

2022 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 060017

參展科別 植物學

作品名稱 無毒有「單」~探討單寧酸作為生物農藥的可行性

得獎獎項

就讀學校 高雄市立明華國民中學

指導教師 吳德儀、李冠徵

作者姓名 李珣琳、李函庭、蘇暘程

關鍵詞 單寧酸、生物農藥、植物代謝物

作者簡介



大家好，我們來自高雄明華國中，李函庭(左)、李珣琳(中)、蘇暘程(右)，在實驗一開始我們發現農民曆上寫說柿子不能和螃蟹一起食用，我們便上網查詢原因，原來是因為蛋白質會和柿子裡的單寧酸產生鞣酸蛋白，在查詢資料期間我們發現有一篇文獻指出:單寧酸可以抑制蚜蟲，所以我們想利用單寧酸的這個特性來製造出一款對環境無害且能有效除蟲的生物農藥，在完成這個報告的期間我們遇到了許多困難，幸好得到了許多人的幫助，才能順利完成實驗，我們更在繳交報告之後加做了許多有關於環境的研究，並希望透過更多實驗來證明我們的生物農藥並不會對生態鏈造成負擔。很高興能在這邊向大家分享我們的成果，我們也期待可以和更多人學術交流。

摘要

農藥，除了對害蟲的有效抑制之外，也對環境生態造成一定程度的影響，是否有對農作物及環境更為友善的農藥呢？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。

Abstract

Along with suppressing pest, the use of pesticides often causes harm to the environment. This study is accordingly conducted to explore biological pesticides which are environmental-friendly.

First, it was discovered that "tannic acid", as a secondary metabolite from plants, has the potential to be used as a biological pesticide. It was found that the pseudo vegetable aphid, after de-wax powder over its body surface, suffered certain immediate lethality from contact with tannic acid. Precisely the biological pesticide test group (emulsifier + Oil + 3% tannic acid solution) resulted in an immediate fatality rate of 69.5% (10min) while no significant difference ($p>0.05$) on crop quality performance versus the water spray group, indicating that the biopesticide reagent has little effect on crop growth; per spectrophotometer analysis, there are no residues in both the crop and environmental soil, and the crop is easy to clean to be edible. For biological pesticide reagents, spider mites had the highest lethality rate of 86.3% among pest species, while it was 71.3% and 61.6% for aphids and scale insects, respectively. The field test found that the deworming rate of biopesticide reagents has reached 96.1% for D1, 98% for D2, and 100% for D3. Additionally the smoking test showed that the lethality rate of the biological pesticide test agent group was about 90% against aphids, which showed that the biological pesticide reagent not only has the effect of immediate exposure to poison, but also has the effect of long-term smoking.

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。

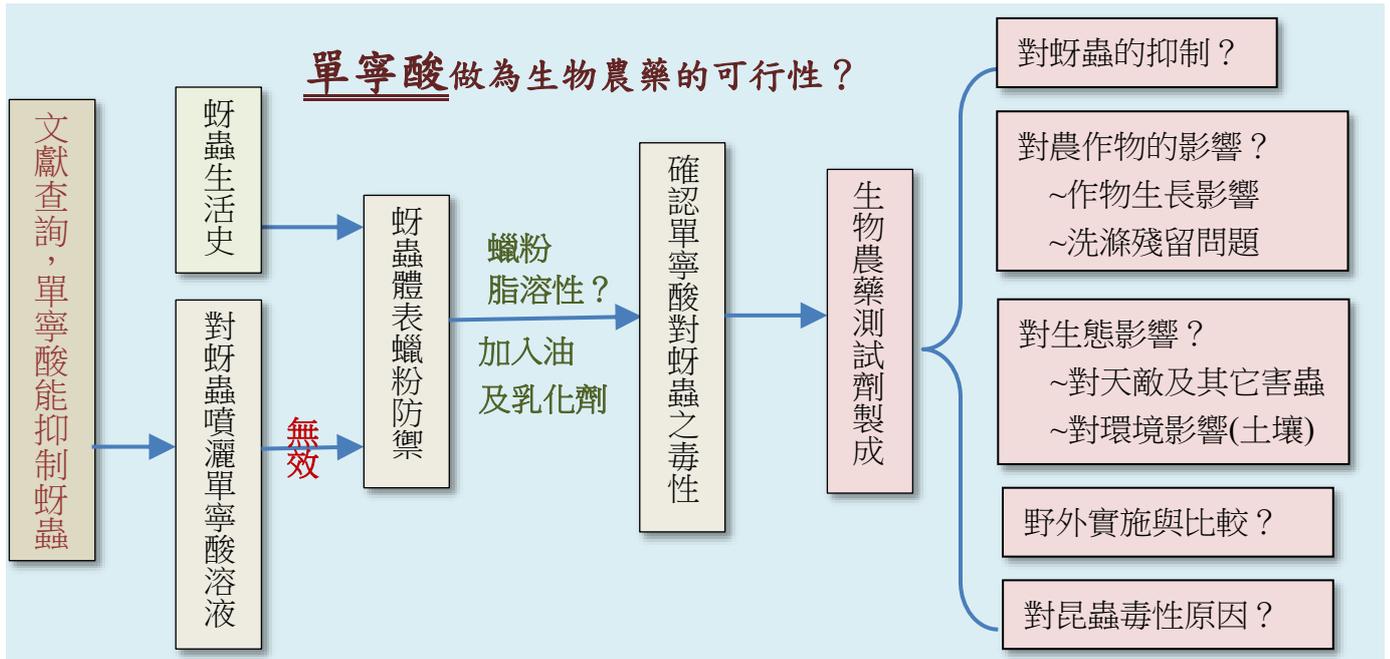
(四) 文獻三、探討蟲生真菌對疣胸琉璃蟻的致死情形祕(中華民國第 59 屆中小學科學展覽)

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~探討茄鐮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)

發現茄鐮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. 在培養品內置入小松菜葉片，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。

