*Streptomyces saraceticus*與LTM在防治作物線蟲病害之永續性作為

蔡東纂
國立中興大學植物病理學系 教授
E-mail: tttsay@mail.nchu.edu.tw

摘 要

殺線蟲劑的使用是長久以來防治作物線蟲病害最快速及普遍的方法。然，眾所皆知，殺線蟲劑絕大多數為劇毒化學藥劑，長期使用，易導致生態環境的破壞、水質污染及農產品毒性殘留等後遺症。自1920年始有學者進行作物線蟲病害生物防治之研發工作，其間更因殺線蟲劑之陸續上市頗具效果，生物防治之研究因而式微。至1993年止，共有200種線蟲拮抗生物被報導，其中真菌佔76%，但未見其田間實用性。歸究其因，乃分離方法、生物防治邏輯理念不確及施用方法無法搭配作法耕作實務所致。有鑑於此，針對上述缺失，改進拮抗天敵之分離方法、確定其拮抗機制、活化該拮抗天敵之功能、研發配方、溫室試驗、確定其防治之線蟲種類與於田間進行果樹、花卉、蔬菜及特用作物，包括喬木、灌木、依年生、宿根性及單季作物之適用性。耕作型態則以單相、輪作或連作引起之耕作障害為研究對象。本研究歷時20年，期間付出之心血及心酸盡付文章中。

關鍵詞：植物寄生性線蟲、生物防治、LTM、*Streptomyces saraceticus*

前 言

植物病原線蟲對寄主作物的寄生方式，雖有地上部、地下部及內寄生、半內寄生及外寄生性等分別；除了根部寄生外，尚可危害芽苞、葉片、樹幹、莖部、塊莖、球莖、鱗莖、塊根、種子等植物器官或繁殖體；導致根系遭破壞、吸收水分、養分及微量元素能力降低，而呈現微量元素缺乏、生育不良情形，甚至死亡(3)。更可直接侵害根莖薯類作物之地下部，而致品質不佳，喪失商品價值(4)。一項由國際線蟲研究及防治計畫(CNRCP)自全世界371個調查統計顯示，因線蟲病害所造成的糧食作物損失為

10.7%，經濟作物損失為14.0%；總平均為12.3%(28)。而對作物危害性最大的線蟲屬種，前十名排行依序為：(1)根瘤線蟲(*Meloidogyne*)；(2)根腐線蟲(*Pratylenchus*)；(3)包囊線蟲(*Heterodera*)；(4)莖線蟲(*Ditylenchus*)；(5)黃金線蟲(*Globodera*)；(6)柑桔線蟲(*Tylenchulus*)；(7)劍線蟲(*Xiphinema*)；(8)穿孔線(*Radopholus*)；(9)腎形線蟲(*Rotylenchulus*)；(10)螺旋線蟲(*Helicotylenchus*)(21)。在歐洲，花卉種苗業興盛的國家，則凸顯出危害地上部心芭葉片之葉芽線蟲(*Aphelenchoides*)及傳播毒素病三屬線蟲(*Xiphinema*、*Trichodorus*及*Longidorus*)的重要性(9,15)。在農作物耕地面積狹小之島國，更因為土地利用頻繁而致連作障害(Soi1 sickness due to continuous cropping)，根據日本農林水產省農業研究中心，西尾道 德先生在521個連作障害個案研究統計出其中15.9%，由植物病原線蟲引起(7)。本省農業環境酷似日本，專業區設立，園藝設施模式的流行、水稻田轉作及新興作物引進，勢必導致作物線蟲病猖獗，而致線蟲性連作障害。這種現象在本省設施園藝花卉、蔬菜、瓜果，專業區水果(如草莓、柑桔、番石榴、木瓜、葡萄等)甚為普遍，不容忽視(6)。

作物線蟲病之防治與管理

就降低或除滅作物線蟲病害策略而言，吾人將之分為防治(Crontro1)及管理(Management)。防治，意以特定處理策略，在短時間內有效降低線蟲族群，尤其是以「殺死」為主要手段(12)。管理則配合多項策略，在較長的時間內逐步建立不讓線蟲密度昇高的條件因子，主要以避免線蟲繁殖為要。

在許多農作栽培業者心中，「線蟲防治」意味著施用劇毒殺線蟲劑，因而有講究施用方法、時機及安全設備之必要，以保護自身安全及避免農產品農藥殘留。除了使用燻蒸劑、觸殺性及系統性殺線蟲劑外，尚有非農藥線蟲病害管理方法，如植前種苗之物理方法及嚴格檢疫(quarantine)、淹水(flooding)、加熱(heat)、覆土(subsoiling)、使用抗病砧木(rootstock)、農地休閒(fallowing)、實施栽作系統(cropping system)、田間衛生(fie1d sanitory)、阻絕傳播途徑(iso1ation)、生物防治(bioiogica1 contro1)及有機質添加(organic amendments application)(10,14,34,35)等。上述方法其中頗有共通處或異曲同工之妙，如生物防治和有機質添加物之使用即是。此外，綠肥的栽植、土壤混拌及淹水，配合輪作，更是傳統性優良的土地保護性耕作法(conservative tillage)，對短期作物專業區線蟲病管理助益匪淺。

