

本土白殭菌(*Beauveria bassiana*)菌株之特性 差異比較

蔡勇勝、楊芃蒞、洪德惠、高穗生*

台中縣霧峰鄉 行政院農委會農業藥物毒物試驗所生物藥劑組

(接受日期: 2006 年 6 月 15 日)

摘 要

蔡勇勝、楊芃蒞、洪德惠、高穗生* 2006 本土白殭菌 (*Beauveria bassiana*) 菌株之特性差異比較 植保會刊 48 : 117 – 128

本土不同白殭菌(*Beauveria bassiana*)菌株之菌絲生長對溫度反應頗為一致，最適溫均在 24℃，次為 28℃ 或 20℃。供試菌株中以編號 Bb-2 菌株表現最佳，在各不同溫度處理中均以其菌落最大。在 28℃ 下，24 小時，所有菌株之孢子發芽率可達 90% 以上，但在 20 小時進行比較，菌株間之孢子發芽情形則有明顯之差異。另外，菌株產孢能力差異極大，產孢量最高與最低者差達 4 百餘倍，由高而低依序為 Bb-1、Bb-2、Bb-3、Bb-4、Bb-5、Bb-6、Bb-7、Bb-8。菌絲產量之高低順序為 Bb-2、Bb-6、Bb-7、Bb-5、Bb-3、Bb-4、Bb-8、Bb-1。在酵素活性反應試驗中，Bb-1、Bb-2、Bb-5、Bb-7、Bb-8 等菌的脂肪分解酶(lipase)活性明顯較 Bb-3、Bb-4、Bb-6 強。澱粉酶(amyase)之作用則以 Bb-1、Bb-2、Bb-4 較佳，Bb-8 最差。蛋白酶(protease)活性以 Bb-1、Bb-7 兩菌株最高，次為 Bb-6，Bb-5 及 Bb-8 菌株再次之，最差為 Bb-3。在 10^7 conidia/ml 濃度下，Bb-2、Bb-6、Bb-7、Bb-8 菌株可使 99% 以上之供試三齡小菜蛾(*Plutella xylostella*)幼蟲罹病死亡，Bb-3、Bb-4、Bb-5 三株菌僅分別有 50.2、51.9 與 46.5% 之幼蟲死亡率。白殭菌對四齡甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)幼蟲之病原性極強，除 Bb-7 菌株所引起之幼蟲死亡率不及 50% 外，其餘各菌株均達 90% 以上。田間防治試驗結果發現 Bb-1、Bb-2、Bb-8 三菌株可使小菜蛾蟲數在處理一週後明顯降低。Bb-3 菌株處理區小菜蛾蟲數雖未減少，但亦無明顯增加，處理組與對照組比較，均有顯著的防治效果。但平均每棵甘藍之重量，僅 Bb-8 菌株處理組較對照組及其他處理組重。以紫外線處理菌絲，八菌株中有 Bb-1、Bb-2、Bb-3、Bb-4 四菌株在經中波長紫外線(312nm, 600 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$)處理 8 小時後仍可生長，另四菌株則完全受抑制，差異頗大。

(關鍵詞：白殭菌、甜菜夜蛾、小菜蛾、紫外線)

* 通訊作者。E-mail: sskao@tactri.gov.tw

緒 言

白殭菌(*Beauveria bassiana*)為重要蟲生真菌之一，可感染寄主達 700 餘種⁽²⁴⁾，對多種農業重要害蟲亦具強病原性及防治潛力^(4, 6, 12, 13, 15, 28)；本省曾嘗試於防治甘藷蟻象(*Cylas formicarius*)^(12, 13)、亞洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)^(4, 15)、甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)⁽⁶⁾和大豆細緣椿象(*Riptortus linearis*)⁽¹⁹⁾等研究，證實該菌對此等害蟲具極高之致病率。中國大陸更進行大規模量產^(2, 5)，成功地防治 40 種以上之害蟲，每年防治面積最高達 2000 餘萬畝⁽²⁾，顯示此菌極具利用價值。惟白殭菌菌株間病原性存在差異^(9, 22)，強弱甚有百倍之差⁽⁷⁾，潘與鄭⁽⁸⁾更指出菌株表現有區域性之不同，地區分離株對當地害蟲有較高的防治作用。能否以蟲生病原真菌成功防治害蟲，優良菌株及高致病力品系之篩選是最重要之先驅工作，以活體進行生物檢定，雖為篩選強病原性菌株最直接之方法，但進行生物檢定所需投入時間、人力過於龐大，加上部分害蟲無法在實驗室大量繁殖，行活體生物檢定之篩選工作有其限制和困擾，有建立快速檢測方法取代之必要。文獻中提到許多生理、生化特性與蟲生真菌之病原性有關^(14, 16, 25)，其中發芽率、生長速率更被認為是優良菌株之篩選指標^(3, 11)。本研究即以實驗室之白殭菌分離株，進行生理、生化及病原性測試，並以田間防治試驗配合比較，初步評估以簡易生理、生化測試篩選優良菌株之可行性。

