

广东红掌细菌性疫病病原菌的遗传多样性分析

付 贝¹ 周晓云² 罗建军¹ 刘琼光¹

1. 华南农业大学资源环境学院/广东省微生物信号与作物病害重点实验室, 广州 510642;

2. 广州花卉研究中心, 广州 510360

摘要 根据细菌基因组内广泛存在的短重复序列 ERIC 设计引物, 采用 Rep-PCR 技术对来自广东省主要红掌种植的 9 个市区 27 个品种的 66 个红掌细菌性疫病菌株 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*, 简称 *Xad*) 进行遗传多样性分析。结果显示, 在相似水平为 0.85 时, 可以分为 14 个遗传组, 其中 I、II 和 X 为主要遗传组, 这表明广东红掌细菌性疫病菌遗传分化明显且具多样性。

关键词 红掌; 细菌性疫病菌; 遗传多样性; Rep-PCR

中图分类号 S 432.4⁺2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)02-0040-06

具有观赏价值的许多天南星科植物, 如万年青、红掌、杯芋和合果芋等在热带及温带地区广泛种植。红掌 (*Anthurium andraeanum*), 因其色彩鲜艳、全年开花, 深受人们的喜爱, 中国现已形成非常可观的红掌产业。然而, 由地毯草黄单胞万年青致病变种 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*, 简称 *Xad*) 引起的细菌性疫病是红掌的毁灭性病害。该病原菌侵染红掌叶片和维管束系统, 造成叶片枯死或整株死亡^[1]。该病害 1972 年在美国夏威夷首次报道^[2], 20 世纪 80 年代, 此病害几乎摧毁整个夏威夷的红掌花卉产业^[3]。*Xad* 现已被世界许多国家列为检疫性有害生物^[4]。近年来, 国内外不断有关于红掌细菌性疫病新病区的报道^[5-8], 在中国广东、云南、海南、台湾等地均有发生^[9]。

红掌具有重要的经济价值, 为减少细菌性疫病造成的重大损失, 研究者对该病原菌的分类鉴定、生理生化和分子检测等方面进行了大量研究^[10-12, 19]。目前, 对病原细菌的鉴定和分型方法主要有 16S rDNA 序列分析、限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 技术、随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic dna, RAPD) 技术、外重复回文序列聚合酶链反应 (repetitive extragenic palindromic sequence polymerase chain reaction, Rep-PCR)、扩增片段长度

多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP) 技术、脂肪酸甲酯 (fatty acid methyl ester analysis, FAME) 和碳源利用等。以黄单胞菌 *Xanthomonas* 作为一种模式微生物, 成功运用 AFLP、Rep-PCR 等基因组指纹方法, 能快速高效地区分菌株间的差异, 表明这些方法可以成为细菌多相分类的核心技术^[13]。研究表明, 来自某些特定天南星科植物上和/或来自特定地理区域的细菌性疫病菌株, 反映了不同的遗传组成和群体基因型^[14-16]。

广东是中国最重要的花卉产区和交易集散地。近年来, 不同红掌品种上均发现有 *Xad*。但对来自不同品种、不同地区的 *Xad* 是否存在菌系差异和遗传多样性迄今尚不清楚。笔者应用 Rep-PCR 技术对广东红掌细菌性疫病菌进行分析, 旨在揭示该病原菌群体的遗传多样性, 为对红掌细菌性疫病进行分子监测、快速诊断和抗病育种等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株及其来源

供试地毯草黄单胞万年青致病变种 *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (*Xad*) 菌株来自广东省广州、番禺、从化、高明、高要、珠海、肇庆、中山、顺德等主要红掌种植基地, 所有菌株由华南农业大学细菌研究室保存与提供 (表 1)。

收稿日期: 2013-08-24

基金项目: 广东省科技计划项目 (2010B020401002) 和广州市科技计划项目 (4200-10028)

