

## ***SORBUS DOMESTICA* I *S. TORMINALIS* NOVI DOMAĆINI *ERWINIA AMYLOVORA* U SRBIJI**

VELJKO GAVRILOVIĆ<sup>1</sup>, SVETLANA ŽIVKOVIĆ<sup>1</sup>, ŽARKO IVANOVIĆ<sup>1</sup> MILIĆ VOJINOVIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institu za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>2</sup> Agrorazvoj, Niš

U radu su prikazani rezultati proučavanja izolovanih sojeva bakterije iz plamenjačom zahvaćenih mladara ukrasnih biljka *Sorbus domestica* i *Sorbus torminalis*. Proučavani sojevi su Gram negativni, ne stvaraju fluorescentni pigment na King-ovoj podlozi B, a glukozu metabolišu i oksidativno i fermentativno. Prouzrokuju HR duvana i nekrozu nesazrelih, inokuliranih plodova kruške (viljamova) praćenu obilnom produkcijom bakterijskog eksudata..

Prvi simptomi na inokuliranim mladrima biljaka domaćina u očavaju se posle 2-3 dana, ispoljavaju se u vidu vlažnih pega koje se vremenom šire zhatujući ga u celosti

Na osnovu patogenih, biohemijskih i seroloških odlika (ELISA) proučavanih izolata zaključeno je da patološke promene na ukrasnim biljkama *Sorbus domestica* i *Sorbus torminalis* prouzrokuje *Erwinia amylovora*. To je potvrđeno i primenom molekularne metode (PCR) korišćenjem specifičnog prajmera za bakteriju *E. amylovora*.

Ovo je prvi nalaz *E. amylovora* na ukrasnim biljkama roda *Sorbus* u Srbiji

*Ključne reči:* *Erwinia amylovora*, *Sorbus domestica*, *Sorbus torminalis*., patogenost, detekcija ELISA, PCR

### **UVOD**

*Erwinia amylovora* (Burr)Winslow et al. Spada u najrasprostranjenije i ekonomski najznačajnije patogene jabučastih voćaka. Pri povoljnim ekološkim uslovima prouzrokuje sušenje cvetova i tek zametnutih plodova, plamenjaču mladara, nekrozu i sušenje višegodišnjih grana pa i čitavih stabala voćaka. Kao posledica njene pojave ponekad dolazi do krčenja čitavih zasada, što je poslednjih godina zabeleženo i u nas (Arsenijević i Gavrilović, 2007; Gavrilović et al., 2001a).

*E. amylovora* je u Srbiji najpre registrovana kao patogen kruške, dunje, mušmule i gloga početkom 90-ih godina prošlog veka (Panić i Arsenijević, 1996;

\* Rezultat rada u okviru Projekta br. 20051, koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj RS.

Jovanović, 1999). Međutim od sredine 90-ih godina *E. amylovora* je sve prisutnija i kao parazit ukrasnih biljaka porodice *Rosaceae* koje se takođe ubrajaju u veoma osjetljive domaćine bakterije i čije gajenje ona ozbiljno može ugroziti (Arsenijević i Panić, 1996; Arsenijević et al., 2001; van der Zwet i Keil, 1979). Tako je ova bakterija najpre utvrđena kao parazit vatrenog trna (*Pyracantha coccinea* L.) (Gavrilović i Arsenijević, 1997).

Tokom 2000. godine, koja se odlikovala izuzetno povoljnim uslovima za razvoj i širenje bakterije, *E. amylovora* je eksperimentalno potvrđena u obolelim uzorcima polegla dunjarice (*Cotoneaster horizontalis* L.) i japanske dunje (*Chaenomeles japonica* L.) (Balaž et al., 2004a, 2004b)

U periodu 2005-2006 godine simptomi bakterijske plamenjače primećeni su na ukrasnoj biljci *Sorbus domestica* (fam. *Rosaceae*) na području Niša. U 2007. godini karakteristični simptomi bolesti su zapaženi na ukrasnoj biljci *Sorbus torminalis* i to u blizini zasada jabuke u kojem je zabeležen visok intenzitet pojave bakterijske plamenjače.

