

白殭菌與黑殭菌對亞洲棕櫚象鼻蟲致病性之研究

陳明昭¹

摘 要

亞洲棕櫚象鼻蟲於民國 86 年 10 月間於彰化縣田尾鄉首次被發現，其幼蟲危害棕櫚科植物莖幹，而使植株產量減少，嚴重時會造成實生苗或幼苗的死亡。民國 87 年 2 月於高屏地區發現有大面積之黃椰子受害，近年來更延伸至檳榔植株。除棕櫚科植株外尚未發現危害其他作物。針對本害蟲測試兩種微生物之致病率以定其防治效果。結果顯示 7 菌株黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*)及 2 菌株白殭菌(*Beauveria bassiana*)，以黑殭菌 MA-1、MA-126、683 及白殭菌 F121 等處理效果較佳，其中尤以白殭菌處理第 14 天時其致死率達 100%效果最佳，值得推薦產業應用。

關鍵語：亞洲棕櫚象鼻蟲、生活史、生物防治

前 言

亞洲棕櫚象鼻蟲(*Rhabdoscelus lineatocollis*)(Heller)(Coleoptera: Rhynchophoridae)又名白條步行象鼻蟲⁽¹⁾，於民國 86 年 10 月首度於彰化縣田尾鄉之受害棍棒椰子中被發現，其後，12 月間又陸續在台北縣三峽、八里及深坑等地之黃椰子上發現其危害。隔年 2 月在屏東縣鹽埔鄉及高樹鄉種植之黃椰子(約 10 公頃)亦發現此蟲之蹤跡，且已擴散至大多數之檳榔植株上。

亞洲棕櫚象鼻蟲為台灣新紀錄之重要害蟲，其危害之作物種類雖只有甘蔗及棕櫚科等作物，但其危害力相當大^(6,7,8,9,17,20,21,22)。植株一旦受侵害，該蟲即鑽入植株內，很難利用化學藥劑或物理方法(如用鐵絲勾或其他工具)防治，故利用天敵或篩選滲透性佳之藥劑，且改進施用方法和部位，方能有效防治此象鼻蟲。因此，本研究乃利用蟲生真菌黑殭菌及白殭菌進行室內試驗，以篩選出防治效果佳之菌種供農政單位參考，以為日後大量生產生物防治用(2,3,4,10,11,12,13,14,15)。

材料與方法

一、供試蟲源飼養

以橫切寬度約 2cm 之紅蘿蔔作為亞洲棕櫚象鼻蟲交尾產卵基質，俟產卵

¹高雄區農業改良場助理研究員

後取出，置於剖半之紅甘蔗上(約 5cm 大小)，放入 9 cm 長之塑膠飼育杯內，蓋好避免污染或異物進入，後置於室溫下讓其孵化後之幼蟲、蛹、成蟲均以食用紅甘蔗飼養，做為供試蟲源。

二、供試菌株來源及培養

菌種來源分別由農委會農業藥物毒物試驗所生物藥劑系提供之 2 個白殭菌(*Beauveria bassiana*)菌株，F121【鞘翅目(Coleoptera)於彰化田尾棍棒椰子園內亞洲棕櫚象鼻蟲上採集而得】，菌株 F061【鞘翅目(Coleoptera)於南投水稻田之水稻水象鼻蟲上採集得到】。及由國立屏東科技大學提供，蒐集自國內外之黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*) 7 個菌株，分別為 MA-1【鞘翅目(Coleoptera)，屏東】、MA-126【鞘翅目(Coleoptera)，屏東】、MAUZ-1【鞘翅目(Coleoptera)，屏東】、KCAL【蜚蠊目(Blattoidea)，宜蘭】、683【鞘翅目(Coleoptera)，廣東】、3621【同翅目(Homoptera)，千里達】、3127【直翅目(Orthoptera)，美國】。

首先各菌株以礦物油保存或以超低溫冷凍櫃(-70°C)保存，培養時自礦物油中將真菌孢子挑出，置於 SDA(sweet potato D(+)-glucose agar)固態培養基上(每公升水含：peptone from meat 5g；peptone from casein 5g；D(+)-glucose 40g；agar 15g)培養，待孢子發芽、菌絲生長後，取菌株新鮮產孢部份至 SDA 斜面培養供繼代培養用。

