

# 臺灣李細菌性穿孔病菌之特性<sup>1</sup>

黃冬青<sup>2</sup>、沈原民<sup>3\*</sup>、劉興隆<sup>4</sup>、趙佳鴻<sup>4</sup>

## 摘 要

過去在臺灣針對薔薇科果樹細菌性穿孔病的記錄與報告甚少，本文以梨山李果實、葉片、枝條分離的三株李細菌性穿孔病菌(*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*)描述其形態、核酸序列特性、以及碳源利用之型態。觀察到細菌的形狀為桿狀，不產生孢子，大小0.8-1.0 × 1.6-2.7 μm，具有一條極生鞭毛。分離得到三株細菌的16S rDNA與已知的*X. arboricola*有99-100%的序列相同度。三株細菌的*rpoD*基因序列與已知*X. arboricola* pv. *pruni*序列皆100%相同，以*rpoD*基因序列特性可鑑定*X. arboricola* pv. *pruni*病原小種。分析此三株於臺灣分得之病原菌的碳源代謝活性，亦大致與*X. arboricola*相符，主要的差異為三株菌皆無法利用glycogen與acetic acid。本文首次以在臺灣取得的*X. arboricola* pv. *pruni*樣本，呈現細菌之形態、16S rDNA及*rpoD*序列、及碳源利用特性。

**關鍵字：***Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*、植物病原細菌、果樹、李、Biolog代謝指紋

## 前 言

種植在臺灣的東方李(*Prunus salicina* Lindl.)源自中國<sup>(2,8)</sup>，早期種植在臺灣北部文山、深坑一帶<sup>(3,5)</sup>，而後廣泛種植在新竹新埔、關西，中部的員林、南投，以及北部宜蘭等地<sup>(2,10)</sup>，中部橫貫公路開闢後中橫沿途栽培面積增加<sup>(6)</sup>，1990年後臺灣李樹栽培逐年減少，2012年李種植面積為2,649公頃<sup>(4)</sup>。

過去，中興大學的研究學者觀察到細菌性穿孔病為害桃<sup>(6,7)</sup>、或可能感染李<sup>(7)</sup>，但在臺灣並無針對薔薇科果樹細菌性穿孔病的詳細記錄與報告。2009~2011年，我們在梨山取得的李樣本具有細菌性穿孔病的徵狀，藉由比對*gyrB*基因序列、增幅第三型致病蛋白(type three effector)之核酸片段、及完成科霍氏法則，鑑定確認從李果實、葉片及枝條分出來的三株細菌為*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*，可引起李細菌性穿孔病<sup>(16)</sup>。本篇報告係利用上述本地李所分離到的三株*X. arboricola* pv. *pruni*為材料，繼續做進一步特性分析，描述其形態、核酸序列特性、以及碳源利用之型態。

<sup>1</sup> 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0845 號。

<sup>2</sup> 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究助理。

<sup>3</sup> 行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員，\*通訊作者 shenym@tdais.gov.tw。

<sup>4</sup> 行政院農業委員會臺中區農業改良場副研究員。

## 材料與方法

### 一、李細菌性穿孔病樣本及供試菌株

2011年6月至10月，將自臺中市和平區梨山取得具細菌性穿孔病之李果實、葉片及枝條，將產生病徵的部位用75%之酒精做表面消毒，風乾後，從病徵邊緣及健康部位交界處切下一小塊組織，置於載玻片上，滴一滴無菌蒸餾水，靜置2~3分鐘後，以無菌移殖環沾取，劃線於營養洋菜培養基(nutrient agar, NA, Difco)上，置於30°C培養箱中，培養2~3天，挑取單一菌落移至新的NA平板培養基中，進行後續試驗，並將菌株寄存在食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心(臺灣，新竹)，從李果實、葉片及枝條分離到3個菌株代號分別為BCRC80476、BCRC80478、BCRC80481。

