

本土昆蟲病原真菌防治秋行軍蟲的應用潛力與其對非生物逆境的耐受性

林芸竹¹、楊雨慈¹、曾珍¹、陳巧燕²、楊永裕^{1*}

¹ 國立屏東科技大學植物醫學系

² 桃園區農業改良場

* 聯絡作者，E-mail: nasuta@mail2000.com.tw and yyyang@mail.npust.edu.tw

摘 要

林芸竹¹、楊雨慈¹、曾珍¹、陳巧燕²、楊永裕^{1*}。2025。本土昆蟲病原真菌防治秋行軍蟲的應用潛力與其對非生物逆境的耐受性。植物醫學67(2): 45-60。

秋行軍蟲 (*Spodoptera frugiperda*) 於 2019 年入侵台灣後，嚴重危害玉米及高粱等糧食作物，其幼蟲啃食玉米葉片、花穗、鑽進生長點取食，導致產量及品質下降。目前噴灑化學農藥是主要的防除方法，但長期施用易產生抗性，因此本研究目的是利用昆蟲病原真菌 (Entomopathogenic fungi, EPF) 作為防治資材，篩選具防治秋行軍蟲潛力與對紫外線、農藥等非生物逆境具有耐受性之菌株，供試菌株包括爪哇擬青黴菌 (*Cordyceps javanica*) PMEPF02、白僵菌 (*Beauveria bassiana*) PMEPF11、PMEPF23。以浸葉法測試上述三支菌株對秋行軍蟲幼蟲的致病性，結果顯示 PMEPF02 致病力最高，LT₅₀僅需約1.69天，其次依序為PMEPF11及 PMEPF23，LT₅₀分別為 3.27、6.11 天。在紫外線這種物理逆境中，以 PMEPF11 耐受性最佳，其在UV-B 處理15分鐘後仍有42%發芽率；在農藥這種化學逆境測試中，結果顯示玉米推薦用藥的殺菌劑普克利及除草劑固殺草、百速隆三者皆抑制三株昆蟲病原真菌的孢子發芽；而白僵菌 PMEPF11與蘇力菌商品 (福祿寶) 混合使用不僅能提升殺蟲效果，也使 LT₅₀ 縮短至 0.68 天。綜上所述，白僵菌 PMEPF11 為具防治秋行軍蟲潛力與抗逆境之菌株，且與商品福祿寶混合使用可縮短致死時間。

關鍵詞：致病力、半數致死時間、紫外線、化學農藥、菌絲生長、產孢量、發芽率

緒 言

秋行軍蟲於 2019 年入侵台灣⁽⁶⁾，目前防治方法以化學藥劑為主，但長期使用會使害蟲產生抗藥性且對生物多樣性、環境造成負面影響⁽³⁶⁾。此外，也有文獻發現秋行軍蟲已對蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*) Cry1Ab、Cry1Ac、Cry1F、Cry2Ab2毒蛋白產生抗藥性^(13, 17, 28, 40)。

昆蟲病原真菌 (Entomopathogenic fungi, EPF) 是一類能夠感染並致死昆蟲的真菌，可作為生物防治劑 (Biocontrol agent)，有效降低害蟲族群數量⁽³⁷⁾。經研究證實白僵菌對秋行軍蟲具有良好的防治效果⁽¹⁵⁾，然而，影響其防治效果的因素眾多，包括真菌種類、施用方式及頻率、氣候條件，以及目標害蟲的種類⁽¹⁹⁾，其中，高溫、濕度、紫外線、農藥及光照等非生物因子對菌株存活與致病力影響最為顯著^(19, 23)。研究指出，即使是低劑量的UV-B照射，也顯著降低白僵菌與爪哇擬青黴菌的孢子發芽率與致病力⁽⁴⁷⁾。此外，殺菌劑、殺蟲劑和除草劑是管理作物的，但可能會影響昆蟲病原真菌的致病力⁽²³⁾。因此評估菌株在非生物逆境條件下的活性，可有助於後續篩選具田間應用潛力的本土菌株。

目前國外已商品化的昆蟲病原真菌包括白僵菌、黑僵菌 (*Metarhizium anisopliae*、*M. rileyi*)、蠟蚧輪枝菌 (*Lecanicillium lecanii*) 與玫瑰擬青黴菌 (*Cordyceps fumosorosea*)⁽²⁶⁾；而台灣市售的昆蟲病原真菌商品則僅有沅漢生物科技開發的白僵菌商品一僵僵好，本研究旨在篩選具防治秋行軍蟲潛力，且對非生物逆境具耐受性的本土菌株，以提升其田間應用的實用性與穩定性。

材料與方法

一、供試昆蟲、菌種來源

(一) 供試昆蟲

試驗昆蟲為秋行軍蟲，由本實驗室採集於高雄市路竹區之玉米田區。試驗昆蟲飼養於國立屏東科技大學熱帶農業研究中心 AR402 實驗室，將一至三齡幼蟲飼養於 100 目通氣網之方型養蟲盒中 (長 21cm × 寬 21cm × 高 6cm)，室內空調設定為 27°C、光周期 12L: 12D，幼蟲以新鮮玉米葉飼養，幼蟲至四齡後，移至 40 格透氣孔之透明塑膠飼養盒中進行單隻飼養，並參考 Wang *et al* (2019)⁽³⁹⁾ 之人工飼料進行飼養至化蛹。化蛹後，將約 400 顆蛹平均放置於長 30 公分、直徑 12 公分的兩個水管中，並在管中內部鋪上兩張 A4 紙用來收集蟲卵，成蟲羽化後餵食 10% 糖水，收集蟲卵後以進行繼代飼養及後續試驗。本研究選用二齡幼蟲進行試驗，因為三齡秋行軍蟲會鑽入生長點，使防治變得更加困難，因此建議在二齡幼蟲之前進行防治。

(二) 供試昆蟲病原真菌菌株來源及保存

供試之三支昆蟲病原真菌菌株分別為爪哇擬青黴菌 (*Cordyceps javanica*, PMEFP02)、白殭菌 (*Beauveria bassiana*, PMEFP11 和 PMEFP23)。將上述菌株培養於馬鈴薯葡萄糖培養基 (Potato dextrose, PDA)(Sigma-Aldrich, Germany) 七天後，使用解剖刀切取約 1 立方公分之菌絲塊放入冷凍管中，並添加已滅菌的 10% 甘油 (Sigma-Aldrich, Germany) 作為冷凍保護劑，放入細胞漸凍盒 (CoolCell LX BCS-4050, Biocision, USA) 中降溫，降溫速率為 -1°C/min，暫存於 4°C 一天後，將冷凍管移入 -20°C 冰箱。菌種活化時將保存管取出後置於 37°C 水浴槽使其快速回溫，接著培養於經高溫高壓滅菌 (121°C、20 分鐘) 之馬鈴薯葡萄糖培養基，培養條件為 27°C，待菌落長出後，以移植環勾取菌絲及孢子，繼代至馬鈴薯葡萄糖培養基培養七日備用。

(三) 昆蟲病原真菌之孢子懸浮液配製

使用無菌解剖刀刮取培養七天的菌絲及孢子加入裝有 0.05% Tween20 (Sigma-Aldrich, Germany) 溶液的離心管中，震盪使其分散均勻，使用濾紙過濾菌絲後，利用血球計數器 (Marienfeld, Germany) 在複式顯微鏡下計算孢子數，並以 0.05% Tween20 (Sigma-Aldrich, Germany) 溶液稀釋至目標濃度。

二、菌種鑑定

三株昆蟲病原真菌利用 DNA Tissues Mini Kit (諾貝爾生物有限公司, 台灣) 進行 DNA 萃取，萃取完成後利用真菌通用

引子 ITS1/ ITS4 與 EF1 α 進行聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR)，詳細引子序列參考⁽³³⁾。PCR 反應的樣本總體積為 50 μ L，其中含有使用 25 μ L 2 × Load PCR Master Mix (塞魯士生技有限公司, 台灣)、1 μ M Forward Primer、1 μ M Reverse Primer、6 μ L 模板 DNA (100 ng/ μ L)，再利用超純水 (ddH₂O) 定量的 50 μ L，引子對 ITS 依照下列設定進行 PCR 反應：(1) 94°C 持續 5 分鐘之變性反應；(2) 94°C 持續 30 秒、58°C 持續 30 秒、72°C 持續 60 秒，進行 35 個循環；(3) 72°C 延伸 10 分鐘。引子對 EF1 α 依照下列設定進行 PCR 反應：(1) 95°C 持續 5 分鐘之變性反應；(2) 95°C 持續 15 秒、60°C 持續 15 秒、72°C 持續 60 秒，進行 35 個循環；(3) 72°C 延伸 10 分鐘。反應結束後，通過膠體電泳確認 PCR 片段，再由明欣生物科技公司進行定序。

白殭菌與爪哇擬青黴菌使用 IQTREE 2⁽²³⁾ 進行親緣分析鑑定菌種，從 NCBI 的 GenBank 的資料庫下載參考菌株之 TEF 基因位點序列，本研究的菌株與參考菌株之序列使用 BioEdit 對齊，再以 IQTREE2 進行最大似然法 (Maximum Likelihood, ML) 分析，最適合的分析模型透過 ModelFinder⁽¹⁸⁾ 選擇。ML 應用 Ultrafast bootstrap (UFBoot)⁽¹⁴⁾ 抽樣 1000 次以估算分支可信度。最後使用 FigTree v1.4.4 建構親緣關係樹，白殭菌以玫瑰擬青黴菌作為外群 (Outgroup) 製作親緣關係樹，爪哇擬青黴菌以白殭菌作為外群製作親緣關係樹，用於親源關係分析之菌株基因序列的 GenBank 檢索登錄字號列於附錄一。

三、昆蟲病原真菌對秋行軍蟲幼蟲之毒力測試

將玉米 (玉美珍，農友種苗) 種植於恆溫生長箱 (27°C，L:D=12:12) 兩週後，將玉米葉片修剪為長度 10 cm，再將葉片浸泡於 1×10^8 conidia/mL 孢子懸浮液中震盪 10 秒，用鑷子取出後鋪平於晾乾架，待葉片表面風乾後放入 30 格透氣塑膠孔盤中，每孔放入一片葉片，毛筆挑取二齡的秋行軍蟲幼蟲，每個處理三重複，每重複 15 隻測試昆蟲，連續觀察七日死亡率。

四、昆蟲病原真菌對紫外線的耐受性

參考 das Chagas Bernardo *et al.* (2020)⁽⁹⁾ 之方法，將供試孢子懸浮液濃度調整為 1×10^6 和 3×10^3 conidia/mL 分別觀察發芽率和相對菌落存活數，發芽率測定方法是將 5 μ L 1×10^6 conidia/mL 滴於馬鈴薯葡萄糖培養基；相對菌落存活數測定方法為將 100 μ L 3×10^3 conidia/mL 添加於 9 cm 的馬鈴薯葡萄糖培養皿中，並使用玻璃珠塗盤，再將接種後的培養皿放置於 UV-B (312nm) 燈管下方，燈管距離培養皿約 12 cm，並使用照度計 (Lutron, USA) 使單位面積照射 為 300 uw/cm²，照射時間分別為 0、5、10、15、20、25、30 分鐘，UV-B 劑量分別為 0、0.09、0.18、0.27、0.36、0.45、0.54 J/cm²。發芽率每處理三重複，每處理計算 300 顆孢子，且於 24 及 48 小時觀察發芽率；菌落存活數每處理五重複，且於 36、60、84 小時觀察菌落數。

