

Pseudomonas syringae – patogen voćaka u Srbiji

Veljko Gavrilović

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Teodora Drajzera 9, 11000 Beograd, Srbija
(vgavrilo@yahoo.com)

Primljen: 12. avgusta 2009.
Prihvaćen: 10. septembra 2009.

REZIME

U radu su saopšteni rezultati višegodišnjih proučavanja fitopatogene bakterije *Pseudomonas syringae*, parazita voćaka u Srbiji. Detaljno su opisani simptomi koje bakterija prouzrokuje na voćkama, proučene karakteristike izolovanih sojeva, pouzdane metode detekcije patogena, i opisane njegove epidemiološke karakteristike i prikazane raspoložive i ekonomski opravdane mere suzbijanja.

P. syringae je u Srbiji eksperimentalno potvrđen kao patogen kajsije, kruške, jabuke, šljive, višnje, trešnje, breskve i maline. Proučavanjem izolovanih sojeva zaključeno je da kao patogen voćaka dominira patogeni varijetet *syringae*, a izolati poreklom iz nekrotičnog tkiva pupoljka trešnje i šljive pripadaju patogenom varijetetu *morsprunorum*.

Primenom odgovarajućih testova patogenosti, diferencijalnih biohemijskih testova i PCR metode korišćenjem BOX i REP prajmera moguća je uspešna detekcija bakterije *P. syringae* poreklom sa voćaka u Srbiji. Primenom ove metode konstatovane su i razlike među sojevima poreklom sa različitih domaćina što je izuzetno značajno za dalje proučavanje *P. syringae* i razrade mera njegovog suzbijanja.

Ključne reči: *Pseudomonas syringae*; voćke; simptomatologija; karakteristike patogena; detekcija; patogenost; suzbijanje; PCR

UVOD

Rod *Pseudomonas* čine gramnegativne bakterije štapićastog oblika, polarnog rasporeda cilija, koje glukozu metabolišu isključivo u aerobnim uslovima (oksidativno) (Doudoroff i Palleroni, 1984). Široko su rasprostranjene u prirodi, naročito u zemljištu i vodi, gde imaju važnu ulogu pri razgradnji organskih materija, a nekoliko vrsta ovog roda ispoljava fitopatogene odlike i parazitira brojne vrste biljaka (Arsenijević, 1997).

Najpoznatija među njima je svakako *P. syringae*, široko rasprostranjen patogen, velikog kruga domaćina, koji obuhvata brojne zeljaste i drvenaste biljke (Bradburry, 1986).

Kao patogen voćaka je veoma rasprostranjen i smatra se ekonomski štetnom bakterijom u čitavom svetu. Prema patogenu su se osetljivim naročito pokazale trešnja, kruška, kajsija i višnja (Sobiczewski, 1984; Sobiczewski i Jones, 1992; Scortichini, 2005, Natalini i sar., 2006; Kenelly i sar., 2007). Bakterija je u Srbiji

eksperimentalno potvrđena kao patogen kruške, jabuke, kajsije, trešnje, višnje, šljive i maline, a njeni patogeni sojevi su izolovani i iz džanarike i breskve (Gavrilović, 2006; Obradović i sar., 2008; Gavrilović i sar., 2009). Prema dosadašnjim iskustvima, *P. syringae* u Srbiji najveće štete nanosi kajsiji, prouzrokujući sušenje grana i čitavih stabala; krušci, prouzrokujući palež cvasti i nekroze grana i debla; i nekim sortama višnje na kojima prouzrokuje nekrozu plodova u veoma visokom procentu (Arsenijević, 1980; Balaž i sar., 1988; Balaž i Arsenijević, 1989; Gavrilović, 2006; Gavrilović i sar., 2008a). S obzirom da patogen postaje sve rasprostranjeniji u Srbiji, prouzrokujući sve značajnije štete, cilj rada je bio da se opišu simptomi bolesti na raznim vrstama voćaka, domaćinima bakterije kod nas, opišu karakteristike izolata bakterije, metode za pouzdanu identifikaciju patogena, prikaže epidemiologija patogena u našim agroekološkim uslovima i primenjuje i ekonomski opravdane mere suzbijanja *P. syringae*.

SIMPTOMATOLOGIJA

Simptomi koje *P. syringae* prouzrokuje na voćaka zavise od vrste i sorte, kao i od meteoroloških uslova, najviše temperature, ali u nekim slučajevima i od vlažnosti.

Simptomi na krušci se ispoljavaju u dve forme: paleži cvasti i nekroze grana i debla. Palež cvasti se uočava rano s proleća, naročito posle kišovitog i prohladnog vremena pred cvetanje i u fazi cvetanja, a ispoljava se u vidu nekroze cvasti koje postaju crne boje. Daljim širenjem bakterija zahvata i kratke grančice na čijim se vrhovima formira cvast, ali se ne širi dalje u višegodišnje grane. Ovo je značajna simptomatološka razlika između *P. syringae* i *Erwinia amylovora* koja takođe prouzrokuje plamenjaču cvasti, ali se dalje širi kroz višegodišnje grane. Simptomi paleži cvasti kruške prouzrokovani ovom bakterijom zapaženi su na sortama Abate fetel, Santa Marija i Viljamova (Gavrilović, 2006). Iako se palež cvasti iz godine u godinu pojavljuje u sve većem intenzitetu, za sada se ne može smatrati ekonomski značajnom, za razliku od nekroze grana i debla koje takođe prouzrokuje ova bakterija.

Drugi tip simptoma koji ova bakterija prouzrokuje u zasadima kruške kod nas ispoljava se u vidu nekroze višegodišnjih grana i debla kruške (Slika 1) (Gavrilović i sar., 2003, 2008a). Patološke promene ovog tipa se na stablima kruške uočavaju tokom maja i juna, sa značajnijim porastom temperatura, najpre u vidu izduženih,

elipsoidnih nekroza. Vremenom se epidermis odvaja od obolelog tkiva u vidu kao tankog papir sloja, narandžaste boje, po čemu se bolest u anglosaksonskoj literaturi naziva „papirous canker of pear”. Pojava ovakvih simptoma na deblu kruške često rezultira izumiranjem čitavog stabla, pošto nekroza debla zahvata prstenasto, što je zabeleženo u zasadima sorata Košija, Santa Marija i Viljamova. Uklanjanjem površinskog sloja obolelog tkiva uočava se nekroza ksilema i kambijuma crne boje. Na obolelim granama i deblu kruške *P. syringae* ne formira bakterijski eksudat, što je takođe značajna razlika u odnosu na *E. amylovora* koja ga pri vlažnom vremenu obilato proizvodi, što se ispoljava u vidu kapi žute ili mrke (čilibarne) boje (Gavrilović i sar., 2003, 2009). Identični simptomi na cvastima i granama kruške zapaženi su i u drugim zemljama gde se kruška intenzivno gaji, s tim što nekroza listova i plodova kruške te plamenjača mladara za sada nije primećena u našoj zemlji, što je u nekim područjima gajenja kruške u svetu značajan problem (Mansvelt i Hattingh, 1986).

