

應用鏈黴菌 *Streptomyces* sp. A272 防治白菜立枯病

蔡依真¹ 鍾文全² 鍾文鑫^{1,3}

¹ 台中市國立中興大學植物病理學系

² 行政院農業委員會種苗改良繁殖場

³ 連絡作者，電子郵件：wenchung@dragon.nchu.edu.tw

接受日期：中華民國 99 年 8 月 5 日

摘要

蔡依真、鍾文全、鍾文鑫. 2010. 應用鏈黴菌 *Streptomyces* sp. A272 防治白菜立枯病. 植病會刊 19: 149-155.

自台灣不同地區土壤所分離的十株鏈黴菌菌株，利用對峙培養法測定它們對白菜立枯病病原菌 *Rhizoctonia solani* AG-4 的拮抗作用，得知鏈黴菌 A272 菌株可顯著抑制 *R. solani* AG-4 的生長。將鏈黴菌 A272 菌株培養在馬鈴薯葡萄糖培養液六天，其培養濾液抑制 *R. solani* AG-4 生長的效果最佳。進一步將該培養濾液以不同溫度處理後，其抑菌活性的抑制圈大小僅有 6.8 ~ 7.0 mm，比未處理的對照組 (9.8 mm) 小，但各溫度處理間則無明顯差異，顯然該培養濾液可能含有耐熱性抗生物質。在網室進行防治試驗時，將稀釋 10 倍與 100 倍之鏈黴菌 A272 培養濾液加至含有不結球白菜種子的病原菌介質中，得知 10 倍稀釋的培養濾液較對照組可分別提高三鳳與坂田交配品種之種子發芽率達 25.9% 與 41.6%；而 100 倍稀釋的培養濾液則較對照組可分別增進三鳳與坂田交配品種之種子發芽率達 16.6% 與 25.0%。另評估澆灌稀釋 10 倍與 100 倍鏈黴菌 A272 培養液，對移植於帶有病原菌介質中不結球白菜幼苗的存活率之影響。結果顯示處理 10 倍稀釋液後，三鳳與坂田交配品種之幼苗存活率分別達 94.6 與 89.3%；而處理 100 倍稀釋液之三鳳與坂田交配品種的幼苗存活率，則分別為 99.2% 與 93.1%。綜合上述結果顯示鏈黴菌 A272 菌株應用於苗期立枯病的防治具有相當大的潛力。

關鍵詞：鏈黴菌、*Rhizoctonia solani* AG-4、培養濾液、熱處理

緒言

由於人類過度使用系統性殺菌劑，已有很多植物病原真菌產生抗藥性，導致植物病害更加難以防治⁽¹⁾。此外，有些重要的植物病害，如萎凋病、炭疽病、小麥全蝕病和其他的根部病害，目前仍無法被化學藥劑有效控制⁽¹⁾。2009年，殺菌劑抗性作用委員會 (Fungicide Resistance Action Committee, FRAC) 將枯草桿菌 (*Bacillus subtilis* strain QST 713) 列入低風險之藥劑名單中，除顯示生物製劑備受重視外，同時亦暗示生物農藥在使用上仍有令菌株產生抗藥性的風險⁽¹⁾；因此，為了降低抗藥性的產生與增進病害之防治成效，研製安全有效、對環境低污染且低毒性的新型生物藥

劑，在糧食生產上之重要性與日俱增⁽¹⁾。在生物農藥的眾多來源中，由鏈黴菌產生的抑菌物質，其結構與種類均具有高度多樣性，且由於其缺乏與其他農藥產生交互抗性，因而較有可能具有新的抑菌作用機制⁽¹⁾。目前來自鏈黴菌並商業化的藥劑如嘉賜黴素、保粒黴素、維利黴素等，已普遍應用於多種重要植物病害的防治。

鏈黴菌具有多重生物防治機制，包括產生各種物質分解酵素與抗生物質^(3, 6)、競爭作用⁽⁵⁾、超寄生^(9, 17)及誘導植物產生抗病性⁽²⁾等。有鑑於植物病原真菌對化學農藥產生抗藥性的問題日益嚴重，故研製出有效低風險的生物製劑實為當務之急。在作物苗期病害中，立枯病 (*Rhizoctonia solani* Kühn) 引起為常見且難

