

# 中華民國第 61 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

第一名

032918

無毒有「單」~探討單寧酸作為生物農藥的可行性

學校名稱：高雄市立明華國民中學

作者：  國二 蘇暘程  國二 李珣琳  國二 李函庭	指導老師：  吳德儀  李冠徵
---	-----------------------------

關鍵詞：單寧酸、生物農藥、植物代謝物

## 得獎感言

### 我們與生物農藥的 525600 分鐘

天空，下起綿綿細雨，沒有暴風的怒吼，也沒有豔陽的笑容，更多的是……情緒的宣洩。走出比賽會場的那一刻，懊悔與惋惜湧上了心頭，沉積在心底的陰鬱好似在等待著情緒的潰堤，「如果能再一次，我一定會回答完整」，種種想要重來的念頭，早已佈滿腦中，我們並不滿意剛剛的表現與回答，眼淚猶如斷了線的珍珠一一墜落，沒有狂風，沒有豔陽，只有綿綿細雨在旁，靜靜的聽著我們訴說……剛剛的不完美。

一年前，也就是我們故事的起點，是個熱情的夏天。在最初的故事當中，我們其實是想研究農民曆裡提及的柿子與螃蟹相剋一說，而他們的相剋機轉給了我們啟發，於是我們便開啟了研究生物農藥的實驗。而在實驗剛開始，我們就遇到了一個很荒唐也很嚴重的問題，因為我們的實驗對象是蚜蟲，但不知道為什麼，蚜蟲竟然被我們越養越少，甚至到最後一隻都不剩，我們便很納悶地想說，「蚜蟲不是害蟲嗎？怎麼會養不活啊？」，更笑說以後如果當農夫，種的菜都不必噴農藥，而且還會長的頭好壯壯！但在開玩笑的同時，我們也很苦惱，沒有了蚜蟲，到底該怎麼讓實驗繼續下去呢？好在有一天，牠們又神奇地突然出現了！雖然到現在我們還是不清楚，為什麼蚜蟲會突然集體消失，又再次回歸，不過真幸虧他們有回來，我們的實驗才得以繼續下去。

在線上頒獎當天，不知道什麼原因，沒有公佈到我們這一大組，那時候我們超級忐忑的，甚至想著這是不是在暗示一個不好的結局，再加上我們對比賽當天的回答很不滿意，而且在報告的時候又斷訊了將近一分鐘，種種原因都令我們原本顫抖的心更加不安。到了下午，得獎名單出來了，我們既緊張又害怕，猶豫著該不該看名單。最後，我們終於鼓起勇氣，點下按鍵，當我們看到「第一名-明華國中」時，緊張的心情終於得到緩解，伴隨而來的是無盡的喜悅。那一刻……我們只是笑著，因為愉悅之情早已溢於言表。

我們能有這次科展的成就，最感謝的就是指導老師了，他一路陪伴著我們，在需要時給予我們最合適的建議，而在面對挫折時，更給予我們最大的鼓勵與肯定。不僅如此，我們也很感謝屏科大的教授和農委會的研究員對我們的指導，以及提供我們學校沒有的設備，正因為如此，我們才有辦法奪得第一名的佳績。

在做科展的這 525600 分鐘內，我們在對科學基本知識的了解、建構實驗的邏輯、報告呈現的要求，以及對科學研究的層次，都有了更深入的理解。科展帶給我們的不只是比賽的榮耀，另外還有對科學的啟蒙，更是我們國中三年最重要的回憶。往後……我們將走向不同的道路，但永恆不變的是我們因科展而激發的熱情，以及它帶給我們的啟發。



市賽的時候第一次受到肯定，所以瘋狂自拍



種了一堆菜，結果養不出蚜蟲



前往國展現場的路上，車子在震，我們拍照的手也因緊張而顫抖

## 摘要

本篇探討「單寧酸」做為生物農藥的可行性，結果發現偽菜蚜體表蠟粉被破壞，單寧酸接觸後具一定程度立即致死能力，生物農藥測試組(乳化劑+油+3%單寧酸溶液)立即致死率69.5% (10min)。生物農藥測試組和噴水組之農作物質量表現，無達到顯著差異( $p>0.05$ )，顯示生物農藥試劑對作物生長影響不大；以分光光度計分析，作物與環境土壤均無殘留，且作物易洗淨。生物農藥試劑對於不同科害蟲，以葉蟬致死率最高，為86.3%，而對蚜蟲及介殼蟲則分別為71.3%與61.6%。野外測試發現生物農藥試劑之驅蟲率，D1已達96.1%，而D2則達98%，D3達100%。吸食試驗顯示，生物農藥測試劑組對蚜蟲致死率約90%，顯示本生物農藥試劑不僅具立即接觸毒殺，也兼具長效吸食毒殺的效果。

## 壹、研究動機



圖 1 單寧酸，作為生物農藥可能？

近年來，不斷傳來食安問題，而「農藥殘留」令我們十分好奇：「農藥不是都洗得掉嗎？」經查詢資料和請教老師，我們才知道洗得掉並且對環境無害的農藥——生物農藥，時值冬季，蚜蟲正猖獗，蚜蟲是一種對植物有害的害蟲，牠可使植株葉片捲曲、生長不良，而且牠的繁殖能力非常強，是否有對付蚜蟲的生物農藥呢？

上網查詢後發現，原來植物本身就會分泌預妨害蟲的物質，例如單寧酸，如秋冬常吃的柿子中就很多。文獻指出單寧酸可以抑制害蟲，進一步查詢知道是植物次級代謝物，用來協助植物抵禦害蟲，但國內似乎沒有單寧酸製成農藥的相關資料，單寧酸是否能製成生物農藥？這件事也引起了我們的好奇心，我們用偽菜蚜作為我們實驗對象，以下是我們的研究。



圖 2 校園內種植的小松菜



圖 3 菜苗上的偽菜蚜



圖 4 附近植栽上的粉蝨介殼蟲



## 貳、研究目的

### 一、探討單寧酸製成生物農藥的可能

- (一) 觀察蚜蟲的型態及生活史
- (二) 探討單寧酸對蚜蟲的防治可能
- (三) 如何將單寧酸製成生物農藥及其成效

### 二、探討生物農藥測試劑對作物的影響

- (一) 是否影響作物的生長
- (二) 是否會有不易洗滌的殘留問題

### 三、探討測試劑對生態影響及野外實施成效

- (一) 對生物影響~蚜蟲天敵及其它害蟲的影響
- (二) 對環境影響~在土壤殘留情形
- (三) 在野外實施成效

### 四、探討生物農藥測試劑造成中毒原因~吸食毒或接觸毒

## 參、研究器材與設備

### 1. 蔬菜種植(戶外及室內)與蚜蟲型態觀察

測微軟體、解剖顯微鏡、IMAGE J 軟體、培養皿、小松菜苗

### 2. 單寧酸生物農藥測試劑的製成

單寧酸、乳化劑(非離子型~大豆卵磷脂、食品用乳化劑 SP、水性羊毛脂、Tween#20；陰離子型~硬脂酸鈉)、植物油~大豆沙拉油、攪拌子、燒杯、噴瓶、試管、電子天平

### 3. 生物農藥測試劑對作物、生態影響及野外實施成效

農藥殘留：離心管、石英比色管、紫外光光度計、震動器

生態影響：養蟲杯、被寄生蚜、烘箱、超音波打碎機

野外實施成效：細目養蟲籠(大型、小型)、計數器

生物農藥比較：有機辣椒水、印度苦楝油



圖 5 配製不同單寧酸水溶液



圖 6 測試不同類型的乳化劑



圖 7 紫外光光度計測試殘留

## 肆、研究過程及方法

### ◎查閱相關文獻

不論是環境的友善、作物的農藥較少殘留等，生物農藥絕對優於化學農藥，但生物農藥在台灣目前發展仍屬初期階段，有許多問題及技術需要克服。植物本身即會產生抗蟲物質~單寧酸，屬於植物的次級代謝物，因此試著利用植物本身的抗蟲物質來製成生物農藥。

#### (一) 生物農藥

安全無毒農業潮流下，生物農藥是一個重要趨勢，其發展更是刻不容緩。生物農藥的好處，包括低毒性、可快速分解，對病蟲害有針對性，並可避免害蟲產生抗藥性，都是傳統農藥所不能及的。

根據農業委員會之定義，生物性農藥（生物製劑）係指天然物質如動物、植物、微生物及其所衍生之產品，包括「天然素材農藥」、「微生物農藥」、「生化農藥」及基因工程技術產製之微生物農藥。

#### (二) 文獻一、我國生物農藥於印尼、馬來西亞及越南之南向市場商機及技術布局

在過去 2011~2015 年間，歐盟、中國大陸、加拿大共禁止超過 30 種合成的化學農藥。依國際研究機構 BBCResearch（2017）的統計資料顯示，全球農藥市場規模在 2016 年約為美金 601.7 億元，其中生物農藥的規模為美金 39.7 億元，占比約 6.6%。預估 2015~2021 年間全球生物農藥的年複合成長率約 14%。

#### (三) 文獻二、行政院農業委員會動植物防疫檢驗局之主要農藥成分類別表

國內登記農藥共 246 件，有機磷劑農藥種類仍屬最大宗，佔 63 種，生物性農藥 15 種。

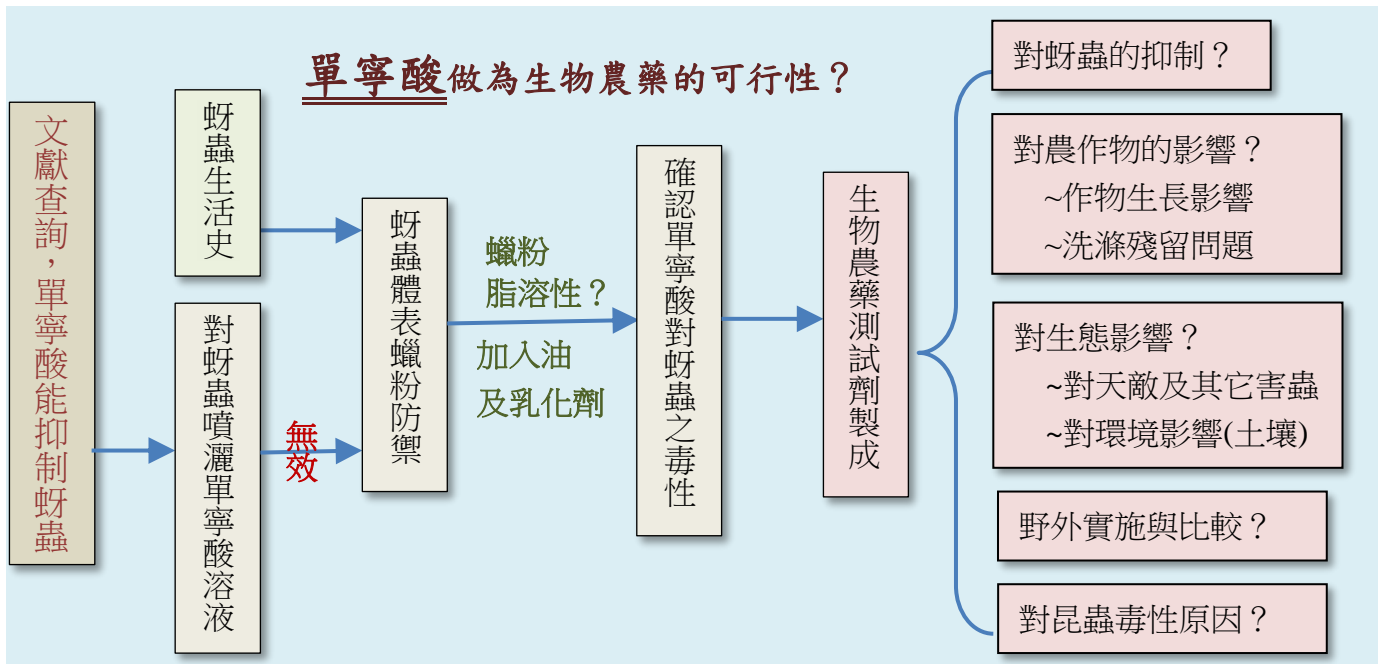
#### (四) 文獻三、探討蟲生真菌對疣胸琉璃蟻的致死情形祕(中華民國第 59 屆中小學科學展覽)

使用蟲生真菌孢子噴灑方式對疣胸琉璃蟻有致死效果，且對共生的蚜蟲及介殼蟲無影響，具有生物農藥發展潛力。

#### (五) 文獻四、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(中華民國第 60 屆中小學科學展覽)

發現茄镰刀菌可抑制咖啡果小蠹，透過不同孢子濃度溶液噴灑確認抑制果小蠹生長，也比市售白殭菌具有更好的抑菌功效，且對於對照組生物無害，有生物防治應用價值。

## ◎研究流程與架構



### 一、探討單寧酸製成生物農藥的可能

#### (一)觀察蚜蟲的型態及生活史

種植小松菜上發現的蚜蟲，為偽菜蚜(*Lipaphis erysimi*)。蚜蟲屬於孤雌生殖昆蟲，繁殖力十分驚人，因此我們設定同日蚜(圖 8)，觀察並紀錄，以利後續生物農藥測試，方法如下：

1. 在培養皿內置入小松菜葉片，放上 5 隻蚜蟲，一日後移除母蚜，留下一齡蚜。
2. 以顯微拍攝(圖 9)每日的外觀型態差異，記錄每個齡期的蛻皮時間，三重覆平均。



圖 8 培養皿內建立同日蚜



圖 9 顯微攝影記錄型態外觀



圖 10 選定戶外葉片噴灑蚜蟲

#### (二)探討單寧酸對蚜蟲的防治可能

文獻顯示，昆蟲會因吸食到含單寧酸的植物汁液而中毒，除了吸食之外，我們更想知道，若製成噴劑噴灑在蚜蟲體表，是否可以造成接觸毒來達到除蟲的效果呢？

##### 1. 戶外作物上蚜蟲噴灑測試

噴瓶中裝入濃度為 1%、3%、5% 的單寧酸水溶液，在離作物 30 公分處，進行定量噴灑 2 次(圖 10)，並每隔 10min 拍照並記錄葉上蚜蟲的族群變化。

## 2. 不同齡期蚜蟲噴灑測試

(1)各取 10 隻不同齡期(一、二、三、成蚜)的蚜蟲，分別置入含葉片的培養皿內。並分別以濃度為 1%、3%及 5%的單寧酸水溶液，進行定量噴灑(圖 11)。

(3)於噴灑後 10、20、30、60、120 min，以毛筆輕觸蚜蟲(圖 12)，確認存活，三重覆取平均。

## 3. 體表的親油或親水性

觀察發現蚜蟲體表似乎有層蠟質，將水溶性的單寧酸隔絕，這是蚜蟲的「護盾」嗎？

(1)取下蛻皮(圖 13)，將蛻皮置於水滴或油滴上，觀察結果。

(2)以微量滴管，吸取一小滴水滴及油滴，滴於蚜蟲體表，以顯微攝影拍攝結果。

### (三)探討如何將單寧酸製成生物農藥及其成效

為了讓單寧酸水溶液能夠接觸體表，我們嘗試先以大豆沙拉油破壞體表，並添加乳化劑進行稀釋，觀察單寧酸水溶液是否能對蚜蟲造成毒性。

#### 1. 選擇合適的乳化劑

農委會關於農藥的資料，乳化劑選擇以非離子型較好，不易對農作物造成傷害，因此我們選擇配製非離子乳化劑(大豆卵磷脂、水性羊毛脂、SP、tween #20)以及陰離子乳化劑(硬脂酸鈉)(圖 14)。

(1)參考文獻，配製重量百分濃度(圖 15)為乳化劑 1%、植物油 5%、單寧酸 3%的水溶液。

(2)四種乳化溶液取等體積置入試管中，以電子游標尺測量溶液總高度(圖 16)，並每隔 5min 量測油的高度，直至 30min，記錄不同乳化劑的油高比例(油高 / 溶液總高度)。

(3)選擇乳化效果最好的乳化劑進行之後的一系列實驗。



圖 11 不同齡期的蚜蟲噴灑



圖 12 毛筆輕觸蚜蟲判斷存活



圖 13 取下蚜蟲蛻皮置於玻片



圖 14 選擇合適的乳化劑



圖 15 配製乳化劑為測試溶液



圖 16 測量油高比例



## 2. 嘗試破壞外層蠟質後，探討單寧酸對蚜蟲影響

(1)上個實驗中，選擇最慢出現油水分離比例的乳化劑，滴於蚜蟲體表(N=10)。

(2)以拭鏡紙輕輕吸乾體表上溶液(圖 17)，再分別滴入 1%、3%、5% 單寧酸溶液，並以滴水及不滴任何溶液作為對照組。於 60min 後記錄各組蚜蟲存活狀態。(三重覆取平均)



圖 17 拭鏡紙吸取體表溶液

(3)為了避免拭鏡紙吸乾過程造成傷害，設空白組做為比較。

## 3. 選擇單寧酸生物農藥測試組的合適比例

進行單寧酸生物農藥測試溶液配製的過程中，我們請教了中部農委會試驗所研究員，建議我們改變植物油的比例，確認出最好的乳化效果。

(1)配製重量百份比為 SP 乳化劑 1%、植物油(1%、5%、10%、15%)、單寧酸 3% 乳化溶液。

(2)取等體積的上述溶液置於試管中，每隔 5min 量測油的高度，直至 30min，記錄不同試管內的油高比例(油高 / 溶液總高度)。

## 4. 探討生物農藥對蚜蟲的抑制能力

選定生物農藥比例後，我們進行對蚜蟲族群的噴灑測試。網路資料及試驗所研究員均表示，乳化劑+油的組合、以及油均有殺蟲能力，因此我們一併比較對蚜蟲的抑制能力。



圖 18 單寧酸生物農藥試劑噴灑

(1)各取 30 隻蚜蟲的葉片，分別以生物農藥測試組(含單寧酸 3%)、乳化劑+油+水、植物油及水等四種不同溶液，進行等量噴灑(圖 18)後，置於培養皿內。

(2)噴灑，分別於 10、20、30、60、120min，毛筆輕觸蚜蟲，確認存活狀態。(四重覆平均)

