

國科會 88 年度專題計畫期末報告

研究題目：綜合防治園藝作物灰黴病之生物製劑的開發
(1/3)

計畫編號：88-2317-B-002-005

研究期限：87 年 8 月 1 日～88 年 7 月 31 日

主持人：吳文希

國立台灣大學 植物病理學系

中華民國 88 年 12 月 15 日

百合灰黴病之生物防治

Biological control of gray mold on lily

邱安隆 吳文希

國立台灣大學植物病理學系

Chiu, An-Long and Wt, Wen-Shi

Department of Plant Pathology, National Taiwan University

一、中文摘要

採集罹患百合灰黴病植株之葉片及花朵，分離病原菌，再依 1980 年 Jarvis 分類法鑑定，共得九株灰黴病菌，選定最易引起百合罹病之 *Botrytis elliptica* 為供試菌株，在孢子懸浮液中，添加各種不同濃度之不同營養化合物，濃度 1% 之麥芽抽出物，可顯著地促進灰黴病原對百合的感染，而且效果比果糖與葡萄糖明顯。為瞭解目前常栽種的各種百合品種之抗感病性，乃篩選及分析不同品種對灰黴病的抗病反應，以期配合未來綜合防治之用，得知百合品種 Casa Blanca 最感病，Marco Polo 及 Acapulco 分別依序次之。從百合植株上所分離到之 700 株微生物，在 PDA 平板上與百合灰黴病原對峙培養，而獲得十株拮抗菌株，進而在幾種不同營養成份之培養基，即 PDA、GAA、Soil extract (SE) 及 Leaf extract (LE) 平板培養基上，進行對峙及共同培養，證實拮抗菌株 B99、B111、B128、B171、B190 及 B196 具有對灰黴病菌明顯的拮抗能力。其中 B111 在 Acapulco 及 Casa Blanca 百合品種之切葉上，對灰黴病菌皆具極顯著的抑制效果，而 B128 及 B190 在 Marco Polo 的百合品種上，也有極明顯地防治效果；在溫室內之兩次防治生物檢定中，上列十株拮抗菌亦均具有抑制百合灰黴病的發生，其中以 B99、B111 及 B128 在百合品種 Casa Blanca 上，可顯著地抑制灰黴病的發展，而 B190、B196 及 BS 菌株則在 Marco Polo 百合品種上，可顯著地防治灰黴病。經 Biolog 系統之初步鑑定，B99、B111 為 *Burkholderia gladioli*，B128 及 B190 為 *Bacillus*

amyloliquefaciens，而 B171 及 B196 為 *Bacillus megaterium*；篩選測試的八種藥劑中，1 ppm 之 Flusilazole 及 Iprodione，即可抑制百合灰黴病菌在 PDA 平板上之生長，而 Prochloraz 需於 10 ppm 以上之濃度，始可抑制百合灰黴病之發生；當藥劑存在於液體培養基中時，1 ppm 之 Flusilazole 或 Prochloraz+MgCl₂，對百合灰黴病菌之抑制作用比其它六種藥劑具有顯著性的效果；至於藥劑及灰黴病菌孢子懸浮液直接處理在載玻片上的發芽實驗，也顯示 1 ppm 之 Flusilazole 及 Prochloraz 對灰黴病菌具有極顯著的抑制效果，而 Benomyl、Flusilazole、Iprodione、Prochloraz 及 Prochloraz+MgCl₂，其濃度需達 50 及 100 ppm，始對灰黴病菌分生孢子之發芽管具有抑制效果。二次田間試驗，亦發現百合經噴灑拮抗菌株 *B. gladioli* B111、*B. amyloliquefaciens* B128 及 B190 或藥劑 Flusilazole，七天及十四天後與健康對照組比較，均顯著防治灰黴病。

關鍵詞：百合、灰黴病、百合灰黴病、菌拮抗菌、生物防治

Abstract

Botrytis elliptica isolate BE009 was isolated from lily plants. *B. elliptica* was selected as the inoculum for further studies due to its consistent virulence to 3 tested varieties. Adding 1 % malt extract in spore suspension promotes *B. elliptica* to infect lily. Oriental hybrid cultivar Casa Blanca of lily was the most susceptible cultivar. Seven hundred isolates of microorganisms were isolated from lily plants and screened by dual and concomitant cultures with *B. elliptica*. Six isolates of bacteria antagonists, i.e. B99、B111、B128、B171、B190 and B196, controlled *B. elliptica* on three lily cultivars in the greenhouse. Based upon the identification by Biolog system, B99 and B111 were *Burkholderia gladioli*, B128 and B190

