

## 菌種與培養基：

本實驗使用兩株*Bacillus subtilis* (Bs) 菌進行對抗實驗，其一為陽田生技提供之菌株（簡稱陽田菌），另一株為實驗室篩出之\$10菌；五株植病菌*Fusarium oxysporum f. sp. Vasinfectum* (BCRC 31611)、*Rhizoctonia solani* (BCRC 31626)、*Alternaria solani* (BCRC 32123)、*Phytophthora capsici* (BCRC 32226) 及 *Colletotrichum gloeosporioides* (BCRC 35073) 皆購自食工所。

陽田菌及\$10菌之平板培養乃使用LA培養基，而液態培養時則使用修飾過之Difco產孢配方：每公升含有glucose 3 g、Bacto nutrient broth (Difco) 8 g、peptone 50 g、10% (w/v) KCl 10 ml、1.2% (w/v) MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 10 ml，並利用NaOH將pH調整為7.6。使用前每公升培養液再添加下述無菌溶液：1M CaCO<sub>3</sub> 1 ml、0.01 M MnCl<sub>2</sub> 1 ml及1mM FeSO<sub>4</sub> 1 ml。五株購自食工所之植病菌，繼代培養乃使用PDA培養基。抗菌操作所使用的平板培養基則使用PDA配方，再額外添加5 g/L的peptone或yeast extract，並分別簡稱為PDA+P及PDA+Y。

## 抗菌操作：

先將陽田菌或\$10菌繼代至LA plate中，於37°C培養箱中培養過夜。之後，接種入裝有200 ml修飾過之Difco產孢配方之500ml凸底搖瓶，置入37 °C震盪培養箱中，以150 rpm震盪培養7天，以確保培養液中有大量的陽田菌或\$10菌孢子。

先將五株植病菌分別接種於兩種平板培養基的正中間，置於室溫培養1天。待植病菌約略長出菌絲，再於平板培養基上放置8mm滅菌過之濾片。之後，添加50 µL的陽田菌或\$10菌孢子培養液於濾片上，置於室溫培養數日，並觀察其變化。待菌絲長滿整個plate或菌絲停止拓展，便可量測對抗區域的寬度。本實驗控制組為僅接種植病菌的plate。

