

利用球孢白殭菌防治香蕉假莖象鼻蟲（鞘翅目：象鼻蟲科）：有效菌株篩選與香蕉假莖注射法之應用

黃柏誠、蕭旭峰*

國立臺灣大學昆蟲學系 106 台北市大安區羅斯福路四段 1 號

* 聯絡作者, E-mail: sfshiao@ntu.edu.tw

摘 要

黃柏誠、蕭旭峰。2023。利用球孢白殭菌防治香蕉假莖象鼻蟲（鞘翅目：象鼻蟲科）：有效菌株篩選與香蕉假莖注射法之應用。植物醫學65(4): 149-162。

香蕉經常受到香蕉假莖象鼻蟲 (*Odoiporus longicollis* (Oliver, 1807)) 的危害, 使植株內部組織結構破壞甚至整株倒伏, 造成嚴重經濟損失。本研究從田間收集了五個受白殭菌感染之昆蟲 (香蕉象鼻蟲為主) 樣本進行有效菌株分離篩選, 並加入唯一市售白殭菌僵僵好 (A1) 作為參考進行比較。根據 ITS、nrLSU、*tef1-α*、*rpb1* 及 *rpb2* 等五段基因序列建立親緣關係樹, 可以確定本研究於野外所採集之樣本分離株皆為球孢白殭菌 (*Beauveria bassiana*)。於實驗室內進行試驗, 菌株 SF404、SF303、SF124 及 A1 於 3×10^9 conidia/mL 濃度下對香蕉假莖象鼻蟲成蟲之致死率在 12 天後分別可達 93.3、90.0、90.0 及 53.3%。在 24°C 定溫下以 PDA 培養環境下, 各菌株之孢子萌發率在 24 hr 皆可達到 90% 以上。在 15 天培養後之菌落直徑於菌株 SF124、SF303 及 SF404 分別為 5.38、5.25 及 4.83 cm。於 24°C 定溫下 SF124、SF303 及 SF404 三菌株之單位面積產孢量分別為 2.39×10^8 、 2.18×10^8 及 2.05×10^8 conidia/cm²。於香蕉假莖注射 1×10^7 、 1×10^8 及 1×10^9 conidia/mL 濃度之球孢白殭菌 SF124 孢子懸浮液, 兩週後幼蟲之死亡率分別為 45.0、65.0 及 95.0%。注射 1×10^8 conidia/mL 濃度之 SF124 孢子懸浮液並放置 0、14 及 28 天後接種幼蟲, 兩週後之死亡率分別為 65.0%、35.0% 及 25.0%。基於上述等試驗結果, 本研究篩選之菌株與香蕉假莖注射法頗具潛力開發為防治香蕉假莖象鼻蟲之新選擇。

關鍵詞：球孢白殭菌、香蕉假莖象鼻蟲、香蕉假莖注射、蟲害管理、微生物農藥

緒 言

香蕉 (banana), 俗稱甘蕉、芎蕉、芽蕉或弓蕉, 為芭蕉科 (Musaceae) 芭蕉屬 (*Musa*) 中果實可供食用之多年生草本植物的統稱。根據聯合國糧食及農業組織 (FAO) 於 2021 年提供的統計資料, 香蕉不僅是為人熟知的水果之一, 其產值更超越 500 億美金 (含 plantains and cooking bananas)。曾經被譽為香蕉王國的台灣, 日治時代依賴特殊的政策及時空背景, 一度獨霸日本進口市場, 於 1967 年達到 90% 的日本市場佔額⁽¹⁸⁾。但自日治時期以來, 台灣的香蕉產業隨即開始遭遇香蕉假莖象鼻蟲 (*Odoiporus longicollis* (Olivier, 1807), banana pseudostem weevil) 危害。香蕉假莖象鼻蟲為鞘翅目 (Coleoptera) 象鼻蟲科 (Curculionidae) 之完全變態昆蟲。當雌蟲產卵於香蕉植株後, 孵化之蠕蟲型 (grub) 幼蟲會鑽入健康之香蕉組織啃食, 產生明顯且不可逆之隧道式食痕, 由於此階段幼蟲進行大量取食並破壞香蕉內部組織, 可能阻礙養分與水分輸送、降低假莖支撐能力或是破壞側芽生長點, 危害最為嚴重; 當老熟幼蟲準備化蛹時, 香蕉假莖象鼻蟲之幼蟲會以香蕉之組織纖維做一橢圓形蟲繭, 香蕉球莖象鼻蟲 (*Cosmopolites sordidus* (Germar), banana corm weevil) 則會挑選適合之封閉食痕隧道, 靜待羽化爬出開始下一個世代^(9, 21)。

雖然大多情況下, 因為象鼻蟲成蟲善於躲藏在地下或葉鞘縫隙間, 其幼蟲又鑽食於香蕉植株內部而不易察覺, 不如香蕉黃葉病與花薊馬等病蟲害矚目, 常被認定為次要危害; 然一旦觀察到香蕉植株生長勢受到象鼻蟲幼蟲啃食影響, 甚至導致假莖倒伏或果軸斷裂時, 往往為時已晚。根據農業部動植物防疫檢疫署之農藥資訊服務網所提供香蕉象鼻蟲類的害蟲整合管理 (integrated pest management, IPM) 方法, 主要以健康種苗、輪作、田間衛生管理及化學藥劑防治進行搭配使用; 然而在追求永續農業發展與減少農藥危害的潮流下, 無論是配合推動「化學農藥十年減半」政策, 抑或是出於農產品健康安全考量, 若香蕉象鼻蟲類的害蟲整合管理少了化學農藥這一環, 僅依賴耕

作防治 (cultural control) 與物理防治 (physical control) 將使農民在選擇防治資材上捉襟見肘，為此尋找對於環境友善的有效防治資材，在替代化學藥劑防治香蕉象鼻蟲危害上實刻不容緩。

自然天敵可說是有機農業中害蟲整合管理最受青睞的使用手段之一，藉由釋放或自然繁衍來達到一物剋一物的效果。根據 Frison *et al.* (1998) 整理的文獻中提到，香蕉球莖象鼻蟲的野外可能天敵包括鞘翅目闇魔蟲科 (Histeridae)、隱翅蟲科 (Staphylinidae)、牙蟲科 (Hydrophilidae)、細扁甲科 (Silvanidae)、雙翅目鵲虵科 (Rhagionidae) 及膜翅目蟻科 (Formicidae) 等昆蟲類群⁽⁷⁾，其中已知闇魔蟲科的爪哇闇魔蟲 (*Plaesus javanus*) 會捕食香蕉球莖象鼻蟲具應用潛力⁽¹⁰⁾，但可惜的是於台灣北部進行田間觀察，尚未發現其蹤跡；闇魔蟲科(爪哇闇魔蟲除外)、牙蟲科、隱翅蟲科、蟻科、出尾蟲科 (Nitidulidae)、家蠅科 (Muscidae) 等昆蟲則經常見於受害植株附近，在觀察行為後亦發現，存在於受象鼻蟲危害之香蕉植株內部的昆蟲多為腐食性，推測先由象鼻蟲幼蟲啃食植株造成傷口與隧道後，其餘昆蟲與土棲動物 (蚯蚓、馬陸) 隨之鑽入取食腐爛植株，唯螞蟥雖為雜食性，卻僅分布於地表或植株表面，並無法進入植株內部捕食象鼻蟲幼蟲，且螞蟥對食物來源並無專一性，此習性不利於生物防治資材之開發與應用。除了昆蟲天敵以外，文獻指出白殭菌屬 (*Beauveria*) 與黑殭菌屬 (*Metarhizium*) 等蟲生真菌 (entomopathogenic fungi) 皆可防治香蕉象鼻蟲^(8, 12)。同時，於台灣北部香蕉園觀察發現，時常有危害香蕉之象鼻蟲受白殭菌感染死亡，而黑殭菌則常感染危害香蕉根部之金龜子科幼蟲 (Scarabaeidae)，因此蟲生真菌為目前最具防治香蕉象鼻蟲潛力之天敵選擇。

廣義上的蟲生真菌，泛指能在不同環境條件下感染昆蟲的真菌性流行傳染病，包含蟲草科 (Cordycipitaceae)、線蟲草科 (Ophiocordycipitaceae) 及麥角菌科 (Clavicipitaceae) 等。而白殭菌屬 (*Beauveria*) 則為子囊菌門 (Ascomycota) 蟲草科中最常被應用的一類蟲生真菌，其感染途徑係透過分生孢子黏附於昆蟲體表後，萌發並穿透入侵昆蟲幾丁質表皮，在進入昆蟲體腔後利用系統性的血淋巴循環，分泌蛋白酶、脂肪酶及幾丁質酶等二次代謝物降低昆蟲的食慾與活動力，於 5~10 天後因生理失調而致死⁽²³⁾。蟲生真菌於香蕉象鼻蟲的防治上亦有不少開發以及試驗，Khan and Gangapersad (2001) 比較 *B. bassiana*、*M. anisopliae* 及 *M. flavoviridis* 三種蟲生真菌對香蕉球莖象鼻蟲之防治效力，並估算出 4.57×10^7 、 5.13×10^7 及 4.92×10^7 conidia/mL 之半數致死濃度 (median lethal concentration, LC_{50})，以及 10、21 及 32 天之半數致死時間 (median lethal time, LT_{50})⁽¹⁴⁾；Padmanaban *et al.* (2009) 測試不同介質之 *B. bassiana* 大量發酵產孢量，並分別浸泡假莖和球莖象鼻蟲於 1×10^8 conidia/mL 濃度之孢子懸浮液，6 天後皆得到 100% 之死亡率⁽²²⁾；Alagesan *et al.* (2019) 篩選四個 *B. bassiana* 之分離株，並使用 KH3 與 KH9 菌株 1×10^8 conidia/mL 濃度之孢子懸浮液可使香蕉假莖象

鼻蟲成蟲之死亡率於 18 天後分別達到 66% 與 56%⁽³⁾。

除個別菌株的致病效力以外，白殭菌的施用方式也一直視作防治成功與否的關鍵一環，由於需要孢子附著且萌發才能感染目標昆蟲，加上孢子於戶外環境無法長時間進行休眠或保持活性，例如紫外線的照射易破壞孢子⁽³²⁾或乾燥的環境不利於孢子萌發⁽⁵⁾，因此如何在短時間內使孢子能接觸到目標昆蟲就變得極為重要。目前常用於防治香蕉象鼻蟲的白殭菌施用方法，包括噴灑孢子懸浮液或粉劑⁽²⁰⁾、利用腐爛假莖陷阱誘引並加入白殭菌^(11, 22)以及幼苗浸泡孢子懸浮液⁽¹⁾等。根據香蕉假莖象鼻蟲的活動特性，成蟲可能躲藏於腐爛假莖或假莖縫隙中，或許以噴灑澆灌之施用方法暫且行得通，但幼蟲基本上躲藏於植株內部，加上此時期危害尤為嚴重，因此使得噴灑之效力時常大打折扣。然 Wagner and Lewis (2000) 指出白殭菌能於植物 (玉米) 內拓殖形成內共生菌 (endophyte)⁽³¹⁾，且即使高劑量接種，白殭菌共生行為並不會對植株 (香蕉) 生長造成不良影響⁽¹⁾；於其它內部害蟲防治上，便不乏嘗試注射白殭菌孢子懸浮液於植株內部^(6, 24)，而 Kung (1965) 詳細描述了使用藥劑注射香蕉假莖之方法以及如何避免藥害 (附錄一)⁽¹⁶⁾，或許注射孢子懸浮液於香蕉假莖內能降低假莖象鼻蟲幼蟲危害。