以有機質添加物防治及管理作物線蟲病害

早於1937年，Linford氏即發現土壤有機添加物(soil organic amendments)，在分解期間有顯著降低土壤中根瘤線蟲密度之效果(20)。然有機添加物種類甚多，未知孰種具有較佳機制及其施用法，於是開啟了線蟲學家展開50年以上研究的序幕。有史以來，永續農業一直是農業生產之鑰，亦唯有能量的循環，有情世界(動植物及微生物界)的維持平衡才使得諸多生命綿衍孳息無所障礙。土地包容性甚大，千古以降，遺跡所在亦向土中求證。土地所產的，更自當回歸自然。農作物的根含藏於大地中，故能多所孕育，故謂「根」即生命之「本」，此即中國人根本哲學之由來，亦是吾國農業社會所流傳顛撲不破之理。有以故，有機添加物之應用，即由「落葉歸根」始也。除了農作物的殘體及加工後廢料，如稻桿、玉米桿、糠、麩、鋸木屑、甘蔗渣、豆粕、種子粕等常作為土壤添加物外，動物的排泄物及殘骸屍骨，如魚精、骨粉、蝦蟹殼及雞、牛、羊、豬之排泄物等亦是。此外，糖蜜、黃豆粉，海草粉、菇床廢料、廢棉等，更是市面上可見的有機質材商品。

土壤有機添加物之施用，有助於土壤中氮、磷、鉀三要素含量之提昇、土壤中金屬離子交換、鐵、銅、鎂及鋅鉬合態形成、土壤顆粒的結　合、土壤透氣性及保水、排水力改良。由於栽於土壤環境較理想，較健康植株相對的比弱勢植株對線蟲的危害更有耐病性(tolerance)(33)。

Sayre認為(29)，施用有機添加物後之所以能防治植物寄生性線蟲，其機制不外下列五點：(1)有機添加物之分解物對線蟲有直接毒性；(2)可增加線蟲天敵的種類和數量；(3)改變植物和線蟲的關係；(4)有機添加物在分解過程中產生有燻殺作用的氣體；(5)有機添加物在分解時產生熱度，傷害線蟲。茲分述如下：

一、釋放對線蟲有毒物質

有機質添加物中有些具有線蟲毒化物，並於土中釋放出殺線蟲物質(nematicidal principle)，可直接降低線蟲密度。Neem種子所含limonoids已被定為天然殺線蟲劑azadirachtin。經測試limonoids可致根瘤線蟲(*Meloidogyne incognita*)二齡幼蟲死亡，並抑制其卵之孵化(11)。且已明瞭其殺線蟲物質存在於脫脂部份。眾所周知，孔雀草(marigold)含有毒質Polythenyls，可殺死線蟲(36)。Hannoa undulate及H.klaineana兩種非洲香料植物中所含三種polycyclic lactones(chaparrione，klaineanone及glaucarubolone)亦有毒殺線蟲作用(24)。本省農友常用作為有機添加物的篦麻粕

(castor pomace)中亦含有篦麻毒素ricin，可降低南方根瘤線蟲行動能力(25)。

此外，在有機添加物於土中的分解物對線蟲有害，如Ammonia，nitrites，hydrogen sulphide，多種揮發物質及有機酸，有能直接殺死 線蟲或間接的妨礙線蟲卵孵化及降低線蟲二齡幼蟲之移動性(23)。而其中ammonia濃度如於每公斤土中超過30毫克，將有效防治線蟲(26)。因此，如於土中加入尿素30mgN/kg，經urease轉化為ammonia，也可變成經濟有效的殺線蟲劑。筆者用此方法，以塑膠布覆蓋，對連作田中之根瘤線蟲和外寄生性線蟲之除滅甚有效果；如再加以苦土石灰及長效性有機質拌入土中，則對植物發育收效更佳(3)。

除了含氮量高的有機添加物有降低線蟲密效果外，含碳量高者亦有此功效，高纖維性質的鋸木屑及禾本科草桿等都是好材料。值得注意的是高量使用低C/N比值的幾丁質、尿素、油餅及動物排泄物，對植物生長能造成反效果，試驗結果，最好的C/N比範圍在14至20(27)；此時既有殺線蟲效果又不具植物毒性，可作為混合有機添加物之參考。筆者配方中加入糖蜜即有此考量。

二、促進線蟲天敵生物之繁殖

有許多生物學者熱衷於生物防治植物病蟲害，對特定病蟲害天敵之生態及繁殖不餘遺力，但是在田間應用時常因忽略了提供天敵良好生存環境，效果大打折扣。有機添加物之混合物即在供給天敵微生物，作為生物防治之基礎條件。

線蟲天敵於自然界中廣泛存在，如Virus、Bacteria、Rickettsia、Furbellarians、Nematodes、Enchytraeids、Mites、Collembola、Insects等。在全世界五百多篇蟲生物防治報告中，以真菌為材料者佔76%（圖一、二）、其次為獵食性線蟲7%，細菌和放射線菌佔5%左右，餘者在3%以下。上述生物對線蟲取食或寄生的對象不外卵、幼蟲、雌 雄成蟲及胞囊(17)。其在線蟲生物防治上之應用型態又分為人海戰術(inundation)、引進(introduction)及天然(nature)防治三者。「人海戰術」及「引進」兩種方法皆須大量生物材料，並得時常填加，且須顧及所用生物材料之生存能力，因此以使用在溫室或移植作物時，作為保護性質為目的者居多。「天然」防治所用材料多為本土固有種類，較易建立其族群及發揮能力，若能配合適當添加物之施用，當可有利於多年生及連作性作物線蟲病害之克服。

以放射線菌作線蟲生物防治材料的研究，以絕對寄生菌*Pasteuria penetrans*(Thorne) Sayre & starr.為多。此菌可藉孢子感染根 瘤線蟲之二齡幼蟲皮而後產生發芽管侵入

線蟲體內。它亦可感染成熟雌蟲及雄蟲而致其死亡，達到降低線蟲密度之目的(32)。另一方面，Spiegel L.等(31)人發現應用幾丁質可達到防治包囊線蟲及柑桔線蟲之效果，在施用後的土壤微生物相分析中，發現具有分解幾丁質能力的細菌及放射線菌激增，尤以後者為最；其結果顯示線蟲卵及卵囊被該微生物寄生，而降低線蟲繁殖率。

