

伯利恆之星軟腐病之發生

許秀惠¹ 宋嘉仁¹ 林俊義^{1,2}

¹ 行政院農委會農業試驗所 植物病理組

² 聯絡作者，電子信箱：cylin@wufeng.tari.gov.tw

接受日期：中華民國 97 年 2 月 28 日

摘要

許秀惠、宋嘉仁、林俊義. 2008. 伯利恆之星軟腐病之發生. 植病會刊 17: 145-150.

於台中后里、嘉義新港、彰化田尾等地區栽培之伯利恆之星植株上發現組織水浸狀褐化軟腐的病徵，病徵通常從葉片基部或鱗莖開始發生，初呈水浸狀斑，迅速蔓延形成淡褐色或褐色或黑褐色軟腐，終至葉片或植株倒伏。經柯霍氏法則、生理生化、Biolog 及 PCR 鑑定結果顯示分離所得之病原細菌包括 *Pectobacterium* (原屬於 *Erwinia*) *carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) 及 *Pectobacterium* (原屬於 *Erwinia*) *chrysanthemi* (Ech)。調查田間鱗莖及葉片組織軟腐病徵發生情形，發現不論鱗莖或葉片均以最外層（一~三層）組織最常發生軟腐病徵，其次為最內層組織，以 Ec3F/Ec4R 引子對檢測結果與觀察結果相同。以 Ec3F/4R 引子對檢測不同時期田間罹病植株的鱗莖及葉片組織，結果顯示不論鱗莖或葉片組織於五月、六月及十二月份所取樣品均可檢測到 Ecc 及 Ech 二種軟腐病原，於二月、三月及四月所取樣品檢測結果均只檢測到 Ecc 一種軟腐病原，未測到 Ech。

關鍵詞：伯利恆之星，細菌性軟腐病，PCR，檢測

伯利恆之星 (*Ornithogalum saundersiae* Bak.) 英文名為 Star of Bethlehem，屬單子葉，百合科，聖星百合屬 (*Ornithogalum*) 的鱗莖植物，又名大天鵝絨 (Giant chincherinchee)，為多年生宿根球根花卉^(17, 20, 23)。因花型特殊，且瓶插壽命長達二週以上，故漸受消費者青睞，且栽培管理簡單又省工，已成為新興的球根花卉。近幾年伯利恆之星在台灣的栽培區域有擴大的趨勢，已由最初的南投縣擴及至台中縣、彰化縣、嘉義縣及台北縣的陽明山等地區^(23, 26)。由國內外資料顯示有關伯利恆之星病害的報告闕如，僅聖星百合屬之花卉可查到關於病害的報告，且 De Hertogh⁽⁷⁾ 僅報告病毒病害，未提及細菌性病害。筆者於台中后里等伯利恆之星栽培地區發現病害，其田間病徵通常從葉片基部或鱗莖開始發生，並蔓延至整個鱗莖 (圖一，1) 或葉片組織 (圖一，2)，不論在鱗莖或葉片上均先出現水浸狀斑點，之後葉片軟腐組織呈淡褐色或褐色或黑褐色 (圖一，3)，最後葉片或植株倒伏 (圖一，4)，通常整個軟腐組織帶有難聞的魚腥臭味。因此本研究將確認造成伯利恆之星軟腐問題之病原菌種類，同時了解同一植