附錄一、親緣分析之 *Beauveria* 屬菌株及其GenBank登錄碼，模式菌株以 * 標記

Appendix 1. Strains for phylogenetic analysis of *Beauveria* spp. and their GenBank accession numbers. Ex-type isolates are marked with *

Species	Strain	TEF	References
<i>Beauveria amorpha</i>	ARSEF 1969	AY531907	34
<i>B. amorpha</i> *	ARSEF 2641	AY531917	34
<i>B. amorpha</i>	ARSEF 7542	HQ881007	34
<i>B. asiatica</i>	ARSEF 4384	AY531935	34
<i>B. asiatica</i>	ARSEF 4474	AY531936	15
<i>B. asiatica</i> *	ARSEF 4850	AY531937	15
<i>B. australis</i>	ARSEF 4622	HQ880996	34
<i>B. australis</i> *	ARSEF 4598	HQ880995	34
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 751	AY531954	34
<i>B. bassiana</i>	ARSEF 7518	HQ880975	34
<i>B. bassiana</i>	ARSEF751	AY531954	34
<i>B. bassiana</i>	ARSEF7518	HQ880975	34
<i>B. bassiana</i> *	ARSEF 1564	HQ880974	34
<i>B. bassiana</i> *	ARSEF1564	HQ880974	34
<i>B. brongniartii</i>	ARSEF 979	HQ880992	34
<i>B. brongniartii</i>	JE 276	HQ880993	34
<i>B. brongniartii</i> *	ARSEF 617	HQ880991	34
<i>B. caledonica</i>	ARSEF 1567	AY531894	34
<i>B. caledonica</i>	ARSEF 8024	HQ881012	34
<i>B. caledonica</i> *	ARSEF 2567	AY531915	34
<i>B. malawiensis</i>	BCC 17613	HQ881016	34
<i>B. malawiensis</i> *	ARSEF 4755	HQ881015	34
<i>B. malawiensis</i> *	ARSEF 7760	DQ376246	34
<i>B. pseudobassiana</i>	ARSEF 3220	AY531928	33
<i>B. pseudobassiana</i>	ARSEF 7242	HQ880997	34
<i>B. pseudobassiana</i> *	ARSEF 3405	AY531931	34
<i>B. varroae</i>	ARSEF 2694	HQ881004	34
<i>B. varroae</i>	ARSEF 8259	HQ881003	34
<i>B. varroae</i> *	ARSEF 8257	HQ881002	34
<i>Cordyceps araneae</i>	BCC85065	MT017850	46
<i>C. araneae</i> *	BCC85066	MT017851	22
<i>C. araneae</i>	BCC88291	MT017852	46
<i>C. blackwelliae</i>	TBRC7256	MF140822	25
<i>C. blackwelliae</i>	YFCC856	MW168233	Unpublished
<i>C. blackwelliae</i>	TBRC7255	MF140823	25
<i>C. farinosa</i> *	CBS111113	GQ250022	22
<i>C. fumosorosea</i>	YFCC4561	MN576987	45
<i>C. fumosorosea</i>	CBS375.70	HM161736	46
<i>C. fumosorosea</i> *	CBS107.10	HM161735	29
<i>C. fumosorosea</i> *	CBS244.31	MF416503	22
<i>C. javanica</i>	TBRC7259	MF140831	22
<i>C. javanica</i>	YFCC3368	MN576993	22
<i>C. javanica</i> *	CBS134.22	MF416504	29
<i>C. morakotii</i>	TBRC7276	KT261400	6
<i>C. morakotii</i>	TBRC7275	KT261398	6

續附錄一、親緣分析之 *Beauveria* 屬菌株及其GenBank登錄碼，模式菌株以 * 標記

Appendix 1 continued. Strains for phylogenetic analysis of *Beauveria* spp. and their GenBank accession numbers. Ex-type isolates are marked with *

Species	Strain	TEF	References
<i>C. ninchukispora</i>	E.G.S.38.165	EF468795	8
<i>C. ninchukispora</i>	E.G.S.38.166	EF468794	8
<i>C. pruinosa</i>	EFCC5197	EF468760	8
<i>C. pruinosa</i>	EFCC5693	EF468762	8
<i>C. pruinosa</i>	NHJ10627	EF468763	8
<i>C. pruinosa</i>	NHJ10684	EF468761	8
<i>C. pseudotenuipes</i>	YFCC8404	OL473527	10
<i>C. pseudotenuipes</i>	YFCC8405	OL473528	10
<i>C. simaoensis</i>	YFCC8406	OL473529	10
<i>C. simaoensis</i>	YFCC8407	OL473530	10
<i>C. simaoensis</i>	YFCC8408	OL473531	10
<i>C. subtenuipes</i>	YFCC6084	MN576946	45
<i>C. subtenuipes</i>	YFCC6051	MN576945	45
<i>C. tenuipes</i>	TBRC7265	MF140827	25
<i>C. tenuipes</i>	TBRC7266	MF140828	25
<i>C. tenuipes</i>	YFCC4266	MN577000	45
<i>C. tenuipes</i>	GACP16063004	MK770633	49
<i>C. tenuipes</i> *	ARSEF5135	JF416020	22
<i>C. tiankengensis</i>	KY11141	ON525440	6
<i>C. tiankengensis</i>	KY11142	ON525441	6

五、農業藥劑對昆蟲病原真菌的影響

(一) 昆蟲病原真菌對農業藥劑的耐受性

參考植物保護資訊系統推薦用於防治玉米病蟲害的化學農業藥劑，包括殺菌劑：先正達普克利 (propiconazole)、久農鏈四環黴素 (streptomycin + tetracycline)；殺蟲劑：聯利陶斯松 (chlorpyrifos)、聯利諾伐隆 (novaluron)、嘉泰加保利 (carbaryl)、道禮賜諾特 (spinetoram)、台灣富美實剋安勃 (chlorantraniliprole)、億豐依芬寧 (etofenprox)、聯利農業科技得芬諾 (tebufenozide)，住友福祿寶鮎澤蘇力菌NB-200 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* strain NB-200)；除草劑：興農施得圃 (pendimethalin)，巴斯夫固殺草 (glufosinate-ammonium)，聯利百速隆 (pyrazosulfuron-ethyl)，興農嘉磷塞 (glyphosate-isopropylammonium)。測試濃度為植物保護資訊系統提供之推薦稀釋倍數 (附錄二)，各藥劑皆以無菌水稀釋後以針筒過濾 (0.2μm)(Sartorius, Germany) 過濾，待馬鈴薯葡萄糖培養基滅菌後降溫至約 50°C 時加入藥劑，使用磁石攪拌子混合均勻後倒入培養皿製成固態平板培養基，對照組則添加無菌水。滴5μL 1 × 10⁶ conidia/mL於平板，且於 24 及 48 小時觀察發芽率，每處理三重複，每處理計算 300 顆孢子；平板中心放置直徑 0.8 cm的濾紙圓盤 (The Advantec Group, Japan)，並接種 5

附錄二、玉米之推薦殺菌劑、殺蟲劑及除草劑的作用機制和推薦稀釋倍數

Appendix 2. Recommended fungicides, insecticides, and herbicides for corn, modes of action and suggested ratio

Pesticide	common name	% of Active ingredient	Mode of action	Formulation types	Suggested ratio
Propiconazole	普克利	25%	FRAC G1	EC	1300
Streptomycin+Tetracycline	鏈四環黴素	10%	FRAC D4+D5	SP	1000
Novaluron	諾伐隆	10%	IRAC 15	DC	1500
Spinetoram	賜諾特	11.7%	IRAC 5	SC	3000
Etofenprox	依芬寧	20%	IRAC 3A	WP	750
Chlorantraniliprole	剋安勃	18.4%	IRAC 28	SC	2500
Chlorpyrifos	陶斯松	44.9%	IRAC 1B	EC	1500
Tebufoenozide	得芬諾	19.7%	IRAC 18	SC	2000
Carbaryl	加保利	85%	IRAC 1A	WP	850
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. aizawai strain NB-200	鮎澤蘇力菌NB-200	54%	IRAC 11A	WG	1000
Pendimethalin	施得圃	38.7%	HRAC 3	CS	240
Glufosinate-ammonium	固殺草	13.5%	HRAC 10	SL	120
Pyrazosulfuron-ethyl	百速隆	10%	HRAC 2	TB	20
Glyphosate	嘉磷塞	41%	HRAC 9	SL	70

$\mu\text{L } 1 \times 10^7$ conidia/mL 孢子懸浮液於濾紙，置於 27°C 恆溫生長箱中，測定第七及第十四天各菌落直徑及產孢量，每處理五重複。參考 Abidin *et al.* (2017)⁽¹⁾ 計算農藥與測試菌株之相容性：農藥相容性指數 = [10 (處理組/對照組之相對發芽率)+47 (處理組/對照組之相對菌落直徑) + 43 (處理組/對照組之相對產孢量)] / 100，毒性指數分為三級，毒性 (toxic, T) : < 42；中毒性 (moderately toxic, MT) : 42 – 60和相容 (compatible, C) > 60。

(二) 昆蟲病原真菌與農業藥劑共處理對秋行軍蟲的致病力

為進一步確認農業藥劑對於昆蟲病原真菌的致病力影響，將推薦倍率之普克利、鍊四環黴素及蘇力菌商品福祿寶與白蠟菌 PMEPF11 混合 30 分鐘後，將玉米葉片浸泡於測試液中震盪 10 秒，用鑷子取出後鋪平於晾乾架，待葉片表面風乾後放入 30 格透氣塑膠孔盤中，毛筆挑取二齡的秋行軍蟲幼蟲，每個處理三重複，每重複 15 隻測試昆蟲，觀察七日死亡率。

六、統計分析方法

統計軟體均使用 R 統計軟體 (version 4.4.1, R Core Team, 2023)，昆蟲病原真菌對農業藥劑的 48 小時的數據經 Shapiro-Wilk 檢定，資料大多不符合常態分布，因此以 Welch's ANOVA 檢驗，若處理組三重複若皆是 0 或 100，則其中之一加 0.01 後，然後以 Games-Howell test 進行事後比較。研究結果中死亡率、發芽率和相對菌落存活數透過廣義線性模型 (Generalized linear model, GLM) 套用二項式分配 (binomial) 之邏輯式回歸 (Logistic regression) 建立模型，根據模型檢定比較各處理之間是否具顯著差異，再透過使用 Tukey's HSD (multcomp 套件) 對