Nekroza višegodišnjih grana i debla identična onima na krušci zapažena je i na stablima jabuke ali u mnogo manjem intenzitetu, dok palež cvasti jabuke do sada nije primećen kod nas (Gavrilović, 2006; Gavrilović i sar., 2008a).



Slika 1. Nekroza višegodišnjih grana i debla kruške

Iznenadno sušenje grana je karakterističan simptom koji *P. syringae* prouzrokuje na stablima kajsije. Tipični simptomi se pojavljuju u proleće i ispoljavaju se u vidu iznenadnog uvenuća lišća koje gubi turgor usled nemogućnosti protoka asimilativa kroz sprovodne sudove obolelih grana. Ono ubrzo postaje mrke boje, ali ne otpada, već ostaje pričvršćeno za grane kajsije. Uklanjanjem površinskog sloja kore na obolelim granama uočava se nekroza sprovodnih sudova i kambijuma, koji su mrke boje, a obolelo tkivo je vlažne konzistencije. Eksperimentalno je potvrđeno da slične simptome mogu prouzrokovati i drugi faktori biotske prirode (Rozsnyay, 1977).

Slični simptomi sušenja se primećuju i na granama šljive. Masovna pojava sušenja stabala ove voćke zabeležena je u zapadnoj Srbiji u periodu 2003-2005. godine, posle ekstremno niskih temperatura tokom zimskih meseci. Prvi simptomi se takođe pojavljuju tokom proleća (maj), a osetljivom se naročito pokazala sorta Čačanska leptotica. Bolest je zapažena i na sorti Čačanska rodna, ali je slabijeg intenziteta. Izumiranje stabala šljive nastaje usled nekroze koja prstenasto zahvata čitavo deblo onemogućavajući protok hranljivih materija. Iz određenog broja obolelih uzoraka izolovani su patogeni sojevi *P. syringae* (Gavrilović i sar., 2008b), a u Nemačkoj je eksperimentalno potvrđena dominantna uloga ove bakterije pri sušenju stabala šljive sorte Čačanska rodna (Cacaks fruchtbar), ali i drugih sorata (Hinrich-Berger, 2004a, 2004b). Tokom ovih istraživanja iz obolelih stabala šljive su pored *P. syringae* izolovane i fitopatogene gljive rodova *Phomopsis*, *Leucostoma*, *Botryosphaeria*, te bi one mogle imati ulogu u pojavi sušenja stabala šljive. Tim pre što je eksperimentalno potvrđeno da gljiva *Diaporthe eres*, izolovana iz obolelih grana, može prouzrokovati nekrozu grana šljive (Živković, 2008). Ovoj pojavi bi svakako trebalo posvetiti veću pažnju zbog velikog značaja koji šljiva ima u Srbiji. Interesantno je spomenuti da podloge na kojima su kalemljene obolele voćke ostaju zdrave, što rezultira masovnom pojavom korenovih izbojaka, čime bismo eliminisali patogene korena kao prouzrokovaoce bolesti (Gavrilović, 2006).

Nekroza cvetnih i lisnih pupoljaka prouzrokovana ovom bakterijom je takođe zabeležena na stablima šljive i trešnje poslednjih godina kod nas. Nekrotično tkivo oko pupoljaka je ulegnuto, elipsoidnog oblika, a uklanjanjem površinskog sloja kore uočava se nekroza sprovodnih sudova. U graničnoj zoni obolelog i zdravog tkiva tkivo puca i formiraju se rak-rane. Nekrozom

više susednih pupoljaka dolazi do sušenja čitavih grana (Gavrilović i Milijašević, 2004).

P. syringae prouzrokuje i nekrozu plodova nekih sorata višnje kod nas. Osetljivim su se naročito pokazale sorte Hajmanove kolekcije (Hajmanov rubin, Hajmanova konzervna) i Keleris. Na plodovima se tokom kišovito proleća najpre uočavaju tamno zelene, vlažne pegge, koje vremenom postaju mrke boje, a nekrozom biva zahvaćen ceo plod ili veći deo njegove površine (Slika 2). Ukoliko su inficirani, oni su potpuno neupotrebljivi, a bolešću pri povoljnim uslovima može biti zahvaćeno 60-80% plodova. Simptomi bolesti nisu zapaženi na sorti Oblačinska, koja po površinama dominira u Srbiji. Pri veštačkim inokulacijama ona se takođe pokazala otpornom, dok su se osetljivim pokazale Erdi botero, Mont mamut i Keleris 14 (Balaž i sar., 1988; Balaž i Arsenijević, 1989; Gavrilović, 2006).

Plamenjača mladara, listova i cvasti maline, prouzrokovana bakterijom *P. syringae*, se poslednjih godina sve češće uočava u centrima gajenja ove voćke, područjima Arilja i Ivanjice u jugozapadnoj Srbiji. Početni simpto-



Slika 2. Nekroza plodova višnje



Slika 3. Simptomi plamenjače na malini

mi se pojavljuju posle cvetanja. Obolele cvasti i mladari postaju mrkocrne boje (Slika 3) i na njima se pojavljuje bakterijski eksudat u vidu kapi bleđožute boje, što nije uobičajeni simptomatološki znak za bakteriju *P. syringae*. U godinama sa vlažnim i prohladnim prolećem mogu nastati značajne štete, naročito na zemljištima niske kiselosti, sa pH vrednostima 3-4 (Gavrilović i sar., 2004; Obradović i sar., 2008).

Bakterija *P. syringae* je izolovana i iz nekrotičnih pupoljaka breskve tokom 2008. i 2009. godine u regionu Smedereva, u kome breskva ima veliki ekonomski značaj i zastupljena je na velikim površinama. Simptomi se ispoljavaju u vidu iznenadnog sušenja lišća i cvetova, a tkivo grane oko baze pupoljka nekrotira u vidu elipsoidnih ulegnutih pega. Uklanjanjem kore uočava se nekroza slična onoj opisanoj na granama šljive. Procenat obolelih pupoljaka može biti izrazito visok, što rezultira velikim štetama i gubitkom prinosa (Gavrilović i sar., 2009). I pored izolovanja patogenih sojeva *P. syringae*, koji ispoljavaju sve odlike ove bakterije, ovoj pojavi se mora posvetiti veća pažnja pošto i neke fitopatogene gljive mogu prouzrokovati slične simptome.