由於在本省精緻農業導向中，專業區及園藝設施的設立，定點定性的栽培形態，不啻造成了典型的連作障害模式，植物寄生性線蟲族群漸趨向單一種類危害及高密度型式。加以新興作物引進及水稻轉作，益使線蟲病害更為嚴重及複雜。農友對線蟲病害的防治，多是一味使用劇毒性的殺線蟲劑，也易有農產品殘毒之虞(6)。

自本省農田、海邊及蝦蟹類加工廢棄垃圾場採樣後，以Colloidal chitin medium(Lingappa and Lockcwood,1962)自風乾後的樣品中，分離出具有幾丁質分解性的放射線菌菌株215株。其中絕大部份為Streptomyces，少數為Micromonospora屬。經以單一菌落在培養基上形成分解圈(zone)的大小，作為篩選菌株優良與否的最初標準（圖三）。其中培養五天時，菌落邊緣至分解圈外圍距離達1公分以上者有12株。本研究即以12菌株中自柑桔中分離到之*Streptomyces saraceticus*＃31號菌株(2)（圖四）進行系列試驗。

就*S. saraceticus* ＃31對氮素源的利用上，以Urea最佳，Glutamic acid、Asparagine、Glycine、Histidine、Arginine、Ammonium、phosphate、Methinine及Sodium nitrate等依次類推。在碳素源的利用上，則以Lactose最佳，Rhamnose、Maltose、Mannieol、Sucrose、Starch、Xylose、Galactose、Glucose、Cellulose等而下之。此菌株在攝氏36℃生長最佳，低於5℃或高於45℃則幾乎停止生長。在酸鹼度方面，此菌株於pH7.5至9間生良好，但以8.5為最佳(1)。

以0.2%(W/W)chitin之培養基上接種*S. saraceticus* ＃31，另外先於培養基上舖上孔目為0.2μm之Millipore，再將該菌接種其上，5天後取去Millipore，則該菌之代謝分泌物留於培養基中。再以罹根瘤線蟲之蘿菜根(上有卵塊)段，及經1%Lactic acid處理分散的卵粒置於上述處理中，計算10天內卵孵化率，未接種菌者為對照組。結果顯示，接種*S. saraceticus* ＃31者孵化率約為對照組之半，其中以Millipore處理者略遜於直接接菌者，而分散的卵粒孵化率又高於根上之卵塊。許多試驗顯示chitin有助於*S. saraceticus* ＃31族群孳長，且降低線蟲密度。添加humic acid對*S. saraceticus* ＃31生長有利。*S. saraceticus* ＃31數目大者，相對的線蟲密度亦低。

有機添加物加入土中之後，土壤酵素量急速增高，伴隨著是線蟲卵之破壞（圖五）。此類酵素最令人感到興趣的是，幾丁質分解酵素及蛋白質分解酵素，而線蟲體表及卵表層正是能被分解的脂蛋白及幾丁質。因此若於土中配合*S. saraceticus*加入蝦蟹殼粉、卵黃蛋白、膠原質及蛋白 等，在0.2W/W劑量下即能降低根瘤線蟲密度及根瘤指數。

三、改變植物抗性程度

土壤有機添加物中如含有高量酚化物，加入土中則會改變根對線蟲的吸引力(30)。例如，將番茄苗植於加有neem油粕的土壤中，再移植於有根瘤線蟲的土中，則線蟲的侵害率相對的較未處理者降低。此一現象，在筆者的研究中，以海草為材料亦有相同結果。

作物線蟲病害之管理，除了殺蟲之施用外，伴隨使用有機添加物及綠肥，在防治番茄根瘤線蟲病害頗具成效。而以色列的Spiegel 等人更因成功的以蝦蟹殼作為有機添加質材防治番茄根瘤線蟲(*Meloidogyne incognita*)、甘藍包囊線蟲(*Heterodera schachtii*)、小麥包囊線蟲（*Heterodera avenae*)及柑桔線蟲(*Tylenchulus semipenetrans*)，並研究出其機制，乃幾丁質分解性放線菌(*Chitinolytic Actiomycetes*)數目大增，降低線蟲卵之孵化，從而減輕線蟲之危害(31)。爾來，Westerdahl等(37)在幾丁質中加入尿素作為土壤有機添加材料，有效防治胡桃根腐線蟲(*Pratlenchus vulnus*)及馬鈴薯根瘤線蟲(M. chitwoodi)等。

田間應用實例

本研究所研發之線蟲拮抗生物之塑膠帶誘釣法，較傳統之土壤誘釣平板法更能分離到活動力強，實際於眾多土壤微生物族群複雜的環境中執行線蟲天敵角色之微生物，且尚可便於直接觀察及隨時偵測。誘釣包除可誘釣真菌、細菌、放射線菌外，更具有分離獵食性線蟲及 類等較大型生物之特色。溫室盆栽試驗顯示，對治療及預防空心菜南方根瘤線蟲病害之效果，*Pasteuria penetrans*與*Streptomyces saraceticus*均優於*Arthrobotrys* spp.、*Dactylaria* spp.、*Dactylella* spp.等線蟲捕捉性真菌和*Mononchus* sp.獵食性線蟲之能力。由於線蟲絕對寄生性細菌*Pasteuria penetrans*之專一性與其培養仍是實用上尚待克服的障礙；因此，本研究以自新竹柑桔園蟬蛻上所分離，具有幾丁質分解能力之*S.*

