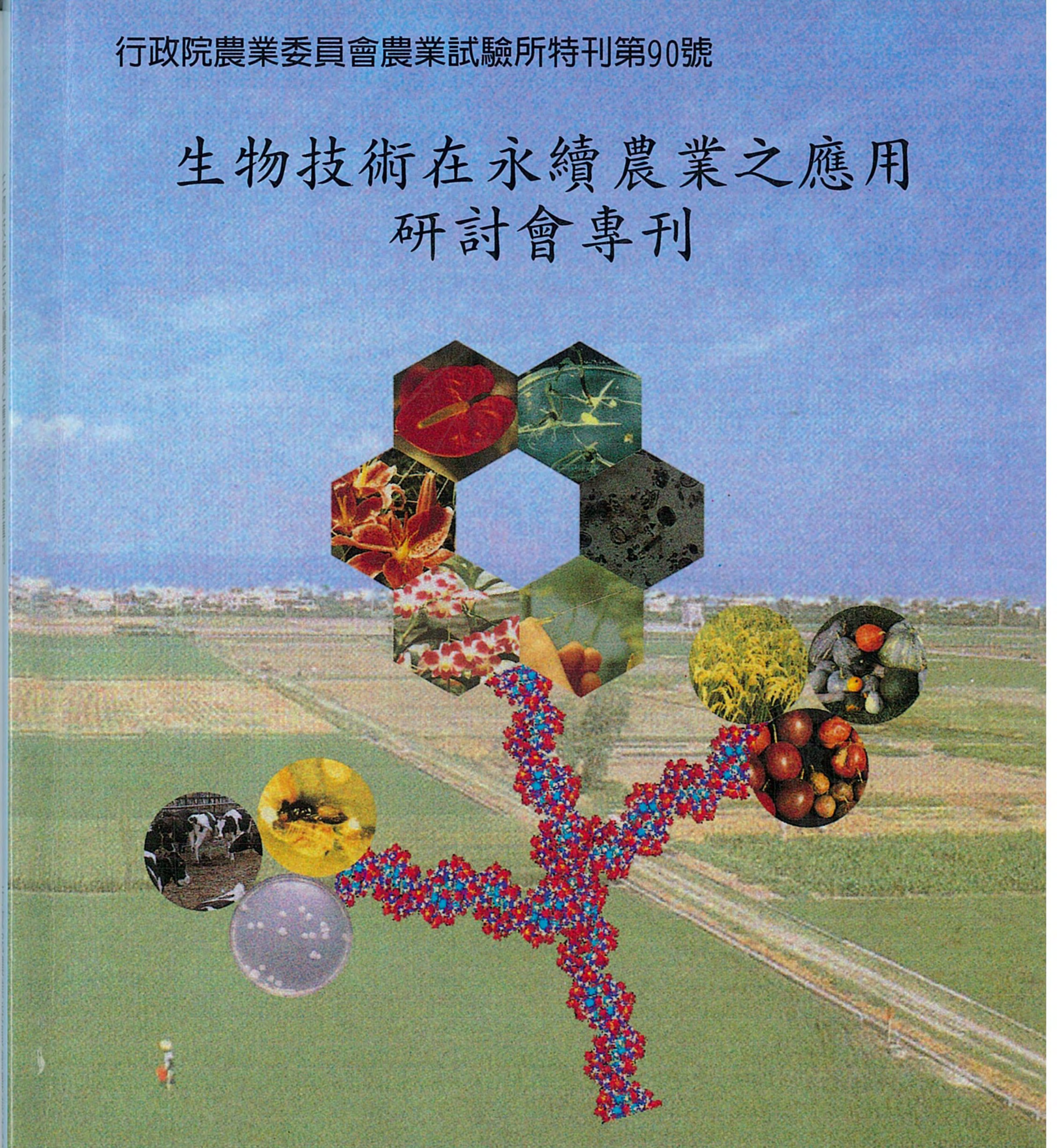
行政院農業委員會農業試驗所特刊第90號

生物技術在永續農業之應用研討會專刊



台灣省政府農林廳　補助
中華永續農業協會　主辦
行政院農業委員會農業試驗所

生物技術在永續農業之應用研討會專刊

中華民國八十八年四月八日
行政院農業委員會農業試驗所國際會議廳

主　　編　　陳武雄
　　林俊義
　　林木連

執行編輯　　王鐘和
　　林毓雯

台灣省政府農林廳　　補助

中華永續農業協會　　主辦
行政院農業委員會農業試驗所

行政院農業委員會農業試驗所　　編印

中華民國八十九年一月

中華永續農業協會會員大會
生物技術在永續農業之應用研討會



序

生物技術是利用生物或細胞的特性，直接或間接應用於生產的技術，是一門極具發展潛力的應用科技。近年來生物技術發展迅速，已經對人類生活的各個層面都造成了重大的影響，由最初的植物細胞及組織培養，使植物快速繁殖生長，品種改良，提高產量品質，進而廣泛利用於醫藥及食品的範疇。最近的研發工作更提昇至基因工程技術，生物反應器技術，疾病治療及生物農業開發利用的境界。

生物技術產業是具有高度發展潛力的產業，也是我國極力推展的明日科技，以生物技術爲手段的產業，將成爲我國未來經濟發展的重要命脈。並對我國未來農業經營的轉型，競爭能力的提升，有決定性的影響及幫助，不但能增強我國在加入 WTO 後農業面臨自由化及國際化衝擊下之競爭能力，且對促進我國農業的永續經營及發展將有莫大助益。

有鑑於此，中華永續農業協會爲提昇我國農業永續發展之能力及促進相關生物技術知識之交流及整合，特別舉辦「生物技術在永續農業之應用研討會」，結合國內產、官、學、研各界針對生物技術應用於我國農業經營之現況及發展策略提出寶貴理論及經驗，並就未來展望進行討論並交換意見，期能藉由此次研討會的舉辦對未來生物技術應用於我國農業永續經營有直接的影響與幫助。此次研討會之講稿業由本協會林秘書長及工作同仁編印成專刊，提供各界參考。茲值付梓，特爲之序。

行政院農業委員會副主任委員
中華永續農業協會理事長

陳武雄 謹識
民國八十九年一月

序

生物技術爲二十一世紀最具發潛力的新興科技，農業爲應用生物技術最廣泛的部門，包括改良農業生物品種，提昇農業生產力及農產品品質、動植物病蟲害診斷與預防、農業生物種苗生產、生物性農業資材如生物性農藥、肥料等之開發、農業廢棄物處理與利用、生態環境保育、能源的節省，農場經營技術的改善，生物遺傳資源之保存與改良等，關係著未來整個農業的永續發展至鉅。

有鑑於此，行政院亦於八十四年頒訂「加強生物技術產業推動方案」積極推動關鍵性之生物技術，擬發展臺灣成爲亞太地區生物技術產業之研發，製造與營運中心。政府爲積極發展生物技術，增進國家競爭優勢，依據國家跨世紀發展策略，將生物技術等相關重點計畫，提昇爲國家型科技計畫，以有效提昇研發成果。目前國家型農業生物技術整體計畫規劃主題爲花卉與觀賞植物、植物保護、水產養殖、動物用疫苗、農產品保鮮/利用、環境保護及保健/藥用植物等七項。

中華永續農業協會爲提昇相關農業從業人員對生物技術與農業永續發展之相關知識，特別邀請產官界及相關之學者專家針對此題目舉行「生物技術在永續農業之應用研討會」，希望使科技研究成果與產業生產技術能夠相互交流，並就未來展望進行討論，來促進及提昇相關科技研究與技術發展之水準。

本次「生物技術在永續農業之應用研討會」，各位演講者精闢之講演內容業經編輯成專刊，在此專刊將出版之際，謹代表協會向提供經費支助的行政院農業委員會中部辦公室(前台灣省政府農林廳)致最誠摯的謝忱，並感謝熱情參與此次研討會之各界先進及協會同仁熱心的服務與奉獻。

行政院農業委員會農業試驗所所長
中華永續農業協會秘書長

林俊義 謹識
八十九年一月

陳理事長武雄致詞

孫國策顧問、台灣省政府農林廳黃副廳長、戴所長、林所長、各位貴賓大家好！今天早上在農試所舉辦中華永續農業協會年會，及生物技術在永續農業之應用研討會。承蒙孫國策顧問、黃副廳長及各位貴賓蒞臨參加，讓大會倍增光彩，僅代表大會致歡迎及感謝之意。今天在這裡特別頒獎表揚及感謝孫國策顧問，這幾十年來對於農業的貢獻，及協會初創階段在他卓越的領導下推動各項業務，在短短幾年內就受到學術界及業界的肯定，能在這樣的場合頒獎感謝他，實在具有非常深遠的意義。同時協會過去在大家的努力下，結合了學術研究及永續農業事業的發展，所以今天也在此頒發永續農業學術成就獎及事業推廣成就獎，來表揚會員在事業或學術方面的成就，我們以他們的成就爲榮，深信在各位會友先進的努力下，未來協會在學術及實務方面皆能齊頭並進。

當前我們面臨了幾個重要的挑戰，包括國際的競爭、高國民所得下消費者對產品品質的要求、對生活環境及自然生態維護的迫切，在這樣的大環境下，永續農業尤其具有深遠的意義。在推動農業生產與生態環境和諧發展，如何利用有限的生產資源讓農業能永續經營，使農業經營與資源的利用能有效結合，過去政府及業界推動一系列工作，包括少用或不用化學農藥或肥料、推展有機農業、施用堆肥綠肥、推行輪作制度、非農藥的防治技術、利用農業廢棄物製造有機肥料等等，都使得產品品質提昇，減少對環境的衝擊，保障消費者的健康。生物科技是大家公認在二十一世紀跟資訊、光電、航太三大科技並駕齊驅，最具有潛力的四大科技之一。在美國農部對永續農業所訂定的五個關鍵指標中，其中包括能有效使用再生資源、農場資源、能提昇農民及社會的生活品質等。我們可以說生物科技是具有能達成五大指標的尖端科技，因爲他所使用的能源少、大部分是使用再生的資源，同時是低污染、高附加價值的產業技術。所以政府及業界近幾年來都在全力推動生物科技，在農業領域中已經有相當多的成果及發展，如品種改良、病蟲害防治、種苗開發、生物性農業資材、肥料的開發利用、生物遺傳資源的保存改良等，都已經有非常良好的基礎，都關係著未來農業永續的發展。

今天在此舉辦研討會，非常感謝各位熱烈的參加，及多位學者專家提供論文，同時也要特別代表協會感謝台灣省政府農林廳在經

費上的支持，以及協會林秘書長及各位同仁辛苦的籌備，讓這次會議無論在內容或品質方面都非常豐富。再次謝謝各位，敬祝各位身體健康、萬事如意！

孫名譽理事長明賢致詞

陳理事長、農林廳黃副廳長、林所長、戴所長、各位理監事、各位會友、各位來賓大家早！首先我想代表剛剛從陳理事長手中受獎的五位得獎人感謝協會。中華永續農業協會是在 82 年成立，成立之初我們曾經參加世界永續農業協會的大會，當時我是農林廳廳長，從政府退出聯合國之後，我是第一位到聯合國大廈中去參加正式國際會議的政府官員，所以這個協會的成立有其國際性的意義。成立中華永續農業協會，等於是世界永續農業協會的一員，因爲當時世界永續農業協會不主張在各國成立分會，而是由各國單獨成立協會，來跟世界永續農業協會合作，而我國是亞洲第一個成立永續農業協會的國家，所以本協會的成立有其重要的背景。在此要特別感謝 MOA，MOA 也是促成本協會成立的動力，MOA 在日本推廣很久，當時在謝森展先生及陳重光先生兩位的推動下，也在台灣設了有機農場。MOA 除了參加本協會之外，也非常支持本協會（包括經費上的支持），使得協會從最艱困的開辦期到現在，在經費上始終相當穩健。當然也要感謝多年來政府單位的贊助，尤其是農林廳及農委會，協會所舉辦的許多研討會都有這兩個農政單位的幫忙，也很慶幸陳秘書長能接任理事長，繼續領導本協會。

本協會是國內許多社團中非常活躍的一個協會，而且是對產業發展及學術研究能密切結合的協會，有許多學術性團體大部分偏重在試驗研究方面，但本協會完全把試驗研究及產業發展結合在一起，我個人對協會今後的發展還是寄予很大的期望。六年來我覺得對協會有所虧欠，雖然在我手上創設，但是由於工作的關係，比較少參與協會的活動，整個協會的運作要特別感謝現任的秘書長林所長，及幾位改良場場長的參與，是協會能有這麼多成就的一個重要因素。因爲改良場主要是結合田間跟農民的工作，包括許多產銷班都是我們的會員，而且表現很優異，從今天受獎人有產銷班的班長就可以看得出來。因此我覺得協會是一個很有前途的協會，而且能配合許多國際發展的潮流，就像剛剛理事長提過，保育也是一個很重要的課題，永續農業無論跟環境保育或物種保育都是結合在一起的，所以希望協會一方面維持他的學術性，一方面維持他的發展性及實用性，相信將來對國內甚至國際的農業會有更多貢獻。

今天協會舉辦這個研討會意義重大，因爲生物技術是非常重要

的新科技，而生物技術跟永續農業息息相關，本協會能盡早參與生物技術的研發工作非常有意義。今天的研討會分很多章節，尤其第一節的生技產業發展的現況相當重要，相信本協會在這方面會有相當多的貢獻。另外跟生物技術相關的，我個人希望協會在不久的將來能夠舉辦一個生物多樣性(bio-diversity)的研討會。國際上最近對生物多樣性的公約也很重視，根據報導今年五月就要完成簽約手續，成爲全世界共同努力的目標。因爲生物技術在農業上的利用很可能會影響到物種保育、生態保育，所以必須盡早注意維持生物多樣性的生態。另外還有一個有關的題目就是生物安全性，因爲生技產品在農業方面最近幾年非常盛行，例如在美國大部分大宗的作物如大豆、玉米、小麥都已經有生技產品，而且比例越來越高，但是利用生物技術所開發出來的產品，是不是沒有負面的影響，結果可能慢慢會顯現出來。所以生物安全性及生物多樣性也要跟生物技術同樣重視，這是我個人對本協會在學術方面的一點淺見。另外，在應用方面也需要注意到一些法規上的不足，以生物技術開發出來的新品種的利用，在台灣目前大家都知道的就是木瓜輪斑病的抗病品種，這是一個基因改造的工程，這個品種要用到田間有些田間規範，但是真正生物安全性的規範，國內目前還沒有立法，所以也希望大家共同來重視。最後，我對協會寄望很大，個人也很願意繼續參與協會，感謝理監事會聘我爲名譽理事長，又把我綁住，我也很樂意繼續被綁住，對生物技術、生物多樣性、生物安全性三方面，繼續參與並貢獻個人的心得。最後祝大會成功、各位身體健康、快樂！

黃副廳長泮宮致詞

陳理事長、孫國策顧問、各位貴賓、各位農業先進大家好！今天非常高興有機會應邀參加中華永續農業協會所舉辦的生物技術在永續農業之應用研討會。我們知道台灣整個農業環境並不是很好，但是我們農業的產業發展都能隨著自然環境及經濟大環境而有所改變，大家公認這種農業上的調適跟發展是得力於我們有非常多的農業科技人才。所以看到今天有很多科技俊彥共聚一堂，就覺得農業的科技及未來性是可以期待的。

生物科技誠如理事長所提到的，是二十一世紀四大產業之一，生物技術也是我們農政單位列爲重點發展的農業施政目標之一。回顧人類的發展史，我們的祖先在大自然中也只是食物鏈的一部份，從大自然擷取生活所需的物質，據傳從神農氏教導人們農耕之後，人類在大自然擷取越來越多的資源，這種爲了維持生活的物質所形成的經濟活動，已經對大自然的生態造成很大的破壞。大約十幾二十年前，大多數有識之士就已經警覺到這種自然受到嚴重破壞的後果，極力呼籲經濟生產跟生態能夠達到平衡，因此永續農業應運而生。民國 77 年農林廳透過各試驗改良場，在前任孫廳長的領導下，也做了許多試驗研究。

永續農業的目標誠如理事長及國策顧問所揭示的，就是希望能夠得到資源且傷害最小，應用科技減少環境的破壞及污染。另外，永續農業的發展除了有許多目標，但也有許多值得注意的地方，剛剛孫國策顧問提到的生物技術產品的安全性，應該是一個很重要的思考方向。以前看過一篇報導中提到美國地大物博，科技人才濟濟，他的基礎研究幾乎在各個領域都領先全世界，但是拿美國的產業和日本的產業作比較，卻發現美國的產業根本不是日本企業界的對手，歸結出一個很重要的原因，美國的實驗純理論的研究很多，而日本科技發展出來的技術大多能落實在產業上來應用。因此非常敬佩永續農業協會，能把生物科技及永續農業，這兩個未來農業發展的主軸結合在一起，已經勾勒出一個正確的發展方向。剛才看到大會頒獎表揚孫國策顧問及幾位得獎人，從科技的人才及產業的發展都可以很清楚的看到農業的未來性。誠如國策顧問所談到的，生技產品在國外用得很多，對消費者來講，一個抗病品種，可能讓施藥的頻度減少，吃起來更健康、更安全，因此從技術的發展及消費者的需

求，可以預期永續農業跟生物技術的結合是未來農業發展的主軸。今天非常高興也非常榮幸看到大會能在研討會中聚集永續農業跟生物技術的俊彥，對未來的發展應該有很大的幫助。最後敬祝大會成功！祝各位在座的嘉賓身體健康、萬事如意！

林所長俊義致詞

陳理事長、謝前理事長、孫國策顧問、戴所長、黃副廳長、各位會友大家早！這次舉辦生物技術在永續農業之應用研討會，主要是因爲這兩個題目是目前很熱門的項目。可能有些人認爲生物技術違反自然，跟永續農業扯不上關係，但是我們希望在生物技術推動的過程中，也能符合永續農業的發展，所以把這兩個題目放在一起，請很多專家跟各位報告這兩個題目沒有衝突的地方在哪裡，也把目前生物技術跟永續農業推展的現況介紹給大家。永續農業協會今年在理事長的推動下，辦理了很多活動，除了今天的研討會，另外還有堆肥製造的講習會，據說報名相當踴躍，已經超過預定的名額，相信這些活動將來對台灣的永續農業都有很大的幫助。永續農業協會六年來，在前任及現任理事長的推動下，在台灣幾乎已經生根，相信各位在報章雜誌或市場上，都看到許多有機農產品，其中很多都是由我們的會員所生產出來具有品質保證的產品，而台灣消費者對有機農產品的認識，比其他先進國家也有過之而無不及，表示協會六年來推動的成果有目共睹。希望未來大家繼續努力，把台灣這塊小小的土地，包括氣候及土壤，能永久保留給我們的下一代來使用，讓我們所食用的農產品對身體都很健康。這次特別感謝農委會及農林廳經費的補助，及工作同仁辛苦的籌備，使得研討會能順利舉行，謝謝各位！

目　　錄

生物技術產業發展現況

台灣農業生物技術研究之現況與展望……林俊義 1

台糖公司生物技術產業之推展……林拓南 9

花卉生物技術在建立永續農業上之功能……朱耀源 17

生物技術在畜產上之應用……戴　謙 21

作物品種改良

生物技術在作物品種改良上之應用……王強生 33

遺傳標誌與作物品種專利……劉邦基 46

藥用植物之組織培養技術……蔡新聲 55

病蟲害防治

應用於健康種苗繁殖之生物技術……張清安 65

生物性農業藥劑研發與應用……羅朝村 75

蘇力菌之生產及利用……林學正 82

蟲生真菌在作物害蟲防治之應用……蕭文鳳 侯豐男 92

農業資材與食品

生物肥料之研發及利用……楊秋忠 105

微生物技術在農業廢棄物處理上之應用……陳啓祥 林畢修平 118

生物技術在食品產業上之發展與應用……許文輝 126

綜合討論……陳武雄 林俊義 127

戴　謙 李國欽

黃山內

台灣農業生物技術研究之現況與展望

林俊義
行政院農委會農業試驗所

摘要

生物技術泛指經由人爲操作方式，控制、改變或調節生物之分化、生長、發育，甚至產生變異，而達到生產生物產品或品種改良之最終目的，所使用之技術或方法均可稱爲生物技術。狹義的生物技術則指利用組織培養或分子生物操作，進行生物品種改良與促進生產之技術。目前傳統育種及生產技術發展之速度，已無法趕上未來世界糧食的需求，如何應用生物技術，突破現有障礙，已成爲二十一世紀全球農業科學家所面臨之新挑戰。

生物技術之應用範圍廣泛、潛力無限，必須積極開發研究，方能面臨未來農業之衝擊。行政院亦於八十四年頒訂「加強生物技術產業推動方案」，積極推動關鍵性之生物技術，擬發展台灣成爲亞太地區生物技術產業之研發、製造與營運中心。政府爲積極發展生物技術，增進國家競爭優勢，依據國家跨世紀發展策略，將生物技術等相關重點計畫，提升爲國家型科技計畫，以有效提升研發成果。目前國家型農業生物技術整體計畫規劃主題爲花卉與觀賞植物、植物保護、水產養殖、動物用疫苗、農產品保鮮/利用、環境保護及保健/藥用植物等七大項。

生物技術屬長期性、技術密集、高投資與高風險之產業，政府須有相關政策、法令與之配合，更須獎勵民間投資。國內生物技術研究單位如何建立研究團隊有效運用有限資源進行功能整合、技術交流，使產、官、學、研充分合作，將研究、發展與生產納爲一體，方能使生物技術在台灣紮根收穫成果。

前言

生物技術產業是二十一世紀最具發展潛力之新興高科技產業。生物技術的領域很廣，凡經由人爲操作方式，控制、改變或調節生物之分化、生長、發育，甚至產生變異，而達到利用生物生產各種商品或品種改良之目的，所使用之技術或方法均可稱爲生物技術。狹義的生物技術則指利用組織培養或分子生物操作進行生物品種改良之技術。目前傳統育種及生產栽培技術，遭遇有許多瓶頸或進展緩慢，已無法趕上因世界人口增加對糧食增產的需求，必須尋求更有效解決方式。因此如何應用生物技術，突破現有品種改良及生物

產品之生產障礙，已成爲二十一世紀全球農業科學家所面臨之新挑戰。行政院於八十四年頒訂「加強生物技術產業推動方案」，積極推動關鍵性生物技術，擬發展台灣成爲亞太地區生物技術產業之研發、製造與營運中心。生物技術之應用範圍廣泛、潛力無限，必須積極開發研究，方能面對未來農業將面臨之各種衝擊。本文之目的除說明生物技術目前在台灣農業上之應用及其潛力外，並簡介農業生物技術國家型科技計畫，希望透過學術界、產業界及政府機關的廣泛交換意見，使生物技術產業能於本土紮根，不只嘉惠農民並進而落實至產業，成爲真正二十一世紀耀眼的明星。

生物技術在農業上之應用

生物技術在農業上之應用範圍很廣，可概分爲組織培養及分子生物等二個技術領域，茲就其應用之領域及目前進行中之生物技術研究項目略述如下。

一、組織培養技術之應用涵蓋：

(一)生長點或莖頂培養去病毒生產健康種苗

1.四季蔥健康種苗快速繁殖研究

2.台灣本土性球根花卉原原種種苗去病毒化技術研究與應用

(二)無菌苗或懸浮細胞培養進行種源保存及引種

1.無性繁殖種原之組織培養保存與超低溫液態氮保存研究

(三)生物反應器及細胞懸浮培養生產植物重要二次代謝產物

1.利用懸浮細胞生產二次代謝產物(柴胡皂甘、紅豆杉醇、紫杉醇、黃藥等)之研究

(四)利用試管授精及胚培養技術將野生種之優良特性轉移至栽培品種

1.苦瓜胚、花生種間雜交未成熟胚及海芋種間雜交胚培養研究

(五)花葯培養生產單倍體，可加速品種純化、縮短育種時程

1.提高水稻花藥培養效率之研究、及耐熱品系青花菜之花藥培養研究

(六)生產具研究與商業價值之突變體

1.利用誘變技術生產重要花卉品種(文心蘭、金花石蒜、晚香玉、小天堂鳥、蔓綠絨、夏堇、美女櫻等)、及青花菜誘變育種之研究

(七)以原生質體或細胞融合技術生產種間雜種或創造新種

(八)以胚狀細胞生產人工種子

1.牛樟、台灣肖楠、台灣雲杉體胚繁殖研究

二、應用分子生物技術目前進行之生物技術研究項目如下：

(一)建立作物基因圖譜並進行基因分離

1.植物深花色素合成基因 DFR 之選殖、大豆種皮藍色素合成

2.甜瓜基因圖之建立及基因標定
3.水稻抗褐飛蝨相關基因之分離與選殖

(二)進行基因轉殖技術生產轉殖植物，創造新品種或新性狀，如新花色、生產具抗病、抗蟲及延遲老化特性之品種
1.木瓜輪點病毒鞘蛋白轉基因木瓜、蕪菁嵌紋病毒鞘蛋白基因選殖與轉基因芥菜之培育、瓜類病毒鞘蛋白基因之轉殖、抗胡瓜嵌紋病毒及真菌性病害之轉基因蕃茄及番椒、轉蘇力菌殺蟲晶體蛋白及甘藷胰蛋白抑制酵素基因之十字花科蔬菜等
2.基因轉殖作物隔離溫室與試驗田之運作與管理
3.抗病毒轉基因植物之防治與對環境影響之評估研究

(三)利用分子標誌選殖基因及輔助育種
1.水稻抗褐飛蝨分子標誌輔助育種與相關基因選殖
2.利用分子標誌鑑定甘藍自交不親和基因

(四)利用分子生物技術之 DNA 指紋分析，進行種源鑑定及品種專利保護
1.分子標誌在柴胡、山藥育種之運用
2.利用 RAPD 技術探討不同山葡萄品系之遺傳關係

(五)利用轉殖植物生產高附加價值之疫苗或重要代謝產物
1.基因轉殖水稻生產人類蛋白質間白素、血蛋白 FVIII、γ-干擾素、超氧歧化酶、豬乳鐵蛋白等研究
2.基因轉殖水稻生產醫藥工業用酵素(D-hydantoinase, N-carbamoylase, D-amino acid oxidase)

(六)生產作爲生物農藥或肥料之生物製劑
1.木黴菌量產製劑配方的研究
2.生物肥料製劑(菌根菌、溶磷菌、固氮菌)之開發研究、螢光基因轉殖於溶磷細菌及其土壤肥力改良之應用等
3.昆蟲誘劑之開發與商品化、果實蠅嗅覺化學引誘劑之開發與利用研究、及以人工飼料膠囊化技術大量飼育天敵之研

(七)植物病原菌之偵測與診斷
1.應用核酸探針偵測本省田間發生之瓜類病毒種類、利用 PCR 建立植物病毒診斷系統之研究、應用分子生物技術於病毒抗血清製備之研究
2.蔬果農藥殘毒快速檢驗技術(RBPR)及試劑之商品化

選殖重要基因並取得專利權，如抗病毒、真菌、細菌等基因（virus coat protein, chitinase , glucanase 等基因）；抗蟲基因(BT 、trypsin inhibitor 基因)；花色素基因（花青素合成基因），爲今後生物技術發展重要之一環，希望能將本土所需之基因優先選殖以符合經濟效益。代表品種特異性及與重要性狀連鎖之分子標誌，可做爲重要性狀早期篩選、種原鑑定、種苗保護或基因專利之依據，必須予以重視優先發展。

基因專利之依據，必須予以重視優先發展。

三、以作物之種類來分，生物技術相關研究計畫可概略分爲：

(一)水稻之生物技術研究：水稻爲我國主要糧食作物，有非常好之育種基礎，各種抗病、抗蟲基因之篩選，或利用基因轉殖技術以水稻生產具有重要附加價值之生物技術產品，爲重點研究課題。

(二)瓜類(甜瓜、西瓜及洋香瓜)：爲本省重要蔬果，而白粉病、露菌病及病毒病等病害嚴重，抗病基因轉殖爲研究重點。

(三)蔬菜類（重要十字花科蔬菜）：除抗病基因轉殖爲研究重點外，高品質之耐熱性蔬菜（如甘藍、白菜）品種之選育亦極爲重要。

(四)果樹類：目前木瓜抗輪點病毒轉基因植株已進入試驗田觀察效果顯著，而危害本省之香蕉黃葉病、柑橘黃龍病等重要病害迄待利用生物技術來克服。

(五)花卉類：創造新花色及延長儲運及瓶插壽命。

農業生物技術國家型科技計畫

目前農業生物技術國家型科技計畫諮議委員會依據產業需求殷切程度、重要性及發展潛力，及目前正從事各相關研究工作之學者專家之建議，將值得進行生物技術研究之重要方向與課題規劃爲七大領域：

一、花卉與觀賞植物

(一)以分子生物學爲基本技術，建立品種遺傳檢定及組培幼苗病毒鑑定體系

1.文心蘭組培幼苗及菊花病毒檢定之研究

2.文心蘭的組織培養與繁殖

(二)以耐暑性多花型花卉、花色、抗病、抗蟲等特徵爲目標，收集並分析台灣本土及原生花卉種源（耐暑性菊花、文心蘭、火鶴花等）

1.菊花品種開發之研究

(三)以上述熱帶花卉爲主體作物，利用生物技術培育新品種

1.應用細胞工程學進行文心蘭的品種改良

2.發展轉殖技術，生產具特殊商業需求特性的菊花與文心蘭

3.大豆種皮藍色素合成基因之選殖

(四)建立優良花卉種苗自動化與量產管理的技術體系。

二、植物保護

(一)植物保護生物製劑

性微生物資源
(1)綠豆抗椿象基因生物活性分析及抗蟲機制探討
(2)蟲生真菌對昆蟲之作用機制及高致病力變種之誘發
(3)枯草桿菌幾丁質分解酵素基因在 pseudomonas 根圈細菌之表現分析
2.研發微生物製劑量產技術及建立安全性之評估制度
(1)微生物製劑病害防治作用機制闡明及量產技術改進
(2)枯草桿菌液態發酵及白殭菌固態發酵產製流程開發
3.闡明微生物製劑對病蟲害及雜草之防治作用機制，改進特殊製劑之配方與檢測技術
(1)綜合防治園藝作物灰黴菌之生物藥劑的開發
(2)應用營養添加劑改進微生物製劑防治植物真菌性病害
(二)利用基因轉殖技術選育抗病、抗蟲及抗逆境之新品種
1.枯草桿菌葡萄聚糖水解酵素基因之選殖與轉殖應用
三、農產品保鮮/利用
(一)闡明植物老化及寒害機制並利用基因轉殖技術改良栽培品種採後特性，以達到切花、蔬菜、香蕉與木瓜等農產品保鮮之效果
1.利用基因轉殖技術抑制香蕉乙烯合成之研究
2.以轉殖基因技術增進採後農產品耐寒性之研究
3.抑制乙烯生合成基因木瓜之轉殖及組織培養苗之育成
4.木瓜之熟變基因及利用基因轉殖保鮮
(二)利用植物爲生物反應器以基因轉殖技術生產高價值產品
1.基因轉殖水稻生產豬口蹄疫疫苗
四、保健 / 藥用植物
(一)建立保健 / 藥用植物－台灣金線連、霍山石斛及山藥之栽培、管理及量產技術。
1.台灣金線連鐮刀菌莖腐病抗病基因差異性表現之研究
2.耐熱金線連之篩選與菌根利用
3.霍山石斛基原植物之收集、鑑定、引種花期調節及受粉方式之研究
4.抗氧化山藥品種之引進、篩選、栽培與利用研究
5.藥用山藥生產技術、品質提昇與產品發展之研究
(二)建立上述保健 / 藥用植物之抗病品種、檢定指標成分、鑑定其藥理及安全性－
1.台灣金線連基原植物之收集、鑑定及組織培養
2.台灣產生藥金線連之保肝、抗脂質過氧化、清除自由基等生物活性機轉研究及活性成分之分離
3.台灣金線連粗萃取的毒理學及藥理學研究
4.以視網膜色素上皮細胞爲眼底疾病模型探討中藥霍山石斛之藥效

5.對金線連與山藥萃取物之防癌及增進免疫功能之評估

(三)提高紅豆杉醇之產能

1.利用農桿菌與叢根菌轉殖法建立台灣紅豆杉細胞與毛狀根群之培養

(四)開發經證明對人體確具特殊保健或療效之其他保健 / 藥用植物。

五、環境保護

(一)建立農業廢棄物生物分解技術，用以製作生物肥料、堆肥及生物燃料，推行永續農業

1.禽畜廢棄物減量生物技術之開發總計畫

2.禽畜廢棄物生物分解與除臭及快速發酵處理技術開發

3.開發生物肥料與推肥複合功能之菌種與技術

(二)建立有機污染物去除技術及土壤復育，維持土壤生產力

(三)建立環保生技微生物菌種資料庫，保存優良菌種

1.環境中特殊脫氮菌之分離及應用

六、水產養殖

(一)改進蝦類養殖技術

1.建立疾病診斷及治療技術（例如白點病）

(1)開發適合無白點症病毒蝦苗之養殖系統:分析感染與未感染 WSSV 蝦苗在養成中之成長、存活率及養成條件

2.改進種蝦培育及催熟技術，建立無病毒繁殖模式

(1)確立無特定病源(SPF)草蝦繁養殖模式

3.開發增強養殖蝦抗病力之機能性飼料

4.發展蝦類的基因轉殖及育種之生物技術

(二)發展企業化外海箱網養殖整合系統

1.開發適合外海箱網養殖之魚種、飼料，建立其防疫體系

2.利用基因轉殖及育種技術開發優良品種

(1)利用修飾過之魚類與甲殼類促進水產養殖之生產量

(三)建立重要水產動物種苗之量產技術

1.海水魚種生殖調控及種苗量產技術之研發

七、動物用疫苗

(一)研發提昇疫苗免疫力的佐劑，及開發疫苗微膠囊包覆技術

1.微膠囊口服疫苗之研發

(二)研製豬瘟及豬繁殖及呼吸道症候群疫苗,以及研製新城雞瘟、華氏囊炎及雞馬立克病疫苗

1.開發防治台灣高病原性華氏囊病毒所引起之華氏囊炎的口服性疫苗

(三)以 DNA 疫苗技術開發口蹄疫等疾病疫苗，並建立關鍵性技術系統

1.開發豬口蹄疫及呼吸與生殖管道疾病之 DNA 疫苗

(四)應用生物技術研發重要水產疾病疫苗

(四)應用生物技術研發重要水產疾病疫苗

1.應用生物技術研發魚類感染性胰臟潰瘍病毒次單元疫苗

(五)研發重要性細菌性疾病疫苗

(六)建立疫苗品質認證技術

八、其他

目前除農業生物技術國家型科技計畫外，我國並積極參與國際合作之「水稻基因組分析計畫」，水稻是世界最重要的糧食作物，其基因組共有 430Mb，爲已知基因組最小之禾本科作物。水稻的連鎖輿圖及實體輿圖已近飽和，水稻的遺傳、細胞遺傳研究亦有很好的基礎，加上基因轉殖技術亦已建立，因此基因組之分析結果可以直接有很好的利用。我們參與國際合作的 Rice Genome Project 預期十年內完成水稻的第 5 條染色體 36Mb 的定序與分析，參與此一計畫在分享國際資源，提昇國內技術上將有很大幫助。

「種原」是農業生產的基石，若無種原，即使有先進之技術亦將面臨巧婦難爲無米之炊的困境，在種原加速流失的今日，進行種原的收集與保存實乃當務之急。「國家作物種原中心」的成立，提供全國作物之貯藏中心並負責研發植物種原保存、鑑定的新技術，除提供國內種原資訊服務並辦理國際種原交換之任務，藉由種原資訊及材料的交流，提昇農業生產、生態之平衡。

國內生物技術未來發展重點與建議

爲因應生物技術之蓬勃發展，今後生物技術之研究，必須針對國內有限之人力與資源，做最有效率之功能劃分並予整合，使現有資源發揮最大效果。目前生物技術之上游基礎研究主要由國科會負責推動，執行單位包括中央研究院、各大專院校及農業試驗所，扮演上、中游角色進行重要基因選殖及基因轉殖等研發工作。生物技術中下游之應用性研究則由農委會、衛生署、經濟部等單位負責推動。執行單位有公立研究機構及財團法人研究機構，如農試所、生物技術開發中心及工研院、食品工業發展中心等，負責從事產品、產程與技術之開發，並將研究成果轉移給業界。農業試驗所並將配合上游研究成果，經由技術轉移或技術輔導，自上游取得技術與初步研究成果或半成品，繼續進行經常性及應用性之中、下游試驗研究工作，將上游研究成果發展爲半成品或成品；各地區農業改良場則負責進行成品之生產與推廣，將研究成果或技術，以直接或間接方式，轉移至產業界或農民。

國內生物技術產業在政府策略性的獎勵推動下，也逐漸加強研發投資，許多民間企業投資於生物技術之開發計畫也陸續進行，其投資研發項目、包括畜用疫苗、花卉、種苗、生物農藥、檢驗試劑、保健飲料等，部分業已進入生產階段。公營企業如台灣肥料公司、

台糖公司、中國石油公司等，亦積極規劃投資生物技術產業。行政院於 85 年通過「加強生物技術產業推動方案」，設置跨部會之生物技術產業指導小組，積極鼓勵此一產、官、學、研結合之模式，共同推動生物技術產業之發展。目前農業生物技術方面，政府選定「花卉與觀賞植物」、「植物保護」、「保健/藥用植物」、「農產品保鮮/利用」、及「環境保護」、「水產養殖」、「動物用疫苗」等七項爲發展重點，並成立「國家型科技計畫」與之配合，積極開發生物技術產業。與生物技術發展相關之法令規範與獎勵投資制度及相關產品之智慧財產權等亦在擬定中。希望藉由各種有利規劃，促使生物技術迅速發展，在本土生根並具國際競爭力，使農業產業儘速升級。

結論

生物技術屬長期投資、技術密集與高投資、高風險之產業，政府之政策必須堅定明確，且訂定相關政策、法令與之配合，更須獎勵民間投資。在農業逐漸式微的今日，農業生物技術國家型計畫的推行更顯得其重要性，國內生物技術研究起步雖較歐美晚，基礎研究不足，如何有效運用有限資源，爲生物技術能否成功發展之關鍵。以下爲對生物技術之研究發展策略之重點與建議：

一、研究目標之訂定必須明確、具有重點，也就是說要以市場導向、任務導向爲主；研究目標必須具本土發展特性，並須有相關育種計畫及產業研發之配合方可進行，否則研究成果如僅止於試驗階段，無法落實至產業，殊爲可惜。

二、產業界參與研發必須提供一定百分比之經費以符合政府技術轉移及智慧財產權轉移授權之相關規定。亦可考慮自國外購買重要基因及技術之專利使用權，但須聘請具有生物技術專業之專利律師參與討論，以避免產生專利權訴訟問題。

三、生物技術研究專業人才之延攬須具彈性，唯才是用；國內外培養之生物技術人才頗多，然而絕大多數並未具有公務人員任用資格而無法晉用。目前政府的高考制度，幾乎無法延攬具有生物技術之高級科技人才，用人制度的彈性化，將有助於生物技術之發展。

四、生物技術研究必須建立團隊、進行功能整合；生物技術涵蓋範圍頗廣，相關研究均須以團隊、分工方式進行以爭取時效，方能於短時間獲得成果，並具競爭力。

五、爲使生物技術能迅速發展，政府須政策支持、法令配合、經費寬列、獎勵投資、支持產業。

六、技術交流，成果共享；生物技術須將研究、發展與生產納爲一體，即產、官、學、研必須充分合作，方能使生物技術在產業紮根，綻放花朵，收穫成果。

台糖公司生物技術產業之推展

林拓南
台灣糖業公司

前言

台糖公司成立於民國35年，原是一農產加工公司，以製糖爲主，是傳統的生物技術產業，爲了充分運用自有資源及發展糖業而有其他周邊產業的發展，如：

一、在民國39年發展養豬事業，最初是爲了改善蔗田地力需用豬糞尿而養豬，並於民國43年成立「種畜場」從事畜產研究。(「種畜場」即本公司原「畜產研究所」之前身，該所目前已與糖業研究所合併)。

