

黑殭菌 (*Metarhizium anisopliae*) 作為生物性殺蟲劑防治棕帶蜚蠊 (*Supella longipalpa* (F.)) 之潛用性研究

倪宇亭、唐立正、段淑人*

國立中興大學昆蟲學系 40249 台中市南區國光路 250 號

摘要

本試驗以蟲生真菌黑殭菌 (*Metarhizium anisopliae*) 為防治資材，利用常用的害蟲管理策略，如噴灑、食餌或費洛蒙陷阱進行防治棕帶蜚蠊 (*Supella longipalpa*) 的研究。於 25°C 下，以直接噴灑孢子懸浮液於蜚蠊體表的方式，可達到最有效的防治效果，施用濃度 1.6×10^8 conidia/mL，於感染 21 日後之累積死亡率為 78.3%，LT₅₀ 為 9.8 天。含有分生孢子粉之陷阱中添加棕帶蜚蠊糞便萃取液或/及食餌之綜合應用，可提升致死率，其中以添加二氯甲烷糞便萃取液之應用效果最佳，造成蜚蠊之死亡率達 55.6%。添加於食餌亦可提升整體之死亡率，甲醇及乙醇糞便萃取液添加食餌綜合應用造成蜚蠊之死亡率分別為 35.6 及 23.3%，而單獨使用甲醇及乙醇糞便萃取液時只有 23.3 及 14.4% 的死亡率；試驗證實糞便萃取液及食餌皆可提升其防治效力，且成蟲之死亡率較若蟲為高。噴灑孢子懸浮液於材質表面之接觸感染效果，以施用於塑膠、瓷磚及玻璃光滑表面較佳，不鏽鋼板及粗糙的木板則較低。此外，水平傳播於聚集性的蜚蠊族群間（帶原：未感染個體 = 1：10），可使未感染個體因而造成 30.0% 之死亡率。試驗結果顯示，黑殭菌應用於防治棕帶蜚蠊上，不僅可單獨使用，也可搭配食餌及糞便萃取液綜合應用；且孢子具水平傳播之特性，可於蜚蠊族群間達到有效的防治效果。

關鍵詞：棕帶蜚蠊、黑殭菌、水平傳播、糞便萃取物、食餌。

前言

棕帶蜚蠊 (*Supella longipalpa* (F.)) 原產於非洲 (Rehn, 1945)，隨著交通及貿易的

發展散佈於世界各地，目前多分布於熱帶及亞熱帶地區國家，近年來才被列為台灣居家蜚蠊之一 (Wang, 1997)。台灣之氣候環境適合其生長發育，常可於住家環境、醫院及公共場所

*論文聯繫人

Corresponding email: sjtuan@dragon.nchu.edu.tw

發現其蹤跡。棕帶蜚蠊對人類之危害，除了造成騷擾外，殘留之排泄物會造成食物污染或引發人類之過敏反應 (Wijnen *et al.*, 1997; Hsu, 2007)，其體內及體表均攜帶許多會引起人類疾病的病原菌 (Mallis, 1982; Le Guyader *et al.*, 1989)。蜚蠊攜帶之過敏原及病原菌會藉由其習性傳播，為重要的環境衛生害蟲。

蟲生真菌黑殭菌 (*Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin) 易人工大量培養，具高度之寄主專一性，且對人、哺乳動物及環境安全，為蟲生真菌中最常被用於防治工作中之微生物殺蟲劑，並在單獨及綜合防治策略應用中，均得良好之效果 (Shah and Pell, 2003; Hajek and Delalibera, 2010)。其可在標的昆蟲族群中水平傳播造成流行病，對於具有聚集性及隱匿性的蜚蠊是一有潛力之生物性防治資材 (Quesada-Moraga *et al.*, 2004)。

本試驗評估黑殭菌應用於居家環境中防治棕帶蜚蠊之潛力。利用居家環境中常用之防治害蟲策略，如噴灑或食餌及費洛蒙陷阱誘引，探討不同濃度之黑殭菌孢子懸浮液、不同溫度下或不同接種方法對蜚蠊致死率的影響。試驗利用不同因子結合分生孢子粉提升黑殭菌對蜚蠊之致死率。最後探討黑殭菌是否能藉由被感染之個體水平傳播至族群間。

材料與方法

一、供試昆蟲之飼養

棕帶蜚蠊 (*S. longipalpa*) 自台灣中部居家環境採集而得，經實驗室累代飼養。蜚蠊族群飼養於含有紙捲的大型透明整理箱 (685 × 480 × 405 mm)，箱子上方以紗網覆蓋，置於 25 ± 1°C、全黑暗之步入式生長箱，按時提供乾狗糧 (大潤發乾狗糧，15 kg，台灣製造) 及水供其生長發育 (Appel *et al.*, 1993)。

二、供試黑殭菌

(一) 菌種來源及保存

試驗用菌株為生物資源保存與研究中心於台中縣採集而得之黑殭菌 *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin BCRC 35561，分離自同翅目昆蟲，接種於棕帶蜚蠊馴化而得；試驗用之黑殭菌分生孢子均自棕帶蜚蠊蟲體分離，以 Sabouraud maltose agar+yeast (SMA+Y) 培養基 (neopeptone 10 g, maltose 20 g, yeast extract 2 g, agar 15 g in 1 L distilled water) 培養於 25 ± 1°C、光暗週期 12L : 12D 或 0L : 24D 之恆溫生長箱。將菌種移植至 SMA+Y 斜面培養基培養 7~9 天，保存於 4°C 環境。SMA+Y 培養基依配方將各成分混和後，高壓滅菌 (121°C，1.5 atm. 氣壓下，20 分鐘) 再傾注平板；斜面培養基以微電腦分注器分注培養基至試管中，高壓滅菌後傾斜放置，待冷卻備用。

