

蘇力菌在整合性蟲害管理上之應用

曾經洲 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 臺中縣 413 霧峰鄉舊正村光明路 11 號

摘 要

傳統害蟲管理上，由於化學合成殺蟲劑具簡便及效果迅速等特性，以致於在未顧及環境生態的條件下，被大量投入生態系中，隨之而來的抗藥性、環境污染、毒害天敵、殘留農藥等問題，已破壞生態系的平衡，因此害蟲防治的觀念被改變成謀求整合性的蟲害管理(IPM)。為減少殺蟲劑的使用，生物性殺蟲劑是良好的取代物，蘇力菌因缺少急毒性、缺少接觸毒性、無殘效、具專一性等特點，從前難與化學合成殺蟲劑競爭，卻因大眾對環境生態的關心，消費者對農產安全的要求，及貿易上的需要，昔日的缺點反成了今日的優點，並且有許多產量及效益成功的案例。但蘇力菌並非萬靈丹，沒有計畫的任意使用，可能防治效果無法如預期，或大量集中使用又可能產生抗藥性、浪費等問題，因此蘇力菌仍應加入整合性蟲害管理中成爲一個成員，在全面的經營管理下發揮其防治效果，並且使主、次要害蟲天敵能生存而有機會協同防治害蟲。今已進入大量栽培基因改造抗蟲作物的時代，雖其具許多的優點，但若未妥善管理其亦潛藏有或甚至更嚴重的抗藥性等問題，既然蘇力菌基因改造作物本身即與整合性蟲害管理有極佳的相容性，就應善加利用，妥善永續地經營農業。尤其因應我國加入世界貿易組織(WTO)後，在貿易磋商時，農產品可能會因農藥的殘留及因害蟲的存在需要燻蒸等問題而受困無法順利貿易，因此更應朝此方向積極地推廣，突破可能的困境。

關鍵詞：蘇力菌、整合性蟲害管理。

前 言

長年使用傳統農藥已破壞生態系統平衡，產生抗藥性，造成很大的防治困難及損失，並且延生殘留農藥的問題，為兼顧生態環境及經濟原則的理想可行之路，就是實施整合性蟲害管理(Integrated Pest Management, IPM)。生物性殺蟲劑適合應用在IPM中，成爲一蟲害防治因子，其中蘇力菌已商品化，使用簡便又安全，蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*)會產生殺蟲結晶毒蛋白(insecticidal crystal

protein, ICP)，此結晶蛋白內毒素(delta-endotoxin)對特定的昆蟲具毒效(Feitelson *et al.*, 1992)，但對哺乳動物、鳥類、害蟲的天敵、蜜蜂等均無害(McClintock *et al.*, 1995)，是一種安全又無殘毒的生物性農藥，也是符合消費者健康，以及環境保護要求的殺蟲劑。蘇力菌除了優良菌種直接發酵生產應用外，其殺蟲毒蛋白基因(*cry*-type genes)同時也是遺傳工程生物技術的重要角色，第一代的改造蘇力菌雖已發展到重組毒素基因，但大都限於單一基因；而第二代的改造蘇力菌則

進入利用多重毒素基因，或相差很遠的基因，甚而作成嵌合(chimeric)基因(Feitelson, *et al.*, 1992; Ge *et al.*, 1991)，以圖增強殺蟲效果、擴大殺蟲範圍或改良蘇力菌本身對不良環境的抵抗力等；自1984年第三代的改造蘇力菌更進入基因改造植物的時代(Fischhoff *et al.*, 1987; Vaeck *et al.*, 1987; McClintock, 1991; de Quattro, 1991; Jenkins *et al.*, 1993; Ehora *et al.*, 1994; van der Salm *et al.*, 1994; Kar *et al.*, 1997; Singsit *et al.*, 1997)，目前已有許多基因改造作物(genetically modified crop)，被大量栽培(Bonetta, 2001)。但當使用蘇力菌或製作含蘇力菌毒素基因的重組菌或植物時，必須考量對農業及環境的衝擊，以安全有效的微生物因子，納入IPM體系，維護生態系的平衡，遂為永續經營農業。

蘇力菌毒素

蘇力菌是一種昆蟲病原細菌，為革蘭氏陽性桿菌，在營養缺乏或環境不良的時候，蘇力菌會進入不分裂的半靜止期，此時一強烈的啟動子被啟動，分化形成孢子(spore)，其產孢時同時形成伴孢晶體(paraspore)，即殺蟲結晶蛋白ICP，約佔菌體乾重的25% (Agaisse and Lereclus, 1995)。這種結晶蛋白對某些生物有特殊的毒效(Burges, 1982)。當昆蟲食入蘇力菌毒素時，在中腸高鹼性和蛋白酶(protease)的作用下，將具有活性片段(active fragment)和構造片段(structured fragment) 130-140 kDa的前毒素(pro-toxin)，活化成60-70 kDa的毒素(toxin)(Gill *et al.*, 1992)。毒素親水區C-端(Schnepf *et al.*, 1985; Honee *et al.*, 1991)的細胞結合區域與細胞膜上受器(receptor)的CHO-基結合，然後親脂區N-端(Schnepf *et al.*, 1985)的毒性區域插入細胞膜

(Li *et al.*, 1991; Yamamoto and Powell, 1993)，當有數個結晶毒蛋白插入時(通常6個或更多)，則迫使細胞形成一破孔，導致失去調節鈉-鉀泵之功能，亦即滲透壓失去平衡，接著細胞破裂，而造成昆蟲腸道崩解死亡(Yamamoto and Powell, 1993)。蘇力菌殺蟲結晶毒蛋白的殺蟲範圍，與昆蟲腸內上皮細胞結合受器的專一性有關(Van Rie *et al.*, 1989; 1990)。在一昆蟲腸內不同的殺蟲結晶毒蛋白會辨認不同的結合位置(binding site)，通常一個品系的蘇力菌，會含有一個以上的殺蟲結晶毒蛋白，作用於不同的結合位置(Van Rie *et al.*, 1990)。各類蘇力菌殺蟲毒蛋白之類源關係，因其所含之質體核酸序列(sequence)的變異，而產生不同之殺蟲結晶蛋白，殺蟲之對象亦互異，目前主要應用於害蟲防治之基因種類計有：對鱗翅目有毒殺效果的*cry1*基因；對鱗翅目及雙翅目或單獨對雙翅目有效的*cry2*基因；對鞘翅目有效的*cry3*基因；對雙翅目有效的*cry4*基因(Hofte and Whiteley, 1989; Kostichka *et al.*, 1996; Lambert *et al.*, 1996; Bravo, 1997)。截至目前已登記的有86類218個*cry*-type基因(2001年9月28日 <http://www.biols.susx.ac.uk>)。