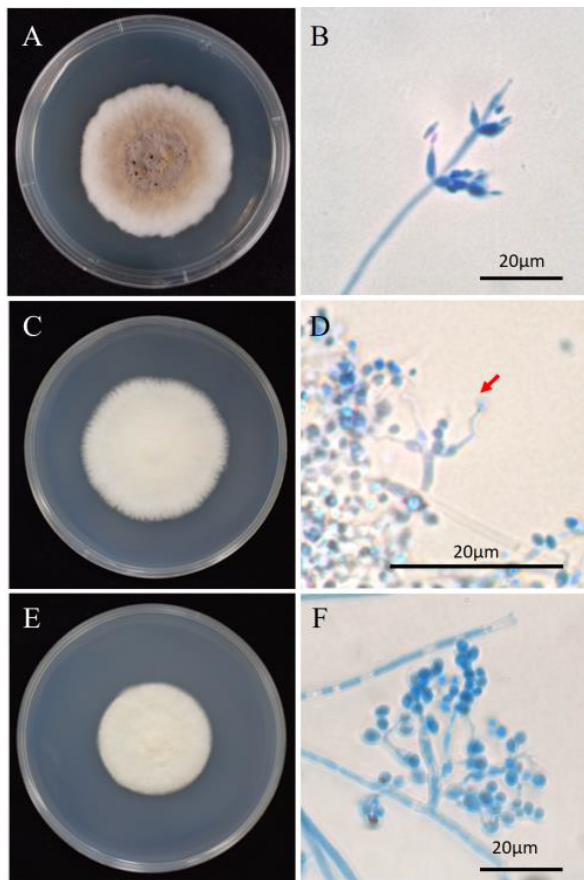
各處理之間的平均值進行比較。半數致死天數是透過 Probit 迴歸分析，根據七日累積死亡率估算 LT50 和 95% 信賴區間。菌落直徑及產孢量數據透過 Welch's test ANOVA 比較各處理之間的平均值，進行獨立樣本 *t* 檢定 (Independent Sample *t* test)。本研究數據經統計分析後，*p* 值小於 0.05 則判定處理間具顯著差異。

結 果

一、菌種鑑定

PMEPF02 菌落的中心是淡粉色，而菌落邊緣呈白色，呈放射狀生長 (圖一A)。分生孢子是長卵形，而分生孢子的產孢構造特徵是寬球形基部和長長的遠端頸部 (圖一1 B)，與 Gallou *et al.* (2016)⁽¹¹⁾ 相似。將 PMEPF02 之 TEF 序列比對美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 資料庫，結果顯示其與 *Cordyceps javanica* IfGX2303 序列的覆蓋率 (Query Cover) 為 98%。PMEPF02 之 ML 分析結果將 40 株分離株歸屬到 14 個分支群 (圖二A)，而本篇研究的 PMEPF02 菌株被收聚在於 *C. javanica* 分支群，綜合型態鑑定與分子鑑定結果確定 PMEPF02 菌株為爪哇擬青黴菌 *C. javanica*。

PMEPF11、PMEPF23 菌落皆為白色 (圖一C、E)，產孢細胞基部呈長頸瓶狀且延長的細胞呈鋸齒狀，頂端形成分生孢子，分生孢子為透明，呈球形或卵形 (圖一D、F)，PMEPF11 和 PMEPF23 皆與 Rehner and Buckley (2005)⁽³³⁾ 敘述相同。將



圖一、昆蟲病原真菌供試菌株培養於馬鈴薯葡萄糖培養基的形態特徵。(A、B) 爪哇擬青黴菌PMEPP02。(C、D) 白殭菌PMEPP11。(E、F) 白殭菌PMEPP23。

Fig. 1. Morphological characteristics of the tested entomopathogenic fungi cultured on potato dextrose agar. (A、B) *Cordyceps javanica* PMEPP02. (C、D) *Beauveria bassiana* PMEPP11. (E、F) *Beauveria bassiana* PMEPP23.

PMEPP11 和 PMEPP23 之TEF序列與 NCBI 資料庫比對，結果顯示其與 *Beauveria bassiana* ARSEF 2860覆蓋率皆為 99%。PMEPP11 和 PMEPP23 之ML 分析結果將 32 株分離株歸屬到 10 個分支群 (圖二B)，而本篇研究的 PMEPP11 和 PMEPP23 菌株被收聚在於 *B. bassiana* 分支群，綜合型態鑑定與分子鑑定結果確定PMEPP11 和 PMEPP23菌株為球孢白殭菌 *B. bassiana*。

二、昆蟲病原真菌對秋行軍蟲幼蟲之毒力測試

供試菌株之孢子懸浮液以 1×10^8 conidia/ml 浸泡玉米葉後，評估對二齡秋行軍蟲幼蟲的致病性，結果顯示 PMEPP02 致病力最高，半數致死時間 (Median lethal time, LT_{50}) 僅需約 1.69 天 (表一)，第四天死亡率可達 100% ($\chi^2_{214} = 11.469$, $p < 0.05$)；其次為白殭菌PMEPP11 於第三天可使 51.11% 的幼蟲死亡 ($\chi^2_{214} = 7.796$, $p < 0.05$)，第七天累積死亡率約 93.33% ($\chi^2_{214} = 3.444$, $p < 0.05$)， LT_{50} 約 3.27 天；白殭菌 PMEPP23 累積死亡率約 57.78%， LT_{50} 約 6.11 天。

三、昆蟲病原真菌對紫外線的耐受性

所有測試菌株皆隨 UV-B 的照射時間愈長及劑量愈高，其發芽率和菌落存活數隨之下降。三支測試菌株中以 PMEPP02 的容忍性較差，其經 UV-B 照射五分鐘後 24 小時後發芽率顯著下降至 37.67% ($\chi^2_6 = 11.523$, $p < 0.05$) (圖三 A)，48 小時後可恢復至 100% (圖三 B)，相對菌落存活數約 10.95% (圖三 C)。耐受性較佳的菌株白殭菌 PMEPP11 和白殭菌 PMEPP23 經 UV-B 照射 10 分鐘後，其 24 小時後發芽率分別為 4.67% 和 19% ($\chi^2_6 = 11.012$, $p < 0.05$)，48 小時後可恢復至 82% 和 98% ($\chi^2_6 = 9.069$, $p < 0.05$)，相對菌落存活數約 4.82% 和 0%

表一、昆蟲病原真菌對二齡秋行軍蟲幼蟲的七天內死亡率。測試菌株包括爪哇擬青黴菌 (*C. javanica*) PMEPP02、白殭菌 (*B. bassiana*) PMEPP11和 PMEPP 23

TABLE 1. Mortality of second-instar *Spodoptera frugiperda* larvae exposed to entomopathogenic fungi in 7days. The tested strains included: *C. javanica* PMEPP02、*B. bassiana* PMEPP11, PMEPP23

Treatment	n	Mortality (%)										LT ₅₀ ² (Days) (95%CI)			
		DAI 1	DAI 2	DAI 3	DAI 4	DAI 5	DAI 6	DAI 7							
Water	45	2.22 ±3.85 ³	2.22 ±3.85	b ⁴	2.22 ±3.85	c	2.22 ±3.84	c	4.44 ±3.84	c	4.44 ±3.84	c	NA ⁵		
Tween20	45	0 ±0	0 ±0	b	2.22 ±3.85	c	2.22 ±3.84	c	6.66 ±6.66	c	6.66 ±6.66	c	NA		
PMEPF02	45	2.22 ±3.85	80 ±6.67	a	91.1 ±3.85	a	100 ±0	a	100 ±0	a	100 ±0	a	1.69 (1.52-1.85)		
PMEPF11	45	2.22 ±3.85	4.44 ±7.7	b	51.1 ±16.8	b	60 ±24	b	88.9 ±3.84	a	93.3 ±0	a	93.3 ±0	a	3.27 (2.82-3.69)
PMEPF23	45	0 ±0	0 ±0	b	2.22 ±3.85	c	6.66 ±6.66	c	35.6 ±7.69	b	53.3 ±13.3	b	57.8 ±13.9	b	6.11 (5.7-6.7)

¹ DAI: Day after inoculation.

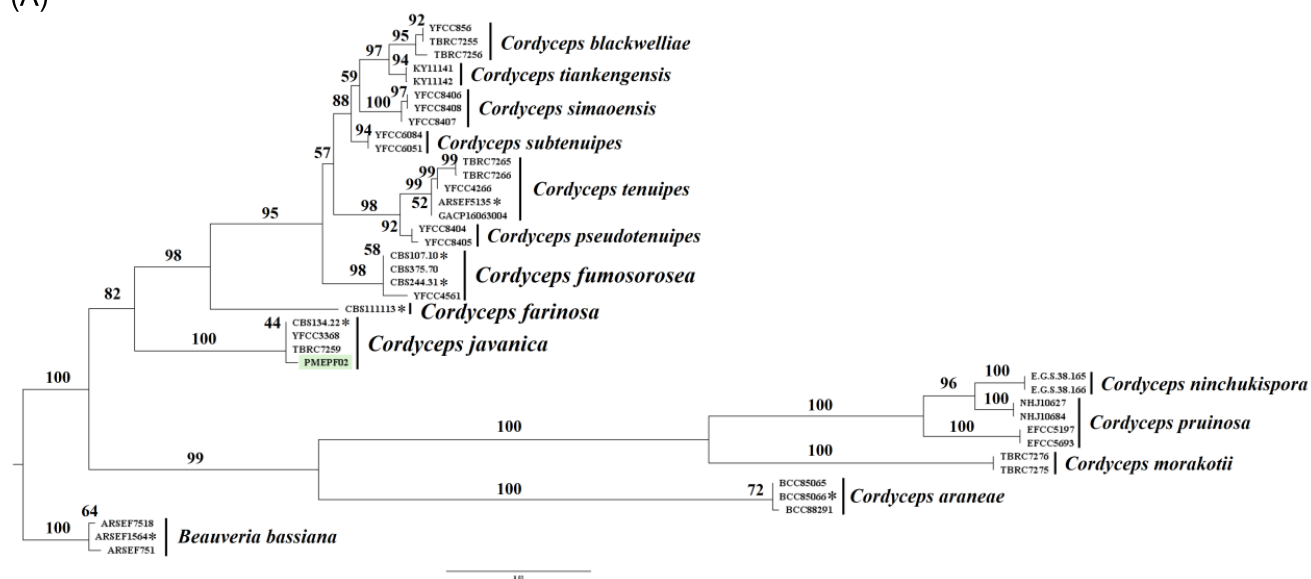
² LT_{50} : Median lethal time.

³ Mean ± SD.

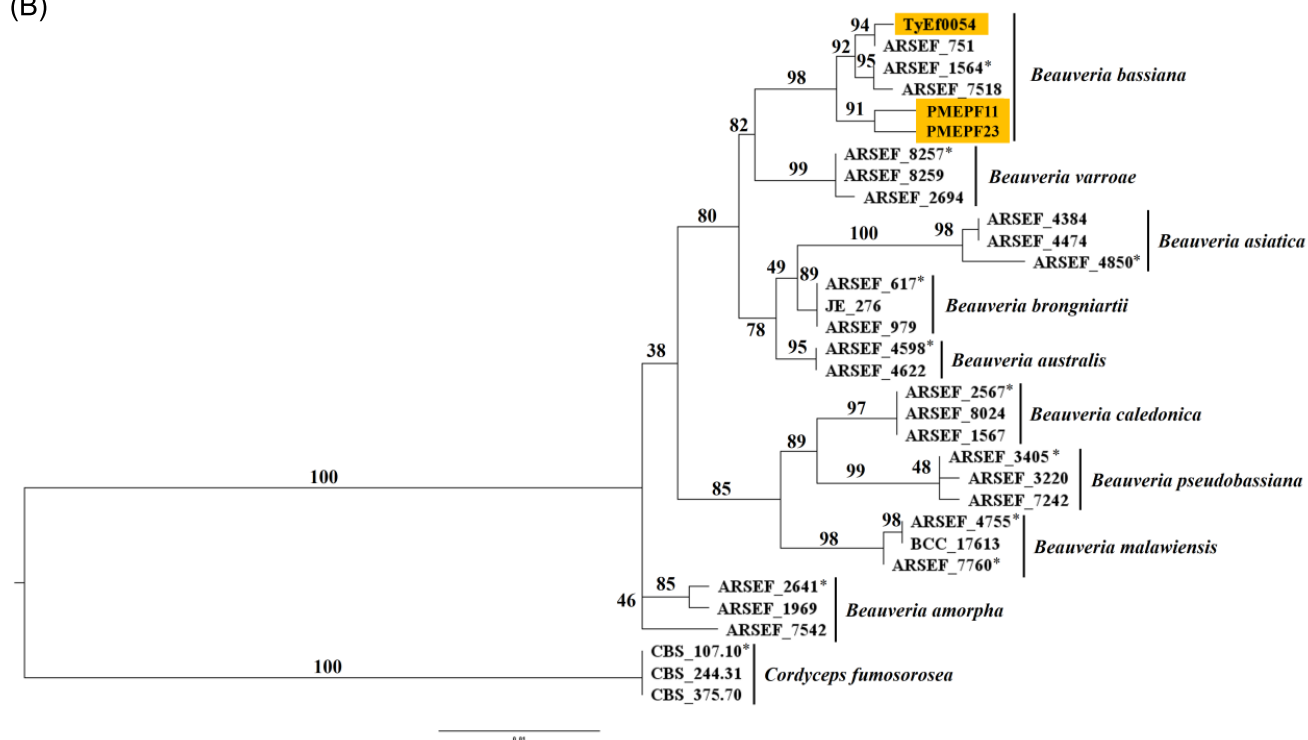
⁴ Different letters within a column are significantly different at $p < 0.05$ by HSD test.