saraceticus，作為植物寄生性線蟲生物防治之拮抗微生物。

於壤質砂土、砂質壤土及紅壤等台灣常見耕地土壤中，*S. saraceticus*之族群發展偏好鹼性。自pH值5至8之三種土壤中，*S. saraceticus*皆能降低南方根瘤線蟲對空心菜根部之卵塊形成率及土壤中之二齡幼蟲數目，而增加地上部鮮重；若添加0.2%(w/w)蝦蟹殼粉，其防治效果更佳。於三種供試土壤中，*S. saraceticus*之族群密度以存在於5-25公分深度處最高，但菌量逐月降低，若於土壤中添加0.2% (w/w)蝦蟹殼粉，於60天後在15-25公分深土層，*S. saraceticus*仍可維持每公克土壤中含有103菌落數以上之密度。*S. saraceticus*對內寄生固著性之*Meloidogyne incognita*，半內寄生性之*Tylenchulus semipenetrans*，內寄生潛移性之*Pratylenchus coffeae*與外寄生性之*Paratylenchus curvitatus*等四種不同根部寄生方式之植物病原線蟲皆有抑制其族群發展之作用，從而降低其感染率。本省農民經常作為肥料之14種有機質材中，具明顯促進*S. saraceticus*增殖的有蝦蟹殼粉、黃豆粉、糖蜜、篦麻粕及粗糠等5種。有機添加物發酵後之浸出液，可致南方根瘤線蟲麻痺者有鋸木屑、粗糠及豬糞等；可致該線蟲死亡者有篦麻粕、雞糞及蝦蟹殼粉等。而能降低卵塊中卵及散逸卵粒之孵化率者僅篦麻粕一種。添加海草粉可降低空心菜根部對南方根瘤線蟲二齡幼蟲誘引率達36%，減少柑桔根部分別對柑桔線蟲、南方根腐線蟲之誘引率達30.1及44.0%，並減低茶苗根部對釘線蟲誘引率之35%。於是，本研究以40%蝦蟹殼粉、40%篦麻粕、5%黃豆粉、10%海草粉及5%糖蜜調和成C / N為18.2±0.2之混和物作為基質，加入*S. saraceticus* 後，製成含*S. saraceticus*，密度為6.7×107 cfu/g之生物防治植物病原線蟲之土壤添加物，暫定名為(Lively Tiller-Mixture, LT-M)。

應用在防治葡萄根瘤線蟲、柑桔類根腐線蟲、柑桔線蟲及螺旋性線蟲和西瓜、番石榴及山藥根瘤線蟲病等，茲分述如下：

一、葡萄根瘤線蟲之防治

葡萄線蟲病是全世界葡萄栽培區普遍存在之產業難題。法國葡萄園每五年拔除清園一次，土壤以溴化甲烷燻蒸後，加塑膠布覆蓋處理。地中海及其他歐美國家則以抗線蟲砧木及農藥施用法作線蟲防治措施。唯砧木之使用，常影響葡萄之品質及產量。目前較好的方法還是以 非農藥之有機質添加物行土壤處理，一來可改良土壤物理化學性狀，有助根系生育；二則平衡土壤微生物相，降低線蟲密度之餘，亦不致於影響土壤生物活

性；三則無農藥殘毒之虞。此法在全世界柑桔產區之使用已獲得肯定之結論。

本省葡萄品種面積屆4,627公頃，栽培品種以鮮食之巨峰及釀酒之金香為多，其餘如黑后、義大利等品種亦零星分佈。根據調查本省葡萄園中植物寄生性線蟲有11屬，其中以根瘤線蟲出現之頻率及密度最高。在苗栗、台中、南投及彰化等四大葡萄主要產區調查採樣中，根瘤線蟲出現頻率為100%，只是蟲數多寡有別而已；可見本省葡萄園已普遍受根瘤線蟲之危害及生育威脅。在全世界普及的68個葡萄品系及砧木中，本省栽植最多的巨峰及金香二種皆對根瘤線蟲具高感受性。因受根瘤線蟲危害，植株根系結瘤、腐敗，地上部則易出現缺鎂、缺鉀等症狀；果實有內容物不足、軟粒及落果現象。尤其於品質應為最高之冬果期及雨季，罹根瘤線蟲株根系腐敗，吸收能力大幅降低，果實品質所受影響最大，甚且禍及下期生育。本省主要葡萄根瘤線蟲為*Meloicogyne incognita*及*M. javanica*其卵塊及幼蟲在飽和含水量及20%土壤濕度下三個月後，仍具感染力，可見本線蟲除廣泛存在於本省農地外，對葡萄及其他寄主作物有甚強之感染能力及潛勢。

本省葡萄園地下害蟲及線蟲之防治，農友大都使用3%加保扶粒劑為多，其次為托福松、歐殺松及得滅克等。上述皆為劇毒農藥，使用不當即有殘毒之虞。本省主要葡萄品系之巨峰及金香兩者皆為根瘤線蟲高感性寄主。以LTM，每分地使用50、100及200公斤之不同量，並以5公斤加保扶劑及零用量為對照組。在嚴重罹根瘤線蟲病之金香葡萄園，作連續兩年之根瘤線蟲防治試驗。結果顯示，LTM每分地100及200公斤用量在使用8個月即較對照在降低線蟲密度上有明顯效果，但略遜於3%加保扶粒劑。第15個月之線蟲密度即低於使用3%加保扶粒劑使用區平均高出0.2及2.1Brix，較對照區則高出3.0及5.0 Brix。。結果枝長度及果穗重亦達顯著差異。第二年之試驗結果類似第一年，顯示LTM有機添加物在使用後5個月對提高金香葡萄品質及產量即有正面作用。溫室試驗結果顯示LTM有機添加物之使用在第3個月起，可明顯降低根瘤線蟲卵孵化率43%及雌成蟲產卵數32%。此時，分解幾丁質之放射線菌數目則明顯上昇，和田間檢驗結果相近。第5個月起土壤中根瘤線蟲二齡幼蟲數開始明顯降低，其中36%在培養皿中並無向根尖游動之趨性，可能已失去侵入根部之方向性。由本試驗可知，LTM有機添加物之防治根瘤線蟲機制，有部份為誘發分解幾丁質放射線菌，及干擾二齡幼蟲之方向性（圖六、七、八）。

