

芽孢桿菌 Tcb43 菌株防治甜瓜白粉病之效果評估
Evaluation on the Effect of *Bacillus* sp. Strain Tcb43
Application for Controlling the Powdery Mildew
Disease on Melon

郭建志、張世杰、許明幃、廖君達

Chien-Chih Kuo, Shih-Chieh Chang, Ming-Wei Hsu and Chung-Ta Liao

抽印自臺中區農業改良場研究彙報 161: 19-31 (2023)

農業部臺中區農業改良場

芽孢桿菌Tcb43菌株防治甜瓜白粉病之效果評估¹

郭建志、張世杰、許明幃、廖君達²

摘 要

甜瓜白粉病係由病原真菌 *Podosphaera xanthii* 所引起，常發生於通風不良及光照不足的設施栽培中，嚴重時影響產量及品質。白粉病菌被認為係具有高風險易產生抗藥性的病原，適逢甜瓜採收期階段發生時，並無適當的化學藥劑可以防治。本研究應用所分離的有益微生物-芽孢桿菌 *Bacillus* sp. Tcb43 菌株，該菌株具有多種分解酵素活性，且對多種病原菌具有優異的抑制能力；Tcb43 亦被證實可分泌伊枯草桿菌素(Iturin A)、表面素(Surfactin)及豐原素(Fengycin) 等抗生物質，經測試可抑制甜瓜白粉病菌分生孢子發芽，抑制率達 85% 以上。本研究利用 Tcb43 菌株發酵液進行網室甜瓜白粉病防治試驗，包含添加展著劑與否之防治效果評估，以及與市售產品礦物油 500 倍進行防治比較，測試結果以施用 Tcb43 菌株 200 倍均可有效抑制甜瓜白粉病之發生，防治率達 60% 以上。此外，於 2019 年應用 Tcb43 菌株 200 倍、400 倍及 800 倍 3 種稀釋倍數於溫室進行甜瓜白粉病先期防治試驗，結果仍以 Tcb43 發酵液 200 倍仍具有穩定與優異防治效果，防治率亦可達 70% 以上。綜合上述結果，Tcb43 菌株具有開發成為微生物農藥之潛力，未來可提供給甜瓜栽培農友作物採收期間防治白粉病之新選擇。

關鍵字：芽孢桿菌、甜瓜、白粉病、微生物農藥

前 言

甜瓜(*Cucumis melo* L.)為葫蘆科瓜果類作物，栽種過程中會遭受到許多病害的侵擾，造成產量與品質下降，其中葉部病害好發於冬季與春季，甜瓜白粉病(Melon powdery mildew)為經常發生的重要葉部病害之一，罹病嚴重時影響產量甚劇。臺灣白粉病寄主多達 200 種以上，但病原菌各不相同，具有專一性，危害的經濟作物包括瓜類、茄科、豆科作物及各種果樹等，而造成瓜類白粉病之病原主要為 *Podosphaera xanthii* ⁽¹⁷⁾，以通風不良的栽培環境下最易發生，感染嚴重時會造成瓜類葉片枯黃及植株死亡，進而影響產量與品質 ^(1,15)。市面除化學藥劑及免登記植物保護防治資材外，國內目前尚無核准用於防治瓜類白粉病之微生物製劑。

國外研究應用有益微生物防治瓜類白粉病之報告甚多，García 等人從健康的甜瓜根部分離出 1 株枯草桿菌 *Bacillus subtilis* UMAF6639 菌株，利用其發酵液施用於甜瓜葉片上，可降低人工接種之

¹ 臺中區農業改良場研究報告第 1066 號。

² 農業部臺中區農業改良場副研究員、計畫助理、約僱技術員、副研究員。

甜瓜白粉病及細菌性葉斑病(*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)罹病度，其防治率分別為 45.6% 與 61.4%。而將 *Bacillus subtilis* UMAF6639 菌株與 *B. cereus* UMAF8564 菌株 1:1 混合施用後，可提升防治率至 68.7%⁽⁶⁾。後續學者們研究 *B. subtilis* UMAF6639 先處理胡瓜葉片後，可以激發茉莉香酸的大量產生，並活化誘導性系統抗性(Induced systemic resistance, ISR)，同時產生活化氧化物質(reactive oxygen species)，亦能有效減少白粉病之發生^(8,16)。Lee 等人篩選出貝萊斯芽孢桿菌 *B. velezensis* M10 菌株，分別以 100 倍、300 倍與 500 倍施用於甜瓜葉片上，以人工接種白粉病菌後，其罹病度分別為 24.9%、25.3% 與 25.5%，相較對照組罹病度 90% 具有防治效果⁽⁹⁾。

吳等人曾用多種植物萃取物與國內商品化之枯草桿菌製劑，評估對胡瓜白粉病之防治效益，結果以土肉桂純露 100 倍稀釋液與對照組在胡瓜白粉病防治上達 5% 顯著差異，具有防治效果⁽²⁾。陳等人以微生物製劑液化澱粉芽孢桿菌(*B. amyloliquefaciens*)與枯草桿菌(*B. subtilis*)分別混合木黴菌(*Trichoderma* sp.)TCT-LC 液態醱酵製劑，施用於洋香瓜白粉病上，發病率可由 90% 降低至 10-30%，其較單獨個別施用效果佳⁽³⁾。