⁵ NA: The LT_{50} value was not calculable due to the cumulative mortality below 50%.

(A)

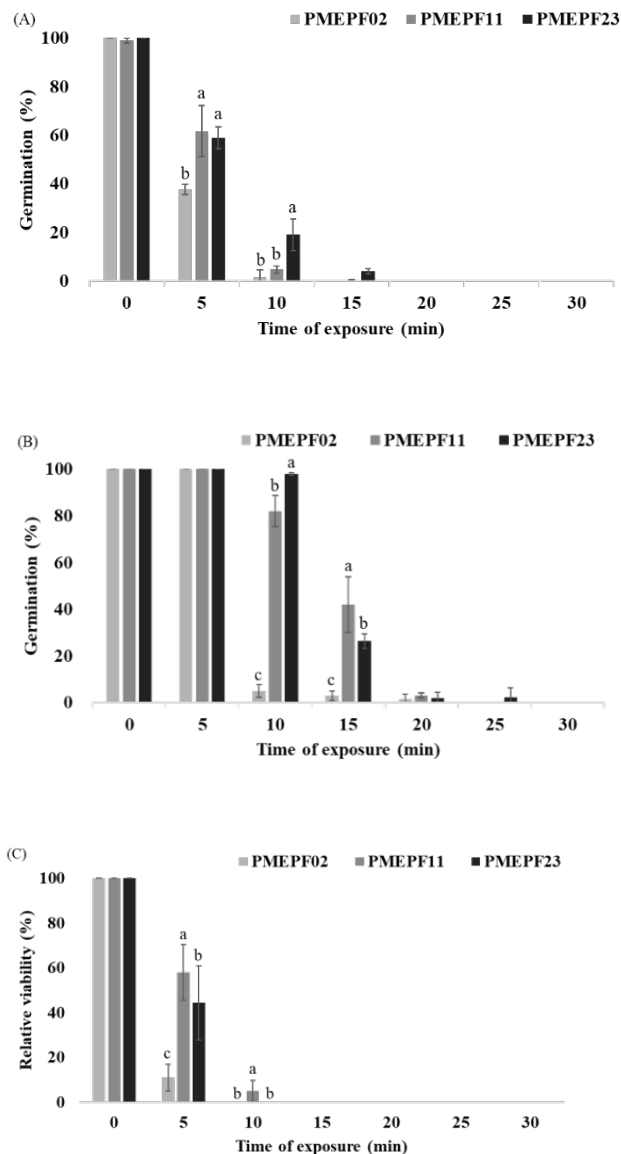


(B)



圖二、親緣關係根據最大似然法分析本研究中的 (A) 爪哇擬青黴菌 PMEPF02 (B) 白殭菌 PMEPF11、PMEPF23 及參考菌株的轉譯延長基因，以推斷不同真菌物種之間的關係。分支群節點數值為 UFBoot 抽樣 1000 次估計值，並以白殭菌作為外群製作親緣關係圖。模式菌株以 * 標記。本研究中的菌株以綠色標記。

Fig. 2. The phylogenetic tree base on maximum likelihood analyzes the Translation Elongation Factor (TEF) gene of (A) *Cordyceps javanica* PMEPF02 (B) *Beauveria bassiana* PMEPF11, PMEPF23 and the reference strains to infer the relationship between different fungi species. UFBoot analysis was performed using 1,000 replicates. The phylogenetic tree was constructed using the *Beauveria bassiana* as an outgroup. Ex-type isolates are marked with *. Strains from this study are marked with green.



圖三、評估昆蟲病原真菌分生孢子經UV-B照射 0、5、10、15、20、25 和30分鐘後的發芽率，根據以下公式計算UV-B劑量，UV-B劑量 (J/cm^2) = UV-B 輻射密度 (W/cm^2) $\times$ 時間 (s)，其總劑量分別為 0、0.09、0.18、0.27、0.36、0.45和0.54 J/cm^2 。(A) 24小時的發芽率。(B) 48小時的發芽率。(C) 相對菌落存活數。柱狀圖代表三個重複的平均值 $\pm$ 標準差。使用GLM進行統計分析，隨後進行 Tukey's HSD ($p < 0.05$)，在相同處理時間內，具有相同字母代表統計上無顯著差異。

Fig. 3. Experimental assessment of entomopathogenic fungi conidia germination tolerance after UV-B exposure for 0, 5, 10, 15, 20, 25, and 30 minutes. Calculate the UV-B dose using the following formula: UV-B dose (J/cm^2) = UV-B irradiance (W/cm^2) $\times$ time (s). The total doses are 0, 0.09, 0.18, 0.27, 0.36, 0.45, and 0.54 J/cm^2 . (A) germination after 24 hours of treatment. (B) germination after 48 hours of treatment. (C) relative viability. Data points represent the mean $\pm$ SD of three replicates. Statistical analysis was performed using GLM followed by Tukey's HSD test ($p < 0.05$). Bars with the same letter within the same treatment time do not differ statistically.

($\chi^2_{72}=358.5, p < 0.05$)。

四、農業藥劑對昆蟲病原真菌的影響

(一) 昆蟲病原真菌對農業藥劑的耐受性

根據植物保護資訊系統上玉米的推薦藥劑並選擇不同作用機制之藥劑進行測試，在農業藥劑對於昆蟲病原真菌的發芽率結果中，不施藥對照組之三支菌株在 24 小時發芽率皆達 95% 以上，48 小時發芽率達 100%，殺菌劑—普克利和除草劑—百速隆與固殺草在 24和48 小時發芽率為0% (表二、表三)，完全抑制三支菌株的孢子發芽。嘉磷塞也使三支菌株孢子延遲發芽，24 小時發芽率分別為 98.76%、39.33%和92.77%，但在 48 小時後觀察到三支菌株的孢子發芽率恢復至 90% 以上，其中諾伐隆也顯著抑制白殭菌 PMEPPF23 的孢子發芽，其發芽率約為 92.33% ($\chi^2_{14} = 14.06, p < 0.05$)，綜合以上結果，諾伐隆、陶斯松和賜諾特和嘉磷塞可能會使昆蟲病原真菌延遲發芽。

透過測量菌落直徑以了解農業藥劑對昆蟲病原真菌生長速度的影響，對照組第七天菌落直徑結果中，爪哇擬青黴菌 PMEPPF02、白殭菌 PMEPPF11和PMEPPF23分別為 2.43、2.48及 2.43公分。殺菌劑普克利和除草劑百速隆與固殺草在第七和第十四天仍然使三支菌株無法生長 (表四、表五)。此外，第七天爪哇擬青黴菌 PMEPPF02 結果中，殺蟲劑陶斯松、依芬寧、賜諾特、諾伐隆、剋安勃和除草劑嘉磷塞顯著抑制菌絲生長，菌落直徑分別為 1.59、2.22、2.18、1.89、2.27 和 1.64 公分 ($F_{14,22,797} = 1701.999, p < 0.05$)；但第 14 天結果中，依芬寧、賜諾特和剋安勃不會抑制其菌落生長，其中賜諾特反而顯著促進其生長，菌落直徑分別為 4.16 公分 ($F_{14,22,748} = 3733.517, p < 0.05$)。

第七天白殭菌 PMEPPF11 菌落直徑結果中，殺菌劑鏈四環黴素、殺蟲劑陶斯松、依芬寧、福祿寶、諾伐隆和除草劑嘉磷塞顯著抑制菌絲生長，菌落直徑分別為 2.02、1.48、2.02、1.7、1.89 和 1.45 公分 ($F_{14,22,745} = 1361.625, p < 0.05$)；且第十四天結果中上述藥劑仍抑制菌絲生長 ($F_{14,22,668} = 8774.434, p < 0.05$)。而在第七天白殭菌 PMEPPF23 結果中，殺蟲劑陶斯松、依芬寧、賜諾特、福祿寶、諾伐隆、剋安勃和除草劑嘉磷塞顯著抑制菌絲生長，菌落直徑分別為 1.65、2.2、1.92、2.06、1.58、1.86和 1.64 公分 ($F_{14,22,78} = 1598.525, p < 0.05$)；但第十四天結果中，僅陶斯松、諾伐隆和嘉磷塞顯著抑制其菌絲生長，菌落直徑分別為 3.33、3.28 和 3.18公分。

綜合以上結果，第七天會抑制三支菌株生長的藥劑包括殺菌劑普克利、殺蟲劑陶斯松、依芬寧、諾伐隆和除草劑嘉磷塞、百速隆與固殺草；第十四天觀察結果中，除了依芬寧之外，其餘上述藥劑仍會抑制三支菌株生長。

孢子產量的結果中，爪哇擬青黴菌 PMEPPF02在第 7 天時，普克利、百速隆、嘉磷塞與固殺草顯著抑制產孢 ($F_{14,22,541} = 560.307, p < 0.05$)，其他處理大多顯著促進產孢；第 14 天，

表二、供試菌株培養於推薦稀釋倍率的農業藥劑培養基後的 24 小時發芽率

TABLE 2. Germination of tested strains after 24 hours of incubation in the recommended dilution of pesticide medium

Treatment	<i>Cordyceps javanica</i> PMEPF02		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF11		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF23	
Control	100 ± 0 ²	a ³	98.33 ± 1.52	a	98.66 ± 0.57	ab
Propiconazole	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c
Streptomycin + Tetracycline	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Carbaryl	99.88 ± 0.19	a	100 ± 0	a	98.33 ± 1.52	ab
Chlorpyrifos	99.66 ± 0.57	a	97.33 ± 3.05	a	97.99 ± 1.52	ab
Etofenprox	100 ± 0	a	94.05 ± 1.57	a	95.78 ± 1.31	ab
Spinetoram	100 ± 0	a	98.66 ± 0.57	a	97.33 ± 1.15	ab
Bt ¹	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Novaluron	100 ± 0	a	94.33 ± 1.15	a	92.33 ± 3.05	b
Tebufozide	100 ± 0	a	100 ± 0	a	99.77 ± 0.19	a
Chlorantraniliprole	100 ± 0	a	98.66 ± 1.15	a	96.33 ± 0.57	ab
Pyrazosulfuron-ethyl	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c
Pendimethalin	100 ± 0	a	95.06 ± 2.34	a	96.42 ± 1.42	ab
Glyphosate	98.76 ± 0.49	a	39.33 ± 3.78	b	92.77 ± 3.59	ab
Glufosinate-ammonium	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² Mean ± SD.³ Means followed by different lowercase letters in columns show a significant difference between treatments based on Tukey's HSD test at $p < 0.05$.