本研究於田間尋找自然感染香蕉假莖象鼻蟲之蟲生真菌，並攜回實驗室進行分離鑑定，利用生物檢定法 (bioassay) 測試菌株的孢子萌發率、不同溫度生長情形及單位面積產孢率，探討不同菌株間的生物特性，於實驗室內以成蟲接種測試其致病效力，評估作為新防治資材的潛力，最後希望結合 Kung (1965) 所最先開發的香蕉假莖注射技術⁽¹⁶⁾，估算注射孢子懸浮液防治香蕉假莖象鼻蟲所需劑量，作為香蕉象鼻蟲害蟲整合管理上的新選擇。

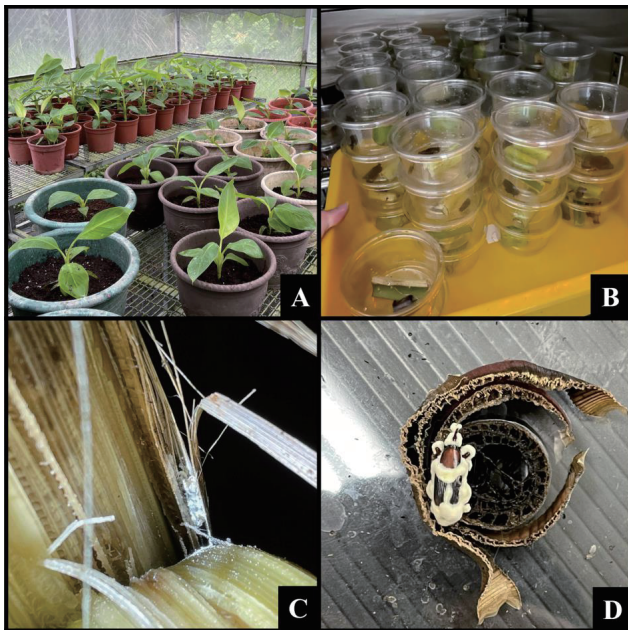
材料與方法

一、供試蟲源與植株取得

為了將試驗材料其他可能病蟲害影響降至最低，本試驗使用之香蕉植株皆購買自台灣香蕉研究所 (Taiwan Banana Research Institute, Pingtung)，品系為台蕉五號 (TC3-1035，玉山)，種植於國立臺灣大學農業昆蟲館 (圖一 A)。本試驗所用之香蕉假莖象鼻蟲採集自新北市田間，並攜回實驗室進行繼代飼養 (圖一 B)。為確保蟲體健康與穩定，幼蟲與成蟲皆以新鮮之香蕉假莖餵食且適時更換，成蟲以 24°C、光週期 L:D = 12:12 條件進行飼養，幼蟲以 24°C、全暗環境進行飼養。

二、供試菌種取得與保存

試驗用白殭菌採集於台灣北部 (圖一 C)，並攜回實驗室進行後續鑑定保存。將受感染蟲體先以 0.1% 次氯酸鈉溶液 (NaClO) 進行消毒，再使用無菌水洗淨殘存之次氯酸鈉，挑選



圖一、試驗相關示意圖。A：供試香蕉植株種植環境。B：香蕉假莖象鼻蟲成蟲飼養環境。C：於田間採集受白殭菌感染之香蕉假莖象鼻蟲。D：菌株致死率初步篩選之受感染蟲體示意圖。

Fig. 1. Illustration of experimental environment. A: planting environment of bananas at NTU Agricultural Insect Hall. B: The environment for testing adult *O. longicollis* was reared in the lab. C: The adult *O. longicollis* infected by *Beauveria* was collected in the field. D: Adult weevil was infected by *B. bassiana* in the preliminary screening for lethal efficacy.

菌絲表面無明顯髒污之區域，以含 0.01% Tween 80 之無菌水洗下孢子，並使用平板畫線法將含有孢子之 0.01% Tween 80 溶液接種於 PDA 平板培養基上 (213400, BD Difco, USA) (16001, 龍冶, 桃園)，在 24℃、光週期 L:D = 12:12 環境下進行培養，等待 2~3 天後挑選分散之單一菌落，移至新 PDA 平板培養基，繼代三次觀察菌落無明顯異樣後，取適量菌塊放入含 PDA 培養基與 30% 甘油 (glycerin) 之存菌管中，保存於 4℃ 冰箱 (CC-2, 一升科技, 新北) 與 -80℃ 冷凍櫃 (NU-9668GC, NuAire, USA) 中備用。

三、孢子懸浮液之配置

將培養於 PDA 平板培養基 15~20 天之菌絲刮下，以適量 0.01% Tween 80 無菌水震盪並洗下孢子，使用雙層無菌紗布過濾後稀釋以血球計數器 (12847, Marienfeld, Germany) 計算孢子懸浮液濃度，再依試驗需求配置成不同濃度備用。

四、有效菌株篩選

(一) 白殭菌分離株菌種鑑定

於 PDA 培養基上培養約 7 天後，刮下適量之菌絲裝於 1.5 mL 之微量離心管中，並使用 Geno Plus Genomic DNA Extraction

Miniprep System (GG2001, Viogene) 根據指示步驟抽取 DNA 備用。接著使用聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 對 DNA 進行增幅，準備 25 μ L 微量離心管並混合 12.5 μ L 2X Taq PCR Mix-RED (RT803R, Bioman, New Taipei)、9.5 μ L ddH₂O、1 μ L 正股引子、1 μ L 反股引子及 1 μ L 待測 DNA。根據 Tasanathai *et al.* (2016)、Kepler *et al.* (2017) 及 Mongkolsamrit *et al.* (2018)，選用 ITS (Internal transcribed spacer region)、nrLSU (Large subunit ribosomal DNA)、*tefl*- α (Translation elongation factor 1-alpha gene) 及 *rpb2* (RNA polymerase II second largest subunit gene) 等四個基因區段進行增幅^(13, 19, 28)，所使用之正反股引子序列如附錄二所示。於 DNA 增幅結束後，取 5 μ L 產物於 1.5% Agarose 進行膠體電泳，確定成功增幅目標區段之 DNA 區段後送交源資國際生物科技股份有限公司 (New Taipei) 進行定序，並進行序列分析。

(二) 菌株致病力初步篩選

在每一受感染蟲體中隨機挑選兩個菌落生長無異狀之分離株，配置濃度 3×10^6 conidia/mL 之孢子懸浮液，並取羽化自行鑽出繭 1~3 週之香蕉假莖象鼻蟲成蟲進行簡易致病力測試。將單隻成蟲以 0.1% 次氯酸鈉溶液進行消毒，再使用無菌水將殘存之次氯酸鈉洗淨，浸泡孢子懸浮液 10 sec 後，移至內有適量新鮮香蕉假莖之 9 cm 培養皿中，飼養於 24℃、光週期 L:D = 12:12 環境下連續觀察存活率 12 天，每組 10 隻，挑選其中致病力最高的三個分離株。對照組則使用 0.01% Tween 80 無菌水進行浸泡處理。

(三) 孢子萌發率

參考 Zhang *et al.* (2016) 之方法進行稍微調整⁽³⁴⁾，配製 300 μ L PDA 培養基，使用微量滴管將尚未凝固之 PDA 培養基均勻塗抹於載玻片上，待冷卻凝固備用。取濃度為 1×10^6 conidia/mL 之孢子懸浮液 10 μ L，使用微量滴管均勻塗抹於 PDA 培養基上，於 24℃、光週期 L:D = 12:12、相對溼度 (relative humidity) 100% 環境下培養，並於接種後 6、12、18 及 24 hr 進行顯微鏡鏡檢，隨機挑選三個不同視野，記錄 400 倍視野下孢子萌發率，以觀察到萌芽管狀構造即判定為萌發成功，每個菌株進行 5 重複。

(四) 最適生長溫度與單位面積產孢量

參考 Wu (2010) 之方法⁽³³⁾，取濃度 1×10^6 conidia/mL 之孢子懸浮液均勻塗於 PDA 平板培養基，4 天後以直徑 4 mm 之打孔器切取菌塊，倒置於新 9 cm PDA 平板培養基中央，在 20、24、28、32 及 36℃ 環境下進行培養，光週期 L:D = 12:12，於接種後 15 天記錄菌落直徑，每次測量挑選菌落最大直徑與垂直最大直徑之菌落直徑進行平均，每個菌株每溫度進行 5 重複。接種 15 天後，使用直徑 4 mm 之打孔器於菌落半徑 1/2 處切取菌塊，放入 1 mL 之 0.01% Tween 80 無菌水中震盪洗下孢子，並以血球計數器計算單位面積產孢量 (conidia/cm²)，每個

菌株每溫度進行 5 重複。

(五) 成蟲致死效率試驗

參考 Khan and Gangapersad (2001) 之方法進行調整⁽¹⁴⁾，配置濃度 3×10^6 、 3×10^7 、 3×10^8 及 3×10^9 conidia/mL 之孢子懸浮液備用。取羽化 1~3 週之香蕉假莖象鼻蟲成蟲，以 0.1% 次氯酸鈉溶液進行消毒，再使用無菌水將殘存之次氯酸鈉洗淨，浸泡於不同濃度之孢子懸浮液中 10 sec 後，將單隻成蟲移至內有適量新鮮香蕉假莖之 9 cm 培養皿中，飼養於 24°C、光週期 L:D = 12:12 環境下連續觀察存活率 12 天並計算半數致死濃度 (LC₅₀) 與半數致死時間 (LT₅₀)，每組 10 隻並進行 3 重複。對照組則使用 0.01% Tween 80 無菌水進行浸泡處理。另外於此試驗中，加入市售購買之產品僵僵好 (A1 strain，沅漢，台中)，直接以購買所得產品稀釋配置相應濃度之孢子懸浮液進行測試供參考比較。

五、白殭菌注射試驗

(一) 致死濃度

取株高 30~60 cm 栽培半年之蕉苗，使用 22G×1-1/2 規格之針頭 (Terumo, Taiwan) 於假莖基部注射不同濃度 (0.01% Tween 80、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 及 1×10^9 conidia/mL) 之菌株 SF124 孢子懸浮液 10 mL，注射細節參考 (附錄一)，且注射後須於莖頂看見滲出之孢子懸浮液方判定為注射成功，並於注射處上方 15 cm 接種日齡 7 天 (2~3 齡) 之幼蟲一隻，於 14 天後記錄存活率與啃食隧道之長度進行後續分析，每組 5 隻，進行 4 重複。

(二) 施用後致病力衰退時間

方法如上述致死濃度試驗，取株高 30~60 cm 栽培半年之蕉苗，注射 1×10^8 conidia/mL 濃度之菌株 SF124 孢子懸浮液，放置 0、14 及 28 日後接種幼蟲一隻，於 14 天後記錄存活率與啃食隧道之長度。