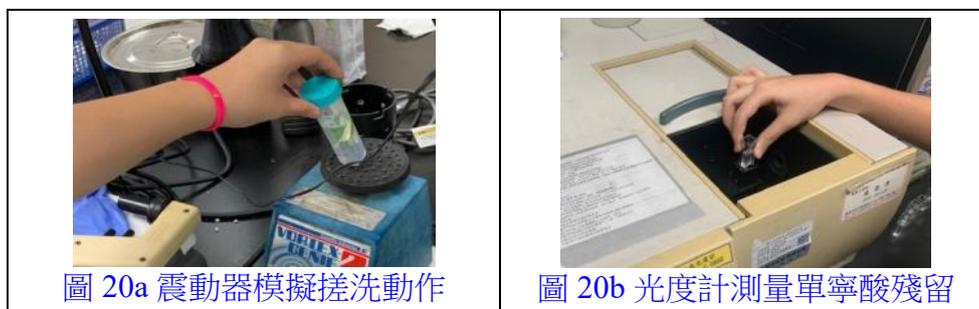


圖 20a 震動器模擬搓洗動作

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)及神澤氏葉蟬的葉片，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

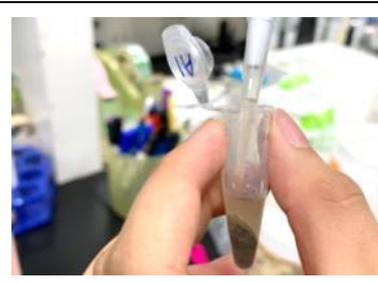


圖 22c 離心後取出上清液

(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

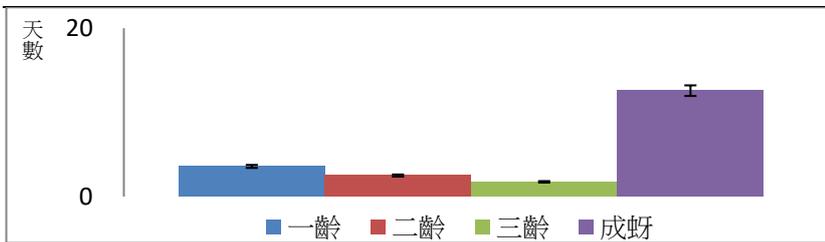


圖 25 偽菜蚜不同齡期的生活史

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



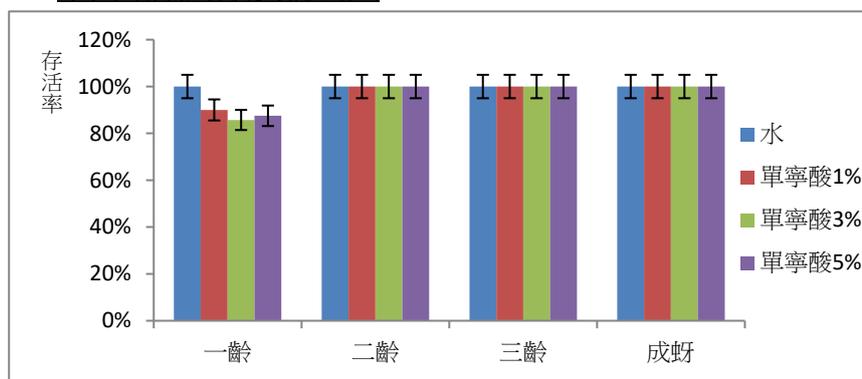
圖 26a 戶外作物上的蚜蟲(噴灑前)