因此本研究應用具有生物防治潛力之芽孢桿菌 Tcb43 菌株⁽⁴⁾，分析市售展著劑添加至 Tcb43 菌株發酵液中對菌量是否產生影響、並於網室內進行發酵液單獨施用、添加展著劑及不同稀釋濃度對甜瓜白粉病之防治評估，以供後續開發 Tcb43 菌株微生物農藥商品化基礎資料，有助於化學藥劑的減量施用，並對環境友善及防治病害的目的。

材料與方法

一、*Bacillus* sp.Tcb43 菌株培養及發酵液製備方法

使用之 Tcb43 菌株為臺中區農業改良場(簡稱臺中場)作物環境科生物資材應用研究室自有機紅龍果田區土壤所篩選，初步鑑定為 *Bacillus* sp.。此菌株具有多種酵素活性及拮抗能力，對於多種瓜類病原菌具有優異拮抗效果⁽⁴⁾。供試菌株取自 -30°C 冷凍保存管中，以劃線培養於(Nutrient agar, NA)上，於 30°C，無光照之定溫箱中培養 48 hrs 後，待菌落長出，挑取單一菌落於繼代培養於 NA 上，經由 2 次繼代培養，挑取單一菌落培養於 50 ml 之 LB Broth 中，於 30°C，無光照之定溫箱中震盪培養 48 hrs 後收起，作為桌上型 10 L 的發酵槽的母液。10 L 發酵槽發酵的流程中，以大豆蛋白、酵母粉、砂糖為主要的培養基質，經接種母液後，每天取樣檢測菌量濃度與內生孢子轉換率，約 56-60 hrs 後，待發酵槽中的溶氧 DO 值(Dissolved oxygen, DO)接近 100% 時，即可進行收槽作業。

二、*Bacillus* sp.Tcb43 菌株與 5 種市售展著劑混和後菌量分析

利用市售常用 5 種農用展著劑，包括 S-240(奇蹟 Miracle240, Terre Enterprise Sdn. Bhd, 馬來西亞)、CS-7(威玖化學有限公司，臺灣)、大黏展(北午社生物營養科技有限公司，臺灣)、滴二滴(聯利農業科技股份有限公司，臺灣)、KOKA 展著劑(KOKA 農藥株式會社，日本)等，分別以 3,000 倍、5,000 倍及 10,000 倍稀釋濃度，均勻混合於 50 ml 之 Tcb43 菌株發酵液中，對照組為未混合展

著劑之 Tcb43 發酵液之處理，經混合 24 hrs 後，進行系列稀釋，取稀釋至 10^{-5} 及 10^{-6} 次方之稀釋液 100 ml，均勻塗抹至 NA 上，並放置於 30°C，無光照之生長箱中，經 72 hrs 後計算菌落數量並推算各處理之菌量。

三、應用 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株防治甜瓜白粉病之網室試驗

(一)應用 Tcb43 菌株混和展著劑對甜瓜白粉病之防治測試

本試驗於 2017 年與 2018 年於臺中區農業改良場(臺中場)有機田區之簡易網室內進行，測試甜瓜品種分別為秋蜜與嘉玉(農友種苗，臺灣)，共進行 2 次試驗，試驗分為 ABCD 四個處理，分別為 A: Tcb43-200 倍、B: Tcb43-200 倍混合展著劑 CS-7 3,000 倍、C: 展著劑 CS-7 3,000 倍及 D: 無施藥處理。每個處理種植 10 株甜瓜，定植後，觀察試區內，甜瓜葉片開始出現零星白粉病病斑後，即進行第 1 次施藥，每隔 7 天進行施藥 1 次，共噴施 4 次，每次施藥前調查甜瓜白粉病罹病度，每株由上至下調查 15 片葉片之罹病度，並換算防治率。罹病指數共分為 4 級，罹病度計算參考 Candido 等人文獻⁽⁷⁾，方式如下: 0 級: 白粉病發葉面積為 0%、1 級: 發病葉面積 1-25%、2 級: 發病葉面積 26-50%、3 級: 發病葉面積 51-75%、4 級: 發病葉面積 76-100%。依照下列公式換算每株甜瓜之罹病度 (Disease severity):

$$\text{Disease severity (\%)} = \frac{0 \times n_0 + 1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3 + 4 \times n_4}{N \times 4} \times 100$$

$n_0 \sim n_4$ = 各級罹病的葉片數; N = 總葉片數

另外換算防治率(Control rate)，防治率(%)計算公式為 $[1 - (\text{處理組罹病度} / \text{對照組罹病度})] \times 100$ 。此外，以 $\text{AUDPC} = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1})(t_{i+1} - t_i)}{2}$ 公式計算發病曲線下面積(The area under the disease progress curve, AUDPC)⁽¹¹⁾， y_i 為 i 時間點之罹病度(disease severity)， $t_{i+1} - t_i$ 為二次調查之間隔天數， n = 總調查次數。