(二) 黑殭菌孢子懸浮液之配製及分生孢子粉之大量生產

將上述所得之菌株移植至 SMA+Y 斜面培養基培養 7~9 天，以含有 0.05% 界面活性劑 Tween 80 之滅菌二次水，利用震盪機將黑殭菌分生孢子洗下，經序列稀釋後以血球計數器計算濃度，配製成適當濃度備用。利用米太空包的方式大量生產黑殭菌分生孢子，培養於 25 ± 1°C、光暗週期 12L : 12D 之恆溫生長箱中，每日搓揉混拌，待米粒表面覆蓋滿墨綠色之黑殭菌分生孢子即可 (Goettel, 1984; Shu, 2010)。

三、不同濃度之黑殭菌孢子懸浮液體表接種棕帶蜚蠊之致死率試驗

將 20 隻成蟲 (雌、雄各 10 隻) 置於 1,000

mL 玻璃大燒杯中，以微量噴霧器均勻噴灑 200 μL 黑殭菌孢子懸浮液，對照組噴灑含 0.05% Tween 80 之無菌水。試驗 1.6×10^6 、 1.6×10^7 、 1.6×10^8 conidia/mL 的濃度下，黑殭菌孢子懸浮液對棕帶蜚蠊的致死率。接種後將蜚蠊移至乾淨之 250 mL 塑膠杯中（周圍塗有氟隆，以防蜚蠊脫逃），提供乾狗糧、水及紙捲，培養於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、12L:12D 恆溫生長箱。每 20 隻成蟲一重複，每處理三重複，觀察 21 日，每日將死亡個體移出，以 70% 酒精清洗體表，再移至含有濕棉花之 6 cm 培養皿中，培養皿外纏封石臘膜以維持高濕度使黑殭菌產孢。

四、不同溫度對黑殭菌孢子懸浮液感染棕帶蜚蠊致死率之影響試驗

將 20 隻成蟲（雌、雄各 10 隻）置於 1,000 mL 之玻璃大燒杯中，以微量噴霧器均勻噴灑 200 μL 1.6×10^8 conidia/mL 的黑殭菌孢子懸浮液，對照組噴灑含 0.05% Tween 80 之無菌水。接種後將蜚蠊置於乾淨之 250 mL 塑膠杯中，提供乾狗糧、水及紙捲，培養於 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 及 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 溫度，光暗週期 12L:12D 恆溫生長箱，試驗不同溫度下黑殭菌孢子懸浮液對棕帶蜚蠊致死率之影響。每 20 隻成蟲一重複，每處理三重複，觀察 21 日，每日將死亡個體移出，以 70% 酒精消毒體表，再移至含有濕棉花之 6 cm 培養皿中，培養皿外纏封石臘膜以維持高濕度促使黑殭菌產孢，再行鏡檢或分離驗證。此外也利用 1.6×10^6 及 1.6×10^7 conidia/mL 懸浮液進行上述之試驗，觀察蜚蠊之死亡率。

五、不同方法接種黑殭菌孢子懸浮液對棕帶蜚蠊致死率影響試驗

（一）體表噴灑、噴灑磁磚表面及飲用孢子懸浮

液三種接種方法對蜚蠊之死亡率影響

比較上述三種接種方法對蜚蠊之死亡率。將 20 隻成蟲（雌、雄各 10 隻）置於 250 mL 塑膠杯中，以 200 μL 1.6×10^8 conidia/mL 的孢子懸浮液測試，對照組以 0.05% Tween 80 之無菌水處理。直接噴灑以微量噴霧器均勻噴灑懸浮液於蜚蠊體表上；噴灑懸浮液於磁磚表面，待其陰乾後，使蜚蠊於其上爬行一天；以懸浮液取代飲用水，使蜚蠊藉由飲水時接觸孢子。接種一天後將蜚蠊移至乾淨之塑膠杯中，提供乾狗糧、水及紙捲，培養於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、12L:12D 恆溫生長箱下。每 20 隻成蟲一重複，每處理三重複，觀察 18 日，每日將死亡個體移出，以 70% 酒精消毒體表，再移至含有濕棉花之 6 cm 培養皿中，培養皿外纏封石臘膜以維持高濕度使黑殭菌產孢。

（二）不同種類的接觸表面對棕帶蜚蠊致死率之影響

取居家環境常見的材質：木材、瓷磚、不銹鋼、玻璃及塑膠板片先以 70% 酒精消毒表面，利用噴霧器均勻噴灑 1 mL 之黑殭菌孢子懸浮液於不同材質表面，試驗組噴灑 1.6×10^7 、 1.6×10^8 和 1.6×10^9 conidia/mL 三種濃度，對照組噴灑含 0.05% Tween 80 之無菌水，待陰乾約 4~6 小時後，將裝有 20 隻成蟲（雌、雄各 10 隻）之 250 mL 塑膠杯，倒扣在材質表面上，任蜚蠊於內活動。一天後將蜚蠊移回 250 mL 塑膠杯中，提供乾狗糧、水及紙捲，培養於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光暗週期 0L:24D 步入式生長箱中，試驗黑殭菌孢子懸浮液噴灑於不同接觸表面，對棕帶蜚蠊致死率之影響。每 20 隻成蟲一重複，每處理三重複，觀察 21 日，每日將死亡個體移出，以 70% 酒精消毒體表，再移至含有濕棉花之 3 cm 培養皿中，培養皿外纏封石臘膜以維持高濕度使黑殭菌產孢。

六、糞便萃取物之製備

收集飼養棕帶蜚蠊整理箱底部之糞便，利用篩網過濾後將糞便與有機溶劑 1 : 2 (wt : wt) 混合。

(一) 甲醇 (methanol) 萃取液

參考 Miller *et al.* (1996) 將糞便: 甲醇 = 1 : 2 置於 125 mL 三角錐瓶中，靜置 24 小時後利用布氏漏斗真空過濾上清液，將萃取液置於指形瓶中。

(二) 70% 乙醇 (ethanol) 萃取液

參考 Guo (2008) 將糞便: 70% 乙醇 = 1 : 2 置於 125 mL 三角錐瓶中，靜置 24 小時後利用布氏漏斗真空過濾上清液，將萃取液置於指形瓶中。

