

第八章 木黴菌與植物病害防治

羅朝村

行政院農業委員會農業試驗所植物病理組

摘要

如何減少化學農藥的使用，並尋得一無毒性或低污染之化學藥劑替代物，已成為跨世紀各主要開發國家所重視與研發的重點政策。其中生物防治(生物性藥劑使用)策略即為重點項目之一。在應用作物病原拮抗微生物中，除植物生長促進之根圈細菌外；木黴菌屬(*Trichoderma* spp.) 為其中最常被使用的有益微生物之一；目前各國無不積極加以開發利用。有關生物性農業藥劑種類主要應包括生物性殺菌劑、生物性殺蟲劑、生物性殺草劑及生物性殺線蟲劑等。一般而言，生物性農業藥劑的研發，雖因生物種類不同而有差異，但基本研發流程則大同小異。主要研發步驟約可分成三部分，即(一)依防治標的物而篩選出具防病、防害蟲或殺草能力之微生物菌株，(二)大量培養與製劑之開發，及(三)傳輸體系如施用方法及範圍及使用時機等之了解。至於產品開發則需進一步達成毒理試驗與註冊登記，才能正式將之商品化。

前言

在輿論與認知下，世界各國已逐漸重視環境保護與食物安全品質，如今化學藥劑之使用已日漸受到嚴厲法規的限制，以求降低其負面影響。原有登記與註冊之化學藥劑，其合格標準已被要求重新審核；未達標準則禁止使用。例如依據荷蘭限制化學農藥使用的新法規標準，De Waard 氏等即估計在公元 2000 年大約有 56% 舊有化學藥劑會

被淘汰 (De Waard, et al., 1993), 如今荷蘭化學農藥使用與執行率亦近此一估計值。目前在多種環境友善政策推動下, 已有多種作物生產不能使用化學藥劑與化學肥料。各已開發國家 (包括我國在內) 亦多有此趨勢。然如何彌補化學藥劑在病害防治所佔的角色, 以減少作物因病害所造成的損失, 並因應未來因人口增加而造成糧食缺乏所必須面對的問題? 生物防治實為目前最具潛力之作物病害非化學農藥防治策略之一; 亦是永續農業發展的重要一環。也因此生物防治被認為是未來可減少或替代化學藥劑的主要病害防治策略。例如最近美國農部所公佈的四大農業政策; 包括 (i) 2006 年溴化甲烷將被禁止使用, 如何彌補其在作物病害防治的空缺, 則有賴生物防治等策略與方法。(ii) 永續農業的推展被列為重點政策, 而生物防治則符合其標準。(iii) 命令在 75% 之農業綜合防治中, 需要用生物防治技術來減少化學藥劑的使用。(iv) 有機農業生產產品, 需利用無污染, 且在自然體系內如生物防治來減少病害損失等, 即為生物防治發展與因應解決作物病害問題的例證, (Lumsdem, et al., 1998; 亦可參考美國農部網路 <http://www.barc.usda.gov/psi/bpdl.html>)。另外在美國環保署政策配合下也將有利於生物性農業藥劑之進展。例如美國聯邦政府希望在 2000 年後, 有 75% 之傳統化學農藥被生物性農業藥劑所替代; 目前雖不可能達到, 但最近美國環保署 (EPA) 已設立生物性農業藥劑污染與防護部門 (Biopesticides Pollution and Prevention Division, BPPD) 專責加速處理生物性農業藥劑之登記與註冊; 如 1995 年有 14 種新生物性農業藥劑登記與註冊; 1996 年 10 種新生物性農業藥劑註冊; 此約佔新登記農業藥劑之 35-40%。新生物性農業藥劑登記時間平均約 12 個月, 較化學藥劑平均登記時間 36-45 個月為短。其中木黴菌之使用於作物病害防治研究與開發成商品化產品為最積極的微生物種類之一。

台灣發展有機農業, 已約有十年有餘的歷史; 然是否能達到真正的有機農業產品, 往往是消費者心中的疑慮? 特別是在台灣高溫多濕的氣候條件, 如何在病、蟲害高威脅下, 不施用化學農業藥劑與肥料, 來生產消費者喜歡的高品質產品? 加上檢定與認證制度不完善下 (目前農委會雖已核准幾家認證機構, 但檢驗機構與項目之標準尚無標準),

