

生物農藥簡介

高穗生*曾經洲 洪巧珍 蔡勇勝 謝奉家

行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所生物藥劑組

前言

本省地處熱帶與亞熱帶氣候，高溫多濕，病蟲害種類繁多，又因本省農作物複種指數高，集約栽培的結果更導致病蟲害猖獗蔓延。長久以來農民為確保收成，多以施用化學農藥為主，以降低田間病蟲害密度，減少損失，維持作物產量和品質。

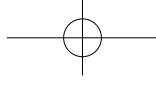
邇來，隨著國際貿易之快速成長與WTO之參與，新病蟲害問題不斷發生，農民無藥可施，甚而使用非推薦之化學藥劑進行防治；又長期使用相同藥劑，致使病蟲害產生抗藥性，短期或連續採收之作物，由於採期間仍有病蟲害發生，被迫噴藥防治，諸多因子使作物農藥殘留超過標準。

另外，尚包括農藥對環境之污染，對非標的的生物的傷害和生態平衡之破壞等諸多副作用。因此不論是站在降低對化學農藥之依賴性或在有害生物綜合管理(IPM)的策略應用上，生物農藥均提供了另外一種安全、經濟且有效的選擇。

生物農藥遠較傳統化學藥劑危險性較少；專一性較高。對人、畜、野生動物、害蟲的天敵和有益昆蟲無害；生物農藥使用少量即有效，分解快速，暴露風險低，無污染問題；無殘留量的問題，施用後可立即採收，不需訂定安全採收日期；可以作為有害生物綜合管理(Integrated Pest Management, IPM)的一個方法和化學藥劑搭配使用，可降低化學農藥之使用量；不容易產生抗藥性；研發費用低，容易登記上市。

根據農業委員會之定義，生物性農藥(生物製劑)係指天然物質如動物、植物、微生物及其所衍生之產品，包括「天然素材農藥」、「微生物農藥」、「生化農藥」及基因工程技術產製之微生物農藥。微生物製劑：用於作物病原、害蟲、雜草防治或誘發作物抗性之微生物或其有效成分經由配方所製成之產品，其微生物來源包括：細菌、真菌、病毒和原生動物等，一般由自然界分離所得，惟也可再經人工品系改良，如人為誘變、汰選或遺傳基因改造。生化製劑：生化農藥則包括昆蟲費洛蒙等以生物性素材經過化學粹取或合成，惟其作用機制無毒害者，如甜菜夜蛾性費洛、斜紋夜蛾性費洛蒙等。天然素材：天然產物不以化學方法精製或再加以合成者，包括菸鹼(nicotine)、除蟲菊精(pyrethrum)、魚藤精(rotenone)、藜蘆鹼(sabadilla, vertine)印楝(azadirachtin)、素皂素(saponins)等。上述生物性原料可先經脫水乾燥等保存處理，壓榨、磨粉、製粒等加工程序，是以凡不以提高有效成分含量為目的之製程，不視為經化學方法精製。

根據美國環境保護署之定義，生物農藥與傳統化學藥劑有明顯的不同，因生物農藥具有無毒性的作用機制，標的的特異性，和在環境中能被生物所生產。若依來源作分類包括了：(一)微生物農藥(microbial pesticide)，包涵細菌、真菌、藻類、原生動物或病毒。其作用機制可經由毒素的生產(如蘇力



菌，*Bacillus thuringiensis*）、侵入寄生（如白殭菌，*Beauveria*）、病原性（如桿狀病毒）和競爭（如病毒用於植物之交叉保護）。(二).生化農藥(biochemical pesticide)，有四個明顯的生物功能類別(1)化學傳訊素 (2)荷爾蒙 (3)天然植物調節劑 (4)酵素。(三)、植物生產之農藥(plant-produced pesticide)，包括導入植物中之物質，其目的在於將其作為農藥使用者。蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*) 屬於微生物農藥製劑的一種，而含有蘇力菌殺蟲基因的轉殖作物(transgenic crop)亦屬於植物生產之農藥。但若依施用對象則可分為生物殺蟲劑 (bioinsecticides)、生物殺菌劑 (biofungicides)、生物殺草劑 (bioherbicides) 及生物殺線蟲劑 (bionematocides)。本文將針對微生物農藥及生化農藥（以昆蟲費洛蒙為例）之種類和功能有所著墨並論及基因轉殖植物在抗蟲上之應用，另外，對生物農藥之新進展亦提出說明，提供同道參考。

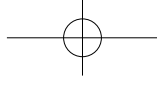
微生物農藥

一、微生物殺蟲劑

感染昆蟲之主要微生物為細菌、病毒、原生動物、真菌和立克次小體。這些微生物會使昆蟲生長發育延緩、降低生殖潛能，或直接殺死昆蟲。細菌為最常用之微生物殺蟲劑，病毒和真菌次之。

日本金龜子芽孢桿菌 (*B. popilliae*) 和緩死芽孢桿菌 (*B. lentimorbus*) 會造成日本金龜子和其他金龜子幼蟲的乳化病 (milky disease)。需利用活體培養生產困難，成本較高。而蘇力菌不需寄主也能繁殖，可以人工培養基培養，有利於商品化生產。蘇力菌是一種革蘭氏陽性、桿狀、能形成孢子的細菌，在芽孢生殖過程會產生殺蟲結晶蛋白質 (insecticidal crystal protein, ICP) 具有殺蟲的效果。蘇力菌可從許多地方分離出來，包括罹病蟲，昆蟲棲所，各種土壤，倉庫粉塵，不同植物的葉片，植物源的材料，靜水和流水，海水，海和潮間混有鹽味的沖積物，牛犢之墊床和羊毛，哺乳類，爬蟲類和鳥類的排泄物，活化污泥等。1938年在法國出現第一個蘇力菌產品，至今全世界蘇力菌產品超過100種以上，佔生物農藥販售量90% 以上。因為蘇力菌的專一性和作用機制，被認為是蟲害防治的一種安全的選擇，一直是有害生物綜合管理較佳的防治法。目前主要的蘇力菌產品是由對鱗翅目有活性的庫斯塔基亞種 (*Bt kurstaki*) 和魚占澤亞種 (*Bt aizawai*)、對雙翅目有效的以色列亞種 (*Bt israelensis*) 和對鞘翅目有活性的擬步行蟲亞種 (*Bt tenebrionis*) 所組成。其劑型種類繁多，對農業、森林和衛生害蟲均有良好的防治效果。