害蟲抗藥性

生態系發展愈久，動植物種類及數量愈多，彼此間之相互關係的複雜程度愈大，則穩定性愈大。農業生態系是累經人類栽培操作而形成較單純的生態系，故穩定程度較低。農業生態系中，主要害蟲和次要害蟲之數量比例，往往十分懸殊，但如果主要害蟲消失，則次要害蟲可能崛起補償此一生態空缺。二次世界大戰後化學合成殺蟲劑陸續推出，其具有使用簡便、效果迅速顯著等優點，但隨之而來的抗藥性、環境污染、毒殺天敵等問題，破壞了大自

然生態系的平衡。由於商品化的殺蟲劑殺蟲力高，且基本上並無致變異性，施用這些化學藥劑後，棲群中少數原來帶有抗性基因的個體獲得存活繁殖的優勢，使得抗藥基因的頻率在後代中逐漸升高，而表現出抗藥性，所以抗藥性是一種昆蟲某個棲群的遺傳性狀。如果昆蟲體內存在有抗藥性基因，大面積長期栽培抗蟲品種，就有可能導致抗藥性的發生。而轉殖蘇力菌殺蟲基因之基因改造作物所產生的抗生化學物質（殺蟲毒蛋白），也會將棲群中的感受性個體殺死，剩下較具抗藥性的個體，他們後代的抗藥性基因頻率會逐漸增高。昆蟲抗藥性產生的速度與程度，視選汰壓力大與否，兩者成正比。害蟲抗藥性的產生，伴隨著的是對天敵的不利(Palaniswamy, 1996)。

整合性蟲害管理

一種能同時兼顧生產者之利益與自然環境，並以結合生態考量的多元防治技術(tactics)，如藥劑防治、生物防治、抗蟲品種等的綜合使用，來防治病、蟲、草等有害生物的一種管理學，即為 IPM。在 1970 年早期，廣泛的昆蟲抗藥性，次要害蟲的崛起和農藥殘留的問題，改變了對害蟲防治的觀念及方法。IPM 所呈現的是學理上完全的改變，不再是對某一族群的趕盡殺絕(eradication)某一個族群，而是去管理所有的族群(Marrone, 1994)。依據美國國家 IPM 聯盟(The US National Coalition on Integrated Pest Management)的定義，IPM 是利用所有可能策略，如天敵、抗性植物、栽培管理和農藥等，在整個作物生產系統中，去預料或避免害蟲達到危害水準的害蟲族群管理系統(Leslie & Cuperus, 1993)。IPM 必需架構在社會、環境及經濟等因素上，農藥的使用必需是在其他方法已被嘗試過，或依據理論非用藥不可的原則

下才用，並且是依據田間監測的結果，決定使用時機(Marrone, 1994)。施行 IPM 除了經濟的利益外，還有其他明顯的好處，諸如減低農藥抗藥性的發生，減少土壤的緊壓，降低對環境的潛在危害，還有減少對人體健康可能產生的不良影響(Trumble *et al.*, 1994)。IPM 的實施包含有五步驟：(1).建立生物的資本資料；(2).建立害蟲族群的調查程序；(3).減少殺蟲劑的使用；(4).以生物性農藥，如蘇力菌取代合成殺蟲劑；(5).大量使用生物防治因子(Biever *et al.*, 1994)。而實施這五個步驟的終極用意乃是要達成 IPM 的三個目標：在技術面達成有效；經濟面讓使用者與廠商滿意；社會面則兼具健康與環保的訴求(Gelernter and Trumble, 1999)。

蘇力菌應用在 IPM 的特點

許多取食十字花科蔬菜的昆蟲皆具經濟重要性，化學防治是常用的方法，雖然對許多的昆蟲有效，但亦有許多的缺點，並不為害蟲防治策略所接受，惟有 IPM 才能合乎害蟲管理的要求(Palaniswamy, 1996)。又因大眾對環境安全的要求，與害蟲對主要殺蟲劑抗藥性的日益嚴重，加上很少新藥被開發出來當作替代藥劑等，以致 IPM 能持續穩定的成長。微生物殺蟲劑，特別是蘇力菌成了 IPM 的主要角色(Marrone, 1994)。蘇力菌因缺少急毒性(acute toxicity)、無殘效(residual activity)、具專一性、缺接觸毒性(contact activity)，而不同於化學農藥(Glernter and Trumble, 1999)。蘇力菌應用在蔬菜上，主要也是考量農產品的殘毒與傳統殺蟲劑所延生的抗藥性問題。蘇力菌可單獨使用或與化學殺蟲劑混合使用，蘇力菌亦可與寄生性或捕食性天敵聯合使用，不會毒殺天敵，又可以保持更穩定的生物多樣性，具備了成功的基本條件。

IPM應用蘇力菌的案例

蘇力菌應用在 IPM 系統中，如 *Bt var. kurstaki* (*Btk*)或 *Bt var. aizawai* (*Bta*)防治蔬菜小菜蛾 (*Plutella xylostella* (Linnaeus))、甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*)、夜蛾科 *Heliothis zea*；棉花夜蛾科 *Spodoptera littoralis*、*Heliothis*；果樹桃枝螟 (*Anarsia lineatella*)；玉米螟；大豆鱗翅目害蟲；森林鱗翅目害蟲；*Bt var. tenebrionis* (*Btt*)防治尤加利金花蟲 (*Chrysophtharta bimaculata* (Olivier))、科羅拉多甲蟲等 (Marrone, 1994)。

