

Zaštita bilja
Vol. 65 (4), N°290, 176-180, 2014, Beograd
Plant Protection
Vol. 65 (4), N°290, 176-180, 2014, Belgrade

UDK: 634.232-235

Kratko saopštenje
Short communication

***PSEUDOMONAS SYRINGAE* - PROUZROKOVAČ NEKROZE PLODOVA TREŠNJE**

VELJKO GAVRILOVIĆ¹, STEFAN STOŠIĆ², MILOŠ STEVANOVIĆ¹

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

²Stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije
e-mail: vgavrilo@yahoo.com

REZIME

U radu su prikazani rezultati proučavanja sojeva bakterija izolovanih iz nekrotičnih plodova trešnje sorte Samit (područje Šapca). Nekroza zahvata u proseku oko 1/3 ploda koji potpuno gubi tržišnu vrednost. Bolešću biva zahvaćeno oko 30% plodova. Primenom standardnih bakterioloških metoda (izolacijom na hranljivim podlogama), proverom patogenosti i proučavanjem bakterioloških karakteristika, zaključeno je da pomenute simptome prouzrokuje fitopatogena bakterija *Pseudomonas syringae*, široko rasprostranjen patogen naročito koštičavih voćaka.

Gljučne reči: trešnja, nekroza ploda, *Pseudomonas syringae*, patogenost, bakteriološke odlike

Simptomi nekroze plodova trešnje (sorta Samit), zapaženi su posle perioda obilnih padavina tokom 2014. godine. Procenat obolelih plodova je bio oko 30%. Simptomi se ispoljavaju u vidu mrkih nekrotičnih, naboranih pega, koje zahvataju 1/3 ploda. (Slika 1). Slične simptome na plodovima trešnje može prouzrokovati i fitopatogena gljiva *Monilinia* spp., ali je zapaženo odsustvo fruktifikacije na obolelim plodovima, što ukazuje da bi prouzrokovalac bolesti mogao biti i druge prirode. S obzirom da i fitopatogene bakterije roda *Pseudomonas* mogu prouzrokovati slične simptome (Sutton and Jones, 1996), cilj rada je bio da se utvrdi prouzrokovalac ove bolesti, koji na osnovu zapažanja u zasadu trešnje može naneti velike štete.

Oboleli plodovi trešnje prikupljeni su polovinom maja, a izolovanje patogena je izvršeno na podlozi King B i hranljivoj podlozi (hranljivi agar, Torlak) obogaćen sa 5% saharoze (NAS). Patogenost dobijenih sojeva je proverena inokulacijom plodova trešnje i inokulacijom listova duvana (HR), (Lelliott and Stead, 1987; Arsenijević, 1997). Plodovi trešnje su inokulisani injektiranjem suspenzije bakterije (10^7 cfu), medicinskim špricom neposredno ispod epidermisa ploda. Inokulisani su plodovi sorte

Samit, na kojoj su i primećeni simptomi bolesti i sorte Sambarst koja sazrava polovinom juna i čiji su plodovi u vreme inokulacije bili potpuno zeleni. Inokulisano je po tri ploda svakim sojem. Plodovi su posle inokulacije odlagani u plastične kutije obložene vlažnim filter papirom, radi održavanja optimalne vlažnosti neophodne za razvoj patogena.

Od bakterioloških odlika proučene su: reakcija po Gramu, O/F test, aktivnost oksidaze, arginin-dehidrolaze i aktivnosti pektolitičkih enzima inokulisanim kriškama krompira (LOPAT test), (Lelliott et al., 1966; Arsenijević, 1997). Kao kontrolni soj pri ovim ispitivanjima korišćen je *P.syringae* - CFBP 11, poreklom iz Nacionalne kolekcije fitopatogenih bakterija u Francuskoj.

Posle tri dana razvoja na King B podlozi se pojavljuju bakterijske kolonije bele boje, ravnih ivica, blago ispupčene, koje stvaraju fluorescentni pigment. Na podlozi obogaćen saharozom (NAS) nakon tri dana patogen formira izrazito ispupčene kolonije, prečnika oko 3 mm, sluzaste, (levan tipa).

Nekroza mrke boje i naborane površine, pojavljuje se na inokulisanim plodovima posle 3 dana i po izgledu odgovara nekrozi primećenim pri prirodnim infekcijama. Identični simptomi su zabeleženi

Tabela 1. Patogene i bakteriološke odlike proučavanih sojeva.
Tabela.1. Pathogenic and bacteriological investigated strains.