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

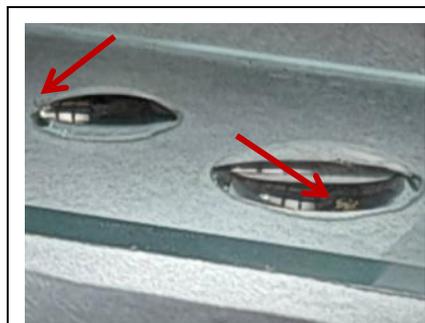


圖 27a 蚜蟲蛻皮浮於水滴上

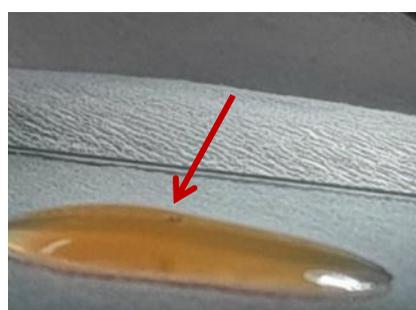


圖 27b 浮於單寧酸溶液上

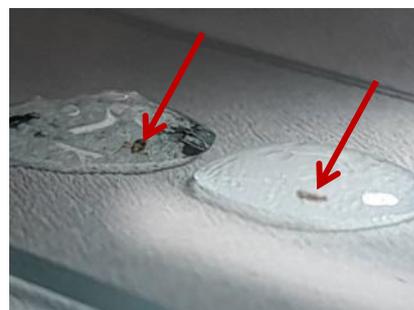


圖 27c 蚜蟲蛻皮沉入油中

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。

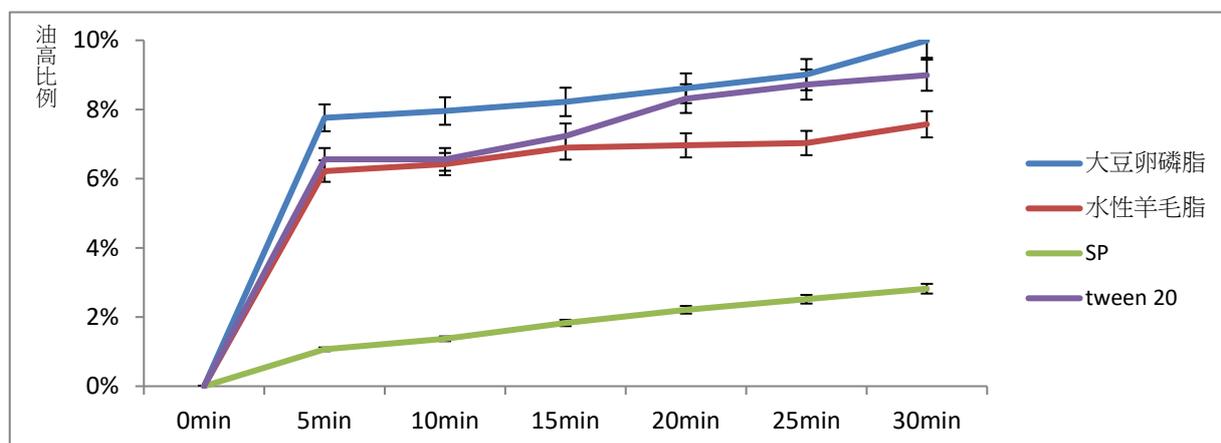


圖 29a 不同類型乳化劑，在不同時間下油層佔總高的比例

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。

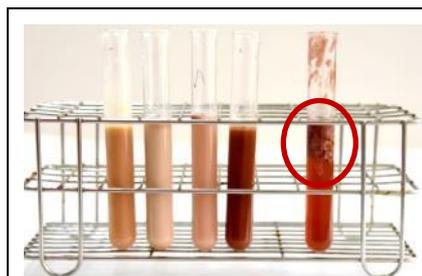


