

中華民國第 60 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

國中組 生活與應用科學(二)科

佳作

032904

益生菌或抑生菌~探討茄鐮刀菌影響咖啡果小蠹  
生長的情形

學校名稱：南投縣立北梅國民中學

作者：  國二 金建成  國二 林世珍  國二 許智逸	指導老師：  許碧蕙  許智揚
---	-----------------------------

關鍵詞：茄鐮刀菌、咖啡果小蠹、蟲生真菌

## 摘要

近來咖啡樹大增，造成在咖啡豆完成生活史的咖啡果小蠹迅速擴散，使用化學藥劑也難以防治。閱讀文獻發現白殭菌可以抑制咖啡果小蠹，因此我們採集帶白菌的咖啡豆進行培育，並透過前置實驗，找出使咖啡果小蠹早期死亡的蟲生真菌。經過菌種鑑定，此蟲生真菌是國外研究提高雌蟲生殖力的茄镰刀菌。為了進一步了解此菌對咖啡果小蠹的影響，我們設計益生菌及抑生菌實驗。研究結果顯示噴灑  $4.39 \times 10^6$  孢子液可在第 3 天達到半致死率； $4.39 \times 10^5$  孢子液可在 10 天內達到 100% 死亡效果；將噴灑  $4.39 \times 10^6$  孢子液的咖啡果小蠹放入咖啡豆 10 天，可達 22% 長菌率，其殺蟲效果不亞於市售白殭菌，對咖啡樹上的疣胸琉璃蟻無致命影響。未來可將此菌與白殭菌共同運用於咖啡園中，達到生物農藥防治效果。



茄镰刀菌造成咖啡果小蠹長菌情形

## 壹、研究動機

這幾年新聞報導咖啡生產的困境，主要是因為咖啡果小蠹的擴散及危害，此蟲為檢疫害蟲，主要危害咖啡生豆及熟豆，加上牠的生存能力強，因此造成防治困難。為了更進一步了解如何防治牠們，我們上網搜尋相關資料，發現白殭菌可以抑制咖啡果小蠹，因此我們就採集咖啡園中帶有白菌的咖啡豆，回到學校進行菌種培育，並進行咖啡果小蠹的染菌實驗。實驗過程中我們發現咖啡果小蠹被菌種感染後，長出如棉花糖般的白色菌絲。

由於文獻查閱皆是白殭菌對咖啡果小蠹有致死效果，所以我們認為前置實驗培育出來的棉花糖菌是白殭菌，並想進一步確認是哪種白殭菌，以進行後續研究。然而菌種鑑定結果顯示我們培育的菌是茄镰刀菌(*Fusarium solani*)。我們又進一步搜尋茄镰刀菌的資料，發現國外的研究中提到牠是幫助雌咖啡果小蠹提高生殖力的互利共生菌(Juan et al., 2000)，但是我們的實驗卻發現它是造成咖啡果小蠹死亡的抑生菌，這種現象激起我們的好奇心，也讓我們更想要進一步探究茄镰刀菌與咖啡果小蠹的關係。

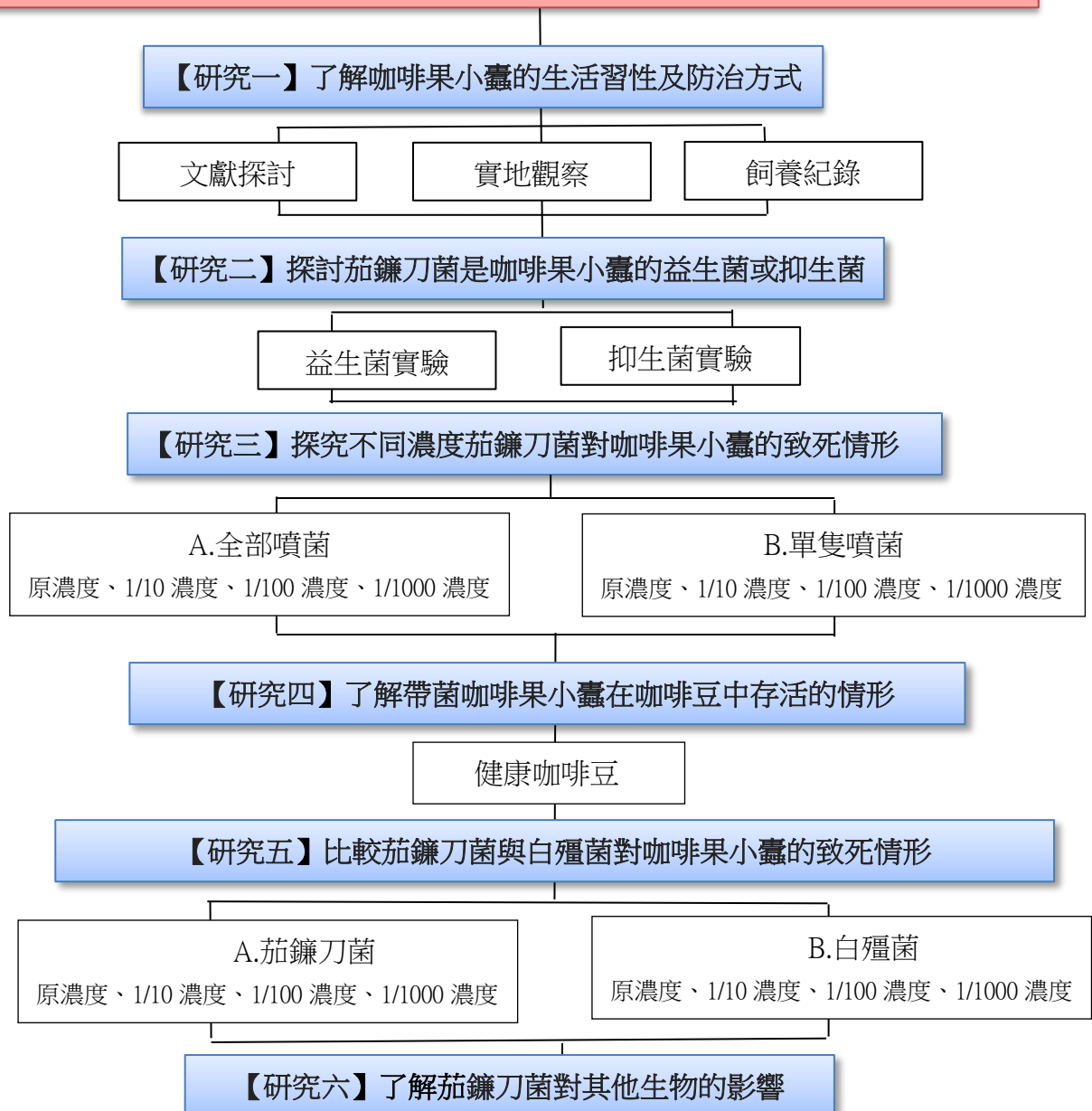


實驗中我們遇到很多瓶頸，首先是我們一月底才確認實驗菌種，但是這時咖啡已經採收完畢，所以我們只能在咖啡園努力尋找零散的果實進行實驗。再來是咖啡果小蠹生活在咖啡果實中，而且實驗時又不是牠的繁殖季節，無法像文獻所說設計誘捕器引誘牠出來，我們只好把咖啡豆剖開，一隻隻抓出咖啡果小蠹，解剖了上千顆咖啡豆，才勉強蒐集到可以進行益生菌或抑生菌實驗的蟲數。最後是咖啡豆容易發霉，我們也想辦法保持咖啡豆的新鮮，讓咖啡果小蠹有食物吃，才不致影響實驗結果，就這樣一關一關努力克服困難後，終於完成我們的實驗。

## 貳、研究目的與架構

- 一、了解咖啡果小蠹的生活習性及防治方式。
- 二、探討茄镰刀菌是咖啡果小蠹的益生菌或抑生菌。
- 三、探究不同濃度茄镰刀菌對咖啡果小蠹的致死情形。
- 四、了解帶菌咖啡果小蠹在咖啡中存活的情形。
- 五、比較茄镰刀菌與白殭菌對咖啡果小蠹的致死情形
- 六、了解茄镰刀菌對其他生物的影響。

### 益生菌或抑生菌~探討茄镰刀菌影響咖啡果小蠹生長的情形



## 參、研究設備及器材

### 一、實驗生物

- 1.咖啡果小蠹：取自距離學校約7公里左右的咖啡園。
- 2.疣胸琉璃蟻：取自學校保健室旁的花圃。
- 3.蚜蟲：取自學校教室後方菜圃。



### 二、誘捕器：

透明塑膠盒、吸管、甲醇、乙醇、寶特瓶蓋、棉花、紅色麥克筆、熱熔膠。



圖 3-1：自製咖啡果小蠹誘捕器

### 三、實驗器材

#### (一)菌種培養

紫外線烘碗機、塑膠培養皿、馬鈴薯培養基(馬鈴薯粉、壓力鍋、滅菌帶、玻璃瓶)、接種環、玻璃棒。



#### (二)觀察實驗

- A.咖啡果小蠹生態觀察：解剖顯微鏡、手機、咖啡豆。
- B.孢子收集：血球計數器、複式顯微鏡、Tween 20 乳化劑、清水。
- C.茄镰刀菌感染實驗：培養皿、不同濃度菌液、咖啡果小蠹、實驗紀錄單。
- D.咖啡豆感染實驗：噴菌咖啡果小蠹、咖啡豆、培養皿。
- E.白殭菌感染實驗：培養皿、不同濃度白殭菌菌液、咖啡果小蠹、實驗紀錄單。
- F.茄镰刀菌分解咖啡豆實驗：茄镰刀菌、咖啡培養基、剛果紅。



## 肆、研究過程及方法

### 【研究一】了解咖啡果小蠹的生活習性及防治方式

為了對咖啡果小蠹的危害有更深入了解，我們以文獻探討、實地觀察及飼養紀錄進行。

- 一、文獻探討：查詢有關咖啡果小蠹的電子資料和書面資料，進行閱讀和整理。
- 二、實地觀察：以學校附近的咖啡園進行觀察和紀錄。
- 三、飼養紀錄：觀察咖啡果小蠹身體構造及生活習性。

#### (一)了解咖啡果小蠹身體構造

- 1 將咖啡園取得的咖啡果小蠹放入培養皿中。
2. 將咖啡果小蠹放到解剖顯微鏡下進行觀察。

#### (二)了解咖啡果小蠹生活習性

1. 將咖啡園取得的咖啡果小蠹放置於培養皿中。
2. 觀察咖啡果小蠹覓食行為及不同階段生態變化。



### 【研究二】探討茄镰刀菌是咖啡果小蠹的益生菌或抑生菌

#### 一、咖啡豆上取菌培養

1. 咖啡園摘帶白菌咖啡豆
2. 以畫菌方式進行菌種培養
3. 放入咖啡果小蠹爬行



要找出白僵菌，摘有白菌的咖啡豆



取咖啡豆上白菌，放到培養皿培養一星期



觀察咖啡果小蠹是否被真菌感染

#### 4. 一星期咖啡果小蠹長菌



白色雲朵菌從果小蠹身體關節長出

#### 5. 再次取菌純化培養



取咖啡果小蠹身上白菌再次純化培養

#### 6. 菌種鑑定確認為茄镰刀菌



經過鑑定，此菌是文獻認為提高生殖力的茄镰刀菌

## 二、益生菌實驗(作法參考自 Juan et al. , 2000)

### (一)咖啡豆消毒

以 12.5 克咖啡比 13 毫克的山梨酸(sorbic acid)的比例清洗咖啡豆，並擦乾備用。

### (二)咖啡果小蠹消毒

- 1.調配 0.25%的 Benlate 溶液並加至 0.9%NaCl 溶液中。
- 2.用上述溶液沖洗咖啡果小蠹 30 秒後以開水沖洗乾淨，重複操作 3 次。

### (三)觀察實驗

1. 30 個培養皿中各放入 1 顆消毒的咖啡豆及 1 隻咖啡果小蠹，並以 6 盒為一組，共分成 10 組。
- 2.每兩天進行觀察紀錄，並於第 10 天及第 20 天進行咖啡豆解剖，了解咖啡果小蠹在咖啡豆中存活及繁殖情形。
- 3.重複步驟 1~2 進行二重複實驗。

## 三、抑菌實驗

### (一)製作馬鈴薯培養基

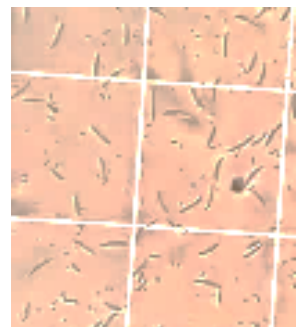
- 1.依據馬鈴薯培養基比例加水溶解，攪拌均勻倒入玻璃瓶。
- 2.貼上滅菌帶，放入高壓蒸氣鍋煮 15-20 分鐘，待壓力鍋壓力下降後取出放涼，倒入塑膠培養皿中，待凝固後放入 4°C 冰箱備用。



### (二)孢子計數與稀釋

#### A.孢子計數

- 1.取 Tween 20 乳化劑 0.1ml 加入 249.9ml 清水，調成 250 毫升的溶液。
- 2.取調配好的 20C.C.溶液滴入已經培養一星期，布滿孢子的培養皿中。
- 3.將含有 Tween 20 溶液的培養皿輕輕搖晃後倒出。
- 4.以滴管吸取 1C.C.含有孢子的 Tween 20 溶液滴至血球計數器上。
- 5.將血球計數器放在複式顯微鏡下，並以拍照的方式將上下左右共計 64 格的孢子記錄下來。
- 6.將 64 小格計算後得出液體內所含孢子濃度約為  $4.39 \times 10^6$ 。



