

PROUČAVANJE PROTEINSKIH PROFILA BAKTERIJE *PSEUDOMONAS SYRINGAE* IZOLOVANE SA RAZLIČITIH VRSTA VOĆAKA

ŽARKO IVANOVIĆ¹, SVETLANA ŽIVKOVIĆ¹, VELJKO GAVRILOVIĆ¹, MIRKO VESELIĆ²

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd,

²Visoka Poljoprivredna škola, Šabac

Bakterija *Pseudomonas syringae* ima veliki broj varijeteta sa različitim osobinama i sa velikom genetičkom raznovrsnošću. *Pseudomonas syringae* u Srbiji je eksperimentalno potvrđen kao parazit kruške, jabuke, breskve, trešnje, višnje, šljive i maline. Cilj ove studije bio je da utvrdi postojanje eventualnih razlika između sojeva izolovanih sa različitih vrsta voćaka u Srbiji proučavanjem elektroforetskih profila ukupnih ćelijskih proteina. Proučavane su takođe patogene i biohemijske odlike sojeva poreklom sa raznih vrsta voćaka. Dobijeni rezultati pokazali su da su populacije bakterije *Pseudomonas syringae* poreklom sa voća u Srbiji raznovrsne, ali da ne pokazuju razlike u elektroforetskim profilima ukupnih ćelijskih proteina.

Ključne reči: *Pseudomonas syringae*, voćke, proteinski profili

UVOD

Pseudomonas syringae postaje sve rasprostranjeniji patogen voćaka u Srbiji, prouzrokujući sve značajnije štete (Gavrilović, 2004; Gavrilović i Ivanović, 2008).

Na osnovu testova patogenosti i diferencijalnih (GATT) testova izolati poreklom sa voćaka u Srbiji su svrstani u tri grupe: I grupu čine tipični predstavnici patogenog varijeteta *syringae*; II grupu čine sojevi koji ispoljavaju karakteristike pv. *morsprunorum*; III grupa izolata poreklom iz mladara maline i plodova višnje

ispoljavaju karakteristike oba varijeteta ali i između sebe se značajno razlikuju. Stoga je neophodno, pored patogenosti i biohemijskih testova, pristupiti razradi novih metoda za pouzdanu identifikaciju patogena, pošto se samo na taj način mogu razraditi mere uspešnog suzbijanja.

Bakteriju *Pseudomonas syringae* je prvi put izolovao iz obolelog jorgovana (*Syringa vulgaris* L.) M. W. Beijerinck 1899. godine, a opisao njene karakteristike i dao naziv C. J. J. van Hall 1902. godine (Young, J. M. 1991). *Pseudomonas syringae* je aerobna, gramnegativna, asporogena i štapičasta bakterija sa lofotrihnim ili amfitrihnim rasporedom cilija (Arsenijević, 1997). Bakterije sa sličnim osobinama koje su kasnije izolovane iz velikog broja različitih biljnih vrsta, označene su kao patogeni varijeteti bakterije *Pseudomonas syringae*. Danas postoji 50 različitih patogenih varijeteta na različitim domaćinima (Sarkar i Guttman, 2004).

Prilagodavanjem na veliki broj domaćina *Pseudomonas syringae* ima veliki broj varijeteta sa različitim osobinama i sa velikom genetičkom raznovršnošću. U cilju opisivanja različitih patogenih varijeteta korišćeni su odgajivački, biohemijski i fiziološki testovi, kao i testovi nukleinskih kiselina (DNK hibridizacija, polimorfizam dužine restrikcionih fragmenata, PCR fingerprinting) (Legard i sar., 1993, Little i sar., 1998, Louws i sar., 1994, Scholz i sar., 1994, Young i sar., 1994). Rezultati testova generalno se slažu sa podelom napravljenom na osnovu biljke domaćina. Izuzetak je varijetet *syringae* izolovan sa jorgovana koji se još može naći na preko 80 različitih biljnih domaćina. Neke biljke mogu biti domaćini za dva ili više patogenih varijeteta od kojih je jedan varijetet *syringae*. *Pseudomonas syringae* je takođe pronađen da raste epifitno i endofitno na listu pri tom ne prouzrokujući nikakve simptome bolesti (Hirano i Upper, 2000).