病毒亦有相當的潛力作為微生物殺蟲劑，超過1,200種病毒之寄主為鱗翅目，膜翅目和雙翅目，而桿狀病毒則最為人所知，包括核多角體病毒 (nuclear polyhedrosis virus, NPV) 和顆粒體病毒 (granulosis virus, GV)。桿狀病毒寄主範圍之特異性高，在自然界能造成流行病，降低昆蟲之棲群。故而，被認為農林害蟲具吸引力的微生物防治劑，是化學防治之替代方案。至於桿狀病毒在蟲害上之應用，最主要的方法在於將病毒製成殺蟲劑以噴灑方式使用，此外，尚有一些頗具前瞻性的防治法：包括流行疫病的預測、古典生物防治、半古典生物防治、病毒資源管理、寄生性天敵和捕食性天敵之協助、自動傳染、病毒的早期引進、方



台灣細菌性病害防治要領 圖片

行政院農委會動植物防疫檢疫局

台中分局 分局長

黃德昌博士



民國九十七年八月三十一日

格式引進。但由於病毒殺蟲時間長、寄生範圍窄、在環境中易受紫外線破壞、毒力低，使得發展受到限制。可借製劑配方和遺傳工程來改善其殺蟲性質。紫外線保護劑、增強因子和佐劑之添加有助於其在田間之表現。桿狀病毒適合做為生物性殺蟲劑，噴灑桿狀病毒來防治害蟲成功的例子相當多。到目前為止共有32種商品化之病毒殺蟲劑。

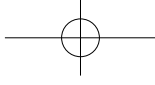
真菌屬於植物界中的真菌門（Eumycota）蟲生病原真菌大約有90個屬和700種，可分為5個亞門：鞭毛亞門（Mastigomycotina）、接合菌亞門（Zygomycotina）、子囊菌亞門（Ascomycotina）、擔子菌亞門（Basidiomycotina），和不完全菌亞門（Deuteromycotina）。但只有少數的接合菌綱（Zygomycetes）之蟲霉目（Entomophthorales）及線菌綱（Hyphomycetes）之鏈孢霉目（Moniliales）的種類研究比較深入。主要用於害蟲防治的蟲生病原真菌均屬鏈孢霉目，鏈孢霉科（Moniliaceae），如黑殭菌（*Metarhizium anisopliae*），白殭菌（*Beauveria bassiana*），綠殭菌（*Nomuraea rileyi*）及蠟蚧輪枝菌等〔（*Verticillium lecanii*）〕。

原生動物體形小、單細胞生物，在許多棲所均可見到。其形狀，顏色，和形態變異頗大。它們具有有性和無性繁殖的現象。經描述15,000種中有1,200種與昆蟲有關聯，有的更具病原性。蟲生病原原生動物分屬於6個門：動鞭毛門（Zoomastigina），根足門（Rhizopoda），頂複合門（Apicomplexa），微孢子蟲門（Microspora），單孢子蟲門（Haplosporidia）纖毛蟲門（Ciliophira）。

有微生物防治的潛力之微孢子蟲門中，包括了微粒子屬（*Nosema*），具褶子孢蟲屬（*Pleistophora*）和變態微孢子蟲（*Vairimorpha*）。目前只有蝗蟲微粒子病（*N. locustae*）一種原生動物登記上市，防治蝗蟲。

二、微生物殺菌劑

植物之病害乃是由於病原菌、感受性寄主和環境相互作用之結果。因此，在防治之本質上，生物防治劑是以病害過程和病原菌做為標的。防治病害過程（指治療）之策略與防治病原菌是有差別的。能夠寄生和破壞病原菌的微生物，應在種植作物之前施用。微生物如其作用在於與病原菌競爭營養之供應和空間，或以分泌對病原菌有害之代謝產物（具抗生素作用）阻礙病原菌之生長，這類拮抗微生物



(antagonist)，在種植時施用。與病原菌相競或直接攻擊病原菌之拮抗微生物可與土壤混合加到畦裏，進行種子處理，或做葉面或果實噴灑。微生物殺菌劑在設施作物和收穫後為害之處理較具成效，因環境因子較易控制。在防治農藝和園藝作物病害時，微生物殺菌劑和化學殺菌劑彼此互補之作用，故應和化學殺菌劑整合使用。根據微生物殺菌劑施用之標的，可將其分成三類：土媒病原菌，葉面病害及在儲藏期收穫後之腐爛。至於一般拮抗微生物防治病害的主要機制，可被歸納成；競爭作用、抗生作用、寄生作用、細胞壁分解酵素以及誘發植物產生系統性抗病能力。用於土媒病害防治的細菌和放線菌類（Actinomycetous）之微生物殺菌劑，是以枯草桿菌（*Bacillus subtilis*）放線農桿菌（*Agrobacterium radiobacter*），螢光假單孢菌（*Pseudomonas fluorescens*），*Burkholderia cepacia*，產氣腸桿菌（*Enterobacter aerogenes*），和淺灰綠鏈黴菌（*Streptomyces griseoviridis*）為主。空氣傳播植物病害之微生物殺菌劑：



哈茨木黴菌T-39之商品為Trichodex®，可以防治葡萄之菊花灰黴病。*Ampelomyces quisqualis* M10之商品名品為AQ10®，螢光假單孢菌A506其商品名為Blight Ban A506®，可以防治梨和蘋果的火疫病（*Erwinia amylovora*）。