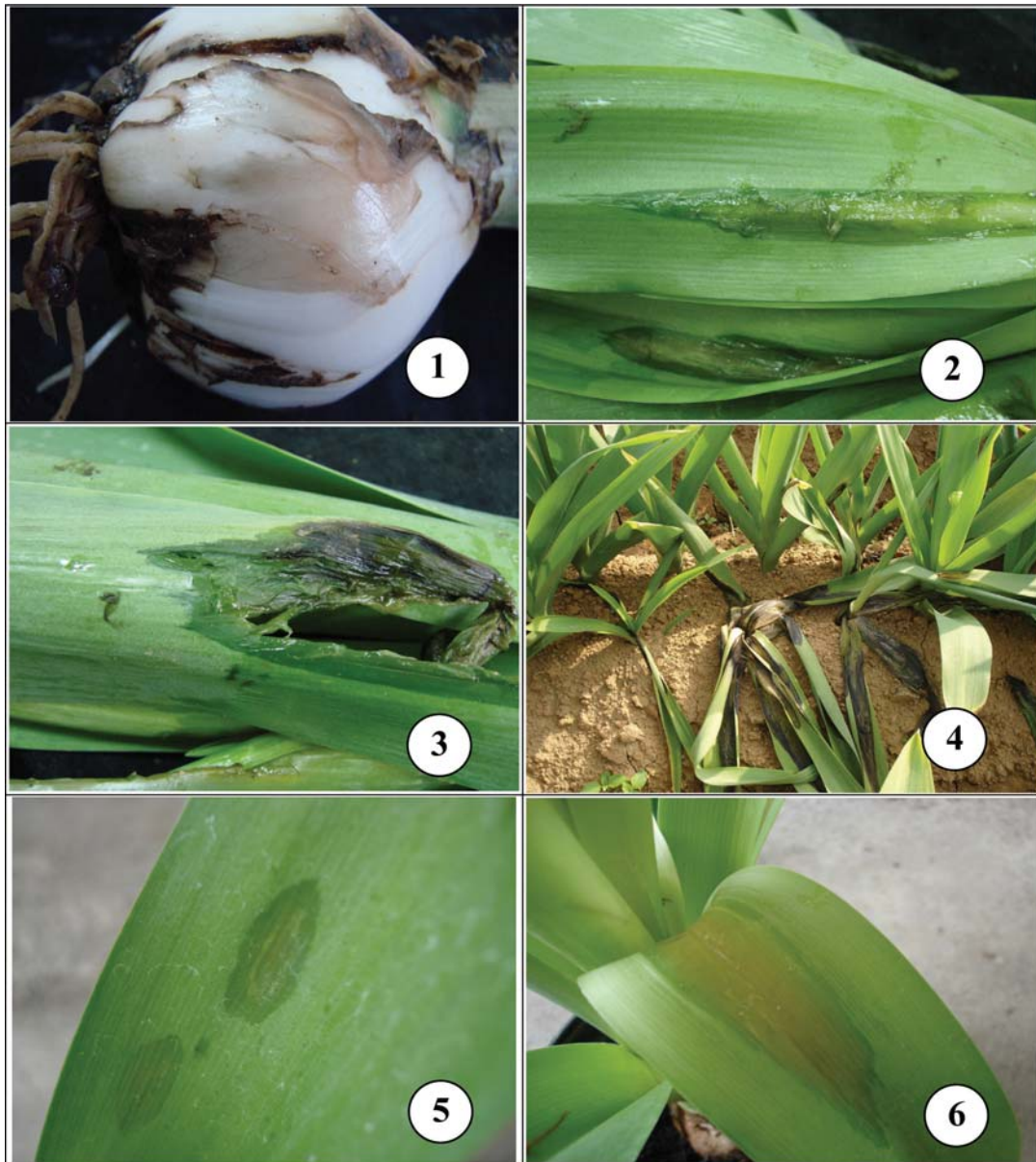
株軟腐病徵發生及不同時期田間植株鱗莖及葉片組織中軟腐病菌的發生情形，以供參考。

從台中后里、彰化田尾、嘉義新港等伯利恆之星栽培區，選取罹病植株之鱗莖及葉片，經 75 % 酒精表面消毒後切取罹病組織，以營養培養基 (nutrient agar, NA) 分離細菌，並移至 NA 斜面備用。分離所得之細菌菌株於 NA 培養後懸浮於無菌蒸餾水中，以分光光譜儀 (spectrophotometer, Bausch & Lomb) 調整其吸收值 (A_{600}) 為 0.3，相當於 10^8 CFU/ml 作為接種源，以注射接種方法分別注射於萬國士煙草葉片內，置室溫下觀察接種結果。於接種後 6 小時內供試煙草葉片即出現壞疽斑反應，之後病徵沿著葉脈快速擴展，於 24 小時內即造成煙草植株之葉柄組織軟腐，將這些會造成軟腐病徵之菌株以 Os 編號。選取 Os42、Os50、Os52、Os57 為供試菌株，依上述方法製備接種源後，以噴霧方法接種於伯利恆之星植株上，以塑膠袋套袋保濕，放置 30 °C 定溫箱中，一天後除去塑膠袋，觀察並記錄病徵出現情形。結果顯示，伯利恆之星植株葉片於噴霧接種 24 小時後即出現水浸狀病斑 (圖一，5)，病斑

顏色漸加深且擴散，約48~72小時後接種葉片皆軟腐且倒伏(圖一，6)，與田間病徵相同，但接種無菌水之植株於接種2-3星期後仍未出現任何病徵。

為確認伯利恆之星病原菌種類，將分離所得之病原細菌 Os42、Os50、Os52、Os57 分別以 Hitach -7000 的穿透式電子顯微鏡，分別觀察細菌形態及鞭毛。並依 De Boer & Kelman⁽⁶⁾ 所述進行生理生化測定，結果顯示供試病原菌為革蘭氏陰性菌(Gram negative)，兼性