Test Tests	Proučavani izolati Investigated strains	Kontrolni soj CFBP 11 Check Strain CFBP 11
Patogenost-Pathogenicity	+	+
Plodovi trešnje-Cherry fruits		
Razlikovanje po Gramu Gram differentiation	-	-
O/F	O	O
Levan	+	+
Oksidaza-Oxidase	-	-
Pektinaza- Pectinase	-	-
Arginindehidrolaza Arginin dehidrolase	-	-
HR duvana – HR in tobacco	+	+
Furescentnost- Fluorescence	+	+

*+ pozitivno; positive , - negativno; negative; o oksidativni metabolizam glukoze; oxidative



Slika 1. Nekroza plodova trešnje - prirodna infekcija.
Figure 1. Sweet cherry fruit necrosis - natural infection.



Slika 2. Veštačka inokulacija plodova trešnje: kontrola (levo), nekroza na plodu sorte Samit (sredina), nekroza na plodu sorte Sambarst (desno).
Figure 2. Artificial inoculation sweet cherry fruits: check (left), necrosis on fruit cv. Summit (middle), necrosis on fruit cv. Sumberst (right).

na obe inokulisane sorte trešnje (Slika 2).

Proučavani izolati su Gram negativni, fluoresciraju na King-ovoj podlozi B i odlikuju se aerobnim (oksidativnim) metabolizmom glukoze; stvaraju levan ali ne i oksidazu, arginin dehidrolazu i pektolitičke fermente; prouzrokuju HR duvana (cv. Samsun). Pri svim navedenim testovima se ponaša i kontrolni soj *Pseudomonas syringae* (CFBP 11). Na osnovu ovih rezultata zaključeno je da pomenute patološke promene na plodovima trešnje prouzrokuju pomenuta bakterija (Tabela 1).

Fitopatogena bakterija *Pseudomonas syringae* parazitira koštičave i jabučaste voćke, ali je zabeležena i kao patogen maline. U Srbiji je eksperimentalno potvrđena kao patogen kajsijske trešnje, višnje, šljive breskve, kruške, jabuke i maline. Simptomi bolesti se ispoljavaju u vidu sušenja grana (kajsija i šljiva), nekroze pupoljaka (trešnja, breskva i šljiva), nekroze cvasti (kruška), plamenjača mladara (malina), (Gavrilović et al., 2004; Gavrilović, 2009; Ivanović, 2011; Gavrilović et al., 2012). Međutim i pored tako širokog kruga domaćina, ekonomske štete variraju u zavisnosti od vrste voćke i meteoroloških uslova. Najveće štete u Srbiji do sada su zabeležene na kajsijski, što je rezultiralo sušenjem čitavih stabala, potom na plodovima nekih sorata višnje (Hajmanov rubin i Keleris). Simptomi nekroze ploda nisu primećeni na sorti višnje Oblačinska (Arsenijević, 1980; Gavrilović, 2009).

Nekroza plodova trešnje se tokom 2014. godine pojavila posle izuzetno kišnog perioda, koji je praćen neobičajeno niskim temperaturama za ovaj period godine (prva dekada maja). Smatramo da je infekcija nastala usled visoke vlažnosti i nižih temperatura. Ova bakterija poseduje svojstvo da se pri

nižim temperaturama uspešnije razvija i širi, nego pri uobičajenim vremenskim uslovima za ovo doba godine (Klement, 1977; Spots and Cervantes, 1996; Arsenijević, 1997). Izvor inokuluma može biti epifitna populacija bakterije koja se razvija na listovima i cvetovima voćaka bez ispoljavanja simptoma bolesti (Lattore and Jones, 1979).

Proučeni izolati ispoljavaju uobičajene karakteristike *P. syringae*. Izolacija je podjednako uspešna na obe korišćene podloge (King B i NAS) i one se preporučuju za izolovanje bakterija roda *Pseudomonas* (Gavrilović, 2009). Rezultati LOPAT testova takođe ukazuju da proučavani izolati ispoljavaju tipične karakteristike ove bakterije, tako da, iako davno ustanovljeni (Lelliot et al., 1966) i dalje se, pored savremenih molekularnih metoda, koriste pri detekciji ove bakterije, (Bultreys and Kaluzna, 2010; Brown-Kiewnicki and Sands, 2011).

Dalja proučavanja izolovanih sojeva poreklom iz ploda trešnje obuhvatiće primenu diferencijalnih testova, na osnovu kojih se oni mogu detektovati do nivoa patogenih varijeteta *P. syringae* (*syringae* i *mors-prunorum*). Ova istraživanja uključuju inokulacione testove, biohemijske karakteristike (GATT), korišćenje REP-PCR i BOX prajmera, kao i onih za detekciju gena za produkciju siringomicina i koronatina (Bultreys and Kaluzna, 2010; Ivanović, 2011; Ivanović et al., 2012).