蔬果收穫後病害之微生物殺菌劑：丁香假單孢菌（*Pseudomonas syringae*）ESC11 此拮抗細菌能有效地防治受傷的梨、蘋果和柑桔果實之擴展青黴菌（*Penicillium expansum*）。亦可防治梨之菊花灰黴病。其商品名為BioSave11®。Aspire®是以親油假絲酵母菌（*Candida oleophila*）為主之產品施用到柑桔、梨果、葡萄和蘋果，保護傷口不受病原真菌的入侵。

三、微生物殺草劑

微生物殺草劑為植物病原菌、源自植物病原菌或其他微生物之植物毒素（phytotoxin）做為防治雜草之用。整個雜草生物防治之基礎，在於營造有利病原菌之生態平衡，促進疾病進行。故應篩選合適的病原菌或可在多樣性環境中有作用的病原菌。美國亞培公司註冊了一種棕櫚疫病菌（*Phytophthora palmivora*）用來防治柑桔園的莫倫藤（*Morrenia odorata*），其商品名為DeVine®。阿肯色大學，美國農部和Upjohn公司合作開發出Collego®，含有皂角長孢炭疽菌（*Collectotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*）乾燥孢子。該菌為兼性腐生菌，當接種到維州皂角（*Aeschynomne virginica*）時會造成寄主致命的莖和葉部之萎凋。加拿大沙斯卡頓市（Saskatoon）之Philom Bios 生技公司開發出BioMal®的真菌殺菌劑。僅能感染加拿大西部雜草圓葉錦葵（*Malva pusilla*）並能非常有效地殺死它。藥毒所公害防治組在民國93年的報告顯示，利用炭疽病菌（*Collettrichum* sp. CUSCA 02）可以有效地防治南美蟛蜞菊（*Wedelia trilobata*）之



寄生性雜草本原菟絲子 (*Cuscuta campestris*)。該炭疽病菌之寄主專一性高，對供試之10科29種植物均不會造成感染，是一種有效的真菌殺草劑。

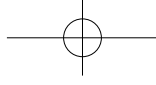
四、微生物殺線蟲劑

已知有兩類真菌具有殺線蟲的能力，第一類為線蟲捕捉真菌如 *Arthrobotrys*，*Dactylella*，*Monacrosporium* 及 *Nematoctonus* 等屬。會因線蟲存在的刺激產生捕捉構造 (predacious organs)，不同的線蟲捕捉真菌所產生之捕捉構造亦不同，以其菌絲特化所產生的粘著網、粘著球、收縮環或非收縮環等捕捉構造來捕捉線蟲。當線蟲在土壤中鑽行時，會被捕捉構造黏住，或是鑽入捕捉構造中，誘發捕捉細胞在短的時間內膨大，將線蟲緊緊的勒住而無法動彈。接著真菌便分泌酵素溶解線蟲體壁，吸收其養分供真菌生長之用。雖然捕捉線蟲的真菌確實對線蟲有防治的潛力，但土壤的環境複雜，往往所施用的真菌因為各種因素，例如真菌孢子在土壤中無法順利發芽、生長較慢等，使得線蟲捕捉真菌並不能發揮防治的功能，對於使用線蟲捕捉真菌來防治線蟲，仍有待更多的研究。但是，亦有商品上市，如法國生產之 *A. irregularis* (Royal 350) 及 *A. robusta* (Royal 300) 來防治根瘤及洋菇線蟲。第二類為線蟲內寄生真菌如 *Harposporium* 及 *Drechmeria conispora*。其孢子被線蟲取食後，在線蟲體內腸道發芽繁殖，使線蟲致死。此外台大應用真菌研究室也發現一種台灣特有之內部寄生性真菌，可寄生於松林線蟲體內，已命名為 *Esteya vermicola*。此真菌之生物學以及其生物防治之潛能，已被釐清，並且業已獲得美國及歐盟中之英、法、德、荷四國之專利，目前已於淡水之高爾夫球場、內湖之碧山巖露營區、苗栗法雲寺之黑松、琉球松或五葉松、二葉松於林間進行防治松材線蟲測試，以便發展成為生物防治劑。另有線蟲卵寄生菌淡紫擬青黴菌 (*Paecilomyces lilacinus*) 之產品。試驗結果證實細菌中之穿透巴斯德芽孢菌 (*Pasteuria penetrans*) 和放線菌之薩臘賽鏈黴菌 (*Streptomyces saraceticus*) 對南方根瘤線蟲族群之發展有抑制作用。國內之巴斯德芽孢菌至少應用三種，一種為穿透巴斯德芽孢菌，另一種為 *P. thornei*，另外孢子大小為 5-6 μm 者，則有待命名。調查顯示，茛花、芋頭、苦瓜等作物之根域土壤鄰近之根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.) 普遍被穿透巴斯德芽孢菌感染，其中尤以屏東社皮茛花園內根瘤線蟲 (*Meloidogyne javanica*) 之感染頻率最高。巴斯德芽孢菌為線蟲絕對寄生菌，目前只能以寄主繁殖，但具絕佳之寄主專一性，以及可以耐受各種惡劣環境之壓力，故仍應繼續探究其人工培養可能性，以便發展成為生物防治劑。

生化農藥 (以費洛蒙為例)

地球生物間廣泛存在「氣味」的溝通，維繫著許多的關係與現象如昆蟲與寄主、天敵與害蟲、雌蟲與雄蟲等之關係，科學家將這種生物間用來傳遞訊息之化學物質統稱為化學傳訊素 (semiochemicals)；依其作用於同種及不同種間導致行為改變者，分為兩大類即費洛蒙及異種作用素。

單一種類個體間之種內傳播 (intraspecific communication) 的化學傳訊素 (semiochemicals) 謂之費洛蒙。費洛蒙為指一種由生物個體分泌出體外，可引發或



刺激其他同種個體，產生某種行為反應的揮發性化學物質。包括了性費洛蒙(sex pheromones)，警戒費洛蒙(alarm pheromones)，蹤跡標示費洛蒙(trail-marking pheromones)及聚集費洛蒙(aggregation pheromones)。