以防治之重要土傳性病害之一。2002年，Sabaratnam 與 Traquair⁽¹⁴⁾ 發現施用 *Streptomyces* sp. Di-944 防治蕃茄立枯病的成效相當於殺菌劑 oxine benzoate，同時他們亦證實了若能選擇優良的拮抗菌株，再配合適當的施用方法，其防治效果不亞於化學藥劑的施用，且可減少對環境的衝擊⁽¹⁰⁾。因此，本研究之目的在於篩選具有抑制立枯絲核病菌生長的鏈黴菌菌株，然後進行不同培養時間的濾液對病原菌抑菌試驗，並進行培養濾液的熱穩定性測試，最後溫室評估防治白菜立枯病的成效。

材料與方法

供試鏈黴菌菌株來源與保存

供試鏈黴菌 (*Streptomyces* sp.) 菌株 (A35、A102、A200、A272、A337、A377、A454、A462、A463 及 A464) 為本實驗自台灣不同地區所採集的土壤，在室內以腐質酸培養基⁽¹⁾ 進行土壤稀釋分離，再藉由形態學、生理生化測試及分子生物學鑑定，並以這些菌株作為本研究之供試菌源。為防止菌株的變異，將菌株培養於 ISP4 (International Streptomyces Project 4 Medium) 培養基，經 28°C 培養 7 天後，刮取孢子置於 25% (v/v) 甘油中，然後置於 -80°C 下保存。

R. solani AG-4 感染土之製備

將 50 公克之馬鈴薯切丁裝入 500 毫升的三角瓶中，經高溫高壓 (120°C，15lb，20 分鐘) 後，以消毒過的移植針植入在 28°C 下 PDA 培養基上培養 2 天的 *R. solani* AG-4 菌絲塊 (0.5 cm)，然後置於不照光 30°C 定溫箱培養，經一星期後，將長滿菌絲的馬鈴薯取出秤重，並加入 200 毫升無菌水，再以果汁機均勻攪碎 5 分鐘，並依重量 1:10 比例混拌至消毒過的 BVB No.4 (Bas Van Burren, 荷蘭) 泥炭土，待混合均勻後，置於密封的塑膠盒中並放置於室溫下，每日定時打開透氣，每週均勻混拌一次，經 4 星期後，作為網室接種源使用。

不同鏈黴菌菌株對 *R. solani* AG-4 的拮抗作用

由腐質酸培養基分離的十種鏈黴菌菌株，分別以移植環沾取鏈黴菌孢子，塗抹在 PDA (potato dextrose agar) 培養基平板的一側，然後在距離 2 公分的相對一側接種在 28°C、PDA 培養基生長 2 天的 *R. solani* AG-4 菌絲塊 (0.5 cm)，進行對峙培養，在 28°C 不照光培養 5 天後，測定十種鏈黴菌菌株對 *R. solani* AG-4 之抑制

圈大小，每處理各三重複，並以未處理鏈黴菌者作為對照組。

培養時間對鏈黴菌 A272 菌株拮抗 *R. solani* AG-4 的效果

將在 PDA 培養基平板培養 7 天的鏈黴菌 A272 菌株，製成細菌懸浮液 (5×10^6 cfu/ml) 後，取 1 毫升接種於盛有 100 毫升 PDB (potato dextrose broth) 的 250 毫升三角瓶中，每處理三重複，在 30°C、轉速 130 rpm 的振盪器上進行 1 至 10 天的振盪培養，然後同時取出不同培養時間之培養液 1 毫升，經離心機 5,000 g 離心 40 分鐘以去除菌體，再經 0.22 μ m 過濾膜 (Millipore) 過濾，然後利用分注器吸取 300 μ l 濾液，以玻璃環法評估鏈黴菌 A272 菌株培養不同時間後對於 *R. solani* AG-4 的拮抗效果。每處理三重複，並以 PDB 當作對照組。

鏈黴菌 A272 菌株培養濾液經不同溫度處理後對 *R. solani* AG-4 的拮抗作用

將在 PDA 培養基平板培養 7 天的鏈黴菌 A272 菌株，製成細菌懸浮液 (5×10^6 cfu/ml) 後，取 1 毫升接種於盛有 100 毫升 PDB 的 250 毫升三角瓶中，每處理有三重複，在 30°C、轉速 130 rpm 的振盪器上培養 6 天後，以離心機 5,000 g 離心 40 分鐘以去除菌體，再經 0.22 μ m 過濾膜過濾，此濾液分別以 40°C、60°C、80°C，以及 121°C 高壓各處理 20 分鐘，待溫度降至常溫後，以分注器吸取 300 μ l 濾液，並以玻璃環法評估鏈黴菌 A272 菌株培養濾液經不同溫度處理後對於 *R. solani* AG-4 的拮抗效果。每處理三重複，並以無熱處理的鏈黴菌 A272 菌株培養濾液及 PDB 當作對照組。

