak CVP'ye ekim yapıldı.

Rizosfer den izolasyon için sapları kesilmiş kök boğazı ve kökleri içeren patates bitki örnekleri temiz bir kurutma kağıdı üzerine konarak bitki üzerine yapışmış toprak parçaları steril bir fırça yardımıyla kağıt üzerine alındı. Bu şekilde elde edilen rizosfer toprak örneklerinden yaklaşık 5-10 g.lık kısım 20 ml'lik vidalı kapaklı şişelere kondu ve üzeri PEM ile tamamlanarak şişelerin ağzı yukarda belirtilen şekilde kapatıldı. 24°C de 48 saat inkubasyondan sonra sulandırma serileri hazırlanarak CVP besiyerine ekim yapıldı.

3.2.4. Bakterilerin tanılanması

Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp.'nin ön tanıması için Perembelon and Hyman (1986) erythromycin'e duyarlılık ve sıcaklık toleranslarına dayalı olarak geliştirdikleri süratli teşhis metodu ve Philips and Kelman (1982) nin *E.carotovora* subsp *carotovora*, *E.carotovora* subsp *atroseptica*'nın α -methyl-glucosid'den agarlı besiyerinde yararlanma farklılığına dayalı test metodları birleştirilerek kullanıldı.

Bunun için CVP seçici besiyeri daha önce belirtil-diği şekilde hazırlanarak petrilere döküldü. Ayrıca aynı şekilde hazırlanmış CVP besiyerine otoklavdan sonra aseptik koşullarda litrede 35 µg olacak şekilde erythromycin ilave edilerek petrilere döküldü. α -methyl-glucoside'den yararlanma testi içinde aşağıda içeriği ve hazırlanışı verilen α MG besireyi hazırlandı.

α MG besiyeri (Philips and Kelman, 1982)

Solusyon A	%0.4	KH_2PO_4
	%1.4	K_2HPO_4
	%0.2	NH_4Cl

Solusyon B %0.2 Bacto Casamino Acids
% 3 Agar (Difco No.1).

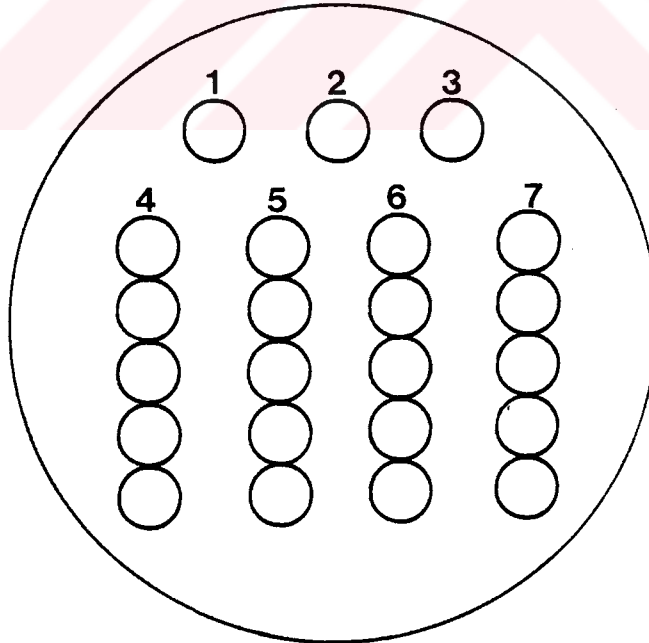
Solusyon C %10 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

Solusyon D %20 α -Methyl-Glucoside

Solusyon E %1 TTC (Triphenil tetrazolium choride)

Bu 5 solusyon ayrı ayrı otoklavda sterilize edildi. Otoklavdan sonra 500 ml A, 500 ml B, 1 ml C, 50 ml D ve 2 ml E solusyonlarından olmak üzere karıştırılıp petri kaplarına 12-13 ml olacak şekilde dökülerek α MG besiyeri hazırlandı.

Bu şekilde hazırlanan besiyerlerini içeren petri kaplarının alt kısımlarına çok sayıda örneği testlemek amacıyla cam kalemiyle aşağıdaki şekilde bir şablon çizildi veya üzerine aynı şekilde şablon çizilmiş ve petrikabı çapında kesilmiş asetatlar şeffaf plastik bantla petrilerin altına tutturuldu (Şekil 1).



Şekil 1. Besiyerinde çok sayıda izolatin testlenmesi için petri kabı altına çizilen şablon.

1.2.3 - Referans izolatları

4.5.6.7- Testlenecek izolatlar.

Daha önce bakterilerin izolasyonu bölümünde anlatıldığı gibi her örneğe ait CVP besiyerinde 27°C de 24-48 saat inkubasyon sonunda oluşan tipik krater biçimindeki kolonilerden ve her örnek için en az 5 koloniden olmak üzere steril bir iğne ile, altında şablon bulunan 4 ayrı petriye (2 adet CVP, 1 adet Erythromycinli CVP (CVPE) 1 adet αMG) nokta inokulsasyonu yapıldı. Ayrıca pozitif kontrol olarakta aynı petrilere şekil-1 de belirtilen yerlere (1.2.3) *Ecc* -133, *Eca*-1039, *Echr*- 4043 nolu tanılaması yapılmış kültürlerden (Nutrient Agar'da 24 saat geliştirilmiş) nokta inokulasyonu yapıldı. Bu şekilde ekim yapılan besiyerleri aşağıdaki sıcaklık koşullarında 24-48 saat inkube edildiler.

- 1- CVP - 27 °C
- 2- CVP - 36 °C
- 3- CVPE - 27 °C
- 4- αMG - 24 °C

İnkubasyondan sonra aşağıdaki tabloya göre tanılamaları yapıldı.

	CVP 27°C	CVP 36°C	CVPE 27°C	αMG
<i>Ecc</i>	+	+	+	Beyaz koloni
<i>Eca</i>	+	-	+	Kırmızı "
<i>Echr</i>	+	+	-	Beyaz "

(+) tipik krater tipi koloni

(-) gelişme yok

Tanılamaları yapılan kolonilerden Nutrient Agar (Difco) besiyerine öze ile çizgi ekim yapılarak 24 saat 27°C de inkübe edildi. NA'daki tek kolonilerden eğik besiyerine alınarak 24 saat geliştirildi ve üzerinde steril mineral yağ eklenerek 20°C'de saklandı.

3.2.4.1. Patojenisite ve Virulens

Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp.ler üzerinde patojenisite çalışmaları yumrulardan çıkarılmış patates dilimleriyle ve patates bitkilerinin yeşil aksamıyla olmak üzere 2 şekilde yapıldı. İzolatların virulensi ise yeşil aksamda yapılan denemelerle belirlendi.

3.2.4.1.1. Patates dilimleri testi

Bunun için patates yumruları (yeni hasat edilmiş veya çimlenmemiş) musluk suyunda yıkandıktan sonra %10 luk NaClO solusyonunda 10 dakika tutuldu ve havada kurutuldu. Alevden geçirilmiş steril bir bisturi yardımıyla 7-8 mm. kalınlıkta patates dilimleri hazırlandı. Her dilim içinde steril su ile ıslatılmış filtre kağıdı bulunan petrilere yerleştirildi. Patates diliminin üst yüzeyine steril bir bisturi yardımıyla 3-4 mm. derinlikte bir yarık açıldı. Bu yarık üzerine 24 saatlik NA'da geliştirilen bakteri kültürlerinden steril su ile hazırlanan süspansiyondan (yaklaşık 10^8 hücre/ml) bir kaç damla kondu. Denemede kullanılan her yumrudan bir dilim de kontrol olarak alındı ve bakteri kültürü yerine steril su damlatıldı. İçinde patates dilimleri bulunan petri kapları 24°C da 48 saat inkube edildi. İnku-basyon sonunda patates dilimlerinde inokulasyon noktasında yumuşak çürüklük belirtisi bulunup bulunmadığı steril bir öze ile kontrol edildi (Lelliott et al., 1966).

3.2.4.1.2. Patates bitkilerinde patojenisite ve virulens

Bu amaçla anaç kademedeki tohumluk olarak yetiştirilen granola çeşiti patates yumruları her saksıya 3 tane olmak üzere dikildi. Bitkiler 5-6 haftalık olduğu devrede

(yaklaşık 25 cm. boyda) inokule edildiler. 24-48 saatlik Nutrient Agarda geliştirilmiş bakteri kültürlerinden steril bir kürdanla alınan bakteri kitlesi sapa 2 boğum arasından batırılmak suretiyle inokule edildi (Hossain and Read, 1983), kürdan yerinde bırakılarak inokulasyon noktası parafilmle sarıldı. Her denemede pozitif kontrol olarak 3 ayrı saksıdaki bitkiler *Eca*-1039, *Ecc*-133, *Echr*-4043 kodlu bilinen bakterilerle inokule edildi. Ayrıca 1 saksıda, kürdan steril suya daldırılarak bitkilere batırıldı. Her saksıda 3 bitki sapı, kürdan metoduyla inokule edilerek deneme 3 tekerrürlü olarak yürütüldü. Bitkiler ıslatılmış polyethylen torbalara kondu ve oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. 48 saat sonra torbalar çıkarıldı ve inokulasyondan sonra 4.günde bitkilerde belirti oluşumu incelendi. Yapraklarda solgunluk, inokulasyon noktasının altında ve üstünde sap boyunca siyahlaşma ve yumuşama şeklindeki belirti oluşturan izolatlar patojen olarak değerlendirildi. İzolatların virülensini saptamak için inokulasyondan sonra 4.günde saplardaki lezyon boyu bir cetvelle ölçülerek kaydedildi. Her sapta ölçülen lezyon boyu, ortalama sap uzunluğu (yaklaşık 25 cm.) dikkate alınarak yüzde infekteli kısım üzerinden Horsfall - Barrett skalasına göre (1=0 hiçbir belirti yok, 2=sapın%1-3 infekteli, 3=%3-6, 4=%6-12, 5=%12-25, 6=%25-50, 7=%50-75, 8=%75-87, 9=%87-93, 10=%93-96, 11=%96-99, 12=%100) hastalık şiddeti değerlendirildi (Horsfall, 1945).

3.2.4.2. Biyokimyasal testler

CVP seçici besiyerinde krater tipi koloni oluşumuyla ön tanılamaları yapılmış patojen *carotovora* grubu *Erwinia*'ların tür ve alt türlerinin ayırımı için; glikoz fermentasyonu, karbonhidratlardan asit oluşumu, fosfataz, indol oluşumu, sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu testleri yapıldı (Graham, 1972). Kod numaralı izolatlar (*Ecc*-133, *Eca*-1039, *Echr*-4043) pozitif kontrol olarak kullanıldı.

3.2.4.2.1. Glikoz fermentasyonu

Glikoz oksidatif ya da fermentatif metabolizasyonu için Hugh and Leifson (1953) un O-F ortamından yararlanıldı.

O-F ortamı:

Pepton (Difco)	2.0	g
NaCl	5.0	g
K ₂ HPO ₄	0.3	g
Bromthymol blue	0.03	g
Agar (Difco No:1)	3.0	g
Damıtık su	1	lt

Yukardaki maddeler damıtık suda ısıtılarak çözüldü ve pH 6,8-7.0 ye ayarlandı. 4,5 ml ortam 12x200 mm.lik ağzı vidalı kapaklı tüplere dağıtıldı. Tüpler 120°C de 15 dakika otoklavda tutuldu. Sterilizasyondan sonra, su banyosunda 45-50°C de soğutulan tüplerin içine filtre (0.22µ sortarius) ile sterilize edilmiş %10 luk glikoz solusyondan aseptik koşullarda 0.5 ml ilave edilip karıştırıldı ve soğumaya bırakıldı. Testlenecek her izolat için 2 tüp 24 saat NA besiyerinde geliştirilmiş kültürlerden öze yardımıyla besiyerin batırılarak inokule edildi. Testlenen her izolat için inokule edilen tüplerden birinin üzeri 2-3 ml steril mineral yağla kapatıldı. Tüpler 27°C'de 24-48 saat inkube edildiler. Her iki tüpte de sarı renk oluşumu durumunda glikoz fermentasyonu pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.4.2.2. Karbonhidratlardan asit oluşmu

Bunun için Ayers, Rupp and Johnson (1919) ortamından yararlanıldı:

NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0	g
KCl	0.2	g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2	g

Bromthymol blue (%1.6 alkolik solusyon)	1.0 ml
Damıtık su	1.0 lt

Yukardaki maddeler suda eritildi ve pH: 7.0 ye ayarlandı. Hazırlanan solusyondan 1.8 ml 12x100 mm.lik tüplere kondu. Tüplerin ağzı pamukla kapatılarak 120^oc de 1.5 atmosfer basınç altında 15 dakika sterilize edildi. Testlenecek karbon kaynaklarının (α -Methyl Glucoside, Maltoz, Laktoz, Trehaloz, Palatinoz) %10 luk sudaki solusyonları filtre (0.22 μ sortarius) ile sterilize edildi ve her tüpe 0.2 ml aseptik koşullarda sterilizasyondan sonra ilave edildi. Test edilecek her izolat ve pozitif kontrol için bilinen *Erwinia* türlerinin 24 saatlik NA da gelişmiş kültürleri ile öze yardımıyla her karbonhidrat kaynağı için 2 tekerrürlü olarak inokule edildi. 27^oc de inkube edilen tüplerdeki gelişme 3,7,14 ve 21.günlerde kontrol edildi. Sarı renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.4.2.3. Fosfataz

Fosfataz testi Cowan (1974)'e göre aşağıdaki besiyeri kullanılarak yapıldı:

Peptone	10 g
beef extract (Difco)	5 g
Agar (Difco-No:1)	16 g
Damıtık su	1 lt

Yukardaki maddeler ısıtılarak suda eritildi ve pH: 7.0 e ayarlandı. 120^oc de 10 dakika sterilizasyondan sonra 45-50^oc 'e su banyosunda soğutuldu. Soğutulan besiyerine filtre ile sterilize edilmiş %10' luk Phenolphthalein diphosphate tetra sodium tuzundan aseptik koşullarda 5 ml ilave edildi ve iyice çalkalanarak her bir petriye 12-13 ml döküldü. Besiyerlerinin yüzeyi steril hava üfleyen kabinde petri kapakları yarı açık olarak 2-3 saat iyice kurutuldu.

Test edilecek ve pozitif kontrol olarak bilinen bakterilerin 24 saatlik NA daki kültürlerinden steril iğne yardımıyla bu besiyeri nokta şeklinde ve 2 tekerrürlü olarak inokule edildi. Petriler 27°C de 48 saat inkube edildiler. Daha sonra petri kapağına 0.1 ml amonyum hidroksit damlatılarak besiyeri kapağın üzerine kapatıldı. Yaklaşık 30 sn. sonra amonyak difuzyonu sonucu renkleri pembe ya da kırmızımsı olan koloniler fosfataz pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.4.2.4. Indol

Indol oluşumu için Dickey and Kelman (1988)'in metodu uygulandı. Bunun için:

Tryptone	10 g
L.tryptophan	1 g
Damıtık su	1 lt

bileşiminde hazırlanan eriyikten 12x200 mm'lik ağzı vidalı kapaklı tüplere 5 ml kondu ve 120°C'de 15 dakika sterilize edildi. Soğutulduktan sonra bu tüpler testlenecek izolatlar ve referans olarak alınan *Erwinia*'ların 24 saatlik NA'daki kültürleri ile öze yardımıyla 2 tekerrürlü olarak inokule edildi. Tüpler çalkalayıcıda 27°C'de 5 gün boyunca inkube edildi. Daha sonra üzerine 0.5 ml Kovac's indol ayıracı (p.dimethyl aminobenzaldehyde 5 g + butyl alkol 75 ml + konsantre HCl 25 ml) konarak hafifçe karıştırıldı. Tüpte üst kısımda koyu kırmızı renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.4.2.5. Sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu

Bu test için tüplerde sıvı besiyerinde (Dye, 1969) ve petrilere agarlı besiyerinde olmak üzere 2 ayrı metottan yararlanıldı.

Dye (1969) tert ortamı:

Pepton	10 g
Beef extract	5 g
Sakkaroz	40 g
Damıtık su	1 l

Yukardaki maddeler suda eritildikten sonra 12+200-mm.lik ağzı vidalı kapaklı tüplere 5'er ml. dağıtıldı ve 120°C de 15 dakika otoklavda tutuldu. Daha sonra bu tüpler 24 saatlik NA da geliştirilen testlenecek izolat ve pozitif kültürlerle öze yardımıyla inokule edildi. Tüpler 27°C de 2 gün boyunca çalkalayıcıda inkube edildi. İnkubasyondan sonra tüpler üzerine aşağıda içeriği verilen Benedict ayırıcısından 5'er ml kondu. Tüpler elle hafifçe çalkalandıktan sonra kaynar su içinde 10 dakika tutuldu. Tüp içinde sarımsı turuncu renk oluşmu pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

Benedict Ayıracı (Fahy and Hayward 1983)

Solusyon A: Sodyum sitrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$)	173 g
Na_2CO_3	100 g

Yukardaki maddeler 600 ml damıtık su içinde ısıtılarak eritildi ve hacmi 850 ml.ye tamamlandı.

Solusyon B: 18 g. $CuSO_4$ 100 ml destile su içinde eritildi ve hacim 150 ml'e tamamlanarak yavaşca solusyon A içine karıştırıldı. Hazırlanan ayıraç ışıktan etkilenmesi için kahverengi şişelere konarak +4°C'de buzdolabında saklandı.

Sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumunda ayrıca alternatif metod olarak Dickey and Kelman (1988)'de verilen Stowell and Stanghellini'nin agar plate metodu değiştirilerek uygulandı. Besiyeri 2 ayrı solusyon şeklinde hazırlandı:

Solusyon. A: Peptone	10 g
Agar (Difco.No:1)	17 g
Damıtık su	800 ml

Solusyon B: Sucrose	40 g
Damıtık su	200 ml

Solusyon A hazırlanarak 120°C da 15 dakika otoklavda tutuldu ve su banyosunda $45-50^{\circ}\text{C}$ 'ye getirildi. Solusyon B filtre (0.22μ Sartorius) ile sterilize edilerek $45-50^{\circ}\text{C}$ deki solusyon A'ya aseptik koşullarda karıştırıldı. İyice çalkalandıktan sonra 9 mm çaplı petri kaplarına 16-18 ml olacak şekilde dağıtıldı. Besiyeri donduktan ve yüzeyi tamamen kuruduktan sonra, besiyeri üzerinde vakum pompasına bağlı 2 mm. delik çaplı ve alevden geçirilmiş bir mantar delici ile çukurlar açıldı. Çukurlar besiyeri kalınlığının yarısına kadar derinlikte olup deliklerin altında besiyeri kalacak şekilde mantar delici tutuldu. Daha sonra 24 saatlik NA'da geliştirilen kültürlerden öze ile çukur içindeki besiyeri üzerine nokta ekim yapıldı. Bu şekilde inokule edilen besiyerleri 27°C de 24-48 saat inkube edildi. Inkubasyondan sonra petri kapağı açılarak besiyeri üzerine 10 ml Benedict ayıracı pipet yardımıyla yavaşça döküldü. Petri kapları 60°C deki bir fırına konarak 30-45 dakika tutuldu. İnokulasyon noktası etrafında mavi zemin üzerinde sarımsı turuncu zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

4. B U L G U L A R

4.1. Sürvey Çalışmaları

Sürvey çalışmaları 1989 ve 1990 yıllarında Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates ekim alanlarında ve patates depolarında olmak üzere iki alanda yapıldı.