表三、供試菌株培養於推薦稀釋倍率的農業藥劑培養基後的 48 小時發芽率

TABLE 3. Germination of tested strains after 48 hours of incubation in the recommended dilution of pesticide medium

Treatment	<i>Cordyceps javanica</i> PMEPF02		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF11		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF23	
Control	100 ± 0 ²	a ³	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Propiconazole	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c
Streptomycin + Tetracycline	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Carbaryl	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Chlorpyrifos	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Etofenprox	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Spinetoram	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Bt ¹	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Novaluron	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Tebufozide	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Chlorantraniliprole	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Pyrazosulfuron-ethyl	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c
Pendimethalin	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a
Glyphosate	100 ± 0	a	99.1 ± 0.69	b	97.55 ± 2.26	b
Glufosinate-ammonium	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² Mean ± SD.³ Means followed by different lowercase letters in columns show a significant difference between treatments based on Tukey's HSD test at $p < 0.05$.

表四、供試菌株培養於含有推薦稀釋倍率的農業藥劑培養基中第七天的菌落直徑

TABLE 4. The colony diameter of the test strains cultured in pesticide medium at the recommended dilution ratio on 7th day

Treatment	<i>Cordyceps javanica</i> PMEPF02		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF11		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF23	
Control	2.43 ± 0.04	ab ²	2.48 ± 0.04	b	2.43 ± 0.04	b
Propiconazole	0 ± 0	g	0 ± 0	g	0 ± 0	g
Streptomycin + Tetracycline	2.36 ± 0.04	bc	2.02 ± 0.05	cd	2.43 ± 0.06	b
Carbaryl	2.38 ± 0.07	bc	2.34 ± 0.05	b	2.33 ± 0.13	bc
Chlorpyrifos	1.59 ± 0.02	f	1.48 ± 0.09	ef	1.65 ± 0.03	f
Etofenprox	2.22 ± 0.02	cd	2.02 ± 0.02	cd	2.2 ± 0.03	c
Spinetoram	2.18 ± 0.04	d	2.68 ± 0.07	a	1.92 ± 0.02	e
Bt ¹	2.38 ± 0.02	b	1.7 ± 0.05	e	2.06 ± 0.02	d
Novaluron	1.89 ± 0.02	e	1.89 ± 0.02	d	1.58 ± 0.07	f
Tebufozide	2.31 ± 0.05	bcd	2.43 ± 0.15	abc	3.02 ± 0.06	a
Chlorantraniliprole	2.27 ± 0.02	cd	2.42 ± 0.07	b	1.86 ± 0.02	e
Pyrazosulfuron-ethyl	0 ± 0	g	0 ± 0	g	0 ± 0	g
Pendimethalin	2.62 ± 0.08	a	2.73 ± 0.1	a	3.08 ± 0.05	a
Glyphosate	1.64 ± 0.02	f	1.45 ± 0.03	f	1.64 ± 0.02	f
Glufosinate-ammonium	0 ± 0	g	0 ± 0	g	0 ± 0	g

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² Means followed by different lowercase letters in columns show a significant difference between treatments based on Tukey's HSD test at $p < 0.05$.

表五、供試菌株培養於含有推薦稀釋倍率的農業藥劑培養基中第十四天的菌落直徑

TABLE 5. The colony diameter of the test strains cultured in pesticide medium at the recommended dilution ratio on 14th day

Treatment	<i>Cordyceps javanica</i> PMEPF02		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF11		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF23	
Control	3.84 ± 0.08	c ²	5.2 ± 0.02	b	3.84 ± 0.08	f
Propiconazole	0 ± 0	f	0 ± 0	f	0 ± 0	h
Streptomycin + Tetracycline	4.15 ± 0.03	b	3.83 ± 0.18	c	4.74 ± 0.06	d
Carbaryl	4.32 ± 0.05	a	5.26 ± 0.08	b	5.1 ± 0.11	c
Chlorpyrifos	2.85 ± 0.05	e	2.54 ± 0.06	e	3.33 ± 0.17	g
Etofenprox	3.76 ± 0.08	c	4.15 ± 0.07	c	4.54 ± 0.08	d
Spinetoram	4.16 ± 0.11	ab	5.6 ± 0.02	a	4 ± 0	ef
Bt ¹	4.2 ± 0.08	ab	3.27 ± 0.09	d	4.4 ± 0.15	de
Novaluron	3.02 ± 0.02	d	3.18 ± 0.04	d	3.28 ± 0.09	g
Tebufozide	4.02 ± 0.09	bc	5.86 ± 0.15	a	6.23 ± 0.16	a
Chlorantraniliprole	4.1 ± 0.14	abc	5.11 ± 0.05	b	3.99 ± 0.02	ef
Pyrazosulfuron-ethyl	0 ± 0	f	0 ± 0	f	0 ± 0	h
Pendimethalin	3.9 ± 0.15	bc	5.72 ± 0.09	a	5.7 ± 0.11	b
Glyphosate	3.08 ± 0.06	d	3.16 ± 0.17	d	3.18 ± 0.13	g
Glufosinate-ammonium	0 ± 0	f	0 ± 0	f	0 ± 0	h

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² Means followed by different lowercase letters in columns show a significant difference between treatments based on Tukey's HSD test at $p < 0.05$.

表六、供試菌株培養於含有推薦稀釋倍率的農業藥劑培養基中第七天的產孢量

TABLE 6. The sporulation of the test strains cultured in pesticide medium at the recommended dilution ratio on 7th day

Treatment	Sporulation (10^5 conidia/mL) $\pm$ SD					
	<i>Cordyceps javanica</i> PMEPF02		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF11		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF23	
Control	113.5 $\pm$ 19.89	ab ²	3.52 $\pm$ 1.15	g	6.08 $\pm$ 2.52	ef
Propiconazole	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	h	0 $\pm$ 0	f
Streptomycin + Tetracycline	113.6 $\pm$ 9.71	a	51.6 $\pm$ 6.47	e	38.3 $\pm$ 3.96	c
Carbaryl	58.4 $\pm$ 7.47	de	80 $\pm$ 8.4	cd	70.3 $\pm$ 14.70	ab
Chlorpyrifos	34.25 $\pm$ 8.23	f	3.4 $\pm$ 1.39	gh	41.8 $\pm$ 7.85	bc
Etofenprox	69.6 $\pm$ 8.75	bcd	68.9 $\pm$ 4.44	d	20.4 $\pm$ 2.07	d
Spinetoram	97.87 $\pm$ 5.03	ab	114.5 $\pm$ 16.05	abc	46.5 $\pm$ 15.17	abcd
Bt ¹	62.9 $\pm$ 6.51	cd	127.3 $\pm$ 12.75	ab	78.1 $\pm$ 3.63	a
Novaluron	42 $\pm$ 6.69	ef	70.5 $\pm$ 8.91	de	40.5 $\pm$ 12.17	bcd
Tebufenozide	85.3 $\pm$ 20.37	abcd	151.62 $\pm$ 4.11	a	55.1 $\pm$ 5.35	b
Chlorantraniliprole	94.25 $\pm$ 2.63	a	101.50 $\pm$ 17.28	bcd	49 $\pm$ 8.77	bc
Pyrazosulfuron-ethyl	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	h	0 $\pm$ 0	f
Pendimethalin	59 $\pm$ 8.56	de	63 $\pm$ 12.46	de	17.7 $\pm$ 2.14	d
Glyphosate	0 $\pm$ 0	g	13.3 $\pm$ 3.58	f	5.84 $\pm$ 1.08	e
Glufosinate-ammonium	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	h	0 $\pm$ 0	f

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² Means followed by different lowercase letters in columns show a significant difference between treatments based on Tukey's HSD test at $p < 0.05$.

表七、供試菌株培養於含有推薦稀釋倍率的農業藥劑培養基中第十四天的產孢量

TABLE 7. The sporulation of the test strains cultured in pesticide medium at the recommended dilution ratio on 14th day

Treatment	Sporulation (10^5 conidia/mL) $\pm$ SD					
	<i>Cordyceps javanica</i> PMEPF02		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF11		<i>Beauveria bassiana</i> PMEPF23	
Control	188 $\pm$ 19.56	a	16.24 $\pm$ 0.96	f	35 $\pm$ 8.59	ef
Propiconazole	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	g
Streptomycin + Tetracycline	141.7 $\pm$ 6.87	abc	70.4 $\pm$ 6.77	bc	164.9 $\pm$ 7.45	a
Carbaryl	42.4 $\pm$ 4.55	ef	86.87 $\pm$ 9.88	ab	55.5 $\pm$ 8.2	de
Chlorpyrifos	44.25 $\pm$ 11.26	def	18.88 $\pm$ 5.2	ef	76.2 $\pm$ 9.33	cd
Etofenprox	85.2 $\pm$ 23.23	cd	32.9 $\pm$ 3.32	cd	122 $\pm$ 23.3	abc
Spinetoram	43.25 $\pm$ 8.61	def	93.5 $\pm$ 46.86	abcdefg	38.72 $\pm$ 15.6	efg
Bt ¹	121.8 $\pm$ 7.2	bc	32.3 $\pm$ 4.34	de	94.8 $\pm$ 4.59	bc
Novaluron	62.38 $\pm$ 4.04	d	62.5 $\pm$ 5.86	b	83.5 $\pm$ 8.94	c
Tebufenozide	37.3 $\pm$ 5.01	f	107 $\pm$ 8.8	a	44.5 $\pm$ 10.72	ef
Chlorantraniliprole	54.5 $\pm$ 5.89	de	16.88 $\pm$ 4.83	f	100.84 $\pm$ 28.06	abcd
Pyrazosulfuron-ethyl	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	g
Pendimethalin	161.2 $\pm$ 21.14	ab	64.4 $\pm$ 11.8	b	136.9 $\pm$ 17.25	ab
Glyphosate	4.96 $\pm$ 1.25	g	32.5 $\pm$ 6.23	def	16.96 $\pm$ 3.22	f
Glufosinate-ammonium	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	g	0 $\pm$ 0	g

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² Means followed by different lowercase letters in columns show a significant difference between treatments based on Tukey's HSD test at $p < 0.05$.

