

蟲生真菌-淡紫菌TNZZS6 防治荔枝椿象之應用潛力

文/圖 ■ 林慧婷、陳盈丞、蔡小涵

前言

荔枝椿象 (*Tessaratoma papillosa* (Drury)) 於2009年首次入侵臺灣本島，目前已普遍發生於全臺無患子科植物。荔枝椿象在雲嘉南地區主要危害龍眼，於2016年開始零星發生，至2020年，幾乎所有龍眼產區皆已淪陷。目前田間防治方法為多管齊下，因應荔枝椿象的生長習性，搭配不同的防治策略，目前主要透過化學防治配合摘卵及釋放卵寄生蜂-平腹小蜂等方式，進行共同防治。惟龍眼開花期為避免傷害授粉昆蟲，無法使用化學藥劑防治，僅能使用物理防治及天敵防治，為能提高防治效率，應找尋其他可配合之防治手段。本場2018年於臺南市南化區龍眼發現疑似蟲生真菌感染之荔枝椿象成蟲個體，死亡蟲體呈僵硬狀

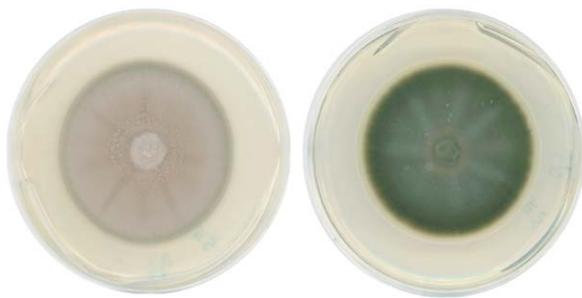


圖一、疑似蟲生真菌感染之荔枝椿象

環抱枝梢或僵直攀附於葉表/背，自其口器、觸角、體節間隙及氣孔可觀察到菌絲及分生孢子束，且表面佈滿淡紫色之分生孢子，期許能成為荔枝椿象之微生物防治天敵之用，成為荔枝椿象整合防治管理的一環。

淡紫菌培養及致病能力探討

荔枝椿象蟲生真菌之致病性及菌種鑑定依循柯霍氏法則來進行，利用組織分離及單孢分離純化該蟲生真菌菌種，以馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (potato dextrose agar, PDA) 置於26°C恆溫及光照時間12小時之生長箱培養。該菌種生長初期呈白色菌落，粉絮狀氣生菌絲，菌落外緣平整，隨菌落生長其表面佈滿粉紫色分生孢子，菌落顏色轉為淡紫色且具放射狀溝槽，菌落背面產生擴散性暗紫色色素。



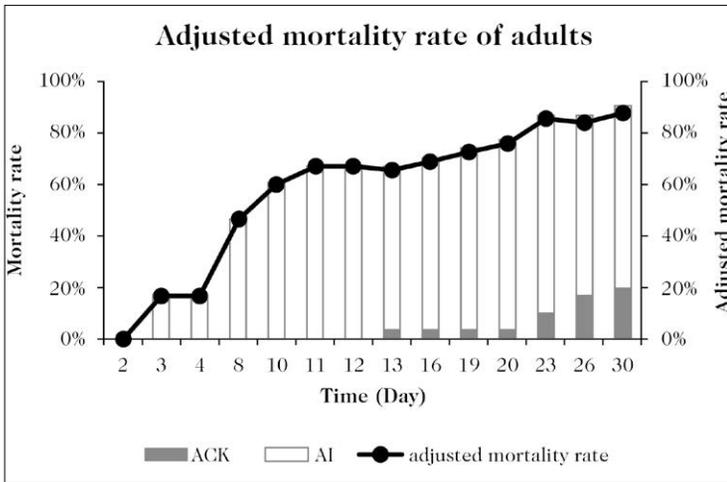
圖二、蟲生真菌-淡紫菌之菌落型態

室內接種試驗證實，在28°C恆溫及相對溼度80%恆濕條件下，以0.05% tween20製備之孢子懸浮液（濃度為 1×10^8 spores/ml）接種荔枝椿象成蟲及若蟲皆可造成蟲體感染及死亡，荔枝椿象成蟲於接種後第30天的死亡率為88%；而荔枝椿象若蟲於接種後第30天的死亡率為50%。死亡蟲體同樣呈現僵直硬化狀，於其體節間隙及氣孔皆可觀察

