

Biotempo (Lima)



<https://revistas.urp.edu.pe/index.php/Biotempo>



RESEARCH NOTE / NOTA CIENTÍFICA

IDENTIFICATION OF *PECTOBACTERIUM* WALDEE 1942 ISOLATED FROM A POTATO TUBER WITH SOFT ROT SYMPTOMS

IDENTIFICACIÓN DE *PECTOBACTERIUM* WALDEE 1942 AISLADO DE UN TUBÉRCULO DE PAPA CON SÍNTOMAS DE PUDRICIÓN BLANDA

Oscar Nolasco-Cárdenas^{1,2*}; María Andia-Gonzales^{1,2}; Mónica Velarde-Vílchez^{1,2}; Ysabel Murrugarra-Bringas^{1,2} & Ana I. F. Gutiérrez-Román^{1,2}

¹ Grupo de Investigación de Bioquímica y Biología Sintética-UNFV (GIBBS-UNFV).

² Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú.

* Corresponding author: onolasco@unfv.edu.pe

Oscar Nolasco-Cárdenas: <https://orcid.org/0000-0002-5672-5516>

María Claudia Andia-Gonzales: <https://orcid.org/0000-0002-4587-521X>

Mónica Velarde-Vílchez: <https://orcid.org/0000-0002-8774-8729>

Ysabel Murrugarra-Bringas: <https://orcid.org/0000-0001-5965-2618>

Ana I. F. Gutiérrez-Román: <https://orcid.org/0000-0002-7020-7387>

ABSTRACT

The genus *Pectobacterium* Waldee 1942, is one of the most common soft rot causal agents. The present study aims to identify this genus from a potato tuber with soft rot syndrome collected from an agricultural supply center in the El Agustino district, Lima, Perú. Four bacterial isolates were analyzed, two of which grew on crystal violet pectate medium (CVPM), a selective medium for the genus *Pectobacterium*. Pathogenicity analysis reveals that the two bacteria grown on CVPM caused soft rot in potato tubers as well as in other agricultural products, whereas the bacteria that did not grow on CVPM did not exhibit soft rot characteristics. Molecular identification through *16S rRNA* gene analysis determined that the bacteria that grew on CVPM belong to the genus *Pectobacterium*. Molecular analysis and pathogenicity evaluation confirmed that the bacterial isolate from the potato tuber with soft rot belongs to the genus *Pectobacterium*, with pathogenic potential for other agricultural products. Additionally, we confirmed that bacterial load, agricultural product lesions, and humidity are key factors in the development of soft rot symptoms.

Keyword: Bacteria – *Pectobacterium* – potato – Soft rot



RESUMEN

El género *Pectobacterium* Waldee 1942, es uno de los agentes causales de pudrición blanda más comunes. El presente estudio tiene como objetivo identificar este género a partir de un tubérculo de papa con síndrome de pudrición blanda colectada de un centro de abasto de productos agrícolas en el distrito El Agustino, Lima, Perú. Se analizaron cuatro aislados bacterianos, dos de los cuales crecieron en medio de pectato violeta cristal (CVPM), medio selectivo para el género *Pectobacterium*. El análisis de patogenicidad revela que las dos bacterias cultivadas en CVPM causaron pudrición blanda en tubérculos de papa y otros productos agrícolas, mientras que las bacterias que no crecieron en CVPM no mostraron características de pudrición blanda. La identificación molecular a través del análisis del gen *16S rRNA* determinó que las bacterias que crecieron en CVPM pertenecen al género *Pectobacterium*. El análisis molecular y la evaluación de patogenicidad confirmaron que el aislado bacteriano del tubérculo de papa con pudrición blanda pertenece al género *Pectobacterium*, con potencial patógeno para otros productos agrícolas; así mismo confirmamos que la carga bacteriana, las lesiones de los productos agrícolas y la humedad son factores clave en el desarrollo de los síntomas de pudrición blanda.

Palabras clave: Bacteria – papa – *Pectobacterium* – Pudrición blanda

INTRODUCCIÓN

La pudrición blanda bacteriana es una enfermedad que afecta tanto a plantas cultivadas como silvestres. Esta enfermedad causa un deterioro en la calidad y el rendimiento de los cultivos, por lo que generan pérdidas económicas significativas a nivel mundial (Dolar *et al.*, 2011).