Istraživanja u oblasti evolucije i sistematike bakterije *Pseudomonas syringae* otežana su nedovoljnim razumevanjem njihove raznovrsnosti (Sawada i sar., 1997). U ovakvoj situaciji cilj našeg istraživanja bio je traženje razlika između varijeteta na osnovu poređenja profila ukupnih ćelijskih proteina.

Pseudomonas syringae u Srbiji je eksperimentalno potvrđen kao parazit kruške, jabuke, kajsije, trešnje, višnje, šljive i maline, ispoljavajući simptome u vidu sušenja grana, plamenjače mladara i cvasti, nekroze pupoljka i plodova (Gavrilović, 2004, Gavrilović i sar., 2004). Našim istraživanjem napravljen je pokušaj utvrđivanja postojanja eventualnih razlika sojeva *Pseudomonas syringae* izolovanih sa raznih vrsta voćaka na osnovu analize ukupnih ćelijskih proteina.

MATERIJAL I METODE

U istraživanjima je proučeno 6 izolata poreklom sa kruške, jabuke, trešnje, šljive, višnje i maline (tab.1) sa različitih lokaliteta u Srbiji koji su izolovani u periodu 2005 - 2007 godine.

Kao kontrolni soj korišćen je izolat CFBP 11 (*P.s. pv syringae*) i izolat CFBP 1528 (*P.s. pv morsprunorum*) iz francuske kolekcije fitopatogenih bakterija (Angers).

Patogenost

Patogene odlike proučavanih izolata su proverene veštačkim inokulacijama plodova kruške, trešnje, limuna, listova jorgovana i mahuna boranije, prema uobičajenoj proceduri (Gavrilović, 2004). U cilju provere hipersenzitivne reakcije inokulisano je lišće duvana i muškatle infiltracijom bakterijske suspenzije koncentracije 10^7 cfu/ml (Arsenijević, 2004).

Tabela 1. - Broj izolata, domaćini, lokaliteti i godina izolacije
Pseudomonas syringae

Table 1. - Isolate number, host, locality and year of isolation
Pseudomonas syringae strains

Izolat – Strain	Domaćin - Host	Lokalitet – Locality	Godina - Year
IZB-193	Jabuka (Apple)	Bela Crkva	2007
IZB-26	Kruška (Pear)	Šabac	2008
IZB-8	Malina (Raspberry)	Arilje	2006
IZB-29	Trešnja (Cherry)	Šabac	2008
IZB-135	Višnja (Sour cherry)	Bela Crkva	2007
IZB-156	Šljiva (Plum)	Šabac	2004
CFBP-111			
CFBP-15821			

1 Kontrolni sojevi iz Francuske kolekcije fitopatogenih bakterija, CFBP - Reference strains from the French collection of plant pathogenic bacteria, CFBP

REZULTATI

Patogenost

Proučavani izolati su ispoljili značajnu heterogenost u pogledu patogenih odlika. Svi prouzrokuju HR duvana, ali u pogledu ostalih testova patogenosti sojevi ispoljavaju razlike.

Izolati sa kruške, jabuke i maline prouzrokuju nekroze na inokulisanim nezrelim plodovima kruške, trešnje, limuna, listova jorgovana i mahuna boranije što su tipične odlike bakterije *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

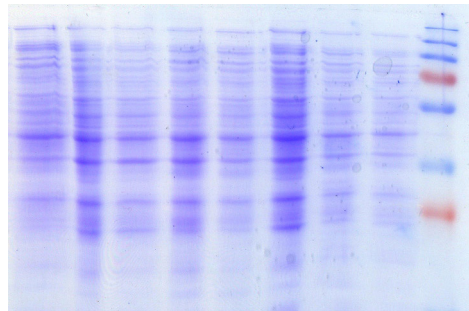
Tabela 2. - Biohemijske karakteristike izolata *P.syringae* poreklom sa različitih vrsta voćaka

Table 2. - Biochemical characteristics of *P. syringae* strain originated from different fruit trees