(三) 二氯甲烷 (dichloromethane) 萃取液

參考 Miller and Koehler (2000) 將糞便: 二氯甲烷 = 1 : 2 置於 125 mL 三角錐瓶中，靜置 24 小時後利用布氏漏斗真空過濾上清液，加入等量的去離子水，再靜置 24 小時，利用微量滴管吸取下層的萃取液置於指形瓶中。

上述三種萃取液置於指型瓶後，用錫箔紙包覆瓶身，石臘膜封口，保存於 4°C 冰箱中；試驗前放置室溫下，回溫後即可使用。

七、以糞便萃取液及食餌誘引棕帶蜚蠊接觸黑殭菌孢子粉之致死率

30 隻棕帶蜚蠊 (雌、雄成蟲及末齡若蟲各 10 隻) 為一組，置於含有一紙捲之整理箱中 (320 × 200 × 130 mm)。30 分鐘後將陷阱置於紙捲一側，另一側提供水及飼料。陷阱為 6 cm 塑膠培養皿，側邊鑽有三個 1 × 2 cm² 的長方形小孔，內含有 0.1 g 黑殭菌分生孢子粉，上蓋黏有含 0.5 mL 溶液之濾紙 (40 × 40 mm)，添加食餌組為將三粒乾狗糧置於陷阱中。試驗處理分為以下八種：(一) 去離子水 +

孢子粉；(二) 甲醇萃取液 + 孢子粉；(三) 70% 乙醇萃取液 + 孢子粉；(四) 二氯甲烷萃取液 + 孢子粉；(五) 去離子水 + 孢子 + 乾狗糧；(六) 甲醇萃取液 + 孢子粉 + 乾狗糧；(七) 70% 乙醇萃取液 + 孢子粉 + 乾狗糧；及 (八) 二氯甲烷萃取液 + 孢子 + 乾狗糧。每組三重複，置於室溫下，觀察 18 日，每日將死亡個體移出，以 70% 酒精消毒體表，再移至含有濕棉花之 3 cm 培養皿中，培養皿外纏封石臘膜以維持高濕度促使黑殭菌產孢。

八、黑殭菌在成蟲間的水平傳播試驗

將 0.5 g 黑殭菌分生孢子粉均勻塗佈於 9 cm 塑膠培養皿中，把裝有 10 隻雄成蟲及裝有 10 隻雌成蟲的 250 mL 塑膠杯，分別倒扣在其上爬行一天沾滿孢子。將一隻體表沾滿黑殭菌孢子的雄成蟲放至裝有 10 隻未感染雌成蟲的 250 mL 塑膠杯；另一組為將一隻體表沾滿黑殭菌孢子的雌成蟲放至裝有 10 隻未感染雄成蟲的 250 mL 塑膠杯，提供乾狗糧、水及紙捲，試驗進行於 25 ± 1°C，光暗週期 0L : 24D 步入式生長箱中，測試黑殭菌是否能藉由被感染之蟲體造成族群間水平傳播。每 10 隻成蟲一重複，每處理三重複，整個試驗重複兩次，觀察 21 日，每日將死亡個體移出，以 70% 酒精消毒體表，再移至含有濕棉花之 3 cm 培養皿中，培養皿外纏封石臘膜以維持高濕度使黑殭菌產孢。

九、統計分析

記錄各觀察時間及各濃度隨時間之死亡率，以 Microsoft Office Excel 2010 計算，再以 Probit 軟體 (Chi, 1997) 計算半致死時間 (LT₅₀)。利用 SigmaPlot 軟體作圖並以 One-way 或 Two-way ANOVA 統計分析，再以 Tukey's studentized range test 分析各處理



圖一 棕帶蜚蠊之成蟲、若蟲及卵鞘 (A) 以及黑殭菌感染之棕帶蜚蠊 (B)。圖左至右分別為雌成蟲、雄成蟲及若蟲。
 Fig. 1. Adults, nymphs and egg sheath of the brown-banded cockroach, *Supella longipalpa* (A). Cockroaches infected with *Metarhizium anisopliae* at 7 days post infection; (B). Left to right: female, male and nymph of *Supella longipalpa*.

間是否有顯著差異。

結 果

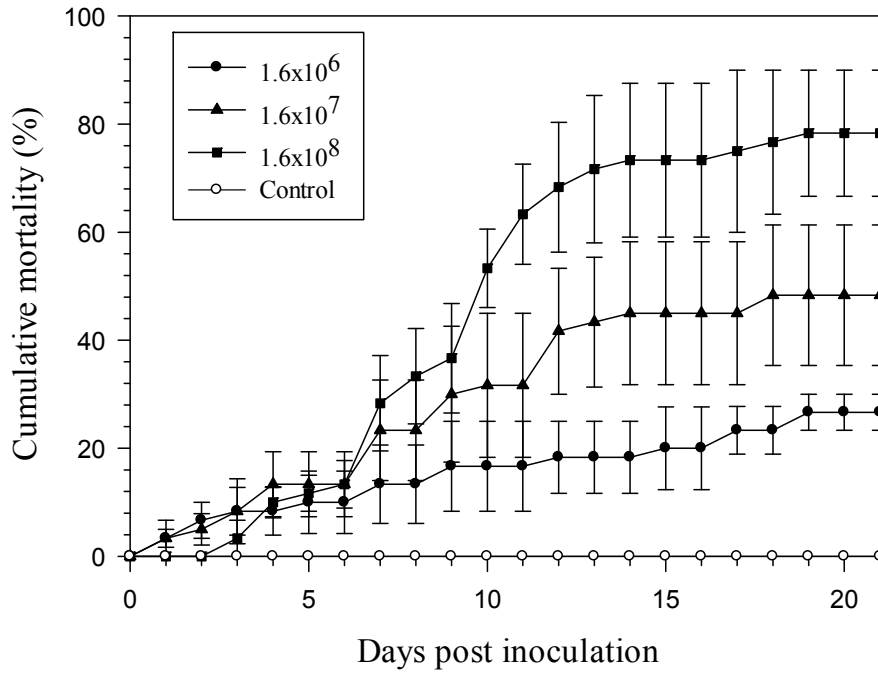
一、不同濃度之黑殭菌孢子懸浮液對棕帶蜚蠊致死率之影響

以不同濃度之孢子懸浮液噴灑蜚蠊成蟲體表，確實可造成棕帶蜚蠊成蟲及若蟲感病死亡 (圖一)。蜚蠊之死亡率於不同濃度處理有顯著差異 ($F_{(2,8)} = 6.377$; $p = 0.033$)。施用濃度 1.6×10^6 、 1.6×10^7 及 1.6×10^8 conidia/mL 之 21 日累積死亡率分別為 26.7、48.3 及 78.3%，成蟲之死亡率隨著濃度上升而增加 (圖二)。 1.6×10^8 conidia/mL 之懸浮液為供

