



## 蘇力菌及其應用

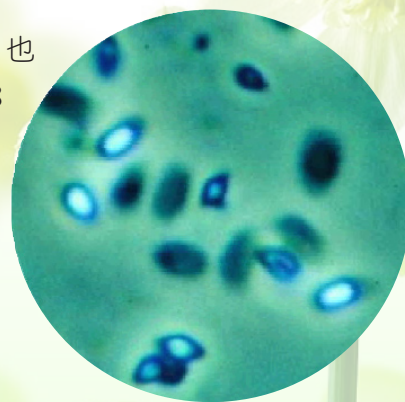
郭雪、曾經洲  
行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 研究員

### 前言

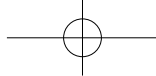
歷經幾十年的歲月，化學農藥的開發應用，的確曾經為糧食的增產及環境衛生，立下不可磨滅的功勞，但也相對的留下許多副作用的問題，然而植物保護的需要和環境安全立場，仍均要兼顧不可偏廢。雖然現行農藥審查的制度，其中除了藥效、理化性質要件外，還需通過農藥對環境安全評估，包括環境影響試驗，及非目標生物毒性試驗，目的是農作物無農藥殘留，環境中的非目標生物或其他成員，不受農藥毒害或污染，然而全球物質經濟及人文社會發達的國家，除了追求飲食健康外，安全、無農藥污染的環境，逐漸為大家所渴望與努力追求。希望以前隨處可見的鳥飛、蝶舞、魚游，還有蟲與蛙的合鳴，能重新回到生活的周遭，讓生命更能回到自然生態系中，與大自然融成一體，簡化的物質生活，但卻能享受大自然豐富的精神生活，讓生命不是在水泥叢林中空白走一回。因此在台灣，完全不使用化學農藥及化學肥料的有機農業，或講求農作物無農藥殘毒的「吉園圃」標章、「生產履歷」制度等逐漸暢行，政府更將「安全農業」訂為重要農業政策，積極推動著，其一重點即是要求化學農藥逐年減量使用，因此屬於天然物的資材，重新被重視，其中微生物資源的蘇力菌，更為主要之角色。

### 蘇力菌產品

「蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)」是一種微生物，也是一種成熟的生物性農業用植物保護藥物產品名稱，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，包裝及使用方法如其他農藥一般，其包裝內含有這一種細菌的孢子及殺蟲結晶毒蛋白。目前我國有多種防治鱗翅目害蟲或雙翅目害蟲的產品上市，可供選擇。



顯微鏡下的蘇力菌孢子和殺蟲毒蛋白晶體



## 蘇力菌的安全性

蘇力菌是一種昆蟲病原細菌，會產生殺蟲結晶毒蛋白，結晶毒蛋白具有專一性的殺蟲效果，並且對目標昆蟲以外的生物完全無傷害，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選擇，一直是有害生物綜合管理較佳的防治方法。使用蘇力菌無安全採收期之限制，可隨時採收，是一種安全又無殘毒，又環保的植物保護劑，對於講求不使用化學性農藥的有機栽培，蘇力菌是目前唯一通過農藥管理註冊登記之生物性殺蟲劑。一般作物栽培，在作物生長早期，即可單獨使用，到了栽培後期，尤其接近採收期時，更要為確保果蔬安全無殘毒，避免使用化學藥劑，而使用無殘毒的蘇力菌。蘇力菌產品對人、牲畜、鳥類這些高等動物，以及其他昆蟲等並無毒性。對脊椎動物無胃毒，尤其哺乳動物的胃酸可以破壞之；孢子不會在肺中發芽，不會造成病害，大量吸入時所造成的反應，僅如同一般無害異物粒子大量入侵之反應。

## 蘇力菌之特性

蘇力菌在1911年由德國人Thuringia在地中海粉螟(*Ephestia kuehniella*)幼蟲體內，分離出致病的病原菌。於1915年把這種造成昆蟲生病的細菌命名為蘇力菌。它是一種昆蟲病原細菌，在分類上為革蘭氏陽性(Gram-positive)桿狀細菌，其形態大小長約3-5  $\mu\text{m}$ 、寬約1.0-1.2  $\mu\text{m}$ ，大部分為桿狀，具運動性。在生長週期末段或養份缺乏、環境不良時，進入不分裂半靜止期，產生休眠性的孢子(endospores)，除了孢子外，在孢子的旁邊同時形成殺蟲結晶蛋白(insecticidal crystal protein, 或稱 $\delta$ -endotoxin, 簡稱ICP)，對昆蟲具有毒殺能力，其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(receptor)的專一性有關，不同的殺蟲結晶蛋白，會辨識不同的結合位置，因此殺蟲之對象亦不同。目前主要應用在害蟲防治對鱗翅目(Lepidoptera)、雙翅目(Diptera)、鞘翅目(Coleoptera)有效殺蟲結晶蛋白基因。另外，分析其殺蟲結晶蛋白晶體形狀及分子量，有呈雙金字塔形(bipyramid)，殺蟲結晶蛋白分子量大小介於130~140 KDa之間；呈立方體形(cuboid)，殺蟲結晶蛋白大小介於70~75 KDa之間；呈雙金字塔形或不規則形(amorphous)，殺蟲結晶蛋白大小介於70~75 KDa之間及呈橢圓形(ovoid)等形狀。