El género *Pectobacterium* Waldee 1942, es uno de los principales patógenos bacterianos de esta enfermedad debido a que producen enzimas pectinolíticas que degradan las paredes celulares de las plantas, provocando síntomas característicos como ablandamiento, decoloración y exudación líquida (Toth *et al.*, 2003). Las bacterias de este género son gramnegativas (-), de metabolismo anaerobias facultativas. (Perombelon & Kelman, 1980; Czajkowski *et al.*, 2015; Charkowski *et al.*, 2020).

Las especies de *Pectobacterium* que ocasionan la enfermedad de pudrición blanda son altamente heterogéneas y pueden infectar las plantas en las diferentes etapas del cultivo, durante el desarrollo de la planta, durante la cosecha y durante el proceso de transporte o en el almacenamiento de los productos agrícolas para su consumo (Pérombelon, 2002). La enfermedad ocasionada por *Pectobacterium* puede propagarse de un campo de cultivo a otro durante el intercambio de productos agrícolas o semillas contaminadas. En hortalizas, *Pectobacterium* y otras bacterias fitopatógenas pueden transmitirse hasta en

un 5% a otros cultivos dependiendo de las condiciones ambientales favorables para su desarrollo (Navarrete-Maya *et al.*, 2014; Parvin *et al.*, 2023).

A nivel mundial las especies más patógenas predominantes y ampliamente reportadas son *P. atrosepticum*, *P. brasiliense*, *P. carotovorum* y *P. parmentieri* en todo el mundo (Gardan *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2004; De Boer *et al.*, 2012; Waleron *et al.*, 2013; Khayi *et al.*, 2016; Charkowski *et al.*, 2020; Ozturk, 2022). Muchas de las especies y subespecies de *Pectobacterium* se relacionaron inicialmente con el nombre según el hospedador del que se aislaron; sin embargo, ello no guarda relación con su amplia gama de hospedadores por lo que su patogenicidad no es una prueba determinante para su clasificación. Así, *P. carotovorum* subsp. *betavascularum* aislado de beterraga también ha sido aislado en girasol, papa y alcachofa (Gardan *et al.*, 2003).

Los métodos de identificación y caracterización de *Pectobacterium* pueden llevarse a cabo mediante análisis de características fenotípicas, incluyendo aspectos morfológicos, bioquímicos y fisiológicos que requieren de una alta experiencia del operador y son muy laboriosos; además estos métodos clásicos suelen presentar ciertas limitaciones debido a la alta similitud a especies relacionadas (Waldee, 1942). En consecuencia, la identificación y caracterización debe de complementarse con enfoques moleculares para lograr resultados de mayor precisión realizando un análisis del gen *16S rRNA* y alternativamente una PCR específica

para genes relacionados con la virulencia (Toth *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2004; Nabhan *et al.*, 2012; Kabir *et al.*, 2020).

Por otro lado, la evaluación de la patogenicidad en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* Linnaeus, 1753), permite analizar la agresividad de estas bacterias con el fin de medir el potencial impacto en otros sistemas agrícolas. En este contexto, el uso de la papa como modelo experimental es relevante, ya que su tejido es altamente susceptible a infecciones bacterianas y facilita el análisis de parámetros como el tamaño de las lesiones y la profundidad del daño (Hélias *et al.*, 2012).

Este estudio tuvo como objetivo obtener un aislamiento bacteriano a partir de un tubérculo de papa proveniente de un puesto de abasto y que presentaba síntomas de pudrición blanda, evaluar su patogenicidad e identificar molecularmente la bacteria aislada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de bacterias y condiciones de cultivo

