

內生真菌 *Lasmenia* sp. CB10 菌株培養基質之篩選暨評估其防治番茄萎凋病之潛力

羅佩昕¹ 鍾文全² 鍾文鑫^{3,*}

摘要

羅佩昕、鍾文全、鍾文鑫。2017。篩選內生真菌 *Lasmenia* sp. CB10 菌株之培養基質暨評估其防治番茄萎凋病之潛力。台灣農業研究 66(3):193–201。

本研究將分離自佛手柑之內生真菌 *Lasmenia* sp. CB10 菌株培養於不同基質，證實 CB10 菌株培養於米糠 (rice bran) 之基質 (簡稱 RBCB10) 對抑制番茄萎凋病菌 Fol146 菌株菌絲生長效果最佳。測試於栽培介質混合不同比例之 RBCB10 對番茄植株生長影響，結果指出混合 0.5% (w/v) 或 1% (w/v) 之 RBCB10 皆不會影響番茄生長。進一步將 0.5% (w/v) RBCB10 與帶 Fol146 菌株之感染土混合，證實添加 RBCB10 可減少 Fol146 菌株之族群量。另比較 RBCB10 基質之不同施用方式對其防治番茄萎凋病之效果，得知以混合 0.5% (w/v) RBCB10 之泥炭土作為育苗介質，可降低萎凋病的罹病度達 26.7%；而直接將 0.5% (w/v) RBCB10 添加於感染土之處理，則可降低萎凋病罹病度達 40.7%。未來於田間試驗時可直接以添加方式將 RBCB10 混合於土壤中，以達延緩番茄萎凋病之效果。

關鍵詞：內生真菌、*Lasmenia* sp.、番茄萎凋病、米糠。

前言

植物內生菌 (endophytes)，目前被廣泛接受之定義為「生物體在生活史的某一階段進入植物體內，並纏據於植物組織中，且不會引起寄主植物產生任何病徵者」(Petrini 1991)。目前已知內生真菌可於寄主植物體內產生特殊之二次代謝產物，保護寄主植物不受到病原菌或害蟲之感染與攻擊 (Strobel & Daisy 2003)。內生真菌的寄主廣泛，從草本植物到木本植物體內皆有分佈，且可產生與寄主植物相似的代謝產物，其中研究最多的為中草藥植物之內生真菌 (Strobel 2002; Tejesvi *et al.* 2007)。中草藥內生真菌除於醫藥之應用外，近年來更擴展到農業，Proença Barros & Rodrigues-Filho (2005) 指出，自芸香科月橘 [*Murraya panicu-*

lata (L.) Jack] 所分離出內生真菌 *Eupenicillium* sp. 可產生具殺蟲效果之 Alantryphenone、Alantrypinene 及 Alantryleunone 等生物鹼。此外，自中草藥錫蘭肉桂 (*Cinnamomum zeylanicum* J. Presl) 中所分離到內生真菌 *Muscodor albus* Worapong, Strobel & W.M. Hess，亦可產生抑制植物與人體病原菌生長效果的揮發性氣體，為具潛力之微生物薰蒸劑 (mycofumugation) (Strobel *et al.* 2001)。

根據行政院農業委員會 2014 年農業統計年報，台灣番茄種植以嘉義縣、台南市及高雄市種植面積最廣。目前台灣已記錄可為害番茄之病原有 10 種真菌性、3 種細菌性、6 種病毒及 1 種線蟲 (Wang 1995; Hsu *et al.* 2002)。其中，由 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen 所引起之番茄萎凋

投稿日期：2016 年 8 月 31 日；接受日期：2016 年 11 月 1 日。

* 通訊作者：wenchung@nchu.edu.tw

¹ 農委會農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所植保系助理研究員。台灣 高雄市。

² 農委員種苗改良繁殖場生物技術課研究員兼課長。台灣 台中市。

³ 國立中興大學植物病理學系教授。台灣 台中市。

病 (*Fusarium wilt of tomato*) 為栽培主要限制因子；該病害為土壤傳播性病害，於番茄幼苗或成株所造成病徵包含植株矮化、下位葉黃化及維管束褐化 (Huang *et al.* 2012)。對於防治番茄萎凋病，目前並無推薦藥劑。因此，台灣目前主要以篩選或培育抗病品種防治該病害；而對於不抗病之品種，則搭配適當的栽培管理方式減少番茄萎凋病的影響，包括：(1) 栽種抗病嫁接種苗與健康種苗；(2) 種子消毒；(3) 接種內生菌根菌，或以其他尖鏟胞菌進行交叉保護；(4) 清除病株並減少灌水避免傳播；(5) 發病田不連作種植番茄，可與水稻進行輪作 (Sun & Huang 1996; Huang *et al.* 2012)。另於生物防治方面，有許多研究指出，*Penicillium oxalicum*、*Trichoderma sp.*、菌根菌及 *Pseudomonas sp.* 具有降低番茄萎凋病的發病情形 (De Cal *et al.* 1999; Srivastava *et al.* 2010)。