### 二、穿透式電子顯微鏡(transmission electron microscopy, TEM)觀察

將培養於NA平板上之細菌懸浮於無菌蒸餾水中，吸取菌液滴在石臘膜上；覆蓋上經formvar支持膜(高分子膜)及碳素補強的銅網10分鐘，以濾紙吸乾銅網上多餘之液體；將其銅網覆於0.1% bacitracin上固定2分鐘後，移至無菌蒸餾水上水洗30秒，以濾紙吸乾銅網上多餘之液體；再用2%醋酸二氧鈾(uranyl acetate, UA)染色2分鐘後，移至無菌蒸餾水上水洗30秒，以濾紙吸乾多餘之液體後，置入穿透式電子顯微鏡(JEOL, JEM 1400)內，觀察銅網上細菌之菌體形態。

### 三、細菌核酸萃取及序列片段取得

取培養在NA平板上之細菌，挑取單一菌落至5 ml的Luria-Bertani Broth (LB: tryptone 1%, yeast extract 0.5%, NaCl 1%, 1 ml 1N NaOH)作液態培養，於30°C震盪培養24小時。使用Tissue and Cell Genomic DNA Purification Kit (GeneMark, Taiwan)參照原廠說明抽取細菌全DNA，將取得之細菌DNA保存於-20°C冰箱備用。

將萃取之DNA委託源資生物科技公司，以針對細菌的通用引子對8F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')及1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')<sup>(18)</sup>進行聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)，增幅其16S rDNA並進行定序(Applied Biosystems 3730)。

選擇針對細菌RNA polymerase sigma factor (*rpoD*)之基因序列增幅之引子對XrpoD1F (5'-TGGAACAGGGCTATCTGACC-3')及XrpoD1R (5'-CATTCYAGGTTGGTCTGRTT-3')<sup>(20)</sup>進行PCR，PCR增幅條件以94°C先反應2 min，之後進行共30個循環的94°C 1 min，60°C 1 min，72°C 2 min條件，最後再進行72°C 10 min 1個循環，將取得之PCR產物委託源資生物科技公司以上述引子對進行定序。

利用NCBI (National Center for Biotechnology Information)線上nucleotide blast程序比對取得的序列與資料庫中序列的相同度(identity)。

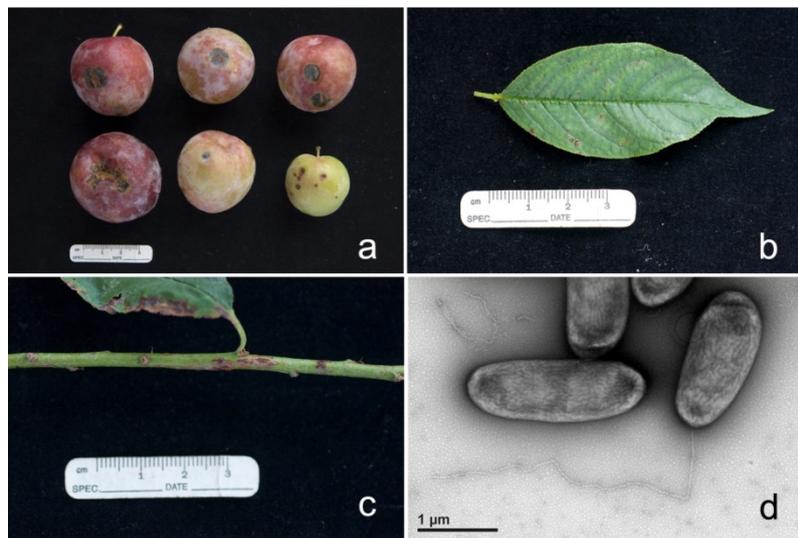
#### 四、Biolog碳源利用型態分析

將細菌增量培養於BUG™ Agar (Biolog Inc.)培養基中，置於30°C生長箱內培養約24小時，以滅菌過之棉花棒沾菌，懸浮於GN/GP inoculating fluid (0.40% sodium chloride, 0.03% Pluronic F-68, 0.01% Gellan Gum)中，調整懸浮液濃度至所需之透光值為52%±3% T (turbidity)，再以八爪微量吸取器分別吸取150 µl細菌懸浮液，接種於GN2反應盤(Biolog Inc.)之96個凹槽中，置於30°C下培養，48小時後以MicroStation reader及Microlog™ System, Release 4.20.05軟體(Biolog Inc.)讀取細菌對95種不同的碳素源的利用情況。每株菌共進行2次獨立的測試，選擇其中一次實驗結果呈現，Biolog讀值大於100者記為+反應，小於100者記為-反應。

