

「太魯閣國家公園百合復育之研究」案

受委託單位：國立臺灣大學

研究主持人：陳昭瑩教授

研究期程：109年08月28日至110年12月31日

研究經費：壹佰柒拾捌萬伍仟元

太魯閣國家公園管理處委託辦理報告

中華民國 110 年 12 月

(本報告內容及建議，純屬研究小組意見，不代表本機關意見)

目錄

摘要.....	1
前言.....	1
材料與方法.....	3
台灣百合種子的催芽.....	3
台灣百合栽培.....	3
台灣百合生長相關指標建立.....	3
台灣百合果莢發育觀察.....	4
台灣百合鱗莖採收及處理.....	4
微生物培養及病原真菌接種源製備.....	4
微生物鑑定.....	5
候選菌株對百合灰黴病菌對峙培養測試.....	5
台灣百合灰黴病之生物防治試驗.....	5
不同果莢來源台灣百合實生苗對灰黴病感受性測試.....	6
布洛灣台地間斜坡之土壤分析.....	6
台灣百合組織樣本微生物相之高通量定序分析 (第一次試驗).....	6
高通量分析前之台灣百合種子内生菌定量 (第二次試驗).....	7
第三代定序方法與序列分析 (第二次試驗).....	8
台灣百合種子内生菌分離及鑑定.....	8
結果.....	9
台灣百合種子催芽與苗株栽培.....	9
台灣百合栽培及生育相關指標.....	9
台灣百合開花、結果及休眠過程.....	10
布洛灣台地間斜坡之土壤分析.....	11
候選菌株對百合灰黴病菌之對峙培養試驗.....	11
台灣百合根圈細菌菌株鑑定.....	11
不同果莢來源台灣百合實生苗對百合灰黴病感受性及候選菌株之抑病效果	11
台灣百合組織樣本微生物相之高通量定序分析.....	12
台灣百合種子内生菌分離.....	13
討論.....	14
台灣百合種子發芽及苗株栽培.....	14
台灣百合生長、開花及鱗莖養成.....	14
台灣百合果莢發育及休眠.....	15
台灣百合之灰黴病感受性及候選菌株之抑病效果.....	15
台灣百合組織樣本微生物相之高通量定序分析.....	16

結 論.....	17
引用文獻.....	18
圖表集.....	23

摘要

台灣百合(*Lilium formosanum*) 廣佈全島，深具文化含義並有觀賞價值，是優質的景觀花卉，其於生長季可能遭受多種病蟲害的侵擾，其中由病原真菌 *Botrytis elliptica* 引起的百合灰黴病於花期危害甚鉅。為了解百合灰黴病影響花蓮太魯閣國家公園台灣百合的現況，自太魯閣國家公園的健康台灣百合果莢取出種子，培育實生苗，測定其對百合灰黴病的感病程度。於計畫執行過程中初步建立台灣百合實生苗培育流程，並於 110 年 8~11 月間採收 3,887 個百合種球，其中 1,465 個的直徑大於 3 公分，較具開花潛力。台灣百合有益微生物的研究由實驗室先前於布洛灣健康台灣百合根圈分離的有益微生物菌種中，於不同培養基篩選出具有較佳抑菌能力的菌株，其中短小芽孢桿菌 *Bacillus safensis* A3S11 對百合灰黴病菌接種後的病斑發展有較佳的抑制效果，故用於種球保存。另一方面，進行台灣百合種子微生物相(microbiome)分析，使用微生物核酸萃取試劑組抽取種子核酸，針對細菌 16S 核糖體 RNA 基因的 V3-V4 區段進行次世代定序，透過生物資訊學方法將數據優化後，進行物種註釋以及操作分類單元 (operational taxonomic unit, OTU) 分析。結果發現樣本中的多數細菌 OTUs 為常見於種子或土壤中之種類，屬於變形菌門、厚壁菌門、放線菌門；為增加台灣百合中內生菌 OTUs，進行植物組織中微生物相分析方法的改良。

關鍵詞：台灣百合、百合灰黴病菌、有益根圈細菌、內生菌、微生物相

前言

台灣原生百合屬植物有 5 個種及 1 個自然雜交種，前者包括野小百合 (細葉卷丹, *Lilium callosum* Siebold & Zucc.)、台灣百合(*Lilium formosanum* Wallace)、粗莖麝香百合(鐵砲百合 *Lilium longiflorum* Thunb. var. *scabrum* Masam.)、豔紅鹿子百合(*Lilium speciosum* Thunb. var. *gloriosoides* Baker) (黃增泉等, 2000)及分布於金門馬祖的野百合(*Lilium brownii* F. E. Brown ex Mieliez) (呂福原, 2011)；後者指由台灣百合與鐵砲百合自然雜交產生的石門百合(*Lilium* x *shimenianum*) (應紹舜, 2018)。台灣百合(*Lilium formosanum*)廣布台灣全島，從海平面相當高度的陸地至高海拔地區均有分布，為台灣特有種花卉，與大多數商業百合自種子育苗常需 2-3 年方能開花的特性不同，台灣百合能於播種後一年內開花，且因為自交

親和性強且種子豐產(許圳塗, 1977; 黃雅玲等, 2004; 蔡月夏, 2001; Hiramatsu et al., 2002), 得以使用實生方式大量繁殖。多年來, 台灣各地相繼培育台灣百合為重要之景觀花卉 (黃雅玲等, 2004; 嚴新富、巴清雄, 2006)。

百合生長繁殖期間可受到多種病蟲害侵擾(謝廷芳, 1993), 灰黴病為最常見的地上部病害, 於冷涼潮濕環境可感染台灣百合, 造成葉及花的壞疽, 嚴重發生時葉片大量枯萎, 亦稱之為火燒病(fire blight) (Doss et al., 1988a,b)。在台灣, 百合灰黴病好發季節在平地為 1-6 月, 中海拔地區為 4-6 月及 10-12 月, 而高海拔地區則發生於 6-10 月(謝廷芳、黃振文, 1998), 與台灣百合開花時期重疊, 是影響花季景觀的重要因子。受百合灰黴病菌感染的植株殘體常常帶有菌核或菌絲, 使得病原菌得以殘存, 成為潛在的感染源 (童伯開等, 1998; van den Ende and Pennock-Vos, 1997), 故須預防百合灰黴病在易病環境嚴重發生, 如潮濕低溫及密植的環境。實驗室先前曾建立布洛灣地區的健康百合根圈細菌菌種庫, 並篩選出臘狀芽孢桿菌 C1L 及其他 12 個菌株對台灣百合具有良好抑制灰黴病的作用(Liu et al., 2008), 期望應用於百合灰黴病的預防, 以助於台灣百合的復育工作。

植物表面與組織內有許多微生物, 由於植物各部位暴露並接觸到的微環境有所不同, 組成植物各部位的微生物相(microbiome) 豐度及多樣性不同。影響微生物相的因子有基因、土壤、溫度、溼度、季節、時間等(Wagner et al., 2016; Wei et al., 2018; Ofek et al., 2011)。de Souza 等人(2016) 比較甘蔗植株內外之微生物相, 發現不同部位的細菌與真菌菌相會有些差異, 且植株不同發育階段的微生物相組成也不同。Bodenhausen 等人(2013)於阿拉伯芥發現, 其葉部與根部具有共同及獨有的關鍵微生物相。葉部有益微生物較多時, 病原微生物數量會相對減少。比較健康萵苣與罹患葉斑病的植株葉部微生物種類組成, 發現 *Bacillus*、*Erwinia* 與 *Pantoea* 等屬細菌的豐度與葉斑病菌(*Xanthomonas campestris*)豐度呈負相關(Rastogi et al., 2012)。分析葡萄葉部微生物相, 發現有益微生物如 *Aureobasidium* sp.等, 可誘導植物提升抗性, 且產生幾丁質酶與蛋白酶以拮抗病原菌(Pinto et al., 2014)。Liu 等人(2019)也於香蕉植株內辨認出關鍵細菌群 Enterobacteriaceae, 利用增加 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase 活性之菌株, 可提升香蕉對萎凋病抗性與植株生長勢之能力。葡萄藤內微生物相組成分析研究, 發現相較於感染葡萄皮爾斯病之病株, 健康葡萄藤內含有較多的螢光假單胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*), 其有助於減少病原菌數量, 且會產生可抗微生物的次級代謝物, 如脂肽等 (Deyett et al., 2017)。Mastretta 等人(2009)在種植於含高濃度鎘與鋅土壤的菸草種子中分離出許多細菌, 施用於菸草上可增加乾重, 且增加植株對重金屬鎘的耐受度。在阿拉伯芥的研究也指出於根部與葉部皆可發現 *Sphingomonas* 屬細菌, 對植物生長有所助益, 可提升植株生物量(Bodenhausen et al., 2013)。另有研究指出以 *Pseudomonas putida* 處理番茄種子可誘發植株對真菌性萎凋病的抗性 (Jayamohan et al., 2020)。以上可知許多植物內生菌可提升植物宿主對環境逆境以及病害的抵抗力。內生菌存在植物體中, 一般認為與葉表或根圈微生物相比, 內生菌較不易受外在環境變化的影響, 因此其族群較為穩定(De

Silva et al., 2019; Morales-Cedeño et al., 2021)。國內也有應用內生菌於作物病害防治之相關研究(謝奉家, 2012ab; Huang et al., 2010), 有些可以長時間存在植物體中, 不必重複施用(林可莉, 2019)。分離自台灣百合根圈的臘狀芽孢桿菌 C1L, 除可促進台灣百合生長及抑制百合灰黴病菌感染葉部的病斑發展(Liu et al., 2008); 也可促進玉米植株生長及防治玉米葉枯病 (Huang et al., 2010)。為進一步發掘台灣百合內生菌資源, 先藉由生物資訊分析台灣百合種子內部的微生物體, 檢視健康植株內生菌相, 搜尋具有生物防治潛力之菌株。

材料與方法

台灣百合種子的催芽

台灣百合果莢採集地涵蓋布洛灣遊憩區、太魯閣國家公園管理處、綠水、合歡山、洛韶等, 採集地點位置以 WGS84 經緯座標系統紀錄(表一)。將台灣百合果莢的種子取出, 撒播於介質表面並以透明塑膠袋覆蓋保濕, 將其放置於 18°C 植物生長室 (16 小時光照/8 小時黑暗, 以飛利浦 T8 6500K 螢光燈管提供光照, 光強度 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 下催芽, 一個月後除去保濕之塑膠袋計算發芽率, 並移至 25°C 植物生長室 (16 小時光照/8 小時黑暗, T8 LED 全光譜植物燈, 光強度 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)。經上述處理未發芽的批次, 則將種子連盆土以塑膠袋包覆保濕, 放置於 7°C 冰箱兩週, 再取出置於 18°C 植物生長室, 於 T8 螢光燈管 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下催芽, 一個月後觀察發芽情形。

台灣百合栽培

台灣百合苗株的栽培介質為泥炭土: 珍珠石: 蛭石以 2: 1: 1 比例混合, 盆鉢底部鋪一層 2~3 公分厚的珍珠石, 避免澆水時底盤積水影響介質透氣性。栽培環境為 25°C 植物生長室, 每週澆灌兩次稀釋 2,000 倍花寶 2 號液肥, 較大植株移至室外環境栽培, 介質略乾時澆水, 視天候每週澆水 2-4 次。

台灣百合生長相關指標建立

本試驗中對台灣百合施用不同量的好康多二號 180 天型緩釋肥, 待三個月後分別挑取無施肥、有施肥且生長正常、有施肥但出現葉緣焦枯的台灣百合植株,

採用 pour-through 方式量測介質電導度(Cavins, 2008)，將盆栽充分澆水後靜置 3 小時，再於上方澆灌 30 ml 水，收集盆底流出的土壤溶液，以電導度計(Orion 5-Star Conductivity Portable Meter)搭配 011050MD 探頭(Thermo Scientific, USA)量測土壤溶液的電導度。另外，使用葉綠素計(Chlorophyll meter SPAD-502Plus (KONICA MINOLTA, Japan)量測這三組台灣百合葉片的葉綠素相對含量，比較施肥程度的影響。至於台灣百合植株成熟度方面，為了瞭解開花所需鱗莖尺寸，隨機選取有長出一個花苞或是有直立莖但無花苞的植株各 10 株測量其鱗莖直徑。

台灣百合果莢發育觀察

為避免種源混雜，對開花之台灣百合進行人工自花授粉，方法如下：待花苞膨大即將開花時，以網目邊長約 0.36 ± 0.06 mm 之雪紗袋包覆之，以免開花時因昆蟲造成異花授粉，開花後待花藥開裂時，將花粉塗抹於同一朵花之雌蕊，接觸到花粉的工具使用 75% 酒精擦拭後再進行其他花朵的授粉。授粉後的花朵仍以雪紗袋包覆之，記錄花被脫落的時間，於花謝後每週紀錄果莢長度變化，並收集成熟果莢。

台灣百合鱗莖採收及處理

保存鱗莖用之介質為混入有益微生物之泥炭土，製備方式為將篩選之菌株接種至 LB 液態培養基 (1% tryptone, 0.5% yeast extract, 0.5% NaCl, pH 7.0)，培養隔夜後，以每公升介質添加 8 毫升培養液的比例混入預先滅菌的泥炭土中備用。待台灣百合植株之地上部於開花後枯萎，將埋藏於介質中之鱗莖挖起清洗，剪去種球之下根(basal root)並剝除部分疑似受病菌感染之鱗片，再將鱗莖浸於 8 g/L 的白鴿殺菌漂白素(主要有效成分為過碳酸鈉 sodium percarbonate)水溶液中 30 分鐘進行表面消毒，以水洗去殘餘消毒液，完成消毒步驟。將消毒後的鱗莖放置於網籃中隔夜以大略晾乾表面水分，再將鱗莖裝袋混入上述添加有益微生物之泥炭土保存，交付至太魯閣國家公園管理處種植。未休眠植株方面，為了促使其養分回流至鱗莖以利運送，測試減少澆水直至台灣百合地上部枯萎，或以含有 2,000 ppm 及 1,000 ppm 益收(ethephon)的水溶液進行葉噴處理一次，以加速地上部枯萎。

微生物培養及病原真菌接種源製備

培養細菌時將其劃於添加 15 g/L 洋菜膠的 LB 平板培養基，於室溫(25-27°C)培養。百合灰黴病菌 *B. elliptica* B061 培養於 V8 瓊脂培養基 (20% V8 vegetable juice [Campbell Soup Company Camden, New Jersey, USA], 0.3% CaCO₃, 1.5% agar)，在 22°C 下培養約 5-7 天，刮取培養基表面氣生菌絲及孢子，懸浮於 15% 甘油中冷凍保存於 -80°C。百合灰黴病菌的接種源製備是將冷凍保存之菌種接種於添加

15 g/L 洋菜膠的 V8 平板培養基，於 22°C 培養箱黑暗下培養，培養 5-7 天後收集孢子配製孢子懸浮液於 0.05% Tween-20 中，過濾後的孢子懸浮液作為接種源。

