

布洛灣遊憩區台灣百合灰黴病生物
防治研究試驗

太魯閣國家公園管理處委託研究報告

中華民國九十三年十月

布洛灣遊憩區台灣百合灰黴病生物 防治研究試驗

受委託者：國立台灣大學植物病理與微生物學系

研究主持人：陳昭瑩 副教授

研究人員：劉益宏、楊憶華

太魯閣國家公園管理處委託研究報告

中華民國九十三年十月

目次

表次	II
圖次	III
摘要	IV
第一章 緒論	1
第一節 研究緣起與背景	1
第二節 百合植物及病害概述	3
第二章 試驗內容	5
第一節 試驗區概況	5
第二節 研究方法與步驟	6
第三節 結果與討論	8
第三章 結論與建議	20
第一節 結論	20
第二節 建議	20
參考文獻	22

表 次

表 1	台灣百合根圈細菌菌株	8
表 2	施用根圈細菌對台灣百合幼苗感染灰黴病之影響 (篩選試驗)	15
表 3	具生物防治潛力之細菌菌株	16
表 4	具生物防治潛力菌株對台灣百合幼苗感染灰黴病之 抑制效果	17
表 5	具生物防治潛力菌株對台灣百合成株感染灰黴病之 抑制效果	17
表 6	布洛灣土壤分析	19

圖 次

- 圖 1 分離自布洛灣台灣百合根圈土壤之細菌種類 . . . 12
- 圖 2 施用根圈細菌對台灣百合幼苗葉數之影響 . . . 13
- 圖 3 施用根圈細菌對台灣百合幼苗葉寬之影響 . . . 13
- 圖 4 施用根圈細菌對台灣百合幼苗葉長之影響 . . . 14
- 圖 5 台灣百合幼苗根圈澆灌不同細菌懸浮液對植株之影
響 . . . 14
- 圖 6 台灣百合葉片罹病度之分級 . . . 18
- 圖 7 台灣百合幼苗根圈澆灌細菌對灰黴病之防治效果 . 18

摘 要

關鍵詞：根圈細菌、灰黴病、台灣百合、生物防治

一、研究緣起

布洛灣管理站自民國八十四年開始台灣百合之復育工作，陸續在布洛灣遊憩區停車場、環流丘、上下台地間的大斜坡、聯絡道路旁等地遍植復育之台灣百合，四月份之野百合花季聞名遐邇，成功地使台灣百合成為布洛灣的春季主題景觀；然九十二年三至四月間卻有相當數量之台灣百合植株感染灰黴病。雖然台灣百合對灰黴病具感受性且布洛灣的環境條件在台灣百合生育期間適於灰黴病的發生，在維持布洛灣百合花季特色之原則下，採行多項應變措施，包括維持於上下台地間的向陽斜坡栽植台灣百合並清除病株，整理地被植物、作球莖之消毒處理等。九十三年春之易病季節，於布洛灣即已少見灰黴病的發生，足見減少感染源及改善易病環境的成效。為維護台灣百合之健康茁壯，除繼續注重其生長環境之病原管制及濕度改善，同時由瞭解台灣百合健康植株根圈之細菌族群，研擬生物防治法，於發病區引入優良根圈細菌，重建優質之根圈環境，可望改善植株的生理狀況，以對病原的侵犯具有良好的抵抗力。

二、研究方法及過程

九十二年四月觀察布洛灣台灣百合植株罹病情況時，注意到少數區域植株並未發生灰黴病，為瞭解此現象是否與這些植株的根圈細菌族群有關，採集根圈土樣分離細菌，由初步之生物防治試驗，確定其中有許多能增加台灣百合抗灰黴病的菌株，與原先之假設符合。依序進行下列試驗步驟：(1) 自台灣百合根圈分離及純化細菌；(2) 經氣相層析儀分析脂肪酸種類及含量，以微生物自動鑑定系統進行資料庫之比對分析，完成菌種之鑑定；(3) 於溫室篩選適於台灣百合幼苗生長之根圈細菌；(4) 於溫室篩選可抑制台灣百合幼苗發生灰黴病之根圈細菌；(5) 評估實地應用根圈細菌防治台灣百合灰黴病的成效。除獲得具生物防治潛力之菌株可供應用外，並進行布洛灣遊憩區土壤性質分析，對台灣百合生長環境之易病因子加以剖析，以對台灣百合罹患灰黴病的問題作綜合防治之規畫。

三、重要發現

自台灣百合健康植株根圈土壤分離及純化 100 個細菌菌株，並經氣相層析儀分析脂肪酸的組成及含量，鑑定菌種 61 株。將細菌施用於台灣百合根圈時，多數菌株對植株之生長略有促進作用，有十個菌株能減少幼苗感染灰黴病；實地防治試驗顯示可以應用所篩選之具生物防治潛力菌株保護台灣百合之地上部組織，避免灰黴病之危害。可推薦之菌株分別為仙人掌桿菌 *Bacillus cereus* A3S21、*B. cereus* C1，大枯草桿菌 *Bacillus megaterium* A3S34、*B. megaterium* A3S37，洋葱假單胞菌 *Burkholderia cepacia* A3S36、*B. cepacia* CF4-4-2，螢光假單胞桿菌 *Pseudomonas fluorescens* A2S1 及戀臭假單胞菌 *Pseudomonas putida* CF-3、*P. putida* CF2-1、*P. putida* CF3-1。布洛灣遊憩區不同區塊之土壤性質均在正常範圍，推測灰黴病之發生與地被植物造成高濕環境及病菌滋生有關。

四、主要建議事項

1. 基於取之於自然、用於自然的原則，建議利用布洛灣遊憩區台灣百合健康植株根圈獲得之細菌資源，再施用於罹病之斜坡區，促使具生物防治活性的菌株在罹病區建立族群，發揮保護植株的效果。
2. 病害發生早期即應儘量去除病葉或剷除病株，旨在去除感染源及避免菌量增加，可以有效地限制病害的擴展。
3. 注意植株密度，減少地被植物密度，避免高濕的地面環境造成病原菌的滋生。
4. 在自然環境中篩選抗病品種。

Abstract

Keywords: rhizobacteria, gray mold disease, Formosa lily, biocontrol

Formosa lily was cultivated in Pulowan service station since 1995 and planted over the Pulowan recreation area within years. The blossom season of Formosa lily had become a famous theme of Pulowan in the spring, especially in April. However, gray mold disease occurred and destroyed most of the Formosa lily plants in March and April, 2003. To resolve this disease problem, only the Formosa lily plants in the hill between up and lower level of natural terrace were maintained, that accompanied removal of diseased plant debris, reduction of creeping weeds and sterilization of the bulbs. In the spring, 2004, few of diseased Formosa lily plants appeared, indicating that the management of environment would be feasible for the control of gray mold disease of Formosa lily in Pulowan.

For the health management of Formosa lily in Pulowan recreation area, a biocontrol strategy was developed, including isolation of rhizobacteria from healthy Formosa lily plants and introduction of selected strains into the diseased area to improve the bacterial population in rhizosphere and also the plant physiological conditions for disease resistance. The experimental steps included: (1) Isolation and purification of rhizobacteria; (2) Identification of bacterial isolates based on the fatty acid profiles; (3) Screening of rhizobacteria good for the growth of Formosa lily seedlings; (4) Screen of rhizobacteria capable of suppressing symptom development of gray mold disease in Formosa lily seedlings; (5) Evaluation of biocontrol efficacy of selected rhizobacteria in Pulowan.

At least 100 bacterial isolates were obtained from the rhizosphere of healthy plants of Formosa lily and 61 isolates were identified. Most of identified bacterial isolates could slightly increase the growth vigor of Formosa lily seedlings. Among them, ten isolates could reduce the incidence of gray mold disease. The biocontrol assay in Pulowan recreation area indicated these isolates were potential biocontrol agents, including *Bacillus cereus* A3S21、*Bacillus cereus* C1、*Bacillus megaterium* A3S34、*Bacillus megaterium* A3S37、*Burkholderia cepacia* A3S36、*Burkholderia*

cepacia CF4-4-2、*Pseudomonas fluorescens* A2S1、*Pseudomonas putida* CF-3、*Pseudomonas putida* CF2-1 and *Pseudomonas putida* CF3-1. In addition, the soil traits of Pulowan recreation area were characterized in the normal ranges. Thus, the high humidity caused by creeping weeds and pathogen propagation were presumed to be the main causes of the prevalence of gray mold disease in Pulowan.