試濃度效果最佳，半致死時間 (LT_{50}) 為 9.8 天。黑殭菌對濃度越高，半致死時間越短。

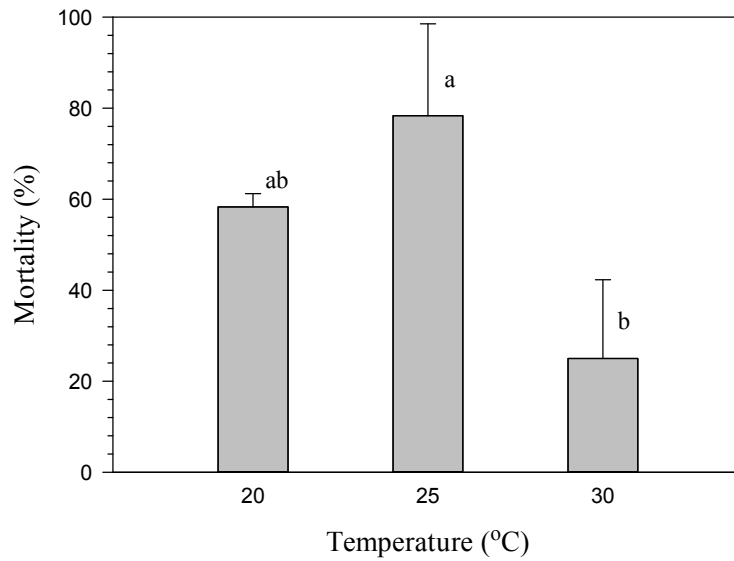
二、不同溫度對黑殭菌孢子感染棕帶蜚蠊致死率之影響

施用孢子懸浮液於不同溫度下對蜚蠊致死率之影響，試驗分別於 20、25、30°C 下進行，噴灑 1.6×10^8 conidia/mL 懸浮液於蜚蠊成蟲體表。試驗結果顯示，蜚蠊之死亡率於不同溫度下具有明顯差異 ($F_{(2,26)} = 23.076$; $p < 0.001$)，25°C 下效果最好，致死率為 $78.3 \pm 20.2\%$ ， LT_{50} 僅 9.8 天；其次為 20°C，死亡率為 $58.3 \pm 2.9\%$ ， LT_{50} 為 19.3 天；而 30°C 下效果較差，為 $25.0 \pm 17.3\%$ (圖三)。



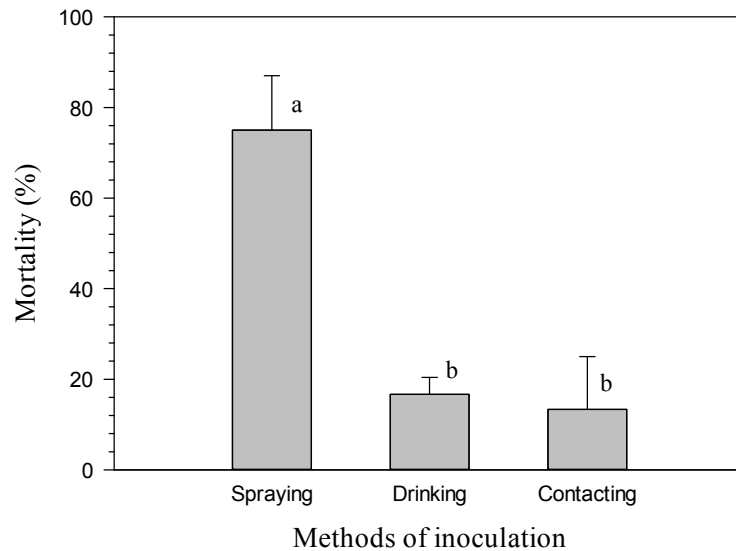
圖二 以不同濃度之黑殭菌孢子懸浮液體表接種棕帶蜚蠊之累積死亡率。

Fig. 2. Cumulative mortality of *Supella longipalpa* adults sprayed with different concentrations of conidia suspension of *Metarhizium anisopliae*.



圖三 以 1.6×10^8 conidia/mL 之黑殭菌孢子懸浮液於不同溫度下感染棕帶蜚蠊之致死力。

Fig. 3. The effect of temperature on the mortality of *Supella longipalpa* adults infected with *Metarhizium anisopliae* conidia suspension of 1.6×10^8 conidia/mL (Tukey-Kramer HSD, $\alpha = 0.05$).



圖四 將黑殭菌孢子懸浮液以不同方法感染棕帶蜚蠊之死亡率。

Fig. 4. The mortality of *Supella longipalpa* adults infected with a *Metarhizium anisopliae* conidia suspension of 1.6×10^8 conidia/mL using three different methods: spraying, contacting and drinking. (Tukey-Kramer HSD, $\alpha = 0.05$)