Biohemijske karakteristike - Biochemical characteristics	Izolati - Strains							
	IZB-26	IZB-193	IZB-29	IZB-135	IZB-156	IZB-8	CFBP-11	CFBP-1582
Fluorescencija - Fluorescent	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F metabolizam glukoze - Glucose (O/F) metabolism	O	O	O	O	O	O	O	O
Stvaranje levana - Levan produc- tion	+	+	+	+	+	+	+	+
Aktivnost oksidaze - Oxidase activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Aktivnost arginindehidrolaze - Arginidehidrolase activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Aktivnost pektinaze - Pectinase activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidroliza želatina - Gelatin hydrolysis	+	+	-	+	-	-	+	-
Hidroliza eskulina - Aesculin hy- drolysis	+	+	-	-	-	+	+	+
Stvaranje tirozinaze - Tyrosinase production	-	-	+	+	+	+	-	+
Metabolizam tartarata - Tartarte metabolism	-	-	+	-	+	+	-	+

Sojevi poreklom iz nekrotičnih pupoljaka trešnje i šljive i plodova višnje prouzrokuju nekrozu plodova trešnje a negativno reaguju pri ostalim testovima patogenosti što je karakteristično za bakteriju *P.s. pv morsprunorum*.

Na osnovu testova patogenosti proučavani izolati su svrstani u dve jasno izdiferencirane grupe. Prvu čine izolati poreklom iz kruške, jabuke i maline a drugu sojevi iz trešnje, višnje i šljive.



Sl. 1. - Proteinski profili ukupnih ćelijskih proteina poreklom sa kruške 1., jabuke 2., trešnje 3., višnje 4., šljive 5., maline 6. i referentni izolati CFBP 11, CFBP 1582, prestained protein ladder: 24, 33, 40, 55, 72, 100, 130, 170 kDa.

Fig. 1. - Protein profiles of whole cell proteins of pear 1., apple 2., cherry 3., sour cherry 4., plum 5., raspberry 6, referent strains CFBP 11, CFBP 1582, prestained protein ladder: 24, 33, 40, 55, 72, 100, 130, 170 kDa.

Bakteriološke odlike

Proučene su sledeće morfološke, odgajivačke i biohemijske odlike: bojenje po Gramu, korišćenjem metoda sa 3% KOH, stvaranje fluorescentnog pigmenta na King-ovoj podlozi B, metabolizam glukoze (O/F test) korišćenjem Hugh-Leifson podloge; stvaranje levana, aktivnost oksidaze, arginin dehidrolaze, pektinaze (LOPAT) testovi. Pored ovih odlika izvršeni su i diferencijalni biohemijski testovi za patogene varijetete *syringae* i *morsprunorum*: hidroliza želatina i eskulina, stvaranje tirozinaze i metabolizam tartarata (GATT) (Arsenijević, 1997; Kendrick - Brown i Sands, 2001; Gavrilović, 2004).

Izolacija ukupnih ćelijskih proteina

Bakterijske kulture su gajene na podlozi obogaćenju saharozom (NAS) (sucrose nutrient agar) 48 h na 25°C. Nakon toga su resuspendovane u 2 ml sterilne destilovane vode u tubama 160 mm x 16 mm u koncentraciji optičke gustine $A_{540} = 1$. Jedan ml suspenzije je prebačen u Eppendorf tube i centrifugiran na 6700 g 15 minuta. Dobijeni talog je resuspendovan u 0.9 ml pufera za uzorke (0.062 M Tris, 10% glicerol, 5% 2-β-mercaptoetanol, pH 6.8). Bakterijske ćelije su lizirane dodavanjem 0.1 ml 20% sodium-dodecilsulfata (SDS) i kuvanjem 10 minuta na 95°C. Nakon toga su centrifugirane 10 minuta na 10000 g.

Kvantitativno određivanje proteina (Lowry-jeva metoda)

Ova metoda se zasniva na biuretskoj reakciji peptidnih veza i jona bakra u alkalnoj sredini i reakciji fosfomolibdensko-fosfovolframskog reagensa sa tirozinom i triptofanom sadržanim u ispitivanim proteinima (Lowry i sar., 1951).

