201637570

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201637570 A

(43)公開日： 中華民國 105 (2016) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：104132343 (22)申請日： 中華民國 104 (2015) 年 09 月 30 日

(51)Int. Cl.： *A01N47/44 (2006.01)* *A01N53/00 (2006.01)*
A01N57/12 (2006.01) *A01N63/00 (2006.01)*
A01N63/02 (2006.01) *C12N1/20 (2006.01)*
C12R1/10 (2006.01)

(30)優先權：2014/12/29 美國 62/097,256
2015/06/05 美國 62/171,555

(71)申請人：富曼西公司 (美國) FMC CORPORATION (US)
美國

(72)發明人：泰歌夫 賽夫雅 TAGHAVI, SAFIYH (US)；凡 德 雷李 丹尼爾 VAN DER LELIE, DANIEL (NL)；李傑宏 LEE, JAEHEON (KR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：96 項 圖式數：9 共 91 頁

(54)名稱

地衣芽孢桿菌ＲＴＩ１８４組合物及益於植物生長之使用方法

BACILLUS LICHENIFORMIS RTI184 COMPOSITIONS AND METHODS OF USE FOR BENEFITING PLANT GROWTH

(57)摘要

本發明提供具有促進植物生長活性之地衣芽孢桿菌(Bacillus licheniformis)RTI184 新菌株之組合物及應用於植物之方法。亦提供包括分別指定為「豐原素(Fengycin)MB-Cit」及「脫羥基豐原素 MB-Cit」之新鑑別的豐原素樣及脫羥基豐原素樣環狀脂肽的地衣芽孢桿菌菌株之組合物及提取物。在特定態樣中，含有該地衣芽孢桿菌菌株 RTI184 之組合物可單獨或與化學劑或其他微生物劑組合應用以益於植物生長。

Compositions and methods for application to plants are provided for a new strain of Bacillus licheniformis RTI184 having plant growth promoting activity. Compositions and extracts of Bacillus licheniformis strains that include newly identified Fengycin-like and Dehydroxyfengycin-like cyclic lipopeptides designated as "Fengycin MB-Cit" and "Dehydroxyfengycin MB-Cit", respectively, are also provided. In particular aspects, compositions containing the Bacillus licheniformis strain RTI184 can be applied alone or in combination with chemical agents or other microbial agents to benefit plant growth.

指定代表圖：

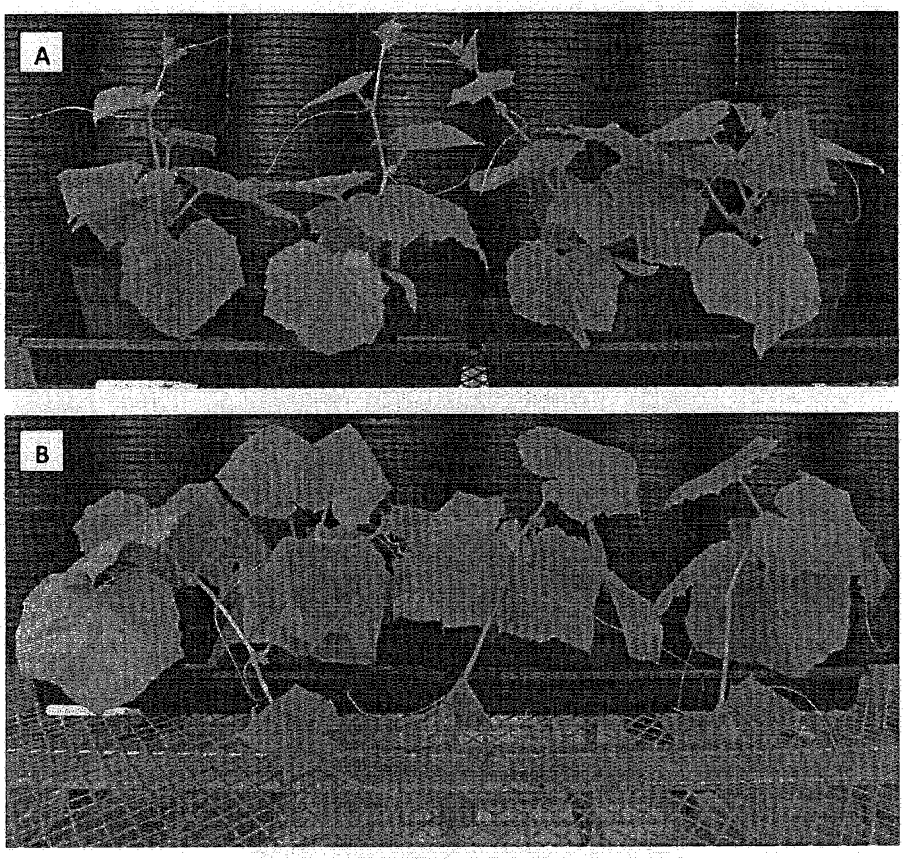


圖4

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】

地衣芽孢桿菌RTI184組合物及益於植物生長之使用方法

BACILLUS LICHENIFORMIS RTI184 COMPOSITIONS AND METHODS OF USE FOR BENEFITING PLANT GROWTH

相關申請案之交叉參考

本申請案主張2014年12月29日申請的美國臨時申請案第62/097,256號及2015年6月5日申請的美國臨時申請案第62/171,555號之權益，該等申請案之揭示內容各自以全文引用的方式併入本文中。

【技術領域】

當前所揭示之主題係關於包含地衣芽孢桿菌(*Bacillus licheniformis*)分離菌株之組合物，其應用於植物根部、植物種子及植物周圍土壤以益於植物生長。

【先前技術】

已知對植物生長及健康具有有益作用之多種微生物存在於土壤中，特定言之與植物聯合存活於根區中(植物根圍促生長細菌「PGPR」)，或以內寄生菌形式存在於植物內。其有益的促植物生長特性包括固氮；鐵螯合；磷酸鹽溶解；抑制非有益微生物；抗蟲害；誘導系統抗性(ISR)；系統獲取抗性(SAR)；植物物質分解於土壤中以增加有用土壤有機物；及合成植物激素，諸如吲哚-乙酸(IAA)、乙偶姻及2,3-丁二醇，其刺激植物生長、發育及對環境壓力(諸如乾旱)作出反應。另外，此等微生物可藉由使前驅體分子1-胺基環丙烷-1-甲酸酯(ACC)分解來干擾植物之乙烯壓力反應，籍此刺激植物生長且減緩果實熟化。此等有益微生物可改進土壤品質、植物生長、產量及作物

品質。各種微生物展現生物活性以便適用於控制植物疾病。此類生物殺蟲劑(活生物體及由此等生物體自然產生之化合物)可比合成肥料及殺蟲劑更安全且更生物可降解。

真菌植物病原體，包括(但不限於)葡萄孢屬(*Botrytis* spp.)(例如*灰葡萄孢菌*(*Botrytis cinerea*))、*鐮刀菌屬*(*Fusarium* spp.)(例如*尖孢鐮刀菌*(*F. oxysporum*)及*禾穀鐮刀菌*(*F. graminearum*))、*絲核菌屬*(*Rhizoctonia* spp.)(例如*立枯絲核菌*(*R. solani*))、*稻瘟菌屬*(*Magnaporthe spp.*)、*球腔菌屬*(*Mycosphaerella spp.*)、*柄鏽菌屬*(*Puccinia spp.*)(例如*小麥葉鏽菌*(*P. recondita*))、*疫菌屬*(*Phytopthora spp.*)及*層鏽菌屬*(*Phakopsora* spp.)(例如*豆薯層鏽菌*(*P. pachyrhizi*))為一種類型之植物蟲害，其可在農業及園藝行業中造成嚴重經濟損失。化學劑可用於控制真菌植物病原體，但使用化學劑具有如下缺點，包括成本高、缺乏功效、出現抗真菌菌株及不希望的環境影響。另外，除靶向處理之植物病原體之外，此類化學處理往往為不加選擇的且可不利地影響有益細菌、真菌及節肢動物。第二類型之植物蟲害為細菌病原體，包括(但不限於)*歐文氏菌屬*(*Erwinia* spp.)(諸如*菊歐文氏菌*(*Erwinia chrysanthemi*))、*泛菌屬*(*Pantoea* spp.)(諸如*綠檸檬泛菌*(*P. citrea*))、*黃單孢菌屬*(*Xanthomonas*)(例如*野油菜黃單孢菌*(*Xanthomonas campestris*))、*假單孢菌屬*(*Pseudomonas* spp.)(諸如*丁香假單孢菌*(*P. syringae*))及*青枯病菌屬*(*Ralstonia* spp.)(諸如*番茄青枯病菌*(*R. soleacearum*))，其在農業及園藝行業中造成嚴重經濟損失。類似於病原性真菌，使用化學劑處理此等細菌病原體具有缺點。病毒及病毒樣生物體包含第三類型之植物致病劑，其難以控制，但細菌微生物可經由誘導系統抗性(ISR)在植物中提供對其的抗性。因此，可用作生物肥料及/或生物殺蟲劑來控制病原性真菌、病毒及細菌之微生物為合乎需要的且高度需要其用以改進農業可持續性。最終類型之植

物病原體包括植物病原性線蟲及昆蟲，其可造成植物嚴重損害及損失。

*芽孢桿菌*屬之一些成員已報導為生物控制菌株，且一定已應用於商業產品中(Kloepper, J.W.等人, 2004, *Phytopathology 第94卷, 第11期, 1259-1266*)。舉例而言，當前用於商業生物控制產品中之菌株包括：地衣芽孢桿菌菌株QST2808，用作SONATA及BALLAD-PLUS中之活性成分，由BAYER CROP SCIENCE生產；地衣芽孢桿菌菌株GB34，用作YIELDSHIELD中之活性成分，由BAYER CROP SCIENCE生產；*枯草芽孢桿菌*(*Bacillus subtilis*)菌株QST713，用作SERENADE之活性成分，由BAYER CROP SCIENCE生產；*枯草芽孢桿菌*菌株GBO3，用作KODIAK及SYSTEM3中之活性成分，由HELENA CHEMICAL COMPANY生產。*蘇雲金芽孢桿菌*(*Bacillus thuringiensis*)及*強固芽孢桿菌*(*Bacillus firmus*)之各種菌株已用作對抗線蟲及病媒昆蟲之生物控制劑，且此等菌株充當許多市售生物控制產品之基礎，該等產品包括NORTICA及PONCHO-VOTIVO，由BAYER CROP SCIENCE生產。另外，當前用於商業生物刺激產品中之芽孢桿菌菌株包括：*解澱粉芽孢桿菌*(*Bacillus amyloliquefaciens*)菌株FZB42，用作RHIZOVITAL 42中之活性成分，由ABiTEP GmbH生產；以及各種其他*枯草芽孢桿菌*屬，包括其作為全細胞，包括其在生物刺激產品中之醱酵提取物，諸如由JHBiotech Inc.生產之FULZYME。

當前所揭示之主題提供微生物組合物及其益於植物生長之使用方法。

【發明內容】

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之組合物，其包括以適合益於植物生長之量存在的以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別

特徵的突變體。

在本發明之一個實施例中，提供一種經塗佈之植物種子，該植物種子塗佈有包含以下之組合物：以適合益於植物生長之量存在的以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物的孢子或其具有其所有鑑別特徵的突變體。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之組合物，該組合物包括以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體；及殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑、肥料、微生物或其組合，以適合益於植物生長之量存在。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，該方法包括將包括適合益於植物生長之量的以ATCC PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體之組合物輸送至：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，該方法包括：在適合生長介質中栽植植物種子或植物之再生營養/癒傷組織，其中該種子已塗佈有或該營養/癒傷組織已接種有包含以ATCC PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體之組合物，其中植物生長受益於種子或營養/癒傷組織。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生根之方法，該方法包括：將植物剪枝浸於組合物中且在適合生長介質中栽植其，其中該組合物包含適合益於植物生根之量的以ATCC PTA-121722寄存之

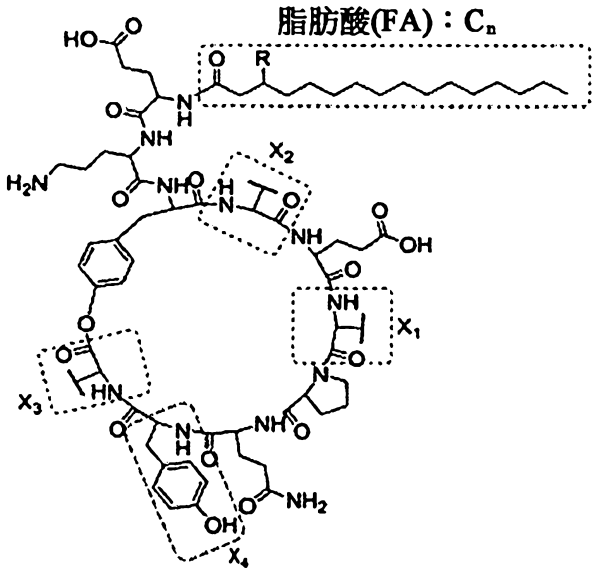
地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體，其中植物之根形成及生長受益於剪枝。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，其包括：將以下各者之組合：第一組合物，其包含有包含適合益於植物生長之量的以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體之組合物；及第二組合物，其包含適合益於植物生長之量的殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑、肥料、微生物或其組合，輸送至：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，其包括：將包含以下各者之組合物：適合益於植物生長之量的以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體；及適合益於植物生長之量的殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑、肥料、微生物或其組合，輸送至：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

在本發明之一個實施例中，提供一種應用於植物之組合物，該組合物包括分離豐原素MB-Cit化合物及分離脫羥基豐原素MB-Cit化合物中之至少一者及視情況表VI中所列之額外分離豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合，其量適合於賦予益於植物生長或易感

病植物抵抗病原性感染之保護中之一或兩者，豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物具有下式：



其中，對於豐原素MB-Cit，n在8至20範圍內，FA為線性、異式或反異式的，且R為OH，X_1為Val，X_2為Thr，X_3為Met且X_4為Cit；且其中，對於脫羥基豐原素MB-Cit，n在8至20範圍內，FA為線性、異式或反異式的，R為H，X_1為Val，X_2為Thr，X_3為Met且X_4為瓜胺酸。

在一個實施例中，提供一種地衣芽孢桿菌菌株之生物學上純培養物的提取物，該提取物包括豐原素MB-Cit化合物及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及表VI中所列之額外豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合。

在一個實施例中，提供一種以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物的提取物，該提取物包括豐原素MB-Cit化合物及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及表VI中所列之額外豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合。

【圖式簡單說明】

圖1A-1D為展示根據本發明之一或多個實施例，用地衣芽孢桿菌菌株RTI184以**B)**1.04×10^6 CFU/ml、**C)**1.04×10^5 CFU/ml及**D)**1.04×10^4 CFU/ml接種種子之後在生長7天後對大豆幼苗之根毛發育的正面影響

與未經處理之對照**A)**相比之影像。

圖2A-2B為展示根據本發明之一或多個實施例，用地衣芽孢桿菌菌株RTI184接種種子對MONEY MAKER番茄中早期植物生長之正面影響的影像。生長7天後所提取之植物展示於該圖中。**A)**對照植物；及**B)**用RTI184接種之植物。

圖3A-3B為展示根據本發明之一或多個實施例，用地衣芽孢桿菌菌株RTI184接種種子對玉米中植物生長之正面影響的影像。**A)**用地衣芽孢桿菌菌株RTI184接種之植物；及**B)**對照植物。

圖4A-4B為展示根據本發明之一或多個實施例，由於添加地衣芽孢桿菌菌株RTI184至PROMIX BX (PREMIER TECH, INC; Quebec, Canada)盆栽土(用石灰處理至pH 6.5)而對黃瓜之生長及活力的正面影響之影像。**A)**在不添加有地衣芽孢桿菌RTI184之相同土壤中之對照黃瓜植物；及**B)**在向土壤添加1×10^7 CFU/g地衣芽孢桿菌RTI184孢子之後的黃瓜植物。

圖5A-5B為展示根據本發明之一或多個實施例，由於添加地衣芽孢桿菌菌株RTI184至PROMIX BX (PREMIER TECH, INC; Quebec, Canada)盆栽土(用石灰處理至pH 6.5)而對番茄之生長及活力的正面影響之影像。**A)**在向土壤添加1×10^7 CFU/g地衣芽孢桿菌RTI184孢子之後的番茄植物；及**B)**在不添加有地衣芽孢桿菌RTI184之相同土壤中之對照番茄植物。

圖6A-6B為展示根據本發明之一或多個實施例，由於添加地衣芽孢桿菌菌株RTI184至PROMIX BX (PREMIER TECH, INC; Quebec, Canada)盆栽土(用石灰處理至pH 6.5)而對胡椒之生長及活力的正面影響之影像。**A)**在向土壤添加1×10^7 CFU/g地衣芽孢桿菌RTI184孢子之後的胡椒植物；及**B)**在不添加有地衣芽孢桿菌RTI184之相同土壤中之對照胡椒植物。

圖7為展示根據本發明之一或多個實施例，由微生物物種產生之先前報導之豐原素型及脫羥基豐原素型環狀脂肽，包括地衣芽孢桿菌及由地衣芽孢桿菌RTI184分離株產生之新鑑別(以粗體展示)之豐原素型及脫羥基豐原素型分子之示意圖。

圖8為根據本發明之一或多個實施例，地衣芽孢桿菌菌株CH200、RTI1242、RTI1249、RTI184、RTI1243、RTI1112、FCC1598、RTI239、RTI241及RTI253之基因組DNA的BOX-PCR指紋識別圖案之瓊脂糖凝膠電泳的影像。使用1 kb DNA梯度(FERMENTAS)作為分子大小標記。基於BOX-PCR圖案，十個菌株分為三個主要組：組1、組2A至2B (組2A及2B表示凝膠上之位置)及組3(其包含不屬於組1及2之菌株)。

圖9A-9B為展示根據本發明之一或多個實施例，用地衣芽孢桿菌菌株RTI184孢子在感染*球孢囊線蟲*(*Globodera*)之土壤中處理馬鈴薯植物生長之正面生長影響的影像。生長48天後之馬鈴薯植物展示於該圖中。**A)**對照植物；及**B)**用RTI184孢子處理之植物。

【實施方式】

術語「一(a/an)」及「該」在用於本申請案(包括申請專利範圍)中時係指「一或多個」。因此，除非上下文明確相反，否則例如提及「植物」包括複數種植物。

在本說明書及申請專利範圍通篇中，除上下文另外要求之外，術語「包含(comprise/comprises/comprising)」以非排除含義使用。同樣，術語「包括」及其語法變化形式意欲為非限制性的，使得清單中項目之列舉不排除可取代或添加至所列項目中之其他類似項目。

出於本說明書及申請專利範圍之目的，術語「約」在與一或多個數字或數值範圍結合使用時應理解為指所有此類數字，包括範圍內之所有數字，且藉由擴展邊界高於及低於所闡述數值來修改彼範圍。

由端點列舉之數值範圍包括包含在彼範圍內及彼範圍內任何範圍之所有數字，例如全部整數，包括其分數(例如，列舉1至5包括1、2、3、4及5，以及其分數，例如1.5、2.25、3.75、4.1及其類似者)。