### B.1/10 孢子稀釋法

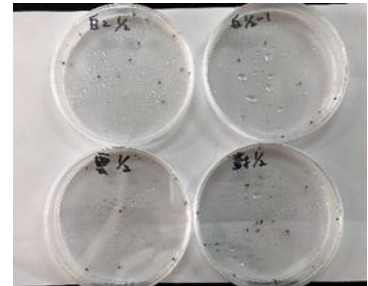
- 1.取 3ml 上述濃度( $4.39 \times 10^6$ )孢子原液加入 27ml 的清水中調成 1/10 的濃度。
- 2.再從 1/10 濃度的溶液取 3ml 加入 27ml 的清水中調成 1/100 的濃度。
- 3.重複第 2 步驟稀釋至 1/1000 濃度。

### 【研究三】探究不同濃度茄镰刀菌對咖啡果小蠹的致死情形

我們設計清水噴灑及感染實驗兩大變項瞭解茄镰刀菌在不同情況對咖啡果小蠹的影響。

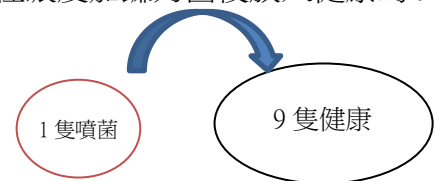
#### (一)全體咖啡果小蠹染菌實驗

1. 10 個培養皿中各放入 10 隻咖啡果小蠹，並以 2 個為一組，共分成 5 組(含對照組)。
- 2.將清水調配好的原濃度、1/10 濃度、1/100 濃度、1/1000 濃度的茄镰刀菌孢子液分別倒入噴瓶中並搖晃均勻。
- 3.分別將不同濃度的茄镰刀菌孢子液各朝培養皿中噴三下後進行 10 天的觀察和紀錄。
- 4.另外以清水將對照組培養皿噴三下。
5. 重複步驟 1~4 進行二重複實驗。



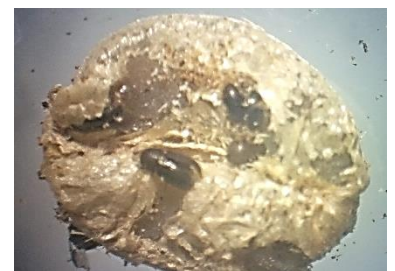
#### (二)單一帶菌咖啡果小蠹感染實驗

1. 將各 8 隻健康的咖啡果小蠹放入 8 個培養皿，並以 2 個為一組，共分 4 個實驗組。
2. 將實驗組的培養皿各取出一隻咖啡果小蠹，分別噴放入四種濃度茄镰刀菌後放入健康的 9 隻咖啡果小蠹中。
- 3.將上述四組培養皿進行 10 天觀察並記錄。
- 4.另外設置二個健康咖啡果小蠹培養皿當對照組，進行 10 天觀察及記錄。



### 【研究四】了解帶菌咖啡果小蠹在咖啡豆中存活的情形

- 1.取出健康咖啡豆 20 顆，分別以酒精擦拭表面後放入培養皿中。
- 2.各將 5 隻咖啡果小蠹以原濃度( $4.39 \times 10^6$ )茄镰刀菌噴灑後，放入有健康咖啡豆的培養皿中。
- 3.每兩天觀察咖啡果小蠹活動狀況，並解剖咖啡豆，記錄咖啡果小蠹長菌情形。





## 【研究五】比較茄镰刀菌與白殭菌對咖啡果小蠹的致死情形

### (一)茄镰刀菌對咖啡果小蠹實驗

1. 10 個培養皿中各放入 10 隻咖啡果小蠹，並以 2 個為一組，共分成 5 組(含對照組)。
2. 將調配好的原濃度、1/10 濃度、1/100 濃度、1/1000 濃度的茄镰刀菌孢子液分別倒入噴瓶中並搖晃均勻。
3. 分別將不同濃度的茄镰刀菌孢子液各朝培養皿中噴三下後進行 10 天的觀察和紀錄。
4. 另外以清水將對照組培養皿噴三下。
5. 重複步驟 1~4 進行二重複實驗。

### (二)白殭菌對咖啡果小蠹實驗

1. 將市售白殭菌培養於 PDA 中，並於生長一星期後以 Tween20 溶液洗出。
2. 10 個培養皿中各放入 10 隻咖啡果小蠹，並以 2 個為一組，共分成 5 組(含對照組)。
3. 將調配好的原濃度、1/10 濃度、1/100 濃度、1/1000 濃度的白殭菌孢子液分別倒入噴瓶中並搖晃均勻。
3. 分別將不同濃度的白殭菌孢子液各朝培養皿中噴三下後進行 10 天的觀察和紀錄。
4. 另外以清水將對照組培養皿噴三下。
5. 重複步驟 1~4 進行二重複實驗。

## 【研究六】了解茄镰刀菌對其他生物的影響

### (一) 疣胸琉璃蟻

1. 將各 10 隻疣胸琉璃蟻分別放入 10 個培養皿中，並以 2 個為一組，共分成 5 組(含對照組)。
2. 將清水調配好的原濃度、1/10 濃度、1/100 濃度、1/1000 濃度的茄镰刀菌孢子液分別倒入噴瓶中並搖晃均勻。
3. 分別將不同濃度的茄镰刀菌孢子液各朝培養皿中噴三下後進行 10 天的觀察和紀錄。
4. 另外以清水將對照組培養皿噴三下後進行 10 天的觀察和紀錄。

### (二) 蚜蟲

1. 將有蚜蟲生長的枝條剪下，並分別放在 3 個培養皿中。
2. 以原濃度( $4.36 \times 10^6$ )的茄镰刀菌孢子液朝 3 個培養皿中噴三下後進行 10 天的觀察和紀錄。

## 伍、研究結果




### 一、目前以噴灑農藥、微生物防治或是設置誘捕器方式降低咖啡果小蠹數量

在我們實驗的咖啡園中，我們發現雖然剩下約 2%~3%的咖啡豆，但是這些咖啡豆約有 70%~80%被蛀食的情形，我們觀察時也發現雌蟲以咀嚼式口器在咖啡臍部鑽一個小圓孔，進入果實內部。在解剖的咖啡豆中發現卵、幼蟲、蛹、成蟲四個齡期的咖啡果小蠹，其中幼蟲會直接蛀食果實內部的胚，造成果實滿佈蛀孔，使咖啡豆無法成為商品的情形。



圖 5-1-1 雌蟲從臍部鑽入

表 5-1-1 咖啡果小蠹危害咖啡豆情形

		
咖啡園青豆被入侵	雌咖啡果小蠹臍部入侵情形	雌咖啡果小蠹側邊入侵情形
		
生豆被蛀食初期	生豆被蛀食中期	生豆被蛀食後期

而在解剖咖啡豆蒐集咖啡果小蠹的過程，我們發現許多咖啡豆外觀看起來顏色鮮紅，但是內部卻已經被蛀食成焦黑狀況，而且解剖中也發現咖啡果小蠹在咖啡豆中死亡的情形，相關解剖蒐集咖啡果小蠹的資料如下：

表 5-1-2 解剖咖啡豆蒐集咖啡果小蠹的情形 (咖啡豆約 1200 顆)

項目	卵	幼蟲	蛹	成蟲	總計
平均數量	0.12	0.17	0.05	1.07	1.41
比例%	8.51	12.06	3.55	75.89	100

目前國內外以下列四種方式進行咖啡果小蠹防治：

(一)化學防治：

林明瑩等人(2015)以 50%培丹可溶性粉劑 1,000 倍、40.8%陶斯松乳劑 1,000 倍直接噴灑於咖啡果小蠹體表，可以在 24 小時內達到 100%咖啡果小蠹觸殺效果。建議若監測結果顯示咖啡果小蠹入侵率大於 2%，且有超過 50%咖啡果小蠹尚未入侵咖啡子葉時，可以在三天內施用藥劑(王泰權等，2019)。

(二)微生物殺蟲劑：

目前國內並無針對咖啡果小蠹的微生物殺蟲劑進行深入研究，不過國外有紀錄使用白殭菌 (*Beauveria bassiana*)用於防治咖啡果小蠹成蟲，也獲得一定的效果。此防治方法在使用時建議於潮濕季節，雌成蟲開始侵入新的咖啡果實時施用最能達到預期效果(王泰權等，2019)。

(三)誘殺器防治：

配合雌咖啡果小蠹會外出交配的特性，在咖啡園可利用工業級甲醇和乙醇以 1：1 的體積比例調製，可有效誘引咖啡果小蠹的雌蟲。2009 年台南區農改場已完成誘殺器開發，將誘殺器設置於咖啡園內，進行咖啡果小蠹誘殺並進行發生密度之監測(林明瑩、陳昇寬，2009)。



圖 5-1-2 咖啡園掛置誘殺器

(四)耕作防治：

由於雌咖啡果小蠹在沒有食物的情況下仍可以存活 81 天，所以在成熟果實採收後，要盡量將樹上、地面上的未成熟或掉落的果實全部收集，避免咖啡樹上的果實或地面上的落果成為咖啡果小蠹繁衍的溫床。在拉丁美洲的綜合管理中提及若是咖啡樹每單個枝條上的咖啡成熟果或乾果高於 10 顆即為無效的耕作防治(王泰權等，2019)。另外採收後的果實在脫落果肉後，需要將生豆保持在含水量低於 12%以下貯存，這樣雙管齊下的方式可防止蟲蛀及咖啡果小蠹於貯存的生豆上繼續危害(林明瑩、陳昇寬，2009)。

## 二、咖啡果小蠹四個齡期皆以咖啡豆為主要生活場域

咖啡果小蠹體色黑褐色、體表光亮，體長大約 1.4-1.7 mm，體寬 0.6-0.7 mm，牠們喜歡成群在咖啡豆裡，一顆咖啡豆裡有很多卵、幼蟲、蛹、成蟲，一群大約有 5 到 6 隻成蟲，她們遇到危險會自動跑出來，咖啡果小蠹吃完一顆就會換另外一顆咖啡豆，但咖啡果小蠹吃完的那一顆還有幼蟲和卵。此蟲繁殖有兩種方式，除雌雄交配外，也可以孤雌生殖，因此雌蟲比率遠高於雄蟲，造成該蟲有極強之繁殖力。

表 5-2 咖啡果小蠹不同齡期特徵

齡期	特徵
1.卵	1. 剛產時成乳白色；呈橢圓形或卵形；長 0.5~0.8 mm，寬 0.25~0.35 mm。
2.幼蟲	1. 雌蟲有兩齡，而雄蟲僅一齡期，白色無足蠕蟲，第一齡蟲長 0.6~0.8 mm，第二齡蟲長約 2.2 mm
3.蛹	1. 初期呈白色，隨發育逐漸變黃，雌蟲長約 1.7 mm，雄蟲長約 1.2 mm。
4.成蟲	1. 黑褐色、體表光亮，翅基兩側有明顯之肩角，呈橢圓形。 2. 雌蟲較大，體長 1.4~1.7 mm，體寬 0.6~0.7 mm。雄蟲較雌蟲體小細弱，體長 1.0~1.2 mm，體寬 0.55~-0.6 mm，顏色淺淡。



圖 5-2 咖啡果小蠹生活史( 照片拍攝自學校實驗室)

### 三、益生菌實驗中的咖啡果小蠹沒有在咖啡豆中繁殖

表 5-3-1、5-3-2 顯示，第 10 天解剖時，果小蠹在豆內為 24 隻，長菌數 6 隻，繁殖數 0 隻；果小蠹在豆內比例是 80%，在豆內長菌比例是 20%。第 20 天解剖時，果小蠹在豆內為 17 隻，長菌數為 12 隻，繁殖數為 0 隻；果小蠹在豆內比例是 56.7%，在豆內長菌比例是 40%。

表 5-3-1 滅菌咖啡果小蠹在滅菌咖啡豆中存亡及繁殖情形

		第一組	第二組	第三組	第四組	第五組	第六組	第七組	第八組	第九組	第十組
Day 2	豆外數	1	0	2	1	0	2	0	3	2	1
	豆內數	5	6	4	5	6	4	6	3	4	5
	長菌數	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 4	豆外數	1	0	2	1	0	2	0	3	2	1
	豆內數	5	6	4	5	6	4	6	3	4	5
	長菌數	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 6	豆外數	1	0	2	1	0	2	0	3	2	1
	豆內數	5	6	4	5	6	4	6	3	4	5
	長菌數	1	1	1	0	2	0	0	0	0	0
Day 8	豆外數	1	0	3	1	2	2	0	2	1	2
	豆內數	5	6	3	5	4	4	6	4	5	4
	長菌數	1	1	2	0	2	1	0	0	1	0
Day 10	豆外數	1	0	3	1	1	2	0	2	3	0
	豆內數	5	6	3	5	5	4	6	4	3	6
	長菌數	1	1	2	0	2	1	0	0	1	0
總計	第 10 天豆解剖 豆內蟲數：24 蟲長菌數：6 繁殖數：0						尚未解剖				
Day 12	豆外數	第 10 天解剖，發現咖啡果小蠹於咖啡豆胚乳中覓食 					2	1	4	1	1
	豆內數						4	5	2	5	5
	長菌數						1	0	0	0	0
Day 14	豆外數						2	1	4	1	1
	豆內數						4	5	2	5	5
	長菌數						1	0	0	0	0
Day 16	豆外數	第 10 天解剖，發現咖啡果小蠹於咖啡豆臍部鑽入的痕跡，但是卻沒有全部鑽入豆中，反而在豆外長菌情形。 					2	2	4	1	1
	豆內數						4	4	2	5	5
	長菌數						1	0	0	0	0
Day 18	豆外數						2	4	4	1	2
	豆內數						4	2	2	5	4
	長菌數						1	4	2	1	3
Day 20	豆外數						2	4	4	1	2
	豆內數						4	2	2	5	4
	長菌數						1	4	2	2	3
總計	總計						第 20 天解剖 豆內蟲數：17 蟲長菌數：12 繁殖數：0				