厭氧，桿狀，具周生鞭毛之細菌，在 NA 上為白色菌落，圓形邊緣完整，YDC (yeast extract-dextrose-CaCO₃) 上為白色菌落，不具黏稠狀，KB (King's B) 上不具螢光色素，在結晶紫果膠培養基 (crystal violet pectate medium, CVP) 上形成凹陷，此特性顯示供試病原菌屬於 *Pectobacterium* (原屬於 *Erwinia*) 屬。由文獻資料顯示造成組織軟腐的病原細菌包括 *Bacillus*⁽³⁾、*Clostridium*⁽¹⁾、*Erwinia*⁽⁹⁾、*Flavobacterium*⁽²⁷⁾、



圖一、伯利恆之星細菌性軟腐病之病徵。1. 田間罹病鱗莖具黃褐色水浸狀病徵；2. 田間罹病初期葉鞘之水浸狀病徵；3. 田間罹病葉鞘之深褐色水浸狀病徵；4. 田間罹病植株具深褐色水浸狀病徵且植株倒伏；5. 混菌接種伯利恆之星葉片出現水浸狀病斑；6. 混菌接種伯利恆之星葉片組織軟腐。

Fig 1. Symptoms of bacterial soft-rot of Star of Bethlehem. Naturally infected bulb (1), leaves (2-3), plants (4), and artificially inoculated plants at 1 (5) and 2-3 (6) days post inoculation with mixed suspension of *Pectobacterium* (*Erwinia*) *carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) strain Os42 and *Pectobacterium* (*Erwinia*) *chrysanthemi* (Ech) strain Os50.