圖 29b 硬脂酸鈉上層凝固

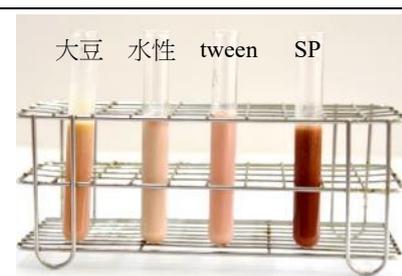


圖 29c 不同乳化劑比較(0min)

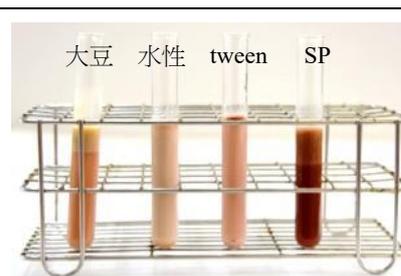


圖 29c 不同乳化劑比較(30min)

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。

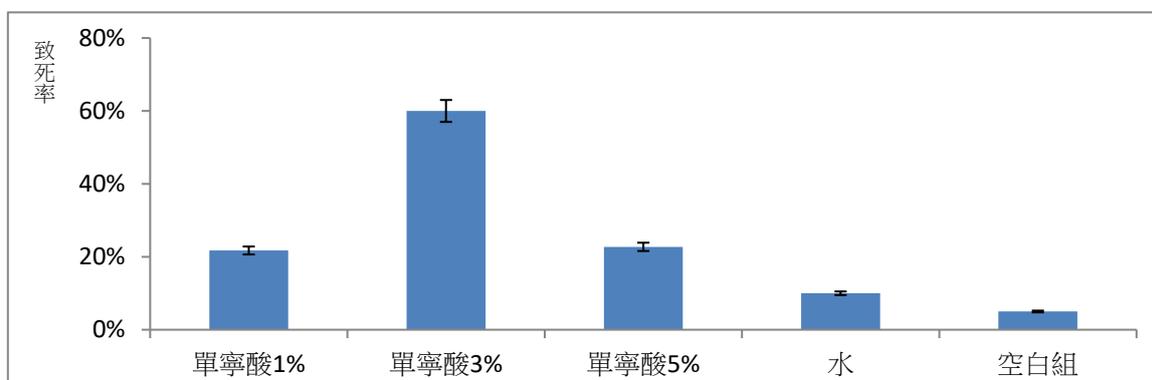


圖 30a 破壞體表蠟質後，不同濃度溶液對蚜蟲的致死率比較(60min)

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。

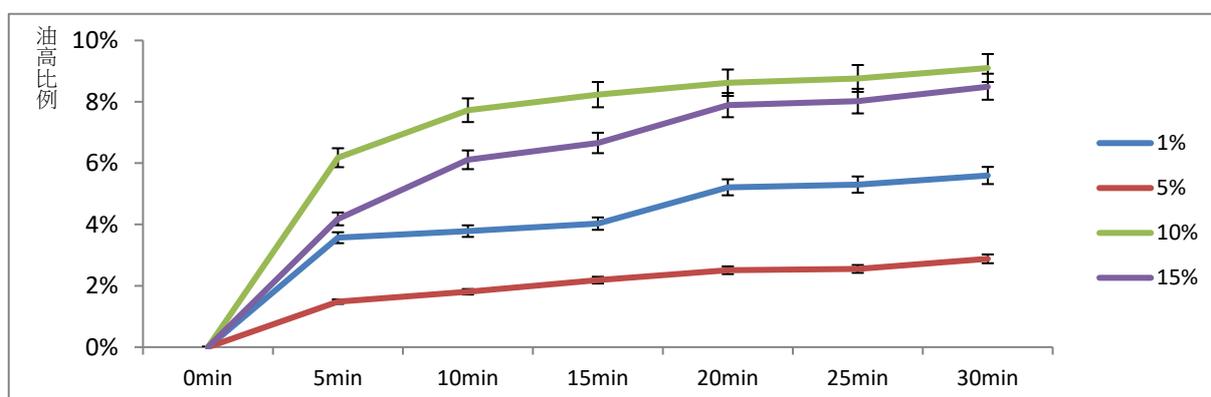
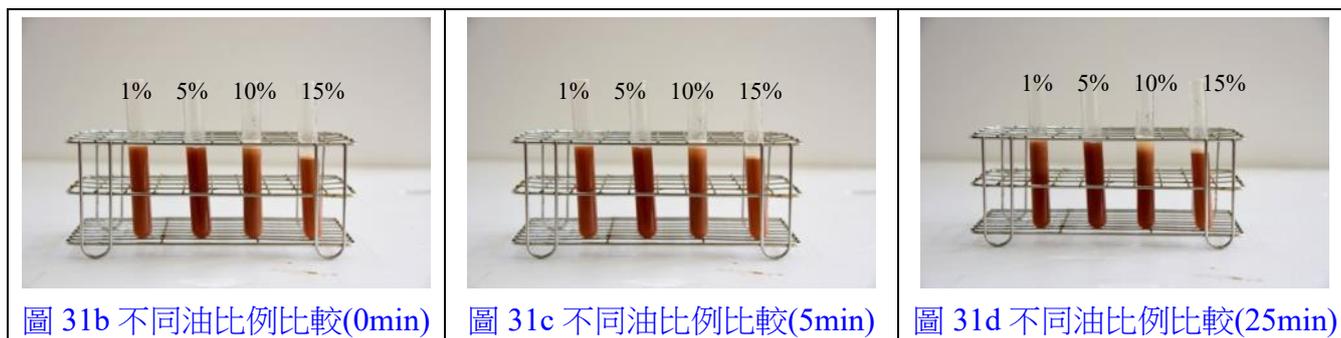