六、數據分析

得到解序之基因序列以 BioEdit 軟體進行訊號品質檢查，確認無多重片段與過多雜訊後，使用 MAFFT v. 7.409 進行多重序列比對 (multiple sequence alignments)，選用 ITS、nrLSU、*tefl-α*、*rpb1* 及 *rpb2* 等五個基因區段作為鑑定物種依據並進行修剪與串接，以 RAxML 建構親緣關係樹 (phylogenetic tree)，進行 1000 重複之再取樣分析 (bootstrap analysis)，並使用 *Cordyceps tenuipes* 作為外群。

孢子萌發率、最適生長溫度、單位面積產孢量、致死率及食痕長度等結果使用 IBM SPSS Statistics 22 統計軟體進行單因子變異數分析 (One-way ANOVA)，其中孢子萌發率與致死率先以反正弦 (arcsin) 進行數據轉換，單位面積產孢量先以常用對數 (common logarithm) 進行數據轉換，比較多處理組間之差異， $P < 0.05$ 則視為達到顯著標準，若達顯著標準則以 LSD 比較各組間之差異。在成蟲致死效率試驗中，使用以下公式：

$$Mortality = \frac{treatment\ mortality - control\ mortality}{1 - control\ mortality} \times 100\%$$

校正對照組自然死亡之影響，以四種濃度統計 12 天之死亡率以及 3×10^9 conidia/mL 濃度下之死亡天數估算半數致死濃度與半數致死時間，估算方式參考 Lei and Sun (2018)，進行兩兩比較⁽¹⁷⁾，並參考 Tsai (2020) 之方法使用 Bonferroni correction 對 P 值進行校正⁽³⁰⁾，校正後 $P < 0.05$ 作為顯著標準。在施用後致病力衰退時間中，使用 GraphPad Prism 9 以線性、指數等常見迴歸模型進行擬合計算 R^2 ，並計算指數模型下之半衰期 (half-time)。

結 果

一、有效菌株篩選

(一) 白殭菌分離株菌種鑑定

於台灣北部採集之受白殭菌感染樣本詳細資訊如表一所示，共採集到 4 隻香蕉假莖象鼻蟲、1 隻金龜子科 (Scarabaeidae) 幼蟲及 1 隻香蕉球莖象鼻蟲成蟲受感染樣本，在數個分離株中挑選 SF114、SF124、SF204、SF209、SF303、SF304、SF403、SF404、SF502、SF703 及 SF704 等十一個分離株進行序列分析；親緣關係樹如圖二所示，本實驗所挑選之菌株皆與物種 *B. bassiana* 位於同一支序群 (Clade)，且樹形大致與 Ariyawansa *et al.* (2015) 相同⁽⁴⁾，因此確認所分離之菌株皆為 *B. bassiana*。

(二) 菌株致病力初步篩選

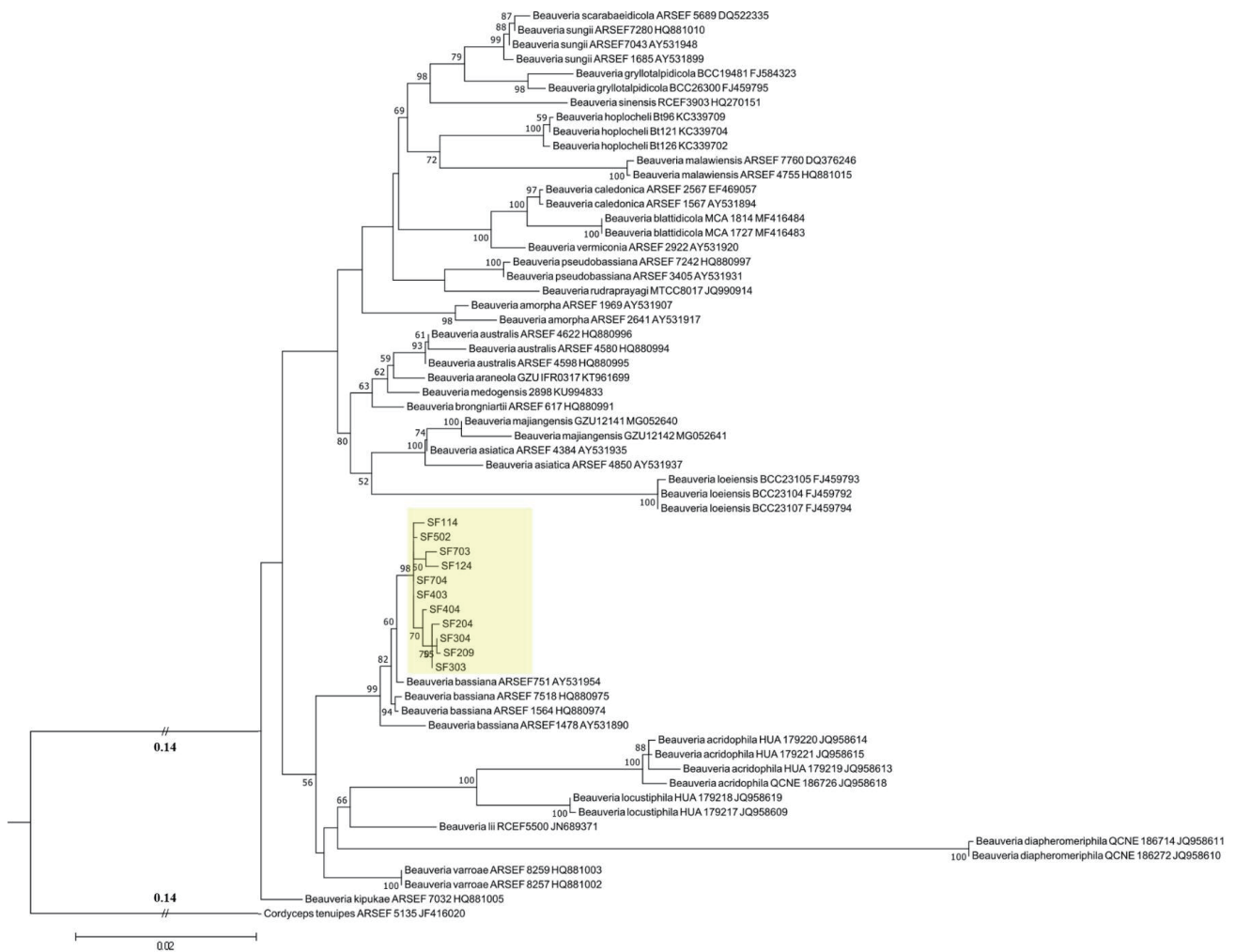
初步測試挑選 SF114、SF124、SF204、SF209、SF303、SF304、SF403 及 SF404 等八個分離株進行致病力試驗 (圖一 D)，浸泡 3×10^6 conidia/mL 濃度之孢子懸浮液 10 sec 處理，累計 12 天之成蟲死亡率如圖三，於 12 天時死亡率最高依次為

表一、採集自台北地區受白殭菌感染之樣本詳細資訊

TABLE 1. Collecting data of samples infected by *Beauveria* collected from Taipei, Taiwan

Strain code ¹	Collection date	Location	Host insect
SF101-SF124	2021. Dec. 23	Xindian	<i>O. longicollis</i> adult
SF201-SF212	2021. Dec. 23	Xindian	<i>O. longicollis</i> adult
SF301-SF304	2022. Jan. 09	Xindian	<i>O. longicollis</i> pupa
SF401-SF404	2022. Jan. 15	Xindian	<i>O. longicollis</i> larva
SF501-SF502	2022. Feb. 26	Da'an	<i>Scarabaeidae</i> larva
SF701-SF704	2022. Mar. 29	Xindian	<i>C. sordidus</i> adult

¹: Strain was named by the lab code (SF) + sample number + isolate number.



圖二、白殭菌屬根據 ITS、nrLSU、*tef1-α*、*rpb1* 及 *rpb2* 基因序列之親緣關係樹。進行重複1000次之再取樣分析 (Bootstrap analysis)，結果標示於各節點前，並以 *Cordyceps tenuipes* 作為外群，其中黃色標記為本研究分離之菌株。

Fig. 2. RAxML tree of genus *Beauveria* based on a combined dataset of ITS, nrLSU, *tef1-α*, *rpb1*, and *rpb2* gene regions. *Cordyceps tenuipes* was selected as an outgroup taxon and analyzed by bootstrapping with 1000 replicates; bootstrap values are given in front of the node. The strains used in this study are marked with yellow.

SF124 (50%)、SF404 (40%)、SF303 (20%) 及 SF209 (20%)，又 SF303 與 SF209 累計死亡率曲線相同，挑選 SF124、SF404 及 SF303進行後續試驗

(三) 孢子萌發率

SF124、SF303 及 SF404 孢子萌發率如表二所示，於PDA培養 6 hr 後萌發率尚低；12 hr 後，菌株 SF124、SF303 及 SF404 之萌發率分別為 65.4 ± 7.2 、 80.4 ± 8.1 及 $85.8 \pm 3.0\%$ ；18 hr 後，萌發率達到 86.1 ± 6.4 、 89.0 ± 4.1 及 $91.1 \pm 1.7\%$ ；最後於 24 hr，萌發率上升趨緩，分別為 94.7 ± 3.8 、 96.2 ± 11.0 及 $97.0 \pm 0.2\%$ 。

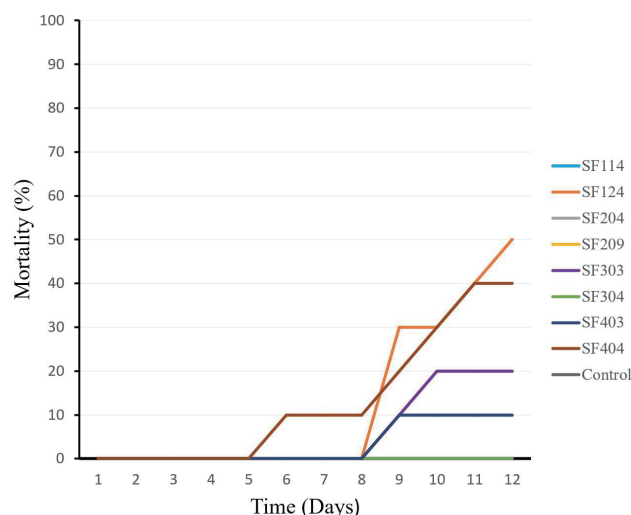
將孢子萌發率使用反正弦進行數據轉換，根據 One-way ANOVA 統計分析，於 6 hr 達顯著差異，以 LSD 進行事後比

較，顯示 SF303 之孢子萌發率顯著高於 SF124；於 12 hr 達顯著差異，顯示 SF303 與 SF404 之孢子萌發率皆顯著高於 SF124；而 18 hr 與 24 hr，兩組孢子萌發率皆未達顯著水準 ($P > 0.05$)，因此亦無進行後續比較。

(四) 最適生長溫度與單位面積產孢量

1. 最適生長溫度

各菌株培養於不同溫度 15 天之菌落直徑如表三所示，15 天後菌株 SF124、SF303 及 SF404 之最適生長溫度大致落在 $24 \sim 28^\circ\text{C}$ 間，於 24°C 之菌落直徑依次分別為 5.34 ± 0.24 、 5.25 ± 0.1 及 4.83 ± 0.17 cm；於 28°C 之菌落直徑分別為 4.81 ± 0.22 、 4.4 ± 0.25 及 3.92 ± 0.24 cm；於 36°C 皆停止生長。根據



圖三、八個球孢白僵菌分離株致病力初步測試連續觀察 12 天之累計成蟲死亡率。其中第 12 天之累計死亡率 SF209 與 SF303 相同；SF204 與 SF403 相同；SF114、SF304 與對照組相同。

Fig. 3. Preliminary screening of eight *B. bassiana* isolates' lethal efficacy in 12 days. The mortality of strains SF209 and SF303; SF204 and SF403; SF114, SF304, and control are the same after 12 days.