Pseudomonas⁽²²⁾ 及 *Xanthomonas*⁽²¹⁾ 等，其中以 *Erwinia* 屬最為常見^(9, 16, 24, 29, 30)，在台灣由 *Erwinia* 屬引起之軟腐病同樣普遍發生^(16, 31)，其屬內造成軟腐的細菌包括 *E. carotovora* subsp. *atroseptica* (Eca)、*E. carotovora* subsp. *betavascularum* (Ecb)、*E. carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) 及 *E. chrysanthemi* (Ech) 等⁽⁶⁾，其中又以 Ecc 最為常見^(9, 16, 29, 31)。以 Biolog Identification System 進行細菌 Os42 及 Os50 鑑定，最後將資料輸入 Biolog GN 2 (Biology 6.01版) 資料庫中比對以鑑定其種屬⁽¹⁸⁾，結果顯示 Os42 為 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc)，其相似值為 0.860，Os50 為 *Pectobacterium chrysanthemi* (Pch)，其相似值為 0.798，Hauben 等人於 1998 年利用 16S rDNA 進行分析後，將 Ecc 及 Ech 重新分類至 *Pectobacterium* 屬⁽¹⁰⁾，因此 Pcc 即 Ecc，Pch 即 Ech。由 Biolog 鑑定結果確定造成伯利恆之星軟腐的病原細菌包括 Ecc 及 Ech。進一步以引子對鑑定該病原菌，將所有分離自軟腐組織之病原菌及已知為 Ecc (Zan169) 及 Ech (蝴蝶蘭 Ech87) 菌株當對照，參考 Wang⁽³³⁾ 之簡易方法並稍加修改，以滅菌牙籤沾取經純化後的單一菌落，放入含 50 μ l 0.5 N NaOH 溶液之微量離心管中，劇烈震盪後，取出 25 μ l 加入 25 μ l 1 M Tris buffer 混合均勻，取 1 μ l 以 Ec3F/Ec4R⁽¹⁴⁾ 引子對，應用 PCR 方法進行鑑定，結果顯示部份供試伯利恆之星軟腐菌株及確認為 Ecc 之菌株均可增幅出 497 bp 之專一性條帶，其他供試菌株及確認為 Ech 之菌株則可增幅出 548 bp 專一性條帶，證實在台灣引起伯利恆之星軟腐病之病原細菌包括 Ecc 及 Ech。在台灣 Ecc 的寄主廣泛，包括蔬菜、花卉及果樹等^(12, 13, 24, 30)，而 Ech 則危害青蔥、玉米、牛蒡、蝴蝶蘭及狐狸尾蘭等^(16, 30, 34)，至於感染馬鈴薯、芹菜、白蘿蔔、胡蘿蔔、芋頭、彩色海芋、菊花及向日葵等作物^(2, 4, 14, 15, 19, 24, 28, 30) 之軟腐病菌則包括 Ecc 及 Ech 二種軟腐病菌。

在同一塊田調查伯利恆之星植株不同部位軟腐病

徵發生情形，九十六年間至台中后里伯利恆之星同一塊栽培田，逢機觀察並檢測 50 株具軟腐病徵之植株，不論鱗莖或葉片分別由外層往內層取樣依序編號為 1, 2, 3...，以此類推。伯利恆之星植株通常鱗莖約有 10~15 瓣，葉片約有 5~8 片，取樣後分別觀察並記錄軟腐病徵發生情形，上述樣品同時以 Ec3F/Ec4R 引子對應用 PCR 方法檢測樣品中之軟腐病菌⁽¹⁴⁾。以肉眼觀察病徵，結果如表一，顯示不論鱗莖或葉片組織其軟腐病徵最常發生於最外層（一~三層）（鱗莖比率為 64.1%，葉片比率為 62.2%），其次為接近最內層之組織（鱗莖十至十二層、葉片六至八層）（鱗莖比率為 28.1%，葉片比率為 29.7%），其餘的組織發生軟腐病徵的比率分別為 7.8% 及 8.1%（鱗莖比率為 7.8%，葉片比率為 8.1%）。以 Ec3F/Ec4R 引子對進行 PCR 檢測，檢測結果與觀察結果相同，也顯示鱗莖及葉片組織在最外層（一~三層）組織較易檢出軟腐菌，比率分別為 65.2% 及 43.8%，其次為最內層（鱗莖十至十二層、葉片六至八層）組織，比率分別為 21.7% 及 31.3%（表一），顯示田間罹病之伯利恆之星植株較常發生軟腐的部位可能是鱗莖或葉片組織的外層組織，其次是鱗莖的內層組織。另外，由本試驗檢測結果發現同一檢測樣品編號內未同時檢測到二種軟腐病菌存在，確認一個供試樣品僅由單一軟腐病菌引起，且 Ecc 及 Ech 之發生比率與檢測樣品之位置無關。

