

# 利用白殭菌防治甘藷蟻象

蘇智勇 邱天生<sup>1</sup>

## 摘 要

甘藷蟻象 (sweet potato weevil, *Cylas formicarius*) 是甘藷最重要害蟲。白殭菌 (*Beauveria bassiana*) 接種在PDA培養基上，放置在5°、10°、15°、20°、25°及30°C之恆溫箱內，培養至菌絲出現，所需時間分別為696、264、120、82、58及58小時。在20°C~30°C條件下，白殭菌濃度在 $1.06 \times 10^4$  spores/ml，蟻象死亡率為85%，而 $1.59 \times 10^4$  spores/ml以上則達100%之死亡率。甘藷於種植作畦時撒施含白殭菌之大豆 (300g/20m<sup>2</sup>) 可有效地防治甘藷蟻象。白殭菌可感染蟻象成蟲之肌肉、脂肪體，氣管被膜及消化管細胞。白殭菌接種96~120小時後，蟻象體腔則充滿菌絲，終至蟲體覆蓋著白色的菌絲而成木乃伊。

## 前 言

甘藷蟻象 (Sweet potato weevil, *Cylas formicarius*) 是甘藷最重要害蟲。受甘藷蟻象為害之甘藷，即失去經濟價值。台灣目前農民完全依賴化學殺蟲劑防治此一害蟲，若使用時機不當，則會造成殘毒問題及有污染環境之虞。

白殭菌 (*Beauveria bassiana*) 屬於真菌類，寄主範圍甚廣，如鞘翅目昆蟲 (Beratiief, 1979; Delattre & Jeanbart, 1978; Fargues et al., 1980; Gottwald & Tedders, 1982; Sheman & Tanashiro, 1954; Wulf, 1982; Yule and Poprawaki, 1983); 鱗翅目昆蟲 (Al-Hassan et al., 1980; Grehan, 1982; Ignoffo et al., 1982; Khawaja et al., 1982; Riba, 1984) 及其他蟲類均有被感染之記錄。白殭菌感染甘藷蟻象已有報告 (Castineiras et al., 1984; Su et al., 1988)。白殭菌不但可以用天然物培養，亦可用一般培養基培養 (Kimitowa, 1980; Sanzhimitupova & Hal'vish, 1980; Smith & Grula, 1981)，但其生長會受濕度高低的影響 (Riba & Marcandier, 1984)。白殭菌藉機械及酵素作用之助，菌絲可直接穿入昆蟲表皮而感染 (Vey & Fargus, 1977); 有經呼吸系統而感染 (Pekrul & Grula, 1979)。白殭菌穿入昆蟲體內，可感染脂肪體、腸道組織，馬氏管，絲腺，肌肉及氣管被膜 (Pekrul & Grula, 1979)，但因昆蟲種類不同，感染的組織而異。已有許多報告指出使用白殭菌來防治害蟲 (Fargues et al., 1980; Riba, 1984)，故微生物防治方法，值得研究及開發。

本文的目的在於白殭菌的培養溫度，白殭菌感染蟻象，白殭菌病組織變化，溫度及

1. 本場副研究員及技術員。



白殭菌濃度對蟻象死亡率之影響，及田間防治之篩選，做為防治之參考。

## 材料與方法

### 一、供試昆蟲：

甘藷蟻象由亞洲蔬菜研究發展中心提供，在實驗室飼育。將甘藷塊根分裝于二層的尼龍紗網袋，然後釋放蟻象成蟲，使其產卵，孵化、化蛹、羽化，大約40~50天更換新鮮甘藷塊根（25℃），繼代飼育，做為實驗時的材料。

### 二、供試菌種：

本實驗所用之白殭菌由甘藷蟻象的病蟲，純化培養而來，以做實驗的材料。

### 三、實驗方法

#### (一)甘藷受甘藷蟻象為害之被害率調查

在高屏、澎湖產甘藷地區，收穫時逢機調查100個藷塊，受蟻象為害與否？加以記錄。由各調查區各取回5公斤藷塊攜回實驗室、解剖、計算幼蟲、蛹及成蟲數，並加以記錄，以便瞭解蟻象為害情形，以為將來防治與否之參考。

#### (二)溫度對白殭菌發育之影響

白殭菌接于PDA培養基上，放置於5°、10°、15°、20°、30°、35°及40℃之恆溫箱中。每一處理，五重複。每8小時觀察菌絲發育情形，記錄所需時間，以篩選出最適宜的條件，做為大量繁殖之參考。

#### (三)溫度及白殭菌濃度對蟻象致病率之影響

在20℃、25℃及30℃的條件下，將培養皿（3×9cm）內盛有1cm厚之土壤，各噴 $1.59 \times 10^7$ 、 $1.59 \times 10^5$ 、 $0.32 \times 10^5$ 、 $1.59 \times 10^4$ 、 $1.06 \times 10^4$  spores/ml及噴施無菌水為對照組等6種處理。每一處理，三重複。每一培養皿，放進20隻成蟲。每日觀察其存活情形，記錄感染致死蟲數。所得資料，以Duncan's multiple range test分析其顯著差異性。

#### (四)田間試驗

1987—1988年在內門鄉進行試驗。每重複面積20m<sup>2</sup>，分成三畦。每處理，四重複。試驗設計，採用完全逢機區集設計。處理分別為（1）種植作畦及塊根形成時，各噴施 $1.626 \times 10^4$  spores/ml一次；（2）種植作畦時，撒含白殭菌之大豆，300g/20m<sup>2</sup>于畦底；（3）種植作畦時，撒80g/20m<sup>2</sup> 3%Furadan G于畦底；（4）種植作畦時，撒90g/20m<sup>2</sup> 2.5% Dursban G于畦底；（5）對照區。在塊根形成時，釋放蟻象一袋（每重複）。收穫時，每處理每重複調查100個藷塊，記錄蟻象為害藷塊與否數量。每處理每重複，取回2kg藷塊，解剖，計算蟻象數。用Duncan's multiple range test分析其顯著差異性。