表二、不同球孢白僵菌分離株之孢子萌發率

TABLE 2. The spore germination rate of different *B. bassiana* isolates

Strain	Spore germination rate* (%) (N = 5)			
	6 hr	12 hr	18 hr	24 hr
SF124	12.3 ± 1.2b	65.4 ± 7.2b	86.1 ± 6.4	94.7 ± 3.8
SF303	22.1 ± 5.1a	80.4 ± 8.1a	89.0 ± 4.1	96.2 ± 11.0
SF404	16.5 ± 5.8ab	85.8 ± 3.0a	91.1 ± 1.7	97.0 ± 0.2
<i>P</i>	0.012	0.001	> 0.05	> 0.05

*: Same letters followed by the germination rate in a column indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD. Incubation condition: 24°C/Relative humidity (RH) = 100%/L:D = 12:12.

表三、不同球孢白僵菌分離株於不同溫度培養 15 天之菌落生長速率比較

TABLE 3. Comparison of different *B. bassiana* isolates' colony diameter after 15 days incubation on PDA medium

Strain	Colony diameter* (cm) (N = 5)				
	20°C	24°C	28°C	32°C	36°C
SF124	2.84 ± 0.23b	5.38 ± 0.24a	4.81 ± 0.22a	2.59 ± 0.36c	N/A ¹
SF303	3.16 ± 0.17a	5.25 ± 0.10a	4.40 ± 0.25b	3.19 ± 0.40b	N/A
SF404	2.70 ± 0.18b	4.83 ± 0.17b	3.92 ± 0.24c	3.76 ± 0.16a	N/A
<i>P</i>	0.008	0.001	< 0.001	< 0.001	N/A

*: Same letters followed by the colony diameter in a column indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD. L:D = 12:12.

¹: in 36°C incubation, the fungi stop growing.

One-way ANOVA 統計分析，15 天之菌落直徑除 36°C 外皆達顯著差異，以 LSD 進行事後比較顯示 SF303 於 20°C 與 24°C 時菌落顯著較大，SF124 於 24°C 與 28°C 時菌落顯著較大，SF404 於 32°C 時菌落顯著較大。

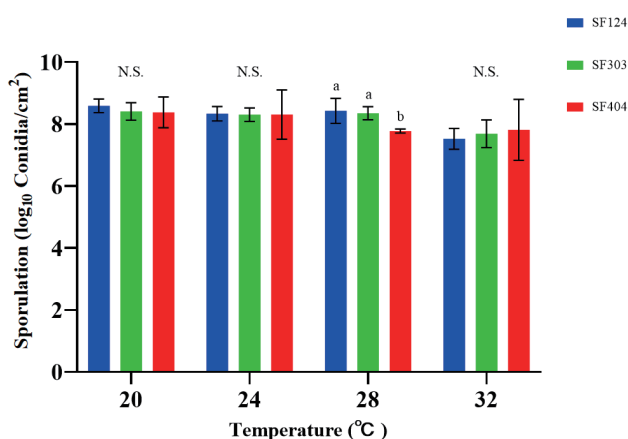
2. 單位面積產孢量

不同溫度之單位面積產孢量於 PDA 培養 15 天後，SF124、SF303 及 SF404 於 20°C 之單位面積產孢量分別為 $4.23 \pm 1.93 \times 10^8$ 、 $3.03 \pm 2.05 \times 10^8$ 及 $3.26 \pm 2.97 \times 10^8$ conidia/cm²；於 24°C 之單位面積產孢量分別為 $2.39 \pm 1.03 \times 10^8$ 、 $2.18 \pm 0.97 \times 10^8$ 及 $2.05 \pm 0.37 \times 10^8$ conidia/cm²；於 28°C 之單位面積產孢量分別為 $3.55 \pm 2.48 \times 10^8$ 、 $2.43 \pm 0.98 \times 10^8$ 及 $5.68 \pm 0.92 \times 10^8$ conidia/cm²；於 32°C 之單位面積產孢量分別為 $4.48 \pm 4.6 \times 10^8$ 、 $6.88 \pm 5.74 \times 10^7$ 及 $6.64 \pm 1.53 \times 10^7$ conidia/cm²。

比較相同溫度下各菌株之差異性 (圖四)，將產孢量以 log 進行數據轉換，根據 One-way ANOVA 統計分析，15 天之單位面積產孢量，僅於 28°C 時菌株 SF124 與 SF303 之單位面積產孢量顯著高於 SF404，其餘溫度之菌株差異皆未達統計顯著水準 ($P > 0.05$)；若比較相同菌株在不同溫度下的差異 (圖五)，菌株 SF124 與 SF303 於 20°C、24°C 及 28°C 之單位面積產孢量皆顯著高於 32°C，菌株 SF404 於 20°C 與 24°C 之產孢量皆顯著高於 28°C 與 32°C。

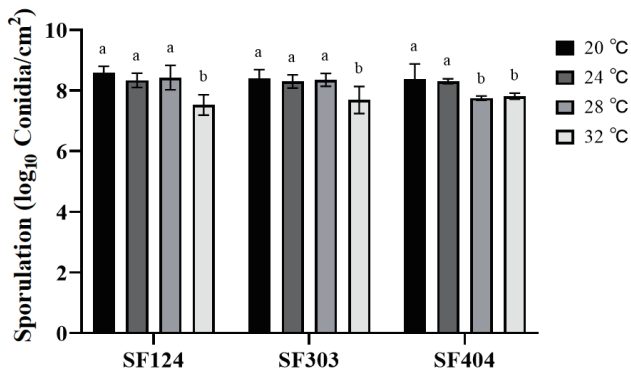
(五) 成蟲致死效率試驗

各濃度之成蟲累計死亡率如圖六至圖九所示，於浸泡孢子懸浮液 12 天後，A1 (僵僵好)、SF124、SF303 及 SF404 之感染致死率皆隨著濃度增加而呈上升趨勢，於 3×10^6 conidia/mL 濃



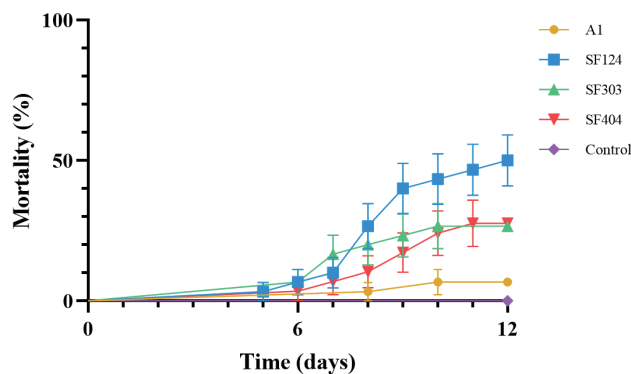
圖四、不同球孢白僵菌菌株於相同溫度下之單位面積產孢量比較。數據經過 $\log_{10}$ 轉換，NS 表示該溫度下各菌株無顯著差異，相同字母標號代表兩者間無顯著差異。

Fig. 4. Comparison of the spore production rate of different *B. bassiana* isolates at the same temperature. NS indicates no significant difference in that treatment group. Identical letters indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD. The data are transferred by $\log_{10}$.



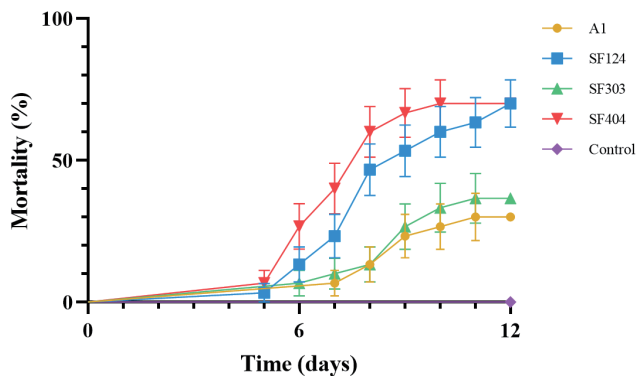
圖五、三種球孢白僵菌菌株於不同溫度下單位面積產孢量比較。數據經過 $\log_{10}$ 轉換，相同字母標號代表兩者間無顯著差異。

Fig. 5. Comparison of the spore production rate of the same *B. bassiana* isolates in different temperatures. Identical letters indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD. The data are transferred by $\log_{10}$.



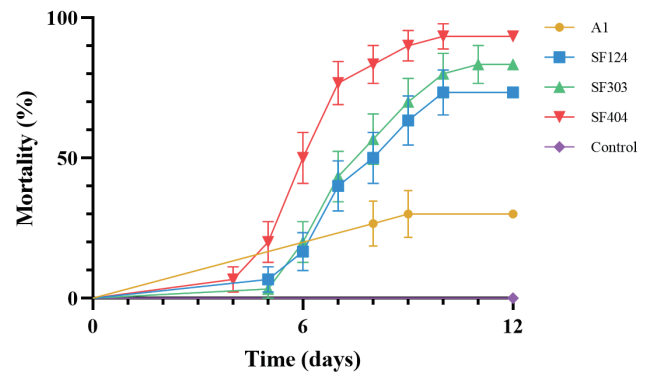
圖六、 3×10^6 conidia/mL 濃度下球孢白僵菌感染香蕉假莖象鼻蟲成蟲連續觀察 12 天之累計死亡率。

Fig. 6. The accumulated mortality of adult *O. longicollis* inoculated with 3×10^6 conidia/mL *B. bassiana* spore suspension in 12 days. N = 30.



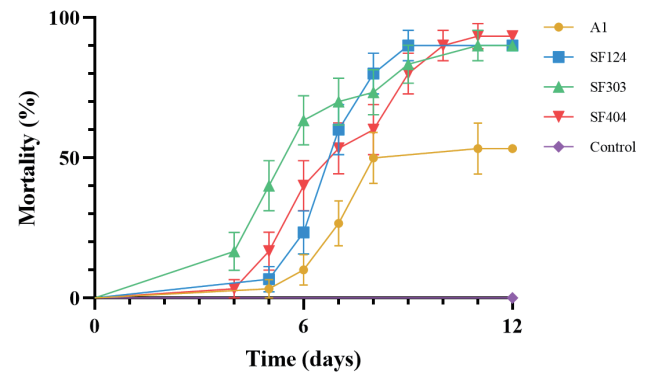
圖七、 3×10^7 conidia/mL 濃度下球孢白僵菌感染香蕉假莖象鼻蟲成蟲連續觀察 12 天之累計死亡率。

Fig. 7. The accumulated mortality of adult *O. longicollis* inoculated with 3×10^7 conidia/mL *B. bassiana* spore suspension in 12 days. N = 30.



