

行政院農業委員會林務局委託研究計畫系列

蘇鐵白輪盾介殼蟲之真菌性天敵調查及其在生
物防治之評估(3/3)

Bio-control of cycad scale insect with fungal
parasites : survey and appraisal.



委託機關：行政院農業委員會林務局

執行機關：國立台灣大學植物病理與微生物學系

中華民國 97 年 12 月

中文摘要

於台東延平鄉紅葉山區，台東蘇鐵保留區採集罹受白輪盾介殼蟲嚴重感染之台東蘇鐵之罹病枝條之枝葉，經濕室潤濕培養後，鏡檢枝葉上之白輪盾介殼蟲之若蟲、成蟲或盾狀蟲殼，並分離疑似有潛伏感染蟲體之蟲生真菌，或鄰近微棲地 (microniche) 個別生長之真菌，行純粹培養鑑定。目前已鑑定 11 屬之 15 種之真菌，包括 *Acrodontium crateriforme*, *Acromyces ingoldii*, *Nalanthamala* sp. (= *Rubrinectria olivacea*), *Paecilomyces lilacinus*, *Tritirachium dependens*, *Simplicillium lanosiniveum* 以及疑似新種之 *Fusarium* sp.。其中 *A. crateriforme*, *T. dependens*, *S. lanosiniveum* 及 *Fusarium* sp. 較具侵染寄生昆蟲之潛力，此等真菌在增殖後，以孢子懸浮液噴灑接種採自自然罹病蘇鐵枝條之白輪盾介殼蟲雌蟲上之若蟲或成蟲，或其尚未孵化之卵，於濕室室溫培養。初步田間調查結果顯示，*Fusarium* sp. 對白輪盾介殼蟲具有寄生能力，但仍需更進一步重複接種確認其病原性。

關鍵字：蘇鐵、台東蘇鐵、白輪盾介殼蟲、昆蟲寄生菌、生物防治

英文摘要

Cycad scale insects inhabiting on the infested leaves, twigs and rachid sampled from Taitung cycad national conservation areas were examined for the potential fungus insects parasites. Fungi associated with the presumably infested cycad scale insects or their cadavers were isolated by single or mass spore, or single hyphal tip isolation techniques. The obtained axenic fungal strains were identified according to the morphological characters and further verified by rDNA sequences if needed. Totally, ten genera, representing 15 species of fungi have been secured. Of them, *Acrodontium crateriforme*, *Acromyces ingoldii*, *Nalanthamala* sp. (= *Rubrinectria olivacea*), *Paecilomyces lilacinus*, *Tritirachium dependens* and *Fusarium* sp. priorly were being documented with potential to infect insect host. They were propagated on potato dextrose agar (PDA) or 1/4 strength PDA amended with autoclaved cycad scale corpses, and the spore suspensions of the suspected fungal pathogens at 10^6 /ml were sprayed and inoculated onto the cycad scale insects, incubated at moist chamber, and examined daily for two weeks to access the infectivity and mortality. The preliminary results obtained from field cycad scale insects cadavers examination, and also from the inoculation test in vitro indicated that *Fusarium* sp. seemingly was virulent towards the scale insects, but necessitate verification further.

Keyword: cycad, *Cycas tailungensis*, scale insect, *Aulacaspis yasumatsui*, entomopathogenic fungi, biocontrol

前言

蘇鐵白輪盾介殼蟲 (*Aulacaspis yasumatsui* Takagi) 於 2001 年在北部被發現後，除了逐漸往南部傳播感染一般庭院、校園之蘇鐵外，甚至傳播到台東紅葉村之台東蘇鐵(*Cycas tailungensis*)自然生態保護區內。根據林務局之資料，台東紅葉村台東蘇鐵自然保留區經現場巡視人員，於 94 年 1 月期間勘查延平事業區第 19 林班時發現遭受白輪盾介殼蟲害。94 年 5 月會同林業試驗所再次會勘後發現已有 9 成 9 感染。在 94 年發現台東蘇鐵自然保留區內受白輪盾介殼感染後亦立即展開緊急防治，分別採用以「3%加保扶粒劑」、「5%陶斯松粒劑」以及百利普芬乳劑稀釋窄域礦物油對植株進行噴灑。除此之外，亦在同年進行剪除及燒毀罹受蟲害之枝葉工作以及施放捕捉性天敵雙色出尾蟲。

台東蘇鐵為台灣特有種，目前已經公告列入保護的珍貴稀有植物，在生態上的意義實屬珍貴。目前蘇鐵白輪盾介殼蟲已擴散至全國成為常年性危害蘇鐵之害蟲而難以完全將其滅絕，唯有採取定期防治一途。然而，台東蘇鐵自然保留涵蓋面積約 290 公頃且為山區起伏不平之地勢，以如此廣闊之面積加上險峻山區地勢，若以化學藥劑進行定期則防治所需耗費之大量人力物力不可小覷。如果能輔以生物防治加以施放天敵，如昆蟲寄生真菌或寄生性與捕食性昆蟲，利用天敵可於自然界隨著寄主昆蟲繁衍的特性使白輪盾介殼蟲密度降低，如此一來應可收事半功倍之效，而且避免過度用藥造成殘留公害，以既抗藥性等負面作用。

以柑橘粉蝨為例，在 1920 年代，柑橘粉蝨對美國佛羅里達州的柑橘產業造成相當嚴重的威脅。柑橘粉蝨之若蟲吸取柑橘葉片之汁液，除了造成寄主本身營養物損失之外。在粉蝨取食過程會分泌蜜露而引發黑黴病因而影響植株之光合作用，因為這些原因造成植株之能量損失導致大量減產。自從 1930 年代早期，經由佛羅里達大學開始引用柑橘粉蝨之病原真菌 *Aschersonia aleyrodis* 及 *A. goldiana* 進行生物防治後得到了相當有效的控制效果。至今，由於 *Aschersonia* spp. 在佛羅里達的柑橘栽培區已建立起田間棲群，因此柑橘粉蝨已被相當程度的抑制在一定的水平以下。根據 Tzean *et al.* (2001)對我國進行大面積之昆蟲寄生真菌的收集時發現，在介殼蟲上常見之蟲生真菌以 *Aschersonia* 屬之真菌為主。而 *Aschersonia* 屬之蟲生真菌，其寄主範圍主要侷限於同翅目(Homoptera) 之介殼蟲(scale) 及粉蝨(white fly)。因此，本計畫之採集目標主要針對台灣不同生態棲地，包括台東蘇鐵自然保留區中之介殼蟲及粉蝨之蟲生真菌進行採集分離，用以檢測其對蘇鐵白輪盾介殼蟲測試致病性，然後發展成可用之生物防治劑。

材料與方法

台東蘇鐵白輪盾介殼蟲病原真菌之分離鑑定

由林務局台東林管處台東延平鄉紅葉山區之台東蘇鐵自然保留區之23及40林班採集嚴重罹受白輪盾介殼蟲為害之台東蘇鐵之枝葉，剪成適當長度，置入內置擦手紙潤濕之夾鍊袋，經2-3天培養後，於解剖顯微鏡下進行鏡檢。再將疑似被蟲生真菌侵染之蟲體照像、紀錄，並且將其移置於2%之水瓊脂(2% water agar, WA)或各含100 ppm chloramphenicol 及 100 ppm streptomycin sulphate 之1/4強度之馬鈴薯葡萄糖培養基(potato dextrose agar, PDA)培養2-3天後，再分離由蟲體長出之真菌，並移植於PDA斜面試管，以獲取純粹培養菌株(axenic culture)。將分離所得之菌株依據其型態特徵，檢索已發表之相關分類論文或專誌加以鑑定至屬、種，若有疑似難解之分類群(taxa)，也將其培養後取其核酸，再利用廣泛性引子對 ITS4, ITS5，利用聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)增幅 ITS1-5.85S-ITS2 rDNA，定序後上 NCBI 網站比對，以當為輔助鑑定之參考。