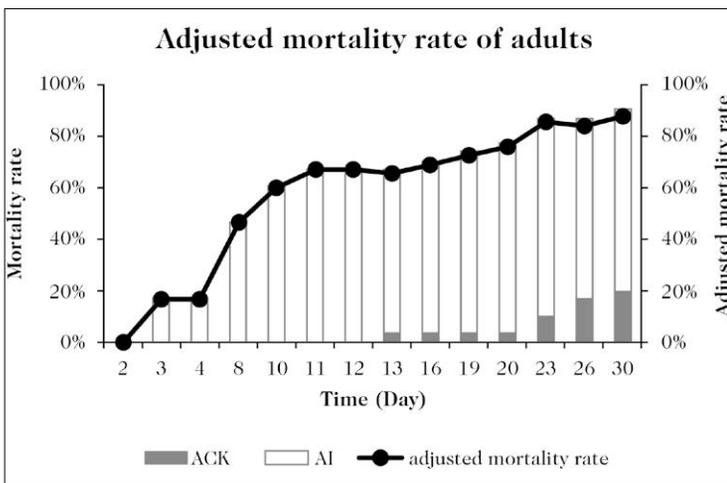
到與分離蟲體相同的白色絨毛狀菌絲、分生孢子束及淡紫色分生孢子。將組織再次分離純化至馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基，產生與接種菌種相同之淡紫色菌落型態。結果顯示該蟲生真菌菌種對荔枝椿象成蟲及若蟲皆具有致病性，展現其發展為微生物製劑之潛力。

菌種鑑定

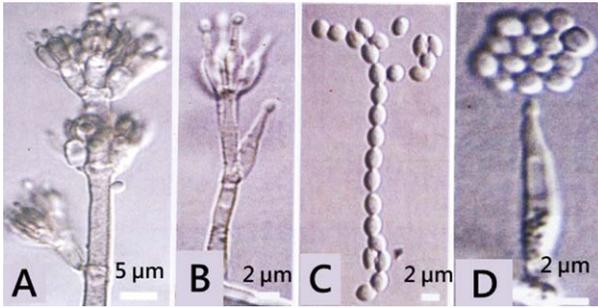
本場委託食品工業發展研究所進行荔枝椿象蟲生真菌之菌種鑑定，依據菌落形態特徵、顯微構造及分子生物學技術進行分類鑑定，菌株之無性產孢構造之特徵描述如下：分生孢子柄自菌落表面菌絲生長，外壁粗糙呈半透明、淺褐色至褐色，寬約2~4 μm (3.3 μm)，分生孢子柄頂部著生輪生分枝 (verticillate branches)，每個分支點上常會形成3~6個瓶狀產孢細胞 (phialides)，有時瓶狀產孢細胞會直接自氣生菌絲長出，單生、互生或對生，或是形成短梗，短梗末端形成1~6個瓶狀產孢細胞。瓶狀產孢細胞呈半透明至淺褐色，長約5~8 μm (6.8 μm)，寬約2~3 μm (2.4 μm)，瓶身基部偶爾膨大、頂端縊縮呈短細頸狀。分生孢子串生，形狀為檸檬狀、近球狀，單孢，外壁平滑，半透明，孢子大小約為2.5~3.5 \times 1.7~2.5 μm (2.9 \times 2 μm)，聚集時呈現淡紫色。另外具有Acremonium-like的瓶狀產孢細胞，自埋生菌絲側邊或末端長出，呈細頸瓶狀至圓柱狀，長度變化大，有



圖三、淡紫菌TNZZS-6菌株感染荔枝椿象成蟲死亡率
(ACK：荔枝椿象成蟲對照組；AI：荔枝椿象成蟲接種處理組)



圖四、淡紫菌TNZZS-6菌株感染荔枝椿象若蟲死亡率
(NCK：荔枝椿象若蟲對照組；NI：荔枝椿象若蟲接種處理組)



圖五、淡紫菌TNZZS6菌株之顯微構造。(A) 瓶狀枝、(B) 瓶狀枝基部膨大、(C) 串生分生孢子、(D) 分生孢子黏性頭狀成團

時會退化成菌絲側邊的釘狀突起。分生孢子聚集呈黏性頭狀成團 (slimy head)，形狀為近球形、橢圓形，單孢，外壁平滑，透明，約為 $3\sim 7 \times 2\sim 2.5\mu\text{m}$ ($4.1 \times 2.3\mu\text{m}$)。