在本發明之某些實施例中，提供益於植物生長且賦予保護植物免於病原性感染或控制植物病原性感染之組合物及方法。使鑑別為屬於地衣芽孢桿菌屬之植物相關細菌自在加利福尼亞生長之水稻根分離，且隨後測試促植物生長特性。更特定言之，經由高度保守16S rRNA及*rpoB*基因之序列分析將分離細菌菌株鑑別為新地衣芽孢桿菌菌株(參見實例1)。新細菌分離株(指定為「RTI184」)之16S RNA序列經測定與地衣芽孢桿菌的兩個其他已知菌株地衣芽孢桿菌菌株9945A (99%，在出自三個不同複本之16S rRNA基因之一個複本中，1545 bp中有2 bp不同)及地衣芽孢桿菌ATCC 14580 (99%，1545 bp中有8 bp不同)之16S rRNA基因序列幾乎一致。另外，據測定，RTI184之*rpoB*序列與已知菌株地衣芽孢桿菌9945A (CP005965)具有100%序列一致性且與以ATCC 14580寄存之地衣芽孢桿菌菌株具有97%序列一致性(3015 bp中有97 bp不同)。為在菌株RTI184與地衣芽孢桿菌9945A之間進一步區分，將其參與地衣素生物合成之路徑的基因組序列與由地衣芽孢桿菌屬產生之特徵陰離子環狀脂七肽生物界面活性劑進行比較。儘管類似，在菌株RTI184及9945A之*lichA*與*lichB*基因之間觀測到一些差異。因此，RTI184菌株鑑別為獨特的地衣芽孢桿菌菌株。地衣芽孢桿菌菌株RTI 184於2014年11月13日根據國際承認用於專利程序的微生物保存布達佩斯條約(Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purposes of Patent Procedure)之條款寄存在美國弗吉尼亞馬納薩斯之美國菌種保藏中心(American Type Culture Collection；ATCC)，且具有專利寄存編號PTA-121722。

進行實驗，展示地衣芽孢桿菌RTI184菌株在各種植物物種中之實質性促生長活性。另外，進行實驗來研究由地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生之環狀脂肽(亦即，含有稱為豐原素及脫羥基豐原素之脂肪酸基團的環狀肽分子)之類型。RTI184菌株之實驗結果提供於圖1至圖9及下文實例2至實例9中。出人意料地，環狀脂肽之研究導致發現RTI184菌株產生4類先前未報導之豐原素型及脫羥基豐原素型分子。新種類指定為：1)豐原素H及脫羥基豐原素H；2)脫羥基豐原素I；3)豐原素MA/MB/MC及脫羥基豐原素MA/MB/MC；及4)豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit，其細節描述於實例7中且展示於圖7中。除發現由RTI184菌株產生之新種類環狀脂肽之外，實驗還顯示此等新類型之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物之合成為菌株依賴性的而非地衣芽孢桿菌種固有。舉例而言，甚至密切相關之地衣芽孢桿菌菌株產生不同豐原素型及脫羥基豐原素型分子且一個密切相關地衣芽孢桿菌菌株完全不能產生任何豐原素型或脫羥基豐原素型代謝物(參見實例7及圖8)。因此，新發現之地衣芽孢桿菌RTI184菌株擁有不均勻展現於地衣芽孢桿菌菌株中之益於植物生長及健康之獨特特性。

實驗結果展示地衣芽孢桿菌RTI184菌株針對常見植物病原性生物體之抗微生物特性描述於實例2中，且該菌株之表型特點，諸如植物激素產生、乙偶姻及吲哚乙酸(IAA)，及養分循環描述於實例3中。

實例4及實例5描述用地衣芽孢桿菌RTI184菌株之孢子及營養細胞接種多種植物之種子對種子發芽、根發育及早期生長之正面影響。結果展示於表III至表IV及圖1至圖3中。作為說明，圖1A-1D為展示用RTI184之營養細胞以範圍為10^6至10^8之濃度接種後在生長7天後對根毛發育之正面影響與未經處理之對照物相比的大豆種子影像。資料展示與未接種之對照種子相比，添加RTI184細胞刺激側根及細根毛形成。細根毛在水、養分之吸收及植物與根圈中其他微生物之相互作用

中為重要的。圖2展示在用RTI184菌株孢子接種MONEY MAKER番茄種子之後對根發育之類似正面影響。圖3展示RTI184分離株在玉米中之早期促生長活性。將發芽玉米種子在約2×10^7 CFU/ml RTI184菌株之懸浮液中接種2天，且隨後在盆中栽植。RTI184菌株對玉米早期生長之有益影響展示於圖3中之影像中。圖3A展示用RTI184接種之8週齡植物且圖3B展示對照植物。在8週生長之後測定玉米幼苗之乾重，導致用RTI184處理之植物相對於非接種對照物之乾重增加25%。

在添加細菌分離株RTI184至土壤後對黃瓜、番茄及胡椒之生長及活力的影響描述於實例6中。在此實驗中，黃瓜、番茄及胡椒種子栽植於PROMIX BX (PREMIER TECH, INC; Quebec, Canada)盆栽土中，盆栽土用石灰處理至pH 6.5且用1×10^7個孢子/公克地衣芽孢桿菌菌株RTI184增強。對植物進行成像，且收集並量測其乾芽重量且與獲得的非接種對照植物之資料進行比較。對於所有作物類型，RTI184勝過對照物。RTI184菌株對生長之正面影響展示於圖4至圖6及表V中。經RTI184增強之土壤之黃瓜、番茄及胡椒之所觀測到的乾芽質量相對於對照物分別增加44%、68%及26%。

實例7描述由地衣芽孢桿菌RTI184菌株產生之環狀脂肽豐原素及脫羥基豐原素之研究，且出人意料地，鑑別先前未報導之4類此等分子。圖7為展示由包括地衣芽孢桿菌的微生物物種產生之先前報導之豐原素型及脫羥基豐原素型環狀脂肽及由地衣芽孢桿菌RTI184分離株產生之新鑑別之豐原素型及脫羥基豐原素型分子(以粗體展示)的示意圖。先前報導之豐原素型及脫羥基豐原素型脂肽及由RTI184菌株產生之新鑑別代謝物的概述提供於表VI及VII中。對於第一新種類，確定RTI184菌株產生此等化合物之先前未鑑別衍生物，其中環狀肽鏈之位置8 (在圖7中稱為X_3)處的L-異白胺酸經L-甲硫胺酸置換。此新種類豐原素及脫羥基豐原素在本文中稱為MA、MB及MC，係指A類、B類及

C類衍生物，其中圖7中X_3處之L-異白胺酸已經L-甲硫胺酸置換。新鑑別之分子以粗體展示於圖7及表VI中。另外，鑑別由地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生之此等分子之另一先前未鑑別種類，其中豐原素MB及脫羥基豐原素MB (圖7中之位置X_4)之酪胺酸(Tyr)經α-胺基酸瓜胺酸置換。此新種類豐原素及脫羥基豐原素在本文中稱為豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit，且以粗體展示於圖7及表VI中。據進一步確定，地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生先前尚未鑑別之額外種類之豐原素及脫羥基豐原素。在此種類中，豐原素B及脫羥基豐原素B (圖7中之位置X_3)之L-異白胺酸經L-高半胱胺酸(Hcy)置換。此等先前未鑑別之豐原素及脫羥基豐原素代謝物在本文中稱為豐原素H及脫羥基豐原素H，且以粗體展示於圖7及表VI中。據進一步確定，地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生先前尚未鑑別之額外種類之脫羥基豐原素。在此種類中，圖7中之位置X_1經L-異白胺酸置換。此先前未鑑別之脫羥基豐原素代謝物在本文中稱為脫羥基豐原素I，且以粗體展示於圖7及表VI中。

除發現由RTI184菌株產生之新種類環狀脂肽之外，實例7中所描述之其他實驗還顯示此等新類型之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物的合成為菌株依賴性的而非地衣芽孢桿菌屬所固有。對於此等實驗，在十個地衣芽孢桿菌菌株之間比較環狀脂肽之合成。為此分析所選之十個細菌菌株基於其高度保守16S rRNA及*rpoB*基因序列之序列比較而鑑別為地衣芽孢桿菌菌株。使各菌株之基因組DNA分離且藉由BOX-PCR圖案進行比較，且展示菌株之所得BOX-PCR圖案的凝膠影像展示於圖8中。特定言之，圖8展示地衣芽孢桿菌菌株CH200、RTI1242、RTI1249、RTI184、RTI1243、RTI1112、FCC1598及RTI239、RTI241及RTI253之基因組DNA的BOX-PCR指紋識別圖案之瓊脂糖凝膠電泳。基於其BOX-PCR圖案，十個菌株分為三個主要組：組1、組2A至2B (在圖8中組2A及2B表示凝膠上之位置)及組3 (其

包含不屬於組1及2之菌株)。

為確定由十個地衣芽孢桿菌菌株中之每一者產生之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物的類型，使用UHPLC-TOF MS分析菌株。另外，亦分析針對地衣芽孢桿菌具有特徵性之地衣素型代謝物作為內部對照。UHPLC-TOF MS分析之結果概述於實例7中之表VII中。地衣素及豐原素型及脫羥基豐原素型分子、其脂質修飾(脂肪酸(FA)鏈長)、預測分子質量及其存在或不存在於十個地衣芽孢桿菌菌株中之每一者的培養物上清液中呈現於表VII中。資料展示地衣素型代謝物由所有十個菌株合成，證實其為地衣芽孢桿菌菌株。另一方面，在十個菌株之間觀測到關於產生豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物之主要差異。發現具有相同BOX-PCR圖案之菌株RTI184及RTI1112 (組2)產生相同類型之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物，包括脫羥基豐原素A/B/C/D/I/S、脫羥基豐原素H/MA/MB/MC、脫羥基豐原素MB-Cit、豐原素H/MA/MB/MC及豐原素MB-Cit，但未能產生豐原素A/B/C/D/I/S型代謝物。另一方面，亦屬於組2之菌株FCC1598產生豐原素A/B/C/D/I/S型代謝物，但未能產生豐原素H/MA/MB/MC型代謝物。出人意料地，亦屬於組2之菌株RTI1243不產生豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物中任一者。最後，屬於組1之兩個菌株(RTI1242及RTI1249)及屬於組3之兩個菌株(RTI1241及RTI1253)未能產生豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物中任一者，而分別屬於組1及組3之CH200及RTI1239產生所有豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物。基於此等結果，推斷不同類型之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物(包括新鑑別之含瓜胺酸代謝物)之合成為菌株依賴性的而非地衣芽孢桿菌屬所固有。舉例而言，偶數密切相關地衣芽孢桿菌組2菌株產生不同豐原素型及脫羥基豐原素型分子且一個密切相關組2菌株完全不能產生任何豐原素型或脫羥基豐原素型代謝物。

在藉由滴灌添加RTI184孢子至土壤後對南瓜、青花菜、蕪菁及草莓之產量的正面影響描述於實例8中。在此等田間試驗實驗中，滴灌用於在栽植時及在稍後2週再次施用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照南瓜植物相比，添加所有濃度之RTI184孢子導致全部及可銷售南瓜之產量增加。特定言之，用RTI184處理之植物(施用量為每公頃2.5×10^{12} CFU)導致平均33 kg全部南瓜，其中26 kg可銷售，相比之下，未經處理之對照植物為22 kg全部南瓜，其中17 kg可銷售。此為全部南瓜之重量增加50%且可銷售南瓜之重量增加53%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之全部南瓜重量及可銷售南瓜重量的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照青花菜植物相比，添加RTI184孢子導致青花菜鮮重產量自3 kg (對照物)一致增加至4 kg (每公頃2.5×10^{13} CFU RTI184)、3.9 kg (每公頃2.5×10^{12} CFU RTI184)及4.6 kg (每公頃1.5×10^{11} CFU RTI184)，或重量分別增加33%、30%及53%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之鮮重的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照蕪菁植物相比，添加所有濃度之RTI184孢子導致蕪菁塊莖重量產率自3 kg (對照物)一致增加至大約5.3 kg，其為增加60%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之塊莖重量的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照草莓植物相比，添加RTI184孢子導致總草莓產量增加5% (每公頃1.5×10^{11} CFU RTI184)、8% (每公頃2.5×10^{12} CFU RTI184)及11% (每公頃2.5×10^{13}

CFU RTI184)。用RTI184處理之植物相對於對照植物之產量增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃12.5×10^{12} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌萵苣植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加RTI184孢子導致萵苣重量產率自45.6 kg (對照物)一致增加至52.8 kg，其為增加16%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之重量增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

實例9描述藉由用RTI184孢子處理在感染線蟲之土壤中生長之馬鈴薯植物來提供正面生長影響。展示用RTI184孢子處理之植物與未經處理之對照植物相比之大小增加的影像分別展示於圖8B及圖8A中。用RTI184處理之植物相對於對照植物之大小增加證明用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

在本發明之實施例中，提供包括具有促植物生長活性之新地衣芽孢桿菌菌株及具有ATCC寄存編號PTA-121722之指定RTI184的組合物及方法。當前所揭示之主題之組合物及方法在應用於以下各者時有益於植物生長：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。本發明之含有地衣芽孢桿菌RTI184菌株的組合物適用於減少對含氮肥料及可溶性礦物質的需求、增加植物養分之可用性及與植物病原體競爭，因此提高總體植物健康且減少對化學殺真菌劑及殺蟲劑的需求。含有地衣芽孢桿菌RTI184菌株之組合物可與一或多種化學劑，包括例如殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑及肥料組合使用。

已知有益的植物相關細菌(根圈及內寄生的)對宿主植物提供範圍為抗疾病及昆蟲蟲害及耐受環境壓力(包括冷、鹽度及乾旱壓力)之多種益處。由於具有接種之促植物生長細菌的植物自土壤獲取更多水及養分，例如歸因於較佳發育根系統，植物更健康生長且較不易受生物及非生物壓力影響。因此，本發明之微生物組合物可單獨或與當前作物管理輸入(諸如化學肥料、除草劑及殺蟲劑)組合應用以使作物生產力最大化。促植物生長影響轉變為植物生長較快及地上生物質量增加，該特性可應用於改進早期活力。改進之早期活力的一個益處為植物更具競爭性且勝過雜草，藉由使勞動及除草劑應用最小化直接降低雜草管理成本。促植物生長影響亦轉變為改進之根發育，包括較深及較寬根，有更多細根參與水及養分之吸收。此特性允許更佳使用農業資源，且減少用於灌溉需求及/或施肥之水。根發育及根構型之變化影響植物與其他土壤媒介微生物之相互作用，該等微生物包括有助於植物養分吸收(包括固氮及磷酸鹽溶解)之有益真菌及細菌。此等有益微生物亦與植物病原體競爭，提高總體植物健康且減少對化學殺真菌劑及殺蟲劑的需求。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之組合物，其包括適合益於植物生長之量的以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體。地衣芽孢桿菌RTI184可呈孢子形式或呈營養細胞形式。該組合物在應用於以下各者時益於植物生長：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

片語「地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物」係指以下各

者之一者或組合：細菌菌株之生物學上純醱酵培養物之孢子；細菌菌株之生物學上純醱酵培養物之營養細胞；細菌菌株之生物學上純醱酵培養物之一或多種產物；細菌菌株之生物學上純醱酵培養物之培養物固體；細菌菌株之生物學上純醱酵培養物之培養物上清液；細菌菌株之生物學上純醱酵培養物之提取物；及細菌菌株之生物學上純醱酵培養物之一或多種代謝物。

植物生長效益可藉由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加或外觀改進之一者或組合展現。

本發明之組合物及方法有益於各種植物，包括(但不限於)單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、蔓薹屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜(Squash)、西瓜、南瓜(Pumpkin)、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆(Lima bean)、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜(Beet)、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏

威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅(Poinsettia)、繡球花(Hydrangea)、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜(sugarbeet)。

在一或多個實施例中，植物可包括大豆、小麥、棉花、玉米、番茄、南瓜、黃瓜、草、草皮草、觀賞植物、繡球花或一品紅。

組合物可呈液體、油分散液、粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式。組合物可呈液體或油分散液形式，且地衣芽孢桿菌RTI184可以約1.0×10^{9} CFU/ml至約1.0×10^{12} CFU/ml之濃度存在。組合物可呈粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式，且地衣芽孢桿菌RTI184可以約1.0×10^{9} CFU/g至約1.0×10^{12} CFU/g之量存在。組合物可呈油分散液形式，且地衣芽孢桿菌RTI184可以約1.0×10^{9} CFU/ml至約1.0×10^{12} CFU/ml之濃度存在。適合益於植物生長之地衣芽孢桿菌RTI184之量可在約1.0×10^{8} CFU/ha至約1.0×10^{13} CFU/ha範圍內。

益於植物生長之包括地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物的組合物可呈栽植基質形式。栽植基質可呈盆栽土形式。

組合物可進一步包括微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物、植物生長調節劑或肥料之一者或組合，以適合益於植物生長及/或賦予保護易感病植物抵抗病原性感染之量存在。殺昆蟲劑可包括畢芬寧(bifenthrin)。殺線蟲劑可包括硫線磷。殺昆蟲劑可包括畢芬寧及可尼丁(clothianidin)。組合物可調配為液體且殺昆蟲劑可包括畢芬寧或ξ-賽滅寧(zeta-cypermethrin)。

在本發明之一個實施例中，提供一種經塗佈之植物種子，該植物種子塗佈有包含以下之組合物：以適合益於植物生長之量存在的ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物的孢子或具有其所有鑑別特徵的突變體。經塗佈之植物種子可包括

範圍為約每個種子1.0×10^2 CFU至約每個種子1.0×10^9 CFU之量的地衣芽孢桿菌孢子。

植物種子可包括(但不限於)單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蔓薑屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、果類蔬菜、胡椒、番茄、茄子、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、棉花、亞麻、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、甘蔗、甜菜、草或草皮草之種子。

經塗佈之種子可進一步包括以適合益於植物生長之量存在的殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑或肥料之一者或組合。殺昆蟲劑可包括畢芬寧(bifenthrin)。殺線蟲劑可包括硫線磷。殺昆蟲劑可包括畢芬寧及可尼丁。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之組合物，該組合物包括以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體；及一或多種化學活性劑，包括殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑或肥料。

組合物可呈液體、油分散液、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式。地衣芽孢桿菌RTI184可呈孢子形式或呈營養

細胞形式。組合物可呈液體或油分散液形式，且地衣芽孢桿菌RTI184可以約1.0×10^{9} CFU/ml至約1.0×10^{12} CFU/ml之濃度存在。組合物可呈粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式，且地衣芽孢桿菌RTI184可以約1.0×10^{9} CFU/g至約1.0×10^{12} CFU/g之量存在。

殺昆蟲劑可包括畢芬寧(bifenthrin)。殺線蟲劑可包括硫線磷。殺昆蟲劑可包括畢芬寧及可尼丁。組合物可調配為液體，且殺昆蟲劑可包括畢芬寧或ξ-賽滅寧。

殺昆蟲劑可為畢芬寧，且組合物調配物可進一步包含水合鋁-鎂矽酸鹽及選自由以下組成之群的至少一種分散劑：蔗糖酯、木質素磺酸鹽、烷基多醣苷、萘磺酸甲醛縮合物及磷酸酯。畢芬寧殺昆蟲劑可以範圍為0.1 g/ml至0.2 g/ml之濃度存在。畢芬寧殺昆蟲劑可以約0.1715 g/ml之濃度存在。畢芬寧殺昆蟲劑之施用量可在約每公頃0.1公克畢芬寧(g ai/ha)至約1000 g ai/ha範圍內，更佳在約1 g ai/ha至約100 g ai/ha範圍內。

另外，在一或多個實施例中，本發明之組合物及方法之適合殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑及殺線蟲劑可包括以下：