隨著對農業安全與環境問題的重視，許多高毒或難分解之化學農業藥劑已逐漸退出市場，因此尋找合適防治病蟲害之替代方式是未來重要課題。應用內生真菌作為土壤添加物或以二次代謝產物防治番茄萎凋病之研究甚少；本研究嘗試利用 Ho (2011) 於台中市新社種苗繁殖改良場之芸香科中草藥植物佛手柑 (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) 莖頂幼葉處分離，菌株代號為 CB10 之 *Lasmenia sp.* 內生真菌防治番茄萎凋病。先前研究已發現，CB10 菌株對台灣地區常見的 9 種植物病原真菌與病原細菌，具有抑制生長效果，其中對 *Fusarium oxysporum* 具有良好之生長抑制效果。本研究目的為：(1) 測試 *Lasmenia sp.* CB10 菌株於不同培養基質中對 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 菌株 Fol146 之抑制效果；(2) 分析添加含 *Lasmenia sp.* CB10 菌株之栽培基質對番茄生長之影響；(3) 評估於溫室環境下，施用含 *Lasmenia sp.* CB10 菌株栽培基質對防治番茄萎凋病 (*Fusarium wilt of tomato*) 之效果。

材料與方法

供試菌株來源

內生菌株代號 CB10 為 Ho (2011) 自台中

市新社種苗繁殖改良場內，中草藥植物佛手柑莖頂幼葉處所分離之內生真菌 *Lasmenia sp.*，由中興大學植物寄生菌暨農藥抗藥性分子診斷實驗室提供。自砂管 (10 g soil, 1 g agar, 100 mL dH₂O) 移至馬鈴薯蔗糖瓊脂 (potato sucrose agar, PSA) 平板培養基與斜面中，於 25°C 無燈照之精密恆溫生長箱中培養 7 d 後備用。

本研究所供試番茄萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) 為保存於中興大學植物寄生菌暨農藥抗藥性分子診斷實驗室之菌株，菌株代號 Fol146，單孢培養於馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar; PDA) 斜面培養基中，於 28°C 精密恆溫生長箱循環光照 12 h 進行培養 7 d 後備用。

番茄萎凋病之感染土製備

將 2 管培養 7 d 之 Fol146 菌株各以 9 mL 之無菌水將孢子洗下，並將孢子懸浮液加入經高溫高壓 (121°C, 15 lb, 20 min) 滅菌過的燕麥砂培養基 (砂土：燕麥：水 = 200 : 100 : 30) (w : w : v) 中，置於室溫 (25–28°C) 下培養，每週將燕麥砂培養基均勻搖晃混合，使內部菌絲均勻生長。培養 2 wk 後，將其取出並加入相同體積 (約 300 g) 預先以網篩 (20 mesh, 0.840 mm) 篩過並經 2 次高溫高壓滅菌過之田土均勻混拌，加入 10–20 mL 無菌水使其濕潤，再經培養 1 wk 後進行陰乾。陰乾後之混合土以四兩裝粉碎機 (RT-04, Taiwan) 磨碎備用，作為後續試驗的人工混菌感染土的接種源。製備完成之番茄萎凋病菌 (Fol146) 土壤以五氯硝苯蛋白胰瓊脂 (quintozene peptone agar; PCNB) 平板測定族群量方法測定其族群量 (Nash *et al.* 1962)。

測試不同基質培養 *Lasmenia sp.* CB10 菌株對番茄萎凋病菌菌絲生長的抑制效果

選取燕麥粒 (oat grain)、小麥粒 (wheat grain)、米糠 (rice bran)、豆粕 (soybean meal)、芝麻粕 (sesame meal) 及太空包木屑 (mushroom sawdust) 做為測試基質，將上述基質磨製為粉狀 (≤ 0.1 cm) 後，秤取 40 g 之固態基質置於蘭花組織培養瓶中，並加入 16 mL 無

