

利用 *Bacillus megaterium* 防治百合 *Rhizoctonia* 根腐病

鍾宜穎¹ 吳文希^{1,2}

1. 臺北市 國立台灣大學植物病理學系

2. 聯絡作者：電子郵件 hoganwu @ ccms.ntu.edu.tw；傳真 02-23660148

接受日期：中華民國 89 年 5 月 30 日

摘 要

鍾宜穎、吳文希. 2000. 利用 *Bacillus megaterium* 防治百合 *Rhizoctonia* 根腐病. 植病會刊 9:59-68.

立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani* Kuhn AG-4) 為臺灣生產百合種球的重要限制因子之一；由各地土壤及百合植株所分離得到之 325 株細菌與 8 株真菌，經對峙、共同培養及在鱗片上競爭佔據等之篩選檢定，挑選出六株細菌菌株，進行六次溫室生物檢定，確定 *Bacillus megaterium* S26 及 #18 兩株菌株均可顯著地 ($P=0.05$) 減少百合植株莖部的壞疽及倒伏，而百合種球之鮮重及乾重亦較未處理對照組為佳。此外，在溫室中，將低濃度的拮抗菌 (10^4 CFU/ml) 和 62.5 ppm 殺菌劑待克利 (difenoconazole) 混合施用，所獲得之防治效果，較單獨施用 125 ppm 待克利為佳，且和健康對照組無顯著性 ($P=0.05$) 差異；但在田間施用拮抗菌的防治效果不彰。*B. megaterium* S26 及 #18 對病原菌的生長具有明顯的抑制效果，該拮抗菌並且可附著於 *R. solani* 菌絲上，引起菌絲變形、膨大和凹陷，甚至會造成菌絲崩潰溶解的現象。*B. megaterium* #18 的無菌濾液對 *R. solani* 亦有相同的抑制效果。

關鍵詞： *Bacillus megaterium*、*Rhizoctonia solani*、百合、生物防治

緒 言

百合 (*Lilium* spp.) 為百合科 (*Liliaceae*) 百合屬 (*Lilium*) 的球根花卉植物，原生種約有 96 種，多分布於北半球，並以溫帶地區分布最多⁽⁹⁾。目前栽培之百合多是經過人工雜交選育之品種，主要有東方雜交型百合 (Oriental hybrids)、亞洲雜交型百合 (Asiatic hybrids)、鐵砲雜交型百合 (Longiflorum hybrids)⁽⁹⁾ 及 L/A 雜交型百合 (L/A hybrids)⁽⁸⁾ 等四類。臺灣生產的百合，主要以東方型百合，即香水百合 (Casa Blanca)、粉香水百合 (Le Reve)、葵百合 (Star Gazer) 等三種品種為主，其次為 Acapulco、Marco Polo 等品種⁽⁹⁾。由於百合深受消費者喜愛，近年來生產面積與產量均快速增加，主要產區以南投縣、彰化縣和台中縣為主⁽³⁾。

目前本省百合產業之種球幾乎全賴進口，而本省試驗生產的百合種球時常發生嚴重的病蟲害，導致種球品質不佳。在臺灣，百合主要的病害有：白絹病 (*Sclerotium rolfsii* Sacc. 引起)⁽¹⁰⁾、根腐病 (*Rhizoctonia solani* Kuhn, *Fusarium oxysporum* Schlechtend. : Fr., and *Pythium spinosum* Sawada 引起)⁽⁶⁾、疫病 (*Phytophthora parasitica* Dastur 引起)⁽²⁾、苗枯病 (*R. solani* 引起)⁽²⁰⁾、基腐病 (*F. oxysporum* 引起) 和種球壞疽或黃化 (*R. solani*, *F. oxysporum*, and/or *F. solani* (Mart.) Sacc. 引起)⁽¹⁾、灰黴病

(*Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke 引起)⁽¹¹⁾、炭疽病 (*Collectotrichum lilii* Plakidas 引起)⁽¹⁰⁾ 及 11 種病毒病害⁽⁵⁾。而在上述病原中，早在 1945 年，立枯絲核菌 (*R. solani*) 就被報導會引起百合的莖部潰瘍 (stem canker)⁽³⁴⁾，亦是造成百合葉燒 (leaf scorch) 之病原菌⁽¹⁴⁾，另外與鱗片的黃化 (yellow coloration) 及百合根腐皆有直接的關係^(6, 12, 13, 35)。以前防治病害所採行之方法，多為化學防治，如以 Lysolferbam 浸泡種球，防治根腐和降低葉燒的發生⁽¹⁴⁾；以五氯硝苯 pentachloronitrobenzene (PCNB) 浸泡種球，減少鱗片產生黃化⁽³⁵⁾。但立枯絲核菌以菌核及腐生方式存活於土壤及栽培介質中，不易為殺菌劑所控制⁽⁴⁾。為維護生產環境的平衡，且持續有效地防治此病原，採行生物防治方法應是生產百合及其它球根花卉種球時可加以考慮之法。本研究即為篩選出能有效抑制立枯絲核菌的拮抗微生物，使百合於生產鱗片球及公斤球時，免受立枯絲核菌之侵害，並探討拮抗微生物之抑病原理，期使生物防治之效果易於掌控。

材料與方法

微生物的分離

自台大、梅峰、宜蘭和溪湖百合田採集百合植株與土

壤，土壤經充分混合後，自其中隨機取出 1 g；採集植株的鱗片、葉、莖和根組織則切成 5 mm³ 小塊，分別置於 9 ml 之無菌水中充分震盪，再依序作十倍系列稀釋 4 ~ 6 次，吸取最稀之稀釋液 0.1 ml 置於馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (PDA) 平板上，以三角玻璃棒抹勻，於 28 °C 恆溫培養箱中培養二天，挑取平板上單一菌落，純化後，置於 PDA 斜面上以供測試；或將百合組織經表面消毒後直接置於 PDA 平板上。用此三種方法來分離土壤和百合植表 / 體內的微生物。

拮抗微生物的篩選

首先利用對峙培養的方法初步篩選拮抗微生物，於 28 °C 恆溫培養箱中對峙培養五天後，量取抑制圈 (inhibition zone) 大小及病原菌生長直徑。並再利用定點共同培養的方法篩選之⁽⁴²⁾，於 28 °C 恆溫培養箱中共同培養五天，觀察立枯絲核菌菌絲生長受抑制之情形。選取經對峙培養及共同培養後，對立枯絲核菌均具拮抗能力之微生物，進行鱗片之競爭佔據檢定，即將百合鱗片浸泡在拮抗細菌懸浮液 (約 10⁹ CFU/ml) 中三小時，而後移置於含 5 % (V/V) 立枯絲核菌之土中，靜置七天後，以 1 % 次氯酸鈉溶液表面消毒之，於水瓊脂平板上行組織分離，每處理四重複，於 28 °C 恆溫培養箱中培養三天，觀察百合組織上是否有立枯絲核菌之生長。

