

功能性微生物製劑在有機作物栽培病害管理上之應用

- ¹ 陳俊位 臺中區農業改良場 副研究員
² 鄧雅靜 朝陽科技大學通識中心 助理教授
³ 曾德賜 中興大學植物病理學系 教授

摘要

有機農業在國內推廣雖已有多多年，然而病害管理技術一直是讓農友頭痛的問題。功能性微生物製劑為近來所開發的新防治資材，功能性微生物除了拌演促進植物生長、養分吸收及病害抑制之各種角色外，近來更發現其能誘導植物產生系統性抗性，而使病原感染時所造成之發病率或發病程度顯著降低。利用枯草桿菌(*Bacillus subtilis* WG6-14)結合功能性營養配方 (functional nutritive formulation, FNF) 醱酵產生的微生物製劑，可拮抗多種病原微生物並能促進植物之生長。施用枯草桿菌 WG6-14 醱酵菌液於田間的甘藍試區，田間甘藍黑腐病罹病度可較對照組降低 20~80%，且其株高、葉片數、葉長、葉寬、單球重量及總重皆優於對照組。若從苗期種植起每隔 7 天澆灌 WG6-14 功能性營養配方 (FNF) 100 倍一次，能將發病率壓制在 40% 以下，相較於對照組 100% 的發病率有明顯的防治效果，此外並能增加收穫甘藍單球重量 1~1.5 公斤及提早採收天數 10~20 天。*Streptomyces* sp. RS70 為一可促進番茄生長之根棲細菌，經試驗證明其具有誘導番茄產生抗青枯病之能力，進而降低溫室及田間番茄青枯病之發病指數，而此一抗性已被證實與致病過程相關蛋白質 (pathogenesis-related proteins, PRs) 有著關連性，當番茄頂葉以 RS70 處理後，其可誘發番茄 *PR-1* mRNA 之累積及表現，此外，又能促進番茄生長、提早開花時間、增加果序、結果量、產量及幫助果實顏色之轉換，並可減少環境逆境對番茄生長、產量及品質之不利影響，而顯著減少裂果及畸型果之產生。木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列菌株已研發多項產品如生物性堆肥、介質、微生物製劑等，於田間運用成效顯著。TCT-R1 稻穀菌種與作物根部共生能力強，能幫助作物根系

發育，除可減少苗期病害外並能幫助作物抵抗逆境。除菌種使用外結合木黴菌與營養物質如乳清蛋白、糖蜜醱酵產生的 TCT-LF-N 功能性微生物製劑，製作簡便成本低廉。田間試驗結果可促進水稻秧苗生長，減少秧苗期病害，能增加分蘗數及有效穗數，提昇產量與品質，並有抗倒伏及促使孕穗期一致性之效果，此外尚可減少水稻稻熱病、紋枯病及白葉枯病之發生與危害。在蔬菜上可減少苗期立枯病、甘藍黑腐病，胡瓜苗期立枯病、白粉病、露菌病及疫病，番茄及彩椒苗期立枯病、白粉病、葉黴病、枝枯病、晚疫病及韭菜銹病等多種病害，在其它果樹作物或花卉作物的病害防治上亦有效果。使用所研發的微生物製劑除能增加有機農友的栽培信心外，並可改善有機農作物生長不良、品質不佳的缺點，對未來有機農業的推廣將是一大利器。

關鍵字：功能性微生物製劑、有機農業、病害管理、枯草桿菌、根棲細菌、木黴菌

前 言

有機農業在國內推廣雖已有多年，但在有機作物栽培上的病害管理技術一直是讓農友頭痛的問題，使作物栽培面積因受限於各種病蟲害的問題而無法擴大。在推行有機農業的過程中，已有多人利用有機資材、植物成份及礦物油劑等天然物質開發成防治病蟲害的藥劑（詳如附表一、附表二），然因此些藥劑或製法繁瑣、或成份不穩定、或價格昂貴、或取得不易、或效果不彰，使農友在應用上因此而望而卻步，另謀其它有效可行的防治資材與製劑。其中具應用潛力的即為功能性微生物製劑，功能性微生物除了拌演促進植物生長、養分吸收及病害抑制之各種角色外，近來更發現其能誘導植物產生系統性抗性，而使病原感染時所造成之發病率或罹病程度顯著降低，此種抗性現象顯露了生物防治的一種新機制，也開啟了植物病害防治的新途徑。

功能性微生物製劑依其對作物生長幫助可分為二大類，一類為幫助作物養分吸收、促進生長、增加產量並能誘發其它特殊功能產生的微生

物群，亦稱為促進植物生長之根棲微生物 (plant growth-promoting microorganisms, PGPM)，本類微生物以聚集於植物根圈部位的微生物為主，其功能可產生植物荷爾蒙，如生長激素、乙烯、細胞分裂素、維他命及其它植物生長物質，促進植物生長與增產。此外尚可利用或代謝土壤中其它微生物產生的有毒代謝物質，減輕對植物根部的傷害而使植物正常生長。此類菌種如固氮細菌、菌根菌、螢光細菌、鏈黴菌、枯草桿菌、木黴菌及促進植物生長之根棲細菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 群等(Whipps, 2001)。另一類則可寄生病原菌、產生抗生物質抑制病原生長或誘導植物產生系統性抗性，此類菌種如螢光細菌、鏈黴菌、枯草桿菌及木黴菌等(Weller, 1998；whipps, 2001)。在這些微生物中本場除自行研發菌種外並結合學校的研發成果實際應用於田間，以篩選對病害防治最有效的菌種並探討其應用在有機作物栽培病害管理上之可行性。

枯草桿菌 *Bacillus subtilis* WG6-14 菌株於植物病害防治應用：

桿菌屬細菌為需氧或兼性厭氧之桿菌，已有紀錄之桿菌屬細菌超過 60 種，可產生耐逆境、耐儲存的內生孢子，且具週生鞭毛為其型態上主要特徵 (Priest, 1993.)；在食品飼料添加物、酵素及種子保護劑等生技產業發展上應用已有多數 (Verschure *et al.*, 2000)，在植物病蟲害的生物防治之研究與應用上，許多桿菌屬已知會產生可以抑制植物病原細菌、真菌及昆蟲之抗性物質，在植物保護上應用最成功的例子莫過於在鱗翅目、雙翅目與鞘翅目等害蟲防治上應用推廣的蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*) (Adam *et al.*, 1996)。此屬細菌多存在於土壤及植物體表 (McSpadden, 2004)，一般認定為安全性 (GRAS, generally regarded as safe) 之有益微生物；由於在大自然逆境可產生存活長久的內生孢子 (Piggot and Hilbert, 2004)，更增加其在農業上之實質應用性 (Msadek, 1999)。在植物病害防治工作中，常被應用者包括 *B. subtilis* (Chang and Kommedahl, 1968；Dunleavy, 1954)、*B. cereus* (Doherty and Preece, 1978；Fravel and Spurr, 1977)、*B. megaterium* (Liu and Sinclair, 1990) 及 *B. pumilus* (Morgan,

1963) 等，應用防治對象則包括土壤病害(Nemec *et al.*,1996)、葉部病害(如菜豆銹病)、維管束病害、儲藏期病害(如桃褐腐病、柑橘青黴病)(Obagwu and Korsten,2003) 等，作用的病原則包括多種線蟲、真菌與細菌(Emmert and Handelsman,1999)。上述桿菌屬細菌在實際應用時所需的量產技術已趨於成熟，因此於植物病害防治應用上為很值得研究開發之微生物資源。

桿菌屬細菌枯草桿菌防治病害的機制：

桿菌屬(*Bacillus* spp.)細菌於生物防治上的應用，截至目前所知的作用機制包括：1. 抗生作用 (antibiosis)、2. 競生作用 (competition)、3. 誘導抗病(induced resistance) (Kloepper *et al.*,2004)及 4. 促進生長 (growth promotion) (Glick and Bashan, 1997; Emmert and Handelsman,1999;Wipps, 2001) 。

抗生物質：

桿菌屬細菌已知可分泌抗生物質 (antibiosis)、胞外水解酵素 (extracellular hydrolase)、氨氣 (NH₃) 與揮發性氣體 (Fiddaman and Rossal, 1993) 。許多桿菌屬已知可在二次代謝過程中產生多種抗生物質，目前所知已被報導之有關抗生物質種類多達 169 種以上，*B. subtilis* 所產生抗生物質已知者達 66 種左右 (Katz and Demain, 1977)，這些抗生物質對多種植物病原細菌與真菌均具有優異的抗生效果(謝等,2003)。此些抗生性物質在結構上多以不易被動、植物蛋白酶所水解，以環狀連結多個胺基酸的胜肽類結構，其分子量大多介於 270~4500 Da 間的胜肽類為主。包括 Mycobactin、Subtilin、Bacilysin、Bacillomycin、Fungistatin、Bulbiformin、Bacillin、Subsporin、Bacilloecin、Mycosubtilin、Fungocin、Iturin、Neocidin、Eumycin、Zwittermicin 等最為普遍。