4.1.1. Tarla sürveyleri

1989 ve 1990 yıllarında Haziran-Eylül ayları arasında 4 aylık bir periyot içinde Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates tarlaları belirtilen metoda göre incelendi. Yapılan incelemeler hastalıklı patates bitkilerinin genelde sağlıklı bitkilere oranla daha zayıf geliştiğini gösterdi. Bu tür bitkilerin yapraklarının daha açık yeşil renkte veya sarımsı olduğu, yaprak kenarlarının içe doğru kıvrıldığı, bazı bileşik yaprakların ana saptan itibaren tamamen solup kuruyarak kahverengi bir renk aldığı görüldü (Şekil 2). Genelde toprak üzerinde devrilmeden duran bu bitkilerin gövdesinde herhangi bir belirtiyeye rastlanmamasıyla birlikte, bitki söküldüğünde toprağın hemen altında kalan kök boğazının tamamen kahverengimsi bir renk aldığı dikkati çekti (Şekil 3). Vegetasyon periyodunun başında bu tip belirti gösteren ve diğerlerine oranla daha zayıf gelişen bitkiler söküldüğünde kökün bağlandığı yumrunun cıvık, sulu bir hal aldığı ve tamamen çürüdüğü görüldü. Bu tür infeksiyonların görüldüğü tarlalarda yer yer boşluklara da rastlandı.

Bazı hallerde hastalıklı bitkilerin toprak üstü aksamında aynı tip yaprak belirtilerinin yanı sıra gövdenin hemen toprak üstünde kalan kısmında sapların infekte olduğu, infekteli dokunun sağlıklı dokuya göre içe doğru



Şekil 2. Nevşehir ili Ürgüp ilçesinde tarlada *Ervinia carotovora* subsp *atroseptica* ile infekteli patates bitkilerinin görünümü.



Şekil 3. Ürgüp'te bir tarlada *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* ile infekteli bir patates bitkisinin kök boğazında oluşan belirtiler. Ok işaretleri infekte olmuş kök ve kök boğazını göstermektedir.



Şekil 4. Nevşehir ili Derinkuyu ilçesinde granolu çeşidi bir patates bitkisinde (a) karabacak hastalığının belirtileri, (b-c) infekteli sapın yakından görüntüsü.

hafifçe batmış, sert, kuru, kahverengimsi siyah lezyonlarla sağlıklı dokudan ayrıldığı görüldü (Şekil 4). Bu tip belirtilere daha ziyade sulanmamış tarlalarda veya havaların kurak olduğu zamanlarda rastlandı. Gövdenin toprak üstündeki hasta kısmındaki bu belirtiler sulanan tarlalarda ve nemli koşullarda sulu, yumuşak bir çürüklük şeklinde olup lezyonlar sapı bazen boydan boya kaplayacak kadar uzun ve siyahımsı-kahverengi bir renkteydi. Sapın üst kısmını taşıyamaması nedeniyle bu şekildeki infekteli bitkilerin toprak üzerine devrildiği gözlemlendi. Ayrıca bu tip belirti gösteren bitkilerde bazı sapların sağlam olduğu, bazılarının da dip kısımlarında herhangi bir lezyona rastlanmazken üst kısımlarında siyahlaşıp yumuşama şeklinde, sapı çepeçevre saran uzunlamasına lezyonlar görüldü. Benzer belirtiler hastalıklı bitkilerin etrafındaki sağlıklı bitkilere ait saplarda da gözlemlendi (Şekil 5).

Vegetasyon periyodu boyunca yukarıda belirtilen şekillerde ortaya çıkan hastalık sendromuna survey yapılan her 3 ilde de yöre üreticisi tarafından "Karabacak" adı verilmekteydi. Hastalık görülen her tarladan 3-5 adet hastalıklı bitki örneğinden seçici besiyeri (CVP) kullanılarak bakteriler izole edildi ve tanılamaları yapıldı. 1989-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir ve Niğde illeri patates üretim alanlarında yapılan tarla surveyleri sonuçları ve *Erwinia carotovora* ile bulaşma durumları sırasıyla Çizelge 4, 5 ve 6'da özetlenmiştir.



Şekil 5. Nevşehir ili merkez ilçede patates tarlasında Gronola çeşiti bir bitkide Karabacak hastalığının gövdedeki görünümü: Oklar sonradan infekte olmuş bir sapı ve bu sapın enine kesitini göstermektedir.

Çizelge 4. Bolu ilinde 1989-1990 yıllarında patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan survey sonuçları

ilçe	İncelenen tarla sayısı	Patates çeşiti	Tarla alanı (dk)	Hastalık çıkışı (%)	Yaygınlık oranı (%)	İzole edilen* etmen
Merkez	12	Resy	65.5	0.0		-
"	1	"	10	1.0		Eca
"	1	"	25	0.5		Eca
"	7	Marfona	43.5	0.0		-
"	1	"	5	1.0		Eca
"	1	"	3	1.0		Eca
"	1	"	7	3.0		Eca
"	11	Ausonia	44	0.0		-
"	1	"	2	3.0		Eca
"	1	Planta	13	1.0		Eca
"	6	Concord	33	0.0		-
"	1	Granola	3	0.0		-
"	1	"	5	5.0		Eca
"	1	"	12	2.0		Eca
"	1	Sandra	4	0.0		-
"	1	"	10	5.0		Eca
"	1	"	6	1.0		Eca
TOPLAM	49		291 ort	0.60	22.44	
Gerede	2	Marfona	12	0.0		-
"	1	"	10	3.2		Ecc
"	1	"	10	0.1		Eca
"	4	Ausonia	14	0.0		-
TOPLAM	8		46 ort	0.72	25.0	
TOPLAM	57		337 ort	0.62	22.79	

Ecc - *Erwinia carotovora* subsp *carotovora*

Eca - *Erwinia carotovora* subsp *artroseptica*

Bolu ilinde patates ekim alanlarında yapılan sürveylerde özellikle tohumluk ve ticari amaçlı patates yetiştiriciliğinin Bolu Merkez'de ve Gerede Dörtdivan'da olduğu gözlenmiştir. Diğer ilçelerde ise sadece çiftçinin kendi ihtiyacını karşılamak için küçük çapta patates tarımı yapıldığı görülmüştür. Bu nedenle Bolu Merkez ve Gerede'de sürveylere ağırlık verilmiştir. Çizelge 4 incelendiğinde Bolu Merkezde hastalığın ortalama çıkış oranı %0.60, Gerede de ise ortalama %0.72 olarak saptanmıştır. Bolu ilinde toplam 337 dekarlık bir alanda 57 tarlada yapılan sürveylerde patates çeşitlerine göre değişmekle birlikte %0.5-5.0 oranında Karabacak hastalığına rastlanmıştır. Hastalığa neden olan etmenin genelde *Eca* olduğu görülmüş, 1 tarladan da *Ecc* izole edilmiştir. *Echr*'ye rastlanmamıştır. Çizelge 1'deki veriler dikkate alınarak tartılı ortalama metoduna göre hastalığın Bolu ilinde çıkış oranı %0.62, yaygınlık oranı ise %22.79 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 5. Nevşehir ilinde 1989-1990 yıllarında patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan survey sonuçları

İlçe	İncele- nen tar- la sayısı	Patates çeşiti	Tarla alanı (dk)	Hastalık çıkışı (%)	Yaygınlık oranı (%)	İzole edilen etmen
Merkez	4	Granola	67	0.0		-
	1	"	20	3.2		Eca
	1	"	8	10.1		Eca
	1	"	20	12.2		Ecc
	2	İlona	24	0.0		-
	1	"	20	5.4		Eca
	1	"	9	15.0		Eca
	1	"	10	12.0		Eca, Ecc
	1	"	6	1.0		Ecc
	5	Resy	65	0.0		-
	1	"	10	0.5		Eca
	3	Ausonia	42	0.0		-
	1	"	20	4.2		Ecc
	1	"	8	3.1		Eca
	1	Panda	20	0.0		-
	1	"	25	10.1		Eca
	1	"	10	0.5		Eca
	1	Ernest tolz	10	3.2		Eca
	1	"	6	1.6		Eca
	3	Marfona	48	0.0		-
	2	Planta	20	0.0		-
	1	"	8	2.0		Eca
	4	Russet Burbank	282	0.0		-
	1	" "	40	2.0		Eca
	1	" "	30	3.2		Eca, Ecc
	1	Hertha	10	1.0		Eca
	1	"	12	2.0		Eca
	1	Apollo	3	0.5		Ecc
TOPLAM	44		853 ort	1.64	45.45	

Çizelge 5. (Devamı)

ilçe	İncele- nen tar- la sayısı	Patates çeşiti	Tarla alanı (dk)	Hastalık çıkışı (%)	Yaygınlık oranı (%)	İzole edilen etmen
Derinkuyu	2	Granola	44	0.0		-
	1	"	20	2.4		Ecc
	1	"	17	7.4		Eca
	1	"	4	0.5		Eca, Ecc
	1	İlona	16	7.5		Eca, Ecc
	1	"	10	2.0		Eca
	2	Resy	35	0.0		-
	1	"	25	0.5		Eca
	1	Ausonia	8	0.0		-
	1	"	12	2.3		Eca
	1	Planta	9	0.0		-
	1	"	12	1.6		Eca
	1	Agria	20	0.0		-
	1	"	15	0.5		Ecc
	1	Russet Burbank	30	0.0		-
	1	" "	130	2.0		Eca
	1	" "	40	0.5		Ecc
	1	Hertha	15	3.5		Eca
	20		462	ort 1.54	60.0	

Çizelge 5. (Devamı)

İlçe	İncele- nen tar- la sayısı	Patates çeşiti	Tarla alanı (dk)	Hastalık çıkışı (%)	Yaygınlık oranı (%)	İzole edilen etmen
Ürgüp	3	Granola	52	0.0		-
	1	"	16	2.3		Eca, Ecc
	1	"	16	3.0		Eca
	1	İlona	18	0.0		-
	1	"	15	5.1		Eca
	1	"	10	10.3		Eca
	2	Marfona	24	0.0		-
	3	Agria	28	0.0		-
	1	"	20	0.3		Ecc
	1	Hermes	8	1.0		Ecc
	1	"	10	3.0		Eca
	1	"	8	3.0		Eca
Toplam	17		225 ort	1.47	47.0	
Acıgöl	1	Granola	10	0.0		-
	1	"	20	4.0		Eca
	1	İlona	12	0.0		-
	1	"	8	6.3		Eca
	1	"	15	2.1		Eca
	1	Marfona	12	0.0		-
	2	Ausonia	16	0.0		-
Toplam	8		93 ort	1.74	37.5	
Avanos	3	Russet Burbank	120	0.0		-
	1	Shepody	200	0.0		-
	1	"	100	0.1		Eca
Toplam	5		420 ort	0.02	20.0	
TOPLAM	94		2053	1.27	43.3	

Nevşehir ilinde 1989-1990 yıllarında yürütülen tarla sürveylerinde patates ekilişinin, kumlu gevşek toprak yapısı ve yeraltı sulama suyu imkanıyla Nevşehir merkezinin batısındaki Derinkuyu, Ürgüp, Acıgöl ilçelerini kapsayan bölgede yapıldığı görülmüştür. Bu bölge aynı zamanda, Türkiye'de patates üretiminin en yoğun, verimin en yüksek olduğu tohumluk ve ticari patates yetiştiriciliğinin merkezi durumundadır. Nevşehir ilinde toplam 5 ilçede 2063 dekarlık bir alanda 94 tarla incelenmiştir. Çizelge 5 incelendiğinde, yaklaşık 14 patates çeşitinin yetiştirildiği Nevşehir'de, Karabacak hastalığının çıkış oranı en düşük Avanos ilçesinde (%0.02), en yüksek Acıgöl'de (%1.74) ve ilde ortalama %1.27 olduğu anlaşılmaktadır. Nevşehir ilinde hastalığın yaygınlık oranı ise ortalama %43.3 olarak hesaplanmıştır. Sürveyler sırasında hastalıklı bitki örneklerinin alındığı tarlaların %63'ünde Karabacak hastalığına neden olan etmenin Eca, %23'ünde Ecc, %14'ünde ise Eca ve Ecc olduğu görülmüştür. Echr ise rastlanmamıştır.

Çizelge 6. Niğde ilinde 1989-1990 yıllarında patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan survey sonuçları

İlçe	İncelenen tarla sayısı	Patates çeşitleri	Tarla alanı (dk)	Hastalık çıkışı (%)	Yaygınlık oranı (%)	İzole edilen etmen
Merkez	12	Granola	118	0.0		-
	1	"	33	2.3		Ecc
	1	"	10	3.1		Eca
	1	"	12	1.2		Eca
	1	"	10	5.1		Eca, Ecc
	1	"	18	1.3		Ecc
	1	"	12	4.0		Ecc
	1	"	20	2.2		Eca, Ecc
	1	"	60	1.0		Ecc
	4	İlona	26	0.0		-
	1	"	8	6.1		Eca
	1	"	8	1.1		Eca
	1	"	12	12.0		Eca, Ecc
	1	"	10	3.2		Eca
	1	"	2	5.5		Ecc
	5	Marfona	41	0.0		-
	1	"	10	0.5		Eca
	1	"	8	2.0		Eca
	1	"	45	1.0		Eca, Ecc
	1	"	4	1.2		Eca
	1	Ernest Tolz	14	2.1		Ecc
	2	Sandra	5	0.0		-
	1	"	4	1.2		Ecc
	3	Russet Burbank	48	0.0		-
	1	"	15	4.0		Eca
	1	"	30	1.0		Ecc
	1	Katja	20	2.0		Eca
	5	Ausonia	32	0.0		-
	1	"	4	0.2		Eca
	3	Hermes	18	0.0		-
	1	"	10	3.0		Eca
	1	"	8	1.0		Eca
	4	Agria	29	0.0		-
	1	"	20	0.1		Eca
	5	Planta	76	0.0		-
	1	"	24	1.0		Eca
TOPLAM	70		824	ort 1.20	38.5	
Çamardı	2	Granola	4	0.0		-
	1	Marfona	2	0.0		-
TOPLAM	3		6	ort 0.0	0.0	-
TOPLAM	73		830	ort 1.19	38.3	

Niğde ilinde yapılan sürveylerde geniş çapta patates üretiminin yapıldığı Merkez'de 70, çiftçinin kendi ihtiyacı için patates yetiştiriciliğinin yapıldığı Çamardı'nda 3 olmak üzere toplam 73 tarla incelenmiştir. Çizelge 6'da görüldüğü gibi 830 dekarlık bir alanda yapılan incelemelerde Karabacak hastalığının çıkış oranı ortalama %1.19 olarak bulunmuştur. Niğde ilinde hastalığın yaygınlık oranı ise ortalama %38.3 olarak hesaplanmıştır. Niğde ilinde hastalık görülen tarlaların %55'inden *Eca*, %30 undan *Ecc*, %15'inden *Ecc* ve *Eca* izole edilmiştir. *Echr*'e Niğde ilinde rastlanmamıştır.

Her 3 ilde yürütülen sürvey çalışmaları sonucunda incelenen tarla sayısı, toplam tarla alanı, Karabacak hastalığının çıkış ve yaygınlık oranı ve hastalık görülen tarlaların *Erwinia carotovora* alt türleri ile bulaşma yüzdesi Çizelge 7'de özetlenmiştir.

Çizelge 7. 1989-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir, Niğde patates üretim alanlarında Karabacak hastalığı üzerinde yapılan sürveylerin veri özeti

İl	İncelenen tarla sayısı	Tarla alanı	Hastalığın çıkış oranı	Hastalığın yaygınlık oranı	İzole edilen etmenlerin yüzdesi		
		dk	%	%	<i>Eca</i>	<i>Ecc</i>	<i>Eca+Ecc</i>
BOLU	57	337	0.62	22.79	92	8	-
NEVŞEHİR	94	2053	1.27	43.30	66	23	11
NİĞDE	73	830	1.19	38.30	55	30	15
TOPLAM	224	3220	ort 1.18	ort 39.86			

Çizelge 7 incelendiğinde, 3 ilde patates üretim alanlarında yapılan tarla sürveylerinde Karabacak hastalığının çıkış oranı Nevşehir ilinde en yüksek oranda (ortalama %1.27), daha sonra Niğde ilinde ortalama %1.19, en düşük olarak da Bolu ilinde ortalama %0.62 olduğu anlaşılmaktadır. Hastalığın yaygınlık oranı ise Nevşehir, Niğde ve Bolu illerinde sırasıyla ortalama %43.3, %38.3 ve %22.79 olarak saptanmıştır. İncelenen tarlalarda hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlar her 3 ilde hastalığa neden olan etmenin genelde *Eca* olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde Karabacak hastalığı görülen tarlalarda sırasıyla %8, %23 ve %30 oranlarında *Ecc* izole edilmiştir (Çizelge 7). Ayrıca Nevşehir ve Niğde'de ise bazı tarlalarda her iki alt türünde aynı zamanda ve aynı tarlada Karabacak hastalığına yol açtığı saptanmıştır.

4.1.2. Depo sürveyleri

Patates depo sürveyleri 1988, 1989 hasat sonrasında ve 1989, 1990 Ocak-Şubat ayları içinde Bolu, Nevşehir ve Niğde illerindeki depolarda yapılmıştır. Patateslerin Bolu ilinde genelde üreticiye ait ev altlarındaki küçük depolarda, Yeniçağ'da Tohum Islah Üretme İstasyonu ve Merkez'de ise Tarım İl Müdürlüğü'ne ait büyük çaplı depolarda saklandığı görülmüştür. Nevşehir ilinde patates yetiştirilen pek çok köyde mevcut olan, çoğunluğu Ortahisar ilçesinde toplanmış tabii yeraltı depolarının patates depolamasında kullanıldığı görülmüştür. Niğde ilinde ise üreticiye ait ambar şeklindeki depolarda ve bazı köylerde yeraltı depolarında sayımlar yapılmıştır. Her 3 ilde yapılan incelemelerde kontrollü koşulların yaratıldığı modern depolara rastlanmamıştır. Patateslerin yığınlar halinde

veya delikli naylon, teliz çuvalar içinde 5-10 tonluk partiler halinde tabii koşullarda depolandığı gözlenmiş, depo çürüklüklerine karşı da genelde aktarma yapılarak yumruların elden geçirilmesi ve çürüklerin ayıklanması şeklinde önlem alındığı dikkati çekmiştir.

Patates depolarında yapılan incelemelerde patates çeşitleri de göz önünde tutularak önerilen metod uyarınca sayımlar yapılmıştır. Sayımlar sırasında tipik yumuşak, sulu, cıvık belirti gösteren yumrular hasta olarak kabul edilmiş ve bu yumrulardan alınan örneklerden CVP seçici besiyerine izolasyonlar yapılarak bakterilerin tanınması yapılmıştır. Ayrıca sayım yapılan depolarda hastalık görülen veya görülmeyen bazı bölme veya yığınlardan 30-40 adet sağlam yumru örnekleri alınmıştır. Bu örnekler laboratuvar da yumru inkubasyon metoduyla incelenerek depolardaki patateslerin gerçekte ne oranda *Erwinia* spp ile bulaşık olduğu ortaya konmaya çalışılmıştır. Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde incelenen depo veya bölme sayıları, patates çeşitlerine göre miktar, çürüme yüzdesi ve *Erwinia* spp ile bulaşma oranları sırasıyla Çizelge 8, 9 ve 10'da verilmiştir.