應用 PCR 檢測田間伯利恆之星鱗莖及葉片軟腐組織內 Ecc 及 Ech 之發生比率，於九十五年十二月及九十六年二月、三月、四月、五月、六月分別至台中后里同一塊田攜回疑似罹軟腐病之伯利恆之星植株，每次逢機採 12 株，攜回實驗室後分別取其鱗莖及葉片上具軟腐病徵之組織，經 75% 酒精表面消毒後，以漂白水漂洗 30 秒，再經無菌水漂洗 3 次後切取罹病與健康交界處之組織，以無菌蒸餾水懸浮後，取懸浮液 50 μ l，置於內裝有 50 μ l 0.5 N NaOH 之 1.5 ml 離心管中，再加入 100 μ l 之 1 M Tris-HCl (pH 8.0) 中，混合均勻

表一、田間伯利恆之星軟腐病及病菌發生情形

Table 1. Occurrence of symptoms and detection of soft-rot pathogens of Star of Bethlehem plants in the field

Part of tissue	Bulb		Leaf	
	Soft-rot disease incidence (%)	PCR detection (%) Ecc / Ech	Soft-rot disease incidence (%)	PCR detection (%) Ecc / Ech
Out scale	64.1%	65.2% 60.9 (Ecc) / 4.3 (Ech)	62.2%	43.8% 31.3 (Ecc) / 12.5 (Ech)
Medial scale	7.8%	13.0% 13.0 (Ecc) / 0.0 (Ech)	8.1%	25.0% 18.8 (Ecc) / 6.3 (Ech)
Inner scale	28.1%	21.7% 17.4 (Ecc) / 4.3 (Ech)	29.7%	31.3% 18.8 (Ecc) / 12.5 (Ech)

表二、不同時期田間伯利恆之星軟腐病菌發生比率

Table 2. PCR detection of soft-rot pathogens of Star of Bethlehem plants in the field at different time

Collected date	Average Temp. per month (°C) ¹	Pathogen detection on scale	Ecc (Ecc/Ecc+Ech)	Ech (Ech/Ecc+Ech)	Pathogen detection on leaf	Ecc (Ecc/Ecc+Ech)	Ech (Ech/Ecc+Ech)
951204	18.9	12	7 (58.3%)	5 (41.7%)	12	3 (25.0%)	9 (75.0%)
960205	19.3	10	10	0	11	11	0
960313	20.7	6	6	0	11	11	0
960411	22.3	6	6	0	8	8	0
960514	26.5	11	10 (90.9%)	1 (9.1%)	12	11 (91.7%)	1 (8.3%)
960601	27.4	9	8 (88.9%)	1 (11.1%)	11	8 (72.7%)	3 (27.3%)
Total		54	47 (87.0%)	7 (13.0%)	65	52 (80.0%)	13 (20.0%)