殺昆蟲劑：A0)各種殺昆蟲劑，包括農用殺蟲劑(agrigata)、磷化鋁、鈍綏蟎、蚜小蜂、蚜繭蜂、食蚜蜂、青蒿素、苜蓿銀紋夜蛾NPV、三唑錫*枯草芽孢桿菌*、*蘇雲金芽孢桿菌屬亞莎華亞種*(*Bacillus thuringiensis-spp. aizawai*)、*蘇雲金芽孢桿菌屬庫斯塔克亞種*(*Bacillus thuringiensis spp. kurstaki*)、*蘇雲金芽孢桿菌*、*白僵菌*(*Beauveria*)、*球孢白僵菌*(*Beauveria bassiana*)、高效氟氯氰菊酯(betacyfluthrin)、生物製劑、殺蟲雙、溴氟菊酯、溴硫磷-e、溴蟎酯、Bt-玉米-GM、Bt-大豆-GM、辣椒鹼、培丹(cartap)、南蛇藤提取物、氯蟲苯甲醯胺、滅幼脲、氯氧磷、克福隆、陶斯松-e、蛇床子素、冰晶石、殺螟

腈、氰強尼普羅(cyantraniliprole)、賽洛寧(cyhalothrin)、錫蟎丹、賽滅寧、離額繭蜂、DCIP、二氯丙烯、三氯殺蟎醇、潛蠅、潛蠅+離額繭蜂、混滅威、二硫醚、乙酸十二烷基酯、因滅汀(emamectin)、麗蚜小蜂、EPN、漿角蚜小蜂、二溴化乙烯、桉油醇、脂肪酸、脂肪酸/鹽、芬殺蟎、仲丁威(BPMC)、芬普蟎、溴氟菊酯、氟蟎嗪、複滅蟎、安果、呋線威、γ-賽洛寧、大蒜汁、顆粒體病毒、異色、棉鈴蟲NPV、不活化細菌、吲哚-3-基丁酸、碘甲烷、鐵、水胺硫磷、異丙胺磷、異丙胺磷-m、異丙威、異拌磷、高嶺土、靈丹、瀏陽黴素、苦參鹼、地安磷、聚乙醛、綠僵菌、達馬松、速滅威(MTMC)、礦物油、滅蟻靈、間異硫氰酸鹽、殺蟲單、疣孢漆斑菌、二溴磷、芙新姬小蜂、菸鹼、菸鹼殺蟲劑、油、油酸、氧樂果、小花蝽、氧化苦參鹼、擬青黴菌、石蠟油、巴拉松-e (parathion-e)、巴氏桿菌、石油、信息素、磷酸、光桿狀菌、巴賽松(phoxim)、小植綏蟎、亞特松-e (pirimiphos-e)、植物油、小菜蛾GV、多角體病毒、多酚提取物、油酸鉀、布飛松(profenofos)、補骨內酯、普硫松(prothiofos)、吡唑硫磷、除蟲菊酯、噠嗪硫磷、嘧蟎醚、吡丙醚、皂樹提取物、滅蟎猛、油菜油、魚藤酮、皂素、皂劑(saponozit)、鈉化合物、氟矽酸鈉、澱粉、斯氏線蟲、鏈黴菌、氟蟲胺、硫、丁基嘧啶磷、七氟菊酯、雙硫磷、四氯殺蟎碸、久效威、甲基乙拌磷、轉基因(例如，Cry3Bb1)、唑蚜威、木黴菌、赤眼蜂、三福隆、輪枝菌、藜蘆鹼、異構殺蟲劑(例如，κ-畢芬寧、κ-七氟菊酯)、介離子殺蟲劑、雙醯胺類殺蟲劑、琥珀酸脫氫酶抑制劑類殺細菌劑(pyraziflumid)；A1)胺基甲酸酯類，包括得滅克、棉靈威、免扶克、加保利、加保扶、丁基加保扶、滅賜克、納乃得、歐殺滅、比加普、安丹及硫敵克；A2)有機磷酸酯類，包括歐殺松、穀速松-乙基、穀速松-甲基、克芬松、陶斯松、陶斯松-甲基、內吸磷-S-甲基、大利松、二氯松/DDVP、雙特松、大滅松、

二硫松、愛殺松、撲滅松、芬殺松、加福松、馬拉松、達馬松、滅大松、美文松、亞素靈、氧樂果、甲基滅多松、巴拉松、甲基巴拉松、賽達松、福瑞松、裕必松、益滅松、福賜米松、甲基亞特松、拜裕松、託福松、樂本松、三落松及三氯松；A3)環戊二烯有機氯化合物類，諸如安殺番；A4)苯基吡唑類，包括乙蟲清、費普尼(fipronil)、氟蟲腈及派瑞樂(pyriprole)；A5)新菸鹼類似物類，包括啶蟲脒、可尼丁、呋蟲胺、吡蟲啉、烯啶蟲胺、噻蟲啉及噻蟲嗪；A6)賜諾殺類，諸如賜諾殺及斯平托蘭(spinetoram)；A7)來自汀類之氯離子通道活化劑，包括阿巴汀(abamectin)、苯甲酸因滅汀、伊維汀、林皮汀及密滅汀；A8)保幼激素模擬物，諸如烯蟲乙酯、烯蟲炔酯、美賜平、芬諾克及百利普芬；A9)選擇性同翅目餵養阻斷劑，諸如派滅淨、氟啶蟲醯胺及哌氟喹腙；A10)蟎生長抑制劑，諸如克芬蟎、合賽多及依殺蟎；A11)粒線體ATP合成酶抑制劑，諸如汰芬諾克、芬布錫及毆蟎多；氧化磷酸化去偶合劑，諸如克凡派；A12)菸鹼乙醯膽鹼受體通道阻斷劑，諸如殺蟲磺、鹽酸培丹、硫賜安及殺蟲雙鈉；A13)來自苯甲醯脲類之甲殼素生物合成類型0抑制劑，包括雙三氟蟲脲、二福隆、氟芬隆、六伏隆、祿芬隆、諾伐隆及得福隆；A14)甲殼素生物合成類型1抑制劑，諸如布芬淨；A15)蛻皮瓦解劑，諸如賽滅淨；A16)蛻皮素受體促效劑，諸如滅芬諾、得芬諾、合芬隆及環蟲醯肼；A17)章魚胺受體促效劑，諸如三亞蟎；A18)粒線體複合物電子輸送抑制劑比達本(pyridaben)、得芬瑞(tebufenpyrad)、脫芬瑞(tolfenpyrad)、氟芬內林、腈吡蟎酯、丁氟蟎酯、愛美松、亞醌蟎或嘧蟎酯；A19)電壓依賴性鈉通道阻斷劑，諸如因得克及氰氟蟲胺；A20)脂質合成抑制劑，諸如賜派芬、螺甲蟎酯及螺蟲乙酯；A21)來自二醯胺類之利阿諾定受體調節劑，包括氟蟲雙醯胺、鄰苯二甲醯胺化合物(R)-3-氯-N1-{2-甲基-4-[1,2,2,2-四氟-1-(三氟甲基)乙基]苯基}-N2-(1-甲基-2-甲基磺醯基乙

基)鄰苯二甲醯胺及(S)-3-氯-N1-{2-甲基-4-[1,2,2,2-四氟-1-(三氟甲基)乙基]苯基}-N2-(1-甲基-2-甲基磺醯基乙基)鄰苯二甲醯胺、剋安勃及氰強尼普羅；A22)未知或不確定作用模式之化合物，諸如印楝素、安米氟美(amidoflumet)、畢芬載(bifenazate)、氟噻蟲碸、協力精、啶蟲丙醚、氟啶蟲胺腈；或A23)來自擬除蟲菊酯類之鈉通道調節劑，包括阿納寧、丙烯除蟲菊酯、畢芬寧、賽扶寧、λ-賽洛寧、賽滅寧、α-賽滅寧、β-賽滅寧、ξ-賽滅寧、第滅寧、益化利、依芬寧、芬普寧、芬化利、護賽寧、τ-福化利、百滅寧、矽護芬及泰滅寧。

殺真菌劑：B0)苯丙烯氟菌唑、抗霜黴菌、辛唑嗪菌胺、吲唑磺菌胺、銅鹽(例如，氫氧化銅、鹼性氯氧化銅、硫酸銅、過氧硫酸銅)、白可列、硫氟醯胺、氟替尼、呋霜靈、腐絕、麥鏽靈、滅普甯、艾索非他米、甲呋醯胺、必殺吩、氟唑菌醯胺、噴福芬、氟唑環菌胺、丁香菌酯、烯肟菌酯、氟菌螨酯、唑菌酯、唑胺菌酯、三環吡菌威、烯肟菌胺、苯氧菌胺、吡菌苯威、敵螨普、三苯醋錫、氯化三苯錫、氫氧化三苯錫、土黴素、克氯得、地茂散、四氯硝基苯、依得利、霜黴威、硫菌威、*枯草芽孢桿菌*合成、*解澱粉芽孢桿菌*(例如，菌株QST 713、FZB24、MBI600、D747)、來自*互生葉白千層*(*Melaleuca alternifolia*)之提取物、啶菌噁唑、噁咪唑、乙環唑、胺苯吡菌酮、萘替芬、特比萘芬、維利微素、丁吡嗎啉、威利芬那雷特、熱必斯、撲殺熱、異噻菌胺、昆布糖、來自大虎杖之提取物、亞磷酸及鹽、葉枯酞、咪唑嗪、甲氧苯唳菌、有機油、碳酸氫鉀、四氯異苯腈、唑呋草；B1)唑類，包括比多農、糠菌唑、環克座、待克利、達克利、恩康唑、依普座、氟喹唑、芬克座、護矽得、護汰芬、菲克利、亞胺唑、種菌唑、滅特座、邁克尼、平克座、普克利、丙硫菌唑、矽氟唑、三泰芬、三泰隆、得克利、四克利、滅菌唑、咪醯胺、披扶座、依滅列、賽福座、賽座滅、免賴得、貝芬替、腐絕、麥穗

靈、噻唑菌胺、依得利及殺紋寧、氧環唑、達克利-M、噁咪唑、巴克素、烯效唑、1-(4-氯-苯基)-2-([1,2,4]三唑-1-基)-環庚醇及硫酸依滅列；B2)嗜毬果傘素，包括亞托敏、醚菌胺、烯肟菌酯、氟嘧菌酯、克收欣(kresoxim-methyl)、苯氧菌胺、肟醚菌胺、啶氧菌酯、百克敏、三氟敏、烯肟菌酯、(2-氯-5-[1-(3-甲基苄氧亞胺基)乙基]苄基)胺基甲酸甲酯、(2-氯-5-[1-(6-甲基吡啶-2-基甲氧亞胺基)乙基]苄基)胺基甲酸甲酯及2-(鄰-(2,5-二甲基苯氧亞甲基)-苯基)-3-甲氧基丙烯酸甲酯、2-(2-(6-(3-氯-2-甲基-苯氧基)-5-氟-嘧啶-4-基氧基)-苯基)-2-甲氧亞胺基-N-甲基-乙醯胺及3-甲氧基-2-(2-(N-(4-甲氧基-苯基)-環丙烷伸亞胺醯基硫基甲基)-苯基)-丙烯酸甲酯； B3)羧醯胺，包括萎鏽靈、本達樂(benalaxyl)、本達樂-M、環醯菌胺、福多寧(flutolanil)、福拉比(furametpyr)、滅普寧(mepronil)、滅達樂(metalaxyl)、右滅達樂(mefenoxam)、呋醯胺、歐殺斯(oxadixyl)、嘉保信(oxycarboxin)、吡噻菌胺、吡唑萘菌胺、賽氟滅(thifluzamide)、汰敵寧(tiadinil)、3,4-二氯-N-(2-氰基苯基)異噻唑-5-甲醯胺、達滅芬(dimethomorph)、氟嗎啉、氟醯菌胺、氟吡菌胺(吡考苯紮(picobenzamid))、座賽胺、加普胺、二氯西莫、雙炔醯菌胺、N-(2-(4-[3-(4-氯苯基)丙-2-炔氧基]-3-甲氧苯基)乙基)-2-甲磺醯基-胺基-3-甲基丁醯胺、N-(2-(4-[3-(4-氯-苯基)丙-2-炔氧基]-3-甲氧基-苯基)乙基)-2-乙磺醯胺基-3-甲基丁醯胺、3-(4-氯苯基)-3-(2-異丙氧羰基-胺基-3-甲基-丁醯胺基)丙酸甲酯、N-(4'-溴聯苯-2-基)-4-二氟甲基^-甲基噻唑-δ-甲醯胺、N-(4'-三氟甲基-聯苯-2-基)-4-二氟甲基-2-甲基噻唑-5-甲醯胺、N-(4'-氯-3'-氟聯苯-2-基)-4-二氟甲基-2-甲基-噻唑-5-甲醯胺、N-(3\4'-二氯-4-氟聯苯-2-基)-3-二氟-甲基-1-甲基-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-5-氟聯苯-2-基)-3-二氟甲基-1-甲基吡唑-4-甲醯胺、N-(2-氰基-苯基)-3,4-二氯異噻唑-5-甲醯胺、2-胺基-4-甲基-噻唑-5-甲醯苯胺、2-氯-N-(1,1,3-三甲基-茚滿-4-

基)-菸鹼醯胺、N-(2-(1,3-二甲基丁基)-苯基)-1,3-二甲基-5-氟-1 H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氯-3',5-二氟-聯苯-2-基)-3-二氟甲基-1-甲基-1 H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氯-3',5-二氟-聯苯-2-基)-3-三氟甲基-1-甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-5-氟-聯苯-2-基)-3-三氟甲基-1-甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',5-二氟-4'-甲基-聯苯-2-基)-3-二氟甲基-1-甲基-1 H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',5-二氟-4'-甲基-聯苯-2-基)-3-三氟甲基-1-甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(順-2-雙環丙基-2-基-苯基)-3-二氟甲基-1-甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(反-2-雙環丙基-2-基-苯基)-3-二氟-甲基-1-甲基-1 H-吡唑-4-甲醯胺、氟吡菌醯胺、N-(3-乙基-3,5-5-三甲基-環己基)-3-甲醯胺基-2-羥基-苯甲醯胺、土黴素、矽硫芬、N-(6-甲氧基-吡啶-3-基)環丙烷甲醯胺、2-碘-N-苯基-苯甲醯胺、N-(2-雙環-丙基-2-基-苯基)-3-二氟甲基-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基-5-氟吡唑-4-基-甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氯-1,3-二甲基-吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-氟甲基-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-(氯氟甲基)-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-二氟甲基-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-二氟甲基-5-氟-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氯-3-二氟甲基-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-(氯二氟甲基)-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氟-1-甲基-3-三氟甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氯-1-甲基-3-三氟甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基-5-氟吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氯-1,3-二甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-

三氟聯苯-2-基)-3-氟甲基-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-(氯氟甲基)-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-二氟甲基-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-二氟甲基-5-氟-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氯-3-二氟甲基-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-3-(氯二氟甲基)-1-甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氟-1-甲基-3-三氟甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(2',4',5'-三氟聯苯-2-基)-5-氯-1-甲基-3-三氟甲基吡唑-4-基甲醯胺、N-(3',4'-二氯-3-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-3-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-二氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氟-3-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氟-3-氟聯苯-2-基)-1-甲基-S-二氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3'-氯-4'-氟-3-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-二氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-4-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氟-4-氟聯苯-2-基)-1-甲基-S-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-4-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-二氟甲基-1 H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氟-4-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-二氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3'-氯-4'-氟-4-氟聯苯-2-基)-1-甲基-S-二氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氟-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-S-二氟甲基-1H-吡唑-甲醯胺、N-(3',4'-二氟-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-二氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3',4'-二氯-5-氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(3'-氯-4'-氟-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-二氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氟-4-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氟-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-

三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氯-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-甲基-5-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氟-5-氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氯-5-氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-甲基-5-氟聯苯-2-基)-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氟-6-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-(4'-氯-6-氟聯苯-2-基)-1-甲基-3-三氟甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-[2-(1,1,2,3,3,3-六氟丙氧基)-苯基]-3-二氟甲基-1-甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺、N-[4'-(三氟甲硫基)-聯苯-2-基]-3-二氟甲基-1-甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺及N-[4'-(三氟甲硫基)-聯苯-2-基]-1-甲基-3-三氟甲基-1-甲基-1H-吡唑-4-甲醯胺；B4)雜環化合物，包括扶吉胺、比芬諾(pyrifenox)、布瑞莫(bupirimate)、嘧菌環胺、芬瑞莫(fenarimol)、富米綜(ferimzone)、嘧菌胺、尼瑞莫(nuarimol)、派美尼(pyrimethanil)、賽福寧(triforine)、拌種咯、護汰甯、阿迪嗎啉(aldimorph)、嗎菌靈、芬普福、三得芬、苯鏽啶、依普同、撲滅寧、免克寧、凡殺同、咪唑菌酮、辛噻酮、撲殺熱、5-氯-7-(4-甲基-哌啶-1-基)-6-(2,4,6-三氟苯基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]嘧啶、敵菌靈、達滅淨、百快隆、丙氧喹啉、三賽唑、2-丁氧基-6-碘-3-丙基吃烯-4-酮、酸化苯并噻二唑-S-甲酯、四氯丹、蓋普丹(captan)、邁隆、福爾培(folpet)、氰菌胺、快諾芬(quinoxyfen)、N,N-二甲基-3-(3-溴-6-氟-2-甲基吲哚-1-磺醯基)-[1,2,4]三唑-1-磺醯胺、5-乙基-6-辛基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]嘧啶-2,7-二胺、2,3,5,6-四氯-4-甲磺醯基-吡啶、3,4,5-三氯-吡啶-2,6-二甲腈、N-(1-(5-溴-3-氯-吡啶-2-基)-乙基)-2,4-二氯-菸鹼醯胺、N-((5-溴-3-氯吡啶-2-基)-甲基)-2,4-二氯-菸鹼醯胺、二氟林、氯啶、嗎菌靈乙酸酯、唑呋草、殺稻瘟菌素-S、螨離丹、咪菌威、野燕枯、野燕枯-甲基硫酸鹽、歐索林酸及粉病靈；B5)胺基甲酸酯，包括鋅錳乃浦、錳乃浦、威百畝、磺菌

威、免得爛、福美鐵、甲基鋅乃浦、得恩地、鋅乃浦、益穗、乙黴威、纈黴威、苯噻菌胺、霜黴威、霜黴威鹽酸鹽、N-(1-(1-(4-氰基苯基)-乙磺醯基)丁-2-基)胺基甲酸4-氟苯酯、3-(4-氯-苯基)-3-(2-異丙氧基羰胺基-3-甲基-丁醯基胺基)丙酸甲酯；或B6)其他殺真菌劑，包括胍、多甯、多寧游離鹼、克熱淨、雙胍鹽；抗生素：春日黴素、土黴素及其鹽、鏈黴素、保粒黴素、維利黴素A；硝基苯基衍生物：百螨克、白粉克、大脫螨；含硫雜環基化合物：腈硫醌、稻瘟靈；有機金屬化合物：薯瘟錫鹽；有機磷化合物：護粒松、丙基喜樂松、福賽得(fosetyl)、福賽得-鋁、亞磷酸及其鹽、白粉松、甲基脫克松；有機氯化合物：益發靈、氟硫滅、六氯苯、苯酞、賓克隆、五氯硝基苯、多保淨、甲基多保淨、甲基益發靈；其他：環氟菌胺、克絕、二甲嘧酚、依瑞莫、呋霜靈、滅芬農及螺環菌胺、雙胍辛乙酸鹽、克熱淨乙酸鹽、克熱淨-參(烷苯磺酸鹽)、春日黴素鹽酸鹽水合物、二氯酚、五氯苯酚及其鹽、N-(4-氯-2-硝基-苯基)-N-乙基-4-甲基-苯磺醯胺、氯硝胺、異丙基滅鏽胺、四氯硝基苯、聯苯、溴硝丙二醇、二苯胺、米多黴素、啉銅、調環酸鈣、N-(環丙基甲氧基亞胺基-(6-二氟甲氧基-2,3-二氟-苯基)-甲基)-2-苯基乙醯胺、N'-(4-(4-氯-3-三氟甲基-苯氧基)-2,5-二甲基-苯基)-N-乙基-N-甲基甲脒、N'-(4-(4-氟-3-三氟甲基-苯氧基)-2,5-二甲基-苯基)-N-乙基-N-甲基甲脒、N'-(2-甲基-5-三氟甲基-4-(3-三甲基矽烷基-丙氧基)-苯基)-N-乙基-N-甲基甲脒及N'-(5-二氟甲基-2-甲基-4-(3-三甲基矽烷基-丙氧基)-苯基)-N-乙基-N-甲基甲脒。