致使一些投機性格之生產者，往往冒充或借名使用，使得消費者花錢卻未受到保障，同樣的亦影響執行真正不施用化學藥劑與肥料生產者的商機與生存。

不施用化學肥料，經過土壤肥力專家之研究已有克服與替代方法；至於不施用化學農業藥劑？是否已有良好的解決或替代方法？答案是肯定的(至少在部份病害防治；可參考作者等著作之“作物病害非化學農藥防治”)；為便於讀者之瞭解與生產者的使用，本文將以木黴菌為例，說明如何施用才能達到其防治作物病害的效果。

何以有益微生物可作為作物病害防治

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)以及較晚的抑病土與土壤添加物等有效應用於病害防治，其內涵其實均直接或間接與微生物的作用存在有關。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所需耗費較長的時間。

木黴菌之應用發展

有關木黴菌在病害防治上的應用報告：在 1934 年 Weindling 首先將木黴菌應用於防治 *Rhizoctonia solani* 所引起的病害，爾後木黴菌陸續被研究證明是最具潛力的生物防治真菌之一，依文獻所載可被防治的病原病害包括镰孢菌引起的萎凋、根腐病，如 *Fusarium oxysporum* 所引起的萎凋病及 *Fusarium solani*、*Fusarium colmorum* 所引起的根腐病；*Rhizoctonia solani* 引起的莖腐病；*Pythium spp.* 所引起的猝倒病及根腐病；*Phytophthora citrophthora* 引起的檸檬樹根腐病；其他如 *Heterobasidium annosum*；*Armillaria mellea*；*Ceratocystis ulmi* 及 *Chondrostereum purpureum* 及 *Phellinus spp.*，所引起之根腐病；

Sclerotium rolfsii 所引起的白絹病；*Sclerotium cepivorum* 及 *Sclerotinia* spp. 所引起的菌核病；*Plasmodiophora brassica* 所引起的十字花科作物根瘤病；*Meloidogyne* spp., 所引起的作物根瘤病；*Botrytis* spp. 所引起的作物(包括草莓、葡萄及花卉)的灰黴病以及 *Collectotrichum* spp 所引起的炭疽病(Lo,1998)。

在台灣，我們一發現木黴菌可減少多種病害的發生，如可有效降低由立枯絲核病菌引起的康乃馨根腐病、甘藍基腐病；減少 *Fusarium oxysporum* 引起之百合萎凋病害，*Sclerotium rolfsii* 引起之山蘇白絹病以及由 *Monosporascus* sp 引起之洋香瓜猝死病外(Lo, et al., 未發表)；尚可減少一些空氣傳性的病害，如炭疽病與白粉病；最近試驗更發現可減少胡瓜綠嵌紋病毒病害(cucumber green mottle mosaic virus)。在促進植物生長的方面，顯示有些木黴菌菌株，可促進百合、胡瓜、苦瓜、絲瓜、青椒、小白菜、甘藍及康乃馨等植株生長(Lo,1997)。

生物防治成功之要件

目前國內外對生物性藥劑特別是木黴菌之發展，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、有效之生物活體，並且能有較長之架上儲存期；(3)快速、經濟有效的將該生物活體成分，傳送至防治標的物上，也因此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。

篩選出優良有效之木黴菌菌株

何謂優良菌株？此一定義應是依人們主觀性條件而略有差異；但不外乎是對作物適應性強，或可促進作物生長；另外對病害防治能力強或防治病害種類廣等要求。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 *Trichoderma 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。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。

根據多年單一微生物在病害防治上的使用與案例, 約略可依微生物的特性如菌量施用後增加程度(increasing level)與防治施用次數或施用頻度(repeat sales)將之區分成三大群, 並將之簡化如(表一)。雖然此一歸類並不是非黑即白的二分法, 但卻有助於未來研究者從事或正在開發中而即將應用的生物防治微生物, 有個明確的依循與歸類方向; 茲分述如下:

- (一) 第一群, 主要包括必需直接與精確的施用到感染點(infection court)的微生物; 亦即必須掌握何時、何處施用的原則。此類微生物亦是目前商品化產品中最多者。例如最早期的有 Risheth 氏所開發的 *Phlebia giganta* 用於防治松樹根部腐敗病(*Heterobasidion annosum* 引起)及 Kerr 氏所發展的 *Agrobacterium radiobacter* K84 等即是直接引入拮抗微生物到感染位置的明顯例子。其後則有利用冰核細菌防止葉部遭受寒害; 直接將拮抗菌施用在果實防止儲藏期之果腐病害以及直接處理種子防治猝倒病(damping-off)等拮抗微生物大多數屬於此類; 而此類微生物之共通特性即是必須掌握精確的施用地點與時間, 才能達到最佳之防治效果。其中例外者有 *Gliocladium* (已改為 *Trichoderma*) *virens* GL21 被處理到土中而非直接處理種子上, 但其施用量已多至接近種子或植株感染點; 另外 *Trichoderma harzianum* 則雖有報導指出可進一步纏繞根圈(rhizosphere)但仍侷限如種子處理之市場。
- (二) 第二群, 主要包括這些雖被應用於一個地方(如種子), 但可擴展至一或更多點地點(如根與芽)並可增殖之拮抗微生物。這類微

生物大多屬植物生長促進之根圈細菌(Plant growth promoting rhizobacteria) ; 如 *Pseudomonas aureofaciens* AB254 (*Pseudomonas fluorescens* biovar. V) 促進小麥生長與減少玉米種腐病(Pythium seed rot) , 其菌量可從每粒種子含菌 10^{4-5} 而增加至 10^7 CFU ; *Pseudomonas fluorescens* strain 2-27 被應用於防治 *Gaeumannomyces graminis* var. tritici 所引起之小麥毀滅病(wheat take-all disease) , 主要雖處理於種子但可延伸至種胚 (seminal)、根冠 (crown root) 及次根冠節間 (subcrown internodes) 來保護小麥免受 *Gaeumannomyces graminis* var. tritici 之感染 (此病原菌不感染種子) 。另外利用無毒性 (atoxigenic) 之 *Aspergillus flavus* 菌株 AF36 來減少有毒性之 *Aspergillus flavus* 菌株危害棉花 , 主要亦在於無毒性之菌株 AF36 可從纏繞之麥粒擴展至土壤表面及棉花地上部部位 (florial parts) , 以阻止有毒性之 *Aspergillus flavus* 菌株事先佔據棉花之土表及地上部部位。其他例子則有施用 *Sporidesmium sclerotivorum* 至土壤中來減少地表及植株上萹菑菌核病 (*Sclerotinia minor* 引起) 之菌核數量。雖然此類尚無完全符合要件之拮抗微生物產品上市 , 但該類菌株可持續建立在寄主植物上或存在作物體系內的特性 , 將使此類產品在未來能與土壤燻蒸劑或葉部施用之化學藥劑競爭之最佳籌碼 ; 另外 *Tichoderma* spp 因有部分特性相似 , 故亦可屬此群。

(三) 第三群 , 主要包括祇靠施用一次或偶而施用即可有效之生物防治策略的微生物群 ; 此類成功的例子大多為多年生雜草及蟲害生物防治。其原因主要在於此生物防治微生物大多為病原菌並且能夠在多年生之寄主上繁殖與持續存在的特性。如利用 *Fusarium* spp ; *Phytophthora* sp ; *Puccinia canaliculata* 和 *Collectotrichum* spp 等雜草病原菌來抑制雜草並隨風擴散與存活。雖然此類有利大眾與生產者施用 , 但顯然的較不受投資者親睽之產品。

表一、應用微生物群之特性及種類

微生物群	環境適應能力	施用次數	存在點	商品化
第一群	+	需重複用	單一	已有
第二群	++	需重複用	一點以上	尚無
第三群	+++	一次或偶用	不特定	已有

快速生產大量、有效之生物活體

當獲得菌株後，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。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、製劑所要考量的問題，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（spread）、持效性（persistence），儲藏和與製劑之適合性（suitability）等；特別是毒理和安全性考量如對天敵的影響(compatibility)。

除了上述的考慮外，用於培養的基質要越簡單越好，如能使用農產加工廢棄物，則更能使廢棄物可再利用；同時需注意所發展出的生產製程，所用到的人員操作要能降到最低，而且必須能經由製劑配方在不同的環境下產生作用。當然，在形成製劑配方後，必須能在自然環境下長期保存，通常成功的商品化製劑，需要有 12~18 個月的保