二、爲了利用製糖的主要副產品糖蜜而發展酒精、酵母及離氨酸等醱酵產業。

三、爲了配合養豬事業而發展飼料，因發展飼料需用豆粉而發展黃豆油。

四、糖業研究：在民國37年從日本接收之隸屬省政府之「台灣省糖業試驗所」改隸台糖公司，改稱爲「台灣糖業試驗所」(即今「台灣糖業研究所」之前身)，分育種、種藝、土壤肥料、病蟲害、製糖化學、醱酵化學及蔗渣利用等七個系，從事糖業相關研究。

台糖推展生技產業優劣勢分析

一、優勢：

(一)具有廣大的可利用土地及雄厚資金。

(二)員工素質高，對公司向心力強。

(三)研究發展單位實力堅強，並有現場實務經驗。如本公司之花卉產業發展已歷經十年，主要生產之蝴蝶蘭已擁有自有品牌，且相關技術亦相當純熟，並居於世界領先地位。另本公司大規模養豬技術優良，畜產研究所在育種繁殖技術、飼養管理技術、飼料營養技術、病理診斷技術、疫苗製造技術、肉品加工技術等傳統生物技術基礎厚實。

(四)具有利用機械化、自動化操作以擴大花卉種苗生產，節省成本之專長及相關資源。

(五)研究機構不斷擴充設備與經費，同時積極進用高級人力。

(六)已具有傳統生物技術的優勢。

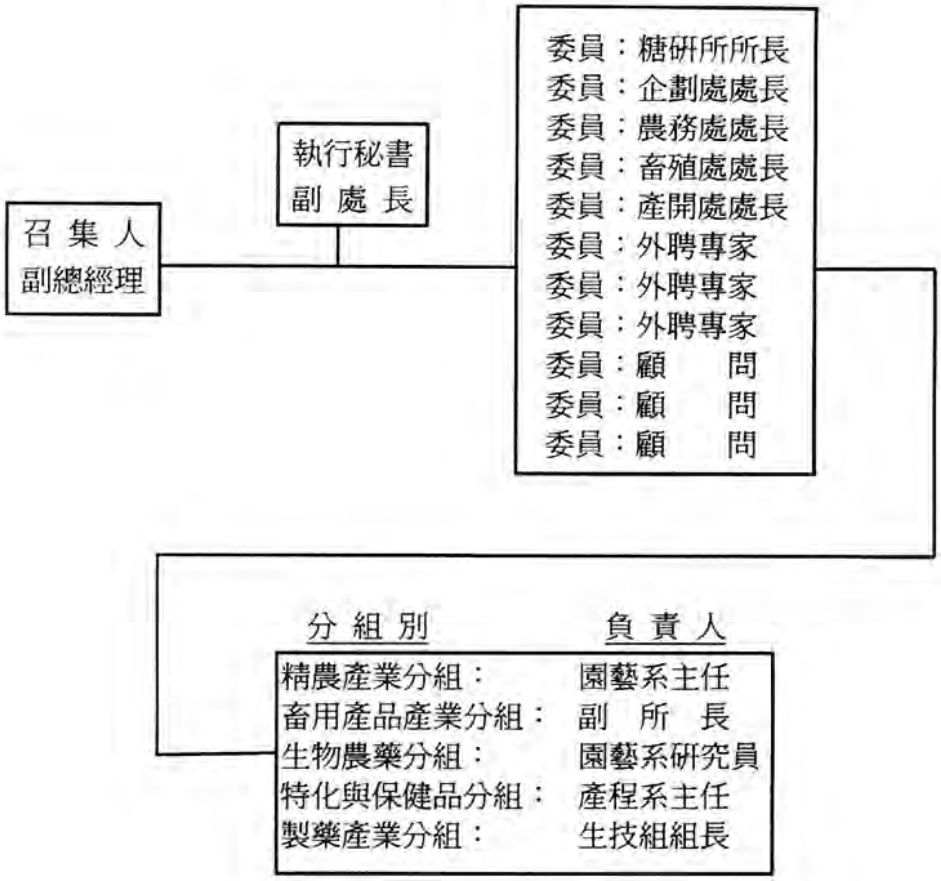
(七)具有設備精密及完善的醱酵及產品回收試量產工場與大規模的生產工廠。
(八)產學結合能力強，已透過合作方式積極開發生技產業新產品。
(九)公司形象極爲優良，傳統食品品牌知名度高。

二、劣勢：
(一)國內生技產品市場小。
(二)智慧財產權及專利相關資訊不足。
(三)產品競爭對象多，先進國家產品專利保護週密。
(四)具專業知識年輕的現場技術操作員不足。
(五)基因轉殖技術、分子生物技術、基因工程技術、細胞工程技術、蛋白質工程技術等設備及人才缺乏，亟需補充。
(六)缺乏長期及持續性，但具有市場潛力的研發政策。
(七)公司相關管理單位對生技產品的開發動向及預測市場趨勢經驗不足。
(八)對生技產品行銷規劃、通路管理，行銷管道(含國際市場)經驗不足，無法即時建立和客戶直接接觸的消費網路。
(九)國內現有保健食品價格及市場區隔混亂，尚未有有力的整合單位。
(十)受法令規章之束縛，無法快速而靈活引進技術。
(十一)產品品質未達國際認可標準或認證。
(十二)本公司生物技術產業推動體系之人力在初創階段有待積極強化。

台糖生技產業推動委員會組織

近來，政府積極推動國內生物技術產業之發展，台糖公司爲了配合政府推動生技產業政策特成立「生物技術產業推動委員會」，在過去的基礎下，積極發展精緻農業產品、畜用產品、生物農藥、特化與保健產品及製藥等五大生物技術產業，奠定台糖公司產業轉型基礎，期能積極配合政府政策並與國內外生技產業攜手合作，共同開創新領域。

下圖爲台糖生技產業推動委員會組織圖：



台糖近年生技產業之研發成果

一、精緻農業產品：蝴蝶蘭優良品種之育成、蝴蝶蘭企業化栽培之研究、經濟作物開發與種苗生產之研究、唐菖蒲及百合種球企業化量產之研究。

二、畜用產品：豬沙氏桿菌性多發性漿膜炎之防治、肉精粉之製造、仔豬代奶料之改進、豬胎盤素之萃取及豬瘟次單位疫苗之開發。

三、生物農藥：甘蔗根莖基部乾腐病生物源防治藥劑之研究。

四、特化與保健產品：核　酸製造之研究、果寡糖的生產及分離精製、含有酵母麩胱　　健康食品之開發、鯊魚軟骨健康食品之品管研究及脫乙醯殼多糖的生產、植酸　生產菌株的分離、離氨酸中間工場試驗、環狀糊精之生產、葡萄糖酸生產之研究、木寡糖生產之研究、異麥芽寡糖之生產、丁四醇發酵生產之研究、冬虫夏草菌之開發研究、靈芝深層培養之開發及纖維分解

酵素之開發研究。

台糖生技產業未來發展策略與方向

一、發展策略

(一)以糖研所健康種苗中心發展精緻農業。

健康種苗中心於87年6月興建完成啓用，耗資六千八百萬元。本公司有關植物農業之研究成果可經由糖研所的健康種苗中心組織培養技術量產商品化。種苗中心廠房共820.24坪，配備有中、大型高壓滅菌鍋各一台，並有培養室、清洗配藥室及組織培養研究室，另還有展售溫室500㎡及馴化溫室3,000㎡，可作爲組培苗繁殖場、種苗生產場及產銷服務之用。

(二)以糖研所「醱酵基地」發展高價特化及保健產品。

「醱酵基地」係一生物技術產品醱酵實驗中間工場，於86年底竣工啓用，耗資六千餘萬元。本公司有關醱酵或其他生化製程之研究成果可經由該醱酵基地試量產商品化。醱酵基地配備有各種生物反應器（其中最大反應器爲6KL）及各式下游回收設備，包括管柱分離、薄膜濃縮、噴霧乾燥等等，可作爲各種有關醱酵及高價生化產品之製程放大、技術驗證、人員訓練及試量產之用。另本公司將規劃一座多用途及符合食品GMP之生技量產工廠，以承接「醱酵基地」所陸續開發之新產品大量生產及上市。

(三)與外界技術合作與引進，尤其是製藥產業之技術。

本公司將透過每年提供研發經費以補助學術界或中小企業合作研究開發新技術，或以合作研發方式由國外引進技術以開發新產品。

(四)與外界策略聯盟，發展製藥產業。

本公司將由國外引進成熟技術，或與國內外業界共同合作投資，跨足製藥產業，是爲本公司重要之遠程發展目標。

二、發展方向

本公司在精緻農業產品、畜用產品、生物農藥、特化與保健產品及醫藥產品等五大生物技術產業之發展領域爲：

(一)精緻農業：

蝴蝶蘭產業相關技術
球根花卉產業相關技術
熱帶花卉及建康種苗量產技術
開花基因
病毒偵測技術

(二)畜用產品產業：

豬隻經濟性狀檢定試劑
免疫乳品
畜用疫苗
抗病基因

(三)生物農藥：

殺蚊幼蟲、殺菌、殺蟲等生物性農藥製劑

(四)特化與保健產品：

功能性胜
黃豆加工產業特化成分
醣酯產品
天然色素
酸酵保健食品：如冬蟲夏草、靈芝、幾丁聚醣及γ-次亞麻酸等。
其他相關產品：氨基酸、酵素及核　酸等

(五)醫藥產品

1.長效劑型、低副作用及標的傳輸型之新劑型開發
2.專利到期原料藥的新合成及酵素轉換技術的開發
3.檢驗試劑
免疫檢驗試劑
酵素製劑
核酸探針試劑
4.中藥的科學化開發

台糖生技產業近年來投資計畫

一、轉投資「台灣神隆藥業股份有限公司」

本公司投資額新台幣 2.6 億元，台灣神隆總資本額 27 億 5 千萬元，生產專利到期之原料藥，目前設立於台南科學園區之原料藥工廠將於今年六至八月間完工，預定年底可開始投產。

二、轉投資「生物科技發展基金」

在有關生技公司投資總基金 1 億美元中，本公司參與投資美金 2000 萬元，用於投資高效性及有產品在接近開發完成之生技公司，俾適時引進適合國內投資之生技產業，目前已投資十五家上市生技公司及二十二未上市生技公司。

三、轉投資「台灣花卉生物技術股份有限公司」

台灣花卉本公司投資額新台幣 2.7 億元，總資本額 10 億元。總公司設於台北市，生物技術研究所設於台南科學園區，而栽培生產則除於埔里、高屏、台南及雲嘉等地設置外銷生產專業區外，另有國內外契約生產區，主要產品包括種苗、切花切葉、觀賞植物及國外購併公司產品如觀賞鳳梨及百合種球等。

賴傳統低層次的生產技術，已難確保優勢。再加上近年來工資上揚，勞動密集工業外移，環保意識高漲，貿易漸趨開放，經濟走向自由化、國際化，爲了開拓更多的國際生存空間，必需迅速向高科技產業轉型，加強國際競爭能力。

另外，我國正積極尋求加入 WTO，面臨加入 WTO 所可能帶來的衝擊，國內許多傳統產業必需加速轉型，在此政府積極推動生物技術產業之際，國內生物技術產業環境漸趨成熟，本公司可利用既有之資源與研發基礎，積極推動本公司具發展優勢之精緻農業產品、畜用產品、生物農藥、特化與保健產品及製藥等五大生物技術產業，並且與政府行政單位、學術界及民間企業作密切地計劃配合與技術流通，除可協助生物科技產業在國內生根發展外，對於本公司在國內生技產業中立足有極大的助益。

花卉生物技術在建立永續農業上之功能

朱耀源
台灣花卉生物技術股份有限公司

永續農業的定義，就是永遠持續存在並發展的農產業。要達到這個目的有二個因素：一、保護並維護自然環境，二、建立穩固建康的產業基礎。在保護並維護自然環境這點，由於有很多人會講到因此在這裡不講太多，我就建立穩固建康的產業基礎來談談在永續農業的功能。簡單的說來應該有三方面：

一、以建全的種苗管理制度來保護產品的智慧財產權

在自由貿易和加入 WTO 的壓力下，任何一個國家都避免不了建立健康的產業結構，如果在國際競爭上沒有辦法永續，那國內的生產很難永續存在。農業在很多國家一直都以國防性、社會性來被保護，就階段性目標來說是非常對的，但是慢慢的，連水稻這個最基本的產品，在日本、韓國、台灣都被逼著妥協，所以永續農業必須建立強大國際競爭力。再談到智慧財產權，我想在工業界、印刷業智慧財產權非常風行，但是農業界智慧財產權還是非常缺乏。實際上如果沒有智慧財產權保護，連續不斷的產品沒有辦法被開發，產品在國際市場上也沒有辦法被強力推展，在某一方面這可能會被認爲是獨佔市場的手段，但實際上國際競爭力也就是在獨佔市場上面有所作爲。因爲政治因素所以我們很難立刻進入 UPOV 組織，但是在智慧財產權也好，在專利法也好並不一定要國際組織，我們如果在國內以自己的立場推動國內種苗法，以企業產業的立場在國外爭取每一個國家的專利保護，這應該是可行。

二、以合理的生產成本競爭力進行國際競爭

生產成本可分成兩種極端，一個是落後國家的低生產成本作法，以花卉來講，哥倫比亞、哥斯大黎加、墨西哥、東南亞國家的馬來西亞、印尼、中國，都是以低土地成本和人力成本來做國際競爭力，相反的我們不講美國、荷蘭，以最近十年來才跑出來的幾個花卉先進國家比利時、丹麥、以色列，他們完全是用生物技術和環控自動化來提高他們的國際競爭力。台灣要選哪一條路，我想是非常明顯。以前台灣的菊花、唐菖蒲曾

經輝煌一時，那是以廉價勞工、廉價土地、不怕污染的方式去做，是違反永續農業的作法，我們現在應該做的是以高科技生物技術和環控自動化量產管理來進行整個花卉產業的合理成本管理制度。

要跳脫落後國家的生產模式一定要企業化，企業化的意思是制度化和規模的擴大化，到目前爲止台灣在花卉產業界還沒有一個大規模的花卉企業公司，我相信這是以前台灣沒有辦法在國際花卉產業上突破的最大原因。

三、以強大的國際市場行銷能力來穩固應有的國際市場價格與位置

要進入國際市場公平競爭，不是一件容易的事。世界變小了，資訊、交通、運輸都變成非常容易，以適地適種在精緻的高價市場上做公平競爭的時代已經來臨，這個時候我們需要市場佔有率與產品供應率。產品供應率是什麼，不是單打獨鬥的做法，是統一的做法，是一個管道的做法，一個獨佔市場的做法，所以產品供應率和市場佔有率是習習相關的，我們才有辦法維持價格，甚至超過原有價格、控制價格，沒有控制價格就沒有辦法控制利潤，這一個個環節相連，必須要有整套的、一條龍式的管理體系。

生物技術在永續花卉產業上的應用成效我想是品種開發，種苗生產、產品生產、物流的合理和市場佔有率。

一、品種開發。

台灣在花卉產業的技術水準，所累積的知識跟經驗，絕對不低於美國、荷蘭與日本，我們缺乏的是新產品的管理，也就是專利、智慧財產權轉移的管理上還沒有一套做法。夜來香在嘉義技術學院運作 15、20 年，黃達雄老師、沈再木老師都已經發揮了他們的血汗，做出非常好的品種，我相信那些品種現在馬上就可以在日本被有效的促銷、販賣、佔有市場，卻卡在專利跟智慧財產權的問題。那麼多的技術、經驗、產品已經在國內，爲了制度條文沒有辦法順利跨出去，我們很希望可以打破這個限制，我們很想把這個夜來香不管國內怎麼樣，就拿到日本去登記，申請專利，在那邊佔有日本夜來香的市場，這個是可行的，只是我們如何去做而已。

二、種苗生產。

台糖有一個健康種苗中心，比我在美國創建的 Twyford，這個全世界的組織培養苗生產最大的公司還大。基本的觀念和

設施的建立可能改善局勢，我想最主要還是在市場的資訊，取得市場的資訊，如何去走，在量產的管理，整個制度管理如何去做，就在那個地方，我們實際上是蓄勢待發。

剛剛劉所長講過的病毒檢定，張清安博士的病毒檢定，這些絕對是世界第一的，遺傳的 finger print 檢定，在生技中心也好，台糖也好，屏東技術學院都在執行，已經足夠，所以在種苗生產方面，我相信我們也是有國際性的。

三、產品的生產。

產品我們很多，技術上也非常充裕，品種管理、病蟲害管理，還有配合環保觀念現在必須開始來集合。我們的生產都是以零星產銷班的生產方式爲基礎，一個產銷班還分成十個十八個花農再結合，很難相信他們能以環保爲基礎來進行生產，荷蘭在 2000 年幾乎一滴水都不能從生產設施裡出去，如果國際每個地方都有這個規定，台灣的國際競爭力何在。我想這是一個現在就要請貴學會必須開始考慮的重點，怎麼去做合理的生產管理。

四、物流的合理化。

這是我們一直專注在品種、種苗、生產上面合作而忽略部分，農試所黃肇家博士及幾位都在做物流貯運保鮮技術，我相信從事於生產的大學、改良場、農試所，至少有一百位花卉的研究人員，但是做保鮮貯運、物流合理化的倒是沒有三個，這是相當不平衡的，如果沒有合理的物流、貯運，就不能夠國外行銷，所以這方面我相信我們應該開始合作。

我很簡單的，以花卉產業爲例子來看永續農業，我很想以花卉產業在永續農業上創造一個模式出來。未來生物技術在農業界必然扮演很重要的角色，而永續性則離不開國際競爭力，台灣絕對要讓花卉脫離被保護的角色，在國際市場上堂堂正正的與世界先進國家拼鬥。我有一個夢想，要在日本市場把荷蘭的多花型菊花趕出去，台灣的多花型菊花在日本市場要跟荷蘭的多花型菊花拼鬥，以價格品質來跟他打仗。

我們常講應該向荷蘭、美國、日本等花卉先進國家學習現代化的科技技術，但是不要忘了，他們能夠在世界上成爲所謂花卉先進國家並不是只有在科技，而是在建立具有國際競爭力的產業結構。荷蘭的農業產業結構大概是世界上最先進的，他還會持續一百年、兩百年的領導地位，靠的絕對不是只有科技，而是有效率的、具有

國際競爭力的產業結構。台灣花卉生物技術公司成立後，在短短的十個月已經輸出了文心蘭、火鶴花、切葉，接下來還會有菊花、洋桔梗出去，我們要以真正的產業結構在世界的舞台上面擁有競爭力。剛剛黃副廳長在最後提到一句「落實產業」，希望建立與美國日本一樣的結構，我們覺得在台灣也應該在農業落實產業的方面加緊進行，我希望有更多產業人士加入建立永續農業的工作中，在環保與產業開發間取得平衡，因爲規模大、利潤高，能夠投入更多的高科技，能夠開拓投資在保護自然環境的力量上面。

生物技術在畜產上之應用

戴　謙
國立成功大學生物科技研究所

引　言

畜牧生產事業爲我國農業生產中極爲重要的一環，在民國 86 年豬口蹄疫尚未爆發之前，其總值占農業總產值 30%以上，其中養豬產業之生產總值即占農業總產值的　以上（請參見表一），惟在 86 年 3 月 20 日我國向國際畜疫協會（OIE）發佈爲豬口蹄疫疫區之後，養豬產業即大幅滑落，於 86 年之總產值僅占農業總產值之 15.9%，此一國際惡性傳染病，給我國畜產業帶來了歷史性的重大傷害。近年來我國積極推動成爲世界貿易組織（WTO）之會員國，面對世界貿易之自由化與國際化之衝擊下，對畜產事業更是一極大的挑戰。同時國內環保意識高漲，對農業的永續經營的要求日益迫切。因此在跨越廿世紀之時，加速我國畜產事業的轉形，以因應國內外情勢的變遷，實爲無可選擇的唯一途徑。

生物科技爲廿一世紀明星產業的基礎，生技產業不但產品附加價值高且回收期長，它也是污染性低及能量依存度低的產業（田，1998）。生物科技應用於畜產業者非常廣泛，自 1979 年以來，美國農部（USDA）已核發 59 項有關動物生技的新產品上市及 43 項診斷試劑（其中 16 項爲疫苗）。迄至 1997 年底尚有 99 項畜用生技產品正在農部審查中（田，1998）。

在國內則由各畜產研究機構（台灣省畜產試驗所、台灣省家畜衛生試驗所、台灣養豬研究所及台糖畜產研究所），各大專院校之畜產學系及生物技術中心（DCB）等研發單位多年來致力於生物技術相關之研究，從豬、牛、羊、家禽、牧草、加工、飼料及廢棄物處理等技術領域內，累積有相當成果。例如胚移置、胚冷凍、胚體外受精及體外培養、性別鑑定、診斷試劑開發、疫苗製作，遺傳標記研究、緊迫基因篩選及牧草抗病基因選殖等已經建立相當成效。最近台大畜產系鄭登貴教授在乳鐵蛋白及人類第九號凝血因子的基因轉殖成功及畜產試驗所乳牛生物工廠之推動更爲生物科技研發及落實於產業打了一針強心劑。有關國內畜產生技之研發成果，分別在農委會出版的中華民國農業科技研究成果（1996）及 1998 全國農業科技展專刊中已有刊載，另戴（1993,1995）及楊等（1998）亦已撰

文論述。本文旨在探討如何應用生物科技來面對畜產業的未來挑戰。

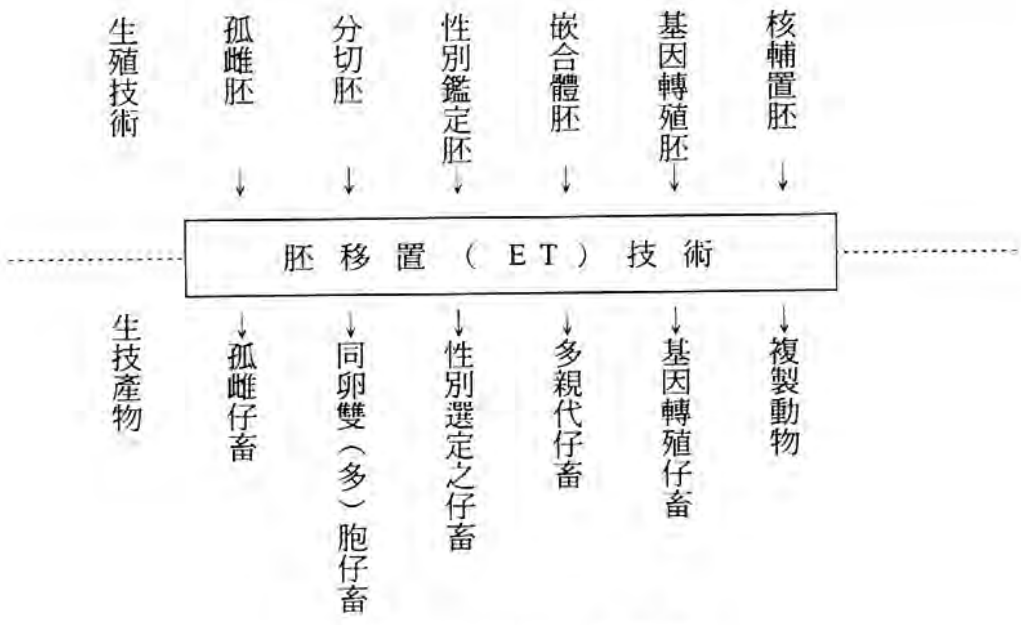
生殖科技之應用

經由生殖科技之操作可以生產孤雌仔畜，同卵雙胞（或多胞）仔畜，性別選定之仔畜，多親代仔畜，基因轉殖仔畜及複製動物等動物（圖一）。

應用生殖技術（如胚移置，胚體外熟成，胚體外受精，胚性別鑑定及

表一、畜牧產業產值變化

年	農業生產總值 台幣× 1000	畜產總值	養豬生產總值	養豬產值占農業生產總值%
83	375081060	124558720	75279426	26.43
84	411139578	141113261	88986590	28.74
85	420121140	149318880	88607520	27.51
86	379552036	107312464	44701680	15.90



圖一、生殖科技之應用

胚幹細胞株培養等）的利基，在楊等（1998）的報告中已有具體的論述。本省地處熱帶及亞熱帶地區，適應本省環境之優良畜禽品種，必然可以在東南亞地區的國家環境下，有良好的生產性能表現。因此在本省選育之優良畜禽品種，可藉由生殖科技予以大量增殖銷售國內農戶飼養，甚至可以透過冷凍保存技術推廣至東南亞國家及中國大陸。將過去大量飼養肉用畜禽以提供外銷的模式，轉型爲高價值之畜禽種原外銷，不但可以提高外匯收益，最重要的是減少畜禽飼養頭數後，對本省環保染污的壓力可以大幅的舒解。最近畜產試驗所提出的生物工廠的理念，即是結合胚移置及胚性別鑑定等技術，擬自優良乳牛群大量生產單一（雌）性別之胚供酪農生產女仔牛。同時也擬自屠宰場取得卵巢，以胚體外受精，體外熟成及性別鑑定等生殖科技，把這些無窮盡的廢棄生命資源予以活化利用。畜試所在這方面技術應屆成熟，如何結合產業力量以促成生殖科技在畜產上的應用，期待在不久即可落實。

基因轉殖動物之應用

轉殖家畜之應用主要著眼於與經濟相關的重點：　畜禽之生長及屠體組成　生化代謝徑路與產品品質　基因農場（gene farming）－利用家畜禽生產高價值之蛋白質　抗病等四大方向。基因轉殖動物在國內外均有成功的案例，楊等（1998）已有論述。在國內對基因轉殖家畜之研發成果最近有令人鼓舞的成果，台大畜產系鄭登貴教授轉殖成功的豬及牛即很值得肯定。最近英國 Roslin 研究所將取自綿羊之乳腺細胞以生物技術複製出一頭綿羊"桃莉"（Wilmut et al.,1997），此種不經有性生殖而能大量增殖同一個體的技術，使科學家掌握前所未有的能力來改變生命，對全球也造成了極大的震撼。在此同時，美國複製猿猴與乳牛，紐西蘭複製綿羊等利用先進生殖技術的成功，使科學家們在未來能夠隨心所欲的複製猶如藥用蛋白質生產工廠的基因轉殖羊，進而生產人類所需之高價值醫藥產品，或改善家畜禽的各種生產性狀，使畜牧生產邁向新的分子牧場領域，創造難以估計的經濟利益。

基因轉殖家畜擬在畜牧產業實際應用，仍有漫長的路要走。但最大的問題在於國內產業對這方面研發的支持與興趣相當有限，因此建議國內各大飼料及動物藥品公司擴大參與政府推動的產學計畫，利用部分的財力來支持這項研發工作。一方面可以加速基因轉殖動物之本土化，同時業界也可優先取得技術轉移權，落實高科技與產業結合。最近大春飼料公司轉投資於生物技術產業，是一件值

得業界注目的大事，寄望該公司新設立的崧歡行企業體在不久即可投入畜產相關之生技產業。

遺傳標記基因之應用

分子遺傳標記的發展，可偵測到 DNA 層面之變異，建立家禽正確的基因圖譜，基因庫圖譜可作爲畜禽純種程度之鑑定及遺傳優劣之判定，同時偵測並除去可能之遺傳缺陷。這些遺傳基因之技術包括 DNA 多型性（如 AFLP、RFLP、RADP、VNTR 等）PCR 之應用及標記基因輔助選拔技術等。

數量遺傳理論在過去三十年間對家畜禽經濟性狀之改良有顯著的成果，惟這些數量的經濟性狀選拔往往混雜有環境效用及基因交感等多效基因的影響，而導致育種提高態的瓶頸問題，因此以遺傳標記來協助選拔（MAS）或以遺傳圖譜來找尋與數量性狀相關的基因座（QTL）已成爲全世界改良畜禽技術的重點。我國在過去建立的國家種豬供應體系及乳牛 DHI 制度以至於家畜方面的遺傳改進，已有相當的成果，也育成了某些特殊品系提供商業生產。惟在遺傳標記的使用上仍相當有限，因此如何應用國外已研發的遺傳標記技術及成果於本土畜禽的改良上面，使本土動物的特異性與一些已知的標記基因結合，以加速本土動物之選育，提供具有市場區隔的種畜，爲今後畜產業界及研發單位應加強的重點方向。

疫苗製劑之應用

畜牧經營上，爲了增加家畜禽健康以確保生產效益，疾病防治應加強動物疾病流行病學之研究、疾病診斷技術與疫苗之開發與改良，期能迅速確診並防止疫病蔓延以維人畜安全。動物疾病的預防，使用疫苗仍是主要的方法。傳統的疫苗製造，一是直接使用活毒疫苗，二是使用物理或化學方法殺死之病毒或病菌製成的死毒疫苗，三是降低病毒或病菌之病原性所製成之減毒疫苗，這些疫苗的製造成本昂貴，穩定性不佳且可能產生副作用。最近，因分子生物學的快速進展，利用遺傳工程技術來開發所型動物疫苗如次單元疫苗及基因重組疫苗，例如疫苗載體（vaccine vector）的開發，利用弱毒的活菌或病毒爲載體，將其它病原的抗原基因殖入載體，使其能同時表現多種抗原蛋白質；若將此基因重組活菌或病毒製成疫苗便能預防多種疾病，此種疫苗稱爲基因重組型多價疫苗，具有安全性高且製造成本低的優點，能克服上述疫苗之缺點。除了以活菌爲載體

的疫苗，一種嶄新的疫苗研究，是將帶有特定病原蛋白基因且不具複製能力的重組質體 DNA（plasmid DNA）直接注入動物體的肌肉中，質體 DNA 經由肌肉細胞吸收而表現出抗原蛋白，誘發動物產生抗體與細胞性免疫反應（Wolff et al., 1990），達到保護動物對抗疾病之侵害，DNA 疫苗已成爲最熱門的新疫苗研究方向(Tang et al., 1992)。DNA 疫苗具有異於試管製造的重組蛋白者，乃在於其直接在動物活體內逕行製造質體 DNA 所帶之抗原蛋白，節省疫苗生產過程中成本昂貴的蛋白質製造及純化步驟。此外，抗原的製造持續時間相當長，因此能克服免疫系統反應弱、減少及省去需要的補強注射。核酸疫苗具有傳統疫苗的優點，故能誘發良好的免疫反應，而且更安全、容易製造且成本更便宜。在國外，由病毒引起的疾病如新城雞瘟（Sakaguchi, 1996）或牛泡疹（Cox et al., 1993），DNA 疫苗已有良好研究成果。在我國，爲了避免動物發生重大惡性傳染病對畜產業者造成嚴重的打擊，未來在豬瘟、假性狂犬病、口蹄疫或豬繁殖與呼吸道症候群（PRRS）等重大疫病，應可朝核酸疫苗方向來進行。

本省動物用生物製劑之研發及生產以經濟動物爲主，而國內現有之疫苗廠主要產品供內銷，總產值約佔國內市場之 15%，其餘均爲外國產品，故本省生物藥品製造業仍有相當的研究潛力與商機、動物用疫苗的研發是國家生物技街產業發展之重點項目之一（古，1997)。目前，使用之疫苗大部分爲傳統疫苗，然而可以預見，未來的基因工程疫苗將成爲市場之主要產品。以基因轉殖技術製造疫苗正值萌芽階段，而研發之重點對象有豬瘟、豬假性狂犬病疫苗、豬水泡病疫苗、新城雞瘟基因重組疫苗、牛傳染性氣管炎株基因缺損疫苗與豬繁殖與呼吸道症候群等。疫苗製造關鍵技術除抗原本身外，佐劑技術及劑型均值得開發，利用基因工程研發之新疫苗產品，未來除著重效果與成本之改善外，疫苗新劑型的研發也是疫苗產業的發展目標（古，1997)。我國在疫苗技術上稍落後歐美等國，然而國內擁有生物科技的人才與技術，健全的畜用疫苗學研單位，同時已建立遺傳工程關鍵技術，若能結合這些有利因素，國內疫苗工業將可進入嶄新的產產業時代，並可能成爲亞洲畜用疫苗研究與供應中心。

在楊與蘇（1994）的畜用疫苗產業昇級規畫報告中，對本省疫苗產業之現況及未來展望有深入之探討。表二爲他們提出在本省有關疫苗產品技術研發需求的順序。同時他們也建議　近程工作：應以產、官、學、研團隊選擇重點自行研發新產品，農委會應注重研發題目之支持及管理。工業局應負責產程輔導、人才培訓及重點技

術之引進。　遠程之規畫：應以工業局、經濟部爲主，來推動建立亞洲畜用疫苗供應中心的目標，以國家經建前提，推動畜用疫苗產業生根於台灣。方法則以技術引進及國際合作爲主，輔以自行研發地域性產品，建立以爭取亞洲市場爲商業目標的基礎產業。

表二、疫苗產品技術研發需求順序表（以優先順序排序）

學　　界	業　　界
1.豬假性狂犬病（PR）基因工程疫苗	1.傳統佐劑：如油質佐劑之製備及使用法
2.以 ND（新城雞瘟）爲主之混合雞用疫苗	2.新型佐劑
3.國內外疫情、疫苗市場調查	3.油質佐劑之穩定性
4.PR 檢驗試劑	4.混合式多價疫苗
5.細菌性混合疫苗（如 AP＋Sal＋Pas）	5.豬假性狂犬病基因工程疫苗
6.HC、PR、TGE 檢驗試劑	6.以 PR 爲載體之多價疫苗
7.產程改良	7.次單元疫苗：如 AP、JE、IBD
8.減少注射次數之劑型研究	8.內毒素純化
9.禽病疫苗（如 Marek's 疫苗）	9.減少注射次數之劑型研究
10.PRRS（藍耳病）基礎研究高密度醱酵	

檢驗試劑之開發

一、單株抗體:

利用傳統方法來診斷動物的疾病，對病原的分離與鑑定相當費時且很少能直接確定病原。應用生物技術開發出能與外來抗原在單一特定位置上產生免疫結合反應的單株抗體，對於診斷、治療、純化生化物質及科技研究等方面均有很大的助益。配合酵素免疫反應（ELISA），能迅速而準確地鑑定病原，很適合大量的檢驗。目前，養豬科學研究所已成立融合瘤中心，提供融合瘤及單株抗體之研究與製作服務。

二、利用 PCR 進行疾病之研究：

由於 PCR 分析技術十分敏感，可以在病原未大量增殖之前早期診斷而防止疾病的擴散。配合核酸探針進行原位（in situ）雜交或原位 PCR，則甚至可以直接在病變組織中偵測到病原。台灣地區牛型結核病的研究，依據台灣省農林廳資料指出，雖經多年之清除撲殺，乳牛感染分枝桿菌情況反有增無減且日趨

嚴重。利用 RFLP 方法分析台灣地區 TB 陽性牛之分枝桿菌的 RFLP 圖譜，並嘗試以 PCR 研發適用於本省乳牛分枝桿菌之快速檢驗法。目前已建立結核桿菌培養方法、RFLP 分析之完整系統與關鍵技術，並建立可檢測牛型分枝桿菌之引子及 PCR 反應條件。試驗結果顯示，臺灣地區由乳牛或鹿分離之分枝桿菌與由人分離之分枝桿菌有完全不同的 DNA 相，證明人類之結核病菌並非來自乳品之感染，顯示政府乳牛結核菌防治之成果。而由目前運用核酸探針及限制酵素分析所得初步結果顯示，臺灣地區牛型分枝結核桿菌分離株之 DNA 相十分一致。PCR 技術也應用在血吸蟲症、豬瘟、其他家禽病毒感染診斷試劑的開發與乳房炎鏈球菌的分析，期能在最短時間內偵測出病原而加以防治。

三、畜產品殘留磺胺劑檢驗試劑之開發：

在台灣，家畜禽因大規模而密集的飼養，使動物傳染病的發生日益複雜且更易蔓延，抗生素與磺胺劑應用越來越多，一旦未依規定時間停藥或使用不當，即可能造成畜產品中藥物殘留的問題。我國豬肉輸日曾發生磺胺劑殘留事件，使磺胺劑殘留受到極度重視。磺胺劑常添加於養豬飼料中以預防疾病感染並促進生長。其中，磺胺二甲嘧碇（sulfamethazine, SMT）因價格便宜效果佳，使用最爲廣泛，若豬隻屠宰前二週未依規定停用添加 SMT 飼料，即可能殘留於豬肉及內臟，有害人體健康。爲了防範磺胺劑殘留以確保消費者安全，政府與肉品業者均投下大批人力物力從事磺胺劑之殘留檢測。生物技術開發中心受農委會委託，已完成 SMT 之 ELISA 檢測套組的研發，該套組因操作簡易、準確性高且血清檢品不需前處理，可廣爲大量篩檢，爲國人食肉安全提供更嚴格的把關（劉與張，1996）。

畜產加工之應用

近年來，隨著科技的進展及潮流所趨，促使畜產加工自傳統型態轉向機能性食品的時代。在國外，生物科技在畜產加工的研究主要是利用固定化酵素或微生物之生物反應器，從畜產原料大量生產各種有用之物質；或利用酵素工程，將畜產原料成分水解或合成各種具有特殊生理機能的胜　或寡醣類。此外，自乳酸菌或發酵乳製品成分中，開發具有促進免疫力、抗惡性腫瘤及有益健康的成分，培育具有新機能性之畜產微生物來生產高附加價值之機能性畜產品營養物也頗有潛力。由於機能性寡醣頗具有改善腸內菌叢、增殖腸

內乳酸菌數、減少腸內腐敗物質之產生以及改善便性、血醣值等功能。而加強畜產副產物之充分利用並減少對環境造成污染是畜產加工之重點。乳清是乾酪製造之副產品，其內含豐富之乳醣、可溶性蛋白質與無機鹽類等，若直接丟棄將造成嚴重環保問題，利用生物技術來處理乳清可提高其利用價值，除做爲蛋白質補充物外，尚具多種機能性與加工性，可作爲甜味劑或醫藥使用（Siso, 1996）。

利用重組 DNA 技術生產乾酪業所需之凝乳酵素 chymosin，是重組 DNA 技術成功應用在乳品加工的代表例子。由於仔牛的屠宰數下降，致使自然來源的 chymosin 大爲減少，爲了增加全球之乾酪產量，利用重組 DNA 技術生產 chymosin 可以替代天然 chymosin，應用在乾酪的生產（Yu,1994）。在乾酪製造時，爲了增加乾酪風味並減少苦味，提高產品中良好風味的胜　與揮發性成分的濃度，可利用不同乳酸桿菌的添加來分解蛋白質，開發有益健康的低脂乾酪。在食物保存上，乳酸菌能經由養分競爭、產生有機酸或殺菌素等來拮抗有害細菌，達到保存食品的效果，此在肉品與乳品加工等畜產品具有相當的實用價值。在乳汁生產方面，利用生物技術修飾乳汁組成，配合基因轉殖動物或胚幹細胞研究，將新的乳蛋白基因加到泌乳動物之基因組中，修飾乳汁的組成來改變並提高其營養價值 (Bremel et al, Clark, 1996)。

畜禽營養之應用

應用生物技術來提高家畜禽產量，最好的例子是利用遺傳工程技街生產重組生長素，增加乳牛產乳量或豬的生長率，生長素能協調體內各種營養因素，使乳腺與身體組織對營養分做更有效的利用，刺激乳腺上皮細胞分泌更多乳汁而增加產乳量。乳牛注射生長素可提高產乳量約 15～20%，增加生產效率約 10%。豬隻注射生長素，可提昇飼料換肉率，使屠體中蛋白質含量增加，降低脂肪含量 70～80% ，增加生產效率約 15～35%(Baldwin and Knapp, 1993; Etherton et al., 1993)。利用生長素來增加乳牛之產乳量的報告甚多，其在畜產之應用是未來不可避免的趨勢，對畜牧業衝擊甚大(Bauman, 1992; Peel, 1996)。