## 蘇力菌作用機制

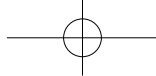
其作用機制為昆蟲幼蟲食入蘇力菌殺蟲結晶蛋白時，在中腸高鹼性下溶解和蛋白(protease)的作用，使具有活性片段(active fragment)和構造片段(structured fragment) 130-140 kDa的前毒素(pro-toxin)，活化成60-70 kDa的毒素(toxin)。經活化後的毒素與中腸上皮細胞刷邊緣膜之高親和性接受器結合。隨後毒素插入質膜，造成孔洞(cation pore)，導致滲透壓失調(osmotic imbalance)，細胞腫脹、解離，中毒的昆蟲進食減緩，終至死亡。

蘇力菌在芽孢形成期間除了可產生 $\delta$ -內毒素殺蟲晶體蛋白外，近年研究發現，在芽孢對數生長期存在著大量表現的可溶性胞外蛋白，即營養期殺蟲蛋白(Vegetative insecticidal protein, Vips)，該蛋白對鱗翅目、鞘翅目昆蟲幼蟲具有殺蟲效果。其殺蟲機制，目前並未完全了解，對昆蟲幼蟲引起的症狀與殺蟲結晶蛋白質類似，但作用機制完全不同，主要為是因毒蛋白在低於pH 7.5時即可溶解，進而毒蛋白與目標昆蟲幼蟲表皮柱狀細胞結合，造成細胞崩解，引發腸道受損，昆蟲停止進食而死亡。

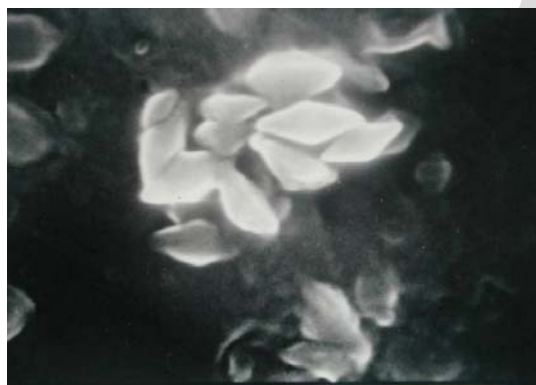
## 蘇力菌之分佈

蘇力菌為自然界中存在於土壤裡的微生物，世界各地皆有其蹤跡，分布甚為廣泛。自從1911年，分離出致病的蘇力菌病原菌後，許多學者陸續在自然環境中尋找蘇力菌，舉凡在農田、盆地、高山土壤、岩石；淡水、海水、雪水；昆蟲的棲所及罹病幼蟲；鼠類腸道和哺乳類排泄物；穀倉的沉積土、灰塵、穀粒、鳥類巢穴、蝙蝠巢穴、鳥糞、蟲糞均可分離到，除此之外，在常見的經濟農作物(玉米、高粱、稻穀、甘蔗、大豆、豌豆、咖啡、可可、桃子、芒果、木瓜、檸檬、蕃茄、甘藍、南瓜、洋蔥、結球甘藍、胡蘿蔔等)及苔蘚類植物、雜草、闊葉樹、針葉樹之葉表、樹皮也蘊藏著富豐的蘇力菌。

在自然環境中，不同來源之蘇力菌，及其對昆蟲的防治效果，存在著相互關係。由玉米倉儲粉塵內，可篩獲對*Helicoverpa armigera*(玉米穗蟲)、*Spodoptera exigua*(甜菜夜蛾)、*S. littoralis*(斜紋夜盜)、*S. frugiperda*(秋行軍蟲)、*Culex pipiens*(熱帶家蚊)、*Aedes aegypti*(埃及斑蚊)有毒性之蘇力菌分離株。在土壤及水中可篩獲，對秋行軍蟲、*Plutella xylostella*(小菜蛾)產生毒效之蘇力菌分離菌株。而在玉米及大豆葉表可分離到，分別對秋行軍蟲、熱帶家蚊(*Culex quinquefasciatus*)有毒性之蘇力菌菌株。另外，在土壤也可篩