¹ Data were obtained from Taichung 平均溫度乃參考中央氣象局台中氣象站資料。

⁽¹⁴⁾，再取 2 μ l 以 Ec3F/Ec4R 引子對進行 PCR 反應⁽¹⁴⁾，之後由電泳分析結果，確定軟腐病菌發生種類及發生比率，結果如表二，發現九十五年十二月及九十六年五月、六月份所採樣品檢測結果不論鱗莖或葉片組織均可檢測到 Ecc 及 Ech 二種軟腐病菌，但二月、三月及四月所採樣品只檢測到 Ecc 一種軟腐病菌。其結果分別敘述於下，十二月份從鱗莖組織中共檢測到 12 株軟腐菌，Ecc 7 株 (比率為 58.3%)，Ech 5 株 (比率為 41.7%)，葉片組織共檢測到 12 株軟腐菌，Ech 較多，有 9 株 (比率為 75.0%)，Ecc 有 3 株 (比率為 25.0%)；二月份鱗莖及葉片組織，各檢測到 10 株及 11 株 Ecc 軟腐菌；三月份鱗莖及葉片組織各檢測到 6 及 11 株 Ecc 軟腐菌；四月份鱗莖及葉片組織各檢測到 6 及 8 株 Ecc 軟腐菌；五月份鱗莖組織共檢測到 11 株軟腐菌，其中 Ecc 10 株 (比率為 90.9%)，而 Ech 1 株 (比率為 9.1%)；葉片組織共檢測到 12 株的軟腐菌，其中 Ecc 11 株 (比率為 91.7%)，Ech 1 株 (比率為 8.3%)，六月份鱗莖組織共檢測到 9 株軟腐菌，其中 Ecc 8 株 (比率為 88.9%)，而 Ech 1 株 (比率為 11.1%)，葉片組織共檢測到 11 株軟腐菌，Ecc 8 株 (比率為 72.7%)，Ech 3 株 (比率為 27.3%) (表二)。綜合六個月採樣的檢測結果顯示，鱗莖及葉片均各取 72 個軟腐組織樣品進行 PCR 檢測，在所檢測 144 個樣品中，共檢測到 99 株 Ecc (比率為 83.2%)，20 株 Ech (比率為 16.8%)，顯示造成伯利恆之星軟腐病的病原菌雖然包含 Ecc 及 Ech，但以 Ecc 為主。另外，在這些供試樣品的檢測結果也顯示每一檢測樣品均只測到單一種軟腐病菌 (Ecc 或 Ech)，並未在同一個檢測樣品中同時檢測到二種軟腐病菌。

Dickey⁽⁸⁾ 於 1971-1976 年間，自美國不同地區的菊花軟腐病株所分離之病原細菌為 Ecc，Van Steekelenburg 等人⁽³²⁾ 調查荷蘭菊花扦插苗軟腐病之病原細菌為 Ecc，Davino 等人⁽⁵⁾ 研究義大利菊花扦插苗

苗軟腐病是由 Ech 引起，Horita⁽¹¹⁾ 指出日本菊花軟腐病是由 Ech 引起，顯示雖然同為菊花軟腐病，但因各地區環境及氣候不同，造成所分到的軟腐病原細菌的種類也有所不同。國外資料顯示，Ecc 最適生長溫度為 28-30 °C，Ech 最適生長溫度為 34-37 °C⁽²⁹⁾，但本研究以 PCR 方法檢測不同月份田間罹軟腐病的伯利恆之星植株上軟腐病菌的種類，結果顯示不管是哪個月所採的樣品均以 Ecc 為主 (表二)，其中由二月、三月及四月份 (月平均氣溫分別為 19.3, 20.7 及 22.3 °C，中央氣象局台中氣象站提供) 所取的樣品，不論鱗莖或葉片組織卻只檢測到 Ecc 一種軟腐病菌，並未檢測到任何 Ech，而由十二月、五月及六月份 (月平均氣溫分別為 18.9, 26.5 及 27.4 °C，中央氣象局台中氣象站資料) 所採樣品檢測到的軟腐菌株，不管鱗莖或葉片組織都可檢測到 Ecc 及 Ech 二種軟腐病菌，但以 Ecc 發生比率較高，此結果顯示 Ecc 及 Ech 之發生與溫度無直接關係，在較高溫的環境下同樣可能存在 Ecc。劉⁽²⁵⁾ 研究菊花軟腐病也指出，於一月、六月、八月及十二月到不同菊花扦插繁殖場採集細菌性軟腐病罹病植株，結果僅六月及八月的樣品中包含 Ecc 及 Ech 二種軟腐病菌，而一月及十二月的樣品則只包含 Ecc 一種軟腐病菌，因此劉指出此差異性可能與病原細菌之地理分布或採樣的季節或年份有關⁽²⁵⁾，本研究結果也顯示不同時期引發伯利恆之星軟腐病的病原菌種類可能不同。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

1. Campos, I., Maher, E. A. and Kelman, A. 1982. Relationship of pectolytic *Clostridia* and *Erwinia carotovora* strains to decay potato tubers in storage. *Plant Dis.* 66: 543-546.
2. Chen, S. S. 1991. Distribution of soft rot *Erwinia* in