類似蟲生真菌之繁殖和對白輪盾介殼蟲之致病性

將蟲體上或鄰近蟲體之蘇鐵葉片枝條分離所得之 *Acrodontium crateriforme*, *Simplicillium lanosiniveum*, *Tritirachium dependens* 以及疑似被報導可寄生於梨介殼蟲及松針介殼蟲之 *Fusarium coccophylum* 之 *Fusarium sp.*，以 PDA 培養繁殖，並以無菌水將所產生之分生孢子洗下，應用血球計數器計數，將分生孢子調成 1×10^6 /ml 之濃度，再將野外採集罹受白輪盾介殼蟲嚴重寄生之蘇鐵枝葉，事先以 1% NaOCl₃ 及無菌水進行表面消毒，再搭配適當之 10% emulsifiable adjuvant oil (EAO) 油劑(表一)，以簡易之噴霧器噴灑孢子於其上移置於內置濕潤擦手紙之塑膠盒，於 25°C，黑暗，相對溼度 80% 之環境下培養，7 日後觀察其致病能力，並於 14 日後再觀察第二次。此外，先去除母蟲之盾狀蟲殼，將其所產生具活力之卵移殖於野外採回、外表無白輪盾介殼蟲寄生之蘇鐵枝葉背，待孵化成若蟲，待其定著取食後，再噴灑上述真菌之孢子懸浮液，其後續之觀察，以如同上述之方法進行。

結果與討論

蘇鐵白輪盾介殼蟲體上疑似蟲生真菌之分離、鑑定、接種

由台東林管處所提供之延平鄉紅葉山區蘇鐵自然保留區(23、40 林班)採集罹受白輪盾介殼蟲嚴重危害之台東蘇鐵枝葉，業已自白輪盾介殼蟲體上分離出近 16 株之真菌，目前已鑑定出 12 種真菌(表二)，此等菌類中 *Acrodontium crateriforme*, *Acromyces ingoldii*, *Nalanthamala sp.*, *Paecilomyces lilacinus* 以及 *Tritirachium dependens*，以往曾被報導具寄生昆蟲之潛力。其中新分離出之 *Simplicillium lanosiniveum* 與 *Fusarium sp.*，亦可能具有寄生昆蟲之潛力。此外，亦由蟲體檢出多種之鐮孢病菌屬之成員，如 *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, 及 *F. equiseti*, 此屬腐生真菌佔蟲體所分離之真菌之 50% 以上。同時，在實驗室內進行疑似寄生白輪盾介殼蟲之病原真菌之接種試驗時，常有其他腐生真菌，如 *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* 等真菌干擾，但經由表面消毒之步驟可大幅減低此等雜菌之族群。

此次所分離出之疑似新種之 *Fusarium sp.*，於調查自採集台東林管處所提供台東蘇鐵枝葉之上，分別於 97 年 4 月、5 月及 9 月之採集樣本上於二齡及年輕之成熟雌蟲分離出三株分離株。其中，此種新分離之 *Fusarium sp.* (解析，圖一~三)，型態上類似曾於梨山梨樹之介殼蟲上被分離出 *Fusarium cocophyllum* (黃、孫，1997)(圖四)，與 C. Booth 氏於其著作 *The genus Fusarium* 中所描寫 *Fusarium cocophyllum* (圖五)，但其在白輪盾介殼蟲上所產生之分生孢子與在培養基中皆大於 *F. cocophyllum* 約 30 μm 左右。此外，*Fusarium cocophyllum* 也曾在與白輪盾介殼蟲同屬半翅目盾介殼蟲科(Hemiptera: Diaspididae)之松針介殼蟲(pine-needle scales, *Phenacaspis*)上發現有寄生之情形(圖六)，故其對於白輪盾介殼蟲應有相當之寄生潛力。

為釐清、了解被此株 *Fusarium sp.* 所寄生之白輪盾介殼蟲之情形，挑取被寄生且有明顯燭焰狀構造之蟲體，經固定處理後應用 SEM (scanning electron microscope, 掃描式電子顯微鏡)，以觀察其蟲體表面及內部情形。結果發現，被此株 *Fusarium sp.* 所寄生之白輪盾介殼蟲，蟲體內部完全由 *Fusarium sp.* 之菌絲所取代(圖七)，且所觀察 8 隻白輪盾介殼蟲樣本，不論由縱剖面或橫剖面觀察，皆發現其菌絲在體內皆以橫向生長(圖八)，有可能經由白輪盾介殼蟲在體側產生臘質盾殼之孔洞及腹部之生殖腔之途徑侵入蟲體內。依照 SEM 所顯現菌絲生長之方式，或可推測其可能之侵入途徑為經由蟲體側之孔洞，逐漸破壞分解，完全取代蟲體內部組織，最後自體內長出燭焰狀之產孢構造，此構造通常被稱為分生孢子禱(sporodochium)，但由台東所分離之菌株，較為特別之處，在於兩側之產孢枝特長，延伸披覆，造成似火焰狀之構造，有別於一般之分生孢子禱。

目前針對該株有寄生潛力 *Fusarium sp.*，已進行一系列之接種試驗(表三)。將受白輪盾介殼蟲寄生台東蘇鐵枝葉片 20 片，以 1% NaOCl_3 浸泡一分鐘，進行表面消毒後，再以無菌水漂洗三次，以去除 NaOCl_3 對孢子造成之傷害。噴灑含有 10^5 、 10^6 、 10^7 個分生孢子/ml 的孢子懸浮液，並以 10^6 個/ml 為主要試驗濃度，將孢子添

加在10% EAO 油劑中，噴灑於葉片上。每次進行接種實驗時，所挑選之葉片上，以有較多會爬行之一齡若蟲及二齡若蟲為佳。11次的接種實驗中，除使用10% EAO油劑外，也包含使用簡單以水為溶劑的劑型，及直接在白輪盾介殼蟲寄生台東蘇鐵盆栽植株上直接進行接種的各類試驗方法。於實驗室內進行接種之試驗，7日後觀察雖有疑似被寄生而死亡之蟲體，但經由分離純化後，卻無法分離檢出所接種之*Fusarium sp.*。截至目前為止，仍未觀察到白輪盾介殼蟲有明顯被寄生現象，但未來會改進接種之方法、劑型、接種時之環境條件以及仔細觀察病勢進展和精化分離方法，或許對於病原性之確証會有所突破。