二、柑桔根腐線蟲及柑桔線蟲之防治

根據全省12年來的調查，在15個縣市，共1,609個採樣品中，以根腐線蟲

(*Pratylenchus coffeae*)之951個，及柑桔線蟲(*Tylenchulus semipenetrans*)之1,198個檢出樣品數為最多，其餘則為外寄生性線蟲。而本省柑桔種類如晚崙西亞橙、葡萄柚、椪柑、桶柑、柳橙、文旦、白柚、檸檬及金柑等皆為上述兩種線蟲之感受性品種。而以柳橙、椪柑及葡萄柚罹柑桔線蟲性衰弱病最嚴重。在篦麻粕、鋸木屑、稻草、粗糠、蔗渣、泥炭土、菇糞、黃豆粉、骨粉、海草粉、糖蜜、腐質酸、雞糞、豬糞、蝦蟹殼粉等有機添加質材中各別使用，對降低線蟲密度均較對照組顯著，植株鮮重亦然。於上述有機添加質材中以雞糞、篦麻粕等對線蟲有直接毒性，而蝦蟹殼粉及蔗渣在誘發線蟲天敵微生物效果最佳，海草粉和雞糞之使用對改變植物和線蟲關係成果獨特。以LTM施於六年生柑桔株，經試驗於砂質土12公斤／株及砂質壤土10公斤／株用量，衰弱樹勢回復情形明顯可見（圖九、十），而土壤中柑桔線蟲及根腐線蟲密度與施用殺線蟲劑phenamiphos及prophos於統計上並無差異。在品質、產量及風味上亦較線蟲劑處理者為佳，成本亦可節省1/4，相對收益百分比，柳橙為正149%、椪柑為正11%，柚類為正39%。

三、西瓜根瘤線蟲之防治

西瓜是本省重要農產品之一，每年種植面積都在兩萬公頃以上，以台南、雲林、花蓮、彰化、嘉義、台東及高雄等縣市為主要產區。西瓜係葫蘆科植物，耐旱性強、耐濕性不佳，不適合粘質排水不良之地區栽培；農友們通常選擇排水良好的旱田、砂丘、河床砂洲等砂質壤土或砂質地種植。近年來更有許多瓜農向臺灣糖業公司承租蔗田休閒地栽植西瓜，蔚為風氣，成為本省西瓜產業特色之一。葫蘆科植物本為根瘤線蟲良好寄主，砂質土壤更適合線蟲之移行孳息，加以蔗田中分佈廣泛的線蟲族群，致本省西瓜線蟲病害發生日益嚴重，尤其以根瘤線蟲之危害最值得重視。罹根瘤線蟲病之西瓜株地上部有明顯的矮 化、葉片變小、黃化及微量元素缺乏等症狀；地下部則有根系結瘤情形，在田間甚易辨認。多年來西瓜苗常嫁接扁蒲以降低蔓割病之發生率，但田間狀況顯示以扁蒲為砧木之西瓜株很容易感染根瘤線蟲，而和蔓割病菌複合感染。這和根瘤線蟲侵入西瓜株根系所造成的機械傷害及生理病變，助長蔓割病菌之侵染不無關係。

溫室及田間防治試驗結果顯示，防治根瘤線蟲以施用殺線蟲劑抗蟲得、LTM及燻蒸溴化甲烷為佳，烏肥次之，其處理後兩個月之根瘤指數分別為0.8、0.9、0.4及1.9，一般有機質添加物及對照組罹線蟲病為最嚴重，皆為4.0。而在果實品質上則以施用LTM為最好，一般有機質添加物、烏肥及殺線蟲劑抗蟲得次之，燻蒸劑溴化甲烷者最差。產量上在各處理間以幾丁質添加物及一般有機質添加物為佳。

四、番石榴根瘤線蟲病之防治

番石榴為世界上重要熱帶水果之一，更是台灣周年可見，頗為討喜之果品。全省種植面積歷年來皆超過五萬公頃，栽培品系有11種之多。多年來，南方及爪哇根瘤線蟲（*M. incognita*、 *M. javanica*）危害番石榴植株，造成黃葉、落葉及生育不良情形頗為普遍。檢視其根系，可見結瘤纍纍，營養根稀少之病徵。由於番石榴幾乎可全年採果，故避免使用系統性殺線蟲劑，方無農藥毒性殘留之虞。試驗結果顯示目前所有經濟品種對上述兩種線蟲皆無抗性，且除土菝外，和多種桃金孃科、無患子科、漆樹科、千屈菜科、豆科及桑樹植物皆無嫁接親和性。看來，生物防治是唯一可行之道。經溫室試驗後，以LTM、化學肥料（N：P：K＝15：15：15）、*S. saraceticus* 菌體、LTM配方之有機質（未添加*S. saraceticus*）及殺線蟲劑滅線蟲（DCIP，無植物體內移行性）於田間測試結果施用兩個月後每百公克土中之線蟲數目，依序為12、100、96、48、11隻，未施用之對照組為120。線蟲卵孵化率則分別為3.5、78.6、70.0、52.0、4.1%，對照組為83.5%。於彰化縣社頭鄉之番石榴園作田間示範，施用LTM之園區，可於兩個月內，由黃化衰弱質變為翠綠，甜度較其他處理組至少高出1.2 Brix。。（圖十一、十二、十三、十四）