註：不同溶液成份比較及設定目的如下

生物農藥測試組	乳化劑+油+水	植物油	水
乳化劑+油+3%單寧酸溶液	乳化劑+油+水	油	水
(單寧酸生物農藥測試劑)	(對照生物農藥測試組)	(對照左側兩組)	(空白組)

## 二、探討生物農藥測試劑對作物的影響

研究一的結果顯示，已能將原本對昆蟲具吸食毒性的單寧酸，改製成具接觸毒性的生物農藥測試劑，但農藥除了殺蟲之外，還有會不會影響農作物的生長以及殘留問題？

### (一)是否影響作物的生長

上個研究結果顯示，生物農藥測試組、乳化劑+油+水的組別、植物油均有一定程度的殺蟲效果，因此將這三種不同溶液分別噴灑於作物上，比較對作物造成的影響。

1. 將三種溶液及水(對照組)，分別定量均勻噴灑於作物的葉面上(每組植株 N=18)，每隔 3 天補充一次噴灑(圖 19a)。
2. 分別於噴灑後 Day7、Day14、Day21，將不同噴灑條件的植物各取 6 盆，仔細將土壤洗淨(圖 19b)後，測量其鮮重並取平均值；再選取每盆最大葉片三片，以 IMAGE J 軟體，量測葉面積大小(圖 19c)。(二重覆噴灑實驗取平均值)



圖 19a 噴灑不同溶液的作物



圖 19b 不同天數洗淨測鮮重

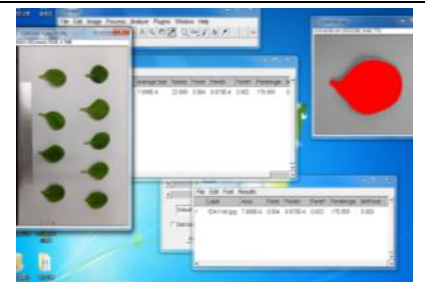


圖 19c 以軟體測量比較葉面積

### (二)是否會有不易洗滌的殘留問題

1. 取收成前三日噴灑生物農藥測試劑以及當日噴灑之葉片。
2. 搓洗更換組:分別將 2 片葉片置於裝有 30cc 蒸餾水的離心管內。震動器震動 2 秒後(圖 20a)靜置 5min，取出葉片置入新的蒸餾水中，重覆上述動作，搓洗更換共三次。
3. 連續浸泡組:分別將 2 片葉片置於裝有 30cc 蒸餾水的離心管內，直接靜置 10min 及 15min。
4. 將搓洗更換組及浸泡組別的水樣，分別取出 1.5cc 置入石英比色管內，以紫外光光度計(圖 20b)，以波長 278nm 測量單寧酸吸光值，空白組為乳化劑+油+水。



圖 20a 震動器模擬搓洗動作



圖 20b 光度計測量單寧酸殘留

### 三、探討測試劑對生態影響及野外實施成效

飼養蚜蟲的過程中，出現了蚜蟲的天敵~寄生蜂。在確認研究一的殺蟲效果及研究二不會對作物造成影響，想進一步了解，測試劑的噴灑，對於生態(生物~天敵及其它害蟲、環境~土

壤殘留)影響是什麼？接著，就是野外實施的成效。

### (一)對生物影響~蚜蟲天敵及其它害蟲影響

1. 選取戶外被寄生蜂寄生的蚜群葉片，置於培養皿內，分別計算蚜蟲數量及被寄生的蚜蟲(取 N=10)數量(圖 21a)。
2. 噴灑生物農藥測試劑後，計算每一日的蚜蟲數量變化以及寄生蜂的羽化數量，連續記錄至蚜蟲數量降為 0。(三重覆取平均)
3. 選取具有蝨粉介殼蟲(圖 21b)及神澤氏葉蟻的葉片，並以蚜蟲做為比較，分別計算族群數量。
4. 噴灑生物農藥測試劑後，於 10、20、30、60、120min 計算各族群存活數量。(三重覆取平均)



圖 21a 被寄生的蚜蟲(膨脹)



圖 21b 葉上的蝨粉介殼蟲

### (二)對環境影響~在土壤殘留情形

當噴灑生物農藥時，目標是保護農作物，但收成之後對於環境的影響是必需要考量的，尤其土壤。雖然單寧酸是植物代謝物，但噴灑會不會在土壤殘留，造成影響(如酸化?)

1. 於野外及室內，種植小松菜苗。分別定量定時(每隔 3 天)噴灑測試劑，設定條件為噴灑測試劑 14 天組、噴灑 7 天組、對照組(噴水)及空白組(噴測試劑於土壤)。
2. 收成後 5 天。以塑膠管取等深度土壤，烘乾後進行單寧酸含量測定。
3. 分別取 0.2g 土壤，加入 500ul 水，並以超音波震碎後，再加 500ul 水離心取上清液。
4. 以波長 278nm 置於紫外光光度計測定。



圖 22a 不同噴灑時間樣區



圖 22b 等深度取樣土壤

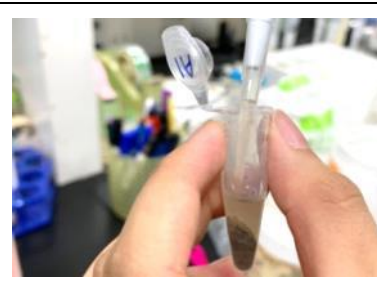


圖 22c 離心後取出上清液

### (三)在野外實施成效

接著進行此試劑在野外的毒殺效果，並且嘗試進行預防性噴灑，最後和市面上的驅蟲劑進行成效比較。

#### 1. 對已感染蚜蟲作物的治療效果



- (1) 細目養蟲籠中央放置已感染蚜蟲作物 3 盆，計算數量後噴灑生物農藥試劑。
- (2) 兩對角線處放置已噴灑生物農藥的作物作為治療組，以及噴水作為對照組。(圖 23a)

## 2. 對未感染蚜蟲作物的預防效果

- (1) 於細目養蟲籠中央放置已感染蚜蟲的作物 3 盆。
- (2) 於兩對角線處，放置已噴灑生物農藥測試劑的作物作為預防組，以及噴水的作物作為對照組，共 12 盆(圖 23b)。(二重覆平均)



圖 23b 預防性噴灑設定示意圖

## 3. 比較不同類型驅蟲劑的驅蟲效果

分別以辣椒水、苦楝油、單寧酸生物農藥測試劑及水(圖

23c)，噴灑於感染蚜蟲葉片，於不同時間計算各組族群數量。(三重覆平均)

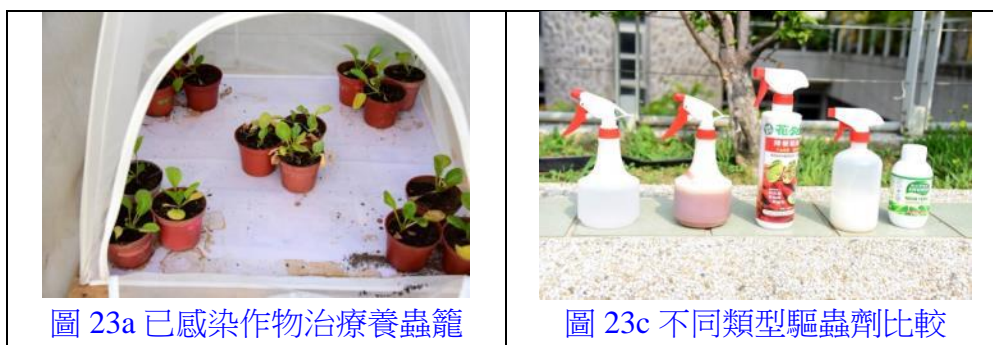


圖 23a 已感染作物治療養蟲籠

圖 23c 不同類型驅蟲劑比較

## 四、探討生物農藥測試劑造成中毒的原因~吸食毒或接觸毒

研究六的結果暗示配製出的生物農藥測試劑，可能對蚜蟲同時造成吸食和接觸兩種毒性，可作為治療及預防用。接著設計實驗探討中毒原因。

### (一) 吸食毒性的探討

1. 葉片噴灑生物農藥測試劑後置入培養皿內，待風乾之後置入 10 隻蚜蟲，隔天計算族群數量變化(三重覆平均)。
2. 設定對照組(水)、乳化劑+油+水，重複步驟 1。

### (二) 接觸毒性的探討

1. 以膠帶黏貼蚜蟲(N=10)，使腹部朝上(圖 24)，以解剖針沾取一滴生物農藥，避開腹兩側的氣門，將溶液滴於蚜蟲腹部，10min 後計算存活狀態。(三重覆平均)
2. 解剖針改沾乳化劑+水+油、水(對照組)，重複步驟 1。

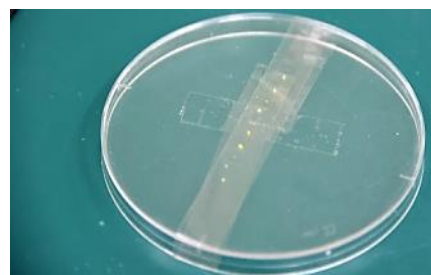


圖 24 膠帶黏背側，腹部朝上



## 伍、研究結果

### 一、探討單寧酸製成生物農藥的可能

#### (一)觀察蚜蟲的型態及生活史

為了解單寧酸作為生物農藥的可能，需選擇農藥噴灑的模式害蟲，我們選定了菜苗上很常見的偽菜蚜來進行觀察，由建立同日蚜開始，並記錄不同齡期的外觀差異及生活史。

##### 1. 蚜蟲的外觀型態

偽菜蚜屬於胎生型昆蟲，共分為四個齡期，相關外觀型態如下。

一齡蚜	二齡蚜	三齡蚜	成蚜
			
體表有些微蠟粉 體長約 0.61~0.63mm	腹管末端明顯黑色 體長約 0.99~1.3mm	腹部圓形，體表有蠟粉 體長約 1.1~1.8mm	體表明顯白色蠟粉 體長約 1.2~1.9mm

##### 2. 蚜蟲的生活史

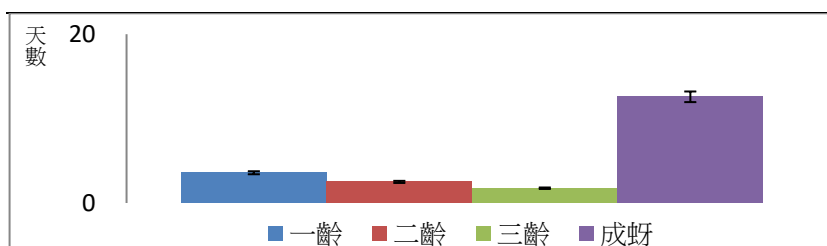


圖 25 偽菜蚜不同齡期的生活史

自行記錄的偽菜蚜生活史，在不同階段比較上，成蚜的時間最長，約為 12.5 天，也記錄到蚜蟲繁殖驚人，一天約生下 2.5 隻小蚜蟲。

蚜蟲的外觀型態上，可觀察到體表具有白色的蠟粉，這些蠟粉會是保護防水的構造嗎？

#### (二)探討單寧酸對蚜蟲的防治可能

單寧酸是植物為了避免被吸食或啃食的代謝物，能造成吸食昆蟲中毒的現象，我們嘗試利用植物對付昆蟲的代謝物，噴灑在體表，來探討是否可以不經由吸食就造成中毒。

##### 1. 戶外作物上蚜蟲噴灑測試



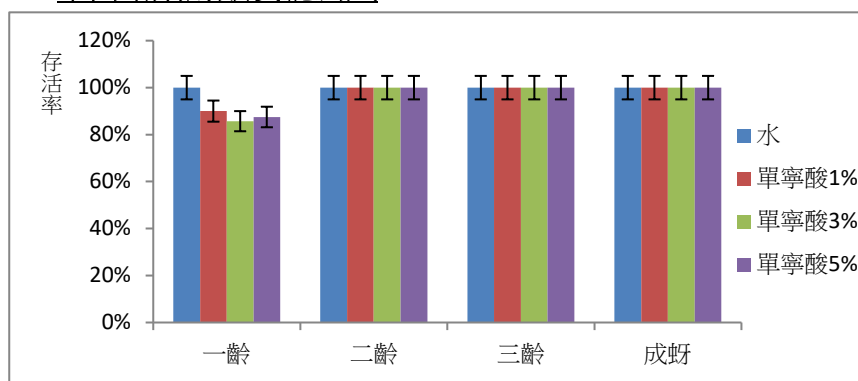
圖 26a 戶外作物上的蚜蟲(噴灑前)



圖 26b 噴灑單寧酸溶液(5%)30min 後

初步噴灑單寧酸溶液的結果，葉上的蚜蟲族群似乎沒有什麼變化。蚜蟲有不同齡期，可能是噴灑到較多成蚜，所以抵抗能力較強，接著進一步確認不同齡期的反應。

## 2. 不同齡期蚜蟲噴灑測試



噴灑結果顯示，只有一齡造成中毒，存活率些微下降；對於其它各齡期皆無顯響。這表示若直接以單寧酸噴灑至蚜蟲體表，難以對蚜蟲造成防治效果。

圖 26c 不同濃度單寧酸對不同齡期蚜蟲噴灑之存活率(噴灑後 60min)

## 3. 體表的親油或親水性

原本就是植物用來對付吸食昆蟲的單寧酸，在噴灑體表上似乎無法達到殺蟲能力，這可能是體表蠟粉具有阻隔單寧酸水溶液嗎？接著我們釐清體表蠟粉的屬性。

### (1) 蚜蟲的蛻皮置於水及油滴中

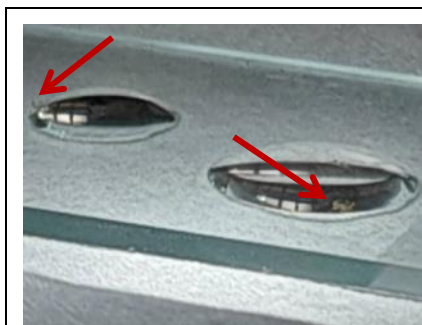


圖 27a 蚜蟲蛻皮浮於水滴上

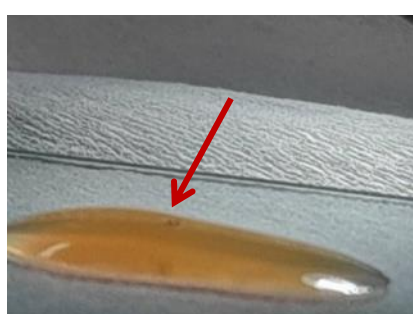


圖 27b 浮於單寧酸溶液上

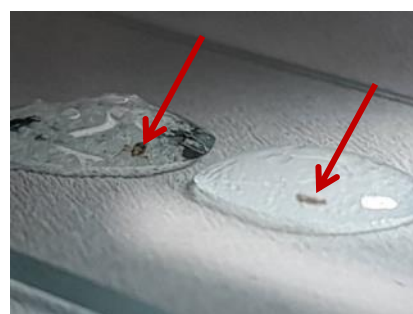


圖 27c 蚜蟲蛻皮沉入油中

將蚜蟲蛻皮置於油或水滴的結果，不論是水溶液或是單寧酸(3%)水溶液，蚜蟲的蛻皮一直浮在表面而不會下沉，而油中則會，可能是浮力，也可能是親油性所導致。

### (2) 將油及水直接滴於體表



圖 28a 二齡蚜體表上的水珠



圖 28b 成蚜體表上的水珠



圖 28c 滴油於二齡蚜的體表

顯微攝影顯示，水珠會聚在蚜蟲的體表，移動後即會滑落；而油則會與體表上的蠟粉結合，顯示體表上的蠟粉為親油性。蚜蟲體表的蠟粉，提供了保護的能力，若想要測試單寧酸的噴灑是否造成影響，必需要先將體表的蠟粉除去。

### (三)探討如何將單寧酸製成生物農藥及其成效

蚜蟲的體表為親油性，若能去除這層親油性的物質，就能讓單寧酸接觸到體表，這個部分，我們試著探討如何將單寧酸製成生物農藥測試劑，將吸食導致中毒的單寧酸，改良成接觸型中毒的農藥試劑，並進一步探討這個生物農藥測試劑。

#### 1. 選擇合適的乳化劑

乳化劑的選擇上，依據農委會的農藥相關說明，採用了 4 種非離子型、1 種陰離子型乳化劑來進行油水分離比較。

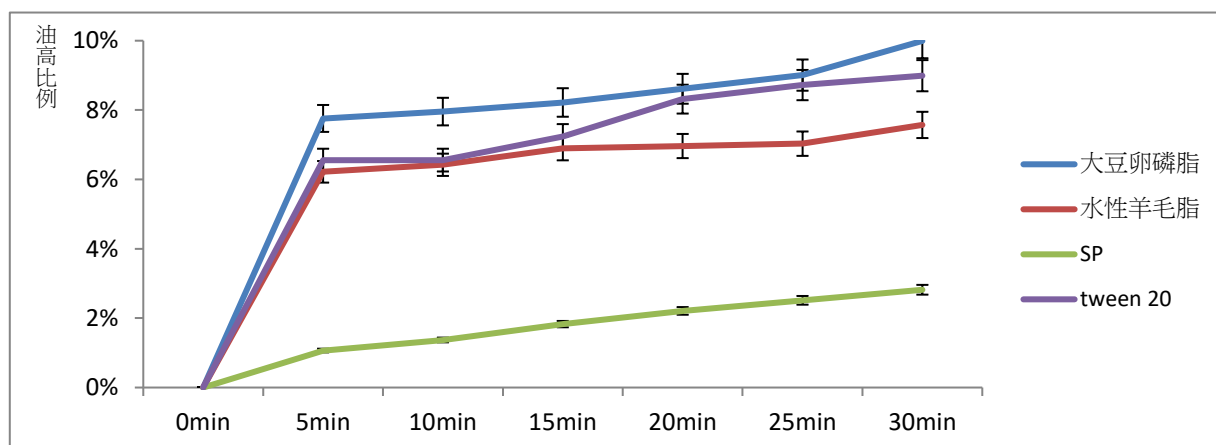


圖 29a 不同類型乳化劑，在不同時間下油層佔總高的比例

在選擇合適的乳化劑結果，陰離子型的硬脂酸鈉加入水後，即於上層凝固，可能是因為水中具有礦物質的原因，因此不納入比較。在均勻乳化劑溶液後，5min 時觀察到大豆卵磷脂具有較高的油層出現比例(油層佔總高的 7.76%)，而食品加工常用的 SP，則相對較低(油高比為 1.07%)，且隨著時間的增加，四種乳化劑皆有逐漸上升的趨勢。由於 SP 在我們的實驗結果中，有相對較好的乳化結果，因此接下來的實驗，選擇以 SP 做為乳化劑。