### 結果與討論

#### 一、李細菌性穿孔病之病徵與形態

李細菌性穿孔病在李果實上產生接近黑色或褐色、圓形或不規則形狀，凹陷而具有裂痕的壞疽斑點，周圍略為褪色(圖一a)；在葉片上產生紅褐色、近圓形的斑點，斑點周圍呈現褪綠至黃色暈圈，嚴重感染的斑點脫落而在葉片上留下穿孔(圖一b)；在莖部則形成紅褐色、多為縱裂凹痕的潰瘍徵狀(圖一c)。培養李細菌性穿孔病菌(*X. arboricola* pv. *pruni*)在NA平板上，為淡黃色、光滑、具黏稠狀的菌落，測試具有革蘭氏陰性菌的特性。TEM觀察分離到的3株細菌：BCRC80476、BCRC80478、BCRC80481形態皆類似，形狀為桿狀，不產生孢子(non-sporing)，大小0.8-1.0×1.6-2.7 µm，具有一條極生鞭毛(single polar flagellum) (圖一d)。



圖一、*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* 引起之李細菌性穿孔病。a：果實病徵。b：葉片病徵。c：枝條病徵。d：TEM 下的細菌形態，具有單鞭毛。

Fig. 1. Bacterial spot of Japanese plum caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. a. symptom on fruits. b. leaf symptom. c. stem symptom. d. bacterial morphology under TEM.

李細菌性穿孔病在臺灣李果實上的病徵與在西班牙所觀察到李病果上的病徵大致相同，惟其照片中果實黑斑邊緣的褪色、黃色暈圈較為明顯<sup>(15)</sup>，而在臺灣觀察到李罹病果病斑周圍的黃暈不明顯，或許是李品種、病原菌或環境引起的差異。此外，過去在梨山取得部份果實上黑色凹陷圓斑表面附有真菌孢子，診斷時須判斷為真菌感染或為真菌附生在細菌性穿孔病感染的病斑表面上。葉片及莖部病徵方面，在臺灣分離得到的三株細菌菌株接種在李盆苗上，其葉片及莖部病徵與在果園觀察到的病徵相同<sup>(16)</sup>，此三株菌接種在健康植物後於葉片及莖部引起的病徵無明顯差異。在2013年李細菌性穿孔病在臺灣正式記錄之前<sup>(16)</sup>，在臺灣並無細菌性病危害李樹之記錄或研究<sup>(1)</sup>，容易被輕忽而造成問題，因此，在臺灣栽培李樹一旦發現葉片穿孔、莖部潰瘍、或果實黑斑的數量上升時須注意細菌性穿孔病管理。

## 二、李細菌性穿孔病菌之16S rDNA及*rpoD*序列

在臺灣分離到的李細菌性穿孔病菌BCRC80476、BCRC80478、BCRC80481的16S rDNA序列上傳至Genbank取得編號分別為KJ156333、KJ156334、KJ156335，與*X. arboricola* MAFF 211922 (AB558553)<sup>(9)</sup>、*X. arboricola* pv. *juglandis* NCPPB 411 (AB558555)<sup>(9)</sup>的16S rDNA序列皆具有100%的序列相同度，這3株細菌的16S rDNA與*X. arboricola* pv. *pruni* LMG852 (FJ606765)<sup>(13)</sup>、*X. arboricola* pv. *pruni* NCPPB 416 (AB558556)<sup>(9)</sup>、及*X. arboricola* pv. *juglandis* LMG 747 (NR\_027606)<sup>(13)</sup>的16S rDNA皆有99%的序列相同度，除此之外這3株細菌的16S rDNA也與其他多種*Xanthomonas*的相關序列具有99-100%的序列相同度。過去研究顯示*Xanthomonas*屬內不同物種的16S rDNA之序列高度相似<sup>(13)</sup>，單以此序列片段無法將*X. arboricola*從其他種類區分出來。

