

作者：邱安隆 助理研究員
作物環境課
植物保護研究室
電話：(03)9899707 轉 119

植物病害生物製劑研發與應用

前言

生物防治法應用的主體為拮抗微生物，經發酵槽於特定條件下，適當增殖培養後，將菌體本身或其代謝物製成製劑，噴施於田間植株上，可預防特定病害發生。應用不同生物製劑可防治不同作物病害，若能以一種或多種具協力作用的拮抗菌體配合添加物，讓菌種可以適應葉分泌物、溫濕度變化以及忍受大氣壓、輻射、風、雨及其他微生物與化學物質等影響，達到溫室與田間穩定的病害防治效果，同時生物製劑儲藏時，拮抗菌仍保持固定活性及穩定性，方能成為值得應用與推廣的生物製劑。

生物製劑研發

目前世界上所篩選的拮抗微生物中，以真菌性的拮抗微生物研究最廣，如木黴菌屬 (*Trichoderma hamatum*、*Trichoderma harzianum* 及 *Trichoderma viride*)，而拮抗細菌則以桿菌屬 (*Bacillus subtilis* 與 *Bacillus amyloliquefaciens*)、假單胞菌屬 (*Pseudomonas cepacia*、*Pseudomonas fluorescens*、*Pseudomonas putida* 及 *Pseudomonas syringae*) 應用較廣且研究者較多。上列拮抗菌可運用下列方式，提升病害防治效能。

- 一、提高拮抗菌抗生物質產生，如液體培養基添加硼酸、硫化物及鎂離子，可提高螢光假單胞菌 2-79 菌株產生抗生物質 phenazine 1-carboxylic acid，藉以提升防治小麥全蝕病之效果。
- 二、抑制病原菌產生植物毒質，並促進拮抗菌產生抗生物質，如螢光假單胞菌 CHA 0 的培養基中添加適量的鋅，可抑制番茄根腐病菌產生 fusaric acid，以降低其致病性，並提高抗生物質 2,4-diacetylphloroglucinol 的產生，抑制植物病原菌。
- 三、降低病原菌分解酵素的產生並提高植株抗性，如氯化鈣添加拮抗菌 *Pichia guilleiermondii* 可抑制綠黴病菌產生果膠分解酵素，干擾病原菌孢子發芽與生長，並誘導葡萄植株產生乙烯，提高 phenylalanine ammonia lyase 酵素活性，增加抗病性。
- 四、營養競爭，如拮抗菌 *Pseudomonas syringae* 孢子懸浮液中添加麩胺酸及天門冬胺酸，當噴於蘋果果實上會與青黴病菌進行胺基酸之營養競爭，抑制青黴病菌孢子發芽及菌絲生長。

生物製劑配方之基本要件

- 一、生物製劑中的拮抗菌必須能長期存活，始具製成產品的基本條件；理想的生物製劑，其拮抗菌至少需能存活 6 個月，1-2 年最佳。芽孢桿菌 B190 於特定製劑配方進行存活試驗至第 16 個月，其菌體存活數仍達 10 的 8 次方，故具有發展為生物製劑之基本特質。各種配方對芽孢桿菌 B190 具有維持特定菌量之保存期，可能原因為不同的製劑配方對菌體具有不同的代謝影響。
- 二、生物製劑配方具有防治植物病原菌功效，且能維持或提高拮抗菌活菌數，即提昇生物防

治植物病害的效果，可在拮抗菌存在的環境中，添加合適且適量的營養基質，但需考慮這些營養基質不具促進其他植物病害發生的作用。

- 三、拮抗菌具有生物安全性，如拮抗菌 *Burkholderia gladioli* B111 雖可顯著地防治百合灰黴病，但因它也是植物病原菌，可引起唐菖蒲葉部焦枯病、鬱金香種球褐腐病、巢蕨葉斑病、菇類軟腐病、球根作物褐腐病及鳶尾葉枯病等，此菌雖不會引起百合植株任何病害或影響其生長，但也限制了本菌株在生物防治上的應用範圍。

