

## 促進番茄生長根棲細菌之篩選及 防治青枯病之測試

鄧雅靜<sup>1</sup> · 曾國欽<sup>1</sup> · 徐世典<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 台中市國立中興大學植物病理學系

<sup>2</sup> 聯絡作者，電子郵件：sthsu@mail.nchu.edu.tw；傳真：+886-4-22877585

接受日期：中華民國 95 年 5 月 10 日

### 摘 要

鄧雅靜、曾國欽、徐世典. 2006. 促進番茄生長根棲細菌之篩選及防治青枯病之測試. 植病會刊 15:83-95

自台灣中部不同地區數種作物之根系、根圈土壤及根部周圍土壤分離之 396 株細菌菌株被覆於番茄種子後，利用套袋塑膠培養皿系統於生長箱篩選，約有 20% 菌株能提高種子發芽率且促進幼苗之根生長，再以含泥炭土栽培介質之穴盤系統測試，共有 14 株菌株不論在滅菌或未滅菌之泥炭土中，均有促進根生長之效果，其中 RS4、RS65 及 RS70 三菌株表現最佳，不僅增加根長度，莖長度、植株鮮重及乾重 (RS65 菌株除外) 亦顯著大於無處理對照組。將此三菌株進一步在民間一處育苗場以泥炭土穴盤育苗方式，評估其促進番茄生長之效益，結果顯示不論以種子被覆處理 (浸種 30 分鐘或隔夜) 或以澆灌處理 (播種後再澆灌細菌懸浮液) 皆顯著提高種子發芽率，此外，此三菌株以澆灌或浸種 30 分鐘處理者，對幼苗多種性狀，如胚軸高、莖粗、地上部鮮重、地下部鮮重、葉數、最大葉長、最大葉寬、葉面積、地上部乾重及地下部乾重均顯著大於對照組，但以浸種隔夜處理者，各菌株表現差異大。此三菌株以浸種及澆灌處理後在泥炭土 (含根) 中，除 RS65 菌株浸種 30 分鐘者外，於播種後 21 天內均能維持高族群量，其中又以澆灌處理者之菌量較高。上述具有促進番茄生長之 14 株菌株中，有 11 株在供試三種培養基上對青枯病菌 PS152 之生長皆無抑制作用，但在溫室及生長箱內以種子被覆或幼苗澆灌處理，有 9 株可顯著降低番茄青枯病之發病程度，而在生長促進測試上表現最佳之 RS4、RS65 及 RS70 三株菌株，在防治青枯病之效果上亦最優。此三株菌株經鑑定，RS4 為 *Chryseobacterium* sp.，RS65 及 RS70 菌株為 *Streptomyces* spp.，但種名均無法確認。

關鍵詞：番茄、根棲細菌、生長促進、青枯病防治

### 緒 言

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) (6, 20, 21, 23, 35, 36)。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<sup>(13)</sup>。有些根棲細菌

可抑制及改變根圈微生物<sup>(20)</sup>，或於根圈產生嵌鐵物質 (siderophores)<sup>(22, 23)</sup>、抗生物質 (antibiotics)<sup>(12, 43)</sup> 或氰酸 (hydrogen cyanide)<sup>(1)</sup> 以抑制病原菌和其他有害根棲細菌 (deleterious rhizobacteria)<sup>(20, 37)</sup> 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<sup>(33, 44)</sup>。直接促進植物生長作用，乃因 PGPR 產生植物質爾蒙或提供可利用之養分，如固氮、土壤中可溶性鐵<sup>(13)</sup>。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<sup>(38)</sup> 及 *Pseudomonas cepacia* 菌株<sup>(4)</sup> 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<sup>(31)</sup>。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，也開啓了植物病害防治的新途徑<sup>(4)</sup>。

PGPR 具有促進植物生長及病害防治之功效，在農業生產管理上有應用價值。國內有關 PGPR 及其誘導抗病之研究甚為缺少，有待加強研發，進而推廣應用。本研究以番茄青枯病之防治為目標，首先進行對番茄生長具有促進效果的根棲細菌之分離與篩選，再探討其防病效果。由 *Ralstonia solanacearum* 引起的青枯病是熱帶、亞熱帶地區番茄生產上的重要限制因子，發展綜合防治法為目前防治本病害之主要策略，而施用有效的 PGPR 菌株可做為綜合防治中的一項措施，以增加整體之防治效率。本文就篩選 PGPR 菌株之流程及評估其對番茄生長之影響及對青枯病之防治效果提出報告。

表一、本研究分離之細菌菌株來源

Table 1. Sources of bacterial strains isolated in this study

Strain no.	Field crop	Sample for isolation	Location
R 1-14	eggplant	root	Ell-Shoei, Changhua (彰化縣二水鄉)
R 15	hot pepper	root	Ell-Shoei, Changhua (彰化縣二水鄉)
R 16-30	eggplant	root	Ell-Shoei, Changhua (彰化縣二水鄉)
R 31-48	eggplant	root	Puu-Shin, Changhua (彰化縣埔心鄉)
R 49-66	eggplant	root	Tyan-Woei, Changhua (彰化縣田尾鄉)
R 67-71	hot pepper	root	Tyan-Woei, Changhua (彰化縣田尾鄉)
R 72-77	sweet persimmon	root	Ho-Pin, Taichung (台中縣和平鄉)
R 78-91	tomato	root	Hsin-She, Taichung (台中縣新社鄉)
R 92-121	sweet pepper	root	Tsuey-Feng, Nantou (南投縣仁愛鄉)
R 122-131	tomato	root	Hsin-She, Taichung (台中縣新社鄉)
R 132-173	eggplant	root	Ell-Shoei, Changhua (彰化縣二水鄉)
R 174-195	tomato	root	Hsin-She, Taichung (台中縣新社鄉)
R 196-202	sweet persimmon	root	Ho-Pin, Taichung (台中縣和平鄉)
RS 1-20	tomato	rhizosphere soil	Hsin-She, Taichung (台中縣新社鄉)
RS 21-45	sweet pepper	rhizosphere soil	Tsuey-Feng, Nantou (南投縣仁愛鄉)
RS 46-53	tomato	rhizosphere soil	Hsin-She, Taichung (台中縣新社鄉)
RS 54-107	tomato	rhizosphere soil	Hsin-She, Taichung (台中縣新社鄉)
SR 1-26	eggplant	soil around root	Ell-Shoei, Changhua (彰化縣二水鄉)
SR 27-43	eggplant	soil around root	Puu-Shin, Changhua (彰化縣埔心鄉)
SR 44-59	eggplant	soil around root	Tyan-Woei, Changhua (彰化縣田尾鄉)
SR 60-66	hot pepper	soil around root	Tyan-Woei, Changhua (彰化縣田尾鄉)
SR 67-75	sweet persimmon	soil around root	Ho-Pin, Taichung (台中縣和平鄉)
SR 76-87	tomato	soil around root	Hsin-She, Taichung (台中縣新社鄉)

## 材料與方法

### 細菌菌株之分離與保存

自台灣中部地區之作物栽培區 (表一)，採集作物根系及根系周圍土壤進行細菌菌株分離。將 10 克的根系周圍土壤或根圈土壤，加入裝有 90 ml 無菌水之三角瓶中，震盪 30 分鐘後，將懸浮液劃線於營養成分減半之營養培養基 (1/2 nutrient agar, 1/2 NA, Difco) 平板上，而根部細菌之分離，則是取數段根部組織置於裝有無菌水之試管內，震盪後以移植環沾取懸浮液，劃線於 1/2 NA 培養基平板上。於 30°C 培養 2-3 天後，自每皿平板中隨機挑取 3-5 個型態或顏色相異之菌落。經重複平板劃線挑取單一菌落純化後，再於 NA 培養基培養後移植懸浮於裝有無菌水的螺旋保存管中，於室溫下保存。本研究共分離得到 396 株細菌菌株 (表一)。