圖 31a 不同重量百份比油的生物農藥測試劑，在不同時間下油層佔總高的比例

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。

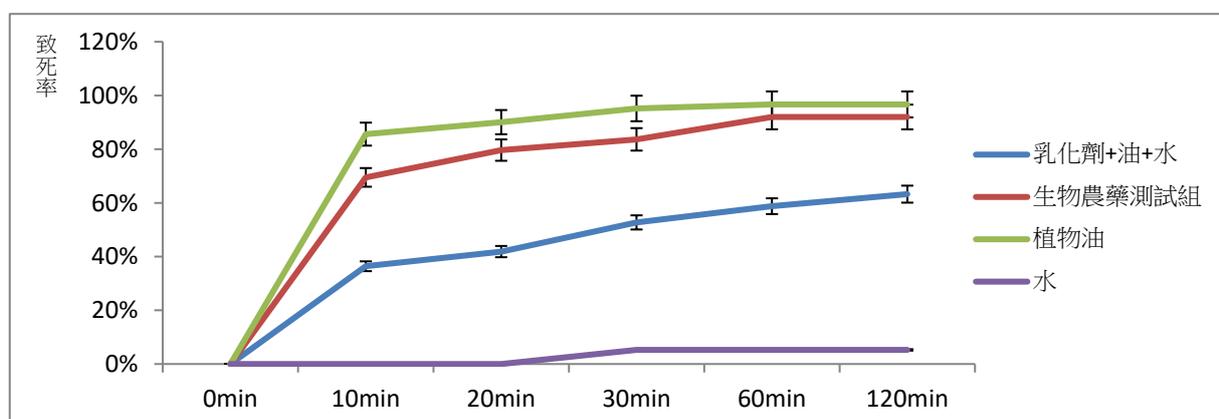


圖 32a 不同測試劑，在不同時間下對蚜蟲的致死率比較

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。

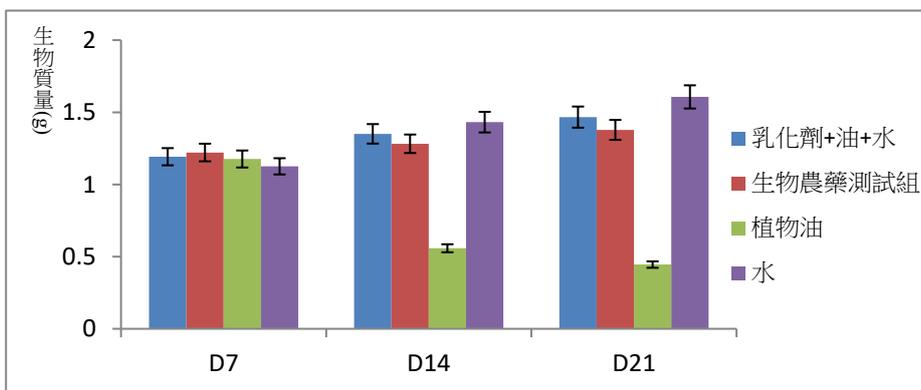


圖 33b D14 天生長情形比較

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。

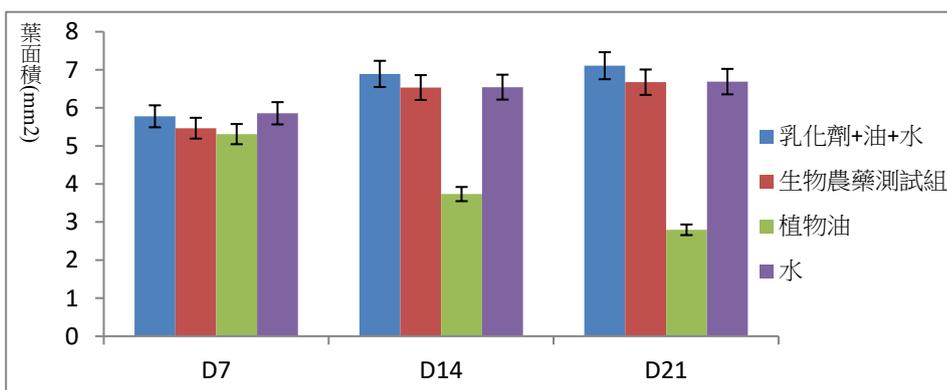


圖 33d D21 天葉面積比較
左至右：乳化、生物農藥、水、植物油

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。

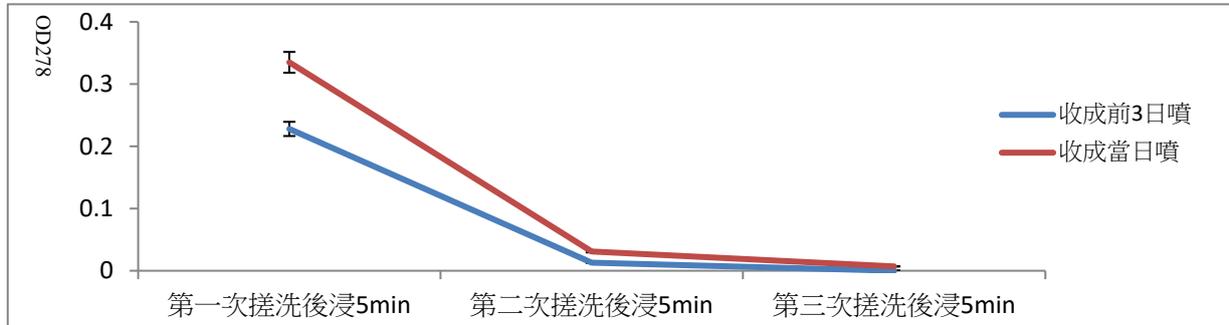


圖 34a 模擬搓洗方式後換水，水中的單寧酸 OD 值比較

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。

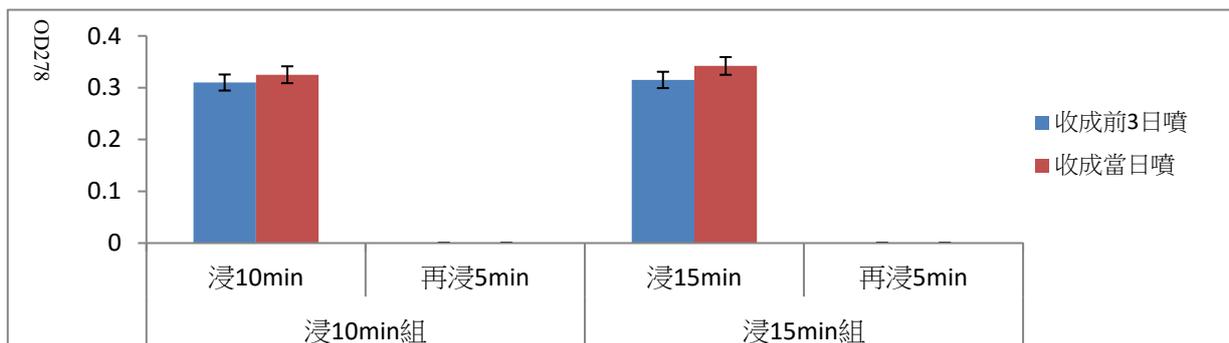