En el verano del 2022 se recolectó un tubérculo de papa que mostraba síntomas típicos de pudrición blanda en el mercado de Tayacaja en el distrito del Agustino en Lima [Latitud-12,038714, longitud -76,992560 (12°02'19.4"S 76°59'33.2"W)], Perú. El producto provenía de la región Junín y estuvo almacenado en el puesto de abasto por una semana. En una cabina estéril se descartó la cubierta externa con ayuda de una hoja de bisturí sobre una placa Petri, de la sección central interna se extrajo aproximadamente un volumen de 100 uL que fueron colocados en 500 uL de caldo de cultivo Trypticase de soya (TSB). La muestra se colocó en agitación a temperatura ambiente por 1 hora a 120 rpm. Luego se dejó reposar por 20 min y de la superficie se retiraron 100 uL para hacer cinco diluciones seriadas. De cada dilución seriada se sembraron 100 uL esparciéndola con asa de Digralsky en placas de Trypticase de soya agar (TSA) y se incubó a 28 °C durante 24 h.

Para evaluar la actividad pectinolítica se sembraron en medio de cristal violeta pectato (CVPM) y se incubó a 28 °C durante 24 h como lo describe Perombelon (2002).

Análisis de patogenicidad

Las bacterias aisladas se inocularon en caldo TSB para la evaluación de patogenicidad, seguida de una incubación a

28 °C durante 24 h. La suspensión bacteriana se cuantificó por diluciones seriadas y determinó la preparación de una suspensión bacteriana a una concentración de 10⁷ UFC/ml para el análisis de patogenicidad.

Para demostrar el postulado de Koch las bacterias se inocularon en tubérculos de papa empleando tres diluciones bacterianas: 10⁸ UFC/mL, 10⁶ UFC/mL y 10⁴ UFC/mL.

El tubérculo de papa para el análisis de patogenicidad se seleccionó considerando que el producto agrícola era fresco y sin ninguna herida en su superficie. El tubérculo fue lavado con agua corriente y luego sumergidos en hipoclorito de sodio al 0,5%, posteriormente se enjuagó con agua destilada y se colocó sobre una superficie estéril para su secado. En el tubérculo se hicieron incisiones con un sacabocado estéril de 1mm de diámetro y aproximadamente un centímetro de profundidad para inyectar en ellos 20 uL de suspensión bacteriana de las soluciones preparadas frescas, como control negativo se inoculó caldo TSB. La superficie de la herida fue sellada con vaselina estéril y el tubérculo infectado se colocó en un ambiente húmedo a temperatura ambiente durante 72 h para permitir el desarrollo de los síntomas de pudrición blanda.

Adicionalmente el análisis de patogenicidad también se realizó empleando tomate, pimienta, zanahoria y camote empleando solo la dilución bacteriana de 10⁸ UFC/mL.

Identificación bacteriana por secuenciación del gen 16S *rRNA*

Los aislamientos bacterianos fueron preparados para el análisis de secuenciación del gen 16S *rRNA* empleando los cebadores universales 27F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3') y 1492R (5'GGTTACCTTGTTACGACTT3'). Brevemente, el ADN se extrajo utilizando el método de choque térmico de una colonia bacteriana de cada aislado con 5 ciclos de 10 minutos a -20 °C y 3 minutos a 65 °C. En ambos casos, Las reacciones de PCR se realizaron utilizando el kit SuperFiTaq DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las condiciones de PCR para los cebadores universales fueron: 98 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C durante 30 s, 58 °C durante 30 s y 72 °C durante 30 s con una extensión final a 72 °C durante 6 min. El producto de amplificación se detectó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y 20 uL de cada producto fueron secuenciados por MACROGEN, utilizando el método de secuenciación de Sanger.

Para lograr la longitud máxima de secuencia (aproximadamente 1492 pb del gen 16S rRNA), se realizaron tres lecturas del producto de PCR con cebadores universales internos, las secuencias obtenidas se alinearon y ensamblaron en el software bioinformático MEGA X (<https://www.megasoftware.net/>), y finalmente las secuencias consenso para cada producto se compararon con las secuencias del banco de datos utilizando la herramienta de búsqueda de alineamiento local básico de nucleótidos (BLAST) en www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST, y disponible en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI).

Aspectos éticos

En este estudio se siguieron los aspectos éticos mediante el uso de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del material interno de un tubérculo son síntomas de pudrición blanda se obtuvo un material blando que fue homogenizado en 500 uL de TSB e incubado por 1 h a 120 rpm a temperatura ambiente, terminada la incubación se dejó sedimentar por 20 min y a partir del

sobrenadante se hicieron cinco diluciones seriadas para obtener bacterias aisladas.