材料與方法

供試菌株之培養

供試菌株由國內各地採集分離所得，以 V8 (800 ml 無菌水添加 1 g CaCO_3 、200 ml V-8 juice 及 20 g Agar powder)斜面培養，置於 24°C 恒溫箱(12L:12D)，待其產

孢後，置於 4°C 冷藏保存。

菌株菌絲生長、產孢量及發芽率之比較

(一)溫度對菌絲生長及產孢量影響測試

以加 Total Wett (BASF 公司產品，主成份為 Alkyl-aryl-polyglycol ether) 1,000 倍之無菌水，將培養 14 天之不同白殭菌菌株孢子由 V8 斜面洗出，各配製成濃度為 10^7 conidia/ml 之孢子懸浮液，取 5 μl 滴於直徑 0.6 cm 濾紙，再將濾紙置於直徑 6 cm 內含 5ml V8 培養基平板上，放在不同溫度之恒溫箱。菌絲生長測試部分測試溫度有 12、16、20、24、28、32°C 等，並在培養 9 天後取出量其菌落。對產孢量影響試驗，僅在 20、24、28、32°C 等四個溫度下進行，經培養 9 天後取出平板，以經濾紙過濾之無菌水(含稀釋 1,000 倍之 Total wett) 將孢子洗出，在顯微鏡下以血球計數器計算其總數。每處理各有 6 重複，並重複 3 次試驗。

(二)發芽率測試

同(一)之方法配製各菌株孢子懸浮液，取 5 μl 滴於 WA (1000 ml 無菌水含 20 g Agar powder)平板(每平板三點)，置於 12、16、20、24、28、32°C 恒溫箱，在 8、12、24、36 小時取出以棉藍固定，鏡檢計算發芽率。由試驗所得結果，選擇以 28°C 培養 20 及 24 小時後進行各菌株發芽之比較。

(三)菌絲產量之比較

以 250 ml 三角瓶內裝 50 ml V8 液體培養基，滅菌後加入 50 μl 孢子懸浮液(濃度為 10^7 conidia/ml)，在 28°C 振盪培養(轉速 200 rpm)，經 9 天後過濾烘乾稱重。

(四)酵素活性測定

以 Hankin and Anagnostakin⁽¹⁸⁾開發出之方法，配製測試澱粉酶(amylase)、脂肪分解酶(lipase)、蛋白酶(protease)活性之培養基，每直徑 6 cm 培養皿內裝 5 ml，再接種各菌株之孢子懸浮液，其接種法、接

種量、接種濃度、重複數同(一)，於培養 9 天後比較其酵素作用圈(degradation zone)。

致病力之測定

供試害蟲為小菜蛾(*Plutella xylostella*)與甜菜夜蛾，分別以葉面噴佈及浸漬法接種，測試濃度為 1×10^7 conidia/ml。小菜蛾以葉面噴佈法接種，利用噴藥塔將 2ml 之孢子懸浮液均勻噴佈於直徑 5 cm 之甘藍菜葉(先噴 1ml 於葉片之一面，陰乾後再處理另一面)，待其陰乾後再行接種三齡小菜蛾幼蟲，每處理 50 隻，並重複三次試驗。甜菜夜蛾則以浸漬法行接種，將滿天星浸於白殭菌孢子懸浮液 30 秒，取出置於鐵絲網上陰乾後接種四齡甜菜夜蛾幼蟲，接種蟲數及重複數同小菜蛾處理。接種後之蟲隻置於 24℃ 恒溫箱中(光照 12L：12D、濕度 70±5%)，每日取出記錄死亡蟲數，所得供試蟲體之死亡率經以無菌水處理之對照組校正後，進行比較分析。

田間防治試驗

田間試驗採逢機完全區集設計，小區面積 $2.5 \text{ m} \times 6 \text{ m} = 15 \text{ m}^2$ ，每小區作 2 畦種 4 行，每行種 12 棵初秋甘藍，4 重複。在定植後 4 週選擇菌絲生長較佳之 Bb-1、Bb-2，和具中等生長速率但對小菜蛾具強病原性之 Bb-8，及生長慢對小菜蛾病原性也不強之 Bb-3 等四株白殭菌進行防治試驗，每週施菌一次，濃度為 3×10^7 conidia/ml。在每次處理前及最後一次處理後 7 天，由每重複中間兩行取 20 棵甘藍調查小菜蛾幼蟲數及所有鱗翅目害蟲幼蟲數，並在最後一次調查後砍下甘藍稱重。