For the health management of Formosa lily, several suggestions were proposed: (1) Introduction of selected bacterial strains into the diseased area in Pulowan to facilitate the establishment of rhizobacterial population with biocontrol capability; (2) Removal of diseased plants and fallen leaves to reduce the amounts of pathogen propagation; (3) Reduction of the density of creeping weeds to prevent the high humidity environments; (4) Screening of resistant cultivars in natural environments.

第一章 緒 論

第一節 研究緣起與背景

一、研究緣起

百合為百合科百合屬的多年生無皮鱗莖類球根花卉，原生種約有 96 種。在台灣，原生種百合已知有四種，為台灣百合、鐵炮百合、豔紅鹿子百合及細葉卷丹百合，是國際間重要的百合種源，也是極為吸引人的景觀植物。多年來對台灣原生百合，除了注重原生地自然生態保育外，並積極著手復育工作，以台灣百合之復育成果最為顯著。花蓮布洛灣自民國八十四年開始著手台灣百合之復育工作，在布洛灣停車場、環流丘、上下台地的大斜坡與聯絡道路旁遍植復育之台灣百合，四月份之野百合花季聞名遐邇，成功地使台灣百合成為布洛灣的春季主題景觀。

布洛灣地處海拔 370 公尺的縱谷地帶，年均溫約為 21.5℃，緊臨立霧溪，時有濕氣凝重的情況，如有病菌感染源，灰黴病即容易發生；布洛灣遊憩區，於九十二年三至四月間即有相當數量之台灣百合植株受到感染。一般植株受到病原的侵犯有幾個條件，其一需有感染源，其二需有易病環境，其三需植株對病原具有感受性；缺少其中一項條件，病害即無法釀成嚴重問題。雖然台灣百合對灰黴病具感受性，布洛灣的環境條件在台灣百合生育期間適於灰黴病的發生，在維持布洛灣百合花季特色之原則下，採行多項應變措施，包括維持於上下台地間的向陽斜坡栽植台灣百合並清除病株、整理地被植物、消毒處理球莖等。九十三年春之易病季節，於布洛灣即已少見灰黴病的發生，足見減少感染源及改善易病環境的成效。

為維護台灣百合之健康茁壯，除繼續注重其生長環境之病原管制及濕度改善，同時由瞭解台灣百合健康植株根圈之細菌族群，研擬生物防治法，於發病區引入優良根圈細菌，重建優質之根圈環境，進而改善植株的生理狀況，以對病原的侵犯具有良好的抵抗力。植物根圈有許多微生物，其中有許多細菌在植物根圈根系有良好的群聚能力，可隨著根系發育生長，能促進植物生長發育。這些根圈細菌對植物病原的抑制作用可由拮抗作用或經由促進植物對病原的抗性，增加植物免疫力而達成。九十二年四月觀察布洛灣遊憩區台

灣百合罹病情形時，注意到少數區域植株並未發生灰黴病，為瞭解此現象是否與這些植株的根圈細菌族群有關，採集根圈土樣分離細菌，由初步之生物防治試驗，確定其中有許多能增加台灣百合抗灰黴病的菌株，與原先之假設符合。故規畫生物防治替代化學農藥之病害防治方案，使罹病區之台灣百合根圈也能具有優質之微生物族群，增進百合植株之健康，使之能抵抗灰黴病菌的感染。

植物病害之生物防治大多利用自然微生物之活性，以人為操作調整環境、植物，促進一種或一種以上微生物的活性，或經由大量導入一種或一種以上的拮抗微生物，使病原菌密度或致病能力降低或使植株對病原之侵染產生抵抗力。基於取之於自然、用於自然的原則，自布洛灣地區台灣百合健康植株根圈獲得細菌資源，再施用於布洛灣罹病之斜坡區，促使具生物防治活性的菌株在罹病區建立族群，保護植株，建立一套接近自然的防治法則。未來或能將布洛灣之微生物資源應用於農業生產的環境，使本地有用微生物能發揮其應用價值。在本報告中，針對臺灣百合健康植株根圈土樣細菌分離、純化及鑑定之過程及結果，以及分離菌株對台灣百合罹患灰黴病之生物防治潛能評估及實地應用成效驗證情形一一描述。

二、研究背景

許多根圈細菌在植物根系具有很好的群聚能力，能促進植物生長，增加植物對病原侵犯的抵抗力，如對胡蘿蔔萎凋病、大豆猝倒病、甜菜猝倒病及立枯絲核病、胡瓜炭疽病，均有顯著的防治效果；可在不同植物防治不同病原的為害，包括真菌、細菌、病毒等引起的病害，進而增加作物的品質及產量。

植物根圈細菌能有效地預防植物地下部及地上部病害的發生，其可能之生物防治機制有 (1) 鐵離子嵌合物的作用：限制病原菌吸收土壤中游离的三價鐵離子，影響病原菌的生存能力而致死亡；(2) 競爭作用：在營養競爭上可和病原菌互相競爭環境中或植物根部分泌的營養物質，使病原菌無法得到養分或生長之重要因子，使病原菌死亡，達到防治病害的目的；(3) 抗生物質的作用：許多根圈拮抗細菌具有產生抗生素的能力，可直接抑制病原菌生長及真菌孢子的發芽，可減少病原菌族群密度及對植物的危害；(4) 誘導植物產生抗病性：許多根圈細菌也可誘發植物產生系統性的抗病能力，常見於植物促生根棲細菌菌株如桿菌屬細菌 (*Bacillus* spp.)、唐菖蒲伯克霍爾德菌 (*Burkholderia gladioli*)、短小桿菌

(*Curtobacterium flaccmfaciens*)、黃質菌(*Flavomonas oryzihabitans*)、假單胞菌(*Pseudomonas* spp.)、沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)等，其中以桿菌屬細菌及假單胞菌菌株的研究及應用最為廣泛；此等根圈細菌菌株能促進植物生長，有效地降低土壤傳播性害及地上部病害的嚴重度，具有廣效的植物病害防治效果，包括對真菌、細菌、病毒及線蟲為害的抵抗性。

根圈螢光假單胞菌(*P. fluorescens*)及戀臭假單胞菌(*P. putida*)具有良好的抑病能力。以螢光假單胞菌處理胡蘿蔔種子可減少植株根部受萎凋病及葉部受黑斑病的為害，降低胡蘿蔔的產量損失；處理胡瓜種子及根圈則可減少胡瓜幼苗猝倒病、細菌性角斑病及嵌紋病的發生，增加胡瓜果實的重量；處理番茄及康乃馨根圈可減少萎凋病的發生。此外，螢光假單胞菌的施用可降低水稻紋枯病、菜豆細菌性葉枯病、煙草壞疽型病毒、番茄根瘤線蟲等的危害。以戀臭假單胞菌處理胡瓜種子及根圈，可降低胡瓜炭疽病、萎凋病、細菌性斑點病及嵌紋病的危害，增加果實收成。胡瓜甲蟲為傳播細菌性萎凋病病原的媒介昆蟲，處理戀臭假單胞菌的胡瓜植株，其體內之葫蘆素濃度會比對照組低，因而減少胡瓜甲蟲的取食，並減少細菌性萎凋病的發生；施用戀臭假單胞菌五週後的胡瓜植株仍可維持對炭疽病的抗性。