菌水 (水分相對含量 40%)，以高溫高壓滅菌後冷卻。將 25°C 無照光培養 7 d 之 *Lasmenia* sp. CB10 菌株，以內徑 8 mm 之打孔器，切取菌落邊緣之菌絲圓盤，取 8 個菌絲圓盤放入裝有固態基質之蘭花組織培養瓶中，放置於 25°C 無照光培養 28 d 後供後續實驗使用。

以內徑為 8 mm 之打孔器於 PSA 平板中央切取培養基圓盤後，使於培養基形成圓凹槽。將已培養 CB10 菌株之不同基質填滿凹槽，於 25°C 無照光培養 3 d 後，以微量噴瓶將番茄萎凋病菌 (Fol146) 之孢子懸浮液 (1×10^4 spores mL⁻¹) 噴灑於 CB10 菌株之菌落周圍。以 CB10 菌株培養在 PSA 之 8 mm 菌絲圓盤作為對照組，於 25°C 無照光培養 5 d 後記錄抑制圈大小，每處理 3 重複。

添加不同比例 RBCB10 對番茄生長之影響

由上述結果顯示，培養於米糠基質之 *Lasmenia* sp. CB10 菌株，有增加其抑制番茄萎凋病菌 Fol146 菌株生長之效果，因此後續試驗皆以米糠 (rice bran, RB) 為 CB10 之培養基質，所得含 CB10 菌株之米糠稱為 RBCB10。試驗之進行係先行將 RBCB10 以 0.5% 與 1% (w/v) 之比例分別添加於經高溫高壓滅菌之泥炭土 (BVB Substrate, The Netherlands) 中，並將其均勻混合，作為育苗介質。爾後將於無菌水內以 120 rpm 搖瓶 3 d 之番茄種子 (農友 301, 台灣) 播種於含 RBCB10 之穴苗盤 (8 cm × 16 cm) 中，於播種 7 d 後開始觀察植株生長勢，並量測番茄植株葉片數 (leaf number) 與株高 (plant height)，每週量測 1 次，共量測 3 wk。試驗中以 0.5% 與 1% (w/v) 比例之 RB 分別添加於經高溫高壓滅菌之泥炭土與未添加任何基質之泥炭土作為對照組。本試驗每處理重複 5 次，每重複 3 株。

評估 RBCB10 抑制土壤中番茄萎凋病菌之效果

依前項試驗結果，證實以 0.5% 或 1.0% (w/v) 比例混合 RBCB10 後，與無添加之泥炭土比較，指出對番茄生長無顯著影響，故後續試驗以 0.5% (w/v) 比例混合 RBCB10。將 100

g 含 Fol146 菌株 (5×10^3 propagules g⁻¹ soil) 之感染土分裝至 8 cm × 12 cm 的 PP 材質塑膠袋內，再以 0.5% (w/v) 比例之 RBCB10 加入後均勻混合。本試驗以混合 0.5% (w/v) RB 與未混合基質之泥炭土作為對照組。混合後靜置於室溫 (24–28°C)，7 d 後開始計算各處理內 Fol146 菌株之菌量，並以 7 d 為間隔，共調查 6 次。每次調查以取出 10 g 混合基質之泥炭土添加於 90 mL 之無菌水中，均勻震盪後，進行 10× 系列稀釋並塗佈至 PCNB 平板，5–7 d 後計算菌落數量，並推算每克感染土中番茄萎凋病菌之菌量。

比較不同 RBCB10 施用方式防治番茄萎凋病之效果

本試驗比較 2 種施用方式對防治番茄萎凋病之效果，第 1 種為以混合 0.5% (w/v) RBCB10 做為育苗介質，將番茄種子先行播種於已含 RBCB10 之泥炭土，待播種 21 d 後將番茄幼苗移至 4.5 cm 含有番茄萎凋病菌 (Fol146) 感染土 (5×10^3 propagules g⁻¹ soil) 之塑膠軟盆中。試驗中以泥炭土混拌 0.5% (w/v) RB 基質與泥炭土未做任何添加者作為對照組。各處理置於溫室 (25–35°C)，移植 7 d 後開始觀察並計算罹病度，且每隔 7 d 觀察 1 次，共觀察 7 次。每處理 5 重複，每重複 3 株。

第 2 種方法為，將 RBCB10 以 0.5% (w/v) 比例直接與含 Fol146 番茄萎凋病菌 (5×10^3 propagules/g soil) 之感染土進行均勻混拌後，分裝於 7.5 cm 黑色塑膠軟盆，將已有 2–3 片真葉之番茄幼苗移植於該塑膠軟盆。試驗中以泥炭土混拌 0.5% (w/v) 比例之 RB 與泥炭土未做任何添加者作為對照組。各處理置於溫室 (25–35°C)，移植 7 d 後開始觀察並計算罹病度，且每隔 7 d 觀察 1 次，共觀察 7 次。每處理 3 重複，每重複 3 株。