Slične simptome na jabučastim i koštičavim voćkama, ispoljene u vidu sušenja grana na kojima se obrazuju rane, odumiranja čitavih stabala voćaka, nekroze pupoljaka, mogu prouzrokovati i fitopatogene gljive rodova *Phomopsis*, *Botryosphaeria*, *Leucostoma*, *Phytophthora*, *Eutypa* i dr. (Carter i Moller, 1977; Rozsnyay, 1977; Biggs, 1995; Brown i Mirchetich, 1995; Jones i Sutton, 1996; Grove i Biggs, 2006). Nekrozu plodova višnje često prouzrokuje gljiva iz roda *Glomerela* (Arsenijević, 1984), *Phoma* (Gavrilović i Arsenijević, 2006), a sušenje stabala kruške i fitoplazme (Starović i sar., 2006).

KARAKTERISTIKE PATOGENA

Na osnovu izloženog može se zaključiti da simptomi koje *P. syringae* prouzrokuje na inficiranim voćkama nisu specifični i slične mogu prouzrokovati brojne fitopatogene gljive i bakterije. Stoga je radi uspešnog proučavanja patogena i njegove brze i pouzdane detekcije neophodno najpre izvršiti izolaciju patogena.

P. syringae se uspešno može izolovati na mesopeptonskoj podlozi obogaćenoj saharozom (NAS) i kingovoj podlozi B. Karakteristike patogena na ovim podlogama imaju i važan dijagnostički karakter. Stvaranje levana na prvoj, odnosno fluorescentnog pigmenta na drugoj, su izuzetno značajni za uspešnu detekciju bakterije i praktično predstavljaju prvi, veoma važan korak pri di-

jagnostičkom postupku *P. syringae* (Arsenijević, 1997; Gavrilović, 2006). Izgled kolonija na ovim podlogama je presudno značajan za preduzimanje daljih koraka pri proučavanju ove bakterije. Izolovanje bakterije se najlakše ostvaruje odmah po pojavi simptoma, ili tokom ranog proleća, jesenjih i zimskih meseci. Izolacija patogena tokom letnjih meseci je usled visokih temperatura u znatnoj meri otežana, a iz više godina starih rana praktično nemoguća (Klement, 1990; Arsenijević, 1997; Gavrilović, 2006).

Patogene odlike izolata *P. syringae* poreklom iz voćaka u Srbiji

U periodu 1999-2009. godine proučen je veliki broj izolata *P. syringae* poreklom iz koštičavih, jabučastih i jagodastih voćaka u Srbiji, iz raznih lokaliteta gde je zastupljena proizvodnja voćaka. Prva patogena odlika koja je proučena je stvaranje hipersenzibilne reakcije (HR) duvana, i svi proučeni sojevi su pozitivno reagovali pri ovom testu. Levani pozitivni, fluorescentni sojevi koji ne stvaraju HR duvana a koji se takođe često izoluju, smatrani su saprofitnim bakterijama i nisu bili uključeni u dalja istraživanja. U ove svrhe se pored lišća duvana sa uspehom mogu koristiti i listovi muškatle (Burkovitz i Rudolph 1994; Arsenijević, 1997; Gavrilović, 2006).

Provera patogenosti izolata *P. syringae* inokulacijom grana, cvasti i pupoljaka voćaka iz kojih su izolovani zahteva dug vremenski period (više meseci) i specifične uslove temperature da bi došlo do pojave simptoma (Klement, 1990; Arsenijević, 1997). Stoga se u cilju provere patogenosti primenjuje inokulacija drugih organa raznih biljaka kako bi se uvid u patogene odlike izolata bakterije dobio u što kraćem roku. Uspešna provera patogenosti na biljci domaćinu izvršena je veštačkom inokulacijom lišća i mladara maline i plodova višnje (Gavrilović i sar., 2004; Gavrilović, 2006).

Izolati poreklom sa kruške, jabuke, kajsije, grana šljive, plodova višnje i breskve, prouzrokuju nekroze inokulisanih plodova kruške, trešnje, mahuna boranije, listova jorgovana. Ovi testovi su veoma pogodni za proveru patogenosti pošto se karakteristični simptomi, ispoljeni u vidu nekroza, pojavljuju 1-3 dana od inokulacije. U ove svrhe se sa uspehom mogu koristiti i plodovi limuna, ali se izolati poreklom sa različitih domaćina i lokaliteta pri ovom testu ponašaju neujednačeno: neki sojevi reaguju pozitivno a neki negativno. Sojevi se slično ponašaju i pri proveru patogenosti na nesazrelim plodovima paradajza i paprike. Prilikom izbora biljnih organa za veštačke inokulacije treba voditi računa i

o izboru sorte, pošto i ona ima značajnu ulogu za krajnji rezultat. Od sorata kruške u ove svrhe se preporučuju Viljamova, Fetel i Santa Marija, kao i većina dostupnih sorata trešnje (Sju, Van, Burlat, Samberst i dr.). Rezultati naših istraživanja su potkrepljeni i podacima iz literature (Klement 1990; Burkowitz i Rudolph, 1994; Arsenijević, 1997; Scortichini i sar., 2003; Gavrilović, 2006). *P. syringae* se ponekad može izolovati i tokom jesenjih, zimskih i ranoprolećnih meseci, kada plodovi i listovi raznih biljaka nisu dostupni. Tada se za proveru patogenosti mogu koristiti kotiledoni breskve i mladi sejanci kruške, na kojima se nekroze pojavljuju 2-3 dana od inokulacije. Test je pouzdan, a proizvodnja sejanaca kruške i kotiledona breskve je praktično omogućena tokom cele godine (Endert i Ritchie, 1984; Gavrilović, 2006). Pri testovima patogenosti su zabeležene i razlike u pogledu virulentnosti među proučavanim sojevima koje se ispoljavaju u veličini nekroza i vremenu njenog pojavljivanja na biljnim organima od momenta inokulacije. Izolati poreklom iz maline prouzrokuju nekrozu plodova kruške, dok ostali testovi patogenosti nisu obavljani i njihove patogene odlike su predmet daljih istraživanja. Navedena patogena svojstva karakteristična su za *P.s. pv. syringae*.

Nasuprot njima, sojevi izolovani iz nekrotičnog tkiva oko pupoljaka trešnje i šljive prouzrokuju HR duvana i muškatle i nekroze na plodovima trešnje, dok pri ostalim testovima patogenosti ispoljavaju negativan rezultat, što je karakteristika *P.s. pv. morsprunorum*.

Epifitotična pojava nekroze plodova nekih sorata višnje zapažena je u regionu Bele Crkve tokom 2007. i 2008. godine. Iz obolelih plodova su izolovani fluorescentni sojevi koji stvaraju levan i veštačkom inokulacijom plodova višnje iste sorte su uspešno reprodukovani simptomi bolesti. Osim što prouzrokuju HR duvana, ostali testovi patogenosti biće predmet daljih istraživanja (Gavrilović, neobjavljeno).