在桿菌屬細菌中，芽孢桿菌(*B. amyloliquefaciens*)、枯草桿菌(*B. pumilus*、*B. subtilis*)等為植物促生根圈細菌菌株，枯草桿菌(*B. pumilus* SE34)浸泡處理番茄種子及於種植後澆灌根圈，可減少番茄晚疫病發生的嚴重度及抑制病原真菌游走孢子囊及游走孢子的發芽；處理番茄種子及作土壤澆灌處理均可減少胡瓜嵌紋病的為害；處理煙草可降低露菌病的為害；處理胡瓜可減少細菌性角斑病的發生及促進胡瓜生長，增加胡瓜主莖長度、葉數、果重等，也可降低胡瓜植株葫蘆素含量，減少胡瓜甲蟲取食的危害。在病毒病害方面，以枯草桿菌芽孢桿菌菌株處理番茄種子及作土壤澆灌處理均可減少胡瓜嵌紋病毒在田間對番茄的危害；以芽孢桿菌及枯草桿菌菌株處理也可減少番茄嵌紋病毒在番茄上的危害。此外，仙人掌菌(*B. cereus*)、枯草桿菌(*B. pumilus* 及 *B. subtilis*)菌株等為內生細菌，存在於植株內如根表皮細胞及維管束組織細胞間隙，有保護植株及促進生長的能力；將棉花幼苗根處理內生細菌菌株可降低田間棉花受立枯絲核病菌及菜豆受白絹病菌危害的嚴重度。

第二節 百合植物及病害概述

百合為百合科(Liliaceae)、百合屬(*Lilium*)之多年生宿根草本植物，為產生鱗莖之球根花卉，原生種約有 96 種，主要分佈於亞洲、北美洲及歐洲。台灣原生種百合有臺灣百合(*Lilium formosanum* Wall.)、鐵炮百合(*L. longiflorum* Thunb.)、細葉卷丹(*L. callosum* Sieb. & Zucc.)、豔紅鹿子百合(*L. speciosum* var. *gloriosoides* Baker)四種；其中台灣百合分佈於全省各地，水平分佈北從東北角南至鵝鑾鼻，垂直分佈則由海岸邊至海拔 3,000 公尺的高山上，都可發現它的蹤跡，花蓮東部海岸及離島區是台灣百合的原生地之一，生存於山林灌木叢下及草原區或山崖岩壁中；台灣百合亦稱高砂百合或野百合，也有人稱之為福爾摩沙百合。

台灣百合鱗莖從地下發出新芽，密生細長形葉子，經三、四個月的光合作用，長出花芽，原本朝上的花苞，會逐漸朝下，開花時花苞轉為平伸；花被片上有六條紅褐色條紋，是辨認的最大特徵，張開時稍呈反卷，喇叭狀。台灣百合有極為特殊的開花運動：當頂端花蕾露出膨大發育時，花梗開始彎曲朝下，至 180°，花蕾又轉向上至接近水平與植株呈 90°左右時，花蕾成熟開花，子房朝上生長，恢復原來 0°的位置。自交親合性及稔實率高，子房膨大為果莢，每一飽滿的果莢孕育上千的種子，成熟為六疊薄膜狀種子，約有 800~1200 個種子有發芽的能力，種子隨風四處飛散傳播，在 12 個月內即可完成一個世代。台灣百合具有早熟的特性，以種子繁殖，七個月內就具有開花的能力，開花率為 50%；第二年，100% 的植株都會開花，且單株著生的花朵數較第一年多。台灣百合的地下鱗莖等待來春，再開始發芽、長葉、開花、結果的新循環，鱗莖逐年成長，單棵所開的花朵數逐年增加，有的可開出 30-40 朵花。

台灣百合耐熱，非常適應台灣的氣候，最適生長溫度為 15-20°C，適合的光照強度為 2,000~4,000 呎燭光。適合生長於各種土質，尤其以土質疏鬆，通氣性及排水性良好的沙質壤土最佳，土壤酸鹼值在 6.0~7.0 間(低於 5.5 或高於 7.5 均不宜)，超過 7.5 以上，植株新葉容易發生黃化現象，嚴重時呈現白化。需水量及需肥量不大，對鹽類敏感。

在百合生長過程中容易發生各種病害，包括病毒、細菌性、真菌性病害，感染百合的病毒如百合斑紋病毒、百合隱微型病毒、胡瓜嵌紋病毒；細菌性病害極少見，百合如受細菌感染會促進病原真菌感染百合種球，造成鱗片尖端腐敗病及莖部壞疽病的發生；真菌性病害如疫病、葉枯病、炭疽病、根腐病、白絹病及灰黴病。亟需防治之真菌性病害如主要為害地上部組織之灰黴病，發生情形最為嚴重，於低溫高濕時危害百合植株之葉部及花器，並於罹病組織密生分生孢子，造

成重覆感染及病害流行。重要的真菌性病害尚有百合疫病，病原菌感染會造成百合莖部隘縮黑腐，花器枯萎腐敗及全株萎凋死亡；白絹病，病原菌可從百合莖基部或種球之鱗莖侵入，造成下位葉葉片黃化，並擴散至全株，最後導致植株萎凋死亡，發病時期在地下部種球附近可見白色菌絲蔓延纏據，菌絲在土壤中生長，感染臨近之植株，白色菌絲聚集形成褐色菌核；萎凋病，百合莖根及莖基部容易受到鐮刀菌為害，植株生育不良，下位葉提早黃化、掉落，嚴重時全株萎凋死亡。

灰黴病發生與氣候及雨水有密切關係，當氣溫在 15-25℃，相對濕度在 93% 以上，灰黴病會大規模流行。灰黴病菌可從葉片氣孔、傷口或直接侵入，分生孢子侵入及感染的時間非常短，分生孢子於 6 小時內即可發芽、侵入寄主組織，感染 12 小時即可造成水浸狀小斑點；在合適之環境，病斑隨著時間逐漸擴大，形成褐色或銹色、圓形或橢圓形病斑，發病嚴重時造成葉枯，並在病組織上產孢成為感染源，最後整株枯死。孢子感染花被片初期形成褪色病斑，病斑會轉為褐色，並造成花腐，百合品質及產量遭受嚴重之損失。灰黴病菌初次感染源可能為帶菌球莖、殘存於植株殘體內或殘存於田間土壤的菌核。病原菌感染百合植株後，短時間內在葉面產孢，形成大量分生孢子，成為二次感染源，藉空氣、雨水、昆蟲及其他外力因子而傳播，於田間快速蔓延；當有營養源(如花粉)存在時，發病更為迅速。一般灰黴病發生時，開始可能僅有少數病葉出現，之後可能因病徵發展後期產生的分生孢子，因風、空氣之流動而快速傳播，造成同一植株受到重覆感染或罹病株周圍百合植株也相繼發生灰黴病。

第二章、試驗內容

第一節 試驗區概況

布洛灣隸屬太魯閣國家公園，是太魯閣到天祥間峽谷地區最大的平坦地。布洛灣之泰雅族語（Brugan）意指「回音」，站在階地邊緣空曠處朝燕子口方向的山壁大喊，可聽到回音在谷裡迴繞。布洛灣位於海拔約 370 公尺，年均溫為 21.5 度，南依塔山，北臨立霧溪，地型特殊，具有二層河階地，一高一低，相差約 30 公尺，稱為「上台地」與「下台地」。停車場位於下台地，立霧溪穿過於布洛灣下台地，形成獨特的「環流丘」地形。布洛灣富含生態資源，分佈有熱帶季風

雨林植物，由於地理環境適於百合生長，為台灣百合復育地一；此外，布洛灣蘊育多種動物，小如昆蟲，大如松鼠、台灣獼猴。

在四月春天的季節，布洛灣上下台地盛開台灣百合，最盛期超過 10 萬棵的台灣百合，布洛灣的台灣百合除了原來的野生植株，大多為經育苗、移植所復育栽植。原來分佈於停車場、環流丘、上下台地的大斜坡與聯絡道路旁。

第二節 研究方法與步驟

為瞭解台灣百合健康植株的根圈細菌族群，進一步開發對灰黴病具生物防治潛力的菌株，依序進行下列試驗步驟：(1) 台灣百合根圈細菌之分離及純化；(2) 台灣百合根圈細菌之鑑定；(3) 於溫室篩選適於台灣百合幼苗生長之根圈細菌；(4) 於溫室篩選可抑制台灣百合幼苗發生灰黴病的根圈細菌；(5) 評估實地應用根圈細菌防治台灣百合灰黴病的成效。並分析布洛灣遊憩區土壤性質，以瞭解土壤性質與灰黴病流行是否有關，供擬定防治策略之參考。