微生物鑑定

前人研究中對台灣百合根圈細菌已使用脂肪酸圖譜鑑定物種(Liu et al., 2008)，由於當時部分菌株鑑定結果之物種屬於物種複合群(species complex)，因此本次再取對峙培養中對百合灰黴病菌具有較佳抑制作用之菌株進行核酸鑑定；並鑑定分離自台灣百合種子的內生菌。先萃取目標菌株之核酸(Wilson, 2001)，使用引子對 *fd1* 及 *rP1* 增幅細菌之 16S rRNA 基因片段，再使用 785F 和 805R 引子對此 DNA 片段進行定序 (Weisburg et al., 1991)；另以 UP1 及 UP2r 增幅細菌 *gyrase B* 基因 (*gyrB*) 進行定序 (Yamamoto and Harayama, 1995)。若該菌株疑似真菌，則使用 ITS1 及 ITS4 引子對增幅，續以 ITS1 引子對此片段進行定序，引子序列見表二。將定序所得到之序列與 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 資料庫中模式菌株之序列比對以鑑定物種。

候選菌株對百合灰黴病菌對峙培養測試

為了測試台灣百合根圈細菌對百合灰黴病菌之抑制能力，將候選菌株劃於 V8 或 PDA 平板培養基表面約 5 公分長，再將直徑 7 mm 的百合灰黴病菌菌絲塊放置於距離細菌接種線 3 公分處，於 22°C 培養 4 天後測量自菌絲塊中央至細菌接種線方向的真菌菌落邊緣長度(r)，與單獨真菌培養(對照組)的菌落半徑(R)比較，以 $(R-r)/R \times 100\%$ 公式計算抑制率。另外，為了瞭解台灣百合根圈細菌是否可產生揮發性物質抑制百合灰黴病菌生長，取二分隔式培養皿，其中一邊配置為含 10 ml 的 V8 平板培養基用於培養百合灰黴病菌；另一邊則含 10 ml 的 LBA、PDA 或 V8 瓊脂培養基用於培養細菌。於 LBA、PDA 或 V8 瓊脂培養基表面劃 5 cm 長以接種候選菌株或是負對照組的農桿菌 *Agrobacterium tumefaciens* GV3101；另一側的 V8 瓊脂培養基中央則放置直徑 7 mm 的百合灰黴病菌菌絲塊。於 22°C 共培養四天後測量真菌菌落直徑，並以上述公式計算抑制率。

台灣百合灰黴病之生物防治試驗

台灣百合根圈細菌候選菌株對百合灰黴病防治效力測試，分為系統性及原位保護試驗。系統性保護測試，以栽培於 25°C 植物生長室之 4-6 片葉 B6 批次台灣百合苗株作為試驗材料，試驗前一週先將苗株移植於 3 吋盆，每個 3 吋盆三株，於施用細菌懸浮液前一天每盆以 20~30 毫升水澆灌潤濕。將細菌接種於 3 毫升液態培養基震盪培養隔夜，將培養液稀釋 50 倍後，於每個 3 吋盆中澆灌 50 毫升細菌稀釋液，每週澆灌一次，共五次。澆灌第五次隔日測量台灣百合鱗莖最

大寬度並且剪取葉片進行離葉接種。將 10 μ l 濃度為 5×10^4 spore/ml 的百合灰黴病菌孢子懸浮液滴至台灣百合葉背，於 25°C 16 小時光照/8 小時黑暗下保濕兩天後移至 18°C 16 小時光照/8 小時黑暗之植物生長室，三天後測量病斑大小。

不同細菌菌株對百合灰黴病的原位保護測試，取 B1 批次台灣百合植株為試驗材料，剪取葉片進行離葉接種試驗。取培養隔夜的細菌培養液離心，收集菌體並以水調整濃度為 1×10^8 CFU/ml，將 10 μ l 細菌懸浮液滴至台灣百合葉背，將葉基部以紙巾保濕並靜置五小時待菌液乾燥。將 10 μ l 之百合灰黴病菌孢子懸浮液 (10^4 spores/ml) 滴至乾燥菌液處，以塑膠盒保濕葉片並置於 18°C 植物生長室，三天後量測病斑大小。

不同果莢來源台灣百合實生苗對灰黴病感受性測試

為瞭解不同來源之台灣百合子代對百合灰黴病的感受性差異，剪取栽培於室外日照環境，直立莖上已完全展開的中位葉片(布洛灣、太管處、洛韶，約七片葉)及約七片葉時之葉片(合歡山、綠水)作為試驗材料，將濃度為 10^4 spores/ml 的百合灰黴病菌孢子懸浮液滴於葉背並保濕，放置於 18°C 植物生長室，三天後量測病斑大小。

布洛灣台地間斜坡之土壤分析

於布洛灣台地間斜坡採集九個約 500 公克的土壤樣本，接近斜坡底部、斜坡中間及斜坡高處各三個樣本，混合後代表斜坡上、中、下三個區域土壤，委由花蓮區農業改良場土壤肥料研究室進行土壤分析(圖一)。

台灣百合組織樣本微生物相之高通量定序分析 (第一次試驗)

將台灣百合置於新的 50 毫升離心管至刻度約 5 ml，種子的部分先加入 30 ml 的 3% 漂白水搖晃 1 分鐘，再倒除漂白水加入 70% 酒精 30 ml，適度搖晃離心管 1 分鐘；葉片則是先加入 3% 漂白水搖晃 30 秒鐘，倒除漂白水，加入 70% 酒精，適度搖晃管身 30 秒鐘。此兩種植物組織經消毒後倒出酒精，以高溫滅菌之二次水漂洗植物組織五次，再將完成表面消毒之植物組織放置於高溫滅菌之濾紙 (ADVANTEC) 上，將多餘的水分移除，並裝入研磨袋中推擠出研磨袋內空氣後以封口機密封。將密封之研磨袋以液態氮低溫冷凍，並將植物組織磨碎。隨後稱取 0.25 g 之植物組織，並利用試劑組抽取植物組織 DNA。使用 DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN) 試劑組，操作參照廠商建議之流程進行。

欲定序之核酸樣本，首先經過 Qubit®、Nanodrop、膠體電泳等方式分別檢測核糖核酸樣品的總量及品質，接續使用 Illumina MiSeq 平台，進行雙端定序 (Paired-End)。隨後將樣品資料建庫，透過條碼和 PCR 引子序列(增幅 v3-v4 區間

的 319F 及 806R 引子對，或者是經修飾的 27F 和 1492R 引子對，見表二)將樣品進行區分，並利用 FLASH (v1.2.11)將樣品的序列片段(read)拼接成初始序列(raw tag)，將初始序列於連續 3 個低品質(Q<19)鹼基位點之第一個低品質鹼基位點截斷，截取後過濾掉高品質鹼基片段長度不足全長四分之三的序列。品質不佳之序列，後續經由 Qiime(v1.9.1)過濾獲取 clean tags，通過 UCHIME 演算法及資料庫檢測嵌合體序列並將其移除，獲取 effective tags 以進行後續分析。

前述取得之有效數據透過 USEARCH 軟體(v7.0.1090)的 UPARSE 演算法將相似度高於 97%之正確序列匯聚成子集合，即成為 OTUs(Operational Taxonomic Units)，去除樣本中僅出現一次之偽序列(singleton)，依據演算法 OTUs 出現頻率最高的序列作為 OTUs 的代表序列。以 RDP Classifier(v2.2;)對 OTUs 代表序列進行物種注釋分析，得到各個階層資訊：kingdom(界)、phylum(門)、class(綱)、order(目)、family(科)、genus(屬)、species(種)，並統計各樣本的微生物菌相組成。16S rRNA 序列分析使用 PyNASt(v1.2)與 GreenGenes 資料庫或 Silva 資料庫(v132)中的 Core Set 進行快速序列比對，亦或 NCBI 資料庫或 eHOMD 資料庫(v15.1)進行序列比對獲得注釋資訊。後續依照 OTUs 分群以及樣品進行相對豐度之分析，並且查閱相關物種過往研究，進行潛能分析。

高通量分析前之台灣百合種子內生菌定量 (第二次試驗)

將台灣百合組織置於新的 50 毫升離心管，種子的部分先加入 3%漂白水搖晃 1 分鐘，再倒除漂白水加入 70%酒精，適度搖晃離心管 1 分鐘；葉片則是先加入 3%高樂氏漂白水(CLOROX)搖晃 30 秒鐘，倒除漂白水，加入 70%酒精，適度搖晃管身 30 秒鐘。此兩種植物組織經消毒後倒出酒精，以高溫滅菌之二次水漂洗植物組織三次，再將完成表面消毒之植物組織放置於高溫滅菌之濾紙(ADVANTEC)上，將多餘的水分移除，並裝入研磨袋中以封口機密封。

將消毒後的植物組織(葉子 1 片或 20 顆種子)置於已經過高溫滅菌處理之 9 公分玻璃培養皿中，以經高溫滅菌處理之解剖刀和鑷子將其切碎，放入 15 毫升離心管中，加入 2 毫升無菌水或液態培養基(Nutrient broth (NB): 0.5% Peptone, 0.3% yeast extract, 0.5% NaCl)，於 28°C生長箱中，轉速 220 rpm 震盪培養 24 小時。取出 1 毫升培養液，序列稀釋至 10^{-6} 倍，取 100 μ l 稀釋之培養液塗於培養基(NA, NB with 1.5% agar)，於 28°C生長箱放置 1-7 天，每日計算菌落數量，當日菌落數量與前日無差異則將該盤保存於 4°C冰箱。各樣本逢機挑取 10 個單菌落，以四區劃線法進行微生物純化，重複該方法兩次。以 10 μ l 微量吸管沾取純化後之單菌落，置於裝有 20 μ l 無菌水之 PCR 反應管中混合均勻，並低溫保存。純化後之菌株的鑑定仍在進行中。

第三代定序方法與序列分析 (第二次試驗)

將台灣百合置於新的 50 毫升離心管至刻度約 5 ml，種子的部分先加入 30 ml 的 3% 漂白水搖晃 1 分鐘，再倒除漂白水加入 70% 酒精 30 ml，適度搖晃離心管 1 分鐘；葉片則是先加入 3% 漂白水搖晃 30 秒鐘，倒除漂白水，加入 70% 酒精，適度搖晃管身 30 秒鐘。此兩種植物組織經消毒後倒出酒精，以高溫滅菌之二次水漂洗植物組織五次，再將完成表面消毒之植物組織放置於高溫滅菌之濾紙 (ADVANTEC) 上，將多餘的水分移除，並裝入研磨袋中推擠出研磨袋內空氣後以封口機密封。將密封之研磨袋以液態氮低溫冷凍，並將植物組織磨碎。隨後秤取 0.25 g 之植物組織，並利用試劑組抽取植物組織 DNA。使用 DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN) 試劑組，操作參照廠商建議之流程進行。

欲定序之核酸樣本，首先經過 Qubit®、Nanodrop、膠體電泳等方式分別檢測核糖核酸樣品的總量及品質，110 年的樣本，使用 27F 及 1492R 引子(表二)於 PacBio 平台(Courtesy of PacBio of California, Inc.)進行第三世代高通量定序(Third generation sequencing)，以獲取 16S 核糖體基因全長序列。樣品定序後之原始序列(polymerase read)中，將重複序列(subreads)重疊以修正單一重複序列造成的定序錯誤，並統計品質分數(Quality values, QV)，上述步驟產出共有序列(Circular consensus sequencing, CCS)，其中高品質(QV > 20)的 CCS 序列稱為 HiFi read 以進行後續分析。接著，透過 DADA2 演算法 (Divisive Amplicon Denoising Algorithm)進行降噪(Denoising)進行序列的品質控管、去冗餘與嵌合體、序列聚合等序列校正步驟。降噪分析流程，為先移除引子序列並將完全相同的序列先進行合併(Deduplication)，接著以豐度最高的序列為中心開始劃分各個序列單元，直到每條序列都被分入最有可能的所屬單元中。隨後，辨別並移除人為嵌合體序列，最後得到的無嵌合體序列(non-chimera sequence)群集，又稱為 ASVs(Amplicon Sequence Variants, ASVs)。產出的 ASVs 與資料庫(NCBI、GreenGenes、SILVA、eHOMD、UNITE)進行比對得到物種資訊，產出物種豐度表(ASVs Table)。隨後進行 Alpha 多樣性分析、Beta 多樣性分析、物種組成分析、相關性分析、演化分析、功能預測分析、環境因子分析、統計檢驗分析與其他進階分析。

台灣百合種子內生菌分離及鑑定

為了對內生菌進行分析，110 年由太管處協助於太管處周邊採集 12 個果莢(表一)，取果莢中的種子以消毒液 (含 10 % 高樂氏漂白水及 0.05% Tween-20)震盪浸泡 20 分鐘，再以無菌水潤洗三次確保無殘留消毒液。將種子以無菌解剖刀切開後浸於無菌水中震盪 5 分鐘，除去種子後將震盪後取得的懸浮液塗佈至添加 15 g/L 的 LB 平板培養基或是 PDA 培養基(Potato dextrose agar, Difco Laboratories, Detroit, USA)，並在塗佈後 7 天內觀察是否有菌落長出。挑取長出

之菌落於 LB、PDA 或是 KB 平板培養基 (King's B medium, 20 g peptone, 1.5 g K_2HPO_4 , 1.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 10 ml glycerol, 15 g agar/1L water) 進行劃線純化，並挑取菌落懸浮於 17 % 甘油中，於 $-80^\circ C$ 保存。

分離所得之菌株進行分子鑑定以辨別其物種，方式為挑取部分菌落進行核酸萃取(Wilson, 2001.)，以 fD1、rP1 引子對增幅細菌的 16S rDNA 或是以 ITS1、ITS4 引子對增幅真菌的 ITS 序列 (表二)，將增幅所得產物進行定序，並將序列與 NCBI 資料庫中模式菌株序列進行比對以鑑定菌種。

結果

台灣百合種子催芽與苗株栽培

試驗中，略為開裂的 L3 和 B18 果莢播種後皆有超過 70% 的發芽率，與過去台灣百合相關研究之結果相符(黃雅玲等，2005)，值得注意的是，雖然大多數未開裂綠色果莢中的種子於播種後一個月的發芽率偏低，但亦有達到 30% 以上，甚至達 90% 發芽率的果莢，顯示即使同為綠莢仍有發育成熟度的差異(表三)。於合歡山所採集果莢的種子直接播種時，一個月發芽率皆未超過 50%，取未發芽種子冷藏兩週後再放置於 $18^\circ C$ 植物生長室照光催芽，H4、H5 及 H6 的種子發芽率明顯增加(表三)，顯示至少有部分種子需低溫處理以促進萌發。

台灣百合栽培及生育相關指標

台灣百合播種後大約四個月，多數實生苗有 4-5 片葉不等(圖二)，5-6 個月後有許多植株已有 10 片葉以上且鱗莖大小達 2-3 公分(圖三)，此時將較大植株移至室外栽培接受自然冬季低溫，播種後 7-8 個月置於室外的植株已有抽莖的現象(圖四)，鱗莖也有 3-4 公分以上。這些植株在播種後 9-11 個月陸續開花，單一植株花朵數 1-5 朵不等(圖五)。

在栽培期間，部分植株因為施用過量緩效肥造成葉緣焦枯，測量介質電導度，大多在 $1500 \mu S/cm$ 以上；施肥且生長正常的植株介質電導度約在 $500-1500 \mu S/cm$ 之間；長時間未施肥而造成葉片顏色較黃的植株介質電導度則在 $600 \mu S/cm$ 以下(圖六 a)。有施肥的植株葉片的葉綠素相對含量皆明顯高於未施肥的對照組，但施肥較多有肥傷現象的植株，葉片之葉綠素含量與施肥而生長正常的植株間並無明顯差異(圖六 b)。