圖 34b 模擬搓洗方式後換水，水中的單寧酸 OD 值比較

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。

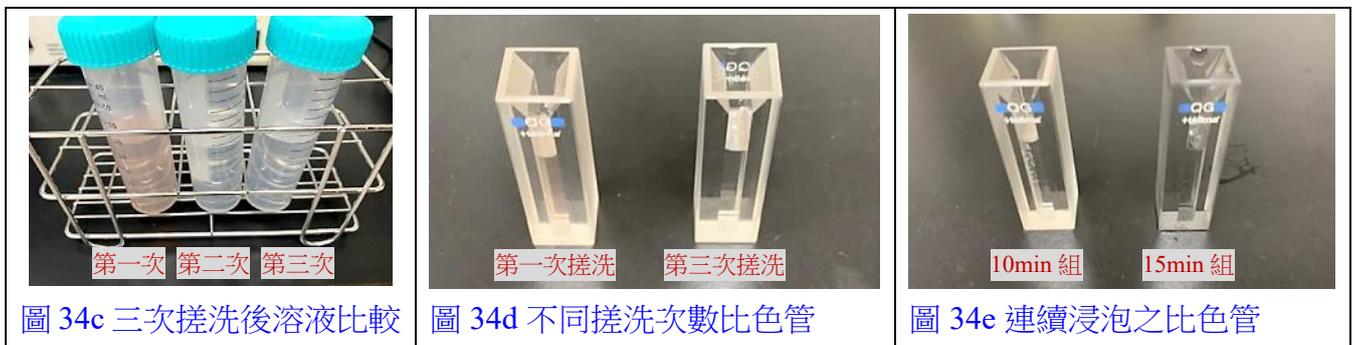


圖 34c 三次搓洗後溶液比較

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

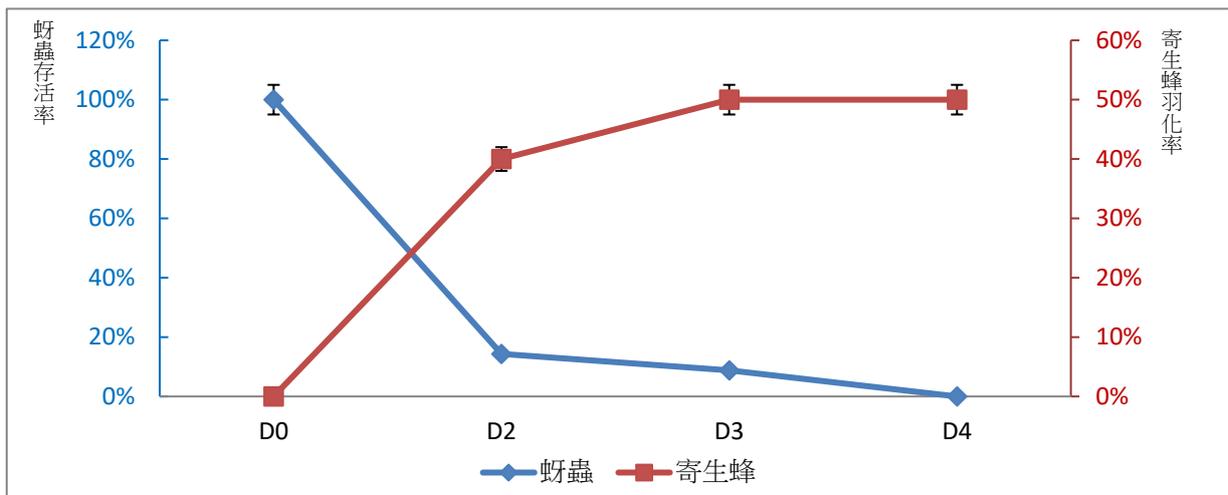


圖 35a 噴灑生物農藥測試劑，在不同天數下的蚜蟲存活率及寄生蜂羽化率比較

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。

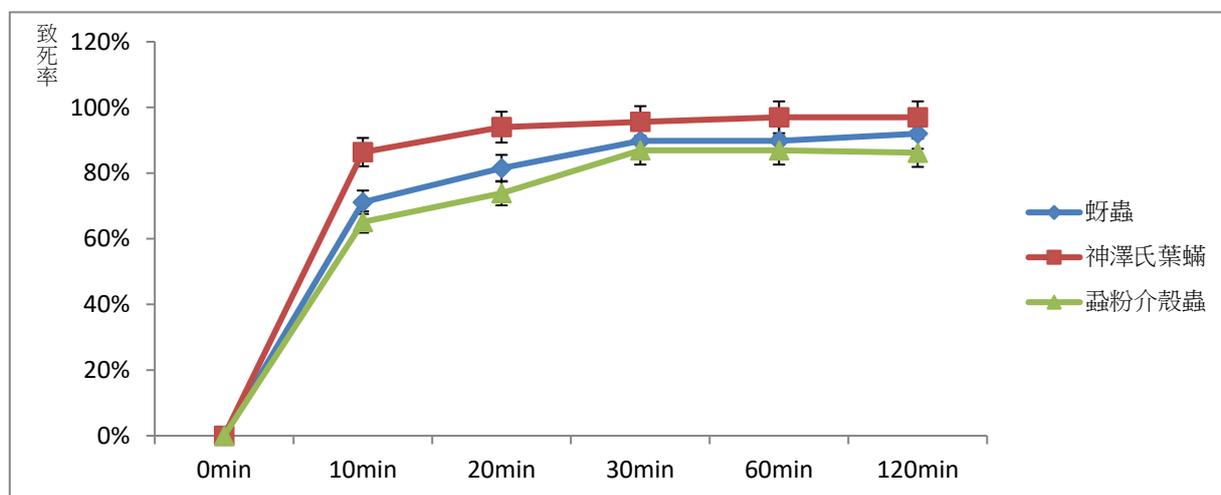


圖 36a 噴灑生物農藥測試劑，對不同害蟲在不同時間的致死率比較

實驗結果顯示，不同科的害蟲，蠹粉介殼蟲(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

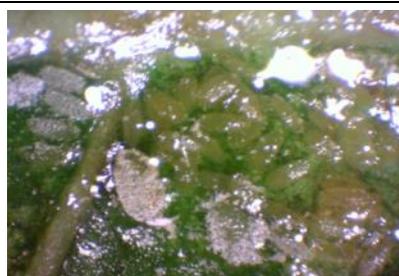


圖 36b 噴灑較小體型介殼蟲



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.