El cultivo realizado con la cuarta dilución seriada presentó colonias individuales separadas de las cuales se obtuvieron cuatro aislados representativos de características morfológicas similares. Los cuatro aislados por tinción Gram, se identificaron como bacterias gramnegativas (-) y por la prueba de oxidasa los cuatro aislados fueron negativos. Estas características son consistentes con las descritas en los reportes para enterobacterias fitopatógenas como *Pectobacterium* spp. (Luna-Rodríguez *et al.*, 2009; Czajkowski *et al.*, 2011; Charkowski *et al.*, 2020).

Dos de los cuatro aislados no crecieron en CVPM y en los aislados que crecieron no se observó desarrollo de cavidades. La actividad pectinolítica es característica de *Pectobacterium*; sin embargo, esta actividad es variable dentro de esta especie pudiendo no manifestarse (Czajkowski *et al.*, 2015).

Los dos aislados bacterianos que crecieron en CVPM se cultivaron en placas de TSA y se inocularon nuevamente en papa donde se observaron los síntomas típicos de pudrición blanda comprobándose el postulado de Koch para ambos aislados (Figura 1). Las otras dos bacterias que no crecieron en CVPM no desarrollaron los síntomas típicos de pudrición blanda.

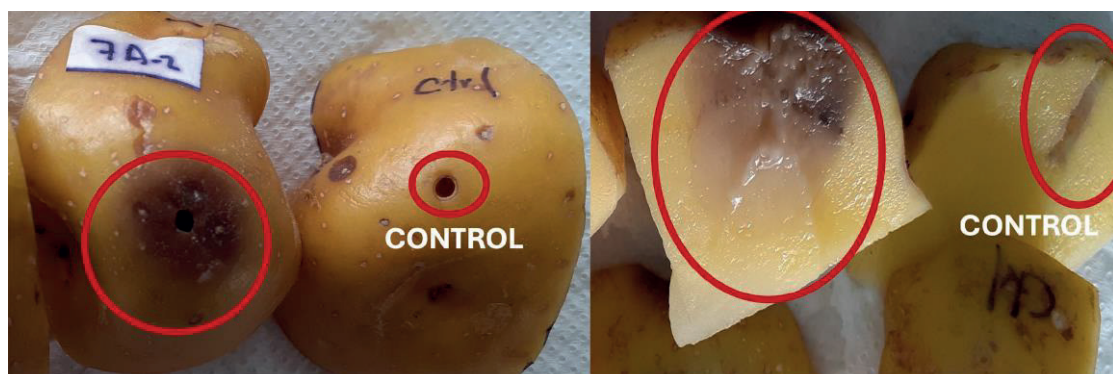


Figura 1. Evaluación de patogenicidad del aislado bacteriano.

La evaluación de la patogenicidad se realizó en los polos opuestos de un mismo tubérculo de papa (Figura 1). En la fotografía de la izquierda, el tubérculo se cortó en dos para comparar el sitio de inóculo bacteriano con una notoria lesión desde la parte externa del tubérculo y la lesión realizada para el control. En la fotografía de la derecha se muestra la lesión desde la parte interna apreciándose claramente la degradación del tejido producto de la

pudrición blanda, mientras que la lesión realizada para el control se observa como una simple perforación donde se adicionó TSB estéril. Los círculos y elipses en rojo son proporcionales a la lesión.

Evaluando la relación entre la concentración bacteriana de los aislados que crecieron en CVPM y la severidad de las lesiones en tubérculos de papa se observó que concentraciones más altas de inóculo bacteriano resultan en

lesiones más extensas en los tubérculos. Concentraciones de 10^8 UFC/mL y 10^6 UFC/mL, equivalentes a inóculos de 2 millones y 20 mil bacterias respectivamente, provocaron lesiones de diferente magnitud, siendo más severas con la concentración más alta (Figura 2). Sin embargo, para diluciones de 10^4 UFC/mL (equivalente a 200 bacterias inoculadas), no se observó desarrollo de infección, lo que indica que se requiere una cantidad mínima de bacterias para el desarrollo de los síntomas de pudrición blanda luego de 72 h de contacto bacteriano en nuestros ensayos. Así mismo, resaltamos que el desarrollo de la pudrición inicia en el punto de inóculo bacteriano, cuando colocamos bacterias en la superficie sana exterior

