

生物農藥管理現況與展望

許華芳、王堂凱、張瑞璋*

行政院農業委員會植物防疫檢疫局 植物防疫組

*通訊作者。E-mail: rjchang@mail.baphiq.gov.tw

摘 要

依據我國農藥管理法規定，生物農藥區分為天然素材，生化製劑及微生物製劑 3 類，其中以微生物製劑為市場主流，而微生物製劑中又以蘇力菌及枯草桿菌為大宗，分別具有 24 張及 10 張農藥許可證，臺灣現有的生物農藥許可證總計 52 張。2009 年至 2011 年，臺灣生物農藥產值佔農藥產值分別為 0.401、0.295 及 0.225%，與全球生物農藥產值比 6.46% 仍有一段差距，顯示臺灣生物農藥具有很大的發展空間。消費者食品安全需求及有機農業發展等因素進一步催化生物農藥發展，動植物防疫檢疫局為推動生物農藥的發展，在確保產品安全性之前提下，已簡化生物農藥的登記程序，以本土性微生物研發的生物農藥為例，僅須提供口服急毒性/致病性、皮膚急毒性及肺急毒性/致病性等 3 種毒理資料，且免檢驗水濕性、安定試驗及耐熱前處理等項目。另更於 2013 年修訂「農藥田間試驗準則」及「農藥理化性及毒理試驗準則」等 2 項法規，進一步降低農藥登記之門檻。然而在生物農藥登記仍遭遇不少問題，如產品規格因微生物本身特性複雜無法一體適用、微生物製劑成品的品管資料涉及商業機密、生物農藥工廠的設置及是否為不列管農藥等尚待解決。政府將設立農藥登記單一窗口，供登記廠商預審及諮詢，並且建立生物農藥研發及登記之標準程序，以促進生物農藥產業之發展。

關鍵詞： 生物農藥、農藥管理法、微生物製劑、農藥登記。

前 言

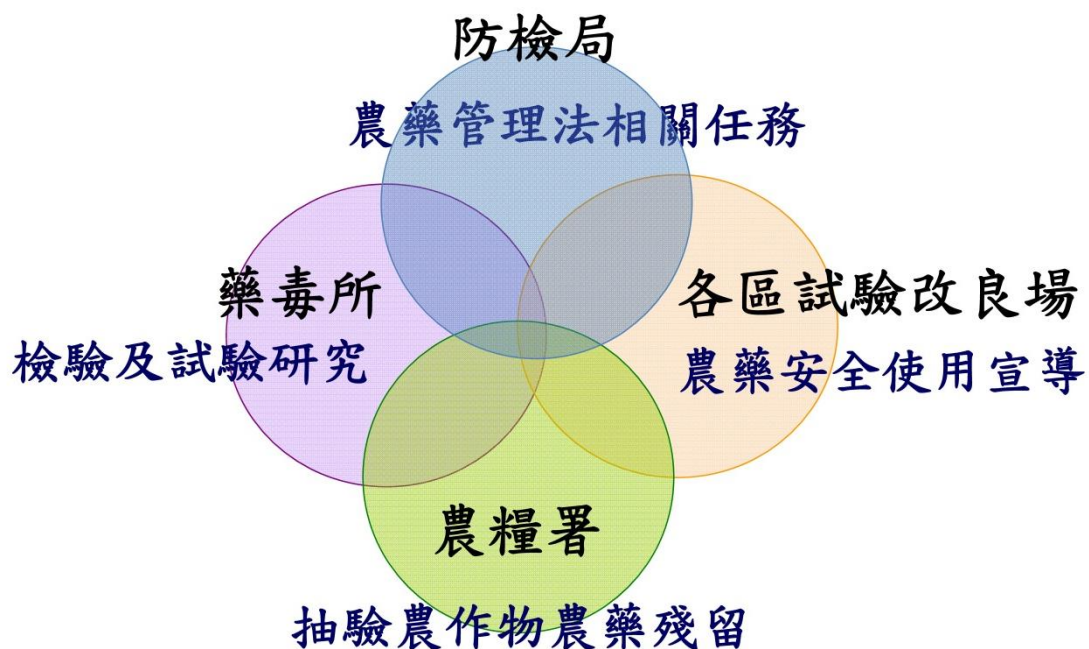
臺灣氣候高溫多濕，因地處熱帶與亞熱帶交界，栽植作物種類繁多且複種指數高、集約式栽培等因素導致病蟲害種類眾多，農作物很容易遭受有害生物之為害，甚至造成病蟲草害之大發生。為確保農作物收成，多以操作簡便、速效性及防治範圍廣泛之化學農藥防除病蟲草害，以降低作物有害生物田間密度及其造成之損失，維護農作物產量及品質。

1962 年美國 Rachel Carson 指出生態因化學農藥的使用，造成非目標生物及生態平衡之破壞 (Carson 1962)，讓大眾意識到環境保護及永續利用等觀念，逐漸提倡「生態農法」、「無毒農業」及「有機農業」等栽培模式，而「生物農藥」順應此潮流而備受重視。生物農藥相對於化學農藥較具安全性、專一性高且降解性高，殘留疑慮較低，符合近來消費者對於食品安全日益高漲的要求。生物農藥依農藥管理法第 六 條規定：「二、成品農藥：指下列各目之藥品或生物製劑：（一）用於防除農林作物或其產物之有害生物者。（二）用於調節農林作物生長或影響其生理作用者。（三）用於調節有益昆蟲生長者。（四）其他經中央主管機關公告，列為保護植物之用者。」係屬農藥管理之範疇 (農藥管理法，2007)，而農藥管理之中央主管機關為行政院農業委員會動植物防疫檢疫局(防檢局)，地方主管機關則為各地方政府，農業藥物毒物試驗所 (藥毒所) 協助農藥檢測作業，而農糧署則是監測農作物農藥及有害物質之殘留，國內各地區農業改良場及茶業改良場等則負責農民安全用藥輔導 (圖一)。生物農藥區分為 (1) 天然素材 (natural product)、(2) 微生物製劑 (microbial agents) 及 (3) 生化製劑 (biochemical agents) 3 類，其中天然素材係指天然產物不以化學方法精製或再加以合成者，如除蟲菊精 (pyrethrum)；微生物製劑係指用於作物有害生物防治之微生物，如液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)，或其有效成份經由配方所製成之產品；生化製劑則以生物性素材經過化學粹取或合成，其防治方法不會直接毒殺有害生物者，如費洛蒙 (農藥理化性及毒理試驗準則，2013)。

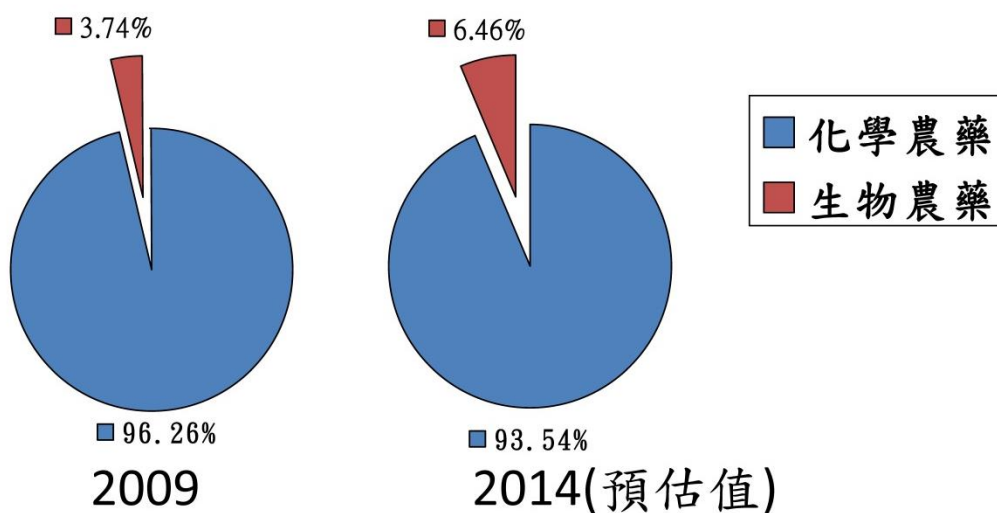
生物農藥之發展日愈重要，係因消費者對於食品安全的了解及要求提高，另能提供管理已具抗藥性之有害生物新的防治藥劑，並作為劇毒性藥劑被禁用後的替代性藥劑及提供有機農業等栽培模式適用之防治資材。另為加速生物農藥產品之開發及上市，有必要讓大眾熟知生物農藥管理法規及登記流程。

生物農藥產業

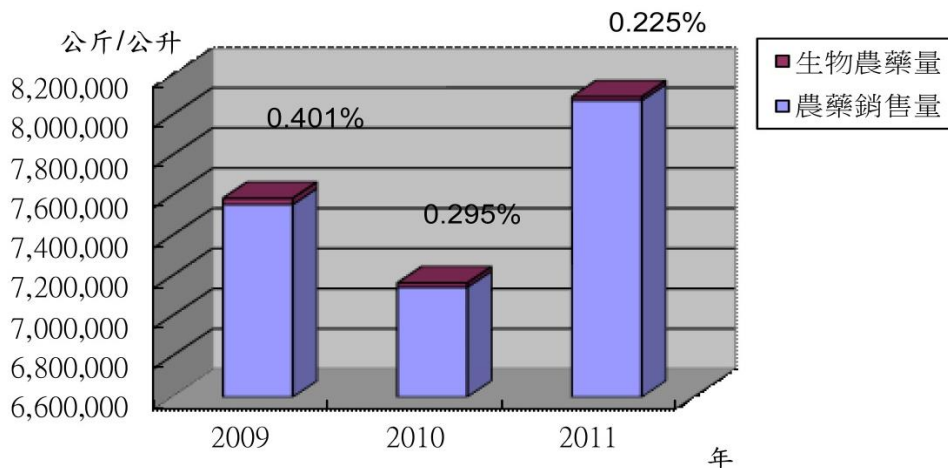
依美國市調公司 BCC Research 預估 2014 年生物農藥佔全球農藥銷售額約 6.46% (圖二)，且 2009 年至 2014 年之年複合成長率為 15.6% (BCC research, 2010)，顯示生物農藥發展深具前瞻性之潛能。而自 2009 年至 2011 年我國生物農藥銷售量僅佔農藥銷售量 0.401%、0.295% 以及 0.225% (圖三)，遠低於國際市場比值，顯示生物農藥之宣傳不足且生物農藥具有很大大之發展空間。臺灣目前已



圖一、農藥管理分工模式。



圖二、全球生物農藥與化學農藥銷售額。



圖三、我國生物農藥及農藥銷售量。

核准登記之生物農藥包括蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*)、枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、純白鏈黴菌 (*Streptomyces candidus*)、木黴菌 (*Trichoderma virens*)、除蟲菊精、印楝素及費洛蒙等 (如表一)，生物農藥目前總計 52 張農藥許可證，以蘇力菌及枯草桿菌為主，分別有 10 張及 24 張許可證，微生物製劑有 37 張、生化製劑有 12 張及天然資材 3 張許可證 (農藥資訊服務網，<http://pesticide.baphiq.gov.tw>)。

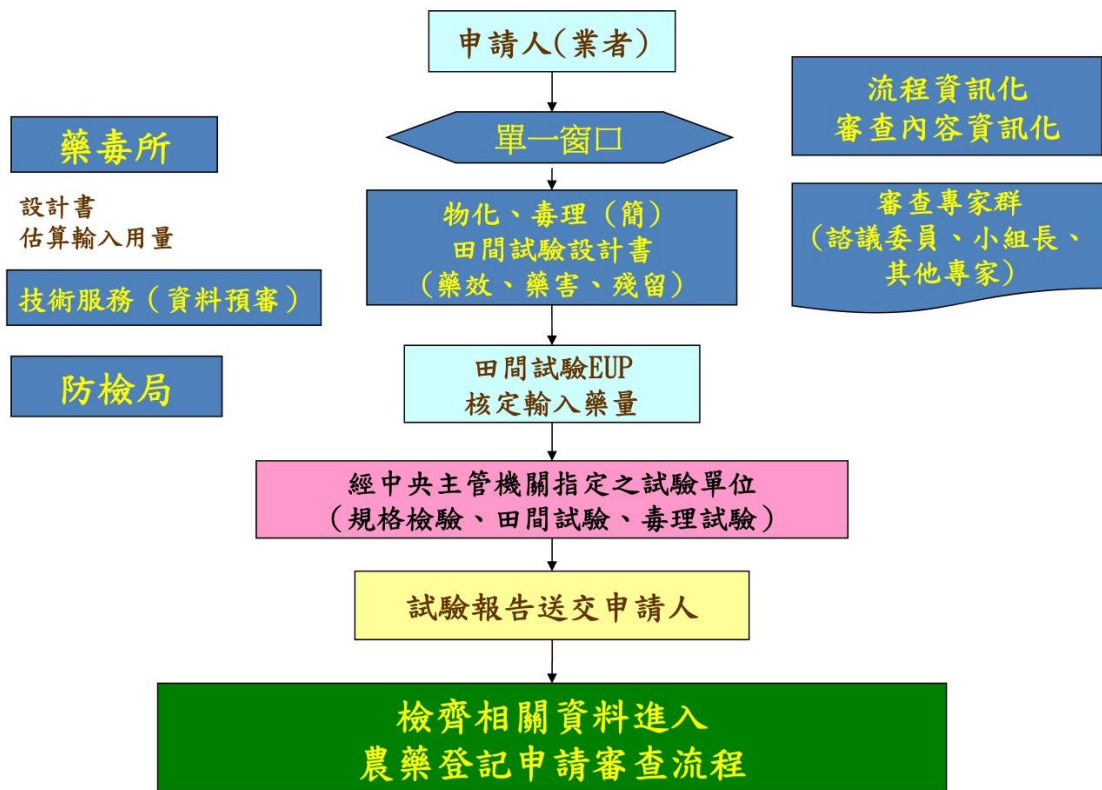
為促進生物農藥產業發展，防檢局將請各地區農業試驗改良場及農民學院等藉開辦農民講習訓練班，加強宣導生物農藥之使用，提升農民對生物農藥之瞭解，並進一步實際使用生物農藥產業，深耕國內生物農藥產業，並將強化運用國內大專院校及研究單位之研發成果，協助加速成果商品化，提供有機農業或無毒農業等栽培模式合適之防治資材，降低消費者對農作物農藥殘留之疑慮。

生物農藥法規及登記管理

我國生物農藥產品之登記均須符合「農藥管理法」規定，包括 (一) 農藥理化性及毒理試驗準則、(二) 農藥田間試驗準則及 (三) 生物農藥工廠設廠標準等規定，並將登記所需文件送至指定之單一窗口 (藥毒所)，再提送農藥技術諮議委員會審查，通過後即可核發生物農藥之農藥許可證 (圖四，藥毒所網頁資料，<http://www.tactri.gov.tw>)。

表一、臺灣生物農藥登記現況

種 類		普通名稱	許可證張數	廠商數(家)
微生物製劑 (microbial agents)				
Fungicides	<i>Bacillus subtilis</i>	枯草桿菌	10	6
	<i>Streptomyces candidus</i>	純白鏈黴菌素	1	1
	<i>Trichoderma virens</i> strain R42	綠木黴菌	1	1
Insecticides	<i>Bacillus thuringiensis</i>	蘇力菌	24	13
	<i>Spodoptera exigua</i> NPV	核多角體病毒	1	1
生化製劑 (biochemical agents)				
Pheromones	Tobacco cutworm	斜紋夜盜費洛蒙	3	1
	Sweet potato weevil	甜菜葉蛾費洛蒙	2	1
Attractants	Methyl eugenol	含毒甲基丁香油	4	4
	Cuelure	克蠅	3	3
天然素材 (natural products)				
Insecticides	Pyrethrum	除蟲菊精	1	1
	Azadirachtin	印楝素	1	1
	Rotenone	魚藤精	1	1
合計			52	34



圖四、農藥登記申請流程。

- (一) 農藥理化性及毒理試驗準則：生物農藥所須登記資料要件較化學農藥寬鬆，物理性、化學性、有效成分及不純物等資料皆比化學農藥要求文件少（如表二）。毒理檢測部分，依農藥理化性及毒理試驗準則第二條規定：「農藥理化性及毒理試驗應依中央主管機關所定優良實驗室操作規範（Good Laboratory Practice, GLP）及試驗規範辦理。」，目前農委會農業藥物毒物試驗所及14家民間實驗室等已取得中華民國實驗室認證體系毒理試驗之實驗室認證（財團法人全國認證基金會網頁資料，<http://www.taftw.org.tw>），此將有利於業者在取得毒理檢測通過後，俾利於擴展生物農藥外銷市場。
- (二) 農藥田間試驗準則：生物農藥辦理田間試驗前，須通過規格檢驗合格，並依規定填寫田間試驗設計書至防檢局進行審查，經審查通過後取得田間試驗許可始可進行田間試驗。田間試驗包含藥效試驗及藥害試驗，藥效試驗依規定分為 3 場試驗，可採認國外試驗資料，惟須國內認證試驗，確認該藥劑於

表二、農藥理化性質試驗項目表

理化性質	試驗物質		化學農藥	生化製劑農藥	微生物製劑農藥
物理狀態 (Physical state)	原體	成品	○	○	○
顏色 (Color)	原體	成品	○	○	○
氣味 (Odor)	原體	成品	○	○	○
酸鹼度 (pH)	原體	成品	○	△	○
熔點或沸點 (Melting point or Boiling point)	原體		○	○	×
密度、比重、容積密度 (Density、Specific gravity、Bulk density)	原體	成品	○	○	△
蒸氣壓 (Vapor pressure)	原體		○	○	×
溶解度 (Solubility)	原體		○	○	×
分配係數 (Partition coefficient)	純品		○	○	×
解離常數 (Dissociation constant)	純品		○	○	×
黏性 (Viscosity)	原體	成品	○	○	○
安定性 (Stability)	原體		○	△	×
燃燒性 (Flammability)	原體	成品	○	△	×
混合性 (Miscibility)	原體	成品	△	△	△
爆炸性 (Explodability)	原體	成品	○	△	×
腐蝕性 (Corrosive characteristics)	原體	成品	○	○	○
貯存安定性 (Storage stability)	原體	成品	○	○	○
其他 (Others)	原體	成品	△	△	△

○：必備試驗資料 △：視情況而定 ×：不須檢送試驗資料

國內之有效性。藥效試驗分為完全試驗及驗證試驗，皆須設立對照組，以核准登記之同種類藥劑為主，若無核准登記之同種類微生物製劑可當對照藥劑處理組時可免；而藥害試驗則須於同種作物 2 種以上之不同品種上進行。

(三) 生物農藥工廠設廠標準：生物農藥工廠須符合「農藥工廠設廠標準」，相關內容包括生產微生物製劑之作業場所有擴散污染之虞者，應具備滅菌消毒設

備及獨立空調系統，另工廠應置專任技術人員，如微生物、農化、植物病蟲害、藥學、生化或相關科系畢業，並具有 2 年以上實際工作經驗或具有技師資格者。

在確保產品安全性之前提下，生物農藥已簡化相關登記程序，如申請登記本土性微生物製劑時，該菌株未經人為誘變或遺傳基因改造者，僅須提供口服急毒性、肺急毒性/致病性等 3 種毒理資料，另針對生物農藥產品特性，已修正其標準規格，免檢驗水溼性、安定試驗及耐熱前處理等項目，俾利產品登記。

國內農藥登記之常見問題

國內研究人員及新興廠商辦理登記之人員，對於法規瞭解性不足或對產品本身不甚清楚，導致無法備齊登記所需之文件或資料供審查，其中以微生物製劑之有效成分，因生物活體的特性及種類不同而含有不同之代謝物質，因而導致登記困難，可向單一窗口進行登記前諮詢，以確保登記文件之有效性及完整度。另為確認有效成分，包含微生物本身及其代謝物，須建立鑑定有效成分之流程及寄存於中央主管機關認可之寄存單位，以確保微生物及其代謝物之種類。

雖然生物農藥符合高安全性、低毒性、低環境危害性及低殘留性等特性，個別產品仍待評估是否列為不列管農藥，為避免劣幣驅良幣之副作用，並確保產品之品質以保障消費者權利，生物農藥仍須依規定登記農藥許可證。

農藥管理未來努力之方向

不可否認，我國農藥管理仍有未完備之處，經檢討評估並考量產業之需求，防檢局將下列 5 點列為優先改善項目：

1. 健全農藥法規及完善登記制度：積極配合農藥經營環境及產業發展，適時合理修訂相關法規，並且積極檢討現行農藥登記制度，朝向更透明化及便捷化之方式辦理；同時推動低危害風險農藥之快速登記措施，以加速其商品化量產及田間推廣應用，淘汰高風險農藥。
2. 加速改善農藥業者經營環境及提升競爭力：持續辦理農藥業者評鑑獎勵工作，以期有效改善農藥業者經營環境及提升專業知能。另推動生產業者整併或產品整合計畫，有效提高產品品質及降低生產成本，提昇產品競爭力。

擴大利用現有輸入專供加工輸出或生產專供輸出等既有利機之措施，並配合行政院推動之「自由經濟示範區規劃方案」政策，積極推動生物農藥及農藥加工中心等商機。

3. 積極推動化學農藥減量及辦理高風險農藥評估淘汰措施：加強推動合理化正確使用化學農藥之教育宣導，以及研發與推動具低毒性、高效及在國際市場具有競爭力之本土性微生物農藥。藉由包裹式（含登記所需資料要件）技術移轉，透過產學合作轉至產業界生產，以達商品化量產及田間推廣應用之最終目標。持續進行高風險農藥（如劇毒性、粉劑及環境荷爾蒙等農藥）之評估淘汰措施，同時加強農藥有效成分以外之其他成分安全性評估。
4. 強化農產品安全無縫管理：持續積極推動「農產品安全無縫管理制度」，並落實執行「加強基礎環境建置及管理」、「加強作物健康生產管理」及「強化農產品安全管理」等三大構面工作。加強辦理農藥延伸使用措施，並與衛生主管機關合作廣訂農藥殘留標準，以解決缺乏防治藥劑及農民自行違規使用等問題，確保農產品衛生安全。積極與外銷出口國協調解決農產品農藥殘留標準差異問題，並努力建構國際農藥殘留標準調和諮商能力。
5. 積極查緝非法農藥：持續督導並會同地方政府加強非法農藥之查緝工作，必要時將聯合司法檢警調等單位加強辦理。積極建立合法農藥產品之流管制措施，以有效掌握產品製造、銷售及使用情形，俾以降低非法農藥之流通。另請海關及海巡單位協助加強邊境管制措施，俾以有效阻止非法農藥之流入。此外，還須強化提升與司法檢警調單位之互助合作機制，共同打擊不法。

結 語

農藥管理之良窳，因與農業生產、產業發展、國人飲食健康及環境生態安全息息相關，故生物農藥之管理除政府責無旁貸外，生物農藥的研究發展及產業化亦仍有賴學者專家、農藥業者、農民及全體消費者之共同配合與監督，方可達成此一目標。

參考文獻

行政院農業委員會動植物防疫檢疫局農藥資訊服務網

From <http://pesticide.baphiq.gov.tw>

行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所網頁資料 From <http://www.tactri.gov.tw>

財團法人全國認證基金會網頁資料 From <http://www.taftw.org.tw>

農藥理化性及毒理試驗準則 2013 From <http://law.moj.gov.tw>

農藥管理法 2007 From <http://law.moj.gov.tw>

BCC Research 2010. Biopesticides: The global market. USA: BCC Research.

Carson, R. 1962. Silent Spring. New Yorker, Inc., New York. 363pp.

Current Status and Management of Biopesticides and its Prospects in Taiwan

Hua-Fang Hsu, Tang-Kai Wang and Ruey-Jang Chang*

Division of Plant Protection, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, COA

*Corresponding author. E-mail: rjchang@mail.baphiq.gov.tw

ABSTRACT

Biopesticides are divided into three categories including natural products, biochemical agents and microorganism agents. Most of biopesticides are classified as microorganism agents, and the majority components of microorganism agents are *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus* sp. which has 24 and 10 agro-chemical permits, respectively. A total of 52 agro-chemical permits of biopesticide have been registered in Taiwan. According to the statistics of agro-chemical production report, the biopesticide productions were only 0.401, 0.295 and 0.225% of total pesticide productions from 2009 to 2011, respectively. The amount of production was far lower compared to the global biopesticide production, which was 6.46%. Besides, the demand of food safety from consumers and the booming of organic farming contribute to accelerating the biopesticide development. In coping with the need of more biopesticides, the Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine (BAPHIQ) has decreased the requirements of biopesticide registration on the basis of product safety, if the biopesticide is developed by using local microorganisms as active ingredients, the testing data of toxicology required for product registration has been reduced to only 3 items, including acute oral toxicity/pathogenicity, acute dermal toxicity/pathogenicity and acute pulmonary toxicity/pathogenicity data. In addition, it does not need to provide the data of wettability, stability test and pre-heat treatment for heat tolerance. Furthermore, BAPHIQ continued to revise two key regulations on agro-chemical registration in 2013, such as “Regulations for the Physicochemical and Toxicological

Test of Agro-pesticide” and “Standard of Agro-pesticide Field Test”, a step further to reduce technical barriers in achieving the goal of promoting biopesticide production. However, biopesticide registrants encounter several problems in Taiwan. First, the microbe’s complex biological characteristics are difficult to fit the unique regulation of product specifications. Second, the quality-control data are related to the business confidentiality. Third, the requirements of constructing biopesticide factory needs to be clarified. Finally, shall biopesticides be listed as least-regulated pesticides? To solve above-mentioned problems, it is necessary to establish a single-desk unit to provide a pre-registration consultation and regulation advice and to set up the standard procedures of research, invention and registration for enhancing biopesticide development.

Key words: Biopesticide, Agro-chemical management Act, Microorganism agent, Agro-chemical registration.

微生物肥料管理現況與展望

李英明

行政院農業委員會農糧署

通訊作者。E-mail: 0010409@mail.afa.gov.tw

摘 要

農業為國家基本產業，肥料為農業生產之重要資材，肥料品質直接影響農業生產環境、作物生長及農民收益。農民使用肥料多元化，習慣施用以石化原料及礦石製成之氮、磷、鉀三要素單質肥料或複合肥料，搭配使用次微量要素肥料、植物生長輔助劑、有機質肥料及微生物肥料。市售微生物肥料商品日益增加，為保障農友權益及維護土壤生態環境之安全，行政院農業委員會於 99 年 7 月 29 日修正「肥料種類品目及規格」，增列微生物肥料類 6 個品目及規格，並增修訂肥料登記管理相關法規，將微生物肥料納入管理。目前有 6 家肥料業者申請取得微生物肥料登記證，14 個品牌上市銷售，農民可選用微生物肥料替代部分化學肥料。未來因應微生物肥料研究發展，檢討新增或修改肥料品目，加速審查微生物肥料菌種安全性，簡化業者申辦微生物肥料登記證程序，輔導業者生產符合肥料品目規範之微生物肥料，並將生物性肥料科技研發成果，透過技術轉移予肥料業者，開發創新微生物肥料產品，促進微生物肥料產業發展。

關鍵詞：微生物肥料、登記、管理。

一、微生物肥料登記管理現況

（一）肥料定義

「肥料管理法」規定之肥料定義為「指供給植物養分或促進養分利用之物品」。「肥料種類品目及規格」規定之肥料種類分為氮肥類、磷肥類、鉀肥類、次微量要素肥料類、有機質肥料類、複合肥料類、植物生長輔助劑類、微生物肥料類及其他肥料類等 9 類，各類肥料品目及規格規定，包括適用範圍、性狀、

主成分、有害成分、限制事項、檢驗項目。

「肥料種類品目及規格」規定之微生物肥料定義為「指其成分含具有活性微生物或休眠孢子，如細菌、放線菌、真菌、藻類及其代謝產物之特定製劑，應用於作物生產具有提供植物養分或促進養分利用等功效之物品」。即指利用活體微生物在土壤中提供作物養分來源、增進土壤養分有效性或改良土壤之理化、生物性質，藉以增加作物產量及品質。微生物肥料類肥料之所有微生物菌種是原生於自然界或經人工誘變，且非屬基因改造微生物。

（二）微生物肥料登記管理相關法規增修訂

微生物肥料登記管理業務，經行政院農業委員會前農糧處於 89 – 92 年草擬「微生物肥料種類品目及規格」、「微生物肥料製劑檢測技術」等相關資料，本項業務於 93 年移交農糧署。農糧署於 93 – 95 年召開 6 次會議討論修正，研擬新增微生物肥料 6 個品目及增修訂肥料登記管理相關法規。經濟部於 98 年 11 月 24 日公告 7 種微生物肥料檢驗方法，行政院農業委員會據以增修訂肥料登記管理相關法規，於 99 年 7 月 29 日修正「肥料種類品目及規格」，增列微生物肥料類豆科根瘤菌肥料、游離固氮菌肥料、溶磷菌肥料、溶鉀菌肥料、複合微生物肥料及叢枝菌根菌肥料等 6 個肥料品目及規格；並同步修正「肥料登記證申請及核發辦法」第 5 條、第 14 條及第 16 條，增訂肥料業者申請微生物肥料登記證時，應檢附微生物肥料作物毒害、菌種生物毒性及環境生態試驗報告等之規定；同時修正「肥料查驗辦法」第 4 條及第 5 條，增訂微生物肥料類肥料查驗、取樣及樣品運送、留存之規定；另微生物肥料易因環境變動影響品質，增列為應加強查驗肥料品質之產品，維護肥料品質，確保農友權益。

（三）簡化微生物肥料登記證申辦程序

依據「肥料登記證申請及核發辦法」第 5 條第 4 項規定，肥料業者申請微生物肥料登記證，應檢具微生物肥料菌種之「生物毒性及環境生態試驗報告」，但微生物經鑑定對環境生態安全無虞，並經行政院農業委員會公告為已被鑑定為安全之微生物肥料菌種者，則可免附。

因此，農糧署擬具「已被鑑定為安全之微生物肥料菌種」草案，邀集微生

物肥料相關學者專家會議審查決議，「微生物肥料菌種」應同時符合 1. 菌種係存在於國內自然環境者：登錄於行政院國家科學委員會委託中央研究院生物多樣性研究中心建置「台灣物種名錄」(Catalogue of Life in Taiwan)，存在於國內自然環境者之菌種。2. 菌種與人類健康之疾病無關：非屬美國生物安全協會(American Biological Safety Association)、其他網站及文獻列出之第二、三、四級危險群微生物；其他國家公告對人及動物無病原性之菌種。3. 菌種對植物無病原性：非屬國際植物病理學會(International Society of Plant Pathology)、其他網站或文獻列出之植物病原性菌種等 3 項安全性評估審查原則。

農糧署於 100 年 5 月 6 日邀請微生物肥料學者專家召開審查會，會議決議細菌 8 個、真菌 4 個及酵母菌 4 個，計 16 個微生物肥料菌種，均符合「微生物肥料菌種」3 項安全性評估審查原則，依法制作業程序，由行政院農業委員會 100 年 6 月 3 日公告「已被鑑定為安全之微生物肥料菌種」，屬於 16 個菌種之微生物肥料，即可簡化申辦微生物肥料登記證程序。另於 100 年 10 月 24 日整理「微生物肥料登記證申辦須知」，登載於農糧署網站，提供肥料業者依程序辦理。目前申請取得微生物肥料登記證計有 6 家業者，13 個品牌溶磷菌肥料及 1 個品牌叢枝菌根菌肥料。

(四) 微生物肥料類肥料品目訂定要義

依據行政院農業委員會各農業試驗改良場所及各大專院校試驗研究結果，微生物肥料可替代部分化學肥料，其中豆科根瘤菌及游離固氮菌將大氣中植物無法利用之氮氣，經由固氮酵素轉化為銨態氮，供應作物生長所需氮素養分；溶磷菌及溶鉀菌提高土壤中養分之有效性；菌根菌能促進根系之伸展，幫助作物吸收養分。微生物之種類有數百萬個菌種，微生物肥料係以肥料功能及與作物共生關係菌群為肥料品目訂定之依據，肥料品目包括豆科根瘤菌肥料、游離固氮菌肥料、溶磷菌肥料、溶鉀菌肥料、複合微生物肥料及叢枝菌根菌肥料等 6 個肥料品目。

微生物肥料之微生物不能單獨存在，添加或附著於各類資材，微生物肥料申請肥料登記證應標示添加劑或添加物質名稱，未達微生物肥料類規格，即不得以微生物肥料名義販賣。已申請登記為微生物肥料，如同時符合第一至第七

類之肥料規格時，則仍應登記為微生物肥料類。

肥料品目之規格包括適用範圍、性狀、主成分、有害成分、限制事項或檢驗項目等。適用範圍依據肥料品目名稱訂定菌群特性；主成分依據菌群特性訂定其有效活菌數量及其他肥料成分含量；有害成分依據添加劑或添加物質可能含有之重金屬，比照有機質肥料品目訂定砷不得超過 25.0 mg/kg，鎘不得超過 2.0 mg/kg，鉻不得超過 150 mg/kg，銅不得超過 100 mg/kg，汞不得超過 1.0 mg/kg，鎳不得超過 25.0 mg/kg，鉛不得超過 150 mg/kg，鋅不得超過 250 mg/kg。

申請登記為微生物肥料產品，菌種須具備該登記肥料品目之特定活性，有效活菌數固態者每公克 1×10^7 菌落形成數以上、液態者每毫升 1×10^8 菌落形成數以上。另針對叢枝菌根菌肥料則要求每公克製劑經以無菌砂或不含養分之介質稀釋 10 倍後，須可與百喜草、玉米或紅豆幼苗於 14 天內形成叢枝菌根菌之菌根，或是產品中孢子數每公克 1×10^2 以上。

為健全肥料管理及維護微生物肥料品質，微生物肥料訂定限制事項，包括大腸桿菌群固態每公克或液態每毫升不得超過 1×10^3 菌落形成數；雜菌率：固態不得超過 15%，液態不得超過 5%；固態水分含量應在 35.0% 以下，包裝標示應加註水分含量。

微生物肥料登記之容許範圍規定：菌落形成數或孢子數上限為檢驗值之 10 倍，下限為檢驗值之 10%；上市後，市售品查驗之容許範圍規定：菌落形成數或孢子數無上限，下限為肥料登記值之 10%。微生物肥料之菌落形成數或孢子數應符合肥料品目規格限值規定。

直轄市或縣（市）主管機關執行肥料查驗需抽取樣品時，微生物肥料類肥料係整件抽取，不予拆封，所以肥料業者陳列販賣應有重量 20 公斤以下、容量 20 公升以下之微生物肥料產品，以配合主管機關肥料查驗。

（五）微生物肥料登記證之申請

肥料業者申請微生物肥料登記證應依「肥料登記證申請及核發辦法」規定辦理，其流程及檢附文件資料，如同一般肥料登記證之申請方式，有關肥料登記管理事宜，可上行政院農業委員會農糧署網站（<http://www.afa.gov.tw>）首頁／

農糧業者資訊／土壤肥料專區／肥料登記申辦須知、微生物肥料登記證申辦須知／下載參閱。應檢送之肥料說明書、肥料規格、有害成分、作物毒害等試驗報告，不得超過出具日期起一年之期間。微生物肥料菌種之生物毒性及環境生態試驗報告，文件有效期限依核發機關（構）之認定為準。

申請微生物肥料登記證，菌種登錄於「台灣物種名錄」，係存在於國內自然環境者之菌種，得免附環境生態試驗報告；屬於行政院農業委員會 100 年 6 月 3 日公告「已被鑑定為安全之微生物肥料菌種」，得免附生物毒性試驗報告；申請登記「肥料種類品目及規格」規定之微生物肥料種類品目者，得免附肥料效果試驗報告。肥料業者申請微生物肥料登記時，應依「肥料登記證申請及核發辦法」及「微生物肥料登記證申辦須知」規定檢具各項文件，向行政院農業委員會（農糧署）提出申請，申辦流程如附件。

二、微生物肥料產業輔導

（一）微生物肥料推廣

各農業試驗改良場所及大專院校生物性肥料科技計畫，近年已研發根瘤菌、溶磷菌及菌根菌等微生物肥料菌種，並分年分區示範輔導推廣豆科作物根瘤菌、蔬果作物菌根菌及溶磷菌等生物菌劑，並加強開發各種作物新興生物性肥料，辦理生物菌劑使用示範推廣，將應用知識與技術轉移予農民，充分運用微生物資源，促使農民能普遍使用微生物肥料於農業生產，提高作物產量及品質，減少使用肥料，減少對環境之污染。

生物菌劑應用推廣，每年豆科根瘤菌接種示範推廣 3,000 ha，瓜類、茄科作物菌根菌示範推廣 3,000 ha，蔬菜、花卉、糧食及果樹溶磷菌示範推廣 3,000 ha，草莓、釋迦、鳳梨、荔枝、柑橘、番石榴、木瓜等 17 種蔬果作物於育苗時接種內生菌根菌，大量培育內生菌根菌種苗給農民種植，推廣面積 1,000 ha，生物菌劑使用示範推廣共計 10,000 ha，由各農業試驗改良場所示範推廣，輔導落花生、紅豆、毛豆等豆科作物接種根瘤菌，可節省氮肥約 30%，增產約 4 - 15%；另瓜果作物接種菌根菌及溶磷菌，可減施化學肥料 20 - 47%，微生物肥料的推廣，除了可節省化學肥料投入的成本，並可充分運用微生物資源，

減緩土壤酸化，及降低農業生產對自然生態平衡與污染環境之衝擊，進而提高單位面積產量，增加農友收益，達到合理化施肥之目的。

有機農業、茶葉、果樹等栽培高經濟價值作物之農民對微生物肥料產品接受度較高，農民為提高作物產量及品質，普遍使用微生物肥料於農業生產。目前已有 1 個溶磷菌肥料經審查符合有機驗證基準可用資材之肥料種類，可以提供有機農業經營者選用。

（二）微生物肥料產品開發

目前國內微生物肥料產品開發主要為根瘤菌、溶磷菌及菌根菌等微生物肥料，仍需透過與學研界合作開發創新產品，以提升產品開發能力。行政院農業委員會所屬各農業試驗改良場所及大專院校進行生物性肥料科技計畫相關研究及產學合作計畫，研發落花生溶磷根瘤菌、油脂乳化菌、溶磷分解菌、溶鐵磷菌群微生物、桿菌群溶磷微生物、有機質分解菌、鹽鹼土改良菌及固氮溶磷微生物等 8 種微生物肥料菌株培養繁殖技術，噴霧水耕法及砂耕法量產菌根菌 2 項技術。微生物肥料各項生產製造技術轉移予肥料業者，開發創新微生物肥料產品，陸續辦理登記上市銷售。目前申請取得微生物肥料登記證計有 6 家業者，13 個品牌溶磷菌肥料及 1 個品牌叢枝菌根菌肥料。

三、微生物肥料管理之展望（結語）

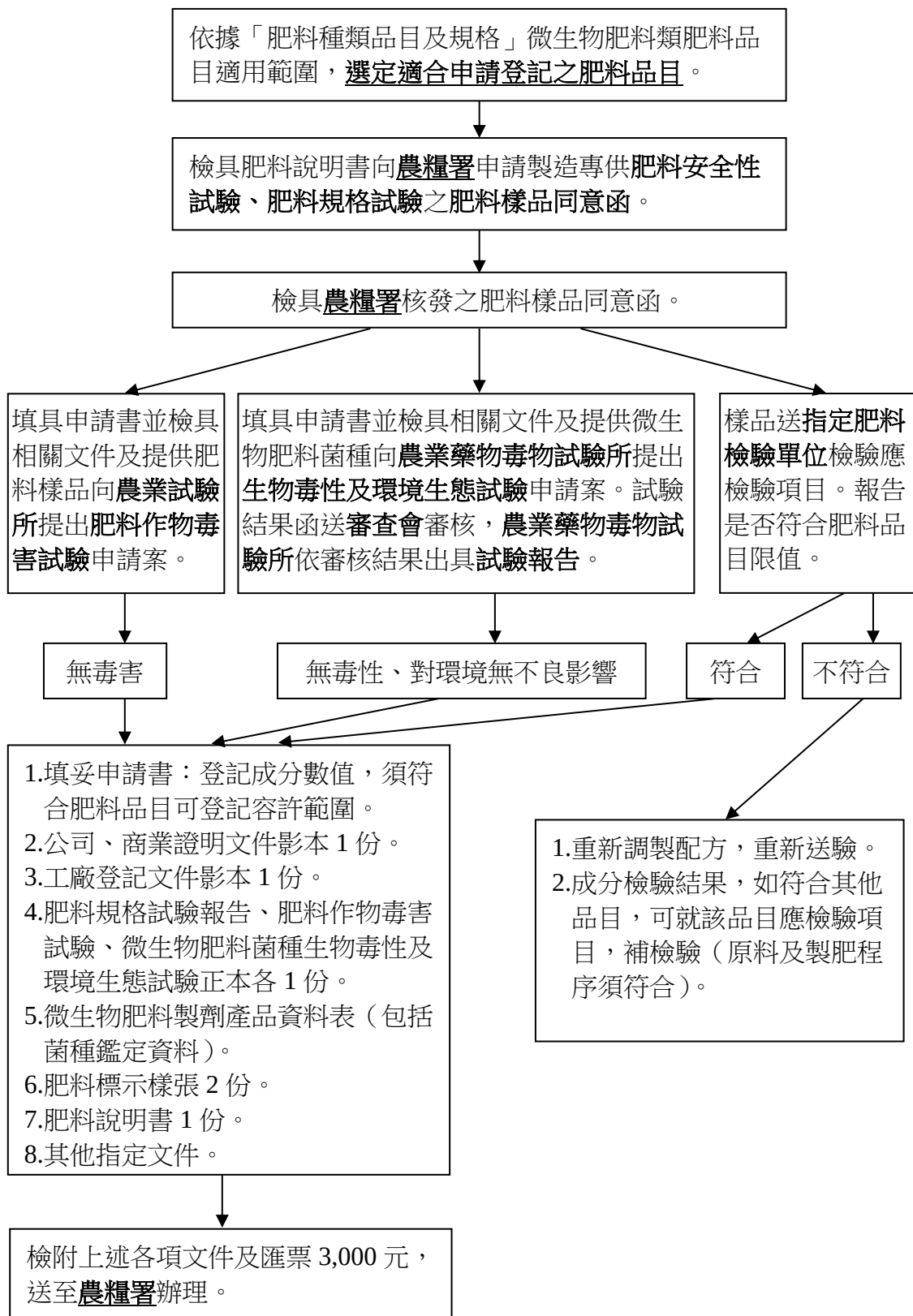
過去微生物肥料市場各式各樣商品充斥，常有不明菌種及內含病原菌污染問題，甚至有非微生物肥料冒名的偽品，對購買之農民缺乏保障，對農產品安全品質及土壤環境產生嚴重衝擊。行政院農業委員會增修訂肥料登記管理相關法規，已將微生物肥料納入肥料登記管理，肥料業者可以合法生產微生物肥料產品。微生物肥料係以肥料功能及與作物共生關係菌群為肥料品目訂定之依據，未來因應微生物肥料研究發展，配合新興農業及微生物肥料產業發展，將檢討新增或修改肥料品目，並加速審查微生物安全性，增列公告安全微生物肥料菌種，簡化業者申辦微生物肥料登記證程序，輔導業者生產符合肥料品目規範之微生物肥料。

肥料是農業生產不可或缺的重要資材，市場廣大，台灣每年肥料使用量約為 120 萬公噸，產值約有 120 億元。微生物肥料可替代部分化學肥料，供應作物所需養分及提高土壤中養分之有效性，微生物肥料產業發展是永續農業的基礎。國

內微生物肥料研發及應用已有相當的基礎，研發專業人才技術水準高，經驗豐富，可創造利多產品，若配合產、官、學合作之機制，結合人才、資金及設備，以技術轉移協助微生物肥料之產業發展，將是發展微生物肥料之重要未來方向。

展望未來，推動「健康、效率、永續經營」之全民農業，適當利用自然資源，篩選土壤中有益微生物，發展微生物肥料，推廣應用於農業生產，國內微生物肥料市場的發展前景將更具可看性，成為未來肥料產業發展的新亮點；選擇合法登記之微生物肥料產品，充分運用微生物資源，生產優質安全農產品，減少化學肥料使用，減輕環境污染，確保作物及土壤品質健康，以達農地永續利用，促進農業永續經營。

附件、微生物肥料登記證申辦流程：



Current Status and Management of Microbial Fertilizers and its Prospects in Taiwan

Ying-Ming Li

Agriculture and Food Agency, COA

Corresponding author. E-mail: 0010409@mail.afa.gov.tw

ABSTRACT

Agriculture is a fundamental part of national industry. Fertilizers are important materials for agricultural production. Fertilizers quality has directly affect the agriculture production environment, crops growth and the benefit for farmers. Farmers have diverse habits for fertilizers application. The straight fertilizers or compound fertilizers usually mix with minor element fertilizers, plant growth enhancing agents, organic fertilizers and microbial fertilizers, *etc.* The commercial goods of microbial fertilizer have increased drastically. For protecting the right of farmers and sustaining the safety of soil eco-environment, Council of Agriculture had modified the Fertilizer Kind Item and Specification on Jul. 29, 2010, increased six item and specification for microbial fertilizers. Furthermore, microbial fertilizes had been incorporated into the law and regulations for fertilizers registration and management. Up to date, six fertilizer businesses had gotten the registration certificate for microbial fertilizers, fourteen brands on sale for farmers to replace part of chemical fertilizers. In the future, face to the development of microbial fertilizes, it need to reinvestigate the item modify, accelerate the check-up the strain safety for microbial fertilizers, simply the programs for businesses to get the registration certificate for microbial fertilizer, help businesses adjust produce regular products to fit rule of fertilizers items. It will through technical transfer let research achievements of biological fertilizers to fertilizer business to create new products of microbial fertilizer and enhance the industry development of microbial fertilizers.

Key words: Microbial fertilizer, Registration, Management.

