



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201340874 A

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：102108703

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 12 日

(51)Int. Cl.：

A01N63/02 (2006.01)

C12N1/20 (2006.01)

A01N35/02 (2006.01)

C07C49/248 (2006.01)

A01P5/00 (2006.01)

C12R1/20 (2006.01)

(30)優先權：2012/03/13 美國

61/609,937

2012/12/05 美國

61/733,730

(71)申請人：魅潤生物創新公司 (美國) MARRONE BIO INNOVATIONS, INC. (US)

美國

(72)發明人：哥多華 克蘿絲 安娜 露西亞 CORDOVA-KREYLOS, ANA LUCIA (MX)；艾索

卡 拉特納卡 ASOLKAR, RATNAKAR (IN)；科伊武寧 瑪莉亞 KOIVUNEN,

MARJA (FI)；羅德里格斯 瑪格麗塔 RODRIGUEZ, MARGARITA (US)；邢麗

娟 XING, LIJUAN (CN)；魅潤 帕梅拉 MARRONE, PAMELA (US)

(74)代理人：林邦棟

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：26 共 120 頁

(54)名稱

殺蟲性黃桿菌屬品種與生物活性組成物、代謝物及使用

PESTICIDAL FLAVOBACTERIUM STRAIN AND BIOACTIVE COMPOSITIONS, METABOLITES AND USES

(57)摘要

本發明提供一種殺蟲性黃桿菌屬品種及自其所取得之生物活性組成物與代謝物，以及其用於防治害蟲之使用方法。

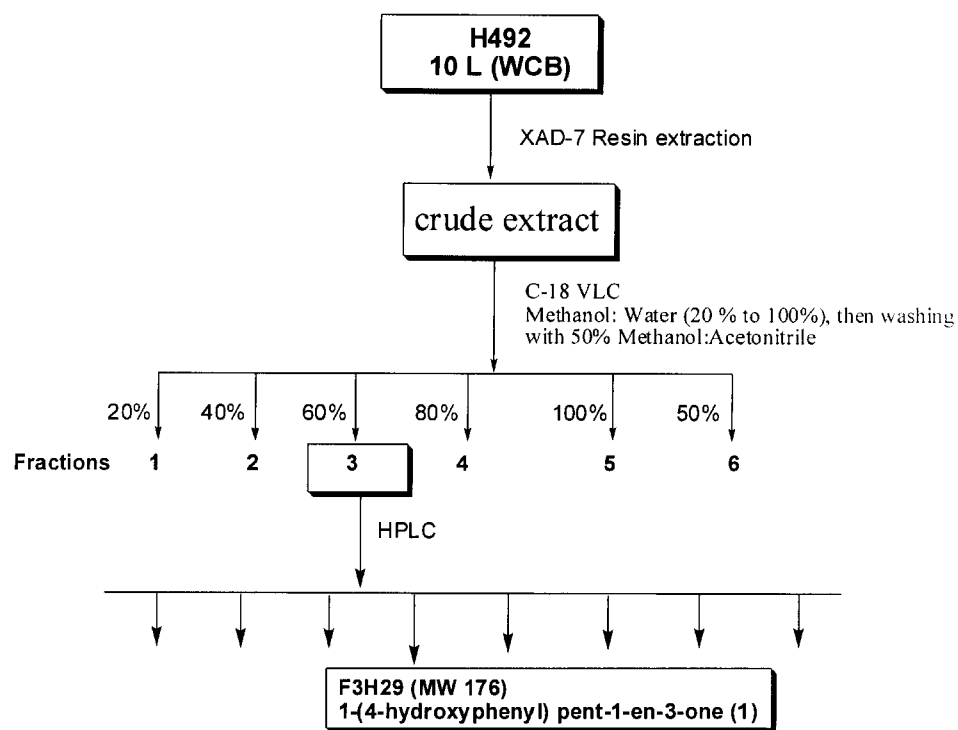


圖 20



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201340874 A

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：102108703

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 12 日

(51)Int. Cl.：

A01N63/02 (2006.01)

C12N1/20 (2006.01)

A01N35/02 (2006.01)

C07C49/248 (2006.01)

A01P5/00 (2006.01)

C12R1/20 (2006.01)

(30)優先權：2012/03/13 美國

61/609,937

2012/12/05 美國

61/733,730

(71)申請人：魅潤生物創新公司 (美國) MARRONE BIO INNOVATIONS, INC. (US)

美國

(72)發明人：哥多華 克蘿絲 安娜 露西亞 CORDOVA-KREYLOS, ANA LUCIA (MX)；艾索

卡 拉特納卡 ASOLKAR, RATNAKAR (IN)；科伊武寧 瑪莉亞 KOIVUNEN,

MARJA (FI)；羅德里格斯 瑪格麗塔 RODRIGUEZ, MARGARITA (US)；邢麗

娟 XING, LIJUAN (CN)；魅潤 帕梅拉 MARRONE, PAMELA (US)

(74)代理人：林邦棟

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：26 共 120 頁

(54)名稱

殺蟲性黃桿菌屬品種與生物活性組成物、代謝物及使用

PESTICIDAL FLAVOBACTERIUM STRAIN AND BIOACTIVE COMPOSITIONS, METABOLITES AND USES

(57)摘要

本發明提供一種殺蟲性黃桿菌屬品種及自其所取得之生物活性組成物與代謝物，以及其用於防治害蟲之使用方法。

發明摘要

※ 申請案號：102108703

※ 申請日：102.3.12

※IPC 分類：

A01N35/02 (2006.01)

C12N1/20 (2006.01)

A01N35/02 (2006.01)

C07C49/248 (2006.01)

A01P5/00 (2006.01)

C12R1/20 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

殺蟲性黃桿菌屬品種與生物活性組成物、代謝物及使用/PESTICIDAL

FLAVOBACTERIUM STRAIN AND BIOACTIVE COMPOSITIONS,

METABOLITES AND USES

【中文】

本發明提供一種殺蟲性黃桿菌屬品種及自其所取得之生物活性組成物與代謝物，以及其用於防治害蟲之使用方法。

【英文】

Provided is a pesticidal Flavobacterium strain and bioactive compositions and metabolites derived therefrom as well as their methods of use for controlling pests.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（二十）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

殺蟲性黃桿菌屬品種與生物活性組成物、代謝物及使用 / PESTICIDAL FLAVOBACTERIUM STRAIN AND BIOACTIVE COMPOSITIONS, METABOLITES AND USES

【技術領域】

【0001】 本發明係關於殺蟲性黃桿菌屬 (Flavobacterium) 品種與從其取得之生物活性組成物及代謝物，以及其用於防治害蟲及促進植物生長之使用方法，其特別可促進植物根部健康。

【先前技術】

【0002】 天然產物為產自微生物、植物及其他有機體之物質。微生物天然產物具有豐富之化學多樣性，且天然產物之藥物用途已有悠久歷史。天然產物主要用於人類治療，五成以上之人類用藥取自天然產物，但僅有11農藥係取自天然來源。然而，天然產物農藥於傳統及有機耕作農場均可做為防治害蟲之重要工具。微生物（細菌、放射菌及真菌）之次級代謝物所產出之新穎化學化合物可用單獨使用或搭配已知化合物使用，而有效控制昆蟲類害蟲並以減少抗藥性增高風險。多種為人熟知之微生物天然產物均為優秀之農用農藥（Thompson等人，2000年；Arena等人，1995年；Krieg等人，1983年）。

【0003】 微生物農藥之發展始自純種培養物微生物之分離。而後將分離株利用體內試驗、體外試驗或溫室及田間小量試製實驗進行分離株之效率與光譜篩選。同時，對該微生物產出之活性化合物進行分離及辨識。為

求微生物農藥之商業化，該微生物須經工業規模發酵之經濟方式生成，並與生物相容之核准添加物配製成劑，以提升效率並提升使用容易度。

【0004】 線蟲類為無節且雙邊對稱之蠕蟲狀無脊椎動物，具有體腔及完整消化系統，但無呼吸系統及循環系統。其體壁含有多層表皮、具有四條縱長核心之皮下組織，以及內部肌肉組織（Chitwood，2003年）。其體內主要為消化及生殖系統所佔據。線蟲可分為寄生與非寄生兩種。寄生線蟲又可依其宿主分類（如植物寄生線蟲）。非寄生線蟲則可依其取食習慣分為以下群組：（1）雜食類、（2）食細菌類、（3）食真菌類及（4）肉食類。

【0005】 植物寄生線蟲類通常以如根部、球莖及塊莖等植物地下部分，及如莖、葉等植物地上部分為食。估計每年因植物寄生線蟲類所造成之作物損害超過千億美元（Koenning等人，1999年）。植物寄生線蟲類範例包括但不限於屬於以下類別者：Meloidogyne spp.（如根結線蟲類）、Pratylenchus spp.（如根腐線蟲類）、Heterodera spp.（如包囊線蟲類）、Globodera spp.（包囊線蟲類）、Ditylenchus spp.（如莖線蟲類）、Tylenchulus spp.（如柑橘線蟲類）、Xiphinema spp.（如劍線蟲類）、Radopholus spp.（穿孔線蟲類）、Rotylenchulus spp.（如腎形線蟲類）、Helicotylenchus spp.及Scutellonema spp（如螺旋線蟲類）、Belonolaimus spp.（如刺線蟲類）、Bursaphelenchus spp.（如松材線蟲類）、Hoplolaimus spp.（矛線蟲類）、Longidorus spp.（針線蟲類）、Nacobbus spp.（偽根結線蟲類）以及Aphelenchoides spp（葉線蟲類）。防治線蟲類最有效之方式為利用可抑制卵孵化、幼蟲能動性及/或植物傳染性之殺線蟲劑。植物寄生線蟲化學防治之發展難點在於環境與生理學兩方面：（1）多數植物寄生線蟲存活於鄰近根

部之狹窄土壤範圍，因此造成投遞化學殺線蟲劑之困難；以及（2）線蟲外表面並非良好之生物化學標的物，對許多有機分子而言均屬無法穿透者（Chitwood，2003年）。此外，毒性化合物幾乎無法經由口服路徑投遞，因為多數植物寄生線蟲品種僅在滲透感染植物根部後才會攝取材料。因此，殺線蟲劑多屬於廣效性毒素，具有高度揮發性或促進其在土壤中移動性之其他化學及物理性質。

【0006】 於過去十年間，鹵化烴（如二溴乙烷、溴化甲烷）為全球用量最大之殺線蟲劑。由於此等化合物對於人類具有高度毒性，且有害於平流層臭氧層，因此已為蒙特婁公約所禁用，但於美國則因缺乏替代產品，故仍普遍將溴化甲烷用於線蟲及植物病原體防治。除有機磷酸酯以外，最有效之非燻蒸殺線蟲劑即為胺基甲酸酯。然多數胺基甲酸酯，如得滅克及毆殺滅，均屬高毒性。得滅克製造商Bayer已於2010年8月同意取消其在美國所有洋芋及柑橘用產品註冊，且將於 2018年8月底前完全淘汰得滅克。

【0007】 近年來，以土壤放線菌*Streptomyces avermitilis*所產兩種阿佛菌素混合而成之阿巴汀已取得殺線蟲用途之登記（Faske與Starr，2006年）。Syngenta以Avicta[®]為商品名稱販售利用此種活性成份為棉花及蔬菜之種子處理劑之產品。

【0008】 根據研究，數種微生物植物/線蟲類病原體具有對抗植物寄生線蟲之活性（Guerena，2006年）。此等生物控制劑包括*Bacillus thuringiensis*、*Burkholderia cepacia*、*Pasteuria penetrans*及*P. usgae*等細菌。*Pasteuria Biosciences*推出*P. usgae*可對抗美國東南方草皮刺線蟲之殺線蟲真菌包括，但不限於，*Trichoderma harzianum*、*Hirsutella rhossiliensis*、*H.*

minnesotensis, Pochonia chlamydosporia (synonym. Verticillium chlamydosporum), Arthrobotrys dactyloides 以及 Paecilomyces lilanicus (由 Prophyta 以 BioAct[®] 及 MeloCon[®] 為商標供應)。Valent Biosciences 則供應另一種被殺真菌 Myrothecium verrucaria 商業製劑，商標為 DiTera[®]。

【0009】 其他商業生物殺線蟲劑包括 Deny[®] 及 Blue Circle[®] (B. cepacia)、Activate[®] (Bacillus 幾丁質osporus) (Quarles, 2005年) 及以色列產品 BioNem[®] (Bacillus firmus) (現由 Bayer 以 VOTiVO[®] 種子處理劑為名供應) (Terefe 等人, 2009年)。已有研究假設微生物分離株所產生之毒性可破壞或削弱線蟲卵孵化、幼蟲能動性及傳染性 (Hallman 與 Sikora, 1996年; Marrone 等人, 1998年; Siddiqui 與 Mahmood, 1999年; Saxena 等人, 2000年; Meyer 與 Roberts, 2002年), 且微生物分離株可寄生於線蟲身上或甚至捕捉線蟲 (Siddiqui 與 Mahmood, 1996年; Kerry, 2001年; Jaffee 與 Muldoon, 1995年), 導入系統性抗性 (Hasky-Gunther 等人, 1998年), 改變線蟲行為 (Sikora 與 Hoffman-Hergarter, 1993年) 或妨礙植物辨識 (Oostendorp 與 Sikora, 1990年)。

【0010】 如植物萃取物及精油等植物性殺線蟲劑可用於控制線蟲類 (Kokalis-Burrelle 與 Rodriguez-Kabana, 2006年)。Chitwood 在其近年之撰著中總結以植物性化合物進行線蟲類控制之主張 (Chitwood, 2002年)。Siddiqui 與 Alam (2001年) 證明以印度苦楝 (Azadirachta indica) 及楝樹 (Melia azadirah) 之植物部分調整過之盆栽土壤可抑制番茄上之根結線蟲類發展。然而，美國目前並無楝樹產物註冊於線蟲防治用途。智利之新植物性產品 (Nema-Q[®]) 係取自含皂素之皂皮樹萃取物 (皂樹酸雙糖鏈衍生物，於 C-3

為三糖所取代且於C-28為寡糖所取代)，已於US EPA登記為有機殺線蟲劑，且經有機資材審查學會（OMRI）列認有機農業使用。目前由Brandt行銷。

【0011】 非宿主作物之輪作本身通常即可預防線蟲繁殖至足以構成經濟危害之程度（Guerena，2006年）。化感物質為植物所產生之化合物，可影響該植物所在環境中有機體之行爲。殺線蟲化感物質之範例包括聚噻吩基、硫代葡萄糖苷、生物鹼、脂質、萜類，類固醇、三萜類及酚醛樹脂（Kokalis-Burrelle與Rodriguez-Kabana，2006年；Chitwood，2002年）。做為肥田作物時，來自化感植物之生物活性化合物於生長期中滲出及/或於生物量分解時釋出至土壤。芸苔屬作物可用於生物燻蒸，所謂生物燻蒸係指一種於含土組織中分解釋出殺蟲性揮發物質之害蟲防治策略（Kirkegaard與Sarwar，1998）。然而，Roubtsova等人（2007年）就腐爛球花甘藍組織對 *M. incognita* 數量影響之研究指出，為達成適當防治效果，植物組織必須與所有線蟲感染土壤完全混合。

【0012】 未來於農業土壤中之線蟲類控制有賴以下兩方面：抗線蟲作物之培養及廣效低毒性殺線蟲劑之發現與發展。新化學殺線蟲劑之研製登記費用極高（兩億美元以上），因此發展受限。自1967年至1997年註冊為農藥用途之497種新活性成分中，僅有七種登記為殺線蟲劑（Aspelin與Grube，1999年）。除習用化學方法外，另一種線蟲防治方法為RNA干擾（RNAi）。利用RNAi造成基因沉默化之方法首先驗證於秀丽隱桿線蟲（*Caenorhabditis elegans*），且最近亦用於植物寄生線蟲類如 *Meloidogyne* spp.（Bakhetia等人，2005年）。為降低因植物寄生線蟲類所造成之重大經濟損害，並減少目前登記為線蟲類控制劑之毒性化合物使用，亟需尋求可做為生物殺線蟲劑來源

之新微生物品種。

【0013】 根據Sasser與Freckman之研究（1987年），全球主要作物因線蟲造成之損失為8至20%。植物寄生線蟲可造成嚴重之作物損害，估計全球年損870億美元（Dong與Zhang，2006年）。

【0014】 如溴化甲烷等燻蒸劑對於土傳性植物疾病及線蟲類之防治均有卓著效果，但因其對於哺乳動物之高度毒性、臭氧破壞效應及其他殘餘影響，許多國家已禁用溴化甲烷，且國際協定中亦已規劃其完全下市時程（Oka等人，2000年）。替代用化學物質，如甲基碘、1,3-二氯丙烯及三氯硝基甲烷等，亦有傷害哺乳動物與環境之虞。化學非燻蒸型殺線蟲劑正逐漸受到禁用與淘汰。US-EPA日前已宣布 正逐漸淘汰得滅克。

【0015】 黃桿菌屬與其產物之使用

【0016】 黃桿菌為革蘭氏陰性細菌，屬於黃桿菌科（Bernardet等人於2006a與2006b之論）。黃桿菌品種可致使魚類、藻類及土壤有機體患病。黃桿菌屬使洋菜、褐藻膠、幾丁質、果膠、樹膠質、角質素、昆布素腐敗時會產生多種酵素。例如，據信黃桿菌屬可產生多醣腐敗酵素。此等酵素可破壞各種病原體之細胞壁。黃桿菌屬亦可產生蛋白質水解酶。近年亦發現黃桿菌屬產生之抗真菌化合物可用於控制香蕉病原體。

【0017】 研究發現黃桿菌可產生多種化合物。此菌類某些品種能夠氧化多種芳香烴（見，例如，Barnsley E. 1988）。

【0018】 以黃桿菌SC 12154品種發酵可產生略有抗細菌活性之去乙酸頭孢菌素C及新穎之7取代頭孢菌素混合物（Singh等人，1984年）。自海生雙殼貝褶紋冠蚌中取得細菌黃桿菌屬所分離出之含磺酸基新型鞘氨醇A

及B爲兩種對DNA聚合酶 α 展現抗化活性之磺胺脂質（Kobayashi等人，1995年）。使用*Flavobacterium chitinovorum*培養液可達成屬於 β -內醯胺抗生素類之噬幾丁菌素A、B及C之分離與識別（Shoji等人，1984年）。而後並發現使用黃桿菌PB-5246，則於已知之噬幾丁菌素A、B及C外並可取得更強之鹼性抗生素噬幾丁菌素D（Shoji等人，1985年）。之後分離自*Chyseo*細菌 sp.培養液之新穎溫韋伯氏因子（vWF）受體拮抗劑SulfobacinA及B爲黃桿菌NR 2993（Kamiyama等人，1995年）。分離自海生黃桿菌品種PC-6之新極性類胡蘿蔔素硫酸鹽，命名爲（2R, 3S, 2'R, 3'R）-4-酮念珠藻黃素-3'-硫酸鹽與（2R, 3S, 2'R, 3'R）-念珠藻黃素-3-硫酸鹽（Yokoyama等人，1996年）。基於質量分光與化學修改就分離自*Flavobacterium meningosepticum* IFO 12535之脂多醣成分脂質A之化學結構加以說明（Kato等人，1998年）。革蘭氏陰性細菌*Flavobacterium marinotypicum* ATCC 19260可分離出新穎單醯基二甘油-單醯基甘油及其他甘油脂質及磷脂質（Yagi與Maruyama，1999年）。噬胞菌屬-黃桿菌屬-類細菌屬之極地細菌可產生以甲基酮爲主之數種揮發性有機化合物（Dickschat等人，2005年）。該等甲基酮爲脂肪族飽和或不飽和，且含有12至18個碳原子，或有末端甲基分枝。

【0019】 除了上述代謝物，黃桿菌類產生之其他已知化合物包括先前取自藍綠藻 *Oscillatoria limosa*（Francis等人，1970年）且屬於類胡蘿蔔素之化合物 myxol（Yokoyama 等人，1995年）；來自 *Flavobacterium dehydrogenans* 且因結構有趣而獲人爲合成（Ferezou與Julia，1985年）之二環C₅₀ 類胡蘿蔔素二醛癸異戊二烯黃素（Liaaen – Jensen等人，1968年）。

【0020】 此外，從乾旱土壤樣本中分離出可產生生物表面性劑之黃桿

菌品種 MTN11（登錄號AY162137），其所生成之高極性黃色脂質為優良乳化劑（Bodour，2004年）。範例包括arthrobactin及aerobactin。研究提出可將此等黃色脂質用於受污染土壤以於有機生物降解過程中緩和金屬毒性（Kaplan與Kitts，2004）。尤其，Kaplan與Kitts（2004年）發現來自16S rRNA基因序列屬於黃桿菌屬與假單胞桿菌屬之有機體存在於受石油烴污染之土壤中，特別是在此等石油烴之劣化階段。

【發明內容】

【0021】 本發明提供組成物之新穎使用與組合，更詳而言之，所述組成物係包含黃桿菌屬之品種。

【0022】 於一特定實施例中，該黃桿菌屬品種可具有以下特性：

【0023】 （A）—16S rRNA 基因序列，，包含一與SEQ ID NO:3所提出之序列至少99%相同之正向序列以及一與SEQ ID NO:4所提出之序列至少99%相同之反向序列以及一與SEQ ID NO:5所提出之序列至少99%相同之相同序列；

【0024】 （B）殺蟲活性；

【0025】 （C）生長調控且特別是生長促進活性；

【0026】 （D）產出一具有以下性質之殺蟲性化合物：（1）分子量為約150-195，如以液相層析質譜法（LC/MS）所測定者；（2） ^1H NMR值為 δ 7.60, 7.52, 6.83, 6.68, 2.74, 1.14且 ^{13}C NMR值為203.96, 161.90, 145.11, 131.78, 131.78, 127.28, 123.83, 117.24, 117.24, 34.52, 8.89；（3）利用一以水與乙腈（CH₃CN）調製之梯度溶劑系統（0-20分鐘90 - 0 %乙腈水溶液；20-24分鐘100%乙腈；24-27分鐘0 - 90 %乙腈水溶液；27-30分鐘90%乙腈水

溶液)，設定為0.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測，於一逆相C-18 HPLC（Phenomenex, Luna 5 μ C18（2）100 A, 100 x 4.60 mm）柱所測得之 HPLC滯留時間為約8-14分鐘；

【0027】 （E）對脊椎動物無致病性；

【0028】 （F）易感於四環素、紅黴素、鏈黴素、青黴素、安黴素、氧四環素、氯黴素、環丙沙星、慶大黴素、氧哌嗪青黴素、亞胺硫黴素及磺胺甲噁唑-甲氧苄胺嘧啶。

【0029】 詳而言之，所述黃桿菌屬品種為一具有與黃桿菌屬品種 H492（NRRL 登錄編號B-50584）相同特徵之黃桿菌屬品種。

【0030】 因此，在一相關觀點中，本發明提供該黃桿菌屬品種。

【0031】 本發明亦提供一實質純種培養物或全細胞培養液 包含該品種或細胞部分、濾液、表層液、萃取物及/或取自該黃桿菌屬品種之化合物或取自該品種、實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物之化合物（如代謝物）。本發明進一步提供一組成物，其包含該品種或取自此黃桿菌屬品種之細胞部分、濾液、表層液、化合物及/或萃取物之實質純種培養物或全細胞培養液，以及載體、稀釋液、表面活性劑載體、表面活性劑或輔藥。

【0032】 因此本發明之植物中害蟲侵擾調控方法包含對一植物及/或其種子及/或用以種植該植物之基質施以一用量之包含一黃桿菌屬品種或細胞部分、濾液、表層液、萃取物及/或化合物之實質純種培養物、全細胞培養液，包括但不限於一或多種取自該黃桿菌屬品種代謝物或取自該實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物之化合物

（如代謝物）以及另一殺線蟲物質，其用量足以調控害蟲侵擾者。於一特定實施例中，該害蟲為線蟲類。於一更特定實施例中，該害蟲為植物寄生線蟲類。

【0033】 本發明亦提供一對於至少一害蟲具有效力之殺蟲性組合，其包含以下活性成份：（a）實質純種培養物，全細胞培養液，包含一黃桿菌屬品種或細胞部分、濾液、表層液、萃取物，或取自該包含該黃桿菌屬品種之實質純種培養物或全細胞培養液之化合物（如代謝物）；以及（b）另一殺蟲性物質，其中（a）與（b）係以一協同作用量存在。於一特定實施例中，所述害蟲可為線蟲類，但亦可包括，而不限於，有害昆蟲、植物真菌、植物病毒及植物細菌與雜草。此外，該組合可為一組成物。該殺蟲性物質可（a）取自一微生物；（b）一天然產物及/或（b）一化學農藥且特別是化學殺蟲劑或殺線蟲劑。

【0034】 於一相關觀點中，本發明之方法可協同調控至少一害蟲對植物之侵擾，所述方法包含對植物及/或其種子及/或以種植該植物之基質施以一用量之上述組合，此用量應足以使該組合有效調控所述害蟲侵擾。本發明亦提供可取得或取自黃桿菌屬種之分離化合物，或者，能夠產生可用於控制多種害蟲及/或特別是滅殺線蟲之有機體。

【0035】 本發明進一步提供一植物生長調控方法，其中植物包括作物如水果（如草莓、香蕉、西瓜、莓果）、蔬菜（如番茄、黃瓜、南瓜、番椒、茄子），或行播作物（如大豆、小麥、稻米、玉米、棉、花生、洋芋）、樹木（如松樹）、花卉、觀賞植物、灌木（如玫瑰）、鱗莖植物（如洋蔥、大蒜）、草皮（如百慕達草、肯塔基藍草、牛毛草），或藤蔓類（如葡萄藤），

所述方法包含對一植物及/或其種子及/或用以種植該植物之基質施以一用量之實質純種培養物或全細胞培養液，其包含該品種，或取自該黃桿菌屬品種之細胞部分、濾液、表層液、化合物（如代謝物）及/或萃取物，以及選擇性包含另一可調控且特別是藉由例如促進植物紮根而促進生長之生長促進物質。

【0036】 於一相關觀點中，本發明之協同調控植物生長方法包含對植物及/或其種子及/或用以種植該植物之基質施以一用量之上述組合，此用量應足以使該組合有效調控該植物之生長。本發明亦提供可取得或取自黃桿菌屬種之分離化合物，或者，能夠產生可用於控制多種害蟲及/或特別是滅殺線蟲之有機體。

【0037】 可將包含黃桿菌屬種品種之實質純種培養物或全細胞培養液，或取自該品種之細胞部分、濾液、表層液、萃取物及/或化合物（如代謝物）或包含該黃桿菌屬種取自該實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物之化合物之實質純種培養物或全細胞培養液於植物移栽至土壤前施用於該植物根部以及該植物之地表部分。因此本發明提供一調控植物根部與幼芽延伸之方法，其係包含：(a) 以該黃桿菌屬品種培養物、全細胞培養液、表層液、濾液及/或萃取物及/或取自該培養物、全細胞培養液、表層液、濾液及/或萃取物之一或多化合物（如代謝物）處理一植物之一或多處根部與幼芽，以及選擇性以另一生長促進物質處理植物之一或多處根部與幼芽，其用量應足以使植物栽種於土壤時促進根部與幼芽延伸；(b) 將步驟(a)處理後之植物移栽至土壤。

【0038】 於一相關觀點中，本發明亦關於使用一取自黃桿菌屬品種或

其代謝物之實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物；取自該黃桿菌屬品種實質純種培養物，全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物代謝物；以及另一選擇性生長促進物質或製劑，用以調控植物生長，且特別是調控根部延伸。

【0039】 同時，在一相關觀點中，本發明揭露使用黃桿菌屬品種實質純種培養物或全細胞培養液或所述培養物或全細胞培養液或其化合物（如代謝物）之細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物，取自該細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物之化合物（如代謝物），以調控植物生長組合之用法。所述調控特別是指增加植物生物質量、植物高度、根鬚數量、根部重量，該組合包含取自黃桿菌屬品種之表層液、濾液及/或萃取物及/或一或多種取自黃桿菌屬品種之表層液、濾液及/或萃取物之代謝物，以及另一選擇性生長促進物質或製劑，用以調控植物生長。該組合可為一協同作用組合。

【0040】 本發明亦提供黃桿菌屬品種實質純種培養物或全細胞培養液，或取自黃桿菌屬品種或其化合物（如代謝物）之細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物，或取自該實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物化合物（如代謝物），及另一可促進植物種子發芽之選擇性生長促進物質，其中所述植物包括但不限於如水果（如草莓）、蔬菜（如番茄、黃瓜、南瓜、番椒、茄子），或行播作物（如大豆、小麥、稻米、玉米、棉、花生、洋芋）、樹木（如松樹）、花卉、觀賞植物、灌木（如玫瑰）、草皮（如百慕達草、肯塔基藍草、牛毛草）、鱗莖植物（如洋蔥、大蒜）或藤蔓類（如葡萄藤）等作物，用以調控其發展。於一相關觀點中，本發明提供一種調控植物種子萌芽之方法，包括利用以下項目處理該植

物：包含一黃桿菌屬品種之實質純種培養物或全細胞培養液，或取自一黃桿菌屬品種或其化合物（如代謝物）之細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物，取自該實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物之代謝物，以及另一選擇性且可調控植物種子萌芽之生長促進物質。該種子於一特定實施例中可為一經過基因修改之種子。

【0041】 於一相關觀點中，本發明亦提供一用以調控植物種子萌芽之組合，其包括含黃桿菌屬品種之實質純種培養物或全細胞培養液，或取自一黃桿菌屬品種或其化合物（如代謝物）之細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物，或取自該實質純種培養物或全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物之化合物（如代謝物），其可調控植物種子萌芽者，以及選擇性包含至少一第二物質，其中該第二物質為一種子披衣劑。該組合可為一協同作用組合。

【0042】 此等化合物之取得法為（a）在培養基中於足以產稱該化合物之條件下培養一黃桿菌品種，以取得一黃桿菌培養物；以及（b）將（a）產生之化合物從（a）之全細胞培養液中分離而出。詳而言之，步驟（b）中之化合物分離方法為（i）將該全細胞培養液以離子交換柱、體積排阻層析柱或逆相HPLC柱處理，以取得柱片部分；（ii）分析該柱片部分之殺蟲活性；以及（iii）濃縮（ii）之柱片部分以取得分離化合物；（c）以化學合成製成且可以純化合物或/及粗產物型態使用。

【圖式簡單說明】

【0043】 圖1顯示六孔水洋菜固定性試驗中H492 全細胞培養液與阿佛菌素標記率之劑量反應關係。

【0044】 圖2顯示用於50 mL管法檢測且以不同濃度之H492 全細胞培養液處理之黃瓜植物其鮮芽重（黑柱）及鮮根重（直紋柱）。

【0045】 圖3顯示經H492全細胞培養液處理之黃瓜根部於以 *Meloidogyne incognita* 接種兩週後之根瘤指數。

【0046】 圖4顯示以不同劑量H492全細胞培養液理之黃瓜於 *M. incognita* 接種兩週後之根部根瘤數/克數。

【0047】 圖5顯示黃桿菌H492（MBI-302）全細胞培養液於黃瓜試驗收穫時對100 ml土壤中根結線蟲類（*Meloidogyne incognita*）、矛線蟲類（*Dorylaimus spp.*）及其他非寄生線蟲類之影響。