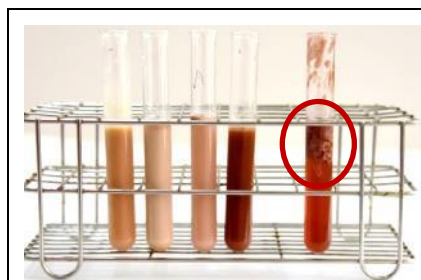


圖 29b 硬脂酸鈉上層凝固

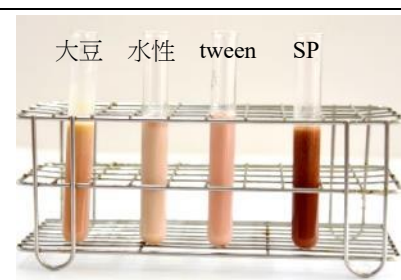


圖 29c 不同乳化劑比較(0min)

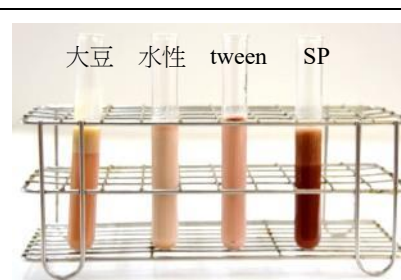


圖 29c 不同乳化劑比較(30min)

## 2. 嘗試破壞外層蠟質後，探討單寧酸對蚜蟲影響

在選擇了較為合適的乳化劑後，接著嘗試將乳化劑+油滴於蚜蟲體表，再以拭鏡紙吸乾後用不同濃度的單寧酸接觸體表，另外為了避免拭鏡紙吸乾過程造成傷害，設空白組做為比較。

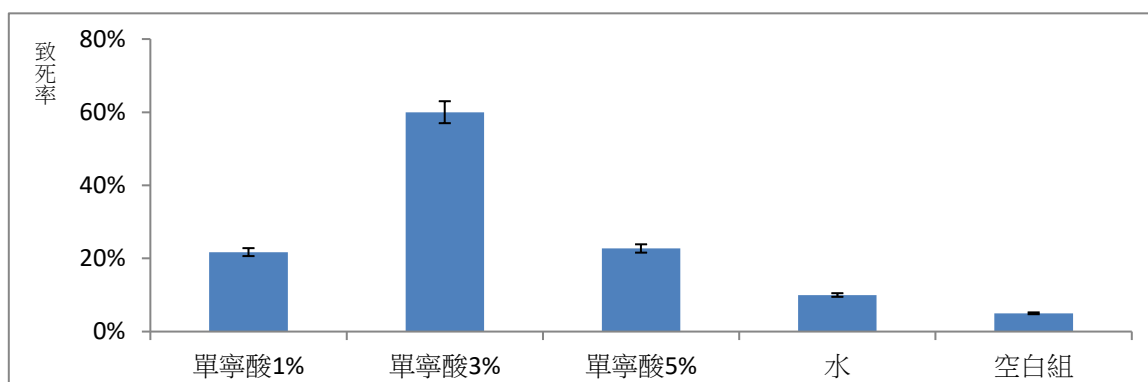


圖 30a 破壞體表蠟質後，不同濃度溶液對蚜蟲的致死率比較(60min)

實驗結果顯示，當蚜蟲的體表蠟粉被乳化劑+油破壞後，單寧酸接觸體表後具有一定程度的致死能力，單寧酸 3%為 60%最高，單寧酸 1、5%則分別為 21.7%、22.7%差異不大，而空白組(僅以拭鏡紙吸乾體表乳化劑+油)，約為 5%。

破壞蚜蟲體表蠟粉後，原本為吸食毒的單寧酸，可發展為體表噴灑用，此外，也發現單寧酸 3%的致死率相對較高，因此接下來測試劑成份，選擇乳化劑、植物油及 3%單寧酸水溶液。



圖 30b 破壞蠟粉，單寧酸毒殺蚜蟲

## 3. 選擇單寧酸生物農藥測試組的合適比例

確認完生物農藥測試劑的成份之後，接著就要確認比例，除了參考文獻之外，請教中部農委會研究員生物農藥比例，建議更改植物油的比例。

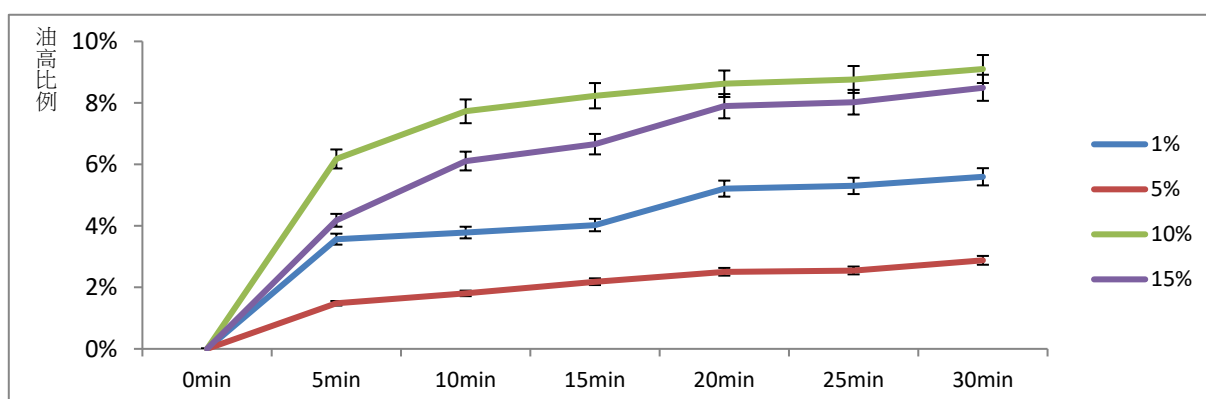
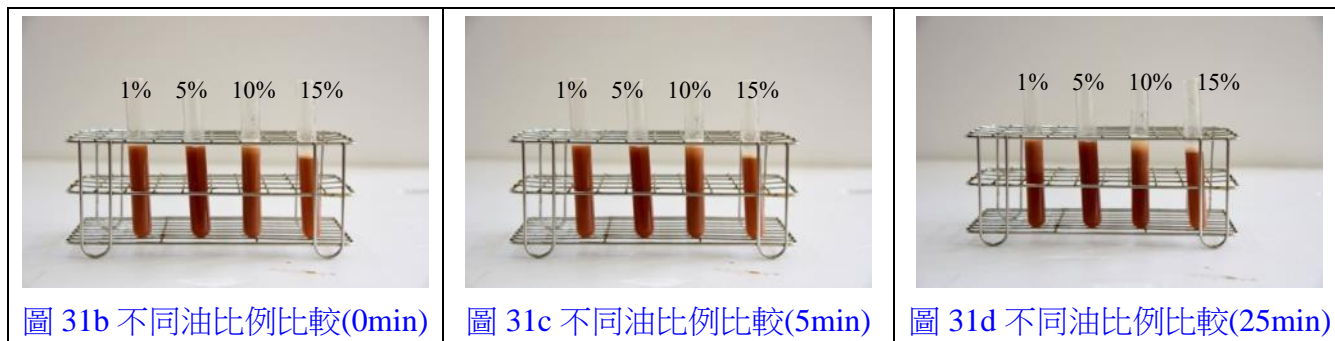


圖 31a 不同重量百份比油的生物農藥測試劑，在不同時間下油層佔總高的比例

分層結果以 5%的油相對較穩定，油出現分層情形較慢(油高比例最低，5min 時為 1.48%)，1%的油則為 3.55%。在相同濃度乳化劑下，以 5%的油具有相對較佳的乳化效果。



因此，生物農藥的組成成份，以乳化劑 1%、植物油 5%、單寧酸 3%的水溶液為主，接著就來測試這個組成比例的試劑，對於蚜蟲的實驗防治成效。



#### 4. 探討生物農藥對蚜蟲的抑制能力

這個部份，開始進行生物農藥測試劑對蚜蟲的成效。此外，並加入文獻提及也具有殺蟲能力的植物油及乳化劑+油+水(與生物農藥測試劑對照)及水做為比較。

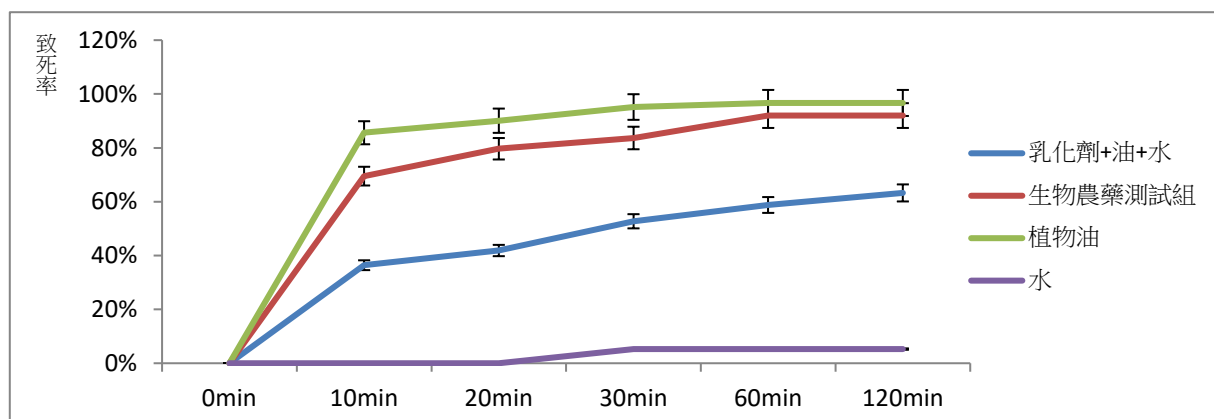


圖 32a 不同測試劑，在不同時間下對蚜蟲的致死率比較

實驗結果顯示，3種測試劑對蚜蟲的致死率，均隨著時間增加而上升，其中從10min後的致死率均緩慢上升，這表示對蚜蟲的致死在10min內有很大的效果。10min的結果上，生物農藥測試組，已能對蚜蟲有一定的防治(致死率69.5%)，而乳化劑+油+水為36.42%，顯示加入單寧酸能大幅提升對蚜蟲的致死率，而植物油的致死率為最高(85.61%)，可能與油膜覆蓋蚜蟲，導致無法呼吸有關。接著將這三種具有防治的溶液，進行對作物的影響測試。



## 二、探討生物農藥測試劑對作物的影響

研究一的結果顯示，生物農藥測試劑、乳化劑+油+水及植物油均能對蚜蟲進行防治，甚至植物油對於蚜蟲的致死率高於生物農藥。在殺蟲之外，更重要的是考量對農作物的生長影響，以及是否不易洗滌、容易殘留的問題。這個部份，我們針對作物的生長影響及殘留探討。

### (一)是否影響作物的生長

首先，是探討對作物的影響，為了解噴灑不同溶液對作物的影響情形，我們針對作物的生長質量以及葉片的面積進行比較，以釐清殺蟲之外，是否不會影響農作物生長。

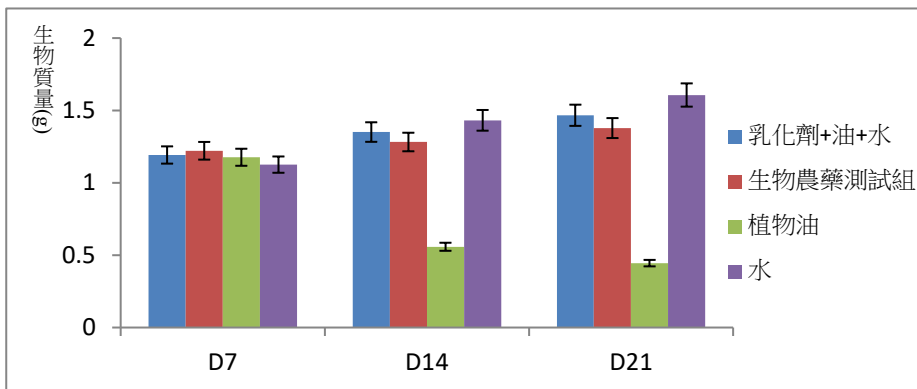


圖 33b D14 天生長情形比較

圖 33a 不同試劑，在不同天數下對農作物生物質量的影響

結果上，D7 的生長質量，各試劑似乎沒有太大的差異，在噴灑後的 D14 天出現了變化，噴植物油的組別，出現了生長不良(較噴水組下降 61%)。D21 的生物農藥測試組及噴水組，生物質量表現，並無達到顯著差異( $p>0.05$ )，顯示生物農藥測試的噴灑對作物生長影響不大。

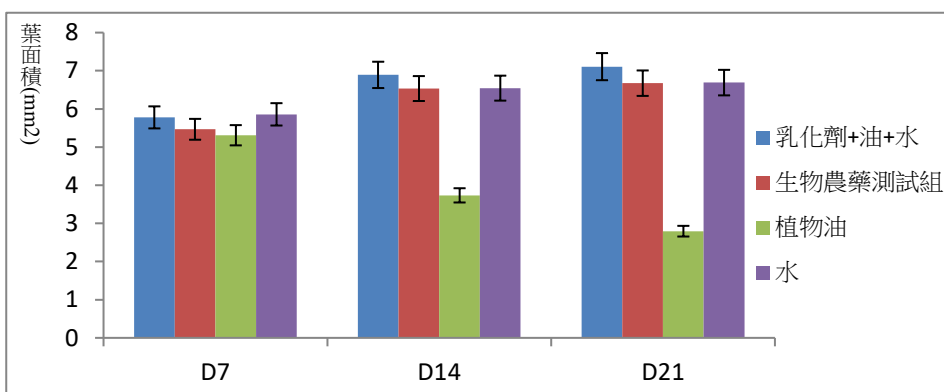


圖 33d D21 天葉面積比較  
左至右：乳化、生物農藥、水、植物油

圖 33c 不同試劑，在不同天數下對農作物葉面積的影響

葉面積的結果，與生物質量相似，噴油的組別在 D14 天，葉面積出現顯著下降，而在 D21 天，生物農藥測試組與噴水組的葉面積，未達顯著差異( $p=0.96$ )。在作物影響，乳化劑+油+水與生物農藥測試組差異不大，但在致死率方面，生物農藥組則優於乳化劑+油+水組。

## (二)是否會有不易洗滌、殘留問題

植物油的組別，雖有最好的對蚜蟲致死率，但卻會對植物生長造成很大的影響，而生物農藥測試組在致死率方面較乳化劑組好，且對植物的生長影響不大。接著就針對生物農藥測試組，進行殘留的測試，這裡分為收成前三天與收成當日噴灑，比較洗滌後差異。

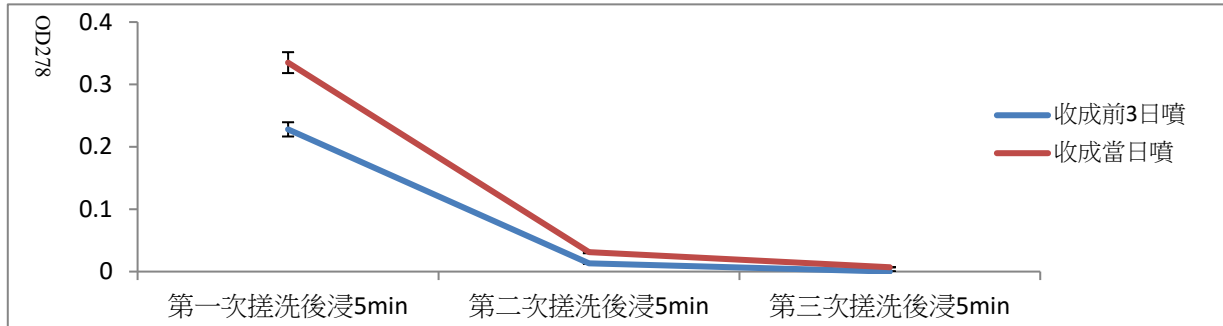


圖 34a 模擬搓洗方式後換水，水中的單寧酸 OD 值比較

以震動器(2秒)模擬搓洗後浸泡的結果，顯示第一次搓洗的 OD 值，收成當日噴灑較高(0.335)，而收成前三日噴灑則為 0.228，第三次搓洗時，水中的單寧酸 OD 值測為 0。結果表示單寧酸製成的生物農藥試劑，能以水洗滌乾淨，即使是當日噴灑也能洗淨。

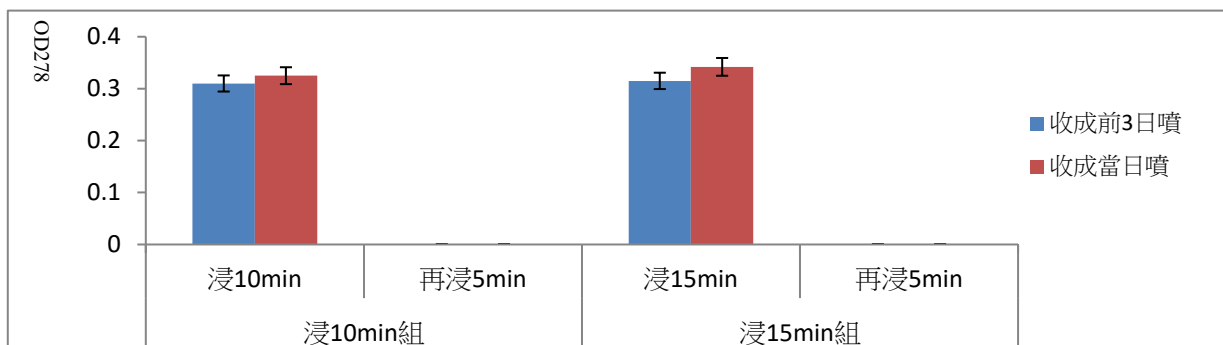


圖 34b 模擬搓洗方式後換水，水中的單寧酸 OD 值比較

除了模擬搓洗方式外，也探討了家庭常用的方式，將作物直接浸泡於水中。不論是浸 10min 或是 15min 組別，再將作物浸泡於另外水中，水中單寧酸 OD 值均為 0。