### 利用套袋塑膠培養皿系統篩選對番茄生長具有促進作用之細菌菌株

將保存於無菌水中的細菌菌株，劃線於 1/2NA 培養基平板上，於 30°C 培養 2 天後，以移植環挑取菌落懸浮於無菌水中，而後以微量吸管吸取 0.1 ml 滴入 NA 培養基平板上，以滅菌過之 L 型玻棒均勻塗抹，置於

30°C 培養 24-48 小時，再以 10 ml 的無菌水將整皿細菌洗下，製成細菌懸浮液。隨後將 30 粒番茄（雙福品種）種子浸泡於每一細菌懸浮液中 1 小時後，取出種子並置於滅菌過之濾紙上，在無菌操作箱內吹乾 30 分鐘，使種子表面被覆一層細菌，對照組則以無菌水處理，然後，將這些種子播於襯有以用無菌水溼潤之粗紙之培養皿（9 cm）內，每一培養皿播 10 顆種子，並套上火鏈塑膠袋（200×140×0.04 mm）保濕，袋角以剪刀剪一切口，隨後放置於日溫 30°C，夜溫 25°C，光照 12 小時之生長箱中，15 天後，記錄其發芽率、莖長、根長及根粗細，以選取對番茄生長具有促進效果之菌株。每個處理三重覆。

### 泥炭土穴盤育苗法測試細菌菌株對番茄幼苗生長之影響

由上述方法篩選出之菌株進一步以穴盤育苗方式進行評估，將 8×16 孔之塑膠穴盤裁剪為每一處理之穴盤為 8×3 孔（孔徑 3.5 公分，高 4.5 公分），並填裝 finnpeat 泥炭土（KEKKILA，芬蘭）於穴盤內。再將番茄種子依上述方法被覆細菌菌株後，播種於穴盤內，每一孔播 1 粒種子，每個處理 20 粒種子，對照組以無菌水處理種子，隨後將這些穴盤放置於日溫 30°C，夜溫 25°C，光照 12 小時之生長箱中觀察。其中泥炭土又分有與無經高壓蒸氣滅菌處理，以比較泥炭土中之微生物是否會影響供試細菌菌株促進番茄幼苗生長之能力。在播種後一個月，將整盤育苗盤泡入裝滿水之塑膠盆內，待介質吸水飽和後，再將番茄苗自介質中小心取出，置於擦手紙上吸取多餘水分，然後量其根、莖長度及全株乾、鮮重。試驗重覆兩次。

### 在育苗場之番茄生長促進試驗

由上述兩種篩選過程中表現較佳之菌株為供試菌株，測試其在一般育苗場環境下對番茄幼苗生長之促進效果。試驗在彰化大村鄉富田育苗場進行。各菌株分種子被覆與澆灌處理。種子被覆處理者是將種子（農友 276 號）依上述方法被覆細菌菌株，唯浸泡時間分別為 30 分鐘及隔夜，再將種子播種於填裝有 N-1 泥炭土（Neuhaus，德國）之塑膠穴盤（8×16 孔），每一孔（直徑 3.5 公分，高 4.5 公分）播 1 粒種子，每個處理 128 粒種子，同一處理播於同一穴盤內，每個處理重覆二次，對照組以無菌水處理。種子播種後，於室內靜置一夜催芽，再放置於育苗場（溫度為 23-41.2°C）中，育苗時期之肥料農藥管理依育苗場農友管理方式進行。播種後在第一週時每日調查發芽率，每週分別採取 10 株幼苗調查其園藝性狀，性狀之調查項目包括胚軸高、莖

粗、地上部鮮重、地下部鮮重、葉數、最大葉長、最大葉寬、葉面積、地上部乾重及地下部乾重。澆灌處理者是將未經處理之種子播種於穴盤後，再於每一穴盤內澆灌 500 ml 之細菌懸浮液（ $10^8$  cfu/ml），其他各項步驟均與種子被覆處理者相同。

### PGPR 菌株於栽培介質（含根）中之族群變化

育苗場試驗進行之同時亦測定各菌株在穴盤栽培介質中之族群變化。由播種後每隔一週共三週，將上述已浸種及澆灌處理後所長出之番茄幼苗連同泥炭土一起取出（整孔的泥炭土），去除番茄地上部後，將每一孔內含根之泥炭土（體積為 5 cc）置於裝有 50 ml 無菌水的三角瓶中，振盪 20 分鐘後以網篩過濾去除泥炭土，過濾液以細菌自動塗佈儀 Spiral plater (Model D, Spiral System, Inc., Ohio, U. S. A.) 塗佈劃線培養於 NA（菌株 RS4）或馬鈴薯蔗糖培養基（potato sucrose agar, PSA, 含馬鈴薯 200 克，蔗糖 20 克，瓊脂 12 克，蒸餾水 1000 毫升）（菌株 RS65 或 RS70）平板上，經 30°C 培養 3 天後，分別計算其菌落數，試驗兩重覆。由於 RS4、RS65 和 RS70 之菌落型態及顏色特殊，且由對照組中均未出現類似之菌落，故以 NA 或 PSA 培養基即可計數及分辨。RS4 菌株在 NA 培養上會形成黃色、具黏稠性之不規則圓形菌落，而 RS65 及 RS70 菌株在 NA 或 PSA 培養上初期為白色菌落，但隨培養天數之增加，RS65 之菌落顏色會變成灰綠色，而 RS70 之菌落則呈黑色。

### PGPR 菌株在培養基上對青枯病菌之拮抗作用

將篩選所得之 PGPR 菌株劃線於 1/2NA 培養基平板上，於 30°C 培養 24—72 小時，再以滅菌牙籤沾取菌落，移植於 NA、PDA 及 King's B (KB) 培養基<sup>(8)</sup>平板上，每平板上移植二處，每菌株使用兩個平板，於 30°C 培養 24 小時後，以滅菌過之玻璃細孔噴霧器將青枯病菌 PS152 菌株懸浮液（ $10^8$  cfu/ml）噴佈於上述平板上，於 30°C 經 48 小時培養後，觀察有無抑制圈形成，並測量抑制圈大小。

### 番茄青枯病之防治試驗

PGPR 菌株分別以種子被覆及幼苗澆灌方式處理番茄（雙福品種），以測試其對青枯病之防治效果。種子被覆處理者，將種子依前述方法被覆 PGPR 後播種於填裝有 finnpeat 泥炭土之保麗龍穴盤中（12×20 孔，每一孔為 2.5×2.5 公分），每孔播一粒，並放置於日溫 30°C，夜溫 25°C，光照 12 小時之生長箱中，15 天後將番茄苗移植到填裝有 finnpeat 泥炭土之黑色塑膠軟盆