溫室中之生物及化學防治效力評估

首先將香水百合 (cv. Casablanca) 鱗片球及開花球浸泡在經篩選所得之六種不同拮抗細菌之懸浮液 (約 10⁹ CFU/ml) 中，以及浸泡於「植保手冊」中所推薦可防治立枯絲核菌的四種殺菌劑 (即賓克隆 (pencycuron)、貝芬替 (carbendazim)、待克利 (difenoconazole) 及萎靈 (carboxin)) 中 2 小時，每種殺菌劑的有效成份濃度為 125 ppm；而後種植在含 5 % (V/V) 立枯絲核菌之栽培介質中，每種處理五盆，四重複，並以不處理任何拮抗菌及藥劑者為對照組；開花球於種植一個月後記錄莖長、根長、殘根數、健康根數、新根數和病害指數；而鱗片球則於種植四個月後記錄植株的莖長、根長、鮮重、乾重、存活率和病害指數。經五次上述溫室中之生物檢定後，挑取較有效之兩株拮抗細菌 (#18, S26) 和待克利殺菌劑進一步測試之；即將百合鱗片球 (cv. Acapulco) 浸泡於拮抗細菌懸浮液 (約 10⁹ CFU/ml)，或濃度減半之待克利 (62.5 ppm) 與拮抗細菌懸浮液 (約 10⁴ CFU/ml) 的混合液中 2 小時，而後種植於含 5 % (V/V) 立枯絲核菌之栽培介質，種植一個月後，記錄植株的莖長、根長、根數、鮮重和病害指數。另外將拮抗菌株 #18 及 S26 培養於馬鈴薯煎汁 (potato dextrose broth, PDB) 中，於 25 °C 下振盪培養 7 天，再以 10000 rpm (CM-60RN, TOMY, Japan) 轉速離心收穫菌體，和高嶺土混合風乾後製成粉劑，取公斤球 (cv. Casablanca) 以

浸泡和粉衣兩種方式施用拮抗菌，浸泡是取 20 克粉劑與 1 升水攪拌均勻 (約 10⁶ CFU/ml)，而後將公斤球浸泡之；粉衣則是直接將公斤球沾黏粉末 (約 10⁸ CFU/g) 種植；並將公斤球浸泡在濃度減半之待克利 (62.5 ppm) 與拮抗細菌懸浮液 (約 10³ CFU/ml) 的混合液，種植一個月後記錄百合之莖長、根長、鮮重、乾重和病害指數。其中病害級數依病勢發展不同而分成六級，0 表示健康植株，1 表示 1 ~ 25 % 百合莖基壞疽，2 表示 26 ~ 50 % 百合莖基壞疽，3 表示 51 ~ 75 % 百合莖基壞疽，4 表示 76 ~ 100 % 百合莖基壞疽，5 表示鱗莖完全腐敗且不發芽，病害指數 = (病級數 × 各級數植株數 / 最高病級數 × 總植株數) × 100 %。

田間生物及化學防治試驗

田間試驗於 1998 年 11 月 16 日在彰化縣萬興溪湖糖廠之球根花卉繁殖場，種植百合鱗片球和公斤球，採裂區設計，分四區。其中鱗片球有兩種品種 (cv. Casablanca 及 Acapulco) 供試，每種品種及每個處理約 150 粒鱗片球；公斤球只有 Casablanca 一種品種供試，每處理約 75 粒。每區共七種處理，包括將鱗片球和公斤球浸泡於拮抗細菌懸浮液 (約 10⁹ CFU/ml)，再以拮抗菌粉劑粉衣之；或將其浸泡於濃度減半之待克利 (62.5 ppm) 與拮抗細菌懸浮液 (約 10⁴ CFU/ml) 的混合液中；並以處理待克利 (有效成分為全量或減量) 者為對照組。在處理一天後種植，種植後每月紀錄百合的出土數 (12 月 ~ 4 月)，株高 (1 月 ~ 4 月) 和葉片數 (2 月 ~ 4 月)。

拮抗微生物的鑑定

先以革蘭氏染色 (Gram's stain) 法區分六種拮抗細菌之染色反應，若受測菌為革蘭氏陰性菌，培養於 BUGM 培養基 (Biolog Universal Growth Medium, BIOLOG, Inc., CA, USA)；若為革蘭氏陽性菌，則培養於 BUGM + Glucose 培養基。於 28 °C 恆溫培養箱中培養 18 小時後，將細菌懸浮液加入 microplate 中，再於 28 °C 恆溫培養箱內放置 4 或 24 小時後，以細菌自動鑑定儀 (Microstation system Release 3.50, BIOLOG, USA.) 分析鑑定之⁽¹⁶⁾。

拮抗微生物的抑菌特性探討

首先測試拮抗細菌培養代謝液對病原菌生長之影響，將 *Bacillus megaterium* #18 培養於稀釋五倍之 PDB 內，在 25 °C 下，以 120 rpm 振盪培養 2、4、6、8 天或 10 天後，以 0.2 μm 的微孔濾紙 (millipore, Sartorius, Germany) 過濾，所得的無菌濾液與前述稀釋之 PDB 混合，配成含代謝液 1、2、5 % 和 10 % 之培養基質，移入培養於 PDA 平板上菌齡四天的立枯絲核菌菌絲塊一塊 (直徑 6 mm)，在 25 °C 下，以 120 rpm 振盪培養 7 天，取出菌絲塊烘乾並稱重。以完全不含代謝液和加 10 % 蒸餾水之前述稀釋

之馬鈴薯煎汁為對照組，每種處理各三重複。並利用掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope, JEOL T330A, Japan)⁽⁷⁾ 觀察與 *B. megaterium* S26 和 18 共同培養時的立枯絲核菌之菌絲生長情形。

結 果

微生物的分離與拮抗微生物的篩選

自台大農場、宜蘭、溪湖及山地農場種植百合的田間土壤中共分離到 163 株細菌，5 株真菌；由百合植表分離到 117 株細菌，3 株真菌；由百合植體內分離到 45 株細菌。總共分離到 325 株細菌，8 株真菌。將分離到的 325 株細菌，8 株真菌逐一與立枯絲核菌在 PDA 平板上做對峙培養，共得 48 株細菌對立枯絲核菌具生長抑制，且抑制範圍在 0.5 ~ 1.4 cm，而分離所得之 8 株真菌皆無抑制效果。此 48 株菌株與立枯絲核菌以定點共同培養測試，其中有 20 株細菌可有效地抑制立枯絲核菌之生長。測試在鱗片上之競爭佔據檢定，篩選出編號為 #18、#99、#111、S22、S26、Si2 等六株最具拮抗性及競爭佔據能力的菌株，進行以下試驗。