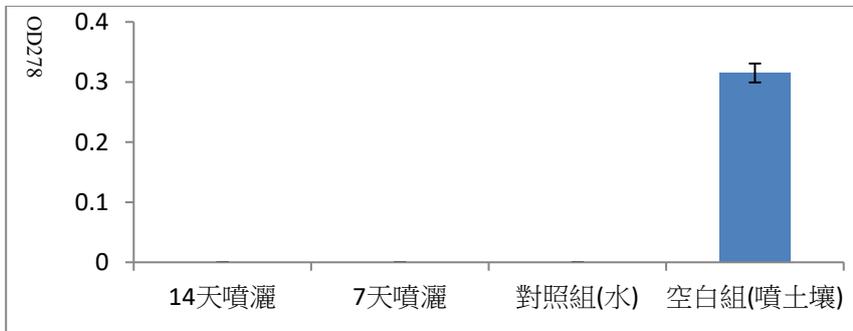
註：N.D.(NOT DETECTED)，表示未檢出；

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

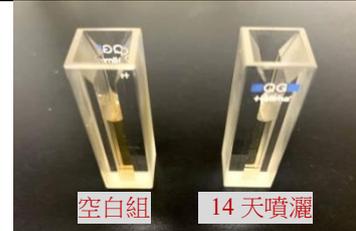


圖 37d 室內不同條件比色管

(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

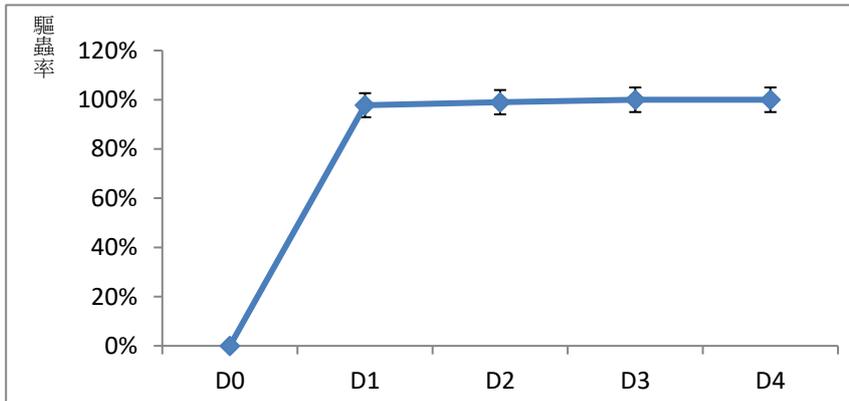


圖 38b D1 大量蚜蟲屍體出現



圖 38c 作物葉面上已無蚜蟲

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。

2. 對未感染蚜蟲作物的預防效果

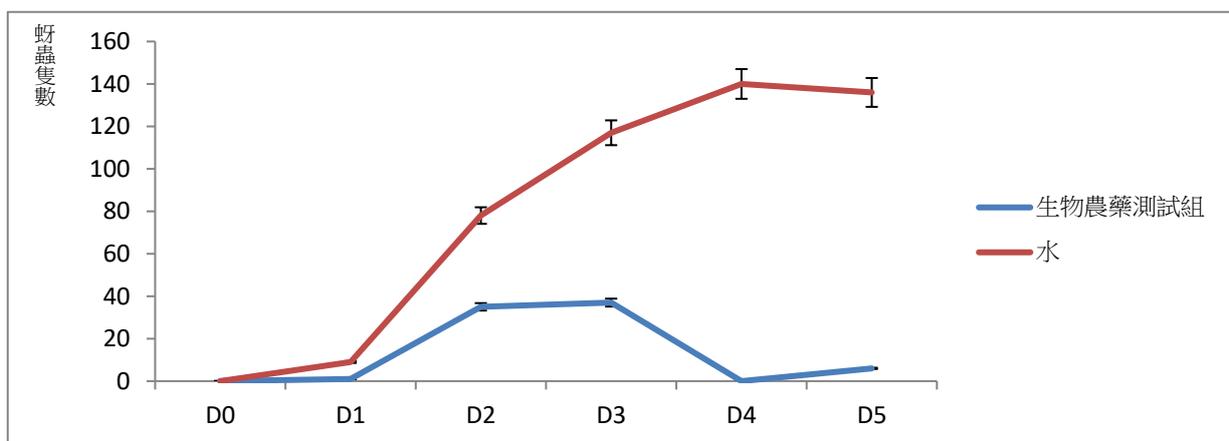


圖 39a 對未感染蚜蟲作物噴灑生物農藥測試劑的預防效果

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

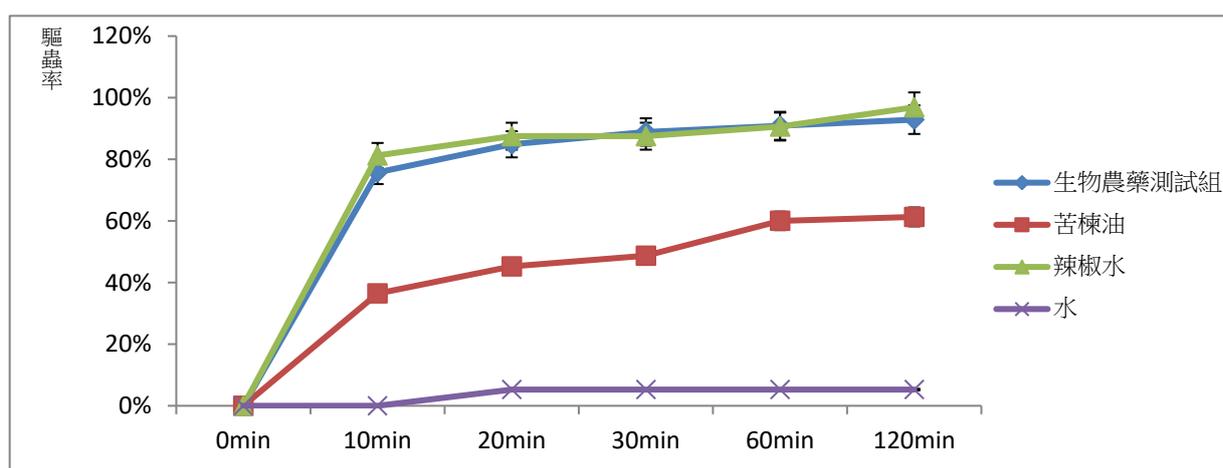


圖 40a 不同類型驅蟲劑對蚜蟲的驅蟲能力比較

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

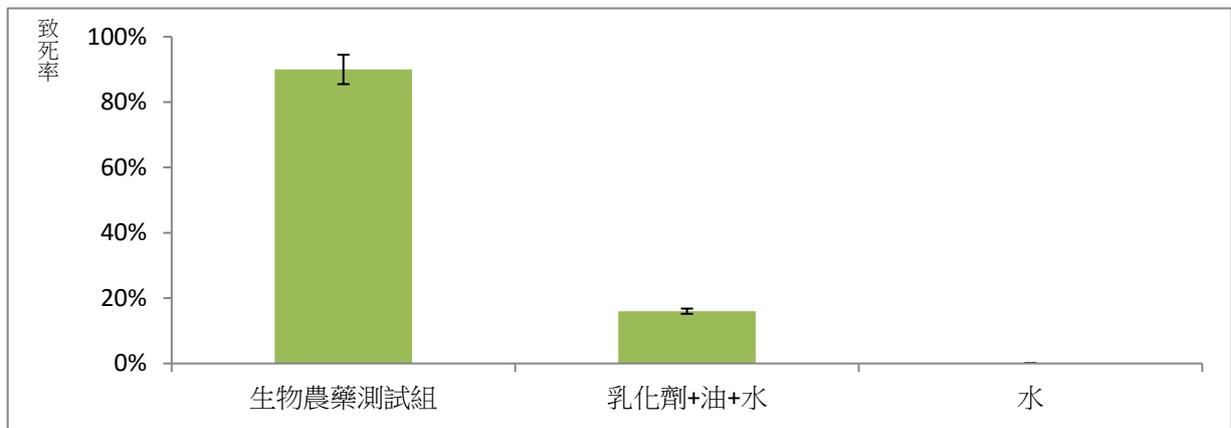


圖 41a 不同試劑噴灑葉面乾後，對蚜蟲的致死率比較

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

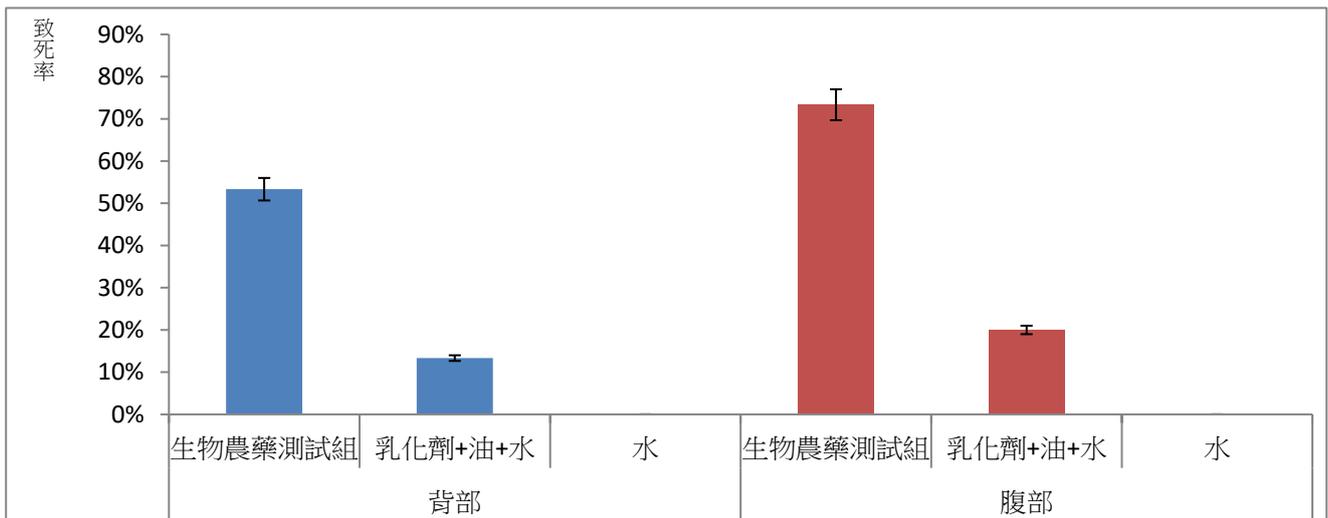