付 贝, 硕士研究生。研究方向: 植物细菌病害。E-mail: 337160711@qq.com

通信作者: 刘琼光, 博士, 副教授。研究方向: 植物细菌病害。E-mail: qgliu@scau.edu.cn

表 1 *Xad* 菌株来源
Table 1 Origins of *Xad* strains

| 菌株编号 No. strain | 红掌品种 Anthurium varieties | 地理来源 Geographical origin | 菌株编号 No. strain | 红掌品种 Anthurium varieties | 地理来源 Geographical origin |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>Xad1</i> -1 | 亚丽桑娜 Arazona | 珠海 Zhuhai | <i>Xad29</i> | Fantasy love | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad1</i> -2 | 亚丽桑娜 Arazona | 珠海 Zhuhai | <i>Xad30</i> | Ventanasens | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad2</i> | 情迷 Qingmi | 珠海 Zhuhai | <i>Xad31</i> | Ventanasens | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad3</i> | 阿拉巴马 Alabama | 珠海 Zhuhai | <i>Xad32</i> | 激情 Passion | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad4</i> -1 | 大哥大 Dakota | 珠海 Zhuhai | <i>Xad33</i> | Lady love | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad4</i> -2 | 大哥大 Dakota | 珠海 Zhuhai | <i>Xad34</i> | Sempre | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad5</i> -1 | 亚丽桑娜 Arazona | 番禺 Panyu | <i>Xad35</i> | 田纳西 Tennessee | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad5</i> -2 | 亚丽桑娜 Arazona | 番禺 Panyu | <i>Xad36</i> | 激情 Passion | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad6</i> | 大哥大 Dakota | 肇庆 Zhaoqing | <i>Xad37</i> | Winny | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad7</i> | 粉冠军 Pink champion | 肇庆 Zhaoqing | <i>Xad38</i> | Sacha | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad8</i> | 大哥大 Dakota | 珠海 Zhuhai | <i>Xad39</i> | 樱桃红 Cherry red | 从化 Conghua |
| <i>Xad9</i> -1 | 粉冠军 Pink champion | 珠海 Zhuhai | <i>Xad40</i> | 大哥大 Dakota | 从化 Conghua |
| <i>Xad9</i> -2 | 粉冠军 Pink champion | 珠海 Zhuhai | <i>Xad41</i> | 情迷 Qingmi | 从化 Conghua |
| <i>Xad10</i> | 小蜜蜂 Galaga | 珠海 Zhuhai | <i>Xad42</i> | 骄阳 Sunfire | 从化 Conghua |
| <i>Xad11</i> | 大哥大 Dakota | 中山 Zhongshan | <i>Xad43</i> | 大哥大 Dakota | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad12</i> | 大哥大 Dakota | 中山 Zhongshan | <i>Xad44</i> | 大哥大 Dakota | 顺德 Shunde |
| <i>Xad13</i> | 大哥大 Dakota | 中山 Zhongshan | <i>Xad45</i> | 大哥大 Dakota | 顺德 Shunde |
| <i>Xad14</i> | 粉冠军 Pink champion | 中山 Zhongshan | <i>Xad46</i> | 大哥大 Dakota | 高明 Gaoming |
| <i>Xad15</i> | 粉冠军 Pink champion | 中山 Zhongshan | <i>Xad47</i> | 大哥大 Dakota | 高明 Gaoming |
| <i>Xad16</i> | 宁静 Serenity | 高明 Gaoming | <i>Xad48</i> -1 | 大哥大 Dakota | 高明 Gaoming |
| <i>Xad17</i> | 大哥大 Dakota | 高明 Gaoming | <i>Xad48</i> -2 | 大哥大 Dakota | 高明 Gaoming |
| <i>Xad18</i> | 阿拉巴马 Alabama | 高明 Gaoming | <i>Xad49</i> | 白公主 White princess | 高明 Gaoming |
| <i>Xad19</i> -1 | 粉冠军 Pink champion | 高要 Gaoyao | <i>Xad50</i> | 粉冠军 Pink champion | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad19</i> -2 | 粉冠军 Pink champion | 高要 Gaoyao | <i>Xad51</i> | 阿拉巴马 Alabama | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad20</i> | 甜梦 Sweet dream | 广州 Guangzhou | <i>Xad52</i> | 大哥大 Dakota | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad21</i> | Midori | 广州 Guangzhou | <i>Xad53</i> | 阿拉巴马 Alabama | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad22</i> | 新株系 New line | 广州 Guangzhou | <i>Xad54</i> | 阿拉巴马 Alabama | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad23</i> | 新株系 New line | 广州 Guangzhou | <i>Xad55</i> | 粉冠军 Pink champion | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad24</i> | Mystral | 广州 Guangzhou | <i>Xad56</i> | 粉冠军 Pink champion | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad25</i> | 肯塔基 Kentucky | 广州 Guangzhou | <i>Xad57</i> | 大哥大 Dakota | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad26</i> | Fiesta | 广州 Guangzhou | <i>Xad58</i> | 粉冠军 Pink champion | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad27</i> | 红冠军 Red champion | 广州 Guangzhou | <i>Xad59</i> | 粉冠军 Pink champion | 广州 Guangzhou |
| <i>Xad28</i> | Impreza | 广州 Guangzhou | <i>Xad60</i> | 粉冠军 Pink champion | 广州 Guangzhou |