截至 5 月止，栽培之台灣百合植株有 589 株已開花或已產生花苞，604 株有

直立莖但尚未開花，另外約 1,795 株呈蓮座狀態，所有植株總和將近 3,000 株。為瞭解具有開花能力的植株鱗莖最小尺寸，以作為估計植株隔年開花能力的依據，測量長出單一花苞、直立生長但無花苞植株的鱗莖直徑做為參考，結果發現植株鱗莖最大直徑 2 cm 以上即有可能開花，無開花植株最大鱗莖直徑則為 2.5 cm，開單一朵花的植株鱗莖直徑中位數為 2.5 cm，顯示鱗莖直徑大於 2.5 公分有較高的機率可以開花(圖七)。

台灣百合開花、結果及休眠過程

大多數台灣百合的花被在授粉後第 5-7 天脫落(圖八 a)，且子房隨時間增加長度，若有果莢發育失敗，大多數會在花被脫落後 6 週內出現子房提前枯萎的徵象；成功產生種子的果莢則在 8-9 週後才會開始乾枯、開裂以釋出種子，且外觀上果莢隨時間增加而延長的現象較為明顯，果莢乾枯後約一個月(約開花後三個月)，植株之地上部會枯萎進入夏眠(圖九 a)，休眠時間約一個月。因部分植株枯萎時間不一致，有時可見到同批植株中有些仍未完全乾枯，即有其他植株已脫離休眠並重新冒出蓮座葉(圖九 b)。

為了減少運送時的體積及方便包裝，測試如何使生長中的台灣百合植株地上部枯萎，觀察發現雖然單純減少澆水可使台灣百合進入類似休眠的狀態，但若澆水量過少造成地上部完全枯萎，鱗莖外圍的鱗片也常常出現失水皺縮的情形(圖十 a)，並且易於保濕狀態下造成鱗片腐爛(圖十 b)。若減少澆水使其地上部葉片枯萎至僅剩 2、3 片葉的程度，則鱗莖仍然飽滿，剪去殘餘葉片後於保濕的狀態下亦不會立刻萌發，適於運送，但減少給水到可採收所需時間較久(約 2~3 個月)，故施用益收測試之。若植株預先經 2~4 週的減半澆水量，則施用 1,000~2,000 ppm 的益收，可於七天內造成植株葉片快速黃化，並於 2~3 週後僅剩 1~3 片葉甚至完全枯萎(圖十一 a、b)，這些植株重新種植後可於兩週內長出新芽(圖十一 c)。正常澆水的植株則不會明顯黃化，僅新葉有時會出現偏上生長而反捲的外觀(圖十一 d)。整體而言，預先減少澆水及以益收促使地上部枯萎所需要的時間較短(約 4~6 週)，且較無鱗莖乾燥受損的問題，益收處理對於後續種球種植的植株生長並無明顯負面影響。

將已休眠之種球挖出時，觀察較大鱗莖直徑多介於約 5~6 公分，大於此尺寸之鱗莖通常會長出側芽，形成多個較小鱗莖(圖十二)。另外，自鱗莖脫落之鱗片葉或是直立莖接近介質的節位腋芽處，有些可產生小鱗莖(圖十二)。於 8/9 至 11/8 之間陸續採收 3,887 個種球並交付太管處，其中 1,465 個直徑大於 3 公分，較具開花潛力(表四)。保濕種球的介質原預計直接使用泥炭土，但於室內栽培台灣百合期間發現泥炭土中有數種雜草萌發，包含一種木本植物、三種蕨類、一種燈心草科植物及一種疑似歐石楠屬植物(圖十三)，另有一種具有鮮黃色蕈傘的菇類長出(資料未顯示)。由於實驗中供應商的泥炭土開採自芬蘭、瑞典及愛沙尼亞等國，為了避免外來種生物入侵至國家公園境內，將泥炭土以高溫處理 (121°C，40 分

鐘)，為了避免因介質菌相真空狀態，造成菌相不平衡導致病害等不良影響，於滅菌後的介質中再添加原生於太魯閣國家公園的候選菌株(A3S11)，用於運輸時的種球保濕。

布洛灣台地間斜坡之土壤分析

取布洛灣台地間斜坡不同區段的土壤交由花蓮區農業改良場土壤肥料實驗室的檢測報告，指出布洛灣台地間斜坡的土壤呈中性或弱酸，電導度低，豐含有機質，有豐富的鉀、鈣、鎂等元素，而磷較少，特別是斜坡上方區段 (表五)。

候選菌株對百合灰黴病菌之對峙培養試驗

實驗中針對前人研究測試對百合灰黴病有防治潛力的 9 個菌株進行對峙培養試驗，菌株 CF3、A3S11 及 A3S36 對百合灰黴病菌生長有較大的抑制作用；菌株 CF3 與 A3S11 在 V8 培養基上具有較強的抑菌作用，對百合灰黴病菌生長抑制率分別為 25.32% 及 49.35%；菌株 A3S36 則在 PDA 上的抑菌作用較為明顯，對百合灰黴病菌生長的抑制率為 29.73% (圖十四 a、b)。

進一步於二分隔式培養皿上測試不同菌株產生揮發性物質對百合灰黴病菌抑制作用時，觀察到菌株 A3S11 培養於 V8 培養基時具有相當優異的抑菌能力，對百合灰黴病菌生長之抑制率達 36.31%，菌株 CF3 對百合灰黴病菌生長的抑制率則為 12.5%。這些菌株培養於 LBA 或是 PDA 上的抑菌能力都大幅減弱甚至闕如(圖十四 c-e)。

台灣百合根圈細菌菌株鑑定

菌株 CF3、A3S11、A3S36 於前人研究經脂肪酸圖譜鑑定，為 *Pseudomonas putida*、*Bacillus pumilus* 及 *Burkholderia cepacia* (Liu et al., 2008)。因 *Burkholderia cepacia* 及 *Bacillus pumilus* 過去被視為包含培養特性不易區分之物種，為物種複合群(Lipuma, 2005; Liu et al., 2013)，因此本研究進一步使用核酸鑑定以確定其物種。經 16S rDNA 及 *gyrB* 基因序列鑑定，菌株 CF3 為 *P. putida*，與過去脂肪酸圖譜之鑑定結果相同；菌株 A3S11 則為 *Bacillus safensis*；而菌株 A3S36 使用這兩種基因序列並無法精確鑑定到種的層級，初步比對可能為 *B. cepacia*、*B. cenocepacia* 或 *B. seminalis*。

不同果莢來源台灣百合實生苗對百合灰黴病感受性及候選菌株之抑病效果

在灰黴病的預防上，希望篩選較為抗病種原或是利用原生於布洛灣的台灣百合根圈細菌健化苗株以增加抗病性。取不同來源種子繁殖的台灣百合苗株已長出

直立莖的葉片(布洛灣、太管處、洛韶)或約七片葉株齡的葉片(綠水、合歡山)，接種百合灰黴病菌，觀察到來自洛韶和合歡山的台灣百合較為抗病，布洛灣、太管處的果莢，個別植株葉片對百合灰黴病的感受性各不同，有發病輕微者，也有發病嚴重的情況(圖十五)。

為了觀察候選菌株澆灌處理對台灣百合生長的影响，每週澆灌一次，5週後觀察到澆灌菌株 TP3 的植株生長明顯較澆灌其他菌株的植株慢(圖十六 a)，進一步測試經細菌菌株澆灌處理之台灣百合植株對百合灰黴病病徵發展的影响，其病斑皆明顯較對照組小(圖十六 b-g)，顯示這些候選菌株皆有誘導台灣百合抵抗百合灰黴病的能力。至於葉面施用候選菌株方面，將菌液滴至葉片再接種百合灰黴病菌，可觀察到菌株 37-1 與 A3S11 具有較明顯的抑病效果(圖十七 b-g)。短小芽孢桿菌 *B. safensis* A3S11 在不同施用方式中皆具有良好抑病效果且對植物生長無負面影响，為用於保護台灣百合種球的首選菌株。

台灣百合組織樣本微生物相之高通量定序分析

於 2020 年所採集的 28 個樣本(表六)中，共取得 1,981,150 條序列。經過初步品質管控分析後，有 1,617,918 條序列被用於 OTUs 建構。透過 OTUs 分群與物種註釋分析，檢視 197 個 OTUs 於門(Phylum)的階層資料(圖十八)，發現 Cyanobacteria (藍綠菌門)於各樣品中的相對豐度高達 8 成以上，相對豐度次高者為 Proteobacteria (變形菌門)。各樣品中，僅樣品 Office 01 中之藍綠菌門比例較低，僅有 6 成左右。進一步分析，發現註釋後之藍綠菌門序列與百合的葉綠體與粒線體序列極為相似，故移除相近 OTUs，僅使用 24,582 條 reads 用於後續微生物相分析，建構成 60 個 OTUs (表七)。門階層之各樣品中 OTUs 相對豐度分析結果(圖十八)，可看出各組樣品中排除其他無法註釋之序列，所有組別皆含有 Proteobacteria (變形菌門)並且為佔比最多之物種，所有組別皆含有少量之 Firmicutes (厚壁菌門)；Actinobacteria (放線菌門)僅出現於組別 Bruwan 以及 Hehuan；Epsilonbacteraeota 門僅出現於組別 Office (Headquarter)與 Bruwan；Bacteroidetes (擬桿菌門)則出現於組別 Office (Headquarter)、Bruwan 與 Hehuan。

綜合各樣品微生物群相分析結果(圖十九)，主要的物種有 36.7% 歸屬為 Proteobacteria (變形菌門)，其次 11.7% 為 Firmicutes (厚壁菌門)，再其次 3.3% 為 Actinobacteria (放線菌門)。此外，Epsilonbacteraeota 與 Bacteroidetes (擬桿菌門)皆佔比約 1.7%，其他則是資料庫中無相符或相近者，故無法註釋之序列。分析各樣品之序列組成分(圖二十)，排除其他無法註釋之序列，所有組別之 Proteobacteria (變形菌門)仍為佔比最多之物種，其中在 Office01 樣品更是佔比高達 9 成以上，僅在少數樣品 (Bruwan02、03、05、07) 佔比低於 1 成；Firmicutes (厚壁菌門)在大部分樣品中有少量存在，佔比不超過 8%；Epsilonbacteraeota 門僅出現於少數樣品(Office17 與 Bruwan04、07、08、09)，且佔比不超過 3%，Bacteroidetes(擬桿菌門)則少量出現於樣品 Office17 與 Bruwan04、07、08、09 與

Hehuan27、28，佔比不超過 7%。

分析所有組別具有 OTUs 之交集，以 Upset 圖呈現(圖十四)，顯示出有 10 個 OTUs 在所有組別中皆存在，分別為 OTU_4、OTU_31、OTU_34、OTU_41、OTU_81、OTU_105、OTU_120、OTU_132、OTU_146、OTU_156；有 11 個 OTUs 只在 Bruwan 組別中存在，分別為 OTU_45、OTU_98、OTU_、OTU_113、OTU_124、OTU_126、OTU_130、OTU_133、OTU_151、OTU_152、OTU_175、OTU_176；9 個 OTUs 只在 Office 組別中存在，分別為 OTU_17、OTU_30、OTU_136、OTU_147、OTU_153、OTU_172、OTU_177、OTU_195、OTU_196；4 個 OTUs 只在 Hehuan 組別中存在，分別為 OTU_104、OTU_129、OTU_134、OTU_184；2 個 OTUs 只在 Luoshao 組別中存在，分別為 OTU_144、OTU_164。

詳細分析 OTUs 註釋後的物種，於 Proteobacteria (變形菌門)中可辨認到 Genus(屬)層級的包括 *Sphingomonas*、*Pantoea*、*Stenotrophomonas*、*Rosenbergiella*、*Providencia*、*Proteus*、*Pseudomonas*、*Acinetobacter*、*Halomonas*、*Escherichia*、*Shigella*、*Paenalcaligenes*、*Burkholderia*、*Caballeronia*、*Paraburkholderia* 和 *Massilia*。於 Firmicutes (厚壁菌門)中辨認到屬層級的有 *Sporosarcina*、*Enterococcus*、*Erysipelothrix*、*Lactobacillus* 和 *Faecalibacterium*。於 Actinobacteria (放線菌門)中，則辨識出 *Cellulomonas*、*Actinomyces*；Epsilonbacteraeota 門中有 *Campylobacter*。此外，Bacteroidetes(擬桿菌門)中辨認到 *Myroides* 屬。而上述能夠進一步辨認到種層級的僅有 Proteobacteria (變形菌門)中 *Sphingomonas paucimobilis*、*Proteus mirabilis*、*Pseudomonas fulva*、*Acinetobacter calcoaceticus*。

台灣百合種子內生菌分離

進一步嘗試由分離菌株了解台灣百合的微生物相，於 2021/7/27 取得生長於太管處周圍的 12 個台灣百合植株果莢，編號為 T1 至 T12。對果莢組織外部進行觀察，將樣本分類為「未成熟」與「成熟」果莢兩群(圖二十一)。前者尚未自然開裂，果莢偏淺綠色，包含 T1、T3、T7、T8、T9、T11、T12 等樣本，其內種子米白色並且水分較為足夠。後者果莢已經開裂且顏色轉褐，包含 T2、T4、T10 等，種子已呈現褐色並且呈乾燥的狀態。所有台灣百合植株樣本，皆分成葉片與種子兩部份進行微生物相分析。觀察葉片樣本，除 T10 之外，皆有葉尖萎凋與黃化的病徵，且 T7 樣本最為嚴重(圖二十一)。此外，果莢 T7 樣本的表面明顯帶有病原菌。各樣本塗佈於 NA 進行內生菌菌量分析。葉片樣本中，T3 以外的樣本皆有分離到內生菌，而種子樣本 T1、T5、T7、T8、T9、T11、T12 皆有分離到內生菌。樣本帶菌量介於 2.8×10^2 至 3.05×10^9 CFU/ml 之間，詳細分離結果整理如表八。另外，塗佈於 LBA 或是 PDA 培養基所分離純化的百合種子內生菌菌株亦經過初步鑑定，但許多菌株僅能鑑定至科或屬的層級，尚無法確定其物種。

討論

台灣百合種子發芽及苗株栽培

在台灣百合種子及幼苗培育時，觀察到不同綠莢間的種子發芽率差異較大，顯示於綠莢狀態時較難以外觀分辨種子成熟度。欲以成熟種子育苗，最好採集已開始轉黃褐色的果莢，有較高的發芽率(黃雅玲等，2005)。合歡山的台灣百合種子於 18°C 環境一個月的發芽率仍然相當低，進一步以低溫處理後才有較良好的萌發情形，推測可能與其種群所處地區海拔較高有關，但過去研究針對生長於不同海拔的台灣百合種子發芽率研究中並無觀察到此現象(許圳塗，1977)，可能與果莢成熟度有關，由於未在研究中保留一部份種子，長時間觀察無低溫處理的發芽率，因此不能確認此可能性。