圖八、 3×10^8 conidia/mL 濃度下球孢白僵菌感染香蕉假莖象鼻蟲成蟲連續觀察 12 天之累計死亡率。

Fig. 8. The accumulated mortality of adult *O. longicollis* inoculated with 3×10^8 conidia/mL *B. bassiana* spore suspension in 12 days. N = 30.



圖九、 3×10^9 conidia/mL 濃度下球孢白僵菌感染香蕉假莖象鼻蟲成蟲連續觀察 12 天之累計死亡率。

Fig. 9. The accumulated mortality of adult *O. longicollis* inoculated with 3×10^9 conidia/mL *B. bassiana* spore suspension in 12 days. N = 30.

度之死亡率皆在 50.0% 以下；於 3×10^7 conidia/mL 濃度之死亡率 SF124 與 SF404 可達 70.0%，A1 與 SF303 皆仍尚低；於 3×10^8 conidia/mL 與 3×10^9 conidia/mL 濃度之死亡率 SF124、SF303 及 SF404 約為 70~90%，A1 約為 30~50%。

依照公式校正後並使用反正弦進行數據轉換，根據 One-way ANOVA 統計分析，比較 12 天後 A1、SF124、SF303 及 SF404 之成蟲死亡率 (表四)，於四種濃度皆達顯著差異，以 LSD 進行事後比較，顯示於 3×10^6 conidia/mL 濃度時 SF124 之致死率顯著較高；於 3×10^7 conidia/mL 濃度時 SF124 與 SF404 之致死率顯著較高；於 3×10^8 與 3×10^9 conidia/mL 濃度時 SF404、SF303 及 SF404 之致死率皆顯著高於 A1。

以 Lei and Sun (2018) 之方法計算之半數致死濃度與半數致死時間 (表五)，A1 之半數致死濃度最高，最低為 SF124 之 2.60×10^6 conidia/mL。於 3×10^9 conidia/mL 濃度下，A1 之半數致死時間最長，最短為 SF303 之 6.0 天。經 Bonferroni

表四、球孢白殭菌於不同濃度下感染香蕉假莖象鼻蟲成蟲 12 天之死亡率比較

TABLE 4. Comparison of mortality for adult *O. longicollis* inoculated with different strains of *B. bassiana* spore suspension in 12 days

Strain	Mortality* (%) (N = 30)			
	Concentration (conidia/mL)			
	3×10^6	3×10^7	3×10^8	3×10^9
A1	6.7 ± 5.8c	30.0 ± 10.0b	30.0 ± 26.5b	53.3 ± 15.3b
SF124	50.0 ± 0.0a	70.0 ± 10.0a	73.3 ± 5.8a	90.0 ± 0.0a
SF303	26.7 ± 11.5b	36.7 ± 5.8b	83.3 ± 5.8a	90.0 ± 10.0a
SF404	30.0 ± 10.0b	70.0 ± 10.0a	93.3 ± 11.5a	93.3 ± 5.8a
<i>P</i>	0.001	0.001	0.005	0.021

*: Same letters followed by the accumulated mortality in a column indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD. Treatment: soak for 10 sec. Incubate condition: 24°C/L:D = 12:12.

表五、不同球孢白殭菌菌株對香蕉假莖象鼻蟲成蟲之半數致死濃度以及 3×10^9 conidia/mL 濃度下之半數致死時間

TABLE 4. Estimate of median lethal concentration and median lethal time inoculated with 3×10^9 conidia/mL *B. bassiana* spore suspension to adult *O. longicollis*.

Strain	LC ₅₀ (95% CI) (conidia/mL)	$\beta^1 \pm SE$	LT ₅₀ at 3×10^9 (95% CI) (day)	$\beta^1 \pm SE$
A1	2.07×10^9 (3.46×10^7 - 1.24×10^{11})b*	0.441 ± 0.118	9.9 (9.0-11.0)c*	5.014 ± 0.665
SF124	2.60×10^6 (1.43×10^4 - 4.71×10^8)a	0.384 ± 0.116	7.0 (6.6-7.5)b	8.295 ± 0.816
SF303	2.15×10^7 (2.82×10^6 - 1.63×10^8)a	0.679 ± 0.127	6.0 (5.5-6.5)a	5.180 ± 0.498
SF404	9.27×10^6 (1.18×10^6 - 7.26×10^7)a	0.771 ± 0.146	6.9 (6.4-7.4)b	7.019 ± 0.733

*: Same letters followed by the median lethal concentration and median lethal time in a column indicate no significant difference ($P > 0.05$).

¹: slope of the probit regression line.

correction 校正後進行兩兩比較可得 SF124、SF303 及 SF404 之半數致死濃度皆顯著低於 A1；SF124、SF303 及 SF404 之半數致死時間皆顯著低於 A1 且 SF303 之半數致死時間顯著低於 SF124 與 SF404。

二、白殭菌注射試驗

(一) 致死濃度

注射試驗相關示意圖請參考圖十，注射不同濃度之 SF124 孢子懸浮液並接種幼蟲兩週後之死亡率如表六，於 0.01% Tween 80、 1×10^7 、 1×10^8 及 1×10^9 conidia/mL 濃度下，幼蟲

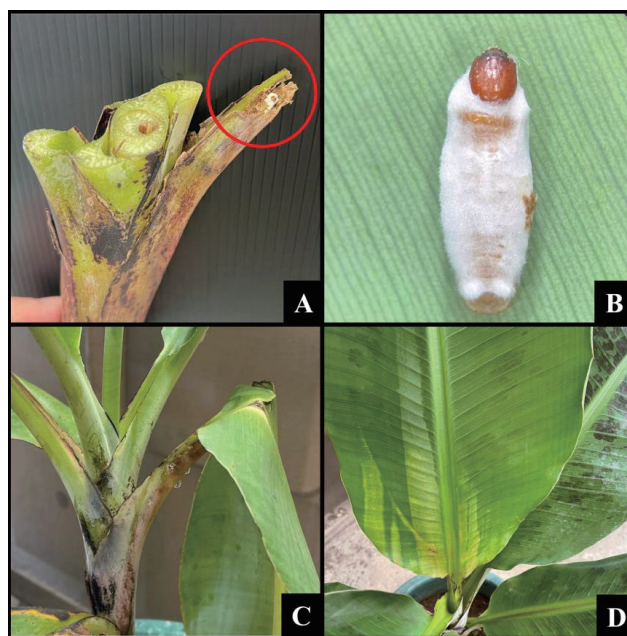
死亡率隨濃度增加而上升；經測量之取食隧道長度如圖十一，於 0.01% Tween 80、 1×10^7 、 1×10^8 及 1×10^9 conidia/mL 濃度下，食痕長度依序分別為 75.95 ± 38.97 、 75.15 ± 17.40 、 52.13 ± 21.66 及 24.40 ± 13.43 cm。

將死亡率使用反正弦進行數據轉換，根據 One-way ANOVA 統計分析，四種濃度注射處理之死亡率與食痕長度皆達顯著差異 ($P < 0.001$ ； $P = 0.039$)，以 LSD 進行事後比較，顯示 1×10^9 conidia/mL 死亡率顯著最高， 1×10^8 與 1×10^7 conidia/mL 次之，0.01% Tween 80 最低；食痕長度僅 1×10^9 conidia/mL 顯著短於 0.01% Tween 80 與 1×10^7 conidia/mL，其餘組別間並無顯著差異。又以 Lei and Sun (2018) 之方法計算可得 1.88×10^7 ($6.64 \times 10^3 \sim 5.29 \times 10^{10}$) conidia/mL 之半數致死濃度。

(二) 施用後致病力衰退時間

在注射 1×10^8 conidia/mL 濃度之 SF124 孢子懸浮液並放置不同天數之處理結果如表七，幼蟲死亡率隨著注射孢子懸浮液後放置之天數增加而呈下降趨勢；經測量之取食隧道長度如圖十二，於放置 0、14 及 28 天之組別，食痕長度依序呈增加趨勢，分別為 52.13 ± 21.66 、 79.96 ± 12.27 及 88.10 ± 9.54 cm。

將死亡率使用反正弦進行數據轉換，根據 One-way



圖十、注射試驗相關示意圖。A：死於葉柄之幼蟲。B：死亡幼蟲之特寫。C：幼蟲鑽食並流膠之外部特寫。D：注射孢子懸浮液體後產生帶狀黃化之新葉。

Fig. 10. Illustration of pseudostem inject experiment. A: larva dead in petiole. B: close-up of the infected larva. C: outside view of the plant with larva boring the petiole. D: new leaf with the light-yellow band after injecting spore suspensions.

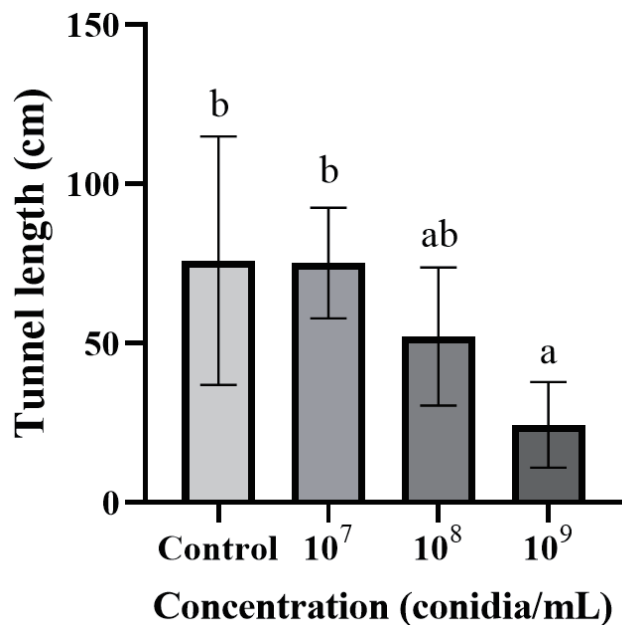
表六、注射不同濃度球孢白殭菌 SF124 孢子懸浮液對防治香蕉假莖象鼻蟲幼蟲之死亡率與半數致死濃度

TABLE 6. The mortality and median lethal concentration to *O. longicollis* larva by applying pseudostem injection with strain SF124

Conc.	Mortality (%)	LC ₅₀ (95% CI) (conidia/mL)	$\beta^1 \pm SE$
Control	0.0 $\pm$ 0.0c [*]		
1 $\times$ 10 ⁷	45.0 $\pm$ 19.1b	1.88 $\times$ 10 ⁷ (6.64 $\times$ 10 ³ -5.29 $\times$ 10 ¹⁰)	0.813 $\pm$ 0.242
1 $\times$ 10 ⁸	65.0 $\pm$ 19.1b		
1 $\times$ 10 ⁹	95.0 $\pm$ 10.0a		

^{*}: Same letters followed by the mortality in a column indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD.

¹: slope of the probit regression line.



圖十一、注射不同濃度球孢白殭菌 SF124 孢子懸浮液之香蕉假莖象鼻蟲幼蟲食痕長度。相同字母標號代表兩者間無顯著差異。

Fig. 11. Tunnel length of *O. longicollis* larva in different concentration treatment of pseudostem injection with *B. bassiana* strain SF124. The same letters indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD.