紫外線影響測試

取 1 ml 濃度 10^8 conidia/ml 之孢子懸浮液滴於滅菌過之玻片上，在無菌操作台內風乾，經波長 312 nm (強度 $1200 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) 紫外線處理 4、8 小時後，再以無菌水稀釋

10 倍後測其孢子發芽率(方法同(三)項)。又從對孢子發芽影響之測試結果，改以相同波長一半強度紫外線進行對菌絲生長影響測試：先以 V8 培養基平板在高濕度條件(接種後平板置於封口袋內，並在袋內添加無菌水，使其維持高濕度狀態)培養各菌株九天，使平板長滿菌絲，再以直徑 0.5 cm 打孔器取外圍菌絲塊進行紫外線處理，處理後之菌絲塊再以鑷子移入 V8 培養基平板中心，觀查其生長情形。每處理 6 重複，並重複 3 次試驗。

結 果

菌株菌絲生長、產孢量及發芽率之比較

(一)溫度對菌絲生長及產孢量影響測試

供試八菌株之菌絲生長最適溫頗為一致，除 Bb-2 菌株在 24℃ 與 28℃ 均能長出最大菌落外，其餘各菌株之菌絲生長最適溫均在 24℃，次為 28℃、20℃，但菌株間之菌落大小則有明顯差異，其中以 Bb-2 菌株表現最佳，在各不同溫度處理中其菌落均為最大(在 12℃ 處理另有 Bb-7 菌株也長出直徑 1.3 cm 之菌落)。若以各菌株最適溫為基準，比較從最適溫到高溫 32℃ 或低溫 12℃ 處理菌落直徑減小程度之差，發現 Bb-1、Bb-2、Bb-4、Bb-5 四菌株較耐高溫，Bb-8 菌株在 32℃ 和 12℃ 處理中，菌落直徑分別有 2.3 和 2 cm，為供試菌中對高、低溫反應較不敏感者。在供試菌株中菌絲生長最慢者則是 Bb-6 菌株(表一)。八株白殭菌菌株產孢能力差異極大，在適溫(24℃)條件下，產孢量最高與最低者差達 4 百餘倍，其中以 Bb-1 菌株產孢量最高，由高而低依序為 Bb-2、Bb-3、Bb-4、Bb-5、Bb-6、Bb-7、Bb-8。但在其他溫度處理中(32、28、20℃)之結果，除 Bb-1 菌株產孢量明顯較其他菌為高外，其餘各菌株無顯著之統計差異(表二)。

(二)發芽率測試

至於孢子發芽情形，各菌株在 28℃ 之

條件下 24 小時，孢子發芽率可達 90%以上，但以相同條件培養 20 小時進行比較，結果菌株間有明顯之差異，Bb-8 菌株最佳平均有 96.7%之發芽率，Bb-1 最差僅 57.9%(表三)。

(三)菌絲產量之比較

比較各菌株菌絲產量以 Bb-2、Bb-6、Bb-7 三菌株較佳，但僅 Bb-2 與 Bb-5、Bb-3、Bb-4、Bb-8、Bb-1 菌株間有明顯差異。Bb-1 菌株之菌落生長(24℃)在八菌株中排名第三，菌絲產量第八，但其產孢量卻高出其他菌株許多，顯然產孢量與菌絲

生長及量無絕對關係(表四)。

(四)酵素活性測定

從酵素作用圈大小判斷，Bb-1、Bb-2、Bb-5、Bb-7、Bb-8 等菌株間之脂肪分解酶(lipase)活性無顯著性差異，Bb-4 之作用與 Bb-1、Bb-5 及 Bb-7 等菌株在統計上也無差異，但顯著較 Bb-2 與 Bb-8 菌株差，不過均顯著較 Bb-3、Bb-6 佳。澱粉酶(amylase)之作用則以 Bb-1、Bb-2、Bb-4 較佳，Bb-8 最差。蛋白酶(protease)的活性以 Bb-1、Bb-7 兩菌株最高，次為 Bb-6、Bb-5 及 Bb-8 菌株再次之，最差為 Bb-3(表五)。

表一、不同溫度對白殭菌菌株菌絲生長之影響

Table 1. Effect of temperature on mycelial growth of different *Beauveria bassiana* isolates

Isolates	Diameter of colony (cm) after 9 days					
	12℃	16℃	20℃	24℃	28℃	32℃
Bb-1	0.8 f ¹⁾	2.0 e	3.8 c	4.4 a	4.3 b	2.9 d
Bb-2	1.3 e	2.9 d	4.3 b	4.7 a	4.7 a	3.1 c
Bb-3	1.2 f	2.3 d	3.5 c	4.4 a	4.1 b	1.5 e
Bb-4	1.1 f	2.2 e	3.7 c	4.5 a	4.4 ab	2.6 d
Bb-5	0.9 f	2.2 e	3.4 c	4.1 a	4.0 ab	2.6 d
Bb-6	1.1 e	1.7 d	2.9 c	3.5 a	3.3 b	1.2 e
Bb-7	1.3 f	2.6 d	4.1 c	4.5 a	4.3 b	1.5 e
Bb-8	2.0 e	2.3 d	3.5 c	4.3 a	4.2 ab	2.3 d