#### (五)蟻象感染白殭菌病之組織病理變化

培養皿（9×10cm）內盛260g土壤，噴施 $1.59 \times 10^7$  spores/ml，釋放蟻象成蟲。取0、24、48、72、96、及120小時後之蟻象，放入Bouin's solution中固定24小時。依



照一系列的酒精脫水及甲苯透明，浸蜡，包埋。切成 $10\mu$ 厚度，蘇木精及伊紅染色，以加拿大膠封片。俟涼乾後，鏡檢，照相及沖洗照片。

## 結 果

### 一、甘藷受甘藷蟻象為害之被害率調查

由表 1 得知九如受蟻象為害之被害率為56.7%（每公斤藷塊內幼蟲30.0隻，蛹21.2隻，成蟲11.4隻）；溪埔為50.0%（每公斤論者塊內幼蟲28.0隻，蛹21.4隻，成蟲15.3隻）；旗南為52.0%（幼蟲18.9隻，蛹10.7隻，成蟲9.9隻）；新園為39%（幼蟲44.0隻，蛹85.5隻，成蟲61.2隻）；內門為29.5為%（幼蟲45.6隻，蛹43.9隻，成蟲33.1隻）；社皮為22.0%（幼蟲2.3隻，蛹0.0隻，成蟲3.1隻）；澎湖為18.8%（幼蟲32.5隻，蛹14.6隻，成蟲12隻）及高郎為7.0%（幼蟲3.0，蛹0.0隻，成蟲0.0隻）。

### 二、溫度對白殭菌發育之影響

在 $35^{\circ}\sim 40^{\circ}\text{C}$ 下，白殭菌並未發育，而在 $5^{\circ}$ 、 $10^{\circ}$ 、及 $15^{\circ}\text{C}$ 下，白殭菌發育緩慢，產生菌絲體所需時間甚長，生產的菌落亦較稀疏；在 $20^{\circ}$ 、 $25^{\circ}$ 及 $30^{\circ}\text{C}$ 下，生長快，菌落密而緊，為培養白殭菌較適合之溫度（表 2）。

### 三、溫度及白殭菌濃度對蟻象致病率之影響

在 $30^{\circ}\text{C}$ 時，所有供試的孢子濃度，蟻象的致病率均達100%；在 $20^{\circ}\text{C}$ 及 $25^{\circ}\text{C}$ 時，除 $1.06\times 10^4\text{ spores/ml}$ 處理的致病率別為73.5%及85.0%外，其他處理濃度均為100%。處理間均無顯著差異，但與對照均達顯著差異性（表3）。

### 四、田間試驗

四個處理區與對照區，呈顯著差異性。其中以撒 $300\text{g}/20\text{m}^2$ 于畦底的含白殭菌之大豆最佳，其次為種植作畦及塊根形成時噴施 $1.626\times 10^4\text{ spores/ml}$ （表4）。

### 五、蟻象感染白殭菌之組織病理變化。

由圖1 得知脂肪體、肌肉完整無缺。處理24小時後，脂肪體已明顯附著有菌絲存在（圖2）。處理96小時後，脂肪體完全破壞無存，而充滿菌絲（圖3）。處理72小時後，肌肉已成離崩現象，體表附著許多菌絲（圖4）。處理96小時後，肌肉幾乎離碎，充滿菌絲（圖5）。處理120小時後，體內充滿菌絲，體外亦附有菌絲（圖6）。

## 討 論

調查高屏及澎湖地區，得知八個地點的為害率差異甚大，如澎湖的為害率為18%，而藷塊內存活的蟲數不少；新園的為害率為39.0%，藷塊內蟲數最多；高郎的為害率僅7.0%每公斤藷塊內僅有3隻。可能由於種植甘藷品種，土壤種類、酸碱度或施藥種類及方式不同，灌排水差異等因素所造成的。除高郎外，其他地區的為害率均高，防治甚為重要，否則生產必受損失。

白殭菌在PDA上生長在一定的溫度範圍內，隨著溫度上升，生長的速率亦隨著加速。白殭菌可在許多培養物上生長效果甚佳（Kimitowa, 1980; Sanzhimitupova,



Hal'vish, 1980), 則有待探討, 故溫度實為影響白殭菌生長的重要因子之一。白殭菌若要大量生產,  $20^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$  為最有利的溫度條件。溫度高時, 蟻象罹病致死的時間短, 但致死必達一定限制劑量, 否則昆蟲雖會感病, 但仍有恢復之可能, 所以白殭菌的濃度, 亦為限制因子之一。白殭菌感染昆蟲範圍甚廣, 但因昆蟲種類, 表皮構造, 蟲體大小, 氣孔構造及開關情況, 傷口有否, 表皮所含化學物質, 均會影響昆蟲致病率, 故昆蟲的需求濃度就有所不同 (Beratiief, 1979; Delatlre & Jean-Bart, 1978; Grehan, 1982, Ignoffo et al., 1982; Ignoffo et al., 1983)。白殭菌的濃度, 必需配合適宜溫度, 孢子始能萌芽, 方能感染昆蟲。除溫度與白殭菌的濃度外, 濕度亦是影響因子之一 (Riba & Marcander, 1984), 特別是田間防治, 尤需注意微氣候, 其會影響防治的成敗。1987~1988年在內門的田間試驗, 甘藷蟻象為害率及藷塊內存活的蟻象數, 均呈顯著差異性, 撒含白殭菌的大豆, 效果最佳, 尤於化學殺蟲劑, 若能在防治做適度的調整, 定可獲更佳的效果, 將來即可能取代或與殺蟲劑交互使用, 可避免葯劑帶來的諸多問題之疑慮。Fargues et al., (1980) 指出噴施白殭菌可有效防治馬鈴薯甲蟲; 金龜子 (Khawaja et al., 1982); 玉米螟 (Riba, 1984) 亦能有效的被抑制。若要完全防治甘藷蟻象, 處理時間, 使用次數或使用孢子濃度等問題, 務必進一步探討。