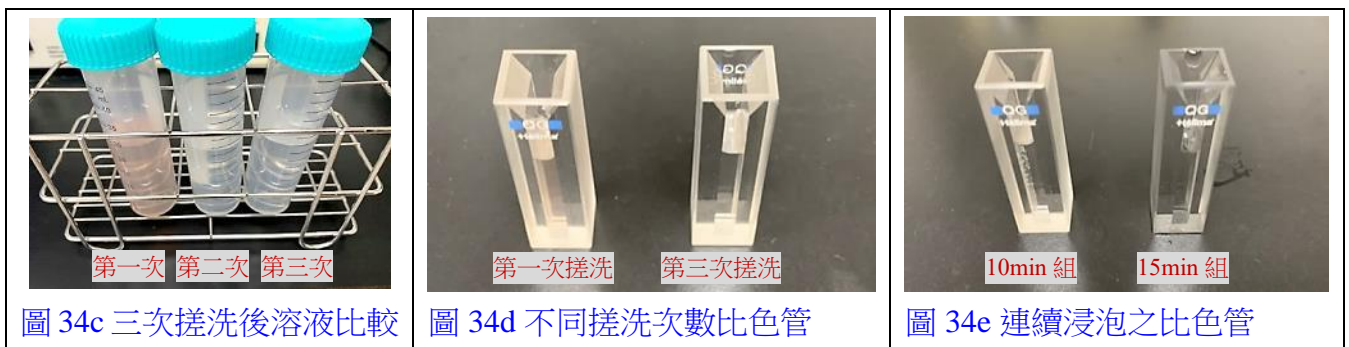


圖 34c 三次搓洗後溶液比較

圖 34d 不同搓洗次數比色管

圖 34e 連續浸泡之比色管

綜合研究三除蟲的結果及研究四對作物影響及洗滌殘留測試，均顯示單寧酸有發展為生物農藥的潛力，能除蟲、不影響作物生長又不殘留。

### 三、探討測試劑對生態影響及野外實施成效

生物農藥測試劑對蚜蟲的防治及農作物影響與殘留的結果，顯示能有很大成為生物農藥候選的可能。但在野外實施上，尚需考量對生態的影響，除了環境外，還有其它害蟲，實驗過程中出現了蚜蟲重要天敵寄生蜂，自製的生物農藥測試劑是否會對其造成影響呢？

#### (一)對生物影響~蚜蟲天敵及其它害蟲影響

##### 1. 對蚜蟲天敵的影響

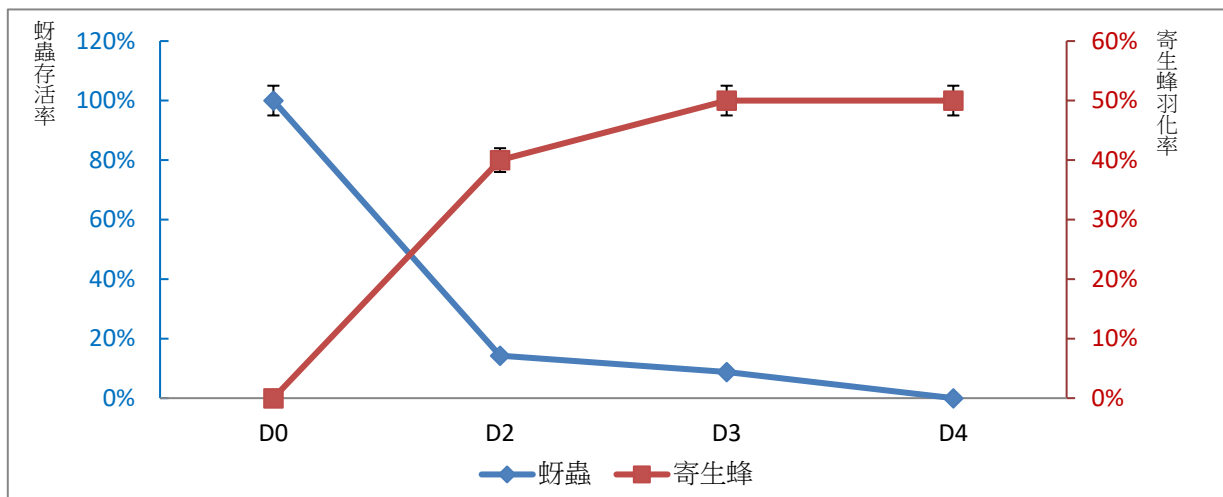


圖 35a 噴灑生物農藥測試劑，在不同天數下的蚜蟲存活率及寄生蜂羽化率比較

寄生蜂對於蚜蟲有相當的抑制力，若生物農藥測試劑對於被寄生蚜的影響不大，則可表示生物農藥測試劑殺蟲之外仍能讓天敵害蟲存活，進而共同消滅害蟲。觀察的結果，隨著噴灑後的日數增加，蚜蟲的存活率在 D2 天下降到 13.33%，而在 D4 天時存活率為 0，在寄生蜂羽化方面，則可看到 D2 天時，寄生蜂的羽化率達到 40%，至 D3 天時羽化率為 50%，雖然羽化率勉強達被寄生蚜總數的一半，但也顯示生物農藥測試劑對於蚜蟲天敵的族群會有影響，但仍會有約 5 成的寄生蜂順利羽化，也有了再寄生蚜群，使蚜蟲族群下降達到防治的可能。



圖 35b 噴灑後的被寄生蚜



圖 35c 噴灑後蚜蟲體內寄生蜂



圖 35d 噴灑後 D2 羽化寄生蜂



## 2. 對其它害蟲的影響

上個實驗中，初步測試了生物農藥試劑對蚜蟲天敵的影響，接著進行對蚜蟲之外害蟲的防治能力探討，田野的害蟲出現，常為多種類危害，較少單一害蟲，因此針對出現頻率高，體型較大的介殼蟲及體型較小的葉蟎進行測試。

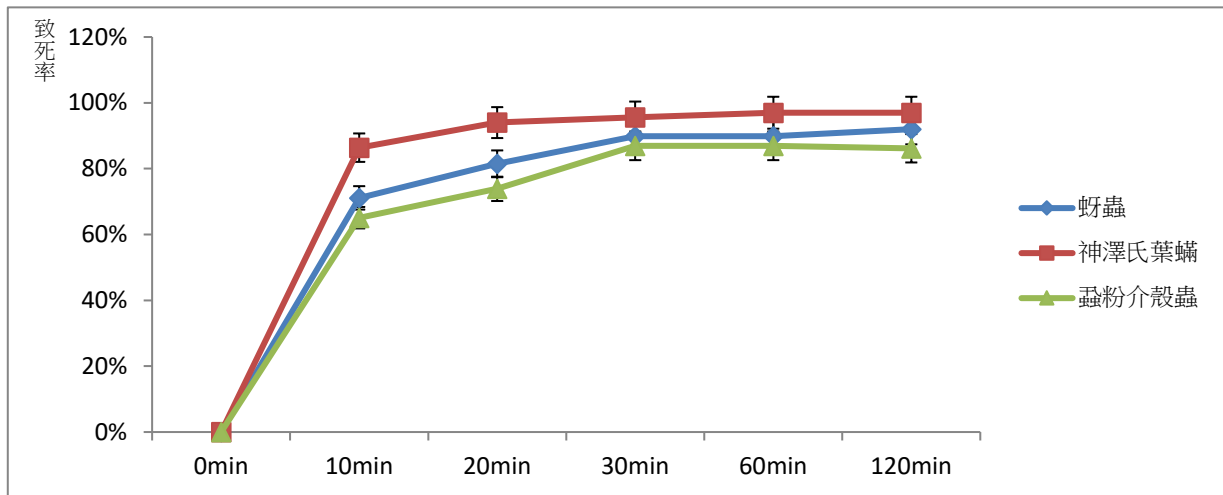


圖 36a 噴灑生物農藥測試劑，對不同害蟲在不同時間的致死率比較

實驗結果顯示，不同科的害蟲，蠟粉介殼蟲(介殼蟲科)、神澤氏葉蟎(葉蟎科)均能被生物農藥測試劑抑制。其中，在 10min 時以葉蟎的致死率最高，為 86.3，而對蚜蟲及介殼蟲則分別為 71.3%、61.6%，隨著時間增加至 120min，仍以對葉蟎的致死率為最高，但與蚜蟲差異不大。推測可能與葉蟎體型較小有關，較小的體型對於單寧酸的耐受性較差，因此在短時間之內即造成大量致死，而介殼蟲的體型較大，值得注意的是，生物農藥對介殼蟲的致死大多是較小的個體，較大型個體有相當多的蠟粉保護，自製的生物農藥測試劑似乎致死率偏低。



圖 36a 噴灑較大體型介殼蟲

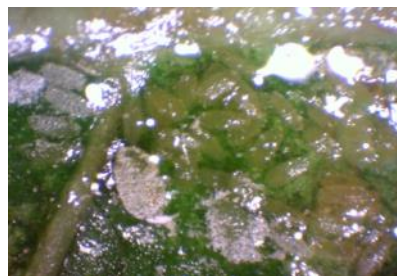


圖 36b 噴灑較小體型介殼蟲



圖 36d 噴灑至葉蟎體表

在這個實驗中，我們了解了自製的生物農藥測試劑，對於蚜蟲的天敵雖有影響，但天敵仍有一定程度的羽化率，而對於其它害蟲的影響，介殼蟲及葉蟎均有很程度的抑制能力，顯示生物農藥測試劑，對於害蟲是有防治能力的，對於蚜蟲天敵是較為友善的。

## (二)對環境影響~在土壤殘留情形

生物農藥，首重對作物不影響、不殘留，且儘可能降低對害蟲天敵的影響。為了解本測試劑的使用對非生物因子~環境土壤之影響，我們設定了三種條件的噴灑及空白組，於收成後5天，檢測單寧酸在土壤內的殘留情形，以了解土壤酸化的疑慮和可能。

### 1. 戶外種植下的土壤殘留情形

表 1 戶外不同噴灑條件下，土壤單寧酸 OD 值比較

設定條件	14 天噴灑 (作物噴測試劑)	7 天噴灑 (作物噴測試劑)	對照組 (作物噴水)	空白組 (無作物，土壤噴 測試劑 14 天)
單寧酸 OD278nm	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

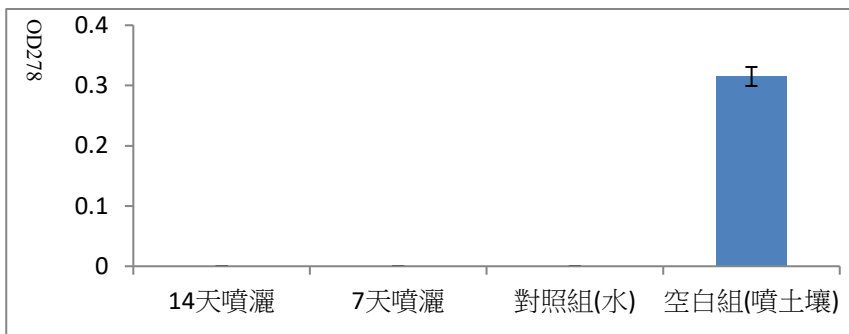
註：N.D.(NOT DETECTED)，表示未檢出；

設立正控制組(positive control)，土壤噴測試劑後，直接檢測，OD 值為 0.51。

戶外噴灑實驗結果顯示，土壤中均未檢測出單寧酸。即使直接噴灑在土壤上(圖 37b)，也沒有單寧酸被檢測出來，推測原因為戶外種植時，雨天造成單寧酸溶至深處或稀釋有關。

### 2. 室內種植下的土壤殘留情形

為免除環境(雨天)影響以釐清測試劑是否殘留於土壤，我們另外於室內進行噴灑實驗。



室內結果，顯示除了直接將測試劑噴於土壤的組別有測出(OD 值 0.315)，其餘皆為 N.D.(無測出)。顯示噴灑於作物上的測試劑，土壤並無單寧酸殘留問題。

圖 37a 室內不同噴灑條件下，土壤單寧酸 OD 值比較

室內，僅有噴土壤組別(無作物)有單寧酸檢測出，可能是大部分的測試劑噴灑於葉面上，土壤相對較少或被微生物代謝，顯示土壤無殘問題。



圖 37b 戶外，噴土壤無檢出



圖 37c 室內，直接噴於土壤

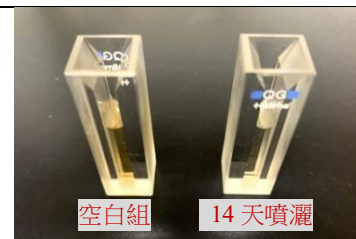


圖 37d 室內不同條件比色管

### (三)在野外實施成效

接著，生物農藥對害蟲的抑制，在實驗室培養皿內可觀察到有相當大程度對害蟲的抑制能力，野外的條件較實驗室複雜，但也比較接近田野環境。接著來進行野外的測試，除了已感染葉片的噴灑驅蟲外，另外對於未感染葉片是否具有噴灑預防能力也一併討論。

#### 1. 對已感染蚜蟲作物的治療效果

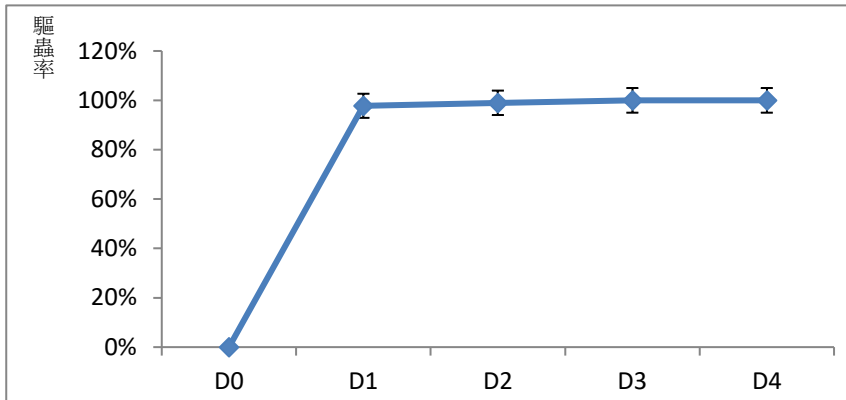


圖 38a 對已感染蚜蟲作物噴灑，在不同天數驅蟲能力的探討

野外環境的蚜蟲，較無法像實驗室培養皿內計算蚜蟲致死率，因此這個部份改用驅蟲率計算。結果顯示，噴灑後 D1 的驅蟲率已達 96.1%，而 D2 則達到 98%，D3 則達到 100%，作物葉面上已無蚜蟲個體出現。此外，為了避免已感染作物噴灑後，蚜蟲會轉移至其它作物，也在已感染作物週遭放置農作物，觀察結果顯示，作物葉片上也沒有發現蚜蟲的出現。



圖 38b D1 大量蚜蟲屍體出現



圖 38c 作物葉面上已無蚜蟲

#### 2. 對未感染蚜蟲作物的預防效果

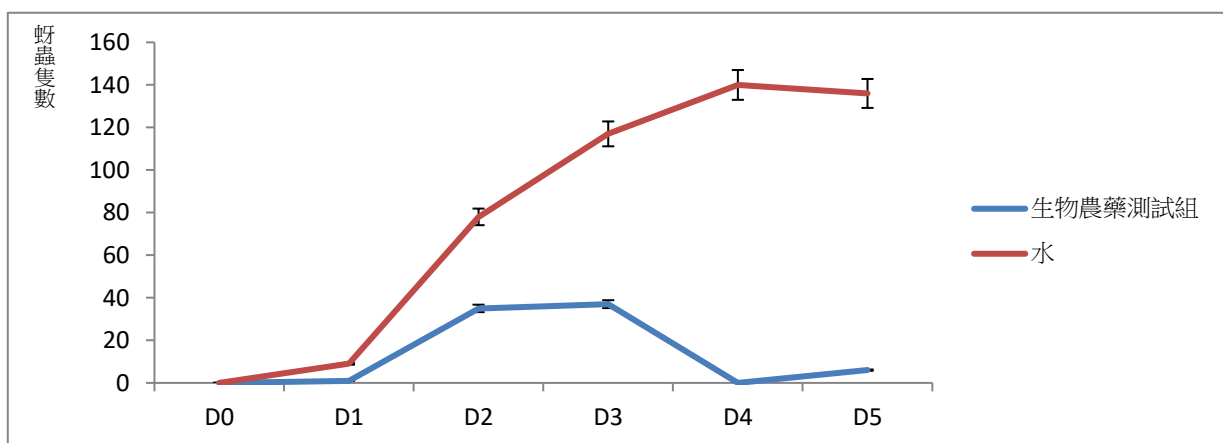


圖 39a 對未感染蚜蟲作物噴灑生物農藥測試劑的預防效果

預防噴灑的設定(圖 22)，將具有蚜蟲的作物置於中央，周圍放置已噴灑生物農藥測試劑的作物及對照組(水)。結果顯示，不論是生物農藥測試組或是對照組，於 D1 天時，均發現有

翅型蚜蟲飛來，而對照組較生物農藥組數量較多(分別為 9、1 隻)。D2 時則發現蚜蟲總數開始增加，對照組及生物農藥組分別為 35、78 隻，而在 D3-4 天時，發現數量出現了意想不到的變化，對照組數量持續增加，而生物農藥預防組的數量開始減少至 0，推測有噴生物農藥的葉片，被蚜蟲吸食後出現吸食性中毒，導致數量減少。但在 D5 天時蚜蟲又出現，推測此時的防治效果可能下降，這也暗示著需要進行補充性噴灑。



