

出國報告（出國類別：其他，國際會議）

參加「第 40 屆無脊椎動物病理學會年會暨第 1 屆昆蟲病原線蟲
與共生菌國際論壇」會議報告

服務機關：行政院農委會農業藥物毒物試驗所
姓名職稱：高穗生 研究員、謝奉家 助理研究員
派赴國家：加拿大
出國期間：96 年 8 月 10 日至 96 年 8 月 18 日
報告日期：96 年 11 月 8 日

系統識別號：C09601688 與 C09601689

公務出國報告摘要

頁數：9 含附件：無

報告名稱：參加「第 40 屆無脊椎動物病理學會年會暨第 1 屆昆蟲病原線蟲與共生菌國際論壇」報告

主辦機關：行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

聯絡人/電話：高穗生/04-23302101#801；謝奉家/04-23302101#813

出國人員：高穗生 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 研究員

謝奉家 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 助理研究員

出國類別：其他（國際會議）

出國地區：加拿大

出國期間：96 年 8 月 10 日至 96 年 8 月 18 日

報告日期：96 年 11 月 8 日

分類號／目：

關鍵詞：光桿菌，昆蟲病原線蟲，共生菌，微生物防治

內容摘要：本次研討會在 96 年 8 月 12 日至 16 日假加拿大魁北克之 Laval 大學舉行，共有細菌、真菌、病毒、線蟲、微孢子蟲、微生物防治與相關交叉領域等 7 個討論主題和 4 個專題演講，以口頭論文及壁報論文兩種型態進行。有 32 個國家，約 400 人與會，共有 225 篇口頭論文報告和 149 篇壁報展示，本次發表「利用短尾異小桿線蟲的共生細菌光桿菌作為微生物製劑之生物活性探討」口頭論文（附錄一）。研討會內容豐富多樣，除了微生物製劑之討論外，在綜合防治上著墨亦相當多。會中及參訪過程對諸多議題均有深入之探討，並與大會之其他人員交換意見，吸收知識。對台灣本土生物農藥之研發應用有許多新的啟發，對爾後的學術交流，亦奠定良好的基礎。

目 錄

壹、 目的.....	3
貳、 行程.....	3
參、 心得.....	4
肆、 檢討與建議.....	5

附錄一、「利用短尾異小桿線蟲的共生細菌光桿菌作為微生物製劑之生物
活性探討」口頭論文中文摘要

附錄二、會議相關照片

壹、 目的

農委會藥毒所的研究團隊首度篩獲本土蟲生病原線蟲之共生細菌—光桿菌，其生物活性經評估證實對本土之害蟲和植物病原菌，均有相當高的殺蟲和拮抗作用。本次參與國際會議目的就是希望瞭解世界各國在線蟲共生菌與其它微生物農藥領域上的最新進展並分享台灣的最新發現成果。在本次大會中提出口頭論文一篇「利用短尾異小桿線蟲的共生細菌光桿菌作為微生物製劑之生物活性探討 (Bioactivities of *Photorhabdus luminescens* subsp. *akhurstii*, a symbiont of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis brevicaudis*)」，並與大會之其他人員交換意見，吸收知識。本次參加會議承國科會同意提供高穗生組長經費 (NSC 96-2317-B-225-002)，謹此申謝。至於謝奉家助理研究員則由農委會藥毒所補助註冊部份經費，其餘經費自籌。

貳、 行程

8 月 10 日 (五)	台北→溫哥華	去程
8 月 11 日 (六)	溫哥華→魁北克	去程
8 月 12 日 (日) 至 8 月 16 日 (四)	魁北克 Laval University	1.註冊、開幕式。 2.邀請講演、口頭論文報告、壁報論文展示*。 3.發表研究成果報告 4.整理資料。
8 月 17 日 (五)	魁北克→溫哥華	回程
8 月 18 日 (六)	溫哥華→台北	回程

※8月13日 PM16:30-18:30和8月15日 PM16:30-18:30進行壁報論文展示與討論，內容包括：細菌類37篇、微生物防治13篇、病毒類50篇、真菌類30篇、線蟲類13篇、微孢子蟲6篇。