分子生物學特性透過V9G/LR1引子對增幅內轉錄間隔區 (internal transcribed spacer, ITS) rDNA序列，與NCBI GenBank進行比對，結果顯示該菌株與*Purpureocillium takamizusanense* (MK592777)具有100%相似度；另外以983F/EF1-6MR引子對增幅轉譯延長因子 (translation elongation factor, TEF) 序列，與*P. takamizusanense* (LC469050)具有99.83%相似度。綜合形態特徵及分子生物學特性分析結果，鑑定該菌株為淡紫菌*P. takamizusanense*，本場將其命名為*P. takamizusanense* TNZZS6。

淡紫菌分類地位

淡紫菌*P. takamizusanense* (Kobayasi) S. Ban, Azuma & Hiroki Sato屬於子囊菌Ascomycota、囊殼菌綱Sordariomycetes、肉座菌目Hypocreales、線蟲草科Ophiocordycipitaceae、紫孢菌屬*Purpureocillium*之真菌，分布於自然界之土壤、寄主昆蟲及植物體內。

淡紫菌是在蟬科Cicadoidea雷鳴蟬*Oncotympana maculaticollis*成蟲蟲體所發現的(Kobayasi & Shimizu 1963)，感染蟲體表面產生數百個大頭針狀的分生孢子束，其表面覆滿淡紫色的分生孢子。淡紫菌因其形態特徵與擬青黴屬相似，原先是與擬青黴屬*Paecilomyces farinosus*共同分類在*Paecilomyces* sect. *Isarioidea*，然而分子生物學特性卻顯示該菌種與擬青黴屬親緣關係較遠，故重新分類至*Isaria*屬，命名為*Isaria takamizusanensis*。微管蛋白序列比對結果顯示，淡紫菌*I. takamizusanensis*與*I. farinosa*親緣關係較遠，與淡紫擬青黴菌*Paecilomyces lilacinus*親緣關係較近。而依據多基因聯合遺傳發育分析技術淡紫擬青黴菌*Paecilomyces lilacinus*被重新分類至紫孢菌屬*Purpureocillium*，命名為淡紫紫孢菌*Purpureocillium lilacinus*。分類學家成功自淡紫菌*Isaria takamizusanensis*之載孢體conidiomata誘導子囊座的形成，其子囊座型態與*Cordyceps ryogamimontana*相同。於*Cordyceps ryogamimontana*正模標本重新發現與*Isaria takamizusanensis*相同的分生孢子結構。故於2015年，淡紫菌之學名確立為*Purpureocillium takamizusanense*，該學名代表著有性世代*Cordyceps ryogamimontana*及無性世代*Isaria takamizusanensi*之組合 (Ban et al. 2015)。

紫孢菌屬之應用潛力

紫孢菌屬*Purpureocillium*為近年來新建立的屬，目前該屬只有5個種，主要特徵為

表一、淡紫菌TNZZS6菌株之寄主範圍

供試昆蟲	致病性
斜紋夜蛾 <i>Spodoptera litura</i>	-
秋行軍蟲 <i>S. frugiperda</i>	-
黃條葉蚤 <i>Phyllotreta striolata</i>	-
柑橘木虱 <i>Diaphorina citri</i>	+
二點小綠葉蟬 <i>Amrasca biguttula</i>	+
睡蓮蚜 <i>Rhopalosiphum nymphaeae</i>	-
荔枝椿象 <i>Tessaratoma papillosa</i>	+
小黃薊馬 <i>Scirtothrips dorsalis</i>	+
豆花薊馬 <i>Megalurothrips usitatus</i>	+
平腹小蜂 <i>Anastatus schichengensis</i>	-