在動物的腸道內，有無數的微生物存在，對維持腸內有益菌的數量與優勢、抑制病菌繁殖、維持動物健康並提高飼料效率、育成率及繁殖率等，對動物營養與生理相當重要。雖然使用抗生素能抑制體內害菌，改變動物代謝與健康，但抗生素的濫用將造成殘留及抗藥菌的產生，對人類健康及疾病控制不利，將來可能面臨無藥可

用之處境。藉由飼料中添加益菌來維持動物腸道的健康，有類似抗生素的效果卻無其害處，可減少抗生素的使用量。生物素原（probiotics）是由微生物培養所得，做爲飼料添加劑可改善家畜禽腸道內微生物菌叢之平衡與正常，用於初生或幼齡動物可避免大腸桿菌或沙門氏菌等病菌在腸道中增殖，改善養分吸收並促進生長表現。藉由生物技術改善細菌功能，例如生產消化酵素幫助動物消化吸收、生產維生素與必需胺基酸促進動物生長、表現病菌的免疫原蛋白成爲口服疫苗、分泌荷爾蒙促進動物生長而增加動物性蛋白的產量。爲了增加瘤胃的消化率，可以選殖能分解木質素與纖維素的基因導入瘤胃中的微生物來改善反芻動物營養。

酵素（如 endoxylanse, Keratinase-lyeate）等可分解飼料成分以增加利用效率，並促進養分吸收。非反芻動物不能利用飼料中之植酸磷，而需另外補充昂貴之無機磷，若於飼料中添加植酸酵素，則可增加飼料利用效率，又可減少環保問題。

在動物飼料中，玉米－大豆粕是主要成份，玉米之離胺酸組成偏低爲其營養缺失。利用基因轉殖法，可以將他種作物的高離胺酸組成基因植入玉米中，產生營養均衡且不影響產量的玉米新品種。而羊毛主要由角質蛋白組成，含有高量的含硫胺基酸如甲硫胺酸與半胱胺酸，爲了增加羊毛生產量，可將含硫胺基酸高的豆料植物基因轉殖到飼料作物中，生產高含硫胺基酸的基因轉殖植物做爲飼養綿羊的草料（Altenback et al., 1990; Rodgers, 1990）。

牧草的抗病育種對草的生產十分重要，本省栽培的牧草品種主要爲盤固草 A254，近年來因鏽病與金針蟲等問題漸趨嚴重，使得抗病育種的需要大增，爲了增加盤固草的抗病力與生產量，減少病蟲害的侵害，畜試所利用組織培養與藥劑誘變等生物技術來增加盤固草的遺傳變異，同時利用 RAPD 方法進行分析，此將有利於盤固草之抗病育種（王等，1997；陳等，1995）。

畜產廢棄資源之再利用

本省畜產業於民國 80 年曾面臨環保污染之重大壓力，由於當時台灣省畜產試驗所在過去 30 年研發成果之累積，而有三段式廢水處理技術來因應養豬廢水處理問題，使當時的危機得以順利化解，並爲本省養豬環保觀念建立了一個全民的新里程碑。利用微生物發酵處理畜產廢棄物，不但可以使排放水合於國家標準，沼氣能源的利用及堆肥資源化等更是生物技術處理神奇之處。目前畜牧廢水中氮及磷的去除問題已由數個研發單位研發後，提出了有效的處理方

法。今後畜產廢棄物的處理，不僅將它的 BOD 減至排放標準，更重要的是再生的資源如沼氣及有機堆肥如何有效的利用，使它重回自然界的循環，由土地及植物體加以消化吸收，使畜牧產業成爲非污染之產業，最重要的是達到永續經營的目的。

結　論

生物技術的開發日新月異，不但是本世紀之新興科技，也將繼電腦資訊業之後，成爲 21 世紀最具潛力之明星科技產業之一。由於生物技術具有附加價值高、技術密集、污染性低且能源依存度低的高經濟效益產業，歐美等先進國家對於生物技街之發展不遺餘力，值得國內科學家效法並急起直追。生物技術的未來發展趨勢，是將已發展之關鍵技術，實際應用在畜牧生產以改善畜牧生產效率。爲了提升生物技術之研發水準，政府相關部門應妥謀有效對策，並制訂不同時期的重點發展策略，同時整合國內之科技人才與資源，形成有力的研究團隊，以生物技術帶動畜產業的升級。在台灣，農業生物技術計畫項目中與畜產及獸醫有關之重點工作有基因轉殖動物的研究、動物用核酸疫苗、快速偵測套組與試劑的開發，可做爲將來畜產生技研究的指引。亞洲這個新興市場，因經濟及人口穩定成長，人民生活水準與品質也相對提高，對畜牧產品的消費需求亦快速成長，蛋、豬肉、及其肉製品之消費已超過全球消費量之一半以上，家禽製品也佔了三分之一，可說是最重要之家畜生產與銷售市場，同時，也是國際最有潛力的畜用疫苗市場。台灣在畜牧生產技術上已具有相當的基礎，若能急起直追，縮短與歐美先進的科技差異，將來的畜產業應能成爲立足台灣，胸懷亞洲，放眼全世界的永續性良業。

參考文獻

王紓愍、成游貴、陳嘉昇。1997。盤固草 A254 懸浮細胞系的建立及誘變條件探討。畜產研究 29：13～22。

古德業。1997。台灣農業生物技術之現況與產業發展。生物產業 8：15～20。

行政院農業委員會。1996。中華民國農業科技研究成果。P676-693。台北市。

行政院農業委員會。1998。全國農業科技展專刊。P186-189。台北市。

田蔚城。1998。生物技術與生物產業。生物產業與製藥產業（上冊）P1-15。九州圖書文物公司。台北市。

楊惠郎、蘇文瑩。1994。畜用疫苗產業昇級規畫。財團法人生物技術中心。

楊惠郎、蕭振文、戴謙、宋永義。1998。生物科技在畜產上之應用。畜產研究 31:197-210。

劉涓、張東玄。1996。小分子藥物之免疫檢測試劑。生物產業 5：35～37。

戴謙。1993。台灣省畜產試驗所生物技術研究現況。生物產業 4：143～153。

戴謙。1995。生物技術在畜牧上之應用。中華農學會年會中心議題，pp. 39～50。

Altenback, S. B. and R.B. Simpson. 1990. Manipulation of methionine-rich protein genes in plant seeds Trends Biotech. 8：156～160.

Baldwin, R. L. and J. R. Knapp. 1993. Recombinant bovine somatotropin's effects on patterns of nutrient utilization in lactating dairy cows. Am. J. Clin. Nutr. 58：282～286.

Bauman, D. E. 1992. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. J.Dairy Sci. 75：3432～3451.

Bremel, R. D., H. C. Yom and G. T. Bleck. 1989. Alteration of milk composition using molecular genetics. J. Dairy Sci. 72：2826～2833.

Clark, A. J. 1996. Genetic modification of milk proteins. Am. J. Clin. Nutr. 63：633S～638S.

Cox, G. J. M., T. J. Zamb and L. A. Babiuk. 1993. Bovine herpesvirus 1: immune responses in mice and cattle injected with plasmid DNA. J. Virol. 67：5664～5667.

Etherton, T. D., P. M. Kris-Etherton and E. W. Mills. 1993. Recombinant bovine and porcine somatotropin: safert and benefits of these biotechnologies. J. Am. Diet Assoc. 93：177～180.

Peel, C. J. 1996. The role of industry in international animal agriculture. J. Anim. Sci 74：1382～1385.

Rodgers, G. E. 1990. Improvement of wool production through genetic engineering. Trends Biotech. 8：6～11.

Sakaguchi, M., H. Nakamura, K. Sonoda, F. Hamada and K. Hirai. 1996. Protection of chickens from Newcastic disease by vaccination with

a linear plasmid DNA expressing the F protein of Newcastle disease virus. Vaccine 14 : 747～752.

Siso, M. I. G. 1996. The biotechnological utilization of chese whey: a review. Bioresource Technol. 57 : 1～11.

Tang, D. C., M. Devit and S. A. Johnston. 1992. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. Nature 356 : 152～154.

Wilmut, I., A. E. Schnieke, J. Mc Whir, A. J. Kind and K. H. Campbell, 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature 385 : 810～813.

Wolff, J. A., R. W. Malone, P. Williams, W. Chong, G. Acsadi, A. Jani and P. L. Felgner. 1990. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. Science 247 : 1465～1468.

Yu, P. L. 1994. Production of chymosin for the dairy industry by recombinant DNA technology. Australas Biotech. 4 : 19～23.

生物技術在作物品種改良上之應用

王強生
行政院農委會農業試驗所農藝系

摘要

目前地球有限的耕地面積及農業生產體系，已無法負擔急速增加的世界人口。如何應用生物技術改良作物品種，提高農業生產量或產值，已成爲農業研究的首要目標之一。傳統育種方法屬於雜交育種，品種改良主要受種原變異之限制，而不同物種 (species) 間之雜交頗爲困難，育種成果難有大突破，「綠色革命」(green revolution) 很難再發生。利用生物技術進行作物品種改良，係指以遺傳工程 (genetic engineering) 技術，將特定基因或性狀導入缺乏此基因或特性之目標作物 (target crop) 的育種方法；因此利用生物技術進行作物品種改良，可以突破種原之限制及種間雜交之瓶頸，創造新性狀或新品種，亦即未來「基因革命」(gene revolution) 很可能迅速取代「綠色革命」。今後利用生物技術進行作物品種改良，可朝下列重點努力：創造高附加價值之轉基因作物品種；育成具環保特性之抗病、抗蟲及抗殺草劑等作物品種，減少農藥之施用；育成具耐旱、耐寒、耐熱及耐重金屬等具環境忍受性之作物品種。

利用生物技術進行作物品種改良之主要步驟如下：1. 目標基因 (性狀) 之選殖與改造；2. 基因轉殖載體 (vector) 之構築；3. 將基因轉殖至目標作物；4. 轉基因植株 (transgenic plants) 之基因表現與遺傳分析；5. 轉基因品種之育成與上市。國內正積極開發生物技術，重要基因之選殖及基因轉移技術之開發等試驗，正蓬勃進行，預期今後陸續會有下列轉基因作物品種之育成：抗輪點病毒及耐儲運之木瓜品種；延緩切花老化及抗病毒之蘭花品種；抗真菌病害之番茄及蕃椒品種；生產高附加價值成分之水稻品種；抗病、抗蟲之蔬菜品種；耐冷、耐熱之蔬菜品種；具新花色、花型及株型之花卉品種，及具特殊木材品質之林木品種等。這些生技改良的作物品種，除具有較高產值外，更可申請品種、基因或產品專利，未來我們更將進入「基因農場」(gene farming) 的時代，使農業真正邁入永續化，值得大家拭目以待。

前言

農業生產主要依賴土地、水分及空氣等，然而在全球環境巨大變遷下，加上土地漠質化(desertification)、空氣及工業污染等因素，

使土壤、水分及空氣品質等農業生產所依賴之自然資源急遽衰退。因此今後的農業生產需較以往克服更多的土地、水分及空氣等自然資源之限制。

目前世界人口已超過60億，根據人口學家之估計，將於公元2050年超過 100 億。目前世界農耕總面積爲六百萬平方英里，如果單位面積糧食產量沒有提高，至公元 2050 年需要一千五百萬平方英里耕地面積。以目前糧食生產狀況預估，傳統農業將受到土地、環境及經濟等因素之限制，屆時地球有限的耕地面積及農業生產體系，將無法負擔急速增加的世界人口，在可預見的未來，人類將會面臨重大糧食危機，因此必須先未雨綢繆。

傳統農業產量之提高，主要依賴品種改良。1950 至 1960 年間，在菲律賓的國際稻米研究所(IRRI)及在墨西哥的國際玉米及小麥研究所(CIMMYT)的農業學家將矮性(dwarf)基因自日本型(japonica)水稻品種低腳烏尖，導入印度型(indica)水稻品種台中在來一號(Taichung Native 1, TN1)育成世界上第一個半矮性(semi-darwf)的新品種 IR20。相同的，在 CIMMYT 的農業學家，也育出半矮性的小麥品種。具半矮性株型的水稻及小麥品種，具有強稈、不易倒伏，對肥料反應敏感及株型佳、受光態勢良好等農藝特性，配合良好的施肥及水分管理等栽培技術，可顯著提高產量達 50% ，此一農業史上的重大成就，稱爲綠色革命(Green Revolution)。

以小麥、玉米及水稻等世界三大穀類作物爲例，雖然其平均年產量，自 1967 年以來每年均有小幅增加。然而，大多數的農藝學家及育種家均一致認爲，這些作物已達到其產量潛能或生產瓶頸。目前產量的微幅增加，係因栽培技術改進及病蟲害控制得當所致，因此產量很難再有突破，亦即第二次綠色革命很難再發生。今後必須尋求新科技，結合傳統育種技術，方可能使糧食生產有新的突破。

「生物技術」被視爲二十一世紀最重要的科技之一，如何應用此一新興科技，結合傳統育種（一個古老的技術），進行作物品種改良，提高農業生產量或產值，以因應未來重大的糧食需求，已成爲現階段農業研究的首要目標之一。

生物技術之重要性

「生物技術」爲一應用科學，其範圍很廣，泛指經由人爲操作的方式，控制生物生長、發育甚或產生變異等現象的技術。而狹義的生物技術則指，利用組織培養、基因工程及基因轉移等分子生物技術，進行生物品種改良及生產改進的技術。生物技術的應用範圍，涵蓋醫藥、食品、環保及農、林、漁、牧等產業，關係國計民生及人類福祉甚鉅，因此已被公認爲二十一世紀最具發展潛力之明星科技。歐、美、日等先進國家都競相投入大量資源，積極進行生物技術之研究與開發。

目前栽培由傳統育種所育成之大多數作物品種，幾乎已達到其

生產瓶頸，產量很難再提高。如何改良作物對各種環境逆境之忍受性、提高產量及改良品質等特性是利用生物技術進行育種之重要課題。

農業生物技術之可能應用範圍很廣，本文僅針對生物技術在作物品種改良上之應用，比較傳統育種與生物技術育種方法之差異，並以矮牽牛 (petunia) 的磚紅花色品種及水稻抗紋枯病品種之育成爲例，說明如何利用生物技術進行作物品種改良及其可行性。此外，繼以國外農業生物技術育種之發展現況爲例，說明生物技術品種之特性及生物技術育種對未來農業之重要性。

傳統育種法及其限制

傳統育種方法屬於雜交育種，每次雜交即將二親本所有好、壞基因型及性狀合併至其子代，在經由世代選拔去蕪存菁，選出包含所欲改良的性狀之子代植株，因此品種改良主要決定於提供性狀或基因型之父本及母本。傳統育種方法係二親本染色體的重組。除基因突變發生外，二親本所沒有的性狀是無法出現在其雜交子代的，亦即子代性狀不會「無中生有」。因此傳統育種法之品種改良主要受種原變異之限制。雖然，育種所欲引進之性狀可由異種或異屬之種原取得，惟不同種、屬間進行「種間雜交」或「屬間雜交」頗爲困難，其後代分離性狀難以掌握，更因遺傳拖迤(genetic drag)現象導致所欲改良之性狀，不易固定、純化，或與其他不良性狀聯鎖，或易於育種過程遺失等缺點，因此種、屬間雜交育種成果難有大突破。傳統育種方法的原理簡單，惟育種過程耗力費時，以一般禾穀類作物爲例，通常自雜交開始至新品種育成，約需時八至十年。「綠色革命」的盛況很難再發生。親本種原限制及種、屬間雜交困難爲利用傳統育種方法進行品種改良的主要限制因子。

生物技術育種法

利用生物技術進行作物品種改良，稱爲生物技術育種或分子育種(molecular breeding)，事實上生物技術育種是傳統作物育種之延伸，係指利用遺傳工程 (genetic engineering) 技術，將自生體內(*in vivo*)分離或在生體外(*in vitro*)改造之特定基因(gene)或性狀(trait)，利用基因轉移技術(gene transfer techniques)導入缺乏此一基因或特性之目標作物 (target crop) 的育種方法。因此，生物技術育種係屬特定基因的嵌入(insert)，每次基因轉移步驟只將一個，或少數個基因導入目標作物的染色體內，與傳統雜交育種之整個基因組(genome)的合併是不同的。利用生物技術育種法所育成之作物品種，統稱爲遺傳修飾作物(genetically modified crop, GM crop)或轉基因植物(transgenic plants)。

由於所有生物的基因，皆由 ATGC 四個遺傳密碼排列組合而成，

理論上自任何生物，如魚類、昆蟲、微生物、甚至人類所選殖之基因，均可利用基因轉移技術，轉移至植物基因組，使其適當表現。因此，利用生物技術進行作物品種改良，可以突破種原之限制及種、屬間雜交之瓶頸，亦即生物技術育種法可以「無中生有」，創造出原來種、屬內所未有之新性狀或新品種。利用生物技術進行作物品種改良，因爲可以僅將所選定之基因，或包含目標性狀之 DNA 片段嵌入目標作物的基因組內，因此準確性高，其結果更是可以預期的。

雖然，利用生物技術進行作物品種改良，初期需花費許多嘗試錯誤的時間、人力與金錢進行研發。由於生物技術育種每此僅改良少數性狀，若能選用現有優良品種爲材料導入新性狀或基因。一旦生物技術育種系統建立完成，可以縮短育種年限及選拔次數，新品種將可於短期內（單一品種約需三至五年）育成，且品種之更新速度，將遠較傳統育種方法快，所需花費亦遠較傳統育種方法低。

若傳統育種所造成之農業改革稱爲「綠色革命」，則利用生物技術進行育種所產生之農業突破或成就，應可稱爲「基因革命」(Gene Revolution)，目前我們已進入基因革命或利用生物技術育種的時代潮流。可以預見的，未來生物技術育種將迅速取代部分傳統育種所不能扮演的角色，以育成更符合人類整體需求的作物品種。

利用生物技術輔助傳統育種

隨著分子生物技術之迅速發展，產生許多具革命性的技術提供精確的育種選拔工具，可用以偵測基因型輔助育種選拔，使育種家能更有效率的選出優良性狀。例如，結合聚合酵素連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR) 及限制酵素片段長度多型性(restriction fragment length polymorphisms, RFLP)等多項分子生物技術所發展出的「分子標誌輔助選拔法」(marker-assisted selection, MAS)，直接進行基因型選拔，可以高準確度的方式，成功的偵測基因型(genotype)並予選拔或淘汰。此一方法取代傳統育種方法之外表型(phenotype)選種，可顯著提高育種效率、縮短育種年限，迅速育成新品種。目前可供應用之分子標誌種類有：限制片段長度多型性；逢機擴大多型性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD)；定性序列擴增區(sequence characterized amplified regions, SCAR)；連續重複片段數差異(variable number of tandem repeat, VNTR)；簡單序列重複(simple sequence repeats, SSR)；增殖片段長度多型性(amplification fragment length polymorphism, AFLP)等多種。

分子標誌於作物遺傳育種之應用尚有下列多項：製作遺傳圖譜；基因標定與分離；數量性狀基因座(QTL)之鑒定；遺傳與分子遺傳研究；輔助育種選拔進行分子育種；引進基因之追蹤；品種鑑定與專利；偵測遺傳性差異；作物親緣關係研究；作物系統分類分

析；作物基因組演化研究等，其他可能的應用領域正迅速發展中。分子標誌在作物遺傳育種之應用，說明其在未來作物育種扮演重要角色。

爲增進水稻抗病、蟲育種效率，農試所發展「水稻抗褐飛蝨分子育種系統」，此系統利用 RAPD 及 RFLP 等技術，配合抗蟲檢定與傳統遺傳分析，目前並選殖獲得與抗褐飛蝨相關之分子標誌 B4-450。經定序分析開發出具抗蟲基因特異性的 SCAR 分子標誌。利用我們所研發之「核酸快速萃取法」及「核酸快速萃取機」可迅速純化 DNA，配合 PCR 技術，可於短時間內利用分子標誌輔助選種，直接於實驗室內進行抗褐飛蝨之基因型選拔，將分子遺傳技術實際應用於傳統育種中，顯著提高選拔效率與準確性。因此，今後如何繼續加強研發，將日新月異的分子生物技術，直接應用於育種，爲傳統育種家與分子生物學者，所亟需共同解決的課題。

生物技術育種步驟與實例

利用生物技術進行作物品種改良之主要步驟如下：

一、目標基因 (性狀) 之選殖與改造

利用生物技術進行作物品種改良與傳統育種方法相同的是，需先決定所要改良作物之目標性狀，尋找具有此一特性之生物（可能爲作物或其他生物）做爲基因來源，利用基因標記(gene tagging)、據圖選殖(map-based cloning)、功能選殖(functional cloning)及差異表現法(differential display)等分子生物技術選殖目標基因。

二、基因轉殖載體 (vector) 之構築

所選殖之目標基因經各種基因操作技術，接上啓動子(promoter)、促進子(enhancer)或調節子(regulatory element)等DNA 片段，使目標基因更易於控制與表現後，構築於含有適當選拔標誌(selection marker)或基因之轉殖載體，即可進行基因轉移。

三、將基因轉殖至目標作物

基因轉移的方法很多，主要有基因槍(particle gun)、農桿菌(*Agrobacteria tumefacine*)及電穿孔法(electroporation)等。依據作物種類及再生特性，選擇適當的基因轉移系統，將業經改造構築於載體之基因，轉移至目標作物。經過抗生素篩選、聚合酵素連鎖反應（PCR）、南方(Southern)、北方(northern)及西方(western)型雜交等各種篩檢步驟與方法，選出含有目標基因及表現正常之轉基因植株。

四、轉基因植株 (transgenic plants) 之基因表現與遺傳分析

由於目標基因屬外來基因，可能嵌入目標作物的基因組之任一位置，可能影響原有基因之正常表現。因此，含有目標基因之轉基因植株需經數代的基因表現分析、基因穩定性測試及

遺傳分析，以確定此一外來基因可於世代間穩定表現，方爲成功的基因轉移。

五、轉基因品種之育成與上市

生物技術品種經常包含一外來基因，屬非自然生成作物品種。因此世界各國對轉基因植株之育成及其產品上市過程均有嚴格之規定，以維護現有作物品種之安全，除避免轉基因(transgene)在自然界隨意擴散，更要保障消費者之安全。

一般言之，轉基因品種從育成至上市需經過多層政府認可單位及主管單位之隔離溫室試驗，隔離試驗田之田間觀察，田間試驗，及多年、多地點之性狀、產量試驗及環境風險評估等冗長安全評估過程方可通過命名。此外，生技產品更必須通過衛生管理單位如衛生署之檢驗證實對人畜無害，方可獲准上市。除此之外，生物技術產品更須通過消費者，尤其是保守的衛道人士層層之考驗，方能被大眾接受。

世界上第一個轉基因作物爲抗殺草劑嘉磷塞(glyphosate)之大豆品種 Roundup Ready，係由孟山都公司(Monsato)所育成。此品種經基因轉殖、田間試驗、殺草劑抗性評估及安全評估等測試程序，至通過美國 FDA、EPA 等單位，產品安全性及環境評估等過程，終於在 1996 年正式商品化上市，前後共歷時 14 年。目前美國轉基因品種之育成技術已臻成熟階段，並成爲各農業生物技術公司之經常性工作，育成新品種現僅需五至八年，至今每年都有數十個新品種問世，預計未來將會大量佔有市場。

利用生物技術進行作物品種改良之範例

一、利用生物技術創造新花色之分子育種法

爲使大眾易於瞭解生物技術育種方法，在此以花卉作物之花色育種爲實例，說明生物技術在花色改良之應用。眾所皆知，花色爲決定切花作物產業及商品價值之重要因素。台灣有許多花卉作物，如晚香玉、蝴蝶蘭及百合等，具有花型優美、高貴等高級切花所需優點，但因可供消費者選擇之花色少，而無法大眾化。就花卉作物而言，改變花色，甚至創造新花色，已成爲現今花卉育種之重要目標。

利用傳統方法進行花色育種時，經常因可供選擇利用之花色種原有限，育種家所能育出之花色種類亦受到限制。另一傳統花色育種工作之困難在於，特定育種目標可用之基因有限，即一物種所包含之花色變異有限，又因普遍存在有種間雜交限制，無法直接以傳統雜交方法進行育種。由於控制色素合成之基因數目頗多，且基因間相互作用相當複雜，實際花色育種工作並不容易。雖然已有少數新花色品種係經由誘變或種間雜交而獲得，然而以傳統方法進行花色育種成果有限，進展亦頗爲緩慢。

欲利用生物技術進行花色創造，必須先對目標作物色素生合成途徑基因之功能及作用機制充分了解，探討其色素生合成途徑之生化或分子層次之障礙(lesion)。方能利用分子生物技術，將特定之花色基因，由另一物種分離，再轉移至缺乏此基因之目標作物品種，突破種間雜交之障礙，造新的花色品種。。

以矮牽牛(petunia)磚紅色(brick red)花的育種爲例，在矮牽牛的種原中，並無可生產磚紅色花色素 pelargonidin 的種原可做爲雜交親本。因矮牽牛根本就缺乏一將無色前驅物 dihydrokaempferol 生成磚紅色 pelargonidin 色素的 DFR 基因。因此如欲以傳統雜交育種法育成磚紅色系列之花色品種是絕不可能的。玉米花色素生合成途徑中，正好有此一矮牽牛所需要可生產 pelargonidin 之 DFR 基因。經基因選殖後，Meyer 等人利用農桿菌基因轉移法，將玉米 DFR 基因轉移到矮牽牛，終於育成可生產磚紅色 pelargonidin 之矮牽牛新花色品種，這是利用生物技術育種法進行花色育種之成功首例。就目前生物技術發展迅速情形估計，以生物技術控制、改變甚至創造新花色，將成爲今後花卉作物育種主流之一，相信未來育種家將可以依照消費者之喜好，創造具有新花色的花卉品種。

二、水稻抗紋枯病新品種之育成

理論上，只要有基因可供利用，未來利用生物技術更可針對許多作物性狀進行改良，育出以傳統育種法所無法育成的新品種。以水稻抗紋枯病(sheath blight)之生物技術育種爲例，水稻紋枯病是由病原菌 *Rhyzoctonia solani* 所危害，已知在水稻中並無抗性種原可供利用，而在其他作物亦無有效抗性基因可供利用，因此傳統育種方法對水稻紋枯病之抗性改良可說是束手無策。Phosphinothricin (PPT)是一種氨基酸，其左型異構物(L-isomer) L-PPT 爲一種殺草效果極爲廣泛的殺草劑，普遍使用於多種作物。自微生物 *Streptomyces hygroscopicus* 分離所得的 *bar* (*bial*aphos-*r*esistance)基因，可分解 Bialaphos 殺草劑而具有抗性，目前已有大豆、油菜、玉米等多種具有 *bar* 基因之轉基因作物被育成並已上市。由於 Bialaphos 殺草劑對 *R. solani* 病原菌具有良好的殺菌效果，最近將抗殺草劑 Bialaphos 之 *bar* 基因轉移至水稻，使水稻抗 Bialaphos 殺草劑，再於稻田中噴施 Bialaphos 來抑制 *R. solani* 可達到控制抗紋枯病之效果。這是利用生物技術轉移微生物基因至高等植物，成功的進行作物品種改良範例之一。

由上述二個利用生物技術育成新品種之實例可知，利用生物技術進行作物育種可以突破基因來源之限制，更可將現有的基因轉移到任何目標作物進行品種改良，因此生物技術爲目前可突破傳統育種限制的新興科技。

生物技術品種之特性

生物技術產品具有高產量、高產值、高利潤，低生產成本，含高或特殊營養價值，格外新鮮、耐儲運等優點。此外生物技術品種更因具抗病、抗蟲特性，可減少農藥施用次數、低農藥殘留，因此較爲乾淨。生技產品依作物產品特性及其使用方式，其受益人由生產者到產品上市，可分爲作物栽培者即農民、食品加工業者，及消費者等三個層次來說明。

對農民而言，生物技術產品之優點爲：1.減少施藥次數與劑量，降低曝露於農藥之危險性，2.生物技術品種具有對各種環境逆境、病蟲害及殺草劑等之忍受力，對環境之對抗能力較高，爲「人定勝天」產品，作物因栽培失敗之損失較少；3. 栽培生物技術品種，減少投資成本，且因多收或產值較高，使農作物生產較具效率。在 1997 年調查結果，有 90%以上栽植轉基因玉米的農民，新的生技品種表示滿意，並願意於將來繼續種植生物技術育成的品種。

對加工業者而言，生物技術產品汁優點如下：1.生產較高品質之有效成分(active ingredient)，2. 生產較多、較高純度之有效成分，3.生產較少毒性成分之產品及 4.生技產品具有較新鮮、耐儲運等優點，故可降低加工、純化及儲藏之成本提高收益。

對消費者而言，生物技術產品具有 1.新鮮、全年均可購買得到 2.含較少農藥殘毒，因此乾淨安全、高品質及 3.特殊健康或療效之天然產品等優點。此外，栽培生物技術產品更可因減少殺菌劑、殺蟲劑及殺草劑等農藥之施用，對環境危害降低，間接達到對環保之貢獻，不但可使有機栽培較爲可行，更可使農業永續經營。所以生物技術產品可視爲「環保產品」。

雖然生物技術產品優點頗多，然而目前已知生物技術產品至少有下列缺點：1.大量栽培生物技術品種容易導致生物多樣性(biodiversity)降低，使未來有用種質(germplasm)減少，2. 大量栽培生技品種會迫使昆蟲、病原菌及雜草基因突變，產生抗藥性或成爲超級變種，3. 部分生技品種可能將人工改造基因傳遞至其他相近物種造成對環境及微生物等之危害，4.生技產品可能改變作物原有代謝途徑或生產出未知的成分，對體質易過敏的消費者造成傷害，5. 大量栽培生技產品，可能改變動植物之生態相，影響自然界之生態平衡。

轉基因作物之生物安全性問題

美國康乃爾大學研究人員最近發現，一種在 1996 年經美國環保署核准栽種的基因改造含 BT 抗蟲基因的玉米，會導致一種保育類的帝王蝴蝶之幼蟲死亡，而引起科學家、環保人士及社會大眾的恐慌及高度重視。但該玉米品種的生產商 Monsanto 公司堅稱該玉米安全無虞。全美目前大約有八百萬英畝農地栽種這種轉基因抗蟲玉

米品種，佔全美玉米產量四分之一。

美國政府在五年前核准大量栽植基因工程改造的蕃茄以來，在當今的美國超市貨架上，有超過六成的食品含有基因工程有機體(genetically modified organism，GMO)，生物科技者業更打算在未來使基因改造食物取代目前的傳統食品。

目前美國政府並未要求食品製造商，將食物內所含的基因改造食物告知消費者。歐盟(EU)十五國環境部長在 1999 年 6 月 25 日通過一項行政命令草案，將加強規範基因改造有機體的買賣，此一課題並將成爲歐美未來在世貿組織(WTO)新回合談判的重要議題。可以預料的是，歐盟今後將加強基因改造食品上市前的風險評估，並將訂出基因改造產品之檢測、標示及運送的全球性標準，以保障民眾安全並避免危及全球環境與動植物的安全。因此轉基因植物產品的生物安全性的問題，是未來從事生物技術育種者所必須考慮的，以免歷經多年研究發展的產品無法被社會大眾所接受。

國外之生物技術育種現況

1986 至 1998 年已有超過 60 種農作物之轉基因植株育成，在全世界 45 個國家，共進行 25,000 次以上之田間試驗。可見生物技術育種是如何的蓬勃發展，雖然如此 80% 以上之轉基因植株乃種植在美國。1996 年美國正式核准田間種植轉基因植株，而至 1997 年許多轉基因作物，如含 Bt 基因之抗蟲玉米，抗殺草劑之棉花、大豆，含 CP 基因之抗病毒木瓜、馬鈴薯及南瓜等作物，不需規範就可種植於田間。1998 年在美國進行田間試驗之轉基因植株，主要可分爲下列五項：1.殺草劑忍受性，佔 29.6% ，2.昆蟲抗性，佔 23.8% ，3. 品質改良，佔 20.2% ，4. 抗病性，佔 14.6% ，其中抗病毒，佔 9.9% ；抗真菌，佔 4.7，5. 其他農藝性狀改良，佔 4.8% ，6.另有 6.9% 屬於其他性狀之改良。目前已經商品化之轉基因作物有 1. 抗殺草劑作物：大豆、玉米、棉花、馬鈴薯；2.抗病毒作物：蕃茄、馬鈴薯、南瓜；3.抗蟲作物：玉米、棉花；4.延遲成熟作物：蕃茄；5.改良性狀作物：油分品質改良之油菜及雄不稔玉米品種等。

目前全世界所育成之轉基因作物頗多，依作物種類分項敘述如下：

一、糧食作物: 大麥、玉米、馬鈴薯、油菜、大豆、小麥、水稻等。
二、特用作物: 棉花、亞麻、甜菜、甘蔗、莎草、向日葵等。
三、果樹: 蘋果、梨、奇異果、木瓜、葡萄、胡桃、草莓等。
四、蔬菜作物：蘆筍、花椰菜、甘藍、碗豆、胡蘿蔔、萵苣、西瓜、山葵、胡瓜、芹菜、菊苣、甜椒、蕃茄、白苣蓿、紫花苜蓿等。
五、花卉作物：菊花、矮牽牛、玫瑰、康乃馨、蘭花、天竺葵、大理花等。
六、林木作物：白陽樹、由加利樹等。

美國是擁有最多成功轉基因作物的國家，最主要的轉基因作物

爲大豆、玉米、菸草、棉花、油菜、蕃茄及馬鈴薯等。至 1998 年，全美國已有五千八百萬英畝之轉基因植株種植於田間，且種植面積更有大幅擴增之趨勢。 1998 年全美國已有 50 % ，約 6 百萬英畝的棉花田栽培轉基因植株，其中 4 百萬英畝爲含 Bt 基因之抗蟲植株。栽培轉基因抗棉蛉害蟲之棉花，使原本每年需施藥四、五次，減少至一次，每英畝施藥成本降低 15 美元。此外，目前全美國已有 35 % 的油菜；38% 大豆及 25% 玉米爲轉基因植株。

種植抗殺草劑之轉基因大豆品種，使雜草防治成本每英畝減少 4.5 元，其結果不但減少雜草種子混雜、提高大豆種子之品質，更使大豆不整地耕作(no-till farming)制度提高至總栽培面積之 46% ，使總耕作成本降低 10-20% 。抗蟲玉米品種之栽培，使每英畝產量提高 13.5 bushel，減少農藥施用次數，更可提高玉米品質。

目前市售傳統大豆品種含 14% 飽和脂肪酸、22% 油酸(oleic acid)及 63% 多聚不飽和脂肪酸(poly unsaturated fatty acids)，而遺傳工程育成之高油酸大豆品種含 10% 飽和脂肪酸、83% 油酸及 6% 多聚不飽和脂肪酸，顯著提高油品品質。

國內之生物技術品種改良狀況

國內正積極開發生物技術，鼓勵學者利用生物技術開發新品種，以因應未來農業產業之需求。行政院農委會亦選定利用生物技術開發新作物品種爲目標，支持國內學術界發展農業生物技術，計畫重點有：「作基因轉移技術之開發應用」，利用基因轉殖技術育成新作物品種；及「重要基因與相關分子標誌之選殖」，進行重要作物基因圖譜之建立及與抗病、抗蟲相關分子標誌之篩選與選殖；最近更選定以「利用生物技術育成高附加價值之水稻品種」計畫爲重點目標，希望能於短期內利用生物技術育成具有高附加價值之水稻品種。

國內利用生物技術育種最具成效的爲，中興大學植病系利用農桿菌轉移木瓜輪點病毒之鞘蛋白基因，所育成之抗輪點病毒之轉基因木瓜植株。目前以達田間試驗階段，轉基因植株之抗病性效果顯著，木瓜產量高、果實品質極佳，待通過衛生署「食品衛生管理法」後即可命名上市。

以目前國內生物技術發展現況，預期今後將陸續有：耐儲運之木瓜品種；延緩切花老化及抗病毒之蘭花品種；抗真菌病害之番茄及蕃椒品種；可生產高附加價值(value-added)成分之水稻品種；各種抗病、抗蟲、耐冷、耐熱之蔬菜品種；具新花色、新花型及新株型之花卉品種，及具特殊木材品質之林木品種等轉基因作物品種之育成。

未來生物技術育種的發展方向

今後利用生物技術進行作物品種改良，可朝下列重點努力：創造高附加價值品種(high-added-value-variety)之轉基因作物，或利用植物做爲生物反應器(bioreactor)生產高附加價值產品；育成具環保特性之抗病、抗蟲、抗殺草劑及耐重金屬等作物品種，減少農藥之施用；育成具耐旱、耐寒、及耐熱等具環境忍受性之作物品種，減少栽培作物之損失。未來生物技術可以「整株利用型品種」(whole-plant-use-variety)爲育種目標，方能有效提高作物生產效率，解決糧食短缺危機。

爲因應生物技術發展，避免生物技術產品侵犯他人智慧財產權(IPR)，我們必須擁有自己的基因與技術，方能真正落實試驗研究成果。因此可供植物利用的基因之選殖極爲重要，未來植物需要之基因種類至少有下列諸項：

一、抗病原菌(病毒、細菌、真菌、線蟲)基因：鞘蛋白基因 (coat protein)，幾丁質酵素(chitinase)，醣解酵素(β-glucanase)，抗真菌蛋白AFP（antifungal protein），抗性基因(R genes)及防禦基因(defense gene) 等。

二、抗蟲基因：BT 基因，蛋白質抑制因子 (protein inhibitor)，如胰蛋白抑制因子 (trypsin inhibitor, TI)，費洛蒙 (pheromones)等。

三、抗殺草劑基因：如抗固殺草(glufosinate)，嘉磷塞(glyphosate)，達拉本(dalapon)，sulfonylurea，imidazolinone，bromoxynil 等殺草劑之抗性基因。

四、品質基因：蛋白質、油分、澱粉合成、甜味、香味、特殊代謝物，如維生素、胡蘿蔔素(β-carotene)等。

五、性狀基因：延緩老化、控制開花、早熟、花色、花型、株型等。

六、環境相關基因：耐寒、耐熱、感光、耐旱、抗紫外線、耐重金屬、污染等基因。

七、工業基因：賀爾蒙、垃圾分解、生物塑膠、木材纖維、化妝品、色素等相關基因。

八、調節基因：可調控、可誘導、高效率或組織特異啓動子等基因。

九、醫藥基因：生產紅豆杉醇、皂甘、黃酮醇等基因。

未來生物技術之育種應以育成「整株利用型品種」(whole-plant-use-variety)、具高附加價值品種(high-added-value-variety)、具環保特性品種及具環境忍受性品種爲目標。

結語

因應二十一世紀農業需求，無論各階層之農業研究人員，均需學習如何將生物技術納入自己工作領域，應用生物技術提高研究效率或加速研究成果，方能符合時代潮流。利用生物技術進行作物品

種改良已是一必然趨勢，而如何利用生物技術及整合傳統育種技術，乃生物技術育種能否成功之關鍵。此外，利用生物技術進行作物品種改良必須注意：如何提高生物技術產品之生物安全性(biosafety)，如何維持現有作物之生物多樣性(biodiversity)，避面生物遺傳變異的流失；及如何降低生技產品對農業環境與生態之衝擊，方能使地球農業能永續經營。經生物技術改良的作物品種，除具有較高產值外，更有品種專利、基因專利或產品專利之保護，應予尊重。在生物技術引導下未來我們將進入「基因農場」(gene farming) 的時代，使農業真正邁入永續化，值得大家拭目以待。

參考文獻：

葉錫東。1999。轉基因作物應用於植物保護之現況。植物保護學會會刊。4：87-106。

Cai, D., Kleine, M., Kifle, S., Harliff, H. J., Sandal, N.N., Marcker, K. A., KleinLankhorst, R. M., Salentijn, E. M. J., Lange, W., Wyss, U., Grundler, F. M. W., and Jung, C. 1997. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet, Science 275:832-834.