僅嘉磷塞處理恢復產孢能力，約 4.96×10^5 conidia/mL，而普克利、百速隆和固殺草仍顯著抑制其生長及產孢 ($F_{14,22,400} = 360.269, p < 0.05$)，顯示其長期抑制力強(表六、表七)。

白殭菌 PMEPF11 在第7天時，大多農藥顯著促進產孢，僅普克利、百速隆和固殺草顯著抑制 ($F_{14,22,4} = 529.775, p < 0.05$)。第14天時，這三者仍完全抑制產孢，但鏈四環黴素、加保利、賜諾特、鮎澤蘇力菌、諾伐隆、得芬諾和施得圃均可顯著提高產孢量 ($F_{14,22,400} = 250.021, p < 0.05$)，其中以得芬諾與賜諾特產孢量較多，分別是 1×10^7 及 9.35×10^6 conidia/mL，顯示農藥中含有對此菌株具促進產孢成分。

白殭菌 PMEPF23 第7天產孢量結果中，普克利、百速隆和固殺草顯著抑制產孢，但鏈四環黴素、加保利、陶斯松、依芬寧、賜諾特、鮎澤蘇力菌、諾伐隆、得芬諾、施得圃和剋安勃皆顯著提升產孢，其中以加保利和鮎澤蘇力菌產孢量較多，分別是 7×10^6 及 7.8×10^6 conidia/mL ($F_{14,22,4} = 248.618, p < 0.05$)。第14天時，普克利、百速隆和固殺草仍顯著抑制，而鏈四環黴素、加保利、陶斯松、依芬寧、鮎澤蘇力菌、諾伐隆、剋安勃和施得圃仍顯著促進產孢 ($F_{14,22,400} = 331.321, p < 0.05$)。

參考 Abidin *et al.* (2017)⁽¹⁾ 中的公式計算農藥相容性的指數，並根據指數總分為三級。經計算後，第七天之結果中，普克利、百速隆、固殺草對三支昆蟲病原真菌呈毒性 (Toxic, T) (表八)，嘉磷塞和陶斯松對 PMEPF02 分別為毒性和中毒性 (Moderately toxic, MT)；在第14天結果與第7天結果相似，但嘉

磷塞在第14天轉為中毒性，其餘測試藥劑為相容 (compatible, C) (表九)。

綜合殺菌劑、殺蟲劑和除草劑之結果，殺菌劑普克利及除草劑固殺草、百速隆使三支昆蟲病原真菌皆無法發芽，未來若要將昆蟲病原真菌施用於田間，仍需注意其相容性，以免影響其防治效果。

(二) 昆蟲病原真菌與農業藥劑共處理對秋行軍蟲的致病力

為了確認農藥相容性測試中的結果是否與昆蟲病原真菌之殺蟲效果相關，因此選擇了對三支昆蟲病原真菌皆有毒性之殺菌劑普克利、具相容性的鏈四環黴素及生物農藥蘇力菌商品福祿寶，測試三種農業藥劑與白殭菌 PMEPF11 混合後是否會影響對秋行軍蟲的致病力，結果顯示白殭菌 PMEPF11 第七天死亡率約為93% ($\chi^2_{18} = 5.954, p < 0.05$) (表十)，單處理普克利和鏈四環黴素對秋行軍蟲幼蟲無防治效果，在第七天死亡率分別為 2.22 和 8.88%，白殭菌 PMEPF11 與普克利混合後，殺蟲效果受到抑制，第七天死亡率約 17.77%；鏈四環黴素與白殭菌 PMEPF11 混合後，在第四天死亡率達 84.44% 高於白殭菌 PMEPF11 ($\chi^2_{18} = 16.342, p < 0.05$)。單用蘇力菌商品福祿寶在第1天死亡率為 55% ($\chi^2_{18} = 4.114, p < 0.05$)，且在第七天累積死亡率為 77.77%；蘇力菌商品福祿寶與 PMEPF11 混合後可提升至 66.66%，且在第三天達100% ($\chi^2_{18} = 14.339, p < 0.05$)，LT₅₀

表八、第七天觀察到的推薦劑量農業藥劑對供試菌株的毒性相容性反應

TABLE 8. Compatibility classification of recommended doses of pesticides, in relation to their toxic effects on test strains observed on the 7th day

Treatment	<i>Cordyceps javanica</i> PMEPF02		<i>Beauveria bassiana</i>	PMEPF11	<i>Beauveria bassiana</i>	PMEPF23
Propiconazole	0 ± 0	T ²	0 ± 0	T	0 ± 0	T
Streptomycin + Tetracycline	99.93 ± 3.86	C	745.4 ± 87.45	C	361.66 ± 31.75	C
Carbaryl	78.79 ± 3.31	C	1135.1 ± 113.45	C	613.98 ± 116.82	C
Chlorpyrifos	54.07 ± 3.3	MT	83.9 ± 18.1	C	374.19 ± 62.98	C
Etofenprox	80.07 ± 3.13	C	978.68 ± 59.47	C	214.46 ± 16.44	C
Spinetoram	90.32 ± 1.65	C	1607.4 ± 217.5	C	416.72 ± 120.61	C
Bt	80.56 ± 2.42	C	1761.8 ± 172.37	C	671.13 ± 28.98	C
Novaluron	62.93 ± 2.34	C	997.61 ± 120.48	C	361.93 ± 96.75	C
tebufenozide	87.93 ± 7.46	C	2104.2 ± 54.47	C	506.62 ± 43.61	C
Chlorantraniliprole	90.64 ± 1.07	C	1426.8 ± 232.9	C	435.33 ± 69.74	C
Pyrazosulfuron-ethyl	0 ± 0	T	0 ± 0	T	0 ± 0	T
Pendimethalin	83.68 ± 3.81	C	912.5 ± 170.23	C	210.28 ± 17.4	C
Glyphosate	41.61 ± 0.43	T	211.19 ± 47.81	C	87.56 ± 8.48	C
Glufosinate-ammonium	0 ± 0	T	0 ± 0	T	0 ± 0	T

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.

² Formula proposed by Abidin *et al.* (2017), Biological index (BI)=[10(GR)+47(VG)+43(ESP)]/100. In this formula, values of germination rate (GR), vegetative growth (VG) and sporulation (ESP) were given in relation to control, where toxicity grades were considered to be as follows: < 42 = toxic(T), 42 - 60 moderately toxic(MT), and > 60 compatible(C).

表九、第十四天觀察到的推薦劑量農業藥劑對供試菌株的毒性相容性反應

TABLE 9. Compatibility classification of recommended doses of pesticides, in relation to their toxic effects on test strains observed on the 14th day

Treatment	<i>Cordyceps javanica</i>	PMEPF02	<i>Beauveria bassiana</i>	PMEPF11	<i>Beauveria bassiana</i>	PMEPF23
Propiconazole	0 ± 0	T ²	0 ± 0	T	0 ± 0	T
Streptomycin + Tetracycline	93.49 ± 1.5	C	231.64 ± 16.78	C	281.04 ± 8.81	C
Carbaryl	72.66 ± 1.15	C	288.38 ± 26.65	C	144.06 ± 9.74	C
Chlorpyrifos	55.07 ± 2.65	MT	82.95 ± 13.97	C	149.07 ± 11.18	C
Etofenprox	75.69 ± 4.87	C	134.39 ± 8.37	C	222.79 ± 29.63	C
Spinetoram	71.03 ± 1.31	C	308.91 ± 124.28	C	108.83 ± 20.14	C
Bt ¹	89.64 ± 1.77	C	125.43 ± 10.54	C	186.39 ± 5.68	C
Novaluron	61.48 ± 1.22	C	204.29 ± 15.72	C	157.31 ± 10.62	C
tebufenozide	67.83 ± 2.09	C	347.13 ± 24.26	C	143.84 ± 12.76	C
Chlorantraniliprole	72.77 ± 2.23	C	100.93 ± 12.59	C	188.79 ± 36.28	C
Pyrazosulfuron-ethyl	0 ± 0	T	0 ± 0	T	0 ± 0	T
Pendimethalin	95.05 ± 5.4	C	232.24 ± 30.97	C	256.41 ± 22.4	C
Glyphosate	48.86 ± 1.03	MT	118.87 ± 15.58	C	70.24 ± 5.16	C
Glufosinate-ammonium	0 ± 0	T	0 ± 0	T	0 ± 0	T

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² Formula proposed by Abidin *et al.* (2017), Biological index (BI)=[10(GR)+47(VG)+43(ESP)]/100. In this formula, values of germination rate (GR), vegetative growth (VG) and sporulation (ESP) were given in relation to control, where toxicity grades were considered to be as follows: < 42 = toxic(T), 42 – 60 moderately toxic(MT), and > 60 compatible(C).

表十、白殭菌 PMEFP11 混合普克利、鍊四環黴素和福祿寶對二齡秋行軍蟲幼蟲的七天內死亡率

TABLE 10. The mortality of second-instar *S. frugiperda* larvae exposed to *B. bassiana* PMEFP11 mixed with propiconazole, Streptomycin + Tetracycline, and *B. thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200 in 7 days

Treatment	n	Mortality (%)												LT ₅₀ ² (Days) (95%CI)		
		DAI 1		DAI 2		DAI 3		DAI 4		DAI 5		DAI 6			DAI 7	
Water	45	0 ± 0 ⁴	b ⁵	2.22 ± 3.84	c	2.22 ± 3.84	c	2.22 ± 3.84	c	2.22 ± 3.84	b	2.22 ± 3.84	b	2.22 ± 3.84	b	NA ⁶
Tween20	45	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c	0 ± 0	c	0 ± 0	b	0 ± 0	b	2.22 ± 3.84	b	NA
PMEPF11	45	2.22 ± 3.84	b	4.44 ± 7.69	c	51.1 ± 16.8	b	60 ± 24	b	88.9 ± 3.84	a	93.3 ± 0	a	93.3 ± 0	a	3.27 (2.82-3.69)
Propiconazole	45	0 ± 0	b	0 ± 0	c	0 ± 0	c	0 ± 0	c	0 ± 0	b	0 ± 0	b	2.22 ± 3.84	b	NA
Streptomycin+Tetracycline	45	0 ± 0	b	0 ± 0	c	6.66 ± 0	c	8.88 ± 3.84	c	8.88 ± 3.84	b	8.88 ± 3.84	b	8.88 ± 3.84	b	NA
Bt ¹	45	55.6 ± 16.8	a	62.2 ± 27.8	b	73.3 ± 17.6	ab	75.6 ± 21.4	ab	75.6 ± 21.4	a	77.8 ± 20.4	a	77.8 ± 20.4	a	0.66 (0-1.76)
Propiconazole+PMEPF11	45	0 ± 0	b	0 ± 0	c	2.22 ± 3.84	c	8.88 ± 3.84	c	11.1 ± 3.84	b	13.3 ± 6.66	b	17.8 ± 3.84	b	NA
Streptomycin+Tetracycline+EPF11	45	0 ± 0	b	8.88 ± 3.84	c	64.4 ± 19.2	ab	84.4 ± 10.2	ab	95.6 ± 3.84	a	97.8 ± 3.84	a	97.8 ± 3.84	a	2.86 (2.56-3.15)
Bt+PMEPF11	45	66.7 ± 6.66	a	95.6 ± 3.84	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a	100 ± 0	a	0.68 (0-0.97)

¹ Bt: *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai strain NB-200.² DAI: Day after inoculation.³ LT₅₀: Median lethal time.⁴ Mean ± SD.⁵ Different letters within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's HSD test.⁶ NA: The LT₅₀ value was not calculable due to the cumulative mortality below 50%.