五、山藥根瘤及根腐線蟲病之防治

薯 屬（Diosorea）中約有600種山藥，而食用種僅10種，本省栽培種約20種左右。根莖薯類作物大抵易遭受植物線蟲之危害。山藥主要之病原線蟲有螺旋線蟲（*Scutellonema bradys*）、南方根腐線蟲（*Pratylenchus coffeae*）及根瘤線蟲（*Meloidogyna* spp.）三類。S. bradys 廣泛存在於全球以山藥為主食之國家，以內寄生潛移性方式入侵於薯塊及根系中，造成塊根乾腐病狀，貯藏期間亦持續惡化，導致無法食用，損失率可達80-100%。本省爾來風行山藥栽培，於引進種薯時，不可不慎(5)。目前台灣各山藥栽培區普遍發現者為造成薯塊表皮龜裂，內部腐敗之根腐線蟲及表皮疣瘤狀突起，內部靠皮層組織滿佈黑點之根瘤線蟲（圖十五、十六）。因為山藥可作沙拉生食或作為藥膳食材，故不宜施用劇毒之殺線蟲劑，防治之道除土壤消毒、種薯植前處理之外，只能以生物防治作為病害之管理措施。除瘟是試驗外，以LTM之施用防治山藥線蟲病害之田間示範，連續兩年於線蟲病害最嚴重之嘉義中埔及台南左鎮兩地執行。施用LTM於山藥穴植管中，除可降低線蟲病害指數至13%，其產量亦可增加1-3倍（圖十七）。

結　論

儘管有許多傳統式的非農藥管理法用以降低植物寄生性線蟲病害之為害度，但無可否認的，強烈的殺線蟲劑依賴性仍然存在於栽培者心中；僅美國一年即須花費17億2仟萬美金在線蟲防治藥劑上(8)。在環境、生態維護及消費者健康前提下，多數為劇毒農藥之殺線蟲劑經偵查有致癌、農產品殘毒或空氣、土壤及水質源污染之虞時，即告禁止。如1,3-D及aldicarb即被限制使用，而carbofuran粒劑在美國禁用，有空氣污染弊端之Vorlex及Methyl bromide將於公元2000年全面停產禁絕(38)。90年來，引以為憂的有識之士已踏上以生物防治法控制線蟲族群密度之路。雖然有許多線蟲拮抗微生物陸續被發現，在培養皿及盆栽試驗上卓有防治成效，可是能成功被使用於田間者仍居少數。線蟲拮抗微生物在生物防治應用上之成敗關鍵因子甚多，如：使用量、使用方法、土壤質地、拮抗微生物本身之存活及繁殖能力、寄主植物、感染時間、線蟲種類、根圈微生物間之競爭、土壤溫度及線蟲族群之生態等。Kerry(19)以他多年來的線蟲生物防治研究經驗和對此層面之全球性了解，提出四項建議：(1)找尋及開發天然抑病土，(2)施用土壤添加物以誘發本土化土壤微生物，(3)使用篩選出來的微生物菌株，(4)研究微生物酵素及毒質代謝物。抑病土之找尋或開發須作全面性、多案性之調查及長期追蹤，Zuckerman等(32)舉例說明自抑病土中分離之*Nematophthora gynophila*及*Verticillum chlamydosporium*在溫室中成功防治*Heterodera avenae*，但在田間試驗則失敗。如以(2)(3)兩項配合，則較易獲致成效(9)，本省多山，土壤質地差異性甚大，加以長期化學肥料之施用，導致土壤物理、化學及生物性狀不佳；有機添加物之使用，有助於消化農工廢棄物及解決上述土壤問題，同時提供線蟲拮抗微生物較好之生存環境，本研究之立意在此。

以農工業副產物或廢料作為土壤有機添加物質材，輪作、綠肥及動物排泄物之應用，就線蟲防治效果而言，一年期耕作系統比多年期者要好得多，很顯然的，其速效之因子不外ammonia、urea及其他氮化合物所表現的殺線蟲特性(13)(nematicidal property)。此外，添加物或植物殘體上所含之phenol及tanin類物質對線蟲亦有相當程度的毒殺作用(22)。一般而言，多年生灌木、喬木等樹本及蔓藤類作物之根圈微生物生態系統較穩定，有機添加物施用後，微生物相之轉變不若一年生者快，線蟲拮抗微生物

至少須4年才能建立其族群(16)。有機添加物之施用往往對兼行腐生之微生物比絕對寄生者有利，如廣泛存在有機土壤中之*Verticillum chlamydosporium*即較*Pasteuria penetrans*更容易在添加有機物質後被誘發或急速增量，而達到抑制線蟲族群之效果(18)。

防治植物病害之生物製劑於田間之成效，與其中之拮抗生物（微生物）、配方、施用方法、施用時機與耕作方式息息相關。配方常是針對拮抗微生物之營養需求或保存而設計，也是防範拮抗微生物進入土壤中成為靜菌狀態之良方。然而，微生物在營養供給充裕之情況下，易致功能性退化，故時常更新菌種是必須的作為。此外，拮抗微生物之力價，亦即執行防治病害之能力，也因菌株不同而異。本文所述之 *S. saraceticus* ＃31菌株，為本研究室之第三等級菌種，尚有功能更佳之第一（如205＃）及第二（如233＃）等級菌株，經嘉義大學分子生物研究所證實確實優於＃31菌株。日後，相信市場上植物病害之防治性生物製劑之良窳，將取決於菌種之優劣。*S. saraceticus*除可防治線蟲病害外，已知對植物疫病及茄科喚疫病皆有甚佳之防治效果更有促進根系生長，提升扦插苗成活率之明顯功能，可進一步推廣使用。