(直徑 9 公分) 內，每盆移植一株幼苗，隨後幼苗分別放置於同一生長箱中及溫室(溫度為 16-31°C) 中，每一處理均為 10 株幼苗，15 天後進行青枯病菌之接種試驗。幼苗澆灌處理者，則將未經處理之種子依同法播種於穴盤中，再移植於軟盆內，於生長箱中生長 15 天後進行 PGPR 之澆灌處理，澆灌處理時，先將 PGPR 菌株培養於 NA 培養基平板(每皿加入 0.2 ml 的細菌懸浮液塗抹)，於 30°C 中培養 24-48 小時後，以無菌水將五皿培養皿中之細菌洗下，製成 750 ml 的細菌懸浮液，再將此懸浮液澆灌於盆苗，每盆澆灌 70 ml，再經 4 天後進行青枯病菌之接種試驗。青枯病菌之接種是將青枯病菌 PS152 菌株先培養於 Kelman 氏 TZC 培養基<sup>(17)</sup> 平板上，於 30°C 培養 2-3 天後，選取具流質不規則圓形，中間為粉紅色，外圍乳白色，具有毒力(virulent) 之菌落，以移植環挑取典型菌落移入裝有無菌水之試管中，振盪均勻後，再以微量吸管吸取 0.2ml，滴入 523<sup>(16)</sup> 培養基平板，以滅菌之 L 型玻棒塗抹均勻，於 30°C 培養 24-48 小時後，將細菌懸浮於水中，以分光光度計(Spectronic 70 spectrophotometer, U-2000, Hitachi) 在 620 nm 下，調整 OD 值為 0.3，其細菌懸浮液濃度約為 10<sup>8</sup> cfu/ml。將此懸浮液稀釋成 10<sup>7</sup> cfu/ml 後澆灌至軟盆內，每盆澆灌 70 ml。試驗重覆二次。發病等級區分為 0 級：無病徵；1 級：一葉片部分萎凋；2 級：一葉或二葉萎凋；3 級：三或更多葉片萎凋；4 級：全部葉片萎凋及 5 級：植株枯死。而發病指數則以  $[\sum(\text{發病等級} \times \text{該發病等級株數}) / (5 \times \text{總株數})] \times 100\%$  計算。

### 菌株之鑑定

將生長促進試驗及防治試驗表現最佳之菌株(RS4、RS65 及 RS70)，送請新竹食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心鑑定其種屬。

### 統計分析

試驗數據乃依據鄧肯氏多變域檢定(Duncan's multiple range test) 或最小顯著性差異(Least significant difference test, LSD) 檢定進行資料分析，其顯著水準皆設定為 0.05。

## 結 果

### 利用套袋塑膠培養皿系統篩選具有促進番茄幼苗生長之細菌菌株

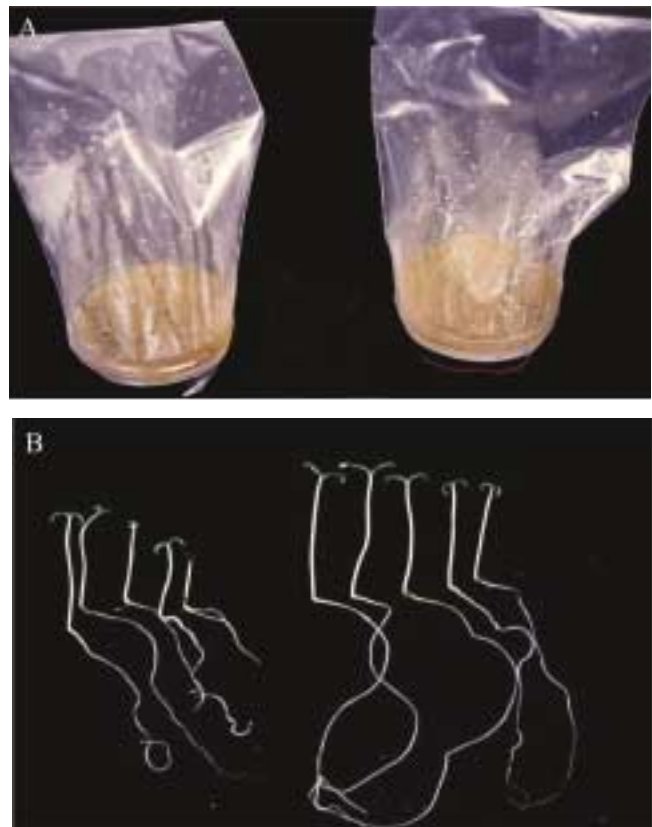
由台灣中部六處不同作物栽培地採集之根、根圈

表二、利用塑膠培養皿系統測定細菌菌株處理番茄種子後對其發芽率及根生長之影響

Table 2. Effect of treatment of tomato seeds with bacterial strains on the seed germination and root growth in a petri dish-blotter paper system test (15 days after seed sowing)

Strain	Root length (cm)	Germination (%)
R 137	11.69bc	86.7b
R 155	12.43bcd	93.3d
R 165	11.13bc	96.7e
R 178	11.28bc	96.7e
R 185	11.60bc	96.7e
RS 4	9.39b	90.0c
RS 65	15.63de	93.3d
RS 70	18.50e	96.7e
RS 83	12.93cd	96.7e
SR 4	12.68bcd	96.7e
SR 19	12.44bcd	93.3d
CK	5.82a <sup>1</sup>	80.6a

<sup>1</sup> Means in the same column followed by the same letter are not significantly different ( $p = 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.



圖一、利用套袋塑膠培養皿系統篩選促進番茄幼苗生長之細菌菌株。A：測試方法，B：測試結果(播種後 15 天)，左為對照組，右為處理組。

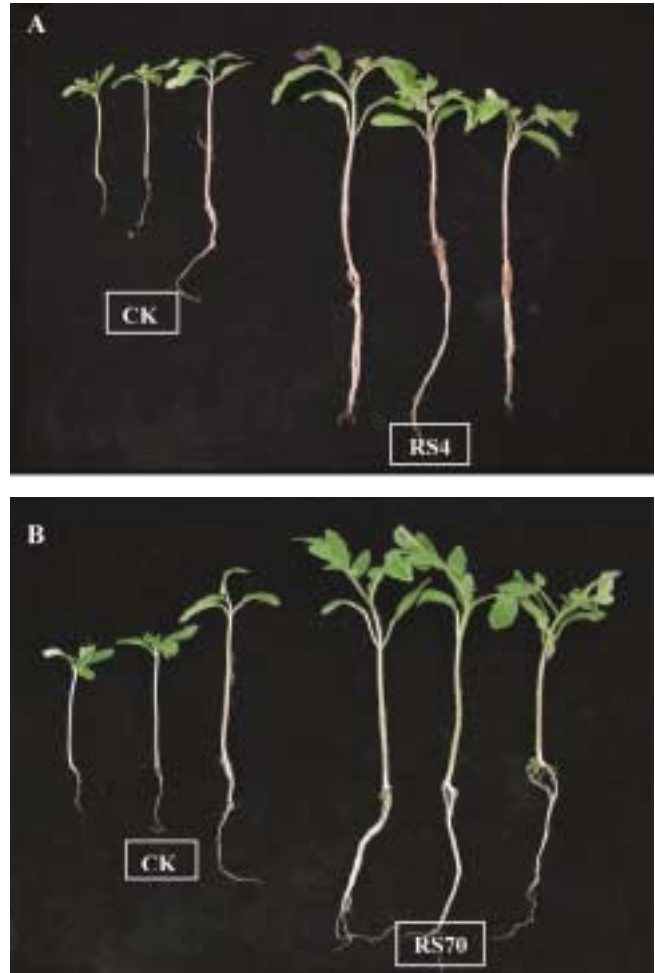
Fig. 1. A petri dish-blotter paper method to screen bacterial strains that promote tomato seedling growth. A, screening method; B, test results (15 days after seed sowing), left: control (CK), right: seeds treated with bacteria.