#### 四、四種濃度茄镰刀菌都會在第五天前造成咖啡果小蠹半致死情形

表 5-4-1 顯示，原孢子濃度、1/10 孢子濃度、1/100 孢子濃度、1/1000 孢子濃度分別在第三天、第五天、第五天、第五天達到半致死率的效果，而第 10 天時，1/10 濃度的咖啡果小蠹死亡率達 100%。

表 5-4-1 咖啡果小蠹在不同濃度的茄镰刀菌下死亡的變化情形

項目	原濃度致死率	1/10 濃度致死率	1/100 濃度致死率	1/1000 濃度致死率	對照組致死率
Day 1	10.0%	8.0%	4.0%	4.0%	4.0%
Day 2	24.0%	18.0%	15.0%	14.0%	8.0%
Day 3	59.0%	40.0%	29.0%	32.0%	13.0%
Day 4	74.0%	46.0%	44.0%	44.0%	17.0%
Day 5	81.0%	66.0%	51.0%	55.0%	22.0%
Day 6	85.0%	84.0%	59.0%	63.0%	25.0%
Day 7	90.0%	91.0%	71.0%	71.0%	30.0%
Day 8	93.0%	94.0%	79.0%	76.0%	34.0%
Day 9	97.0%	99.0%	96.0%	81.0%	38.0%
Day 10	98.0%	100.0%	98.0%	84.0%	41.0%

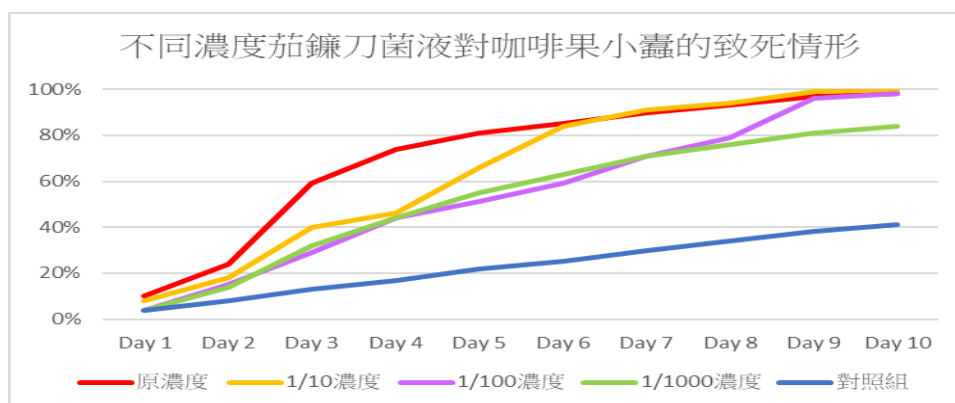
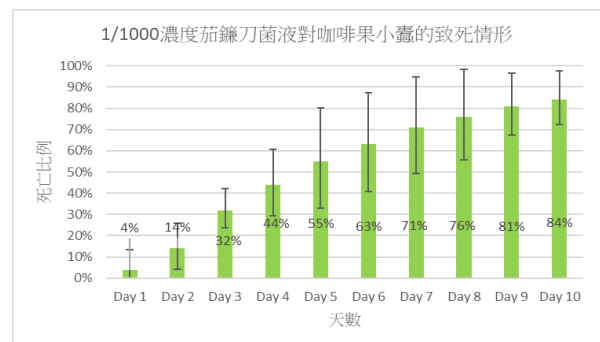
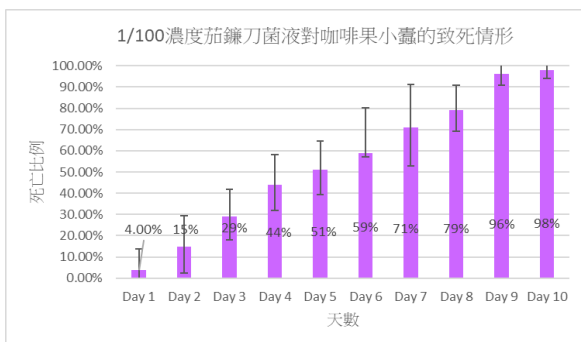
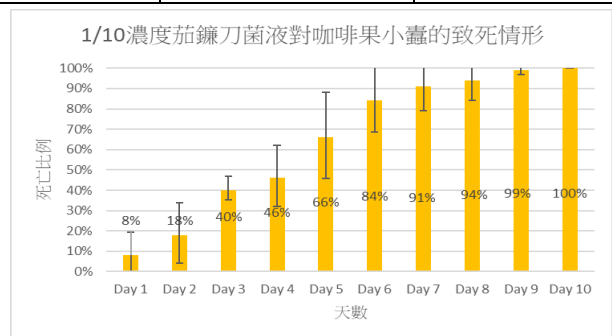
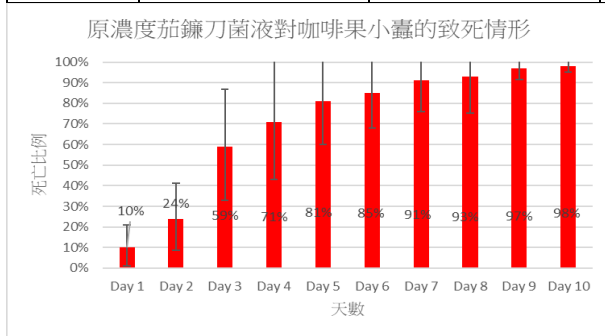


圖 5-4-1 不同濃度茄镰刀菌對咖啡果小蠹的致死情形

表 5-4-2 顯示，原孢子濃度、1/10 孢子濃度、1/100 孢子濃度、1/1000 孢子濃度造成咖啡果小蠹在第十天長菌的比例分別為 69%、55%、42%、37%。

表 5-4-2 咖啡果小蠹在不同濃度的茄镰刀菌下長菌的變化情形

項目	原濃度長菌率	1/10 濃度長菌率	1/100 濃度長菌率	1/1000 濃度長菌率	對照組長菌率
Day 1	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 2	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%
Day 3	15.0%	5.0%	0.0%	4.0%	0.0%
Day 4	22.0%	12.0%	4.0%	14.0%	5.0%
Day 5	33.0%	19.0%	5.0%	22.0%	7.0%
Day 6	43.0%	36.0%	16.0%	24.0%	10.0%
Day 7	50.0%	41.0%	21.0%	25.0%	11.0%
Day 8	56.0%	44.0%	26.0%	26.0%	12.0%
Day 9	59.0%	49.0%	40.0%	27.0%	12.0%
Day 10	69.0%	55.0%	42.0%	37.0%	13.0%

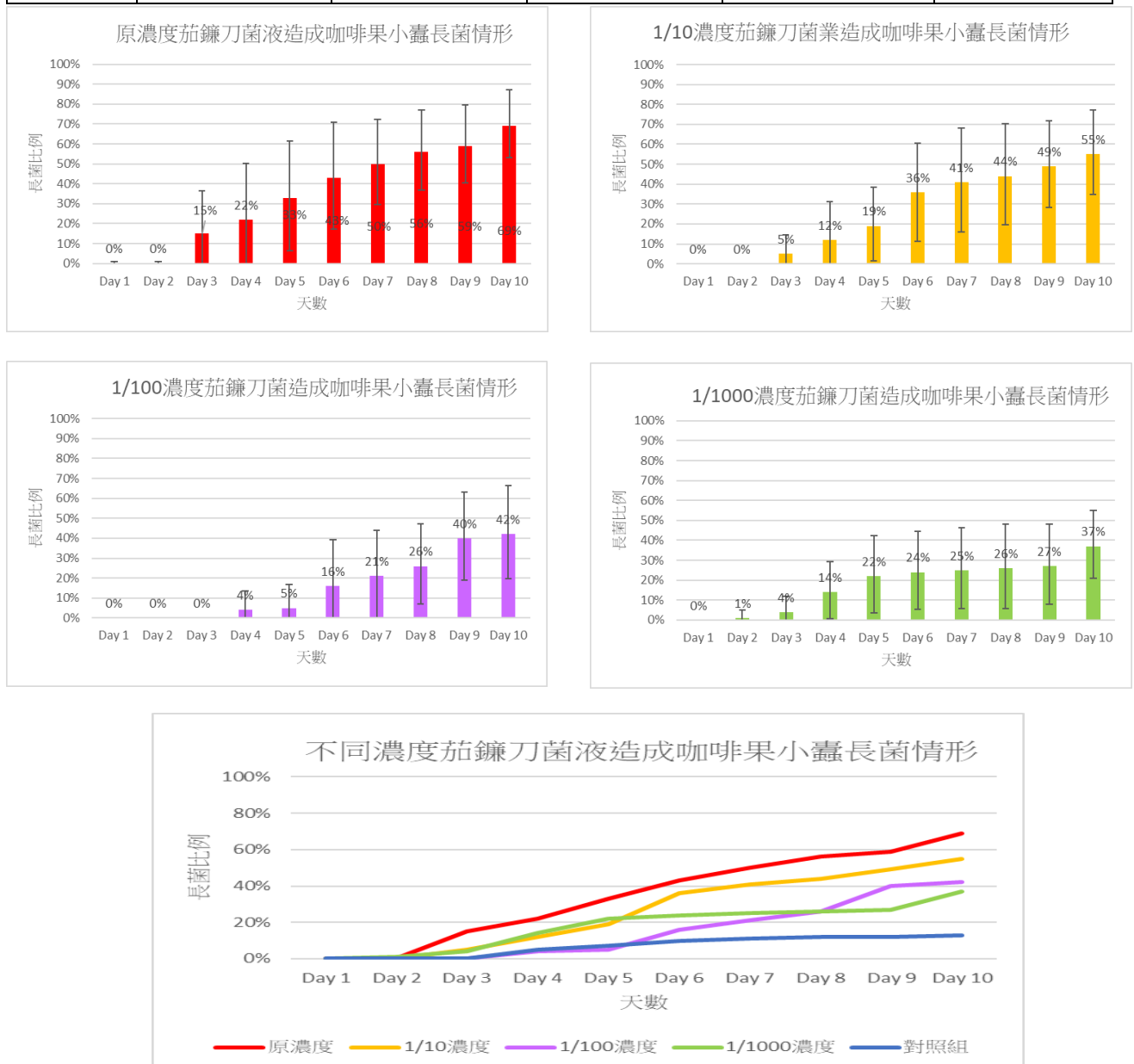


圖 5-4-2 不同濃度茄镰刀菌造成咖啡果小蠹長菌情形

## 茄镰刀菌入侵咖啡果小蠹的生長過程

### (一)成蟲被入侵過程

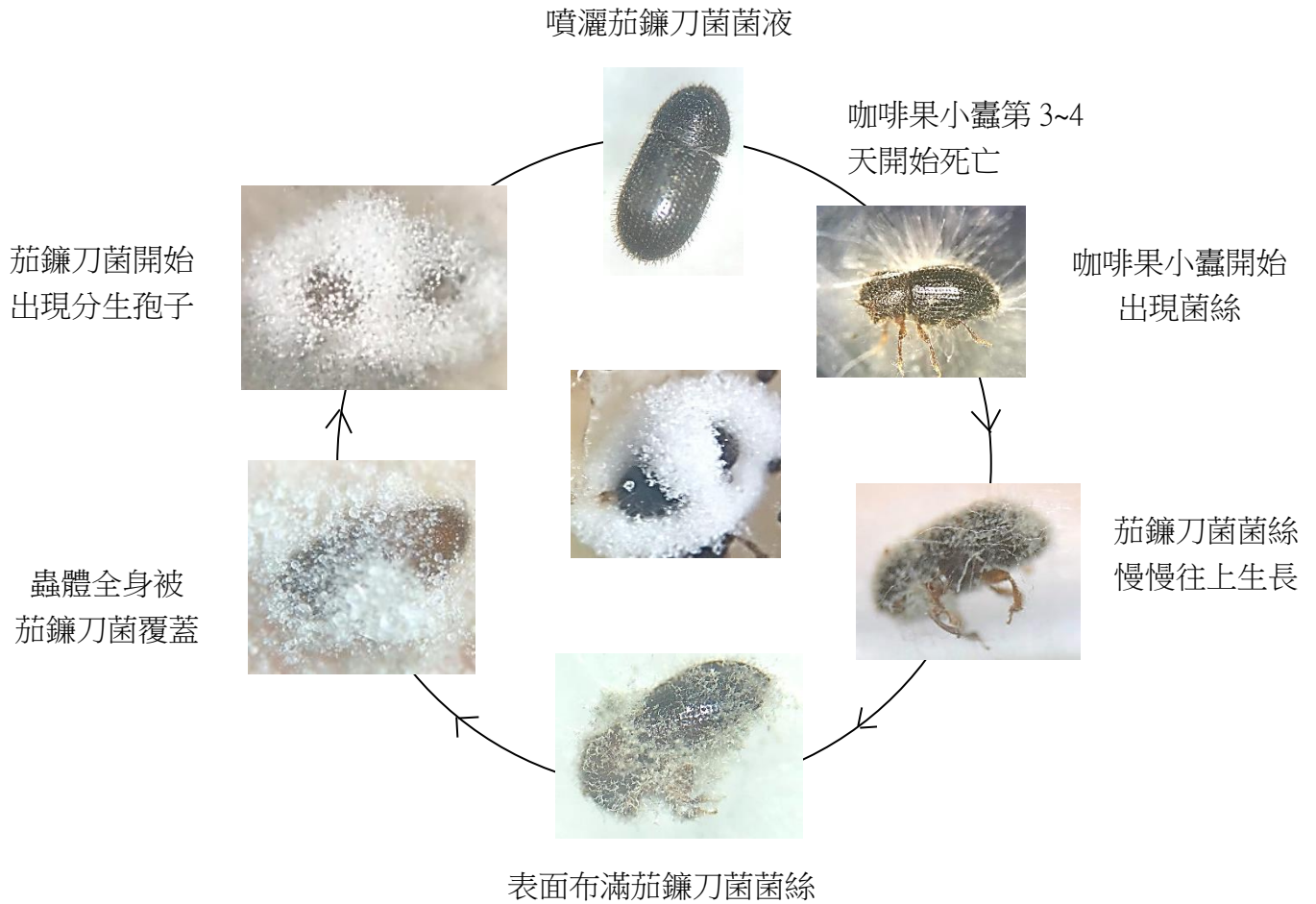


圖 5-4-3 咖啡果小蠹成蟲被茄镰刀菌入侵過程(圖片均拍自學校實驗室)