ANOVA 統計分析，三組注射後放置處理之死亡率與食痕長度皆達顯著差異 ($P = 0.034$; $P = 0.022$)，以 LSD 進行事後比較，顯示放置 0 天之死亡率顯著高於放置 28 天之死亡率；食痕長度放置 0 天組顯著短於放置 14 與 28 天組。使用常見之線性、指數模型進行擬合 (Fitting)，得 R^2 分別為 0.473 與 0.512，經計算指數之半衰期約為 8.83 天。

(三) 注射試驗綜合分析

統計白殭菌注射試驗之致死濃度與施用後致病力衰退時間

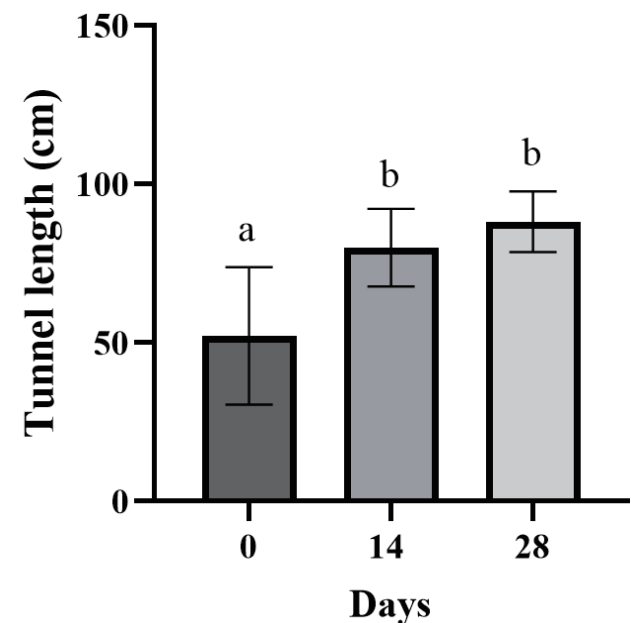
表七、注射 1 $\times$ 10⁸ conidia/mL 濃度之球孢白殭菌 SF124 孢子懸浮液後放置不同天數處理之香蕉假莖象鼻蟲幼蟲死亡率

TABLE 7. The mortality of *O. longicollis* larva after standing for 0, 14, and 28 days pseudostem injection with 1 $\times$ 10⁸ conidia/mL concentration of strain SF124

Day	Mortality (%)	Model	Formula	R ²	Half-time
0	65.0 $\pm$ 19.1a [*]	Linear	$y = 0.6167 - 0.01429x$	0.473	N/A ¹
14	35.0 $\pm$ 19.1ab				
28	25.0 $\pm$ 19.1b	Exponential	$y = 0.45 \times e^{-0.07847x} + 0.2$	0.512	8.83

^{*}: Same letters followed by the mortality in a column indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD.

¹: Linear regression decays with constant.



圖十二、注射 1 $\times$ 10⁸ conidia/mL 濃度之球孢白殭菌 SF124 孢子懸浮液後放置不同天數處理之香蕉假莖象鼻蟲幼蟲食痕長度。相同字母標號代表兩者間無顯著差異。

Fig. 12. Tunnel length of *O. longicollis* larva after stand for 0, 14 and 28 days pseudostem injection with 1 $\times$ 10⁸ conidia/mL spore suspension of *B. bassiana* strain SF124. The same letters indicate no significant difference ($P > 0.05$) by LSD.

之細部資料如表八，其中將每項不同處理之食痕長度以幼蟲死亡、存活兩種狀態進行比較，除了 0.01% Tween 80 與注射 1 $\times$ 10⁹ conidia/mL 由於樣本數太少無法進行統計外，1 $\times$ 10⁷、1 $\times$ 10⁸、放置 14 天及放置 28 天之平均食痕長度以 t-test 檢定皆達顯著水準。分析上述食痕所在區段，將蕉株分為葉 (Leaf)、假莖 (Pseudostem) 及球莖 (Corm) 等三個部位，葉與假莖以突出下方中央莖幹為界，其中食痕所佔比例分別為 44.19、53.25 及 1.84%；發現存活幼蟲之位置比例為 42.9、49.2 及 7.9%。

表八、假莖注射球孢白僵菌並接種香蕉假莖象鼻蟲幼蟲 14 天後不同存活狀態食痕長度之比較

TABLE 8. Comparison of tunnel length between alive and dead *O. longicollis* larva after 14 days' inoculation of pseudostem injection with *B. bassiana* spore suspension

Treatment	Tunnel length (cm)				t-test <i>P</i>	
	Alive	N	Dead	N		
Control	75.95 ± 39.03	20	N/A ¹	0	N/A	
1×10 ⁷	107.03 ± 39.96	11	36.18 ± 17.94	9	<0.001	
1×10 ⁸	77.71 ± 18.27	7	38.35 ± 34.57	13	0.012	
1×10 ⁹	105.3 ± N/A	1	20.14 ± 17.81	19	N/A	
14 day	99.33 ± 47.59	13	43.97 ± 32.40	7	0.014	
28 day	99.09 ± 27.71	15	55.12 ± 34.21	5	0.009	
Total	91.39 ± 38.04	67	33.78 ± 27.90	53	<0.001	
Total	Tunnel length (both alive and dead)			Alive larva position		
	Leaf	Pseudostem	Corm	Leaf	Pseudostem	Corm
Percentage(%)	44.19	53.25	1.84	44.19	53.25	1.84

¹: the number of alive/dead was not able to conduct a t-test analysis.

討 論

成蟲致死效率與菌株篩選方向

在商業應用上，孢子萌發率、最適生長溫度及單位面積產孢量等菌株特性不僅能反映該菌株的致病力與發展潛力，亦可作為量產時發酵條件的參考指標，降低不必要的成本浪費。本試驗篩選之三個菌株品系孢子萌發率在 24 hr 後皆可達 90% 以上，顯示三者活性與生產效率佳；在溫度耐受性上，菌株 SF303 於較低溫度 (20~24℃) 擁有較佳的菌落生長速度，菌株 SF124 於中等溫度 (24~28℃) 則表現較為出色，於較高溫度 (32℃) 菌株 SF404 受溫度影響最小，菌落顯著大於其餘兩者；單位面積產孢量三菌株於 20~30℃ 間表現大致無明顯差異，有可能在培養條件上尚未找出適合產孢之高峰，也有可能此三菌株對於產孢條件較為不敏感，而超過 30℃ 時 (32℃)，菌株 SF124 與 SF303 產孢量開始明顯衰退，然而先前相對較耐高溫之菌株 SF404，產孢量於 28℃ 即開始衰退。因此在後續田間應用上，若能針對不同氣候條件來選擇最適合之對應菌株，或許能提高防治成效。

本試驗所選三菌株在高濃度致病力、半數致死濃度與半數致死時間雖然部分在統計上有顯著差異，且並未集中所有最佳特點於一菌株上，但在實際應用上應該相差無幾，而作為參考對照藥劑之市售白僵菌，在高濃度 (3×10^9 conidia/mL) 時亦僅有 53.3% 之致死率，由於是使用市售產品直接進行測試，在產品生產營養介質不同與長期大量培養等多變數影響下，實際效力有所下降實屬合理，且此 A1 菌株當初篩選自鱗翅目幼蟲，顯示或許同樣為 *B. bassiana*，各菌株對不同類群之昆蟲亦有不

同之感染能力。

在篩選針對特定物種之高致病力菌株品系的方法上，許多人會選擇以數次接種蟲體進行累代來提高原先在自然棲地毫不相干之菌株品系對目標昆蟲之致病力，且經過數次累代確實能有效提升對特定目標之致病能力^(27, 33)，但 Wu (2010)亦提到比起少次數之累代 (5 代)，高次數累代 (10 代) 之菌株品系在菌落型態、性狀變異程度皆來的較低⁽³³⁾；因此本研究在篩選上的核心目標，並非透過眾多試驗來挑選出高致病力、廣耐受性且快速生長之最強菌株，而是透過原先就存在於野外田間之穩定受感染族群，來確保有一定致病力的同時，選擇擁有不同性狀特色之品系，並針對不同之環境條件，來選擇適合使用之對應菌株。

白僵菌注射試驗

由於香蕉假莖象鼻蟲幼蟲鑽食於假莖之中，且白僵菌之防治需依靠施用後短時間內進行接觸感染，使用噴灑方式效果不彰，因此決定注射試驗的要素為是否有足夠濃度的孢子，能經由注射快速接觸假莖內之幼蟲。表六顯示在較高濃度 (1×10^9 conidia/mL) 時，所得之死亡率與成蟲致死效力試驗 (表四) 之高濃度死亡率較為相近，雖然本研究並未針對幼蟲進行實驗室內之致死效力試驗，但文獻指出香蕉假莖象鼻蟲幼蟲所需致死劑量會略低於成蟲⁽³⁾，猜測可能跟成蟲體表較幼蟲堅硬使孢子較不易分解穿透幾丁質表皮，因此在高濃度注射下，致死率較不受施用方法改變影響；然而於較低濃度 (1×10^7 conidia/mL) 時，與成蟲致死效力試驗相比則下降較多，推測注射後，孢子懸浮液經植物體本身組織液稀釋後，已低於能有效致死之濃度，使致死效果明顯降低。

在實際防治應用上，除了施用當下之致死效率外，藥效能維持多久在實用性亦是一大考量。由於以往並無相關文獻針對香蕉注射孢子懸浮液後致病力如何隨時間衰退，僅 Akello *et al.* (2009) 指出無論以何種濃度進行浸泡，於一個月後之假莖白僵菌拓殖率 (Colonization rate) 僅為 20~40% (根與球莖分別約為 50~60% 及 40~60%)⁽²⁾，且此文獻以拓殖率進行計算，並無法與本試驗之致死率進行直接比較，只能得知在施用一個月內，效果應該會隨時間快速遞減。因此以線性與指數兩較簡單且保守之模型進行擬合，若遞減速率為一定量且與當下濃度高低無關，會呈現線性之趨勢；若遞減速率與當下濃度有關，則會呈現指數衰退之趨勢。於本試驗中，由於不同靜置時間之樣本點稍嫌不足，因此後續並無法準確判斷，且組內變異大導致兩種趨勢之 R^2 值皆約為 0.5，兩模型並無法很好的進行擬合，但若依據目前結果進行推測，結合在田間觀察時，能穩定觀察到少量受感染之族群存在，推估若應用於田間，致死效率應該會以指數模型遞減至一定低比例後漸趨穩定平緩；若以半衰期之概念進行計算，可得約 8.83 天之藥效半衰期。於此試驗中，仍缺乏其他濃度下放置不同天數之結果，並尚未觀察放置更久