已知桿菌屬細菌所產生抗生物質中，Iturin A 是研究較多的抗生物質(Phister *et al.*2004)，Iturin A 可對抗 *Cercospora kikuchii*、*Verticillium dahliae*、*Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*、*Alternaria mali*、

Rhizoctonia solani、*Pyricularia oryzae*、*Xanthomonas oryzae* 及 *Pseudomonas lachrymans* 等多種植物病原菌 (Katz and Demain, 1977; Yu *et al.*, 2002)，Iturin A 對於酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 之抗生機制已知除了活化存在於酵母細胞之磷脂酰酶，且會干擾細胞膜上之脂質成分而使磷脂質較易受磷脂酰酶之作用，進而影響細胞膜的通透性 (Latoud *et al.*, 1990)。另外如 *B. cereus* UW85 在生物防治上之應用，其菌體培養液與濾液均有抑制苜蓿(alfalfa)猝倒病之功效，其效果之發揮則以被證實與菌體所產生 zwittermicin A 和 kanosamine 兩種抗生物質有密切關係 (He *et al.* 1994; Emmert *et al.* 2004)。

誘導抗病反應：

在病害防治作用機制之瞭解方面，本屬細菌在生物防治上之應用效果除與上述多種抗生物質產生有關，其對作物植株生長與活力促進上的功效，重要性亦不容忽視。Turner 氏等於花生上之應用效果已如前述，1995 年 Osburn 氏等於美國 Wisconsin 經由田間試驗證實，於大豆上施用 *B. cereus* UW85，可明顯增產量達 13.4% 到 139%。另外也有報導指出微生物可刺激植物產生誘導性抗病反應，Podile 氏等即發現施用枯草桿菌 BS AF1 菌株於豌豆種子，可明顯提高成長苗苯丙胺酸氨解酵素 (phenylalanine ammonia lyase (PAL)) 的活性及植株之抗病性。另外施用 FZB24^R *B. subtilis* 於蕃茄根部，也已有證據分別顯示可明顯減少 *Phytophthora infestans* 和 *Botrytis cinerea* 在葉部的感染；其中在 *P. infestans* 防治效果部分，其可降低超過 50% 的發病程度，然而在 *B. cinerea* 部分則發現需要施用較高菌量之拮抗菌才能達到降低 20% 的防治效果，顯示根部處理 *B. subtilis*，可提高植株地上部之抗病性 (Kilian *et al.*, 2000)。Silva 氏等利用含枯草桿菌之根圈微生物處理番茄可誘使其地上部葉片抵抗其它病原的能力 (Silva *et al.* 2004)。Van 氏等利用阿拉伯芥與根圈微生物反應亦發現誘導抗病的訊息子產生 (Van *et al.* 1997)。Zhang 氏等利用可促進植物生長的枯草桿菌處理菸草可誘使其產生系統性抗性抵抗葉黴病 (Zhang *et al.* 2002)。

Bacillus spp.對植株生長與活力促進上的功效：

Bacillus spp.分泌的胞外水解酵素 (extracellular hydrolase)、蛋白質分解酵素(protease)，能分解蛋白質；*B. subtilis/ amyloliquefaciens* Group 的菌株可分泌植酸，轉化土壤中磷為游離態，有利植物之吸收，進而促進植株之生長 (Krebs *et al.*, 1998)。Zehnder 氏等人指出部份桿菌屬包括 *B. amyloliquefaciens*、*B. polymyxa*、*B. pumilus* 及 *B. subtilis* 菌株具 PGPR 之功效 (Zehnder *et al.*, 2001)。Osburn 氏等於美國 Wisconsin 經由田間試驗證實，於大豆上施用 *B. cereus* UW85，可明顯增加產量達 13.4%到 13.9% (Osburn *et al.*, 1995)。Turner 氏等以枯草桿菌處理花生種子，可促進種子發芽、出土及固氮菌 (*Rhizobium* spp.) 的纏據，並可抑制立枯絲核菌 *Rhizoctonia solani* AG-4 的感染，因而有促進根的生長，進而提高花生產量之效果 (Turner and Beckman, 1991)。甫近 Dey 氏等用含枯草桿菌之生長促進微生物處理花生種子亦有減少苗期病害及提高產量之效果(Dey *et al.*2004)。

複合性揮發性物質 (volatile organic compounds, VOC)：

Bacillus spp.所分泌的揮發性物質，具有抑制真菌性病原菌包括 *Rhizoctonia solani* 以及 *Phythium ultimum* 生長的效果(Fiddaman and Rossal,1994)，具促進植物生長 (plant growth-promoting) 能力的 *Bacillus* spp.菌株，其所分泌對阿拉伯芥幼苗生長具有促進能力的複合性揮發性物質 (volatile organic compounds, VOC)，可能與 3-hydroxy-2-butanone (acetoin)以及 2,3-butanediol 兩化合物有關 (Ryu *et al.*, 2003;Ping and Boland,2004)，並進一步證明其可誘導植物抗病能力產生(Ryu *et al.*2004)。

枯草桿菌WG6-14之特性及應用情形：

枯草桿菌WG6-14係由中興大學植病系植物病態生理實驗室於台南

縣玉井鄉的芒果園土壤中分離得到，其對於多種重要黃單胞菌 (*Xanthomonas*)屬病原菌均具有極具有極強之抗生活性，田間初步證實可有效的防治芒果黑斑病病原菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *maniferaeindicae*) (周等，1997)，番茄細菌性斑點病病原菌 (*X. axonopodis* pv. *vesicatoria*) 與柑橘潰瘍病病原菌 (*X. axonopodis* pv. *citri*) 之生長(李，2002 及 邱，2004)，水稻白葉枯病病原菌 (*X. oryzae* pv. *oryzae*) (王，2002)，顯示本土性桿菌屬資源在*Xanthomonas*屬所引起病害的防治應用上極具開發潛力。此外亦證實以葉部噴灑施用，對於菸草白星病(*Cercospora* sp.)防治，有不亞於化學藥劑之顯著效果。另外澆灌處理測試，則發現其對山蘇、虫草與山藥等作物白絹病(*S. rolfsii*)感染之防治，效果亦相當明顯。且不論是土壤灌注或是葉面噴灑，其對蝴蝶蘭、菜豆等多種作物之生長，尤其是根部之發育，均有極為明顯之促進作用。已證實培養菌液經適當倍數稀釋後直接供澆灌應用，對於蘭科植物、茄科、與甘藍等多種作物幼苗之存活率與生長勢多有不等程度的促進作用。另外於青心烏龍茶樹之扦插繁殖過程，利用BS1做土壤澆灌處理，則證實對成活率及生長勢均有明顯促進作用。在病害防治應用上，對於屬蘭科的金線蓮(*Anoectochilus taiwanensis*)之栽培，利用BS1培養菌液與該研究室另外研製之鏈黴菌(*Streptomyces saraceticus* SS31菌株)生質體製劑行交替澆灌處理，證實可以促進根部發育，並有效減少由鐮孢菌(*Fusarium oxysporum*)所引起的金線蓮腰折病的發生率。在茭白筍(*Zizania latifolia*)栽培上，於育苗期、定植時與第一季採收後之淺水期，分別利用WG6-14培養液以100倍稀釋濃度行澆灌處理，證實可顯著促進茭白植株分蘖，且對莖基腐敗病(basal stem rot)之感染亦有明顯的抑制作用，茭白筍之品質與單位面積產量均顯著提升。以剪葉法(clip inoculation)人工接種水稻白葉枯病病原菌(*X. oryzae* pv. *oryzae*) 之台稉8號水稻植株，以WG6-14培養液行傷口浸泡處理或植株澆灌處理，均可顯著降低白葉枯病之感染 (曾等,2003)。