評估鏈黴菌 A272 菌株在網室中防治不結球白菜立枯病的效果

將鏈黴菌 A272 菌株的細菌懸浮液 (1×10^8 cfu/ml)，取 1 毫升於 100 毫升 PDB 培養液中振盪培養 6 天，然後將該菌株的培養液分別製成 10 及 100 倍稀釋液後，(I) 在盛有 10% (w/w) 立枯絲核病菌感染土的 BVB No.4 介質穴盤中，每穴 (3cm \times 3cm) 澆灌 1.5 毫升的 10 或 100 倍稀釋培養液，然後再播種不結球白菜種子 (三鳳與坂田交配品種)；(II) 將 7 天株齡的不結球白菜幼苗 (三鳳與坂田交配品種) 移植至盛有 10% (w/w) 立枯絲核病菌感染土的 BVB No.4 介質中穴盤中，每穴 (3cm \times 3cm) 澆灌處理 1.5 毫升的 10 或 100 倍稀釋培養液；(III) 為對照組，將上述不結球白菜種子或白菜幼苗種植至盛有 10% (w/w) 立枯絲核病菌感染土的 BVB No.4 介質穴盤中後，澆灌 1.5 毫升未接種鏈黴菌 A272

菌株之 PDB 培養液。上述三種試驗於處理後 7 天，開始計算各處理間植株的發芽率或存活率，每處理各進行三重覆，而每個重覆有 6 株不結球白菜。

結果

鏈黴菌對 *R. solani* AG-4 的拮抗作用

在 PDA 培養基平板上將十株鏈黴菌菌株分別與 *R. solani* AG-4 進行對峙培養，得知所有測試的鏈黴菌菌株具有拮抗 *R. solani* AG-4 生長的效果，其中以 A272 菌株的抑制效果最佳，抑制圈指數為 3，其次為 A35、A102、A454、A462 及 A463 等菌株，抑制圈指數為 2；至於 A200、A337 和 A377 菌株的抑制圈指數則為 1 (表一)。

培養時間對鏈黴菌 A272 菌株拮抗 *R. solani* AG-4 的效果

鏈黴菌 A272 菌株在 PDB 培養液中振盪培養，結果顯示第 2 至第 10 天的培養液 pH 值變化維持在 4.3-3.8 之間，菌絲乾重則無明顯差異。培養 6 天的培養液，其 pH 值僅有 3.8 左右，所產生的抗生物質對 *R. solani* AG-4 生長的抑制效果最佳，抑制圈達 11.5 mm。至於培養 7 天至 10 天的鏈黴菌 A272 菌株培養液，其抑制 *R. solani* AG-4 生長的效果隨培養天數的增加明顯下降 (圖一)。

表一、鏈黴菌對 *Rhizoctonia solani* AG-4 的拮抗作用

Table 1. In vitro antagonism of *Streptomyces* spp. against *Rhizoctonia solani* AG-4

Strain of <i>Streptomyces</i> spp.	Inhibition index (0-3) ¹
A 35	2
A102	2
A200	1
A272	3
A337	1
A377	1
A454	2
A462	2
A463	2
A464	1