僅需約 0.68 天。

討 論

一、昆蟲病原真菌對秋行軍蟲幼蟲之毒力測試

爪哇擬青黴菌 PMEPF02 和白僵菌 PMEPF11 致死率第二天至第三天有明顯上升，且在七天內爪哇擬青黴菌 PMEPF02 和二株白僵菌的致死率均可達到 50% 以上。Gao *et al.* (2022)⁽¹²⁾ 研究顯示白僵菌 (*B. bassiana*) PfBb 對一齡至三齡的秋行軍蟲幼蟲具有較強的毒力，第七天死亡率約為 80%，但其致病力隨著幼蟲齡數的增加逐漸降低。

二、昆蟲病原真菌對紫外線的耐受性

本實驗測試三支分離株在 UV-B 輻射下的耐受性表現，結果三支菌株對 UV-B 的耐受性皆不同，UV-B 顯著抑制所有測試菌株的發芽率和菌落存活數。Braga *et al.* (2001)⁽³⁾ 和 Rangel *et al.* (2006)⁽³²⁾ 的研究發現昆蟲病原真菌照射一小時 UV-B 不會明顯傷害其分生孢子，但經照射兩小時後，真菌物種與分離株對 UV-B 的耐受性差異性大。菌株的差異性可能與細胞中海藻糖和甘露醇在的累積量有關⁽³¹⁾。

白僵菌 PMEPF11 和 PMEPF23 照射 15 分鐘後，48 小時發芽率分別為 42% 和 26%，但仍無法形成菌落，可能是 UV-B 劑量過高會產生環丁烷嘧啶雙體 (cyclobutane pyrimidine dimers, CPD) 和 (6-4)-pyrimidine-pyrimidine photoproducts (6-4PP)，這些毒性物質可能導致生長缺陷、基因突變，甚至細胞死亡⁽⁴³⁾。

白僵菌 PMEPF11 和 PMEPF23 經 UV-B 照射五分鐘後，24 小時發芽率分別為 62% 和 59%，且白僵菌 PMEPF11 和 PMEPF23 於 48 小時後皆能恢復至 100%，其恢復能力可能是真菌 DNA 修復系統，可分為兩種不同的機制，光修復系統 (photoreactivation, Phr) 需透過光照激活光解酶 (photolyase)，才能修復 UV 誘導的 CPD；另一種則是核苷酸切除修復 (nucleotide excision repair, NER) 可在完全黑暗中緩慢的修復 CPD 和 6-4PP 的傷害及受損的 DNA 結構⁽⁵⁾。

三、農業藥劑對昆蟲病原真菌的影響

(一) 昆蟲病原真菌對農業藥劑的耐受性

測試 14 個用藥劑對孢子萌發率，僅三個呈現抑制效果。普克利、百速隆和固殺草完全抑制了三支菌株的孢子發芽、菌絲生長和孢子產生能力。在 24 和 48 小時內，孢子的發芽率均為 0%，而在第七天和第 14 天時，菌落直徑均為 0 公分。這三種藥劑可能抑制的原因在於，殺菌劑普克利的作用機制涉及膜固醇合成，而真菌細胞膜的主要固醇是麥角固醇⁽²⁾，麥角固醇主要調節膜流動性和通透性，並間接調節膜蛋白的活性和分佈、

酶、離子通道和信號傳導⁽²¹⁾。而 Kumar *et al.* (2018)⁽²⁰⁾ 研究顯示百速隆顯著抑制土壤中的真菌族群量，另外 Todorova *et al.* (1998)⁽⁴¹⁾ 結果顯示固殺草抑制白僵菌的菌絲生長及產孢量。

依芬寧雖然不影響發芽率，但在第七天顯著抑制三支菌株菌落生長，然而於第十四天 PMEPF02、和 PMEPF23 有恢復生長。而 Muthabathula and Biruduganti (2022)⁽²⁷⁾ 研究結果也發現白僵菌 (*B. bassiana*) ITCC 913 與賽滅寧 (Cypermethrin) 共同培養 20 小時後發芽抑制率為 75.26%，但 48 小時後發芽抑制率降至 17.57%，且使菌絲乾重增加。依芬寧和賽滅寧屬除蟲菊類 (pyrethrins) 的化學殺蟲劑，白僵菌可能可以降解除蟲菊類之藥劑。

根據農藥相容性公式計算後，第七天的結果顯示嘉磷塞對 PMEPF02 呈毒性，但在第 14 天轉為中毒性。本實驗結果與 Spinelli *et al.* (2021)⁽³⁹⁾ 相似，研究顯示淡紫擬青黴菌 (*Purpureocillium lilacinum*) FBL 478 在一週內可降解約 80% 的嘉磷塞活性成分。本實驗結果中，施得圃不僅不會影響二支白僵菌的發芽，也顯著增加菌絲生長和產孢量。Celar and Kos (2016)⁽⁴⁾ 施得圃反而會抑制白僵菌 (*B. bassiana*) ATCC 74040 菌絲生長，與本實驗結果相反，可能是由於菌株及化學農藥的活性成分和配方成分的差異⁽³⁵⁾，若要進一步驗證此原因，需評估分離株對於活性成分的感受性。

綜合以上，PMEPF11 和 PMEPF23 與大多數農業藥劑相容，未來可以探討這兩株菌對農業藥劑的分解和代謝情況，以提供用於環境修復的菌株。在實驗操作方面，可以模擬田間桶混情境，將農藥與孢子混合後進行測試，並進一步研究農藥抑制孢子發芽及菌絲生長的分子機制。另外，此研究結果提供農友實際於田間施用時，仍需注意田間若殘留除草劑或鄰田若需施用除草劑，可能會影響昆蟲病原真菌的防治效果。整體而言，未來在實際應用昆蟲病原真菌時，需注意其與農藥的相容性，以避免影響防治效果。

(二) 昆蟲病原真菌與農業藥劑共處理對秋行軍蟲的致病力

本研究目的為確定農藥相容性測試中的實驗結果是否能驗證昆蟲病原真菌的殺蟲效果，試驗結果中，單處理普克利和鍊四環黴素對秋行軍蟲幼蟲無致死效果，表示這兩種藥劑不具有殺死秋行軍蟲的活性成分。白僵菌 PMEPF11 與普克利混合後，秋行軍蟲幼蟲的死亡率顯著降低至 17.77%，此結果與農藥相容性之測試結果相符，普克利抑制白僵菌的孢子發芽及生長，導致無法有效地殺死秋行軍蟲幼蟲。而白僵菌 PMEPF11 與鍊四環黴素混合後，秋行軍蟲幼蟲的死亡率在第四天達到 84% 與單處理白僵菌 PMEPF11 的結果無顯著差異，表示鍊四環黴素中的成分無法增強白僵菌 PMEPF11 對秋行軍蟲的殺蟲效果。

蘇力菌之作用機制是產生殺蟲晶體蛋白 (insecticidal

Crystals proteins, ICP) 與昆蟲中腸細胞受體結合後，造成腸穿孔導致昆蟲死亡⁽³⁰⁾，是目前全世界商品最多的生物農藥。本研究單獨使用蘇力菌商品福祿寶的結果中，第一天死亡率為 55% 顯著高於單處理白殭菌 PMEPF11，第七天累積死亡率為 77.78%；福祿寶與白殭菌 PMEPF11 混合後，第一天死亡率可提升至 66.67% 致死率，並且在第三天全數幼蟲死亡，LT₅₀ 僅需約 0.68 天。Yaroslavtseva et al. (2017)⁽⁴⁸⁾ 與 Tyurin et al. (2016)⁽⁴²⁾ 發現蘇力菌增強了昆蟲表皮的酚氧化酶 (Phenoloxidase, PO) 的活性，使昆蟲表皮上的黑殭菌 (*Metarhizium* spp.) 分生孢子快速發芽，血腔中真菌的定殖速度更快，推測蘇力菌感染期間，因 PO 活性增加而影響表皮細胞活性。另外，黑殭菌會使昆蟲的免疫細胞數量顯著減少，尤其是漿細胞 (plasmacytes) 和顆粒細胞 (granulocytes)，抑制了寄主的細胞免疫。

綜合以上，本實驗結果驗證了農藥對昆蟲病原真菌孢子的影響與其致病力相關。農藥對真菌昆蟲病原體的毒性之影響，可能因真菌的種類和菌株、活性成分的化學性質、作用方式、配方和推薦施用量等因素而異⁽³⁴⁾。在本研究中蘇力菌商品福祿寶與白殭菌 PMEPF11 可能透過不同的殺蟲機制形成互補，不同機制的結合可能加速了昆蟲的死亡過程，提高了整體的殺蟲效果，蘇力菌商品福祿寶與白殭菌 PMEPF11 的聯合使用具有潛在的應用價值。

引用文獻

- Abidin, A. F., Ekowati, N., and Ratnaningtyas, N. I. 2017. Insecticide compatibility to the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Scripta Biologica 4: 273-279.
- Alvarez, F. J., Douglas, L. M., and Konopka, J. B. 2007. Sterol-rich plasma membrane domains in fungi. Eukaryot. Cell 6: 755-763.
- Braga, G. U., Flint, S. D., Miller, C. D., Anderson, A. J., and Roberts, D. W. 2001. Variability in response to UV-B among species and strains of *Metarhizium* isolated from sites at latitudes from 61 N to 54 S. J. Invertebr. Pathol. 78: 98-108.
- Celar, F. A., and Kos, K. 2016. Effects of selected herbicides and fungicides on growth, sporulation and conidial germination of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Pest Manag. Sci. 72: 2110-2117.
- Chelico, L., and Khachatourians, G. G. 2008. Isolation and characterization of nucleotide excision repair deficient mutants of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 98: 93-100.
- Chen, W. H., Itza, B., Kafle, L., and Chang, T. Y. 2023. Life table study of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (*Lepidoptera: Noctuidae*) on three host plants under laboratory conditions. Insects 14: 329.
- Chen, W. H., Liang, J. D., Ren, X. X., Zhao, J. H., Han, Y. F., and Liang, Z. Q. 2022. Species diversity of Cordyceps-like fungi in the Tiankeng Karst region of China. Microbiol. Spectr. 10: e0197522.
- Chiriví-Salomón, J. S., Danies, G., Restrepo, S. and Sanjuan, T. 2015. *Lecanicillium sabanense* sp. nov. (Cordycipitaceae), a new fungal entomopathogen of coccids. Phytotaxa 234: 63-74.
- das Chagas Bernardo, C., Pereira-Junior, R. A., Luz, C., Mascarin, G. M., and Fernandes, E. K. 2020. Differential susceptibility of blastospores and aerial conidia of entomopathogenic fungi to heat and UV-B stresses. Fungal Biol. 124: 714-722.
- Dong, Q. Y., Wang, Y., Wang, Z. Q., Tang, D. X., Zhao, Z. Y., Wu, H. J., and Yu, H. 2022. Morphology and phylogeny reveal five novel species in the genus *Cordyceps* (Cordycipitaceae, Hypocreales) from Yunnan, China. Front. Microbiol. 13: 846909.
- Gallou, A., Serna-Domínguez, M. G., Berlanga-Padilla, A. M., Ayala-Zermeno, M. A., Mellín-Rosas, M. A., Montesinos-Matías, R., and Arredondo-Bernal, H. C. 2016. Species clarification of *Isaria* isolates used as biocontrol agents against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in Mexico. Fungal Biol. 120: 414-423.
- Gao, Y. P., Luo, M., Wang, X. Y., He, X. Z., Lu, W., and Zheng, X. L. 2022. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* PfBb and immune responses of a non-target host, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Insects 13: 914.
- Gutierrez-Moreno, R., Mota-Sanchez, D., Blanco, C. A., Chandrasena, D., Difonzo, C., Conner, J., Head, G., Berman, K., and Wise, J. 2020. Susceptibility of fall armyworms (*Spodoptera frugiperda* JE) from Mexico and Puerto Rico to Bt proteins. Insects 11: 831.
- Hoang, D. T., Chernomor, O., Von Haeseler, A., Minh, B. Q., and Vinh, L. S. 2018. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. Mol. Biol. Evol. 35: 518-522.
- Idrees, A., Afzal, A., Qadir, Z. A., and Li, J. 2022. Bioassays of *Beauveria bassiana* isolates against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. J. Fungi 8: 717.
- Imoulan, A., Wu, H. J., Lu, W. L., Li, Y., Li, B. B., Yang, R. H., Wang, W. J., Wang, X. L., Kirk, P. M., and Yao, Y. J. 2016. *Beauveria medogensis* sp. nov., a new fungus of the entomopathogenic genus from China. J. Invertebr. Pathol. 139: 74-81.