del tubérculo, no evidenciamos desarrollo de los síntomas de pudrición blanda. Estas observaciones también han sido descritas en diversos estudios que han desarrollado infecciones de *Pectobacterium* (Czajkowski *et al.*, 2011; Dupuis *et al.*, 2021), lo que indicaría que la presencia de heridas o lesiones en la superficie de los tejidos vegetales son un factor determinante para que la bacteria ingrese y desarrolle una infección (Toth *et al.*, 2021). Por lo que es importante evitar daños en los tubérculos de papa durante la cosecha y almacenamiento, debido a que minimizar las lesiones en la superficie estaría contribuyendo con la reducción de la incidencia de la pudrición blanda.

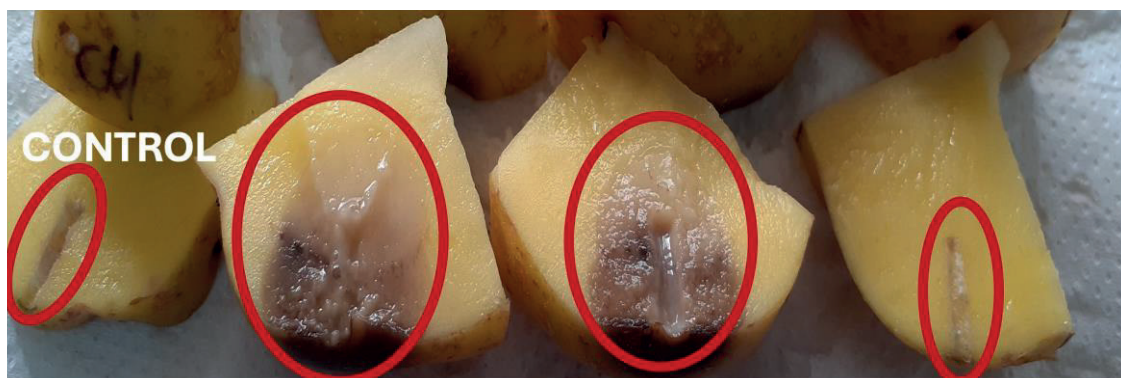


Figura 2. Evaluación de la relación entre la concentración bacteriana de los aislados y la severidad de las lesiones en tubérculos de papa.

De izquierda a derecha se muestran el control del experimento, inóculo bacteriano de 2 millones, 20 mil y 200 bacterias respectivamente. La lesión más severa se presentó con la concentración más alta, nótese que la lesión se inicia desde la cavidad que se generó para colocar el inóculo bacteriano. Luego 72 horas del inóculo bacteriano y a temperatura ambiente no se evidencio lesión para el inóculo de 200 bacterias. Las elipses en rojo son proporcionales a la lesión (Figura 2).

Ambas bacterias aisladas que crecieron en CVPM, también mostraron la misma predisposición a desarrollar pudrición blanda en diversos productos agrícolas comerciales, en pimientos y zanahorias que presentan una gran cantidad de líquidos de constitución el desarrollo de los síntomas fue más severo que en los tubérculos de papa o en el camote de la variedad morada, mas no así en camote de variedad amarilla posiblemente a que este último no proporcione la condición de humedad requerida para el desarrollo de la bacteria y los síntomas de pudrición blanda (Figura 3).

Productos agrícolas comerciales con mayor cantidad de líquidos de constitución como la zanahoria muestran una lesión muy severa afectando la delgada capa de la cobertura externa del producto agrícola mostrándose reblandecida con abundante licuefacción de tejido. En ambas variedades de camote la lesión no se aprecia en la cobertura externa; sin embargo, la lesión se puede apreciar en el corte transversal solo en la variedad de camote morado. Los círculos y elipses en celeste son proporcionales a la lesión (Figura 3).