除草劑：C1)乙醯輔酶A羧化酶抑制劑(ACC)，例如環己烯酮肟醚，諸如禾草滅、克草同、氯丙氧定、環殺草、西殺草、肟草酮、丁苯草酮、環苯草酮或吡喃草酮；苯氧基苯氧丙酸酯，諸如炔草酯、氰氟草酯、禾草靈、噁唑禾草靈、精噁唑禾草靈、噻唑禾草靈、吡氟禾草靈、精吡氟禾草靈、吡氟氯禾靈、氟吡甲禾靈、精氟吡甲禾靈、異

噁草醚、喔草酯、喹禾靈、精喹禾靈或喹禾糠酯；或芳胺基丙酸，諸如麥草氟甲酯或麥草氟異丙酯；C2)乙醯乳酸合成酶抑制劑(ALS)，例如咪唑啉酮，諸如依滅草、滅草喹、甲基咪草酯(imazame)、甲氧咪草菸、甲基咪草菸或咪草菸；嘧啶基醚，諸如嘧硫酸、嘧硫鈉、雙草醚鈉、KIH-6127或嘧苯草肟(pyribenzoxym)；磺醯胺，諸如雙氟磺草胺、唑嘧磺草胺或磺草唑胺；或磺醯脲，諸如醯嘧磺隆、四唑嘧磺隆、苄嘧磺隆、氯嘧磺隆、氯磺隆、醚磺隆、環磺隆、胺苯磺隆、乙氧嘧磺隆、嘧啶磺隆、氯吡嘧磺隆、唑吡嘧磺隆、甲磺隆、菸嘧磺隆、氟嘧磺隆、氟磺隆、吡嘧磺隆、碸嘧磺隆、甲嘧磺隆、噻吩磺隆、醚苯磺隆、苯磺隆、氟胺磺隆、三氟甲磺隆、磺醯磺隆、甲醯嘧磺隆或碘甲磺隆；C3)醯胺，例如草毒死(CDAA)、新燕靈、溴丁醯草胺、草克樂(chiorthiamid)、草乃敵、乙苯醯草(etobenzanidibenzchlomet)、噻唑草醯胺、調節膦(fosamin)或庚醯草胺；C4)生長素除草劑，例如吡啶甲酸，諸如畢克草或畢克爛；或2,4-D或草除靈；C5)生長素輸送抑制劑，例如萘草胺或二氟吡隆；C6)類胡蘿蔔素生物合成抑制劑，例如吡草酮、可滅蹤(clomazone/dimethazone)、吡氟草胺、氟咯草酮、氟啶草酮、吡唑特、苄草唑、異噁唑草酮、異噁氯草酮、甲基磺草酮、磺草酮(sulcotrione/chlormesulone)、克草酮(ketospiradox)、呋草酮、達草滅或殺草強；C7)烯醇丙酮醯莽草酸-3-磷酸合成酶抑制劑(EPSPS)，例如草甘膦或草硫膦；C8)麩醯胺酸合成酶抑制劑，例如畢拉草(bilanafos/bialaphos)或草銨膦；C9)脂質生物合成抑制劑，例如醯苯胺，諸如莎稗磷或苯噻草胺；氯代乙醯苯胺，諸如二甲噻草胺、S-二甲噻草胺、乙草胺、甲草胺、丁草胺、丁烯草胺、乙醯甲草胺、二甲草胺、吡草胺、異丙甲草胺、S-異丙甲草胺、丙草胺、撲草胺、廣草胺、猛殺草、甲氧噻草胺或二甲苯草胺；硫脲，諸如蘇達滅、草滅

特、燕麥敵、哌草丹、EPTC、戊草丹、草達滅、克草猛、苄草丹、禾草丹(thiobencarb/benthiocarb)、野麥畏或滅草猛；或呋草黃或氟草磺胺；C10)有絲分裂抑制劑，例如胺基甲酸酯，諸如黃草靈、長殺草、氯苯胺靈、坪草丹、拿草特(pronamid/propyzamid)、苯胺靈或仲草丹；二硝基苯胺，諸如氟草胺、比達甯、敵樂胺、丁氟消草、氟消草、黃草消、胺硝草、胺基丙氟靈或氟樂靈；吡啶，諸如氟硫草定或噻草定；或抑草磷、敵草索(DCPA)或抑芽丹；C11)原卟啉原IX氧化酶抑制劑，例如二苯基醚，諸如氟鎖草醚、氟鎖草醚鈉、苯草醚、必芬諾(bifenox)、草枯醚(CNP)、氯氟草醚、消草醚、乙羧氟草醚、氟黃胺草醚、氟呋草醚、乳氟禾草靈、除草醚、硝氟草醚或氧氟吩；噁二唑，諸如丙炔噁草酮或惡草靈；環狀醯亞胺，諸如草芬定、布芬草、唑草酮、吲哚酮草酯、氟烯草酸、丙炔氟草胺、氟米丙平、富普巴(flupropacil)、氟噻甲草酯、甲磺草胺或噻二唑胺；或吡唑，諸如ET-751.JV 485或氟氯草胺；C12)光合作用抑制劑，例如敵稗、嗪草特或吡啶達醇；苯并噻二嗪酮，諸如本達隆(bentazone)；二硝基苯酚，例如殺草全、地樂酚、地樂酯、特樂酚或DNOC；聯吡啶，諸如莎草快、苯敵快、敵草快或百草枯；脲，諸如氯溴隆、綠麥隆、枯莠隆、噁唑隆、敵草隆、噻二唑隆、非草隆、伏草隆、異丙隆、異惡隆、利穀隆、噻唑隆、滅草唑、吡喃隆、甲氧隆、綠穀隆、草不隆、環草隆或得甭隆；苯酚，諸如溴苯腈或碘苯腈；氯草敏；三嗪，諸如莠滅淨、莠去津、氰草津、敵草淨(desmein)、戊草津(dimethamethryn)、六嗪酮、撲滅通、撲草淨、撲滅津、西瑪津、西草淨、甲氧去草淨、去草淨、特丁津或草達津；三嗪酮，諸如苯嗪草酮或賽克津；尿嘧啶，諸如除草定、環草定或特草定；或雙胺基甲酸酯，諸如甜菜安或甜菜寧；C13)增效劑，例如環氧乙烷，諸如滅草環；C14) CIS細胞壁合成抑制劑，例如異噁草胺或敵草腈；C15)各種其他除草劑，例如二

氯丙酸，諸如茅草枯；二氫苯并呋喃，諸如乙呋草黃；苯乙酸，諸如伐草克(fenac)；或疊氮津、燕麥靈、地散磷、苯噻隆、氟磺胺草、特克草(buminafos)、特咪唑草、炔草隆、唑草胺、氯草靈、燕麥酯、枯草隆、環庚草醚、苄草隆、環莠隆、環草津、三環噻草胺、二苄基隆(dibenzyluron)、殺草淨、香草隆、草止津、草藻滅、乙嗪草酮、氟唑磺隆、氟苯草滅(fluorbentranil)、氟胺草唑、草特靈、異樂靈、卡草靈、氟磺醯草胺、滅草隆、滅落脫、napropanilide、磺樂靈、oxaciclomefone、棉胺寧、哌草磷、環丙腈津、環丙氟靈、稗草畏、密草通、草克死(CDEC)、芽根靈、三嗪氟草胺、三唑羧醯胺(triazofenamid)或三甲隆；或其環境上相容的鹽。

殺線蟲劑或生物殺線蟲劑：免賴得、地蟲威、涕滅碸威、威線肟、二胺磷、芬滅松、硫線磷、除線磷、普伏松、豐索磷、噻唑磷、速殺硫磷、有機硫代磷酸酯類殺線蟲劑(isamidofos)、依殺松、磷蟲威、硫磷嗪、菸鹼硫磷、甲基滅蚜磷、乙醯蟲腈、苯氯噻、氯化苦、邁隆、氟噻蟲碸、1,3-二氯丙烯(二氯丙烯)、二硫二甲烷、威百畝鈉、威百畝鉀、威百畝鹽(所有MITC產生劑)、溴化甲烷、生物土壤改良劑(例如，芥菜籽、芥菜籽提取物)、土壤蒸汽薰蒸、異硫氰酸烯丙酯(AITC)、硫酸二甲酯、糠醛(醛)。

本發明之適合植物生長調節因子包括以下：植物生長調節因子：D1)抗生長素，諸如降固醇酸、2,3,5-三-碘苯甲酸；D2)生長素，諸如4-CPA、2,4-D、2,4-DB、2,4-DEP、2,4-滴丙酸、涕丙酸、IAA、IBA、萘乙醯胺、α-萘乙酸、1-萘酚、萘氧基乙酸、環烷酸鉀、環烷酸鈉、2,4,5-T；D3)細胞分裂素，諸如2iP、苄基腺嘌呤、4-羥基苯乙醇、活動素、玉米素；D4)脫葉劑，諸如氰胺化鈣、噻節因、草多索、益收生長素、脫葉亞磷、甲氧隆、五氯苯酚、噻苯隆、脫葉磷；D5)乙烯抑制劑，諸如艾維激素(aviglycine)、1-甲基環丙烯；D6)乙烯

釋放劑，諸如ACC、乙烯矽、益收生長素、乙二肟；D7)殺配子劑，諸如噠嗪酮酸鉀、抑芽丹；D8)赤黴素，諸如赤黴素、赤黴酸；D9)生長抑制劑，諸如脫落酸、嘧啶醇、比達寧(butralin)、加保利(carbaryl)、三丁氯苄膦、氯苯胺靈、敵草克、氟節胺、增糖胺、殺木膦、草甘二膦、苯嘧丙醇、茉莉酸、抑芽丹、壯棉素、哌壯素、茉莉酮、苯胺靈、調節安(tiaojiean)、2,3,5-三-碘苯甲酸；D10)形態素，諸如氯氟酸、氯甲丹、二氯甲丹、抑草丁；D11)生長延緩劑，諸如克美素(chlormequat)、丁醯肼、調嘧醇、氟磺醯草胺、巴克素、四環唑、烯效唑；D12)生長刺激劑，諸如油菜素內酯、油菜素內酯-乙基、DCPTA、氯吡脲、惡黴靈、補骨內酯、三十烷醇；D13)類別不明之植物生長調節劑，諸如菊乙胺酯、氟磺胺草、特克草、香芹酮、氯化膽鹼、苯氰丁醯胺、苯噠嗪酸、氰胺、環丙酸醯胺、環己醯亞胺、環丙磺醯胺、丙醯芸苔素內酯、吲熟酯、乙烯、呋苯硫脲、乙二醇縮糖醛、增產肟、氯乙亞磺酸(holosulf)、依納素、砷酸鉛、滅速克、調環酸、比達農(pydanon)、殺雄啉、抑芽唑、抗倒酯。

肥料可為液體肥料。術語「液體肥料」係指呈含有不同比率之氮、磷及鉀(例如(但不限於)10%氮、34%磷及0%鉀)及微量養分的流體或液體形式之肥料，通常稱為高磷且促進快速及強有力根生長之基肥。

本發明之化學調配物可呈任何適當習知形式，例如乳液濃縮物(EC)、懸浮液濃縮物(SC)、懸乳劑(SE)、膠囊懸浮液(CS)、水可分散顆粒(WG)、可乳化顆粒(EG)、油包水乳液(EO)、水包油乳液(EW)、微乳液(ME)、油分散液(OD)、油狀可混溶可流動劑(OF)、油狀可混溶液體(OL)、可溶濃縮物(SL)、超低體積懸浮液(SU)、超低體積液體(UL)、可分散濃縮物(DC)、可濕潤粉末(WP)或與農業上可接受之佐劑組合之任何技術上可行調配物。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，該方法包括將包括適合益於植物生長之量的以ATCC PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體之組合物輸送至：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

植物生長效益可藉由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加或外觀改進之一者或組合展現。

組合物可呈液體、油分散液、粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式。地衣芽孢桿菌RTI184可呈孢子形式或呈營養細胞形式。地衣芽孢桿菌RTI184可以約1.0×10^{8} CFU/ha至約1.0×10^{13} CFU/ha之比率輸送以益於植物生長。

在該方法中，組合物可進一步包括微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合，以適合益於植物生長及/或賦予易感病植物抵抗病原性感染之保護之量存在。

該方法可進一步包括向以下各者施用液體肥料：植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，該方法包括：在適合生長介質中栽植植物種子或植物之再生營養/癒傷組織，其中該種子已塗佈有或該營養/癒傷組織已接種有包含以ATCC PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體之組合物，其中植物生長受益於種子或營

養/癒傷組織。

植物生長效益可藉由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加或外觀改進之一者或組合展現。

地衣芽孢桿菌RTI184可呈孢子形式。地衣芽孢桿菌RTI184可以量在每顆種子約1.0×10^2 CFU至每顆種子約1.0×10^9 CFU範圍內之孢子的形式存在。塗佈於種子上之組合物可進一步包含以適合益於植物生長之量存在的殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑或肥料中之一或多者。

植物生長效益可藉由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加、外觀改進或對植物病原體之抗性提高或其組合之一者或組合展現。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，其包括將以下各者之組合：第一組合物，其包含以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體；及第二組合物，其包括微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物、植物生長調節劑或肥料，輸送至：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質，其中第一及第二組合物中之每一者以適合益於植物生長之量輸送。

該方法可進一步包括向以下各者施用液體肥料：植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

地衣芽孢桿菌RTI184可呈孢子形式或呈營養細胞形式。適合益

於植物生長之地衣芽孢桿菌RTI184之量可在約1.0×10^{8} CFU/ha至約1.0×10^{13} CFU/ha範圍內。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生長之方法，其包括：將包含以下各者之組合物：以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體；及微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、植物生長調節劑或肥料，輸送至：植物種子、植物根部、植物剪枝、植物接枝、植物癒傷組織；植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質，其中地衣芽孢桿菌RTI184及微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑或植物生長調節劑之一者或組合中之每一者以適合益於植物生長之量存在。

植物生長效益可藉由幼苗活力改進、根發育改進、植物健康改進、植物質量增加、產量增加、外觀改進、對植物病原體之抗性提高或其組合展現。

該方法可進一步包括向以下各者施用液體肥料：植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植植物、植物剪枝、植物接枝或植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

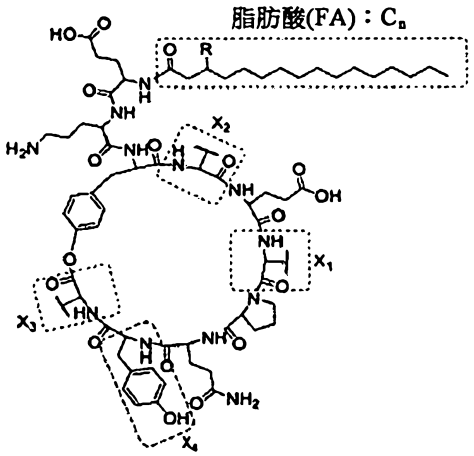
地衣芽孢桿菌RTI184可呈孢子形式或呈營養細胞形式。適合益於植物生長之地衣芽孢桿菌RTI184之量可在約1.0×10^{8} CFU/ha至約1.0×10^{13} CFU/ha範圍內。

在本發明之一個實施例中，提供一種益於植物生根之方法，該方法包括：將植物剪枝浸於組合物中且在適合生長介質中栽植其，其中該組合物包含適合益於植物生根之量的以ATCC PTA-121722寄存之

地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或其具有其所有鑑別特徵的突變體，其中植物之根形成及生長受益於剪枝。

組合物可呈液體或乾燥可濕潤粉末形式。地衣芽孢桿菌RTI184可呈孢子或營養細胞形式。組合物可呈乾燥可濕潤粉末形式，且地衣芽孢桿菌RTI184可以約1.0×10^{7} CFU/g至約1.0×10^{9} CFU/g之量存在。植物可為觀賞植物。植物可為繡球花。

在本發明之一個實施例中，提供一種組合物，該組合物包含分離豐原素MB-Cit化合物及分離脫羥基豐原素MB-Cit化合物中之至少一者，其量適合於賦予益於植物生長或易感病植物抵抗病原性感染之保護中之一或兩者，豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物具有下式：



其中，對於豐原素MB-Cit，n在8至20範圍內，FA為線性、異式或反異式的，且R為OH，X_1為Val，X_2為Thr，X_3為Met且X_4為Cit；且其中，對於脫羥基豐原素MB-Cit，n在8至20範圍內，FA為線性、異式或反異式的，R為H，X_1為Val，X_2為Thr，X_3為Met且X_4為瓜胺酸。在另一實施例中，該組合物進一步包含表VI中所列之額外分離豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合，其量適合於賦予益於植物生長或易感病植物抵抗病原性感染之保護中之一或兩者。

植物生長效益及/或所賦予之免受病原性感染可藉由幼苗活力改

進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加、外觀改進、對植物病原體之抗性提高或病原性感染減少或其組合展現。

豐原素MB-Cit化合物及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及額外豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合可藉由在熟習此項技術者熟知之適合條件(諸如，本文實例中所描述之彼等條件)下首先培養RTI184地衣芽孢桿菌菌株或產生豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物之另一地衣芽孢桿菌菌株，包括(但不限於)在869或M2培養基中培養菌株3至6天來分離。隨後可使用熟習此項技術者熟知之方法進一步分離存在於地衣芽孢桿菌培養物上清液中之豐原素樣及脫羥基豐原素樣環狀脂肽。舉例而言，地衣芽孢桿菌培養物上清液可酸化至pH 2 (Smyth, TJP等人, 2010, 「Isolation and Analysis of Lipopeptides and High Molecular Weight Biosurfactants.」於: *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*, K. N. Timmis (編輯). 第3687-3704頁)，或用$CaCl_2$ (Ajesh, K等人, 2013, 「Purification and characterization of antifungal lipopeptide from a soil isolated strain of Bacillus cereus.」於: *Worldwide research efforts in the fighting against microbial pathogens: from basic research to technological developments*. A. Mendez-Vilas (編輯). 第227-231頁)或NH_4SO_4 (Kim, SH等人, 2000, *Biotechnol Appl Biochem*. 31 (Pt 3):249-253)處理，而具有或不具有組合此與有機提取步驟(Kim, PI等人, 2004, *J Appl Microbiol*. 97(5): 942-949)，諸如不同形式之相分離，包括(但不限於)直接液體分配、膜超過濾及泡沫部分分離(Baker, SC等人, 2010, *Adv Exp Med Biol*. 672:281-288)。

在一個實施例中，豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及表VI中所列之額外豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合可自可產生此等化合物之地衣芽孢桿菌菌株之生物學上純培養物分

離。

在一個實施例中，豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及表VI中所列之額外豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合可自以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物分離。