白輪盾介殼蟲之原生地為亞洲中南半島之泰國。此蟲於泰國具有捕食性及寄生性之天敵：雙色出尾蟲 (*Cybocephalus nipponicus*) 以及褐黃異角蚜小蜂 (*Coccobius fulvus*) (Wiese, 2005)之外，迄今為止並無其它之寄主性微生物病原菌被報導(Meyerdirk, 2002)。白輪盾介殼蟲上之蟲生真菌極少或無，但此次所分離出之 *Fusarium sp.*在其寄生能力上確實具有相當大的潛力。目前在野外已發現數次實例，每次皆有 10-30 隻以上之白輪盾介殼蟲為疑似新種之 *Fusarium sp.*所寄生而致死被發現，證實在蘇鐵自然保留區(特別於 23 林班)內此 *Fusarium sp.*已然建立相當的族群數量。該菌株雖然對於台東蘇鐵自然保留區的氣候環境應有其適應之方式，但以發現不同分離株之時間來看，其寄生能力受到環境因素影響非常大，且多集中於氣溫、濕度及溫度皆較高之 5~9 月(表四)。一般之蟲生真菌，其最佳寄生時間多於二齡若蟲或蛹期，但白輪盾介殼蟲之雌蟲缺乏蛹期，且白輪盾介殼蟲於秋冬之後若蟲及卵孵化的數量激減，欲收集當地不同之分離株及實驗室能取得以供測試介殼蟲之樣本上有所限制。

目前針對此次所分離自白輪盾介殼蟲，最具寄生能力疑似新種之 *Fusarium sp.*，未來應特別探討其適宜之寄生環境，寄生方式與寄生機制，以及如何確定其病原性及維持、增加致病性與延長野外存活時間。對病原性部分，已在實驗室中進行數次試驗，其餘亦需進一步在實驗室中加以探討。若此等新分離之蟲生真菌於實驗室內可侵染白輪盾介殼蟲，如何克服此種逆境所造成之瓶頸，則有待經由人工突變或遺傳工程之方法改良其遺傳特性。

結論

由台東蘇鐵嚴重罹受白輪盾介殼蟲(*Aulacaspis yasumatsui*, Takagi)蟲體上，至少已分離出 50 株以上之真菌，其中 *Acrodontium crateriforme*, *Acromyces ingoldii*, *Nalanthamala sp.* (= *Rubrinectria olivacea*), *Paecilomyces lilacinus* 以及 *Tritirachium dependens* 等以往曾被報導具侵染不同昆蟲之能力，新發現之 *Simplicillium lanosiniveum* 與疑似新種之 *Fusarium sp.*，皆有可能具有相當大的潛力，尤以疑似新種之 *Fusarium sp.*，雖已進行數次試驗，仍未觀察到明顯寄生現象，需要更加深入研究及探討驗證此寄生菌對白輪盾介殼蟲之寄生能力和病原性。未來需繼續探勘於台東蘇鐵自然保留區、自然保護區此等蘇鐵之白輪盾介殼蟲是否有更多

尚未被發現之蟲生真菌資源，以便更進一步分離鑑定，並檢測其病原性，以供研發微生物防治劑以供防治害蟲之用。

研究團隊說明

序號	機關名稱	單位名稱	研究人員	職稱
1.	國立台灣大學	植物病理與微生物學系	曾顯雄	計畫主持人 教授
2.	國立台灣大學	植物病理與微生物學系	曾敏南	博士班學生
3.	國立台灣大學	植物病理與微生物學系	周子禾	博士班學生
4.	國立台灣大學	植物病理與微生物學系	袁如陵	碩士班學生

參考文獻

- 黃振文、孫守恭，1997。台灣產鐮孢菌。台中世維出版社。
- 陶家駒。1989。臺灣省蚘蟲名錄。臺中區農業改良場研究彙報 22: 57-70。
- Williams, J.R., 1970. Studies on the biology, ecology and economic importance of the sugar-cane scale insect, *Aulacaspis tegalensis*, in Mauritius. *Bull. Entomol. Res* 60: 61-95.
- Asensio, L., Lopez-Llorca, L. V., and Lopez-Jimenez, J. A. 2005. Use of light, scanning electron microscopy and bioassays to evaluate parasitism by entomopathogenic fungi of the red scale insect of palms (*Phoenicococcus marlatti* Ckll., 1899). *Micron* 36: 169-175.
- Bartlett, B.R., et al., 1978. Introduced Parasites and Predators of Arthropod Pests and Weeds: A World Review. *Agric. Res. Service, USDA, Agric. Handbook* 480: p.106; 111.
- Baranowski, R. M. and Glenn, H. B., 2001. Classical biology control of Cycad Scale in South Florida. Unpublished note: 1 pp.
- Broome, T. The Asian cycad scale. Palm & Cycad Societies of Florida, Inc. <http://www.plantapalm.com/vce/horticulture/asiancycadscale.htm>
- Broome, T., 1998. The Coontie of Florida. In: *Cycad Encyclopedia*, Chapter 7, The cycads of. <http://www.plantapalm.com/vce/cycadsof/coontie.htm>
- Broome, T., 2002a. The Asian Cycad Scale. From the Cycad Society Newsletter. <http://www.plantapalm.com/vce/horticulture/asiancycadscale.htm>
- Broome, T., 2002b. What is a Cycad? From the Cycad Society Newsletter. <http://www.plantapalm.com/vce/horticulture/asiancycadscale.htm>
- Cornell University, 1997. Boyce Thompson Bugs Insects. http://www.cals.cornel.edu/CALS_News/v4il/bti.html
- Crop Pests. Volume 4B. Armored Scale Insects. Edited by D.Rosen.: 1-17.
- Evans, G.A. and Pedata, P.A., 1997. Parasitoids of *Comstockiella sabalis* in Florida and Description of a new Species of the Genus *Coccobius*. *Florida Entomologist*, 80(3): 328-334.
- Evans, H.C. And Prior. C., 1990. Chapter 2.1 Entomopathogenic Fungi. In: *World*
- Finnemore, H.J., 2000. An overview of the South African Mango Industry (Past & Future). <http://www.up.ac.za/academic/agrirural/mango/sa.html>

- Gempler's, 2001. Bug continues to infect Florida Ornamentals. Comments in: Gempler's IPM Solutions, December, 2001: 3 pp.
- Germain, J.F. (2002) *Aulacaspis yasumatsui* Takagi : un risque pour les cycas. PHM – Revue Horticole, no. 440, 43-44.
- Hodgson, C., and Martin, J. H. 2001. Three noteworthy scale insects (Hemiptera: Coccoidea) from Hong Kong and Singapore, including *Cribropulvinaria tailungensis*, new genus and species (Coccidae), and the status of the cycad-feeding *Aulacaspis yasumatsui* (Diaspididae). Raffles bulletin of zoology 49: 227-250.
- Howard, F.W., Hamon, A., MaLaughlin, M., Weissling, T., Yang, S-L. 1999. *Aulacaspis yasumatsui* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Diaspididae), a scale insect pest of cycads recently introduced into Florida. Florida Entomologist 82 (1): 14-27.
- Humber, R. A. 1998. Entomopathogenic fungal identification. <http://arsef.fpsnl.cornell.edu/mycology/corner/APSwkshp.pdf>
- Hamon, A. Cycad aulacaspis scale, *Aulacaspis yasumatsui* <http://doacs.state.fl.us/~pi/enpp/ento/aulacaspis.html>
- Heu, R.A., Chun, M.E. Sago Palm Scale - New Pest Advisory no. 99-01 - State of Hawaii Department of Agriculture. <http://www.hawaiiag.org/hdoa/npa.htm>
- Mains, E. B. 1959a. North American species of *Aschersonia* parasitic on Aleyrodidae. J. Insect Pathol. 1: 43-47.
- Mains, E. B. 1959b. Species of *Aschersonia* (Sphaeropsidales). Lloydia 22: 215-221.
- Plant pest notice. Central Science Laboratory. <http://www.defra.gov.uk/planth/pestnote/2006/cycad.pdf>
- Rasulo, T. R., and Brooks, R. F. 2004. Whitefly pests of Florida citrus. Entomology and nematology department, Florida cooperative extension service, institute of food and agricultural sciences, university of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/>.
- Takagi, S. 1977. A new species of *Aulacaspis* associated with cycad in Thailand (Homoptera: Coccoidea). Insecta Matsumurana New series 11: 63-72.
- Tang, W., Yang, S.-L., Vatcharakorn, P. 1997. Cycads of Thailand. Nong Nooch tropical garden and the cycad conservation company, Bangkok. 34 pp.
- Tzean, S. S., Hsieh, L. S., and Wu, W. J. 1997. Atlas of entomopathogenic fungi from Taiwan. p. 102-115.
- Weissling, T.J., Howard, F.W., Hamon, A. - Featured Creatures. Cycad *Aulacaspis* scale. http://creatures.ifas.ufl.edu/orn/palms/cycad_scale.htm