一、台灣百合根圈細菌之分離及純化

自布洛灣台灣百合根圈取 10 公克土壤，以 1 公升無菌水均勻混拌，利用稀釋平板法將 10^5 倍稀釋的土壤樣本，塗抹於 NA 固體培養基，於 28°C 下培養三天後，挑單一菌落於固體培養基(NA)上純化培養，所得菌落以無菌水充份分散後再一次於固體培養基(NA)上純化培養；重覆數次後取單一菌落移至液體培養基(LB)，培養 12-16 小時後，將細菌懸浮於 15%甘油中，保存於-80°C。

二、台灣百合根圈細菌之鑑定

將純化之菌株，挑取單一菌落劃於固體培養基(TSA)，於 28°C 培養 24 小時後，以無菌之移植環自培養基取菌，懸浮於皂化溶液，連續震盪使細菌完全分散，放入 95-100°C 水浴中進行破菌反應，續以甲基化溶液於 80°C 水浴中反應以形成甲基脂肪酸，以有機溶液萃取甲基脂肪酸，經氣相層析儀分析脂肪酸種類及含量，以微生物自動鑑定系統進行資料庫之比對分析，完成菌種之鑑定。

三、於溫室篩選適於台灣百合幼苗生長之根圈細菌

將根圈細菌菌株在溫室進行對台灣百合幼苗生長影響之試驗。以 10 mM 硫酸鎂溶液稀釋供試菌株至 10^8 CFU/ml，將細菌懸浮液 30 毫升澆灌於台灣百合幼苗根圈，每次間隔十天，連續三次後，記錄台灣百合幼苗的葉長、葉寬、葉數等生長情形。所得數據以鄧肯式新多變域分析進行統計分析，比較處理間的差異。

四、於溫室篩選可抑制台灣百合幼苗發生灰黴病的根圈細菌

將根圈細菌菌株培養於 LB 液體培養基 12-16 小時後，以 $3,300\times g$ 離心 10 分鐘，懸浮於 10 mM 硫酸鎂溶液中，製成細菌懸浮液，調整濃度為 10^8 CFU/ml。每十天澆灌細菌懸浮液 30 毫升，處理三次，之後第四天後接種 *B. elliptica* B061 孢子懸浮液於完全展開之台灣百合葉背，並套袋以維持溼度，四天後觀察接種葉病斑數目及病斑大小，每處理各五重覆；以 10 mM 硫酸鎂溶液處理百合根圈為對照組。所得數據以鄧肯式新多變域分析進行統計分析，比較處理間的差異。

五、生物防治試驗

分別於台大溫室及布洛灣遊憩區進行生物防治試驗。台灣百合苗種植於 7.5 公分含泥炭土及珍珠石 (3:1) 的塑膠盆中 (容量約為 400 公克)，在 20-25°C 台大溫室內生長至 6-10 片葉後，以 10^8 CFU/ml 之細菌懸浮液(懸浮於 10 mM 硫酸鎂緩衝液)澆灌百合根圈為處理組，每間隔 10 天澆灌一次，處理三次；以 10 mM 硫酸鎂緩衝液處理百合根圈為對照組。於最後一次處理後四天接種 *B. elliptica* B061 孢子懸浮液，四天後記錄罹病葉之嚴重度。布洛灣遊憩區之台灣百合抽芽約 30 天後，以 10^8 CFU/ml 細菌懸浮液澆灌台灣百合根圈，每間隔 14 天澆灌 1 次，處理八次，四天後接種 *B. elliptica* B061 孢子懸浮液，接種四天後記錄罹病葉之嚴重度。罹病程度依葉片罹病面積分成五級：0, 沒有病徵；1, 1-12% 葉片區域罹病；2, 13-25% 葉片區域罹病；3, 26-50% 葉片區域罹病；4, 50% 以上葉片區域罹病。每一處理之罹病度 (Disease severity %) = $\sum (\text{罹病級數} \times \text{該級病葉數}) \div (\text{總調查葉數} \times 5) \times 100\%$ 。所得數據以鄧肯式新多變域分析進行統計分析比較處理間差異。

六、布洛灣遊憩區土壤性質分析

自布洛灣遊憩區入口處、展示中心、環流丘、停車場、藝品部、斜坡採取土壤樣本，測定酸鹼值、電導度、有機質、無機物等成份含量，以瞭解土質狀況。

第三節 結果與討論

一、台灣百合根圈細菌菌株

植物根圈有許多微生物，其中有許多細菌在植物根圈有良好的群聚能力，甚或對病原微生物具有拮抗作用或可誘導植物產生抗病性，故對植物病害之發生有抑制作用。本研究自健康之台灣百合根圈發掘具生物防治潛力細菌菌株的工作，目前分離及純化 100 株細菌菌株，保存於-80℃。經脂肪酸組成含量分析鑑定 61 株細菌菌株為不動桿菌屬 (*Acinetobacter*)、節桿菌屬(*Arthrobacter*)、桿菌屬(*Bacillus*)、嗜熱短桿菌屬(*Brevibacillus*)、洋蔥假單胞菌屬(*Burkholderia*)、團泛菌屬(*Pantoea*)、*Paucimonas*、假單胞桿菌屬(*Pseudomonas*)、根瘤菌屬(*Rhizobium*)、沙門氏桿菌屬(*Salmonella*)之細菌種類；其中以桿菌屬細菌(*Bacillus* spp.)和假單胞菌(*Pseudomonas* spp.)菌株佔所鑑定之台灣百合根圈細菌菌株總數之 64%，推測此二屬細菌可能在台灣百合根圈具有良好存活與群聚的能力，適合生存於台灣百合根圈的環境。

表 1 台灣百合根圈細菌菌株

序號	菌株代號	菌 名	學 名	相似值
1	A2S1	螢光假單胞菌	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.771
2	A2S2	霍亂沙門氏桿菌	<i>Salmonella choleraesuis</i>	0.862
3	A2S4	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.756
4	A2S5	團泛菌	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.825
5	A2ST2	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.841
6	A3S1	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.506
7	A3S1-1	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.725
8	A3S1-3	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.784

9	A3S3	節桿菌屬	<i>Arthrobacter viscosus</i>	0.659
10	A3S7	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.735
11	A3S8	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.755
12	A3S9	佛氏檸檬酸桿菌	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.886
13	A3S10	佛氏檸檬酸桿菌	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.786
14	A3S11	枯草桿菌	<i>Bacillus pumilus</i>	0.750
15	A3S12	嗜熱短桿菌	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	0.742
16	A3S13	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.685
17	A3S15	團泛菌	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.853
18	A3S19	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.874
19	A3S21	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.936
20	A3S21-1	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.608
21	A3S24	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.984
22	A3S26	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.732
23	A3S27	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.974
24	A3S28	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.677
25	A3S29	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.833
26	A3S29-1	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.622
27	A3S30	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.538
28	A3S34	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.926
29	A3S36	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.872
30	A3S37	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.953
31	A3S38	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.545
32	A3S39	佛氏檸檬酸桿菌	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.801
33	A3S40	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.901
34	A3S40-1	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.659
35	C-1	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.952
36	C-2	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.755
37	C1	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>	0.917
38	C1-2	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.657
39	CF-1	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.566

40	CF3-1-K	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.695
41	CF-3	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.651
42	CF-5	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.569
43	CF2-1	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.651
44	CF3-1	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.632
45	CF3-1-A	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.709
46	CF3-1-K-1	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.696
47	CF3-2	蘑菇假單胞菌	<i>Pseudomonas agarici</i>	0.760
48	CF3-5	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.902
49	CF4-1	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.763
50	CF4-1-K	嗜熱短桿菌	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	0.871
51	CF4-2	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.730
52	CF4-3	放射型根瘤菌	<i>Rhizobium radiobacter</i>	0.887
53	CF4-3-1	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.518
54	CF4-4	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.711
55	CF4-4-2	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.984
56	CF4-5	霍亂沙門氏桿菌	<i>Salmonella choleraesuis</i>	0.775
57	CFQ-1	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>	0.657
58	CFQ-2	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>	0.545
59	CFQ-4	丁香假單胞菌	<i>Pseudomonas syringae</i>	0.744
60	CFQP	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.568
61	CFQP-5	放射型根瘤菌	<i>Rhizobium radiobacter</i>	0.978
62	FBC1	純化菌株	未 知	-
63	FBC2	純化菌株	未 知	-
64	FBC3	純化菌株	未 知	-
65	FBC4	純化菌株	未 知	-
66	FBC5	純化菌株	未 知	-
67	FBC6	純化菌株	未 知	-
68	FBC7	純化菌株	未 知	-
69	FBC8	純化菌株	未 知	-
70	FBC9	純化菌株	未 知	-