【0048】 圖6顯示黃桿菌H492（MBI-302）全細胞培養液於收穫時對黃瓜根部（全根部）根結線蟲類（*Meloidogyne incognita*）與非寄生線蟲類之影響。

【0049】 圖7顯示黃桿菌H492（MBI-302）全細胞培養液於收穫時對黃瓜根部（每克）中根結線蟲類（*Meloidogyne incognita*）與非寄生線蟲類之影響。

【0050】 圖8顯示黃桿菌H492（MBI-302）全細胞培養液於收穫時在黃瓜根部對根結線蟲類（*Meloidogyne incognita*）根瘤指數與根瘤數之影響。

【0051】 圖9顯示黃桿菌H492（MBI-302）全細胞培養液於根結線蟲類（*Meloidogyne incognita*）黃瓜測試中在收穫時對黃瓜 植物生物量與活力之影響。

【0052】 圖10顯示黃桿菌H492（MBI-302）全細胞培養液於黃瓜試驗對土壤中腎形線蟲類（*Rotylenchulus reniformis*）、矛線蟲類（*Dorylaimus spp.*）

及其他非寄生線蟲類之影響。

【0053】 圖11顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液於收穫時對黃瓜根部 (全根部) 中腎形線蟲類 (*Rotylenchulus reniformis*) 與非寄生線蟲類之影響。

【0054】 圖12顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液對腎形線蟲類 (*Rotylenchulus reniformis*) 與非寄生線蟲類於黃瓜根部 (每克根部) 收穫時之影響。

【0055】 圖13顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液在腎形線蟲類 (*Rotylenchulus reniformis*) 黃瓜試驗中於收穫時對黃瓜植物生物量與活力之影響。

【0056】 圖14顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液對根腐線蟲類 (*Pratylenchus* spp.)、螺旋線蟲類 (*Helicotylenchulus* spp.)、短粗根線蟲類 (*Paratrichodorus* spp.)、矛線蟲類 (*Dorylaimus* spp.) 及其他非寄生線蟲類於玉米試驗之影響。

【0057】 圖15顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液於玉米試驗中收穫時在玉米根部 (全根部) 中對根腐線蟲類 (*Pratylenchus* spp.)、螺旋線蟲類 (*Helicotylenchulus* spp.) 與非寄生線蟲類之影響。

【0058】 圖16顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液於玉米試驗中收穫時在玉米根部 (每克根部) 中對根部根腐線蟲類 (*Pratylenchus* spp.)、螺旋線蟲類 (*Helicotylenchulus* spp.) 與非寄生線蟲類之影響。

【0059】 圖17顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液於根腐線蟲類 (*Pratylenchus* spp.) 玉米試驗中在收穫時對玉米植物生物量與活力之影

響。

【0060】 圖18顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液在大豆試驗中對大豆包囊線蟲類 (Heterodera glycines) 之影響。

【0061】 圖19顯示黃桿菌H492 (MBI-302) 全細胞培養液與水在大豆試驗中對非寄生線蟲類之影響。

【0062】 圖20概要說明從培養液取得本發明化合物之純化法。

【0063】 圖21及圖22描繪H492 (MBI-302) 各部分之生物分析結果。

【0064】 圖23顯示H492 (MBI-302) 劑量反應對固定百分比 (固定性) 之影響。

【0065】 圖24顯示聚酮化合物 1 對根瘤數/根鬚數之影響。

【0066】 圖25顯示聚酮化合物 1 對根瘤指數之影響。

【0067】 圖26顯示聚酮化合物 1 對鮮重之影響。

【實施方式】

【0068】 雖然至此所述之組成物與方法可為各種修改及替代形式，在此將就範例實施例詳加說明。然應知本發明並不限於在此揭露之特定形式，反之，本發明意欲包含所有落於本發明精神與範疇中之修改、均等方案及替代方案，而本發明精神與範疇係如所附申請專利範圍所定義者。

【0069】 除非上下文另有說明，否則於應知提供數值之處，均包含介於該範圍上下限之間小至下限單位十分之一之每一中介值，以及其他任何於該範圍內之聲明值或中介值。較小範圍亦包括在內。除非另有排除，否則此等較小範圍之上下限亦應包括於其中。

【0070】 除非另有定義，所有在此使用之技術及科學術語之定義均與

本發明所屬技術領域中具有一般知識者所知者相同。雖然在此就較佳方法及材料進行描述，但任何與本說明書所稱者類似或相等之方法及材料亦可用於本發明之實施或測試。

【0071】 除非上下文另有明言，否則本說明書及申請專利範圍中所用單數之「一」及「該」包括複數之含義。

【0072】 如在此定義，「取自」意指直接分離自或取自一特定來源或與分離自或取自特定來源之物質或有機體具有相同特性者。若該「來源」為有機體，「取自」意指其係分離自或取自該有機體本身或分離自或取自用以培養或種植該有機體之媒介。

【0073】 如在此定義，「全培養物」或「全細胞培養液」意指包含細胞與培養基兩者之液態培養物。若將細菌種植於培養皿中，可以水或其他液體收穫細胞。「全培養物」與「全細胞培養液」兩者可交替使用。

【0074】 如在此定義，「表層液」意指細胞成長於成長於培養液或從洋菜皿中收穫於另一液體中之細胞且經 離心、過濾、沉澱，或其他本技藝中已知方式處理後剩餘之液體。

【0075】 如在此定義，「濾液」意指已通過薄膜之液態全培養物。

【0076】 如在此定義，「萃取物」意指以溶劑（水、清潔劑、緩衝液、有機溶劑）自細胞去除且以離心、過濾或其他方法自細胞分離之液態物質。

【0077】 如在此定義，「代謝物」意指微生物或取自微生物之表層液、濾液或萃取物發酵所生之 化合物、物質或副產物，其中所述微生物為具殺蟲性且特別是殺線蟲活性者。

【0078】 如在此定義，「分離化合物」實質上不含其他化合物或物質，

如至少約20%純度，較佳者為至少約40%純度，更佳者為約60%純度，又更佳者為約80%純度，最佳者為約90%純度，且又最佳者為約95%純度，如以分析方測定者，所述分析法包括但不限於色析法、電泳法。「取自」黃桿菌之化合物 亦包含代謝物。

【0079】 如在此定義，「載體」為可與活性成份混合或配製成劑以便活性成分對於植物或其他待處理物之施用，或便於其存放、輸送及/或搬運惰性有機或無機材料。

【0080】 如在此定義，「調控」，意指改變害蟲侵擾量、植物生長、根部延伸、種子萌芽或害蟲侵擾散佈率、植物生長率、根部延伸率、種子萌芽率。

【0081】 如在此定義，「害蟲侵擾」係指害蟲以造成有害效應之數量存在，所述有害效應包括疾病或於宿主群之中感染或於生長系統中出現野草。

【0082】 如在此定義，「農藥」為一取自生物產物或化學物質之物質，其可增加固定性或抑制植物害蟲生長率，且包括但不限於殺線蟲劑、除海藻劑、除草劑、殺蟲劑、植物殺真菌劑、植物殺菌劑及植物殺病毒劑。

【0083】 如在此定義，「植物寄生線蟲類」係指以植物為食並使植物致病之線蟲類。

【0084】 如在此定義，「非寄生線蟲類」係指獨立存在於土壤中且不會對植物任何部分造成損傷之線蟲類。

【0085】 如在此定義，術語「烷基」意指具有1至約12 碳原子之單價直鏈或支鏈烴基團，包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、

叔丁基、正己基，及類似物。

【0086】 如在此定義，「取代烷基」意指進一步帶有一或多個取代基之烷基基團，所述取代基係選自由羥基、烷氧基、巯基、環烷基、取代環烷基、雜環、取代雜環、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、芳氧基、取代芳氧基、鹵素、氰基、硝基、胺基、醯胺基、 $-\text{C}(\text{O})\text{H}$ 、醯基、氧醯基、羧基、礬基、磺醯胺、硫醯基及類似物所構成之群組。

【0087】 如在此定義，「烯基」意指具有一或多個碳碳雙鍵且具有2至12個碳原子之直鏈或支鏈烴基基團，而「取代烯基」意指進一步帶有一或多個上述取代基之烯基基團。

【0088】 如在此定義，「炔基」意指具有至少一碳碳三鍵且具有2至12個碳原子之直鏈或支鏈烴基基團，而「取代炔基」意指意指進一步帶有一或多個上述取代基之炔基基團。

【0089】 如在此定義，「芳基」意指具有6至14個碳原子之芳香基團，而「取代芳基」意指進一步帶有一或多個上述取代基之芳基基團。

【0090】 如在此定義，「雜芳基」意指環結構中包含一或多個雜原子（如N、O、S或類似物）且具有3至14個碳原子之芳香環，而「取代雜芳基」意指進一步帶有一或多個上述取代基之雜芳基基團。

【0091】 如在此定義，「烷氧基」意指該部分 $-\text{O}-$ 烷基-，其中烷基定義如上，而「取代烷氧基」意指進一步帶有一或多個上述取代基之烷氧基基團。

【0092】 如在此定義，「硫代烷基」意指 $-\text{S}-$ 烷基-部分，其中烷基定義如上，而「取代硫代烷基」意指進一步帶有一或多個上述取代基之硫代

烷基。

【0093】 如在此定義，「環烷基」意指具有3至8個碳原子之含環烷基基團，而「取代環烷基」意指進一步帶有一或多個上述取代基之環烷基。

【0094】 如在此定義，「雜環」意指環結構中包含一或多個雜原子（如N、O、S或類似物）且具有3至14個碳原子之環（亦即含環）基團，而「取代雜環」意指進一步帶有一或多個上述取代基之雜環。

【0095】 物質

【0096】 用於上述組成物及方法之物質可取自黃桿菌品種。如在此定義，「取自」或「可取自」意指一化合物可自細胞培養物、全細胞培養液、濾液、表層液、部分或萃取物中分離而出或由之生產。因此，取自黃桿菌之化合物亦包括自該品種分離或生產之化合物。「產自」細胞培養物、全細胞培養液、濾液、表層液、細胞部分或萃取物之化合物亦可稱為「代謝物」。

「取自」黃桿菌屬品種之萃取物不僅可取自細胞培養物或全細胞培養液，亦可取自該全細胞培養液或細胞培養物之濾液、表層液、萃取物或細胞部分。

【0097】 於一特定實施例中，所述黃桿菌品種可具有以下特徵：

【0098】 （A） 一16S rRNA基因序列，包含一與SEQ ID NO:3所提出之序列至少99%相同之正向序列以及一與SEQ ID NO:4所提出之序列至少99%相同之反向序列以及一與SEQ ID NO:5所提出之序列至少99%相同之相同序列；

【0099】 （B） 殺蟲活性；

【00100】 （C） 生長調控且特別是生長促進活性；

【00101】 (D) 產出一具有以下性質之殺蟲性化合物：(1) 分子量為約150-195，如以液相層析質譜法 (LC/MS) 所測定者；(2) ^1H NMR值為 δ 7.60, 7.52, 6.83, 6.68, 2.74, 1.14 且 ^{13}C NMR 值為 203.96, 161.90, 145.11, 131.78, 131.78, 127.28, 123.83, 117.24, 117.24, 34.52, 8.89；(3) 利用一以水與乙腈 (CH_3CN) 調製之梯度溶劑系統 (0-20分鐘90 - 0 %乙腈水溶液；20-24分鐘100%乙腈；24-27分鐘0 - 90 %乙腈水溶液；27-30分鐘90%乙腈水溶液)，設定為0.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測，於一逆相 C-18 HPLC (Phenomenex, Luna 5 μ C18 (2) 100 A, 100 x 4.60 mm) 柱所測得之HPLC滯留時間為約8-14分鐘；

【00102】 (E) 對脊椎動物無致病性；

【00103】 (F) 易感於四環素、紅黴素、鏈黴素、青黴素、安黴素、氧四環素、氯黴素、環丙沙星、慶大黴素、氧哌嗪青黴素、亞胺硫黴素及磺胺甲噁唑-甲氧苄胺嘧啶。

【00104】 詳言之，所述黃桿菌屬品種為一具有與黃桿菌屬品種H492 (NRRL 登錄編號B-50584) 相同特徵之黃桿菌屬品種，或一自該品種產生之突變品種，其於一特定實施例中具有與該品種相同之特徵。因此，在一相關觀點中，本發明提供該黃桿菌品種。

【00105】 本發明亦提供此黃桿菌屬品種之實質純種培養物或全細胞培養液或取自此黃桿菌屬品種細胞部分、濾液、表層液、化合物 (如代謝物) 及/或萃取物。本發明進一步提供一組成物包含具有此黃桿菌屬品種實質純種培養物或全細胞培養液或取自此黃桿菌屬品種之細胞部分、濾液、表層液、化合物 (如代謝物) 及/或萃取物，以及一載體、稀釋液、表面活

性劑載體、表面活性劑或輔藥。

【00106】 用於本發明方法及組成物及組合之化合物可 (a) 具有殺蟲活性；(b) 分子量為約150-195，如以液相層析質譜法 (LC/MS) 所測定者；(c) 利用一以水與乙腈 (CH₃CN) 調製之梯度溶劑系統 (0-20分鐘90 - 0 % 乙腈水溶液；20-24分鐘100%乙腈；24-27分鐘0 - 90 % 乙腈水溶液；27-30分鐘90%乙腈水溶液)，設定為0.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測，於一逆相C-18 HPLC (Phenomenex, Luna 5 μ C18 (2) 100 A, 100 x 4.60 mm) 柱所測得之HPLC滯留時間為約8-14分鐘；以及 (d) 係選擇性地可取自一黃桿菌屬種。該化合物在一實施例中可為一聚酮化合物。

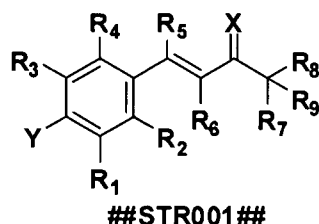
【00107】 於一特定實施例中，該化合物可取自黃桿菌屬且具有羥基化芳香聚酮化合物結構，包含至少一酮部分、至少一6員芳香環，至少一 α,β 未飽和部分、至少一羥基基團、至少一亞甲基基團及至少一甲基基團；其核心結構分子量為150至約195；具有至少9個碳及至少2個氧。

【00108】 在一特定實施例中，該化合物(a)可取自一黃桿菌屬種；(b) 對害蟲具有毒性；(c) 分子量為約150-195，且更詳言之為176，如以液相層析質譜法 (LC/MS) 所測定者；(d) ¹H NMR值為 δ 7.60, 7.52, 6.83, 6.68, 2.74, 1.14且¹³C NMR值為203.96, 161.90, 145.11, 131.78, 131.78, 127.28, 123.83, 117.24, 117.24, 34.52, 8.89；(e) 利用一以水與乙腈 (CH₃CN) 調製之梯度溶劑系統 (0-20分鐘90 - 0 % 乙腈水溶液；20-24分鐘100%乙腈；24-27分鐘0 - 90 % 乙腈水溶液；27-30分鐘90%乙腈水溶液)，設定為0.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測，於一逆相C-18 HPLC (Phenomenex, Luna 5 μ C18 (2) 100 A, 100 x 4.60 mm) 柱所測得之高壓液相層析 (HPLC) 滯留時間

為約8-14分鐘，更詳言之為約11分鐘，且更具體而言為約11.31分鐘。

【00109】於一更特定實施例中，本發明之化合物包括但不限於：

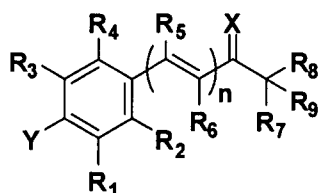
【00110】(A) 一化合物，其結構為##STR001##



【00111】

【00112】或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中Y為 OH、SH、NR、OR、SR、R 其中-R為包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基下鏈烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；X為O、NH、NR或S；R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉ 各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；

【00113】(B) 一化合物，其結構為##STR001a##

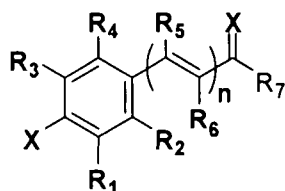


【00114】

【00115】或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中Y為 OH、SH、

NR、OR、SR、R 其中-R為包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基下鏈烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、硯基、磺醯胺，或硫醯基；X為O、NH、NR或S；n為0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉ 各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、硯基、磺醯胺，或硫醯基；

【00116】 (C) 一化合物，其結構為##STR001b##

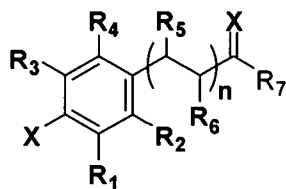


【00117】 ##STR001b##

【00118】 或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中Y為 OH、SH、NR、OR、SR、R 其中-R為包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基下鏈烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、硯基、磺醯胺，或硫醯基；X為O、NH、NR或S；n為0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇各獨立

爲H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；

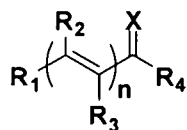
【00119】 (D) 一化合物，其結構爲##STR001c##



【00120】 ##STR001c##

【00121】 或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中Y爲 OH、SH、NR、OR、SR、R 其中-R爲包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基下鏈烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；X爲O、NH、NR或S；n爲0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇ 各獨立爲H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；

【00122】 (E) 一化合物，其結構爲##STR001c##

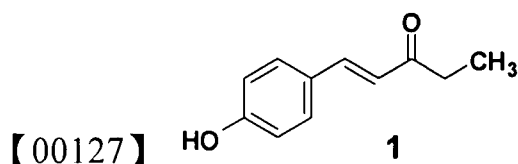


【00123】 ##STR001d##

【00124】 或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中X為O，NH，NR或S；n為0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；R₁、R₂、R₃、R₄各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；

【00125】 其中當R₄為一未取代芳基時，R₁不為乙基或芳基，且其中當R₄為一受芳基或取代芳基所取代之取代烯基時，R₁不為受芳基或取代芳基所取代之取代烯基。

【00126】 於一更特定實施例中，該化合物為C₆-C₅ 芳香聚酮化合物，1-(4-羥基苯基)1-戊烯-3-酮(1)。



【00127】

【00128】 於一特定實施例中，該化合物可為(E)-4-苯基3-丁烯-2-酮、苯亞甲基苯乙酮、(E)-4-(2-羥基苯基)3-丁烯-2-酮、(3E, 5E)-6-苯基六-3, 5-二烯-2-酮、(2E, 4E)-1, 5-二苯基五-2, 4-二烯-1-酮、(E)-1-(2-羥基苯基)1-戊烯-3-酮、(E)-3-(2-羥基苯基)-1-苯基2-丙烯-1-酮、(E)-1-(2-羥基苯基)-5-甲基-1-己烯-3-酮、(E)-3-(4-羥基苯基)-1-苯基2-丙烯-1-酮、(E)-1-(4-羥基苯基)-5-甲基-1-己烯-3-酮、(E)-4-(3-羥基

苯基) 3-丁烯-2-酮、(E) -4- (2-羟基苯基) -3-丁烯-2-酮、2- (2'-苯基-2-氧代乙氧基) 安息香醛、(E) -4- (2-羟基苯基) -3-甲基3-丁烯-2-酮、(E) -1-苯基-2-戊烯-1-酮、(3E, 7Z) -10-3, 7-二烯-2-酮、(E) -4- (3-羟基苯基) 3-丁烯-2-酮、(1E, 4E) -1, 5-雙 (3-羟基苯基) 五-1, 4-二烯-3-酮、(E) -1, 4-二苯基-2-丁烯-1-酮、(E) -1- (4-羟基苯基) -4-苯基-2-丁烯-1-酮、(1E, 4E) -1, 5- 雙 (3-羟基苯基) -2-甲基五-1, 4-二烯-3-酮、(E) -3- (3-羟基苯基) -1-苯基-2-丙烯-1-酮、(E) -1-苯基-1-戊烯-3-酮、(E) -4- (4-羟基苯基) -3-甲基3-丁烯-2-酮、(E) -5-甲基-1-苯基-1-己烯-3-酮、2-溴-1-苯基乙酮、(E) -1- (3-羟基苯基) -5-甲基-1-己烯-3-酮、(E) -4- (4-羟基苯基) -3-丁烯-2-酮、3-羟基安息香醛、4- 羟基安息香醛、2-羟基安息香醛、安息香醛、 γ -十二内酯、 γ - 八内酯、2-辛酮、2-庚酮、2-十一酮、顺-4-庚烯醛、4-甲基-2-苯乙酮、異丁醛、(E) -4-苯基-2-丁烯醛、(E) -4- (4-羟基苯基) -2-丁烯醛、(E) -4- (3- 羟基苯基) -2-丁烯醛、(E) -4- (2-羟基苯基) -2-丁烯醛、3-苯基丙醛、3- (4-羟基苯基) 丙醛、3- (3-羟基苯基) 丙醛、3- (2-羟基苯基) 丙醛、2- 苯基乙醛、2- (4-羟基苯基) 乙醛、2- (3-羟基苯基) 乙醛、2- (2-羟基苯基) 乙醛、肉桂醛、(E) -3- (4-羟基苯基) 丙烯醛、(E) -3- (3-羟基苯基) 丙烯醛、(E) -3- (2-羟基苯基) 丙烯醛、(2E, 4E) -5-苯基五-2, 4-二烯醛、(2E, 4E) -5- (4-羟基苯基) 五-2, 4-二烯醛、(2E, 4E) -5- (3- 羟基苯基) 五-2, 4-二烯醛、(2E, 4E) -5- (2-羟基苯基) 五-2, 4-二烯醛、戊-2-酮、己-2-酮、3-甲基-2-庚酮 3-甲基-2-辛酮、3-甲基-2-壬酮及其立體異構物 (如非對映立體異構物、順-反同質異構物、鏡像異構物)。

【00129】 製作方法

【00130】如上所述，化合物或代謝物可取自與一黃桿菌屬種具有相同特徵之有機體，或取自其他任何微生物。方法包括培養此等有機體，並將此等化合物自有機體培養物中分離，已取得本發明之化合物及/或組成物。

【00131】具體而言，係利用此技藝中習之方法於營養培養基中培養該有機體。有機體之培養可採用搖瓶培養、於實驗室或工業發酵器中以適當培養基在允許細胞生長之條件下所進行之小規模或大規模發酵（包括但不限於連續、批次、饋料批次或固態發酵）。種植可於適當之營養培養基上進行，包含碳源與氮源及無機鹽，利用本技藝中已知程序。適用之培養基可由商業管道購得或根據公開之組成自行製備。

【00132】種植後，可利用包含該品種之實質純種培養物或全細胞培養液，或細胞部分、表層液、濾液、化合物（如代謝物）及/或取自該黃桿菌屬之萃取物配製為殺蟲性組成物。或者，種植後，可自培養液萃取出該化合物及/或代謝物。

【00133】可經層析將萃取物分為部分，再利用本技藝中已知方法，分析層析部分對於如腐生性線蟲類及植物寄生線蟲類，*M. incognita*及/或 *M. hapla*之毒性活性。可利用相同或不同之層析法將此程序重複一或多次。

【00134】組成物

【00135】組成物可為含有黃桿菌品種之全培養液、液體培養物或懸浮液，以及取自該黃桿菌屬品種菌株之細胞部分、表層液、濾液或萃取物，或上述各項之組合，其特別具有殺線蟲活性者。

【00136】上述組成物可以任何方法配製成劑。非限制性劑型範例包括，但不限於，乳化濃縮劑（EC）、可濕性粉末（WP）、可溶性液體（SL）、

浮質、超低量濃縮溶液 (ULV)、可溶性粉末 (SP)、微膠囊體、水分散細粒、流體 (FL)、微乳膠 (ME)、奈米乳膠 (NE) 等等。於在此所述之任何劑型中，活性成份之比例為約0.01%至99.99%。

【00137】該組成物可為液體、膠體或固體型態。固態組成物之製備法為將固態載體懸浮於活性成份溶液中，再以溫和條件乾燥該懸浮液，如室溫蒸發或於65°C或以下之真空蒸發。組成物可包含以膠囊包覆之活性成份。此種膠囊包覆材料之製備法為將成膠劑（如明膠、纖維素，或木質素）混合黃桿菌之活體培養物或死菌懸浮液，或黃桿菌培養物或懸浮液之無細胞濾液或細胞部分，或噴灑或凍乾培養物、細胞，或細胞部分或在本發明方法所用殺蟲性化合物之溶液中；以及使該劑形成膠狀。

【00138】該組成物可另包含表面活性劑，其目的為乳化、分散、潤濕、延展、整合、分解控制、活性成份穩定化，及改善流動性或防鏽。於一特定實施例中，該表面活性劑為一非植物毒性非離子表面活性劑，其較佳者為屬於EPA List 4B者。於另一特定實施例中，該非離子表面活性劑為聚山梨醇酐酯月桂酸酯（20）。該表面活性劑之濃度可為總製劑之約0.1-35%；較佳者為約5-25%。分散乳化劑之選擇，如非離子、陰離子、兩性及陽離子分散乳化劑，其用量取決於組成物之性質及所需促進本發明組成物分散之能力。

【00139】上述組成物可與另一微生物及/或農藥（如殺線蟲劑、殺真菌劑、殺蟲劑）結合。該微生物可包括，但不限於，取自*Bacillus* sp.（如*B. firmus*、*B. thuringiensis*、*B. pumilus*、*B. licheniformis*、*B. amyloliquefaciens*、*B. subtilis*）、*Paecilomyces* sp.（*P. 紫丁香inus*）、*Pasteuria* sp.（*P. penetrans*）、

Pseudomonas sp.、*Brevabacillus* sp.、*Lecanicillium* sp.、*Ampelomyces* sp.、*Pseudozyma* sp.、*Streptomyces* sp. (*S. bikiniensis*、*S. costaricanus*、*S. avermitilis*)、*Burkholderia* sp.、*Trichoderma* sp.、*Gliocladium* sp.、阿佛菌素、*Myrothecium* sp.、*Paecilomyces* spp.、*Sphingobacterium* sp.、*Arthrotrrys* sp.、*Chlorosplrnium* sp、*Neobulgaria* sp、*Daldinia* sp、*Aspergillus* sp、*Chaetomium* sp、*Lysobacter* sp、*Lachnum papyraceum*、*Verticillium suchlasporium*、*Arthrotrrys oligospora*、*Pochonia chlamydosporia* (synonym: *Verticillium chlamydosporium*)、*Hirsutellamin nesotensis*、*Hirsutella rhossiliensis*、*Pleurotus ostreatus*、*Omphalotus olearius*、*Lampteromyces japonicas*、*Brevudimonas* sp.、*Muscodor* sp之劑。

【00140】該農藥可為天然油、油產物或化學農藥。詳而言之，該藥劑可為具殺線蟲、殺黴菌及/或殺昆蟲活性之天然油或油產物（如石臘油、茶樹油、檸檬草油、丁香油、肉桂油、柑橘油，包括但不限於苦橙、柳橙、檸檬；迷迭香油、除蟲菊、多香果、佛手柑、藍膠尤加利、甘菊、香茅、普通茉莉、普通杜松、普通薰衣草、普通沒藥、中國薄荷、小蒼蘭、銀灰菊、牛膝草、聖羅勒、香樹、茉莉、薰衣草、金盞花、薄荷、胡椒薄荷、金盞菊、綠薄荷、伊蘭伊蘭樹、皂素）。

【00141】該化學農藥可為一單點抗真菌劑，其可包括但不限於，苯并咪唑、去甲基抑制劑（DMI）（如咪唑、嘧啶、三唑）、嗎啉、羥基嘧啶、苯胺基嘧啶、磷硫醇鹽、醌外部抑制劑、喹啉、二甲醯亞胺、羧胺、苯基醯胺、苯胺基嘧啶、苯基吡咯、芳香烴、桂皮酸、羥基苯胺、抗生素、多氧菌素、醯基胺、鄰苯二甲醯亞胺、苯環（二甲苯基丙胺酸）、選

自咪唑、嘧啶、嘧啶與三唑之去甲基抑制劑（如bitertanol、myclobutanil、penconazole、propiconazole、triadimefon、bromuconazole、cyproconazole, diniconazole、fenbuconazole、hexaconazole、tebuconazole、tetraconazole）、myclobutanil及醌外部抑制劑（如嗜球果傘素）。該嗜球果傘素可包括但不限於azoxystrobin、kresoxim-methoyle或trifloxystrobin。在又一特定實施例中，該抗真菌劑為一醌，如quinoxifen（5, 7-二氯-4-喹啉基 4-氟苯基醚）。該抗真菌劑亦可取自虎杖萃取物。該化學農藥亦可為多點非無機化學殺真菌劑，選自以下項目構成之群組：氯脒、喹啉、磺酰胺、磷酸酯、亞磷酸酯、二硫代氨基甲酸酯、氯烷基硫代、苯基吡啶-胺、氰基-乙酰胺脒。

【00142】殺線蟲劑可包括但不限於阿佛菌素殺線蟲劑（如abamectin）；植物性殺線蟲劑（如carvacrol）；氨基甲酸酯殺線蟲劑（如benomyl、carbofuran、carbosulfan、cloethocarb）；氨基甲酸脒殺線蟲劑（如alanycarb、aldicarb、aldoxycarb、oxamyl tirpate）；燻蒸型殺線蟲劑（如二硫化碳、氰、1, 2- 二氯丙烷、1, 3-二氯丙烯、二硫代醚、溴化甲烷、甲基碘、四硫代碳酸鈉）；有機磷殺線蟲劑，其包括但不限於有機磷酸酯殺線蟲劑（如diamidafos、fenamiphos、fosthietan、phosphamidon）；有機硫磷殺線蟲劑（如cadusafos、chlorpyrifos、dichlofenthion dimeth 燕麥 e ethoprophos、fensulfothion, fosthiazate, heterophos、isamidofos、isazofos、phorate、phosphocarb、terbufos、fensulfothion、triazophos）；硫代磷酸鹽殺線蟲劑（如imicyafos、mecarphon）；其他殺線蟲劑（如acetoprole、benclonthiaz、chloropicrin、dazomet、DBCP、DCIP、fluensulfone、furfural、metam、methyl isothiocyanate、xylenols、spirotetramat）。該組成物亦可與其他生長促進劑

結合使用，如合成或有機肥料（如粒狀或液態二銨磷酸酯）、液態肥、海藻萃取物、植物生長荷爾蒙如用於移植苗木發根荷爾蒙處理之IAA（吲哚乙酸），可單獨使用或結合植物生長調節劑，如IBA（吲哚丁酸）與NAA（萘乙酸），以及，生長促進微生物，如*Bacillus spp.*、*Pseudomonads*、*Rhizobia*，*Trichoderma spp.*。

【00143】此外，該組成物可與種子披衣劑結合使用。此等種子披衣劑包括，但不限於，乙二醇、羧基甲基纖維素、甲基纖維素、聚乙二醇、甲殼素、羧基甲基甲殼素、泥煤苔、樹脂及蠟或化學殺真菌劑或單點、多點或其他行為模式之殺菌劑。該組成物可利用此技藝已知方法施用。具體而言，此等組成物可施用於植物周圍或植物部分。本文中所稱植物包含所有植物及植物族群，如爲人所需要及不需要之野生植物或作物植物（包括天然產生之作物植物）。