在臺灣小菜蛾對各類化學性合成殺蟲劑產生抗藥性 (Liu *et al.*, 1981)，因此亦曾有 IPM 計畫，台灣亞洲蔬菜中心利用自印尼引進的彎尾姬蜂 (*Diadegma semiclausum* (Hellen))和本土小菜蛾主要的寄生蜂小菜蛾小繭蜂 (*Cotesia plutellae*)兩種幼蟲寄生蜂 (Talekar, 1992)，加上蘇力菌和費洛蒙，將花椰菜和青花菜的害蟲棲群，控制在比臨近傳統施藥區為低的狀態 (Anon, 1991)。蘇力菌對小菜蛾小繭蜂成蟲無害 (Kao and Tzeng, 1990)，但少數蘇力菌製劑配方卻會對其有輕度的毒害 (Kao and Tzeng, 1991)，或對成蟲的寄生率有顯著性的影響 (Kao and Tzeng, 1990)，因此亦應慎重選擇蘇力菌產品使用。筆者曾在甘藍田實施 IPM 試驗，以定期釋放小菜蛾小繭蜂同時配合施用 (1)對小繭蜂無害之蘇力菌產品；(2)輪流使用對小繭蜂無害或低毒之蘇力菌、芬化利 (fenvalerate)、得福隆 (teflubenzuron)、歐殺松 (acephate)；(3)對小繭蜂劇毒之拜裕松 (quinalphos) (4)不施藥對照區，結果甘藍產量以蘇力菌和輪替用藥處理區最高，約為使用拜裕松和不施藥區的 2 倍 (Tzeng and Kao, 1991)。甘藍田適合實施 IPM 的五個絕佳理由是：(1)每年都會有許多

鱗翅目害蟲危害之；(2)這些害蟲每年都會發生好幾代；(3)其上經常使用多種農藥；(4)上市產品必需是未受蟲害者；(5)本身適合使用蘇力菌生物殺蟲劑 (Biever *et al.*, 1994)。

在印度以費洛蒙誘集調查蟲口密度為基礎的 IPM 規劃，防治小菜蛾，包括釋放寄生性的小菜蛾小繭蜂、補食性的草蛉 (*Chrysoperia carnea*) 和使用含棟之 nimbecidine、蘇力菌 (Dipel)、裕必松 (phosalone)，防治效果顯著，花費較慣行防治法低，且收益較高 (Reddy and Guerrero, 2000)。

番茄田連續五年使用蘇力菌實施 IPM，與化學防治法比較，總體評價以 IPM 較佳 (Trumble *et al.*, 1994)。番茄採行 IPM 成功的原因，在於以費洛蒙干擾番茄 pinworm；以 *Btk*、*Bta* 和阿巴汀 (abamectin) 防治番茄夜蛾和斜紋夜盜；釋放赤眼卵寄生蜂 (*Trichogramma pretiosum*) 防治番茄夜蛾；以藥皂水 (insecticidal soaps) 防治粉蝨；探討所有害蟲的經濟限界 (economic thresholds，簡稱 ET)；並且每週檢討計畫。其中潛蠅及粉蝨的棲群，是因被保存下來的天敵所自然控制住的 (Bolkan and Reinert, 1994; Trumble *et al.*, 1994)。

1995 年美國加州凡吐拉 (Ventura)，大量栽培芹菜，採用以蘇力菌取代納乃得 (methomyl) 防治甜菜夜蛾幼蟲為基礎的 IPM 系統，結果讓芹菜斑潛蠅 (*Liriomyza trifolii*) 的天敵得以生存，以致減少防治潛蠅藥劑的使用，其收益淨利較農友的化學防治高出 410 美元/公頃 (Trumble *et al.*, 1997)。Reitz 等人 (1999) 也對芹菜以低度用藥的 IPM 管理系統與慣行用藥比較，其中 IPM 使用生物防治、輪用蘇力菌等選擇性環境安全的生物性殺蟲劑，結果少用了 25% 的農藥，但產量及效益並不亞於慣行用藥。

澳洲塔斯馬尼亞(Tasmanian)尤加利金花蟲為害大葉桉(尤加利)森林。使用蘇力菌(*Btt*, Novodor FC)可有效地防治其一齡幼蟲，但未齡幼蟲則明顯地具忍受性，而3和4齡幼蟲的取食量是整個幼蟲期的90%，因此必須嚴密監視此害蟲，在其一齡時即施用*Btt*殺死之，就算沒死，該藥仍有延遲其發育及減少取食的效果(Elek and Beveridge, 1999)。

在蘋果比較慣行用藥和IPM防治病蟲害四年的結果，結果以蘇力菌和油劑防治蟲害之IPM者，非主要害蟲少，天敵多，可是收穫後明顯地受蟲害影響而不被接受作加工食品，主要是因為果實內部的鱗翅目幼蟲蟲體和為害所致(Biggs *et al.*, 2000)。

蘇力菌成功的要素

因此微生物防治要成功，是需多方面兼顧的，至少要具備以下四項中之二項特點：(1)技術上有效；(2)使用者獲利；(3)農藥商積極推銷業積良好；(4)減少農藥殘留(Grlerner and Trumble, 1999)。此外應用蘇力菌在IPM要獲得成功必須明白：(1)微生物殺蟲劑只是防治策略中的一個成員，而不是單一主角；(2)因為慣行使用的殺蟲劑產生抗藥性的問題，才使得微生物殺蟲劑被重視；(3)修正對殺蟲劑一接觸即需要立即殺死昆蟲之觀念；(4)利用所有包括對天敵安全及對標的害蟲有效的殺蟲劑；(5)透過各種研究、教育推動工作計畫，以經濟和行政的手段加強推廣(Gelernter and Trumble, 1999)。蘇力菌不只是用來作生物防治，而是加入IPM中成為其中的一員，因為它不是萬靈丹，但蘇力菌對標的生物以外生物無害、無殘毒疑慮的特性，的確是某些特定害蟲的有效防治藥劑(Marrone, 1994)。