71	FBC10	純化菌株	未 知	-
72	FP1	純化菌株	未 知	-
73	FP2	純化菌株	未 知	-
74	FP3	純化菌株	未 知	-
75	FP4	純化菌株	未 知	-
76	FP5	純化菌株	未 知	-
77	FP6	純化菌株	未 知	-
78	FP7	純化菌株	未 知	-
79	FP8	純化菌株	未 知	-
80	FP9	純化菌株	未 知	-
81	FP10	純化菌株	未 知	-
82	FP11	純化菌株	未 知	-
83	FP12	純化菌株	未 知	-
84	FP13	純化菌株	未 知	-
85	FP14	純化菌株	未 知	-
86	FP15	純化菌株	未 知	-
87	FP16	純化菌株	未 知	-
88	FP17	純化菌株	未 知	-
89	FP18	純化菌株	未 知	-
90	FP19	純化菌株	未 知	-
91	FP20	純化菌株	未 知	-
92	FP21	純化菌株	未 知	-
93	FP22	純化菌株	未 知	-
94	FP23	純化菌株	未 知	-
95	FP24	純化菌株	未 知	-
96	FP25	純化菌株	未 知	-
97	FP26	純化菌株	未 知	-
98	R8	純化菌株	未 知	-
99	R9	純化菌株	未 知	-
100	S7	純化菌株	未 知	-

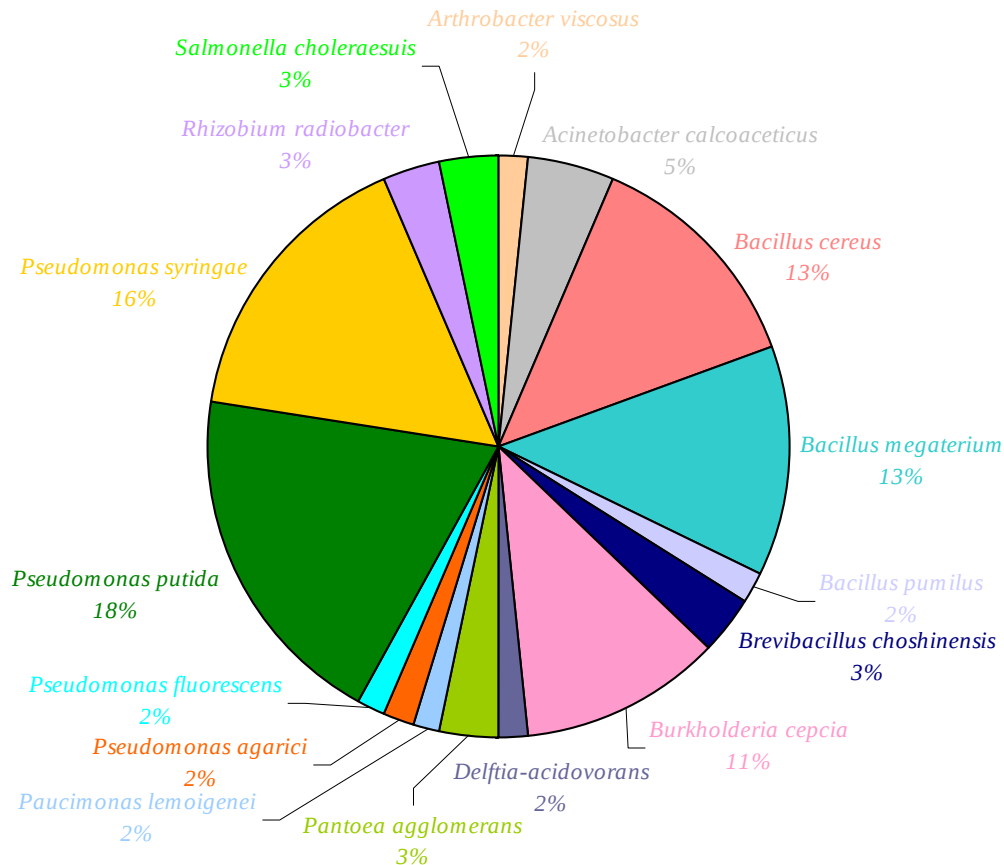


圖 1 分離自布洛灣台灣百合根圈土壤之細菌種類

二、細菌菌株對台灣百合幼苗生長之影響試驗

大多數菌株對台灣百合幼苗之生長有些許的促進作用如仙人掌桿菌 *Bacillus cereus* A3S21、*B. cereus* C1、大枯草桿菌 *Bacillus megaterium* A3S34、*B. megaterium* A3S37、洋蔥假單胞菌 *Burkholderia cepacia* CF4-4-2、螢光假單胞桿菌 *Pseudomonas fluorescens* A2S1、戀臭假單胞菌 *Pseudomonas putida* CF2-1、*P. putida* CF-3。少部分菌株對台灣百合幼苗之生長似有負面影響，如佛氏檸檬酸桿菌(*A. calcoaceticus* A3S9 與 *A. calcoaceticus* A3A10)對台灣百合幼苗之葉寬上有顯著的抑制作用，使台灣百合幼苗葉變窄；佛氏檸檬酸桿菌(*A. calcoaceticus* A3S9)則會限制台灣百合葉數及葉長之生長。雖然洋蔥假單胞菌 *Burkholderia cepacia* CF4-4-2 菌株不會改變台灣百合幼苗之葉數、葉長及葉寬，但洋蔥假單胞菌 *B. cepacia* CFQP 菌株則使台灣百合幼苗之葉數及葉寬受到抑制，顯示同種不同菌株對植株之生長可能有不同之影響，對於菌株的差異性，仍有待研究。