具有淡紫色的菌落及分生孢子，其模式種為淡紫紫孢菌 *Purpureocillium lilacinus*。紫孢菌屬目前研究最為透徹的為蟲生真菌淡紫紫孢菌，該菌被廣泛應用於防治植物寄生性線蟲，如根瘤線蟲、胞囊線蟲等。淡紫紫孢菌之菌絲附著於線蟲蟲體或卵表面，侵入釘分泌蛋白酶和幾丁質酶來降解體壁或卵殼，隨後入侵感染，於體內寄生繁殖，導致線蟲卵無法孵化、促使幼蟲早產、降低線蟲活動力及導致死亡。此外，淡紫紫孢菌對溫室粉蟲、棉蚜、西方花薊馬、切葉蟻及紅蜘蛛亦展現其防治成效。國外目前已發展淡紫紫孢菌之製劑，其劑型包含粉劑、溶液、顆粒劑及微球劑型等商品化製劑，展現紫孢菌屬之應用潛力。



圖六、不同齡期荔枝椿象感染個體



圖七、柑橘木虱若蟲感染個體



圖八、二點小綠葉蟬成蟲感染個體



圖九、淡紫菌TNZZS6菌株感染小黃薊馬之感染過程。(a)蟲體顏色變得較為混濁呈不透明乳白色、(b)蟲體內出現數個乳白色顆粒、(c)死亡蟲體產孢



圖十、豆花薊馬感染個體

淡紫菌寄主範圍

為評估淡紫菌 *Purpureocillium takamizusanense* TNZZS6 菌株應用於農業害蟲之防治潛力，透過室內接種試驗測試淡紫菌 TNZZS6 菌株之寄主範圍，結果顯示淡紫菌 TNZZS6 菌株除了可感染荔枝椿象之外，亦可感染同為半翅目的柑橘木蝨 *Diaphorina citri* 及二點小綠葉蟬 *Amrasca biguttula*，但無法感染睡蓮蚜 *Rhopalosiphum nymphaeae*。

淡紫菌 TNZZS6 菌株不具備感染鱗翅目害蟲斜紋夜蛾 *Spodoptera litura* 及秋行軍蟲 *S. frugiperda* 的能力，也無法感染鞘翅目害蟲黃條葉蚤 *Phyllotreta striolata*。淡紫菌 TNZZS6 菌株對繆翅目的小黃薊馬 *Scirtothrips dorsalis* 及豆花薊馬 *Megalurothrips usitatus* 具有強感染力。以小黃薊馬為例，鏡檢感染過程可發現被淡紫菌 TNZZS6 菌株感染的小黃薊馬二齡若蟲病程前期體色由透明淡黃色轉變為不透明乳白色，病程中期可於小黃薊馬若蟲體內觀察到數個乳白色顆粒，病程末期小黃薊馬若蟲體表長出該菌菌絲覆蓋整個蟲體表面，若將感染個體置於高濕度條件下，菌絲則會繼續發育產生產孢構造，產生分生孢子繼續傳播給其他小黃薊馬個體，整個感染過程相當短暫，感染 3~6 天即可造成死亡。

同時，探討淡紫菌 TNZZS6 菌株對有益昆蟲的致病力，進行平腹小蜂 *Anastatus schichengensis* 致病性試驗，結果顯示淡紫菌 TNZZS6 菌株無法感染膜翅目平腹小蜂。平腹小蜂為荔枝椿象卵寄生蜂之一，致病性試驗證實該菌株不會感染平腹小蜂，因此建

議未來在訂定荔枝椿象綜合防治策略，龍眼荔枝花期可藉由釋放平腹小蜂及噴施淡紫菌兩種策略共同防治。

綜合上述結果，淡紫菌 TNZZS6 菌株可感染半翅目荔枝椿象、柑橘木蝨、二點小綠葉蟬及繆翅目小黃薊馬及豆花薊馬，其寄主範圍包含 2 目、4 科、5 種，主要仍集中於半翅目害蟲，該菌株對於小型昆蟲之致病過程短，具有應用潛力。

結語

淡紫菌 TNZZS6 菌株為本場 2018 年自荔枝椿象分離純化之蟲生真菌，除感染原寄主荔枝椿象外，淡紫菌 TNZZS6 菌株亦展現對半翅目柑橘木蝨、二點小綠葉蟬及繆翅目小黃薊馬及豆花薊馬之致病性，展現該菌株應用於防治農業害蟲之防治潛力。然而以蟲生真菌做為防治手段，如何生產大量優良品質的製劑是首要且必需突破的工作項目，也唯有如此才有可能成功的達到防治工作，未來將致力於淡紫菌之量產及商品化試驗，加速並放大產能，為荔枝椿象整合防治管理提供生物防治策略之新選項，減少農藥用量，達到安全永續生產之願景。