Cilj ovog rada je da se primenom laboratorijskih metoda utvrdi da li pomenute simptome bolesti na ukrasnim biljkama roda *Sorbus* prouzrokuje *E. amylovora* i u slučaju pozitivnog nalaza proučiti karakteristike izolovanih sojeva i uporediti ih sa odlikama izolata poreklom sa jabučastih voćaka.

## MATERIJAL I METODE

Uzorci sa karakterističnim simptomima na mladima *Sorbus domestica* prikupljeni su u Nišu 2005 godine, a uzorci obolelih mladara *Sorbus torminalis* na području Požege 2007. godine. Biljni materijal je dopreman u Laboratoriju za fitopatologiju Instituta za zaštitu bilja i životnu sredinu, gde se pristupilo izolovanju patogena.

### Izolovanje bakterija i dobijanje čistih kultura

Izolovanje bakterije je vršeno standardnim metodom razmaza na mesopeptonsku podlogu obogaćenu s 5 % saharoze (NAS) i King-ovoj podlozi B. Posle 2-3 dana razvoja pri 25°C pojedinačne kolonije bakterije su prihvatane na mesopeptonsku podlogu sa glicerolom (NAG) radi održavanja u kolekciji (Klement, 1990). Ukupno je prihvaćeno 12 izolata bakterije: 7 sa *S. domestica* i 5 poreklom sa *S. torminalis*.

Identifikovani sojevi *E. amylovora* (CFBP 1430 poreklom iz Nacionalne kolekcije fitopatogenih organizama Francuske i J-5 poreklom iz jabuke (Srbija)), korišćeni su kao kontrolni sojevi u ovim istraživanjima.

### Provera patogenosti

Patogene odlike proučavanih sojeva su proverene veštačkim inokulacijama nesazrelih plodova kruške i infiltracijom lista duvana sa ciljem da se utvrdi da li dobijeni izolati prouzrokuju HR duvana. Mladi plodovi kruške inokulisani su metodom uboda pomoću bakteriološke igle prethodno uronjene u suspenziju bakterije koncentracije  $10^7$  cfu. Na njima je u naredna 2-3 dana praćena pojava nekroza i pojava kapi bakterijskog eksudata, što je karakterističan znak *E. amylovora*. Ovaj test se obavezno preporučuje pri detekciji ove bakterije (Lelliot i Stead, 1987; Arsenijević, 1997; Gavrilović, 1998).

Izolatima poreklom sa *S. domestica* inokulisani su i listovi i mladara biljke domaćina, takođe pomoću bakteriološke igle, ubodom u lisne peteljke i mladare, pri čemu je takođe korišćena suspenzija bakterija pomenute koncentracije.

### Biohemijsko fiziološke

Proučene su biohemijsko fiziološke odlike značajne za identifikaciju *E. amylovora*: hidroliza želatina i eskulina, aktivnost oksidaze ; razvoj pri 34 i 36 °C i u podlozi sa 5 i 7% Na Cl i metabolizam ugljenih hidrata. (Sands, 1990; Mitrev, 1993; Gavrilović, 1998) (tab.1).

### DAS – ELISA test

Za identifikaciju izolovanih sojeva bakterija korišćena je DAS – ELISA metoda (Hampton i sar., 1990), primenom komercijalnog antiseruma specifičnog za detekciju *E. amylovora* (Loewe Biochemica GmbH, Germany). Od čistih kultura bakterije, starosti 24 časa pripremljena je bakterijska suspenzija koncentracije  $10^6$  ćel/ml. Uzorci su pripremljeni zagrevanjem po 100 µl bakterijske suspenzije na 100°C 10 minuta i potom razređeni u odnosu 1:20 u odgovarajućem puferru. Intenzitet reakcije očitavan je spektrofotometrijski dva časa nakon dodavanja supstrata p-nitrofenilfosfata, merenjem apsorpcije na talasnoj dužini od 405 nm. Pozitivnom reakcijom su smatrane vrednosti apsorpcije dva i više puta veće od vrednosti apsorpcije negativne kontrole.