白殭菌一般由菌絲直接貫穿表皮 (Lefebvre, 1931; Vey & Fargues, 1977; Ferron, 1978) 或經由消化道 (Broome et al., 1976) 及呼吸系統 (Clark et al., 1968; Hedlund & Pass, 1968)。本試驗的結果顯示在接種24~48小時內, 脂肪體即發生破壞及感染現象, 而 *Heliothis zea* 的脂肪體被破壞, 需60~72小時 (Pekrul & Grula, 1979)。甘藷蟻象除脂肪體外, 氣管被膜細胞及肌肉亦同樣被感染, 但 *Lamprosema lateritialis* 的脂肪體, 絲腺, 馬氏管及腸道均有菌絲生長 (Atuahene & Doppelreiter, 1982)。上述的現象, 因昆蟲的不同, 處理的劑量, 菌的品系之不同, 故可染的組織或器官有所差異。白殭菌是蟻象的致死因子 (Castineiras et al., 1984; Su et al., 1988), 故值得研究及發展。



Table 1. The damage rate(%) of sweet potato caused by sweet potato weevil, *Cylas formicarius*, at different locations

| Location     | Damage (%) | Number of sweet potato weevil/kg |       |       |
|--------------|------------|----------------------------------|-------|-------|
|              |            | Larvae                           | Pupae | Adult |
| Chiu-Ju      | 56.7       | 30.0                             | 21.2  | 11.4  |
| Shi-Buu-Liau | 53.0       | 28.0                             | 21.4  | 15.3  |
| Chi-Nan      | 52.0       | 18.9                             | 10.7  | 9.9   |
| Hsing-Yen    | 39.0       | 44.0                             | 85.5  | 61.2  |
| Ney-Man      | 29.5       | 45.6                             | 43.9  | 33.1  |
| Sheh-Pyi     | 22.0       | 2.3                              | 0.0   | 3.1   |
| Peng-Hwu     | 18.8       | 32.5                             | 14.6  | 12.0  |
| Kao-Lang     | 7.0        | 3.0                              | 0.0   | 0.0   |

Table 2. Inoculation of *Beauveria bassiana* into PDA until hyphal appearance at different temperatures

| Temperature (°C) | Hours (hrs) |
|------------------|-------------|
| 5                | 696         |
| 10               | 264         |
| 15               | 120         |
| 20               | 82          |
| 25               | 58          |
| 30               | 58          |
| 35               | —           |
| 40               | —           |



Table 3. Influence of sweet potato weevil, *Cylas formicarius*, mortality with temperature and concentrations of *Beauveria bassiana*

| Concentration( spores/ml) | Mortality(%) |
|---------------------------|--------------|
| 20°C                      |              |
| 1.59 x 10 <sup>7</sup>    | 100.0 a      |
| 1.59 x 10 <sup>5</sup>    | 100.0 a      |
| 0.32 x 10 <sup>5</sup>    | 100.0 a      |
| 1.59 x 10 <sup>4</sup>    | 100.0 a      |
| 1.06 x 10 <sup>4</sup>    | 73.5 a       |
| Control                   | 20.0 b       |
| 25°C                      |              |
| 1.59 x 10 <sup>7</sup>    | 100.0 a      |
| 1.59 x 10 <sup>5</sup>    | 100.0 a      |
| 0.32 x 10 <sup>5</sup>    | 100.0 a      |
| 1.59 x 10 <sup>4</sup>    | 100.0 a      |
| 1.06 x 10 <sup>4</sup>    | 85.0 a       |
| Control                   | 10.0 b       |
| 30°C                      |              |
| 1.59 x 10 <sup>7</sup>    | 100.0 a      |
| 1.59 x 10 <sup>5</sup>    | 100.0 a      |
| 0.32 x 10 <sup>5</sup>    | 100.0 a      |
| 1.59 x 10 <sup>4</sup>    | 100.0 a      |
| 1.06 x 10 <sup>4</sup>    | 100.0 a      |
| Control                   | 15.0 b       |

Values with same letter is not significantly different at 5% level according to Duncan's multiple range test.



Table 4. The evaluation of *Beauveria bassiana* and insecticides for control of sweet potato weevil, *Cylas formicarius*, in the field

| Treatment                                                                            | Damage(%) | Number of insects/kg |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----------------------|
| Spraying $1.626 \times 10^4$ spores/ml<br>at planting and rootstock formation        | 32.8 b    | 12.0 c               |
| Broadcasting fungus contained<br>soybean 300 g into the burrow<br>of row at planting | 27.8 c    | 4.9 c                |
| Broadcasting 3% Furadan G, 80 g<br>into the burrow of row at planting                | 30.8 bc   | 22.5 b               |
| Broadcasting 2.5 % Dursban G, 90 g<br>into the burrow of row at planting             | 34.3 b    | 20.5 bc              |
| Control                                                                              | 43.5a     | 42.1a                |

Location : Ney-Man; Planting date : Oct. 17, 1987; Plot size : 20 m<sup>2</sup>

Column means followed by the same letter are not significantly different at 5% level according to Duncan's multiple range test.