應用枯草桿菌 WG6-14 防治細菌性病害有效之機制：

研究室過去在探討枯草桿菌抗生活性有關工作中亦發現，所萃取之抗生物質中有與細胞分裂素(cytokinin)作用有關的多胺化合物(polyamine)之存在(李, 2002)，上述本研究所製作製劑中是否有生長素或多胺化合物存在尚有待證實，在應用性方面，病害防治效果中則確有抗生物質的參與，以 WG6-14 對水稻白葉枯病之防治應用為例，以去掉菌體之培養濾液(culture filtrate)施用，亦可有相當程度之防治效果，唯其相較於含菌體之全培養液(whole broth culture)則有相當的差距(王,2002)。由培養過程之生長與拮抗活性檢測，抗生物質之產生為培養後期與內生孢子形成有關之特性，且其生合成作用顯然與氮素源的利用有關。培養液與培養濾液病害防治應用性之差異，顯示活菌體存在之必要性。上述枯草桿菌參試菌株，經於水稻葉片上噴灑測試，可在葉片上存活達 20 天以上。除抗生物質的作用，菌體本身的存在對病原菌營養與空間之競爭，及抗病性之誘導相當明顯。上述水稻白葉枯病防治試驗之結果並顯示，隨著病原接種原潛勢(inoculum potential)之提高，施用之拮抗菌濃度亦需相對提高，方足以因應；另亦發現，以土壤澆灌方式施用對葉部白葉枯病菌感染亦具減輕病勢發展之防治效果，且其中經以 WG6-14 等枯草桿菌製劑處理之水稻植株，其葉片組織中苯丙胺酸氨解酵素(phenylalanine ammonia lyase)與 PR-1 病程蛋白(pathogenesis related protein)之基因轉錄體(transcripts)均有顯著增加的現象，此說明於處理植株已有抗病性之誘導啟動(王,2002)。在植物病害防治應用上，植物本身抗病性的活化為生物合理性製劑發展上極為熱門之課題，屬於生化製劑的 Actigard (acibenzolar-S- methyl)及 Probenazole 等的成功推出，為病害防治增添了所謂植物活化劑(plant activator)的應用。在美國已經通過 EPA 登記的枯草桿菌微生物製劑 Serenade 與 YieldShield，也都被歸類屬於植物活化劑，此類生物製劑對植物生長勢與抗病性的促進效果相當受肯定。

枯草桿菌 WG6-14 防治甘藍黑腐病之效果：

甘藍黑腐病(black rot disease)係由細菌 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 所引起，為世界性重要病害之一。*Xanthomonas campestris* 為革蘭氏陰性病原菌，為一頗具學術性及應用性的菌種。在學術上 1)它能分泌多種胞外蛋白，已成為研究革蘭氏陰性菌蛋白分泌之模式系統。2)它的轉錄單位多以單基因的方式為之，與熟知的大腸菌之多單基因調節方式不同。3)它不具 cyclic AMP (cAMP)，但其多元調控蛋白 (Clp, cAMP receptor protein-like protein) 能夠協助執行調控之功能。在應用上為 1)它可攻擊十字花科植物，使之感染黑腐病，因而造成農業之損失。2)此病菌可生成 Xanthan (為一多醣體)，可用在眾多工業如紡織、造紙等，特別地被使用在配藥和化妝應用作為安定器、濃化劑或乳化劑。本病原為害作物時，病原菌常由葉緣水孔或傷口侵入，病菌生物膜(biofilm)形成與細胞外多醣體(EPS)存在，可使其具致病能力進入植物韌皮部維管束中引起萎黃之 V 字型病斑(Dow *et al.* 2003)，病斑擴展後中肋及葉主脈導管變黑，呈現黑色或褐色病徵，降低蔬菜品質及產量至鉅。臺灣地處亞熱帶地區，溫度及濕度均適宜黑腐病的發生，尤以每年 6~10 月為發病高峰期(林，1981)。本病危害甘藍、十字花科芸苔屬(*brassicacae*)、蘿蔔類作物，其他十字花科雜草如山芥菜、小團扇薺及獨行菜(頭瓣菜)等及藜科之菠菜(李，1995；Williams, 1980)。臺灣地區自 70 年代起推行蔬菜生產專業區，大量集中栽培之後，病害的發生逐漸加遽，已成為臺灣地區十字花科蔬菜之重要病害；在無藥劑防治狀況下，發病率甚至可高達 95.6%(黃，1990)。目前化學藥劑防治，並無法有效控制病害的發生與蔓延。利用枯草桿菌(*Bacillus subtilis* WG6-14)結合功能性營養配方 (functional nutritive formulation, FNF) 醱酵產生的微生物製劑，可拮抗多種病原微生物並能促進植物之生長。施用枯草桿菌 WG6-14 醱酵菌液於田間的甘藍試區，田間甘藍黑腐病罹病度可較對照組降低 20~80%，且其株高、葉片數、葉長、葉寬、單球重量及總重皆優於對照組(表一、圖一)。在有機農場管理上，若從苗期種植起每隔 7 天澆灌 WG6-14 功能性營養配方 (FNF) 100 倍一次，能將發病率壓制在 40% 以下，相較於

對照組 100%的發病率有明顯的防治效果，此外並能增加收穫甘藍單球重量 1~1.5 公斤及提早採收天數 10~20 天(表二、圖二)。上述結果顯示枯草桿菌 WG6-14 功能性營養配方於甘藍栽培上，除可提供病害防治應用外並兼具有促進生長提昇產量等多種功能(陳等,2009)。

表一、枯草桿菌 WG6-14 防治甘藍黑腐病及促進產量之效益

處理	總重 (Kg)	株高 (cm)	株寬 (cm)	外葉長 (cm)	外葉寬 (cm)	葉片數 No.	單球重 (kg)	球高 (cm)	球寬 (cm)	中柱長 (cm)	中柱寬 (cm)	黑腐病罹病度 (%)
初秋												
1.BSWG6-14	1.88	19.8	53.6	26.1	29.4	18.0	1.24	12.6	19.4	5.7	3.1	31
2.BSWG6-14FNF	2.49	19.3	60.8	26.8	29.0	20.1	1.25	11.7	19.5	5.2	2.9	22
3.BS1+2*	1.75	19.3	63.2	26.9	30.0	21.9	1.15	12.2	19.3	5.6	3.3	29
CK	1.20	11.7	39.0	25.2	27.3	17.0	1.09	11.1	18.3	5.5	2.9	62
夏峰												
BS1+2	2.20	20.0	58.8	26.5	30.8	19.8	1.38	12.7	20.9	6.3	2.7	10
CK	1.60	13.5	52.7	25.1	27.5	20.1	1.11	12.5	20.1	6.1	2.6	45
台中一號												
BS1+2	2.50	20.3	63.3	29.9	33.8	3.4	1.81	15.0	22.2	6.1	2.6	5
CK	1.60	14.7	62.7	30.1	31.4	19.3	1.33	14.8	20.0	4.7	2.3	32

*BS1+2 處理為枯草桿菌(*Bacillus subtilis* WG6-14)一次醱酵菌種混合以功能性營養配方 (functional nutritive formulation, FNF) 醱酵產生的枯草桿菌微生物製劑共同施用於甘藍上，各處理為稀釋 100 倍每週澆灌一次

表二、枯草桿菌 WG6-14FNF 不同施用法對有機甘藍產期及產量改善之效益

處理倍數	種植日	BSWG6-14FNF		對照	
		種植後首次採收日數	平均單球重 (kg)	種植後首次採收日數	平均單球重 (kg)
100x					
葉噴	2005.10.26	67	1.72	71	1.2
葉噴	2006.01.25	76	1.57	76	0.87
葉噴	2006.02.14	61	1.44	61	1.08
澆灌	2006.03.17	65	1.88	87	0.98
澆灌	2006.10.19	69	1.26	97	0.84
澆灌	2007.01.02	65	1.92	85	1.32
澆灌	2007.01.24	74	1.19	83	0.73

本試驗於埔里林碧龍農友有機驗證農田進行



圖一、枯草桿菌 WG6-14 防治甘藍黑腐病及促進產量之效益(左：對照區；右：處理區)



圖二、枯草桿菌 WG6-14FNF 施用後可改善有機甘藍生長、增加產量及減少黑腐病危害(左：處理區；右：對照區)

促進植物生長之根棲細菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)：

植物根圈微生物在植物生長過程中，扮演著重要的角色，除可引起植物病害之病原微生物外，亦有促進植物生長的微生物。1980 前後幾年，有些研究報告指出某些根圈細菌處理於種子或繁殖體後，可棲群於植物根部並促進植物生長，因此這些細菌被稱為促進植物生長之根棲細菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) (Burr, 1978; Kloepper, 1978; Kloepper, 1981; Suslow, 1982)。PGPR 不僅能提升植物活力及促進植物生長，且已被應用於防治葉部或土壤傳播性病害，在菸草(Maurhofer M., 1994)、小麥(Weller, 1983)、馬鈴薯 (Kloepper, 1983)、胡瓜 (Chen, 1998; Kloepper, 1988; Liu, 1995; Mandeel, 1991; Raupach, 1996; Wei, 1991; Wei, 1996; Zhou, 1994)、蘿蔔 (De Boer, 2003; Leeman, 1996; Leeman, 1995)、康乃馨 (van Peer, 1991)、番茄 (Duijff, 1997; Raupach, 1996; Yan, 2002)、豆類 (De Meyer, 1997; Landa, 2001) 等作物之真菌、病毒或細菌病害上具有良好的防治效果。