were *Bacillus amyloliquefaciens* and B171、B196 were *Bacillus megaterium*. 1 ppm of flusilazole、iprodione or 10 ppm prochloraz inhibited significantly ($p = 0.05$) the growth of *B. elliptica* on PDA plate. 1 ppm flusilazole or prochloraz+MgCl₂ was able to inhibit significantly ($p = 0.05$) the growth of *B. elliptica* in PDA broth. 1 ppm flusilazole or Prochloraz and 50 or 100 ppm iprodione、prochloraz or prochloraz+ MgCl₂ was able to inhibit significantly ($p = 0.05$) the germination of *B. elliptica* on slide culture. *Bacillus gladioli* B111、*B. amyloliquefaciens* B128 and B190 or flusilazole decreased the disease severity significantly ($p = 0.05$) in two field trials. The effects of controlling disease by *B. gladioli* B111、*B. amyloliquefaciens* B190 or flusilazole lasted for 14 days at least in the field.

Keywords : lily、gray mold、*Botrytis elliptica*、antagonist、biocontrol

二、緣由與目的

園藝作物中有許多種類，如新鮮及不耐儲運之花卉與蔬果為國內現今及加入國際關貿總協 (GATT) 後極具栽培潛力之高經濟價值作物，故了解並改善生長過程所發生的病害問題，為現今極重要之課題，在極需防治之病害中，灰黴病為許多重要作物生長期最嚴重的病害之一，如由 *Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke 所引起的百合灰黴病，其發生尤以開花期為最嚴重。若於罹病時施用化學藥劑，易引起環境污染、藥害及抗藥菌株 (Migheli *et al.*, 1994)，且效果為暫時性，因此，本研究主要目的乃利用生物防治法防治百合灰黴病 (Kohl *et al.*, 1994)，以期達到經濟、安全、有效且持久之防治效果。為達成此目標，故擬定計劃工作項目包括：(一) 收集並鑑定百合灰黴病菌種；(二) 篩選對灰黴病菌具感病性之百合

品種；(三)篩選對百合灰黴病菌具拮抗能力拮抗菌之性狀分析；(四)篩選防治百合灰黴病之殺菌劑；(五)拮抗菌對不同百合品種在實驗室、溫室及田間對灰黴病之防治效果。

三.材料與方法

(一).灰黴病菌之收集、分離及鑑定

自南投台大梅峰農場及宜蘭冬山地區採集罹患灰黴病之百合植株葉片及花朵，經水洗及以 0.5% sodium hypochloride 表面消毒 30-60 秒，再置放於水洋菜培養基 (water agar, WA) 上，分離病原菌，並利用 V-8 培養基培養以促進產孢，再依 1980 年 Jarvis 分類法鑑定。分離所得之灰黴病菌，經調製成每毫升約含 1×10^5 分生孢子懸浮液，再噴佈於原寄主葉片及花朵上進行病原性測定，本實驗及下列實驗皆重複兩次。

(二).拮抗菌拮抗能力測定

由南投梅峰、清境、彰化溪湖、宜蘭冬山採集百合植株，經分離得到的菌株與灰黴病菌於 PDA 培養基進行對峙及共同培養，藉由形成的抑制圈大小、菌絲對峙現象或菌株生長之狀態，篩選對防治百合灰黴病菌較具有潛力之拮抗菌。為了進一步評估上列拮抗菌之拮抗效果，乃以 GAA⁻ (Glucose 2 g, Asparagine 0.2 g, Potassium Hydrogenphosphate 0.2 g, Agar 11.25 g, Dist. Water 750 ml)、LE (Lily leaf 30 g, Agar 11.25 g, D.W. 750 ml)、PDA⁻ (Potato 6 g, Glucose 2 g, Agar 11.25 g, D.W. 750 ml)、SE (Soil 25 g, Agar 11.25 g, D. W. 750 ml) 之低營養成份培

養基，進行對峙及共同培養，在對峙培養中，於平板培養基兩端，距邊緣 0.5 cm 處分別置放病原菌齡三天之 0.6 公分。菌絲塊及劃上 3 公分長之拮抗菌泥；而共同培養則將菌齡三天之病原菌絲塊浸潤於拮抗菌之孢子懸浮液(1×10^6 spores / ml) 三秒鐘後，取出並置放於低營養成份培養基，經 20°C 定溫箱培養 5 天後觀察病原被抑制現象。