Çizelge 8. Bolu ilinde 1989-1990 yıllarında patates depolarında yapılan sürvey sonuçları

Patates çeşiti	Depo veya bölme sayısı	Miktar (ton)	Çürük yumru (%)	<i>E. carotovora</i> bulaşma (%)	izole edilen etmen
Marfona	2	28	0.0	-	
	1	12	0.0	2,5	<i>Eca</i>
Planta	7	94	0.0	-	
	1	11	0.0	3.3	<i>Eca, Ecc</i>
	1	12	1.7	2.5	<i>Eca</i>
	1	8	2.0	-	<i>Ecc</i>
	1	14	2.4	-	<i>Eca</i>
	1	11	8.0	20.0	<i>Ecc</i>
	5	63	0.0	-	
	1	16	0.0	0.0	
	1	12	2.0	6.6	<i>Eca</i>
Aula	2	18	0.0	-	
Semena	1	16	0.0	-	
"	1	12	0.0	0.0	
Diamant	2	26	0.0	-	
	1	13	0.0	0.0	
Toplam	29	366	ort 0.49	ort 3.99	

Çizelge 8 incelendiğinde Bolu ilinde yapılan depo surveylerinde toplam 29 depo veya bölmede yapılan incelemelerde depo veya çeşitlere göre değişmekle birlikte en az %1.7, en çok %8, ortalama %0.49 oranında yumuşak çürüklük saptanmıştır. Bu depolardan alınan yumru örneklerinde ise yumruların en az %2.5, en çok %20 ortalama %3.99 oranında *Erwinia carotovora* ile bulaştıkları görülmüştür. Bolu ilindeki yumru örneklerinden *Eca* ve *Ecc* izole edilmiş *Echr'e* rastlanmamıştır.

Çizelge 9. Nevşehir ilinde 1989-1990 yıllarında patates depolarında yapılan survey sonuçları

Patates çeşiti	Depo veya bölme sayısı	Miktar (ton)	Çürük yumru (%)	<i>E.carotovora</i> bulaşma (%)	izole edilen etmen
Ausonia	3	36	0.0	-	
	1	16	0.0	0.0	
	1	12	0.0	2.5	<i>Eca</i>
	1	12	3.0	10.0	<i>Ecc</i>
	1	15	2.0	-	<i>Eca</i>
	1	16	3.0	-	<i>Eca</i>
Granola	7	96	0.0	-	
	1	16	0.0	0.0	
	1	15	0.0	6.6	<i>Ecc</i>
	1	15	0.0	2.5	<i>Ecc</i>
	1	18	5.7	33.3	<i>Eca, Ecc</i>
İlona	5	65	0.0	-	
	1	10	0.0	4.0	<i>Eca</i>
	1	8	8.3	22.5	<i>Ecc</i>
	1	15	0.0	0.0	
	1	11	2.0	-	<i>Ecc</i>
	1	15	3.0	-	<i>Ecc</i>
	1	12	5.0	-	<i>Eca</i>
	1	10	8.0	-	<i>Eca, Ecc</i>
	1	16	10.0	-	<i>Eca</i>
	1	15	14.0	53.3	<i>Eca, Ecc</i>
Resy	9	122	0.0	-	
	1	12	0.0	0.0	
	2	20	1.5	6.6	<i>Ecc</i>
Russet burbank	3	2	0.0	-	
	1	1	0.0	2.5	<i>Eca</i>
	2	3	3.5	15.0	<i>Eca, Ecc</i>
Marfona	5	70	0.0	-	
	1	12	0.0	0.0	
	1	15	1.0	0.0	<i>Eca</i>
	2	20	2.0	6.6	<i>Ecc</i>
Agria	2	30	0.0	-	
	1	12	0.0	0.0	
Toplam	63	763	ort 1.25	ort 8.97	

Çizelge 9 incelendiğinde, Nevşehir ilinde toplam 63 depo veya bölmede yapılan incelemelerde depo veya çeşitlere göre değişmekle birlikte en az %1, en çok %14 oranlarında ve ortalama %1.25 oranında yumuşak çürüklük görülmüştür. Bu depolardan alınan yumru örneklerinde ise yumruların en az %2.3, en çok %53.3 oranları arasında *E.carotovora* ile bulaştıkları saptanmıştır. *E.carotovora* ile ortalama bulaşıklılık oranı %8.97'dir. Çürük veya bulaşık yumrulardan yapılan izolasyonlarda ise *Eca* ve *Ecc* izole edilmiş, *Echr*'e rastlanmamıştır.

Çizelge 10. Niğde ilinde 1989-1990 yıllarında patates depolarında yapılan survey sonuçları

Patates çeşiti	Depo veya bölme sayısı	Miktar (ton)	Çürük yumru (%)	<i>E.carotovora</i> bulaşma (%)	İzole edilen <i>Erwinia</i> spp
Krapka	2	30	0.0	-	
	1	11	0.0	3.3	<i>Eca, Ecc</i>
	1	15	2.0	7.5	<i>Ecc</i>
Granola	2	40	0.0	-	
	1	15	0.0	2.8	<i>Ecc</i>
	1	16	2.0	6.6	<i>Eca</i>
	1	8	4.0	-	<i>Eca</i>
Planta	2	24	0.0	-	
	1	10	0.0	0.0	
	1	15	6.0	20.0	<i>Eca, Ecc</i>
	1	12	0.0	4.0	<i>Ecc</i>
İlona	2	30	0.0	0.0	
	1	12	0.0	2.5	<i>Ecc</i>
	1	10	3.0	12.5	<i>Ecc</i>
	1	15	0.0	5.7	<i>Eca</i>
Marfona	2	24	0.0	-	
	1	20	0.5	3.3	<i>Eca</i>
	1	10	2.0	7.5	<i>Ecc</i>
Toplam	23	317 ort	0.77 ort	5.37	

Çizelge 10 incelendiğinde Niğde ilinde yapılan depo surveylerinde toplam 23 depo veya bölme yapılan incelemelerde depo veya çeşitlere göre değişmekle birlikte en az %0.5, en çok %6.0 oranlarında ve ortalama %0.77 oranında yumuşak çürüklük saptanmıştır. Bu depolardan alınan yumru örneklerinde patateslerin %2.5-20 oranları arasında *Erwinia carotovora* ile bulaşık oldukları görülmüş, ortalama bulaşıklılık oranı ise %5.37 olarak hesaplanmıştır. Çürük veya bulaşık yumrulardan *Eca* ve *Ecc* izole edilmiş, *Echr*'ye rastlanmamıştır.

Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde yürütülen patates depo surveylerinde incelenen depo veya bölme sayıları, patates miktarları, çürük yumru ve *E. carotovora* ile bulaşıklılık oranları ve izole edilen *Erwinia carotovora* alt türlerinin örneklerdeki bulunma oranları Çizelge 11'de özetlenmiştir.

Çizelge 11. 1989-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates depolarında yapılan surveylerin veri özeti

İl	İncelenen depo veya bölme sayısı	Miktar (Ton)	Çürük yumru (%)	<i>E. carotovora</i> ile bulaşma (%)	İzole edilen etmenler yüzdesi		
					<i>Eca</i>	<i>Ecc</i>	<i>Eca+Ecc</i>
BOLU	29	366	0.49	3.99	57	29	14
NEVŞEHİR	63	763	1.25	8.97	40	40	20
NİĞDE	23	317	0.77	5.37	33	50	17
Toplam	115	1446	ort 0.95	ort 6.92			

Çizelge 11 incelendiğinde, Bolu, Nevşehir, Niğde illerinde 2 yıl boyunca yapılan depo surveylerinde toplam 1446 tona varan 115 depo veya bölme incelenmiştir.

Bu 3 ildeki incelenen depolarda çürük yumru yüzdesi ortalama 0.95 olarak saptanmış, depolanan yumruların ortalama %6.92 oranında *Erwinia carotovora* ile bulaşık olduğu görülmüştür. Yumuşak çürüklük belirtisi gösteren ve bulaşık yumrulardan yapılan izolasyonlarda *Eca* ve *Ecc* izole edilmiştir.

22°C'de yumru inkubasyon metoduyla yapılan testlerde her 3 ildeki depolardan alınan yumru örneklerinde Şekil 7'de görülen yapışkan sümüksü çürüklük belirtileri de rastlanmıştır. Bu yumrulardan yapılan izolasyonlarda ise *Erwinia carotovora* tesbit edilmemiştir.

4.2. Inokulum Kaynakları

Bolu, Nevşehir, Niğde illeri patates üretim alanlarında tarla devresinde Karabacak hastalığına ve patates depolarında yumru çürümelerine neden olan *Erwinia carotovora*'nın olası inokulum kaynaklarını saptamak amacıyla, tohumluk olarak ithal edilen patatesler, yüzey ve yeraltı suları, toprakta ve rizosferde etmenin bulunma durumları, hastalıklı ve sağlıklı bitkilerden elde edilen yumruların bulaşma oranları araştırılmıştır.

4.2.1. İthal tohumluk patatesler

1988, 1989 ve 1990 yıllarında Türkiye, sırasıyla, 8157, 3958 ve 9384 ton (Çizelge 2) olmak üzere anaç ve sertifikalı kademede patates tohumluğu ithal etmiştir. Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde tohumluk ithali yapan ve çiftçilerle sözleşmeli olarak bu tohumluğu dağıtarak üretim yapan resmi ve özel şirketlerin (Tarım Kredi Kooperatifleri-Tareks, Tohum Islah Üretme İstasyonu, Çağdaş

Tarım, Tekfen Tarımsal Üretim ve Pazarlama, Simplot ve Beşikçioğlu, Gömeç Tohumculuk, Çutantaş A.Ş) ithal etmiş oldukları tohumlardan örnek alınmıştır. İthal edilen tohumlukların çok pahalıya mal olması ve çeşitli gümrük kapılarından (İzmir, İstanbul, Nevşehir) girmesi nedeniyle tohumluk partilerinin hepsinden örnek alınamamıştır. Ancak adı geçen illerde üreticiye dağıtılan patates tohumluklarından, farklı çeşitlerden toplam olarak 35-50 kadar yumru örneği alınabilmiş ve bunlar *Erwinia* spp. yönünden yumru inkubasyon metoduyla testlenmiştir. 22°C da 3-4 gün sonra *Erwinia carotovora* ile bulaşık yumrulara delinen lentisel civarında dokunun daire şeklinde yumuşayarak çöktüğü, rengin koyulaştığı görülmüştür. İnfekteli kısımdaki kabuk kaldırıldığında çürüyen kısmın etrafının siyah bir hale ile çevrildiği ve dokunun derinlemesine krater şeklinde yumuşayıp çürüyerek sulu bir hal aldığı dikkati çekmiştir. Bu tür belirti gösteren yumrulardan yapılan izolasyonların hepsinden *Erwinia carotovora* izole edilmiştir. Şekil 6'da yumru inkubasyonu ile testlenmiş *Erwinia carotovora* ile bulaşık ithal patates yumruları görülmektedir.

İthal edilen patateslerde yapılan yumru inkubasyonu testlerinde, bazı durumlarda, delinen lentisel etrafında geniş bir alanda dokunun yumuşadığı daha açık bir renk aldığı da görülmüştür. Bu yumrulara çürüyen kısmın üstüne parmakla hafifçe basıldığında sümüksü, yapışkan bir sıvının dışarı çıktığı gözlenmiştir. Bu yumrular enine kesildiğinde çürüyen kısmın patatesin içinde geniş bir alana yayıldığı ve tamamen cıvık, sümüksü, yapışkan bir yapıda olduğu dikkat çekmiştir. Bolu, Nevşehir, Niğde illeri patates depolarından alınan yumru örneklerinde de rastlanan bu belirti tipi şekil 7'de görülmektedir.



Şekil.6: Yumru inkubasyon metoduyla testlenmiş, *Erwinia carotovora* ile bulaşık patates yumruları (a) ilona çeşiti (b) Condor çeşiti.



Şekil.7: Condor çeşiti bir patates yumrusunda yapışkan, sümüksü yumuşak çürüklük belirtileri
 a- yumrunun dıştan görünüşü
 b- yumrunun enine kesilmiş hali

1988, 1989 ve 1990 yıllarında ithal edilen tohumluk patateslerden alınan örneklerin yumru inkubasyonu ile testlenmesi sonucu elde edilen bulgular çizelge 12'de gösterilmiştir.

Çizelge 12 incelendiğinde, yurt dışından ithal edilen patates yumrularının çeşitlere göre değişmekle birlikte %2.5-16 oranları arasında *Eca*, *Ecc* veya her ikisiyle bulaşık olduğu görülmektedir. Bulaşma oranları dikkate alınırsa *Erwinia carotovora* ile en çok bulaşık çeşitler sırasıyla ilona (%10-16), Condor (%11.4), Granola (%4-6), Aula (%4), Ausonia (%0-6.6), Marfona (%2.8-3.3) şeklindedir. 3 yıl boyunca ithal edilen çeşitlerde bulaşma görülen 14 örneğin %14 ünün *Eca*, %64 ünün *Ecc* ve kalan %22 sinin de *Eca* ve *Ecc* ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Yapılan izolasyonlarda *Echr* 'e rastlanmamıştır.

Çizelge 12. 1988-1990 yıllarında ithal edilen tohumluk patates yumrularının *Erwinia carotovora* ile bulaşma oranları

Yıl	Patates çeşiti	İncelenen yumru sayısı	Bulaşık yumru sayısı	Bulaşma oranı (%)	İzole edilen etmen
1988	Jetta	50	0	-	
	İlona	50	5	10.0	Ecc
	Resy	40	0	-	
	Hertha	40	0	-	
	Aula	50	2	4.0	Eca
	Granola	50	2	4.0	Eca, Ecc
1989	İlona	50	8	16.0	Eca, Ecc
	Cardinal	50	0	-	
	Ausonia	40	1	2.5	Ecc
	Ausonia	40	1	2.5	Ecc
	Escort	50	0	-	
	Caspar	35	0	-	
	Condor	35	4	11.4	Eca, Ecc
	Granola	50	3	6	Ecc
1990	Agria	35	0	-	
	Resy	35	0	-	
	Marfona	35	1	2.8	Ecc
	Concorde	30	0	-	
	Ausonia	45	3	6.6	Ecc
	Marfona	30	1	3.3	Ecc
	Ausonia	40	2	5.0	Ecc
	Planta	40	0	-	
	Resy	40	0	-	
	Ausonia	40	0	-	
	Ausonia	40	1	2.5	Ecc
	Sandra	40	0	-	
	İlona	40	4	10.0	Eca

4.2.2. Yeni yumrular

Hastalıklı ve sağlıklı bitkilerden oluşan yeni yumruların *Erwinia carotovora*'yla bulaşma durumunu inceleyebilmek amacıyla 1989 yılında hasata yakın devrede (23 Ağustos, 1989) Nevşehir ilinde Karabacak hastalığının görüldüğü 4 tarla seçilmiştir. Tohumluk patates yetiştirmek amacıyla anaç kademedede ithal tohumluk ekilmiş olan bu tarlalarda hastalığın bulaşma oranı saptanarak hastalıklı ve sağlıklı bitkilerin bulunduğu ocaklardan her tarladan 200 adet olmak üzere (100 sağlıklı+100 bulaşık) toplam 800 yumru örneği alınmıştır. Yumru örneklerinin alınması sırasında saplarında veya gövdede hastalık belirtisi görülen bitkilere ait bazı yeni yumruların da infekte olduğu görülmüştür. Infekteli bu yumrulara ait stolonların siyah olduğu ve stolonun yumruya bağlandığı yer etrafında yumuşak çürüklük belirtilerinin, infeksiyonun şiddetine göre değişik çaplarda olduğu dikkati çekmiştir. Bu yumrular yakından incelendiğinde infekte olan kısımlarda lentisellerin hafifçe kabarmış olduğu ve siyahlaştığı görülmüştür. Şekil 8'de stolonlar vasıtasıyla infekte olmuş yeni yumrular görülmektedir.

Tarla devresinde bu şekilde infeksiyona uğramış yumrularda çürüme görülen kısımlarda kabuk kolaylıkla dokudan ayrılmaktadır. Kabuk kaldırıldığında alttaki dokunun tamamen sulu, yumuşak ve kolaylıkla dağılabilen peynirimsi bir yapıda olduğu gözlenmiştir. Bu durum Şekil 9'da görülmektedir.

Karabacak hastalığı görülen 4 ayrı tarlada hastalıklı ve sağlıklı görünen bitkilere ait yeni yumruların *E.carotovora* ile bulaşma oranlarını belirlemek için yürütülen çalışmalarla ilgili veriler çizelge 13'de özetlenmiştir. Bu tarlalarda hastalıklı bitkilere ait, ancak sağlıklı görünen yumrularda ortalama %18 oranında bulaşıklık saptanmıştır. Bu oranda *E.carotovora* ile bulaşık yumrular Nevşehir Ortahisar'da tabii yeraltı depolarında saklanmıştır.



Şekil.8: Nevşehir ilinde tarlada Karabacak belirtileri görülen bir patates bitkisinde stolonlar kanalıyla infekte olmuş yeni yumrular (üstte) ve bir yumrunun yakından görünümü (altta)
 (1). infekte olmuş stolonları
 (2). infekte olmuş lentiselleri göstermektedir.



Şekil.9: Nevşehir ilinde tohumluk patates tarlasında Karabacak belirtileri gösteren bir bitkide oluşan yeni yumrulardaki yumuşak çürüklük belirtileri.

Bu yumruların depo koşullarında hasattan 7 ay sonra ortalama %44 ünün, 8 ay sonra da ortalama %75.5 nin çürüdüğü gözlenmiştir.

Çizelge 13: Nevşehir ilinde 4 farklı tarlada hastalıklı bitkilerden alınan yeni yumruların *E.carotovora* ile bulaşma oranı ve depoda çürüme oranları

Örnek no	Patates çeşiti	Tarla alanı dk.	Tarlada hast.oranı %	Yumrularda bulaşma oranı	Depoda çürüme oranı %			
					7.ay	Hasattan sonra	8.ay	
1	Granola	4	2 (Eca, Ecc)	22 (Eca)	68		98	
2	Granola	8	10 (Eca)	18 (Eca)	52		76	
3	Agria	20	3 (Eca)	12 (Eca)	16		36	
4	Granola	20	12 (Ecc)	20 (Eca, Ecc)	40		92	
Ort.		7.46	Ort.	18	Ort.	44	Ort.	75.5

Söz konusu tarlalardaki sağlıklı bitkilere ait yeni yumruların yumru inkubasyon metoduyla testlenmesi sonucunda, sadece 4 nolu tarladan alınan yumrularda %2 oranında *Eca* görülmüştür. Ancak depolamada sonrasında yumruların hiç birinde yumuşak çürüklük belirtisi gözlenmemiştir.

4.2.3. Sulama suları

1989 yılında Bolu ili Merkezde patates sulamasında kullanılan Gölköy barajı ve Çepni deresinden ayda bir olmak üzere 9 ay boyunca su örnekleri alınmıştır. Gölköy barajı Devlet Su İşlerine (DSİ) ait olup yapılan kanaletler vasıtasıyla yaklaşık 9200 hektarlık bir alanı suladığı belirlenmiştir. Bolu'daki yüzey sularına ilaveten, sulamanın tamamının yeraltı su kaynaklarıyla gerçekleştirildiği Nevşehir ve Niğde illerindeki yeraltı su kaynaklarından da örnekler alınmıştır. Her örnek alınırken su sıcaklığı bir termometre yardımıyla belirlenmiş ve pH dereceleri laboratuvarında ölçülmüştür. Alınan örnekler 24-48 saat içinde, zenginleştirme tekniği ve seçici besiyeri (CVP) kullanılarak *Erwinia carotovora*'nın varlığı yönünden testlenmiştir. Su örnekleri ile ilgili bulgular Çizelge 14'de verilmiştir.

Çizelge 14 incelendiğinde, Bolu ilinde Gölköy barajından alınan örneklerde yalnız Mart, Nisan ve Temmuz aylarında *Ecc* izole edilebilmiş, Çepni deresinde ise 9 ay boyunca suların *Ecc* ile bulaşık olduğu görülmüştür. Nevşehir ve Niğde illerinde ise vegetasyon devresinde yeraltı su kaynaklarından alınan örneklerde *Erwinia carotovora* tesbit edilmemiştir. Tüm çalışmalar boyunca tarla sürveyleri sırasında üreticilerle yapılan görüşmelerde Bolu ilinde bazı tarlalarda hiç sulama yapılmadığı sulama yapanların da en fazla 3 sulama yaptığı belirlenmiştir. Nevşehir ve Niğde illerinde ise sulamalar tamamen yağmurlama şeklinde yapılmakta ve vegetasyon süresince üreticilerin 10-14 sulama yaptıkları gözlenmiştir.