- potato and rice rotated fields and factors affecting their survival. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Master Thesis 63 pp. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
3. Chesson, A. and Codher, R. C. 1978. The maceration of vegetable tissue by a strain of *Bacillus subtilis*. J. Appl. Bacteriol. 44: 347-364.
 4. Chuang, M. F., Tzeng, K. C. and Hsu, S. T. 1989. Soft rot of radish caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. Plant Prot. Bull. 31: 358-365.
 5. Davino, M., Rosa, R. La. and Torrisi, A. 1980. *Erwinia chrysanthemi* infections on chrysanthemum cuttings. Tecnica Agricola 32: 301-308.
 6. De Boer, S. H. and Kelman, A. 2001. Gram-negative bacteria. Pages 56-72. in: Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd edition APS, St. Paul, Minnesota, USA 373 pp
 7. De Hertogh, A. A. and Gallitano, L. 1997. Basic forcing requirements for Israeli-grown *Ornithogalum dubium*. Acta Hort. 430: 227-232.
 8. Dickey, R. S. 1976. Identification and prevalence of *Erwinia* species isolated from *Chrysanthemum morifolium*. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 3: 304 (Abstr.)
 9. Dowson, W. J. 1941. The identification of the bacteria commonly causing soft rot in plants. Ann. Appl. Biol. 28: 102-105.
 10. Hauben, L., Moore, E. R., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L. and Swings, J. 1998. Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. Syst. Appl. Microbiol. 21: 384-97.
 11. Horita, H. 1994. Bacterial stem rot of chrysanthemum caused by *Erwinia chrysanthemi* in Hokkaido Prefecture. Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan 45: 104-107.
 12. Hseu, S. H., Lin, C. Y., Huang, Y. B., Fang, S. L. and Ann, P. J. 2001. Fruit rot of oriental pear caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and in vitro bactericide screening. Plant Prot. Bull. 43: 105-115. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 13. Hseu, S. H., Lin, C. Y., and Sung, T. C. 2003. Bacterial stem rot of tomato caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Plant Prot. Bull. 45: 257-262. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 14. Hseu, S. H., Shentue, H., Tzeng, K. C. and Lin, C. Y. 2007. Development of specific primers for differential identification pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. Plant Pathol. Bull. 16 : 19-29. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 15. Hseu, S. H., Sung, P. F., Wu, C. W., Shih, S. C. and Lin, C. Y. 2004. Bacterial stalk rot of sunflower in Taiwan: varietal resistance and agrochemical screening. Plant Prot. Bull. 46:367-378. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 16. Hsu, S. T. and Tzeng, K. C. 1981. Species of *Erwinia associated* with soft rot disease of plant in Taiwan. Pages 9-18 in: Proc. Fifth Int. Conf. Plants Path. Bact. J. C. Lozano, ed. CIAT. Cali, Colombia.
 17. Jansen van Vuuren, P. J. 1997. Predicting the flowering date of *Ornithogalum dubium* (Jacq.). Acta Hort. 430: 167-174.
 18. Jones, J. B., Chase, A. R. and Harris, G. K. 1993. Evaluation of the Biolog GN MicroPlate system for identification of some plant-pathogenic bacteria. Plant Dis. 77: 553-558.
 19. Ju, M, G. 1995. *Erwinia chrysanthemi* genetic diversity, molecular cloning of blue pigment genes and detection by PCR. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Doctoral Dissertation 127 pp. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 20. Kariuki, W. and S. Kako. 1999. Growth and flowering date of *Ornithogalum dubium* Bak. Scientia Hort. 81: 57-70.
 21. Laio, C. H. and Wells, J. M. 1987. Association of pectolytic strains of *Xanthomonas campestris* with soft rots of fruits and vegetables at retail markets. Phytopathology 77: 418-422.
 22. Laio, C. H. and Wells, J. M. 1987. Diversity of pectolytic fluorescent pseudomonas causing soft rot of fresh vegetables at produce markets. Phytopathology 77: 673-677.
 23. Lee, M. L., Hung, C. C., Chen, I. J. and Chang, T. L. 2006. Bulb storage conditions influence flowering period and flower quality of *Ornithogalum saundersiae* Bak. J. Twiwan Soc. Hort. Sci. 52:53-60. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 24. Li, Y. Y. 1994. Bacterial soft rot of colored calla lily in Taiwan. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Master Thesis 63 pp. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 25. Liu, H. L. 1997. Study on the bacterial soft rot of chrysanthemum cutting and application of PCR technique for detection of *Erwinia chrysanthemi*. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Master Thesis 84 pp. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 26. Liu, M. Z., and Lee, N. 2006. Introduction of *Ornithogalum*. Seed Science and Technique. 55: 9-15. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
 27. Lund, B. M. 1969. Properties of some pectolytic; yellow pigment; Gram negative bacteria isolated from fresh cauliflowers. J. Appl. Bacteriol. 32: 60-67.