Dixon, B. 1994. Keeping an eye on B. thuringiensis. Bio/Technology. 12: 435.

Gressel, J. 1997. Burgeoning resistance requires new strategies. Weed and Crop Resistance to Herbicides, Dordrecht; Boston, Mass., Kluer Academic pp. 3-14.

Lin, W., Anuratha, C. S., Datta, K., Potrykus, I., Muthukrishnan, S., and Datta, S. K. 1995. Genetic engineering of rice for resistance to sheath blight. Bio/Technology 13:686-691.

Losey, L. E., Rayor, L. S., and Carter, M. E. 1999. Tranagenic pollen harms monarch larvae. Nature 399:214.

Mann, C. C. 1997. Reseeding the green revolution. Science. 277:1038-1043.

Mann, C. C. 1999. Crop scientists seek a new revolution. Science. 283:310-314.

Meyer, P., Heidmann, I., Forkmann, G., and Saedler, H. 1987. A new petunia flower colour generated by transformation of a mutant with a maize gene. Nature 333:677-678.

Potrykus, I., Bilang, R., Futterer, J., Sautter, C., Schrott, M., and Spnagenberg, G. 1998. Genetic engineering of crop plants. In "Agricultural biotechnology" Altman, A. ed., pp.119-159. Marcel Derkker, Inc. NY, USA.

Sony, W. Y., Wang, G. L., Chen, L. L., Kirn, H. S., Pi, L. Y., Holsten, T., Gardner, J., Wang, B., Zhai, W. X., and Zhu, L. H. 1995. A Receptor kinase-like protein encoded by the rice disease gene, Xa21. Science 270:18-4-1806.

Thompson, C. J., Movva, N. R., Tizard, R., Crameri, R., Davies, J. E., Lauwereys, M. and Botterman, J. 1987. Characterization of the

herbicide-resistance gene *bar* from *Streptomyces hygroscopicus*. EMBO Journal 6:2519-2523.

Wang, C. S., You, S. J., Tseng, T. H., Cheng, C. H., Chern, C. G., Lin, J. L., and Kuo, Y. C. 1996. Development of RAPD markers linked to brown planthopper resistance gene from rice mutants. Proceeding for The 5th international rice biotechnology symposium, Taipei, Taiwan.

遺傳標誌與作物品種專利

劉邦基
行政院農委會農業試驗所園藝系

前　言

在未來世界裡，貿易自由化已成爲全球的必然趨勢，因此將使農產品貿易競爭日趨激烈；加以智慧財產權觀念日益興盛，各國對於植物種原和優良作物品種勢必加強保護，因此作物品種專利應是廿一世紀農業的重要課題。一種制度的落實，需有一套可靠的技術支援體系，以利於執行，作物品種專利亦不例外，近年來逐漸發展成熟的遺傳標誌(genetic marker)分析技術，適爲此制度所需。如何使遺傳標誌技術與作物品種專利制度適切地結合，將是作物品種專利制度的成功關鍵。

農作物品種專利的演變

雖然植物品種專利與保護的觀念起源甚早，少數國家(例如美國)在本世紀初葉即針對部分農作物建立品種保護制度，但直至 1950 年代末期，大部份國家對於植物品種仍然採取不立法保護的政策，主要原因約有三點，其一爲受到法律認知的影響，其二爲糧食政策的考量，其三則爲缺乏成熟的執行技術，茲分述如下。

一、法律認知的影響：

從法律觀點言之，由於傳統的專利制度肇始於工商產品，難免具有濃厚的工商本位色彩，因此當涉及植物品種專利問題時，在認知上往往會有落差。由於傳統的專利制度十分重視新穎性、創作性、重複性、以及工業可利用性等四大保護要件，身爲生物活體的作物新品種在面對此四大要件的考核時，除了新穎性外，其餘三者皆極易發生爭議，其原因詳如下述。(一) 對於創作性的爭議：工商業界所流行的專利觀念，旨在鼓勵創新，因此對新技術、新觀念和新產品採取保護；反之，作物新品種通常係由育種者利用遺傳學和育種學原理，經由一系列改良與選拔而來，所憑藉之方法通常爲一般舊有者，鮮有新技術之應用，可謂是以舊方法產生新產品，而且其新產品之產生還帶有機率性，致使其創作性較爲模糊。(二) 工業上可利用性的問題：傳統專利法很重視新產品在工業上的可利用性，藉以衡量其價值，而植物新品種並不一定具備這方面的明顯屬性。(三) 操作

過程的重複性問題：專利法所保護之技術或觀念在應用上須有穩定效果及高度重複性，以利於推廣應用；然而植物育種方法就操作結果而言並無理想的重複性可言，亦即下一次使用同樣材料與方法進行雜交和選拔，並不保證獲得相同結果。

此外，傳統專利權的保護僅至第一次銷售爲止，但由於植物有增殖能力，其特性可傳遞給後代，購買者遂可經由增殖過程不停地享受其特性，因此傳統專利權若施用在作物新品種上，顯然對育種家的權利無法達到完全保護之效果。

二、糧食政策的考量：

在糧食政策上，長久以來許多國家基於民以食爲天，並鑑於農業是許多基本物資的來源，爲了避免提高農民生產成本，以便維持較低糧價和基本物價水平，促進社會安定，因而對作物品種多不主張專利保護，或只採取有限度的保護。

三、缺乏成熟技術可爲支援：

從技術層面而言，一種政策或制度的建立須有可靠的技術體系作後盾，以利於執行。作物品種之有效鑑定方法，無疑是專利保護制度所不可或缺的一環。以今日科技發展結果觀之，此技術體系之發展和建立實有賴於分子生物學的發展，其臻於實用與成熟則是最近之事。在遺傳標誌分析技術尚未充分發展的年代，欲有效鑑別作物品種，常有其困難，因此不易解決專利保護過程中所引發的法律爭議問題。

上述原因使我們了解到作物新品種爲何不易列入智慧財產權保護範疇。早期各國對於作物品種的專利保護措施，若非完全缺乏即是做得非常不足，例如美國雖在 1930 年即針對無性繁殖之植物品種實施專利保護，使其權利人得以享有受保護品種之無性繁殖、銷售、使用等權利；美國對無性繁殖植物的這種作法在當時顯然是一種特例，至於其他作物則無量身定做的專利保護措施。許多國家的專利法規甚至明列不保護植物新品種，我國亦如此。然而有鑑於作物新品種的保護不緊是保障育種家的心血，亦將有利於全人類社會，在此時代潮流下，許多工業化國家終於在 1961 年於法國成立「植物新品種保護聯盟」(法文 Union Internationale Pour la Protection des Obtentions Vegetales，簡稱 UPOV)，希望針對植物特性研擬合適的法規，便於保護作物新品種，以達到鼓勵育種業務發展、對優良品種提供國際性的商業性保護、促進農業繁榮等目的。簡言之，UPOV 的主旨是針對植物特性，建立品種保護規範來保護育種家權益，藉以帶動農業和商業進步。其運作方式爲經由與會國所達成的共識，簽署共同協議書，作爲各國遵守依據。該組織成立時所簽署的第一個公約稱爲 1961 年公約，該公約曾在 1972 和 1978 年修正，最近修正並簽署通過者稱爲 1991 年公約。三十餘年來 OPUV 對各國作物新品種專利制度之蘊釀與建立，扮演著火車頭的角色，目前該組織

之會員國已超過三十國，影響可謂極爲顯著。除了 UPOV 所做的努力外，尚值得一提的是，隨著生物科技的迅速發展，許多國家於 1977 年所簽定的布達佩斯條約中，微生物品種首先跨越各國對於活體材料一向不給予工業專利保護的門檻，成爲專利保護對象，對植物而言無疑起到了示範作用；接著美國亦於 1985 年公告實施植物專利。近二十年來生物技術的發展更加快此演變趨勢，自 1994 年第一株轉基因番茄(transgenic tomato, Flavor Savor)推出以來，目前在已開發國家中已有上百種基因工程技術所產生的轉基因作物(transgenic crop)品種受到專利法保護。足見在時代的需求下，國際間逐漸進行法律觀念的調整和修正，加上科技進步的結果提供了必備的技術條件，終於使得新品種專利問題在許多國家浮上了檯面。此一趨勢的持續演變勢將使作物品種專利政策成爲廿一世紀全世界的重要議題，同時與此政策相關的科技項目將益發引人注意。

遺傳標誌的種類

當一個制度確定成爲時代所需時，剩下的問題除了人們的決心以外，最重要的則是有無相關的方法或技術可作支援了。對於作物新品種專利制度而言，遺傳標誌正扮演著關鍵技術的角色，此一技術體系亦是經由長期發展演變而來。

遺傳標誌是鑑別作物品種、品系的依據，依偵測方法可大略分爲形態標誌(morphological marker)、生化標誌(biochemical marker)和分子標誌(molecular marker)等三大類。不同的遺傳標誌各有其特色和優劣點，任何一種標誌只要具備客觀、準確、靈敏和容易分析等特色，即爲理想的鑑別工具，但上述三類標誌在客觀性、靈敏度和分析方法上則具有不同特色。形態標誌是直接觀察或測量植物的外表特徵所建立的鑑別依據，例如花色、葉形、株高、果長、果寬、或測量值的比值等等。此類標誌爲最早應用者，遠在遺傳學成立以前即普遍用於辨識植物。由於植物的形態可直接觀察或測量，因此較容易鑑別，但植物形態(例如葉片大小)易受環境和生育狀況影響，因此容易發生誤差。形態標誌最常用於植物分類上，整個植物分類體系的建立幾乎完全依賴形態標誌的應用，其準確程度在種(species)的層次以上是無庸置疑的，甚至在亞種(subspecies)和變種(botanical variety)的層次尚十分可靠。由於栽培上習稱的同種類農作物在植物分類學上多屬同一種(species)內之雜交後代或變異後代(例如甘藍菜、芒果)，即便是種間甚至屬間雜交結果(例如草莓、柑桔、玫瑰、蘭花等)，亦常因多次雜交和長期篩選，形態上已不易區分。因此在栽培作物間，對於品種(cultivar)、品系(line)或營養系(clone)的辨別，可用的形態標誌通常極爲有限，難以滿足需要。

生化標誌係經由生物化學反應方法所測得，例如同功酵素(isozyme)、ELISA(酵素連結免疫分析)、HPLC(高壓液態色層分析)等技術的測定結果鈞屬之，其中以同功酵素最常用於植物品種或品

系鑑別。生化標誌雖爲客觀可靠之標誌，在自然界中其種類及數量亦當十分豐富；可惜已開發之測定方法尙極爲有限，以同功酵素爲例，至今根據電泳染色法所建立的技術約僅能分析六十餘種酵素，常用者則不到二十種，因此在作物品種鑑別上時常不敷所需。基於此原因，此類標誌比較適於鑑別栽培種和其野生近緣種，或鑑定某些品種間的差異；在基因型比較接近的品系或營養系之鑑別上，生化標誌通常無法滿足需要。

分子標誌爲根據分子生物學所開發的鑑定依據，此類標誌分析技術爲近年來進步最爲快速者。簡言之，分子標誌分析是利用直接在生物的去氧核醣核酸(DNA)層次上所測得的現象與特徵去進行品種或品系鑑別。由於 DNA 是遺傳的基本物質，因此分子標誌是最直接的遺傳鑑定依據，而且無論其變異是否影響表型(phenotype)皆可成爲偵測對象。此類標誌依其偵測方法又可分爲許多種，常用者包括 RFLP(restriction fragment length polymorphism)、RAPD(random amplified polymorphic DNA)、VNTR(variable number of tandem repeats)、和 AFLP (amplified fragment length polymorphism)等。此外還有 CAPS(cleaved amplified polymorphic sequence)和 STS (sequence tagged site)。其中 RAPD 標誌有時又稱爲 DAF(DNA amplification fingerprinting)或 AP-PCR(arbitrarily primed PCR)；VNTR 又可分爲 microsatellite 和 minisatellite。將來隨著分子生物學的發展，尙有其他分子標誌可能被開發出來。上述各種分子標誌中，除了 RFLP 外皆建立在 PCR(polymerase chain reaction)技術上，各種標誌的基本特色及其分析方法之簡要描述詳如表一。各種分子標誌在分析方法和基本特色方面各有不同，但在一般物種的基因組(genome)內皆含有極豐富的標誌數量可供偵測，尤以高等生物爲然，則是所有分子標誌的共同特色。形態標誌和生化標誌分析僅能從基因產物的表現推測其遺傳變異，但植物性狀的表現有時會受到環境因素與生育狀況影響，而使形態標誌和生化標誌分析產生誤差。此外，形態標誌和生化標誌的偵測範圍僅限於基因組之字碼區(coding area)，對於非字碼區(non-coding area)則無法著力。換言之，唯有會影響基因的轉錄和轉譯結果的 DNA 變異才能被偵測到，此爲形態標誌和生化標誌分析在先天上的限制。分子標誌所能偵測的範圍則可函蓋整個基因組，包括字碼區與非字碼區在內，後者之 DNA 因無須藉由轉錄與轉譯機制參與細胞的生化與生理活動，所承受之選種壓力(selection pressure)較小，使其 DNA 層面的變異比字碼區更容易累積，此區內因而含有更豐富的變異性，其變異只以分子標誌之形式存在。因此，吾人相信當分子標誌用於鑑別極相近的品種、品系或營養系時，只要勤於尋找即有機會發現其差異所在。當欲保護的優良品種與其他品種相似，僅在少數性狀上有差異時，所用的鑑定方法需有足夠的靈敏性，此時分子標誌常是最佳選擇。

如何選擇理想的遺傳標誌以鑑別作物品種與品系

基於品種鑑別上的需要，最理想的遺傳標誌至少應具備以下六種優點：1. 高靈敏度與穩定度、2. 具有共顯性現象 (co-dominance，註：可由分析結果直接分辨植株的基因型而非僅表現型，謂之共顯性)、3 分析效果不受植株部位和生育階段影響、4. 分析方法簡單而且安全、5. 所需設備不昂貴。一般的遺傳標誌很難兼具上述所有特色，即使是分子標誌亦只能具備較多項優點而已。因此分析者須就作物特性、分析目的、遺傳標誌之特性、設備條件、分析策略等作適當抉擇與擬定，其細節詳如下述：

一、作物特性之考量：

欲鑑別作物品種或品系時，對該作物應先有充分了解，這又可分爲下列三大方面：(一) 不同的植株部位和不同生育階段是否會影響分析效果？此問題以採用形態標誌或分子標誌時最須注意，一般的分子標誌則無這種顧慮，理由已如上節所述。(二) 該作物基因組內所蘊含的變異是否豐富？此一先天特性對於鑑別工作之難易具有決定性影響，也影響標誌種類的選擇；一般言之，基因組內變異豐富之作物所能選用的標誌種類較爲寬廣，反之則較爲狹隘。例如已有資料顯示，同爲瓜類作物的甜瓜和西瓜，前者在標誌分析上較後者富於變異性；此種現象應與：1.基因組的複雜程度、2. 作物起原中心是單純或複雜、以及 3.長久以來人們對該作物的選育種過程等三項因素有關。(三) 該品種或品系的構成方式究竟如何？亦即所鑑定的對象是屬於營養系、純系、一代雜交、一般品種 (又稱地方品種或 OP 種) 中的哪一類型？其中以營養系和自交作物的純系之遺傳組成最爲均一，理論上任何單一植株即可代表整個品種或品系，因此取樣技術最單純；異交作物的純系材料則只是一群遺傳組成近於均一的族群 (一般常採用的 6 代自交系族群理論上仍含有 3% 以上的差異性，即便是 8 代自交後代，其均一度亦僅約 99.2%)，爲了提高可信度，分析者對於取樣方法和樣品之代表性問題須慎重考量；一代雜交之品種或品系視其親本爲何種純系，在取樣上亦有類似於上述之問題；至於一般品種因其產生或選育之方式較爲粗放，族群內的遺傳組成較不均一，其取樣技術和分析結果的可信度常是分析者的一大挑戰。一般而言，遺傳組成越不均一之品種或品系，越不容易作客觀的鑑定。

二、鑑定與分析目的之考量：

鑑定與分析目的可分爲兩種：1. 只需區分其異同者，有許多例子屬於此一情況，尤其是營養系和純系之鑑別，在此情況下只要所用標誌得以達到「指紋」效果以供辨識即可，此時所選用之標誌只要具有區分效果即已足夠；2. 除了區分異同，尚須證明血緣觀係者，此種情形比較容易發生在一代雜交品種或

品系的鑑定上，此時須將父母本一併分析，所建立的資料必須合於孟德爾遺傳原理或母性遺傳原理，其中以可顯示孟德爾遺傳資料者因包含父方之遺傳路徑，較具準確性；此時所用之標誌以具有共顯性者爲佳，因共顯性標誌可提供較詳盡的資料，最有助於血緣關係之探討。

三、遺傳標誌特性之考量：

由表一可知各種標誌皆有其獨特的優缺點，當目標作物與鑑別之目的確定後，便可就需要選擇適用的標誌進行分析；通常適合達成目標之標誌種類可能不僅一種，此時有關執行上和操作上相關之因素便可列入考量，例如經濟與成本效益、設備齊全與否、工作人員對特定方法的熟悉程度、實驗室工作安全因素等等，以便選用眼前最方便順手的標誌種類，順利達成品種或品系鑑別目標。

四、最佳分析策略之擬定與考量：

分析策略亦是影響標誌選擇的重要因素。大體言之，有兩種基本方式可用於基因型鑑別，其一爲「整體比對方式」，其二爲「特殊部份比對方式」。對同功酵素和分子標誌而言，「整體比對方式」即是以所有電泳條帶所構成的圖譜樣式(banding pattern)作爲比對單元，「特殊部份比對方式」則是以特定條帶作爲比對單元。採用「整體比對方式」時，以容易產生複雜條帶之標誌(例如 AFLP 和 RAPD)較容易發現差異，因此可提高工作效率，但所得結果容易受到分析誤差與雜訊(包括不穩定的條帶和背景，以及不易根據遺傳學原理解釋的不明條帶)的影響，而且此種分析方式只有「指紋」比對效果，甚難進一步提供血緣關係線索；採用「特殊部份比對方式」時，須專注於某些特定條帶的差異，此法可免除雜訊干擾，減少分析誤差，且一旦找到可資辨識的部位，尚可進一步探究其遺傳行爲模式以建立更詳細資料，甚至可用以推測後代植株之條帶圖譜，只是此法有時須耗費較多時間或嘗試多種標誌才能找到適用者。除了上述兩種基本方法，亦可將全圖譜樣式之比對與特定條帶之比對一起參照運用，此法可稱爲「綜合比對方式」。此外，在專利權的保護上，被鑑識之品種必須有別於所有其他品種，方能實施保護，若無法找到理想的單一標誌來做鑑別依據，可改用「分別比對」之策略，此法即是將新品種與所有舊品種間進行有系統的單獨比對，一一找出可作爲鑑別依據之標誌。除了「分別比對方式」，尚可依據特殊部份比對方式將一個以上不同標誌所呈現之結果，整合成各品種之基因型特性資料，再以此特性資料進行品種間之比較；隨著分析標誌的增加，不同品種或品系間呈現相同分析結果的機率將越來越小，因此此種「整合型比對方式」之靈敏度可藉由使用的標誌數目加以調整和掌握，直至達到鑑別目標爲止；此處所謂的不同標誌可以是不同種類

的標誌（例如同時使用同功酵素、RFLP、AFLP 等標誌進行分析），或是同類標誌的不同成員（例如 RFLP 標誌中的不同探針與 RAPD 標誌中的不同引子所產生的不同條帶均屬之）。總之，爲了提升分析效率和可信度，分析時可選擇不同的策略，進而決定使用何種標誌。

遺傳標誌在品種專利保護上的應用與未來展望

一種制度之形成必有其因緣際會之各種必要因素，遺傳標誌的應用在作物品種專利制度中，雖只是諸多必要因素之一環，但如果就此制度之執行角度來看，遺傳標誌分析技術則是最主要的關鍵角色，足見其重要性。從另一方面言之，遺傳標誌分析技術自有其淵遠流長的發展過程與歷史，並非專爲品種專利制度而設。近年來因分子生物學的突飛猛進，使遺傳標誌技術進入嶄新境界，各種新的標誌不斷開發出來，研究者日眾， 現今所累積的資料已十分豐富。由於生物基因組爲遺傳變異的根源，各種基因組的研究成果將更進一步帶動遺傳標誌分析技術的進步，吾人可以想見在即將到來的「後基因體」(post genome) 時代裡，應用遺傳標誌以鑑定作物品種或品系的技術將更爲成熟，作物品種專利制度將更容易落實，屆時不僅育種家的權益得以受到周密保護，更可進一步促進農業發展。

表一、各種常用遺傳標誌的基本特色及其分析原理

標誌種類與名稱	使用PCR*技術與否	共顯性	標誌數量	基本原理與分析方法
形態標誌	✗	✗	有限	直接觀察或測量植物外觀形態所建立的辨識依據。
生化標誌： 同功酵素(isozymes)	✗	✓	豐富但未充分開發	利用同種酵素在電場中移動速度的差異(起因於基因變異而造成分子結構上的差異)，形成不同的電泳條帶，據以辨識植物基因型。
分子標誌 RFLP	✗	✓	極豐富	不同植株基因組的相同部位 DNA(包括基因或非基因部份)經過限制酵素(restriction enzyme)切割後所形成的片段，在長度上可能有差異，經由電泳及特殊程序可形成不同條帶，供作辨識基因型的依據。

表一（續）

標誌種類與名稱	使用PCR*技術與否	共顯性	標誌數量	基本原理與分析方法
RAPD	✓	✗	極豐富	以隨意合成的引子進行 PCR 反應所產生的電泳圖譜，可作爲鑑別植物基因型之標誌。
CAPS	✓	✓	極豐富	基因組特定部位之 DNA 片段經 PCR 複製後再以限制酵素切割，最後形成特殊的電泳圖譜，用以辨識不同的基因型。
STS	✓	✓	豐富	基因組特定部位之 DNA 片段經 PCR 複製後直接進行電泳分析，再依據電泳圖譜辨識不同的基因型。
AFLP	✓	✗	極豐富	將基因組核酸先經限制酵素切割，再根據限制酵素切位序列設計特殊引子(視情況需要在原引子之一端增加 1~3 個鹼基對)，進行 PCR 分析，最後依據電泳條帶辨識基因型。
VNTR：				
Microsatellite	✓	✓	豐富	基因組內存在許多連續的簡短 DNA 重複序列(數個鹼基對以內)，其重複次數極易產生變化(通常爲 4~40 個重複)，習稱 microsatellite，可作爲辨識基因型之標誌。其分析原理與方法與 STS 相同。
Minisatellite	✓	✓	豐富	與 microsatellite 相似，其重複序列通常含有 15~60 個鹼基對，而重複次數可達數百個。其分析原理與方法亦與 STS 相同。

PCR (polymerase chain reaction)，「DNA 聚合酵素連鎖反應」之意，是一種可將 DNA 分子上之特定片段大量複製的技術。複製時須藉由特定片段兩頭之短小序列 [含八到二三十個鹼基對，稱爲核酸引子(DNA primer)，須由人工合成] 與單股之 DNA 黏合，再由 DNA 聚合酵素催化其餘部位之合成，完成複製反應，其複製程序係以循環方式進行，複製之效率則以幾何級數計算，因此可以在極短時間內(<3 小時)大量合成所需之 DNA 片段。PCR 是生物技術研究所常用的方法，爲許多研究工作項目所不可缺的基本技術。

參考文獻

電腦網站--植物新品種保護聯盟資料：http://seed.agron.ntu.edu.tw/

台灣省政治府農林廳，1992。植物種苗管理法令彙編。204 pp。

周廷光、沈百奎、劉兆烘、李善忱，1992。赴日研修植物新品種審查檢定技術報告。行政院所屬各機關出國人員報告。經濟部商品檢驗局。47 pp。

徐源泰。1999。生物多樣性、生物技術與生物產業。In: 林曜松(ed.) 1999 生物多樣性研討會論文集。行政院農業委員會編印。pp 145-159。

郭華仁，1993。UPOV 各會員國新品種保護現況。種苗通訊 (15):8。台北。

陳怡臻，1997。植物育種家權利法規的比較。台灣大學農藝研究所碩士論文。台灣大學。96 pp。

陳世賢，1991。植物種苗法規施行之現況與檢討。嘉義農專推廣簡訊 (39):2-7。

劉邦基，1991。生物技術在果樹育種上之應用。台灣果樹之生產及研究發展研討會會專刊。台灣省農業試驗所編印。pp 183-202。

蕭吉雄、張有明、林昭雄、黃賢良，1991。研習植物新品種檢定審查技術。行政院所屬各機關出國人員報告。台灣省政治府農林廳。51 pp。

Hoelzel, A. R. 1992. Molecular genetic analysis of populations—a practical approach. IRI Press, Oxford UK. 315 pp.

Hubbard, M., J. Kelly, S. Rajapakse, A. Abbott, and R. Ballard. 1992. Restriction fragment length polymorphisms in rose and their use for cultivar identification. HortScience 27(2): 172-173.

Jarvis, P., C. Lister, V. Szabo, and C. Dean. 1994. Integration of CAPS markers into the RFLP map generated using recombinant inbred lines of *Arabidopsis thaliana*. Plant Molecular Biol. 24: 685-687.

Konieczny, A.and F. M. Ausubel. 1993. A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. The Plant Journal 4(2): 403-410.

Lewin, B. 1997. Genes VI. Oxford, UK. 1260 pp.

McMillin, D. E. 1983. Plant isozymes: a historical perspective. In: S. D. Tanksley and T. J. Otron (eds.), Isozyme in plant genetics and breeding, Part A. pp 3-13. Elsevier. New York..

Pieter, V., R. Hogers, M. Mleeker, M. Reijans, T. Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23(21): 4470-4414.

Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitray primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18(22): 6531-6535.

藥用植物之組織培養技術

蔡新聲
行政院農委會農業試驗所農藝系

摘要

藥用植物對人類健康極爲重要，我國傳統醫學用藥以植物性藥物爲主，歷經數千年而不衰，爲我國醫藥文化之重要資源，值得加以發揚光大。從生藥研究開發新藥製品之市場，在公元 2,000 年預期將會有大幅度的成長。目前所有藥物中，自生藥取得成分者約佔 25%，而其應用範圍仍不斷增加。然而許多藥用植物之繁殖，常面臨世代過長、果實結實率極低、種子發芽不良及因異花授粉產生後代嚴重變異等困難；而部分已瀕臨絕種之珍稀藥用植物更應立刻加以保存，組織培養技術提供了解決這些問題的機會。過去十年中農業試驗所在國科會補助下，進行本土藥用植物-台灣金線連及大陸珍貴藥材-當歸之組織培養技術研究，本文敘述這兩種藥用植物利用組織培養之大量繁殖技術。又懸浮細胞除可做爲植物大量繁殖的材料外，亦可做爲二次代謝物生產的工廠。由於植物懸浮細胞不具色素，而且生合成之二次代謝物純化過程極爲簡單，如此不但大大降低了生產成本，而且提供週年生產的機會，因此利用植物懸浮細胞生產人類有用的重要醫療成分，前景亦大有可爲。本文也報導農業試驗所在國科會支持下，進行紅豆杉、柴胡、竹葉柴胡、當歸、山藥、銀杏及白芷等藥用植物細胞懸浮培養之初步研究成果。

前言

藥用植物對人類健康極爲重要，最近發現許多藥用植物對以化學藥品難以治療的人類疾病具有特殊療效。根據美國中醫藥研究所曾碧光所長的報導，甘草、紫花地丁、黃連、紫草、金銀花等 13 種中藥，發現具有抗 AIDS 病毒的效果。在天花粉裡分離出花粉蛋白成分 GLQ-223 具有抑制 AIDS 病毒的作用。銀杏果之抽出液可以有效促進腦部及周邊循環系統之血液循環，因而證實對老年痴呆（阿滋海默症）具有療效。日本人發現中藥的小柴胡湯具有治療肝炎的效果，美國也得到同樣的結果。葛根湯、小青龍湯對過敏症、關節炎，加工附子治療關節炎及當歸芍藥散治療更年期障礙效果非常顯著，這些都是西藥很難治療的病症。其他如高血壓、糖尿病、心臟病、腎臟病等西藥難以治療，或以西藥治療將產生嚴重副作用之疾病都可用中藥治療。因此很多美國醫院已開始使用中藥來彌補西藥之不

足，如一般抗癌藥物都具有損害人體組織尤其是肝、腎的副作用，爲降低這些副作用，給正在進行放射線或化學治療的病人，餵服靈芝人參黃耆湯、小柴胡湯及五苓散等中藥，可防止病人紅血球、白血球及血小板減少，其肝、腎功能經檢驗效果相當良好(21)。美國食品藥物管理局（FDA）已允許某些中藥可不經過 Phase I 試驗直接進入小型的 Phase II 試驗，一旦在 Phase II 試驗顯示出對人體具有某些療效，再回頭作 Phase I 的安全測試，此一彈性臨床試驗是專爲中藥而設計，顯示美國人也希望中藥是可以治病而非補品。目前全世界約有二百多個公私立研究單位投入生藥之研究，而台灣農業正處於轉型之關鍵階段，加入世界貿易組織將造成栽培作物經營上很大的衝擊，因此調整國內農業結構，朝向多元化及精緻化的方向發展極有必要，藥用植物之開發與利用符合此種需要。

研究方向與目標

中醫藥之科學化與本土化是政府的一貫政策，選定重點發展之藥用植物，適時、適地加以栽培，並進一步進行成分、品質分析及藥理、臨床等研究，爲其療效與價值提供科學性依據，實爲當務之急。過去十年來農試所組織培養研究室在國科會支持下，以瀕臨絕種之珍貴本土藥材--台灣金線連(*Anoectochilus formosanus* Hayata)，以及外來之大陸藥用植物--當歸(*Angelica sinensis* DIELS)爲主要研究對象，除利用組織培養技術繁殖珍稀藥材外，並嘗試建立利用懸浮細胞生產藥用成分之技術，茲將研究成果分述如下：

一、台灣金線連組織培養技術之應用與研究

臺灣金線連自何時起被應用於治療疾病已難考證，只知早期山地原住民曾服食或外用以治療病痛及蛇類咬傷；最近民間則流傳具有降血壓、降血糖、保肝及增強人體免疫力之功效。文獻上較早被採集的記錄，應在1892-1895年間(清光緒18-21年)由英國人Augustin Henry採得標本，後由日本人早田文藏氏定名爲 *Anoectochilus formosanus* Hayata。臺灣金線連屬於地生蘭類，適合生長在海拔高約 500-1800 公尺之原始林地，原本散見於全省各山區且數量繁多，民間視其性味甘、平，入肝、脾、腎三經，故常用爲清涼解熱、祛風活血、解鬱、強心、利尿 ，降血糖、降血壓，治肝亢、肝炎、肺病 、肺癆、腫傷、胸腹痛、遺漏、遺精、牙痛、小兒發育不良、蛇類咬傷及肝脾諸臟器疾病之滋養強壯劑。因相傳效用廣泛，故有藥王、藥虎、鳥蔘等別名。因售價昂貴因此野外採擷者日增，加以多年來坡地、林地濫墾濫伐，更促使野生族群銳減(16)。

台灣以人工栽培及繁殖台灣金線連雖早有報導，但技術的精進與各地產銷班的設立推廣，直到近年方見發展並逐漸成爲一項新興產業。由於鮮草批發價格極佳，平均每台斤(600g)可達

幣 2800-3200 元，因此農民種植興趣濃厚，但台灣金線連設施栽培易受 *Fusarium oxysporum* 病原菌感染引起之莖腐病，和由 *Pythium ultimum* 引起的基腐病侵襲，罹病園圃往往損失慘重，如以農藥全面噴灑控制，則要擔負藥物殘留及危害人體的風險，因此就長遠觀之，積極選育優良抗病或耐病品系，是減少藥物控制病害及增進本省農民收益，促進農村發展的有效措施。

農試所除有系統的探索台灣金線連之生態、生理及組織培養繁殖技術和配方之研究外，並以選育優良抗病品系爲首一目標，現階段在基礎研究上已獲得數項重要及實用之成果，可提供農民與業者參考使用。例如將台灣金線連之莖節培養於含有5ppm BA及0.3%活性碳之固體MS基本培養基，可誘導8倍芽體之生成及根系之正常生長，達到大量繁殖之目的。若將莖節先培養於上述液體培養基3-4星期，再移植到含有5ppm BA及0.3%活性碳之固體MS基本培養基，則繁殖效果更佳(圖1)(11)。台灣金線連無菌播種之研究結果顯示，取人工授粉所得87.5% 果莢成熟度之種子(約授粉後第42-53天)，播種後萌芽率最高可達48.8-50.8% 左右；而相同果莢成熟度但在原生地經自然虫媒授粉所得種子，其播種萌芽率最高則可達78.3-86.1% ；無論是人工授粉或自然授粉，100% 果莢成熟度種子播種後之萌芽率皆低於87.5% 果莢成熟度者；果莢成熟度低於75% 之種子，播種後無萌芽跡象。無菌播種培養基配方以含1/2MS基本鹽類、3% 蔗糖及0.9% agar較佳，添加1 g/l Hyponex及1 g/l peptone有助於種子萌芽。以3% 過氧化氫溶液在播種前預處理87.5% 果莢成熟度種子3分鐘，容易導致幼嫩種胚死亡；但若預處理較老熟種子(成熟度100% 左右)，則能適度提高萌芽率，此可能因 3% 過氧化氫溶液除了有消毒殺菌功效外，並可洗除金線連老熟種子種皮所含之萌芽抑制物質，進而提高其發芽率。野生台灣金線連自然授粉之成熟果莢，以5±1℃、濕度100% 冷藏，至少可保存21天而不影響種子萌芽率；相同冷藏條件處理種子，則至少可保存15天；若種子置於25℃室溫下，則壽命僅能維持2天左右，顯示冷藏處理可有效延長台灣金線連種子壽命。至於在台灣金線連花朵授粉適期研究方面則顯示，不論人工自花或異花授粉，皆在花朵全開前1天至全開後10天內進行授粉較適合，而最佳授粉期爲花朵全開後2－5天，此時授粉成功率可達85% ，且此種果莢之種子播種後，也有較高萌芽率(14, 15, 16)。

經多年努力，台灣金線連利用組織培養進行大量繁殖種苗等技術之開發，已獲得良好成果(圖 1-2)，並在歷年辦理之各種組織培養訓練班中，將相關技術介紹給受訓之學員，惟現階段受病害影響使栽培風險相對提高，因此選育優良抗病品系將是未來重要之研究方向。

二、當歸之組織培養研究

當歸 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 自古即為我國之重要藥材，其功用甚廣，應用於許多中醫方劑，主治婦人疾患。當歸之傳統栽培法以種子為材料，而其缺點是種子品質不易控制，因而影響當歸藥材之品質甚巨。台灣以往未曾有大陸川歸之栽培，倘能將川歸引種台灣妥為發展，對我國因應加入世界貿易組織，規劃農民種植及對我大力推展科學化中藥之努力應具有正面意義。引種首需繁殖相當數量之苗木以供不同地區及海拔之試種栽培，而植物組織培養是取代傳統育種及栽培方式，大量繁殖苗木及提升當歸品質的良好方法。

利用當歸未熟胚於 MS 培養基中培養一個月後，可形成擬胚化癒合組織，正常植物體及不正常植物體三種材料，將擬胚化癒合組織培養於 NH_4^+：NO_3^-=1：2 或 1：4 之 MS 固體培養基，25℃照光(2,000 lux)的條件下，其生長與增殖的情況較佳；而 MS 液體培養基可使擬胚化癒合組織形成懸浮細胞或團塊而繼續生長增殖，並進一步發育成體胚及體胚苗，達到大量繁殖的目地(圖3)(4, 8)。

利用當歸擬胚化癒合組織可進行懸浮細胞培養，懸浮細胞於慢速(80 rpm)及較大需度(2.5 ml PCV)下生長增殖較快；而快速(100 rpm)及較小密度(0.5 ml PCV)下則有利於形成體胚及體胚苗。因此，此擬胚化癒合組織除可產生體胚及體胚苗供繁殖大量苗木外(圖4)，亦可利用其生長增殖快速之懸浮細胞進行二次代謝物的生產。此外，利用懸浮細胞培養所形成的擬胚體則可用於製作人工種子的材料(6, 9, 17, 18, 19)。

除了上述兩種珍稀藥材之組織培養技術已被建立外，農試所目前已成功繁殖之珍稀藥用植物尚有半夏、地黃、桔梗、白及、白芷、沙參、玄參、黃參、何首烏、貝母、百合、虎杖、山藥、知母、柴胡、烏头、穿草、黃耆、延胡索及草烏等三十餘種。

三、利用細胞及癒合組織生產抗癌及其他醫療成分之組織培養技術

最近研究發現許多藥用植物之二次代謝物(藥用成分)具有抗癌、治療糖尿病、心血管疾病、AIDS及老人癡呆症的功效，例如太平洋紫杉(或紅豆杉)生產taxol，非洲矮柳樹生產抗癌藥物，periwinkle生產vincristin，*Plumbago zyalancia*生產plumbagin，*Catharanthus roseus*生產vincristin及Algae生產Beta-carotene均具有治療各種癌症之效果；莖部抽取之多種植物鹼(alkaloids)成分，對目前尚無藥物可治療的巴金森症(Parkinson's disease)具有療效，而這種單類植物鹼也已確定可有效治療結核病。Periwinkle植物所抽取之成分vinpocentine，對目前尚無藥物可治療的老年癡呆阿滋海默症(Alzheimer's disease)具有特殊療效；而vinpocentine成分在單類內的特定型式，已確定有很好的抗關節炎效果(13)。以銀杏葉片抽取之植物鹼(alkaloids)成分可防止細胞衰老(5)。以上所述之藥用植物，均為目前及未來可供研究的對象，亦將在未

式，已確定有很好的抗關節炎效果(13)。以銀杏葉片抽取之植物鹼(alkaloids)成分可防止細胞衰老(5)。以上所述之藥用植物，均爲目前及未來可供研究的對象，亦將在未來的生藥市場佔有一席之地。

懸浮細胞除可做爲植物大量繁殖的材料外，亦可做爲二次代謝物生產的工廠。由於植物懸浮細胞不具色素，而且生合成之二次代謝物純化過程極爲簡單，如此不但大大降低了生產成本，而且提供周年生產的機會，因此細胞懸浮培養及細胞篩選技術是從植物生產有效醫療成分的重要過程。部份從事細胞培養和其他生物技術研究之公司及研究單位，已可利用遺傳工程基因重組之細胞，來大量生產具醫療成分之產品，並可確切大量生產所需的有效醫療成分。例如加拿大多倫多大學的Innovation Fundation，利用RNA病毒進入植物細胞內可大量複製的特性，運用重組基因的遺傳工程技術，做出了符合需要的植物細胞，而大量生產有效成分。利用細胞組織培養生產有效醫療成分之過程可分爲下面幾個階段：

(一)誘導癒合組織及建立細胞懸浮培養。

(二)利用生長良好的癒合組織或懸浮細胞生產主要藥用成分。

(三)篩選高產藥用成分之細胞株，以外加誘引劑或改變培養方式，提高癒合組織或懸浮細胞之產能。

(四)純化及萃取技術之建立。

(五)臨床試驗。

農試所在國科會支持下，細胞懸浮培養初期的研究工作以紅豆杉、柴胡、竹葉柴胡、當歸、山藥、銀杏及白芷等作物爲主，也已獲得相當的成果(1, 2, 3, 7, 10, 12, 20, 22, 23)；例如工研院、永豐餘公司及農試所合作的紅豆杉組織培養技術，發現葉片癒合組織所建立的懸浮細胞，紅豆杉醇的產量已可高達200 mg/l，具有工業化量產的水準(10)。中國醫藥學院與農試所進行之白芷葉柄癒合組織之懸浮細胞培養，經由XAD-7等高分子吸附劑或誘引劑的處理，可使形成的白芷素（imperatorin）比對照組高出140倍之多(1, 2, 20)；山藥由零餘子所誘導的癒合組織，diogenin含量高達3.3%，比原植物體高出許多(7, 23)；柴胡、當歸及銀杏之懸浮細胞亦具有合成柴胡皂素(saikosaponin)、阿味酸(ferulic acid, 當歸之指標成分)及銀杏內酯(ginkgolide B)之能力(5, 18, 22)。這些結果顯示經由細胞懸浮培養技術生產人類有用的藥用成分是可能的。

結語

台灣自然環境十分優越，境內高山平原處處，氣候更兼具溫帶、亞熱帶及熱帶三帶，植物資源豐富，素有天然大植物園之美譽。台

臺原生維管束植物多達4,477種，加上外來的2,500餘種，總數約近7,000種，其中經生藥學家鑑定、評估、確認其療效之種類甚多，唯目前大多數均已瀕臨絕種，選擇較重要的藥種藥材，開發栽培及繁用以供農民栽培種植，是目前當務之急。又根據統計數字顯示，我國進口用於臨床之中藥藥材每年高達新台幣兩百億元，大陸進口藥充斥國內，消費者漸有本土生產藥用植物之認知，針對原生藥用植物之藥效與進口品相同者進行篩選，在各地區依其特殊之環境條件，生產具特色且質優之產品，藉由提供產銷所需，促使產製銷本土化，以減少外匯之外流，對我國經濟之發展將大有助益。又國內基因構築等分子生物與組織培養技術已臻成熟，具有利用植物細胞生產二次代謝物之量產基礎。此外，又由於環境污染導致癌症等文明病之盛行，保健飲料日益受到重視，發展保健藥用植物正逢其時。

參考文獻

1. Chang, W. D., C. C. Chen, Y. S. Chang and H. S. Tsay. 1993. Studies on tissue culture of *Angelica dahurica* var. formosana. I. Callus induction and medium evaluation. J. Agric. Res. China 42:253-264.
2. Chang, W. D., W. W. Huang, C. C. Chen, Y. S. Chang and H. S. Tsay. 1994. The production of secondary metabolites from Chinese medicinal herbs by suspension cell and tissue culture. Proc. 7th International Congress of SABRAO and WSAA. Nov. 16-21, 1993, Academic Sinica, Taipei, Taiwan. pp.535-540
3. Chen, C. C., W. D. Chang, Y. S. Chang and H. S. Tsay. 1994. Studies on tissue culture of *Angelica dahurica* var. formosana. II. Establishment of cell suspension culture and evaluation of cultural conditions. J. Chinese Medicine 5:123-134.
4. Chen, U. C., H. L. Huang, C. C. Chen and H. S. Tsay. 1998. Studies on tissue culture of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. (III) Influence of MS salts and sucrose concentration, media state and pH value on the production of somatic embryos and germinating embryos from culture suspension cell. Agric. Assoc. China 183: 79-87.
5. Hu, J. J. 1998. Studies on callus and suspension cell culture of *Ginkyo biloba*. Master thesis, Graduate Institute of Biotechnology, National Tung-Hwa University, Hwa-Lin, Taiwan.
6. Huang, H. L. and H. S. Tsay. 1998. Somatic embryo formation and germination from immature embryo-derived suspension cultured cells of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. Plant Cell Rep.17:670-674.
7. Huang, W. W., C. C. Chen, F. T. Yeh and H. S. Tsay. 1993. Tissue culture of *Dioscorea doryophora* Hance. I. Callus induction from different source organs and the measurement of diosgenin content. Chin. Med. Coll. J. 2:151-161.