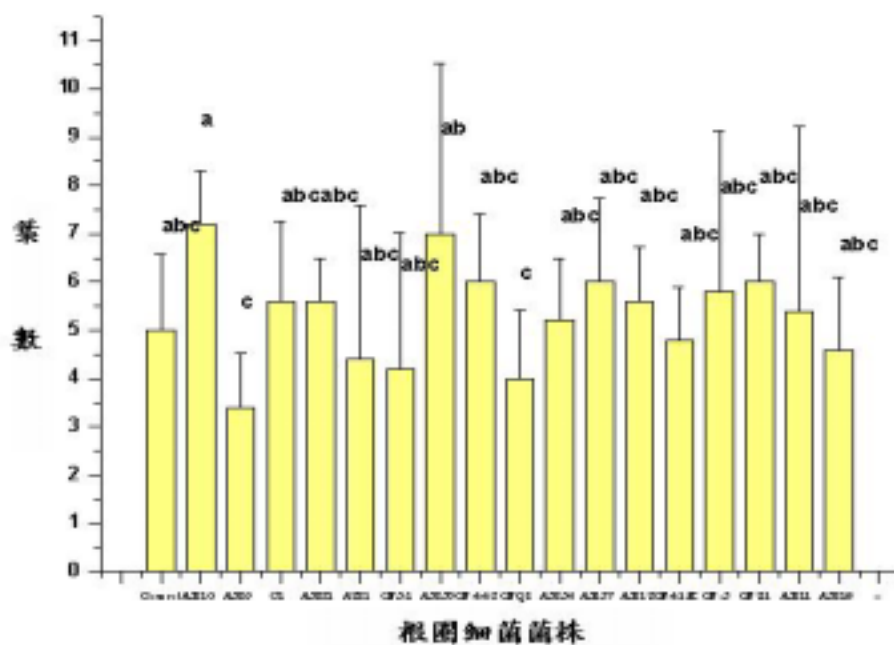


圖 2 施用根圈細菌對台灣百合幼苗葉數之影響

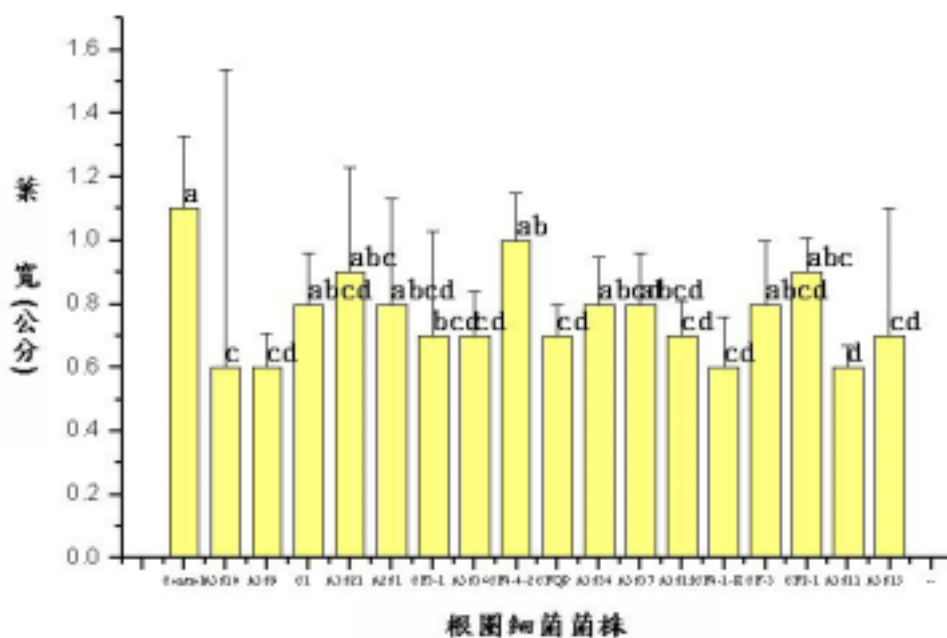


圖 3 施用根圈細菌對台灣百合幼苗葉寬之影響

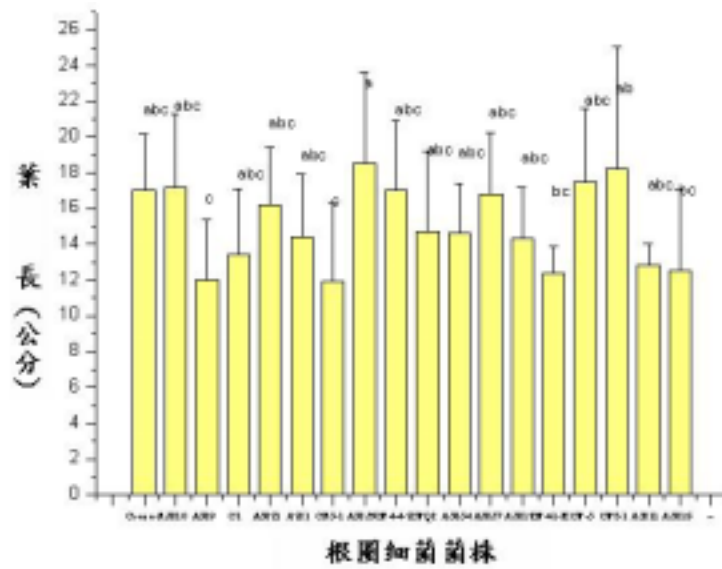


圖 4 施用根圈細菌對台灣百合幼苗葉長之影響



健康對照組 A3S9 CF-3 C1

圖 5 台灣百合幼苗根圈澆灌不同細菌懸浮液對植株之影響

A3S9, 佛氏檸檬酸桿菌; CF-3, 戀臭假單胞菌; C1, 仙人掌桿菌。

三、對台灣百合灰黴病具生物防治潛力菌株之篩選試驗

比較不同處理下灰黴病所造成之病斑數目及病斑大小顯示仙人掌桿菌 *Bacillus cereus* A3S21、仙人掌桿菌 *B. cereus* C1、大枯草桿菌 *Bacillus megaterium* A3S34、大枯草桿菌 *B. megaterium* A3S37、洋蔥假單胞菌 *Burkholderia cepacia* A3S36、洋蔥假單胞菌 *B. cepacia* CF4-4-2、螢光假單胞桿菌 *Pseudomonas fluorescens* A2S1、戀臭假單胞菌 *Pseudomonas putida* CF-3、戀臭假單胞菌 *P. putida* CF2-1 及戀臭假單胞菌 *P. putida* CF3-1 對台灣百合幼苗灰黴病病徵之發展皆有抑制作用，為所篩選出之具有生物防治潛力的菌株。雖然已知能有效地促進植物生長的植物促生根圈細菌菌株，不一定能誘發抗病反應以保護作物的生長，避免受病害的威脅；但本研究自台灣百合根圈篩選之植物促生根圈細菌菌株，大多數能有效地抑制百合灰黴病的病徵發展。會抑制百合生長之佛氏檸檬酸桿菌(*A. calcoaceticus* A3S9、*A. calcoaceticus* A3S10)及洋蔥假單胞菌(*B. cepacia* CFQP)菌株，也能抑制病斑大小，對病斑數目則沒有明顯的影響，這些菌株之抑病作用可能與植株生育受阻之逆境有關。

表 2 施用根圈細菌對台灣百合幼苗感染灰黴病之影響(篩選試驗)

處 理	病斑數目	病斑大小
佛氏檸檬酸桿菌 A3S10	1.50 ± 1.73^{ab}	0.01 ± 4.47^b
佛氏檸檬酸桿菌 A3S9	1.18 ± 1.26^{ab}	0.01 ± 4.47^b
仙人掌桿菌 C1	0.50 ± 0.49^b	0.01 ± 0.00^b
仙人掌桿菌 A3S21	1.00 ± 1.00^b	0.01 ± 4.47^b
螢光假單胞菌 A2S1	0.90 ± 0.73^b	0.02 ± 0.01^b
戀臭假單胞菌 CF3-1	0.86 ± 1.09^b	0.01 ± 4.47^b
洋蔥假單胞菌 A3S36	0.44 ± 0.39^b	0.01 ± 4.47^b
洋蔥假單胞菌 CF4-4-2	1.38 ± 1.35^{ab}	0.80 ± 7.36^b
洋蔥假單胞菌 CFQP	1.06 ± 1.31^{ab}	0.20 ± 0.13^b
大枯草桿菌 A3S34	0.24 ± 0.13^b	0.01 ± 0.00^b
大枯草桿菌 A3S37	1.50 ± 1.61^b	0.01 ± 6.77^b
嗜熱短桿菌 A3S12	0.44 ± 0.54^b	0.01 ± 5.47^b

嗜熱短桿菌 CF4-1-K	0.30 ± 0.21^b	0.99 ± 5.47^b
戀臭假單胞菌 CF-3	0.36 ± 0.13^b	0.10 ± 0.00^b
戀臭假單胞菌 CF2-1	0.44 ± 0.54^b	0.01 ± 5.48^b
枯草桿菌 A3S11	0.56 ± 0.43^b	0.01 ± 5.47^b
團泛菌 A3S15	0.48 ± 0.16^b	0.01 ± 0.00^b
罹病對照組 (10 mM MgSO ₄)	2.32 ± 1.31^a	1.88 ± 0.37^a

表 3 具生物防治潛力之細菌菌株

序號	菌株代號	菌名	學名
1	A3S21	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>
2	C1	仙人掌桿菌	<i>Bacillus cereus</i>
3	A3S34	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>
4	A3S37	大枯草桿菌	<i>Bacillus megaterium</i>
5	A3S36	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>
6	CF4-4-2	洋蔥假單胞菌	<i>Burkholderia cepacia</i>
7	A2S1	螢光假單胞菌	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
8	CF-3	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>
9	CF2-1	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>
10	CF3-1	戀臭假單胞菌	<i>Pseudomonas putida</i>