【00144】作物植物可爲經習知植物育種與優化方法或生物科技及基因工程方法或上述方法之組合所取得之植物，包括基因轉殖植物，且包括受到或不受植物育種權保護之植物培育品種。植物部分包含植物位於地上及地下之所有部分及器官，如芽、葉、花及根，其範例包括葉、針、梗、莖、花、果體、水果、種子、根部、塊莖及地下莖。該植物部分亦包括，但不限於，收穫材料，及植物生長繁衍材料，例如切枝、塊莖、地下莖、分枝及種子。可處理之植物包括但不限於：(A) 主要可食用糧食作物，其包括但不限於(1) 穀類（如非洲稻米、大麥、杜蘭小麥、單粒小麥、二粒小麥、龍爪稷、粟、毛葉馬唐草、印度稗、日本稗、玉蜀黍、蘭香果、燕麥、珍珠稗、黍稷、稻米、裸麥、高粱、高粱屬、黑麥、斯佩耳特小麥）；

(2) 水果 (如黃金果、西印度櫻桃、黃金山竹、非洲山竹果、高山醋栗、太平洋椴梔、美洲醋栗、美洲柿、蘋果、杏仁、思帝果、亞洲扇椰子棕櫚、亞洲梨、鳳梨釋迦、澳大利亞沙漠葡萄乾、鱷梨、南歐山楂果、五稜木瓜、木橘果、香蕉、巴巴多斯醋栗、佛手柑、檳榔、五月茶、越橘、木胡瓜、續再果、樓林果、苦橙、黑阿龍尼亞苦味果、黑桑葚、黑柿、黑莓、藍靛果忍冬、巴氏抱羅交果、麵包樹、木奶果、鈕扣山竹、可可、金桔、蛋黃果、羅馬甜瓜、角醋栗、腰果、香蕉瓜、榴槤蜜、檸檬山竹、番荔枝、櫻桃、里奧格蘭德櫻桃、櫻桃李、中國山楂、中國白梨、阿龍尼亞苦味果、香櫞、可可果、椰子、椰李、咖啡、阿拉比卡咖啡、羅布斯塔咖啡、哥斯大黎加紅龍果、黑醋栗、釋迦、棗、軟棗、犬玫瑰、火龍果、榴槤、接骨木莓、第倫桃、衣索比亞蛋茄、歐洲蕁麻樹、歐洲野生蘋果、斐濟果、無花果、木鱉果、都桷子、大果西番蓮、醋栗、茱萸、葡萄、葡萄柚、檉樹、青李子、番石榴、迷你奇異果、紅木比果、刺角瓜、馬芒果、印度無花果、印度棗、嘉寶果、印度藍莓、波羅蜜、日本柿、日本紅酒莓、檳榔青、棗、泰國青檸、刺黃果、錫蘭醋栗、香波、萊姆、錫蘭莓、奇異果、紅毛丹、喀布爾藤、香芒果、白桂木、蘭撒果、大果蔓越莓、檸檬、賴比瑞亞咖啡、龍眼、枇杷、荔枝、馬來蓮霧、馬米果、美滿果、芒果、山竹果、緬甸波漆、極香麵包果、枸杞、甜瓜、黃香李、神秘果、猴面果、布里奇、高地木瓜、山刺番荔枝、果桑、果茄、卡利撒、北方高叢藍莓、橄欖、西印度醋栗、長果金柑、木瓜、黃石榴、百香果、八婆果、桃、桃葉棕櫚、梨、香瓜茄、鳳梨、路施納氏番櫻桃 *Eugenia luschnathiana*、路施納氏番櫻桃 *talisia esculenta*、車前草、李、石榴、柚、山荔枝、紫色阿龍尼亞苦味果、椴梔、

紅毛丹果、棠梨、覆盆莓、紅色阿龍尼亞苦味果、紅醋栗、紅果桑、紅果
 草莓番石榴、大黃、蒲桃、洛神果、非洲梅、蛇皮果、美莓果、仙都果、
 人心果、蜜桔、海葡萄、紫番荔枝、酸櫻桃、刺番荔枝、西班牙萊姆、西
 班牙羅望子、牛奶果、楊桃、草莓、草莓番石榴、楊梅樹、釋迦果、蘇利
 南櫻桃、野玫瑰、甜果西番蓮、甜萊姆、樹番茄、羅望子、橘子、粘果酸
 漿、巴西棕櫚、越橘屬、毛柿、黃皮樹、西瓜、水蒲桃、蓮霧、白加侖、
 白色果桑、白柿、白色牛奶果、西方雪果 (*Lyceum barbarum*、*L.chinense*)、
 猪李、黃色火龍果、黃果草莓、番石榴、(3) 蔬菜 (如阿開木、瑪瑙、大
 馬鈴薯、籽粒莧屬、美洲落花生、非洲茄子、亞美尼亞黃瓜、秘魯胡蘿蔔、
 劍葉象耳、竹芋、朝鮮薊、冬瓜、蘆筍、鱷梨、赤豆、班巴拉落花生、竹
 子、香蕉、巴巴多斯醋栗、甜菜、甜菜根部、苦瓜、苦巢菜、苦蕒、黑芥
 菜、黑蘿蔔、黑婆羅門參、西芹、麵包樹、蠶豆、球花甘藍、球芽甘藍、
 鹿角漆樹車前草、金鳳花南瓜、冬南瓜、甘藍菜、貓爪藤、葫蘆、葛縷子、
 角豆、胡蘿蔔、香蕉瓜、樹薯、木豆、花椰菜、芹菜根、芹菜、芹蒿、唐
 萵苣、佛手瓜、雞豆、菊苣、小型甜瓜、辣椒 (*Capsicum annuum*、*C. baccatum*、
C. chinense、*C. frutescens*、*C. pubescens*)、中國甘藍菜、中國菱角、中國山
 藥、細香蔥、油莎草、芥藍、普通豆、普通馬齒莧、玉米沙拉、豇豆、水
 芹、黃瓜、倭瓜、辣木、青芋、茄子、象足山藥、象蒜、吉康菜、假香蕉、
 衣索比亞蛋茄、甘茴香、凹槽葫蘆、木鱉果、芝麻菜、大蒜、苜蓿落花生、
 亨利藜、草豌豆、花生、關華豆、馬豆、辣根、鵲豆、冰花、印度無花果、
 印度菠菜、紅瓜、耶路撒冷朝鮮薊、沙薯、黃麻、芥藍菜、大頭菜、蒟蒻、
 埃及韭蔥、韭蔥、扁豆、萵苣、青豆、蓮花、絲瓜、瑪咖、玉蜀黍、糖蘿

蔔、金蓮馬鈴薯、毛竹、蛾豆、綠豆、大白菜、印度苦楝、酢漿果、秋葵、
 綠竹、橄欖、洋蔥、防風草、豌豆、樹豆、車前草、瓜蔓、洋芋、筍瓜、
 南瓜、藜麥、蘿蔔、油菜籽、紅莧菜、大黃、稜角絲瓜、米豆、荷蘭芹、
 紅花菜豆、蕪菁甘藍、西谷椰子、婆羅門蔘、青蔥、濱菜、冬蔥、蛇瓜、
 糖莢豌豆、酢漿草、大豆、六神草、菠菜、菠菜 甜菜、甘藷、芋頭、羽扇
 豆、刺瓜、花菜豆、印度圓瓜、番茄、玫紅山鰲豆、蕪菁、蕪菁根山蘿蔔、
 小黑豆、水蔕藜菱角、水蔕藜歐菱、空心菜、西洋菜、綠蔥、西非秋葵、
 羽扇豆、野灰菜、白色山藥、翼豆、冬馬齒莧、天山雪蓮、山藥、長豆、
 食用美洲南瓜); (4) Food 作物s (如黃金果、西印度櫻桃、黃金山竹、阿
 開木、非洲山竹果、非洲稻米、瑪瑙、大馬鈴薯、高山醋栗、莧屬、檳榔
 青、美洲醋栗、美洲落花生、美洲柿、非洲茄子、蘋果、杏仁、思帝果、
 亞美尼亞黃瓜、秘魯胡蘿蔔、劍葉象耳、竹芋、朝鮮薊、冬瓜、亞洲扇椰
 子棕櫚、亞洲梨、蘆筍、鳳梨釋迦、澳大利亞沙漠葡萄乾、鱷梨、南歐山
 楂果、赤豆、五稜木瓜、木橘果、班巴拉落花生、竹子、香蕉、巴巴多斯
 醋栗、大麥、甜菜、甜菜根、佛手柑、檳榔、五月茶、越橘、木胡瓜、續
 再果、樓林果、苦瓜、苦橙、苦巢菜、苦蕒、黑阿龍尼亞苦味果、黑醋栗、
 黑桑葚、黑芥菜、黑蘿蔔、黑婆羅門蔘、黑柿、黑莓、西芹、藍靛果忍冬、
 巴氏抱羅交果、麵包樹、蠶豆、球花甘藍、球芽甘藍、鹿角漆樹車前草、
 蕎麥、木奶果、金鳳花南瓜、冬南瓜、鈕扣山竹、甘藍菜、可可、貓爪藤、
 葫蘆、金桔、蛋黃果、羅馬甜瓜、角醋栗、葛縷子、角豆、胡蘿蔔、腰果、
 樹薯、木豆、花椰菜、芹菜根、芹菜、芹蒿、榴槤蜜、唐萵苣、檸檬山竹、
 佛手瓜、番荔枝、櫻桃、里奧格蘭德櫻桃、櫻桃李、雞豆、菊苣、小型甜

瓜、辣椒 (Capsicum annuum、C. baccatum、C. chinense、C. frutescens、C. pubescens)、中國甘藍菜、中國山楂、中國菱角、中國白梨、中國山藥、細香蔥、阿龍尼亞苦味果、油莎草、香櫞、可可果、椰子、椰李、咖啡、咖啡 (阿拉比卡及羅布斯塔)、芥藍、普通豆、普通馬齒莧、玉米沙拉、哥斯大黎加紅龍果、豇豆、水芹、黃瓜、黑醋栗、倭瓜、釋迦、棗、軟棗、犬玫瑰、火龍果、辣木、榴槤、杜蘭 小麥、青芋、茄子、單粒小麥、接骨木莓、第倫桃、象足山藥、象蒜、二粒小麥、吉康菜、假香蕉、歐洲茄子、歐洲蕁麻樹、歐洲野生蘋果、斐濟果、無花果、龍爪稷、甘茴香、凹槽葫蘆、栗、木鱉果、芝麻菜、大蒜、都桤子、苜蓿花生、大果西番蓮、亨利藜、醋栗、茱萸、葡萄、葡萄柚、草豌豆、橄欖樹、青李子、落花生、巴西櫻桃、關華豆、番石榴、毛葉馬唐草、迷你奇異果、紅木比果、刺角瓜、馬豆、馬芒果、辣根、鵲豆、冰花、印度稗、印度無花果、印度棗、印度菠菜、紅瓜、嘉寶果、胡狼莓、波羅蜜、海南蒲桃、日本稗、日本柿、日本紅酒莓、耶路撒冷朝鮮薊、檳榔青、棗、黃麻、泰國青檸、芥藍菜、刺黃果、錫蘭醋栗、香波、酸橙、錫蘭莓、奇異果、大頭菜、蒟蒻、紅毛丹、喀布爾藤、埃及韭蔥、香芒果、白桂木、蘭撒果、大果蔓越莓、韭蔥、檸檬、扁豆、萵苣、賴比瑞亞咖啡、利馬豆、龍眼、枇杷、蓮花、絲瓜、荔枝、瑪咖、玉蜀黍、馬來蓮霧、桃欖、美滿果、糖蘿蔔、芒果、山竹果、緬甸波漆、極香麵包果、金蓮馬鈴薯、枸杞、甜瓜、黃香李、神秘果、羅漢果、猴面果、布里奇、毛竹、蛾豆、高地木瓜、山刺番荔枝、果桑、綠豆、蘑菇、蘭香果、大白菜、果茄、卡利撒、印度苦楝、北方高叢藍莓、燕麥、酢漿果、油棕櫚、秋葵、綠竹、橄欖、洋蔥、橙、西印度醋栗、長

果金柑、木瓜、黃石榴、防風草、百香果、八婆果、豌豆、桃、桃葉棕櫚、梨、珍珠稗、香瓜茄、樹豆、鳳梨、路施納氏番櫻桃 (*Eugenia luschnathiana*、*Talisia esculenta*)、車前草、李、瓜萆、石榴、柚、洋芋、黍稷、山荔枝、筍瓜及南瓜、紫色阿龍尼亞苦味果、榲桲、藜麥、蘿蔔、紅毛丹果、棠梨、油菜籽、覆盆莓、紅莧菜、紅色阿龍尼亞苦味果、紅醋栗、紅色果桑、紅果草莓番石榴、大黃、角瓜、稻米、米豆、荷蘭芹、蒲桃、洛神果、紅花菜豆、蕪菁甘藍、黑麥、非洲梅、西谷椰子、蛇皮果、美莓果、婆羅門蔘、仙都果、人心果、蜜桔、青蔥、濱菜、海葡萄、冬蔥、蛇瓜、糖莢豌豆、紫番荔枝、高粱、高粱屬、酢漿草、酸櫻桃、刺番荔枝、大豆、西班牙萊姆、西班牙羅望子、斯佩耳特小麥、六神草、菠菜、菠菜 甜菜、牛奶果、楊桃、草莓、草莓番石榴、楊梅樹、釋迦果、糖甜菜、甘蔗、蘇利南櫻桃、野玫瑰、甜果西番蓮、甜萊姆、甘藷、樹番茄、羅望子、橘子、芋頭、羽扇豆、刺瓜、畫眉草、花菜豆、印度圓瓜、粘果酸漿、番茄、玫紅山黧豆、巴西棕櫚、蕪菁、蕪菁根山蘿蔔、小黑豆、越橘屬、毛柿、黃皮果、水蒺藜 (菱角、歐菱)、空心菜、西洋菜、西瓜、水蒲桃、蓮霧、綠蔥、西非秋葵、羽扇豆、小麥、白加侖、灰野菜、白色果桑、白柿、白色牛奶果、白色山藥、翼豆、冬馬齒莧、西方雪果 (*Lycium barbarum*、*L. chinense*)、天山雪蓮、山藥、楊梅、長豆、豬李、黃色火龍果、黃果草莓番石榴、美洲南瓜；(B) 其他食用作物，包括但不限於 (1) 草本植物 (如苦艾、亞歷山大草、羅勒、月桂、檳榔、甘菊、山蘿蔔、辣椒 (*Capsicum annuum*、*C. baccatum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. pubescens*)、辣椒、細香蔥、香根芹、普通芸香、普通百里香、胡荽、水芹、刺芫荽、捲葉洋香菜、蒔蘿、

土荊芥、茴香、平葉洋香菜、人蔘、銀灰菊、牛膝草、聖羅勒、蛇麻草、茉莉、泰國青檸、薰衣草、香蜂草、檸檬羅勒、檸檬草、獨活草、墨角蘭、薄荷、牛至、歐芹、胡椒薄荷、紫蘇、金盞菊、路易波斯茶、迷迭香、鼠尾草、亮葉鼠李、酢漿草、綠薄荷、夏香薄荷、龍蒿、泰國羅勒、纈草、西洋菜、野生檳榔、冬香薄荷、瑪黛茶)；(2) 香料（如藏茴香、多香果、大茴香、月桂、棕荳蔻、黑芥菜、黑胡椒、酸豆、葛縷子、荳蔻、辣椒(*Capsicum annuum*、*C. baccatum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. pubescens*)、辣椒、肉桂、丁香、普通杜松、胡荽、小茴香、茴香、葫蘆巴、大蒜、薑、泰國青檸、甘草、肉荳蔻、牛至、香蘭、歐芹、番紅花、星狀大茴香、薑黃、香草、白芥)；(2) 藥用植物（如苦艾、紫花苜蓿、蘆薈、大茴香、朝鮮薊、羅勒、月桂、萎葉、檳榔、越橘、棕荳蔻、黑芥菜、黑胡椒、藍膠尤加利、巴氏抱羅交果、甘菊、酸豆、荳蔻、蓖麻籽、辣椒、中國山藥、細香蔥、可樂果、普通茉莉、普通薰衣草、普通沒藥、普通芸香、胡荽葉、小茴香、蒔蘿、犬玫瑰、土荊芥、茴香、葫蘆巴、木鱉果、大蒜、薑、銀灰菊、阿拉伯膠、牛膝草、聖羅勒、辣根、香樹、薰衣草、檸檬草、甘草、獨活草、大麻、墨角蘭、羅漢果、印度苦楝、鴉片、牛至、胡椒薄荷、金盞菊、奎寧、三刺皂莢木、紅醋栗、路易波斯茶、紅花、鼠尾草、亮葉鼠李、酢漿草、六神草、星狀大茴香、龍蒿、茶、薑黃、纈草、絨毛豆、西洋菜、白芥、白柿、野生檳榔、西方雪果(*Lycium barbarum*、*L. chinense*)、瑪黛茶)；

(3) 興奮劑（如萎葉、檳榔、可可、辣椒(*Capsicum annuum*、*C. baccatum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. pubescens*)、辣椒、咖啡、咖啡（阿拉比卡、羅布斯塔）、可樂果、阿拉伯茶、賴比瑞亞咖啡、茶、菸草、野生檳榔、瑪

黛茶);(4) 核果(如杏仁、檳榔、巴西堅果、腰果、栗子、中國菱角、椰子、可樂果、普通胡桃、落花生、榛子、日本石柯、澳洲堅果、肉荳蔻、天堂果、薄殼胡桃、開心果、胡桃);(5) 可食種子(如黑胡椒、巴西堅果、小型甜瓜、可樂果、凹槽葫蘆、蓮花、鴉片、藜麥、芝麻、向日葵、水蒺藜(菱角、烏菱));(6) 蔬菜油(如黑芥菜、薺藍、蓖麻籽、椰子、棉、亞麻子、玉蜀黍、印度苦楝、黑草籽、油棕櫚、橄欖、鴉片、油菜籽、紅花、芝麻、大豆、向日葵、油桐樹、蕪菁);(7) 糖作物(如亞洲扇椰子棕櫚、銀棗棕櫚、高粱、糖甜菜、甘蔗);(8) 假禾穀類作物(如籽粒莧屬、蕎麥、藜麥、紅莧菜);(9) 催情植物(如巴氏抱羅交果、芹菜、榴槤、芝麻菜、人蔘、瑪咖、三刺皂莢木、絨毛豆);(C) 非糧食類，包括但不限於(1) 飼料及莧絲子作物(如瑪瑙、紫花苜蓿、甜菜、蠶豆、薺藍、木豆、草豌豆、關華豆、馬豆、印度稗、日本稗、萩、羽扇豆、玉蜀黍、糖蘿蔔、果桑、黑草籽、油菜籽、米豆、黑麥);(2) 纖維作物(如椰子、棉、菲奎、麻、黑納金、黃麻、木棉、洋麻、亞麻子、馬尼拉麻、紐西蘭亞麻、苧麻、洛神果、西波爾麻、白色果桑);(3) 能源作物(如藍膠尤加利、薺藍、樹薯、玉蜀黍、油菜籽、高粱、大豆、蘇丹草、糖甜菜、甘蔗、小麥);(4) 酒精生產作物(如大麥、李、洋芋、甘蔗、小麥、高粱);(5) 染料作物(如茜草、指甲花、槐藍、黃木、紅花、番紅花、薑黃);(6) 精油(如多香果、佛手柑、苦橙、藍膠尤加利、甘菊、香茅、丁香、普通茉莉、普通杜松、普通薰衣草、普通沒藥、中國薄荷、小蒼蘭、銀灰菊、牛膝草、聖羅勒、香樹、茉莉、薰衣草、檸檬、金盞花、薄荷、橙、胡椒薄荷、金盞菊、綠薄荷、伊蘭伊蘭樹);(6) 綠肥(如紫花苜蓿、四葉草、加州野花、太陽麻、

三葉草、絨毛豆、巢菜)；(7) 防蝕作物（如竹子、 椰李；(8) 土壤改善作物（如羽扇豆、巢菜)；(9) 覆蓋作物（如紫花苜蓿、加州野花、蘿蔔)；(10) 植物性農藥（如沙薯、金盞花、印度苦楝、除蟲菊)；(11) 切花（如康乃馨、菊花、黃水仙、大麗花、小蒼蘭、大丁草、金盞花、玫瑰、向日葵、鬱金香)；(12) 觀賞植物（如非洲山竹果、蘆薈、高山醋栗、紫菀、黑阿龍尼亞苦味果、麵包樹、金桔、康乃馨、香蕉瓜、蓖麻籽、櫻桃李、阿龍尼亞苦味果、菊花、 椰李、普通薰衣草、藏紅花、黃水仙、大麗花、小蒼蘭、大丁草、風信子、日本石柯、茉莉、加州野花、蓮花、羽扇豆、金盞花、紐西蘭亞麻、鴉片、紫色阿龍尼亞苦味果、苧麻、紅色阿龍尼亞苦味果、玫瑰、向日葵、鬱金香、白色果桑)；(D) 樹木，包括但不限於，六道木、杏仁、蘋果、杏樹、北美香柏、金鐘柏、白楊、山楊、杜鵑花、落羽松、蝟實、山毛櫸、白樺、多花紫樹、黑莓、藍莓、黃楊木、七葉樹、夏季紫丁香、白胡桃樹、山茶、梓樹、西洋杉、櫻桃、栗子樹、咖啡樹、山楂子樹、海棠、紫薇、絲柏、山茱萸、黃杉、烏木、加拿大接骨木、榆樹、冷杉、連翹、銀杏、欒樹、樸樹、山楂、榛子、鐵杉、山核桃木、冬青、皂莢樹、檉樹、洋繡球、杜松、紫丁香、椴樹、木蘭、楓樹、山梅花、花楸、橡樹、橄欖、桃樹、梨樹、大胡桃樹、松樹、阿月渾子樹、洋梧桐、李樹、楊木、女貞、覆盆莓、紫荊、紅香杉、紅樹、杜鵑花、木槿、黃樟、美國杉、花楸果、煙霧樹、無患子、酸模樹、雲杉、楊梅樹、甜灌木、美國梧桐、鵝掌楸、莢迷樹、胡桃、錦帶花、柳樹、冬漿果樹、北美金縷梅、櫟樹；(E) 草皮，包括但不限於肯塔基藍草、高狐草、百慕達草、韓國草、多年生黑麥草、細牛毛草（如；匍匐紫羊茅草、邱氏羊茅草、硬羊茅草，

或羊茅草)。

【00145】 以上述組成物處理植物與植物部分時，可直接處理或使組成物於其周圍、棲地或儲存空間內作用，方法例如為浸泡、噴灑、蒸發、噴霧、噴濺、塗抹或注射。若將組成物施用於種子，可再種植種子前，利用此技藝中一或多種已知塗佈方法將組成物在種子上形成一或多層披衣。

【00146】 使用

【00147】 上述組成物、培養物、表層液、代謝物及殺蟲性化合物可做為農藥，且特別可做為殺蟲劑及殺線蟲劑，可單獨使用，或與上述一或多種殺蟲性物質結合使用，施加於植物、植物部分、植物種植基質或上述種子。

【00148】 具體而言，可經上述方法控制之線蟲類包括但不限於：寄生線蟲類如根結線蟲、腎形線蟲、包囊線蟲及根腐線蟲，包括但不限於 *Meloidogyne* sp.、*Tylenchorhynchus* sp.、*Belonolaimus* sp.、*Hoplolaimus* sp.、*Helicotylenchus* sp.、*Pratylenchus* sp.、*Rotylenchulus* sp.、*Heterodera* sp.、*Globodera* sp.、*Trichodorus* sp.、*Paratrichodorus* sp.、*Xiphinema* sp.及 *Criconea* sp.。詳而言之，寄生線蟲類可包括但不限於種子根結線蟲類（*Afrina wevelli*）、剪股草線蟲類（*Anguina agrostis*）、芽癭線蟲類（*Anguina* spp.）、種癭線蟲類（*Anguina* spp.、*A. amsinckiae*、*A. balsamophila*；*A. tritici*）、牛毛草葉癭線蟲類（*A. graminis*）、皺耳（或小麥根結）線蟲類（*Anguina tritici*）、芽葉（或葉）線蟲類（*Aphelenchoides* spp.、*A. subtenuis*）、秋海棠（或羊齒，或春蟄病，或草莓葉、或草莓線蟲類，或夏矮病）線蟲類（*A. fragariae*）、羊齒線蟲類（*A. olesistus*）、稻米線蟲類（*A. oryzae*）、紅醋栗線蟲類（*A.*

ribes)、黑醋栗(或菊花)線蟲類(*A. ritzemabosi*)、菊花葉線蟲類(*A. ritzemabosi*)、稻米白尖(或春矮病、或草莓花苞)線蟲類(*A. besseyi*)、食真菌(蘑菇)線蟲類(*Aphelenchoides composticola*)、*Atalodera* spp.(*Atalodera lonicerae*、*Atalodera ucra*)、棘線蟲類(*Bakernema variable*)、刺線蟲類(*Belonolaimus* spp.、*B. gracilis*、*B. longicaudatus*)、松木線蟲類(*Bursaphelenchus* spp.、*B. xylophilus*、*B. mucronatus*)、無柄線蟲類(*Cacopaurus* spp.、*C. epacris*、*C. pestis*)、不凋花包囊線蟲類(*Cactodera amaranthi*)、白樺包囊線蟲類(*C. betulae*)、仙人掌包囊線蟲類(*C. cacti*)、愛沙尼亞包囊線蟲類(*C. estonica*)、頌恩氏包囊線蟲類(*C. thornei*)、紫菀包囊線蟲類(*C. weissii*)、環線蟲類(*Criconema* spp.)、棘線蟲類(*Criconema* spp.、*C. civellae*、*C. decalineatum*、*C. spinalineatum*)、環線蟲類(*Criconemella axeste*、*C. curvata*、*C. macrodora*、*C. parva*)、環線蟲類(*Criconemoides* spp.、*C. citri*、*C. simile*)、棘線蟲類(*Crossonema fimbriatum*)、桉包囊形線蟲類(*Cryphodera eucalypti*)、花苞莖線蟲類(*Ditylenchus* spp.、*D. angustus*、*D. dipsaci*、*D. destructor*、*D. intermedius*)、蘑菇菌柱線蟲類(*D. myceliophagus*)、錐線蟲類(*Dolichodorus* spp.、*D. heterocephalus*、*D. heterocephalous*)、口針線蟲類(*Dorylaimus* spp.)、矮化線蟲類(*Geocenamus superbus*)、包囊線蟲類(*Globodera* spp.)、蒼草包囊線蟲類(*G. achilleae*)、蒼草包囊線蟲類(*G. millefolii*)、蘋果包囊線蟲類(*G. mali*)、白囊胞洋芋線蟲類(*G. pallida*)、金線蟲類(*G. rostochiensis*)、菸草包囊線蟲類(*G. tabacum*)、歐斯鵬氏包囊線蟲類(*G. tabacum solanacearum*)、蕁麻包囊線蟲類(*G. tabacum virginiae*)、松樹線蟲類(*Gracilacus* spp.、*G. idalimus*)、螺旋線蟲類(*Helicotylenchus*

spp.、*H. africanus*、*H. digonicus*、*H. dihystra*、*H. erythrinae*、*H. multicinctus*、*H. paragirus*、*H. pseudorobustus*、*H. solani*、*H. spicaudatus*)、鞘線蟲類 (*Hemicriconemoides* spp.、*H. biformis*、*H. californianus*、*H. chitwoodi*、*H. floridensis*、*H. wessoni*)、鞘線蟲類 (*Hemicycliophora* spp.、*H. arenaria*、*H. biosphaera*、*H. megalodiscus*、*H. parvana*、*H. poranga*、*H. sheri*、*H. similis*、*H. striatula*)、包囊線蟲類 (*Heterodera* spp.)、杏仁包囊線蟲類 (*H. amygdali*)、燕麥 (或cereal) 包囊線蟲類 (*H. avenae*)、木豆 (或樹豆) 包囊線蟲類 (*H. cajani*)、百慕達草 (或心形或Valentine) 包囊線蟲類 (*H. cardiolata*)、胡蘿蔔包囊線蟲類 (*H. carotae*)、甘藍菜包囊線蟲類或芸苔屬植物根部小線蟲類 (*H. cruciferae*)、香附子 (或莎草) 包囊線蟲類 (*H. cyperi*)、日本包囊線蟲類 (*H. elachista*)、無花果 (或榕或橡膠) 包囊線蟲類 (*H. fici*)、鼬瓣花包囊線蟲類 (*H. galeopsidis*)、大豆包囊線蟲類 (*H. glycines*)、紫花苜蓿根部 (或豌豆包囊) 線蟲類 (*H. goettingiana*)、蕎麥包囊線蟲類 (*H. graduni*)、大麥包囊線蟲類 (*H. hordecalis*)、蛇麻草包囊線蟲類 (*H. humuli*)、地中海穀物 (或小麥) 包囊線蟲類 (*H. latipons*)、荻包囊線蟲類 (*H. lespedezae*)、堪薩斯包囊線蟲類 (*H. longicolla*)、穀類根部小線蟲類或燕麥包囊線蟲類 (*H. major*)、草包囊線蟲類 (*H. mani*)、紫苜蓿包囊線蟲類 (*H. medicaginis*)、香附子 (或南非醉茄) 包囊線蟲類 (*Heterodera mothi*)、稻米包囊線蟲類 (*H. oryzae*)、阿姆河 (或駱駝刺包囊) 線蟲類 (*H. oxiana*)、酸模包囊線蟲類 (*H. rosii*)、羊蹄囊胞線蟲類 (*H. rumicis*)、糖甜菜包囊線蟲類 (*H. schachtii*)、柳樹包囊線蟲類 (*H. salixophila*)、紗球草包囊線蟲類 (*H. scleranthii*)、苦苣菜包囊線蟲類 (*H. ssonchophila*)、tadzhik包囊線蟲類 (*H. tadshikistanica*)、

turkmen包囊線蟲類 (*H. turcomanica*)、四葉草包囊線蟲類 (*H. trifolii*)、蕁麻包囊線蟲類 (*H. urticae*)、烏斯季諾夫包囊線蟲類 (*H. ustinovi*)、豇豆包囊線蟲類 (*H. vigni*)、玉米包囊線蟲類 (*H. zae*)、稻米根部線蟲類 (*Hirschmanniella* spp.、*H. belli*、*H. caudacrena*、*H. gracilis*、*H. oryzae*)、矛線蟲類 (*Hoplolaimus* spp.)、哥倫比亞線蟲類 (*H. columbus*)、寇柏矛線蟲類 (*H. galeatus*)、冠頂矛線蟲類 (*H. tylenchiformis*)、假根結線蟲類 (*Hypsoperine graminis*)、針線蟲類 (*Longidorus* spp.、*L. africanus*、*L. sylphus*)、環線蟲類 (*Macroposthonia* (= *Mesocriconema*) *xenoplax*)、囊狀線蟲類 (*Meloidodera* spp.)、松樹包囊形線蟲類 (*M. floridensis*)、塔吉克包囊形線蟲類 (*M. tadshikistanica*)、包囊形本體線蟲類 (*Meloidoderita* spp.)、阻生線蟲類 (*Merlinius* spp.、*M. brevidens*、*M. conicus*、*M. grandis*、*M. microdorus*)、根結線蟲類 (*Meloidogyne* spp.、*M. acronea*、*M. arenaria*、*M. artiellia*、*M. brevicauda*、*M. camelliae*、*M. carolinensis*、*M. chitwoodi*、*M. exigua*、*M. graminicola*、*M. hapla*、*M. hispanica*、*M. incognita*、*M. incognita acrita*、*M. indica*、*M. inornata*、*M. javanica*、*M. kikuyuensis*、*M. konaensis*、*M. mali*、*M. microtyla*、*M. naasi*、*M. ovalis*、*M. platani*、*M. querciana*、*M. sasseri*、*M. tadshikistanica*、*M. thamesi*)、矢車菊線蟲類 (*Mesoanguina picridis*)、黃杉線蟲類 (*Nacobbodera chitwoodi*)、偽根結線蟲類 (*Nacobbus aberrans*、*N. batatiformis*、*N. dorsalis*)、酸漿線蟲類 (*Panagrellus redivivus*)、啤酒花線蟲類 (*P. silusiae*)、針線蟲類 (*Paralongidorus microlaimus*)、螺旋線蟲類 (*Pararotylenchus* spp.)、短粗根線蟲類 (*Paratrachodorus allius*、*P. minor*、*P. porosus*、*P. renifer*)、松樹線蟲類 (*Paratylenchus* spp.、*P. baldaccii*、