本土重要蟲生真菌資源



被蠟蚧輪枝菌感染死亡之蚜蟲



被白殭菌感染死亡並長出分生孢子之入侵紅火蟻蟲屍



放大之蟲屍

一、性費洛蒙

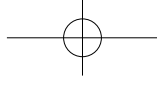
所謂性費洛蒙乃是指一種動物的雌性成體所產生以及放出的一種或者多種化學物質，這種物質通稱性費洛蒙，其能夠引誘及刺激雄性，使之互相交尾而達到傳種接代的目的。當然現在所知道的性費洛蒙不只限於雌性，雄性的動物也能產生，但是重要農業蟲害當中的鱗翅目的蛾類，仍然是以雌蛾產生性引誘費洛蒙的為最多。目前，約有1200種以上昆蟲種類的費洛蒙組成份經鑑定，以鱗翅目昆蟲居多，約佔60%。

據1990統計已商品化之費洛蒙產品約有270種，包括蜚蠊目，雙翅目、同翅目、膜翅目及鱗翅目等，應用技術以監測者最多，其次為大量誘殺和交尾干擾法，分別施用於田間作物、蔬菜、果樹、森林等。台灣自1983年起至今，政府為降低殺蟲劑使用量，積極研發及推廣教育農民使用性費洛蒙綜合防治害蟲，費洛蒙種類包括楊桃花姬捲葉蛾、甘藷蟻象、茶姬捲葉蛾、斜紋葉蛾、甜菜葉蛾、二化螟、番茄夜蛾、蕪菁夜蛾、亞洲玉米螟和大豆擬尺蠖等重要害蟲性費洛蒙，以監測及大量誘殺技術，分別應用於楊桃、甘藷、十字花科蔬菜、青蔥、落花生、大豆花卉、玉米及茶等作物。

昆蟲性費洛蒙具無毒性、種別專一性、微量(0.1mg-50g/ha)即有效，具安全性、經濟有效、不污染環境的優點。其應用技術與產品正持續開發，目前以監測、大量誘殺、交尾干擾法等三種技術較為純熟。

昆蟲性費洛蒙產品包括有(1)監測及大量誘殺之誘引劑：本類產品多，使用本類產品需配合誘蟲器。性費洛蒙使用量極低約為1mg-40mg/ha。誘蟲器設置數量在偵測、監視害蟲發生時，於作物區設置3至5個誘蟲器，大量誘殺20-40個/公頃。交尾干擾法防治法之干擾劑；一般使用疏佈式方法，將干擾劑以棋盤式均放置於果園中，其使用性費洛蒙之藥量約為20-50g/ha。(3)誘蟲器：依誘蟲器抓蟲的方式分為水式、黏膠式、乾式等三類誘蟲器，以乾式者最具經濟及便利性，惟誘蟲器型式隨害蟲種類不同，多有變異。

費洛蒙使用方法與農藥不同，使用時首先須確認害蟲種類使用正確的誘餌種



本土重要蟲生真菌資源



被黑殭菌感染死亡
之松斑天牛幼蟲



被綠殭菌感染殭化死
亡之夜蛾科幼蟲蟲屍

類，實施長期大面積誘殺：費洛蒙誘餌貯放需先以鋁箔紙包裹密封再置於0℃以下貯存：每個誘蟲使用一種誘餌，誘蟲器設置高度基本上應高於作物頂端約30-50公分，然後再配合其他防治施行綜合防治以有效防治害蟲。至於性費洛蒙在蟲害管理上之應用則有三個主要的方式(1)偵測法(2)大量誘殺法 (3) 迷惑法。

(一)偵測法

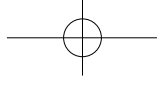
在蟲害管理中應用性費洛蒙最初成功的例子是在於利用其作為害蟲棲群之偵測。將費洛蒙與黏膠式誘蟲器一起使用，能偵測到極低的棲群，特別是監測入侵的害蟲，例如利用 Phenethyl propionate和丁香油以 7：3之濃度來監測日本金龜子之向西遷移。disparlure 則在美國中西部和東南部用來監測吉普賽舞蛾。性費洛蒙亦用以監測害蟲之活動以適時用藥。當蘋果捲葉和蛀心蟲棲群以費洛蒙誘蟲器監測時可減少50% 之用藥。蘋果蛀心蟲在早期之誘集，能夠告知果農果園預期之棲群密度，以使他們及早計畫施藥。性費洛蒙誘集再加上卵塊的調查，可在前一年預測花旗松毒蛾的猖獗。

(二)大量誘殺法

甜菜夜蛾在宜蘭蔥田之大量誘殺，每公頃以30個誘蟲器進行，發現效果甚佳，可有效降低成蟲密度至1—5% 以下，夏季發生危害時期可延後 1—2個月，密度也只有正常情形 25%左右。另，以每分地均勻設置四個誘蟲器，誘蟲器相距約15公尺，可有效地誘殺甘薯蟻象，每公頃甘薯園可減少施藥 1—3次，減少防治費1月 3,000—13,000 元。

(三)迷惑法

性費洛蒙大量分散於環境中，使得雄蟲失掉方向感，而擾亂交配，減少產卵率。目前最成功的例子是gossyp lure來迷惑棉紅鈴蟲(*Pectinophora gossypiella*)，得到的結果與廣效性殺蟲劑的結果相當，且不影響非標的昆蟲的棲群，Sower *et al.*亦報告施用性費洛蒙能造成花旗松毒蛾數目70-80%之減少。迷惑法對害蟲之食性單純，遷移能力不強，棲群密度較低時，效果較佳。



重要蟲生真菌之開發研究 量產



自行開發並組架在量產系統之液態接種裝置



以自動化量產系統生產之綠殭菌

二、警戒費洛蒙

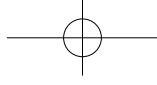
由大顎腺，肛門腺或螫刺產生的物質，使昆蟲產生飛行或攻擊行為謂警戒費洛蒙dolichoderine蟻的典型警戒費洛蒙即為2-methylheptanone，而蚜蟲的警戒費洛蒙經分離和鑑為(E)-B-farnesene和(-)-germacrene A。由於警戒費洛蒙使得聚集的蚜蟲自取食處逃離，田間應用此費洛蒙以防止蚜蟲為害的試驗相驗多，由於(E)-B-farnesene容易消退的化學性質，合成更安定的類似物和緩釋組成供作田間研究，業已受到重視。此外，馬鈴薯 (*Solanum berthaultii*) 葉片上之某些毛茸能釋放(E)-B-farnesene對蚜蟲有強烈的忌避作用，這是第一次發現植物居然會產生和昆蟲相同的費洛蒙的報告。