(三) 營養基質在百合切葉上對百合灰黴病之發病嚴重度

摘取百合植株之不同品種開展的葉片及花器六枚，經水沖洗後，葉柄以脫脂棉包裹後，將脫脂棉沾濕，分別置於內含已經消毒之一號濾紙 (Waterman, No.1) 並添加 3 ml 無菌水之直徑九公分的玻璃培養皿中，每皿兩枚葉片，葉背朝上。接種源採用具強病原性之灰黴病菌分生孢子懸浮液 (1×10^3 spores / ml)，其製備過程為取其於馬鈴薯洋菜瓊脂培養基上已生長 5 天的灰黴病菌直徑約 0.6 cm 的菌絲塊 3 塊，置入經高溫殺菌釜消毒的 500 ml 三角瓶中，內含六片百合葉片及 2 ml 無菌水，經紫外光之照射 (Sankyo Denki, Japan) 14 天，加入 30 ml 無菌水經震盪十秒並經一層濾網過濾經離心機離心 3000 轉 10 分鐘，去上層液並加入少量無菌水後即可獲得孢子懸浮液，並混合已稀釋成 1、5 及 10% (W/V) 之比例的果糖(Fructose)、葡萄糖(Glucose)或燕麥萃取物(Malt extract)，經空氣壓縮噴霧瓶 (Top spray, MRC) 噴佈於百合植株葉片，每皿接種量為 1 ml，蓋上皿蓋並以透明塑膠袋裝封，於 20°C 定溫箱培養十天後觀察罹病嚴重度 (disease severity, DS), $DS = \Sigma (\text{發病指數} \times \text{該級病葉調查數} / \text{總葉片數} \times 4)$ ，罹病嚴重度的調查，其病害等級分別區分為，0：無病徵，1：罹病面積佔葉片面積 1-12% 以下，2：罹病面積佔葉片面積 13-25%，3：罹病面積佔葉片面積 26-50%，4：罹病面

積佔葉片面積 51~100%，再依下列公式計算罹病度。

$$\text{罹病度 (Disease severity \%)} = \frac{(\text{罹病級數} \times \text{該級數之葉數})}{\text{總調查葉數} \times 4} \times 100\%$$

(四) 拮抗菌株在不同百合品種之切葉上對灰黴病菌之抑制效果

為測試生物防治效果及促進防治成效，因而篩選及分析不同拮抗菌對灰黴病的抗病反應，以期配合未來生物防治之用；即摘取百合植株之不同品種開展的葉片，經水沖洗後，葉柄以脫脂棉包裹，將脫脂棉沾濕，分別置於內含已消毒之一號濾紙 (Waterman, No.1) 並添加 3 ml 無菌水之直徑九公分的玻璃培養皿中，每皿兩枚葉片，葉背朝上。接種源採用具強病原性之灰黴病菌分生孢子懸浮液 (1×10^3 spores / ml) 及拮抗菌懸浮液 (1×10^6 spores / ml)，經空氣壓縮噴霧瓶噴佈於百合植株葉片，每皿接種量為 1 ml，蓋上皿蓋並以透明塑膠袋裝封，於 20°C 定溫箱培養十天後觀察罹病嚴重度，罹病嚴重度的調查及計算方式如同上例所示。

(五) 拮抗菌株在不同百合品種對灰黴病菌之抑制效果

接種源採用具強病原性之灰黴病菌分生孢子懸浮液 (1×10^3 spores / ml) 及拮抗菌懸浮液 (1×10^6 spores / ml)，經空氣壓縮噴霧瓶噴佈於 Acapulco、Casa Blanca 及 Marco Polo 之百合植株葉片及花朵，每株接種量為 5 ml，蓋上皿蓋後以透明塑膠袋裝封，於 20°C 定溫箱培養十天後觀察罹病嚴重度，其調查如同上例所示。

(六) 藥劑對灰黴病菌分生孢子之抑制作用

(1) 藥劑在載玻片上對灰黴病菌分生孢子發芽管之抑制作用

將灰黴病菌培養於產孢促進培養基上，孢子產生後，以無菌水洗下孢子，經一層紗布過濾及離心後，取其沈澱之灰黴病菌分生孢子，並添加於 0.1% Tween 20，做成孢子懸浮液 (1×10^3 spores/ml)，再將病原菌孢子懸浮液和經稀釋成 1、10、50 或 100 ppm 供試化學藥劑，各取 0.3 ml 置於含凹槽之載玻片中，經置於 20°C 之定溫箱培養 24 小時後調查孢子發芽率及觀察發芽現象。