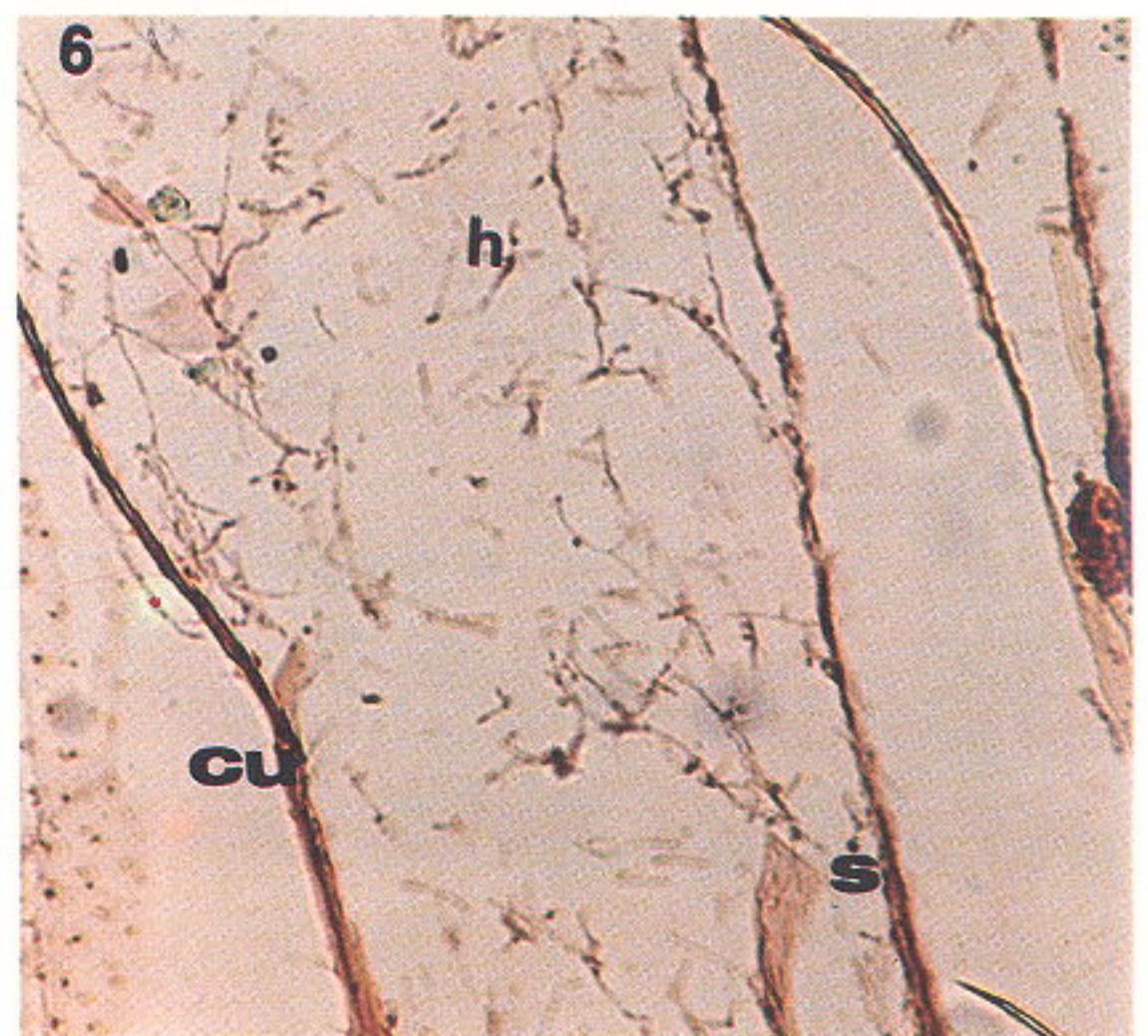
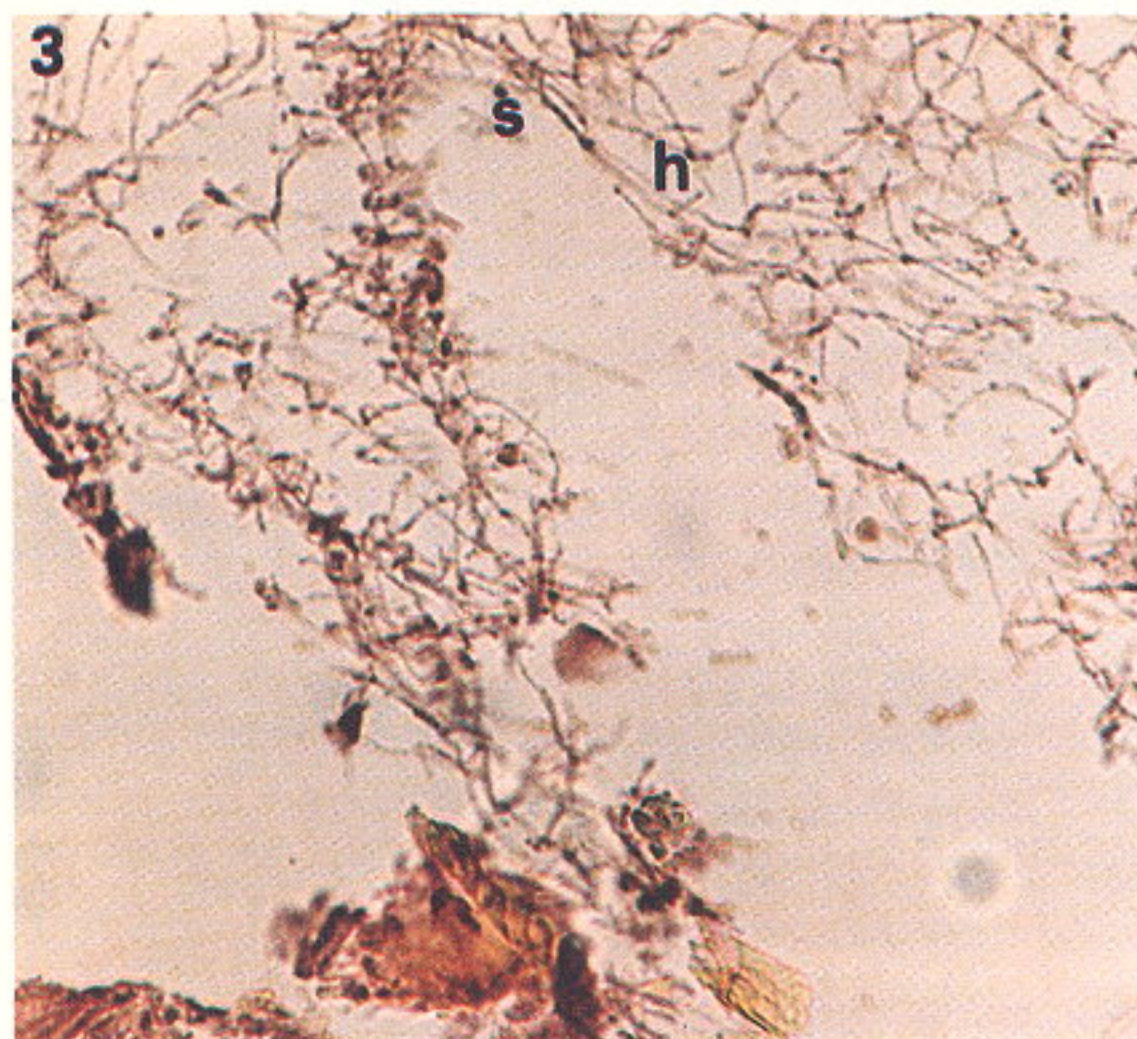