(二)應用 Tcb43 菌株與礦物油對甜瓜白粉病之防治評估測試

於 2018 年應用 Tcb43 菌株 2 種稀釋倍數與市售免登植物保護資材礦物油產品(天下無蟲窄域油，良農現代化農業科技股份有限公司，臺灣)於臺中場有機簡易網室進行白粉病防治評估試驗，甜瓜品種同樣為嘉玉，共有 ABCD 四個處理，分別為 A: Tcb43-200 倍、B: Tcb43-300 倍、C: 礦物油 500 倍與 D: 無施藥處理。每個處理設置 10 株甜瓜，定植後，觀察試驗區內之白粉病之病斑產生後，開始進行第一次施藥，每隔 5 天進行施藥 1 次，共噴施 4 次，每次施藥前調查各處理之甜瓜白粉病罹病度，每株由上到下調查 15 片葉片之罹病度，調查方式如前述說明，並換算防治率。

(三)評估 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株之 3 種不同濃度對甜瓜白粉病之防治效果

(三)評估 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株之 3 種不同濃度對甜瓜白粉病之防治效果

2019 年度於臺中場有機簡易網室內進行，測試品種為甜瓜嘉玉品種，設施內設置 ABCD 共 4 種處理方式，分別為 A: Tcb43 菌株發酵液 200 倍、B: Tcb43 菌株發酵液 400 倍、C: Tcb43 菌株發酵液 800 倍與 D: 無施藥對照組，每種處理各 4 重複，共有 16 小區，每小區種植 10 株植株，以隨機完全區集設計(Randomized Complete Block design, RCBD)排列，前後小區間設置 1 株保護行，不列入調查。於白粉病發病初期，進行 Tcb43 發酵液噴施，每隔 7 天噴施 1 次，同時施藥前進行各處理間罹病度調查，每個小區調查 8 株，每株由上至下調查 15 片葉片，調查方式、罹病度、防治率與 AUDPC 計算方式如前述。

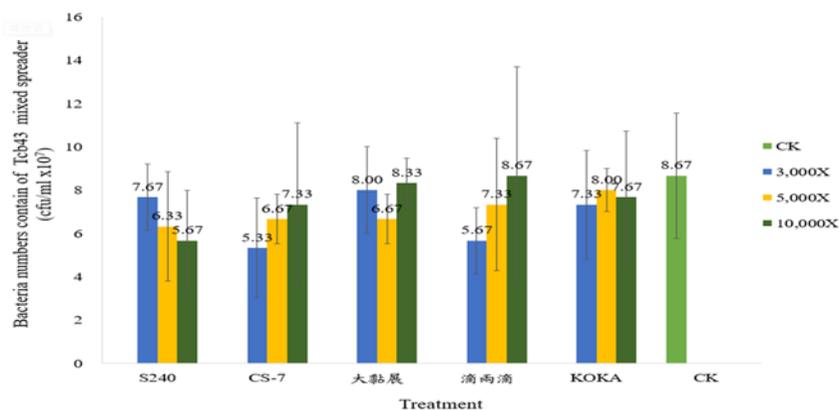
四、統計分析

實驗數據結果以 SPSS12.0 軟體進行 one-way ANOVA analysis 進行變方分析(analysis of variance)，利用最小顯著差異檢定(least significant difference test, LSD)進行數據比較及比較各處理間之差異顯著性，統計上以 $p < 0.05$ 具顯著差異。

結 果

一、*Bacillus* sp.Tcb43與市售展著劑混合後之菌量分析

利用 Tcb43 發酵液與供試展著劑分別以 3,000 倍、5,000 倍或 10,000 倍之稀釋倍數加入 50 ml 發酵液中進行混合，對照組為未混合展著劑之處理，未混和展著劑處理之原始菌量為 8.67×10^7 cfu/ml，經由測試結果，5 種展著劑以 3 種不同濃度添加於測試之 Tcb43 菌株發酵液中，經過 2 小時混和時間，對於 Tcb43 菌株之菌量並無造成明顯影響，菌量仍維持於 10^7 cfu/ml 以上，如圖一所示。



圖一、應用 Tcb43 菌株發酵液混和 5 種市售展著劑之 3,000 倍、5,000 倍、10,000 倍之稀釋倍數後，分析其菌量變化。

Fig. 1. Analysis Tcb43 strain fermentation broth cell concentration after mixed with 3,000 dilution (3,000X), 3,000 dilution (3,000X) and 10,000 dilution (10,000X) of 5 commercially spreaders. Bars represents means of standard deviation.