參、心得

無脊椎動物病理學會 (Society of Invertebrate Pathology, SIP) 創立於 1967 年，匯集不同背景但同樣從事無脊椎動物病理研究的人員進行討論及訊息交換，每年在 8 月期間舉辦年會，包含研討會與論文宣讀等。今年為第 40 屆無脊椎動物病理學會年會暨第 1 屆昆蟲病原線蟲與共生菌國際論壇，會議在加拿大魁北克的 Laval 大學舉行，校區頗大，但無明顯界線，與大型超市、政府組織及觀光景點成為一體，相較於台灣校園相當不同。此次會議主辦單位提供學校的學生住宿大樓作為住宿區，便宜且方便。會議的場所與住宿皆在 Laval 大學的校園中，會議的行程安排頗為緊湊，自早上 8 點至晚上 10 皆有會議或研討會進行，會議採取不同主題同時進行，晚餐時間後也在鄰近住宿的會議室安排小型互動研討會，僅有週二中午以後的半天與週四傍晚大會會議全部結束後，安排社會人文景觀參訪活動及歡送晚宴。其中，SIP 每年都會舉辦 5 公里賽跑與競走，依年齡分組，參加人員相當踴躍，值得台灣研究人員借鏡，因為在忙碌的研究生活中仍應注重身體健康。

會議的進行分成數個主題，包含細菌、真菌、病毒、線蟲、微孢子蟲、微生物防治與相關交叉領域等 7 個討論主題，上述主題涵蓋無脊椎動物的病原，其中，蘇力菌、線蟲共生細菌、蟲生真菌與桿狀病毒的主題更是農委會藥毒所生物藥劑組目前的主要研究項目。在同時間不同會場內進行不同主題的會議，雖然立意很好，但因為各主題之間的研究方式常是相關或相似，造成選擇聽講場次上，有魚與熊掌不可兼得的狀況，實屬遺憾。但我方人員仍積極記錄與蒐集相關資訊，期能發揮最大效益。

首先，在蘇力菌與桿狀病毒主題中，對於抗病、致病機轉與防治應用上著墨甚多，其中主要針對基因層面的探討。蘇力菌的使用，在台灣農民的接受度頗高，至於桿狀病毒的商品化，在台灣已有 1 家代理商正在申請查驗登記中，桿狀病毒未來是否能被台灣農民廣為接受，值得期待，但要注意的是，中國在這方面的進展相當大，也相當有市場競爭力。此次會議也有一些專利海報展示，尤其在蟲生真菌的製劑量產上有創新的專利進展，已攜回相關資料提供給農委會藥毒所的真菌實驗室參考。微孢子蟲的口頭論文與壁報展示數量皆不多，但台灣大學昆蟲系王重雄教授在微孢子蟲研究領域已有相當不錯的成果，令人讚賞。

真菌方面有兩項研究，值得作為借鏡。一為新穎的量產方式，其二為白殭菌內生定殖後，兼具殺蟲和殺菌功能。新穎的量產方式：滾筒法量產絲狀真菌之新法，包括 A. 紙卷或布卷。B. 能夠提供滾筒空氣的塑膠泡沫包裝質材。C. 施用到紙卷或布卷的真菌孢子，如附圖（附錄二）。其優點在於質材便宜且容易獲得；產量遠比固液兩相式高出甚多；如需自滾筒分離孢子亦非常容易；含孢子之紙卷或布卷可以不同方式應用，增加產品的利用性。白殭菌內生定殖後，兼具殺蟲和殺菌功能：將分離自叩頭蟲之白殭菌 (*B. bassiana*)

施用到番茄和棉花種子時，可於其幼苗產生植物內生定殖，並可保護其不受立枯絲核菌（*Rhizoctonia solani*）和落花生凋萎病菌（*Pythium myriotylum*）等植物病原危害。寄生性分析（parasitism assays）亦可觀察到白殭菌菌絲纏繞在落花生凋萎病菌絲周圍的現象，此研究顯示白殭菌兼具殺蟲和殺菌之功能。

昆蟲病原線蟲與共生菌的研究是近年興起的顯學之一，所以本次會議的重頭戲應屬第1屆昆蟲病原線蟲與共生菌國際論壇的召開。以往的研究大多集中在線蟲本身的分類鑑定與田間應用，但隨著共生菌的基因解碼，對於共生菌的致病機轉與有效成份分析有很大的助益。光桿菌具有殺蟲與抑菌雙重功能，很有發展的潛力，但一直未能商品化，關鍵在於有效成份不是單一成份而且鑑定分析方法尚未齊備。全球的光桿菌商品化研究還在起步階段。雖然可參考的研究不多，因而增加研究甚至商品化的難度，但也是台灣強攻領先上市的契機，尤其農委會藥毒所生物藥劑組自93度起獲得農業生物技術國家型科技計畫的補助與國立中興大學及高雄師範大學等進行整合型計畫，期能在近年內能有突破性的進展。另外，在此次會場上也難得可以親自聆聽到許多國際知名學者的現場精彩提問，令人印象深刻。