獲，對斜紋夜盜、熱帶家蚊有毒效之蘇力菌菌株。在小型植物蕨苔類也可篩獲，對蚊類 (*Aedes albopictus*) 具有高活性表現之蘇力菌菌株。



電子顯微鏡下的蘇力菌殺蟲毒蛋白晶體

### 蘇力菌殺蟲結晶蛋白之應用

自從發現蘇力菌殺蟲結晶蛋白質具有抗蟲活性後，以商品化的蘇力菌製劑在市場上隨處可見。在研製過程直接以發酵槽的方式大量培養，再經由濃縮、調配形成製劑，其商品化蘇力菌包括殺蟲結晶蛋白質及孢子之混合物。當殺蟲結晶蛋白質，不混合孢子單獨使用時，其生物活性明顯降低；而經純化之殺蟲結晶蛋白質中加入孢子，以1:1方式混合，則可發現殺蟲晶蛋白質的毒性，高於只混合0.01%之孢子量時，增加三倍多的毒效。由自然界分離篩選到之野生菌株，對鱗翅目(玉米穗蟲、甜菜夜蛾、斜紋夜盜、秋行軍蟲、小菜蛾)幼蟲，可表現其殺蟲毒性外，利用生物技術改造蘇力菌，也可將蘇力菌殺蟲結晶蛋白基因表現在植物上，舉凡煙草、棉花、馬鈴薯、玉米、小麥和大豆等，以抵抗不同種類之昆蟲侵害，而這些抗蟲基因轉殖作物(transgenic plant)的發展，可減少化學農藥的使用。然而，過度栽種轉殖基因的農作物，亦會導致害蟲抗性的產生，及對非目標昆蟲、土壤、植物授粉或昆蟲的生理、行為及族群動態造成影響。

### 本土蘇力菌的研發

台灣的蘇力菌與其他生物一樣，因地理、氣候等因素，具有特別高的生物多樣性，行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所(藥試所)多年來從事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上千菌株。諸多菌種不僅為古園圃及有機農業預備更多的可用素材，更為目前抗蟲基因改造蘇力菌或作物提供更多可供利用的基因。研究成果顯示，本土蘇力菌菌株大部分帶有異於進口蘇力菌之複雜的殺蟲結晶蛋白基因組合，並且其中許多菌株在生物活性上甚至更優於外來菌株，因此值得開發使用。其中已有完全開發完成之菌株及相關技術，技術移轉給業界，進行註冊登記及商業化量產。

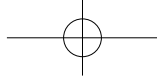


除了直接醱酵量產為本土之蘇力菌產品，也進一步經由基因轉殖的技術，將蘇力菌殺蟲基因加以重組、改造，以應付對某些蘇力菌殺蟲基因產物已產生抗性的昆蟲，及增廣殺蟲範圍。農業藥物毒物試驗所從本土分離株選殖殺蟲毒蛋白基因，送回蘇力菌表現良好的殺蟲活性；並與中興大學分生所合作，開發蘇力菌殺蟲基因轉殖草生軟腐菌，產生既可殺蟲，又可抗菌，同時延長藥效之安全、無殘毒顧慮的新型生物性植物保護劑。另也利用所建立之生物技術，執行市售蘇力菌商品之品質管制檢驗，協助行政單位有效管理，以維護市售蘇力菌商品品質。

### 蘇力菌具有以下之特性，田間使用應注意以下幾點：

- (一)效果比化學農藥稍慢。蘇力菌在田間應用時，因毒素為非接觸性毒效，需要被昆蟲吃下進入中腸，在高鹼性下才會被活化，但一旦活化發生作用，中毒的昆蟲很快就停止取食，呈現麻痺狀，雖未見立即死亡落下，但也不再為害作物。
- (二)下午傍晚時施用。蘇力菌本身怕日光照射，易受紫外線破壞。紫外線在中午11點至下午2點間最強，因此除非是陰天，否則晴天應在午後3、4點以後，亦即黃昏時刻，使用較恰當，尤其是夏天及紫外線指數偏高的地區，以免蘇力菌受日光的紫外線破壞而失去毒效，使用後夜晚來臨時，害蟲出來取食就中毒。
- (三)幼蟲繼續發生時持續使用。因施藥後的每日，殘留在葉片的蘇力菌，仍會受日光、溫度等環境因子的影響，在日曬下3、4天即迅速失效，不像一般化學性殺蟲劑，普遍地殘效性較長。又因蘇力菌對昆蟲成蟲沒有毒效，又沒有殺卵效果，使用後成蟲仍會繼續產卵，而且卵也會繼續發育，又有幼蟲孵化出來時，應該再使用。
- (四)添加展著劑使用。一般蘇力菌產品製劑，不含展著劑成份，因此在做葉部噴灑時需添加展著劑使用，增加蘇力菌在葉片上之附著，使昆蟲更容易取食到，殺蟲效果會較好。





- (五)施用時勿沉澱。蘇力菌產品在水中呈懸浮狀，噴施使用中，應繼續搖動或攪拌，以維持有效成份的均勻懸浮，增加分散之效果。
- (六)蘇力菌要保存在陰涼處，才不會迅速失效，若能低溫冷藏保存，則藥效更可以獲得最佳的保持。
- (七)蘇力菌不具移行性，不能滲透入植物組織，要對付葉部害蟲，不能由根際施藥，除非是對付根部地下害蟲。
- (八)可以和天敵配合來使用。蘇力菌具專一性，只對付某類昆蟲，不會傷害其他生物，像寄生性的寄生蜂、捕食性的草蛉等害蟲的天敵，蘇力菌和天敵可以互相配合達成綜合防治(IPM)之目的。





豐收的喜悅