¹⁾ Means in the same row followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$)

表二、溫度對不同白殭菌菌株產孢之影響

Table 2. Effect of temperature on sporulation of different *Beauveria bassiana* isolates

Isolates	Number of conidia x 10 ⁷ / plate			
	20℃	24℃	28℃	32℃
Bb-1	3074 a ¹⁾	3133 a	1840 a	1828 a
Bb-2	32 b	1564 b	212 b	174 b
Bb-3	88 b	722 c	77 b	18 b
Bb-4	100 b	499 d	30 b	9 b
Bb-5	6 b	102 e	112 b	136 b
Bb-6	9 b	99 e	4 b	1 b
Bb-7	66 b	8 f	137 b	11 b
Bb-8	8 b	7 f	8 b	38 b

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表三、不同白殭菌菌株之發芽比較

Table 3. Comparison on the spore germination of different *Beauveria bassiana* isolates

Isolates	Germination rate (%)	
	20 hr	24 hr
Bb-1	64.7 g ¹⁾	94.3 c
Bb-2	63.7 g	97.0 b
Bb-3	82.0 f	99.2 a
Bb-4	74.2 e	99.7 a
Bb-5	86.8 c	99.0 a
Bb-6	94.3 b	99.8 a
Bb-7	93.2 b	99.8 a
Bb-8	97.8 a	100 a

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表四、不同白殭菌菌株菌絲產量之比較

Table 4. The mycelial growth of different *Beauveria bassiana* isolates

Isolates	Total weight of mycelium (g) after 9 days
Bb-1	0.25 b ¹⁾
Bb-2	0.34 a
Bb-3	0.27 b
Bb-4	0.27 b
Bb-5	0.27 b
Bb-6	0.31 ab
Bb-7	0.30 ab
Bb-8	0.26 b

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表五、不同白殭菌菌株之澱粉酶、脂肪分解酶和蛋白酶之活性比較

Table 5. Activity of amylase, lipase and protease of different isolates of *Beauveria bassiana*

Enzymes	Diameter of degradation zone (cm) after 9 days							
	Bb-1	Bb-2	Bb-3	Bb-4	Bb-5	Bb-6	Bb-7	Bb-8
lipase	3.4 ab ¹⁾	3.5 a	2.2 c	3.3 b	3.4 ab	1.9 d	3.4 ab	3.6 a
amylase	2.8 a	2.8 a	2.4 b	2.8 a	2.3 b	1.8 c	1.9 c	1.8 c
protease	3.6 a	2.6 c	2.2 c	2.6 c	3.1 bc	3.3 b	3.6 a	3.1 bc

¹⁾ Means in the same row followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

致病力之測定

在 10^7 conidia/ml 濃度下，部份白殭菌菌株(Bb-2、Bb-6、Bb-7、Bb-8)可使 99% 以上之供試小菜蛾幼蟲罹病死亡，但也有死亡率不及 60% 者，Bb-3、Bb-4、Bb-5 三株菌分別只有 50.2、51.9 與 46.5% 之致死作用，Bb-1 菌株對小菜蛾則有中等(83.8%)之致病力(表六)。相較於小菜蛾，白殭菌對甜菜夜蛾幼蟲之病原性極強，除 Bb-7 菌株所引起之幼蟲死亡率不及 50% 外，其餘各菌株均可使 90% 以上之供試 4 齡甜菜夜蛾幼蟲死亡，Bb-1、Bb-2、Bb-3 及 Bb-4 四菌株之殺蟲作用更在 99% 以上(表七)。

田間防治試驗

Bb-1、Bb-2、Bb-8 等三菌株處理區之小菜蛾蟲數在處理一週後即明顯降低，與對照區比較均呈顯著差異。Bb-3 菌株處理區小菜蛾蟲數雖未減少，但亦無明顯增加，與對照組比較，還是有顯著的防治效果。在三次處理後調查結果，Bb-1、Bb-2 與對照區比較均呈顯著差異，且將小菜蛾幼蟲數控制在一定密度下，Bb-3 與 Bb-8 菌株在三次處理後調查結果，雖有兩次呈現顯著之防治效果，但該兩處理小菜蛾幼蟲明顯較 Bb-1 及 Bb-2 處理區為多，且第三次處理後調查與對照區間已無顯著差