三、黑殭菌孢子懸浮液以不同方法接種於棕帶蜚蠊之死亡率

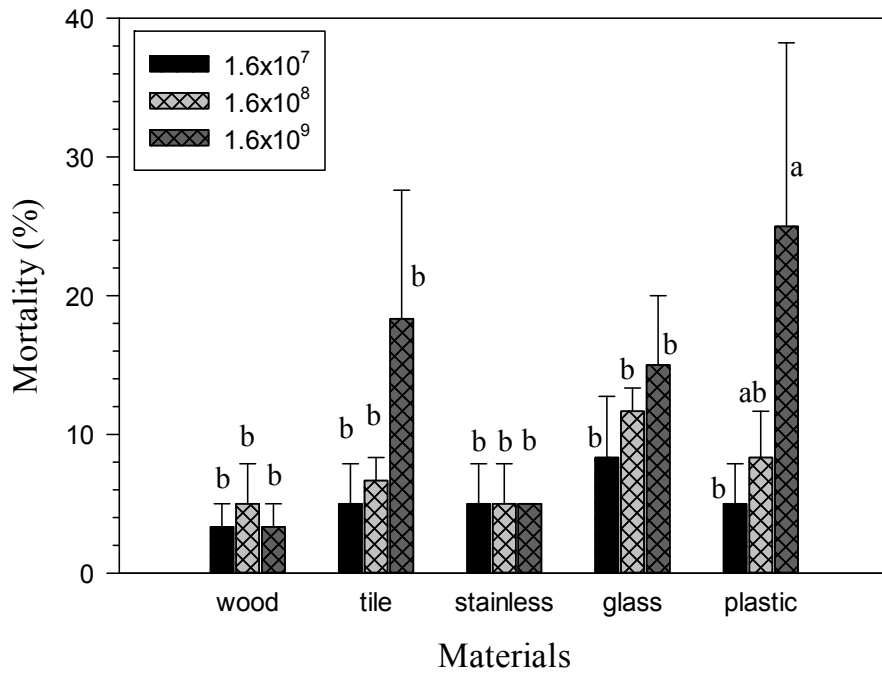
(一) 體表噴灑、噴灑磁磚表面及飲用孢子懸浮液三種接種方法對蜚蠊之死亡率

本試驗將 1.6×10^8 conidia/mL 孢子懸浮液以噴灑、接觸及以飲用懸浮液三種方法，比較不同接種方法造成之死亡率。接種方法不同對蜚蠊之死亡率有顯著差異 ($F_{(2,8)} = 12.400$; $p = 0.007$)。噴灑孢子懸浮液於蜚蠊體表之效果最佳，經 18 天測試可達 75.0% 之死亡率，於第十天即造成一半之供試昆蟲死亡 (圖四)。其次為飲用懸浮液，造成之死亡率為 16.7%。而將懸浮液噴灑於磁磚使其接觸感染造成之死亡率最低，為 13.3%。後兩者造成之結果經由分析後，並沒有顯著差異。接種方法影響防治效果，試驗結果以直接噴灑孢子懸浮液於蜚蠊之結果最好。

(二) 不同材質的接觸表面對棕帶蜚蠊致死率

之影響

噴灑孢子懸浮液於居家常有之材質表面，試驗結果顯示，較光滑之材質造成蜚蠊之死亡率較高，如施用濃度為 1.6×10^9 conidia/mL，以塑膠材料試驗組之死亡率為最高，造成 25.0% 個體死亡，其次為瓷磚 18.3%、玻璃 15.0%，再者為不鏽鋼 5.0%，而木材為最低，僅造成 3.3% 之死亡率。以塑膠、玻璃及瓷磚為噴藥材料之結果顯示，隨孢子懸浮液濃度增加，死亡率皆有升高之趨勢；但相同濃度下，塑膠、玻璃及瓷磚試驗組間，並無顯著差異。施用不同濃度之懸浮液於不銹鋼表面，造成之累積死亡率皆為 5.0%，而木材之累積死亡率並未隨濃度增加而提升。試驗結果，孢子懸浮液噴灑於光滑面，如塑膠、玻璃及瓷磚對蜚蠊之致死效果較好，而木板為最低 (圖五)。



圖五 黑殭菌孢子懸浮液施用於不同材質表面對棕帶蜚蠊接觸感染之平均死亡率。

Fig. 5. Mortality of *Supella longipalpa* adults exposed for 24 hours to the surface of different materials sprayed with conidia suspension. (Tukey-Kramer HSD, $\alpha = 0.05$)

四、以糞便萃取液及食餌誘引棕帶蜚蠊接觸黑殭菌孢子粉之致死率

將陷阱中添加糞便萃取液或/及食餌共八種組合，以誘引蜚蠊前來接觸孢子粉之機率。試驗中未加食餌的處理組中，以二氯甲烷萃取液造成蜚蠊之死亡率為最高 ($55.6 \pm 9.5\%$)，與對照組有顯著差異 ($F_{(1,17)} = 46.722$; $p < 0.001$)，而甲醇及乙醇萃取液試驗組分別為 23.3 ± 8.8 及 $14.4 \pm 6.8\%$ 之死亡率。食餌為有效誘引蜚蠊之刺激物，添加食餌的處理組明顯提升整體之死亡率 ($F_{(1,71)} = 4.658$; $p = 0.035$)，甲醇、乙醇及對照組分別提升了 12.3、8.9 及 23.4% 的死亡率，而對於誘引能力較佳的二氯甲烷萃取液，添加食餌並無明顯增加死亡率。糞便萃取液對於不同性別及齡期

之誘引效果具有差異 ($F_{(2,71)} = 27.041$; $p < 0.001$)。以二氯甲烷萃取液處理組之雌成蟲死亡率為最高 (66.7%)，其次為雄成蟲 (63.3%)，若蟲最低 (36.7%)；試驗結果均顯示，成蟲之死亡率較高，與若蟲有顯著差異 (表一)。

五、黑殭菌在成蟲間之水平傳播試驗

本試驗利用成蟲攜帶接種源之真菌孢子傳播至族群間，觀察是否會引起水平感染。試驗結果與對照組相比具顯著差異 ($F_{(3,23)} = 9.744$; $p < 0.001$)，於第十八天即可使蜚蠊的平均死亡率達 30.0%，且試驗中之死亡個體皆有產孢。帶原蜚蠊之性別對水平傳播至未感染個體之致死率並無明顯影響。將帶有真菌孢子的雌蟲放入未感染雄蟲中，累積死亡率為