土壤及根部周圍土壤分離之 396 株細菌菌株 (表一)，利用套袋塑膠培養皿系統 (圖一、A) 進行篩選，結果發現番茄種子經細菌菌株處理後，幼苗之根長度較能顯現處理與無處理對照組間 (圖一、B) 或菌株間之差異性，因此初步以根長作為篩選細菌菌株之依據。所有菌株經第一次篩選後，將具有促進根長之菌株及雖無顯著促進根長但可使根較對照組為粗大且具多根毛之菌株，再進行第二次篩選，結果共有 80 個菌株在二次篩選中均能促進幼苗之根生長，其中部分菌株處理之結果如表二所示，種子以這些菌株處理後之根長度均顯著大於無處理之對照組，且其發芽率亦顯著高於無處理之對照組。

### 利用泥炭土穴盤測試細菌菌株對番茄幼苗生長之影響

由上述篩選所得的 80 株細菌菌株中，將菌落形態與顏色相同者各取一株，共有 50 株，再以種子處理後播種於含泥炭土栽培介質之穴盤中，以進一步篩選具有促進番茄幼苗生長之菌株 (圖二)。試驗數據顯示在重複試驗中，幼苗根長度分析較莖長度分析為穩定，又根長度較可比較菌株間之差異。此外亦發現有些菌株如 SR15、RS29 及 R136 促進植物生長之能力會受到栽培介質有無滅菌之影響，其在未滅菌之泥炭土栽培介質中能顯著地促進根系之生長 (圖三 A)，但在滅菌泥炭土中則與對照組無顯著差異 (圖三 B)，而有些菌株如 RS4、RS65 及 RS70 不論是在未滅菌 (圖三 A) 或滅菌 (圖三 B) 之泥炭土栽培介質中，均能顯著地促進幼苗根系之生長。若以莖長度分析時，此等菌株在未滅菌之泥炭土栽培介質中，均顯著增加莖之長度，然而，在滅菌之泥炭土中，則與對照組均無顯著差異性，甚或略低於對照組 (圖三)。

由重複試驗結果顯示，以根長度來評量時 50 株菌株中有 14 株 (R12、R81、R111、R127、R133、R156、R160、RS4、RS50、RS65、RS70、RS93、SR38 及 SR68) 不論在滅菌或未滅菌泥炭土中，均能穩定促進幼苗生長。此等 14 株菌株中，RS4、RS65 和 RS70 三個菌株之表現最佳，將此三菌株及另取一株不能促進生長之代表菌株 R3，再次利用泥炭土穴盤法測試其對番茄幼苗生長之影響，評量項目除根及莖長度外，並包括全株乾及鮮重。結果顯示 RS4、RS65 和 RS70 三菌株處理之根及莖長度如同前述結果均顯著大於以無菌水處理之對照組 (圖四 A)，且以植株乾、鮮重分析時，除 RS65 處理之乾重外，亦與無菌水處理之對照組有顯著差異 (圖四 B)，而 R3 處理者在四種評量項目上均與對照組無顯著差異。

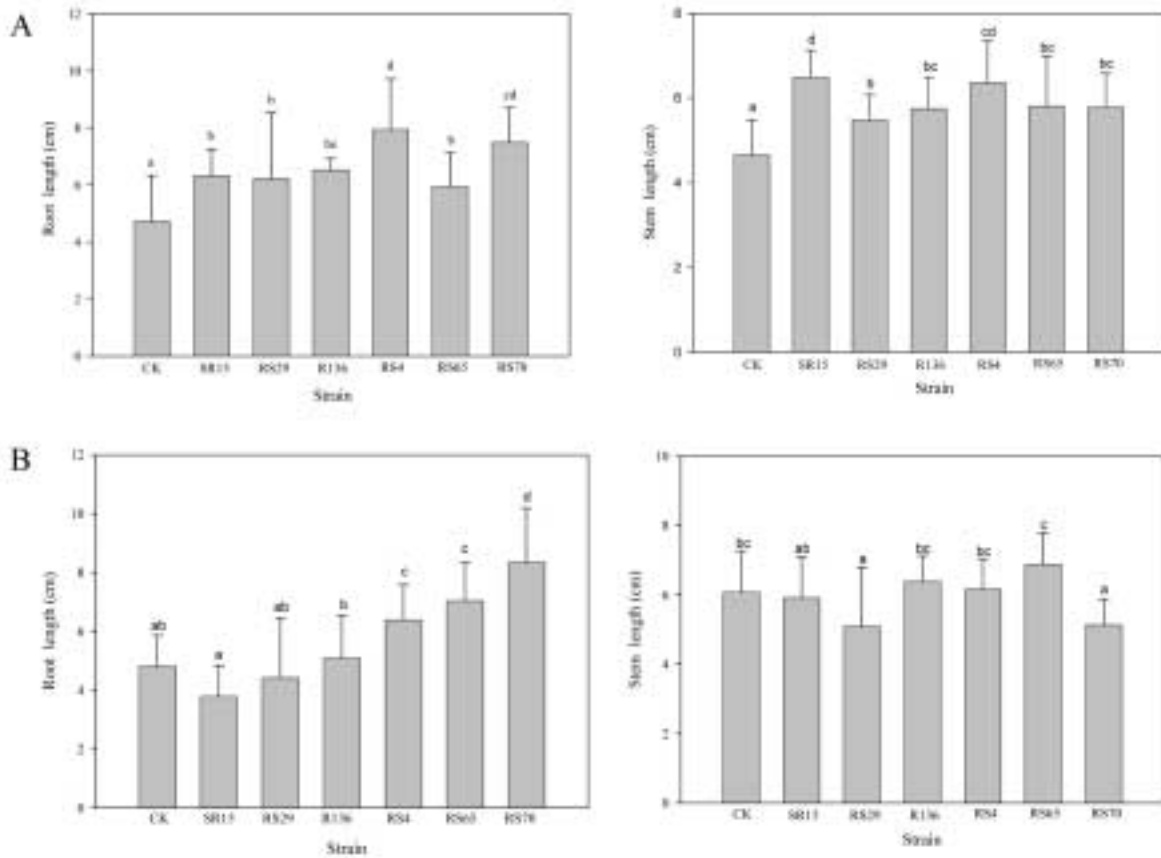


圖二、以泥炭土穴盤測試番茄種子處理細菌菌株 RS4 (A) 或 RS70 (B) 後與無處理對照 (CK) 所顯現之幼苗生長差異 (播種後一個月)。

Fig. 2. Tomato seedlings showing differences in growth by the treatment of seeds with a bacterial strain RS4 (A) or RS70 (B), and control (CK) one month after seed sowing in a peat moss-plug test.

### 在育苗場之番茄生長促進效果

篩選結果表現最佳的 RS4、RS65 及 RS70 三株菌株不論是以澆灌或種子被覆處理，均顯著提高種子發芽率，其中又以被覆處理較澆灌處理為佳 (表三)。番茄以澆灌或浸種 30 分鐘處理此三株菌株後，其胚軸高、莖粗、地上部鮮重、地下部鮮重、葉數、最大葉長、最大葉寬、葉面積、地上部乾重及地下部乾重均顯著大於無處理對照組 (表四)，而隔夜浸種處理者則呈現菌株間不同的促進作用，其中以 RS4 菌株處理後，只有最大葉寬與對照組無顯著差異，其他各項均顯著大於無處理對照組，但另二株菌株處理後，只有最大葉長及葉面積 (RS65 菌株) 或胚軸高及葉面積 (RS70 菌株) 顯著大於對照組。



圖三、供試根棲菌株處理於種子後在未滅菌 (A) 及滅菌 (B) 泥炭土之穴盤系統中測試其對番茄幼苗根及莖長度之影響。

Fig. 3. Effect of seed treatment with rhizobacterial strains on stem and root lengths of tomato seedlings in nonsterilized (A) and sterilized (B) peat moss-plug test. The same letter above each of the bars is not significantly different ( $p = 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test. Bars indicate the standard deviation.

表三、細菌菌株 RS4、RS65 及 RS70 以不同方式處理對番茄種子發芽之影響

Table 3. The effect of different treatment methods with bacterial strains RS4, RS65 and RS70 on tomato seed germination (7 days after seed sowing)

Strain	Seed germination (%)		
	Drenching <sup>1</sup>	30 min seed soaking	Overnight seed soaking
RS4	75.0c <sup>2</sup>	96.9b	100.0b
RS65	70.8c	96.9b	96.9b
RS70	62.5b	93.8b	100.0b
CK	54.2a	78.1a	87.5a

<sup>1</sup> Methods of treatment : drenching, a bacterial suspension was drenched into peat moss in a plug system right after seeds were sown in the peat moss ; 30 min and overnight seed soaking, seeds were soaked in a bacterial suspension for 30 min and overnight, respectively, before they were sown in the peat moss.