三、試驗方法與調查分析

蟲生真菌各菌株以含 0.2%Tween 20 之無菌水配製成 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 conidia/ml 濃度之孢子懸浮液，後將每隻亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲置於直徑 8cm 之透明飼育杯中，將上述菌株之孢子懸浮液以電動振盪器振盪 30 秒鐘使孢子充分均勻懸浮，後以微量吸管各取 20 μ L 孢子懸浮液接種滴於杯中之亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲背板上，且停置風乾 30 秒，使孢子懸浮液充分浸濕附著於象鼻蟲背板上。而對照組(CK)則以接種滴無菌水作為處理，每處理成蟲 5 隻，每處理 3 重覆，後把各處理之亞洲棕櫚象鼻蟲置於加入剖半之甘蔗之飼育杯中繼續飼養，且置於 25°C，相對濕度 80%，光照 12L：12D 生長箱內飼養。每日觀察記錄其死亡率及菌絲生長情形，每 3-5 天更換新鮮甘蔗。

以上致病性試驗結果，以 Probit analysis 電腦程式分析求得 LC_{50} 、 $LT_{50}^{(16)}$ ，且各處理結果統計分析以鄧肯氏多變域分析(Duncan's multiple range test)進行死亡率比較；俟蟲體死亡後，每隻死蟲以 10ml 無菌水(含 0.2%Tween 20)將體表之分生孢子沖洗下來，並以血球計數器計算孢子數量。

結果與討論

一、黑殭菌及白殭菌效果篩選及其致病力檢定^(19,23)

利用 7 菌株之黑殭菌及 2 菌株之白殭菌以 10^7 conidia/ml、 10^8 conidia/ml 濃度之孢子懸浮液接種亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲進行篩選，其試驗結果顯示(表 1)，以 1×10^7 conidia/ml 孢子濃度接種亞洲棕櫚象鼻蟲，不管是黑殭菌和白殭菌其感病率死亡偏低不到 40%；而 10^8 conidia/ml 孢子濃度接種，結果以白殭菌 F121 菌株致病率最高(100%)，依次為黑殭菌 MA126(69.74%)、MA1 菌株(61.0%)及白殭菌 F061 菌株(55.3%)(表 2)。

白殭菌 F121 及 F061 菌株均採自象鼻蟲科昆蟲，其中 F121 菌株為棕櫚象鼻蟲病死蟲上分離而得。黑殭菌 MA-1 菌株分離自田間紅胸葉蟲，而菌株 MA126 為 MA-1 經紫外線誘變、篩選而得，其不但抗紫外線及殺菌劑且不減

表 1. 不同黑殭菌及白殭菌菌株孢子懸浮液接種亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲之致病力比較

Table 1. Pathogenicity of 7 different strains of 2 entomogenous fungi (*Metarhizium anisoplia* and *Beauveria bassiana*) inoculated on the Asiatic palm weevil, *Rhabdoscelus lineaticollis*

Treatment	Mortality%(Mean \pm SD)*			
	10^7 conidia/ml		10^8 conidia/ml	
<i>Beauveria bassiana</i>				
F121	16.67 \pm 28.87	abc	100.0 \pm 0.0	a
F061	33.33 \pm 0.00	a	55.30 \pm 18.7	b
<i>Metarhizium anisoplia</i>				
MA-1	36.65 \pm 4.74	a	61.0 \pm 14.8	b
MA126	36.10 \pm 12.73	a	69.47 \pm 4.79	b
MAUZ-1	19.65 \pm 7.57	abc	--	
KCAL	6.25 \pm 8.84	bc	--	
683	25.00 \pm 0.0	ab	33.0 \pm 0.0	c
3621	14.30 \pm 20.20	abc	--	
3127	33.95 \pm 12.66	a	0.0 \pm 0.0	d
C.K(Control)	0.0 \pm 0.0	c	0.0 \pm 0.0	d

Inoculation conc : 1×10^7 conidia/ml, 1×10^8 conidia/ml

* Mean followed by the same letter within a column is not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range tests.

表 2. 不同黑殭菌菌株及白殭菌孢子懸浮液對亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲之半致死天數及死亡率比較

Table 2. LT₅₀ and the pathogenicity of two strains each of the two entomogenous fungi (*Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*) on the Asiatic palm weevil, *Rhabdoscelus lineaticollis*

Treatment	LT ₅₀ /(day)	Mortality (%) [*]
<i>Beauveria bassiana</i> F121	5.6	100.0 ± 0.00 a
<i>Beauveria bassiana</i> F061	11.44	55.30 ± 18.7 b
<i>Metarhizium anisopliae</i> MA1	8.21	61.00 ± 14.8 b
<i>Metarhizium anisopliae</i> MA126	7.42	69.47 ± 4.79 b
CK(Control)	--	0 ± 0 c

Inoculation conc : 1x10⁸ conidia/ml

*Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 5%level by Duncan's multiple range test.