溫室中之生物及化學防治效力評估

將上述六種拮抗菌及四種已知可有效防治立枯絲核菌

的化學藥劑進行百合鱗片球 (cv. Casablanca) 防治試驗，其中以待克利之防治效果最佳 (表一)。而經拮抗菌 #18 處理者在莖長、存活率及病害指數方面和寶克隆處理者無顯著性 ($P=0.05$) 差異；拮抗菌 S26 處理者在莖長、根長、鮮重、乾重和存活率方面與貝芬替處理者無顯著性 ($P=0.05$) 差異，且均顯著地 ($P=0.05$) 比未處理之對照組好 (圖一)。利用百合開花球 (cv. Casablanca) 測試時，亦以待克利 (125 ppm) 降低病害指數之效果最佳 (表二)，於莖長方面，拮抗菌 S26 處理者和健康對照組 (HCK)、待克利及寶克隆處理者無顯著性 ($P=0.05$) 差異，而在健康根數方面，拮抗菌 S26 之效果不如 HCK，但較殺菌劑效果為佳，且顯著地 ($P=0.05$) 使處理種球的生長速率比未防治對照組好 (圖二)。

利用低濃度之待克利 (62.5 ppm) 與拮抗菌 #18 (10^4 CFU/ml) 混合處理鱗片球 (cv. Acapulco)，兩次測試均可使百合莖長明顯地 ($P=0.05$) 較只浸泡待克利 (125 ppm) 的處理高 (表三)，其中第一次試驗，百合的根數明顯地 ($P=0.05$) 較浸泡待克利 (125 ppm) 者多。低濃度之待克利與拮抗菌 S26 之混合施用可明顯地 ($P=0.05$) 增加莖長和鮮重及降低病害指數。而單獨施用拮抗菌 #18 或 S26 的處理，在百合莖長、根數和病害指數方面亦明顯地 ($P=0.05$) 比未防治對照組好。相同的，若以低濃度之待克利與拮抗菌 #18 之混合處理公斤球 (cv. Casablanca)，可降低病害指

表一、在溫室中拮抗菌與化學藥劑對防治立枯絲核菌感染百合 (Casablanca) 鱗片球之效果

Table 1. Effects of antagonists and chemicals on protection of lily (Casablanca) bulblets from the infection by *Rhizoctonia solani* in greenhouse¹

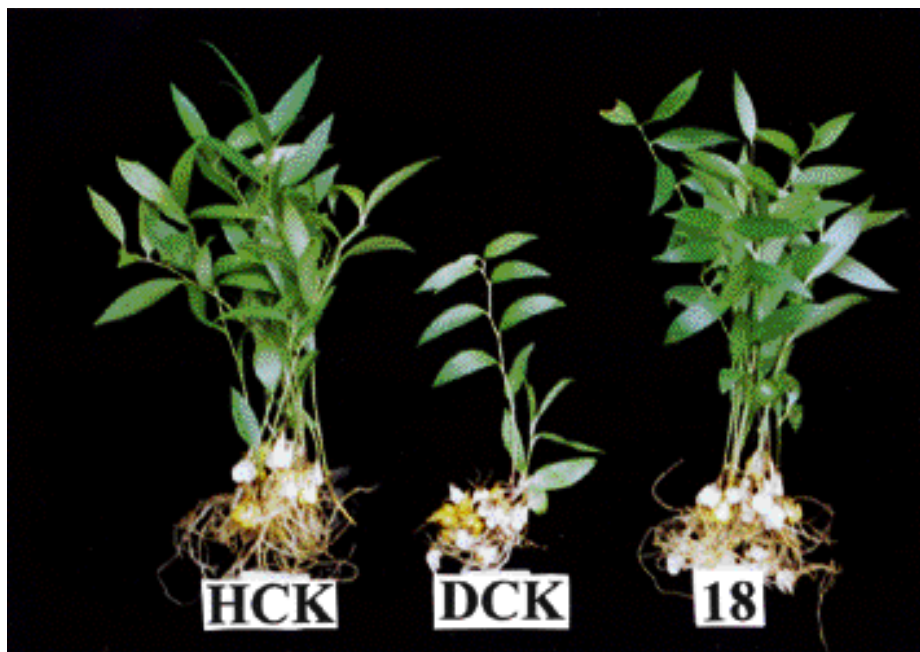
Treatment ²	Stem length (cm)	Root length(cm)	Fresh weight(g)	Dry weight(g)	Survival percentage (%)	Disease severity (%) ³
Disease control	0.63 f4	2.93 e	2.08 f	0.40 f	10 f	77 a
Health control	13.38 b	8.65 ab	7.44 bc	1.60 b	75 a	25 d
<i>Bacillus megaterium</i> Si2	4.50 de	3.25 de	3.62 ef	0.70 ef	25 cdef	73 ab
<i>B.megaterium</i> S22	1.56 ef	3.93 de	3.02 ef	0.58 bc	15 ef	67 ab
<i>B.megaterium</i> S26	5.72 d	7.92 bc	5.02 de	1.00 de	40 bc	64 b
<i>B.megaterium</i> #18	10.16 c	8.46 ab	7.54 b	1.54 bc	50 b	42 c
<i>B.megaterium</i> #99	4.79 de	5.22 cde	4.38 def	0.88 def	35 bcd	66 ab
<i>B.megaterium</i> #111	3.81 def	5.19 cde	3.62 ef	0.74 ef	20 def	67 ab
Carboxin	4.33 de	5.27 cde	3.78 ef	0.64 ef	30 cde	64 b
Carbendazim	6.35 d	7.64 bc	5.14 cde	1.06 cde	40 bc	47 c
Difenconazole	16.86 a	10.93 a	11.50 a	2.38 a	80 a	20 d
Pencycuron	9.53 c	6.18 bcd	6.32 bcd	1.28 bcd	50 b	46 c

¹. Bulblets of lily variety Casablanca were planted for 4 months in greenhouse.

². Bulblets were treated with each antagonist or fungicide in the concentration of 10^9 CFU/ml or 125 ppm, respectively, for 2 hours, and then planted in potting medium containing *R. solani*.

³. Disease rate was classified as six classes ; 0, healthy ; 1, less than 25% ; 2, 26 ~ 50% ; 3, 51 ~ 75% ; 4, more than 76% was infected ; 5, bulbs were completely rot and no bud produced. Disease severity (%) = ((disease rate × no. of plants in the rate) / (5 × total tested plants)) × 100%.

⁴. Data, 5 replications, average of 20 plants, followed by the same letter in each column do not differ significantly at $P=0.05$, according to Duncan's Multiple Range Test.