三、蹤跡標示費洛蒙

由掠食蟻和白蟻分泌出低持效性的物質。螞蟻 (*Formica rufa* L.) 利用蟻酸作為蹤跡標示，德州切葉蟻 (*Atta texana*) 的主要蹤跡標示費洛蒙則為methyl 4-methylpyrrole-2-carboxylate，至於等翅目之蹤跡標示費洛蒙，*Zootermopsis nevadensis*為 hexanoic acid，*Reticulitermes*為 cis, cis, trans-3,6,8-dodecatrien-1-ol。

四、聚集費洛蒙

化合物或化合物組合能使昆蟲聚集者謂之，谷班皮蠹(*Trogoderma granarium*) 之聚集費洛蒙是 fatty acid esters, methyl and ethyl oleate, ethyl palmitate, ethyl stearate, 和 ethyl linoleate. 西方松小蠹蟲 (*Dendroctonus brevicomis*) 的雌蟲分泌 exobrevicomin, 雄蟲分泌 frontalin 而松樹則分泌 myrcene。這三種成分已經美國的 Albany 國際公司商品化，並在 1970 年開始在加州貝茲湖實驗，結果發現雌蟲在越冬後羽化，先飛出為害松樹，並分泌 ex-brevicomin，此物加上松樹的 myrcene (由松樹的 oleoresin 而來)，可誘引雄蟲，然後雄蟲飛來後分泌 frontalin 加入混合氣體後，即可誘引更多的雄蟲及雌蟲 (使雌蟲比為 1:1)。一旦雌蟲個體夠多或雌蟲比例為 1:2 時，等到交尾後則分泌 verbenone 及 transverbenol 以減少更多的雄蟲飛來。這個防禦機制可以幫助害蟲不會因數目過多而使後代缺少食物被餓



重要蟲生真菌之開發研究 田間防治試驗



田間試驗處理



被施用之白殭菌孢子感染死亡之鱗翅目幼蟲蟲屍



被施用之綠殭菌孢子感染死亡之尺蠖幼蟲蟲屍

死，將誘集費洛蒙使用後，其結果同時告訴我們在松樹被中等為害的情形下，大量施用此法，一年可以誘75萬隻甲蟲，然後維持四年有效，所以防治非常成功，但是在害蟲高密度下則無法達到如此的結果。

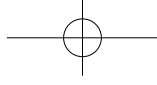
基因轉殖植物在抗蟲上之應用

首先將蘇力菌殺蟲結晶蛋白質基因表現於植物上，而達到防蟲之效果是在1987年。當將菸草天蛾(*Manduca sexta*)初齡幼蟲放置於經轉殖之菸草葉片上，菸草產生足夠之內毒素，足以將之殺死。蘇力菌之殺蟲結晶蛋白基因可借腫瘤農桿菌(*Agrobacterium tumefaciens*)、粒子撞擊(particle bombardment)和電穿孔(electroporation)的方法轉殖入植物染色體，從而產生含殺蟲結晶蛋白基因的轉殖植物。孟山都將cry1Ac基因導入棉花，此基因轉殖之棉栽培品種商品名為Bollgard，對玉米穗蟲(*Helicoverpa armigera*)、菸蚜夜蛾(*Heliothis virescens*)和棉紅鈴蟲(*Pectinophora gossypiella*)有防治效果。含有Bollgard基因的轉殖棉栽培品種NuCOTN33B和NuCOTN35B，在1996年於美國栽培面積達1,800萬畝。

在澳洲，1996~1997轉殖棉花栽種面積大的有8萬公頃。主要為聯邦科學和工業研究組織(CSIRO)透過棉花種子銷售公司所經銷的品種，亦有少數為Delta and Pine Land seed所銷售的品種。

法國國家農業研究院(INRA)為了防治玉米穗蟲和海灰翅夜蛾(*Spodoptera littoralis*)，將蘇力菌結晶蛋白基因和蛋白酵素抑制劑基因轉殖到棉花中，希望含有兩種基因的棉花能延遲或阻止這些害蟲抗性的產生。

將經修飾過cry1Ab基因，於玉米之優良雜交種中表現，能對歐洲玉米螟(*Ostrinia nubilalis*)提供極佳的保護效果。此轉殖玉米與其他表現殺蟲結晶蛋白的玉米不同，因其含有玉米最適化基因(maize-optimized gene)和具組織特異性的啟



重要蟲生真菌之開發研究 防治應用



青蔥甜菜夜蛾
之為害被蟲生
真菌有效控制



農藥所協助台中市政府利用黑殭菌防治行道樹害蟲；華盛頓椰子紅胸葉蟲



動子(tissue-specific promoter)，其cry1Ab蛋白質僅在與防治玉米螟蟲有關的組織中生產。在1996開始商業化的種植，生產種子。

表現cry1Ab基因的轉殖玉米雜交種，於1996年經Mycogen（產品為NatureGard）和Novartis（產品為Maximizer）公司開始售與農民，以防治歐洲玉米螟蟲。但含cry1Ab基因之轉殖玉米雜交種於1997年起才由數家公司大量的提供給農民。美國環保署已准許3種基因轉殖玉米：Mycogen event 176、Norturup King event BT11、和Monsanto event MON 810上市。Mycogen event 176在穗和穗絲上之表現低，而Northrop King event BT11和MON 810因利用CaMV35為啟動子，故整株植物均表現蘇力菌殺蟲結晶蛋白質而有較佳之殺蟲效果。