異。綜合三次調查結果，Bb-1、Bb-2 菌株在田間對小菜蛾的防治效果應較 Bb-8 和 Bb-3 為佳，四菌株中又以 Bb-3 表現最差(表八)。若以發生之鱗翅目幼蟲數來比較菌株間防治效果，其結果與以小菜蛾幼蟲分析相近，Bb-1、Bb-2 菌株之表現仍較 Bb-3、Bb-8 兩菌株佳。Bb-3 菌株在第三次處理後調查所發現之鱗翅目蟲數已接近對照區，僅差 3.5 隻(表九)。但平均每棵甘藍卻以

Bb-8 菌株處理區最重(表十)。

紫外線影響測試

以紫外線處理孢子，結果即使僅處理 4 小時，供試所有菌株之孢子在平板上培養 72 小時仍未見發芽，卻有菌落長出。若將強度減半處理菌絲，八菌株中有四菌株對中波長紫外線具抗性，四菌株則完全受抑制，差異頗大(表十一)。

表六、不同白殭菌菌株之小菜蛾之致病率比較

Table 6. Pathogenicity of different *Beauveria bassiana* isolates against *Plutella xylostella*

Isolates	Cumulative mortality (%)
Bb-1	83.8 ab ¹⁾
Bb-2	99.6 a
Bb-3	50.2 b
Bb-4	51.9 b
Bb-5	46.5 b
Bb-6	99.1 a
Bb-7	99.1 a
Bb-8	99.8 a

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表七、不同白殭菌菌株之甜菜夜蛾之致病力比較

Table 7. Pathogenicity of different *Beauveria bassiana* isolates against *Spodoptera exigua*

Isolates	Cumulative mortality (%)
Bb-1	100.0 a ¹⁾
Bb-2	99.4 ab
Bb-3	100.0 a
Bb-4	99.9 a
Bb-5	97.7 abc
Bb-6	90.7 c
Bb-7	45.6 d
Bb-8	93.1 bc

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表八、不同白殭菌菌株對小菜蛾之田間防治效果

Table 8. Field evaluation of different *Beauveria bassiana* isolates against *Plutella xylostella* on cabbage.

Treatment	No. larvae / 20 cabbages			
	Pre-treatment	Post-treatment		
		1 week	2 week	3 week
Bb-1	31.3 a ¹⁾	10.0 a	8.8 ab	11.0 a
Bb-2	22.5 a	6.8 a	6.0 a	14.5 a
Bb-3	31.8 a	32.8 a	27.0 b	41.5 b
Bb-8	37.0 a	16.3 a	13.8 ab	23.5 ab
CK	31.0 a	63.0 b	50.8 c	42.5 b

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表九、不同白殭菌菌株對甘藍鱗翅目害蟲之田間防治效果

Table 9. Field evaluation of different *Beauveria bassiana* isolates against lepidopterous pests on cabbage

Treatment	No. larvae /20 cabbages			
	Pre-treatment	Post-treatment		
		1 week	2 weeks	3 weeks
Bb-1	32.3 a ¹⁾	12.3 a	9.0 a	14.0 a
Bb-2	23.5 a	7.3 a	7.3 a	20.8 ab
Bb-3	32.5 a	34.0 a	28.0 a	58.8 cd
Bb-8	37.0 a	18.0 a	16.8 a	38.3 bc
CK	32.5 a	65.8 b	58.0 b	62.3 d

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表十、施用不同白殭菌菌株孢子懸浮後之甘藍重量比較

Table 10. Efficacy of different *Beauveria bassiana* isolates against lepidopterous pests on cabbage

Treatment	Average weight of cabbage heads (kg)
Bb-1	0.5 b ¹⁾
Bb-2	0.4 b
Bb-3	0.4 b
Bb-8	0.7 a
CK	0.3 b

¹⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

表十一、不同白殭菌菌株抗紫外線之情形

Table 11. Effect of ultraviolet light on mycelial growth of different *Beauveria bassiana* isolates¹⁾

Isolates	Diameter of colony (cm)	
	4 hr	8 hr
Bb-1	4.0 b ²⁾	2.8 d
Bb-2	4.5 a	4.4 a
Bb-3	3.3 c	2.9 c
Bb-4	4.0 b	3.3 b
Bb-5	0 d	0 e
Bb-6	0 d	0 e
Bb-7	0 d	0 e
Bb-8	0 d	0 e

¹⁾ The wave length and intensity of UV were 312 nm, 600 $\mu\text{m}/\text{cm}^2$.