根據過去之研究，台灣百合經常生長於陽光較強的開闊地，但光線需求的資料較少。一般田間栽培百合的建議陽光照度為 25,000-50,000 lux (易美秀及黃勝忠，1998)，而參考台灣百合近緣種鐵炮百合(*Lilium longiflorum*)的相關研究，其光合作用之光飽和點為 700 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (約等同於超過 35,000 lux 的陽光照度)，如使用 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照下亦有最大光合作用的 85% (Wang, 1990)，在人工照明下為有經濟效益的照明強度。故本研究之植物生長室更換使用全光譜 LED 燈管，維持光照強度在 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上，每日照光 16 小時。若以鐵炮百合的光合作用數據計算，此栽培方式相當於每日進行 13.6 小時飽和光合作用，較室外栽培要高，計算其光積值(Daily Light Integral)約 11.5 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ ，符合一般建議百合生長的光積值需求(Torres and Lopez, 2012)。另一方面，台灣百合生長期間如過於密植有互相遮擋光線的狀況，會影響植株生長，造成植株大小不一，需要注意台灣百合生長的空間需求。

台灣百合生長、開花及鱗莖養成

為改善台灣百合培育流程，本研究建立指標以反映植株成長階段及合理化養分管理方式，首先針對台灣百合開花特性，過去研究指出台灣百合可於播種一年內開花，五月時也已有 589 株台灣百合開花或露蕾，其中有許多植株開 2-5 朵花，顯示於室內育苗確實可於栽培後一年內開花。經比較未開花植株及僅開一朵花的植株，可知開花所需鱗莖直徑最小為約 2 cm，2.5 cm 以上直徑鱗莖的植株大多具開花能力，而參考過去針對台灣百合近緣種鐵炮百合(*Lilium longiflorum*)進行的研究，也指出種植時鱗莖直徑若有 3.2~3.8 公分，則開花機率可達 100% (Almeida et al., 2017)。考慮到一般認為台灣百合具有早熟性，與鐵炮百合相比通常開花所需鱗莖尺寸較小，建議台灣百合育苗時鱗莖直徑 3 公分以上的植株即可

視為具開花能力，並於冬季前進行定植，受自然低溫刺激後隔年即可開花。

台灣百合育苗的養份管理方面，過量施肥不但無法增加葉綠素含量，還可能造成葉片焦枯，建議在不同環境育苗，有需要因應植株成長狀況差異調整施肥量時，可以考慮以介質 EC 值作為指標，控制在約 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 左右，以免施肥不足或過量。至於肥料中不同營養元素比例方面，過去研究指出百合對於氮鉀肥需求較磷肥略高(Slangen et al., 1989, Satpute et al., 2014)，因此育苗時可以施用氮鉀比例略高的肥料。然而，針對布洛灣地區的土壤分析結果顯示，雖然土壤中鉀、鈣、鎂等元素十分豐富，但磷含量甚低(表五)，因此若有需求可以考慮於種植區域酌施磷肥。

台灣百合果莢發育及休眠

本研究於台灣大學室外栽培台灣百合，可觀察到其於開花約 2~3 個月後，果莢陸續成熟，開花約 3~4 個月後則無論是否順利結實，植株地上部皆陸續枯萎。由於不同地區生長之百合，可能因環境如氣溫等因素而有成長發育速度之差異，此數據僅提供參考，若需於各地進行採收果莢時，仍應以該地實際狀況為準。本計畫中自花授粉的台灣百合結實成功率並不高，且果莢中種子也不多，可能是因近開花時未適當追肥，介質濕度不穩定，時有乾旱逆境等因素造成果莢發育不良；或是因有自交生殖障礙而造成敗育機率增加。若欲由果莢外觀判斷發育狀態，可將落花後果莢伸長至原本 1.4 倍以上，外觀平順不扭曲且飽滿者視為授粉較為成功的果莢(圖八 c~f)。

為了運送方便，於台灣百合夏季枯萎休眠時將種球挖起以便郵寄，由於已知切除下根並不影響後續生長(Song, 2017)，因此將下根剪去，檢視鱗莖是否有感染受損的部位並去除之。對於部分未休眠的生長中植株，則參考過去在百合及洋蔥上的研究(吳睿娟, 2007; Cotner, 1978; Moe, 1980)，以益收處理，發現雖然單純葉噴 1,000~2,000 ppm 益收無法使植株地上部枯萎，但若預先減少澆水 2~4 週，使介質表面略乾後再施用益收，則可使地上部於 2~3 週內黃化並乾枯，有利於後續寄送，且兩種濃度的施用效果並無明顯差異。由於已知 1,000 ppm 益收於台灣百合植株上有限制株高且不影響花朵品質的作用(吳睿娟, 2007)，建議使用 1,000 ppm 益收即可。然而，限制給水以及施用益收等操作會造成生長停滯，建議於台灣百合開花後仔細觀察植株狀態，於植株有 1/3 至 1/2 開始黃化枯萎時，將植株崛起並去除地上部即可，避免於非休眠期間採收種球時的特別處理。

台灣百合之灰黴病感受性及候選菌株之抑病效果

為了得知不同台灣百合之間是否存在抗病性差異，對不同果莢種子所育出植株進行接種測試，不同批次植株間對百合灰黴病抗性不一，而合歡山和洛韶地區植株普遍較為抗病。不同地區抗病性的差異或許是因為不同地區台灣百合族群遺

傳上的差異，或是因為較高海拔的合歡山及洛韶地區，與較低海拔的太管處及布洛灣地區氣候不同，造成表觀遺傳學上的修飾差異，而影響了抗病性。以上種種原因尚需進一步研究確認。應用根圈細菌的生物防治測試，過去自布洛灣地區健康台灣百合根圈分離的菌株經對峙培養及防治試驗，得知菌株 A3S11 可藉由對百合灰黴病菌的拮抗作用以及對台灣百合可誘導抗性，發揮對百合灰黴病的預防作用。由於此菌株有產生內生孢子的能力，有利於後續應用。

台灣百合組織樣本微生物相之高通量定序分析

針對 109 年所採集之台灣百合種子進行微生物高通量定序，其結果受到植物樣本序列干擾，後續增添移除葉綠體以及粒線體序列之步驟，方能完成物種註釋；然而，註釋到的物種數量過少且不適用於進行多樣性分析。因此，本次嘗試透過事先使用特殊 PCR 引子擴增種子內生細菌，以便將微生物與葉綠體及粒線體序列有效分離。此方法目前已知在禾本科與阿拉伯芥之植物組織皆可有效分離細菌與葉綠體、粒線體序列(Chelius and Triplett, 2001; Sun et al., 2008; Liu et al., 2012; Bodenhausen et al., 2013)。此外，Lefèvre 等人(2020)表明應用 blocking primer 可以有效阻斷植物樣本中葉綠體和粒線體序列之增幅，本研究依據百合科植物序列設計出相應之 blocking primer，尚在測試階段，日後用於樣本製備上，將可減少葉綠體及粒線體序列之干擾，以利樣本進行多樣性分析。

基於前述研究中發現台灣百合種子內有內生菌存在，期望可自種子分離有益微生物，應用於生物防治資材開發。經嘗試培養發現，110 年所採集的果莢中種子皆普遍存在可培養的內生菌，對於部分種子樣本使用 LBA 及 PDA 沒有順利分離到內生菌，卻可於 NA 上產生菌落，推測可能原因為種子樣本中含有需要特定培養基之菌種，待後續獲取第三代定序分析結果，便可獲得相關資訊。至於成功分離的 16 株種子內生菌，都未能以所使用的引子對鑑定其物種，需進一步使用其他引子對增幅不同核酸區段以鑑定之，藉以調查這些物種是否有被報告具有不利於生物防治應用的特性，也應施用這些內生菌於台灣百合實生苗，觀察是否會造成明顯不良的反應，以決定是否進一步應用。對於這些種子中內生菌的族群量方面，根據樣本分離的帶菌量，輔以外觀形態判斷，樣本 T7 之果莢可能是受到病原寄生，造成組織受傷，以至於其他微生物容易進入，故所分離之帶菌量較高。其餘有順利分離到細菌之果莢樣本，多為未成熟尚未開裂之果莢。相較於成熟開裂的果莢，其種子已呈現褐色並且乾燥的狀態，未成熟果莢之種子為米白色並且有充足的水分。水分對生物體為必需組成，內生菌生存在植物體內，由植物體或大氣中的水氣獲取水分，已知水分會影響微生物群落組成(Taketani et al., 2017)，在乾燥環境下微生物較難存活，已成熟開裂之 T2 及 T10 果莢無法分離出內生菌，推測因其種子已呈完全乾燥狀態，不利於微生物生存，而未成熟之果莢富含水分，可供微生物存活。本研究所採集的葉片樣本皆有順利分離到內生菌，樣本 T7 葉片之病徵明顯，也分離得到較高之帶菌量，其餘樣本之帶菌量與葉片外觀表徵並

無明顯關聯性，推測葉片黃萎病徵與葉片內共生菌應無相關。另外，亦有嘗試鑑定自 110 年採集之種子中分離的內生菌，以及對這些種子以第三世代定序進行其中的菌相分析，此部分實驗尚在進行中。

結 論

1. 在此研究中，於 25°C 植物生長室以 LED 燈提供 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 之 16 小時/8 小時 (日/夜) 光照條件，配合每週澆灌兩次稀釋 2,000 倍的花寶 2 號液肥，可以使台灣百合苗株於種子發芽後三個月成長至具 3~5 片葉的狀態，五個月後具 6~13 片葉，續經室外低溫環境刺激，於第七個月已經可以觀察到直立莖的生成，並於 9~11 個月後陸續開花，顯示種子發芽及前五個月生長環境溫度在 25°C 左右，可望在一年內自種子栽培至開花。
2. 於採集種子時，果莢以外觀略呈黃褐色為佳，而不同來源之台灣百合種子催芽時，需注意低溫地區的種子可能有低溫催芽需求，可預先將其種子保濕冷藏 2 週以確保良好發芽率。
3. 栽培時的施肥方面，可觀察植株生長狀況，輔以監測介質溶液的 EC 值並控制於 $1000 \mu\text{S}/\text{cm}$ 左右，依此調整施肥量以免過多或不足，造成生長遲緩。
4. 種球採收時，可藉由鱗莖尺寸粗略判斷直徑大於 3 公分者較有機會開花，並於開花後有 1/3~1/2 植株逐漸黃化枯萎時，即可將鱗莖挖起並除去地上部，以便後續處理及運送。
5. 台灣百合有益根圈微生物中，本次研究中自 9 株源自布洛灣之台灣百合根圈細菌中篩選出防病能力較佳的 *B. safensis* A3S11，此菌株除了在對峙培養中抑制百合灰黴病菌的作用較強；於澆灌或葉面施用時，對百合灰黴病也有良好的防治效果，可供後續應用於台灣百合實生苗及鱗莖培育上。
6. 內生菌方面，經次世代定序分析可以得知台灣百合種子中的大多數細菌源自於 Proteobacteria (變形菌門)、Firmicutes (厚壁菌門)、Actinobacteria (放線菌門) 等，並包含有促進植物生長或拮抗病原菌的的種類，仍待分離菌株後測試。

引用文獻

1. 吳睿娟。2007。利用益收生長素改善東方型百合之上位葉病變。國立台灣大學生物資源暨農學院園藝學系碩士論文。
2. 呂福原。2011。金門植物誌。金門國家公園管理處。金門縣。
3. 易美秀、黃勝忠。1998。露蕾期前遮陰對秋植百合生育之影響。唐菖蒲、百合及菊花研究況與產業發展研討會專刊 pp.105-112。
4. 林可莉。2019。雜草型紅米種子內共生菌的篩選與評估其對於水稻生長與生物防治的應用潛力。國立中興大學生物科技學研究所碩士論文。
5. 許圳塗。1977。臺灣原生鐵炮面合(*Lilium longiflorum* Thunb.)及臺灣百合(*L. formosanum* Wall.)不同族群結實及種子發芽特性。中國園藝 23: 15-22。
6. 童伯開、陳瑞祥、郭章信、蔡竹固。1998。百合灰黴病菌 *Botrytis elliptica* 的生理特性及殘存。植物保護學會會刊 40: 371-382。
7. 黃雅玲、王惠美、許玉妹、王均琍。2004。台灣百合栽培繁殖技術。高雄區農技報導 58: 1-7。
8. 黃雅玲、王惠美、許玉妹、王均琍。2005。台灣百合種子發芽特性之研究。高雄區農業改良場研究彙報 16: 28-35。
9. 黃增泉主編。2000。台灣植物誌 第二版第五卷。台灣植物誌第二版編輯委員會。臺北市。
10. 蔡月夏。2001。台灣原生種百合之繁殖與復育。花蓮區農業專訊 36: 11-14。
11. 應紹舜。2018。台灣產百合科新天然雜交種—石門百合。新植物及新名稱 1: 1。
12. 謝廷芳、黃振文。1998。百合灰黴病之發展條件與病勢進展。植物保護學會會刊 40: 227-240。
13. 謝廷芳。1993。百合病害防治。高雄區農業專訊 6。
14. 謝奉家。2012a。具商品化潛力之多功能液化澱粉芽孢桿菌。健康農業 32: 46-61。
15. 謝奉家。2012b。液化澱粉芽孢桿菌防治外銷蝴蝶蘭黃葉病之研發。農政與農情 237: 91-94。
16. 嚴新富、巴清雄。2006。魯凱族的頭飾植物介紹(四)被子植物—單子葉植物。國立自然科學博物館館訊 221: 9。
17. Almeida, D. B., Barbosa, J. G., Grossi, J. A. S., Finger, F. L., and Heidemann, J. C. 2017. Influence of vernalization and bulb size on the production of lily cut flowers and lily bulbs. *Semina: Ciências Agrárias* 38(4Sup1): 2399.
18. Bodenhausen, N., Horton, M. W., and Bergelson, J. 2013. Bacterial Communities Associated with the Leaves and the Roots of *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* 8(2): e56329.