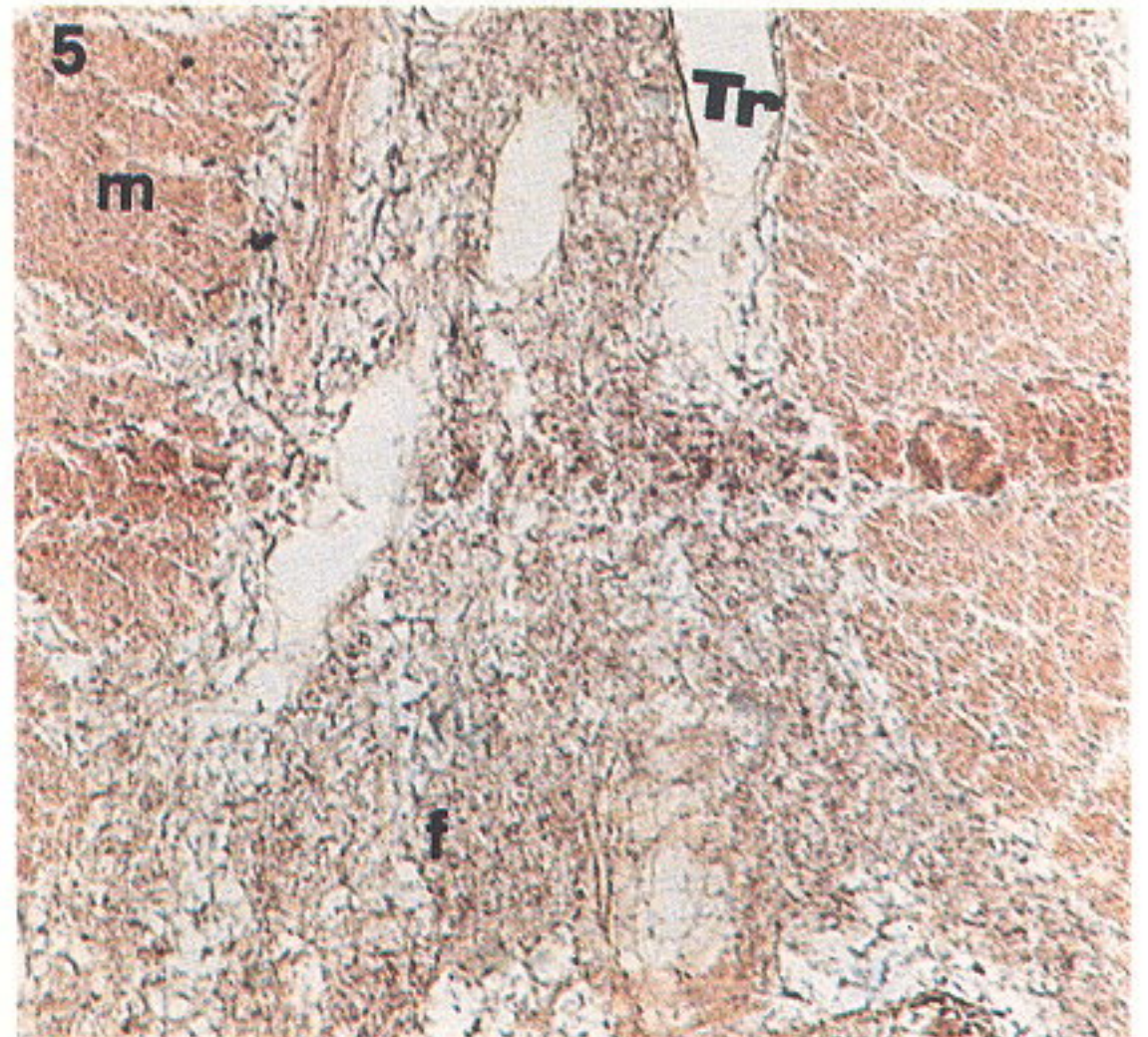