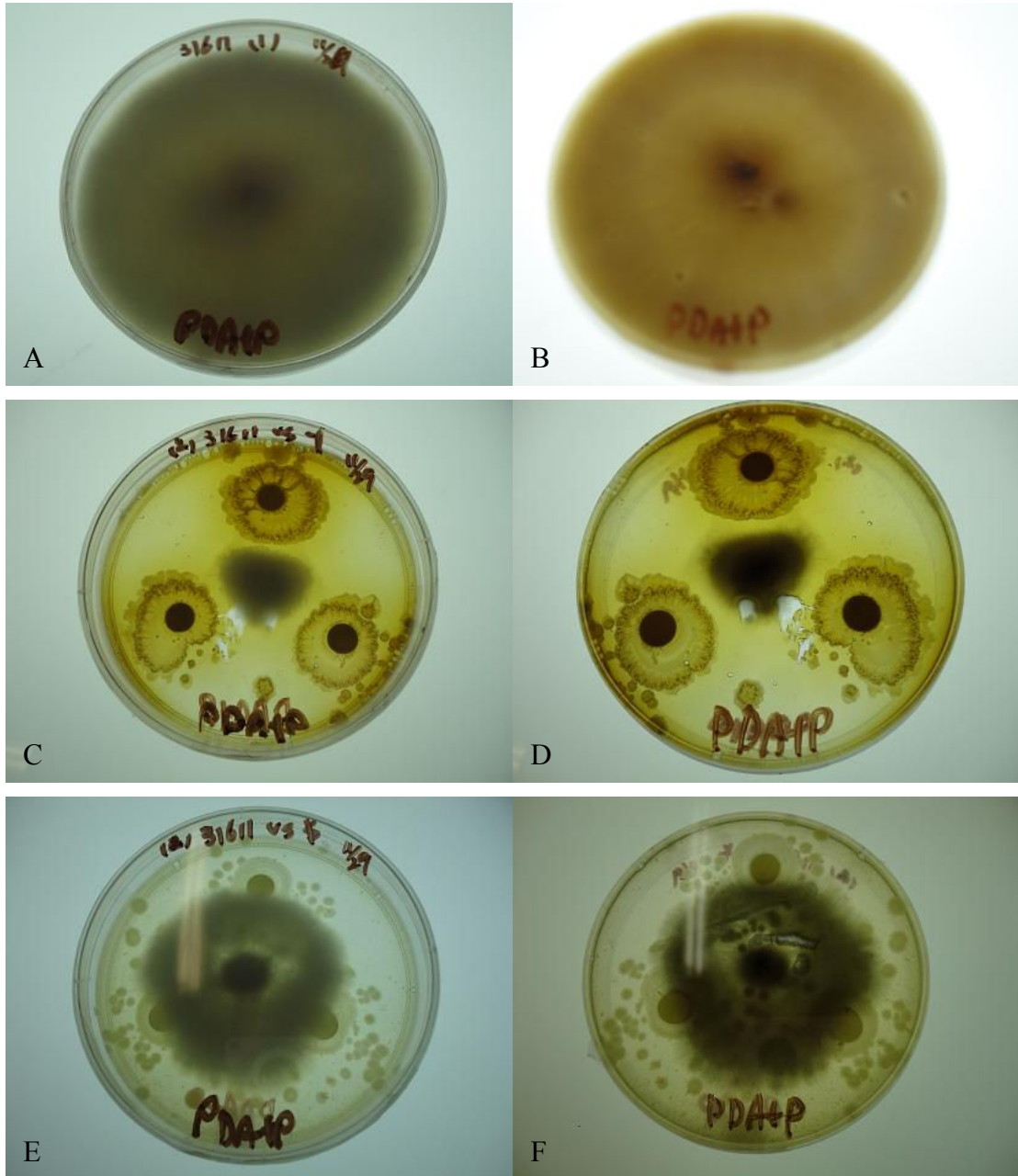
## 實驗結果：

表一：陽田菌及\$10菌於不同培養基下，對於五株植病菌之對抗區域寬度

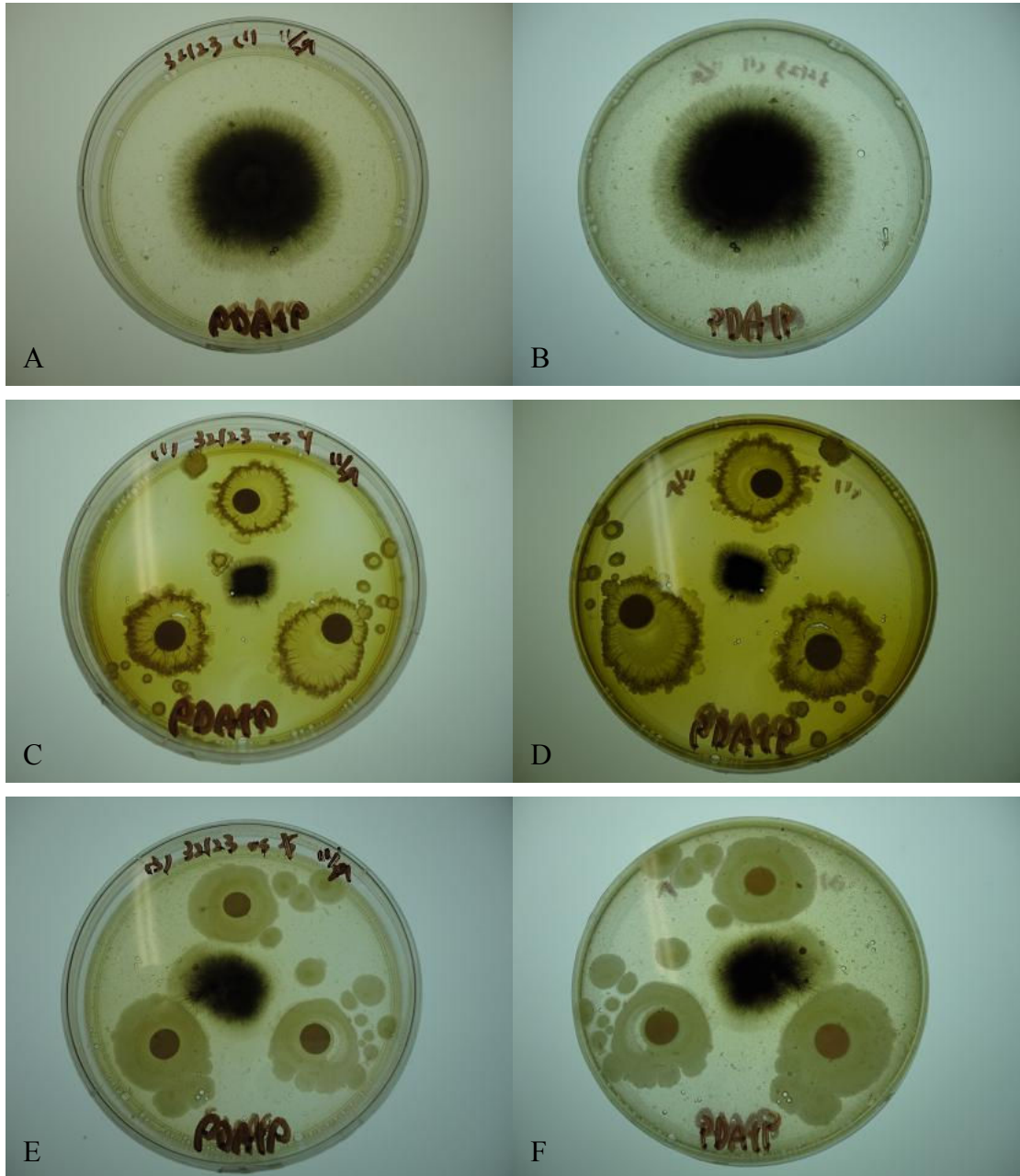
抗菌區域寬度(mm)	陽田菌		\$10 菌	
	PDA+P	PDA+Y	PDA+P	PDA+Y
<i>Fusarium oxysporum</i> <i>f. sp. Vasinfectum</i> (BCRC 31611)	3.67	2.17	0.00	0.44
<i>Rhizoctonia solani</i> (BCRC 31626)	1.67*	1.00*	0.00*	0.00*
<i>Alternaria solani</i> (BCRC 32123)	4.44	2.60	2.11	0.67
<i>Phytophthora capsici</i> (BCRC 32226)	2.22	2.14	2.00	1.56
<i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> (BCRC 35073)	2.89	2.50	1.44	1.44