19. Cavins, T. J. 2008. PourThru: A method for monitoring nutrition in the greenhouse. *Acta Horticulturae* 779: 289-298.
20. Chelius, M. K., and Triplett, E. W. 2001. The diversity of archaea and bacteria in association with the roots of *Zea mays* L. *Microbial Ecology* 41: 252–263.
21. Cotner, S. D. 1978. Effect of ethephon [(2-chloroethyl) phosphonic acid] on onions grown under environmental conditions conducive and non-conducive to bulb formation. Texas A&M University, Texas, USA.
22. De Silva, N. I., Brooks, S., Lumyong, S., and Hyde, K. D. 2019. Use of endophytes as biocontrol agents. *Fungal Biology Reviews* 33: 133-148.
23. de Souza, R., Okura, V., Armanhi, J., Jorrin, B., Lozano, N., da Silva, M. J., González-Guerrero, M., de Araújo, L. M., Verza, N., Bagheri, H. C., Imperial, J., and Arruda P. 2016. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. *Scientific Reports* 6: 28774.
24. Deyett, E., Roper, M. C., Ruegger, P., Yang, J-I., Borneman, J., and Rolshausen, P. E. 2017. Microbial landscape of the grapevine endosphere in the context of Pierce’s Disease. *Phytobiomes* 1: 138-149.
25. Doss, R. P., Chastagner, G. A., and Riley, K. L. 1988a. Streaking of lily leaves associated with infection by *Botrytis elliptica*. *Plant Disease* 72: 859-861.
26. Doss, R. P., Christian, J. K., and Chastagner, G. A. 1988b. Infection of Easter lily leaves from conidia of *Botrytis elliptica*. *Canadian Journal of Botany* 66: 1204-1208.
27. Fadrosh, D. W., Ma, B., Gajer, P., Sengamalay, N., Ott, S., Brotman, R. M., and Ravel, J. 2014. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform. *Microbiome* 2: 6.
28. Hiramatsu, M., Okubo, H., Yoshimura, K., Huang, K. L., and Huang, C. W. 2002. Biogeography and origin of *Lilium longiflorum* and *Lilium formosanum* II—Intra- and Interspecific variation in stem leaf morphology, flowering rate and individual net production during the first year seedling growth. *Acta Horticulturae* 570: 331–334.
29. Huang, C. J., Yang, K. H., Liu, Y. H., Lin, Y. J., and Chen, C. Y. 2010. Suppression of southern corn leaf blight by a plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* C1L. *Annals of Applied Biology* 157: 45–53.
30. Jayamohan, N. S., Patil, S. V., and Kumudini, B. S. 2020. Seed priming with *Pseudomonas putida* isolated from rhizosphere triggers innate resistance against *Fusarium* wilt in tomato through pathogenesis-related protein activation and phenylpropanoid pathway. *Pedosphere* 30(5): 651-660.
31. Lefèvre, E., Gardner, C. M., and Gunsch, C. K. 2020. A novel PCR-clamping assay reducing plant host DNA amplification significantly improves prokaryotic endo-microbiome community characterization. *FEMS Microbial Ecology* 96(7): fiae110.

32. Liu, Y. H., Huang, C. J., and Chen, C. Y. 2008. Evidence of induced systemic resistance against *Botrytis elliptica* in lily. *Phytopathology* 98:830-836.
33. Liu, Y., Zhu, A., Tan, H., Cao, L., and Zhang, R. 2019. Engineering banana endosphere microbiome to improve Fusarium wilt resistance in banana. *Microbiome* 7:74.
34. Liu, Y., Zuo, S., Xu, L., Zou, Y., and Song, W. 2012. Study on diversity of endophytic bacterial communities in seeds of hybrid maize and their parental lines. *Archives of Microbiology* 194: 1001–1012.
35. Mastretta, C., Taghavi, S., van der Lelie, D., Mengoni, A., Galardi, F., Gonnelli, C., Barac, T., Boulet, J., Weyens, N., and Vangronsveld, J. 2009. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity. *International Journal of Phytoremediation* 11(3): 251-267.
36. Miller, C. S., Handley, K. M., Wrighton, K. C., Frischkorn, K. R., Thomas, B. C., Banfield, J. F. 2013. Short-read assembly of full-length 16S amplicons reveals bacterial diversity in subsurface sediments. *PloS one*. 8(2):e56018.
37. Moe, R. 1980. The use of ethephon for control of plant height in daffodils and tulips. *Acta Horticulturae* 109: 197-204.
38. Morales-Cedeño, L. R., Orozco-Mosqueda, M. C., Loeza-Lara P. D., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S., and Santoyo, G. 2021. Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre- and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives. *Microbiological Research* 242:126612.
39. Ofek, M., Hadar, Y., and Minz, D. 2011. Colonization of cucumber seeds by bacteria during germination. *Environmental Microbiology* 13: 2794-2807.
40. Pinto, C., Pinho, D., Sousa, S., Pinheiro, M., Egas, C., and Gomes, A. C. 2014. Unravelling the diversity of grapevine microbiome. *PLoS ONE* 9(1): e85622.
41. Rastogi, G., Sbodio, A., Tech, J. J., Suslow, T. V., Coaker, G. L., and Leveau, J. H. 2012. Leaf microbiota in an agroecosystem: spatiotemporal variation in bacterial community composition on field-grown lettuce. *ISME Journal* 6: 1812–1822.
42. Satpute, N. R., Waghmare, J. M., Jadhav, J. D., Jadhav, M. B. 2014. Effect of different sources and levels of potassium on yield, quality and nutrient uptake by *lilium* (*Lilium longiflorum*) grown under polyhouse condition. *International Journal of Agricultural Science* 10(2): 534-540.
43. Slangen, J. H. G., Krook, G. J., Hendriks, C. H. M., and Hof, N. A. A., 1989. N-Dressing and nutrient uptake of lilies on sandy soils. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 37: 269-272.
44. Sun, L., Qiu, F. B., Zhang, X., Dai, X., Dong, X. Z., and Song, W. 2008. Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence

- analysis. *Microbial Ecology* 55(3): 415–424
45. Taketani, R. G., Lanconi, M. D., Kavamura, V. N., Durrer, A., Andreote, F. D., and Melo, I. S. 2017 Dry season constrains bacterial phylogenetic diversity in a semi-arid rhizosphere system. *Microbial Ecology* 73: 153–161.
 46. Torres, A. P., Lopez, R. 2012. Measuring daily light integral in a greenhouse. Purdue Floriculture, West Lafayette, Indiana, USA. 7 pp.
 47. Van den Ende, J. E., and Pennock-Vos, M. G. 1997. Primary sources of inoculum of *Botrytis elliptica* in lily. *Acta Horticulturae* 430: 591-596.
 48. Wagner, M., Lundberg, D., del Rio, T., Tringe, S. G., Dangl, J. L., and Mitchell-Olds, T. 2016. Host genotype and age shape the leaf and root microbiomes of a wild perennial plant. *Nature Communications* 7: 12151.
 49. Wang, Y. 1990. Growth and leaf photosynthesis of *Lilium longiflorum* Thunb. 'Nellie White' in response to partial defoliation after anthesis. *Acta Horticulturae* 266: 197-204.
 50. Wei, Y. J., Wu, Y., Yan, Y. Z., Zou, W., Xue, J., Ma, W. R., Wang, W., Tian, G., and Wang, L. Y. 2018. High-throughput sequencing of microbial community diversity in soil, grapes, leaves, grape juice and wine of grapevine from China. *PLoS ONE* 13(3): e0193097.
 51. Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., and Lane, D. J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* 173: 697–703.
 52. White, T. J., Bruns T., Lee S., and Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. Innis, M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., and White, T. J. Academic Press, Inc., New York. pp. 315-322.
 53. Wilson, K. 2001. Preparation of genomic DNA from bacteria. *Current Protocols in Molecular Biology* 56:2.4.1-2.4.5.
 54. Yamamoto S., and Harayama S. 1995. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 61(3): 1104-1109.

Abstract

Lilium formosanum, a kind of ornamental flower widely distributed across Taiwan, is popular on the culture and landscape. *L. formosanum* could be infected by various pests during growing season. Fire blight caused by *Botrytis elliptica* is the most common foliar disease which greatly affects the growth and flowering of *L. formosanum*. To evaluate the disease resistance of *L. formosanum* in Taroko National Park in the presence of *B. elliptica*, 28 seed pods were collected and culture procedure of planting from seeds was established. Fourteen to fifteen months after sowing, 3,887 bulbs were collected from August to November 2021; among them, 1,465 bulbs were 3 cm in diameter with flowering potential at next spring. To identified beneficial bacteria, 9 strains of bacteria from the rhizosphere of healthy *L. formosanum* were screened *in vitro* to select those with stronger antagonistic activity against *B. elliptica*. In biocontrol assay, *Bacillus safensis* A3S11 showed promising disease control ability in different ways of application. To understand the endophytic microbiome of *L. formosanum*, DNA of lily seeds were extracted and next-generation sequencing was conducted with specific primers targeting V3-V4 region of 16S rDNA followed by species annotation and operational taxonomic unit (OTU) analysis. Most bacterial OTUs belong to the taxons that commonly occur in seed or soil, including Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacteria. To increase the OTUs for the endophytes of *L. formosanum*, the improvement of the methodology of microbiome analysis with plant tissues was undergoing.

Keywords: *Lilium formosanum*, *Botrytis elliptica*, beneficial rhizobacteria, endophytes, microbiome.

圖表集

表一、臺灣百合果莢採集地點之座標紀錄

採集地點	代號	X	Y	採集日期 (YYYY/MM/DD)
太魯閣國家公園 管理處	A1	121.623488	24.158206	2020/06/16
	A2	121.623624	24.158085	2020/06/16
	B1	121.623616	24.158361	2020/06/16
	B15	121.623652	24.158304	2020/06/16
	B16	121.623610	24.158376	2020/06/16
	B17	121.623255	24.158399	2020/06/16
	T1	121.623220	24.158291	2021/07/27
	T2	121.623276	24.158413	2021/07/27
	T3	121.623184	24.158403	2021/07/27
	T4	121.623199	24.158369	2021/07/27
	T5	121.622863	24.158371	2021/07/27
	T6	121.622791	24.158234	2021/07/27
	T7	121.623583	24.158193	2021/07/27
	T8	121.623572	24.158162	2021/07/27
綠水 布洛灣	T9	121.623556	24.158080	2021/07/27
	T10	121.623543	24.158361	2021/07/27
	T11	121.623527	24.158395	2021/07/27
	T12	121.623588	24.158236	2021/07/27
	B18	121.507997	24.179330	2020/08/26
	B4	121.574019	24.170337	2020/06/01
	B5	121.573936	24.170207	2020/06/01
	B6	121.574032	24.170302	2020/06/01
	B7	121.573908	24.170303	2020/06/01
	B8	121.573842	24.170328	2020/06/01
	B9	121.573804	24.170316	2020/06/01
	B10	121.573803	24.170325	2020/06/01
	B11	121.573731	24.170360	2020/06/01
	B12	121.573695	24.170416	2020/06/01
B13	121.573745	24.170461	2020/06/01	
B14	121.574038	24.170357	2020/06/16	
洛韶	L1	121.451229	24.207095	2020/09/26
	L2	121.451297	24.207361	2020/09/26
	L3	121.451354	24.207339	2020/09/26
	L4	121.451090	24.207285	2020/09/26
合歡山	H1	121.287114	24.162169	2020/06/16
	H2	121.287048	24.162053	2020/09/26
	H3	121.287071	24.162095	2020/09/26
	H4	121.286895	24.161317	2020/09/26
	H5	121.286993	24.161205	2020/09/26
	H6	121.286984	24.161174	2020/09/26

表二、引子對

引子	序列 (5'→3')
fD1 ^a	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
rP1 ^a	ACGGTTACCTTGTTACGACTT
785F ^a	GGATTAGATACCCTGGTA
805R ^a	GACTACCAGGGTATCTAATC
UP1 ^b	GAAGTCATCATGACCGTTCTGCAYGCNNGGNGGNAARTTYGA
UP2r ^b	AGCAGGGTACGGATGTGCGAGCCRTCACRTCNGCRTCNGTCAT
UP1S ^b	GAAGTCATCATGACCGTTCTGCAY
UP2Sr ^b	AGCAGGGTACGGATGTGCGAGCC
ITS1 ^c	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS4 ^c	TCCTCCGCTTATTGATATGC
319F ^d	CCTACGGGNGGCWGCAG
806R ^d	GACTACHVGGGTATCTAATCC
27F ^e	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
1492R ^e	GGTACCTTGTTACGACTT
27F (modified) ^e	5'Phos/GCATC-16-base barcode-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG
1492R (modified) ^e	Phos/GCATC-16-base barcode- RGYTACCTTGTTACGACTT

^a Weisburg et al., 1991.

^b Yamamoto and Harayama, 1995.

^c White et al., 1990.

^d Fadrosch et al., 2014.

^e Miller et al., 2013.

表三、台灣百合種子發芽紀錄

代號	未經濕冷積層處理之發芽種子數/抽樣種子數	未經濕冷積層處理之發芽率(%)	濕冷積層處理後新萌發種子數	濕冷積層處理後發芽率(%)	果莢外觀
B4	6/116	5.2	-	5.2	綠莢
B5	3/58	5.2	-	5.2	綠莢
B6	21/109	19.3	-	19.3	綠莢
B7	3/111	2.7	-	2.7	綠莢
B8	7/180	3.9	-	3.9	綠莢
B9	2/125	1.6	-	1.6	綠莢
B10	2/83	2.4	-	2.4	綠莢
B11	5/86	5.8	-	5.8	綠莢
B12	36/202	17.8	-	17.8	綠莢
B13	38/160	23.75	-	23.75	綠莢
B18	52/75, 55/75, 51/75	70.2±2.8 ^a	-	70.2±2.8 ^a	褐色開裂
L1	61/75, 70/75, 61/75	85.3±6.9	-	85.3±6.9	綠莢
L2	69/75, 65/75, 69/75	90.2±3.0	-	90.2±3.0	綠莢
L3	70/75, 65/75, 66/75	89.3±3.5	-	89.3±3.5	褐色開裂
L4	39/80	48.8	-	48.8	綠莢
H1	6/119	5.0	10	13.4	綠莢
H2	24/75, 26/75, 30/75	35.6±4	0	35.6±4	綠莢
H3	2/207	1.0	12	6.7	綠莢
H4	0/75, 0/75, 0/75	0	154	ND ^b	綠莢
H5	0/75, 1/75, 0/75	0.4±0.7	158	ND ^b	綠莢
H6	0/119	0	117	98.3	綠莢

^a 以三次計算結果求得標準差，以正負值的方式表示。

^b 試驗中未詳細記錄 H4 及 H5 的種子總數，因此冷藏後的總發芽率無法計算，以 ND 表示。

*A1、A2 及 B1、B14-B17 等果莢播種時並未計算其發芽率

表四、台灣百合培育之鱗莖直徑

種子來源	編號	鱗莖直徑		不分尺寸	
		> 3 cm	< 3 cm		
太管處	A1	68	20		
	A2	229	127		
	B1	54	11		
	B15	48	12	21	
	B17		49		
布洛灣	B4	142	125		
	B5	47	53		
	B6	210	78		
	B7	23	56		
	B8	35	72		
	B9	20	107	47	
	B12	47	108		
	B13	9	13		
	B14	16	101		
	B16	15	17		
綠水	B18	95	129		
洛韶	L1	65	200	9	
	L2	112	326		
	L3	48	247		
	L4	20	13		
合歡山	H1			19	
	H2	23	50		
	H3	13	38		
	H4	45	108		
	H5	37	134		
	H6	10	64		
來源不明		34	68		
總和		1465	2326	96	3887

表五、布洛灣台地間斜坡土壤分析

檢測項目	土壤樣本別			農業土壤 一般建議值
	上	中	下	
酸鹼度(pH)	6.5	6.3	7.0	5.5~7.5
電導度(mS/cm)	0.08	0.09	0.15	0.5
有機質含量(%)	3.1	3.6	4.0	3~5
磷	6	7	43	50~100
鉀	102	190	145	50~100
鈣	2709	2198	7203	571~
鎂	257	207	458	48~
鐵	20	15	14	
元素含量	錳	51	53	48
(mg/kg)	銅	0.7	0.3	ND
	鋅	ND	ND	ND
	鎳	ND	ND	ND
	鉻	ND	ND	ND
	鎳	0.3	0.2	ND
	鉛	2.5	2.6	2.5