害蟲對蘇力菌的抗藥性

1990年出現史上首件田間蘇力菌抗藥性的案例，該田一年噴灑50次*Btk*產品防治小菜蛾，而且是在以蘇力菌為惟一的藥劑，並且連續使用好幾年，使其處在極端的選汰壓力下的結果(Tabashnik *et al.*, 1990a, b)。如果蘇力菌不是單一的藥劑，選汰壓力不會如此大，抗藥性的產生就會降低。在1980年代到1990年初期，利用*Btk*防治小菜蛾，被公認是成功的。然而到1990年中期，在世界上許多芥菜產區小菜蛾對*Btk*產生了抗藥性，造成了大量減少使用，廠商也幾乎破產(Grlerner and Trumble, 1999)。Iqbal等人(1996)以馬來西亞卡麥隆(Cameron)高地和低地的小菜蛾，測試對*Btk* (Dipel)和*Bta* (Florbac)的抗藥性，結果對*Btk*抗藥性高，對*Bta*較低，同時也發現抗*Bta*的次群(sub-population)對*Btk*也有交互抗性(cross-resistance)，反之則不然。此外田間*Btk*抗藥性被確認發生的地區有夏威夷、弗羅里達、日本(僅溫室)、菲律賓、宏都拉斯、哥斯大黎加、瓜地馬拉等(Perez and Shelton, 1997)。

蘇力菌基因改造微生物

二十一世紀已進入遺傳工程生物技術的時代，由於微生物之基因組較小，使得生物技術應用於基因轉殖微生物，以提高殺蟲活性，相對較為容易可行。改良蘇力菌增廣殺蟲範圍、增長殘效期、增強殺蟲效果的工作有：利用生物技術將*Bt aizawai*和*kurstaki*的殺蟲基因結合，以增廣單一菌株的殺蟲對象，可同時防治夜蛾科的*Spodoptera* spp.及*Helicoverpa* spp.；利用傳統的突變使*Btt*產生較大的結晶，直接增強田間藥效；將*Bt*殺蟲基因放入螢光假單胞菌(*Pseudomonas*)產生毒素後，殺死宿主菌體，製成可以對抗紫外線的MVP和M-Track，增長田間施用後的殘

效；利用澱粉包埋 *Bt* 以對抗田間的環境因素；將 *Bt* 基因轉入內寄生菌 endophyte (*Clavibacter xyli* var. *cynodontis*)，藉其將毒素帶入植物體內(Marrone, 1994)。

抗蟲植物

廣義的「生物防治」並非僅指害蟲天敵，還包括了存在於自然界或人為的各種能影響昆蟲生存的生物因子，抗蟲植物的利用也包括在其中。栽培抗蟲品種可以免去主要目標害蟲的防治藥劑而獲得高產量，如此對主要害蟲或次要害蟲天敵的保存有很大的貢獻，間接地對害蟲棲群變化具穩定的作用。抗蟲品種的栽培，對標的害蟲具有專一性、累積性及長期性之效果，對人畜及害蟲天敵並無害，亦不會有環境污染的問題。栽培抗蟲品種應被視為害蟲綜合防治法中最基本，也是優先的考量(Pathak *et al.*, 1971; Gallun, 1972)，可當作主要防治害蟲的方法，除了本身的防蟲效果外，還可與其他防治法搭配，如生物或藥劑防治互補並用以發揮綜合防治的效果，相容性極佳，例如抗蟲品種的利用，不會對生物防治產生干擾。抗蟲品種使害蟲棲群降低，使其易於維持經濟限界以下，減少施用農藥之壓力等。作物抗蟲現象包括迴避(avoidance)、抵抗(resistance)及免疫(immunity)，抵抗的抗蟲機制可表現於抗生作用(antibiosis)、無偏好作用(nonpreference or antixenosis)及容忍(tolerance) (Painter, 1951; Kogan and Ortman, 1978; Palaniswamy, 1996)。抗生作用是寄主植物含有對害蟲生存、發育及繁殖具有阻礙因子者，是最有效的抗蟲現象。其最大優點是可顯著地降低害蟲棲群密度，使作物免遭受嚴重的危害。但其最大缺點則是當抗蟲品種經大面積栽培後，往往害蟲棲群較容易產生「生物小種或生理小種(Biotypes, Races,

Strains)」，適應於抗蟲品種並造成危害，而使抗蟲作用消失，尤其是在一個隔離的地區，栽植同一抗蟲作物，而其抗蟲機制又是屬於抗生作用者。每一種害蟲的自然棲群，本來就包含有多種生物小種，可抵抗抗蟲品種的生物小種在原棲群中所佔的比率很低，但當受到抗蟲品種的選汰壓力時，其少數能生存於原抗蟲品種者，獲得自交的機遇，遂逐漸形成一個佔優勢的生物小種，取代原有在棲群中佔有很高比例感受性小種(Pathak *et al.*, 1971; Gallun, 1972)。

蘇力菌基因改造抗蟲作物

抗蟲品種在現行各種防治方法上，常兼具經濟、有效和效果穩定之優點，但仍有其侷限。古典的植物抗蟲性研究，首先必需有大量的種源，再以雜交的方法將抗蟲因子導入具有優良農藝性狀的栽培品種，需由昆蟲、植物病理、遺傳育種及生物化學等研究人員密切配合，並經冗長的時日方才有成功的機會。

利用遺傳工程生物技術，從遠親或不相干的植物種類去轉殖抗性基因，使植物具有抗蟲性，這些抗蟲植物有許多的好處，其中與IPM就有極佳的相容性，可以增進IPM系統的穩定性，減少農藥大量的使用(Palaniswamy, 1996)。在被生物技術利用作為抗蟲基因選殖的抗蟲物質有數種，如蘇力菌delta-內毒素、蛋白酶抑制劑及其他等 (Palaniswamy, 1996)。但至目前為止，祇有蘇力菌基因(*cry*-gene)改造作物被大量栽培。蘇力菌可以防治許多危害玉米的鱗翅目害蟲，將蘇力菌 *cry1Ab* 殺蟲基因轉殖到玉米上，可以產生對歐洲玉米螟良好的抗性(Koziel *et al.*, 1993; Armstrong *et al.*, 1995)。目前已大量栽培的基因改造玉米 Mon 810 [*cry1Ab*]、Bt11 [*cry1Ab*]、Event 176 [*cry1Ab*]、CBH354