1.2 病原细菌基因组 DNA 的提取

将 *Xad* 菌株接种在 LB 液体培养基中, 30 °C, 180 r/min, 振荡培养 12 h。采用试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)方法, 提取病原细菌基因组总 DNA, 将 DNA 质量浓度调至 50 ng/mL, 在 1.0% 的琼脂糖凝胶上进行电泳。

1.3 引物序列及合成

采用以细菌基因组内广泛存在的短重复序列 ERIC 为基础设计的引物 ERIC1R (5'-ATGTA-AGCTCCTGGGGATTAC-3') 和 ERIC2 (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3')^[17], 均由上海英骏基因公司合成。

1.4 Rep-PCR 反应

PCR 反应液体积为 25 μ L, 其中 *Xad* DNA 模

板 1 μ L、10 \times PCR buffer 2.5 μ L、dNTPs 2 μ L、引物各 1 μ L、*Tag* 酶(5 U/ μ L) 0.4 μ L, 用双蒸水补足。反应条件: 预变性 95 °C 7 min, 循环 32 次(变性 94 °C 1 min, 退火 52 °C 1 min, 延伸 65 °C 8 min), 最后 65 °C 下 15 min, PCR 产物 4 °C 保存。

1.5 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳检测

取 6~8 μ L 扩增产物于 1.5% 琼脂糖胶上电泳(时间 2~3 h), 电泳完毕, 将凝胶置于凝胶成像系统中扫描。

1.6 Rep-PCR 图谱的聚类分析

利用 ERIC 引物扩增产物电泳图谱中各位点条带的有无对 REP-PCR 扩增产物的指纹图谱进行读带, 有带的记为“1”, 无带的记为“0”, 制成 Excel 文件用于聚类分析。

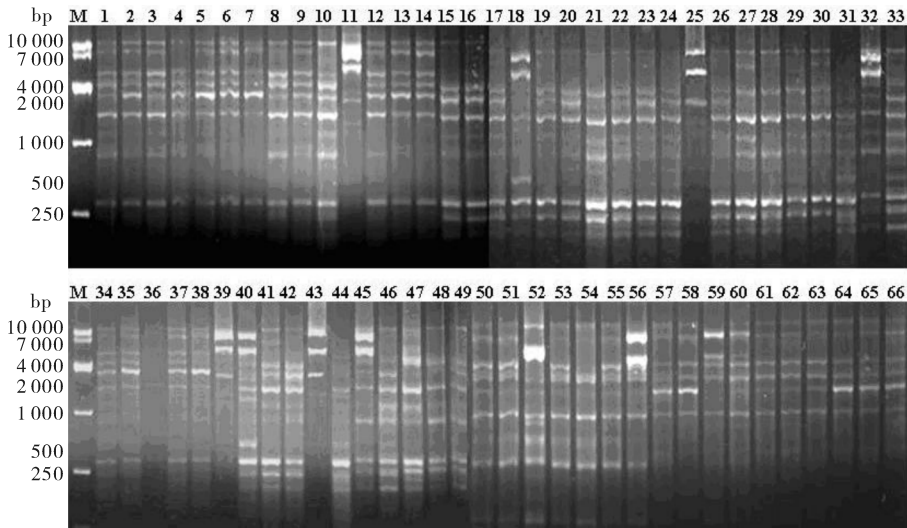
利用 Ntsys 软件包,对结果以非加权算术平均数配对法(unweighted pair-group method with arithmetic averages,UPGMA)绘出聚类树状图,构建系统树状图谱,并进行菌株的聚类分析。