在一個實施例中，提供一種地衣芽孢桿菌菌株之生物學上純培養物的提取物，該提取物包括豐原素MB-Cit化合物及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及表VI中所列之額外豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合。

在一個實施例中，提供一種以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物的提取物，該提取物包括豐原素MB-Cit化合物及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及表VI中所列之另外豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合。

包括分離豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及視情況另外分離之豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合的組合物可進一步包括微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合，以適合益於植物生長及/或賦予保護易感病植物抵抗病原性感染之量存在。

包括分離之豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及另外分離之豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合的組合物可呈液體、油分散液、粉塵、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式。

在一個實施例中，提供一種益於植物生長及/或賦予保護免於植物病原性感染之方法，其包括將有效量之包含分離豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及另外分離豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合的提取物或組合物應用於植物或果實或根部或植物根部周圍土壤以益於植物生長及/或賦予保護免於植物病原性感染。植

物生長效益及/或所賦予之保護可藉由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加、外觀改進、對植物病原體之抗性提高或病原性感染減少或其組合展現。

在該施用有效量之包含分離豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物及另外分離豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合的提取物或組合物之方法中，植物可包括例如單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、蔓薑屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆(Lima bean)、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜。

在施用有效量之包含分離豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit

化合物及額外分離豐原素樣及脫羥基豐原素樣化合物之一者或組合的提取物或組合物中，病原性感染可由植物病原體引起，植物病原體包括例如植物真菌病原體、植物細菌病原體、鐮菌、*葡萄孢屬*、*灰葡萄孢菌*、*蔥鱗葡萄孢菌*(*Botrytis squamosa*)、*歐文氏菌屬*、*胡蘿蔔軟腐歐文氏菌*(*Erwinia carotovora*)、*解澱粉歐文氏菌*(*Erwinia amylovora*)、*狄克氏菌屬*(*Dickeya* spp.)、*達旦提狄克氏菌*(*Dickeya dadantii*)、*黑脛病菌*(*Dickeya solani*)、*土壤桿菌屬*(*Agrobacterium spp.*)、*根癌土壤桿菌*(*Agrobacterium tumefaciens*)、*黃單胞菌屬*(*Xanthomonas spp.*)、*柑桔潰瘍病菌*(*Xanthomonas axonopodis*)、野油菜黃單胞菌胡蘿蔔變種(*Xanthomonas campestris* pv. *carotae*)、*桃李黃單胞菌*(*Xanthomonas pruni*)、*樹生黃單胞菌*(*Xanthomonas arboricola*)、*水稻白葉枯病黃單胞菌*(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)、*木桿菌屬*(*Xylella* spp.)、*葉緣焦枯病菌*(*Xylella fastidiosa*)、*韌皮部桿菌屬*(*Candidatus spp.*)、*韌皮桿菌*(*Candidatus liberibacter*)、*鐮刀菌屬*、*禾穀鐮刀菌*、*尖孢鐮刀菌*、*古巴尖孢鐮刀菌*(*Fusarium oxysporum f. sp. Cubense*)、*核盤菌屬*(*Sclerotinia spp.*)、*向日葵核盤菌*(*Sclerotinia sclerotiorum*)、*小核盤菌*(*Sclerotinia minor*)、*同果核盤菌*(*Sclerotinia homeocarpa*)、*尾孢菌屬*(*Cercospora/Cercosporidium* spp.)、*鉤絲殼屬*(*Uncinula* spp.)、*葡萄白粉病菌*(*Uncinula necator*) (白粉病(Powdery Mildew))、*叉絲單囊殼屬*(*Podosphaera* spp.) (白粉病)、*白叉絲單囊殼*(*Podosphaera leucotricha*)、*克蘭德叉絲單囊殼*(*Podosphaera clandestine*)、*擬莖點菌屬*(*Phomopsis* spp.)、葡萄*擬莖點黴病菌*(*Phomopsis viticola*)、*交鏈孢屬*(*Alternaria spp.*)、*細極鏈格孢菌*(*Alternaria tenuissima*)、*蔥鏈格孢菌*(*Alternaria porri*)、*交鏈格孢菌*(*Alternaria alternate*)、*立枯交鏈孢菌*(*Alternaria solani*)、*鏈格孢菌*(*Alternaria tenuis*)、*假單胞菌屬*、*丁香假單胞菌番茄變種*

(*Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*)、*疫黴菌屬*(*Phytophthora* spp.)、*致病疫黴菌*(*Phytophthora infestans*)、*寄生疫黴菌*(*Phytophthora parasitica*)、*大豆疫黴菌*(*Phytophthora sojae*)、*辣椒疫黴菌*(*Phytophthora capsici*)、*樟疫黴菌*(*Phytophthora cinnamon*)、*草莓疫黴菌*(*Phytophthora fragariae*)、疫黴菌屬、*檸樹猝死病菌*(*Phytophthora ramorum*)、棕櫚疫黴菌(*Phytophthora palmivara*)、*菸草疫黴菌*(*Phytophthora nicotianae*)、*層鏽菌屬*、*豆薯層鏽菌*、*山馬蝗層鏽菌*(*Phakopsora meibomiae*)、*曲黴菌屬*(*Aspergillus spp.*)、*黃麴黴*(*Aspergillus flavus*)、*黑麴黴*(Aspergillus *niger*)、*單孢鏽菌屬*(*Uromyces spp.*)、*菜豆銹病菌*(*Uromyces appendiculatus*)、*枝孢菌屬*(*Cladosporium spp.*)、*多主枝孢黴*(*Cladosporium herbarum*)、*根黴菌屬*(*Rhizopus* spp.)、*少根根黴菌*(*Rhizopus arrhizus*)、*青黴菌屬*(*Penicillium* spp.)、*絲核菌屬*、*立枯絲核菌*(*Rhizoctonia solani*)、*玉蜀黍絲核菌*(*Rhizoctonia* zeae)、*稻枯斑絲核菌*(*Rhizoctonia oryzae*)、*褐色絲核菌*(*Rhizoctonia caritae*)、*禾穀絲核菌*(*Rhizoctonia cerealis*)、*紫紋羽絲核菌*(*Rhizoctonia crocorum*)、*草莓絲核菌*(*Rhizoctonia fragariae*)、*枝生絲核菌*(*Rhizoctonia ramicola*)、*覆盆子絲核菌*(*Rhizoctonia rubi*)、*豆狀絲核菌*(*Rhizoctonia leguminicola*)、*菜豆殼球孢菌*(*Macrophomina phaseolina*)、*稻瘟菌*(*Magnaorthe oryzae*)、*球腔菌屬*、*禾生球腔菌*(*Mycosphaerella graminocola*)、*斐濟球腔菌*(*Mycosphaerella fijiensis*) (黑色香蕉葉斑病(Black sigatoga))、*蘋果斑點球腔菌*(*Mycosphaerella pomi*)、*檸檬球腔菌*(*Mycosphaerella citri*)、*稻瘟菌屬*、*稻瘟病菌*(*Magnaporthe grisea*)、*鏈核盤菌屬*(*Monilinia* spp.)、*桃褐腐病菌*(*Monilinia fruticola*)、*藍莓僵果病病原菌*(*Monilinia vacciniicorymbosi*)、*核果鏈核盤菌*(*Monilinia laxa*)、*炭疽菌屬*(*Colletotrichum* spp.)、*膠孢炭疽菌*(*Colletotrichum gloeosporiodes*)、

辣椒炭疽菌(*Colletotrichum acutatum*)、石斛炭疽菌(*Colletotrichum Candidum*)、間座殼屬(*Diaporthe* spp.)、柑桔間座殼菌(*Diaporthe citri*)、棒孢菌屬(*Corynespora* spp.)、多主棒孢菌(*Corynespora Cassiicola*)、膠鏽菌屬(*Gymnosporangium* spp.)、植物受檜膠鏽菌(*Gymnosporangium juniperi-virginianae*)、裂盾菌屬(*Schizothyrium* spp.)、仁果裂盾菌(*Schizothyrium pomi*)、黏殼孢菌屬(*Gloeodes* spp.)、仁果黏殼孢菌(*Gloeodes pomigena*)、葡萄座腔菌屬(*Botryosphaeria* spp.)、葡萄潰瘍病病菌(*Botryosphaeria dothidea*)、明孢盤菌屬(*Neofabraea* spp.)、威爾遜孢殼菌屬(*Wilsonomyces* spp.)、嗜果威爾遜孢殼菌(*Wilsonomyces carpophilus*)、單囊殼菌屬(*Sphaerotheca* spp.)、斑點單囊殼菌(*Sphaerotheca macularis*)、薔薇單囊殼菌(*Sphaerotheca pannosa*)、白粉菌屬(*Erysiphe* spp.)、殼多孢菌屬(*Stagonospora spp.*)、穎枯殼針孢(*Stagonospora nodorum*)、腐黴屬(*Pythium spp.*)、終極腐黴菌(*Pythium ultimum*)、瓜果腐黴菌(*Pythium aphanidermatum*)、畸雌腐黴菌(*Pythium irregularum*)、簇囊腐黴菌(*Pythium ulosum*)、水生腐黴菌(*Pythium lutriarium*)、森林腐黴菌(*Pythium sylvatium*)、黑星菌屬(*Venturia spp*)、蘋果黑星病菌(*Venturia inaequalis*)、輪枝孢菌屬(*Verticillium* spp.)、黑粉菌屬(*Ustilago spp.*)、裸黑粉菌(*Ustilago nuda*)、玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago maydis*)、甘蔗鞭黑粉菌(*Ustilago scitaminea*)、麥角菌屬(*Claviceps spp.*)、麥角菌(*Claviceps purpurea*)、腥黑粉菌屬(*Tilletia spp.*)、小麥腥黑粉菌(*Tilletia tritici*)、光滑腥黑粉菌(*Tilletia laevis*)、稻粒黑粉菌(*Tilletia horrid*)、小麥矮腥黑粉菌(*Tilletia controversa*)、莖點黴屬(*Phoma spp.*)、大豆生莖點黴(*Phoma glycinicola*)、多變莖點黴(*Phoma exigua*)、甘藍莖點黴(*Phoma lingam*)、禾旋孢腔菌(*Cochliobolus sativus*)、禾頂囊殼(*Gaeumanomyces gaminis*)、炭疽菌屬

(*Colleototricum* spp.)、*雲紋病菌屬*(*Rhychosporium spp.*)、*大麥雲紋病菌*(*Rhychosporium secalis*)、*離蠕孢屬*(*Biopolaris spp.*)、*長蠕孢屬*(*Helminthosporium spp.*)、*大麥長蠕孢*(*Helminthosporium secalis*)、*玉蜀黍長蠕孢*(*Helminthosporium maydis*)、*索萊長蠕孢*(*Helminthosporium solai*)及*小麥褐斑長蠕孢*(*Helminthosporium tritici-repentis*)或其組合。

實例

包括以下實例以為一般技術者實施當前所揭示主題之代表性實施例提供指導。鑒於本發明及此項技術中之一般技術水準，一般技術者可瞭解，以下實例意欲僅為例示性的且可在不背離當前所揭示主題之範疇的情況下採用許多變化、修改及改變。

實例1

經由序列分析鑑別細菌分離株為地衣芽孢桿菌

自在加利福尼亞生長之水稻的根分離植物相關細菌菌株(在本文中指定為RTI184)。使RTI184菌株之16S rRNA及*rpoB*基因定序，且隨後使用BLAST與NCBI及RDP資料庫中之其他已知細菌菌株進行比較。據測定，RTI184 (SEQ ID NO: 1)之16S RNA部分序列與地衣芽孢桿菌之兩個其他已知菌株地衣芽孢桿菌菌株9945A (99%，在出自三個不同複本之16S rRNA基因之一個複本中，1545 bp中有2 bp不同)及地衣芽孢桿菌ATCC 14580 (99%，1545 bp中有8 bp不同)之16S rRNA基因序列幾乎一致。另外，據測定，RTI184 (SEQ ID NO: 2)之*rpoB*序列與已知菌株地衣芽孢桿菌9945A (CP005965)具有100%序列一致性且與以ATCC 14580寄存之地衣芽孢桿菌菌株具有97%序列一致性(3015 bp中有97 bp不同)。為在菌株RTI184與地衣芽孢桿菌9945A之間進一步區分，將其參與地衣素生物合成之路徑的基因組序列與由地衣芽孢桿菌屬產生之特徵陰離子環狀脂七肽生物界面活性劑進行比較。儘管

類似，在菌株RTI184及9945A之*lichA*與*lichB*基因之間觀測到一些差異。因此，RTI184菌株鑑別為獨特的地衣芽孢桿菌菌株。

實例2

地衣芽孢桿菌RTI184分離株之抗微生物特性

在培養盤分析中量測分離株對抗主要植物病原體之拮抗能力。藉由在869瓊脂培養盤上以4 cm距離使細菌分離株及病原性真菌並排生長進行評估對抗植物真菌病原體之拮抗的培養盤分析。在室溫下培育培養盤，且長達兩週定期檢查生長行為，諸如生長抑制、地位佔用或無效果。在篩選對抗細菌病原體之拮抗特性之情況下，病原體首先在869瓊脂培養盤上擴散為菌苔。隨後，將RTI184培養物之20 μl等分試樣點樣於培養盤上。在室溫下培育培養盤，且長達兩週定期檢查已應用RTI184之位置周圍的菌苔中之抑制區。下表I展示拮抗活性之概述。

表I. 地衣芽孢桿菌RTI184分離株對抗主要植物病原體之拮抗特性

抗微生物分析	RTI184
黃麴黴	++
集峰麴黴(Aspergillus nomius)	+
灰葡萄孢菌	+-
禾穀鐮刀菌	++
尖孢鐮刀菌	+
古巴尖孢鐮刀菌	++
稻瘟病菌	+
辣椒疫黴菌	+-
森林腐黴菌	+-
立枯絲核菌	++
丁香假單胞菌番茄變種	-
辣椒斑點病黃單胞菌	-

+++活性極強，++活性強，+活性，+-活性弱，-未觀測到活性

實例3

地衣芽孢桿菌RTI184分離株之表型特點

除拮抗特性之外，亦量測地衣芽孢桿菌RTI184菌株之不同表型特點，且資料如下展示於表II中。根據表II下方文字中所描述之程序進行分析。

表II. 表型分析：植物激素生產、乙偶姻及吲哚乙酸(IAA)及地衣芽孢桿菌RTI184分離株之養分循環。

特徵分析	**RTI184**
產酸(甲基紅)	-
乙偶姻生產(MR-VP)	+++
殼質酶活性	+
吲哚-3-乙酸生產	-
蛋白酶活性	+
溶磷	-
表型	硬乾質地白色/奶白

+++極強，++強，+有些，+-弱，-未觀測到

酸及乙偶姻測試. 將富集869培養基中之20 µl起始培養物轉移至1 ml甲基紅-伏-普二氏(Voges Proskauer)培養基(Sigma Aldrich 39484)。在30℃、200 rpm下培育培養物2天。轉移0.5 ml培養物，且添加50 µl 0.2 g/l甲基紅。紅色指示產酸。使其餘0.5 ml培養物與0.3 ml 5% α-萘酚(Sigma Aldrich N1000)隨後0.1 ml 40% KOH混合。培育30分鐘後解譯樣品。紅色顯現指示乙偶姻生產。對於酸及乙偶姻測試，非接種培養基用作陰性對照(Sokol等人, 1979, *Journal of Clinical Microbiology*. 9: 538-540)。

吲哚-3-乙酸. 將富集869培養基中之20 µl起始培養物轉移至補充有0.5 g/l色胺酸之1 ml 1/10 869培養基(Sigma Aldrich T0254)。在暗處在30℃、200 RPM下培育培養物4-5天。使樣品離心，且使0.1 ml上清液與0.2 ml薩爾科夫斯基氏試劑(Salkowski's Reagent) (35%過氯酸，

10 mM FeCl3)混合。在暗處培育30分鐘後，產生粉紅色之樣品記錄為對IAA合成呈陽性。IAA稀釋液(Sigma Aldrich I5148)用作陽性對比物；非接種培養基用作陰性對照(Taghavi等人, 2009, *Applied and Environmental Microbiology* 75: 748-757)。

溶磷測試. 將細菌接種於皮科夫斯卡婭(PVK)瓊脂培養基上，該培養基由每公升10 g葡萄糖、5 g三磷酸鈣、0.2 g氯化鉀、0.5 g硫酸銨、0.2 g氯化鈉、0.1 g硫酸鎂七水合物、0.5 g酵母提取物、2 mg硫酸錳、2 mg硫酸鐵及15 g瓊脂組成，pH為7，高壓滅菌。清除區指示溶磷細菌(Sharma等人, 2011, *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 1: 90-95.)。

殼質酶活性. 將10%濕重膠狀殼質添加至經修飾之PVK瓊脂培養基(每公升10 g葡萄糖、0.2 g氯化鉀、0.5 g硫酸銨、0.2 g氯化鈉、0.1 g硫酸鎂七水合物、0.5 g酵母提取物、2 mg硫酸錳、2 mg硫酸鐵及15 g瓊脂，pH為7，高壓滅菌)中。細菌接種於此等殼質培養盤上；清除區指示殼質酶活性(N. K. S. Murthy & Bleakley., 2012. 「Simplified Method of Preparing Colloidal Chitin Used for Screening of Chitinase Producing Microorganisms」. *The Internet Journal of Microbiology.* 10(2))。

蛋白酶活性. 細菌接種於補充有10%牛奶之869瓊脂培養基上。清除區指示分解蛋白質之能力，表明蛋白酶活性(Sokol等人, 1979, *Journal of Clinical Microbiology.* 9: 538-540)。

實例4

地衣芽孢桿菌RTI184對種子發芽、根發育及構型之影響

進行實驗來確定地衣芽孢桿菌RTI184菌株應用於種子對種子發芽及根發育及構型之影響。使用RTI184之營養細胞及孢子如下文所描述進行實驗。

*營養細胞：*使用來自玉米及大豆之種子進行RTI184之營養細胞的分析。將RTI184接種至來自冷凍儲備液之869培養基上，且在30℃下生長隔夜。自培養盤取出分離菌落且接種至含有20 mL 869培養液之50 mL錐形管中。在30℃及200 RPM下在震盪下培育培養物隔夜。隔夜培養物在10,000 RPM下離心10分鐘。丟棄上清液，且將集結粒再懸浮於$MgSO_4$中以便洗滌。混合物再次在10,000 RPM下離心10分鐘。丟棄上清液，且將集結粒再懸浮於經修飾之霍格蘭氏溶液(Hoagland's solution)中。隨後稀釋混合物，提供初始濃度(10^0)。由此，進行RTI184培養物之10^{-1}、10^{-2}、10^{-3}、10^{-4}及10^{-5}稀釋。對於各類型種子之種子發芽實驗，100 mm皮氏培養皿(petri dish)用RTI184或對照物、稀釋度及日期標記。將無菌濾紙置於各培養皿底部。視種子類型而定，將五(5)至八(8)顆種子置於單個皮氏培養皿中(例如，諸如玉米之較大種子具有較小種子數量/培養盤)。將5 mL之各RTI184稀釋液添加至培養盤中，且在21℃下培育種子。對照培養盤含有種子及經修飾之霍格蘭氏溶液而無所添加之細菌。在4及7天後採集培養盤影像。在培養盤開始變乾時向其中添加無菌去離子水。玉米及大豆資料展示於下表III中。另外，圖1A-1D為展示在用以10^0 (B)、10^{-1} (C)及10^{-2} (D) (分別對應於(B) 2.62×10^8 CFU/ml、(C) 2.62×10^7 CFU/ml及(D) 2.62×10^6 CFU/ml)稀釋之RTI184營養細胞接種之後在生長7天後對根毛發育的正面影響與未經處理之對照(A)相比之大豆種子影像。資料展示與未接種之對照種子相比，添加RTI184細胞刺激細根毛形成。細根毛在水、養分之吸收及植物與根圈中其他微生物之相互作用中為重要的。