微生物農藥及微生物肥料產業化推動策略

陳瑞榮、李國基*

行政院農業委員會 科技處

*通訊作者。E-mail: coachlee@mail.coa.gov.tw

摘 要

隨著環保意識抬頭與安全農產品觀念的提升，對於有兼具友善環境與提高食物安全性的重視日與俱增，因此生物性農業資材即成為農業生產中一受重視的主題，其中微生物農業資材更是以生物間的競爭與平衡為概念開發，符合生態發展的潮流。由於臺灣地理環境的特殊性，微生物相具多樣性，且國內學研界在微生物方面的研究上具有高度能量，因此國內極具有發展微生物農業資材的潛力。

檢視國內微生物農藥與肥料上市的商品雖有數十個，但種類上確相當集中。此外，在農民使用方面，微生物農藥與肥料大都侷限於特定的產業，並未廣泛為農民接受使用。因此，將針對目前觀察國內微生物農藥與肥料產業發展面臨的問題，配合農委會推動農業科技產業全球運籌計畫，提出以下幾個微生物農藥與肥料產業發展策略：1. 成立協助農業科研成果產業化機構；2. 多元產品開發；3. 田間綜合使用示範推廣；4. 推動產學研聯盟；5. 加強教育與廣宣；及 6. 加強偽劣商品查緝等。期以活絡國內產學研在微生物農藥與肥料發展能量與溝通平台，建立消費者非以外觀為主的安全農產品的新觀念，並建置農業科技產業化推動機構，協助農業科研成果產業化與相關國內外市場規劃與布局，達到國內微生物農藥與肥料產業化發展的目標。

關鍵詞：微生物農藥、微生物肥料、產業化。

前 言

過去一般消費者著重農產品產量及美觀的前提下，造成農民紛紛使用化學農藥及化學肥料等化學性的農業資材於作物生產過程中，並且收到不錯的預期效果。但隨著民眾對於環保意識及農產品安全要求日益提高，對於非化學性農業資材的使用需求日與俱增，因此非化學行的相關農業資材商品迄待陸續開發與推出。微生物是其中一種重要的農業資材。然而農業資材的充分提供，有賴於該項產業健

全的發展。因此，如何加速與強化國內微生物農業資材的開發與應用，以因應市場日益增加的需求，乃目前發展國內微生物農業資材產業的一項重要課題。

微生物農藥與肥料商品化現況

國內對於市面上銷售的農藥與肥料商品管理，均要求需依法規規定完成註冊登記，微生物農藥及肥料也在其中之列。以下針對國內目前微生物農藥及肥料商品註冊登記的現況簡要說明：

一、微生物農藥

根據國內農藥管理相關法規，農藥依性質分為化學、生物及其他類，而以微生物為基礎的微生物製劑，則屬於生物農藥類。目前國內完成註冊登記之生物農藥共計原體農藥 7 項，成品農藥 37 項，所涉及的菌種類包括枯草桿菌、純白鏈黴菌、綠木黴菌、蘇力菌、庫斯蘇力菌、鮎澤蘇力菌，及甜菜夜蛾核多角體病毒（表一）。功效方面則包括殺菌及殺蟲兩大類。以商品來源來看，殺菌類商品均為國內製造；殺蟲類商品則有 71% 為進口，29% 為國內製造。另一方面，僅殺菌類的枯草桿菌，以及殺蟲類的進口蘇力菌與國內製造庫斯蘇力菌有註冊登記原體農藥與成品農藥，其餘均註冊登記成品農藥。

表一、國內微生物農藥登記情形

Table 1. Registration of microbial pesticides in Taiwan

作用	進口/製造	菌種類	原體/成品	商品數量	備註
殺菌劑	製造	枯草桿菌	原體	3	
			成品	7	
		純白鏈黴菌素	成品	1	代謝物
		綠木黴菌 R42	成品	1	
殺蟲劑	進口	庫斯蘇力菌 ABTS-351	成品	1	
		甜菜夜蛾核多角體病毒	成品	1	
		賜諾特	成品	2	代謝物
		賜諾殺	成品	5	代謝物
		蘇力菌	原體	3	
			成品	11	
		鮎澤蘇力菌 NB-200			通過審核
	製造	庫斯蘇力菌 E-911	原體	1	
			成品	1	
		蘇力菌	成品	7	

二、微生物肥料

依國內肥料管理相關法規，微生物肥料類包括：豆科根瘤菌肥料（肥料品目 8-01）、游離固氮菌肥料（肥料品目 8-02）、溶磷菌肥料（肥料品目 8-03）、溶鉀菌肥料（肥料品目 8-04）、複合微生物肥料（肥料品目 8-05），及叢枝菌根菌肥料（肥料品目 8-06）。目前有 14 項微生物肥料商品完成註冊登記，該等肥料均為國內製造，登記之肥料品目為溶磷菌肥料 13 項，涉及之微生物種類包括：*Bacillus safensis*、*Bacillus licheniformis*、*Bacillus subtilis* 及 *Bacillus amyloliquefaciens*，以及叢枝菌根菌肥料 1 項，涉及之微生物為 *Glomus mosseae*（表二）。至於豆科根瘤菌肥料、游離固氮菌肥料、溶鉀菌肥料，甚至複合微生物肥料目前均無註冊登記之商品。

表二、國內微生物肥料登記情形

Table 2. Registration of microbial fertilizers in Taiwan

肥料品目	進口/ 製造	菌種類	商品 數量	公告安 全菌種	備註
溶磷菌肥料	製造	<i>Bacillus safensis</i>	8		
		<i>Bacillus licheniformis</i>	2	V	
		<i>Bacillus subtilis</i>	2		其中 1 項標示個別菌株
		<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1		
叢枝菌根菌肥料	製造	<i>Glomus mosseae</i>	1	V	

農業用微生物資材產業化面臨問題

一、產品菌種類過於集中

各種微生物種類的資材均有其獨特性功效，因此運用不同菌種之間彼此功效的互補性，將可達到更好的生物資材效果。然而目前國內不論微生物農藥或是微生物肥料商品，在菌種種類方面過於集中，容意造成商品功效上的近似，不僅在運用上無法達到彼此間的互補，反而會造成市場上的同質競爭，不利產業發展。例如微生物農藥的殺蟲類，幾乎集中在蘇力菌。而殺菌類則大都集中在枯草桿菌。在微生物肥料方面也有類似的情形，菌種種類幾乎集中在 *Bacillus* 屬這類菌種。

二、學術研究與完成商品落差大

由國內政府研究資訊系統 (Government Research Bulletin, GRB) 蒐尋微生物農藥及肥料相關研究成果，可發現國內對於微生物農業資材的研究能量不少，研究的菌種種類也堪稱多元，且據研究報告顯示研究成果頗佳。但相較於已完成註冊登記為商品的菌種種類，國內將研發成果商品化比率確實偏低，且完成商品化登記之菌種種類過於集中。如何將國內豐富的微生物農業資材研究成果商品化，是國內推動微生物農業資材產業的一項重要課題。

三、學研界對管理法規認識不足

微生物農藥及肥料商品均有專門法規規範，且商品需備齊相關資料完成註冊登記，並納入管理。雖然國內學研界在微生物農業資材研究方面能量頗高，且大都有田間試驗或試用來實證研究成果的觀念，但確有多數的研究人員對於研發成果商品化相關法規的瞭解仍有待加強，經常出現研究成果在田間試驗效果不錯時，即積極推薦農民使用，或移轉給產業界生產製造，忽略必須依法規規定與方式備妥相關資料，取得註冊登記。因此常耳聞與法規主管機關間產生認知差異與誤解等不必要的情事發生。儘管相關主管機關經常辦理工法法規認識的研習或座談，但由學研界的出席狀況來看，相較於 GRB 相關計畫的研究人員數，實在仍有更加強學研界認識相關法規之必要。

四、農民對微生物資材缺乏信心

農民在作物生產過程中需面對各種的病蟲害威脅，以及作物生長發育各階段的養份提供。面對國內目前之微生物農業資材商品，雖然在商品訴求的特性上（無論殺蟲、殺菌或肥效）大都可達到個別目標與效能，但面對作物生產整個過程的需求，單一或少數幾項商品確無法滿足需求，往往必需要有其他化學性或非微生物的農業資材的配合，才能達到生產目標。然而，各種的農藥或肥料等資材搭配使用，必須要考量彼此之間的使用限制，否則經常出現微生物農業資材遭到其他化學資材破壞或殲滅，造成微生物農業資材達不到應有的效果，進而被使用農民認定為無效資材，缺乏使用信心。另一方面，微生物農業資材商品的穩定性，也是影響農民對於微生物農業資材信心的一項重要因子。

五、消費市場過度引導

目前市場的型態大都為消費者導向市場，農產品市場也是如此。由於農產品外表美觀是目前一般消費者選擇偏好的一個重要因素，造成農民在生產農產品的策略選擇上，以保護農產品外觀為一項極重要任務，極力杜絕農產品產生病斑、蟲咬或畸型等。因此農民便以具速效性的化學性農業資材為主要首選，長期下來，不僅造成農產品化學物質殘留問題，更導致生產環境與土壤的破壞，不利農業永續性的發展。因此，教育消費者選擇優質農產品的同時，更應該讓消費者明瞭「安全」農產品的重要性，以及認識對環境友善的栽培方式。如此才能引導農民增加更安全及對環境衝擊較小的農業資材來從事生產。

六、產業化協助能量不足且分散

目前國內微生物農藥及肥料相關研發成果之商品化與產業化，如產品製劑配方開發，註冊登記檢測與試驗等能量，除了業者本身的投資建置，大都是藉由公部門檢測或試驗研究機關來協助，包括經濟部標準檢驗局、農委會農業藥物毒物試驗所（農藥所）、農業試驗所（農試所），以及各區農業改良場等為主；少數則在學術機構及私部門檢驗機構。以農藥為例，其中除農藥所在註冊檢測方面專責外，其餘各機關（構）幾乎是兼辦性質，此將成為加速微生物農藥產業化發展的侷限因子。

農業用微生物資材產業化推動措施與規劃

一、成立協助農業科研成果產業化機構

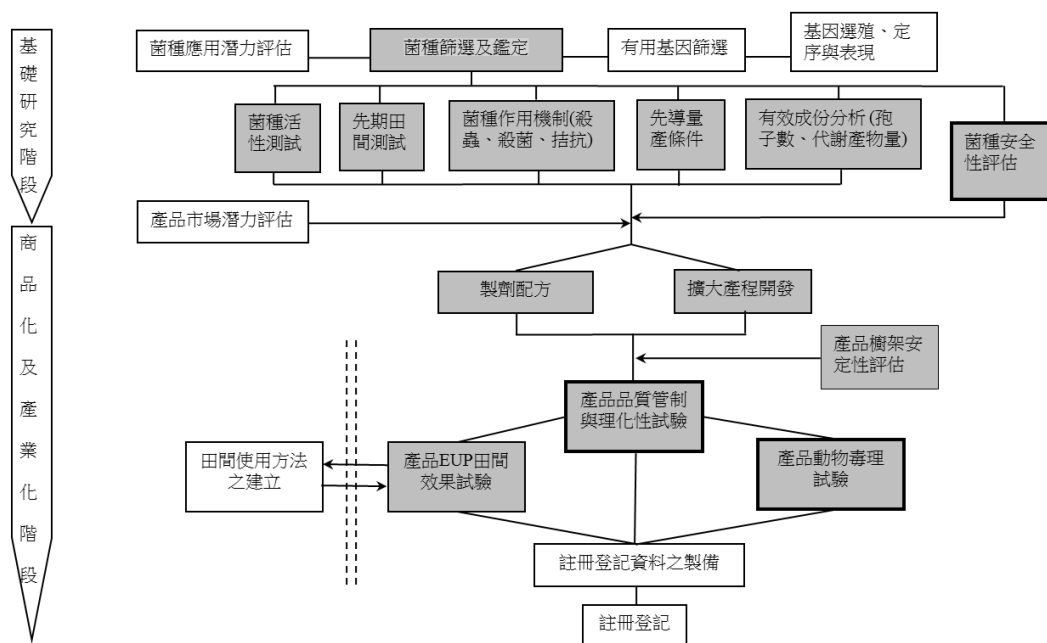
為加速農業新創事業及國際化發展，完善國內農業科技產業化推動能量，農委會於本（103）年籌設財團法人農業科技研究院（農科院），提供農業企業機構、農民團體及農民農業技術、商品化及產業化之服務，如農業科技之研究、應與發展及成果推廣，農業科技產業鏈連結、跨領域與異業整合之服導服務，農業科技智慧財產權保護與研發成果整合加值，農業科技新創事業育成與輔導，農業技術或產品認證與驗證服務，國內外農業技術現況與市場之調查、分析及合作，產業人才培訓與引進等。以微生物農藥為例，農科院將可提供相關檢測試驗服務，國內外市場資訊，國外註冊登記之相關法規，與註冊登記所需資料準備等協助，以

加速國內微生物農藥的產業發展。

二、多元產品開發

為使微生物農藥及肥料產業發展健全，多元化的商品開發與提供農民使用是必要的，因此針對國內目前學研界的研發成果，應儘速整理盤點，依市場需求與發展潛力，將其商品化。另一方面，學研界在後續研究主題上，亦需要配合微生物農藥與肥料產業整體發展進行調整，以集中研發能量進行產業發展。以下就微生物農藥與肥料多元產品開發措施簡要說明：

- (一) 整理微生物農業資材開發流程：依微生物農藥與肥料商品開發需求，以及配合相關管理法規要求，繪製微生物農業資材商品化及產業化流程，以明確各微生物資材現階段研發進度，以及下一步驟進行項目。如圖一所示微生物農藥商品化及產業化流程，利於商品開發與產業化推動規劃。



圖一、生物農藥商品化產業化研發流程。

Fig. 1. The research and development process flowchart for commercialization and industrialization of biological pesticides.

- (二) 盤點與篩選科技研發成果：針對國內學研界研發成果進行盤點，並請研發人員填報該研究之微生物研究情形，以釐清商品化研究進度。另一方面，針對各填報之微生物農業資材現階段研發成果，進行市場發展潛力評估，篩選優先由「推動農業科技產業全球運籌計畫」投入資源進行商品化與產業化標的。
- (三) 整合科研資源加速產業化：為能使微生物農業資材研發能量發揮更大力量，加速產業化推動，將整合農委會科技計畫研發資源，配合產業化推動主軸，集中科技研發重點與方向，促使學研界在研究主題的聚焦與商品研發的合作分工。

三、田間綜合使用示範推廣

為使微生物農業資材能融入農民的作物栽培體系中，將比照過去針對化學肥料或農藥使用方式的推薦模式，提供農民針對微生物農業資材在作物栽培過程中使用的時機與使用量，以及與其他農業資材配合使用的方法與方式。爰將規劃協調農委會所屬試驗研究機關，針對主要栽培作物別進行微生物農業資材的綜合使用示範推廣，提供相關資訊，以建立農民在栽培過程中正確使用微生物農業資材，進而增進農民對於使用微生物農業資材的信心。

四、推動產學研聯盟

產業之發展有賴產、官、學、研的密切合作與努力，因此為使微生物農業資材產業發展上能更緊密結合各階段力量，將規劃推動微生物農業資材產學研聯盟，建立產學端與產業端的全面溝通平台，促使科技研發方向能掌握與配合產業發展脈動。同時也將藉由「產業出題，學研解題」的模式，讓產業界在聯盟平台上提供更多的產業資訊與接觸研發能量的合作伙伴，更讓學研界由聯盟平台的互動，整合不同專業技術能量來進行研發解題，促進學研力量整合。

五、加強教育與廣宣

教育與宣傳是加速產業化發展的一項重要且有力的手段，針對微生物農業資材而言，以下將配合相關業務主管機關，分別對學研界、業界、農民，及一般消費者，進行教育與廣宣：

- (一)學研界：強化學研界對於微生物農業資材相關管理法規認識與瞭解，並且對於商品化所需跨領域技術，加強合作研發觀念。
- (二)業界：提供穩定性產品，爭取農民信心，進而促進產業整體發展。
- (三)農民：讓農民更清楚瞭解微生物資材與化學性資材特性上與使用上的不同，並提供與其他化學資材搭配使用的方式與步驟，以及長久使用兩者對於農產品安全與環境永續性的差異及影響。
- (四)消費者 (一般民眾)：建立「安全」農產品為選擇的首要，修正過去一味要求外觀良好即質優的觀念。

六、加強偽劣商品查緝

為使微生物農業資材產業發展蓬勃，對於市面偽劣商品，則由各該微生物農業資材主管機關加強查緝，除保護合法商品外，更保障農民使用合法微生物資材，進而確保所生產之農產品安全。

結 語

隨著環保意識及農產品安全要求日益提高的潮流下，對於環境友善的農業經營相關資材需求量亦日與俱增，微生物農業資材在此契機下愈顯其重要性與發展性，國內在此方面的已具有相當不錯的先天條件，因此如能再及早整合相關人力與資源，結合產、官、學、研各方力量，發展國內微生物農藥與肥料產業，不僅配合時代脈動的主流意識，推動安全性高及對環境更友善的農業外，更可發展國內的微生物農業資材產業，創造農業更大利基。

Promotion and Strategies for Industrialization of Microbial Pesticides and Microbial Fertilizers

Ruey-Long Chen and Guo-Chi Lee*

Science and Technology Department, Council of Agriculture

*Corresponding author. E-mail: coachlee@mail.coa.gov.tw

ABSTRACT

Owing to the rising consciousness of environmental protection and increasing concept of safety agricultural products, more and more people pay great attention to both environment friendly and food safety. Therefore, biological agricultural materials have become a notice topic for agricultural production. The microbial agricultural materials development is according to the concept of competition and balance within organisms and it obey the tendency of ecological development. As to the specific geographic environment, the microbes are diversity in Taiwan. Furthermore, it has highly energy for microbial research from academia and research sector, which it has built highly potential for developing the microbial agricultural materials in Taiwan. Up to date, it has dozens of trades of microbial pesticides and fertilizers in Taiwan, but only concentrated to limit kinds. Otherwise, microbial pesticides and fertilizers application are restricted to specific industry, not famous accepted for farmers use. Therefore, it will face to the problems for developing the industry of microbial pesticides and fertilizers, and incorporate the global logistics plan for agriculture science and technology by Council of Agriculture. Six development strategies are raise for microbial pesticides and fertilizers industry. First, establish the institute for agricultural science achievements industrialization; second, developing diversity products; third, integrated application demo and extension in the field; forth, thrust the industry, academia and research sector alliance; fifth, enforce education and advertisement; sixth, enhance the investigate and seize action on illegal goods, *etc.* It expected to active the developing energy and connect platform for microbial pesticides and fertilizers on industry, academia and

research sector in Taiwan, set up the institute for agricultural science achievements industrialization, provide assistance for achievements industrialize and marketing plan and layout in Taiwan and abroad to reach the development goal for industrialization of microbial pesticides and fertilizers.

Key words: Microbial pesticides, Microbial fertilizers, Industrialization.

國外農業生物資材管理現況— 以美國、歐盟、日本之生物農藥為例

楊玉婷*、許嘉伊

台灣經濟研究院 生物科技產業研究中心

*通訊作者。E-mail: d26198@tier.org.tw

摘 要

各國多採取傳統農藥法規架構管理生物農藥。在美國，農藥的規範區分為聯邦政府及州政府兩個層次，但最主要仍以聯邦層次加以管轄，同時也在中央主管機關設置針對生物農藥的專責單位；而歐盟則由於農藥規範涉及歐盟及各會員國層次，登記程序複雜而衍生諸多問題阻礙產品上市，而新規則可望推動境內產業發展；而日本管理層次較為單純，農藥統一由農林水產省作為產業主管機關管理產品登記，並與環境省、厚生勞動省等相關單位協議農藥相關基準。本文謹簡介美國、歐盟、日本生物農藥管理制度，供各界參考，以利評估我國管理規範制定方向。

關鍵詞： 生物農藥、登記、法規、國際比較。

前 言

農藥為保護農林作物免於病蟲草害危害之藥劑，其中生物性農藥對自然生態較為無害且專一性高，為永續農業的一大功臣。由於生物農藥歸類為植物保護製劑範疇，各國多半採取既有的化學農藥的法規架構對生物農藥的進行管理，然而由於生物農藥的屬性與傳統化學農藥之特性差異，各國政府多半需要採取不同措施來調整對於生物農藥的管理方式。因此本文針對美國、歐盟、日本生物農藥管理制度進行介紹，以提供國內各界參考，俾能對我國生物農藥產業推動有所助益。

一、美國

北美為全球最大生物農藥市場，在 2013 年年初，美國已有約 400 項生物農藥活性物質完成註冊，且有超過 1,250 項生物農藥產品上市銷售。一般認為美國生物農藥產業蓬勃發展在耕地廣大、氣候多元外，亦歸功於美國政府積極推動生

物農藥之應用之管理架構及政策措施，也使美國成為全球生物農藥產業及相關政策發展主要參考指標。

一般而言，生物農藥多半在既有化學農藥法規架構下管理，但美國於農藥註冊機構下特別設立了生物農藥與污染防治部門，可加速生物農藥產品之上市審核。此外，美國透過 IR-4 計畫 (Inter-regional Research program No.4)、Biopesticide Demonstration Grant Program 等計畫，強化美國農業部及贈地大學間的合作，進行生物農藥核准前的功效研究，與核准後的產品效用田間實證，大幅加速研究成果商品化並進行推廣。

(一) 主管機關與法規

美國的農藥管理雖然區分為聯邦及州政府兩個層級，但仍以聯邦層級為主導。其中央主管機關為環保署 (United States Environmental Protection Agency, EPA)，EPA 的農藥註冊機構 (Office of Pesticide Programs, OPP) 負責管理農藥在聯邦層次的許可，而各州政府負責管理農藥在該州的使用及販賣，生物農藥產品上市前，須於 EPA 及州政府進行產品註冊後才可銷售、使用。在美國最積極進行農藥管理的州別是加州及佛州，又以加州最為嚴苛，約有 350 個農藥檢查員，而佛州僅有 45 人。

美國是少數以生物農藥產業屬性的角度建構管理體系的國家，EPA 的農藥註冊機構 (OPP) 設有一生物農藥與污染防治部門 (Biopesticides and Pollution Prevention Division, BPPD)，專門負責審查微生物農藥及生化農藥。由於 BPPD 有自己專屬的化學、經濟學、毒物學等專家，可自行進行相關評估，加速作業程序，故大幅提升產品登記效率。

EPA 管理農藥法規依據為兩個聯邦法：(1) 聯邦殺蟲劑、殺菌劑及滅鼠劑法 (Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act, FIFRA)，規定農藥於美國的管理、售賣、供銷和使用，授權 EPA 執行評審、登記、暫停或撤銷農藥登記；以及(2) 聯邦食品、藥品及化妝品法 (Federal Food Drug, and Cosmetic Act, FFDCA)，賦予 EPA 有權制定食品或動物飼料中的農藥殘留容許量 (tolerance)。依據 FIFRA 農藥註冊可依循下列 4 項註冊措施：

1. 聯邦註冊 (Federal Registration Actions)：根據 Section 3 of FIFRA，EPA 管理全國農藥註冊，各地方政府管理已於 EPA 註冊之農藥在該轄區內的使用及販賣。大多地方政府只要求申請者提交 EPA 核可的文件，但有些地方政府，例

如加州，會要求額外的數據或資料如藥效資料，以核准農藥於該州使用。

2. 田間試驗許可 (Experimental Use Permits, EUPs)：根據 Section 5 of FIFRA，進行農藥開發階段的田間試驗須事前向 EPA 申請許可。化學農藥製造商於進行 10 英畝地以上或 1 英畝水域以上的田間試驗 (experimental field test)，須先獲得 EUP 核准，另生物農藥亦同；但若為基改微生物或外來微生物，即便是小規模試驗也須先獲得 EUP 許可。
3. 緊急豁免 (Emergency Exemptions)：根據 Section 18 of FIFRA，於緊急情況下，EPA 可允許州政府及聯邦機構核准未經註冊農藥於限定期限內在特定區域使用。
4. 地方註冊 (State-Specific Registrations or Special Local Need registrations (SLNs))：根據 Section 24(c) of FIFRA，州政府有權核可新農藥產品及其使用規定，或是延伸 EPA 註冊農藥在其他作物上使用，前提是需證明有特殊當地需求 (special local need)，且符合 FFDCA 要求之容許量、或其他安檢 (clearance) 資料，另 EPA 則有權經複查 (review) 後駁回州政府的註冊案。

EPA 將生物農藥定義為由自然資材製成之農藥，其中自然資材包括動物、植物、微生物，甚至是礦物質，例如油菜油、甲殼素都被當作農藥使用，也在生物農藥的範疇中；但捕食者、線蟲、及肉眼可見的寄生生物不列入管理 (40 CFR 158.2100)。EPA 依其規範將生物農藥分為下列 3 類：

1. 微生物農藥 (Microbial pesticides)：根據美國聯邦法規 (Code of Federal Regulations, CFR) 40 CFR 158.2100，微生物農藥屬於微生物製劑的一種，包括：
(1) 真核微生物，包含原蟲、藻類及真菌等；(2) 原核微生物，包含真細菌 (Eubacteria) 與古細菌 (Archaeobacteria) 等；(3) 寄生性可複製的微小單元，包含病毒等。而微生物包含自然界存在或經基因改造者皆屬之。
2. 生化農藥 (Biochemical pesticides)：根據 40 CFR 158.2000，生化農藥是指自然界存在或是與天然物質結構相似且功能相同的物質，該物質在人類的歷史上已存在多年，且被證實具低環境毒性 (environment demonstrating minimal toxicity)，而合成的生化農藥則必須是和上述天然物質具有相類似的特性，另對標的生物的作用機制屬非毒殺性。依規範生化農藥主要包含 (1) 化學傳訊物質 (semiochemical)，如費洛蒙 (pheromone) 與凱洛蒙 (kairomone)；(2) 天

然植物調節劑與昆蟲調節劑；(3) 天然誘引劑 (attractant) 與忌避劑 (repellent)；(4) 酵素。另某天然物質如難以歸類屬生化農藥，則須交由 EPA 所設的生化分類委員會 (Biochemical Classification Committee)，以個案審查方式來判定其是否適用於生化農藥登記要求。

3. 轉基因植物個體 (Plant-Incorporated-Protectants, PIPs)：利用基因改造技術，使植物製造生物農藥成分，例如將蘇力菌的殺蟲蛋白基因轉殖至植物體，使植物製造此殺蟲蛋白來抑制蟲害，且只有蛋白質與遺傳物質屬於 EPA 管轄部分，植物則無需列入管制範圍。

(二) 申請流程與登記要件

EPA 鼓勵申請者於提出產品登記前，先透過註冊前諮商會議(pre-registration meeting)，討論送件資料內涵及免附資料申請，接續進行農藥註冊登記程序，包括：

1. 申請者提交資料

- (1) 試驗資料：(a) 產品特性；(b) 對人體健康及環境影響評估 (Human and environmental assessment for food safety)；(c) 農藥殘留容許量；(d) 製程。
- (2) 標籤資訊 (Labeling Information)：(a) 職業數據 (Occupational data)；(b) 使用說明；(c) 適當的警語。
- (3) 符合法律規定與繳交費用的相關證明。

2. 申請案之審核及評估

- (1) 先審閱人體健康風險（尤著重於兒童、免疫抑制者等敏感族群）、職業風險及環境風險等項目。
- (2) 綜合該申請案提交的所有科學資料，由專家進行風險評估，以評估該產品或成分對人體健康及環境的衝擊。

3. 將考量風險評估及專家審查的結果、風險緩減措施、是否有已註冊的可替代農藥、並協同風險管理 (coordinates risk management with applicants)，以決定是否通過申請案。

另根據 40 CFR 158 之規定，微生物農藥須提交資料包括產品理化性資料、農藥殘留資料、毒理資料、非目標生物及環境資料；生化農藥須提交的資料要求包括：產品理化性資料、農藥殘留資料、對人體健康評估之毒理資料、非目標生物及環境資料；而 40 CFR 158.2160 之規定，EPA 不審查微生物農藥的”藥

效 (efficacy)”，除非是用於病媒防治的環境用藥，EPA 才會審查其藥效。雖然 EPA 不審查生物農藥的藥效，但仍要求申請者應確保依指示使用該產品為有效，且 EPA 保留以個案的方式要求提交藥效資料的權利；至於農藥殘留說明，若農藥是使用於食用或飼料作物，或依據指示使用可能造成農藥直接或間接殘留於食物或飼料上，包含活性物質、惰性成分、代謝物質或分解產物之殘留，則須說明殘留物是否符合規定，或是否屬於免除項目。

(三) 微生物農藥登記資料要求

1. 理化資料要求

根據 40 CFR 158.2120，微生物農藥產品分析資料要求包含下列 3 大類：

- (1) 產品化學性質與組成：包括產品鑑定、生產流程、樣品寄存於國家認可之菌種庫等。
- (2) 分析及規格標準之限值：包括樣品分析及規格標準。
- (3) 物理及化學特性：包括顏色、物理狀態、氣味、常溫及增溫下之安定性、金屬及金屬離子、貯存安定性、混合性、腐蝕性、酸鹼度、黏性、密度/相對密度/容積密度（比重）。

2. 殘留資料要求

根據 40 CFR 158.2130，如果微生物農藥產品可能對人體健康不利，或是由產品特性顯示很可能產生對哺乳動物有害的毒素，且可能殘留於食物或飼料上，則須提供該資材使用後之殘留資料，其殘留資料包括化學鑑定、植物中殘留特性、動物中殘留特性、殘留在植物及動物之分析方法、貯存安定性、於植物中的殘留量、於肉奶蛋中殘留量、於飲用水及魚中的殘留量。

3. 毒理資料要求

根據 40 CFR 158.2140，微生物農藥毒理資料要求分為三階層 Tier I-III，先進行 Tier I，再依 Tier I 結果評估是否進入 Tier II，同樣的，若 Tier II 結果顯示有毒性或致病性，則必須進行 Tier III 的項目。由於 Tier III 的試驗標準可能因微生物特性不同而有所調整，對不同活性物質要求可能不同，因此建議於進行 Tier III 試驗前先諮詢主管機關。

- (1) Tier I 包括：口服急毒性/致病性、肺急毒性/致病性、注射急毒性/致病性（靜脈注射、腹腔注射）、過敏性反應、細胞培養、口服急毒性、皮膚急毒性、呼吸急毒性、急性眼刺激性及原發性皮膚刺激性。

- (2) Tier II 包括：急性毒理、亞慢性毒性與致病性。
- (3) Tier III 包括：生殖及繁殖力影響、致癌性、免疫毒性、感染性與致病性分析。

4. 非目標生物及環境資料要求

根據 40 CFR 158.2150，微生物農藥非目標生物及環境資料要求分為四階層 Tier I-IV，將依前一階層結果評估是否進入下一階層。若採用舒緩措施讓使用期間不合理的不良影響發生性極低，則 Tier IV 可以登記後監控 (post-registration monitoring) 的方式執行。

- (1) Tier I 包括：鳥類口服毒性、鳥類吸入毒性/致病性、野生哺乳類毒性/致病性、淡水魚毒性/致病性、淡水無脊椎生物毒性/致病性、河口魚/海水魚試驗、河口與海水無脊椎生物試驗、非目標植物試驗、非目標昆蟲試驗及蜜蜂試驗。
- (2) Tier II 包括：陸域環境表現試驗 (terrestrial environmental expression tests)、淡水環境表現試驗、海水與河口環境表現試驗。
- (3) Tier III 包括：鳥類慢性致病性與生殖試驗、水生無脊椎生物影響範圍測試、對魚類生活史之影響及水域生態試驗。
- (4) Tier IV 包括：陸域野生生物之田間試驗與水生生物之田間試驗。

二、歐盟

歐洲亦為全球重要的生物農藥市場，然而由於歐盟是由 27 個會員國組成之政體組織，產品的上市除受到歐盟層級管理外，也分別受各會員國政府的管理。歐盟農藥登記區分為兩個層次，活性物質 (active substance, 即有效成分) 由歐盟層級審核，由主管機關歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 審查，並通過歐盟執委會 (European Commission, EC) 核可後，含有該活性物質的農藥產品才可提交至歐盟各會員國審查，通過後才得以於其國境內上市。估計在 2012 年歐盟已上市的活性物質約 80 項。由於會員國之間的相互承認難以落實，不利於農藥產品的推廣，為了完善管理規範，歐盟於 2009 年公布新的植物保護產品上市規則，並於 2011 年 6 月全面適用，整體而言將有利於生物農藥產業發展。

(一) 主管機關與法規

1. 1993 年 - 2011 年

1991 年歐洲農藥管理歐洲經濟共同體通過理事會指令 Council Directive 91/414/EEC (簡稱 Directive 91/414/EEC)，並於 1993 年生效。Directive 91/414/EE 奠定了歐盟農藥管理的輔助性原則（權力下放）及預警性原則。

Directive 91/414/EEC 將植物保護產品登記分為兩個階段，第一階段為活性物質審查，第二階段為產品審查。第一階段屬於歐盟層級，活性物質經歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 審查後，將其建議交付食物鏈與動物保健常設委員會 (Standing Committee on the Food Chain and Animal Health, SCFCAH)，經會員國表決通過，通過的活性物質可被列入 Directive 91/414/EEC Annex I 之中，該清單為歐盟地區可被用於農藥產品的所有活性物質。第二階段產品審查則屬於歐盟會員國層級，農藥產品上市審核職權隸屬於各會員國，也就是當活性物質被列入 Directive 91/414/EEC Annex I 後，申請者必須再向任何會員國申請產品註冊，並由各會員國自行決定該產品是否可於境內上市。如果農藥業者要將產品銷售至歐盟內的 11 國，就必須分別向這 11 國提交申請，對此，產業反映產品上市十分耗費時間及資金。此外，歐盟還頒布 Council Directive 79/117/EEC 以禁止含有特定活性物質的農藥上市。

2. 2011 年至今

由於在 Directive 91/414/EEC 中對農藥採取兩階段的管理體系，卻使產業運作很快出現問題，對農藥廠商而言，欲在另一國家上市就必須重新提出申請。這個制度缺陷阻礙了生物農藥產業發展。歐盟指委會接受既有農藥規範難以推行相互承認之說法，經過科技進步與執行經驗不斷累積，為確保達到維護人類及動物健康、保護環境之目的，並促進會員國間農藥產品審查規範之調和，2009 年歐盟公布新的植物保護產品上市規則 Regulation (EC) No 1107/2009 (簡稱 Regulation 1107/2009/EC)，取代原有的 Directive 91/414/EEC 與 Directive 79/117/EEC。Regulation 1107/2009/EC 於 2009 年 12 月 14 日生效，並自 2011 年 6 月 14 日全面適用於歐盟及各會員國。

在 Regulation 1107/2009/EC 的架構下，農藥查驗登記仍維持原有的兩階段制度，如上述，活性物質於歐盟層級審核，須先經過主管機關 EFSA 審查，並通過歐盟執委會 (EC) 核可後，才可將含有該活性物質的農藥產品提交至歐盟各會員國，經審查通過才得以於批准國境內上市。

歐盟沒有單獨制訂生物農藥的管理法規，產品上市規則同時適用於化學農

藥與生物農藥，唯在活性物質及產品登記資料要求規則中，區分為化學物質 (chemical substances) 與微生物 (micro-organisms including viruses) 兩大部分作說明。根據 Regulation 1107/2009/EC 及 Commission Regulation (EU) No 544/2011 定義，「物質 (substances)」是指化學元素 (chemical elements) 及其化合物 (compounds)，包括天然物質或人工製造者，若為人工製造則包含任何產製過程所產生的不純物；「微生物 (micro-organisms)」是指任何微生物，包括較低等的真菌、病毒、細胞、或可複製與可轉移遺傳物質之非細胞等，其中包含但不限於細菌、真菌、原生動物、病毒及類病毒 (viroids)。然而，植物萃取物及昆蟲費洛蒙等一般認知屬於生物農藥範圍的物質，由於不屬於微生物類別，因此在歐盟管理體系下仍需適用化學物質類別的規定。

(二) 新規則要點

Regulation 1107/2009/EC 規範內容包括申請流程、活性物質登記資料要求、產品登記資料要求、產品評估及核准之統一原則、產品標示要求、核准活性物質清單等，且細節已公布於相關的執委會規則中（表一）。其中，核准活性物質清單包括原已被核可使用之項目，也就是列於 Directive 91/414/EEC Annex I 之清單，當核可項目有效期限屆滿時，重新審查將適用新的 Regulation 1107/2009/EC 規則。Regulation 1107/2009/EC 除了正文外，還包含 5 個附錄 (Annexes)。Annex I 是有關會員國間相互承認 (mutual recognition) 的分區名單，其中把歐盟所有會員國分為北、中、南三個區域；Annex II 說明活性物質核准標準；Annex III 列出不准用於植物保護產品之助劑 (co-formulant)，目前為空白；Annex IV 說明比較評估內涵；Annex V 為已被廢除的指令與規則列表。

表一、歐盟植物保護產品上市管理規則

Table 1. Plant protection product regulations

規則	內容
Regulation (EC) No 1107/2009	植物保護產品上市規則
Commission Regulation (EU) No 544/2011	活性物質(有效成分)登記資料要求
Commission Regulation (EU) No 545/2011	產品登記資料要求
Commission Regulation (EU) No 546/2011	產品評估及核准之統一原則
Commission Regulation (EU) No 547/2011	產品標示要求
Commission Implementing Regulation (EU) No 540/2011 & No 541/2011	核准活性物質清單
Regulation (EC) No 396/2005 & No 178/2006	農藥最大殘留量規定

資料來源：EU；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理。

1. 危害排除原則

Regulation 1107/2009/EC 規定活性物質核准採用「危害排除標準 (cut-off criteria)」，也就是當活性物質、安全劑 (safener)、增效劑 (synergist) 落入危害類別範圍內，則無法進入查驗登記程序，而會直接被排除在上市許可外。上述之危害類別範圍與人類健康相關者有致突變類 (mutagen category)、致癌類 (carcinogen category) 及生殖毒性類 (reproductive toxicity category)，其定義規範於 Regulation (EC) No 1272/2008 之 Part 3: Health Hazards 中，而對人類造成危害的內分泌干擾物 (endocrine disruptor) 尚未有明確定義。另與環境相關類別則包括持久性有機污染物 (POP)、持久性、生物累積性及毒性物質 (PBT)、高持久性、生物累積性物質 (vPvB)，及會對非目標生物造成危害的內分泌干擾物，其中 POP、PBT、vPvB 定義規範於 Regulation (EC) No 1107/2009 Annex II (表二)。然而，如果上述危害物質符合下列兩點例外情形，則得以進入查驗登記程序：

- (1) 於致癌類、生殖毒性類、(人類)內分泌干擾物類別：當農藥產品使用時，人類暴露於產品活性物質、安全劑、增效劑的情形可以忽略，例如產品施用於密閉系統或使用時不會接觸人類，且其殘留量低於規定標準。
- (2) 於致癌類、生殖毒性類、(人類及環境)內分泌干擾物類別：為了控制對植物健康有嚴重危害者，且目前無其他替代方法（包括非化學方法），則

活性物質可以被有期限的核可，但不可超過 5 年。

表二、歐盟禁止核准之活性物質類別

Table 2. Categories of banned active substances in EU

人類健康相關	環境相關
1. Mutagen category 1A or 1B*	1. POP (persistent organic pollutant)
2. Carcinogen category 1A or 1B*	2. PBT (persistent, bioaccumulative and toxic) substance
3. Reproduction category 1A or 1B*	3. vPvB (very persistent and very bioaccumulative substance)
4. Endocrine disruptor	4. Endocrine disruptor

註：*定義如 Regulation (EC) No 1272/2008 之 Part 3: Health Hazards 所示。

資料來源：Regulation (EC) No 1107/2009；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理。

2. 相互承認原則

為了加速各國於農藥產品之審查，Regulation 1107/2009/EC 規定會員國間的相互承認 (mutual recognition)，將歐盟劃分為北、中、南三區，原則上申請者於一會員國取得產品登記證後，於同區其他國家申請時，其他會員國可直接採用該評估內容來核准產品登記，只要申請者補齊各會員國特定的資料要求即可。此外，如果農藥產品是用於溫室，或收穫後處理、種子處理、儲藏空間處理等用途，則登記評估資料以不分區原則適用。而北、中、南三個區域所包含的會員國名單規定於此規則的 Annex I (表三)。新規則中提出的分區相互承認原則，未來可望提升產品登記速度，有利於已取得登記的產品可在同一區內的其他國快速取得登記。

表三、歐盟植物保護產品查驗登記分區

Table 3. EU mutual recognition zones for pesticides

區域	會員國
Zone A—North	丹麥、愛沙尼亞、拉脫維亞、立陶宛、芬蘭、瑞典。
Zone B—Centre	比利時、捷克、德國、愛爾蘭、盧森堡、匈牙利、荷蘭、奧地利、波蘭、羅馬尼亞、斯洛維尼亞、斯洛伐克、英國。
Zone C—South	保加利亞、希臘、西班牙、法國、義大利、塞普勒斯、馬爾他、葡萄牙。

資料來源：Regulation (EC) No 1107/2009 Annex I；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理。

3. 替代機制

為了盡可能將農藥對人體與環境的危害降到最低，Regulation 1107/2009/EC 導入替代 (substitution) 機制，促進以其他更安全的產品與方法來取代危害性較高的農藥，例如用生物農藥等非化學方法作為取代方案。於比較評估 (comparative assessment) 規定中，歐盟將具有較高風險的活性物質項目列為被替代候選物 (candidates for substitution)，規定會員國於審查含這些活性物質的農藥產品時，應與現有風險較低的替代方法做比較，若現有產品（包括化學農藥）、非化學方法對人類及環境更安全，且現有化學農藥活性物質的多樣性已可使抗藥性發生降至最低的情形下，則不應通過該產品之審查，或應限制其使用範圍。此外，進行比較評估時，同時應考量未核准該產品時，將不會嚴重影響經濟與實用面，與少量作物之應用需求。如果一會員國核准含有被替代候選物之產品，則此核准案將不適用於會員國間的相互承認原則。被替代候選的活性物質核准期限為 7 年內，被替代候選物的符合條件說明於 Regulation 1107/2009/EC Annex II，比較評估內涵則列於 Annex IV。

4. 低風險活性物質

新規則可確保優先使用非化學以及自然的農藥產品，而生物農藥可被歸類為低風險的活性物質，因此新規則將有利於生物農藥產業的發展。低風險活性物質的核准期限為 15 年，比一般活性物質的 10 年期限還久，所需的登記資料較少，且會員國於審查低風險活性物質農藥產品時應於 120 天內完成，若會員國需要更多資料，則可設定期限要申請者提供，並應於 6 個月內提供。較需注意的是活性成分在土壤中的半衰期應少於 60 天，但這對於含有與土媒病原競爭的根圈拮抗菌的微生物農藥，可能形成管理上的阻礙。

此外 Regulation 1107/2009/EC 於 Annex II 列出不得為低風險活性物質之類別，包括致癌、致突變、生殖毒性、增敏化學 (sensitizing chemicals)、劇毒、爆炸性、腐蝕性、持久性的、生物濃度係數 (bioconcentration factor) 高於 100、內分泌干擾物、具有神經毒性或免疫毒性者。將增加部分化學農藥上市的困難。

5. 暫時核准權限

歐盟賦予會員國行使暫時核准之權限。新的活性物質審查應於 30 個月內完成，若歐盟未於期限內完成審查，各會員國才可執行暫時核准，於境內允許含有未經歐盟核准活性物質的農藥產品上市，核准期限為 3 年內。

6. 廣告用詞規定

歐盟規定植物保護產品廣告，應明顯呈現「使用前應閱讀產品標示與說明，安全地使用植物保護產品 (Use plant protection products safely. Always read the label and product information before use)」字樣；且可以用更精確的名稱，例如「殺菌劑、殺蟲劑、除草劑 (fungicide, insecticide or herbicide)」取代「植物保護產品 (plant protection product)」的用語。不得於廣告文字與圖形中出現「低風險、無毒、無害 (low risk, non-toxic or harmless)」等誤導字眼，僅有低風險植物保護產品才可於廣告上出現「依據 Regulation (EC) No 1107/2009 規則，被核准為低風險植物保護產品 (authorised as low-risk plant protection product in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009)」字句。

7. 農藥永續使用

除 Regulation 1107/2009/EC 之外，歐盟於在 2009 年通過的 Directive 2009/128/EC (又稱為農藥永續使用指令)，要求會員國採用國家行動計畫 (National Action Plan)，設定目標及時間表，以減少農藥使用對人類健康及環境風險之影響，並鼓勵發展有害生物綜合管理 (integrated pest management, IPM) 及替代技術或方法，以減少對農藥的依賴。在此規則中導入 IPM 原則即便在 2014 年之前並非強制施行，但已鼓勵會員國對採用 IPM 的農民提供財務上的誘因。從歐盟的觀點，開發以作物為基礎的 IPM 策略十分必要，歐盟甚至指出個別會員國有必要推出受驗證的 IPM 諮詢服務，以補足研發端及使用者端之間的空缺。

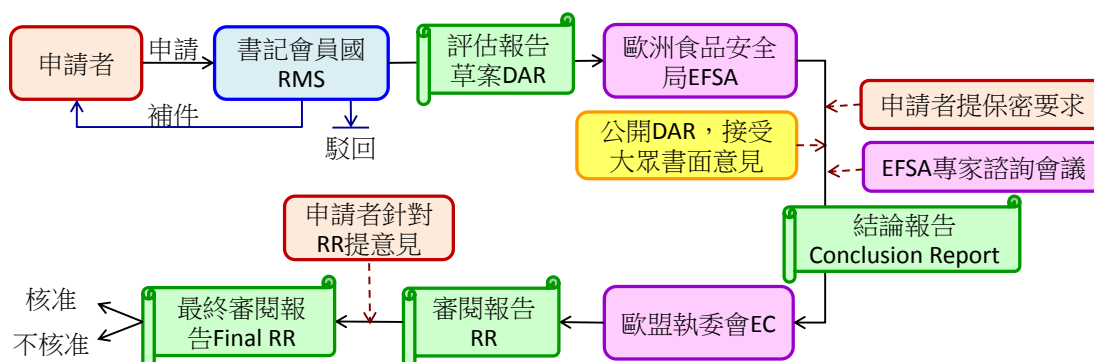
從以上原則可看出，歐盟的新規則提供生物農藥產業很大的發展潛力，包含加快產品登記速度，以及提供有效的相互承認，但同一區內的相互承認措施仍有許多實務上的問題，如各國管理機構的原及效率差異，實際施行上仍有待磨合與解決，需要國與國之間生物農藥產業以及使用者的努力。歐盟不但持續檢討植物保護產品上市法規，新規則導入替代機制、低風險活性物質等規範，促進高安全性的產品上市，而會員國也有各自的推動政策，例如英國於 2003 年試行 Biopesticides Pilot Project，並於 2006 年推出 Biopesticides Scheme，透過送審前會議及降低審查費等方式，加速生物農藥產品上市；法國為了降低化學農藥帶來的負面衝擊，推動化學農藥減量政策，預計以十年的時間，在 2018 年達到農藥減量 50% 的目標。上述相關規定將有助於歐盟生物農藥產業發展。

(三) 查驗登記流程

1. 活性物質

Regulation 1107/2009/EC 規範活性物質產品查驗登記，包含新的活性物質、及已獲准產品登記的活性物質之修改。此查驗登記規則不僅適用於活性物質，也將安全劑及增效劑納入管理，其中含括上述的危害排除原則、替代機制（比較評估）、低風險活性物質之規定。新的活性物質查驗登記流程（圖一），申請者（applicant）備齊申請文件（dossier），包括完整文件與摘要，向書記會員國（Rapporteur Member State, RMS）提出申請。書記會員國收到申請文件後，確認文件是否齊全、是否有相關保密要求等（申請時需將欲保密內容與非保密文件分開）。若申請文件不齊全，書記會員國將通知申請者於一定期限內補件，且該期限最長為 3 個月。若申請者未於期限內完成補件，則該申請案不成立。若申請文件齊全，書記會員國將通報申請者、其他會員國、歐盟執委會及 EFSA，並進入活性物質審查程序。

EFSA 將立即向大眾公開申請文件之摘要，但在無損公眾利益的前提下，不公開申請者要求保密的內容。進入活性物質審查程序的 12 個月內，書記會員國須向執委會提出評估報告草案（draft assessment report, DAR），並副本給 EFSA



註 1：RMS: Rapporteur Member State; EFSA: European Food Safety Authority; EC: European Commission; DAR: draft assessment report; RR: review report.

註 2：歐盟植物保護產品查驗登記分為兩個階段，第一階段為活性物質（有效成分）審查，第二階段為產品審查；此為第一階段之審查流程。

資料來源：Regulation (EC) No 1107/2009；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理。

圖一、歐盟植物保護產品之活性物質審查流程。

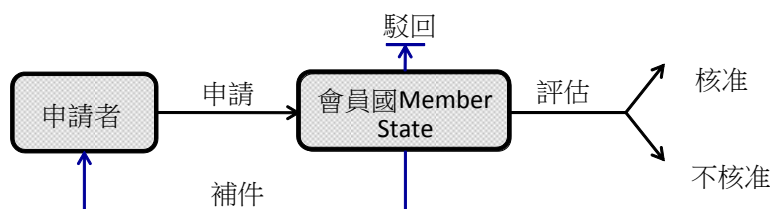
Fig. 1. Assessment process of plant protection active substances in EU.