圖一、拮抗菌 *Bacillus megaterium* 防治百合鱗片球根腐病之效果。HCK：健康鱗片球種植於未含 *Rhizoctonia solani* 之栽培介質；DCK：沒有處理拮抗菌之鱗片球種植於含 *R. solani* 之栽培介質；#18：百合鱗片球浸泡於濃度 10^9 CFU/ml 拮抗菌 (*B. megaterium* #18) 懸浮液再種植於含病菌介質的處理。

Fig. 1. The effect of *Bacillus megaterium* on control of *Rhizoctonia* root rot of lily bulblets. HCK: lily bulblets planted in clean potting medium; DCK: bulblets planted in potting medium infested with *R. solani*; #18: bulblets treated with suspension of *B. megaterium* #18 (10^9 CFU/ml) and planted in medium with *R. solani*.

表二、在溫室中測試拮抗菌及化學藥劑對防治立枯絲核菌感染百合 (Casablanca) 開花球之效果

Table 2. Effects of antagonists and chemicals on protection of lily (Casablanca) bulbs from the infection by *Rhizoctonia solani* in greenhouse

Treatment ¹	Stem length (cm)	Root length (cm)	Total root no.	Healthy roots no.	New root no.	Disease severity (%) ²
Disease control	32.44 bcd ³	18.34 a	6.89 b	2.67 cd	0.00 b	86.11 ab
Health control	38.43 a	23.11 a	10.86 a	6.89 a	1.89 a	5.55 d
<i>Bacillus megaterium</i> Si2	34.56 abc	23.00 a	8.56 ab	3.33 c	1.00 ab	66.67 abc
<i>B. megaterium</i> S22	34.78 abc	21.22 a	7.00 b	3.33 c	0.11 b	61.11 bc
<i>B. megaterium</i> S26	38.22 a	22.56 a	9.89 ab	4.78 b	1.00 ab	55.56 bc
<i>B. megaterium</i> #18	31.06 cd	24.00 a	8.89 ab	3.11 c	0.76 ab	63.89 abc
<i>B. megaterium</i> #99	29.67 d	21.78 a	7.45 b	1.45 de	0.00 b	100.00 a
<i>B. megaterium</i> #111	31.17 bcd	24.45 a	8.33 ab	2.67 cd	0.67 ab	75.00 ab
Carboxin	34.50 abc	20.89 a	7.89 ab	2.00 cde	1.11 ab	58.33 bc
Carbendazim	35.78 ab	19.89 a	7.11 b	0.78 e	0.67 ab	80.56 ab
Difenconazole	37.50 a	21.11 a	8.33 ab	2.22 cde	1.11 ab	13.89 d
Pencycuron	38.06 a	17.99 a	8.33 ab	1.89 cde	1.44 ab	33.33 cd

¹. Bulbs of lily variety Casablanca were planted for 1 month in greenhouse. Bulbs were treated with each antagonist or fungicide in the concentration of 10^9 CFU/ml or 125 ppm, respectively, for 2 hours, and then they planted in potting medium containing *R. solani*.

². Disease rate was classified as six classes ; 0, healthy ; 1, less than 25% ; 2, 26 ~ 50% ; 3, 51 ~ 75% ; 4, more than 76% was infected ; 5, bulbs were completely rot and no bud produced. Disease severity(%)= ((disease rate × no. of plants in the rate) / (5 × total tested plants)) × 100%.

³. Data, average of 12 plants, followed by the same letter in each column do not differ significantly at $P=0.05$, according to Duncan's Multiple Range Test.



圖二、拮抗菌 *Bacillus megaterium* 減少百合開花球被立枯絲核菌感染造成莖基部褐色壞疽之情形。HCK：健康開花球種植於未含 *R. solani* 之栽培介質，DCK：沒有處理之開花球種植於含 *R. solani* 之栽培介質，S26：百合開花球浸泡於濃度 10^9 CFU/ml 拮抗菌 (*B. megaterium* S26) 懸浮液再種植於含病菌介質的處理。

Fig. 2. The effect of *Bacillus megaterium* on protection of lily basal stems from infection by *Rhizoctonia solani*. HCK: lily bulbs planted in clean potting medium; DCK: bulbs planted in potting medium infested with *R. solani*; # S26: bulbs treated with suspension of *B. megaterium* S26 (10^9 CFU/ml) and planted in medium with *R. solani*.

表三、在溫室中拮抗菌及化學藥劑防治立枯絲核菌感染百合 (Acapulco) 鱗片球之功效分析

Table 3. Effects of antagonists and chemicals on protection of lily (Acapulco) bulblets from the infection by *Rhizoctonia solani* in greenhouse

Treatment ¹	Stem length (cm)		Root length (cm)		Total root no.		Fresh weight (g)		Disease severity (%) ²	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Health control	4.05 cd ³	3.57 c	6.08 a	7.33 a	2.15 cd	2.15 a	1.40 abc	1.38 c	37 bc	53 b
Disease control	3.14 d	2.25 d	6.30 a	6.13 a	2.05 d	2.10 a	1.08 c	1.28 c	72 a	74 a
<i>Bacillus megaterium</i> S26	4.73 bc	3.46 c	7.10 a	7.45 a	3.05 a	2.10 a	1.10 c	1.55 bc	43 b	57 ab
<i>B. megaterium</i> #18	4.89 bc	3.26 c	7.93 a	8.00 a	3.20 a	2.40 a	1.43 abc	1.75 bc	43 b	61 ab
1/2Di+1/2 S26	6.74 a	6.68 b	6.51 a	7.83 a	2.75 ab	2.60 a	1.80 a	2.08 ab	21 cde	11 c
1/2Di+1/2 #18	5.90 ab	7.58 a	7.23 a	6.90 a	3.05 a	2.50 a	1.65 abc	2.08 ab	18 e	14 c
1/2 Di	5.89 ab	6.10 b	7.05 a	7.38 a	2.65 abc	2.05 a	1.73 ab	2.05 ab	19 de	22 c
Difenoconazole	4.22 cd	6.84 b	7.25 a	5.95 a	2.25 bcd	2.60 a	1.18 bc	2.35 a	36 bcd	13 c

¹. Bulbets of lily variety Acapulco was planted for 1 month in greenhouse. Bulbets were dipped into suspensions of various antagonists and/or Difenoconazole (125 ppm) for 2 hrs, respectively. The concentration of antagonists, 1/2 antagonists, difenoconazole and 1/2 difenoconazole was 10^9 CFU/ml, 10^4 CFU/ml, 125 ppm, and 62.5 ppm, respectively.

². Disease rate was classified as six classes ; 0, healthy ; 1, less than 25% ; 2, 26 ~ 50% ; 3, 51 ~ 75% ; 4, more than 76% was infected ; 5, bulbs were completely rot and no bud produced. Disease severity(%) = ((disease rate × no. of plant of specific rate) / (5 × total tested plants)) × 100%.

³. Data, average of 20 plants, followed by the same letter in each column do not differ significantly at $P=0.05$, according to Duncan's Multiple Range Test.