(2) 藥劑在平板培養基上對百合灰黴病菌之抑制作用

將不同的藥劑稀釋成 1、10、50 及 100 ppm，與經高壓殺菌冷卻至 55°C 之低營養成分培養基（每 1 公升去離子水添加 1 克葡萄糖、已經水煮過的 10 ml 馬鈴薯濾液及 20 g 瓊脂），經混合均勻後倒成平板培養基，隨即接種 *B. elliptica* 之菌塊（菌齡 3 天，直徑 0.6 公分），在 20°C 定溫箱培養 5 天後，觀察其抑制圈大小。

(3) 藥劑在液體上培養基中對百合灰黴病菌之抑制作用

於 125 ml 之三角瓶中，置入已稀釋成 1、10、50 及 100 ppm 之不同藥劑，與經高壓殺菌至 55°C 之低營養成分培養基混合均勻後，隨即接種菌齡 3 天，直徑 0.6 公分之 *B. elliptica* 菌塊，在 20°C，經培養 5 天後，觀察其菌塊生長並取出菌塊經烘乾機烘乾，稱其乾重。

(七) 拮抗菌之性狀及生理測定

拮抗菌於 PDA 培養基中培養，挑取單一菌落，經格蘭氏染色法鑑定其陽性菌或陰性菌後，培養於 BUGM™ 平板培養基（Biolog Universal Growth Medium, Biolog Inc.），於 28°C 經 18 小時培養後，以棉花沾取新生成之菌落，並使其懸

浮於 20 ml 0.85 % 食鹽水中，測其吸光值，若為陽性菌為 0.35-0.42，而陰性菌為 0.53-0.59，經測得結果後，若為格蘭氏陽性菌，則將其懸浮液滴於 Biolog GP，而陰性菌則滴於 Biolog GN 平板之孔穴中，每穴加入 150 μ l 之菌液，經 30°C 定溫箱培養 4 及 24 小時後，以 Biolog 判讀機鑑定。

(八) 拮抗菌與藥劑應用於田間對百合灰黴病之防治作用

將培養所得之枯草桿菌菌體及菌體代謝液 (1×10^6 spores / ml)，連同上述篩選出之殺菌劑 Flusilazole 50 ppm，噴施於田間百合植株，然後每株百合接種灰黴病菌 (1×10^3 spores / ml)，進行百合灰黴病之防治試驗，經 7 及 14 天後觀察其病害嚴重度。

三、結果

(一) 灰黴病菌之收集、分離及鑑定

自罹病百合植株分離病原菌，共得九株百合灰黴病菌，如表一所示，經病原性測定，以病原性最強之 BE009 為日後實驗之供試菌株。

(二) 拮抗菌拮抗能力測定

將拮抗菌及病原菌在 PDA 培養基進行對峙及共同培養，篩選出具防治灰黴病較具潛力之 62 株拮抗菌，為進一步評估其防治效果，而以四種低營養成分進行對峙及共同培養，結果發現有十株拮抗效果較佳，分別為 B99、B111、B128、B131、B171、B190、B196、B203、B501、BS 如表二所示。而共同培養時，

則以 B99、B111 及 BS 三株菌株效果最佳，如表三所示，其他菌株，除 B128、B131、B190 及 B501 菌株在 LE 培養基上其抑制效果不佳外，其他菌株在下列四種低營養成分培養基上，皆與對照組有顯著性差異。

(三) 營養基質在百合切葉上對百合灰黴病之發病嚴重度

三種營養基質中，以燕麥萃取物在 1、5 及 10% 時，對百合切葉灰黴病之病害嚴重度最嚴重且與對照組有顯著性差異，而蔗糖及果糖之添加則不易促進百合灰黴病菌感染百合植株，如表四所示。

(四) 拮抗菌株在不同百合品種之切葉上對灰黴病之抑制效果

百合品種中，應用拮抗菌 B99 等十種拮抗菌均對灰黴病具抑制作用，其中在 Acapulco 及 Casa Blanca 中，以拮抗菌 B111 防治效果最佳，而在 Marco Polo 品種中則以拮抗菌 B128 及 B190 之防治效果最佳，如表五所示。