U postupku određivanja koncentracije proteina bez prethodnog taloženja u 0.2 ml uzorka dodaje se rastvor Cu_2CO_3 (3 ml) koji se dobija mešanjem 1% $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (1 ml) i 2% K, Na-tartarata (1 ml) pa dopuni do 100 ml sa 2% NaCO_3 u 0.1 M NaOH. Nakon 15 min inkubacije uzorcima se dodaje 0.6 ml Folinovog reagensa razblaženog sa vodom u odnosu 1:2 (v/v) i ostavi 30 min. da se razvije boja. Po razvijanju boje očitava se apsorbancu rastvora proteina na talasnoj dužini svetlosti 500 nm naspram "slepe" probe u spektrofotometru Sgimatzu UV-160. Na osnovu vrednosti apsorbanci serije standardnih koncentracija albumina seruma govečeta (BSA) konstruisana je standardna kriva u funkciji koncentracije proteina. Ona je poslužila da se preko izmerenih apsorbanci uzoraka odrede koncentracije proteina koje su izražavane u $\mu\text{g/ml}$.

Elektroforetske tehnike

Za razdvajanje proteina u gelu na osnovu njihovih molekularnih masa koristi se poliakrilamidna elektroforeza u denaturišućim uslovima u prisustvu sodium-dodecilsulfata (SDS-PAGE). Jednodimenzionalno razdvajanje proteina po molekularnim masama rađeno je po modifikovanoj metodi (Sambrook i sar., 1989) koju je postavio Laemmli 1970. godine.

Poliakrilamidni gel ima funkciju inertnog matriksa kroz čije se pore proteini kreću pod uticajem električnog polja. Odnos komponenata akril- i bis-akrilamida

određuje veličinu pora i podešava se prema opsegu molekulskih masa proteina koji se razdvajaju.

Negativno naelektrisani molekuli SDS-a u puferu u kome se rastvaraju uzorci vezuju se svojim hidrofobnim delom za hidrofobne delove molekula proteina dajući im negativnu šaržu. SDS-polipeptidni kompleks migrira kroz poliakrilamidni gel u skladu sa molekulskom težinom polipeptida. Tokom elektroforeze negativno naelektrisani uzorci proteina u električnom polju kreću se ka pozitivnoj elektrodi kroz gel koji služi kao molekulsko sito.

Elektroforeze su rađene u V10 - CDC sistemu. Za elektroforetsko razdvajanje proteina korišćen je 12% poliakrilamidni gel u 0.375 M Tris-HCl, pH 8.8, 0.1% SDS, 0.05% amonijum-persulfat (AMPS) i 0.05% tetrametilendiamin (TEMED). Preko polimerizovanog gela naliva se 4% gel za skoncentrisavanje uzorka koji sadrži: 0.125 M Tris-HCl, pH 6.8, 0.1% SDS, 0.05% AMPS i 0.1% TEMED. Elektrodni pufer koji se naliva u rezervoare sadrži 0.192 M glicin, 25 mM Tris-HCl, pH 8.3, i 0.1% SDS (Laemmli 1970). Proteini se rastvoraju u puferu za uzorke: 2% SDS, 0.0625 M Tris-HCl, pH 6.8, 5% ME i 8.8% glicerol. U ovom puferu, proteini se denurišu zagrevanjem u ključaloj vodi u trajanju od 4 min. a potom se centrifugiraju na 10000 g 3 min. Pripremljeni uzorci proteina se ekvilibrišu na sobnoj temperaturi. Uzorci proteina putuju pod naponom od 0.12 kV u gelu za skoncentrisavanje, odn. 0.15 kV kroz gel za razdvajanje u trajanju od jednog sata. Po završetku elektroforeze gelovi su bojeni CBB-om (Coomassie Brilliant Blue R-250).

Bojenje gelova (Coomassie brilliant blue R-250)

Po završenoj elektroforezi gelovi se boje rastvorom Coomassie Brilliant Blue (CBB) R-250 boje u metanolu i glacijalnoj sirćetnoj kiselini u odnosu 1:0.3 radi vizuelizacije proteinskih traka. Odbojavanje se vrši u istom rastvoru metanola i sirćetne kiseline bez dodavanja boje.