Çizelge 14: 1989 yılında Bolu ilinde Gölköy Barajı, Çepni deresi sularııyla Nevşehir ve Niğde illeri patates ekim alanlarındaki yeraltı su kaynaklarının *Erwinia carotovora* ile bulaşma durumu.

Su kaynağı	Örnek alma zamanı	Su sıcaklığı °C	pH	<i>Erwinia carotovora</i> ile bulaşma
Gölköy	Şubat	3.0	7.6	-
	Mart	12.0	7.4	Ecc
	Nisan	13.2	7.7	Ecc
	Haziran	17.5	7.6	-
	Temmuz	23.5	7.7	Ecc
	Eylül	21.5	7.4	-
	Ekim	21	7.6	-
	Aralık	4	7.7	-
	Ocak 90	3.5	7.6	-
Çepni	Şubat	3.5	6.9	Ecc
	Mart	13.0	7.8	Ecc
	Nisan	14.0	7.9	Ecc
	Haziran	13.5	8.0	Ecc
	Temmuz	19.5	7.9	Ecc
	Eylül	15.5	7.5	Ecc
	Ekim	16.0	7.6	Ecc
	Aralık	3.0	7.4	Ecc
	Ocak 90	3.0	7.8	Ecc
Nevşehir	Haziran	20.0	7.3	-
	Ağustos	20.0	6.3	-
	"	18.0	6.4	-
	"	21.5	6.8	-
Niğde	Haziran	15.0	7.1	-
	Ağustos	16.5	6.5	-

4.2.4. Toprak ve rizosfer örnekleri

Erwinia carotovora'nın patates tarımı yapılan topraklarda mevcut olup olmadığını saptamak için 1989 yılında Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde vegetasyon devresinde ve kışın birönceki yıl patates yetiştirilmiş tarlalardan toprak sonda aletiyle örnekler alınmış ve toprak sıcaklıkları kaydedilmiştir. Alınan örneklerde laboratuvar-da zenginleştirme tekniği ve seçici besiyeri (CVP) kullanılarak *Erwinia carotovora*'nın varlığı araştırılmıştır. Elde edilen bulgular Çizelge 15'de verilmiştir.

Çizelge.15: 1989 yılında Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde patates yetiştirilen tarlalardan alınan toprak örneklerinde *Erwinia carotovora*'nın bulaşma durumu.

İli	Zaman	Örnek sayısı	Toprak Sıcaklığı °C	Ec ile bulaşma
Bolu	Şubat	4	5	-
	Mart	4	5	-
	Nisan	4	7	-
	Haziran	3	13	-
	Temmuz	4	16	-
	Eylül	3	15	-
Nevşehir	Haziran	3	21	-
	Ağustos	3	22	-
	Eylül	2	21	-
Niğde	Ağustos	2	21	-
T O P L A M 32				

Bolu ilinde kışın ve vegetasyon devresinde 22 toprak örneğinde, Nevşehir ve Niğde ilinde de vegetasyon devresinde patates tarlalarından alınan 10 örnekte zenginleştirme teknikleri kullanılmasına rağmen *Erwinia carotovora* izole edilememiştir.

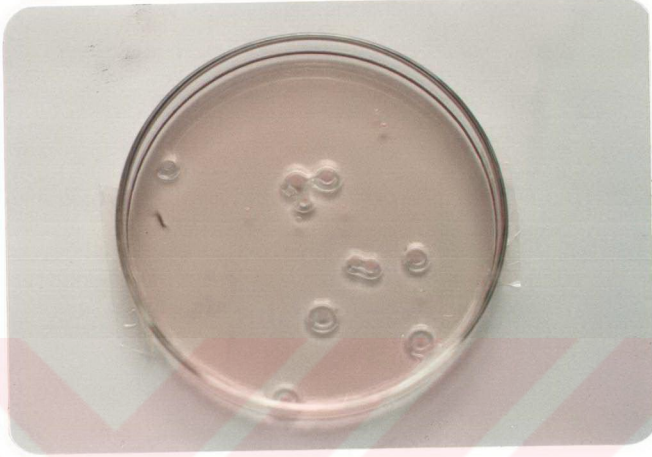
1990 yılında ise Nevşehir ilinde hasata yakın devrede hastalık belirtisi göstermeyen patates bitkilerinden

rizosfer örnekleri alınmıştır. Nevşehir ili patates ekim alanlarında 11 tarladan alınan örneklerin 4'ünden *Erwinia caratovora* izole edilmiş, bunlardan 3'ü *Ecc*, 1 tanesi de *Eca* olarak tanılanmıştır.

4.3. Bakterilerin İzolasyonu

Bütün çalışmalar boyunca pektolitik *Erwinia* spp.-lerin izolasyonunda Crystal Violet Pectate (CVP) seçici besiyeri kullanılmıştır. Hastalıklı bitkilerden, çürük yumrulardan, topraktan, sulama sularından izolasyonlarda sulandırma serileri şeklinde hazırlanan süspansiyonlardan CVP'ye bağıtle ekim yapılmıştır. Bu izolasyonlarda 10^{-5} 'e kadar seyreltme yeterli bulunmuştur. Ancak hastalıklı bitki materyalinden yapılan izolasyonlarda 10^{-1} , 10^{-2} seyreltme-leriyle yapılan ekimlerde petri kapları 24-48 saat inkubasyondan sonra yoğun bakteri gelişimi nedeniyle sulu bir görünüm almış ve koloni ayırımı yapmak imkansızlaşmıştır.

İnokule edilen CVP besiyerlerinde, 27°C 'de 36-72 saat inkubasyondan sonra besiyerinde derin, kupa benzeri düzgün kenarlı çukurlar oluşturan tipik bakteri kolonileri görülmüştür. Bu kolonilerin görüldüğü petri kabı ters çevrilip karşıdan veya yandan eğik ışık alacak şekilde tutularak, ya da bir binoküler altında aynı şekilde tutularak incelendiğinde çukur oluşturan bu kolonilerin gökkuşağı gibi yanar döner renklerde, yarı saydam, üzerinde çapraz çizgiler olduğu gözlenmiştir. Bilinen referans izolatlarla (*Eca*-1039, *Ecc*-133, *Echr*-4043) yapılan deneylerde her 3 türünde aynı şekilde koloni oluşturduğu görülmüştür. İzolasyon çalışmalarımızda CVP besiyerinde bu tip koloni oluşturan bakteriler dikkate alınmış ve saflaştırılarak tanılama çalışmaları yapılmıştır. Tanılama çalışmaları sonucu elde edilen bulgularda bu tip



Şekil 10. CVP besiyerinde tipik çukur oluşturan *Erwinia carotovora* kolonileri.

kolonilerin hepsinin *Erwinia carotovora* olduğu saptanmıştır. Şekil 10'da infekteli bir patates bitkisinden yapılan izolasyonda CVP besiyerinde oluşan tipik *Erwinia carotovora* kolonileri görülmektedir.

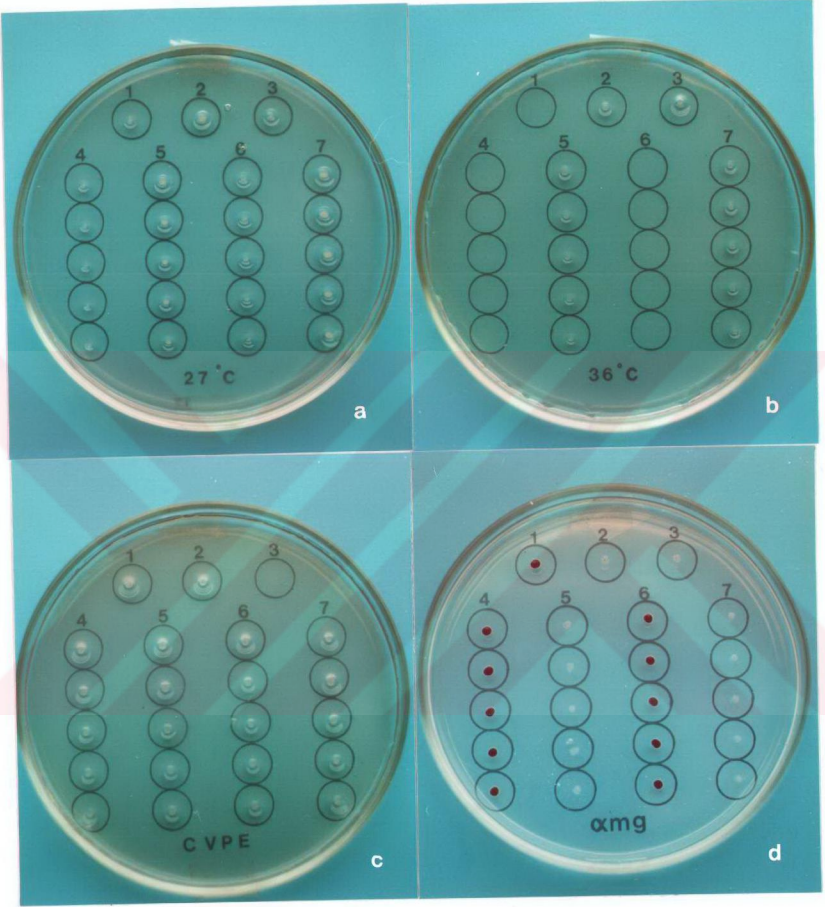
4.4. Bakterilerin Tanılanması

izolasyon çalışmalarında her örnek için CVP besiyerinde oluşan tipik koloniler binoküler altında incelenmiş ve yine binoküler altında CVP besiyerindeki kolonilerin en az 5 tanesinden alevden geçirilmiş steril ince bir iğne yardımıyla 4 ayrı petridaki besiyerlerine (CVP, CVP, CVPE, αMG) nokta inokulasyonu yapılmıştır. Bu petri kapları CVP 27°C, CVPE 27°C, CVP 36°C, αMG 24°C'lerde 24-48 saat inkube edilerek çukur oluşturma ve koloni rengi karakteristikleri yönünden incelenmiştir.

Tanı çalışmalarında elde edilen bulgular bu metoden aynı anda çok sayıda örneği teşhis etme olanağı sağladığı gibi 3 ayrı tür *Erwinia*'nın ayırımına imkan veren güvenilir bir yöntem olduğunu göstermiştir. Bu metoda dayalı olarak yürütmüş olduğumuz tanı çalışmalarında alınan örneklerin hiç birinde *Erwinia chrysanthemi*'ye rastlanmamıştır. Şekil 11'de 4 farklı örnekten izole edilen *Erwinia carotovora* kültürleri ve referans izolatların söz konusu yöntemle göre besiyerlerindeki gelişme durumları görülmektedir.

Şekil 11 incelenecek olursa *Eca*'nın (1) CVP ve CVPE besiyerinde 27°C'de tipik çukur koloni oluşturduğu, buna karşın 36°C'de gelişmediği ve α-MG'de 3-4 mm çaplı kırmızı koloni oluşturduğu görülmektedir. *Ecc* (2) ise CVP ve CVPE'de 27°C'de, CVP'de 36°C'de tipik çukur koloni oluşturmuş ancak αMG'de 1-2 mm çaplı beyaz koloni meydana getirmiştir. Referans izolatı *Echr* (3) ise 27°C ve 36°C'de CVP'de çukur koloni oluşturmuş, buna karşın CVP'de gelişmemiştir. αMG besiyerinde ise 1-2 mm çaplı pembe beyaz koloni meydana getirmiştir. Bu veriler dikkate alınarak 4 ve 6 no'lu örneğe ait izolatlar *Eca*, 5 ve 7 no'lu örneğe ait izolatlar *Ecc* olarak tanılanmıştır.

Yukarıda belirtilen yöntemle göre tanılanan izolatlar NA (Nutrient Agar-Difco) eğik besiyerinde mineral yağ altında -20°C'de saklanmışlardır. Bu şekilde saklama yönteminde *Eca* ve *Ecc* izolatlarının en az 2 yıl boyunca canlı kaldıkları saptanmıştır. Tanılaması yapılan ve stoklanan izolatlarla ilgili bulgular Çizelge 16'da verilmiştir.



Şekil 11. *Eca*-1039 (1), *Ecc*-133 (2), *Echr*-4043 (3) ve 4 farklı *E.carotovora* izolatı (4,5,6 ve 7) ile inokule edilmiş besiyerlerinde gelişen bakteri kolonileri.

a. CVP 27°C

b. CVP 36°C

c. CVPE (CVP + 35 µg erythromycin) 27°C

d. αMG 24°C de inkube edilmiş

4.4.1. Patojenisite

Örneklerden izole edilen ve tanılanmış izolatların patojenisite çalışmaları patates yumrularında ve saksılarda yetiştirilmiş Granola çeşidi patates bitkilerinde yapılmıştır.

4.4.1.1. Patates Dilimleri Testi

Nutrient Agar besiyerinde geliştirilen 24 saatlik taze kültürlerden hazırlanan bakteri süspansiyonu ile inokule edilen patates dilimlerinde, 24°C'de 48 saat inkubasyondan sonra inokulasyon noktası etrafında tipik yumuşak çürüklük belirtisi gösteren izolatlar pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Patates dilimleri testi gerçekte bir patojenisite testi olmayıp sadece belirli bakterilerin pektolitik enzim oluşturma yeteneğini ortaya koymaktadır (Lelliolt et al., 1966). Elde edilen bütün izolatlar (CVP'de çukur koloni oluşturan) patates dilimleri testinde pozitif sonuç vermişlerdir (Çizelge 17).

4.4.1.2. Patates Bitkilerinde Patojenisite ve Virulens

İzolatların patojenisite denemeleri saksılarda anaç kademedeki Granola çeşidi patates tohumluklarından yetiştirilmiş bitkilerle yapılmıştır. Granola çeşidinin Karabacak hastalığına reaksiyonu konusunda literatürde herhangi bir kayda rastlanmamıştır. Ancak bölgede, Karabacak hastalığının en sık görüldüğü çeşitlerden biridir. Anaç kademedeki tohumluk kullanılması nedeni ise patojenisite amacıyla kullanılan yumrulara dışardan bir *Erwinia* spp. ile bulaşma olasılığı-

nın az olmasından dolayıdır. Patojenisite denemelerinde kulanılan kürdanla inokulasyon yönteminin çok pratik ve kısa zamanda kesin sonuç verdiği anlaşılmıştır. Patojen izolatlarında inokulasyondan 4 gün sonra, inokulasyon noktası altında ve üstünde sapların yumuşayıp siyahlaştığı, bu saplara ait yaprakların solup pörsüdüğü ve aşağıya doğru sarktığı, hatta bazı durumlarda sapların bitkiyi taşıyamayarak devrildiği gözlenmiştir. Pozitif sonuç olarak değerlendirilen bu belirtiler Şekil 12'de görülmektedir. Yapılan patojenisite denemelerinde saplardaki lezyon boyu değişmekle birlikte, tarla devresinde hastalıklı patates bitkilerinden elde edilen Ecc-500 no'lu izolat dışında tüm izolatların patojen oldukları saptanmıştır.

izolatların virulensi, 3 tekerrürlü olarak yürütülen patojenisite denemelerinde, saplardaki lezyon boylarının ölçülerek Horsfall-Barrett skalasına göre değerlendirilmesiyle bulunmuştur. Çalışmalarda elde edilen toplam 119 *Erwinia carotovora* izolatının virulens değerlerinin dağılımı Çizelge 16'da gösterilmiştir.

Çizelge 16. *Erwinia carotovora* izolatlarının virulens değerlerinin dağılımı

Skala değeri	Hastalık şiddeti %	izolat sayısı
1	0	1
2	1-3	-
3	3-6	-
4	6-12	4
5	12-25	15
6	25-50	72
7	50-75	21
8	75-87	6
9	87-93	-
10	93-96	-
11	96-99	-
12	100	-
TOPLAM		119



Şekil 12. *Eca-209* no'lu depo izolatıyla inokule edilmiş Granola çeşiti bir patates bitkisinin inokulasyondan 4 gün sonraki görünümü.

→: inokulasyon noktalarını ve hastalıklı sapları göstermektedir.

Çizelge 16 incelendiğinde, elde edilen *Erwinia carotovora* izolatlarının virulensinin oldukça yüksek olduğu görülecektir. Nitekim toplam 119 izolattan 72'si %25-50, 21 tanesi %50-75 oranlarında patates saplarında hastalık oluşturmuştur. 6 tane izolat ise çok virulent olarak bulunmuş, 1 izolatın da virulent olmadığı görülmüştür.

4.4.2. Biyokimyasal Testler

CVP besiyerinde farklı sıcaklıklarda çukur koloni oluşumu, Erythromycin'e duyarlılık ve αMG besiyerinde koloni rengine göre tanımlanarak stoklanan 119 adet *Erwinia carotovora* izolatının önemli biyokimyasal karakteristiklerini belirlemek için 5 testten yararlanılmıştır.

4.4.2.1. Glikoz Fermentasyonu

Çalışmalarda elde edilen 119 *Erwinia carotovora* izolatının hem oksijenin mevcut olduğu koşullarda, hem de anaerobik koşullarda fermentatif olarak glikozu kullandıkları görülmüştür. Çeşitli kaynaklardan izole edilen *Erwinia carotovora* izolatlarının glikozdan yararlanma (O/F) test sonuçları çizelge 17'de verilmiştir.

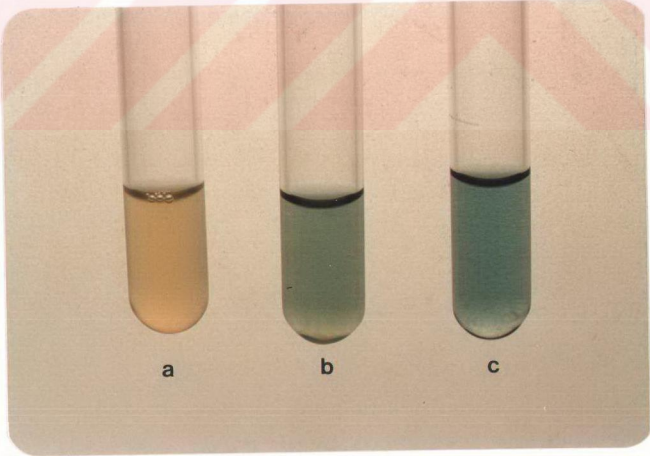
4.4.2.2. Karbonhidratlardan Asit Oluşumu

Erwinia carotovora izolatları Ayer's, Rupp and Jhonson (1919) metoduna göre *Eca*, *Ecc* ve *Echr*'nin ayırımında önemli 5 karbonhidrat kaynağı (α-methyl glucoside, maltoz, lak-

toz, trehaloz, palatinoz) yönünden testlenmiştir. 2 teker-
rürlü olarak yapılan testlerde, inokulasyondan 21 gün son-
raki sarı renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendiril-
miştir. Şekil 13'te hastalıklı patates bitkilerinden elde
edilen 2 *Erwinia carotovora* izolatının (*Eca*-503, *Ecc*-504)
palatinoz'dan asit oluşumu test sonuçları görülmektedir.
Elde edilen tüm izolatların karbonhidratlardan asit oluşu-
mu ile ilgili bulgular çizelge 17'de gösterilmiştir.

4.4.2.3. Fosfataz

Petri kaplarında katı besiyerinde çok sayıda izo-
latın testlenmesine olanak sağlayan Cowan (1974)'e göre ya-
pılan fosfataz testi *Erwinia chrysanthemi*'nin diğer *caroto*-
vora grubu *Erwinia*'lardan ayırımında kullanılmaktadır. Çä-
lışmalar boyunca elde edilen tüm izolatlar fosfataz testinde



Şekil 13. Palatinoz'dan asit oluşumu a- Pozitif sonuç
(*Eca*-503), b- Negatif sonuç (*Ecc*-504), c- İnoküle
edilmemiş kontrol.