低殺蟲效果；雖然 MA-1 和 MA126 菌株源於鞘翅目昆蟲，但兩者對鱗翅目幼蟲具有高致病效果。本試驗結果可看出，當孢子濃度較低時(10⁷ conidia/ml) 菌株 F121 致病力不及 MA126 等菌株，但孢子濃度較高時(10⁸ conidia/ml) 其致病力顯著提高。

觀察亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲受感染死亡時觸角、口器和足部呈伸展及僵硬狀態。而蟲體死亡後，如維持高濕度的環境下約 1-6 天，亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲自縫線或節間如頭部(觸角、口器)、胸部(足)及腹部體節間長出白色菌絲，再經 2-5 天後黑殭菌即產生墨綠色分生孢子，而白殭菌產生白色孢子；白殭菌的菌絲和孢子為同一白色，在試驗觀察中較不易用肉眼辨識產孢現象。此外，受黑殭菌或白殭菌感染死亡蟲體，以肉眼觀察即可看出，蟲體有節間的部分如頭胸腹節間，有觸角、口器、足之基節窩及其足之各節之間、腹部末端等可受侵入感染而造成蟲體死亡。

利用蟲生真菌防治害蟲除了必須具強致病力外，尚需考量其田間繁衍、殘存的能力。防治效果佳的蟲生真菌除了高致病率外，尚須具有高產孢量，且能隱存於田間，當環境適宜時能迅速造成害蟲流行病⁽¹⁸⁾。

二、不同黑殭菌及白殭菌菌株感染亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲後之真菌產孢量比較

比較亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲經蟲生真菌各菌株感染死亡後之產孢量，由圖 1 顯示，白殭菌 F121 菌株之產孢量，每隻成蟲平均可產 1.75x10⁹ 孢子為最

高，依序為黑殭菌 MA126 每隻成蟲平均可產 4.06×10^8 孢子、MA1 每隻成蟲平均可產 1.60×10^8 孢子、3621 每隻成蟲平均可產 1.56×10^8 孢子、683 每隻成蟲平均可產 9.85×10^7 孢子，最後為白殭菌 F061 每隻成蟲平均可產 7.58×10^8 孢子。而白殭菌及黑殭菌產孢量比較，其中以白殭菌 F121 其產孢量遠勝於其他菌株。以 1 隻死亡的亞洲棕象鼻蟲平均可產 10^9 conidia/ml 左右之真菌孢子數，如能大量培養感染，產生更多之孢子，應用於防治田間亞洲棕櫚象鼻蟲，理論上應該可行。且由圖 1 可知白殭菌產之孢子量比黑殭菌多 4-22 倍，故欲防治棕櫚象鼻蟲白殭菌的效果比黑殭菌佳，為生物防治之好資材，但要如何大量繁殖及施用、感染，仍待進一步研究。