，草案包括評估該活性物質是否符合核准標準，並提出最大殘留量建議。主管機關 EFSA 收到評估報告草案的 30 天內會將草案提供予申請者及其他會員國，允許申請者於 2 週內針對評估報告草案提出部分內容的保密要求，然後把評估報告草案向大眾公開，於 60 天內接受書面意見提交。然後，EFSA 將召開專家諮詢會議，於 120 天內針對活性物質是否符合核准標準提出書面結論，提交予執委會。執委會於收到結論報告的 6 個月內提出審閱報告 (review report, RR)，申請者可針對審閱報告內容提出意見，然後執委會提出最終的審閱報告，核定該活性物質是否通過審查。

首次通過審核之活性物質有效期限應不超過 10 年，而活性物質展延 (renewal) 期限每次應不超過 15 年，且若符合特定危害類別項目者，則展延期限更縮短至 5 年內。

2. 產品

Regulation 1107/2009/EC 規範植物保護產品查驗登記，當產品中之活性物質、安全劑、增效劑皆已通過歐盟核准，且助劑不可為 Annex III 所列品項，才能申請進入植物保護產品審查程序。植物保護產品查驗登記流程（圖二），申請者向各會員國提出植物保護之新產品申請，或產品修改申請，申請文件須包含產品及活性物質等成分之評估資料、產品標示草案，並於文件中需說明此產品已於那些會員國或欲於那些國家提出查驗登記申請。而且依據各國要求，申請文件應使用該國之官方語言。於送交申請文件時，申請者可要求部分資訊保密（申請時需將欲保密內容與非保密文件分開），經會員國同意後則得以用密件處理。而植物保護產品核准的有效期限不應超過產品中活性物質、安全劑、增效劑之到期日的一年以上，而且為了使相關物質的再審查可以同步，產品核准的期限還可能更短。於審查時間方面，會員國應於 12 個月內完成產品審查，若遇到需要補件的情形，則可要求申請者於 6 個月內完成補件，補件期間不計入審查期限的 12 個月內；然而，如果活性物質、安全劑、增效劑的生產來源或製造方法、製造地點與當初於歐盟層級申請的不同，則需要花更多時間評估兩者的相等性，此評估也同樣不計入審查期限的 12 個月內。



註：歐盟植物保護產品查驗登記分為兩個階段，第一階段為活性物質（有效成分）審查，第二階段為產品審查；此為第二階段之審查流程。

資料來源：Regulation (EC) No 1107/2009；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理。

圖二、歐盟植物保護產品之產品審查流程。

Fig. 2. Assessment process of plant protection products in EU.

（四）微生物農藥登記資料要求

植物保護產品之活性物質（有效成分）登記資料要求是規範於 Commission Regulation (EU) No 544/2011，而產品登記資料要求規範於 Commission Regulation (EU) No 545/2011，此兩份規範皆分別列出化學農藥及微生物農藥之要求，Part A 為化學製劑、Part B 為微生物製劑，而農藥最大殘留量則規定於 Regulation (EC) No 396/2005。於產品登記方面，申請者向各會員國提出植物保護之新產品申請，或產品修改申請，申請文件須包含產品及活性物質等成分之評估資料、產品標示草案，並於文件中需說明此產品已於那些會員國或欲於那些國家提出查驗登記申請。

三、日本

日本由於二次大戰後糧食增產，引起不良農藥危害農民權益，故於 1948 年制定農藥取締法，而後，歷經 1963、1971 及 2002 年的大幅修正，至 2003 年已明確採用農藥登記制度進行管理。

至於生物農藥則是在 1995 年，其登記試驗內容及公家機關之試驗評估方法確立後，生物農藥在法規上的登記要件才正式齊備。

（一）主管機關與法規

日本農藥的管理以農林水產省為中央主管機關，並以其主管的獨立行政法人農林水產消費安全技術中心（獨立行政法人農林水產消費安全技術センター，Food and Agricultural Materials Inspection Center, FAMIC）為窗口，受理農藥的申

請。農產品上的農藥殘留基準與厚生勞動省、內閣府消費者廳、內閣府食品安全委員會協議制定，環境上的農藥基準與環境省協議制定，這些單位與農林水產省合作，構築為日本的農藥管理體系。

表四、日本農藥管理機關

Table 4. Pesticide authorities in Japan

	機關名稱	業務內容
主管機關	農林水產省	●接受農藥登記 ●指示獨立行政法人農林水產消費安全技術中心進行登記檢查 ●確認農藥是否可以登記
	農林水產消費安全技術中心（由農林水產省管轄之獨立行政法人）	●做為農藥登記之申請窗口 ●執行登記檢查並對農林水產省報告
其他相關部會	厚生勞動省	●提供農林水產省設定農藥使用基準之意見
	內閣府消費者廳	●與厚生勞動省協議設定農藥殘留基準
	內閣府食品安全委員會	●與厚生勞動省協議設定農藥殘留基準
	環境省	●與農林水產省協議設定登記保留基準

資料來源：獨立行政法人農林水產消費安全技術中心；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理。

日本基於「農藥取締法」，將農藥的製造、進口乃至銷售的全程進行管理。為了確保農藥的安全性，以「農藥登錄制度」作為管理模式，只有經過農林水產省登記的農藥才得以製造、進口及銷售。

農藥取締法所稱的農藥是指「為了防治危害農作物的菌類、線蟲、昆蟲、鼠類以及其他動植物及病毒而使用的殺菌劑、殺蟲劑及其他藥劑（以此藥劑為原料或材料而使用的資材，進行其防治者中，經政令規定者包含在內），同時包含增進或抑制農作物的生理機能的植物生長調節劑、發芽抑制劑等其他藥劑」。此外，為了防治農作物病蟲害而使用的「天敵」亦視為農藥之一。

在生物農藥方面，依據農林水產消費安全技術中心的說明，生物農藥指：為了防治危害農作物的病蟲害及雜草，使用存活狀態的微生物及天敵昆蟲作為農藥者。天敵農藥包含寄生性昆蟲、捕食性昆蟲等，包含捕食性蟎類。微生物農藥包含病毒、細菌、絲狀真菌等微生物，以及線蟲。性費洛蒙及抗生物質等生物產生的物質雖可作為農藥使用，但由於並非在存活狀態下使用，所以通常不視為生物農藥。

記之限 (特定農藥僅包含本土昆蟲綱或蛛形綱天敵、碳酸氫鈉及食用醋)。

1. 申請資料

農藥登錄申請書內容包含：(1) 公司名稱及代表人名稱地址；(2) 產品資訊：農藥種類、名稱、理化特性、有效成分種類及個別含量；(3) 適用病蟲害範圍及使用方法；(4) 對人畜毒害內容及解毒方法；(5) 對水產動植物毒害內容；(6) 可燃性、爆炸可能性、皮膚有害性內容；(7) 儲藏或使用注意事項；(8) 製造廠：名稱及所在地；(9) 製造方法；(10) 銷售包裝資訊：包裝種類、材質及內容量。

2. 農藥

一般農藥 (不包含微生物農藥) 的藥效、藥害、毒性及殘留資料內容包含：

- (1) 藥效試驗：對適用病蟲害之藥效試驗，含對作物生理之影響。
- (2) 藥害試驗：對適用作物、周邊作物、後續作物之藥害試驗。
- (3) 毒性試驗：急性經口毒性試驗、急性經皮毒性試驗、急性吸入性毒性試驗、皮膚刺激性試驗、眼刺激性試驗、皮膚敏感性試驗、急性神經毒性試驗、急性遲發性神經毒性試驗、反覆口服毒性試驗 (90 天)、反覆皮膚投藥毒性試驗 (21 天)、反覆吸入毒性試驗 (90 天)、反覆經口投藥及神經毒性試驗、反覆投藥遲發性神經毒性試驗 (28 天)、反覆經口投藥毒性試驗 (1 年)、致癌性試驗、繁殖毒性試驗、致畸胎性試驗、致突變性試驗、生物體機能影響試驗、動物代謝相關試驗、植物代謝相關試驗、土壤中動態相關試驗、水中動態相關試驗、水產動植物影響相干試驗、水產動植物以外有益生物影響相關試驗、有效成分性狀安定性及分解性相關試驗、環境中預測濃度計算相關試驗。
- (4) 殘留相關試驗：農作物殘留性試驗、土壤殘留性試驗。

3. 微生物農藥

在生物農藥的安全性評估上，僅微生物農藥被獨立出而有別於一般農藥試驗，依據「微生物農藥安全性評估相關基準 (微生物農藥の安全性評価に関する基準)」，微生物農藥包含病毒、細菌、真菌、原生動物、線蟲 (限如共生細菌此類具備活性成分者) 在存活的狀態下，以作為農藥之目的而製造或進口銷售之產品，其對象不包含成分來源取自寄生蜂、捕食性昆蟲等之天敵及含抗生素微生物農藥，同時對象範圍亦不含基因改造微生物。

微生物農藥的安全評估內容包含對人體的安全性及對環境生物等影響，如

下表所示，然而若依據提出之資料的評估結果、微生物的生物學性質、微生物農藥的使用方法等，受主管機關認定有必要進一步驗證或確認安全性時，應進一步提出更詳盡的試驗資料。

表五、微生物農藥安全性評估資料之各類微生物要求項目

Table 5. Data requirements of microbial biopesticides safety assessment

要求項目	微生物種類		備註
	病毒	其他	
1 農藥規格屬性相關資料			
(1) 微生物的名稱及分類學上的地位	○	○	
(2) 微生物的生物學性質	○	○	
(3) 農藥原體的組成	○	○	
(4) 農藥原體的製造方法	○	○	
(5) 製劑的組成	○	○	
(6) 製劑的製造方法	○	○	
2 使用方法相關資料			
(1) 適用病蟲草害等及施用對象農作物	○	○	
(2) 使用方法及用量	○	○	
3 人體安全性試驗（毒理試驗）成績			
(1) 單次口服給藥試驗	○	○	
(2) 單次皮膚給藥試驗	○	○	
(3) 單次呼吸道給藥試驗	○	○	
(4) 單次靜脈注射給藥試驗	○	○	
(5) 單次眼刺激性試驗	○	○	
(6) 皮膚敏感性試驗	○	○	對病毒、細菌、真菌，實施該試驗。
(7) 細胞培養試驗	○	X	
(8) 反復投藥試驗	△	△	單次投藥試驗中，證實出現感染性或殘留活性時，實施該試驗。
(9) 致突變性試驗	X	▲	以真菌進行反復投藥試驗後證實出現感染性等情況，實施該試驗。
(10) 繁殖試驗	▲	▲	反復投藥試驗後，證實出現感染性等情況，實施該試驗。
(11) 病毒致癌性試驗	▲	X	細胞培養試驗中，證實對哺乳類動物細胞引發感染等情況，實施該試驗。

要求項目	微生物種類		備註
	病毒	其他	
(12) 引發免疫功能失調試驗	▲	X	細胞培養試驗中，證實對哺乳類動物細胞引發感染等情況，實施該試驗。
(13) 靈長類影響試驗	▲	X	同上
4 製造或使用時引發過敏性反應等事例相關資料	○	○	
5 農作物殘留活性試驗成績	△	△	使用於食用農作物時，在人體安全性試驗（毒理試驗）第一階段試驗中證實出現影響時，實施該試驗。
6 對環境生物的影響試驗成績			
(1) 淡水魚影響試驗	○	○	依微生物的生物學性質而具備科學性根據時，以及因微生物農藥使用方法而無曝露之可能性時，可省略該試驗。
(2) 淡水類無脊椎動物影響試驗	○	○	同上
(3) 鳥類影響試驗	○	○	同上
(4) 植物影響試驗	○	○	同上
(5) 非目標生物昆蟲影響試驗	○	○	同上
(6) 蜜蜂影響試驗	○	○	同上
(7) 蠶影響試驗	○	○	同上
(8) 土壤微生物影響試驗	○	○	同上
7 環境中動態相關試驗成績	△	△	對環境生物的影響試驗中，證實出現影響性時，實施該試驗。
○：依第一階段試驗要求 △：依第二階段試驗要求 ▲：依第三階段試驗要求 X：不需要			

（註）所謂第一階段、第二階段、第三階段試驗，是指第一階段試驗結果任一項證實出現感染性等時則實施第二階段試驗，又，第二階段試驗任一項證實感染性等時或第一階段試驗之細胞培養試驗證實感染性等時則實施第三階段試驗。

資料來源：微生物農藥安全性評估相關基準（微生物農藥の安全性評価に関する基準）；台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理。

四、美國、歐盟、日本微生物農藥制度差異

整體而言，在管理層次上，美國以主要以州政府主導產品的登記，但各州政府仍可決定該產品最後是否可在該州上市；歐盟的產品登記涉及歐盟及各成員國之間複雜的關係，但根據新規則的相互承認原則，預計可加速未來產品登記上市和普及；日本則以農林水產省為單一架構整合管理農藥。

在產品內容上，以微生物農藥登記為例比較各國規範差異，美國、歐盟、日本要求提供申請者資料、理化資料、毒理資料、非目標生物毒性/致病性資料，但美國 EPA 不審查微生物農藥的藥效，僅有用於病媒防治的環境用藥才須提交藥效資料，且 EPA 保留以 case-by-case 的方式要求提交藥效資料的權利。歐盟產品上市規則雖同時適用於化學農藥與生物農藥，但在登記資料要求方面，皆將微生物農藥獨立於化學物質之外做規定，以便申請者依循，日本亦將微生物農藥的安全性評估獨立於一般農藥之外管理。

在毒理試驗方面，美國毒理試驗分為 3 階層 Tier I - III，Tier I 主要為急毒性/致病性試驗，Tier II 則包括亞慢性毒性/致病性試驗，Tier III 則包括生殖及繁殖力影響、致癌性、免疫毒性、感染性/致病性分析等。由於 Tier III 的試驗標準可能因微生物特性不同而有所調整，對不同活性物質要求可能不同，因此 EPA 建議進行 Tier III 試驗前應先諮詢主管機關。歐盟的毒理資料要求是規範於「對人體健康之影響」項目中，試驗分為兩階層 Tier I-II，其中 Tier I 包括基本資料及基本毒性及致病性試驗，若結果顯示有不良影響，才須進行 Tier II 試驗，包括特定毒性及體細胞遺傳特性檢測等，且執行 Tier II 前，應先就試驗內容徵求主管機關同意。日本的人體安全試驗（毒理試驗）亦分為 3 個階段，第 1 階段主要為單一劑量毒性試驗、細胞培養試驗眼刺激及皮膚敏感性試驗，如具毒性、感染性、微生物殘留活性等則須進入第 2 階段的重複劑量毒性試驗，如仍發現具毒性或感染性則須進入第 3 階段進行突變、致癌性等進一步試驗。

此外，可以看出美國對基改產品的態度十分開放，直接將基改產品列入生物農藥的管轄範圍之內，與消費者反對基改產品意識高漲的歐盟及日本形成對比，在歐盟並未將基改產品列入管理範疇，而日本直接將微生物農藥的安全性評估對象排除基改微生物，顯示基改微生物農藥產品不易在日本取得登記。

結 語

整體而言，使法規合乎生物農藥產品特性，持續推動生物農藥產業推動乃是趨勢。美國設置特別管理生物農藥的單位 BPPD，培養對生物農藥熟悉的專家，大幅提升產品管理效率；歐盟在 Regulation 1107/2009/EC、Directive 2009/128/EC 等規範頒布後，將整體農藥產業導向低風險物質的使用，更有利於生物農藥的推廣，而其相互承認的落實也值得期待；日本雖以化學農藥管理架構管理生物農藥，但將天敵農藥列為特定農藥而排除，且使微生物農藥的安全性評估獨立於化學農藥之外，因此仍可看出對生物農藥管理的獨立性。

參考文獻

- 日本農林水產省，農藥の基礎知識，From http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_tisiki/tisiki.html
- 日本農林水產省，農藥取締法，From http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_kaisei/zenbun.html
- 日本農藥工業會，農藥は本当に必要？，From http://www.jcpa.or.jp/qa/a6_07.html
- 日本獨立行政法人農林水產消費安全技術中心，農藥登録申請，From <https://www.acis.famic.go.jp/shinsei/index.htm>
- 「作物有害生物整合性防治-生物農藥研發成果產業化發展動態趨勢與策略分析（計畫編號：101 管理-3.1-植防-2(1)）」期末報告 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 101 年度委託計畫。
- 「作物有害生物整合性防治（計畫編號：102 管理-3.1-植防-2(1)）」期末報告 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 102 年度委託計畫。
- 許嘉伊 2013 2013 國際植物保護製劑市場趨勢簡析 農業生技產業資訊網。
- 許嘉伊、邱安隆 2013 美國微生物農藥產品登記制度簡介 農政與農情 256: 75-80。
- 許嘉伊、邱安隆 2013 歐盟微生物農藥產品登記制度簡介 農政與農情 256: 81-88。
- 許嘉伊、楊玉婷 2011 全球微生物農藥研究發展趨勢分析 農業生技產業季刊 28: 1-9。
- Bailey, A., D. Chandler, W. P. Grant, J. Greaves, G. Prince and M. Tatchell. 2010. The regulation of biopesticides: an international analysis. p.148-176. In: Biopesticides: Pest Management and Regulation. CAB International, UK.
- BASF. 2010. Registration of crop protection products: ensuring global safety. BASF SE.

Agricultural Center, Germany.

Bayer CropScience. 2011. New EU pesticide legislation – the view of a manufacturer. *Aspect. Appl. Biol.* 106: 269-274.

Commission Regulation (EU) No 544/2011, Data requirements for active substances.

Commission Regulation (EU) No 545/2011, Data requirements for plant protection products.

Chandler D., A. S. Bailey, G. M. Tatchell, G. Davidson, J. Greaves and W. P. Grant. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Phil. Trans. R. Soc. B* 366(1573): 1987-1998.

Cuddeford, V. 2005. Critical regulatory path for biocontrol agents. *Microbial Biocontrol Agents: Registration, Commercialization & Adoption Issues (Workshop)*.

Directive 2009/128/EC, Establishing a framework for community action to achieve the sustainable use of pesticides.

EUROPA-Plant Health-Plant Protection, From http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/index_en.htm

PIP. 2010 PIP summary of EU pesticide regulations.

Regulation (EC) No 1107/2009, Placing of plant protection products on the market.

United States Environmental Protection Agency (EPA), Regulating Biopesticides, From: <http://www.epa.gov/opbpbpd1/biopesticides/>

United States Environmental Protection Agency (EPA), Regulations, From: <http://www.epa.gov/lawsregs/regulations/#find>

Current Status of Biopesticides Legislation

Yu-Ting Yang^{*} and Chia-Yi Hsu

Taiwan Institute of Economic Research, Biotechnology Industry Study Centre

^{*}Corresponding author. E-mail: d26198@tier.org.tw

ABSTRACT

Biopesticides are mainly regulated within the conventional pesticide regulatory system. In the United States, pesticides are regulated by federal and state authorities, but largely undertaken at the federal level-EPA where a division dedicated to biopesticide is established. In the European Union, with the pesticides registration involving both European Commission and state member governments, the complexity of registration retarded the commercialization of products, yet new regulations are expected to promote the industry development. In Japan, the regulatory system is a relative simple than the other two. The Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries coordinates the approval of pesticides registration, while related standards are provided by Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) and the Ministry of the Environment. In this article, the biopesticides regulatory systems in the US, EU and Japan are introduced for the reference of the public sector and industry.

Key words: Biopesticide, Registration, Regulation, International comparison.

微生物植物保護製劑的作用機制

曾德賜

國立中興大學植物病理系

通訊作者。E-mail: dstzeng@nchu.edu.tw

摘 要

微生物植物保護製劑為作物病蟲害防治管理上最具應用潛力化學農藥的有效替代，進入新世紀以來，傳統化學農藥長期大量使用下對生態環境的破壞、以及對食品安全與民眾健康的嚴重威脅等諸多負面影響已很難見容於社會，替代性生物農藥的發展蔚為世界潮流，其中微生物製劑之發展應用由於量產技術建立相對容易、所需成本較低、且產品易於融入既有栽培管理操作體系，防治效果也可媲美、甚至超越化學農藥之使用，故而世界各先進國家投入研究發展者眾，臺灣亦不例外，既有應用性開發已涵蓋害蟲防治用蘇力菌、蟲生真菌、病毒、原蟲，病害防治用拮抗性、寄生性微生物，以及特定雜草防治用真菌病原等。就國內微生物製劑之商品化應用而言，擬發展產品如何發揮功效是研發過程必須了解的課題，也是產品登記審查過程常被討論的重點項目，其中尤其常見引起熱烈討論之議題莫過於有關主成分之認定，甚至由而所生其安全性顧慮等諸多爭議。所謂微生物製劑按美國 EPA 之定義乃泛指微生物活體於植物保護上之應用，按此其主成分自然是微生物活體本身，其殺菌或殺蟲活性之發揮，當然或多或少與其代謝物之作用有關，誠然許多目前已知的農業用藥劑諸如多種抗生素類殺菌劑、殺蟲劑與殺草劑，其主要或由鏈黴菌等微生物發酵培養萃取純化，或於純化後進一步修飾，甚至在了解其分子結構後以人工合成修飾方式等發展而成。這些藥劑之發展成功案例，難免讓人錯覺認為生物性製劑的效果就是特定主成分發揮的作用，殊不知上述歸屬於仿生性 (biomimic) 藥劑之應用性，事實上僅只擷取源頭微生物浩瀚生命功能中的一個小點，其與微生物活體本身具備細胞全能性 (totipotency) 所賦予多重作用機制的特性可謂天壤之別。有鑑於所發展微生物製劑與標靶病原/害蟲間交互作用有關生理生化作用機制之充分瞭解，是產品推廣應用成效發揮與否成敗之

關鍵，也是在產品登記過程有關主成分之認定常見爭議困擾之瓶頸問題，本講題將就既有一些已經成功商品化應用或發展已臻於成熟之微生物植物保護製劑實例，檢討其已知的作用機制與應用技術，期專業認知的增進對於植物醫護相關產業之發展及有關應用性之管理能有所裨益。

微生物肥料在作物生長的作用機制

楊秋忠

教育部 終生榮譽 國家講座

國立中興大學土壤環境科學系 中興講座教授

通訊作者。E-mail: ccyoung@mail.nchu.edu.tw

摘 要

微生物肥料係指其成分含具有活性微生物或休眠孢子，如細菌（含放線菌類）、真菌、藻類及其代謝產物之特定製劑，應用於作物生產具有提供植物養分或促進養分利用等功效之微生物物品。微生物肥料在作物生長的作用機制主要是應用在根圈微生物的活體之作用，以提供作物營養分來源、增進土壤營養狀況或改良土壤之理化、生物性質，藉以增加作物產量及品質者。土壤有益微生物的種類甚多，常被利用的主要是包括細菌、真菌、放線菌及藍綠藻等 4 大類。根圈微生物的作用機制包括植物營養的直接固氮菌的作用及間接溶解菌的作用供應的養分、增加作物與根部生長及吸收的作用、增進有機質分解及轉化的作用、增進作物抗逆境能力的作用、防止土壤及營養流失的作用、增加作物抗病的作用等。

關鍵詞：微生物肥料、作物生長機制。

前 言

作物的生長及發育依賴氣候（適地適種）、品種（選別、健康種苗）、土壤管理（水分管理、合理化施肥）、栽培管理（地上部管理）、病蟲害管理等，凡是對作物生長及發育，以兼顧環境生態保育的措施都是作物健康管理的考量因素。作物生長在土壤，土壤是培育作物的培養基，因此，土壤與作物是人類生存所依賴者。「健康的土壤」是作物的健康的基礎，而土壤的健康依賴：(1) 能維持良好的物理、化學及生物性的環境（生態）；(2) 能提供充足的養分、水分及氧氣的需求（生產）；及 (3) 不含有毒物質，以維護動物及人體的健康（生活）。

不健康的土壤，作物容易產生生理病害及其他病蟲害的問題，若作物病蟲害多，就容易施用更多的農藥，農藥又再引起環境生態問題，在整體農業土壤環境惡性循環下，人類將是受害者。農業土壤微生物多樣性生態環境的品質與人類生存

所依賴的糧食有密切關係，與人類的健康是相當程度的直接影響。因此，重視農業土壤微生物多樣生態環境品質的保育管理，是農業生產的重要工作。

肥料是農業經營必需的資材，肥料的產品是「指供給植物養分或促進養分利用之物品」(肥料管理法的定義)。因此，肥料有二大類的功能：第一類功能的肥料是提供含有植物養分的氮、磷、鉀、鈣、鎂、硫及微量的硼、銅、鋅、錳、鐵等元素。第二類功能肥料是可以促進養分利用的物品，就如土壤改良劑及微生物肥料。

「微生物肥料」係指人工培養之微生物製劑，在土壤中利用活體生物之作用以提供作物營養分來源、增進土壤營養狀況或改良土壤之理化、生物性質，藉以增加作物產量及品質者。因此，微生物肥料管理法規明訂微生物肥料「係指其成分含具有活性微生物或休眠孢子，如細菌（含放線菌類）、真菌、藻類及其代謝產物之特定製劑，應用於作物生產具有提供植物養分或促進養分利用等功效之微生物物品」。

農業上所使用的大量化學肥料，都需要消耗大量能源，化學氮素肥料的生產花費能源大，生產成本高；磷素肥料開採自磷礦，磷礦是有限的資源，經加酸處理製成磷肥，磷肥施入土壤後，除了被作物吸收移走外，不易被淋洗或流失，經長年施用磷肥，易有磷素過量，這些累積的磷素被土壤固定，有效性甚低。環境保護的時代潮流正在興起，施用過量化學肥料造成環境污染問題是不可忽視的，不當及過度施肥，都將地力劣化及污染河川、水庫及水源；水中的優氧化作用，致使水中藻類大量繁殖，影響水中生物的平衡，尤其硝態氮及磷之污染，也需加強管理。固氮菌、溶磷菌及菌根真菌之施用，可減少氮及磷肥施用，對環境的污染可減少到最低。

微生物肥料的重要性

土壤微生物的活動與土壤肥力及植物生長有密切關係，微生物的族群及活性與土壤碳源及能源的多寡有關，因為微生物的生長繁殖是利用土壤有限的含碳物質，包括有機質及二氧化碳，所能利用的能源是利用化學能或光能，因此土壤微生物在一般土壤中是相當穩定的生態體系，為了使土壤有益微生物活動及族群增加，不外乎有兩種主要的方法，一是增加碳源及能源，二是利用外在添加微生物的族群，或是二種方法同時增進，微生物肥料也就是利用這些原理所做的應用，

為了確保增加特定有益微生物時，是以直接添加該有益微生物為最有效的方法。

微生物肥料的種類很多，在作物生長的作用機制不外乎以營養的直接供應（如固氮菌）或利用性與有效性的提高，另外有可增加作物根系生長及吸收的作用，更有數量競爭對抗病蟲害為生物防治的產品，或正在發展中的生物農藥菌種。原有在土壤的有益微生物群落中，不同菌種的工作效率有差異，甚至差異很大，又何況有些農田土壤的有益菌為數甚少，因此為了確保在根圈中有明確的效率，接種有益微生物菌是有其必要性。

微生物肥料除了固氮微生物可固定空氣中的氮氣外，可增加氮肥來源，其他的微生物主要功能就是促進植物對養分利用的功能。因此，純微生物肥料的產品是不屬於第一類功能的肥料，就是說純微生物的肥料是不含有高量的氮磷鉀等元素，表示純微生物的肥料是屬第二類的功能。由於第一類含有植物養分的肥料在土壤的有效性及利用率不同，一般氮肥的植物利用率在 30-50%，磷肥在 10 - 20%，鉀肥在 30 - 50%，顯示含有養分之第一類肥料在施用後有流失（水淋洗或揮散至空氣中）或被固定（有效轉變成無效）的問題，表示第一類的肥料，不是全部的肥料養分可被植物吸收。因此，第二類的肥料如微生物肥料，能促進養分的有效性及利用率之物品就很重要了。

土壤微生物肥料的直接應用目的是以做為廣義肥料之應用，即為「微生物肥料」，利用活體生物供作養分營養分之來源（如固氮微生物）或增進土壤營養狀況者。微生物肥料的間接應用目的是利用有益微生物對肥料功能外的其他能力，例如：促進植物根系生長、增進作物養分及水分之收貯與輸送、增進作物對抗逆境（如抗旱、抗寒、耐水）、改善土壤物理、化學及生物性質、以菌數優勢之競爭保護植株或根系的功能、延長根系壽命、中和或分解毒害物質（如農藥、植物毒物質、污染物）、提高作物移植存活率，及提早開花等特性（楊 1993, 2010）。

微生物肥料在作物生長的作用機制

土壤有益微生物的種類甚多，常被利用的主要是包括細菌、真菌、放線菌及藍綠藻 4 大類。多年來微生物在作物生長的作用機制之文獻很多，楊（1993, 2010）、Hayat et al. (2010) 及 Ahemad & Kibretb (2014) 已有明確的回顧敘述，以下將其微生物肥料在作物生長的作用機制整合說明如下：

一、植物營養的直接及間接供應的作用機制

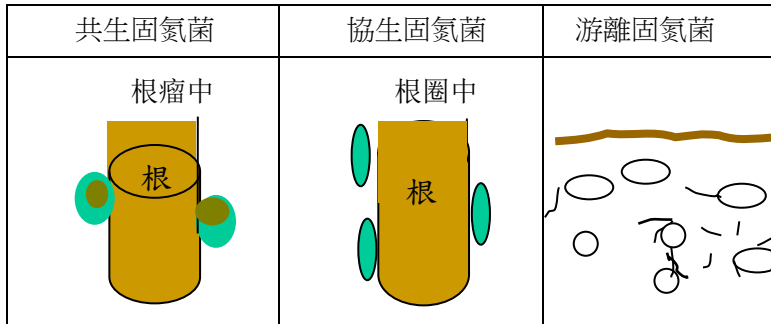
作物需要的營養元素—氮磷鉀大量及其他中量與微量元素。微生物肥料主要可協助土壤養分之直接供應及間接供應的作用機制，分別說明如下：

(一) 微生物肥料直接供應營養的作用機制

就是固氮菌的作用機制。空氣中含有約 80% 的氮氣，植物本身不能直接利用它，只有靠共生或非共生固氮菌的直接固定作用，將氮氣固定為氨，再轉化成各種作物能利用的胺基化合物。這一類之菌類，主要是以「固氮菌」增加土壤中的氮素供應營養的作用機制為主，固氮菌包括游離、協生及共生 3 大類，分別說明如下：

1. **游離固氮菌**：在土壤中的種類甚多，從細菌至藍綠藻都有其例，如水田中固氮藍綠藻及光合細菌都有非共生固氮作用者。其中光合細菌能利用光能及 CO_2 ，在表土及水田中增加土壤有機碳素。包括 a. 藍菌門 (Cyanobacteria)：如 *Anabaena*、*Nostoc* 等。b. 變形菌門 (Proteobacteria)：如 *Gluconoacetobacter diazotrophicus*、*Azocarus*、*Azotobacter* 等。c. 古細菌 (Archaea)： *Methanosarcina barkeri*、*Methanococcus thermolithotrophicus* 等。d. 厚壁菌門 (Firmicutes)： *Paenibacillus azotofixan*、*P. polymyxa*、*P. macerans* 等。多數為革蘭氏陽性，高 G+C 含量的則被劃入放線菌門。每年每公頃固氮量較低，約 1 公斤，但游離固氮菌在土壤微生物制衡能力及促進植物生長上扮演重要角色。
2. **協生性固氮菌**：此類的固氮菌是生長在作物根圈周圍或根表皮內外的菌類，無明顯共生構造的關係，其中在根部協生的固氮螺旋菌屬 (*Azospirillum*) 及固氮菌屬 (*Azotobacter*) 為最著名。每年每公頃固氮量約 3~5 公斤，但在促進植物生長上扮演重要角色。近年來對作物根內菌 (endophytes) 之研究已有很多之成果。
3. **共生性固氮菌**：可與高等及低等植物共生，例如細菌的根瘤菌及放線菌，分別與豆科及少數非豆科高等植物共生形成能固定空氣中氮氣的根瘤，另有藍綠藻與低等植物共生的現象 (如滿江紅、鐵樹) 等，進行吸收空氣中的氮氣，增加氮素來源。除了植物根部的共生固氮菌外，莖葉上也有共生固氮的微生物，但應用上則甚少。共生固氮的能力甚高，每年每公頃之固氮依豆科不同而異，大豆固氮約 100 公斤氮 (約 200 多公斤尿素)，有的可高達 400 公斤氮 (約 800 多公斤尿素)，這種固氮不只對豆科利用氮有利，豆科的殘質效應

在對下期作物所需之氮也甚為有效，可提高土壤肥力。固氮菌的培養簡便，用量少，成本低，與化學或有機質肥料相比，可以降低生產成本及提高農民所得。



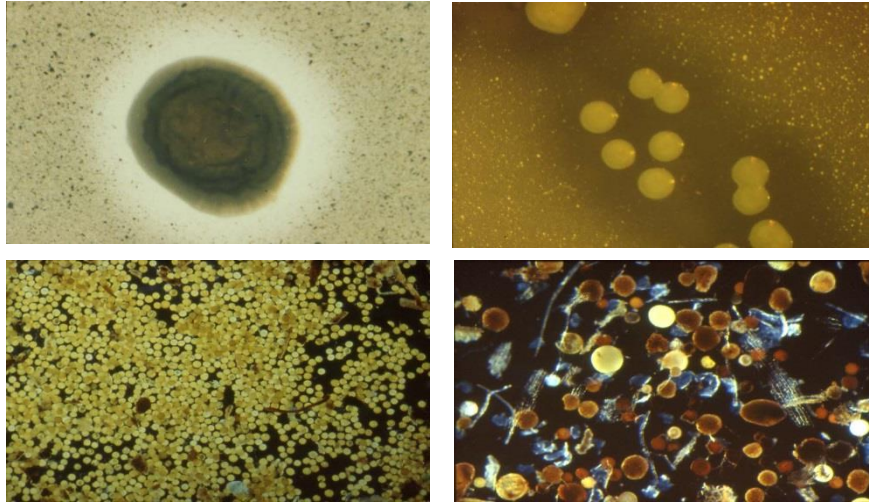
圖一、不同固氮菌發揮功能在土壤及作物關係的位置。

Fig. 1. The relevant position between soil and crops for different nitrogen-fixing bacteria to process their function.

(二) 微生物肥料間接供應營養的作用機制

就是溶解菌的作用機制，將土壤中不能被植物直接利用的養分，經微生物的作用溶解出來，間接提供植物利用。例如作物需要大量的磷肥，但磷素在土壤中的移動很慢，農田中有大量的無效性的結合磷及有機磷存在，這些菌能增進土壤結合磷素（鈣結合磷、鋁結合磷及鐵結合磷）的溶解及有機磷的分解，達到增加植物可吸收的磷。磷素被作物吸收是以根部接觸性的吸收為主，根部的溶磷菌及感染的菌根真菌，大大增加土壤中的磷有效性，菌根菌的共生與土壤的接觸及吸收面積，使磷素的吸收也大為增進，因此菌根在吸收養分上，以磷素效應最為顯著，其實吸收面積增加對其他元素之吸收也有增加的效果。尤其低磷含量的土壤，菌根真菌是非常需要的。

土壤中存在有或多或少的土生固氮菌、溶磷菌及菌根真菌，與植物共生後的效率也有好有壞。根部著生的根瘤或感染菌根真菌有多有少，因此接種選育出的優良固氮菌、根瘤菌、或溶磷菌及菌根真菌，在一些土壤中有其需要性，作者等在臺灣 6 個農業改良場，進行大豆接種優良共生根瘤菌，平均增產 17%，高者達 40%。另接種菌根真菌者，平均可增產 15%，高者可達 65%，但如土壤含氮或磷量過多時，接種的效用就難能發揮。因此，施用微生物肥料就不需要大量施用化學肥料或有機質肥料。



圖二、不同溶磷菌種 (上排) 及菌根菌 (下排) 之種類形態。

Fig. 2. The kinds and morphology of different phosphorus-solubilizing bacteria (upper) and mycorrhizal fungus (lower).

二、增加作物生長、根部生長及吸收的作用機制

土壤微生物促進植物生長已有多多年之成果，主要關鍵微生物就是根圈促進植物生長之細菌 (PGPR)，微生物促進植物生長可能的原因甚為複雜。可能的原因包括如下：

1. 根圈微生物中有合成轉化生成植物賀爾蒙 (如IAA、GA、cytokinin等) 或生成載鐵物質 (如 siderophores) 的菌類，例如 *Rhizobium leguminosarum*、*Azotobacter* sp.、*Pseudomonas fluorescens*、*Azospirillum lipoferum*、*Bacillus megaterium*、*Bacillus subtilis*、*Paenibacillus* sp.、*Streptomyces acidiscabies*等，另根圈微生物生成水溶性B群之菸鹼酸 (niacin)、泛酸 (pantothenic acid)、硫胺 (thiamine)、核黃素 (riboflavine and)、生物素 (biotin) 等，均有促進植物或根系生長及有利各種養分之吸收。
2. 根圈物生產 ACC 脫氨酶 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase)，導致降低乙烯 (ethylene) 之生成，以促進根系生長，達到增加根部的吸收的面積，可增加根部吸收營養，對植物健康及根系伸展有重要的角色。

三、增進有機質分解及轉化的作用機制

自然界物質循環系統中，在土壤中的有機質需要經過微生物分解成較小的分子或無機物時，才能被植物利用，例如許多土壤異營菌 (heterotrophy) 均能分解有

機質。當有機質分解過程中導致毒害有機物質的累積，將引起作物毒害作用，或無法直接利用這些有機質，另外土壤中的「腐植化作用」，土壤微生物都扮演重要的轉化角色。腐植化作用的腐植質能改善土壤的理化性質及碳的蓄存，更有利於農業生產，是未來土壤中的重要工程研究。

四、增進作物抗逆境能力的作用機制

作物吸收水分的部分主要是在根毛，菌根真菌 (mycorrhizal fungi) 共生在根部時，菌絲伸出根表面，就如同根毛的功能，有助於作物對水分吸收，當土壤缺乏水分時，菌絲即可協助作物吸收更多的水分，使作物抗旱、抗鹽、耐水能力增加，對旱作、缺水、多雨季節而言，菌根真菌的角色就顯得重要了。

農業土壤中有「人為」或「環境」加入的有毒物質，包括農藥、污染物、植物毒物質等，這些有毒的有機物質，需要靠土壤中的一群微生物分解及解毒，更可減少連作之障礙效應或減少前作對後作不利之效應。此外，微生物可減少重金屬之毒害，而增進作物生長。

五、防止土壤及營養流失的作用機制

土壤中有微生物可以分泌大量的胞外多醣 (exopolysaccharides)，可增進土壤團粒，進而增加雨水之土壤入滲作用，另外有許多的真菌可包紮土粒，形成相當穩定的團粒，可達到防止土壤流失及水土保持的期望。有些微生物可以吸收營養或減少營養轉化為易流失之形態，達到降低營養流失的功效，對作物生長均有助益。

六、增加作物抗病的作用機制

土壤微生物中有減少病蟲的菌類，減少病蟲害方面的菌類可分 (1) 競爭型及 (2) 殺害型的功效。競爭型是微生物肥料的功能，以菌數優勢之競爭保護植株或根系，達到減少病蟲害的目的，而殺害型是生物農藥的功能，以活性物質之殺害病蟲，達到治療植物病蟲害的目的。微生物肥料的根圈保護菌是棲所在根圈中，達到對減少病原菌之侵入，即有減少農藥使用的功效。而生物農藥是殺害病原菌的微生物則可產生之活性物質或抗生素，達到殺死或抑制病原菌的功效，或利用輕型卻不致命的病毒接種，達到對抗侵入的病毒，這些都是發展中「生物防治」的微生物應用。

微生物肥料的增加土壤菌數，可利用競爭型的方式抑制病原菌，而減少作物

病害。例如菌根真菌在作物根部的共生，佔據了根部的許多表面及內皮層的位置，減少病菌的侵入，由於菌根真菌與病菌間之抗衡，使作物根部有了保護的作用，即有減少農藥使用。

根圈微生物生成載鐵物質 (siderophores)、幾丁酶 (chitinases)、抗生物質 (antibiotics)、 β -1, 3 葡萄糖酶 (β -1, 3-glucanase)、螢光色素 (fluorescent pigments)、氰化物 (cyanides) 等，導致抑制植物病原菌。



a.不同大豆根瘤菌接種效果之篩選 b. 落花生之根部固氮根瘤

圖三、微生物肥料的篩選及根瘤形態。

Fig. 3. Screening for microbial fertilizers and the morphology of root nodules.

a. screen the effect of different Rhizobium inoculation on soybean, b. the nitrogen-fixing root nodules occur on the roots of peanut.

結 論

微生物肥料在作物生長的作用機制明確，因此可減少大量施用化學肥料，以微生物促進化學肥料之利用效率及降低土壤退化，並兼具環境生態保育的「土壤生物技術」。微生物肥料已成為新興產業之商品，行政院農委會農糧署已訂定法規管理及產品登記。施用微生物肥料之應用目的包括直接可減少化學肥料的施用的目的，及根圈保護的功能，促進植物根系生長及吸收水分與養分的能力，延長根系壽命，中和或分解毒害物質，提高作物移植存活率，及提早開花等特性的間接目的。施用微生物肥料無污染、無肥傷、施用量少及生態友善的優點，製成微生物肥料成本較化學及有機質肥料低廉。土壤有益微生物的種類甚多，常被利用的主要是包括細菌、真菌、放線菌及藍綠藻等 4 大類，無論整地與不整地栽培，或苗圃種植的播種方法及管理均與原來慣用方法相同，使用方法可視需要配合，甚

為簡便，主要是需將種子、根部或小苗能與接種劑充分接觸根部，即達到接種微生物的目標。

參考文獻

楊秋忠 1993 土壤與肥料 第 5 版 395 頁 農世股份有限公司 臺中。

楊秋忠 2010 土壤與肥料 第 9 版 542 頁 農世股份有限公司 臺中。

Ahemad, M. and M. Kibretb. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. J. King Saud Univ. Sci. 26: 1-20.

Hayat, R., S. Ali, U. Amara, R. Khalid and I. Ahmed. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. Ann. Microbiol. 60: 579-598.

Mechanisms in Crop Growth Promotion of Microbial Fertilizers

Chiu-Chung Young

National Chair Professor (Life honor)

Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University

Corresponding author. E-mail: ccyoung@mail.nchu.edu.tw

ABSTRACT

Microbial fertilizer means the active ingredients containing microorganisms or dormant spores, such as bacteria (including actinomycetes), fungi, algae and their metabolites, to provide plant nutrients for crop production or to facilitate the effectiveness of nutrient utilization. Mechanisms in crop growth promotion of microbial fertilizers were mainly applied in the role of rhizosphere microorganisms in order to provide the source of crop nutrients, enhance soil nutrient status of the soil or improve soil physical and chemical, biological properties for increasing crop yield and quality. Many types of beneficial soil microbes, often use the main microorganisms, including bacteria, fungi, actinomycetes and blue-green algae. Mechanisms in crop growth promotion of rhizosphere microorganisms were including the roles in the direct nitrogen-fixation, and indirect dissolving nutrients, the increasing in crop root growth and absorption effects, the enhancement in the role of organic matter decomposition and transformation, the enhancement in the crop resistance to stress, the increasing in the role of the ability to prevent soil and nutrient loss effects, and the increasing in the role of disease-resistant for crops.

Key words: Microbial fertilizer, Mechanisms of crop growth promotion.