[*cry9C*]，其所有的轉殖雜交株(hybrid)皆可以抵抗田間發生的第一代玉米螟蟲，但其中 Event 176 對第二代螟蟲即失去抗蟲能力 (Archer *et al.*, 2000a, b)。當然基改作物並非對所有的害蟲都有效，即使是同一科的昆蟲，例如 Bt11 對同為夜蛾科的玉米穗蟲 (*Helicoverpa zea*) 的初齡幼蟲具高抗性，但同樣的玉米對 fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) 只有中等抗性 (Lynch *et al.*, 1999)。

新一代遺傳工程製作基因改造抗蟲作物，朝向更有效更能與傳統化學農藥競爭，更適用於 IPM 計畫去改良蘇力菌產品 (Marrone, 1994)。但是含單一蘇力菌殺蟲基因的基因改造作物，其選汰壓力長時間持續在田間存在時，對抗藥性的管理是較不利的。無論如何，此種產品必需是在配合適當的蟲口密度調查技術，佐以其他整合性的策略下應用，才能降低抗藥性產生的可能性 (Marrone, 1994)。蘇力菌基因改造抗蟲作物雖然有諸多的優點，但仍有其限制，Palaniswamy (1996) 列出抗蟲植物的優點及限制：

優點：結合抗蟲植物與其他適當方法的 IPM 系統，是最經濟、最環保的防蟲法。

1. IPM 具有與其他如耕作、生物和化學防治方法高度的相容性；具專一性，不會傷害天敵；通常作物都是部分抗蟲性，將害蟲的棲群保持在低的程度，而有助於天敵棲群的維持；部分抗蟲性，也可降低農藥使用的種類、數量和使用頻率。降低農藥的使用，也就是保護天敵，減少了因殺蟲劑誘發的主要或其他次要害蟲再崛起的機會。蘇力菌殺蟲基因轉殖作物並不會直接影響到玉米之天敵 (Johnson and Gould, 1992; Sims, 1995; Dogan *et al.*, 1996; Pilcher *et al.*, 1997)。
2. 即便是部分抗蟲性，累積一段時間後對害

蟲棲群的影響，也會有明顯的效果。

3. 投資栽培抗蟲作物早期會較昂貴，但比較其他防治方法，長期下來還是便宜的。
4. 栽培者容易習慣此些新技術，因為除了種子外，並不增加額外的支出。
5. 因可減少農藥的殘留，抗蟲作物特別符合環保的要求。

限制：

1. 要發展一種抗蟲作物通常需要很久的時間。
2. 害蟲可能發展出抗性小種 (biotypes)，而能在該抗蟲作物上照常地取食和發育。像單一抗蟲因子的抗蟲作物，被大面積的大量種植，就有可能面臨此問題。
3. 不易育成具多重抗性，能同時對付多種害物之作物。
4. 有時抗性解決了某一類生物，但卻增加了對另一類昆蟲的感受性。
5. 抗性植物次要的有毒化學產物，可能會影響在其上取食的天敵。

蘇力菌基因改造作物抗藥性管理

Tabashnik 等人 (1994a, b) 預測在快速成長地使用新品系的蘇力菌或 *cry* 殺蟲基因轉殖菌或植物後，會對害蟲增加抗藥性選汰壓力，除非採用合適的管理策略。栽培者在使用新的生技改良的蘇力菌產品或基改作物，可能因缺乏宏觀性的教導，以致忽略了 IPM (Marrone, 1994)，惟有結合 IPM 才能合乎害蟲管理的要求 (Palaniswamy, 1996)，雖然抗蟲植物有些限制，但大部分都可以克服。即使是部分抗性，亦有明顯的益處，特別是與 IPM 結合時，事實上，當考慮抗性的持久時，部分抗性優於全部抗性 (Palaniswamy, 1996)。否則如 Event 176 在第二代螟蟲即失去抗蟲能力，這種在抽穗後 Bt 毒素的力價隨即降低的設計

(Koziel *et al.*, 1993), 可能會增加螟蟲對抗基因改造作物的抵抗力(Archer *et al.*, 2000a, b)。

以往避免昆蟲抗藥性形成的策略乃是避免重複施用同一種農藥, 對基因改造作物而言, 這也是一種因應策略, 可以研發另類的抗蟲基因改造作物, 以取代或輪作方式避免該問題的產生或惡化。另外一種防患抗藥性昆蟲形成的方法乃是在基因改造作物田之附近預留一非基因改造作物保護區(或說庇護所)(non-GM refuges), 區內種植非基因改造作物, 抗藥性昆蟲會在基因改造作物田間產生, 但不會在保護區內產生, 抗藥性昆蟲與非抗藥性昆蟲間之交配可減緩抗蘇力菌殺蟲基因之散播。在美國, 此法目前已普遍地應於蘇力菌抗蟲玉米與棉花的栽植上, 似乎頗具成效(Bonetta, 2001)。雖然過去有許多研究在特定的情況下顯示, 混合藥劑可以明顯地減緩抗藥性的產生, 但又有其他的意見說, 全比例(full-rate mixture)的混合, 會促進害蟲適應的速率。Caprio (1998)以推測模式在處理田有無區分外部庇護所(external refuges)條件下, 探討蘇力菌多重毒素抗藥性的管理策略。其以 IPM 經濟限界為準, 預測在缺乏保護區的情況下, 所有的用藥策略均呈現相類似的結果; 但當有 5% 的保護區加入 IPM 預測模式時, 在一個品系蘇力菌使用到抗藥性產生時替換成另一個品系的情況下, 其抗藥性的形成可以延遲 4.4 倍時間後產生; 在規則或不規則輪替用藥和半量混合藥劑的情況下, 其抗藥性可以延遲 15~20 倍時間; 全量混合藥劑的情況下, 其抗藥性可以延遲 34.8 倍時間形成。預測模式顯示, 在有保護區的條件下, 全比例毒素混合具有相當潛力可延緩抗藥性的產生, 但在沒有保護區和 IPM 的策略管理下, 其反而會很快使抗藥性產生。其實如果栽培得當, 蘇力菌基因改造玉米不像是會誘使昆蟲對其產