DISKUSIJA

Fitopatogena bakterija *P. syringae* postaje sve rasprostranjeniji patogen voćaka u Srbiji. Pojavljuje se na novim domaćinima i prouzrokuje sve značajnije štete. Do sada je eksperimentalno potvrđena kao parazit kruške, jabuke, višnje, trešnje, šljive i maline (Gavrilović, 2004, Gavrilović i sar., 2004). Poslednjih godina ova bakterija na krušci, pored plamenjače cvasti, prouzrokuje i sušenje grana pa i čitavih stabala, kao i pegavost plodova nekih sorata višnje (Reksele,

Hajmanov rubin, Keleris), pri čemu oni nekrotiraju i otpadaju (u pojedinim godinama i do 60-70%). Plamenjača mladara i cvasti maline, prouzrokovana ovom bakterijom postaje sve rasprostranjenija bolest u centrima njenog gajenja.

Proučavani izolati su ispoljili izrazitu homogenost u testovima reakcije po Gramu, fluorescencije, oksidativnog metabolizma glukoze i LOPAT testova. Na osnovu ovih karakteristika je potvrđeno da pripadaju vrsti *Pseudomonas syringae* (Schaad, 2001; Gavrilović, 2004).

U pogledu patogenih svojstava sojevi su podeljeni u dve jasno izdiferencirane grupe. Prvu čine sojevi poreklom sa kruške, jabuke i maline koji ispoljavju patogene odlike tipične za pv. *syringae*. Drugu grupu čine sojevi izolovani iz trešnje, šljive i višnje koji ispoljavaju patogene odlike karakteristične za pv. *morsprunorum*. Ovi rezultati su u punoj saglasnosti sa podacima iz literature koji kazuju o različitim patogenim odlikama predstavnika ovih varijeteta (Arsenijević, 1997; Gavrilović, 2004; Gavrilović i Ivanović, 2008).

Tri grupe sojeva su izdiferencirane na osnovu rezultata biohemijskih testova (GATT). Prvu čine izolati sa jabuke, kruške i maline koji hidrolizuju želatin i eskulin a ne stvaraju tirozinazu i ne metabolišu tartarate. Ovo su odlike karakteristične za patogeni varijetet *syringae*. Drugu grupu čine sojevi poreklom sa trešnje i šljive koji negativno reaguju pri testovima hidrolize želatina i eskulina a stvaraju tirozinazu i koriste tartarate u svojim metaboličkim procesima. Dobijeni rezultati su u punoj saglasnosti sa literaturnim podacima (Burkowitz i Rudolph, 1994; Gavrilović, 2004). Sojevi poreklom sa ploda višnje su svrstani u treću grupu sa intermedijarnim karakteristikama koje ispoljavaju osobine pripadnika oba varijeteta, o čemu takođe ima podataka u literaturi (Sobiczevski, 1984; Gavrilović, 2004).

Vizuelnom ocenom broja i rasporeda traka u elektroforetskom profilu ukupnih ćelijskih proteina nije bilo moguće utvrditi razliku između ispitivanih bakterijskih izolata. Razlike koje postoje na genskom nivou između različitih sojeva bakterije *Pseudomonas syringae* nisu se odrazile na njihovih proteinski profil.

Dalja proučavanja u cilju pronalazjenja efikasnijih metoda za analizu proteina su u toku.