此次會議流程從開始至結束十分順利，在海報討論時段與相近主題或是對我方主題有興趣的研究人員進行交流，並能獲得聯絡方式，方便後續的通訊交流。會議中，許多研究方法與初步成果是台灣研究人員未來有用的參考資料，特別是與光桿菌的知名學者互動，其中我方主動與英國 Dr. French-Constrnt 交換意見（附錄二），進一步瞭解目前光桿菌商品化的可能性、利基與困難點，並邀請他來台訪問。

魁北克市的建築物許多是古蹟，除了建築、街道與天然風景之美，整個城市中充滿藝術與悠閒氣息。研討會參訪活動的安排，緊湊而充實，除了在專業方面之收穫外，亦是一個心靈饗宴之旅，對魁北克市的建築、文化、藝術和文物保存，都有了初步但深刻的認識。

肆、檢討與建議

本次會議，台灣參加的人員除了農委會藥毒所生物藥劑組的研究團隊，尚有台灣大學昆蟲系王重雄教授與中興大學昆蟲系侯豐男教授的實驗團隊，但台灣參加人數仍遠低於日本與中國，期待國內研究人員積極參加國際會議，有助於提升台灣微生物農藥在此領域的研究深度以及國際知名度，最重要的是刺激研究人員產生更優異的成果發表在國際知名期刊，藉以建立本土特色以及領導地區性的研究領域。

在台灣微生物農藥之研發，雖有些成就，但在研發、生產和應用，仍有相當的限制。為了要克服這些問題，下述的行動必需加強包括：（1）加強基礎研究，（2）產學和政府之間的聯繫和合作，（3）加強國際和兩岸的合作以加速商品化，（4）來自政府政策支持和法令改善，以鼓勵對新創事業之投

資。另外，台灣微生物農藥的研究人員學有專精，但國際合作經驗不足，建議可以先從單一國家合作關係推展到多國多邊的合作，尤其互補性合作，應可獲得良好的成果。

同樣的大型學術活動可以爭取在台灣舉辦，雖然在這一次會議中所安排參訪活動不多，但還是體會到學術會議在旅遊勝地舉行的吸引力，而此次會議也受到大型跨國企業的贊助，其實以台灣的會議硬體設備而言並不比這次所參加的場地遜色，但是在結合觀光旅遊與企業贊助上似乎遜色許多。在台灣所舉辦的國際會議常常因住宿與交通問題而沒有連結安排社會人文的深度參訪活動，這是一個值得改進的方向，一方面可以提高外國學者來台的意願，另一方面對於國際學術與觀光旅行的形象都會有所助益。

附錄一、「利用短尾異小桿線蟲的共生細菌光桿菌作為微生物製劑之生物活性探討」口頭論文中文摘要

利用短尾異小桿線蟲的共生細菌光桿菌作為微生物製劑之生物活性探討

謝奉家、曾巧燕、高穗生*

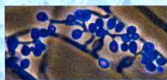
行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 生物藥劑組