Na osnovu navedenog može se primetiti da patogenost izolata *P. syringae* ima i važan dijagnostički karakter za dva najrasprostranjenija patogena varijeteta ove bakterije (*pv. syringae* i *pv. morsprunorum*).

Bakteriološke odlike izolata *P. syringae*

Svi izolovani sojevi su gram-negativni, fluoresciraju na kingovoj podlozi B i glukozu metabolišu isključivo u aerobnim uslovima (oksidativno). Takođe, nezavisno od domaćina sa koga su izolovani, stvaraju levan, ali ne ispoljavaju aktivnost oksidaze, arginin-dehidrolaze i pektinaze. Navedeno je da prouzrokuju HR du-

vana, tako da na osnovu LOPAT testova oni pripadaju vrsti *P. syringae* (Lelliott i sar., 1966; Braun-Kiewnick i Sands, 2001). Iako su odavno ustanovljeni, oni i danas predstavljaju važan korak u identifikaciji *P. syringae*, pri čemu se poseban značaj pridaje stvaranju levana, HR duvana i aktivnosti oksidaze.

P. syringae ispoljava izrazitu aktivnost u pogledu biohemijskih odlika (razgradnje azotnih jedinjenja, makromolekula, ugljenih hidrata, organskih kiselina) (Misaghi i Grogan, 1969; Young i Triggs, 1994; Gavrilović, 2006). Ipak, od svih biohemijskih odlika, pri identifikaciji ove bakterije najveći značaj pripada grupi takozvanih diferencijalnih testova za razlikovanje patogenih varijetata *syringae* i *morsprunorum*. To su sledeći testovi: hidroliza želatina i eskulina, stvaranje tirozinaze i metabolizam tartarata (GATT) (Lattore i Jones, 1979; Mansvelt i Hattingh, 1986; Spots i sar., 1990). Izolati *P. syringae* iz Srbije, poreklom iz kruške, kajsije, jabuke, plodova višnje (iz nekih područja), grana šljive, breskve i maline, hidrolizuju želatin i eskulin, a negativno reaguju pri testovima stvaranja tirozinaze i metabolizma tartarata, te su svrstani u patogeni varijetet *syringae*. Nasuprot njima, sojevi poreklom iz nekrozom zahvaćenih pupoljaka trešnje i šljive ne hidrolizuju želatin i eskulin, ali stvaraju tirozinazu i metabolišu tartarate pa su svrstani u patogeni varijetet *morsprunorum* (Gavrilović i sar., 2004; Gavrilović, 2006).

Tokom proučavanja populacije *P. syringae* utvrđeno je i postojanje intermedijarnih sojeva koji prema ovim testovima (GATT) pokazuju odlike oba varijeteta. Postojanje ovakvih sojeva navode i drugi autori (Sobiczewski, 1984; Ross i Hattingh, 1986; Balaž i sar., 1988; Balaž i Arsenijević, 1989; Gavrilović, 2006).

Postoje i drugi diferencijalni testovi za varijetet *syringae* i *morsprunorum*, ali su znatno manje značajni od GATT testova. To su korišćenje leucina, DL laktata, vitalnost na podlozi obogaćenoj saharozom, karakteristike razvoja u tačnoj podlozi sa saharozom, i razvoj u purpurnoj podlozi sa laktozom. Problem u primeni nekih od ovih testova je dug period (10-15 dana) potreban za dobijanje validnih rezultata.

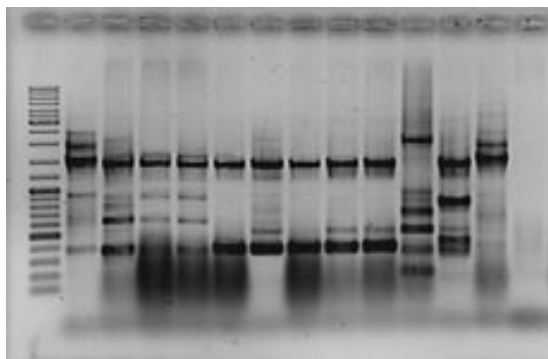
Važno svojstvo sojeva *P. syringae* pripadnika *pv. syringae* je i stvaranje siringomicina, složenog makromolekula lipopeptidne prirode, koji ima važnu ulogu u patogenezi bolesti prouzrokovanih ovom bakterijom (Gross i de Vay, 1977; Scortichini i sar., 2003). Izolati poreklom iz različitih vrsta voćaka i lokaliteta u Srbiji, koji su na osnovu patogenih i diferencijalnih biohemijskih (GATT) testova svrstani u *pv. syringae* stvaraju siringomicin. Nasuprot njima, sojevi okarakterisani kao pri-

padnici pv. *morsprunorum*, negativno reaguju pri ovom testu (Gavrilović, 2006). Stvaranje siringomicina se ispoljava inhibicijom test-organizma, gljive *Geotrichum candidum* u uslovima *in vitro*, a nedavno je otkriven i gen za produkciju ovog molekula, i njegovo prisustvo u ćelijama bakterija se može utvrditi korišćenjem odgovarajućeg prajmera primenom PCR metoda (Sorensen i sar., 1998). Prema podacima iz literature, pripadnici pv. *morsprunorum* ne stvaraju siringomicin nego koronatin (Liang i sar., 1994), ali takva istraživanja izolata iz Srbije nisu obavljena.

PCR KARAKTERIZACIJA *P. syringae*

Iako su patogene i biohemijske odlike izolata *P. syringae* važne za identifikaciju patogena, na osnovu njih se ne mogu utvrditi potencijalne razlike između sojeva, što je izuzetno značajno za proučavanje epidemiologije bakterije i razrade mera njenog suzbijanja. Pouzdana detekcija i utvrđivanje postojanja eventualnih razlika među sojevima poreklom sa različitih domaćina i lokaliteta omogućena je primenom PCR metoda korišćenjem nekoliko vrsta prajmera.