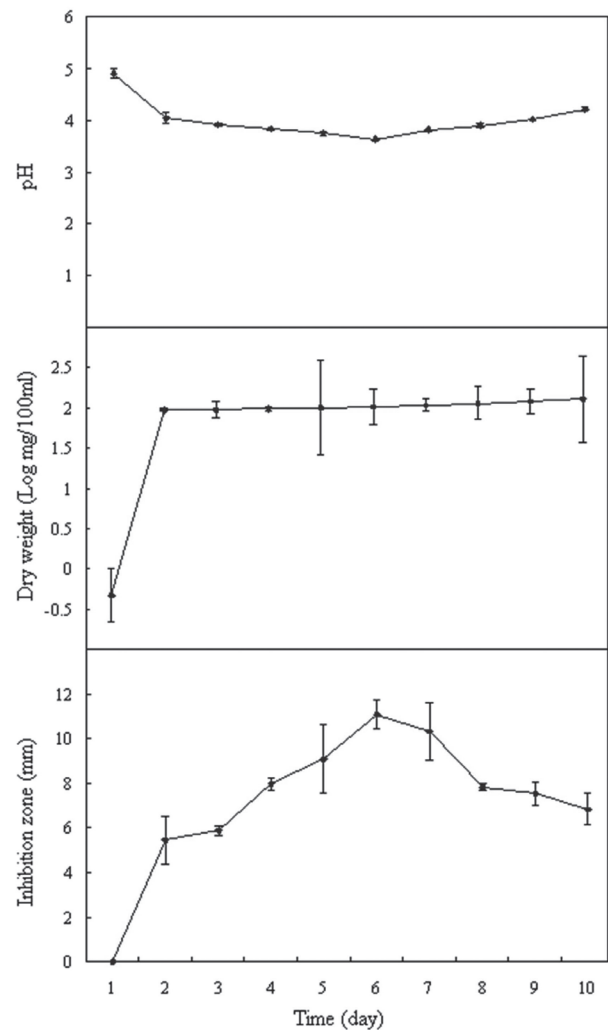
¹ The inhibition zone between *R. solani* and *Streptomyces* spp. in dual culture on PDA for 7 days at 28°C. 0, no inhibition zone; 1, < 10mm; 2, >10 mm < 20mm; 3, ≥ 20mm.

鏈黴菌 A272 菌株培養濾液經不同溫度處理後對 *R. solani* AG-4 的拮抗作用

鏈黴菌 A272 菌株在 PDB 培養液中振盪培養 6 天後，其培養濾液經 40、60、80°C 及 121°C 不同溫度處理下，其抑制 *R. solani* AG-4 菌絲生長的效果比未處理的對照組，有明顯下降的趨勢，抑制圈大小介於 6.8 ~ 7.0 mm，然各溫度處理間並無顯著差異 (圖二)。