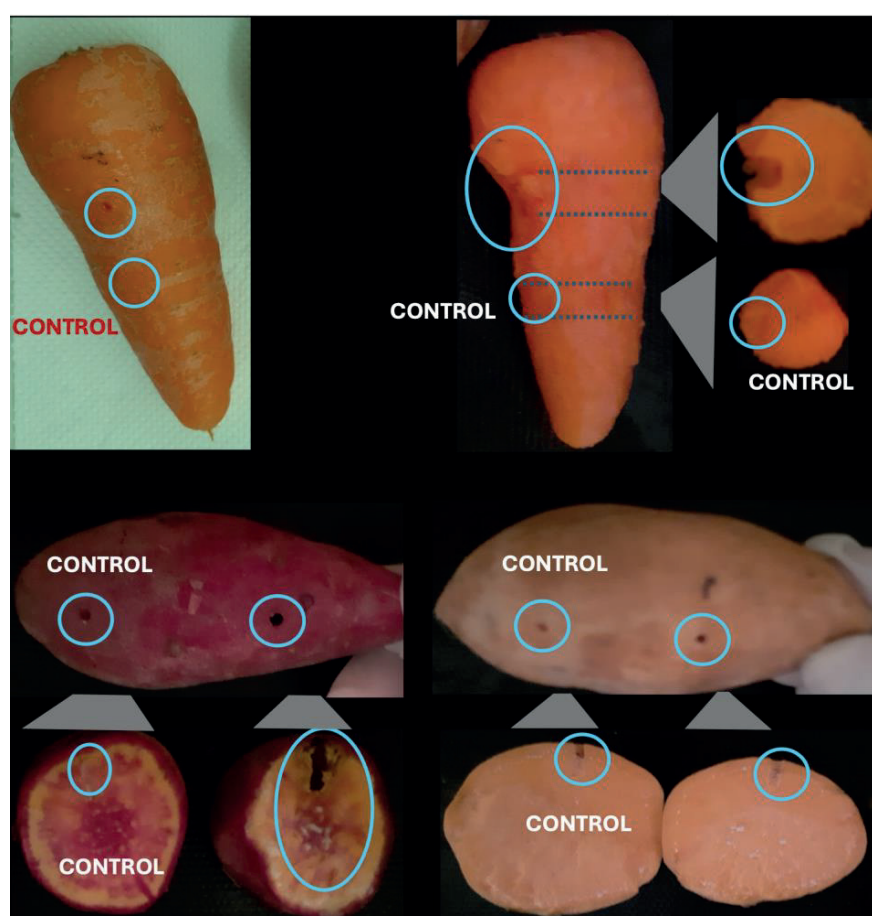


Figura 3. Evaluación de diversos hospederos agrícolas comerciales para la infección y desarrollo de síntomas de pudrición blanda.

Los resultados del análisis de secuencia del producto de amplificación del gen *16S rRNA* de ambas bacterias aisladas que crecieron en CVPM dieron el mismo reporte de secuencia y mostraron la más alta similitud de 100% en 1046 pares de bases obtenidas del producto de secuenciamiento comparadas con los 1433 pares de bases reportadas en la secuencia de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* strain Ka10 16S ribosomal RNA gene (GENBANK, secuencia parcial. Acceso: JF460763.1). Esta secuencia se diferencia solo en dos nucleótidos con la secuencia reportada para *Pectobacterium polaris* strain SRB2 (GENBANK, secuencia parcial. Acceso: PP843237.1) con la que se obtiene una similitud de 99,81%. Sin embargo, este análisis puede no ser suficientemente discriminativo entre especies o subespecies cercanamente relacionadas como *Pectobacterium carotovorum* y *Pectobacterium polaris* (Adeolu *et al.*, 2016; Naum *et al.*, 2008), por lo que para una identificación más precisa para la especie es recomendable complementar el análisis con otros marcadores genéticos de mayor resolución, como *gyrB*,

recA o *dnaX* (Portier *et al.*, 2019; Charkowski *et al.*, 2020; Boluk *et al.*, 2021).