### Lančana reakcija polimeraze (PCR)

U cilju potvrde identiteta izolovanih sojeva urađen je PCR izolovanih sojeva prema protokolu Bereswill i sar. (1992). Bakterijske kulture su gajene na KB podlozi tokom 24 časa, nakon čega je pripremljena suspenzija bakterija u koncentracije  $10^6$  ćel/ml. Mikrotube sa bakterijskom suspenzijom su zagrevane na

95°C 10 minuta, a zatim su prebačene na led. PCR reakcija je izvedena sa A (5'-CGGTTTTTAACGCTGG-3') i B (5'-GGGCAAATACTCGGATT-3') prajmerima i prema protokolu koji su opisali Bereswill i sar. (1992). Elektroforetsko razdvajanje produkata amplifikacije urađeno je na 1.5 % agaroznom gelu.

## REZULTATI

### Simptomi bolesti

Početni simptomi bolesti se ispoljavaju u vidu plamenjače mladara i lišća *S. domestica*. Lišće postaje mrkocrvene a mladari mrko ljubičaste boje. (sl.1). Na višegodišnjim granama se uočava pucanje kore u graničnoj zoni obolelog i zdravog tkiva, što je praćeno obrazovanjem rane, što se manifestuje mrkosivom bojom obolelog tkiva (sl.2). Ukljanjanjem površinskog sloja kore, jasno se uočavaju patološke promene na sprovodnim sudovima ispoljena u vidu mrke boje i vlažne konzistencije obolelog tkiva grana oskoruše.

Simptomi bolesti ispoljeni u vidu plamenjače mladara *S. torminalis* su uočeni polovinom juna, pri čemu nisu zapaženi simptomi na višegodišnjim granama i plodovima ove ukrasne biljke. Oboleli listovi su crne boje ne opadaju i ostaju pričvršćeni za mladare zahvaćene bolešću.

### Izolacija patogena i provera patogenosti

Bledo sive kolonije, izrazito ispučene, sluzastog izgleda (levan tip) prečnika 2-3 mm, uočavaju se posle 2-3 dana razvoja na hranljivoj podlozi obogaćenoj saharozom (NAS). Bele kolonije, sjajne glatke, prečnika 1-1,5 mm formiraju se na King-ovoj podlozi B, na kojoj ne formiraju fluorescentni pigment.

Proučavani izolati poreklom sa *S. domestica* i *S. torminalis* prouzrokuju HR duvana i nekrozu inokulisanih, nesazrelih plodova kruške uz obilnu produkciju kapiljica bakterijskog eksudata, što je karakterističan znak infekcije *E. amylovora*.

Početni simptomi na veštački inokulisanim mladarima *S. domestica* uočavaju se posle 3 dana od inokulacije, a ispoljavaju se u vidu vlažnih pega, elipsastog oblika, koje se vremenom šire zahvatajući mladara u celosti. Mladar u potpunosti nekrotira posle 5-7 dana od inokulacije. Nekroze vremenom postaju mrkoljubičaste i identične su onim zapaženim pri prirodnim infekcijama. Inokulisane lisne drške nekrotiraju i zajedno sa lišćem venu i postaju mrke boje. Kontrolni sojevi CFBP 1430 i J-5 na inokulisanim mladarima prouzrokuju identične simptome.