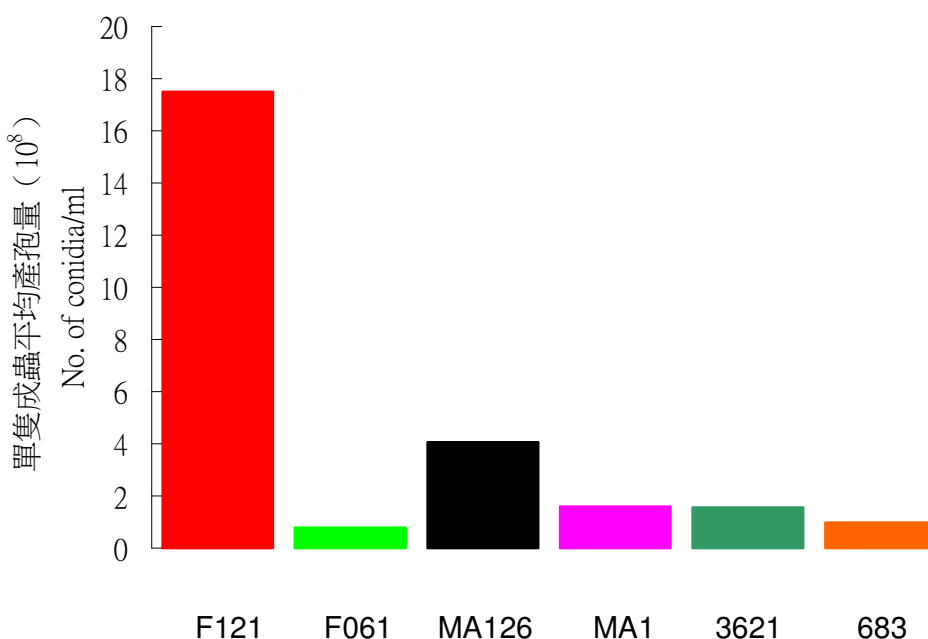


圖 1. 黑殭菌與白殭菌感染棕櫚象鼻蟲成蟲後之產孢量比較

Fig 1. Comparison of the yields of 6 strains of entomogenous fungi (*Metarhizium anisoplia* and *Beauveria bassiana*) conidia produced on are infested Asiatic palm weevil, *Rhabdoscelus lineaticollis*

F121 接種感染成蟲後，約 5-6 天即達供試蟲之半數死亡，且隨感染天數增加而增加其死亡率，於 14 天後死亡率達 100%；而白殭菌 F061 接種亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲 6 天後，死亡率為 33.3%，此後累積死亡率雖緩慢增加，最終死亡率僅 55.3%(圖 2)。

如以相同濃度接種感染，強致病力菌株如 F121 可在短時間內造成供試蟲之大量死亡，而未死亡者，蟲體大都呈虛弱狀態且行動緩慢，故其死亡率穩定成長，虛弱狀態之象鼻蟲已失去危害作物及繁衍的能力，對作物應不致造成重大威脅。

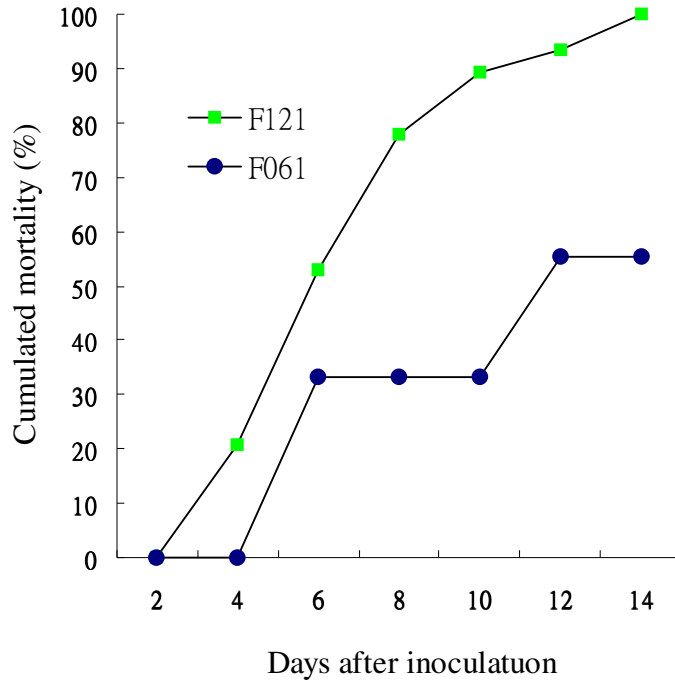


圖 2. 白殭菌接種棕櫚象鼻蟲成蟲(2×10^6 孢子/隻)之累積死亡率比較

Fig 2. Cumulative mortality of the adult Asiatic palm weevil (*Rhabdoselus lineaticollis*) inoculated with different strains of *Beauveria bassiana* at 2×10^6 conidia/weevil

三、白殭菌 F121 對棕櫚象鼻蟲幼蟲及成蟲之半致死濃度(LC₅₀)、半致死劑量(LD₅₀)及半致死時間(LT₅₀)比較

比較白殭菌 F121 對亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲及幼蟲之半致死濃度(LC₅₀)、半致死劑量(LD₅₀)及半致死時間(LT₅₀)結果呈現於表 3，成蟲之半致死劑量(LD₅₀ 5.4×10^5 conidia/adult)約幼蟲半致死劑量(LD₅₀ 4.2×10^6 conidia/larvae)的 1/8，而半致死時間(LT₅₀)也以成蟲較短 (5.6 天)。不同於病毒和細菌被寄主食入後之特定作用機制，蟲生真菌侵入寄主體內的方式大都經由體表(節間