二、應用 Tcb43 菌株防治甜瓜白粉病之網室試驗

(一)Tcb43 菌株混合市售展著劑對甜瓜白粉病之防治測試

於臺中場有機田區之網室內進行甜瓜白粉病之防治測試，網室設置 4 種處理，包括 Tcb43 菌株 200 倍、Tcb43-200 倍混和展著劑 CS-7 3,000 倍、展著劑 CS-7 3,000 倍及無施藥處理。分別於 2017 與 2018 年進行兩場次試驗，待甜瓜葉片自然出現零星白粉病斑後，開始進行噴施作業。結果如表一所示，於 2017 年試驗結果，以 Tcb43 菌株 200 倍單獨施用或 200 倍混和展著劑 3,000 倍之白粉病罹病度均低於 30%，換算防治率分別為 70.4%與 74.2%，而單獨施用展著劑 3,000 倍之白粉病罹病度則達 78.5%，防治率僅 21.5%。2018 年試驗結果則與 2017 年相似，以 Tcb43 菌株 200 倍單獨施用或 200 倍混和展著劑 3,000 倍之白粉病罹病度均低於 30%，換算防治率分別為 66.1%與 69.4%，而單獨施用展著劑 3,000 倍之白粉病罹病度則達 43.8%，防治率僅 37.6%。然 2017 與 2018 年甜瓜白粉病自然發病程度不一，2018 年罹病較輕僅達 70.2%，推測原因可能為氣溫條件與濕度影響白粉病發生。但經過兩次試驗結果顯示，以 Tcb43 菌株 200 倍單獨施用或混合展著劑 3,000 倍之罹病度均低於 30%，防治率可維持 65%以上，而 Tcb43 菌株添加展著劑與單獨施用並無顯著差異(圖二)。

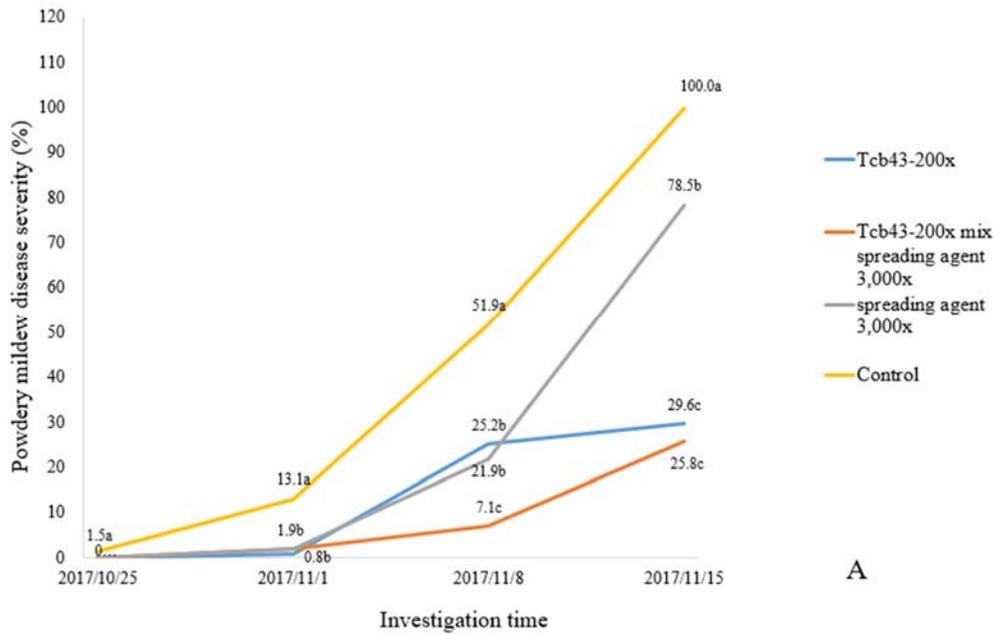
表一、應用 *Bacillus* sp.Tcb43 之 200 倍、200 倍混和展著劑 3,000 倍與展著劑 3,000 倍防治甜瓜白粉病之 2 場試驗結果

Table. 1. The results showed that disease severity and control rate by applied *Bacillus* Tcb43 strain fermentation broth with 200-fold dilution (200X), 200X mix spreading agent 3,000X, spreading agent 3,000X and control treatment for control the cucumber powdery mildew disease experiment trial in 2017 and 2018