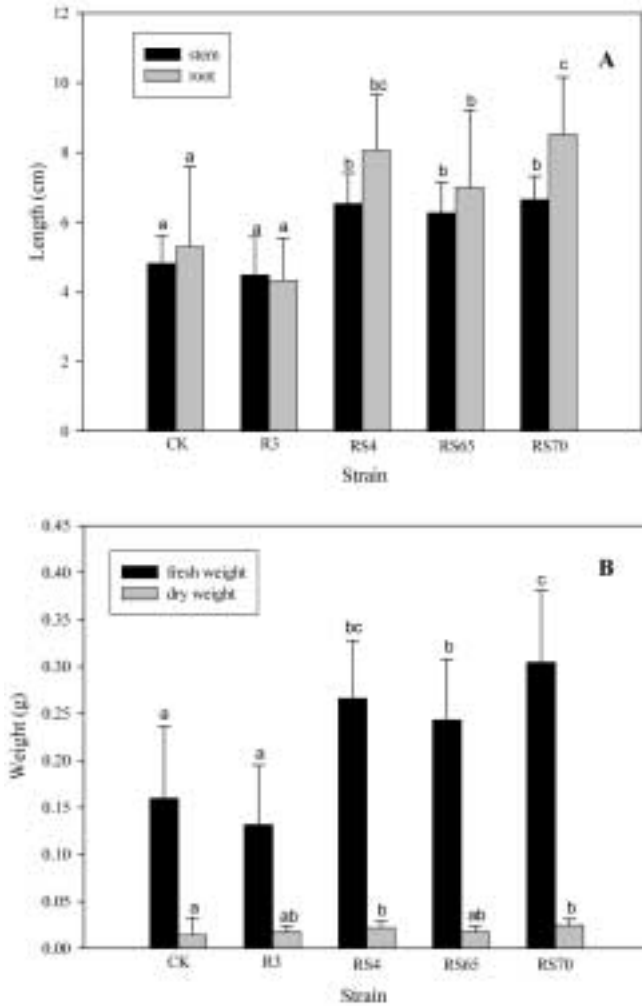
<sup>2</sup> Means in the same column followed by the same letter are not significantly different ( $p = 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

### RS4、RS65 及 RS70 三株 PGPR 菌株於栽培介質 (含根) 中之族群變化

不論以澆灌或種子被覆處理後，RS4、RS65 及 RS70 菌株在泥炭土 (含根) 中之族群變化，均隨番茄之生長而遞減 (圖五)。然而，以澆灌處理者所得之菌量均較種子被覆處理者為高，且族群遞減之速度較為緩慢，在播種 21 天後，三株菌株之菌量仍高達  $10^7$  cfu/well，但以種子被覆處理時，RS4 及 RS70 二個菌株不論是 30 分鐘或隔夜浸種之處理者，其菌量皆無大差異，分別為  $10^6$  cfu/well 及  $10^5$  cfu/well，而 RS65 菌株經隔夜浸種之處理者，在播種 21 天後，其菌量仍有  $10^5$  cfu/well，但浸種 30 分鐘之處理者則已測不到菌量 (圖五)。在測定菌量過程中，對照組並未出現類似處理組之三株菌株的菌落。

### PGPR 菌株在培養基上對青枯病菌之拮抗作用

篩選所得之 14 株 PGPR 菌株中，唯有 R127 菌株



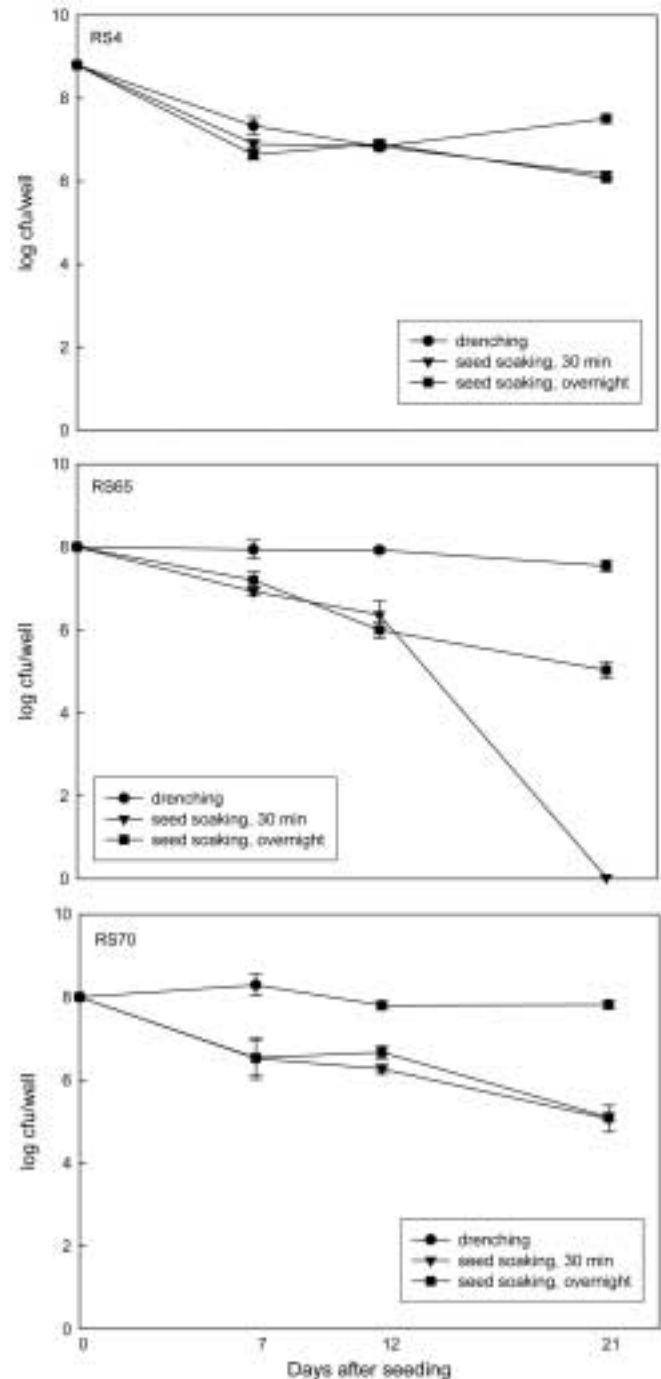
圖四、根棲細菌菌株以泥炭土-穴盤系統測定其對番茄植株四項生長評量之影響 (A: 根及莖長, B: 植株乾及鮮重)。

Fig. 4. Effect of rhizobacterial strains on the growth of tomato seedlings, based on four growth measurements, in the peat moss-plug test. A, root and stem length; B, fresh and dry weight of plant. The same letter above each of the bars is not significantly different ( $p = 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test. Bars indicate the standard deviation.

在三種培養基上及 R12 和 R156 菌株在 KB 培養基上對青枯病菌 PS152 有拮抗作用 (表五), 而其餘 11 株菌株在三種培養基上皆對 PS152 無抑制作用。

### PGPR 菌株對番茄青枯病之防治效果

溫室及生長箱內之試驗結果, 顯示大多數 PGPR 菌株不論以種子被覆處理或以幼苗澆灌處理, 均有顯著降低青枯病發病程度之效果 (表六); 以種子被覆法處理時, 有些菌株如 R156、R160、RS4、RS65 及 RS70, 在溫室之試驗, 與對照組相較, 可減少約 42-



圖五、RS4、RS65 及 RS70 菌株以不同方式處理於番茄種子後在穴盤泥炭土內之族群變化。

Fig. 5. Population changes of strains RS4, RS65 and RS70 in peat moss in the plug system after seeding of tomato seeds treated with each of these strains by seed soaking or drenching. Bars indicate the standard deviation.