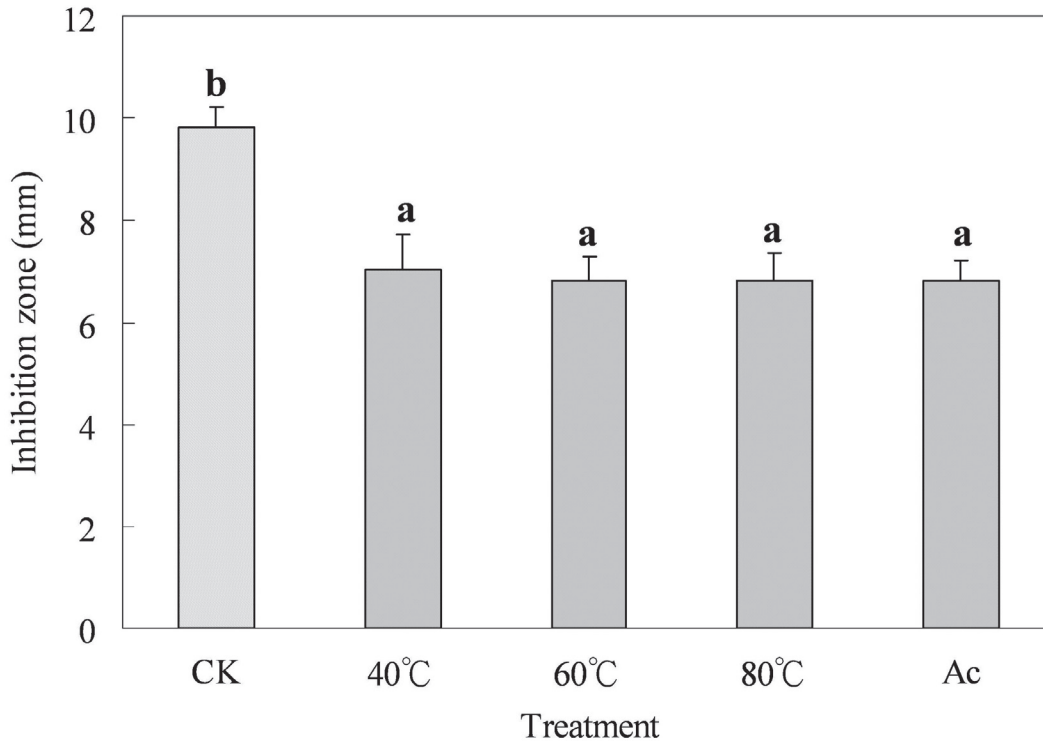
評估鏈黴菌 A272 菌株在網室中防治白菜立枯病的效果

經施用培養 6 天稀釋成 10 或 100 倍之鏈黴菌 A272 培養液，並於處理 7 天後開始觀察，結果顯示兩



圖一、不同培養時間對鏈黴菌 A272 菌株生長量、培養液 pH 變化及對 *Rhizoctonia solani* AG-4 之抗菌活性的影響。

Fig. 1. Effect of incubation on growth, medium pH, and antifungal activity of *Streptomyces* sp. strain A272 against *Rhizoctonia solani* AG-4.



圖二、不同溫度處理鏈黴菌 A272 菌株培養濾液對 *Rhizoctonia solani* AG-4 之抗菌活性的影響。

Fig. 2. Effect of heat treatment on antifungal activity of culture filtrates of *Streptomyces* sp. strain A272 against *Rhizoctonia solani* AG-4. Ac = culture filtrates autoclave for 15 min at 121°C; CK= culture filtrates without heat treatment. Columns (n=3) in 5 treatments for inhibition zone followed by the same letter do not differ significantly ($P>0.05$) according to Duncan's multiple range test. Error bars indicate the standard deviations.

稀釋倍數之含菌培養液均可提高所供試不球結白菜的種子發芽率與幼苗存活率。於處理 10 倍含菌稀釋培養液實驗中，可較對照組提高三鳳種子與坂田交配種子的發芽率分別達 25.9 與 41.6%；而處理 100 倍含菌稀釋培養液後，則較對照組提高三鳳種子與坂田交配種子的發芽率分別達 16.6 與 25.0%。另於處理含菌培養稀釋液對不結球白菜幼苗存活率之測試中，指出處理 10 倍含菌稀釋液後，三鳳與坂田交配之幼苗的存活率可分別達 94.6 與 89.3%；而處理 100 倍含菌稀釋液後，三鳳與坂田交配之幼苗的存活率可分別達 99.2 與 90.1% (圖三、圖四)。另於移植幼苗試驗中，不處理含鏈黴菌培養液的實驗組中，三鳳與坂田交配的幼苗存活率分別為 46.3 與 40.1%。

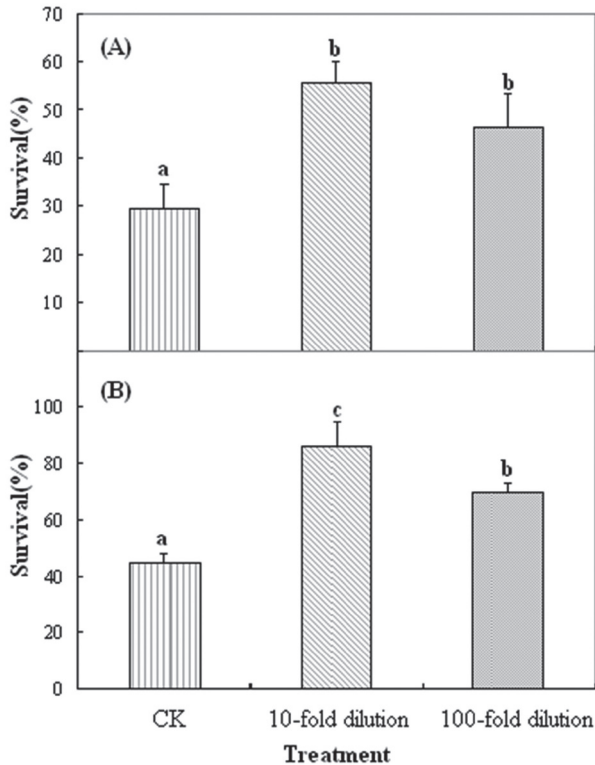
討 論

放線菌為格蘭性陽性菌，普遍存在於土壤中，其中以鏈黴菌最為豐富且多樣性。許多研究指出鏈黴菌可有效降低植物病害的發生。本研究所篩選出的 *Streptomyces* spp. A272 菌株，可產生抗生物質有效抑制