El análisis de secuencias de las otras dos bacterias que no crecieron en CVPM presentaron una similitud de 99% a la secuencia de *Raoultella terrigena* strain T50-51 Acceso: MN330567.1, en el caso de uno de los aislados bacterianos mientras que el otro aislado bacteriano presentó una similitud de 100% con la secuencia de *Enterobacter* sp. BK27 Acceso: KR088361.1. La alta similitud en la secuenciación del gen 16S rRNA sugiere una identificación confiable a nivel de género, por otro lado, *Raoultella terrigena* ha sido descrita como una especie ambiental asociada a suelos y fuentes de agua, con una capacidad metabólica diversa que le permite sobrevivir en una variedad de nichos ecológicos (Singh *et al.*, 2018). Mientras que, *Enterobacter* sp. es un género ampliamente distribuido en suelos y plantas, con múltiples especies que pueden tener interacciones benéficas y otros efectos patogénicos en diversos cultivos (Mezzatesta *et al.*, 2012; Glick, 2020; Santoyo *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2022).

Es este estudio describimos el aislamiento bacteriano del género *Pectobacterium* en muestra de tubérculo de papa con síndrome de pudrición blanda proveniente de un centro de expendio para consumo humano, a pesar de demostrar la capacidad patogénica a otros productos agrícolas, resaltamos que el factor importante para la diseminación y desarrollo de la bacteria depende de las lesiones que puedan presentar los productos agrícolas así como las condiciones de humedad requerida para el desarrollo bacteriano.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

ONC = Oscar Nolasco-Cárdenas

MAG = María Andia-Gonzales

MVV = Mónica Velarde-Vilchez

YMB = Ysabel Murrugarra-Bringas

AGR = Ana Gutiérrez-Román

Conceptualization: ONC

Data curation: ONC

Formal Analysis: ONC, MAG

Funding acquisition: ONC, AGR

Investigation: ONC, MAG, MVV, YMB, AGR

Methodology: ONC, MAG, MVV, YMB, AGR

Project administration: ONC

Resources: ONC

Software: ONC

Supervision: ONC, AGR

Validation: ONC

Visualization: ONC, AGR

Writing – original draft: ONC

Writing – review & editing: ONC, MAG, MVV, YMB, AGR

AGRADECIMIENTOS

Investigación Básica y Aplicada para Comunidades del Conocimiento 2022, financiado con recursos del CANON (Resolución R. N° 716-2022-CU-UNFV, 24 agosto 2022).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & Gupta, R. S. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': Proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., and *Hafniaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66, 5575–5599.
- Boluk, G., Cetin, O., Akcay, H., & Saygili, H. (2021). Genomic and pathogenic diversity of *Pectobacterium* species isolated from potato tubers in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 160, 259–273.
- Czajkowski, R., Perombelon, M. C., van Veen, J. A., & van der Wolf, J. M. (2011). Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant pathology*, 60, 999–1013.
- Czajkowski, R., Pérombelon, M., Jafra, S., Lojkowska, E., Potrykus, M., van der Wolf, J., & Sledz, W. (2015). Detection, identification and differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* species causing potato blackleg and tuber soft rot: a review. *The Annals of applied biology*, 166, 18–38.
- Charkowski, A., Sharma, K., Parker, M. L., Secor, G. A., & Elphinstone, J. (2020). Bacterial diseases of potato. In Campos, H., & Ortiz, O. (Eds.). *The potato crop: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind*, The Potato Crop. pp. 351–388.
- De Boer, S. H., Li, X., & Ward, L. J. (2012). *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. *Phytopathology*, 102, 937–947.
- Dupuis, B., Alvarez, J., Nissinen, R. M., & van der Wolf, J. M. (2021). Management of diseases caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species. In *Plant diseases caused by Dickeya and Pectobacterium species* (pp. 347–376). Springer.
- Dolar, F.S., Demirci, E., Basım, H., Demirci, F., & Elibüyük, I.E. (2011). *Phytopathology*. Anadolu University. 199 p.