(五) 拮抗菌株在不同百合品種之植株上對灰黴病之抑制效果

表六所列十株拮抗菌在 Casa Blanca 及 Marco Polo 兩品種之百合植株上均具有抑制百合灰黴病的發生，其中以 B128 在百合品種 Casa Blanca 上，可完全抑制灰黴病的發展，而 B190、B196 及 BS 菌株則在 Marco Polo 百合品種上，也可完全地防治灰黴病。

(六) 藥劑對灰黴病菌分生孢子之抑制作用

(1) 藥劑在載玻片上對灰黴病菌分生孢子發芽管之抑制作用

Benomyl 等八種藥劑，如表七所示，其濃度為 1 ppm 時，除 Iprodione、Mancozeb

及 Proch. + MgCl₂ 外，皆具有抑制灰黴病菌分生孢子發芽管的生長，其中以 Flusilazole 及 Prochloraz 對灰黴病菌分生孢子發芽管生長具有抑制作用，當濃度提升至 10 及 50 ppm 時，則八種藥劑均有抑制孢子發芽效果，而濃度為 100 ppm 時，Benomyl、Flusilazole、Iprodione、Prochloraz、Proch. + MgCl₂ 則較 Mancozeb、Thiabendazole 及 Thiophanate 之防治效果為佳。

(2) 藥劑在平板培養基上對百合灰黴病菌之抑制作用

Flusilazole、Iprodione 及 Prochloraz 之濃度達 1 ppm 時，較表八之其他藥劑對抑制百合灰黴病菌之效果為佳，當上列這三種藥劑及 Thiabendazole 之濃度達 10 及 50 ppm 時，則可完全抑制此菌生長；而藥劑濃度當 100 ppm 時，上列四種藥劑及 Proch.+MgCl₂ 也具有完全抑制病原菌生長。

(3) 藥劑在液體上培養基中對百合灰黴病菌之抑制作用

Flusilazole 及 Proch.+MgCl₂ 這兩種藥劑之濃度達 1 ppm 時，其抑菌效果較表九之其他藥劑效果佳，而濃度達 10 及 50 ppm 時，上列兩種藥劑及 Iprodione 及 Prochloraz 其抑菌效果較其他藥劑之防治效果佳，藥劑濃度達 100 ppm 時，則表八所列之八種藥劑與對照組比較，皆有顯著性差異。

(七) 拮抗菌之性狀及生理測定

選取防治效果較佳之六株拮抗菌進行格蘭氏染色，拮抗菌株 B99 及 B111 為格蘭氏陰性菌，而 B128、B171、B190 及 B196 為格蘭氏陽性菌。經 Biolog 系統之鑑定，B99 及 B111 為 *Burkholderia gladioli*，B128 及 B190 為 *Bacillus amyloliquefaciens*，而 B171 及 B196 為 *Bacillus megaterium*。

(八) 拮抗菌與藥劑應用於田間對百合灰黴病之防治作用

拮抗菌 B111、B128 及 B190 與藥劑 Flusilazole 應用於田間以防治百合灰黴病菌，經 7 及 14 天，均具有抑制病害之發生；且此三種拮抗菌與藥劑 Flusilazole 之效用無顯著差異。

四、討論

拮抗菌之拮抗能力以對峙培養可測知其拮抗菌對病原菌之抗生能力，而共同培養則可測得病原菌與拮抗菌在近距離接觸時對營養成分之競爭作用能力，且在低營養成分培養基進行上列兩種實驗，乃為模擬百合植株於葉片及花朵之營養滲出物，使實驗更接近田間試驗之準確性。實驗結果中有些拮抗菌在對峙及共同培養均有極佳的抑制效果，如拮抗菌 B99、B111 及 BS，而部份拮抗菌則只有在對峙培養才有抑菌效果，如拮抗菌 B128 及 B190，此可能與拮抗菌對病原菌之作用機制不同所致。而營養基質對灰黴病菌分生孢子之發芽及侵入寄主，也扮演極重要的角色(Blakeman, 1975；Chou and Preece, 1968；Harper *et al.*, 1981；Fourie and Holz, 1998)；為促使經接種的百合可以穩定地呈現病徵，因而探討不同營養物質對病原感染植物的影響，得知麥芽萃取物具有促進百合灰黴病菌感染百合植株之作用，配合在低營養成份培養基上所篩選出之拮抗菌，進一步測試其在百合切葉上對灰黴病的抑制作用，拮抗菌株 B99 等十株拮抗菌株皆具抑制效果，如表五所示，此結果與在溫室百合植株上之防治生物檢測結果呈正相關關係，因此利用百合葉片當作篩選拮抗菌的材料，可當做日後篩選百合灰黴病菌之拮抗菌株的依據；藥劑篩選時，則利用孢子發芽、直線生長及乾重量測定，均顯示 Flusilazole 最具有抑制百合灰黴病菌之效果，另外，Iprodione 及 Prochloraz 也有顯著的抑制效果，而可與 Flusilazole 於防治百合灰黴病時交替使用，以防止抗藥性菌株之產