Williams, J. R. 1970. Studies on the biology, ecology and economic importance of the sugarcane scale insect, *Aulacaspis tegalensis*, in Mauritius. Bulletin of Entomological Research. 60: 61-95.

表、圖片說明

表一、10 % emulsifiable adjuvant oil (EAO) formulation 製備方式

Mineral oil EAO

1 ml TritonX 100 + 9 ml mineral oil 激烈搖晃混合均勻

10 % EAO oil formulation

1 ml Mineral oil EAO + 孢子懸浮液 + 無菌水至總體積為 10 ml

並加入 0.85% 之 NaCl

表二、台東蘇鐵自然保留區罹病台東蘇鐵枝葉上之白輪盾介殼蟲或鄰近基質分離之真菌

菌種名稱	分離地點
<i>Acrodontium crateriforme</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Acromyces ingoldii</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Helminthosporium solani</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Nalanthamala</i> sp. (<i>Rubrinectria olivacea</i>)	台東蘇鐵保護區
<i>Peecilomyces lilacinus</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Pestalotiopsis planimi</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Pestalotiopsis theae</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Pestalotiopsis virgatula</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Tritirachium dependens</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Verticillium fungicola</i> var <i>fungicola</i>	台東蘇鐵保護區

<i>Simplicillium lanosiniveum</i>	台東蘇鐵保護區
<i>Fusarium sp.</i>	台東蘇鐵保護區

表三、使用含 *Fusarium sp.* 之 10 % EAO oil formulation 接種之方式

接種日期	蟲體消毒	孢子濃度 (ml-1)	劑型	RH(%)	使用菌株	備註
10/3	X	10 ⁵ 、10 ⁶	Water suspension	43	<i>Fusarium sp.</i>	
10/6	X	10 ⁵ 、10 ⁶	Water suspension	43	<i>Fusarium sp.</i>	
10/14	O	10 ⁵ 、10 ⁶	10% Oil (EAO)	43	<i>Fusarium sp.</i>	
10/16	O	10 ⁶	10% Oil (EAO)	43	<i>Fusarium sp.</i>	
10/23	X	10 ⁶	10% Oil (EAO)	/	<i>Fusarium sp.</i>	盆栽植株
10/24	X	10 ⁶	10% Oil (EAO)	/	<i>Fusarium sp.</i>	盆栽植株
10/30	O	10 ⁶	10% Oil (EAO)	80	<i>Fusarium sp.</i>	
10/31	O	10 ⁶	10% Oil (EAO)	80	<i>Fusarium sp.</i>	
11/3	O	10 ⁶	10% Oil (EAO)	80	<i>Fusarium sp.</i>	
11/10	O	10 ⁶	10% Oil (EAO)	80	<i>Fusarium sp.</i>	
12/3	O	10 ⁶	10% Oil (EAO)	80	<i>Fusarium sp.</i>	

表四、1971~2000 年台東氣象站氣候資料統計表

項目	降雨量	降雨日數	平均氣溫	相對濕度	最高氣溫	最低氣溫
單位	毫米	天	攝氏度	百分比	攝氏度	攝氏度
1月	43.2	10	19.2	73	22.9	16.5
2月	47.5	11	19.6	75	23.2	16.9
3月	43.1	10	21.7	75	25.2	18.8
4月	73.8	12	24	77	27.6	21.1
5月	156.9	15	26	79	29.5	23.2
6月	247.8	13	27.7	79	31.1	24.9
7月	280.5	10	28.7	77	32.1	25.7
8月	308.2	12	28.4	78	31.9	25.5
9月	299.4	14	27.3	77	30.9	24.5
10月	236	11	25.6	74	29.2	22.9

11 月	78	9	23	72	26.5	20.4
12 月	41.7	8	20.4	71	23.9	17.7
合計	1856.1	135	24.3	75	27.8	21.5
統計期間	1971-2000	1971-2000	1971-2000	1971-2000	1971-2000	1971-2000

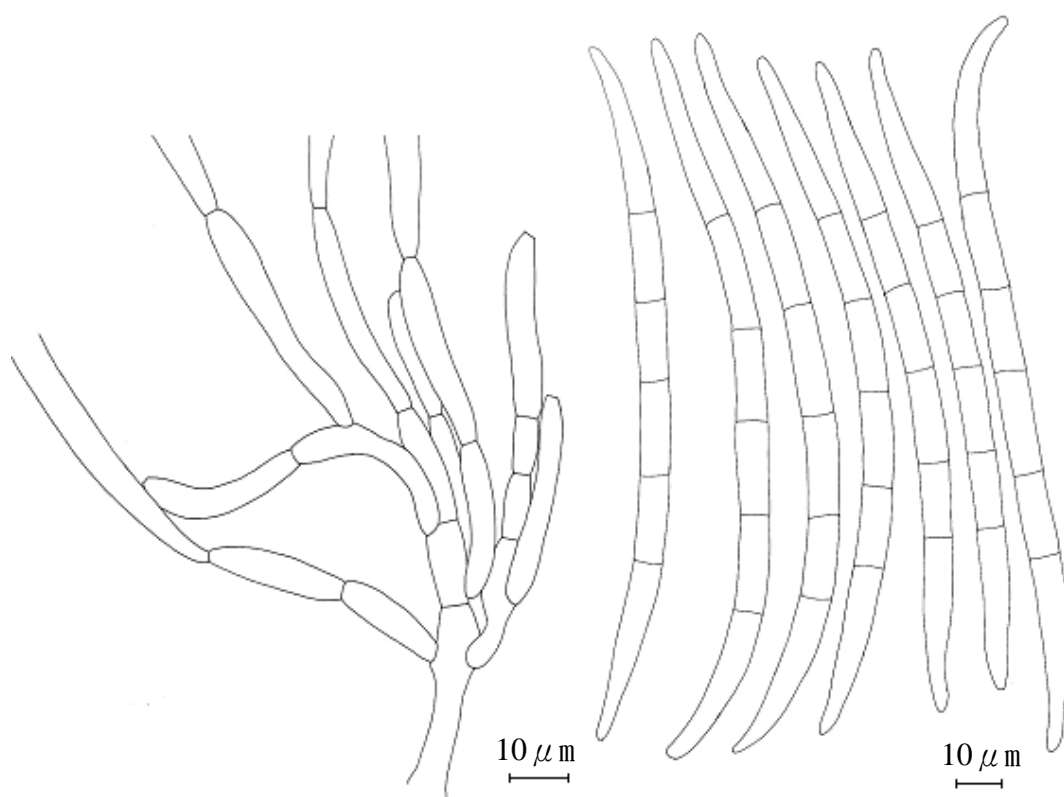
中央氣象局提供

Fusarium sp.