ND: 未檢出

表六、2020年06月至10月獲取健康百合種子樣品之相關資訊

樣品名稱	採集地點		經緯座標	物種	組織	DNA 濃度 (ng/μl)	收到樣品日期	報告中樣品名稱
B1-S	太管處	Office	24°09'30.1"N 121°37'25.0"E	台灣百合	種子	45.3	2020.06.17	Off01
B15-S	太管處	Office	24°09'29.9"N 121°37'25.2"E	台灣百合	種子	52.3	2020.06.17	Off13
B16-S	太管處	Office	24°09'30.2"N 121°37'25.0"E	台灣百合	種子	28	2020.06.17	Off14
B17-S	太管處	Office	24°09'30.2"N 121°37'23.7"E	台灣百合	種子	48.6	2020.06.17	Off15
A1-S	太管處	Office	24°09'29.5"N 121°37'24.6"E	台灣百合	種子	67.1	2020.06.17	Off17
A2-S	太管處	Office	24°09'29.1"N 121°37'25.1"E	台灣百合	種子	44.3	2020.06.17	Off18
B4-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.2"N 121°34'26.5"E	台灣百合	種子	110.6	2020.06.01	Bru02
B5-S	布洛灣	Bruwan	24°10'12.8"N 121°34'26.2"E	台灣百合	種子	107.1	2020.06.01	Bru03
B6-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.1"N 121°34'26.5"E	台灣百合	種子	102.8	2020.06.01	Bru04
B7-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.1"N 121°34'26.1"E	台灣百合	種子	103.8	2020.06.01	Bru05
B8-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.2"N 121°34'25.8"E	台灣百合	種子	60.5	2020.06.01	Bru06
B9-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.1"N 121°34'25.7"E	台灣百合	種子	63.7	2020.06.01	Bru07
B10-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.2"N 121°34'25.7"E	台灣百合	種子	79.6	2020.06.01	Bru08
B11-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.3"N 121°34'25.4"E	台灣百合	種子	86.5	2020.06.01	Bru09
B12-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.5"N 121°34'25.3"E	台灣百合	種子	80.9	2020.06.01	Bru10
B13-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.7"N 121°34'25.5"E	台灣百合	種子	41.5	2020.06.01	Bru11
B14-S	布洛灣	Bruwan	24°10'13.3"N 121°34'26.5"E	台灣百合	種子	30.3	2020.06.17	Bru12

B18-S	綠水	Bruwan	24°10'45.6"N 121°30'28.8"E	台灣百合	種子	76.2	2020.08.27	Bru16
LI-S	洛韶	Luoshao	24°12'25.5"N 121°27'04.4"E	台灣百合	種子	118.2	2020.10.07	Luo19
L2-S	洛韶	Luoshao	24°12'26.5"N 121°27'04.7"E	台灣百合	種子	118.7	2020.10.07	Luo20
L3-S	洛韶	Luoshao	24°12'26.4"N 121°27'04.9"E	台灣百合	種子	133.6	2020.10.07	Luo21
L4-S	洛韶	Luoshao	24°12'26.2"N 121°27'03.9"E	台灣百合	種子	72.8	2020.10.07	Luo22
H1-S	合歡山	Hehuan	24°09'43.8"N 121°17'13.6"E	台灣百合	種子	84.1	2020.10.07	Heh23
H2-S	合歡山	Hehuan	24°09'43.4"N 121°17'13.4"E	台灣百合	種子	146.8	2020.10.07	Heh24
H3-S	合歡山	Hehuan	24°09'43.5"N 121°17'13.5"E	台灣百合	種子	130.8	2020.10.07	Heh25
H4-S	合歡山	Hehuan	24°09'40.7"N 121°17'12.8"E	台灣百合	種子	120.4	2020.10.07	Heh26
H5-S	合歡山	Hehuan	24°09'40.3"N 121°17'13.2"E	台灣百合	種子	101.6	2020.10.07	Heh27
H6-S	合歡山	Hehuan	24°09'40.2"N 121°17'13.1"E	台灣百合	種子	89	2020.10.07	Heh28

表七、OTUs (操作分類單元) 物種註釋表

OTU.ID	Kindom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species
OTU_3	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Unassigned	Unassigned
OTU_4	Bacteria	Proteobacteria	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonadales</i>	<i>Sphingomonadaceae</i>	<i>Sphingomonas</i>	<i>Sphingomonas_paucimobilis</i>
OTU_5	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pantoea</i>	Unassigned
OTU_17	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Xanthomonadales</i>	<i>Xanthomonadaceae</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	Unassigned
OTU_29	Bacteria	Firmicutes	<i>Bacilli</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Enterococcaceae</i>	Unassigned	Unassigned
OTU_30	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Rosenbergiella</i>	Unassigned
OTU_31	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Unassigned	Unassigned
OTU_34	Bacteria	Proteobacteria	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonadales</i>	<i>Sphingomonadaceae</i>	<i>Sphingomonas</i>	Unassigned
OTU_36	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_41	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_43	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Providencia</i>	Unassigned
OTU_45	Bacteria	Firmicutes	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Planococcaceae</i>	<i>Sporosarcina</i>	Unassigned
OTU_54	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus_mirabilis</i>
OTU_63	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas_fulva</i>
OTU_68	Bacteria	Epsilonbacteraeota	<i>Campylobacteria</i>	<i>Campylobacterales</i>	<i>Campylobacteraceae</i>	<i>Campylobacter</i>	Unassigned
OTU_81	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_90	Bacteria	Firmicutes	<i>Bacilli</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	Unassigned
OTU_96	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_98	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_104	Bacteria	Firmicutes	<i>Erysipelotrichia</i>	<i>Erysipelotrichales</i>	<i>Erysipelotrichaceae</i>	<i>Erysipelothrix</i>	Unassigned

OTU_105	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter</i>	Unassigned
OTU_109	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_113	Bacteria	Firmicutes	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Lachnospiraceae</i>	Unassigned	Unassigned
OTU_118	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_120	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Oceanospirillales</i>	<i>Halomonadaceae</i>	<i>Halomonas</i>	Unassigned
OTU_121	Bacteria	Bacteroidetes	<i>Bacteroidia</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Myroides</i>	Unassigned
OTU_123	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_124	Unclassified	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_126	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_129	Bacteria	Actinobacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micrococcales</i>	<i>Cellulomonadaceae</i>	<i>Cellulomonas</i>	Unassigned
OTU_130	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_132	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia_Shigella</i>	Unassigned
OTU_133	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_134	Unclassified	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_136	Bacteria	Proteobacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_139	Bacteria	Firmicutes	<i>Bacilli</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	Unassigned
OTU_140	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteriales</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Paenalcaligenes</i>	Unassigned
OTU_144	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_145	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Unassigned	Unassigned
OTU_146	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_147	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteriales</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia</i> 、 <i>Caballeronia</i> 、 <i>Paraburkholderia</i>	Unassigned

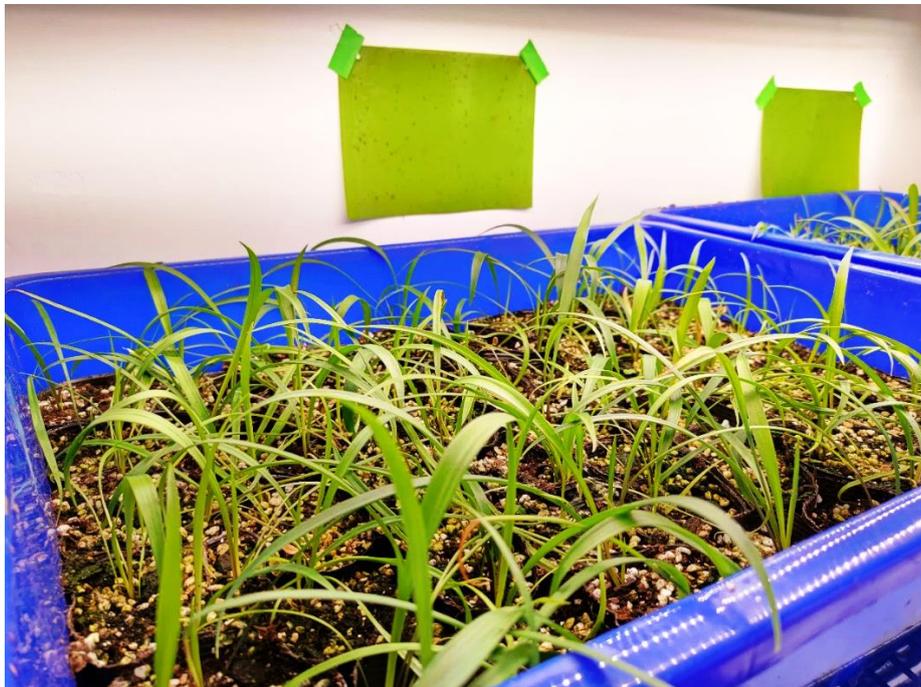
OTU_151	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Orbales</i>	<i>Orbaceae</i>	Unassigned	Unassigned
OTU_152	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter_calcoaceticus</i>
OTU_153	Unclassified	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_156	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_157	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_158	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteriales</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Massilia</i>	Unassigned
OTU_160	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Unassigned	Unassigned
OTU_164	Unclassified	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_171	Bacteria	Firmicutes	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Faecalibacterium</i>	Unassigned
OTU_172	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_175	Bacteria	Actinobacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces</i>	Unassigned
OTU_176	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_177	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_183	Unclassified	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_184	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_189	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_192	Bacteria	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned
OTU_195	Bacteria	Proteobacteria	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteriales</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia</i> 、 <i>Caballeronia</i> 、 <i>Paraburkholderia</i>	Unassigned
OTU_196	Unclassified	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned	Unassigned

表八、台灣百合樣本帶菌量 (2021 年)

樣本名稱	植物組織	培養液	稀釋倍率	菌落數/100 μ l	CFU/ml
T1	種子	無菌水	10^{-4}	151	$1.51*10^7$
T5	種子	無菌水	10^0	28	$2.8*10^2$
T7	種子	無菌水	10^{-5}	305	$3.05*10^8$
T8	種子	無菌水	10^{-5}	122	$1.22*10^8$
T9	種子	無菌水	10^{-4}	103	$1.03*10^7$
T11	種子	無菌水	10^{-4}	81	$8.1*10^6$
T12	種子	無菌水	10^{-3}	124	$1.24*10^6$
T1	種子	NB	10^{-6}	305	$3.05*10^9$
T7	種子	NB	10^{-6}	142	$1.42*10^9$
T8	種子	NB	10^{-6}	137	$1.37*10^9$
T9	種子	NB	10^{-6}	69	$6.9*10^8$
T11	種子	NB	10^{-6}	104	$1.04*10^9$
T12	種子	NB	10^{-4}	72	$7.2*10^6$
T1	葉片	NB	10^{-3}	24	$2.4*10^5$
T2	葉片	NB	10^{-5}	100	$1.0*10^8$
T4	葉片	NB	10^{-5}	90	$9.0*10^7$
T5	葉片	NB	10^{-3}	142	$14.2*10^6$
T6	葉片	NB	10^{-5}	42	$4.2*10^7$
T7	葉片	NB	10^{-6}	160	$1.6*10^9$
T8	葉片	NB	10^{-3}	49	$4.9*10^5$
T9	葉片	NB	10^{-3}	77	$7.7*10^5$
T10	葉片	NB	10^{-5}	38	$3.8*10^7$
T11	葉片	NB	10^{-6}	140	$1.4*10^9$
T12	葉片	NB	10^{-5}	57	$5.7*10^7$



圖一、布洛灣台地斜坡土壤採樣地點。1、2、3：斜坡上部。4、5、6：斜坡中央。7、8、9：斜坡下端。此九個採樣點土壤分別取 500 g 每三個混合均勻為上、中、下三個樣本，再行送驗。



圖二、播種後四個月的台灣百合實生苗，大多具有 4-5 片葉。



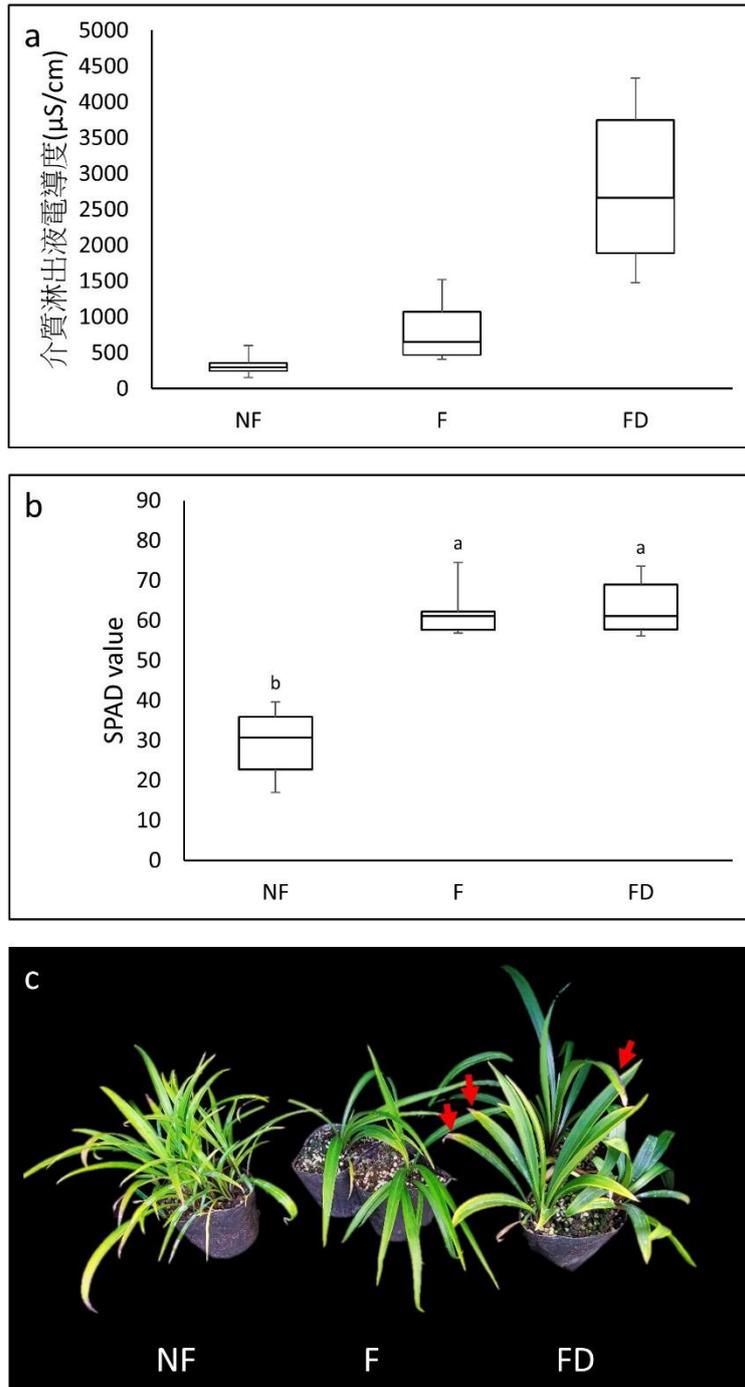
圖三、播種後 5-6 個月的台灣百合。(a)-(b)播種後五個半月已有許多植株達十片葉的生長階段。(c) 播種後約六個月有部分植株鱗莖直徑達 3.3 公分。