之效力是否會漸趨穩定，抑或最後濃度是否會過低以至於無法成功感染致死，因此若需提出更完善之預測效力模型，後續還須完成更多試驗。

起初設計實驗之時，認為食痕長度應可作為判斷防治有效與否之標準，且越長之食痕，亦代表植株之生長勢受到越大的阻礙。但由圖十一、圖十二可以發現，雖然死亡率維持無感染之 0%，無注射任何真菌之 0.01% Tween 80 組食痕並非最長，雖無顯著差異，但在數值上，放置 14 天與放置 28 天兩組皆高於 0.01% Tween 80 組。植物針對不同外來入侵物之防禦方式包含水楊酸 (salicylic acid, SA) 與茉莉酸 (jasmonic acid, JA)，其中水楊酸主要防禦咀嚼植食性昆蟲與壞死性 (necrotrophic) 病原菌；茉莉酸主要則針對營養性 (biotrophic) 病原菌，兩者常互為拮抗作用⁽²⁹⁾，因此當注射白殭菌時，可能引起水楊酸防禦反應，導致茉莉酸水平下降，造成昆蟲大量啃食。但在查閱相關資料之後發現不同植物接種白殭菌，其植物防禦機制並不一定如上述拮抗之結果，Raad (2016) 使用阿拉伯芥接種白殭菌，不論後續是否放置小菜蛾進行啃食，水楊酸濃度皆無顯著上升⁽²⁶⁾；Qin *et al.* (2020) 以菸草接種白殭菌，卻發現控制水楊酸與茉莉酸之基因表現皆顯著上升⁽²⁵⁾。基於此植物防禦機制並非由單一基因進行調控，且牽涉植物真菌昆蟲交互作用等變因複雜，本試驗亦無結果進行佐證，僅推測使用生物性防治資材仍需考慮植物本身防禦機制，可能受植物之防禦抵抗，但在本試驗情形，並未見白殭菌之致死效率顯著下降，且比起許多啃食葉菜類的鱗翅目幼蟲，鞘翅目之香蕉假莖象鼻蟲幼蟲算是強壯不少，所受植物防禦影響可能較少，主要導致此結果之原因傾向由於測試季節介於春夏之間，梅雨季稍晚氣候型態冷熱差異巨大，使需較長試驗時間之放置 14 與 28 天組隨著氣溫上升提高測試幼蟲之活動力並縮短生長時間造成食痕較長。

後續納入全部數據進行統計後發現，所有組別各自之死亡、存活食痕長度具顯著差異，代表真正影響食痕長度的並非濃度或放置後之衰退效果，而是是否存活，若蟲體死亡則食痕較短，若存活則食痕較長，避免產生受感染即將死亡之幼蟲，仍大量啃食造成破壞之窘境，但亦無法阻止於高濃度施用下存活之幼蟲繼續啃食，且濃度確實顯著影響死亡率，因此較準確來說食痕長度與存活與否有關，同時死亡率與施用濃度有關。

假莖注射技術與白殭菌防治香蕉假莖象鼻蟲之時機

在 Kung (1965) 首次開發以假莖注射蕉特靈 (Banadrin) 防治香蕉假莖象鼻蟲幼蟲⁽⁶⁾之細節，文中描述之重點，乃注射之時須注意避開香蕉生長之軸心，一來象鼻蟲幼蟲鮮少鑽食於中央軸心；其次化學藥劑與物理性傷害容易導致香蕉枯心；然而本試驗改以毒性相對較低之孢子懸浮液進行注射，雖然有大部分技術相同，亦有些許差異。相同的部分包含，注射必須避開生長軸心且緩慢施打，避免內部液體壓力過大破壞生長點，否則嚴重的物理性傷害將不可逆而無法挽回，但亦有發現中段中

央軸心受物理性傷害後，起先新芽呈黑色腐爛狀 (枯心)，後續下方生長點又將新芽連同腐爛之區段推出恢復生長勢之情形；施打之藥量亦如 Kung (1965) 所述，須按植株大小進行判斷，越大則注射越多，不論調配任何濃度之化學藥劑或生物製劑，平均 170~200 mL 左右，用肉眼可見頂芽有藥液流出進行輔助判斷；另外本試驗雖然沒有針對下雨條件進行測試，但健康之香蕉葉鞘應緊密包裹，下雨過後或夜晚之露水僅會有少部分積於頂芽葉柄凹槽中，因此推測相較少劑量便能致死之化學藥劑影響來的高，可能影響低濃度之孢子懸浮液注射效果，但同樣不影響高濃度之致死效力 (或影響較小)。有些微差異的地方如注射後之藥害或影響，注射孢子懸浮液後偶爾可於長出之新芽上看見葉片黃化貌似展著之水痕 (圖十 D)，雖然經觀察後並無明顯影響，此點 Kung (1965) 文中並無提到，不確定化學藥劑是否會有同樣情形；而 Kung (1965) 文中描述若幼蟲鑽入葉脈與葉柄等位置，藥液則無法到達，因此注射前可先進行修葉，於本試驗中，不知是因試驗對象為不足一公尺之蕉苗或幼蟲起先施放位置大約為假莖中段，在試驗中常見幼蟲死於蕉苗之葉柄食痕當中 (圖十 A)，詳細原因有待釐清，但於一般香蕉園中仍建議注射前進行修葉。此外，由於注射需進行破壞侵入植物體，且使用特製針頭大多因經濟考量並非一次性拋棄式，極有利於香蕉病原菌的傳播，在清潔消毒上亦須注意。最後，整理於附錄一之香蕉假莖注射要領須精準施打合適劑量且避免損傷蕉株，內容僅供參考，未經過專業訓練之人員或農友施用前請先諮詢相關專家意見。

香蕉假莖象鼻蟲廣泛分佈於台灣全島中低海拔，一年 3~4 代且全年皆可發生危害，因此在防治上切不可輕忽，平時需勤於清除園中之枯枝殘葉外，亦可使用對半剖開之廢棄假莖作為監測之陷阱，根據 Kung (1962) 調查提到於春夏之間，溫度回暖且氣候尚偏乾燥，最有利於香蕉假莖象鼻蟲繁殖⁽¹⁵⁾，若監測時發現大量成蟲，可使用粉劑或孢子懸浮液噴灑於植株上下部容易躲藏之葉鞘縫隙間，同時亦可施用於監測之假莖陷阱中，避免成為利於成蟲交尾之場所。若在香蕉植株上看見雌蟲產卵之小孔 (非常小)、葉鞘明顯中空下垂或假莖伴隨蕉汁、透明膠狀物流出，則可於假莖中段或危害處下方，以特製針頭偏心注射孢子懸浮液至藥液自莖頂流出，若蕉株直徑較大且危害嚴重，可於另一側再補打一針，約 1~2 個禮拜施打一次。孢子懸浮液稀釋濃度則視不同菌株自行調整，若以菌株 SF124 為例，推薦使用 1×10^9 conidia/mL 效果較佳。使用非化學藥劑防治香蕉假莖象鼻蟲之重點，仍在是否能即早發現且即早治療，本試驗所選擇測試之 7 日齡幼蟲，實際上約為 2~3 齡幼蟲，老熟幼蟲可能會降低白殭菌使用效果，且經常所遇到之案例，香蕉植株皆以倒伏或嚴重影響生長勢，由於幼蟲啃食為不可逆之傷害，此時期才介入治療通常效果不彰。

近年來永續農業意識興起，且以往有效防治香蕉假莖象鼻蟲之方法往往單獨依賴於化學藥劑的施用，加上近年來加保扶

(Carbofuran)、陶斯松 (Chlorpyrifos) 等常用藥劑面臨禁用之困境，農友將面臨無計可施之局面。因此本試驗希望在防治香蕉假莖象鼻蟲的方法上，為農友提供有效且友善之新選擇。

謝 辭

本文改寫自國立臺灣大學昆蟲學系碩士論文（利用球孢白僵菌防治香蕉假莖象鼻蟲：有效菌株篩選與香蕉假莖注射法之應用）。本研究承臺灣大學植物病理與微生物學系 Hiran A. Ariyawansa 老師與林祐楨同學，提供真菌鑑定的知識與技術指導，並感謝臺灣大學昆蟲學系林柏安老師在植物防禦機制層面可能造成之影響，提供意見與看法，同時感謝兩位審稿人對本文提供的寶貴建議，謹致謝忱。

引用文獻

- Akello, J., Dubois, T., Coyne, D., Kyamanywa, S. 2008. Endophytic *Beauveria bassiana* in banana (*Musa* spp.) reduces banana weevil (*Cosmopolites sordidus*) fitness and damage. *Crop. Pr.* 27: 1437-1441.
- Akello, J., Dubois, T., Coyne, D., Kyamanywa, S. 2009. The effects of *Beauveria bassiana* dose and exposure duration on colonization and growth of tissue cultured banana (*Musa* sp.) plants. *Biol. Control* 49: 6-10.
- Alagesan, A., Padmanaban, B., Tharani, G., Jawahar, S., Manivannan, S. 2019. An assessment of biological control of the banana pseudostem weevil *Odoiporus longicollis* (Olivier) by entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 20: 101262.
- Ariyawansa, H. A., Hyde, K. D., Jayasiri, S. C., Buyck, B., Chethana, K. W. T., Dai, D. Q., Dai, Y. C., Daranagama, D. A., Jayawardena, R. S., Lücking, R., Ghobad-Nejhad, M., Niskanen, T., Thambugala, K. M., Voigt, K., Zhao, R. L., Li, G. J., Doilom, M., Boonmee, S., Yang, Z. L., Cai, Q., Cui, Y. Y., Bahkali, A. H., Chen, J., Cui, B. K., Chen, J. J., Dayarathne, M. C., Dissanayake, A. J., Ekanayaka, A. H., Hashimoto, A., Hongsanan, S., Jones, G., Larsson, E., Li, W. J., Li, Q. R., Liu, J. K., Luo, Z. L., Maharachchikumbura, S. S. N., Mapook, A., McKenzie, E. H. C., Norphanphoun, C., Konta, S., Pang, K. L., Perera, R. H., Phookamsak, R., Phukhamsakda, C., Umpava, P., Randrianjohany, E., Singtripop, C., Tanaka, K., Tian, C. M., Tibpromma, S., Abdel-Wahab, M. A., Wanasinghe, D. N., Wijayawardene, N. N., Zhang, J. F., Zhang, H., Abdel-Aziz, F. A., Wedin, M., Westberg, M., Ammirati, J. F., Bulgakov, T. S., Lima, D. X., Callaghan, T. M., Callac, P., Chang, C. H., Coca, L. F., Dal-Forno, M., Dollhofer, V., Fliegerová, K., Greiner, K., Griffith, G. W., Ho, H. M., Hofstetter, V., Jeewon, R., Kang, J. C., Wen, T. C., Kirk, P. M., Kytövuori, I., Lawrey, J. D., Xing, J., Li, H., Liu, Z. Y., Liu, X. Z., Liimatainen, K., Lumbsch, H. T., Matsumura, M., Moncada, B., Nuankaew, S., Parnmen, S., Santiago, A. L. C. M. A., Sommai, S., Song, Y., Souza, C. A. F., Souza-Motta, C. M., Su, H. Y., Suetrong, S., Wang, Y., Wei, S. F., Wen, T. C., Yuan, H. S., Zhou, L. W., Réblová, M., Fournier, J., Camporesi, E., Luangsa-ard, J. J., Tasanathai, K., Khonsanit, A., Thanakitpipattana, D., Somrithipol, S., Diederich, P., Millanes, A. M., Common, R. S., Stadler, M., Yan, J. Y., Li, X. H., Lee, H. W., Nguyen, T. T. T., Lee, H. B., Battistin, E., Marsico, O., Vizzini, A., Vila, J., Ercole, E., Eberhardt, U., Simonini, G., Wen, H. A., Chen, X. H. 2015. Fungal diversity notes 111 – 252—taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Divers.* 75: 27-274.
- Beyer, M., Verreet, J. A., Ragab, W. S. M. 2005. Effect of relative humidity on germination of ascospores and macroconidia of *Gibberella zeae* and deoxynivalenol production. *Int. J. Food Microbiol.* 98: 233-240.
- Bing, L. A., Lewis, L. C. 1992. Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin in corn: the influence of the plant growth stage and *Ostrinia nubilalis* (Hubner). *Biocontrol Sci. Technol.* 2: 39-47.
- Frison, E. A., Gold, C. S., Karamura, E. B., Sikora, R. A. 1998. Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. France: International Network for the Improvement of Banana and Plantains. 356 pp.
- Graaf, J. D. 2006. Integrated pest management of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar), in South Africa [theses]. South Africa (Pretoria): University of Pretoria. 242 pp.
- Harris, W. V. 1947. The banana borer. *East Afr. Agric. J.* 13: 15-18.
- Hasyim, A., Harlion, Yasir, H. 2004. Predatory rate of histerid beetles on banana weevil borer. *J. Hort.* 14: 204-209.
- Irulandi, S., Aiyathan, K. E. A., Bhuvanewari, S. S. B. 2012. Assessment of biopesticides and insecticide against pseudostem weevil *Odoiporus longicollis* Oliver in red banana. *J. Biopestic.* 5(supplementary): 68-71.
- Kannan, M., Padmanaban, B., Anbalagan, S., Krishnan, M. 2021. A review on monitoring and integrated management of banana pseudostem weevil, *Odoiporus longicollis* Oliver (Coleoptera: Curculionidae) in India. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 42: 21-29.
- Kepler, R. M., Luangsa-Ard, J. J., Hywel-Jones, N. L., Quandt,