而BCRC80476、BCRC80478、BCRC80481的*rpoD*序列上傳至Genbank取得編號分別為KJ156336、KJ156337、KJ156338，與*X. arboricola* pv. *pruni* ICMP 51 (EU499072)<sup>(20)</sup>的序列皆有100%的相同度，而這3株細菌的*rpoD*序列與資料庫中其他病原小種*X. arboricola*的*rpoD*序列相同度為99%，與其他物種的*rpoD*序列相同度低於99%。過去其他研究團隊利用*rpoD*序列可區辨*X. arboricola*及其他不同*Xanthomonas*物種<sup>(12,20)</sup>，以*rpoD*序列建構的親緣關係樹中，monophyletic的病原小種當中以*X. arboricola* pv. *pruni*的不同分離株最為相近，共20株細菌的*rpoD*序列完全相同<sup>(12)</sup>，我們在臺灣李樹分得3株李細菌性穿孔病菌的*rpoD*序列與目前已發表在NCBI資料庫中的*X. arboricola* pv. *pruni* *rpoD*序列同樣為100%相同，顯示*X. arboricola* pv. *pruni*的*rpoD*序列幾近無變異，保守性高，或許與該病原小種特化感染薔薇科植物相關。

研究指出*X. arboricola*族群內序列的多樣性低<sup>(14)</sup>，*X. arboricola* pv. *pruni*也同樣具低度多樣性(low diversity)<sup>(11)</sup>，區別這類病原菌須配合16S rDNA以外的其他基因輔助鑑定，例如*rpoD*、*gyrB*、第三型致病蛋白基因<sup>(12,16)</sup>，以臺灣分離到的細菌進行的研究結果與國外文獻中的描述相似，能夠相互佐證。

## 三、李細菌性穿孔病菌之碳源利用之型態

BCRC80476、BCRC80478、BCRC80481三個菌株之碳源利用之資料詳如表一，可在Biolog

系統比對得知細菌為*Xanthomonas*屬。雖然在資料庫(Microlog™ System, Release 4.20.05)中沒有*X. arboricola* pv. *pruni*的資料可供比對，但BCRC80476、BCRC80478、BCRC80481三個菌株之碳源利用與Vauterin *et. al.*實驗結果中*Xanthomonas* DNA homology group 4 (*X. arboricola*)的Biolog資料大致相符<sup>(19)</sup>。

在臺灣分離到的李細菌性穿孔病菌與Vauterin *et. al.* <sup>(19)</sup>取得的*X. arboricola* Biolog資料有部份差異，主要的差異在於glycogen (A4)及acetic acid (D1)之利用(表一)。在臺灣分得的三株細菌無法代謝利用glycogen(三株菌的Biolog讀值分別為33, 37, 93)，而過去取得*X. arboricola*利用glycogen比率為92%；在臺灣分得的三株細菌皆無法利用acetic acid(三株菌的Biolog讀值分別為4, 22, 63)，但過去取得*X. arboricola*利用acetic acid比率為92%。此外，maltose (B10)之利用性亦相當特殊，在臺灣取得三株細菌中有兩株無法代謝利用maltose(三株菌的Biolog讀值分別為9, 35, 120)，而可代謝利用maltose之菌株在另一次測試中無法代謝利用maltose(Biolog讀值為42)，但過去取得*X. arboricola* 100%利用maltose。Vauterin等人將glycogen、acetic acid、maltose及其他碳源之利用性共同作為鑑別*X. arboricola*與其他*Xanthomonas*屬細菌之依據<sup>(19)</sup>，但由臺灣取得的李細菌性穿孔病菌Biolog資料，呈現出*X. arboricola* pv. *pruni*利用glycogen、acetic acid、maltose這三種碳源的多樣性，以這三種碳源作為特徵仍須搭配其他證據才能確切鑑定*X. arboricola*。其他部份碳源之利用如dextrin (A3)、D-cellobiose (A12)、D-raffinose (C4)、D-trehalose (C8)、D, L-carnitine (G11)雖與文獻描述有差異(表一)<sup>(19)</sup>，但由於具有差異的Biolog讀值接近100，位在臨界值(borderline)，為較低程度的差異。實驗結果顯示不同批次取得的碳源利用資料具有差異，且區別正、負反應或臨界值無固定標準，不同研究人員設定的判讀標準可能得到不同結果，但本研究中取得的資料與過去研究中呈現的碳源利用趨勢相符，部份具有多樣性，可作為未來使用Biolog系統鑑定*X. arboricola* pv. *pruni*的參考依據。