立枯絲核菌菌絲的生長，此抗生物質經熱處理後，仍具有抑菌的效果，網室結果亦顯示此菌株具有防治白菜苗期立枯病的功效。

營養^(5, 19)與環境因子如培養時間、溫度和酸鹼值⁽¹⁶⁾、通氣性⁽¹³⁾、接種源濃度⁽¹⁵⁾會影響鏈黴菌抗生物質的產生。在探討不同培養時間對鏈黴菌 A272 菌株拮抗活性的影響試驗中，本研究顯示 A272 菌株培養至第 6 天時即表現高抑菌活性，然後隨著培養時間的延長，拮抗活性明顯下降 (圖一)，顯然第六天為 A272 菌株培養的靜止期 (stationary phase)。在震盪培養之過程中，抗菌活性在培養基之 pH 值降至最低時達到最高，推測 A272 菌株於增殖過程中，所分泌的代謝產物種類與含量的變動會導致培養液 pH 值的改變，此結果相似於 Oskay⁽¹⁰⁾ 的研究。一般來說，鏈黴菌較適生長的 pH 值為 7-7.5^(7, 8)，然本研究 A272 菌株主要來自於偏酸性的土壤，因此認為 A272 菌株已非常適應酸性土壤，故其於偏酸環境中較能提前進行二次代謝的作用，此結果亦與 Yu 等人⁽¹⁹⁾ 的研究結果相類似。

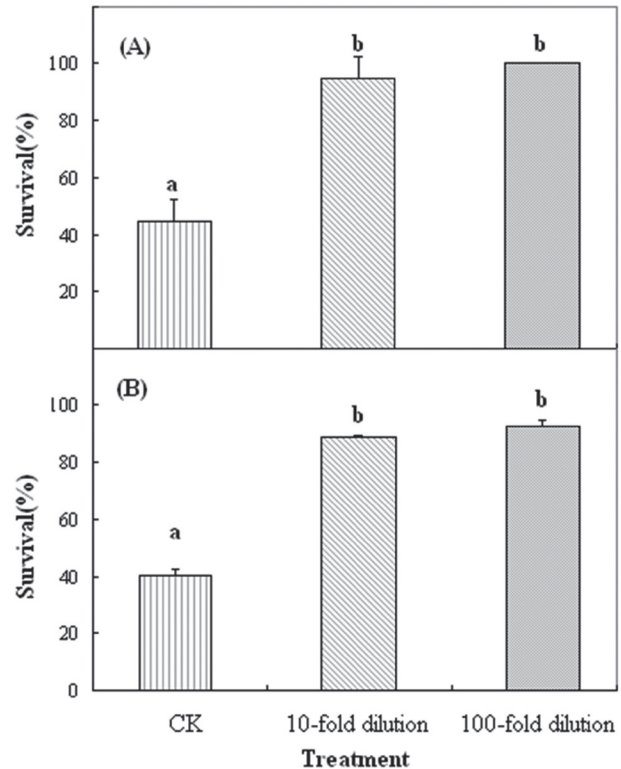
Trejo-Estrada 等人⁽¹⁸⁾ 發現 *S. violaceusniger* (Waksman & Curtis) Pridham 菌株 YCED9 的培養濾液可



圖三、施用鏈黴菌 A272 菌株培養液對葉用白菜 (A：三鳳品種；B：坂田交配品種) 種子於立枯絲核菌感染土中之發芽率。

Fig. 3. Effect of drenching culture filtrates of *Streptomyces* sp. strain A272 on germination of Chinese cabbage seeds (A: cv. San Fong and B: cv. Ban Tian hybrid) sowed in *Rhizoctonia solani*-infested culture media in greenhouse. Treatments: 1. Growth media treated with culture filtrate at 10-fold dilution; 2. Growth media treated with culture filtrate at 100-fold dilution; and 3. Check = Growth media infested *R. solani* only. Columns (n=3) in 3 treatments for survival of seeds followed by the same letter do not differ significantly ($P>0.05$) according to Duncan's multiple range test. Error bars indicate the standard deviations.