表一 八組誘引物質處理對不同性別及齡期之棕帶蜚蠊誘引接種黑殭菌孢子粉之死亡率

Table 1. The mortality of *Supella longipalpa* in arenas containing traps containing only *Metarhizium anisopliae* conidia, conidia + food, conidia + fecal extracts, or conidia + food + fecal extracts extracted with methanol, ethanol and dichloromethane

Treatments	Stage mortality (%) (Mean ± SE)			Total mortality (%) (Mean ± SE)
	Male	Female	Nymph	
ddH ₂ O ⁽¹⁾	20.0 ± 0.0ABac	40.0 ± 5.8Aab	10.0 ± 5.8Bab	23.3 ± 8.8a
Methanol ⁽²⁾	20.0 ± 5.8ABac	40.0 ± 5.8Aab	10.0 ± 10.0Bab	23.3 ± 8.8a
Ethanol ⁽³⁾	13.3 ± 6.7ABc	26.7 ± 8.8Aa	3.3 ± 3.3Ba	14.4 ± 6.8a
Dichloromethane ⁽⁴⁾	63.3 ± 6.7Ab	66.7 ± 8.8Ab	36.7 ± 3.3Bb	55.6 ± 9.5bc
ddH ₂ O ⁽¹⁾ +food	43.3 ± 8.8ABabc	60.0 ± 10.0Ab	36.7 ± 3.3Bb	46.7 ± 6.9bc
Methanol ⁽²⁾ +food	46.7 ± 3.3Aab	40.0 ± 11.5ABab	20.0 ± 5.8Bab	35.6 ± 8.0ab
Ethanol ⁽³⁾ +food	23.3 ± 3.3Aac	26.7 ± 3.3Aa	20.0 ± 5.8Aab	23.3 ± 1.9a
Dichloromethane ⁽⁴⁾ +food	46.7 ± 6.7Aab	63.3 ± 8.8ABb	30.0 ± 5.8Bab	46.7 ± 9.6c

Mortality (%) (Mean ± SE) under the same treatment among the different sexes and stages (in the row) followed by the same capital letter are not significantly different. The same small letter in the column means there is no significant difference among the different treatments (Tukey-Kramer HSD, $\alpha = 0.05$).

⁽¹⁾ *M. anisopliae* conidia alone.

⁽²⁾ Fecal extracts extracted with methanol + *M. anisopliae* conidia.

⁽³⁾ Fecal extracts extracted with ethanol + *M. anisopliae* conidia.

⁽⁴⁾ Fecal extracts extracted with dichloromethane + *M. anisopliae* conidia.

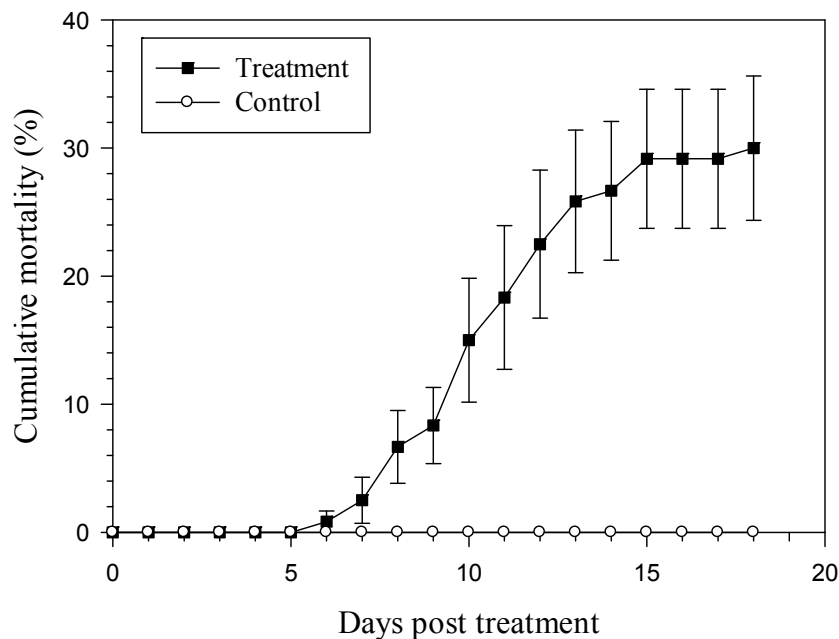
25.0%。另一組將帶有真菌孢子雄蟲放入未感染的雌蟲中，雌蟲的累積死亡率比雄蟲的高，為 35.0%。兩組間經統計分析後並無顯著差異(圖六)。

討 論

蟲生真菌侵染昆蟲寄主使其發病死亡之過程中，受到許多因子影響，除環境因素如溫度、濕度外，真菌的致死率及毒素的有無，與寄主昆蟲的生理狀態，如發育階段、性別及種類，或藥劑的劑型及施用方法等都有重要的影響 (Dimbi *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2006)。大多數蟲生真菌之適宜生長發育溫度為 25~30°C，而居家環境一般維持於 20~30°C。本試驗結果顯示，25°C 時蜚蠊之死亡率為最高；於 20°C 環境下，死亡率也可達 50% 以上；Latch and Kain (1983) 利用黑殭菌防治

Wiseana sp. 於 19~25°C 時可使幼蟲快速死亡。溫度對真菌與昆蟲間之交互作用為一關鍵因子，不僅會影響真菌及寄主之生理表現，也會影響真菌對寄主之致死率 (Bugeme *et al.*, 2009)。

本試驗將孢子懸浮液以噴灑、接觸及以懸浮液取代飲水等三種方法，比較不同接種方法造成之死亡率。結果顯示，於 1.6×10^8 conidia/mL 濃度下，直接噴灑造成蜚蠊之死亡率為最高，其次為接觸磁磚；此與 Wu (2010) 利用白殭菌防治家蠅 (*Musca domestica* L.)，直接噴灑於家蠅體表之死亡率高於接觸木板感染之結果相符。直接噴灑可使分生孢子直接接觸蜚蠊體表，而使較多的孢子發芽侵入寄主體內造成其死亡。孢子附著於足或口器之機率比直接噴灑低，因此造成死亡率有顯著差異 (Wu, 2010)。將黑殭菌孢子懸浮液噴灑於不同材質表面，以了解其對黑殭菌感染蜚蠊之影