本項試驗番茄萎凋病之罹病等級分為 0–3 級：0 級為無葉片黃化萎凋；1 級為 < 50% 之葉片黃化；2 級為 > 50% 之葉片黃化；3 級為全株黃化萎凋、死亡。並依照下列公式計算其罹病度 (disease severity)：

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

$n_0 - n_3$ = 各級罹病的植株數， N = 總植株數。

結果

不同基質培養 CB10 菌株對番茄萎凋病菌菌絲生長抑制效果

CB10 菌株於不同基質上抑制番茄萎凋病菌之效果顯示，以米糠 (rice bran) 培養 CB10 菌株可得到較好之抑菌效果，於培養 CB10 菌株之米糠基質周圍產生明顯的抑制圈達 1.5 cm，豆粕 (soybean) 次之，抑制圈 1.2 cm (圖 1)。然而，以芝麻粕 (sesame meal) 或太空包木屑 (mushroom sawdust) 作為基質培養 CB10 菌株，對番茄萎凋病菌生長之抑制效果不佳，抑制圈僅分別為 0.4 cm 與 0.3 cm。

添加不同比例 RBCB10 對番茄生長之影響

以 0.5% 與 1% (w/v) 比例之 RBCB10 混

合於泥炭土後，將番茄種子播入。番茄植株量測結果顯示，葉片數目於種植 21 d 後，以 0.5% 或 1% (w/v) 比例之米糠 (RB) 混合之泥炭土與未添加之對照組比較，雖無顯著差異但有減少番茄葉片數之情形；而混以 0.5% 或 1.0% (w/v) 比例之 RBCB10 之泥炭土，則可增加番茄植株之葉片數，其中又以混合 1% (w/v) 比例之 RBCB10 的結果最顯著 (表 1)。另株高量測結果顯示，以泥炭土中分別混合 0.5% 與 1% (w/v) 比例之 RBCB10 與未添加之泥炭土，番茄株高分別為 12.4、13.2 及 12.8 cm，無顯著差異；然泥炭土中混合 0.5% 或 1% (w/v) 比例之 RB，其株高分別為 10.5 cm 與 8.0 cm，顯示 RB 對番茄之生長有抑制情形，而以混合 1% (w/v) RB 之泥炭土影響番茄幼苗生長最明顯 (表 1)。

RBCB10 對土壤中番茄萎凋病菌之抑制效果

將 RBCB10 以 0.5% (w/v) 比例混合帶 Fol146 之感染土後，調查感染土中 Fol146 菌株量變化，結果得知混合後第 21 天，Fol146 族群量由 5×10^3 propagules g^{-1} soil 下降至 1.6×10^3 propagules g^{-1} soil，第 42 天則下降至 8.4×10^2

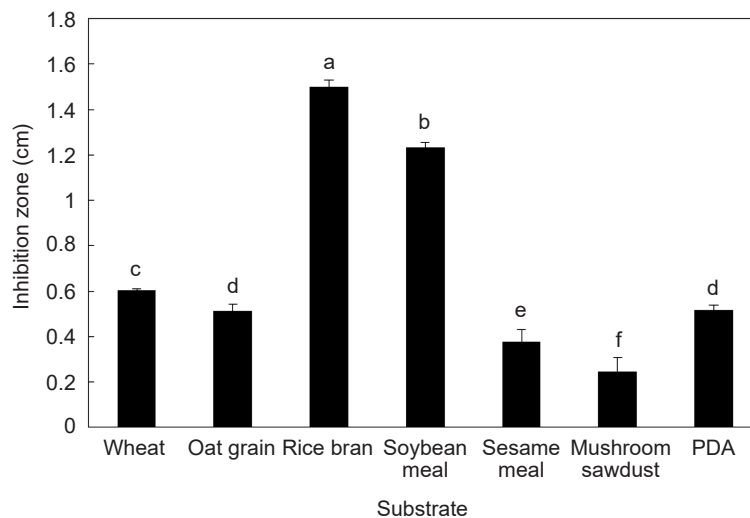


圖 1. *Lasmenia* sp. CB10 菌株培養於不同基質上對其抑制番茄萎凋病菌 (Fol146) 之影響。

Fig. 1. Efficacy of *Lasmenia* sp. CB10 cultured on different substrates on inhibiting the mycelium growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Fol146. Means with the same letter are not significantly different at $P < 0.05$ according to LSD test.