數並和健康對照組無顯著性 ($P=0.05$) 差異 (表四)，且在第一次防治試驗中明顯地 ($P=0.05$) 較只浸泡高濃度之待克利的防治效果為佳；而低濃度之待克利與拮抗菌 S26 之混合

施用，和未防治對照組相比，在第一次試驗中，可明顯地 ($P=0.05$) 增加百合種球之鮮重和乾重，第二次試驗則可明顯地 ($P=0.05$) 增加百合莖長，並和健康對照組無顯著性

表四、在溫室中拮抗菌及化學藥劑處理對防治立枯絲核菌感染百合 (Casablanca) 公斤球之效果

Table 4. Effect of antagonists and chemicals on protection of lily (Casablanca) little bulbs from the infection by *Rhizoctonia solani* in greenhouse

Treatment ¹	Stem length (cm)		Rootlength (cm)		Fresh weight (g)		Dry Weight (g)		Disease severity (%) ²	
	I ³	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Health control	25.78 a ⁴	17.04 abc	8.79 a	7.54 ab	9.20 a	19.28 ab	1.80 ab	4.80 ab	0.0 e	15.0 e
Disease control	4.12 c	11.16 cd	5.71 b	6.50 bc	5.78 bc	18.33 ab	1.88 ab	4.40 ab	66.8 a	63.4 ab
S26 (coating)	4.65 c	5.79 d	7.21 ab	4.67 c	6.65 abc	11.33 c	1.93 ab	3.25 b	71.8 a	71.6 a
#18 (coating)	7.95 c	12.34 bcd	6.38 b	7.50 ab	5.25 c	14.73 bc	1.50 b	3.80 ab	43.4 bc	51.6 abc
S26 (dipping)	4.79 c	10.99 cd	7.12 ab	8.21 ab	5.28 c	17.05 ab	1.63 ab	4.40 ab	68.4 a	39.8 bcd
#18 (dipping)	7.83 c	12.00 bcd	7.08 ab	8.33 ab	6.75 abc	15.58 bc	1.85 ab	3.90 ab	56.8 ab	60.0 ab
1/2Di+1/2 S26	15.08 b	19.83 a	7.79 ab	8.25 ab	8.83 a	17.75 ab	2.25 a	4.80 ab	30.0 cd	28.4 cde
1/2Di+1/2 #18	18.84 b	20.27 a	7.58 ab	9.92 a	6.90 abc	19.23 ab	1.55 ab	4.35 ab	1.6 e	15.0 e
1/2 Di	19.33 b	18.11 abc	7.67 ab	9.21 ab	7.28 abc	18.83 ab	1.75 ab	4.58 ab	18.2 de	30.0 cde
Difenoconazole	20.93 ab	18.83 ab	7.88 ab	9.58 a	8.35 ab	21.10 a	1.65 ab	5.05 a	28.4 cd	18.2 de

¹. Little bulbs of Casablanca lily were planted for 1 month in greenhouse. S26 and #18 (coating): little bulbs were coated with antagonists; *Bacillus megaterium* S26 and #18 (dipping): dipped into antagonists (conc. 10^6 CFU/ml); 1/2Di+1/2S26 and 1/2Di+1/2#18: dipped into antagonists (10^3 CFU/ml) and 62.5 ppm difenoconazole. Di or 1/2Di: dipped into 125 ppm or 62.5 ppm of difenoconazole, respectively.

². Disease rate was classified as 6 classes; 0, healthy; 1, less than 25%; 2, 26 ~ 50%; 3, 51 ~ 75%; 4, more than 76% was infected; 5, bulbs were completely rot and no bud produced. Disease severity(%) = ((disease rate × no. of plants in the rate) / (5 × total tested plants)) × 100%

³. Data, average of 12 plants, followed by the same letter in each column do not differ significantly at $P=0.05$, according to Duncan's Multiple Range Test.

($P=0.05$) 差異，而兩次試驗均可明顯 ($P=0.05$) 降低病害指數；但單獨施用拮抗菌 (10^6 CFU/ml) 之防治效果不彰。

田間生物及化學防治試驗

以 125 ppm 的待克利處理鱗片球 (cv. Casablanca)，所獲出土數和株高方面之效果最佳，而根據葉片數方面之評估，處理組間無顯著性 ($P=0.05$) 差異。而 Acapulco 鱗片球之株高方面，在第二、第三和第四個月時，以低濃度之待克利與拮抗菌 #18 混合施用的株高最高 (表五)，第三個月時之葉片數亦為此種處理最多，並且和對照組有顯著性 ($P=0.05$) 差異，但種植五個月後，於出土數、株高和葉片數方面，各處理間已無顯著性 ($P=0.05$) 差異。各處理對 Casablanca 公斤球，在株高和葉片數方面，並無顯著性 ($P=0.05$) 差異，而在第二個月時，僅於出土數方面，以半量藥劑及單獨拮抗菌 S26 的處理，可表現較佳的效果。

拮抗微生物的鑑定

經革蘭氏染色之結果，#18、S22 及 S26 為革蘭氏陽性，#99、#111 及 Si2 為革蘭氏陰性，進一步利用細菌自動鑑定儀 (BIOLÓG) 分析，初步鑑定得知，#18 及 S26 為 *Bacillus megaterium*，S22 為 *Bacillus brevis*，#99 及 #111 為 *Burkholderia gladioli*，Si2 為 *Burkholderia cepacia*。

拮抗微生物的抑菌特性探討

Bacillus megaterium #18 經培養兩天，所產生之代謝液濃度需達 5% 才可有效抑制立枯絲核菌生長；培養四及六天後，代謝液濃度在 1% 以上時，即可有效抑制立枯絲核菌生長 (圖三)。在掃描式電子顯微鏡下觀察，拮抗菌 *B. megaterium* S26 和 #18 能附著於立枯絲核菌的菌絲上並引起菌絲之變形、膨大和凹陷，甚至會造成菌絲崩潰溶解的現象，嚴重影響該病原菌之正常生長 (圖四)。

討 論

經由對峙、共同培養及鱗片上競爭佔據測試所篩選獲得的六株拮抗細菌，其中 #18、S26、S22 為 *Bacillus* spp.，#99、#111、Si2 為 *Burkholderia* spp.，這兩屬的細菌，均有應用於生物防治的成功實例，如 *B. subtilis* 可產生多達 66 種的抗生物質⁽²²⁾，其中 inturin 的作用對象包括許多真菌及少數細菌⁽³⁹⁾；另 *B. cereus* Frankland UW85 產生之 zwittermicin A 可抑制多種植物病害^(18,19)。除抗生作用外，*Bacillus* sp. 亦可快速纏繞植株根系，和病原菌競爭養份及空間，而達防治病害的效果^(30,31)。而 *Pseudomonas* spp. 產生之抗生物質，則以 pyrrolnitrin 與 pyoluteorin 為主^(21,40)。