生(Chastagner, 1990 ; Elad and Shtienberg, 1995)。田間試驗發現拮抗菌株 *B. gladioli* B111、*B. amyloliquefaciens* B128 及 B190 與 Flusilazole 處理，均呈顯著性的防治效果，其中又以 *B. gladioli* B111 及 Flusilazole 的防治效果最佳。至於拮抗菌株對灰黴病菌之作用機制，可能包括營養競爭(Filonow, 1996)、感染點排拒 (Mercier, 1994)、超寄生(Cruz *et al.*, 1995 ; Elad, 1995)、分泌水解酵素、抗生素及靜菌作用等(Leifert *et al.*, 1995)，此皆為未來有待進一步探討。

五、參考文獻

- Blakeman, J. P. 1975. Germination of *Botrytis cinerea* conidia in vitro in relation to nutrient conditions on leaf surfaces. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 65:239-247.
- Chastagner, G. A., and Riley, K. 1990. Occurrence and control of benzimidazole and dicarboximide resistant *Botrytis* spp. on bulb crops in Western Washington and Oregon. *Acta Hort.* 266:437-445.
- Chou, C. M., and Preece, T. F. 1968. The effect of pollen grains of infections caused by *Botrytis cinerea* Fr. *Ann. Appl. Biol.* 62:11-22.
- Cruz, J. D. L., Pintor-Toro, J. A., Benitez, T., and Llobell, A. 1995. Purification and characterization of an Endo- β -1,6-glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism. *J. Bacteriol.* 77:1864-1871.
- Elad, Y. 1995. Mycoparasitism. In: Kohmoto, K., Singh, U. S., and Sign, P. R(ed). *Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases: Histopathological, Biochemical, Genetic and Molecular Basis. Volume II : Eukaryotes* (pp.289-307), Pergamon, Elsevier Science Ltd, Oxford, U. K.
- Elad, Y., and Shtienberg, D. 1995. *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. *Integ. Pest Manag. Rev.* 1: 15-29.
- Filonow, A. B., Vishniac, H. S., Anderson, J. A., and Janisiewicz, W. J. 1996. Biological control of *Botrytis cinerea* in apple by yeasts from various habitats and their putative mechanisms of antagonism *Biol. control* 7:212-220.
- Fourie, J. F. and Holz, G. 1998. Effects of fruit and pollen exudates on growth of *Botrytis cinerea* and infection of plum and nectarine fruit. *Plant Dis.* 82:165-170.
- Harper, A. M., Strange, R. N., and Langcake, P. 1981. Characterization of the nutrient required by *Botrytis cinerea* to infect broad bean leaves. *Physiol. Plant Pathol.* 19:153-167.
- Jarvis, W. R. 1980. Taxonomy. Page 1-18 in: *The Biology of Botrytis*. ColeySmith, J. R., Verhoeff, K., and Jarvis, W. R. eds. Academic Press, New York.
- Kohl, J., Molhoek, M. L., van der Plas, C. H., and Fokkema, N. J. 1994. Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology* 85:393-401.
- Leifert, C. S., Hampson, S., Workman, S., Sigee, D., Epton, H. A. S., and Harbour, A.

1995. Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. J. Appl. Bacteriol. 78: 97-108.
- Mercier, J., and Wilson, C. L. 1994. Colonization of apple wounds by naturally occurring microflora and introduced *Candida oleophila* and their effect on infection by *Botrytis cinerea* During storage. Biol. Control 4:138-144.
- Migheli, Q., Aloï, C. and Gullino, M. L. 1990. Resistance of *Botrytis elliptica* to fungicides. Acta Hort. 266:429-436.