P. bukowinensis、*P. curvatus*、*P. dianthus*、*P. elachistus*、*P. hamatus*、*P. holdemani*、*P. italiensis*、*P. lepidus*、*P. nanus*、*P. neoamplycephalus*、*P. similis*）、損害（或草地）線蟲類（*Pratylenchus* spp.、*P. alleni*、*P. brachyurus*、*P. coffeae*、*P. convallariae*、*P. crenatus*、*P. flakkensis*、*P. goodeyi*、*P. hexincisus*、*P. leiocephalus*、*P. minyus*、*P. musicola*、*P. neglectus*、*P. penetrans*、*P. pratensis*、*P. scribneri*、*P. thornei*、*P. vulnus*、*P. zae*）、莖瘤線蟲類（*Pterotylenchus cecidogenus*）、草包囊線蟲類（*Punctodera punctata*）、阻礙生長線蟲類（*Quinisulcius acutus*、*Q. capitatus*）、穿孔線蟲類（*Radopholus* spp.）、香蕉根線蟲類（*R. similis*）、稻米根線蟲類（*R. oryzae*）、紅環（或椰子、或椰子棕櫚）線蟲類（*Rhadinaphelenchus cocophilus*）、腎形線蟲類（*Rotylenchulus* spp.、*R. reniformis*、*R. parvus*）、螺旋線蟲類（*Rotylenchus* spp.、*R. buxophilus*、*R. christiei*、*R. robustus*）、頌恩氏矛線蟲類（*R. uniformis*）、*Sarisodera hydrophylla*、螺旋線蟲類（*Scutellonema* spp.、*S. blaberum*、*S. brachyurum*、*S. bradys*、*S. clathricaudatum*、*S. christiei*、*S. conicephalum*）、草根瘤線蟲類（*Subanguina radiculicola*）、圓包囊形線蟲類（*Thecavermiculatus andinus*）、粗短根線蟲類（*Trichodorus* spp.、*T. christiei*、*T. kurumeensis*、*T. pachydermis*、*T. primitivus*）、醋線蟲（或線蟲類）（*Turbatrix aceti*）、阻礙生長（或匕首）線蟲類（*Tylenchorhynchus* spp.、*T. agri*、*T. annulatus*、*T. aspericutis*、*T. claytoni*、*T. ebriensis*、*T. elegans*、*T. golden*、*T. graciliformis*、*T. martini*、*T. mashhoodi*、*T. microconus*、*T. nudus*、*T. oleraceae*、*T. penniseti*、*T. punensis*）、柑橘線蟲類（*Tylenchulus semipenetrans*）、劍線蟲類（*Xiphinema* spp.、*X. americanum*、*X. bakeri*、*X. brasiliense*、*X. brevicolle*、*X. chambersi*、*X. coxi*、

X. diversicaudatum *X. index*、*X. insigne*、*X. nigeriense*、*X. radicola*、*X. setariae*、*X. vulgarae*、*X. vuittenezi*)。在更特定實施例中，該線蟲類包括但不限於：*Meloidogyne incognita*（根結線蟲類）、以及*Globodera rostochiensis*與*Globodera pailida*（洋芋包囊線蟲類）；*Heterodera glycines*（大豆包囊線蟲類）；*Heterodera schachtii*（甜菜包囊線蟲類）；以及*Heterodera avenae*（穀類包囊線蟲類）和*Rotylenchulus reniformis*（腎形線蟲類）（*Pratylenchus* spp.）（根腐線蟲類）、*Belonolaimus* sp.（刺線蟲類）、*Hoplolaimus* sp.（矛線蟲類）、*Bursaphelenchus* spp.（如松木線蟲類）、*Ditylenchus* spp.（如莖線蟲類）。

【00149】本發明並關於施用有效殺蟲性防治量之以下項目：包含一黃桿菌屬之實質純種培養物或全細胞培養液或取自一黃桿菌屬之表層液、濾液，細胞部分萃取物或化合物（如代謝物）或取自該全細胞培養液、表層液、濾液或萃取物之殺蟲性活性化合物（如代謝物）；或施用以上項目之組合。上述實質純種培養物、全細胞培養液、表層液、濾液、萃取物或化合物係單獨使用，或與另一殺蟲性物質結合使用，用量應達有效害蟲防治或殺蟲量。有效量係指微生物細胞、表層液、全細胞培養液、濾液、細胞部分或萃取物、代謝物及/或化合物單獨或與另一殺蟲性物質結合使用之量，其足以調控害蟲侵擾者。有效比率可能受害蟲品種、害蟲生長階段、害蟲密度，以及如溫度、風速、雨量、白晝時間及季節等環境因素所影響。在一特定時粒中，該有效量之範圍可經實驗室測試或田間測試判定。

【00150】上述之組成物、實質純種培養物、全細胞培養液、表層液、濾液萃取物或化合物可用於調控或更具體而言可促進植物生長，又更具體而言，係促進植物早期紮根。

【00151】 上述組成物、培養物、表層液、取自黃桿菌屬之實質純種培養物、全細胞培養液、表層液、濾液或萃取物或取自該全細胞培養液、表層液、濾液或萃取物之殺蟲性活性代謝物或該黃桿菌屬所產生之分離化合物.亦可用於調控植物種子之萌芽。詳而言之，可利用本技藝已知方法針對該組成物、取自黃桿菌屬之實質純種培養物、全細胞培養液、表層液、濾液或萃取物或取自該全細胞培養液、表層液、濾液或萃取物之代謝物或該黃桿菌屬所產生之分離化合物測定其生長調控效力，所述方法可包括，但不限於，每盆植物數量、幼芽高度（公分）、幼芽鮮重（克）、根部鮮重（克）、植物活力評等、利用根部健康評估表進行之根部評等。

【00152】 上述組成物、實質純種培養物、全細胞培養液、表層液、濾液萃取物或化合物可藉由多種機制調控害蟲侵擾，包括但不限於消滅處於生命週期各階段之害蟲（卵、幼蟲或成蟲）或影響該害蟲之移動性。

【00153】 製成之產品可單獨使用或與如生長促進劑等上述其他成分同時使用，於槽中混合或以預設順序之編程（依序輪用）在生長季節中施用。當與上述產物結合使用時，濃度應低於產品標籤建議之濃度，在一較佳實施例中，二或多種產品結合之功效高於其個別成分之功效加總。因此，此等二（或多）種產物間之協同效應可加強整體效果，且可降低植物病原體品種產生農藥抗性之風險。

【00154】 上述取自黃桿菌屬之組成物、實質純種培養物、全細胞培養液、表層液、濾液或萃取物或取自該全細胞培養液、表層液、濾液或萃取物之代謝物或由該黃桿菌屬產生之分離化合物之施用方法可為移栽時以根部沾取，具體而言可藉由在水果或蔬菜移栽至土壤之前，先將其之根部略

為浸泡該組成物（約0.25至約1.5 %且更具體而言為約0.5%至約1.0%體積比濃度之懸浮液），藉此利用該組成物處理該水果或蔬菜。

【00155】 或者，該組成物可透過滴加或其他灌溉系統施用。

【00156】 具體而言，可將該黃桿菌屬組成物注入一滴加灌溉系統。於一特定實施例中，該組成物之施用量可為每英畝約11至約4 夸脫。

【00157】 在又一實施例中，可將該組成物添加於犁溝中以達施用之目的。

【00158】 具體而言，可利用校準為2-6加侖/英畝之總輸出量之噴嘴於種植時進行該組成物之犁溝內噴灑。位於犁溝之噴嘴運作與種植機配合，使得可於種子落入犁溝之同時施用農藥。利用已知方式將上述混合物與一固態或液態輔藥（視需要）製備成劑。例如，該混合物之製備可透過均質混合及/或將該成份與增量劑混合而成，所述增量劑例如為溶劑、固態載體，以及表面活性化合物（表面活性劑）（視需要）。該組成物亦可進一步包含如穩定劑、黏性調節劑、結合劑、輔藥以及肥料等成份或其他活性成份，以獲得特定效應。

【00159】 範例

【00160】 以下將透過非限制性範例詳細說明上述組成物及方法。此等範例僅為說明各種實施例，且不應將所請發明之材料、條件、重量比例、製程參數等因素限制於在此所述者。

【00161】 範例1：微生物之分離與鑑別

【00162】 微生物之分離

【00163】 從採集自夏威夷海邊之腐爛植物材料樣本分離出黃桿菌品

種H492。以如Lorch等人（1995年）提出之傳統培養皿稀釋法從樣本中取得該細菌。簡言之，將樣本重新懸浮於無菌去離子水中。該重新懸浮樣本之系列稀釋液係在無菌水中製備。將部分稀釋液分散於瓊脂培養皿上（例如 Potato Dextrose Agar）且於黑暗中在室溫下培育。經數日培育後，自瓊脂表面收穫菌落。

【00164】 該分離物成長為透明小型菌落，隨時間發展逐漸增加紅橙半透明色澤。分離出之細菌為革蘭氏陰性桿狀細菌。

【00165】 微生物之鑑別

【00166】 利用通用細菌引子經PCR擴大與16S rRNA基因定序，確認該分離物為一黃桿菌屬品種。

【00167】 以無菌環將於PDA（Potato Dextrose Agar）培養皿生長24小時候之生長物刮下，並再次懸浮於 DNA萃取緩衝液中。DNA之萃取係使用MoBio超潔淨微生物DNA萃取組。將5uL之等份DNA萃取物置於1% 瓊膠上確認其質/量。

【00168】 16S rRNA基因放大之PCR反應設定為將2 μ L之該潔淨DNA萃取物與25 μ L之GoTaq Green Mastermix、1.5 μ L 正向引子（FD1；5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'）（SEQ ID NO:1）、1.5 μ L 反向引子（RD1；5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3'）（SEQ ID NO:2）結合。以無菌之無核酸水將該反應量補足至50 μ L。將連鎖反應器設定為以下條件供進行PCR反應：10分鐘之95°C（初始變性），以45秒之94°C進行30次循環，45秒之55°C及2分鐘之 72°C，而後為5分鐘之72°C（最終延伸）及最終保溫10°C。

【00169】 將5uL之等份PCR產物置於1% 瓊膠上確認其大小、量及

質，而後將該產物帶與一質量階梯對照。以MoBio PCR 清理組去除該PCR產物中之多餘引子、核苷酸、酵素及型板。利用上述引子將清理後之PCR產物直接定序。透過BioEdit軟體將正向與反向序列對齊，產生1416 bp 相同序列。

【00170】 利用BLAST將黃桿菌H492之16S rRNA基因相同序列與該細菌域代表之可得序列相較。品種 H492與該黃桿菌屬基因之成員密切相關。最近匹配為一未培養細菌群（登錄號碼FJ716008.1），相似度為97%。品種H492與黃桿菌屬族群中其他已知成員之相似度皆在97%以下。

【00171】 生長條件

【00172】 於洋芋葡萄糖洋菜培養基、pH 4-12且以0.5單位增額之胰蛋白大豆瓊脂培養基上，及於NaCl濃度為 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4與5%之L-洋菜以16、25、30及37 °C評估黃桿菌H492之生長。生長發生於25與30 °C，但16與37°C無生長，0-1% NaCl及pH 5.5-8.5（最佳條件為pH 6及8）。類色素flexirubin式染劑測試結果為陽性。未吸收剛果紅。氧化酶陽性且過氧化氫陰性。酪蛋白、澱粉、CM纖維素、果膠及DNA水解，但褐藻膠鈉與幾丁質未水解。L-酪胺酸洋菜上未產生褐色可擴散染料。

【00173】 生長發生於PDA、NA、TSA、R2A、Anacker及Ordal's，LB、Mueller-Hinton與Czapek Dox 瓊脂，但瓊脂2216、MacConkey瓊脂及MRS瓊脂未發生成長。

【00174】 特性描述

【00175】 利用數種標準程序描述分離物之特性，包括革蘭氏染色，過

氧化氫及氧化酶生產（Difco販售測試），以及酪蛋白水解（Atlas 2010「Handbook of Microbiological Media」，修改5% w/v）、澱粉（1% w/v）、CM-纖維素（1% w/v）、幾丁質（1% w/v）、果膠（1% w/v）及DNA（利用Difco甲基綠與DNase測試洋菜）。評估剛果紅吸收，並觀察菌落流動於20% KOH時之顏色轉移以判斷黃色素flexirubin類染色成份之產生（Bernardet等人，2002年）。生長評估利用海洋瓊脂2216（Difco）、養分瓊脂（Difco）、胰酶大豆瓊脂（Remel）、R2A（Difco）、Anacker及Ordal's 瓊脂（Atlas 2010「Handbook of Microbiological Media」）、MacConkey 瓊脂（Difco）、MRS 瓊脂（Difco）與Czapek Dox 瓊脂（Atlas 2010「Handbook of Microbiological Media」）。

【00176】採用API ZYM與API 20NE系統（bioMérieux）遵循製造商指示，進行生物化學與生理學特徵評估。

【00177】酵素活性檢測項目為鹼性磷酸酶、酯酶C4、酯酶解脂酵素C8（弱）、白胺酸芳醯胺酶、纈草胺酸芳醯胺酶、酸性磷酸酶、酚-AS-B1-磷水、 β -半乳糖苷酶（弱）、 α -葡萄糖苷酶與 β -葡萄糖苷酶，但不包括解脂酵素C4、半胱胺酸芳醯胺酶、胰蛋白、 α -凝乳蛋白、 α -半乳糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸糖苷酶、N-乙醯基- β -胺基葡萄糖苷酶、 α -甘露糖苷酶及 α -果糖苷酶（API ZYM）。 β -半乳糖苷酶呈弱陽性反應，但硝酸鹽減少、吲哚生產、葡萄糖發酵、精胺酸二水解酶、尿素酵素、粟糖苷水解及明膠水解呈陰性反應。吸收D-葡萄糖、D-甘露糖、N-乙醯基-葡萄糖胺及D-麥芽糖，但不吸收L-樹膠醛糖、D-甘露醇、葡萄糖酸鉀、癸酸、己二酸、蘋果酸、三檸檬酸鈉或苯基乙酸（API 20NE）。

【00178】 脂肪酸組成物

【00179】 於28°C培養24小時候，收穫環狀生長良好細胞，製備並分離脂肪酸甲基酯後利用Sherlock微生物鑑別系統（MIDI）進行鑑別，如Vandamme等人（1992年）所述。黃桿菌H492中之主要脂肪酸示於下表1：

【00180】 表1：黃桿菌H492之脂肪酸組成物

FAME	百分比	FAME2	百分比
13:1 at 12-13	0.16	15:1 w6c	0.74
14:0	0.77	16:1 iso H	0.29
15:1 iso G	5.22	Sum In Feature 2	0.45
15:0 iso	34.96	16:0 iso	0.64
Sum In Feature 3	9.97	16:0 iso 3OH	1.18
16:1 w5c	0.41	16:0 3OH	2.11
16:0	3.73	18:1 w9c	0.65
15:0 iso 3OH	9.77	17:0 iso 3OH	15.24
15:0 2OH	0.19	17:0 2OH	0.34
Sum In Feature 9	7.51	17:1 w8c	0.28
Sum In Feature 4	1.68	17:1 w6c	0.69
17:0 iso	1.28		

【00181】 將黃桿菌H492之脂肪酸組成物與MIDI資料庫中已知微生物品種對照後，發現新穎黃桿菌H492 品種中之脂肪酸並非最接近Flavobacterium johnsoniae（0.5相似度指數）及Flavobacterium hydatis（0.307相似度指數）。

【00182】 對抗生素之抗性

【00183】 於Muller-Hinton培養基上利用抗生素試片測試黃桿菌H492之抗生素敏感性，如PML微生物技術資料表#535中所述。

【00184】 在25°C下培養48小時候記錄結果，整理於表2。

【00185】 表2：黃桿菌H492 對各種 抗生素之敏感性

	濃度（ug）	敏感度
--	--------	-----

四環素	30	+++
卡納毒素	30	-
紅黴素	15	+++
鏈黴素	10	++
青黴素	10	+++
安黴素	10	+++
氧四環素	30	+++
氯黴素	30	+++
環丙沙星	5	+++
慶大黴素	10	++
氧哌嗪青黴素	100	+++
頭孢呋辛	30	-
亞胺硫黴素	10	+++
磺胺甲噁唑-甲氧苄胺嘧啶	23.75/25	++

【00186】 +++：極敏感；++：普通敏感；+：敏感；-：不敏感

【00187】 黃桿菌H492經由發酵之生產

【00188】 DNA-DNA 雜合

【00189】 亦利用EzTaxon-e server(<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>; Kim 等人，2012年)基於16S rRNA序列資料測試黃桿菌H492相同序列。最佳匹配均在品種區別門檻。選擇 *Flavobacterium defluvii* 與 *Flavobacterium johnsoniae* 進行DNA-DNA 雜合實驗。

【00190】 利用持續系統以TS 0.75 KW（德國IUL Instruments）打散細胞，並利用色層分析法於羥基磷灰石上將粗溶解產物中之DNA純化，如Cashion等人（1977年）所述。DNA-DNA 雜合之方法以De Ley等人（1970）所述者為基礎，並考量Huss等人（1983年）提出之修改，利用模型Cary 100 Bio UV/VIS-分光計實施雜合，所述分光計配備有Peltier恒溫6x6多細胞交換器及帶有現場溫度探針（Varian）之溫度控制器。

【00191】 結果示於下表3。

【00192】 表 3： 黃桿菌 H492、*Flavobacterium johnsoniae* 與 *Flavobacterium defluvii*之DNA 序列對照

% DNA-DNA 相似度 (於 2 X SSC，63°C)	黃桿菌品種 H492
<i>Flavobacterium johnsoniae</i> DSM 2064T	30.7 (29.4)
<i>Flavobacterium defluvii</i> DSM 17963T	8.3 (15.2)

【00193】 （括號內數值為重複測量結果）

【00194】 以特別委員會（Wayne等人，1987年）所建議之細菌品種定義門檻值 70% DNA-DNA 相似度而論，黃桿菌品種 H492 既不屬於 *Flavobacterium johnsoniae* DSM 2064^T(ID 12-1016)，亦不屬於 *Flavobacterium defluvii* DSM 17963^T。

【00195】 根據生物化學特性、脂肪酸、16S rRNA及收集而得之雜合資料，顯現黃桿菌H492為黃桿菌屬中之一新品種，其不同於黃桿菌屬中至今已知之任何其他品種。

【00196】 黃桿菌H492之發酵生產

【00197】 在有氧條件下已 液態 V8培養基進行品種 H492之深層發酵，製得具殺線蟲活性之表層液。

【00198】 利用無菌環在新鮮洋芋葡萄糖瓊脂培養皿上以少量品種 H492畫線，製成環狀種子培養皿。該培養皿於25°C培養2-3天或直到培養皿表面出現足夠生物量。

【00199】 於50 mL之V8培養種子燒瓶中接種一圈自瓊脂培養皿表面收穫之材料。將種子至於搖動器中以200 rpm轉速培養兩天。

【00200】 容量2.8 L之非緩衝大型玻璃三角燒瓶中裝入500 mL之V8培養液，於其中無菌接種2%種子。以25°C持續150-200 rpm之轉速腳凍，如此發酵5天。

【00201】 利用離心或其他分離方式將細胞從完成發酵後之培養液分離，取得表層液。

【00202】 藉由下樹生物檢測方法確認該表層液之活性。

【00203】 對南方根結線蟲 (*meloidogyne incognita*) 之體外劑量反應試驗

【00204】 為評估黃桿菌H492之效力與穩定性，以不同稀釋比例測試全細胞培養液 (WCB)，所用稀釋比例為水：100% = 100 μ l of WCB；70%= 70 μ l之H492：30 μ l之水；50%= 50 μ l之H492：50 μ l之水；20%= 20 μ l之H492：80 μ l之水。於此生物檢測中，幼體接受指定處理24小時，而後轉移至裝有1.2% 水瓊脂之6孔盤，再放置24小時候測量其移動。此實驗之目的為根據處理後幼體移出在六孔盤上初始滴點之數量而評估幼體之移動性，其中各處理均測試六次：先將100 μ l 之各微生物樣本置入對應孔中，而後加入含

有約300隻線蟲之50 μ l線蟲類溶液。初始處理之24小時後，將幼體轉移至裝有1.2%水瓊脂之6孔盤上，繼續以25°C培養24小時。根據初始轉移之幼體數量計算固定性百分比。結果顯示於圖1，其中可見H492稀釋樣本100%、70%、50%及20%相較於所需標記率之相同稀釋樣本展現對於南方根結線蟲幼體之劑量反應控制。

【00205】 範例2：黃桿菌H492表層液在宿主質物中之殺線蟲活性

【00206】 瓊脂幼株試驗：黃瓜上之南方根結線蟲

【00207】 為評估H492表層液對南方根結線蟲J2之效力，於60mm直徑之培養皿中進行以下測試。

【00208】 使黃瓜 (*Cucumis sativus*, cv. White Wonder) 種子在室溫下於培養皿中之濕紙巾上發芽。一週後，將萌芽之幼株轉移至裝有水瓊脂之培養皿中，每一培養皿僅放置一株。將300 μ l等分之黃桿菌H492 發酵表層液加入各培養皿，之後再將300隻J2南方根結線蟲加入150 μ l之去離子水中。蓋上培養皿，並以25°C培養7天。分別以水、空白培養基及阿佛菌素 (0.1%) 為陰性及陽性對照組。七天後計算黃瓜根部根部瘤結數量以確認各物質對線蟲致病性之效應。各種處理方式之瘤結數量以相較於水對照組之百分比表達。實驗共進行兩次。

【00209】 黃桿菌H492表層液在兩次實驗中相較於水對照組均能顯著減少黃瓜根部瘤結數量。觀察到超過 80%之瘤結減少，顯示H492可有效對抗黃瓜中之南方根結線蟲。

【00210】 瓊脂幼株試驗：番茄上之南方根結線蟲

【00211】 為評估H492表層液對南方根結線蟲J2之效力，於90mm直徑

之培養皿中進行以下測試。使番茄 (cv. UC 82) 種子在室溫下於培養皿中之濕紙巾上發芽。一週後，將萌芽之幼株轉移至裝有水瓊脂之培養皿中，每一培養皿放置4株。將300 μ l等分之黃桿菌H492 發酵表層液加入各培養皿，之後再將700隻J2南方根結線蟲分散於150 μ l之去離子水中。將溶液均勻分配於四株幼苗。蓋上培養皿，並以25°C 培養96小時。分別以水及阿佛菌素 (0.5%) 為陰性及陽性對照組。96小時後記錄各處理組別中能動之線蟲數量及與水對照組相較之相對移動性，以確認各化合物對線蟲移動性之影響。將番茄根部染色 (Thies等人, 2002年)，透過100倍放大之複合顯微鏡觀察根部之幼體感染。

【00212】 僅有水對照組根部出現幼體。其他處理組別均無線蟲感染。H492表層液相較於水對照組大幅減少可動線蟲數量 (表4)。H492可抑制根結線蟲幼體移動，並保護植物不受感染。

【00213】 表4.黃桿菌H492表層液對北方根結線蟲 (*Meloidogyne hapla*) 之影響水瓊脂試驗中之番茄。

處理	可動 J2 數量/皿	相對可動率 (%) z
H492	140 $\pm$ 17 b	44 $\pm$ 7 b
阿佛菌素(0.5%)	105 $\pm$ 25 b	60 $\pm$ 10 b
水	248 $\pm$ 35 a	0 $\pm$ 10 a

【00214】 根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之平均數視為相同； z 相對於水對照組之線蟲移動率。

【00215】 經黃桿菌H492表層液處理後之北方根結線蟲恢復率

【00216】 為評估H492表層液對北方根結線蟲J2移動性與後續恢復率

之影響，於96孔塑膠細胞培養盤進行以下測試。

【00217】 將50μl等份之各種測試溶液加入適當孔中，而後將50隻線蟲分散於30μl之去離子水中，並加入各孔。將培養盤用蓋封閉，於25°C培養72小時。分別以水及阿佛菌素（1%）做為陰性與陽性對照組。於24、48及72小時後於各孔添加一滴1 N NaOH，以確認化合物對線蟲移動性之影響，利用0至100百分比記錄各處理組別中可動線蟲之比例。為評估各處理後之移動性恢復，於各孔中取出70μl之量，並將各孔中剩餘溶液以100μl之去離子水稀釋。再將培養盤如上法培養24小時，而後進行第二次移動性評估。每種處理重複進行三次，評估進行兩次。

【00218】 清洗後所有處理時間示於表5。經H492表層液處理之可動線蟲百分比隨培養時間越長越形降低，且最低比率17.5% 出現培養72小時後。H492表層液降低根結線蟲J2移動性，且其效力可延續至少72小時。

【00219】 表5.以黃桿菌H492表層液培養24、48及72小時後之北方根結線蟲恢復百分率

組別	24	24-24	48-24	72-24
水	95 ± 3.2 a	97.5 ± 2.7 a	95 ± 4.5 a	90 ± 4.5 a
阿佛菌素 （1%）	10 ± 4.5 d	13.3 ± 2.6 d	11.7 ± 2.6 d	10 ± 4.5 d
H492（3303-52）	45 ± 5.5 c	45 ± 5.5 c	22.5 ± 2.7 c	17.5 ± 2.7 c

【00220】 資料為兩次評估之平均值。根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之平均數無顯著不同。

【00221】 24：於H492表層液培養24小時候直接觀察

【00222】 24-24：在各處理溶液中培養 24小時，而後於水中培養 24

小時

【00223】 48-24：在各處理溶液中培養48小時，而後於水中培養 24

小時

【00224】 72-24：在各處理溶液中培養72小時，而後於水中培養 24

小時

【00225】 以不同酸鹼度黃桿菌H492表層液處理後之北方根結線蟲移動性

【00226】 為評估H492表層液對北方根結線蟲J2移動性之影響，於96孔塑膠細胞培養盤進行以下測試。

【00227】 將50 μ l等份之各種測試溶液加入適當孔中，而後加入適量1N HCl或NaOH將測試溶液之酸鹼值調整為3至12之間，如表5所示。將50隻線蟲類幼體（J2）分散於30 μ l之去離子水中，並加入每一孔中，蓋上培養盤，以25°C 培養24小時。24小時後於每孔中添加一滴1 N NaOH，確認各種處理對線蟲移動性之影響，利用0至100百分比記錄各處理組別中可動線蟲之比例。每種處理重複進行三次，評估進行兩次。

【00228】 H492表層液pH值之增加與減少均可降低可動線蟲百分比（表6）。然而，增加pH值較減少pH值更有助於抑制線蟲活動，最低移動性發生於pH = 12時。pH = 10時之移動性低於pH = 5時之移動性。因此，鹼性條件比酸性條件具有更強之線蟲抑制或固定功效。

【00229】 表6.黃桿菌H492表層液酸鹼度變化對北方根結線蟲移動性之影響

組別	pH				
H492 (3303-52)	3	5	8.4	10	12
	46.7 ± 6.1 a	39.2 ± 5.8 b	50.8 ± 7.4 a	9.2 ± 3.8 c	6.7 ± 2.6 c
培養基	3	5	6.8	10	12
	95 ± 3.2 a	85 ± 7.7 b	85 ± 4.5 b	75 ± 8.9 c	18 ± 2.2 d

【00230】 資料為兩次評估之平均值。根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之平均數視為相同。

【00231】 溫室盆栽檢驗：黃瓜與南方根結線蟲

【00232】 為判定H492表層液之殺線蟲活性，對黃瓜（cv. White Wonder）進行溫室研究，利用表層液為測試產品以控制南方根結線蟲。每盆中放置加溫加壓消毒沙，種植一株黃瓜，使其於自然日照及室溫下成長。以20 μ L 等分測試產品對每盆兩週大之植物進行處理，之後於每一盆中接種2000隻剛孵出之南方根結線蟲J2。一週後，再施用20 ml測試產品處理。分別以水及阿佛菌素（0.1%）做為陰性與陽性對照組。重複五次，且將實驗安排為隨機完全區集設計。讓植物在溫室下繼續成長四週，之後收穫所有植物並測量芽根鮮重。記錄各盆中之線蟲數及各植物上之根瘤數。進行統計分析（ANOVA），並於 $P \leq 0.05$ 計算各處理 方式間之統計差異。

【00233】 表7所示資料指出雖然黃瓜芽根鮮重與未處理之水控制組並無明顯不同，但經H492表層液 處理之盆栽線蟲數量明顯少於未處理之水控制組盆栽。H492表層液處理組中之根瘤數量亦明顯少於水或培養基對照組。這說明H492表層液可有效抑制南方根結線蟲在黃瓜上形成瘤結。

【00234】 表7. 溫室盆栽實驗中黃桿菌H492表層液對黃瓜上南方根結線蟲之影響。

處理	芽重 (克)	根重 (克)	結瘤數	線蟲數
阿佛菌素	15.2 ± 4.4	5.2 ± 2.1	0 ± 0 d	316 ± 193 b
水	21.1 ± 2.6	6.3 ± 1.2	29.0 ± 8.2 a	510 ± 256 a
H492 (7501-50)	16.9 ± 6.2	4.9 ± 1.0	7.8 ± 2.9 c	276 ± 195 b