²⁾ Means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

討 論

Vanninen⁽³¹⁾認為白殭菌對環境條件的要求有較寬廣的範圍，此與本試驗結果相符。供試本土白殭菌菌株生長最適溫雖都在 24℃，但在 32℃ 高溫與 12℃ 低溫之處理間，不同菌株菌落均有增大現象，證實該

菌確能在溫度差異大的環境下生長，而此特性將有利於田間之應用。另外，從不同菌株在相同溫度下之菌落大小比較，顯著差異的結果顯示不同白殭菌分離株間之生長速度不一。生長快之菌株在防治害蟲時有其優點，因其作用較快，可縮短從接觸蟲體後侵染到死亡時間，減輕作物遭蟲體

為害程度及環境中不利因子對該菌之影響時間。Varela and Morales⁽³²⁾認為生長快速的菌株除有上述優點外，在腐生過程對抗其他微生物也有其優勢。雖然從進行菌絲生長和菌落生長之比較結果看不出有何明顯不同，但此確有以菌絲生長進行測試較為精準的結論。快速的穿透昆蟲體壁對致病力是極為重要^(21, 26)，較快的孢子發芽也有利於防治效果之增進⁽¹⁷⁾，Rath 等人⁽²⁷⁾觀察黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*)在不同溫度下對牧草金龜(*Adoryphorus couloni*)之致病力，結果與孢子在不同溫度下之發芽率相符，李⁽³⁾因此建議以發芽率、培養能力及殺蟲力等三項特性做為優良菌株之篩選指標。Hywel-Jones and Gillespie⁽¹⁹⁾也認為不同菌種或同種不同菌株間之發芽率在不同溫度下有明顯差異，其差異可做為篩選之考量。McCammon and Rath⁽²³⁾更用孢子發芽與溫度間之關係來區分黑殭菌菌系。本報告之供試菌株在先前的發芽準備試驗中，發現不同菌株在不同溫度及時間組合處理下，發芽情形差異頗大，以 28℃ 培養 20 小時進行比較，結果 Bb-8 之發芽率遠高於 Bb-1，此存在菌株間的差異，在實際利用時應予仔細考慮。又菌株發芽試驗結果與 Hywel-Jones and Gillespie⁽²⁰⁾結論相符，白殭菌在 25-30℃ 時所需發芽時間約在 14-24 hr。事實上孢子快速發芽後如能立即穿入蟲體，也可避開紫外線的破壞。蟲生病原微生物對紫外線相當敏感，田間作用常受該因子限制。在紫外線對不同白殭菌菌株孢子發芽的影響實驗中，雖不見孢子發芽，卻有菌落長出(惟生長速度較對照緩慢，且差異相當明顯，此菌落的產生應來自配製孢子懸浮液時，雜存其中之菌絲)，而此現象顯示菌絲對紫外線抗耐能力較強。進一步處理菌絲，更發現不同菌株間對紫外線敏感程度還是有差異存在，八菌株中有四菌株對中波長紫外線(312 nm, 600 μm/cm²)具抗性，四菌株則完全

受抑制。於是從不同白殭菌菌株間篩選抗紫外線的菌株，應是可預期。至於產孢情形，菌株皆以適溫時產孢較佳，高溫或低溫均不利於產孢，但菌株間差達百倍以上，由此特性可理解在量產階段會影響成本。又 Bb-1 菌株之菌落生長(適溫)在八菌株中排名第三，菌絲產量第八，但其產孢量卻高出其他菌株甚多，顯然產孢量與菌絲生長和量無絕對關係。

白殭菌之不同種或分離株(isolate)可利用蛋白圖譜差異來進行辨識，而存在酵素種類差異似乎與致病性有關⁽⁹⁾。脂肪分解酶(lipase)被認為可分解昆蟲體壁，有助於蟲生真菌穿入寄主體內⁽³⁰⁾。Silva and Messias⁽²⁹⁾以黑殭菌為材料進行酵素與病原性之關係研究，認為蛋白酶(protease)與致病力無關，脂肪分解酶和澱粉酶(amylase)活性強弱會影響致病力。蔡等⁽¹⁰⁾在其篩出之抗殺菌劑黑殭菌菌株中，發現殺蟲作用較高之菌株，其脂肪分解酶活性也較強。但 Varela and Morales⁽³²⁾從不同白殭菌菌株之酵素活性及病原性比較結果無法看出脂肪分解酶與致病性有關聯。此與本試驗結果相同，在酵素活性與生物檢定結果中，很難找出蛋白酶、澱粉酶、脂肪分解酶和致病性有關。

Moore and Prior⁽²⁴⁾認為選擇適當菌株防治特定害蟲是極為重要的工作，此適當菌株包括對環境的適應力要強，容易培養保存，更重要的是對標的害蟲的病原性要強。徐等⁽⁷⁾進行不同白殭菌菌株對柞蠹(*Antheraea pernyi*)及大豆食心蟲(*Leguminivora glycinivorelia*)之致病力比較，不同菌株間之致病力差異可達百倍之多。潘與鄭⁽⁸⁾以松毛蟲(*Dendrolimus superans*)、油松毛蟲(*Dendrolimus tabulaeformis*)為材料進行不同白殭菌菌株之防治效果比較，更指出菌株表現有區域性之不同，地區分離株對當地害蟲有較高的防治作用。生物檢定結果，本土不同白