由表一中數據發現，陽田菌對於這五株植病菌都有抑制效果，其中對於 *Fusarium oxysporum f. sp. Vasinfectum* (BCRC 31611)、*Alternaria solani* (BCRC 32123)、*Phytophthora capsici* (BCRC 32226) 及 *Colletotrichum gloeosporioides* (BCRC 35073) 平均都有2 mm以上的抗菌區域。此外，陽田菌使用PDA+P培養基做為抗菌培養基，皆可以獲得較佳結果。

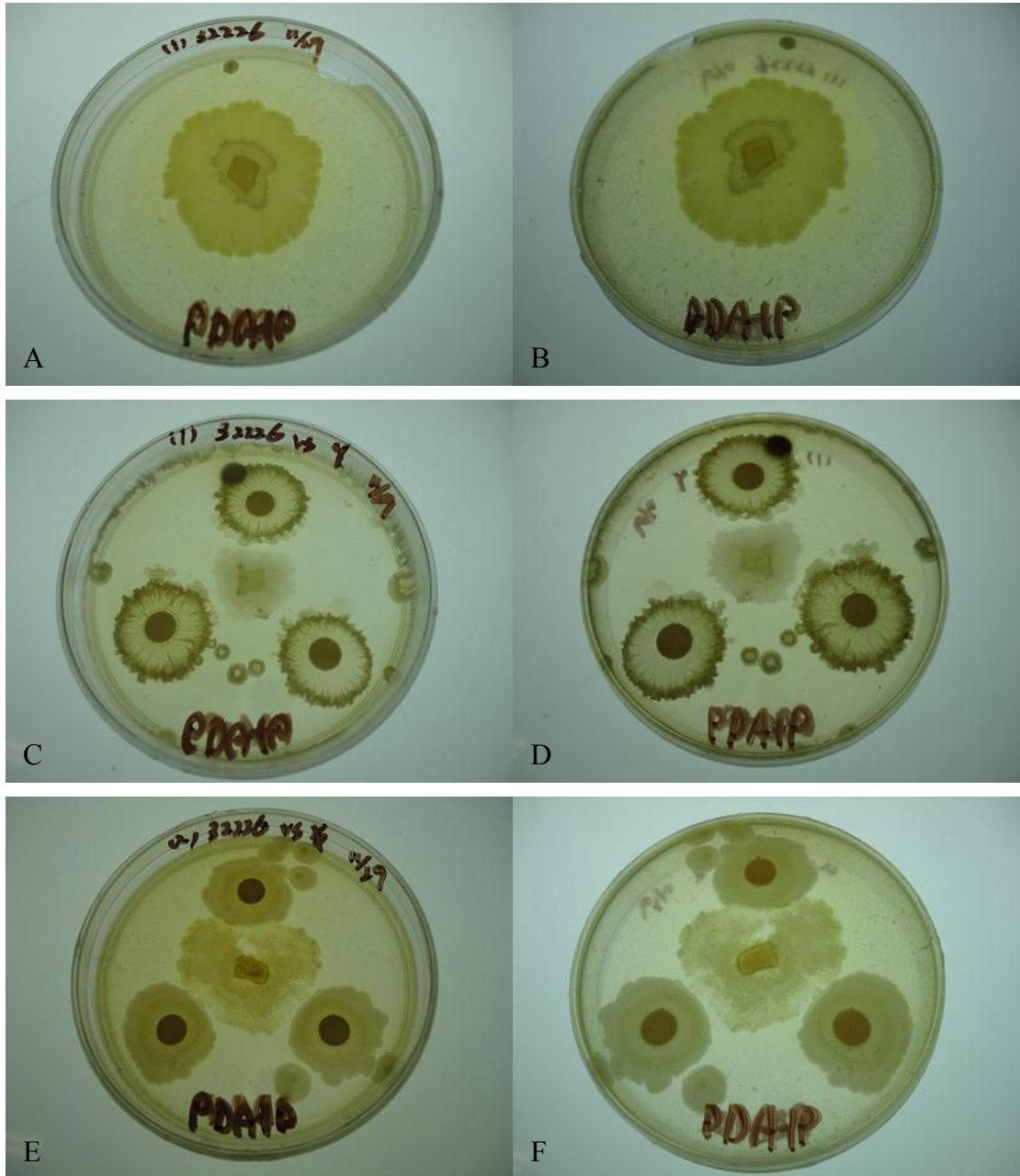
\$10菌對於 *Alternaria solani* (BCRC 32123) 及 *Phytophthora capsici* (BCRC 32226) 可有明確的抑制效果，且使用PDA+P培養基做為抗菌培養基，其效果會更明顯；對於 *Fusarium oxysporum f. sp. Vasinfectum* (BCRC 31611) 及 *Rhizoctonia solani* (BCRC 31626) 則幾乎沒有抑制效果。\$10菌對抗 *Colletotrichum gloeosporioides* (BCRC 35073) 菌，使用PDA+P培養基或PDA+Y培養基做為抗菌培養基，其效果差不多。