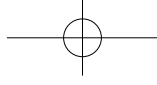
源自擬步行蟲亞種(*Bt tenebrionis*)之經修飾cry3A基因已轉殖到馬鈴薯上。此轉殖之馬鈴薯商品名為NewleafTM，是首次被美國環保署許可上市含蘇力菌殺蟲結晶蛋白基因之轉殖作物，能抵抗科羅拉多馬鈴薯甲蟲(*Leptinotarsa decemlineata*)之為害。

經修飾之cry1Ab基因已轉殖到粳稻，對2種主要害蟲瘤野螟(*Cnaphalocrocis medinalis*)和二化螟(*Chilo suppressalis*)具有抗性。

借腫瘤農桿菌將源自蘇力菌擬步行蟲亞種之殺蟲結晶蛋白基因轉殖至番茄植株上，經轉殖之番茄表現殺蟲蛋白(74kDa)，對科羅拉多甲蟲具有活性。中國大陸之科學家將CMV-cp基因轉殖到番茄，使之能對病毒具抗性，亦轉殖了蘇力菌殺蟲結晶蛋白基因，因而同時對害蟲也具抗性。

利用微彈丸撞擊(microprojectile bombardment)，將合成之cry1Ac基因和與HPH基因相連之35S啟動子基因，轉殖到大豆植株上。這些植株對玉米穗蟲、大豆夜蛾(*Pseudoplusia includens*)、菸芽夜蛾和黎豆夜蛾(*Anticarsia gemmatilis*)呈現不同程度之抗性。

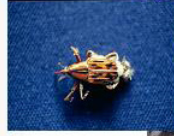
豇豆(cowpea, *Vigna unguiculata*)之胰蛋白酵素抑制劑基因(Cowpea trypsin



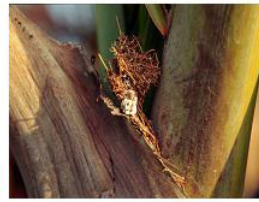
重要蟲生真菌之開發研究 防治應用



利用綠殭菌防治
蓮花斜紋夜蛾



利用白殭菌防
治棕櫚象鼻蟲



inhibitor gene, CpTI)已被分離出來，且經選殖轉入許多作物，能對抗害蟲之為害。譬如轉殖入菸草以防治菸芽夜蛾，馬鈴薯和番茄以對抗番茄蛾(*Lacanobia oleracea*)，稻米對抗大螟(*Sesamia inferens*)和二化螟(*Chilo suppressalis*)，草莓以對抗葡萄黑耳喙象(*Otiorrhynchus sulcatus*)，萵苣以對抗澳洲日野黑蟋蟀(*Teleogryllus commodus*)，油菜以防鞘目害蟲，蘋果以防蘋果蠹蛾(*Cydia pomonella*)。

番茄抑制劑II基因表現於菸草，番茄抑制劑II和馬鈴薯抑制劑II基因(POT-II)於菸草和樺樹，腺花翼菸草(*Nicotiana alata*)蛋白酵素抑制劑基因(NaPI)於菸草，以及來自水稻之半胱氨酸蛋白酵素抑制劑基因(OC-I)和來自大豆之雙頭絲氨酸蛋白酵素抑制劑基因(CII)，於油菜和白楊均能對害蟲之攻擊具抗性。

嵌合型豆凝集素基因(Chimeric pea lectin gene, P-Lec)，轉殖到菸草，可抵抗菸芽夜蛾之攻擊。石蒜科雪花蓮凝集素 (*Galanthus nivalis* GNA)對同翅目之害蟲有頗高之活性。GNA對褐飛蟲(*Nilaparvata lugens*)和黑尾葉蟬(*Nephotix cincticeps*)非常有效，對蚜蟲亦有效，能減低桃蚜 (*Myzus persicae*)之生長速率和降低雌蟲之產卵率。

能產生GNA之基因已轉入數種作物，轉入馬鈴薯後能抵抗馬鈴薯蛾為害，亦能防治馬鈴薯蚜蟲(*Aulacorthum solani*)。若將GNA基因與具韌皮部專一性之表現基因(phloem-specific expression gene)連結，對同翅目防治效果有顯著之增加。

源自四季豆(*Phaseolus vulgaris*)之 α -澱粉酵素抑制劑(α -amylase inhibitor)引入馬鈴薯和豆類，能抵抗害蟲之攻擊。經轉殖之菸草對球莖夜蛾(*Agrotis ipsilon*)具抵抗性。在澳洲CSIRO昆蟲組之研究人員，成功地將來自玉米穗蟲矮化病毒(H. armigera, stunt virus)之基因物質引入菸草和燕麥原生質體(protoplast)，下一步則包括將病毒基因引入整株植物。將昆蟲病毒基因表現於植物中，以前並無報導，此種嘗試能克服昆蟲病毒在田間作為生物防治劑之限制。此外，利用控制植物之二次代謝之基因來轉殖作物，亦是可行之方向。又，將編譯(coding)具不同作用機制之蛋白質基因堆積(stack)，可呈現較佳之殺蟲效果。將經CpTI轉殖之菸草和經豆凝集素基因轉殖之菸草交配，可將CpTI和豆凝集素基因結合，其害蟲損失可降低90%，而單獨之轉植株則僅降低50%。將CpTI和 Bt表現基因結合亦在於菸草上呈現協力之效果。將馬鈴薯中堆積GNA和豆類幾丁質酵素(bean chitinase)，亦能顯著地增加對馬鈴薯蚜蟲之保護效果。



蘇力菌菌種生物技術檢驗

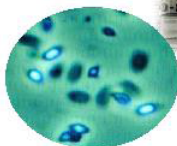


開發本土性蘇力菌殺蟲劑

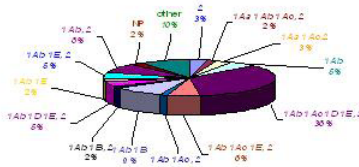
篩選及鑑定台灣蘇力菌

Screening of new *Bacillus thuringiensis* strains and identification of their genes