**Sl. 1** – Simptomi bakteriozne plamenjače na *Sorbus domestica*: Plamenjača i mrka boja lišća (a), karakteristične mrko ljubičaste nekroze na mladarima (b) i rak rane na granama (c)

**Fig. 1** – Fireblight symptoms on *Sorbus domestica*: leaves blight appeared as brown color (a), characteristic purple-brown necrosis on shoots (b) and canker on branch (c)

**Tabela 1 – Biohemijske odlike proučavanih izolata**  
**Table. 1 – Biochemical properties of investigated strains**

Test Tests	Izolati – Isolates			
	<i>S. domestica</i>	<i>S. torminalis</i>	CFBP 1430 <sup>a</sup>	J-5 <sup>b</sup>
Levan -Levan Fluorescence	+ <sup>c</sup>	+	+	+
Fluorescentnost	- <sup>d</sup>	-	-	-
O/F test				
Aerobno – aerobic	+	+	+	+
Anaerobno-anaerobic	+	+	+	+
Aktivnost oksidaze				
Activity of oxidase	-	-	-	-
Hidroliza želatina				
Liquefaction of gelatin	+	+	+	+
Hidroliza eskulina				
Hydrolysis of aesculin	-	-	-	-
Razvoj pri 5%NaCl				
Growth at %% Na Cl	+	+	+	+
Razvoj pri 7 % NaCl				
Growth at 7 % Na Cl	-	-	-	-
Razvoj pri 34°C				
Growth at 34 °C	+	+	+	+
Razvoj pri 36 °C				
Growth at 36 °C	-	-	-	-
Korišćenje: Utilization				
Glukoza – Glucose	+	+	+	+
Fruktoza – Fructose	+	+	+	+
Saharoza – Sucrose	+	+	+	+
Riboza – Ribose	+	+	+	+
Rafinoza – Rafinose	-	-	-	-
Melesitoza – Melesitose	-	-	-	-
Lactoza– Lactose	-	-	-	-
Maltoze– Maltoze	-	-	-	-
Manitol– Manitore	+	+	+	+
Sorbitol– Sorbitole	+	+	+	+
Dulcitol – Dulcitol	-	-	-	-

a kontrolni soj *E. Amylovora* – check strains of *E. amylovora*

b kontrolni soj *E. Amylovora* – check strains of *E. amylovora*

c pozitivan rezultat – positive result

d negativan rezultat – negative result



### Bakteriološke odlike

Proučavani izolati su gramnegativni i ne stvaraju fluorescentni pigment na King-ovoj podlozi B; glukozu metabolišu i oksidativno i fermentativno, ne stvaraju oksidazu. Izolati se razvijaju pri 34°C i u podlozi s % 5 NaCl; negativan rezultat je zabeležen pri testovima razvoja u podlozi s 7 % NaCl i pri temperaturi od 36 °C; kiseline stvaraju iz glukoze, fruktoze, riboze, saharoze, trehaloze, galaktoze, sorbitola, manitola i glicerola; ne metabolišu inozitol, dulcitol, laktozu i maltozu, rafinozu i melezitozu (tab 1) .

### ELISA i PCR

Primenom imunoenzimske metode na ploči utvrđeno je da proučavani izolati poreklom sa *S. domestica* i *S. torminalis* poseduju iste antigenske karakteristike kao i kontrolni sojevi CFBP 1430 i J-5 (*Erwini amylovora*).

Kao rezultat lančane reakcije polimeraze (PCR), korišćenjem odgovarajućih prajmera, amplifikovani su fragmenti nukleinske kiseline odgovarajuće veličine od 900 baznih parova. Iste karakteristike ispoljavaju i kontrolni sojevi korišćeni u ovim istraživanjima.