9. Huang, H. L., C. C. Chen, U. C. Chen and H. S. Tsay. 1998. Studies on tissue culture of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. (II) Influence of culture methods on somatic embryos formation from culture suspension cell. Chinese Agron. J. 7 (In press).
10. Lee, C. Y., F. L. Lin, Y. L. Yang, C. T. Chang, L. H. Wang, H. L. Wei and H. S. Tsay. 1995. Taxol production by cell cultures of *Taxus Mairei*. Proc. Symp. on development and utilization of resources of medicinal plants in Taiwan. Taiwan Agric. Res. Inst, April 21, 1995. TARI Special Publication 48:137-148.
11. Liu, S. Y., H. S. Tsay, H. C. Huang, M. F. Hu and C. C. Yeh. 1987. Comparison on growth characteristics and nutrient composition between plants of *Anoectochilus* species from mass vegetative propagation by tissue culture. J. Agric. Res. China 36:357-366.
12. Liu, C. M. 1997. Studies on tissue culture of *Bupleurum marginatum*. Master thesis, Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College, Taichung, Taiwan.
13. Pezzuto, J. M. 1997. Plant derived anticancer agents. Biochemical Pharmacology 53:121-133.
14. Shiau, Y. J., U. C. Chen and H. S. Tsay. 1998. Tissue culture of *Anoectochilus formosanus* Hayata. III. The influence of seed maturity and pretreatment on ger- mination and seedling development. Agric. Assoc. China 183:69-78.
15. Shiau, Y. J., U. C. Chen, H. M Lin, W C. Tsai and H. S. Tsay. 1996. Studies on flowering adjustment and pollination of *Anoectochilus formosanus* Hayata. J. Agric. Res. China 45:250-259.
16. Shiau, Y. J., U. C. Chen, C. Y. Lu and H. S. Tsay. 1995. Tissue culture of *Anoectochilus fomosanus* Hayata. I. Studies on the improvement of seed germination. J. Agric. Res. China 44:279-286.
17. Tsai, C. W. 1994. Studies on the suspension cell and protoplast culture of *Angelica sinensis*. Master thesis, Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College, Taichung, Taiwan.
18. Tsai, W. C. 1996. Embryogenic callus culture and analysis of medicinal component of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. Master thesis, Graduate Institute of Agronomy, National Chung-Hsing Univ., Taichung, Taiwan.
19. Tsay, H.S. and H.L. Huang. 1997. Immature embryo culture of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. Acta. Hort. 447:207-209.
20. Tsay, H. S., W. D. Chang, C. C. Chen and Y. S. Chang. 1994. The production of imperatorin from *Angelica dahurica* var. formosana by cell suspension culture. Agric. Assoc. China 168:33-48.
21. Tzeng, B. K. 1996. Chinese medicine in the United States and it perspective. Bioinductry 7(1):1-5.
22. Wang, M. J. 1995. Studies on shoot tip culture and saikosaponin A, C, and D content in suspension cells of *Bupleurum falcatum* cv. Taianung No. 1. Master thesis, Graduate Institute of Agronomy,

National chung-Hsing Univ. Taichung, Taiwan.
23. Yeh, F. T., W. W. Huang, C. C. Chang, C. Na and H. S. Tsay. 1994. Tissue culture of *Dioscorea doryophora* Hance. II. Establishment of suspension cell culture and the measurement of diosgenin content. Chinese Agron. J. 4:257-268.





圖 1-2. 將台灣金線連之莖節先培養於含有 5ppm BA 及 0.3% 活性碳之液體 MS 基礎培養基 3-4 星期後，再移植到含有相同成分之固體培養基，大量繁殖效果極佳 (1)。經上述培養基培養三個月後之正常生長植株及及根系 (2)。

Fig. 1-2. *In vitro* multiplication and rooting in *Anoectochilus formosanus* shoot tip and node segment explants when cultured on MS basal salts with 5 mg/l benzyladenine and 0.3% charcoal. (1) Multiple shoot formed after one month of culture. (2) Elongation of shoot after three months of culture.



圖 3. 由擬胚化癒合組織分化而來之大量當歸植株。
Fig. 3. Mass propagation of *Angelica sinensis* via somatic embryogenesis. Large number of plantlets were formed when embryogenic callus derived from immature embryos was cultured in MS basal medium supplemented with 0.5 mg/l kinetin.



圖 4. 由當歸懸浮細胞發育形成之體胚及體胚苗。
Fig. 4. Embryogenic callus was cultured in liquid MS medium, where it formed suspension cultures that developed further into somatic embryos and germinating embryos.

應用於健康種苗繁殖之生物技術

張清安
行政院農委會農業試驗所植病系

摘　　要

應用健康種苗以減輕作物栽培過程中病蟲害之損失，降低農藥等化學藥劑之使用，乃永續農業經營中極重要之環節，因此如何永續生產足量之健康種苗以供應所需，遂成爲發展永續農業中重要之工作項目。不同之作物種類面臨不同之病蟲害威脅，因此生產各種作物之健康種苗首先必須對種苗所可能攜帶之病原種類及其特性特性能完全掌握，其次則必須針對各種病原發展出精確、敏感及快速有效率之專一性檢定方法，以便能在種苗生產過程中隨時監控，確保種苗之無病狀態，同時也提供種苗消費者或超然之第三者得以認證種苗之品質，避免產銷之爭議。因此病原之偵測檢定技術乃發展任何一項作物之健康種苗生產體系之關鍵，缺少此項關鍵技術，將無從認定任何作物種苗之健康程度。一般而言經由種苗所攜帶傳播之病原種類以病毒及細菌之例子最多，此類病原大多造成其寄主作物之系統性感染，因此會隨無性繁殖方式而傳播至後代種苗，傳統上偵測或檢定此類病原一向以免疫抗體反應法爲技術之主幹，由最早期之載玻片沈澱法一直演進發展到現階段頗爲精密之酵素連結抗體法(ELISA)。報告指出 ELISA 之偵測敏感度可以達到 10-100 ng/ml 之程度，對於一般病原而言，此種敏感度事實上已足夠應付健康種苗生產所需。然而近年來部分作物在發展健康種苗快速生產之過程中大量應用無菌組織培養技術，資料顯示部分病原在人工培養環境下於寄主體內之濃度常遠低於自然生長狀態下者，此狀況造成應用傳統之免疫抗體反應法無法順利將病原偵測出來，此種病原漏檢之情況成爲部分作物健康種苗生產過程中之死角。爲克服此種由於病原濃度低於偵測法敏感度範圍之困難，研究人員已開始應用近年來所蓬勃發展之生物技術，尤其是核酸偵測技術於健康種苗生產中病原之偵測上，事實上已證明部分生物技術確實具有突破上述障礙，敏感度高於免疫抗體法而順利將病原測出之可能。例如核酸探針雜配法(DNA probe hybridization)及近年來極爲廣泛流行之聚合酶連鎖

反應法(polymerase chain reaction)均具備此種特質。當然這些生物技術檢定法之技術門檻較免疫檢定法高出許多，所需之儀器設備與對操作人員之素質要求較高，過程中一般耗材與花費也較多，因此應用在產業上大量樣本之例行篩檢時，由於所費不貲，較難被第一線之業者接受，此乃這些技術有待研究人員進一步發展突破之地方。唯有更降低成本，簡化操作程序，方能爲產業界全面接受應用。另外生物技術除了可以直接應用於病原之偵測外，近年來亦已應用於改進植物病毒偵測用抗體之生產效率或突破生產障礙上。過去傳統上病毒抗體之製備，一向以純化之病毒顆粒或經電泳回收之鞘蛋白爲免疫原，注射於動物體內刺激其產生免疫反應後取得，因此抗體品質之優劣決定於所注射之免疫原之純度。然而對於不易單獨分離及純化之病毒種類，其抗血清之製備便極爲困難。目前利用分子生物技術，選殖病毒的全長度鞘蛋白基因，構築於表達載體上(expression vector)，利用其寄主細菌之培養，即可大量生產鞘蛋白作爲免疫原，進行抗血清之製作。目前已有多數成功之例子，本實驗室也已將此技術應用在百合、夜來香、金花石蒜及彩色海芋之多種重要病毒之抗體試劑生產上，且證實所生產出之抗體試劑品質優於傳統生產之抗體。此項技術不僅突破傳統病毒純化之障礙與瓶頸，更改進了抗體之生產效率，使未來抗體試劑之持續供應將不再成爲限制健康種苗生產之問題，誠爲近年來健康種苗發展上之一項重要利多。

前　　言

本省因地理環境使然，物種繁雜且可全年繁衍不斷。雖可稱爲作物栽培之天堂，卻同時也是病蟲害滋生之樂土。因此植物病害在本省發生普遍而嚴重，早爲各方所共識之事實。某些病原生物例如病毒 (virus)、類病毒 (viroid)、植物菌質體 (phytoplasma)及部分專門入侵維管束輸導系統之細菌(xylem or phloem-limited fastidious bacteria)，當侵入寄主植物後會形成全身系統性感染，由於長期消耗寄主能量以繁衍其個體，因此除造成寄主植物生長與結實之異常外，此類病原均可藉由寄主之無性繁殖方式而傳播至後代種苗 (2)。另外也有部份病原如細菌 (bacteria)與真菌(fungus)也可以在感染之過程中，侵入寄主之種子組織或污染種子之表面，因而隨種子散佈而達到傳播之目的。可以造成系統性感染之病原，透過寄主之無性繁殖，通常可以在後代所有苗木中形成全面之感染，感病種苗栽培

後於生長初期即可顯現病徵，不僅其自身生長減緩與質量低落，且形成病害傳播根源，造成全面流行 (2)。感染或污染種子之病原雖然不會在發芽之幼苗中形成全面之感染，但也可以讓病原生物在部分幼苗中形成初期之傳播根源，造成病害之提早流行，而危及作物之正常生長。針對上述隨種子或種苗傳播之病害，目前較廣爲應用之對策即全面栽植已去除特定病原(specific pathogen free)之健康種子或種苗，以取代帶有病原之個體，因此可降低田間作物生長初期之病原密度，甚至可將其完全隔離或消除，如此便可根除病害之發生、延緩或減輕病害之流行 (2)。基本上此種對策會明顯減輕病害發生壓力，因而減少後續栽培過程中應用藥劑或其他化學防治手段之必要性與頻度，如此對於環境之保護與生態之平衡具有正面之影響。本省最早將此對策付諸應用且獲得成功之例子，以水稻種子消毒最爲明顯，因爲此項工作之全面落實，造成藉由種子傳播而橫行一時之稻苗徒長病，於 60 年代後即逐漸趨於緩和。另外 60 年代初期所執行之馬鈴薯健康種薯繁殖制度，推行至今已愈 26 年，其防治成效亦爲各方所肯定 (2)。爾後本省陸續針對柑橘、香蕉、百香果、綠竹筍、豇豆、文心蘭、海芋等作物發展健康種苗生產供應制度，亦普遍獲得預期之防治成果。在發展各種作物健康種苗生產體系之過程中，除了必須完全掌握各種作物種苗所可能攜帶之病原菌種類及其傳播特性外，另一個要件則是必須針對各種病原發展出精確、敏感及快速有效率之專一性檢定法，以便能在種苗生產過程中隨時監控，確保種苗之健康狀態 (1)。過去數十年間最被普遍應用之病原檢定技術是抗血清檢定法，例如酵素連結抗體檢測法(ELISA)即是眾所周知且廣泛採行之方法。然而近年來分子生物技術之發展突飛猛進，許多新型病原檢定技術因應而生，其敏感度不僅優於傳統之抗血清檢定技術 (1, 14)，而且部份分子生物技術甚至具有突破傳統科技瓶頸，解決實務性問題之優勢。現階段雖然這些技術礙於成本及操作人才等因素之限制，尚未於產業界全面普及應用，但展望未來此類技術勢將被逐步改良，成爲未來進行病原檢定之另一項主流技術。本文乃針對未來具有應用潛力之病原檢定用生物技術，尤其是與去氧核醣核酸相關之技術(DNA-based technology)加以概略介紹，希望能提供給種苗界朋友參考應用。至於前面所提及之抗血清檢定技術將不列入本文討論範圍，有興趣之朋友可參考其他論說資料 (1)。

核酸探針雜配法 (Nucleic acid probe hybridization)

此法乃利用與目標病原之特定核酸片段具有互補性(complimentary)且標定有放射性或非放射性物質的一段核酸片斷做爲檢定試劑（科學上習慣稱之爲探針 probes），使其與供測病原之核酸試料發生雜配 (Hybridization) 反應 (即二互補核酸片段發生相互結合捕捉現象)，其正反應之結果可以偵測探針上所標定之放射性或非放射性物質作爲判定之依據 (1, 14)。目前科學界普遍之共識爲，探針雜配法偵測病原之敏感度與專一性均高於傳統之抗血清檢定法，但是此法除了成本較高之問題外，在準備供試試料時因爲必須抽取核酸，故程序上較爲繁複，遠不如一般抗血清法簡易 (1, 14)。另外在製備探針之技術上也非一般傳統植物病理研究室所能勝任。加上如果使用放射性元素標定探針時，在使用上又有安全性之限制。因此探針雜配法目前大都被應用在專業研究室內，針對少量重要標本進行檢定，其普及性尚不如抗血清檢定法。晚近有些非放射性之標定法被發展出來，包括酵素呈色法及冷化學光法等，早期這些方法仍有背景值偏高及敏感度降低的問題，但最近已經有所改善且已發展成爲商業化標定試劑組，對探針雜配法之廣泛應用有顯著之幫助。不過探針雜配法整體上因爲技術門檻偏高，且所需花費之人力與物力成本較高，在經濟上之考量下，現階段產業界普遍應用之可能性仍然不大。但在人力物力財力充裕之國家級試驗室內，探針雜配法不失爲一項值得選擇之病原檢定法 (1, 14)。

基本上探針雜配法在操作上分爲兩種主要方式，一種稱爲點漬雜配法(dot blot hybridization)，此法乃將含有檢定對象病原之植物試料經過一個核酸抽取程序，以取得該試料之全量核酸(total nucleic acid)，再將定量(通常是幾個 ul 到數十個 ul) 之核酸試料點滴於 nylon 或 nitrocellulose paper 上令其乾燥後 (此程序稱爲點漬)，再進行探針之雜配反應 (14)。市面上有商品化之點漬設備，試料經點漬後可形成特定大小之圓點或其他形狀之點漬，有利於後續之反應結果判斷。另一種方式稱爲直接壓碎雜配法(squash hybridization)，爲直接將少量供試植物材料置於 nylon 或 nitrocellulose paper 上壓碎，令其汁液爲 nylon 或 nitrocellulose 膜所吸收，乾燥後直接與探針進行雜配反應 (14)。此法較前項方式簡便，且可於田間直接進行採樣，再寄回專業實驗室內進行檢定。不過所耗費之吸附膜較多，支出成本較高，且根據實際應用之經驗，此法之敏感度較前項之點漬法爲低。

目前探針雜配法已經被應用在多種病原之檢定上，包括細菌、真菌、植物菌質、病毒及類病毒等均有成功應用之紀錄 (7, 10, 14,

20)。

聚合酶連鎖反應檢定法 (Polymerase chain reaction, PCR)

1987 年 Kary Mullis 發展出一種極具強大功能之核酸偵測法，稱爲 Polymerase chain reaction (PCR) (14)。此法乃利用目標核酸片斷之上下游已知核甘酸序列，以人工方法先各合成一段約含 20 個核甘酸的片斷。利用此二片斷當做引子(primer)，在含有核甘酸及耐熱性聚合酶(DNA polymerase)的情況下，以儀器控制不同反應溫度，促使標的核酸序列發生聯鎖複製反應，於短時間內快速增幅放大，爾後再用電泳方式進行分析，根據預期標的核酸序列片段之出現與否，作爲判斷是否有已知之病原感染之依據 (14)。此偵測法之靈敏度是所有已知的檢定法中最高者；據估計高出 ELISA 10^7 倍以上，而比核酸探針雜配法高出 10^4 倍 (14)。但是也由於此一偵測法極端敏感，故操作時稍一不慎有所污染，即可造成假正值 (False positive)之出現而引起誤判，應用時不可不慎。另外，此項技術使用前必需對標的病毒之核酸序列有所了解才能執行，因此對於未知、尚未完全研究透徹或是研究難度較高的病原，便無法立即著手檢查爲其較大之限制。又技術操作時需要有高經驗及素質之人力，優良之實驗室設備及充裕之經費預算，也是 PCR 檢定法全面普及之另一項限制。不過 PCR 自從 1987 年發展自今，許多在病原檢定上被視爲高難度的問題均已突破，其中值得一提的是：

一、利用系統專一性核酸序列引子對(strain specific primer pair)，可以在混亂之病原族群中快速偵測出具有特殊病原性分化之系統 (12, 17, 18)，這方面在傳統病理學技術上，可能需要耗費相當長之接種試驗程序方能達成。

二、利用所謂的屬或種專一性引子對(genus or species specific primer pair)，可以將同屬或同種之不同病原快速加以鑑別 (11, 13)，事實上此種引子對幾乎類似廣效性探針，可以針對特定之病原屬或種進行快速偵測，提供現場人員在確實之病原鑑定完成前，作快速之防治因應對策。

三、可以先利用一套廣效性引子對將分類地位接近之病原之特定核酸片段加以增幅放大，爾後再配合特定限制酶之分解與電泳分析其核酸片段之多形性(RFLP)，亦可以快速分辨這些分類地位接近之病原或系統 (9)。

四、PCR 技術可以被應用於快速合成偵測用之核酸探針，其優點尤

其在不需經過繁複之選殖(cloning)程序，即可快速合成並同時完成標定手續 (6)，大幅提昇使用之方便性。

五、PCR 技術除了在偵測病原上有突破性之發展與應用外，近年來也被廣泛應用於核酸片段之選殖 (15)，加上各種相關技術之突破與生技公司之大力介入，許多相關之組合式試劑均已商業化，因此近年來 PCR 技術已成爲病原核酸選殖之利器 (14)，大幅提昇選殖程序之效率，此項進步也更促成了病原分子生物學之突飛猛進。

總之，在研究人員不斷積極的努力下，PCR 已經被證實具有超強的病毒檢定能力與不可限量的開發潛力。相信許多過去認爲極端困難的目標，在可見的未來必將逐一被突破。PCR 之發展只是一項例證，在人類無止盡的想像空間下，似乎困難的事只是一個過程而已，絕非是必然。

應用細菌表現載體合成特定病原蛋白質供免疫試劑之製備

此項技術在植物病理界中最先被病毒學者應用於病毒檢測用抗體之製備上(16, 19)。傳統上病毒偵測用抗體試劑之製備，一向以直接由寄主植物組織純化所得之病毒顆粒爲免疫原(immunogen)，注射於動物體上以刺激免疫反應，再由血液中純化其產生之抗體。因此抗體試劑品質之優劣，決定於所注射病毒顆粒之純度，純度不佳而含有植物組織成分者，其所得抗體試劑在使用時，會與健康植物成分反應，導致反應背景值過高而容易造成判別上之困擾，此種抗體之應用性便不符需求。因此對於性質不穩定或濃度低而不易純化之病毒種類，其抗體試劑之製備便極爲困難。爲克服此困難，學術界曾試圖以核酸偵測技術取代傳統之抗體檢定，然而檢定核酸過程中，樣品之準備較爲繁鎖，且材料及藥劑價格高昂，尚難普及應用於需要篩檢大量樣品之產業界。另外 80 年代學界也曾一度熱衷於應用融合瘤技術生產病毒之單元抗體 (monoclonal antibody)，雖然此項技術確實可以解決上述抗體生產之瓶頸，但是成功製備一株單元抗體所需之時間、設備、成本與對於目標病毒必須先具備某種程度瞭解之特性，也相對限制了此項技術之普及。近年來由於分子生物技術之突飛猛進，促使學者可以輕易地將目標植物病毒的全長度鞘蛋白基因予以選殖，利用轉型(transformation)技術可以將鞘蛋白基因構築於高效率之表達載體上 (high expression plasmid vector)，使其於 *E. coli* 宿主細菌培養過程中大量合成病毒之鞘蛋白。此種

由細菌所合成之病毒鞘蛋白可以經過簡單之回收純化程序，即能作爲免疫原進行抗體之製備。此項技術不僅克服單元抗體之應用瓶頸，而且在研發上所需成本、設備與時間上均較爲經濟。目前在植物病毒方面，成功的例子已有 CTV (Citrus tristeza virus)(16)、GMV(garlic mosaic virus) 和 GLV (garlic latent virus)(19)等。農業試驗所病毒研究室也已成功將此技術應用在百合、夜來香、金花石蒜及彩色海芋之多種重要花卉作物病毒之抗體試劑生產上，且證實所生產出之抗體試劑品質優於傳統生產之抗體 (3, 4, 5, 8)。

整體而言，此項技術具有下列多項應用上之優點：

一、可以克服部份病毒不易純化之困難，在免除傳統純化過程下，而能製作出高品質之抗體。

二、對於因爲複合感染而無法單獨分離之病毒，經此程序能夠分別獲得對應單一病毒之專一性抗體。

三、對於尚未入侵國內之國際檢疫危險性病毒，可以在不引進活體病毒下製備其抗體，供國內檢疫之用。

四、此項技術可應用于製備尚未完全鑑定之新病毒之抗體試劑，供緊急防疫鑑定處理之用，可大幅節省研發時間，提升對於新入侵病毒防疫反應之效率。

五、經過多方試驗結果證實，經此技術所製備之抗體其反應性與傳統方法所製備者無異，且其背景值更低，應用性較高。

六、此項技術對於感染特殊作物或難以研究之病毒特別有用，譬如多數之花卉作物，其感染病毒之種類通常較少受到傳統病毒學者之注意，故參考資訊極爲有限。或者由於作物種類之特殊，其病毒通常不易經由一般傳統方法獲得免疫抗體試劑，但是此項技術可超越傳統方法，在不需完全掌握病毒特性下即可先做出抗體試劑，供病毒偵測及健康種苗篩選之用。

七、由於鞘蛋白基因已構築於細菌體內，需要時將細菌取出培養即可獲得高量之鞘蛋白，且未來源源不斷供應質量相同之鞘蛋白作爲免疫原，在技術上不成問題，因此將來病毒抗體試劑之免疫原將可成爲商業化試劑，開拓另一項商機。

八、由於此項技術大幅提昇免疫原之製備純度與生產效率，將連帶提升未來抗體試劑之製備效率並顯著降低其成本。

結　語

上述三項分子生物相關之病原檢定技術事實上已經爲現階段國

內各研究單位植物病理實驗室所廣泛應用中。由於成本與操作人才之限制，這些技術尚未普及於國內產業界，尤其生產健康種苗之業界，落實應用此類技術尚有一段距離。不過國際間科技研發之腳步從來不會有停歇之一天，未來顯而易見的將會有更多更具實用性之技術被發展出來，如果我國產業要真正達到國際化之水平，對於這些已經發展成熟之技術應毫無考慮地立即加以引進並實際應用，一則培養本土人才，一則鍛鍊應用經驗，如此才能隨時掌握未來新科技發展先機，提升產業競爭力，否則將與國際科技水平漸行漸遠，甚至完全失去競爭能力，永遠成爲先進科技大國之刀俎。本文僅粗略指出目前應用於健康種苗生產過程中病原檢定用生物技術之一二，由於所學有限，當無法涵蓋所有可能已發展或發展中之技術。僅希望能藉此拙文，引領讀者稍窺未來生物技術在健康種苗產業發展上之潛力，並與所有產業界朋友共勉，期能掌握生物科技發展脈動，成爲未來科技潮流之隨波逐流者，而非旁觀喪氣者。

參考文獻

1. 張清安 1996. 植物病毒鑑定及診斷新技術。p. 35-45. 植物保護新科技研討會專刊。臺灣省農業試驗所特刊第 57 號。臺灣省農業試驗所編印。207 pp.。
2. 張清安 1997. 本省應用無病毒種苗之回顧與展望。植物保護學會刊 39:63-73.
3. 張清安、劉逸琪、陳金枝、鄧汀欽 1997. 百合斑紋病毒鞘蛋白基因之選殖及其在 *Escherichia coli* 之表現。植物病理學會刊 6:215-216.
4. 張清安、陳金枝、鄧汀欽 1998. 本省百合病毒研究及檢定技術發展現況。 p.151-158. 唐菖蒲、百合及菊花研究現況與產業發展研討會專刊。台中區農改場編印。
5. 陳金枝、張清安、江芬蘭、劉逸琪、向培健 1998. 夜來香微嵌紋病毒鞘蛋白基因核甘酸序列分析及其在 Escherichia coli 之表現。植物病理學會刊 7: 226.
6. Akin, A., Wu, C. C., Lin, T. L., Keirs, R. W. 1993. Chemiluminescent detection of infectious bursal disease virus with a PCR-generated non-radiolabeled probe. J. Vet. Diagn. Invest. 5:166-173.
7. Bijaisoradat, M., and Kuhn, C. W. 1988. Detection of two viruses

in peanut seeds by complementary DNA hybridization tests. Plant Dis. 72:956-959.

8. Chang, C. A., Chen, C. C., Deng, T. C., and Liu, Y. C. 1998. Production of antiserum against lily mottle potyvirus by immunizing bacteria expressed cloned viral coat protein. Plant Path. Bull. 8:225.
9. Dekker, E. L., Derks, A. F. L. M., Asjes, C. J., Lemmers, M. E. C., Bol, J. F., and Langeveld, S. A. 1993. Characterization of potyviruses from tulip and lily which cause tulip breaking. J. of Gen. Virol. 74:881-887.
10. Frenkel, M. J., Jilka, J. M., Shukla, D. D., and Ward, C. W. 1992. Differentiation of potyviruses and their strains by hybridization with the 3' non-coding region of the viral genome. J. of Virol. Methods 36:51-62.
11. Karasev, A. V., Nikolaeva, O. V., Koonin, E. V., Gumpf, D. J., Garnsey, S. M. 1994. Screening of the closterovirus genome by degenerate primer-mediated polymerase chain reaction. J. Gen. Virol.. 75:1415-1422.
12. Kohnen, P. D., Johansen, E. E., and Hampton, R. O. 1995. Characterization and molecular detection of the P4 pathotype of pea seedborne mosaic potyvirus. Phytopathology 85:789-793.
13. Langeveld, S. A., Dore, J. M., Memelink, J., Derks, A. F. L. M., Vlugt, C. I. M. van der, Asjes, C. J., Bol, J. F. 1991. Identification of potyvirus using the polymerase chain reaction with degenerate primers. J. Gen. Virol. 72:1531-1541.
14. Miller, S. A. 1995. Plant disease diagnosis: Biotechnological approaches. p.461-473. In: Molecular methods in plant pathology. Ed. By Singh R. P. and Singh U. S. CRC Press Inc. London. 523 pp.
15. Nicolas, O., Laliberte, J. F. 1991. The use of PCR for cloning of large cDNA fragments of turnip mosaic potyvirus. J. Virol. Methods. 32:57-66.
16. Nikolaeva, O. V., Karasev, A. V., Gumpf, D. J., Lee, R. F., and Garnsey, S. M. 1995. Production of polyclonal antisera to the coat protein of citrus tristeza virus expressed in Escherichia coli: Application for immunodiagnosis. Phytopathology 85: 691-694.

17. Rizos, H., Gunn, L. V., Pares, R. D., Gillings, M. R. 1992. Differentiation of cucumber mosaic virus isolates using the polymerase chain reaction. J. Gen. Virol.. 78:2099-2103.
18. Rush, C. M., French, R., Heidel, G. B. 1994. Differentiation of two closely related furoviruses using the polymerase chain reaction. Phytopathology. 84:1366-1369.
19. Tsuneyoshi, T., and Sumi, S. 1996. Differentiation among garlic viruses in mixed infections based on RT-PCR procedures and direct tissue bloting immunoassays. Phytopathology 86: 253-259.
20. Wetzel, T., Tavert, G., Teycheney, P. Y., Ravelonandro, M., Candresse, T., and Dunez, J. 1990. Dot hybridization detection of plum pox virus using 32P-labelled RNA probes representing non-structured viral protein genes. J. of Virol. Methods 30:161-172.

生物性農業藥劑研發與應用

羅朝村
行政院農委會農業試驗所植病系

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，已成爲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)策略即爲重點項目之一。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。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，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技術移轉、田間測試、毒理試驗與註冊登記，才能正式將之商品化。

前言

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，目前被認爲以台灣爲最高。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，其受害度亦將爲世界之最。況且土傳性病害目前尚不易爲化學藥劑所控制。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，可說是今日吾人必需努力的目標。

生物防治爲最具潛力之作物病害防治策略之一；亦是永續農業

發展的重要一環。最近美國農部發佈的四大農業政策，更將有利於生物防治的發展與因應解決作物病害問題的需求。如（i） 2001 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爲重點政策，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。雖然目前僅有少數商品化產品，但隨著對拮抗微生物的瞭解與分生科技的引進，無疑的生物防治必將成爲二十一世紀替代化學藥劑的主流。根據資料顯示，世界性植物保護生物製劑市場近年來的成長，若以美元計，1985 年約只有 200 萬，1990 年增至 2500 萬，1995 年即達兩億餘元，至公元 2000 年之市場值，樂觀估計爲 58 億元，其中微生物製劑市場值約爲 21 億元左右。我國在植物保護生物製劑方面相關研究起步並不晚，然而卻少有正式商品化的產品誕生。爲能有效利用台灣蘊藏豐富的生物資源，並將之開發以供使用，如研究發展成爲微生物製劑，以進軍國際市場，並取代大部分化學藥劑在植物保護上的使用，實爲當務吾人應努力的目標。由於生物性農業藥劑的研發流程及其應用，因種類繁多且各有不同，因此爲節省篇幅，特將其去異留同酌以描述其研發流程，以供同好參考。

生物性農業藥劑種類與使用對象

由於生物包含種類甚爲廣泛，因此爲節省篇幅，本文做以微生物較爲常見之製劑爲論述；根據文獻所載及目前已商品代替，約略可區分成（一）微生物殺蟲劑（二）微生物殺菌劑及（三）微生物殺草劑。茲分別略述於下。

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；即爲吾人用來殺蟲的內毒素(α-endotoxin)，主要用 cry 基因控制。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 殺蟲對象爲鱗翅目，但分子量爲 81.2Kda 之毒蛋白對鱗翅目及鞘翅目均具活性。Cry II 殺蟲對象爲鱗翅目及雙翅目，cryIII 殺蟲對象爲鞘翅目；cryIV 殺蟲對象爲雙翅目；cry V 及 cryVI 殺蟲對象爲線蟲；第七類爲因子（cyt）殺蟲對象爲

隻翅目害蟲；其他則有 Milky spore™(*Bacillus popillae*)產品可殺蟲製劑。(2)真菌殺蟲製劑--如黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*)、白殭菌(*Beauveria bassiana*)、綠殭菌(*Nomureae rileye*)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，亦可殺害蚜蟲及飛蝨；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(*Steinernimatidae*)及異小桿線蟲(*Heterorhabditidae*)屬的線蟲，寄主廣泛可用於防治白蟻、蟑螂等地下害蟲；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(*Sclerotiorum* 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。

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 Devine™ 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。

微生物製劑的研發流程

一個成功的生物防治，至少需具備下列三個條件：即(一)擁有一優良有效的菌株(superior strain)，(二)可大量生產並擁有良好的架上存活時間(shelf life)，(三)擁有一套有效的傳輸體系(delivery

system)。因此研發任何一種微生物製劑，至少必需能符合上述三大要件，再配合產品的技術移轉以達商品化的最後階段。因此不管何種微生物的開發，其過程大多必需經過(1)確立目標，即以何種微生物爲選擇選象，然後利用選擇性培養基(selective media)或其促進生長之營養物質來篩選所要的對象。當獲得所要菌株後，再測試其對作物生長影響，並對害蟲或雜草之感染性或對病原菌的抑制能力評估等，以挑選出最適合的菌株。(2)當獲得菌株後，即必需加以大量培養，以供試驗或做爲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可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），則必需具有高度活性及在室溫下能夠存活較長的時間。(3)爲利於施用該微生物，產品物必需有利於傳送運輸、施用；因此製成何種製劑，則是必需考慮的重點，其次減少環境的影響（如 UV），配方的選擇亦應加以重視。(4)技術移轉；生物製劑的開發亦屬資本密集的事業，唯有透過產業或相互合作才能儘速開發成商業用商品，因此在商品化之前必需經過技術移轉，毒理測試及註冊證記與田間試驗等。其開發流程簡要如下：

目標選定（如殺蟲、殺菌或殺草）

↓

菌株篩選及方法建立

↓

攻擊對象（害蟲、病原菌或雜草）效能評估及作物影響

↓

放大培養（液態或固態培養）及回收

↓

完成製劑配方

↓

建立施用方法、時機

↓

技術移轉

↓

毒理、環境評估、註冊登記

↓

商品化

可能遭遇之問題

微生物製劑研發過程中，最常遭遇的瓶頸有（一）架上儲活時間問題，一個產品能否商品化，常取決於架上存活時間，通常產品必需能在室溫下至少存活 6-12 個月以上才有商業價值，因此儲活能力經常是優先需要克服的問題。（二）抵抗逆境問題，如紫外線、殺菌劑等影響，因此如何保護微生物菌株或選擇親和性（或抗藥性）菌株，則是應用時應注意的重要因子。（三）環境等因素的影響，生物製劑的應用除需瞭解作物生態，有益微生物生態，病原菌生態（或雜草或害蟲生態等）以及其間的相互影響因子（包含土壤質地，作物別、溫、濕度…等）；才能掌握施用對象、時間、地點等，以達成防治的目標。例如影響蟲生真菌病原致病力的因子，計有（a）病原品系（b）作物種類（c）溫度（d）濕度（e）日照（f）微生物的作用（g）其他農業藥劑的施用影響（h）人爲的耕作方式等。因此爲免於開發成功後產品應用成不穩定的狀況出現，事先的規劃及克服可能遭遇的問題，將是未來產品開發致勝的關鍵。

結語

生物性農藥雖然是最近幾年新興發展之產品，但目前已有多種產品（生物性菌株）陸續在世界各地被開發與問世；如 Agree™、Asir™、Back-off1™、Binab™、BiofoxC™ 、BioMal™、Bio-Fungus™、Bio-save10™、Bio-save11™、A506™、Blue Circle™、Boverin、Conquer™、Deny™、Devine™ Dipel™、 DiTera™、Epic™、Exhibit™、Fusaclean™、Galltrol-A™、GlioGard™、Intercept™、Invade™、Kodiak™、Kodiak HB™、Mamestrin™、Milky spore、M-peril™、MVP™、Mycostop™、Nogall™、Novodor™、Ostrinil™、Phagus™、Polygandron™、PSSOL™、RootShield 、Roststop™、SoilGard™、Sopdopterin™、Supresivit™、System3™、Bio-Trek 22G™、Bio-Trek T22-HB™、Scythe™、Teknar™、Trichocap™、Trichodex™、TM Trichopel™、Trichoject™、Trichodowels™、Trichoseal™、Trichoderma 2000、TY™、Victus™、及 XenTari™等；其可應用範圍則包括抑制病原菌、害蟲或雜草等。台灣目前雖尚無生物性製劑產品上市，但已有多家廠商積極加入產學合作行列，並有量產基礎，相信不久即有產品問世。另外有關生物製劑之應用，往往牽涉到作物生態、製劑微生物生態、防治對象生態及三者之間的作用，

因此相關之基礎試驗有必要事先研究與了解，才能有效防治病原病害、害蟲或雜草等並進減少化學農藥使用。

參考文獻

向明。1995。 生物農藥之開發與產品簡介。生物農藥生產與應用技術訓練講義 :1-15。

陳健忠、高穗生。1995。蘇力菌在害蟲管理上之應用。永續農業 3：17-20。

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。

Agosin, E., and Agueilera, 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., Tayor & Francis Inc., London, UK.

Cook, R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 31:53-80.

Elad, Y. 1994. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. Crop Protection 13:35-38.

Engelkes, C. A., nuclo, R. L., and Fravel, D. R. 1997. Effect of carbon, nitrogen, and C:N ration on growth, sporulation, and biocontrol efficacy of *Talarmyces flavus*. Phytopathology 87:500-505.