生抗藥性的, 因為蘇力菌基因改造玉米表現大量的殺蟲 Cry 毒蛋白, 在玉米果穗從形成到收成一直存在高度的毒效, 讓對象害蟲沒有發育成熟的機會。(Lynch *et al.*, 1999)

結 語

在慣行的藥劑防治法下, 抗藥性的增加是一個問題, 相較之下最好是施行 IPM, 對天敵衝擊最少, 尤其是有些次要害蟲的天敵, 這些天敵要建立棲群, 往往需要較久的時間, 並且在經濟效益上, 生產者使用 IPM 生產的作物, 將來出口上最有利。另一方面如果僅使用生物防治, 會因生產過程中欠缺對檢疫害蟲有效的防治, 以致產品無法符合貿易檢疫的要求, 只能在本地出售。在世界貿易組織(World Trade Organization, 簡稱 WTO) 磋商時, 農產品因使用農藥而造成的殘留, 以及因防治不足導致農產品需要燻蒸(fumigant)等問題, 都將使農產品困於殘毒檢驗及檢疫的限制中而無法順利貿易(Sucking *et al.*, 1999)。因此因應我國加入 WTO 後, 農產品在自由貿易上可能遭遇的限制, 利用 IPM 降低以上的問題, 是解決該問題可行之路。

引用文獻

- http://www.biols.susx.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/list.html
- Agaisse, H., and D. Lereclus. 1995. How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? *J. Bacteriol.* 177: 6027-6032.
- Anon. 1991. Demonstration of IPM of diamondback moth on farmers' field in the lowlands. Progress Report, Asian Vegetable Research and Development

- Center, Taiwan.
- Archer, T. L., C. Patrick, G. Schuster, G. Cronholm, E. D. Bynum Jr., and W. P. Morrison.** 2000a. Ear and shank damage by corn borers and corn earworms to four events of *Bacillus thuringiensis* transgenic maize. *Crop Prot.* 19: 139-144.
- Archer, T. L., G. Schuster, C. Patrick, G. Cronholm, E. D. Bynum Jr., and W. P. Morrison.** 2000b. Whorl and stalk damage by European and South-western corn borers to four events of *Bacillus thuringiensis* transgenic maize. *Crop Prot.* 19: 181-190.
- Armstrong, C. L., G. B. Parker, J. C. Pershing, S. M. Brown, P. R. Sanders, D. R. Duncan, T. Stone, D. A. Dean, D. L. DeBoer, J. Hart, A. R. Howe, F. M. Morrish, M. E. Pajeau, W. L. Petersen, B. J. Reich, R. Rodriguez, C. G. Santino, S. J. Sato, S. R. Sims, S. Stehling, L. J. Tarochione, and M. E. Fromm.** 1995. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. *Crop Sci.* 35: 550-557.
- Biever, K. D., D. L. Hostetter, and J. R. Kern.** 1994. Evolution and Implementation of a biological control-IPM system for crucifers: 24-year case history. *Am. Entomol.* 40: 103-108.
- Biggs, A. R., H. W. Hogmire, and A. R. Collins.** 2000. Assessment of an alternative IPM for the production of apple for processing. *Plant Dis.* 84: 1140-1146.
- Bolkan, H. A., and W. R. Reinert.** 1994. Developing and implementing IPM strategies to assist farmers: an industry approach. *Plant Dis.* 78: 545-550.
- Bonetta, L.** 2001. GM crops under new US scrutiny. *Current Biology* 11: R201.
- Burges, H. D.** 1982. Control of insects by bacteria. *Parasitology* 84: 79-114.
- Caprio, M. A.** 1998. Evaluating resistance management strategies for multiple toxins in the presence of external refuges. *J. Econ. Entomol.* 91: 1021-1031.
- Dogan, E. B., R. E. Berry, G. L. Reed, and P. A. Rossignol.** 1996. Biological parameters of convergent lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on aphids (Homoptera: Aphidae) on transgenic potato. *J. Econ. Entomol.* 89: 1105-1108.
- Ebora, R. V., M. M. Ebora, and M. B. Sticklen.** 1994. Transgenic potato expressing the *Bacillus thuringiensis* CryIA(c) gene effects on the survival and food consumption of *Phthorimea operculilla* (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 1122-1127.
- Elek, J., and N. Beveridge.** 1999. Effect of a *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* insecticidal spray on the mortality, feeding, and development