【00235】 根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之平均數視為相同。

【00236】 溫室盆栽檢驗：黃瓜及番茄與北方根結線蟲

【00237】 對黃瓜 (cv. White Wonder) 及番茄 (*Solanum lycopersicum*, cv. Roma) 進行溫室研究，以證實黃桿菌H492表層液控制北方根結線蟲之殺線蟲活性。每盆中放置加溫加壓消毒沙，種植一株黃瓜或番茄，使其於自然日照及室溫下成長。以40 μ L等分測試產品對每盆兩週大之黃瓜或三週大之番茄進行處理，之後於每一盆中接種2000隻北方根結線蟲J2。一週後，再以與第一次相同比例之測試產品處理盆栽。分別以水、培養基及阿佛菌素 (0.1%) 做為陰性與陽性對照組。重複五次，且將實驗安排為隨機完全區集設計。讓黃瓜與番茄分別在溫室下繼續成長四週和六週，之後收穫所有植物並測量芽根鮮重。分別以0至10之評分表評析植物活性與根部結瘤指數；於植物活性部分，0 = 死亡，10 = 完全健康；於根部結瘤指數部分，0 = 無結瘤，10 = 100%根部結瘤。記錄各盆中之線蟲數。進行統計分析 (ANOVA)，並於 $P \leq 0.05$ 計算各處理方式間之統計差異。

【00238】 黃瓜與番茄之試驗結果分別示於表8及表9。相較於水對照組，黃桿菌H492表層液可顯著減少黃瓜根瘤指數及番茄線蟲數。在第二組

實驗中，北方根結線蟲在黃瓜根部造成之結瘤指數降低，但在番茄中未降低（表10及11）。兩次實驗顯示黃桿菌H492表層液可降低植物中北方根結線蟲造成之結瘤數量。

【00239】 表8. 溫室盆栽實驗中黃桿菌H492表層液對黃瓜上北方根結線蟲之影響。

處理	植物活力 y	根瘤指數 z	J2 數
H492	4 ± 1 a	6 ± 3 b	5033 ± 1662 a
阿佛菌素（1%）	0 ± 0 b	0 ± 0 c	0 ± 0 b
水	1 ± 1 ab	8 ± 1 a	5467 ± 611 a

【00240】 根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之平均數視為相同。

【00241】 y植物活力之 0 -10分評比：0 ： 死亡，10：=完全健康。

【00242】 z根部結瘤指數之 0 -10分評比：0：無結瘤，10： 100%根部結瘤。

【00243】 表9. 溫室盆栽實驗中黃桿菌H492表層液對番茄上北方根結線蟲之影響。

處理	芽高（公分）	芽重（克）	根重（克）	根部結瘤指數	線蟲數
H492(3303-52)	20 ± 6 bz	10 ± 1 b	2.5 ± 1	2 ± 1	175 b
阿佛菌素（1%）	8 ± 8 c	1 ± 1 c	0.4 ± 1	0 ± 0	0 c
水	28 ± 6 ab	14 ± 4 b	4.2 ± 1	2 ± 1	325 a

【00244】 根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之

平均數視為相同。

【00245】 表10.溫室盆栽實驗中黃桿菌H492表層液對黃瓜上北方根結線蟲之影響（實驗一）

處理	頂重	根重	根部結瘤指數	線蟲數
阿佛菌素 (1%)	16.1 ± 4.5 a	4.9 ± 2.5 a	0.2 ± 0.4 d	1180 ± 920 c
水	5.9 ± 1.2 b	0.5 ± 0.3 b	7.2 ± 1.3 a	2580 ± 934 ab
H492(3303-52)	9.0 ± 2.5 b	2.0 ± 0.9 b	3.2 ± 0.8 c	1840 ± 856 bc

【00246】 根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之平均數視為相同。

【00247】 表11. 溫室盆栽實驗中黃桿菌H492表層液對番茄上北方根結線蟲之影響（實驗二）

處理	頂重	根重	根部結瘤指數	線蟲數
阿佛菌素(1%)	16.9 ± 4.8 ab	6.2 ± 2.1 ab	0 ± 0 b	332 ± 385
水	14.1 ± 1.1 b	5.7 ± 1.7 b	4.1 ± 3.2 a	334 ± 241
H492(3303-52)	16.4 ± 1.9 ab	7.3 ± 1.4 ab	4.6 ± 1.5 a	594 ± 374

【00248】 根據Fisher最小顯著差異 $P \leq 0.05$ ，同欄中後接相同字母之平均數視為相同。

【00249】 以黃瓜為宿主時植物中南方根結線蟲對黃桿菌H492植物之劑量反應

【00250】 於50 mL無菌管底部鑽孔以利浸濕，而後裝入沙土混合物

(1:2) 並以2 mL之H492全細胞培養稀釋物(10、20、30、50、70與100%)浸濕，以阿佛菌素(70%之標記率)為陽性對照組，並以水為陰性對照組。浸濕後，將黃瓜種子(cv. SMR58)種入管中，並於管中接種800顆南方根結線蟲卵。以石蠟封管，並置於以濕紙巾保持高濕度之培養箱中。四天後，多數種子發芽，將蓋口石蠟去除。一週後，施加第二劑量(1 mL之該樣本)於管中。兩週後終止實驗，並就以下參數進行評估：鮮芽重(FSW)、鮮根重(FRW)、根瘤指數(1-10分)及每公克根結瘤數量。整體而言各處理組別間之FSW與FRW差異不大。然而，黃桿菌H492 全細胞培養液以100%施用時可使FSW與FRW均顯著降低。除濃度最低之10%稀釋劑以外，相較於水對照組，所有測試之黃桿菌H492 全細胞培養液濃度均可降低結瘤指數。相較於水對照組，所有測試之黃桿菌H492 全細胞培養液濃度均可減少每克根部結瘤數量。全細胞培養液之殺線蟲活性與劑量有關，且隨材料濃度提高而增加(見圖2-4)。

【00251】 刺線蟲與矛線蟲於受侵擾土壤中之固定性

【00252】 此試驗係以含有大量刺線蟲與矛線蟲之田間土壤進行。各試驗均包含四種處理：黃桿菌H492、空白生長培養基、陽性控制(亦即阿佛菌素 0.1%)及陰性控制(亦即水)。試驗採隨機完全區集設計，重複八次。採集12公升含目標線蟲之土壤，清除草皮/根，並混合均勻。混合土壤後，利用離心糖浮選法萃取五份(100 cm³)土壤樣本，計數以確保主要試驗目標線蟲均勻分布於土壤中。接著量出200 cm³等份土壤，放置於2x2x2英吋塑膠盆中。處理以浸濕方式進行(每盆40毫升)。之後將盆栽放置於實驗室中靜置72小時，使線蟲接受處理。而後將各盆土壤於經修改之貝爾曼裝置上

清洗以進行線蟲類萃取。

【00253】 此舉可使得活線蟲經過濾器移出土壤而進入水中，以便計算數量。死亡或不移動線蟲留存於土壤中。經於貝爾曼裝置中培養96小時以後，收集並計算活線蟲數量。將各處理組別之線蟲數與SAS 9.2比較，所有觀察到之線蟲利用Fisher最小顯著差異於 $P \leq 0.05$ 平均分離。

【00254】 本實驗採用之田間土壤中共有四種植物寄生線蟲：*Belonolaimus* sp. (刺線蟲類)、*Hopolaimus* sp. (矛線蟲類)、*Peltamigratus* sp. 與*Scutellonema* sp (螺旋線蟲類)。刺線蟲數在生長培養基中比在陰性對照組(水)中增加5%，在H492與阿佛菌素中則比在陰性對照組水中分別減少10%與14%。

【00255】 *Peltamigratus* sp. 數在培養基、H492與阿佛菌素中分別比對照組(水)減少32%、26%及88%。相較於陰性對照組(水)，*Scutellonema* sp. 數在生長培養基處理中無變化，但在H492與阿佛菌素中分別減少18%及75%。試驗中可看出矛線蟲類之處理差異。矛線蟲數在培養基、H492與阿佛菌素中分別比水對照組減少35%、28%及69%。

【00256】 範例3:黃桿菌H492 WCB全細胞培養液對根結線蟲類(RKN, *Meloidogyne incognita*)、腎形線蟲類(*Rotylenchulus reniformis*)、根腐線蟲類(*Pratylenchus* spp.)與大豆包囊線蟲類(SCN, *Heterodera glycines*)之線蟲光譜測試效應及莖土讓浸潤後對植物生長與活力之影響

【00257】 對各線蟲之效用試驗包含將以下三種土壤澆灌處理重複七次：(1)處理1：陰性對照組(100 ml水)；(2)處理2：陽性對照組(於100 ml最終量中之Vapam標記率)；以及(3)處理3：黃桿菌H492 全細胞培養

液（WCB，每次用100 ml，兩次之間間隔一週）。

【00258】 將1000克受根結線蟲（RKN）、腎形線蟲及根腐線蟲侵擾之田間土壤，及1000克無菌但以1ml水接種1100-1200顆大豆包囊線蟲卵之土壤分別放入PVC圓柱盆中。以三種處理物澆灌土壤，方法為將該材料緩慢均勻倒於盆中土壤表面。施用處理物前先略為按壓土壤使表面平整。澆灌後，先將盆子以橡皮筋封起後罩上2 密爾（即0.002英吋）厚外袋。第一次澆灌一週後再次以黃桿菌H492 WCB對土壤進行二次澆灌。將所有盆栽放置於溫室工作檯上，直到最後施用後一週。種植前，取出100 ml土壤樣本以貝爾曼漏斗法萃取線蟲，包括植物寄生線蟲、雜食線蟲（亦即 *Dorylaimus* spp.）及其他非寄生於植物之線蟲類。

【00259】 各盆中種植對應試驗作物。RKN與腎形線蟲類對應種植黃瓜籽；根腐線蟲類對應種植玉米；SCN對應種植大豆。

【00260】 將每種作物各取五顆種子種植於盆中。以隨機完全區集設計將盆栽放回溫室中，重複七次以培養該作物，直到最終收穫並取樣為止。種植後十天計算植物數量。將實驗盆栽於該溫室下分別培養5週（RKN、腎形線蟲和根腐線蟲類）及7週（SCN）。

【00261】 培養期間，亦監控植物生長與活力，觀察黃桿菌H492相較於陰性與陽性對照組是否有改善植物健康之跡象。測量以下參數：(a) 每盆植物數；(b) 最終採樣時每100 ml土壤中之線蟲數，包括植物寄生，*Dorylaimus* spp.與非寄生線蟲類，採用貝爾曼漏斗法（Dinaburg，1942年）；(c) 最終採樣時全根部線蟲數；(d) 芽高（公分）；(e) 鮮芽重（克）；鮮根重（克）；(h) 以主觀標準1至5分評比植物活力，1分表示植物活力差，

特色為植物生長差且葉片較薄呈淡綠色，而5分表示植物活力最佳，特色為植物生長健康且葉片深綠；(i) 以主觀標準1至5分評比根部健康，1分表示根部健康最差，根部色澤黯淡不健康且分支狀況不佳，而5分為健康亮白纖維狀根部，無暗沉腐壞現象；(j) 根瘤指數（Bridge與Page，1980年；0至10分表）及總RKN結瘤數；以及(k) SCN囊胞數。

【00262】 利用農業研究管理（ARM）程式分析資料，當有活性存在時以 $P=0.05$ 之區分程度評估結果。整體而言，相較於水對照組，黃桿菌H492在受線蟲侵擾之田間土壤測試中可降低腎形線蟲及根結線蟲對黃瓜之損害，亦可降低根腐線蟲對於玉米之損害，同時提高植物生物量與植物活力，包括植物高度、頂重、根重、根部健康與植物活力。黃桿菌H492對植物地表部分之加強效應優於土壤燻蒸劑 Vapam，而其維護根部健康之作用與Vapam相同。

【00263】 相較於水對照組，黃桿菌H492大幅減少全根部之SCN線蟲數。以下將針對各線蟲之結果加以說明。

【00264】 於RKN測試中（見圖5-9），黃桿菌H492相較於水對照組大幅減少100 ml土壤中根結線蟲數、全根部根結線蟲數、每克根部根結線蟲數、根瘤指數及總結瘤數，且其功效與Vapam相同（見圖8）。相較於水對照組與Vapam，MBI-302（黃桿菌H492）使得100 ml土壤中Dorylaimus spp.之數量，及100 ml土壤中與全根部中非寄生線蟲類大幅增加（見圖5與6）。MBI-302（黃桿菌H492）相較於水與Vapam，大幅提升植物高度、頂重、根重、根部健康（見圖9）。

【00265】 於腎形線蟲測試中，MBI-302（黃桿菌屬 H492）相較於水

對照組大幅減少100 ml土壤中之腎形線蟲數、全根部腎形線蟲數與每克根部腎形線蟲數（見圖10）。相較於水對照組，黃桿菌H492對100 ml土壤中 *Dorylaimus* spp.數量並無影響（見圖10）。黃桿菌H492大幅提高100 ml土壤中非寄生線蟲數量與全根部非寄生線蟲數量（見圖10），但相較於水對照組卻大幅減少每克根部中非寄生線蟲數量（見圖11與12）。相較於水及Vapam，黃桿菌H492大幅增加植物高度、頂重與植物活力（圖13）。植物根重與根部健康相較於水對照組大幅提升，但與Vapam相同（圖13）。

【00266】 於根腐線蟲測試中，相較於水對照組，黃桿菌H492大幅增加單一植物寄生線蟲類之數量，即 *Pratylenchus* spp（根腐線蟲類）；但並未減少另兩種寄生線蟲類 *Helicotylenchulus* spp.（螺旋線蟲類）與 *Paratrichodorus* spp.（stubby根部線蟲類）於100 ml土壤中之數量（見圖14）。相較於水對照組，全玉米根部與每克玉米根部中根腐線蟲、螺旋線蟲及粗短根線蟲之數量大幅降低（見圖15及16）。相較於水對照組，黃桿菌H492使得100 ml土壤中非寄生線蟲數大幅增加。相較於水及Vapam，黃桿菌H492使得植物高度、頂重及植物活力大幅提高（見圖17）。且黃桿菌H492 相較於水對照組可大幅增加植物根重並促進根部健康（見圖17）。

【00267】 黃桿菌H492相較於水對照組可大幅減少全根部SCN數量，但效果與Vapam相同（見圖18）。黃桿菌H492較水及Vapam都更能夠大幅提升100 ml土壤中及全根部非寄生線蟲數量（見圖19）。

【00268】 範例5：自黃桿菌H492萃取化合物

【00269】 以下程序係用於純化萃取自黃桿菌H492培養物之化合物（見圖20）：

【00270】 用Amberlite XAD-7 樹脂萃取10-L 發酵之黃桿菌 V-8- 培養液 (Asolkar等人, 2006年), 方法為將該細胞懸浮液與樹脂在室溫下以225 rpm之轉速搖動兩小時。以紗布濾得樹脂與細胞團, 並用取離子水洗去鹽。而後將樹脂和細胞團連同紗布浸泡於丙酮/甲醇 (50/50) 中2小時, 接著濾去丙酮/甲醇, 並在真空下利用旋轉蒸發器進行乾燥, 藉此取得粗萃取物。繼而利用逆相C18真空液態層析法 (H₂O/CH₃OH; 梯度90:20至0:100%) 將粗萃取物分成六部分 (圖20)。

【00271】 利用旋轉蒸發器將這些部分濃縮至乾燥, 並利用南方根結線蟲 (*Meloidogyne incognita*) 及北方根結線蟲 (*M. hapla*) 就結果之乾殘餘物進行生物活性判定。以逆相HPLC (Spectra System P4000 (Thermo Scientific)) 處理活性部分以獲得純化合物, 並用純化合物進行上刺生物檢測, 以確認該活性化合物之位置及成分。為確認該化合物之身分, 並記錄如LC/MS及NMR等其他分光資料。

【00272】 從部份3取得殺線蟲活性化合物 1-(4-羥基苯基) 1-戊烯-3-酮 (**1**) (見圖22)。

【00273】 化合物之純化

【00274】 利用一以水與乙腈調製之梯度溶劑系統 (0-10分鐘80-75 % 乙腈水溶液; 10-45分鐘75-60 % 乙腈水溶液; 45-55分鐘60-50 % 乙腈水溶液; 55-65分鐘50-100 % 乙腈水溶液; 65-70分鐘100 % CH₃CN; 55-70分鐘0-80 % 乙腈水溶液), 設定為2.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測, 於一逆相C-18 HPLC (Phenomenex, Luna 10 μ C18 (2) 100 A, 250 x 10 mm) 柱所進行1-(4-羥基苯基) 1-戊烯-3-酮 (**1**) 之純化。活性化合物1-(4-羥基苯

基) 1-戊烯-3-酮(1)之滯留時間為60.81分鐘。

【00275】 化合物之質譜分析

【00276】 在Thermo Finnigan LCQ DECA XP^{Plus} 電噴灑 (ESI) 儀器之 LCQ DECA XP^{Plus} 質譜儀 (美國加州聖瓊斯Thermo Electron Corp.) 上利用全掃描模式中之陽性及陰性離子化模式 (m/z 100-1500 Da) 進行活性峰值之質譜分析。所用高效液相色譜層析 (HPLC) 儀配備有Finnigan Surveyor PDA外加偵測器、自動採樣器、MS 泵以及4.6 mm x 100 mm Luna C18 5 μ 100A柱 (Phenomenex)。所述溶劑系統由水 (溶劑A) 與乙腈 (溶劑B) 所構成。移動相開始時為10%溶劑B, 且於20分鐘間線性增加至100%溶劑B, 並維持4分鐘, 最終於3分鐘間回到10%溶劑B, 並維持3分鐘。流速為0.5 mL/min。注射量為10 μ L, 且將樣本存放於室溫之自動採樣器中。化合物1 在此條件下之滯留時間為11.31分鐘。利用LC及逆相層析法以LC-MS分析化合物。本案化合物之質譜分析係於以下條件下進行: 噴霧氣及輔助氣之氮流速分別固定為30及15 arb。進行電噴灑離子化, 採用之噴灑電壓為 5000 V 且毛細電壓為35.0 V。毛細溫度設定為400°C。以Xcalibur軟體分析資料。1-(4-羥基苯基)1-戊烯-3-酮(1)在陰性離子化模式中之分子質量為175.35。

【00277】 化合物之NMR光譜分析

【00278】 以Bruker 600 MHz 梯度場光譜儀測量NMR-NMR光譜。

【00279】 參考值設定於內部標準四甲基矽烷 (TMS, 0.00 ppm)。

【00280】 為說明結構, 將經純化後分子量 176之1-(4-羥基苯基) 1-戊烯-3-酮(1)(見圖21, 標示為處理 H29) 利用600 MHz NMR儀器進一步分析, ¹H NMR δ 值為7.60, 7.52, 6.83, 6.68, 2.74, 1.14且¹³C NMR值為203.96,

161.90, 131.78, 131.78, 145.11, 127.28, 123.83, 117.24, 117.24, 34.52, 8.89。分離出之活性化合物為淡黃色固體，紫外線吸收於232與318 nm，以ESI質譜分析是否符合分子式 $C_{11}H_{12}O_2$ （6種不飽和程度）。其 ^1H NMR光譜展現訊號一對反式耦合 α , β - 不飽和烯烴質子（ δ 7.60與6.68，各1H, d, $J = 16.7$ Hz）連同 A_2B_2 類芳香訊號於 δ 7.52, 2H d, $J = 8.5$ Hz及6.83, 2H d, $J = 8.5$ Hz。

【00281】此外，該 ^1H NMR光譜顯示其含有 $-CH_2-CH_3$ 基團，於 δ 2.74, 2H, q, $J = 7.3$ Hz，及1.14, 3H, t, $J = 7.3$ Hz。依據上述光譜資料分析，將此芳香聚酮化合物之結構設定為1-(4-羥基苯基)1-戊烯-3-酮，經COSY、HMQC及HMBC實驗之詳細分析後確認。相關文獻研究顯示此化合物為非天然 C_5 - C_6 芳香聚酮化合物，經植物類III 聚酮化合物合成之酵素反應而形成（Abe等人，2002年）。利用*M. incognita*與*M. hapla*針對部分3（F3）進行體外試驗以確認化合物效力。

【00282】 尋找黃桿菌萃取物活性部分之體外試驗

【00283】經上述液相層析將粗萃取物分為若干部分後，將之溶解於二甲基亞砜（DMSO）中。待萃取物部分成為液態後，將之置於96孔塑膠細胞培養盤中進行體外試驗，以鑑別包含所需活性代謝物之部分。在此，使含15-20隻線蟲之50 μ l 水溶液在25°C 下接觸100 μ l之4 mg/ml 部分濃縮物24小時。待培養時間結束後，目視判斷各孔中經H492之1至6部分處理後之J2移動性，並記錄結果，各處理均重複四次。圖22，顯示H492之1至6部分與粗萃取物（CE）在兩種不同96孔盤生物檢測中之檢測結果。各試驗均包含三種對照組；一陽性對照組（1% 阿佛菌素）及二陰性對照組（DMSO及水）。試驗 1（T1）以自由活線蟲進行，將萃取物部分溶解於100% DMSO中，而

試驗 2 (T2) 以 *M. hapla* 線蟲進行，將萃取物部分溶解於 50% DMSO (50% DMSO: 50% 水) 中。

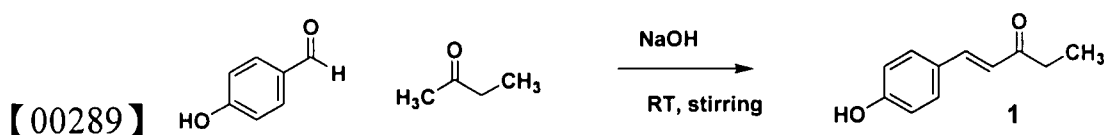
【00284】 於黃桿菌萃取物部分3中尋找活性化合物之體外試驗

【00285】 一旦完成部分3之純化，且所有目標峰值/化合物均如上述收集後，以96孔塑膠細胞培養盤萃取物生物檢測就各峰值進行體外試驗測試，以鑑別包含所需活性代謝物之高峰位置。

【00286】 使含15-20隻線蟲之50 μ l水溶液在25°C下接觸3 μ l之20 mg/ml峰值濃縮物 (1.13 mg/ml 總接觸) 24小時。待培養時間結束後，目視判斷並記錄各孔中經H492 純化H1至H39高峰處理後之J2其固定性，加上取自部分3之H29-A，各處理之測試均進行四次。各試驗均包含三種對照組；一陽性對照組 (1% 阿佛菌素) 及二陰性對照組 (DMSO及水)。試驗 1 (T1) 以 *M. hapla* 進行，方法如上述，試驗 2與3 (T2與T3) 以 *M. incognita* 進行，使用後者方法 (圖22)。

【00287】 範例6：藉由合成確認天然產物之結構

【00288】 該活性殺線蟲化合物1之結構指定主要是以光譜資料之分析結果為依據 (^1H 、 ^{13}C 及2D NMR與MS)。現利用簡短簡易之一步合成確認此指定結構 (Kad等人, 1998年)。該 ^1H 、 ^{13}C NMR、MS 光譜與HPLC上留滯時間確實與自黃桿菌分離而出之天然產物相符。



【00290】 1-(4-羥基苯基) 1-戊烯-3-酮 (1) 之合成：

【00291】 在以4-羥基安息香醛 (250 mg, 2.04 mmol) 與10% NaOH (5

mL) 所調製之溶液中於25 °C加入2-丁酮 (1.12 mL, 12 mmol), 而後留10% NaOH 溶液 (7 mL) 在圓形燒瓶中, 並在室溫下攪拌約90分鐘。用10% HCl 溶液酸化反應混合物, 再用乙基醋酸鹽 (2 X 200 mL) 進行萃取。使結合之有機萃取物乾燥並蒸發, 以取得粗產物。接著利用矽膠柱層析法將此粗產物純化, 取得150 mg之化合物1。其光譜資料完全符合上述天然產物。

【00292】聚酮化合物1 (MW 176) 控制線蟲之測試

【00293】合成聚酮化合物MW176之劑量反應 % 固定性

【00294】就合成聚酮化合物 (MW 176) 之不同劑量進行6孔盤固定性生物檢測 (測試濃度為DMSO 中0.14、0.28、0.42、0.56、0.84、1.13、1.69 mg/mL之聚酮化合物), 以找出可測得此化合物殺線蟲活性之最佳劑量。於此檢測中, 先於96孔盤使M. incognita (Monsanto 品種) 之線蟲幼體 (J2) 接受測試樣本處理: 將含有約300隻 J2 之50 µl水分別與3 µl之聚酮化合物樣本及對照組混合 (阿佛菌素 (2%) 為陽性對照組, DMSO與水為陰性對照組)。經24小時培養後, 將各孔中20 µl之J2懸浮液移入其孔裝有水瓊脂培養基 (每孔3 mL之1% 瓊脂) 之6孔盤中。將培養盤不加蓋放置10-15分鐘, 待溶液乾燥。之後, 在J2懸浮液周圍化圈標記, 並在立體顯微鏡下計算圈中之初始 J2數目。將培養盤繼續培養24小時, 而後利用立體顯微鏡計算保持不動之J2數量 (亦即仍待在初始圓圈範圍內者)。線蟲固定性百分比表達方式為: $[(24\text{小時培養後不可動線蟲數}/\text{初始J2數量}) * 100\%]$ 。圖23之資料顯示為達成良好殺線蟲活性, 所需之最佳範圍為 $\geq 0.5\text{mg/mL}$ 。

【00295】線蟲防治盆栽測試中之聚酮化合物1 (MW 176 化合物) 測試

【00296】 在室溫下進行南方根結線蟲於番茄 (cv. UC82) 宿主中之錐體測試，以進一步評估聚酮化合物1 (MW 176化合物) 對根結線蟲之滅殺活性。使番茄種子於蛭石上發芽，而後將三週大之幼株移至裝有沙土 (1:1) 混合柱之錐瓶中。移植後兩週，以樣本處理番茄植株。聚酮化合物 (MW 176) 在V-8培養基中之產率為約1 mg/mL，故以該活性化合物之分離產率做為聚酮化合物之測試計算依據。以4% 甲醇 (MeOH) 製備不同聚酮化合物濃度 (100, 10, 1及0.1 $\mu\text{g/mL}$) 之溶液，並分劑為10 mL土壤處理藥劑，澆灌入各植栽盆中。每種處理重複五份。澆灌後，將懸浮於1mL水中之1000顆線蟲卵接種於每一盆栽中。兩週後再次施以同樣測試產品劑量。三週之後，該停止接種試驗，並評估以下參數：每一根中之結瘤數、根瘤指數與鮮頂重。

【00297】 聚酮化合物1對每一根部所含結瘤數、根瘤指數與鮮頂重之影響結果示於圖24-26。

【00298】 實驗結果顯示：

【00299】 •在第一組測試中，相較於水對照組，0.001與0.01 mg/ml之聚酮化合物大幅減少根瘤指數與每根部之結瘤數。

【00300】 •相較於水對照組，0.1 mg/ml之聚酮化合物僅在第一組測試中大幅減少根瘤指數，且在第二組測試中所有受測稀釋。

【00301】 •在第一組測試中，聚酮化合物中做為溶劑之4%甲醇不會對番茄 (cv. UC82) 造成植物毒性，亦不會減少線蟲之損害；而在第二組測試中，3%甲醇可降低根瘤指數，而不致產生植物毒性效應。

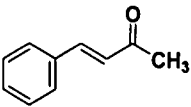
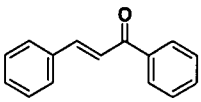
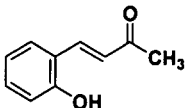
【00302】 結構與活性之關係 (SAR)

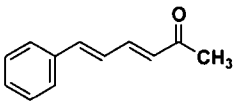
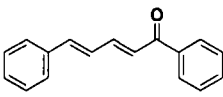
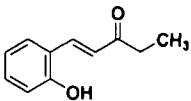
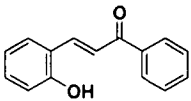
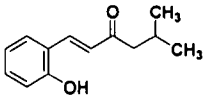
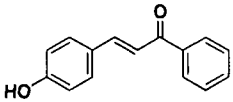
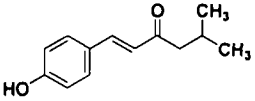
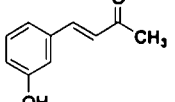
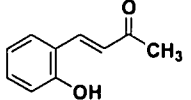
【00303】 為快速得知1- (4-羥基苯基) 1-戊烯-3-酮 (1) 分子 (聚酮

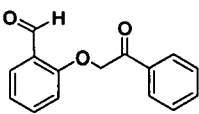
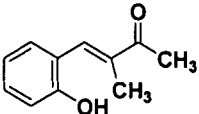
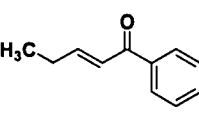
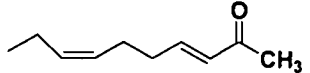
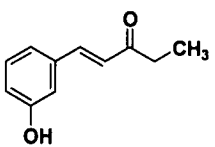
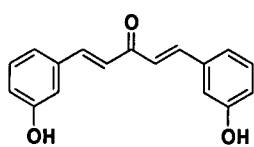
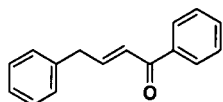
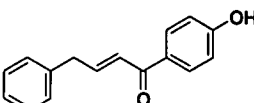
化合物）中係由哪一部分主宰殺線蟲活性，合成一系列結構類似物，並利用移動性測試進行評估。此生物檢測之目的在於透過測量經特定化合物處理後線蟲之恢復及移動性而區分效果差異，測試中每種處理均重複六次。此生物檢測包含以下程序：將50μl之約300隻J2分散為3μL（20mg/ml）樣本置入96孔塑膠細胞培養物盤中。24小時後，將100-150隻經處理J2搬移至裝有1.5%水瓊脂培養基之6孔盤中。待測試樣本於瓊脂上乾燥後，標記J2之初始滴點及初始計數。再過24小時恢復期，計算從初始範圍移出之J2數量，並計算六次重複測量平均值，藉此得出各樣本固定性百分比，從而判定幼體固定性。

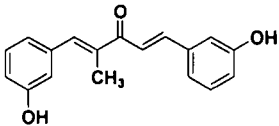
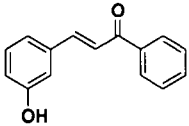
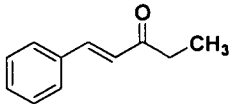
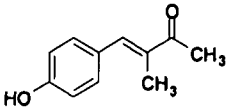
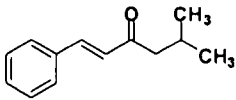
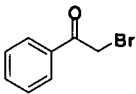
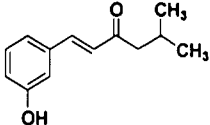
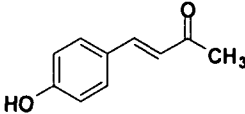
【00304】 結果彙整於表12。

【00305】 表12利用移動性生物檢測確認聚酮化合物1各種合成類似物之殺線蟲活性。

樣本	化合物 ID	平均% 固定性
SAR-1	 (E) -4-苯基-3-丁烯-2-酮	99
SAR-2	 查耳酮	4
SAR-3	 (E) -4-（2-羟基苯基）-3-丁烯-2-酮	95

SAR-4	 (3E,5E) -6-苯基-3,5-己二烯-2-酮	97
SAR-5	 (2E,4E) -1,5-二苯基-2,4-戊二烯-1-酮	98
SAR-6	 (E) -1-(2-羟基苯基) -1-戊烯-3-酮	98
SAR-7	 (E) -3-(2-羟基苯基) -1-苯基-2-丙烯-1-酮	99
SAR-8	 (E) -1-(2-羟基苯基) -5-甲基-1-己烯-3-酮	100
SAR-9	 (E) -3-(4-羟基苯基) -1-苯基-2-丙烯-1-酮	100
SAR-10	 (E) -1-(4-羟基苯基) -5-甲基-1-己烯-3-酮	96
SAR-11	 (E) -4-(3-羟基苯基) -3-丁烯-2-酮	99
SAR-12		99