- Duarte, V., De Boer, S. H., Ward, L. D., & De Oliveira, A. M. R. (2004). Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of applied microbiology*, 96, 535-545.
- Gardan, L., Gouy, C., Christen, R., & Samson, R. (2003). Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53, 381-391.
- Glick, B. R. (2020). Beneficial plant-bacterial interactions. *Springer Nature*.
- Hélias, V., Andrivon, D., & Jouan, B. (2012). Aetiology and epidemiology of blackleg and other potato diseases caused by soft rot erwinias: A review. *Plant Pathology*, 61, 512-518.
- Kabir, M. N., Taheri, A., & Dumenyo, C. K. (2020). Development of PCR-based detection system for soft rot pectobacteriaceae pathogens using molecular signatures. *Microorganisms*, 8, 358.
- Khay, S., Cigna, J., Chong, T. M., Quêtu-Laurent, A., Chan, K. G., Hélias, V., & Faure, D. (2016). Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66, 5379-5383.
- Kumar, S., Kaushik, R., & Lal, R. (2022). Emerging plant-pathogenic *Enterobacter* species and their impact on agriculture: A review. *Frontiers in Microbiology*, 13, 987654.
- Luna-Rodríguez, M., Toledo-González, A., & Iglesias-Andreu, L. G. (2009). Identificación de Enterobacterias Causantes de Pudriciones Blandas en *Cucurbita pepo* L. en Veracruz, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 27, 64-68.
- Mezzatesta, M. L., Gona, F., & Stefani, S. (2012). *Enterobacter cloacae* complex: Clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7, 887-902.
- Nabhan, S., De Boer, S. H., Maiss, E., & Wydra, K. (2012). Taxonomic relatedness between *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* subsp. nov. *Journal of Applied Microbiology*, 113, 904-913.
- Naum, M., Brown, E. W., & Mason-Gamer, R. J. (2008). Is 16S rDNA a reliable phylogenetic marker to characterize relationships below the family level in the Enterobacteriaceae? *Journal of Molecular Evolution*, 66, 630-642.
- Navarrete-Maya, R., Aranda-Ocampo, S., Rodríguez-Mejía, M- L., Moya-Hernández, S. L., & González-Ochoa, M. G. (2014). Bacterias Fitopatógenas en Semillas: Su Detección y Regulación. *Revista mexicana de fitopatología*, 32, 75-88.
- Ozturk, M. (2022). Determination of the host range of *Pectobacterium polaris* causing bacterial soft rot disease. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27, 234-240.
- Parvin, S. M. R., Taghavi, S. M., & Osdaghi, E. (2023). Field surveys indicate taxonomically diverse *Pectobacterium* species inducing soft rot of vegetables and annual crops in Iran. *Plant Pathology*, 72, 1260-1271.
- Pérombelon, M. C., & Kelman, A. (1980). Ecology of the soft rot erwinias. *Annual review of phytopathology*, 18, 361-387.
- Pérombelon, M. C. M. (2002). Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant pathology*, 51, 1-12.
- Portier, P., Pédrón, J., Taghouti, G., & Bertrand, C. (2019). Misidentification risks in *Pectobacterium* taxonomy: Importance of multilocus sequence analysis. *Systematic and Applied Microbiology*, 42, 107-117.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. del C., & Glick, B. R. (2021). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 242, 126612.
- Singh, P., Pandey, P., & Yadav, R. N. S. (2018). *Raoultella terrigena* strain R1: A novel bacterium for plant growth promotion and biocontrol of fungal diseases in *Vigna radiata*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1177.

- Toth, I. K., Bell, K. S., Holeva, M. C., & Birch, P. R. (2003). Soft rot erwiniae: from genes to genomes. *Molecular plant pathology*, 4, 17-30.
- Toth, I. K., van der Wolf, J. M., Saddler, G. S., Lojkowska, E., Hélias, V., & Pirhonen, M. (2021). *Dickeya* and *Pectobacterium*: Environment to disease development. F. Van Gijsegem *et al.* (eds.), *Plant Diseases Caused by Dickeya and Pectobacterium Species*, pp. 43–76.
- Waldee, E. L. (1942). *Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria*. Iowa State University.
- Waleron, M., Waleron, K., & Lojkowska, E. (2013). Occurrence of *Pectobacterium wasabiae* in potato field samples. *European Journal of Plant Pathology*, 137, 149-158.

Received February 2, 2025.

Accepted March 10, 2025.