即使單純的使用生物防治法不易於短期內收到像殺線蟲劑同樣的效果，可是如能逐期改善，或配合其他非農藥防治法，也是植物病原線蟲防治上長治久安之計。研究計畫旨在針對本省主要線蟲病害之發生，探討多樣性生物防治因子和線蟲間之互動關係；以剛開發成功之試管內植物器官無菌培養方式，在實體及分子生物學上多所探討。

引用文獻

1.李明達、蔡東纂、林奕耀。1996。*Streptomyces saraceticus*之生理特性及對南方根瘤線蟲卵孵化之影響。

2.食品工業研究所。1995。分離株*Streptomyces* spp.＃31之種名鑑定。食研菌字第C0672號。受文者：蔡東纂。

3.植保會刊38：235-245蔡東纂、程永雄。1994。臺灣花卉線蟲問題。臺灣花卉病蟲害研討會專刊。P.225-241。

4.蔡東纂、程永雄、林奕耀、陳昭豐。1994。臺灣根莖薯類作物線蟲 病害之發生。植保會刊 36:225-238。

5.蔡東纂。1995。植物病原線蟲檢疫。植病會刊4：43-59。

6.蔡東纂。1996。台灣作物線蟲病連作障害之發生及對策。植病會刊5：113-128。

7.西尾道德。1983。連作障害之發生。日本土壤肥料雜誌 54(1)：64-73。

8.Anon. 1991. BT Market Forecast. Bioprocessing Technol. pp.4-5.

9.Cabanillas, E., Barker, K.R., & Nelson, L.A. 1989. Survival of *Paeciliomyces lilacinus* in selected cariers and related effects on *Meloidogyne incognita* of tomato. J. Nematol. 21:121-150.

10.Chen, P. and Tsay, T. T. 2006. Effect of Crop Rotation on *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus* spp. Populations in Strawberry Fields. J. Nematol.（In Press）

11.Devakumar,C., Goswami, D.K. & Mukerjee, S.K. 1985. Nematicidal principles from neem (Azadirachta indica A. Juss). Part I. Screening of neem kernel fractions against *Meloidogyne incognita*. Indian Journal of Nematology 15:121-124.

12.Gove, P.B. (ed.) 1981. Webster's Third New International Dictionary. Merriam-Webster, Inc., Springfield, MA.

13.Huebner, R.A., Rodriguez-Kanaba, R. & Patterson, R.M. 1983. Hemicellulosic waste and urea for control of plant parasitic nematodes:effect on soil enzyme activities. Nematropica 13:37-54.

14.Ivan, J.T. and Edward, P.C. 1987. Principles of nematode control. pp. 87-130. in: Principles and Practice of Nematode Control in Crops. eds. Brown, R.H. and Kerry, B.R. Academic Press, London.

15.Kahn, R.P. 1982. The host as a vector:exclusion as a control, in pathogens, vectors, and Plant Disease:Approaches to Control (K.F. Harris and K. Maramorosch, eds),pp.123-149. Academic Press, London.

16.Kerry, B.R. 1982. The decline of *Heterodera avenae* populations. European pl. Pro. Org. Bull. 12:491-496.

17.Kerry, B.R. 1987. Biological control. in Principles and Practice of Nematode Control in Crops. Brown, R. H andKerry, B.R. eds., pp. 233-263. Academic Press. London.

18.Kerry, B.R. 1989. Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes. pp. 153-170. in: J.M. Whipps and R.D. Lumsden, eds. Biotechnology of Fungi for Improving Plant Growth. Cambridge,Cambridge University Press.

19.Kerry, B.R. 1990. An Assessment of Progress toward Microbial Control of Plant-parasitic Nematodes. Supple. J. Nemaatol. 22(4s):621-631.

20.Linford, M.B. 1937. Stimulated activity of natural enemies of nematodes. Science 85:123-124.

21.Mathys, G. and Smith, I.M. 1984. Regional and global plant quarantine strategies with special references to developments within EPP. EPPO Bull. 14:83-95.

22.Mian, I.H. & Rodriguez-Kanaba,R. 1982a. Organic amendments with high tanin and phenolic contents for control of Meloidogyne arenaria in infested soil. Nematropica 12:221-234.

23.Mian, I.H. & Rodriguez-Kabana, R. 1982b. Survey of the nematicidal properties of some organic materials available in Alabama as amendments to soil for control of Meloidogyne arenaria. Nematropica 12:235-246.

24.Prot, J.C. & Kornprobst, J.M. 1983. Effects of Azadirachta indica, Hannoa undulata and Honnoa klaineana seed extracts on the ability of *Meloidogyne javanica* juveniles to penetrate tomato roots. Revue de Nematologie 6:330-332.

25.Rich, J.R., Rahi, G.S., Opperman, C.H. & Davis, E.L. 1989. Influence of the castor bean (*Ricinus communis*) letin (Ricin) on motility of Meloidogyne incognita. Nematropica 19:99-103.

26.Rodriguez-Kabana, R. & King, P. 1980. Use of mixtures of urea and blackstrap molasses for control of root-knot nematodes in soil. Nematropica 10:38-44.

27.Rodringez-Kabana. R., Morgan-Jones, G. & Chet, I. 1987. Biological control of nematodes: soil amendments and microbial antagonists. Plant and Soil 100:237-247.

28.Sasser, J.N. and D.W. Freekman. 1987. A world perspective on Nematology：The role of the society. pp7-14. in: Vistas on Nematology. A Comememoration of the Twenty-fifth Anniversary of the Society of Nematologists.

29.Sayre, R.M. 1971. Biotic influence in soil environment.In B.M. Zuckerman et al., eds., Plant Parasitic Nematodes. I. Morphology, Anatomy, Taxonomy and Ecology. Academic Press, New York and London. pp. 235-256.

