

植物保護製劑與環境永續

羅朝村

虎尾科技大學生物科技系

雲林虎尾鎮文化路 64 號

e-mail: ctlo@nfu.edu.tw

摘要：

如何減少化學農藥或化學肥料的使用，將是在講求永續經營或環保的二十一世紀裏的各主要開發國家所重視的政策；亦即生物防治將是 21 世紀各已開發國極力發展以替代化學藥劑的一重要方案，主要是使用之微生物較化學藥劑對人無毒性與無汙染環境。透過各國這些年的努力，除了生物性保護製劑已有微生物可施用外，生物性植物保護製劑近年亦不斷有新微生物項目開發，更已有多項微生物被開發成商品化產品這些微生物包括有木黴菌、枯草桿菌、放線菌、螢光細菌與粘帚菌等。雖然微生物種類不同，但分析這些產品，其之所以能作為商業性產品，顯示其皆有一些共通的特性與原理可循，包括可有效抑制單一或多種病原菌與增加作物產量；並符合下列三要件(1)擁有優良有效之生物體或菌株為主；(2)須快速生產大量與有效之生物活體，並且能有較長之架上儲存期；(3)能建立快速、經濟有效的將該生物活體成分，準確的傳送或應用至防治標的物上的策略；亦即注重開發出方便農民(消費者)使用如現有工具可用之製劑配方；另在施用濃度、施用時間、防治範圍與施用作物對象作明確標示。因此若能適當的使用這些微生物，毫無疑問的將對作物健康或產量上有實質正面的影響，並減少對環境的衝擊。

關鍵字：生物農藥、生物防治、微生物產品、生物防治菌

前言：

在講求永續經營或環保的二十一世紀裏，如何減少化學農藥或化學肥料的使用，並尋得一無毒性或低污染的化學替代物，已成為各主要開發國家所重視與研發的重點政策，如節能減碳、物質循環再利用、糧食安全、等低污染策略。其中生物防治(生物性藥劑使用)策略即為重點項目之一。生物性農業藥劑主要種類包括生物性殺菌劑、生物性殺蟲劑、生物性殺草劑及生物性殺線蟲劑等。用於植物病害防治的拮抗微生物，主要的有 *Agrobacterium radiobacter* strain 84、螢光假單胞細菌(Fluorescent Pseudomonads)、放線菌(*Streptomyces* spp.,)、木黴菌(*Trichoderma* spp.)及膠狀青黴菌(*Gliocladium* spp.,)。已知商品化的

產品至少有數十種，常見者有：(A).Gustafson Inc. (*Basicillus* products) including Quantum 4000 HB™, Kodiak™ (HB, Concentrate, AT and T), and Epic concentrates.™. (B) W. R. Grace Co. --GlioGard™ (*Trichoderma (Gliocladium) virens* strain GL-21. (C).BioWork Co. (*Trichoderma harzianum*)--Bio-Trek 22G™. (D). Ag Ressearch Consulting Co. (ARCC) and Ecogen Co. -- *Pseudomonas fluorescens*, (E).以色列 --Trichodex (*Trichoderma harzianum*) (F) 紐西蘭 *Trichoderma* 與其他微生物產品等。

台灣地處熱帶與亞熱帶地區，氣候高溫多濕，作物病害種類因而繁多；以園藝作物而言，其主要病害即包括有立枯絲核菌(*Rhizoctonia* spp)、腐霉菌(*Pythium* spp.)、鐮刀菌(*Fusarium* spp)、疫病菌(*Phytophthora* spp.)、白絹病菌(*Sclerotium rolfsii*)、及菌核病菌(*Sclerotinia* spp)等所引起的土傳性(soil-borne)病害；以及有炭疽病菌(*Collectotrichum* spp)、灰黴病菌(*Botrytis* spp)、葉斑病菌(*Alternaria* spp)、白粉病菌、及露菌病菌等所引起的空氣傳播(air-borne)病害。另外作物害蟲、雜草種類更是繁多。據估計用於防除上述病蟲及雜草之化學農藥單位面積使用量，目前被認為以台灣為最高。惟台灣地窄人稠，若不能有效的節制使用化學藥劑與抑制病虫害，其受害度亦將為世界之最。況且土傳性病害目前尚不易為化學藥劑所控制。因此不論是站在降低化學藥劑的依賴觀點，或病害綜合防治的策略應用上，如何選擇有效且無毒性的化學藥劑替代品，可說是吾人必需努力的目標。因此如何適當的引用這些生物製劑於作物病害防治與增進作物產量，將是本文論述之要點。