外觀型態

生長緩慢，菌落生長初期呈白色，2至3天後即呈鮮橙色或褐橙色，在含有白輪盾介殼蟲之PDA培養基上則為紅橙色。菌落略微平貼，成毛絨狀或小叢狀，偶會分泌橙色色素至培養基中，背面為鮮橙色。培養基表面偶有橙色或無色結晶物質累積在菌絲旁。氣生菌絲透明無色，外表平滑，匍匐菌絲則略為膨大成念珠狀，寬約4~5.5 μm 。1~2週後，菌落中央形成產孢構造分生孢子禱(sporodochia)，由大量產孢枝及瓶梗所構成。瓶梗成圓柱狀，透明無色偶有分枝，末端一次產生一個孢子，在孢子連結處略微缢縮。只產生大孢子，為鐮刀狀，兩端略微彎曲，透明無色，外表平滑，多為5-6個隔膜，5隔膜孢子之大小為：110-136.2 x 5-6 μm ；6隔膜為131-163.2 x 5-6 μm ，在白輪盾介殼蟲上分離的分生孢子則可達9-11個隔膜，大小為133-175 x 5-6.5 μm ，在數量上亦較多。孢子外表略成黏稠狀，脫落後堆積在瓶梗附近，形成球狀或燭焰狀，鮮橙色的孢子堆。

參考資料：Huang, J. W and Sun, S. K., 1997. The genus *Fusarium* form Taiwan, p21-22. Booth, C., 1971. The genus *Fusarium*, p100-102.



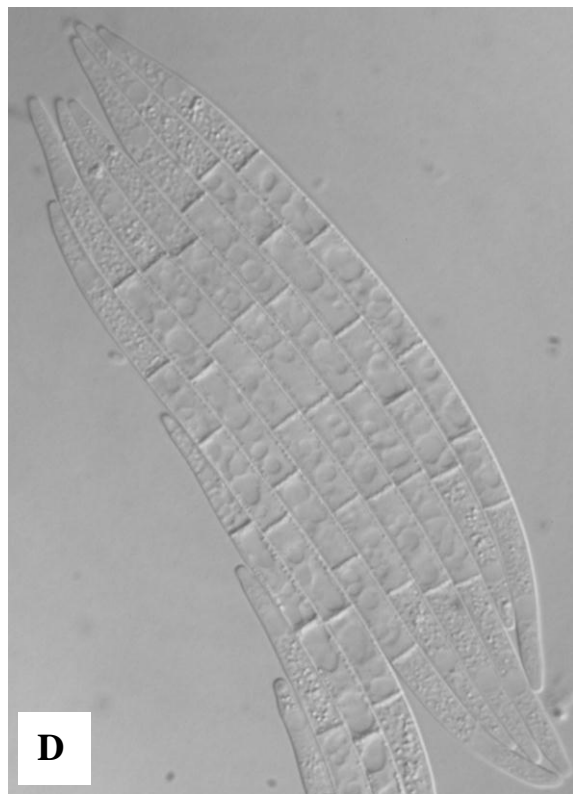
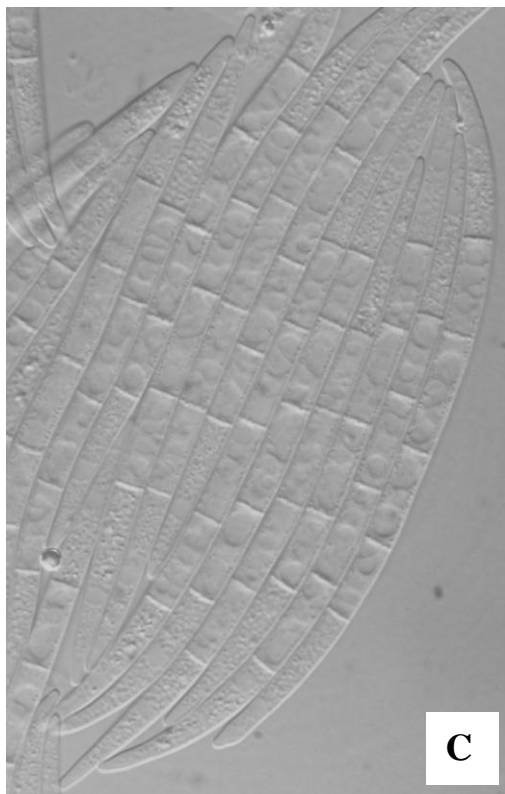
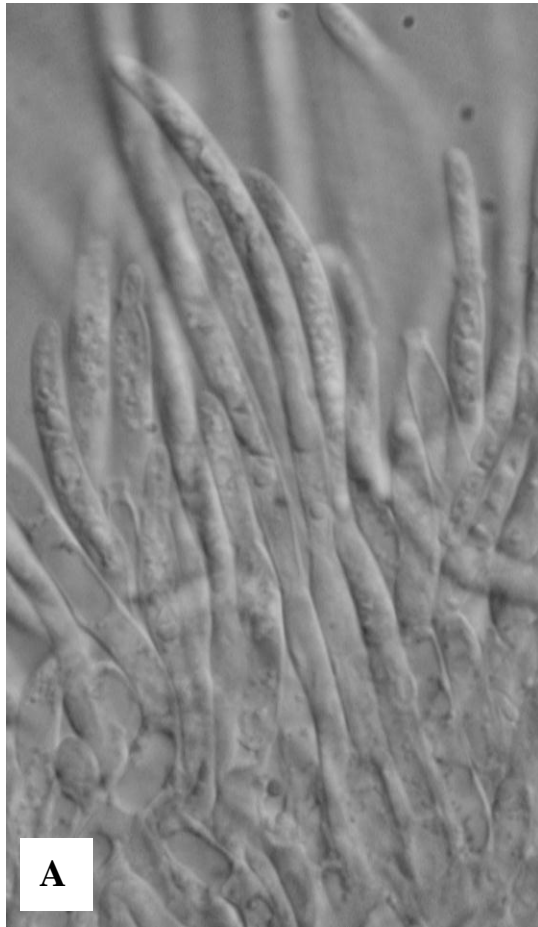
圖一、疑似新種之 *Fusarium* sp. 之解析與圖解。

圖解

本株 *Fusarium sp.* 與曾於梨山梨樹之介殼蟲被分離之 *Fusarium cocophyllum* (黃、孫, 1997) 及 C. Booth 氏所描寫之 *Fusarium cocophyllum* (Desm.) Wollenw. & Reink (The genus *Fusarium*, 1971), 在菌落顏色與構造, 以及明顯可見之產孢構造, 分生孢子褥 (sporodochia) 上皆類似。但在孢子大小上, 本株 *Fusarium sp.* 至少皆大於黃、孫氏及 C. Booth 氏所描寫的大小約 $30\ \mu\text{m}$ 。且孢子內之隔膜間距亦大於三位學者所拍攝之照片或繪製之圖片。台東蘇鐵之 *Fusarium sp.* 似較長而纖細, 而 Booth 所描寫者則較寬而略短, 此外, 在蟲體上之孢子為 9-11 個隔膜, 孢子大小 $133-175 \times 5-6.5\ \mu\text{m}$, 而培養基上為 5-6 個隔膜, 大小為 $110-136.2 \times 5-6\ \mu\text{m}$ 。且在白輪盾介殼蟲上並不會形成子囊殼 (perithecia)。