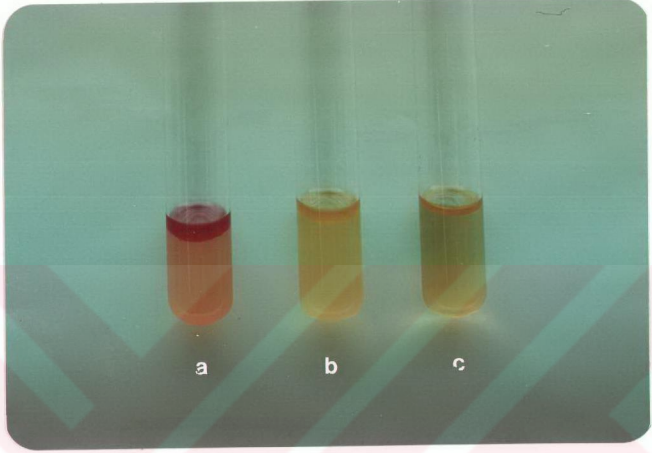
negatif sonuç vermişlerdir (Çizelge 17). Şekil 14'te fosfataz pozitif olan referans izolatu *E.chrysanthemi* (SCRI-4043) -nın phenolphthalein diphosphate tetra sodium tuzu içeren katı besiyerinde inokulasyondan 48 saat sonra amonyum hidrok-sit uygulaması sonucu pembe renk olan kolonileri ve testlenen izolatlara ait beyazımsı renkteki koloniler görülmektedir.

4.4.2.4. indol

İndol oluşumu testinde, çalışmalar boyunca elde edilen izolatların büyük bir çoğunluğu indol negatif olarak bulunurken, bazı *Ecc* izolatlarının (*Ecc*-112, *Ecc*-216, *Ecc*-223, *Ecc*-506, *Ecc*-513 ve referans izolatu *Ecc*-133) indol pozitif olduğu görüldü (Çizelge 17). Şekil 15'te Dickey and Kelman (1988)'a göre 5 gün boyunca çalkalama kültürde geliştirildikten sonra, indol ayırıcı uygulanmış indol pozitif ve negatif olan izolatlara ait test sonuçları görülmektedir.



Şekil 14. Fosfataz testi: pembe renkli fosfataz pozitif *Echr* (SCRI-4043) ve beyaz renkli fosfataz negatif *Erwinia carotovora* kolonileri.

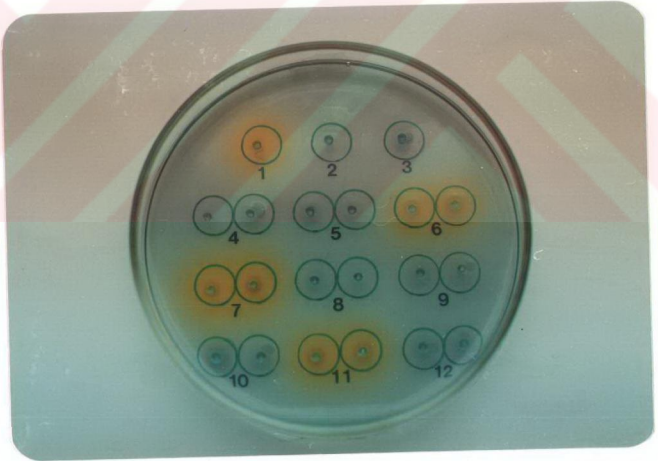


Şekil 15. İndol testi: a- Pozitif sonuç. b- Negatif sonuç. c- İnokule edilmemiş kontrol.

4.4.2.5. Sakkarozdan İndirgenmiş Maddeler Oluşumu

Elde edilen bütün *Erwinia carotovora* izolatları, ve pozitif kontrol olarak kullanılan *Erwinia* kültürleri 2 ayrı metotla sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu için testlenmiştir. Testlenecek izolatlar birincisinde sıvı besiyerinde çalkalayıcıda, ikincisinde katı besiyerinde petri kaplarında geliştirilmiş ve her iki yöntemde de Benedict ayıracıyla sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu araştırılmıştır. Her iki yöntemle yapılan testlerde tüm izolatlar

için aynı sonuç alınmış olup, Çizelge 17'de tek sütun halinde bulgular verilmiştir. Bu amaçla yürütülen testlerde Dickey and Kelman (1988)'de Stawell and Stanghellini'nin değiştirerek uygulamış olduğumuz agar plate metodu bir petri kabında çok sayıda izolatin testlenmesine olanak sağlayan, çalkalayıcıya gereksinim duyulmadan uygulanabilen daha pratik bir yöntem olarak belirlenmiştir. Şekil 16'da bu metodla testlenmiş referans izolatları (1-*Eca*-1039, 2-*Ecc*-133, 3-*Echr*-4043) ve *Erwinia carotovora* (4-12) izolatları görülmektedir. Mavi zemindeki turuncu renkli zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiş ve *Eca* olarak tanılanmıştır.



Şekil 16. Katı besiyerinde sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu testi.

Çizelge 17. Çalışmalarda elde edilen *Erwinia carotovora* izolatlarının biyokimyasal test sonuçları

(*) izolatlar	CVP 27°C	CVP 36°C	CVP E 27°C	αMG 24°C	O/F testi	Asit oluşumu					Fosfataz	Indol	Sakkarozdan ind.mad. oluş.	Patates dilim-leri testi
						α.Methyl glucoside	Palatinoz	Maltoz	Trehaloz	Laktoz				
Ecc-100	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-101	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-102	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Eca-103	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-104	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-105	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-105/1	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-105/2	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-106	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-106/1	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-107	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-107/1	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-108	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-109	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-110	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-111	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-112	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Ecc-113	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-114	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-115	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-116	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-200	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-200/1	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-201	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+

Çizelge 17. (Devamı)

İzolatlar	CVP 27°C	CVP 36°C	CVP E 27°C	αMG 24°C	O/F testi	Asit oluşumu					Fosfataz	İndol	Sakkarozdan ind.mad. oluş.	Patates dilim-leri testi
						α.Methyl glucoside	Palatinoz	Maltoz	Trehaloz	Laktoz				
Ecc-202	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-203	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-204	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-205	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-206	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-206/1	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-207	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-208	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Ecc-208/1	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-209	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-210	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-210/1	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-210/2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-210/3	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-211	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-212	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-213	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-214	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-215	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-216	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Eca-217	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-217/1	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-218	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-219	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-220	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+

Çizelge 17. (Devamı)

izolatlar	CVP 27°C	CVP 36°C	CVP E 27°C	αMG 24°C	O/F testi	Asit oluşumu					Fosfataz	Indol	Sakkarozdan ind.mad. oluş.	Patates dilim-leri testi
						α.Methyl glucoside	Palatinoz	Maltoz	Trehaloz	Laktoz				
Ecc-221	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-222	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-223	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+
Ecc-300	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-301	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-302	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-303/1	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-303/2	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-305	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-306	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-306/1	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-308	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-309	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-400	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-401	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-403	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Ecc-404	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-500	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-501	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-502	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-503	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-504	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-505	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-505/1	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+

Çizelge 17. (Devamı)

izolatlar	CVP 27°C	CVP 36°C	CVP E 27°C	αMG 24°C	O/F testi	Asit oluşumu					Fosfataz	Indol	Sakkarozdan ind.mad. oluş.	Patates dilim-leri testi
						α.Methyl glucoside	Palatinoz	Maltoz	Trehaloz	Laktoz				
<i>Ecc-506</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
<i>Eca-506/1</i>	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-507</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-508</i>	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-509</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-510</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-511</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Ecc-511/1</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
<i>Eca-512</i>	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Ecc-513</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
<i>Eca-514</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-515</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-516</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Ecc-517</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
<i>Eca-518</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-519/1</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Ecc-519/2</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
<i>Eca-520</i>	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Eca-521</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+

Çizelge 17. (Devamı)

izolatlar	CVP 27°C	CVP 36°C	CVP E 27°C	αMG 24°C	O/F testi	Asit oluşumu					Fosfataz	Indol	Sakkarozdan ind.mad. oluş.	Patates dilim-leri testi
						α.Methyl glucoside	Palatinoz	Maltoz	Trehaloz	Laktoz				
Eca-522	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
Ecc-523	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-525	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-526	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Eca-527	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-528	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Ecc-529	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-530	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-531	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-532	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-533	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-534	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-534/1	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Ecc-535	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-536	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-537	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Ecc-538	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Ecc-539	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Ecc-540	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+

Çizelge 17. (Devamı)

izolatlar	CVP 27°C	CVP 36°C	CVP E 27°C	αMG 24°C	O/F testi	Asit oluşumu					Fosfataz	Indol	Sakkarozdan ind. mad. oluş.	Patates dilim-leri testi
						α.Methyl glucoside	Palatinoz	Maltoz	Trehaloz	Laktoz				
Eca-600	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-601	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-602	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Eca-603	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-604	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Eca-605	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Ecc-606	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Eca-607	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Eca-1039	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ecc-133	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Echr-4043	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+

(*)

100 ile başlayanlar ithal tohumluk yumru izolatlar

200 " " Depo izolatları

300 " " Su izolatları

400 " " Rizosfer izolatları

500 " " Tarla izolatları

600 " " Yeni yumru izolatları

Eca - *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*Ecc - *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*Echr- *Erwinia chrysanthemi*

(+) Pozitif, (-) Negatif, (+) Zayıf reaksiyon

1989-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir ve Niğde illeri patates üretim alanlarında yapılan çalışmalarda toplam 119 adet *Erwinia carotovora* izolatu elde edilmiştir (Çizelge 17). Bu isolatların 21 tanesi ithal tohumluk patateslerden, 31 tanesi depo sürveylerinde yumuşak çürüklük belirtisi gösteren yumrulardan, 10 tanesi Bolu ilinde sulama sularından, 4 tanesi Nevşehir ilinde rizosferden, 45 tanesi tarla devresinde hastalıklı bitkilerden, geride kalan 8 tanesi de Nevşehir ilinde hastalıklı ve sağlıklı bitkilerden oluşan yeni tohumluk yumrulardan elde edilmiştir. Toplam 119 adet *E. carotovora* izolatından 118 tanesinin saksılarda, patates bitkilerinde yapılan patojenisite denemelerinde patojen olduğu saptanmış, 1 izolatu ise (*Ecc*-500) pektolitik enzim oluşturma yeteneği olmakla birlikte, bitkide hastalık oluşturmadağı görülmüştür. Virulent olmadığı saptanan bu izolata da testlerde yer verilmiştir. Yapılan çalışmalarda 119 adet *Ec* izolatuının 68 adeti *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* olarak, 51 tanesi de *Erwinia carotovora* subsp. *atro-septica* olarak teşhis edilmiştir.

Çizelge 17'de verilen test sonuçları elde edilen 119 izolatu için ayrı ayrı incelendiğinde, tanılaması yapılan *Ecc* ve *Eca* isolatlarının karakteristikleri Çizelge 18'de özetlenmiştir.

Çizelge 18'de görüldüğü gibi testlenen 68 *Ecc* izolatu ve 51 *Eca* izolatu pek çok testte %100'e varan oranla beklenen sonucu vermiştir. Ancak 36°C'de gelişme testinde 3 *Ecc* izolatuının bu sıcaklıkta çok az gelişme gösterdiği, palatinoz'dan asit oluşumunda 2 *Eca* izolatuının palatinozu yeterince kullanmadığı, maltoz'dan asit oluşumunda 3 *Ecc* izolatuının maltozdan yararlandığı, buna karşın 14 *Eca* izolatuının maltoz'dan asit oluşturmadağı, indol testinde 5 *Ecc* izolatuının pozitif reaksiyon verdiği saptanmıştır (Çizelge 16). Trehalozdan asit oluşumu testinde ise yine 3 *Ecc* izolatuının zayıf reaksiyon verdiği görülmüştür. Çizelge 17 ve

Çizelge 18. Çalışmalarda elde edilen *Ecc* ve *Eca* izolatlarının biyokimyasal test sonuçları veri özeti.

Test	<i>ECC</i> (68 izolat)	<i>ECA</i> (51 izolat)
36°C'de gelişme	+ (95)	-
Erythromycin'e duyarlılık (35 µg CVP)	-	-
αMG'de kırmızı koloni	- (74)	+
O/F testi	+	+
Asit oluşumu α-Methyl glucoside	- (88)	+
Palatinoz	-	+ (96)
Maltoz	+ (95)	+ (73)
Trehaloz	+ (95)	+
Laktoz	+	+
Fosfataz	-	-
İndol	- (93)	-
Sakkarozdan indirgenmiş madde oluşumu	-	+
Patates dilimleri testi	+	+

+ Bütün izolatlar pozitif. - Bütün izolatlar negatif (%) + veya - izolat.

Çizelge 18'de görüleceği gibi 2 farklı α-Methyl glucoside testi yapılmıştır. Bunlardan 1'incisi αMG (Philips and Kelman, 1982) agarlı besiyerinde yapılan testtir. Bu metoda göre testlenen 18 adet izolat (Çizelge 17) αMG besiyerinde *Eca*'da olduğu gibi kırmızı renkli 2-3 mm çaplı koloni oluşturmuşlardır. αMG besiyerinde pozitif olarak görünen bu izolatlar ise tipik *Ecc* izolatları gibi palatinoz'u kullanmamış 36°C'de gelişmiş ve sakkarozdan indirgenmiş maddeler meydana getirmemişlerdir. Ayrıca bu izolatların tüpte sıvı besiyerinde yapılan α-Methyl glucoside testinde (Ayers et al., 1919) 10 tanesinin negatif, 8 tanesinin zayıf reaksiyon verdiği saptanmıştır.

Yukarıda belirtilen farklı sonuçlar veren tüm izolatlarla stokta bekleme nedeniyle biyokimyasal özelliklerinde farklılıklar olabileceği düşüncesiyle tekrar patates bitkilerine inokulasyon yapılmış ve elde edilen reizolatlarla Çizelge 17'de belirtilen testler tekrarlanmıştır. Yapılan bu testlerde de öncekilere göre verdikleri reaksiyonlar açısından bir farklılık görülmemiştir.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

1989-1990 yıllarında Bolu, Nevşehir ve Niğde patates ekim alanlarında vegetasyon devresinde yapılan sürvey çalışmaları sonunda, yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* türlerinden *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*'nın yöre üreticileri tarafından "Karabacak" adı verilen hastalığa neden olduğu saptanmıştır. Karel ve Karahan (1962); 1960 yılında Nevşehir, Niğde ve Orta Anadolu bölgesindeki diğer illerde tarla devresinde hastalığın mevcut olduğunu ve bu çalışmayla da saptanmış olan belirtilerin görüldüğünü kaydetmişlerdir. Aynı araştırmacılar hastalığa "Kök Boğazı Yanıklığı" adını vermiş ve etmenin *Erwinia phytophthora* (Appel) Hall. olduğunu ifade etmişlerdir. Baykal and Öktem (1978) ise Bolu ilinde tohumluk patateslerde hastalığı saptamış ve hastalıklı bitkilerden izole ettikleri bakteriyi *Erwinia atroseptica* van Hall. olarak tanımlamışlardır. Hastalığa "Patates Dip Yanıklığı" adını vermişlerdir. Turkeensteen (1985) Türkiye'de patates alanlarında yapmış olduğu 2 yıllık sürvey çalışmasında tarla devresinde "Karabacak" hastalığına rastlanmadığını ifade etmiştir.

Bulgularımıza göre Karabacak hastalığı tarla devresinde bitkilerde fenolojik evre ve çevre koşullarına göre bir ölçüde farklılaşan belirtiler şeklinde ortaya çıkmaktadır. Graham (1962; 1967), Bradbury (1977 b), Perombelon and Kelman (1980), Cother and Sivasithamparam (1983) Karabacak hastalığının tarla devresinde yaprak aksamında, gövde, kök boğazı ve köklerde aynı tip belirtiler oluşturduğunu belirlemektedirler. Karel ve Karahan (1962) Orta Anadolu Bölgesinde yaptıkları çalışmalarda *Erwinia phytophthora* ile infekteli bitkilerde benzer belirtilerin vegetasyon başlangıcında görüldüğünü, ileri devrelerde infekte olmuş bitkilere rastlanmadığını belirtmişlerdir. Çalışmalarımızda özellikle yağmurlama şeklinde sık sulanan tarlalarda yeşil ak-

samın sağlıklı bitkilerde olduğu gibi herhangi bir belirti göstermeyip sadece saplarda bazılarında kökboğazına yakın kısımda siyahlaşıp yumuşadığı, bazende saplarda üst kısmında bu tip belirtilerin görüldüğü saptanmıştır. Bu tip belirti gösteren bitkilere ait yeni yumrularında stolonlar yoluyla infekte olduğu (Şekil 8.), hatta yeni yumrularında yumuşak çürüklük belirtilerine bile rastlandığı (Şekil 9.) durumlar görülmüştür. Cother and Sivasithamparam (1983) aynı tip belirtilerin Batı Avustralya'da görüldüğünü bildirmiştir. Perombelon et al. (1987) İskoçya ve İsrail'de yapmış oldukları çalışmalarda hastalığın tarla devresindeki belirtilerini 4 grupta toplamışlardır. Bunlardan ilk 2'si (A ve B tipi) yukarıda sözü edilen Şekil 2, 3 ve 4'teki belirti tiplerine uymakta olup daha ziyade bulaşık tohum ve bitkinin bu yolla infekte olması sonucu ortaya çıkmaktadır. 3. tip belirti, (C tipi) ise bitkide solgunluk şeklinde ortaya çıkan ancak saplarda içte ve dışta herhangi bir çürümenin görülmediği *E. chrysanthemi*'nin neden olduğu belirti şeklidir. Çalışmalarımızda bu tip bir belirti şekline rastlanmamıştır. 4. tip belirti (D tipi) ise nemli koşullarda saplarda rüzgar, toprak işleme vs. ile yaralanma sonucu bitkilerin yağmur, sulama suyu, böcekler veya aerosollerle infekte olarak saplarda yumuşak, siyahımsı-kahverengi bir çürüklük şeklinde belirlemektedir. Bu belirti Nevşehir ve Niğde illerinde yağmurlama sulamanın yapıldığı tarlalarda saptanmış olduğumuz Şekil 5'te gösterilen belirtilerle benzeşmektedir. Nevşehir ve Niğde patates ekim alanlarında bu tip belirtilerle ortaya çıkan hastalığın gerek ticari gerekse tohumluk patates yetiştiriciliğimiz açısından çok önemli olduğu kanısındayız. Çünkü erken devrelerde hastalık görüldüğünde üreticiler hastalıklı bitkileri söküp uzaklaştırmaktadır. Zaten bu şekilde hastalanan bitkilerde yumru oluşumunda görülmemektedir. Oysa bitkilerin büyüüp sıklaştığı hasatta yakın devrelerde üreticiler tarlaya girip temizlik yapmaktan kaçınmaktadırlar. Ayrıca bu devrede üreticilerin has-

talıklı bitkileri sökse de yumruları toprakta bıraktığı gözlenmiştir. Tarlada hastalıklı bitkilerin ve oluşan yeni yumruların sökülüp tarladan uzaklaştırılmasının gelecek yıl hastalığın azalmasında çok önemli rol oynadığı bir gerçektir (Powelson and Apple, 1986).

Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde yapılan tarla sürveylerinde Karabacak hastalığının yaygınlık oranı sırasıyla ortalama %22.79, %43.3 ve %38.3 olarak bulunmuştur (Çizelge 7). Karel ve Karahan (1962) Orta Anadolu bölgesinde yapmış oldukları sürvey çalışmasında Nevşehir ilinde %30-35, Niğde ilinde ise %20-30 oranında bulaşık tarlalar olduğunu bildirmişlerdir. Sürvey çalışmalarımızda Bolu ilinde %0-5 (ort. %0.62), Nevşehir'de %0.1-15 (ort. %1.27), Niğde ilinde %0.1-12 (ort. %1.19) arasında değişen oranlarda hastalıklı tarlalara rastlanmıştır (Çizelge 4, 5, 6). Nevşehir ve Niğde illerinde hastalığın daha yaygın ve yüksek oranda görülmesi bu illerdeki ekim alanlarında sulamaların çok sayıda ve yağmurlama şeklinde yapılması, yörede patatesin monokültür şeklinde yetiştirilerek hububatla ekim nöbetinin yeterince uygulanmasından kaynaklanmaktadır. Powelson and Apple (1986) Karabacak hastalığının sulanmayan alanlarda %2'den az, yağmurlama şeklinde sulama yapılan yerlerde %75'e varan oranlarda görülebileceğini belirtmişlerdir.