### 3. 比較不同類型驅蟲劑的驅蟲效果

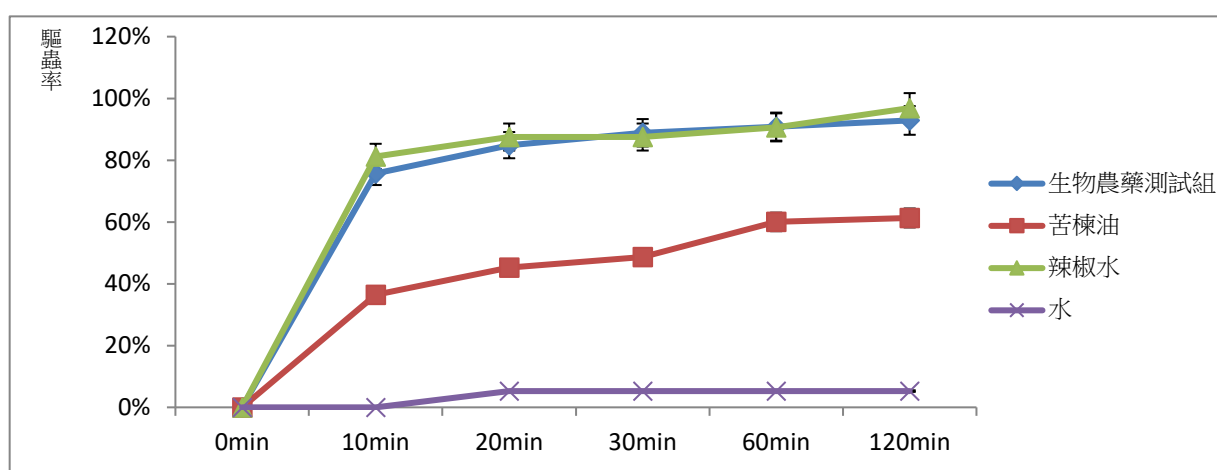


圖 40a 不同類型驅蟲劑對蚜蟲的驅蟲能力比較

野外測試的部份，以市售的苦楝油及辣椒水探討對驅蟲影響。結果顯示，在 10min 時，生物農藥、苦楝、辣椒的驅蟲能力分別為 75.8%、36.4%以及 81.25%。自製的生物農藥測試劑與辣椒水驅蟲能力相似，辣椒水的驅蟲能力相當強，噴灑至葉面 10min 即造成為數不少的蚜蟲致死，而苦楝油為阻塞昆蟲氣門類型的，若無形成油膜則驅蟲能力下降。





#### 四、探討生物農藥測試劑造成中毒的原因~吸食毒或接觸毒

上述一系列的實驗，嘗試將原本對昆蟲吸食毒的單寧酸，改製成具有噴灑毒性的生物農藥測試劑，而由於生物農藥測試劑中的成份，使用了乳化劑、油等用來破壞體表，當噴灑會造成腹側氣門的阻塞，因此並不確定生物農藥測試劑，是否是因接觸毒而造成蚜蟲致死。另外，在預防的結果上，意外發現即使噴灑有生物農藥測試劑的葉片仍有蚜蟲增生，但隨後幾天則數量下降，這暗示著蚜蟲有吸食中毒的可能。

在實驗的最後，我們探討了生物農藥測試劑對蚜蟲的毒性原因，希望能解開這些疑問，並了解自製的試劑，除了噴灑造成的防治效果外，噴灑在葉面的試劑也能持續預病害蟲。

##### (一)對害蟲吸食毒性的探討

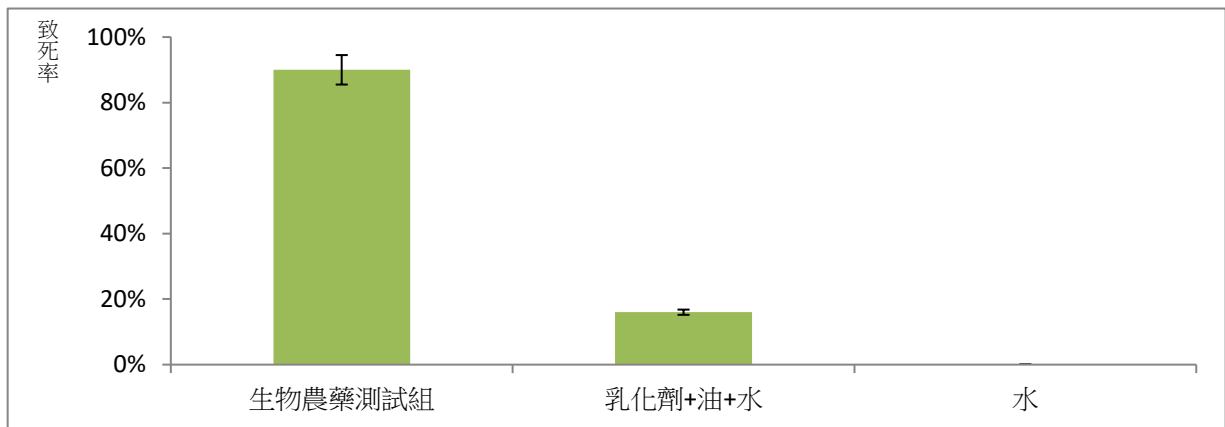


圖 41a 不同試劑噴灑葉面乾後，對蚜蟲的致死率比較

吸食結果(24 小時後)，噴灑生物農藥測試劑組，對蚜蟲的致死率為 90%左右，而乳化劑+油+水則為 16%左右。結果顯示即使噴於葉面上的試劑乾後，仍能藉由吸食的途徑，使得害蟲中毒，而乳化劑+油+水的組別，則顯示可能較需藉由阻塞昆蟲氣門來達到防治目的，因此在風乾後的葉片，對蚜蟲的防治效果不良。吸食中毒的結果探討與預防噴灑的結果相符。表示改良的生物農藥製劑以噴灑為主，但仍具有對害蟲吸食中毒的能力。



## (二)對害蟲接觸毒性的探討

吸食毒的實驗，可以得知改良後的單寧酸生物農藥製劑仍保有對昆蟲的抑制力，接著進行對昆蟲接觸毒性的探討，查閱文獻得知蚜蟲的呼吸系統開口(氣門)位於腹部兩側(圖 42a)，因此在滴生物農藥試劑時，避免滴於氣門附近。

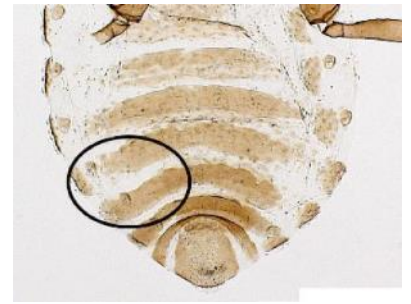


圖 42a 文獻指出蚜蟲氣門位置

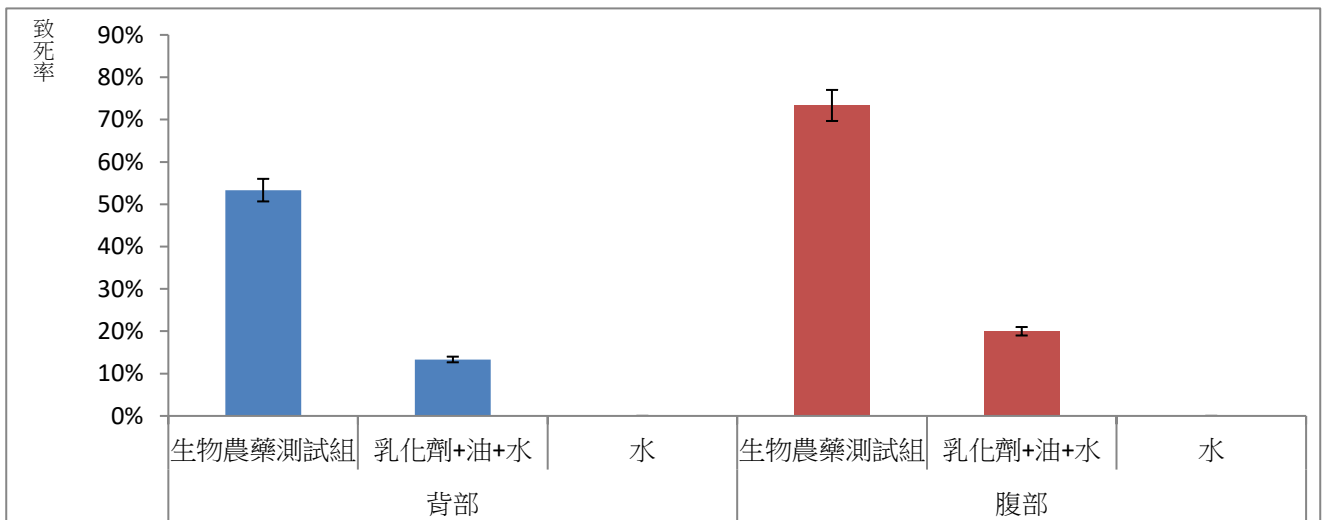


圖 42b 不同試劑，滴於蚜蟲不同部位之致死率比較 (10min)

實驗結果上，滴於背部的生物農藥試劑及乳化劑+油+水之致死率，分別為 53.33%、13.33%；而滴於腹部之致死率則較高，為 73.33%、20%。顯示當蚜蟲的腹部接觸到生物農藥試劑時，會造成較大的毒性，而乳化劑+油+水，不論是腹部或背部的致死率均偏低，推測可能與原先殺蟲的特性有關(阻塞氣門)，乳化劑組的實驗結果也與苦楝油的結果類似，也就是對害蟲的相同抑制原因皆為呼吸阻塞有關。



圖 42c 以針尖滴試劑於腹部



圖 42d 滴於腹部生物農藥試劑



圖 42e 腹部接觸毒性中毒

生物農藥測試劑對蚜蟲接觸或吸食毒實驗，顯示改良自單寧酸的試劑，同時具有這兩種毒性，這也暗示著當蚜蟲感染時噴灑，會對蚜蟲產生接觸毒，達到治療的效果，沒噴灑到的蚜蟲則會因吸食到葉面而產生吸食毒，接著留於葉面的試劑也能持續預防保護作物，也就是有著治療及預防，又不殘留的能力，也具有進一步發展為環保友善的生物農藥潛力。

## 陸、討論

近代,因化工快速進步,廉價化學農藥逐漸取代生物農藥,直到環保意識抬頭、環境友善與農藥殘留問題快速成為社會議題與共識。根據百大社會課題的調查報告,台灣人最關注的議題中,「污染或農藥殘留」名列第3。新聞也常見到外銷的農產品,因農藥問題被退貨,農藥使用過量及土壤污染等問題更甚以前。生物農藥似乎是更友善的替代農藥方案,農委會(2018)的資料顯示台灣生物農藥市場僅佔整體農藥市場4%,有很大發展空間。



圖 43 生物農藥,環境友善

余志儒(2007)的文章指出,單寧酸是植物具有活性的除蟲物質,陳運造(2007)也於農業專刊的文章指出,植物抵抗昆蟲的機制多樣,但最重要的應屬其體內所含次生代謝物~類抗生物質,包括毒蛋白、有機酸、揮發性精油、單寧,這顯示了單寧酸對於除蟲的重要性。我們也試著將單寧酸水溶液加入蛋白,發現會立即凝固(圖44)。



圖 44 單寧酸水溶液與蛋白

這讓我們聯想到是否可以將單寧酸改造為生物農藥?單寧酸會造成吸食性害蟲,如蚜蟲的口器阻塞,屬於吸食型(胃毒殺)的分泌物。該如何修正?又若改良成為噴劑後,是否能保留原有的吸食毒性呢?對作物的影響及殘留又是如何呢?。很期待能藉由此次機會,運用單寧酸對昆蟲的中毒效果,製造出對環境低傷害、有效又能持續的可能生物農藥。以下是針對單寧酸做為生物農藥的可能性討論:

### 一、 探討單寧酸製成生物農藥的可能

#### (一)觀察蚜蟲的型態及單寧酸防治可能



圖 45 體表蠟粉阻礙接觸

首先,是生物農藥測試劑的對象~偽菜蚜的觀察。在生活史的建立觀察過程中,我們發現蚜蟲體表有層蠟粉,農委會的農業知識入口網(2009)關於害蟲的資料顯示,除了偽菜蚜,菜蚜、介殼蟲等也都具有蠟粉。這層蠟粉會是害蟲保護自己的構造嗎?在初步以單寧酸噴灑後發現,蠟粉的確能夠有效預防單寧酸接觸蚜蟲的體表,這也使得單寧酸對蚜蟲幾乎無殺蟲效果。

為了解單寧酸接觸蚜蟲體表，是否能造成毒性，第一步就是要設法破壞體表蠟粉。根據我們的結果，蚜蟲體表的蠟粉屬於親油性，這與其它具有蠟粉的害蟲特性相似，潘柏璋(2014)的報告指出，埃及吹棉介殼蟲體表的白色棉絮，如同蠟分泌物一般能溶於油脂。因此我們原本打算以可食用的大豆沙拉油(降低對環境危害)作為破壞體表蠟粉用，但卻發現噴灑濃稠的油之後，單寧酸反而無法與體表接觸，若直接在油中加入單寧酸，又會出現無法互溶情形，因此加入乳化劑一方面能稀釋油，一方面又能和單寧酸水溶液互溶。

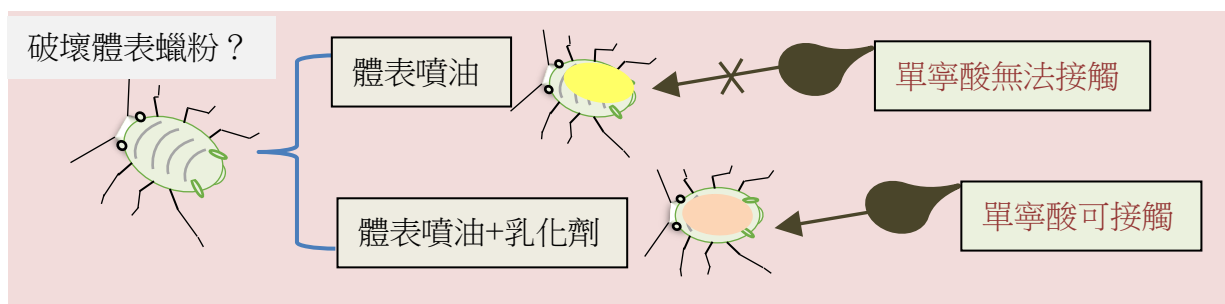


圖 46 體表直接加油，單寧酸仍然無法接觸體表

## (二)探討如何將單寧酸製成生物農藥及其成效

### 1. 生物農藥測試劑的製成

羅致述(1994)於農藥混合劑之研發技術中提及，以對植物毒性而言，陽離子型最毒，陰離子次之，而以非離子型較為安全。因此，選擇了四種非離子型乳化劑及一種陰離子乳化劑。硬脂酸鈉加入學校的地下水有大量凝固，因此不考慮，而水性羊毛脂也有不錯表現，但與食品業常使用的 SP 相比，價格較高，所以最後選擇了可用於食品加工的 SP 做為乳化劑

接著就是驗證疑問~破壞體表蠟粉，單寧酸水溶液是否具除蟲效果。不同時間對致死率的結果，除了能驗證體表蠟粉被破壞後，單寧酸產生了毒殺作用，也發現值得討論的問題。

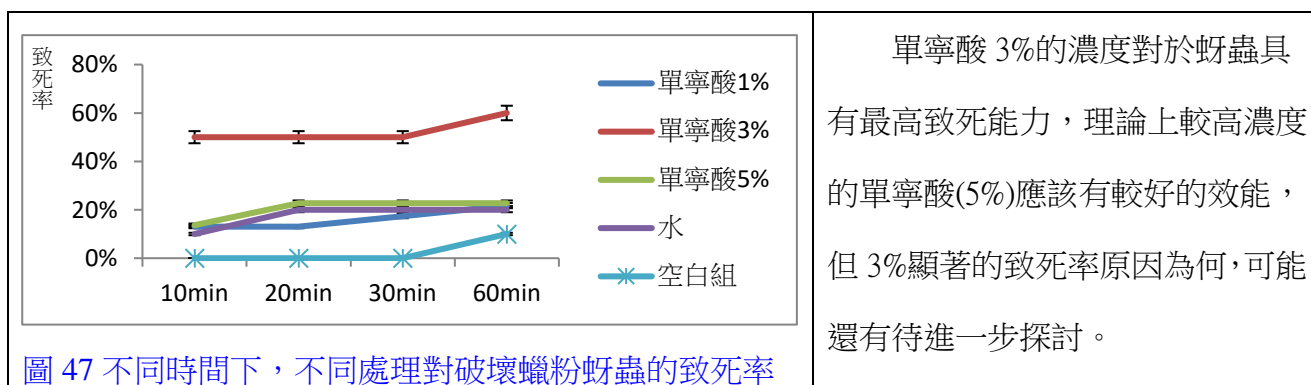


圖 47 不同時間下，不同處理對破壞蠟粉蚜蟲的致死率

單寧酸 3%的濃度對於蚜蟲具有最高致死能力，理論上較高濃度的單寧酸(5%)應該有較好的效能，但 3%顯著的致死率原因為何，可能還有待進一步探討。

這個結果讓我們想到酒精消毒，75%濃度最好，95%酒精反而消毒效果不佳，是否較高濃度單寧酸，造成蚜蟲體表出現變化導致無法滲入，造成致死率偏低，有待進一步驗證。



## 2. 生物農藥測試劑的成效

破壞體表，單寧酸接觸體表後會產生毒殺效果，原本想製造 AB 劑，先以 A 劑(乳化劑+油)噴灑，接著再以 B 劑(3%單寧酸水溶液)噴灑，但考慮到使用的不便利性。余志儒(2009)的研究報告指出，大豆油之乳化液確實有殺棉蚜的效果，除了確認生物農藥測試劑的成效外，加入乳化劑+油以作為對照組，另外，石憲宗(2010)專文中也提及礦物油具有毒殺蚜蟲能力，而余志儒(2009)的報告也提及植物油對蚜蟲具有毒殺能力，因此我們也將植物油作為對照組。結果顯示植物油因形成油膜，有最好的致死效果，但也存在著對作物影響及殘留疑慮。