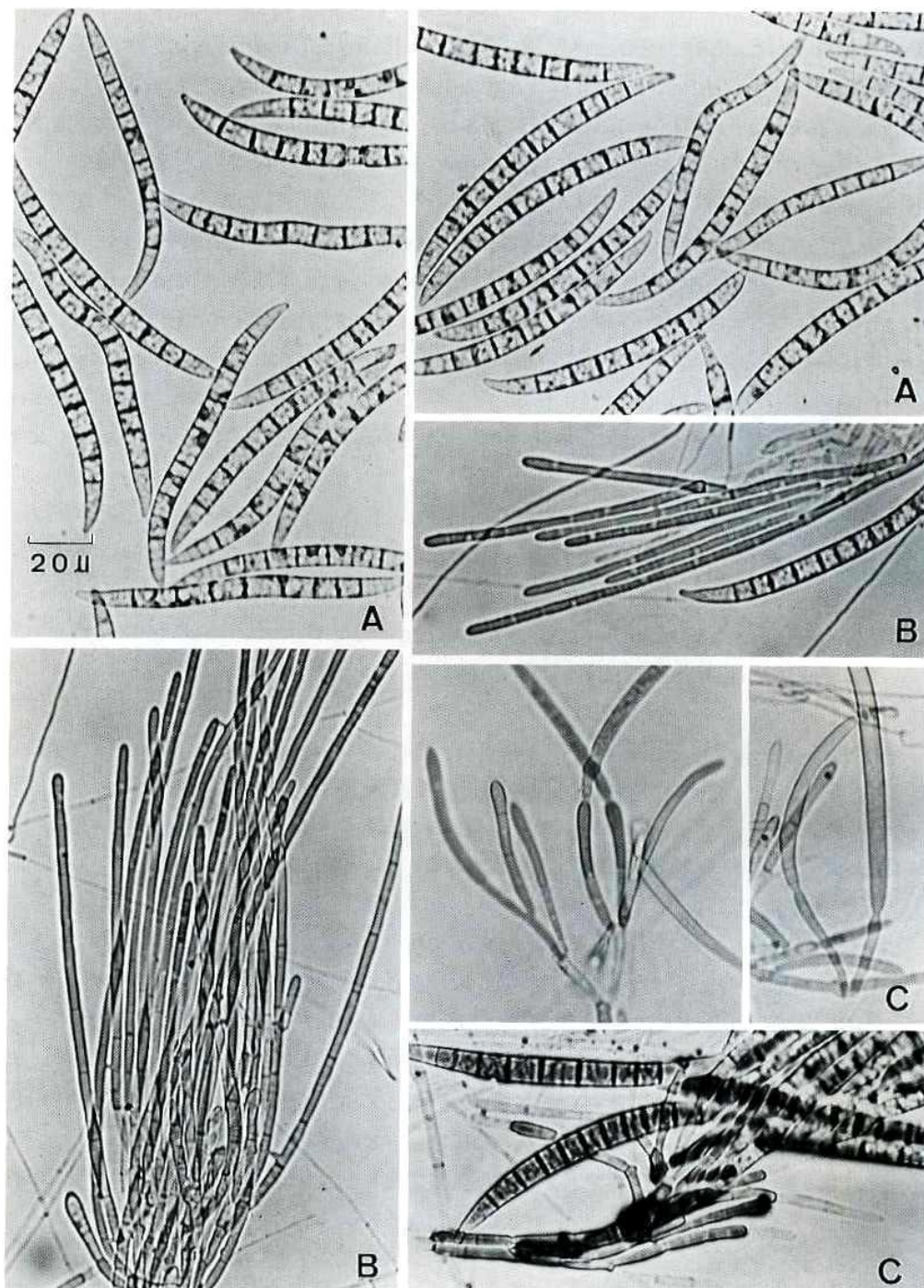


圖二、(A) *Fusarium sp.* 寄生白輪盾介殼蟲, 所長出類似火焰狀之分生孢子褥 (sporodochium); (B、C) 寄生白輪盾介殼蟲之不同分離株的菌落。



圖三、白輪盾介殼蟲蟲體所分離之 *Fusarium sp.* 之型態構造特徵(A、B)分生孢子

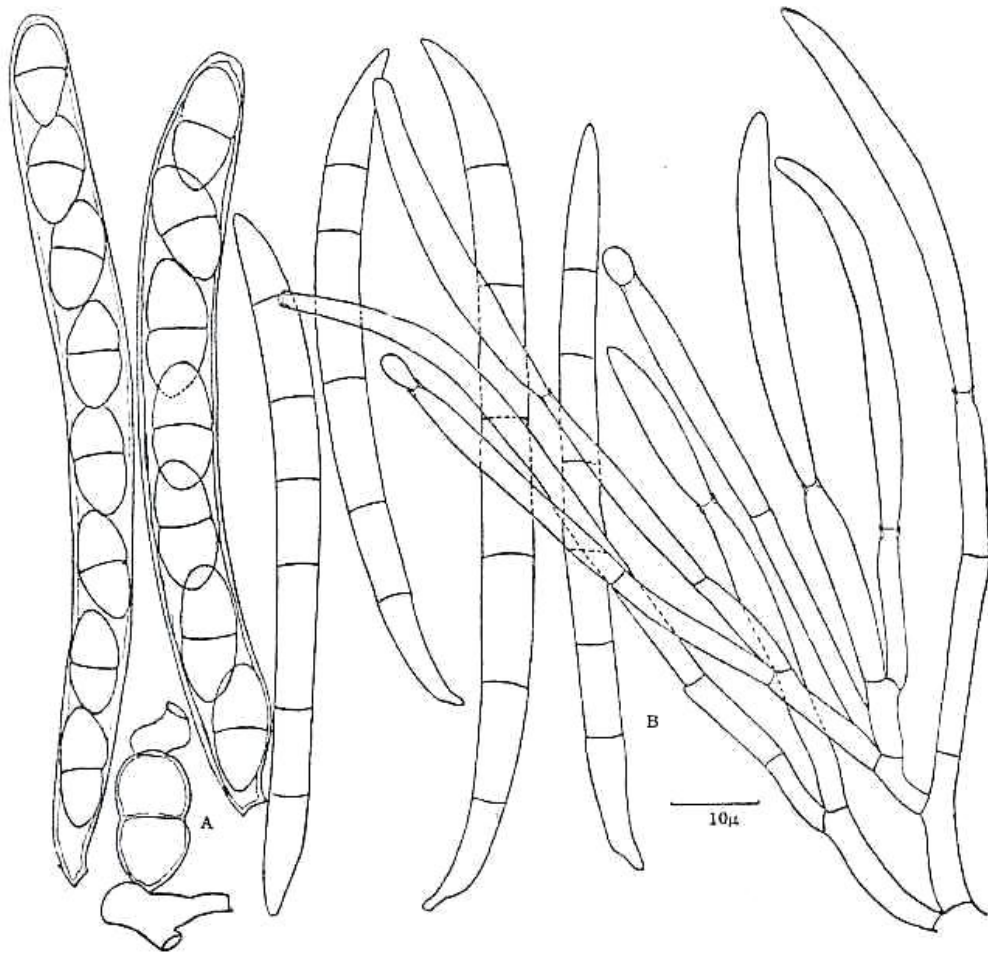
梗及瓶梗；(C、D)大分生孢子。



Fusarium coccophilum (NCHU 3003)