貳、生物性農業保護劑種類與使用對象

生物藥劑之定義：根據美國 EPA 之定義⁽¹²⁾，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至於修改或引入遺傳物質所產生之藥劑物質(pesticidal substance)。

若依據施用對象而言，生物藥劑目前主要約可含概(一)生物性殺蟲劑(bioinsecticides)、(二)生物性殺菌劑(biofungicides)、(三)生物性殺草劑(bioherbicides)等。為節省篇幅，茲僅就微生物部分分別略述於下(表一)：

- (一) 微生物殺蟲劑：目前較常被使用者有(1)細菌殺蟲製劑--如蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*)--在環境適合時可分泌外毒素(β -exotoxin)，作用對象包括昆蟲及無脊椎動物。當環境不適宜時則產孢並產生蛋白結晶；即為吾人用來殺蟲的內毒素(α -endotoxin)，主要用 cry 基因控制⁽²⁾。根據胺基酸序列及防治對象可將蘇力菌內毒素分成七類；即 cry I 殺蟲對象為鱗翅目，但分子量為 81.2Kda 之毒蛋白對鱗翅目及鞘翅目均具活性。Cry II 殺蟲對象為鱗翅目及雙翅目，cry III 殺蟲對象為鞘翅目；cry IV 殺蟲對象為雙翅目；cry V 及 cry VI 殺蟲對象為線蟲；第七類為因子 (cyt) 殺蟲對象為雙翅目害蟲；其他則有 Milky sporeTM(*Bacillus popilliae*)產品可殺蟲製劑^(1,2)。
- (2)真菌殺蟲製劑--如黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*)、白殭菌(*Beauveria bassiana*)、綠殭菌(*Nomureae rileyi*)和 *Verticillium* sp 主要殺害對象較無專一性；除可殺蟲鱗翅目及鞘翅目外，亦可殺害蚜蟲及飛蟲；另外對線蟲及亦有毒性。(3)其它尚有病毒製劑如核多角病毒、細胞質多角病毒及線蟲製劑類如斯氏線蟲(*Steinernematidae*)及異小桿線蟲(*Heterorhabditidae*)屬的線蟲，寄主廣泛可用於防治白蟻、蟻蟻等地下害蟲；樹蜂、蟲、螟蟲等鑽莖害蟲；甜菜葉蛾、棉鈴蟲等食葉害蟲均有很好的防治效果。
- (二) 微生物殺菌劑：目前較常用且有商品化者，計有(1)螢光細菌類(fluorescent pseudomonads)可抑制小麥病害及大部分腐霉病菌(*Pythium* spp)引起的病害、立枯絲核病(*Rhizoctonia solani* 引起)及鐮孢菌(*Fusarium* spp)病害。(2)枯草桿菌(*Bacillus* spp)類，可減少灰黴病(*Botrytis* spp 引起)、白粉病(Powdery mildew)、露菌病(downy mildew)及銹病(Rust diseases)(3)木黴菌(*Trichoderma* spp)根據文獻主要可抑制重要農藝和園藝作物之立枯絲核病、白絹病(*Sclerotium rolfsii* 引起)、菌核病(*Sclerotium* spp 引起)、疫病(*Phytophthora* spp 引起)、腐霉病(*Pythium* spp 引起)、灰黴病(*Botrytis* spp)及鐮孢菌(*Fusarium oxysporum* 引起)等；(4)其他則有放線菌(*Streptomyces* spp.)可防治線蟲、立枯絲核菌及腐霉病引起之病害⁽³⁾。
- (三) 微生物殺草劑：目前以 *Fusarium* spp；*Phytophthora* sp 和 *Collectotrichum* spp 等病原菌來抑制雜草者研究最多；例如 Abbott 公司製造的 DevineTM 即是第一個用 *Phytophthora palmivora* 向美國 EPA 登記用來防治柑桔園中的 milkweed 產品。另外則有 *Xanthomonas* spp. 及 *Gliocladium virens* 被用來處理土表而殺害或減少雜草生長之微生物⁽¹²⁾。