### (一) 蛹被入侵過程

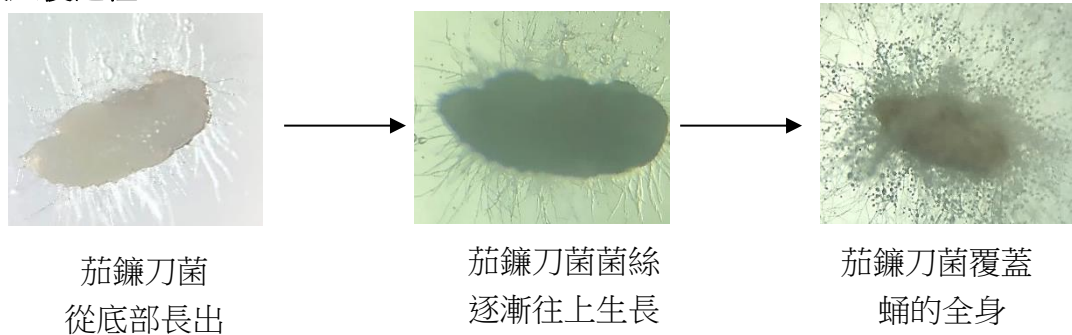


圖 5-4-4 咖啡果小蠹蛹被茄镰刀菌入侵過程(圖片均拍自學校實驗室)



## 五、單隻噴菌的咖啡果小蠹也會造成其他健康咖啡果小蠹死亡

表 5-5-1 顯示，原孢子濃度、1/10 孢子濃度、1/100 孢子濃度分別在第十天，第八天、第八天達到半致死率的效果，而第 10 天時，1/10 濃度的咖啡果小蠹死亡率達 60%。表 5-5-2 顯示，原孢子濃度、1/10 孢子濃度、1/100 孢子濃度、1/1000 孢子濃度咖啡果小蠹在第十天長菌的比例分別為 10%、10%、10%、0%。

表 5-5-1 單隻帶菌咖啡果小蠹對其他健康咖啡果小蠹造成死亡的變化情形

項目	原濃度致死率	1/10 濃度致死率	1/100 濃度致死率	1/1000 濃度致死率	對照組致死率
Day 1	0%	0%	0%	0.0%	0.0%
Day 2	0%	0%	10.0%	0.0%	10.0%
Day 3	10.0%	10.0%	10.0%	0.0%	10.0%
Day 4	20.0%	10.0%	20.0%	20.0%	20.0%
Day 5	30.0%	20.0%	20.0%	20.0%	30.0%
Day 6	30.0%	40.0%	30.0%	30.0%	30.0%
Day 7	40.0%	40.0%	30.0%	30.0%	30.0%
Day 8	40.0%	50.0%	50.0%	30.0%	40.0%
Day 9	40.0%	50.0%	50.0%	30.0%	40.0%
Day 10	50.0%	60.0%	50.0%	40.0%	40.0%

表 5-5-2 單隻帶菌咖啡果小蠹對其他健康咖啡果小蠹造成長菌的變化情形

項目	原濃度	1/10 濃度	1/100 濃度	1/1000 濃度	對照組
Day 1	0.0%	0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 2	0.0%	0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 3	0.0%	0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 4	0.0%	0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 5	0.0%	0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 6	0.0%	0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 7	0.0%	10%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 8	10.0%	10%	10.0%	0.0%	0.0%
Day 9	10.0%	10%	10.0%	0.0%	0.0%
Day 10	10.0%	10%	10.0%	0.0%	0.0%

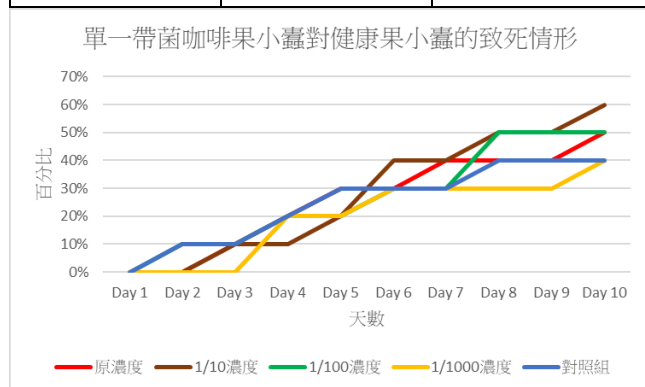


圖 5-5-1 單一帶菌咖啡果小蠹對健康果小蠹致死情形

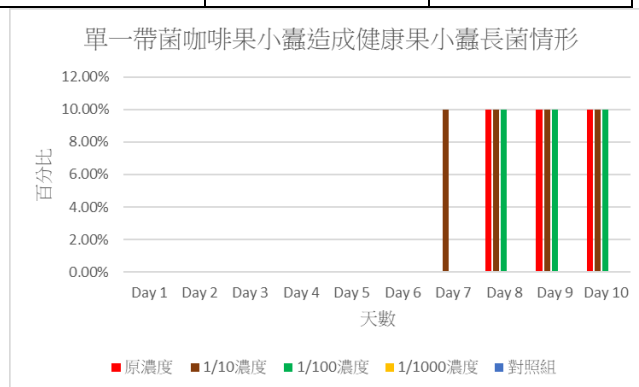


圖 5-5-2 單一帶菌咖啡果小蠹造成健康果小蠹長菌情形

## 六、帶菌咖啡果小蠹會在健康咖啡豆中長菌並死亡

表 5-6-1 顯示，帶菌咖啡果小蠹 10 天內在咖啡豆外數量、咖啡豆外死亡數量以及在咖啡豆中長菌並死亡的情形。表 5-6-2 顯示第十天時，咖啡果小蠹在咖啡豆外的比例是 27%，在咖啡豆外死亡比例為 20%，在咖啡豆內長菌比例為 22%。

表 5-6-1 帶菌咖啡果小蠹在健康咖啡豆的情形

		第一組	第二組	第三組	第四組	第五組	第六組	第七組	第八組	第九組	第十組
Day 2	豆外數	5	4	3	5	4	3	5	4	2	1
	死亡數	1	1	0	1	1	1	1	2	0	0
	長菌數	0	0	咖啡豆尚未解剖							
Day 4	豆外數	7	5	3	3	4	2	5	3	2	1
	死亡數	1	1	1	1	1	1	2	2	0	0
	長菌數	1	0	3	1	咖啡豆尚未解剖					
Day 6	豆外數	2	4	2	3	4	1	4	3	2	1
	死亡數	2	2	2	1	1	1	2	2	1	1
	長菌數	2	2	4	2	3	2	咖啡豆尚未解剖			
Day 8	豆外數	1	4	2	3	4	3	3	3	3	2
	死亡數	3	2	2	2	1	2	2	2	1	1
	長菌數	3	2	4	2	3	2	1	1	咖啡豆尚未解剖	
Day 10	豆外數	1	4	2	3	4	3	3	3	3	1
	死亡數	3	2	2	2	1	2	2	3	2	1
	長菌數	3	2	4	3	4	2	1	1	2	0

表 5-6-2 全部帶菌咖啡果小蠹在健康咖啡豆中各種比例

項目	咖啡果小蠹在咖啡豆外 比例%(n=100)	咖啡果小蠹在咖啡豆外 死亡比例%(n=100)	咖啡果小蠹在咖啡豆內 長菌比例%(n=100)
Day 2	36%	8%	0%
Day 4	35%	10%	5%
Day 6	26%	15%	15%
Day 8	28%	18%	18%
Day 10	27%	20%	22%

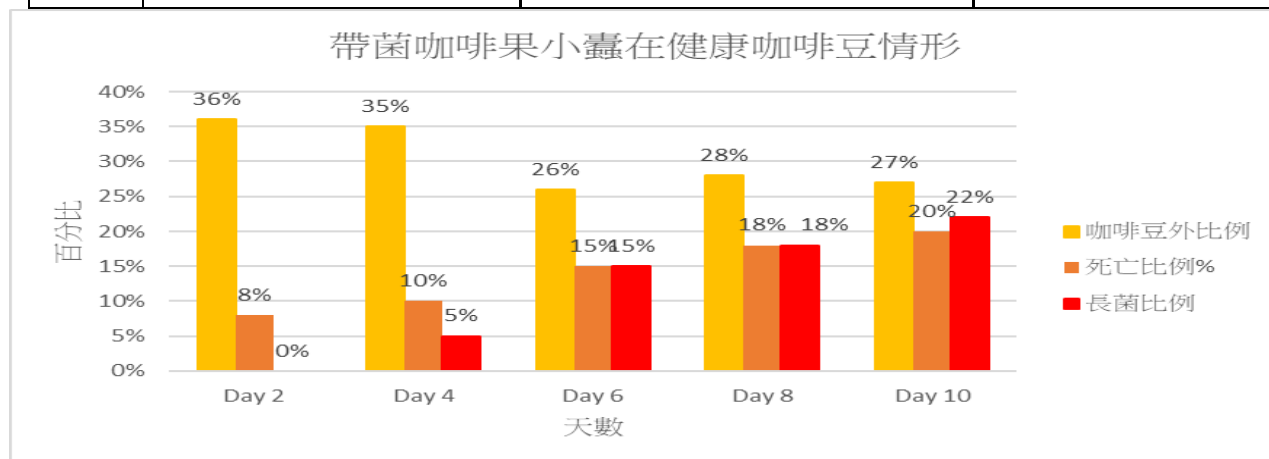


圖 5-6-1 咖啡果小蠹在健康康啡豆情形

### 帶菌咖啡果小蠹在健康咖啡豆長菌情形

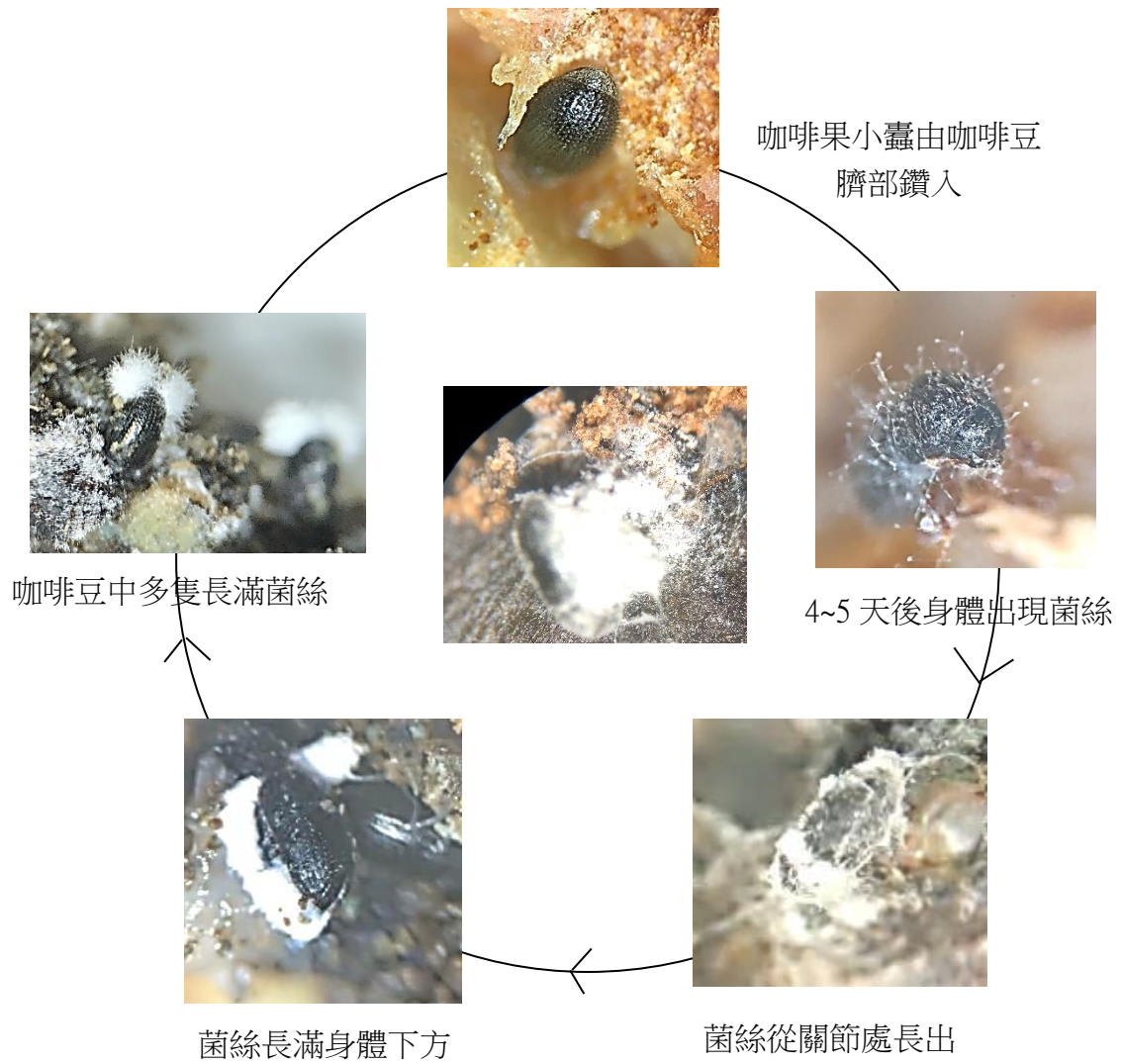


圖 5-6-2 帶菌咖啡果小蠹在咖啡豆中長菌過程(圖片均拍自學校實驗室)