#### 四、結語

*X. arboricola* pv. *pruni*引起的薔薇科植物細菌性穿孔病在世界不同地區引起不同程度的病害流行(epidemics)，可能與不同細菌病原小種、植物品種特性、栽培環境有關<sup>(17)</sup>，瞭解病原的特性有助於病害的管理及預防。*X. arboricola* pv. *pruni*在歐洲被列為檢疫的病原，過去許多研究來自歐洲的學術團隊，在臺灣少有相關資料，本文首次以在臺灣取得的*X. arboricola* pv. *pruni*樣本，呈現細菌之形態、16S rDNA及*rpoD*序列、及碳源利用特性，提供李與薔薇科細菌性穿孔病菌特性之基礎資料。

## 致 謝

我們要謝謝本場同仁與長官在各方面的支持，以及中興大學曾國欽老師研究室在實驗上的協助，感謝你們。

表一、以 Biolog GN microplate 測試 *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* 利用 95 種碳源之代謝活性  
 Table 1. Metabolic activities of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* on 95 carbon substrates in the Biolog GN microplate assay<sup>1</sup>

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Water												
A		α-Cyclodextrin	Dextrin	Glycogen	Tween 80	Tween 40	N-Acetyl-D-glucosamine	N-Acetyl-D-glucosamine	Acetoin	L-Arabinose	D-Arabinol	D-Cellobiose
		- - - <sup>3</sup>	+ + +	- - -	+ + +	+ + +	- - -	+ + +	- - -	+ + +	- - -	- + -
		(100)	(100)	(92)	(75)	(92)	(100)	(100)	(0)	(8)	(0)	(100)
B		D-Fructose	L-Fucose	D-Galactose	Gentiobiose	α-D-Chrose	m-Inositol	α-D-Lactose	Lactulose	Maltose	D-Mannitol	D-Mannose
		+ + +	+ + +	- + +	- + +	+ + +	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	+ + -
		(100)	(92)	(100)	(92)	(100)	(0)	(42)	(62)	(100)	(0)	(100)
C		D-Melibiose	D- Psicose	D-Raffinose	L-Rhamnose	D-Sorbitol	Sucrose	D-Trehalose	Turanose	Xylitol	Pyruvic acid methyl ester	Succinic acid mono-methyl ester
		- - -	+ + +	- - -	- - -	- - -	+ + +	- + +	- - -	- - -	+ + +	+ + -
		(83)	(100)	(0)	(0)	(33)	(75)	(100)	(58)	(0)	(100)	(92)
D		Acetic acid	Cis-Aconitic acid	Formic acid	D-Galactonic acid lactone	D-Galactonic acid	D-Gluconic acid	D-Guconamic acid	D-Glucuronic acid	α-Hydroxy butyric acid	β-Hydroxy butyric acid	γ-Hydroxy butyric acid
		- - -	+ + +	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
		(92)	(67)	(75)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(67)	(17)	(0)
E		p-Hydroxyphenyl acetic acid	Itraconic acid	α-Keto glutaric acid	p-Keto valeric acid	D,L-Lactate acid	Malonic acid	Propionic acid	Quinic acid	D-Saccharic acid	Sebacic acid	Succinic acid
		- - -	- - -	- - -	- - -	+ + +	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	+ + -
		(0)	(0)	(100)	(0)	(92)	(42)	(58)	(58)	(0)	(0)	(100)
F		Bromosuccinic acid	Succinamic acid	Glucuronamide	L-Alaninamide	L-Alanine	L-Alanylglycine	L-Asparagine	L-Aspartic acid	L-Claramic acid	Glycyl-L-succinic acid	Glycyl-L-succinamic acid
		+ + +	+ + +	- - -	- - -	- - -	+ + +	- - -	- - -	+ + +	- - -	- - -
		(100)	(100)	(0)	(83)	(83)	(75)	(42)	(58)	(100)	(58)	(92)
G		L-Histidine	Hydroxy-L-proline	L-Leucine	L-Ornithine	L-Phenylalanine	L-Proline	L-Tyrosylalanine	D-Serine	L-Threonine	D,L-Carnitine	γ-Amino butyric acid
		- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	+ + +	- - -	+ + +	+ + +	- - -	- - -
		(58)	(33)	(8)	(0)	(67)	(0)	(8)	(83)	(50)	(0)	(0)
H		Urocanic acid	Inositol	Uridine	Thymidine	Phenylethylamine	Purascine	2-Aminoethanol	3,3-Butanediol	Glycerol	D,L-α-Glycerophosphate	D-Glucose 6-phosphate
		- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	+ + +	- - -	- - -
		(17)	(42)	(42)	(0)	(0)	(0)	(0)	(92)	(33)	(17)	(0)