膜、氣孔或縫隙等)穿透，因此寄主各個時期均能受其感染，故寄主之生化組成、物理結構甚至體表面積均會影響對蟲生真菌的感病性。

以上試驗結果得知，蟲生真菌防治亞洲棕櫚象鼻蟲之最有效時期，以成蟲期較為顯著，探究其原因，可能為幼蟲體表較光滑，且以蠕動方式行走，故使蟲生孢子不易附著，或在未固著穿透蟲體前，因蟲體脫皮而使蟲生真菌孢子脫離蟲體，致使其致病力降低。而成蟲因其縫隙或節間多較粗糙，易使蟲生孢子附著穿透體壁，造成蟲體死亡，故防治成蟲效果優於幼蟲。

對亞洲棕櫚象鼻蟲具較高致病力之菌株有 F121、F061、MA1、MA126，比較這些菌株之半致死時間(LT₅₀)，結果以白殭菌 F121 以 1×10^8 conidia/ml 孢子懸浮液接種亞洲棕櫚象鼻蟲成蟲之半致死時間最短(5.6 天)，且感染 14 天後死亡率達 100 % 為最佳；至於黑殭菌菌株以 MA126 最好，其半致死天數為 7.42 天，死亡率為 $69.47 \pm 11.80\%$ 。且由表 2 得知，理論上如以白殭菌 10^8 (conidia/ml) 左右之孢子懸浮液噴施感染亞洲棕櫚象鼻蟲蟲體上，於 5、6 天內，蟲體即達一半以上的死亡率，其效果應比化學藥劑好且快，除此之外，一隻死亡之蟲體可產 10^8 至 10^9 之蟲生真菌孢子，其數量相當可觀。如利用蟲生真菌防治害蟲，其受感染害蟲可將孢子由蟲體攜回，而互相感染，造成更多的蟲體死亡，且不會造成環境之污染。利用本土之白殭菌防治亞洲棕櫚象鼻蟲試驗，初步只限於實驗室內結果，至於田間之防治效果仍待評估；但先決條件如大量繁殖及保存、施用方法等均需克服。除此之外，其他因素包括濕度氣候等亦需考慮。故應用白殭菌於棕櫚科植物之田間防治亞洲棕櫚象鼻蟲之研究，乃為日後之重要方法課題。

表 3. 白殭菌 F121 之濃度(10^8 conidia/ml/weevil)對棕櫚象鼻蟲幼蟲及成蟲之半致死濃度、半致死劑量、半致死天數比較

Table 3. LC₅₀、LD₅₀ and LT₅₀ on the Asiatic palm weevil (*Rhabdoselus lineaticollis*) inoculated with *Beauveria bassiana* (F121) at 1×10^8 conidia/ml/weevil

Treatment	Inoculation(ml)	LC ₅₀ (conidia/ml)	LD ₅₀ (conidia/weevil)	LT ₅₀ (days)
Larvae	20μl	2.1×10^8	4.2×10^6	6.9
Adult	20μl	2.7×10^7	5.4×10^5	5.6