液化澱粉芽孢桿菌在作物病害防治的開發與應用

郭建志*、陳俊位、廖君達、陳葦玲、蔡宜峯

行政院農業委員會臺中區農業改良場

*通訊作者。E-mail: kuocc@tdais.gov.tw

摘 要

液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 為芽孢桿菌 (*Bacillus* spp.) 的一種，屬革蘭氏陽性菌，具有周生鞭毛、好氣性、活動力強及無莢膜的細菌。大多存在於土壤、水、空氣及植物體內外。近年來，對於液化澱粉芽孢桿菌防治作物病害的研究日益增多。有關防治作物病害的機制包括可以產生多種抗生物質如 iturin A、surfactin 與 fengycin 等，可抑制病原菌的生長；菌絲可纏聚在植物根圈並誘導植物產生防禦反應，進而抵抗病原微生物的入侵，可分泌多種分解酵素如蛋白質分解酵素 (protease)、纖維分解酵素 (cellulase)、澱粉分解酵素 (amylase) 與脂肪分解酵素 (lipase)，某些菌株具有溶磷活性 (phosphate-solubilizing)，有利於作物吸收養分，促進植株生長；複合揮發性物質 (volatile organic compounds, VOC) 的產生；具有植物根圈促生細菌 (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) 功能，並誘導植物產生抗病反應。目前研究學者多以 gyrB 基因進行液化澱粉芽孢桿菌序列分析與比對，可有效地鑑定與區分枯草桿菌群中相似度高的芽孢桿菌菌種。本場自轄內作物之田間土壤中，分離並篩選數十株具有防治潛力之芽孢桿菌，利用培養基與多種植物病原真菌與細菌拮抗測試、耐熱活孢子數測定、生物活性等測試，篩選出 1 株對數種病原真菌 *Fusarium* spp. 與病原細菌具有優異之拮抗效果。此菌株經由細菌自動鑑定系統 (Biolog system)、16S rRNA 與 gyrB gene 序列分析後，鑑定為液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens* Tcba05)。利用 PCR 技術可自 Tcba05 菌株之核酸中，增幅出伊枯草菌素 A (iturin-A)、表面活性素 (surfactin) 之專一性 DNA 片段，顯示 Tcba-5 菌株具有產生抗生物質之能力。經由少量搖瓶量產測試後，委由中興大學進行 750 l 醱酵試量產試驗。其菌量經 4 天醱酵後可達 10^{10} cfu/ml，内生孢子亦達 10^9 cfu/ml。經過 5 個月儲放後，其菌量仍可維持在 10^9 cfu/ml。後續針對豇豆萎凋病與甘藍黑腐病進行防治評估，依據溫室與先期田間試驗結果，本場所篩選之液化澱粉芽孢桿菌 *B. amyloliquefaciens* Tcba05 菌株

液態製劑及 TCB9407, 101-007 與 TC2-8 菌株, 均可有效降低萎凋病菌之罹病度達 40%、甘藍黑腐病之罹病度達 30-40%, 顯示此菌株具有病害防治之潛力, 後續將進行其他蔬菜作物病害之防治評估, 並完成商品化登記之要件, 以利加速推動生物農藥製劑商品化之時程。

關鍵詞：液化澱粉芽孢桿菌、生物農藥、抗生物質。

前 言

近年來由於農產品的安全受到消費者的重視, 尤其是短期或連續性採收作物之病蟲害問題, 因化學農藥的取得方便與施用便利, 農友長久以來依賴用於防治作物病蟲害的發生, 因此後期導致化學藥劑之殘留過量問題, 且對於自然環境或非標的生物造成會破壞, 並衝擊消費者對於農產品的信心。因此如何減少化學農藥的施用, 以降低藥劑殘留過量的疑慮, 增加消費者對於農產品安全的信心, 是目前重要的安全農業課題之一。因此開發生物農藥製劑之研究及商品融入在作物病害整合性管理策略 (integrated pest management, IPM) 中, 是近年來熱門的研究方向之一 (Jacobsen et al. 2004), 不僅有助於降低化學農藥的使用量, 同時對於無適合藥劑防治的病原菌, 具有預防病害發生或抑制病原菌生長, 專一性高, 病原菌不易產生抗藥性, 並對自然環境與生態友善, 確保農產品的安全。

根據 BCC Research 的研究指出, 全球農藥市場規模於 2012 年為 499 億美元, 預計至 2017 年將成長為 675 億美元, 年複合成長率為 6.2%。其中全球生物農藥市場規模於 2012 年為 21 億美元, 至 2017 年將成長至 37 億美元, 年複合成長率 (CAGR) 為 12%。生物農藥占農藥市場之比重將由 2012 年的 4.21%, 增加至 2017 年約 5.48%, 顯示生物農藥全球產值正逐年成長(資料來源, 臺灣經濟研究院生物科技產業研究中心 國際植物保護製劑市場趨勢簡析)。臺灣處於熱帶與亞熱帶, 雨量充足, 具有豐富的生物與微生物資源, 因此開發本土性微生物做為生物農藥之來源, 產品具有獨特性與競爭力, 對環境友善並可降低對生態環境的衝擊 (陳 et al. 2005)。在微生物農藥的研究方面, 現階段以芽孢桿菌屬 (*Bacillus* spp.) 的研究為多數, 目前應用最廣泛的微生物種類為蘇力菌 (*B. thuringiensis*), 由CPL Business Consultants 資料顯示, 2007 - 2008 年蘇力菌 產品占全球微生物農藥市場的比重約為 53% (許 2010)。其中被研究用來防治作物病害, 且有商品化製劑的菌種有枯草桿菌 (*B. subtilis*)、液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens*)、蕈狀芽孢桿菌 (*B. mycoides*)、地衣芽孢桿菌 (*B. licheniformis*) 與短小芽孢桿菌

(*B. pumilus*) 等 (表一)。芽孢桿菌屬細菌在病害防治上的機制，是以多重作用機制的呈現，包含利用族群優勢與病原菌競爭養份及空間、可產生抗生物質 (antibiotics) 抑制病原菌的生長、產生多種分解酵素、產生複合揮發性物質抑制病原菌之生長、促進植物的生長及誘導植物產生抗病反應等作用 (Pal et al. 2006; Cawoy et al. 2011)。液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens*) 是為一種好氣性的桿菌，多數菌株均可產生大量的 α -amylase 及 protease，因菌種外觀與表現特性與枯草桿菌 *B. subtilis* 相似，因此最早被學者認為是 *B. subtilis* 中的一個亞種。而 Welker et al. (1967) 應用 DNA hybridization 之進行研究，發現枯草桿菌和液化澱粉芽孢桿菌之基因相似度僅 14.7 - 15.4%，其中兩者之 DNA guanine-plus-cytosine 成分 (G+C%) 比率亦有所差異，因此判斷兩種芽孢桿菌為不同的菌種。在 1986 年 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 的分類中，亦將液化澱粉芽孢桿菌分類為 1 個獨立菌株。後來隨著分子層次的研究以及在 α -amylase 的表現差異，之後學者 Priest 等人正式在期刊上發表，將液化澱粉芽孢桿菌真正定義與枯草桿菌是不同的菌種 (Priest et al. 1987)。

液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 在分類上被歸為枯草桿菌群 (*Bacillus subtilis* group) 中，此群中包含 *B. subtilis*、*B. pumilus*、*B. atrophaeus*、*B. licheniformis*、*B. amyloliquefaciens*、*B. mojavensis*、*B. sonorensis*、*B. vallismortis* 和 *B. tequilensis* 等 (Ach et al. 1991; Huang et al. 2012; Wang et al. 2007)，目前美國食品藥物管理局 (United States, Food and Drug Administration, U.S. FDA) 將枯草桿菌群與乳酸菌認定為安全的菌種 (Generally Recognized As Safe, GRAS) (謝 2011; Huang et al. 2012)。以往利用傳統 16S rRNA 針對枯草桿菌群菌種進行 ITS 序列增幅與序列比對，其基因序列相似性高達 98.1~99.8%，對於醣類的代謝與生理生化反應等特徵極為相似，不易將此群中的芽孢桿菌進行鑑定與區分。現階段學者常利用 DNA 旋轉酶 (DNA gyrase)，DNA gyrase 是由 GyrB 與 GyrA 蛋白所組成，分別由 *gyrB* 與 *gyrA* gene 所轉錄。利用 *gyrB* 基因進行定序，用以鑑別枯草桿菌群中相關菌種，其序列相似性介於 75.4%~95% (王 2011; 吳 2008)，可將液化澱粉芽孢桿菌、枯草桿菌、地衣芽孢桿菌 (*B. licheniformis*) 及短小芽孢桿菌 (*B. pumilus*) 等 4 株型態特徵相當接近的芽孢桿菌進行親源關係區分。液化澱粉芽孢桿菌在培養過程中會產生許多種不同的二次代謝物，其中包含 aminoglycosides、 β -lactams、polyketides 和 small polypeptides 等，其中不同的代謝物質可對不同的病原菌產生抑制作用 (Hsieh et al. 2003)。其中枯草桿菌與液化澱粉芽孢桿菌所產生的

lipopeptides 中，研究最多的為伊枯草菌素 (iturins)、表面素 (surfactin) 與豐原素 (fengycin)。目前在已知的 iturins group 中，iturin A 為最重要與研究最多之物質 (Phister et al. 2004)。Iturin A 其為一種抗真菌脂肽，此類化合物會與病原真菌細胞膜的固醇分子作用形成複合物，使得離子傳導孔隙增大，改變細胞膜的滲透性，使得鉀離子迅速流出，進而導致病原真菌菌絲分解並抑制孢子發芽，達到防治病害的效果(顏 2007; Besson & Michel 1987; Peypoux et al. 1979)。表面素 (surfactin) 為一種由芽孢桿菌屬之細菌所產生之脂肽類生物界面活性劑，具有多種異構物 (isoforms)，如 surfactin A、B 及 C，一般發現較易出現在菌體發酵液的泡沫中，除了具有一般化學界面活性劑的功能外，亦有具有抗病毒、抗菌劑等用途 (Hsieh et al. 2004; Hsieh et al. 2008; Peypoux et al. 1999)。豐原素 (fengycin) 為一種由芽孢桿菌屬之細菌所產生之脂肽類抗真菌抗生素，結構是由脂肪酸與肽所組成，最早由 Loeffler 等人所發現 (Loeffler et al. 1986)，後續發現培養上清液對於紋枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) 具有抑制生長效果。豐原素與表面素相同，其亦具有生物界面活性劑之功能。根據文獻報告指出某些芽孢桿菌菌株所產生之 surfactin 與 fengycin 等 lipopeptides，參與了 Induced systemic resistance (ISR) 的反應，可以誘導植物產生抗性及促進植物生長之功效 (Ongena et al. 2007; Yang et al. 2009)。

目前國內外已有芽孢桿菌屬包括液化澱粉芽孢桿菌之商品化製劑 (Alejandro et al. 2011)，例如美國 Certis 公司於 2011 年上市的 Double Nickel 55TM，屬於廣效性微生物製劑 (表一)，2012 年核准在美國加州使用，主成分為 *B. amyloliquefaciens* strain D747，主要應用於作物葉部的真菌與細菌性病害，例如白粉病 (Powdery mildew)、灰黴病 (*Botrytis* spp.)、火傷病 (Fire blight)、葉斑病 (*Alternaria* spp.) 與斑點病 (*Xanthomonas* spp.) 等。此外，中國大陸國家農業部於 2013 年 5 月首次頒發給予陝西省西安經濟技術開發區的陝西加倫多作物科學有限公司所篩選與研發的液化澱粉芽孢桿菌 (解澱粉芽孢桿菌) 為活性成分的微生物殺菌劑生產許可證，此菌株主要防治對象為水稻稻熱病。國內行政院農業委員會藥物毒物試驗所，謝奉家博士團隊所篩選之 *Bacillus amyloliquefaciens* Ba-BPD1 菌株，對於數十種的病原菌具有抑制生長之效果，經研究試驗顯示 *B. amyloliquefaciens* Ba-BPD1 菌株同時具有微生物肥料、農藥及飼料添加物之功效 (謝 2011; 謝 2012)。已於 2013 年將微生物肥料與農藥專利與技術轉移給台灣肥料股份有限公司，飼料添加物技術轉給沅美生物科技股份有限公司，顯示液化澱粉芽孢桿菌不僅可以預防作物病害的發生，更可以提昇作物的產量與品質，

同時兼具益生菌的功效，作為飼料添加物。因此篩選具有多功能的液化澱粉芽孢桿菌株，了解菌株的特性與功能，將可發揮最大之功效，有助於作物病害防治研究的新思維。

以下內文就液化澱粉芽孢桿菌的開發、應用現況與本場研究成果進行討論。

表一、國外已商品化之芽孢桿菌屬生物殺菌劑 (Alejandro et al. 2011)

Table 1. Commercial formulations of *Bacillus*-based biofungicides

Product	<i>Bacillus</i> spp.	Target Pest	Crop	Manufacturer
Avogreen	<i>B. subtilis</i>	<i>Cercospora</i> spot	Avocado	Stimuplant, South Africa
Biobest	<i>B. subtilis</i>	Sheath blight, blast, brown spot	Rice	Appliedchem, Thailand
Bactophyt	<i>B. subtilis</i>	<i>Pseudomonas</i> , <i>Xanthomonas</i>	Cereal, Vegetable and Fruit crops	Novosibirsk, Russia
Companion	<i>B. subtilis</i>	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Sclerotinia</i>	Greenhouse, nursery and ornamental crops	Growth Products, USA
HiStick ^a	<i>B. subtilis</i>	<i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Aspergillus</i>	Soybean and peanuts	Becker Underwood, USA
Kodiak	<i>B. subtilis</i> GB03	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i>	Cotton, legumes, soybean, Vegetable crops	Bayer CropScience, USA
Larminar	<i>B. subtilis</i>	<i>Alternaria</i> , <i>Botryodiplodia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Corticium</i>	Vegetables, fruit trees, ornamentals, rice, and field crops	Appliedchem, Thailand
Rhapsody	<i>B. subtilis</i> QST 713	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i>	Turf, ornamental, Vegetable and fruit greenhouse crop	AgraQuest, USA
Serenade	<i>B. subtilis</i> QST 713	Rust, powdery mildew, <i>Botrytis</i> , <i>Sclerotinia</i>	Vegetable, wine, nut and fruit crops	AgraQuest, USA
Subtilex	<i>B. subtilis</i> MBI600	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Aspergillus</i>	Field, ornamentals and vegetable crops	Becker Underwood, USA
Balled Plus	<i>B. pumilus</i>	Rust, powdery mildew, <i>Cercospora</i> spot, brown spot	Soybean	AgraQuest, USA

Sonata	<i>B. pumilus</i>	Rust, powdery and downy mildew	Vegetable and Fruit Crops	AgraQuest, USA
YieldShield	<i>B. pumilus</i> GB34	<i>Rhizoctonia</i> , damping off, <i>Fusarium</i>	Seed treatment, Soybean	Gustafson, USA
Votivo	<i>B. firmus</i>	Root-knot and Reniform Nematode	Cotton	Bayer CropScience, USA
EcoGuard	<i>B. licheniformis</i>	Dollar spot, anthracnose	Turf	Novozymes, Denmark
Taegro	<i>B. amyloliquefaciens</i> FZB42	<i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i>	Tree seedling, ornamentals and shrubs	Novozymes, Denmark
Double Nickel55	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	Powdery mildew, <i>Botrytis</i> , Fire blight, <i>Alternaria</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i>	Vegetable and Fruit Crops	Certis, USA

^A This formulation is composed by *B. subtilis* and rhizobial cells.

一、液化澱粉芽孢桿菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)之研發現況

(一) 特性介紹與篩選鑑定方式

液化澱粉芽孢桿菌分類上屬於芽孢桿菌類之微生物 (*Bacillus* spp.)，屬革蘭氏陽性菌，特性為好氧性、具有周生鞭毛、活動力強及無莢膜的細菌，大多為腐生菌，存在於土壤、水、空氣及植物體內外。可生長在 pH 2 - 10 的環境之下，具有耐高溫之特性，生長最適溫度為 30 - 40℃，遇高溫或是不良環境可以產生內生孢子。部分研究證實液化澱粉芽孢桿菌具有植物內生性功能，根據陳等人之研究報告指出，內生液化澱粉芽孢桿菌對細菌性病原甘藷青枯病菌 (*R. solanacearum*) 有良好拮抗效果 (Chen et al. 2013)。以往研究，多被用來生產 α -amylase 於工業用途 (Argirakos et al. 1992)，近年來的研究顯示，液化澱粉芽孢桿菌可以抑制多種的病原菌生長，真菌病原包含立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani*)、灰黴病菌 (*Botrytis elliptica*)、番茄萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)、白絹病 (*Sclerotium rolfii*)、茄科疫病 (*Phytophthora capsici*)、蓮霧果腐菌 (*Pestalotiopsis eugeniae*) 等 (謝 & 高 2011; 謝 2012; Hsieh et al. 2003)；細菌病原包括十字花科黑腐病 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)、柑橘潰瘍病 (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*)、蔬菜軟腐病 (*Pectobacterium carovororum* subsp.

carovorum) 與青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) (Chen et al. 2013; Chou et al. 2012; Huang et al. 2012; Wu et al. 1999)。王等人於烏山頂泥火山之泥漿中篩選出數十株細菌，經由生理型態與 PCR 技術增幅其 16S rRNA gene、16S-23S internal transcribed space region (ITS) 與專一性功能基因之 DNA 片段，將所增幅出的片段利用 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 的基因資料庫進行序列比對與鑑定，挑選具有發展潛力之菌株，鑑定為液化澱粉芽孢桿菌 *Bacillus amyloliquefaciens* A1。後續經培養基對峙、拮抗與上清液抑菌測試，A1 菌株可對多種植物病原真菌與細菌具有優異的生長抑制效果，特別對於 *Ralstonia solanacearum*、*Botryodiplodia theobromae* 與 *Alternaria brassicae* 具有最佳的抑制效果 (王 2011)。芽孢桿菌屬包含液化澱粉桿菌目前已知防治病害機制，包括競爭作用 (competition)、抗生作用 (antibiosis)、誘導抗病反應 (induced host resistance)、促進生長 (growth promotion) 與產生複合揮發性物質等作用 (陳 et al. 2009)。

(二) 分解酵素與揮發性物質研究

液化澱粉芽孢桿菌經研究證實可產生多種胞外分解酵素，包含纖維素分解酵素 (cellulase)、蛋白質分解酵素 (protease)、脂質分解酵素 (lipase)、澱粉分解酵素 (α -amylase)、甚至某些菌株具有溶磷 (phosphate-solubilizing) 等能力 (謝 & 高 2011; Welker et al. 1967; Vazquez et al. 2000)。目前研究證實 *Bacillus* spp. 屬的細菌可以分泌揮發性物質，且具有抑制病原真菌 *Rhizoctonia solani* 與 *Pythium ultimum* 生長之效果 (Fiddaman et al. 1993)。黃等人所篩選與研發的蕈狀芽孢桿菌 *Bacillus mycoides* CHT2402 發現具有產生吲哚乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 與氨氣 (NH_3) 之特性，將其細胞懸浮液施用於番茄、西瓜與萵苣三種植株上，可增加植株鮮重 (Chen et al. 2010)。

(三) 植物根圈促生細菌研究 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)

PGPR 促進植物生長的機制可分為兩種，若 PGPR 微生物分泌如吲哚乙酸、吉貝素或植物生長素等植物荷爾蒙來調節根部活化作用，稱之為直接促進效用。另一種則是 PGPR 微生物藉由產生抗生物質、嵌鐵物質、競爭養分及誘導植株產生抗病性，避免或降低植物受到病原菌的危害與入侵，此類稱之間接促進效用 (Chen et al. 2010)。Idris 等人發現 *B. amyloliquefaciens* FZB42 的培養稀釋濾

液中含有類似吲哚乙酸的化合物 (IAA-like)，施用於玉米幼苗上經證實可以促進玉米幼苗的生長 (Idris et al. 2004)。Zehnder 等人發現 *B. amyloliquefaciens* IN937a 施用在番茄作物上，可誘發番茄產生 induced systemic resistance (ISR) 反應，可以抵抗 CMV 病毒的入侵 (Zehnder et al. 2000)。另有學者研究 *B. amyloliquefaciens* KPS46 培養過濾液中含有 indoles、lipopeptides 與 proteins，可以促進大豆根長、莖長與鮮重 (Buensanteai et al. 2008)。

(四) 抗生物質 antibiotics 研究

芽孢桿菌屬之細菌已知可在二次代謝過程中產生多種抗生物質，目前已知被報導過抗生物質種類多達 170 種以上，這些抗生物質對於多種植物病原細菌與真菌均具有優異之抗生效果 (Hsieh et al. 2003)。

伊枯草菌素 (iturins) 為枯草桿菌 (*B. subtilis*) 以及液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens*) 之二次代謝物 (林 2002; 顏 2007)，亦為主要抗生物質，於培養中期即會開始進行胞外分泌，於 1957 時由 Delcambe 與 Devignat 自枯草桿菌 *B. subtilis* 443 strain 首度分離出，目前已知的 iturins group 包含 iturin A、B、C、D、E，其中 iturin A 為最重要且研究最多之種類；表面素 (surfactin)，為一種由枯草桿菌類微生物所產生之脂肽類生物界面活性劑，具有多種異構物 (isoforms)，如 surfactin A、B 及 C，一般較易集中出現在菌體發酵液的泡沫中，除具有一般化學界面活性劑的功能外，亦有具有抗病毒、抗菌劑等用途 (林 2004; Hsieh et al. 2004; Peypoux et al. 1999)，根據文獻指出某些菌株如 *B. amyloliquefaciens* KPS46 所產生之 surfactin 有誘導植物抗性以及促進植物生長之功效 (Buensanteai et al. 2008)。豐原素 (fengycin) 為 Vanittanaakom 等人發現枯草桿菌 *B. subtilis* F-29-3 菌株之培養上清液中，對立枯絲核病菌 (*Rhizoctonia solani*) 具有抑制菌絲生長功效，可造成菌絲的不正常膨大及捲曲，其結構是由脂肪酸與胥肽所組成。後來許多研究也證實液化澱粉芽孢桿菌也具有此胥肽物質，同時亦具有生物界面活性劑之功能 (Vanittanaakom et al. 1986; Wu et al. 2007)。此外 Alvarez 等人亦自 *B. amyloliquefaciens* ARP₂₃ 培養上清液中，分離出包含 iturin A、surfactin 與 fengycin 等胥肽，對於大豆菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 具有優異的抑制菌絲生長效果，噴施於大豆上可大幅降低菌核病的發生 (Alvarez et al. 2012)。上述所提及之 3 種主要胥肽物質皆為菌體透過非核糖體胥肽合成機制 (non-ribosomal peptide synthesis mechanism) 所合成 (林

2002; Blom et al. 2012; Peypoux et al. 1999; Wu et al. 2007)。

二、液化澱粉芽孢桿菌在病害防治之應用

(一) 葉部病害防治之研究

國立臺灣大學吳文希教授曾自 700 多株微生物中篩選對百合灰黴病具有明顯拮抗能力之菌株，其中 B190 菌株除了對百合灰黴病可以有效抑制外，同時對於其他數十種植物病原菌亦具有抑制生長之效果，經鑑定後為本土性之液化澱粉芽孢桿菌 (Chiou & Wu 2003)。Biondi 等學者將 *B. amyloliquefaciens* D747 菌株，預先噴施於奇異果之葉片上，可以有效降低細菌性潰瘍病 (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*) 族群的量，同時 D747 菌株噴施於葉片後，經過 21 天後，其菌量仍可達到 10^8 cfu/ml 以上 (Biondi et al. 2012)。

(二) 土壤傳播性病害防治之研究

陳等人所篩選之 *B. amyloliquefaciens* SPX-1 菌株來自葉用甘藷莖部，經研究亦證實具有抑制青枯病菌生長之能力，分別利用剪莖接種法進行對甘藷青枯病防治的溫室試驗，於第 4 週時，處理 SPX1 菌株之植株的青枯病罹病度為 32.1%，比對照組降低 67.9%。證明 SPX1 菌株可降低甘藷青枯病的罹病率，同時此菌株為內生性，經接種後不影響甘藷的正常生長，具有發展成微生物製劑之潛力 (Chen et al. 2013)。Altinok 等人所研究數十株芽孢桿菌對茄子萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*)，在溫室接種後，*B. amyloliquefaciens* 76A-1 和 *B. subtilis* subsp. *subtilis* B379c，罹病率分別為 14.1% 與 16.6%，相較於對照組罹病率 91.5%，具有明顯降低茄子萎凋病罹病率之情形，同時此兩種菌株具有 PGPR 之功效 (Altinok et al. 2013)。近年周等人研究發現，利用 *B. amyloliquefaciens* KH412 與 PMB01 菌株在田間與 *Streptococcus thermophiles* KH446 菌株複合使用後，可明顯降低青枯病的發生，具有防治茄子青枯病的潛力 (Chou et al. 2012)。謝等人所篩選與研發的 *B. amyloliquefaciens* Ba-BPD1 對於數十種的病原菌真菌與細菌具有優異的拮抗能力，田間施用後可降低草莓灰黴病罹病度達 36%、施用於水稻，可降低紋枯病罹病度約 30 - 40%。此外在蝴蝶蘭黃葉病 *Fusarium solani* 溫室盆栽防治評估試驗，施用 10 週後可明顯降低黃葉病之罹病度達 58%，且對於蝴蝶蘭具有內生性效果 (謝 2012)。

(三) 倉儲病害防治之研究

Arrebola 等人自水果表面所分離之 *B. amyloliquefaciens* PPCB004 菌株，發現對於 7 種不同柑橘倉儲病原真菌具有抗菌活性，經研究發現抗菌活性成分為 iturin A。分別進行接種病原菌前 1 天與後 1 天分別將柑橘果實浸泡處理於 PPCB004 菌株醱酵液中，接種之病原菌為柑橘黑斑病 (*Alternaria citri*)、酪梨炭疽病 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 與柑橘青黴病 (*Penicillium crustosum*)。結果顯示，PPCB004 菌株防治柑橘青黴病的效果最佳，預先 1 天處理之罹病率為 9.8%、後一天處理之罹病率為 100%。PPCB004 菌株防治柑橘黑斑病的效果次之。PPCB004 菌株前 1 天處理組之罹病率為 28.3%，後 1 天處理組之罹病率為 50%，而對照組則為 92% (Arrebola et al. 2009)。顯示 PPCB004 菌株若是預先處理果實，可以顯著降低這 3 種病害的發生。Mohamed 等人亦利用 *B. amyloliquefaciens* PPCB004 菌株結合 1-甲基環丙烯 (1-Methylcyclopropene, 1-MCP)，經研究結果顯示，預先處理 1-MCP 後再處理 PPCB004 菌株，可降低蒂腐病菌 (*Phomopsis caricae-papayae*) 及炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 在木瓜上的病斑大小及罹病程度，在蒂腐病與炭疽病之發病率上，對照組分別為 48% 與 39%；預先處理 PPCB004 + 1-MCP 之發病率分別為 21% 與 15%，可以明顯降低兩種倉儲病害之發病率，且採收後的木瓜果實，與對照組相比皆有促進生理與品質之效果 (Mohamed et al. 2011)。顯示 *B. amyloliquefaciens* PPCB004 菌株極具有開發成為商品化之潛力。

三、本場液化澱粉芽孢桿菌防治作物病害之研究成果

(一) 液化澱粉芽孢桿菌之篩選與鑑定

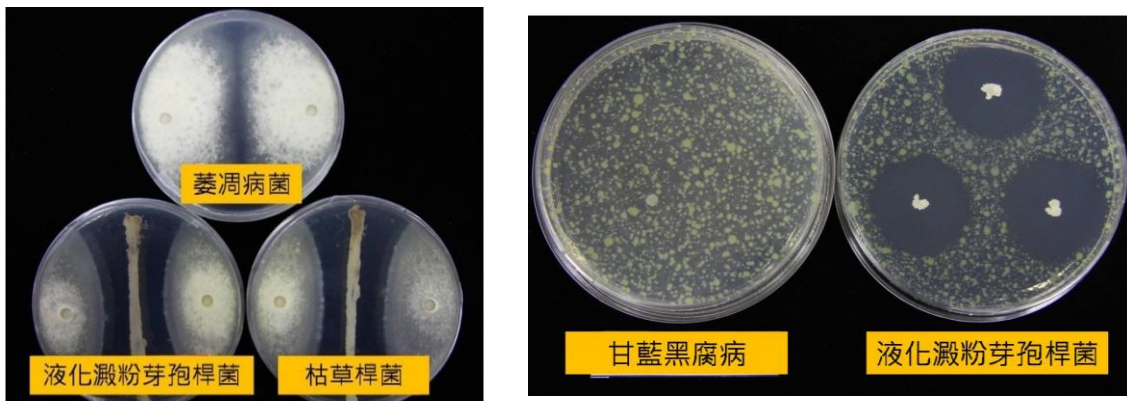
於 2010 – 2011 年間自轄內果樹柑橘園及蔬菜栽培田土壤所篩選數十株芽孢桿菌屬 (*Bacillus* spp.) 的細菌，利用培養基測試芽孢桿菌對於數十種病原菌拮抗效果，其中編號 Tcba05 菌株對數種真菌萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum*) 與甘藍黑腐病 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) 具優良拮抗效果 (圖一)。經各項生理生化測試、並利用細菌自動鑑定系統 (Biolog system)、16S rRNA 及 *gyrB* 基因進行序列分析，依其結果，將此菌種鑑定為液化澱粉芽孢桿菌 *Bacillus amyloliquefaciens*，並編號為 *B. amyloliquefaciens* Tcba05 以進行後續試驗研究。

(二) 抗生物質之檢測

應用Hsien等人 (Hsieh et al. 2004; Hsieh et al. 2008) 所發表文獻，檢測 *Bacillus* spp. 的抗生物質之引子對：*ituD-f/ ituD-r* 與 *lpa-14f/ lpa-14r* (iturin gene)，*sfp-f/ sfp-r* (surfactin gene)，應用 PCR 技術可自所篩選之 Tcba05 菌株核酸中，可分別增幅出 iturin 與 surfactin gene 之專一性 DNA 片段，說明 Tcba05 菌株具有產生抗生物質之能力。

(三) 液化澱粉芽孢桿菌 *Bacillus amyloliquefaciens* Tcba05 量產配方之建立

利用少量搖瓶測試結果，已初步建立量產配方及相關比例，並添加磷酸氫鉀可減緩醱酵液 pH 值下降幅度，於實驗室內桌上型 10 l 醱酵槽 (Major Science Winpact 10 l) 進行小型量產試驗，經醱酵 96hr 後收槽，平均活孢子數可達 6.5×10^9 cfu/ml，較先前 250ml 搖瓶量產之活孢子數增加約 3 倍。之後委託中興大學曾德賜教授進行 50 l 與 750 l 試量產醱酵，經由 96hr 後收槽，平均活孢子量可達 10^{10} cfu/ml，内生孢子含量亦達 10^9 cfu/ml。



圖一、液化澱粉芽孢桿菌Tcba05與萎凋病菌 (左) 和甘藍黑腐病 (右) 對峙培養結果。

Fig.1. *Bacillus amyloliquefaciens* Tcba05 dual culture with *Fusarium oxysporum* f. sp. tracheiphilum and *Xanthomonas campestris* pv. campestris.

(四) 豆類萎凋病與甘藍黑腐病溫室與田間先期防治評估

豆類萎凋病係由真菌镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*) 所引起，具有不同的分化型，多種豆菜類作物皆會受到此病原真菌的為害，本研究中所研發的液化澱粉芽孢桿菌液態製劑配方，經溫室與小規模田間防治試驗，可有效降低長豇豆萎凋病的發生與罹病情形，溫室與先期田間之罹病度均可降低 40% (未發表資料)。未來仍持續進行其他豆菜類與十字花科蔬菜作物溫室與田間防治測試。甘

藍黑腐病可藉由種子傳播的方式感染甘藍苗與成株，造成產量上的損失。本場篩選出之 4 株液化澱粉芽孢桿菌TCB9407, 101-007, TC2-8 and Tcba05，與其他芽孢桿菌進行田間防治測試，罹病度僅 5 - 10%，相較對照組 40 - 50% 為低（未發表資料），可以有效抑制與降低甘藍黑腐病之危害。



圖二、噴施液化澱粉芽孢桿菌 Tcba05 液態製劑 100x，可以降低甘藍黑腐病罹病度達 40%。(左：對照組/右：處理組)

Fig. 2. Irrigated the 100x of *B. amyloliquefaciens* Tcba05 ferment broth on Cabbage in the field, after 8 weeks, disease incidence could reduced 40%.

結 語

液化澱粉芽孢桿菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 分類上屬於為枯草桿菌群 *B. subtilis* group 中的革蘭氏陽性細菌，現階段許多研究證實液化澱粉芽孢桿菌具有多種功能，可以分泌多種胞外酵素、抗生物質、產生揮發性物質、具有 plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) 功能與誘導植物產生抗病反應等多重機制，來幫助作物來抵抗病原菌的入侵或感染。目前國外已有屬於液化澱粉芽孢桿菌生物農藥製劑商品 Double Nickel 55TM，屬於廣效性的生物農藥。國內在篩選拮抗微生物與醱酵量產的技術已臻完備，成功的生物農藥製劑需具備下列條件：(1) 選擇優異對多種病原具防治潛力的菌株，(2) 可大量生產菌種的配方條件，且櫥架壽命須維持1年以上的時間，(3) 生物農藥製劑在田間穩定性，降低環境因子的干擾，(4) 生物農藥製劑適當導入栽培管理與整合性病蟲害管理之中，以提升農友的使用意願。Heydari等人提及新劑型的開發、利用生物技術與奈米技術，來了解防治機制與改善防治策略，是後續研究生物農藥製劑的重點 (Heydari & Pessarakli 2010)。為提升生物農藥關鍵技術之開發能量，未來仍持續加強的重點如下列：(1) 有效整合既有微生物資源與技術平台，強化跨領域合作機制與落實產業化之應用。(2) 建

立國內本土性微生物菌種鑑定平台，避免重複篩選，並建立智財權保護機制。(3) 釐清生物農藥作用機制，建立有效成分檢測技術。(4) 建立生物農藥合理有效之田間應用模式 (陳 et al. 2005)。本場近年所篩選與研發之數十株芽孢桿菌，其中液化澱粉芽孢桿菌 Tcba05 菌株，經過溫室與小規模田間病害防治評估後，可以有效降低長豇豆萎凋病與甘藍黑腐病之罹病度，目前後續正強化該菌種在生物防治的應用價值，並完成生物農藥商品化的登記要件。未來可應用於作物整合性病蟲害管理策略 (integrated pest management, IPM) 中，或是開發成為生物與化學複合配方農藥，可達到提高病害防治效果、減少化學藥劑的施用、友善生態環境，有助於增加農產品的安全性等。

參考文獻

- 王惠亮、謝建元 2011 液化澱粉芽孢桿菌泥漿分離株之分離鑑定 p. 15. 海峽兩岸生物防治研討會論文專刊。
- 王俐婷 2011 微生物鑑定技術：基因序列分析和DNA指紋圖譜 生物資源保存及研究簡訊 24(1): 4-7。
- 林弘裕 2002 液化澱粉芽孢桿菌胜肽抗生物質之分析與回收純化物質探討 國立東華大學生物技術研究所碩士論文。
- 吳琰奇 2008 gryB基因於細菌分類上的應用 生物資源保存及研究簡 21(1): 5-8。
- 許嘉伊 2010 全球生物農藥產業概況與未來展望 農業生技產業季刊 24: 1-7。
- 陳保良、李木川、黃德昌、葉瑩 2005 生物性農藥管理與未來展望 4: 54-59。
- 陳俊位、鄧雅靜、曾德賜 2009 功能性微生物製劑在有機作物栽培病害管理上之應用 p.147-181. 有機農業產業發展研討會專輯 臺中區農業改良場特刊第 96 號 彰化。
- 謝奉家、高穗生 2011 具商品化潛力之多功能液化澱粉芽孢桿菌 p. 28-29. 海峽兩岸生物防治研討會論文專刊。
- 謝奉家 2011 臺灣芽孢桿菌生物殺菌劑的研發與應用現況 p. 1-11. 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所技術專刊第205號 臺中。
- 謝奉家 2012 具商品化潛力之多功能液化澱粉芽孢桿菌 農業生技產業季刊 32: 42-47。
- 顏再生 2007 本土液化澱粉芽孢桿菌含伊枯草菌素A同分異構物之鑑定 朝陽科技大學應用化學系碩士論文。89頁。
- Ash, C., J. A. E. Farrow, S. Wallbanks and M. D. Collins. 1991. Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small-subunit-ribosomal RNA sequences. Lett. Appl. Microbiol. 13(4): 202-206.
- Alejandro, P. G., D. Romero and A. D. Vicente. 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of *Bacilli* in agriculture.

- Curr. Opin. Biotechnol. 22: 187-193.
- Argirakos, G., T. Kuganakathan and D. A. J. Wase. 1992. Effect of Immobilisation on the Production of α -Amylase by an Industrial Strain of *Bacillus amyloliquefaciens*. J. Chem. Technol. Biotechnol. 35(1): 33-38.
- Arrebola, E., R. Jacobs and L. Korsten. 2009. Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. J. Appl. Microbiol. 108: 386-395.
- Altinok, H. H., M. Dikilitas and H. N. Yildiz. 2013. Potencial of *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates as biocontrol agents against Fusarium wilt of eggplant. Biotechnol. Eq. 27(4): 3952-3958.
- Alvarez, F., M. Castro, A. Principe, G. Borioli, S. Fischer, G. Mori and E. Jofre. 2012. The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP₂18 and ARP₂3 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of sclerotinia stem rot diseases. J. Appl. Microbiol. 112(1):159-174.
- Besson, F. and G. Michel. 1987. Isolation and characterization of new iturins: iturin D and iturin E. J. Antibiot. 40(4): 437-442.
- Blom J., C. Rueckert, B. Niu, Q. Wang and R. Borriss. 2012. The complete genome of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* CAU B946 contains a gene cluster for nonribosomal synthesis of iturin A. J. Bacteriol. 194(7): 1845-6.
- Biondi, E., N. Kuzmanovic, A. Galeone, E. Ladurner, M. Benuzzi, P. Minardi and A. Bertaccini. 2012. Potencial of *Bacillus amyloliquefaciens* strain D747 as control agent against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. J. Plant Pathol. 94: 58.
- Buensanteai, N., G. Y. Yuen and S. Prathangwong. 2008. The Biocontrol Bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 produces auxin, surfactin and extracellular proteins for enhanced growth of soybean plant. Thai J. Agric. Sci. 41: 101-116.
- Cawoy, H., W. Bettiol, P. Fickers and M. Ongena. 2011. *Bacillus*-based biological control of plant diseases. p. 273-303. In: Chap. 13. Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management.
- Chen, Y. J., H. R. Pan, Y. S. Lin and W. H. Chung. 2013. Identification of an antagonistic bacterial endophyte from vegetable sweet potato and assessment of its efficacy on controlling bacterial wilt disease. Plant Pathol. Bull. 22: 45-56.
- Chen, H. W., Y. H. Lin, J. W. Huang and, P. F. Chang. 2010. Effect of *Bacillus mycoides* on seedlings growth of lettuce. Plant Pathol. Bull. 19: 157-165.
- Chiou, A. L. and W. S. Wu. 2003. Formulation of *Bacillus amyloliquefaciens* B190 for Control of Lily Grey Mould (*Botrytis elliptica*) J. Phytopathol. 151: 13-18.
- Chou, H. P., Y. H. Lin, Y. C. Yen, Y. C. Chen and T. C. Huang. 2012. Application and evaluation of multiple microorganisms in controlling bacterial wilt of Solanaceous

- plants. p. 30. 101 annual meeting of the plant protection society of the Republic of China.
- Fiddaman, P. J. and S. Rossall. 1993. The production of antifungal volatile by *Bacillus subtilis*. J. Appl. Bacteriol. 74: 119-126.
- Heydari, A. and M. Pessarakli. 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. J. Biol. Sci. 10(4): 273-290.
- Hsieh, F. C., M. C. Li and S. S. Kao. 2003. Evaluation of the inhibition activity of *Bacillus subtilis*-based products and their related metabolites against pathogenic fungi in Taiwan. Plant Prot. Bull. 45:155-162.
- Hsieh, F. C., M. C. Li, T. C. Lin and S. S. Kao. 2004. Rapid detection and characterization of surfactin-producing *Bacillus subtilis* and closely related species based on PCR. Curr. Microbiol. 49:186-191.
- Hsieh, F. C., T. C. Lin, M. Meng and S. S. Kao. 2008. Comparing methods for identifying *Bacillus* Strains capable of producing the antifungal lipopeptide iturin A. 2008. Curr. Microbiol. 56:1-5.
- Huang, T. P., D. D. S. Tzeng, A. C. L. Wong, C. H. Chen, K. M. Lu, Y. H. Lee, W. D. Hiang, B. F. Hwang and K. C. Tzeng. 2012. DNA Polymorphisms and Biocontrol of *Bacillus* Antagonistic to citrus bacterial canker with indication of the interference of phyllosphere biofilms. PLoS One 7(7): e42124.
- Idris, E. E., H. Bochow, H. Ross and R. Borriss. 2004. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. VI. Phytohormone-like action of culture filtrates prepared from growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, FZB42, FZB45 and *Bacillus subtilis* FZB37. J. Plant Dis. Prot. 111(6): 583-597.
- Loeffler, W., S. M. Tschen, N. Vantittanakom, M. Kugler, E. Knorpp, T. F. Hsieh and T. G. Wu. 1986. Antifungal effects of bacilysin and fengycin from *Bacillus subtilis* F-29-3. J. Phytopathol. 115: 204-213.
- Mohamed, S.O., D. Sivakumar and L. Korsten. 2011. Effect of biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* and 1-methyl cyclopropene on the control of postharvest diseases and maintenance of fruit quality. Crop Prot. 30(2): 173-178.
- Ongena, M. and P. Jacques. 2007. *Bacillus* lipopeptides : versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends Microbiol. 16(3): 115-125.
- Ongena, M., E. Jourdan, A. Adam, M. Paquot, A. Brans, B. Joris, J. L. Arpigny and P. Thonart. 2007. Sufactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitor of induced systemic resistance in plants. Environ. Microbiol. 9(4): 1084-1090.
- Pal, K. K. and B. M. Gardener. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Peypoux, F., F. Besson and G. Michel. 1979. Preparation and antifungal activity upon

- Micrococcus luteus* of iturin A, mycosubtilin, bacillomycin L, antibiotics from *Bacillus subtilis*. J. Antibiot. 32(2): 136-140.
- Peypoux, F., J. M. Bonmatin and J. Wallach. 1999. Recent trends in the biochemistry of Surfactin. Appl. Microbiol. Biot. 51: 553-63.
- Phister, T. G., J. O'Sullivan and L. L. McKay. 2004. Identification of bacilysin, chlorotetaine, and iturin A produced by *Bacillus* sp. Strain CS93 isolated from Pozol, a Mexican fermented maize dough. Appl. Environ. Microbiol. 70: 631-634.
- Priest, F. G., M. Goodfellow, L. A. Shute and R. C. W. Berkeley. 1987. *Bacillus amyloliquefaciens* sp. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol. 37(1): 69-71.
- Vanittanaakom, N., W. Loeffler, U. Koch and G. Jung. 1986. Fengycin-A novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. J. Antibiot. 39: 888-901.
- Vazquez, P., G. Holguin, M. E. Puente, A. L. Cortes and Y. Bashen. 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. Bio. Fertil. Soils. 30: 460-468.
- Wang, L. T., F. L. Lee, C. J. Tai and H. Kasai. 2007. Comparison of *gyrB* gene sequences, 16S rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group. Int. J. Syst. Bacteriol. 57: 1846-1850.
- Welker, N. E. and L. L. ampbell. 1967. Comparison of the α -amylase of *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*. J. Bacteriol. 94: 1131-1135.
- Wu, C. Y., C. L. Chen, Y. H. Lee, Y. C. Cheng, Y. C. Wu, H. Y. Shu, F. Götz and S. T. Liu. 2007. Nonribosomal synthesis of fengycin on an enzyme complex formed by fengycin synthetases. J. Biol. Chem. 282(8): 5608-16.
- Wu, W. S. and T. W. Chen. 1999. Biological control of carrot black rot. J. Phytopathol. 147: 99-104.
- Yang, J. W., S. H. Yu and C. M. Ryu. 2009. Priming of defense-related genes confers root-colonizing *Bacilli*-elicited induced systemic resistance in pepper. Plant Pathol. J. 25(4): 389-399.
- Zehnder, G. W., C. Yao, J. F. Murphy, E. R. Sikora and J. W. Kloepper. 2000. Induction oh resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. BioControl 45: 127-137.
- Zhao, Y., P. Li, K. Huang, H. Hu and Y. Sun. 2013. Control of postharvest soft rot caused by *Erwinia carotovora* of vegetables by a strain of *Bacillus amyloliquefaciens* and its potential modes of action. J. Microbiol. Biotechnol. 29: 411-420.

Development and Application of *Bacillus amyloliquefaciens* on Plant Diseases Biocontrol

Chien-Chih Kuo^{*}, Chien-Wei Chen, Chung-Ta Liao, Wei-Lin Chen
and Yi-Fong Tsai

Taichung District Agricultural Research and Extension Station, COA

^{*}Corresponding author. E-mail: kuocc@tdais.gov.tw

ABSTRACT

Bacillus amyloliquefaciens is one kind of *Bacillus* spp. It is belong to the *B. subtilis* group of aerobic, Gram-positive, peritrichous flagella, endospore-forming, no capsule and rod-shaped microorganisms. Research on the plant pathogen control by *B. amyloliquefaciens* is progressively increased. *Bacillus amyloliquefaciens* could produced various enzymes, included cellulose, protease, lipase and amylase. Some strains have phosphate-solubilizing activity. The lipopeptides produced from *B. amyloliquefaciens* can also influence the ecological fitness in terms of root colonization and also have a key role in the beneficial interaction with plants by stimulating host defence mechanisms. In this study, we isolated a dozens of microorganisms which have antimicrobial effect from soil. We select the *Bacillus* sp. Tcba05 strain which could inhibit the mycelium growth of *Fusarium oxysporum* by the antagonistic test. Used the Biolog system, 16S rRNA and gyrB gene identified Tcba05 strain as *Bacillus amyloliquefaciens*. The iturin-A and surfactin specific DNA fragment could be amplified by PCR technique. Results showed that *B. amyloliquefaciens* Tcba05 could produce the antibiotics. We commissioned National Chung-Hsien University produced 50 l and 750 l Tcba05 fermentation broths, the total colony count could reach to 10^{10} cfu/ml after 4 days ferment, endospores number could reach 10^9 cfu/ml, the total colony count still can maintain to 10^9 cfu/ml after 5 months. We evaluated the bio-control effectivity of Tcba05 on fusarium blight of asparagus bean in greenhouse and infected field. The disease severity could reduce 50% and 40%, respectively. The 4 strains of *B. amyloliquefaciens* TCB9407, 101-007, TC2-8 and Tcba05 fermentation broth used in seed treatment can effectively reduce black rot infection rate. Application of different

broths on cabbage in the field, cabbage black rot disease severity could reduced 30 to 40%. The results showed that the Tcba05 fermentation broth could effective reduce the fusarium wilt and black rot disease severity, respectively. It expects to commercialize with *Bacillus amyloliquefaciens* agent as soon as possible.

Key words: *Bacillus amyloliquefaciens*, Biopesticide, Antibiotics.