PGPR 促進植物生長或防治病害之機制：

促進植物生長之根棲細菌包括多類之土壤細菌，其藉由一種或一種以上不同之機制間接或直接促進植物生長 (Glick, 1995)。有些根棲細菌可抑制及改變根圈微生物 (Kloepper, 1981)，或於根圈產生嵌鐵物質 (siderophores) (Kloepper 1980)、抗生物質 (antibiotics) (Gardner, 1984; Weller, 1988) 或氰酸 (hydrogen cyanide) (Ward, 1991) 以抑制病原菌和其他有害根棲細菌 (deleterious rhizobacteria) (Kloepper, 1981; Suslow, 1982) 而間接促進植物生長，此外，尚可利用或代謝土壤中一些微生物所產生的有毒代謝物質 (如 HCN)，以減緩其對植物根部的傷害而使植物正常生長 (Schippers, 1987; Weller, 1983)。直接促進植物生長作用，乃因 PGPR 產生植物賀爾蒙或提供可利用之養分，如固氮、土壤中可溶性鐵 (Glick, 1995)。PGPR 對植株生長與促進活力上之功能也與其分泌之胞外水解酵素 (extracellular hydrolase)、蛋白質分解酵素 (protease) 或揮發性有機物質 (volatile organic compounds) 有關，如 *Bacillus* spp. 分泌之胞外水解酵素、蛋白質分解酵素，可分解蛋白質成氨基酸供植物吸

收；而 *B. subtilis* 菌株(Toro, 1997)及 *Pseudomonas cepacia* 菌株(Bar-Yosef, 1999)可分泌植酸，轉化土壤中的磷為游離態，以利植物吸收，進而促進植株之生長。*Bacillus* spp. 菌株分泌之揮發性有機物質（可能與 3-hydroxy-2-butanone (acetoin) 及 2,3-butanediol 兩化合物有關）可促進阿拉伯芥幼苗生長 (Ryu, 2003)。PGPR 除扮演促進植物生長外，有些也能誘導植物產生系統性抗病性，此種抗性現象可謂生物防治的另一種新機制，也開啟了植物病害防治的新途徑(Van Loon, 1998)。

根棲細菌 *Streptomyces* sp. RS70 在番茄青枯病防治上之應用

番茄為台灣主要茄果類作物，但因地理及環境氣候條件，夏季高溫多濕及病害如青枯病(由青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta & Nishiuchi (原名 *Pseudomonas solanacearum* Smith))的危害限制了夏季番茄的生產，造成夏季番茄嚴重短缺，導致供應不足，價格高漲，並使其產季集中於容易生長的冬季，致使冬季生產過剩產生價格下跌的產銷問題，影響農友種植意願，雖然許多研究者從相關品種選拔、栽培技術及肥料養分著手改進，仍無法完全克服相關問題。

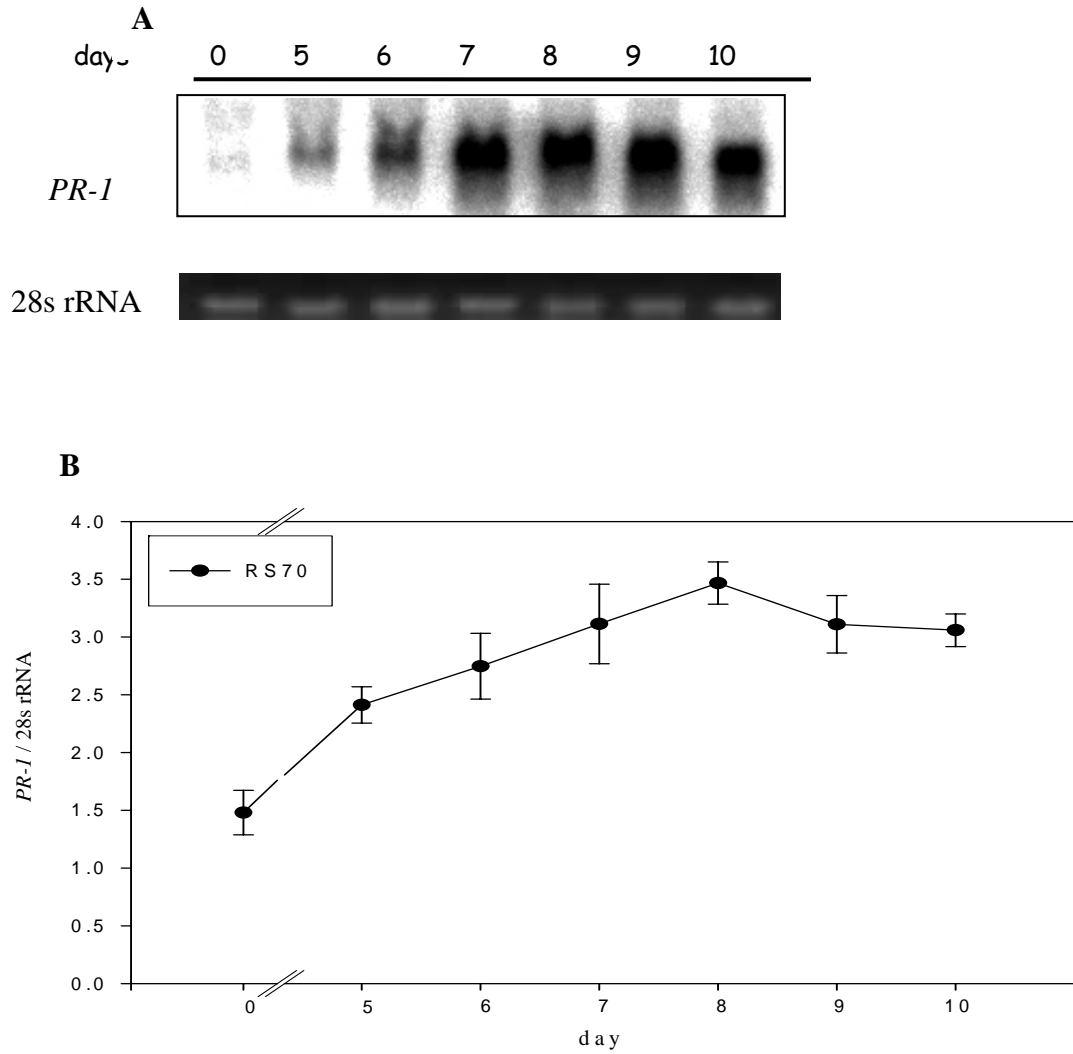
傳統農業之生產問題多以施用化學肥料及藥劑解決，結果造成環境生態之破壞及藥劑殘留，現今農業栽培方式已朝向永續農業經營，近年來，多篇報告指出促進植物生長之根棲細菌可做為農業生產管理上一項有利的技術，所謂促進植物生長之根棲細菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 乃指某些根圈細菌處理於種子或繁殖體後，可棲群於植物根部並促進植物生長之根棲細菌。已知 PGPR 可產生植物賀爾蒙如 IAA 或 ACC 促使植物根系延伸、提供可利用之養分如固氮、土壤中可溶解性鐵、產生揮發性有機物質促使植物生長、克服植物生長逆境（如乾旱、湛水、鹽害、重金屬污染等）或防治病害。生物防治是發展永續農業中一項極重要的病害防治策略，有些報告指出促進植物生長之根棲細菌如 *Pseudomonas putida* 89B61 處理番茄種子後，可顯著減少青枯病之發生；*P. putida* WCS358r 和 *P. fluorescens* WCS374r 處理尤加利樹葉片後，可誘發尤加利樹系統性抗青枯病，而目前已知 PGPR 在溫室或田間之施用可促進多種作物之發芽率、生長或產量增加，如馬鈴薯、甜

菜、加拿大改良油菜、米、花生、小麥、大豆、玉米及蘿蔔等。

Streptomyces sp. RS70 為一可促進番茄生長之根棲細菌，經鑑定為新種之鏈黴菌菌株，試驗證明其具有誘導番茄產生抗青枯病之能力，進而降低溫室及田間番茄青枯病之發病指數(圖三)，而此一抗性已被證實與致病過程相關蛋白質(pathogenesis-related proteins, PRs) 有著關連性，當番茄頂葉以 RS70 處理後，其可誘發番茄 *PR-1* mRNA 之累積及表現(圖四、圖五)，此外，又能促進番茄生長、提早開花時間、增加果序、結果量、產量及幫助果實顏色的轉換，雖然夏季高溫、多濕及青枯病的危害限制了夏季番茄的生產，但試驗顯示 RS70 菌株可在番茄種子或苗期處理後，達到促生及保護效果(圖六)，田間施用除可減少環境逆境對番茄生長、產量及品質之不利影響外，並可顯著減少裂果及畸型果之產生(圖七)。目前結合營養物質發酵產生之根棲細菌 *Streptomyces* sp. RS70 功能性微生物製劑，已應用於防治多種作物病害，除能有效防治病害，誘發植物產生抗病力外，並具有促進植物生長、提升產量及品質等多種功效，對作物生長亦無有害之情形產生。