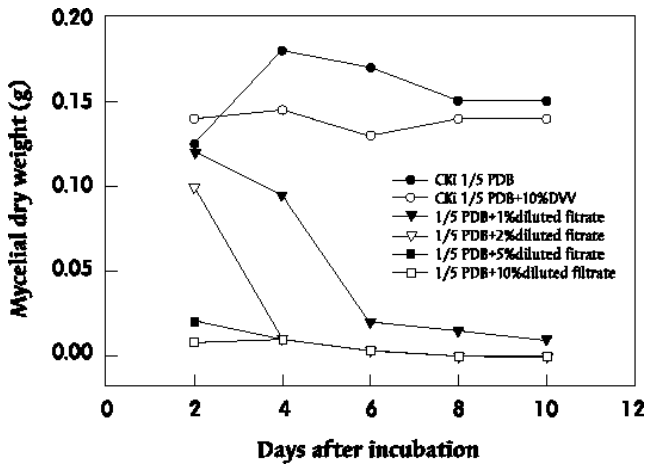
篩選所得具拮抗能力之六株拮抗細菌經多次在鱗片球及開花球上之生物檢定確定 *B. megaterium* S26 與 #18，可有效防治百合 *Rhizoctonia* 病害 (表一、二)。*B. megaterium* #18 是由百合植株葉表分離而得，*B.*

表五、田間不同拮抗菌及藥劑處理對 Acapulco 百合鱗片球生育之影響

Table 5. Effects of antagonists and chemicals on the production of bulblets of Acapulca lily in the field¹

Treatment ²	No. bulblet produced					Shoot length (cm)				Leaf number		
	1 ³	2	3	4	5	2	3	4	5	3	4	5
Control	31.00 ab	29.00 b	7.75 ab	3.00 a	1.25 a	7.55 b	7.38 b	3.13 a	1.08 a	3.19 b	0.71 a	0.41 a
Bacillus megaterium S26	26.00 bc	22.50 b	7.75 ab	3.75 a	1.50 a	6.25 c	6.92 b	2.79 a	1.58 a	4.75 ab	0.83 a	0.79 a
B. megaterium #18	19.25 c	20.00 ab	8.00 ab	2.00 a	1.75 a	5.35 d	8.13 ab	4.00 a	0.78 a	4.00 ab	2.46 a	0.31 a
1/2Di+1/2 S26	32.75 ab	26.75 b	5.50 b	1.75 a	1.50 a	9.15 a	10.50 a	1.67 b	1.19 a	3.42 b	1.63 a	0.55 a
1/2Di+1/2 #18	45.50 ab	43.25 ab	28.50 ab	19.25 a	12.50 a	11.15 a	13.13 a	11.31 a	6.09 a	6.44 a	3.92 a	3.09 a
1/2Di	40.75 ab	39.75 ab	22.00 ab	9.00 a	6.00 a	9.98 a	11.44 a	10.83 a	3.80 a	6.13 ab	5.04 a	2.91 a
Difenoconazole	48.25 a	53.50 a	31.00 a	17.50 a	14.00 a	10.55 a	11.44 a	8.17a	2.59 a	5.81 ab	2.88 a	1.94 a

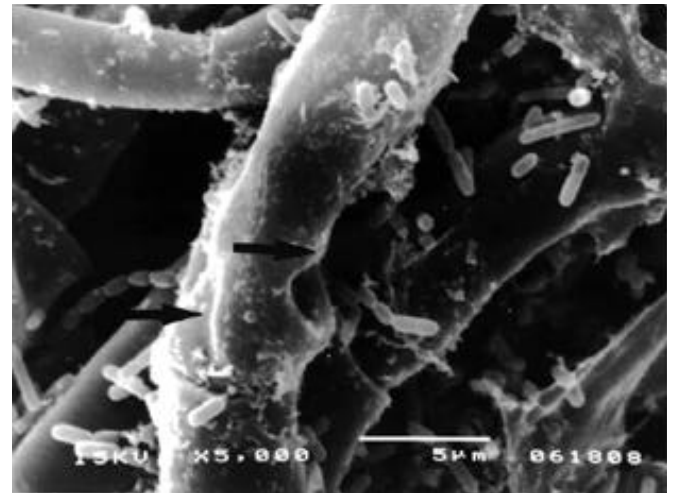
- The test was carried out at the Shi-Who farm of Taiwan sugar company.
- S26 and #18, bulblets were first dipped into antagonists (10⁹ CFU/ml) and then dusted again ; 1/2 Di+1/2 S26 and 1/2 Di+1/2 #18: dipped into antagonists (10⁴ CFU/ml) and 62.5 ppm difenoconazole; 1/2Di and Di: dipped into difenoconazole at 62.5 ppm and 125 ppm, respectively.
- Lily bulblets were planted on Nov. 16 in 1998, and number indicates the month after planting.
- Data, four replications and 150 bulblets per treatment, followed by the same letter in each column do not differ significantly, P=0.05, according to Duncan's Multiple Range Test.



圖三、*Bacillus megaterium* #18 代謝液對立枯絲核菌菌絲生長的影響。

Fig. 3. Effect of filtrates of *Bacillus megaterium* #18 on inhibition of mycelial growth of *Rhizoctonia solani*.

megaterium S26 是從台大山地農場所種植之百合根圈內分離所得，由此觀之，彼等之防治效果，可能為它們原屬百合小生境 (ecological niche) 內之生物，而較能有效地纏據於百合根系上之故。Lin & Sinclair⁽²⁷⁾ 報導由田間種植的大豆根冠分離之 *B. megaterium* B153-2-2 可在溫室和田間有效地防治立枯絲核菌引起之大豆根腐病，並且可促進大豆根部生長，而被認為是具生物防治潛力之拮抗菌^(25, 26)，當 B153-2-2 被施用於田間，可在兩星期內快速地在大豆根圈建立有效抑制立枯絲核菌生長之族群數 (10⁶ CFU/g soil)，並且如此之族群量可維持整個生長季^(24, 28, 29)，B153-2-2 經過生化測試得知，其對於大豆的根和種子所分泌之有機酸和氨基酸具很強的趨化反應，此有利於其在大



圖四、*Bacillus megaterium* S26 造成立枯絲核菌菌絲凹陷破洞之情形。

Fig. 4. Malformation of hyphae of *Rhizoctonia solani* caused by *Bacillus megaterium* S26.