- rates of larval Tasmanian eucalyptus leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 1062-1071.
- Feitelson, J. S., J. Payne, and L. Kim.** 1992. *Bacillus thuringiensis*: insects and beyond. *Bio/Technology* 10: 271-275.
- Fischhoff, D. A., K. S. Bowdish, F. J. Perlak, P. G. Marrone, S. M. McCormick, J. G. Niedermeyer, D. A. Dean, K. Kusano-Kretzmer, E. J. Mayer, D. E. Rochester, S. G. Rogers, and R. T. Fraley.** 1987. Insect tolerant transgenic tomato plants. *Bio. Technol.* 5: 807-813.
- Ge, A. Z., D. Rivers, R. Milne, and D. H. Dean.** 1991. Functional domains of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins. *J. Biol. Chem.* 266: 17954-17958.
- Gelernter, W. D., and J. T. Trumble.** 1999. Factors in the success and failure of microbial insecticides in vegetable crops. *Integr. Pest Manag. Rev.* 4: 301-306.
- Gill, S. S., E. A. Cowles, and P. V. Pietrantonio.** 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Ann. Rev. Entomol.* 37: 615-636.
- Gullan, R. L.** 1972. Genetic interrelationships between host plants and insects. *J. Environ. Quality* 1: 258-265.
- Honee, G., D. Convents, J. Van Rie, S. Jansens, M. Preferoen, and B. Visser.** 1991. The C-terminal domain of the toxic fragment of a *Bacillus thuringiensis* crystal protein determines receptor binding. *Mol. Microbiol.* 5: 2799-2806.
- Jenkins, J. N., W. L. Parrott, J. C. McCarty Jr., F. E. Callahan, S. A. Berberich, and W. R. Deaton.** 1993. Growth and survival of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic cotton containing a truncated form of the delta endotoxin gene from *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 86: 181-185.
- Johnson M. T., and F. Gould.** 1992. Interaction of genetically engineered host plant resistance and natural enemies of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in tobacco. *Environ. Entomol.* 21: 586-597.
- Kao, S. S., and C. C. Tzeng.** 1985. Results of laboratory tests on the toxicity of 24 pesticides against pupae of *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Bull. Soc. Entomol.* 18: 13-24.
- Kao, S. S., and C. C. Tzeng.** 1990. Toxicity of insecticides to *Cotesia plutellae*, a parasitoid of diamondback moth. Talekar, N. S. (ed.) 1992. "Diamondback Moth and Other Crucifer Pests: Proceeding of the Second International Workshop". Asian Vegetable Research and Development Center publication. p.287-296.
- Kao, S. S., and C. C. Tzeng.** 1991. Toxicity of insecticides against *Apanteles*

- plutellae* adults. The 21th ESRC Symposium on Entomological Society of the Republic of China. Abstract P. 15. 18-19 Oct. 1991. Taiwan Apicultural and Sericultural Experiment Station, Maioli, Taiwan. (in Chinese)
- Kao, S. S., C. C. Tzeng, S. J. Tuan, and Y. S. Tsai.** 1996. Isolation, characterization and *cry* gene typing of *Bacillus thuringiensis* from stored product material samples collected around Taiwan. Rumakom M., (ed.). The Second Pacific Rim Conference on Biotechnology of *Bacillus thuringiensis* and Its Impact to the Environment. p.132-151.
- Kar, S., D. Basu, S. Das, N. A. Ramkrishnan, P. Mukherjee, P. Nayak, and S. K. Sen.** 1997. Expression of *cry1A(c)* gene of *Bacillus thuringiensis* in transgenic chickpea plants inhibits development of pod-borer (*Heliothis armigera*) larvae. Transg. Res. 6: 177-185.
- Kogan, M., and E. F. Ortman.** 1978. Antixenosis – a new term proposed to define Painter’s “non-preference” modality of resistance. Bulletin of the Entomological Society of America 24: 175-176.
- Kou, F. S., J. H. Lin, C. C. Tzeng, S. S. Kao, and K. F. Chak.** 2000. Cloning of two new *cry* genes from *Bacillus thuringiensis* subsp. *wuhanensis* strain. Current Microbiology 40: 227-232.
- Koziel, M. G., G. L. Beland, C. Bowman, N. B. Carozzi, R. Crenshaw, L. Crossland, J. Dawson, N. Desai, M. Hill, S. Kadwell, K. Launis, K. Lewis, D. Maddox, K. McPherson, M. R. Meghji, E. Merlin, R. Rhoades, G. W. Warren, M. Wright, and S. V. Evola.** 1993. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. Biotechnology 11: 194-200.
- Leslie, A. R., and G. W. Cuperus. (Eds.)** 1993. Successful implementation of integrated pest management for agricultural crops. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- Li, J., J. Carroll, and D. J. Ellar.** 1991. Crystal structure of insecticidal δ -endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2.5 Å resolution. Nature 353: 815-821.
- Liu, M. Y., Y. Z. Tzeng, and C. N. Sun.** 1981. Diamonback moth resistance to several synthetic pyrethroids. J. Econ. Entomol. 74: 393-396.
- Lynch, R. E., B. R. Wiseman, D. Plaisted, and D. Warnick.** 1999. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expression Cry1A(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 92: 246-252.
- Marrone, P. G.** 1994. Present and future use of *Bacillus thuringiensis* in integrated pest management systems: an industrial perspective. Biocontrol Sci. Technol. 4: 517-526.

- McClintock, J. T., C. R. Schaffer, and R. D. Sjoblad.** 1995. A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. *Pestic. Sci.* 45: 95-105.
- McClintock, J. T., R. D. Sjoblad, and R. Engler.** 1991. Are genetically engineered pesticides different? *Chemtech.* Aug. pp. 490-494.
- Painter, R. H.** 1951. Insect resistance in crop plants. University of Kansas Press,
- Palaniswamy, P.** 1996. Host plant resistance to insect pests on cruciferous crops-with special reference to flea beetles feeding on canola. *Acta Hort.* 407: 469-481.
- Pathak, M D., F. Andres, N. Galacgac, and R. Raros.** 1971. Resistance of rice varieties to striped rice borers. *Int. Rice Res. Inst. Tech. Bull* 11, 69pp.
- Perez, C. J., and A. M. Shelton.** 1997. Resistance of *Plutella xylostella* to *Bacillus thuringiensis* Berliner in Central America. *J. Econ. Entomol.* 90: 87-93.
- Pilcher, C. D., M. E. Rice, J. J. Obrycki, and L. C. Lewis.** 1997. Laboratory and field evaluations of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn on secondary lepidopteran pests (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 669-678.
- Quattro, J. de.** 1991. Transgenic cotton scores knockout against worms. *Agric. Res.* December 22-25.
- Reddy, G. V. P., and A. Guerrero.** 2000. Pheromone-based integrated pest management to control the diamondback moth *Plutella xylostella* in cabbage fields. *Pest Manag. Sci.* 56: 882-888.
- Reitz, S. R., G. S. Kund, W. G. Carson, P. A. Philips, and J. T. Trumble.** 1999. Economics of reducing insecticides use on celery through low-input pest management strategies. *Agric Ecosyst. Environ.* 73: 185-197.
- Rie, J. van, S. Jansens, H. Hofte, D. Degheele, and H. van Mellaert.** 1989. Specificity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins importance of specific receptors on the brush border membrane of the mid-gut of target insects. *Eur. Biochem.* 186: 239-247.
- Rie, J. van, S. Jansens, H. Hofte, D. Degheele, and H. van Mellaert.** 1990. Receptors on the brush border membrane of the insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1378-1385.
- Salm, T. van der, D. Bosch, G. Honee, L. Feng, E. Munsterman, P. Bakker, W. J. Stiekema, and B. Visser.** 1994. Insect resistance of transgenic plants that express modified *Bacillus thuringiensis cryIA(b)* and *cryIC* genes: a resistance management strategy. *Plant Mol. Biol.* 26: 51-59.
- Schnepf, H. E., H. C. Wong, and H. R. Whiteley.** 1985. The amino acid sequence of a crystal protein from