四、生物防治試驗

將所篩選的具生物防治潛力菌株進行溫室及實地生物防治試驗，結果顯示仙人掌桿菌 *Bacillus cereus* C1、仙人掌桿菌 *B. cereus* A3S21、戀臭假單胞菌 *Pseudomonas putida* CF-3、戀臭假單胞菌 *P. putida* CF2-1 等都可以有效地減少灰黴病在台灣百合幼苗及成株為害的嚴重度，以仙人掌桿菌 *B. cereus* C1 之抑病效果最佳，推測其他六個具生物防治潛力之菌株包括大枯草桿菌 *Bacillus megaterium* A3S34、大枯草桿菌 *B. megaterium* A3S37、洋蔥假單胞菌 *Burkholderia cepacia* A3S36、洋蔥假單胞菌 *B. cepacia* CF4-4-2、螢光假單胞桿菌 *Pseudomonas*

fluorescens A2S1 可以在實地應用時發揮病害防治的效果。實地生物防治若遇氣候不良如大雨，易使細菌流失，影響細菌密度及其衍生之防治效果；在溫室中，園藝栽培土之保水力較實地沙質壤土良好且無雨水沖刷之問題，施用之細菌能留存於台灣百合根圈，發揮保護植株，減少葉部發生灰黴病。故於實地施用根圈細菌應儘量避開大雨的天氣或視天候作補強措施如增加施用次數等。

表 4 具生物防治潛力菌株對台灣百合幼苗感染灰黴病之抑制效果

處 理	病害嚴重度
仙人掌桿菌 C1	12 bc
仙人掌桿菌 A3S21	20 b
戀臭假單胞菌 CF-3	20 b
戀臭假單胞菌 CF2-1	24 b
罹病對照組 (10 mM MgSO ₄)	56 a
健康對照組 (10 mM MgSO ₄)	0 c

表 5 具生物防治潛力菌株對台灣百合成株感染灰黴病之抑制效果

處 理	病害嚴重度
仙人掌桿菌 C1	19 d
仙人掌桿菌 A3S21	39 b
仙人掌桿菌 28-9	23 cd
戀臭假單胞菌 CF-3	28 bcd
戀臭假單胞菌 CF2-1	31 bcd
戀臭假單胞菌 LY95	32 bc
罹病對照組 (10 mM MgSO ₄)	60 a
健康對照組 (10 mM MgSO ₄)	0 e



圖 6 台灣百合葉片罹病度之分級

(A)等級 0, 健康對照組; (B)等級 1, 1-12%; (C)等級 2, 13-25%; (D)等級 3, 26-50%; (E)等級 4, 50% 以上葉面積受到感染。



圖 7 台灣百合幼苗根圈澆灌細菌對灰黴病之防治效果

C1, 仙人掌桿菌 C1; CK, 罹病對照組。

五、布洛灣遊憩區台灣百合根圈土壤性質

布洛灣遊憩區六個採樣區塊土壤酸鹼值、電導度及有機質、磷酐、氧化鉀、氧化鈣、氧化鎂、銅、鋅、鎘、鎳、鉻、鉛等含量，均符合參考值。六個採樣區塊之土壤酸鹼值範圍在 5.7-7.4 之間，除環流丘樣本土質偏酸(pH 5.7)外，其餘取自入口處、展示中心、停車場、藝品部、斜坡之土壤樣本酸鹼值在 6.8-7.4 之間。

表 6 布洛灣遊憩區土壤分析

土壤 代號	酸鹼度 pH (1:1)	電導度 EC (1:5) (mS/cm)	有機質 OM (%)	磷酐 P2O5 (公斤／公 頃)	氧化鉀 K2O (公斤／公 頃)	氧化鈣 CaO (公斤／公頃)	氧化鎂 MgO (公斤／公 頃)
1 (H)	6.8	0.1	5.5	16	257	11819	433
2 (H)	7.2	0.1	5.8	144	113	12258	365
3 (D)	5.7	0.1	5.8	88	393	4452	408
4 (D)	7.4	0.1	4.6	166	253	22531	313
5 (D)	7.3	0.1	7.2	162	323	15514	497
6 (D)	7.0	0.1	5.0	27	199	9350	534
參考值	5.5-7.0	0.26-0.6	2.0-3.0	60-300	90-300	2000-4000	200-400

土壤 代號	銅 Cu	鋅 Zn	鎘 Cd	鎳 Ni	鉻 Cr	鉛 Pb
1 (H)	1	3	0.07	1.1	0.0	1
2 (H)	2	7	0.14	1.4	0.1	1
3 (D)	1	2	0.05	1.7	0.0	1
4 (D)	0	4	0.24	2.1	0.0	0
5 (D)	2	5	0.15	1.7	0.0	1
6 (D)	1	3	0.05	0.9	0.0	1
參考值	12-20	11-25	0.05-0.4	2-10	0.1-10	1-15

1. 入口處 2. 展示中心 3. 環流丘 4. 停車場 5. 藝品部 6. 斜坡。

H: 健康區；D: 罹病區。

第三章 結論與建議

19

第一節 結論

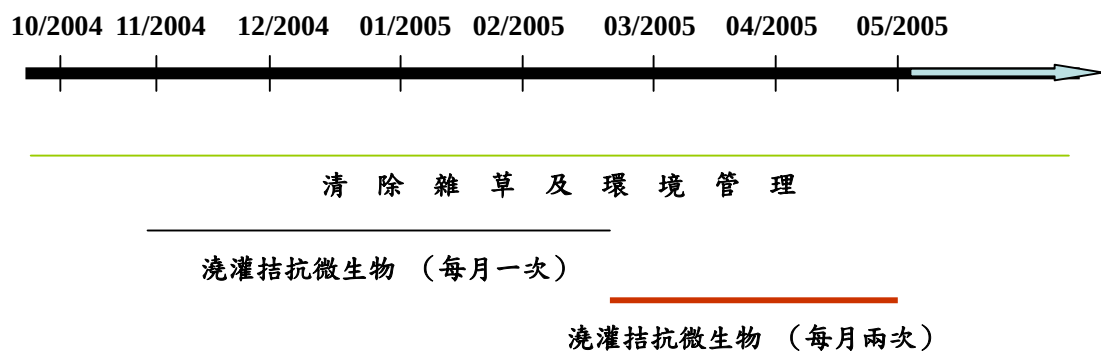
布洛灣遊憩區台灣百合健康植株之根圈存在有許多有助植株生長及抗病之細菌，經分離及純化有 100 個細菌菌株，由分析脂肪酸組成含量鑑定 61 個細菌菌株，其中以桿菌屬細菌(*Bacillus* spp.)和假單胞菌(*Pseudomonas* spp.)所佔比例較高，佔總鑑定細菌菌株之 64%。篩選試驗結果指出對台灣百合幼苗生長有些許促進作用且對灰黴病病徵之發展有抑制作用之菌株有仙人掌桿菌 *Bacillus cereus* A3S21、*B. cereus* C1、大枯草桿菌 *Bacillus megaterium* A3S34、*B. megaterium* A3S37、洋蔥假單胞菌 *Burkholderia cepacia* A3S36、*B. cepacia* CF4-4-2、螢光假單胞桿菌 *Pseudomonas fluorescens* A2S1、戀臭假單胞菌 *Pseudomonas putida* CF-3、*P. putida* CF2-1 及 *P. putida* CF3-1，為具生物防治潛力的菌株。經溫室及實地生物防治試驗，顯示仙人掌桿菌 *Bacillus cereus* C1、*B. cereus* A3S21、戀臭假單胞菌 *Pseudomonas putida* CF-3、*P. putida* CF2-1 如預期可以有效地減少灰黴病在台灣百合幼苗及成株為害的嚴重度，故推測所篩選之十個具生物防治潛力菌株可在實地應用時發揮病害防治的效果。由於布洛灣遊憩區土壤經測定酸鹼值、電導度及有機質、磷酐、氧化鉀、氧化鈣、氧化鎂、銅、鋅、鎘、鎳、鉻、鉛等含量，均符合參考值，認為布洛灣嚴重發生灰黴病的原因與土質無關；推測可能與植栽環境如地被植物造成之高濕度及病菌於殘株上滋生有關。

第二節 建議

百合灰黴病的防治措施通常以栽培管理及施用藥劑為主。一般對付多循環感染的病害如灰黴病，在病害發生早期即應儘量去除病葉或剷除病株，旨在去除感染源及避免菌量增加，可以有效地限制病害的擴展；有些情況則採取早期施藥的

措施來殺死存在於植株或土壤中的病原菌。目前針對百合灰黴病推
汰寧，然施用化學農藥是農業生產採行的植物保護措施，將之應用於
育及生物多樣性的國家公園並不恰當。依本試驗結果，建議布洛灣遊憩區未來可
以生物防治取代化學藥劑，同時可顧及台灣百合之健康及遊客之安全。將建議之
防治策略條列如下：