豆根圈和其他土壤微生物競爭^(43, 44)，除此，B153-2-2 會產生大量之 extracellular endoproteinase 和 phospholipase，其中 calcium-dependent neutral endoproteinase 會使立枯絲核菌分泌之分解酵素不活化⁽¹⁵⁾。

本實驗僅初步得知 *B. megaterium* #18 的濾液中也含有可抑制 *R. solani* 生長的物質，但其成份究係為何，則有待探究。除抗生作用外，*B. megaterium* #18 與 S26 尚可附著殖於 *R. solani* 菌絲上，引起菌絲之變形、膨大和凹陷，甚至會造成菌絲崩潰溶解的現象，嚴重影響該病原菌之正常生長，此種拮抗現象和 *B. megaterium* B153-2-2 會產生分解酵素抑制立枯絲核菌生長之作用可能有關⁽¹⁵⁾，至於

B. megaterium #18 或 S26 可產生何種 *R. solani* 分解酵素，則有待進一步探討。當利用萎靈、貝芬替、寶克隆和待克利在溫室中進行防治試驗時，得知待克利最具防治百合 *Rhizoctonia* 病害之效果。相似地，Mathoeson 與 Rush⁽³³⁾ 以待克利處理冬麥種子，可增加其在含立枯絲核菌土壤中之出土率，減少 *Rhizoctonia* 根腐病之發生；另外待克利尚可有效抑制多種引起植物病害之病原菌，如 *Alternaria solani* Sorauer⁽³⁸⁾、*Tilletia controversa* Kuhn.⁽²³⁾、*Spilocoaea oleaginea* (Castagne) Hughes⁽³⁷⁾、*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.⁽¹⁷⁾、*Cercospora arachidicola*. Hori⁽¹⁷⁾ 和 *Cercospora zae-maydis* Tehon & Daniels⁽⁴¹⁾。

由於應用拮抗菌防治病害時會受限於許多生態因子，而可能影響病害防治之效果，為彌補此方面之欠缺，本試驗中乃採用少量殺菌劑輔助之，以期達到相輔相成之綜合防治效果。如 Mari 等人⁽³²⁾ 將 *Bacillus* spp. 與依普同 (iprodione) 混合施用防治梨灰黴病 (*Botrytis cinerea*) 會得到較個別施用者為佳之防治效果，O'Neill 等人⁽³⁶⁾ 利用拮抗菌與化學藥劑共同施用，除可減少殺菌劑在果實上之殘留，還可減少灰黴病抗藥性菌株之產生。而在本試驗中，混合施用 62.5 ppm 之待克利與 *B. megaterium* #18 (10^4 CFU/ml)，不論在公斤球或鱗片球上的 *R. solani* 防治，均可降低病害級數，在公斤球之兩次試驗中，此處理和健康對照組無顯著性 ($P=0.05$) 差異，且較 125 ppm 之待克利之效果為佳 (表四)；而在鱗片球的兩次試驗中，病害級數甚至低於健康對照組 (表三)。而且混合施用 62.5 ppm 之待克利與 *B. megaterium* S26 (10^4 CFU/ml)，可明顯增加百合種球的鮮重和乾重，亦明顯地 ($P=0.05$) 降低病害級數 (表三，表四)；且兩者在鱗片球上之試驗，皆可明顯地 ($P=0.05$) 增加百合之莖長 (表三)；由此觀之，這兩株拮抗菌和殺菌劑混合施用，不但不會降低拮抗菌的活性，反而可增進藥劑之防治效果，具有應用於綜合防治上的潛力。

在萬興農場進行之田間試驗，各種處理組和未處理之對照組相比，只有在第二和第三個月調查時，低濃度之待克利與 *B. megaterium* #18 混合施用的處理會使 Acapulco 鱗片球的株高有顯著性 ($P=0.05$) 的增加，其餘的處理間皆無顯著性 ($P=0.05$) 差異，且此田間試驗的百合鱗片球之發芽株數普遍偏低，以殺菌劑處理者亦不例外，此可能是由於田間之影響因子過於複雜外，也可能因為這兩株拮抗菌主要防治對象為 *R. solani*，而田間土中尚存有許多種其他病原及次要有害生物之故，由於拮抗菌拮抗作用之專一性，以致防治的功效未能彰顯。

謝 辭

本研究承台糖公司和國科會 (編號 87 TSC-B002-008 和 NSC 88-TSC-B002-004) 經費補助，特誌謝忱。

引用文獻

1. 方金國、李敬修. 1994. 本省百合鱗片斑點病 (黃化) 之發生. 植病會刊 3(4):254 (摘要).
2. 安寶貞、羅朝村、謝廷芳. 1992. 台灣百合之疫病. 植保會刊 34(1):64-69.
3. 台灣農業年報. 1998. 台灣省政府農林廳出版. 霧峰. 398 頁.
4. 吳文希. 1988. 植物土媒病原學 (立枯絲核菌之性質及防治). 國立編輯館出版. 台北. 259 頁.
5. 張清安. 1994. 台灣花卉病毒病害. 台灣花卉病蟲害研討會專刊. p.213-224.
6. 陳淑康. 1989. 百合根腐病病因、生態及防治之探討. 臺大植病所碩士論文. 179 頁.
7. 陳家全、李家維、楊瑞森. 1991. 生物電子顯微鏡學. 國科會精儀中心出版. 新竹. 266 頁.
8. 無名氏. 1997. 花百科週刊 (4) 香水百合. 陳俞君等編. 花百科雜誌社出版. 台北. 35 頁.
9. 蔡月夏. 1995. 百合. 第 585-588 頁. 台灣農家要覽農作篇 (二). 農委會編著. 財團法人豐年社出版. 台北. 698 頁.
10. 謝廷芳、杜金池. 1994. 百合白絹病之發生與防治. 台灣花卉病蟲害研討會專刊 p.11-22.
11. 謝廷芳、杜金池. 1993. 本省百合灰黴病之發生. 植保會刊 35(4):355 (摘要).
12. Bald, J. G., and Chandler, P. A. 1957. Reduction of the root rot complex on Croft lilies by fungicidal treatment and propagation from bulb scales. *Phytopathology* 47:285-291.
13. Bald, J. G., Chandler, P. A., Lenz, J. V., Sciaroni, R. H., and Paulus, A. O. 1958. Root rot of Easter lilies. *Calif. Agric.* 12(4):3-14.
14. Bald, J. G., Kofranek, A. M., and Lunt, O. R. 1955. Leaf scorch and *Rhizoctonia* on Croft lilies. *Phytopathology* 45:156-162.
15. Bertagnolli, B. L., Dal Soglio, F. K., and Sinclair, J. B. 1996. Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008. I. Possible correlations with inhibition of growth and biocontrol. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 48:145-160.
16. Chen, T. W., and Wu, W. S. 1999. Biology control of carrot black rot. *J. Phytopathology* 147:99-104.
17. Dahmen, H., and Staub, T. 1992. Protective, curative, and eradicant activity of difenoconazole against *Venturia inaequalis*, *Cercospora arachidicola*, and *Alternaria solani*. *Plant Dis.* 76(8):774-777.
18. Handelsman, J., Raffel, S., Mester, E. H., and Grau, C. R. 1990. Biological control of damping-off of alfalfa seedlings by *Bacillus subtilis* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:713-718.