參考文獻

1. 朱耀沂、黃莉欣、李昱輝. 1998. 椰子害蟲白條步行象鼻蟲之簡介. 農業

- 世界雜誌. 108 : 48-52.
2. 林慶元、呂文通. 1991. 利用蟲生真菌(黑殭菌)防治青蔥甜菜夜蛾. 花蓮區農業改良場研究彙報. 7 : 127~131.
 3. 邱瑞珍、陳仁昭、周樑鎰、周根清、沈昌明. 1988. 可可椰子紅胸葉蟲之生物防治. 中華農業研究. 37 : 211~219.
 4. 邱瑞珍、賴博永、陳炳輝、陳仁昭、蕭榮福. 1985. 可可椰子紅胸葉蟲寄生蜂(*Tetrastichus brontispae*)之引進繁殖與釋放試驗. 中華農業研究. 34期 : 213-222.
 5. 高野秀三、呂文搭. 1946. 甘蔗害蟲椰子大象鼻蟲生活習性之考查 糖業試驗所研究彙報. 第一號 : 51~58.
 6. 陳仁昭. 1973. 兩種新紀錄害蟲：*Diocalandra frumenti* Fabr.及 *Daphnis nerii* L. 屏東農專學報. 14 : 65-80.
 7. 陳仁昭. 1976. 臺灣可可椰子新害蟲. 科學農業. 24期 : 481~485.
 8. 陳仁昭. 1988. 可可椰子主要害蟲之生態與防治. 果樹病蟲害綜合研討會. 中華昆蟲特刊第二號. P. 81~99.
 9. 路統信. 1979. 椰子之病蟲害及其防治. 椰子類全科. 中國花卉雜誌社. P. 595-602.
 10. 蔡勇勝、高穗生、高清文、侯豐男. 1992. 數種殺菌劑對黑殭菌感染甜菜夜蛾之影響. 植物保護學會會刊. 34 : 216~226.
 11. Alves, S. B., L. C. Marchini., R. M. Pereira. and L. L. Baumgratz. 1996. Effects of some insect pathogens on the argicanized honey bee, *Apis mellifera* L.(Hym.,Apidae). J. Appl. Ent. 120 : 559-564.
 12. Barson, G., N. Renn., and A. F. Bywater. 1994. Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the housefly (*Musca domestica* L.), a pest of intensive animal units. J. Invertebr. Pathol. 64 : 107-113.
 13. Butt, T .M., L. Ibrahim., B. V. Ball., and S. J. Clark. 1994. Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria brssiana* against crucifer pests and honey bee. Biocontrol Sci. Technol. 4 : 207-214.
 14. Doberski, J. W. and H. T. Tribe. 1980. Isolation of entomogenous fungi from elm bark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Tran. Br. Mycol. Soc. 74 : 95-100.
 15. Donovan-Peluso, M., S. S. Wasti. And G. C. Hartmann. 1980. Safety of

- entomogenous fungi to vertebrate hosts. Appl. Entomol. Zoo. 15 : 498-499.
16. Finney, D. J. 1977. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press. London. 333pp.
 17. Geoffrey O. Bedford. 1980. biology, ecology, and control of palm rhinoceros beetle. Ann. Rev. Entomol. 25 : 309-339.
 18. Hywel-Jones, N. L. and A. T. Gillespie, 1990. Effect of temperature on spore germination in *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria*. Mycol. Res. 94 : 389-392.
 19. Ignoffo, C. M. and R. T Roush. 1986. Susceptibility of permethrin- and methomyl-resistance strains of *Heliothis virescens* to representative species of entomopathogens. J. Econ. Entomol. 79 : 334-337.
 20. Long, W. H. and S. D. Hensley. 1972. Insect pests of sugarcane. Annual Review of Entomology. 17 : 149-176.
 21. Nakamori, H., Y. Sadoyama and T. Kinjyo. 1995. Ecological feature of Asiatic palm weevil, *Rhabdoscelus lineaticollis* Heller, newly invaded in sugarcane field of Okinawa Islands, Japan. Proc. International Workshop on Management Strategies. In Asiatic Monsoon Agroecosystem. P. 269-280.
 22. Uichano, L. B. 1928. A conspectus of injurious and beneficial insects of sugarcane in the Philippines, with special reference to Luzon and Negros. Philippine Sugar Asso. Ann. Conv. 6: 1-12.
 23. Zimmermann, G. 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pestic. Sci. 37 : 375-379.

Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the Asiatic palm weevil, *Rhabdoscelus lineatocollis* (Heller)(Coleoptera : Rhynchophoridae)

Ming-Chao Chen ¹

Abstract

The Asiatic palm weevil, *Rhabdoscelus lineatocollis* (Heller), was first discovered in Chaughua, Taiwan. Its larvae damaged stems, reduced yield or killed seedlings and young palms. In Kao-Ping area, large acreage of yellow palms was found damaged by this pest. In February 1998 Recently, damage incidences were also reported on the betelnut Except palm plants, no other plants have been reported damaged by this weevil To determine the pathogenicity on this weevil 7 strains of *Metarhizium anisopliae* and 2 strains of *Beauveria bassiana* were tested and the results showed that *M. anisopliae* MA-1 and 683, and *B. bassiana* F121 had significantly higher pathogenicity; hence, would be more effective in the control of the weevil.

Key words : Asiatic palm weevil (*Rhabdoscelus lineatocollis* (Heller)), Life history, Biocontrol

¹ Assistant Researcher, Entomologist of Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station.