Tarla sürveyi çalışmalarında Bolu ilinde hastalıklı bitki örneklerinden %92 oranında *Eca*, %8 oranında da *Ecc* izole edilmiştir. Nevşehir ve Niğde illerinde ise sırasıyla %66, %55 oranlarında *Eca*, %23, %30 oranında *Ecc*, %11 ve %15 oranlarında ise her iki ilde aynı tarlada *Eca* ve *Ecc*'nin Karabacak hastalığına neden olduğu saptanmıştır (Çizelge 7). Literatür bildirişleri bölümünde değinildiği gibi 70'li yılların sonuna değin sadece *Eca* Karabacak hastalığı, yada sap çürümmesine neden olan etmen olarak kabul edilmekteydi. Ancak Stanghellini and Meneley (1975), Arizona'da ılık çöl ikliminde yetiştirilen patateslerde sap çürümmesine neden olan etmenin

Ecc olduğunu saptamıştır. Soğuk bir iklimin hüküm sürdüğü İskoçya'da sap çürümesine *Eca* neden olmaktadır (Perombelon, 1973). Molina and Harrison (1977) Amerika'da soğuk iklimin hüküm sürdüğü bölgelerde *Eca*'nın, ılıman iklimin olduğu bölgelerde ise *Ecc*'nin sap çürümesine neden olduğunu belirtmişlerdir. Powelson (1980) ise ABD'de Oregon'da yapmış oldukları çalışmalarda vegetasyon devresinin başında yaygın olan etmenin *Eca*, sıcaklıkların arttığı hasat devresine doğru *Ecc*'nin hakim tür durumuna geldiğini ortaya koymuşlardır. Molina and Harrison (1980) ise hangi türün hastalığa sebep olabileceği konusunda toprak sıcaklığının önemli bir faktör olduğunu, şayet toprak sıcaklığı 18°C 'nin altında ise *Eca*'nın, 25°C 'nin üzerinde ise *Ecc*'nin Karabacak hastalığına neden olduğunu belirtmektedir. Bulgularımıza göre, Nevşehir ve Niğde'den daha yüksek ve serin bir iklime sahip Bolu ilinde Karabacak hastalığına sebep olan etmenin büyük çoğunlukla (%92) *Eca* olduğu görülmüştür. Bolu ilinde vegetasyon devresinde toprak sıcaklık ölçümleri dikkate alınırsa (Çizelge 15), sıcaklıkların 18°C 'nin altında olduğu görülecektir. Nevşehir ve Niğde illerinde ise toprak sıcaklıkları 18°C 'nin üzerindedir. Perombelon et al. (1987) birbirinden farklı iki iklime sahip İskoçya ve İsrail'de yapmış olduğu çalışmalarında; İskoçya'da Haziran-Temmuz aylarında testledikleri 65 hastalıklı sapın %100'ünden *Eca*, Ağustos-Eylül'de 82 sapın %83'ünden *Eca*, %17'sinden de *Eca* + *Ecc* izole etmişlerdir. İsrail'de ise Nisan ayında testledikleri 96 hastalıklı saptan %50'sinin *Eca*, %7.3'ünün *Ecc*, %39.6'sının *Eca* + *Ecc*, %3.1'inden de *Ecc* + *Echr* izole etmişlerdir.

Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde yapılan depo surveylerinde ortalama çürüme oranı sırasıyla %0.49, %1.25, %0.77 olarak saptanmıştır (Çizelge 11). Karel ve Karahan (1962) Nevşehir'den çeşitli depolardan almış oldukları toplam 459 yumru örneğinde %37.47 oranında çeşitli bakteriyel çürümeler olduğuna değinmişlerdir. Ancak adı geçen araştırmacılar *Erwinia phytophthora*'nın ne oranda bir çürüklük oluşturduğu üzerinde

herhangi bir çalışma yapmadıklarını da belirtmişlerdir. Turkeenstein (1985) ise Türkiye'de patates depolarında yapmış olduğu sürvey çalışmalarında, tarla döneminde rastlanmamasına karşın *Ecc*'nin neden olduğu yaş çürüklüğe rastlandığı ve yaygın olarak görüldüğünü belirtmiştir. Aynı araştırmacı Türkiye'de yaş çürüklük nedeniyle depodaki kayıpların tahmini %2 olduğunu bildirmiştir. Şüphesiz depolanan patateslerde depo koşulları, sayım zamanı ve sayısı, üreticilerin depolarda aktarma yapmak suretiyle ayıklama yapması, diğer mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen çürüklükler depolarda *Erwinia carotovora*'nın oluşturduğu gerçek çürüklük oranının saptanmasında etkili olan önemli faktörlerdir. Perombelon and Kelman (1980) depolanan patates yumrularında yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların çürümeyi başlatması için: Anaerobik koşulların, yumru yüzeyini kaplayan su katmanının, patojenin gelişmesi için gerekli minimum sıcaklığın üzerinde bir depo sıcaklığı gibi ön koşullardan birinin olması gerektiğini belirtmiştir. Lipton (1967), Perombelon and Lowe (1970), De Boer and Kelman (1978) çürümenin havadakinden daha düşük bir O_2 konsantrasyonunda çok daha hızlı olduğunu saptamışlardır. Yumru çürümelerinde lentiseller dışında hasat, taşıma, depolama sırasında yumrular da açılan yaralar, böcekler, nematodlar ve fungal infeksiyonlar bakteriler için giriş kapısı oluşturmaktadır. Şayet yaralar mantar dokusuyla kapanmadan önce anaerobik koşullar veya yumru yüzeyinde su tabakası oluşursa çürüme başlamaktadır. Bu koşullarda çok az sayıda bakteri ($<10^2$ hücre) lezyon oluşumu için yeterli olmaktadır. Oysa tam aksine aerobik koşullar altında $30^{\circ}C$ 'den daha düşük sıcaklıklarda yaklaşık 10^6 - 10^7 bakteri geniş bir lezyon için gerekli olmaktadır (Perombelon and Kelman, 1980). Bartz and Kelman (1984) ticari paketleme evlerindeki patateslerin toprak vs.'den arındırılması ve yıkama işlemleri sırasında sağlıklı yumruların da *Erwinia carotovora* ile bulaşmasında önemli rol oynadığını ve çürümenin çok daha fazla olduğunu saptamıştır. Bolu, Nevşehir ve Niğde patates üretim alanlarında ve depolarda yapmış

olduğumuz çalışmalarda bu tür bir yıkama işlemine rastlanmamıştır. Ayrıca Nevşehir ve Niğde illeri patates üretim alanlarındaki toprakların kumlu ve gevşek bir yapıda olması nedeniyle, patateslerin traktöre bağlı söküm aletiyle, söküldüğü ve yıkanmaya gerek duyulmaksızın tarlada çuvalalanıp paketlenildiği gözlenmiştir.

Yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'lar üzerinde yapılan çalışmalar, bu bakterilerin pek çok konukçu bitkide latent infeksiyonlar şeklinde mevcut olduğunu, yani gözle görünebilir herhangi bir semptom göstermemekle birlikte patateslerde bulunabildiğini ve şartlar uygun olduğunda gelişerek çürümeye neden olabildiklerini göstermiştir (Hayward, 1974). Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde yapılan depo süreylerinde çürüklük belirtisi gösteren yumru sayımlarına ilaveten depolardan sağlıklı yumru örnekleri de alınmıştır. Yumru inkubasyon metoduyla yapılan bu testlere göre, *Erwinia carotovora* ile yumruların bulaşma oranları Bolu ilinde ortalama %3.99, Nevşehir'de %8.97 ve Niğde'de %5.37 olarak bulunmuştur (Çizelge 11). 3 ilde ortalama %6.1 gibi oldukça yüksek bir bulaşmanın görülmesi depoda koşullar uygun olduğu takdirde ortalama %0.95 olarak belirlenen çürüme oranının yükselerek ciddi kayıplar verebileceğini göstermektedir. Çizelge 13'te görüldüğü gibi ortalama %18 oranında *Erwinia carotovora* ile bulaşık yumruların depoda bekletilmesi sonucunda hasattan sonra 7. ayda yapılan incelemelerde yumruların ortalama %44'ünün, 8. ayda ise ortalama %75.5'inin çürüdüğü saptanmıştır. Ayrıca daha da önemli olarak bu patatesler tohumluk olarak kullanıldığında tarlada Karabacak hastalığı için önemli bir inokulum kaynağı olacaktır. Şüphesiz *Erwinia carotovora* ile bulaşık bu yumrulardaki bakteri popülasyonu, depodaki koşullar ve zamana bağlı olarak patatesin ne oranda çürüyebileceği, tarla devresinde ne oranda tohumluk yumru çürümesi ve Karabacak hastalığına neden olabileceği ise araştırılması gereken önemli konulardır. Ancak latent haldeki bakterinin metabolik aktivitesi ile, gelişen bitkideki dokuların

dayanıklılığı arasında nasıl bir denge kurulduğu, Karabacak hastalığının başlamasında ne gibi bir tetik mekanizmanın rol oynadığı henüz saptanmamıştır (Perombelon and Kelman, 1980) .

Depo sürveyi çalışmalarında gerek çürük yumrular-
dan gerekse yumru inkubasyon metoduyla test edilen yumrular-
dan yapılan izolasyon çalışmalarında *Eca* ve *Ecc*'nin yumru
çürümelerine neden olduğu saptanmıştır. Perombelon (1979)
farklı *Erwinia carotovora* alt türlerinin patatesi infekte
etmesinde en önemli faktörlerden birinin sıcaklık olduğunu
saptamıştır. Örneğin; yumruda *Eca* ve *Ecc*'den her ikisinde
mevcutsa 15°C'nin altındaki sıcaklıkta *Eca*, daha yüksek sı-
caklıklarda ise *Ecc* hakim bakteri durumuna gelmekte, 22°C'de
ise her iki bakteri eşit oranda bulunabilmektedir. Depolar-
dan alınan yumru örneklerinin testlenmesinde bazı yumruların
cıvık, sümüksü yapıda, yapışkan bir yumuşak çürüklük belirti-
si (Şekil 6) gösterdiği saptanmıştır. Yapılan izolasyon ça-
lışmalarında *Erwinia carotovora*'nın izole edilemediği bu tip
yumruların muhtemelen pektolitik özellikte *Clostridium* spp.
ile bulaşık olabileceği kanısına varılmıştır. Nitekim Campos
et al. (1982) ticari patates depolarından aldıkları yumru ör-
neklerinin %45'inin *Eca*, %13'ünün *Ecc*, %22'sinin pektolitik
Clostridium'larla bulaşık olduğunu belirtmişlerdir. Turkens-
teen (1985), Türkiye'de yapmış olduğu patates hastalıkları
sürveyinde *Clostridium*'dan ileri gelen çürüklüklerin varlı-
ğını bildirmektedir.

Erwinia carotovora'nın en önemli inokulum kaynağı-
nın infekteli tohum olduğu pek çok araştırmacı tarafından or-
taya konmuştur (Logan, 1968; Graham and Hardie, 1971; Perom-
belon 1972, 1973, 1974; Molina et al., 1974; De Boer and
Kelman, 1975; Burr and Scrotch, 1977). Bolu, Nevşehir ve
Niğde illerinde *Erwinia carotovora*'nın başlıca inokulum
kaynaklarının araştırıldığı çalışmalarımızda ithal edilen
tohumlukların çeşitler ve tohumluk partilerine göre değiş-

mekle birlikte bazılarında hiç bulaşma görülmezken, büyük çoğunluğunda %2,5-16 arasında değişen oranlarda *Erwinia carotovora* ile bulaşma saptanmıştır (Çizelge 12). İthal edilen anaç kademedeki yumruların kullanıldığı tohumluk patates yetiştirilen 4 tarlada yapılan denemelerde ise, hastalıklı bitkilere ait sağlıklı görünen yumruların testlenmesi sonucu ortalama %18 oranında *Erwinia carotovora* ile bulaştığı görülmüştür (Çizelge 13). Aynı çalışmada görünebilir hiç bir hastalık belirtisi taşımayan bitkilerden alınan yumru örneklerinde bile %2 oranında (4 no'lu örnek) *Eca* ile bulaşma saptanmıştır. Pawelson and Apple (1986) Karabacak hastalığı görülen bitkilerden elde ettiği yumrulara 1.yıl ortalama %14.2, 2.yıl ortalama %30.8 oranında, sağlıklı bitkilerden aldıkları yumrulara ise 1.yıl ortalama %5.9, 2.yıl ortalama %12.3 oranlarında *Erwinia carotovora* ile bulaşıklılık saptamışlardır. Aynı araştırmacılar Amerika'da 2 ayrı yörede yapmış oldukları bu denemelerde toprak örneklerinin sırasıyla %58 ve %47'sinde, sulama suyu örneklerinin %67 ve %45'inde *Ecc* ile bulaşma olduğunu ancak *Eca* ve *Echr*'e rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Tohum haricinde diğer inokulum kaynaklarının araştırıldığı çalışmalarımızda Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinden alınan toprak örneklerinin hiçbirinde yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* spp. izole edilememiştir. Meneley and Stanghellini (1976) Arizona'da yapmış olduğu çalışmalarda patates dikiminden 1 gün önce nadasa bırakılan topraklardan zenginleştirme teknikleri kullanarak hem *Eca* hem de *Ecc* izole etmiştir. De Boer (1979), Coplin (1980) aynı zenginleştirme tekniklerini kullanarak *Erwinia carotovora*'nın toprakta kışı geçirdiğini, Perombelon and Hyman (1989) aynı yöntemden yararlanarak *Eca* ve *Ecc*'nin İskoçya'da topraklarda mevcut olduğunu ortaya koymuşlardır. Her 3 ildeki toprak örneklerinin testlenmesinde yukarıda adı geçen araştırmacıların kullandığı zenginleştirme ortamından (PEM, Meneley and Stanghellini, 1976) yararlanılmış ve izolasyonlar için CVP besi-

yeri kullanılmıştır. Aynı yöntemler kullanılmasına karşın topraktan izole edilememe nedeni, muhtemelen, topraktaki popülasyonun çok düşük olması, çok fazla sayıda örnek alınması gerektiği ve pektate zenginleştirme besiyerinde anaerobik inkubasyon koşullarının sağlanamaması nedenine bağlanabilir (Perombelon kişisel görüşme). De Boer (1979) *Erwinia carotovora*'nın topraktan izolasyonunda PEM ortamıyla birlikte Fluorescent Antibody Staining (FAS) metodunun diğerleri içinde en duyarlı yöntem olduğunu belirtmektedir.

Nevşehir ilinde hastalık belirtisi göstermeyen patates bitkilerinin rizosferinden alınan 11 örneğin 3'ünden *Ecc*, 1 tanesinden de *Eca* zenginleştirme teknikleriyle izole edilmiştir. Dünyada yapılan çalışmalar *Erwinia carotovora*'nın sağlıklı patates bitkileri yanı sıra pek çok kültür bitkisi rizosferinde yaşayabildiğini ortaya koymuştur (Perombelon, 1976; Burr and Scotch, 1977; De Boer et al., 1978; de Mendonca and Stanghellini, 1979; Coplin, 1980; Mc Carter-Zorner, 1985). De Boer (1983) *Erwinia carotovora*'nın rizosfer popülasyonunun tohumluk yumru çürüyene değin düşük olduğunu, hasata kadar popülasyonda değişimler olduğunu, hasattan önce bitki rizosferi ve yumrulardan her iki alt türü izole etmenin mümkün olduğunu belirtmiştir. Perombelon and Hyman (1989) patates üretimi yapılan tarlalarda *Erwinia carotovora* popülasyonunun hasat sonrasında çok yüksek olduğunu kış boyunca ve ertesi yıl çok azaldığını, yaşam şansının *Brassica* cinsi bitki rizosferinde çok yüksek, çim ve hububatta orta derecede, patates ve diğer yabancı otlarda az olduğunu saptamıştır.

Bolu ilinde sulama suyu kaynaklarından Gölköy barajı sularından senenin 3 ayında, Çepni deresi sularından ise yıl boyunca zenginleştirme tekniği ile *Ecc* izole edilmiştir (Çizelge 14). Mc Carter-Zorner et al. (1984) Güney İskoçya, Kolorado ve ABD'deki pek çok ekili alanda, yüksek yayla ve dağlardaki su kaynaklarını inceledikleri çalışmalarında

Ecc'nin yıl boyunca mevcut olduğunu *Eca*'nın ise çok daha az sıklıkla izole edilebildiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar *Erwinia carotovora*'nın yağmur sularında, Kolorado'da dağlardaki karlarda, İskoçya ve Oregon kıyısında deniz suyunda bile mevcut olduğunu saptamışlardır. Testledikleri yer altı su kaynaklarında ise *Erwinia carotovora*'nın mevcut olmadığını bildirmişlerdir. Jorge and Harrison (1986) Amerika'da Kolorado'daki ırmaklardan 1 yıl boyunca %97.5 oranında *Ecc*, %2.5 oranında *Eca*, Perombelon and Hyman (1987) İskoçya'da Alyth Burn ırmağından 1 yıl boyunca %80 oranında *Ecc* izole etmişlerdir. Maddox and Harrison (1987) Güney Kolorado'da sulama sularında *Erwinia carotovora*'nın popülasyon dinamiği üzerine yapmış oldukları çalışmada, Ağustos ve Eylül aylarında popülasyonun maksimum düzeyde olduğunu, *Eca*'nın çok düşük oranlarda izole edilebildiğini *Echr*'e ise hiç rastlanmadığını belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar Kolorado'da patates sulamasında kullanılan 14 yeraltı su kaynağından 8'inde *Erwinia carotovora* ile bulaşma olduğunu ancak bunlardan 1 tanesi hariç diğerlerinde yıl boyunca *Erwinia carotovora*'nın bulunma oranının çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Patates sulamasının büyük ölçüde yeraltı su kaynaklarından yapıldığı Nevşehir, Niğde illerindeki yeraltı sularından almış olduğumuz örneklerde de *Erwinia carotovora*'ya rastlanmamıştır.

Çalışmalarımızda yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların izolasyonunda seçici besiyeri CVP kullanılmıştır. Bu besiyeri hazırlama zorluğu olmakla birlikte son derece seçici özellikte olup çalışmalarımızda bakterilerin izolasyonu ve tanınması yönünden büyük kolaylık sağlamıştır. Cuppels and Kelman (1975) CVP besiyerini kullanarak 10^3 hücre/gram toprak seviyesinde bile bakterilerin izole edilebildiğini ve *Erwinia carotovora* izolasyonunda diğer seçici besiyerlerinden (Miller-Scotch, Kado Haskett, Beraha pectate) çok daha seçici özellikte olduğunu göstermiştir. Yumuşak çürüklük

grubu *Erwinia*'ların (*Eca*, *Ecc*, *Echr*) tanımlanmasına yönelik çalışmalarımızda CVP'de 27°C'de, CVP'de 36°C'de, CVPE'de 27°C'de ve αMG'de 24°C'de inkubasyona dayalı olarak kullanılan yöntem her 3 bakterisinde kısa zamanda ve güvenilir olarak teşhisine olanak sağlamıştır. Bu yöntemle aynı zamanda tek petri içinde çok sayıda izolat testlenebilmektedir. Perombelon and Hyman (1986) yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların hastalıklı bitki materyalinden direkt izolasyonu ve ayırımı için CVP'de 27°C, CVP'de 33.5°C, CVP'de 36°C ve CVPE'de 27°C şeklinde bir yöntemin başarıyla kullanılabileceğini ifade etmiştir. Ancak buradaki 33.5°C çok kritik bir sıcaklık olup, bilinen kültürlerle yapmış olduğumuz ön denemelerde olumlu sonuç alınamamıştır. Bunun yerine çalışmalarımızda *Eca* ve *Ecc*'nin koloni rengine göre ayırımı yapılabilen αMG besiyeri (Philips and Kelman, 1982) kullanılmıştır. Ayrıca hastalıklı bitki materyalinden izolasyon öncelikle CVP besiyerine yapılmış, daha sonra elde edilen tipik krater oluşturan koloniler yukarda sözü edilen yöntemle göre testlenmiştir.