## 七、三種濃度白殭菌會在第八天前造成咖啡果小蠹半致死情形

表 5-7-1 顯示，原孢子濃度、1/10 孢子濃度、1/100 孢子濃度分別在第六天，第八天、第八天達到半致死率的效果，而第 10 天時，原濃度孢子液的咖啡果小蠹死亡率達 74.4%。表 5-7-2 顯示，原孢子濃度、1/10 孢子濃度、1/100 孢子濃度、1/1000 孢子濃度造成咖啡果小蠹在第十天長菌的比例分別為 37.2%、15%、19%、19%。

表 5-7-1 咖啡果小蠹在不同濃度的白殭菌下死亡的變化情形

項目	原濃度致死率	1/10 濃度致死率	1/100 濃度致死率	1/1000 濃度致死率	對照組致死率
Day 1	7.0%	5.0%	10.0%	9.5%	0.0%
Day 2	11.6%	15.0%	10.0%	9.5%	10.0%
Day 3	18.6%	22.5%	25.0%	14.3%	15.0%
Day 4	23.3%	27.5%	25.0%	19.0%	20.0%
Day 5	32.6%	30.0%	40.0%	19.0%	25.0%
Day 6	51.2%	47.5%	40.0%	23.8%	30.0%
Day 7	53.5%	47.5%	40.0%	28.6%	30.0%
Day 8	58.1%	55.0%	50.0%	28.6%	40.0%
Day 9	72.1%	55.0%	50.0%	28.6%	40.0%
Day 10	74.4%	60.0%	55.0%	38.1%	40.0%

表 5-7-2 咖啡果小蠹在不同濃度的白殭菌下長菌的變化情形

項目	原濃度長菌率	1/10 濃度長菌率	1/100 濃度長菌率	1/1000 濃度長菌率	對照組長菌率
Day 1	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 2	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 3	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 4	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Day 5	4.7%	0.0%	5.0%	4.8%	0.0%
Day 6	16.3%	10.0%	10.0%	9.5%	0.0%
Day 7	16.3%	15.0%	10.0%	9.5%	0.0%
Day 8	20.9%	15.0%	10.0%	9.5%	0.0%
Day 9	27.9%	15.0%	10.0%	14.3%	0.0%
Day 10	37.2%	15.0%	15.0%	19.0%	0.0%

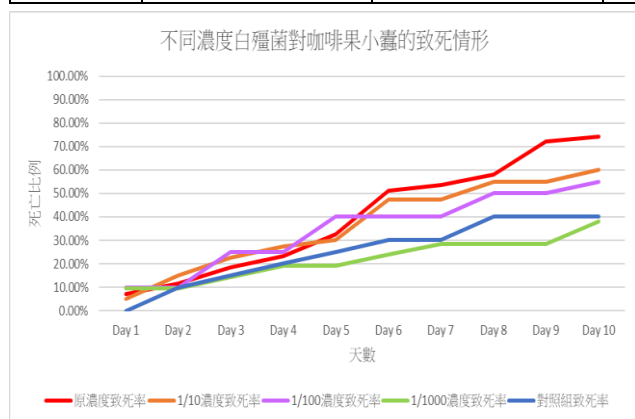


圖 5-7-1 不同濃度白殭菌造成咖啡果小蠹致死情形

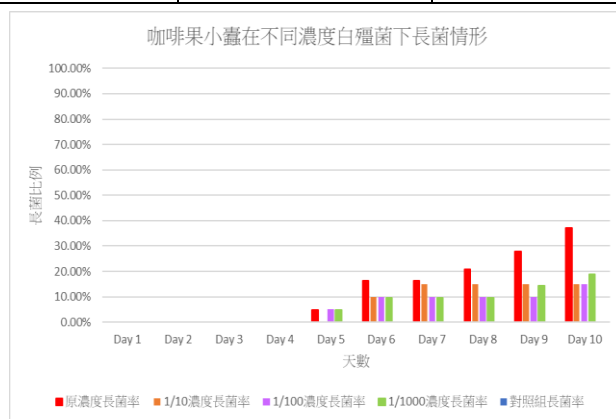


圖 5-7-2 不同濃度白殭菌造成咖啡果小蠹長菌情形

## 八、四種濃度茄镰刀菌對疣胸琉璃蟻的致死率不高

表 5-8-1 顯示，原孢子濃度、1/10 孢子濃度、1/100 孢子濃度、1/1000 孢子濃度皆無法造成疣胸琉璃蟻半致死率，而且也只有原濃度及 1/10 濃度在第 10 天分別有 4% 及 8.3% 長菌率。

表 5-8-1 疣胸琉璃蟻在不同濃度的茄镰刀菌下死亡的變化情形

項目	原濃度		1/10 濃度		1/100 濃度		1/1000 濃度		對照組	
	致死率	長菌率	致死率	長菌率	致死率	長菌率	致死率	長菌率	致死率	長菌率
Day 1	12.0%	0.0%	12.5%	0.0%	4.7%	0.0%	9.1%	0.0%	8.3%	0.0%
Day 2	24.0%	0.0%	12.5%	0.0%	9.3%	0.0%	22.7%	0.0%	12.5%	0.0%
Day 3	28.0%	0.0%	16.7%	0.0%	11.6%	0.0%	20.5%	0.0%	20.8%	0.0%
Day 4	28.0%	0.0%	16.7%	0.0%	14.0%	0.0%	22.7%	0.0%	20.8%	0.0%
Day 5	32.0%	0.0%	20.8%	0.0%	20.9%	0.0%	27.3%	0.0%	29.2%	0.0%
Day 6	32.0%	0.0%	25.0%	0.0%	25.6%	0.0%	31.8%	0.0%	29.2%	0.0%
Day 7	32.0%	0.0%	29.2%	0.0%	30.2%	0.0%	36.4%	0.0%	33.3%	0.0%
Day 8	40.0%	0.0%	33.3%	0.0%	32.6%	0.0%	38.6%	0.0%	37.5%	0.0%
Day 9	44.0%	4.0%	37.5%	4.2%	37.2%	0.0%	38.6%	0.0%	37.5%	0.0%
Day 10	44.0%	4.0%	45.8%	8.3%	44.2%	0.0%	40.9%	0.0%	37.5%	0.0%

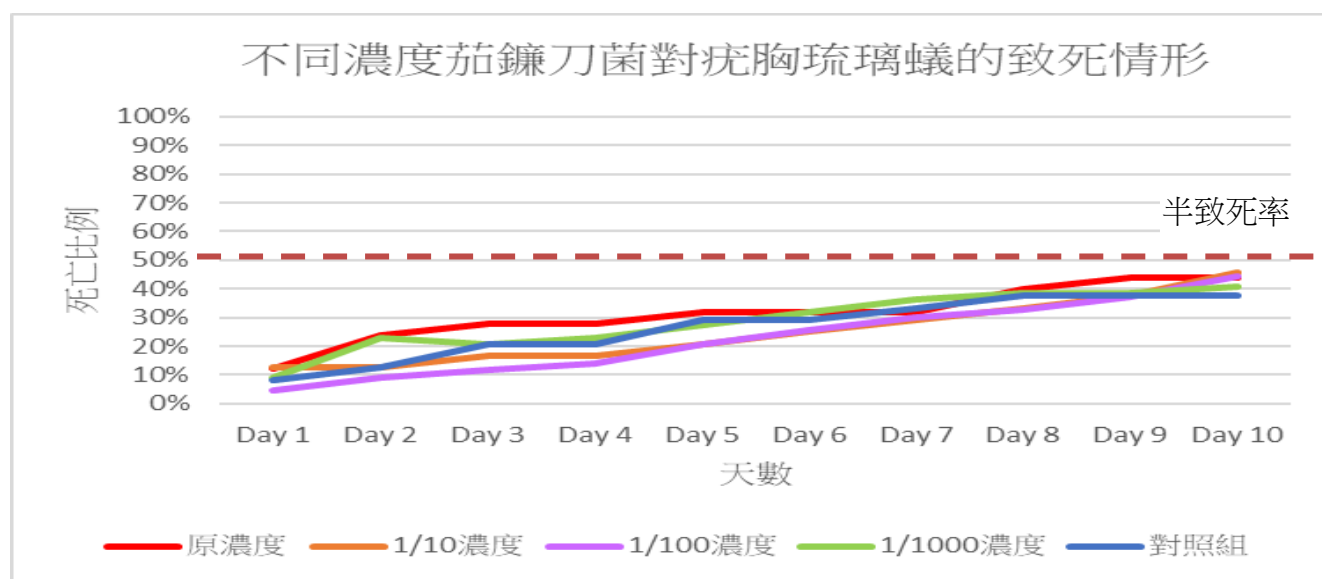


圖 5-8-1 不同濃度茄镰刀菌對疣胸琉璃蟻的致死情形

在蚜蟲實驗中發現茄镰刀菌雖然會造成蚜蟲長菌情形，但是其長菌情形並不明顯，不像在咖啡果小蠹身上有明顯的分生孢子群。



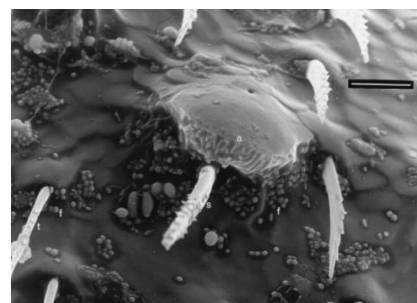
## 陸、討論

### 一、咖啡果小蠹特殊生活習性造成防治不易

咖啡果小蠹是非常不容易以藥劑防治的害蟲，主要因為整個生活史均躲藏在咖啡果實或是生豆內(林明瑩，2015)，牠可以行有性生殖，也可以孤雌生殖，加上在熱帶地區一年有 8 次繁殖週期，因此數量龐大。而林明瑩(2015)研究中也提出培丹及陶斯松達在蟲體上直接噴施藥液可以 100% 死亡率，但是將藥液噴於受害之咖啡果實表面，果實內之害蟲並不會死亡，無法達到防治的目的。因此在咖啡果小蠹的防治上若使用化學藥劑，可謂事倍功半，效果短暫，無法有效遏止咖啡果小蠹的擴散。

### 二、益生菌實驗中無法證實茄镰刀菌可以提高咖啡果小蠹生殖力，但是可以確定茄镰刀菌可以分解纖維素

我們根據 Juan 等人(2000)所設計的茄镰刀菌與咖啡果小蠹共生關係實驗，以行咖啡豆及咖啡果小蠹消毒後進行益生菌實驗，但是實驗結果無法證實茄镰刀菌為咖啡果小蠹的益生菌，甚至部分消毒過的咖啡果小蠹有長菌現象，我們推測可能有以下幾個原因：1.咖啡果小蠹雖然可以孤雌生殖，但是此時期食物源為青色咖啡豆，不利於繁殖下一代，故咖啡果小蠹沒有產卵；2.咖啡果小蠹頭胸背板有原始菌囊，在消毒沖洗過程不易沖乾淨，因此身上攜帶的茄镰刀菌成為誘發長菌的蟲生真菌。另外 Gloria 等人(2004)研究中推測咖啡果小蠹身上的茄镰刀菌可以協助分解胚乳，並轉化為母體需要的養分食物，而在我們進一步探究茄镰刀菌的特性後發現茄镰刀菌確實可以分解纖維素，所以證實茄镰刀菌確實有助於分解咖啡豆胚乳。



咖啡果小蠹頭胸背板上的原始菌囊，引自 Juan 等人(2000)。



茄镰刀菌分解咖啡豆培養基，形成透明圈

### 三、茄镰刀菌為咖啡果小蠹的抑生菌

在噴灑茄镰刀菌液實驗中，研究結果顯示四種濃度都會造成咖啡果小蠹長菌及死亡情形，與 Juan 等人(2000)所提茄镰刀菌會提高咖啡果小蠹生殖能力的說法不同。而在國外研究中(Sharma et al., 2018)也提及镰刀菌種可以深入探討，用以作為植物生物農藥或是昆蟲致病性等

等的探究。後者探究結果與本研究結果相似，因此未來在咖啡果小蠹防治上除了已知的白殭菌可作為生物農藥外，茄镰刀菌也可做為防治咖啡果小蠹的蟲生真菌。

#### 四、帶菌的咖啡果小蠹會在咖啡豆中死亡

將噴灑茄镰刀菌液的咖啡果小蠹放在健康的咖啡豆後，發現十天內咖啡果小蠹在咖啡中長菌的比例為 20%以上，若與咖啡豆上其他菌種比較，更可以看出茄镰刀菌對咖啡果小蠹的影響，這樣的結果顯示茄镰刀菌會入侵蟲體，誘發早期死亡。

#### 五、茄镰刀菌比白殭菌更早達到咖啡果小蠹半致死率，且死亡率較高

比較茄镰刀菌與白殭菌對咖啡果小蠹的致死情形，我們發現噴灑原孢子濃度的茄镰刀菌在第三天達到半致死率、白殭菌於第六天達到半致死率；在第 10 天時，兩種原濃度菌液對咖啡果小蠹的死亡率分別為茄镰刀菌是 98%，白殭菌則為 74.4%，因此茄镰刀菌比白殭菌更快達到半致死率，且死亡比例較高。