Jedna od metoda koja se koristi za utvrđivanje razlika između bakterijskih sojeva jeste i reakcija lančane polimeraze repetitivnih sekvenci, kojom se umnožavaju visokokonzervativne kratke repetitivne DNK sekvence koje su rasute po celom genomu bakterije (Versalovic i sar., 1991). Ove ponovljive sekvence su označene kao repetitivne ekstragenetske palindromske sekvence (REP-PCR) (Stern i sar., 1984), enterobakterijske repetitivne intergenske konsenzus sekvence (ERIC-PCR) (Hulton i sar., 1990) i BOX elementi (BOX-PCR) (Slika 4) (Martin i sar., 1992). Za umnožavanje ovih sekvenci



Slika 4. Agarozna gel-elektroforeza sojeva bakterije *P. syringae* dobijenih pomoću reakcije lančane polimeraze repetitivnih sekvenci (BOX-PCR)

dizajnirani su istoimeni prajmeri. Primenom ovih prajmera dolazi do umnožavanja bakterijske DNK i dobija ju se posebni genetski profili koji se sastoje od fragmenata različite dužine na osnovu kojih je moguće razlikovati bakterijske izolate (Versalovic i sar., 1991). Njihovim razdvajanjem na agaroznom gelu dobija se visokospecifičan genetski profil (Versalovic i sar., 1994). REP-PCR omogućava poređenje genetskog profila nepoznatog bakterijskog izolata sa sekvencama genoma poznate bakterije (Louws i sar., 1994). Taksonomske studije bazirane na ovoj metodi su ograničene na blisko srodne bakterije, jer bakterije koje su filogenetski udaljenije pokazuju veće razlike u genetskim profilima tako da se ne mogu izvući valjani zaključci o zajedničkom evolutivnom poreklu (Weingart i Volksh, 1997). Prilikom primene ove metode kod poređenja genoma različitih sojeva bakterije iste vrste, moguće je utvrditi različite varijetete te iste bakterije.

Ova tehnika je našla široku primenu u svetu u identifikaciji i karakterizaciji, kako bakterije *P. syringae* tako i drugih fitopatogenih bakterija (Louws i sar., 1994, 1998), a uspešno je primenjena u identifikaciji i u utvrđivanju genetičke raznovrsnosti patogenih varijeteta bakterije *P. syringae* poreklom sa različitih vrsta voćaka u Srbiji (Ivanović i sar., 2009). Zbog brze i jednostavne primene metoda se može koristiti i za rutinske dijagnostičke analize.

DIVERZITET MEĐU SOJEVIMA *P. syringae*

Molekularna analiza bakterije *P. syringae* pokazuje da populacija ove bakterije nije homogena, već naprotiv, da su utvrđene značajne razlike među sojevima u zavisnosti od biljke domaćina i lokaliteta gde su izolovani (Scortichini i sar., 2003).

Little i sar. (1998) su primenom ERIC-PCR metode utvrdili da se sojevi *P.s. pv. syringae* poreklom sa koštičavih voćaka u Kaliforniji, značajno razlikuju od sojeva ove bakterije izolovanih sa drugih domaćina i da u okviru populacije predstavljaju posebnu grupu (klastar). Raznolikost sojeva *P.s. pv. syringae* je utvrđena i pri testovima patogenosti i virulentnosti, a na osnovu molekularne analize utvrđene su i razlike među sojevima poreklom sa jabučastih, koštičavih voćaka i citrusa (Scortichini i sar., 2003).

Natalini i saradnici (2006) ističu da su primenom REP-PCR i BOX A1 prajmera utvrđene tri različite grupe sojeva *P. syringae* pv. *syringae* poreklom sa kruš-

ke iz Grčke, Italije, Španije i Engleske. To ukazuje da i lokalitet, pored biljke domaćina, ima veliki udeo u diverzitetu među sojevima *P. syringae*. Ovi autori ističu i postojanje značajne genetske raznolikosti, čak i između sojeva poreklom sa istog domaćina. To svakako nameće potrebu za pronalaženjem novih specifičnih prajmera koji bi se koristili za detekciju patogena za potrebe fitosanitarne službe (Scortichini, 2005). Raznolikost među sojevima *P. syringae* pv. *syringae* se ogleda i u posedovanju gena za produkciju siringomicina. Kao što je već napomenuto, ovo jedinjenje je važan faktor virulentnosti i utvrđeno je da su sojevi koji poseduju ovaj gen znatno virulentniji. Siringomicin ispoljava i snažno fungicidno dejstvo, te se neki sojevi *P. syringae* koji ga stvaraju koriste i u biološkoj borbi (Sorensen i sar., 1998; Scortichini i Liguori, 2003).

O postojanju značajnih razlika među sojevima *P. syringae* poreklom sa voćaka svedoči i podatak da su sojevi ove bakterije, izolovani iz divlje trešnje u Francuskoj, svrstani u poseban patogeni varijetet *P.s.* pv. *avii* (Ménard i sar., 2003).

INTERAKCIJA *P. syringae* SA BIOTSKIM I ABIOTSKIM FAKTORIMA

Štete koje na voćkama prouzrokuje *P. syringae* često se povećavaju usled združenih infekcija sa drugim mikroorganizmima, pre svega fitopatogenim gljivama, ali i fitoparazitnim nematodama.

Ekperimentalno je potvrđeno da istovremene infekcije *P. syringae* i fitopatogene gljive *Leucostoma cincta*, znatno povećavaju štete na obolelim stablima kajsije, koje često vrlo brzu odumiru. Tim pre što je i navedena gljiva ekonomski veoma značajan patogen koštičavih voćaka (Rozsnyay i Klement, 1997). Povezanost ova dva patogena je zapažena i u SAD u mladim zasadima trešnje i breskve (Spots i sar., 1990; Biggs, 1995).

Dokazano je takođe da je štetnost koju *P. syringae* nanosi zasadima breskve u korelaciji sa prisustvom i brojnošću nematoda roda *Meloidogina* (Ritchie i Clayton, 1982). Prisustvu *P. syringae*, ali i gljiva rodova *Phomopsis*, *Leucostoma*, *Botryosphaeria* u obolelim stablima šljive u Srbiji, bi svakako trebalo posvetiti veću pažnju u cilju utvrđivanja potencijalne korelacije ovih patogena.

Od faktora abiotske prirode ističemo povećanu osetljivost voćaka prema *P. syringae* posle ekstremno niskih temperatura tokom zimskih meseci i niskih temperatura tokom perioda cvetanja voćaka. Tada nastaju najveće

štete, ispoljene u vidu nekroze debela i grana i izumiranja voćaka, a niže temperature tokom cvetanja omogućavaju brže ostvarenje infekcije i prouzrokuju palež cvasti (Spots i Cervantes, 1994; Kenelly i sar., 2007).

EPIDEMIOLOGIJA *P. syringae* I MOGUĆNOSTI SUZBIJANJA

Bakterija se tokom perioda mirovanja održava u rakanama na obolelim granama i pupoljcima voćaka na kojima se često i ne uočavaju simptomi bolesti, odnosno, oni su po svojoj morfologiji identični zdravim. Bakterija se s proleća razvija na površini listova i cvetova voćaka (epifitna populacija), pri čemu odsustvuje pojava simptoma bolesti. Epifitna populacija bakterije je veoma važan činilac u nastanku infekcije, i pri vlažnom i prohladnom vremenu tokom cvetanja se ostvaruje zaraza cvetova. Infekciji takođe pogoduju i temperature ispod 0°C, pošto *P. syringae* tada ispoljava izrazitu aktivnost i zaražava lišće i cvasti (Kennelly i sar., 2007).