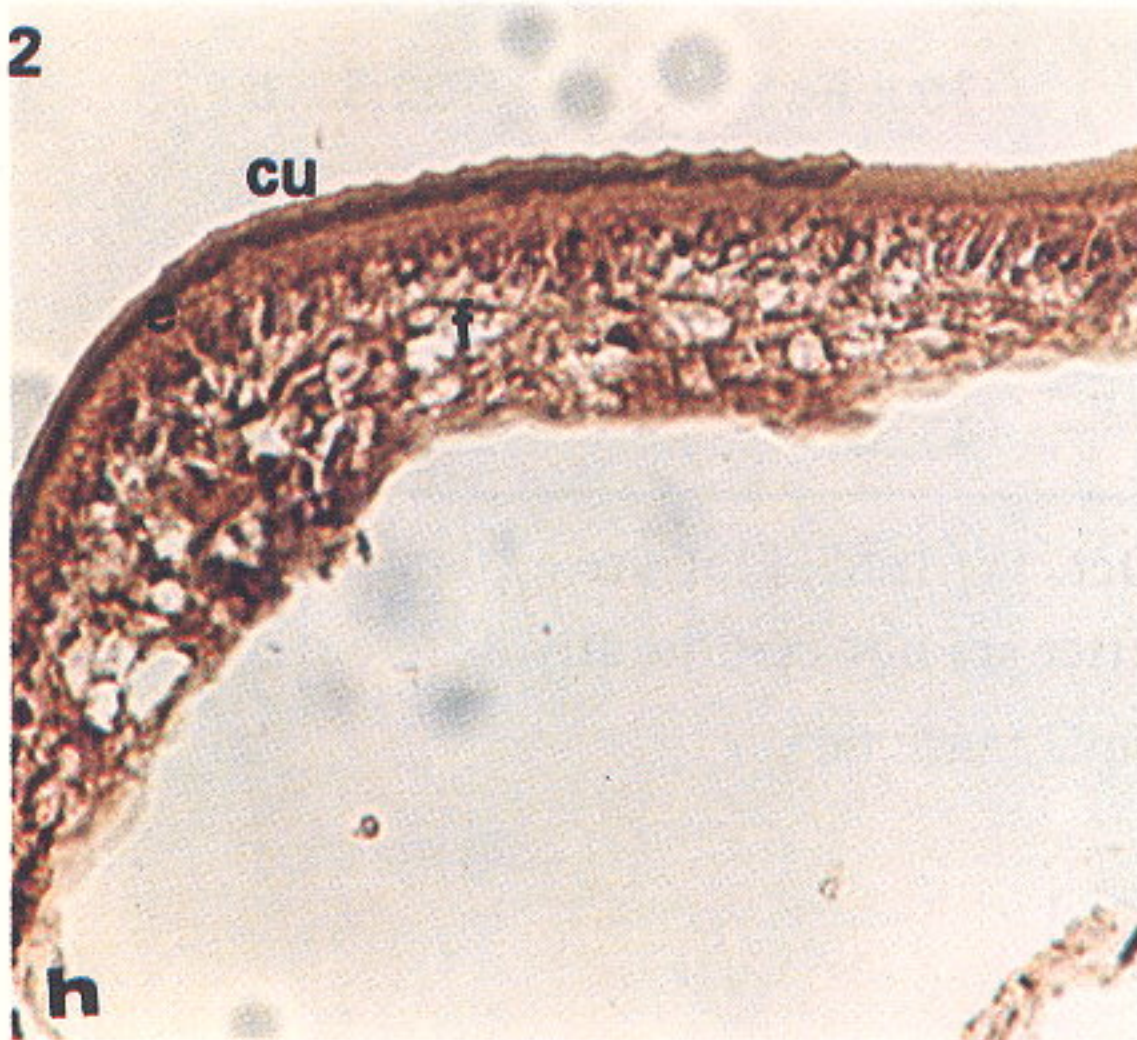
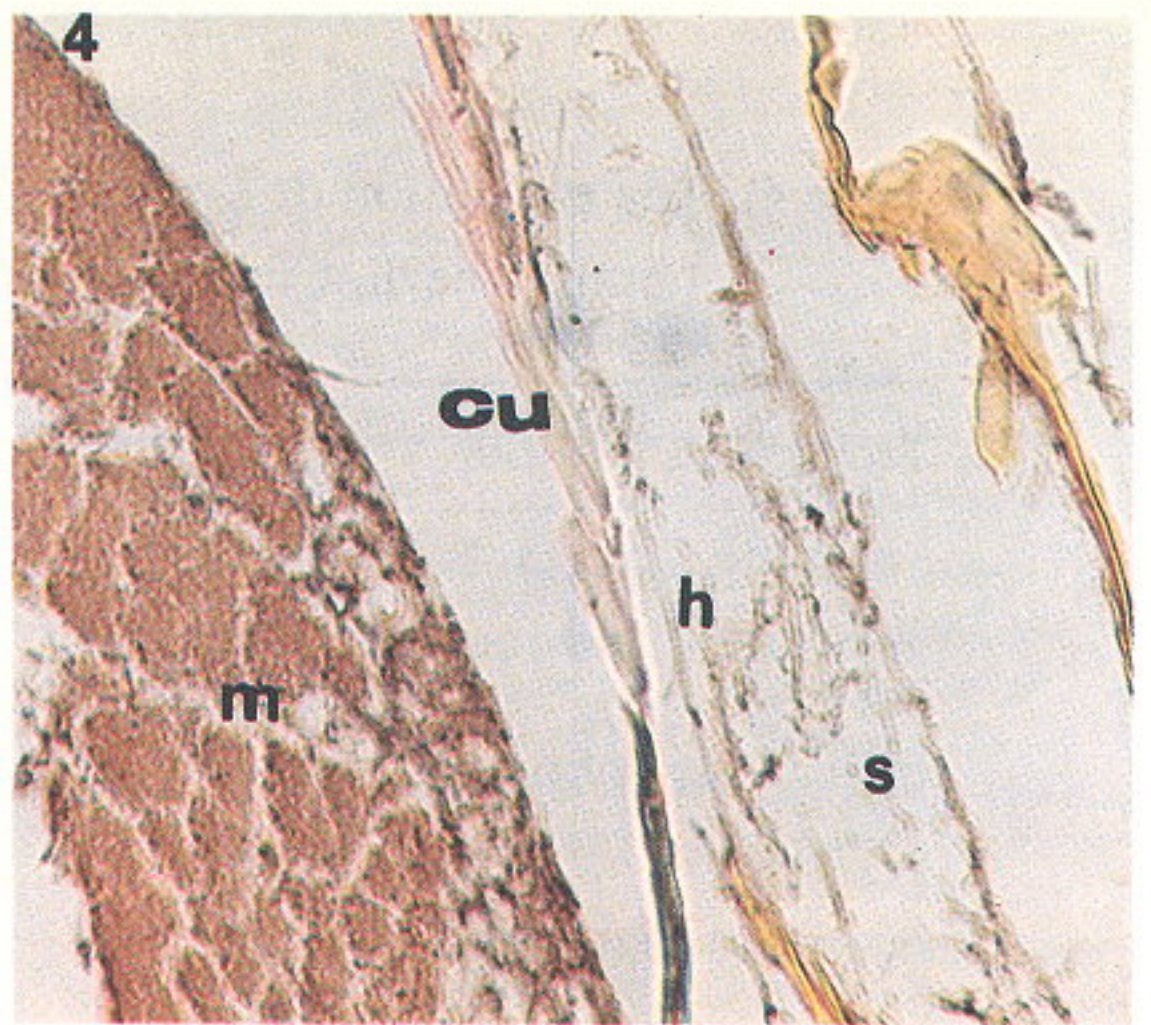