圖三、番茄青枯病為現今番茄栽培上的頭號敵人眾多學者專家皆束手無策，促進植物生長之根棲細菌 *Streptomyces* sp.RS70 為未來防治青枯病帶來一線希望



圖四：*Streptomyces* sp. RS70 注射接種於番茄葉後在下方未接種葉內所誘發 *PR-1* mRNA 之表現



圖五、PGPR 菌株 *Streptomyces* sp. RS70 已證實具有誘導番茄抗青枯病之能力(右：處理組,左：對照組)



圖六、利用澆灌方式將 RS-70 菌株在番茄育苗時接種可促使幼苗發育健壯並能誘發抗病能力



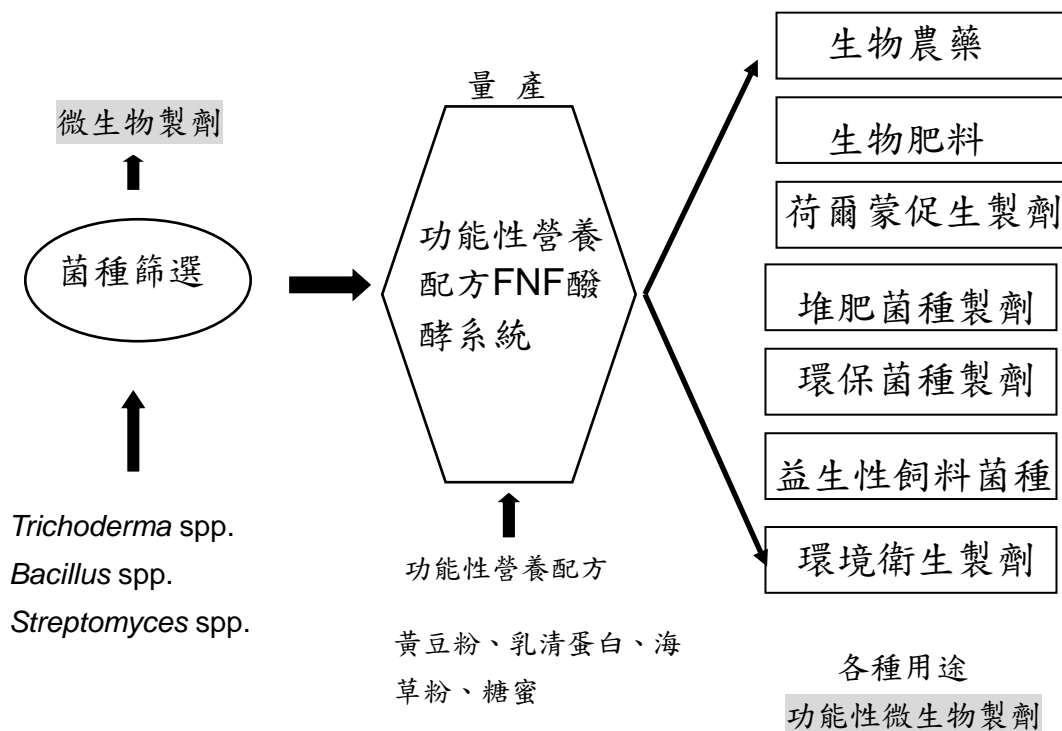
圖七、RS70 菌株能提昇田間栽培番茄生長速率提早開花結果及改善果實品質
(左：處理組, 右：對照組)



功能性微生物製劑之開發與應用：

微生物菌種目前在市面上所販售的產品大多以孢子狀態、菌絲繁殖體配合佐劑或增量劑包裝，由於菌量數目高，售價往往不低，且相關製劑產品櫥架壽命、菌種活力常受限於儲藏環境、溫度條件、添加物成份等因子而影響，且使用方式往往因菌種不同而有不同的使用方法及條件，此常影響田間使用的效果。因此在微生物製劑的開發上，相關繁殖技術、培養配方、生產劑型將決定微生物製劑往後之使用範圍及效果。

功能性微生物製劑為新一代的生物製劑，其係將菌種結合繁殖資材及使用目的，開發出適合各種不同目的使用者的產品（圖八）。不同的菌種本身在繁殖過程中即會產生多種代謝產物及衍生物，這些產物包含有供應植物生長的養份、氨基酸、荷爾蒙、抗生素及二次代謝產物等，依使用的用途可應用在農業、畜牧業、養殖業、環保、醫療、衛生消毒及再生能源等產業上，利用菌種結合功能性營養配方（FNF）可產出上述多種用途的產品。



圖八、功能性微生物製劑可針對目的開發成多種產品

木黴菌 TCT-R1 稻穀菌種的特性：

本場經多年研究，已開發多種有益微生物應用於有機農業上，其中木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列菌株已研發多項產品如生物性堆肥(蔡等,2007)、介質、微生物製劑等於田間運用成效顯著(表三)。TCT-R1 稻穀菌種為首先開發之製劑，其與作物根部共生能力強，能幫助作物根系發育，除可減少苗期病害外並能幫助作物抵抗逆境(圖九)，其它功能包括能促進植物生長、增加產量、提昇品質，可幫助農友提高作物產量及收益。運用稻穀培養木黴菌，在國內外尚未有人利用，目前生產木黴菌大多利用液體醱酵培養，以厚膜孢子進行量產。或以脫殼後之米粒培養微生物，但因米粒內營養成份影響，及水份太多米粒會軟化聚黏影響通氣性，使微生物生長不良，若水分太少則微生物因缺水而無法正常生長，固態醱酵培養因生產技術無法突破而鮮少人使用。本場所研發之穀粒培養基，由於消毒完全且穀粒外殼完整，供試微生物要利用穀粒內米粒養分時要能產生纖維分解酵素，分解部份外殼後利用米粒養分，菌絲纏繞後在稻穀外殼即可形成綠色木黴菌孢子。所製備之 TCT-R1 木黴菌稻穀菌種特性為好氣性、具纖維分解酵素、低單糖類需求微生物。本項產品除利用相關技術突破木黴菌固態培養瓶頸外，並具高再生性及儲存期長等優勢。所製備之稻穀菌種因穀粒完整具高再生性，在沖洗外殼所附之孢子後，即可覆蓋保濕再生成孢子重覆繁殖二~三次，孢子數皆可維持在 10^9 spore/g 左右。另並具高低溫儲藏性，製備好之菌種不需額外處理即可儲存在 -30°C 低溫保存箱中，活性可維持二年以上，且孢子活性無衰退情形，本稻穀菌種比市面上其他的厚膜孢子製品儲存時間增加一倍以上，耐低溫性優於其他產品，耐堆肥醱酵高溫能力強過其它產品，菌種再生性則為國內其他孢子產品無法競爭之獨特性。本菌種除可當育苗時之幼苗發根接種劑外，經使用於堆肥醱酵尚可快速分解堆肥資材，除使材料快速腐熟外，菌種尚可存活在堆肥中，除可使堆肥成品成份提升穩定外，並可供作物生長使用，為其他產品無法競爭的特點(蔡等,2005)。此外木黴菌 TCT-R1 稻穀菌種尚可當液肥醱酵菌種，配合有機資材可生產有機液菌肥，目前已開發多種產品(表三)。