表一、部分已商品化之微生物殺菌、殺蟲及殺草種類

產品	微生物	施用對象	製造者
	<u>Mycofungicides</u>		
Rotstop	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	<i>Fomes annosus</i>	Kemira Agro Oy
GlioMix	<i>Gliocladium</i> sp	Soil microorganisms	Kemira Agro Oy
Mycostop	<i>Streptomyces gresoviridis</i>	<i>Fusarium</i> spp. and other soil pathogens	Kemira Agro Oy
Kodiak	<i>Bacillus subtilis</i>	Soil pathogens	Gustafson
Various	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Various
AQ10	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	Powdery mildew	Ecogen
Aspire	<i>Candida oleophila</i>	Postharvest decay	Ecogen
Fusaclean	<i>Fusarium oxysporum</i> FO47	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>F. moniliforme</i>	Natural Plant Protection
Bio-Trek 22G	<i>Trichoderma harzianum</i>	Soil pathogens	BioWorks
Various	<i>Trichoderma viride</i>	Wood treatment	Various
	<u>Mycoinsecticides</u>		
Various	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Wide range	Various
Mycotal	<i>Verticillium lecanii</i>	Whitefly and thrips	Koppert
Vertalec	<i>V. lecanii</i>	Aphids	Koppert
BIO 1020	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Vine weevil	Bayer
Various	<i>Beauveria bassiana</i>	Coffee berry borer, beetle corn borer	Various
Various	<i>B. brongniartii</i>	Cockchafer	Various
Green	<i>Metarhizium flavoviride</i>	Locusts, grasshopper	CABI
Muscle			
PreFeRal	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	whitefly	Biobest
	<u>Mycoherbicides</u>		
DeVine	<i>Phytophthora palmivora</i>	Stranger vine	Abbot
Collego	<i>Collectotrichum gloesporioides f.sp. asechynomene</i>	Northern jointvetch	Encore
BioMal	<i>C. gloesporioides f.sp. malvae</i>	Round-laced mallow	Pholom Bios
Dr. Biosedge	<i>Puccinia canalicularta</i>	Yellow nutsedge	Tifton Innovation Corporation
Biochon	<i>Chondrostereum purpureum</i>	Stump sprouting	Berkel en Rodenrijs
Camperico	<i>Xanthomonas campestris pv. poae</i>	bluegrass	Yokohama

備註：主要自 Biopesticides(edited by Hall,F. R.,and Menn, J. J.)(¹²)摘錄

有益微生物可作為作物病害防治的基本條件

從作物病害防治歷史的角度來看，微生物其實一直扮演著相當重要的角色；例如早在農業上使用的輪作(crop rotation)以及抑病土與土壤添加物等技術使用，其可有效應用於作物病害防治的內涵，其實均蘊藏著直接或間接與有益微生物的存在作用有關。近幾十年來，由於對病害防治之應用微生物有了進一步的了解，如包括使用之對象(作物與病原病害)、使用之劑量、使用之時機、使用之型式、等，也因此促使了有效微生物之商品化發展；亦即是企圖透過微生物之大量直接引入，以期縮短輪作或減少抑病土與土壤添加物變異等之效應，以及減少其達到有效作用點所需耗費較長的時間為主要目的。亦即這些有益微生物必須大到可抑制病原菌之繁殖，或減少其危害密度等，才足以選用作為病害防治之門檻。