圖一：Bs菌於PDA+P平板培養基上對於*Fusarium oxysporum f. sp. Vasinfectum* (BCRC 31611) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；E和F則分別為接種納豆菌的正反面拍照片

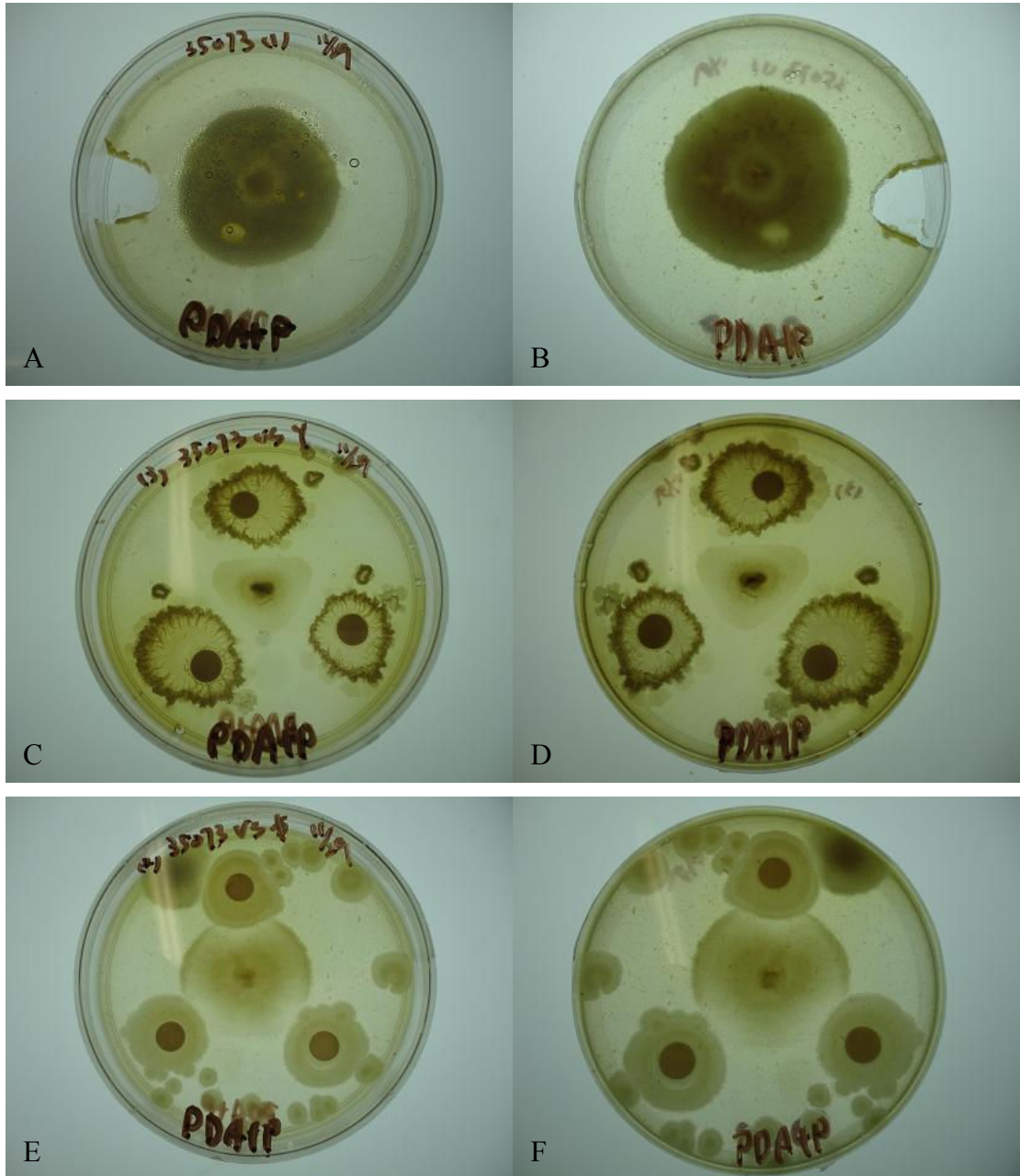


圖二：Bs菌於PDA+P平板培養基上對於*Alternaria solani* (BCRC 32123) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；E和F則分別為接種納豆菌的正反面拍照片