圖 42b 不同試劑，滴於蚜蟲不同部位之致死率比較 (10min)

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)。

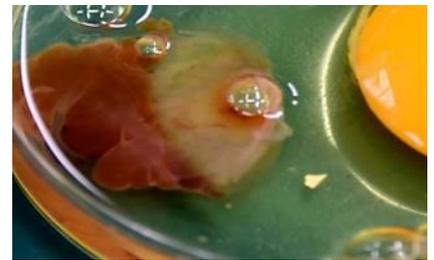


圖 44 單寧酸水溶液與蛋白

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，潘柏瑋(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。

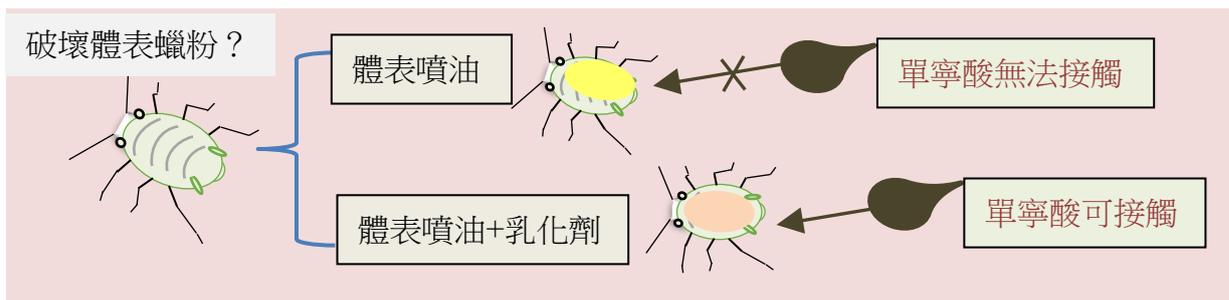


圖 46 體表直接加油，單寧酸仍然無法接觸體表

(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。

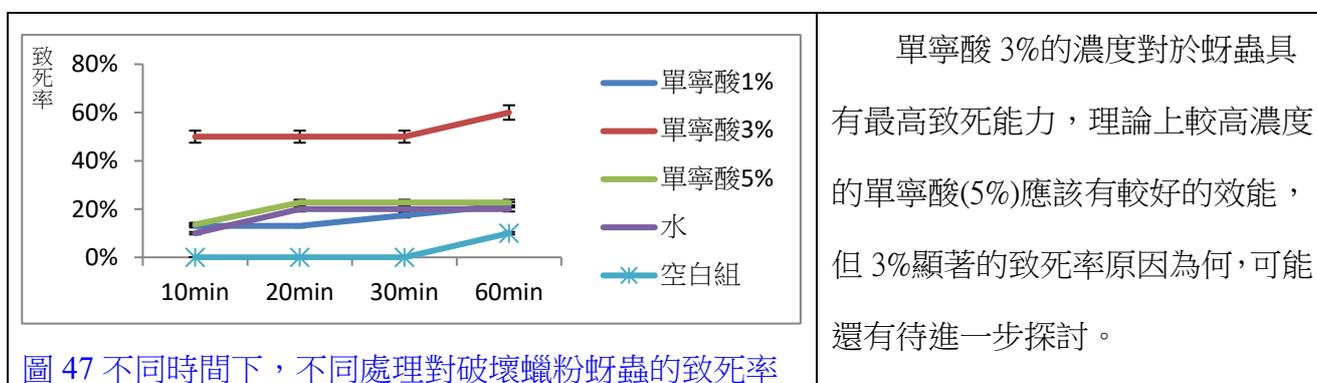


圖 47 不同時間下，不同處理對破壞蠟粉蚜蟲的致死率

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？

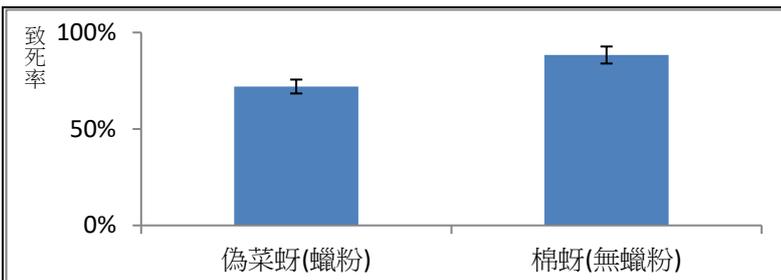


圖 50 生物農藥測試劑對有無蠟粉蚜蟲的致死率 (10min)

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%。

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】 060017

1. 團隊合作成果表達完整流暢。
2. 實驗主題及研究過程明確具體。
3. 對生物性農藥之定義宜進一步釐清確認。
4. 研究成果及未來應用性仍待評估。