2 结果与分析

2.1 Rep-PCR 分析

引物 ERIC 扩增出的 DNA 片段大小范围为 300 bp~10 kb,琼脂糖电泳有 6~13 条主带,共有

8 种指纹谱型,其中有些谱型仅有一个带位之差,如 *Xad17* 与 *Xad18*、*Xad27* 与 *Xad30*; *Xad13*、*Xad35*、*Xad42* 和 *Xad56* 等菌株与其他菌株电泳指纹图谱差异较大(图 1);同一地点不同品种分离出的菌株指纹图谱差异不明显,但也有特殊情况,如 *Xad41* 与 *Xad42* 均采自从化,但品种不同,指纹图谱有明显差异;同一品种不同地点的菌株部分指纹图谱有差异,如 *Xad11* 与 *Xad17*,有些差异不明显;不同地点不同品种菌株间差异相对明显。



M: DL 10 000 marker; 1~66: *Xad24*, *Xad25*, *Xad26*, *Xad27*, *Xad28*, *Xad30*, *Xad31*, *Xad32*, *Xad33*, *Xad34*, *Xad35*, *Xad36*, *Xad37*, *Xad38*, *Xad39*, *Xad40*, *Xad41*, *Xad42*, *Xad44*, *Xad45*, *Xad46*, *Xad47*, *Xad48-1*, *Xad48-2*, *Xad49*, *Xad50*, *Xad51*, *Xad52*, *Xad53*, *Xad54*, *Xad55*, *Xad56*, *Xad57*, *Xad1-1*, *Xad1-2*, *Xad29*, *Xad2*, *Xad3*, *Xad4-1*, *Xad4-2*, *Xad5-1*, *Xad5-2*, *Xad6*, *Xad7*, *Xad16*, *Xad43*, *Xad58*, *Xad59*, *Xad60*, *Xad8*, *Xad9-1*, *Xad9-2*, *Xad10*, *Xad11*, *Xad12*, *Xad13*, *Xad14*, *Xad15*, *Xad17*, *Xad18*, *Xad19-1*, *Xad19-2*, *Xad20*, *Xad21*, *Xad22*, *Xad23*.