LITERATURA

- Arsenijević, M. (1997). Bakterioze biljaka Poljoprivredni fakultet Novi Sad.
- Burkowicz, A., and Rudolph, K. (1994). Evaluation of pathogenicity and of cultural and biochemical tests for identification of *Pseudomonas syringae* pathovars *syringae*, *morsprunorum* and *persicae* from fruit trees. *J. Phytopathology* 141: 59 - 76.
- Gavrilović, V. (2004). Patogene i biohemijsko fiziološke karakteristike bakterija roda *Pseudomonas* parazita voćaka. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Beograd, Zemun, 104 PP.
- Gavrilović, V., Milijašević, S., Arsenijević, M. (2004): *Pseudomonas syringae* parazit maline u Srbiji. *Jugoslovensko voćarstvo*, 38, 147-148: 183-190.
- Gavrilović, V., Ivanović, M. (2008): Karakteristike sojeva bakterije *Pseudomonas* izolovanih iz obolelih grana šljive. *Pesticidi i fitomedicina*, 23: 25-31.
- Hirano S. S. and Upper C. D. (2000). Bacteria in the Leaf Ecosystem with Emphasis on *Pseudomonas syringae*—a Pathogen, Ice Nucleus, and Epiphyte. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64: 624 – 653.
- Kiewnick-Brown, A., Sands, D.C. (2001): Gram .negative bacteria: *Pseudomonas*. In : Schaad, N.W., Jonec, J.B., Chun, W. (Eds): *Laboratory Guide for Plant Pathogenic Bacteria*, APS, St. Paul, Minnesota, USA.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680 - 685.
- Legard, D. E., C. F. Aquadro, and J. E. Hunter. (1993). DNA sequence variation and phylogenetic relationships among strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* inferred from restriction site maps and restriction fragment length polymorphism. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 4180 – 4188.
- Lelliot , R.A., Stead, D.E. (1987) : *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh
- Little, E. L., R. M. Bostock, and B. C. Kirkpatrick. (1998.). Genetic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from stone fruits in California. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3818 – 3823.
- Louws, F. J., D. W. Fulbright, C. T. Stephens, and F. J. de Bruijn. (1994). Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2286 – 2295.
- Lowry, O. H., Rosenbrough, W. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265 - 275.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: A laboratory manual*, Second edition (Cold Spring Harbor, New York: *Cold Spring Harbor Laboratory Press*).

- Sawada H, Takeuchi T., and Matsuda I. (1997). Comparative Analysis of *Pseudomonas syringae* pv. actinidiae and pv. phaseolicola Based on Phaseolotoxin-Resistant Ornithine Carbamoyltransferase Gene (*argK*) and 16S-23S rRNA Intergenic Spacer Sequences Applied and Environmental Microbiology. 63: 282 – 288.
- Sarkar S. F. and Guttman D. S. (2004). Evolution of the Core Genome of *Pseudomonas syringae*, a Highly Clonal, Endemic Plant Pathogen Applied and Environmental Microbiology, 70: 1999 – 2012.
- Sobiczewski, P. (1984). Etiology of sour cherry bacterial canker in Poland. Fruit Science Reports XI, No.4: 169 - 179.
- Scholz, B. K., J. L. Jakobek, and P. B. Lindgren. (1994). Restriction fragment length polymorphism evidence for genetic homology within a pathovar of *Pseudomonas syringae*. Appl. Environ. Microbiol. 60: 1093 – 1100.
- Young, J. M. (1991). Pathogenicity and identification of the lilac pathogen, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902. Ann. Appl. Biol. 118: 283 – 298.
- Young, J. M., and C. M. Triggs. (1994). Evaluation of determinative tests for pathovars of *Pseudomonas syringae* van Hall 1902. J. Appl. Bacteriol. 77: 195 – 207.

(Primljeno: 08.05.2009.)

(Prihvaćeno: 29.06.2009.)

**STUDY OF WHOLE CELL PROTEIN PROFILES
OF *PSEUDOMONAS SYRINGAE* STRAINS ORIGINATING
FROM FRUIT TREES IN SERBIA**

ŽARKO IVANOVIĆ¹, SVETLANA ŽIVKOVIĆ¹,
VELJKO GAVRILOVIĆ¹, MIRKO VESELIĆ²

¹Institute for plant protection and environment, Belgrade

²High Agriculture School, Šabac

SUMMARY

Bacterium *Pseudomonas syringae* has numerous varieties with differentiated properties and is abundant in genetic diversity. *Pseudomonas syringae* has been experimentally identified in Serbia as a parasite of pear, apple, cherry, sour cherry, plum and raspberry. This study was designed to establish differences between the strains isolated from the fruit trees in Serbia with whole cell protein profiles analysis. The pathogenic and bacteriological characteristics of the isolates, cultivating, morphological and biochemical characteristics were studied. The obtained results demonstrate that the population of the bacterium *Pseudomonas syringae* from the fruit trees in Serbia is diverse, but do not show any difference in their whole cell protein profiles.

Key words: *Pseudomonas syringae*, fruit trees, protein profiles

(Received: 08.05.2009.)

(Accepted: 29.06.2009.)