表III. 針對用RTI184營養細胞處理之種子發芽分析

種子發芽分析 - RTI184 (營養細胞)		稀釋度		
作物	起始CFU/ml	10^0	10^{-1}	10^{-2}
玉米	2.62×10^8 cfu/ml	=	=	ND
大豆	2.62×10^8 cfu/ml	++	+++	+++

+++生長效益極顯著，++生長效益強，+生長效益，+-生長效益弱，=未觀測到效果，ND未測定。

孢子：對於使用RTI184孢子之實驗，菌株在14 L醱酵槽中之2XSG中形成孢子。收集孢子但之後未洗滌，濃度為至少1.0×10^7 CFU/mL。在該等實驗中將孢子濃度稀釋10倍或更大。用黃瓜、胡椒、番茄、蘿蔔、南瓜、草(肯塔基藍草(Kentucky Bluegrass))及萬壽菊之種子進行實驗。將無菌濾紙置於各無菌塑膠生長箱底部，且將10顆種子置於各容器中。將3 mL之各RTI184孢子稀釋液添加至生長箱中，關閉生長箱且在19℃下培育7天，之後使幼苗成像。資料展示於下表IV中。與非接種對照物相比，未觀測到用RTI184處理之任何植物物種之種子發芽及生長的抑制。另外，用RTI184菌株接種種子對MONEY MAKER番茄之正面影響的影像展示於圖2A-2B中。對照植物展示於圖2A中，且用RTI184接種之植物展示於圖2B中。

表IV. 針對用RTI184孢子處理之種子發芽分析

種子發芽分析 - RTI184 (孢子)		稀釋度		
作物	起始CFU/ml	10^0	10^{-1}	10^{-2}
黃瓜	2.68×10^8 cfu/mL	+	++	+
南瓜	2.68×10^8 cfu/mL	=	=	=
肯塔基藍草	2.68×10^8 cfu/mL	=	=	=
萬壽菊	1.00×10^7 cfu/mL	+	+	+
胡椒	2.68×10^8 cfu/mL	ND	ND	+
蘿蔔	1.00×10^7 cfu/mL	=	=	=
番茄 - BETTER BOY	1.00×10^7 cfu/mL	+	+	=
番茄- MONEY MAKER	2.68×10^8 cfu/mL	+++	++	+++

+++生長效益極顯著，++生長效益強，+生長效益，+-生長效益弱，=未觀測到效果，ND未測定

實例5

地衣芽孢桿菌分離株RTI184在玉米種子接種中之生長效果

確定應用細菌分離株RTI184對玉米之生長及活力的影響。藉由在10^7 CFU/ml細菌中在室溫下在震盪下接種表面滅菌發芽玉米種子2天來進行實驗。隨後，在填充有用石灰處理至pH 6.5之PROMIX BX (PREMIER TECH, INC; Quebec, Canada)之1加侖盆中栽植經接種之種子。對於每次處理，以5 cm深度栽植之單一玉米種子接種於9個盆。盆在溫室中在22℃下在14/10 hr光與暗循環下培育，且按需要一週澆水兩次。8週後，收集植物，且量測其高度、新鮮及乾重，且與針對非接種對照植物所獲得之資料進行比較。乾重確定為每9株植物之總重量，導致用地衣芽孢桿菌RTI184菌株接種之植物的總平均植物乾重等於14.09 g，相比而言，非接種對照物之重量等於11.24 g，乾重比非接種對照物增加25%。另外，圖3A-3B展示用地衣芽孢桿菌RTI184接種之植物(圖3A)與對照植物(圖3B)相比之照相影像。

實例6

地衣芽孢桿菌分離株RTI184在黃瓜、番茄及胡椒-用RTI184孢子增強之PROMIX BX盆栽土中之生長效果

確定應用細菌分離株RTI184對黃瓜、番茄及胡椒之生長及活力的影響。在此實驗中，將黃瓜、番茄及胡椒種子栽植於PROMIX BX (PREMIER TECH, INC; Quebec, Canada)盆栽土中，盆栽土用石灰處理至pH 6.5且用1×10^7個孢子/公克地衣芽孢桿菌菌株RTI184增強。在6"盆中將種子栽植於經RTI184增強之PROMIX BX (PREMIER TECH, INC; Quebec, Canada)土壤中。每個盆栽植一顆種子，且每個處理存在8個複本。收集植物，且量測其乾芽重量，且與針對非接種對照植

物所獲得之資料進行比較。乾芽生物質量確定為每8株植物之總重量。資料如下展示於表V中，且展示對於所有作物類型，RTI184勝過對照物。

另外，圖4A-4B為展示在經RTI184增強之土壤中栽植A)對照黃瓜植物及B)在經地衣芽孢桿菌RTI184增強之土壤中生長的黃瓜植物之後對黃瓜之生長及活力的正面影響之黃瓜資料的影像。圖5A-5B為展示在經RTI184增強之土壤中栽植A)在經地衣芽孢桿菌RTI184增強之土壤中生長的番茄植物及B)對照番茄植物之後對番茄之生長及活力的正面影響之番茄資料的影像。圖6A-6B為展示在經RTI184增強之土壤中栽植A)在經地衣芽孢桿菌RTI184增強之土壤中生長的胡椒植物及B)對照胡椒植物之後對胡椒之生長及活力的正面影響之胡椒資料的影像。

表V. 對黃瓜、番茄及胡椒在含有1×10^7個孢子/公克地衣芽孢桿菌菌株RTI184之PROMIX BX盆栽土中生長之後的乾芽質量之影響。

作物	芽生物質量乾重(公克)	超過對照之增加%
黃瓜-對照物	5.09	
黃瓜	7.33	44%
番茄-對照物	5.55	
番茄	9.32	68%
胡椒-對照物	2.20	
胡椒	2.77	26%

實例7

鑑別由地衣芽孢桿菌RTI184分離株產生之新代謝物

先前已報導五種豐原素型代謝物及脫羥基豐原素型代謝物係由包括地衣芽孢桿菌之微生物物種產生(Li, Xing-Yu等人, 2013, *J. Microbiol. Biotechnol.* 23(3), 313-321；Pecci Y等人, 2010, *Mass Spectrom.*, 45(7):772-77.)。此等屬於環狀脂肽類之代謝物為亦含有脂

肪酸基團之環狀肽分子。五種豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物稱為A、B、C、D及S。此等代謝物之骨架結構以及五個種類中之每一者的特定胺基酸序列展示於圖7中。使用UHPLC-TOF MS分析由地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物。將由RTI184菌株產生之豐原素型代謝物在富集培養基中(在869或M2培養基中)在30℃下生長3及6天之後的分子量與針對豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物所預期的理論分子量進行比較。另外，為確定由RTI184菌株產生之不同豐原素型代謝物之胺基酸組成，對先前經由UHPLC-TOF MS鑑別之豐原素型代謝物中之每一者進行使用LC-MS-MS之肽定序。此等資料展示於下表VI中。以此方式，確定地衣芽孢桿菌菌株RTI184不產生豐原素A、B、C、D或S。

出人意料地，確定RTI184菌株產生此等化合物之先前未鑑別衍生物，其中環狀肽鏈(在圖7中稱為X_3)之位置8處的L-異白胺酸經L-甲硫胺酸置換。新種類豐原素及脫羥基豐原素在本文中稱為MA、MB及MC，係指A類、B類及C類衍生物，其中圖7中X_3處之L-異白胺酸已經L-甲硫胺酸置換。新鑑別之分子以粗體展示於圖7及表VI中。

除此等新衍生物之外，還鑑別由地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生之另一先前未鑑別種類，其中豐原素MB及脫羥基豐原素MB (圖7中之位置X_4)之酪胺酸(Tyr)經α-胺基酸、瓜胺酸置換。此新種類豐原素及脫羥基豐原素在本文中稱為豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit，且以粗體展示於圖7及表VI中。

據進一步確定，地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生先前尚未鑑別之額外種類之豐原素及脫羥基豐原素。在此種類中，豐原素B及脫羥基豐原素B (圖7中之位置X_3)之L-異白胺酸經L-高半胱胺酸(Hcy)置換。此等先前未鑑別之豐原素及脫羥基豐原素代謝物在本文中稱為豐原素H及脫羥基豐原素H，且以粗體展示於圖7及表VI中。

據進一步確定，地衣芽孢桿菌菌株RTI184產生先前尚未報導之額外種類之脫羥基豐原素。在此種類中，圖7中之位置X_1經L-異白胺酸置換。此先前未報導之脫羥基豐原素代謝物在本文中稱為脫羥基豐原素I，且以粗體展示於圖7及表VI中。

下表VI中提供先前報導之豐原素型及脫羥基豐原素型脂肽及新鑑別之代謝物(以粗體展示)之胺基酸序列的概述。

表VI. MS/MS鑑別地衣芽孢桿菌RTI184分離株中之豐原素型代謝物的概述。

同源物	X_1	X_2	X_3	X_4	R	環質量	理論C16分子式	理論C16 $[M+H]^+$	所觀測到的RTI184
豐原素A	Ala	Thr	Ile	Tyr	OH	1080.6	$C_{72}H_{110}N_{12}O_{20}$	1463.8	*未觀測到*
豐原素B	Val	Thr	Ile	Tyr	OH	1108.7	$C_{74}H_{114}N_{12}O_{20}$	1491.8	*未觀測到*
豐原素C	Aba	Thr	Ile	Tyr	OH	1094.6	$C_{73}H_{112}N_{12}O_{20}$	1477.8	*未觀測到*
豐原素D	Val	Thr	Val	Tyr	OH	1094.6	$C_{73}H_{112}N_{12}O_{20}$	1477.8	*未觀測到*
豐原素S	Val	Ser	Ile	Tyr	OH	1094.6	$C_{73}H_{112}N_{12}O_{20}$	1477.8	*未觀測到*
豐原素I	Ile	Thr	Ile	Tyr	OH	1122.8	$C_{77}H_{116}N_{12}O_{20}$	1505.8	*未觀測到*
豐原素MA	**Ala**	**Thr**	**Met**	**Tyr**	**OH**	**1098.7**	**$C_{71}H_{108}N_{12}O_{20}S$**	**1481.8**	**C17**
豐原素MB	**Val**	**Thr**	**Met**	**Tyr**	**OH**	**1126.8**	**$C_{73}H_{112}N_{12}O_{20}S$**	**1509.8**	**C15、C17**
豐原素MC	**Aba**	**Thr**	**Met**	**Tyr**	**OH**	**1112.7**	**$C_{72}H_{110}N_{12}O_{20}S$**	**1495.8**	**C16**
豐原素H	**Val**	**Thr**	**Hcy**	**Tyr**	**OH**	**1112.7**	**$C_{72}H_{110}N_{12}O_{20}S$**	**1495.8**	**C16**
脫羥基豐原素A	Ala	Thr	Ile	Tyr	H	1080.6	$C_{72}H_{110}N_{12}O_{19}$	1447.8	C14
脫羥基豐原素B	Val	Thr	Ile	Tyr	H	1108.7	$C_{74}H_{114}N_{12}O_{19}$	1475.8	C17
脫羥基豐原素C	Aba	Thr	Ile	Tyr	H	1094.6	$C_{73}H_{112}N_{12}O_{19}$	1461.8	*未觀測到*
脫羥基豐原素D	Val	Thr	Val	Tyr	H	1094.6	$C_{73}H_{112}N_{12}O_{19}$	1461.8	*未觀測到*
脫羥基豐原素S	Val	Ser	Ile	Tyr	H	1094.6	$C_{73}H_{112}N_{12}O_{19}$	1461.8	*未觀測到*
脫羥基豐原素I	**Ile**	**Thr**	**Ile**	**Tyr**	**H**	**1122.8**	**$C_{75}H_{116}N_{12}O_{19}$**	**1489.9**	**C16**

脫羥基豐原素MA	Ala	Thr	Met	Tyr	H	1098.7	$C_{71}H_{108}N_{12}O_{19}S$	1465.8	C14、C17
脫羥基豐原素MB	Val	Thr	Met	Tyr	H	1126.8	$C_{73}H_{112}N_{12}O_{19}S$	1493.8	C15、C16
脫羥基豐原素MC	Aba	Thr	Met	Tyr	H	1112.7	$C_{72}H_{110}N_{12}O_{19}S$	1479.8	C16、C17
脫羥基豐原素H	Val	Thr	Hcy	Tyr	H	1112.7	$C_{72}H_{110}N_{12}O_{19}S$	1479.8	C16、C17
豐原素MB-Cit	Val	Thr	Met	Cit	OH	1120.6	$C_{70}H_{114}N_{14}O_{20}S$	1503.8	C15、C17
脫羥基豐原素MB-Cit	Val	Thr	Met	Cit	H	1120.6	$C_{70}H_{114}N_{14}O_{19}S$	1487.8	C15、C16、C17

為判定新鑑別類型之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物之合成是否為地衣芽孢桿菌屬所固有或替代地為地衣芽孢桿菌之個別菌株所特有，在10個地衣芽孢桿菌菌株之間比較此等類型分子之合成。為此分析所選之十個細菌菌株基於其高度保守16S rRNA及*rpoB*基因序列之序列比較而鑑別為地衣芽孢桿菌菌株。使各菌株之基因組DNA分離且藉由BOX-PCR圖案使用先前所描述之方法進行比較(Vinuesa, P.等人, 1998, *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 2096-2104)，且展示菌株之所得BOX-PCR圖案的凝膠影像展示於圖8中。特定言之，圖8展示地衣芽孢桿菌菌株CH200 (以寄存編號DSM 17236寄存)、RTI1242、RTI1249、RTI184、RTI1243、RTI1112、FCC1598、RTI239、RTI241及RTI253之基因組DNA的BOX-PCR指紋識別圖案之瓊脂糖凝膠電泳。使用1 kb DNA梯度(FERMENTAS)作為分子大小標記。基於其BOX-PCR圖案，十個菌株分為三個主要組：組1、組2A至2B (組2A及2B表示圖8中凝膠上之位置)及組3 (其包含不屬於組1及2之菌株)。

為確定由十個地衣芽孢桿菌菌株中之每一者產生之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物的類型，使用UHPLC-TOF MS分析菌株。另外，亦分析針對地衣芽孢桿菌具有特徵性之地衣素型代謝物作為內部

對照。UHPLC-TOF MS分析之結果概述於下表VII中。表VII呈現地衣素及豐原素型及脫羥基豐原素型分子、其脂質修飾(脂肪酸(FA)鏈長)、所預測之分子質量及其存在或不存在於在M2培養基中生長6天的十個地衣芽孢桿菌菌株中之每一者的培養物上清液中。資料展示地衣素型代謝物由所有十個菌株合成，證實其為真實地衣芽孢桿菌菌株。另一方面，在十個菌株之間觀測到關於產生豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物之主要差異。

表**VII.** UHPLC-TOF MS鑑別10個不同地衣芽孢桿菌分離株中之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物的概述。

化合物	FA鏈	$[M+H]^+$	CH200	RTI1242	RTI1249	RTI184	RTI1243	RTI1112	FCC1598	RTI1239	RTI1241	RTI1253
脫羥基豐原素A/B/C/D/I/S	C16-C18	1461.8239-1489.8552	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
脫羥基豐原素H/MA/MB/MC	C15-C17	1437.7334-1493.796	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
脫羥基豐原素MB-Cit	C15-C17	1473.8021-1501.8334	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
豐原素A/B/C/D/I/S	C15-C17	1477.8188-1491.8344	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
豐原素H/MA/MB/MC	C14-C17	1481.7596-1495.7752	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
豐原素MB-Cit	C15-C17	1489.797-1517.8283	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
地衣素A/D1/D2/D3/G1/G2/G3/G4/G5	C12-C17	993.6594-1063.7376	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

發現具有相同BOX-PCR圖案之菌株RTI184及RTI1112 (組2)產生相同類型之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物，包括脫羥基豐原素A/B/C/D/I/S、脫羥基豐原素H/MA/MB/MC、脫羥基豐原素MB-Cit、豐原素H/MA/MB/MC及豐原素MB-Cit，但未能產生豐原素A/B/C/D/I/S型代謝物。另一方面，亦屬於組2之菌株FCC1598產生豐原素A/B/C/D/I/S型代謝物，但未能產生豐原素H/MA/MB/MC型代謝物。出人意料地，亦屬於組2之菌株RTI1243不產生豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物中任一者。最後，屬於組1之兩個菌株(RTI1242及RTI1249)及屬於組3之兩個菌株(RTI1241及RTI1253)未能產生豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物中任一者，而分別屬於組1及組3之CH200及RTI1239產生所有豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物。基於此等結果，推斷不同類型之豐原素型及脫羥基豐原素型代謝物(包括新鑑別之含瓜胺酸代謝物)之合成為菌株依賴性的而非地衣芽孢桿菌屬所固有。舉例而言，偶數密切相關地衣芽孢桿菌組2菌株產生不同豐原素型及脫羥基豐原素型分子且一個密切相關組2菌株完全不能產生任何豐原素型或脫羥基豐原素型代謝物。

實例8

用地衣芽孢桿菌分離株RTI184滴灌對南瓜、青花菜、蕪菁、萵苣及草莓之影響

進行實驗來確定用地衣芽孢桿菌RTI184菌株之孢子滴灌對南瓜、青花菜、蕪菁及草莓之影響。根據下文所描述之實驗確定對植物產量之影響。

對南瓜植物進行田間試驗，其中滴灌用於在栽植時及在稍後2週再次施用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照南瓜植物相比，添加所有濃度之RTI184孢子導致全部及可銷售南瓜之產量增

加。特定言之，用RTI184處理之植物(施用量為每公頃2.5×10^{12} CFU)導致平均33 kg全部南瓜，其中26 kg可銷售，相比之下，未經處理之對照植物為22 kg全部南瓜，其中17 kg可銷售。此為全部南瓜之重量增加50%且可銷售南瓜之重量增加53%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之全部南瓜重量及可銷售南瓜重量的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌青花菜植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加RTI184孢子導致鮮重產量自3 kg (對照物)一致增加至4 kg (每公頃2.5×10^{13} CFU RTI184)、3.9 kg (每公頃2.5×10^{12} CFU RTI184)及4.6 kg (每公頃1.5×10^{11} CFU RTI184)，或重量分別增加33%、30%及53%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之鮮重的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌蕪菁植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加所有濃度之RTI184孢子導致塊莖重量產率自3.3 kg (對照物)一致增加至大約5.3 kg，其為增加60%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之塊莖重量的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃12.5×10^{12} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌萵苣植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加RTI184孢子導致萵苣重量產率自45.6 kg (對照物)一致增加至52.8 kg，其為增加16%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之重量增加展現藉由用

RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌草莓植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加RTI184孢子導致總產量增加5% (每公頃1.5×10^{11} CFU RTI184)、8% (每公頃2.5×10^{12} CFU RTI184)及11% (每公頃2.5×10^{13} CFU RTI184)。用RTI184處理之植物相對於對照植物之產量增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