木黴菌在作物病害防治的開發與應用

陳俊位^{1*}、鄧雅靜²、蔡宜峯¹

¹ 行政院農業委員會臺中區農業改良場

² 朝陽科技大學

*通訊作者。E-mail: chencwol@tdais.gov.tw

摘 要

在農作物栽培過程中使用有益微生物已成為新趨勢，主要功用在於促進植物生長、減少病蟲害、增加農產品產量品質，其它功能尚包含有產生植物賀爾蒙、誘發植物抗病反應、降低土壤酸化、減低土壤鹽類累積、誘使其它有益微生物產生等。目前已有之生物殺菌劑以枯草桿菌、鏈黴菌、木黴菌及黏帚黴菌等為主，主要期能減少農作物病害及農藥殘留為主。近年來本場在相關微生物研究上已獲得若干成果，例如篩選純化出木黴菌 (*Trichoderma asperillum*) 系列菌株，並利用這些菌株研發多項農業生技產品如生物性堆肥、抑菌介質、功能性微生物製劑等，於田間運用成效顯著。這些製劑中 TCT-R1 稻穀菌種與作物根部共生能力強，能幫助作物根系發育，可增加移植存活率，並能除減少苗期病害與幫助作物生長抵抗逆境。結合木黴菌菌種與農業廢棄物如動物糞便、蔗渣、木屑等物質共同醱酵可產製新型生物性堆肥、抑菌介質等，除可改善堆肥介質品質外，並能誘發多種有益微生物，因其內含有大量有益微生物群如木黴菌、枯草桿菌及鏈黴菌等，可使相關產品品質穩定，並因其內所含之相關微生物可群聚作物根圈，能與植物根系共生進而促進養份吸收能力，可達到促進植物生長之目的。結合乳清蛋白、糖蜜醱酵產生的 TCT-LF-N 功能性微生物製劑，製作簡便成本低廉，田間試驗結果除可促進多種作物生長外，並能減少栽培期間病蟲害問題，能提昇作物產量與品質，增加農友之收益。新一代木黴菌微生物製劑結合枯草桿菌與根棲細菌等菌種所開發的複合式功能性微生物製劑與施用方法，更可防治多種病害，田間試驗已可防治甘藍黑腐病、番茄青枯病、水稻稻熱病、紋枯病及白葉枯病、蔬菜苗期立枯病、白粉病、露菌病、茄科疫病、葉黴病、灰黴病、枝枯病、晚疫病及銹病等多種病害，並能促進作物生長提昇產量與品質，使用所研發的微生物製劑除能增加農友的栽培信心外，並可改善農作物生長不良、品質不佳的缺點，對未來生物農藥的

推廣將是一大利器。

關鍵詞：根棲微生物、功能性微生物製劑、生物農藥、木黴菌。

前 言

臺灣地處亞熱帶氣候區，屬於高濕高熱環境，且地狹人稠又以集約方式進行栽培作業，導致病蟲害更顯猖獗。以往因化學農藥的有效性、廣效性及長效性，因此，農民常施以化學農藥進行病蟲害的預防與防治，以降低田間作物上的病蟲害密度，維持收穫量和品質。但因農民的使用化學農藥進行防治習慣過於頻繁且超量使用，除導致病蟲害產生抗藥性使化學農藥藥效降低外，並因化學農藥生物毒性較高，若因使用不當而殘留於作物導致殘留量過高，易危害終端消費者及導致環境汙染。為改善化學農藥所衍生的問題，歷年來已有多人研究利用有機資材、植物成份及礦物油劑等天然物質與天然素材開發成防治病蟲害的藥劑，以及利用微生物資源開發成生物農藥來進行病蟲害防治。然因此些藥劑或製法繁瑣、或成份不穩定、或價格昂貴、或效果不彰、或保存不易，致使農友在應用上因此而望而卻步，另謀其它有效可行的防治資材與製劑。近年政府推動「精緻農業健康卓越方案」，並推廣有機農業產業，即希望打造健康無毒島的環境，因此發展生物農藥產業，極符合政府目前所立下的願景。因此開發更新型有效的非農藥防治製劑與生物性農藥即為現今的研究趨勢。

微生物農藥之研發現況

生物農藥大都由動物、植物、微生物等天然資材所製成，具備專一性、安全性高，且對環境友善，無殘毒問題。**生物性農藥定義**根據美國EPA之定義，生物藥劑依成份而言可包括；1. 微生物性藥劑 (microbial pesticides) 如真菌、細菌、病毒、原生虫 (protoza)、藻類 (algae) 等為主要成份，而這些微生物可能來產自於自然界或是經由人工基因調整改變而來；2. 生化性藥劑 (biochemical pesticides) 如費洛蒙 (pheromones)、賀爾蒙 (hormones)、天然昆蟲或植物生長調解劑 (natural insect or plant growth regulators)、驅蟲劑 (repellents) 以及酵素等當作主要活性成份 (active pesticidal ingredient)；3. 轉基因植物藥劑 (transgenic plant pesticides) 此方面主要是受 Office of Pesticides Program (OPP) 法條規範，依據其定義主要是為了授予或增進藥劑 (pesticide) 產生而引入遺傳物質去改變植物遺傳性者；因此主要活

性成份即被考慮來自於修改或引入遺傳物質所產生之藥劑物質 (pesticidal substance)。而根據農業委員會之定義，生物性農藥（生物製劑）則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。

「微生物農藥」與「天然素材農藥」為目前國家雄才大略發展計畫的標的重點研發對象，天然素材農藥指天然產物不以化學方法精製或再加以合成者，如菸鹼 (nicotine)、除蟲菊精 (pyrethrum)、魚藤精 (rotenone)、藜蘆鹼 (sabadilla, vertrine)、印楝素 (azadirachtin)、皂素 (saponins) 等。上述生物性原料可能先經脫水乾燥等保存處理，壓榨、磨粉、製粒等加工程序，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。農用微生物製劑係指用於作物病原、害蟲、雜草防治或誘發作物抗性之微生物或其有效成份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，唯也可再經人工品系改良，如人為誘變、汰選或遺傳基因改造。微生物農藥 (microbial pesticides) 則包涵細菌、真菌、藻類、原生動物或病毒等具有生物農藥 (bio-pesticide) 功能者，主要期能減少農作物病蟲草害為害為主。

微生物藥劑目前依防治的對象較常被研究與製劑化的菌種分別有：1. 生物性殺蟲劑 (bioinsecticides)：目前較常被使用之微生物者有細菌殺蟲製劑-如蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*)，真菌殺蟲製劑--如黑殭菌 (*Metarhizium anisopliae*)、白殭菌 (*Beauveria bassiana*)、綠殭菌 (*Nomureae rileyae*)、大鏈壺菌 (*Lagenidium giganteum*)、湯氏多毛菌 (*Hirsutella thompsonii*) 和蠟蚧輪枝孢菌 (*Verticillium lecanii*)，其它尚有病毒製劑如核多角體病毒屬 (Nucleopolyhedro viruses) 和顆粒體病毒屬 (Granulovirus; GV)、線蟲製劑類如斯氏線蟲 (*Steinernimatidae*) 及異小桿線蟲 (*Heterorhabditidae*) 屬的線蟲。2. 生物性殺菌劑 (biofungicides)：目前較常用且有商品化者，有螢光細菌類 (fluorescent *Pseudomonas*)，如 *Burkholderia cepacia* (syn *Pseudomonas cepacia*)、枯草桿菌 (*Bacillus spp.*) 類、木黴菌 (*Trichoderma spp.*)、粘帚黴菌 (*Gliocladium spp.*)、放線菌 (*Streptomyces spp.*) 等，其他則有 *Agrobacterium radiobacter* 及非病原性的 *Fusarium spp.* 與 *Pythium oligandrum* 等。3. 生物性殺草劑 (bioherbicides)：目前以 *Fusarium spp.*、*Phytophthora sp.*、*Xanthomonas spp.*、*Puccinia canaliculata* 和 *Collectotrichum spp.* 等雜草病原菌來抑制雜草研究較多。在國內近年來相關的研發成果亦相當卓著，包括病害防治應用

之枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、鏈黴菌 (*Streptomyces* spp.)、螢光假單胞菌 (*Pseudomonas* spp.)、木黴菌 (*Trichoderma* spp.) 等微生物殺菌劑，以及蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*)、黑殭菌 (*Metarhizium anisopliae*)、白殭菌 (*Beauveria bassiana*)、綠殭菌 (*Nomuraea rileyi*)、蠟蚧輪枝孢菌 (*Verticillium lecanii*)、核多角體病毒 (*Baculovirus*)、斯氏線蟲 (*Steinonema* spp.) 等多種微生物殺蟲劑。

目前國內生物農藥證有 37 張，其中微生物殺菌劑枯草桿菌 (*Bacillus subtilis* Y1336) 10 張，均為同一原體來源；純白鏈黴菌 (*Streptomyces candidus* strain Y21007-2) 以其產生之純白鏈黴菌素登記 1 張，為本土菌種，木黴菌 1 張以 *Trichoderma virens* strain R42 菌株登記綠木黴菌 (表一)；殺蟲劑則以蘇力菌 24 張為最高，另外甜菜核多角體病毒 1 張，亦為進口產品。生物農藥在我國已深耕多年，101 年農委會農業生物技術領域策略規劃指出我國約有 17 家傳統農藥公司及生技公司投入生物農藥研發，然而我國生物農藥產品及產值並未大量提升，顯見產業發展有其瓶頸。目前國內市場每年農藥用量約 8 千多公噸，生物農藥僅占其中約 5%，顯示仍有很大的成長空間。雖然國內已有相關生物農藥產品登記上市，並且有相當多的學者專家進行菌種篩選與製劑研發，歷年來投入的經費更是可觀，但是實際開發成功的產品仍然有限，顯示目前國內商品化的微生物殺菌劑製劑仍極欠缺。本場進年來亦投入相關具生物防治功能的微生物菌種的搜集與篩選，本報告將針對本場所篩選研發的本土化木黴菌菌種特性與相關衍生性製劑應用於田間之效果作一綜合論述，並期望能加速相關毒理與田間試驗資料建置，以加速生物農藥商品化及產業化的目的。

表一、國內商品化之生物農藥殺菌劑種類

Table 1. Some commercial products of biofungicide available in Taiwan

許可證號碼	普通名稱	廠牌名稱	劑 型	含量	廠商名稱	有效日期
農藥製 04764	枯草桿菌	台灣寶	WP 可溼性粉劑	50% 10^9 cfu/g (51EP)	光華化學股份有限公司	105-05-19
農藥製 05096	枯草桿菌	農會寶	WP 可溼性粉劑	50% 1×10^9 cfu/g 以上	中華民國農會附設各級農會農化廠	103-12-12
農藥製 05277	枯草桿菌	興農寶	WP 可溼性粉劑	50% 1×10^9 cfu/g 以上	興農股份有限公司	107-06-29
農藥製 05323	枯草桿菌	台灣水寶	AL 液劑	$\geq 1 \times 10^8$ cfu/ml	百泰生物科技股份有限公司	107-12-16
農藥製 05348	枯草桿菌	金雞牌 賜倍效	AL 液劑	1×10^{10} cfu/ml	沅漢生物科技股份有限公司	108-04-16
農藥製 05454	枯草桿菌	樂農寶	WP 可溼性粉劑	50% 1×10^9 cfu/g 以上	百泰生物科技股份有限公司	104-06-10
農藥製 05566	枯草桿菌	漢寶牌 培農菌	AL 液劑	1×10^{10} cfu/ml	漢寶工業有限公司	105-12-26
農藥原製 00139	枯草桿菌	台灣寶		2×10^9 cfu/g 以上	光華化學股份有限公司	108-07-26
農藥原製 00161	枯草桿菌	樂農寶		2×10^9 cfu/g 以上	百泰生物科技股份有限公司	104-06-01
農藥原製 00177	枯草桿菌	沅漢 賜倍效		1×10^{10} cfu/ml	沅漢生物科技股份有限公司	104-04-18
農藥製 05148	純白鏈黴菌素	安心寶	SP 水溶性粉劑	700 PCU/g	百泰生物科技股份有限公司	104-09-13
農藥製 05590	綠木黴菌 R42	根益旺	AP (其他)粉劑	2×10^8 cfu/g	寶林生物科技股份有限公司	106-07-01

整理自行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 - 農藥資訊服務網

木黴菌之分類地位與特性

木黴菌（*Trichoderma*）屬於絲狀真菌類，是一類普遍存在環境的腐生性真菌，廣泛分佈於土壤、空氣、植物殘骸枯枝落葉及各種發酵物上，從植物根圈、葉片、種子及球莖表面經常可以分離到，是目前生產與應用最普遍的生物防治的真菌菌種。木黴菌屬於真菌界，無性世代的木黴菌是屬於不完全菌門、絲孢綱、

叢梗孢目、木黴菌屬，有性世代則大多屬子囊菌門、核菌綱、肉座菌目、肉座菌屬。根據比塞特（John Bissett）等的分類法，木黴菌屬可區分成4群，然後各群再細分成多個不同的種。各群的區分主要依據分支的重複性多寡，產孢的形狀，瓶狀枝著生數目、方式與形狀，分生孢子外觀形狀、顏色，以及分生孢子柄的主軸大小來區分。至於不同種之間的區分，則依據菌落生長速度、色素與氣味，產孢形式、顏色與外在菌絲形狀，瓶狀枝著生數目、方式、形狀與大小，分生孢子外觀形狀、大小與顏色，分生孢子柄的再分支狀況、主軸寬度等情況來決定。目前已知無性世代的木黴菌可區分成31種，並依區域區分成不同菌株。

木黴屬（*Trichoderma* (Pers.) Fr.）生長時其菌絲呈無色且分支複雜，分生孢子梗直立或略微彎曲，並可再形成次級分支，其瓶狀孢子梗略呈圓錐狀，著生於分生孢子梗兩側，單生或叢生，而瓶狀孢子則為綠色或黃綠色，圓形或橢圓形，單孢單室，具有黏性，常在瓶梗集結成團；同時也會形成無色的厚膜孢子，細胞外壁光滑，間生或頂生，圓形或卵圓形；木黴菌生長速度很快，菌落呈棉絮狀或緻密外觀，未產生分生孢子時為白色，產生後為綠色。除了觀察形態特徵，查詢檢索表的傳統方式之外，應用分生技術針對 ITS1 與 ITS2 進行序列分析；以及利用 HPLC 圖譜分析木黴菌中二次代謝物所提供的資訊，可以被運用作為分類與鑑定的工具 (Thran et al. 2001)，現依相關特性與基因序列，無性世代的木黴菌已增加至 89 種以上 (表二)。

表二、木黴菌之分類地位

Table 2. The taxonomical position of *Trichoderma*

分類	無性世代 anamorph	有性世代 teleomorph
界 Kingdom	真菌界 Fungi	
門 Phylum	子囊菌門 Ascomycota	子囊菌門 Ascomycota
亞門 Sub-division	不完全菌亞門 Deuteromycotina	盤菌亞門 Pezizomycotina
綱 Class	絲孢綱 Hyphomycetes	核菌綱 Pyrenomycetes
目 Order	叢梗孢目 Moniliales	肉座菌目 Sphariales
科 Family	淡色孢科 Moniliaceae	肉座菌科 Hypocreaceae
屬 Genus	木黴菌屬 <i>Trichoderma</i>	肉座菌屬 <i>Hypocrea</i> Fr.
種 Species	<i>Trichoderma</i> species include 89 species: <i>Trichoderma aggressivum</i> 、 <i>T. amazonicum</i> 、 <i>T. asperellum</i> 、 <i>T. atroviride</i> 、 <i>T. aureoviride</i> 、 <i>T. austrokonigii</i> 、 <i>T. brevicompactum</i> 、 <i>T. candidum</i> 、 <i>T. caribbaeum</i> var. <i>aequatoriale</i> 、 <i>T. caribbaeum</i> var. <i>caribbaeum</i> 、 <i>T. catoptron</i> 、 <i>T. cremeum</i> 、 <i>T. ceramicum</i> 、 <i>T. cerinum</i> 、 <i>T. chlorosporum</i> 、 <i>T. chromospermum</i> 、 <i>T. cinnamomeum</i> 、 <i>T. citrinoviride</i> 、 <i>T. crassum</i> 、 <i>T. cremeum</i> 、 <i>T. dingleyeae</i> 、 <i>T. dorotheae</i> 、 <i>T. effusum</i> 、 <i>T. erinaceum</i> 、 <i>T. estonicum</i> 、 <i>T. fertile</i> 、 <i>T. gelatinosus</i> 、 <i>T. ghanense</i> 、 <i>T. hamatum</i> 、 <i>T. harzianum</i> 、 <i>T. helicum</i> 、 <i>T. intricatum</i> 、 <i>T. konilangbra</i> 、 <i>T. konigii</i> 、 <i>T. koningiopsis</i> 、 <i>T. longibrachiatum</i> 、 <i>T. longipile</i> 、 <i>T. minutisporum</i> 、 <i>T. oblongisporum</i> 、 <i>T. ovalisporum</i> 、 <i>T. petersenii</i> 、 <i>T. phyllostahydis</i> 、 <i>T. piluliferum</i> 、 <i>T. pleurotica</i> 、 <i>T. pleurotum</i> 、 <i>T. polysporum</i> 、 <i>T. pseudokonigii</i> 、 <i>T. pubescens</i> 、 <i>T. reesei</i> 、 <i>T. rogersonii</i> 、 <i>T. rossicum</i> 、 <i>T. saturnisporum</i> 、 <i>T. sinensis</i> 、 <i>T. sinuosum</i> 、 <i>T. sp. MA 3642</i> 、 <i>T. sp. PPRI 3559</i> 、 <i>T. spirale</i> 、 <i>T. stramineum</i> 、 <i>T. strigosum</i> 、 <i>T. stromaticum</i> 、 <i>T. surrotundum</i> 、 <i>T. taiwanense</i> 、 <i>T. thailandicum</i> 、 <i>T. thelephoricolum</i> 、 <i>T. theobromicola</i> 、 <i>T. tomentosum</i> 、 <i>T. velutinum</i> 、 <i>T. virens</i> 、 <i>T. viride</i> 、 <i>T. viridescens</i>	

木黴菌之生物防治功能與作用機制

在應用作物病原拮抗微生物中，木黴菌屬 (*Trichoderma* spp.) 為真菌中最常被使用的微生物之一 (Harman et al. 1989; Lo et al. 1996, 1997)。木黴菌至少對 18 個屬的 29 種病原真菌有拮抗作用。已用於生物防治研究的木黴菌有 8 種，即哈茨木黴菌 (*T. harzianum*)、鉤狀木黴菌 (*T. hamatum*)、長枝木黴菌 (*T. longibrachiatum*)、康氏木黴菌 (*T. koningii*)、綠色木黴菌 (*T. viride*)、黏帚黴菌 (*Gliocladium virens*)、多孢木黴菌 (*T. polysporum*)、*T. asperellum*。其它有被運用於其它病害防治試驗的菌株尚包含有 *T. atroviride*、*T. aureoviride*、*T. brevicompactum*、*T. ghanense*、*T. glaucum*、*T. longibrachiatum*、*T. piluliferum*、*T. pseudokoningii*、*T. virens* 及 *T. reesei*。

依文獻所載可被木黴菌防治的病原病害包括镰孢菌引起的萎凋、根腐病，如蔬菜萎凋病 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*)、綠豆萎凋病 (*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*)、棉花萎凋病 (*F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) 及 *Fusarium solani*、*F. colmorum* 所引起的根腐病；*Rhizoctonia solani* 引起的莖腐病；*Pythium* spp. 如 *Pythium debaryanum* 造成白菜、瓜類、棉花、番茄、茄子、煙草、人參、高粱及玉米等作物之猝倒病及根腐病；*Phytophthora citrophthora* 引起的檸檬樹根腐病、芋頭疫病 (*P. colocasiae*) 及 *P. parasitica* and *P. cinnamomi* 引起的蔬菜疫病 (*Phytophthora* blight)；其他如 *Heterobasidium annosum*；*Armillaria mellea*；*Ceratocystis ulmi* 及 *Chondrostereum purpureum* 及 *Phellinus* spp. 所引起之根腐病；*Sclerotium rolfsii* 所引起的白絹病；*Sclerotium cepivorum* 及 *Sclerotinia* spp. 所引起的菌核病；*Plasmodiophora brassica* 所引起的十字花科作物根瘤病；根瘤線蟲 *Meloidogyne* spp. 所引起的作物根瘤病；*Botrytis cinerea* 所引起的作物 (包括草莓、葡萄及花卉) 的灰黴病以及 *Collectotrichum* spp. 所引起的炭疽病。近年來更多的病害種類如芒果莖腐及基腐病 (*Diplodia natalensis*)、蔬菜綠豆葉斑病菌 (*Cercospora canescens*)、黑胡椒疫病 (*Phytophthora capsici*)、香蕉冠腐病菌 (*Fusarium moniliforme*、*F. verticillioides*)、香蕉寄生性線蟲 (*Meloidogyne incognita*、*Radopholus similis*、*Helicotylenchus multicinctus*)，番茄晚疫病 (*Phytophthora infestans*)、番茄青枯病 (*Ralstonia solanacearum*)、番茄早疫病菌 (*Alternaria solani*)、玉米倉儲黃麴黴菌 (*Aspergillus flavus*)、洋蔥粉色根腐病

菌 (*Phoma terrestris*)、香蕉焦腐病 *Lasiodiplodia theobromae* (*Botryodiplodia theobromae*)、十字花科黑斑病 (*Alternaria brassicae*)、番薯 tuber rot (*Lasiodiplodia theobromae*) 及木瓜黴腐病 (*Rhizopus stolonifer*) 亦已發現可利用木黴菌來防治。

木黴菌可以抑制或防治作物病原菌害的主要機制，通常歸類成下列 5 大類：抗生素的產生、營養競爭、超寄生、細胞壁分解酵素及誘導植物產生抗性。木黴菌對植物病原菌的拮抗作用包括多種機制，如抗生作用 (antibiosis)、超寄生作用 (mycoparasitic or hyperparasitism) 及競生作用 (competition)。其中，最為人所知的例子是木黴菌會超寄生於立枯絲核菌；競生作用則包括對營養與生存空間的競爭，木黴菌可以產生揮發性或非揮發性的抗生物質，如 trichothecene、trichodermin、gliotoxin、viridian 及 peptid antibiotics 等，這些抗生物質可以抑制病原菌生長 (Gupta et al. 1999; Harman et al. 2004; Naseby et al. 2000; Lewis & Lumsden 2001; Vazquez et al. 2000; Werner et al. 2002; Inbar et al. 1996)。

木黴菌可以抑制或防治作物病原菌害的主要機制：

1. 抗生素的產生：木黴菌中可產生抗生素來防治病害，以產生 gliotoxin 和 gliovirin 的報告最多，主要防治對象以立枯絲核病菌、腐霉菌和疫病菌引起的病害為主。木黴菌產生的抗生素和病害防治能力無直接關聯時，若和水解酵素組合，則可能增強木黴菌的拮抗作用。例如木黴菌可產生細胞壁分解酵素和 peptaibol 抗生素，若抗生素和幾丁質分解酵素組合，可促進抑制真菌孢子發芽和菌絲生長的作用。木黴菌在生長過程中可產生多種拮抗性化學物質，這些物質包括揮發性抗生素和非揮發性抗生素，在 pH 值低時尤其如此。1932 年 Weindling 確定木素木黴產生一種稱為膠黴素 gliotoxin 的抗菌物質，隨後多種抗生素和胞外酶相繼被分離和鑒定。木黴菌產生的抗真菌代謝產物至少有 32 種以上。多數種類可產生不止一種抗生素，如哈茨木黴菌 12 種，康氏木黴 9 種，綠色木黴 10 種，鉤狀木黴菌 7 種，長枝木黴菌 3 種，多孢木黴菌 2 種，木素木黴菌 2 種。木黴菌在培養中產生的抗菌類物質有木黴素、膠黴素、綠啉和抗菌肽以及揮發性抗菌素—乙醛。這些抗生素的化學性質各不相同，包括了戊酮，辛酮，類萜，多肽和氨基酸衍生物等幾大類。木黴菌產生的抗菌素與真菌寄生作用的關係不大，它所產生的各種酶與其生存

和侵染植物病原菌有關。Horace 研究哈茨木黴菌對立枯絲核菌的防治機制之一一是產生揮發性抗生素，其主要成分為六戊烷基吡喃和戊烯基吡喃，具有椰子香味。Bruckner 等從長枝木黴菌 (*T. longibrachiatum*) 和綠色木霉菌中分離提純了一組特殊的抗菌肽，分別為 trichobrachin 和 trichovirin，並測定了其氨基酸序列；Dennis 等還報導了木霉菌產生的一種揮發性乙醛對病原真菌具有抗性。

2. 營養競爭：在營養競爭方面，利用木黴菌做種子處理，可減少 25% 玉米根的電解質流失，因而減輕苗枯病的發生。這個因子歸因於減少病原菌孢子發芽所需的養分，消耗如鐵、氮、碳、氧或其他適宜病原菌生長的微量元素，可以限制病原菌的生長、發芽或代謝。這個因子歸因於減少病原菌孢子發芽所需的養分，而所減少的養分可能被木黴菌奪取或阻斷。類似情形則發現木黴菌可纏繞在作物根部受傷處。
3. 細胞壁分解酵素：在細胞壁分解酵素方面，一般認為細胞壁分解酵素在抑制病害上扮演著重要角色。單獨或組合使用幾丁質分解酵素或多醣分解酵素，可直接分解真菌細胞壁。缺乏幾丁質分解酵素的突變菌株，抑制病原菌孢子發芽能力及病害防治能力會降低。當這個幾丁質分解酵素基因被引入無病害防治能力的大腸桿菌菌株中，這個轉殖的菌株可減少大豆白絹病的發生。最近有一些轉殖植物含有來自木黴菌的幾丁質分解酵素，對病原菌的抵抗性因而增加。幾丁質分解酵素除存在於木黴菌中之外，尚可存在於植物體、放線菌、細菌和其他真菌中。
4. 超寄生：在超寄生方面，以木黴菌的超寄生病原菌菌絲為例，它的過程為首先木黴菌識別到由該植物病原性真菌病原體釋放的小分子物質（small molecules, peptides），在雙方菌絲接觸前，這些小分子可以由木黴菌分泌的蛋白酶（proteases）作用下影響病原菌菌絲所釋放，這些分子可以結合到木黴菌菌絲表面的 G 蛋白偶聯受體（G protein-coupled receptors, 如 GPR1）或氮素感受體（nitrogen-sensing receptors）。這些訊息子引發信號活化 G 蛋白和絲裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinases, MAPKs）的作用，及調節作為尚未未知轉錄因子（transcription factors, TFs）的活動。這些因子提高基因活化提昇次級代謝產物的生合成和細胞壁溶解酶的產生，進而分解

病原菌細胞壁。木黴菌藉由病菌產生的聚血素（lectins）和表面擁有的碳水化合物接收器進行接觸作用，即木黴菌生長趨向可產生化學刺激物的病原菌。在同一時間，在病原菌形成次生代謝物和激活態氧（reactive oxygen species, ROS）對木黴菌造成毒害防禦其侵入，但木黴菌產生相關物質減輕病原菌的反擊，最後產生類似附著器的構造侵入真菌細胞完成寄生作用。

5. 誘導植物產生抗性：在誘導植物產生抗性方面，木黴菌菌絲會釋放部分合成物誘發植物產生系統性抗病反應。木黴菌在植物根圈作用，可提昇植物抗逆境、提昇光合作用效率及養份利用效率。木黴菌所產生 peptaibols 和 cerato-platanin (Epl1) 可誘導植物產生系統抗性，並使植物產生過氧化氫酶（hydroperoxide lyase），過氧化物酶（peroxidase）和苯丙氨酸解氨酶（phenylalanine ammonia lyase）可誘導木質化 (lignification) 增強抗病能力。木聚醣酶 EIX (xylanase Eix) 並進一步誘發植物防禦反應。1-氨基環丙烷-1-羧酸 (AAC) 脫氨酶 (1-aminocyclopropane-1-carboxylic-acid (AAC) deaminase) 的產生將抑制植物乙烯的形成，此導致根的生長增強，木黴菌所分泌的氨水解酶 (nitrilase) 可幫助生長素吲哚乙酸 (IAA) 的形成並協助吸收蔗糖作為碳源，可幫助植物的根更快生長，其所產生的幾丁質酶可破壞土壤中的線蟲對植物根系的危害，因此植物養分吸收充足進而可供應系統性抗病反應所需的能量，而達到保護的效果。Yedidia *et.al.* 觀察到哈茨木黴菌穿入黃瓜根部主要抑制了根部表皮和外表皮，在真菌刺穿位點外發現形成障礙的沉積物，壁添加物包括大量胍氫質。生物化學分析顯示，接種木黴可分別在 48、72 小時提高過氧化物酶、幾丁質酶的活性。哈茨木黴菌處理根、葉明顯誘導黃瓜的抗性形成，哈茨木黴菌可以代謝產生木聚糖酶，植物在木聚糖酶作用下，具有明顯的防禦反應， K^+ 、 H^+ 、 Ca^{2+} 離子通道打開，合成乙烯以及積累 PR 蛋白等。哈茨木黴菌產生幾丁質酶和 β -1,3-葡聚糖酶在抗植物病原真菌中發揮重要作用。可以啟動植物的防禦反應，導致植物產生和積累與抗病性有關的酚類化合物和木質素等。同時木黴菌產生的蛋白酶能使消解植物細胞壁的病原菌降解，直接抑制病原菌萌發，使病原菌的酶鈍化，阻止病原菌侵入植物細胞。

木黴菌應用在作物病害防治

木黴菌對一些土壤傳播植物病原菌的防治具有很好的效果，Naseby 等針對在

豆子會引起病害的腐霉病菌，運用五株木黴菌株進行生物防治，腐霉病菌會降低豆子發芽率並減少根長、側根數與根瘤數，同時會顯著降低枝條的乾、鮮重，而且明顯增加根域土壤中的真菌數量，接種木黴菌可以降低植物受傷的程度以及碳的滲漏，結果顯示以代號 T4 和 N47 的木黴菌最為有效，在有腐霉菌為害的情況下，可以降低受傷的程度，而無腐霉菌為害時，則有促進植物生長的效果 (Naseby et al. 2000; Harman et al. 2004)。此外，利用特定調配的無土介質，並經發酵生產的木黴菌接種源 (VBA-FB)，不需在無菌的環境中就可對立枯絲核菌進行防治，VBA-FB 中代號 TRI-4 和 GL-3 的菌株，可以減輕茄子、百日草、小黃瓜、甘藍與辣椒因為立枯絲核菌所引起的倒伏病害 (Lewis & Lumsden 2001; Harman et al. 2004)。Elad 以 *T. harzianum* T-39 這個最常用於商業的生物防治劑的菌種，針對四種會對在溫室栽培的小黃瓜葉片造成病害的病原菌進行防治，可以有效控制病害的發生，減輕葉片受害的情形。然而，其生物防治並不是單純以超寄生或抗生的方法進行防治，而是多方面配合包括對植物、真菌與病原菌及土壤中一些酵素的活性等因素 (Elad 2000; Harman et al. 2004)。木黴菌的生物防治效果在眾多實驗中已經得到證實。利用木黴菌防治由立枯病、腐霉菌、白絹病菌、鐮刀菌等引起的棉花、杜仲、人參、三七等的幼苗立枯病以及茉莉、花生和辣椒的白絹病和番茄的猝倒病等，在各種小型試驗中已獲得較好的防治效果。國內外許多學者還將木黴菌用於防治水稻的紋枯病。此外，木黴菌還可以用於葉面、花器和果實的保護，在葡萄園內用綠色木黴菌的孢子液於始花期至收穫期間噴施，可以降低灰霉病菌引起的枝條腐爛以及果實在貯藏期的腐爛有效防治了灰霉病。目前，生產上常用的木黴菌製劑多為它的孢子製劑，將木黴菌醱酵製成孢子製劑進行種子包衣或土壤處理可以有效地防治苗期病害。

木黴菌製劑及在生物防治上之技術應用

目前各國已將常用之木黴菌菌株如 *Trichoderma virens* (G-20)、*T. koningii*、*T. harzianum* (ATCC36042, T-39, T-22)、*Trichoderma viride*、*T. polysporum*、*Trichoderma* sp. various (T-382) 等開發成生物製劑。現已有多種產品問市，如 Soil Guard 12GTM、RootshieldTM、BioTrek 22GTM、SupresivitTM、T-22、T-22 HC、T22GTM、T22HBTM、PromotTM、Trichoderma 2000、TrichodexTM、BinabTM、Trichopel、Trichojet、Trichodowels、TrichsealTM、Trichostar、HARZINA GOLD、Gmax Tricon、Trichodermiside、BHOOMIKA^(R)、Tricho-shield Combat、PL POWER、TRILEXTM FL、PlantShield[®] HC、RootShield[®] WP、RootShield[®] Granules、RootShield[®] PLUS⁺

WP、RootShield® PLUS⁺ Granules、PlantShield® HC、TurfShield® PLUS（表三）。國內以生物農藥登記上市者亦有 1 種（根益旺-綠木黴菌R-42）。這些製劑以粉劑、液劑及粒劑為較常使用的劑型，另外亦有以栓劑劑型上市。

這些製劑依其劑型分別有不同使用方式，如土壤處理者可將木黴菌固體發酵後拌成土壤添加劑，可防治豇豆立枯病和枯萎病，防治效果達 80% 以上。水稻紋枯病是水稻的重要病害之一，中興大學研究人員發展出把粘帚黴菌 G-8 菌株的厚膜孢子製成可飄浮性粒劑，施用於水稻田，對水稻紋枯病具有防治效果。粘帚黴菌製成的粒劑（商品名 SoilGard）在美國登記，可用於溫室中防治腐霉病菌及立枯絲核菌引起的種苗猝倒病，在田間可降低胡蘿蔔和番茄的白絹病害，增加產量。Elad et al. (1980) 把在麥麩、木屑混合物上培養的哈茨木黴菌施入帶有立枯絲核菌和白絹菌的土壤中，不儘可以使菜豆立枯病的發病延遲 60 天左右，而且減輕了危害，菜豆平均增產 2%，同樣也使棉花病害和番茄病害的發病率分別減輕了 50% 和 20%。Root Pro™ 是由 Mycontrol 公司新近研發的一種施用蔬菜育苗床使用的土壤處理劑，用含有木黴菌的 Root Pro™ 土壤處理劑與苗床按 1:100 的比例均勻攪拌，然後播種，可以有效地防治由腐霉菌、立枯絲核菌、菌核病菌、尖孢镰刀菌及格孢菌等土壤傳播病原菌引起的苗期病害。種子處理則可將木黴菌製劑在播種前每千克種子用 10g 菌粉拌種，防治溫室黃瓜根腐病，防治效果達 50%。另外，用木黴菌作種子粉衣，對於防治苗木出土前和出土後的猝倒病有特效。將木黴菌菌粉或 5×10^8 億個/ml 分生孢子製成粉衣劑(可用甲基纖維素作黏著劑) 拌種，可以有 5×10^8 億個/ml效地防治菜豆、蕃茄、辣椒和棉花等作物的猝倒病。而在葉面果實噴施上，木黴菌製劑不儘可以有效地防治土壤傳播病害，而且對於枝、葉、果實的病害也有較好的防治效果。大陸地區利用木黴菌 T5 菌株的孢子懸液防治草莓灰霉病，防治效果可與常用的化學農藥相比，其防治效果均在 80% 以上，而且利用這種生物防治製劑無殘毒、無污染、使用安全，在草莓等鮮食果品生產中具有較大的推廣價值。以色列 Makhteshim Agan 公司開發的以哈茨木黴菌 T39 菌株為發酵液的生物防治制劑 Trichodex，為 25% 的可濕性粉劑，可以用於防治灰霉病、苗枯病、露菌病和白粉病等葉部病害及果實在貯藏期的腐爛。與殺菌劑結合使用為農友較願意使用的方式，但要考慮其藥劑種類。木黴菌和殺菌劑組合應用可以明顯增強生物防治效果，同時減少殺菌劑的用量，減少環境污染，降低農藥殘留量，減輕對環境中有益微生物的破壞。木黴菌作一種腐生真菌，通常要比致病真菌能抵抗一些極端的理化逆境；木黴菌對應廣效性殺菌劑有較強的耐性，而且在被處理的土壤中木黴菌還比其他真菌繁殖迅速，而病原菌和土壤微生物族

群可被化學農藥所減弱，因此使木黴菌防治效果更好。如在用土壤燻蒸劑殺菌劑處理土壤後，施入木黴菌製劑，可以在人工控制和本田條件下防止病原菌的再侵染，此可提高了對花生立枯絲核菌和白絹菌的防治效果。這種木黴菌與殺菌劑結合的防治方法，一方面可以減少殺菌劑的用量及殘留量；另一方面可以提高生物防治製劑的效果。其他使用的方法如紐西蘭已經登記 3 種控制果樹銀葉病的木黴菌製劑，這些製劑均採用木黴菌複合菌株『*Trichoderma harzianum* + *Trichoderma viride*』組合，製成木栓以注射或塗抹傷口的方法使用。大陸地區也曾對染有輪紋病菌的的蘋果枝條打孔，注射木黴菌孢子液，取得了良好的防治蘋果輪紋病的效果。

表三、木黴菌商品化產品

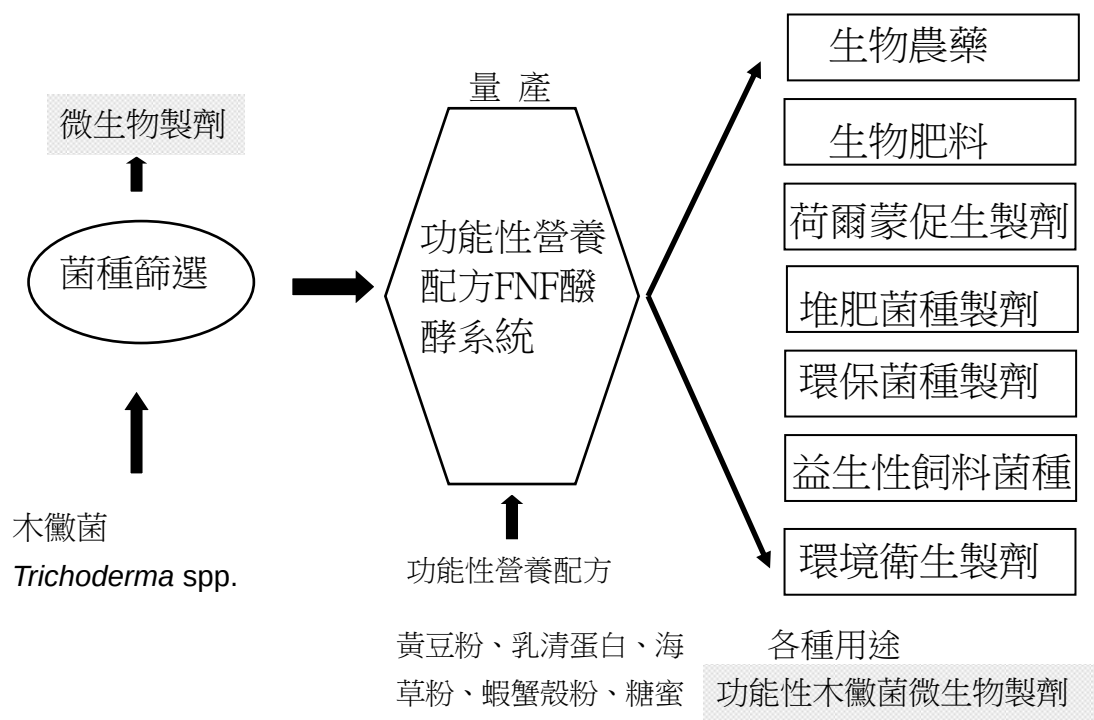
Table 3. Commercial *Trichoderma*-based products registered for use against plant diseases

Trade Name	<i>Trichoderma</i> species	Country Registered
Binab T™	<i>T. harzianum</i> & <i>T. polysporum</i>	Sweden, UK, USA
Bio Fungus™ (formerly Anti-Fungus)	<i>Trichoderma</i> spp.	Belgium
EcoSOM™	<i>T. viride</i>	India
RootShield™	<i>T. harzianum</i>	USA
(a.k.a. T-22G, T-22 Planter Box, Bio-Trek)		
Root Pro™	<i>T. harzianum</i>	Israel
Supresivit™	<i>T. harzianum</i>	Czech Republic
Trichodex™	<i>T. harzianum</i>	Italy, Israel, USA
Trieco™	<i>T. viride</i>	India
Trichoderma 2000™	<i>Trichoderma</i> sp.	Israel
Trichopel™ (a.k.a. Trichojet, Trichodowels, Trichoseal)	<i>T. harzianum</i> & <i>T. viride</i>	New Zealand

功能性木黴菌微生物製劑之開發與應用

微生物菌種與生物農藥製劑目前在市面上所販售的產品大多以孢子狀態、菌絲繁殖體配合佐劑或增量劑包裝，由於菌量數目高，售價往往不低，且相關製劑產品货架壽命、菌種活力常受限於儲藏環境、溫度條件、添加物成份等因子而影響，且使用方式往往因菌種不同而有不同的使用方法及條件，此常影響田間使用的效果。因此在微生物製劑的開發上，相關繁殖技術、培養配方、生產劑型將決定微生物製劑往後之使用範圍及效果。

功能性木黴菌微生物製劑為新一代的生物製劑，其係將菌種結合繁殖資材及使用目的，開發出適合各種不同目的使用者的產品（圖一）。不同的木黴菌菌種本身在繁殖過程中即會產生多種代謝產物及衍生物，這些產物包含有供應植物生長的養份、氨基酸、荷爾蒙、抗生素及二次代謝產物等，依使用的用途可應用在農業、畜牧業、養殖業、環保、醫療、衛生消毒及再生能源等產業上，利用菌種結合功能性營養配方（FNF）可產出上述多種用途的產品。



圖一、功能性木黴菌微生物製劑可針對目的開發成多種產品。

木黴菌 TCT-R1 稻穀菌種的特性

本場經多年研究，已開發多種有益微生物應用於有機農業上，其中木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列菌株已研發多項產品如生物性堆肥(蔡 et al. 2007)、介質、微生物製劑等於田間運用成效顯著。TCT-R1 稻穀菌種 (圖二) 為首先開發之製劑，其與作物根部共生能力強，能幫助作物根系發育，除可減少苗期病害外並能幫助作物抵抗逆境 (圖三)，添加木黴菌處理設施介質可減少作物死亡並有提昇產量品質之效益 (表四)，而且可在其環境中存活 (表五)。其它功能包括能促進植物生長、增加產量、提昇品質，可幫助農友提高作物產量及收益。運用稻穀培養木黴菌，在國內外尚未有人利用來培養，目前生產木黴菌大多利用液體發酵培養，以厚膜孢子進行量產。或以脫殼後之米粒培養微生物，但因米粒內營養成份影響，及水份太多米粒會軟化聚黏影響通氣性，使微生物生長不良，若水分太少則微生物因缺水而無法正常生長，固態發酵培養因生產技術無法突破而鮮少人使用。本場所研發之穀粒培養基，由於消毒完全且穀粒外殼完整，供試微生物要利用穀粒內米粒養分時要能產生纖維分解酵素，分解部份外殼後利用米粒養分，菌絲纏繞後在稻穀外殼即可形成綠色木黴菌孢子。所製備之 TCT-R1 木黴菌稻穀菌種特性為好氣性、具纖維分解酵素、低單糖類需求微生物。本項產品除利用相關技術突破木黴菌固態培養瓶頸外，並具高再生性及儲存期長等優勢。所製備之稻穀菌種因穀粒完整具高再生性，在沖洗外殼所附之孢子後，即可覆蓋保濕再生成孢子重覆繁殖 2-3 次，孢子數皆可維持在 10^9 spore/g 左右。另並具高低溫儲藏性，製備好之菌種儲存在 -30°C 低溫保存箱中，活性可維持 2 年以上，且孢子活性無衰退情形，本稻穀菌種比市面上以厚膜孢子製品之儲存時間增加一倍以上，耐低溫性優於其他產品，耐堆肥發酵高溫能力強過其它產品，菌種再生性則為國內其他孢子產品無法競爭之獨特性。本菌種除可當育苗時之幼苗發根接種劑外，經使用於堆肥發酵尚可快速分解堆肥資材，使材料快速腐熟外，且菌種尚仍存活在堆肥中，除可使堆肥成品成份提升穩定外，並可供作物生長使用，為其他產品無法競爭的特點 (蔡 et al. 2005)。此外木黴菌 TCT-R1 稻穀菌種尚可當液肥發酵菌種，配合有機資材可生產有機液菌肥，目前已開發多種產品 (表三)。



圖二、TCT-R1 稻穀菌種。



圖三、木黴菌接種番茄對抗淹水逆境之效益（左：處理組、右：對照組）。

Fig. 3. Preliminary test data showed *Trichoderma* spp. strains had the ability to promote plant growth under water stress.

表四、設施栽培處理木黴菌後對花胡瓜三連作後產量性狀之影響

設施處理	介質處理	菌種處理	單株總果數 (條)	單株總果重 (公斤)	單果重 (公克)	果長 (公分)	畸形果 (%)	死亡率 (%)
塑膠布遮雨棚	植床耕	T	76.4	5.61	72.8	16.7	11.8	0
		CK	64.2	4.86	77.0	16.8	12.6	14.3
塑膠布遮雨棚	介質袋耕	T	55.2	4.32	78.3	17.0	13.4	4.1
		CK	43.5	3.45	77.8	16.9	10.3	20.8

註：T—木黴菌 *Trichoderma asperillum*，CK—對照

表五、木黴菌添加在花胡瓜介質耕連作後族群變化探討

	有益微生物 添加處理	栽培設施	介質中有益微生物添加後之 含菌量		連作三次介質中有益微生物之 含菌量	
			枯草桿菌 (cfu/ml)	木黴菌 (prog/g)	枯草桿菌 (cfu/ml)	木黴菌 (prog/g)
植床耕	枯草桿菌	塑膠溫室區	3.2×10^7	--	8.8×10^5	1.6×10^2
		露天栽培區	3.2×10^7	--	1.1×10^5	3.7×10^3
	木黴菌	塑膠溫室區	--	5.6×10^6	3.1×10^4	3.1×10^4
		露天栽培區	--	5.6×10^6	3.7×10^4	5.3×10^4
	對照組	塑膠溫室區	--	--	1.6×10^3	1.2×10^2
		露天栽培區	--	--	1.6×10^3	1.2×10^2
袋植耕	枯草桿菌	塑膠溫室區	3.2×10^7	--	1.2×10^5	--
		露天栽培區	3.2×10^7	--	1.0×10^5	--
	木黴菌	塑膠溫室區	--	5.6×10^6	1.7×10^2	2.7×10^3
		露天栽培區	--	5.6×10^6	1.1×10^2	5.6×10^3
	對照	塑膠溫室區	--	--	1.1×10^2	--
		露天栽培區	--	--	1.0×10^2	--

註：BS—枯草桿菌，T—*Trichoderma asperillum*，CK—對照，PP—塑膠布遮雨棚，OF—露天



圖四、利用木黴菌可製造品質優良的功能性生物液態製劑及堆肥。

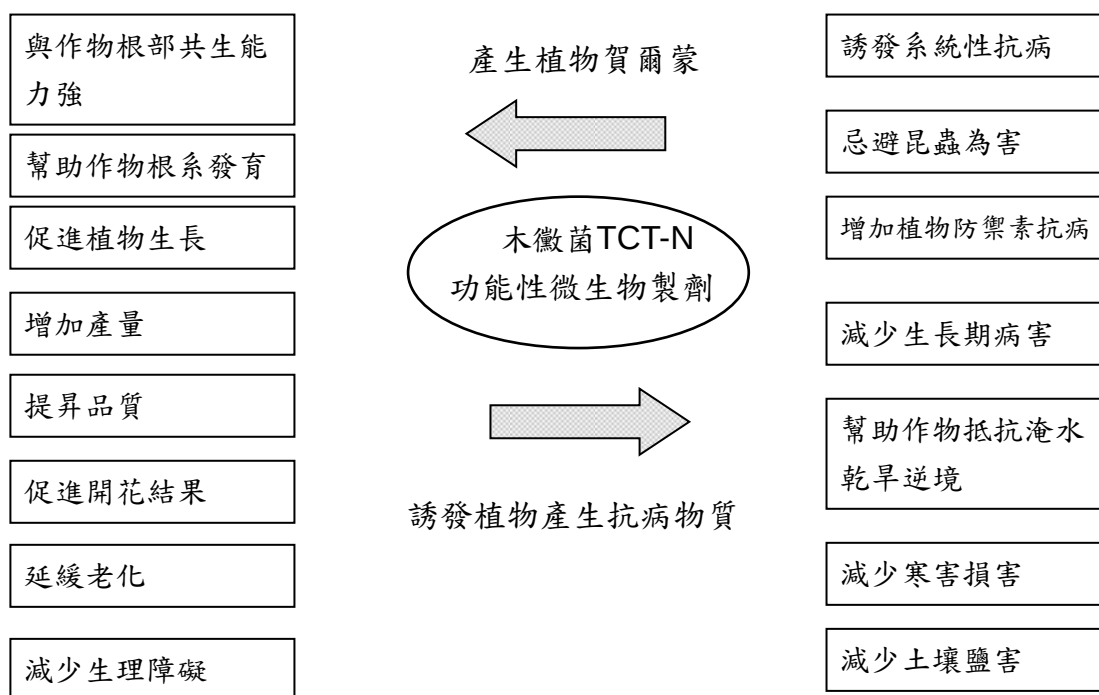
表六、木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列產品

Table. 6 Products of *Trichoderma asperillum* TCT-N

微生物菌種	生物性堆肥	介質	高效液菌肥
福壽活麗送-2 號 (TCT103)	福壽大自然基肥-蔗渣 木屑堆肥	福壽-中改 3 號蔬果 栽培介質	金新隆有機液肥
昔得 TCT301 菌株	昔得新型生物性牛糞 堆肥	田酪豐田一號堆肥 介質	農寶-穀寶有機高效 肥
台中市農會生物 性廚餘堆肥菌種	田園有機高效肥- 田園特 1 號及 3 號		

木黴菌 *Trichoderma asperillum* TCT-N 系列產品之開發與應用

功能性微生物製劑 *Trichoderma asperillum* TCT-N 可產生植物賀爾蒙及多種代謝產物，除菌種與作物根部共生能力強外，能幫助作物根系發育，促進植物生長、開花結果、增加產量及提昇品質，此外並能減緩老化延長作物採收時間。另者該製劑尚能誘發植物產生抗病物質，可誘發植物產生系統性抗病能力，或增加植物防禦素以減少生長期病害，此外尚可忌避昆蟲減輕為害，對惡劣環境可幫助作物抵抗淹水、乾旱等逆境，並能減少寒害損害及減少土壤鹽害等問題 (圖十)。



圖五、*Trichoderma asperillum* TCT-N 功能性微生物製劑之特性。

結合木黴菌與營養物質如乳清蛋白、糖蜜醱酵產生的 TCT-N 功能性微生物製劑，製作簡便且成本低廉，相關製劑已運用在多種作物之栽培管理上(表四)。目前所開發的三種木黴菌製劑依田間施用結果可分：1. TCT-LF-1 生長液菌肥：田間試驗結果發現可促進多種作物生長，能減少苗期病害，增加作物分蘗數、開花數及有效穗數 (圖六)，能提昇產量與品質，並有抗倒伏及促使開花及孕穗期一致性之效果。此外施用於水稻上可減少水稻稻熱病、紋枯病及白葉枯病之發生與危害。2. TCT-LF-2C 病害抑制有機液肥：在蔬菜上可減少苗期立枯病 (圖七)、甘藍黑腐病 (表八)，洋香瓜白粉病 (圖八)、胡瓜苗期立枯病、白粉病、露菌病 (圖九、十) 及疫病，番茄及彩椒苗期立枯病、白粉病、葉黴病、枝枯病、晚疫病，韭菜銹病等多種病害，在其它果樹作物或花卉作物的病害防治上亦有效果。3. TCT-LF-3D 殺蟲速效有機液肥：能提昇植物抗病能力及昆蟲忌避能力，並可殺死鱗翅目幼蟲、紅蜘蛛、粉蝨、薊馬等害蟲，搭配蘇力菌施用效果更加顯著 (表三)。TCT-N 功能性微生物製劑除可減少作物病害發生外，並能促進植物生長、提昇品質及產量及增強抗病能力。

表七、*Trichoderma asperillum* TCT-N 製劑可應用之作物種類及功能

TCT-N 微生物製劑	使用作物	功 能
TCT-R1 稻穀菌種	禾本科：水稻、玉米、茭白筍 十字花科：甘藍、結球白菜及其它葉菜 茄科：番茄、彩椒、青椒、	促進根系發育 提昇幼苗移植存活率 促進開花結果 抗淹水逆境 抗幼苗立枯病 液肥、堆肥醱酵菌種
TCT-LF-1 生長液菌肥	辣椒、茄子 葫蘆科：胡瓜、苦瓜、絲瓜、南瓜 豆科：敏豆	促進生長、提高開花及產量、改善品質、提昇植物抗病能力及昆蟲忌避能力
TCT-LF-2C 病害抑制製劑	葡萄、柑橘、甜柿、梨、木瓜、蝴蝶蘭、文心蘭、蝴蝶蘭、國蘭、玫瑰、洋	抑制立枯病、露菌病、白粉病、銹病、黑腐病、潰瘍病、基腐病、莖腐病等
TCT-LF-3D 殺蟲速效配方	桔梗、海芋、非洲菊、茗葉、茶	殺死鱗翅目幼蟲、紅蜘蛛、粉蝨、薊馬



圖六、TCT-LF-1 生長液菌肥可促進作物生長、開花提昇產量品質。

表八、施用木黴菌枯草桿菌生長液菌肥對田間甘藍黑腐病及產量之影響

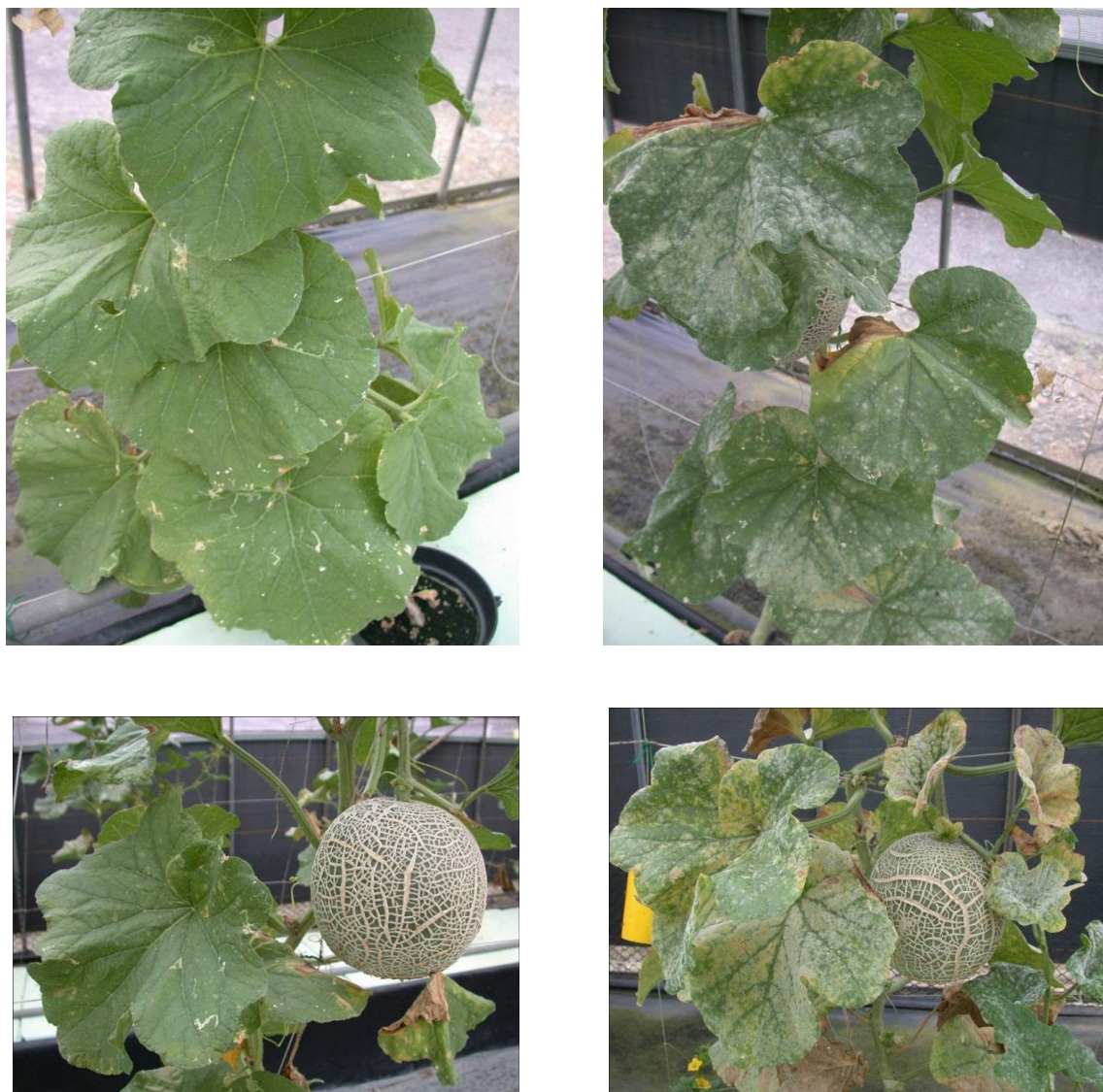
Table 8. Effect of *Trichoderma asperellum*- TCT213 and *Bacillus* sp. TCB9401 liquid formulation solution on the black rot disease control and product of cabbage after applied in the field test

Treatment	初秋		夏峰		T-11	
	黑腐病 發病率 (%)	單球重 (公斤)	黑腐病 發病率 (%)	單球重 (公斤)	黑腐病 發病率 (%)	單球重 (公斤)
BS 澆灌接種	80	0.9	70	1.0	66.6	1.3
Tr 澆灌接種	40	1.3	37.5	1.1	27.7	1.9
Tr+BS 澆灌接種	25	1.2	20	1.2	16.6	2.1
CK	100	0.65	100	0.8	100	1.2

每小區甘藍 20 株



圖七、TCT-LF-1 生長液菌肥可促進番茄種苗發育健壯 (左：對照組、右：處理組)。



圖八、施用木黴菌菌肥對田間洋香瓜白粉病之防治效果 (左：處理組、右：對照組)。

Fig. 8. Effect of *Trichoderma asperellum*- TCT213 liquid formulation solution on the powder mildew disease control of muskmelon after applied in the field test (left, treatment; right, CK).