生物性保護劑商品化成功之要件

目前國內外對生物性藥劑之發展，雖有轉基因微生物，主要以自然界內已存在的生物為發展對象；因此技術發展以：(1)如何篩出優良有效之生物體或菌株為主；或則再利用生物技術方法來改良該微生物，以便該生物具有更多種功能或更優良之防病蟲特性；(2)快速生產大量與有效之生物活體，並且能有較長之架上儲存期；(3)建立快速、經濟有效的將該生物活體成分，準確的傳送或應用至防治標的物上的策略；亦即注重開發方便農民使用或現有工具可使用之製劑配方、施用濃度、時間、防治範圍與作物對象。

篩選優良有效木黴菌菌株

何謂優良菌株？此一定義應是依人們主觀性條件或個人需求不同而略有差異；但對作物病害防治而言，不外乎是對作物適應性強，或可促進作物生長，或對病害抑治能力強或防治病害種類廣等。然而是否每一菌株皆具有上述特性呢？答案往往是否定的；例如 *T. harzianum* strain T95 雖擁有對胡瓜根圈甚佳的纏繞能力(rhizosphere competence)，但對病害防治能力卻不甚良好；相反的，*T. harzianum* strain T12 病害防治能力強，但對胡瓜根圈纏繞能力卻不佳；因此才有 Dr. Harman 等利用細胞融合方法(cell fusion)所產生之 *T. harzianum* strain 1295^(14,30)。至於各菌株防治病害種類的多寡，則需依該菌株對病原防治機制種類或對各作物適應性而定。因此使用之菌株是否為優良菌株？則端賴對其特性之瞭解程度；亦即視其試驗研究結果才能作為判斷依據。

另外在病害防治機制亦會因菌株不同而有各別差異，如舊有研究抑菌模式，主要在針對病原菌與拮抗菌之相互作用，包括(1)抗生作用，如有否產生抗生素或抑菌作用物質；以木黴菌而言，最近研究有 LAAO(L-型氨基酸氧化酵素)、大黃酚、等。(2)競生作用，如空間與養份利用，木黴菌可利用之醣類可包括單糖、雙糖至多糖，可說廣泛。(3)細胞壁分解酵素，如幾丁質與纖維分解酵素等，有效抑制病原菌。(4)寄生作用，木黴菌可以多數病原菌，如 *Botrytis*、

Rhizoctoria、Pythium、等作為寄主行寄生作用。最近研究究抑菌模式，則朝向作物之作用為新模式；如促進作物生長、抗逆境、與誘導抗病性等；如最近研究之 chrysophenol、elicitors (SM1、EP11)、等誘導性物質之產生而增加作物之抗病性等；因此未來亦可以此為選擇目標。

快速生產大量、有效之生物活體

當獲得菌株後，進而要實際應用，即必須加以大量培養，以供試驗或做為未來量化生產的基礎，因此培養基的配方、種類及質材的價格等，均會影響未來商品化的競爭力。其中最重要的是在培養（放大培養過程）中，不可減弱該菌株之生物特性⁽¹⁵⁾。另外回收之產品（或培養出之產品），必須具有高度活性及在室溫下能夠存活較長的時間。意即病害防治之微生物培養資材與過程、製劑配方等所要考量的問題，需包括如何生產活體所需要之基質配方與環境條件；而且不影響該微生物之抑菌活性（viability）、孢子形成之活力(vigor)、擴散性性（spread）、持效性（persistence），儲藏和與製劑內含物之適合性（suitability）等；特別是對天敵的影響如親和性（compatibility）需高等之考量^(10,15915)。