#### 六、茄镰刀菌對疣胸琉璃蟻無太大影響

摘取咖啡豆過程中發現咖啡枝條上爬滿疣胸琉璃蟻，而經過實驗證實茄镰刀菌對咖啡果小蠹具有專一的蟲生真菌特性，對共棲於咖啡樹上的疣胸琉璃蟻不會造成大量死亡，因此不會造成其他非目標生物死亡的為害。

#### 七、茄镰刀菌可成為降低咖啡果小蠹的蟲生真菌

依據咖啡果小蠹生活習性及繁殖季節，未來應用上可以在雌蟲外出交配的時節進行園區噴灑菌液，降低雌蟲數量。另外在非咖啡採收季節時，可以噴灑茄镰刀菌液於落果或是地上殘枝，讓蟲體身上沾附孢子，讓茄镰刀菌在咖啡果小蠹長菌並誘發早期死亡，逐漸降低咖啡果小蠹的危害。

## 柒、結論

隨著台灣咖啡園種植面積增加，咖啡果小蠹的危害持續擴大，但是針對牠的防治方式卻陷入瓶頸，因此本研究除了對咖啡果小蠹的生態習性有所瞭解，並經由茄镰刀菌對咖啡果小蠹的抑制效果，發現此菌的特性及功用。在未來應用上可以搭配白殭菌等微生物防治，促使蟲體早期死亡，根本降低其數量，逐漸降低咖啡果小蠹的危害，讓台灣持續往精品咖啡產業邁進。

## 參考資料

王泰權、梁鈺平(2019)。咖啡果小蠹發生生態與綜合防治策略簡介。農試所技服季刊 119:7-10。

<http://azai.tari.gov.tw/AIsearch/datasheet.html?id=173>

林明瑩、陳寬昇(2009)。咖啡的重要害蟲-咖啡果小蠹。台南區農業專訊 69 期，2009.09，PP.15-17。

林明瑩、陳昇寬(2015)。咖啡果小蠹之防治藥劑研究。臺南區農業改良場研究彙報 65：38-44。

<http://ir.tari.gov.tw:8080/bitstream/345210000/10719/2/30-3-2.pdf>

Juan A. Morales-Ramos,M. Guadalupe Rojas,Helga Sittertz-Bhatkar,Guadalupe Saldaña(2000) *Symbiotic Relationship betweenHypothenemus hampei(Coleoptera: Scolytidae) andFusarium solani (Moniliales: Tuberculariaceae).*Annals of the Entomological Society of America, Volume 93, Issue 3, 1 May 2000, Pages 541 – 547,[https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2000\)093\[0541:SRBHHC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2000)093[0541:SRBHHC]2.0.CO;2)

Lav Sharma \*OrcID and Guilhermina Marques(2018). *Fusarium, an Entomopathogen—A Myth or Reality?*

CITAB—Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real 5000 – 801, Portugal Pathogens 2018, 7(4), 93; <https://doi.org/10.3390/pathogens7040093>

Gloria carrióni and Arturo Bonet (2004).Mycobiota Associated with the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae) and Its Galleries in Fruit.

[https://www.researchgate.net/publication/232673228\\_Mycobiota\\_Associated\\_with\\_the\\_Coffee\\_Berry\\_Borer\\_Coleoptera\\_Scolytidae\\_and\\_Its\\_Galleries\\_in\\_Fruit](https://www.researchgate.net/publication/232673228_Mycobiota_Associated_with_the_Coffee_Berry_Borer_Coleoptera_Scolytidae_and_Its_Galleries_in_Fruit)



## 【評語】 032904

參賽者想從帶有白菌的咖啡豆中培養出對咖啡果小蠹有致死效果的白殭菌，經過鑑定卻發現是茄镰刀菌，並透過一系列證明茄镰刀菌並不若其它研究所稱對咖啡果小蠹而言為益生菌，反之，為咖啡果小蠹的抑生菌，並且比市售白殭菌有更好的抑菌功效，且對於對照組生物無害，有生物防治應用價值。參賽者在實驗過程遇到許多困難，但仍克服困難完成研究，有研究精神。測試不同濃度菌含量的致死率時，對照組應加入相對應的 Tween 20 乳化劑，而非只是噴灑純水，因為乳化劑也可能成為影響因素。

# 摘要

近來咖啡樹大增，造成在咖啡豆完成生活史的咖啡果小蠹迅速擴散，使用化學藥劑也難以防治。閱讀文獻發現白殭菌可以抑制咖啡果小蠹，因此我們採集帶白菌的咖啡豆進行培育，並透過前置實驗，找出使咖啡果小蠹早期死亡的蟲生真菌。經過菌種鑑定，此蟲生真菌是國外研究提高雌蟲生殖力的茄镰刀菌。為了進一步了解此菌對咖啡果小蠹的影響，我們設計益生菌及抑生菌實驗。研究結果顯示噴灑 $4.39 \times 10^6$ 孢子液可在第3天達到半致死率； $4.39 \times 10^5$ 孢子液可在10天內達到100%死亡效果；將噴灑 $4.39 \times 10^6$ 孢子液的咖啡果小蠹放入咖啡豆10天，可達22%長菌率，其殺蟲效果不亞於市售白殭菌，對咖啡樹上的疣胸琉璃蟻無致命影響。未來可將此菌與白殭菌共同運用於咖啡園中，達到生物農藥防治效果。

## 壹、研究動機

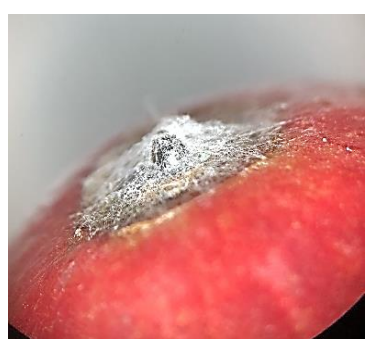
這幾年咖啡果小蠹危害咖啡生豆及熟豆，加上牠的生存能力強，因此造成防治困難。搜尋資料過程中發現白殭菌可以抑制咖啡果小蠹，因此我們就採集咖啡園中帶有白菌的咖啡豆，進行咖啡果小蠹的染菌實驗。等到咖啡果小蠹染菌後，我們採集牠身上的菌進行菌種鑑定，最後確認我們培育出來的菌是茄镰刀菌(*Fusarium solani*)。國外研究提到牠是幫助雌咖啡果小蠹提高生殖力的互利共生菌(Juan et al., 2000)，但是我們的實驗卻發現它是造成咖啡果小蠹死亡的抑生菌，這種現象讓我們更想要進一步探究茄镰刀菌與咖啡果小蠹的關係。



咖啡豆及咖啡果小蠹

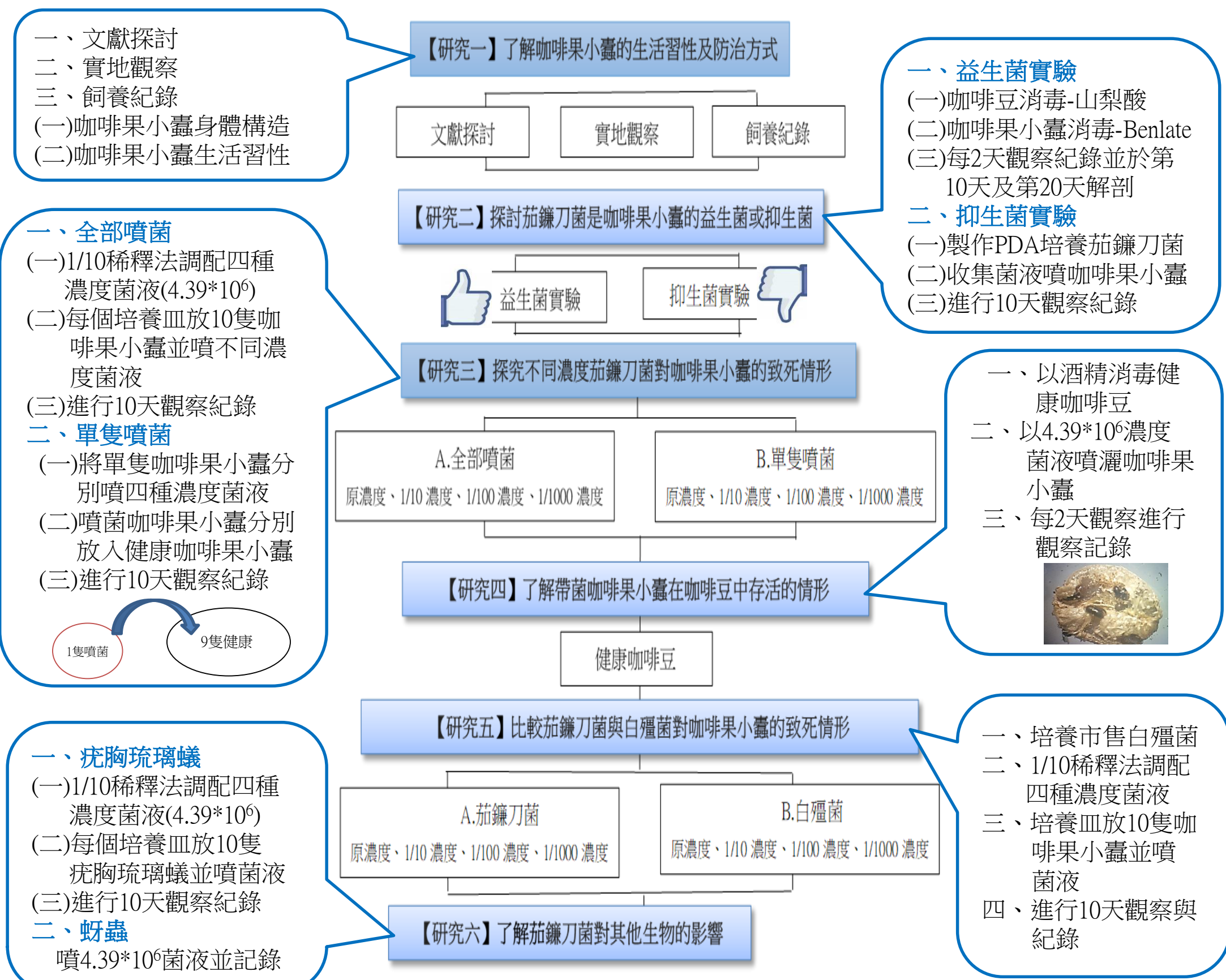
實驗中我們遇到瓶頸，首先咖啡採收季結束，我們只能尋找零散的果實進行實驗；再來是咖啡果小蠹生活咖啡果實中，解剖上千顆咖啡豆，才勉強蒐集到可以進行實驗蟲數；最後咖啡很容易發霉，我們也想辦法讓咖啡果小蠹有食物吃，就這樣一關一關努力克服困難後，終於完成實驗。

- 1.咖啡園摘帶白菌咖啡豆    2.實驗後蠹蟲身上長菌    3.此菌是文獻認為提高生殖力的茄镰刀菌



## 貳、研究架構及研究過程

益生菌或抑生菌~探討茄镰刀菌影響咖啡果小蠹生長的情形



# 參、研究結果

## 一、目前以噴灑農藥、微生物防治或是誘捕器降低咖啡果小蠹

- (一)化學防治：林明瑩等人(2015)以培丹可溶性粉劑1,000倍、40.8%陶斯松乳劑1,000倍直接噴灑於咖啡果小蠹體表，可以在24小時內達到100%咖啡果小蠹觸殺效果。
- (二)微生物殺蟲劑：國外有紀錄使用白殭菌(*Beauveria bassiana*)用於防治咖啡果小蠹成蟲，也獲得一定的效果。
- (三)誘殺器防治：咖啡園可利用工業級甲醇和乙醇以1:1體積比例調製，可有效誘引咖啡果小蠹雌蟲(林明瑩、陳昇寬，2009)。
- (四)耕作防治：

由於雌咖啡果小蠹在沒有食物的情況下仍可以存活81天，所以要盡量將樹上、地面上的未成熟或掉落的果實全部收集，避免咖啡樹上的果實或地面上的落果成為咖啡果小蠹繁衍的溫床。



圖3-1咖啡果小蠹生活史(照片拍攝自學校實驗室)

## 二、益生菌實驗中茄镰刀菌會影響咖啡果小蠹生長情形

以消毒的咖啡豆及咖啡果小蠹進行益生菌實驗，第10天解剖時，發現咖啡果小蠹在豆內為24隻，其中長菌數6隻，繁殖數0隻，亦即果小蠹在豆內比例是80%，在豆內長菌比例是20%。第20天解剖時發現咖啡果小蠹在豆內為17隻，長菌數為12隻，繁殖數為0隻，亦即果小蠹在豆內比例56.7%，豆內長菌比例是40%。