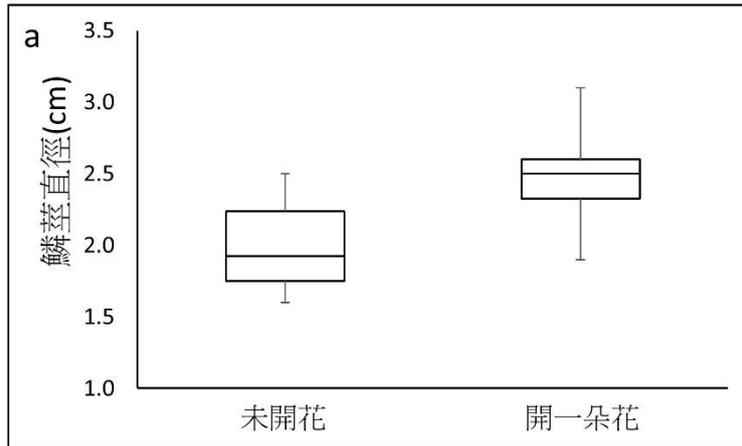
圖四、播種後七個月台灣百合，紅色箭頭指出頂芽有抽莖之跡象。



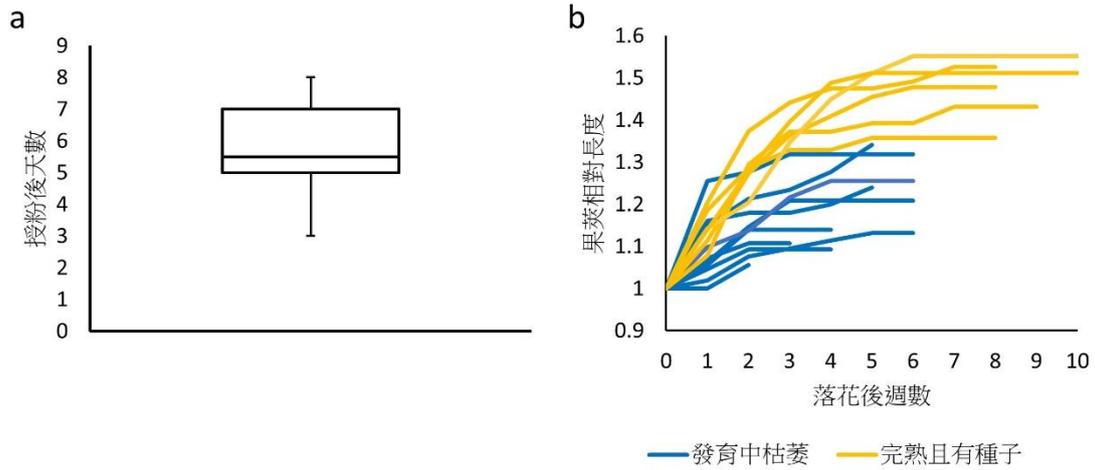
圖五、度冬後開花的台灣百合。(a) 播種後九個月有部分植株開始開花。(b) 部分植株可開 2-5 朵花。(c) 播種後約十個月開花較盛。



圖六、介質電導度測定。(a)不同施肥程度植株的介質洗出液電導度。(b)不同施肥程度植株的葉綠素相對含量差異，未施肥組別明顯較有施肥組別低。(c)不同施肥程度植株外觀差異，紅色箭頭標註過量施肥造成的葉尖黃化焦枯。NF：兩個月以上未施肥植株。F：規律施肥且無明顯不良反應植株。FD：過量施肥造成部分葉片尖端焦枯的植株。介質電導度測量為六重複；葉綠素相對含量測量為十重複。葉綠素相對含量使用 Fisher's LSD test 進行顯著性分析，相同字母表示無顯著差異。



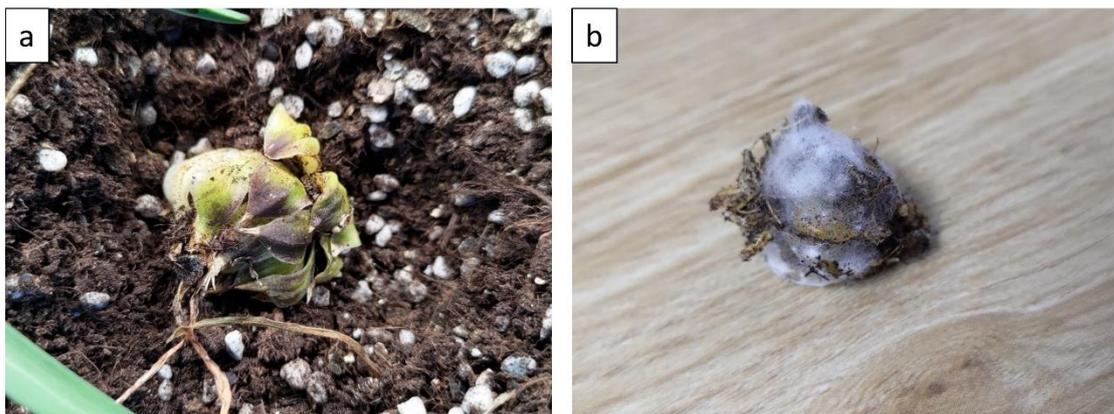
圖七、開單一朵花植株與未開花植株的鱗莖直徑比較。(a)具直立莖但未開花植株與開單一朵花植株的鱗莖直徑。(b) 圖左為具直立莖但未開花植株，圖右為開單一朵花植株。每組植株為 10 重複。



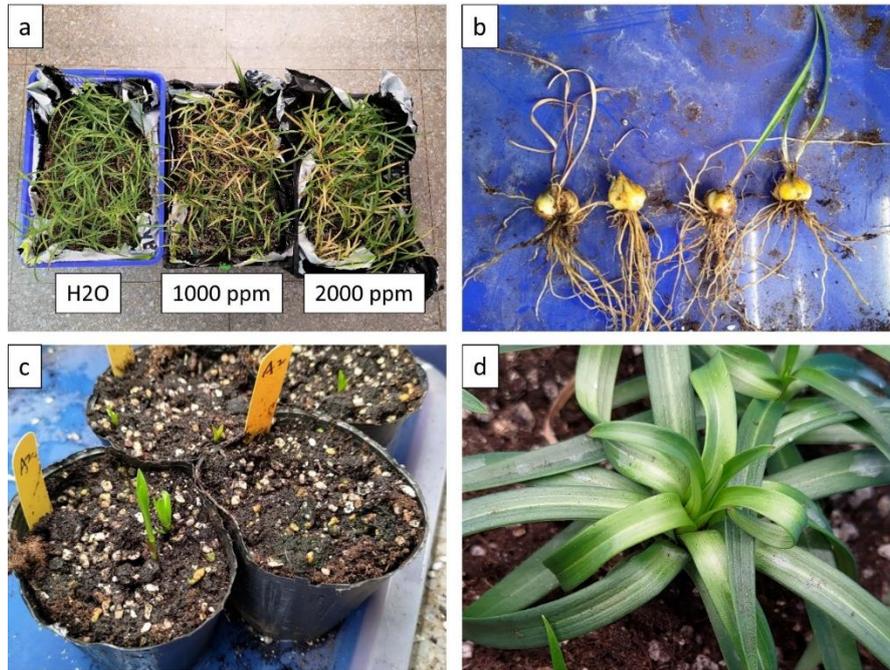
圖八、台灣百合授粉後果莢發育情形。(a) 台灣百合花被於授粉後脫落的時間，經觀察大多於授粉後 5-7 天脫落 (n=16)。(b) 果莢成功發育成熟者於花被脫落後 8-10 周陸續開裂釋出種子，其果莢較未成功發育者長且完整。(c) 未成功發育果莢雖略有伸長，但遲遲不見充實，或是如(d)外觀不平整，之後如(e)所示自先端乾枯。(f)成功產生種子之果莢。



圖九、台灣百合開花後於夏季枯萎。(a) 台灣百植株之地上部於開花後約三個月完全枯萎。(b) 部分批次百合出現直立之植株尚未完全枯萎，且已有植株重新長出蓮座葉的情況。



圖十、脫水之台灣百合鱗莖易有外層鱗片腐爛現象。(a) 過度限水之鱗莖外層鱗片出現皺縮外觀。(b) 鱗莖外層皺縮之種球於微濕介質中放置一天即出現發霉的情形。



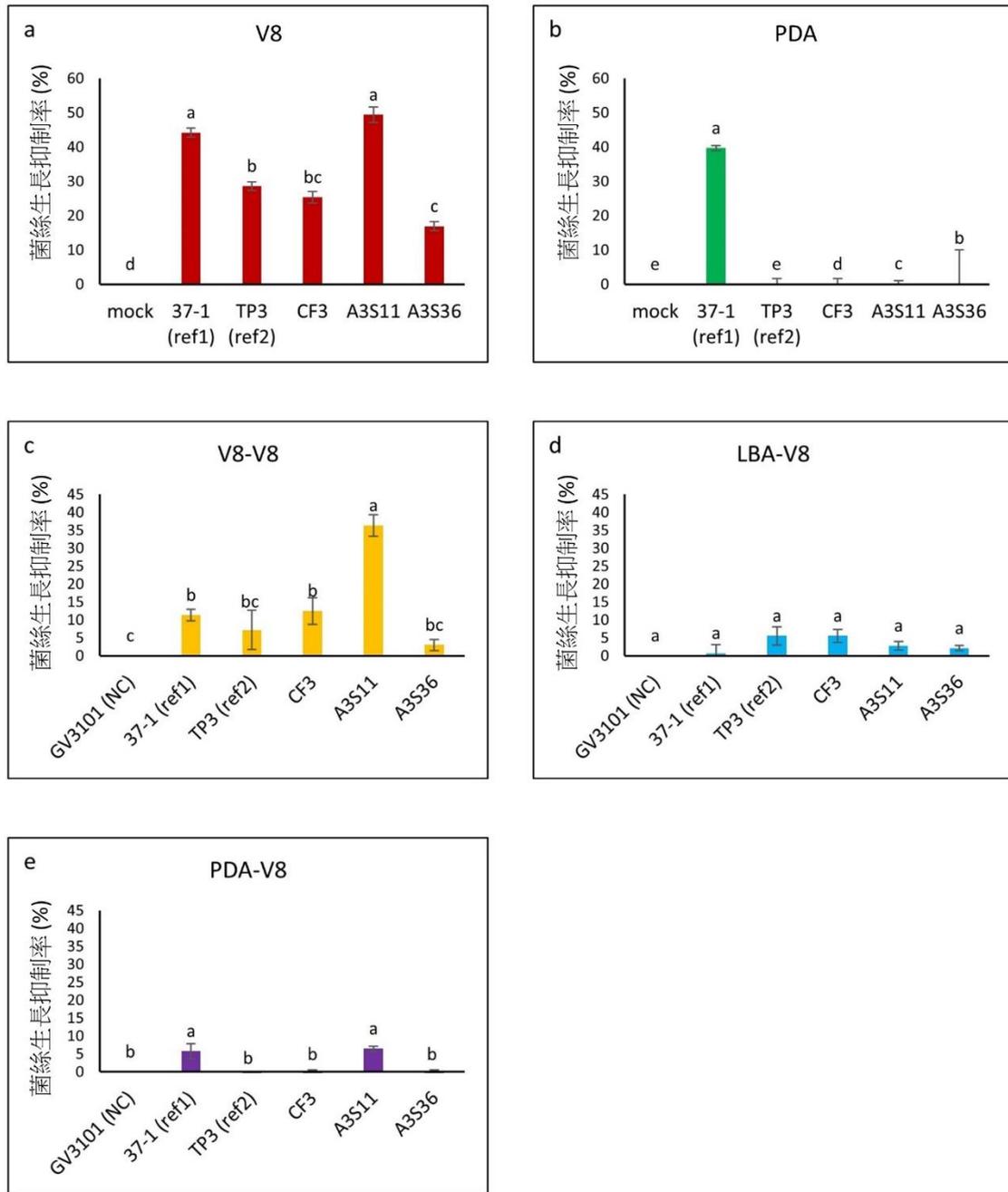
圖十一、益收處理台灣百合強迫休眠。(a)可見 1,000~2,000 ppm 益收噴施於經限水處理 2~4 周的台灣百合可造成葉片快速黃化。(b)為經益收處理而造成葉片有不同程度黃化枯萎的植株挖出後之外觀，可見雖然地上部枯萎，但鱗莖仍然飽滿。(c)為經益收處理之台灣百合重新種植後可於兩週內發芽。(d)則是正常給水之植株莖益收處理後並不枯萎，但有節間縮短及葉片反捲之現象。此部分試驗所使用的台灣百合為來自太管處 A2 果莢的實生苗。



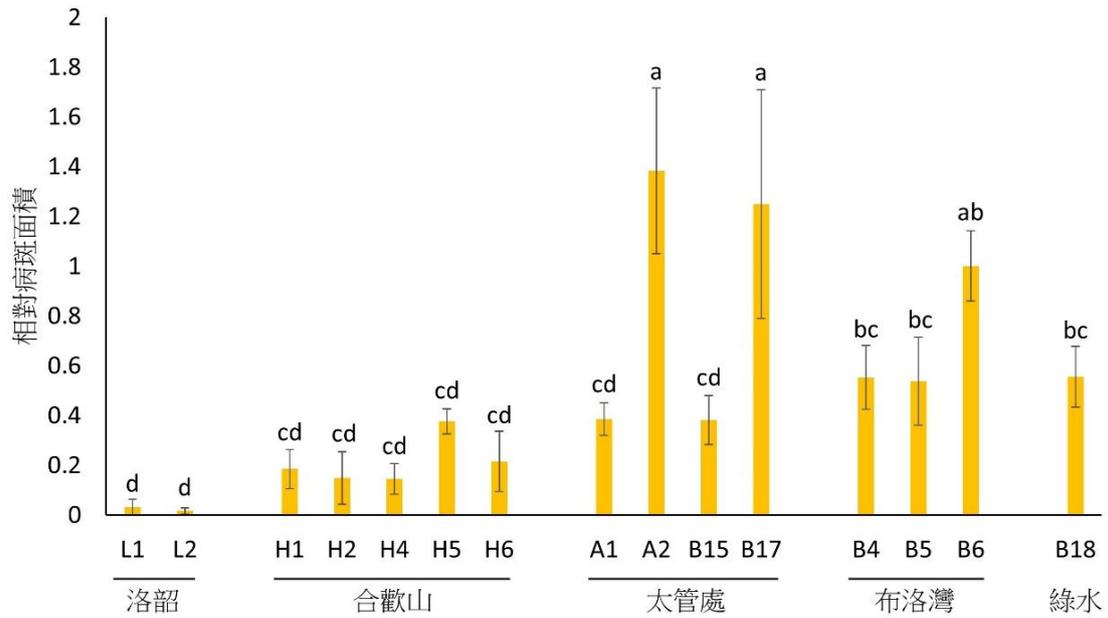
圖十二、台灣百合開花後鱗莖生長。(a)為較大種球開花後，自側芽發育為數個較小種球。(b)可見部分植株於莖基部腋芽處產生小種球。