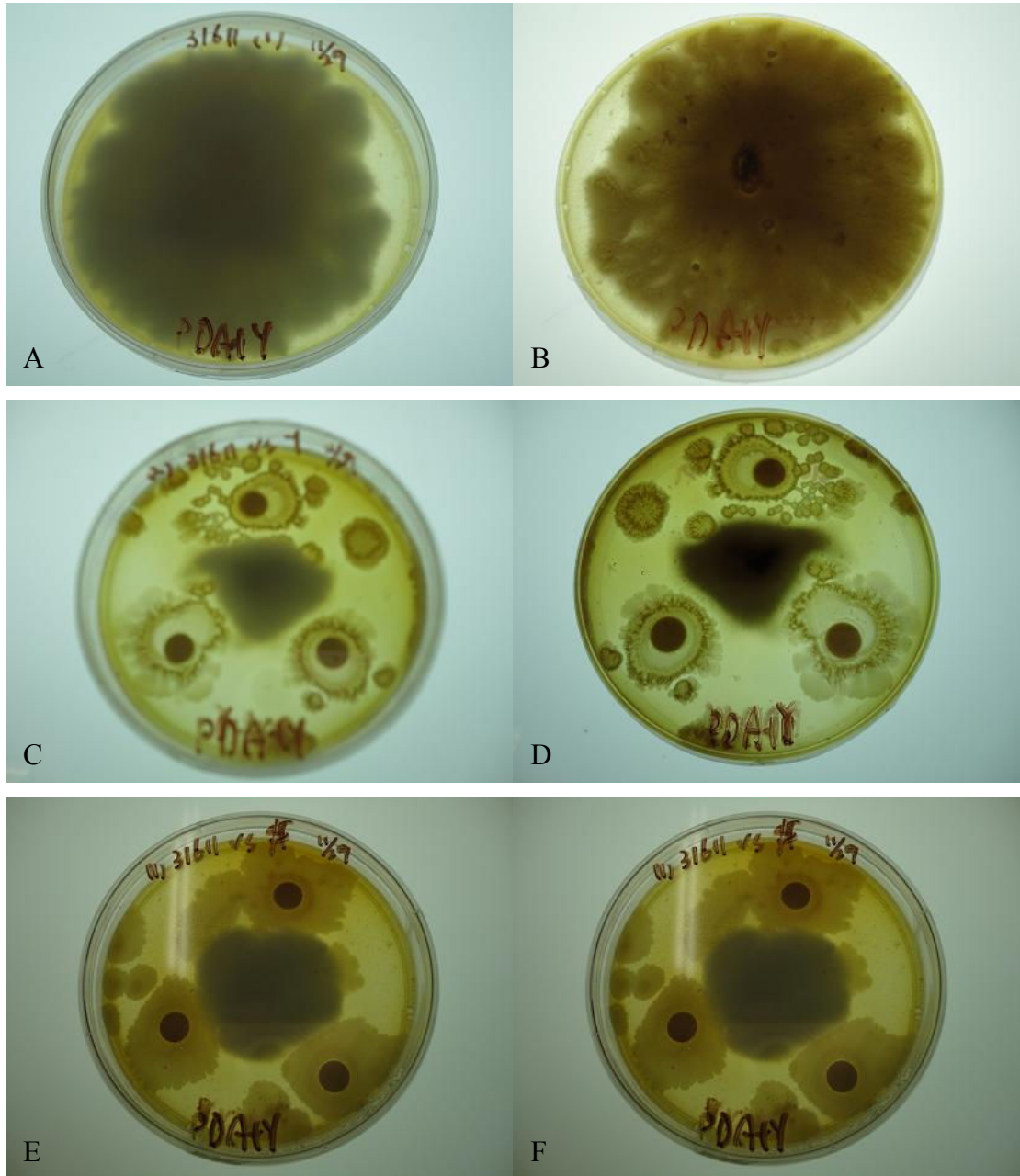


圖三：Bs菌於PDA+P平板培養基上對於*Phytophthora capsici* (BCRC 32226) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；E和F則分別為接種納豆菌的正反面拍照片

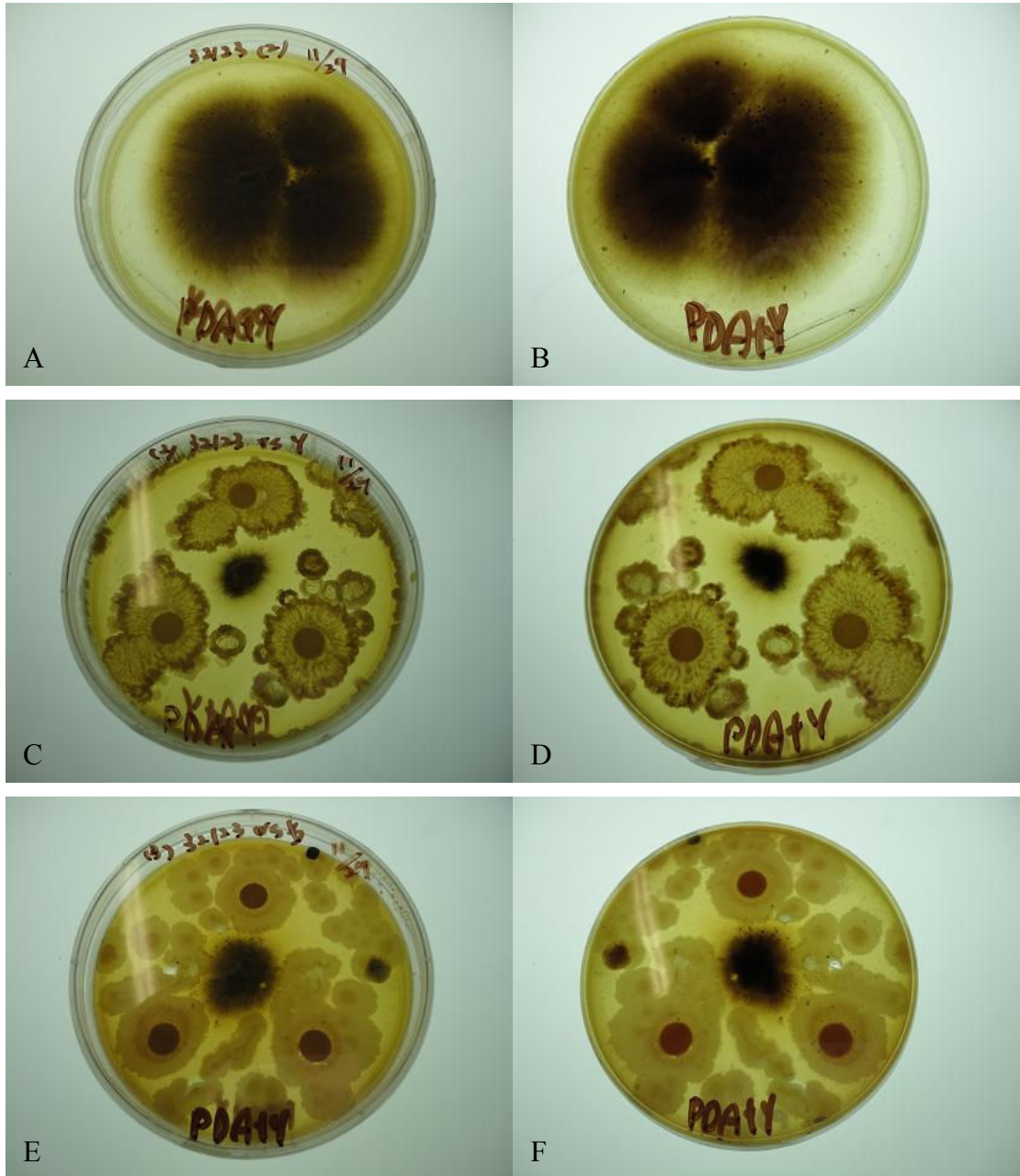




圖四：Bs菌於PDA+P平板培養基上對於*Colletotrichum gloeosporioides* (BCRC 35073) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；E和F則分別為接種納豆菌的正反面拍照片