ZAHVALNICA

Istraživanja čiji su rezultati prikazani u ovom radu su realizovana zahvaljujući projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, TR 31018.

LITERATURA

- Arsenijević, M. (1980): Bakteriozno izumiranje kajsijske. Zaštita bilja 154 : 393-404.
- Arsenijević, M. (1997): Bakterioze biljaka. III izmenjeno i dopunjeno izdanje. S-Print, Novi Sad, 576 p.
- Bultreys A., Kaluzna M. (2010): Bacterial cankers caused by *Pseudomonas syringae* on stone fruit species with special emphasis on the pathovars *syringae* and *morsprunosrum* race 1 and race 2. Journal of Plant Pathology 92: (1, Supplement): 21-33.
- Brown-Kiewnick, A. and Sands D.C. (2001): *Pseudomonas*. In: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. (Eds. N. Schaad, J. B. Jones, and W.Chun), 84-117. APS PRESS The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Gavrilović, V. (2009): *Pseudomonas syringae* – patogen voćaka u Srbiji. Pestic. Phytomed. 24(3): 153-163.
- Gavrilović, V., Milijašević, S. Arsenijević, M. (2004): *Pseudomonas syringae* parazit maline u Srbiji. Jugoslov-

ensko Voćarstvo, Vol. 38, 147-148: 183-190.

Gavrilović, V., Živković, S., Dolovac, N., Trkulja, N., Pfaf-Dolovac, E., Popović, T., Ivanović, Ž. (2012): *Pseudomonas syringae*- pathogen of sweet cherry in Serbia. Pestic. Phytomed, 27(2), 141-149.

Ivanović, Ž. (2011): Molekularna karakterizacija prirodnih izolata bakterije *Pseudomonas syringae* i identifikacija agenasa za njihovu biološku kontrolu. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu . Biološki fakultet, pp.105.

Ivanović, Ž., Stanković, S., Živković, S., Gavrilović, V., Kojić, M., Fira, Đ. (2012): Molecular characterization of *Pseudomonas syringae* isolates from fruit trees and raspberry in Serbia. Eur.J. Plant. Pathology, 134: 191-203.

Jones, A.L., Sutton, T.B. (1996): Diseases of Tree Fruits in the East. Michigan State University.

Klement, Z. (1977): Bacterial Canker and Dieback Disease of Apricots (*Pseudomonas syringae* Van Hall). EPPO Bulletin Vol.7, No.1: 57-69.

Latorre, B., A., Jones A.L. (1979) : *Pseudomonas morsprunorum*, the cause of bacterial canker of sour cherry in Michigan, and its epiphytic association with *P. syringae*. Phytopathology. 69, 335-339.

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

Lelliott, R.A., Billing, Eve, Hayward, A.C.: (1966): A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic Pseudomonads. J.Appl. Bact., 29: 470-489.

Spotts, R.A., Cervantes, L.A. (1996): Factor affecting the severity of bacterial canker of pear caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Plant Pathology, 44: 325-331.

(Primljeno: 17.11.2014.)
(Prihvaćeno: 12.12.2014.)

PSEUDOMONAS SYRINGAE - CAUSAL AGENT OF SWEET CHERRY FRUIT NECROSIS

VELJKO GAVRILOVIĆ¹, STEFAN STOŠIĆ², MILOŠ STEVANOVIĆ¹

¹Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

²Scholar of Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia
e-mail: vgavrilo@yahoo.com

SUMMARY

Severe symptoms of necrosis sweet cherry fruits was recorded during 2014. in region of Šabac. About 30 % of fruits (cv. Summit) were affected and necrosis cover 1/3 of fruit surface in average. Gram negative, fluorescent, oxidative bacterial strains were isolated from diseased tissues. Symptoms similar to those, observed in natural infection were recorded on artificial inoculated cherry fruits (cv. Summit and cv. Summbarst). Isolated strains were HR positive, oxidase, pectinase, arginin dehidrolase negative and levan positive (LOPAT +---+). Same characteristics also own check strains *Pseudomonas syringae* (CFBP 11). According obtained results it was concluded that necrosis of sweet cherry fruits is caused by *Pseudomonas syringae*. Further characteristic in order proper detection of pathogens, including molecular methods are underway.

Key words: sweet cherry, fruit necrosis, *Pseudomonas syringae*, pathogenicity, bacteriological characteristics

(Received: 17.11.2014.)

(Accepted: 12.12.2014.)