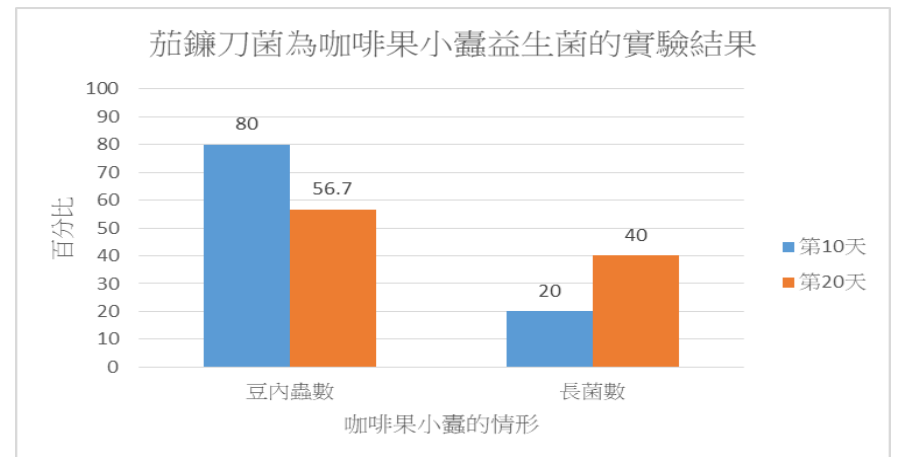


圖3-2 茄镰刀菌為咖啡果小蠹益生菌的實驗結果

## 三、四種濃度茄镰刀菌都會在第五天前造成咖啡果小蠹半致死情形

圖3-3-1顯示，原孢子濃度、1/10孢子濃度、1/100孢子濃度、1/1000孢子濃度分別在第三天，第五天、第五天、第五天達到半致死率的效果，而第10天時，1/10濃度的咖啡果小蠹死亡率達100%。圖3-3-2顯示，原孢子濃度、1/10孢子濃度、1/100孢子濃度、1/1000孢子濃度造成咖啡果小蠹在第十天長菌的比例分別為69%、55%、42%、37%。

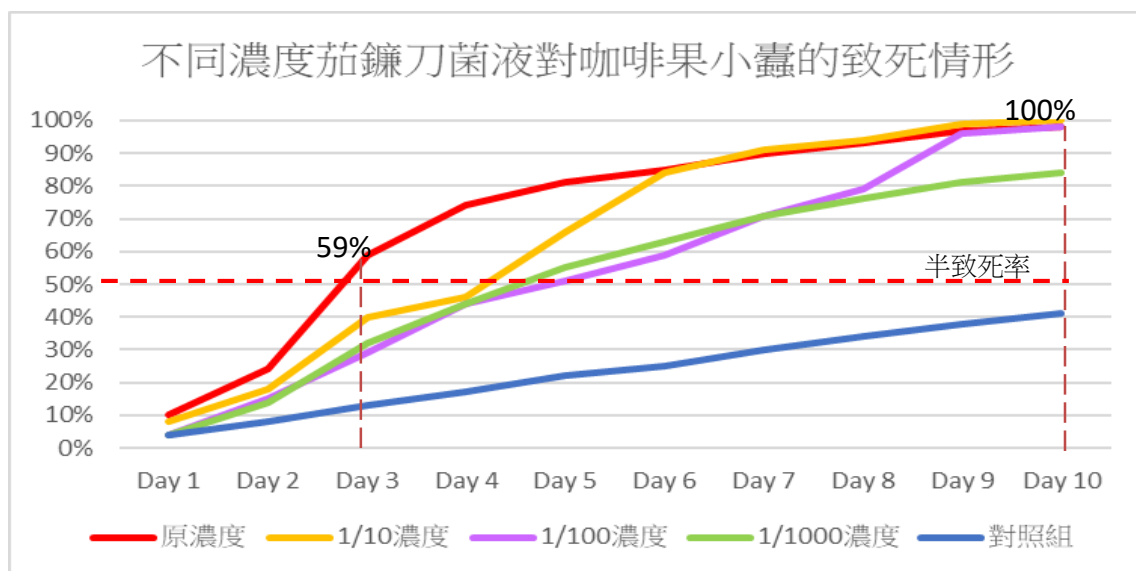


圖 3-3-1 不同濃度茄镰刀菌對咖啡果小蠹的致死情形

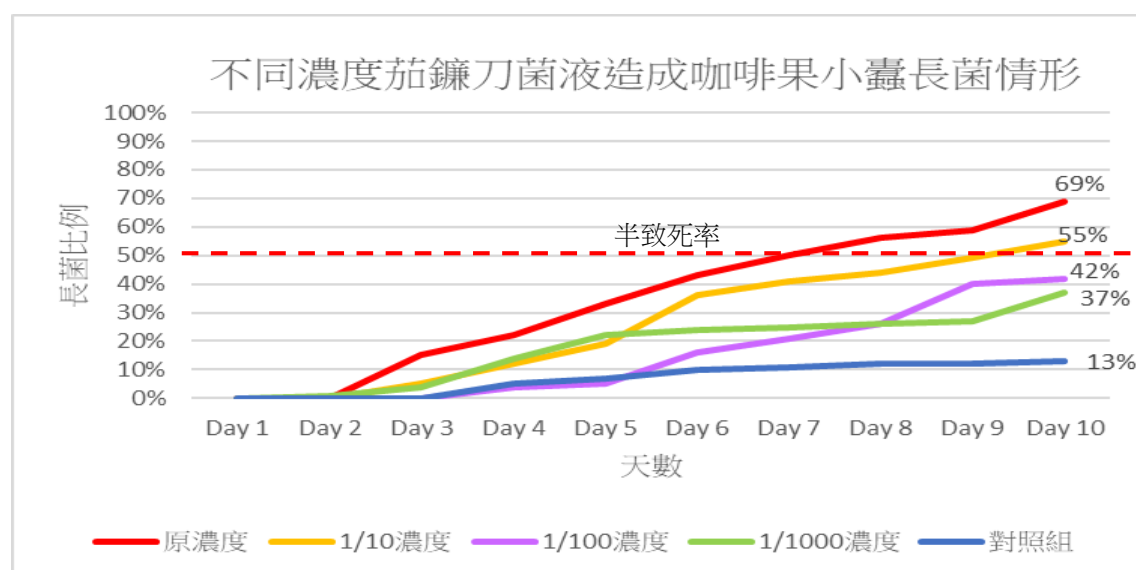


圖 3-3-2 不同濃度茄镰刀菌造成咖啡果小蠹長菌情形

## 茄镰刀菌入侵咖啡果小蠹的生長過程

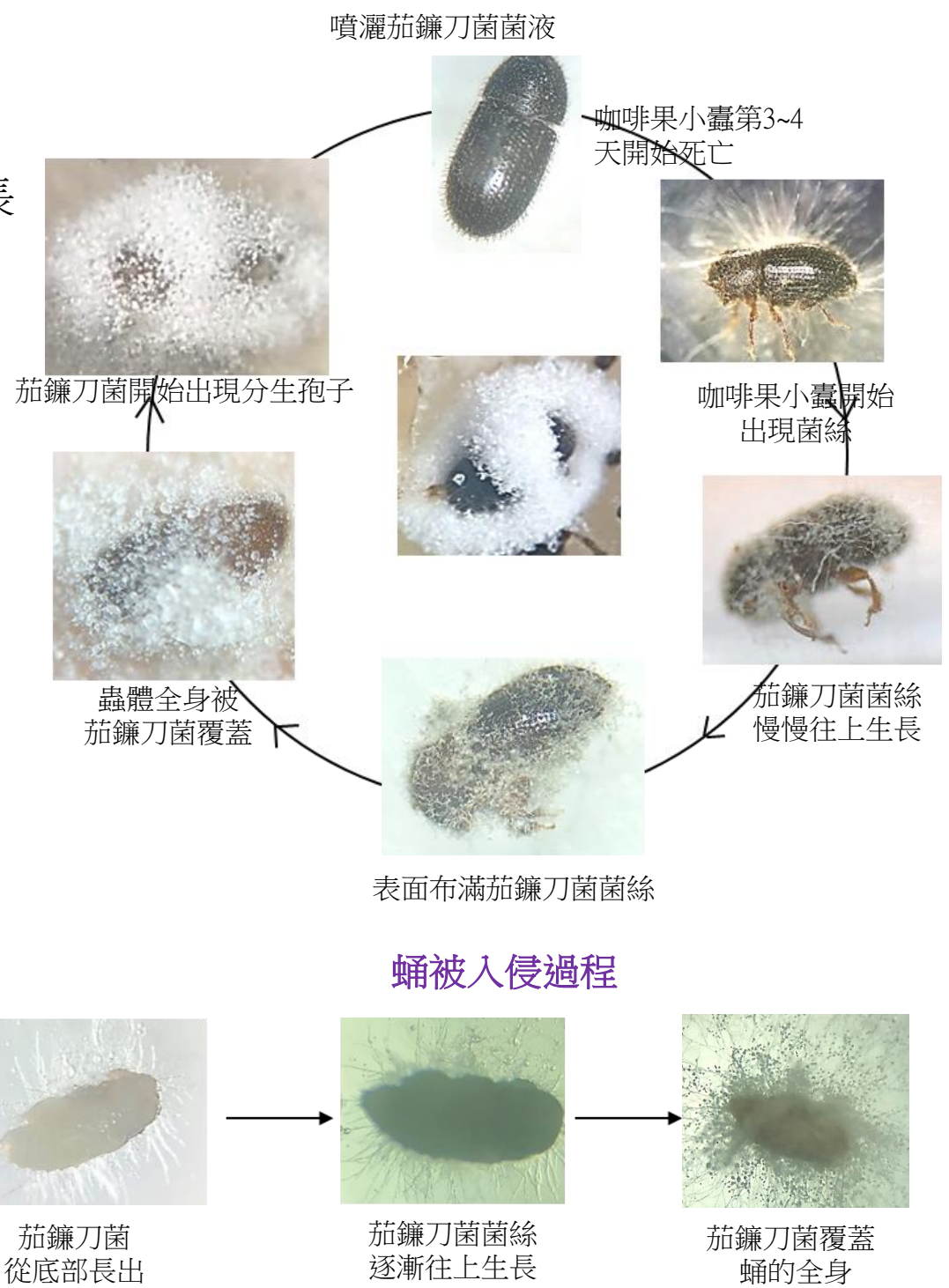


圖 3-3-3 咖啡果小蠹被茄镰刀菌入侵過程(圖片均拍自學校實驗室)

## 四、單隻噴菌的咖啡果小蠹對其他健康咖啡果小蠹影響不大

圖3-4-1顯示，原孢子濃度、1/10孢子濃度、1/100孢子濃度分別在第十天，第八天、第八天達到半致死率的效果，而第10天時，1/10濃度的咖啡果小蠹死亡率達60%。圖3-4-2顯示，原孢子濃度、1/10孢子濃度、1/100孢子濃度、1/1000孢子濃度咖啡果小蠹在第十天長菌的比例分別為10%、10%、10%、0%。