### 二、探討生物農藥測試劑對作物的影響

有機農業資訊網(2019)的文章「農藥殘留≠施用農藥」提及，有機農業允許殘留量為安全值的 5%，因此我們測試劑就必需討論殘留結果及對作物影響。在對作物影響的驗中，我們對作物噴灑不同的試劑(與對蚜蟲抑制的試劑相同)，結果顯示除植物油外，乳化劑+油的組別、生物農藥測試劑的組別均與對照組(水)，在生長指標上無達顯著差異，表示對作物影響不大(測試期間為 21 天)，而植物油的組別則明顯生長不良，可能與油黏附葉面導致氣孔無法有效交換氣體有關；而在殘留部分，我們使用的單寧酸，雖是源自於植物對抗害蟲的物質，但目前卻不是直接萃取，因此若能洗滌不殘留顯得更為重要。採用了模擬搓洗(震動器 2 秒)的方式，結果與直接浸泡 10min 所測得的單寧酸 OD 值相似，若模擬時間加長，應該能在更短時間及更省水量的狀態下完成洗淨，這表示生物農藥測試劑易溶及便於清洗。

### 三、探討測試劑對生態影響及野外實施成效

#### (一)對生物(其它害蟲、天敵)及環境(土壤)影響

生物農藥與其它農藥相同，除了對人體有害程度最低、目標害蟲有效外，生態的影響更需考量。傳統化學農藥，不論是目標害蟲，或是非目標益蟲，甚至是害蟲天敵都難逃農藥的毒殺。因此，我們很在意此試劑對生態系中，害蟲天敵的影響。蚜蟲的重要天敵~寄生蜂、食蚜蠅，都在我們戶外種植的菜園中出現。實驗結果發現寄生蜂(寄生於蚜蟲體內)在噴灑下，保有約 5 成的羽化率，目前的結果可說明對被寄生蚜體內的寄生蜂幼蟲，可能無毒性，但更想了解的是，這些在體表有生物農藥測試劑下羽化的成蟲，是否仍有寄生能力呢？若能獲得解答，相信在生物農藥測試及生物防治的雙重使用下，蚜蟲的族群能有更大幅度的下降。



圖 48 對棉蚜(無蠟粉)致死率高



圖 49 對食蚜蠅幼蟲無害？

噴灑食蚜蠅幼蟲時，發現仍保有活力，可能對肉食性、體型較大的幼蟲無害，但也讓我們想到，噴劑是否也能毒殺植食性的菜蟲呢？

此外，原本偽菜蚜出現菜園，也出現另一種體表光滑無蠟粉的蚜蟲~棉蚜(圖 48)，原本設計用來破壞具蠟粉蚜蟲的生物農藥測試劑，是否對無蠟粉的蚜蟲具有毒殺作用呢？

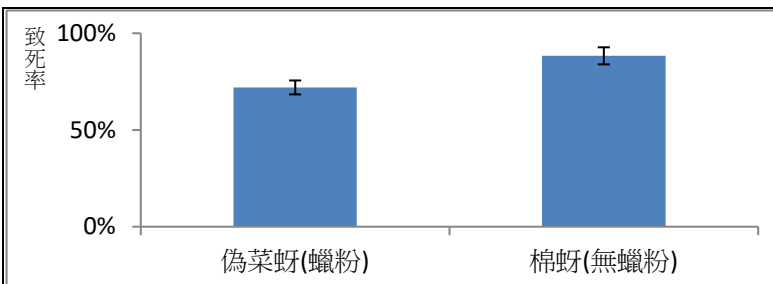


圖 50 生物農藥測試劑對有無蠟粉蚜蟲的致死率 (10min)

比較生物農藥測試劑對有無蠟粉的兩種蚜蟲致死率。結果對無蠟粉的蚜蟲致死率較高，且達顯著差異( $p < 0.05$ )，有無蠟粉皆有影響。顯示對其它不同種的蚜蟲也同樣有效。

在土壤殘留方面，戶外可能有連續兩天的影響，造成單寧酸殘留無檢出情形，但室內部份，可能測試劑大多噴灑於葉面，土壤因而也無檢出。戶外及室內種植之土壤殘留結果，均顯示測試劑無檢出，但實驗週期較短(21 天)，較長期噴灑之影響還需進一步確認。

## (二)在野外實施成效

在戶外實際實施上，針對治療及預防比較，發現當作物被蚜蟲大量感染時，連續兩天噴灑，即可達到 100%的驅蟲效果。在預防結果，有點出乎意料，原本認為噴灑測試劑的葉面會有預防蚜蟲前來的能力，但噴灑後的第一天，即發現蚜蟲出現且數量增加，直到第 4 天蚜蟲數量才減少至 0，推測可能與蚜蟲吸食到葉面上的測試劑導致中毒有關，但值得注意的是第 5 天之後，數量又開始增加，可能葉面上的測試劑已無保護效力。

## 四、探討生物農藥測試劑對蚜蟲造成的毒性~吸食毒或接觸毒

直接噴灑實驗，得知測試劑對蚜蟲可能具接觸毒(或是內含的油塞住氣門)，而在預防噴灑實驗，發現測試劑可能具有對蚜蟲的吸食毒，因此針對中毒原因進行探討。結果發現改良後試劑，已轉換原先單寧酸作為對害蟲造成吸食毒的能力，同時具備兩種毒性，這呼應之前治療及預防實驗的結果，治療噴灑後蚜蟲族群大量下降，預防噴灑下的葉面即使有蚜蟲，也很快的族群下降，再加上易於洗滌的特性，單寧酸製成生物農藥的確具發展的潛能。

## 柒、結論

近年來，諸多科學文獻揭示了農藥對於人體健康的影響。如何減少使用農藥？如何更安全的使用農藥？一直是多方討論的課題。為了追求更健康、更安全的飲食，以有機方式種植的蔬果也隨之成為熱門的話題。不論如何，這些的探討無非就是希望不要把毒藥吃下肚子！在本篇研究中，我們探討以存在於許多植物體內的物質-「單寧酸」，來對蚜蟲進行不同的測試，以及分析其做為生物農藥的可行性。以下為我們的實驗結論：

1. 偽菜蚜的蠟粉能預防單寧酸接觸蚜蟲體表，使得僅用單寧酸對蚜蟲幾乎無立即殺蟲效果。
2. 當蚜蟲的體表蠟粉被乳化劑+油破壞後，單寧酸接觸體表具有一定程度的立即致死能力，單寧酸 3%組致死率 60%最高，而空白組(僅以拭鏡紙吸乾體表乳化劑+油)，約為 5%。
3. 生物農藥測試組(乳化劑+油+3%單寧酸溶液)，在 10min 的結果上已能對蚜蟲有一定的防治(致死率 69.5%)，而「乳化劑+油+水」僅為 36.42%，顯示加入單寧酸能大幅提升對蚜蟲的致死率。
4. 在 3 周的觀察期間，發現生物農藥測試組及噴水組，農作物的質量表現並無達到顯著差異 ( $p>0.05$ )，顯示生物農藥測試的噴灑對作物生長影響不大。
5. 以震動器(2 秒)模擬搓洗後浸泡，或將作物直接浸泡於水中(10min 與 15min)後置換水，以分光光度計分析，水中單寧酸 OD 值均為 0，沒有殘留。
6. 在土壤殘留方面，戶外實驗因連續降雨導致無單寧酸檢出；而室內實驗可看出測試劑大多噴灑於葉面，土壤因而無單寧酸檢出。
7. 噴灑生物農藥測試劑，比較寄生蜂羽化率發現，D2 天時，寄生蜂的羽化率達到 40%，至 D3 天時羽化率為 50%，顯示生物農藥測試劑雖對於蚜蟲天敵的族群會有影響，但仍會有約 5 成的寄生蜂順利羽化，也有了再寄生蚜群，使蚜蟲族群下降達到防治的可能。
8. 噴灑生物農藥測試劑，對不同害蟲在不同時間致死率比較。結果顯示，不同科害蟲，蝨粉介殼蟲(介殼蟲科)、神澤氏葉蟻(葉蟻科)均能被生物農藥測試劑抑制。其中，在 10min 時以葉蟻的致死率最高，為 86.3%，而對蚜蟲及介殼蟲則分別為 71.3%與 61.6%。
9. 野外環境，無法像實驗室培養皿計算蚜蟲致死率，因此我們以驅蟲率做計算。對野外已感染蚜蟲作物噴灑之結果，噴灑後 D1 驅蟲率達 96.1%，D2 則達到 98%，D3 則達到 100%。

- 10.對未感染蚜蟲作物噴灑生物農藥測試劑，發現於 D1 時，均發現有翅型蚜蟲飛來，而對照組較生物農藥組數量較多(分別為 9、1 隻)。D2 時對照組及生物農藥組分別為 35、78 隻，而在 D3-4 天時，對照組數量持續增加，而生物農藥預防組的數量開始減少至 0，推測有噴生物農藥的葉片，被蚜蟲吸食後出現吸食性中毒，導致數量減少。
- 11.野外測試的部份，以市售的苦楝油及辣椒水探討對驅蟲影響。結果顯示，在 10min 時，生物農藥、苦楝、辣椒的驅蟲能力分別為 75.8%、36.4%以及 81.25%。
12. 吸食結果(24 小時後)，噴灑生物農藥測試劑組，對蚜蟲的致死率為 90%左右，而乳化劑+油+水則為 16%左右。結果顯示即使噴於葉面上的試劑乾後，仍能藉由吸食的途徑，使得害蟲中毒，而乳化劑+油+水的組別，則顯示可能較需藉由阻塞昆蟲氣門來達到防治目的，因此在風乾後的葉片，對蚜蟲的防治效果不良。
- 13.不同試劑滴於蚜蟲不同部位之致死率比較 (10min)，發現滴於背部的生物農藥試劑及乳化劑+油+水之致死率，分別為 53.33%、13.33%；而滴於腹部之致死率則較高，為 73.33%、20%。顯示當蚜蟲的腹部接觸到生物農藥試劑時，會造成較大的毒性。而乳化劑+油+水，不論是腹部或背部的致死率均偏低，與苦楝油的結果類似，也就是對害蟲的相同抑制原因皆為阻塞呼吸用的氣門。

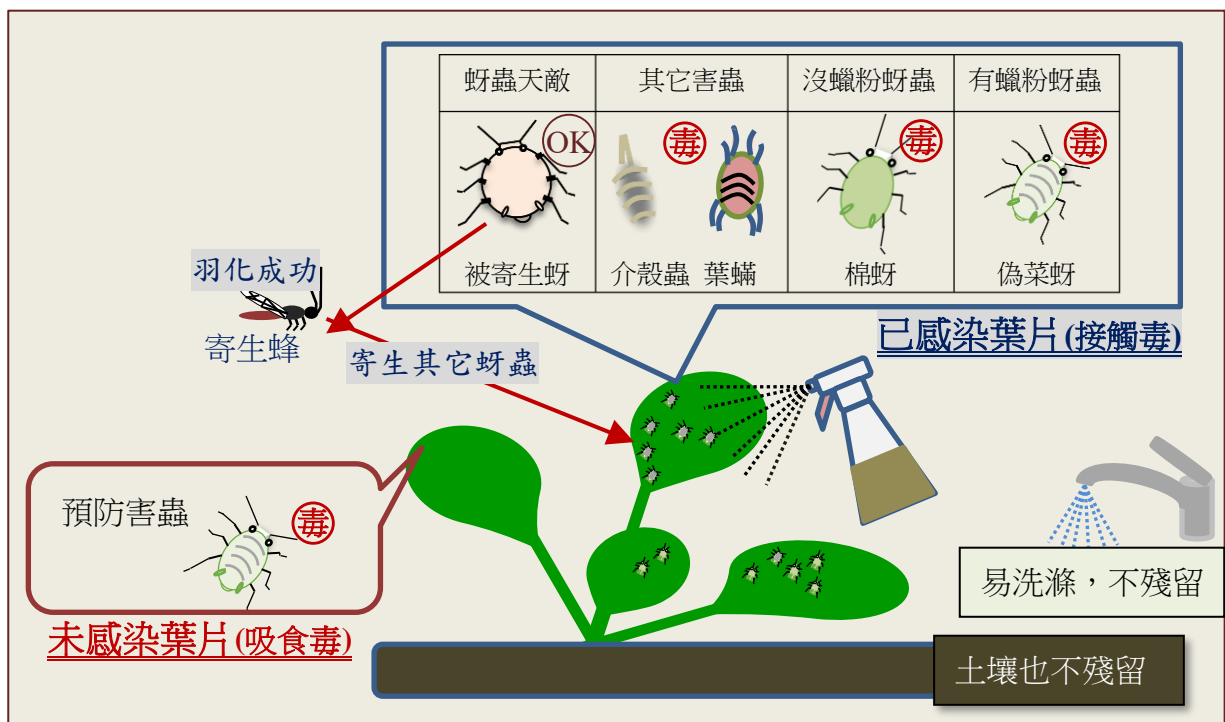


圖 51 單寧酸製成的生物農藥測試劑對作物的噴灑效果



## 捌、未來展望

我們研究的植物代謝物單寧酸，是否能做為生物農藥？原本的出發點，希望以無毒農藥做為目標，畢竟現階段使用的並非天然萃取的單寧酸，也因此實驗中進行洗滌來確認無單寧酸殘留，或許生物農藥的製成，還有很長遠的實驗及驗證需要執行，且對於生態的影響，還需更多的考量點，如本實驗於生物因子，僅探討天敵及其它害蟲；環境因子，僅探討土壤單寧酸的殘留，進一步需再進行探討的部份，例如**食物鏈、其它原生種生物、土壤酸化、物理、化學性質、微生物菌相及族群數等**，是否受到影響？這些都是生態考慮上的重要議題。此外，天然萃取的單寧酸與目前使用的單寧酸差異為何，天然萃取的成本與可行性等，但相信這個關於友善環境的農藥想法與實驗，能提供台灣生物農藥發展上的基礎參考。

## 玖、參考資料

1. 害蟲介殼蠟粉資料，取自農委會農業知識入口網  
<https://kmweb.coa.gov.tw/subject/subject.php?id=13448>
2. 余志儒(2007)，作物蟲害之非農藥防治技術 (2007年) 行政院農業委員會農業試驗所
3. 余志儒(2009)，乳化大豆油對棉蚜之致死效果。台灣農業研究 58(4):265-272，2009
4. 陳運造(2007) 殺蟲植物與植物性殺蟲劑 苗栗區農業專訊 第40期
5. 羅致述(1994)，農藥混合劑之研發技術，台灣省農業藥物毒物試驗所
6. 潘柏璋、楊博勛(2014)，埃及吹棉介殼蟲的生存之道~蠟泌物與蜜露排除機制探討，中華民國第54屆全國中小學科展
7. 石憲宗(2010)。作物蟲害非農藥防治資材。農試所特刊第142號
8. 蕭仲凱、周雋宸、蕭仁豪(2019)。探討蟲生真菌對疣胸琉璃蟻的致死情形。中華民國第59屆全國中小學科展
9. 農藥管理及展望(2020)。取自：農委會動植物防疫檢疫局農藥資訊網  
<https://pesticide.baphiq.gov.tw/web/briefDetailView.aspx?sn=68>
10. 林慧淳(2014)。有機=農藥零檢出？取自：<https://info.organic.org.tw/6989/>
11. 有機農業相關資料，取自康健雜誌：<https://www.commonhealth.com.tw/article/69489>  
蚜蟲氣門照片，取自 <http://aphid.aphidnet.org/siphunculus.php>

## 【評語】 032918

1. 研究主題有趣明確，題材生活化具吸引力，且研究目的循序漸進，架構清晰。文獻探討詳實，團隊認真用心；實驗流程及照片說明清楚，實驗設計妥當、研究觀察細心，數據整理佳，實驗資料支撐結論，是很好的作品。
2. 生物性試驗的結果變異較大，參賽者的實驗放大樣品數，並採三重覆平均，是好的作法。
3. 單寧酸對寄生蜂的影響不應只針對羽化率，也應針對成蟲進行研究。
4. 單寧酸對昆蟲的殺傷力可能不會有太大的特異性，應對其它益蟲進行影響評估。
5. 參賽者遇到研究問題可以逐步找出解決方法，有探索精神。

## 作品簡報

無毒有「單」

~探討單寧酸做為生物農藥的可行性

國中組 生活與應用科學科(二)



# ◎探討目標~測試劑製作、除蟲與生態影響



友善、自然農藥使用

生物農藥

天然物質  
及衍生物

單寧酸

次級代謝物  
植物防禦用

測試劑



單寧酸，存在植物體內物質



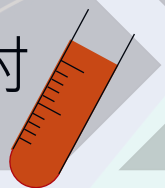
# ◎ 流程與方法

## 一、單寧酸製成生物農藥的可行性及其成效

偽菜蚜  
體表特徵



成份探討



蚜蟲  
致死率



比較市售

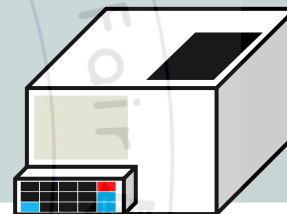


## 二、測試劑對作物的影響

作物生長質量

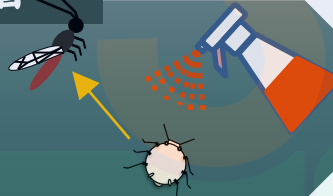


能否洗淨  
不殘留

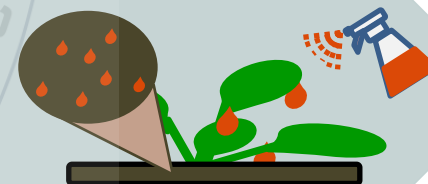


## 三、測試劑對生態的影響

對天敵與其他害蟲



土壤殘留

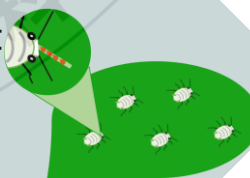


## 四、測試劑在戶外實施成效及致毒原因

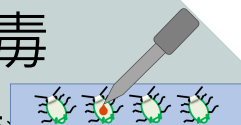
戶外預防  
與治療



吸食毒  
(預防)