19. Handelsman, J., Nesmith, W. C., and Raffel, S. 1991. Microassay for biological and chemical control of infection of tobacco by *Phytophthora paracitica* var. *nicotianae*. *Curr. Microbiol.* 22:317-319.
20. Hsieh, T. F., Chang, Y. C., and Tu, C. C. 1996. The occurrence of *Rhizoctonia* seedling blight of lily on Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 5:80-84.
21. Jayaswal, R. K., Fernandez, M. A., Visintin, L., and Upadhyay, R. S. 1992. Transposon Tn5-259 mutagenesis of *Pseudomonas cepacia* to isolate mutants deficient in antifungal activity. *Can. J. Microbiol.* 38:309-312.
22. Katz, E., and Demain, A. L. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriol. Rev.* 41:449-474.
23. Keener, T. K., Stougaard, R. N., and Mathre, D. E. 1995. Effect of winter wheat cultivar and difenoconazole seed treatment in dwarf bunt. *Plant Dis.* 79(6):601-604.
24. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1988. Colonization and population dynamics of *Bacillus* isolate B153-2-2 on soybean root and rhizosphere. *Phytopathology* 78: 1523 (Abstr.).
25. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1989. A primary study of biological control of *Rhizoctonia* damping-off, root and crown decay of soybeans. *J. Cell Biochem. Suppl.* 13A: 177 (Abstr.).
26. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1990. Enhanced soybean root growth and nodulation by *Bradyrhizobium* in the presence of strains of *Bacillus megaterium* B153-2-2 in soybean rhizosphere soil. *Phytopathology* 81: 1179 (Abstr.).
27. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1991. Effects of seed coating by *Bacillus* spp. on suppression of *Rhizoctonia* damping-off, root and stem rot on soybeans. *Biol. Cult. Tests* 6: 62.
28. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1991. Population dynamics of *Bacillus megaterium* B153-2-2 in soybean rhizosphere soil. *Phytopathology* 81: 1179 (Abstr.).
29. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1992. Population dynamics of *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 in the rhizosphere of soybean. *Phytopathology* 82: 1297-1301.
30. Liu, Z. L., and Sinclair, J. B. 1993. Colonization of soybean roots by *Bacillus megaterium* B153-2-2. *Soil Biol. Biochem.* 25:849-855.
31. Mapleatone, P. A., and Campbell, R. 1989. Colonization of roots of wheat seedlings by *Bacillus* proposed as biocontrol agents against take-all. *Soil Biol. Biochem.* 21:543-550.
32. Mari, M., Guizzardi, M., and Pratella, G. C. 1996. Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. *Biol. Control* 7(1):30-37.
33. Mathoeson, J. T., and Rush, C. M. 1991. Influence of temperature and give fungicides on *Rhizoctonia* root rot of hard red winter wheat. *Plant Dis.* 75:983- 986.
34. McWhorter, F. P. 1945. The diseases of *Lilium longiflorum* in the Pacific Northwest. *Plant Dis. Reprtr.* 29:40-43.
35. McWhorter, F. P. 1957. Association between *Rhizoctonia* and yellow coloration of Easter lily bulbs. *Phytopathology* 47:447-448.
36. O'Neill, T. M., Elad, Y., Shtienberg, D., and Cohen, A. 1996. Control of grapevine gray mould with *Trichoderma harxianum* T39. *Biocontrol Sci. Technol.* 6(2):139- 146.
37. Shabi, E., Birger, R., and Lavee, S. 1994. Leaf spot (*Spilocaea oleaginea*) of olive in Isreael and its control. *Acta. Hort.* 356:390-394.
38. Shtienberg, D., Blachinsky, D., Ben-Hador, G., and Dinooor, A. 1995. Integration of genotype and age-related resistances to reduce fungicide use in management of *Alternaria* disease of cotton and potato. *Phytopathology* 85(9):995-1002.
39. Sholberg, P. L., Marchi, A., and Bechard, J. 1995. Biocontrol of postharvest diseases of apple using *Bacillus* spp. isolated from stored apples. *Can. J. Microbiol.* 41:247-252.
40. Wakimoto, S., Hirayae, K., Tsuchiya, K. Kushima, Y. Furuya, N., and Matsuyana, N. 1986. Production of antibiotics by plant pathogenic *Pseudomonas*. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.* 52:835-842.
41. Ward, J. M. J., Laing, M. D., and Nowell, D. C. 1997. Chemical control of maize grey leaf spot. *Crop. Prot.* 16(3):265-271.
42. Wu, W. S., and Chou, J. K. 1995. Chemical and biological control of *Alternaria carthami* on zinnia. *Seed Sci. Technol.* 23:193-200.
43. Zheng, X. Y., and Sinclair, J. B. 1996. Chemotactic response of *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 to soybean root and seed exudates. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 48: 21-35.
44. Zheng, X. Y., and Sinclair, J. B. 1996. Screening and

ABSTRACT

Chung, I. Y¹, and Wu, W. S^{1,2}. 2000. Effects of *Bacillus megaterium* on controlling lily root rot caused by *Rhizoctonia solani*. *Plant Pathol. Bull.* 9:59-68. (¹ Department of Plant Pathology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan R.O.C. ; ² Corresponding author, e-mail: hoganwu@ccms.ntu.edu.tw ; fax 02-23660148)

Lily root rot caused by *Rhizoctonia solani* AG-4 is one of the limiting factors for producing healthy lily

bulbs in Taiwan. A total of 325 isolates of bacteria and 8 isolates of fungi were obtained from the rhizosphere soil and tissues of lilies. Six isolates of bacteria were able to inhibit the mycelial growth of *R. solani* on cultural media and had better competitive saprophytic ability to colonize on lily bulbs. Among them, *Bacillus megaterium* S26 and #18 were proved to have the ability in reducing significantly ($P=0.05$) damping-off of lily seedlings. Besides, the antagonists increased significantly ($P=0.05$) the fresh and dry weights of lilies. In greenhouse, lily bulbs treated with the mixture solution of low concentration of *B. megaterium* S26 or #18 (10^4 CFU/ml) and difenoconazole (62.5 ppm) grew significantly ($P=0.05$) better than bulbs treated with 125ppm difenoconazole only, but not significantly different from those of the healthy controls. However, the effects of controlling *R. solani* by the same antagonists in the fields were not as obvious as those tests in greenhouse. One percentage of cultural filtrates of *B. megaterium* #18, which was cultured in PDB for 6 days, was effective to inhibit the mycelial growth of *R. solani*. Meanwhile, *B. megaterium* S26 could colonize on the hyphae of *R. solani* and caused malformation and lysis of the infected hyphae eventually.

Key words : *Bacillus megaterium*, *Rhizoctonia solani*, biocontrol, lily
isolation of mutants of *Bacillus megaterium* B153-2-2 for

motility, chemotaxis, antagonism, and sporulation.