28. Oliveira, A. M. R., Duarte, V., Silveira, J. R. P. and Moraes, M. G. 2003. Incidence of pectolytic *Erwinias* associated with blackleg of potato in Rio Grande do Sul. *Fitopatol. Bras.* 28: 49-53.
29. Perombelon, M. C. M. and Kelman, A. 1980. Ecology of the soft rot *Erwinias*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 18: 361-387.
30. Tzeng, K. C. 1993. Bacterial soft rot of vegetables. Page 231-240 in: *The Plant Protection Society of the Republic of China special publication new no.1.* (Taiwan, R.O.C., in Chinese)
31. Tzeng, K. C. and Hsu, S. T. 1981. Identification and characterization of soft-rotting *Erwinia* in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 23:77-85.
32. Van Steekelenburg, N. A. M., Van der Hoeven, A. P. and Janse, J. D. 1987. Pith necrosis in chrysanthemum cuttings and factors influencing its occurrence. *Acta Hort.* 197: 103-109.
33. Wang, H., Qi, M. and Cutler, A. J. 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. *Nucleic Acids Res.* 21: 4153-4154.
34. Zhong, W. X. 1983. Studies on bacterial soft rot disease of welsh onion in Taiwan. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Master Thesis 73 pp. (Taiwan, R.O.C., in Chinese)

ABSTRACT

Hseu, S. H.¹, Sung, C. J.¹, and Lin, C. Y.^{1,2} 2007. Occurrence of bacterial soft rot on Star of Bethlehem. *Plant Pathol. Bull.* 17: 145-150 (¹ Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung, Taiwan, R.O.C.; ²Corresponding author, E-mail: cylin@wufeng.tari.gov.tw)

A soft-rot disease was found on the star of Bethlehem plants cultivated in Taichung Howli, Chiayi Singang, Chunghua Tianwei areas. Symptoms were usually seen at the base of leaves or bulbs, beginning with water-soaking spots that developed into light brown or black brown soft-rot areas in late stage of infection. The diseased leaves or plants eventually fell down. Based on the physiological characteristics and the results from the Biolog GN MicroPlate system, polymerase chain reaction (PCR) and pathogenicity tests, bacteria isolated from the diseased tissues were identified as *Pectobacterium (Erwinia) carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) and *Pectobacterium (Erwinia) chrysanthemi* (Ech). Investigating the occurrence of soft-rot symptoms and PCR-detection using Ec3F/Ec4R primers on bulbs and leaf tissues in the fields showed that the outer layer tissue (layer 1~3) has the highest disease incidence, followed by the inner tissue. PCR detection with Ec3F/Ec4R primers of infected tissues at different time in the fields revealed that both Ecc and Ech could be detected in May, June, and December on bulbs and leaf tissues, whereas only Ecc, but not Ech, could be detected in the samples collected in February, March and April.

Keywords: Star of Bethlehem, bacterial soft rot disease, PCR, detection