殭菌菌株對小菜蛾及甜菜夜蛾之致病力有異，同一菌株對兩種蟲體之病原性強弱也不同，但在測試濃度下之差異不超過3倍。選擇對小菜蛾致病性強弱不同之四株白殭菌菌株(Bb-1、Bb-2、Bb-3、Bb-8)進行甘藍害蟲田間防治試驗，四菌株中以Bb-3防治效果最差，此結果符合依生物檢定結果之預期，但Bb-1菌株對小菜蛾防治效果最佳，Bb-8菌株處理區之防治效果不及Bb-2菌株，此等結果均與室內生物檢定結果不符，此或許可推測與抗耐紫外線能力有關，但Bb-8處理區甘藍平均重量較其他處理為重，就難於提出合理的解釋。

從各菌株之比較結果，証實菌株間存在差異，重複進行菌株抗紫外線、蛋白酶活性測試及生物檢定，發現不同批次實驗中，菌株表現頗為一致，顯示其性狀極為穩定。本試驗雖無法完全釐清病原性與其他生物、生化特性之關係，但也反應出菌絲生長速度、產孢量、孢子發芽及抗外線作用等，均可供作為優良菌株之評估指標。

引用文獻

1. 牟甲佑。1988。應用白殭菌防治農林害蟲技術的探討。第65-68頁。中國蟲生真菌研究與應用(第一卷)。學術期刊出版社。中國。238頁。
2. 呂昌仁、陳京元、李雅致。1991。白殭菌純孢粉的工業化生產及其質量研究。第128-134頁。中國蟲生真菌研究與應用(第二卷)。中國農業科技出版社。中國。255頁。
3. 李增智。1991。引種真菌防治松毛蟲的研究。第138-139頁。中國蟲生真菌研究與應用(第二卷)。中國農業科技出版社。中國。255頁。
4. 邱澤茂。1989。白殭菌之生產及其感染亞洲玉米螟之研究。中興大學碩士論文。68頁。
5. 施仲美。1988。白殭菌孢子粉生產工藝。第114-115頁。中國蟲生真菌研究與應用(第一卷)。學術期刊出版社。中國。238頁。
6. 高清文、蔡勇勝。1989。利用蟲生真菌防治甜菜夜蛾。中華昆蟲特刊第四號(重要蔬菜害蟲綜合防治研討會專刊)：214-226頁。
7. 徐慶豐、韓玉梅、王承倫、王輝先。1988。白殭菌對柞蠶寄生作用的試驗。第97-100頁。中國蟲生真菌研究與應用(第一卷)。學術期刊出版社。中國。238頁。
8. 潘洪洋、鄭華。1988。乾旱地區應用白殭菌防治松毛蟲試驗報告。第77-79頁。中國蟲生真菌研究與應用(第一卷)。學術期刊出版社。中國。238頁。
9. 談迎春、張永安、陳昌洁。1991。不同菌株白殭菌菌絲蛋白圖譜的差異及其與毒力的關係研究。第96-103頁。中國蟲生真菌研究與應用(第二卷)。中國農業科技出版社。中國。255頁。
10. 蔡勇勝、高清文、侯豐男、高穗生。1993。黑殭菌抗殺菌劑菌株之篩選。中華昆蟲 13：45-58。
11. 魯緒祥。1988。白殭菌優良菌株的篩選。第130-132頁。中國蟲生真菌研究與應用(第一卷)。學術期刊出版社。中國。238頁。
12. 蘇智勇。1991a。白殭菌防治甘藷蟻象。中華昆蟲 11：162-168。
13. 蘇智勇。1991b。甘藷蟻象致病土壤之篩選及白殭菌之利用。中華昆蟲 11：198-203。
14. Bidochka, M. J., and Khachatourians, G. 1990. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. J. Invertebr. Pathol. 53:

- 25-31.
15. Chiuo, W. C., and R. F. Hou. 1993. Infection of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*, with entomopathogens under screen house conditions. *J. Appl. Entomol.* 115: 146-253.
16. Feng, M.G., and Johnson, J. B. 1990. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae). *Environ. Entomol.* 19: 785-790.
17. Fuxa, J. 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogen in IPM. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 225-251.
18. Hankin, L., and Anagnostakin, S. L. 1975. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia* 56: 362-370.
19. Hu, W. J., R. F. Hou, and N. S. Talekar. 1996. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to *Riptortus linearis* (Hemiptera:Coreidae), a pest of soy bean. *Appl. Entomol. Zool.* 31:187-194.
20. Hywel-Jones, N. L., and Gillespie, A. T. 1990. Effect of temperature on spore germination in *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Mycol. Res.* 94: 389-392.
21. Jackson, C. W., Heale, J. B., and Hall, R. A. 1985. Traits associated with virulence to the aphid *Macrosiphoniella sanborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*. *Ann. Appl. Biol.* 106: 39-48.
22. Khachatourians, G. G. 1992. Virulence of five *Beauveria* strains, *Paecilomyces farinosus*, and *Verticillium lecanii* against the migrasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *J. Invertebr. Pathol.* 59: 212-214.
23. McCammon, S. A., and Rath, A. C. 1994. Separation of *Metarhizium anisopliae* strains by temperature dependent germination rates. *Mycol. Res.* 98: 1253-1257.
24. Moore, D., and Prior, C. 1993. The potential of mycoinsecticides. 1993 *Biocontrol News and Information* 14, 31N-40N.
25. Paris, S., and Ferron, P. 1979. Study of the virulence of some mutants of *Beauveria brongniartii* (= *Beauveria tenella*). *J. Invertebr. Pathol.* 34: 71-77.
26. Pekar, S., and Grula, E. A. 1979. Mode of infection of the corn earworm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. *J. Invertebr. Pathol.* 34: 238-247.
27. Rath, A. C., Anderson, G. C., Worledge, D., and Koen, T. B. 1995. The effect of low temperature on the virulence of *Metarhizium anisopliae* (DATF-001) to the subterranean scarab, *Adoryphorus couloni*. *J. Invertebr. Pathol.* 65: 186-192.
28. Samsinakova, A., Kalalova, S., Vlcek, V., and Kybal, J. 1981. Mass production of *Beauveria bassiana* for regulation of *Leptinotarsa decemlineata* populations. *J. Invertebr. Pathol.* 38: 169-178.
29. Silva, J. C., and Messias, C. L. 1986. Virulence of mutants and revertants of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* toward *Rhodnius prolixus*. *J. Invertebr. Pathol.* 48: 368-374.
30. Smith, R. J., Pekar, S., and Grula, E. A. 1981. Requirement for sequential enzyme activities for penetration of the integument of the corn earworm

- (*Heliothis zea*). J. Invertebr. Pathol. 38: 335-344.
31. Vanninen, I. 1995. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: effect of geographical location, habitat type and soil type. Mycol. Res. 100: 93-101.
 32. Varela, A., and Morales, E. 1996. Characterization of some *Beauveria bassiana* isolates and their virulence toward the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. J. Invertebr. Pathol. 67: 147-152.

ABSTRACT

Tsai, Y. S., Yang P. S., Hung, T. H., and Kao, S. S.* 2006. Biological characterization of *Beauveria bassiana* isolates from Taiwan. Plant Prot. Bull. 48: 117-128. (Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substance Research Institute, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan (ROC))

The optimal temperature for mycelial growth of indigenous *Beauveria bassiana* isolates was 24°C, and suboptimal temperature was 28°C or 20°C. Of the 8 isolates tested, only the colony of Bb-2 isolate showed the greatest radial growth on each temperature. There was a 400-fold difference in spore production between the highest and lowest. Isolates Bb-1 exhibited the highest spore production among *B. bassiana* isolates tested. Rate of conidial germination was above 90% when incubated at 28°C, for 24 hr, but there was a significant difference among isolates tested after 20 hr incubation. In the enzyme activity tests, the results showed that isolates Bb-1, Bb-2, Bb-5, Bb-7 and Bb-8 had higher lipase activity than Bb-3, Bb-4 and Bb-6. Isolates Bb-1, Bb-2 and Bb-4 exhibited higher amylase activity than other isolates tested. Isolate Bb-8 exhibited the lowest amylase activity among *B. bassiana* isolates tested. In protease activity test, isolates Bb-1 and Bb-7 exhibited the highest enzymatic activity, followed by Bb-6, Bb-5 and Bb-8. Isolate Bb-3 exhibited the lowest enzymatic activity. Bioassay showed that Bb-2, Bb-6, Bb-7 and Bb-8 isolates were virulent against 3rd instar larvae of *Plutella xylostella*. The mortalities of *P. xylostella* larvae caused by these four isolates ranged from 99.1% to 99.8%. All *B. bassiana* isolates tested except Bb-7 were strongly pathogenic to 4th instar larvae of *Spodoptera exigua*. All isolates of *B. bassiana* tested in field trials showed high control efficacy against *P. xylostella* within 2 weeks. Treatment with isolate Bb-8 resulted in the highest average weight of cabbage harvested per plant among all treatments. Among eight isolates of *B. bassiana* tested, only isolates Bb-1, Bb-2, Bb-3 and Bb-4 exhibited colony growth on V8 plates after exposure to UV-B irradiation (312 nm, 600 µw/cm²) for 8 hr.

(Key words: *Beauveria bassiana*, *Spodoptera exigua*, *Plutella xylostella*, UV-B irradiation)

*Corresponding author. E-mail: sskao@tactri.gov.tw