<sup>1</sup>The designations indicated by letters (rows) and numbers (columns) are positions on 96-well microplates.  
<sup>2</sup>Water control.  
<sup>3</sup>Reactions of *X. arboricola* pv. *pruni* strains BCR80476, BCR80478, and BCR80481, respectively. - : a negative reaction determined by the reading value under 100 in the Biolog system.  
 + : a positive reaction determined by the reading value above 100 in the Biolog system.  
<sup>4</sup>The numbers in the parentheses are percentages of metabolic activities of *Xanthomonas* DNA homology group 4 (including *X. arboricola* pv. *corylina*, *X. arboricola* pv. *juglandis*, *X. arboricola* pv. *poussettii*, *X. arboricola* pv. *populi*, and *X. arboricola* pv. *pruni*) in Vauterin et al. (1995)<sup>(19)</sup>.

## 參考文獻

1. 中華民國植物病理學會 2002 台灣植物病害名彙 p. 213-216 中華民國植物病理學會。
2. 田中諭一郎 1936 臺灣在來果樹圖說(一) 熱帶園藝 6(2): 175-179。
3. 多田喜造 1915 李 p.253~261 臺灣熱帶果樹論 日本柑橘會 靜岡, 日本。
4. 行政院農業委員會 2012 農業統計要覽 行政院農業委員會。
5. 島田彌市 1908 深坑聽內湖庄ニ於ケル李樹栽培 臺灣農事報 21: 37-42。
6. 孫守恭 1967 臺灣溫帶果樹之病害 植物保護學會會刊 9(3-4): 96。
7. 翁秀蕙、吳文川 1977 臺灣之桃細菌性穿孔病 植物保護學會會刊 19(4): 299。
8. 溫英杰、劉怡伶 2004 李種原評估及其親緣關係之RAPD標誌研究 中華農業研究 53: 97-110。
9. 澤田宏之、功刀幸博、綿打享子、工藤晨、佐藤豊三 2011 *Xanthomonas arboricola* によるブドウ斑点細菌病(新称) 日植病報 77: 7-22。
10. 櫻井芳次郎 1939 李(すもも) p.78-79 臺灣農業叢書果樹 農業圖書刊行會 臺北, 臺灣。
11. Boudon, S., C. Manceau and J. L. Nottéghem. 2005. Structure and origin of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* populations causing bacterial spot of stone fruit trees in western Europe. *Phytopathology*. 95: 1081-1088.
12. Hajri, A., J. F. Pothier, M. F. Saux, S. Bonneau, S. Poussier, T. Boureau, B. Duffy and C. Manceau. 2012. Type three effector gene distribution and sequence analysis provide new insights into the pathogenicity of plant-pathogenic *Xanthomonas arboricola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 371-384.
13. Hauben, L. L. Vauterin, J. Swings and E. R. Moore. 1997. Comparison of 16S ribosomal DNA sequences of all *Xanthomonas* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 328-335.
14. Rademaker, J. L. W., F. J. Louws, M. H. Schultz, U. Rossbach, L. Vauterin, J. Swings and F. J. de Bruijn. 2005. A comprehensive species to strain taxonomic framework for *Xanthomonas*. *Phytopathology*. 95: 1098-1111.
15. Roselló, M. R. Santiago, A. Palacio-Bielsa, F. García-Figueres, C. Montón, M. A. Cambra and M. M. López. 2012. Current status of bacterial spot of stone fruits and almond caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* in Spain. *J. Plant Pathol.* 94: S1.15-S1.21.