光桿菌屬於腸內桿菌科，革蘭氏陰性，可發出冷光，為異小桿線蟲之腸道共生細菌，已證實對本土蔬菜害蟲、植物病原線蟲、真菌和細菌等具殺蟲和抑菌作用。由於全球迄今尚未上市兼具殺蟲與抑菌效果的微生物製劑，光桿菌具有殺蟲與抑菌雙效作用，在植物病蟲害之生物防治上，深具開發潛力。本研究從台灣的台中縣與台南縣土壤樣品，利用大蠟蛾誘餌法，採集蟲生病原線蟲。線蟲種類經電子顯微鏡觀察與核酸序列分析，證實篩獲台灣首例的短尾異小桿線蟲 (*Heterorhabditis brevicaudis*)。再自線蟲分離光桿菌並以細菌形態、生化測試，16S rRNA 序列及 Biolog 菌種分析系統進行鑑定，顯示本土篩獲的光桿菌分類應屬於 *Photorhabdus luminescens* subsp. *akhurstii*。為瞭解本土光桿菌菌株的防治應用範圍，已進行對小菜蛾、擬尺蠖、斜紋夜蛾、甜菜夜蛾與玉米穗蟲等 5 種蔬菜害蟲之生物活性檢定，顯示對小菜蛾的殺蟲效果良好。已進行對檬果炭疽病菌、水稻立枯絲核菌與柑桔青黴病等 18 種植物病害之對峙試驗，顯示對檬果炭疽病菌有極佳的生物活性。已進行對於瓜類細菌性斑點病與細菌性軟腐病等 12 種植物細菌病害之對峙試驗，顯示對細菌性軟腐病有極佳的生物活性。已進行對於葉芽線蟲、腎形線蟲、根腐線蟲與根瘤線蟲等植物病原線蟲之室內殺蟲測試，初步發現原液對於上述線蟲均有 100% 殺蟲效果，但稀釋 10 倍與 100 倍則無效，推測原因可能是代謝物質含量偏低。已針對檬果炭疽病，進行檬果儲藏期的室內生物檢定。為純化有效成分與瞭解防治作用機制，已進行抑菌成份的二次代謝物質分析，初步發現有效成份的蛋白質，正嘗試不同純化方法同時也進行不同培養基對於抑菌物質產生的影響。已初步建立光桿菌殺蟲毒蛋白的純化分析方法，且完成殺蟲毒蛋白、脂質分解酵素等基因的選殖、定序與表現，顯示有蛋白質活性，正進行生化特性分析。未來的研究，期望找出量產時的指標性成分，作為製程與品質管制的重要依據。並持續對於光桿菌的有效成份與有用基因進行功能與結構分析。

附錄二、會議照片

ROLL- METHOD FOR MASS-PRODUCTION OF HYPHOMYCETOUS FUNGI

Vladimir Gouli and Svetlana Gouli
Entomology Research Laboratory
University of Vermont
661 Spear Street, Burlington, Vermont 05405-0105, USA








The market of mycopesticides presents the formulations based on different groups of hyphomycetous fungi for control of noxious organisms for people.

Hyphomycetous fungi using for microbial control includes several ecological groups:

- Antagonistic fungi for control of plant diseases;
- Predatory and nematopathogenic fungi for control of noxious nematodes;
- Acaripathogenic fungi for control of noxious mites;
- Entomopathogenic fungi for control of noxious insects.

All hyphomycetous fungi form stable conidia superficially on solid substratum providing optimal aeration.

There are two principal mass-production technologies of fungi guaranteeing these conditions:

The first variant is a two stage technology based on submerged cultivation of fungi, and subsequent transfer of fungal biomass to flat-bottomed bathes to achieve sporulation (Sikura and Primak, 1970);

The second variant is based on the utilization of different solid nutrient substrata (Telenga et al. 1959; Korol, 1968).

Each of these methods have several limitations.

The most important limitations for the two stages method include following:

- A large industrial area is needed for production;
- Prevention of contamination is difficult;
- It is difficult to mechanize and automation the process.

Limitations for production on solid substrates include:

- Labor consuming character;
- Utilization of food grain;
- Difficulties with separation of air conidia from substratum;
- Difficulties with mechanization and automation of technological processes.

The new roll-technology of mass-production of hyphomycetous fungi is based on the utilization of double-layer rolls which offer a new possibility for effective production and application of mycopesticides.

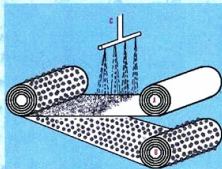
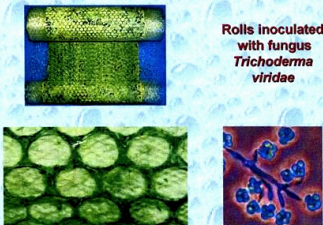


Diagram of roll-method of production of fungi:

A – Paper or fabric roll;
B – Roll from inert material providing roll aeration (for example the Bubble Packing material);
C – Fungal biomass applied on the paper towel or fabric layer.



Close-up of the inoculated roll and the spores produced

Rolls inoculated with fungus *Trichoderma viridae*

Fungi	Spore production with 2-stages method	Spore production using roll method
<i>Beauveria bassiana</i> , strain ERL 603	$3.5 \pm 0.5 \times 10^{11}$	$4.0 \pm 0.5 \times 10^{12}$
<i>Beauveria bassiana</i> , strain ERL-1527	$2.0 \pm 0.4 \times 10^{11}$	$4.3 \pm 0.6 \times 10^{12}$
<i>Trichoderma viridae</i> , strain ERL-1532	$1.1 \pm 0.2 \times 10^{11}$	$1.2 \pm 0.2 \times 10^{12}$

The roll method for fungal mass production offers several advantages over standard production methods:

- It uses commonly available and inexpensive materials.
- Significantly more fungal spores can be produced compared to the standard 2-stage method.
- It is easy to separate spores from the roll if necessary.
- The roll serves as an easy means of applying fungi.