實例9

地衣芽孢桿菌分離株RTI184對在感染線蟲之土壤中生長的馬鈴薯植物之生長影響

在此實驗中，確定應用細菌分離株RTI184對在感染線蟲之土壤(*球孢囊線蟲屬*，每100 ml土壤大約1750個活卵及幼體)中生長的馬鈴薯植物之生長及活力的影響。馬鈴薯(品種「Bintje」)栽植於感染有*球孢囊線蟲屬*之土壤中，且用每公升土壤$10E^{+9}$ cfu地衣芽孢桿菌菌株RTI184孢子增強或滴灌。植物在溫室中生長48天後之影像展示於圖9A-9B中。圖9A展示未用RTI184孢子處理之對照植物，且圖9B展示用RTI184處理之植物。用RTI184處理之植物相對於對照植物之大小增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

參考文獻

本文所引用之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻皆以全文引用的方式併入本文中。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商富曼西公司

<120> 地衣芽孢桿菌RTI184組合物及益於植物生長之使用方法

<130> 121-16 PROV2

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1545
<212> DNA
<213> 地衣芽孢桿菌

<400> 1
agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc 60

ggacagatgg gagcttgctc cctgatgtca gcggcggacg ggtgagtaac acgtgggtaa 120

cctgcctgta agactgggat aactccggga aaccggggct aataccagat gcttgattga 180

accgcatggt tcaattataa aaggtggctt ttagctacca cttacagatg gacccgcggc 240

gcattagcta gttggtgagg taacggctca ccaaggcaac gatgcgtagc cgacctgaga 300

gggtgatcgg ccacactggg actgagacac ggcccagact cctacgggag gcagcagtag 360

ggaatcttcc gcaatggacg aaagtctgac ggagcaacgc cgcgtgagtg atgaaggttt 420

tcggatcgta aaactctgtt gttagggaag aacaagtacc gttcgaatag ggcggtacct 480

tgacggtacc taaccagaaa gccacggcta actacgtgcc agcagccgcg gtaatacgta 540

ggtggcaagc gttgtccgga attattgggc gtaaagcgcg cgcaggcggt ttcttaagtc 600

tgatgtgaaa gcccccggct caaccgggga gggtcattgg aaactgggga acttgagtgc 660

agaagaggag agtggaattc cacgtgtagc ggtgaaatgc gtagagatgt ggaggaacac 720

cagtggcgaa ggcgactctc tggtctgtaa ctgacgctga ggcgcgaaag cgtggggagc 780

gaacaggatt agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgagtgctaa gtgttagagg 840

gtttccgccc tttagtgctg cagcaaacgc attaagcact ccgcctgggg agtacggtcg 900

caagactgaa actcaaagga attgacgggg gcccgcacaa gcggtggagc atgtggttta 960

attcgaagca acgcgaagaa ccttaccagg tcttgacatc ctctgacaac cctagagata 1020

gggcttcccc ttcgggggca gagtgacagg tggtgcatgg ttgtcgtcag ctcgtgtcgt 1080

gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caacccttga tcttagttgc cagcattcag 1140

ttgggcactc taaggtgact gccggtgaca aaccggagga aggtggggat gacgtcaaat 1200

catcatgccc cttatgacct gggctacaca cgtgctacaa tgggcagaac aaagggcagc 1260

gaagccgcga ggctaagcca atcccacaaa tctgttctca gttcggatcg cagtctgcaa 1320

ctcgactgcg tgaagctgga atcgctagta atcgcggatc agcatgccgc ggtgaatacg 1380

ttcccgggcc ttgtacacac cgcccgtcac accacgagag tttgtaacac ccgaagtcgg 1440

tgaggtaacc ttttggagcc agccgccgaa ggtgggacag atgattgggg tgaagtcgta 1500

acaaggtagc cgtatcggaa ggtgcggctg gatcacctcc tttct 1545

<210> 2
<211> 3015
<212> DNA
<213> 地衣芽孢桿菌

<400> 2
ttgccggtta cggttctttt gcgtgctctt ggcttcggat ctgaccaaga gatcattgat 60

ctcatcggtg aaaacgagta tttgcgcaat acgcttgata aagataatac ggaaaacacc 120

gataaagcgc ttcttgaaat ctacgagcgt cttcgtccag gagagccgcc tacagtagaa 180

aacgcaaaaa gcctgcttga ttcaaggttc tttgatccga aaagatatga ccttgcaagt 240

gtaggacgtt ataaaattaa taaaaagctt cacatcaaaa acagactgtt taatcagcgg 300

cttgctgaaa cgctgatcga tcctgaaaca ggcgaaattc ttgccgaaaa aggcgcgatt 360

ttagacagaa gaacgcttga caaagtcctg ccttaccttg aaaacggaat cggttttaaa 420

aagctgtatc cgaacggcgg agttgttgaa gatgaagtga cgcttcagtc tattaaaatc 480

tatgccccga cagatcaaga aggggagcag acaatcaatg tgattggaaa tgcttatatt 540

gaagaaggcg ttaaaaatat tacaccttct gatattatct cttccatcag ctatttcttt 600

aacctgcttc acggagtggg cgataccgac gatatcgacc atttaggaaa ccgccgtctc 660

cgttcagtgg gagagcttct gcaaaaccaa ttccgtatcg gtttaagcag aatggagcgt 720

gttgttcgtg aaagaatgtc tattcaagat acaaacacga tcacgccaca gcagctgatc 780

aatattcgcc ctgtcatcgc atcaatcaaa gagtttttcg gaagctcgca gctttctcag 840

tttatggatc agacgaatcc gcttgctgag ctgacgcata agcgccgtct gtcagcgctc 900

ggaccgggcg gtttgacccg tgagcgcgcc ggaatggaag tccgtgacgt tcactattcc 960

cactacggcc ggatgtgtcc gattgaaact cctgagggtc caaacatcgg cttgatcaac 1020

tcgctttctt cattcgcgaa agtgaaccgt ttcggcttca tcgaaacgcc gtatcgccgc 1080

gttgaccctg agactggaaa agtaacgccg agaatcgatt acttgacagc tgatgaagaa 1140

gacaactatg tcgttgccca ggctaacgca cgtctgaatg atgacggatc ttttgtggat 1200

gacagcatcg tcgcccgttt cagaggggag aacaccgttg ttccgaaaga ccgcgtcgac 1260

tatatggacg tttcgcctaa acaggttgtc tctgccgcga ctgcatgtat tcctttcttg 1320

gaaaacgacg actcaaaccg cgccctaatg ggagcgaaca tgcaacggca ggctgtacct 1380

cttatgcagc ctgaatctcc gatcgtcgga accggaatgg agtatgtatc tgcaaaagac 1440

tccggtgccg ctgttatttg ccgccatcct ggaatcgttg aacgggtgga agcgaaaaac 1500

atctgggtgc gccgctatga agaagtcgac ggccagaaag tcaaaggaaa ccttgataaa 1560

tacagcctgc tgaagtttgt tcgttccaac cagggaactt gctacaacca gcgtccgatc 1620

gtaagcgtcg gtgatgaggt tgtaaaaggt gaaattttag ctgacggtcc gtctatggaa 1680

S

aaaggtgagc ttgcccttgg acgcaacgtc atggtcggct ttatgacatg ggatggctac 1740

aactacgagg atgccatcat catgagcgaa cgccttgtaa aagacgacgt atacacgtct 1800

attcatattg aggaatacga atcagaggcc cgggatacaa aactcggacc tgaagaaatt 1860

acacgcgata ttccaaacgt cggtgaagac gctcttcgca atctcgatga acgcggaatt 1920

atccgtgtcg gtgctgaagt aaaagacgga gatcttcttg ttggtaaagt aacgcctaaa 1980

ggtgttacag agcttactgc agaagagcgc ctgcttcacg ccatcttcgg cgaaaaagcg 2040

cgtgaagtcc gcgatacgtc gctgcgtgtg cctcacggag gcggcggtat catccttgat 2100

gtaaaagtgt tcaaccgcga agacggagac gaactgcctc cgggcgttaa ccagctcgtc 2160

cgcgtttaca tcgttcagaa acgtaaaatt tctgaagggg acaaaatggc cggacgccac 2220

gggaacaaag gtgttatttc gaaaatcctt ccggaggaag atatgccgta tctgcctgac 2280

ggaacaccga ttgacatcat gttaaacccg ctgggcgtac catcgcgtat gaacatcggg 2340

caggtgttgg agctgcacct tggtatggct gcacgccgtc tcggtctgca tgtcgcgtcg 2400

ccggtatttg acggtgcccg cgaagaagat gtgtgggaaa cgcttgaaga agccggcatg 2460

tcaagggacg caaagacagt cctttacgac ggccgaactg gagagccgtt tgacaaccgg 2520

gtgtctgtcg gcatcatgta catgatcaaa ttggctcaca tggttgacga caaattgcac 2580

gcgcgttcta caggtcctta ctcactcgtt acccagcagc ctcttggagg taaagcgcag 2640

ttcggtggac agcgttttgg agagatggaa gtttgggcgc ttgaagctta cggtgcagca 2700

tatacacttc aagaaatcct gactgttaaa tcggatgatg tcgtaggccg tgtgaaaaca 2760

tacgaagcca tcgtaaaagg cgacaatgtt ccagaacctg gtgttccgga atcgttcaaa 2820

gtattgatca aagagcttca aagcttaggt atggacgtca aaatcctatc aagcgacgaa 2880

gaagaaatcg aaatgagaga cttggaagac gacgaagacg cgaaacaaaa cgaagggctt 2940

tctctgccga atgatgaaga gtccgaagaa ttcgtttctg ctgacgcaga gcgcgatgtc 3000

gtcacaaaag aataa 3015

201637570

發明摘要

※ 申請案號：104132343

※ 申請日：104.9.30

※IPC 分類：A01N 47/44 (2006.01)
53/60 (2006.01)
57/12 (2006.01)
A01N 63/60 (2006.01)
63/62 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/10 (2006.01)

【發明名稱】

地衣芽孢桿菌RTI184組合物及益於植物生長之使用方法

BACILLUS LICHENIFORMIS RTI184 COMPOSITIONS AND METHODS OF USE FOR BENEFITING PLANT GROWTH

【中文】

本發明提供具有促進植物生長活性之地衣芽孢桿菌(*Bacillus licheniformis*) RTI184新菌株之組合物及應用於植物之方法。亦提供包括分別指定為「豐原素(Fengycin) MB-Cit」及「脫羥基豐原素MB-Cit」之新鑑別的豐原素樣及脫羥基豐原素樣環狀脂肽的地衣芽孢桿菌菌株之組合物及提取物。在特定態樣中，含有該地衣芽孢桿菌菌株RTI184之組合物可單獨或與化學劑或其他微生物劑組合應用以益於植物生長。

【英文】

Compositions and methods for application to plants are provided for a new strain of *Bacillus licheniformis* RTI184 having plant growth promoting activity. Compositions and extracts of *Bacillus licheniformis* strains that include newly identified Fengycin-like and Dehydroxyfengycin-like cyclic lipopeptides designated as "Fengycin MB-Cit" and "Dehydroxyfengycin MB-Cit", respectively, are also provided. In particular aspects, compositions containing the *Bacillus licheniformis* strain RTI184 can be applied alone or in combination with chemical agents or other microbial agents to benefit plant growth.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（4）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種益於植物生長之組合物，該組合物包含以適合益於植物生長之量存在的ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌(*Bacillus licheniformis*) RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體。
2. 如請求項1之組合物，其中該組合物在應用於以下時能夠益於植物生長：該植物之種子、該植物之根部、該植物之剪枝(cutting)、該植物之接枝、該植物之癒傷組織；該植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植該植物、該植物剪枝、該植物接枝或該植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。
3. 如請求項1之組合物，其中該植物之生長效益係由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加或外觀改進或其組合展現。
4. 如請求項1之組合物，其中該組合物係呈液體、油分散液、粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式。
5. 如請求項1之組合物，其中該組合物係呈液體形式且該地衣芽孢桿菌RTI184係以約1.0×10^{9} CFU/ml至約1.0×10^{12} CFU/ml之濃度存在。
6. 如請求項1之組合物，其中該組合物係呈粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式且該地衣芽孢桿菌RTI184係以約1.0×10^{9} CFU/g至約1.0×10^{12} CFU/g之量存在。
7. 如請求項1之組合物，其中該組合物係呈油分散液形式且該地衣芽孢桿菌RTI184係以約1.0×10^{9} CFU/ml至約1.0×10^{12} CFU/ml之濃度存在。

8. 如請求項1之組合物，其中該地衣芽孢桿菌*RTI184*呈孢子形式。

9. 如請求項1之組合物，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈營養細胞形式。

10. 如請求項1之組合物，其進一步包含微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合，以適合益於植物生長及/或賦予保護易感病植物抵抗病原性感染之量存在。

11. 如請求項10之組合物，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧(bifenthrin)。

12. 如請求項10之組合物，其中該殺線蟲劑包含硫線磷(cadusafos)。

13. 如請求項10之組合物，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧及可尼丁(clothianidin)。

14. 如請求項10之組合物，其調配為液體。

15. 如請求項14之組合物，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧或ξ-賽滅寧(zeta-cypermethrin)。

16. 如請求項1之組合物，其中該組合物係呈栽植基質形式。

17. 如請求項16之組合物，其中該栽植基質係呈盆栽土形式。

18. 如請求項1之組合物，其中該植物包含單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米(Silage corn)、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘(Huckleberry)、蔓越橘(Cranberry)、醋栗(Gooseberry)、接骨木果(Elderberry)、醋栗(Currant)、蔓越莓(Caneberry)、越莓(Bushberry)、薹屬(Brassica)蔬菜、青花菜(Broccoli)、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍(Collards)、芥藍(Kale)、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜(Cantaloupe)、甜瓜(Melon)、香瓜(Muskmelon)、南瓜(Squash)、西瓜、南瓜(Pumpkin)、茄子、鱗莖類(Bulb)蔬

S

菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜(Fruiting vegetables)、胡椒、番茄、酸漿(Ground Cherry)、黏果酸漿(Tomatillo)、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣(Radicchio)、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆(Green beans)、食莢菜豆(Snap beans)、殼豆(Shell beans)、大豆、乾豆、回鶻豆(Garbanzo beans)、利馬豆(Lima beans)、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆(Split peas)、扁豆、油料種子作物、芥花(Canola)、蓖麻、椰子、棉花、亞麻(Flax)、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果(Pome Fruit)、蘋果、小酸蘋果(Crabapple)、梨、榲桲(Quince)、夏花山楂(Mayhaw)、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜(Beets)、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李(Prune)、草莓、堅果(Tree Nuts)、杏仁、開心果、山核桃(Pecan)、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果(Beechnut)、白胡桃(Butternut)、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅(Poinsettia)、繡球花(Hydrangea)、硬材插(Hardwood cuttings)、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜(sugarbeet)。

19. 一種植物種子，其塗佈包含以下之組合物：

以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體之孢子，以適合益於植物生長之量存在。

20. 如請求項19之植物種子，其中該組合物包含每顆種子約1.0×10^2 CFU至每顆種子約1.0×10^9 CFU之量之地衣芽孢桿菌孢子。

21. 如請求項19之植物種子，其中該種子包含單子葉植物、雙子葉

植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蔓薑屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、果類蔬菜、胡椒、番茄、茄子、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、棉花、亞麻、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、甘蔗、甜菜、草或草皮草之種子。

22. 如請求項19之植物種子，其中該組合物進一步包含以適合益於植物生長之量存在的微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合。

23. 如請求項22之植物種子，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧。

24. 如請求項22之植物種子，其中該殺線蟲劑包含硫線磷。

25. 如請求項22之植物種子，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧及可尼丁。

26. 一種益於植物生長之組合物，該組合物包含：

以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體，以適合益於植物生長之量；及

微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、

除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合，以適合益於植物生長之量。

27. 如請求項26之組合物，其中該組合物係呈液體或油分散液形式且該地衣芽孢桿菌RTI184係以約1.0×10^{9} CFU/ml至約1.0×10^{12} CFU/ml之濃度存在。

28. 如請求項26之組合物，其中該組合物係呈粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式且該地衣芽孢桿菌RTI184係以約1.0×10^{9} CFU/g至約1.0×10^{12} CFU/g之量存在。

29. 如請求項26之組合物，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈孢子形式。

30. 如請求項26之組合物，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈營養細胞形式。

31. 如請求項26之組合物，其中該植物包含單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、蔓薹屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅

花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅、繡球花、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜。

32. 如請求項26之組合物，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧。

33. 如請求項26之組合物，其中該殺線蟲劑包含硫線磷。

34. 如請求項26之組合物，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧及可尼丁。

35. 如請求項26之組合物，其調配為液體。

36. 如請求項35之組合物，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧或ξ-賽滅寧。

37. 一種益於植物生長之方法，該方法包含將包含以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體之組合物輸送至：該植物之種子、該植物之根部、該植物之剪枝、該植物之接枝、該植物之癒傷組織；該植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植該植物、該植物剪枝、該植物接枝或該植物癒傷組織之前的土壤或生長介質，以適合益於植物生長之量。

38. 如請求項37之方法，其中該植物之生長效益係由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加或外觀改進或其組合展現。

39. 如請求項37之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184係以約1.0×10^{8} CFU/ha至約1.0×10^{13} CFU/ha之比率輸送。

40. 如請求項37之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈孢子形式。

41. 如請求項37之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈營養細胞形式。

42. 如請求項37之方法，其中該組合物係呈液體、油分散液、粉塵、乾燥可濕潤粉末、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式。

43. 如請求項37之方法，其中該植物包含單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、藝薹屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅、繡球花、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜

菜。

44. 如請求項37之方法，其中該組合物進一步包含微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合，以適合益於植物生長及/或賦予保護易感病植物抵抗病原性感染之量存在。

45. 如請求項44之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧。

46. 如請求項44之方法，其中該殺線蟲劑包含硫線磷。

47. 如請求項50之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧及可尼丁。

48. 如請求項44之方法，其中該組合物係調配為液體。

49. 如請求項48之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧或ξ-賽滅寧。

50. 一種益於植物生長之方法，該方法包含：

在適合生長介質中栽植該植物之種子或該植物之再生營養/癒傷組織，其中該種子已塗佈有或該營養/癒傷組織已接種有包含以ATCC PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體之組合物，其中該植物自該種子或該營養/癒傷組織之生長受益。

51. 如請求項50之方法，其中該植物之生長效益係由幼苗活力改進、根發育改進、植物生長改進、植物健康改進、產量增加或外觀改進或其組合展現。

52. 如請求項50之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184係以孢子形式以每顆種子約1.0×10^2 CFU至每顆種子約1.0×10^9 CFU之量存在。

53. 如請求項50之方法，其中該種子包含單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、蔓藁屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花

椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅、繡球花、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜。

54. 如請求項50之方法，其中該組合物進一步包含以適合益於植物生長之量存在的微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合。

55. 如請求項54之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧。

56. 如請求項54之方法，其中該殺線蟲劑包含硫線磷。

57. 如請求項54之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧及可尼丁。

58. 如請求項54之方法，其中該組合物係調配為液體。

59. 如請求項58之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧或ξ-賽滅寧。

60. 如請求項50之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈孢子形式。

61. 如請求項50之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈營養細胞形式。

62. 一種益於植物生長之方法，該方法包含：

將以下之組合：

第一組合物，其包含適合益於植物生長之量的ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體；及

第二組合物，其包含適合益於植物生長之量的微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物生長調節劑之一者或組合，

輸送至：該植物之種子、該植物之根部、該植物之剪枝、該植物之接枝、該植物之癒傷組織；該植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種該植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植該植物、該植物剪枝、該植物接枝或該植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