應用不同添加物質以提高生物製劑效能

- 一、添加鹽類物質，如氯化鈣可提高 *Penicillium digitatum* 產生抗生物質；硼酸、硫化鐵及硫化鎂可提高螢光假單胞菌產生 phenazine carboxylic acid，因而提高小麥全蝕病之防治效果；添加氯化鈣混合 *Candida oleophila* 懸浮液，具有降低灰黴病菌孢子發芽、發芽管生長及果膠分解酵素活性功效；於每毫升螢光假單胞菌菌體懸浮液中添加鋅離子，可抑制鐮胞病菌產生抗生物質，但單獨應用鋅離子，則不具有抑制此病原菌所引起之番茄褐腐病及根腐病的功效；應用硫酸鐵、硫酸鎂、硼酸、硫酸鋅混合螢光假單胞菌，可抑制小麥全蝕病之病原；酵母菌 *Pichia guilliermondii* 混合 68 或 136 mm 氯化鈣，可降低病害發生，氯化鈣濃度越高，病害嚴重程度越低，但當拮抗菌濃度達每毫升含一千萬個細胞數時，添加氯化鈣則無顯著效應。氯化鈣可降低灰黴病菌發芽及發芽管產生，並刺激柑橘果實產生乙烯及抑制病原菌果膠分解酵素的產生；相似地，氯化鈣可活化 *Candida oleophila* 而具有抑制灰黴病菌的效果。
- 二、油劑可阻絕空氣，延長菌體保存期及抗 UV 光的能力。添加 1% 花生油及 1% 礦物油於含 *Metarhizium flavoviride* 的製劑中，經暴露於 UV 光 1 小時，可提高 *Metarhizium flavoviride* 分生孢子之存活性達 36.5%，若只應用無菌水保存，並經相同時間 UV 光的曝曬，其存活率僅剩 4.7%；1% phorwite AR 或 tinopal LPW 可保護核多角病毒，提高生物製劑施於田間後，抗紫外光之能力及延長製劑保存期限。0.05% 4-methoxycynamate、礦物油及 salicylic acid 2-ethylhexyl ester 於特定製劑配方中顯著地降低灰黴病之發生。油類物質可當作生物製劑散佈於植物體之黏著劑、載體或直接毒殺特定病原菌之效用。油類包括礦物油、萃取自動植物的脂肪油及化學合成油，如 silicone 及 polybutene oil 為對植物病害防治具有貢獻之礦物油，可防治香蕉葉斑病，其作用機制包括抑制病原菌產孢、降低氣孔被病原菌侵入及直接毒殺病原等作用；另外油類物質亦可降低噴霧粒子大小、提高製劑內含物，如 polyoxyethylene 增進穿透柳橙和梨葉片表皮之穿透率，而植物性油質，包括 D-limonene、cineole、 β -myrcene、 α -pinene、 β -pinene 或 camphor 具有降低灰黴病菌生長的作用。
- 三、添加表面活化劑可降低溶於水與不溶於水之有機添加物的不親和性，使其均勻分散且呈安定之性質，並可使製劑配方均勻噴佈於植株葉表，減緩藥液從葉面滾落；添加 0.1% Tween 80 於特定製劑配方中，顯著地比添加其他表面活化劑具有抑制百合灰黴病發生的效果，當 Tween 80 濃度提升至 0.5%，則可完全抑制灰黴病，其原因可能是因 Tween 80

對灰黴病菌具抑制或不促進其生長的作用，同時兼具促進拮抗菌展著並存活於葉表。國外研究者也發現 0.01% Tween 80 可延長微生物 *Ulolcadium atrum* 於百合植株的存活性，當拮抗菌長久存活於植株上，對植物病害之防治應有助益；又如添加 0.01% Tween 80 於數種拮抗菌中，均可降低灰黴病菌分生孢子發芽管生長及降低菜豆與番茄灰黴病的發生，其原因即 Tween 80 可提高拮抗菌附著於植物體表，並可提高菌體於製劑中的懸浮性。0.1% Triton X-100 則適用於木黴菌防治草皮病害，致使疫病菌及立枯絲核菌不易侵入植株。添加油類物質於含黑殭菌的製劑中，經暴露於紫外光 1 小時，可提高黑殭菌施於田間後的抗紫外光能力及延長製劑保存期限。