表三、木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列產品

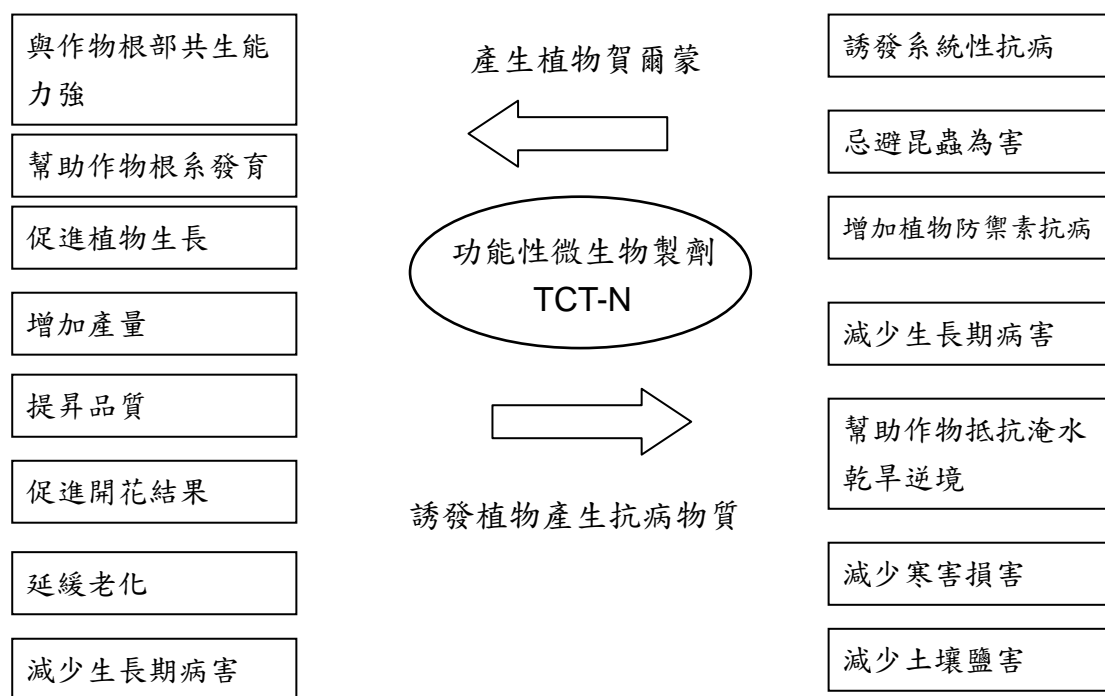
微生物菌種	生物性堆肥	介質	高效液菌肥
福壽活麗送-2 號 (TCT103)	福壽大自然基肥-蔗渣木屑堆肥	福壽-中改 3 號蔬果栽培介質	全自然珍珠有機液肥
昔得 TCT301 菌株	昔得新型生物性牛糞堆肥	田酪豐田一號堆肥介質	農寶-穀寶有機高效肥
台中市農會生物性廚餘堆肥菌種	台盛有機高效肥-堆肥	金三角合作社舊介質再利用	
	油車藻菌堆肥-稻殼堆肥	潘美玲班長舊介質再利用技術	
	田園有機高效肥-田園特 1 號及 3 號		



圖九、TCT-R1 稻穀菌種與作物根部共生能力強，能幫助作物根系發育

木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列產品之開發與應用：

功能性微生物製劑 *Trichoderma asperillum* TCT-N 可產生植物賀爾蒙及多種代謝產物，除菌種與作物根部共生能力強外，能幫助作物根系發育，促進植物生長、開花結果、增加產量及提昇品質，此外並能減緩老化延長作物採收時間。另者該製劑尚能誘發植物產生抗病物質，可誘發植物產生系統性抗病能力，或增加植物防禦素以減少生長期病害，此外尚可忌避昆蟲減輕為害，對惡劣環境可幫助作物抵抗淹水、乾旱等逆境，並能減少寒害損害及減少土壤鹽害等問題(圖十)。



圖十、*Trichoderma asperillum* TCT-N功能性微生物製劑之特性

結合木黴菌與營養物質如乳清蛋白、糖蜜醱酵產生的 TCT-N 功能性微生物製劑，製作簡便且成本低廉，相關製劑已運用在多種作物之栽培管理上(表四)。目前所開發的三種木黴菌製劑依田間施用結果可分：

- 1)TCT-LF-1 生長液菌肥：田間試驗結果發現可促進多種作物生長，能減少苗期病害，增加作物分蘗數、開花數及有效穗數(圖十一)，能提昇產量與品質，並有抗倒伏及促使開花及孕穗期一致性之效果。此外施用於水稻上可減少水稻稻熱病、紋枯病及白葉枯病之發生與危害(圖十二)。
- 2)TCT-LF-2C 病害抑制有機液肥：在蔬菜上可減少苗期立枯病、甘藍黑腐病，胡瓜苗期立枯病、白粉病、露菌病及疫病，番茄及彩椒苗期立枯病、白粉病、葉黴病、枝枯病、晚疫病，韭菜銹病等多種病害(圖十三)，在其它果樹作物或花卉作物的病害防治上亦有效果。
- 3)TCT-LF-3D 殺蟲速效有機液肥：能提昇植物抗病能力及昆蟲忌避能力，並可殺死鱗翅目幼蟲、紅蜘蛛、粉蝨、薊馬等害蟲，搭配蘇力菌施用效果更加顯著(圖十四)。

TCT-N 功能性微生物製劑除可減少作物病害發生外，並能促進植物生長、提昇品質及產量及增強抗病能力。

表四、*Trichoderma asperillum* TCT-N 製劑可應用之作物種類及功能

TCT-N 微生物製劑	使用作物	功能
TCT-R1 稻穀菌種	禾本科：水稻、玉米、茭白筍 十字花科：甘藍、結球白菜及其它葉菜 茄科：番茄、彩椒、青椒、	促進根系發育 提昇幼苗移植存活率 促進開花結果 抗淹水逆境 抗幼苗立枯病 液肥、堆肥發酵菌種
TCT-LF-1 生長液菌肥	辣椒、茄子 葫蘆科：胡瓜、苦瓜、絲瓜、南瓜 葡萄、柑橘、甜柿、梨、	促進生長、提高開花及產量、改善品質、提昇植物抗病能力及昆蟲忌避能力
TCT-LF-2C 病害抑制有機液肥	木瓜、蝴蝶蘭、文心蘭、蝴蝶蘭、國蘭、玫瑰、洋桔梗、海芋、非洲菊、茗	抑制立枯病、露菌病、白粉病、銹病、黑腐病、潰瘍病、基腐病、莖腐病等
TCT-LF-3D 殺蟲速效有機液肥	葉、草莓	殺死鱗翅目幼蟲、紅蜘蛛、粉蝨、薊馬



圖十一、TCT-LF-1 生長液菌肥可促進作物生長、開花提昇產量品質



圖十二、TCT-LF-1 生長液菌肥施用後可提高水稻抗病能力能減少病害危害及農藥使用(左：處理組，右：對照組)

a



b





圖十三、TCT-LF-2C 病害抑制有機液肥施用後可減少胡瓜露菌病(a,b)、洋香瓜白粉病(c,d)及番茄葉黴病(e,f)危害(左：處理組，右：對照組)



圖十四、TCT-LF-3D 殺蟲速效有機液肥殺死鱗翅目幼蟲效果顯著(a:處理前,b:處理後 24 小時,c:處理後一星期,d:處理後二星期)

結 語

運用功能性微生物製劑在有機作物栽培的病害管理，本場藉由多年的田間試驗已證實枯草桿菌(*Bacillus subtilis* WG6-14)、根棲細菌 *Streptomyces* sp. RS70 及木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列菌株可減少作物栽培上的病害問題，且可增強作物自身的免疫防禦能力，部份菌株的抑病能力強過目前市面上所販售的防治藥劑，這些微生物除防治病害的功能外，結合營養物質的發酵產品對作物根系發育有極大助益，可幫助養份吸收利用，促進有機作物生長，提昇品質與產量，這些功能是其它生物製劑所無法比擬。使用所研發的微生物製劑除能增加有機農友的栽培信心外，並可改善有機農作物生長不良、品質不佳的缺點，對未來有機農業的推廣將是一大利器。

