

## 農藥研發成果發表暨登記作業研討會

行政院農業委員會 農業藥物毒物試驗所

### 防除平原菟絲子炭疽病菌製劑之製造方法 (液態培養)



報告人：謝玉貞

發明人：謝玉貞、林芳妘、林麗淑

單位：農業藥物毒物試驗所 公害防治組

電話：04-23302101-606

### 說明：技術內容與商品化價值及市場潛力

- 本發明係一種真菌生物製劑，藉由病原菌專一性從平原菟絲子植物所分離炭疽病菌，經由大量培養，感染寄生性雜草平原菟絲子，使其萎凋死亡，而不傷害寄主，使寄主植物恢復生機，經三次間隔時間噴灑，其防治效果可達95%以上。



金露花

南桃園交流道

## 旋花科--平原菟絲子植物

1. 寄主範圍廣泛，藉由吸器攝取寄主之水分及養分，造成植物生長衰弱，進而影響景觀。
2. 目前無化學除草劑行選擇性防除。
3. 人力或機械除草效率低，甚至助長其傳播。
4. 生物防治法：藉由病原菌專一性地感染，使平原菟絲子萎凋死亡，而不傷害寄主植物，使寄主植物恢復生機。
5. 旋花科雜草生物除草劑：
  - (1) 中國大陸在1963年在危害大豆的中國菟絲子上，分離到炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cuscuta*)，命名為「魯保一號」。
  - (2) 美國在1986年在Swamp Dodder (*Cuscuta gronovii*)上，分離到鏈格菌 (*Aternaria destruens* E.G., Simmons)，產品命名Smolder，2006年由美國Sylvan公司生產上市，目前已無銷售。



國內市場而不原  
因：

### 1. 危害經濟作物：

苗圃園、園藝、種植蔬菜、有機業者。

### 2. 大面積危害，人工無法防除：

河堤、邊坡、荒耕地。

### 3. 無法使用化學農藥防除：

學校、市容維護（例如：中央分隔島、草花島）、

各地交流道、園藝景觀綠化美化工程地。

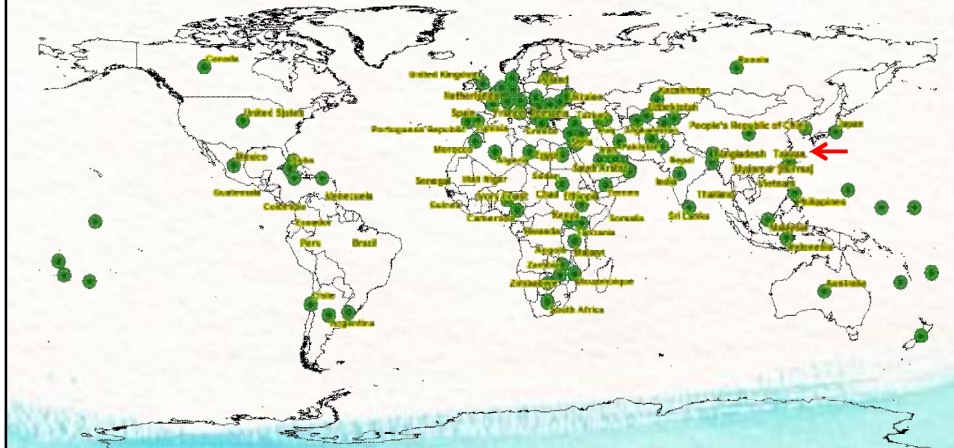
### 4. 種子庫問題之產生：

種子在土壤裡可存活至少5年以上，故需長期防治。



全球平原菟絲子危害情形  
尚無生物製劑可使用

Plantwise Knowledge Bank  
Species currently displayed:(2014.11)  
*Cuscuta campestris*



平原菟絲子炭疽菌/固體培養



→  
洗下孢子



↓  
添加  
佐劑

逢甲大學：校園內(98年)