Hastalıklı bitki materyali ve çeşitli kaynaklardan elde edilen *Erwinia carotovora* izolatlarının *Eca* ve *Ecc* olduğu saptanmıştır. *Echr* ise izole edilememiştir. *Echr* daha ziyade tropik ve subtropik bölgelerde pekçok bitkide hastalık oluşturan bir bakteri olup (Perombelon and Kelman, 1980), Avustralya'da patateslerde çıkış öncesi yumru çürümelerine (Cothier, 1980), Peru'da tropik bölgelerde şiddetli sap çürümesine (de Lindo et al., 1978), İsrail'de patateslerde solgunluğa (Lumb et al., 1986) neden olduğu bildirilmektedir. Perombelon et al. (1987) yumru derinliğindeki toprak sıcaklığının 20°C'nin altında olduğu durumlarda *Echr*'nin patojenik olmadığını saptamıştır.

Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde yürütülmüş olan çalışmalarda toplam 119 *Erwinia carotovora* izolatı elde edilmiş, bunlardan 68 tanesi *Ecc*, 51 tanesinde *Eca* olarak

tanılanmıştır. Bu izolatların Çizelge 18'de belirtilen biyokimyasal testlerle saptanan karakteristikleri incelendiğinde izolatların büyük bir çoğunluğunun beklenen sonucu verdiği görülmüştür. Bu konuda elde edilen bulgular, çeşitli ülkeler ve kültür kolleksiyonlarından temin edilmiş olan *Erwinia carotovora* izolatlarının biyokimyasal karakteristiklerinin araştırıldığı Graham (1972) ve Dickey (1979)'un çalışmalarındaki sonuçlarla karşılaştırmalı olarak Çizelge 19'da verilmiştir.

Çizelge 19 incelendiğinde testlemiş olduğumuz 68 *Ecc*, 51 *Eca* izolatından elde edilen sonuçların, Graham (1972) ve Dickey (1979)'un bulgularıyla aynı paralelde olduğu görülmektedir. Çalışmalarımızda erythromycin'e duyarlılık testi 35 µg erythromycin içeren CVP besiyerinde (Perombelon and Hyman (1986)'a göre yapılmıştır. Graham (1972) ve Dickey (1979) ise nutrient agarda 15 µg'lık erythromycin içeren kağıt disklerle erythromycin'e duyarlılık testini yapmışlardır. Çalışmalarımızda *Eca*'nin *Ecc* ve *Echr*'den ayırımında anahtar testlerden biri olan α-methyl glucoside'den yararlanma 2 ayrı yöntemle tüm izolatlar için uygulanmıştır. αMG katı besiyerinde ve Graham (1972), Dickey (1979)'un uygulamış olduğu sıvı besiyerinde yapılan testlerde elde edilen bulgular, *Eca* izolatları için %100'e varan doğrulukla sonuç alınabileceğini göstermiştir. Ancak *Ecc* izolatlarından 18 tanesinin (%26) katı besiyerinde α-methyl glucoside testinde pozitif sonuç verdiği görülmüştür. Sıvı besiyerinde yapılan (Ayers, Rupp and Johnson, 1919) α-methyl glucoside'den yararlanma testlerinde ise *Ecc* izolatlarının %4 oranında pozitif reaksiyon verdiği görülmüştür. Çizelge 19'da 68 *Ecc*, 51 *Eca* izolatının biyokimyasal özellikleri ile ilgili bulgular, 36°C'de gelişme, α-methyl glucoside ve palatinose'dan yararlanma, sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu testlerinin Graham (1972), Dickey (1979), Lelliott and Dickey (1984) Dickey and Kelman (1988)'de de belirtildiği gibi *Eca* ve *Ecc* izolatlarının ayırımında güvenlikle

Çizelge 19. Bolu, Nevşehir, Niğde illerinde hastalıklı bitki materyali ve çeşitli kaynaklardan izole edilen *Ecc* ve *Eca* izolatlarının biyokimyasal test sonuçlarının Graham (1972) ve Dickey (1979)'un bulgularıyla karşılaştırılması

Test	Bulgularımız		Graham (1972)		Dickey (1979)	
	<i>Ecc</i> (68 izolat)	<i>Eca</i> (51 izolat)	<i>Ecc</i> (60 izolat)	<i>Eca</i> (39 izolat)	<i>Ecc</i> (77 izolat)	<i>Eca</i> (16 izolat)
36°C 'de gelişme	+	(95)	-	testlenmedi	+	-(87)
Erythromycine duyarlılık (35 µg CVP) (a)	-		-	-(90)	-	-
αMG'de kırmızı koloni (b)	-	(74)	+	testlenmedi	testlenmedi	testlenmedi
O/F testi	+		+	testlenmedi	testlenmedi	testlenmedi
Asit oluşumu						100
α-Methylglucoside	-	(88)	+	-(85)	+(94)	-(97)
Palatinoz	-		+	testlenmedi	testlenmedi	-(96)
Maltoz	-	(95)	+	-(80)	+(87)	-
Trehaloz	+	(95)	+	+(94)	+(98)	+(90)
Laktoz	+		+	+(96)	+	+
Fosfataz	-		-	-	-	-
İndol	-	(93)	-	-(89)	-(86)	-
Sakkarozdan ind. mad. oluşumu	-		+	-(90)	+(98)	testlenmedi
Potates dilimleri testi	+		+	testlenmedi	testlenmedi	+

+ Bütün izolatlar pozitif, - Bütün izolatlar negatif, (%) + veya - izolat

(a) Graham ve Dickey'de (NA'da 15 µg Erythromycine duyarlılık)

(b) αMG agarlı besiyerinde test (Philips and Kelman, 1982)

kullanılabileceğini göstermiştir.

Toplam patates üretimimizin %45'inin (Çizelge 3) gerçekleştirildiği ve üretimin çoğunlukla tohumluk amacıyla yapıldığı Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde yürütülen bu çalışma sonunda:

- Karabacak hastalığının yöre ve patates çeşitlerine göre değişmekle birlikte ortalama %1.18 oranında çıkış ve bölgede ortalama %39.86 oranında yaygınlık gösterdiği saptanmış, hastalığın belirtileri ve zarar şekli ayrıntılı olarak ortaya konmuştur.

- Depolarda ise yine yöre ve patates çeşitlerine göre değişen oranlarda olmak üzere ortalama %0.95 oranında çürüme, %6.92 oranında da *Erwinia carotovora* ile bulaşma saptanmıştır.

- Tarla ve depoda hastalığa neden olan etmenin *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda *Erwinia chrysanthemi*'ye rastlanmamıştır.

- İthal edilen tohumluk patateslerin testlenmesinde tohumluk parti ve çeşitlere göre değişmekle birlikte yumruların %2.5-16 arasında değişen oldukça yüksek oranlarda *Eca* veya *Ecc* ile bulaşık olduğu tesbit edilmiştir.

- Bu üç ilde patates sulamasında kullanılan su kaynaklarının incelenmesinde sadece Bolu ilinde yüzey sularında *Ecc* ile bulaşma saptanmıştır. Nevşehir, Niğde illerinde yeraltı su kaynaklarında ise *Erwinia carotovora*'ya rastlanmamıştır.

- Bolu, Nevşehir, Niğde illeri patates tarlalarından alınan toprak örneklerinden *Erwinia carotovora* izole edilememiştir. Ancak sağlıklı görünen patates bitkilerinin rizosferinde ve bu patateslerin yumrularında *Erwinia caro-*

toovora'nın varlığı saptanmıştır.

- Tohumluk patates tarlalarında yapılan denemelerde Karabacak hastalığı görülen bitkilere ait yeni yumruların ortalama %18 oranında *Erwinia carotovora* ile bulaştığı, bu yumruların depolanması sonucu hasattan sonra 7. ayda %44, 8. ayda %75.5'nin çürüdüğü belirlenmiştir.

- Seçici besiyeri (CVP) kullanılarak yapılan izolasyon ve tanı çalışmalarında *Eca*, *Ecc* ve *Echr*'nin kısa sürede tanımına ve çok sayıda izolatin testlenmesine imkan veren bir yöntem geliştirilmiştir. Bu şekilde tanılanan izolatlardan biyokimyasal testlerdeki reaksiyonları saptanarak yöntemin başarı ile uygulanabileceği kanıtlanmıştır.

- Biyokimyasal test çalışmalarında (α -methyl glucoside, sakkarozdan indirgenmiş maddeler oluşumu, fosfatoz gibi) önerilen yöntemler değiştirilerek uygulanmış, bu şekilde aynı petri kabında çok sayıda izolatin kısa zamanda testlenmesine olanak sağlayan laboratuvar teknikleri geliştirilmiştir.

Çalışmalarda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde oldukça yaygın olarak görülen Karabacak hastalığının en önemli inokulum kaynağının tohumluk yumru olduğu sonucuna varılmıştır. Bilindiği gibi ülkemizde virus ve bakteriden arındırılmış doku kültürüne dayalı ve sap kesme şeklinde vegetatif çoğaltmanın yapıldığı tohumluk üreten resmi veya özel bir kuruluş yoktur. Tohumluk talebi büyük ölçüde ithalat yoluyla karşılanmaktadır. Şüphesiz ithalat yoluyla sağlanan tohumluk sayesinde çeşit ve kalite yönünden çok iyi adapte olan patatesler son 5-6 yılda tüm bölgeye hakim olmuş ve bu 3 ilimizde önemli patates üreticisi ülkeler düzeyinde birim alandan ürün elde edilebilmiştir. Ancak ithal edilen tohumluklarında belli oranlarda *Erwinia carotovora* ile bulaşık olduğu

bir gerçektir. Nitekim Avrupa Topluluğu Standartlarına⁽¹⁾ göre patates tohumluklarında "Anaç" kademedede *Erwinia carotovora*'nın toleransı %2 sertifikalı kademedede %4 olarak belirtilmektedir. Ülkemizde Çizelge 2'de görüldüğü gibi tohumluk ithalatının büyük bir bölümü Avrupa ülkelerinden yapılmaktadır. İthal tohumluklar üzerinde yapmış olduğumuz çalışmalarda tohumlukların olması beklenen sınırların çok üzerinde *Erwinia carotovora* ile bulaşık olduğu görülmüştür. Örneğin üretimi en yaygın olan çeşitlerden İlona'nın %10-16, Granola'nın %4-6, Ausonia'nın %0-6.6, Marfona'nın %2.8-3.3 oranında *Erwinia carotovora* ile bulaşık olduğu saptanmıştır (Çizelge 12). Her 3 ilde yapılan tarla ve depo sürveyi sonuçları incelenecek olursa hastalığın ve bulaşmanın en yaygın ve yüksek oranda görüldüğü çeşitler yukarıda sözü edilen çeşitler olup özellikle İlona ve Granola'dır. Bu bulgular hastalığın bölgede ortalama %39.96 gibi küçümsenmeyecek oranda yaygınlık göstermesinde kullanılan tohumluğun ne denli önemli bir inokulum kaynağı olduğunu açıkça göstermektedir. Patates tarımında dekara yaklaşık 200 kg tohum gerekli olduğu düşünülürse bu 3 ilimizde toplam 59191 hektarlık bir ekiliş alanında (Çizelge 3) yaklaşık 118 382 ton patates tohumluğuna gereksinim vardır. Anaç kademedede bir tohumluğun 3 yılda elden çıkacağı düşünülürse bölgenin iyi kalitede tohumluk ihtiyacı 39 460 ton'dur. Oysa tüm Türkiye'nin yıllık tohumluk ithalatı (Çizelge 2) 7000-10.000 ton arasındadır. Bu durumda çiftçi kendi tohumluğunu gerekenden daha uzun yıllar kullanmak zorunda kalmakta, bu da hastalığın yaygın görülmesinde önemli bir etken olmaktadır. Nitekim depolardan alınan örneklerde ortalama %6.1 gibi bir bulaşma oranının saptanması bunun çok güzel bir kanıtıdır.

Literatür bildirişlerinde geniş olarak değinildiği gibi *Erwinia carotovora*'nın tek inokulum kaynağı tohumluk yumru değildir. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar *Erwinia carotovora*'nın aynı zamanda toprak orijinli olduğunu, sulama sularında mevcut olduğunu, yabancı otların rizos-

(1) AGRI/WP, 1/32, 3rd revision 1982, Revised European Standard for seed potatoes recommended by the working party on standardization of perishable produce of the Economic Commission of Europe.

ferinde yaşam şansının olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmalarımızda *Erwinia carotovora* topraktan izole edilememiş, sulama sularında da sadece Bolu ilinde yüzey sularında saptanmıştır. Konuyla ilgili olarak patates alanlarında toprakta *Erwinia carotovora*'nın varlığı ile ilgili daha geniş ve detaylı çalışmalara gereksinim vardır. Ayrıca sulama suları ve özellikle Nevşehir, Niğde patates üretim alanlarındaki yeraltı sularının daha çok örnekle taranması yararlı olacaktır. Yine bölgede patates üretim alanlarındaki yabancı otların rizosferinde *Erwinia carotovora*'nın varlığı araştırılmalıdır. Bulgularımız rizosfer ve sulama sularında saptanan *Erwinia carotovora*'nın ne oranda ve hangi koşullarda hastalık oluşturduğu, yumrulara ne oranda geçtiği, ülkemizde yetiştirilen patates çeşitlerinin *Erwinia carotovora*'ya olan dayanıklılığının araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

Çalışmalarımız sonunda elde edilen bu bulguların:

1. Üretimin büyük bir kısmının tohumluk patates yetiştirmek amacıyla yapıldığı Bolu, Nevşehir ve Niğde'de, çoğu kez Karabacak hastalığı nedeniyle sertifika alamayan ya da tohumluğu tamamen elden çıkan yöre çiftçisinin aydınlatılması için yayımcı kuruluşlara,
2. 308 sayılı Tohumlukların Tescil, Kontrol ve Sertifikasyonu hakkındaki kanun gereği tohumluk patateslerde tarla ve depo kontrolü yapan yetkili kuruluşlara,
3. Tohumluk patates ithalatı yapan resmi ve özel kuruluşlara,
4. İthal edilen tohumlukların kontrolü açısından karantina kuruluşlarına,
5. Çalışmalarda uygulanan laboratuvar metodları ve araştırılması gereken konular yönünden bu konuda çalışan araştırmacılara,

6. V. Beş Yıllık Kalkınma Plânı hedefleri içinde yer alan yüksek verimli ve standart çeşitlerin yetiştirilmesine olanak sağlayan bir tohumluk endüstrisinin plânlanmasında yetkili kuruluşlara, yararlı bir kaynak olacağı inancındayız.



Ö. Z E T

Toplam patates üretimimizin yaklaşık %45'inin gerçekleştirildiği Bolu, Nevşehir ve Niğde illeri aynı zamanda Türkiye'nin en önemli tohumluk patates üretim alanlarıdır. Bu çalışma yukarıda sözü edilen alanlarda yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların varlığını, yaygınlık oranını ve başlıca inokulum kaynaklarını araştırmak amacıyla ele alınmıştır.

Bu amaçla, 1988-1990 yılları arasında depo ve tarla sürveyleri yapılmış, tohumluk yumrular, toprak, patates bitkileri rizosferi, yüzey ve yeraltı sularında yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların varlığı araştırılmıştır. *Erwinia* türlerinin izolasyonu için Crystall Violet Pectate (CVP) seçici besiyeri kullanılmıştır. Ayrıca toprak, su ve rizosferde düşük sayıdaki bakteriler, patates yumrularındaki latent infeksiyonları saptamak için zenginleştirme tekniklerinden yararlanılmıştır. Bütün izolatlar, *Erwinia*'ların katı besi yerinde α -methylglucoside kullanımı, erythromycin'e duyarlılık ve sıcaklık toleranslarına dayalı değiştirilmiş kısa sürede sonuç veren bir teşhis yöntemiyle tanımlanmıştır. Ayrıca, çeşitli kaynaklardan izole edilen yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* izolatlarının ayırımı için tamamlayıcı olarak 9 biyokimyasal test yapılmış, karakteristikleri belirlenen bütün izolatların patojenisite ve virulensi Granola çeşidi patates bitkileri inokule edilerek belirlenmiştir.

Tarlada tohumluk yumru çürümesi ve sap çürümesi şeklinde ortaya çıkan Karabacak hastalığına neden olan etmenlerin *Eca* ve *Ecc* olduğu saptanmıştır. Karabacak hastalığının bulunma oranı Bolu ilinde ortalama %0.62, Nevşehir'de %1.27, Niğde'de %1.19, yaygınlık oranı ise sırasıyla ortalama %22.79, %43.3 ve %38.3 olarak bulunmuştur.

Bolu ilinde ticari depolarda, Nevşehir ve Niğde illerinde doğal depolarda yürütülen sürvey verilerine göre;

E.carotovora'nın neden olduğu çürük yumru yüzdesi sırasıyla ortalama %0.49, %1.25 ve %0.77, yumrulardaki bulaşma oranı ise, sırasıyla ortalama %3.99, %8.97 ve %5.37 olarak bulunmuştur.

1988-1990 yılları arasında, ithal edilen tohumluk patates yumruları, 22°C'de yumru inkubasyon yöntemiyle yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların varlığı yönünden testlenmiştir. Yumruların, patates çeşitleri ve tohumluk partilerine göre değişmekle birlikte %2.5 ile %16 arasında değişen oranlarda *E.carotovora* ile bulaştığı belirlenmiştir. Ancak bazı patates çeşitlerinin, özellikle İlona ve Granola'nın *Eca* veya *Ecc* ile yüksek oranda bulaşık olduğu görülmüştür. Nevşehir'de tohumluk patates yetiştirilen 4 patates tarlasında yürütülen denemelerde, Karabacak hastalığı görülen ve görülmeyen bitkilere ait yeni yumrularında *E.carotovora* ile bulaşık olduğu tesbit edilmiştir. Bununla beraber hastalık belirtisi gösteren bitkilerden alınan yumrulardaki bulaşma oranı, belirti göstermeyen bitkilerden alınanlara göre çok daha yüksek bulunmuştur.

Patates bitkileri rizosferi, yüzey ve yeraltı suları ve topraktan yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'ların izolasyonunda Pektat zenginleştirme besiyeri kullanılmıştır. Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinden alınan toplam 32 toprak örneğinden *Erwinia* spp. izole edilememiş ancak, Nevşehir ilinde incelenen 11 patates bitkisinden 4 tanesinin rizosfer toprağında *Ecc* ve *Eca* bulunmuştur. Şubat 1989 ve Ocak 1990 arasında Bolu'da Çepni deresi ve Gölköy baraj gölünden her ay periyodik olarak su örnekleri alınmıştır. Gölköy'den alınan örneklerde *Ecc* 3 defa izole edilebilmiş, Çepni deresinde ise *Ecc*'nin devamlı mevcut olduğu saptanmıştır. Nevşehir ve Niğde illerinde yeraltı su örneklerinden *Erwinia* bakterileri izole edilememiştir.