85% 之發病程度, 而於生長箱之試驗, 可減少約 25-50% 之發病程度, 以幼苗澆灌處理時, 有些菌株如 RS4、RS50、RS70 及 SR68 可減少約 41-47% 之發病程度。在 14 株 PGPR 菌株中, 前述之生長促進試驗結果

表四、細菌菌株RS4、RS65及RS70以不同方式處理對番茄園藝性狀之影響

Table 4. The effect of different methods of treatment with bacterial strains RS4, RS65 and RS70 on some horticultural characters of tomato (30 days after seed sowing)

Treatment	Stem height (cm)	Stem diameter (mm)	Shoot fresh wt.(g)	Root fresh wt.(g)	No.of leaves per plant	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Shoot dry wt. (g)	Root dry wt. (g)
Drenching										
RS4	10.38 <sup>*1</sup>	3.57 <sup>*</sup>	11.50 <sup>*</sup>	2.91 <sup>*</sup>	9.60 <sup>*</sup>	4.12 <sup>*</sup>	3.32 <sup>*</sup>	26.60 <sup>*</sup>	0.94 <sup>*</sup>	0.27 <sup>*</sup>
RS65	11.26 <sup>*</sup>	3.78 <sup>*</sup>	11.10 <sup>*</sup>	2.98 <sup>*</sup>	11.40 <sup>*</sup>	4.26 <sup>*</sup>	3.67 <sup>*</sup>	30.40 <sup>*</sup>	0.96 <sup>*</sup>	0.20 <sup>*</sup>
RS70	11.66 <sup>*</sup>	3.68 <sup>*</sup>	13.80 <sup>*</sup>	2.62 <sup>*</sup>	11.20 <sup>*</sup>	4.24 <sup>*</sup>	3.66 <sup>*</sup>	21.80 <sup>*</sup>	1.09 <sup>*</sup>	0.21 <sup>*</sup>
CK	9.08	3.20	5.78	1.86	7.20	3.20	3.10	10.60	0.45	0.16
LSD	0.36	0.01	0.00	0.001	0.52	0.16	0.01	4.06	0.001	0.00
30 min seed soaking										
RS4	11.80 <sup>*</sup>	3.43 <sup>*</sup>	12.65 <sup>*</sup>	6.22 <sup>*</sup>	12.00 <sup>*</sup>	3.66 <sup>*</sup>	2.48 <sup>*</sup>	23.80 <sup>*</sup>	0.98 <sup>*</sup>	0.42 <sup>*</sup>
RS65	11.84 <sup>*</sup>	3.29 <sup>*</sup>	12.55 <sup>*</sup>	4.74 <sup>*</sup>	12.22 <sup>*</sup>	3.79 <sup>*</sup>	2.70 <sup>*</sup>	24.60 <sup>*</sup>	0.99 <sup>*</sup>	0.27 <sup>*</sup>
RS70	11.88 <sup>*</sup>	3.33 <sup>*</sup>	12.16 <sup>*</sup>	5.26 <sup>*</sup>	11.70 <sup>*</sup>	3.79 <sup>*</sup>	2.72 <sup>*</sup>	24.20 <sup>*</sup>	1.00 <sup>*</sup>	0.34 <sup>*</sup>
CK	8.67	3.25	7.38	3.42	10.30	3.11	2.23	12.00	0.65	0.20
LSD	0.31	0.01	0.79	0.92	0.48	0.11	0.12	1.40	0.11	0.01
Overnight seed soaking										
RS4	13.88 <sup>*</sup>	3.69 <sup>*</sup>	17.15 <sup>*</sup>	6.26 <sup>*</sup>	13.60 <sup>*</sup>	4.23 <sup>*</sup>	2.62	32.90 <sup>*</sup>	1.42 <sup>*</sup>	0.98 <sup>*</sup>
RS65	11.88	3.62	13.30	5.53	13.30	4.02 <sup>*</sup>	2.67	24.20 <sup>*</sup>	1.02	0.32
RS70	12.81 <sup>*</sup>	3.57	12.45	4.95	13.40	3.88	2.55	26.20 <sup>*</sup>	0.99	0.38
CK	11.57	3.54	12.35	5.39	12.90	3.74	2.68	20.60	1.03	0.41
LSD	0.49	0.11	1.59	0.67	0.57	0.15	0.16	2.79	0.01	0.34

<sup>1</sup> Means with the star sign are significantly different (p = 0.05) between treatment with a bacterial strain and notreated control (CK) within the same treatment method.

表五、促進番茄生長之根棲細菌菌株於培養基上對青枯病菌PS152之抑制作用

Table 5. Inhibition of *Ralstonia solanacearum* PS152 by PGPR strains on King's B (KB), nutrient agar (NA) and potato dextrose agar (PDA) media

Strain	Inhibition zone (cm in diameter)		
	KB	NA	PDA
R 12	2.0	— <sup>1</sup>	—
R 81	—	—	—
R 111	—	—	—
R 127	2.6	2.8	1.4
R 133	—	—	—
R 156	1.7	—	—
R 160	—	—	—
RS 4	—	—	—
RS 50	—	—	—
RS 65	—	—	—
RS 70	—	—	—
RS 93	—	—	—
SR 38	—	—	—
SR 68	—	—	—

<sup>1</sup> No inhibition zone.

表六、促進番茄生長之根棲細菌菌株處理對番茄青枯病發病程度之影響

Table 6. Effect of treatments with PGPR strains on disease severity of bacterial wilt of tomato 30 days after inoculation with *Ralstonia solanacearum* PS152 in greenhouse (seed soaking treatment) and growth chamber (seed soaking and seedling drenching treatment) tests

Strain	Disease index (%)		
	Seed soaking		Seedling drenching
	Greenhouse	Growth chamber	
R 12	70g <sup>1</sup>	70d	55c
R 81	70g	80e	70e
R 111	70g	80e	60d
R 127	60f	50b	60d
R 133	100h	70d	70e
R 156	20b	50b	80f
R 160	30c	50b	70e
RS 4	30c	60c	50b
RS 50	50e	60c	45a
RS 65	10a	50b	60d
RS 70	40d	40a	50b
RS 93	60f	40a	80f
SR 38	60f	70d	85g
SR 68	40d	70d	50b
CK	70g	80e	85g

<sup>1</sup> Means in the same column followed by the same letter are not significantly different (p = 0.05) according to Duncan's multiple range test.



表現最佳的 RS4、RS65 及 RS70 三菌株於此三項防治試驗之整體表現亦為最良好者。

### RS4、RS65 及 RS70 菌株之鑑定

RS4 菌株在 NA 培養上形成黃色、具黏稠性之不規則圓形菌落。依食品所生物資源中心提供之鑑定資料，此菌株為革蘭氏陰性桿菌，需氧性，不具運動性，不產生內生孢子，其他多項生理生化特性及 16S rDNA 部分序列分析比對之結果，鑑定為 *Chryseobacterium* sp. 但其種名尚無法確認。RS65 及 RS70 菌株在 NA 或 PDA 培養上首先均產生白色菌落，但隨培養天數之增加，RS65 之菌落顏色會變成灰綠色，而 RS70 之菌落則呈黑色。依食品所生物資源中心之資料，二者之細胞壁皆含 L-diaminopimelic acid，屬於 chemotype IC 型，RS65 菌株在氣生菌絲上形成直鏈狀孢子鏈，而 RS70 菌株則形成螺旋狀孢子鏈。其他培養特性、生理生化特性及 16S rDNA 部分序列分析比對結果，這二菌株均屬 *Streptomyces*，但其種名尚無法確認。