有效抑制炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc.) 和白絹病菌 (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) 兩菌菌絲的生長，主要在於指數期 (exponential phase) 培養濾液時，產生熱不穩定的胞外水解酵素如幾丁質分解酵素的抗生物質，或在靜止期培養濾液產生熱穩定的二次代謝物。Prapagdee 等人⁽¹²⁾亦報導 *S. hygroscopicus* (Jensen) Waksman & Henrici 在指數期的培養濾液，經熱處理或蛋白酶素 K 處理後，即喪失抑制炭疽病菌和白絹病菌生長的功效，而靜止期培養濾液則產生熱穩定的二次代謝物，有效降低兩菌的生長。本研究將 A272 菌株第六天的培養濾液 (靜止期) 經高溫處理後，其拮抗活性能力略微降低，可能原因為指數期的幾丁質分解酵素或部



圖四、施用鏈黴菌 A272 菌株培養液對葉用白菜 (A：三鳳品種；B：坂田交配品種) 七天幼苗於立枯絲核菌感染土中之存活率。

Fig. 4. Effect of drenching culture filtrates of *Streptomyces* sp. strain A272 on survival of 7-day-old seedling of Chinese cabbage (A: cv. San Fong and B: cv. Ban Tian hybrid) planted in *Rhizoctonia solani*-infested culture media in greenhouse. Treatments: 1. Growth media treated with culture filtrate at 10-fold dilution; 2. Growth media treated with culture filtrate at 100-fold dilution; and 3. Check = Growth media infested *R. solani* only. Columns (n=3) in 3 treatments for survival of seeds followed by the same letter do not differ significantly ($P>0.05$) according to Duncan's multiple range test. Error bars indicate the standard deviations.

份抗生物質因熱而變性，導致整體培養濾液的拮抗活性能力降低，顯然 A272 菌株第六天的培養濾液之抑菌物質應屬於熱穩定之抗生物質。至於是何種熱穩定之抗生物質則有待進一步探討。

在溫室進行鏈黴菌 A272 菌株培養液防治白菜立枯病試驗，顯示 A272 菌株培養液不管施用在白菜種子播種或7天幼苗種植，均可降低葉用白菜幼苗立枯病發生的嚴重度，其中在播種方式的防治效果，以施用稀釋 10 倍 A272 菌株培養液的幼苗存活率較高，而移苗結果則以施用稀釋 100 倍 A272 菌株培養液的防治效果較好。此結果顯示種子在發芽過程中，可能需要較高濃度的鏈黴菌與抗生物質進行保護，而在移苗的過程中，根

系易受到傷害，導致高濃度的鏈黴菌培養液可能對受傷根系生長造成毒害，因而幼苗存活率明顯降低⁽⁴⁾。本研究雖然指出鏈黴菌 A272 菌株的抗生物質具有抑制白菜立枯病發生的功效，但許多研究亦指出鏈黴菌本身可能分泌酵素、或與病原菌共同競爭空間與養份、或間接改變土壤環境中之微生物，而達到抑病的效果^(1,3, 4, 9, 12)。這些抑病機制在鏈黴菌 A272 菌株防治白菜立枯病，是否亦扮演重要的角色則有待進一步的探討。

謝 辭

本研究承行政院國家科學委員會 NSC 96-2313-B-005-035-MY3 計畫補助，特此致謝。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