### DISKUSIJA

*Erwinia amylovora* je rasprostranjena u svim područjima u Srbiji, kako u onim sa intenzivnom voćarskom proizvodnjom, tako i u regionima gde voćstvo nije dominantna grana poljoprivrede, a prisutni su domaćini bakterije. To se pre svega odnosi na pojavu bakterijske plamenjače na stablima jabučastih voćaka na okućnicama kao i pojedinim stablima na nepoljoprivrednim površinama, utrinama, međama oko njih i dr.. Ovo ukazuje da je *E. amylovora* široko rasprostranjena u Srbiji, što može biti jedan od razloga sve češćih epifitocija bakterijske plamenjače. Tako su masovne pojave ove bolesti zabeležene 2000 godine na svim vrstama jabučastih voćaka (Balaž et al, 2000), na dunji 2003. godine (Obradović, et al., 2003), na jabuci u okolini Čačka 2005. godine (Gavrilović, neobjavljeno) i tokom 2007 godine na jabuci (Gavrilović et al., 2007a). Štete koje bakterija nanosi zavise od osetljivosti biljke domaćina i sorte, meteoroloških uslova naročito tokom perioda cvetanja kada su voćke i ukrasne biljke i najosetljivije prema bakteriji. Poslednjih godina je sve uočljivija i pojava bakterijske plamenjače na ukrasnim biljkama fam. *Rosaceae* (Gavrilović i Arsenijević, 1997; Balaž et al., 2004; Gavrilović, et al., 2007 b).

Ovi podaci ukazuju na obilje inokuluma bakterije prisutnog u prirodi, tako da se može očekivati njeno dalje širenje i pojava na novim domaćinima. Upravo u ovim činjenicama treba tražiti uzroke sve masovnijeg širenja *E. amylovora* na ukrasnim biljkama domaćinima bakterije.

Tako su 2005. godine simptomi bakteriozne plamenjače na ukrasnoj biljci *Sorbus domestica*, primećeni na okućnici u Nišu, a laboratorijskom analizom je dokazano prisustvo *E. amylovora* (Vojinović, 2006). S obzirom da simptomi bolesti nisu zapaženi na ostalim stablima jabučastih voćaka, pojava bolesti bi se mogla objasniti sadnjom zaraženih sadnica *S. domestica*.

Prisustvo *E. amylovora* je eksperimentalno potvrđeno 2007. godine na *S. torminalis* u okolini Požege, u neposrednoj blizini zasada jabuke u kome je zabeležen izuzetno visok intenzitet pojave bakteriozne plamenjače. Pretpostavljamo da su ova obolela stabla jabuke predstavljala značajan izvor inokuluma za ostvarenje infekcije *S. torminalis*.

Izolati poreklom sa ukrasnih biljaka roda *Sorbus* se u pogledu patogenih i bohemijskih odlika ne razlikuju od kontrolnih sojeva J-5 i CFBP 1430, što potvrđuje ranije dobijene rezultate o homogenosti populacije *E. amylovora* u Srbiji (Gavrilović, 1998; Gavrilović et al., 2001b). Homogenost je potvrđena i primenom PCR metoda, primenjenog po standardnoj proceduri (Bereswill et al., 1992; Gavrilović et al., 2008).

Ipak, daljem proučavanju izolata *E. amylovora* se mora posvetiti dalja pažnja jer su u nekim područjima u svetu izolovani sojevi koji se u genetskom pogledu značajno razlikuju od do sada proučavanih. To se pre svega odnosi u one koji sadrže novi tip plazmida, označenog kao PI170, koji je utvrđen u populaciji bakterije u nekim evropskim zemljama (Llop et al., 2008). Potencijalno prisutna heterogenost populacije *E. amylovora* možda je uslovila njenu masovniju pojavu na novim domaćinima (Rosselo et al., 2008).

Pojava *E. amylovora* na ukrasnim biljkama fam. *Rosaceae* ima i naučni i praktični značaj. Širenjem ukrasnih biljaka domaćina bakterije, postoje uslovi za dalje rasprostranjenje *E. amylovora*. One, ukoliko su obolele predstavljaju značajan izvor inokuluma za ostvarenje infekcija jabučastih voćaka kako u zasadima, tako i na pojedinačnim stablima, što sve doprinosi održavanju bakterije u prirodi i povećanju inokulacionog potencijala.

Stoga je neophodno posvetiti veću pažnju prilikom uvoza ukrasnih biljaka domaćina *E. amylovora*, ali i sprovesti rigorozniju kontrolu rasadnika koji se bave njihovom proizvodnjom.