## 討 論

篩選具有病害防治效果之 PGPR 菌株是一項煩雜的工作，一般需經過大量的菌株篩選，且篩選過程需花費大量的時間、人力與物力，因此在田間試驗前淘汰無效或僅稍具效果之菌株極為重要。本研究以種子被覆法利用套袋塑膠培養皿系統，可在短時間內、使用少量的空間篩選大量的細菌菌株，以初步獲得能促進番茄幼苗生長之菌株，淘汰率可達近 80%。隨後再以泥炭土穴盤系統篩選，並經青枯病菌之接種測試，而得到數株具有降低青枯病發病程度之 PGPR 菌株。但為確認這些菌株之效益，仍待田間之評估試驗。

種子萌芽後為了有效競爭空間，根的延伸速度為關鍵因子<sup>(5)</sup>，而根系伸長多寡對水分與養分的吸收更是重要的決定因子，因此根系分析已廣泛應用於測定促進植物生長之試驗上<sup>(35)</sup>。本研究在以套袋塑膠培養皿系統進行篩選過程中，發現番茄種子經細菌菌株處理後，幼苗之根長度在處理與無處理對照組間或菌株間有明顯差異，因此以根長作為初步篩選細菌菌株之依據。PGPR 菌株可纏繞於植物根系，並可能產生植物荷爾蒙及代謝產物，除可供應植物發育所需養份外並可促進植物根系生長<sup>(20)</sup>，本研究所使用之培養皿系統中並無使用任何的栽培介質，影響番茄根系生長之因子，主要乃取決於種子處理過之細菌菌株，因此促進根生長之原因是否為細菌產生的物質所致，有待進一步探討。

在穴盤測試試驗中，栽培介質泥炭土的滅菌與否，對部分供試菌株促進番茄幼苗生長之效果影響不大，顯然其效果與介質中微生物間之相互作用無直接之關聯性。但有些供試菌株在滅菌過之泥炭土中，反而無促進幼苗生長的效果，其原因有可能是泥炭土經高壓蒸氣處理後呈無菌狀態，易被環境中的其他微生物污染，而這些供試菌株較易受到污染微生物之干擾而影響其表現，在滅菌過之泥炭土處理試驗中，常發現泥炭土極易受到一種會產生橘紅孢子粉末之真菌(可能為 *Neurospora* sp.) 污染(未發表資料)，而未滅菌之泥炭土因本身的微生物相為一平衡狀態，外來菌類如 *Neurospora* sp. 不易建立其族群，故不致於影響供試根棲細菌之效益。本研究篩選所得 14 株菌株在未滅菌及滅菌泥炭土中均具有促進幼苗生長的作用，將來如能應用較不易受到某些微生物之影響。

研究室成果與實際應用常有一段距離，而篩選所得之 PGPR 菌株乃期望能有實際應用之價值。本研究篩選所得之三株最佳 PGPR 菌株，RS4、RS65 及 RS70，在民間育苗場應用之結果，不論以澆灌或以浸種處理皆可提高番茄種子發芽率及促進植株生長，顯示此三株菌株在番茄育苗上具有應用之潛力，可培育出整齊健壯之幼苗。澆灌處理方式雖可使菌株在短時間內在介質中建立，使種子萌芽後之胚根立即與菌株接觸，但處理時需大量之接種源，而浸種處理只需少量之接種源即可在種子及幼苗根系上建立族群，因而提高其與根系其他微生物之競爭優勢；此外，浸種處理更可有效提高種子發芽率，在種子發芽整齊度上優於澆灌處理。但浸種時間會影響 PGPR 菌株之效果，且影響之程度因菌株不同而異，因此在推廣應用前，應先確認各菌株之適宜處理方法，才能使各菌株表現其效益。

根棲細菌常被應用於防治土壤傳播性病害，且在小麥<sup>(44)</sup>、馬鈴薯<sup>(19, 24)</sup>、胡瓜<sup>(7, 30, 32, 45)</sup>、蘿蔔<sup>(8, 28, 29)</sup>、康乃馨<sup>(42)</sup>、番茄<sup>(10)</sup>、豆類<sup>(27)</sup>等作物上之有些病害具有良好的防治效果。本研究篩選得到的 14 株 PGPR 菌株，絕大多數在培養基上對青枯病菌之生長皆無抑制能力，但在溫室及生長箱內之防治試驗，多數均有顯著降低青枯病發病程度之效果。許多研究指出培養基上的拮抗能力與防治病害的能力並無相關性<sup>(5, 35)</sup>，本研究亦顯示 PGPR 促進植物生長之能力及防病效果與拮抗能力並無直接關連性。這些具有防治效果之 PGPR 菌株是否如前人所報告<sup>(41)</sup>也能誘導抗病性，將作為後續研究之課題。

本研究篩選獲得的最佳三株菌株(RS4、RS65 及

RS70)，一為 *Chryseobacterium* sp.，另二株為 *Streptomyces* spp.。目前尚無有關 *Chryseobacterium* 可促進植物生長之報告，但在生物防治研究方面，Kwok 等人<sup>(26)</sup>曾報告由根部及抑病栽培介質分離的許多細菌中，*Chryseobacterium gleum* (原名 *Flavobacterium balustinum*) strain 299 具有防治蘿蔔猝倒病 (damping off) 之效果，若與 *Trichoderma hamatum* isolate 382 混合處理則較 *Trichoderma* 單獨處理時之效果為佳。Krause 等人<sup>(25)</sup>進一步也証實此 *C. gleum* 與 *T. hamatum* 382 混合處理於添加有樹皮堆肥之栽培介質中，可顯著降低蘿蔔猝倒病及聖誕紅之冠腐病與根腐病 (*Rhizoctonia* crown and root rot)。放線菌可促進植物生長及防治病害之研究頗多<sup>(9, 15)</sup>，其中尤以 *Streptomyces* 為甚，此類放線菌不僅在土壤微生物中佔有豐富比例存在，更具有良好之根部群集能力，並能以孢子型態度過不利生長之環境<sup>(3)</sup>。El-Abyad 等人<sup>(11)</sup>利用三株 *Streptomyces* spp. 菌株包覆番茄種子後，不僅可防治 *Fusarium*、*Verticillium*、早疫病 (early blight) 和細菌性潰瘍病 (bacterial canker)，更能顯著促進番茄生長；此外，商品化生物防治製劑 Arzent™ (混合 4 株 *S. hygroscopicus* 菌株) 處理蘿蔔和胡蘿蔔種子後皆能提高其乾重；而胡蘿蔔種子處理 *S. lydicus* WYEC108 菌株後亦能提高其乾重<sup>(14)</sup>。另有研究指出 *S. spp.* 之培養濾液可顯著增加小麥之莖長及嫩枝數，與其可產生 auxins、gibberellins 和 cytokinins 等生長調節劑有關<sup>(2)</sup>。而台灣亦有報告<sup>(34, 39, 40)</sup>指出 *Streptomyces* spp. 可有效防治由腐霉病菌 (*Pythium* spp.)、立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani*)、腐疫病菌 (*Phytophthora parasitica*)、鐮孢菌 (*Fusarium oxysporum*)、炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、南方根瘤 (*Meloidogyne incognita*)、柑桔線蟲 (*Tylenchulus semipenetrans*)、根腐線蟲 (*Pratylenchus coffeae*) 和釘線蟲 (*Paratylenchus curvatus*) 等引起之真菌性及線蟲病害，但未有針對青枯病菌所引起之細菌性病害進行相關研究。

生物防治是發展永續農業中一項極重要之病害防治策略<sup>(43)</sup>，在青枯病方面目前尚待發展有效的生物防治法之際，本研究所得之三株細菌菌株不僅具有 PGPR 之特性亦有降低青枯病發病程度之效果，值得進一步探討其在田間應用之實際效果，又這些菌株促進生長及防治病害之機制為何，亦有待瞭解以利其應用。