	(E) -4- (2-羟基苯基) -3-丁烯-2-酮	
SAR-13	 2- (2'-苯基-2-氧代乙氧基) 安息香醛	74
SAR-14	 (E) -4- (2-羟基苯基) -3-甲基-3-丁烯-2-酮	97
SAR-15	 (E) -1-苯基-2-戊烯-1-酮	20
SAR-16	 (3E,7Z) -3,7-癸二烯-2-酮	94
SAR-17	 (E) -4- (3-羟基苯基) -3-丁烯-2-酮	98
SAR-18	 (1E,4E) -1,5-雙 (3-羟基苯基) -1,4-戊二烯-3-酮	23
SAR-19	 (E) -1,4-二苯基-2-丁烯-1-酮	64
SAR-20	 (E) -1- (4-羟基苯基) -4-苯基-2-丁烯-1-酮	28

SAR-21	 (1E,4E)-1,5-雙(3-羥基苯基)-2-甲基-1,4-戊二烯-3-酮	12
SAR-22	 (E)-3-(3-羥基苯基)-1-苯基-2-丙烯-1-酮	70
SAR-23	 (E)-1-苯基-1-戊烯-3-酮	80
SAR-24	 (E)-4-(4-羥基苯基)-3-甲基-3-丁烯-2-酮	80
SAR-25	 (E)-5-甲基-1-苯基-1-己烯-3-酮	79
SAR-26	 2-溴-1-苯基乙酮	50
SAR-27	 (E)-1-(3-羥基苯基)-5-甲基-1-己烯-3-酮	78
SAR-28	 (E)-4-(4-羥基苯基)-3-丁烯-2-酮	78

SAR-29	3-羥基安息香醛	70
SAR-30	4-羥基安息香醛	58
SAR-31	2-羥基安息香醛	58
SAR-32	安息香醛	65
SAR-33	γ -十二內酯	63
SAR-34	γ -辛內酯	21
SAR-35	2-辛酮	33
SAR-36	2-庚酮	21
SAR-37	2-十一酮	67
SAR-38	順-4-庚烯醛	215
SAR-39	4-甲基-2-戊酮	54
SAR-40	異-丁醛	79
SAR-41	4-羥基-4-甲基戊酮	21
SAR-42	o-茴香醛	8
SAR-43	2-丁酮	21
DMSO		9
水		8
阿佛菌素		99

【00306】 抗微生物活性

【00307】 利用瓊脂碟試驗檢測純1-(4-羥基苯基)1-戊烯-3-酮(1)「聚酮化合物MW 176」對各種微生物病原體之活性。化合物1對*Erwinia amylovora*展現強大活性，而對*Bacillus cereus*、*Xanthomonas campestris*及*Avidovorax avenae* subsp. *Citrulli*之活性則屬普通。

【00308】 本發明可在不脫離其精神或必要特徵之前提下以其他形式實現或以其他方式實施。因此本說明書中之揭露於任何方面均僅屬說明性質而非限制性質，且所有落於本發明均等含義或範疇內之變化均應屬於本發明之範圍。

【00309】 本說明書中所提及之各參考文獻其整體於此合併參照。

【符號說明】

【00310】 無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

美國、NRRL、2011年10月14日、NRRL B-50584

【序列表】(請換頁單獨記載)

FD1 序列 (SEQ ID NO:3) :

GCTTACCATGCAGTCGAGGGGTAGAATTCTTCGGAATTTGAGACCGGC
GCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTGCCTTTCACAGAGGGATAGC
CCAGAGAAATTTGGATTAATACCTCATAGTATTATGGAGTGGCATCACT
TTATAATTAAAGTCACAACGGTGAAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGC
TAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCGACGATGGGTAGGGGTCC
TGAGAGGGAGATCCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTTA
TACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTG
AACCAGCCATGCCGCGTGCAAGGATGACGGTCCTATGGATTGTAACTG
CTTTTGTACGAGAAGAAACACCTCTACGTGTAGAGACTTGACGGTATC
GTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG
GAGGATCCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCTGTAGG
CGGTCTAGTAAGTCAGTGGTGAAAGCCCATCGCTCAACGGTGGAACG
GCCATTGATACTGCTGGACTTGAATTATTAGGAAGTAACTAGAATATGT
AGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAATTGCGAA
GGCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGT
AGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGAT
ACTAGCTGTTGGGCGCAAGTTCAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTA
TCCCACCTGGGGAGTACGGGCGCAAGCCTGAAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGATAC
GCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGTAGTTTGACCGATTTGGAAAC
AGATCTTTCGCAAGACAAATTACAAGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCT
CGTGCCGTGAGGTGTCAGTTAAGTCCTATACGAGCGCAACCCCTGTGT

AGTGCAGCGATTTCGGTCGGACTCTAGCAGACTGCAGTGCAACTGTGA
GAAGGTGGGATGACGTCGATCATCACGCCTTACGCTGGCTACCACGTG
CTACATGACGTACGAGGACGCTACCTCGCTAGGGCGAGGATCTTTAAG
CCGGTCCACGTTCGAATCGGGAA

RD1 序列 (SEQ ID NO:4) :

NNNNNNGNNNNTGTTACGACTTAGCCCTAGTTACCAGTTTTACCCTAG
GCAGCTCCTTGCGGTCACCGACTTCAGGCACCCCCAGCTTCCATGGCT
TGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGGATCATG
GCTGATATCCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGGAGTCGAGTTGCA
GACTCCGATCCGAACGTGTGACCGGCTTTATAGATTCGCTCCCCCTCGC
GAGGTGGCTGCTCTCTGTACCGGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAA
GGCGTAAGGGCCGTGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCACAGT
TTGCACTGGCAGTCTTGTTAGAGTTCCCGACCGAATCGCTGGCAACTA
ACAACAGGGGGTTGCGCTCGTTATAGGACTTAACCTGACACCTCACGG
CACGAGCTGACGACAACCATGCAGCACCTTGTAATTTGTCTTGCGAA
AGATCTGTTTCCAAATCGGTCAAACCTACATTTAAGCCTTGGTAAGGTT
CCTCGCGTATCATCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGC
CCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGGCTTGCGCCCGTACTCCCCAGGT
GGGATACTTATCACTTTCGCTTAGCCACTGAACTTGCGCCCAACAGCT
AGTATCCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCG
CTACCCACGCTTTCGTCCATCAGCGTCAATCCATTAGTAGTAACCTGCC
TTCGCAATTGGTATTCCATGTAATCTCTAAGCATTTACCGCTACACTA
CATATTCTAGTTACTTCCTAATAATTCAAGTCCAGCAGTATCAATGGCC

GTTCCACCGTTGAGCGATGGGCTTTCACCACTGACTTACTAGACCGCC
TACAGACCCTTTAAACCCAATGATTCCNGATAACGCTTGGATCCTCCGT
ATTACCGCGGCTGCTGGCACGGANTTAGCCGATCCTTANNCTTACGAT
ACCGTCAGTCTCTACACGTAGAGNGTTNNTCTCGTACAAAAGCAGCTT
ACATCCATAGGACGTCATCNGCNNGCNCNCATGGCTNNNNNNNANTGCN
NCATGACNNNTTCNTCANNGCTGCNNCGNANGANNTGNCNNGNCTC
NNNCAGTNNGNGNNNCTCCCNNNNAGNACNNNCNNNGTNGNNNNN
NNANNNNNNNCCCTNACNAACNANNNTTNAAGNGGNA N

相同序列（SEQ ID NO:5）：

GCTTACCATGCAGTCGAGGGGTAGAATTCTTCGGAATTTGAGACCGGC
GCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTGCCTTTCACAGAGGGATAGC
CCAGAGAAATTTGGATTAATACCTCATAGTATTATGGAGTGGCATCACT
TTATAATTAAAGTCACAACGGTGAAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGC
TAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCGACGATGGGTAGGGGTCC
TGAGAGGGAGATCCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTTA
TACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGA
ACCAGCCATGCCGCGTGCAGGATGACGGTCCTATGGATTGTAAACTGC
TTTTGTACGAGAAGAAACACCTCTACGTGTAGAGACTTGACGGTATCG
TAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG
AGGATCCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCTGTAGGC
GGTCTAGTAAGTCAGTGGTGAAAGCCCATCGCTCAACGGTGGAACGG
CCATTGATACTGCTGGACTTGAATTATTAGGAAGTAACTAGAATATGTA
GTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAATTGCGAAG

GCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTA
GCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATA
CTAGCTGTTGGGCGCAAGTTCAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATC
CCACCTGGGGAGTACGGGCGCAAGCCTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGATACG
CGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGTAGTTTGACCGATTTGGAAACA
GATCTTTCGCAAGACAAATTACAAGGTGCTGTCATGGTTGTCGTCAGCT
CGTGCCGTGAGGTGTCAGGTTAAGTCCTATAACGAGCGCAACCCCTGT
TGTTAGTTGCCAGCGATTCGGTCGGGAACTCTAACAAGACTGCCAGT
GCAAACCTGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTT
ACGCCTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAGAGAGCAGC
CACCTCGCGAGGGGGAGCGAATCTATAAAGCCGGTCACAGTTCGGAT
CGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGG
ATATCAGCCATGATCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTGCCTGAAGTCGGTGACCGCAA
GGAGCTGCC TAGGGTAAAACCTGGTAACTAGGGCTAA

参考文献

- Abe, I., Takahashi, Y., Noguchi, H. (2002) , “Enzymatic formation of an unnatural C6-C5 aromatic polyketide by plant type III polyketide synthases”, *Org. Lett.* 4, 3623-3626.
- Asolkar, R. N., Jensen, P. R., Kauffman, C. A., Fenical, W. (2006) , Daryamides A-C, “Weakly Cytotoxic Polyketides from a Marine-Derived Actinomycete of the Genus *Streptomyces* strain CNQ-085”, *J. Nat. Prod.* 69:1756-1759.
- Arena, J. P., Liu, K. K. et al. (1995) , "The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans* - correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding and biological activity", *Journal of Parasitology* 81: 286-294.
- Aspelin, A. L. , Grube, A. H. (1999) . *Pesticides Industry Sales and Usage, 1996 a 1997*. U. S. E. P. Agency. Publication 733 - R-99-001.
- Bakhetia, M., Charlton, W. et al. (2005) . "RNA interference of dual oxidase in the plant nematode *Meloidogyne incognita*", *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18: 1099-1106.
- Barnsley, E. A. (1988) , “Metabolism of 2,6-dimethylnaphthalene by *Flavobacteria*”, *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 428-433.
- Bernardet, J.-F. and Nakagawa, Y. (2006a) , “An introduction to the Family *Flavobacteriaceae*”, *Prokaryotes* 7:455-480.
- Bernardet, J.-F. and Bowman, J. (2006b) , “The Genus *Flavobacterium*”, *Prokaryotes* 7:481-531.
- Bodour, A.A. Guerrero-Barajas, C Beth V. Jiorle, B.V., Malcomson, M.E., Paull,

A.K., Somogyi, A., Trinh, L.N, Bates, R.B.and Maier, R.M. (2004) "Structure and Characterization of Flavolipids, a Novel Class of Biosurfactants Produced by *Flavobacterium* sp. Strain MTN11", *Appl. Environ. Microbiol.* 70:114.

Bridge, J. & Page, S.L.J. 1980. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical Pest Management.* 26(3): 296-298.

Cashion P, Holderfranklin MA, McCully J, Franklin M. 1977. RAPID METHOD FOR BASE RATIO DETERMINATION OF BACTERIAL DNA. *Analytical Biochemistry* 81:461-466.

Chalvet-Monfray, K., P. Sabatier, et al. (1996) , "Synergy between deltamethrin and prochloraz in bees: Modeling approach", *Environmental Toxicology and Chemistry*", 15 (4) : 525-534.

Chitwood, D. J.(2003) . Nematicides. *Encyclopedia of Agrochemicals* , vol 3. J. R. Plimmer. New York, John Wiley & Sons. 3: 1104-1115.

Chitwood, D. J.(2002) . "Phytochemical based strategies for nematode control", *Annual Review of Phytopathology* 40: 221-249.

Colby, S. R. (1967) , "Calculating Synergistic and Antagonistic Responses of Herbicide Combinations", *Weeds* 15 (1) : 20-22.

Deley J, Cattoir H, Reynaert.A. 1970. Quantitative measurement of dna hybridization from renaturation rates. *European Journal of Biochemistry* 12:133.

Dinaburg, A.G. 1942. "The efficiency of the Baermann apparatus in the recovery of *Haemonchus contortus*", *J. Parasitol.* 28:433-440.

Dickschat J. S., Helmke, E., Schulz, S. (2005) , "Volatile organic compounds from arctic bacteria of the *Cytophaga-Flavobacterium-bacteroides* group: A

Retrobiosynthetic approach in chemotaxonomic investigations", *Chemistry & Biodiversity* 2: 318-353.

Dong, L.Q. and Zhang, K.Q. (2006) "Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction". *Plant Soil* 288: 31-45.

Farenhorst, M., B. and Knols, G. J. et al. (2010), "Synergy in Efficacy of Fungal Entomopathogens and Permethrin against West African Insecticide-Resistant *Anopheles gambiae* Mosquitoes." *PLoS ONE* 5 (8) : e12081.

Ferezou, J-P., and Julia, M. (1985) , "Biomimetic synthesis of bacterial C50 carotenoids decaprenoxanthin and C.P. 450", *Tetrahedron* 41: 1277- 1287.

Francis, G. W., Hertzberg, S., Andexsen, K., Liaaen-Jensen, S. (1970) , "New carotenoid glycosides from *Oscillatoria limosa*", *Phytochemistry* 9:629-635.

Hallman, J. and Sikora, R.A. (1996) . "Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant-parasitic nematodes and soil-borne pathogens", *Journal of Plant Pathology* 102: 155-162.

Hasky-Gunther, K., Hoffman-Hergarter, S. et al. (1998) . "Resistance against potato cyst nematode *Globodera pallida* systemically induced by the rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus spaericus* (B43)

" *Fundamentals of Applied Nematology* 21: 30 511-517.

Hummelbrunner, L. A. and Isman, M. B.(2001) . "Acute, Sublethal, Antifeedant, and Synergistic Effects of Monoterpenoid Essential Oil Compounds on the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura*(Lep., Noctuidae)," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2) : 715-720.

Huss et al.. 1983. Studies on the spectrophotometric determination of dna

hybridization from renaturation rates. *Systematic and Applied Microbiology* 4:184-192.

Jaffee, B. A. and Muldoon, A. E. (1995) . "Susceptibility of root-knot and cyst nematodes to the nematode-trapping fungi *Monocrosporium ellipsosporum* and *M. cionopagum*." *Soil Biology and Biochemistry* 27: 1983-1090.

Kad, G. L.; Singh, V.; Khurana, A.; Singh, J. (1998) . The Synthesis of Phycopsisenone, a New Phenolic Secondary Metabolite from the Sponge *Phycopsis* sp. *J. Nat. Prod.* 1998, 61, 297-298.

Kamiyama, T., Umino, T., Satoh, T., Sawairi, S., Shirane, M., Ohshima, S., Yokose, K., (1995) . "Sulfobacins A & B, novel von Willebrand factor receptor antagonists I. production, isolation, characterization and biological activities", *J. Antibiot.*, 48: 924-928.

Kaplan, C. W. and Kitts, C.L. 2004. Bacterial Succession in a petroleum land treatment unit. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:1777-1786

Kato, H., Haishima, Y., Iida, T., Tanaka, A., Tanamoto, K., (1998) , "Chemical structure of lipid A isolated from *Flavobacterium meningosepticum* lipopolysaccharide", *J. Bact.* 180:3891-3899.

Kerry, B. R. (2001) . Exploitation of the nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential.* T. M. Butt, C. Jackson and N. Magan. New York, CAB International: 155-168.

Kim, O.S., Cho, Y.J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim, M., Na, H., Park, S.C., Jeon,

Y.S., Lee, J.H., Yi, H., Won, S., Chun, J. (2012) . Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol* 62, 716–721.

Kirkegaard, J. A. and Sarwar, M.(1998). "Biofumigation potential of brassicas", *Plant 30 and Soil* 201: 71-89.

Kobayashi, J., Mikami, S., Shigemori, I., Iakaoa, I., Shimonishia, Y., Izutah, S., Yoshidab, S., (1995) , "Flavocristamides A and B, new DNA polymerase α inhibitors from a marine bacterium", *Flavobacterium* sp., *Tetrahedron*, 51: 10487-10490.

Koenning, S. R., Overstreet, C. et al. (1999) . "Survey of crop losses in response to phytoparasitic nematodes in the United States for 1994." *Journal of Nematology* 31: 587-618.

Kokalis-Burelle, N. and Rodriquez-Kabana, R. (2006) . Allelochemicals as biopesticides for management of plant-parasitic nematodes. *Allelochemicals: Biological Control of Plant Pathogens and Diseases*. I. Mukerji and K. G. Mukerji. Netherlands, Springer: 15-29.

Krieg, A., A. and Huger, M.et al.(1983), "Bacillus thuringiensis var. tenebrionis: Einneuer, gegenüber Larven von Coleopteren wirksamer Pathotyp", *Z. Angew. Entomol.* 96: 500-508.

Liaaen-Jensen,S., Hertzberg, S., Weeks, O. B., Schwieter, U. (1968) , "Bacterial carotenoids XXXVIII. C50-Caeotenoids. 3. Structure determination of dehydrogenans-P439", *Acta Chem. Stand.*, 22: 1171-1186.

Lorch, H et al. "Basic methods for counting microorganisms in soil and water. In

Methods in applied soil microbiology and biochemistry. K. Alef and P. Nannipieri. Eds. San Diego, CA, Academic Press: pp. 146-161. 1995.

Marrone, P. G., Manker, D. C. et al. (1998) . Nematicidal Bacillus strain and metabolite and methods thereof. US Patent 5733544. USA.

Meunier, L., Carubel, P. et al. (1999) , "Insecticidal combinations including an insecticide from the family chloronicotinyl family and an insecticide having pyrazole, pyrrole, or phenylimidazole group. U. States", United States, Rhone-Poulenc Agrochimie: 6.

Meyer, S. L. F. and Roberts, D. P. (2002) . "Combinations of biocontrol agents for management of plant-parasitic nematode and soilborne plant-pathogenic fungi " Journal of Nematology 34: 1-8.

Oka, Y., Nacar, S. et al. (2000) . "Nematicidal activity of essential oils and their components against root-knot nematode", Phytopathology 90:710-715.

Oostendorp, M. and Sikora, R. A. (1990) . "In-vitro interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii* " Reviews in Nematology 13: 269-274.

Pederson, M. and Woldum, H. S.. Synergistic Combination of Glutamate-and-Gaba-Gated Chloride Against Pesticide and at Least One Vitamin E, Niacin, or Derivatives Thereof, US Patent Appln. Pub. No. 2009/0111579, published April 30 2009..

Puritch, G. and Salloum, G. Environmentally Safe Insecticide, US Patent No. 5047424, issued September 10, 1991.

Quarles, W. (2005) . "2005 Directory of least toxic pest control products", The

IPM Practitioner 26: 17.

Roubtsova, T., J.-A. Lopez-Perez, et al. (2007) . "Effect of broccoli (Brassica oleracea) tissue, incorporated at different depths in a soil column, on *Meloidogyne incognita*", Journal of Nematology 39: 111-117.

Sasser, J.N. and Freckman, D.W. (1987) . "A world perspective on nematology: the role of the society". In J.A. Veech and D.W. Dickson (Eds.) , Vistas on Nematology (pp. 7-14) . Society of Nematologists, Hyattsville.

Saxena, A. K., Pal, K. K. et al. (2000) . Bacterial biocontrol agents and their role in plant disease management. Biocontrol potential and its exploitation in sustainable agriculture: crop diseases, weeds and nematodes. R. R. Upadhaya, K. G. Mekerji and B. P. Chamola. New York, Kluwer Academy Plenum.

Shapiro-Ilan, D. I., and Cottrell, T. E. et al. (2011) , "Effects of combining microbial and chemical insecticides on mortality of the Pecan Weevil (Coleoptera: Curculionidae) ," J Econ Entomol. 104 (1) : 14-20

Shoji, J., Kato, T., Sakazaki, R., Nagata, W., Terui, Y., Nakagawa, Y., Shiro, M., Matsumoto, K., Hattori, T., Yoshida, T., Kondo, E., (1984) , "Chitinovorins A, B and C, novel lactam antibiotics of bacterial origin", J. Antibiot., 37; 1486-1490.

Shoji, J., Sakazaki, R., Kato, T., Terui, Y., Matsumoto, K., Tanimoto, T., Hattori, T., Hirooka, K., Kondo, E., (1985) , "Isolation of chitinovorins D", J. Antibiot., 38: 538-540.

Siddiqui, M. A. and Alam, M. M. (2001) . Nematicides. The IPM practitioner 9-11.

Siddiqui, Z. A. and Mahmood, I. (1999) . "Role of bacteria in the management of

plant parasitic nematodes: a review." *Bioresource Technology* 69: 167-179.

Siddiqui, M. A. and Mahmood, I. (1996) . "Biological control of plant parasitic

nematodes by fungi: a review." *Bioresource Technology* 58: 229-239.

Sikora, R. A. and Hoffman-Hergarter, S. (1993) . Biological control of

plant-parasitic nematodes with plant health promoting rhizobacteria.

Biologically based technology. P. D.

Lumsden and J. L. Vaugh. USA, ACS Symposium Series: 166-172.

Singh P. D., Young, M. G., Johnson, J. H., Cimarusti, C. M. Sykes, R. B.,

(1984) , "Bacterial production of 7-formamidocephalosporins", Isolation and

structure determination", *J. Antibiot.* 37: 773-780.

Terefe, M. and Tefera, T. et al. (2009) . "Effect of a formulation of *Bacillus*

firmus on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infestation and the

growth of tomato plants in the greenhouse and nursery." *Journal of Invertebrate*

Pathology 100: 94-99.

Thompson, G. D. and Dutton, R. et al. (2000) . "Spinosad - a case study: an

example from a natural products discovery programme," *Pest Management*

Science 56: 696-702.

Wayne LG, Brenner DJ, Colwell RR, Grimont PAD, Kandler O, Krichevsky MI,

Moore LH, Moore WEC, Murray RGE, Stackebrandt E, Starr MP, Truper HG.

1987. Report of the ad-hoc-committee on reconciliation of approaches to

bacterial systematics. *International Journal of Systematic Bacteriology*

37:463-464.

Whitehead, A. G. (1998) . Plant nematode control. Wallingford, UK, CAB

International.

Wirth, M. C., J. A. Jiannino, et al. (2004) , "Synergy between Toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus*." *Journal of Medical Entomology* 41:935-941.

Yagi, H. and Maruyama, A., (1999) , "A novel monoacyldiglycosyl-monoacylglycerol from *Flavobacterium marinotypicum*", *J. Nat. Prod.* 62" 631-632.

Yokoyama, A., Izumida, H., Shizuri, Y., (1996) . New carotenoids sulfates isolated from a marine bacterium, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60: 1877-1978.

Yokoyama A. and Miki, W.,(1995), Isolation of myxol from a marine bacterium *Flavobacterium* sp. associated with a marine sponge. *Fisheries Sci.* 61:684-686.

Zeck W.M. (1971) , Ein Bonitierungsschema zur Feldauswertung von Wurzelgallenbefall. *Pflanzenschutznachrichten Bayer* 24,1: 144-147.

申請專利範圍

1.一種分離出之黃桿菌屬品種菌株，其係具有以下特徵：

(A) —16S rRNA基因序列，包含一與SEQ ID NO:3所提出之序列至少99%相同之正向序列以及一與SEQ ID NO:4所提出之序列至少99%相同之反向序列以及一與SEQ ID NO:5所提出之序列至少99%相同之相同序列；

(B) 殺蟲活性；

(C) 生長調控活性；

(D) 產出一具有以下性質之殺蟲性化合物：(1) 分子量為約150-195，如以液相層析質譜法(LC/MS)所測定者；(2) ^1H NMR值為 δ 7.60, 7.52, 6.83, 6.68, 2.74, 1.14 且 ^{13}C NMR 值 為 203.96, 161.90, 145.11, 131.78, 131.78, 127.28, 123.83, 117.24, 117.24, 34.52, 8.89；(3) 利用一以水與乙腈(CH₃CN)調製之梯度溶劑系統(0-20分鐘90 - 0 %乙腈水溶液；20-24分鐘100%乙腈；24-27分鐘0 - 90 %乙腈水溶液；27-30分鐘90%乙腈水溶液)，設定為0.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測，於一逆相C-18 HPLC (Phenomenex, Luna 5 μ C18 (2) 100 A, 100 x 4.60 mm) 柱所測得之HPLC滯留時間為約8-14分鐘；

(E) 對脊椎動物無致病性；

(F) 易感於四環素、紅黴素、鏈黴素、青黴素、安黴素、氧四環素、氯黴素、環丙沙星、慶大黴素、氧哌嗪青黴素、亞胺硫黴素及磺胺甲噁唑-甲氧苄胺嘧啶或自其取得之實質純濾液、表層液或萃取物。

2.如申請專利範圍第1項之品種菌株，其中該黃桿菌屬品種為一具有與黃桿菌屬品種H492 (NRRL 登錄編號B-50584) 相同特徵之黃桿菌屬品種。

3.一種實質純種培養物或全細胞培養液，其係包含申請專利範圍第1項所述之品種或自其取得之細胞部分、濾液、表層液或萃取物。

4.一種組合，其係包含（a）一第一物質，其中該第一物質為（1）一實質純種培養物或全細胞培養液，其包含其包含申請專利範圍第1項所述之品種或（2）自申請專利範圍第1項所述品種取得之細胞部分、濾液、表層液、化合物及/或萃取物；以及（b）至少一或多種第二物質，其中該第二物質為一化學性或生物性農藥或生長促進劑。

5.如申請專利範圍第4項之組合，其中該第二物質為一農藥，該農藥係選自由殺線蟲劑、殺真菌劑及殺蟲劑所構成之群組。

6.如申請專利範圍第4項之組合，其中該組合為一組成物。

7.一種組成物，其係包含（a）一第一物質，選自由自申請專利範圍第1項所述品種取得之實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物所構成之群組；以及（b）一載體、稀釋液、表面活性劑載體、表面活性劑或輔藥。

8.一種調控植物中害蟲侵擾及/或調控植物生長之方法，其係包含對該植物及/或其種子及/或對用以種植該植物之基質施以一用量之以下至少一者：

（A）自申請專利範圍第1項所述品種取得之實質純種培養物或全細胞培養液或細胞部分、濾液、表層液、化合物及/或萃取物；

（B）申請專利範圍第4項之組合；

（C）一具有以下性質之化合物：（1）分子量為約150-195，如以液相層析質譜法（LC/MS）所測定者；（2） ^1H NMR值為 δ 7.60, 7.52, 6.83, 6.68, 2.74, 1.14 且 ^{13}C NMR 值為 203.96, 161.90, 145.11, 131.78, 131.78, 127.28, 123.83,

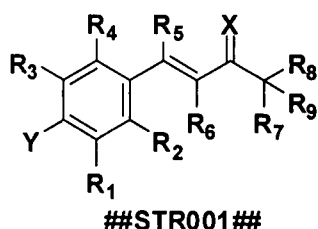
117.24, 117.24, 34.52, 8.89 (3) 利用一以水與乙腈 (CH₃CN) 調製之梯度溶劑系統 (0-20分鐘90 - 0 %乙腈水溶液; 20-24分鐘100%乙腈; 24-27分鐘0 - 90 %乙腈水溶液; 27-30分鐘90%乙腈水溶液), 設定為0.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測, 於一逆相C-18 HPLC (Phenomenex, Luna 5 μ C18 (2) 100 A, 100 x 4.60 mm) 柱所測得之高壓液相層析 (HPLC) 滯留時間為約8-14分鐘; (4) 可取自一黃桿菌屬品種; 且 (5) 為一具有調控害蟲侵擾及/或植物生長效力之聚酮化合物。

9.如申請專利範圍第8項之方法, 其中該害蟲為一線蟲類害蟲。

10.如申請專利範圍第8項之方法, 其中該植物係選自由草莓、南瓜、黃瓜、番茄、玫瑰、番椒、黃瓜、茄子、葡萄藤、棉、洋蔥、大蒜、小麥、大豆、玉米及稻米所構成之群組。

11.如申請專利範圍第8項之方法, 其中該化合物係選自由以下項目所構成之群組:

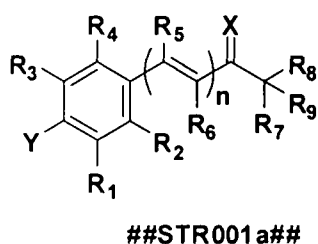
(A) 一化合物, 其結構為##STR001##



或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物, 其中Y為 OH、SH、NR、OR、SR、R 其中-R為包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、

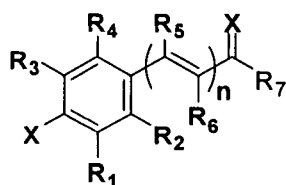
砜基、磺醯胺，或硫醯基；X為O、NH、NR或S； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、 $-C(O)H$ 、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；

(B) 一化合物，其結構為##STR001a##



或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中Y為OH、SH、NR、OR、SR、R，其中R為一為包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、 $-C(O)H$ 、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；X 為O、NH、NR或S；n為0、1、2、3、4、5、6、7、8或9； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、 $-C(O)H$ 、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；

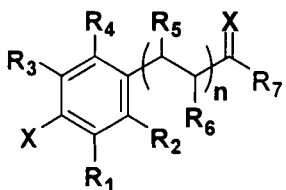
(C) 一化合物，其結構為##STR001b##



##STR001b##

或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中Y為OH、SH、NR、OR、SR、R 其中-R為包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基下鏈烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砒基、磺醯胺，或硫醯基；X為O、NH、NR或S；n為0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇ 各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砒基、磺醯胺，或硫醯基；

(D) 一化合物，其結構為##STR001c##

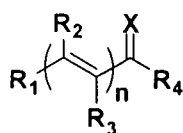


##STR001c##

或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中Y為OH、SH、NR、OR、SR、R，其中R為包含1、2、3、4、5、6、7、8或9個烷基下鏈烷基部分之下鏈烷基、芳基或芳烷基部分、取代下烷基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代

烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；X為O、NH、NR或S；n為0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇ 各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基；

(E) 一化合物，其結構為##STR001c##



##STR001d##

或一殺蟲上可接受鹽或其立體異構物，其中X為 O、NH、NR或S；n 為 0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；R₁、R₂、R₃、R₄ 各獨立為H、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、芳基、取代芳基、雜芳基、取代雜芳基、雜環、取代雜環、環烷基、取代環烷基、烷氧基、取代烷氧基、硫代烷基、取代硫代烷基、羥基、鹵素、胺基、醯胺基、羧基、-C(O)H、醯基、氧醯基、胺基甲酸酯、砜基、磺醯胺，或硫醯基。