表 1. 溫室條件下以不同比例混合米糠 (rice bran, RB) 與培養 *Lasmenia* sp. CB10 菌株之米糠 (RBCB10) 對番茄生長影響。

Table 1. Effect of soil mixed with different ratios of rice bran (RB) and RB grew by *Lasmenia* sp. CB10 on the growth of tomato in the greenhouse.

| Treatment | Leaf number | | | Plant height (cm) | | |
|--------------------------|----------------|-----|--------|-------------------|-----|---------------------|
| | 7 ^z | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 |
| 0.5% RB ^y | 1.5 | 2.1 | 2.6 bc | 4.9 | 8.6 | 10.5 b ^x |
| 1% RB | 1.3 | 1.8 | 2.4 c | 3.6 | 4.7 | 8.0 c |
| 0.5% RBCB10 ^w | 2.0 | 2.3 | 2.9 b | 4.9 | 9.5 | 12.4 a |
| 1% RBCB10 | 1.9 | 1.9 | 3.4 a | 4.7 | 6.2 | 13.2 a |
| CK (soil) | 1.8 | 2.0 | 2.7 bc | 5.3 | 8.7 | 12.8 a |

^z The day after treatment.

^y Rice bran.

^x Means followed by the same letter(s) in the column are not significantly different at $P < 0.05$ according to LSD test.

^w *Lasmenia* sp. CB10 grown on rice bran for 28 d.

propagules g^{-1} soil；而感染土中添加米糠與未添加基質之 Fol146 感染土，於第 42 天仍分別維持在 3×10^3 propagules g^{-1} soil 與 2×10^3 propagules g^{-1} soil (圖 2)。結果證實，添加 RBCB10 後，具有降低土壤中番茄萎凋病菌之族群量的效果。

不同 RBCB10 施用方式對番茄萎凋病之防治效果

以混合 0.5% (w/v) RBCB10 之泥炭土作為育苗介質之方式之結果顯示，移植後第 49

天，以 0.5% (w/v) RBCB10 為番茄育苗基質之處理組，罹病度為 66.2%，而未添加之泥炭土與混合 0.5% (w/v) RB 之泥炭土的罹病度，分別為 88.9% 與 77.8%，指出混合 0.5% (w/v) RBCB10 為育苗介質之處理具有延緩病害發生的效果，罹病度可降低 26.7% (圖 3 A)。

另將 RBCB10 以 0.5% (w/v) 比例直接與感染土進行混合，並移植已長出 2-3 片真葉之番茄幼苗之方式，結果得知於幼苗移植 49 d 後，其罹病度為 55.6%；而以 0.5% (w/v) 比例混合 RB 之處理與未添加任何基質之泥炭土，

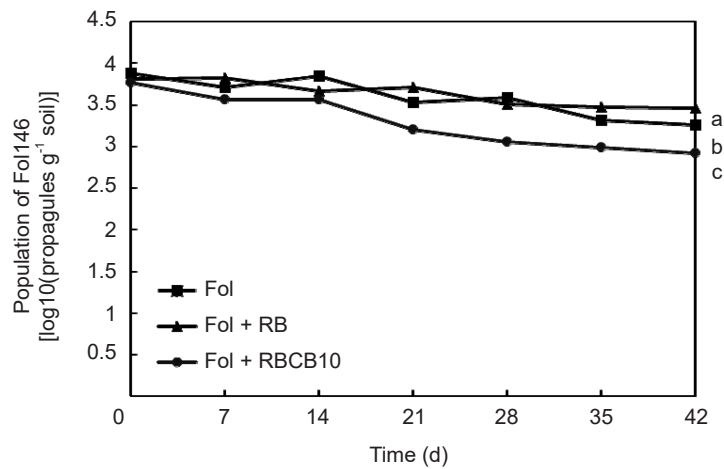


圖 2. 感染土混合 0.5% (w/v) RBCB10 介質後對其中番茄萎凋病菌 (Fol146) 族群量之影響。

Fig. 2. Effect of 0.5% (w/v) RBCB10 mixed with infested soil on the population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Fol146. Means with the same letter are not significantly different at $P < 0.05$ according to Lsd teg.