Fravel, D. R., Lewis, J. A., and Chittams, J. L. 1995. Alginate pill formulations of *Talarmyces flavus* with organic carries for biological control of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 85:165-168.

Harman, G.E., and Gubicek, C. P. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications. Tayor & Francis Inc., London, UK.

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., Tayor & Francis Inc., London, UK.

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., Chapma and Hall, Inc., Lodon.

Lewis, J. A. , Fravel, D. R., Lumsden, R. D., and Shasha, B. S. 1995. Application of biocontrol fungi in granular formulations of pregelatinized sarch-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.

Whipps, J. M. 1998. Microbial interactions as basis for biological control of fungi diseases. 7th international Congress of Plant Pathology, invited papers abstract Vol. 1:2.10.1S. BSPP., Edinburgh, Scotland.

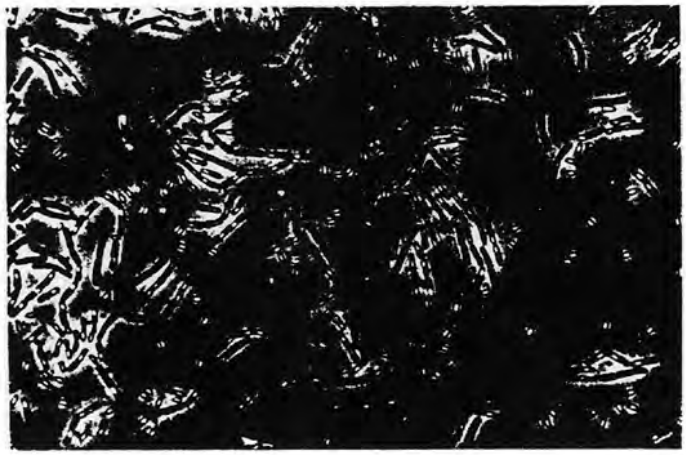
蘇力菌之生產及利用

林學正
台肥公司化工事業部生技研究組

蘇力菌簡介

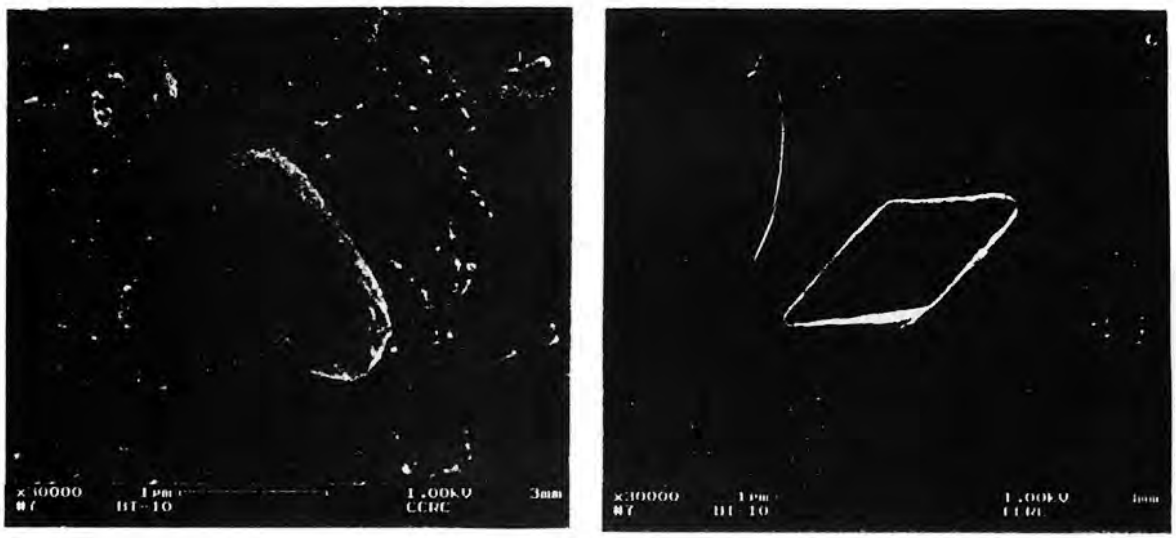
蘇力菌（*Bacillus thuringiensis*）在菌種分類上屬於芽胞菌科(*Bacillacea*)，桿菌屬(*Bacilli*)之細菌，它在產孢的同時會形成側孢晶體(Parasporal crystalline)（圖一，圖二），其中含δ內毒素爲被廣泛地使用在植物保護或環境衛生上的一種對人畜安全的蛋白晶體，於自然界很容易被紫外線或其他微生物破壞而失去毒性，不致引起環境污染。另外可產生三種代謝產物的α、β、γ－外毒素，其中α或γ－外毒素是熱敏感的蛋白質類，β－外毒素則是熱穩定的類似 ATP 的 Adenine nucleotide，以低劑量處理會使昆蟲變態不完全，並有降低化蛹、羽化和生殖力之效應。然而並非所有的蘇力菌品系，在生長過程中皆會產生β－外毒素，就文獻記載常用之 *Btk* 及 *Bti* 變種即無β－外毒素之存在，可作爲生物殺蟲劑的生產菌株。根據結晶蛋白氨基酸序列和寄主範圍可將毒素分爲四類，分別爲 Cry Ⅰ（對鱗翅目有專一性）、CryⅡ（對鱗翅目和雙翅目有專一性）、Cry Ⅲ（對鞘翅目有專一性）、Cry Ⅳ（對雙翅目有專一性）。此外，又加上兩種新的、對線蟲有活性的毒素 CryⅤ和 CryⅥ。

蘇力菌於 1905 年由日本人 Ishiwata 首度自病死家蠶幼蟲體分離出來，當初命名爲 *Sotto-Bacillen*，亦即後來稱爲 *Bacillus sotto* 的菌體。其後，Berliner 氏於德國 Thuringia 一地採集到罹病的地中海粉斑螟 (*Anagastakuehniella*)幼蟲，並自蟲體分離出病原菌，而就採集地點命名爲 *Bacillus thuringiensis*，即今所稱之蘇力菌名字的由來，後來才知道兩氏所分離者係屬同一種之不同變種。1927 年 Mattes 又再度分離此菌，1928～1929 年 Husz 和 Metalinkov 父子首先應用於防治玉米螟(*Ostrinia nubilalis*)，結果顯示能降低玉米螟之蛀食率，以後在歐洲續有學者試用於防治斜紋夜盜、棉紅蛉蟲及白粉蝶皆獲致佳效，直到 1951 年才有商品出現，是法國製造之 Sporeine，目前商品已不下十數種(表一)。



圖一、蘇力菌產孢時之形態（x800）

Fig 1.The morphorlogy of Bt at sporing stage.（x800）



圖二、蘇力菌的孢子（左）與毒蛋白晶體（右）（x33000）

Fig.2 Spore（left） and toxic crystal protein（right） of Bt.（x33000）

表一、蘇力菌生物殺蟲劑主要製造銷售廠商及其產品與市場佔有率

Table 1. The trade products and market occupation percentage of the main manufacturers and sellers of *Bt* bioinsectcide.

公司名稱	商品名稱	市場佔有率% *
ABBOTT	DIPEL	40
SANDOZ**	JAVELIN,THURICIDE	20
NOVO	BIOBIT-Btk,FLORBAC-Bta	20
ECOGEN	CUTLASS,CONDOR,FOIL	7
Ciba-Geigy**	TUREX	7
Becker	(不詳)	2
Mycogen	MVP,M-Trak ,M-Peril	<2

註:*1995 年統計資料,市場值 6500 萬美元。其中 *Btk* 產品佔 85% ,*Bti* 佔 11% ,*Btt* 佔 2.4% 。

**1997.2 Ciba-Geigy 與 Sandoz 合併爲 Novartis 公司。

國內約於 40 年前開始引進使用，以防治蔬菜、茶樹和森林害蟲，目前只有台肥公司設廠以大型醱酵槽生產蘇力菌原體，蘇力菌製劑則多仰賴進口，主要供應廠商爲 Abbott、Dupont、Sandoz、ICI、CIBA-GEIGY，或以 OEM 方式進口原體在台製造(表二)。進口數量呈現波動起伏的現象，主要原因是當有新的殺蟲化學農藥上市時，蘇力菌使用量就會下降，但當新藥出現抗藥性時，蘇力菌又再度受重視，進口量又會增加，如此周而復始，循環不已。

蘇力菌之生產

蘇力菌殺蟲劑於 1940 年代首先在法國生產上市，1950 年代美國公司開始進行製劑之田間試驗，於 1961 年才完成第一項產品的登記。直到 1970 年間 Abbott Laboratories 之 Dipel 商品登記使用在 200 種不同作物和 55 種昆蟲之防治，才使得蘇力菌產品廣受歡迎。

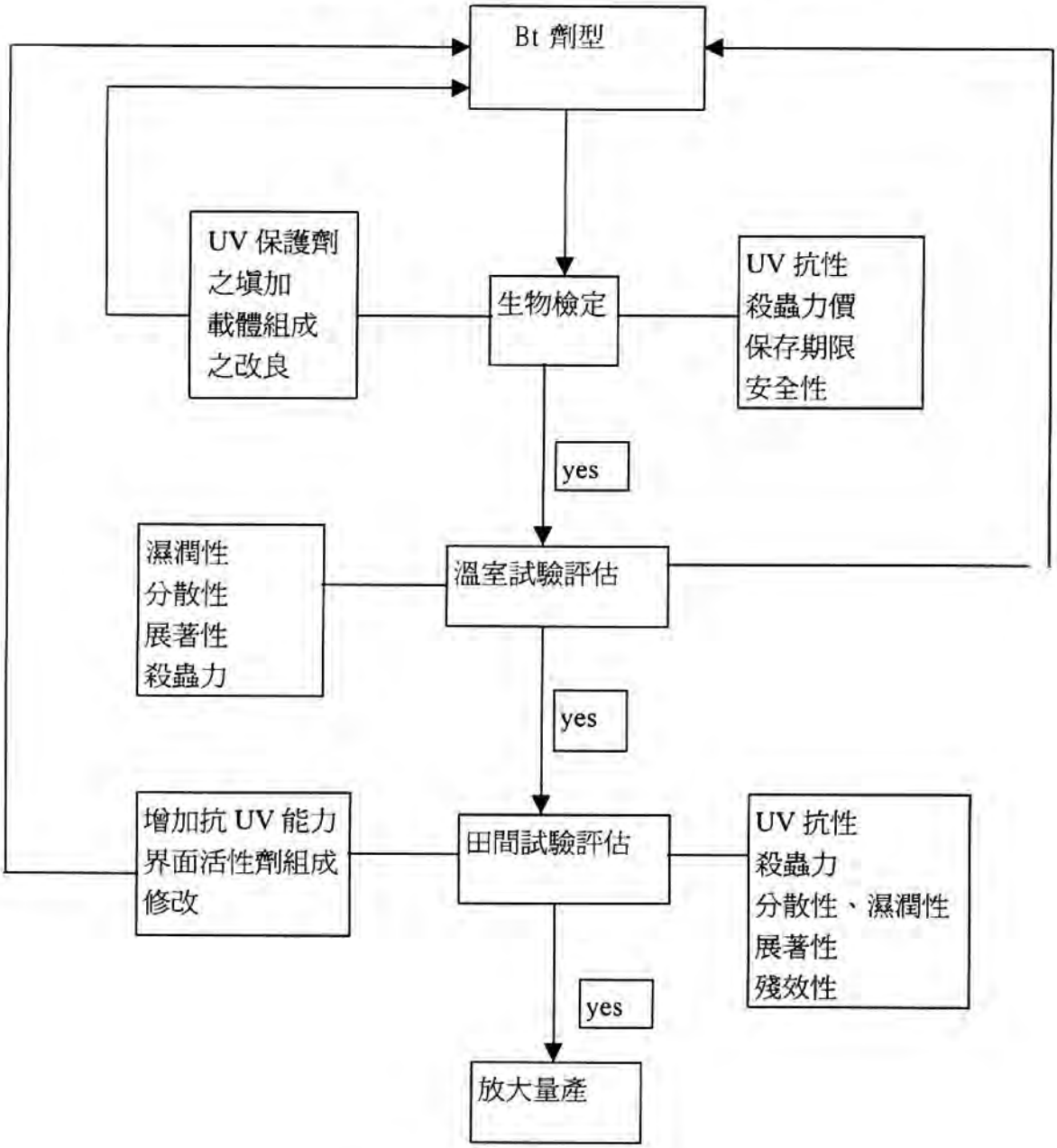
目前蘇力菌都以液態醱酵法生產，其工藝流程概述如下：

一、菌種活化與培養：1.低溫保存菌種活化 2.同步處理（斜面菌種以65℃水浴處理30分鐘）3.搖瓶培養 4.種槽培養

二、主醱酵槽培養：1.培養基調配與滅菌 2.最適醱酵條件設定 3.接菌 4.醱酵調控 5.收穫

三、產物回收：1.濃縮-以膜過濾或排渣離心機實施 2.純化:水洗 3.乾燥:噴霧乾燥

四、配方製劑：包括 1.載體(Carrier) 2.分散劑(Dispersant) 3.溼潤劑(Wetting agent) 4.紫外線保護劑等的選擇及製劑 CNS 檢驗測試，其工作流程參見圖三。



圖三、蘇力菌配方製劑之工作流程

Fig.3 Procedure of *Bt* formulation.

表二、國內登記有案之蘇力菌商品及廠商*

Table 2. The trade products and their agents of *Bt* registered in Taiwan.

商品名稱	劑型	含量%	廠商名稱
蘇力菌	WP	3.0	華農
大寶	WP	3.0	台灣亞培
見大吉	WP	10.3	台灣亞培
力寶	WP	3.0	生力貿易
新大寶	WP	3.0	台灣亞培
百力寶	WP	3.0	昆言
活力寶	WP	3.0	昆言
總寶	WP	3.0	雅飛
光華寶	WP	3.0	光華農化
農台新大寶	WP	3.0	農台
蘇滅寶	WP	3.0	臺益
獨佳	WP	10.0	嘉農
雙清	WP	—	益欣
雙效	WG	6.0	安農
菜寶	WP	3.0	省農會
克蟲靈	WP	3.0	嘉泰
滅菜蟲	WP	3.0	合林
速利殺	WP	3.0	安農
贊寶	FP	—	安農
雷公寶	WP	3.0	世大農化
惠光寶	WP	3.0	惠光
殊力菌	WP	—	興農

五、產品力價檢定：

(一)小菜蛾生物檢定法

供試昆蟲：小菜蛾(Plutella xylostella)三齡幼蟲。

供試蔬菜：無農藥新鮮的甘藍菜葉粉或葉片。

供試樣品：稀釋成不同濃度的藥劑懸浮液，與葉粉均勻混合；葉片則浸泡約30秒後取出使葉面略乾。標準品同供試樣品處理，並以去離子水處理作對照。

進行餵食處理2-3天，並記錄死亡蟲數。校正死亡率後，以

濃度對數－死亡機率值作Probit Analysis估算半致死濃度LC_{50}。計算樣品力價。

樣品力價(DBMU/mg)＝標準品LC50/ 樣品LC_{50} *標準品力價。

(二)酵素聯結免疫檢定 (ELISA)法

供試樣品及標準品總蛋白量分析：以牛血清蛋白爲標準劑。

供試樣品及標準品生物活性檢定及分析：同小菜蛾生物檢定法。

以ELISA檢測供試樣品及標準品毒蛋白含量，由已知樣品之蛋白含量對應吸光值求出相關方程式，並換算出未知樣品之濃度。製作樣品相對力價與總蛋白量及與濃度三者之關係圖。

六、蘇力菌申請農藥登記流程及所需文件

(一)蘇力菌申請農藥登記流程，參見圖四。

(二)蘇力菌製劑產品分析之資料需求

1.產品鑑定之背景資料

（1）來源說明：產製地，所用菌源

（2）成分含量說明

（a）所用菌種之學名，品系或血清型，分類地位

（b）有效成分名稱（毒蛋白及孢子），有效成分含量（IU/mg和CFU/g W.W表示）

（c）其他添加劑名稱、種類、含量及用途說明，如保護劑、展著劑...等。含量以重量百分比（W/W）表示。

（d）其他不純物。

（3）產製過程說明：(若係極機密文件，可申請於登記農藥許可證時再提出)

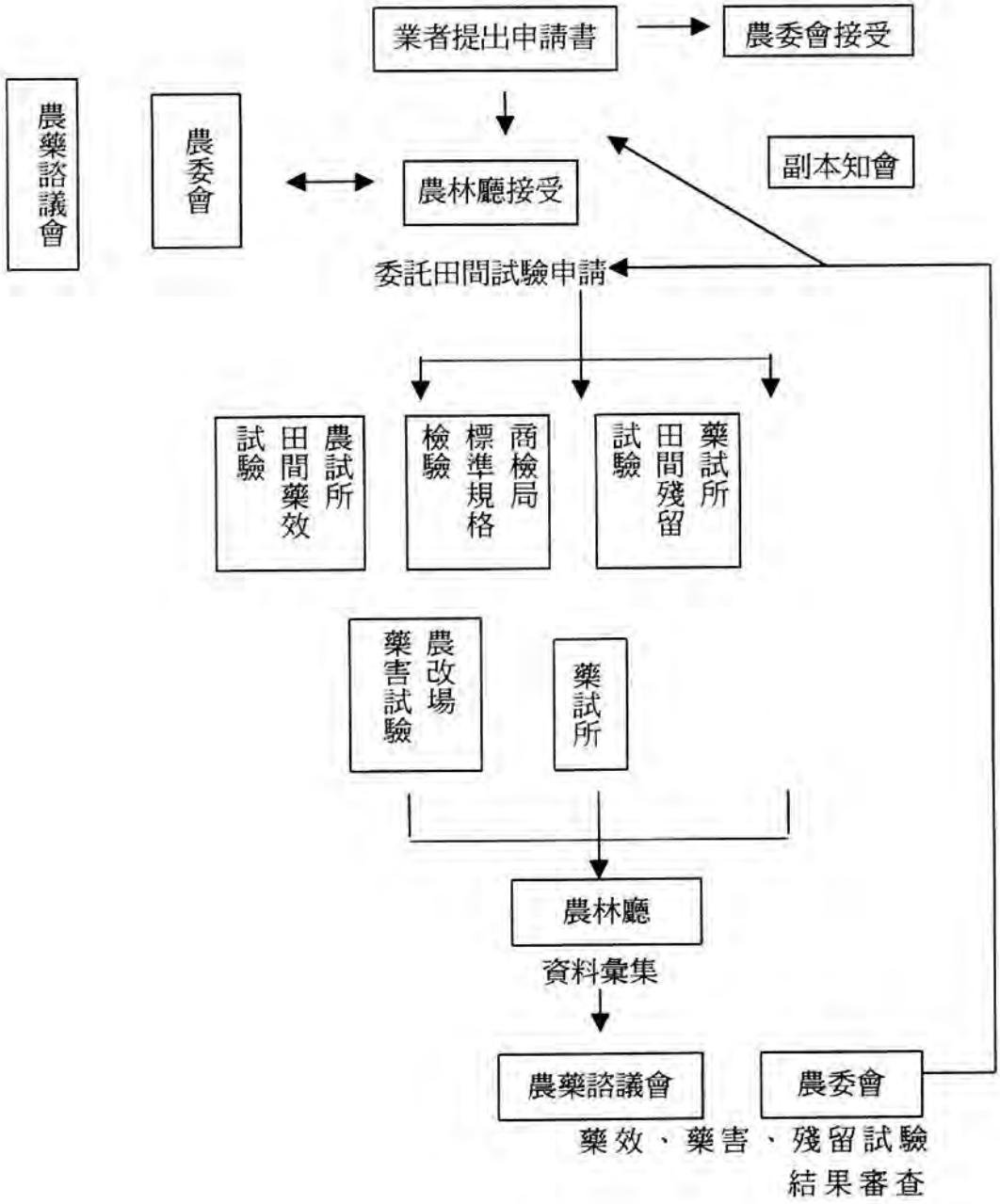
（a）產製過程摘要

（b）配方說明

（c）不純物產生之分析說明

2.生物特性及理化特性說明

（1）生物特性：該微生物在自然環境之消長情形，生物活性寄主範圍，生活史，作用機制或模式，培養方法及條件，菌落形態生長條件及貯存條件。是否產生毒藥及毒素種類。



圖四、蘇力菌申請農藥登記流程

Fig.4 Procedure of license application of *Bt* agricultural pesticide.

（2）理化特性：顏色、物理狀態、氣味、密度、比重或假比重、酸鹼度、貯存安定性、安定性（原體必需）、黏性（液體必需）、混合性（乳劑必需），包裝質材之腐蝕性等。

3.檢驗分析方法說明：包括使用儀器、方法、條件、計算公式、分析結果及合格範圍

（1）毒蛋白定性分析：SDS-PAGE

（2）定量：（a）製劑單位：CFU/g

（b）力價之國際單位/單位重量：IU/mg

（c）重量百分比：W/W

(三)蘇力菌製劑之毒理資料要件

1.若與已申請登記蘇力菌之亞種（subspecies）相同（*kurstaki*）、菌系不同，可免提供毒理試驗資料，惟仍需進行委託田間試驗。

2.若與已申請登記蘇力菌之亞種*Btk*不相同，則須提供完整的毒理資料，包括：

(1)大鼠（rats）靜脈急毒性/病原性試驗（acute intravenous toxicity/ pathogenicity study）

(2)大鼠口服（oral）急毒性/病原性試驗

(3)終端產品（final product）兔子真皮（dermal）急毒性/病原性試驗

(4)大鼠肺（pulmonary）急毒性/病原性試驗

(5)終端產品兔子原發的眼睛過敏試驗（primary eye irritation study）

蘇力菌之利用

一、蘇力菌之毒理

蘇力菌所產生的δ-內毒素爲一種毒蛋白，經昆蟲攝食進入其腸腔後，因其腸液之pH值約在9.0～10.5，其解蛋白酵素可將之分解而釋出一或多種27-140Kda毒性物質，此毒素與腸內細胞膜結合排列，干擾滲透壓平衡而導致細胞膨脹和分解，引起蟲體中腸或全身的癱瘓而停止攝食，並造成腸皮膜組織的解離崩潰，最後死亡。其毒素之釋出是受蟲體之解蛋白酵素及pH值的影響，具專一性。

二、蘇力菌主要亞種介紹

Btk：防治十字花科蔬菜之鱗翅目及鞘翅目類害蟲

Bti：防治蚊蚋及黑蠅幼蟲

Bta：防治小菜蛾及斜紋夜盜

Btm：防治擬尺蠖

Btt：防治馬鈴薯甲蟲

Bt buibui：防治青銅金龜子幼蟲(日本 Kubata 公司研發)

本省引進之蘇力菌殺蟲劑主要防治蟲害如下：

(一)十字花科蔬菜類－小菜蛾、菜心螟、大菜螟、緣點紋白蝶及紋白蝶

(二)瓜類、豆類、番茄、麻、甘藍、白菜－擬尺蠖

(三)茶、山茶、野牡丹、楊桐－茶蠶

(四)森林松樹類－松毛蟲。

三、蘇力菌產品使用方法簡介

蘇力菌產品使用方法及效果因廠牌而異，表三以活性單位 16,000IU/mg 之新大寶產品爲例作說明。使用時注意事項如下：

(一)每隔7-10天噴藥一次，採收前亦可施用。

(二)先用半量的水加入使用的劑量攪拌均勻後，再加入足量的水混合均勻。稀釋用水之pH以中性最佳。

(三)噴藥時務必均勻噴於作物上下葉表面。

(四)本劑須貯存於乾燥陰涼之處，不可暴露於日光之下。

(五)茶蠶幼蟲大量發生時盡量在幼齡期施藥。

(六)蘇力菌對人畜無毒性，屬安全性農藥，僅對極少數人或有敏感現象，若接觸皮膚以肥皂清洗即可。

四、蘇力菌產品的市場

未來全球蘇力菌生物殺蟲劑市場仍具發展潛力，主要原因是蘇力菌劑對人、畜無害，因此在先進國家中已展現逐漸取代化學農藥的趨勢。以美國爲例，其農業用蘇力菌生物殺蟲劑佔農業殺蟲劑之比例，預測將由 1992 年之 4%，提升至 2002 年之 19%，屆時蘇力菌生物殺蟲劑市場規模可達一億五仟萬美元，其中 *Btk* 菌株約佔 Bt 總市場的 85% 。國內因其他生化殺蟲劑加入競爭，例如由 *Streptomyces avermitilis* 所分泌之抗生素 Avermectin，市場呈現萎縮現象，年進口量在 50 公噸以下。

表三、蘇力菌產品使用方法

適用作物	害蟲	稀釋倍數	劑量 (kg/ha/次)
蔬菜類	小菜蛾	1000	0.4-0.6
	菜心螟 大菜螟 紋白蝶	1500	
	擬尺蠖	2000	
森林	松毛蟲	800-1000	2.0
茶樹	茶 蟲	2000	0.5

結論與展望

蘇力菌是一種安全、環保、衛生的生物殺蟲劑，歐美國家特別指定使用於蔬菜、玉米及森林的蟲害防治，因此其市場不受其他化學殺蟲劑的影響，甚至還有逐漸取代化學農藥的趨勢，每年仍有約10% 成長，而在亞洲地區因農藥管理法規不如歐美國家嚴謹，導致其他化學或生化殺蟲劑大行其道，而對環境衝擊最小的蘇力菌產品反被冷落了，真是令人痛心！農政單位實有必要加強對農民宣導使用安全的蘇力菌產品。國產的蘇力菌產品在品質提升方面尚需官、研、學界大力支援，特別是基因工程技術的引進，本土性優良的蘇力菌菌種亟待篩育、改良，以供作工業生產用菌株，相信在不久的將來，價廉物美又安全、衛生、環保的蘇力菌殺蟲劑將是農友的最佳選擇。

參考文獻

1. 蕭文鳳 1984 蘇力菌在十字花科蔬菜害蟲防治之應用 蔬菜害蟲研討會
專刊 台灣省政府農林廳編印。
2. 簡道南 簡滄明 1994 蘇力菌（BTK）商業化製程之開發研究 生物農藥研究與發展研討會專刊 台灣省農業藥物毒物試驗所 中華農藥協會編印。
3. 向明 1998 台灣生物農藥研發及其產業 生物產業及與製藥產業（上冊）生物產業 田蔚城主編 九州圖書文物有限公司發行。

蟲生真菌在作物害蟲防治之應用

蕭文鳳[1] 侯豐男[2]
[1]國立嘉義技術學院植物保護系
[2]國立中興大學昆蟲學系

前言

自 1940 年有機氯殺蟲劑發明後，予人類農業生產及病媒防治上帶來許多的利益，但二十年後產生許多的副作用。正如卡爾遜女士在「寂靜的春天」中所描述，會傷害鳥類及其它脊椎動物或無脊椎生物，迫使我們不得不需去思考其使用的後果。化學農藥可迅速的殺死害蟲，但大量廣泛使用後會產生殘毒、引發昆蟲產生抗藥性、吸附在土壤或滲入地下水引起污染、對非標的生物也有間接的殺害作用，如何減少化學農藥用量則勢在必行。

利用細菌、真菌、病毒、線蟲及原生動物或它們所分泌的毒素及經過基因工程改造的產品來防治害蟲的方法稱爲微生物防治。其基本考量就是利用〝以物剋物〞的原理，也因爲這些致病因子（Causal agents）是來自於大自然，故對環境的傷害比起人類合成的化學藥劑小，加之它們易受到非生物因子如紫外線、溫濕度等的影響而喪失功能或壽命，故其殘毒問題不似化學農藥需一段長時間才分解，因而引起人類的疑慮，故我們將微生物致病因子視之爲對〝環境友善〞的防治因子。-而蟲生真菌具以下之優點: (1)容易以培養基大量生產; (2)成本低; (3)施用容易; (4)尚無害蟲對蟲生真菌產生抗性的報導。以下則來介紹各種蟲生真菌病原。

蟲生真菌簡史

昆蟲罹病的記錄首見於秦漢（221BC—220AD）之「神農本草經」中記錄「白殭味鹹」，明 李時珍的「本草綱目」（1857）也有冬蟲夏草、蟬茸、殭菌可入藥的記載。

昆蟲病理之父 Bassi (1835)證明白殭菌可使家蠶得病。俄國 Metchnikoff (1879) 自麗金蠅 (*Anisoplia austriaca*) 中分離出 *Entomophthora anisopliae*。 Sorkin (1883)將屬名改爲 *Metarhizium*

且訂名爲黑殭菌（*Metarhizium anispliae*）。Forbes(1887)在麥長椿象（*Blissus leucopterus*）罹病蟲體分離出白殭菌（*Beauveria bassiana*）。

Zimmermann 氏 (1898) 在爪哇的咖啡介殼蟲 (*Saissetia coffeae*(Walker)) 上首先分離到此菌，當時命名爲 *Cephalosporium lecanii* (Petch 1926)，後來 Balazy (1973) 就其特徵而改爲 *Cephalosporium lecanii*，近年來則多採用 *Verticillium lecanii* (Hall 1981)了。這是早期文獻中描述真菌與昆蟲相關性的文獻 (Tanada 1961)。1960 年代後國內外則研究蟲生真菌的學者日多，本文則不再此處描述。

重要蟲生真菌種類介紹

蟲生病原真菌大約 100 多屬上千種，可分爲鞭毛亞門、結合菌亞門、子囊菌亞門，擔子菌亞門和不完全菌亞門。但只有少數的蟲霉目和線菌綱的種類研究的比較深入。

鞭毛亞門只有瓶菌綱及卵菌綱的種類，以感染雙翅目爲多，其中大鏈壺菌（*Lagenidium giganteum*）已有商品在美國登記上市(高、蔡 1995)。

接合菌亞門中蟲霉科屬於結合菌亞門蟲霉目（Entomophthorales），蟲霉科的寄主包括許多鱗翅目，鞘翅目、同翅目和●類。因許多蟲霉科的種類爲絕對寄生需活體才能產生孢子，因而影響其量產。然而 *Zoophthora radicans* 之孢子卻可於培養基上生產，已被考慮作爲蟲生真菌殺蟲劑之用。

子囊菌亞門：包括了球子囊菌目有白　幼蟲病菌能引起蜜蜂及切葉蜂的白　病。本門亦包括蟲草屬，全世界有 400 多種，如冬蟲夏草、蟬花、蛹蟲草和大團囊草可做中藥之用。

擔子菌亞門：包括和介殼蟲有關的隔擔子菌屬，具開發的潛力。

不完全菌亞門：許多已被用來防治害蟲之種類都在此亞門。如腔菌綱球狀子器菌目的 *Aschersonia aleyrodis* 僅感染粉蝨和軟介殼蟲。*Hirsutella thompsonii* 防治柑橘銹○相當成功。

蟲生真菌在昆蟲棲群中是以風土病或流行病之型式存在,而實際上被利用真菌作爲生物製劑者,只有少數不完全菌綱種類,常見的有線菌綱鏈孢霉目的白殭菌(*Beauveria bassiana*)、黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*)、綠殭菌(*Nomurae rileyi*)等。黑殭菌之寄主有 300 種包括鱗翅目、鞘翅目、直翅目、膜翅目、雙翅目、等翅目和同翅目。

可在土壤深度 25-30 cm 處分離(Milner et al. 1997)。白殭菌寄主有 15 目 149 科昆蟲及蠕類等,超過 700 種之寄主之記錄包括鱗翅目、鞘翅目、直翅目、膜翅目、革翅目、同翅目、雙翅目、等翅目和半翅目等。可在土壤深度 20-25 cm 處分離(Milner et al. 1997)。綠殭菌（*Nomurea*）及擬青霉菌(*Paceliomyces)*屬中有些種類會感染重要的土壤害蟲、鱗翅目及一些粉蝨。擬青霉菌可在土壤深度 25-30 cm 處分離 (Milner et al. 1997)。綠殭菌能自然發生於許多鱗翅目害蟲上,寄生於 30 多種鱗翅目害蟲,特別對夜蛾科害蟲的致病力更強,常引發流行病。蠟蚧輪枝孢屬（*Verticillium lecanii*）有十分廣闊的地理分布，寄主範圍廣，有彈尾目，半翅目，雙翅目，膜翅目，鱗翅目、同翅目及鞘翅目等昆蟲。其主要的寄主爲蚜蟲常引起溫室蚜蟲、粉蝨、介殼蟲的流行病。近年來也試圖用於防治薊馬(*Frankliniella occidentalis*) (Skinner 1991; Schreiter *et al.* 1994) 及蝗蟲(*Melanoplus sanguinipes*、*Melanoplus bivittaus*)(Harper and Huang 1986; Johnson *et al.* 1988)。另也會感染蜱蜱及銹病 (Leatherdale 1970；Barson 1976)。

蟲生真菌感染過程

真菌感染(mycosis）始於感染源如孢子或分生孢子接觸了具感受性的寄主。陸生真菌的孢子，全靠風或其他力量的帶動遷移方能接觸寄主。接觸之後第一步是真菌孢子附著寄主表皮並吸收空氣中或昆蟲表皮上的濕氣來發芽。具感受性之寄主表皮的物理和化學性質可能影響孢子的附著和是否能成功的發芽與否，此與真菌病原之專一性高低有所關連。黏液分泌物和附著器（appressorium）之出現會影響真菌孢子附著之程度。至於寄主體壁之穿透則是藉諸穿透菌絲（發芽管）之物理壓力及蛋白質分解酵素和其他酵素對昆蟲表皮組成之分解。對真菌的穿透而言，真菌品系間感染力都有所差異的原因可能與其是否能順利穿透昆蟲表皮有關，會受幾丁質分解酵素量的不同而影響。在某些情況下，真菌也可經消化道（口腔、咽喉和腸道）穿透而進入昆蟲體內發揮作用。

不完全菌綱的種類，只要一進入血腔，就會很快地繁殖和殺死寄主。在寄主死亡後，其生長改爲腐生，其菌絲體會再穿透昆蟲身體，並在屍體上萌芽形成菌絲，在適當的濕度下，產生無性孢子。藉由昆蟲的移動作主動散播，但最常見的是被動地經由風和水傳播（Hajek and St. Leger 1994）。

侵入過程可能遇到之障礙以黑殭菌爲例:有(A)誘發障礙(Induced

barriers)： (1)附著(Attachment), (2)黑化作用(Melanization)。(B)表現障礙(Performed barriers)：(1) 表皮結構(Surface structure：Hydrophobic barriers, low RH, Electrostatic Charges, low nutrient levels, microbial flora 等)：(1) Toxic lipids and phenols, (2) Tannedproteins，這些都可能會影響到真菌的侵入進而影響致病力(Hajek and Leger 1994)。

影響蟲生真菌之因子

一、非生物因子

(一)溫度

蕭及林(1995)以 YPDA 爲培養基在不同溫度下培養白殭菌(HO 212),結果顯示菌落生長最適溫是 25℃,5℃爲休眠溫度,35℃則菌絲停止生長。溫度會影響致病能力,取 10^7 孢子/毫升之濃度,以噴藥塔方式施於僞菜蚜上,在溫度 25℃、30℃、35℃及 40℃下,對照組不論測試溫度爲何僞菜蚜死亡之個體其體表皆無菌絲形成。在 25℃下,處理組死亡率達 100%,且體表皆出現菌絲。30℃時,處理組死亡率爲 100%,菌絲形成率僅爲 57%。在 35%時,對照組死亡率爲 75%,僅 22%出現菌絲。對照組及處理組在 40℃下,於處理 12 小時後僞菜蚜皆出現行動遲緩的現象,且 24 小時後全部死亡,也無菌絲產生,故得知溫度會影響白殭菌對僞菜蚜的菌絲形成,因高溫效應,白殭菌無致死效果,故將來田間施用時,宜避免於高溫時使用。

黑殭菌 MA-805 菌絲塊以 SMA+Y 培養,在移入 15℃、20℃、25℃、30℃及 35℃下，於第 5 天及第 10 天量菌落直徑大小,第 10 天並計算產孢數及秤菌絲乾重。結果顯示黑殭菌 MA-805 菌絲生長之最適溫度爲 25℃,其次爲 20℃,但 15℃及 30℃生長欠佳,則 35℃以上停止生長。菌落直徑大小和菌絲乾重成正相關。產孢方面以 20℃時爲最佳,其次爲 15℃和 25℃,而 30℃以上產胞減少,35℃以上完全不產孢。菌絲生長和產胞並不完全成正比,可能當溫度改變或環境不適於生長時,會促進真菌產孢(李、侯,1989)。

綠殭菌 35508 品系以 SMA+Y 培養,結果顯示其菌絲生長與產孢適溫均在 28℃,在此溫度下 24 小時孢子發芽率即達 92% (高等,1998)。

(二)濕度

將噴過白殭菌懸浮液及無菌水之僞菜蚜放入乾燥箱,箱內濕度依序爲 100%,76%,32%,置於 25℃定溫箱中(12L:12D),於接種後,每隔 24 小時觀察僞菜蚜之死亡數及菌絲形成率。結果顯示濕度 100%下僞菜蚜罹病率爲 71%,濕度 76%下僞菜蚜罹病率爲 84%,在濕度 32%下僞菜蚜罹病率爲 94%。處理組濕度 100%,76%,32%則菌絲形成率依序爲 71%,84%及 94%。由此可知,濕度會影響孢子發芽, 濕度 100%時會產生凝結之水滴,會降低白殭菌之致病力,當空氣中過於潮濕,如下雨或颱風前皆不宜使用白殭菌作防治(蕭等,1997)。

已接種黑殭菌 MA-805 的斑飛蝨在 RH 50%、70%、85%、90%、95%及 100%,經一週後調查其感染率。結果顯示在 25℃下,當 RH 95%以上才會達到高的感染率,RH 85%感染率僅 10%,RH50% 以下則不會感染致病(李、侯,1989)。黑殭菌在相對濕度 96% 以下會延遲發芽,86% 時會降低對白蟻的致死率(Milner *et. al.* 1997)

唐(1997)以 10、15、20 及 25% 含水量之土壤接種 $1x10^7$ conidia/ml 濃度之綠殭菌感染四齡甜菜夜蛾幼蟲,幼蟲死亡率以含水量 20%土壤爲 96.67%;含水量 25%土壤最低爲 25%,含水量 15%及 10%兩組無顯著差異。半致死時間以含水量 20%之土壤最短爲 5.4 天,含水量 15%及 10%半致死時間皆爲 6.0 天,顯示土壤含水量亦會影響蟲生真菌之致病力(唐,1997)。

Johnson *et al.* (1988)在室內以 *V. lecanii* 接種蝗蟲可出現 85 - 99% 之死亡率,但在田間施用的效果不彰。 Helyer *et al.* (1992)指出相對溼度 95% 以上的環境下,以 15 種不同之分離株對粉蝨進行生物檢定,LT_{50} 由 5.7 天至 9 天以上,LC_{50} 由 1.3×10^5 至 4.2×10^7 conidia/ml 但是即使經過 96 小時之潛伏期,若將已接種之粉蝨由相對溼度 95%移到 70%後,死亡率有降低的現象。Meade and Byrne (1991)接種 *V. lecanii* 的煙草粉蝨及溫室粉蝨 (*Trialeurodes vaporariorum*) 培養在 21°C , 89 - 95%RH, 光週期 12L : 12D 的環境下,7 天後煙草粉蝨死亡率可達 96%,溫室粉蝨死亡率爲 95.6% ,但皆無法感染此二種粉蝨的卵。

(三)酸鹼值

取 YPDA 培養基培養白殭菌,其 pH 調整爲 4、7、10 後,在不同觀察時間內,發現這幾種 pH 值對白殭菌生長並沒有顯

著的影響(蕭及林,1996)。

將黑殭菌 MA-805 的孢子懸浮液在調成酸鹼值爲 5 - 9,然後分別接種至斑飛蝨蟲體上,在 25℃飼養,進行 10 天的感染率調查。結果顯示 pH7 之黑殭菌 MA-805 的孢子懸浮液感染率最高,其次是 pH6 及 pH8,而 pH5 及 pH9 的感染率較差;故中性的孢子懸浮液最適於黑殭菌 MA-805 的感染(李、侯,1989)。