圖九、田間施用木黴菌功能性製劑對小黃瓜白粉病之防治效果 (左：處理組、右：對照組)。

Fig. 9. Effect of *Trichoderma asperellum*- TCT213 liquid formulation solution on the powder mildew disease control of cucumber after applied in the field (left, treatment; right, CK).



圖十、田間施用木黴菌功能性製劑對小黃瓜露菌病之防治效果 (左：處理組、右：對照組)。

Fig. 10. Effect of *Trichoderma asperellum*- TCT213 liquid formulation solution on the downey mildew disease control of cucumber after applied in the field (left, treatment; right, CK).

結 語

農業有益微生物種類繁多，本場經過多年來的研究，已經成功分離及培養出多種具有機質分解功能之有益微生物菌種。並且已分別與多家法人團體合作辦理「新型生物性堆肥研發」技術移轉授權，且已有多項生性肥料產品完成商品化上市。目前正強化相關菌種在生物防治的應用價值，並開發成為生物農藥藥劑。

一個成功的生物農藥製劑，至少需具備下列 3 個條件：即 1. 擁有一優良有效的菌株 (superior strain)；2. 可大量生產並擁有良好的架上存活時間 (shelf life)；3. 擁有一套有效的傳輸體系 (delivery system) (Burges 1998)。因此研發任何一種微生物製劑，至少必需能符合上述三大要件，再配合產品的技術移轉以達商品化的最後階段。而微生物製劑技轉過程中，商品化最常遭遇的瓶頸有：1. 初期技術移轉承接成本過高，影響廠商授權意願；2. 廠商技術承接時間長達 6–12 月，影響產品上市時間；3. 設備購置成本高，往往一個噸級發酵槽即需投入數千萬元之資金，對新創之生技公司承接門檻過高；4. 設備維護費用高 (50 – 100 萬元以上/年)；5. 獲利回收時間慢 (5 – 10 年)；6. 人力成本高，且人員異動頻率高影響產品製程及穩定性。相關因素皆影響微生物製劑商品化的速度與時間，為此一個有效的微生物製劑產品需搭配低投入資金及低成本量產技術才有可能成功。由於木黴菌的廣效性、廣泛適應性及拮抗目標的多樣性，隨著生物技術的日新月異，可以利用基因工程技術和原生質體技術構建生物防治菌，優化發酵條件，改良田間應用條件，促進木黴菌的定殖能力；加強木黴菌與植物之間作用研究，提高木黴菌的生物防治效果，對於防治植物真菌病害、促進農業生產具有重要意義。同其他真菌生物製劑一樣，由於木黴菌的孢子製劑為活菌成分，田間應用易受溫度、濕度、化學及農藥等因素的影響，穩定性不理想，可望通過研製新劑型加以解決。木黴菌的生產技術也是一個限制木黴菌生物防治製劑在生產上得到廣泛使用的關鍵問題，需要有突破性的研究成果以解決這一共性問題。

參考文獻

- 安寶貞、羅朝村、謝廷芳、黃秀華 1999 作物病害之非農藥防治 農委會、農林廳編印 臺中。
- 蔡宜峰、陳俊位、陳彥睿 2005 木黴菌在堆肥製作及應用於介質耕玫瑰之研究 p. 119-128. 有機肥料之施用對土壤與作物品質影響研討會論文集 台大農化系編印 臺北。
- 蔡宜峰、陳俊位 2007 生物性堆肥之菌種開發與應用 農業生技產業季刊 12: 35-41。
- 羅朝村 1997 木黴菌在作物病害管理上的應用 p. 57-62. 有益微生物在農業上的應用研討會專刊。
- 羅朝村 1999 生物防治在作物病害上的應用與展望 台灣農業 35(1): 11-22。
- 羅朝村 2000 生物性農業藥劑之研發與應用 生物資源、生物技術 2(3): 9-12。
- 羅朝村 2001 木黴菌之分類與應用 p. 134-139. 第五屆海峽兩岸真菌學術研討會。
- 羅朝村、石信德、顏志恆 2005 拮抗生物與有益微生物 永續農業 22(6): 20-24。
- 羅朝村、謝建元 2005 有效的人海戰術—木黴菌的應用 科學發展 391: 34-39。
- 羅朝村 2006 木黴菌之簡介與應用 農業生技產業季刊 8: 17-19。
- 陳俊位、鄧雅靜、曾德賜 2009 功能性微生物製劑在有機作物栽培病害管理上之應用 p. 447-181. 陳榮五、白桂芳、蔡宜峰主編 有機農業產業發展研討會專輯 行政院農業委員會臺中區農業改良場編印。
- Altomare, C., W. A. Norvell, T. Björkman and G. E. Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Appl. Env. Microbiol. 65: 2926-2933.
- Burges, H. D. 1998. Formulation of Microbial Biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, Netherlands.
- Druzhinina, I., S. V. Seidl-Seiboth, A. Herrera-Estrella, B. A. Horwitz, C. M. Kenerley, E. Monte, P. K. Mukherjee, S. Zeilinger, I. V. Grigoriev and C. P. Kubicek . 2011. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. Nature Rev. 9: 749-759.
- Elad, Y. and A. Kapat. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. Eur. J. Plant Pathol. 105: 177-189.

- Hanson, L. E. and C. R. Howell. 2004. Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 94: 171-176.
- Harman, G. E. 2000. The myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* strain T-22. *Plant Dis.* 84: 377-393.
- Harman, G. E., C. R. Howell, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species -opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Rev.* 2: 43-56.
- Hall, F. R. and J. J. Menn. 1999. *Biopesticides: Use and Delivery*. Humanna Press Inc., Totowa, NJ, USA.
- Hermosa, R., A. Viterbo, I. Chet and E. Monte. 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158: 17-25.
- Howell, C. R., L. E. Hanson, R. D. Stipanovic and L. S. Puckhaber. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 90: 248-252.
- Jin, X., C. K. Hayes and G. E. Harman. 1991. Principles in the development of biological control systems employing *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogenic fungi. p. 174-219. In: G. C. Leatham. (ed.). *Frontiers in Industrial Mycology*. Chapman and Hall, Inc., London.
- Lo, C. T., E. B. Nelson and G. E. Harman. 1996. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum*. *Plant Dis.* 80: 736-741.
- Lo, C. T. 2001. Development and application of *Trichoderma* spp. for plant disease control in Taiwan. p. 85-96. In: Tzeng, D. S. and J. W. Huang (eds.). *International symposium on biological control of plant disease for the new century-model of action and application technology*, Taiwan.
- Papavizas, G. C. 1992. Biological control of selected soil borne plant pathogens with *Gliocladium* and *Trichoderma*. p. 223-230. In: Tjamos, C., G. C. Papavizas and R. J. Cook (eds.). *Biological Control of Plant Diseases: Progress and Challenges for the Future*. Plenum Press, New York.

Research and Application of *Trichoderma* spp. on Crop Diseases Control

Chein-Wei Chen^{1*}, Ya-Ching Teng² and Yi-Fong Tsai¹

¹Taichung District Agricultural Research and Extension Station, COA

²Chaoyang University of Technology

*Corresponding author. E-mail:chencwol@tdais.gov.tw

ABSTRACT

Beneficial microorganisms used in the process of crop cultivation has become a new trend, the main functions are to promote plant growth, reduce pests and diseases injury, increase the fields and qualities of agricultural products, the other functions are contain a produce plant hormones, induced plant disease resistance, reduce soil acidification, reduce soil salts accumulate and induce of other beneficial microorganisms production. Recent years our station in the functional microbial research has received a number of achievements, such as the screening of purified strains of *Trichoderma* (*Trichoderma asperillum*), and the use of these strains developed a number of agricultural biotech products, such as bio-compost, culture-media, functional microbial agents, remarkable results in the field use. These preparations, the TCT-R1 rice strains have crop roots symbiotic ability to help root development, increase graft survival, and in addition reduce seedling diseases and help the crop to resist adversity. Combined with whey protein, TCT-LF-N functional microbial agents produced by the molasses fermentation, production of simple and low cost, field test results in addition to promoting a variety of crop, reduce pest and disease problems and the cultivation period, can improve crop yields and quality to increase the income of farmers. The new generation of *Trichoderma* microbial agents combined with *Bacillus subtilis* (BS WG6-14) bacteria, *Streptomyces* sp. RS70 and other species with root habitat by development of functional microbial agents and application methods, can prevent many diseases, field trials have prevention cabbage black rot, bacterial wilt of tomato, rice blast, sheath blight and bacterial leaf blight, vegetable seedling damping off, powdery mildew, downy mildew,

Solanaceae epidemic, leaf mold, gray mold, leaf blight, late blight and rust and other diseases, and to promote crop growth and to enhance the yield and quality, the use of research and development of microbial agents can increase the confidence of the cultivation of organic farmers, and to improve the poor growth of organic crops, low-quality short comings, these bio-agents in the future of agriculture would be a great weapon for farmers application

Key words: Beneficial microorganisms, Functional microbial agents, Bio-pesticide, *Trichoderma* spp.

植物源保護製劑之研發趨勢

謝廷芳

行政院農業委員會農業試驗所 花卉研究中心

通訊作者。E-mail: tfhsieh@tari.gov.tw

摘 要

植物富含許多特殊的抑菌物質如配糖體、生物鹼、萜類、酚類、鞣質、類黃酮素、皂素、單寧、香豆素等，具有特定之生物活性，可抑制多種植物病原菌，是開發植物源保護製劑或植物源農藥的材料。植物源農藥具有環境友善、符合農業永續、易於生物分解、可降低病蟲害發生、有機可用及可納入綜合管理體系之中等特性與優點，廣受研究人員青睞與投入研究。開發植物源農藥均由評估植物萃取物的抑菌效果及分析抑菌成分著手，再進行製劑研發，並評估田間病害防治之藥效。除中國大陸提出超過 20 種已開發的植物源農藥之外，目前國外登記用於防治植物病害的商品尚不多見，計有具廣效性的 30% cinnamaldehyde 之可濕性粉劑，29.2% gamma-aminobutyric acid 與 29.2% L-glutamic acid 複合劑防治葡萄白粉病和核果類作物的褐腐病 (*Monilia* sp.) 與穿孔病 (*Stigmata carpophila*)，荷荷巴油(jojoba oil) 預防觀賞植物的粉蝨和白粉病，褐藻多糖 (laminarin) 防治小麥白粉病，中草藥博落回 1.5% 水溶液作為抗病誘導劑，日本大黃可濕粉製劑 (RK) 防治胡瓜白粉病，虎杖 (*Reynoutria sachalinensis*) 萃取液 (商品名 Milsana®) 防治作物之白粉病及灰黴病。而國內成功開發用於防治植物病害的植物源農藥或天然植物保護製劑計有中興 100 (CH 100) 植物健素防治多種植物病害，乳化葵花油 (葵無露) 防治作物白粉病，五倍子中草藥製劑 (活力能) 防治作物炭疽病，以及肉桂油微乳劑 (黑修羅) 防治蔬菜黑斑病與根瘤線蟲等。目前實際應用天然植物成分防治作物病害的成果有限，多數研究僅局限於實驗室內的抑菌測定與溫室防病試驗階段，未來應加強評估田間的防病成效，並完備各項農藥登記應備資料，以順利將植物源農藥商品化。利用天然植物成分據以研發植物源農藥，用於防治植物病害的潛力無窮，是防治植物病害的另一新的研究課題。

關鍵詞：植物源農藥、誘導抗病、抑菌、病害防治、研究趨勢。

前言

根據美國環境保護署之定義，生物性農藥包括「微生物農藥」、「植物源保護製劑」(plant-incorporated protectants, 簡稱 PIPs) 及「生化農藥」等。相較於化學農藥，生物農藥對人畜較無毒害，不易危及非標的生物，對生態環境較為友善，除可防治作物病蟲害之外，尚有益於作物生長，並維護自然生態和諧。

在自然界中存在的植物，富含許多特殊的抑菌物質如生物鹼、配糖體、酚類、帖類、鞣質、類黃鹼素、皂素、類胡蘿蔔素、香豆素等 (Cowan 1999)，具有特定的生物活性，可抑制多種植物病原菌，是開發植物源保護製劑 (natural plant protectants derived from plants) 或植物源農藥 (botanical pesticides) 的材料。天然植物保護製劑或植物源農藥屬於生物農藥範疇的一個分支，為利用植物所含的穩定有效成分，按一定方法對目標植物進行施用後，以降低病、蟲、雜草等有害生物危害的植物源植物保護製劑。植物源農藥成分複雜多變，通常是植物有機體的一部份或全部，依植物種類與來源不同，可能含有生物鹼、糖苷、毒蛋白質、揮發性香精油、單寧、樹脂、有機酸、酯、酮、萜等各類物質 (譚 et al. 2003)。

全世界可作為植物源農藥應用的植物約有二千種以上。就中國大陸而言，大多數植物源農藥都是從中草藥中發掘出來的，其中已知可用於調配植物源農藥的植物種類約 500 種 (無名氏 1959)。植物源農藥的種源十分廣泛而豐富，但被利用者微乎其微，僅魚藤酮、苦參鹼、煙鹼、楝素、藜蘆鹼、茴蒿素、木煙鹼、苦皮藤素、苦豆子總鹼等被少數農藥公司所開發生產，用於防治作物害蟲。中國大陸利用植物性物質防治作物病蟲害已經有二百多年的歷史，但真正有目的、科學地進行開發利用則是近二十年的事。目前中國大陸用於防治作物病害的植物主要有大蒜、板藍根、商陸、大黃、連翹、苦楝等幾十種；有些天然植物成分已被研發成商品，如市售的大蒜素、中草藥製劑“912”、MH11-14 可濕性粉劑等，並推廣給農民使用。依據我國科技政策中心科技產業資訊服務-熱點專輯的資料，中國大陸在 1987 - 2004 年間已登錄核可的植物源農藥專利達 196 項 (無名氏 2005)。另外，德國研究利用虎杖 *Reynoutria sachalinensis* 萃取液對數種作物之白粉病及灰黴病有良好的防治效果，並在美國以商品名 Milsana® 登錄使用。

本文擬由目前植物源保護製劑或植物源農藥，尤其是植物源殺菌劑的發展現況切入，探討開發植物源殺菌劑之必要條件，並提出未來植物源農藥的研發趨勢，以作為我國開發該類天然植物保護製劑之參考。

植物萃取物的研究現況

植物萃取物防治作物病蟲害是開發植物源保護製劑或植物源農藥的初階研究。目前研究植物萃取物防治作物病害的成果頗多，經歸納可分成二大類，第一類為直接使用萃取抗菌物質或含抗菌成分的萃取液抑制病原菌生長，第二類為利用植物萃取物可誘導植物產生抗病性而防治病害的發生 (Das et al. 2010)。

一、直接抑制病原菌生長

於健康植物體內固存一些抗菌物質，當病原菌侵染時，產生具抗菌活性的水解產物，當該類植物體以適當的方法萃取其抗菌物質，可用於抑制植病病原菌的研究。國外在植物萃取液的抑菌特性研究上著墨甚多，如苦楝葉萃取液對數種真菌孢子、細菌均有抑制發芽或靜菌作用 (Coventry & Allan 2001)；黃堇 (*Corydalis chaerophylla*) 之根葉萃取液含 berberine，可抑制多種真菌孢子發芽 (Basha et al. 2002)；胡椒科植物萼撥果實萃取液 1,000 倍可完全抑制小麥赤銹病菌 (*Puccinia recondite*) 孢子發芽 (Lee et al. 2001)；鳳梨花 pineapple lily (*Eucomis autumnalis*) 鱗莖粗萃取液，可完全抑制豌豆褐斑病菌 (*Mycosphaerella pinodes*) 孢子發芽 (Pretorius et al. 2002)；具揮發性的抑菌物質大蒜素 allicin (diallyl thio sulphinate) 合成於大蒜組織受傷時，大蒜素可有效防治胡蘿蔔種子傳播病害 (*Alternaria* spp.)、番茄和馬鈴薯晚疫病、水稻稻熱病及阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*) 露菌病 (Slusarenko et al. 2008)；丁香羅勒油與香茅油在 250ppm 下可完全抑制白粉病菌 (*Erysiphe polygoni*) 孢子發芽 (Raj & Shukla 1996)；土壤中添加 10% 的荊芥/芥菜精油、70% 丁香油乳劑可分別降低 99.9 和 97.5% 的菊花萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi*) 孢子數量，而 90% 苦楝油乳劑則會增加病原菌族群數量 (Bowers & Locke 2000)。紅辣椒萃取液含 meta-coumaric 和 trans-cinnamic acids，對細菌性軟腐病菌 (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) 的生長具抑制作用；芫荽、刺芫荽和苦瓜萃取液可抑制 *Erwinia* 屬細菌的生長，而 mamon (*Melicocca bijuga*) 對香蕉的 *Pseudomonas* 細菌具抑制作用 (Guevara et al. 2000)；南美紫茉莉 (*Mirabilis jalapa*) 葉片萃取液完全抑制茄子 (*Solanum melongena*) 的胡瓜嵌紋病毒 (Cucumber mosaic cucumovirus, CMV) (Bharathi 1999)，而雜草 *Clerodendrum aculeatum* 的部份純化葉萃取液 2:1 濃度連續噴佈大豆植株 6 次後，可明顯抑制大豆嵌紋病毒 (Soybean mosaic potyvirus, SMV) 的為害 (Alpana et al. 1992)。

植物精油使用於防治貯藏期病害是相當具吸引力的，大多數研究植物精油對植物病原真菌抑菌能力的報告都以測定菌絲生長與孢子發芽之抑制作用為主。在抑制菌絲生長方面，如 Ranasinghe et al. (2002) 指出肉桂及丁香油在 0.03 - 0.11% (v/v) 下可抑制 *Fusarium proliferatum*、*Lasiodiplodia theobromae* 和 *Colletotrichum musae* 等引起香蕉冠腐及炭疽病的病原菌菌絲生長：百里香精油在 0.06% 下可讓 *C. gloeosporioides* 和 *Rhizopus stolonifer* 二者的菌絲停止生長 (Bosquez-Molina et al. 2010)，而 0.05% 的香茅精油和 0.4% 的肉桂精油對香蕉炭疽病菌 *C. musae* 和木瓜炭疽病菌 *C. gloeosporioides* 具有殺菌效果 (fungicidal effect) (Maqbool et al. 2011)。植物精油包括 *Lippia sidoides*、丁香羅勒 (*Ocimum gratissimum*)、馬鞭草檸檬桉 (*Lippia citriodora*) 和香茅在 1,000 μ l/l 下可完全抑制炭疽病菌 (*C. gloeosporioides*) 菌絲生長 (Souza Júnior et al. 2009)，而柑桔油在 150 μ g/ml 可完全抑制芒果炭疽病菌菌絲生長 (Abd-Alla & Haggag 2013)。亦有一些報告利用精油的揮發性物質來達到抑菌的功效，如百里香精油在 76 μ l/l 下的揮發氣體可完全抑制炭疽病菌 (*Colletotrichum acutatum*) 的菌絲生長。亞香茅 (*Cymbopogon nardus* L.)、羅勒 (*Ocimum basilicum* L.)、檸檬桉和白豆蔻 (*Elettaria cardamomum* Maton) 等精油在 0.03 - 0.66% (v/v) 下對 *L. theobromae*、*F. proliferatum* 和 *C. musae* 具靜菌作用 (fungistatic effect)，而在 0.05 - 0.66% (v/v) 下有殺菌效果 (Abeywickrama et al. 2003)。在抑制孢子發芽方面，50 mg/l 的芥子精油 (mustard oil) 抑制 70.8 % 炭疽病菌孢子發芽，而羅勒精油則抑制 64.7% 孢子發芽 (Abd-Alla & Haggag 2013)。Midhila & Janardhana (2012) 測試 7 種植物精油抑制咖哩炭疽病菌 (*C. gloeosporioides*) 孢子發芽與發芽管長度，發現不同精油的抑菌濃度不一，柑桔油在 1,360 mg/l 時達最大抑制量，其次為 1,720 mg/l 的香茅油和 2,260 mg/l 的薄荷精油。而 Souza Júnior et al. (2009) 以 1,000 μ l/l 的精油包括 *Lippia sidoides*、丁香羅勒、馬鞭草檸檬桉、香茅和番石榴 (*Psidium guayava* var. *pomifera*) 等具有完全抑制 *C. gloeosporioides* 孢子發芽的效果。肉桂與丁香精油對黑胡椒 (*Piper nigrum* L.) 炭疽病菌 (*C. gloeosporioides*) 孢子發芽的半致死濃度小於 650 mg/l (Yulia et al. 2006)。Rozwalka et al. (2010) 指出精油對炭疽病菌 (*C. gloeosporioides* 和 *C. musae*) 孢子的殺菌作用主要是使細胞解體或退化而導致孢子無法發芽。

國內對植物萃取液的抑菌能力測定亦有諸多研究，農業試驗所的研究團隊測試評估 33 科 67 種植物萃取液對蕁蘭細斑病菌 (*Fusarium proliferatum*)、百合灰黴

病菌 (*Botrytis elliptica*) 和及小白菜炭疽病菌 (*Colletotrichum higginsianum*) 的孢子發芽影響，其中以山韭菜及大風子抑制孢子發芽的效果最佳 (謝 et al. 2005)。何 et al. (2002) 亦篩選 64 種植物萃取液，發現其中的 23 種對甘藍黑斑病菌 (*Alternaria brassica*)，14 種對火鶴花花腐病菌 (*Corynespora cassicola*) 孢子發芽有抑制效果。另何 & 吳 (2002) 發現扛板歸的萃取液，對甘藍黑斑病菌孢子發芽有非常強的抑制作用，而且不同地方採的材料，抑菌程度也不同。黃 et al. (2003) 發現百餘種植物萃取液中，有多種具抑制甜瓜白粉病菌的效果。武藤 et al. (2005a) 評估 14 種臺灣原住民鄒族常用藥用植物之水溶液與酒精抽出物的抗菌活性，發現龍葵 (*Solanum nigrum*) 的水與酒精萃取物均能完全抑制十字花科蔬菜黑斑病菌 (*A. brassicicola*) 的孢子發芽；新鮮琉球鐵線蓮 (*Clematis tashiroi*) 與新鮮山葛 (*Pueraria montana*) 水萃取物可抑制白菜炭疽病菌 (*C. higginsianum*)；而新鮮琉球鐵線蓮水萃取物亦可抑制蕃茄晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) (Muto et al. 2005a)

二、誘導植物抗病性

目前多數研究指出，植物的系統性抗病能力可被誘導，抗病性的發生與植物體產生抗菌物質—植物防禦素 (phytoalexin) 有關。此類抗菌物質只有當植物受外來的刺激物質如微生物、紫外光或其他化學物質刺激時才被誘導產生。

在植物萃取液誘導作物抗病性的報告頗多，如油菜、萵苣、豌豆、煙草、番茄、玉米、小麥和胡瓜的葉片酒精萃取液可誘導胡瓜抗炭疽病 (Foughtk & Kuc 1996)；利用苦楝 (*Azadirachta indica* Juss.) 葉水萃取液可以有效防治大麥葉條病 (*Drechslera graminea* 所引起) (Paul & Sharma 2002)，經處理的大麥葉片含 phenylalanine ammonia lyase 和 tyrosine ammonia lyase 酵素活性明顯增加，並累積抑菌的酚化合物，但病原菌的孢子發芽不受苦楝萃取液的影响，顯示其作用機制在於間接誘導植物抗病性 (Paul & Sharma 2002)。以 2%虎杖 (*R. sachalinensis*) 水溶性萃取液每星期噴佈於胡瓜植株上，噴施後植體葉片的抑菌物質酚化合物會累積，進而抵抗白粉病菌的入侵 (Daayf et al. 1995; Konstantinidou-Doltsinis & Schmitt 1998)；另外，鹿蹄草萃取液可增加胡瓜葉片中過氧化酵素及幾丁質分解酵素的含量，進而抑制細菌性斑點病的發生 (Ribnicky et al. 2001)。Lychnis viscaria 種子萃取液含有不同的 brassinosteroids 可誘導植物產生抗病性，以 0.5-1mg/l 乾粉水萃取液可促進煙草、胡瓜和番茄對病毒及真菌病原的抗性達 36% (Roth et al.

2000)。

三、植物萃取物防治作物病害的效果

國外利用植物萃取物防治作物病害的例子不少，日本大黃 (*Rheum undulatum*) 萃取物可濕粉製劑 (RK) 2,000 倍稀釋液，對胡瓜白粉病有 75 - 100% 的防治率 (Paik et al. 1996)；虎杖 (*R. sachalinensis*) 萃取液對數種作物之白粉病及灰黴病具有良好的防治效果 (Cheah & Cox 1995; Daayf et al. 1995; Herger et al. 1989)；大豆種子處理 0.1%明礬後的植株噴佈 1%指甲花 henna (*Lawsonia inermis* L.) 葉片萃取液混合 0.1%明礬可降低大豆炭疽病 (*Colletotrichum truncatum*) 的發生 (Chandrasekaran et al. 2000)；馬纓丹 (*Lantana camara* L.) 的花萃取液可降低由 *Aspergillus niger* 引起的番茄果腐病，也降低因 *Drosophila busckii* 造成傷害導致的果腐 (Purnima & Saxena 1990)；苦楝葉的酒精萃取液及種子的油萃取液明顯降低稻熱病菌孢子發芽及稻熱病的發生 (Amadioha 2000)；含洋香瓜萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *melonis*) 病土先以 5%和 10%的荳蔻/芥菜和丁香油乳劑處理一星期後，可顯著降低幼苗死亡率 (Bowers & Locke 2000)。由 *Bougainvillea spectabilis* 和 *Prosopis chilensis* 萃取的抗病毒蛋白可有效地降低向日葵與豇豆的向日葵壞疽病毒 (sunflower necrosis virus) (Lavanya et al. 2009)。

另外，國際上許多植物病理學者利用植物油或礦物油來防治作物病害，如橄欖油 (olive oil)、菜籽油 (rapeseed oil)、苦楝油、Stylet-oil 可防治白粉病 (Cheah 1995; McGrath & Shishkoff 2000; Pasini et al. 1997)；1%乳化礦物油可防治胡瓜白粉病，但過高的濃度則易引起藥害 (Casulli 2000)。施用的方式多半將油脂以展著劑乳化後噴施於葉部或灌注於土壤中，以每週施用一次最普遍。可見植物萃取物可廣泛用於作物病害的防治用途上。而利用植物精油防治植物病害之報亦不少，如黃色百香果 (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) 浸於 120 mg/l 香茅油溶液中 2 min 可防治由 *C. gloeosporioides* 引起的炭疽病 (Anaruma et al. 2010)，木瓜果實浸於 0.12% (w/w)百里香精和 0.1%(w/w) 墨西哥萊姆精油溶液中可預防炭疽病為害達 50% (Bosquez-Molinaa et al. 2010)，而 250 µl/l 芥子精油和羅勒精油分別降低芒果果實炭疽病達 79.9% 和 66.7% (Abd-Alla & Haggag 2013)。多數報告利用精油處理果實時都輔以佐劑配方或配合其他措施，以加強精油的防病效力，如木瓜浸於分別含 0.1%百里香或 0.5%墨西哥萊姆精油的牧豆樹膠乳劑 (mesquite gum emulsion) 中，可完全防治炭疽病的發生 (Bosquez-Molinaa et al. 2010)；以 10%阿

拉伯膠 (gum Arabic) 混合 0.4% 肉桂油作為植物源農藥可防治香蕉和木瓜果實炭疽病 (Maqbool et al. 2011); 另外以 150 MPa 高靜水壓 (high hydrostatic pressure) 配合 750 mg/L 植物精油 (柑桔與香茅) 可作為木瓜果實炭疽病的防治方法 (Palhana et al. 2004)。然而, 使用精油防治果實炭疽病常會造成藥害的發生, Yulia et al. (2006) 測試多種植物精油發現高濃度下可抑制炭疽病菌的生長, 但會造成辣椒切離葉產生藥害的情形, 如由丁香芽和葉片萃取的精油造成中度毒害, 而由肉桂樹皮和葉片萃取的精油則產生嚴重毒害。百香果果實浸泡於 120 mg/l 香茅油中造成 33.3 % 果實之果皮發生褐變, 250 mg/l 時引起 76.6 % 果實褐變, 而 500 mg/l 時則發生 100 % 褐變, 嚴重影響外觀與品質, 且高濃度精油處理之下使果皮褐變而罹病化, 導致罹病指數偏高 (Anaruma et al. 2010)。

國內利用植物萃取物防治病害的例子亦不在少數, 如臺中區農業改良場曾大力推行利用天然植物資材, 如大蒜、辣椒、木醋液等來防治作物病蟲害的發生 (謝 1999)。另外, 花蓮改良場亦曾測試多種植物油對防病忌蟲的效果, 其中以丁香油及肉桂油之效果最佳 (陳 1996)。中興大學黃振文教授以甘藍下位葉及菸葉渣為主要成份, 製造液體的中興 100 (CH 100) 植物健素, 可防治許多種植物病害, 包括韭菜銹病、瓜類白粉病及馬鈴薯軟腐病, 而且已經商品化 (黃 1992; Huang, 1992, 1994; Huang & Chung 2003)。在黃氏的指導下, 林 (2000) 發現 0.5%(w/v) 的丁香及其主要抑菌成分丁香酚有防治甘藍立枯病的功效; 而 Muto et al. (2001) 測試 103 種藥用植物的萃取液後, 發現蘿蔔種子及大黃的萃取液, 均可有效降低萵苣褐斑病的發病率; 另外, 以龍葵根的乙醇萃取液亦可有效防治白菜黑斑病 (Muto et al. 2005a; 2005b)。農試所亦發現大風子酒精萃取液 200 倍稀釋液可抑制白菜炭疽病菌之孢子發芽率, 亦可降低此病之發病率 (謝 et al. 2003); 直接利用橙花、依蘭、花梨木與天竺葵等植物精油可有效降低蝴蝶蘭灰黴病的發生 (陳 & 謝 2005)。另外, 中興大學蔡東纂教授以天人菊根萃取液處理根瘤線蟲 24 小時後, 可 100% 殺滅線蟲, 種植天人菊或將天人菊植株混拌於土壤中, 皆可大幅降低土壤線蟲族群密度。

四、植物抑菌二次代謝物質

植物富含生物活性物質, 所產生的二次代謝產物超過 40 萬種, 其中大多數的化學物質如萜烯類、生物鹼、黃酮類、固醇類、酚類、氨基酸和多糖等均具有殺蟲或抗菌活性 (表一)。因此, 植物被認為是化學合成殺菌劑替代品最好的開發來源 (Mensah et al. 2000)。

表一、植物富含抑菌活性物質 (Gurjar et al. 2012)

Table 1. Botanicals produced by plants having antimicrobial activity (Gurjar et al. 2012)

Common name	Scientific name	Compound	Class	Activity
Apple	<i>Malus pumila</i> Mill.	Phloretin	Flavonoid derivative	General
Ashwagandha	<i>Withania somnifera</i> Dunal.	Withafarin A	Lactone	Bacteria, fungi
Bael tree	<i>Aegle marmelos</i> Linn.	Essential oil	Terpenoid	Fungi
Blue gum tree	<i>Eucalyptus globulus</i> Libill.	Tannin	Polyphenol	Fungi, bacteria, viruses
Onion	<i>Allium cepa</i> Linn.	Allicin	Sulfoxide	Fungi, bacteria
Thyme	<i>Thymus vulgaris</i> Linn.	Caffeic acid	Terpenoid	Fungi, bacteria, viruses
Turmeric	<i>Curcuma longa</i> Linn.	Curcumin	Terpenoids	Fungi, bacteria, protozoa
Thom apple	<i>Datura stramonium</i> Linn.	Hyoscyamine Scopolamine	Alkaloids	Fungi
Black pepper	<i>Piper nigrum</i> Linn.	Piperine	Alkaloid	Fungi
Castorbean	<i>Ricinus communis</i> Linn.	Ricinine Ricinoleic	Alkaloids	Fungi
Neem/Margosa tree	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Azadirachtin	Terpenoids	Fungi, bacteria
Garlic	<i>Allium sativum</i> Linn.	Allicin	Sulfoxide	Fungi, bacteria

(一) 萜類與揮發油類抑菌成分研究

萜類 (Terpenoids) 與揮發油類 (Volatile oil) 幾乎存在於自然界的各種植物體中，種類多且具有多樣的生物活性，在抑菌活性方面的研究頗多。由球花醉 (*Buddleja globos*) 中分離得到 5 種萜烯類化合物 diterpene buddlejone、bisditerpene maytenone、buddledin A、buddledin B 和 diterpene deoxybuddlejone 對 *Trichophyton rubrum*、*Tricophyton interdigitale* 和 *Epidermophyton floccosum* 等真菌有良好抑制作用 (Mensah et al. 2000)。由埃塞俄比亞茄的分泌物中分離到了 5 種倍半萜類 solavetivone、lubimin、lubiminoic acid、aethione 和 lubiminol 對 *Fusarium oxysporum* 和 *Verticillium dahliae* 具有抑制作用 (Nagaoka et al. 2001)。由藥用植物中萃取出的麻黃油和細辛油等揮發油對立枯絲核菌有較強的毒力，其 LC₅₀ 分別為 53.7mg/l 和 87.8mg/l (張 & 樊 1995)。山雞椒揮發油 (山蒼子油)

具有抑制植物病原真菌 *Fusarium oxysporum*、*Helminthosporium* sp. 和 *Stemphyllium* sp. 的活性，其主要抑菌成分為檸檬醛 (黃 & 陳 1994)。郝 et al. (2007) 利用 GC-MS 技術分析了小花假澤蘭全株精油的化學成分及其含量，其主要成分為 22.23-二羥基豆甾烷醇 (7.34%)、氧化丁子香烯 (3.34%) 及羅漢柏烯 (2.92%) 等，並初步測定該精油對番茄灰黴病菌、小麥紋枯病菌和小麥赤黴病菌菌絲生長具有抑制作用，且具有明顯防治番茄灰黴病的效果。Gallori et al. (2001) 對 *Tambourissa leptophylla* 果皮的揮發油成分進行分析，結果其主要成分為檸檬烯 (24.0%)、順-香檸檬烯 (23.2%)、3-萜烯 (8.2%) 和 α -薑黃烯 (6.0%)，對 *Cladosporium cucumerinum* 有強的抑菌效果。Dubey et al. (2000) 分析羅勒屬植物 *Ocimum gratissimum* 的精油具有乙基肉桂酸酯結構，表現廣譜的抑菌活性。Kobaisy et al. (2001) 利用 GC-MS 分析洋麻葉 (*Hibiscus cannabinus*) 精油主成分有 E-葉綠醇 (28.16%)、Z-葉綠醇 (8.02%) 和 n-nonanal (5.70%) 等，總精油對菵荳和翦股穎 (bentgrass) 具毒性，而對 *Colletotrichum fragariae*、*Colletotrichum gloeosporioides* 和 *Colletotrichum accutatum* 等炭疽病菌有良好的抑菌效果。

(二) 生物鹼抑菌成分研究

生物鹼 (Alkaloids) 是一類重要的天然有機化合物，其抑菌活性廣為人知 (Dubey et al. 2000)。Hanawa et al. (2000) 以 cupric chloride 處理 skunk cabbage (*Lysichitum americanum*) 後，由葉片中分離到 2-(4-羥基苯基)-1-硝基乙烷對 *Fusarium oxysporum* 和 *Cladosporium herbarum* 有抑制作用。另外，從山毛櫸科樺屬植物白樺 (*Betula platyphylla* Suk.) 花粉中分離的 di-p-coumaroyl-caffeoylspermidine 和 tri-p-coumaroylspermidine 能抑制燕麥葉條紋病原菌菌絲的生長。而且此 2 種物質均能減輕白粉病菌對大麥幼苗的侵害，但只有 di-p-coumaroyl-caffeoylspermidine 可明顯預防白粉病的侵染 (Kim et al. 2004)。

(三) 黃酮類抑菌成分研究

黃酮類化合物 (Flavonoides and isoflavonoides) 是植物界分佈廣泛的一大類天然酚類化合物，具有重要的醫藥與農藥用途，特別是異黃酮類具強的抗菌活性。Atindehou et al. (2002) 從豆科刺桐屬植物 *Erythrina vogelii* 根皮分離出 3 種新的異戊二烯化異黃酮，可以抑制 *Cladosporium cucumerinum* 的生長。Shahat et al. (2001) 分析鼠李科植物 *Zizyphus spinachristi* L. 的葉、果和種子含槲皮素、芸香

苷和 quercetin-3-O-[beta-xylosyl-(1-2)-alpha-rhamnoside]-4'-O-alpha-rhamnoside 等 3 種化合物，具有抗病毒、細菌及真菌的活性。

(四) 酚、醇類抑菌成分研究

酚類化合物 (Phenolic compounds) 偏酸性，具有不同程度的抑菌作用。洋蔥中的兒茶酚和原兒茶酚對蔥刺盤孢的孢子發芽有明顯的抑制作用 (吳 et al. 2004)。趙 et al. (1994) 從厚樸樹葉提取的總酚化合物對立枯絲核菌等 10 種植物病原真菌都具有很強的抑菌活性，盆栽和田間試驗均具防治效果。從苦皮藤 (*Celastrus angulatus*) 假種皮中分離到間苯二酚和麝香草酚，對馬鈴薯晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) 有良好的抑制效果 (李 et al. 2006)。存在於亞麻中的松柏醇、軟骨藻中的環桉葉醇及來自于麝香草全草的 A-松油醇均有抑菌活性，而且後兩者已製成氣霧劑作為空氣消毒殺菌劑 (孫 & 繩 1998)。

(五) 有機酸類抑菌成分研究

從菊科絹毛菊中分離得到的 p-甲氧基苯甲酸和異番草酸對黑麴黴均有強抑制作用 (Meng et al. 2000)；從松蘿中分得的地衣酸，從鐵莧菜、翻白草、牡丹葉、細葉野牡丹及芒果葉等中分離得到的沒食子酸，白蒿中的香草酸，四季青中的原兒茶酸，百蕊草中的丁二酸，小青楊中的阿魏酸、水楊酸及對羥基苯甲酸等有機酸均具有強烈的抑菌活性 (韓 & 沈 1991)。從高山龍膽的丙酮提取物中分離出 2 個對植物病原真菌 *Cladosporium cucumerinum* 有強抑制作用的 anofinic acid 和 fomannoxin acid (Tan et al. 1998)。另外，從一枝黃花分離到的咖啡酸，肉桂中的桂皮酸，龍膽中的龍膽酸，甘草中的甘草次酸，掌葉大黃和何首烏中的大黃酸，白蒿中的丁香酸等有機酸均具有顯著的抑菌活性 (孫 & 繩 1998)。

(六) 固醇類 (Steroides) 及皂苷類 (Saponins) 抑菌成分研究

Atta-Ur-Rahman et al. (1997) 研究發現來自於植物 *Jolyna rioides* 的岩藻固醇對 *Curvularia lunata*、*Stachybotrys atra* 和 *Microsporum canis* 等真菌具有顯著的抑菌活性；而王 et al. (2001) 研究發現 7-羟基-4'-甲氧基黃烷具有的抑菌活性在於抑制固醇生物合成途徑；余 et al. (2006) 對 B-穀固醇和豆固醇的抑菌活性研究，證明兩者均有抑制病原菌的活性，並對番茄灰黴病的抑制效果良好。有關皂苷的研究有 Marston et al. (1988) 從扁豆 (*Dolichos kilimandscharicus*) 中分離

得到 3 種具抗菌活性的皂苷如三萜類 hederagenin 的 3-O- β -D-glucopyranosides、bayogenin 和 medicagenic acid 等，對 *Cladosporium cucumerinum* 的最小抑菌濃度分別為 5.0、2.5 和 5.0 μ g。

除了上述幾類抑菌活性成分之外，尚有抗菌蛋白及多肽類、氨基酸、酯類及部分有機酸類等，均具有一定的抑菌活性，尚待研究開發。各類抑菌物質之作用機制如表二。

表二、植物抑菌成分的作用模式 (Cowan 1999)

Table 2. Mode of action of phyto chemicals (Cowan 1999)

Class	Sub-class	Mechanism
Phenolics	Simple phenols	Membrane disruption, substrate deprivation
Phenolic acids	Phenolic acids	Bind to adhesins, complex with cell wall, inactivate enzymes
Terpenoids, essential oils		Membrane disruption
Alkaloids		Intercalate into cell wall
Tannins		Bind to proteins, enzyme inhibition, substrate deprivation
Flavonoids		Bind to adhesins, complex with cell wall, Inactivate enzymes
Coumarins		Interaction with eukaryotic DNA
Lectins and polypeptides		Form disulfide bridges