U cilju suzbijanja obolelih ukrasnih biljaka za preporuku je uklanjanje obolelih biljnih delova, a u slučaju jače zaraze krčenje čitavih biljaka. Ne raspoložemo podacima o efikasnosti i ekonomskoj opravdanosti primene baktericida u ove svrhe. S obzirom da se ukrasne biljke ne koriste u ishrani stanovništva, možda bi



primena antibiotika dala značajne rezultate u sprečavanju pojave bolesti u registrovanim rasadnicima, čime bi se doprinelo i sprečavanju širenja bakterije. Ali, tada treba imati u vidu opasnost od pojave rezistentnih sojeva *E. amylovora*, koja se može pojaviti u slučaju nekontrolisane primene antibiotika.

## LITERATURA

- Arsenijević, M., Jovanović, G., Gavrilović, V. 2001. Occurrence and spread of fire blight pathogen (*Erwinia amylovora*) on spontaneous and ornamental plants in Yugoslavia. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. 36: 55-59.
- Balaž, J., Knežević, T., Smiljanić, A., Stojšin V. (2004a). *Chaenomeles japonica* and *Cotoneaster horisontalis*, new hosts of *Erwinia amylovora* in Serbia. 10<sup>th</sup> International Workshop on Fire Blight, Bologna, 5-9 July, 2004, Book of Abstracts pp.22.
- Balaž, J., Smiljanić, A. (2004b): *Chaenomeles japonica* i *Cotoneaster horisontalis* novi domaćini *Erwinia amylovora* u Srbiji. Zaštita bilja, 247-250: 87-96.
- Bereswill, S., Pahl, A., Bellemann, P., Zeller, W. and Geider, K. 1992. Sensitive and species-specific detection of *Erwinia amylovora* by polymerase chain reaction analyses. Applied and Environmental Microbiology, 58: 3522-3526.
- Hampton, R., Ball, E., de Boer, S. (1990): Serological methods for detection and identifications of viral and bacterial pathogens, a laboratory manual. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 1990.
- Gavrilović, V., Arsenijević, M. (1998): Vatretni trn – novi domaćin bakterije *Erwinia amylovora* za našu zemlju. Biljni lekar 1: 52-55, Novi Sad.
- Gavrilović, V., Arsenijević, M., Panić, M., Jovanović, Gordana (2001a): Rasprostranjenost *Erwinia amylovora* u SR Jugoslaviji i mere suzbijanja. Zaštita bilja, 237:141-158.
- Gavrilović, V., Jovanović, G., Arsenijević, M. (2001b): Characterization of Yugoslavian *Erwinia amylovora* Isolates Originating from apple Trees Comparing with other Strains of the Pathogen. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 36 (1-2) : 49-54.
- Gavrilović, V., Obradović, A., Milijašević, S., Arsenijević, M., Vojinović, M. (2007b): *Sorbus* spp.– a new host of *Erwinia amylovora* in Serbia. 11<sup>th</sup> International Workshop on Fire Blight, Portland, USA, 12-17 august 2007. Book of abstract : pp 69.
- Gavrilović, V., Arsenijević, M., Živković, S., Vojinović, M., (2007a): Epifitotična pojava bakteriozne plamenjače na plodovima jabuke u toku 2007. godine. XIII Simpozijum sa savetovanjem o zaštiti bilja. Zlatibor, 26-30. 11. 2007 godine. Zbornik rezimea, 45-46.