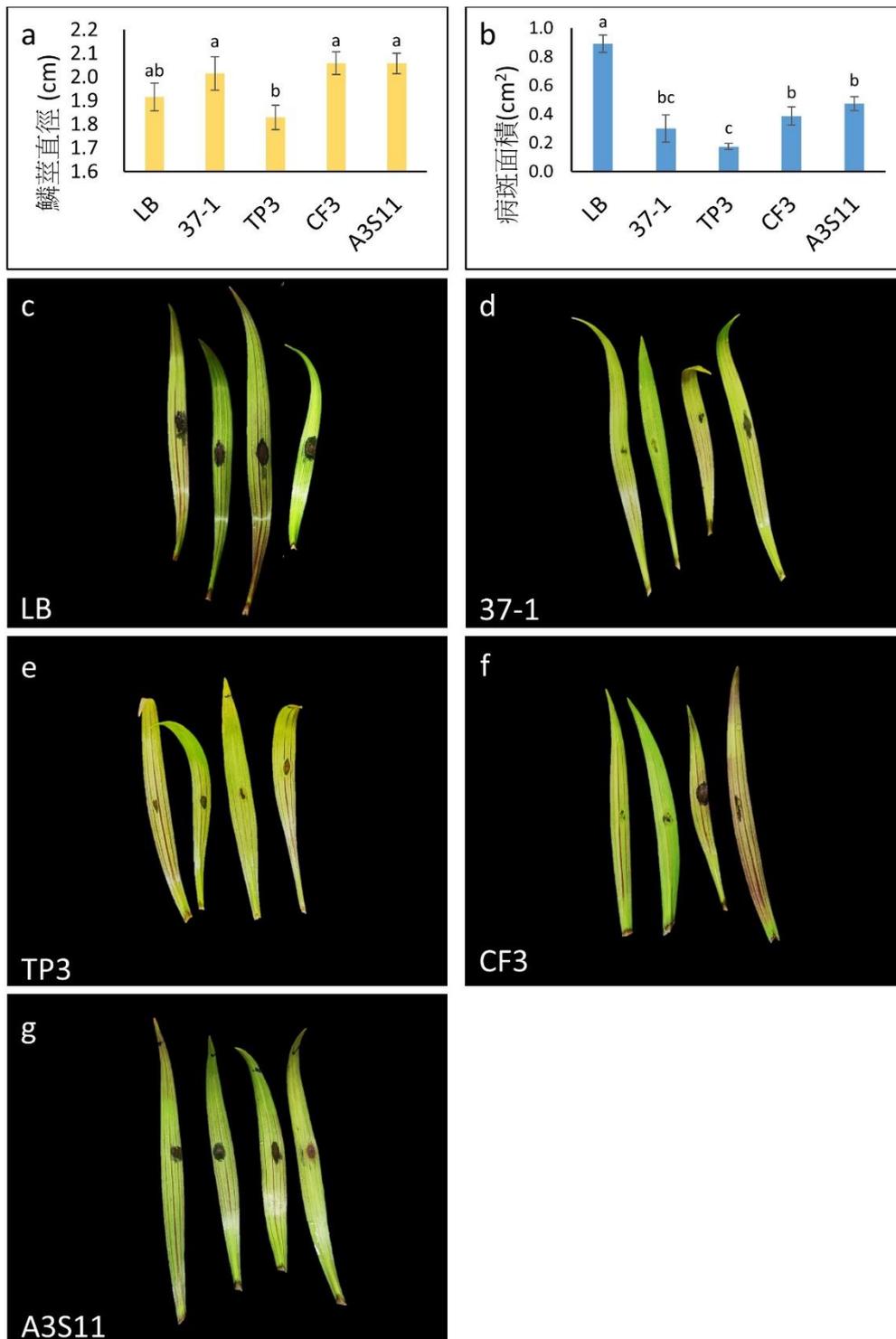
圖十三、泥炭土中之自生雜草。



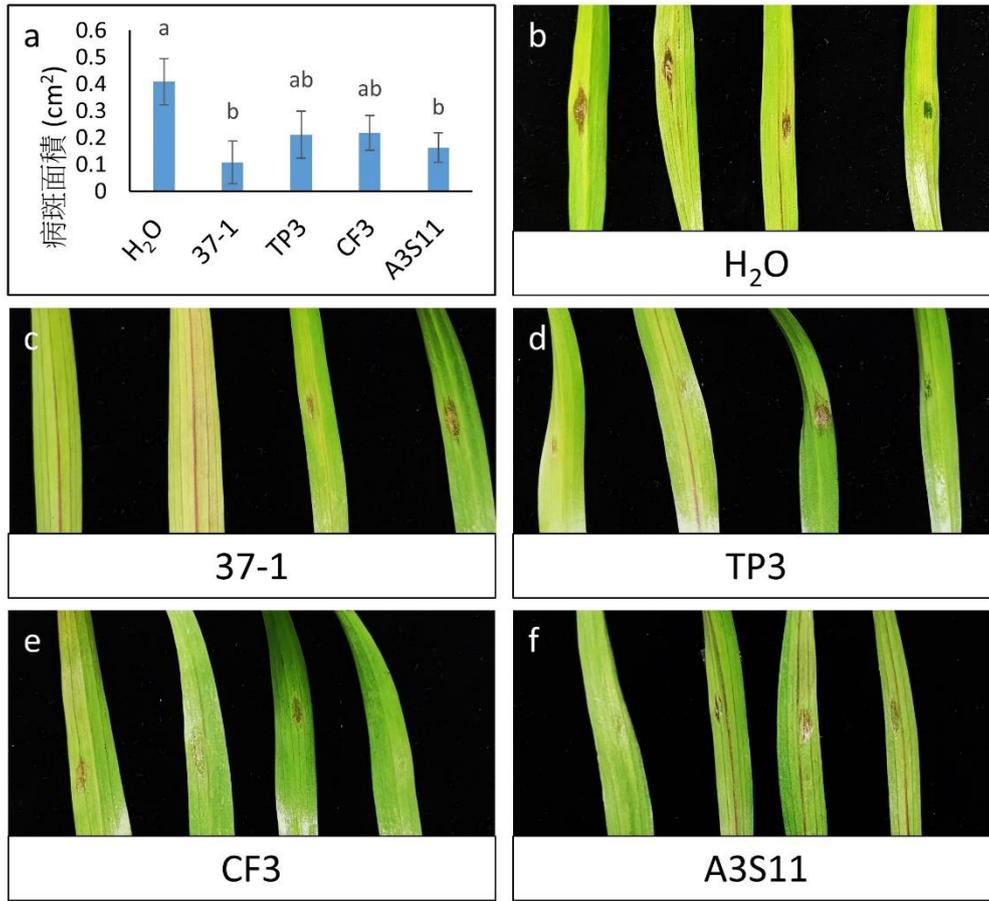
圖十四、台灣百合根圈細菌對百合灰黴病菌抑制率測試。(a-b) 依序分別為在 V8 及 PDA 培養基上對峙培養之結果。(c) 細菌培養於 V8 培養基，其揮發性物質對培養於 V8 培養基的百合灰黴病菌抑制率。(d) 細菌培養於 LBA。(e) 細菌培養於 PDA。Mock: 未畫線培養細菌的對照組。GV3101 (NC): 農桿菌 *Agrobacterium tumefaciens* GV3101，不產生抑菌揮發性物質的負對照組。37-1 (ref1)、TP3 (ref2): 依序為 *Bacillus amyloliquefaciens* 37-1 及 *Paenibacillus polymyxa* TP3，為具有良好生物防治能力之菌株，作為參照組。CF3: *P. putida* CF3。A3S11: *B. safensis* A3S11。A3S36: *Burkholderia* sp. A3S36。



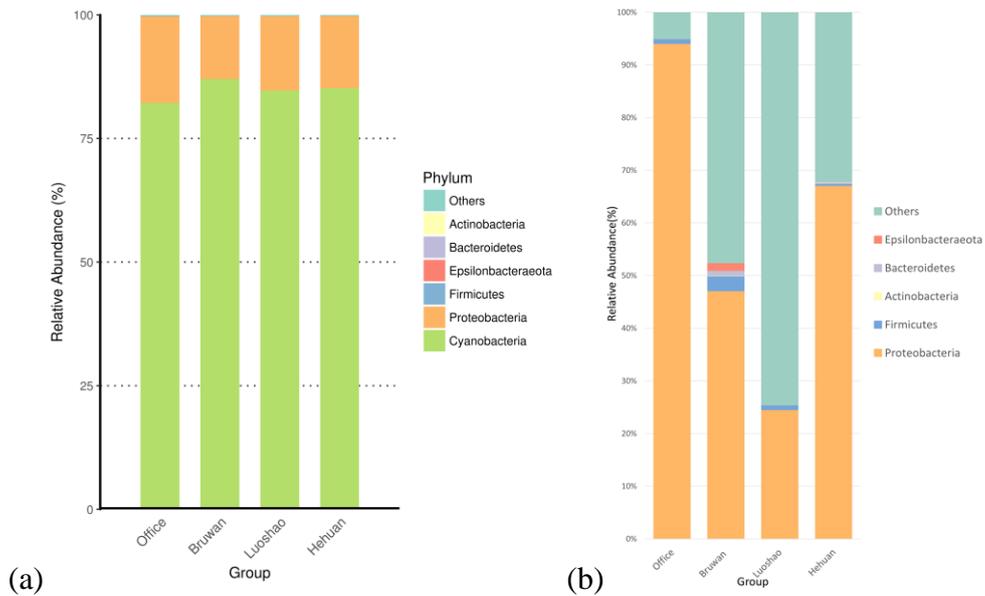
圖十五、不同果莢之台灣百合實生植株對百合灰黴病抗性差異。洛韶及合歡山之果莢的植株普遍較為抗病。試驗分為兩次進行，第一次進行太管處、布洛灣及綠水地區葉片接種，第二次則進行合歡山及布洛灣地區葉片接種。兩次試驗中皆有同時接種 B6 批次的台灣百合葉片，因此所有病徵經拍照量測面積數據後，除以當次試驗 B6 平均發病面積進行校正而得到相對病斑面積。以上試驗皆為五重複，病斑相對面積以 Fisher's LSD test 進行差異顯著性分析，相同字母表示無顯著差異，並以長條圖之誤差線標示標準誤差。



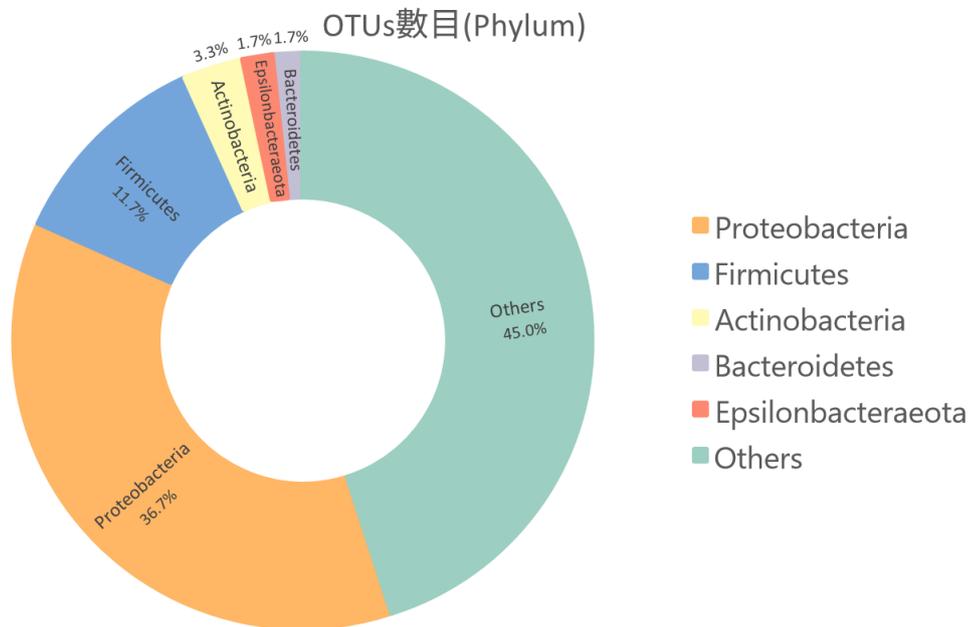
圖十六、施用候選菌株對台灣百合生長及抗病性的影響。(a) 不同菌株稀釋培養液澆灌對鱗莖直徑的影響，其中 TP3 澆灌之植株明顯較小。(b) 澆灌不同菌液的台灣百合葉片抗病性差異，所有菌株都較對照組抗病。(c)-(g) 澆灌不同菌液的台灣百合葉片發病情形。鱗莖直徑量測植株為七重複；抗病性試驗為四重複。兩試驗皆以 Fisher's LSD test 進行差異顯著性分析，同字母代表無顯著差異，長條圖誤差線為標準誤差。



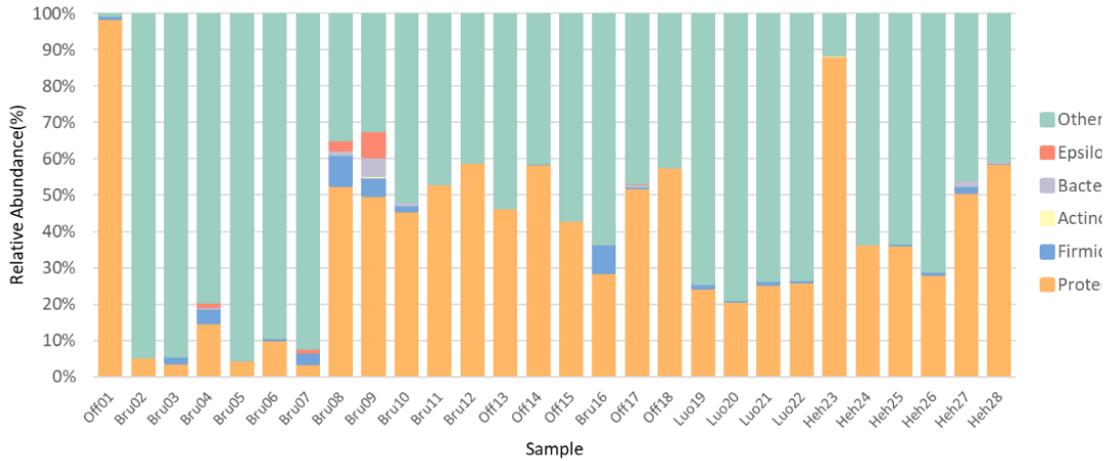
圖十七、葉面施用候選菌株對台灣百合灰黴病之病斑發展抑制效果。(a) 不同菌株懸浮液施用中，菌株 37-1 及 A3S11 有較明顯的保護效果。(b)-(f) 施用不同菌液的台灣百合葉片發病情形。本試驗為四重複，以 Fisher's LSD test 進行差異顯著性分析，同字母代表無顯著差異，長條圖誤差線為標準誤差。



圖十八、各組別內 OTUs 組成於門階層之相對豐度，於移除台灣百合粒線體與葉綠體序列前(a)、後(b)比較。X 軸：依地域分為 Office (TNPH，太管處)、Bruwan (布洛灣)、Luoshao (洛韶)、Hehuan (合歡山)；Y 軸：相對豐度。



圖十九、所有樣品中 OTUs 數目於 Phylum (門)的階層佔比分析結果。



圖二十、各樣品 OTUs 組成於 Phylum (門) 階層之相對豐度分析結果。
 X 軸：28 個台灣百合果莢樣品；Y 軸：相對豐度。



圖二十一、台灣百合樣本果莢與葉片外觀。由左至右分別為樣本 T1 至 T12，未成熟之果莢呈淺綠色並且無開裂，成熟之果莢呈褐色並且有些微開裂。