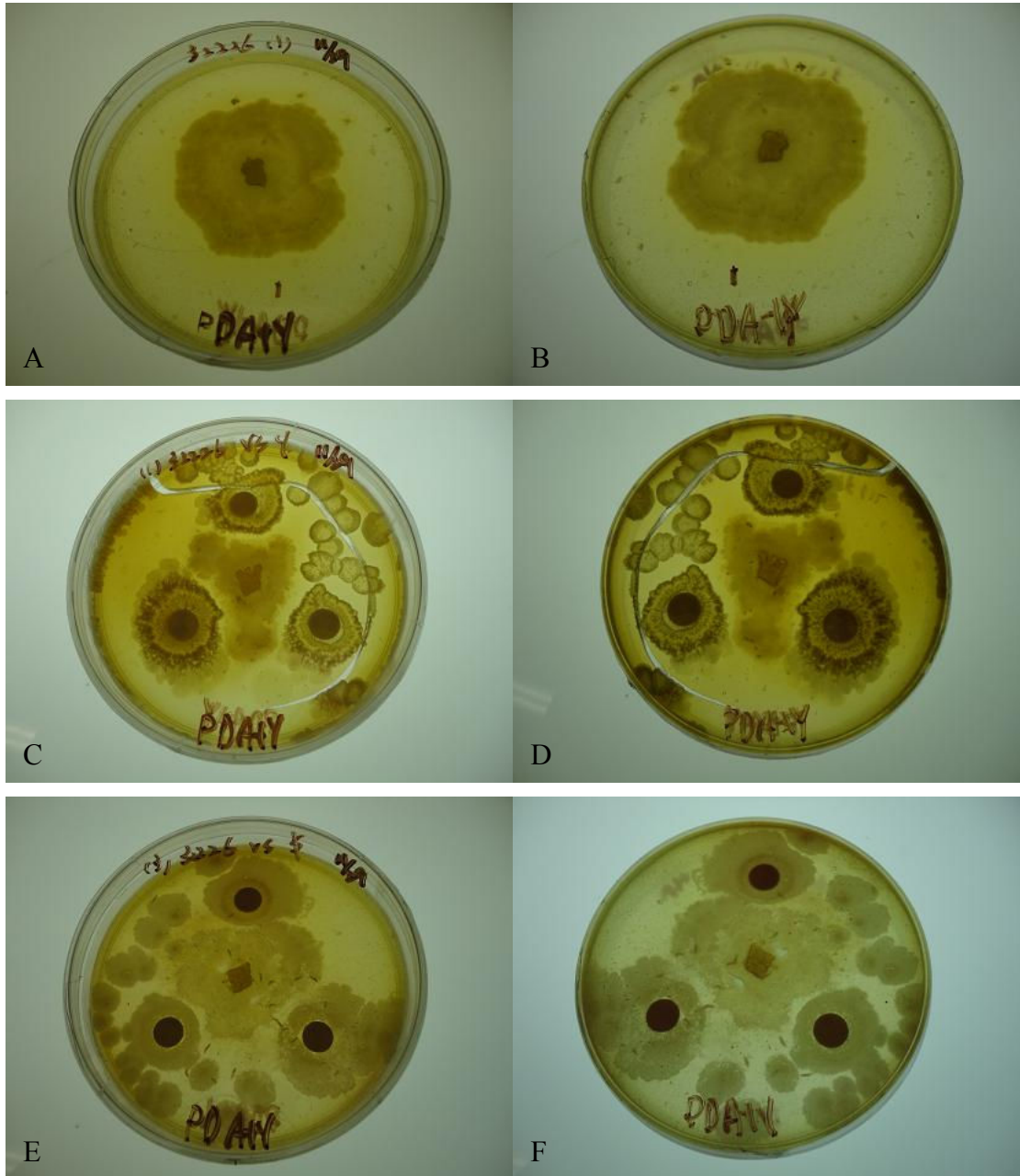


圖五：Bs菌於PDA+Y平板培養基上對於*Fusarium oxysporum f. sp. Vasinfectum* (BCRC 31611) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；納豆則分別為接種\$10菌的正反面拍照片