Bakterija se u epifitnoj fazi održava na površini biljnih organa tokom celog vegetacionog perioda, ali je njena brojnost najveća tokom proleća i jeseni. U jesen, infekcija voćaka se ostvaruje preko sveže ozleđenog tkiva nastalog prilikom opadanja lišća (Latorre i Jones, 1979; Ross i Hatingh, 1986).

Epifitnu populaciju čine oba patogena varijeteta: *P.s.* pv. *syringae* i *P.s.* pv. *morsprunorum*, a njihova zastupljenost zavisi od vremenskih uslova i biljaka domaćina. Tako, pv. *morsprunorum* dominira na lišću trešnje u područjima sa kišovitim letom i jeseni, a pv. *syringae* u područjima sa kišnim jesenima a sušnim prolećem i letom (Ross i Hatingh, 1986). Epifitni izolati *P. syringae* u Srbiji su izolovani sa lišća kruške i trešnje i na osnovu svojih patogenih i biohemijskih odlika svrstani u pv. *syringae*. Prilikom proučavanja epifitne populacije izolovani su i saprofitni sojevi fluorescentnih bakterija vrste *P. fluorescens*, koja je takođe zastupljena u sastavu ove populacije bakterija, a neki njeni sojevi ispoljavaju snažan antagonistički efekat prema fitopatogenim gljivama i bakterijama (Gavrilović, 2006).

Infekcija višegodišnjih grana se može ostvariti i preko rana nastalih prilikom rezidbe. Pokazalo se da najveće štete nastaju ukoliko se rezidba obavlja tokom oktobra i decembra, a da su zanemarljive kada se rezidba obavlja tokom marta i aprila. Najveće štete na stablima voćaka koje često rezultiraju izumiranjem čitavih stabala su povezane sa ekstremno niskim temperaturama to-

kom zimskih meseci (-15 do -20°C) (Spots i Cervantes, 1994; Hinrich-Berger, 2004a; Kenelly i sar., 2007).

Suzbijanje *P. syringae* podrazmeva integralni pristup koji uključuje primenu agrotehničkih, mehaničkih i hemijskih mera zaštite. Agrotehničke mere podrazumevaju korišćenje zdravstveno ispravnog sadnog materijala i rezidbu voćaka što kasnije tokom perioda mirovanja (mart-april) (Kenelly i sar., 2007). Za zaštitu koštice čavih voćaka za preporuku je i bojenje debla belom bojom a smeši je potrebno dodati i neki od preparata na bazi bakra. Ova mera se koristi za tretiranje debla šljive u Nemačkoj i daje zadovoljavajuće rezultate u zaštiti od *P. syringae* (Hinrich-Berger, 2004b).

Hemijska zaštita uključuje primenu preparata na bazi bakra u jesen, sa ciljem da se zaštite ozlede tkiva nastale tokom opadanja lišća. Primena ovih preparata se preporučuje i u rano proleće, ali tada treba voditi računa o dozi i vremenu primene, pošto oni mogu delovati fitotoksično, naročito na koštice čavih voćkama (Kenelly i sar., 2007). Ova tretiranja bi značajno mogla smanjiti brojnost epifitne populacije bakterija, koja, kao što je napomenuto, ima važnu ulogu u epidemiologiji bakterije *P. syringae*. Međutim, česta i nekontrolisana primena bakarnih preparata može dovesti do pojave rezistentnih sojeva bakterije prema ovim jedinjenjima, što je eksperimentalno potvrđeno (Hinrich-Berger, 2004b; Kenelly i sar., 2007). Korišćenje nematocida je takođe mera koja se preporučuje za hemijsko suzbijanje *P. syringae*. Ova mera je korisna pošto je potvrđena interakcija između prisustva nematoda u zemljištu i aktivnosti *P. syringae*, ali često nije ekonomski opravdana. Stoga se u ove svrhe preporučuje primena vodene pare. Primena acibenzolar-metila (BION), jedinjenja koje podstiče otpornost biljaka prema patogenim organizmima, dala je zadovoljavajuće rezultate u zaštiti leske od bakterioznog izumiranja, prouzrokovanog *P.s. pv. syringae*, ali se pretpostavlja da bi zadovoljavajući rezultati mogli biti postignuti i u zaštiti drugih vrsta voćaka (Scortichini i Ligouri, 2003).

Poslednjih godina se naročita pažnja posvećuje gaženju otpornih sorata i podloga voćaka prema *P. syringae*. Tako su istraživanja u Španiji pokazala da podloga za krušku Winter nellis ispoljava nižu osetljivost prema *P.s. pv. syringae* u odnosu na ostale široko korišćene, ali i da su sve komercijalne sorte obe voćke osetljive prema bakteriji (Moragrega i sar., 2003). Takođe, postignuti su određeni rezultati u selekciji podloga breskve otpornih prema *P. syringae* i prstenastim nematodama, faktorima koji imaju veoma važnu ulogu u pojavi iznenadnog sušenja stabala breskve (Almehdhi i sar., 2009).

LITERATURA

- Almehdhi, A., Grant, J., McKenry, M. and De Young, T.:** Evaluations for tolerance to bacterial canker among conventional and size controlling rootstocks. Book of abstracts 7th International Peach Symposium, Leida, Spain, 2009, p. 89.
- Arsenijević, M.:** Further investigations on *Pseudomonas syringae* van Hall as pathogen of apricot in Yugoslavia. Zaštita bilja, 152: 121-127, 1980.
- Arsenijević, M.:** *Glomerela cingulata* (Ston) Spauld et Schrenk (konidijski stadijum *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz./Sacc.) kao parazit plodova višnje. Jugoslovensko voćarstvo, 69-70: 45-49, 1984.
- Arsenijević, M.:** Bakterioze biljaka. S-print, Novi Sad, 1997.
- Balaž, J., Arsenijević, M. i Vojvodić, Đ.:** Etiološka proučavanja bakteriozne nekroze plodova i lišća višnje i mogućnost suzbijanja parazita. Zaštita bilja, 185: 311-321, 1988.
- Balaž, J. and Arsenijević, M.:** Further investigations on *Pseudomonas syringae* pathovar as pathogen of sour cherry fruits in Yugoslavia. Proceedings 7th International Conference of Plant Pathogenic Bacteriology, Budapest, Hungary, 1989, pp. 515-520.
- Biggs, A.R.:** *Leucostoma* canker. In: Compendium of Stone Fruit Diseases (Ogawa J.M., Zehr E.I., Bird G.W., Ritchie D.F., Uriu K. and Uyemoto J.K., eds). APS, 1995, pp. 28-30.
- Bradbury, J.F.:** Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International Mycological Institute, 1986.
- Braun-Kiewnick, A. and Sands, D.C.:** *Pseudomonas*. In: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Schaad N., Jones J.B. and Chun W., eds). APS Press, American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 2001, pp. 84-117.
- Brown, D.G. and Mirchetich, S.M.:** *Phytophthora* root rot. In: Compendium of Stone Fruit Diseases (Ogawa J.M., Zehr E.I., Bird G.W., Ritchie D.F., Uriu K. and Uyemoto J.K., eds). APS, 1995, pp. 30-32.
- Burkowicz, A. and Rudolph, K.:** Evaluation of pathogenicity and of cultural and biochemical tests for identification of *Pseudomonas syringae* pathovars *syringae*, *morsprunorum* and *persicae* from fruit trees. Journal of Phytopathology, 141: 59-76, 1994.
- Carter, M.V. and Moller, W.J.:** *Eutypa* canker and dieback of apricots. EPPO Bulletin, 7(1): 85-94, 1977.
- Doudoroff, M. and Palleroni, N.J.:** *Pseudomonas*. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan R.E. and Gibbons N.E., eds). Williams and Wilkins CO, Baltimor, 1984, pp. 217-243.