存期限。

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。

依據施用的環境，木黴菌屬在作物病害防治的應用範圍，約略可區分成(一)適用於葉表(phyllosphere)的生物防治菌株，例如：葡萄灰黴菌(*Botrytis cinerea* 引起)是一種溫帶地區最為普遍而嚴重的病害之一。利用 *T. harzianum* 於開花後到收穫前三週施用，可有效的減少灰黴病的發生。(二)應用於土壤(soil)的生物防治菌株，此類木黴菌屬被用於防治土壤傳播性病害(soil borne diseases)最多，主要有(A)種子處理，(B)粒劑(granules)佈施(broadcast application)，翻犁(in furrow treatments)或土壤添加(planting soil amendment)，以及(C)覆蓋作物的攜帶(*Trichoderma*-carrying cover crops)等。(三)應用於收穫後病害(Post-harvest disease)的生物防治菌株，由於收穫後的病害，大多屬於低溫型(接近)的病害，因此應用木黴菌，即必須選用耐低溫之菌株。成功的例子有防治胡蘿蔔根腐病(*Mycocentrospora acerina* 或 *Rhizoctonia carotae* 引起)及蘋果果腐病(*Phlyctaena vagabunda* 或 *Cryptosporiopsis curvispora* 引起)。

另外如防治由立枯絲核菌(*Rhizoctonia solani*)所引起的草皮褐斑病，由於此病原菌可危害草如 bentgrass 等地基部(含部份根)及葉部；而木黴菌(*T. harzianum* strain 1295)特性是容易延根纏繞，卻無法由根

部往上生長；加上果嶺(green)頻繁割草(2~3天/次)與造成之傷口有利病原菌傳播；因此防治方法即在病害發生前需先利用粒劑建立草皮土壤成抑病土，來減少初期感染原(primary inoculum)；當環境回暖，意即割草頻繁時，利用噴灑液計劑來減少二次感染原與傳播速度；如此才能防治此一病害。

參考文獻

- 王志宏、劉怡伶、吳勃緹、羅朝村、謝建元。2002。利用回應曲面法進行木黴菌厚膜孢子產量最適化條件之探討。生化工程 7：1093-1098.
- 安寶貞、羅朝村、謝廷芳、黃秀華。1999。作物病害之非農藥防治。農委會、農林廳編印。台中，臺灣。
- 巫永裕、許書瑜、羅朝村、謝建元。2001。利用酒糟水進行木黴菌液態發酵之探討。生化工程 6：147-149.
- 林姿儀、柯伶怡、謝建元、羅朝村。2002。以農業廢棄物進行木黴菌固態醱酵之探討。生化工程研 7：1099-1104.
- 羅朝村 1997。木黴菌在作物病害管理上的應用。有益微生物在農業上的應用研討會專刊:57-62.
- 羅朝村 1999。生物防治在作物病害上的應用與展望。台灣農業 35(1):11-22.
- 羅朝村 2000 生物性農業藥劑之研發與應用。生物資源、生物技術 2(3)：9-12.
- Burges, H. D. 1998. Formulation of Microbial Biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Hall, F. R., and Menn, J. J. 1999. Biopesticides: Use and Delivery.

Humanna Press Inc., Totowa, NJ, USA.

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.

Lewis, J. A. , Fravel, D. R., Lumsden, R. D., and Shasha, B. S. 1995. Application of biocontrol fungi in granular formulations of pregelatinized starch-flour to control damping-off diseases caused by *Rhizoctonia solani*. *Biological control* 5:397-404

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.

Papavizas, G.C. 1992. Biological control of selected soilborne plant pathogens with *Gliocladium* and *Trichoderma*. Pages 223-230. in: *Biological Control of Plant Diseases: Progress and Challenges for the Future*. .C. Tjamos, G. C. Papavizas, and R. J. Cook, eds., Plenum Press, New York.

Van Driesche, R. G., and Bellows, Jr., T. S. 1996. *Biological Control*. Champan & Hall, New York, USA.

***Trichoderma* spp and Plant Disease Management**

Lo, Chaur-Tsuen

(Taiwan Agriculture Research Institute, Wufeng, Taichung)

Abstract

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. For disease management, *Trichoderma* spp was usually applied as an important role among biocontrol agents of plant diseases. So far, the biopesticides may mainly include biofungicides, bioinsecticides, and bioherbicides. 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. In addition, the processes of the biopesticides for commercially available still need to complete the field tests, and to pass toxicity tests, and registration by Environmental Protection Agency and Council of Agriculture of Taiwan.