表一. 百合灰霉病菌之分離及鑑定

Table1. Isolates and identifies tested in *Botrytis elliptica* on lilies

Isolates	Location	Host	Data
BE001	Nan Tou, Mei-Feng	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1997.9.20
BE002	Nan Tou, Mei-Feng	<i>Lilium</i> oriental(Marco Polo)	1997.9.20
BE003	Nan Tou, Mei-Feng	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1997.9.20
BE004	Nan Tou, Mei-Feng	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1997.9.20
BE005	Nan Tou, Mei-Feng	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1997.9.20
BE006	Nan Tou, Mei-Feng	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1997.9.20
BE007	Yi Lan, Dung-Shan	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1998.1.15
BE008	Yi Lan, Dung-Shan	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1998.1.15
BE009	Yi Lan, Dung-Shan	<i>Lilium</i> oriental(Casa Blanca)	1998.2.12

表二. 對峙培養時拮抗菌在四種低營養成份培養基中對百合灰霉病菌之抑制效果

Table2. Inhibition of *Botrytis elliptica* by antagonist strains by dual culture on four low nutrient plate

Antagonists	Width of inhibition zone (cm)			
	Mecia			
	GAA ⁻	LE	PDA ⁻	SE
CK	0 c ¹	0 g	0 f	0 c
B99	1.63 ab	1.70 bcd	1.23 de	1.70 b
B111	1.98 a	2.03 a	1.38 cd	2.50 a
B128	1.88 ab	1.45 ef	1.18 de	1.85 b
B131	1.85 ab	1.60 cde	1.03 e	1.65 b
B171	1.93 a	1.40 f	1.43 bcd	1.85 b
B190	1.88 ab	1.63 cde	1.65 ab	2.0 ab
B196	1.98 a	1.75 bc	1.78 a	1.95 ab
B203	1.85 ab	1.50 ef	1.63 abc	2.00 ab
B501	1.78 ab	1.53 def	1.1 e	1.95 ab
BS	1.48 b	1.83 b	1.83 a	1.57 b

1. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表三. 共同培養時拮抗菌在四種低營養成份培養基中對百合灰霉病菌之抑制作用

Table3. Inhibition of *Botrytis elliptica* by antagonist strains by concomitant culture on

Table 3. Inhibition of *Botrytis elliptica* by antagonist strains by concomitant culture on four low nutrient plate

Antagonists	Radial growth (cm)			
	GAA ⁻	LE	PDA ⁻	SE
CK	7.85 a ¹	8.2 a	7.98 a	5.03 a
B99	0 f	0 d	0 e	0 g
B111	0 f	0 d	0 e	0 g
B128	3.23 cd	7.45 a	4.23 d	3.38 de
B131	5.95 b	7.45 a	4.30 cd	3.9 cde
B171	2.25 e	4.30 c	4.90 c	1.58 f
B190	3.55 c	8.10 a	6.30 b	4.63 abc
B196	0.8 f	7.03 ab	6.63 b	4.73 ab
B203	2.65 de	5.50 bc	6.53 b	4.05 bcd
B501	2.53 de	9.57 a	4.88 c	3.18 e
BS		0 f	0 d	0 e

1. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表四. 營養基質在百合切葉上對百合灰黴病之發病嚴重度
Table 4. Disease severity of gray mold by nutrients on lily leaves

Nutrients	Disease severity		
	1	5	10
CK	1.17 b ¹	-	-
Fructose	1.83 b	1.17 b	1 b
Glucose	1.5 b	0.83 b	1 b
Malt extract	3.17 a	3.67 a	2.67 a

1. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表五. 拮抗菌株在不同百合品種之切葉上對灰黴病之抑制效果
Table 5. Inhibition of gray mold by antagonists on lily leaves

Antagonists	Disease severity ¹		
	Cultivar		
	Acapulco	Casa Blanca	Marco Polo
CK	4 a ²	4 a	4 a
B99	1.67 b	2 bcd	1.67 c
B111	0.83 c	1 d	1 cd
B128	1.17 bc	1.67 cd	0.67 d
B131	1 bc	1.67 cd	1.17 cd
B171	1.33 bc	1.83 bcd	1.17 cd
B190	1.67 bc	2.83 abc	0.67 d
B196	1.5 bc	1.5 bcd	1.5 c
B203	1.5 bc	2 bcd	1.33 c
B501	1.5 bc	1.67 bcd	1.33 c

BS 1.33 bc 3 ab 2.67 b

1. Conidia suspensions of antagonists (1×10^6 CFU/ml) were applied on leaves and incubated for 7 days before recording.

2. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表六. 拮抗菌株在不同百合品種之植株上對灰黴病之抑制效果
Table 6. Inhibition of gray mold by antagonists on lily