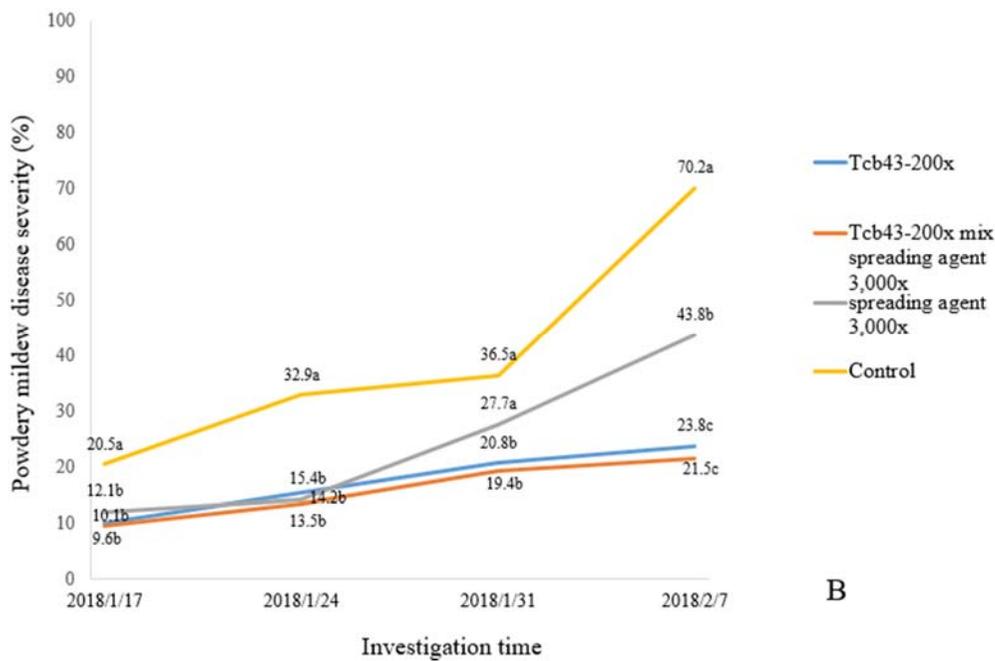
Treatment	Experiment I (2017)			Experiment II (2018)		
	Disease severity (%)	Control rate ¹ (%)	AUDPC (%-Day)	Disease severity (%)	Control rate (%)	AUDPC (%-Day)
A Tcb43-200X	29.6c ²	70.4a	314.8c	23.8c	66.10a	418.9c
B Tcb43-200X mix spreading agent 3,000X	25.8c	74.2a	188.9c	21.5c	69.4a	387.0c
C Spreading agent 3,000X	78.5b	21.5b	556.1b	43.8b	37.6b	546.7b
D Control	100.0a	-	1065.1a	70.2a	-	897.8a

¹ [1-(Disease severity of treatment group/Disease severity of control group)] ×100.

² Means with the different letter are significantly different from each other at P ≤ 0.05 by LSD test.



A



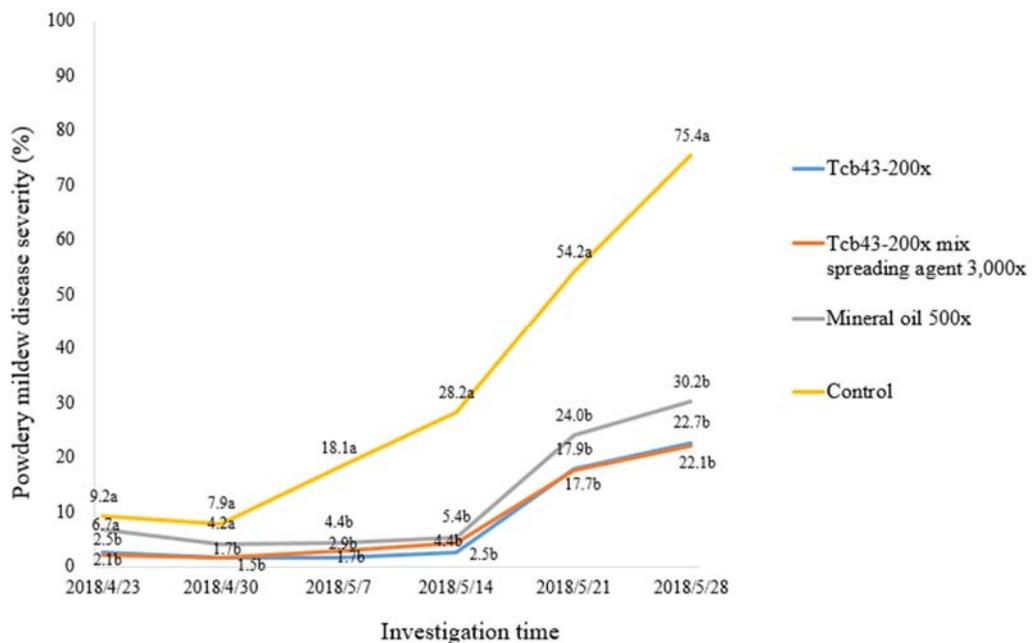
B

圖二、應用 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株與展著劑添加及個別施用防治甜瓜白粉病之 2 場溫室防治試驗(A) 2017 (B) 2018 年之罹病度進程結果。

Fig. 2. Disease severity progress of biocontrol the melon powdery mildew disease by spray *Bacillus* Tcb43 strain in 2 greenhouse trial experiments (A)2017 (B) 2018.