- Endert, E. and Ritchie, D.F.:** Overwintering and survival of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and symptom development in peach trees. *Plant Disease*, 68: 468-470, 1984.
- Gavrilović, V.:** Patogene i biohemijsko fiziološke karakteristike bakterija roda *Pseudomonas* parazita voćaka. *Zaštita bilja*, 255-258: 5-55, 2006.
- Gavrilović, V., Milijašević, S. i Arsenijević, M.:** Bakteriozna nekroza debela i izumiranje mladih stabala kruške. *Zbornik rezimea VI savetovanja o zaštiti bilja*, Zlatibor, 2003, str. 83.
- Gavrilović, V., Milijašević, S. i Arsenijević, M.:** *Pseudomonas syringae* parazit maline u Srbiji. *Jugoslovensko voćarstvo*, 38: 183-190, 2004.
- Gavrilović, V. i Milijašević, S.:** Etiološka proučavanja nekroze pupoljaka trešnje i šljive. *Zbornik rezimea V kongresa o zaštiti bilja*, Zlatibor, 2004, str. 144-145.
- Gavrilović, V. and Arsenijević, M.:** Tissue necrosis of sour cherry, an unusual disease occurrence caused by *Phoma* sp. in Serbia. *Plant Disease*, 90: 680, 2006.
- Gavrilović, V., Ivanović, Ž. i Živković, S.:** *Pseudomonas syringae* – patogen kruške u Srbiji. *Knjiga abstrakata XIII kongresa voćara i vinogradara Srbije sa međunarodnim učesćem*, Novi Sad, 2008a, str. 59.
- Gavrilović, V., Živković, S., Trkulja, N. i Ivanović, M.:** Karakteristike sojeva bakterije roda *Pseudomonas* izolovanih iz obolelih grana šljive. *Pesticidi i fitomedicina*, 23(1): 25-31, 2008b.
- Gavrilović, V., Ivanović, Ž., Živković, S. and Milijašević, S.:** Characteristics of *Pseudomonas syringae* strains isolated from necrotic peach buds in Serbia. *Book of abstracts 7th International Peach Symposium*, Leiida, Spain, 2009, p. 92.
- Gross, D.C. and de Vay, J.E.:** Production and purification of syringomycin, a phytotoxin produced by *Pseudomonas syringae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 11: 13-28, 1977.
- Grove, G. and Biggs, A.R.:** Production and dispersal of conidia of *Leucostoma cinctum* in peach and cherry orchards under irrigation in eastern Washington. *Plant Disease*, 90: 587-591, 2006.
- Hinrichs-Berger, J.:** Epidemiology of *Pseudomonas syringae* pathogens associated with decline of plum trees in southwest of Germany. *Journal of Phytopathology*, 152: 153-160, 2004a.
- Hinrichs-Berger, J.:** Painting deciduous fruit trees with white paint for control of frost injuries and trunk infections by *Pseudomonas syringae*. *Gesunde Pflanzen*, 56: 48-54, 2004b.
- Hulton, C.S.J., Higgins, C.F. and Sharp, P.M.:** ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria. *Molecular Microbiology*, 5: 825-834, 1990.
- Ivanović, Ž., Živković, S., Starović, M., Jošić, D., Stančević, S. and Gavrilović, V.:** Diversity among *Pseudomonas syringae* strains originating from fruit trees in Serbia. *Archives of Biological Science*, 2009 (in press).
- Jones, A.L. and Sutton, T.B.:** Diseases of tree fruits in the east. Michigan State University Extension, NCR 45, 1996.
- Kenelly, M.K., Cazorla, F.M., deVicente, A., Ramos, C. and Sundin, G.W.:** *Pseudomonas syringae* disease of fruit trees. Progress toward understanding and control. *Plant Disease*, 91: 4-17, 2007.
- Klement, Z.:** Inoculation of plant tissues. Canker and die-back disease. In: *Methods in Phytobacteriology* (Klement Z., Rudolph K. and Sands D., eds.). Akademia Kiado, Budapest, Hungary, 1990, pp. 105-106.
- Latorre, B.A. and Jones, A.L.:** *Pseudomonas morsprunorum*, the cause of bacterial canker of sour cherry in Michigan, and its epiphytic association with *P. syringae*. *Phytopathology*, 69: 335-339, 1979.
- Lelliott, R.A., Billing, E. and Hayward, A.C.:** A determinative scheme of the fluorescent plant pathogenic Pseudomonadas. *Journal of Applied Bacteriology*, 3: 470-488, 1966.
- Liang, L.Z., Sobiczewski, P., Paterson, J.M. and Jones, A.L.:** Variation in virulence, plasmid content and genes for coronatin synthesis between *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* and *P. syringae* from *Prunus*. *Plant Disease*, 78: 389-392, 1994.
- Little, E.L., Bostock, R.M. and Kirkpatrick, B.C.:** Genetic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from stone fruits in California. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 3818-3823, 1998.
- Louws, F.J., Fulbright, D.W., Stephens, C.T. and De Bruijn, F.J.:** Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathogens and strains generated with repetitive sequences and PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 2286-2295, 1994.
- Louws, F.J., Bell, J., Medina-Mora, C.M., Smart, C.D., Opgenorth, D., Ishimaru, C.A., Hausbeck, M.K., De Bruijn, F.J. and Fulbright, D.W.:** Rep-PCR-mediated genomic fingerprinting: A rapid and effective method to identify *Clavibacter michiganensis*. *Phytopathology*, 88: 862-868, 1998.
- Mansvelt, L.E. and Hattingh, M.J.:** Pear blossom blast in South Africa caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Pathology*, 35: 337-343, 1986.
- Martin, B., Humbert, O., Camara, M., Guenzi, E., Walker, J., Mitchell, T., Andrew, P., Prudhomme, M., Allouing, G., Hakenbeck, R., Morrison, D.A., Boulnois,**