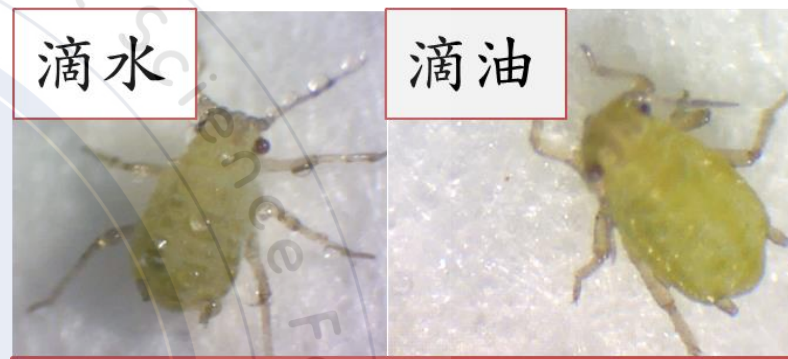
接觸毒  
(治療)



# 一、單寧酸製成生物農藥可行性~蚜蟲的體表特徵

## 1. 單寧酸水溶液成效？

- 發現蚜蟲體表蠟粉能防止單寧酸接觸
- 實驗測試，蠟粉為**親油性**



## 2. 去蠟粉，嘗試加入油和乳化劑

- 選用大豆沙拉油及食品用SP乳化劑
- 測試劑的最佳比例？

- 乳化劑(1)
- 單寧酸(?)
- 油(5)

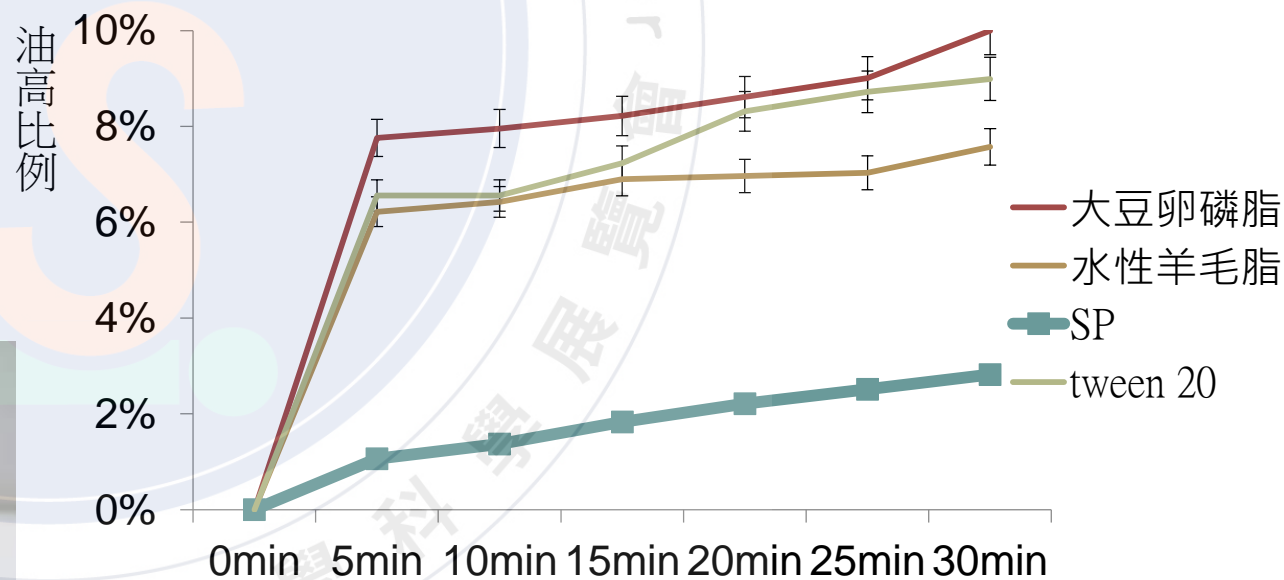
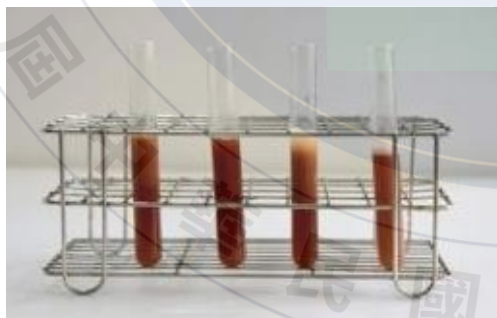


圖1 不同類型乳化劑，在不同時間下油層佔總高的比例

# 一、單寧酸製成生物農藥可行性~探討測試劑成份

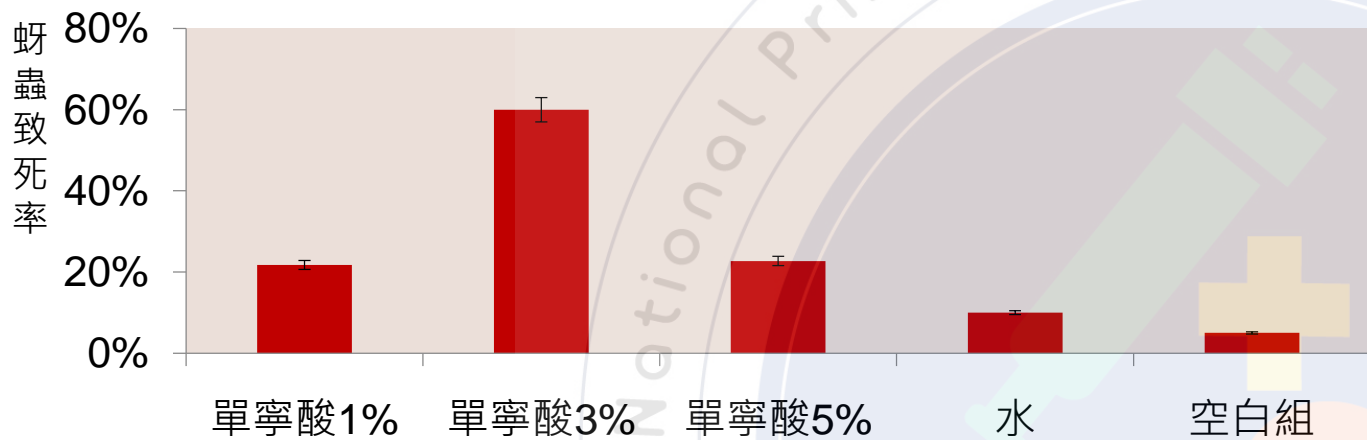


圖2 破壞體表蠟質，對蚜蟲的致死率比較(60min)

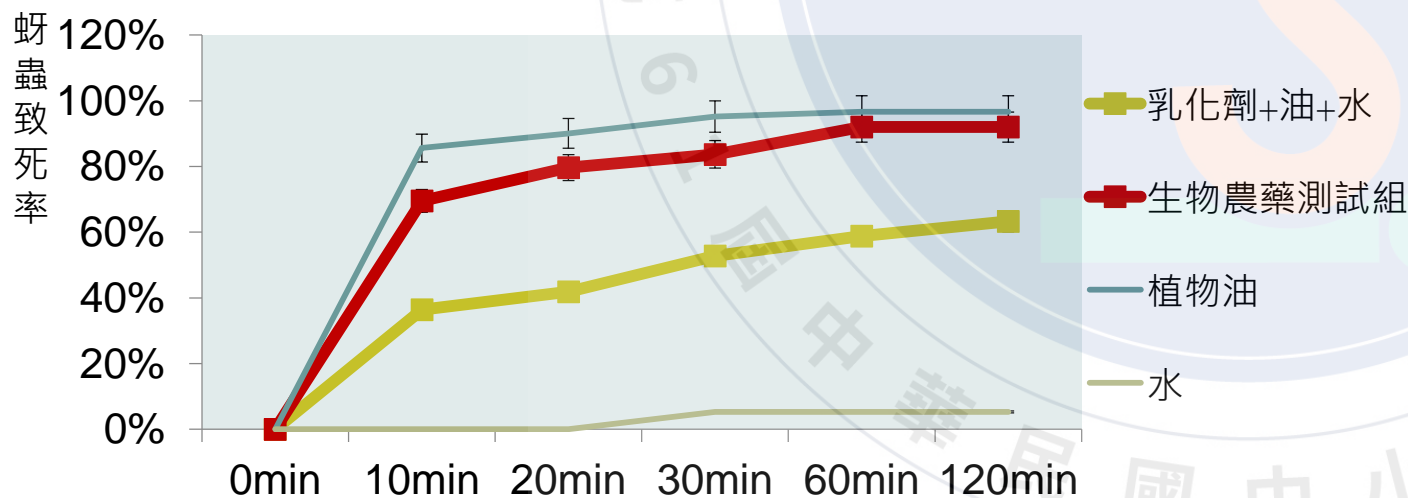


圖3 不同測試劑，對蚜蟲的致死率比較

## 1. 選擇單寧酸比例

- 3%單寧酸溶液較為有效
- 乳化劑：單寧酸：油的比例  
1 : 3 : 5

## 2. 測試劑實測效果

- 加入單寧酸的測試組效果較好
- 加單寧酸提升2倍致死率  
(與乳化劑+油+水組相比)



## 二、測試劑對作物的影響~作物的生長質量

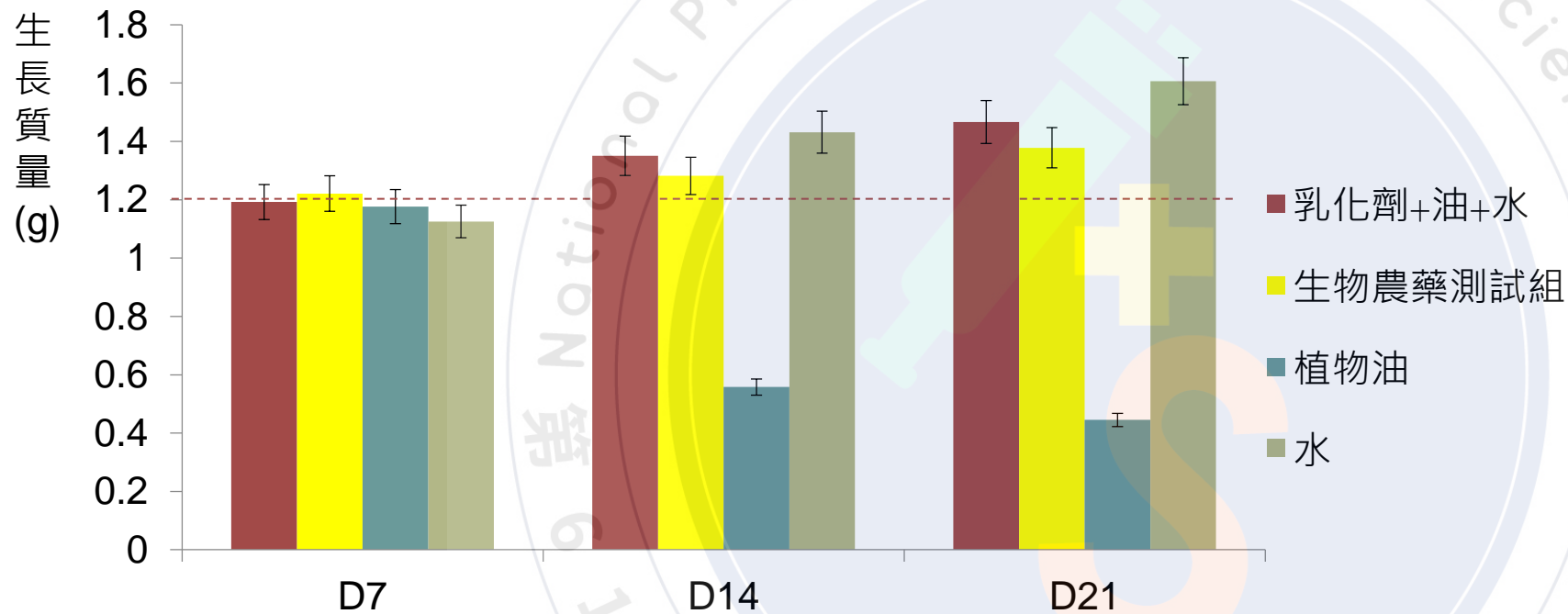


圖4 不同試劑，在不同天數下對農作物生物質量的影響



圖5 D14的生長情形比較

- 不同試劑的生長影響方面，除了植物油組別(生長不良)之外，其餘皆未達顯著差異( $p>0.05$ )