图 1 *Xad* 菌株的 Rep-PCR 电泳图

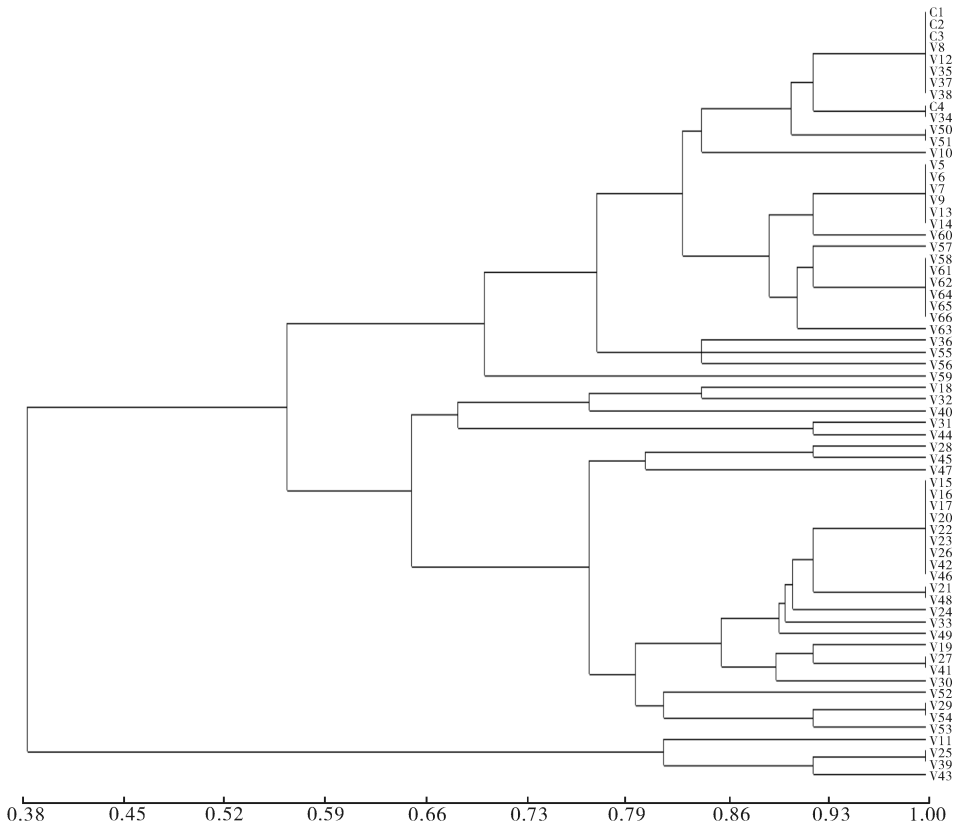
Fig. 1 The Rep-PCR electrophoresis map of *Xad* strains

2.2 *Xad* 菌株的聚类分析

根据 PCR 扩增 DNA 产物电泳带位的有无,转换为数码 1 或 0,采用 Ntsys 软件对红掌细菌性疫病的 66 个菌株进行 UPGMA 聚类分析,绘制成树状图。分析结果表明,在相似水平为 0.85 时,供试的 66 个菌株可以分为 14(I~XIV)个遗传组,其中 I、II 和 X 为主要遗传组(图 2)。

遗传组 I 包括 *Xad24*、*Xad25*、*Xad26*、*Xad32*、*Xad36*、*Xad27*、*Xad34* 等 7 个来自广州进口红掌上的菌株,以及 *Xad3*、*Xad1-1*、*Xad1-2*、*Xad2*、*Xad8*、*Xad9-1* 等来自珠海的 6 个不同红掌品种的菌株;遗传组 II 主要以广州的菌株为主,包括 *Xad28*、*Xad30*、*Xad31*、*Xad33*、*Xad37*、*Xad38*、

Xad21、*Xad22*、*Xad23*、*Xad20* 等来自广州进口红掌品种的 10 个菌株,来自高要的 2 个粉冠军品种的菌株 *Xad19-1*、*Xad19-2*,来自中山的 2 个粉冠军品种的菌株 *Xad14*、*Xad15*,以及 1 个来自高明的阿拉巴马菌株 *Xad18*;遗传组 X 主要以广州的菌株为主,包括 *Xad50*、*Xad43*、*Xad59*、*Xad57*、*Xad60*、*Xad51*、*Xad54* 等来自广州本地红掌品种的 7 个菌株,来自高明的 4 个大哥大品种的菌株 *Xad46*、*Xad47*、*Xad48-1*、*Xad48-2*,来自从化的 3 个不同品种的菌株 *Xad39*、*Xad40*、*Xad41*,来自番禺的 2 个均为亚丽桑娜品种的菌株 *Xad5-1*、*Xad5-2*,来自顺德的 2 个大哥大品种的菌株 *Xad44*、*Xad45*。