顯微鏡下的蘇力菌孢子和毒蛋白結晶



發掘具有開發價值之本土性蘇力菌菌株及新穎殺蟲基因，已蒐集分離鑑定保存超過923 菌株



923株本土分離之蘇力菌中各菌株含*cry1A2*-type基因之組合情形及其比率

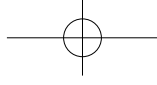


生物農藥之新進展

生物農藥被認為是綠色農業有害生物管理上，不可或缺的組成分。由於現代生物技術之廣泛應用，更為生物農藥之研發，開啟一個嶄新的視野。這些生物農藥的新進展，包括多功能蘇力菌之開發、新型微生物蛋白質製劑、兼具殺蟲殺菌殺線蟲功能的異小桿線蟲共生細菌—光桿菌及白殭菌植物內生定殖和植物病蟲害防治。

一、多功能蘇力菌 (Polyvalent *Bacillus thuringiensis*)

蘇力菌 (*B. thuringiensis*) 除了會產生內毒素也就是殺蟲結晶蛋白質 (δ -endotoxin or insecticidal crystal protein, ICP) 而具有殺蟲效果，並調製成產



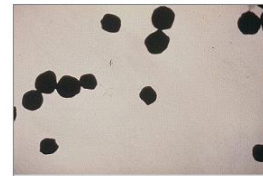
品上市外，還具有許多其他的功能，包括具有殺蟲效果的營養期殺蟲蛋白（vegetative insecticidal protein, Vip），本身具有抑菌效果尚能提升殺蟲結晶蛋白之殺蟲效果的雙效菌素（zwitermicin A）及幾丁質酶（chitinase），此外，酰基高絲氨酸內酯酶（acyl-homoserine lactonase, AHL-lactonase）與細菌素（bacteriocin）及庫斯塔基胜肽（kurstakins）亦具有殺細菌之效果。上述之活性物質，值得進一步開發成兼具殺蟲抑菌功能的蘇力菌產品。

二、新型微生物蛋白製劑（Microbial protein pesticide）

新型微生物蛋白製劑主要是蛋白質激發子類（protein elicitor）之物質，其不直接滅病蟲害，而是激發植物本身抗病防蟲的基因表達，並促進植物生長。其中較具代表性的有過敏蛋白（harpin），隱地蛋白（cryptogin）及激活蛋白（activator）。

某些植物病原菌能產生過敏蛋白，由康乃爾大學的魏忠民等人（1992）發現，為酸性，熱安定，富甘氨酸（glycine），細胞外蛋白（extracellular protein）由403個氨基酸組成（無胞嘧啶核苷，cysteine），其分子量為40kDa，是由解澱粉軟腐菌（*Erwinia amylovora*）產生，能引起植物產生過敏反應的蛋白質。美國EDEN Bioscience，進一步研究此過敏蛋白，並開發成商品化的產品Messenger®。隱地蛋白是由隱地疫病（*P. cryptogea*）所分泌，已被純化，解序和特性化，並訂名為一種激發素（elicitin），是一種具10kDa分子量全蛋白（holoprotein）的新穎科（novel family）。隱地蛋白在極低濃度下就可誘導菸草產生過敏性反應，並使植株獲較大範圍的抗病性，同時會產生與防禦性反應相關的物質如乙烯、植物保衛素（phytoalexin）、發病機制相關蛋白（pathogenesis-related proteins）等。從鏈格孢屬（*Alternaria* spp.）、立枯絲核菌（*Rhizoctonia solani*）、麴菌（*Aspergillus* spp.）、灰黴菌（*Botrytis* spp.）、稻熱病（*Piricularia oryzae*）、青黴菌（*Penicillium* spp.）、木黴菌（*Trichoderma* spp.）和鐮胞菌（*Fusarium* spp.）等多種真菌中篩選分離純化出一種新型蛋白。根據其作用機制，將此蛋白命名為激活蛋白（activator）。

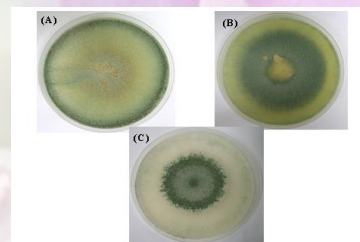
核多角體病毒



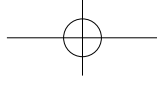
受甜菜夜蛾核多角體病毒感染之潮死甜菜夜蛾幼蟲



田間觀摩會後之討論



不同木黴菌分離株生長於PDA培養基上之形態。(A) TA-258；(B) TA-212；(C) TA-29



三、具殺蟲、殺菌及殺線蟲功能的光桿菌

光桿菌 (*Photorhabdus luminescens*) 屬於腸內桿菌科 (Enterobacteriaceae)，為革蘭氏陰性，可發出冷光 (bioluminescent) 的桿菌細菌，可與嗜菌異小桿線蟲 (*Heterorhabdits bacteriophora*) 共生。2005年首度篩獲本土異小桿線蟲—短尾異小桿線蟲，接著自線蟲體內採集、分離與篩選光桿菌菌株，已有15株共生細菌已經依細菌的形態、生化試驗與16 S rRNA等方法，確認為本土光桿菌菌株 (*P. luminescens* subsp. *akhurstii*)。由試驗結果得知分子量大於100kDa的毒蛋白複合體對於小菜蛾和大蠟蛾的半致死濃度分別為56 ppm與200 ppm，顯示其具有顯著殺蟲效果，甚至不亞於市售蘇力菌商品。另有報告顯示光桿菌 (*P. luminescens* subsp. *laumondii*) 之GPS12及GPS11品系，對洋菇害蟎 (*Luciaphours* sp. 矮蒲蟎科) 雌蟎能造成很高的致死率 (Bussaman *et al.*, 2006)。又，光桿菌 (*P. temperata*) 對西方薊馬和蔥薊馬均有良好的殺蟲活性 (Gerritsen *et al.*, 2005)。尤其對於玫瑰灰黴病菌、檬果炭疽病菌、蘋果褐斑病菌、甜椒疫病菌具有相當顯著抑菌效果。其中，我們也針對檬果炭疽病菌進行檬果生物檢定 (bioassay)，證實光桿菌菌液有良好的防治效果。也有研究發現光桿菌的抗生物質可以殺死松材線蟲 (Hu *et al.*, 1999)。