五、植物源殺菌劑之開發

植物源農藥與化學合成農藥一樣具有許多優缺點，植物源農藥的優點有：(1) 低或無殘留之虞，不污染生態環境，亦不易危害人體健康；(2) 為多種抗菌物質的混合物，對病原菌的作用點多，不易造成病菌抗藥性問題；(3) 易與其他農藥混合施用。而植物源農藥的缺點有：(1) 病害防治效果不穩定，因植物的抗病蟲物質含量會受植物品種、產地、採收季節、植物成熟度及採收部位等影響；(2) 植物抑菌成分對作物或人畜可能造成危害，必須進行安全性評估；(3) 病原菌產生抗藥性的可能性仍存在，雖然植物源農藥是多種化合物的混合物，對病原菌的作用點多，一旦病原菌產生抗藥性時，會對病害防治帶來更大的困難。雖然植物源農藥具有以上各種優缺點，但我們可以揚長避短，篩選並研製出無污染、無殘留、無公害、符合健康食品生產需求的植物源農藥 (唐 2006)。

除中國大陸提出約 20 種已開發的天然植物製劑之外，目前開發植物源農藥的例子尚不多見，Yoon et al. (2013) 指出 1994 年美國二家公司以含 30% cinnamaldehyde 之可濕性粉劑登記為植物源農藥，一為美國 Monterey 實驗室 (Watsonville, CA 95076) 的 Vertigo 可濕性粉劑，另一為 Proguard 公司 (Suisun, CA 94585) 的 Cinnacure A3005。本製劑不易溶於水，但可在土壤中快速分解，對非標的生物或環境不造成危害。存在於所有活體生物中的 gamma-aminobutyric acid (GABA) (29.2%) and L-glutamic acid (29.2%) 也被作為植物源農藥的成分，兩種成分可促進扁桃、青花菜及洋蔥等植物生長，防止葡萄白粉病和其他核果類作物的褐腐病 (*Monilia* sp.)、穿孔病 (*Stigmia carpophila*) 等發生 (Copping 2004)。本複合劑可直接噴灑，施於土表或經由噴灌系統施用，對動物及人類無任何毒害作用，但本劑不建議直接施於水中或土表有水的區域。荷荷巴油 (jojoba oil) 為由 jojoba bean 種子萃取的植物油，物理性質與其他植物油一樣，可預防觀賞植物或其他作物的粉蝨和白粉病。主要作用機制之一為在葉表上形成一層薄膜，作為物理阻斷之作用 (Copping 2004)。褐藻多糖 laminarin (又名 laminaran) 為葡聚糖的一種，存在於藍綠藻 (*Laminaria digitata* (Hudson) J.V. Lamouroux) 中，可誘發葡萄植株對灰黴病 (*Botrytis cinerea*) 和露菌病 (*Plasmopara viticola*) 產生抗病性 (Copping 2004)，而含褐藻多糖的植物源農藥登記使用於防治小麥白粉病。中草藥博落回 (*Macleaya cordata* (Willd.) R. Brown) 萃取物含 sanguinaine 和 chelerythrine，具有殺菌與殺蟲活性，Liu et al. (2009) 指出由博落回分離的 isoquinoline alkaloids 對植物病原菌具抑菌效果，其 1.5% 水溶液已商品化 (Copping 2004)。儘管其作用機制尚未被確認，但其商品是作為植物抗病性誘導劑，處理後使作物體內累積酚類物質 (Copping 2004)。由隔山消 (*Cynanchum wilfordii* (Maxim.) Hemsl) 萃取的孕烷苷 (Pregnane glycosides) 對於降低白粉病具有高效 (Yoon et al. 2011)，並由隔山消根部的乙酸乙酯萃取物製成的可濕性粉劑在溫室中可抑制大麥及草莓白粉病的發生。另外，韓國以日本大黃萃取物製成可濕粉製劑 (RK)，以 2,000 倍稀釋液可防治胡瓜白粉病；德國 BASF 於 1993 年大量篩選植物萃取液的抑菌效果，得到一虎杖 giant knotweed (*R. sachalinensis*) 的乾抽出物，商品名為 Milsana®，是唯一在美國登錄的植物抽出物殺菌劑。義大利研究人員發現 Milsana® 可降低 50% 的胡瓜白粉病，對玫瑰白粉病亦有相同的效果，惟其效果比植物油的抑病效果差。重覆噴施 Milsana® 可使葉片變得翠綠及光滑，但亦變得易碎 (Daayf et al. 1995)。中興大學

以甘藍下位葉及菸葉渣為主要成份，製造成中興 100 (CH 100) 植物健素，用於防治多種植物病害，並已商品化 (Huang 1992, 1994)；另外，農試所研發乳化葵花油 (葵無露) 作為防治作物白粉病之用 (Ko et al. 2003)，研發「五倍子」中草藥製劑（活力能）用於防治作物炭疽病，而「肉桂油微乳劑（黑修羅）用於防治作物根瘤線蟲 (顏 et al. 2008)。

開發植物源農藥的必要條件

植物源農藥具有環境友善、符合農業永續、易於生物分解、可降低病蟲害發生、有機可用及可納入綜合管理體系之中等特性與優點 (Gurjar et al. 2012)，近年來廣受全世界研究人員青睞與投入研究。然而植物源農藥在植物病害管理之中尚有些許限制，如萃取方法未能標準化，有效成分易於被分解，大多為室內的抑菌效果，需要開發成為製劑，有些抑菌物質對人類和植物有害，抑菌的有效性較差，現有製劑尚少等 (Gurjar et al. 2012)。因此，研究抗菌成分之產品時，植物材料的準備，萃取時有機溶劑之選擇 (表三)，萃取方法及室內抑菌效果評估方法必須標準化，才能有科學再現性，以便更能系統化地研發具生物活性的植物保護製劑產品 (Gurjar et al. 2012)。於室內具有抑菌效果的千百種的植物萃取物應該進行溫室與田間試驗，以評估其防治作物病害之有效性 (Das et al. 2010)。另外，應積極開發植物源農藥的製劑製備技術，以強化其田間使用的有效性。

表三、有效抑菌成分的萃取溶劑 (Cowan 1999)

Table 3. Solvents used for active component extraction (Cowan 1999)

Water	Ethanol	Methanol	Chloroform	Dichloro-methanol	Ether	Acetone
Tannins	Alkaloids	Terpenoids	Terpenoids	Terpenoids	Alkaloids	Flavonols
Saponins	Tannins	Saponins	Flavonoids	-	Terpenoids	-
Terpinoids	Terpinoids	Tannins	-	-	Coumarins	-
-	Flavonol	Flavones	-	-	-	-

未來研發趨勢

由前面的植物萃取物抑菌或防治病害的研究現況發現，未來開發植物源農藥或植物源保護製劑時或精進其防治病害效果時，筆者認為可以朝下面各項工作進行研發：

一、植物萃取物有效成分分析

現階段多數研究僅止於大量篩選抑菌之植物萃取物種類，而抑菌成分之分析雖有明顯增加趨勢，但仍待加強。因為瞭解植物萃取物中之主要抑菌成分時，有助於修正萃取條件及選擇適當之萃取溶劑，以便能大量且穩定地製備萃取物質，作為開發植物源農藥的基礎材料。

二、增效之萃取技術－奈米技術

將植物材料以奈米化技術磨成更細小之顆粒，以增加植物材料與萃取溶劑之接觸面積，理論上可提高抑菌成分之萃取率。

三、雙效製劑之配製技術

結合二種以上之植物萃取物，探討其間是否有具有協力作用或增效作用，以加強植物源農藥或植物源保護製劑之防病效果，或是增加製劑對防病範圍之廣度。

四、製劑穩定性之強化技術

配製植物源農藥或植物源保護製劑時，可以研究佐劑之添加用以強化製劑之病害防治效果穩定度，以及延長製劑本身之耐貯藏性或儲架壽命。因為產品貯存時的環境變化會影響製劑之病害防治有效性，理想的製劑應可在一般環境條件下貯放至少 3 年的時間。

五、田間藥效增強技術

植物源農藥本身對病蟲害的防治效果有其一定的限制，如預防性的效果比治療性佳。其他如田間應用時，施用的時間、施用植株部位、施用劑量及噴佈器具等均會直接影響其防治的有效性。另外在植物油的使用上，油滴的粒徑大小會影響其在植體表面的分布均勻性，且與是否造成藥害有密切關係。因此，植物油乳化技術相當重要，例如 Gan-Mor et al. (2010) 研發一台新型植物油均質機，每分鐘可製成 2 公升油滴粒徑 $4\mu\text{m}$ 的 30% 乳化植物油，且介面活性劑的使用量少於 0.3%。經有效性測試芥子油、棉子油及花生油對於蚜蟲、粉蚧、白粉病各露菌病均有良效，且對捕植蟎無負面效果。

六、植物源農藥對土壤微生物相之影響

植物源農藥對於土壤微生物所造成的可能衝擊所知有限，Spyrou et al. (2009) 於實驗室與田間利用 phospholipid fatty acids (PLFA) 分析方法研究合成化學藥劑 (metham sodium [MS]、sodium tetrathiocarbonate [SoTe] 和 fosthiazate) 與植物源農藥 (azadirachtin、quillaja 和 pulverized *Melia azedarach* fruits [PMF]) 對土壤微生物相之影響，結果 PMF 增加土壤有機碳和營養而使革蘭氏陰性細菌和腐生真菌族群增量，而 MS 卻抑制革蘭氏陰性細菌和腐生真菌，但 fosthiazate 和植物源農藥 quillaja 和 azadirachtin 則不影響土壤微生物族群數量。一般而言，植物源農藥相對於化學合成農藥在推薦劑量下施用較不造成土壤微生物族群結構之改變。然而，植物源農藥的抑菌成分多樣，未來每種製劑產品應針對土壤微生物相之影響進行評估，以確保產品之使用不造成環境之壓力。

結 論

植物是天然的化工廠，藉由光合作用及根部所吸收的養份，持續不斷地生產天然的化合物，取之不盡，用之不竭。應用植物萃取物具有抑制植物病原菌及可以誘導植物產生抗病性的現象，據以研發植物源保護製劑，是現今的熱門課題，世界各地的研究人員正積極進行相關研究。目前已有少數植物源農藥問市，例如由虎杖 (giant knotweed) 的萃取物研製而成的 Milsana® 製劑和由藍綠藻萃取的褐藻多糖 Laminarin 製劑，均推薦於防治作物白粉病及灰黴病之用。該二種製劑的防病原理為誘導植物體產生系統性抗病的功效，此方面的研究空間相當大，目前較少研究，值得群策群力發展此一尚待開發的領域。筆者多年來已開發多項天然植物保護製劑，如肉桂油微乳劑及五倍子中草藥植保製劑，研究團隊並成功技轉多項植保製劑調製技術給業界，如「亞磷酸植物營養液簡便使用法」及「葵無露製劑調製技術」。分析植物萃取物的抑菌與誘導抗病成分，可從中發現病害防治的新化學物質或成分，提供作物病害防治研究的新發展方向。可建立植物源農藥或植物源保護製劑的調配及量產技術，開創植物病害防治研究的新領域，更可放眼國際市場，為我國農業研究開拓除化學農藥之外的另一扇作物病害防治之門。

參考文獻

王理達、胡迎慶、屠鵬飛、吳之偉、鄭俊華、果德安 2001 13種生藥提取物及化學

- 成分的抗真菌活性篩選 中草藥 32(3): 241-244。
- 余鑫平、馮俊濤、劉曉明、莊世宏、張興 2006 小花假澤蘭莖葉中殺菌活性成分的研究 西北植物學報 26(5): 1001-1006。
- 李廣領、陳錫嶺、郭彥亮 2006 新型植物源農藥苦皮藤素的研究綜述 安徽農業科學 34(21): 5594-5595。
- 吳光旭、何庭玉、劉愛媛、陳維信 2004 植物中抗病原真菌的活性物質 植物學通報 21(3): 367-375。
- 何婉清、李惠玲、李智緯、吳宗諭、李興進 2002 抑菌植物材料的篩選 植保會刊 44: 365。
- 何婉清、吳宗諭 2002 影響扛板歸抑菌效果的因子 植保會刊 44: 364-365。
- 林宗俊 2000 丁香及其主成份防治甘藍苗立枯病的功效 國立中興大學植物病理研究所碩士論文。
- 武藤真知子 2001 蘿蔔種子粉水溶性抽出物防治萵苣褐斑病的功效 國立中興大學植物病理研究所碩士論文。
- 郝彩琴、杜曉峰、莊世宏 2007 小花假澤蘭精油化學成分及其抑菌活性初步研究 西北植物學報 27(10): 2097-2103。
- 唐蕊 2006 淺談植物源農藥 邢臺學院學報 4: 124-125。
- 孫文基、繩金房 1998 天然活性成分簡明手冊 中國醫藥科技出版社 北京。
- 張國珍、樊瑛 1995 麻黃和細辛揮發油的抗真菌作用 植物保護學報 22 (4): 373-374。
- 陳俊宏、謝廷芳 2005 植物精油抑制灰黴病菌孢子發芽與防治蝴蝶蘭灰黴病之效果 植病會刊 14: 257-264。
- 陳哲民 1996 植物油抑制植物病原真菌孢子發芽之效果 花蓮區農業改良場研究彙報 12: 71-90。
- 黃振文 1992 利用合成植物營養液管理蔬菜種苗病蟲害 病害非農藥防治技術研討會專刊 pp.221-232。
- 黃晉興、王毓華、羅朝村 2002 利用葉片圓盤接種法測定甜瓜抗白粉病品種 中華農業研究 51: 49-56。
- 黃晉興、謝廷芳、胡敏夫 2003 利用離葉接種法測定植物萃取液防治胡瓜白粉病 植病會刊 12: 278 (摘要)。
- 黃梁綺齡、陳培榕 1994 山雞椒揮發油成分分析及其抗真菌保鮮作用的研究 天然產物研究與開發 6(4): 1-5。
- 無名氏 1959 中國土農藥誌 中國土農藥誌編輯委員會編著 科學出版社 北京 281 頁。
- 無名氏 2005 植物源農藥/中草藥殺蟲劑—中國專利(1987-2004/10) 科技政策中心

產業資訊服務－熱點專輯。

http://cdnet.stpi.org.tw/techroom/topics/bio_bot/cnp_bio_bot.htm

趙純森、黃俊斌、周茂繁 1994 厚樸葉中抑菌活性成分鑒別及其防病效果 華中農業大學學報 13(4): 373-377。

顏志恒、陳殿義、鍾文全、蔡東纂、謝廷芳 2008 天然植物保護製劑防治植物線蟲病害之效果評估 植病會刊 17: 169-176。

謝廷芳、黃晉興、胡敏夫 2003 大風子抽出液防治白菜炭疽病的效果 植病會刊 12: 278-279 (摘要)。

謝廷芳、黃晉興、謝麗娟、胡敏夫、柯文雄 2005 植物萃取液對植物病原真菌之抑菌效果 植病會刊 14: 59-66。

謝慶芳 1999 天然藥劑與病害控制 興大農業 30: 14-17。

韓公羽、沈企華 1991 植物藥有效成分的研究與開發 杭州大學出版社 杭州 70 頁。

譚仁祥、王劍文、徐琛、崔桂友 2003 植物成分功能 科學出版社 北京 744 頁。

Abd-Alla, M. A. and W. M. Haggag. 2013. Use of some plant essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of anthracnose disease of mango fruits (*Mangifera indica* L.) caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). Intl. J. Agri. Forestry 3(1): 1-6.

Abeywickrama, K., S. Anthony and R. Watawala. 2003. Fumigant action of selected essential oils against banana fruit pathogens. J. Natl. Sci. Found. Sri Lanka 31: 427-429.

Alpana, V., R. B. Singh and H. N. Verma. 1992. Prevention of soybean mosaic virus infection in *Glycine max* plants by plant extract. Bioved 3: 225-228.

Amadioha, A. C. 2000. Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. Crop Prot. 19: 287-290.

Anaruma, N. D., F. L. Schmidt, M. C. T. Duarte, G. M. Figueira, C. Delarmelina, E. A. Benato and A. Sartoratto. 2010. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. Braz. J. Microbiol. 41: 66-73.

Atindehou, K. K., E. F. Queiroz, C. Terreaux, D. Traore and K. Hostettmann. 2002. Three new prenylated isoflavonoids from the root bark of *Erythrina vogelii*. Planta Med. 68 (2): 181-201.

Atta-ur-Rahman, M. I. Choudhary, A. Majeed, M. Shabbir and M. Shameel. 1997. A succinyl anthranilic acid and other bioactive compounds from *Jolyna laminarioides*. Phytochemistry 46(7): 1215-1218.

- Barnett, R. J. and A. M. Seligman. 1951. Histochemical demonstration of esterases by production of indigo. *Science* 114: 579-582.
- Basha, S. A., R. K. Mishra, R. N. Jha, V. B. Pandey and U. P. Singh. 2002. Effect of berberine and bicuculline isolated from *Corydalis chaerophylla* on spore germination of some fungi. *Folia Microbiol.* 47: 161-165.
- Bharathi, M. 1999. Effect of plant extract and chemical inhibitors on cucumber mosaic virus of brinjal. *J. Mycol. Plant Pathol.* 29: 57-60.
- Bosquez-Molinaa, E., E. Ronquillo-de Jesúsa, S. Bautista-Bañosa, J. R. Verde-Calvoa and J. Morales-López. 2010. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biol. Technol.* 57: 132-137.
- Bowers, J. H. and J. C. Locke. 2000. Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of fusarium wilt in the greenhouse. *Plant Dis.* 84: 300-305.
- Chandrasekaran, A., V. Narasimhan and K. Rajappan. 2000. Integrated management of anthracnose and pod blight of soybean. *Ann. Plant Prot. Sci.* 8: 163-165.
- Casulli, F., A. Santomauro and F. Faretra. 2000. Natural compounds in the control of powdery mildew on Cucurbitaceae. *Bull. OEPP* 30: 209-212.
- Cheah, L. H. and J. K. Cox. 1995. Screening of plant extracts for control of powdery mildew in squash. p. 340-342. In: *Proceedings of the 48th New Zealand Plant Protection Conference*. 8-10 August, 1995. Hastings, New Zealand.
- Copping, L. G. 2004. *The Manual of Biocontrol Agents*. 702pp. 3rd Ed. BCPC Publications, Alton, Hants, UK.
- Coventry, E. and E. J. Allan. 2001. Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: new data on antimicrobial activity. *Phytoparasitica* 29: 441-450.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiol. Rev.* 12: 564-582.
- Daayf, F., A. Schmitt and R. R. Bélanger. 1995. The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Dis.* 79: 577-580.
- Das, K., R. K. S. Tiwari and D. K. Shrivastava. 2010. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *J. Med. Plants Res.* 4: 104-111.
- Dubey, N. K., T. N. Tiwari, D. Mandin, H. Andriamboavonjy and J. P. Chaumont. 2000.

- Antifungal properties of *Ocimum gratissimum* essential oil (ethyl cinnamate chemotype). *Fitoterapia* 71(5): 567-569.
- Foughtk, L. and J. A. Kuc. 1996. Lack of specificity in plant extracts and chemicals as inducers of systemic resistance in cucumber plants to anthracnose. *J. Phytopathol.* 144: 1-6.
- Gallori, S; A. R. Bilia, N. Mulinacci, C. Bicchi, P. Rubiolo and F. F. Vincieri. 2001. Identification of volatile constituents of *Tambourissa leptophylla*. *Planta Med.* 67 (3): 290-293.
- Gan-Mor, S., S. Pivonia, A. Mizrach, B. Ronen and P. G. Weintraub. 2010. A new technology for application of freshly emulsified botanical pesticides. *Aspect. Appl. Biol.* 99: 395-400.
- Gasco, M. R. 1997. Microemulsions in the pharmaceutical field: perspectives and applications. p. 97-122. In: Solans, C. and H. Kunieda (eds.). *Industrial Applications of Microemulsions*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Guevara, Y., A. Maselli and M. C. Sanchez. 2000. Effect of plant extracts for the control on plant pathogenic bacteria. *Manejo Integrado de Plagas* 56: 38-44.
- Gurjar, M. S., S. Ali, M. Akhtar and K. S. Singh. 2012. Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agri. Sci.* 3: 425-433.
- Hanawa, F., S. Tahara and G. H. N. Towers. 2000. Antifungal nitro compounds from skunk cabbage (*Lysichitum americanum*) leaves treated with cupric chloride. *Phytochemistry* 53(1): 55-58.
- Hayat, M. A. 1986. *Basic techniques for transmission electron microscopy*. Academic press, Inc., New York, USA. 411p.
- Herger, G., I. Harvey, T. Jenkins and R. Alexander. 1989. Control of powdery mildew of grapes with plant extracts. p.178-181. In: *Proceedings of the forty second New Zealand weed and pest control conference*, Taranki Country Lodge, New Plymouth, August 8-10, 1989.
- Hood, M. E. and H. D. Shew. 1996. Applications of KOH-aniline blue fluorescence in the study of plant-fungal interactions. *Phytopathology* 86: 704-708.
- Huang, J. W. 1992. Integrated management of vegetable seedling pests with a formulated plant nutrition. *Plant Prot. Bull.* 34: 54-63.
- Huang, J. W. 1994. Control of Chinese leek rust with a plant nutrient formulation. *Plant Pathol. Bull.* 3: 9-17.
- Huang, J. W. and W. C. Chung. 2003. Management of vegetable crop diseases with plant extracts. p. 153-163. In: Huang, H. C. and S. N. Acharya (eds.). *Advances in*

- Plant Disease Management. Research Signpost, Kerala, India.
- Kim, M. R., S. K. Lee, C. S. Kim, K. S. Kim and D. C. Moon. 2004. Phytochemical constituents of *Carpesium macrocephalum* F_R. et S_{AV}. Arch. Pharm. Res. 27(10): 1029-1033.
- Ko, W. H., S. Y. Wang, T. F. Hsieh and P. J. Ann. 2003. Effects of sunflower oil on tomato powdery mildew caused by *Oidium neolycopersici*. J. Phytopathol. 151: 144-148.
- Kobaisy, M., M. R. Tellez, C. L. Webber, F. E. Dayan, K. K. Schrader and D. E. Wedge. 2001. Phytotoxic and fungitoxic activities of the essential oil of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) leaves and its composition. J. Agric. Food Chem. 49 (8): 3768-3771.
- Konstantinidou-Doltsinis, S. and A. Schmitt. 1998. Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in cucumber under high disease pressure. Crop Prot. 17: 649-656.
- Lavanya, N., D. Saravanakumar, L. Rajendran, M. Ramiah, T. Raguchander and R. Samiyappan. 2009. Management of sunflower necrosis virus through anti-viral substances. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 42: 265-276.
- Liu, H., J. Wang, J. Zhao, S. Lu, J. Wang, W. Jiang, Z. Ma and L. Zhou. 2009. Isoquinoline alkaloids from *Macleaya cordata* active against plant microbial pathogens. Nat. Prod. Commun. 4: 1557-1560.
- Maqbool, M., A. Ali, P. G. Alderson, M. T. M. Mohamed, Y. Siddiqui and N. Zahida. 2011. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. Postharvest Biol. Technol. 62: 71-76.
- Marston, A., F. Gafner, S. F. Dossaji and K. Hostettmann. 1988. Fungicidal and molluscicidal saponins from *Dolichos kilimandscharicus*. Phytochemistry 27(5): 1325-1326.
- McGrath, M. T. and N. Shishkoff. 2000. Control of cucurbit powdery mildew with JMS Stylet-Oil. Plant Dis. 84: 989-993.
- Meng J C., Q. Zhu and R. X. Tan. 2000. New antimicrobial mono- and sesquiterpenes from *Soroseris hookeriana* subsp. *erysimiodes*. Planta Medica. 66: 541-544.
- Mensah, A. Y. P. J. Houghton, S. Bloomfield, A. Vlietinck and B. D. Vanden. 2000. Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. J. Nat. Prod. 63(9): 1210-1213.
- Midhila, P. and G. R. Janardhana. 2012. Screening for inhibitory activities of essential

- oils on the growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., the causal agent of leaf spot disease of *Murraya koenigii* L., Arch. Phytopathol. Plant Prot. 45(13): 1575-1581.
- Muto, M., H. Takahashi, K. Ishihara, H. Yuasa and J. W. Huang. 2005a. Antimicrobial activity of medicinal plants used by indigenous people in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 14: 13-24.
- Muto, M., H. Takahashi, K. Ishihara, H. Yuasa and J. W. Huang. 2005b. Control of black leaf spot (*Alternaria brassicicola*) of crucifers by extracts of black nightshade (*Solanum nigrum*). Plant Pathol. Bull. 14: 25-34.
- Nagaoka, T., K. Goto, A. Watanabe, Y. Sakata and T. Yoshihara. 2001. Sesquiterpenoids in root exudates of *Solanum aethiopicum*. Z. Naturforsch 56: 707-713.
- Paik, S. B., S. H. Kyung, J. J. Kim and Y. S. Oh. 1996. Effect of a bioactive substance extracted from *Rheum undulatum* on control of cucumber powdery mildew. Korean J. Plant Pathol. 12: 85-90.
- Palhanao, F. L., T. T. B. Vilchesb, R. B. Santosb, M. T. D. Orlandoc, J. A. Venturad and P. M. B. Fernandes. 2004. Inactivation of *Colletotrichum gloeosporioides* spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. Int. J. Food Microbiol. 95: 61-66.
- Pasini, C., F. D'Aquila, P. Curir and M. L. Gullino. 1997. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. Crop Prot. 16: 251-256.
- Paul, P. K. and P. D. Sharma. 2002. *Azadirachta indica* leaf extract induces resistance in barley against leaf stripe disease. Physiol. Mol. Plant Pathol. 61: 3-13.
- Pretorius, J. C., P. Craven and E. van der Watt. 2002. In vivo control of *Mycosphaerella pinodes* on pea leaves by a crude bulb extract of *Eucomis autumnalis*. Ann. Appl. Biol. 141: 125-131.
- Purnima, S. and S. K. Saxena. 1990. Effect of flower extract of *Lantana camara* on development of fruit rot caused by *Aspergillus niger* in the presence of *Drosophila busckii*. Acta Bot. Indica 18: 101-103.
- Raj, K. and D. S. Shukla. 1996. Evaluation of some innovatives vis-à-vis powdery mildew of opium poppy incited by *Erysiphe polygoni*. J. Living World 3: 12-17.
- Ranasinghe, L., B. Jayawardena and K. Abeywickrama. 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L. M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Lett.

- Appl. Microbiol. 35: 208-211.
- Ribnicky, D. M., I. Chet, D. Frisem, A. Poulev, I. Raskin and I. Yedidya. 2001. Extracts of *Gaultheria procumbens* L. promote disease resistance in *Cucumis sativus* challenged with *Pseudomonas syringae* pv *lachrymans*. Plant Biology 2001 July 21-25, 2001 - Providence, Rhode Island, USA
- Roth, U., A. Friebe and H. Schnabl. 2000. Resistance induction in plants by a brassinosteroid-containing extract of *Lychnis viscaria* L. Zeitschrift für Naturforschung. Section C, Biosciences 55: 552-559.
- Rozwalka, L. C., E. Alves and D. C. do Amaral. 2010. Ultrastructural study of conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum musae* treated with essential oils. Interciencia 35(12): 912-915.
- Shahat, A. A., L. Piepers, S. Apers, N. M. Nazeif, N. S. Abdel-Azim, D. V. Berghe and A. J. Vlietinck. 2001. Chemical and biological investigations on *Zizyphus spina-christi* L. Phytother. Res. 15(7): 593-597.
- Slusarenko, A. J., A. Patel and D. Portz. 2008. Control of plant diseases by natural products: Allicin from garlic as a case study. Eur. J. Plant Pathol. 121: 313-322.
- Souza Júnior, I. T., N. L. Pereira Sales and E. Ronie Martins. 2009. Fungitoxic effect of concentrations of essential oils on *Colletotrichum gloeosporioides*, isolated from the passion fruit. Biotemas 22(3): 77-83.
- Spyrou, I. M., D. G. Karpouzas and U. Menkissoglu-Spiroudi. 2009. Do botanical pesticides alter the structure of the soil microbial community? Microb. Ecol. 58: 715-727.
- Tan, R. X., L. D. Kong and H. X. Wei. 1998. Secoiridoid glycosides and an antifungal anthranilate derivative from *Gentiana tibetica*. Phytochemistry 47(7): 1223-1226.
- Xu, X. L. and W. H. Ko. 1998. A quantitative confined inoculation method for studies of pathogenicity of fungi on plants. Bot. Bull. Acad. Sinica 39: 187-190.
- Yoon, M. Y., N. H. Choi, B. S. Min, G. J. Choi, Y. H. Choi, K. S. Jang, S. S. Han, B. Cha and J. C. Kim. 2011. Potent in vivo antifungal activity against powdery mildews of pregnane glycosides from the roots of *Cynanchum wilfordii*. J. Agric. Food Chem. 59: 12210-12216.
- Yoon, M. Y., B. Cha and J. C. Kim. 2013. Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture. Plant Pathol. J. 29(1): 1-9.
- Yulia, E., W. A. Shipton and R. J. Coventry. 2006. Activity of some plant oils and extracts against *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Pathol. J. 5: 253-257.

Current Trends on Research and Development of Botanical Fungicides or Plant Protection Products Derived from Plant Materials

Ting-Fang Hsieh

Floriculture Research Center, Taiwan Agricultural Research Institute, COA

Corresponding author. E-mail: tfhsieh@tari.gov.tw

ABSTRACT

Plants synthesize aromatic secondary metabolites with antimicrobial activities against the infection of plant pathogens, such as β -glucan, alkaloids, terpenoids, phenols, phenolic acids, quinones, flavones, flavonoids, flavonols, saponins, tannins and coumarins. Those active properties of specific plant materials could be extracted by suitable solvents and be formulated into botanical fungicides or natural plant protectants. Botanical fungicides have showed some advantages with eco-friendly products, fitting the need of sustainable agriculture, easily biodegradable in environment, reducing crop diseases, useful for organic farming, easily incorporating into integrated diseases management. So that scientists put their efforts on developing the botanical fungicides. There are some steps to develop a botanical fungicide. First of all, to evaluate the antimicrobial efficacy of plant extracts and to analyze the active components were taken into consideration, then to develop the formulation techniques of botanical fungicides was necessary. Finally, to assess the efficiency of disease control in the field by application of botanical fungicides was also required. Up to date, just a few botanical fungicides were commercialized in the world. Exception of mainland China have released more than 20 kinds of botanical pesticides, the others of commercial products included as follows, 1) 30% cinnamaldehyde wettable powder (WP) formulation which registered and named Vertigo Wettable Powder Fungicide and Cinnacure A3005, 2) Gamma-aminobutyric acid (GABA) (29.2%) and L-glutamic acid (29.2%) mixture for control of powdery mildew of grapes and brown rot and shot hole of stone fruits, 3) Jojoba oil for control of white flies and powdery mildew on ornamental plants and grapes, 4) Natural fungicide containing laminarin for control of powdery mildew of wheat, 5) 1.5% pink plume poppy aqueous solution for inducing systemic acquired resistance through accumulation of endogenous phenolic substances in the treated plants, and 6) Milsana® derived from giant knotweed was registered to control powdery mildew and grey mold. In Taiwan, at least 4 kinds of botanical fungicides or natural

plant protectants were developed, such as CH 100 formulated nutrient solution, emulsified sunflower oil, gallnut Chinese herb plant protectants, and cassia oil micro-emulsifier. The limited products were registered as botanical fungicides, since most parts of researches were done in vitro antifungal activities but not in vivo control plant diseases in the field. The works should be done urgently to evaluate the efficiency in controlling the plant diseases by botanical fungicides or natural plant protectants. Once the data of physical and chemical properties as well as the toxicity of botanical fungicides or plant protectants were readily prepared, the plant protection products might be easily extended to market for the alternative needs of disease control.

Key words: Botanical fungicide, Induce resistance, Antimicrobial activity, Disease control, Research trends.

農業副產物資源化之有益微生物開發與應用

蔡宜峰^{1*}、陳俊位²

¹ 行政院農業委員會臺中區農業改良場 埔里分場

² 行政院農業委員會臺中區農業改良場

*通訊作者。E-mail: tsaiyf@tdais.gov.tw

摘 要

本研究目的為開發有益微生物應用於製作堆(液)肥及有機介質等相關技術，以供日後研究與應用之參考。目前本研究已完成主要成果包括：1. 篩選獲得木黴菌 (*Trichoderma* spp.)、枯草桿菌 (*Bacillus* spp.) 及放線菌 (*Streptomyces* spp.) 等有益微生物計 15 株分離菌株，2. 成功研發將上述有益微生物菌種應用於製作禽畜糞堆肥、果菜渣堆肥、落葉堆肥、有機液肥及有機介質等多項產品。當利用上述有益微生物於堆(液)肥及有機介質製作過程中，可誘發大量有益微生物，具有加速腐熟、降低臭味、增進產品品質優良穩定，且施用於農田後，具有增進作物生長與產能之效益。至今本技術相關研究成果已獲得中華民國發明專利案計 12 項，並經農委會同意辦理完成技術移轉授權案計 34 件，相關產品已有多項正式商品化。

關鍵詞：有益微生物、堆肥、有機液肥、有機介質。

前 言

農業副產物均兼具污染性及資源性，如妥為處理，將能轉化為農業生產系統中的養分源(氮、磷、鉀)及能源(碳)(Chae & Tabatabai 1986; Tsai 2001)，例如能將其資源化製作為有機肥料循環利用，不僅有助於改善土壤生態，也有助於建立永續農業經營模式(Hendrix et al. 1992)。然而施用未腐熟的有機物，容易造成土壤過度還原性及釋出毒性物質等問題(沈 et al. 1991; Jokela 1992)，因此有機廢棄物需經過適當的堆肥化處理，以除去不良有機成分及毒性物質等限制作物生長的因子(Harada et al. 1991; Inoko 1982)。堆肥製作主要是把有機廢棄物予以適當堆積，在控制條件下，利用微生物作用，將有機材料分解醱酵，轉變為有機質肥料(De Bertoldi 1985; Haga 1990)。有機材料在適當的條件下堆積醱酵，可以縮短有機物分

解的時間，而生產出物理性狀均一，化學成分穩定的高品質有機肥料。在堆肥化過程中，有機物基質中所含碳水化合物會迅速被微生物作用而分解，同時微生物之增殖必須吸收氮、磷等營養成份以合成微生物體質 (biomass) (Singh & Singh 1986)，所以堆肥化前有機物基質中應含有適量的營養要素成份，並需將堆肥化前有機物基質中各種成份調整至較適宜比例範圍內，以利於微生物進行堆肥化作用 (蔡 et al. 1997)。

微生物在堆肥化過程中，擔任有機物分解與堆肥穩定化之重要角色，不同的有機材料如能接種適當的微生物菌種，可以加速堆肥發酵 (Golueke 1994)。因此，為達到最有效率的堆肥化作用，在堆積過程中，維持微生物最適宜生長條件，使微生物充分的活動與繁殖，亦能加強堆肥材料的發酵與分解。為了增進堆肥材料發酵分解效率，針對不同有機物材料特性，施予適當的微生物菌種，將是堆肥製作過程之重要步驟之一。其中有關於利用微生物菌種的關鍵機制，應包括有篩選出適當的微生物菌種、建立有效率的菌種培養繁殖方法與應用於堆肥材料中的接種方法等 (蔡 & 陳 2012)。本研究目的為篩選出具有分解有機質能力的有益微生物菌種，並研發適當接種方法及相關控制條件等，以期建立新型生物性堆（液）肥及有機介質等製作與相關應用技術，供日後研究與應用之參考。

有益微生物開發及應用案例

臺中區農業改良場自 90 年起持續辦理農業副產物資源化有益微生物之開發與應用技術研究工作，其中有益微生物菌種分離與篩選工作係最基礎的研究項目，而新篩選獲得的有益微生物分離菌株之菌種鑑定、主要功能效與應用技術等研發工作則為日後商品化之必要開發項目。

一、有益微生物之開發

本場針對本土有益微生物菌種篩選與純化，多數樣品採自於有機農場土壤、有機作物根系及各種自製堆肥。由各地採取的樣品先送至本場微生物實驗室進行分離篩選及純化，經初步試驗證實具有分解有機質功能之有益微生物分離菌株，再檢送至食品科學發展研究所進行菌種鑑定，目前已完成菌種鑑定工作合計 15 株 (表一)。其中屬於木黴菌 (*Trichoderma* spp.) 分離菌株計 7 株，包括 TCT103、TCT111、TCT301、TCFO9409、TCFO9768、TCT10166 及 TCTr668。枯草桿菌 (*Bacillus* spp.) 分離菌株計 5 株，包括 TCB428、TCB9401、TCB9407、TCB9722

及 TCB10007。放線菌 (*Streptomyces* spp.) 分離菌株計 3 株，包括 TCST9706、TCST9801 及 TCST168。

表一、臺中區農業改良場篩選獲得之有益微生物分離菌株

Table 1. The isolates of beneficial microorganisms selected by Taichung DARES

Microorganism	Isolate
<i>Trichoderma</i> spp.	TCT103, TCT111, TCT301, TCFO9409, TCFO9768, TCT10166, TCTr668
<i>Bacillus</i> spp.	TCB428, TCB9401, TCB9407, TCB9722, TCB10007
<i>Streptomyces</i> spp.	TCST9706, TCST9801, TCST168

二、有益微生物之應用成果

(一) 應用於製作果菜渣堆肥

以接種木黴菌 (*Trichoderma* sp.) TCT10166 及枯草桿菌 (*Bacillus* sp.) TCB10007 製作果菜渣堆肥為例，堆肥材料以經過破碎的果菜渣 1,200 kg 及菇類栽培後舊木屑 800 kg 為主，試驗處理包括 (A) 無接種；(B) 接種木黴菌分離菌株 (TCT10166)；(C) 接種木黴菌分離菌株 (TCT10166) 及枯草桿菌分離菌株 (TCB10007) 等 3 種。由試驗結果顯示 (表二)，有接種微生物處理的果菜渣堆肥溫度在堆積第 10 日內達到 60℃ 以上高溫，堆積第 50 日內可降低至 50℃ 以下，此時堆肥材料 C/N 約為 17.5 - 18.2；無接種微生物處理果菜渣堆肥溫度則須在堆積第 10 - 20 日才能達到 60℃ 以上，且在堆積第 50 - 60 日期間，堆肥溫度才能夠降低至 50℃ 以下。

本試驗用果菜渣碳氮比約為 13.4、水分含量約 78.2%、用量 1,200 kg，菇類栽培後舊木屑碳氮比約為 38.5、水分含量約 35.6%、用量 800 kg，估算堆肥製作試驗前堆肥材料 C/N 約為 31.5。由表三顯示堆積第 60 日果菜渣堆肥之 pH 值、EC 值、有機碳、氮、磷、鉀、鈣及鎂等含量在不同處理間差異不顯著，各處理堆肥材料 C/N 約為 16.5 - 19.6。其中有接種有益微生物之 FVW+MS+Ma 及 FVW+MS+Mab 處理之有機碳含量略低於未接菌 FVW+MS 處理，且前兩處理之氮、磷、鉀、鈣及鎂等含量則略高於後者處理，顯然接種適當的微生物處理，可以加速堆肥材料中有機碳分解，而使堆肥中氮、磷、鉀、鈣及鎂等含量因濃縮效應而呈現略微增加。經利用堆肥水萃取液 (堆肥與水體積

比1：10) 進行分析，各處理之青江菜種子發芽率約為 81.3~88.1%，顯然上述處理之果菜渣堆肥已達到穩定腐熟的階段。

表二、果菜渣堆肥製作期間之堆肥體溫度 (°C) 變化

Table 2. The change of temperature of fruit-vegetable waste composts during composting

Treatment ¹	Day 1-10	Day 11-20	Day 21-30	Day 31-40	Day 41-50	Day 51-60
FVW+MS	52.0a ² (45~56)	59.6a (57~61)	62.1a (61~63)	59.4a (58~62)	56.2a (54~58)	49.1a (47~54)
FVW+MS+Ma	57.8a (47~64)	66.0a (65~68)	63.8a (59~67)	56.0a (54~58)	52.3a (47~54)	44.4a (42~47)
FVW+MS+Mab	59.4a (48~66)	68.5a (66~71)	65.2a (62~70)	57.1a (53~61)	51.6a (46~52)	43.2a (41~46)

¹FVW+MS : fruit-vegetable waste and muchroom waste.

FVW+MS+Ma : fruit-vegetable waste, muchroom waste and *Trichoderma* sp. (TCT10166).

FVW+MS+Mab : fruit-vegetable waste, muchroom waste, *Trichoderma* sp. (TCT10166) and *Bacillus* sp.(TCB10007).

². Within columns, numbers followed by the same letter are not significantly different, using Duncan's Multiple Range Test ($P \geq 0.05$).

表三、堆積第 60 日果菜渣堆肥之主要化學特性分析

Table 3. The main chemical characteristics of fruit-vegetable waste composts at day 60 after composted

Treatment ¹	pH (1:10)	EC (1:10)	OC	N	P	K	Ca	Mg
		(dS/m)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)
FVW+MS	6.93a ²	2.66a	301a	14.6a	3.50a	10.1a	13.0a	2.51a
FVW+MS+Ma	7.02a	2.38a	293a	16.8a	4.22a	11.6a	14.5a	3.03a
FVW+MS+Mab	7.11a	2.32a	289a	17.5a	4.30a	12.3a	14.7a	2.86a

¹FVW+MS : fruit-vegetable waste and muchroom waste.

FVW+MS+Ma : fruit-vegetable waste, muchroom waste and *Trichoderma* sp. (TCT10166).

FVW+MS+Mab : fruit-vegetable waste, muchroom waste, *Trichoderma* sp. (TCT10166) and *Bacillus* sp.(TCB10007).

². Within columns, numbers followed by the same letter are not significantly different, using Duncan's Multiple Range Test ($P \geq 0.05$).

(二) 應用於製作有機液肥

以接種放線菌 (*Streptomyces* sp.) TCST9801 製作生物性有機液肥為例，取

50 kg 塑膠桶置入豆粕類 2 - 3 kg；米糠 0.5 - 1 kg；糖蜜 2 - 3 kg 等有機材料，再置入含有效菌數約 1×10^9 cfu/ml 以上之放線菌 (TCST9801) 菌液 0.1 - 0.2 l，爾後加清水於塑膠桶至 20~30 l，並盡量攪拌均勻，其後每日攪拌 1 - 2 次，約 3 - 4 週後可完成供使用。如施用攪拌或打氣器具以增加醱酵液溶氧量，可以加速分解。本項生物性有機液肥以供應速效性養分為主，其中氮含量約 1.02%、磷含量約 0.27%、鉀含量約 0.79%、鈣含量約 1.15%、鎂含量約 0.84%，成品中有益微生物菌種之分離率約為 1×10^6 至 1×10^7 cfu/ml，可於作物生育期間作追肥施用。施用方式以土壤灌注為主，葉面噴灑為輔，由於含有豐富的有益微生物菌種，兼具增進作物生長與土壤改良功能。完熟之生物性有機液肥加水稀釋約 300 倍，可供作物苗期使用；加水稀釋約 100 - 200 倍，可供作物生育中期使用；加水稀釋約 100 倍，可供作物生育後期使用。

(三) 應用於製作杏鮑菇栽培木屑介質

以接種木黴菌 (*Trichoderma* sp.) TCFO9409 製作杏鮑菇栽培木屑介質為例 (蔡 & 陳 2012)，堆積材料之各成分乾物重用比例依序為新鮮木屑 75% + 杏鮑菇栽培後廢舊木屑 25% + 接種木黴菌；新鮮木屑 100% + 接種木黴菌；新鮮木屑 100% (CK)。接菌處理區將堆積材料混合均勻後再取用適量木黴菌 TCFO9409，有效菌數約 1×10^9 spore/ml，先加水稀釋 200 倍成菌懸液，將菌稀釋液混入堆積材料中，最後將堆積材料水分含量調整至 60%，堆積高度維持約 2.0 - 3.0m，爾後立即進行堆積製作，堆積發酵期間約 5 - 7 日利用鏟裝機翻堆乙次，一直持續到約 75 日為止。表四為堆積過程中溫度之變化效應，在開始堆積至第 0 - 45 日期間，各處理間以接種木黴菌 (TCFO9409) 且加入舊木屑處理之溫度較高、其次為接種木黴菌 (TCFO9409) 處理，以新鮮木屑 100% 且不接菌對照 (CK) 處理之溫度相對較低。其中接種木黴菌 (TCFO9409) 且加入舊木屑處理之溫度在堆積第 46 - 60 日均溫已降低至 45℃ 以下，顯然木黴菌 (TCFO9409) 與添加舊木屑等處理均有快速增溫與加速分解功效。表五顯示在堆積第 75 日之木屑材料的氮、磷、鉀、鈣及鎂等含量在不同處理間差異不顯著，木屑材料的磷及鎂等含量在不同處理間則略有差異，亦以 FS+GMW 處理與 FS+GMW+M 處理木屑材料的磷及鎂等含量較高於 FS (對照) 處理及 FS+M 處理。顯然添加廢棄木屑基質 25% 處理會增加木屑材料的養分含量，尤其對增加木屑材料的氮、磷及鎂等含量更明顯。

表四、杏鮑菇栽培木屑介質製作過程中溫度 (°C) 變化之影響

Table 4. The change of temperature in processing sawdust growth substrate for *Pleurotus eryngii*

Treatment ¹	Day 0~15	Day 16~30	Day 31~45	Day 46~60	Day 61~75
M + GSW	67.8a ²	73.3a	63.0a	46.6a	42.2a
M	55.5ab	60.9a	62.6a	51.8a	45.9a
CK	53.0b	58.9a	60.7a	52.2a	46.9a

¹M: *Trichoderma* sp. (TCFO9409), GSW: Growth substrate waste

²Within columns, numbers followed by the same letter are not significantly different, using Duncan's Multiple Range Test ($P \geq 0.05$).

表五、杏鮑菇栽培木屑介質堆積第 75 日養分含量之影響

Table 5. The main chemical characteristics of sawdust growth medium for *Pleurotus eryngii* in each treatment during matured process

Treatment ¹	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	C/N
M + GSW	0.56a	0.13a	0.35a	0.84a	0.19a	69.2a
M	0.46a	0.05a	0.34a	0.68a	0.15a	85.1a
CK	0.45a	0.05a	0.33a	0.68a	0.15a	87.6a

¹M: *Trichoderma* sp. (TCFO9409), GSW: Growth substrate waste

²Within columns, numbers followed by the same letter are not significantly different, using Duncan's Multiple Range Test ($P \geq 0.05$).