从上到下对应的 Xad 菌株分别为 From top to bottom corresponding Xad strains, respectively: I. Xad24, Xad25, Xad26, Xad32, Xad36, Xad1-2, Xad2, Xad3, Xad27, Xad1-1, Xad8, Xad9-1, Xad34; II. Xad28, Xad30, Xad31, Xad33, Xad37, Xad38, Xad18, Xad14, Xad15, Xad19-1, Xad19-2, Xad21, Xad22, Xad23, Xad20; III. Xad29, Xad12, Xad13; IV. Xad17; V. Xad42, Xad56; VI. Xad4-2; VII. Xad55, Xad7; VIII. Xad52, Xad16; IX. Xad58; X. Xad39, Xad40, Xad41, Xad45, Xad47, Xad48-1, Xad50, Xad5-2, Xad43, Xad46, Xad59, Xad48-2, Xad57, Xad60, Xad44, Xad51, Xad5-1, Xad54; XI. Xad9-2; XII. Xad53, Xad11, Xad10; XIII. Xad35; XIV. Xad49, Xad4-1, Xad6.

图 2 66 个 Xad 菌株 DNA 的聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of 66 Xad strains generated by UPGMA cluster analysis

3 讨论

近年来,揭示植物病原细菌遗传变异的技术日趋成熟,Rep-PCR 技术已广泛应用于植物病原细菌分类、检测及病原物群体遗传多样性的分析。Rep-PCR 是基于基因组重复序列的一种 DNA 多态性,操作简便、重复性好,目前用于植物病原细菌多样性研究较多的是以细菌基因组的重复序列 REP、ERIC 和 BOX 设计引物,通过 PCR 扩增,比较菌株间的指纹图谱,可快速区分病原细菌种、亚种(致病变种)以及同一致病变种内菌株间的差异。在黄单胞菌 *Xanthomonas* 研究中,国内利用 Rep-PCR 技术成功监测水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)^[18-19]、细条斑病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*)^[20] 和棉花角斑病菌(*Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*)^[21] 的遗传多样性。

国外用 Rep-PCR 技术,对草莓角斑病菌(*Xanthomonas fragariae*)^[22]、甘蓝黑腐病菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)^[23] 等植物病原细菌的菌群遗传谱系变化已有研究。Khoodoo 等^[24] 利用 RAPD-PCR 以及 Southern 技术对主要来自美国和毛里求斯等国家 25 个不同天南星科植物上的 Xad 菌株进行多样性研究,将其分为 4 个遗传组。近年来,国外关于 *Xanthomonas* 遗传多样性的研究越来越多。Dinesh 等^[25] 用 Rep-PCR(Rep-, BOX- and ERIC-PCR)的方法对引起十字花科黑腐病的甘蓝黑腐病菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, 简称 Xcc)印度株的遗传多样性进行了研究,在相似水平为 0.75 时,将 22 个 Xcc 菌株分为 8 个亚组。Adhikari 等^[26] 对美国北达科他州由 *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*(简称 Xtu)引起的细菌性条斑病的遗传多样性进行了评估,用

Rep-PCR 和 IS-PCR 的方法证明了 226 个 *Xtu* 菌株的遗传多样性,并得出不同 *Xtu* 菌株的地理差异。Donahoo 等^[27]用 Rep-PCR 方法对从 10 种天南星科寄主上分离的 175 个 *Xad* 菌株进行综合遗传性分析来鉴定病原菌的突变性,结果将其分为 4 个主要的遗传组。同时,对分离自红掌(*Anthurium andraeanum*)、花叶万年青(*Dieffenbachia seguine*)、合果芋(*Syngonium podophyllum*) 的 40 个 *Xad* 菌株用 AFLP 和 FAME 技术进一步鉴定。

本试验首次对广东红掌细菌性疫病病原菌进行 Rep-PCR 分析,ERIC 聚类分析结果表明,来自广东省主要红掌产区的 9 个市区 27 个红掌品种的 66 个 *Xad* 菌株,可以分为 14 个遗传组,其中 I、II 和 X 为主要遗传组。聚类结果表明,相同地理来源的菌株大体上聚在一类,但也出现一些例外,说明广东红掌细菌性疫病病原菌存在遗传多样性。