Çeşitli kaynaklardan izole edilen 119 *Erwinia* kültüründen 68 tanesi *Ecc*, kalanlar ise *Eca* olarak tanımlanmış,

Echr tesbit edilmemiştir. Hastalıklı saplardan izole edilen 1 izolat dışında bütün izolatların patates bitkilerinde patojen olduğu saptanmış, izolatların saplarda oluşturduğu hastalık şiddetleri %6 ile %87 arasında değişmiştir.



SUMMARY

Bolu, Nevşehir and Niğde provinces, which supply nearly 45% of our total potato production are also the main seed potato growing areas of Turkey. This study was undertaken to investigate the presence and prevalence of soft rot erwinias and their sources of primary inoculum in above mentioned areas.

With this aim, field and storage surveys were carried out between 1989 and 1990, and seed tubers, soil, rhizosphere of potato plants, surface and underground waters were searched for the presence of soft rot erwinias. A selective medium crystal violet pectate (CVP) were used to isolate *Erwinia* spp. Furthermore, enrichment techniques were used for the detection of latent infection in potato tubers and of low numbers of the bacteria in soil, water and rhizosphere. All erwinia isolates were identified with a modified rapid method based on their temperature tolerances, sensitivity to erythromycin and utilization of α -methylglucoside on agar plate. For additional confirmation, 9 biochemical tests were applied to distinguish soft rot erwinia strains isolated from different sources, pathogenicity and virulence of all characterized isolates were evaluated by inoculation of potato plants (cv. Granola).

It was determined that both *Eca* and *Ecc* were the causal agent of potato blackleg inducing seed-piece decay and stem rot in field. Average incidence of blackleg was found to be 0.62% in Bolu, 1.27 % in Nevşehir and 1.19% in Niğde provinces while its prevalence was 22.79 , 43.3 and 38.3 % respectively.

According to data from storage surveys performed in commercial stores in Bolu and natural stores in Nevşehir

and Niğde, the percentage of tuber decay caused by *E.carotovora* was determined to be 0.49 , 1.25 and 0.77 % on an average although the level of contamination of tubers with *Eca* or *Ecc* averaged 3.99, 8.97 and 5.37% respectively.

Between 1988-1990, imported seed potato tubers were tested by tuber incubation method at 22°C for the presence of soft rot erwinias. The infestation of tubers with *E.carotovora* ranged from 2.5 % to 16 % varying potato cvs and the bulk of tubers. However, it was seen that some potato cvs particularly Ilona and Granola were heavily contaminated with *Eca* or *Ecc*. Experiments carried out in four seed potato growing fields in Nevşehir indicated that seed tubers harvested from parent plants with or without blackleg symptoms were also contaminated with *E.carotovora*. However, a greater percentage of tubers from symptomatic parent plants was infested with *E.carotovora* than of tubers from symptomless parent plants.

Pectate enrichment medium was used to isolate soft-rot erwinias from soil, surface and underground waters and the rhizosphere of potato plants. *Erwinia* spp. could not be detected in soil samples taken from 32 fields in Bolu, Nevşehir and Niğde. Water samples were collected monthly from the Gököy lake and Çepni stream in Bolu between February 1989 and January 1990. *Ecc* were detected in the Gököy lake only three times but it was consistently present in water collected from the Çepni stream. No *Erwinia* bacteria were isolated from underground water samples in Nevşehir and Niğde.

Of 119 *Erwinia* cultures isolated from various sources, 68 were identified as *Ecc*, the remaining strains were *Eca* *Echr* was not detected. All strains except one isolated from infected stem were found to be pathogenic on potato plants and the severity of stem decay for all strains varied between 6 % and 87 %.

KAYNAKLAR

- ALLAN, E., and A.KELMAN, 1977. Immunofluorescent stain procedures for detection and identification of *Erwinia carotovora* var. *atroceptica*. *Phytopathology*, 67: 1305-1312.
- ANONYMOUS, 1976. Tohumluk Kontrol ve Sertifikasyonu Hakkında Talimat. A.Ü.Basımevi, Ankara. 237 S.
- ANONYMOUS, 1985. V.Beş Yıllık Kalkınma Döneminde Sektörel Gelişmeler, DPT Yayın No: 1975, Başbakanlık Basımevi, Ankara, 264 S.
- AYERS S.H., P. RUPP, and N.T. JOHNSON, 1919. A study of the alkali-forming bacteria in milk. U.S. Dept. Agric. Bull. 782.
- BARTZ, J.A., and A.KELMAN, 1984. Inoculation of potato tubers with *Erwinia carotovora* during simulated commercial washing and fluming practices. *Am. Potato J.* 61: 495-507.
- BAYKAL, N., und Y.E. ÖKTEM, 1978. Untersuchungen über isolation des erregers der schwarzbeinigkeit (*Erwinia atroseptica* van Hall.) der kartoffeln biochemischen und serologischen eigenschaften. *J. Turkish Phytopath.* 7: 83-90.
- BENLİOĞLU K., Y.E. ÖKTEM and M. ÖZAKMAN, 1991. Bacterial diseases of potatoes in the major potato-growing areas in Turkey-Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 21:67-72.
- BERAHA, L., 1968. A rapid method for the preparation of a semi-solid agar medium for detection of pectolytic enzyme activity in *Erwinia carotovora*. *Plant Dis. Repr.* 52: 167.

- BORA, T. ve İ. KARACA, 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. E.Ü.Zir.Fak. Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, 43 S.
- BRADBURY, J.F., 1977 a. *Erwinia carotovora* var. *carotovora*. CMI descriptions of Pathogenic fungi and bacteria, No: 552. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- BRADBURY, J.F., 1977 b. *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, NO: 551. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- BREMER, H., H. İŞMEN, G. KAREL, H and M. ÖZKAN, 1947. Studies on the parasite fungi of Turkey. İstanbul Univ.Fen Fakültesi mecmuası, Seri B (XIII): 1-55.
- BURR, T.J., and M.N. SCROTCH, 1977. Occurrence of soft-rot *Erwinia* spp. in soil and Plant material. Phytopathology, 67: 1382-1387.
- BUTLER, L.D., and M.E. STANGHELLINI, 1980. An enrichment technique, using asparagine for the isolation of pectolytic *Erwinia* spp. from soil. Phytopathology, 71, 864 (abstr).
- CAMPOS, E., E.A. MAHER, and A.KELMAN, 1982. Relationship of Pectolytic Clostridia and *Erwinia carotovora* strains to decay of potato tubers in storage. Plant Dis. 66: 543-546.
- COPEMAN, P.J., and F.F. SCHNEIDER, 1978. Proc. Can. Phytopathol. Soc. 42, 2 (abstr.).
- COPLIN, D.L., 1980. *Erwinia carotovora* var. *carotovora* on bell peppers in Ohio. Plant Dis. 4: 191-194.
- COTHER, D.J., 1980. Bacterial seed tuber decay in irrigated sandy soils of New South Wales. Potato Res. 23: 75-79.
- , and K. SIVASITHAMPARAM, 1983. *Erwinia*: the "carotovora" group pp. 87-160. In: Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide. eds. Fahy, P.C. and G.J. Persley, Academic Press, NY.

- COWAN, S.T., 1974. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2nd Ed. Cambridge Press. London. 172 pp.
- CUPPELS, D., and A.KELMAN, 1974. Evaluation of selective media for isolation of soft-rot bacteria from soil and plant tissue. *Phytopathology*, 64: 468-475.
- DE BOER, S.H., and A.KELMAN, 1975. Evaluation of procedures for detection of pectolytic *Erwinia* spp. on potato tubers. *Am. Potato J.* 52: 117-123.
- _____, and A.KELMAN, 1978. Influence of oxygen concentration and storage factors on susceptibility of potato tubers to bacterial soft rot (*Erwinia carotovora*). *Potato Res.* 21: 65-80.
- _____, D.A. CUPPELS, A.KELMAN, 1978. Pectolytic *Erwinia* spp. in the root zone of potato plants in relation to infestation of daughter tubers. *Phytopathology*, 68: 1786-1790.
- _____, 1979. *Erwinia carotovora* contamination of symptomless potato foliage, roots and tubers. *Am. Potato J.* 56: 458-459.
- _____, E.ALLAN and A.KELMAN, 1979 a. Survival of *Erwinia carotovora* in Wisconsin soils. *Am. Potato J.* 56: 243-252.
- _____, R.J. COPEMAN, and H. VRUGGINK, 1979 b. Serogroups of *Erwinia carotovora* potato strains determined with diffusible somatic antigens. *Phytopathology*, 69: 316-319.

- DE BOER, S.H., 1980. Serological relationships among flagella of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* and some *E. carotovora* var. *carotovora* serogroups. Can. J. Microbiol. 26: 567-571.
- _____, 1983. Frequency and distribution of *Erwinia carotovora* serogroups associated with potato in the Pemberton Valley of British Columbia. Can. J. Plant Pathology, 5: 279-284.
- _____, 1984. Enumeration of two competing *Erwinia carotovora* populations in potato tubers by a membrane filter-immunofluorescence procedure. J. Appl. Bacteriology, 57: 517-522.
- _____, and M. SASSER, 1986. Differentiation of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* and *E. carotovora* ssp. *atroseptica* on the basis of cellular fatty acid composition. Can. J. Microbiol. 32: 796-800.
- _____, and M.E. Mc NAUGHTON, 1987. Monoclonal antibodies to the lipopolysaccharide of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* serogroup I. Phytopathology, 77: 828-832.
- de MENDONCA, M., and M.E. STANGHELLINI, 1979. Endemic and soilborne nature of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, a pathogen of mature sugar beets. Phytopathology, 69: 1096-1099.
- de LINDO, L., E.R. FRENCH, A. KELMAN, 1978. *Erwinia* spp. pathogenic to potatoes in Peru. Am. Potato J. 55: 383 (Abstr.).
- DICKEY, R.S., 1979. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. Phytopathology, 69: 324-329.

- DICKEY, R.S., and A.KELMAN, 1988. *Erwinia*: the "carotovora" group. pp. 44-59. In: Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria II. Edition, ed. N.W. Schaad. APS press, St Paul, Minnesota.
- DYE, D.W. 1969. A taxonomic study of the genus *Erwinia* II. The carotovora group. NZ. J. Sci. 12:81-97.
- FAHY, P.C., and A.C. HAYWARD, 1983. Media and Methods for Isolation and Diagnostic Tests. pp. 337-378. In: Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide. eds. Fahy, P.C. and G.J. Persley, Academic Press. NY.
- GRAHAM, D.C., 1962. Blackleg disease of potatoes. Scott. Agric. 41:211-215.
- _____, 1964. Taxonomy of the soft rot coliform bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 2: 13-42.
- _____, P.C. HARPER. 1967. Potato blackleg and tuber soft rot. Scott. Agric. 46: 68-74.
- _____, and J.L. HARDIE, 1971. Prospects for control of potato blackleg disease by the use of stem cuttings. Proc. Br. Insectic. Fungic. Conf., 6th, 1: 219-224.
- _____, 1972. Identification of soft rot coliform bacteria. In Proc. Int. Conf. Plant Pathol. Bacteriol., 3rd, Wageningen, 1971, ed. H.P. Maas Geesteranus, pp. 273-79. Wageningen, the Netherlands: Cent. Agric. Publ. Doc. Pudoc. 365 pp.
- _____, and M.D. HARRISON, 1975. Potential spread of *Erwinia* spp. in aerosols. Phytopathology, 65: 739-741.

- GRAHAM, D.C., C.E. QUINN, and M.D., 1976. Recurrence of soft rot coliform bacterial infections in potato stem cuttings: An epidemiological study on the central nuclear stock production form in Scotland 1967-74. *Potato Res.* 19: 3-20.
- GÜNDOĞDU, M., and İ. KARACA, 1981. Confirming the factors and the ratio of bacterial diseases of potatoes in izmir and its surroundings and investigation on the reactions of important potato varieties of the region. *J. Turkish Phytopath.* 10: 71-75.
- HARRISON, M.D., C.E. QUINN, A. SELLS, D.C. GRAHAM, 1977. Waste potato dumps as sources of insects contaminated with soft rot coliform bacteria in relation to recontamination of pathogen-free potato stocks. *Potato Res.* 20: 37-52.
- HAYWARD, A.C., 1974. Latent infections by bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 12: 87-97.
- HOPPE, P.E., A.KELMAN, 1969. Bacterial top and stalk rot disease of corn in Wisconsin. *Plant Dis. Reptr.* 53: 66-70.
- HORSFALL, J.G., 1945. Fungicides and their Action. *Chronica Botanica C.*, Waltham, Mass. 39-41 pp.
- HOSSAIN, M., and P.J.READ, 1983. A comparison of inoculation methods for determining potato cultivar reaction to blackleg. *Ann. Appl. Biol.* 103: 63-70.
- HUGH, R., and E.LEIFSON, 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* 66: 24-26.

- JORGE, P.E., and M.D.HARRISON, 1986. The association of *Erwinia carotovora* with surface water in northeastern Colorado. I. The presence and population of the bacterium in relation to location, season and water temperature. Am. potato J. 63: 517-531.
- KAREL, G. ve O. KARAHAN, 1962. Orta Anadolu Patateslerinde Erken Kuruma ve Yumru Çürümelerine Sebep Olan Amiller. Tarım Bakanlığı, Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 42, 26 S.
- LEACH, J.G., 1930. Potato blackleg: The survival of the pathogen in the soil and some factors influencing infection. Phytopathology, 20: 215-228.
- LELLIOTT, R.A., E. BILLING, and A.C. HAYWARD, 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. Appl. Bacteriol. 29:470-489.
- _____, 1974. Genus XII *Erwinia*. In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, ed. R.E. Buchanan, N.E. Gibbons, pp.332-39. Baltimore: Williams and Wilkins 1268 pp. 8th ed.
- _____, and R.S. DICKEY, 1984. Genus VII *Erwinia*, 1920. pp. 469-476 in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 1, ed. N.R. Krieg, The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- LIPTON, W.J., 1967. Some effects of Low-oxygen atmospheres on potato tubers. Am. Potato J. 44: 292-299.
- LOGAN, C., 1968. The survival of the potato blackleg pathogen overwinter. Rec. Agric. Res. Minist. Agric. Northern Ireland, 17: 115-121.

- LUMB, V.M., M.C.M. PEROMBELON and D.ZUTRA. 1986. Studies of a wilt disease of the potato plant in Israel caused by *Erwinia chrysanthemi*. Plant Pathology, 35: 196-202.
- MADDOX, D-A.. and M.D. HARRISON, 1988. Presence and population dynamics of *Erwinia carotovora* in irrigation water in south central Colorado. J.Appl. Bacteriol. 64: 169-182.
- Mc CARTER-ZORNER, N.J., G.D.FRANC, M.D.HARRISON, J.E.MICHAUD, C.E.QUINN, I. ANN SELLS, and D.C.GRAHAM, 1984. Soft rot *Erwinia* bacteria in surface and underground waters in southern Scotland and in Colorado, United States. J.Appl. Bacteriol. 57: 95-105.
- Mc CARTER-ZORNER, N.J., M.D.HARRISON, G.D.FRANC, C.E.QUINN, I. ANN SELLS and D.C.GRAHAM, 1985. Soft rot *Erwinia* bacteria in the rhizosphere of weeds and crop plants in Colorado, United States and Scotland. J.Appl. Bacteriol. 59: 357-368.
- MENELEY, J.C., and M.E.STANGHELLINI, 1976. Isolation of soft-rot *Erwinia* spp. from agricultural soils using an enrichment technique. Phytopathology, 66: 367-370.
- MOLINA, J.J., M.D.HARRISON, and J.W. BREWER, 1974. Transmission of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* by *Drosophila melanogaster* Meig. I. Acquisition and transmission of the bacterium. Am. Potato J. 51: 245-250.
- _____, and M.D. HARRISON, 1977. The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg. I. Relationship of *E.carotovora* var. *carotovora* *E.carotovora* and *atroseptica* to potato blackleg in Colorado. Am. Potato J. 54: 587-591.

PEROMBELON, M.C.M. , 1978. Contamination of potato crops by airborne *Erwinia carotovora* Proc. 4th Int. Conf. Plant Pathol. Bact. Angers 1978 Vol. II. 563-565.

_____, 1979. Factors affecting the accuracy of the tuber incubation test for the detection of contamination of potato stocks by *Erwinia carotovora*. Potato Res. 22: 63-68.

_____, R.A. FOX, and R. LOWE, 1979. Dispersion of *Erwinia carotovora* in aerosols produced by the pulverization of potato haulm prior to harvest. Phytopath. Z. 94: 249-260.

_____, and A.KELMAN, 1980. Ecology of the soft rot erwinias. Ann. Rev. Phytopathol. 18: 361-387.

_____, and L.J.HYMAN, 1986. A rapid method for identifying and quantifying soft rot erwinias directly from plant material based on their temperature tolerances and sensitivity to erythromycin. J.Appl. Bacteriology, 60: 61-66.

_____, and L.J.HYMAN, 1987. Frequency of *Erwinia carotovora* in the Alyth Burn in eastern Scotland and the sources of the bacterium. J. Appl. Bacteriol. 63: 281-291.

_____, V.M.LUMB, and D.ZUTRA, 1987. Pathogenicity of soft rot erwinias to potato plants in Scotland and Israel. J. Appl. Bacteriol. 63: 73-84.

_____, V.M.LUMB and L.J.HYMAN, 1987. A rapid method to identify and quantify soft rot erwinias on seed potato tubers. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 17: 25-35.



- PEROMBELON, M.C.M., and L.J. HYMAN. 1989. Survival of soft rot coliforms *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica* in soil in Scotland. J. Appl. Bacteriol. 66: 95-106.
- PHILLIPS, J.A., and A. KELMAN, 1982. Direct fluorescent antibody stain procedure applied to insect transmission of *Erwinia carotovora*. Phytopathology, 72: 898-901.
- POWELSON, M.L., 1980. Seasonal incidence and cause of blackleg and a stem soft rot of potatoes in Oregon. Am. Potato J. 57: 301-306.
- _____, and J.D. APPLE, 1984. Soil and seed tubers as sources of inoculum of *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* for stem soft rot of potatoes. Phytopathology, 74: 429-432.
- _____, and J.D. APPLE, 1986. Potato blackleg in progeny plantings from diseased and symptomless parent plants. Phytopathology, 76: 56-60.
- QUINN, C.E., I.A. SELLS, and D.C. GRAHAM, 1980. Soft rot *Erwinia* bacteria in the atmospheric bacterial aerosol. J. Appl. Bacteriol. 49: 175-181.
- SAMPSON, P.J., 1977. Contamination with *Erwinia carotovora* and *Verticillium albo-atrum* during multiplication of pathogen tested potato crops, cultivar Kennebec. Am. Potato J. 54: 1-9.
- SKERMAN, V.B.D., V. MC GOVAN, and P.H.A. SNEATH (eds.). 1980. Approved list of bacterial names. Int. J. Syst. Bacteriol. 30: 225-420.
- STANGHELLINI, M.E., and J.C. MENELEY, 1975. Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. Phytopathology, 65: 86-87.

- STANGELLINI, M.E., 1982. Soft-rotting bacteria in the rhizosphere. pages 249-260 in: Phytopathogenic Prokaryotes, Vol. 1. eds. M.S.Mount and G.H.Lacy, Academic press., New York. 541 pp.
- STEWART, D.J., 1962. A selective-diagnostic medium for the isolation of pectolytic organisms in the enterobacteriaceae. Nature (Lond), 195: 1023.
- TURKENSTEEN, L.J., 1985. Türkiye Fungal ve Bakteriyel Patates Hastalıkları Sürveyi. Ege Bölge Zir. Araşt. Enst. Yayınları, No:62, Menemen, İzmir, 20 S.
- TZENG, K.C., A.KELMAN, K.E.SIMMONS, and K.A.KELLING, 1986. Relationship of calcium nutrition to internal brown spot of potato tubers and sub-apical necrosis of sprouts. Am. Potato J. 63: 87-97.
- WILLIAM, E.F., 1982. Principles of Plant Disease Management. Academic press. New York, 378 pp.