17. Jakka, S. R. K., Knight, V. R. and Jurat-Fuentes, J. L. 2014. *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) with field-evolved resistance to Bt maize are susceptible to Bt pesticides. J. Invertebr. Pathol. 122: 52-54.
18. Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., Haeseler, A., and Jermini, L. S. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. Nat. Methods 14: 587-589.
19. Khun, K. K., Wilson, B. A., Stevens, M. M., Huwer, R. K., and Ash, G. J. 2020. Integration of entomopathogenic fungi into IPM programs: Studies involving weevils (Coleoptera: Curculionidae) affecting horticultural crops. Insects 11: 659.
20. Kumar, R., Rana, A., Rana, S. S., Rana, M. C., Sharma, N., and Sharma, G. D. 2018. Influence of pyrazosulfuron-ethyl on soil microflora, weed count and yield of transplanted rice (*Oryza sativa* L.). Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 7: 1757-1764.
21. Lepesheva, G. I., and Waterman, M. R. 2007. Sterol 14 α -demethylase cytochrome P450 (CYP51), a P450 in all biological kingdoms. BBA-Gen Subjects 1770: 467-477.
22. Lopes, R. B., de Souza, D. A., Inglis, P. W., and Faria, M. 2023. Diversity of anamorphic *Cordyceps* (formerly *Isaria*) isolated from Brazilian agricultural sites. J. Invertebr. Pathol. 200: 107956.
23. Mietkiewski, R. T., Pell, J. K., and Clark, S. J. 1997. Influence of pesticide use on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in arable soils in the UK: field and laboratory comparisons. Biocontrol Sci. Technol. 7: 565-576.
24. Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., von Haeseler, A., and Lanfear, R. 2020. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. Mol. Biol. Evol. 37: 1530-1534.
25. Mongkolsamrit, S., Noisripoom, W., Thanakitpipattana, D., Wutikhun, T., Spatafora, J. W., and Luangsa-Ard, J. 2018. Disentangling cryptic species with *isaria*-like morphs in Cordycipitaceae. Mycologia 110: 230-257.
26. Méndez-González, F., Castillo-Minjarez, J. M., Loera, O., and Favela-Torres, E. 2022. Current developments in the resistance, quality, and production of entomopathogenic fungi. World J. Microbiol. Biotechnol. 38: 115.
27. Muthabathula, P., and Biruduganti, S. 2022. Analysis of biodegradation of the synthetic pyrethroid cypermethrin by *Beauveria bassiana*. Curr. Microbiol. 79: 46.
28. Niu, Y., Qureshi, J. A., Ni, X., Head, G. P., Price, P. A., Meagher Jr, R. L., Kerns, D., Levy, R., Yang, X., and Huang, F. 2016. F2 screen for resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab2-maize in field populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) from the southern United States. J. Invertebr. Pathol. 138: 66-72.
29. Ou, D., Zhang, L. H., Guo, C. F., Chen, X. S., Ali, S., and Qiu, B. L. 2019. Identification of a new *Cordyceps javanica* fungus isolate and its toxicity evaluation against Asian citrus psyllid. MicrobiologyOpen 8: e00760.
30. Pigott, C. R., and Ellar, D. J. 2007. Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 71: 255-281.
31. Rangel, D. E., and Roberts, D. W. 2018. Possible source of the high UV-B and heat tolerance of *Metarhizium acridum* (isolate ARSEF 324). J. Invertebr. Pathol. 157: 32-35.
32. Rangel, D. E., Anderson, A. J., and Roberts, D. W. 2006. Growth of *Metarhizium anisopliae* on non-preferred carbon sources yields conidia with increased UV-B tolerance. J. Invertebr. Pathol. 93: 127-134.
33. Rehner, S. A., and Buckley, E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. Mycologia 97: 84-98.
34. Rehner, S. A., Minnis, A. M., Sung, G. H., Luangsa-ard, J. J., Devotto, L., and Humber, R. A. 2011. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. Mycologia 103: 1055-1073.
35. Sain, S. K., Monga, D., Kumar, R., Nagrale, D. T., Hiremani, N. S., and Kranthi, S. 2019. Compatibility of entomopathogenic fungi with insecticides and their efficacy for IPM of *Bemisia tabaci* in cotton. J. Pestic. Sci. 44: 97-105.
36. Sala, A., Barrena, R., Artola, A., and Sánchez, A. 2019. Current developments in the production of fungal biological control agents by solid-state fermentation using organic solid waste. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 49: 655-694.
37. Shah, P. A., and Pell, J. K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. Appl. Microbiol. Biotechnol. 61: 413-423.
38. Silva, R. A. D., Quintela, E. D., Mascarin, G. M., Barrigossi, J. A. F., and Lião, M. 2013. Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Sci. Agric. 70: 152-160.
39. Spinelli, V., Ceci, A., Bosco, C. D., Gentili, A., and Persiani, A. M. 2021. Glyphosate-eating fungi: Study on fungal saprotrophic strains' ability to tolerate and utilise glyphosate as a nutritional source and on the ability of *Purpureocillium lilacinum* to degrade it. Microorganisms 9: 2179.
40. Storer, N. P., Babcock, J. M., Schlenz, M., Meade, T., Thompson,

- G. D., Bing, J. W., and Huckaba, R. M. 2010. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. J. Econ. Entomol. 103: 1031-1038.
41. Todorova, S. I., Coderre, D., Duchesne, R. M., and Côté, J. C. 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. Environ. Entomol. 27: 427-433.
42. Tyurin, M. V., Kryukov, V. Y., Yaroslavl'tseva, O. N., Elisafenko, E. A., Dubovskiy, I. M., and Glupov, V. V. 2016. Comparative analysis of immune responses in Colorado potato beetle larvae during development of mycoses caused by *Metarhizium robertsii*, *M. brunneum*, and *M. pempighi*. J. Evol. Biochem. Physiol. 52: 252-260.
43. Wang, J., Chen, J., Hu, Y., Ying, S. H., and Feng, M. G. 2020a. Roles of six Hsp70 genes in virulence, cell wall integrity, antioxidant activity and multiple stress tolerance of *Beauveria bassiana*. Fungal Genet. Biol. 144: 103437.
44. Wang, S. Y., Zhu, Q. Z., Tan, Y. T., Ma, Q. L., Wang, R. F., Zhang, M. F., Xu, H. H., and Zhang, Z. X. 2019. Artificial diets and rearing technique of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in laboratory. 41: 742-747.
45. Wang, Y. B., Wang, Y., Fan, Q., Duan, D. E., Zhang, G. D., Dai, R. Q., Dai, Y. D., Zeng, W. B., Chen, Z. H., Li, D. D., Tang, D. X., Xu, Z. H., Sun, T., Nguyen, T. T., Tran, N. L., Dao, V. M., Zhang, C. M., Huang, L. D., Liu, Y. J., Zhang, X. M., Yang, D. R., Sanjuan, T., Liu, X. Z., Yang, L. Z., and Yu, H. 2020b. Multigene phylogeny of the family Cordycipitaceae (Hypocreales): new taxa and the new systematic position of the Chinese cordycipitoid fungus *Paecilomyces hepiali*. Fungal Divers. 103: 1-46.
46. Wang, Y., Dong, Q. Y., Luo, R., Fan, Q. Duan, D. E., Dao, V. M., Wang, Y. B., and Yu, H. 2023. Molecular phylogeny and morphology reveal cryptic species in the *Cordyceps militaris* complex from Vietnam. J. Fungi 9: 676.
47. Wu, S., Toews, M. D., Oliveira-Hofman, C., Behle, R. W., Simmons, A. M., & Shapiro-Ilan, D. I. 2020. Environmental tolerance of entomopathogenic fungi: A new strain of *Cordyceps javanica* isolated from a whitefly epizootic versus commercial fungal strains. Insects 11: 711.
48. Yaroslavl'tseva, O. N., Dubovskiy, I. M., Khodyrev, V. P., Duisembekov, B. A., Kryukov, V. Y., and Glupov, V. V. 2017. Immunological mechanisms of synergy between fungus *Metarhizium robertsii* and bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. morrisoni on Colorado potato beetle larvae. J. Insect Physiol. 96: 14-20.
49. Zha, L. S., Wen, T. C., Huang, S. K., Boonmee, S., and Eungwanichayapant, P. D. 2019. Taxonomy and biology of *Cordyceps qingchengensis* sp. nov. and its allies. Phytotaxa 416: 14-24.

ABSTRACT

Yun-Jhu Lin¹, Yu-Cih Yang¹, Jhen Zeng¹, Ciao-Yan Chen², Yong-Yu Yang^{1*} 2025. Application potential of native entomopathogenic fungi in controlling *Spodoptera frugiperda* and their tolerance to abiotic stresses. J. Plant Med. 67(2): 45-60.

*Corresponding author, E-mail: nasuta@mail2000.com.tw and yyyang@mail.npust.edu.tw

Since fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) invade into Taiwan in 2019, this pest has severely damaged food crops such as corn and sorghum. The larvae chew on corn leaves, tassels, and bore into the growth points to feed, resulting in reduced yield and quality. Currently, chemical pesticides are the primary control method, but long-term use can lead to development of resistance. Therefore, this study aims to use entomopathogenic fungi (EPF) as control agents, selecting strains with potential to control the fall armyworm and tolerate to different abiotic stresses. The tested strains included *Cordyceps javanica* PMEPPF02, *Beauveria bassiana* PMEPPF11, PMEPPF23. The pathogenicity of the five strains against fall armyworm larvae was tested using the leaf-dip method. The results showed that PMEPPF02 strain had the highest pathogenicity, with an LT₅₀ of only 1.69 days. Followed by PMEPPF11, and PMEPPF23, with LT₅₀ values of 3.27, and 6.11 days, respectively. In ultraviolet tests, PMEPPF11 exhibited the best tolerance; after 15 minutes of UV-B treatment, it still had a germination rate of 42%. Agricultural chemicals, including the recommended fungicide propiconazole and herbicides glufosinate-ammonium and pyrazosulfuron-ethyl for corn, inhibited conidia germination of the four test strains. Additionally, combining *B. bassiana* PMEPPF11 with the commercial *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* strain NB-200 product not only enhanced the insecticidal effect but also reduced the LT₅₀ to 0.68 days. In summary, *B. bassiana* PMEPPF11 is a potential strain for controlling the fall armyworm, and combining it with the commercial *B. thuringiensis* product can shorten the lethal time.

Keywords: pathogenicity, medium lethal time (LT₅₀), ultraviolet, chemical pesticides, mycelia growth, sporulation, germination rate