通常在利用 Rep-PCR 研究细菌多样性时,是以细菌基因组的重复序列 REP、ERIC 和 BOX 设计引物。本试验在对 *Xad* 菌株进行遗传多样性分析时,使用 REP1R/REP2^[28]、BOX1R^[29] 等引物扩增 *Xad* 后,DNA 电泳谱带很少且不清晰,对菌株的分辨率相对较低,不能有效区分菌株间的遗传差异(未发表资料)。而选用短重复序列 ERIC 引物,进行 PCR 扩增后条带多,多态性丰富且菌株间差异明显,能较好地反映 *Xad* 的遗传多样性。聚类分析结果表明,ERIC 引物可以区分不同来源的 *Xad* 菌株,这对进一步确定 *Xad* 菌株的致病力分化和菌株的遗传变异具有重要参考价值。但 *Xad* 病原菌与不同寄主及其致病性的关系如何,不同寄主来源的 *Xad* 菌株之间的遗传背景有何不同,是否也存在着较高的遗传多样性还有待进一步研究。

根据本试验结果,在红掌细菌性疫病的分子检测、品种抗性鉴定以及红掌种植过程中,要考虑病菌的遗传多样性所导致的致病性分化;在进行抗病育种和品种抗性鉴定时,要选用优势菌群;在大面积种植红掌过程中,要考虑不同品种搭配、防止品种单一,以避免细菌性疫病的大规模流行。

参 考 文 献

- [1] NORMAN D J, ALVAREZ A M. Latent infections of *in vitro* anthurium caused by *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae*[J]. Plant Cell Tiss Org, 1994, 39: 55-61.
- [2] HAYWARD A C. A bacterial new disease of *Anthurium andraeanum* in Hawaii [J]. Plant Dis Rep, 1972, 56: 904-908.
- [3] SHEHATA S A, NISHIJIMA W T. The impact of *Anthurium* blight on the profitability of the industry: proceedings of the 2nd Anthurium Blight Conference [C]. Hilo: [s. n.], 1989: 17-19.
- [4] ANONYMOUS. EPPO standards-diagnostic protocols for regulated pests PM7/23 *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*[J]. Bull OEPP, 2004, 34: 183-186.
- [5] AYSAN Y, SAHIN F. First report of bacterial blight of *Anthurium* caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* in Turkey [J]. Journal of Pathology, 2003(7): 122
- [6] JOUEN E, LAURENT P, ROBENE-SOUSTRADE I, et al. First report in New Caledonia of bacterial blight of anthurium caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* [J]. Plant Disease, 2007, 91: 462.
- [7] 刘琼光, 梁建梅, 李志伟, 等. 红掌细菌性叶枯病的病原鉴定 [J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(2): 174-177.
- [8] PULAWSKA J, KORDYLA-BRONKA M, JOUEN E, et al. First report of bacterial blight of *Anthurium andraeanum* in Poland [J]. Plant Pathol, 2008, 57: 775.
- [9] 卢梦玲, 周晓云, 曾伟达, 等. 红掌细菌性疫病病原菌的 PCR 特异性检测 [J]. 植物病理学报, 2012, 42(1): 1-9.
- [10] NORMAN D, ALVAREZ A M. A rapid method for presumptive identification of *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* and other *Xanthomonads*[J]. Plant Dis, 1989, 73: 654-658.
- [11] LIPP R L, ALVAREZ A M, BENEDICT A A, et al. Use of monoclonal antibodies and pathogenicity tests to characterize strains of *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* from aroids [J]. Phytopathology, 1992, 82: 677-682.
- [12] ISABELLE R S I, LAURENT P, GAGNEVIN L, et al. Specific detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* in *Anthurium* (*Anthurium andraeanum*) tissues by nested PCR [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1072-1078
- [13] RADEMAKER J L, HOSTE W B, LOUWS F J, et al. Comparison of AFLP and Rep-PCR genomic fingerprinting with DNA-DNA homology studies: *Xanthomonas* as a model system [J]. Int J Syst Evol Micr, 2000, 50: 665-677.
- [14] CHASE A R, STALL R E, HODGE N C, et al. Characterization of *Xanthomonas campestris* strains from Aroids using physiological, pathological, and fatty acid analyses [J]. Phytopathology, 1992, 82(7): 754-759.
- [15] GRAHAM J H, CHASE A R. Characterization of *Xanthomonas campestris* strains from aroids by genomic fingerprinting [J]. Phytopathology, 1992, 82: 1124.
- [16] BERTHIER Y, VERDIER A, GUESDON J, et al. Characterization of *Xanthomonas campestris* pathovars by rRNA gene restriction patterns [J]. Appl Environ Microb, 1993, 59(3): 851-859.
- [17] DEVIEDMA D G, MARIN M, CERCENADO E, et al. Evidence of nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* cross-infection in