圖六 棕帶蜚蠊族群間之黑殭菌孢子水平傳播 (帶原個體 : 未感染個體 = 1:10) 之累積死亡率。

Fig. 6. Cumulative mortality of *Supella longipalpa* adults at a ratio of 1:10 (infected: non-infected with *Metarhizium anisopliae* conidia). Data are mean mortality \pm SE

響。試驗結果顯示施用於光滑面 (塑膠、玻璃及瓷磚) 對蜚蠊之致死率較高, 而不銹鋼及木材效果較差。此結果與 Steinkraus *et al.* (1991) 以白殭菌防治擬步行蟲 (*Alphitobius diaperinus*), 接觸光滑塑膠表面造成之死亡率最高、木板最低之結果相符。推測應與木板表面有許多細小之孔洞與縫隙, 孢子被吸附於縫隙孔洞間, 以致蟲體不易接觸到孢子, 降低被感染之機率。施用懸浮液於不鏽鋼表面, 三種濃度造成之結果相同, 且蜚蠊之死亡率與木板相當, 推測原因為不銹鋼板表面可能有靜電或離子, 進而影響孢子發芽 (Arnold and Mitchell, 2002; Arnold *et al.*, 2004)。

蟲生真菌屬緩效性微生物殺蟲劑, 需 3~7 天才能使蜚蠊死亡, 效果不如化學藥劑快速。對隱匿性高的蜚蠊而言, 噴灑孢子懸浮液

及殘效噴灑不易達到防治效果, 因此可利用陷阱中添加聚集費洛蒙及食餌誘捕之策略, 提高蜚蠊之捕捉率及防治效果 (Miller *et al.*, 1996)。Bennet and Wright (1971) 提出, 蜚蠊的氣味 (聚集費洛蒙) 可誘引蜚蠊前往含有殘效性殺蟲劑的區域; Rust and Reiersen (1977) 發現聚集費洛蒙確實可提升殘效性殺蟲劑之效果。本試驗結果僅有二氯甲烷萃取液使蜚蠊之死亡率提升, 其餘兩種萃取液均無此效果。Miller and Koehler (2000) 試驗證實, 二氯甲烷萃取液搭配陶斯松殺蟲劑的防治效果比甲醇萃取液好, 而甲醇萃取液之應用效果與殺蟲劑單獨使用之效果間無顯著差異。Lauprasert *et al.* (2006) 建議無毒食餌用於誘捕蜚蠊也可達到不錯之效果, 本試驗結果也顯示, 僅有食餌之處理組亦可達到良好的防治

效果；而糞便萃取液添加食餌之處理組與僅有糞便萃取液處理組比較，防治效果更佳，與 Miller *et al.* (1997) 提出糞便萃取液與毒餌或食餌搭配使用可提升其功效之理論相符。

棕帶蜚蠊與德國蜚蠊皆有聚集行為，因此可藉由昆蟲個體間之接觸，將真菌孢子水平傳播至整個族群，控制族群的數量 (Kaakeh *et al.*, 1996; Quesada-Moraga *et al.*, 2004; Buczkowski *et al.*, 2008)。本試驗證實黑殭菌可藉由棕帶蜚蠊攜帶孢子，進行水平感染健康的個體。於接觸 24 小時、觀察 18 天之結果，造成未感染個體因受到傳染而罹病導致 30.0% 死亡；Quesada-Moraga *et al.* (2004) 將已感染黑殭菌之殭蟲置於德國蜚蠊成蟲間 31 天，可使未感染個體達到 87.5% 的死亡率， LT_{50} 為 12.2 天；與本試驗之結果差異如此顯著的原因推測為未感染蜚蠊暴露在有攜帶病原菌個體的環境中的時間越久，被感染的機率也越高。此外，Quesada-Moraga *et al.* (2004) 研究發現，被真菌感染之雌蟲生殖率會降低。因此，黑殭菌之水平傳播特性於防治蜚蠊上，可有效降低族群之密度，甚至可長期性的抑制族群數量。

本試驗為首次利用黑殭菌防治棕帶蜚蠊之研究，各項結果均顯示其防治潛力。未來展望研發出不同劑型及施用方法之黑殭菌微生物藥劑，使其於居家環境中能更安全有效的防治棕帶蜚蠊。

引用文獻

- Appel AG, Benson EP, Ellenberger JM, Manweiler SA. 1993. Laboratory and field evaluations of an entomogenous nematode (Nematoda: Steinernematidae) for German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) control. *J Econ Entomol* 86: 777-784.
- Arnold JW, Mitchell BW. 2002. Use of negative air ionization for reducing microbial contamination on stainless steel surfaces. *J Appl Poult Res* 11: 179-186.
- Arnold LW, Boothe DH, Mitchell BW. 2004. Use of negative air ionization for reducing bacterial pathogens and spores on stainless steel surfaces. *J Appl Poult Res* 13: 200-206.
- Bennet GW, Wright CG. 1971. Response of German cockroaches to spray constituents. *J Econ Entomol* 64: 1119-1124.
- Buczkowski G, Scherer CW, Bennett GW. 2008. Horizontal transfer of bait in the German cockroach: indoxacarb causes secondary and tertiary mortality. *J Econ Entomol* 101: 894-901.
- Bugeme DM, Knapp M, Boga HI, Wanjoya AK, Maniania NK. 2009. Influence of temperature on virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Mycopathologia* 167: 221-227.
- Chi H. 1997. Computer program for the probit analysis. Taichung City: National Chung Hsing University.
- Dimbi S, Maniania N, Lux S, Mueke J. 2003. Host species, age and sex as factors affecting the susceptibility of the African tephritid fruit fly species, *Ceratitis capitata*, *C. cosyra* and *C.*