非洲鳳仙花

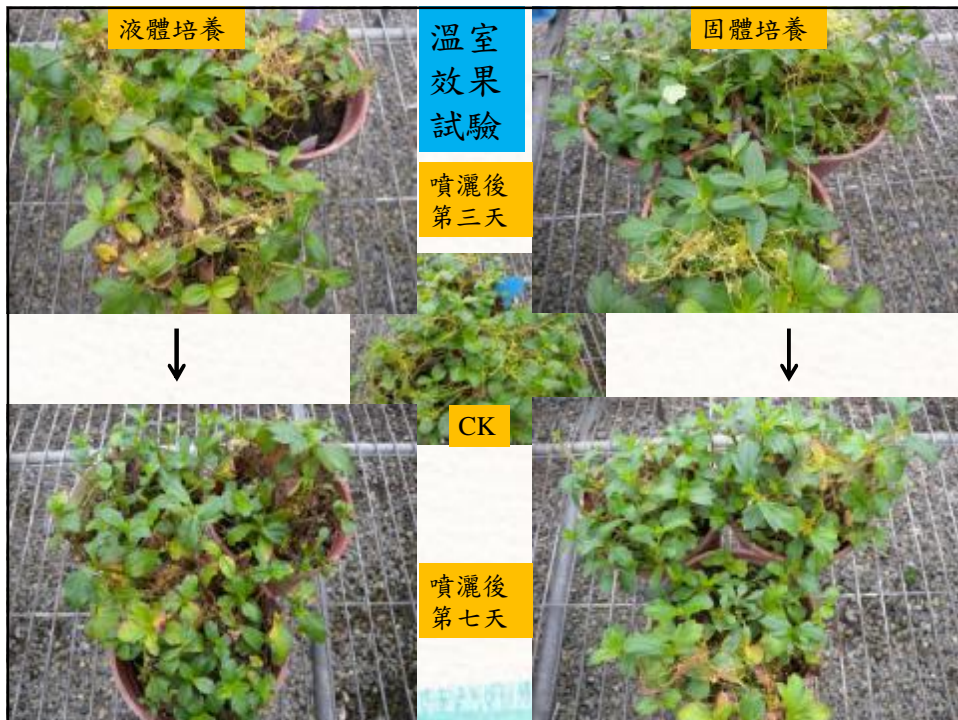


## 平原菟絲子炭疽病菌/液體培養

# 成功研發液體培養方式來量產，省時、省力、省空間又省成本。

目的：

- (1) 降低成本，縮短製程並簡化，並朝向試量產。
- (2) 縮小栽培空間與栽培壽命延長。



## 平原菟絲子炭疽菌/液體培養



液體培養

→

粗過濾



↓

添加  
佐劑

生物防治

前



淡江大學：校園  
內(102年10月)

後



前



後



## 液體培養優缺點

項目	液體培養
1.人力	流程簡單(接種時不需攪拌、直接過濾)
2.時間(例如：接種菌、粗過濾)	短(<30分鐘)
3.空間	較不佔空間
4.所需具備儀器	定溫震盪培養箱(需光照)，試量產-發酵生產設備
5.定溫培養4~5天孢子濃度	$1\sim 3 \times 10^7$
6.田間致病力效果	接種 $1 \times 10^6$ 以上孢子量，第3~4天開始看到病徵
7.儲存期限4°C	進行中
8.培養成本(原液1公升)	37元/公升-實驗室成本(大量採購還可再降價空間)
9.佐劑成本(1公升)	2.5元/公升-實驗室成本(大量採購還可再降價空間)
10.田間施用10公升總成本 (不含水電與人工成本)	62元/稀釋成10公升