- Bibb, M. J. 2005. Regulation of secondary metabolism in *Streptomyces*. *Curr. Opin. Microbiol.* 8: 208-215.
- Conn, V. M., Walker, A. R., and Franco, C. M. 2008. Endophytic actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant Microbe In.* 21: 208-218.
- Crawford, W. 1995. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Appl. Environ. Microb.* 61: 3119-3128.
- Gupte, M., Kulkarni, P., and Ganguli, B. N. 2002. Antifungal antibiotics. *Appl. Microbiol. Biot.* 58: 46-57.
- Hiltunen, L. H., Ojanpera, T., Kortema, H., Richter, E., Lehtonen, M. J., and Valkonen, J. P. T. 2009. Interactions and biocontrol of pathogenic *Streptomyces* strains co-occurring in potato scab lesions. *J. Appl. Microbiol.* 106: 199-212.
- Iznaga, Y., Lemus, M., Gonzalez, L., Garmendia, L., Nadal, L., and Vallin, C. 2004. Antifungal activity of actinomycetes from Cuban soils. *Phyther. Res.* 18: 494-496.
- Kieser, T., Bibb, M. J., Buttner, M., Chater, K. F., and Hopwood, D. A. 2000. *Practical Streptomyces genetics*. Norwich, England: The John Innes Foundation Norwich.
- Kintro, M., Lignell, U., Hirvonen, M. R., and Nevalainen, A. 2005. pH effects on 10 *Streptomyces* spp. growth and sporulation depend on nutrients. *Lett. Appl. Microbiol.* 41: 32-38.
- Lai, W. R. 2003. Development of *Streptomyces griseobrunneus* S3 as a bioagent for the control of plant fungal diseases. Master thesis, National Chung Hsing University. 114 pp. (in Chinese with English abstract)
- Oskay, M. 2009. Antifungal and antibacterial compounds from *Streptomyces* strains. *Afr. J. Biotechnol.* 8: 3007-3017.
- Pal, K. K., and McSpadden Gardener, B. 2006. Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor* 10: 1-25.
- Prapagdee, B., Kuekulvong, C., and Mongkolsuk, S. 2008. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4: 330-337.
- Rollins, M. J., Jensen, S. E., and Westlake, W. S. 1988. Effect of aeration on antibiotic production by *Streptomyces clavuligerus*. *J. Ind. Microbiol.* 3: 357-364.
- Sabaratnam, S., and Traquair, J. A. 2002. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of Rhizoctonia damping-off in tomato transplants. *Biol. Control* 23: 245-253.
- Sanchez, L., and Brana, A. F. 1996. Cell density influences antibiotic biosynthesis in *Streptomyces clavuligerus*. *Microbiology* 142: 1209-1220.
- Sanchez, S., and Demain, A. L. 2002. Metabolic regulation of fermentation *Enzyme Microb. Tech.* 31: 895-906.
- Siddiqui, Z. A., and Mahmood, I. 1999. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: A review. *Bioresource Technol.* 69: 167-179.
- Trejo-Estrada, S. R., Paszczynski, A., and Crawford, D. L. 1998. Antibiotics and enzymes produced by the biocontrol agent *Streptomyces violaceusniger* YCED9. *J. Indian Microbiol. Biotechnol.* 21: 81-90.
- Yu, J., Liu, Q., Liu, Q., Liu, X., Sun, Q., Yan, J., Qi, X., and Fan, S. 2008. Effect of liquid culture requirements on antifungal antibiotic production by *Streptomyces rimosus* MY02. *Bioresource Technol.* 99: 2087-2091.

ABSTRACT

Tsai, Y. C.¹, Chung, W. C.², and Chung, W. H.³. 2010. Effect of culture filtrates of *Streptomyces* sp. strain A272 on control *Rhizoctonia* damping-off of Chinese cabbage. *Plant Pathol. Bull.* 19: 149-155. (¹ Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; ² Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, COA, Taichung, Taiwan; ³ Corresponding author, E-mail: wenchung@dragon.nchu.edu.tw)

Among the 10 strains of *Streptomyces* isolated from soil in Taiwan tested in dual cultures on potato dextrose agar, *Streptomyces* sp. A272 was the most effective strain in inhibition of growth of *Rhizoctonia solani* AG-4. Filtrates of *Streptomyces* spp. A272 from 6-day-old potato dextrose broth were suppressive to the growth of *R. solani* AG-4. The antifungal activity of culture filtrates of *Streptomyces* spp. strain A272 against *R. solani* AG-4 was tested after heat treatments of culture filtrates at 40, 60, 80 and 121°C resulted in reduction of the inhibition zone of 6.8-7.0mm compared to 9.8mm in the control. Treated seeds or seedlings of Chinese cabbage (cv. San Fong and Ban Tian hybrid) with culture filtrates of A272 strain from PDB broth culture at rates of 10-fold and 100-fold dilution by drenching resulted in the increase of germination of seeds and survival of seedlings. The rates of seed germination of cv. San Fong and Ban Tian hybrid increased 25.9 and 41.6 % for 10-fold dilution culture filtrate compared control treatment, respectively. For 100-fold dilution culture filtrate, the seed germination rates of two cultivars increased 16.6 and 25.0 % compared control treatment, respectively. Furthermore, the rates of survival seedling of cv. San Fong and Ban Tian hybrid were 94.6 and 89.3 %, respectively, after 10-fold dilution culture filtrate treated. The other sides, the rates of survival seedling of the two cultivars were 99.2 and 93.1 %, respectively, after 100-fold dilution culture filtrate treated. This study suggests that the *Streptomyces* sp. strain A272 may be of potential for management of *Rhizoctonia* damping-off of vegetable crops.

Keyword: *Streptomyces* spp., *Rhizoctonia solani* AG-4, culture filtrates, heat treatment