(二)應用 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株與礦物油對甜瓜白粉病之防治評估測試

於臺中場有機田區之簡易網室內進行，網室內設置 Tcb43 發酵液 200 倍、Tcb43 發酵液 200 倍添加展著劑 3000 倍、市售防治資材礦物油 500 倍與對照組處理共 4 種處理，進行甜瓜白粉病防治評估試驗。於 2018 年 4 月 22 日調查發現白粉病開始出現零星病斑後，4 月 23 日開始進行第 1 次防治噴施處理，之後每隔 7 天進行噴施 1 次，每次噴施前調查試驗區各處理白粉病之罹病度，連續施用 6 次後，共計 6 次調查。試驗調查結果，以 Tcb43-200 倍處理及 200 倍添加展著劑 3000 倍可以有效穩定的降低白粉病發生(圖三)，經由六次噴施後，對照組白粉病罹病度已達 75.4%，以 Tcb43 菌株 200 倍單獨施用或混和展著劑 3,000 倍之罹病度，其甜瓜白粉病罹病度低於 30%，防治率分別為 22.1%與 22.7%，換算防治率可達 69.89%及 70.69%，而礦物油 500 倍處理之罹病度則為 30.2%，其防治率為 59.95%。換算各處理之 AUDPC 數值，在 106 年與 107 年的試驗結果，以 Tcb43 200 倍稀釋防治效果最佳，相較對照組，AUDPC 分別可從 1065.1 及 897.8 降至 314.8 及 418.9。結果顯示 Tcb43 菌株 200 倍單獨施用或添加展著劑防治甜瓜白粉病之效果相較礦物油 500 倍處理優異，後續可再與其他白粉病防治資材進行比較。



圖三、應用 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株 200 倍單獨或添加展著劑施用與礦物油處理對甜瓜白粉病之罹病度進程結果。

Fig. 3. The melon powdery mildew disease severity progression of application of *Bacillus* Tcb43 strain 200X alone and adding spreader application and mineral oil.

(三)評估 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株發酵液之 3 種不同稀釋濃度對甜瓜白粉病之防治效果

於臺中場有機區田區之簡易網室內進行，每個處理共 4 重複，自 2019 年 3 月 8 日定植甜瓜苗後，4 月 7 日葉片開始出現零星白粉病斑，4 月 8 日開始施用 Tcb43 發酵液，同日開始調查，經 6 次施用及調查結果，施用 200 倍、400 倍及 800 倍之處理組，其白粉病罹病度分別為 32.7%、74.7% 及 97.6%，而對照組之罹病度已達 99.4%，換算其防治率分別為 67.1%、24.9% 及 1.8%，如表二所示。本次試驗結果仍以 Tcb43 發酵液 200 倍處理可以穩定有效的降低甜瓜白粉病之發生(圖四)，防治率可達 65% 以上，其換算 AUDPC 可從 1818.4 降至 540.1。目前結果以 200 倍稀釋防治效果最佳，但相對市售微生物農藥葉片噴施稀釋濃度較高，相對後續成本亦較高，而 Tcb43 發酵液 400 倍與 800 倍之防治率則低於 30% 以下，後續擬針對配方改進與菌量提升進行改善。

表二、應用 *Bacillus* sp.Tcb43 菌株發酵液之 200 倍、400 倍與 800 倍防治甜瓜白粉病之田間試驗結果

Table. 2. The results showed that disease severity and control rate by applied *Bacillus* Tcb43 strain fermentation broth with 200X, 400X, 800X and control treatment for control the powdery mildew

No	Treatment	Disease severity (%)					Control rate (%) ¹	AUDPC (%-Day)
		I	II	III	IV	Ave.		
A	Tcb43-200X	33.7c	13.1c	36.6b	47.5b	32.7c ²	67.1a	540.1d
B	Tcb43-400X	59.2b	61.5b	89.1a	88.8a	74.7b	24.9b	1047.3c
C	Tcb43-800X	98.5a	98.7a	93.7a	99.6a	97.6a	1.8c	1682.6b
D	Control	100.0a	99.4a	99.1a	99.1a	99.4a	-	1818.4a

¹ [1-(Disease severity of treatment group/Disease severity of control group)] ×100.

² Means with the different letter are significantly different from each other at $P \leq 0.05$ by LSD test.



圖四、噴施 6 次芽孢桿菌 Tcb43 菌株 200 倍(A)、400 倍(B)、800 倍(C)與對照組(D)於甜瓜白粉病防治結果。

Fig. 4. The results showed that sprays *Bacillus* sp. Tcb43 strain 200X (A)、400X (B)、800X (C) and control (D) for bio-control the melon powdery mildew disease.

討 論

甜瓜為國內重要瓜果類作物之一，惟栽培期常受多種病害的威脅與侵擾，其中白粉病為甜瓜種植期間經常發生之葉部病害，好發於秋冬之際，低溫高濕的環境，加上日照不足或是通風不良的溫室或網室，更容易誘發白粉病的發生⁽¹⁾。若病害發生初期需進行有效的管理或防治，惟等到病害開始蔓延至中後期再開始施用化學藥劑或資材則成效不佳，此時白粉病菌佈滿整個葉片與莖部，降低植物光合作用功效，葉片開始老化及落葉，會造成甜瓜植株快速萎凋，影響果實產量及品質甚鉅。