12.如申請專利範圍第11項之方法，其中該化合物為(E) -4-苯基3-丁烯-2-酮、苯亞甲基苯乙酮、(E) -4- (2-羥基苯基) 3-丁烯-2-酮、(3E, 5E) -6-苯基六-3, 5-二烯-2-酮、(2E, 4E) -1, 5-二苯基五-2, 4-二烯-1-酮、(E) -1- (2-羥基苯基) 1-戊烯-3-酮、(E) -3- (2-羥基苯基) -1-苯基2-丙烯-1-酮、(E) -1- (2-羥基苯基) -5-甲基-1-己烯-3-酮、(E) -3- (4-羥基苯基) -1-苯基2-

丙烯-1-酮、(E)-1-(4-羥基苯基)-5-甲基-1-己烯-3-酮、(E)-4-(3-羥基苯基)-3-丁烯-2-酮、(E)-4-(2-羥基苯基)-3-丁烯-2-酮、2-(2'-苯基-2-氧代乙氧基)安息香醛、(E)-4-(2-羥基苯基)-3-甲基-3-丁烯-2-酮、(E)-1-苯基-2-戊烯-1-酮、(3E, 7Z)-十-3, 7-二烯-2-酮、(E)-4-(3-羥基苯基)-3-丁烯-2-酮、(1E, 4E)-1, 5-雙(3-羥基苯基)-五-1, 4-二烯-3-酮、(E)-1, 4-二苯基-2-丁烯-1-酮、(E)-1-(4-羥基苯基)-4-苯基-2-丁烯-1-酮、(1E, 4E)-1, 5-雙(3-羥基苯基)-2-甲基-五-1, 4-二烯-3-酮、(E)-3-(3-羥基苯基)-1-苯基-2-丙烯-1-酮、(E)-1-苯基-1-戊烯-3-酮、(E)-4-(4-羥基苯基)-3-甲基-3-丁烯-2-酮、(E)-5-甲基-1-苯基-1-己烯-3-酮、2-溴-1-苯基乙酮、(E)-1-(3-羥基苯基)-5-甲基-1-己烯-3-酮、(E)-4-(4-羥基苯基)-3-丁烯-2-酮、3-羥基安息香醛、4-羥基安息香醛、2-羥基安息香醛、安息香醛、 γ -十二內酯、 γ -八內酯、2-辛酮、2-庚酮、2-十一酮、順-4-庚烯醛、4-甲基-2-苯乙酮、異丁醛、(E)-4-苯基-2-丁烯醛、(E)-4-(4-羥基苯基)-2-丁烯醛、(E)-4-(3-羥基苯基)-2-丁烯醛、(E)-4-(2-羥基苯基)-2-丁烯醛、3-苯基丙醛、3-(4-羥基苯基)丙醛、3-(3-羥基苯基)丙醛、3-(2-羥基苯基)丙醛、2-苯基乙醛、2-(4-羥基苯基)乙醛、2-(3-羥基苯基)乙醛、2-(2-羥基苯基)乙醛、肉桂醛、(E)-3-(4-羥基苯基)丙烯醛、(E)-3-(3-羥基苯基)丙烯醛、(E)-3-(2-羥基苯基)丙烯醛、(2E, 4E)-5-苯基-五-2, 4-二烯醛、(2E, 4E)-5-(4-羥基苯基)-五-2, 4-二烯醛、(2E, 4E)-5-(3-羥基苯基)-五-2, 4-二烯醛、(2E, 4E)-5-(2-羥基苯基)-五-2, 4-二烯醛、戊-2-酮、己-2-酮、3-甲基-2-庚酮、3-甲基-2-辛酮、3-甲基-2-壬酮及其立體異構物。

13.一種自黃桿菌屬品種取得聚酮化合物之方法，其係包含：

- (i) 將申請專利範圍第1項之品種培養一足以取得該化合物之時間；以及
- (ii) 將步驟(a)產生之該化合物從該培養物之表層液分離。

14.一種種子，其係包含申請專利範圍第4項之組合。

15.一種以下至少一者之使用，其係為：

(a) 自申請專利範圍第1項所述品種取得之實質純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物或該純種培養物、全細胞培養液、細胞部分、濾液、表層液及/或萃取物之代謝物；

(b) 申請專利範圍第4項之組合；

(c) 一具有以下性質之化合物：(1) 分子量為約150-195，如以液相層析質譜法(LC/MS)所測定者；(2) ^1H NMR值為 δ 7.60, 7.52, 6.83, 6.68, 2.74, 1.14 且 ^{13}C NMR值為203.96, 161.90, 145.11, 131, 78, 131.78, 127.28, 123.83, 117.24, 117.24, 34.52, 8.89 (3) 利用一以水與乙腈(CH_3CN)調製之梯度溶劑系統(0-20分鐘90 - 0 %乙腈水溶液；20-24分鐘100%乙腈；24-27分鐘0 - 90 %乙腈水溶液；27-30分鐘90%乙腈水溶液)，設定為0.5 mL/min 流速及210 nm之紫外線偵測，於一逆相C-18 HPLC (Phenomenex, Luna 5 μ C18 (2) 100 A, 100 x 4.60 mm) 柱所測得之HPLC滯留時間為約8-14分鐘；(4) 可取自一黃桿菌屬品種；以及(5) 為一聚酮化合物且選擇性為以下至少一者：(b) 一第二物質，其中該第二物質為一化學性或生物性農藥、生長促進劑或(c) 一載體、稀釋液、表面活性劑載體、表面活性劑或輔藥以調控害蟲侵擾及/或植物生長。