擁有一套良好的傳輸體系

如何將該生物活體成分，安全的傳送至防治標的物上並達到有效的防治結果，往往是決定該生物製劑能否被接受或應用的最後關鍵；因此在商品化之前就必要建立一套快速、經濟有效的方法或策略。而建立這套快速、經濟有效的方法，則有賴對此一拮抗菌株特性之瞭解(如對環境、作物適應性、病原防治機制？)；對病原菌與病害發生生態之瞭解；以及對拮抗菌、病原菌與作物間相互作用之瞭解等。也因此必需開發一套維護高活性菌體、方便農民使用或現有工具可使用之製劑配方；並建立施用濃度、病害防治範圍與作物對象；以及依作物別與防治對象建立施用時間、施用方式或施用策略。

如何施用生物性保護劑來防治病害

如何將該已商品化之生物活體成分，安全的傳送至防治標的物（會發生病害之場所（感染點））上並達到有效的防治結果，往往是決定該微生物製劑能否被接受或應用的最重要關鍵之一；意即任何一種微生物製劑必需建立一套快速、經濟有效的方法或策略。而建立這套快速、經濟有效的方法，則必需對此一拮抗菌株之特性有所瞭解(如其對環境、作物適應性與移動性、病原防治機制？)；對病原菌與病害發生生態之瞭解；以及對拮抗菌、病原菌與作物間相互作用之瞭解等。也因此必需開發一套維護高活性菌體、方便大眾使用或利用現有工具可使用之製劑配方；並建立施用濃度（稀釋倍數）、病害防治範圍（種類）與適合之作物對象；以及依作物別與防治對象建立起施用時間、施用方式或施用策略。若能如此，將

可達到經濟、方便與有效之成果；惟其整體方法與效力，必須有相當人員之研究與時間經驗之累積，才能完成，特別是針對施用作物與病害，可能需要有個別之防治策略。

以木黴菌作為範例說明

為便於讀者了解上述之情形，本文將舉目前已有量產之木黴菌菌株為例子，來作為不同時期施用木黴菌之說明。例如（1）防治草皮圓點病及根腐病，必需考慮草皮作物之割草時間（夏季通常1至2天割一次）、圓點病病害通常發生於20-25℃；而根腐病則易發生於24-28℃且溼度高時期。因此防治時即需考慮木黴菌可否纏繞根圈，若有可利用粒劑（附著劑較不適合草皮）先建立根部保護，進而當進入易發生病害期（適合病原菌之溫度與溼度），此時則需利用液劑（可濕性粉劑）噴灑來防護病原菌感染葉部地區（因病原菌可能往上感染葉部，木黴菌則否）。（2）另外作物苗期病害（如立枯病或根腐病），則可先利用粒劑與混合栽培土（木黴菌有效濃度約為 1×10^6 cfu/g）再播種種子，此時若拮抗菌可纏繞根性時，則較容易附著於根圈並達到保護效果，即可防治苗期大部分根部真菌病害。（3）未事先處理栽培土，並移植至田間，若根系尚未深入土中者，則可於植穴區周圍加入粒劑，或則灌施可濕性粉劑（加水成孢子懸浮液，可稀釋至 3×10^6 cfu/g），（4）若根系已深入土中者，則可於根系區周圍（鬆土或開溝）施灑可濕性粉劑（濃度同3），只是施用量較多；（5）種子粉衣（seed coating），此方法較適合種子公司，主要需作雙層粉衣，主要是有些病原菌生長速度較木黴菌快，若僅單層則病原菌如 *Pythium aphanidermatum* 等可能在木黴菌尚未發芽生長之完全保護下，已先感染作物根部，而致病害發生。

結語

本報告不在於描述個別微生物，用意在於使讀者（包括研究者、推廣者、販售者與消費者）能夠在使用或研究任何一種微生物或開發製劑作為病害防治時，能夠有一較完整性的了解，如拮抗微生物之特性，劑型與施用方法是否配合？可防治之病害範圍與機制？拮抗微生物對作物之適應性與區域、等，來判斷施用之方法是否有效性與經濟性；或是研究者該研究之方向是否完備等。