- C. A., Sung, G. H., Rehner, S. A., Aime, M. C., Henkel, T. W., Sanjuan, T., Zare, R., Chen, M., Li, Z., Rossman, A. Y., Spatafora, J. W., Shrestha, B. 2017. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA fungus* 8: 335-353.
14. Khan, A., Gangapersad, G. 2001. Comparison of the effectiveness of the entomopathogenic fungi in the management of the banana borer weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). *Int. Pest Control* 43: 208-213.
15. Kung, K. S. 1962. Ecological studies on the banana stem-borer weevil (*Odoiporus longicollis* Oliv.). *J. Agric. Forest.* 11: 137-160. (in Chinese)
16. Kung, K. S. 1965. Banadrin for controlling banana pseudostem weevil larvae. pp 180-205. In: Department of Agriculture and Forestry, Taiwan Provincial Government. Compilation of Taiwan Province's Banana Protection Work Data. Taichung Agricultural Produce Marketing Cooperative, Taichung. (in Chinese)
17. Lei, C. F., Sun, X. L. 2018. Comparing lethal dose ratios using probit regression with arbitrary slopes. *BMC Pharmacol. Toxicol.* 19:61.
18. Lin, T. S., Lin, C. N., Peng, K. C. 2019. Application of EDA window analysis for constructing economic scale models of the banana industry. *Int. J. Organ. Innov.* 12: 340-354.
19. Mongkolsamrit, S., Noisriboom, W., Thanakitpipattana, D., Wutikhun, T., Spatafora, J. W., Luangsa-Ard, J. 2018. Disentangling cryptic species with isaria-like morphs in Cordycipitaceae. *Mycologia* 110: 230-257.
20. Nankinga, C. M., Moore, D. 2000. Reduction of banana weevil population using different formulations of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Sci. Technol.* 10: 645-657.
21. Padmanaban, B., Sathiamoorthy, S. 2001. The banana stem weevil *Odoiporus longicollis*. *Musa Pest Fact Sheet No.5* [internet]. Available from: https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/The_Banana_stem_weevil_Odoiporus_longicollis_756.pdf.
22. Padmanaban, B., Thangavelu, R., Gopi, M., Mustafa, M. M. 2009. Effect of mass multiplication media on sporulation, field efficacy and shelf life of *Beauveria bassiana* against rhizome and pseudostem weevils of banana. *J. Biol. Control* 23: 277-283.
23. Pedrini, N. 2022. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* shows its toxic side within insects: expression of genes encoding secondary metabolites during pathogenesis. *J. Fungi* 8: 488.
24. Posada, F., Aime, M. C., Peterson, S. W., Rehner, S. A., Vega, F. E. 2007. Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycol. Res.* 111: 748-757.
25. Qin, X., Zhao, X., Huang, S. S., Deng, J., Li, X. B., Luo, Z. B., Zhang, Y. J. 2021. Pest management via endophytic colonization of tobacco seedlings by the insect fungal pathogen *Beauveria bassiana*. *Pest Manage. Sci.* 77: 2007-2018.
26. Raad, M. 2016. Plant-mediated interactions between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, insect herbivores and a plant pathogen [dissertation]. New Zealand (Christchurch): Lincoln University. 145 pp.
27. Steinkraus, D. C., Geden, C. J., Rutz, D. A. 1991. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae): effects of host stage, substrate, formulation, and host passage. *J. Med. Entomol.* 28:314-321.
28. Tسانathai, K., Thanakitpipattana, D., Noisriboom, W., Khonsanit, A., Kumsao, J., Luangsa-ard, J. J. 2016. Two new *Cordyceps* species from a community forest in Thailand. *Mycol. Prog.* 15: 28.
29. Thaler, J. S., Humphrey, P. T., Whiteman, N. K. 2012. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. *Trends Plant Sci.* 17: 260-270.
30. Tsai, S. Y. 2020. Management for the litchi stink bug (*Tessaratoma papillosa* (Drury)) (Hemiptera: Tessaratomidae) using low-risk insecticides [theses]. Taiwan(Taipei): National Taiwan University. 83 pp. (in Chinese)
31. Wagner, B. L., Lewis, L. C. 2000. Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3468-3473.
32. Wenzel Rodrigues, I. M., Forim, M. R., da Silva, M. F. G. F., Fernandes, J. B., Batista Filho, A. 2016. Effect of ultraviolet radiation on fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, pure and encapsulated, and bio-insecticide action on *Diatraea saccharalis*. *Adv. Entomol.* 4: 151-162.
33. Wu, W. Y. 2010. Preliminary screening of the white muscardine fungus, *Beauveria bassiana*, highly pathogenic strains against the house fly, *Musca domestica*, and investigations on their cultural characteristics [theses]. Taiwan (Taichung): National Chung Hsing University. 86 pp. (in Chinese)
34. Zhang, L. W., Kang, K., Liu, Y. J., Zhang, J., Sun, L., Zhan, C., Huang, C. C., Jiang, L. A., Ye, K. Y., Ding, D. G. 2016. Evaluation of *Beauveria bassiana* isolates as potential agents for control of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae). *Acta. Entomol. Sin.* 59: 111-118.

ABSTRACT

Huang, P. C., Shiao, S. F.* 2023. Biological Control of the Banana Pseudostem Weevil *Odoiporus longicollis* (Oliver, 1807) (Coleoptera: Curculionidae) by Using Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana*: Effective Strain Screening and Application of Pseudostem Injection. J. Plant Med. 65(4): 149-162.

*Corresponding author, E-mail: sfshiao@ntu.edu.tw

Banana plants were often attacked by the stem borer, banana pseudostem weevil, *Odoiporus longicollis* (Oliver, 1807), causing severe stem damage and economic loss. In this study, we collected five infected insects from the field and screened for effective strains compared with Taiwan's only commercial product, *Beauveria bassiana* (strain A1). Using ITS, nrLSU, *tefl-α*, *rpb1*, and *rpb2* sequences, the species of *Beauveria* isolates collected from the field are confirmed as *B. bassiana*. The fatality rate of strains SF404, SF303, SF124, and A1 was respectively 93.3, 90.0, 90.0, and 53.3% at 3×10^9 conidia/mL concentration on adult banana pseudostem weevil after 12 days' infection. The spore germination rate of strains SF124, SF303, and SF404 can all reach over 90% after 24 hr incubation on PDA medium at 24°C. The colony diameter of strains SF124, SF303, and SF404 were 5.38, 5.25, and 4.83 cm after 15 days of incubation on a PDA medium at 24°C. The spore production rate at 24°C incubations for strain SF124, SF303, and SF404 were followed by 2.39×10^8 , 2.18×10^8 , and 2.05×10^8 conidia/cm². The mortality of banana pseudostem weevil by applying pseudostem injection in 1×10^7 , 1×10^8 , and 1×10^9 conidia/mL concentration of strain SF124 spore suspension was 45.0, 65.0, and 95.0, respectively. After standing for 0, 14, and 28 days of 1×10^8 conidia/mL SF124 spore suspensions pseudostem injection and inoculation with banana pseudostem weevil larva, the mortality was 65.0, 35.0, and 25.0%, respectively. Based on the experimental results, these new strains of *B. bassiana* and pseudostem injection provide a potential microbial agent and new ways to control banana pseudostem weevil.

Keywords: *Beauveria bassiana*, banana pseudostem weevil, pseudostem injection, pest management, microbial pesticides.

附錄一、香蕉假莖注射要領* (整理自 Kung, 1965)

APPENDIX 1. Tips of banana pseudostem injection* (Organized from Kung, 1965)

1. 注入位置多位於假莖中段 (距梢部 1.5 m)
2. 注入藥量以上方外溢為度，食痕嚴重導致藥液不能上升者，則於上方 (或下方) 再注入一劑
3. 實際注入藥量視植株大小與危害嚴重程度而定
4. 使用換上專用注射針 (長 10 cm 直徑 2 mm) 之壓力噴霧器，由假莖一側注入，所用壓力不可過強，使藥劑自葉鞘間徐徐上升至梢部
5. 避免將針頭與藥劑施打於假莖之生長軸心，可能影響香蕉生長，且一般象鼻蟲幼蟲鮮少危害假莖之生長軸心，藥液仍需流回葉鞘間方能上下流動
6. 注射時針頭噴出孔調整至上方再予注射
7. 平均每株稀釋後用量約 180 mL
8. 下雨對藥劑注射影響甚微
9. 幼蟲鑽入葉柄或葉主脈藥液無法到達，應先清除殘枝或注入少許藥劑於葉柄中
10. 影響成效之主因為藥劑能否均勻到達全株莖內

* 香蕉假莖注射須精準施打合適劑量且避免損傷蕉株，未經過專業訓練之人員或農友施用前請先諮詢相關專家意見。

附錄二、聚合酶連鎖反應使用之引子序列

APPENDIX 2. Sequences of the primers used in PCR amplification

Gene	Primer	Sequence
ITS	ITS5	GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC
nrLSU	LROR	ACCCGCTGAACCTAAGC
	LR5	TCCTGAGGGAACTTCG
<i>tefl-α</i>	EF1-983	GCYCCYGGHCAYGGTGAYTTYAT
	EF1-2218	GACTTGACTTCRGTGVTGAC
<i>rpb2</i>	RPB2-5f	GAYGAYMGWGATCAYTTYGG
	RPB2-7cR	CCCATRGCTTGYYTRCCCAT