A. Macroconidia, B. Conidiophores, C. Monophialides.

圖四，J.W. Huang and S. K. Sum 所描寫之 *Fusarium coccophilum*

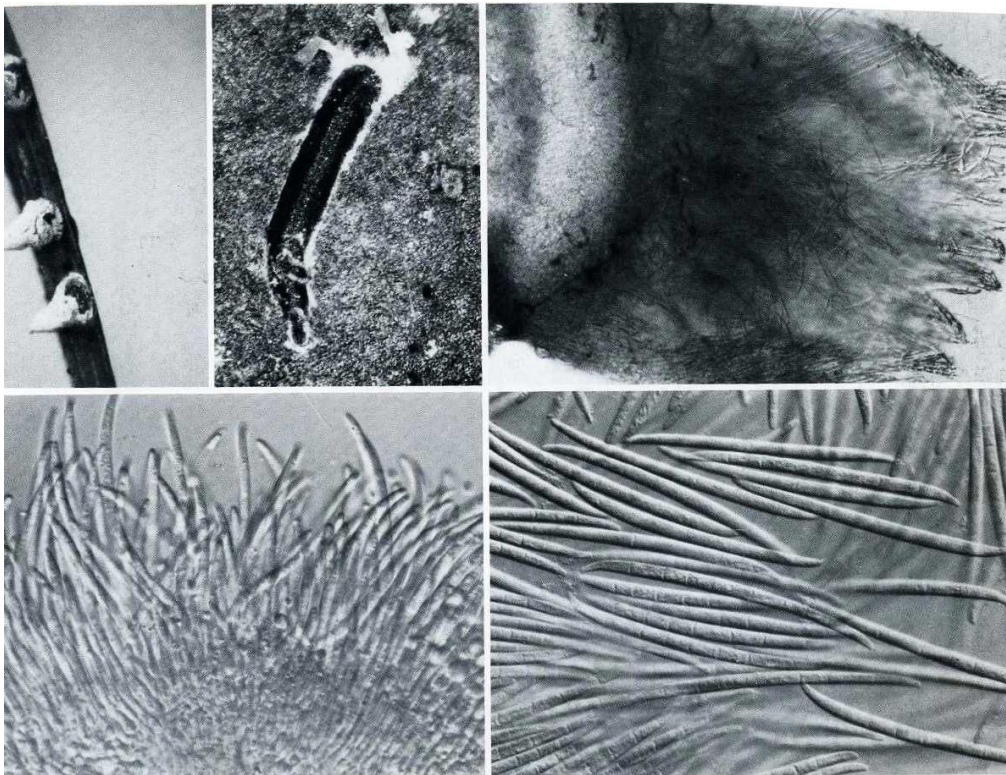


Fusarium coccophilum (*Nectria flammea*). A, asci and ascospores; B, conidiophores and conidia.

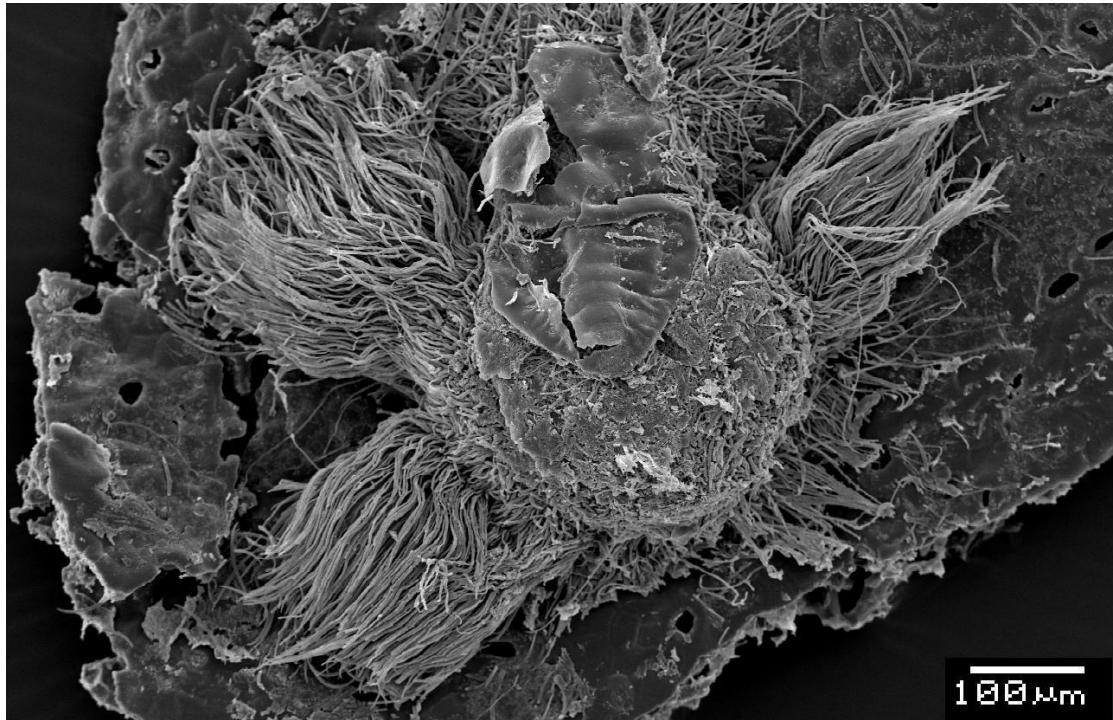
圖五、C. Booth 氏所描寫之 *Fusarium coccophilum*