利用先期試驗所篩選出之 *Bacillus* sp. Tcb43 菌株，此菌株之發酵液中含有抗生物質，包含 Iturin (伊枯草桿菌素)、Surfactin(表面素)及 Fengycin(豐原素)等，對於植物病原真菌與細菌，具有抑制菌絲與細胞生長之效果^(5,10,12,13,14)。先期研究發現 Tcb43 菌株發酵液 200 倍稀釋液，可對甜瓜、胡瓜及甜豌豆之白粉病孢子具有抑制作用，抑制率可達 85%⁽⁶⁾。本研究測試 Tcb43 菌株發酵液添加市售 5 種展著劑之 3 種不同濃度後，其菌量並無大幅變動，均維持於 10^7 cfu/ml 以上。因此於 2017 年至

2018 年間進行 2 場次網室甜瓜白粉病防治試驗，分別測試不同甜瓜品種，包括厚皮甜瓜秋蜜及薄皮甜瓜嘉玉，利用 Tcb43 發酵液 200 倍作為測試濃度，分別單獨施用、Tcb43 發酵液 200 倍添加展著劑 CS-7 3,000 倍、單獨施用展著劑(CS-7) 3,000 倍與對照組，進行 2 種甜瓜品種之白粉病防治評估試驗，其試驗結果，Tcb43 發酵液單獨施用或是添加展著劑 3,000 倍之防治率，於兩場防治評估試驗中均達 66% 以上，而 Tcb43 發酵液添加展著劑處理之防治率略高於單獨施用，但兩個處理並無顯著差異。而單獨施用展著劑 3,000 倍之防治率，於兩場次試驗中之防治率均低於 40%，顯示並無防治功效。後續於 2018 年應用 Tcb43 發酵液 200 倍、Tcb43 發酵液 200 倍添加展著劑 3,000 倍、市售礦物油 500 倍與未施藥處理共 4 種處理，進行甜瓜白粉病防治比較試驗，經由 6 次噴施後，同樣單獨施用發酵液 200 倍與添加展著劑 3,000 倍之防治率仍可近 70%，而施用礦物油 500 倍處理之防治率僅近 60%。由以上測試結果，Tcb43 菌株之 200 倍發酵液防治甜瓜白粉病之效果最佳，於發酵液中添加 3,000 倍之展著劑不會影響其防治成效。另外於 2019 年利用 Tcb43 菌株發酵液之 200 倍、400 倍與 800 倍不同濃度進行甜瓜白粉病之防治比較，與對照組相比，仍以 Tcb43 發酵液 200 倍可以穩定有效降低甜瓜白粉病之罹病度，防治率達 65% 以上。

本研究之白粉病防治評估試驗均於臺中場有機田區之網室進行，待甜瓜苗定植後，以白粉病自然發病，於甜瓜葉片上可見零星白粉病斑後，開始進行噴施防治作業。然此發病方式於不同季節及氣候條件下，病勢進展速度不同，會造成白粉病嚴重程度有所差異，但以上試驗場次結果，以 Tcb43 菌株發酵液 200 倍於病害初期開始施用，可以有效的抑制與降低白粉病之發生，後續擬強化此菌株發酵液活孢子量濃度或是優化抗生物質生成量，以達到更好的防治效果。

本場所研發之 *Bacillus* sp. Tcb43 菌株，其菌落型態有別於目前國內市售所有微生物農藥菌株，可作為菌株初步鑑別特徵之一⁽⁴⁾，經試驗結果證實可對甜瓜白粉病具有防治效果，除甜瓜外，後續將針對其他蔬菜作物之葉部病害進行防治評估，擴展病害防治圖譜。以上試驗資料可提供後續 Tcb43 菌株微生物農藥開發及商品化之用，以便完備微生物農藥商品化之各項要件，未來可提供瓜類栽培農友防治白粉病可用的新選擇，並可導入慣行栽培、有機與友善耕作中，有助於農業永續經營。

致 謝

本研究承行政院農業委員會 108 農科-8.5.2-中-D1 計畫補助，俾使本研究能順利完成，特申謝忱。

參考文獻

1. 余思葳、楊秀珠 2011 害物管理手冊(瓜類篇) pp83. 行政院農業委員會藥物毒物試驗所編印 霧峰。
2. 吳信郁 2012 植物萃取物及生物製劑對甜瓜白粉病防治效應研究 桃園區農業改良場研究彙