罹病度分別為 96.3% 與 100.0%，指出以直接混合 0.5% (w/v) 比例 RBCB10 之處理，亦具有延緩病害發生之效果，番茄萎凋病之罹病度可降低 40.7% (圖 3 B)。

討論

將 *Lasmenia* sp. CB10 菌株培養於不同基質，測試其對番茄萎凋病菌菌絲生長抑制效果，顯示於米糠與豆粕基質生長的 CB10 菌株，對番茄萎凋病菌之菌絲生長具有較好抑制效果，而培養於太空包木屑基質之抑制效果最不顯著。由於本研究供試之各種基質內的碳氮素之比例不同，而碳氮素的比例不同會影響活性物質的產生 (Ripa *et al.* 2009)。米糠與豆粕為高氮含量物質，而太空包木屑則為高碳含量物質 (Huang & Peng 2008)；即基質中的碳氮比例可能為影響 CB10 菌株抗菌活性物質分泌能力之因子。

於溫室條件下，比較添加不同比例之 RBCB10 是否影響番茄植株生長發育。結果指出，混合 1% (w/v) RBCB10 之泥炭土，雖能增加番茄幼苗之葉片數，但於株高影響上，添加 0.5% 或 1.0% (w/v) 之 RBCB10 對株高並無顯著影響，推測 CB10 菌株對幼苗無明顯生長促進效果。反之，只添加 1% (w/v) 比例之米糠影響番茄幼苗生長顯著，可造成植株矮小。

Khan *et al.* (2007) 曾指出，未發酵之米糠，遇水進行發酵後所產生之高溫、氧氣消耗及產生大量還原與毒害物質會抑制雜草的生長或發芽。推測 1% (w/v) 比例之米糠於土壤中可能因發酵，產生高熱或有害物質，進而影響番茄植株根部之發展；而添加 1% (w/v) RBCB10，由於米糠已部分被 CB10 菌株所分解利用，降低對番茄植株生長之負面影響。雖添加 0.5% (w/v) 比例之米糠亦可能於土壤中發酵，但相對土壤比例較少，有害物質於土壤稀釋下，對於番茄根部造成傷害不明顯。因此，在考量未來田間施用與可能風險，混合 0.5% (w/v) RBCB10 被認為是進行植株番茄植株育苗與防治番茄萎凋病較合適之比例。

溫室條件下，比較不同 RBCB10 之施用方式對番茄萎凋病的防治效果，結果顯示以混合 RBCB10 之泥炭土做為育苗介質之方式，或 RBCB10 直接添加於感染土之方式皆可延緩番茄萎凋病之發病情形，但以直接添加於感染土之處理效果較佳。將混合 RBCB10 之泥炭土做為育苗介質，雖有機會讓 CB10 菌株先行纏據於番茄幼苗根圈，但於後續觀察中 CB10 菌株未有大量纏據於根圈的現象 (結果未呈現)；推測原因為番茄根系之分泌物無法吸引 CB10 菌株，造成 CB10 菌株纏據於番茄根圈的效果有限；且 CB10 菌株生長緩慢，導致延緩番茄

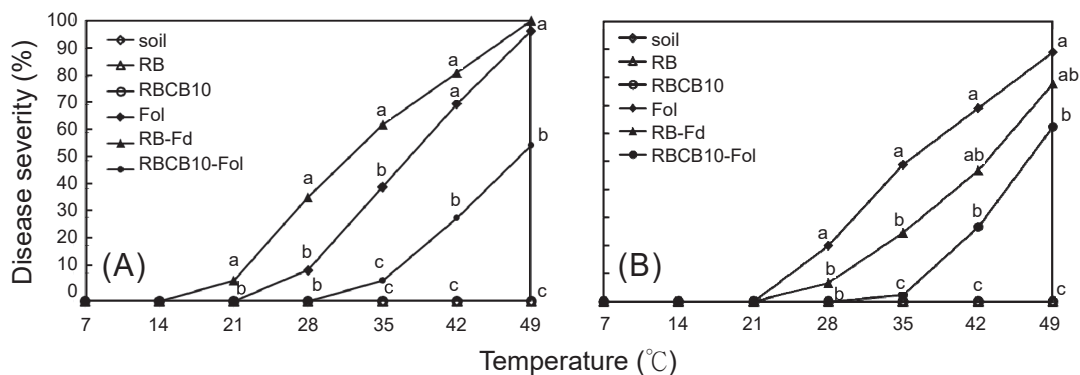


圖 3. 溫室條件下不同施用 0.5% (w/v) RBCB10 的方式對其防治番茄萎凋病之效果。(A) 以 RBCB10 作為育苗介質；(B) RBCB10 直接與感染土混合。

Fig. 3. Efficacy of 0.5% (w/v) RBCB10 with different treating way on control of *Fusarium* wilt in the greenhouse. (A) RBCB10 mixed with peat moss as seedbed soil; (B) seedlings planted on infested soil amended with 0.5% (w/v) RBCB10. Means with the same letter are not significantly different at $P < 0.05$ according to LSD test.