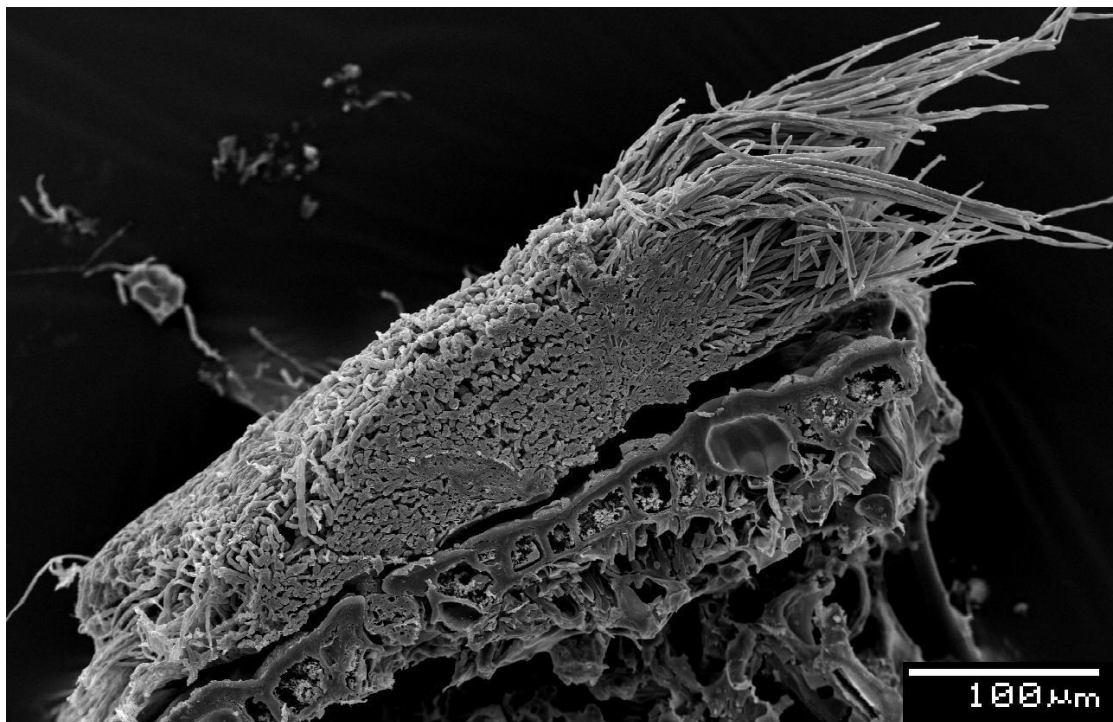
Fusarium coccophilum on pine-needle scales
(*Phenacaspis*), Honduras.



圖六、寄生 pine-needle scales 之 *Fusarium coccophilum*



圖七、白輪盾介殼蟲蟲體內部組織為 *Fusarium sp.* 菌絲完全取代。



圖八、白輪盾介殼蟲蟲體縱剖面，可觀察到 *Fusarium sp.* 菌絲為橫向生長。

審查委員(一)林試所張研究員東柱博士

審查意見

1. 本次的調查研究已發現多種白輪盾介殼蟲的寄生真菌，成果豐碩。
2. 建議在這些寄生真菌中，研發可在林地防治的種類及應用的方法。

意見回覆

將先擇先前文獻已經記載具寄生潛力之台東蘇鐵保留區 23-40 林斑所分離、鑑定、保存之昆蟲寄生菌，改良其當為接種源之劑型，如微滴油劑，以及改良接種方法，如先使寄生昆蟲弱化(predisposition)再行接種、溫室培養(incubation)，先行證實此等蟲生真菌之病原性，之後再行設計最佳劑型，如油劑或可濕性粉劑，於溫室或校園、林間，如台大校園、台東蘇鐵保護區、保留區，較容易施放之處施放，並以不釋放之處當為對照組，之後比較不同處裡別間之異同，以及有效性之追蹤評估，若確具成效，則將再行研擬整體性之防治流程規範，包括施放劑型、方式、地點、季節、後續成效追蹤，以及可能之生態衝擊評估等。

審查委員(二)食品所袁主任國芳博士

審查意見

1. 建議所分離之菌種應妥善保存，尤其是對蘇鐵白輪盾介殼蟲具有侵染能力之菌種，以維持菌種活性。
2. 該疑似新種之 *Fusarium sp.* 建議確定菌名，如為新種應做正式發表，除型態特徵外，建議應以分子數據確認是否為新種。如確實可做為蘇鐵白輪盾介殼蟲防治的真菌性天敵，則更應做專利申請，以取得智慧財產權保護。

意見回覆

1. 將由台東蘇鐵之白輪盾介殼蟲所分離疑似較具侵染潛能之台灣新紀錄種蟲生真菌，如 *Acrodontium crateriforme*、*Simplicillium lanosiniveum*、*Tritirachium depends* 在論文發表後，盡速寄送食品工業研究所生物資源蒐集暨研究中心 (Bioresource Culture and Research Center, BCRC) 以最妥適之方式保存，以維持其生理活性。
2. 由台東蘇鐵白輪盾介殼蟲被寄生之蟲體所分離之 *Fusarium sp.* 應用 ITS1-ITS4 廣泛性引子對(primers)，應用 PCR 增幅 ITS1-5.8S-ITS4 之 DNA，並將其定序，將序列上傳美國 NCBI 之基因資料庫比對，結果顯示和 *Fusarium* 屬之成員最為略似，其相同度(identity)，達 96% 之間，一般相同度在 98% 以上，方被認為係隸屬於同種，故以此標準(parameter)衡量、配合考量此菌之菌落型態、孢子堆(sporodochia)、產孢細胞(conidiogenous cell)、鐮刀型孢子型態特徵(長度、隔膜數、大小)等特徵，皆顯示有別於以往被報最為近似可寄生於柑桔之介殼蟲(*Coccusviridis*)、以及松樹之介殼蟲(*Phenacopsis*)之 *Fusarium*

cocophilum，故應為一台灣特有種(endemic species)，殆無疑義。擬於最近撰寫論文投稿至國際真菌學研究期刊予以發表，在確切證實其可寄生入侵之台東蘇鐵白輪盾介殼蟲後，將可能會做專利申請，以取得智慧財產權保護。

審查委員(三)國立中興大學陳教授隆鐘

審查意見

1. 因蟲生真菌有很多例子，在分離時常把腐生型誤判為寄生型，所以如果再擴大研究時，可以加以大量收集菌株，並建立一套有效寄生性與腐生性真菌之鑑別方式以利往後研究及應用。
2. 請加強有潛力之蟲生真菌(疑)之生理生態研究，並加強其致病能力之詳細研究，如感染過程等。
3. 在結果與討論之最後一段，提出利用人工突變及遺傳工程等方法改良其遺傳特性，是否可以再思考，因風險評估及環境衝擊均為應用考慮之對象。

意見回覆

目前據文獻，或專誌記載全世界已被證實具寄生侵染昆蟲之能力之蟲生真菌為數大約 700 種左右，其中 *Fusarium cocophilum* 即為其中之一(黃振文、孫守恭 1997；Samsen, R. A. et al, 1988；Booth, 1971)。此外，蟲生真菌和生長於蟲體上之腐生真菌，最大之分野是蟲生真菌之寄生模式是先以孢子附著蟲體，發芽後產生或不產生附著器(appressorium)，之後再以侵入釘(infection peg)入侵寄透昆蟲之角質層、肌織，基底膜，再進入血體腔，然後破壞分解昆蟲之器官組織，吸收所分解釋出之養分滋養生長、發育、殺死昆蟲寄主，最後再由內往外，最可能經由節間膜突破昆蟲之體表，產生產孢構造，如子實體或分生孢子堆、分生孢柄、分生孢子，然後主動釋放子囊孢子，或被動經由風雨濺曬，被動傳播。通常昆蟲被昆蟲寄生菌寄生後，早期厭食、萎靡、身體失去光澤，但體表並無任何之昆蟲寄生菌之表徵(sign)出現，此特徵係界定於昆蟲體上之昆蟲寄生、腐生真菌之關鍵所在，以此標桿衡量，雖然在自然界 *Fusarium* 之種類繁多，其中不少種類行腐生生活，但由台東蘇鐵白輪盾介殼蟲所分離之 *Fusarium* 極可能是寄生菌而非腐生菌。本計劃後續亟需進行之研究誠如審查委員所提之寶貴審查意見，如應再確認此等疑似昆蟲寄生菌之病原性、生理、生態等之研究；此外，也將利用對昆蟲以重複接種方式，再進行較具病原性菌株之篩選。