## 二、測試劑對作物的影響~能否洗淨、不殘留

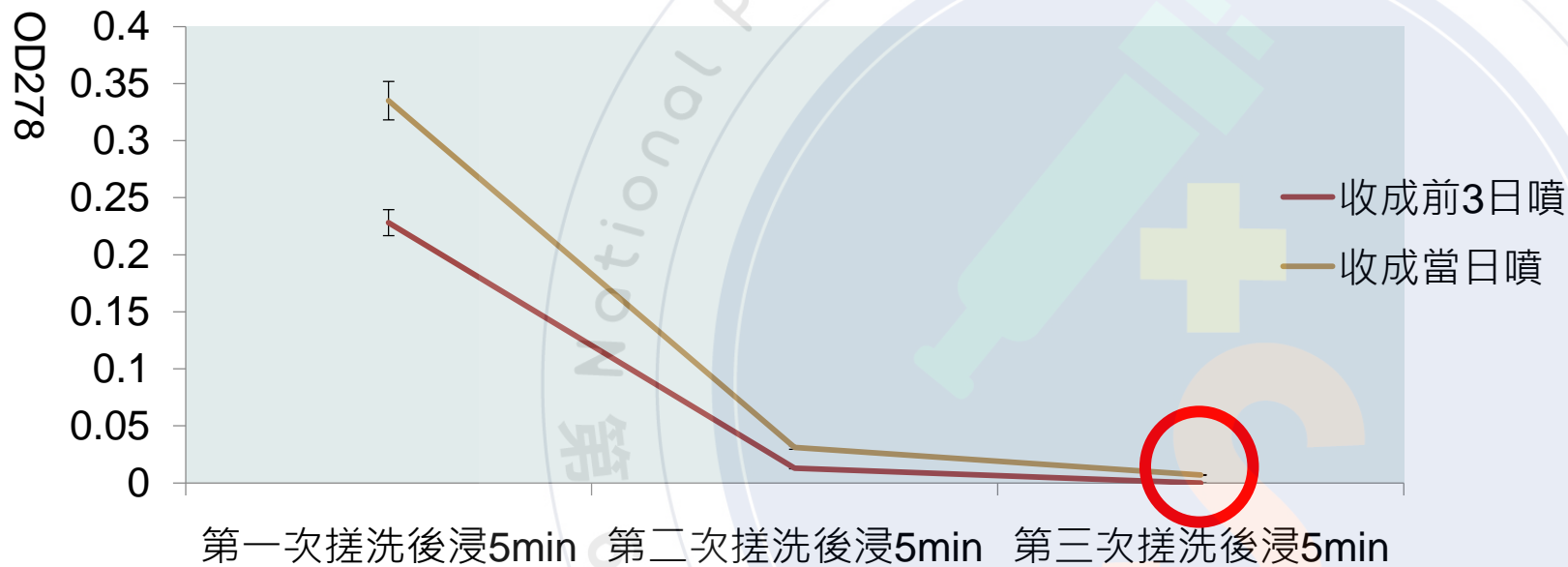


圖6 模擬搓洗方式後換水，水中的單寧酸OD值比較

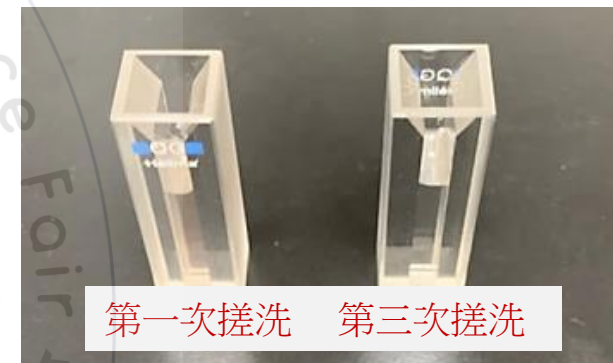


圖7 不同搓洗次數之比色管

- 單寧酸製成的測試劑，在收成前不同時間，皆能以水洗淨，且第二次洗滌後OD值都趨近0
- 顯示測試劑無殘留問題。

# 三、測試劑對生態的影響~對天敵(寄生蜂)與其他害蟲

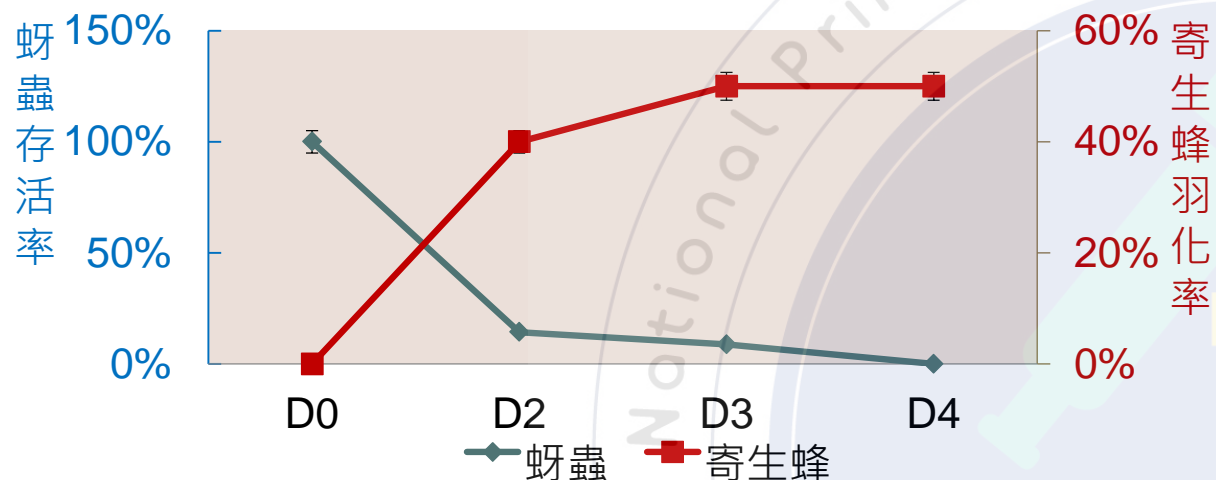


圖8 蚱蟲存活率及寄生蜂羽化率比較

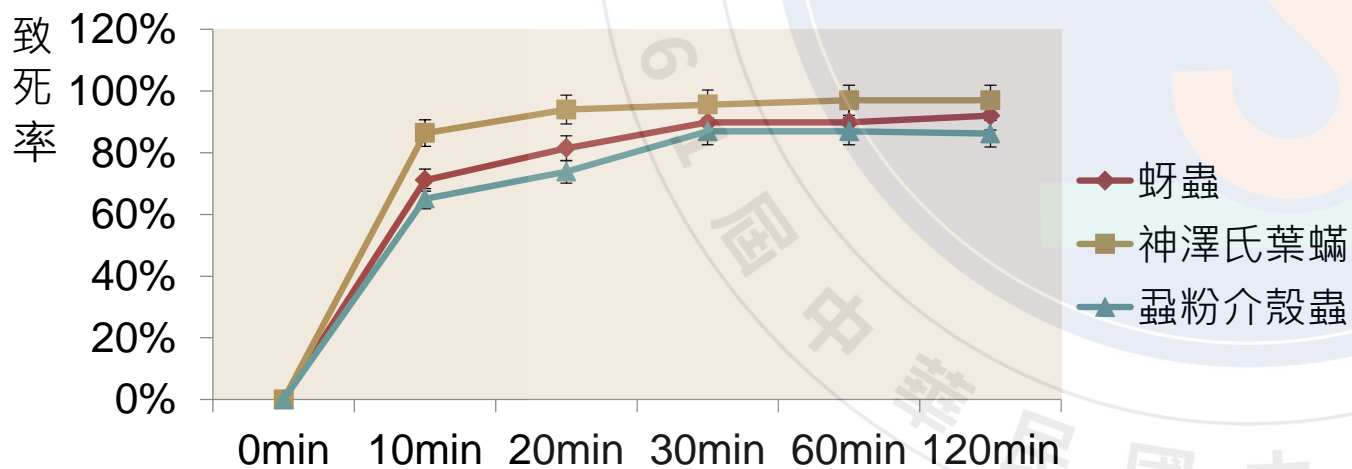


圖9 不同害蟲在不同時間的致死率比較

## 1. 對天敵影響

- 有些許影響
- 仍有50%羽化率



## 2. 對其他害蟲

- 葉蟎致死率近90%
- 介殼蟲致死率超過60%



葉蟎

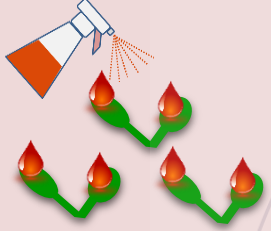
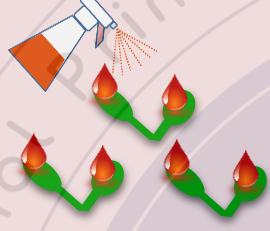
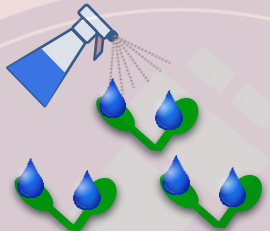
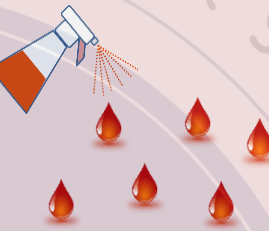
0.5mm, 體表光滑



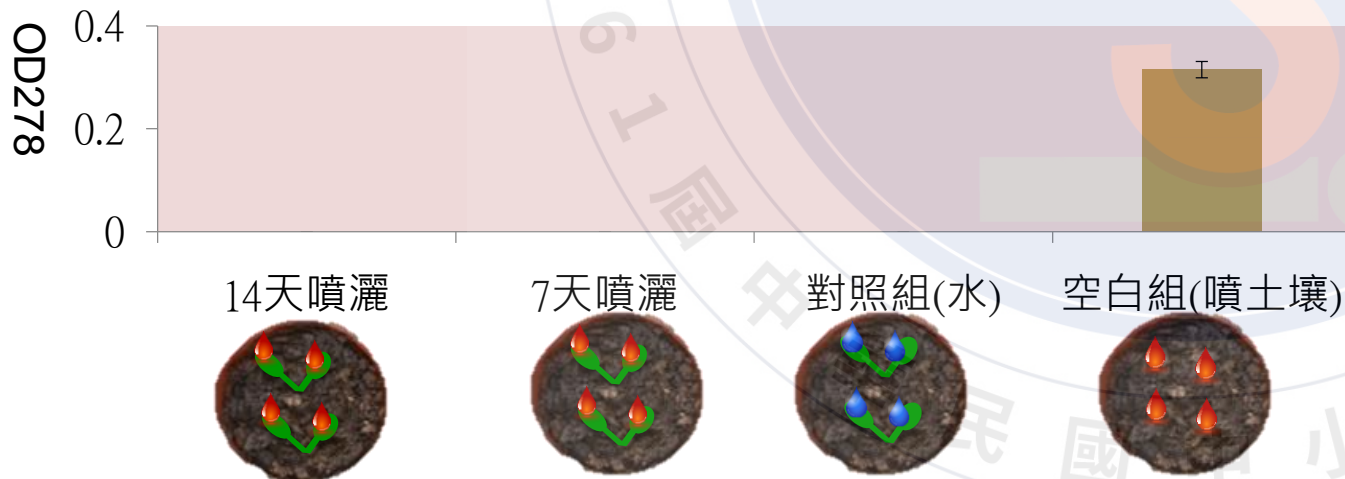
介殼蟲

5mm, 白色蠟粉

# 三、測試劑對生態的影響~土壤殘留

<b>室外 花園配置</b>				
條件設定	14天噴灑 (作物噴測試劑)	7天噴灑 (作物噴測試劑)	對照組 (作物噴水)	空白組 (無作物·土壤噴 測試劑14天)
單寧酸 OD278nm	<b>N.D.</b>	<b>N.D.</b>	<b>N.D.</b>	<b>N.D.</b>

● **室外未檢測出單寧酸殘留(N.D.)**



● **室內空白組OD值0.315**

● 其他組未檢測出  
推測原因為：  
測試劑多噴灑於作物上，故  
土壤無殘留

圖10 室內不同噴灑條件下，土壤單寧酸OD值比較

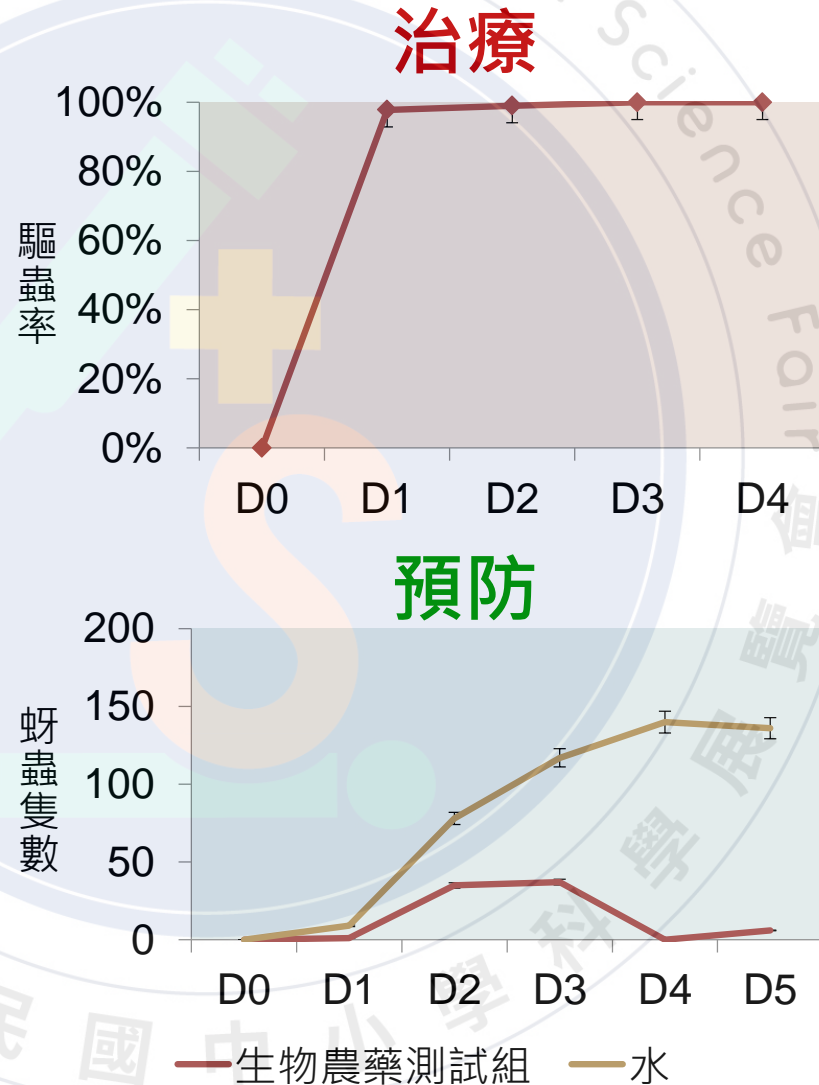


# 四、測試劑在戶外實施成效~治療及預防



圖11 實驗配置示意及治療、預防驅蟲能力

- 中央放置已感染植株(治療)
- 四周放置未感染植株(預防)



- 第三天驅蟲率已達100%，具有**有效治療**
- 且四周作物上無發現蚜蟲
- 第1~3天蚜蟲數量增加，但第4天時蚜蟲數量降至零
- 具有**預防效果**

# 四、測試劑在戶外實施成效~致毒原因探討

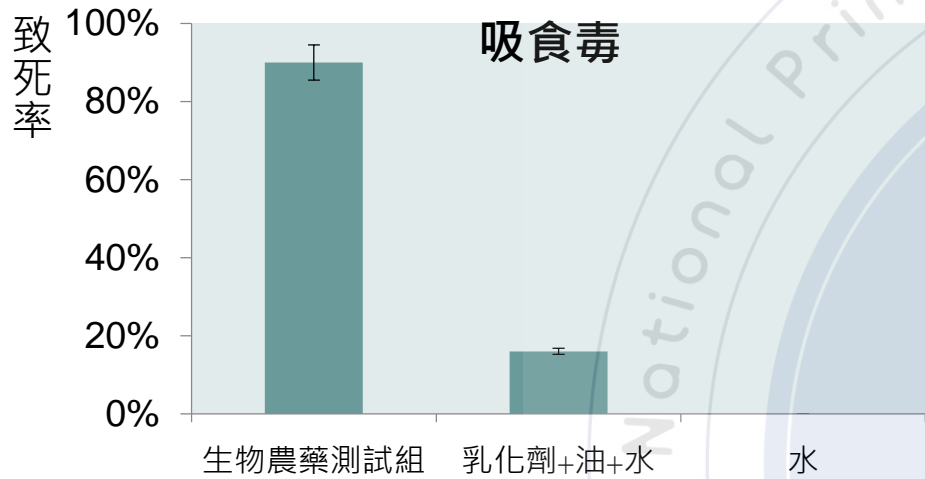


圖12 不同試劑噴灑葉面乾後，對蚜蟲的致死率

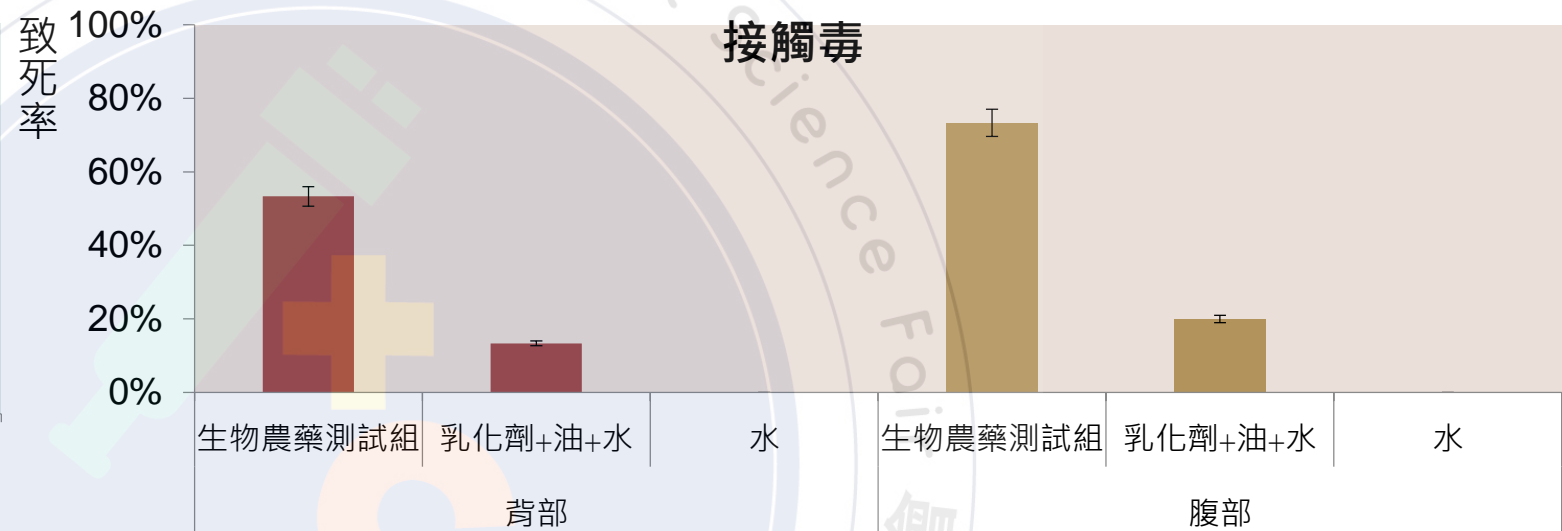
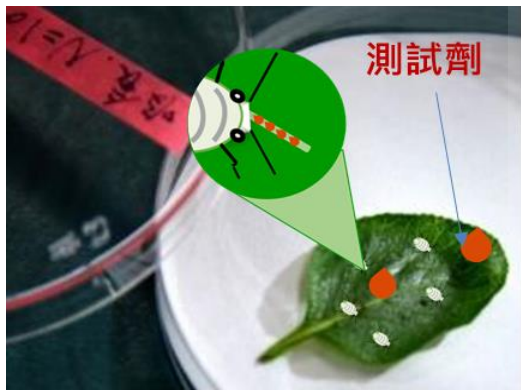
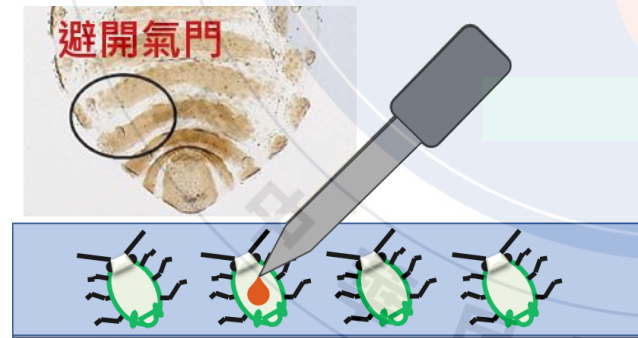


圖13 不同試劑，滴於蚜蟲不同部位之致死率比較 (10min)



吸食毒實驗示意圖



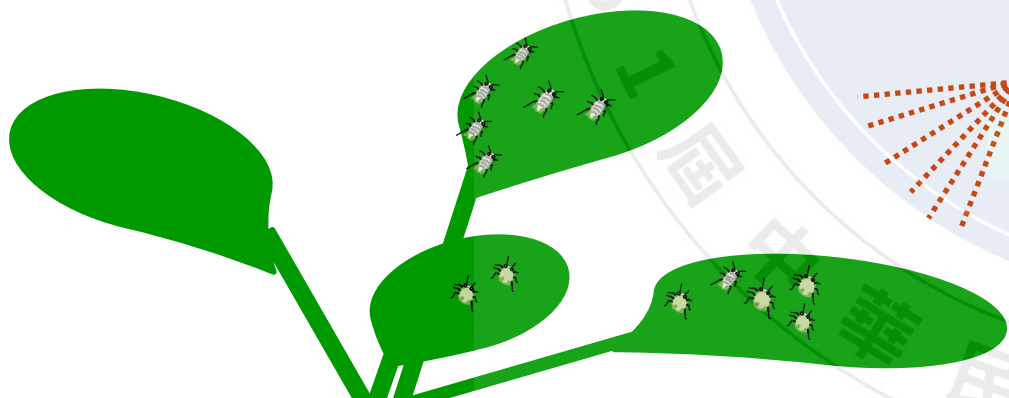
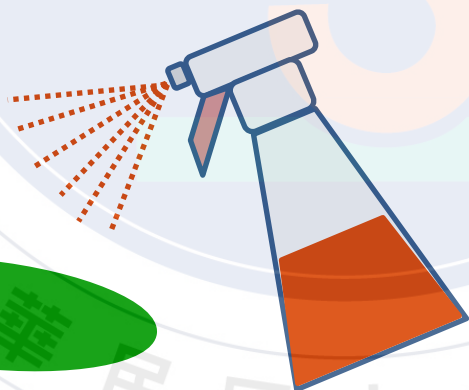
接觸毒實驗示意圖

- 確認測試劑具有**接觸毒殺(治療)**及**吸食毒殺(預防)**

# ◎結論與建議

- 可抑制害蟲
- 易洗滌
- 友善環境
- 成本低

~環保友善生物農藥潛力~



未

更多害蟲

來

更多天敵

展

再寄生率

望

其他生態因子