16. Shen, Y. M., T. H. Huang, C. H. Chao and H. L. Liu. 2013. First report of bacterial spot caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* on Japanese plum in Taiwan. *Plant Dis.* 97: 835.
17. Stefani, E. 2010. Economic significance and control of bacterial spot/canker of stone fruits caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. *J. Plant Pathol.* 92:S1.99-S1.103.
18. Turner, S., K. M. Pryer, V. P. W. Miao and J. D. Palmer. 1999. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *J. Eukaryot. Microbiol.* 46: 327-338.

19. Vauterin, L., B. Hoste, K. Kersters and J. Swings. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 472-489.
20. Young, J. M., D. C. Park, H. M. Shearman and E. Fargier. 2008. A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas*. Syst. Appl. Microbiol. 31: 366-377.

# Characterization of the Bacterial Spot Pathogen of Japanese Plum in Taiwan<sup>1</sup>

Tung-Chin Huang<sup>2</sup>, Yuan-Min Shen<sup>3\*</sup>, Hsing-Lung Liu<sup>4</sup> and Chia-Hung Chao<sup>4</sup>

## ABSTRACT

Few studies in Taiwan focus on *Xanthomonas* bacterial spot disease of stone fruit. This article describes morphology, sequence characters, and carbon source utilization of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* based on three bacterial isolates isolated from Japanese plum fruits, leaves, and branches in Lishan, Taiwan. The bacteria observed were rod shaped (0.8-1.0×1.6-2.7 μm), non-sporing, and with single polar flagellum. The 16S rDNA sequences of the three isolates shared 99-100% identities with those of known *X. arboricola*. Sequences of *rpoD* gene of these isolates were 100% identical to those of known *X. arboricola* pv. *pruni*. Thus, the *rpoD* gene sequences served as a trait for *X. arboricola* pv. *pruni* identification. Metabolic activities of the pathogens obtained in Taiwan generally fit in with metabolic data of *X. arboricola*, except that all three isolates were unable to utilize glycogen and acetic acid. To our knowledge this is the first demonstration of bacterial morphology, sequences of 16S rDNA and *rpoD* gene, and carbon source utilization of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* based on Taiwanese *X. arboricola* pv. *pruni* isolates.

**Key words:** *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, Plant Pathogenic Bacteria, Japanese Plum, Biolog Metabolic Fingerprint

---

<sup>1</sup> Contribution No. 0845 from Taichung DARES, COA.

<sup>2</sup> Research Assistant of Taichung DARES, COA.

<sup>3</sup> Assistant Researcher of Taichung DARES, COA. \*Corresponding author: shenym@tdais.gov.tw

<sup>4</sup> Associate Researchers of Taichung DARES, COA.