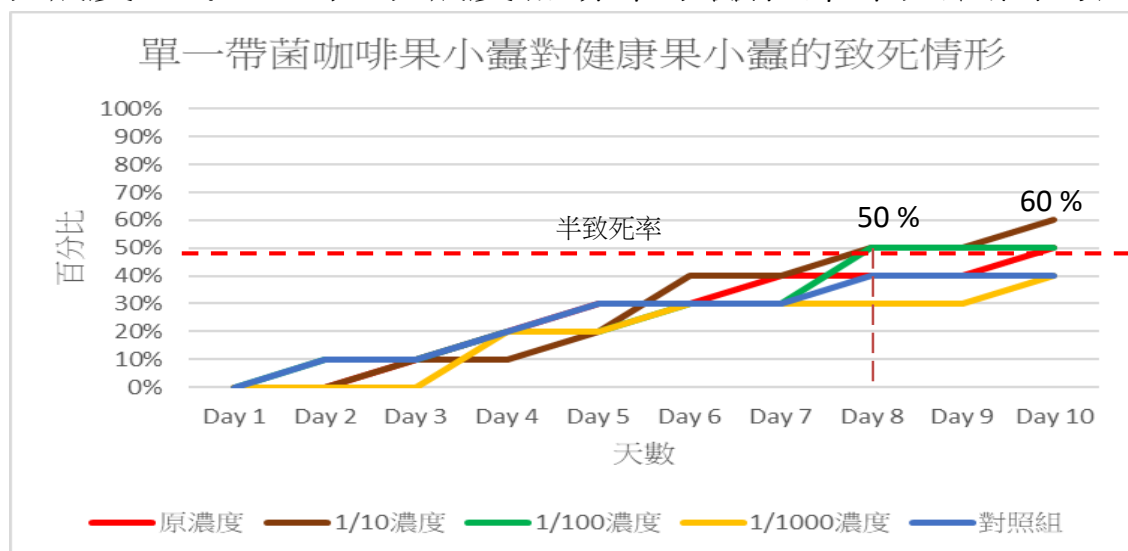


圖 3-4-1 單一帶菌咖啡果小蠹對健康果小蠹的致死情形

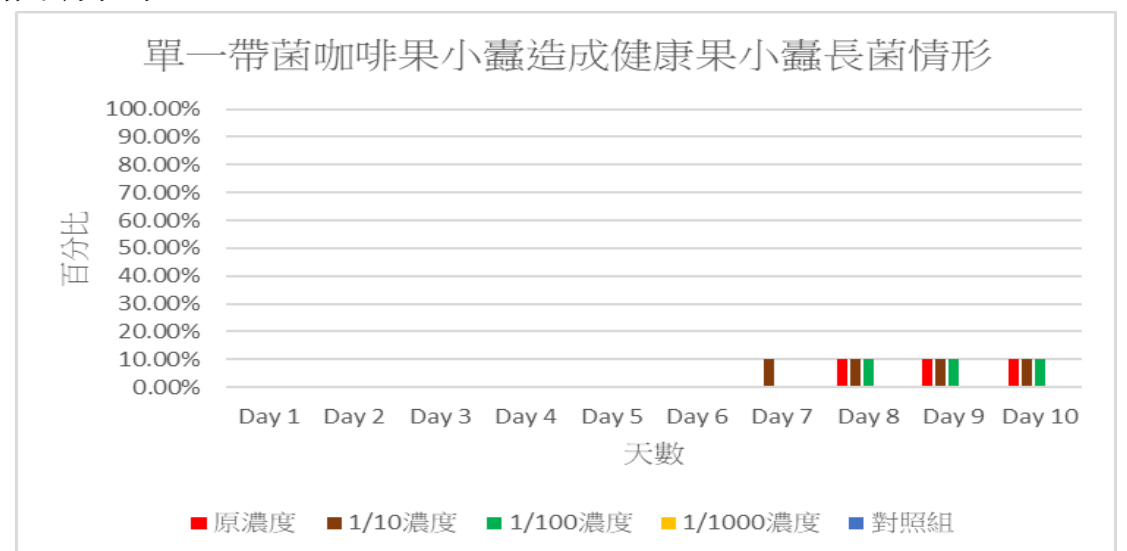


圖 3-4-2 單一帶菌咖啡果小蠹造成健康果小蠹長菌情形

益生菌部分

抑生菌部分

### 五、帶菌咖啡果小蠹會在健康咖啡豆中長菌並死亡

圖3-5-1顯示，第十天時，咖啡果小蠹在咖啡豆內的比例是73%，在豆外死亡比例是20%，在咖啡豆內長菌比例22%。

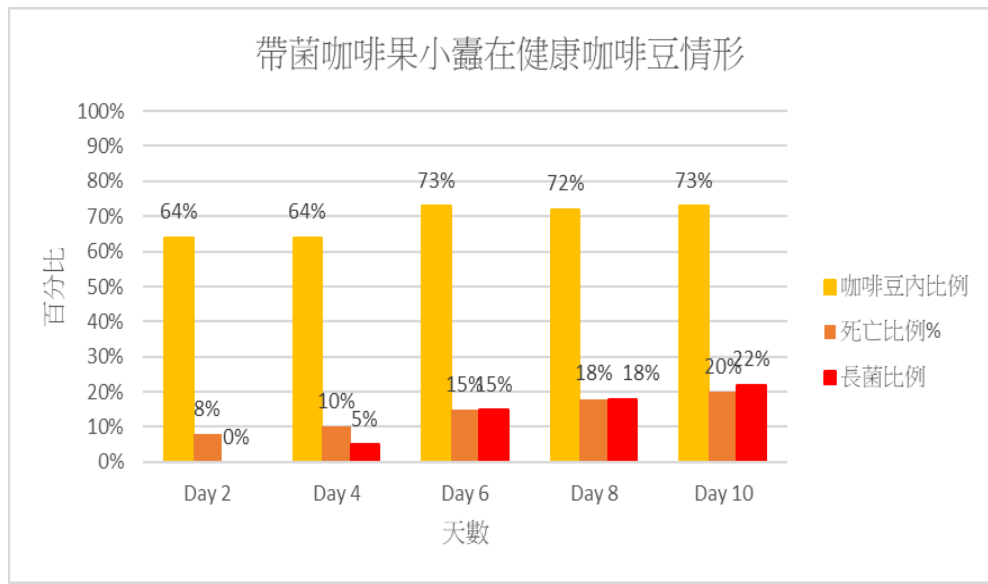


圖 3-5-1 帶菌咖啡果小蠹在健康咖啡豆情形

### 六、三種濃度白殭菌曾在第八天造成咖啡果小蠹半致死情形

圖3-6顯示，原孢子濃度、1/10孢子濃度、1/100孢子濃度分別在第六天，第八天達半致死率效果，第10天時，原濃度孢子液的咖啡果小蠹死亡率74.4%。原孢子濃度、1/10孢子濃度、1/100孢子濃度造成咖啡果小蠹在第十天長菌比例為37.2%、15%、19%、19%。

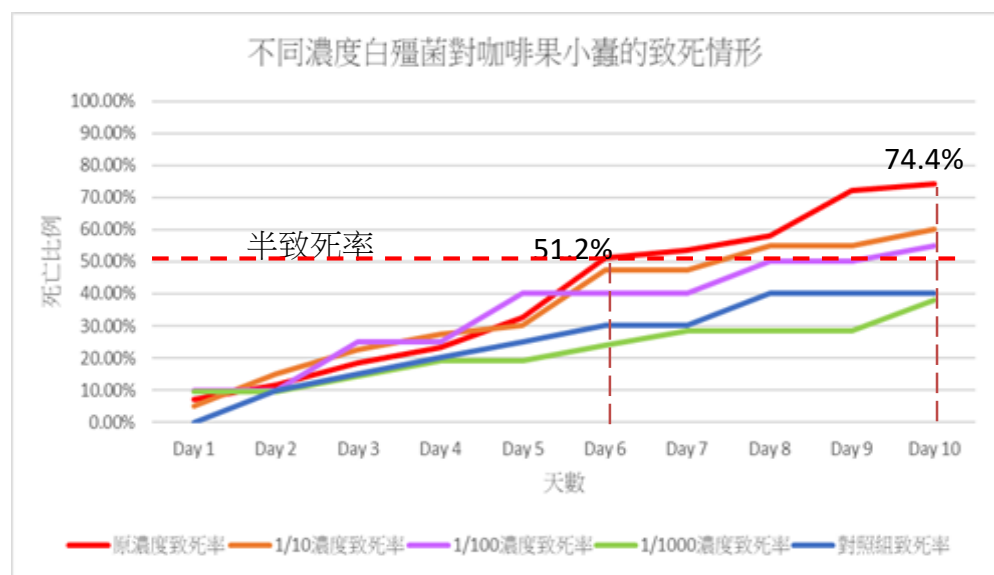


圖 3-6 不同濃度白殭菌對咖啡果小蠹的致死情形

### 帶菌咖啡果小蠹在健康咖啡豆長菌情形

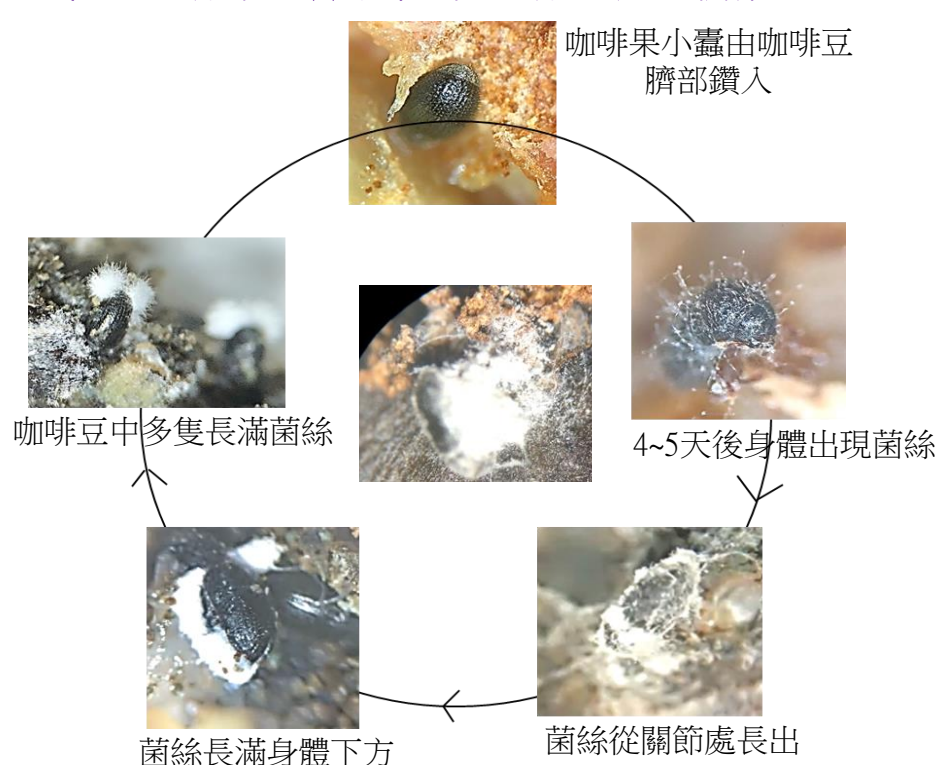


圖 3-5-2 帶菌咖啡果小蠹在健康咖啡豆長菌情形

### 七、四種濃度茄镰刀菌對疣胸琉璃蟻及蚜蟲致死率低

圖3-7顯示，原孢子濃度、1/10孢子濃度、1/100孢子濃度、1/1000孢子濃度皆無法造成疣胸琉璃蟻半致死率，而且也只有原濃度及1/10濃度在第10天分別有4%及8.3%長菌率。在蚜蟲實驗中發現茄镰刀菌會造成蚜蟲長菌情形，但是其長菌情形並不明顯。

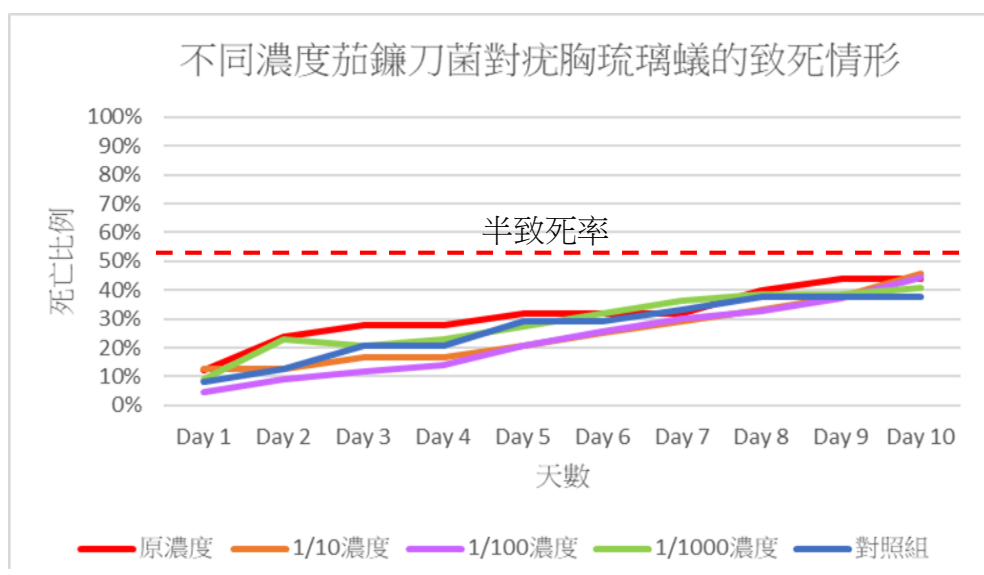
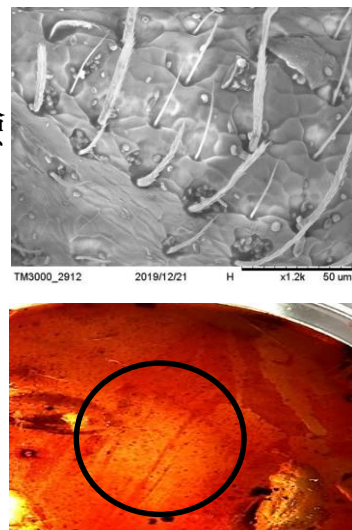


圖 3-7 疣胸琉璃蟻在不同濃度的茄镰刀菌下死亡的變化情形

## 肆、討論

### 一、益生菌實驗部分證實茄镰刀菌會影響咖啡果小蠹生殖力，且茄镰刀菌可以分解纖維素

益生菌實驗中由於將咖啡豆及咖啡果小蠹消毒，所以原本益生的茄镰刀菌數量減少，不利咖啡果小蠹生殖，此外我們推測以下原因也影響生殖及長菌情形：1.實驗期間食物源為青豆，不利下一代繁殖；2.咖啡果小蠹頭胸背板有原始菌囊，未消毒乾淨的茄镰刀菌成為誘發長菌的蟲生真菌。我們也閱讀到國外學者研究推測咖啡果小蠹身上的茄镰刀菌可以分解胚乳，並轉化為養分食物，而在我們進一步探究茄镰刀菌的特性後發現茄镰刀菌可以分解纖維素，有助於分解咖啡豆胚乳。



### 二、茄镰刀菌為咖啡果小蠹的抑生菌

在抑生菌實驗中，研究結果顯示四種濃度都會造成咖啡果小蠹長菌及死亡情形。而我們也找到2018年國外研究中提到茄镰刀菌可以作為植物生物農藥或是昆蟲致病性的資料。

### 三、茄镰刀菌比白殭菌更早達到咖啡果小蠹半致死率，且死亡率較高

比較茄镰刀菌與白殭菌對咖啡果小蠹的致死情形，我們發現噴灑原濃度的茄镰刀菌在第三天達到半致死率、白殭菌於第六天達到半致死率；在第10天時，原濃度茄镰刀菌液死亡率是98%，白殭菌液則為74.4%，因此茄镰刀菌比白殭菌更快達到半致死率，且死亡比例較高。

### 四、茄镰刀菌對疣胸琉璃蟻及蚜蟲無太大影響

經過實驗證實茄镰刀菌對咖啡果小蠹具有專一的蟲生真菌特性，對共棲於咖啡樹上的疣胸琉璃蟻及蚜蟲不會造成大量死亡，不會造成其他非目標生物的為害。

### 五、茄镰刀菌可成為降低咖啡果小蠹的蟲生真菌

依據咖啡果小蠹生活習性及繁殖季節，未來應用上可以在雌蟲外出交配的時節進行園區噴灑菌液，降低雌蟲數量。另外在非咖啡採收季節時，可以噴灑茄镰刀菌液於落果或是地上殘枝，讓蟲體身上沾附孢子，讓茄镰刀菌在咖啡果小蠹長菌並誘發早期死亡，逐漸降低咖啡果小蠹的危害。

## 結論

國外研究中提及茄镰刀菌附著於咖啡果小蠹的在頭胸背板 我們經由實驗室電子顯微鏡拍照也應證這個推測，國外報告中推論茄镰刀菌可以分解咖啡豆，提供果小蠹繁殖的養分，我們的研究也間接證實這個推論。雖然我們發現茄镰刀菌會抑制果小蠹生長但是我們覺得茄镰刀菌與果小蠹之間形成一種互利共生的動態平衡，這種現象值得進一步深入探討。