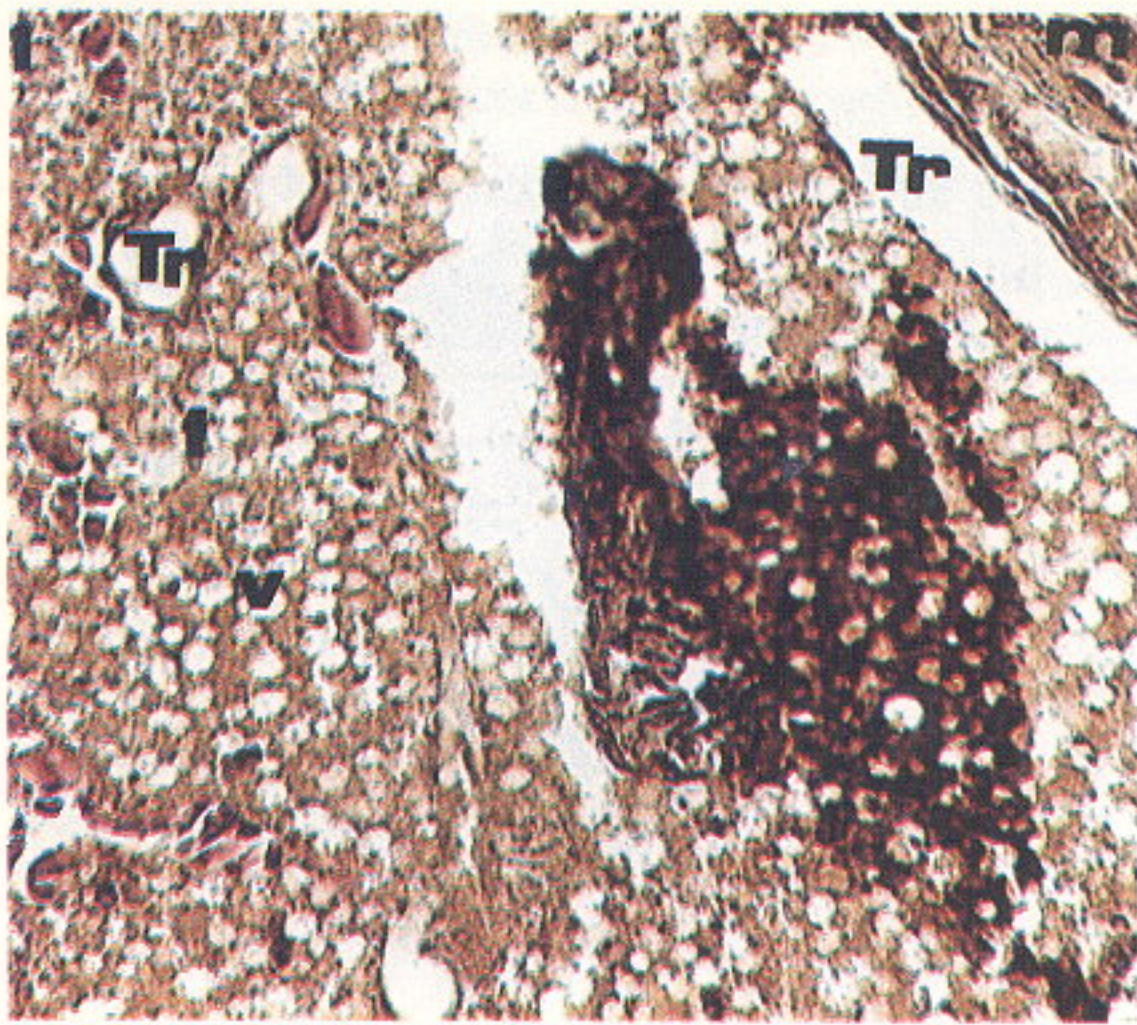