(四)紫外線

白殭菌孢子在陽光下迅速被殺死,且在太陽下蟲體的表皮溫度會上升,因而降低致病力,若遮蔭的狀況下,白殭菌的生長及其對蝗蟲的致病顯著高於在完全曝曬下(Inglis *et al.* 1997)。

二、生物因子

(一)真菌濃度

以綠殭菌孢子懸浮液接種於甜菜夜蛾各齡幼蟲,在 25℃下,由一至五齡其半致死濃度(LC_{50})分別爲 $1.34x10^6$、$1.47x10^5$、$4.97x10^5$、$3.56x10^4$ 及 $3.1x10^5$ conidia/ml。此表示蟲體越小,對綠殭菌感受性越高(唐,1997)。

(二)蟲齡

以濃度 10^5 conidia/ml 之綠殭菌孢子懸浮液處理五齡甜菜夜蛾時,幼蟲即使快速進入化蛹階段,但出現高前蛹期之死亡,若接種濃度爲 10^7conidia/ml,則可造成前蛹期 53.33% 死亡率及蛹期 23.33% 死亡率;表示濃度越低,幼蟲死亡率較高,可是後續前蛹期及蛹期死亡率較低,但高濃度時,幼蟲死亡率低,而後續前蛹期及蛹期死亡率較高(唐,1997)。

(三)作物種類

茄科植物含的蕃茄素(生物鹼)會抑制白殭菌的菌落形成及生長(Costa and Gaugler 1989a) 及其對科羅拉多甲蟲的感病力(Costa and Gaugler 1989b; Hare and Andreadis 1983)。

害蟲防治之應用實例

甘藷蟻象鑽入甘藷塊根危害,造成經濟上之損失,本省農民則完全依賴化學藥劑進行防治,蘇(1987)以白殭菌防治甘藷蟻象試驗,分別於甘藷種植及塊根形成時,各噴施含 $1.6x10^4$ conidia/ml 之孢子懸浮液,或於種植甘藷時,於畦底撒下含白殭菌(約 10^9conidia/g)之大

豆 300g、或在種植甘藷時，畦底撒下 2.5% 陶斯本 90g、種植甘藷時，畦底撒下 3% 好年冬 80g 及對照組。結果顯示(1)噴施白殭菌孢子懸浮液,甘藷受害率 32.8%。(2)撒含白殭菌之大豆，甘藷受害率 27.8%。(3)撒 2.5% 陶斯本，甘藷受害率 34.3%。(4)撒 3% 好年冬，甘藷受害率 30.8%。(5)對照組，甘藷受害率 43.5%。以上結果顯示用含有白殭菌之大豆及噴施白殭菌孢子懸浮液之甘藷受害率較低,其防治效果勝於化學藥劑之防治，這是在本省以蟲生真菌進行小規模田間試驗的結果(蘇,1991)。

Vandenberg *et al.* (1998)試圖以白殭菌 ARSEF 4543 及 Mycotech GHA 處理二齡之小菜蛾幼蟲，其 LD_{50} 爲 518 spore/cm^2 及 614 spores/cm^2。就齡期而言，2x10^{7}spore/cm^2 的濃度下，ARSEF 4543 對二、三、四齡的幼蟲致死率依序爲 53、86、72。Mycotech GHA 對二、三、四齡的幼蟲致死率依序爲 74、83、100(Vandenberg *et al.* 1998)。在二齡初期及二齡末處理其死亡率爲 58%及 10%，在二齡初期及二齡末處理其死亡率爲 58%及 10%，可能是末期幼蟲處理後馬上就脫皮而把一些孢子也隨退皮而脫去之故。在溫室實驗中，在 21°C 下於相對濕度 60%時存活蟲數爲 4.2，相對濕度 90%時爲 2.0，在 26°C 下於相對濕度 60%時存活蟲數爲 4.3，相對濕度 90%時爲 4.3 (Vandenberg *et al.* 1998b)。溫度會影響二齡小菜蛾對白殭菌的感病力，在 15、20、25、30 及 35°C 下，其死亡率爲 18、52、72、56 及 19%。而產孢率爲 14、51、65、34 及 17% (Vandenberg 1998a)。由上述結果可推知白殭菌具有防治小菜蛾的潛力，未來在小菜蛾的綜合防治上多一個選擇。

蟲生真菌商品

至今註冊上市的商品多種，表列如下：

表一. 顯示目前已註冊登記之白殭菌與黑殭菌殺蟲劑*

成份	商品名	公司或國家	對象害蟲
Beauveria bassiana 白殭菌	Boverin	Glavmikrobioprom	科羅拉多甲蟲、舞蛾、松毛蟲、歐洲玉米螟
	Boverol	Czechoslovakia	科羅拉多甲蟲
	Boverosil	Czechoslovakia	科羅拉多甲蟲
	—	Mainaland China	鱗翅目幼蟲，甲蟲幼蟲，蝗蟲等
	Naturalis-L	Fermone Co. Inc.	粉蝨、象鼻蟲葉蟬
Metarhizium anisopliae 黑殭菌	Mataquino	CODECAP	吹沫蟲
	Bio-path	Ecoscience	蚤蠊
Verticillium lecanii	Vertalec	Koppert	蚜蟲、粉蝨及介殼蟲

*利用真菌作爲蟲害防治劑有許多潛力的方法,但截自目前爲止,只有少數不完全菌種類被廣泛使用或做商業化之生產,所以目前真菌殺蟲劑尚未大眾化。

農藥對蟲生真菌之影響

有關農藥對蟲生真菌的影響，在 Olmert and Kennth(1974)及 Johnson *et al.* (1976)的報告中均指出最早由 Rolfsh and Fawcett 於 1908 年發現噴灑波爾多液對柑桔介殼蟲之蟲生真菌有抑制作用。一般而言，在培養基上殺菌劑的抑制作用大於殺蟲劑和殺草劑，不同種類之殺蟲劑、殺菌劑和殺草劑對蟲生真菌之抑制情形差異頗大(蘇 1988;蔡等 1991)。

Hall (1981)以殺蟲劑測試其對蟲生真菌的效應，發現夏油與 Diencchlor 幾乎沒有抑制作用，但是 Quinomethionate 即使將推薦濃度稀釋 10 倍，仍能完全抑制孢子的萌發。另外 Olmert and Kennth (1974)測試結果指出 9 種供試殺菌劑在推薦濃度下，以 benomyl 及 bazeb 影響最大，可以百分之百抑制菌絲生長，而 copper oxychloride 對其中一個分離株僅有 15.5% 的抑制作用，而 benonyl 以推薦濃度再稀釋 100 倍仍有 100% 的抑制作用。Hall(1981)的研究結果發現各殺蟲劑、殺菌劑對孢子發芽及菌絲生長抑制程度並不一致，如殺菌劑中之 chlorothalonii 及 fenarimol 等僅抑制孢子發芽，但不影響菌絲生長。殺蟲劑中 pirimicarb，在 10 倍推薦濃度處理時 *V.*

lecanii 孢子仍有 98% 的發芽率，而菌絲生長則完全受抑制。

真菌對藥劑之感受性反應，依特性之不同可分爲忍受蕭和林(1995)以 8 種不同濃度之殺菌劑測試白殭菌，結果顯示只有布瑞莫平板上有白殭菌生長，其他 7 種殺菌劑可分爲 2 種作用模式，依普同、多保鏈黴菌、銅滅達樂爲靜菌作用，而鋅乃浦、甲基鋅乃浦、依滅列及鋅錳滅達樂爲殺菌作用。耐性 (tolerance)及抗性(resistance)，前者常爲一種生理適應，對藥劑之不敏感性會隨著壓力之消失而恢復成爲感性，後者則是在基因上發生變化，其抗藥性極爲穩定(蔡 1991)。

重要森林害蟲的微生物防治

在 1960 年代末期松毛蟲(Dendrolimus punctatus)大量發生，林試所應之璘先生以 Israria,蘇力菌，質多角病毒，測試對於松毛蟲的防治效果。當初引進的質多角體 Dendrolimus spectabilis 質多角體來防治此蟲，可造成 90%的死亡率。

松斑天牛（*Monchamus alternatus*）會媒介松材線蟲（*Bursaphelenchus xylosphilus*）。使被害松樹之針葉在短期內變黃，再逐漸轉爲赤褐，最後全株萎凋死亡，本省自民國 74 年在台北縣石門鄉發現琉球松被害後已逐漸蔓延到中南部，造成很大的危害。

日本學者將白殭菌培養在不織布上，待菌長滿不知不後，再置於林地亦可利用小囊重圍媒介，將白殭菌帶入樹幹防治松斑天牛。另外 Shimuzu *et. al.*（1992）將白殭菌以麥片粒（Wheat-bran pellet）培養在埋入被蟲感染的松樹，則木材松斑天牛死亡率可達 13-81%之間；樹木則松斑天牛死亡率爲 43-45%

Shimazu 和 Kushida(1980)用直接噴灑危害的木材有 75%的死亡率，散在日本各省採此法施用效果不一。其他方法有在松斑天牛來羽化前先施於被害樹幹來感染成蟲，也有噴在健株的樹冠，當成蟲接近來取食枝條時可受到感染。以上種種方法，但效果不一。在日本 Akita 省 1995-1996 在海岸區，利用一種改良的大量釋放的設計來釋放，粘附白殭菌孢子的囊蟲 *Cryphalus fulvus* 的體表，在 1995 年死亡率 1.3%，釋放後死亡率 11.5%。結果顯示樹幹中的死亡率比上層及下層高（Kinuura. *et al.* 1999），皆可供我們參考。

展望

蟲生真菌自被學者記載並提出研究後已有 150 多年,但應用成功的例子並不多,其對相對溼度的要求甚高，可能在不同作物上,許多栽植的田間環境條件不同,而有不同的結果產生,蟲生真菌雖已有不少基礎研究的結果,但實際田間應用仍有一段距離，許多問題尚待解決,如:

一、研究方面：(1)適合各種害蟲防治的品系之篩選;(2)蟲生真菌對相對濕度極敏感,所以施用時需最適的萌芽濕度; (3)大量生產的方法; (4)調製安定性高且病原不受環境因子影響之製劑。

二、田間所遭遇之問題： (1)蟲生真菌持續性及感染受溫濕度影響大,因而限制真菌殺蟲劑之田間使用 (2)需改進殺蟲速度及速率。以上問題如能解決,則蟲生真菌可成爲具潛力之生物防治因子。

參考文獻

李平全、侯豐男 1989. 影響黑殭菌對斑飛蝨致病力之因子。 植保會刊 31:1-9。

李平全、侯豐男 1989. 黑殭菌培養及大量生產之研究。 植保會刊 31:10-20。

蒲蜇龍、李增智 1992 昆蟲真菌學 安徽科學技術出版社出版 715pp。

高穗生、蔡勇勝 1995 蟲生病原在蟲害防治上之利用(上) 藥試所專題報導 38 期， 12 頁。

高穗生、蔡勇勝、楊芃 、王伯徹、華傑 1998 臺灣常見蟲生病原真菌實用圖鑑 129pp 食品工業研究所。

唐立正 1997 本地產綠殭菌感染玉米穗夜蛾之研究。 中興大學昆蟲系博士論文。 147 頁。

蘇智勇 1988. 數種農藥對白殭菌之影響。 中華昆蟲 8:157-160。

高清文、蔡勇勝 1989. 利用蟲生真菌防治甜菜夜蛾。 重要蔬菜害蟲綜合防治研討會專刊 p214-222。

蘇智勇 1991. 白殭菌防治甘藷蟻象。 中華昆蟲 11:162-168。

蔡勇勝、侯豐男、高穗生、高清文 1994. 常用蔥田殺菌劑對黑殭菌感染甜菜夜蛾之影響。 植保會刊 36:239-246。

蕭文鳳、林悅強 1995. 白殭菌對蔬菜田常用殺菌劑感受性之探討。 中華昆蟲 15:295-304。

蕭文鳳、林悅強　1995. 白殭菌對僞菜蚜致病性初探。 嘉義農專學報 44:101-116。

蕭文鳳、莊凱順、鄭峰銘　1997. 溫濕度和十字花科植物與白殭菌對僞菜蚜毒力之影響。 嘉義農專學報 52:101-108。

Barson, G. 1976. Laboratory studies on the fungus *Verticillium lecanii*, a larval pathogen of the elm bark beetle. Ann. App. Biol. 88:207-214.

Costa, S. D. and R. Gaugler. 1989a. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to Solanine and tomatine: plant defensive chemicals inhibit an insect pathogen. J. Chem. Ecol. 15:697-707.

Costa, S. D. and R. Gaugler. 1989b. Influence of Solanum host plants on Colorado potato beetle (Coleoptera:Chrysomelidae) susceptibility to the entomopathogen *Beauveria bassiana*. Environ. Entomol. 18:531-536.

Hajek,A.,and R. St. Leger. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. Ann. Rev. Ent. 39:293-322.

Hare, J. D. and T. G. Andreadis. 1983. Variation in the susceptibility of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera:Chrysomelidae) when reared on different host plants to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory. Environ. Entomol. 12:1892-1897.

Heyler, N., G. Gill, A. Bywater and R. Chambers. 1992. Elevated humidities for control of chrysanthemum pest with *Verticillium lecanii*. Pesticide Sci. 36:373-378.

Inglis, G. D., D. J. Johnson and M. S. Goettel. 1997. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*)(Hyphomycetes:Sympodulosporae) of grasshoppers under field conditions. Environ. Entomol. 26:400-409.

Jaworska, M. and D. Ropek. 1998. Fungi nematodes interactions against *Sitona lineatus*. Insect pathogens and Insect parasitic nematodes. IOBC Bull. 21:113-116.

Johnson, D. W., L. P. Hish and G. E. Allen. 1976. Field evaluation of selected pesticides on the natural development of the entomopathogenic fungi, *Nomuraea rileyi* on the velvetbean caterpillar in soybean. Environ. Entomol. 5:964-966.

Kinura, H., E. Ohya, H. Makihara, A. Nagaki and H. Fujioka. 1999.

Infection rate of *Monochamus alteratus* (Coleoptera:Cerambycidae) by an entomopathogenous fungus through mass-release of vector beetles *Cryphalis fulvus* (Coleoptera:Scolytidae) using an improved application device. J. Jpn. For. Sco. 81:17-21.

Leatherdale, D. 1970. The arthropod hosts of entomopathogenus fungi in Britain. Entomophaga 15:419-435.

Meade, D. I. and N. D. Byrne. 1991. The use of *Verticillium lecanii* ahainst subimaginal instars of *Bemisia tabai*. J. Invert. Pathol. 57:296-298.

Milner, R. J., J. A. Staples and G. G. Lutton. 1997. Effect of humidity on germination and infection of termites by the Hyphomycete, *Metarhizium anisopliae*. J. Invert. Pathol. 69:64-69.

Olmert, I. and R. G. Kenneth. 1974. Sensitivity of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. Environ. Entomol. 3:33-38.

Shelton, A. M., J. D. Vandenberg, M. Romos and W. T. Wilsey. 1998. Efficacy and persistence of *Beauveria bassiana* and other fungi for control diamondback moth (Lepidoptera:Plutellidae) on cabbage seedlings. J. Ent. Sci. 33:142-151.

Shimazu, M. and T. Kushida. 1980. Microbial control of *Monochamus alternatus* treatment of pathogens on the infected pine trees. Trans. 32nd Meeting, Kanto Branch. Jan. For. Soc. 93-94.

Shimazu, M., T. Kushida, D. Tsuchiya and W. Mitsuhashi. 1992. Microbical control of *Monochamus alternatus* (Coleoptera:Cerambycidae) by implanting wheat-bran pellets with *Beauveria bassiana* in infested trunks. J. Jpn. For. Soc. 74:325-330.

Shmazu, M., D. Tsuchiya, H. Sato and T. Kushida. 1995. Microbial control of *Monochamus alternatus* (Coleoptera:Cerembycidae) by applciation of nonwoven fabric strips with *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) on infested tree trunks. Appl. Entomol. Zool. 30:207-213.

Smart,C.D. and D. W. Fulbright. 1996. Molecular biology of fungal diseases. In:Molecular biololgy of the biological control of pests

and diseases of plants. (Gunasekaran,M. and D.J.Webers eds.). 219pp. CRC Press,Boca Raton, FL. U.S.A.

Tanada, Y. 1961. Microbial pesticides. In: Pest control. 31-88. Kilgore, W. W. and R. L. Doutt eds. 477pp

Vandenberg, J. D., A. M. Shelton, W. T. Wilsey and M. Ramos. 1998a. Assessment of *Beauveria bassiana* sprays for control of Diamondback moth (Lepidoptera:Plutellidae) on crucifers. J.Econ. Entomol. 91:624-630.

Vandenberg, J. D. , M. Romos and J. A. Altre. 1998b. Dose-response and age-and temperature-related susceptibility of the Diamondback moth (Lepidoptera:Plutellidae) to two isolates of Beauveria bassiana)Hyphomycetes:Moniliaceae). Environ. Entomol. 27:1017-1021.

Ying, S. L. 1970. Application of *Isaria* sp., cytoplasmic polyhedrosis virus and *Bacillus thuringiensis* against pine caterpillars *Dendrolimus punctatus* (Lepidoptera:Lasiocampidae). Quart. J. Chinese Forestry 4:51-68.

生物肥料之研發及利用

楊秋忠
國立中興大學土壤環境科學系

「生物肥料」(biofertilizer) 又稱「土壤微生物製劑」，或「微生物肥料」，是由於肥料的定義包括廣義及狹義二種，「凡一切物料，不論基於土壤或植物之葉部，若能供作營養分或改良土壤之理化、生物性質，藉以增加作物之產量或改更改進產品之品質者。簡言之，凡能增進作物之產量與品質之物質，均可廣泛的稱爲肥料，然而有狹義的僅直接供給作物以養分之物料稱之爲肥料者」(盛，1971)。生物肥料即以廣義取之，係指人工培養之微生物製劑，在土壤中利用活體生物之作用以提供作物營養分來源、增進土壤營養狀況或改良土壤之理化、生物性質，藉以增加作物產量及品質者。其中，生物肥料以微生物來源最多，故本文是以微生物肥料爲主要內容。

施用土壤微生物製劑之應用目的包括直接及間接的目的，分別敘述如下：

一、直接應用目的

土壤微生物製劑的直接應用目的是如上述前言中，以做爲廣義肥料之應用，即爲「生物肥料」，利用活體生物供作養分營養分之來源(如固氮微生物)或增進土壤營養狀況者。因此利用有益微生物的目的可減少化學肥料的施用，以達到相同產量或有促進產量與品質之目標。由於微生物的生產成本較工業生產肥料爲低，除減少大量施用化學，以減少土壤劣化之可能性外，更可降低生產成本。

二、間接應用目的

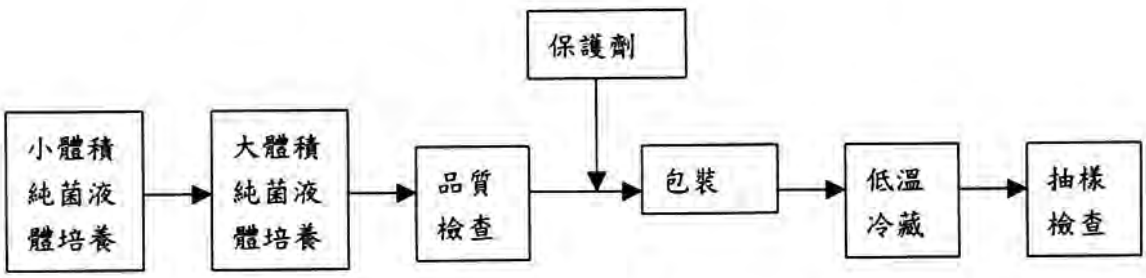
微生物肥料的間接應用目的是利用有益微生物對肥料功能外的其他能力，例如根圈保護的功能，促進植物根系生長及吸收水分與養分的能力，延長根系壽命，中和或分解毒害物質，提高作物移植存活率，及提早開花等特性。

「永續性農業」是要建立一個不依賴大量化學肥料及化學農藥的農業生產體系，生產的能源及成本要低，且能穩定產量、提高收益及減少環境生態的衝擊。農業生產要不依賴大量化學肥料的方法，就是要以有機質肥料、生物肥料及礦物質肥料來代替部份化學肥料，而以生物肥料促進化學肥料之利用效率是值得重視的「土壤生物技術」。

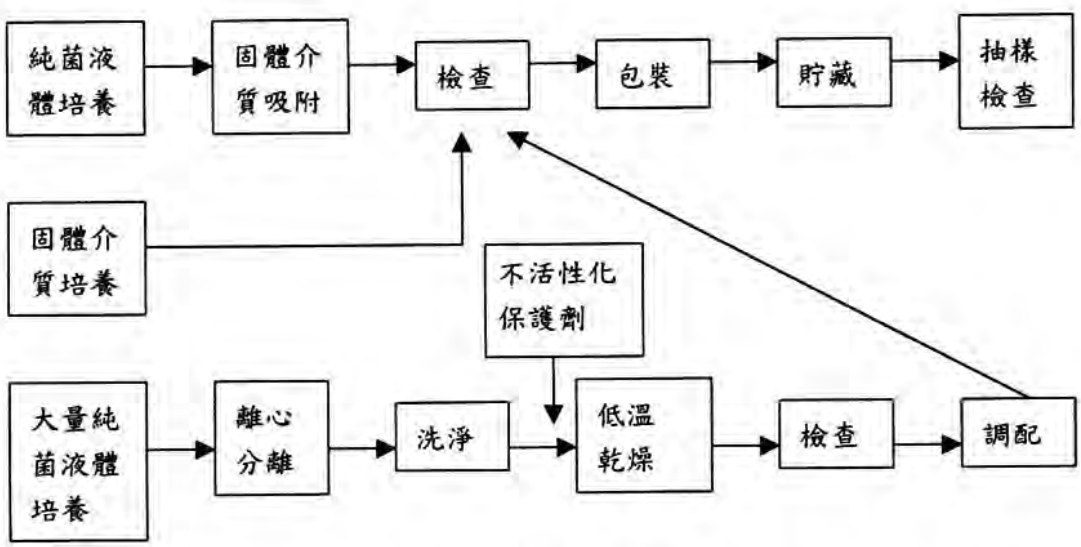
生物肥料的生產

在國內由於發酵工業的發達，微生物製劑的生產已有相當基礎，大量生產微生物肥料之技術並無問題，微生物製劑的產品包括固體及液體兩大劑型，以簡略說明不同劑型生產之技術及流程：

液劑生產：一般液體劑型之生產較爲方便及迅速，經檢查後即可包裝，液劑生產之技術上要重視克服雜菌之污染，包括在培養及包裝的系統。菌種及殺菌系統的速度是決定生產效率的重要因子。其生產流程如圖一所示。



圖一、液體培養微生物肥料的生產流程



圖二、固劑微生物肥料生產的三種流程

固劑生產：固型微生物肥料的產品，需經液體培養後，再吸附或培養在固體上，或經濃縮後低溫乾燥，其生產較爲緩慢。

固劑生產之技術上，除了需有液體培養技術外，尚需要固體介質培養或冷凍乾燥之技術與設備。選擇優良菌種外，固體介質及低溫乾燥速度是決定生產效率的重要因子。如圖二所示，三種生產固劑微生物肥料的流程，依不同菌種及需要決定其中一種生產方法。

生物肥料的微生物種類

生物肥料的產品依不同微生物種類及劑型分別說明如下：

一、微生物之種類

全球生物肥料的產品主要是包括細菌、放線菌、真菌、藍綠藻等微生物，在商品上一般可見單一或多菌類混合的生物肥料。單一菌類微生物肥料一般也是複合多株同類菌株的產品。以下爲一般常見的微生物肥料之菌種：

(一)固定氮氣的微生物：

1.固氮菌：

肥料三要素氮、磷、鉀中，唯一能來自大氣中的是氮，雖然大氣存有大量（約80%）的氮氣(N_2)，但此種氮氣不能直接被植物利用，需要將氮氣轉化成氨才能被植物利用,將氮氣轉化爲氨的過程謂之「固氮作用」，固氮作用主要包括「生物固氮」及「工業固氮」。固氮菌的種類依分類上區分爲細菌、放線菌及藍綠藻類，其共同特徵是此類微生物均爲無細胞核的微生物。固氮菌與作物關係上可區分爲共生性、非共生性及協同性固氮菌：(1)共生性固氮菌與植物(如豆科、赤揚)形成瘤狀或固氮體，如根瘤菌、放線菌、共生藍綠澡類：(2)非共生固氮菌是在土壤或水田的游離固氮微生物，如固氮螺旋藻及光合固氮細菌類：(3)協同性固氮菌是存在植物根圈附近，利用植物之根分泌物生活而固氮，其固氮效率一般較非共生固氮菌爲高，如螺旋狀固氮菌與禾本科植物之協同性關係爲最明顯。

根瘤菌的應用上可以減少施用氮肥，因而可減少環境中氮的污染及土壤酸化，可提高豆科的產量及品質，並增進土壤肥力及健康。減少化學氮肥施用，有助節約消耗不可再生性能源的目標。1982 年的研究報導指出豆科固氮作用所消耗植物本身的能量，約等於植物吸收及利用硝態氮(NO_3^-)的能量，解開以往對豆科固氮耗能而認爲不需要接種根瘤菌的誤解。

固氮菌的應用上以篩選優良菌種爲首要工作，需從分離及純化後，進行初步溫室及最後的田間篩選工作，篩出適應性及共生性佳的品系，以混合菌株的接種劑做爲應用的菌種。根瘤菌的接種劑在應用上甚爲簡便，只

要與種子混合後即可播種，使用菌液量每公頃約爲 2～4 公升，而一般常見毛豆每公頃使用尿素約在 200～400 公斤，相比之下，即見使用根瘤菌省時、省錢及省力。

台灣根瘤菌研究甚早，至 1983 年發現台灣有快生型大豆根瘤菌世代時間約在 2 小時，而早期之慢生型大豆根瘤菌世代時間在 6～10 小時，在生產菌種的速度提早 4～8 天，經濟效益更爲提高。在大豆根瘤菌之生理生化的研究已有相當之報導。

田間試驗中，接種 38 株不同的苜蓿，三葉草、花生、大豆等根瘤菌，結果發現產量較未接種的處理增加約 210%，50%，21%，98%。而在林地方面，在銀合歡生長初期，接種有效根瘤菌粉劑，可在銀合歡根部形成有效根瘤，並在植體乾物重、瘤數、瘤重及乙炔還原能力均比未接種處理爲高。

雙重接種根瘤菌及菌根真菌到台灣本土 6 個試驗點，測試其成瘤作用、共生固氮作用及大豆產量，結果顯示，單獨接種根瘤菌的處理明顯增加根瘤生成、瘤重及固氮酵素之活性，而對大豆產量有高達 134% 之增產；而單獨接種菌根菌，對成瘤作用及固氮酵素活性無顯著的影響，但對大豆產量之影響有達 65%之結果。而雙重接種根瘤菌及菌根菌，對大豆產量之影響範圍有達 145%之增產，亦即顯示不論單一接種或雙重接種根瘤菌或菌根菌均有助於大豆產量之提升，且可取代氮肥之利用。

大豆根瘤菌每公頃年每年固定 100 公斤以上的氮素，且其製造成本低廉。由中興大學本研室分離的根瘤菌中，選拔出適宜本省大豆或毛豆栽培環境所使用之菌種製成生物肥料，根據本省高雄區農業改良場產量調查結果，接種根瘤菌後公頃之合格莢產量較不接種之農民慣行區增產 18%以上，增加收益每期每公頃約可收益 13,000 餘元。82 年度高雄農業改良場及屏東縣政府示範推廣根瘤菌面積已是 6000 公頃，可減少農民施用大量化學肥料，並減少土壤酸化及避免殘肥滲入土壤的地下水。若能繼續推廣根瘤菌之應用，不但可以提高毛豆產量、品質且可減少施用氮肥及土壤酸化問題，更有利於土壤及水質之環境保護。

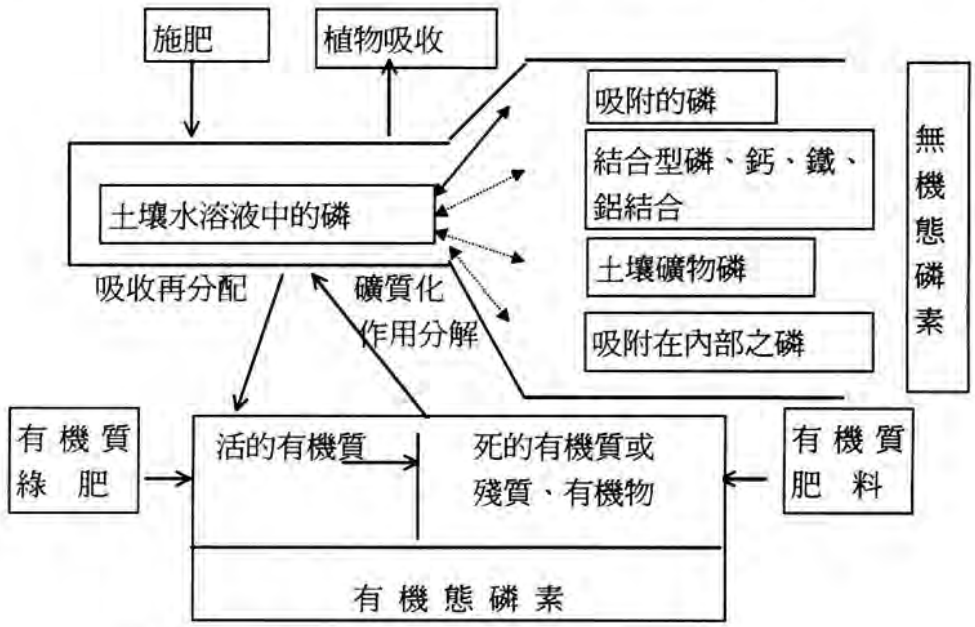
固氮菌之研究發展已邁向多功效及多作物應用之菌種，除具固氮作用外，已篩選出固氮溶磷之菌種，並已初步完成非豆科與根瘤菌形成根瘤之研究發展，將使固氮菌成爲多目標用途之菌種。

2.溶磷菌：

磷素是肥料三要素氮、磷、鉀之一，是一般農業生

產上植物所必需的大量營養素。土壤中磷素存在的形式，包括無機態及有機態，無機態常與鈣、鐵、鋁結合，呈不易溶解型，導致不易被植物吸收；有機態磷則存在於許多與磷酸鍵結的有機化合物上，如磷酯、植酸鈣鎂(phytins)及核酸等等。

土壤中的無機態磷以結合型式存在愈多，自然對植物的有效性磷就愈少，因此磷肥在每期作物生產中常需要施用，否則產量或品質就受到影響，但磷肥的回收率甚低約在 20%以下。其餘的磷肥，幾乎都被土壤所固定結合，又因磷素在土壤中的移動較差，不易被水流失。田間前期作未吸收的磷肥被固定結合，植物也無法大量再吸收到這些被固定的磷，此即每一期作也得施用磷肥的原因。溶磷菌的作用即在溶解無機及有機結合的磷素。



圖三　土壤中磷素的動態系統

溶磷菌是泛指能溶解土壤中不易溶解的無機或有機磷化物的微生物總稱。近年來農業施用許多的化學磷肥，然而磷肥中有效性磷非常容易與土壤中的正離子（鈣、鐵、鋁、鎂等）結合，形成不易溶性的磷化合物，如磷酸鈣、磷酸鐵、磷酸鋁等，加上磷的流失性小，於是磷在農田中累積，但作物並不易利用。若能利用溶磷微生物，將有利作物於土壤中磷肥的有效應用。

不同的溶磷菌的種類中，溶磷能力及能溶解物的範圍差異甚大，有的菌可溶解「鈣結合磷」，可是不能溶解「鐵結合磷」，有的菌種且可溶解多樣的不易溶解的磷化物。常見的溶磷菌包

括細菌及真菌，如 *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Thiobacillus*, *Penicillium*, *Aspergillus* 屬及*Mycorrhiza*等。其中菌根真菌經研究也是能促進根圈中溶解無機結合磷的功能，此外，近年來發現根瘤菌也有溶解磷的菌株。溶磷作用的產生原因可能區分爲不同機制，包括直接產生有機酸、無機酸或酵素的釋放，對土壤中無機或有機結合磷的分解作用。

研究結果顯示溶磷細菌可溶解磷酸三鈣，但不一定能溶解磷酸鐵，磷酸鋁或磷礦石。生物分析結果顯示部份菌株對胚根生長有明顯增進作用。溶磷細菌對磷酸三鈣的溶磷能力，在接種 36～48 小時達到最高溶出磷量，爲對照組的 166 倍。

溶磷菌篩選上，除對各種不同磷素之溶解能力測定外，對促進根系生長及增進吸收磷素的篩選也有助應用。本研究室篩選之溶磷細菌種經田間花生、扁柏、銀合歡、茶等均有增產的功能，尤其配合菌根菌之應用，將更接種效應更爲穩定的功效。

溶磷菌的應用效果好壞，是依賴菌種的選拔，要有優良的菌種，才有良好的表現，因土壤中的菌種良莠不齊，雖然具有溶磷，但效果相互差異甚大。

溶磷菌的應用，對作物而言沒有專一性，但略有偏好性，一般溶磷菌適用於各種農藝、園藝、牧草及林木作物，爲了達到最佳效果，可分別作物篩選優良菌種。

溶磷菌的應用效果已被證明在某些土壤中，可以達到增產的成果，也有配合菌根真菌的應用，達到「累加效應」的例子。溶磷菌也常見配合磷礦石粉的施用，而達到增加磷肥吸收及增產的效果。

新興科技的發展下，溶磷菌(包括菌根菌)及固氮溶磷菌在未來的農業中，必定有其需要性，使磷肥的效應提高是主要的目標，尤其是在固定磷素甚高的土壤更爲重要，尤其多年生及根系小的作物的需求更有其必要性，使磷肥有充分的供應作物的需求。除了溶解土壤中不易溶解的磷素外，部份之溶磷菌能促進根系之伸展，有利營養之吸收，可能與植物賀爾蒙之形成有關，此點有待進一步研究證明。

(二)根圈有益微生物：

根圈有益微生物是指此類微生物適宜生長在根圈周圍，並能促進根系或植物生長。根菌有益微生物依不同功能而有差別，例如有分泌或轉化植物賀爾蒙或促進劑的微生物促進根系生長，增加營養吸收；有抑制病原菌的微生物，而此類菌之功能與肥料功能有差別，不宜以「微生物肥料」稱之，而以「微生物接種劑」或「微生物資材」稱之爲宜，如「載鐵物質」的分泌菌。

(三)分解菌：

分解菌是指可分解土壤有機物、農藥或有機肥料的菌類，此類的菌常與機質混合應用，增加土壤中有機質的礦質化作用，而釋出營養分。分解菌的種類甚多，作用的範圍甚廣，從大分子的有機質分解成小分子之有機或無機物（如銨、二氧化碳等），甚至包括去除惡臭物的分解作用及解毒作用。但需注意若會分解土壤有益物質的分解菌不宜加入土中。

(四)有機聚合物的產生菌：

土壤中有許多小分子之有機物（如酚類、胺基類、醣類等），會被此類微生物聚合成大分子的有機物（如腐植酸、黃酸、黑色素等），這些聚合有機物對土壤的理化性質貢獻甚大，如增進土壤團粒作用，功效不可忽視。

以上各種重要的微生物，可以複合在一種或多種菌的微生物肥料中，使其發揮所長，達到有效的成果，是未來肥料的重要資材。

(五)菌根真菌

菌根菌是一種與植物根部共生極爲廣泛的真菌，主要的菌根菌包括內生、外生及內外生三大類，作物的根部與菌根菌發生共生後，(1)外生菌根菌伸入根皮層，但不進入細胞內，常在根的外部形成瘤狀或掌狀物，外生菌根菌的共生以林木爲最多；(2)內生菌根菌伸入根皮層及細胞內；(3)內外生菌根菌則細胞內外皆有。一般農田作物以內生菌根菌爲最多，尤其以囊狀體－叢枝體內生菌根菌最普遍受到重視。

二、劑型：全球微生物肥料的劑型上，不外乎包括液體及固體，液體是直接培養的菌液，而固體則有冷凍乾燥菌體及吸附菌體物兩大類，有粉狀或粒狀。一般爲使菌種能在根系儘速發生功能，則以液劑及粉狀較爲迅速，粒劑中則以不溶性的粒狀之作用較慢。液型的生產成本較低，固體型之生產成本則較高，但運送上較方便。液型較需重視雜菌問題的控制，固體型者則較不易察覺雜菌問題。

微生物肥料使用方法

微生物肥料的使用方法非常方便，無論整地與不整地栽培，或苗圃種植的播種方法及管理，都與原來慣用方法相同，應用的主要要領是將作物的種子、根部或小苗能直接與生物肥料充分接觸，達到接種微生物的目標，使用方法可視需要配合，甚爲簡便。

依接種劑的型態，主要可分爲微生物的液劑及固劑二種，各種微生物製劑之應用需依產品之說明使用之，一般使用方法分別說明如下：

一、液體菌劑之使用方法：

(一)幼苗接種的方法：

1.浸苗法：以稀釋液（約 5～10 倍）浸苗，浸入液體沾濕後立即取出即可。

2.噴苗法：當樹苗很多時，可用稀釋液（約 5～10 倍）放入噴筒中噴濕根部即可。

(二)種子接種之方法：

1.播種前浸入或噴濕法：將種子與原液或 5～10 倍稀釋液浸入或噴濕，使種子與液態生物肥料接觸後再播種。

2.播種覆土前噴濕法：將原液或 5～10 倍稀釋液噴在苗床上未覆土的種子上，使種子沾濕後，再覆土。

(三)種植後之接種方法或直接灌入土壤之方法：

將 100 倍之稀釋液灌入種植成株及果樹之根部或土中即可，或以 10 倍之稀釋液在雨後噴入土中也可。

二、固體菌劑的方法：

(一)幼苗接種的方法：

將固態生物肥料先入穴中或條行中，再種植幼苗，使幼苗根部能與生物肥料接觸。

(二)種子接種的方法：

1.大種子接種：

(1)包覆種子法：將種子直接加入黏著劑（如 CMC）及少量的水後，再加入固態生物肥料包覆種子，所以種子外覆有一層固體生物肥料。

(2)土中接觸法：將固態接種劑施入土中後，再將種子放在固態接種劑上方，再覆土即可。

2.小種子接種：

(1)混合方法：將小種子與固態接種劑以一定比例均勻混合後，再將混合物施入苗床上，達到種子分散，混合比例依施入量及發芽率而定，原則上施入土中後種子即在固態接種劑中。

(2)土中接觸法：如上述大種子之方法，將固態接種劑施入土中後，再將種子放在固態接種劑上方，再覆土即可。

保育土壤微生物之要領

保養土壤微生物的要領，在於平時注重土壤之物理、化學及生物環境之維戶，加強長期的保養，其要領如下：

一、勿過度使用農藥及肥料

農藥是現代農業生產甚難或缺的藥方，若正確使用農藥或少農藥將不易發生大的問題，爲了長期保養土壤微生物及其制

衡功能，若不當或過量使用農藥，對有益的土壤微生物及根圈微生物是有害的。土壤殺菌劑或燻蒸劑是在土壤發生嚴重病蟲害時使用，也就是說在「治療」時使用，但若只是用在「預防」上，將改變土壤微生物之制衡，此時若發生病菌侵擊，則常有不可收拾之後患。

肥料是農業生產上必需之材料，過量施用肥料，可能導致土壤酸化及養分不均衡之問題，因而改變土壤環境，對土壤微生物族群之變遷也將可能導致問題的結果，其中在土壤酸化後十字花科作物的根瘤病爲最明顯之例子。因子，減少過量施肥是保養土壤的重要工作。

二、輪作栽培：

多種不同之作物依次輪作栽培，可減少土壤病蟲害微生物之大量繁殖，可降低病害發生。本省網式及設施蔬菜及花卉栽培連作甚多，因此發生連作障礙，無法再種同類的作物，這種問題最有效的治療辦法就是採用輪作及水旱輪流栽種，避免再連作。尤其是施設栽培之耕作更需重視輪作栽培。

三、調整土壤酸鹼度：

土壤酸鹼度不只是影響作物生長，對土壤微生物的生長也有關係，每一種微生物的適應性有一定的酸鹼範圍，當土壤酸化後，土壤中有害微生物之孳生，加上植物的不適應，而加強了病害的嚴重性。調整土壤酸鹼度，可防止病害微生物之危害，一般作物適於酸鹼值 6.0 至 7.0 之間，也有一些較耐酸的作物可以適應酸性土壤，如茶、草莓、菸草等。

四、接種有益微生物：

土壤中原本有好的微生物，由於長期利用土壤，部份有益微生物之數目降低或過少，也有部分有益微生物(如根瘤固氮菌)原來土壤中就很少或沒有，施用有益微生物可增加其效能，例如固氮菌可增加土壤氮素來源，分解有機物之菌可加速有機分解釋放養分，菌根菌有助磷肥吸收，釋放抗生素之菌可對抗病菌孳生。接種微生物常被土壤中之環境影響，需要注意接種方法、時節及配合管理的要領。

五、施用適當的有機質：

有機質的供應是保養土壤微生物最有效的方法，但是要講求「適量」及品質好的有機質肥料，近來蔬菜田中常發現過度施用易分解(即易發性)的有機質，因長期 2、3 年的過量以後，土壤過度有機化及酸化，微生物過度孳生，導致根害及病害之發生。

六、其他：

爲有益微生物相之土壤的保育除上述方法外，尙可利用改變土壤環境加以保養，例如利用浸水處理或輪種水生作物(如水稻、蓮藕、芋頭等)，使田間浸水控制病蟲之滋長；也可採

用翻田日曬、覆蓋等方法，控制部份病菌數目。又如客土及移去有害微生物，利用引進新的土壤及新的有益微生物。利用底土翻上的深耕方法時，因底土一般有機質低，需施用有機質及有益微生物加以改善。

如何發揮生物肥料的最大功效

任何肥料要發揮最大功效，應注意土壤及作物條件的配合，微生物肥料也不例外，需要注意下列配合條件：

一、土壤不能太酸或太鹼：

土壤太酸(小於 pH 5)或太鹼(pH 7.8)均影響各種營養的吸收及有效性，對微生物肥料的發揮上將受到限制。強酸性土壤，可先用石灰質材(如苦土石灰、蚵殼粉、矽酸爐渣、白雲石粉等)中和；強鹼性土壤，可用酸性質材(如硫磺粉或酸性泥炭)中和。

二、配合微生物繁殖之場所或資材：

微生物肥料是活菌，施入土壤後需要繁殖生存，其中最佳生存之處是根圈，因此，施在根上的效果最佳，是直接的作用，若微生物肥料在稀釋液中添加少量腐植酸、糖蜜或營養劑，將有助微生物的繁殖及生存。

三、配合作物的需求：

各種作物在不同生長期中對不同微生物肥料的需求要配合，微生物肥料之接種愈早期愈好，以幼苗期接種最有效。若多年生果樹則在生長期重視增進氮及磷功能的菌種，中果期則重視增進磷功能的菌種。

四、微生物肥料的品質需求：

微生物肥料是活菌，因此，接種劑的品質要求菌數要維持，菌的活性要高，要能適應本土環境及雜菌要少的條件。

生物肥料的保存方法及注意事項

一、接種劑貯藏於蔭涼處或冷藏室(5℃以上)爲佳，菌種是活的生物，有一定之保存期限，當活的菌種降低時，效果將減少。

二、避免與有毒害之農藥混合使用，但播種覆土後可施農藥。

三、使用固氮接種劑，不可與氮肥混合使用，但磷鉀肥仍需於整時作基肥施用，如需施用氮肥，可當爲追肥，少量施用，施用溶磷菌或菌根菌，不可加入多量過磷酸鈣。

四、接種劑與種子拌種時，若種子(如大豆)怕浸水時，應將多餘的水倒出，絕不能浸泡種子，否則，怕浸水的種子發芽率及發芽勢受影響而降低。

五、混合種子與接種劑需立即播種，土壤不可太乾。

結論及展望

農地土壤的表現是土壤物理性、化學性及生物性之總體表現，其間相互影響，若其中有限制因子的存在，將對作物生產具有否定的影響，因此，土壤地力的保育需要依各地不同土壤而有不同的改良對策之優先次序。然而土壤微生物在農業生產上扮演重要的角色之一，由於土壤微生物不易用肉眼察覺問題的發生，一般只能用作物的健康及生病的程度來觀察。台灣至今對土壤微生物生態相之研究有待多方努力，有待建立基礎及應用研究之建議如下：

一.建立土壤微生物之基因庫及保存自然微生物資源。

二.發展及利用土壤有益微生物接種劑及複合多功能有機質肥料，達到土壤保育之目標。

三.加強污染物及農藥對土壤微生物相影響之研究，訂定污染物及農藥使用限制與環境基準，並建立土壤環境品質之監督系統。

四.建立本土土壤之微生物生態相之方法及模式，調查分析不同土壤及管理之差異性，做爲微生物多樣性的基本資料。

參考文獻

張鳳屏、楊秋忠・1992・囊叢枝菌根菌與溶磷細菌對塑膠袋茶樹扦插苗生長之影響・台灣茶業研究彙報 11:79-89.