- G.J. and Claverys, J.P.:** A highly conserved repeated DNA element located in the chromosome of *Streptococcus pneumoniae*. *Nucleic Acids Research*, 20: 3479-3483, 1992.
- Ménard, M., Sutra, L., Luisetti, J., Prunier, J.P. and Gardan, L.:** *Pseudomonas syringae* pv. *avii* (pv. nov.), the causal agent of bacterial canker of wild cherries (*Prunus avium*) in France. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 565-576, 2003.
- Misaghi, I. and Grogan, R.G.:** Nutritional and biochemical comparisons of plant pathogenic and saprophytic pseudomonads. *Phytopathology*, 59: 1436-1450, 1969.
- Moragrega, C., Llorente, I., Manceau, C. and Montesinos E.:** Susceptibility of European pear cultivars to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* using immature fruit and detached leaf assays. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 319-326, 2003.
- Natalini, E., Rossi, M.P., Barionovi, D. and Scortichini, M.:** Genetic and pathogenic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolates associated with bud necrosis and leaf spot of pear in a single orchard. *Journal of Plant Pathology*, 88(2): 219-223, 2006.
- Obradović, A., Gavrilović, V., Ivanović, M. and Gašić, K.:** *Pseudomonas* blight of raspberry in Serbia. In: *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens (Fatmi B., Collmer A., Iacobelis N.S., Mansfield J.W., Murrill J., Schaad N.W. and Ullrich M., eds.). Kluwer Academic Publishers Group, 2008, pp. 413-417.
- Ritchie, D.F. and Clayton, C.N.:** Peach tree short life: A complex of interacting factors. *Plant Disease*, 65: 462-469, 1982.
- Ross, I.M.M. and Hatingh, M.:** Resident population of *Pseudomonas syringae* on stone fruit tree leaves in South Africa. *Phytophylactica*, 18: 55-58, 1986.
- Rozsnyay, D.Zs.:** Cytospora cancer and dieback of apricots. *EPPO Bulletin*, 7(1): 69-80, 1977.
- Rozsnyay, D.Zs. and Klement, Z.:** Simultaneous infection by *Pseudomonas syringae* van Hall and *Cytospora cincta* Sacc. on apricots. *EPPO Bulletin*, 7(1): 81-84, 1977.
- Scortichini, M.:** The population structure of some plant pathogenic bacteria: an ecological and adaptive perspective. *Journal of Plant Pathology*, 87: 5-12, 2005.
- Scortichini, M., Marchesi, U., Dettori, M.T. and Ross, M.P.:** Genetic diversity, presence of *sybB* gene, host preference and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from woody and herbaceous host plants. *Plant Pathology*, 82: 277-286, 2003.
- Scortichini, M. and Liguori, R.:** Integrated management of bacterial decline of hazelnut by using Bion as an activator of systemic acquired resistance (SAR). In: *Pseudomonas syringae* and Related Pathogens (Jacobelis N.S., ed.). Kluwer Academic Publisher, 2003, pp. 483-487.
- Sobiczewski, P.:** Etiology of sour cherry bacterial canker in Poland. *Fruit Science Reports*, XI(4): 169-179, 1984.
- Sobiczewski, P. and Jones, A.L.:** Effect of exposure to freezing temperature on necrosis in sweet cherry shoots inoculated with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* or *P.s. morsprunorum*. *Plant Disease*, 76: 447-451, 1992.
- Sorensen, K.N., Kim, K.H. and Takemoto, J.Y.:** PCR detection of cyclic lipodepsinonapeptide-producing *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and similarity of strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 226-230, 1998.
- Spots, R.A., Facticeau, T.J., Cervantes, L.A. and Chestnut, N.E.:** Incidence and control of *Cytospora* canker and bacterial canker in a young sweet cherry orchard in Oregon. *Plant Disease*, 74: 577-584, 1990.
- Spots, R.A. and Cervantes, L.A.:** *Pseudomonas* canker of pear trees in Oregon, cultivar resistance and effect of trunk guards in canker incidence and bacteria survival on bark. *Plant Disease*, 78: 907-910, 1994.
- Starović, M., Ivanović, Ž., Aleksić, G., Kuzmanović, S., Stojanović, S., Živković, S. i Gavrilović, V.:** Identifikacija prouzrokovaca propadanja kruške u Srbiji. *Zaštita bilja*, 57(255-258): 57-67, 2006.
- Stern, M.J., Ames, G.F.L., Smith, N.H., Robinson, E.C. and Higgins, C.F.:** Repetitive extragenic palindromic sequences: A major component of the bacterial genome. *Cell*, 37: 1015-1026, 1984.
- Versalovic, J., Koeuth, J.T. and Lupski, J.R.:** Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*, 19: 6823-6831, 1991.
- Versalovic, J., Schneider, M., De Bruijn, F.J. and Lupski, J.R.:** Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology*, 5: 25-40, 1994.
- Živković, S.:** Etiološka proučavanja sušenja stabala šljive. *Magistarska teza. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet*, 2008, str. 1-117.
- Weingart, H. and Volksch, B.:** Genetic fingerprinting of *Pseudomonas syringae* pathovars using ERIC, REP and IS50 PCR. *Journal of Phytopathology*, 145: 339-345, 1997.
- Young, J.M. and Triggs, C.M.:** Evaluation of determinative tests for pathovars of *Pseudomonas syringae* van Hall 1902. *Journal of Applied Bacteriology*, 118: 283-298, 1994.

Pseudomonas syringae – a Pathogen of Fruit Trees in Serbia

SUMMARY

Data about symptomatology, pathogenicity and bacteriological characteristics of *Pseudomonas syringae*, and PCR methods for fast and reliable detection of the pathogen are given in this paper. *P. syringae* has been experimentally proved as a pathogen of pear, apple, apricot, plum cherry, and raspberry, and pathogen strains have also been isolated from necrotic peach buds. Two pathogen varieties, *syringae* and *morsprunorum*, were found in our research in Serbia, the former being dominant on fruit trees

The most reliable method for detection of this bacteria is PCR, using BOX and REP primers. This method has also revealed significant differences among the strains originating from fruit trees in Serbia. Thus, it was proved that the population of *P. syringae* in Serbia is heterogeneous, which is very important for future epidemiological studies.

Control of this pathogen includes mechanical, cultural and chemical measures, but integrated approach is very important for sustainable control.

Keywords: *Pseudomonas syringae*; Fruit trees; Symptomatology; Pathogenicity; Biochemical tests; BOX-PCR; REP-PCR