Antagonists	Disease severity		
	Cultivar		
	Acapulco	Casa Blanca	Marco Polo
CK	0 a ¹	3.75 a	0.58 a
B99	0 a	0.25 bc	0.58 a
B111	0 a	0.25 bc	0.5 b
B128	0 a	0 c	0.58 a
B131	0 a	0.5 bc	0.5 b
B171	0 a	0.5 bc	0.58 a
B190	0 a	0.5 bc	0 c
B196	0 a	0.96 bc	0 c
B203	0 a	0.96 bc	0.58 a
B501	0 a	0.5 bc	0.5 b
BS	0a	0.58 bc	0 c

1. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表七. 藥劑在載玻片上對灰黴病菌分生孢子發芽管之抑制作用
Table 7. Inhibition of conidia germination of *Botrytis elliptica* by fungicides on micro-slide

Fungicides	Germ tube length (μm)			
	1(ppm)	10	50	100
CK	410 a ¹	-	-	-
Benomyl	300 c	110 g	60 d	70 g
Flusilazole	150 f	100 h	80 h	70 g
Iprodione	380 a	180 e	120 e	60 h
Mancozeb	400 a	200 c	210 c	190 e
Prochloraz	130 f	120 f	100 f	90 f
Proch.+MgCl ₂	390 a	110 g	80 g	87 f
Thiabendazole	340 b	370 b	310 b	240 c
Thiophanate	290 c	190 d	210 c	210 d

1. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表八. 藥劑在平板培養基上對百合灰黴病菌之抑制作用

Table 8. Inhibition of conidia germination of *Botrytis elliptica* by fungicides on plate media

Fungicides	Width of inhibition zone (cm) ¹			
	1(ppm)	10	50	100
C K	4 a ¹	-	-	-
Benomyl	2.2 b	2.2 b	2.2 b	1.8 a
Flusilazole	0.83 d	0 d	0 e	0 c
Iprodione	0.9 d	0 d	0 e	0 e
Mancozeb	2.3 b	2.3 b	1.9 c	1.1 e
Prochloraz	0.5 e	0 d	0 e	0 d
Proch.+MgCl ₂	1.6 c	0.4 c	0.2 d	0 e
Thiabendazole	2.3 b	0 d	0 e	0 e
Thiophanate	2.3 b	2.3 b	2.2	2.2 b

1. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表九. 藥劑在液體上培養基中對百合灰黴病菌之抑制作用

Table 9. Inhibition of conidia germination of *Botrytis elliptica* by fungicides on liquid media

Fungicides	Dry weight of hyphae (g)			
	1(ppm)	10	50	100
C K	0.47 b ¹	-	-	-
Benomyl	0.02 de	0.34 ab	0.34 b	0.01 a
Flusilazole	0.01 e	0.01 d	0.01 e	0.01 c
Iprodione	0.35 de	0.01 d	0.01 e	0.01 c
Mancozeb	0.59 a	0.47 a	0.20 c	0.12 c
Prochloraz	0.05 de	0.01 d	0.01 e	0.01 c
Proch.+MgCl ₂	0.01 e	0.01 d	0.01 e	0.01 c
Thiabendazole	0.12 d	0.10 cd	0.20 de	0.03 c
Thiophanate	0.32 c	0.23 bc	0.13 cd	0.01 c

1. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表十. 拮抗菌之鑑定

Table 10. Identifies of antagonists

Isolates	Gram stain	Species
B99	G (-)	<i>Burkholderia gladioli</i>
B111	G (-)	<i>B. gladioli</i>
B128	G (+)	<i>Facillus amyloliquefaciens</i>
B171	G (+)	<i>Bacillus megaterium</i>
B190	G (+)	<i>B. amyloliquefaciens</i>
B196	G (+)	<i>B. megaterium</i>

表十一. 拮抗菌與藥劑應用於田間對百合灰黴病之防治作用

Table 11. The control of gray mold of lily by antagonist and fungicides on field

Treatments ¹	Disease severity	
	7 ²	14
D-C K	1.75 a ³	2.20 a
H-CK	0.35 b	0.83 b
B111	0.53 b	0.78 b
B128	0.53 b	0.93 b
B190	0.43 b	1.10 b
Flusilazole	0.35 b	0.80 b

1. Effect of treatment with antagonists B111, B123, B190 and a fungicide program on lily plants.

3. Conidial suspensions of antagonists (1×10^6 spores / ml) and flusilazole (50 ppm) were applied at a plant of 7 and 14 days.

3. Numbers in a column followed by different letters are significantly different ($p \geq 0.05$) by Duncan's multiple range test.