There are several ways to apply fungi produced with the roll method:

1. Separation conidia from cultivation carrier and use as water suspension for spray.
2. Preparation of insect traps using conidia-containing material.
3. Protection plant roots during plantation by the use of conidia-containing material as wrapper.
4. Protection transplant seedlings using conidia-containing roll as underlying material.
5. Use conidia-containing roll for both plant protection and precision seeding.





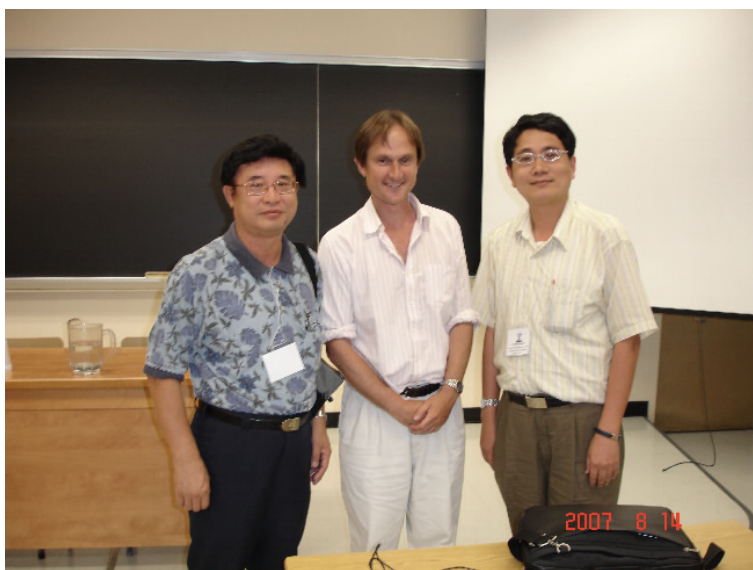

REFERENCES

Korol I.T. 1968. Microbial formulation for control of noxious insects on horticultural plants. In book: Biological control of plant pests. Publisher: Zinatne, Riga (Russian).

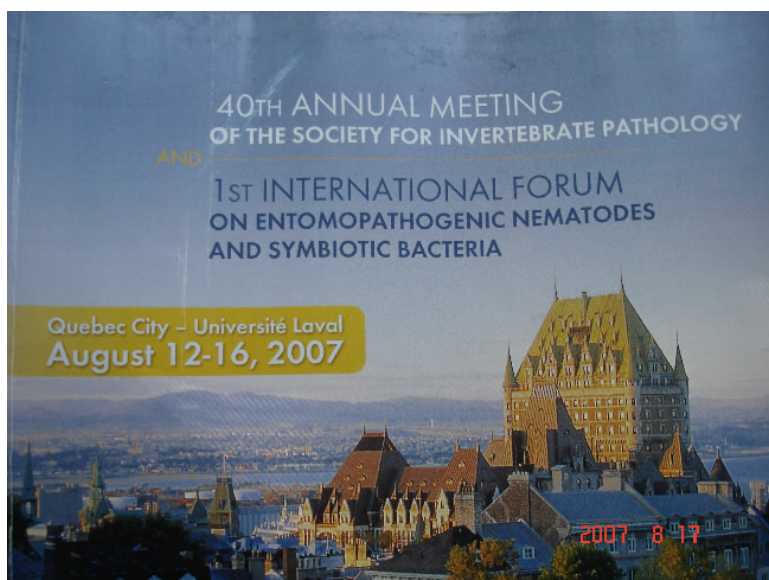
Sikura A.I. and T.A. Primak. 1970. Native formulation Boverin. USSR Microbial Industry, Moscow, 44pp. (Russian).

Telenga N.A., N.P. Diadcheko, G.N. Shigalin and K.M. Fedotova. 1959. Application of white muscardine *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill for agricultural pest control. Transaction of Ukrainian Research Institute for Plant Protection, v. 8, Kiev (Russian).

精選壁報：滾筒法量產絲狀真菌之新法



中間站立者為光桿菌知名學者 Dr. Richard French-Constant



大會手冊封面