- (1) 加強注意植栽環境之管理，如去除殘株以減少感染源，注意栽植密度，減少
地被植物密度，避免高濕的地面環境造成病原菌的滋生。
- (2) 建議施用所篩選之具生物防治潛力菌株，如戀臭假單胞菌，這些菌株之施用
可望能避免灰黴病的嚴重發生，建議施用時間及次數如圖示。



- (3) 以種子繁殖，於自然環境中觀察是否有較強抗病之植株，篩選抗病品系。種子內有一細長條的胚才具有發芽能力，將種子播於育苗盤的育苗土上，覆上一層薄薄的泥炭土，以塑膠袋保濕，於 15℃ 黑暗下進行催芽。約經 14~20 天，種子長出胚根即可去除塑膠袋，移至常溫半遮陰栽培，待本葉陸續長出，即可不需遮陰。將實生小苗經兩次假植，即可移至實地栽培，約經六個月即可開花。在自然發病情況下呈現抗病的植株種子特別予以留種，作進一步的篩選或利用。

植物病害之發生有幾個條件，其一需有感染源，其二需有易病環境，其三需植株對病原具有感受性；缺少其中一項條件，病害即無法嚴重發生。為避免病害之嚴重發生可由幾方面思考，因此建議找尋抗病品系或自然篩選抗病品系；並在配合環境管理的原則下採行生物防治法。如此可望布洛灣遊憩區能維持野百合花季之特色，偶有零星灰黴病的發生則可作為解說自然現象的活教材。

參考文獻

- 邱安隆. 2002. 防治百合灰黴病生物製劑之研發及作用機制探討. 國立台灣大學植物病理學系博士論文. 135 頁。
- 侯秉賦. 2002. 灰黴病菌與百合之交互作用. 國立台灣大學植物病理學系碩士論文. 72 頁。
- 植物保護圖鑑系列 5 百合保護. 2001. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局. 台灣. 台北. 119 頁。
- 游登良. 2002. 太魯閣步道. 貓頭鷹出版社. 台灣. 台北. 163 頁。
- 蔡月夏、林學詩. 2003. 台灣原生百合之美. 行政院農業委員會花蓮區農業改良場. 56 頁。
- 路幼妍. 2003. 莖百合誘導抗病性之研究. 國立台灣大學植物病理學系博士論文。
- 黃祥恩. 1997. 水楊酸誘導百合系統性抗灰黴病之研究. 國立台灣大學植物病理學系碩士論文. 66 頁。
- 劉益宏. 2004. 台灣百合根圈細菌之篩選灰黴病防治應用研究. 國立台灣大學植物病理學系碩士論文. 64 頁。
- 謝廷芳, 黃振文. 1998. 百合灰黴病之發生條件與病勢進展. 植物保護學會會刊 40: 227-240.
- Alström, S. 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. J. Gen. Appl. Microbiol. 37: 495-501.
- Bagnasco, P., de la Fuente, L., Gualtieri, G., Noya, F., and Arias, A. 1998. Fluorescent *Pseudomonas* spp. as biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi. Soil. Biol. Biochem. 30: 1317-1322.
- Barka, E. A., Belarbi, A., Hachet, C., Nowak, J., and Audran, J. C. 2000. Enhancement of *in vitro* growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. FEMS Microbiol. Lett. 186: 91-95.
- Benhamou, N., Kloepper, J. W., Quadt-Hallman, A., and Tuzun, S. 1996. Induction of defense-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. Plant Physiol. 112: 919-929.

- De Boer, M., Bom, P., Kindt, F., Keurentjes, J. J. B., van der Sluis, I., van Loon, L. C., and Bakker, P. A. H. M. 2003. Control of Fusarium wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease-suppressive mechanisms. *Phytopathology* 93: 626-632.
- Doss, R. P., Chrisitian, J. K., and Chastagner, G. A. 1988. Infection of Easter lily leaves from conidia *Botrytis elliptica*. *Can. J. Bot.* 66: 1204-1208.
- Duijff, B. J., Pouhair, D., Olivain, C., Alabouvette, C., and Lemanceau, P. 1998. Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r. and by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Eur. J. Plant Pathol.* 104: 903-910.
- Elad, Y., and Chet, I. 1987. Possible role of competition for nutrition in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. *Phytopathology* 75: 190-195.
- Handelsman, J., Raffel, S., Mester, E. H., Wunderlich, L., and Grau, C. R. 1990. Biological control of damping-off of Alfalfa seeding with *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 713-718.
- Hoffland, E., Hakulinem, J., and van Pelt, J.A. 1996. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. *Phytopathology* 86: 757-762.
- Hou, P. F., and Chen, C. Y. 2003. Early stages of infection of lily leaves by *Botrytis elliptica* and *Botrytis cinerea*. *Plant Prot. Bull.* 12: 103-108.
- Hsieh, T. F., and Tu, C. C. 1993. The occurrence of lily leaf blight caused by *Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 35: 355. (Abstr.)
- Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., and Ryals, J. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 439-459.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M. N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
- Kuč J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 7-12.
- Liu, L., Kloepper, J. W., and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in

- cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria: Duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology* 85: 1064-1068.
- MacLean, N. A. 1951. *Botrytis* on lilies. *Phytopathology* 41: 941.
- Migheli, Q., Aloï, C., and Gullino, M. L. 1990. Resistance of *Botrytis elliptica* to fungicides. *Acta Hort.* 266: 429-436.
- Murphy, J. F., Zehnder, G. W., Schuster, D. J., Sikora, E. J., Polston, J. E., and Kloepper, J. W. 2000. Plant growth-promoting rhizobacteria mediated protection in tomato against *Tomato mottle virus*. *Plant Dis.* 84: 779-784.
- Nandakumar, R., Babu, S., Viswanathan, R., Raguchander, T., and Samiyappan, R. 2001. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.* 33: 603-612.
- Ongena, M., Daayf, F., Jacques, P., Thonart, P., Benhamou, N., Paulitz, T. C., and Bélanger, R. R. 2000. Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonads. *Plant Pathol.* 49: 523-530.
- Osburn, R. M., Milner, J. L., Oplinger, E. S. Smith, R. S., and Handelsman, J. 1995. Effect of *Bacillus cereus* UW85 on the yield of soybean at two field sites in Wisconsin. *Plant Dis.* 79: 551-556.
- Paulitz, T. C., and Bélanger, R.R. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Ann. Rev. Phytopathol.* 39: 103-133.
- Pleban, S., Ingel, F., and Chet, I. 1995. Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse using endophytic *Bacillus* spp. *Eur. J. Plant Pathol.* 101: 665-672.
- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., and Samiyappan R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protect.* 20: 1-11.
- Raupach, G. S., and Kloepper, J. W., 2000. Biocontrol of cucumber disease in the field by plant growth promoting-rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Dis.* 84: 1073-1075.

- Raupach, G. S., Liu, L., Murphy, J. F., Tuzun, S., and Kloepper, J. W., 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting-rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis.* 80: 891-894.
- Schipper, B., Bakker, A. W., and Bakker P. A. H. M. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annu. Rev. Phytopathol.* 115: 339-358.
- Siddiqui, I. A., and Shaukat S. S. 2002. Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. *J. Phytopathol.* 150: 469-473.
- Smith, K. P., Havey, M. J., and Handelsman, J. 1993. Suppression of cottony leak of cucumber with *Bacillus cereus* strain UW85. *Plant Dis.* 77: 139-142.
- Wei, G., Kloepper, J. W., and Tuzun, S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86: 221-224.
- Yan, Z., Reddy, M.S., Ryu, C.M., McNroy, J.A., Wilson, M., and Kloepper, J.W. 2002. Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 92: 1329-1333.
- Zehnder, G. W., Murphy, J. F., Sikora, E. J., and Kloepper, J. W. 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 39-50.
- Zhang, S., Reddy, M. S., Kokalis-Burelle, N., Wells, L. W., Nightengale, S. P., and Kloepper, J. W. 2001. Lack of induced systemic resistance in peanut to late leaf spot disease by plant growth-promoting rhizobacteria and chemical elicitors. *Plant Dis.* 85:879-884.