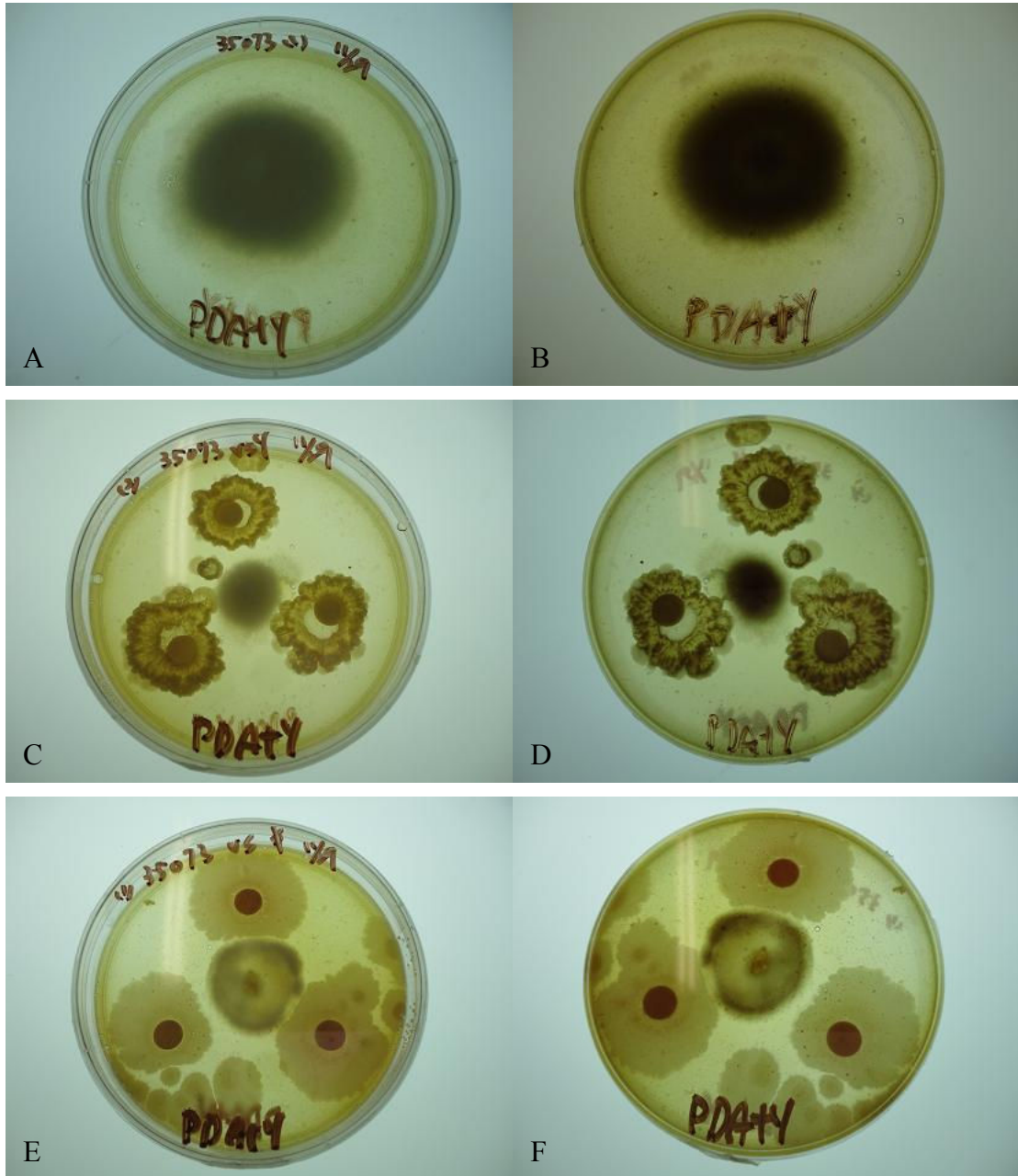


圖六：Bs菌於PDA+Y平板培養基上對於*Alternaria solani* (BCRC 32123) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；E和F則分別為接種納豆菌的正反面拍照片





圖七：Bs菌於PDA+Y平板培養基上對於*Phytophthora capsici* (BCRC 32226) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；E和F則分別為接種納豆菌的正反面拍照片



圖八：Bs菌於PDA+Y平板培養基上對於*Colletotrichum gloeosporioides* (BCRC 35073) 的對抗結果。A和B分別為控制組的正反面拍照片；C和D則分別為接種陽田菌的正反面拍照片；E和F則分別為接種納豆菌的正反面拍照片