Fig.1. The normal fat body, trachea and muscle of *Cylas formicarius* adult. 400x. m : muscle; f : fat body cells ; v : vacuole ; Tr : trachea

Fig.2. The fat body cells of *C. formicarius* adult 24 hr after inoculation with *Beauveria bassiana*. 400x. cu : cuticle ; e : epidermal cells ; f : fat body cells ; h : hypha

Fig.3. The fat body cells of *C. formicarius* adult 96 hr after inoculation with *B. bassiana*. 400x. h : hypha ; s : spores.

Fig.4. The muscle cells of *C. formicarius* adult 72 hr after inoculation with *B. bassiana*. 400x. m : muscle ; h : hypha ; s : spores ; cu : cuticle

Fig.5. The muscle cells of *C. formicarius* adult 96 hr after inoculation with *B. bassiana*. 400x. m : muscle ; s : spores ; f : fat body cells ; Tr : trachea

Fig.6. The body cavity of *C. formicarius* adult 120 hr after inoculation with *B. bassiana*. 400x. h : hypha ; s : spores ; cu : cuticle



## 引用文獻

- Al-Hassan, K. K., I. A. Swair, and E. M. Thiab. 1980. Iraq-parasitization of datepalm stem borer by *Beauveria bassiana*. Plant prot. Bull., FAO 28 : 78—79.
- Atuahene, S. K. N., and H. Dopplereiter. 1982. Histopathological observations on *Beauveria bassiana* in larvae of *Lamprosoma lateritoalis*. Z. Ang. Ent., 93 : 456—463.
- Beratiief, S. 1979. Investigations on the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and its action on the Colorado beetle and the beet weevil. Analete Inst. de cercetari pentru Prot. Plant: 151 : 233—241.
- Castineiras, A., Tania Cabrera, A. Calderon., Y. Olga Obregon. 1984. Virulencia de cuatro cepas de *Beauveria bassiana* sobre adultos de *Cylas formicarius*. Prot. de Plantes 7 : 67—74.
- Clark, R. A., R. A. Casagrande and D. B. Wallaco. 1982. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana* a pathogen of the Colorado potato beetle. Environ. Entomol., 11 : 67—70.
- Delattre, P., and A. Jean-Bart. 1978. The effect of entomopathogenic fungus on adults of *Cosmopolites sordidus*. Turriaba 28 : 287—293.
- Fargues, J., J. P. Cugier, and P. van de Weghe. 1980. Plot experiments on the fungus, *Beauveria bassiana* against *Leptinotarsa secemilineata*. Oecologia Applicata 1 : 49—61.
- Ferron, P., and P. H. Robert. 1979. Virulence of entomopathogenic fungus for the adults of *Acanthoscelides obtectus*. J. Invertebr. Pathol., 25 : 379—388.
- Gottwald, T. R., and W. L. Tedders. 1982. Studies on conidia release by entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from adult pecan weevil cadavers. Environ. Entomol., 11 : 1274—1279.
- Grehan, J. R. 1982. Infection of *Aenetus virescens* larvae by the fungus, *Beauveria bassiana*. New Zealand Entomol., 71 : 327—329.
- Hedlund, R. C., and B. C. Pass. 1968. Infection of the alfalfa weevil, *Hypera postica*, by the fungus, *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol., 11 : 25—34.
- Ignoffo, C. M., C. Carcia, M. Kroha, A. Samsinakova and S. kalalova. 1983. A leaf surface treatment bioassay for determining the activity of conidia of *Beauveria bassiana* against *Leptinotarsa decemilineata*. J. Invertebr. Pathol., 41 : 385—386.
- Ignoffo, C. M., C. Carcia, M. Kroha, and T. L. Cough. 1982. Use of larvae of *Trichoplusia ni* to bioassay of *Beauveria bassiana*. J. Econ. Entomol. 75 : 275—276.



- Khawaja, P., I. A. Hafiz, and M. I. Chaudhry. 1982. Trial of *Beauveria bassiana* -A pathogenic fungus against larvae of *Piesmopoda obliquifasciella*, a leaf sticher of *Cassia fistula*. Pakistan J. Forestry 32 : 160-165.
- Kimitowa, K. 1980. The effect of different amounts of nitrogenous compounds in the culture medium on the growth and pathogenicity of Entomopathogenic fungus. Sciences Biol., 27 : 949-953.
- Lefebvre, C. L. 1931. Preliminary observations on two species of *Beauveria bassiana* attacking the corn borer, *Pyrauster nubilalia* Hubner. Phytopathology 21 : 1115-1128.
- Pekrul, S., and E. A. Grula. 1979. Mode of infection of the corn earworms by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. J. Invertebr. Pathol., 34: 238-247.
- Riba, G. 1984. Application in field plot tests of an artificial mutant of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against the maize pyralid, *Ostrinia nubilalis*. Entomophaga, 29 : 41-48.
- Riba, G., and S. Marcandier. 1984. The effect of relative humidity on the virulence and viability of conidia of *Beauveria bassiana* and *Matarzium anisopliae*, hyphamycetes pathogenic to the European corn borer. Agronomie, 4 : 189-194.
- Sanzhimitupova, R. D., and T. K. hal'vish. 1980. Effect of the carbon and nitrogen on the growth and development of the causal agents of mycoses of the sea buckthorn moth. Izvestiya Sibirakogo Otdeleniya Akademil Nauk(SSSR) Biol., 10 : 57-62.
- Sheman, M., and M. Tanashire. 1954. The sweet potato weevil in Hawaii-their biology and control. Tech. Bull. (Hawaii Univ.,) 23: 1-36.
- Smith, R. J., and E. A. Grula. 1981. Nutritional requirements for conidia germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol., 37 : 222-230.
- Su, C. Y., S. S. Tzean, and W. H. Ko. 1988. *Beauveria bassiana* as the lethal factor in a Taiwanese soil pernicious to sweet potato weevil. J. Invertebr. pathol., 52 : 195-197.
- Vey, A., and J. Fargues. 1977. Histological and ultrastructural studies of *Beauveria bassiana* infection in *Leptinotarsa decemlineta* larvae during ecdysis. J. Invertebr. Pathol., 30 : 207-215.
- Wulf, A. 1983. Studies on the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* as a parasite of the bark beetle, *Pityogenea chalcographus*. Z. Ang. Entomol., 95 : 34-46.
- Yule, W. N., and T. J. Poprawaki. 1983. Microbial control of white grubs in soil. Dep. Agric. and Mart. (Nova Scotia): 64-65.