30.Singh, S.P., Pant, V., Khan, A.M. & Saxena, S.K. 1983a. Attractiveness of *Meloidogyne*

incognita larvae to roots of tomato and changes in biochemical content of plants as affected by oilcakes and nematicides. Nematologia Mediterranea 11:115-118.

31.Spiegel, Y., Cohn, E. & Chet, I. 1989. Use of chitin for controlling *Heterodera avenae* and *Tylenchulus semipenetrans*. J. Nematol. 21(3):419-422.

32.Stirling, G.R. 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* with Bacillus penetrans. Phytopathology 74:55-60.

33.Stirling, G.R. 1991. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. Progress, Problems and Prospects. 282pp. C.A.B International.

34.Tsay, T. T. and Wu, W. S. 2005. Evaluating the efficacy of organic amendments with *Streptomyces saraceticus* on controlling plant parasitic nematodes. Forty-fourty Annual Meeting of Society of Nematologists, Abstracts of Papers, Florida. p.74.

35.Tsay, T. T.,Wu, S. T.&Lin, Y. Y. 2004. Evalution of Asteraceae Plants for Control of *Meloidogyne incognita*. J. Nematol. 36（1）：36-41.

36.Uhlenbroek, J.H. & Bijloo, J.D. 1958. Investigations on Nematicides. I. Isolation and structure of a nematicidal principle occurring. in: Tagetes roots. Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas et al la Belgique 77:1004-1009.

37.Westerdahl, B.B., Carlson, H.L., Grant, J., Radewald, J. D., Welch, N., Anderson, C.A. Darso, J., Kirby, D. & Shibuya, F. 1992. Management of Plant-parasitic Nematodes with a Chitin-Urea Soil Amendment and Other Materials. Supple. J. Nematol. 24(4s):669-680.

38.Zuckerman, B.M. & Esnard, J. 1994. The Quest for Plant Nematode Biological Control Facts and Hypotheses. Proc. Int. Symp. on Biological Control of Plant Diseases. pp. 62-74.

Biological control of plant parasitic nematodes with Streptomyces saraceticus and LTM

Tung-Tsuan Tsay
Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan
E-mail: tttsay@mail.nchu.edu.tw

ABSTRACT

Several principles are considered, while developing an effective biological control agent. First is to isolate and screen the most active and effective antagonists. The ecology of the antagonists should be fully understood to help formulating organic amendments that would increase the activities of antagonists after applied to the soil. The antagonists should also be able to control various important plant parasitic nematodes.

A novel baiting type was developed, by using clear plastic tape coating with baiting materials on the sticky side, providing minimum nutrients for organisms to compete in the soil. This method had baited isolates of nematodes trapping fungi (*Arthrobotrys* spp., *Dacylella* spp., *Dactylaria* spp.) and *Streptomyces saraceticus* that are more effective than those baited by the other two methods. Baiting bag technique was the only method that able to isolate predatory nematodes and mites. In the pot tests, six antagonists were tested, *Streptomyces saraceticus* and *Pasteuria penetrans* significantly reduced the population of *Meloidogyne incognita* population in the soil and the disease index on the water spinach. Since P. pentrans was difficult to be propagated in the laboratory, *S. saraceticus* became the main focus for developing a new biological control agent.

S. saraceticus developed well in loamy sand, sandy loam and red soil and the pH value ranging from 5 to 8. Adding *S. saraceticus* alone or mixed with 0.2% crab shell powder could significantly reduce second stage juveniles (J2) of *Meloidogyne incognita* in soil and the egg mass on the roots of water spinach. Consequently, the fresh weight of above-ground plant

was increased. Fourteen organic wastes were tested, among them, crab shell powder, soybean powder, castor pomace, marine algae powder, rice bran or molasses amended in the soil was able to increase the population of *S. saraceticus*. The by products decomposed from saw dust, rice bran and pig dung could paralyze the J2 of *M. incognita*, while castor pomace, chicken dung and crab shell powder were lethal to the nematodes. Castor pomace alone could inhibit hatching rates of egg masses or dispersed eggs. The amendment of marine algae powder modified the roots of host plant and reduce attraction of M. incognita J2 to 36.0%, *Tylenchulus semipenetrans* to 30.1%, *P. coffeae* to 44.0% and *Paratylenchus curvitatus* to 35.0%. Based on the results, a mixture of 40% crab shell powder, 40% castor pomace, 5% soybean powder, 10% marine algae powder and 5% molasses was formulated and named Lively Tiller Mixture (LTM).

S. saraceticus was able to significantly reduced (P=0.05) the population of *Tylenchulus semipenetrans*, *Pratylenchus coffeae* and *Paratylenchus cruvitatus* in green house trails. The LTM mixed with *S. saraceticus* applied at 2000 kg/ha rate, reduced root-knot nematode populations in the vine yard significantly (P=0.05). The root knot indices and disease indices reduced 47.5 and 67.8% respectively at summer harvest and 42.8, 69.5% at winter harvest. The treatment also increased cluster weight and sugar content to 57, 76 grams and 3, 5 Brix at the two harvest seasons respectively. Antinematodal properties were enhanced when LTM-*S. saraceticus* mixture was applied for two years continuously.

The LTM-*S. saraceticus* mixture treatment provided the same controlling level as nematicides, but LTM-*S. saraceticus* mixture provided more vigorous growth among the declined citrus plants compared to nematicide treatments. LTM-*S. saraceticus* mixture reduced the population of *T. semipenetrans* and *P. coffeae* 94.1 and 63.6% compared to the control. Application of LTM-*S. saraceticus* mixture also significantly (P=0.05) reduced root-knot disease on African daisy and bitter gourd compared to the 3% Carbofuran G. treatment.

Keywords: biological control, LTM, organic amendments, plant-parasitic nematode, Streptomyces saraceticus.