- Gavrilović, V., Milijašević, Svetlana., Todorović, Biljana, Živković, Svetlana, Trkulja, N. (2008): *Erwinia amylovora*-prouzročivač nekroze korenovog vrata stabla jабuke. Pesticidi i fitomedicina, 23: 17-23.
- Jovanović Gordana (1999): Rasprostranjenost, značaj i biljke domaćini bakterije *Erwinia amylovora* na teritoriji južne Srbije. Zaštita bilja 228: 115-149, Beograd
- Klement, Z. (1990): Inoculation plant tissues. Canker and dieback disease. In: Methods in Phytobacteriology. Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D. (eds). Akademiai Kiado, Budapest, pp. 105-106.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E. (1987): Methods for the diagnosis of bacterial disease of plants. British Society for Plant Pathology. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London, Edinburgh. pp. 200
- Llop, P., Gonzales, R., Pulawska, Joanna, Bultrezs, A., Cabrefiga, J. Lopez, M. Maria (2008) The new plasmid pE170 is present in *E. amylovora* European strains. Acta Horticulturae, 793:
- Mitrev, V. (1993): Proučavanje bakterije *Erwinia amylovora* (Burrill 1882) Winslow et al. 1920 kao parazita voćaka u Makedoniji. Magistarska teza. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, pp. 1-77
- Obrovčić, A., Vučinić Zora, Gavrilović, V (2003): Epifitotična pojava bakteriozne plamenjače dunje u Srbiji i Crnoj Gori. VI savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, 24-28. Novembra 2003. godine. Društvo za zaštitu bilja Srbije. Zbornik rezimeja (48): 84
- Panić, M., Arsenijević, M. (1996): Bakteriozna plamenjača voćaka i ukrasnih biljaka – *Erwinia amylovora*-. Monografska studija. Zajednica za voće i povrće Beograd D.D i Poljoprivredni fakultet, Novi Sad. S-Print, Novi Sad, pp.419.
- Rosello, M., Ferrer, S., Llop, P., Lopez, M. M., Christen, R., Gardan, L., (2008): Description of *Erwinia amylovora* sp. nov., casual Agent of Pear Blossom Necrosis. Proceedings of the eleventh International Workshop on Fire Blight, Acta Horticulture 793, 137-141.
- Sands, D.C. (1990): Physiological criteria determinative tests. In: Methods in Phytobacteriology. eds. Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D. Akademiai Kiado, Budapest, pp. 134-143.
- Vojinović, M. (2006): domaćini i rasprostranjenost *erwinia amylovora* (Burrill) winslow et al. u nišavskom okrugu. Magistrska teza. Poljoprivredni fakultet, Priština (Lešak)
- Zwet, T. van der Keil, H.L. (1979): Fire Blight – A Bacterial Disease of Rosaceous plants. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook 510, Washington, D.C., pp. 200.

(Priljeno: 19.03.2009.)  
(Prihvaćeno: 31.03.2009.)

***SORBUS DOMESTICA AND S. TORMINALIS – NEW HOSTS OF  
ERWINIA AMYLOVORA IN SERBIA***

VELJKO GAVRILOVIĆ<sup>1</sup>, SVETLANA ŽIVKOVIĆ<sup>1</sup>, ŽARKO IVANOVIĆ<sup>1</sup> MILIĆ VOJINOVIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

<sup>2</sup>Agriculture Center, Niš, Serbia

**SUMMARY**

Fireblight symptoms were observed on ornamental plants *Sorbus domestica* (region of Niš, 2005) and *S. torminalis* (Požega, 2007). Symptoms appeared as leaves and shoots blight followed with cancer forming on branches of *S. domestica* and shoot blight on *S. torminalis*. Levan type single colony were collected after three days growth on nutrient agar enriched with sucrose (SNA). Investigated strains produced HR in tobacco and necrosis of artificially inoculated unripened pear fruits followed by oozing of bacterial exudate. Symptoms similar to those registered in natural infections, were recorded on artificial inoculated *S. domestica* leaves and shoots. Based on the results of pathogenicity tests, biochemical characteristics, ELISA test and PCR analysis it was confirmed that the investigated strains belonged to *E. amylovora*, widespread pathogen of pome fruit trees and ornamental plants in Serbia. This is the first report of *E. amylovora* as pathogen of *Sorbus* plant in Serbia.

*Key words:* *Sorbus domestica*, *Sorbus torminalis*, *Erwinia amylovora*, pathogenicity, detection, ELISA, PCR

(Received: 19.03.2009.)

(Accepted: 31.03.2009.)