萎凋病之效果較不明顯。雖 Larena *et al.* (2003) 曾指出，將 *Penicillium oxalicum* 菌株於番茄移植前施用，可使 *P. oxalicum* 菌株有效於育苗介質中與根圈建立穩定的族群量，對番茄萎凋病具持續性的防治效果，然而 CB10 菌株卻不明顯，可能因 CB10 菌株係分離自佛手柑，與番茄之親合性不足有關。

透過 RBCB10 直接與感染土混合對土壤中番茄萎凋病菌之抑制試驗中，顯示將 RBCB10 直接添加於感染土之施用方式中，CB10 菌株可能有較高機率與番茄萎凋病菌直接接觸。由於米糠基質已先行長滿一定的族群量，且同一空間內同時存在病原菌，因此當 CB10 菌株受到病原菌之威脅時，其抗菌物質之分泌可能會提高。Vinale *et al.* (2009) 曾指出，當防治菌與病原菌共同培養時，可促進防治菌分泌二次代謝產物之能力。本研究中亦觀察到，添加米糠於感染土之處理，其發病情形較不混合任何基質帶菌土之處理嚴重，推測添加米糠後，可能成為土壤中番茄萎凋病菌之養分來源，導致番茄萎凋病菌生長更快。Tu *et al.* (1992) 研究指出，土壤中加入有機質可利於土壤中病原菌的生長。依上述結果，未來於田間應用 CB10 菌株防治土傳病害時，將 RBCB10 以直接添加方式混合於帶有番茄萎凋病菌之土壤中，透過添加方式直接抑制病原菌之生長，進而延緩病原菌感染番茄根部，達到降低番茄萎凋病病勢發展的效果。本研究尚未評估一次施用與多次施用方式對防治番茄萎凋病之效果，未來可進一步於田間進行試驗。

引用文獻

- De Cal, A., R. García-Lepe, S. Pascual, and P. Melgarejo. 1999. Effects of timing and method of application of *Penicillium oxalicum* on efficacy and duration of control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Pathol.* 48:260–266.
- Ho, M. Y. 2011. The Study of Biodiversity of Endophytic Fungi from Chinese Herb and Its Application on Control of Vegetable Disease. Master Thesis, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. Taichung, Taiwan. 55 pp. (in Chinese with English abstract)
- Hsu, S. T., T. T. Chang, C. A. Chang, J. L. Tsai, and T. T. Tsay. 2002. List of plant diseases in Taiwan. p. 50–52. *in: List of Plant Diseases in Taiwan*. 4th ed. Taiwan Phytopathological Society. Taichung. 386 pp. (in Chinese)
- Huang, C. H., P. D. Roberts, and L. E. Darnoff. 2012. Fusarium diseases of tomato. p.145–158. *in: Fusarium Wilts of Greenhouse Vegetable and Ornamental Crops*. (Gullino, M. L., J. Katan, and A. Garibaldi, eds.) American Phytopathological Society. St. Paul, MN. 256 pp.
- Huang, J. W. and Y. H. Peng. 2008. Development of container medium and organic amendment with agricultural wastes. p.127–136. *in: Proceedings of Symposium on Plant Disease Management in the Era of Energy-Saving and Carbon Reduction*. November 20, 2008. Taichung, Taiwan. Taiwan Agricultural Research Institute Council of Agriculture, Executive Yuan, Taichung, Taiwan. (in Chinese)
- Khan, M. A. I., K. Ueno, S. Horimoto, F. Komai, K. Tanaka, and Y. Ono. 2007. Evaluation of the use of rice bran compost for eco-friendly weed control in organic farming systems. *Am. J. Environ. Sci.* 3(4):234–239.
- Larena, I., P. Sabuquillo, A. Melgarejo, and A. De Cal. 2003. Biocontrol of Fusarium and Verticillium wilt of tomato by *Penicillium oxalicum* under greenhouse and field conditions. *J. Phytopathol.* 151:507–512.
- Nash, S. M. and W. C. Snyder. 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot Fusarium in field soils. *Phytopathology* 52:567–572.
- Petrini, O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. p.179–197. *in: Microbial Ecology of Leaves*. (Andrews, J. H. and S. S. Hirano, eds.) Springer. New York. 499 pp.
- Proença Barros, F. A. and E. Rodrigues-Filho. 2005. Four spiroquinazoline alkaloids from *Eupenicillium* sp. isolated as an endophytic fungus from leaves of *Murraya paniculata* (Rutaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 33:257–268.
- Ripa, F. A., F. Nikkon, S. Zaman, and P. Khondkar. 2009. Optimal conditions for antimicrobial metabolites production from a new *Streptomyces* sp. RUPA-08PR isolated from bangladeshi soil. *Mycobiology* 37:211–214.
- Srivastava, R., A. Khalid, U. S. Singh and A. K. Sharma. 2010. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. *Biol. Control* 53:24–31.