## 已完成研發成果摘要 **基礎研究階段**

流 程		執行現況
<b>基 礎 研 究 階 段</b>	菌種篩選及鑑定	已完成孢子型態與分子鑑定，食科所專利寄存。
	菌種應用潛力評估	已完成專一性防治平原菟絲子植物，使用10品種(species)與3亞種(isolate)炭疽病原菌測試及14科39種植物。
	有用基因篩選	已建立特定標的基因序列，進行本菌株鑑定。
	基因選殖、定序與表現	已完成三種以上基因選殖與定序，並登錄於GenBank中。
	菌種作用機制 (殺蟲、殺菌、拮抗)	主要針對(旋花科：平原菟絲子)植物進行生物防治。
	有效成份分析 (孢子數、代謝產物量)	已完成有效成分分析及致病性效果分析。
	先導量產條件	已研發固體培養及液體培養-最新之製程。
	菌種活性測試	已完成孢子活性測試。
	先期田間測試	已完成10場以上田間生物製劑藥效測試，新的液態培養。已完成網室與田間3場以上之試驗結果。
	菌種安全性評估	已完成田間孢子消散測試，建立使用分子標誌方式追蹤。
田間使用操作注意事項	根據已建立記錄平原菟絲子外觀型態、生物特性及繁殖特性，包括無性繁殖與種子繁殖生長特性(溫度、覆土深度、PH值、水分潛勢測試及生長週期)。已設計出合適田間使用操作注意事項。	
田間佐劑(Know-How)	已完成田間佐劑合適百分比添加量之測試與安全性測試。	

## 已完成研發成果摘要 **商品化與產業化階段**

<b>商 品 化 及 產 業 化 階 段</b>	產品市場潛力評估	目前台灣與其他國家亦有相同危害，但無商品化生物製劑可使用。
	擴大產程開發	目前實驗室1公升量產沒問題，嘗試5公升發酵槽生產至100~200公升試量產。
	製劑配方	液體製劑配方。
	產品櫥架安定性評估	固體培養需冷藏，可保存1個月。 液態培養新的劑型，重新評估。
	產品品質管制與理化性試驗	相關試驗進行中。
	產品動物毒理試驗	1. 已完成原體(孢子)對大鼠口服及肺急毒性之感染性及致病性試驗。 2. 已完成液態培養所產生代謝產物，安全毒性試驗。
	產品EUP田間效果試驗	依據廠商所需劑型，協助進行產品EUP田間效果試驗。

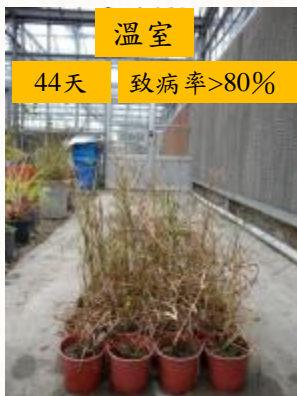
## 田間添加佐劑製劑之配方(Know-How)

水田間瓣花測試



水 孢子 孢子 孢子  
(A劑) (A+B劑) (A+B+C劑)

## 牛筋草真菌(EI-1)除草劑之田間活性初步測試



接種第三次之結果

28天  
致病率70~80%



田間小花蔓澤蘭開花期接種—抑制種子成熟減少種子量產生

CK



接種後第23天觀察結果



接種後第30天觀察結果



種子已成熟

M1



種子無成熟

## 技術轉移 內容概要項目：

- (1) 平原菟絲子炭疽病菌CUSCA02菌株。
- (2) 平原菟絲子炭疽病菌CUSCA02菌株之ITS基因核酸序列。
- (3) 菌株基本生物特性資料：合適培養生長溫度、產孢及發芽條件。
- (4) 液體培養平原菟絲子炭疽病菌之量產之製造方法(試量產5~200公升)。
- (5) 肺及口毒性/致病性毒理試驗報告。
- (6) 田間添加佐劑製劑之配方(Know-How)。
- (7) 菌株分子標誌鑑定方法及核酸序列資料。
- (8) 田間平原菟絲子防治生物製劑操作注意事項。
- (9) 提供綜合性技術指導服務。

聯合報10月21菟絲子攻占新竹縣海岸，將馬鞍藤當寄主並覆蓋其上，綠色定沙植物馬鞍藤不保。記者羅緝綸／攝影  
(馬鞍藤功能：定沙)



新竹縣/新豐鄉/坡頭漁港(102/11)



敬請指教