- fasciventris* to infection by *Metarhizium anisopliae*. *Anzeiger für Schädlingskunde* 76: 113-117.
- Goettel MS.** 1984. A simple method for mass culturing entomopathogenic hyphomycete fungi. *J Microbiol Meth* 3: 15-20.
- Guo JN.** 2008. Pathogenic evaluation of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema abbasi* and *Steinernema carpocapsae*, against *Blattella germanica* [Master thesis]. Taichung City: National Chung Hsing University. 51 pp. (in Chinese).
- Hajek AE, Delalibera I.** 2010. Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods. *Bio Control* 55: 147-158.
- Hsu EL.** 2007. Insecta, Blattaria-cockroaches, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan. Central Taiwan University of Science and Technology. National Taiwan University, Taiwan. (in Chinese).
- Kaakeh W, Reid BL, Bennett GW.** 1996. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Imperfect Fungi: Hyphomycetes) and hydramethylnon among German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J Entomol Sci* 31: 378-390.
- Latch G, Kain W.** 1983. Control of porina caterpillar (*Wiseana* spp.) in pasture by the fungus *Metarhizium anisopliae*. *N Z J Exp Agric* 11:351-354.
- Lauprasert P, Sitthicharoenchai D, Thirakhupt K, Pradatsudarasar AO.** 2006. Food preference and feeding behavior of the German cockroach, *Blattella germanica* (Linnaeus). *J Sei Res Chula Univ* 31: 121-126.
- Le Guyader A, Rivault C, Chaperon J.** 1989. Microbial organisms carried by brown-banded cockroaches in relation to their spatial distribution in a hospital. *Epidemiol Infect* 102: 485-492.
- Mallis A.** 1982. Handbook of pest control, the behavior, life history, and control of household pests. 6th ed. Cleveland, Ohio: Franzak and Foster Co. 1068 pp.
- Miller D, Koehler P, Patterson R.** 1997. Use of German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) fecal extract to enhance toxic bait performance in the presence of alternative food sources. *J Econ Entomol* 90: 483-487.
- Miller D, Koehler P, Nation J.** 2000. Use of fecal extract trails to enhance trap catch in German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) monitoring stations. *J Econ Entomol* 93: 865-870.
- Miller DM, Koehler PG, Patieron RS.** 1996. Influence of German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) fecal extract on food consumption and harborage choice. *J Econ Entomol* 89: 668-672.
- Quesada-Moraga E, Santos-Quirós R, Valverde-García P, Santiago-Alvarez**

- C.** 2004. Virulence, horizontal transmission, and sublethal reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* (Anamorphic fungi) on the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *J Invertebr Pathol* 87: 51-58.
- Rehn JAG.** 1945. Man's uninvited fellow traveler—the cockroach. *Sci Month* 61: 265-276.
- Rust MK, Reiersen DA.** 1977. Increasing blatticidal efficacy with aggregation pheromone. *J Econ Entomol* 70: 693-696.
- Shah P, Pell J.** 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl Microbiol Biotechnol* 61: 413-423.
- Shu CC.** 2010. Studies on infectivity of green muscardine fungus, *Metarhizium anisopliae*, to the sweet potato weevil, *Cylas formicarius*. [Master thesis]. Taichung City: National Chung Hsing University. 75 pp. (in Chinese).
- Wan CH.** 1997. The ecology and control of household cockroaches, Taiwan: Taiwan Environmental Pest Management Association. (in Chinese).
- Wijnen JH, Verhoef A, Mulder- Folkerts D, Brachel H, Schou C.** 1997. Cockroach allergen in house dust. *Allergy* 52: 460-464.
- Wu WY.** 2010. Preliminary screening of white muscardine fungus, *Beauveria bassiana*, highly pathogenic strains against the house fly, *Musca domestica*, and investigations on their cultural characteristics. [Master thesis]. Taichung City: National Chung Hsing University. 86 pp. (in Chinese).
- Zhou T, Wang CK, Yu TN.** 2006. Fungal insecticide, pp 54-124. In: Zhou T, Wang CK, Yu TN (eds). *Development and Application of Microbial Pesticides. Pesticide Science and Technology.* Chemical Industry Press, Beijing. (in Chinese).

收件日期：2014年3月15日

接受日期：2014年6月16日

Metarhizium anisopliae as a Potential Biopesticide for the Brown-banded Cockroach, *Supella longipalpa* (Blattaria: Blattellidae)

Yu-Ting Ni, Li-Cheng Tang, and Shu-Jen Tuan*

Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung City 40227, Taiwan, ROC

ABSTRACT

The pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) against the brown-banded cockroach, *Supella longipalpa* (F.), was evaluated using common household pest management techniques *i.e.*, spraying, bait, and pheromone trap. The most effective control measure was spraying the conidial suspension directly on the cockroach at 25°C. When a suspension of 1.6×10^8 conidia/mL was sprayed on a cockroach, the mortality and LT_{50} value were 78.3% and 9.8 days, respectively. The use of a trap containing conidia combined with fecal extracts and/or food as an integrated application method enhanced fungal infection. Using a lure consisting of a mixture of conidia and dichloromethane fecal extracts, was found to be more effective, causing a mortality of approx. 55.6%. Lures combining conidia with methanol or ethanol fecal extracts and food resulted in mortalities of 35.6 and 23.3% respectively, while lures that combined conidia with methanol or ethanol fecal extracts only, resulted in mortalities of 23.3 and 14.4%, respectively. This result indicated that fecal extracts combined with food enhanced the activity of the insecticide. The suspension was sprayed on the surface of different materials that are commonly used for interior decoration. Conidia sprayed on plastic materials, tile and glass resulted in a mortality of cockroaches that was higher than when sprayed on stainless steel sheets or a wood surface. Combining the exposed and unexposed cockroaches at a 1:10 ratio resulted in 30.0% mortality in colonies, indicating that *M. anisopliae* transmigrated horizontally within *S. longipalpa* populations. Therefore, this trial has shown that *M. anisopliae* can be a potential microbial agent for managing this cockroach when applied alone or in combination with food baits or with bait stations containing fecal extracts.

Key words: *Supella longipalpa*, *Metarhizium anisopliae*, horizontal transmission, fecal extracts, food bait