- Strobel, G. A. 2002. Microbial gifts from rain forests. *Can. J. Plant Pathol.* 24:14–20.
- Strobel, G. and B. Daisy. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67:491–502.
- Strobel, G. A., E. Dirkse, J. Sears, and C. Markworth. 2001. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology* 147:2943–2950.
- Sun, S. and Z. Huang. 1996. Plant Fusarium Diseases in Taiwan. Shih Wei. Taichung, Taiwan. 170 pp. (in Chinese)
- Tejesvi, M. V., M. S. Nalini, B. Mahesh, H. S. Prakash, K. R. Kini, H. S. Shetty, and V. Subbiah. 2007. New hopes from endophytic fungal secondary metabolites. *Boletín de la Sociedad Química de México* 1:19–26.
- Tu, C. C., T. F. Hsieh, and W. H. Tsai. 1992. Studies on control of lily southern blight by application of soil amendments. *J. Agric. Res. China* 41:280–294. (in Chinese with English abstract)
- Vinale, F., E. L. Ghisalberti, K. Sivasithamparam, R. Marra, A. Ritieni, R. Ferracane, S. Woo, and M. Lorito. 2009. Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Letts. Appl. Microbiol.* 48:705–711.
- Wang, T. C. 1995. Diseases of Solanaceous vegetables. p.43–54. *in*: Taiwan Agricultural Encyclopedia. 3rd ed. (Lin, I. S., C. H. Cheng, and W. C. Kao, eds.) Taiwan Agricultural Research Institute Council of Agriculture, Executive Yuan. Taichung, Taiwan. 500 pp. (in Chinese)

Screening the Culture Substrates for Endophytic Fungi, *Lasmenia* sp. CB10, and Evaluation of Its Effect on Control of Tomato Fusarium Wilt

Pei-Hsin Lo¹, Wen-Chuan Chung², and Wen-Hsin Chung^{3,*}

Abstract

Lo, P. H., W. C. Chung, and W. H. Chung. 2017. Screening the culture substrates for endophytic fungi, *Lasmenia* sp. CB10, and evaluation of its effect on control of tomato fusarium wilt. *J. Taiwan Agric. Res.* 66(3):193–201.

The endophytic fungi *Lasmenia* sp. CB10 was isolated from medicinal plant, fingered citron (*Citrus medica* var. *sarcodactylis*). The screening test indicated that CB10 grew in rice bran (RBCB10) showed highly efficacy on inhibiting the mycelium growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol146). Moreover, peat moss mixed with 0.5% or 1% (w/v) RBCB10 did not promote the growth of tomato seedlings significantly. The control efficacy demonstrated that the infested soil of Fol146 mixed with 0.5% (w/v) RBCB10 could decrease the population of Fol146. Compared with different application method of RBCB10, the peat moss mixed with 0.5% (w/v) RBCB10 used as seedbed soil then the tomato seedlings were transplanted into infested soil of Fol146 could decrease 26.7% disease severity of tomato Fusarium wilt. On the other hand, the infested soil of Fol146 mixed with 0.5% (w/v) RBCB10 directly could decrease the disease severity by 40.7%. The results suggested that field soil mixed with RBCB10 directly might be suitable for delaying the severity of tomato Fusarium wilt under field condition.

Key words: Endophytic fungi, *Lasmenia* sp., Fusarium wilt, Rice bran.

Received: August 31, 2016; Accepted: November 1, 2016.

* Corresponding author, e-mail: wenchung@nchu.edu.tw

¹ Assistant Research Fellow, Department of Plant Protection, Fengshan Tropical Horticultural Experiment Branch, Taiwan Agriculture Research Institute, Kaohsiung, Taiwan, ROC.

² Research Fellow and Chief, Propagation Technology Division, Seed Improvement and Propagation Station, Taichung, Taiwan, ROC.

³ Professor, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.