報 71: 57-68。

3. 陳俊位、鄧雅靜、曾德賜 2014 生物製劑枯草桿菌及木黴菌對洋香瓜白粉病之防治效果評估 DC05 中華民國植物病理學會 102 年度年會論文宣讀 國立中興大學 台中。
4. 郭建志、張世杰、廖君達 2020 拮抗細菌 Tcb43 菌株之鑑定、抗菌圖譜測定及抗生物質分析 臺中區農業改良場研究彙報 146:13-33。
5. 謝奉家 2011 臺灣芽孢桿菌生物殺菌劑的研發與應用現況 行政院農業委員會 農藥物毒物試驗所技術專刊第 205 號 p.1-11。
6. García G. L., D. Romero, H. Zerriouh, F. M. Cazorla, J. A. Torés, A. de Vicente and A. P. García. 2012. Isolation and selection of plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic resistance in melon. *Plant Soil*. 358: 201-212.
7. Gandido, V., G. Campanellib, G. Viggiana, L. Lazzeric, V. Ferrari, I. Camelea. 2014. Melon yield response to the control of powdery mildew by environmentally friendly substances. *Scientia Horticulturae* 166: 70-77.
8. Laura, G. G., H. Zerriouh, D. Romero, J. Cubero, A. Vicente and A. P. Garcia. 2013. The antagonistic strain *Bacillus subtilis* UMAF6639 also confers protection to melon plants against cucurbit powdery mildew by activation of jasmonate and salicylic acid-dependent defence responses. *Microb. Biotechnol.* 6 (3): 264-2.
9. Lee. M. and S. K. Park. 2021. Response of melon powdery mildew to a biocontrol agent *Bacillus velezensis* M10 and Paraffin Oil. *Int. J. Agric. Biol.* 25: 962-968.
10. Loeffler, W., S. M. Tschen, N. Vantittanakom, M. Kugler, E. Knorpp, T. F. Hsieh and T. G. Wu. 1986. Antifungal effects of bacilysin and fengycin from *Bacillus subtilis* F-29-3. *J. Phytopathol.* 115: 204-213.
11. Madden, L. V., G. Hughes and F. van den Bosch. 2007. The study of plant disease epidemics. The American Phytopathological Society. St. Paul. USA.
12. Ongena, M. and P. Jacques. 2007. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 16 (3): 115-125.
13. Peypoux, F., J. M. Bonmatin and J. Wallach. 1999. Recent trends in the biochemistry of Surfactin. *Appl. Microbiol. Biot.* 51: 553-63.
14. Phister, T. G., J. O'Sullivan and L. L. McKay. 2004. Identification of bacilysin, chlorotetaine, and iturin A produced by *Bacillus* sp. Strain CS93 isolated from Pozol, a Mexican fermented maize dough. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 631-634.
15. Romero, D., A. Vicente, H. Zerriouh, F. M. Cazorla, D. F. Ortuno, J. A. Tores and A. P. Garcia. 2007. Evaluation of biological control agents for managing cucurbit powdery mildew on greenhouse-grown

- melon. *Plant Pathol.* 56: 976-986.
16. Yang, J. W., S. H. Yu and C. M. Ryu. 2009. Priming of denfense-related genes confers root-colonizing Bacilli-elicited induced systemic resistance in pepper. *Plant Pathol. J.* 25(4): 389-399.
 17. Yeh, Y.W., T. Y. Wu, H. L. Wen, H. W. Jair, M. Z. Lee and R. Kirschner. 2020. Host plants of the powdery mildew fungus *Podosphaera xanthii* in Taiwan. *Trop. Plant Pathol.* 46: 44-61.

Evaluation on the Effect of *Bacillus* sp. Strain Tcb43 Application for Controlling the Powdery Mildew Disease on Melon¹

Chien-Chih Kuo, Shih-Chieh Chang, Ming-Wei Hsu and Chung-Ta Liao²

ABSTRACT

Melon powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* is often occurs in greenhouses or facility cultivation without good ventilation and sufficient light. This disease often causes yield and quality lost. Besides, powdery mildew is considered to have a high risk of developing fungicide-resistant strains. In addition, there was no appropriate suggested chemical fungicide to control this disease during harvest period. In this research, we isolated beneficial microorganism *Bacillus* sp. Tcb43 strain. This strain has a variety of catalytic enzyme activity and has excellent antibacterial ability against a variety of pathogenic fungi and bacteria. Previously study confirmed that the fermentation broth of Tcb43 contains Iturin A, Surfactin and Fengycin and other antibiotics, which were tested to inhibited the germination of conidia of powdery mildew of melon, with an inhibition rate than 85%. In this study, the fermentation broth of Tcb43 strain was used to carry out the control test of melon powdery mildew in greenhouse, including the evaluation of the control effect of adding spreader or not, and control comparison with Tcb43 strain fermented broth 200 fold dilution and commercially mineral oil 500 fold dilution. Resulted showed that both the application fermentation broth or it with 3,000fold dilution of spreader could effectively reduce the disease severity, and the control rate reach 60%. In addition, we applied 200 fold, 400 fold and 800 fold of dilution of Tcb43 fermented broth were used to conduct the preliminary control test of melon powdery mildew in 2018. The results still showed that stable and excellent control effect with 200 fold of Tcb43 fermentation broth, and the control rate could over than 70% %. Taken together, the fermentation broth of Tcb43 had potential to be developed as a microbial agent, providing a new option for farmers to control melon powdery mildew disease.

Keywords: *Bacillus* sp., Tcb43, melon powdery mildew, Microbial agent

¹ Contribution No.1066 from Taichung DARES, MOA.

² Associate Researcher, Assistant, Project Assistant, Associate Researcher of Taichung DARES, MOA