- a neonatology unit analyzed by three molecular typing methods [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1999, 20: 816-820.
- [18] 王春莲, 章琦, 周永力, 等. 我国长江以南地区水稻白叶枯病原菌遗传多样性分析[J]. *中国水稻科学*, 2001, 15(2): 131-136.
- [19] 姬广海, 何月秋, 张世光, 等. 水稻白叶枯病原菌遗传和致病型多样性分析[J]. *华南农业大学学报*, 2005, 26(2): 26-30.
- [20] 姬广海, 许志刚, 张世光. Rep-PCR 技术对中国水稻稻斑病菌的遗传多样性初析[J]. *植物病理学报*, 2002, 32(1): 26-32.
- [21] ZHAI J L, LUO Y H, ZHENG D J, et al. Evaluation of genetic diversity of highly virulent strains of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* by Rep-PCR fingerprinting [J]. *Journal of Phytopathology*, 2010, 158(11): 764-768.
- [22] STOEGER A, BARIONOVI D, CALZOLARI A, et al. Genetic variability of *Xanthomonas fragariae* strains obtained from field outbreaks and culture collections as revealed by repetitive-sequence PCR and AFLP [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2008, 90(3): 469-473.
- [23] JENSEN B D, VICENTE J G, MANANDHAR H K, et al. Occurrence and diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in vegetable brassica fields in Nepal [J]. *Plant Disease*, 2010, 94: 298-305.
- [24] KHOODOO M H R, JAUFEEERALLY F Y. RAPD-PCR fingerprinting and southern analysis of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* strains isolated from different aroid hosts and locations [J]. *Plant Disease*, 2004, 88: 980-988.
- [25] SINGH D, DHAR S, YADAVA D K. Genetic and pathogenic variability of Indian strains of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* causing black rot disease in crucifers [J]. *Current Microbiology*, 2011, 63(6): 551-560.
- [26] ADHIKARI T B, GURUNG S, HANSEN J M, et al. Pathogenic and genetic diversity of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* in North Dakota [J]. *Phytopathology*, 2012, 102: 390-402.
- [27] DONAHOO R S, JONES J B, LACY G H, et al. Genetic analyses of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* strains reveal distinct phylogenetic groups [J]. *Bacteriology*, 2013, 103(3): 237-244.
- [28] MOHAPATRA B R, MAZUMDER A. Comparative efficacy of five different rep-PCR methods to discriminate *Escherichia coli* populations in aquatic environments [J]. *Water Science & Technology*, 2008, 58(3): 537-547.
- [29] BERG G, ROSKOT N, SMALLA K. Genotypic and phenotypic relationships between clinical and environmental isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37: 3594-3600.

Analysis of the genetic diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* in Guangdong Province

FU Bei¹ ZHOU Xiao-yun² LUO Jian-jun¹ LIU Qiong-guang¹

1. College of Natural Resources & Environment/Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, Guangdong Province, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Guangzhou Flowering Plant Research Centre, Guangzhou 510360, China

Abstract The evaluation of genetic diversity of 66 *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (*Xad*) strains from 27 anthurium varieties in 9 cities from Guangdong Province was conducted by Rep-PCR technology. The DNA of *Xad* was amplified by the primer ERIC and the genetic diversity was evaluated by UPGMA clustering analysis. The results showed that 66 *Xad* strains could be divided into 14 genetic groups at the similarity level of 0.85, and the genetic group I, II and X were the major groups. It shows that there were obvious differentiation and rich diversity in *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* strains in Guangdong Province.

Key words *Anthurium andraeanum*; *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*; genetic diversity; Rep-PCR