結 語

農業副產物包括禽畜排泄物、蔗渣、稻草及稻殼等大宗生物質量如果未能妥善利用，不僅浪費資源，也將造成環境污染之疑慮。反之，如能將農業副產物資源化，開發為有機肥料等回歸農田循環利用，不僅有助於改善土壤肥力特性，也有助於建立永續農業經營模式。有益微生物在機材料分解過程中扮演相當關鍵的角色，當微生物進行分解作用時，需要碳當作生活能源，同時也需氮維持生命及建造體細胞 (Golueke 1994)。當有機材料的碳氮比太高時，會因氮缺乏導致使微生物無法大量繁殖，堆肥化過程進行相當緩慢。如果有機材料的碳氮比太低，微生物分解釋出過多之氮，而易從堆肥中逸散，導致氮損失 (蔡 et al. 1997)。有研究指出，堆肥製作前有機材料的碳氮比約在 26 - 35 之間較適宜 (Haga 1990)。當堆肥經堆積分解過程進行時，有機材料中之碳氮比會逐漸降低至 20 以下，此時堆肥

也接近腐熟階段 (Harada et al.1991)。顯然，開發適宜的有益微生物菌種及其應用技術，將是發展農業副產物資源化之重要關鍵技術 (朱 2005; 徐 & 黃 2007; 張 et al. 2010; 簡 et al. 2001)。

臺中區農業改良場經過多年來的研究，已經成功分離及培養出多種具分解有機質功能之有益微生物菌種及其應用技術 (蔡 & 陳 2012)，至 2013 年底止，本技術相關研究成果已獲得中華民國發明專利案計 12 項，經農委會審議同意已陸續辦理完成技術移轉授權案計 34 件。目前本場已分別與多家國內生物科技或肥料廠商等法人團體合作辦理「新型生物性堆 (液) 肥研發」技術移轉授權，並已有多項生性堆 (液) 肥產品完成商品化上市。本項新型生性堆 (液) 肥產品可以兼具改善土壤微生物性與堆 (液) 肥之雙重功效，由多項田間栽培試驗結果顯示，使用新型生物性堆 (液) 肥應用在玫瑰、草莓、彩色海芋、葡萄、甜椒、番茄、小胡瓜、玉米及枇杷等多種作物栽培，不僅能夠增加土壤有機質含量及磷、鉀含量等土壤肥力，且能增進作物生長、產量及養分吸收等效益，將可提供農友栽培應用之參考。

參考文獻

- 朱能武 2005 堆肥微生物學研究現狀與發展前景 氨基酸與生物資源 27(4): 36-40。
- 沈韶儀、潘妙顏、王西華 1991 堆肥穩定度之測定方法 p.91-107. 豬糞處理、堆肥製造使用及管理研討會論文專輯 台灣省畜產試驗所編印。
- 徐大勇、黃為一 2007 人工接種堆肥和自然堆肥微生物區系變化的比較 安徽農業科學 35(23): 7219-7220。
- 張志紅、李華興、馮宏、趙蘭鳳、李敏清、胡偉 2010 堆肥作為微生物菌劑載體的研究 農業環境科學學報 29(7): 1382-1387。
- 楊盛行、陳盟靜 2000 高溫放線菌對堆肥化過程的影響 中華生質能源學會 19(3-4): 115-127。
- 蔡宜峯、陳俊位 2012 杏鮑菇栽培用木屑堆積製程中添加有益微生物及廢棄木屑基質之影響研究 臺中區農業改良場研究彙報 116: 47-56。
- 蔡宜峯、陳俊位 2012 農業廢棄物資源化微生物之研究 農業生技產業季刊 32: 52-59。
- 蔡宜峯、陳俊位、陳榮五 2009 落葉廢棄物製作堆肥技術之研究 臺中區農業改良場研究彙報 103: 53-62。

- 蔡宜峯、陳俊位、陳彥睿 2005 木黴菌在堆肥製作及應用於介質耕玫瑰之研究 p.119-128. 有機肥料之施用對土壤與作物品質之影響研討會論文集 國立台灣大學農業化學系編印。
- 蔡宜峯、莊作權、黃裕銘 1997 有機物堆肥化過程中添加尿素及過磷酸鈣對堆肥養分變化之效應 中國農業化學會誌 35: 652-660。
- 簡宜裕、朱戡良、鄭智馨、張明輝 2001 以微生物提昇堆肥品質之研究 p.185-188. 有機肥料與合理化施肥研討會 中華土壤肥料學會、國立中興大學土壤環境科學系編印。
- Chae, Y. M. and M. A. Tabatabai. 1986. Mineralization of nitrogen in soil amended with organic wastes. *J. Environ. Qual.* 15:193-198.
- De Bertoldi, M., G. Vallint, A. Pera and F. Zucchini. 1985. Technological aspects of composting including moddling and microbiology. p.27-41. In: Gasser, J. K. R. (ed.). *Composting of agricultural and other wastes.* Elsevier Applied Science Publishers. London & New York.
- Golueke, C. G. 1994. Principles of composting- Designing a well-operated facility. p.12-15. In: *Biocycle Journal of Composting & Recycling.* Composting source separated organic. The JG Press. Inc. USA.
- Haga, K. 1990. Production of compost from organic wastes. ASPAC/FFTC Extension Bulletin No. 311: 1-18.
- Harada, Y., K. Haga, T. Osada and M. Koshino. 1991. Quality aspects of animal waste composts. p.54-76. *Proceedings of symposium on pig waste treatment and composting II.* Taiwan Livestock Research Institute.
- Hendrix, P. F., D. C. Coleman and D. A. Crossley, Jr. 1992. Using knowledge of soil nutrient cycling processes to design sustainable agriculture. *Integr. Sus. Agric. Ecol. Environ. Policy* 2: 63-82.
- Inoko, A. 1982. The composting of organic materials and associated maturity problems. ASPAC/FFTC Technical Bulletin No.71:1-20.
- Jokela, W. E. 1992. Nitrogen fertilizer and dairy manure effects on corn yield and soil nitrate. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 148-154.
- Singh, Y. P. and C. P. Singh. 1986. Effect of different carbonaceous compound on the transformation of soil nutrients. I. Immobilization and mineralization of applied nitrogen. *Biol. Agric. Horti.* 4:19-26.
- Tsai Y. F., T. C. Juang and Y. M. Huang. 2001. The evaluation of potential availability of nitrogen of compost by ammonium carbonate extractor applied in corn cultivation. *Soil Environ.* 4(2): 125-134.

Development and Application of Beneficial Microorganisms on Utilizing Agriculture Residual Resources

Yi-Fong Tsai^{1*} and Chein-Wei Chen²

¹ Puli Branch, Taichung District Agricultural Research and Extension Station, COA

² Taichung District Agricultural Research and Extension Station, COA

*Corresponding author. E-mail: tsaiyf@tdais.gov.tw

ABSTRACT

The purpose of this research is to develop the production technologies of composts, liquid organic fertilizers and organic substrates by utilizing beneficial microorganisms. Our researches have received a number of achievements which including 1. the screening of 15 purified strains of beneficial microorganisms such as *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. and *Streptomyces* spp., 2. the use of these strains developed a number of bio-products such as livestock manure compost, fruit-vegetable waste compost, tree leaf waste compost, liquid organic fertilizers and organic substrates. Inoculated beneficial microorganisms during maturing stage of agricultural residuals can induce a large number of beneficial microorganisms and thus promote matured, reduce odors and improve the products quality and stability. However, many field results showed that there are significant effects of promoting crops growth and increasing crops yield on the application of those bio-products. Recently, some technologies from our researches have received 12 inventive patents (ROC). The Council of Agriculture (COA) has agreed to license 34 companies to use those technologies and exploit commercial products.

Key words: Beneficial microorganisms, Compost, Liquid organic fertilizer, Organic substrate.

生物製劑商品化—以庫斯蘇力菌為例

曾經洲

行政院農委會農業藥物毒物試驗所

通訊作者。E-mail: cctzeng@tactri.gov.tw

摘 要

藥毒所成功產業化開發庫斯蘇力菌 E-911 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* E911) 生物農藥。依照生物農藥登記註冊之要求，運用生物學、微生物學及生物技術，篩選、鑑定新穎蘇力菌菌株，選擇此生物活性優秀菌株，製備完整的註冊登記資料及成熟的擴大量產技術和製劑配方技術，技轉產業界，協助業者逐步放大醱酵量產產程和製劑配方技術之規模，完成產程開發及建立品管技術，並協助產品完成生物農藥註冊登記，完成本土蘇力菌生物殺蟲劑之產業化歷程。

關鍵詞：生物農藥、產業化、蘇力菌。

前 言

為了減少農作物中有害物質的殘留，推行安全農業，因此需利用其他非化學合成之農業資材替代，以降低化學農藥、肥料的使用，因此全球生物農藥的使用量，均有越來越多之趨勢。一般而言，生物性農藥較化學農藥對人畜安全無毒害，且具專一性，不會危及鳥類及其他非目標生物，對生態環境較安全。然而生物性資材，要取得註冊登記才能成為生物農藥產品，除了擴大量產有效成份，開發田間應用技術外，尚需配合農藥管理法規要求，排除安全的疑慮，並且以符合產品的條件，生產規格化產品。

庫斯蘇力菌 E911 生物農藥產品化歷程

蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*) 微生物農藥，適合有機化栽培，產品優質、安全無殘毒，而且又環保不污染、不破壞環境生態，維護休閒農業環境。全球生物性農藥產值中蘇力菌類佔主要，每年 15 - 20% 成長，所生產之有機化栽培作物，可提高農產品價格達 1.2 至 2 倍左右，增加農民收益。

臺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，藥毒所多年來，採集全臺樣品，進行菌株分離，多層次的殺蟲基因型式鑑定，及生物活性檢定，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二千株以上。

本土蘇力菌菌株，大部分帶有異於進口蘇力菌之複雜的 *cry* 型基因組合，並且其中許多菌株，在生物活性上甚至更優於外來菌株，值得開發利用。因此自其中選擇殺蟲活性優秀之庫斯蘇力菌 E911 菌株，從事完全產品化開發，製備整套的菌種鑑定、生物特性資料、產製過程、動物毒理及理化性、品質管制、先期田間效果試驗等技術資料與試驗報告等文件，開發為本土之蘇力菌產品。

開發完成之本土蘇力菌 E911 生物性殺蟲劑，技術移轉福壽實業公司。此菌株之 *cry* 型基因組成不同，申請我國、美國、中國發明專利。

另外，藥毒所曾經從本土分離株選殖殺蟲毒蛋白基因，送回蘇力菌表現殺蟲活性，亦曾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，同時延長藥效之新型生物性製劑。

生物農藥之產業化

生物農藥產業化，需整合「農藥登記管理」、「安全評估」、「生物科技」、「田間應用」、「農藥製劑」、「毒理及理化試驗」及「品質規格與檢驗鑑定」等領域專家，將技術面及法規管理面直接導入產業面，協助解決生物農藥及其他安全性植物保護資材等商品化之關鍵缺口。因此研發團隊需特別關注：1. 建構符合經濟量產規模之創新性製造、發酵、培養、萃取、純化或誘餌生產等商業化量產技術；2. 研發具商品化價值、有足夠貯架壽命之製劑配方及其規格；3. 依產品特性建立正確及合理使用方法，以發揮產品最佳效果；4. 建構符合優良試驗操作規範 (GLP) 之毒理、理化性及田間試驗各測試項方法之標準化及能力建構及登記資料製備之能力；5. 建立安全管理之技術，包括檢驗、鑑定方法之開發及標準化，除有效成分、指標成分之生物或化學檢驗方法外，亦包括毒素、代謝物、污染物等檢驗鑑定方法之建立，可為安全管理之技術依據，亦有利於作用機制之解明；6. 國際登記管理法規之比較研究，除合理化管理制度與國際接軌外，亦有利於國內產品之國際化。

The Commercialization of Taiwan Indigenous *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* E911

Ching-Chou Tzeng

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, COA

Corresponding author. E-mail: cctzeng@tactri.gov.tw

ABSTRACT

Agriculture aims to enhance not only better quality, safety of agricultural products but also environment protection and leisure function of agriculture business. *Bacillus thuringiensis* (Bt) is considered to be one of the most potential biopesticides to replace some chemical pesticides. For example, the development of indigenous *Btk* E911, that can control Diamond-back moth, cabbage looper, cabbage worm, and tussock moth, we have been according to the requirements of registration, use the microbial technology and biotechnology to select and identify new isolates. When we find one isolate has the best bioactivity, we not only try to pilot scale up, but also test the animal toxicity. Then, this champion isolate and the techniques, including basic mass production process, quality control process and field test results, transfer to cooperative company to become a commercial product.

Key words: Biopesticide, Commercialization, *Bacillus thuringiensis*.

國內生物農藥產業的發展利基與全球布局

陳良榮

百泰生物科技股份有限公司 董事長

通訊作者。E-mail: brucechen@biontech.com.tw

摘 要

本文首先陳述臺灣具有發展農業生技產業的優勢，政府長期推動的優惠獎勵措施及民間業者的投入，帶動國內生物農藥產業的發展。最後說明百泰生技公司致力於生物農藥發展的歷程與產品的全球布局。

關鍵詞：生物農藥、產業發展、百泰生技公司。

前 言

根據 SG Cowen Securities 公司於 2002 年所做的評估，亞洲各國及地區（包括臺灣、新加坡、中國、韓國、印度等）在「生技發展」上的競爭優勢，臺灣明顯屬於較優；臺灣的「農業技術水準」在全世界的排行，甚至高居第 12 位，資料顯示，臺灣農業科學論文被引用程度優於其他科學領域，顯現農業科學研究實力強，農業科技產業化潛力高。

因此，如何將「生技發展」的優勢，結合「農業技術水準」，創造臺灣的獨特「農業生技產業」的優勢，成為政府相當重視的課題。而「生物農藥」在臺灣發展「農業生技產業」中，更是重要的一環，本文即就此子題，進行深入的探討。

臺灣「生技產業」及「農業生技產業—生物農藥」發展

- 1982：行政院於「科學技術發展方案」中，明訂生物技術為 8 大重點科技之一
- 1984：在經濟部轄下，成立「財團法人生物技術開發中心 (DCB)」，行政院國科會開始推動生物技術大型計劃
- 1988：農委會將「生物技術」列入國家級試驗研究計劃
- 1995：行政院通過「加強生技產業推動方案」，整合各部會組成「生技產

業指導小組」

- 1995：行政院通過現階段，臺灣發展生技產品之項目如下：
 - 1. 醫藥產品
 - (1) 檢驗試劑、
 - (2) 遺傳工程蛋白質藥品：含畜用疫苗、
 - (3) 新劑型藥品、
 - (4) 原料藥。
 - 2. 特用化學品
 - 3. 農業資材及環境保護產品
- 1996：成立「經濟部生物技術與製（醫）藥工業發展推動小組」，同年衛生署成立「國家衛生研究院」
- 1997：迄今行政院科技顧問組已召開多次的國家「生物技術策略會議 (Strategic Review Board, SRB)」
- 1998：政府宣示將「生物技術」列入 10 大新興產業
- 1999：工研院成立「生物醫學工程中心」，同時國科會推動 3 項國家型的生技與製藥相關計劃「農業生物科技」、「基因體醫學」、「生技製藥」（國家型計劃，總共有 9 項）
- 2001：行政院成立「生技產業單一窗口」
- 2002：行政院六年國發計劃
 - 1. 兩兆雙星產業：
 - (1) 半導體＋影像顯示＋數位內容產業
 - (2) 「生物技術」與「醫藥工業」
 - 2. 未來 5 年生物技術產業營業額每年平均成長 25%，帶動 1,500 億元的投資，10 年內成立 500 家以上之生技公司。
- 2003：行政院經建會通過設立中央主導型「屏東農業生物技術園區」及地方主導型的「彰化縣國家花卉園區」和「臺南縣台灣蘭花生技園區」
- 2005：第三期「農業生技國家型計劃」，為期 4 年，有八大領域：
 - 1. 「植物種苗」、2. 「水產生技」、
 - 3. 「禽畜生技」、4. 「動物用疫苗」、

5. 「食品生技」、6. 「生物肥料」、
7. 「生物農藥」、8. 「檢測診斷」。

■ 2009：行政院推出六大新興產業中的「精緻農業健康卓越方案」，有三大主軸：

1. 「健康農業」、
2. 「卓越農業」、
3. 「樂活農業」。

■ 2011：推行「農業生技」公司，簡易上櫃、上市辦法。

臺灣「生技產業」之發展

經過政府各種優惠獎勵措施，以及民間積極地投入資金，臺灣的「生技產業」蓬勃發展起來，從 2003 年至 2012 年，「生技產業」公司家數，已趨近於 500 家，其產值至 2011 年，亦達到 671 億。

一、臺灣新興「生技產業」廠商家數（含：生物製劑、農業生技、特化生技、食品生技、環境生技、生技服務業等 6 大領域）

- 2003 年：165 家 (2003 年 12 月資料，成長 35% -- 2004/2003)
- 2004 年：223 家 (經專家會議研討，陳啟祥主持，2004.6.25)
- 2007 年：350 家 (占 17.7%，不含化學製藥與中草藥廠商)
- 2008 年：398 家
- 2010 年：405 家 (經濟部生醫推動小組，2011)
- 2012 年：預計達到 500 家之目標

二、新興生技產業產值

- 2001 年：225 億
- 2002 年：250 億
- 2006 年：212 億
- 2007 年：226 億（以上臺灣生技產業名錄）
- 2010 年：633 億（經濟部生醫推動小組，2011）
- 2011 年：671 億

其中的「生物農藥」屬於「農業生技」的範疇，其發展的歷史，簡述如下。

臺灣「生物農藥」之發展

一、生物農藥發展簡史

- 1984：生物技術開發中心 (DCB) 成立。
- 1990：財團法人國際美育自然生態基金會 (MOA) 成立。
- 1999：光華化學公司，取得台灣第一張本土性生物農藥「台灣寶」之產品許可證及台灣第一張生物農藥工廠許可證。
- 2002：臺灣第一家專業生物農藥公司「百泰生物科技股份有限公司」由光華化學公司轉投資成立，專業發展生物農藥。
- 2004：「台灣寶」開始外銷日本 (距 DCB 成立 18 年)，目前已外銷全球 10 幾個國家。
- 2012：有 10 家生物農藥工廠，7 家生物農藥進口商。
- 2014：成立國家農業科技研究院，積極開發生物農藥及生物肥料。

二、產品分類

臺灣生物農藥登記，依有效成份，可分成 3 大類，共有 26 種主要成份：

1. 天然素材：除虫菊精，印楝素
2. 微生物製劑：蘇雲金桿菌，枯草芽孢桿菌，放線菌（純白鏈黴菌素），木黴菌
 - 蘇雲金桿菌(Bt, *Bacillus thuringiensis*)
 - 枯草桿菌(Bs, *Bacillus subtilis*)
 - 純白鏈黴菌素(Sc, *Streptomyces candidus*)
 - 木黴菌
3. 生化製劑：賜諾殺、甜菜夜蛾費洛蒙、斜紋夜盜費洛蒙等。

以上 3 類的相關產品。

臺灣「生物農藥」的推廣

行政院農業委員會規劃，希望在 2015 年能大量使用「生物農藥」，以達到「化學農藥」用量減半的目標，現在仍在積極努力中。主要通過下列幾項措施：

一、取締非法有機農產品

2007 年 1 月 31 日公布的「農產品生產及驗證管理法」，法定兩年緩衝期已屆滿，未來標榜「有機」農產品若標示、標章不合格，將有處罰依據。

2009 年 8 月 1 日起，所有有機農產品都必須符合新法標準，否則將依法開罰。

二、有機安全農業獎勵原則 (以苗栗縣政府為例)，獎勵措施：

1.有機質肥料補助

2.有機農業推廣獎勵金

3.生物農藥獎勵措施

➤ 苗栗縣政府 2009 年制定生物農藥獎勵措施如下：

鑒於生物農藥對人畜安全無毒害，且具專一性，不會危及鳥類及其他非目標生物，有利生態環境，凡毗鄰 3 公頃以上集團區之有機農戶或吉園圃產銷班，使用經中央主管機關核准登記取得許可證生物性農藥者，以實際支出藥劑費用由本府補助三分之二、農會或農民負擔三分之一，每公頃每年最高補助新台幣 2 萬元。

臺灣生物農藥已打入世界市場

百泰公司經過 15 年的努力，已經將本土的枯草桿菌 (*Bacillus subtilis* Y-1336) 成功地打入國際市場，現在已登記外銷的國家有 10 國，預期至 2015 年，外銷將增至 20 個國家。除此之外，百泰公司已在臺灣取得放線菌之產品許可證，以及另外幾株菌亦在登記中，相信在未來 3 - 5 年，將會取得 2 - 3 張新生物農藥許可證，讓有機或吉園圃農民能有好的生物資材使用，以利國內安全農業及有機農業之發展。

百泰公司已經為我國生物農藥產業打出一片天地，值得政府及民間企業一起努力，讓這份成果更加地深化，相信以台灣生物的多樣性，應可以開發出世界級的全新生物農藥，在國際舞台上發光發熱。

結 語

臺灣因為耕地面積狹小，因此農藥使用量少，只占全球市場的 1% 弱，單以 2011 年臺灣銷售 2.74 億臺幣的生物農藥而言，市場份額更是少之又少。但是，因為臺灣地理位置特殊，常年溫濕多雨，病蟲害嚴重，相對的微生物種類也非常繁複，又四面環海，海洋微生物，也是一個待開發的重要資源。因此，生物農藥產業的發展，就「市場面」而言，除了靠政府政策支持之外，業者應積極發展國際市場，才是突破困境的最佳策略，希望臺灣有心發展生物農藥的廠家，能夠在此處多加用心；但就「產品開發面」而言，臺灣確實是擁有發展「生物農藥」的有利條件，除了生物科技人才充足外，「生物多樣性」裡蘊藏著無限的商機，只待有心人士及企業家能積極地投入，開發成商品，並走入國際市場。

The Niches of Biopesticides Industry Development in Taiwan and Global Layout

Bruce Chen

CEO of Bion Tech Inc.

Corresponding author. E-mail: brucechen@biontech.com.tw

ABSTRACT

In this article, it has primary stated the advantages for developing the agricultural biotechnology industry in Taiwan. The government has long-term programs that promote preferential treatment and rewarding measures for business to invest the area for improving the development of biopesticides industry. Finally, Bion Tech Inc. has involved in biopesticides industry development for a long time and outlined the global layout.

Key words: Biopesticide, Industry development, Bion Tech Inc.

國內生物肥料產業的發展現況與展望

張忠賀

福壽實業股份有限公司肥料處 經理

通訊作者。E-mail: chchang@fwusow.com.tw

摘 要

第三個千年肥料發展方向為「注重食品安全、環境保護及提高肥料利用率之創新產品」，微生物肥料因具有肥料功能（固氮作用、溶磷作用、分解作用）及其他功能（生長及吸收促進、抗逆境及適應性、保護根圈、解毒、提早開花及收穫、減少病蟲害），是符合國際學術研究及產業發展趨勢的新興產品，在有機農業中的施肥上，微生物肥料類在提高土壤養分有效性將扮演重要的角色。台灣於 2010 年 7 月 29 日公告修正增列微生物肥料類豆科根瘤菌肥料、游離固氮菌肥料、溶磷菌肥料、溶鉀菌肥料、複合微生物肥料及叢枝菌根菌肥料等 6 個品目，為配合肥料管理並同步修正肥料登記證申請及核發辦法，增訂製造及輸入業者申請微生物肥料登記證時，應檢附微生物肥料作物毒害、生物毒性及環境生態試驗報告等之規定。在 2011 年 6 月 3 日公告「已被鑑定為安全之微生物肥料菌種」，包括細菌 8 個、真菌 4 個及酵母菌 4 個，計 16 個微生物肥料菌種，肥料業者可據以辦理微生物肥料登記證。國內微生物肥料產品登記證之核發至 103 年 2 月 11 日止，計有 13 種溶磷菌肥料，在農委會及國家型計畫大力推動下，生物性肥料之研發方向已擴大至複合生物有機肥料及生技肥料之高品質與多功能研發方面。未來為開拓國內外肥料市場，將以廠商技術移轉、產學合作研發計畫和大學建教合作及創新育成中心之技術研發及輔導廠商為主要執行方向。

關鍵詞：微生物肥料、生物安全性、肥料登記證、市場。

前 言

世界肥料之消費以氮肥、磷肥及鉀肥等之總養分消費合計量計 2000 年超過 14,000 萬公噸，其中氮肥約 8,605 萬公噸、磷肥 1,510 萬公噸、鉀肥 2,580 萬公噸。但肥料利用率以氮肥而論，中國平均約 29% (範圍為 10% - 65%)；印度約 30% - 35%。伴隨而來之對食品安全及環境保護衝擊問題大。第十二屆世界肥料會議於 2001 年 8 月 4 日至 8 月 9 日於中國北京舉行，由國際肥料科學中心及中國科學院聯合舉辦，研討第三個千年有關肥料、食品安全及環境保護之相關議題及研究報告。主要議題計十二項：(1) 肥料的貿易及市場、(2) 植物養分的替代資源、(3) 養分動力學、(4) 施肥與環境品質、(5) 施肥的方法和策略、(6) 園藝和工業用作物的養分需求、(7) 氮磷鉀肥的研究發展、(8) 有機農業中的施肥與生物肥料、(9) 控釋肥料、(10) 硫素營養與施肥、(11) 微量元素肥料及其施用技術、(12) 施肥與食物安全 (Lanzhu et al. 2003)。本公司農業資材研究處調查 2013 年 12 月臺灣花蓮地區水稻有機栽培農田土壤樣品之肥力分析 (表一)，顯示高達 87.5% 有機栽培農田土壤有效性磷含量偏低，在有機農業中的施肥上，微生物肥料類之溶磷菌肥料在提高土壤養分有效性將扮演重要的角色。

行政院農業委員會 (以下簡稱農委會) 於 2003 年 7 月第四屆台灣國際生物科技大展中闡釋我國農業生技產業發展方向。擇定我國農業生技產業的發展策略將以植物種苗、水產養殖、畜禽生技、動物用疫苗、機能性食品、生物性肥料及生物性農藥為初期發展重點，全力推動。

由上述議題中可歸納出第三個千年肥料發展方向為「注重食品安全、環境保護及提高肥料利用率之創新產品」，微生物肥料因具有肥料功能 (固氮作用、溶磷作用、分解作用) 及其他功能 (生長及吸收促進、抗逆境及適應性、保護根圈、解毒、提早開花及收穫、減少病蟲害) (楊 2013)，是符合國際學術研究及產業發展趨勢的新興產品。

表一、臺灣花蓮地區水稻有機栽培農田土壤樣品之肥力分析

Table 1. The soil fertility analysis of organic rice farm in Hualien, Taiwan

編號	酸鹼度	有機質 %	有效性磷 mg/kg	交換性鉀 mg/kg	交換性鈣 mg/kg	交換性鎂 mg/kg
1	6.12	2.87	2.5	97.0	1953	328
2	5.88	1.84	2.5	103	3482	432
3	5.62	1.69	20.1	74.6	1406	146
4	6.86	3.14	5.6	157	3205	244
5	5.84	4.01	3.5	144	1862	358
6	8.25	1.67	2.5	116	4469	219
7	6.55	2.44	7.7	77.5	2469	354
8	6.90	2.18	< 0.1	68.6	2851	459
9	5.84	2.22	1.5	55.9	2017	431
10	7.87	1.63	1.5	76.6	2158	268
11	7.79	1.90	0.4	78.2	2055	278
12	6.81	3.10	< 0.1	122	2773	513
13	5.72	2.62	< 0.1	80.5	3153	197
14	6.64	4.12	< 0.1	162	1991	825
15	5.80	3.18	< 0.1	86.2	1548	293
16	6.12	5.01	13.9	297	1997	682
參考值*	5.5-6.5	2.1-3.0	11-20	71-105	800-1600	61-120

*適中基準依據農業試驗所「臺灣地區農田地力增進策略」。

生物肥料產業規範的建立

(一) 臺灣生物肥料產業規範

我國於 1999 年 6 月 16 日公佈施行肥料管理法，第一章總則之第一條即明示「為健全肥料管理，維護肥料品質；以維持地力、增進農業生產力及保護環境，特制定本法」。因此肥料資材在健全農產品安全供應體系及促進土地資源永續利用上，扮演關鍵之角色。依肥料管理法第三條定義肥料為「供給植物養分或促進養分利用之物品」，此時肥料種類品目則分為氮肥類、磷肥類、鉀肥類、次量微量元素肥料類、有機質肥料類、複合肥料類、植物生長輔助劑類及其他肥料類（其規格由主管機關個案審定）共 8 大類，此時尚未確立微生物肥料品目。

農委會前農糧處於 2000 年至 2003 年委託中華土壤肥料學會協助辦理，進行草擬「肥料種類品目及規格」、「微生物肥料製劑資料要件」、「微生物肥料製劑檢測技術」等相關資料，並評估各項檢驗方法之適用性。該項業務於 2004 年 3 月移交，由農糧署繼續推動，並於 2004 年至 2006 年委託中興大學土壤環境科學系楊秋忠教授協助評估微生物肥料各項檢驗方法之適用性及相關法規之檢討及修正；因應新增微生物肥料登記管理，相關肥料管理法規須檢討修正項目及登記管理相關要件於 2006 年 8 月 30 日、2007 年 4 月 18 日、2007 年 6 月 27 日及 2007 年 9 月 17 日等 4 次會議中討論及修訂；農糧署秉辦農委會函於 2006 年 11 月 7 日將「微生物肥料製劑檢驗法」（草案）函送經濟部（標準檢驗局），建請儘速訂定「微生物肥料」國家標準方法，該部標準檢驗局國家標準審查委員會於 2006 年 11 月民生分組會議決議通過，並於 2008 年 4 月 1 日、11 月 14 日及 2009 年 9 月 1 日、10 月 23 日召開 4 次農業國家標準技術委員會審查，經濟部 2009 年 11 月 24 日公告 7 種微生物肥料檢驗法國家標準，農糧署 2010 年 7 月 29 日公告修正增列微生物肥料類豆科根瘤菌肥料、游離固氮菌肥料、溶磷菌肥料、溶鉀菌肥料、複合微生物肥料及叢枝菌根菌肥料等 6 個品目，為配合肥料管理，爰於 2010 年 7 月 29 日同步修正肥料登記證申請及核發辦法，增訂製造及輸入業者申請微生物肥料登記證時，應檢附微生物肥料作物毒害、生物毒性及環境生態試驗報告等之規定；同時修正肥料查驗辦法，增訂微生物肥料查驗、取樣及樣品運送、留存之規定；微生物肥料增列為應加強查驗之產品，維護肥料品質，確保農友權益。為簡化業者申辦微生物肥料登記證程序，農委會 2011

年 6 月 3 日公告「已被鑑定為安全之微生物肥料菌種」，包括細菌 8 個、真菌 4 個及酵母菌 4 個，計 16 個微生物肥料菌種，肥料業者可據以辦理微生物肥料登記證。16 個微生物肥料菌種分屬細菌類 *Bacillus coagulans* (凝結芽孢桿菌)、*Bacillus licheniformis* (地衣桿菌)、*Bradyrhizobium japonicum* (*Rhizobium japonicum*)、*Mesorhizobium loti* (*Rhizobium loti*)、*Rhizobium leguminosarum*、*Rhodopseudomonas palustris* (沼澤紅假單孢菌)、*Sinorhizobium fredii* (*Ensifer fredii*, *Rhizobium fredii*)、*Streptococcus thermophilus* (嗜熱鏈球菌)；真菌類 *Aspergillus oryzae oryzae* (米麴菌)、*Glomus fasciculatum* (*Endogone arenacea*, *Endogone fasciculate*, *Palaeomycetes butleri*, *Rhizophagites butleri*)、*Glomus mosseae* (*Endogone mosseae*)、*Mucor rouxii* (魯毛黴菌)；酵母菌 *Candida guilliermondii* (季也蒙假絲酵母菌)、*Pichia guilliermondii* (季也蒙比齊酵母菌)、*Saccharomyces cerevisiae* (啤酒釀酒酵母菌)、*Saccharomycopsis fibuliger* (*Endomycopsis fibuliger*) (肋狀擬內孢黴菌)。

「肥料種類品目及規格」所定為生物肥料定義為「本類肥料係指其成分含具有活性微生物或休眠孢子，如細菌、放線菌、真菌、藻類及其代謝產物之特定製劑，應用於作物生產具有提供植物養分或促進養分利用等功效之物品」。即指利用活體微生物擔任廣義肥料功能之產品，在土壤中利用活體微生物之作用，以提供作物營養分來源，增進土壤營養有效性或改良土壤之理化、生物性質，藉以增加作物產量及品質，應用相當普遍。

(二) 中國生物肥料行業規範

中國農業部於 1992 年開始將微生物肥料標準的制定納入議事日程，1994 年 5 月 31 日農業部頒布了第一個微生物肥料標準 (NY 227-1994 微生物肥料)，是微生物肥料領域的第一個標準，填補了國內空白，其頒布實施對整頓微生物肥料市場、打擊假劣產品，保障微生物肥料健康發展起到了重要作用。隨著微生物肥料行業的不斷發展，並且根據產品的實際檢測結果，在 NY 227 標準的基礎上，對其中的根瘤菌肥料、固氮菌肥料、磷細菌肥料和矽酸鹽細菌肥料部分進行了重新修訂，於 2000 年頒布了 4 種相應的菌劑產品標準，即《根瘤菌肥料》(NY 410-2000)、《固氮菌肥料》(NY 411-2000)、《磷細菌肥料》(NY 412-2000) 和《矽酸鹽細菌肥料》(NY 413-2000)。十五期間，在農業部和科技部等有關項目的支持下，經過幾年的努力工作，初步構建了具有中國特色的微生物肥料標準體系。這

一標準體系框架由通用標準、使用菌種安全標準、產品標準、方法標準和技術規程等 5 個方面構成，現已有 19 個行業標準頒布實施（表二）。在十一五期間，除了繼續加強產品標準的制定工作外，同時要做好有關檢測新技術、新方法及使用菌種安全鑒定等方面的標準制定工作（北京中聯金橋信息技術研究院 2011）。

表二、中國微生物肥料行業標準一覽表

Table 2. The list of product standard rule of the People of Republic of China

類 別	標 準 名 稱	標準號
通用標準	1、微生物肥料術語	NY/T 1109-2006
	2、農用微生物產品標識要求	NY 885-2004
菌種安全標準	3、微生物肥料生物安全通用技術準則	NY 1105-2006
	4、矽酸鹽細菌菌種	NY 882-2004
產品標準	5、根瘤菌肥料	NY 410-2000
	6、固氮菌肥料	NY 411-2000
	7、磷細菌能肥料	NY 412-2000
	8、矽酸鹽細菌肥料	NY 413-2000
	9、光合細菌菌劑	NY 527-2002
	10、有機物料腐熟劑	NY 609-2002
	11、複合微生物肥料	NY/T 798-2004
	12、生物有機肥	NY 884-2004
	13、農用微生物菌劑	GB 20287-2006G
方法標準	14、肥料中糞大腸菌群值的測定	GB/T19524.1-2004
	15、肥料中蛔蟲卵死亡率的測定	GB/T19524.2-2004
技術規程	16、農用微生物菌劑生產技術規程	NY/T 883-2004
	17、微生物肥料實驗用培養基技術條件	NY/T 1110-2006
	18、微生物肥料田間試驗技術規程	NY/T 1536-2007
	19、微生物肥料使用準則	NY/T 1535-2007

中國農業部已制定菌種安全鑑定分級目錄，區分為免做毒理學試驗的菌種、需做急性毒性（LD50）試驗的菌種、需做致病性試驗的菌種及禁用菌種 4 種等級（微生物肥料生物安全通用技術準則 2006）。

第一級免做毒理學試驗的菌種

A.1.1 根瘤菌類

Azorhizobium caulinodans、*Bradyrhizobium elkanii*、*Bradyrhizobium japonicum*、*Bradyrhizobium liaoningense*、*Mesorhizobium huakuii*、*Mesorhizobium loti*、*Rhizobium etli*、*Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli*、*Rhizobium leguminosarum biovar trifolii*、*Rhizobium leguminosarum biovar viceae*、*Sinorhizobium fredii*、*Sinorhizobium meliloti*

A.1.2 自生及聯合固氮微生物類

Azospirillum lipoferum、*Azospirillum brasilense*、*Azotobacter beijerinckii*、*Azotobacter chroococcum*、*Azotobacter vinelandii*、*Azotobacter paspali*、*Beijerinckia indica*

A.1.3 光合細菌類

Rhodobacter capsulatus、*Rhodobacter sphaeroides*、*Rhodopseudomonas acidophila*、*Rhodopseudomonas gelatinosa*、*Rhodopseudomonas globiformis*、*Rhodopseudomonas palustris*、*Rhodopseudomonas rutila*、*Rhodopseudomonas sulfidophila*、*Rhodopseudomonas viridis*、*Rhodospirillum fulvum*、*Rhodospirillum rubrum*、*Rhodospirillum salinarium*、*Rubrivivax gelatinosus*

A.1.4 分解磷鉀化合物細菌類

Bacillus amyloliquefaciens、*Bacillus laterosporus*、*Bacillus licheniformis*、*Bacillus megaterium*、*Bacillus mucilaginosus*、*Bacillus subtilis*、*Bacillus thuringiensis*、*Thiobacillus thiooxidans*

A.1.5 促生細菌類

Paenibacillus azotofixans、*Paenibacillus polymyxa*

A.1.6 酵母菌類

Candida guilliermondii、*Candida membranaefaciens*、*Candida tropicalis*、*Candida utilis*、*Endomycopsis fibuliger*、*Pichia farinosa*、*Pichia membranae faciens*、*Saccharomyces cerevisiae*、*Rhodotorula rubra*

A.1.7 放線菌類

Frankia sp、*Streptomyces chingyangensis*、*Streptomyces microflavus*

A.1.8 AM 真菌類

Glomus mosseae

A.1.9 其他

Lactobacillus parabuchner、*Lactobacillus acidophilus*、*Lactobacillus bulgaricus*、*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus delbruecki*、*Lactobacillus lactis*、*Lactobacillus plantarum*、*Pediococcus pentosaceus*、*Streptococcus lactis*、*Streptococcus thermophilus*

A.2 第二級：需做急性毒性（LD50）試驗的菌種

Arthrobacter aurescens、*Aspergillus candidus* Link、*Aspergillus niger*、*Aspergillus oryzae*、*Aspergillus penicillioides* Speg、*Aspergillus wentii* Wehmer、*Eurotium chevalieri* Mangin、*Bacillus brevis*(*Brevibacillus brevis*)、*Bacillus circulans*、*Bacillus coagulans*、*Bacillus pumilus*、*Bacillus sphaericus*、*Brevibacterium* sp. *Burkholderia fungorum*、*Chaetomium cochliodes*、*Chaetomium trilaterale*、*Clostridium pasteurianum*、*Geobacillus stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus*)、*Geotrichum candidum*、*Nocardia* sp、*Nocardiosis* sp. *Paenibacillus macerans*、*Penicillium citreonigrum*、*Penicillium citrinum*、*Penicillium frequentans*、*Penicillium glabrum*、*Pseudomonas fluorescens*、*Promicromonospora citrea*、*Pseudomonas putida*、*Pseudomonas stutzeri*、*Pseudomonas vesicularis*、*Rhizopus oryzae*、*Sphingobacterium multivorum*、*Sporotrichum thermophile*、*Streptomyces albidoflavus*、*Streptomyces fradiae*、*Streptomyces griseospiralis*、*Trichoderma harzianum*、*Trichoderma koningii*、*Trichoderma viride*

A.3 第三級：需做致病性試驗的菌種

Acinetobacter calcoaceticus、*Acinetobacter baumannii*、*Alcaligenes denitrificans*、*Alcaligenes faecalis*、*Alcaligenes xylosoxidans*、*Bacillus cereus*、*Enterobacter agglomerans*、*Enterobacter cloacae*、*Enterobacter gergoviae*、*Pseudomonas alcaligenes*、*Pseudomonas diminuta*、*Proteus* sp.

A.4 第四級：禁用菌種

Erwinia sp、*Klebsiella pneumoniae*、*Klebsiella oxytoca*、*Pseudomonas aeruginosa*

國內生物肥料產業的發展現況與展望

在 2010 年 7 月 29 日公告微生物肥料登記管理以前，國內生物肥料之產製技術，主要仰賴大學或農業部門作為技術研發機構，由菌種分離、純化、鑑定、製程及應用技術的發展。此時期生物性肥料雖沒有確切之生產量與施用量統計，但依農委會「2005 農業生物科技廠商與產業產值之調查研究」結果，2004 年我國生物性肥料產業年產值約新臺幣 6.69 億元 (表三)。此時國內生物性肥料生產、進口及銷售之廠商約有 40 餘家，多屬小型企業經營為主，研發人力及資金均不足 (謝 2007)。

表三、農業生技產業總產值之估計 (2002 - 2005) (單位：家、新臺幣億元)

Table 3. The annual output value of agricultural biotechnology products in Taiwan

年別 子領域	2002		2003		2004		2005	
	家數	產值	家數	產值	家數	產值	家數	產值
1.植物種苗	33	9.55	25	14.50	25	25.82	28	57.45
2.水產養殖	9	7.56	11	9.25	11	22.99	16	2.67
3.動物用疫苗	9	7.36	11	6.68	11	4.12	11	2.09
4.畜禽生技	18	0.72	10	7.75	10	7.86	17	18.89
5.生技食品	57	23.29	110	66.72	110	93.31	127	127.96
6.生物性肥料	28	3.13	15	0.62	15	6.69	14	1.26
7.生物性農藥	13	7.19	7	1.72	7	1.91	11	0.41
8.診斷檢測	—	—	—	—	—	—	15	2.03
9.其他	4	0.19	25	14.68	25	40.50	1	0.06
總計	171	58.99	214	121.92	214	203.20	240	212.82

資料來源：萬 (2007)。

公告微生物肥料登記管理以後，國內微生物肥料產品登記證之核發至 103 年 2 月 11 日止，計有 13 種溶磷菌肥料 (表四)。

在農委會及國家型計畫大力推動下，生物性肥料之研發方向已擴大至複合生物有機肥料及生技肥料之高品質與多功能研發方面，舉例而言本公司於 2009 年承接耐高溫多功能溶磷微生物及其生物肥料製作技術，並結合既有之有機質肥料生產技術，開發「生物多功性有機質肥料」，於 2012 年登記為微生物肥料。本產品不僅可減少化學肥料使用量、改善土壤性狀、增加肥料利用率及達到資源再利用之目標，更可讓農民達到一次施用便兼具有機質肥料和生物肥料之效果，不僅可大幅減少農民使用之成本，更可增加農民操作方便性，促進永續農業之發展。目前主要是以學界或產學合作之研究成果，經由農業改良場配合試驗及觀念推廣作為主軸，正朝多功能及複合技術之趨勢邁進。未來為開拓國內外肥料市場，將以廠商技術移轉、產學合作研發計畫和大學建教合作及創新育成中心之技術研發及輔導廠商為主要執行方向（台灣經濟研究院 2009）。

表四、已公告國內微生物肥料產品登記證

Table 4. The microbial fertilizer registration certificate has been issued in Taiwan.

登記證字號	業者名稱	廠牌商品名稱	品目名稱	有效日期
製生 0085132	福壽實業(股)公司	福壽牌活麗送 FS-BIO-6	溶磷菌肥料	105.03.12
製生 0127037	光華化學(股)公司	百泰牌溶磷菌	溶磷菌肥料	105.03.12
製生 0473021	聯發生技(股)公司	菌專家-溶磷菌	溶磷菌肥料	105.03.12
製生 0473022	聯發生技(股)公司	菌專家-淋溶肥	溶磷菌肥料	105.04.06
製生 0473024	聯發生技(股)公司	拜肯特	溶磷菌肥料	106.02.07
製生 0473025	聯發生技(股)公司	磷菌肥	溶磷菌肥料	106.04.10
製生 0473026	聯發生技(股)公司	萬磷丹	溶磷菌肥料	106.06.04
製生 0473028	聯發生技(股)公司	寶之磷	溶磷菌肥料	106.08.28
製生 0473029	聯發生技(股)公司	地磷靈	溶磷菌肥料	106.12.02
製生 0093216	興農股份有限公司	興農牌興農善玉肥 1 號	溶磷菌肥料	105.11.21
製生 0170013	大勝化工(股)公司	禾磷旺溶磷菌肥料	溶磷菌肥料	106.07.30
製生 0465015	台灣肥料(股)公司	農友牌溶磷菌肥料	溶磷菌肥料	106.10.28
製生 0013078	漢寶工業有限公司	檸製磷	溶磷菌肥料	107.02.12

結 語

生物性肥料已發展為新興肥料產業，並已成為高經濟作物提高品質及產量的重要農業資材，可減少過量施用化學肥料及有機質肥料，並可減少土壤劣化及增加逆境之損失，是達成合理化施肥及永續農業經營目標之最有效之農業資材，在有機農業中的施肥上，微生物肥料在提高土壤養分有效性將扮演重要的角色。然而生物性肥料產業的推廣，仍有賴於上游的研發、中游的製造，以及下游的產品銷售多方面的整合，在上游部分，政府可以透過投注於菌種資料庫，建立本土優勢菌種的來源，以挹注於上游生物肥料的研發能量。此外，在鼓勵學術單位及業界從事相關研究的同時，也可以透過技術轉移的方式，協助業者將學界研究商品化。本公司將持續以「品質至上、顧客第一」的營運標的，來回饋消費者之青睞與惠顧；未來更將不斷朝向多元化、科技化、國際化的目標前進，以求新求行精神，創造更大利益，服務社會大眾。展望前景，將以審慎樂觀及務實作為積極與產官學研各界密切互動，開發優質安全之微生物肥料，共同為第三個千年的臺灣農業發展貢獻心力。

參考文獻

- 肥料管理法及施行細則肥料種類品目及規格 2000 行政院農業委員會編印。
- 微生物肥料生物安全通用技術準則 2006 中華人民共和國農業部。
- 楊秋忠 2013 微生物肥料之生產與應用 p. 58-99. 2013 肥料生產技術與應用講習班講義中華肥料協會編印 臺中。
- 謝仁哲 2007 亞太地區生物製劑在作物生產上之應用 台肥季刊 第48卷 第4期。
- 萬鍾汶 2007 台灣農業生技之產業規模與發展現況 農政與農情 185: 66-72。
- 台灣經濟研究院 2009 農業生物技術領域產業發展現況及規劃報告 臺北。
- 北京中聯金橋信息技術研究院 2011 2012-2015 年中國生物肥料市場前景分析與投資戰略研究諮詢報告。
- Lanzhu, J. I. 2003. Fertilization in the third Millennium - fertilizer, food security and environmental protection. Published by CIEC editorial board in cooperation with the Chinese Academy of Sciences (CAS) in China.

The Development and Prospect of the Microbial Fertilizer Industry in Taiwan

Chung-Ho Chang

Manager, Sales Department of Fertilizer, Fwusow Industry Co., Ltd.

Corresponding author. E-mail: chchang@fwusow.com.tw

ABSTRACT

The development of fertilizers in future of the third Millennium is based on the food security, environmental protection and the innovational products with more efficiency of fertilizers. Microbial fertilizer is the new product that corresponds to the international academic research and the development of the industry as a result of the fertilizer functions (Nitrogen fixation, phosphate, solubilization and degradation) and other functions (Improvement of plant growth, stress resistance and adaptation, rhizosphere protection, detoxication, advancement of flowering and fruiting and reduction of plant diseases), and it's enhancement of nutrition in soil plays an important role in organic agriculture. The Council of Agriculture (hereafter abbreviated as "the Council") of the Executive Yuan of ROC has increased 6 items of microbial fertilizer includes legume root-nodule bacterial , nitrogen-fixing bacteria, phosphate solubilizing bio-fertilizer, potassium solubilizing bio-fertilizer, complex microbial fertilizer and arbuscular mycorrhizal fungi since 29 July 2010. For the management of fertilizer and modification of the regulation for application and issuance of fertilizer registration certificate, to apply for a microbial fertilizer registration certificate, a fertilizer manufacturer or importer shall submit a test report for crop toxicity, biological toxicity and ecological assessment. The Council has announced the microbes certified as safety for fertilizer use, including 8 bacteria, 4 fungi and 4 yeast, total 16 microorganism that can be used as a foundation to apply for a microbial fertilizer registration certificate since 3 June 2011. Until 11 February 2014, there have been 13 phosphate solubilizing bio-fertilizers which contain microbial fertilizer registration certificates in Taiwan. With the help of the Council and the national program, the R&D direction of bio-fertilizers has been toward to the high quality and multi-function of the complex bio-organic

fertilizers and the bio-technology fertilizers. For the development of fertilizer market, the Technology Transfer, R&D program of industry-academic cooperation, cooperative education between college and enterprise, technology R&D of the Innovation Incubation Center are the trend in the future.

Key words: Microbial fertilizer, Fertilizer registration certificate, Biological security, Market.