## 引用文獻 (LITERATURE CITED)

- Ahl, P., Voisard, C., and Défago, G. 1986. Iron bound-

- siderophores, cyanic acid, and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis basicola* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. J. Phytopathol. 116:121-134.
- Aldesuquy, H. S., Mansour, F. A., and Abo-Hamed, S. A. 1998. Effect of the culture filtrates of *Streptomyces* on growth and productivity of wheat plants. Folia Microbiol. 43:465-470.
- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology, 2nd ed. Krieger Publishing Company, Malabar, FL.467pp.
- 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.
- Brown, M. E. 1974. Seed and root bacterization. Annu. Rev. Phytopathol. 12:181-197.
- 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.
- Chen, C., Belanger, R. R., Benhamou, N., and Paulitz, T. C. 1998. Induced systemic resistance (ISR) by *Pseudomonas* spp. impairs pre-and post-infection development of *Pythium aphanidermatum* on cucumber roots. Eur. J. Plant Pathol. 104:877-886.
- 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.
- Doumbou, C. L., Hamby Salove, M. K., Crawford, D. L., and Beaulieu, C. 2001. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. Phytoprotection 82:85-102.
- 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.
- El-Abyad, M. S., El-Sayed, M. A., El-Shanshoury, A. R., and El-Sabbagh, S. M. 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. Plant Soil 149:185-195.
- Gardner, J. M., Chandler, J. L., and Feldman, A.W. 1984. Growth promotion and inhibition by antibiotic-producing fluorescent pseudomonads on citrus roots. Plant Soil 77:103-113.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth

- by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109-117.
14. Hamby, M. K., and Crawford, D. L. 2000. The enhancement of plant growth by selected *Streptomyces* species. *Am. Soc. for Microbiol.* 100th General Meeting, Los Angeles, CA, Abstracts, p.567.
  15. Jobin, G., Couture, G., Goyer, C., Brzezinski, R., and Beaulieu, C. 2005. Streptomycete spores entrapped in chitosan beads as a novel biocontrol tool against common scab of potato. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 68:104-110.
  16. Kado, C. I., and Heskett, M. G. 1970. Selective medium for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60:969-976.
  17. Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:693-695.
  18. King, E. O., Ward, M. R., and Raney, D. E. 1954. Two simple media for the demonstration of pycocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44:301-307.
  19. Klopper, 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.
  20. Klopper, 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.
  21. Klopper, 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.
  22. Klopper, J. W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M. N. 1980. *Pseudomonas siderophores* : A mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4 317-320.
  23. Klopper, 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.
  24. Klopper, 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.
  25. Krause, M. S., Madden, L. V., and Hoitink, H. A. J. 2001. Effect of potting mix microbial carrying capacity on biological control of *Rhizoctonia damping-off* of radish and *Rhizoctonia crown and root rot* of poinsettia. *Phytopathology* 91:1116-1123.
  26. Kwok, O. C. H., Fahy, P. C., Hoitink, H. A. J., and Kuter, G. A. 1987. Interactions between bacteria and *Trichoderma* in suppression of *Rhizoctonia damping-off* in bark compost media. *Phytopathology* 77:1206-1212.
  27. Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A., Hervás, A., and Jiménez-Díaz, 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.
  28. Leeman, M., Den Ouden, F. M., Van Pelt, J. A., Dirks, F. P. M., and Setijl, H. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium wilt* of radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86:149-155.
  29. 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.
  30. Liu, L., Klopper, J. W., and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium wilt* by Plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695-698.
  31. 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*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:4927-4932.
  32. Scher, F. M., and Baker, R. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium wilt* pathogens. *Phytopathology* 72:1567-1573.
  33. 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.
  34. Shih, H. D., Liu, Y. C., Hsu, F. L., Mulabagal, V., Dodda, R., and Huang, J. W. 2003. Fungichromin : A substance from *Streptomyces padanus* with inhibitory effects on *Rhizoctonia solani*. *J. Agric. Food Chem.* 51:95-99.
  35. Suslow, T. V. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. Pages 187-223 in : *Phytopathogenic Prokaryotes*. Vol. 1. M. S. Mount and G. H. Lacy, eds, Academic press, N. Y.
  36. Suslow, T. V., and Schroth, M. N. 1982. Rhizobacteria of sugar beets : effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* 72:199-206.
  37. Suslow, T. V., and Schroth, M. N. 1982. Role of deleterious rhizobacteria as minor pathogens in reducing crop growth. *Phytopathology* 72:111-115.
  38. Toro, M., AzcoN, R., and Barea, J. M. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing

- rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability ( $^{32}\text{P}$ ) and nutrient cycling. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:4408-4412.
39. Tsay, T. T., and Wu, W. S. 2005. Evaluating the efficacy of organic amendments with *Streptomyces saraceticus* on controlling plant parasitic nematodes. Soc. Nematologists 44th Annu. Meeting, Florida. Program and Abstracts, p.74.
  40. Tzeng, D. D. S., and Yeh, Y. 2003. Research and development of microbial biofungicides for plant disease control. Pages 221-238. in : Proc. of the Workshop on Plant Prot. Management for Sustainable Development : Technol. and New Dimension. The Plant Prot. Soc. of the Republic of China (in Chinese).
  41. 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.
  42. 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.
  43. Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborn plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:379-407.
  44. Weller, D. M., and Cook, R. J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 73:463-469.
  45. 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.

## ABSTRACT

Teng, Y. C<sup>1</sup>., Tzeng, K. C<sup>1</sup>., and Hsu, S. T<sup>1,2</sup>. 2006. Screening rhizobacteria for promoting tomato growth and testing their potential for control of bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum*. Plant Pathol. Bull. 15:83-95 (<sup>1</sup>Department of Plant Pathology, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan ; <sup>2</sup>Corresponding author, Email : sthsu@mail.nchu.edu.tw ; Fax : +886-4-22877585)

Bacterial strains isolated from root, rhizosphere, and soil around root samples of different crops in central Taiwan were screened in a petri dish-blotter paper system in growth chamber for their effects on tomato growth following seed bacterization (seed coating). About 20% of 396 strains tested significantly increased the germination rate of seeds and the length of seedling roots in the repeated tests. Further screening by a peat moss-plug system showed that 14 strains consistently enhanced tomato root growth, among which, strains RS4, RS65, and RS70 performed best. These three strains increased not only root length, but also stem length, plant fresh weight and dry weight (except strain RS65). Strains RS4, RS65, and RS70 were further evaluated for their growth promoting effect under the conditions of a commercial nursery using the peat moss-plug system. They all increased tomato seed germination following either seed bacterization or peat moss drenching. In addition, many measurements of horticultural characteristics such as stem height, stem diameter, shoot fresh weight, root fresh weight, leaf number, leaf length, leaf width, leaf area, shoot and root dry weight were greater by seed coating (30 min seed soaking) or peat moss drenching with these three strains than those by nontreated controls. Populations of these three strains in peat moss after introduction by seed coating (30 min and overnight seed soaking) or peat moss drenching maintain high levels (except strain RS65 for 30 min seed soaking ) within 21 days after seeding. The 14 strains that were capable of promoting tomato growth were tested for the antibiosis against *Ralstonia solanacearum* PS152. Most (11 strains) did not show the inhibitory activity on three media tested, but 9 strains reduced disease severity of bacterial wilt of tomato in growth chamber and greenhouse tests by seed coating or seedling drenching treatment. Strains RS4, RS65, and RS70 which were better in the ability to promote tomato growth also performed better in the efficiency of disease control. Strain RS4 was identified as *Chryseobacterium* sp. and strains RS65 and RS70 as *Streptomyces* spp.

Key word : tomato, rhizobacteria, growth promotion, bacterial wilt control