- Bacillus thuringiensis* deduced from the DNA sequence. *J. Biol. Chem.* 260: 6264-6272.
- Sims, S. R.** 1995. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* [CryIA(c)] protein expression in transgenic cotton: effects on beneficial and other non-target insects. *Southwest. Entomol.* 20: 493-500.
- Singsit, C., M. J. Adang, R. E. Lynch, W. F. Anderson, A. Wang, G. Cardineau, and P. Ozias-Akins.** 1997. Expression of a *Bacillus thuringiensis cryIA(c)* gene in transgenic peanut plants and its efficacy against lesser cornstalk borer. *Transg. Res.* 6: 169-176.
- Sucking, D. M., J. T. S. Walker, and C. H. Wearing.** 1999. Ecological impact of three pest management systems in New Zealand apple orchards. *Agric. Ecosys. Environ.* 73: 129-140.
- Tabashnik B. E., N. Finson, F. R. Groeters, W. J. Moar, M. W. Johnson, Ke Luo, and M. J. Adang.** 1994a. Reversal of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 91: 4120-4124.
- Tabashnik, B. E.** 1994b. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 47-49.
- Tabashnik, B. E., N. L. Cushing, N. Finson, and M. Johnson.** 1990a. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth. *J. Econ. Entomol.* 83: 1671-1676.
- Tabashnik, N. L., N. Finson, and M. Johnson.** 1990b. Managing resistance to *Bacillus thuringiensis*: lessons from the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 84: 49-55.
- Talekar, N. S. eds.** 1992. Diamondback moth and other crucifer pests: Proceeding of the Second International Workshop, Tainan, Taiwan, 10-14. Dec. 1990. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan, 1992, 603 pp.
- Trumble, J. T., W. G. Carson, and G. S. Kund.** 1997. Economics and environmental impact of a sustainable integrated pest management program in celery. *J. Econ. Entomol.* 90: 139-146.
- Trumble, J. T., W. G. Carson, and K. K. White.** 1994. Economic analysis of a *Bacillus thuringiensis* based integrated pest management program in fresh market tomatoes. *J. Econ. Entomol.* 87: 1463-1469.
- Tzeng, C. C.** 1997. Identification and cloning of cry genes in *Bacillus thuringiensis* isolates from Taiwan. Dissertation, Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, 141pp.
- Tzeng, C. C., and S. S. Kao.** 1991. Integrated control of DBM in cabbage field. The 21th ESRC Symposium on Entomological Society of the Republic of China. Abstract P. 8. 18-19 Oct. 1991. Taiwan Apicultural and Sericultural Experiment Station, Maioli, Taiwan. (in Chinese)

- Vaeck, M., A. Reynaerts, H. Hofte, S. Jansens, M. de Beuckeleer, C. Dean, M. Zabeau, M. van Montagu, and J. Leemans. 1987. Transgenic plants protected from insect attack. *Nature* 328: 33-37.
- Yamamoto, T., and G. Powell. 1993. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins: recent advancements in understanding the insecticidal activity. pp. 3-42. In "Advanced Engineered Pesticides". L. Kim, eds. Marcel Dekker, Inc., NY.

Use of *Bacillus thuringiensis* in Integrated Pest Management Systems

Ching-Chou Tzeng Department of Biopesticide, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Taiwan 413, ROC

ABSTRACT

In traditional pest management, chemically synthesized pesticides were widely used due to their easy application and potent effect, however, the lack of environmental and ecological concern by the users has resulted in issues such as pesticide resistance, environmental pollution, toxicity to natural enemies and pesticide residues in the ecosystem. To maintain the natural balance of the ecosystem, the concept of Integrated Pest Management (IPM) has been developed to control pest. One of the goals of IMP is to reduce pesticide application in which biopesticide is becoming a good replacement. In the past, *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) was hard to compete for the market with chemically synthesized pesticides due to its lack of acute toxicity, non-residue effects, high specificity and lack of contact activity. Under the public attention in protecting our environment and the consumer's safety concern in agricultural products as well as the need of trading market, those weaker points in *Bt* are now turning into its winning points and there are many successful stories regarding the *Bt* application in increasing yield and benefit. On the other hand, *Bt* is not a panacea, its random application without well-planned schedules may reduce its efficiency in controlling pests and its large amount and concentrated usage may cause *Bt*-resistance or become a waste. Therefore, *Bt* should be integrated into IPM and applied in compliance with the IMP principles to allow the survival of primary and secondary natural enemies to help in pest control. Today transgenic insect-resistant crops are widely cultivated, the planting of these plants brings many benefits, however, there are potential risks involved and may induce more severe pesticide-resistant problems if those plants are not well managed. It is wise to integrate genetically modified *Bt* crops into IMP to assure the sustainable agriculture. The integration of *Bt* into IMP is the right direction to go especially after joining the World Trade Organization (WTO) for our agricultural commodities may not be tradable due to pesticide residues and a need of fumigation to eliminate insects.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, Integrated Pest Management (IPM).