四、營養物質 2-deoxy-D-glucose 混合一種拮抗細菌 *P. syringae* 孢子懸浮液，可抑制蘋果及梨青黴病的發生；應用 2-deoxy-D-glucose 混合拮抗菌 *Candida saitoana* 可防治蘋果及柑橘腐敗病。

生物製劑應用成功實例

目前已製成之生物製劑，以含桿菌屬(*Bacillus* spp.)之產品最多，如 Companion、Epic、Kodiak、Kodiak HB、Rhizo-Plus、Serenade、Subtilex 及 System 3，其應用範圍包括小麥、玉米、水稻、甘蔗、棉花、部分花卉及蔬菜作物，可防治立枯絲核菌、鏽胞病菌、白粉病菌及露菌病菌等，另外，下列拮抗微生物 *Bacillus licheniformis*、*Bacillus macerans*、*Bacillus polymyxa*、*Bacillus pumilus* 皆具有製成生物製劑之潛能，至於木黴菌(*Trichoderma* spp.)之產品也較常見，如 Top Shield 可防治草莓及葡萄灰黴病及草皮病害，目前 Top Shield 於 1999 年銷售金額已達三百萬美元且持續成長中；Trichodex 25 於以色列應用在胡瓜與番茄灰黴病之綜合管理系統及防治葡萄灰黴病病害；另外，也有包含其他拮抗菌種類之生物製劑，如 AQ10 可防治葡萄及胡瓜白粉病；Bio-Save 11 防治蘋果灰黴病；但防治台灣作物病害之生物製劑中，登記合格並正式上市者尚屬少數。筆者目前已將專利微生物芽孢桿菌 B190(圖 1、2)所製成生物製劑與合作廠商簽訂技術轉移契約，並進行量產試驗與田間病害防治效用的評估，初步觀察對洋香瓜(圖 3)與草莓白粉病(圖 4)及百合灰黴病(圖 5)具有防治效果，未來對提升生物製劑效用的研發，若能符合配方製備之基本原則，使其成為兼具應用性及經濟效用的產品，則生物防治法應是綜合防治系統中一項相當重要且可行性極高的病害防治法。

展 望

於適當時機採用對作物病害具有預防效用的生物製劑，配合適當的栽培方式，應可有效防治作物病害發生，並降低化學藥劑的噴施與改善環境污染問題，此種作物病害防治方式，應是可行且值得推廣的工作。



圖 1 芽孢桿菌 B190 申請登錄號碼為 CCRC910182 的專利拮抗微生物

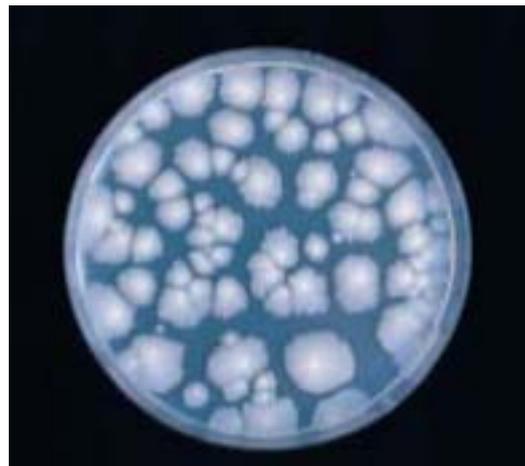


圖 2 芽孢桿菌 B190 生長在 NA 培養基菌落型態



圖 3 應用芽孢桿菌 B190 生物製劑防治洋瓜白粉病（左圖為對照圖，右圖為生物製劑處理組）



圖 4 應用芽孢桿菌 B190 生物製劑防治草莓白粉病



圖 5 應用芽孢桿菌 B190 生物製劑防治百合灰黴病