63. 如請求項62之方法，其中該植物生長效益係由幼苗活力改進、根發育改進、植物健康改進、植物質量增加、產量增加、外觀改進或對植物病原體之抗性提高或其組合展現。

64. 如請求項62之方法，其中該適合益於植物生長之量為約1.0×10^{8} CFU/ha至約1.0×10^{13} CFU/ha地衣芽孢桿菌RTI184。

65. 如請求項62之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈孢子形式。

66. 如請求項62之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈營養細胞形式。

67. 如請求項62之方法，其中該植物包含單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉

米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、蔓藨屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅、繡球花、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜。

68. 如請求項62之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧。

69. 如請求項62之方法，其中該殺線蟲劑包含硫線磷。

70. 如請求項62之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧及可尼丁。

71. 如請求項62之方法，其中該殺昆蟲劑調配為液體。

72. 如請求項71之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧或ξ-賽滅寧。

73. 一種益於植物生長之方法，該方法包含：

將包含以下之組合物：

適合益於植物生長之量的ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體；及

適合益於植物生長之量的微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑或植物生長調節劑之一者或組合，

輸送至：該植物之種子、該植物之根部、該植物之剪枝、該植物之接枝、該植物之癒傷組織；該植物周圍土壤或生長介質；在土壤或生長介質中播種該植物種子之前的土壤或生長介質；或在土壤或生長介質中栽植該植物、該植物剪枝、該植物接枝或該植物癒傷組織之前的土壤或生長介質。

74. 如請求項73之方法，其中該植物生長效益係由幼苗活力改進、根發育改進、植物健康改進、植物質量增加、產量增加、外觀改進或對植物病原體之抗性提高或其組合展現。

75. 如請求項73之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈孢子形式。

76. 如請求項73之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈營養細胞形式。

77. 如請求項73之方法，其中該植物包含單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、蔓藁屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸

漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅、繡球花、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜。

78. 如請求項73之方法，其中該適合益於植物生長之量為約1.0×10^{8} CFU/ha至約1.0×10^{13} CFU/ha地衣芽孢桿菌RTI184。

79. 如請求項73之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧。

80. 如請求項73之方法，其中該殺線蟲劑包含硫線磷。

81. 如請求項73之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧及可尼丁。

82. 如請求項73之方法，其中該組合物係調配為液體。

83. 如請求項82之方法，其中該殺昆蟲劑包含畢芬寧或ξ-賽滅寧。

84. 一種益於植物生根之方法，該方法包含：

將植物剪枝浸於組合物中且栽植於適合生長介質中，其中該組合物包含適合益於植物生根之量的ATCC PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌菌株RTI184之生物學上純培養物或具有其所有鑑別特徵的突變體，其中該植物自該剪枝之根形成及生長受益。

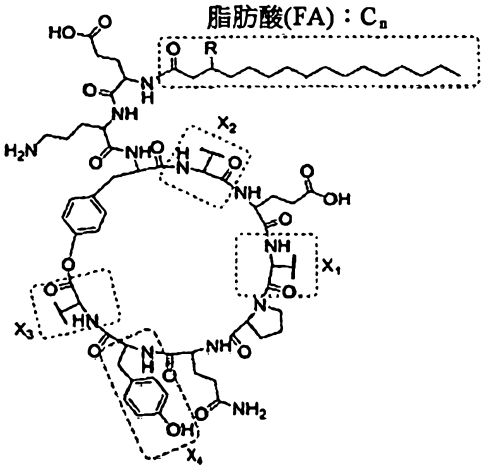
85. 如請求項84之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈孢子形式。

86. 如請求項84之方法，其中該地衣芽孢桿菌RTI184呈營養細胞形式。

87. 如請求項84之方法，其中該組合物係呈液體或乾燥可濕潤粉末之形式。

88. 如請求項87之組合物，其中該組合物係呈乾燥可濕潤粉末形式且該地衣芽孢桿菌RTI184係以約1.0×10^7 CFU/g至約1.0×10^9 CFU/g之量存在。

89. 一種組合物，其包含適合於賦予植物生長效益或保護易感病植物抵抗病原性感染中之一或兩者之量的分離豐原素(Fengycin) MB-Cit化合物及分離脫羥基豐原素MB-Cit化合物中之至少一者，該等豐原素MB-Cit及脫羥基豐原素MB-Cit化合物具有下式：



其中，對於豐原素MB-Cit，n在8至20範圍內，FA為線性、異式(iso)或反異式(anteiso)，且R為OH，X_1為Val，X_2為Thr，X_3為Met且X_4為Cit；且其中，對於脫羥基豐原素MB-Cit，n在8至20範圍內，FA為線性、異式或反異式，R為H，X_1為Val，X_2為Thr，X_3為Met且X_4為瓜胺酸。

90. 如請求項89之組合物，其進一步包含微生物或化學殺昆蟲劑、殺真菌劑、殺線蟲劑、殺細菌劑、除草劑、植物提取物或植物

生長調節劑之一者或組合，以適合益於植物生長及/或賦予保護該易感病植物抵抗病原性感染之量存在。

91. 如請求項89之組合物，其中該組合物係呈液體、粉塵、可撒佈顆粒或乾燥可濕潤顆粒之形式。

92. 一種地衣芽孢桿菌菌株之生物學上純培養物的提取物，該提取物包括豐原素MB-Cit化合物及脫羥基豐原素MB-Cit化合物中之至少一者。

93. 一種以ATCC編號PTA-121722寄存之地衣芽孢桿菌RTI184之生物學上純培養物的提取物，該提取物包括豐原素MB-Cit化合物及脫羥基豐原素MB-Cit化合物中之至少一者。

94. 一種保護或處理植物或果實免於病原性感染之方法，其包含將有效量之如請求項89、90、91、92或93中任一項之組合物或提取物應用於該植物或果實或根部，或該等植物之根部周圍土壤。

95. 如請求項94之方法，其中該植物包含單子葉植物、雙子葉植物、穀物、玉米、甜玉米、爆裂種玉米、種子玉米、青貯玉米、飼料玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、蘆筍、漿果、藍莓、黑莓、樹莓、羅甘莓、酸越橘、蔓越橘、醋栗、接骨木果、醋栗、蔓越莓、越莓、蕓薹屬蔬菜、青花菜、甘藍菜、花椰菜、芽甘藍、羽衣甘藍、芥藍、芥菜、球莖甘藍、瓜類蔬菜、黃瓜、哈密瓜、甜瓜、香瓜、南瓜、西瓜、南瓜、茄子、鱗莖類蔬菜、洋蔥、大蒜、蔥、柑橘、橙子、葡萄柚、檸檬、紅橘、橘柚、柚子、果類蔬菜、胡椒、番茄、酸漿、黏果酸漿、秋葵、葡萄、香草/香料、葉類蔬菜、萵苣、芹菜、菠菜、香芹、菊苣、豆科植物/蔬菜(多汁且乾燥之豆子及豌豆)、豆子、四季豆、食莢菜豆、殼豆、大豆、乾豆、回鶻豆、利馬

豆、豌豆、雞兒豆、裂莢豌豆、扁豆、油料種子作物、芥花、蓖麻、椰子、棉花、亞麻、油棕櫚、橄欖、花生、油菜籽、紅花、芝麻、向日葵、大豆、仁果、蘋果、小酸蘋果、梨、榲桲、夏花山楂、根/塊莖及球莖蔬菜、胡蘿蔔、馬鈴薯、甘藷、木薯、甜菜、薑、辣根、蘿蔔、人參、蕪菁、核果、杏子、櫻桃、油桃、桃子、李子、乾果李、草莓、堅果、杏仁、開心果、山核桃、核桃、榛子、板栗、腰果、山毛櫸堅果、胡桃、夏威夷果、獼猴桃、香蕉、(藍)龍舌蘭、草、草皮草、觀賞植物、一品紅、硬材插、栗樹、橡樹、楓樹、甘蔗或甜菜。

96. 如請求項94之方法，其中該病原性感染由以下引起：植物真菌病原體、植物細菌病原體、鐮菌、葡萄孢屬(Botrytis spp.)、灰葡萄孢菌(Botrytis *cinerea*)、蔥鱗葡萄孢菌(*Botrytis squamosa*)、歐文氏菌屬(*Erwinia spp.*)、胡蘿蔔軟腐歐文氏菌(*Erwinia carotovora*)、解澱粉歐文氏菌(*Erwinia amylovora*)、狄克氏菌屬(*Dickeya spp.*)、達旦提狄克氏菌(*Dickeya dadantii*)、黑脛病菌(*Dickeya solani*)、土壤桿菌屬(*Agrobacterium spp.*)、根癌土壤桿菌(*Agrobacterium tumefaciens*)、黃單胞菌屬(*Xanthomonas spp.*)、柑桔潰瘍病菌(*Xanthomonas axonopodis*)、野油菜黃單胞菌胡蘿蔔變種(*Xanthomonas campestris* pv. *carotae*)、桃李黃單胞菌(*Xanthomonas pruni*)、樹生黃單胞菌(*Xanthomonas arboricola*)、水稻白葉枯病黃單胞菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)、木桿菌屬(*Xylella* spp.)、葉緣焦枯病菌(*Xylella fastidiosa*)、韌皮部桿菌屬(*Candidatus spp.*)、韌皮桿菌(*Candidatus liberibacter*)、鐮刀菌屬(*Fusarium spp.*)、禾穀鐮刀菌(*Fusarium graminearum*)、尖孢鐮刀菌(*Fusarium oxysporum*)、古巴尖孢鐮刀菌(*Fusarium oxysporum f. sp. Cubense*)、核盤菌屬

(*Sclerotinia spp.*)、向日葵核盤菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、小核盤菌(*Sclerotinia minor*)、同果核盤菌(*Sclerotinia homeocarpa*)、尾孢菌屬(*Cercospora/Cercosporidium* spp.)、鉤絲殼屬(*Uncinula* spp.)、葡萄白粉病菌(*Uncinula necator*)(白粉病(Powdery Mildew))、叉絲單囊殼屬(*Podosphaera* spp.)(白粉病)、白叉絲單囊殼(*Podosphaera leucotricha*)、克蘭德叉絲單囊殼(*Podosphaera clandestine*)、擬莖點菌屬(*Phomopsis* spp.)、葡萄擬莖點黴病菌(*Phomopsis viticola*)、交鏈孢屬(*Alternaria spp.*)、細極鏈格孢菌(*Alternaria tenuissima*)、蔥鏈格孢菌(*Alternaria porri*)、交鏈格孢菌(*Alternaria alternate*)、立枯交鏈孢菌(*Alternaria solani*)、鏈格孢菌(*Alternaria tenuis*)、假單胞菌屬(*Pseudomonas* spp.)、丁香假單胞菌番茄變種(*Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*)、疫黴菌屬(*Phytophthora* spp.)、致病疫黴菌(*Phytophthora infestans*)、寄生疫黴菌(*Phytophthora parasitica*)、大豆疫黴菌(*Phytophthora sojae*)、辣椒疫黴菌(*Phytophthora capsici*)、樟疫黴菌(*Phytophthora cinnamon*)、草莓疫黴菌(*Phytophthora fragariae*)、疫黴菌屬、櫟樹猝死病菌(*Phytophthora ramorum*)、棕櫚疫黴菌(*Phytophthora palmivara*)、菸草疫黴菌(*Phytophthora nicotianae*)、層鏽菌屬(*Phakopsora* spp.)、豆薯層鏽菌(*Phakopsora pachyrhizi*)、山馬蝗層鏽菌(*Phakopsora meibomiae*)、曲黴菌屬(*Aspergillus spp.*)、黃麴黴(*Aspergillus flavus*)、黑麴黴(Aspergillus *niger*)、單孢鏽菌屬(*Uromyces spp.*)、菜豆銹病菌(*Uromyces appendiculatus*)、枝孢菌屬(*Cladosporium spp.*)、多主枝孢黴(*Cladosporium herbarum*)、根黴菌屬(*Rhizopus* spp.)、少根根黴菌(*Rhizopus arrhizus*)、青黴菌屬(*Penicillium* spp.)、絲核菌屬(*Rhizoctonia spp.*)、立枯絲核菌

(*Rhizoctonia solani*)、玉蜀黍絲核菌(*Rhizoctonia zeae*)、稻枯斑絲核菌(*Rhizoctonia oryzae*)、褐色絲核菌(*Rhizoctonia caritae*)、禾穀絲核菌(*Rhizoctonia cerealis*)、紫紋羽絲核菌(*Rhizoctonia crocorum*)、草莓絲核菌(*Rhizoctonia fragariae*)、枝生絲核菌(*Rhizoctonia ramicola*)、覆盆子絲核菌(*Rhizoctonia rubi*)、豆狀絲核菌(*Rhizoctonia leguminicola*)、菜豆殼球孢菌(*Macrophomina phaseolina*)、稻瘟菌(*Magnaorthe oryzae*)、球腔菌屬(*Mycosphaerella spp.*)、禾生球腔菌(*Mycosphaerella graminocola*)、斐濟球腔菌(*Mycosphaerella fijiensis*) (黑色香蕉葉斑病(Black sigatoga))、蘋果斑點球腔菌(*Mycosphaerella pomi*)、檸檬球腔菌(*Mycosphaerella citri*)、稻瘟菌屬(*Magnaporthe spp.*)、稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)、鏈核盤菌屬(*Monilinia* spp.)、桃褐腐病菌(*Monilinia fruticola*)、藍莓僵果病病原菌(*Monilinia vacciniicorymbosi*)、核果鏈核盤菌(*Monilinia laxa*)、炭疽菌屬(*Colletotrichum* spp.)、膠孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporiodes*)、辣椒炭疽菌(*Colletotrichum acutatum*)、石斛炭疽菌(*Colletotrichum Candidum*)、間座殼屬(*Diaporthe* spp.)、柑桔間座殼菌(*Diaporthe citri*)、棒孢菌屬(*Corynespora* spp.)、多主棒孢菌(*Corynespora Cassiicola*)、膠鏽菌屬(*Gymnosporangium* spp.)、植物受檜膠鏽菌(*Gymnosporangium juniperi-virginianae*)、裂盾菌屬(*Schizothyrium* spp.)、仁果裂盾菌(*Schizothyrium pomi*)、黏殼孢菌屬(*Gloeodes* spp.)、仁果黏殼孢菌(*Gloeodes pomigena*)、葡萄座腔菌屬(*Botryosphaeria* spp.)、葡萄潰瘍病病菌(*Botryosphaeria dothidea*)、明孢盤菌屬(*Neofabraea* spp.)、威爾遜孢殼菌屬(*Wilsonomyces* spp.)、嗜果威爾遜孢殼菌(*Wilsonomyces carpophilus*)、單囊殼菌屬(*Sphaerotheca* spp.)、斑

點單囊殼菌(*Sphaerotheca macularis*)、薔薇單囊殼菌(*Sphaerotheca pannosa*)、白粉菌屬(*Erysiphe* spp.)、殼多孢菌屬(*Stagonospora spp.*)、穎枯殼針孢(*Stagonospora nodorum*)、腐黴屬(*Pythium spp.*)、終極腐黴菌(*Pythium ultimum*)、瓜果腐黴菌(*Pythium aphanidermatum*)、畸雌腐黴菌(*Pythium irregularum*)、簇囊腐黴菌(*Pythium ulosum*)、水生腐黴菌(*Pythium lutriarium*)、森林腐黴菌(*Pythium sylvatium*)、黑星菌屬(*Venturia spp*)、蘋果黑星病菌(*Venturia inaequalis*)、輪枝孢菌屬(*Verticillium* spp.)、黑粉菌屬(*Ustilago spp.*)、裸黑粉菌(*Ustilago nuda*)、玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago maydis*)、甘蔗鞭黑粉菌(*Ustilago scitaminea*)、麥角菌屬(*Claviceps spp.*)、麥角菌(*Claviceps purpurea*)、腥黑粉菌屬(*Tilletia spp.*)、小麥腥黑粉菌(*Tilletia tritici*)、光滑腥黑粉菌(*Tilletia laevis*)、稻粒黑粉菌(*Tilletia horrid*)、小麥矮腥黑粉菌(*Tilletia controversa*)、莖點黴屬(*Phoma spp.*)、大豆生莖點黴(*Phoma glycinicola*)、多變莖點黴(*Phoma exigua*)、*甘藍莖點黴*(*Phoma lingam*)、禾旋孢腔菌(*Cocliobolus sativus*)、禾頂囊殼(*Gaeumanomyces gaminis*)、炭疽菌屬(*Colleototricum* spp.)、雲紋病菌屬(*Rhychosporium spp.*)、大麥雲紋病菌(*Rhychosporium secalis*)、離蠕孢屬(*Biopolaris spp.*)、長蠕孢屬(*Helminthosporium spp.*)、大麥長蠕孢(*Helminthosporium secalis*)、玉蜀黍長蠕孢(*Helminthosporium maydis*)、索萊長蠕孢(*Helminthosporium solai*)及小麥褐斑長蠕孢(*Helminthosporium tritici-repentis*)，或其組合。

加。特定言之，用RTI184處理之植物(施用量為每公頃2.5×10^{12} CFU)導致平均33 kg全部南瓜，其中26 kg可銷售，相比之下，未經處理之對照植物為22 kg全部南瓜，其中17 kg可銷售。此為全部南瓜之重量增加50%且可銷售南瓜之重量增加53%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之全部南瓜重量及可銷售南瓜重量的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌青花菜植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加RTI184孢子導致鮮重產量自3 kg (對照物)一致增加至4 kg (每公頃2.5×10^{13} CFU RTI184)、3.9 kg (每公頃2.5×10^{12} CFU RTI184)及4.6 kg (每公頃1.5×10^{11} CFU RTI184)，或重量分別增加33%、30%及53%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之鮮重的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌蕪菁植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加所有濃度之RTI184孢子導致塊莖重量產率自3.3 kg (對照物)一致增加至大約5.3 kg，其為增加60%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之塊莖重量的實質性增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃12.5×10^{12} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌萵苣植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加RTI184孢子導致萵苣重量產率自45.6 kg (對照物)一致增加至52.8 kg，其為增加16%。用RTI184處理之植物相對於對照植物之重量增加展現藉由用

RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

進行類似田間試驗，其中在栽植時及在稍後2週再次用每公頃1.5×10^{11}、2.5×10^{12}或2.5×10^{13} CFU之地衣芽孢桿菌RTI184孢子滴灌草莓植物。與灌溉中不包括地衣芽孢桿菌RTI184孢子之對照植物相比，添加RTI184孢子導致總產量增加5% (每公頃1.5×10^{11} CFU RTI184)、8% (每公頃2.5×10^{12} CFU RTI184)及11% (每公頃2.5×10^{13} CFU RTI184)。用RTI184處理之植物相對於對照植物之產量增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

實例9

地衣芽孢桿菌分離株RTI184對在感染線蟲之土壤中生長的馬鈴薯植物之生長影響

在此實驗中，確定應用細菌分離株RTI184對在感染線蟲之土壤(*球孢囊線蟲屬*，每100 ml土壤大約1750個活卵及幼體)中生長的馬鈴薯植物之生長及活力的影響。馬鈴薯(品種「Bintje」)栽植於感染有*球孢囊線蟲屬*之土壤中，且用每公升土壤$10E^{+9}$ cfu地衣芽孢桿菌菌株RTI184孢子增強或滴灌。植物在溫室中生長48天後之影像展示於圖9A-9B中。圖9A展示未用RTI184孢子處理之對照植物，且圖9B展示用RTI184處理之植物。用RTI184處理之植物相對於對照植物之大小增加展現藉由用RTI184孢子處理所提供之正面生長影響。

參考文獻

本文所引用之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻皆以全文引用的方式併入本文中。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

食品工業發展研究所；105年3月23日；BCRC910723

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

美國；American Type Culture Collection (ATCC)；103年11月13日；

PTA-121722