曾振南、華傑、楊秋忠・1993・利用多基固座酵素電泳分析研究台灣本土根瘤菌之遺傳相關性・中國農化會誌 31:120-129.

楊秋忠、張芝賢、陳立夫、趙震慶。1998。台灣土生固氮溶鐵磷細菌特性之研究。中國農業化學會誌 36:201-210。

楊秋忠、張淳堂、張鳳屏・1994・溶磷菌的作用及應用研究・微生物肥料之開發及利用研討會專刊. p.87-98.

楊秋忠、莊作權、郭鴻裕・1984・接種內生菌根對大豆生長、生產、固氮作用及礦物磷利用之效應・中華農學會報 128:29-42.

楊秋忠、趙震慶、張永輝・1986・台灣酸性土壤接種菌根菌及施用磷礦石粉對玉米生長之影響・中華農學會報 新136:25-24.

楊秋忠、趙震慶・1988・台灣快生型大豆根瘤菌之世代時間及對大豆共生之關係・中華農學會報 新143:27-37.

楊秋忠。1986。土壤微生物－根瘤菌及菌根真菌的需要及發展・興大農業 2:17-20。

楊秋忠。1987。土壤微生物應用之需要性・農委會農情週訊 115:15-17。

楊秋忠。1994。微生物肥料在永續性農業上的應用. 永續農業 1:29-32。

楊秋忠。1994。微生物肥料發展現況及未來. 生物技術醫藥產業報導 3(4):15-20。

楊秋忠・1989・微生物肥料在有機農業之應用・有機農業研討會專集: 105-112.

楊秋忠・1994・固氮菌的應用及發展・微生物肥料之開發及利用研討會專刊 p.5-14.

楊秋忠・1997・土壤與肥料 (第六版) (395 頁), 農世股份有限公司, 台中。

楊秋忠・1997・固氮菌與溶磷菌之應用及發展。有益微生物在農業上之應用研討會專刊。中華永續農業協會。p.11-26。

Young, C. C. 1986. Effect of sanility on growth, survival, and symbiotic characteristics of Rhizobium japonicum Taiwan isolates. Proceedings of the National Science Council, B, R. O. C. 10:275-279.

Young, C. C. 1990. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fingi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils. Soil Science and Plant Nutrition 36:225-231.

Young, C. C. 1994. Selection and application of biofertilizers in Taiwan. Food & Fertilizer Technology Center, Technical Bulletin 141:1-9.

Young, C. C. and C. C. Chao. 1985. Persistance of leucaena Rhizobium isolates in carriers. Leucaena Research Reports 6:73-74.

Young, C. C. and C. C. Chao. 1989. Intrinsic antibiotic resistance and competition in fast- and slow-growing soybean rhizobia on a hybrid of Asian and US cultivars. Biology and Fertility of Soils (Germany) 8:66-70.

Young, C. C. and D. P. Bartholomew. 1987. Growth, nutrient uptake, and N fixation of Desmodium intortum as influenced by root exudates of limpograsses (Hemarthria altissima). Proceedings of the National Science Council, (B), R.O.C. 11:187-193.

Young, C. C. and K. T. Cheng. 1997. Genetic diversity of fast- and slow-growing soybean rhizobium by random amplified polymorphic DNA analysis. Biology and Fertility of Soils. 26:250-253.

Young, C. C., J. Y. Chang and C. C. Chao. 1988a. Physiological and symbiotic characteristics of Rhizobium fredii isolated from subtropical-tropical soils. Biology and Fertility of Soils (Germany) 5:350-354.

Young, C. C., M. H. Wu and T. C. Juang. 1982. The selection and use of Rhizobium in Taiwan. Food & Fertilizer Technology Center, Technical Bulletin No. 66:1-9.

Young, C. C., S. L. Chen and C. C. Chao. 1997. Flooding on the vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and growth of corn in subtropical-tropical soils. Biology and Fertility of Soils. (submitted) (SCI)

Young, C. C., T. C. Juanag, and H. Y. Guo. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhiza inoculation on soybean yield and mineral phosphorus utilization in subtropical-tropical Soils. Plant and Soil 95(2):245-254.

Young, C. C., T. C. Juang, and C. C. Chao. 1988b. Effects of Rhizobium and VA mycorrhiza inoculations on nodulation, symbiotic nitrogen fixation, and yield of soybean in subtropical-tropical fields. Biology and Fertility of Soils (Germany) 6:165-169.

微生物技術在農業廢棄物處理上之應用

陳啟祥　林畢修平
財團法人生物技術開發中心

摘要

以農業爲主的開發國家，不但在農產品的種類、產量及品質上不斷的追求改進，對於農地也極力的提昇土壤肥力。有機肥料的開發及推廣，也因爲數量龐大的農業副產物與廢棄物而受到政府及民間的重視。農業副產物與廢棄物種類繁多，諸如稻穀、米糠、玉米穗軸、蔗渣、米糠、豆粕、果皮渣及數量龐大的禽畜糞便等。若能將這些廢棄資材轉化爲有機肥料，施用於農地，能夠有效的提昇土壤地力。傳統的堆肥方式因爲資材纖維質高，有機質分解速率緩慢，轉化爲堆肥費時又費事。如果能狗利用堆肥生態系微生物，快速轉化農業副產物與廢棄物爲高品質有機質肥料及介質，提供給農民使用，適時適地的補充土壤有機質肥料，除可增加及提高農作物之產量及品質外，又可節省處理農業副產物與廢棄物的費用及空間，達到保護環境的目的。因此本研究的目的是在探討堆肥生態系微生物分佈並分離與篩選高效率堆肥用微生物，以加速堆肥化醱酵過程，縮短腐熟時間，同時開發本土性堆肥用微生物製劑。

一、前言

台灣地區農業與農產加工副產物與廢棄物種類很多，例如稻草、稻穀、玉米穗軸、蔗渣、米糠、豆粕、酒渣、果皮渣及數量龐大的禽畜糞便等。由於經營專業化、集中化的結果，使得局部地區會有大量廢棄物聚集，造成嚴重環境污染問題。 傳統上對於這類廢棄物多半用掩埋、焚化或直接使用於農地的方法來處理。但有些廢棄物如含高纖維質之木屑、稻草、稻穀、玉米穗軸和蔗渣等，掩埋後分解速度緩慢。而含高量有機氮廢棄物如禽畜糞便等若直接將這些有機廢棄物施入土壤環境中，反而有害農作物生長。主要原因是因爲台灣地處亞熱帶，氣候高溫多溼，土壤中微生物活性高，這類廢棄物有機質轉換率(turnover rate)快，微生物快速繁殖，不但因爲釋放大量氨態氮易造成農作物肥傷，而且可能進一步進行脫硝反應，消耗土壤中的氮素，引起農作物缺氮。另外有機廢棄物中也有可能含有病原菌，易造成農作物病害並污染環境。而禽畜糞便如未經適當處理而直接排放於河川中，更會造成嚴重的水域污染。因此若能有效的將有機廢棄物經過堆肥化發酵處理，利用堆肥的高溫(50-70 ℃)過程來殺死病原菌及除去剩餘水份，製造成高品質有機質肥料及介質，化腐朽爲有用之物，能大量且價廉的提供給農民使用，以改善土壤的化學性質及物理構造，

增加陽離子交換容量、提升土壤肥力、改善土壤 pH，增加保水能力、加強土壤的緩衝能力及微生物活性，增加及提高農作物之產量及品質等(王，1989；雷，1987；嚴，1989)。因此一方面可以達到保護環境目的，另外一方面也可以節省處理廢棄物的經費及空間。

製糖工業所產生之純蔗渣，由於含有大量纖維素及木質素，不易分解，按傳統的堆肥方式處理，須一年半以上方能腐熟。即使採用強制送風醱酵，仍需要8-12個月始能腐熟。若再添加豬糞、濾泥等與蔗渣混合醱酵，腐熟時間仍需要 4-5個月(黃等，1994)。若能開發微生物製劑以加速蔗渣堆肥化，將微生物添加於蔗渣，加速醱酵縮短腐熟時間，有效的轉化廢棄物爲有機堆肥及介質。 有機堆肥若能大量且價廉的提供農民使用，適時適地的補充有機堆肥於本省貧脊之耕種土壤(2/3土壤屬於酸性或強酸性，65%農地土壤之有機質含量低於2%)，可改善土壤的構造，增加其保水能力，提高空氣流通，防止營養份溶於水中流失，增加土壤的緩衝能力，改善土壤pH，加強土壤微生物活性，才能恢復地力而增加及提高農作物之產量及品質。

因此本研究是從台灣地區各地土壤與堆肥樣品中，分離與篩選出堆肥生態系微生物，並添加在有機廢棄物中，以探討對堆肥醱酵及腐熟時間影響，並進一步開發本土性堆肥用微生物製劑。

二、材料與方法

(一)材料與微生物

1.堆肥資材來源

蔗渣取自台糖公司虎尾糖廠。豬糞則分別取自台糖公司虎尾糖廠養豬場與新竹縣崎頂中興牧場。

2.微生物來源

堆肥生態系微生物菌株主要分離自台糖公司虎尾糖廠堆肥場堆肥與台灣地區各地採集之土壤樣品。

3 堆肥生態系微生物分離與篩選

堆肥生態系微生物分離與篩選所使用的培養基主要包括胰蛋白黃豆蛋白培養基(Tryptic Soy Agar, TSA)、馬鈴薯葡萄糖培養基(Potato Dextrose Agar, PDA)、 1/2 營養培養基(Nutrient agar, NA)、纖維素培養基(Cellulose agar, CEA)與幾丁質培養基(Chitin agar, CA)等。 TSA 培養基用來篩選細菌， PDA 培養基用來篩選真菌與酵母菌,至於 1/2 NA 、CEA 與 CA 等則用來篩選放線菌。

取由台灣地區各地採集得到的土壤及不同腐熟度堆肥樣品 1.0 公克，加入於 9.0 mL 的 0.01 M 磷酸緩衝液(pH 7.0)中，充分振盪 30 分鐘，經過一系列性稀釋後再直接塗抹在不同的培養基上。培養基的種類包括 TSA 、PDA 、 1/2NA 、CEA 及 CA 等，然後分別培養在 30℃及 50℃培養箱內。 同時另一組的試驗是將 1.0 克的土壤或堆肥樣品以 80℃高溫水浴處理 2 小時後，再

分別培養在 30℃及 50℃培養箱內。土壤與堆肥樣品經 80℃高溫水浴處理 2 小時後，可以提高放線菌出現機率。爲篩選放線茵，在培養基內另外添加不同種類的抗生素(Chloramphenicol、Novobiocin 及 Streptomycin 等)。分別分離及純化細菌、真菌、放線菌等，並進一步篩選出具有高活性胞外酵素的菌落，建立中溫及耐高溫性細菌、真菌、放線菌菌種庫。放線菌在 50℃的溫度條件下，培養在 TSA 培養基上。

(二)檢測分析方法

1.水份測定: 參照 CNS 肥料檢驗法，水分之測定-加熱法。

(1)坩鍋重(A)

(2)取試樣 2-4 克，連同坩鍋稱重(B) 。

(3)送入 100℃烘箱，烘乾 4-4.5 小時。

(4)將烘乾的試樣，連同坩鍋稱重(C)。

(5)含水率(%)= (B-C/B-A) x 100

2.pH 測定

(1)取試樣約 1.0 克，加入 5 倍重量比的水(5 mL)。

(2)混合均勻後，直接將 pH 計的電極接觸測定。

3. 總有機碳(Total Organic Carbon, TOC)測定：參照 Dry Combustion Technique。

(1)稱取試樣 4-6 克置入坩鍋內，送入 60℃高溫爐 4-4.5 小時，扣除坩鍋重量，剩餘即爲灰份重量。

(2)有機碳(%)=有機質(%)/2.0 =[(乾重-灰份)/乾重]/2.0X100

4.總氮(Total Nitrogen, TN)測定：參照Permanganate-Reduced Iron Modification of Kjeldahl Method

(1)取試樣乾重 0.04-0.1 克，置於凱氏管。

(2)加入 1.0 mL 高錳酸鉀($KMnO_4$)溶液，均勻混合後，靜置約 0.5 分鐘。

(3)加入 2.0 mL 稀硫酸溶液，均勻混合，靜置 5 分鐘。

(4)加入 1 滴 n-Octanol。

(5)加入 0.5 克 還原態 Fe ，靜置至無強烈泡沫產生。

(6)將凱氏管封口，於 100℃沸水中消化 45 分鐘。

(7)冷卻後，加 1 粒催化劑及 10 mL 濃硫酸至總氮分解設備中反應 2.5 小時 (溫度刻度指示在 9.2 與 10 之間)。

(8)反應冷卻後，以總氮蒸餾設備，蒸餾之。

(9)收集瓶內的液體以 0.1N 鹽酸滴定，記錄滴定量。

(10)總氮(%)=(樣品滴定量-空白滴定量)(0.1)(14.01)/樣品乾重 X10

5.碳/氮比(C/N ratio)

碳/氮比=總有機碳(%)/總氮(%)

(三)堆肥添加用微生物分離與堆肥製造過程

堆肥添加用微生物分離與堆肥製造過程，參見圖一。

三、結果與討論

(一)有機堆肥用資材化學分析

有機堆肥用資材包括蔗渣與豬糞材料之組成份經化學分析後，其結果如表一所示。甘蔗渣之有機碳含量達46.2 %，而總氮量祇有0.33 %，因此碳氮比偏高，爲140.0 %。另外豬糞之有機碳含量爲49.0 %，總氮含量爲2.1 %，因此碳氮比爲23.3 %。

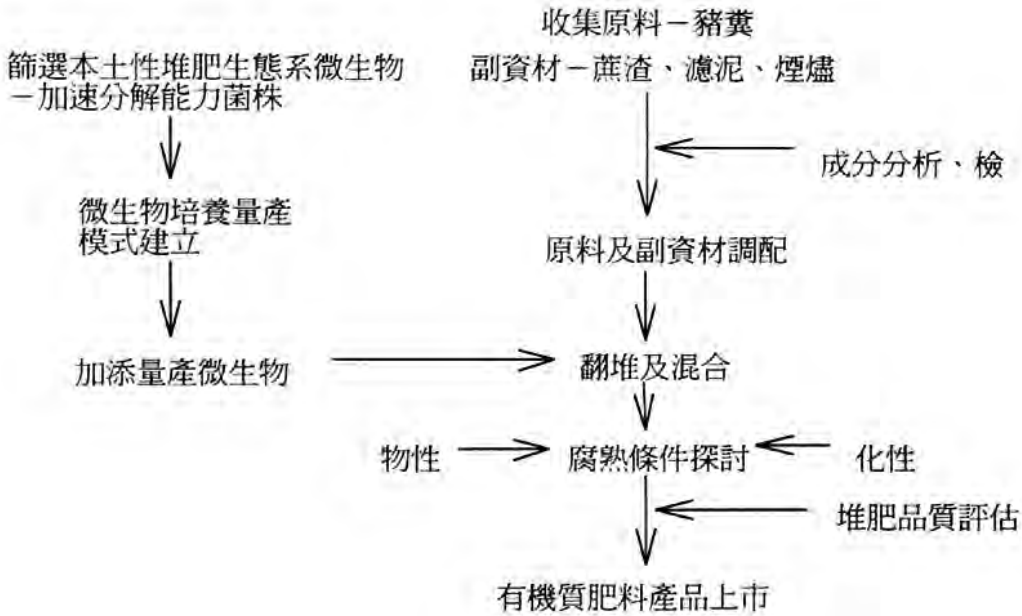
表一、有機堆肥資材組成與處理條件

試驗組	堆肥資料	滅菌	添加微生物
1	934克 (蔗渣：豬糞＝1：10)	-	0
2	360克 (蔗渣：豬糞＝1：5)	+	4克
3	923克 (蔗渣：豬糞＝1：10.1)	-	10克

(二)分離與篩選本土性堆肥生態系微生物-具加速分解能力菌株

由台糖公司虎尾糖廠有機堆肥廠採得不同腐熟度堆肥及台灣地區各地採集得到的土壤樣品(1.0 g)，經過高溫處理後，再使用系列稀釋分別塗抹在不同種類的培養基包括TSA、PDA+antibiotics、1/2 NA +Novobiocin、Cellulose、Chitin等上，再分別培養在30℃及60℃培養箱內，進行微生物菌株分離與篩選。或是將土壤與堆肥樣品經80℃高溫水浴處理2小時後，再分別培養在30℃及60℃培養箱內，並分別分離與純化細菌、真菌、放線菌，並篩選出具有高活性胞外酵素的菌落，建立中溫及耐高溫細菌、真菌、放線茵菌種庫。

從有機堆肥及台灣地區各地採集得到的土壤樣品中，總計分離與篩選出12 株微生物菌株，以做爲堆肥用微生物製劑生產菌株，其中分別爲6株高溫菌與6株中溫菌。經探討堆肥添加用微生物製劑之量產模式後，建立本土性微生物製劑試量產製程(參見圖一)。



圖一、有機堆肥添加用微生物分離與有機堆肥製造過程

(三)小型堆肥腐熟條件探討

1.堆肥資材滅菌及堆肥添加微生物的效果

依堆肥試驗條件(參見表二)而定，將蔗渣切碎與豬糞混配並添加不同量微生物，調整碳氮比、水份含量、pH及溫度等，適時調控各試驗組堆肥資材物理與化學特性後，採樣進行化學分析及微生物菌種分離。

表二、有機堆肥用蔗渣與豬糞化學分析

	水份[a] water(%)	有機碳[b] OC(%)	總氮量[c] TN(%)	碳氮比 C/N
甘蔗渣	13	46.2	0.33	140
豬糞	51	46	2.6	17.7

2.堆肥微生物一次或分段添加的效果

有機堆肥資材分別經過滅菌及添加微生物處理，以試驗對堆肥腐熟之影響。對於添加微生物於有機堆肥過程中之添加效果試驗，係以一次或分段添加來評估其效果。 其試驗條件分別爲：試驗組1爲控制組，除原料蔗渣及豬糞外不添加任何微生物。試驗組2爲在實驗開始時(零時)，添加日本堆肥用微生物。試驗組3爲實驗開始時(零時)，添加DCB12株具有高活性胞外酵素之微生物菌株。試驗組4則是在第四天添加高溫菌，第18天再添加中溫菌(參見表三)。

表三、添加微生物與堆肥資材組成對堆肥化過程影響

試驗組	堆肥資材 (蔗渣：豬糞：水：微生物)	添加微生物種類
1	431 :867 :700 :0	—
2	431 :867 :700 :40	添加商品堆肥微生物
3	431 :867 :700 :200	DCB12 株菌同時加入
4	431 :867 :700 :200	高溫及低溫菌株分別加入

試驗結果顯示加入微生物與不添加，或是經過滅菌後的堆肥樣品腐熟度不同程度的影響。一次加入或分段添加微生物的測試效果顯示，分段添加 DCB 微生物之效果，由中溫菌培養結果分析，並無明顯成效。但在醱酵後期堆肥腐熟過程中，微生物菌數明顯提昇，尤其以 DCB 微生物分段添加之總生菌數最高，真菌數的增加也是最明顯。另外由高溫菌培養來看，放線菌在高溫醱酵期極端活耀，而 DCB 微生物分段加入時，在堆肥中細菌、真菌及放線菌的分佈明顯增加。

在三組堆肥試驗中，有機基質中所含的碳水化合物被微生物利用及產生二氧化碳而逸散於空氣中，造成全碳含量皆呈下降情形，同時全氮之濃度會因此濃縮效應而呈現增加趨勢。C/N比值也隨時間經過而不斷下降，堆肥的pH則下降後，維持一穩定狀態。微生物利用有機基質產生有機酸，而有機氮經分解成爲銨離子(NH_4^+)造成堆肥化後期pH維持一穩定狀態。

對於有機堆肥腐熟度之測試是使用堆肥濾液來測定對油菜子發芽率之影響。堆肥資材在堆積23天後，三組試樣之發芽率分別爲105%、125%及118%，皆超過對照組發芽率。另外各組試樣之碳氮比(C/N ratio)皆小於20或等於20，因此可判定各組堆肥應已腐熟。

有機堆肥資材經34天醱酵後，顯示凡添加堆肥微生物者都會加速堆肥腐熟，無論是添加日本微生物資材商品或是DCB 12株具有高活性胞外酵素微生物菌株。DCB微生物在零時添加或是分段式的加入，都能影響堆肥後期腐熟度並助長優良菌株分佈。堆肥材料經過化學分析作適量調配後，在堆肥過程中將物理條件作適度控制，堆肥腐熟時間可以縮短。以蔗渣及豬糞爲堆肥資材原本需要經過數個月才能完全腐熟，目前則可以縮短在34天內達到腐熟。

(四)有機堆肥生態系微生物分析

在有機堆肥製作過程中，爲分析在堆肥中微生物的生態，將每週採的堆肥樣品分別塗抹在培養基上，培養在30℃或 50℃培養箱，連續觀察在堆肥中微生物的種類、數量、菌相變化及其分佈。分別探討堆肥資材是否需要滅菌及添加堆肥微生物的效果，微生物在實驗堆肥中的分佈、中溫菌的分佈，總生菌數的變化是否會隨著

醱酵溫度影響。 結果發現總生菌數的增加會隨著醱酵溫度逐漸上升，但也隨著醱酵溫度下降而減少，但以滅菌過之堆肥質材及試驗零時添加微生物的總生菌數最高。試驗組3(即零時開始時添加微生物)，其總菌數較控制組(未滅菌)高。真菌數則隨著堆肥醱酵過程溫度上昇，而有下降趨勢，但堆肥溫度下降時，真菌數有回昇的現象。但在滅菌過之堆肥資材，其真菌數較其他堆肥資材高。放線菌數在4種試樣中都會隨著醱酵時間逐漸增加。放線菌數受溫度影響不大，隨著醱酵時間逐漸增加，但仍以在滅菌過之堆肥質材中較其他資材高。此試驗顯示由蔗渣及豬糞組成的堆肥資材中，已有足夠促使堆肥資材醱酵的微生物菌種，滅菌過之堆肥質材會因其他菌種已被滅除，故堆肥微生物會生長得更好。至於在中溫菌試驗中，則以滅菌過之堆肥質材其生長最好。

另外高溫菌在堆肥醱酵中的分佈，添加微生物菌種會提高總菌數及放線菌數。 總菌數在高溫醱酵時菌數最多，這種現象完全符合堆肥高溫醱酵原理(微生物在有機廢棄物內繁殖時，體內的ATP氧化成ADP、Pi及能量，而供微生物進行代謝作用，但釋出能量會促使周圍環境缺氧而溫度上升，但溫度上升的另一個好處是有滅菌作用，堆肥的高溫可減少處理材料中原有病原菌)。在堆肥醱酵初期，真菌數很少幾乎看不見，但在高溫醱酵期中，總菌數、真菌及放線菌都有很明顯增加，顯然除細菌外，真菌及放線菌在高溫醱酵期中，也扮演極重要的分解角色，同時在醱酵後期堆肥腐熟過程中，無論是高溫或中溫菌包括細菌、真菌及放線菌都極端活耀。

觀察微生物在堆肥中的種類及數量，可瞭解微生物的變化及分佈，對廢棄物中有機質的分解有更好的掌控 。添加微生物製劑是否對堆肥醱酵品質及腐熟時間有影響，許多文獻報告顯示在理論上添加微生物製劑可以降低及減少堆肥醱酵期中遲滯期(lag phase)的時間(Gaur el al., 1982; Yadav et al., 1982; Matthur et al.,1986)，但是也有很多不盡相同結果的報告(Finstein and Morris, 1975; Golueke, 1977; de Bertoldi et al., 1983; Faurc and Deschamps, 1991; Solbraa, 1984)。整理歸納過去的研究結論，可以發現在堆肥化過程添加微生物製劑無明顯功效主要的原因是因爲外加的微生物分解效果並不如堆肥資材內已存有的微生物。本研究結果也非常符合前人的研究結果，添加微生物製劑是否對堆肥醱酵品質及腐熟時間有影響，完全控制在堆肥資材種類的選擇及調配，以及施用的堆肥微生物製劑中微生物的類別。觀察微生物在堆肥中種類及數量，可以瞭解微生物的變化及分佈，對未來有機廢棄物堆肥化過程能夠有更好的掌控。 因此對於本土性微生物菌種庫的建立是必需的，因爲對台灣地區數量龐大的農業有機固體廢棄物，可以針對堆肥資材從微生物菌種庫中調配適當的微生物種類及數量，來達到促進堆肥化處理之最佳效益。

四、誌謝

本研究承經濟部科技專案「環境生物技術與產品開發計畫」經費支持，特此表示由衷謝意。另外對於台糖公司虎尾糖廠能夠提供堆肥、豬糞與蔗渣等資材以方便研究之進行，亦一併表示謝意。

參考文獻

1.王西華，農業廢棄物在有機農業之利用，有機農業研討會專集，台中區農業改良場特刊 16 號 ，p217-227 (1989)。
2.黃山內，有機農業之發展及其重要性 ，有機農業研討會專集，台中區農業改良場特刊 16 號，p21-30 (1989)。
3.嚴式清，畜牧廢棄物在有機農業之利用，有機農業研討會專集，台中區農業改良場特刊 16 號，p245-249(1989)。
4.謝須景 ，世界各國之永續農業研究與堆廣，永續農業論文輯，台中區農業改良場特刊 32 號，p · 19-45(1993)。
5.雷通明 ，從土壤學觀點談農業現代化，中華水土保持學報，18(2):1-12 (1987)
6.de Bertoldi, M., Vallini,G. and Pera, A. 1983. The bilogy of composting: A review. Waste Manage. Res., 1, 157-176.
7.Faure,D. and Deschamps A.M. 1991. The effect of bacterial inoculation on the initiation of composting of papre pulps. Bioresorce Technology, 37, 235-238.
8.Finstein, M.S. and Morris, M.L. 1975. Microbiology of municipal slcomposting. Applied Microbiology, 19, 113-151.
9.Golueke, C.G. 1977. Biological reclamation of solid wastes, p.17-21. Rodale Press,Inc., Emmaus,PA
10.Gaur, A. C., Sadasivam, K.V., Mathur, R.S., and Magu, S.P. 1982. Role of mesophilic fungi in composting. Agric. Wastes, 4, 453-460.
11.Kawakami, W., S. Hashimoto, H. Watanabe, K. Nishmura, H. Watanabe, H. Itoh, and M. Takehisa. 1981. Composting of gamma-radiation disinfected sewage. Radiat. Phys. Chem. 18:771-777.
12.Mathur, R.S., Magu, S.P., Sadaasivam, K.V., and Gaur, A. C. 1986. Accelerated compost and improved yield. BioCycle, 27, 42-44.
13.Solbraa, K. 1984. An analysis of compost starters used on spruce bark. BioCycle, 25, 46-48.
14.Yadav, K.S., Mishra, M.M., and Kapoor, K.K. 1982. The effect of fungal inoculation on composting. Agric. Wastes, 4, 329-333.

生物技術在食品產業上之發展與應用

許文輝
國立中興大學分子生物學研究所

食品產業是以農、林、漁、畜產品爲原料，經初級及次級加工，以供人類食用爲目的之工業。是重要之民生工業，此種行業除繁榮經濟提供人類吃之需要外，隨著社會之進步，也必須兼顧生活品質之提昇及生態環境之保育。

幾千年來，人類對於他們日常食用之動植物，就曉得利用選擇性繁殖(selective propagation) 之方式，來逐步提高食品之產量及品質，但其成果是漸進的，相當緩慢。近年來，由於重組DNA、細胞融合、組織培養及酵素工技等新生物技術之創新突破，生物技術應用於食品產業上，將更有助於：(1)降低加工原料之生產成本；(2)改善原料之加工特性；(3)改變製程，降低生產成本；(4)維持食品品質之均一性；(5)提昇食品之營養價值及機能性；(6)解決農產品過剩所引起的經濟問題。

新生物技術是否能成功的應用在食品產業，取決於消費者對產品的接受性，消費者對基因工程食品之接受性，主要取決於：(1)產品之安全性；(2)對消費者之誘因(例如價格、品質及機能性)；(3)社會、環境與宗教之考量。生物技術產品在醫藥產業上有非常高的接受性，在食品方面的接受性則較差。如何提昇產品誘因，降低消費者之疑慮。就食品生物產業上，仍然是非常重大的挑戰。

綜合討論

問：今天的研討會請了許多學者專家，做了很精闢的演講，但是個人覺得這些內容對農民來講，似乎太深了，不知道以後是不是可以把內容做一下區隔，讓農民也能夠很容易聽得懂？

黃山內場長答：因爲上一次已經針對產業界所遭遇到實際的問題舉辦過 研討會，所以理監事會議才決定這一次要辦一個較深入 的題目，您所提的問題在下次一定會列入考慮。

林俊義所長答：因爲生物技術是一個比較新的技術，所以很多專有名詞 都必須用原文來表達，而且時間比較短，因此可能造成部份會有覺得難以適應，這一點我們下次會注意加以改進。另外，這次的研討會主要也是希望藉由讓大家多接觸，久而久之就能更了解並接受這樣的技術。

戴謙所長答：生物科技是一個新的科技，要把他講得很平民化並不容易，但是在美國可能連高中生都已經很能夠朗朗上口，所以希望大家應該試著去學習，當然以後的研討會我們也會盡量再平民化。

問：建議將來舉辦研討會時，學者們所使用的幻燈片的顏色能更清晰，內容可以有中英文並列，讓聽眾更能一目了然。另外希望協會能設諮詢服務人員，當我們有問題產生的時候，可以建議我們應該找哪一位專家。

林俊義所長答：各位如果對永續農業有任何問題，都可以寫信來農試所給本人，我會代爲請相關的專家位各位解答。

問：我來自玉井，今天很早就到會場，也很認真在聽講，但似乎還是聽不懂。玉井是芒果的故鄉，我們每年花費在病蟲害防治的費用相當高，而且對我們身體的健康也造成很大的影響。今天聽了這個研討會心中很高興，也很感謝各位長官及學者專家，但是有更大的寄望，希望生物技術研究的成果能盡快落實，減輕農民經濟及健康的負擔。

林俊義所長答：您剛才所提的應該是希望用非農藥的方式來防治病

蟲害，我們以前也曾經舉辦過相關的研討會。關於芒果病蟲害防治的問題，您可以找台南改良場，他們有很多專家。或者也可找我們農試所，我們針對炭疽病有一套專門的防治方法，針對果蠅又有另外一套，如果您有興趣可以找我們的安寶貞博士，他是這方面的專家。今天的研討會主要是針對生物技術，因爲這是一個新科技，如果我們不加以推廣，大家永遠不會了解這是什麼？今天聽一次、明天聽一次，多聽幾次以後，大家自然就會了解它在做什麼？就像當年永續農業剛推出時，大家一樣也是不太了解，但久而久之，永續農業已經在大家心中生根了。

李國欽所長答：關於芒果的綜合防治，6 月 4 日有一個研討會，歡迎您來聽。對於今天的研討會，從第一章開始依主題分成概論、品種、病蟲害、肥料及廢棄物，個人覺得這種安排非常好。因爲世界人口逐漸增加，根據報導到了 2030 年，世界人口就會是現在的兩倍，但是耕地沒有增加，所以必須提高單位面積產量。要提高單位面積產量，基本上要做到植物保護、要有優良品種、土壤管理也要做好，今天的研討會已經都包含進來了。不過基本上除了品種改良的部分，有一些具體成果可以讓農民知道之外，其他部分都還未到可以推廣的階段，所以要拜託在場的諸位農友要代爲提醒其他農友，對於政府尚未正式推廣的成品，最好不要用，因爲微生物不是絕對安全，最近就有一些市面上農民在使用的產品產生藥害，送來我們所裡化驗。像台肥的林先生也提到，蘇力菌也會產生外毒素，某些蘇力菌吸入肺部也會產生傷害，所以千萬不要亂用。另外生物技術的產品的研發經費，光靠台灣的市場是賺不回來的，必須要靠國外的市場，但國外的市場有他的遊戲規則，也就是要通過當地的法規，因此奉勸各位業界朋友，把要符合這些法規的投資也必須估算進來，慎重地來選擇可投資的項目。最後要再強調一點，當我們研究人員和農民溝通時，我們必須對我們的產品背書，否則微生物的種類太多，假如使用不慎很容易造成

副作用。

問：基因工程所生產出來的植物，對人體長期食用後安全性的問題，是不是有一套評估的方法，讓我們的專家或農民可以說服民眾接受這樣的產品？

李國欽所長答：現在行政院衛生署有一個草案，專門管基因轉植的食物，是針對農畜產品要變成人吃的食物的一套管理辦法。假使本身是一個基因轉殖出來的農畜產品，一定是直接列管，另外經過基因工程改變的微生物，用到農作物或動物身上，而產出的農畜產品是拿來食用的，也必須遵守這套管理辦法。這項諸位如果有興趣，可以詳細研究一下，有什麼意見盡快反映到衛生署。這項法規的施行一定會對農業造成很多不方便，但是方便與安全是天平的兩邊，如何讓他達到平衡非常重要，需要大家一起努力。

戴謙所長答：剛才李所長講的是法規面的問題，實質上除了法規面的問題之外，社會倫理的認知也非常重要。基本上把人的基因轉到動物身上，有些人是絕對不能接受的。就像把人的基因轉殖到動物身上，再從奶中去生產治病的藥物，或把生長基因植入牛的身體，使產乳量增加等等。這些在美國已經完成且可以上市，但是歐洲社會就很保守、反對這樣的事情。因此認同生物科技的人要怎樣讓社會認同，我個人認爲一定要把溝通、教育宣導的事情做好，因爲科技發展一定要有社會的認同才會有未來。

問：有機肥的腐熟度如何判定？重金屬含量的標準是多少？

陳啓祥博士答：腐熟度的判定方法有很多，不同國家各有其標準，一般最傳統但比較費時的方法就是發芽率，或是對植物生長的影響兩種方法。至於重金屬含量的問題，我國也有一套標準，如果有需要我可以提供。

問：生物技術在農業上的應用，各位專家所講的都是理論或只是實驗室內的情形，並沒有告訴農家一個實體的東西，對農家似乎沒有用？

黃山內場長答：您講的是實用上的問題，今天主要是要告訴大家除

了過去所發展出來的技術，還要更往前踏出一步，所以把生物技術介紹給大家，但如果要到實用的階段還有很長的路要走，需要大家繼續努力。