附表一、歷年來使用過之自然農藥一覽表

自然農藥	使用作物	防治對象
糖醋液	水稻 蔬菜	抑制徒長、防止倒伏、減緩老化、防治稻熱病、增強抵抗力 防止葉蟬、毒蛾幼蟲、白粉病、抑制徒長、防止老化
木醋液		防治病蟲害
釀造醋+蒜頭辣椒	蔬菜	防治病蟲害
菸葉		蚜蟲、蝸牛、浮塵子、薊馬、潛葉蠅、線蟲
酒精		蚜蟲、粉介殼蟲、圓介殼蟲、薊馬、白粉蟲
蒜頭煤油		蚜蟲、各種青蟲、金龜子、螞蟻、椿象、白粉蟲
除蟲菊		蚜蟲、葉蚤、葉蟬、薊馬、浮塵子、金龜子、螞蟻、果實蠅、 穀類甲蟲、象鼻蟲、蛾類、蜘蛛、蟋蟀、蒼蠅、蚊蟲、蟑螂、 衣魚、床蟲、蜂
魚藤		蚜蟲、甲蟲、象鼻蟲、葉蚤、菜心螟、小菜蛾、尺蠖、紋白 蝶、薊馬、玉米螟、浮塵子、果實蠅、潛葉蠅、捲葉蟲
清水+煤油酒精	水稻	浮塵子
米糠+蘇力菌	蔬菜	誘殺夜盜蟲
蓖麻油	蔬菜	螻蛄、鼯鼠及地下害蟲
香茅油	蔬菜	瓜果實蠅、夜蛾類幼虫、葉蟬、銹蟬、螞蟻、薊馬、浮塵子、 蝸牛
薄荷油	蔬菜	紋白蝶、瓜果實蠅、蒼蠅及鼠類、銹蟬、螞蟻、薊馬、浮塵 子、蝸牛、夜蛾類
樟腦油	蔬菜	夜蛾類幼虫、蚜蟲、螞蟻、葉蟬、銹蟬、薊馬、瓜果實蠅、 蝸牛、天牛、跳蚤
苦楝油苦楝精	蔬菜	白粉病、露菌病、炭疽病、銹病 葉蟬、白粉蟲、蚜蟲、粉介殼蟲、薊馬、斑潛蠅、線蟲
苦茶粕	蔬菜	蝸牛、螺類、福壽螺
九層塔(配合水解蛋白)	蔬菜	瓜實蠅
消石灰草木灰	蔬菜	萎凋病、立枯病
消石灰草木灰樟腦粉	蔬菜	立枯病
田螺豆腐粕煙囪灰	蔬菜	克服茄子連作
枇杷葉食醋	蔬菜	甘藍及山東白菜軟腐病
其它中草藥及香藥草	蔬菜	抑制病蟲害
可濕性硫磺粉	蔬菜	白粉病、銹病、潰瘍病、瘡痂病、黑斑病、葉斑病 銹蟬、葉蟬、薊馬、跳蚤、沙蚤
石灰硫黃合劑	蔬菜	白粉病、銹病、潰瘍病、瘡痂病、褐腐病、黑斑病、炭疽病 銹蟬、葉蟬、介殼蟲
硫酸銅	蔬菜	白粉病、細菌性葉斑病、葉枯病、黑斑病、銹病、炭疽病
波爾多液	蔬菜	白粉病、銹病、露菌病、細菌性葉斑病、葉枯病、黑斑病、 炭疽病
亞磷酸	蔬菜、果樹	疫病、晚疫病、露菌病、露疫病
礦物油	蔬菜	圓介殼蟲、粉介殼蟲、薊馬、蚜蟲、葉蟬、東方果實蠅、捲 葉蟲
葵花油無患子油		白粉病

整理自「永續農業第一輯作物篇第十一章第二節」
及「作物之有機栽培法」

附表二、土壤添加物植保製劑產品

植保製劑名稱	防治病害對象	主要組成份
S-H 混合物	多種土媒病害	稻殼、蔗渣、蚵殼粉、矽酸爐渣、尿素、過磷酸鈣及硝酸鉀
SF-21 混合物	濕地松苗猝倒病	松樹皮、甘油、硫酸鋁、氯化鉀、氯化鈣、過磷酸鈣及硫酸銨
LT 混合物	柑桔寄生線蟲	蝦蟹殼粉、蓖麻粕、海草粉、大豆粉及糖蜜
AR3 混合物	百合白絹病	牛糞、米糠、蟹殼粉、尿素、過磷酸鈣、氯化鉀及礦灰
CH-1 混合物	番茄青枯病	蓖麻粕、蟹殼粉、骨粉、礦灰、硫酸銨、甘油及胰氨酸
GS 混合物	花生果莢黑斑病	石膏、稻殼、硫化物、蝦殼粉、魚粉、菸草粉及台肥複合肥料 43 號
FBN-5A 混合物	甘藍與豌豆立枯病	香菇太空包廢棄物、魚粉、骨粉、牛血粉、菜籽粕、硝酸銨及丙烯醇
CBF-05 混合物	蘿蔔黃葉病、萵苣萎凋病	魚粉、蝦蟹殼粉、香菇太空包堆肥、炭化稻殼、矽酸爐渣及苦土石灰
CH-100 植物健素	韭菜銹病、梅黑星病	甘藍下位葉殘體、菸葉渣、氯化鈣、牛肉煎汁、SH 混合物及 Hoagland 修正營養液
SSC-06 混合物	甘藍立枯病、甜椒猝倒病	香菇太空包堆肥、炭化稻殼、蝦蟹殼粉及牛血粉

整理自「永續農業第一輯作物篇第六章第二節第三小節」

參考文獻

- 1.林俊義。1981。臺灣十字花科黑腐病之研究。植保會刊。23:157-197。
- 2.王詩雯。2002。拮抗性桿菌屬 (*Bacillus* spp.)於水稻白葉枯病防治之應用及其作用機制。國立中興大學植物病理學系碩士論文。84 頁。
- 3.李樹德。1995。甘藍黑腐病生物學特性研究。中國主要菜抗病育種進展 p.603-607. 科學出版社 北京。
- 4.李雅惠。2002。拮抗性桿菌屬(*Bacillus* spp.)之分離、培養與抗生活性之改進以及病害防治之應用。國立中興大學植物病理學系碩士論文。79 頁。
- 5.邱燕欣。2004。拮抗性枯草桿菌 *Bacillus subtilis*.WG-16 菌株於柑橘潰瘍病防治應用。國立中興大學植物病理學系碩士論文。92 頁。
- 6.黃德昌。1990。十字花科蔬菜黑腐病化學防治之研究。台東區農業改良場研究彙報。 4:141-155。
- 7.周俊吉、陳泰安、施怡綾、曾耀徵、曾德賜。1997。拮抗性枯草桿菌(*Bacillus* spp.)的篩選、試量產培養與病害防治應用。植病會刊 6:209-210 (摘要)。
- 8.蔡宜峰、陳俊位、陳彥睿。2005。木黴菌在堆肥製作及應用於介質耕玫瑰之研究。有機肥料之施用對土壤與作物品質影響研討會論文集。p119-128.台大農化系編印。
- 9.蔡宜峰、陳俊位。2007。生物性堆肥之菌種開發與應用。農業生技產業季刊 12:35-41。
- 10.陳俊位、曾德賜。2009。枯草桿菌 *Bacillus subtilis* WG6-14 對甘藍之生長促進及對 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 所造成甘藍黑腐病之防治效果。中華民國植物病理學會九十七年度年會論文摘要。
- 11.曾德賜、葉瑩。2003。病害防治微生物製劑之開發與應用。植物保護管理永續發展研討會專刊。植物保護學會特刊。新五號:211-218。
- 12.謝奉家、李美珍、高穗生。2003。枯草桿菌菌體及其代謝產物對病原真菌之抑菌效果評估。植保會刊 45:155-162。
- 13.Adams,L.F.,Liu,C.L., MacIntosh,S.C., and Starnes,R.L. 1996. Diversity and biological activity of *Bacillus thuringiensis*. Pages 360-388 in:In CropProtection Agent from Agent from Nature, Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- 14.Bar-Yosef, B., Rogers, R. D. , Wolfram, J. H., and Richman, E. 1999. *Pseudomonas cepacia*-mediated rockphosphate solubilization in kaolinite

- and montmorillonite suspensions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1703-1708.
15. Burr, T. S., Schroth, M. N., and Suslow, T. 1978. Increased potato yield by treatment of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. *Phytopathology* 68:1377-1383.
 16. Chang, I. P., and Kommedahl, T. 1968. Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganism. *Phytopathology* 58:1395-1401.
 17. Chen, C., Richard, R. B., Nicole, B., and Timothy, C. P. 1998. Induced systemic resistance (ISR) by *Pseudomonas* spp. impairs pre- and post-infection development of *Pythium aphanidermatum* on cucumber roots. *European Journal of Plant Pathology* 104:877-886.
 18. 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 mechanism. *Phytopathology* 93:626-632.
 19. De Meyer, G., and Hofte, M. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSk2 induced resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on Bean. *Phytopathol.* 87:588-593.
 20. Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M. and Chauhan, S. M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* 159:371-394.
 21. Doherty, M. A., and Preece, T. F. 1978. *Bacillus cereus* prevents germination of uredospore of *Puccinia allii* and the development of rust disease of leek, *Allium porum*, in controlled environments. *Physiol. Plant Pathol.* 12: 123-132.
 22. Dow, J. M., Crossman, L., Findlay, K., He, Y. Q., Feng, J. X., and Tang, J. L. 2003. Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell-cell signaling and is required for full virulence to plants. *PNAS.* 100: 10995 - 11000.
 23. Dunleavy, J. 1954. Control of damping-off of sugarbeet by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 45:252-258.
 24. Duijff, B. J., Gianinazzi-Pearson, V., and Lemanceau, P. 1997. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the

- endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. *New Phytol.* 135:325-334.
25. Emmert, E. A. B., and Handelsman, J. 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology Letters.* 171:1-9.
 26. Emmert, E. A. B., Klimowicz, A. K., Thomas, M. G., and Handelsman, J. 2004. Genetics of zwittermicin A production by *Bacillus cereus*. *Appl. and Environ. Microbiology.* 70:104-113.
 27. Fiddaman, P. J., and Rossall, S. 1993. The production of antifungal volatiles by *Bacillus subtilis* J. *Appl. Bacteriol.* 74:119-126.
 28. Fiddaman, P. J., and Rossall, S. 1994. Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*. *J. Appl. Bacteriol.* 76:395-405.
 29. Fravel, D. R., and Spurr, H. W. 1977. Biocontrol of tobacco brownspot disease by *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* in a controlled environment. *Phytopathology* 81:283-287.
 30. Gardner, J. M., Chandler, J. L., and Feldman, A. E. 1984. Growth promotion and inhibition by antibiotic-producing fluorescent pseudomonads on citrus roots. *Plant Soil* 77 103-113.
 31. Glick, B. R., Karaturovic, D. M., and Newell, P. C. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Can. J. Microbiol.* 41:533-536.
 32. Glick, B. R., and Bashan, Y. 1997. Genetic Manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnol. Anv.* 15:353-378.
 33. He, H., Silo-Suh, L. A., Handelsman, J., and Clardy, J. 1994. Zwittermicin A, an antifungal and plant protection agent from *Bacillus cereus* UW85. *Tetrahedron Lett.* 35:2499-2502.
 34. Katz, E., and Demain, A. L. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriol. Rev.* 41:449-474.
 35. Kilian, M., Steiner, U., Krebs, B., Junge, H., and Schmiedeknecht, R. H. 2000. FZB24 *bacillus subtilis*-mode of action of microbial agent in enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachr.* 1:72-93.
 36. Kloepper, J. W., and Schroth, M. N. . 1978. Plant growth-promoting

- rhizobacteria on radishes. Pages 879 - 882 in: Proc. 4th Vol. 2. Int. Conf. Plant. Path. Bact. Angers, France.
37. Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M. N. 1980. Pseudomonas siderophores : A mechanism explaining disease-suppressive soils. . Curr. Microbiol. 4 317-320.
 38. 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.
 39. Kloepper, J. W., Schroth, M. N., and Miller, T. D. . 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. Phytopathology 70:1078-1082.
 40. Kloepper, J. W., and Schroth, M. N. . 1981. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. Phytopathology 71:1020-1024.
 41. Kloepper, J. W. 1983. Effect of seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and daughter tubers. Phytopathology 73:217-219.
 42. Kloepper J. W., H. D. J., Scher F. M., Singleton C., Tipping B., Laliberte M., Frauley K., Kutchaw T., Simonson C., Lifshitz R., Zaleska I., and Lee L. 1988. Plant growth-promoting rhizobacteria on canola (rape seed). Plant Dis. 72:42-46.
 43. Kloepper, J. W., Ryu, C. M., and Zhang, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology. 94:1259-1266.
 44. Krebs, B., Hoding, B., Kubart, S. M., Workie, A., Junge, H., Schmiedeknecht, G., Grosch, R., Bochow, H., and Hevesi, M. 1998. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. 1. Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strain. J. Plant Dis. Prot. 105:181-197.
 45. Landa, B. B., Navas-Cort`es, J. A., Herv`as, A., and Jim`enez-D`iaz, R. M. . 2001. Influence of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on suppression of Fusarium wilt of chickpea by rhizosphere bacteria. Phytopathology 91:807-816.

46. Leeman, M., Den Ouden, F. M., Van Pelt, J. A., Dirkx, F. P. M., Setijl, H., Bakker, P. A. H. M., and Schippers, B. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to Fusarium wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86:149-155.
47. Leeman, M., Van Pelt, J. A., Den Ouden, F. M., Heinsbroek, M., and Bakker, P. A. H. M. 1995. Induction of systemic resistance against Fusarium wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 85:1021-1027.
48. Liu, L., Kloepper, J. W., and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against fusarium wilt by Plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695-698.
49. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1990. Biocontrol of Rhizoctonia root and crown rot of soybeans by *Bacillus megaterium* ATCC-55000. *Phytopathology* 80:1051(Abstract).
50. Mandeel, Q., and Baker, R. 1991. Mechanisms involved in biological control of Fusarium wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 81:462-469.
51. Maurhofer M., H. C., Meuwly P., Metraux J. P., and Defago, G. 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: Influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathology* 84:139-146.
52. McSpadden Gardner, B. B. 2004. Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in agricultural system. *Phytopathology* 94:1252-1258.
53. Morgan, F. L. 1963. Infection inhibition and germ tube lysis of three cereal rusts by *Bacillus pumilus*. *Phytopathology* 53:1346-1348.
54. Msadek, T. 1999. When the going gets tough: survival strategies and environmental signaling networks in *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology* 7:201-207.
55. Nemeček, S., Datnoff, L. E., and Strandberg, J. 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. *Crop protection* 15:735-742.
56. Obagwu, J., and Korsten, L. 2003. Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium

- bicarbonate or hot water. *Postharvest Biology and Technology*.28:187-194.
- 57.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.
 - 58.Phister,T.G.,J.O`Sullivan,D., and McKay,L.L.2004.Identification of bacilysin, chlorotetaine, and iturin A produced by *Bacillus* sp. Strain CS93 isolated from Pozol,a Mexican fermented maize dough. *Appl.and Environ. Microbiology.* 70:631-634.
 - 59.Piggot, P.J., and Hilbert,D.W.2004.Sporulation of *Bacillus subtilis*.*Current opinion in Microbiology.*7:579-586.
 - 60.Ping,L., and Boland, W.2004.Signals from the underground:bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *TRENDS in Plant Science.*9:263-266.
 - 61.Priest, F. G. 1993. Systematics and ecology of *Bacillus*. Pages 3-16. In: *Bacillus subtilis* and Other Gram-positive Bacteria: Biochemistry, Physiology, and Molecular Genetics, American Society of Microbiology, Washington.
 - 62.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. *plant Dis.* 80:891-894.
 - 63.Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Wei, H. X., and Pare, P. W. 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *PNAS* 100:4927-4932.
 - 64.Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., and Pare,P.W.2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* .134:1-10.
 - 65.Schippers, B., Bakker, A. W., and Bakker, P. A. H. M. 1987. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25:339-358.
 - 66.Silva,H.S.A.,Romeiro,R.da S., Macagnan,D.Halfeld-Vieira,B.de A., Pereira, M.C.B., and Mounter, A.2004.Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants:non-specific protection and increase in enzyme activities. *Biological Control.*29:288-295.
 - 67.Suslow, T. V. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. Pages 187-223 in:*Phytopathogenic Procaryotes*. Vol. 1. M. S. Mount and

- G. H. Lacy, eds. Academic press, N. Y.
68. Toro, M., Azco´ N, R., and Barea, J.M. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (³²P) and nutrient cycling. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:4408-4412.
 69. Turner, J. T., and Backman, P. A. 1991. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Dis.* 75:347-353.
 70. Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., and Pieterse, C. M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.
 71. van Peer, R., Niemann, G. J., and Schippers, B. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81:728-734.
 72. Van Wees, S.C.M., Pieterse, C.M.J., Trijssenaar, A., Van't Westende, Y. A. M., Hartog, F., and Van Loon, L.C. 1997. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. *MPMI* 10:716-724.
 73. Verschuer, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., and Verstrete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Bio. R.* 64:655-671.
 74. Ward, E. R., Uknes, S. J., Williams, S. C., Dincher, S. S., Wiederhold, D. L., Alexander, D. C., Ahl-Goy, P., Métraux, J.-P., and Ryals, J. A. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquire resistance. *Plant Cell* 1085-1094.
 75. Wei, G., Kloepper, J. W., and Tuzun, S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber disease and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *phytopathol.* 86:221-224.
 76. Weller, D. M., and Cook, R. J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 73:463-469.
 77. Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborn plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:379-407.
 78. Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52:487-511.

79. Williams, P. H. 1980. Black rot: a continuing threat to world crucifers. *Plant Disease*. 64:8, 736-742.
80. Yan, Z., Reddy, M.S., Ryu, C.M., McInroy, 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.
81. Yu, G.Y., Sinclair, J.B., Hartman, G.L., and Bertagnolli, B.L. 2002. Production of iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*. *Soil Bio. & Biochem.* 34:955-963.
82. Zhang, S., Reddy, M.S., and Kloepper, J.W. 2002. Development of assessing induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. *Biological Control*. 23:79-86.
83. Zhou, T., and Paulitz, T. C. 1994. Induced resistance in the biocontrol of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* spp. on cucumber. *J. Phytopathol.* 142 51-63.
84. Zehnder, W. G., Murphy, J. F., Sikora, E. J., and Kloepper, J. W. 2001. Application of rhizobacteria for reduced resistance. *Eur. J. Plant Pathol.* 107:39-50.