四、白殭菌 (*B. bassiana*) 之植物內生定殖 (endophytic colonization) 和植物病蟲害防治

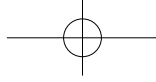
將分離自叩頭蟲之白殭菌 (*B. bassiana* 11-98) 施用到番茄和棉花種子時，可於其幼苗產生植物內生定殖，並可保護其不受立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani*) 和落花生凋萎病菌 (*Pythium myriotylum*) 等植物病原為害。白殭菌11-98可誘導棉花對細菌性斑點病 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) 產生系統性抗病性，(systemic resistance)。又，白殭菌亦能於玉米產生植物內生定殖，對歐洲玉米蟲具殺蟲之功效 (Wagner and Lewis, 2000)。類似的研究亦指出白殭菌G41能於香蕉植株內產生內生定殖，可以防治香蕉球莖象鼻蟲 (*Cosmopoties sordidus*)。

結論

長久以來由於對化學殺蟲劑的過份依賴及不當使用，造成許多副作用，包括對環境的污染，有害生物抗藥性產生，對非標的生物的傷害，殘毒問題和對人的危害和生態的平衡的破壞，罄竹難書，因此，要降低對化學殺蟲劑的依賴性或整合性之植物保護策略，不失為可行之道。所謂的整合性作物保護是以作物生產系統為主體，整合應用病、蟲、草、鼠等有害生物的防治技術，使其成為可行性的、整套的作物保護技術。強調防治技術之整合，必需合乎生態平衡原則，和妥善應用系統性

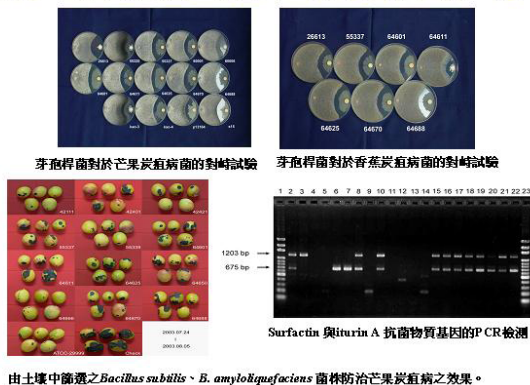


未處理木黴菌(左圖)及處理TA121木黴菌(右圖)之小黃瓜生長比較



的管理技術，以期安全、經濟、有效地防治有害生物。因此，整合性作物保護事實上是以整合性有害生物管理為基礎。所謂整合性有害生物管理，是針對有害生物進行系統性管理的體系，以農業生態系之整體作考量，以預防為主，充分發揮自然控制因子的作用，並因時因地制宜，協調應用安全、經濟和有效措施，將有害生物的棲群控制在經濟為害限界之下，期兼顧社會和經濟效益、環境品質，並確保農業之永續利用。

台灣枯草桿菌資源調查及研發應用—菌株蒐集與篩選方法之建立

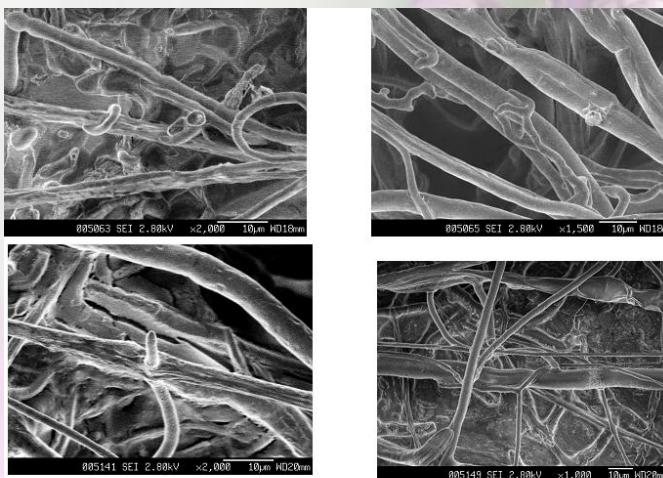


由土壤中篩選之 *Bacillus subtilis*、*B. amyloliquefaciens* 菌株防治芒果炭疽病之效果。

整合性有害生物管理的基本原則：

- 一、整合性有害生物管理是以生態學為基礎，故需考慮到農業生態系的複雜性和穩定性。對害物與作物、天敵、環境間之相互關係要有通盤瞭解，使防治措施對農業生態系的衝擊減低至最少。
- 二、有容忍和共存共榮的觀念。由徹底消滅害物的策略應用發展到系統化的科學管理，釐訂關鍵害物的經濟為害界限，把害物控制在經濟為害水準以下，並不趕盡殺絕，可降低防治成本，並達到充分利用自然控制因子的調節作用。
- 三、防治對象和防治策略要有整體性和系統性之考量。防治對象範圍廣，包括病、蟲、草、鼠和其他有害生物，害物之間又有相互影響的特性，針對各別的有害生物所實施的防治措施，對整體系統會產生不同大小的影響。因此，要選擇和整合各項防治方法，使這些方法的協調和運用能夠達到最化，減少顧此失彼，相互抵消的缺失。
- 四、強有害生物的監測系統。發展診斷技術和調查技術與資訊系統，進行有害生物之預測和預報。
- 五、制用藥，合理地使用化學農藥。必要時選擇具有高度選擇性、生物分解性之藥劑，以免誤傷天敵和破壞生態環境。

整合性作物保護是符合永續農業的植物保護策略。作物病蟲害種類繁多，其生態各異，防治技術也多樣，應將這些資訊、知識與技術，以作物為核心加以整合，經過評估，使成整套的作物保護措施，供農民使用。當前作物保護的發展應以非農藥防治技術和生物藥劑為主，合理安全使用化學藥劑為輔的整合性病蟲害防治策略，以便能標本兼治。



TA121木菌可纏繞、穿透疫病菌之菌絲