圖式

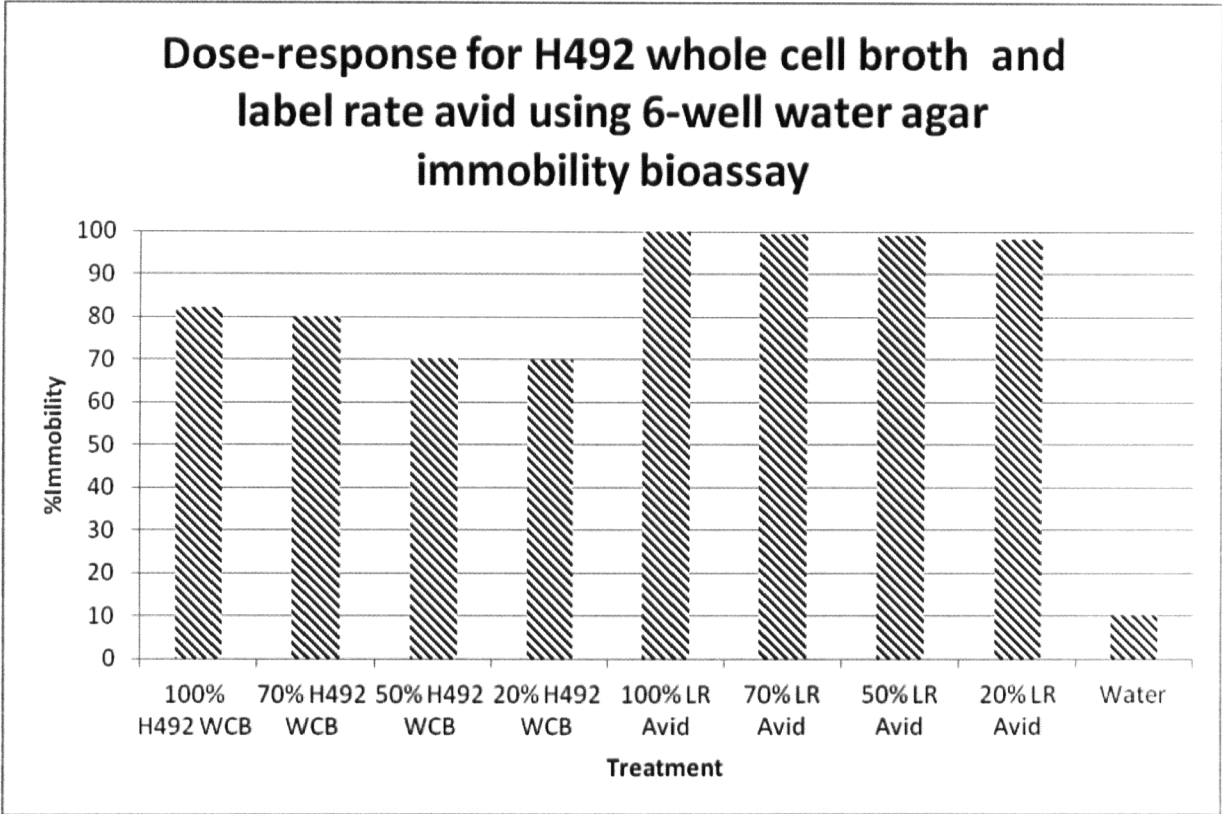


圖 1

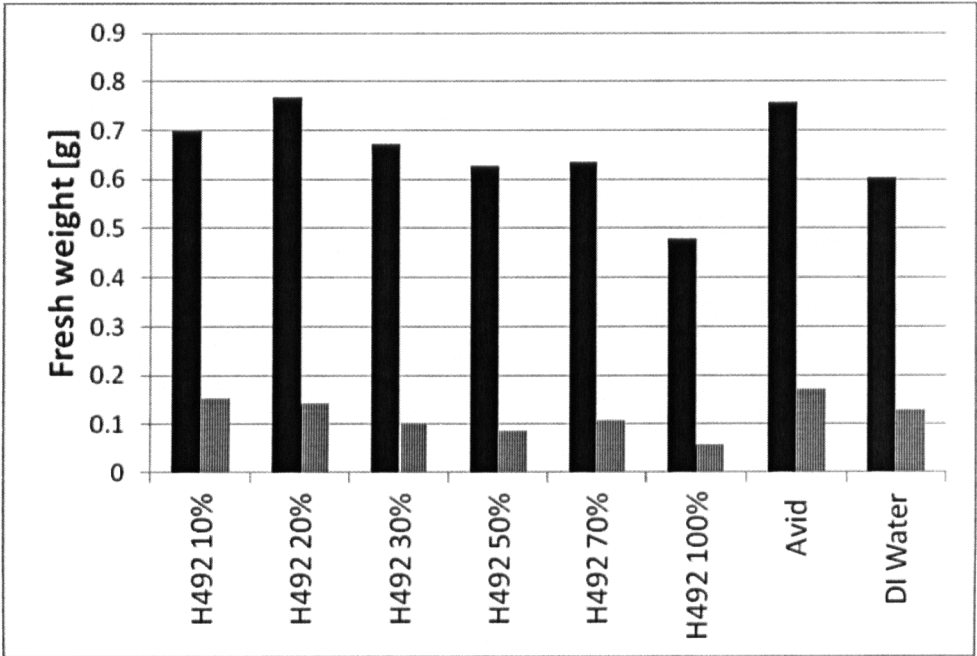


圖 2

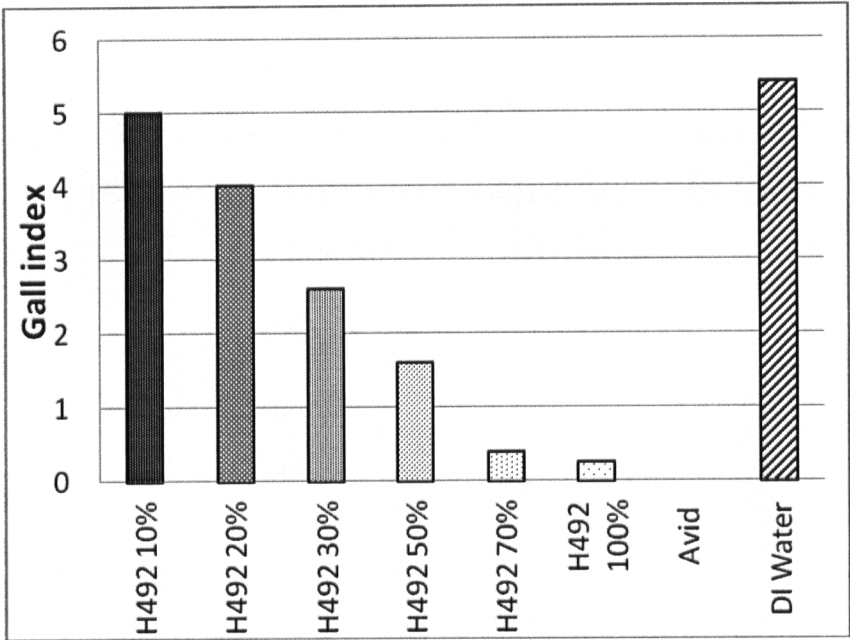


圖 3

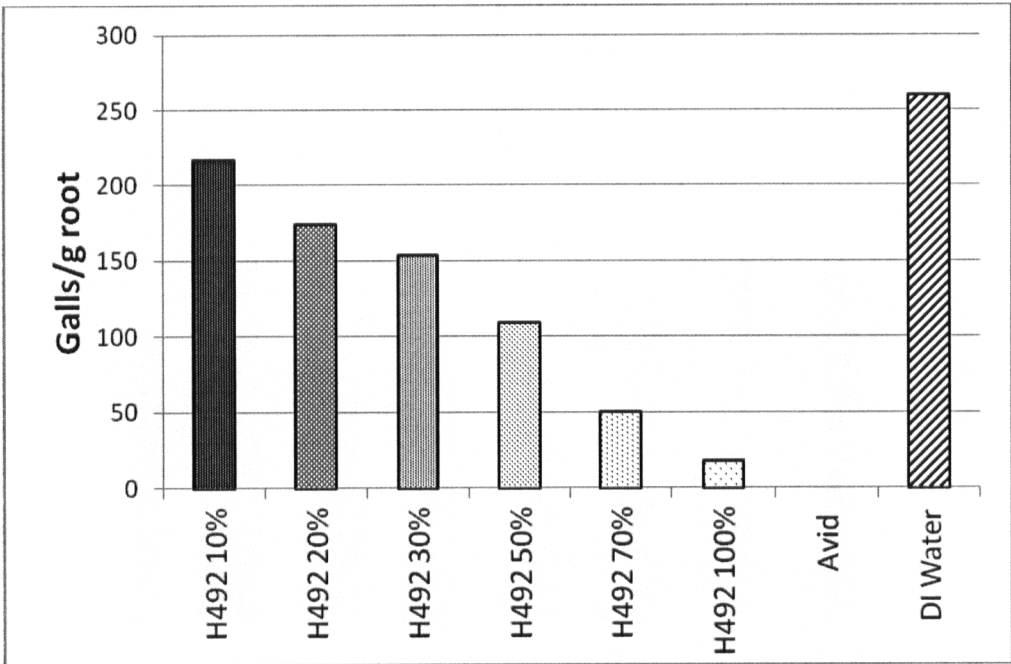


圖 4

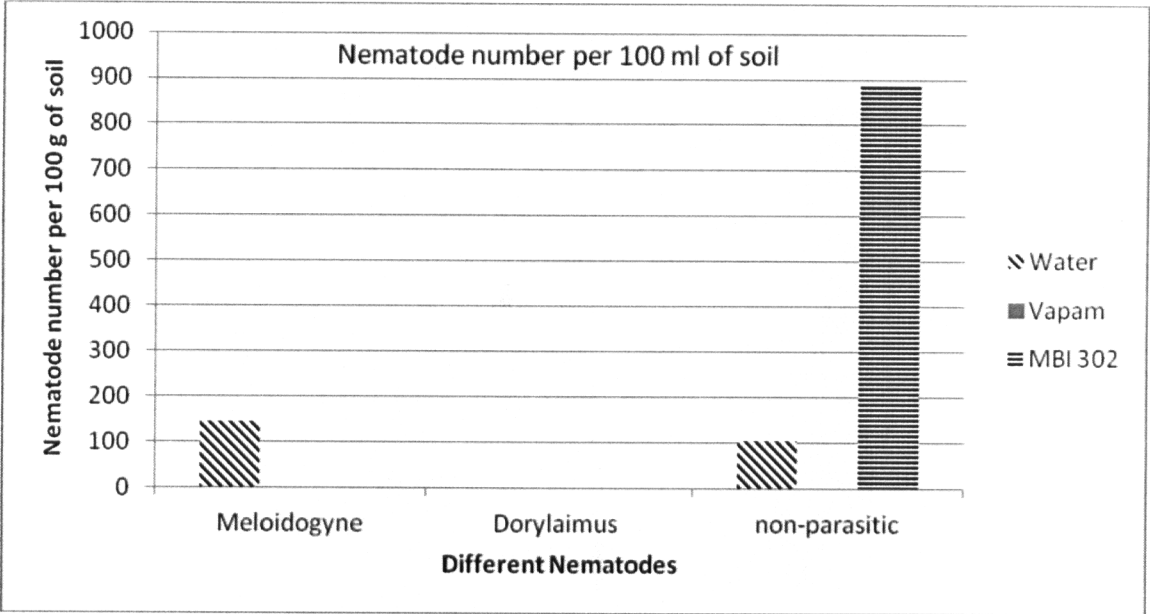


圖 5

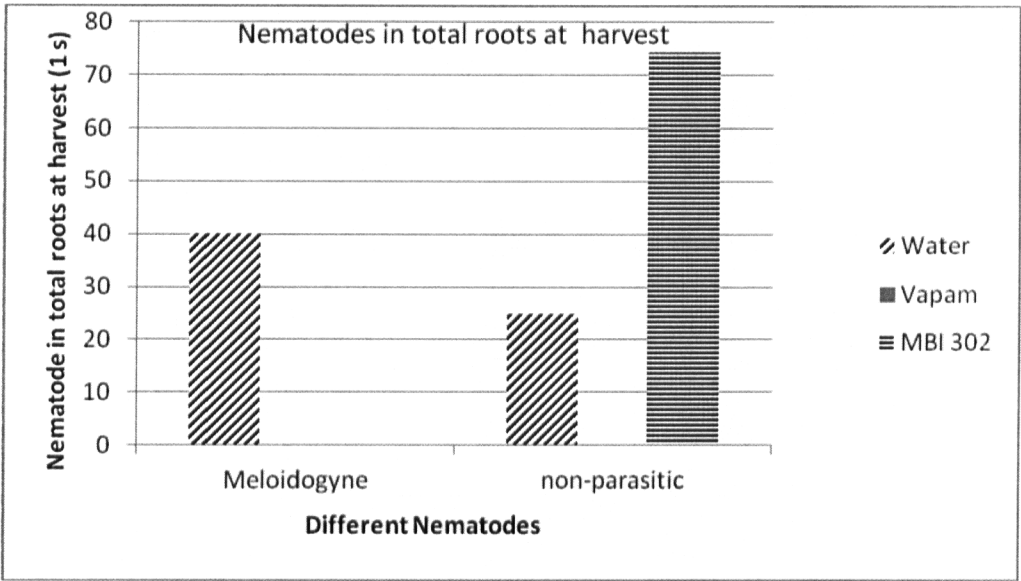


圖 6

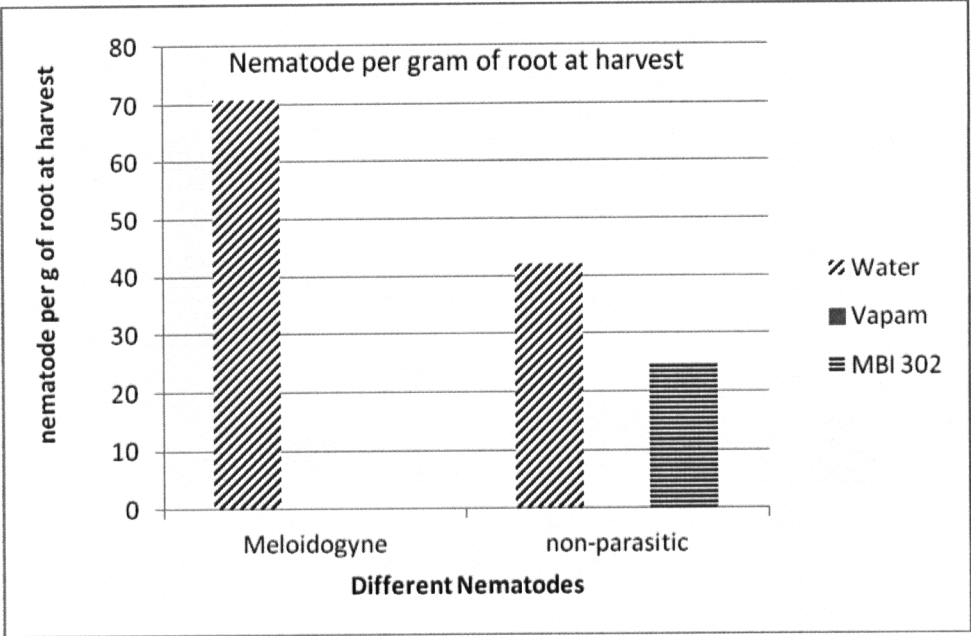


圖 7

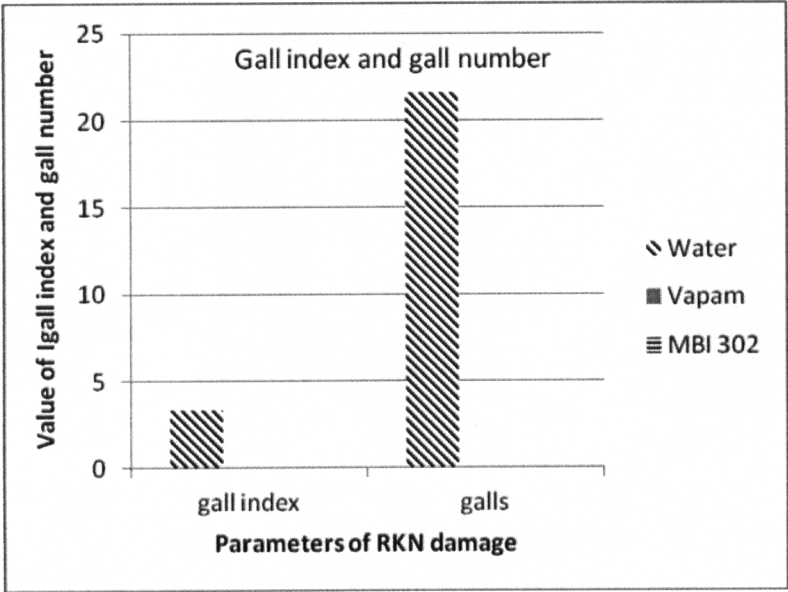


圖 8

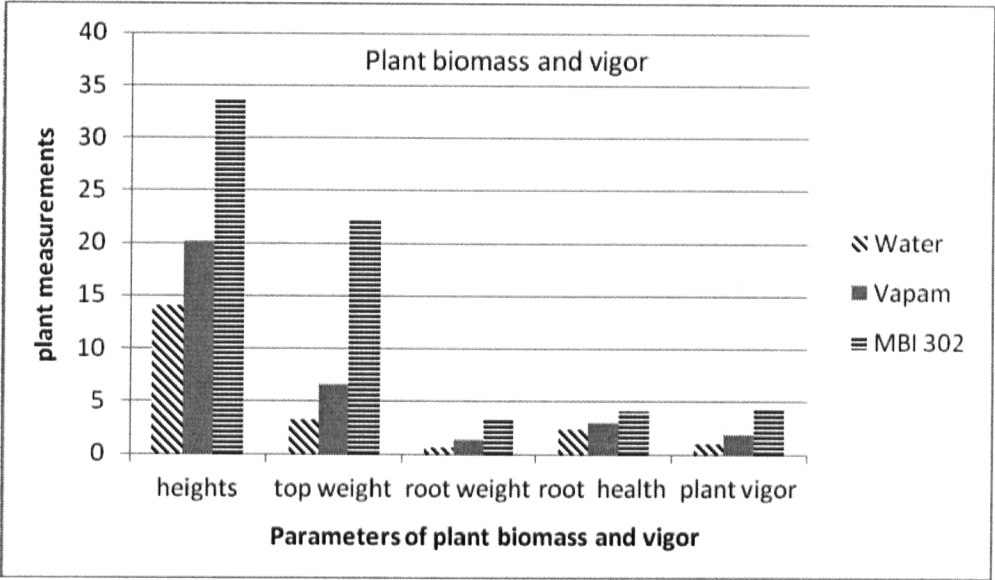


圖 9

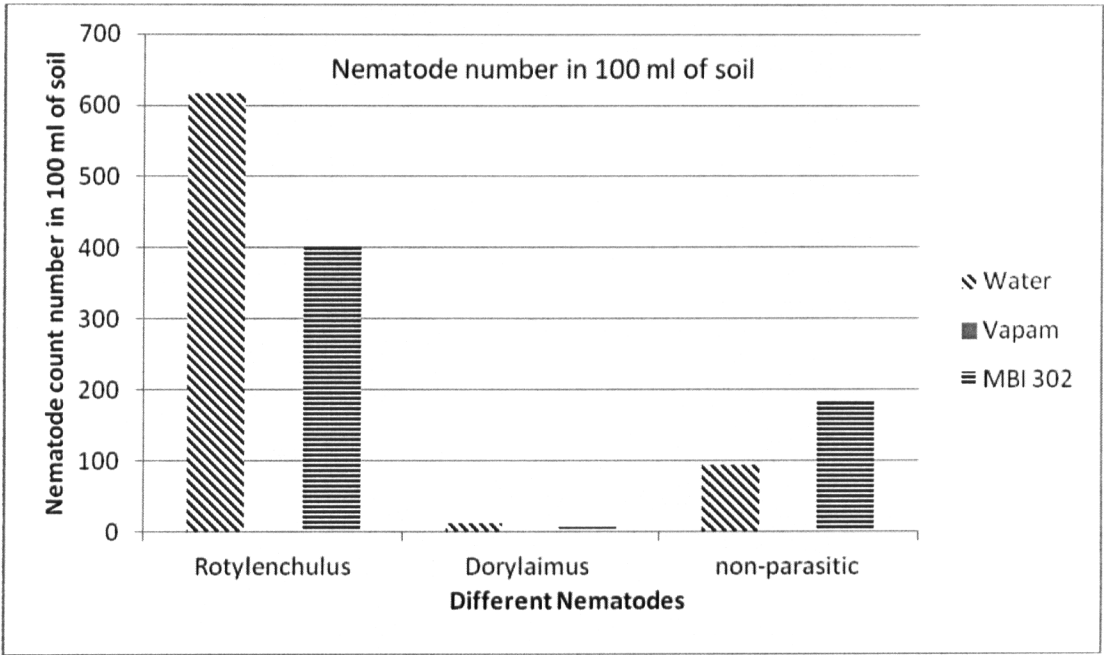


圖 10

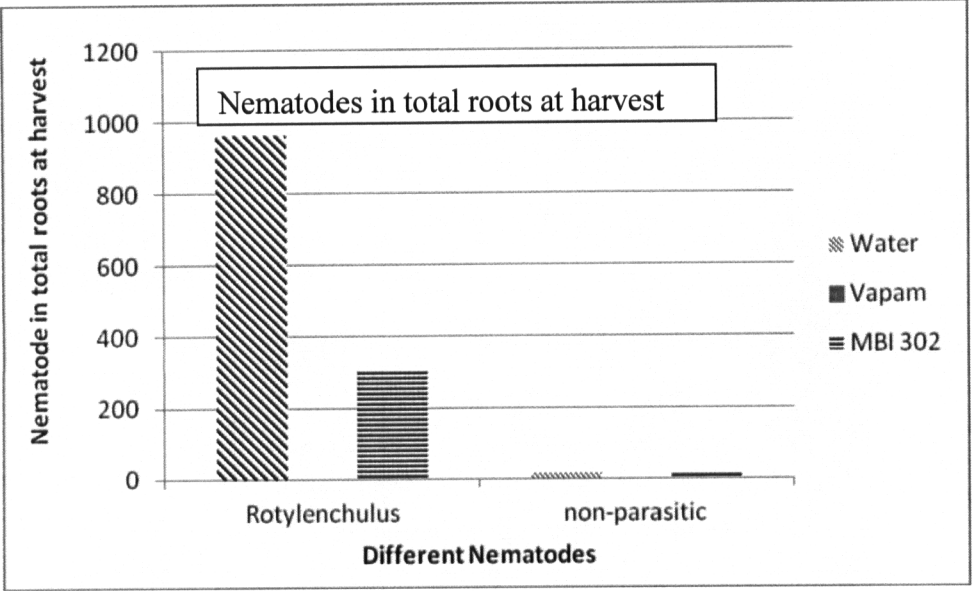


圖 11

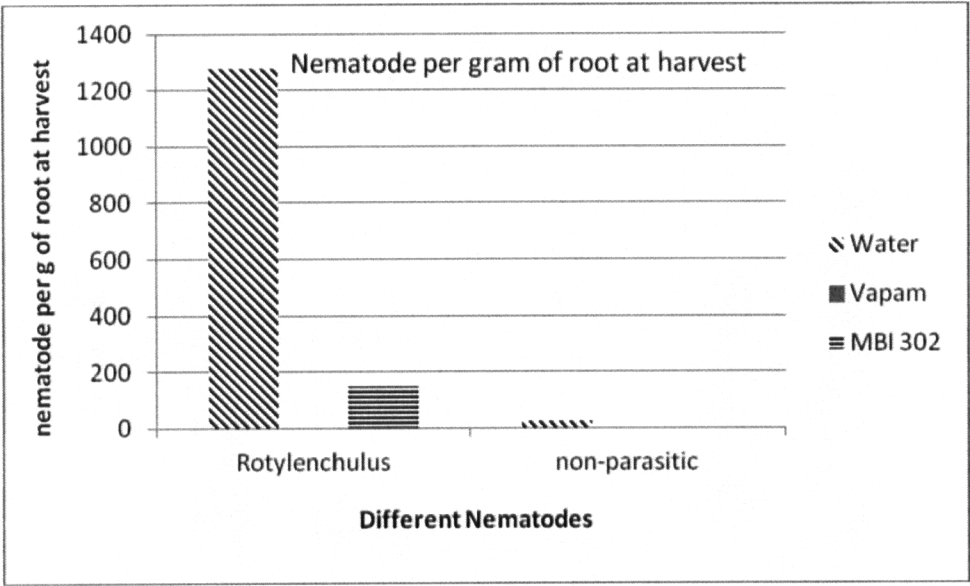


圖 12

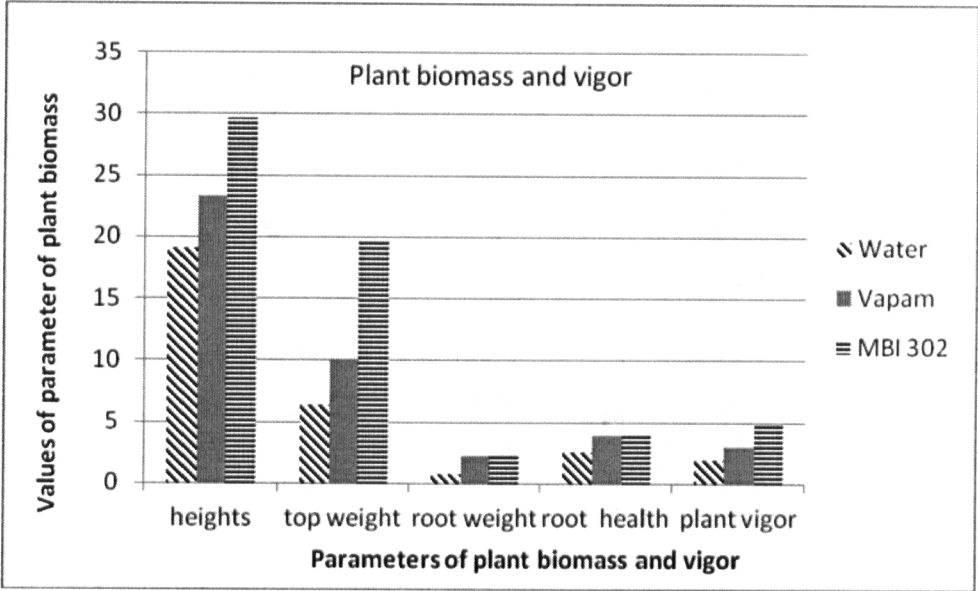


圖 13

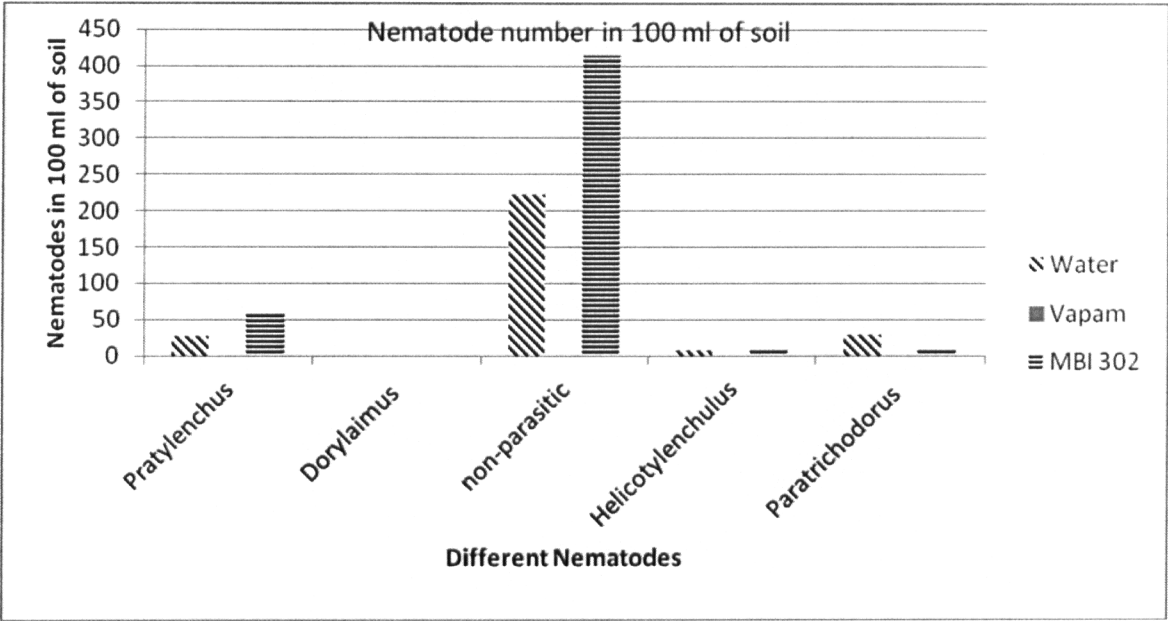


圖 14

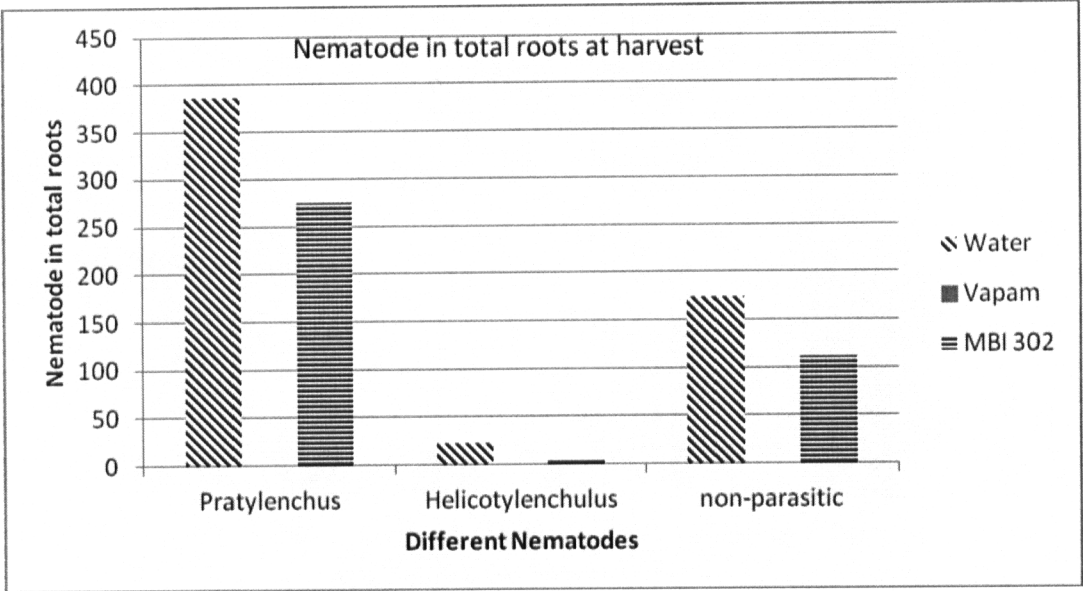


圖 15

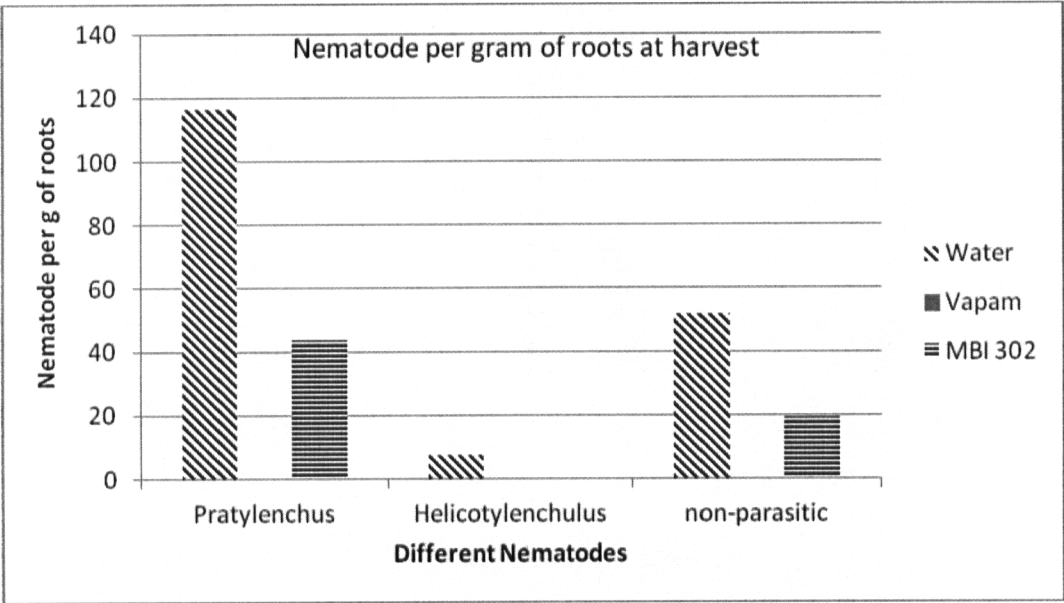


圖 16

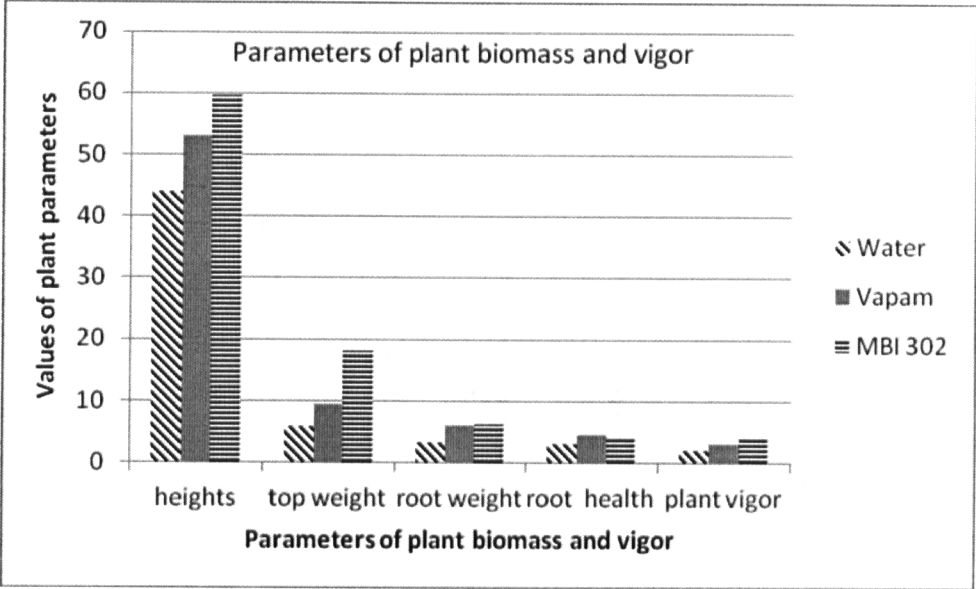


圖 17

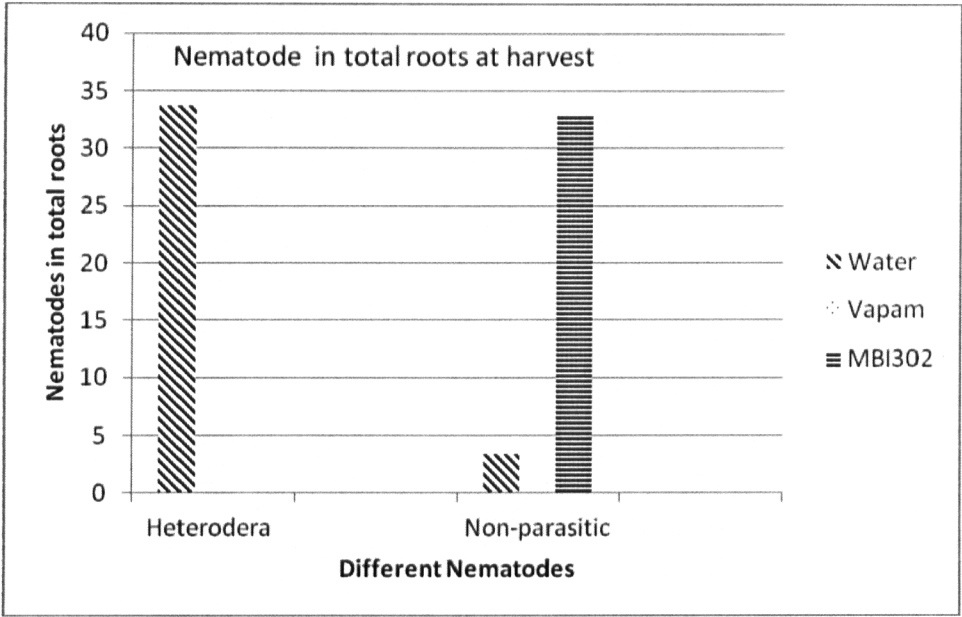


圖 18

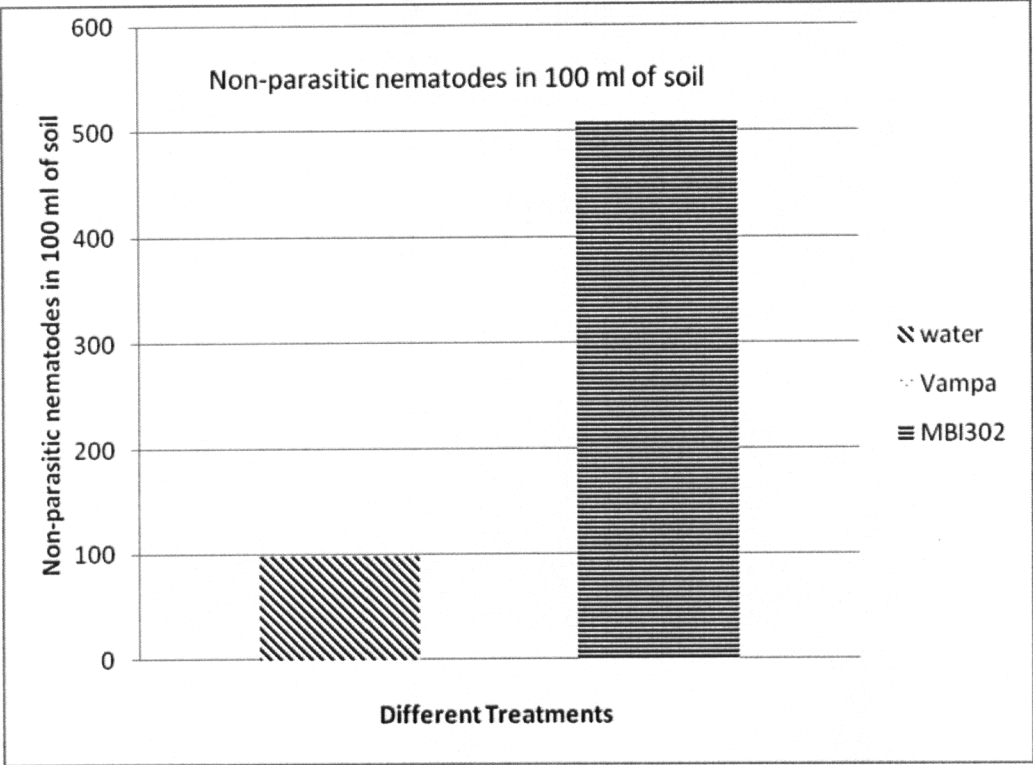


圖 19

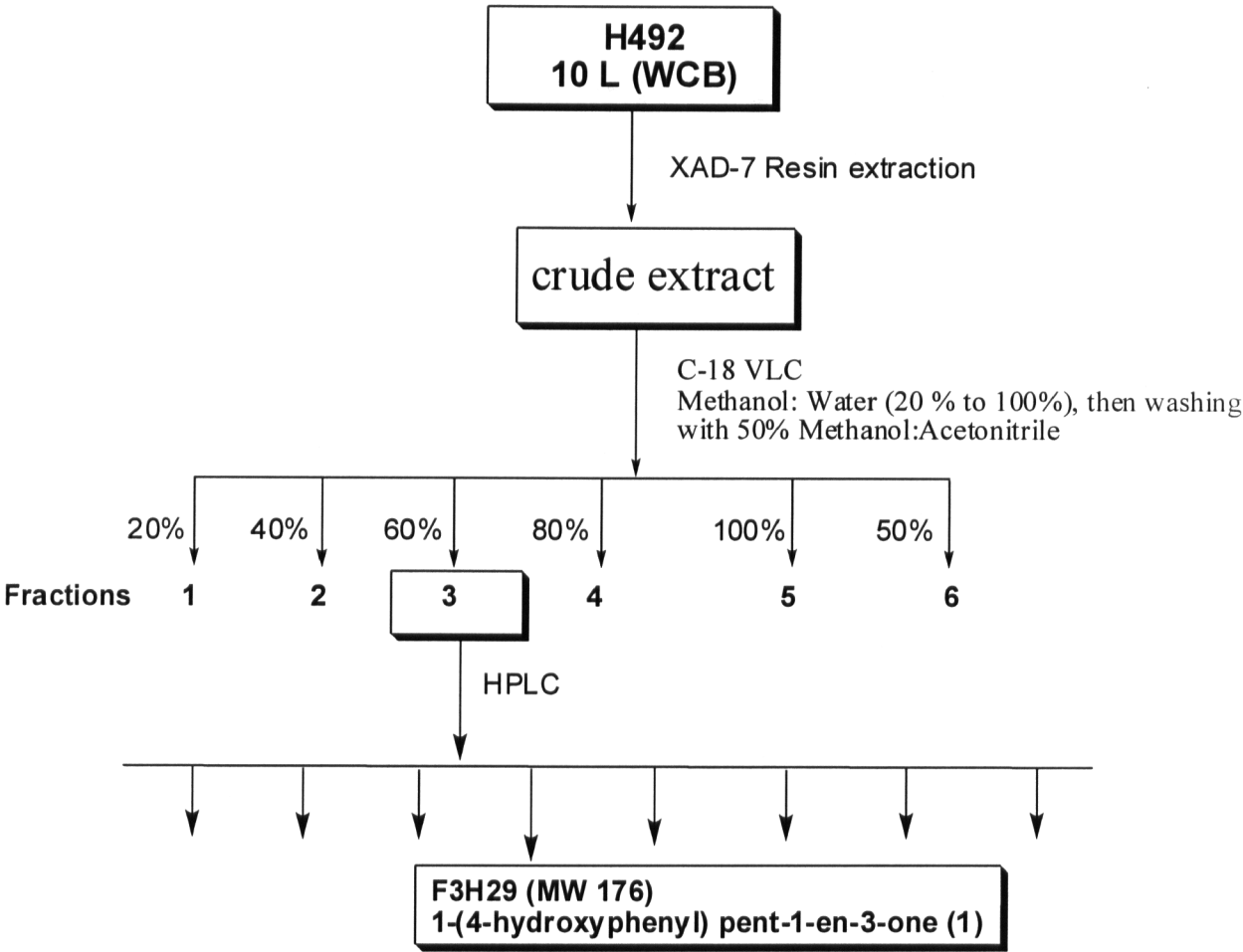


圖 20

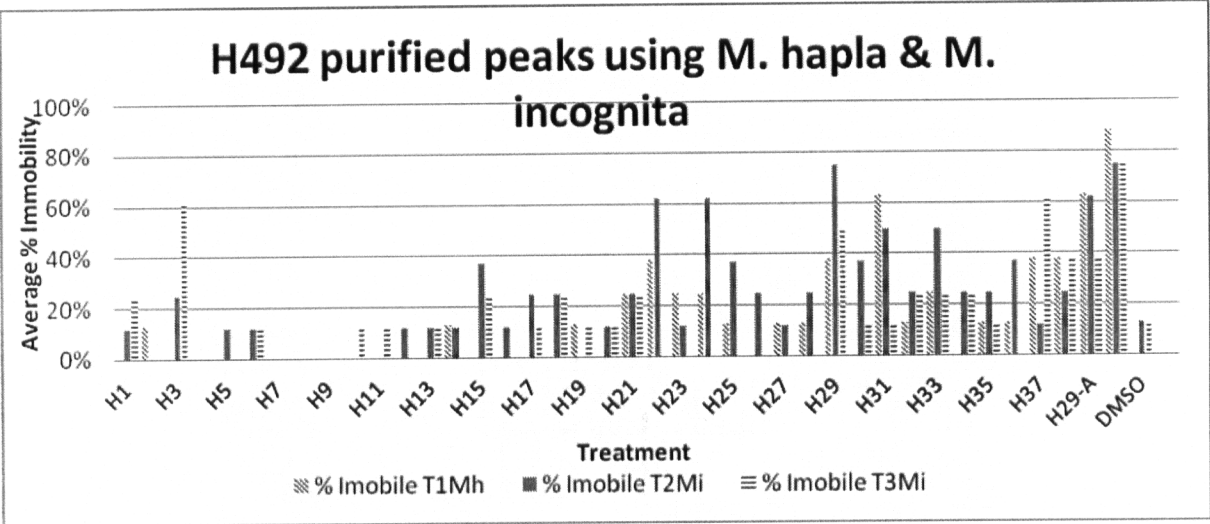


圖 21

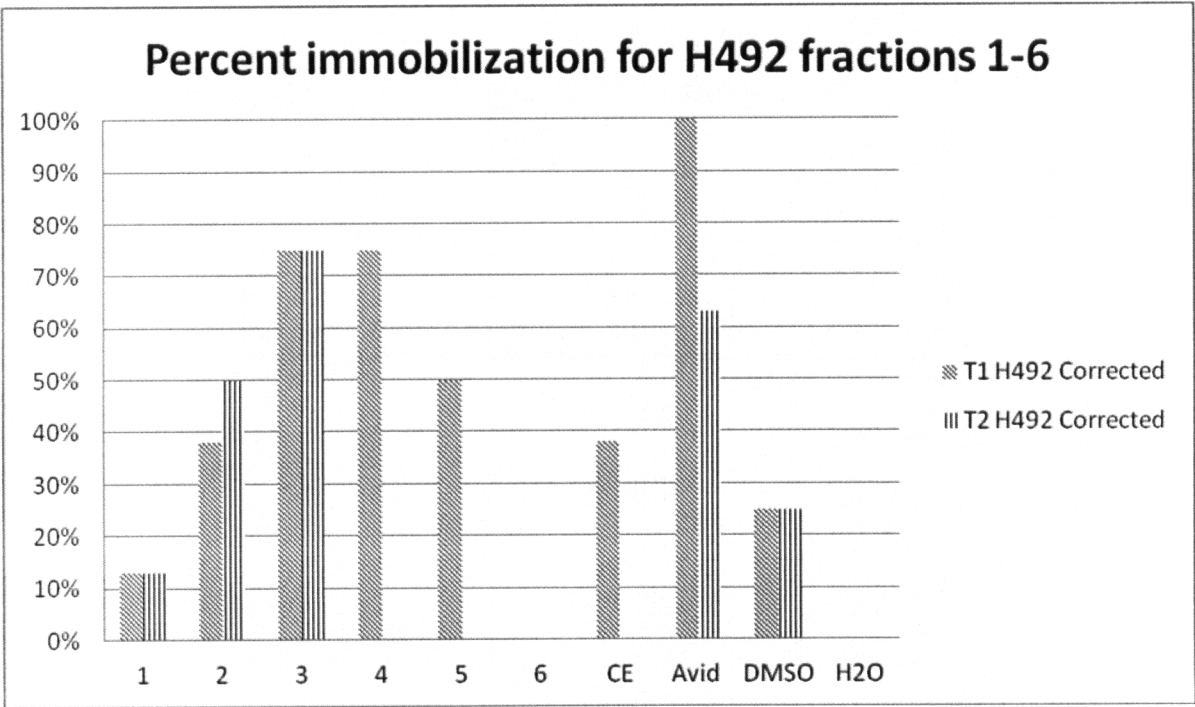


圖 22

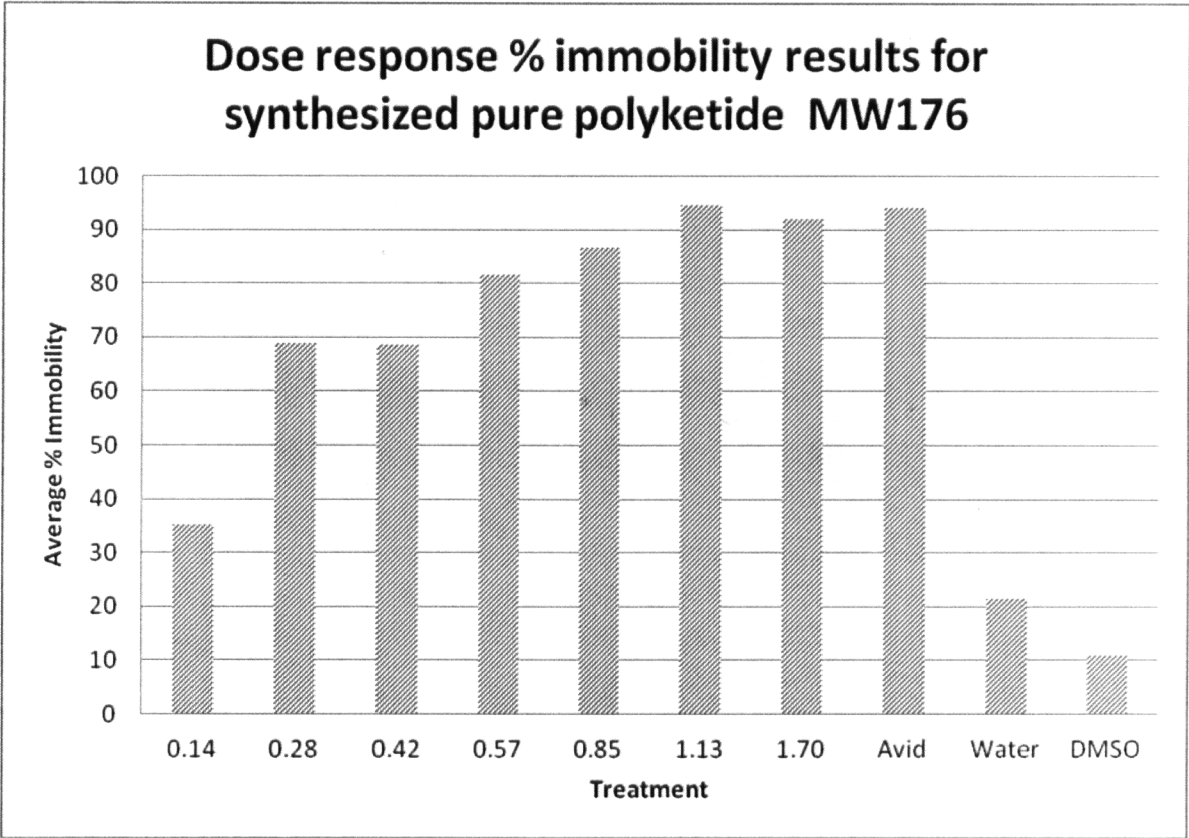


圖 23

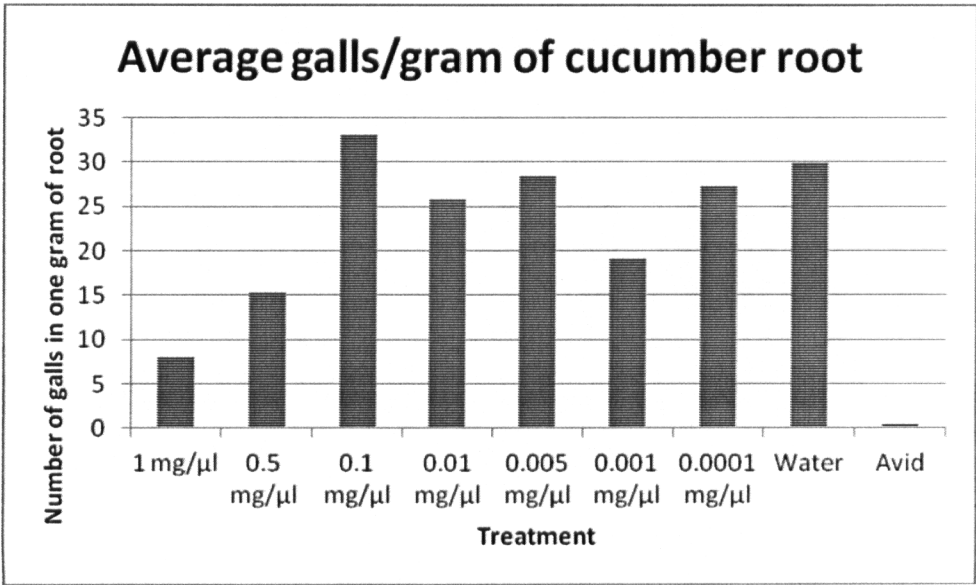


圖 24

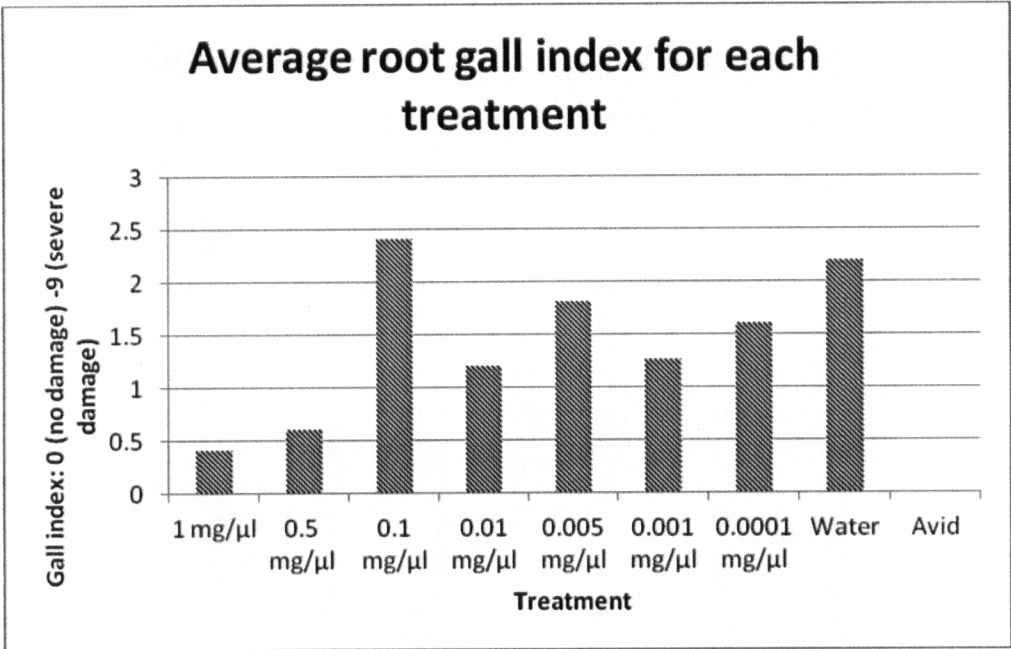


圖 25

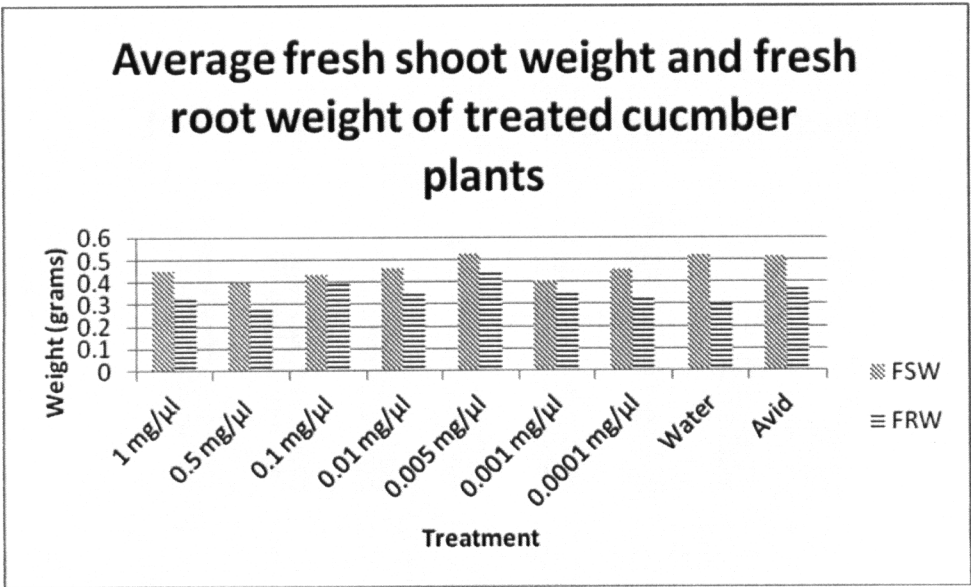


圖 26