參考文獻

1. 羅朝村 1997。木黴菌在作物病害防治上的應用。有益微生物之應用研討

會專刊：57-63。

2. Agosin, E., and Aguilera, J. M. 1998. Industrial production of active propagules of *Trichoderma* for agricultural uses. Pages 205-227. in: *Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*. G.E., Harman, and C.P., Gubicek, eds., Vol. 2., Taylor & Francis Inc., London, UK.
3. Bakker, P. A. H. M., Lamers, J. G., Bakker, A. W., Marrugg, J. D. Weisbeek, P. J., and Schippers, B. 1986. The role of siderophores in potato tuber yield increase by *Pseudomonas putida* in a short rotation of potato. *Neth. J. Pl. Path.* 92 :249-256.
4. Cook, R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31:53-80.
5. Cruz, Jesus de la., Pintor-Toro, J. A., Benitez, T., and Llobell, A. 1995. Purification and characterization of an endo- β -1,6-glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism. *J. Bacteriol.* 186:1864-1871.
6. Fravel, D. R., Lewis, J. A., and Chittams, J. L. 1995. Alginate pill formulations of *Talaromyces flavus* with organic carriers for biological control of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 85:165-168.
7. Hall, F.R., and Menn, J.J. 1999, *Biopesticides: Use and Delivery*, Humana Press Inc., Totowa, NJ, USA.
8. Harman, G.E., and Gubicek, C. P. 1998. *Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*. Taylor & Francis Inc., London, UK.
10. Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96: 190-194
11. Hjeljord, L., and Tronsmo, A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. Pages 131-152 . in: *Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*. G.E., Harman, and C.P., Gubicek, eds., Vol. 2., Taylor & Francis Inc., London, UK.
12. Jin, X., Hayes, C. K., and Harman, G. E. 1991. Principles in the development of biological control systems employing *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogenic fungi. Pages 174-19. in: *Frontiers in Industrial Mycology*. G. C., Leatham. ed., Chapman and Hall, Inc., London.
11. Lo, C. T. 2001, *Proceedings of International Symposium on Biological Control of Plant Diseases for the New Century- Mode of Action and Application Technology*, Dean Der-Syh Tzeng and J.W. Huang (Eds.), Taichung, Taiwan, 85.
12. Lo. C. T., and Huang, H. C. 2004. Prospects and constraints of developing

biocontrol products for management of plant diseases. Current Topics in Plant Biology Vol. 5 :1-13

13. Lo, C. T., Nelson, E. B., and Harman, G. E. 1996. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum*. Plant Dis. 80:736-741.

Development of plant protectant for sustainable environment

Abstract

How to reduce the chemical pesticide and chemical fertilizer application will be an important political strategies in developed countries. Therefore, biological control will be an alternative strategy for the control of plant pests given the history of pesticides on developed country in the twenty-one century because biopesticides are thought as the natural organisms that are less toxic and pollution than chemical pesticides for the globe ecology. So far, many microbial pesticides have been developed in lots of countries. For disease management, *Trichoderma* spp, *Bacillus* spp, Fluorescent Pseudomonads, *Agrobacterium radiobacter* strain 84A, *Streptomyces* spp., and *Gliricidium* spp. were usually applied as an important role among biocontrol agents of plant diseases. Generally, the basic requirements of a successful system of biological control of plant pests are (a) an effective biocontrol agent, (b) production and formulation methods that give rise to high yields of biomass consisting of appropriate efficacious propagules of high viability and stability, and (c) delivery systems that provide a conducive milieu and minimize growth of competitive microflora. For example, to give the right materials, right targets, right time, right methods and formulation and right dosage for farmer use.

Key words: biopesticide, biological control, microbial product, biocontrol agents